

## 橘葉散變方이 유방암 세포주 MCF-7 생장 억제에 미치는 영향

\*동신대학교 한의과대학 부인과학교실, \*\*동신대학교 한의과대학 본초학교실  
조현정\*, 양승정\*, 조성희\*, 조수인\*\*

### ABSTRACT

Anti-proliferation effect of *Gyulyupsanbyonbang* extracts on MCF-7 cells

Huyn-jung Jo\*, Seong-jung Yang\*, Seong-hee Cho\*, Su-in Cho\*\*

\*Department of OB & GY, Oriental Medical College, Dongshin University

\*\*Department of Herbology, Oriental Medical College, Dongshin University

**Purpose:** This investigation was undertaken to evaluate the anti-proliferation, in hexane, chloroform, ethyl acetate, butanol and water fraction from extract of *Gyulyupsanbyonbang*(GYSB) using MCF-7 human breast cancer cells.

**Methods:** GYSB was added to distilled water(1500ml) and was boiled then filtered. The residue was suspended in distilled water and extracted with hexane, chloroform, ethyl acetate, butanol and water. MCF-7 cells were cultured in RPMI1640 complex badge, NIH3T3 was cultered in 37°C, 5% moisture incubator of carbon dioxide with Dulbecco's Modified Eagle Medium(DMEM) supplemented with 10% fetal bovine serum and antibiotics. Cell cytotoxicity test about cancer cell was measured used MTT assay.

**Results:** When it synthesizes a result, hexane and butanol fraction had shown anti-proliferation effect and safety together, and those anti-proliferation effect operating selectively appeared. Ethyl acetate fraction had anti-proliferation effect however, it was not selective. The Chloroform and water soluble fraction did not almost appear anti-proliferation effect.

**Conclusion:** I can conclude that GYSB have anti-proliferation effect and safety together on MCF-7 cells. It suggest that GYSB may be useful for breast cancer patients.

**Key Words:** human breast cancer, MCF-7, *Gyulyupsanbyonbang*, anti-cancer, anti-proliferation.

## I. 緒 論

우리나라의 유방암 발생빈도는 2002년 약 16.8%로 여성암 발생빈도 1위를 차지하고 있으며, 1995년에 비하면 199% 가량 증가하여 갑상선암 다음으로 증가속도가 급격하게 빨라지고 있다<sup>1)</sup>. 또한 발병연령이 다른 나라에 비해 상대적으로 젊은 40대에 가장 높은 특징이 있다<sup>1-2)</sup>. 양방에서는 근치유방절제술, 수술 후 보조요법으로 화학요법, 방사선요법, 면역요법, 호르몬제 투여 등의 치료로 사망률은 감소하고 있으나<sup>3)</sup>, 유방 절제술이 여성에게는 정신적 후유증을 남기고 있어서 한의학적인 약물 치료방법이 필요한 실정이다.

유방암과 유사한 한의학적 질환으로 石癰<sup>4)</sup>, 乳巖<sup>5)</sup>, 奶巖<sup>6)</sup>, 番花奶<sup>7)</sup>, 姝巖<sup>8)</sup> 등이 있다. 증상으로 乳房腫塊, 不痛, 不痒, 不赤하고 或 內熱, 夜熱, 五心煩熱, 肢體倦瘦, 月經不調, 등이 나타나기도 하며<sup>5,9)</sup>, 病因으로 肝鬱氣滯<sup>5)</sup>, 憂怒抑鬱<sup>10)</sup>, 憂鬱傷肝<sup>11)</sup>, 思慮傷脾<sup>11)</sup> 등의 七情所傷과, 이것이 오래되어서 氣血損傷<sup>5)</sup>, 衝任失調<sup>5)</sup>되어 臟腑機能이 失調된 것으로 볼 수 있다. 治療로는 初期에 肝氣鬱結로 인한 때는 疏氣行血, 疏肝解鬱하는 治法을 이용하였고<sup>11)</sup>, 氣血虧損할 때에는 大補氣血하는 治法을 이용하였다<sup>5)</sup>.

橘葉散變方は 『丹溪心法』<sup>10)</sup>에 수록된 橘葉散의 變方으로 “治乳房結核及乳癰.”이라 하여 처음으로 기록되어 있으며, 『醫學正傳』<sup>6)</sup>에서는 奶巖을 치료하는 처방으로 활용되었다.

유방암에 대한 국내 연구 발표로는 서<sup>12)</sup>의 淸肝解鬱湯이 소염, 진통, 면역세포 및 유방암세포에 미치는 영향, 반<sup>13)</sup>의

歸朮破癥湯 추출물의 인간 유방암세포에 대한 성장억제 효과, 정<sup>14)</sup>의 活絡效靈丹 추출물의 인간 유방암세포 MCF-7에 대한 성장억제 효과 등이 있었으나 橘葉散變方에 관한 연구는 없었다. 이에 저자는 유방암 세포주 MCF-7에 대한 橘葉散變方の 핵산, 클로로포름, 에틸아세테이트, 부탄올 및 수용성 분획물의 세포 독성효과를 관찰하여 유의한 결과를 얻었기에 이에 보고하는 바이다.

