

오배자 BuOH층에서 분리한 1,2,3,4,6-penta-O-galloyl-β-D-glucose 의 세포간교통 회복 및 혈관형성 억제작용에 대한 효과

허정은 · 이효정 · 송규용 · 차배천¹ · 김한성² · 유동열² · 유시용³ · 김성훈*

경희대학교 동서의학대학원, 1: 상지대학교 생명과학대학 응용동물과학부, 2: 대전대학교 한의과대학, 3: 화학연구소 ·

Effect of 1,2,3,4,6-penta-O-galloyl-β-D-glucose isolated from Galla Rhois on gap junctional intercellular communication and antiangiogenic activity

Jeong Eun Huh, Hyo Jung Lee, Gyu Yong Song, Bae Cheon Cha¹, Han Sung Kim², Dong Youl Yoo², Shi Yong Ryu³, Sung Hoon Kim*

Department of Oncology, Graduate School of East-West Medical Science, KyungHee University, 1: Division of Applied Animal Science, Sangji University, 2: College of Oriental Medicine, Daejon University, 3: Korea Research Institute of Chemical Technology

Galla Rhois is a gallnut of *Rhus javanica* Linne used for treatment of diarrhea, hemorrhage, cough, leukorrhea and toxic tumor etc in oriental medicine. For the evaluation of antitumor effect of Galla Rhois, activity based fractionation was done. We isolated an effective compound and identified 1,2,3,4,6-penta-O-galloyl-β-D-glucose(PGG) by photometric analysis such as NMR and MASS. Then, we studied the angiogenic activity of PGG. It showed a cytotoxicity against SK-OV-3, SK-OV-3, HT1080 with IC₅₀ of 50 ug/ml approximately. It also effectively inhibited proliferation of HUVEC cells treated by bFGF to 30% of control at 20 ug/ml and cell migration to 80% at 10 ug in a dose dependent fashion. Tube formation of HUVEC cells on matrigel was effectively suppressed from 2.5 ug/ml of concentration by PGG. Moreover, it effectively recovered the dysfunction of gap junctional intercellular communication in WB-F344 rat liver epithelial cells caused by hydrogen peroxide at 4 ug/ml suggesting it potently can inhibit tumor promotion. Taken together, it indicates 1,2,3,4,6-penta-O-galloyl-β-D-glucose has antiangiogenic activity.

Key words : Galla Rhois, 1,2,3,4,6-penta-O-galloyl-β-D-glucose, migration, invasion, gap junction, tube formation

서 론

오배자(Galla Rhois)는 붉나무(*Rhus javanica* Linne)의 잎에 오배자 진딧물(*Melpaphis chinensis* Bell)이 산란하여 생긴 벌레 집이다¹⁾. 본초학적으로 성미는 酸平하며 “斂肺 澁腸 止血解毒” 하는 효능이 있어 “肺虛久咳 久痢 久瀉 脫肛 自汗 盜汗 遺精 便血 衄血 崩漏 腫毒” 등을 치료하는데 활용되고 있다. 오배자의 독성은 오배자 전탕액 0.25 ml을 복강주사하면 12시간내에 모두 사망하지만 0.025%에는 부작용을 나타내지 않았다고 한다²⁾. 암이 인류가 극복할 난치병으로 대두된 이래 암을 치료하는 항암제의 개발은 주로 생약을 중심으로 수행되어 왔다. 그러나 최근

동물성 한약재를 ‘以毒治毒’의 치법으로 활용한 경우가 있는데, 동물성 약재인 오배자는 임상적으로 자궁경부암, 임파암, 유방암 등에 활용되어 유효했다고 보고되었다³⁾. 오배자를 이용한 실험연구로는 안 등⁴⁾이 오배자추출 탄닌의 장박테리아 증식 억제, 김 등⁵⁾은 오배자의 *helicobacter pylori* 억제효과를, Saiki 등⁶⁾은 오배자에서 분리한 galloylglucose가 in vitro에서 tumor invasion과 MMP2, MMP9의 gelatinolysis를 억제한다고 보고하였고, 차 등⁷⁾은 오배자로부터 gallic acid 등 5가지 compound를 단리하였고, 이들의 항산화 작용을 보고한 외에 특히 이들 성분 중 1,2,3,4,6-penta-O-galloyl-β-D-glucose의 항암효과를 보고한 바는 아직 없다. 이에 본 연구는 오배자에서 분리한 1,2,3,4,6-penta-O-galloyl-β-D-glucose의 혈관형성저해작용과 carcinogenesis 저해 작용을 평가하여 유의한 결과를 얻었기에 보고하는 바이다.

