

# 인체 위암세포주 SNU-1에 대한 수종 한약재의 항암활성

康坼林\*

## Abstract

Although significant progress has been made during the past four decades in the treatment of human neoplastic disease, effective chemotherapeutic treatments are nevertheless far from satisfactory to patients suffering from cancer, particularly to those with the stomach cancer which is most prevalent in Korea. To find out the effective anticancer drugs, especially human stomach cancer, we tested cytotoxic activities of several medicinal herbs against human stomach cancer cell line, SNU-1. *Evodia officinalis*, *Melia toosendan*, *Sinomenium acutum*, *Galla Haeepensis*, *Celastrus orbiculatus* and *Taxus caespitosa* showed a significant cytotoxic activities.

## I. 緒論

국내 질병에 의한 사망율중 암에 의한 것이 최상위를 차지하고 있으며 또한 그 비율이 점차 증가추세에 있다. 특히 위장관 종양은 한국인 암의 약 1/3을 차지하고 있다. 이러한 위암은 서구에 비해 훨씬 높은 발생빈도를 나타냄에도 불구하고 이에 대한 연구가 서구에서 활발하지 못한 연유로 효과적인 치료방법의 개발이 부진한 실정이다. 지금까지 국외에서 암의 예방과 치료법에 대하여 대규모 연구가 진

행되어 많은 항암제가 개발되었으나 우수한 효과를 가지면서 부작용이 없는 약재를 아직 발견하지 못하고 있다<sup>1)</sup>. 따라서 국내에서 위암세포주를 중심으로 항암제의 검색이 절대적으로 요구되고 있어, 기존 한의서에 수재된 한약재를 중심으로 국내에서 수립된 위암세포주에 대한 항암활성을 검색하여 이로부터 항암제를 개발할 목적으로 본 연구에 착수하였다.

## II. 實驗方法

### 1. 실험재료 및 시약

실험에 사용한 한약재는 기존 한의서를 참고하여 경동시장에서 구입하였고, 그외의 약재는 소백산 및 대전 근교의 산에서 직접 채취하였다. 실험에 사용한 시약중 Fetal Calf Serum은 Hyclone사에서, RPMI 1640은 Gibco사에서, 그외의 생화학 시약은 Sigma에서 구입하여 사용하였다.

### 2. 시료의 조제

각 한약재의 항암활성을 조사하기 위하여 시료 50g을 정확히 달아 삼각 플라스크에 넣고 MeOH로 실온에서 24시간씩 2회 추출하였다. 추출한 MeOH액을 여과지로 여과한 후 감압농축하여 얻은 엑기스의 일부를 취하여 effendorf tube에 옮긴 후 speed vac concentrator를 이용하여 완전히 건조시켰다. 각 시료는 무게를 재고 최종농도가 10mg/ml이 되도록 DMSO에 녹여서 시료로 사용하였다.

### 3. 세포주

\* 大田大學校 韓醫科大學 藥理學教室

실험에 사용한 세포주는 성장속도가 빠르고 비교적 항암제 감수성이 예민하며, 다중약제 내성의 발현이 낮은 인체 위암 세포주 SNU-1 세포주를 이용하였다<sup>2)</sup>.