## II. 材料 및 方法

### 1. 재 료

#### 1) 약 재

본 실험에서 사용한 橘葉散變方은 虞搏<sup>6)</sup>의 『醫學正傳』에 수록된 橘葉散에 근거하여 減하였으며, 본 실험에 사용된 약재는 동신대학교 광주한방병원 약제과에서 구입한 것을 정선하여 사용하였다. 한 침의 분량은 다음과 같다 (Table 1).

Table 1. Composition of Gyulyupsanbyonbang (GYSB)

韓藥名 (Herbal Name)	生藥名 (Scientific Name)	重 量 (Weight, g)
皂角刺	<i>Spina Gleditsiae</i>	6.0
瓜蒌仁	<i>Semen Trichosanthis</i>	4.0
青 皮	<i>Pericarpium Aurantii immatri</i>	2.0
石 膏	<i>Gypsum Fibrosum</i>	2.0
甘草節	<i>Radix Glycyrrhizae</i>	2.0
當 歸	<i>Radix Angelicae gigantis</i>	2.0
金銀花	<i>Flos Lonicerae</i>	2.0
沒 藥	<i>Myrrha</i>	2.0
蒲公英	<i>Herba Taraxaci</i>	2.0
Total Amount		24.0

2) 암 세포주 및 시약

본 실험에 사용된 세포주는 인간 유방암 세포주인 MCF-7을 이용하였고, 대조군으로 사용하기 위한 정상세포로는 NIH3T3를 사용하였다. MTT 등의 시약은 Sigma 제품(Sigma Chemical Co., USA)을 사용하였고, 세포 독성 측정을 위해서 microplate reader(Bio-Tek, USA)를 사용하였다.

2. 방 법

1) 열수 추출물 조제 및 분획물의 획득

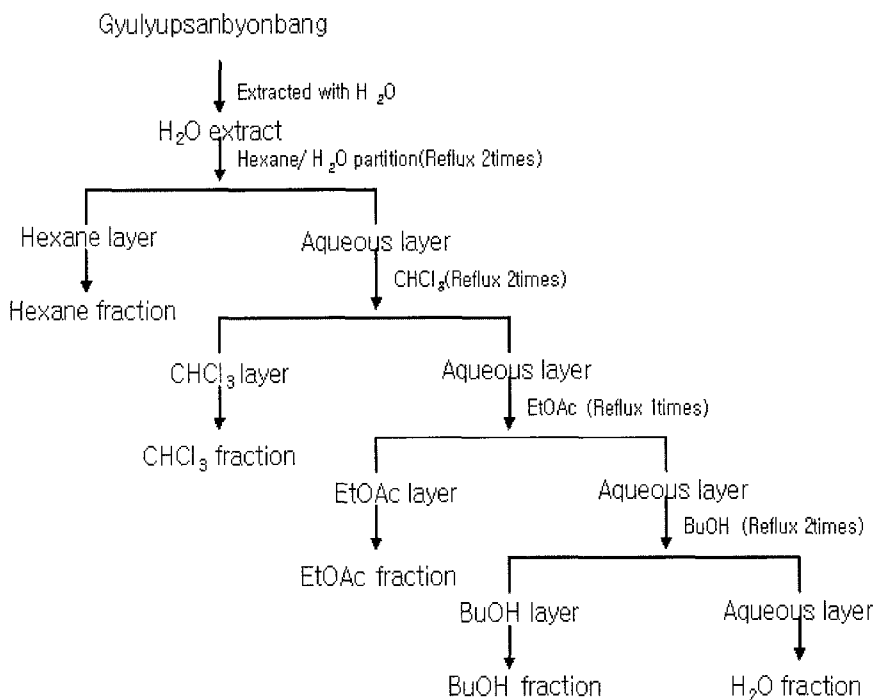


Fig. 1. Procedure of various solvent fraction from Gyulyupsanbyonbang.

2) 암세포에 대한 독성

(1) 암세포 배양

MCF-7의 배양은 RPMI1640 복합배지를, NIH3T3는 DMEM(Dulbecco's Modified Eagle Medium)을 이용하여 10% Fetal Bovine Serum와 항생제

독

2첩 분량에 해당하는 48 g에 1차 증류수 1500 ml 첨가하여 전기약탕기(DWP-99000T, 한국)로 120 분 전탕한 후 Whattman paper No. 1로 여과한 여과액을 건조기(비전과학, 한국)에서 건조하여 추출물 9.7 g을 얻었다. 이를 다시 Fig. 1과 같이 증류수에 현탁시킨 다음 hexan, 클로로포름, 에틸아세테이트, 부탄올 및 물 등의 용매로 분획하여 농축한 후 동결 건조하여 냉장 보관하면서 시료로 사용하였다.

