

數種 韓藥材의 抗癌活成 研究

康坼林

Abstract

An extensive anticancer drug screening from natural resources has been carried out primarily using murine tumor model for past forty years. Recently a new screening program from NCI, so called disease-oriented screening system, has been established to detect anticancer drugs that show selective growth inhibition toward variety of tissue specific human solid tumors originated from leukemia, lung, colon, CNS, melanoma, ovarian, renal, prostate and breast. To develop the anticancer drugs from oriental medicinal herbs, we investigated the cytotoxic effects against human tumor cell panels with 23 kinds of MeOH extract of medicinal herbs. Evodiae Fructus, Meliae Toosendan Fructus, Saussureae Radix and Pharbitidis Semen showed strong activities against several tumor cell lines.

I. 緒 論

천연물을 대상으로 항암제를 개발하려는 계속적인 노력의 결과로 vinca alkaloid, etoposide, taxol 및 camptothecin 등의 우수한 항암제가 개발되어 임상에 이용되고 있지만 아직까지 고품양의 치료효과가 낮고 내성생성과 여러 부작용의 유발 등의 많은 문제점이 있어 계속적인 항암제 검색 노력이 경주되고 있다¹⁾. 미국 국립암연구소(NCI)에서는 1953년 이래 screening 방법을 계속 개량하면서 대량의 검체를 screening하였다. 1975년부터 1985년까지 P388 leukemia model이 initial screening(stage I)에 이용되었고, P388에 활성

* 大田大學校 韓醫科大學 藥理學教室

이 있는 화합물은 동물종양과 몇몇 인체종양 xenograft를 포함한 4-8개의 종양 model을 이용한 panel(stage II)에서 다시 활성을 검사하여, 강력하고 광범위한 항종양활성을 보이는 화합물에 대해서는 여러 종류의 암환자에 대하여 임상 시험을 실시하였다. 그러나 이러한 screening 방법은 화합물의 활성을 지표로 하는 compound-oriented screening으로서 실제 유용한 항암제가 얻어지고는 있으나 여러 인체고형암에 유효한 항암제는 개발되지 못한 실정이다. 따라서 NCI에서는 1986년에 인체암의 배양세포에 대한 세포증식억제 효과를 측정하는 disease oriented screening방법을 채택하여 *in vitro*에서 결장암, 신경종, melanoma, 자궁암, 폐암 등의 60종류의 cell line에 대한 세포증식저해활성을 비교하여 일군의 종양에 특징적으로 작용하는 화합물을 prescreening하고, 선별된 화합물은 감수성 인체종양세포주에 대한 *in vitro* screening을 통하여 항암제를 탐색하고 있다^{2, 3)}. 국내에서도 산발적으로 여러 인체 암세포주를 이용하여 천연물로부터 항암제를 screening하는 노력이 있어 왔으나, 아직까지 큰 기대가 되는 항암제는 발견되지 않은 실정이다. 따라서 한의약 처방에 이용되어 온 200여종의 약재에 대해 인체 위암세포주에 대한 세포독성을 일차적으로 조사한 결과를 바탕으로 하여, 그 중에서 높은 활성을 나타낸 30여종의 약재에 대해서는 미국 NCI에 의뢰하여 60여종의 인체암 세포주에 대한 항암활성을 조사하여 보았다.

II. 實 驗

1. 실험재료

실험에 사용한 재료는 한의약 처방에 주로 이용된 약재중에서 항암활성이 기대되는 약재를 선정하여 한약도매시장에서 구입하고 전문 한약감별위원회에 검증을 거친 후 실험에 사용하였다.

2. 시료의 조제

시료 약 50g을 조말로 하여 삼각플라스크에 넣고 MeOH로 2회 추출하였다. 추출된 MeOH용액은 여과지를 사용하여 여과한 후 감압농축하였다. 농축한 시료 일부를 취해서 speed vac concentrator를 이용하여 완전히 분말로 건조한 후 무게를 달아서 DMSO용액에 용해하여 사용하였다.

