

한국산 생약으로부터 항암물질의 개발 (제 5 보).
소엽의 부탄올 가용분획이 인체피부흑색종
세포에 미치는 세포독성작용

이기남, 신혁호, 한두석,¹ 김영옥,² 최규은,² 곽정숙,³ 백승화^{2*}
원광대학교 한의과대학 예방의학교실, ¹치과대학 구강해부학교실,
²자연과학대학 화학과, ³목포전문대학 치위생과

Development of Anticancer Agents from Korean
Medicinal Plants. Part 5.
Cytotoxic Activity of the Butanol Soluble Fraction of
Perilla frutescens against Human Skin Melanoma Cells

Ki Nam Lee, Heuk Ho Shin, Du Seok Han,¹ Young Ok Kim,² Kyw Eun Choi,²
Jung Suk Kwag³ and Seung Hwa Baek^{2,*}

Department of Preventive Medicine, School of Oriental Medicine,
¹*Department of Oral Anatomy, School of Dentistry, and* ²*Department of Chemistry,*
College of Natural Sciences, Wonkwang University, Iksan 570-749, Korea; and
³*Department of Dental Hygenic, Mokpo Junior College, Mokpo 530-730, Korea*

Abstract – This study was carried out to develop antitumor effect of the n-butanol soluble fraction of *Perilla frutescens* on human skin melanoma cells. The antitumor activity of various fractions obtained from n-butanol soluble fraction of *Perilla frutescens* was evaluated in human skin melanoma cells. The antitumor activity of the n-butanol soluble fraction in human skin melanoma cells was evaluated by 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyl-2H-tetrazolium bromide (MTT) assay, neutral red (NR) assay and sulforhodamine B protein (SRB) assay of colorimetric assay methods. The light microscopic study was carried out to observe morphological changes of cultured human skin melanoma cells. These results were obtained as follows: The fractions 5 and 6 of the n-butanol soluble fraction of *P. frutescens* were shown significant antitumor activities. The number of human skin melanoma cells were decreased and tend to form cell cluster by treatment with fractions 5 and 6 of the n-butanol soluble fraction of *P. frutescens*. The fraction 6 of the the n-butanol soluble fraction showed the highest antitumor activity on *P. frutescens*. These results suggest that the fraction 6 of the n-butanol soluble fraction of *P. frutescens* may be a valuable choice for the studies on the treatment of human skin tumors.

Key words – *Perilla frutescens*: MTT assay; NR assay; SRB assay; antitumor activity.