* 교신저자 : 김성훈, 경기도 용인시 기흥읍 서천리, 경희대학교 동서의학대학원

E-mail : sungkim7@khu.ac.kr Tel : 031-201-2179

· 접수: 2002/02/25 · 수정: 2002/03/30 · 채택: 2002/05/09

재료 및 방법

1. 재료

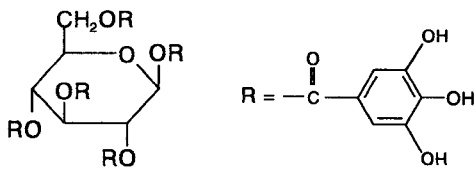
오배자는 경희의료원 한방병원에서 구입하여 정제한 후 실험에 사용하였다.

2. 방법

1) 추출 및 분획-오배자는 각 분획을 얻기 위하여 음건한 오배자 484g을 추출용기에 넣고 MeOH 1000 ml로 3회 환류 추출하여 얻어지는 용액을 농축하여 오배자 MeOH 엑스(351g)를 얻었고, 이를 n-hexane과 H₂O 1:1로 분배하여 얻어지는 n-hexane 용액을 농축하여 n-hexane 엑스(24g)를 얻었다. 계속하여 얻어진 H₂O 층에 EtOAc 용액을 H₂O 층과 1:1이 되게 가한 후 분배하여 얻어지는 EtOAc용액을 농축하여 EtOAc 엑스(148g)를 얻고 잔여의 H₂O 층에 n-BuOH을 H₂O 층과 1:1이 되도록 가한 후 분배시켜 얻어지는 n-BuOH 용액과 H₂O 층을 농축하여 n-BuOH 엑스(35g)와 H₂O 엑스(45g)를 각각 얻었다. 그리고 data에는 표시하지 않았지만 물질을 acetyl화하여 OH의 수를 확인하여 구조를 확인하였다.

2) 유효물질의 단리와 구조확인

오배자-n-BuOH 엑스(10 g)를 silica gel에 흡착시킨 후 CHCl₃ : MeOH : H₂O=65:35:10(하층)과 EtOAc : MeOH : H₂O=100:15.6:13.5의 전개용매를 순차적으로 사용하여 1차 분리한 후 MeOH를 용매로 하여 역상 colum chromatography를 실시하여 화합물 5(870 mg; 수율-0.87%)를 단리 하였다. 역상colum chromatography는 sephadex-RH20을 사용하여 실시하였고 NMR, mass spectrometer등의 분광분석을 통해 1,2,3,4,6-penta-O-galloyl-β-D-glucose임을 확인하였다.



1,2,3,4,6-penta-O-galloyl-β-D-glucose

3) 세포 및 배양

사용된 암세포는 B16BL6(melanoma), SK-OV-3(ovary adenocarcinoma), HT-1080(non small cell lung cancer) 등이며 RPMI 1640과 10%FBS 배지에서 배양하였고, 혈관형성 관련 실험은 HUVEC(human umbilical vein endothelial cell)세포를 일차 배양하여 실험하였는데 M199 + 20% FBS + 3 ug/ml ECGS + 5 U/ml heparin 배지로 3-7 계대까지 배양한 세포를 사용하였다. 세포간교통 실험에는 WB-F344 (rat liver epithelial cell line)을 DMEM +5% FBS배지를 이용하여 배양하였다.

4) 세포독성 측정⁸⁾

Fosmann이 개발한 방법으로 MTT법으로 세포 독성을 측정하였다. SK-OV-3, SK-OV-3, HT1080 세포를 10% FBS가 첨가된 RPMI1640로 5% CO₂, 37 °C 배양기에서 배양하였다. 세

포를 배양한 후 Trysin-EDTA를 이용하여 세포를 배양용기로부터 분리하고 1×10⁴ cells를 96 well plate에 분주하고 12시간 배양 후 약재를 농도별로 계대희석하여 well당 100 ul씩 분주하였다(n=4).

이를 48시간 배양한 후 MTT(6 mg/ml) 20 ul씩 넣고 4시간 동안 배양하였다. 배양이 끝난 plate를 PBS로 세척한 후 DMSO 100 ul를 넣고 상온에서 20분 방치한 후 ELISA 570 nm에서 흡광도를 측정하였고, 약재를 처리하지 않은 대조군을 100%로 하여 사멸률을 계산하였다⁹⁾.

