

CT-26 세포 암 유발 마우스에서 Gallic acid의 항암 효과

이정희¹, 최화정¹, 김범호^{2*}

¹광주여자대학교 미용과학과, ²남서울대학교 복지경영대학원 대체치유학과

Anti-Cancer Effect of Gallic Acid in CT-26 Cells Inoculated Cancer Bearing Balb/C Mice

Jung Hee Lee¹, Hwa-Jung Choi¹ and Pom-Ho Kim^{2*}

¹Department of Beauty Science, Gwangju Women's University

²Department of Alternative Medicine of Graduate School of Welfare & Management, Namseoul University

요약 본 연구에서 목단피로부터 분리한 gallic acid(GA)의 항암 활성을 평가하였다. 목단피로부터 GA는 스펙트로 분석법(ESI-MS, ¹H-NMR, and ¹³C-NMR)에 의해 구조를 밝혔으며, 항암활성은 마우스에 결장암을 유도시킨 후 하루에 한번 gallic acid(GA: 20, 100 mg/kg p.o)을 14일 동안 투여 한 후 암세포 크기를 측정하였다. 또한 GA투여 후 체중변화, 급성독성, 간과 비장의 무게 변화와 간의 생화학적 지표를 측정하였다. 결과로써 GA 처리군의 경우 체중 변화 및 급성 독성 없이 항암제 처리군과 비슷하게 암의 크기가 유의적으로 감소하였다(p<0.05). 또한 암의 유도에 의해 증가된 간과 비장의 무게 및 GSH, ALT, AST는 GA 처리에 의해 유의적으로 감소하였으며, 암의 유도에 의해 감소된 GSH는 GA 투여에 의해 유의적으로 증가하였다(p<0.05). 이상의 연구 결과를 통해 GA는 항암제 개발을 위한 후보군으로 활용 가능하리라 사료된다.

Abstract This study examined the anti-cancer activity of gallic acid(GA) isolated from *P. suffruticosa*. was analyzed by ESI-MS, ¹H-NMR, and ¹³C-NMR. The anti-cancer activity was evaluated by measuring the cancer size in CT-26 cancer-allograft mice treated with GA(100 mg/kg p.o) for 14 days. The change in body weight, acute toxicity, weight change of the liver and spleen and biomaker of the liver were evaluated in the mice after the GA treatment. As a result, the cancer size of the CT-26 cancer-allograft mice treated with GA decreased significantly compared to that of the cancer mice without significant changes in weight loss (p<0.05) and acute toxicity. The weight of the liver and spleen and ALT, AST and LPO levels increased by cancer were decreased significantly after the GA treatment, and the GSH levels decreased by cancer were increased significantly with the GA treatment (p<0.05). Therefore, GA could be an attractive lead for the development of anticancer agents.

Key Words : Anticancer agents, Biochemical markers, Gallic acid, Mice, Paeonia suffruticosa.

1. 서론

암은 유전인자, 환경인자 등과 같은 매우다양한 요인에 의해 발현되며, 최근까지 암의 발생 빈도나 사망률 역시 증가 추세를 나타내고 있다[1]. 우리나라에서도 산업 및 경제의 발달로 인하여 식습관과 환경오염에 의해 유발되는 암의 사망률이 증가하고 있다[2].

현재 암은 수술, 약물요법, 방사선에 의해 치료되고 있으며 약물 중에서 5-fluorouracil(5-FU)은 물에 용해되는 피리미딘 유도체로써 가장 널리 사용되는 제제이다[3]. 5-FU는 간, 위, 결장, 췌장, 유방암과 같은 다양한 고형암 치료에 가장 널리 사용되는 항암제로써 10-20분의 플라즈마 반감기를 가지며 혈액을 순환하면서 빠르게 흡수되는 특성이 있다[4]. 그러나 이러한 짧은 반감기 때문에 높

*Corresponding Author : Pom-Ho Kim(Namseoul Univ.)

Tel: +82-41-580-2309 email: phkim@nsu.ac.kr

Received June 16, 2014

Revised July 23, 2014

Accepted October 10, 2014

은 용량을 복용하여 뼈 골수침하, 위장관 반응, 백혈구 감소, 혈구 감소증과 같은 다양한 부작용을 유발한다[5]. 따라서 이러한 부작용에 대한 문제점을 해결하기 위한 새로운 항암제 개발에 대한 요구가 증가되고 있다.

목단피(*Moutan Cortex Radicis*)는 미나리아재비과(Ranunculaceae)에 속하며 모란(*Paeonia suffruticosa* Andrews)의 근피를 건조한 것으로 paeonol, paeoniflorin, paeonoside, paeonollide, apiopaeonoside, oxypaeoniflorin, benzoyloxypaeoniflorin, benzoylpaeoniflorin, paeoniflorigenone, benzoic acid, resacetophenone, β -sitosterol, betulinic acid, oleanolic acid, quercetin, β -sitosterol, betulinic acid, β -sitosterol- β -D-glucoside, trans-caffeic acid stearylester, mudanpinic acid A, mudanoside B 등의 다양한 화합물을 함유하고 있다[6]. 이러한 화합물 중에서 paeonol, paeoniflorin, glycoside, pentagalloyl-glucose가 주요한 생리활성 성분으로 알려져 있으며, 약리적 실험연구로는 목단피(牡丹皮) 메탄올 추출물과 에틸아세테이트 분획물의 항균효과, 메탄올 추출물의 혈당강하효과, 사람의 내피세포로부터 eotaxin 분비 억제효과, 아밀로이드 베타에 의해 유도된 신경세포 독성에 대한 억제효과가 보고되어 있다[7-12].

