약학회지 제32권 제 2호 137~140 (1988)
Yakhak Hoeji Vol. 32, No. 2

인삼 포리아세틸렌 화합물이 Lymphoid lukemia L1210의 고분자물질 합성에 미치는 영향

김 영 숙·김 신 일·한 덕 용*
한국인삼연초연구소·*중앙대학교 약학대학

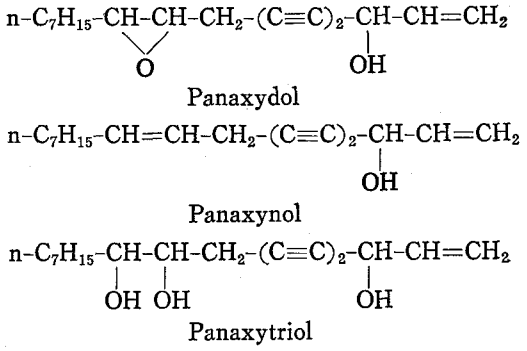
(Received March 31, 1988)

Effect of Polyacetylene Compounds from Panax Ginseng on Macromolecule Synthesis of Lymphoid lukemia L1210

Young Sook Kim, Shin Il Kim and Dug Ryong Hahn
Korea Ginseng and Tobacco Research Institute, Daejeon 301-345
*and *College of Pharmacy, Chung Ang University, Seoul 151-756, Korea*

Abstract—To investigate polyacetylene compounds isolated from petroleum ether extract of panax ginseng effect on the macromolecule synthesis, lympoid lukemia L1210 cell was incubated with them at 4, 8, 12, 16 hours. Panaxydol, panaxynol and panaxytriol as cytotoxic substances inhibited the synthesis of macromolecule such as DNA, RNA and protein. Panaxydol which had the most potent cytotoxicity among these three compounds showed the strongest inhibitory effect on DNA, RNA and protein synthesis. For DNA and RNA synthesis, panaxynol and panaxytriol decreased the rate of inhibition with the incubation time but panaxydol had a strongest inhibitory effect at 16 hour incubation time. Protein synthesis was markedly inhibited by all these polyacetylene compounds. It was obserbed that there is a relationship between cytotoxicities of polyacetylene compounds and the inhibition of macromolecule synthesis.

인삼의 석유 ether추출물이 ***in vitro***에서 murine lukemia L5178Y, murine Sarcoma 180, HeLa cell, L1210 cell 및[1~3] 인체 암세포의 증식을 억제하였고[4], 암세포의 DNA, RNA, protein과 같은 고분자물질의 합성을 억제하며[2,5], ***in vivo***에서의 항암효과도 보고되어있다.[1,3,5,6] 그러나 석유 ether추출물의 어떤 성분이 항암작용을 갖는지는 언급되지 않았다. 최근 인삼의 석유 ether 추출물로부터 몇가지 polyacetylene화합물이 단리되어 확인되었는데[7~15], 실제로 polyacetylene화합물이 암세포의 증식을 억제함이 입증되었다.[11~14] 이들 화합물은 panaxydol, panaxytriol, Heptadeca-1, 8-dien-4, 6-diyn-3, 10-diol 및 acetyl panaxydol로서 NCI(미국 국립암연구소) 규정에 따라 ***in vitro***에서 L1210에 대한 ED_{50} (μg/ml)은 0.03, 0.38, 0.40, 0.30, 0.52로 강력하게 세포증식을 억제하였다. 이에 단일성분 수준에서 panaxydol, panaxynol, panaxytriol의 강력한 세포증식억제가 일어나는 기전연구의 한 가지로서 DNA, RNA와 protein합성에 미치는 영향을 측정하였다.



실 험 방 법

L1210 cell의 배양—배양액은 3차 증류수를 사용하여 $NaHCO_3$ 1.125g, penicillin 100,000unit, streptomycin 100mg 및 Fisher's medium(GIBCO)

을 녹이고 pH를 7.2로 맞추었으며 millipore 여과 후 100ml의 말혈청(GIBCO)을 가하여 전량을 1*l*로 하였다. Cell line 유지는 ***in vitro***에서 일주일에 2회 계대배양하여 CO_2 incubator(37°C)에서 배양하였다. 동시에 BDF_1 mouse의 복강으로 일주일에 1회 계대배양시켰다.

Polyacetylene화합물의 분리 및 확인—홍삼을 분말화하여 석유 ether로 추출한 뒤 농축하여 silicagel column과 semipreparative HPLC로서 panaxydol, panaxynol 및 panaxytriol을 각각 분리하였으며, UV, IR, NMR, MS로 표준품과 비교 확인하였다.[11,12,15]

세포 수의 측정—각 배양시간마다 세포수는 hemacytometer로 측정하였다.