#### 4. 항암활성 측정

Suspended Cell인 암세포주 SNU-1은 pipet으로 세포를 잘 분리시켜 single cell suspension을 만든 후 cell을 counting하였다. Microplate에 의한 well당 분주되는 cell수는 cell growth에 대한 예비실험을 통해 결정하였고, well당 R10배지(RPMI 1640 1 liter당 HEPES 4.25g, NaHCO<sub>3</sub> 2g) 180 $\mu$ l에 첨가되는 세포수는 5 $\times$ 10<sup>3</sup> 세포가 되도록 하였다. 한약재 시료는 최종농도가 10 $\mu$ l/ml이 되도록 RPMI 1640 배지로 희석한 후 well당 20 $\mu$ l씩을 24시간 배양한 암세포 배양액 180 $\mu$ l에 첨가하여 2일 동안 CO<sub>2</sub> incubator (5% CO<sub>2</sub> 분압, 95% humidity) 에서 암세포를 배양하여 암세포의 성장을 저해하거나 사멸시키는 시료를 SRB assay를 통해 검색하였다<sup>3)</sup>. 4일 동안 배양후 세포주를 3,000 rpm에서 원심분리하여 80% trichloro-acetic acid(TCA) 50 $\mu$ l/well 첨가하여 4 $^{\circ}$ C에서 2시간 동안 microplate well 바닥에 cell을 고정시켰고, 다음에 상층액을 제거하고 증류수로 5번 이상 washing 한 후 0.4% sukforodamine B (SRB) solution (w/v, in 1% acetic acid)을 100 $\mu$ l/well 첨가하여 well 바닥에 고정된 cell의 surface proteins에 결합하도록 실온에서 30분 동안 반응시켰다. 30분 후 SRB solution을 제거하고 1% acetic acid로 cells에 결합되지 않은 SRB가 모두 제거 되도록 washing한 후 10mM Tris Base (pH 10.5)을 100 $\mu$ l/well첨가하여 cell에 결합된 SRB를 용해시켜 ELISA Reader로 540nm에서 흡광도를 측정하였다. Data의 처리는 시료 optical density의 평균 및 표준편차를 구한 다음 control에 대한 각

시료 OD 백분율을 구하여 결과를 판정하였다.

### III. 結果 및 考察

실험에 사용한 총 62종의 한약재에 대하여 SNU-1의 세포주를 이용하여 항암활성을 조사한 결과를 Table.1에 나타내었다. 대부분의 한약재들이 10 $\mu$ g/ml의 농도에서 그다지 높은 활성을 나타내지는 않았으나 오수유가 17.1%의 생존율로 가장 높은 세포독성을 나타내었고, 천련자가 24.4%, 방기 31.4%, 몰식자 36.8%, 남사등 56.3%, 주목 60.4% 등의 세포 생존율을 보임으로 비교적 높은 세포성장 저해활성을 나타내었다. 가장 높은 저해 활성을 보인 한약재 오수유의 경우는 주성분으로 evodiamine, rutaecarpine 등의 alkaloid 화합물이 분리 보고되었으나, 특별히 이들 화합물의 항암활성에 대한 보고는 없다<sup>4)</sup>. 천련자 등에서는 최근 28-deacetyl sendanin 등의 limonoid 화합물이 항암활성을 나타낸다고 보고되었다<sup>5)</sup>. 주목 등은 항암활성물질로 taxol 등이 알려져서 세계적으로 각광을 받고 있는 화합물이며, 현재 임상에 사용되고 있다. 항암활성을 나타내는 주성분이 미량으로 존재할 경우 total MeOH 액기스에서 높은 세포독성을 기대하기는 어렵다. 하지만 기존 한의서에서 항암관련 활성이 보고되어져 있는 한약재와 이러한 서양의학적인 접근방법을 조합하여 활성이 있는 한약재를 각종 유기용매로 분획하고, 이를 여러 분석적인 방법으로 순수분리하여 그 활성의 본체를 밝힌다면 한약재를 통한 항암제의 개발도 가능하리라 기대된다.

Table 1. Anticancer activities of medicinal herbs against SNU-1. (conc. 10 $\mu$ l/ml)

