

## 생약복합제제 길경탕 및 가미길경탕의 항암효과 (제 1 보)

김성훈 · 박경식<sup>1</sup> · 유시용<sup>2\*</sup>

대전대학교 한의학과, <sup>1</sup>상지대학교 한의학과, <sup>2</sup>한국화학연구소<sup>1</sup>

### Antitumor Activity of the Medicinal Formula Kilkyungtang and Two Modified Kilkyungtang *in Vivo*. I

Sung Hoon Kim, Kyung Sik Park<sup>1</sup> and Shi Yong Ryu<sup>2\*</sup>

Oriental Medical College, Taejeon University, Taejeon 300-716, Korea

<sup>1</sup>Oriental Medical College, Sangji University, Wonju 220-702, Korea; and

<sup>2</sup>Korea Research Institute of Chemical Technology, Taejeon 305-606, Korea

**Abstract**—The prescription, Kilkyungtang (KKT), which originally consists of twelve kinds of medicinal plant materials and was used as a decoction for the treatment of malignant tumors and two modified Kilkyungtang (KKT-1 and KKT-2), supplemented by the additional crude drug to KKT (KKT-1: Houttuyniae herba, and KKT-2: Oldenlandiae diffusae herba) were investigated on their antitumoral properties, *in vivo* respectively. All KKTs were found to exhibit significant life time-prolonging effects when they were administered orally to Sarcoma-180 bearing ICR mice for 7 days. (ILS was estimated as 20% in KKT, 42% in KKT-1 and 57% in KKT-2). A profound lessening of tumor weights was also observed when KKTs were administered to B16-F<sub>0</sub> bearing C57BL/6 mice.

**Key words**—Kilkyungtang; modified preparation; antitumor; B16-F<sub>0</sub>; Sarcoma-180.

길경탕(桔梗湯)은 본래 醫學正傳에 수록된 處方으로서 주로 肺癰의 치료목적으로 사용하는 것으로 명시되어져 있다<sup>1,2)</sup>. 한편, 본 의학서에서 肺癰이라고 명시하고 있는 疾患이 보여주는 여러가지 臨床의 症狀 및 所見들이 現代醫學에서 肺癌이라고 診斷分類하고 있는 그것들과 大同小異하다는 관점에서 본 製劑는 오늘날 각종 肺癌의 치료목적으로 臨床적으로 널리 활용되어지고 있다. 이와 같이 임상적 활용이 廣範圍하게 이루어지고 있음에도 불구하고 본 製劑의 抗癌效果에 대한 實驗室的 研究 특히 癌細胞를 移植한 實驗動物을 對象으로 하여 항암효과를 체계적으로 검토한 연구는 아직껏 보고되어진 바가 없는 실정이다.

이에 저자들은 醫學正傳에 명시된 原方 桔梗湯(KKT)과 아울러 본 製劑에 清熱解毒, 消腫排膿의 效能을 가지고 있어 현재 臨床에서 肺癰 및 大葉性肺炎, 急性氣管支炎, 小兒肺炎 등에 빈번히 處方되어지고 있는 魚腥草(Houttuyniae herba)<sup>3,4)</sup>와 清熱利濕 解毒消癰의 效能을 가지고 있어 最近 肺癌, 食道癌, 胃癌, 直腸癌 등에 多用되는 白花蛇舌草(Oldenlandiae diffusae herba)<sup>3,6)</sup>를 各各 별도로 첨가한 2종의 加味桔梗湯(KKT-1, KKT-2)을 調劑하였으며 우선적으로 mouse를 실험대상동물로 하여 이들 製劑들의 抗癌效果를 *in vivo*에서 檢討하여 보았다. 즉 C57BL/6 mouse 및 ICR mouse에 癌細胞B16-F<sub>0</sub> 및 Sarcoma-180을 각각 移植하고 정해진 실험계획에 따라 桔梗湯과 加味 桔梗湯을 각각 投與한 후 나타나는 腫瘍重量의 변화, 生存增加

率(ILS or T/C %) 및 體重變化 등을 측정된 결과 有意性 있는 實驗結果를 얻었기에 報告하는 바이다.

## 재료 및 방법

**動物** - 動物은 雌雄 區分 없이 4주령의 ICR생쥐 (International Cancer Research, USA), C 57BL/6생쥐 그리고 BALB/C 생쥐를 韓國化學研究所에서 供給 받아 實驗當日까지 固型飼料(抗生劑 無添加, 삼양사료Co.)와 물을 充分히 供給하고 室溫 22±2°C를 維持하면서 2週日間 實驗室環境에 適應시킨 後 實驗에 使用하였다.