*교신저자 : Fax 0653-841-4893

소엽(*Perilla frutescens* var. *cripa* Decaisne)는 꿀풀과(Labiata)에 속하는 일년생 초본식물로, 한방에서는 발한, 해열, 진통, 이뇨, 거위 등에 약리작용이 있고 거담제, 뇌질환, 혈액순환 촉진등에 사용되기도 하며,^{1,2)} 또한 소엽에서 추출한 cyclo-dextrin과 essential oil(정유)는 구강탈취제로도 쓰이며,³⁾ 특히 정유는 강한 방부력이 있어 항곰팡이 제제로 이용되기도 한다.⁴⁾ 일본에서는 Yamazaki 등이 소엽즙을 이용하여 다양한 실험을 수행하고 있으며,^{5,6)} 또한 소엽즙은 염증성 피부질환의 치료와 TNF(tumor necrosis factor)에 영향을 미치며,⁷⁾ 자소자에서 분리한 차초기유는 유방암이나 대장암의 발암률을 효과적으로 억제하는데 이는 불포화 지방산인 α -리놀렌산의 발암 억제작용에 기인한다.⁸⁾ 한 등⁹⁾은 소엽에서 분리한 추출액이 NIH 3T3 섬유모세포와 생쥐의 피부암세포에 미치는 세포독성과 항암작용에 대하여 보고하였다. 8종의 소엽 추출물을 NIH 3T3 섬유모세포와 생쥐 피부암세포에 적용하여 생존세포율과 MTT정량을 실시한 결과, 메탄올 추출물은 세포독성이 약하고 항암작용이 강한 것으로 보고하였고, 한 등¹⁰⁾은 세포독성이 적고 항암작용이 강한 메탄올 추출물과 세포독성이 강하고, 항암작용도 강한 에탄올 추출액에서 각각 5종류의 용매분획을 조제하여, 인체피부암세포에 적용하여 세포수 생존률, MTT정량 및 LDH정량을 실시한 결과, 클로로포름 분획에서 항암활성이 유의하게 나타난 것으로 보고하였다. 박 등¹¹⁾은 메탄올 추출액에서 분리한 5종의 용매분획을 인체 구강유상피 암세포에 적용하여, MTT정량, NR정량 및 SRB정량을 실시한 결과, 부탄올 분획과 물 분획에서 항암활성이 유의하게 나타나고, 클로로포름 분획에서는 항암활성이 없는 것으로 보고하였으나, 한 등⁹⁾의 보고와 일치하지 않는 기전에 대해서는 암세포가 다른 이유 이외에는 그 기전을 규명하지 못하고 있다. 최¹²⁾는 소엽의 다양한 용도와 약리효과를 근거로 독성이 작고, 항암작용이 강하게 나타난 자소엽의 메탄올 추출액에서 용매로 5종류의 분획을 만들어 이중 부탄올 가용층을 분획하여, 인체 구강유상피 암세포에 대한 항암작용을 측정하여 유의성 있는 결과를 보고한 바 있다. 이에 본 연구는 소엽의 메탄올 추출액에서 용매로 계통분획하여, 부탄올 가용분획의 소분획 6종에 대한 MTT정량, NR정량 및 SRB정량을 분광

광도계를 이용하여 정량분석하고, 세포의 형태학적 관찰을 실시하여 항암효과를 측정하여 유의한 결과를 얻었기에 보고하는 바이다.

재료 및 방법

재료 - 본 실험에서 사용한 소엽은 1994년 충남 논산시 광석면에서 구입하여 외부형태를 비교 조사하여 확인 후 사용하였다. 실험에 사용된 식물체는 원광대학교 자연과학대학 천연물화학교실에 보관되어 있다.

시약 및 기기 - 추출 및 분리에 사용된 methanol, n-hexane, chloroform, n-butanol, H₂O는 증류 정제하여 사용하였다. 분석시 사용한 thin layer chromatography(TLC)는 silicagel plate (0.25 mm, polygram sil N-HR/UV₂₅₄, E. Merck)를 사용하였고, UV(Pye-Unicam, model SP-400), HPLC(Gilson model 116) 등이 사용되었다. Flash chromatography 사용시 glass column (6 cm×1.3 m), silica gel(Kieselgel 60, 230-400 mesh) 및 fraction collector(Gilson FC 204)를 사용하여 분리하였다.

세포의 배양은 CO₂ incubator(Shellab Co., USA)를 사용하였고, 세포 수의 계산은 Turk형 혈구계산기를 사용하였으며, 현미경은 도립현미경(Inverted Microscope, Olympus)을 사용하였다. MTT정량 분석법, NR정량 분석법 및 SRB정량 분석법은 ELISA reader(ETY-96, Japan)를 사용하였다.

추출 및 분획 - 1994년 충남 논산시 광석면에서 구입하여 그늘에서 말린 소엽을 정선한 후, 조말하여 약 2,000 g을 평량하여 수용상에서 methanol을 3배량 가하여 3시간씩 환류하여 추출한 다음, 이 추출액을 여지로 여과하고, 여액을 감압농축하여, 흑말 메탄올 추출액 204.88 g(10.2%)을 얻었다. 이것을 물에 현탁한 후, n-hexane으로 수회 반복 추출하고, 추출액을 무수망초로 탈수시키고 추출액을 여과후, 감압농축시켜서 n-hexane 추출물 59.66 g을 얻었다. 계속하여 chloroform, ethyl acetate, n-butanol로 순차적으로 추출하고, 위의 방법에 따라, 용매를 감압농축하여 chloroform추출물 32.17 g, ethyl acetate 추출물 14.43 g, n-butanol 추출물 17.92 g과 잔류하는 물층액 56.47 g을 얻었다.

