

귀전우 Petroleum Ether 추출물의 세포독성

은재순 · 박상호 · 권진 · 김영안 · 강성룡 · 오찬호* · 전훈**
우석대학교 약학과, 생물공학과, * 환경공학과**

Cytotoxicity of Petroleum Ether Extract of *Euonymus alatus*

Jae Soon Eun, Sang Ho Park, Jin Kweon, Young Ahn Kim, Sung Young Kang,
Chan-Ho Oh* and Hoon Jeon**

Department of Pharmacy, *Department of biotechnology and

**Department of Environmental Engineering, Woosuk University, Chonju 565-701, Korea

Abstract—The purpose of this research was to investigate the effects of petroleum ether extract of *Euonymus alatus* (EAP) on the proliferation of human tumor cells. EAP inhibited the proliferation of HeLa, Hep G2, KHOS/NP and A431 cells. The cytotoxicity of doxorubicin on human tumor cells and Balb/c 3T3 cells were increased by the combination of EAP. EAP did not affect the proliferation of Balb/c 3T3 cells, mouse spleen cells and human lymphocytes. These results suggest that EAP has the cytotoxicity on human tumor cells without cytotoxicity on Balb/c 3T3 cells, mouse spleen cells and human lymphocytes, and increase the cytotoxicity of doxorubicin.

Keywords—*Euonymi lignum suberatum* · mouse spleen cells · human tumor cells
Balb/c 3T3 · human lymphocyte · MTT assay · cytotoxicity

귀전우(*Euonymi Lignum Suberatum*)는 낙엽 관목인 화살나무 *Euonymus alatus* (Thunb.) Sieb.의 가지에 코르크층의 이상발달로 생긴 익상돌기를 수피와 같이 채취하여 건조한 것으로 우리나라 전지역에서 자생한다. 날개는 8.0~12 mm 정도로 회갈색~회황색을 띄며 맛은 약간 쓰다.¹⁾

귀전우의 성분으로는 evonine, evonymine, alatamine²⁾, friedelin, friedelan-3- β -ol, quercetin³⁾ 등이 알려져 있으며, 약리작용으로는 혈당강하작용, 장관수축작용⁴⁾ 및 항암작용⁵⁾ 등이 알려져 있다.

이 등⁵⁾은 귀전우 수용성 추출물의 항암작용이 암세포주에 따라 차이가 있으며 항암작용기전은 암세포주에 대한 직접작용 및 면역세포의 활성화에 기인된다고 보고하였다. 이는 민간에서 암에 사용되고 있는 귀전우에 세포독성이 있음을 확인

한 결과이었으나, 사용한 암세포주가 마우스의 암세포주이었고 수용성 추출물만을 실험한 결과이었다.

따라서 본 실험에서는 귀전우를 다양한 용매로 추출하여 인체 암세포주에 대한 직접작용을 관찰하였으며 petroleum ether 추출물에서 가장 강한 세포독성이 나타났기 때문에, petroleum ether 추출물과 기존 항암제와 병용처리의 효과를 측정하였으며, 정상세포에 대한 세포독성을 관찰하기 위해 마우스 섬유아세포(Balb/c 3T3), 마우스 비장세포 및 human lymphocyte에 미치는 영향을 검토하였다.

본 실험에 사용한 암세포주는 인체 암세포주로서, 자궁암 세포주(human cervical carcinoma)인 HeLa, 간암 세포주(human hepatocellular carcinoma)인 Hep G2, 유방암 세포주(human breast adenocarcinoma)인 MCF-7, 골육종 세포

주(human osteosarcoma)인 KHOS/NP, 피부암 세포주(human epidermoid carcinoma)인 A431 등을 사용하였으며 항암제로는 mitomycin C(MMC), cisplatin(CPT) 및 doxorubicin(DRC)을 사용하여 실험한 결과 약간의 지견을 얻었으므로 이에 보고하고자 한다.

실험 재료 및 방법

실험 동물 - 비장세포 부유액 조제시에는 6-8 주령 C₃H계(수컷) 마우스를 사용하였다.