**使用藥材의 構成** - 實驗에 使用된 原方 桔梗湯 (KKT)의 構成生藥과 成人 1일 1회 사용량(1貼)은 Table I과 같으며 각각의 構成生藥은 모두 乾材藥材商을 통하여 市販品을 구입하여 使用하였다.

한편, 加味桔梗湯 I (KKT-1) 및 加味桔梗湯 II (KKT-2)은 전술한 원방 桔梗湯에 각각 魚腥草 (Houttuyniae Herba) 6g 및 白花蛇舌草 (Oldenlandia diffusa Herba) 6g을 따로 첨가하여 각각 1첩 당 총중량 64.4g이 되도록 調劑하였다.

**試藥 및 器機** - RPMI 1640, fetal bovine serum (FBS), sodium dodecylsulfate (SDS), collagenase (1700 units/mg, type-XI), trypan blue 및 sodium azide은 Sigma사, pentothal sodium은 중의제약으로부터 구입사용하였으며 기타 一般試藥은 모두 特級 및 一級試藥을 使用하였다.

**Table I.** Composition of Kilkyungtang and the amount for a dose/day.

생 약	Latine name	Amount
길경 (桔梗)	Platycodi Radix	8.0 g
패모 (貝母)	Fritillariae Cirrhosae Bulbus	8.0 g
당귀 (當歸)	Angelicae Gigantis Radix	6.4 g
과루인 (瓜蒌仁)	Trichosanthis Fructus	6.4 g
지가 (枳殼)	Aurantii Fructus	4.0 g
의이인 (意苡仁)	Coicis Semen	6.4 g
상백피 (桑白皮)	Mori Cortex	4.0 g
방기 (防己)	Stephaniae Tetrandrae Radix	4.0 g
감초 (甘草)	Glycyrrhizae Radix	2.4 g
황기 (黃耆)	Astragali Radix	4.0 g
행인 (杏仁)	Armeniaca Amarum Semen	2.4 g
백합 (百合)	Lilii Bulbus	2.4 g
Total amount		58.4 g

그외 CO<sub>2</sub> incubator (Model VS-9108 MS, Vision scientific Co.), clean bench (KMC-14001, Vision scientific Co.), centrifuge (GS-6R, Beckman), autoclave (Hirayama), titer plate shaker (Labline), culture flask (Falcon 3024), conical tube, disposable pipet (Falcon) 및 syringe filter (0.25 μm, Falcon) 등을 使用하였다.

**檢液의 調製** - 上記한 桔梗湯 (KKT), 桔梗湯 I (KKT-1) 및 桔梗湯 II (KKT-2) 각 二貼分量 (116.8 g, 129.6 g 및 129.6 g)을 各各 蒸溜水 2,000 ml씩으로 2 時間 동안 還流加熱抽出하고 濾過한 濾液을 凍結乾燥하여 각각 45.8 g, 48.9 g 및 48.7 g의 粉末狀 extract를 얻었다. 이들을 각각 適當한 농도로 生理食鹽水에 溶解시켜 실험동물에 投與하였다.

**B16-F<sub>0</sub> 移植 및 體重, 腫瘍重量的 測定** - B16-F<sub>0</sub> (ATCC, CRL6322)을 C57BL/6 mouse의 皮下에 繼代 培養하였으며 實驗前에 形成된 腫瘍部分을 分離하여 腫瘍 1 g 당 10 ml의 cold PBS (Ca<sup>++</sup>, Mg<sup>++</sup> free)를 가하고 100 mesh로 腫瘍組織을 粉碎한 後 遠心分離 (1500 rpm, 5 min.)하였다. 이 때 얻어진 pellet에 collagenase (1700 units/mg, type-XI) 0.1 g/ml을 處理하여 30분간 water bath (37°C)에서 incubation시킨 後 다시 遠心分離 (1300 rpm, 5 min.)하였다. 上層液을 除去하고 0.85% NH<sub>4</sub>Cl 2 ml을 넣어 잘 섞은 後 37°C 培養器에서 5分間 放置하여 赤血球를 破壞시킨 後 遠心分離하여 B16-F<sub>0</sub> cell을 分離하였다. 여기에 PBS를 가하여 최초 1 g의 tumor당 10 ml의 PBS 부유액이 되도록 조절한 후 체중 18-20 g인 C 57BL/6 mouse에 이 부유액 0.5 ml을 各各 皮下移植하였다. 實驗群은 癌細胞를 移植하지 아니한 定常群, 癌細胞를 移植한 對照群 및 癌細胞 移植 후 桔梗湯 (KKT), 加味桔梗湯 I (KKT-1) 및 加味桔梗湯 II (KKT-2)을 각각 10일간 經口投與한 試驗群 등 총 5개의 實驗群으로 나누었으며 각 群의 實驗動物數는 총 8마리로 하였다. 檢液은 癌細胞를 移植하고 24時間 經過한 후부터 1日 1회씩 1회 투여량으로 桔梗湯 (KKT)의 경우는 14 mg/20 g b.w., 桔梗湯 I (KKT-1)은 14.5 mg/20g b.w. 그리고 桔梗湯 II (KKT-2)는 14.3 mg/20 g b.w.을 10일간 經口投與하였으며 14일 후 生成된 腫瘍의 무게 및 體重을 測