시료의 처리-조제한 시료는 즉시 4℃ 냉장고에 저장하였다가, 사용직전에 배지로 희석하여 10⁻⁴ mg/ml 농도를 실험에 사용하였다.

세포배양-소엽의 부탄을 소분획의 항암작용을 측정하기 위하여, 서울대학교 암연구소에서 부양 받은 인체 피부 흑색종 세포는 RPMI-1640(Gibco, USA)에 10.0% fetal bovine serum(Gibco, USA)과 penicillin G(25 unit/ml), streptomycin(25 µg/ml)를 첨가하여 사용하였다. 세포의 배양은 온도 37℃, 습도 95.0%, 탄산가스 농도 5.0% (CO₂ incubator, Shellab, USA)를 사용하였다. 실험을 위하여 일차 배양한 flask의 세포를 0.25% trypsin으로 처리하여, Turk형 혈구계산기를 이용하여 세포수가 2×10⁴ cell/ml가 되도록 세포부유액을 만들었다.

MTT정량 분석법-Mosmann의 방법¹³⁾에 의하여, 세포를 소엽 메탄을 추출물의 부탄을 분획과 부탄을 소분획이 첨가된 배양액에서 48시간 배양한 후, 분석 당일 조제한 MTT(Sigma) 50 µg/ml가 포함된 배양액을 well당 1 ml씩 넣어 3시간 배양하였다. 배양후 배양액을 버리고, dimethylsulfoxide(DMSO)를 2 ml/well씩 넣어 5분간 실온방치하여 MTT formazan을 용해한 후, ELISA reader로 MTT의 흡광도를 측정하여 대조군과 비교 조사하였다.

NR정량 분석법-Borenfreund와 Puerner (1984)의 방법¹⁴⁾에 의하여 세포를 배양용기당 2.0×10⁴ cell/ml이 되도록 24 well multidish에 분주하여 24시간 배양 후, 부탄을 소분획이 포함된 배양액으로 교환하고, 48시간 동안 배양한 다음 50 µg/ml의 neutral red(Sigma)가 포함된 배양액을 37℃ 어두운 곳에서 overnight 시킨 후, well당 1 ml씩 넣어 3시간 동안 배양하였다. 배양 완료후 배양액을 버리고 phosphate buffered saline(PBS)으로 2-3회 세척하여 1.0% formaldehyde-1.0% CaCl₂를 넣어 실온에 방치하여 3시간 동안 용해소체내에 축적된 NR을 용출하였다. 용출된 NR의 흡광도를 ELISA reader(550 nm)로 측정하여 대조군과 비교 조사하였다.

SRB정량 분석법-Skehan 등의 방법¹⁵⁾에 따라, 세포를 소엽 메탄을 추출물의 부탄을 분획과 부탄을 소분획이 첨가된 배양액에서 48시간 배양한 후, 배

양액을 버리고 5회 세척한 후, 0.4% sulforhodamine B를 200 µl씩 첨가하여 1시간 동안 실온에 방치한 다음, 1.0% acetic acid로 5회 세척하고 완전히 건조하였다. 10 mM Tris base로 결합된 protein stain을 녹인 후, ELISA reader측정하여 대조군과 비교하였다.

세포의 광학현미경적 관찰-광학현미경으로 세포를 관찰하기 위하여 인체 피부 흑색종 세포는 MTT정량 분석법, NR정량 분석법 및 SRB정량 분석법을 하기 전에 도립현미경(Inverted microscope, Olympus)으로 관찰하고 사진을 촬영하였다.