시약 및 기구 - 실험에 사용한 시약은 Dulbecco's modified Eagle's medium(DME, Sigma), RPMI 1640(Gibco), mitomycin C(MMC, Kyowa), cisplatin(CPT, Ildong Pharm. Co.), doxorubicin(DRC, Boryung Pharm. Co.), fetal bovine serum(FBS, Gibco), Dulbecco's phosphate buffered saline(DPBS, Sigma), 3-[4,5-Dimethylthiazol-2-yl]-2,5-diphenyltetrazolium bromide(MTT, Sigma), penicillin-streptomycin (Sigma), Ficoll-Hypaque(Sigma), trypsin(Gibco) 등이며 기타 시약은 cell culture용 및 1급 시약을 사용하였다. 사용기구는 culture flask(Nunc), multi-well plate (96-well, Costar), Microplate-Reader (Dynatech MR5000), CO₂ incubator(Vision scientific Co.), centrifuge(VS-6000 CF), inverted microscope(Nikon Co.), freeze dry apparatus (Labconco) 등을 사용하였다.

귀전우 각 용매 추출물의 조제 - 귀전우는 시중에서 구입하여 날개 모양의 코르크만을 분리하여 사용하였으며 추출 용매로는 물, MeOH, EtOH, *n*-BuOH 및 petroleum ether(이하 P. ether라 함)를 사용하였다. 귀전우 50g을 각 용매 1000ml로 48시간 가열 추출한 후 여과하였다. 여액을 rotary evaporator로 농축한 후 동결 건조하여 건조분말을 각각 물 추출물 4.0 g, EtOH 추출물 4.9 g, MeOH 추출물 2.3 g, *n*-BuOH 추출물 2.0 g 및 P. ether 추출물 0.1 g을 얻어 water 추출물은 3차 증류수로, 그외 추출물은 DMSO(dimethyl sulfoxide)에 DMSO의 최종 농도가 0.1% 이하가 되게 용해시켜 membrane filter(pore size 0.22 μ m)로 여과멸균한 후 사용

하였다.

세포주 및 세포 배양조건 - 본 실험에 사용한 세포주는 한국세포주은행(KCLB)에서 분양받아 사용하였다. HeLa 세포주, Hep G2 세포주, MCF-7 세포주, KHOS/NP 세포주, A431 세포주, Balb/c 3T3 세포주는 DME 배지를, 마우스 비장세포와 human lymphocyte는 RPMI 1640 배지를 사용하였으며, 배지에는 10% FBS와 penicillin-streptomycin(100 units/ml, 100 μ g/ml)를 첨가하여 사용하였다.

계대 배양은 1:10-1:20 비율로 3일 간격으로 하였다. 세포 증식에 미치는 귀전우 및 각 항암제의 영향을 관찰하기 위한 실험은 계대배양 2일째의 세포를 사용하였다.

MTT법에 의한 세포 증식율 측정 - 전보⁶⁾와 동일한 방법으로 측정하였다.

인체 암세포주 및 Balb/c 3T3 세포주에 미치는 귀전우 각 용매 추출물의 영향 - 인체 암세포주 및 Balb/c 3T3 세포주에 미치는 귀전우 각 용매 추출물의 영향을 알아보기 위해 각 well에 세포를 2×10^5 cells/ml 농도로 접종하고 24시간 배양하여 세포를 부착시킨 후 귀전우 추출물을 다양한 농도로 처리하여 MTT법으로 측정하였다.

인체 암세포주 및 Balb/c 3T3 세포주에 대한 각 항암제의 IC₅₀ 측정 - 전보⁶⁾와 동일한 방법으로 측정하였다.

인체 암세포주 및 Balb/c 3T3 세포주에 미치는 귀전우 petroleum ether 추출물(EAP)과 각 항암제의 병용처리 영향 - 인체 암세포주 및 Balb/c 3T3 세포주에 미치는 EAP와 각 항암제의 병용처리 영향을 알아보기 위해 각 well에 세포를 2×10^5 cells/ml 농도로 접종하고 24시간 배양하여 세포를 부착시킨 후 EAP의 다양한 농도와 각 항암제의 IC₅₀를 부착된 세포에 처리하여 MTT법으로 측정하였다.

