

“韓國產 抗腫瘍性 資源의 Screaming에 대하여”(Ⅱ)

李 相 來

東京農業大學

Screening for Antitumor Efficacy from the wild plants in Korea. (Ⅱ)

Sang Rae Lee

Laboratory of crop science, Tokyo University of Agriculture,
sakuragauka 1-1-1.

Setagayaku, Tokyo, Japan

〈緒論〉

癌의 深刻性은 날이갈수록 높아지고 있는 이때 癌에 對한 研究는 國際的으로 많은 研究者들의 努力에 의해서 基礎的으로나 臨床的으로나 確實한 進歩를 거듭하고 있고, 同時에 制癌劑에 關해서도 世界的으로 널리 研究가 推進되고 있다. 그러나 아직까지 劃期的인 藥劑가 出現되지 않는 것은 癌이라는 것이 大端히 範圍가 넓은 疾病이기 때문이라고 말하고 있다. 곧 어느 種類의 癌에는 有效해도 그 以外의 다른 수많은 癌에는 活性이 나타나지 아니하는 것도 있다. 이와같이 癌의 種類가 많다는 것을 알 수 있다.

또한 抗癌劑는 副作用이 強하고 耐性的의 發現과 發癌性的의 問題 特히 末期癌에 對해서는 그 效果가 充分치 못한것이 事實이다.

그러나 末期癌에도 利用 可能하고 더욱 體力을 增強시킬수 있는 藥物療法的의 開發을 目標로 해서 生藥類의 抗腫瘍性 研究도 推進하는 學者들도 있다.

現代醫學에서는 生藥現狀 그대로 癌에 有效하다고 認定하는 일이 적으나 傳承醫學 또는 民間療法에서는 抗癌性이 있다고 認定되는 生藥이 상당히 많이 存在한다.

이를 감안하여 古來부터 世界各國에서 傳承되어오는 民間藥草와 中國의 漢方醫學, 印度의 Ayurbeter, 韓方醫學 等の 傳統的 藥草지식 등도 加味해서 Screening 檢體를 類推해 가면 새로운 抗癌劑를 發見을 하는데 도움이 될것으로 思料된다.

本 研究팀은 韓國에 自生하는 抗腫瘍性 資源 42種에 對해서 1) Sarcoma 180 腹水型 腫瘍 mouse을 利用한 總細胞容積法과 2) V-79 培養細胞를 利用한 細胞毒性 試驗法에 의한

Screening 結果를 이미 發表했고 今般 第2次로 다음과 같이 Screening 結果를 發表한다.

〈實驗材料〉

韓國에서 옛날부터 抗癌劑로 使用했던 藥草의 自生種과 栽培種을 收集해서 利用했다.

自生種으로는 鬼箭羽의 小枝에 생기는 翼狀物, 雷公藤의 뿌리, 잎, 줄기, 羊蹄의 뿌리, 一葉楸의 줄기와 잎, 筆頭葉의 地上部位, 延命草의 잎, 줄기, 結草의 뿌리 韓國當歸根, 白何首烏根, 敗醬根, 들장미버섯, 草뿌리, 木油, 海桐木, 手兒, 臭梧桐 등이고 栽培種은 韓國當歸뿌리, 苦 葉 뿌리, 잎, 高菜, 잎, 줄기, 뿌리 등이다.

〈實驗方法〉

抽出法은 前報와 같이 生藥類를 methanol로서 抽出하였다. Screening 方法도 前報와 같이 腹水型의 Sarcome 180을 利用한 總細胞容積法과 細胞毒性法에 依해서 實施하였다.

그러나 細胞毒性法은 1) V-79 細胞에 依한 試驗法과 2) P388 培養細胞에 依한 試驗法과 두가지 方法으로 實施하였다.

1) 總細胞容積法에 依한 Screening

總細胞容積法은 五週齡의 ICR系 mouse, 1群 6마리로해서 腫瘍移植後(1×10^6 cells.i. p.) 1日 1回 5日間, 試料를 腹腔內에 連續 投與했다. 7日次에 mouse 腹腔內 腹水を 採取해서 이것을 3,000rpm. 5分間 遠沈해서 腫瘍細胞를 分離시켜, 그 腫瘍細胞容積(PCV : Pocked Cell Volume)과 腹水全容積(TV : total volume)를 測定했다. 또한 試料毒性의 눈금(尺度)으로 體重變化量(BWC : body weight change)을 腫瘍移植後 7日次의 mouse 體重에서 腫瘍移植後 7日次의 mouse 體重에서 腫瘍移植日의 體重과 TV를 差引해서 算出하였다.