3. 항암활성의 측정

각 한약재의 항암활성의 측정은 미국 국립암연구소에서 수립한 SRB assay방법에 의하여 다음과 같이 수행되었다. Log phase에 있는 암세포를 10% FCS를 함유한 RPMI1640 배지를 이용하여 37°C CO₂ incubator(5% CO₂, 95%

air)에서 24시간 배양한 후 여러 농도의 시료를 처리하였다. 검체를 처리한 후 48시간 동안 CO₂ incubator에서 배양한 후 세포를 고정시키기 위하여 cold 50% trichloroacetic acid 50 μ l를 가하고 4 $^{\circ}$ C에서 1시간 동안 방치하였다. SRB방법에 따라서 고정된 세포는 물로 5회 세척한 후에 0.4% sulforhodamine B(SRB)용액에 100 μ l를 가하여 30분 동안 반응시킨 후, 1% acetic acid용액으로 세척하고 air dry한 후 10mM Tris용액으로 용해시켜 이 plate를 570nm에서 microplate reader를 이용하여 흡광도를 측정하였다. 각 시료의 log₁₀LC₅₀은 시료 처리군과 대조군의 흡광도를 이용하여 Prohibit방법에 의거하여 계산하였다(4).

Table 1. Antitumor activities of several medicinal herbs against human cancer cell lines.

韓藥材名	Log ₁₀ LC ₅₀ (μ g/ml)								
	CNS			Melanoma			Ovarian		
	SF-539	SNB-19	U251	M14	SK-MEL-5	UACC-62	IGROV1	OVCAR3	SK-OV-3
삼백초	2.21	2.05	2.31	>2.40	1.35	2.35	>2.40	>2.40	>2.40
오수유	1.40	1.99	1.90	2.01	1.40	2.06	1.98	1.99	1.89
비파엽	2.33	2.28	>2.40	>2.40	>2.40	>2.40	2.31	>2.40	>2.40
작약	>2.40	>2.40	>2.40	>2.40	>2.40	>2.40	>2.40	>2.40	>2.40
구맥	>2.40	>2.40	>2.40	>2.40	>2.40	>2.40	>2.40	>2.40	>2.40
지모	2.20	2.18	2.28	2.20	-	2.15	1.76	2.22	2.17
전호	-	>2.40	>2.40	>2.40	-	>2.40	>2.40	>2.40	>2.40
목향	1.08	1.14	1.15	1.23	1.05	1.26	0.98	1.04	1.70
형개	>2.40	>2.40	>2.40	>2.40	>2.40	>2.40	>2.40	>2.40	>2.40
흑측	0.61	0.22	1.00	1.16	1.00	0.67	0.97	1.10	1.34
천화분	2.21	2.33	>2.40	2.33	2.20	>2.40	2.30	>2.40	>2.40
의이인	2.17	2.11	>2.40	>2.40	>2.40	>2.40	>2.40	>2.40	>2.40
귀전우	>2.40	>2.40	>2.40	>2.40	>2.40	>2.40	>2.40	>2.40	>2.40
현호색	2.36	>2.40	>2.40	>2.40	2.16	>2.40	>2.40	>2.40	>2.40

韓藥 材名	Log ₁₀ LC ₅₀ (μg/ml)								
	CNS			Melanoma			Ovarian		
	SF-539	SNB-19	U251	M14	SK-MEL-5	UACC-62	IGROV1	OVCAR3	SK-OV-3
사 매	>2.40	>2.40	>2.40	>2.40	>2.40	>2.40	>2.40	>2.40	>2.40
사상자	>2.40	>2.40	>2.40	>2.40	>2.40	>2.40	>2.40	>2.40	>2.40
미후리	2.15	2.21	2.16	2.22	2.16	2.20	2.19	2.06	2.36
雷公藤	>2.40	>2.40	>2.40	>2.40	>2.40	>2.40	>2.40	>2.40	>2.40
편복갈	>2.40	>2.40	>2.40	>2.40	>2.40	>2.40	>2.40	>2.40	>2.40
인 동	>2.18	>2.18	>2.18	>2.18	>2.18	>2.18	>2.18	>2.18	>2.18
仙鶴草	>2.40	>2.40	>2.40	>2.40	2.21	>2.40	>2.40	>2.40	>2.40
銀線草	2.19	>2.40	2.25	2.32	2.04	>2.40	>2.40	2.21	>2.40
창이자	>2.40	>2.40	>2.40	>2.40	>2.40	>2.40	>2.40	>2.40	>2.40

Table 2. Antitumor activities of several medicinal herbs against human cancer cell lines.