마우스 비장세포의 분리 및 비장세포에 미치는 EAP의 영향 - 마우스의 비장세포 분리는 Wysocki⁷⁾ 및 Mizel 등⁸⁾의 방법을 이용하였다. C3H 마우스를 경추탈골하여 도살시킨 후 적출한 비장을 DPBS를 넣은 petri dish에서 잘게 분쇄하고 2회 세척한 다음 10 ml 주사기로 조심스럽게

세포부유액을 취하여 1500 rpm에서 10분간 원심 분리하였다. 얻어진 세포를 DPBS에 재부유시켜 3회 반복 세척한 후 비장세포를 분리하였으며 분리한 비장세포의 생존율 및 총세포수를 hemocytometer를 이용하여 측정하였다. 비장세포 부유액을 RPMI 1640 배지로 희석하고 96-well plate에 1.2×10^6 cells/ml 농도로 접종하여 Concanavalin A $1 \mu\text{g/ml}$ 및 각 농도의 EAP를 첨가한 후 37°C 의 CO_2 incubator에서 48시간 배양한 다음 배양 종료 4시간 전에 MTT시약을 가하였다. 배양 종료시 0.1N HCl에 용해시킨 10% SDS $100 \mu\text{l}$ 를 각 well에 첨가하고 차광상태에서 18시간 더 배양한 후 발색된 각 well의 흡광도를 Microplate-Reader로 570 nm에서 측정하여 대조군의 흡광도에 대한 실험군의 흡광도를 백분율로 환산하여 계산하였다.

Human lymphocyte의 분리 및 lymphocyte에 미치는 EAP의 영향 - human lymphocyte의 분리는 Callard⁹⁾ 및 Ly and Mishell¹⁰⁾ 등의 방법에 따라 건강한 성인 남자의 혈액에 Ficoll-Hypaque 용액을 가하여 분리하였다. Heparin 처리된 주사기로 혈액 10 ml를 취하여 12 ml의 DPBS에 혼합한 다음 10 ml의 Ficoll-Hypaque 용액 위에 희석 혈액을 층이 분명히 경계를 이루도록 조심스럽게 가했다. 3000 rpm에서 30분간 원심분리한 후 pasteur pipet을 이용하여 Ficoll-Hypaque 용액 위층에 밀집된 단핵구 층을 취한 다음 5배 부피의 DPBS에 희석하여 2500 rpm에서 10분간 원심분리하였다. 얻어진 세포를 DPBS-A에 재부유시켜 2회 더 세척한 후 hemocytometer를 이용하여 세포의 생존율 및 총세포수를 측정하였다. 세포를 RPMI 1640배지로 희석하여 96-well plate에 1.2×10^6 cells/ml 농도로 접종한 후 각 농도의 EAP를 첨가하고 37°C 의 CO_2 incubator에서 48시간 배양한 다음 배양 종료 4시간 전에 MTT시약을 가하였다. 배양 종료시 0.1N HCl에 용해시킨 10% SDS $100 \mu\text{l}$ 를 각 well에 첨가하고 차광상태에서 18시간 더 배양한 후 발색된 각 well의 흡광도를 Microplate-Reader로 570 nm에서 측정하여 대조군이 흡광도에 대한 실험군의 흡광도를 백분율로 환산하여 계산하였다.

실험 결과 및 고찰

인체 암세포주에 미치는 귀전우 각 용매 추출물의 효과 - 인체 암세포주에 미치는 귀전우 각 용매 추출물의 직접효과를 알아보기 위하여 인체 암세포주에 귀전우 각 용매 추출물을 0.1, 1, 10 및 $100 \mu\text{g/ml}$ 가하여 배양하였다.

귀전우 각 용매 추출물을 처리하지 않은 대조군의 세포생존율을 100%로 하였을 때, 각 용매 추출물 $100 \mu\text{g/ml}$ 농도에서 세포생존율이 HeLa 세포에서 MeOH 추출물은 $50.1 \pm 1.4\%$ 로, P. ether 추출물은 $44.9 \pm 1.5\%$ 로 나타났으며, Hep G2 세포에서 MeOH 추출물은 $73.3 \pm 2.2\%$ 로, P. ether 추출물은 $70.5 \pm 1.8\%$ 로 나타났다. KHOS/NP 세포에서 water 추출물은 $86.0 \pm 3.2\%$ 로, P. ether 추출물은 $74.0 \pm 2.4\%$ 로 나타났으며, A431 세포에서 n-BuOH 추출물은 $84.0 \pm 3.7\%$ 로, P. ether 추출물은 $74.8 \pm 2.2\%$ 로 세포생존율을 나타냈다. MCF-7 세포에 대하여는 모든 용매 추출물에서 세포독성을 나타내지 않았다 (Table I). 이 결과는 암세포에 대한 귀전우의 세포독성 물질이 주로 P. ether에 전용되고 있음을 의미하는 것이다.