한편 gallic acid(GA)와 그 유도체들은 다양한 암세포에서 높은 항암활성을 나타내었다[13-15]. GA는 사람 전골수구백혈(promyelocytic leukemia) HL-60세포에서 apoptosis를 유도한다고 보고하였고, 사람 leukemia 63(HK-63)세포에서 세포독성을 나타낸다고 보고하였다[16,17]. 그러나 마우스 결장암 세포주인 CT-26에 대한 목단피의 GA를 이용한 항암활성에 관한 연구는 보고된 바 없다.

따라서 본 연구에서 목단피로부터 분리한 GA가 마우스 결장암 세포주에서 항암활성 효과와 그 작용기전을 조사하기 위하여 항암 세포에서의 세포독성과 암이 유도된 마우스에서 암 용적과 체중 변화, 급성독성, 간의 생화학적 지표, 간과 비장의 무게변화를 조사하였다.

2. 재료 및 방법

2.1 실험약재 및 시약

본 실험에 사용된 한약재 목단피는 전남 강진에서 생산된 제품을 서울의 보은한약건재약업사에서 구입하여

정선된 것을 사용하였다. 5-Fluorouracil(5-FU)은 일동 제약(Ildong Pharmaceutical, Seocho-Gu, Seoul, Korea)에서 구매하였다.

2.2 실험동물

실험동물은 마우스 6주령 암컷 Balb/c 100 마리를 중앙실험동물(Central Laboratory Animal, Seoul, Korea)에서 구매하였다. 마우스들은 표준화된 상태(온도 22±1°C, 습도 55±1%)에서 유지하였으며, 한국생명공학연구원 동물보호위원회의 규정에 의해 연구하였다.

2.3 약재 추출과 분리

분쇄한 목단피 1 kg을 70% 에탄올 2 L에 침지하여 실온에서 3일에 한 번씩 2회 추출하여 여과한 후 감압 농축하여 에탄올 추출물 75 g을 얻었다. 이것을 hexane, ethyl acetate, butanol 순으로 분획하여 각 분획물 11 g, 25 g, 19 g을 얻었다. 목단피 에탄올 추출물 및 이들 용매 분획물의 항산화활성을 검색한 결과 butanol 분획물은 IC₅₀ 값이 13 µg/mL로써 강한 DPPH radical 소거활성을 나타내어 이 butanol분획물을 메탄올-물 [MeOH-water(0:1 →1:0)]을 이동상으로 하여 YMC gel column chromatography를 실시하여 8개의 소분획(Fr. 1- Fr. 8)을 얻었다. 각각의 소분획에 대하여 DPPH radical 소거활성을 검색한 결과, Fr. 2 분획(3.8 g)이 50 µg/mL의 농도에서 50%이상 강한 radical 소거활성을 나타내었으므로, 이것을 클로로포름-메탄올-물 [CHCl₃-MeOH-H₂O (70:30:5)]로 silicagel column chromatography하여 5개의 소분획(Fr. 2-1- Fr. 2-5)을 얻었고, 이중 Fr. 2-3(1.9 g)에 대하여 prep. HPLC [column: YMC-Pack ODS-A(20*250 mm, YMC), mobile phase: CH₃CN-H₂O(20:80), flow rate: 3 ml/min, 254 nm]를 실시하여 다시 2개의 분획(Fr. 2-3-1 and Fr.2-3-2)으로 나누었다. Fr. 2-3-1(0.8 g)을 이동상 10% 아세토나이트릴(CH₃CN)로 prep. HPLC [column: YMC-Pack ODS-A(20 × 250 mm, YMC), mobile phase: CH₃CN-H₂O (10:90), flow rate: 3 mL/min, 254 nm]를 실시하여 분리한 결과, tR이 12.42분 정도에 나타나는 백색의 무정형 분말 0.046 g을 얻었다.

2.4 암 용적 및 체중 측정

90마리의 마우스에 결장암을 유도하기 위해서 2 × 10⁶ CT-26세포를 200 µL PBS에 부유시켜 옆구리에 주입시

킨 후 14일에 같은 크기의 암세포가 유도된 마우스들을 선별하여 각 그룹당 10마리씩 4그룹과 정상 마우스 1그룹 총 5그룹으로 나누었다(Table 1).