통계처리-모든 실험결과는 평균치와 표준오차를 계산하였고, 대조군과 실험군간의 차이는 Student's t-test를 사용하여, P-value가 0.05미만 일 때 통계적으로 유의성이 있다고 판정하였다.

결과 및 고찰

인체에 사용할 경우, 독성에 의한 부작용이 적고 항암작용이 강한 항암제를 한국산 생약으로 부터 개발하기 위한 일환으로, 한 등¹⁰⁾은 소엽을 물과 유기용매로 추출한 추출물 중에 메탄을 추출물은 세포독성이 낮고 마우스의 피부 암세포에 항암활성이 가장 큰 약제로 보고하였다. 최근에 박¹¹⁾은 소엽을 물과 유기용매로 추출한 추출물을 3T3 섬유모세포에 적용하여 세포수 산정과 MTT정량 분석을 실시한 결과 메탄을 추출물에서 세포독성이 가장 약하게 나타났다고 보고하였다.

Table I에서와 같이 메탄을 추출물 115.2%, 헥산 추출물 103.3%, 80% 아세톤 추출물 109.8%로 MTT량이 감소하지 않아 독성이 없는 것으로 나타나는 경향이었으나, 에테르 추출물 71.9%, 클로로포름 추출물 85.3%, 물 추출물에서 88.6%로 MTT량이 감소하여, 비교적 강한 세포독성을 나타내는 경향이였다. 따라서 한 등¹⁰⁾소엽의 메탄을 추출물을 여러가지 유기용매로 분획한 후, 인체 구강유상피 암세포에 적용하여 세포독성과 항암활성측정 방법으로 MTT정량 및 SRB정량법을 이용하고, 도립현미경에 의한 광학현미경적 관찰을 실시하여, 5종의 소엽 메탄을 추출물의 용매분획의 항암활성은 부탄을 분획과 물 분획에서 인체 구강유상피 암세포에 유의성 있는 항암활성이 있음을 보고한 바 있다. 최

Table I. The MTT absorbance of 3T3 fibroblast on solvent extracts of *Perilla frutescens* on human oral epitheloid carcinoma cells at 10⁻⁴ mg/ml concentration

Extract	3T3 fibroblast	
	Mean±S.D. ^a	% of control
Control	1.96±0.02	100.0
Methanol	2.26±0.05	115.2
Hexane	2.20±0.02	103.3
80% Acetone	2.15±0.08	109.8
Chloroform	1.67±0.12**	85.3
Ether	1.41±0.05**	71.9
H ₂ O	1.74±0.01**	88.6
Ethyl acetate	1.92±0.04	98.1
Ethanol	1.75±0.06	89.4

^aThe values represent the mean±S.D. of triplicate. Significantly different from the control group: **P<0.01.

등¹²⁾은 소엽 메탄올 추출물의 용매분획중에 부탄올 분획에서 항암활성이 있음을 보고하였기에, 소엽 메탄올 추출물을 계통분획하였다. 계통분획 방법은 소엽 2,000 g을 메탄올로 추출하여 메탄올 추출물 204.88 g(10.2%)을 얻었다. 이를 헥산, 클로로포름, 에틸아세테이트, 부탄올 및 물가용부로 분획하여 각각 59.66 g(29.1%), 32.17 g(15.7%), 14.43 g(7.0%), 17.92 g(8.8%), 및 56.47 g(27.6%)를 얻었다. 여기서 헥산과 물 분획물의 수율이 많은 것으로 보아, 극성이 적은 헥산과 극성이 큰 물에 많이 이행됨을 알 수 있다.

최근에 최 등¹²⁾은 소엽 메탄올 추출물의 부탄올 분획에서 인체 구상유상피 암세포에 항암활성이 있다고 보고한 바 있어, 부탄올 분획을 silica gel을 사용하여 속성 크로마토그래피법으로 CHCl₃:MeOH (Gradient) 및 MeOH:H₂O(Gradient)을 사용하는 이동상으로 추출하여 6개의 fraction을 얻었다.