인체 암세포주에 대한 각 항암제의 IC_{50} 농도 - 인체 암세포주를 50% 억제하는 각 항암제의 농도(IC_{50})를 측정한 결과는 Table II와 같다.

인체 암세포주에 미치는 귀전우 petroleum ether 추출물(EAP)과 각 항암제의 병용처리 효과 - EAP와 각 항암제의 병용처리 효과를 알아보기 위해 EAP 0.1, 1, 10 및 $100 \mu\text{g/ml}$ 를 각각 가하고 각 항암제의 IC_{50} 농도를 첨가하여 배양하였다. 각 항암제 IC_{50} 농도를 처리한 대조군의 세포생존율을 100%로 하였을 때, EAP $100 \mu\text{g/ml}$ 와 doxorubicin IC_{50} 병용 처리시 세포생존율이 HeLa 세포에서 $26.0 \pm 1.4\%$ 로, Hep G2 세포에서 $31.9 \pm 1.1\%$ 로, KHOS/NP 세포에서 $34.4 \pm 1.4\%$ 로, A431 세포에서 $56.8 \pm 3.2\%$ 로 doxorubicin IC_{50} 만 처리한 대조군에 비해 세포독성이 증가되었다 (Table III). 이 결과는 EAP와 항암제인 doxorubicin을 병용시 doxorubicin의 작용이 50%~70% 증강될 수 있다는 흥미로운 결

Table I. Cytotoxicity of several solvent extracts of *Euonymus alatus*

Solvents	Concentration ($\mu\text{g/ml}$)	IC ₅₀ ($\mu\text{g/ml}$)				
		HeLa	HepG2	MCF-7	KHOS/NP	A431
Water	control	100.0 \pm 1.6	100.0 \pm 1.1	100.0 \pm 1.7	100.0 \pm 2.5	100.0 \pm 3.0
	0.1	94.1 \pm 1.6	97.6 \pm 1.3	97.6 \pm 6.2	107.5 \pm 4.2	97.5 \pm 2.2
	1	89.2 \pm 1.8*	95.4 \pm 1.5	93.9 \pm 2.6	104.4 \pm 2.0	94.1 \pm 3.6
	10	86.1 \pm 1.5**	89.8 \pm 1.6**	98.8 \pm 5.4	98.2 \pm 1.1	97.8 \pm 2.4
	100	83.0 \pm 2.6**	86.2 \pm 1.0**	93.6 \pm 3.3	86.0 \pm 3.2*	93.6 \pm 4.0
EtOH	control	100.0 \pm 1.6	100.0 \pm 1.1	100.0 \pm 1.7	100.0 \pm 2.5	100.0 \pm 3.2
	0.1	95.9 \pm 1.5	96.9 \pm 1.6	102.8 \pm 4.2	92.0 \pm 5.2	105.0 \pm 4.2
	1	91.8 \pm 2.7	94.1 \pm 1.9	98.9 \pm 2.9	100.1 \pm 3.3	105.5 \pm 3.7
	10	91.9 \pm 1.9*	93.9 \pm 3.0	96.9 \pm 3.2	105.5 \pm 1.6	103.4 \pm 2.7
	100	89.2 \pm 1.6**	90.3 \pm 1.4*	91.5 \pm 2.2	112.6 \pm 5.5	93.9 \pm 3.2
MeOH	control	100.0 \pm 1.3	100.0 \pm 3.4	100.0 \pm 1.7	100.0 \pm 2.5	100.0 \pm 3.2
	0.1	96.5 \pm 1.2	97.1 \pm 2.8	101.3 \pm 1.8	91.2 \pm 2.5	93.5 \pm 3.7
	1	94.8 \pm 2.4	96.1 \pm 3.1	106.3 \pm 1.9	92.8 \pm 1.8	92.4 \pm 2.4
	10	86.2 \pm 2.0**	92.5 \pm 3.9	109.8 \pm 4.1	100.5 \pm 3.5	96.6 \pm 3.2
	100	50.1 \pm 1.4**	73.3 \pm 2.2**	123.7 \pm 5.7	104.5 \pm 4.7	100.6 \pm 1.7
<i>n</i> -BuOH	control	100.0 \pm 1.4	100.0 \pm 1.4	100.0 \pm 1.7	100.0 \pm 2.6	100.0 \pm 3.7
	0.1	96.3 \pm 3.0	98.3 \pm 3.6	100.1 \pm 1.5	97.9 \pm 3.2	99.4 \pm 1.7
	1	103.7 \pm 2.3	96.7 \pm 2.0	105.4 \pm 3.1	99.6 \pm 1.7	86.5 \pm 2.7*
	10	100.1 \pm 2.2	93.8 \pm 2.8	107.1 \pm 7.4	103.1 \pm 3.0	85.9 \pm 2.6*
	100	102.1 \pm 1.2	95.4 \pm 1.8	119.0 \pm 6.1	97.9 \pm 2.6	84.0 \pm 3.7*
P. ether	control	100.0 \pm 1.3	100.0 \pm 3.4	100.0 \pm 1.7	100.0 \pm 2.6	100.0 \pm 3.7
	0.1	94.5 \pm 1.7	100.2 \pm 3.2	105.2 \pm 5.2	91.4 \pm 2.6	90.3 \pm 1.2
	1	91.1 \pm 1.5*	93.6 \pm 3.7	102.5 \pm 4.0	89.0 \pm 3.3	84.4 \pm 2.1*
	10	84.9 \pm 1.5**	84.8 \pm 4.0*	99.9 \pm 2.2	82.2 \pm 1.3**	79.9 \pm 1.8**
	100	44.9 \pm 1.5**	70.5 \pm 1.8**	95.6 \pm 2.9	74.0 \pm 2.4**	74.8 \pm 2.2**