GA와 5-FU는 하루에 1회 정해진 시간에 투여하였고, 실험은 14일 동안 진행되었다. 실험 기간 동안 2일에 1번씩 체중과 암의 용적을 측정하였다. 암의 용적은 Alessandria G. 등이 이용한 방법인 caliper를 사용하여 측정하였으며, 다음 공식에 따라 계산하였다[18].

$$\text{암의 용적 (mm}^3\text{)} = \text{길이} \times \text{너비}^2 \times 0.5$$

[Table 1] Group of mice treated with gallic acid

Group	Administration
I	Normal control
II	Negative control
III	5-fluorouracil(20 mg/kg i.p.)
IV	Gallic acid(20 mg/kg p.o.)
V	Gallic acid(100 mg/kg p.o.)

2.5 급성 독성 측정

세포독성은 GA의 급성 독성 연구는 Aravind SR. 등의 방법에 의해 수행하였다[19]. 즉, PBS에 용해된 GA를 500 mg/kg, 2,000 mg/kg을 5마리 마우스에 투여한 후 마우스의 행동 변화 및 무게에 대한 관찰은 10분, 30분, 60분, 120분, 4시간, 6시간, 24시간 간격으로 관찰하여 기록하였다. 실험 종료 후 마우스의 사망률을 기록하였으며, LD₅₀은 고려되어졌다.

2.6 간과 비장 무게 측정

항암제 및 GA 투여에 의한 마우스의 간과 비장 무게 변화에 대한 영향을 살펴보기 위해서 실험 종료 후 마우스로부터 간과 비장의 무게를 측정하였다.

2.7 생화학적 지표 평가

GA 투여에 의한 마우스 간의 생화학적 지표인 alanine aminotransferase(ALT), aspartate aminotransferase(AST), lipid peroxidation(LPO), glutathione(GSH)는 실험종료 후에 평가되어졌다.

LPO는 Ohkawa의 방법에 따라 thioarbituric acid 반응에 의해 측정하였다[20]. 간 homogenate는 thioarbituric acid 용액 [SDS(8.1%, 0.2 mL), thioarbituric acid(0.67%,

1.5 mL), acetic acid(pH 3.5, 1.5 mL), water(0.6 mL)]에 넣은 후 95°C에서 1시간 반응시킨 다음 실온에서 방치하며 온도를 내렸다. 이어서 n-butanol 5 mL을 첨가하여 10분 동안 4,000 revolutions per minute(rpm)에서 원심분리하고, organic layer의 흡광도는 532 nm에서 측정하였다. 표준물질로 Tetraethoxypropane를 사용하였다.

간의 GSH는 효소 재순환 방법(enzymatic recycling method)에 의해 평가하였다[21]. 즉, 간은 HClO₄(1 mol, 8 mL include 2 mmol EDTA)에서 polytron에 의해 분쇄하였다. 그 homogenate는 5,000 revolutions per minute (rpm)에서 5분 동안 원심분리 한 후 그 상등액을 분리하였다. 그리고, Semi-microcuvette에 phosphate buffer (phosphate 0.125 mmol, EDTA 6.3 mmol, pH 7.5), NADPH (0.3 mmol, 0.7 mL), 5,5'-dithio-bis-(2-nitrobenzoic acid)(6 mmol, 0.1 mL)을 넣고 혼합한 뒤 실온에서 4분 방치하였다. glutathione reductase (50 units/mL)을 첨가한 후 412 nm에서 측정하였다.

혈청 AST와 ALT는 Reitman과 Frankel (1957)의 방법에 의해 측정하였다[22]. 혈청과 기질 반응액을 첨가하여 37°C에서 1시간 반응시킨 후 2,4-DNPH를 첨가하여 실온에서 20분 반응시킨 다음 NaOH 용액을 넣어 30분 정치시킨 후 520 nm에서 흡광도를 측정하였다.

2.8 통계 처리

모든 결과 값은 세 번의 독립적인 실험에 의해 얻어진 값들의 평균 ± 표준편차로 나타내었다. 대조군과 실험군 사이의 통계학적 유의성 검정은 Tukey test를 사용하면 ANOVA검정을 적용하였으며, p<0.05 수준에서 유의성 검정을 실시하였다.

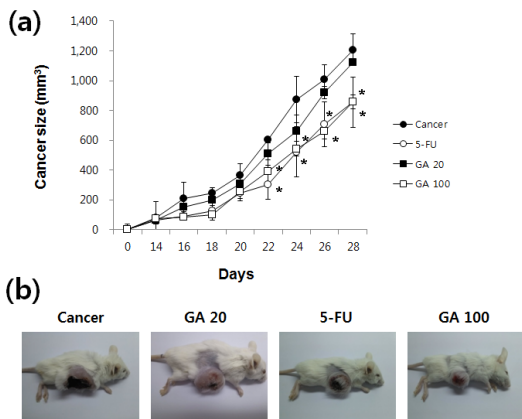
3. 결과 및 고찰

3.1 CT-26 세포 암 유발 마우스에서 암 용적에 대한 영향

Fig. 1은 마우스에 결장암을 유도시킨 후 하루에 한 번 GA(20, 100 mg/kg p.o)를 14일 동안 투여 한 후 암세포 용적을 측정된 결과이다. 항암제나 GA를 처리하지 않은 암 그룹(대조군) 마우스는 시일이 지남에 따라 암의 용적이 계속 증가하는 것으로 나타났다. 항암제인 5-FU를 처리한 그룹의 경우 그 암의 크기가 대조군에 비해 시간이 지