고분자물질 합성 측정—DNA, RNA, protein의 전구체로서 (6-^{3}H)-thymidine (79.9Ci/mmol, NEN products), (6-^{3}H)-uridine (22Ci/mmol, Amersharm)과 L-(^{14}C-U)-Leucine (>330mCi/mmol, Amersharm)을 사용하여 고분자물질로의 incorperation을 측정하였다. 3.5×10^5/ml의 cell suspension 5ml에 polyacetylene화합물을 가하고 각각의 방사선 전구체 0.5μCi로 표지하면서 4, 8, 12, 16시간동안 배양하였다. 각 배양시간 후 얼음물에서 반응을 중지시키고 0~4°C에서 2,000 rpm으로 1분간 원심분리하여 얻은 cell pellet를 냉 saline 3ml로 2회 세척하고 냉 5% TCA 5ml을 가하여 20분간 얼음물에서 침전을 시켰다. Glass fiber filter로 여과하고 다시 냉 5%-TCA 5ml로 2회 세척한 뒤 filter를 count vial에 담아서 scintillating solution(PPO 4g, POPOP 0.1g/toluene 1*l*) 5ml을 가하여 liquid scintillation spectrophotometer(Beckamn LS 1800)로 1분간 방사능을 측정하였다. 평균실험치는 5개의 실험치에서 구하였고, 이때 각실험치는 10%의 오차범위를 넘지 않았다. 각 화합물의 합성률은 10^5 cell당 DPM을 control과 비교한 %로 표시하였다.

실험결과 및 고찰

Polyacetylene 화합물의 처리에 의한 세포증식억제—본실험에서 앞서 처리할 시료의 농도를 결정하기 위하여 각 화합물 2.5μg/ml과 5.0μg/ml을 가하고 16시간 배양시 세포의 성장은 Fig. 1에서와 같이 억제되었다. Panaxydol 5.0μg/ml에서 최초의 cell 농도 이하로 감소되어서 최초의 cell 농도를 유지할 수 있는 농도인 2.5μg/ml으로 결정하였다. 각각의 polyacetylene 화합물을 2.5μg/ml 처리시 각 배양시간에 따른 세포의 성장은 Fig. 2와 같다. L1210 cell은 doubling time이 약 15시간으로, 16시간 배양시에는 control는 정상적으로 2배가 증식하였으나, polyacetylene 화합물의 처리시 세포의 증식은 억제되었다.

고분자물질의 합성에 미치는 영향—DNA의 합성은 배양초기에 polyacetylene 화합물에 의해 10~17% 억제되었다(Fig. 3). Panaxynol과 panaxytriol은 배양시간이 경과함에 따라 DNA 합성을 억제하지 않았으며, 16시간 배양후에는 control에 비해 약간 증가하였다. 그러나 panaxydol은 panaxynol과 panaxytriol과는 달리 16시간 배양시 가장 큰 억제를 나타내었다. RNA의 합성은 Fig. 4에서와 같이 panaxynol과 panaxytriol은 DNA합성에 비해 RNA합성을 보다 크

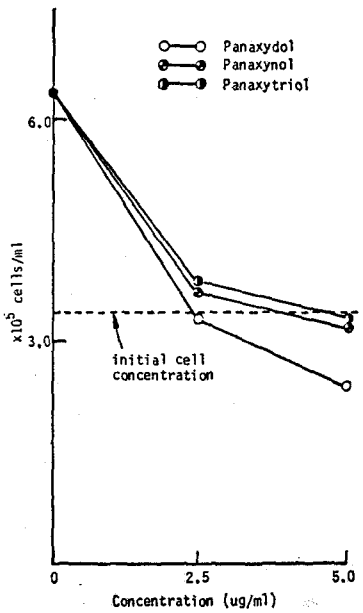


Fig. 1-The effects of polyacetylenes treatment after 16 hour incubation on the cell growth in L1210 cells.