漢藥材名	使用部位	學名	癌細胞生存率
柴胡	根	Bupleuri Radix	67.8
防己	根	Sinomenium Acutum	31.4
吳茱萸	果實	Evodia Officinalis	17.1
川楝子	果實	Melia Toosendan	24.4
土茯苓	根莖	Smilax China	86.4
玄參	根	Scrophularia Buergeriana	101.8
赤何首烏	塊根	Polygonum Multiflorum	70.5
獨活	根	Aralia Cordata	66.6
知母	根莖	Anemarrhena Asphodeloides	63.3
玄胡索	塊莖	Corydalis Ternata	65.1
白鮮	葉	Dictamnus Dasycarpus	67.4
南蛇藤	根	Celastrus Orbiculatus	56.3
낭유피	枝葉	Ulmus Parvifolia var. coreana	70.7
물식자	충녕	Galla Halepensis	36.8
馬錢子	種子	Strychnos Nux-vomica	74.2
寶豆	種子	Strychnos Ignatiis	76.8
地榆	根	Sanguisorba Officinalis	73.3
天南星	塊莖	Arisaema Amurense	66.7
木別子	種子	Mamordica Cochinchinensis	68.2
鬼箭羽	枝羽	Euonymus Alatus	63.3
女萎	全草	Clematis Apifolia	72.3
모간	全草	Ranunculus Japonicus	98.6
澤蘭	全草	Lycopus Lucidas	103.3
蜂子菜	全草	Galium verum var. asiaticum	100.5
자교	全草	Persicaria Senticosa	108.6
자운영	全草	Astragalus Sinicus	109.9
夏枯草	全草	Prunela Vulgaris	103.1
사매	全草	Duchesnea Indica	96.9
升麻	全草	Cimicifuga Heracleifolia	82.9
秦艽	全草	Aconitum Pseudolaeva var. electum	111.1
辛夷	花	Magnoliae Flos	88.7
苦蔘	根	Sophorae Radix	79.5
白鮮皮	根	Dictamnus Dasycarpus	90.5
燈心草	全草	Juncus Decipies	73.1
녹채초	全草	Pyrola Japonica	99.7
천명정	全草	Carpesium Abortanoides	79.8
뇌궁등	枝葉	Trypterigium Regelli	92.1
수양매	全草	Geum Japonicum	86.6
茵陳蒿	全草	Artemisia Capillaris	89.5
편복갈근	根	Menispermum dauricum	80.3
삼장엽	全草	Potentilla Freyniana	75.8
澤蘭	全草	Lycopus Lucidus	67.5
續斷	全草	Phlomis Umbrosa	77.2
海桐皮	枝葉	Kalopanax Pictus	89.0
五加皮	枝葉	Acanthopanax Sessiliflorus	83.3
葳靈仙	全草	Clematis Mandchuria	81.3

韓藥材名	使用部位	學名	癌細胞生存率
益母草	全草	<i>Leonulus Sibiricus</i>	83.1
忍冬藤	全草	<i>Lonicera Japonica</i>	82.6
牡丹藤	全草	<i>Clematis Davidiana</i>	92.2
回回蒜	全草	<i>Ranunculus Chinensis</i>	90.1
淡竹葉	全草	<i>Lophatherum Gracile</i>	120.1
龍牙草	全草	<i>Agrimonia Pilosa</i>	82.1
기초	全草	<i>Cryptotaenia Japonica</i>	96.6
투골초	全草	<i>Phryma Leptostachya var asiatica</i>	69.8
은전초	全草	<i>Chloranthus Japonica</i>	84.6
茵陳	根	<i>Artemisia Megalobotrysm var. viridis</i>	86.7
附子	塊根	<i>Aconitum Uchiymai</i>	88.3
白朮	根莖	<i>Atractilodes Rhizoma</i>	76.4
蛇床子	果實	<i>Tolilis Japonica</i>	86.7
白何首烏	塊根	<i>Cynanchum Wilfordii</i>	82.3
朱木	枝葉	<i>Taxus Caespitosa</i>	60.4

### 參 考 文 獻

1. K. -Y. Robert, Zee-Cheng and C. C. Cheng : Screening and Evaluation of anticancer agents. Meth and Find Exptl Clin Pharmacol 10, 67-101, (1988).
2. 박재갑 외 : 무혈청 규정 배지를 이용한 SNUH 세포주 수립 및 혈청 첨가배지를 이용한 SNU 세포주 수립에 관한 연구. 대한암학회지 20, 105-116, (1988).
3. P. Skehan, R. Strong, D. Scudiero, A. Minks, J. Macmahon, D. Vistica, J. T. Warren, H. Bokesch, S. Kenney and M. R. Boyd. J. Natl. Cancer Inst. 82, 1107 (1990).
4. R. Tschesche, W. Werner: Tetrahedron 23, 1873-81 (1967).
5. 김영호, 황방연, 김세은, 김환목, 오구택, 노재섭, 이경순, 이정준, 천런자로 부터 분리한 limonoid성분의 세포독성, 약학회지 38, 6-11, (1994).