남에 따라 감소하였으며, 22일 이후 유의적인 차이를 나타냈다($p < 0.05$). GA 20 mg/kg 처리군의 경우 대조군과 약간의 암의 용적의 차이를 나타냈지만 항암제 그룹에 비해 암의 크기가 큰 것으로 나타났으며, 대조군과 유의적인 차이를 나타내지 않았다. GA 100 mg/kg 처리군의 경우 항암제 처리군과 비슷하게 암의 용적이 줄어드는 것을 알 수 있었으며, 22일 이후 대조군에 비해 유의적인 차이를 나타내었다($p < 0.05$).

항암에 관한 전의 연구에서 GA는 HL-60(human promyelocytic leukemia cells)세포에 대해 300 μmol 의 IC_{50} 값을 나타내었고, HeLa(human epitheloid carcinoma cervix cells) 세포에 대해 358 μmol 의 IC_{50} 값을 나타내었다[23-25]. 또한 A549(carcinomic human alveolar basal epithelial) 세포에서는 100-200 μmol 의 IC_{50} 값을 나타내었다[26].

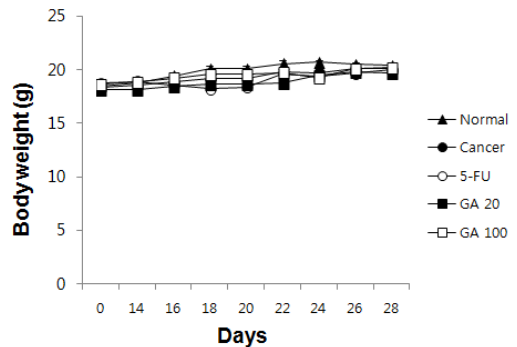


[Fig. 1] Anti-cancer activity of gallic acid in cancer bearing Balb/C mice. CT-26 cells were inoculated in Balb/C mice and then after 2 weeks the mice orally administered with 20 and 100 mg/kg of gallic acid once daily for 14 days. Cancer size was determined once per 2 days during tested period(a). Morphology of mice after ending of test(b). 5-FU, 20 mg/kg 5-fluorouracil; 20 mg/kg; GA 20, 20 mg/kg gallic acid; GA 100, 100 mg/kg gallic acid. *Significantly different from cancer group ($p < 0.05$). (a) Cancer size (b) Morphology of mice after ending of test

본 연구에서 마우스에 결장암을 유도시킨 후 하루에 한 번 GA(20, 100 mg/kg p.o)을 14일 동안 투여 한 후 암 세포 크기를 측정된 결과 항암제와 GA를 처리하지 않은 암 그룹(대조군)의 마우스는 시일이 지남에 따라 암의 크기가 계속 증가하였으나 GA 100 mg/kg 처리군의 경우 항암제 처리군과 비슷하게 암의 크기가 줄어드는 것을 알 수 있었다. 또한 GA 100 mg/kg 처리군의 암 크기는 암이 유도된 그룹의 암 크기에 비하여 22일 이후 유의적인 차이를 나타내면서 감소하였다($p < 0.05$).

3.2 마우스 체중에 대한 GA의 영향

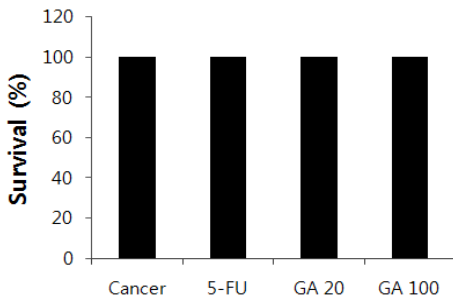
정상적인 마우스의 경우 실험종료일인 28일까지 체중이 증가하였다. 암이 유발된 마우스의 경우도 마찬가지로 실험종료일까지 체중이 약간 증가하였다. GA를 투여하는 실험기간 동안 정상 마우스의 체중은 시일이 지남에 따라 증가하였다[Fig. 2]. 또한 암이 유도된 마우스 그룹과 항암제 투여 그룹, GA를 투여한 4 그룹에서도 시일이 지남에 따라 그룹간의 큰 차이 없이 마우스의 체중은 증가하였다.



[Fig. 2] Body weight in Balb/C mice applied gallic acid orally. 5-FU, 20 mg/kg 5-fluorouracil; GA20, 20 mg/kg gallic acid; GA100, 100 mg/kg gallic acid.

3.3 마우스의 급성 독성 평가

마우스에 GA 500 mg/kg과 2,000 mg/kg의 투여는 행동의 변화나 체중의 변화 없이 독성을 일으키지 않는 것으로 나타났으며, 따라서 LD_{50} 값은 사망한 마우스가 없기 때문에 계산할 수 없었다[Fig. 3].