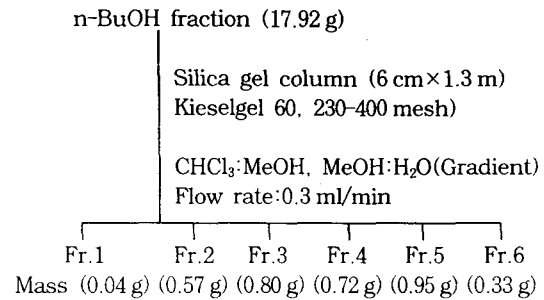


Fig. 1. Fractionation of the n-butanol soluble fraction of *Perilla frutescens*.

(Fig. 1, Table II)

n-BuOH층에서 얻은 분획을 silica gel이 충전된 칼럼(6 cm×1.3 m)을 사용하여 fraction 1-6을 얻었으며, CHCl₃:MeOH, MeOH:H₂O(Gradient)가 solvent로 사용되었고, 각각의 fraction은 short and long wavelength에서 TLC spots의 수로 fraction을 나누었다. TLC 사용시 CHCl₃:MeOH:H₂O(7:5:1)을 이동상으로 사용하였으며, 각각 분리된 점적을 각종 이동상으로 이차원 전개하여 점적수를 결정하였다. Fraction 3은 대부분 장파장에서 밝은 형광을 나타냈다. 분획한 fraction 1-6를 사용하여 인체 피부흑색종 세포에 대한 MTT정량, NR정량 및 SRB정량 분석법을 실시하였다.

소엽 메탄올 추출물의 용매분획과 같은 방법으로 조제한 부탄올 분획의 10⁻⁴ mg/ml 농도를 인체 흑색종 세포에 적용하여, 항암활성측정에 주로 사용되고 있는 검색법(Screening test)인 MTT정량, NR정량 및 SRB정량 분석법을 이용하였다. MTT정량, NR정량 및 SRB정량 분석법은 세포내 소기관의 활성을 측정하여, 각종 화학 물질의 세포독성을 일차적으로 검정하는데 이용되는 방법으로 분광광도계

Table II. Flash chromatography of n-butanol soluble compounds of the methanolic extract of leaves of *Perilla frutescens* at 10⁻⁴ mg/ml concentration

Fraction	Tube no.	Yield (g)	Number of spots in TLC	Mobile phase
1	1-140	0.04	4	CHCl ₃
2	141-153	0.57	2	CHCl ₃ :MeOH(9:1)
3	154-473	0.80	5	CHCl ₃ :MeOH:H ₂ O(8:5:1)
4	474-645	0.72	3	CHCl ₃ :MeOH:H ₂ O(8:5:1)
5	646-1048	0.95	6	CHCl ₃ :MeOH:H ₂ O(7:5:1)
6	1049-1211	0.33	2	CHCl ₃ :MeOH:H ₂ O(1:7:3)

Table III. The MTT absorbance of the n-butanol soluble fraction of *Perilla frutescens* on human skin melanoma cells at 10^{-4} mg/ml concentration

Group	MTT quantity	
	Mean± S.D. ^a	% of control
Control	2.44±0.37	100.0
Fr. 1	2.29±0.13	94.1
Fr. 2	1.62±0.33*	66.6
Fr. 3	1.77±0.50*	72.4
Fr. 4	1.27±0.23**	52.0
Fr. 5	1.24±0.26**	50.7
Fr. 6	1.14±0.30**	46.6

^aThe values represent the mean±S.D. of triplicate. Significantly different from the control group: *P<0.05, **P<0.01.

를 이용하여 정량적으로 세포독성을 비교할 수 있는 편리한 방법이다. 어떤 물질에 독성이 있으면 각종 효소의 양은 감소하게 된다. 본 실험에서는 인체 구강유상피 암세포에 항암활성이 유의하게 나타났던, ¹²⁾ 부탄올 분획에서 미지의 성분이 함유되어 있는 6종의 소분획을 조제한 후, 인체 피부흑색종 세포에 적용하여 세포기관의 활성을 MTT정량 NR정량 및 SRB정량 분석법을 이용하여 실험한 결과는 Table III, IV, V와 같다.