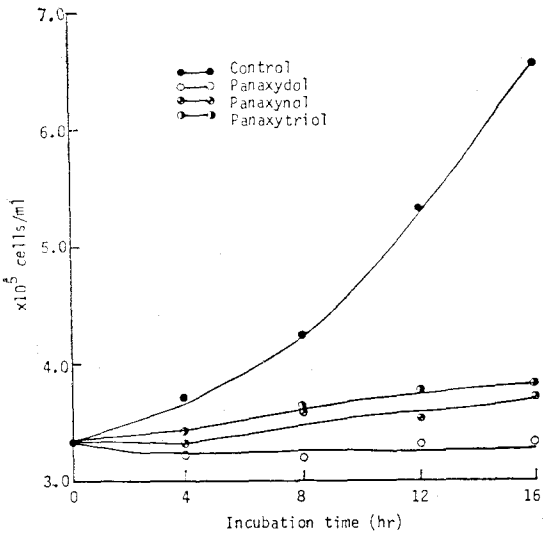


Fig. 2-The effects of polyacetylenes treatment (2.5 μg/ml) on the cell growth in L1210 cells.

게 억제하였으며, 배양 시간이 경과함에 따라서 억제율이 감소되어서 16시간 배양시에는 control과 같았다. Panaxydol은 DNA에서와 같이 16시간 배양에서 가장 큰 억제를 나타내었다. Protein의 합성은 각 배양시간에 따라 다소 차이가 있으나 3가지 polyacetylene화합물에 의해서 모두 억제되었고 panaxydol이 가장 큰 억제를 나타내었다(Fig. 5). Sarcoma 180 cell에서 인삼의 석유 ether 추출물이 protein의 합성을 더 예민하게 억제한다는 보고[2]는 이들 polyacetylene 화합물이 DNA와 RNA의 합성에 비해 protein의 합성을 보다 억제하는 것과 관계가 있다고 생각된다. 이상의 결과에서 가장 강력하게 세포증식을 억

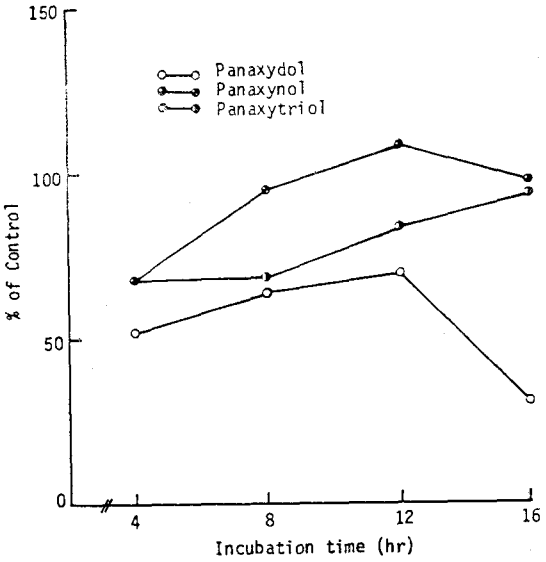


Fig. 4-The effects of polyacetylenes treatment (2.5 μg/ml) on RNA synthesis in L1210 cells.

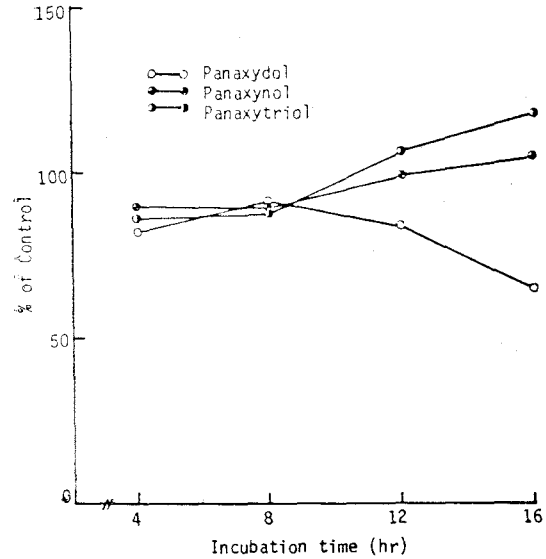


Fig. 3-The effects of polyacetylenes treatment (2.5 μg/ml) on DNA synthesis in L1210 cells.

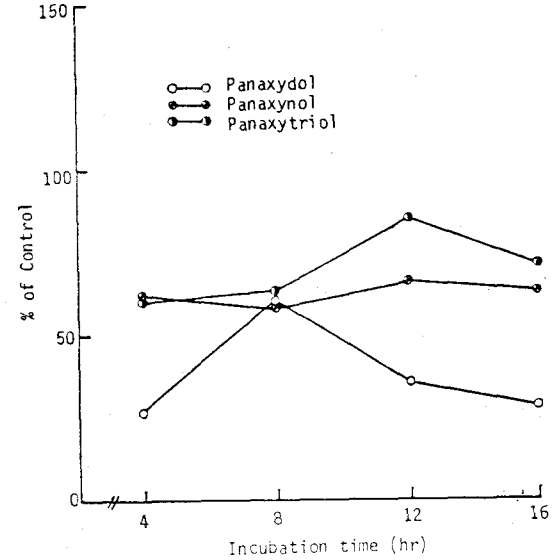


Fig. 5-The effects of polyacetylenes treatment (2.5 μg/ml) on protein synthesis in L1210 cells.