[Fig. 3] Effect of gallic acid on survival in mice. CT 26 cells were inoculated in Balb/C mice and then after 2 weeks the mice orally administered with 20 and 100 mg/kg of gallic acid once daily for 14 days. Survival of the mice was observed. 5-FU, 20 mg/kg 5-fluorouracil; GA20, 20 mg/kg gallic acid; GA100, 100 mg/kg gallic acid.

3.4 GA의 마우스의 간과 비장 무게 변화분석

암이 유도된 마우스에 GA를 14일 동안 투여하고 실험이 종료된 후에 마우스의 간과 비장의 무게 변화를 측정하였다[Table 2]. 그 결과 정상 마우스의 간의 무게는 0.95 g이었으며 암이 유도된 마우스는 1.05 g으로 약간 증가하였으나 두 그룹간의 유의성 차이는 없었다. 5-FU 투여시 간의 무게는 0.97 g이었으며, GA 20 mg/kg과 100 mg/kg 투여시 간의 무게는 0.96 g을 나타내었다. 또한 5-FU 나 GA 투여시 간의 무게 변화는 암 그룹에 비해 유의성 차이는 없었다.

[Table 2] Effect of gallic acid on liver and spleen weight in mice

Group	Liver(g)	Spleen(g)
Normal	0.95 ± 0.05	0.09 ± 0.01
Cancer	1.05 ± 0.01	0.33 ± 0.01*
5-FU	0.97 ± 0.02	0.30 ± 0.02
GA20	0.96 ± 0.01	0.29 ± 0.05
GA100	0.96 ± 0.04	0.11 ± 0.02**

Each value represents the mean ± S.D.(n=10). *Significantly different from normal group(p<0.05). **Significantly different from cancer group(p<0.05). 5-FU, 20 mg/kg 5-fluorouracil; GA20, 20 mg/kg gallic acid; GA100, 100 mg/kg gallic acid.

정상 마우스의 비장 무게는 0.09 g이었으며, 암이 유발된 마우스는 0.33 g으로 유의적인 차이를 나타내었다(p<0.05). 항암제인 5-FU 투여시 비장의 무게가 0.30 g이었으며, GA 20 mg/kg 투여시 비장의 무게가 0.25 g을 나타

내었으나 암 그룹에 비해 유의적인 차이는 없었다. GA 100 mg/kg 투여시 비장의 무게가 0.11 g으로 암 그룹에 비해서 유의적으로 감소하였다[Table 2].

간은 다양한 내외부 화합물에 대한 대사를 위한 주요한 장기중의 하나이기 때문에 독성 물질의 일차적인 타겟이 된다[27]. 본 연구에서 암에 의해서 간의 무게는 약간 증가하였으나 GA를 투여했을 때 약간 감소하는 것을 알 수 있었다. 또한 비장의 무게도 암 유발에 의해 유의적으로 증가하였으나 GA 100 mg/kg을 투여했을 때 유의적으로 감소하는 것을 알 수 있었다. 또한 급성 독성 평가에서 GA의 고농도인 2,000 mg/kg을 투여했을 때 마우스의 행동이나 체중 변화 없이 사망률도 나타나지 않았다. 그러므로 GA는 급성 독성을 나타내지 않으면서 암이 유도된 마우스의 간과 비장의 무게 변화에 긍정적인 영향을 주는 것으로 생각된다.

3.5 마우스의 간에서 생화학적 지표 평가

암이 유도된 마우스에 GA 20 mg/kg, 100 mg/kg을 14일 동안 투여하고 실험 종료 후에 마우스 간으로부터 생화학적 지표인 ALT, AST, LPO, GSH를 측정된 결과를 Table 3에 나타내었다. 정상 마우스의 LPO는 46.4 nmol/g이었으나 암이 유도된 마우스의 LPO는 82.5 nmol/g을 증가하였으며, 두 그룹간의 유의적인 차이를 나타내었다(p<0.05). 5-FU 및 GA 20 mg/kg과 100 mg/kg 투여시 LOP는 각각 66.2, 55.4, 50.3 nmol/g으로 감소하였으며, 암 그룹과 비교시 유의적인 감소를 나타내었다. 정상 마우스의 GSH, ALT, AST는 각각 6.1 µmol/g, 206.2 Unit/mL, 161.3 Unit/mL을 나타내었다. 암 마우스의 경우 GSH, ALT, AST는 각각 3.1 µmol/g, 404.4 Unit/mL, 379.1 Unit/mL으로 나타났고, GSH는 정상 마우스에 비해서 유의적으로 감소하였으며, ALT와 AST는 정상 마우스에 비해서 유의적으로 증가하였다(p<0.05). 5-FU와 GA 20 mg/kg 투여시 GSH는 약간 증가하였으나 암 마우스와 비교시 유의적인 차이는 나타나지 않았고, GA 100 mg/kg 투여시 암 마우스에 비해서 유의적인 차이를 나타내면서 GSH를 높였다(p<0.05). 5-FU와 GA 20 mg/kg, 100 mg/kg 투여시 ALT와 AST를 암 마우스에 비해서 유의적으로 감소시켰다(p<0.05).