5) Scrape-loading dye transfer(SL/DT) assay¹⁰⁾

WB-F344 rat liver cell line을 35mm dish에 10⁵ cells/ml로 분주한 후 37°C에서 24 시간동안 배양하였다. 1,2,3,4,6-penta-O-galloyl-β-D-glucose 4 ug/ml을 농도로 처치하여 37°C에서 24 시간동안 배양하였다. 배양 후 각각 H₂O₂를 1,2,3,4,6-penta-O-galloyl-β-D-glucose 4 ug/ml 농도와 함께 처치하고 1시간 후 PBS로 세척하고 dish에 0.05% lucifer yellow 2 ml를 처치한 후 암소상태에서 surgical blades를 이용하여 6개 정도의 scrape line을 만들고 3분 동안 실온에서 반응시켰다. PBS로 세척 한 후 formalin을 이용하여 cell을 고정시키고 형광현미경으로 lucifer yellow의 이동 상태를 관찰하였다.

6) Endothelial cell proliferation assay¹¹⁾

일차배양 된 혈관내피세포를 M199 + 20% FBS + 3 ug/ml ECGS + 5 U/ml heparin 배지로 5% CO₂, 37 °C 배양기에서 배양하였다. 0.1% gelatin으로 96 well plate를 4 °C에서 4시간 이상 반응시킨 후 PBS로 세척하였다. 배양된 혈관내피세포를 위의 96 well plate에 5×10³/well의 세포를 분주하고 12시간 후 1,2,3,4,6-penta-O-galloyl-β-D-glucose을 bFGF 5 ng/ml이 포함된 배지와 포함되지 않은 배지에서 각각 약재를 농도별로 계대 희석하여 배양된 세포에 100 ul씩 분주하였다. 다시 48시간 배양한 후 MTT(6 mg/ml) 20 ul을 넣고 4시간 동안 배양하였다. 배양이 끝난 plate를 PBS로 세척한 후 DMSO 100 ul를 넣고 상온에서 20분 방치한 후 ELISA reader 570 nm에서 흡광도를 측정하였고, 약재를 처리하지 않은 대조군을 100%로 간주하여 사멸률을 계산하였다.

7) Migration assay¹²⁾

일차배양 된 혈관내피세포를 M199 + 20% FBS + 3 ug/ml ECGS + 5 U/ml heparin 배지로 5% CO₂, 37 °C 배양기에서 배양하였다. Polycarbonate membrane(pore size; 12 um)을 0.1% gelatin으로 20분간 충분히 적힌 후 2시간 이상 공기 중에서 말렸다. Boyden blind chemotaxis chamber의 아랫칸에 혈관내피세포(1×10⁶/ml)를 50 ul씩 분주 하고 membrane의 불투명한 면을 세포와 부착시킨 후 2시간 동안 배양한후 48 well boyden chamber의 위의 칸에 bFGF 5 ng/ml이 포함된 배지에 약재를 농도별로 처리하였다. 양성대조군으로 bFGF 5 ng/ml을 처리하였고 음성대조군은 bFGF가 포함되지 않은 배지를 사용하였다. 다시 2시간 동안 배양 시킨 후 membrane을 꺼내어 methanol로 고정한 후 Diff Quic 용액으로 염색한 후 현미경으로 관찰한 후 이동한 혈관내피세포를 세었다.

8) Tube formation assay¹³⁾

24 well plate에 matrigel을 300 ul씩 분주하여 37 °C에서 굳혔다. 일차배양 된 혈관내피세포를 M199 + 20% FBS + 3 ug/ml ECGS + 5 U/ml heparin 배지로 5% CO₂, 37 °C 배양기에서 배양하고, 배양된 세포를 Trysin-EDTA를 이용하여 배양용기로부터 분리하고 위의 24 well plate에 1x10⁴/well 개의 세포를 분주하고 6시간 후부터 현미경으로 관찰하였고 12시간 후 고정한 후 Diff Quic 용액으로 염색하고 현미경으로 관찰하였으며, 사진을 다양한 필드에서 찍고 사진을 4x 필드에서 5장씩 찍고 scion image로 tube가 형성된 면적을 정량하였다.

9) 통계처리

실험결과들은 mean±SD과 mean±SE로 나타내었고, 통계 처리는 student t-test를 실시하여 p<0.05를 기준으로 하여 유의 성 여부를 검증하였다.