定하였다.

**Sarcoma-180 細胞株 移植 및 生存延長率測定 -**  
 腫瘍細胞株는 본 實驗室에서 ICR mouse의 腹腔內에 일주일 間隔으로 繼代移植하여 保存하고 있는 Sarcoma-180 腫瘍細胞를 使用하였다. 즉 移植 8日後 腹水가 充滿한 ICR 마우스를 ether 痲醉下에 屠殺放血시킨 후 Sarcoma-180 腫瘍細胞와 腹水를 함께 無菌的으로 採取하여 0.83% NH<sub>4</sub>Cl-Tris buffer 2 ml를 加해 잘 섞어 赤血球를 溶血시켰다. 1200 rpm에서 7分間 8遠心分離하여 上清液을 버린 다음 pellet를 잘 分散시킨 후 RPMI 1640 培地를 넣어 다시 2回 遠心分離하여 잘 洗滌한 다음 適當한 濃度로 分散시켰다. 이때 分散된 腫瘍細胞는 trypan blue exclusion 法에 의하여 viability를 確認하고 總細胞數를 hemocytometer로 算出하여 각 실험동물 당 2.5×10<sup>6</sup> cells를 腹腔內 移植하였다. 實驗群은 癌細胞를 移植하지 아니한 定常群, 癌細胞를 移植한 對照群 및 癌細胞 移植 후 桔梗湯 (KKT), 加味桔梗湯 I (KKT-1) 및 加味桔梗湯 II (KKT-2)을 각각 7일간 經口投與한 試驗群등 총 5개의 實驗群으로 나누었으며 각 群의 實驗動物數는 총 8마리로 하였다. 癌細胞를 移植하고 24時間後부터 검역을 7일間 1일 1회씩, 1회 投與量으로 桔梗湯(KKT)은 14 mg/20 g b.w, 桔梗湯 I(KKT-1)은 14.5 mg/20 g b.w, 그리고 桔梗湯 II(KKT-2)는 14.3 mg/20 g b.w을 經口投與하였으며 매일 生存與否를 觀察하여 平均生存日數 및 生存年長率(ILS)

을 求하였다.

**體重 및 腫瘍무게의 測定 -** 體重 測定은 B16-F<sub>0</sub> 移植한 C57BL/6생쥐와 S-180을 移植한 ICR계 생쥐를 24時間 후부터 1일 1회씩 각각 14일 및 28일간 測定하였고 固形癌의 무게 測定은 14일째 되는 날 C57BL/6 생쥐를 pentothal sodium (30 mg/kg b.w.)으로 痲醉하고 採血後 固形癌을 摘出하여 caster balance 로 重量을 測定하였다.

### 결과 및 고찰

한방임상에서 주로 肺癌의 治療목적으로 頻用되는 原方 桔梗湯(KKT)과 여기에 白花蛇舌草와 魚腥草를 各各 加味하여 製劑한 加味桔梗湯(KKT-1, KKT-2)을 B16-F<sub>0</sub> 및 S-180 癌細胞를 移植한 mouse에 經口投與한 후 나타나는 體重 및 腫瘍무게의 增減 그리고 生存延長 效果등을 指標로하여 이들 製劑의 抗癌效果를 검토하였다.