활성 산소의 증가나 항산화 방어 시스템의 감소는 산화적 스트레스로 정의되며, 이러한 산화적 스트레스는 많은 질환의 원인이 되는 것으로 알려져 있다[28]. LPO

는 유리 산소로 매개되는 조직 손상에 관여하는 것으로 알려져 있으며, GSH는 많은 전자친화적인 화합물에 의해 발생하는 손상에 대해서 세포를 보호하는 중요한 세포내 항산화제로 알려져 있다[29]. 따라서 GSH는 유리 라디칼로 매개되는 지질과산화 손상의 마커로 널리 사용되고 있는 지표이다. 또한 AST와 ALT는 간독성의 생화학적 마커로써 사용되고 있다[30]. 본 연구에서 암의 유도에 의해 증가된 LPO는 GA 20 mg/kg과 100 mg/kg 투여에 의해 유의적으로 감소하였으며($p < 0.05$), 암의 유도에 의해 감소된 GSH는 GA 100 mg/kg 투여에 의해 유의적으로 증가하였다($p < 0.05$). 또한 암에 의해 증가된 ALT와 AST는 GA 20 mg/kg과 100 mg/kg 투여에 의해 유의적으로 감소하였다($p < 0.05$). 그러므로 GA는 암에 의해 유도되는 간의 생화학적 지표들을 정상적인 수준으로 유도하는 역할을 하는 것으로 생각된다.

[Table 3] Effect of gallic acid on LPO, GSH, ALT and AST levels in liver of mice

Group	LPO (nmol/g)	GSH (mol/g)	ALT (Unit/mL)	AST (Unit/mL)
Normal	46.4 ± 1.4	6.1 ± 0.3	206.2 ± 4.5	161.3 ± 5.1
Cancer	82.5 ± 2.4*	3.1 ± 0.7*	404.4 ± 6.7*	379.1 ± 4.2*
5-FU	65.2 ± 6.8**	3.8 ± 0.4	314.3 ± 3.7**	270.4 ± 5.7**
GA20	55.4 ± 9.**	3.9 ± 0.9	207.6 ± 7.9**	201.1 ± 5.7**
GA100	50.3 ± 4.2**	5.9 ± 1.4**	215.9 ± 5.4**	196.3 ± 2.1**

Each value represents the mean ± S.D(n=10). *Significantly different from normal group($p < 0.05$). **Significantly different from cancer group($p < 0.05$). 5-FU, 20 mg/kg 5-fluorouracil; GA20, 20 mg/kg gallic acid; GA100, 100 mg/kg gallic acid.

4. 결론

본 연구는 목단피로부터 분리한 GA의 암이 유도된 마우스에서 GA 투여에 의한 암 용적과 체중 변화, 간의 생화학적 지표를 조사하여 다음과 같은 결과를 얻었다. GA는 결장암이 유도된 마우스의(CT26) 체중에 영향을 주지 않으며 암 성장을 억제하였으며, 마우스에 독성을 나타내지 않았고, 간과 비장의 무게 및 간의 생화학적 지표들을 긍정적 방향으로 유도하였다. 그러므로 GA는 결장암 세포의 항암 활성을 증가시키고 있음을 시사하며 향후 이 분야에 대한 더 많은 임상적인 연구가 필요하다고 사료된다.

References

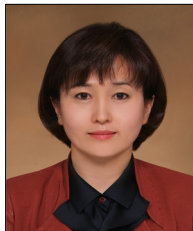
- [1] S. H. Park, Y. S. Cho, M. J. Kwack, H. S. Lee, C. B. Kang, "Effect of Kegel exercise on urinary incontinence after radical prostatectomy: Systematic review of randomized controlled trials," Korean Journal of Adult Nursing, Vol. 25, No. 2, pp. 219-230, 2013.
DOI: <http://dx.doi.org/10.7475/kjan.2013.25.2.219>
- [2] J. M. Song, "Epidemiology and natural history of prostate cancer," Korean Journal of Urological Oncology, Vol. 1, No. 1, pp. 6-9, 2003.
- [3] N. H. Kim, S. N. Kim, J. S. Oh, S. Lee, Y. K. Kim, "Anti-mitotic potential of 7-diethylamino-3(2'-benzoxazolyl)-coumarin in 5-fluorouracil-resistant human gastric cancer cell line SNU620/5-FU," Biochemical and Biophysical Research Communications, 2012; 418: 616-621. Vol. 25, No. 2, pp.
- [4] K. Kanetaka, A. Enjoji, J. Furui, Y. Nagata, H. Fujioka, T. Shiogama, A. Miyata, H. Kishikawa, S. Matsuo, T. Iwata, T. Kanematsu, S. Eguchi, "Effects of intermittent 5-fluorouracil and low-dose cisplatin therapy on advanced and recurrent gastric cancer," Anticancer Research, Vol. 32, No. 8, pp. 3495-3499, 2012.
- [5] C. Dikken, J. Sitzia, "Patients' experiences of chemotherapy: side-effects associated with 5-fluorouracil + folinic acid in the treatment of colorectal cancer," Journal of Clinical Nursing, Vol. 7, No. 4, pp. 371-379, 1998.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1046/j.1365-2702.1998.00159.x>
- [6] H. Zhou, Y. F. Wong, X. Cai, Z. Q. Liu, Z. H. Jiang, Z. X. Bian, H. X. Xu, L. Liu, "Suppressive effects of JCI6-6, the extract of an anti-arthritis herbal formula, on the experimental inflammatory and nociceptive models in rodents," Biological & Pharmaceutical Bulletin, Vol. 29, No. 2, pp. 253-260, 2006.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1248/bpb.29.253>
- [7] M. Wu, Z. Gu, "Screening of bioactive compounds from *Moutan cortex* and their anti-inflammatory activities in rat synoviocytes," Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine, Vol. 6, No. 1, pp. 57-63, 2009.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1093/ecam/nem066>
- [8] O. G. Kweon, J. C. Son, S. C. Kim, S. K. Chung, S. W. Park, "Antimicrobial and antioxidative activities from *Moutan cortex* extract," Korean Journal of Food Preservation, Vol. 5, No. 3, pp. 281-285, 1998.
- [9] H. J. Seon, H. Y. Sil, "Isolation and identification of antimicrobial compound from Mokdan bark (*Paeonia suffruticosa* ANDR)," Journal of the Korean Society of