(Antibiotic antimycotic)를 첨가하여 37°C, 5% CO<sub>2</sub>의 습윤화 된 incubator에서 적응시켜 배양하였다. 기타의 세포 배양법 및 독성 평가 방법은 기존의 방법<sup>15-24)</sup>에 준하여 사용하였다.

(2) 세포 독성 측정

암세포에 대한 세포 독성능 측정은 MTT 검정법으로 실험하였다. 암세포에 대한 세포독성능을 측정하기 위해 96 well flat bottom microtiter의 각 well에 logarithmic phase에 도달한 인체암세포와 정상세포를  $2\sim 4\times 10^4$  Cell/ml의 농도가 되도록 조절하여 96 well microplate에 세포부유액 90  $\mu$ l 씩 분주하고, 24 시간 동안 배양한 후 무처리구인 대조군과 세포 대신 배양액만을 넣어 blank로 하였다. 각각의 시료는 DMSO에 녹여 농도별로 첨가하여 3 일 배양한 후 모든 well에 MTT용액(5 mg/ml PBS) 10  $\mu$ l 씩을 가해주고 다시 37 $^{\circ}$ C, 5% CO<sub>2</sub>의 습윤 배양기에서 4 시간 30 분 더 배양함으로써 MTT가 환원되도록 하였다. 각 well에 생성된 formazan 결정을 DMSO 150  $\mu$ l로 잘 녹여서 Microplate Reader(Bio-rad, USA)를 이용하여 540 nm에서 흡광도 값을 측정하여 IC<sub>50</sub>(50% inhibitory concentration) 값을 산출하였다.

### 3. 통계처리

본 연구의 통계처리는 SPSS 10.0 for windows program을 사용하여 실시하였으며, Student-Newman-Keuls multiple range test를 이용하여 평균값의 유의성을 5 % 이내의 한계로 조사하였다.

## Ⅲ. 成 績

### 1. MCF-7에 대한 핵산 분획물의 세포 독성 효과

MCF-7에 대한 핵산의 세포 독성은 약 38.2  $\mu$ g/ml의 농도에서 IC<sub>50</sub> 값을 나타내

었는데 비해 NIH3T3의 독성 효과는 MCF-7에 비해 미약한 저해 효과를 보였으며 본 연구에 사용된 최대농도인 1000  $\mu$ g/ml에서도 IC<sub>50</sub>값을 구할 수 없었다(Fig. 2).

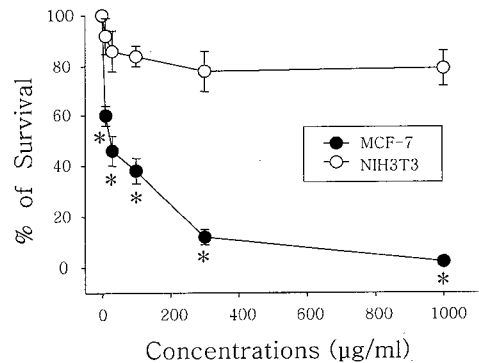


Fig. 2. The viability of cells was measured by MTT activities in n-Hexane fraction from water extract of GYSB on MCF-7 and NIH3T3.

\*, Statistically different(p<0.05) when compared with another group of same concentration.

### 2. MCF-7에 대한 클로로포름 분획물의 세포 독성 효과

클로로포름 분획물의 MCF-7에 대한 세포독성효과는 저농도에서부터 암세포 생존율이 60% 가량 나타나 사멸 효과가 높았으나 농도 증가에 따라 암세포 생존율이 약간 감소하는 것으로 나타났으며, NIH3T3에 대해서는 사멸률이 낮게 나타났다(Fig. 3)

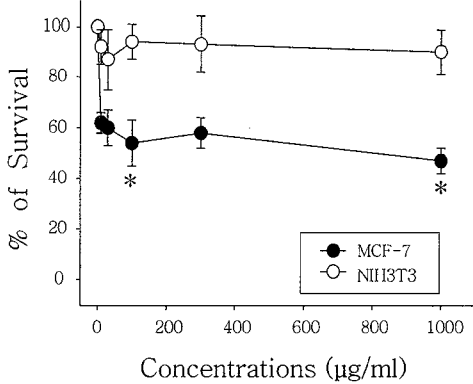


Fig. 3. The viability of cells was measured by MTT activities in chloroform fraction from water extract of GYSB on MCF-7 and NIH3T3. \*, Statistically different( $p < 0.05$ ) when compared with another group of same concentration.