The cells (2×10^5 cells/ml) were cultured in 5% CO₂-incubator at 37°C for 24 hrs., and then each extracts was mixed and incubated at 37°C for 48 hrs.

The OD of each well was measured at 570nm with Microplate-Reader.

The data represent the mean \pm SE from 4 experiments.

; Significantly different from control group(; $p < 0.01$, **; $p < 0.001$).

Table II. IC₅₀ value of anti-tumor drugs on human tumor cells.

Drugs	IC ₅₀ ($\mu\text{g/ml}$)				
	HeLa	Hep G2	MCF-7	KHOS/NP	A431
Mitomycin C(MMC)	5.1	1.9	10.1	4.5	1.2
Cisplatin(CPT)	8.0	6.0	24.9	16.0	1.6
Doxorubicin(DRC)	2.1	1.5	5.0	10.6	0.6

Table III. The combined effect of EAP and anti-tumor drugs on human tumor cells.

Drugs	Cells	EAP Concentration ($\mu\text{g/ml}$)				
		Control	0.1	1	10	100
MMC	HeLa	100.0 \pm 2.9	100.0 \pm 3.0	94.2 \pm 1.9	98.4 \pm 3.4	115.3 \pm 2.7**
	HepG2	100.0 \pm 3.4	102.7 \pm 4.1	96.1 \pm 3.0	94.5 \pm 4.3	87.5 \pm 2.9
	MCF-7	100.0 \pm 4.2	96.4 \pm 2.7	93.8 \pm 2.9	94.7 \pm 2.5	104.2 \pm 3.9
	KHOS/NP	100.0 \pm 3.1	95.8 \pm 2.7	94.3 \pm 2.3	89.4 \pm 2.6	86.5 \pm 1.6*
	A431	100.0 \pm 3.6	98.8 \pm 2.9	99.9 \pm 3.7	96.9 \pm 3.1	107.7 \pm 3.2
CPT	HeLa	100.0 \pm 3.0	95.3 \pm 3.6	99.3 \pm 1.9	93.9 \pm 2.2	121.1 \pm 4.3**
	HepG2	100.0 \pm 2.9	95.3 \pm 1.5	91.0 \pm 2.0	92.6 \pm 3.0	87.9 \pm 1.8*
	MCF-7	100.0 \pm 2.3	94.1 \pm 2.8	96.0 \pm 2.0	94.4 \pm 3.0	117.7 \pm 4.3*
	KHOS/NP	100.0 \pm 3.1	92.3 \pm 2.5	89.5 \pm 4.0	88.0 \pm 3.1	65.7 \pm 4.2**
	A431	100.0 \pm 3.6	111.7 \pm 5.0	110.1 \pm 5.3	114.1 \pm 5.5	131.9 \pm 3.9**
DRC	HeLa	100.0 \pm 5.5	101.1 \pm 4.2	95.1 \pm 4.1	68.7 \pm 2.3**	26.0 \pm 1.4**
	HepG2	100.0 \pm 2.9	96.1 \pm 2.3	88.4 \pm 3.7	72.4 \pm 1.3**	31.9 \pm 1.1**