腫瘍生長率(GR : growth ratio)은 試料無投與對照群의 PCV의 平均에 對한 試料投與群의 PCV의 平均比率를 百分率로서 表示하고 GR : 0~10% ++++, 11~50% ++, 41~65 + 66%< -로 試料의 抗腫瘍活性을 判定하였다.

2) 細胞毒性法에 依한 Screening 方法

(1)V-79 細胞에 依한 細胞毒性試驗法

- 培養細胞 : V-79 Cells (Chinese Hamster 由來)
- 細胞數 : 1.95ml 培地에 6×10^3 cells를 50 μ l 添加

- 培地 : RPMI 1640, 10% FCS
- 判定 : 藥劑投與後 5日次의 Colony數를 對照群의 Colony數와 比較해서, 그 T/C(%)에 依해서 判定함. 또한 生藥 extract 30 μ g / ml 濃度에서의 T/C(%)가 50%以下의 것을 有效値로 하였다.

(2) P388 培養細胞에 의한 細胞毒性 試驗法

- 培養細胞 : P388 Leukemia Cells(日本癌研究에서 入手)
- 細胞數 : 3.0 \times 10⁴cells / ml의 細胞液을 96穴 Pureto에 100 μ l / well를 添加
- 培地 : RPMI 1640-2 ME, 10% FCS
- 判定 : 藥劑添加後, 약 48時間 培養시킨 後, MTT試藥(5mg / ml)을 20 μ l / well 添加해서 4時間培養後 10% SDS-O, 0.1 NHCl를 100 μ l / well를 加해서 MTT formazan을 溶解시켜 檢定群과 對照群과의 比色定量함으로 判定함. 또한 生藥 extract 30 μ g / ml 濃度以下의 IC₅₀値가 되는 것을 有效値로 하였다.

〈結果 및 考察〉

前報에 이어 韓國 天然抗腫瘍性資源 自生種 19種 栽培種 7種 모두 26種을 Screening을 實施하였다.

1) 總細胞容積法에 의한 Screening에서는 使用한 檢體 18種中 十十의 活性이 나타난 것은

① 雷公藤(*Tripterygium regelii* Spragne & Taketa)의 뿌리, 잎, 줄기 3檢體等 ② 結草根(*Eragrostis ferruginea* Beauv) ③ 敗醬根(*Patrinia scabiosaefolia* Fischer ex Link) ④ 羊蹄(*Rumex japonicus* Hoult) 등 5種인데 雷公藤은 毒性이 甚해서 內服에는 注意해야할 것이다. 그 毒性도 사람, 犬, 豚, 昆蟲類는 甚하고 羊, 兔, 고양이, 쥐, 魚類에는 無毒性이다. 殺蟲作用도 水浸液 또는 Ethanol 浸液은 배星毛虫과 葉捲虫을 毒殺시키나 石油 ether, ether, Chloroform 浸液에는 殺蟲力이 없다고 한다. 류마치스性 關節炎의 治療, 皮膚發痒의 治療의 處方例도 있고 慢性關節 류마치스의 治療 등의 臨床報告가 있으나 더욱 研究해야 할 것으로 生覺된다.

結草는 前報와 같이 本研究팀이 最初로 報告된 것으로서 本 Screening이나 細胞毒性法에서도 活性으로 나타나고 있는 계속 研究해야할 種目으로 되어있다. 敗醬根은 清熱解毒의 效能이 있고 食道癌에 有效하다는 報告가 있으며, 우리나라에서는 이의 어린잎은 食用으로 하고 있기 때문에 癌의 豫防을 위해서 食用으로도 더욱 研究를 해야할 것으로 思料된다.

羊蹄는 蓼科에 屬하는 多年生草로서 淸熱, 通便, 利水, 止血, 殺蟲의 效能이 있다고 하며 降血糖 成分도 含有되어 있다는 報告도 있고 어린잎은 食用으로도 하고 있으나 葎酸이 含有되어 있으므로 大量利用은 禁해야 한다. 十로 나타난것은 白何首烏, 들장미버섯 등이다.

2) 細胞毒性法에 의한 Screening 方法

(1) V-79 細胞에 依한 細胞毒性 試驗法에 있어서 使用한 檢體 13種中 活性으로 나타난 것은 雷公藤(*Tripterygium regelii* Spragne & Takeca)의 뿌리와 줄기 그리고 智異山에 自生하는 延命草(*Amethystan thus excisus*(Maximowicz) Nakai) 등이다.

延命草는 罂粟科에 속하는 多年生草로서 全草를 生藥으로하며 腹痛, 胃痙攣, 설사 등의 胃腸病에 煎服하여 왔으며 主成分의 Enmein은 抗腫瘍性作用이 認定되어 있다.