Table III에서 보는 바와 같이, 소엽의 부탄올 분획의 fraction 1-6에서 MTT정량은 일반적으로 감소하는 경향을 볼수 있었으며, fraction 1에서는 인체 피부흑색종 세포에 대한 유의성 있는 항암활성을 아볼 수 없었지만, fraction 2와 3은 약 67-72%로 감소하여 항암활성이 유의성 있게 나타났으나, fraction 4-6은 낮은 52-47%의 인체 피부흑색종 암세포에 대한 항암활성을 보였다. 그렇지만 fraction 6에서 인체 피부흑색종 세포에 대한 항암활성이 가장 낮게 나타난 것으로 보아, 인체 피부흑색종 세포에 유의한 항암물질이 포함되어 있으리라 사료된다.

Table IV에서 보는 바와 같이, 소엽의 부탄올 분획의 fraction 1-6에서 NR정량은 일반적으로 감소하는 경향을 볼수 있으며, fraction 1과 2에서는 인체 피부흑색종 세포에 대한 유의성 있는 항암활성을 아볼수 없었지만, fraction 3-6에서는 약 55-65% 인체 피부흑색종 세포에 대한 항암활성을 보였다. MTT정량 분석법에서와 같이 NR정량 분석법에서도 fraction 6에서 인체 피부암세포에 대한 55%의 가

Table IV. The NR uptake ability of the n-butanol soluble fraction of *Perilla frutescens* on human skin melanoma cells at 10^{-4} mg/ml concentration

Group	NR uptake ability	
	Mean±S.D. ^a	% of control
Control	1.58±0.06	100.0
Fr. 1	1.38±0.28	87.9
Fr. 2	1.21±0.44	76.6
Fr. 3	1.03±0.17**	65.1
Fr. 4	0.93±0.36**	59.0
Fr. 5	0.90±0.34**	56.9
Fr. 6	0.87±0.30**	55.0

^aThe values represent the mean±S.D. of triplicate. Significantly different from the control group: **P<0.01.

장 낮은 항암활성이 나타났다.

Table V에서 보는 바와 같이, SRB정량 분석법에서도 소엽 부탄올 분획이 fraction 1-6에서 SRB량은 모든 소분획에서 인체 피부흑색종 세포에 대하여 유의성있게 감소하는 경향을 볼수 있었다. Fraction 1에서 인체 피부흑색종 세포에 대한 항암활성이 유의성 (P<0.05)있게 감소하였으며, fraction 2와 5에서는 항암활성에 대한 유의성 (P<0.01)이 보다 감소하였다. Fraction 3, 4와 6에서는 SRB량이 가장 유의성 (P<0.001)있게 감소하는 경향이 나타났다. MTT정량 분석법과 NR정량 분석법에서와 같이 SRB정량 분석법에서도 fraction 6에서 가장 낮은 SRB량 (91.9%)을 얻었다. 부탄올 가용분획의 소분획 6종에 대한 MTT정량, NR정량 및 SRB정량 분석을 분광광도계를 이용하여 정량분석한 결과에

Table V. The SRB absorbance of the n-butanol soluble fraction of *Perilla frutescens* on human skin melanoma cells at 10^{-4} mg/ml concentration

Group	SRB quantity	
	Mean±S.D. ^a	% of control
Control	2.70±0.03	100.0
Fr. 1	2.59±0.07*	96.0
Fr. 2	2.49±0.10**	92.4
Fr. 3	2.49±0.04***	92.4
Fr. 4	2.48±0.05***	92.0
Fr. 5	2.57±0.03**	95.4
Fr. 6	2.48±0.02***	91.9

^aThe values represent the mean±S.D. of triplicate. Significantly different from the control group: *P<0.05, **P<0.01, ***P<0.001.