	MCF-7	100.0 \pm 3.4	94.1 \pm 2.9	102.2 \pm 2.8	98.0 \pm 2.6	113.7 \pm 3.4*
	KHOS/NP	100.0 \pm 1.7	98.8 \pm 1.1	96.8 \pm 1.6	79.7 \pm 2.6**	34.4 \pm 1.4**
	A431	100.0 \pm 3.3	98.0 \pm 1.8	103.6 \pm 5.7	93.4 \pm 3.1	56.8 \pm 3.2**

The data represent the mean \pm SE from 4 experiments.
 , Significantly different from control group(; $p < 0.01$, **; $p < 0.001$).
 Control; Cell viability of IC₅₀ of anti-tumor drugs

Table IV. IC₅₀ value of anti-tumor drugs on Balb/c 3T3 cells.

Drugs	IC ₅₀ ($\mu\text{g/ml}$)
Mitomycin C(MMC)	12.7
Cisplatin(CPT)	27.6
Doxorubicin(DRC)	6.1

과이다. 이와같은 작용이 EAP가 암세포로의 doxorubicin의 uptake를 촉진하여 일어나는지 아니면 다른 기전에 의한 것인지는 추후 연구되어야 할 것이다.

Balb/c 3T3 세포주에 대한 각 항암제의 IC₅₀ 농도 - Balb/c 3T3 세포주를 50% 억제하는 각 항암제의 농도(IC₅₀)를 측정한 결과는 Table IV와 같다.

Balb/c 3T3 세포주에 미치는 EAP와 각 항암제의 병용처리 효과 - Balb/c 3T3 세포주에 미치는 EAP와 각 항암제의 병용처리 효과를 알아보기 위하여 EAP 0.1, 1, 10 및 100 $\mu\text{g/ml}$ 를 각각 가하고 각 항암제의 IC₅₀ 농도를 첨가하여 배

양하였다. 각 항암제 IC₅₀을 처리한 대조군의 세포생존율을 100%로 하였을 때, EAP 100 $\mu\text{g/ml}$ 농도에서 세포생존율이 doxorubicin 처리군은 47.1 \pm 1.9%로 각 항암제 IC₅₀을 처리한 대조군에 비해 세포독성이 증가되었다(Table V). 이 결과는 EAP와 doxorubicin과 병용시 정상세포에 대해서도 세포독성이 증강될 수 있음을 의미하는 것이다.

Balb/c 3T3 세포, 마우스 비장세포 및 Human lymphocyte에 미치는 EAP의 효과 - 정상세포에 대한 EAP의 효과를 알아보기 위하여 EAP 0.1, 1, 10 및 100 $\mu\text{g/ml}$ 를 각각 가하여 배양하였다. EAP를 처리하지 않은 대조군의 세포생존율을 100%로 하였을 때, Balb/c 3T3 세포에서는 94.4 \pm 2.1, 97.0 \pm 2.6, 100.9 \pm 1.6 및 108.8 \pm 2.9%로, 마우스 비장세포에서는 96.9 \pm 1.2, 94.5 \pm 1.9, 97.0 \pm 1.0 및 88.9 \pm 2.7%로, human lymphocyte에서는 100.8 \pm 0.9, 98.8 \pm 1.0, 104.2 \pm 1.2 및 115.1 \pm 1.2%로 정상세포에 대하여 세포독성을 나타내지 않았다. 이는 EAP가 정상세포

Table V. The combined effect of EAP and anti-tumor drugs on Balb/c 3T3 cells.