(2) P388 培養細胞에 의한 細胞毒性 試驗 Screening 方法에 있어서 使用한 檢體 12種中 活性이 있다고 判定된 것은 1989年生 및 1990年生의 結草根(*Eragrostis ferruginea* BEAUV) 栽培種 및 自生種의 韓國當歸(*Angelica gigas* NAKAI) 栽培種과 自生種 2種과 牻牛兒苗(*Geranium sibiricum*f) 高菜(*Brassica juncea*)의 莖, 敗醬根(*Patrinia Scabio-Saefolia* Fischer Ex Link) 白何首烏(*Cynanchum wilforjii*(Maximowicz) Hemgley, 菝草(*Rubia akane* NAKAI) 들장미버섯(*Rosa Polyanetha* SIEB. et Zucc. var genuina Thunb), 臭梧桐(*Clerodendron trichotomum* Thunb) 등 11檢體이다.

韓國當歸는 이 方法으로서 本 研究팀이 最初로 Screening을 實施報告하는 것으로 알고 있으며, 當歸는 性溫主生血, 補心扶虛逐瘀結의 效能이 있으며, 우리나라의 가장 重要한 藥材의 하나로서 이 Screening 結果로 보아 큰 關心을 가지고 研究해야할 것으로 믿어진다.

牻牛兒苗는 抗菌, 止瀉作用이 있으며, 去風活血, 淸熱, 解毒, 癰疽, 腸炎, 痢疾과 各種癌에 有效하다는 報告가 있으며 이 Screening 結果는 活性이 比較的 높게 나타났다.

全南麗川 突山갓(高菜)은 잎, 뿌리보다 줄기가 活性이 높게 나타났다.

白何首烏는 方藥合編에서 肝腎의 藥이라고 하여 滋養, 強壯, 補血의 要藥으로 되어 있다.

肝腫瘤, 膀胱腫瘤, 子宮頸癌 등에 有效하다고 報告가 되어 있는 菝草는 國內外的으로 抗腫瘍性이 높은 藥材로서 注目하고 있다.

들장미 뿌리는 淸熱利濕, 去風, 活血, 解毒의 效能이 있으며 肺癰, 糖尿病, 痢疾, 關節炎, 血便, 鼻出血을 다스리는데 쓰이고 있는 들장미뿌리에 생기는 버섯이다. 이는 總細胞 容積法이나 細胞毒性法에서나 活性으로 判定되었다.

臭梧桐은 去風濕하고 血壓을 降下시키는 效能이 있으며 류마치스에 의한 痺痛, 半身不

隨, 高血壓病, 痔瘡, 癰疽瘡疥를 治療하는데 使用한 報告가 나와 있다.

〈摘要〉

韓國產 天然抗腫瘍性 資源의 Screening을 實施한 結果(第2次)

① 總細胞容積法에 依한 結果는 Table I과 같이 雷公藤 뿌리, 잎, 줄기, 羊蹄, 結草, 敗醬根 등은 十十의 活性이 나타났고 白何首烏와 들장미버섯은 十로 判定되었다.

② V-79 細胞에 依한 細胞毒性 Screening法에 使用한 檢體 13種中 活性으로 判定된것은 雷公藤의 뿌리와 줄기, 延命草 등이다.

③ P388 培養細胞에 依한 Screening 結果는 12檢體中 活性으로 判定된 것은 結草根 韓國當歸 自生種과 栽培種, 花牛兒苗, 高菜(莖), 敗醬根, 白何首烏, 菴草, 臭梧桐 등 11檢體이다.

④ 이번 Screening 結果에 依하면 總細胞 容積法과 細胞毒性法에서나 活性으로 判定된 것은 雷公藤, 結草根, 敗醬根, 白何首烏, 들장미 버섯 等이다.