### 3. MCF-7에 대한 에틸아세테이트 분획물의 세포 독성 효과

에틸아세테이트 분획물은 MCF-7에서  $IC_{50}$  값이  $42.7 \mu\text{g/ml}$ 로 비교적 암세포주 사멸률이 높았으나 NIH3T3에 대해서도  $IC_{50}$  값이  $223.2 \mu\text{g/ml}$ 으로 나타나 마찬가지로 세포 독성을 나타내었다(Fig. 4).

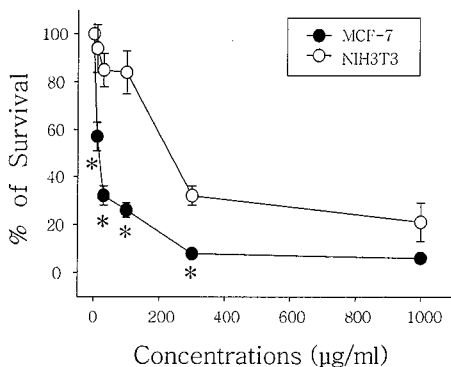


Fig. 4. The viability of cells was measured by MTT activities in ethyl acetate fraction from water extract of GYSB on MCF-7 and NIH3T3. \*, Statistically different( $p < 0.05$ ) when compared with another group of same concentration.

### 4. MCF-7에 대한 부탄올 분획물의 세포 독성 효과

부탄올 분획물에 대한 암세포의 독성 효과를 비교한 결과 MCF-7에서  $IC_{50}$  값이  $532.2 \mu\text{g/ml}$ 로 나타났다. 이에 비해 NIH3T3에 대해서는 최고 농도인  $1000 \mu\text{g/ml}$  이하의 농도에서  $IC_{50}$  값을 구할 수 없었다(Fig. 5).

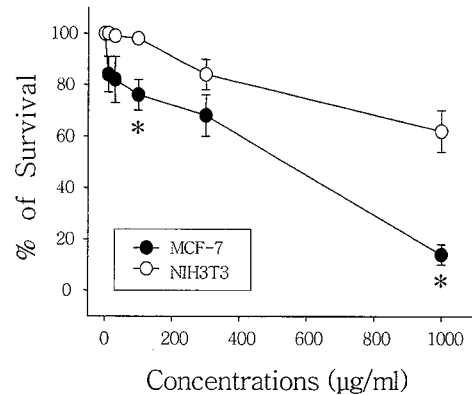


Fig. 5. The viability of cells was measured by MTT activities in butanol fraction from water extract of GYSB on MCF-7 and NIH3T3. \*, Statistically different( $p < 0.05$ ) when compared with another group of same concentration.

### 5. MCF-7에 대한 수용성 분획물의 세포 독성 효과

수용성 분획물이 MCF-7에서는 약한 사멸 효과를 나타내었으며 NIH3T3에 대해서는 사멸 효과를 전혀 나타내지 않았다(Fig. 6).

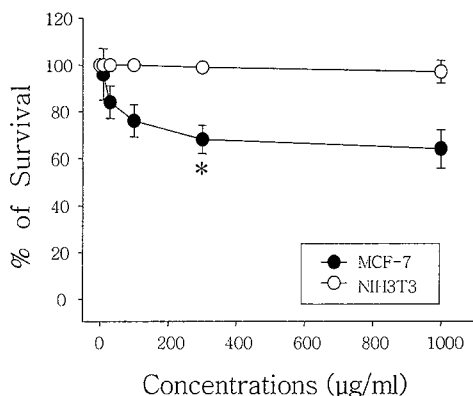


Fig. 6. The viability of cells was measured by MTT activities in water fraction from water extract of GYSB on MCF-7 and NIH3T3.

\*, Statistically different( $p < 0.05$ ) when compared with another group of same concentration.

#### 6. MCF-7에 대한 각 분획물에서의 IC50값

헥산, 클로로포름, 에틸아세테이트, 부탄올 및 수용성 분획의 IC<sub>50</sub>값은 Table 2와 같다. 즉, 항암 활성 및 안전성을 함께 나타내면서도 그 항암 활성이 선택적으로 작용하는 것은 헥산 분획으로 나타났다. 에틸아세테이트 분획은 항암 활성은 있으나 선택적이지 않은 것으로 생각된다. 클로로포름 및 수용성 분획에서는 항암 활성이 거의 나타나지 않았다 (Table 2).

Table. 2. The Cytotoxicity effects of various fraction from GYSE on MCF-7.

Fractions	IC <sub>50</sub> <sup>1)</sup> (µg/mL)	
	MCF-7 <sup>2)</sup>	NIH3T3 <sup>3)</sup>
Hexane	38.2	≥ 1000
CHCl <sub>3</sub>	≥ 1000	≥ 1000
EtOAc	42.7	223.2
BuOH	532.2	≥ 1000
H <sub>2</sub> O	≥ 1000	≥ 1000

Data were presented as means±SD (n=3).

1) Extract concentrations which inhibit 50% growth of the cells; 2) human breast adenocarcinoma pleural effusion; 3) murine fibroblast.