韓藥 材名	Log ₁₀ LC ₅₀								
	Leukemia			Non small cell lung			Colon		
	HL-60	K-562	MOLT-4	A549	NCI-H23	HOP-62	HT-29	KM-12	SW-620
삼백초	>2.40	>2.40	>2.40	>2.40	2.21	2.14	1.98	2.34	2.34
오수유	1.21	2.03	2.01	1.95	1.64	1.99	1.87	2.07	1.99
비파엽	>2.40	>2.40	>2.40	>2.40	2.34	>2.40	2.27	>2.40	2.31
작 약	>2.40	>2.40	>2.40	>2.40	>2.40	>2.40	>2.40	>2.40	>2.40
구 맥	>2.40	>2.40	>2.40	>2.40	>2.40	>2.40	>2.40	>2.40	>2.40
지 모	>2.40	>2.40	>2.40	2.16	2.16	2.17	2.10	2.16	2.25
전 호	1.33	>2.40	>2.40	>2.40	>2.40	>2.40	>2.40	>2.40	>2.40
목 향	>2.40	2.31	>2.40	1.29	0.85	1.16	1.78	1.14	1.36
형 개	2.36	>2.40	>2.40	>2.40	>2.40	>2.40	-0.80	>2.40	>2.40
흑 축	2.14	1.18	1.12	0.95	1.12	1.14	1.12	1.16	1.57
천화분	2.33	>2.40	>2.40	>2.40	>2.40	>2.40	>2.40	>2.40	>2.40
의이인	>2.40	>2.40	2.28	>2.40	>2.40	>2.40	>2.40	>2.40	>2.40

韓藥材名	Log ₁₀ LC ₅₀								
	Leukemia			Non small cell lung			Colon		
	HL-60	K-562	MOLT-4	A549	NCI-H23	HOP-62	HT-29	KM-12	SW-620
귀전우	>2.40	>2.40	>2.40	>2.40	>2.40	>2.40	>2.40	>2.40	>2.40
현호색	2.29	2.39	>2.40	>2.40	>2.40	>2.40	>2.40	>2.40	>2.40
사매	>2.40	>2.40	>2.40	>2.40	>2.40	>2.40	>2.40	>2.40	>2.40
사상자	>2.40	>2.40	>2.40	>2.40	>2.40	>2.40	>2.40	>2.40	>2.40
미후리	>2.40	>2.40	>2.40	2.17	2.24	2.23	2.14	2.16	2.19
雷公藤	>2.40	>2.40	>2.40	>2.40	>2.40	>2.40	2.31	>2.40	>2.40
편복갈	2.39	>2.40	>2.40	>2.40	>2.40	>2.40	>2.40	>2.40	>2.40
인동	>2.18	>2.18	>2.18	>2.18	>2.18	>2.18	>2.18	>2.18	>2.18
仙鶴草	>2.40	>2.40	>2.40	>2.40	>2.40	>2.40	>2.40		>2.40
銀線草	>2.40		>2.40	2.37	2.17	2.33	2.18		2.26
창이자	>2.40	>2.40	>2.40	>2.40	>2.40	>2.40	>2.40	>2.40	>2.40

Table 3. Antitumor activities of several medicinal herbs against human cancer cell lines.

韓藥材名	Log ₁₀ LC ₅₀ ($\mu\text{g}/\text{ml}$)							
	Renal				Prostate	Breast		
	A498	ACNH	SN12C	UO-31	DU-145	MCF7/ADR	MDA-MB-231	HS-578T
삼백초	>2.40	>2.40	2.17	>2.40	>2.40	>2.40	2.32	>2.40
오수유	1.83	1.95	2.11	1.98	1.85	2.29	2.03	>2.40
비파엽	>2.40	2.31	2.39	>2.40	>2.40	>2.40	2.25	>2.40
작약	>2.40	>2.40	>2.40	>2.40	>2.40	>2.40	>2.40	>2.40
구맥	-	>2.40	>2.40	-	>2.40	>2.40	>2.40	>2.40
지모	-	2.25	2.17	-	2.24	2.30	2.18	2.24
전호	>2.40	>2.40	>2.40	2.39	>2.40	>2.40	>2.40	>2.40
목향	1.13	1.16	1.12	2.16	1.17	>2.40	1.12	>2.40
형개	>2.40	>2.40	>2.40	-	>2.40	>2.40	>2.40	>2.40
흑축	0.86	1.00	0.48	-	1.10	1.14	1.00	0.92
천화분	2.17	>2.40	>2.40	-	>2.40	>2.40	>2.40	>2.40