결과 및 고찰

1. 유효물질의 구조동정

유효물질의 구조동정을 아래의 기기분석 데이터를 이용하여 1,2,3,4,6-penta-O-galloyl-β-D-glucose로 확인하였다^{14,15)}. - m.p : 193 - 195 °C; ¹H-NMR(200MHz, DMSO-d₆) δ : 5.75(1H, t, J=8Hz, H-2), 5.83(1H, t, J=8Hz, H-4), 6.12(1H, t, J=8Hz, H-3), 6.36(1H, d, J=8 Hz, H-1), 7.07, 7.11, 7.14, 7.16, 7.20(each 2H, s, galloyl H); ¹³C-NMR(50MHz, acetone-d₆+D₂O) δ : 65.2(glc, C-6), 71.5 (glc, C-4), 73.9(glc, C-2), 75.6(glc, C-3,5), 95.6(glc, C-1), 112.6 (galloyl, C-2,6), 120.9, 121.5, 121.7(X2), 122.7(galloyl, C-1), 141.8, 142.2, 142.3, 142.9(galloyl, C-4), 148.0(galloyl, C-3,5), 168.1, 168.8, 169.2, 169.6, 169.8(COO); UV λ max : 217, 283(EtOH); IR(KBr)cm⁻¹ : 3401(OH), 1652(CO), 1618(aromatic C=C)

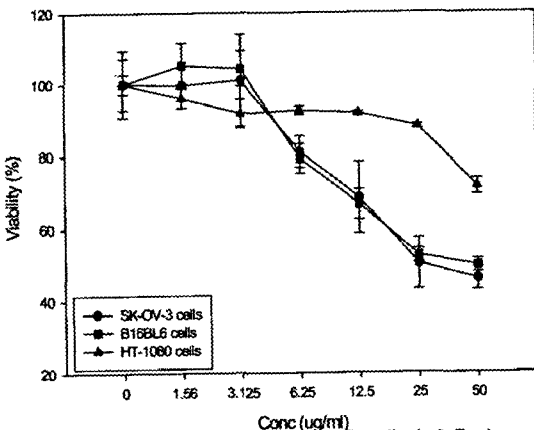


Fig. 1. Cytotoxicity of 1,2,3,4,6-penta-O-galloyl-β-D-glucose isolated from BuOH layer of Melapis chinensis BAKER on SK-OV-3, B16BL6 and HT-1080 cells.

2. 세포독성

오배자의 BuOH층에서부터 분리한 1,2,3,4,6-penta-O-

galloyl-β-D-glucose 을 각각 SK-OV3, B16BL6, HT-1080 세포 주에 대해 세포독성을 측정하였더니 농도 의존적인 세포독성 효과를 보였다. 즉, HT-1080 암 세포주에 대한 세포독성은 IC₅₀ 값이 약 50 ug/ml 이상이었고, SK-OV-3와 B16BL6 암세포주에 대한 세포독성은 IC₅₀ 값이 약 50 ug/ml로 보다 더 세포독성이 강했다(Fig. 1).

3. Gap junctional intracellular communication 회복 효과

Gap junction은 세포와 세포 사이에 존재하는 Junction중의 하나로 옆에 인접한 세포와 서로 물질을 주고받는 세포막에 존재하는 통로이다. 이러한 gap junction통로는 다른 이온 channel과는 달리 인접한 두 세포간에 passive diffusion에 의하여 물질을 이동시키므로 비교적 비특이적이라 할 수 있다. 그러나 gap junction을 통한 물질 이동은 기본적으로 일정한 규칙을 가지고 있다. 예를 들면, cAMP와 같은 1000Dalton 이하 물질이나 칼슘 등과 같은 양이온들도 이 통로로 이동한다. 그러나 단백질이나 핵산의 이동은 막으면서 morphogen, 2차 messenger, 세포의 대사산물들이 gap junction을 통해 이웃한 세포간에 이동한다. 그러므로, 결과적으로 이러한 형태의 세포간 정보교환은 생체의 대부분의 조직 장기가 이 gap junction을 통하여 일반적으로 정보를 주고 받고 있다. 그러므로 정상조직에 있어서 gap junction을 통한 정보전달은 세포의 항상성유지, 세포의 분화, 분비조직에 있어서 분비조절, 세포의 분화와 성장에 매우 중요한 역할을 한다. 반면에, 정보전달의 장애가 있을 경우 종양의 축진을 일으킬 수가 있다¹⁶⁾. 따라서 본 실험에서는 1,2,3,4,6-penta-O-galloyl-β-D-glucose와 tumor promoting agent인 H₂O₂(hydrogen peroxide)를 처리하였을 때 WB-F344 rat liver epithelial cell에서 gap junctional intercellular communication에서 억제된 Gap Junction을 회복 할 수 있는지를 in vitro Scrape-loading dye transfer(SL/DT)assay를 하여 살펴보았다. WB-F344 정상 표피세포세포에 H₂O₂를 처리하여 암화 과정을 유도하여 대조군에서 gap junction 교통신해작용을 확인할 수 있었다(Fig. 2A, Fig. 2B). 이 상태에서 1,2,3,4,6-penta-O-galloyl-beta-D-glucose를 4ug/ml으로 처리하였을 때 H₂O₂의 전처치에 의하여 억제 된 gap junction을 회복 시켜 주었다(Fig. 2C). 그러나 1,2,3,4,6-penta-O-galloyl-β-D-glucose 4 ug/ml보다 낮은농도인 2 ug/ml과 1 ug/ml의 농도에서는 회복효과가 보이지 않았다. 또한 H₂O₂를 250 uM 단독 처리군의 회복률(percent of recovery of gap junctional intracellular communication)이 23%인 것에 비하여 H₂O₂와 1,2,3,4,6-penta-O-galloyl-β-D-glucose 4 ug/ml을 함께 처리한 군의 경우 84% 회복율을 보여 유의한 결과를 나타내었다 (p<0.001)(Fig. 3). 이 실험결과는 오배자의 1,2,3,4,6-penta-O-galloyl-β-D-glucos가 H₂O₂에 의하여 암화 과정을 유발하였을 경우, gap junctional intracellular communication이 저해되는 것을 알 수 있지만, 1,2,3,4,6-penta-O-galloyl-β-D-glucose를 4 ug/ml 이상 처리하였을 경우에는 거의 정상세포에 가까운 gap junction 회복율을 보임을 시사하고 있다.