## IV. 考 察

유방암은 미국을 비롯한 서구 국가에서 여성의 가장 흔한 암으로 보고되고 있고<sup>3)</sup>, 한국여성의 유방암 발생비율도 뚜렷한 증가 추세를 보이고 있다<sup>1)</sup>. 보건복지부 통계에 따르면 위암을 추월하여 2002년 16.8%의 발생빈도를 보여 한국인 여성에게 발생하는 암 1위를 차지하고 있으며<sup>1)</sup>, 상피내암을 포함하여 여자 10만 명당 유방암 발생빈도는 1996년 16.7명에서 2002년 31.4명으로 6년 동안 발병률이 두 배나 증가하였다<sup>25)</sup>. 또한, 서구의 보고에서는 발병연령이 60~70대인 것에 비하여 우리나라 여성의 경우는 40~50대에 다발하고 있고, 35세 미만의 젊은 여성 환자의 비율도 더 높은 것으로 보고되고 있다<sup>1-2)</sup>. 젊은 여성의 유방암은 폐경기전 환자에 비하여 생물학적 악성도가 높고, 좀 더 침윤적이며, 예후가 더 나쁜 것으로 알려져 있어 문제가 되고 있다<sup>26-27)</sup>. 유방암의 위험인자로는 나이, 성별, 유전적 인자, 개인의 병력, 에스트로겐 노출, 호르몬 요법의 시행 등이 있다. 또한 과거에 유방암을 앓았던 경우나 초경이 일찍 시작한 여성이나 폐경이 늦은 여성 및 미만여성들은 고농도의 에스트로겐에 장기간 노출되어 유방암의 발생이 더욱 증가하는 것으로 알려져 있다.<sup>28)</sup> 증상으로 유방 종괴, 유두 분비, 피부함몰이나 액와림프선종, 염종 등이 있고<sup>29)</sup>, 치료법으로 근치유방절제

술, 수술 후 보조요법으로 화학요법, 방사선요법, 면역 요법, 호르몬제 투여 등의 치료를 하고 있으며, 최근에는 유방을 최대한 보존하기 위하여 유방보존술식을 하고 있지만 아직은 초기 단계이다<sup>3)</sup>.

한의학적 질환으로는 石癰<sup>4)</sup>, 乳巖<sup>5)</sup>, 奶巖<sup>6)</sup>, 番花奶<sup>7)</sup>, 妳巖<sup>8)</sup> 등과 유사한데 고대문헌을 살펴보면, 『婦人良方大全』<sup>5)</sup>에서 “初起內結小核, … 血水滴瀝”라고 하여 초기에는 작은 핵이나 자라새끼, 바둑알만한 멍울이 맺혀있는데 붉지도 않고 아프지도 않다. 세월이 지나면서 점차 커져 바위와 같은 것이 무너져서 익은 석류와 같이 되거나, 안쪽이 깨양되어 깊은 동굴같고 혈액이 흘러나오기도 한다고 설명하여 현대의학의 증상과 비슷한 것을 볼 수 있다. 病因은 주로 肝鬱氣滯<sup>5)</sup>, 憂怒抑鬱<sup>10)</sup>, 憂鬱傷肝<sup>11)</sup>, 思慮傷脾<sup>11)</sup> 등의 七情所傷과, 이것이 오래되어서 氣血損傷, 衝任失調<sup>5)</sup>되어 臟腑機能이 失調된 것으로 나눌 수 있다. 治療는 초기에 肝氣鬱結로 인한 때는 疏氣行血, 疏肝解鬱하는 治法을 이용하였고<sup>11)</sup>, 오래되어 氣血虧損할 때에는 大補氣血하는 治法을 이용하였다<sup>5)</sup>.

橘葉散은 『丹溪心法』<sup>10)</sup>에 처음 수록된 處方으로 “… 忿怒所逆, 鬱悶所遏, 厚味所釀, … 必成癰癤, 治法 疏厥陰之體 以青皮 …”라 하여 忿怒나 鬱悶이 막히거나, 膏梁厚味 등을 과다 섭취하여 열이 심하여 곱게 된 경우나, 乳兒가 젖을 문 채로 잠을 자서 뜨거운 기운으로 멍울이 생겨서 심하면 곱는 경우 즉, 乳癰에 쓰는 치법을 제시하였는데, 厥陰經의 滯를 疏通하는 青皮와 陽明經의 熱을 淸하는 石膏, 汚濁한 血을 行하게 하는