우선 B16-F<sub>0</sub> 腫瘍細胞를 皮下 移植하여 高형암을 유발시킨 C57BL/6 mouse를 실험동물로 사용한 실험결과 實驗 開始 후 14일째까지 살아남은 실험동물의 수는 癌細胞를 移植하지 아니한 定常群(normal)을 제외한 각 群에서 각각 4마리(對照群: control), 4마리(KKT), 7마리(KKT-1), 6마리(KKT-2)였다. 한편 癌細胞 移植직후에 측정된 각 群 동물들의 평균 體重은 각각 17.7±0.40 g (normal), 17.8±0.85 g(control), 17.7±0.88 g

**Table II.** Increase of body weight and tumor weight of B16-F<sub>0</sub> bearing C57BL/6 mouse after administration of KKT, KKT-1 and KKT-3

group <sup>a</sup>	survivors at D <sub>14</sub>	body weight (g) <sup>b</sup>			tumor weight (g)
		D <sub>0</sub>	D <sub>14</sub>	Δ	
normal	8/8	17.7±0.40 <sup>c)</sup>	18.9±0.22	+1.2	
control	4/8	17.6±0.65	22.9±0.33	+5.3	2.17±0.14
KKT	4/8	17.8±0.88	19.5±0.38**	+1.7	1.63±0.15*
KKT-1	7/8	17.8±0.38	18.0±0.58*	+0.2	1.19±0.24**
KKT-2	6/8	17.5±0.79	18.3±0.52**	+0.8	1.37±0.15**

<sup>a</sup>Each experimental group consisted of 8 animals. Normal saline 0.2 ml was administered *p.o.* daily for 10 days without or after implantation of B16-F<sub>0</sub> cells in normal and control group, whereas the extract of Kilkyungtang (KKT, 14.0 mg/20 g b.w.), Kilkyungtang I (KKT-1, 14.5 mg/20 g b.w.) and Kilkyungtang II (KKT-2, 14.3 mg/20 g b.w.) was administered *p.o.* daily for 10 days after B16-F<sub>0</sub> implantation.

<sup>b</sup>Body weights of animals at D<sub>0</sub> and those of survivors at D<sub>14</sub> were measured individually and the mean value and difference (Δ) of body weight between at D<sub>0</sub> and D<sub>14</sub> in each experimental group were calculated.

<sup>c</sup>Mean±standard error.

**Table III.** Survival days of Sarcoma-180 bearing ICR mouse after administration of KKT, KKT-1 and KKT-2

group <sup>a</sup>	MSD <sup>b</sup>	ILS (%) <sup>c</sup>
control	27.4±1.29	
KKT	32.9±2.59*	20.1
KKT-1	38.6±3.63**	40.9
KKT-2	42.9±4.96**	56.6

<sup>a</sup>Each experimental group consisted of 8 animals. Normal saline 0.2 ml was administered *p.o.* daily for 7 days after implantation of Sarcoma-180 in control group, whereas the extract of Kilkyungtang (KKT, 14.0 mg/20 g b.w.), Kilkyungtang I (KKT-1, 14.5 mg/20 g b.w.) and Kilkyungtang II (KKT-2, 14.3 mg/20 g b.w.) was administered *p.o.* daily for 7 days after Sarcoma-180 implantation.

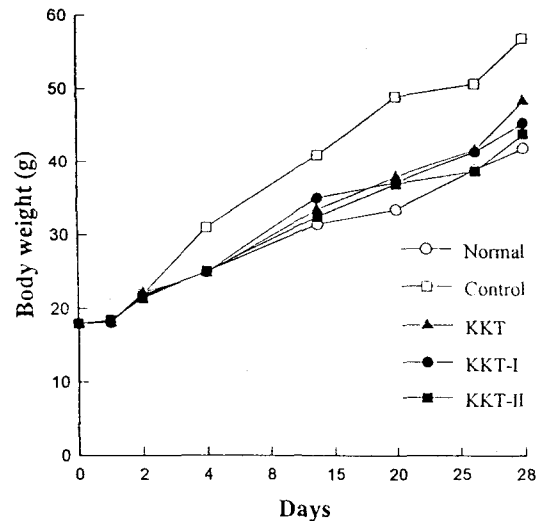
<sup>b</sup>Survival days of each animal in experimental group were counted individually and the mean survival days (MSD: mean±standard error) of each groups were calculated.

<sup>c</sup>ILS: Increase in life span

\*: P<0.05, \*\*: P<0.01

(KKT), 17.8±0.38 g (KKT-1) 및 17.5±0.70 g (KKT-2)이었는데 반하여 癌細胞 移植 14일째까지 생존한 동물들의 평균 체중은 각각 18.9±0.22 g (normal, 8/8), 22.9±0.33 g (control, 4/8), 19.5±0.38 g (KKT, 4/8), 18.0±0.58 g (KKT-1, 7/8) 및 18.3±0.52 g (KKT-2, 6/8)로 나타나 대조군에 비하여 桔梗湯(KKT) 및 加味桔梗湯(KKT-1, KKT-2)을 투여한 시험군의 경우 평균 體重의 增加폭이 훨씬 적은 것으로 나타났다. 또, 암세포 이식 14일째까지 생존한 각군의 동물들로부터 摘出한 腫瘍의 平均 重量은 각각 2.17±0.14 g (control), 1.63±0.15 g (KKT), 1.19±0.24 g (KKT-1) 및 1.37±0.15 g으로 나타나 대조군에 비하여 桔梗湯(KKT) 및 加味桔梗湯(KKT-1, KKT-2)을 투여한 시험군의 경우에 腫瘍의 增殖이 현저하게 감소하는 경향을 보여주었다 (Table II).