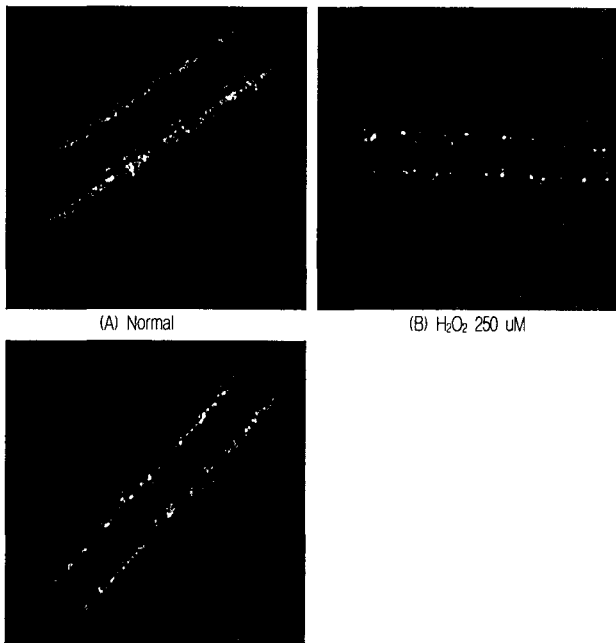


Fig. 2. Scrape loading dye transfer image in the WB-F344 liver epithelial cells treated with 4 μg/ml of 1,2,3,4,6-penta-O-galloyl-β-D-glucose with H₂O₂ for 1h.

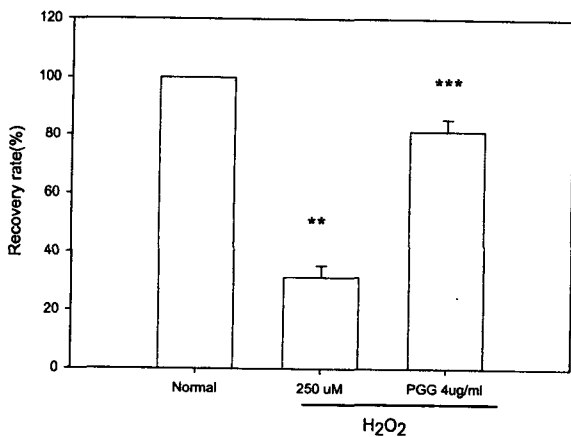


Fig. 3. Recovery by 4 μg/ml of 1,2,3,4,6-penta-O-galloyl-β-D-glucose(PGG) from inhibition of gap junctional intracellular communication by H₂O₂ as determined using a fluorescent microscope after Scrape-loading dye transfer assay(** p<0.01, *** p<0.001).