甘草節, 消腫하고 毒을 제거하는 瓜蒌仁에 沒藥, 青橘葉, 皂角刺, 金銀花, 當歸를 加하여 湯이나 散으로 만들어 복용하고 하였다. 이 책에는 處方內容만 수록되어 있으며, 處方이름과 用量은 제시되어 있지 않았고, 주로 乳癰에 쓰며 妳岩은 치료하기 힘들다라고 하였다. 『醫學正傳』<sup>6)</sup>에 같은 處方內容으로 橘葉散이 제시되었는데 『丹溪心法』의 내용이 인용되어 있으나, 乳癰 뿐만 아니라 “奶岩始有核 … 初便宜多服疏氣行血之藥 …”이라 하여 奶岩의 증상을 설명하고 처음에는 疏氣行血시키는 약을 복용한다고 하면서 處方으로 橘葉散을 제시하였다. 處方構成은 『丹溪心法』과 같으며, 각각의 용량도 제시하였다. 그 뒤 『東醫寶鑑』<sup>8)</sup>에 『醫學正傳』을 인용하여 ‘結核久成妳巖’이라고 하여 橘葉散이 수록되어 있다.

橘葉散을 구성하는 藥物의 效能을 살펴보면, 皂角刺는 消腫排膿의 효능으로 癰疽初起에 未成된 것은 능히 消하고 이미 潰瘍을 일으킨 것은 潰爛시켜 外科에 常用하는 要藥이며, 瓜蒌仁은 潤肺化痰, 散結消癰의 효능으로 乳癰의 初期, 또는 未成膿에 의한 腫痛 등의 病症을 治療하는데 쓰인다. 蒲公英은 淸熱解毒, 消腫散結, 疏鬱通乳作用을 겸하고 있어서 乳癰 初期에 아직 膿이 형성되지 않은 쯤에게 유용하며, 單方으로도 쓰이며, 癰腫疔瘡을 치료하는 金銀花는 性이 寒涼하여 熱毒瘡癰을 治療하는 要藥으로 乳巖초기에 紅腫熱痛하고 膿未成者를 치료한다. 青皮는 疏肝破氣의 효능으로 肝膽消暢, 肝氣鬱滯로 인한 脇肋瘡痛, 乳房脹痛을 치료하며, 青橘葉은 胸中의 氣를 내리고 行肝氣한다. 石膏는 煨하면 收斂作用을

가지게 되며, 甘草는 淸熱解毒의 효능으로 癰疽瘡腫에 內服이나 外用으로 쓰일 수 있으나, 특히 甘草節은 癰疽腫毒을 치료한다. 유방암에 多用하는 약물 중의 하나인 當歸는 心, 肝에 작용하여 補血의 要藥이 되는데 肝經鬱火를 제거하고 產前產後의 諸病, 婦人科 疾患을 두루 다스리며, 沒藥은 消腫生肌의 효능으로 外科 질환에 쓰인다<sup>8,30,31)</sup>. 종합하면 橘葉散變方은 젊은 여성의 乳癰이나, 乳巖初期에 疏肝解鬱, 疏氣行血, 淸熱解毒시키는 治法으로 사용해야 할 것으로 사료된다.

본 실험에서 사용한 橘葉散變方은 橘葉散 本方에서 靑橘葉을 제외하였는데, 靑橘葉이 고대에는 사용 되었으나 현재는 거의 유통되지 않아서 구하기 어려운 점이 있었고, 本方에 있는 靑皮와 效能이 거의 흡사하여 靑皮 단독으로도 효과가 나타나리라 사료되었기 때문이다. 또한 『東醫寶鑑』<sup>3)</sup> 脚氣門의 杉節湯에 “... 靑橘葉四十九片, 無則用皮”라고 하여 靑橘葉이 없을 때 靑皮를 이용한 사례를 찾아 볼 수 있었으며, 고대의 처방을 사용할 때 구하기 어려운 약재를 제외한 方劑構成만으로도 임상에서 응용되어짐을 감안하였다.

현재까지 다양한 암치료법이 발전했음에도 현대사회에서 유방암을 비롯한 암환자는 빠르게 증가하는 한편, 암으로 인한 사망률은 늘어가고만 있다. 따라서 암에 대한 예방이 중요할 뿐만 아니라, 새로운 치료법을 연구하는 일이 더욱더 필요하다고 사료되며, 여성에게 발생하는 암 중 1위인 유방암에 대한 연구는 절실히 요구된다. 최근 들어 많은 한약들의 항암효과가 연구되고 있는데 서<sup>14)</sup>

의 연구에서 淸肝解鬱湯이 소염, 진통 효과가 있으며 MCF-7에 대하여 고농도에서 세포 증식을 억제하는 효과가 있음이 입증되었고, 반<sup>13)</sup>은 歸朮破癥湯을 연구하였는데 실험결과 유방암 세포에 대한 억제효과가 있으며 그것은 시간과 양에 따라 증가함을 밝혔다. 현<sup>32)</sup>의 논문에서는 3-MD로 유발된 생쥐의 유방암 세포에 대해 加味雙和湯을 투여하여 생쥐의 유방암생성이 억제됨이 밝혀졌다. 그러나 橘葉散變方에 대한 효과는 아직 연구된 바가 없었다. 이에 저자는 橘葉散變方을 靑皮, 靑橘葉, 에틸아세테이트, 부탄올 및 물로 추출한 후 인간 유방암 세포주 중 하나인 MCF-7에 대한 세포독성효과를 관찰하였다.