韓藥 材名	Log ₁₀ LC ₅₀ ($\mu\text{g}/\text{ml}$)							
	Renal				Prostate	Breast		
	A498	ACNH	SN12C	UO-31	DU-145	MCF7/ ADR	MDA-MB- 231	HS-578T
의이인	>2.40	2.36	2.20	-	>2.40	>2.40	>2.40	>2.40
귀전우	>2.40	>2.40	>2.40	>2.40	>2.40	>2.40	>2.40	>2.40
현호색	>2.40	>2.40	>2.40	>2.40	>2.40	>2.40	>2.40	>2.40
사 매	>2.40	>2.40	>2.40	>2.40	>2.40	>2.40	>2.40	>2.40
사상자	>2.40	>2.40	>2.40	>2.40	>2.40	>2.40	>2.40	>2.40
미후리	2.17	2.22	2.18	2.24	2.18	>2.40	2.22	2.37
雷公藤	>2.40	>2.40	>2.40	>2.40	>2.40	>2.40	2.27	>2.40
편복갈	-	>2.40	>2.40	>2.40	>2.40	>2.40	>2.40	>2.40
인 동	-	>2.18	>2.18	>2.18	>2.18	>2.18	>2.18	>2.18
仙鶴草	>2.40	>2.40	>2.40	>2.40	>2.40	>2.40	2.31	>2.40
銀線草	2.23	>2.40	2.18	2.32	>2.40	>2.40	2.38	>2.40
창이자	>2.40	>2.40	>2.40	>2.40	>2.40	>2.40	>2.40	>2.40

Ⅲ. 結果 및 考察

항암활성을 검색한 30여종의 한약재를 미국 국립암연구소에 의뢰하여 60여종의 인체암세포주에 대한 활성을 조사한 결과를 Table 1, 2, 3에 나타내었다. 실험에 사용한 한약재중에서 두드러지게 활성이 높게 나타난 약재는 삼백초, 오수유, 목향, 흑축, 지모, 형개 등이었다. 오수유와 목향, 흑축 등은 전체적으로 모든 세포주에 대해서 높은 세포독성을 나타내었다. 삼백초는 colon의 HT-29와 melanoma의 SK-MEL-5에 높은 활성을 나타내었고, 지모의 경우는 난소암 세포주에 활성을 나타내었으며, 형개의 경우는 특이하게 colon HT-29에만 특이하게 선택적으로 높은 활성을 나타내었다. 이상의 결과로부터 각 한약재가 선택적으로 항암활성을 가지는 것을 알 수 있으며, 각 한약재의 식물 화학적인 연구와 동양의학적인 사고를 종합하여 이들의 활성을 설명하기 위한 연구와, 또 각 한약재를 적절히 조합하여 한약처방으로 구성하였을 때 새로운 항암치료제의 개발도 가능할 것으로 사료된다.

參 考 文 獻

1. M. R. Boyd. *In Current Therapy in Oncology* Ed. J. E. Neiderhuber, Philadelphia, B. C. Decker, Inc. p11-12(1992).
2. M. r. Boyd. *Principles and Practice of Oncology*, 3, 1(1989)
3. A. Monks, D. Scudiero, P. Skehan, R. Shoemaker, K. paull, D. Vistica, C. Hose, J. Langley, P. Cronise, A. Vaigro-Wolff, M. Gray-Goodrich, H. Campbell, J. Mayo, and M. Boyd. *J. Natl. Cancer. Inst.* 83, 757(1991).
4. P. Skehan, R. Strong, D. Scudiero, A. Monks, J. Macmahon, D. Vistica, J. T. Warren, H. Bokesch, S. Kenneyand M. R. Boyd. *J. Natl. Cancer. Inst.* 82, 1107(1990).