제하는 panaxydol이 DNA, RNA, protein의 합성을 가장 크게 억제하였으며, panaxynol과 panaxytriol는 DNA와 RNA의 합성에 미치는 pattern이 panaxydol과는 다름을 알 수 있었다. 세가지 polyacetylene화합물은 protein합성을 가장 억제하였으며 이들 화합물의 암세포 증식억제가 DNA, RNA, protein 합성의 억제와 관련이 있음을 시사한다.

결 론

인삼에서 단리된 panaxydol, panaxynol, panaxytriol은 *in vitro*에서 L1210 cell의 세포증식억제 물질로서 고분자물질의 합성을 억제하였다. 세가지 화합물에서 가장 강력하게 세포증식을 억제하는 panaxydol은 DNA, RNA, protein의 합성도 가장 크게 억제하였다. DNA과 RNA의 합성은 panaxynol과 panaxytriol에 의해 배양초기에 억제되었으나 배양시간이 경과함에 따라 억제율이 감소되었다. 이 세가지 polyacetylene 화합물은 protein의 합성을 가장 크게 억제하였다. 이상으로 암세포 증식억제가 DNA, RNA와 특히 protein합성억제와 관련이 있음을 시사한다.

문 헌

1) Hwang, W.I. and Cha, S.M.: A cytotoxic activity at extract of panax ginseng root against some cancer cells *in vitro* and *in vivo*. *Proc. International Ginseng Symposium*, Seoul, Korea, 43 (1978).
2) Yeon, Y.S., Lee, S.Y., Kim, B.S. and Yun, T.K.: The studies on the mechanism of action of the cytotoxic fraction from Korean ginseng roots. *Korean Biochem. J.* **13**, 203 (1980).
3) Hwang, W.I. and Oh, S.K.: A study on the anticancer activities of lipid soluble ginseng extract and ginseng saponin derivatives against some cancer cells. *Korean J. Ginseng Sci.* **82**, 153 (1984).
4) Hwang, W.I. and Oh, S.K.: Effects of petroleum ether extract of ginseng root on some enzyme activity in human colon cancer cells. *Korean J. Ginseng Sci.* **10**, 27 (1986).
5) Hwang, W.I., Park, K.H. and Paik, J.M.: A cytotoxic activity of panax ginseng extract against some cancer cells *in vivo* and *in vitro*. *Korean J. Ginseng Sci.* **11**, 173 (1987).
6) Han, M.D. and Kim, J.P.: An expenmental study of the effect of ginseng extract on the development of stomach cancer in wistar rats induced by N-methyl-N′-nitro-N-nitrosoguanidine. *J. of Korean Med. Assoc.* **26**, 1126 (1983).
7) Polawski, J., Wrobel, J.T. and Glinka, T.: Panaxydol, a new polyacetylenic epoxide from panax ginseng root. *Phytochemistry* **19**, 1539 (1980).
8) Dabrowski, Z., Wrobel, J.T. and Wojtasiewicz, K.: Structure of an acetylenic compound from panax ginseng. *Phytochemistry*, **19**, 2464 (1980).
9) Shim, S.C., Koh, H.Y. and Han, B.H.: Polyacetylens from panax ginseng roots. *Phytochemistry* **22**, 1817 (1983).
10) Shim, S.C. and Chang, S.K.: New polyacetylene compounds from panax ginseng C.A. Meyer. Bull. *Korean Chem. Soc.* **8**, 272 (1987).
11) Ahn, B.Z. and Kim, S.I.: Antineoplastic natural products and the analogue VI. *Arch. Pharm. Res.* **8**, 283 (1985).
12) Ahn, B.Z. and Kim, S.I.: Bezichung Zwischen strukeur and cytotoxischer akivität von panaxydol analogon gegen L1210 zellen. *Arch. Pharm.* (Weinhein) **321**, 61 (1988).
13) Ahn, B.Z. and Kim, S.I.: *Planta medica* (in press).
14) Ahn, B.Z., Kim, S.I. and Lee. Y.H.: *The 36th annual convention of the pharmaceutical society of Korea*, **133** (1987).
15) Takahashi, M., and Yoshikura, M.: Studies on the components of panax ginseng C.A. Meyer. IV *J. Pharm. Soc. Japan* **86**, 1051 (1966).