한편 Sarcoma-180 腫瘍細胞를 이식한 ICR mouse를 實驗動物로 사용한 實驗의 경우에 있어서는 癌細胞를 이식한 對照群의 平均 生存日數(MST: mean survival time)가 27.4±1.29일로 측정된 반면 癌細胞 移植 후 桔梗湯(KKT), 加味桔梗湯 I (KKT-1) 및 加味桔梗湯 II (KKT-2)을 각각 7일간 經口 投與한 試驗群의 경우에는 각각 32.9±2.59日



**Fig. 1.** The body weight augmentation of ICR mice after implantation of Sarcoma-180. Each experimental group consisted of 8 animals. Normal saline 0.2 ml was administered *p.o.* daily for 7 days without or after implantation of Sarcoma-180 in normal and control group, whereas the extract of Kilkyungtang (KKT, 14.0 mg/20 g b.w.), Kilkyungtang I (KKT-1, 14.5 mg/20 g b.w.) and Kilkyungtang II (KKT-2, 14.3 mg/20 g b.w.) was administered *p.o.* daily for 7 days after Sarcoma-180 implantation.

(KKT), 38.6±3.63日 (KKT-1) 및 42.9±4.96日 (KKT-2)을 나타내어 각각 20.1%(KKT), 40.9% (KKT-1) 및 56.6%의 生存延長率(ILS: increased life span)를 보여주었다 (Table III). 또, 癌細胞 이식 후 28일간 매일 각군의 평균 體重을 측정 한 결과 Fig. 1에 도식한 바와 같이 癌細胞를 이식 한 대조군의 평균 體重은 實驗日數에 따라 꾸준히 增加추세를 나타낸 반면 癌細胞 移植 후 桔梗湯 (KKT), 加味桔梗湯 I (KKT-1) 및 加味桔梗湯 II (KKT-2)을 각각 7일간 經口 投與한 試驗群의 경우에는 實驗기간 동안 平均 體重의 增加가 매우 緩慢하게 進行되어 實驗 開始 28일째에는 定常群의 體重과 거의 對等한 수준으로 회복되는 양상을 나타내었다.

이상의 實驗결과를 綜合하여 볼 때 原方 桔梗湯 (KKT)과 原方 桔梗湯에 魚腥草와 白花蛇舌草를 各 各 加味하여 調劑한 加味桔梗湯 I 및 II (KKT-1, KKT-2)는 모두 적어도 본 實驗에 사용한 2종의 murine tumor cell line (B16-F<sub>0</sub> 및 Sarcoma-

180)으로 誘發된 mouse 癌種에 대하여는 어느정도 抑制效果를 보여주고 있음을 알수 있으며 이들 製劑의 이러한 抗癌效果가 각종 多様な 인간의 癌種에서까지도 유사한 效果를 보여줄 수 있는지는 의문점으로 남아있다. 또, 본 實驗을 통하여 나타난 이들 製劑의 항암효과에 대한 mechanism을 알아보고자 현재 본 연구실에서는 각종 murine tumor cell line 및 human tumor cell line을 활용하여 *in vitro*에서 이들 製劑들이 보여주는 직접적인 癌細胞成長沮害效果, 癌細胞附着沮止效果 및 免疫機能亢進效果 등을 檢討하고 있다.

## 인용문헌

1. 吳博(1986) 醫學正博, 307-308. 成輔社, 서울.
2. 許浚(1981) 東醫寶鑑, 486, 392-394. 南山堂, 서울.
3. 江蘇新醫學院編(1997) 中藥大辭典, 2459-2467. 上海科學技術出版社, 중국.
4. 高木敬次郎, 木村正康, 原田正敏, 大塚恭男(1982) 和漢藥物學, 311-313. 南山堂, 東京.
5. 唐慎微(1976) 經史證類備用本草, 323. 崇文社, 서울.
6. 上敏顏(1987) 抗癌本草, 301-302. 湖南科學技術出版社, 湖南省, 中國.

(1996. 2. 15. 접수)