본 실험에 사용된 세포주는 MCF-7을 이용하였고, 대조군으로 NIH3T3을 사용하였다. MCF-7의 배양은 RPMI1640 복합배지를, NIH3T3는 DMEM을 이용하여 10% Fetal Bovine Serum과 항생제를 첨가하여 37°C, 5% CO<sub>2</sub>의 습윤화 된 incubator에서 적응시켜 배양하였다. 橘葉散變方은 2첩 분량에 1차 증류수 1500 ml를 첨가하여 진탕한 후 여과하여 건조한 뒤 Fig. 1과 같이 증류수에 현탁시킨 다음 靑皮, 靑橘葉, 에틸아세테이트, 부탄올 및 수용성 용매로 분획하여 농축한 후 동결 건조하여 냉장 보관하면서 시료로 사용하였다.

본 실험에서 사용한 橘葉散變方은 MCF-7에 대하여 靑皮, 靑橘葉, 에틸아세테이트, 부탄올 분획물에서 강력한 세포독성효과가 있는 것으로 파악되었고, NIH3T3에 대해서는 靑皮, 靑橘葉, 靑皮, 부탄올, 수용성 분획물에서 안전성이 높은 것으로 나타나 유방암 초기에



항암치료하는 處方으로 이용할 수 있을 것으로 생각된다. 특히, 헥산과 에틸아세테이트 분획물은 낮은 농도에서도 암세포의 성장억제에 큰 효과가 있었으며, 부탄올 분획물은 농도에 따라 성장억제 효과가 점차 증가하였다. 클로로포름 분획물은 농도에 따라서는 큰 변화가 없었지만, 다른 분획물에 비해 보다 낮은 농도에서 암세포의 사멸율이 높은 것으로 나타났다. NIH3T3에 대해서는 단지, 에틸아세테이트 분획물에서만 세포독성 효과가 나타났고, 헥산, 클로로포름, 부탄올, 수용성 분획물에서는 독성이 거의 없는 것으로 나타나 정상세포에서는 안전성이 큰 것으로 생각된다.

이상의 실험결과에서 橘葉散變方 추출물은 MCF-7의 성장억제에 유효한 효과가 있으며 정상세포에는 거의 세포독성을 나타내지 않아서 선택적으로 작용하는 것으로 파악되었다. 그러나 橘葉散變方 추출물의 생화학적 성분이나 주 효능 인자들이 아직 밝혀지지 않았으며 어떠한 기전으로 성장억제를 일으켜서 항암 효과가 있는가에 대한 연구가 부족한 것으로 여겨진다. 또한 이러한 세포연구 뿐만 아니라 앞으로 임상에 적용시키기 위한 연구가 이루어져야 할 것으로 보이며, 여타의 유방암 세포주를 대상으로 한 지속적인 연구가 필요할 것으로 생각된다.

## V. 結 論

유방암 세포주 MCF-7에 대한 橘葉散變方の 헥산, 클로로포름, 에틸아세테이트, 부탄올 및 수용성 분획물의 세포독

성효과를 관찰하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. 橘葉散變方 추출물 헥산 분획물은 MCF-7에 대하여 세포독성효과를 나타내었고, NIH3T3의 세포독성 효과는 미약하였다.
2. 橘葉散變方 추출물 클로로포름 분획물의 MCF-7에 대한 세포독성효과는 저농도에서 효과가 높았으나 농도 증가에 따라서는 커다란 변화는 없는 것으로 관찰되었고, NIH3T3에 대해서는 사멸율이 낮게 나타났다.
3. 橘葉散變方 추출물의 에틸아세테이트 분획물은 MCF-7에 대해 비교적 사멸율이 높았으나 NIH3T3에 대해서도 세포 독성을 나타내었다.
4. 橘葉散變方 추출물의 부탄올 분획물에 대한 암세포의 독성효과를 비교한 결과 MCF-7에서는 효과가 있었으나, NIH3T3에 대해서는 사멸효과를 나타내지 않았다.
5. 橘葉散變方 추출물의 수용성 분획물은 MCF-7에서는 약한 사멸 효과를 나타내었으며 NIH3T3에 대해서는 사멸 효과를 전혀 나타내지 않았다.