4. 혈관내피세포의 증식 억제효과

혈관형성을 억제하는 방식은 세가지로 분류된다. 첫째, 암세포로부터 분비되는 angiogenic factor의 분비를 억제 혹은 이미 분비된 angiogenic factor를 중화시키거나, 둘째로 vascular endothelial cell proliferation 혹은 migration을 억제하거나, 셋째로 vessel basement membrane의 합성을 억제하는 방법이 가능하다. 현재까지 알려진 혈관형성 억제제는 내인성인자외에 suramin 유도체, distamycin A 유도체, tamoxifen, genistein, AGM-1470, quinoline-3-carboxamide, thalidomide, minocycline, progesteron 유도체인 medroxyprogesteron acetate(MPA)들이

있으며 이밖에 항생제인 herbimycin A와 eponemycin도 항암효과와 함께 항 혈관형성 효과를 가지고 있다고 알려져 있다¹⁷⁾. HUVEC 세포에 bFGF를 처리하지 않은 경우 1,2,3,4,6-penta-O-galloyl-β-D-glucose를 농도별로 처리하였을 때 20 μg/ml에서 50% 이상 세포증식이 억제되었으나, bFGF를 첨가한 경우에는 세포독성이 거의 없는 1,2,3,4,6-penta-O-galloyl-β-D-glucose을 0.312 μg/ml 부터 20 μg/ml을 처리하였을 때 농도에 의존적으로 성장저해를 나타내었는데 특히 2.5 μg/ml(저해율:16%, p<0.05), 5 μg/ml(저해율:22%, p<0.05), 10 μg/ml(저해율:30%, p<0.01), 20 μg/ml(저해율:29%, p<0.01)에서 유의한 저해효과를 보였다(Fig. 4). 본 실험에서는 암 세포에는 전혀 세포독성을 보이지 않은 농도에서 bFGF에 의한 혈관세포의 증식을 억제하였으므로 1,2,3,4,6-penta-O-galloyl-β-D-glucose의 혈관형성 저해효과를 추측할 수 있다.

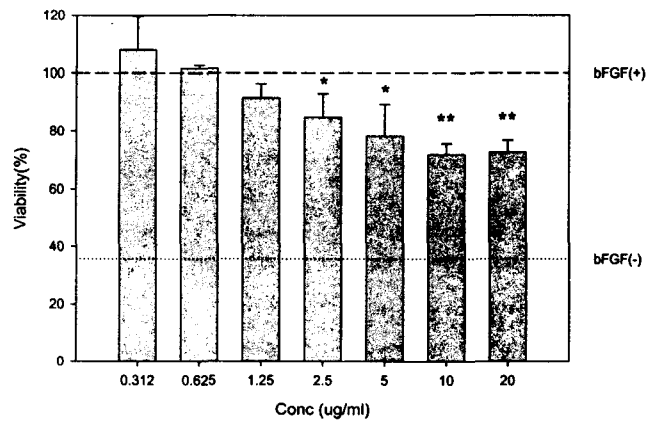


Fig. 4. Inhibition of bFGF-induced proliferation by 1,2,3,4,6-penta-O-galloyl-β-D-glucose on HUVEC cell. proliferation treated with. HUVEC cells were treated with 5 ng bFGF and 1,2,3,4,6-penta-O-galloyl-β-D-glucose for 48h. The proliferation assay was carried out in several concentrations of 1,2,3,4,6-penta-O-galloyl-β-D-glucose(* p<0.05, ** p<0.01).

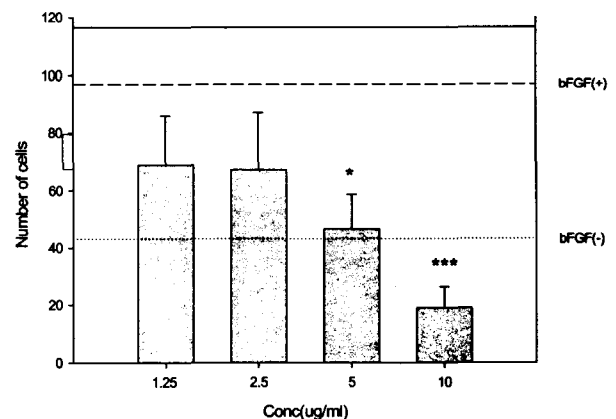


Fig. 5. Inhibitory effect of 1,2,3,4,6-penta-O-galloyl-β-D-glucose on the migration of HUVEC cells. The migrating cells through gelatin-coted polycarbonate membrane after 4h incubation in a boyden blind-chemotaxis chambers were stained with Diff Quic solution and measured by counting the stained cells. Samples were analyzed in triplicates with experiments having been performed at least twice(* p<0.05, *** p<0.001).