- Food Science and Nutrition, Vol. 32, No. 7, pp. 1059-1065, 2003.
DOI: <http://dx.doi.org/10.3746/jkfn.2003.32.7.1059>
- [10] S. M. Park, D. W. Jun, C. H. Park, J. S. Jang, S. K. Park, B. S. Ko, B. J. Kim, S. B. Choi, "Hyperglycemic effects of crude extracts of *Moutan radicis* cortex," Korean Journal of Food Science and Technology, Vol. 36, No. 3, pp. 472-477, 2004.
- [11] S. Rho, H. S. Chung, M. Kang, E. Lee, C. Cho, H. Kim, S. Park, H. Y. Kim, M. Hong, M. Shin, H. Bae, "Inhibition of production of reactive oxygen species and gene expression profile by treatment of ethanol extract of *Moutan cortex* radices in oxidative stressed PC12 cells," Biological & Pharmaceutical Bulletin, Vol. 28, No. 4, pp. 661-666, 2005.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1248/bpb.28.661>
- [12] J. Y. Kim, H. S. Ju, J. Y. Ban, K. S. Song, Y. H. Seong, "*Moutan cortex* extract inhibits amyloid B protein (25-35)-induced neurotoxicity in cultured rat cortical neurons," Korean Journal of Pharmacognosy, Vol. 16, No. 6, pp. 409-415, 2008.
- [13] A. Serrano, C. Palacios, G. Roy, C. Cespon, M. L. Villar, M. Nocito, "Gonzalez-Porque P. Derivatives of gallic acid induce apoptosis in tumoral cell lines and inhibit lymphocyte proliferation," Archives of Biochemistry and Biophysics, Vol. 350, No. 1, pp. 49-54, 1998.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1006/abbi.1997.0474>
- [14] K. Yoshioka, T. Kataoka, T. Hayashi, M. Hasegawa, Y. Ishi, H. Hibasami, "Induction of apoptosis by gallic acid in human stomach cancer KATO III and colon adenocarcinoma COLO 205 cell lines," Oncology Reports, Vol. 7, No. 6, pp. 1221-1223, 2000.
- [15] M. Salucci, L. A. Stivala, G. Maiani, R. Bugianesi, V. Vannini, "Flavonoids uptake and their effect on cell cycle of human colon adenocarcinoma cells (Caco2)," British Journal of Cancer, Vol. 86, No. 10, pp. 1645-1651, 2002.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1038/sj.bjc.6600295>
- [16] K. Miquel, A. Pradines, G. Favre, "Farnesol and geranylgeraniol induce actin cytoskeleton disorganization and apoptosis in A549 lung adenocarcinoma cells," Biochemical and Biophysical Research Communications, Vol. 225, No. 3, pp. 869-876, 1996.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1006/bbrc.1996.1265>
- [17] M. Ishihara, H. Sakagami, "Application of semiempirical method to estimate the cytotoxic activity of gallic acid and its related compounds," Anticancer Research, Vol. 23, No. 3(B), pp. 2549-2552, 2003.
- [18] G. Alessandria, S. Filippeschi, P. Sinibaldi, F. Mornet, P. Passera, F. Spreafico, P. M. Cappa, P. M. Gullino, "Influence of gangliosides on primary and metastatic neoplastic growth in human and murine cells," Cancer Research, Vol. 47, No. 16, pp. 4243-4247, 1987.
- [19] S. R. Aravind, M. M. Joseph, S. Varghese, P. Balam, T. T. Sreelekha, "Antitumor and immunopotentiating activity of polysaccharide PST001 isolated from the seed kernel of *Tamarindus indica*: an in vivo study in mice," The Scientific World Journal, Vol. 2012, No. 2, pp. 361-382, 2012.
- [20] H. Ohkawa, N. Ohishi, K. Yagi, "Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction," Analytical Biochemistry, Vol. 95, No. 2, pp. 351-35, 1979.
DOI: [http://dx.doi.org/10.1016/0003-2697\(79\)90738-3](http://dx.doi.org/10.1016/0003-2697(79)90738-3)
- [21] O. W. Griffith, "Determination of glutathione and glutathione disulfide using glutathione reductase and 2-vinyl pyridine," Analytical Biochemistry, Vol. 106, No. 1, pp. 207-212, 1980.
DOI: [http://dx.doi.org/10.1016/0003-2697\(80\)90139-6](http://dx.doi.org/10.1016/0003-2697(80)90139-6)
- [22] S. Reitman, S. K. Frankel, "A colorimetric method for the determination of serum glutamic oxaloacetic and glutamic pyruvic transaminase," American Journal of Clinical Pathology, Vol. 28, No. 1, pp. 56-63, 1957.
- [23] O. Benavente-Garcia, J. Castillo, F. R. Marin, A. Ortuno, J. A. Del Rio, "Uses and properties of citrus flavonoids," Journal of the Agricultural and Food Chemistry, Vol. 45, No. 12, pp. 4505-4515, 1997.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1021/jf970373s>
- [24] G. Galati, P. J. O'Brien, "Potential toxicity of flavonoids and other dietary phenolics: significance for their chemopreventive and anticancer properties," Free Radical Biology and Medicine, Vol. 37, No. 3, pp. 287-303, 2004.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2004.04.034>
- [25] G. S. Oh, H. O. Pae, B. M. Choi, H. S. Lee, I. K. Kim, Y. G. Yun, J. D. Kim, H. T. Chung, "Penta-O-galloyl-beta-D-glucose inhibits phorbol myristate acetate-induced interleukin-8 [correction of intereukin-8] gene expression in human monocytic U937 cells through its inactivation of nuclear factor-kappa B," International Immunopharmacology, Vol. 4, No. 3, pp. 377-386, 2004.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.intimp.2003.10.010>
- [26] J. Kim, H. Lee, Y. Lee, B. G. Oh, C. Cho, Y. Kim, M. Shin, M. Hong, S. K. Jung, H. Bae, "Inhibition effects of *Moutan Cortex Radicis* on secretion of eotaxin in A549 human epithelial cells and eosinophil migration," Journal of Ethnopharmacology, Vol. 114, No. 2, pp. 186-193, 2007.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jep.2007.07.038>