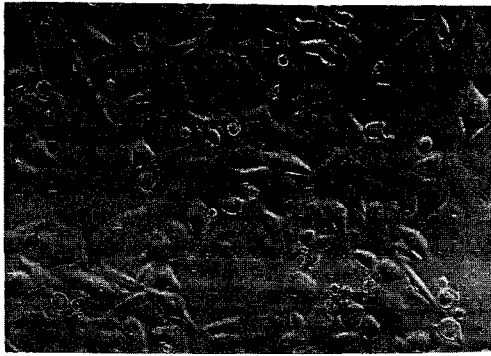


Fig. 2. Inverted photomicrograph of human skin melanoma cells after incubation in unmodified medium (control) for 2 days×100. Most cells had abundant cytoplasm and formed ovoid shape.

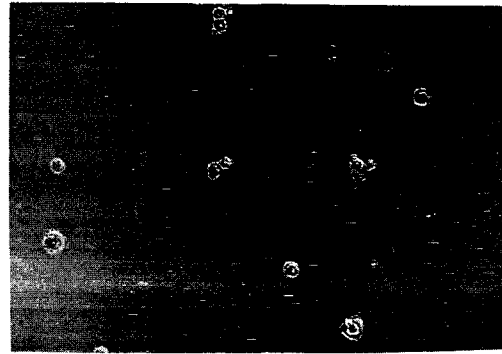


Fig. 4. Inverted photomicrograph of human skin melanoma cells after incubation in the medium containing 10^{-4} mg/ml concentration of fraction 6 for 2 days×200. Some cells were shown degenerative.

의하면, MTT정량 분석법이 다른 분광학적인 방법보다 인체 피부암세포에 대하여 예민한 분석결과를 볼수 있었다.

세포의 광학현미경적 관찰로 대조군에 있어서는 배양후 24시간째부터 well 바닥에 monolayer를 이룬 다양한 형태의 세포들이 부착되어 있었으며 (Fig. 2), fraction 5(Fig. 3)와 fraction 6(Fig. 4) 10^{-4} mg/ml 농도를 처리한 군에서는 다수의 세포들이 더욱심하게 감소하는 경향이였으며, fraction 6에서는 인체 피부흑색종 세포가 거의 파괴되어 광학현미경으로 거의 관찰할 수 없었다. 소엽 메탄올 추출물의 부탄을 분획에서 분리한 미지의 성분이 함유되어 있는 6종의 소분획중 분획 6은 MTT량, NR량 및 SRB량을 유의하게 감소시켰으므로, 인체 피

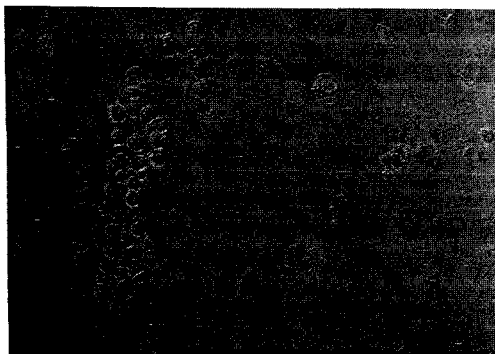


Fig. 3. Inverted photomicrograph of human skin melanoma cells after incubation in the medium containing 10^{-4} mg/ml concentration of fraction 5 for 2 days×200. Some cells were shown degenerative.

부흑색종 세포의 활성을 저해하는 물질이 함유되어 있는 것으로 판단되어, 앞으로 fraction 6에 대한 최적분리조건을 확립하여 순수한 화합물을 분리한 후, 이 화합물에 대한 인체 피부흑색종 세포의 항암 활성을 측정해야 할 것으로 판단된다.

결 론

인체 피부암에 항암효과가 강한 물질을 소엽 부탄을 분획으로 부터 개발하기 위하여, 소엽을 물과 유기용매를 사용하여 추출한 메탄올 추출물에서 부탄을 분획으로부터 얻어진 6종의 소분획을 인체 피부흑색종 세포에 적용하였다. 인체 피부흑색종 세포에서 나타나는 항암활성은 MTT정량, NR정량 및 SRB정량 분석법을 이용하여 측정하였고, 현미경으로 배양된 인체 피부흑색종 세포의 형태적 변화를 관찰하였다. 실험 결과는 다음과 같다.