5. 혈관내피세포의 이동억제 효과

1,2,3,4,6-penta-O-galloyl-β-D-glucose가 혈관내피세포의 이동을 억제하는지를 알아보기 위하여 48 well boyden blind chemotaxis chamber를 사용하였다¹⁶⁾. 혈관내피세포가 부착된 후 1,2,3,4,6-penta-O-galloyl-β-D-glucose 1.25, 2.5, 5, 10 ug/ml을 bFGF 5ng/ml이 포함된 배지에 계대희석하여 처리하였고 양성 대조군은 bFGF 배지를 사용하였으며 bFGF에 의한 화학주성적 이동이 저해되는지를 알아보았다. 대조군의 혈관내피세포가 이동한 세포수는 약 98개였으나 1,2,3,4,6-penta-O-galloyl-β-D-glucose 1.25, 2.5, 5, 10 ug/ml을 처리하였을 때 약 71개에서부터 18개로 농도에 의존적으로 이동한 혈관내피세포의 숫자가 감소하였고, 특히 5 ug/ml(저해율:48%, p<0.05)과 10 ug/ml(저해율:80%, p<0.001)에서 유의한 저해효과를 보였다(Fig. 5). 이 실험결과 bFGF에 의존적인 혈관내피세포의 이동이 억제되는 것을 확인하였다.

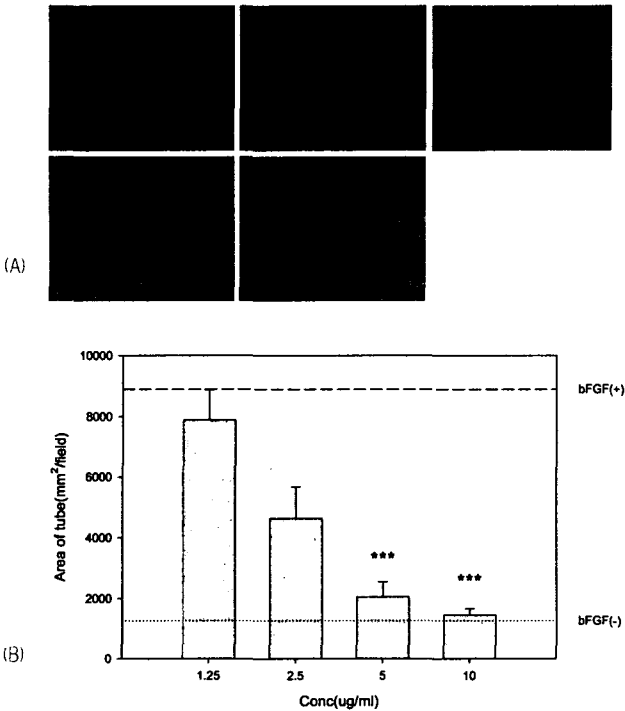


Fig. 6. Inhibitory effect of bFGF-induced tube formation assay by 1,2,3,4,6-penta-O-galloyl-β-D-glucose on HUVEC cells. (A)The tube formation assay was carried out depending on 1,2,3,4,6-penta-O-galloyl-β-D-glucose concentration A; control, B; 1.25 ug/ml, C; 2.5 ug/ml, D; 5 ug/ml, E; 10 ug/ml. (B)The tube formation assay was measured scion image(** p<0.00.1).

6. 혈관내피세포의 tube 형성억제 효과

1,2,3,4,6-penta-O-galloyl-β-D-glucose가 혈관내피세포의 tube 형성을 억제하는지를 알아보았다. Matrigel이 coating된 plate에 1,2,3,4,6-penta-O-galloyl-β-D-glucose 1.25, 2.5, 5, 10 ug/ml을 bFGF 5 ng/ml이 포함된 배지에 계대희석하여 혈관내피세포 10⁴/well를 분주하고 12시간 후 염색하여 관찰하였더니, 대조군에서는 혈관튜브의 형성이 뚜렷하였으나, 1,2,3,4,6-penta-

O-galloyl-β-D-glucose 2.5 ug/ml 농도이상에서는 튜브형성이 현저히 억제되었고(Fig 6. A). 형성된 tube의 면적을 정량한 결과 1,2,3,4,6-penta-O-galloyl-β-D- glucose의 농도 1.25(저해율:12%, p>0.05), 2.5(저해율:48%, p>0.05), 5(저해율:77%, p<0.001), 10(저해율:84%, p<0.001) ug/ml에서 농도에 의존적으로 tube의 형성이 감소하였고 특히 5 ug/ml과 10 ug/ml에서 유의한 감소를 보였다(Fig. 6. B). 이 실험결과 bFGF에 의존적인 혈관내피세포의 tube형성이 억제되는 것을 확인하였다. 이상의 결과를 종합하면 1,2,3,4,6-penta-O-galloyl-β-D-glucose는 혈관형성 저해 작용을 유효하게 나타냄을 알 수 있으며, 향후 동물실험과 분자생물학적 연구를 통해 그 작용기전을 확인할 필요가 있다고 사료된다.