- [27] R. M. Breikaa, M. M. Algardaby, E. El-Demerdash, A. B. Abdel-Naim, "Biochanin A protects against acute carbon tetrachloride-Induced hepatotoxicity in rats," *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, Vol. 77, No. 5, pp. 909-916, 2013.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1271/bbb.120675>
- [28] C. Aydin, Y. Ay, H. Basel, S. Kavak, B. Inan, H. Bektas, H. A. Gümrükçüoğlu, H. Ekim, H. Demir, "Analysis of the influences of shortterm levosimendan exposure on oxidant/antioxidant status and trace-element levels in the physiological status of the thoracic aorta of rats," *The Journal of Membrane Biology*, Vol. 245, No. 12, pp. 827-832, 2012.
- [29] J. R. Mitchell, D. J. Jollow, W. Z. Potter, D. C. Davis, J. R. Gillette, B. B. Brodie, "Acetaminophen-induced hepatic necrosis. I. Role of drug metabolism," *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, Vol. 187, No. 1, pp. 185-194, 1973.
- [30] J. Eliza, P. Daisy, S. Ignacimuthu, V. Duraipandiyar, "Antidiabetic and antilipidemic effect of eremanthin from *Costus speciosus* (Koen.) Sm. in STZ-induced diabetic rats," *Chemico-Biological Interactions*, 2009; 182: Vol. 182, No. 1, pp. 67-72, 2009.

이 정 희(Jung-Hee Lee)

[정회원]



- 2002년 12월 : 이정희스켈케어 원장
- 2010년 10월 : 힐링젠코리아 부원장
- 2014년 3월 ~ 현재 : 광주여자대학교 미용과학과 교수

<관심분야>
피부미용

최 화 정(Hwa-Jung Choi)

[정회원]



- 2009년 5월 : (재)전라남도 생물산업진흥재단 천연자원연구원 선임연구원
- 2010년 3월 : 대전보건대학 임상병리과 교수
- 2014년 3월 ~ 현재 : 광주여자대학교 미용과학과 교수

<관심분야>
생리활성

김 범 호(Pom-Ho Kim)

[정회원]



- 2013년 8월 : 원광대학교 한의학전문대학원 한의학박사
- 2014년 3월 ~ 현재 : 남서울대학교 복지경영대학원 대체치유학과 교수

<관심분야>
자연치유, 건강증진