

## 삼백초(*Saururus Chinensis* (Lour.) Bail) 열수추출물의 항암 및 세포독성 저해 효과

이인선  
계명대학교 식품가공학과

### Effect of Water Extract from *Saururus Chinensis* (Lour.) Bail Water Extracts on the Cancer Cells and Antioxidative Activity in Cytotoxicity

In-Seon Lee

Department of Food Science and Technology, Keimyung University, Daegu 704-701, Korea

#### Abstract

Chemopreventive effect of *Saururus Chinensis* (Lour.) Bail water extract on several tumor cells and Chinese hamster V79 cells were investigated. The water extracts of *Saururus Chinensis* (Lour.) Bail showed a higher cytotoxicity effect on the human histiocytic leukemia cells(U937) and protective effects against the cytotoxicity of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. These results suggest that *Saururus Chinensis* (Lour.) Bail may be useful as potential sources of chemopreventive and antioxidative agents.

**Key words** : *Saururus Chinensis* (Lour.) Bail, chemoprevention effect, cytotoxicity

#### 서 론

삼백초(*Saururus Chinensis* (Lour.) Bail)는 삼백초과에 속하며 천성초(天性草) 또는 즈채라 불리는 다년생 초본이다. 삼백초의 전초는 각기(脚氣), 황달(黃疸), 임탁(淋濁), 대하(貸下), 옹종(癰腫), 수종(水腫), 적취(積聚) 등을 치료하고(1,2), 또한 삼백초는 급만성요도염, 전립선염, 방광염, 임질, 이질을 치료하는 효과가 있으며 과중한 노동으로 인한 피로, 타박상으로 인한 후유증과 근육통, 골격 및 골수의 염증에 의한 통증을 치료하는 효과가 있다고 알려져 있다(1,3). 최근들어 삼백초에 관

한 연구로는 지방산 및 아미노산의 성분연구(4), 황색포도상구균, 장티푸스균(*Salmonella typhi*)의 성장을 억제한다는 보고가 있다(5). 그리고 복강 대식세포로부터 nitric oxide 유리기전에 대한 연구(6), 항돌연변이성 효과에 관한 보고(7)등이 있다. 이처럼 삼백초는 이노, 항균, 해독 등의 다양한 건강 증진효과가 있는 것으로 보고되고 있다. 그러나 삼백초에 대한 항암효과에 관한 보고는 아직 미비한 실정이다.

암은 세포학적으로 비정상적인 세포의 과도한 증식으로 인하여 장기, 골격 및 피부조직에 비정상조직을 형성하는 질환(8)이며 주위 조직을 침윤하고 전이를 일으키는 특징이 있고, 치료방법이 분명치 않아 인류의 건강을 위협하는 질병으로 남아 있다. 그 동안 세포생물학 및 분자생물학의 눈부신 발전으로 암에 대한 이해와 치료 및 예방에서 새로운 국면을 맞이하고 있다.

Corresponding author : In-Seon Lee Department of Food Science and Technology, Keimyung University, Daegu 704-701, Korea  
E-mail : inseon@knu.ac.kr

산화는 식품의 영양가 및 품질저하를 시킬 뿐 아니라 산화에 의해 생성된 각종 산화생성물은 세포막에 축적되어 세포의 기능이 저하되어 조직의 국소적인 장애를 일으키며 이로 인하여 간장질환, 뇌졸중, 고지혈증, 당뇨병성 혈관 질환 등을 유발시키고 손상을 일으켜 발암을 유도하는 등 인체에 독성을 일으킨다(9,10,11).

따라서 본 연구에서는 삼백초 열수 추출물을 제조한 다음 *in vitro*에서 인간 유래의 암세포주에 대한 암세포증식 억제효과와 chinese hamster lung V79 cell을 이용하여 세포독성 억제 효과를 관찰하고자 하였다.