감사의 글

이 논문은 한국학술진흥재단 1998년도 자유공모과제(Grant 1998-001-2F00865)와 Brain Korea 21 project의 지원에 의해 수행 되었기에 감사드립니다.

참고문헌

1. 생약연구회: 현대생약학, 학창사, pp.235-236, 1994.
2. 강소중의학원:중약대사전,상해과기, pp.392, 1978.
3. 季宇彬:항암중약약리여응용,흑룡강과기, pp.278-279, 1999.
4. Ahn YJ, Lee CO, Kweon JH, Ahn JW, Park JH.: Growth -inhibitory effects of Galla Rhois-derived tannins on intestinal bacteria. Journal of Applied Microbiology 84, pp. 439-443, 1998.
5. 배은아, 한명주, 김남재, 김동현. : Anti-Helicobacter pylori Activity of Herbal Medicines. Biol. Pharm. Bull. 21, pp.990-992, 1998.
6. Ata, N; Oku, T; Hattori, M; Fujii, H; Nakajima, M; Saiki, I. : Inhibition by galloylglucose(GG6-10) of tumor invasion through extracellular matrix and gelatinase-mediated degradation of type IV collagens by metastatic tumor cells. Oncology Research, 8, pp.503-511, 1996.
7. 차배천,이승배,임태진,이광희,오배자의 항산화 활성성분과 자유라디칼 소거효과, 생약학회지, 31, pp.185-190, 2000.
8. Mosmann T. : Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assay, J Immunol Method, 65, pp.55-63, 1983.
9. Scudiero, D.A., Shoemaker, R.H., Paull, K.D., Monks, A., Tierney, S., Nofziger, T.H., Currens, M.J., Seniff, D., and Boyd, M.R. : Evaluation of a soluble tetrazolium/ formazan assay for cell growth and drug sensitivity in culture using human and other tumor cell lines, Cancer Res., 48, pp.4827-4833, 1988.
10. El-Fouly,M.H., Trosko,J.E. and Chang,C.C. : Scrape-loading

- and dye transfer: A rapid and simple technique to study gap junctional intercellular communication. *Exp. Cell Res.*, 168, pp.422-430, 1987.
11. O' Reilly, M. S., Holmgren, L., Chen, C., Rosental, R. A., Moses, M., Lane, W. S., Cao, Y., Sage, E., H., and Folkman, J. : Angiostatin: a novel angiogenesis inhibitor that mediate the suppression of metastases by a Lewis lung carcinoma. *Cell*, 79, pp.315-328, 1994.
 12. Koch, A. E., Halloran, M. M., Haskell, C. J., Shah, M. R., and Polverini, P. J. : Angiogenesis mediated by soluble forms E-selectin and vascular cell adhesion molecule-1. *Nature*, 376, pp.517-519, 1995.
 13. Grant, D. S., Kinsella, J. L., Fridman, R., Auerbach, B., Piasecki, A., Yamada, Y., Zain, M., and Kleinman, H. K. : Interaction of endothelial cells with a laminin A chain peptide(SIKVAV) in vitro and induction of angiogenic behavior in vivo. *J. Cell Physiol.* 13, pp.614-625, 1992.
 14. Saijo, R., Nonaka, G. and Nishioka, I. : Gallic acid esters of bergenin and norbergenin from *Mallotus japonicus*. *Phytochemistry*, 29, pp.267-270, 1990.
 15. Khanbabaee, K. and Lotzerich, K. : Efficient total synthesis of the natural products 2,3,4,6-tetra-O-galloyl-D- glucopyranose, 1,2,3,4,6-penta-O-galloyl- β -D-glucopyranose and the unnatural 1,2,3,4,6-penta-O-galloyl- α -D-glucopyranose. *Tetrahedron*, 53, pp.10725-10732, 1997.
 16. Upham, B.L., Kang, K.S., Cho, H.Y. and Trosko, J.E. : Hydrogen peroxide inhibits gap junctional intercellular communication in glutathione sufficient but not glutathione deficient cells. *Carcinogenesis*, 18, pp.37-42, 1997.
 17. Gimbrone MA., Cotran RS. and Folkman J. : Human vascular endothelial cells in culture : growth and DNA synthesis. *J Cell Biology*, 60, pp.673-684, 1974.
 18. Richards and McCullough : A modified microchamber method for chemotaxis and chemokinesis. *Immunological Communications*, 13, pp.49-62, 1984.