□ 투 고 일 : 2007년 01월 25일

□ 심 사 일 : 2007년 02월 01일

□ 심사완료일 : 2007년 02월 06일

## 參 考 文 獻

1. 보건복지부 한국암등록본부. 한국중앙암등록사업 연례 보고서. 2003.
2. 손병호 등. 유방암 수술 2,000예의 임상적 분석. 한국유방암학회. 2001;4:43-9

3. 대한부인종양. 콜포스코피학회 부인종양학. 서울: 도서출판 칼빈서적. 1996: 427-462
4. 巢元方. 巢氏諸病源候論. 서울: 大星文化社. 1992:296
5. 陳自明. 婦人良方大全. 서울: 도서출판 정담. 1993:卷24 72
6. 虞搏. 醫學正傳. 서울: 圖書出版成輔社. 1986:310
7. 朱櫛. 普濟方(歷代中醫腫瘤案論選粹). 北京: 北京出版社. 1988:1-3
8. 許浚. 東醫寶鑑. 서울: 법인문화사. 1999:691, 783, 1885
9. 張介賓. 景岳全書. 上海: 上海科學技術出版社. 1984:679
10. 朱震亨. 丹溪心法附餘. 서울: 大星文化社. 1993:585
11. 陳實功. 外科正宗. 北京: 人民衛生出版社. 1964:144-145
12. 서정민 등. 淸肝解鬱湯이 소염, 진통, 면역세포 및 유방암 세포에 미치는 영향. 대한한방부인과학회지. 1997;10(2):69-83
13. 반혜란 등. 歸朮破癥湯 추출물의 인간 유방암세포에 대한 성장억제 효과. 대한한방부인과학회지. 2006;19(1):155-65
14. 정지예 등. 活絡效靈丹 추출물의 인간 유방암세포 MCF-7에 대한 성장억제 효과. 대한한방부인과학회지. 2006;19(3):13-24
15. Chung, H.K. at al. The activity of antioxidants and suppression of cancer cell proliferation in extracts of *Orostachys japonicus* A. Berger. Kor.J. Med. Crop Sci. 2003;11(1):31-39
16. Yim, H.B. Lee, G.S. and Chae, H.J. Cytotoxicity of Ethanol Extract of *Raphanuse Sativus* on a Human Lung Cancer Cell Line. Kor. J. Soc. Food. sci. 2004;33(2):287-290.
17. Cha, Y.J. and Lee, S.Y. Cytotoxicity and Multidrug-Resistance Reversing Activity of Extracts from Gamma-Irradiated *Coix lachryma-jobi* L. Var. *ma-yuen* Stapf seed. Kor. J. Soc. Food. sci. 2005;34(5):613-618.
18. Kwag, J.S. and Baek, S.H. Cytotoxicity and Antimicrobial Effects of Extracts from *Salvia miltiorrhiza*. Kor. J. Pha. 2003;34(4):293-296.
19. Lee, M.K., at al. Enhanced Immune Activity and Cytotoxicity of *Artemisia capillaris* Thunb. Extracts against Human Cell Line. Kor.J. Med. Crop. Sci. 2004;12(1):36-42.
20. Robert, K.Y. Cheng, Y.Z. and Cheng, C.C. Screening and evaluation of anticancer agents. Exptl. Clin. Pharmacol.1998;10(2):67.
21. Jun, Y.Y., at al. Antimutagenic and Cytotoxicity Effects of Extracts of *Eleutherococcus senticosus* Maxim fruits. Kor. J. Food. Pha. 2003;10(3):394-400.
22. Kim, J.H., at al. Anticancer and Immune Activities of the Extracts from *Amorpha fruticosa* L. Kor. J. Med. Crop. Sci. 2005;13(1):41-47.
23. Jung, B.M., at al. Inhibitory Effects on Cell Survival and Quinone Reductase Induced Activity of *Aster yomena* Fractions on Human Cancer Cells. J. Kor. Soc. Food.

- Sci. 2005;34(1):8-12.
24. Shin, M.K., et al. Cytotoxicity and Antimicrobial Effect of the Extract of *Salvia plebeia*. 2001
25. 윤호성. 2002년 한국인 유방암의 전국적인 조사자료 분석. 한국유방암학회지. 2004;7:p72-83
26. 고석환. 젊은 여성의 유방암. 경희의학 2005;21(1):31-6
27. 김석원 등. 유방암의 예후인자로서 젊은 연령에 대한 고찰. 대한외과학회지. 2003;64(1):20-7
28. 구병삼 등. 임상 부인과 내분비학 제 2판. 서울: 고려의학. 2001:p.288-99
29. 대한산부인과학회. 부인과학 제3판. 서울: 칼빈서적. 1997:1299-301
30. 전국한의과대학 본초학교수 공편저. 본초학. 서울: 도서출판 영림사. 2000:160-1, 198-9, 201-2, 349-50, 412-3, 440-1, 461-3, 540-1, 578-9.
31. 신민교. 임상본초학. 서울. 도서출판 영림사. 2000:172-5, 236-9, 365-7, 371-2, 411-2, 445-7, 470-2, 560-2, 721-2.
32. 현동환 등. 加味雙和湯의 유방암 발생 및 전이 억제에 대한 실험적 연구. 대한동의병리학회지. 1997;11(2):108-12