## 재료 및 방법

### 시료의 제조

충청도 영동 재배단지에서 구입한 삼백초를 건조하여 10배의 물과 혼합(v/w)하여 100℃에서 4시간 동안 열수 추출하였으며, 추출액은 filter paper(Whatman No. 1, England)로 여과한 후 rotary vacuum evaporator(Eyela NE, Japan)에서 농축하였고, 농축액은 동결건조를 통해 분말화하여 시료로 사용하였다.

### 암세포성장 저해효과

#### 세포주 배양

본 실험에 사용된 암세포주로 human promyelocytic leukemia인 HL-60과 human histiocytic leukemia인 U937은 Dr. Albert A. Nordin(Gerontology Research enter, NIA/NIH, Baltimore, MD, U.S.A.)으로부터 분양 받아 사용하였고, human colon carcinoma인 HT29과 human hepatocellular carcinoma인 HepG2는 한국 세포주 은행으로부터 분양 받아 사용하였다. 이들 세포들은 10% FBS(fetal bovine serum)와 1% antibiotics(penicillin/streptomycin)를 RPMI(Rosewell Park Memorial Institute)-1640배지에 첨가한 37℃, 5% CO<sub>2</sub> incubator(Forma Co., U.S.A.)에서 배양하였다.

#### 세포증식 억제효과

삼백초의 암세포주에 대한 세포증식 억제효과는 MTT assay(12)로 조사하였다. 배양된 cell에 RPMI-1640 배지를 첨가하고 잘 혼합하여 cell수를 1×10<sup>5</sup>cells/ml로 조정된 다음, 96-well microtiter plate에 준비된 cell을

100μl씩 첨가하고, 각 농도의 시료를 10μl씩 well에 첨가한 후 37℃의 5% CO<sub>2</sub>하에서 48시간 배양하였으며, 이때 대조군은 시료대신 DMSO(dimethyl sulfoxide)를 동량 첨가하여 동일한 조건으로 배양하였다. 배양 후 5mg/ml의 MTT[3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium-bromide] 시약 10μl를 각 well에 첨가한 후 다시 4시간 더 배양하였다. 배양종료 후 1,500 rpm에서 15분간 원심 분리하여 생성된 formazan 결정을 DMSO로 용해시켜 cell plate reader(Bio-Rad Co. U.S.A.)로 550 nm에서 흡광도를 측정하였다. 세포증식 억제효과는 다음과 같이 계산하였다.

$$\text{Cytotoxicity(\%)} = \frac{\text{대조군의 흡광도} - \text{시료처리군의 흡광도}}{\text{대조군의 흡광도}} \times 100$$

### 세포독성 억제효과

#### 세포주 배양

세포주는 Dr. Tsutomu Nakayama(University of Shizuoka, Japan)으로부터 Chinese hamster lung fibroblast V79 cells을 분양 받아 사용하였다. V79 cell은 minimum essential medium(MEM)과 10% FBS와 1% antibiotics(penicillin/streptomycin)가 첨가된 배지에서 37℃의 5% CO<sub>2</sub> incubator하에서 배양하였다.

#### Colony formation assay

V79 세포의 수를 200개/dish로 조정하여 60mm petri dish에 MEM과 10% FBS가 첨가된 배지 5 ml에 넣어 37℃의 5% CO<sub>2</sub> incubator에서 2시간 배양하였다. 배양 후 배지를 제거하고 FBS가 없는 MEM을 5 ml 첨가한 다음 시료를 넣고 4시간 더 배양하였다. 배양 후 HEPES가 첨가된 HBS(pH 7.3)로 세척한 다음, 세포를 60 μM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>가 첨가된 HBS를 넣어 30분간 다시 배양한 후 10% FBS가 첨가된 MEM을 넣어 5일간 배양하였다. MEM배지를 제거하고 메탄올을 첨가하여 실온에서 1시간 방치하여 cell을 고정시킨 후 Giemsa stain으로 염색한 후 colony 수를 측정하였다. 세포생존률은 시료 무첨가 대조군에 대한 시료첨가군의 colony수로 표시하였다.

$$\text{Survival rate(\%)} = \frac{\text{시료처리군 colony 수}}{\text{대조군의 colony 수}} \times 100$$