References

1. M. Suffness, J. Douros, J. Nat. Prod., 45, 1(1982).
2. G.A. Cordell, N.R. Farnsworth, Lloidia, 40, 1(1977).
3. J.M. Casady, J.D. Douros, "Anticancer agents based on natural product metnods", Academic Press, New York, 1980. 1-500.
4. H. Itokawa, "Chemistry and biological activity of antineoplastic natural products", Eight Symposium by Kanto Branch of Pharmaceutical Society of Japan(1984).
5. H. Itokawa, F. Hirayama, K. Funakoshi, K. Takeya, Chem. Pharm. Bull., 33, 3488-3492(1985).
6. H. Itokawa, S. Tsuruoka, K. Takeya, Chem. Pharm. Bull., 35, 1660-1662(1987)
7. H. Itokawa, K. Watanabe, S. Mihashi, Japan. J. Pharmacog., 33, 96(1979).
8. H. Itokawa, K. Watanabe, K. Mihara, K. Takeya, Japan. J. Pharmacog., 36, 145(1986).
9. A. Hoshi, 29th Kanto Branch Symposium of Pharmaceutical Society of Japan (1985).
10. H. Itokawa, K. Mihara, K. Takeya, Chem. Pharm. Bull., 31, 2353(1982).
11. H. Itokawa, K. Takeya, K. Mihara, N. Mori, T. Hamanaka, T. Sonobe, Y. Iitaka, Chem. Pharm. Bull., 31, 1424(1983).
12. a) H. Itokawa, K. Takeya, N. Mori, T. Hamanaka, T. Sonobe, K. Mihara, Chem. Pharm. Bull., 32, 284(1984).
b) H. Itokawa, K. Takeya, N. Mori, T. Sonobe, K. Mihara, M. Takanasahi, H. Yamamoto, J. Pharmacobio-Dyn., 8 s-63(1986).
13. H. Itokawa, K. Takeya, N. More, T. Sonobe, N. Serisawa, T. Hamanaka, S. Mihara, Chem. Pharm. Bull., 32, 3216(1984).

14. H. Itokawa, K. Takeya, N. Mori, M. Takanashi, H. Yamamoto, T. Sonobe, S. Kidokoro, *Gann*, 75, 929(1984).
15. H. Itokawa, K. Takeya, N. Mori, M. Takanashi, H. Yamamoto, T. Sonobe, S. Kidokoro, *Gann*, 75, 929(1984).
16. H. Itokawa, K. Takeya, T. Hamanaka, M. Yakanashi, N. Mori, S. Tsukagoshi, 14th International Congress of Chemotherapy, Kyoto, 1985.
17. a) S.D. Jolad, J.R. Cole, *J. Amer. Chem. Soc.*, 99, 8040(1977).
b) R.B. Bates, J.R. Cole, *J. Amer. Chem. Soc.*, 105, 1343(1983).
- 18) H. Itokawa, K. Takeya, N. Mori, T. Sonobe, S. Mihashi, T. Hamanaka, *Chem. Pharm. Bull.*, 34, 3762-3768(1986).
- 19) S.C. Shin, J.I. Lee, S.R. Lee, E.S. Yoon, *Eragrostis ferruginea*의 抗腫瘍性 Screening Test, *東洋資源植物學會誌* 第4卷 第1號(pp. 1~4)
20. S.R. Lee, E.S. Yoon, S.C. Shin, J.I. Lee, *Eragrostis ferruginea*에서 추출된 Diterpenoids, *東洋資源植物學會誌* 第4卷 第2號(pp. 35~38)
21. H. Itokawa, K. Matsumoto, H. Morita, K. Takeya, S.R. Lee, 韓國產 개나리 *Forsythia viridissima*의 細胞毒性 成分에 關한 研究, *東洋資源植物學會誌* 第5卷 第1號(pp. 49~56)
22. S.R. Lee, E.S. Yoon, S.C. Shin, 韓國產 天然抗腫瘍性 資源의 Screening에 對하여 *東洋資源植物會誌* 第5卷 第2號(pp. 85~93)

Table I. Antitumer acctivity of crude drugs with sarcoma 180 ascites mice

NO.	Scientific Name	Crude Drug	Geographical zone	投與量 (mg /kg /day)	BWC (g)	PVC /TV	G R (%)	判定
1	<i>Enonymus alatus</i> SIER	鬼箭羽	光州	100	+0.3	0.28	77.2	
2	•	•	大田	100	+3.5	0.28	71.8	
3	<i>Tripterygium regelii spragne & Taketa</i>	雷公藤	智異山 (根)	100	+0.1	0.12	13.2	++
4	•	雷公藤	(葉)	100	+0.1	0.34	33.2	++
5	•	雷公藤	(莖)	100	+4.4	0.36	12.8	++
6	<i>Ixeris sonchifolia</i> Hance	苦蕒葉	全南 (葉)	100	-2.5	0.31	112.7	
7	•	•	(根)	100	-1.3	0.32	103.8	
8	<i>Rumex japonicus</i> Houtt	羊蹄	全南	100	+3.6	0.37	29.7	++
9	<i>Securinega suffruticosa</i> REHD	一葉楸	智異山	100	+4.6	0.40	141.6	
10	<i>Equisetum arvensef</i>	筆頭菜	全南	100	+3.6	0.33	100.7	
11	<i>Amelhystanthus excisus</i> (Maximowicz)	延命草	智異山	100	+2.7	0.31	70.0	
12	<i>Eragrostitis ferru-ginea</i> BEAU	結草	京畿	100	-0.7	0.20	27.0	++
13	<i>Angelica gigas</i> NAKAI	當歸 (自生)	江原	100	+1.7	0.28	73.0	
14	<i>Angelica gigas</i> NAKAI	當歸 (栽培)	江原	100	0.0	0.46	103.7	
15	<i>Cynanchum wilfordii</i> (Maxi mowicz) Hemsley	白何首烏	江原	100	+3.4	0.41	51.3	+