Drugs	EAP Concentration($\mu\text{g/ml}$)				
	Control	0.1	1	10	100
MMC	100 \pm 3.4	106.5 \pm 4.0	87.4 \pm 3.5	79.4 \pm 2.4**	70.9 \pm 4.4**
CPT	100 \pm 3.4	106.4 \pm 4.6	93.6 \pm 3.6	83.2 \pm 3.8*	82.0 \pm 4.7*
DRC	100 \pm 4.6	108.8 \pm 3.2	106.2 \pm 2.6	93.8 \pm 4.5	47.1 \pm 1.9**

The data represent the mean \pm SE from 4 experiments.

; Significantly different from control group(; $p < 0.01$, **; $p < 0.001$).

Control; Cell viability of IC₅₀ of anti-tumor drugs

포에 대해 별 영향을 주지 않음을 의미하는 것이다.

결론

귀전우 petroleum ether 추출물(EAP)의 인체 암세포주에 대한 세포독성, 항암제와 병용시의 세포독성 및 정상세포인 Balb/c 3T3 세포주, 마우스 비장세포 및 human lymphocyte에 대한 세포독성을 측정 한 결과는 다음과 같다.

1. EAP는 HeLa, Hep G2, KHOS/NP 및 A431 세포주에 대해 세포독성을 나타냈으나, MCF-7 세포주에 대해서는 세포독성을 나타내지 않았다.

2. EAP는 doxorubicin과 병용처리시 HeLa, Hep G2, KHOS/NP 및 A431 세포주에 대해 항암제 단독처리시보다 세포독성을 증가시켰다.

3. EAP는 doxorubicin과 병용처리시 Balb/c 3T3 세포주에 대해 항암제 단독처리시보다 세포독성을 증가시켰다.

4. EAP는 마우스 섬유아세포인 Balb/c 3T3 세포주, 마우스 비장세포 및 human lymphocyte에 대한 세포독성을 나타내지 않았다.

이상의 실험 결과 귀전우 petroleum ether 추출물은 인체 암세포주에 대해 세포독성을 나타냈으며, 정상세포 및 면역세포에 대해서는 세포독성을 나타내지 않았고 doxorubicin과 병용하였을 때 세포독성을 증가시켰다.

(1995년 6월 5일 접수)

참고문헌

1. 江蘇新醫學院編: 中藥大辭典. p.1696 (1977).
2. Y. Shizuri, K. Yamada, and Y. Hirata: *Tet. Lett.* 741 (1973).
3. 陸昌洙 外: 現代 生藥學(生藥學 研究會), 學窓社. 327-328 (1994).
4. 小學館編: 中藥大辭典 第1卷. 上海科學技術出版社. 427-429 (1985).
5. Lee J.H., Kim H.K. and Ha T.Y.: Antitumor effect of winged *Euonymus* against chemically induced and malignant cell implanted-tumors in mice. *Kor. J. Immunol.* 15(2), 243 (1993).
6. Eun J. S. and Song W.Y.: The combined effects of *n*-BuOH fraction of Ulmi cortex and anticancer drugs on cancer cell lines. *Kor. J. Pharmacogn.* 25(2), 356 (1994).
7. Wysocki, L.J. and Sato, V.L.: Panning for lymphocytes; A method for cell selection. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 75, 2844 (1978).
8. Mizel, S.B., Openheim, J.J. and Rosensteich, D.L.: Characterization of lymphocyte-activating factor (LAF) produced by the macrophage cell line, P 388D₁. *J. Immunol.* 120, 1497 (1979).
9. Callard, R.E., Shields, J.S. and Smith, S.H.: Assay for human B cell growth and differentiation factors. In lymphokines and interferons, Morris and Gearing(eds), IRL Press, Oxford, p.345 (1987).
10. Ly, I.A. and Mishell, R.I.: Separation of mouse spleen cells by passage through columns of sephadex G-10. *J. Immunol. Methods* 5, 239 (1974).