결과 및 고찰

암세포 성장 저해 효과

전통적으로 다양한 질병의 치료제로서 민간에서 사용되어온 삼백초를 대상으로 MTT assay를 수행하여 암세포 성장 저해효과를 검색하였다. MTT assay는 살아있는 세포가 미토콘드리아의 탈수소효소를 이용하여 황색의 MTT를 환원시켜 분광광도법으로 측정이 가능한 자색의 formazan 결정을 형성하는 특성을 이용한 방법(15-17)으로 최근 항암제 선별이나 암 기초연구에 널리 사용되는 방법이다. 이에 삼백초 열수 추출물이 인간유래의 암세포인 U937, HL60, HT29, HepG2에 미치는 성장저해는 Fig. 1에 나타내었다.

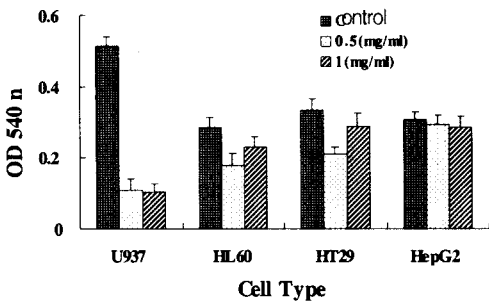


Fig. 1. Inhibitory effects of water wxtract from *Saururus chinensis* (LOUR.) Bail on the growth of human cancer cells U937, HL60, HT29 and HepG2.

삼백초 열수 추출물은 혈액암세포인 U937에서 대조군에 비해 0.5 mg/ml과 1 mg/ml농도에서 78.6%와 79.8%의 큰 성장저해를 보였으나 다른 암세포주에 대해서는 저해 활성을 나타내지 않았다.

세포독성 억제 효과

삼백초 열수 추출물의 항산화 효과 측정을 위하여 Chinese hamster V79 cell을 이용하여 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>로 유도된 세포독성에 대한 삼백초 열수 추출물의 효과를 colony formation assay 로 살펴본 결과를 table 1에서 나타내었다. H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>만 처리한 세포의 생존율은 23.9%에 비하여 삼백초 열수 추출물을 함께 처리하였을 때 32.2%로 생존율의 증가를 나타내었다.

Table 1. Effects of water extract from *Saururus chinensis* (LOUR.) Bail against cell number of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-induced Chinese hamster V79.

Samples	H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> (50 μM)	
	Not treated S(Survival rate %)	Treated SH(Survival rate %)
Control	90(100%)	22(23.9%)
Water extract (100μg/dish)	77(85.6%)	29(32.2%)

Cell : Chinese hamster V79  
 Control : S - no Sample group  
 SH - no Sample + 50 μM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> group (positive control)  
 Sample : S - Sample group : *Saururus chinensis*  
 SH - Sample + 50 μM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> group  
 Sample concentration - 100μg/dish  
 Survival rate(%) : S SR % = sample group cells/control cells × 100  
 SH SR % = sample + H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> group cells/control group cells × 100

천연 항산화제로 알려진 caffeic acid(18), quercetin(19), catechin(19)을 동일한 방법으로 측정하였을 때 그 생존율이 각각 55%, 51%, 42%로 나타낸 보고와 비교할 때 삼백초 열수 추출물은 미비하지만 세포독성 억제효과가 있는 것을 확인할 수 있었다.

감사의 글

본 연구는 한국과학재단 지정 충북대학교 첨단원예기술개발연구센터의 지원에 의한 것입니다.

요 약

삼백초(*Saururus Chinensis* (Lour.) Bail) 열수 추출물의 항암활성 검색을 위하여 여러 인간유래 암세포주에 대한 저해효과와 Chinese hamster V79 cell를 이용한 세포독성억제 효과를 측정하였다. 그 결과 삼백초 열수 추출물은 특히 혈액암 세포주인 U937에 대해 가장 높은 저해 활성을 나타내었고, 또한 Chinese hamster V79 cell을 이용한 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>로 유도된 세포독성에 대한 억제효과도 나타내었다. 이상의 결과로 삼백초 열수 추출물은 항암 및 세포독성 억제 효과를 나타내었으므로 발암억제 후보물질로의 가능성 있음을 추측할 수 있다.