NO.	Scientific Name	Crude Drug	Geographical zone	投與量 (mg /kg /day)	BWC (g)	PVC /TV	G R (%)	判定
16	<i>Brassica juncea</i>	高菜(葉)	突山	100	+0.9	0.41	113.2	
17	<i>Patrinia scabio-saeifolia</i> Fischer <i>ex Link</i>	敗醬根	忠南	100	-1.7	0.06	19.6	++
18	<i>Rosa polyantha</i> SIEB. et Zacc. <i>Var genuina</i> Thumb	野薔薇茸	忠南	100	+0.7	0.56	49.4	+

Table II. Screening V-79 Cells

NO.	Scientific Name	Crude Drug	Geographical zone	Concentration($\mu\text{g}/\text{mL}$) / T / C(%)					判定
				100	30	10	3	1	
1	<i>Euonymus alatus</i> SIER	鬼箭羽	光州産	56	74	98	102	102	102
2	<i>Euonymus alatus</i> SIFR	鬼箭羽	大田産	60	79	103	106	100	100
3	<i>Tripterygium regelii spragne & Taketa</i>	雷公藤	智異山 (根)	0	0	0	6	92	92
4	・	・	葉	12	104	95	99	101	101
5	・	・	莖	0	0	26	94	107	107
6	<i>Ixeris Sonchifolia</i> Hance	苦蕒葉 (葉)	全南	74	98	95	99	97	97
7	・	(根)	・	44	87	88	95	94	94
8	<i>Rumex japonicus</i> Houtt	羊蹄	全南	65	87	86	89	89	89
9	<i>Securinega Suffruticosa</i> REHD	・	智異山	92	102	113	107	101	101
10	<i>Equisetum arvense</i> L.	筆頭葉	全南	48	90	89	93	96	96
11	<i>Amethystanthus excisus</i> (Maximowicz) Nakai	延命草	智異山	0	0	116	98	120	120
12	<i>Aralia elata</i> SEEM	總木油	忠南	101	104	96	96	98	98
13	<i>Kalopanax ruginifolium</i> Miq	海桐木	忠南	98	103	102	101	97	97

Table III. Screening on P388 Leukemia Cells

NO.	Scientific Name	Crude Drug	Geographical zone	Concentration($\mu\text{g}/\text{ml}$) / T/C(%)										判定
				TC ₅₀	100	30	10	3	1	0.3	0.1			
1	<i>Eragrostis ferru-ginea</i> BEAUV	結草根 (1990年根)	京畿	13.0	0	1	64	94	99	102	103			
2	<i>Eragrostis ferru-ginea</i> BEAUV	結草根 (1989年根)	京畿	8.0	0	0	46	67	72	76	57			
3	<i>Angelica gigas</i> NAKAI	當歸 (栽培種)	江原	17.0	0	20	75	93	100	99	101			
4	<i>Angelica gigas</i> NAKAI	當歸 (自生種)	江原	18.0	0	29	73	92	92	93	91			
5	<i>Geranium Sibiricum</i> L.	牻牛兒苗 (玄光草)	江原	23.0	14	37	94	108	113	114	101			
6	<i>Brassica juncea</i>	高菜(葉)	突山	58.0	29	73	101	106	108	112	105			
7	<i>Brassica juncea</i>	高菜(莖)	突山	45.0	29	73	101	106	108	112	105			
8	<i>Brassica juncea</i>	高菜根	突山	81	41	92	103	103	103	93	106			
9	<i>Patrinia Scabio-saeifolia</i> Fischer <i>ex Link</i>	敗醬根	錦山	15.5	2	18	67	94	95	97	93			
10	<i>Cynanchum wilforii</i> (maximowicz) <i>Hemsley</i>	白首烏	江原	25.0	0	35	69	83	94	103	101			
11	<i>Rubia akene</i> NAKAI	茜草	錦山	2.6	0	0	8	36	76	91	104			
12	<i>Rosa Polyantha</i> SIEB. et Zucc. <i>Var genuina</i> Thunb	野薔薇(叶欠)	忠南	12.0	1	8	47	65	79	91	91			