1. 소엽 부탄을 분획 6종류 중 소분획 5와 6에서 인체 피부흑색종 세포에 강하게 항암활성을 나타냈다.
2. 인체 피부흑색종 세포수는 소엽 부탄을 소분획 5와 6으로 처리함으로써, 인체 피부흑색종 세포수의 감소와 응집현상이 관찰되었다.
3. 소엽의 부탄을 소분획 6은 인체 피부흑색종 세포에 적용하였을때, 가장 강 한 항암효과를 보였다. 따라서 이 소분획 6은 우수한 인체 피부암 항암제로서의 가능성을 시사하고 있어, 계속적인 유효성분 분석과 암세포에 대한 적용기전 연구를 수행할 필요

가 있다.

사 사

이 논문은 원광대학교 교비의 지원에 의해서 연구 되었으며, 이에 감사한다.

인용문헌

1. 문관심 (1991) 약초의 성분과 이용. 517. 일원서각, 서울.
2. 신민교 (1986) 원색임상본초학, 519. 남산당, 서울.
3. Jang, H. J., Park, J. Y. and Kim, Y. T. (1991) Volatile components of *Perilla folium*. *Kor. J. Food Sci. Technol.* 23: 129-132.
4. Guenther, E. (1974) Essential oils, Vol. III. 2nd ed. Robert E. Krieger Publishing Co.
5. Yanazaki, M., Ueda, H. and Du, D. (1992) Inhibition of perilla juice of tumor necrosis factor production. *Biosci. Biotech. Biochem.* 56: 152.
6. Yamazaki, M. (1990) Tumor necrosis factor and inflammatory circuit. *Jpn. J. Inflammation* 10: 163-170.
7. Satoh, M., Inagawa, H., Minagawa, H., Kajikawa, T., Oshima, H., Abe, S., Yamazaki, M. and Mizuno, D. (1986) Endogenous production of TNF of mice with immune complex as a primer. *J. Biol. Res. Modif.* 5: 140-147.
8. Yamazaki, M., Ueda, H., Fukuda, K., Okamoto, M. and Yui, S. (1992) Priming effects of vegetable juice on endogeneous products of tumor necrosis factors. *Biosci. Biotech. Biochem.* 56: 149.
9. 한두석, 정병호, 유현경, 김영옥, 백승화 (1994) 소엽의 세포독성 및 항암작용에 관한 연구. *한국생약학회지* 25: 249-257.
10. 한두석, 유현경, 백승화 (1994) 소엽의 메탄올 분획이 피부암세포에 미치는 항암효과. *대한구강해부학회지* 18: 19-26.
11. 박정희 (1996) 소엽의 메탄올 분획이 인체 구강유상피 암세포에 미치는 항암효과. 원광대학교 석사학위논문.
12. 최규은 (1997) 소엽으로부터 부탄올 분획의 분리와 항암활성. 원광대학교 석사학위논문.
13. Mosmann, T. (1983) Rapid colorimetric assays for cellular growth and survival: Application to proliferation and cytotoxicity assays. *J. Immunol Methods* 65: 55-63.
14. Borenfreund, E. and Puerner, J. A. (1984) A simple quantitative procedure using monolayer cultures for cytotoxicity assays (HTD/Nr-90). *Tissue Culture Meth.* 9: 7-9.
15. Skehan, P., Storeng, S., Studiero, D., Monke, A., McMahon, J., Vistica, A. D., Wamen, J. T., Bodesh, H., Kenny, S. and Boyd, M. R. (1990) New colorimetric cytotoxicity assay for anticancer drug screening. *National Cancer Institute* 82: 1107-1112.

(1997년 10월 23일 접수)