## 참고문헌

1. 曹圭亨 (1994) 三白草 健康法. 서진각, 自然藥植資源開發 시리즈, 3
2. 鄭必根 (1990) 生藥草. 鴻新文化社, p.173
3. 傳統醫學研究所編 (1994) 本草藥材圖鑑, 成輔社發行, p.209
4. 정덕상 (1992) Saururus Chinesis의 지방산 및 아미노산의 성분 연구. Cheju Univ. Jour.(Natural Sci.), 35, 111
5. 黃泰康 (1994) 常用中藥成分與藥理手冊. 中國醫藥科技出版社, 北京, p.177
6. 전길환, 신만교, 송호준 (1998) 三白草 腹腔 大食細胞로부터 Nitric Oxide(NO)遊離機轉에 대한 研究. 대한한의학회지, 19-23
7. 이상호, 박철우, 박경아, 이영춘, 김무남, 하영래 (1998) 삼백초 Hexane 분획물의 Heterocyclic Amine 돌연변이성 조정효과. 한국환경성돌연변이발암원학회지, 18, 26
8. Lee, I.R., Song, J.Y. and See, Y.S. (1992) Cytotoxicity of Fikloric Medicine in Murine and Human Cancer Cells. *Kor. J. Pharmacogn.*, 23, 132-136
9. Rowley, D., Gutteridge, J.M.C. Blake, D. Farr, M. and Halliwell, B. (1984) Lipid peroxidation in rheumatoid arthritis : thiobarbituric acid-reactive material and catalytic iron salts in synovial fluid from rheumatoid patients. *Cli. Sci.*, 66, 691-695
10. Harland, W.A., Gilbert, J.D. and Brooks, C.J.W. (1973) Lipids of human atheroma VIII, Oxidised derivatives of cholesteryl linoleate. *Biochim. Niophysic. Acta.*, 316, 378-385
11. Hofeman, D.G. and Hoekstra W.G. (1977) Protein against carbon tetrachloride induced lipid peroxidation in the rat by dietary vitamin E and selenium and cethionine as measured by ethane evolution. *J. Nutr.*, 107, 667-672
12. Papazisis, K.T., Geromichalos, G.D., Dimitriadis, K.A. and Kortasris, A.H. (1997) Optimization of the sulforhodamine B colorimetric assay. *J. Immunol. Methods*, 208, 151-158
13. Nakayama T., Hori K., Terazawa K. and Kawakishi S. (1991) Comparison of the cytotoxicity of different hydroperoxides to V79 cells. *Free Rad. Res. Commun.*, 14, 173-178
14. Nakayama T., Niimi T., Osawa T. and Kawakishi S. (1991) The protective role of polyphenols in cytotoxicity of hydrogen peroxide. *Mutat. Res.*, 281, 77-80
15. Carmichael J, DeGraff WG, Gadzar AF, et al. (1987) Evaluation of a tetrazolium vased semiautomated colorimetric assay : Assessment of chemosensitivity tetting. *Cancer Res.*, 47, 936-942
16. 고민환, 신면우 (1987) MTT Assay를 이용한 부인과 악성종양 세포주들의 항암제 감수성 검사에 관한 연구. 대한산부인과학회지, 2, 202-217
17. 秋谷 清 外 (1987) MTT assay による 制癌濟感受性 試驗. *Oncology and Chemotherapy*, 4, 456-465
18. T. Nakayama, M. Yamada, T. Osawa and S. Kawadishi. (1996) Inhibitory effects of caffeic acid ester on H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-induced cytotoxicity and DNA single-strand breaks in Chines hamster V79 cells. *Biosci. Biotech. Biochem.*, 60, 316-318
19. T. Nakayama, M. Yamada, T. Osawa and S. Kawadishi. (1993) Suppression of active oxygen-induced cytotoxicity by flavonoids. *Biochem. Pharmacol.*, 45, 265-267

(접수 2001년 4월 4일)