



저작자표시-비영리-변경금지 2.0 대한민국

이용자는 아래의 조건을 따르는 경우에 한하여 자유롭게

- 이 저작물을 복제, 배포, 전송, 전시, 공연 및 방송할 수 있습니다.

다음과 같은 조건을 따라야 합니다:



저작자표시. 귀하는 원저작자를 표시하여야 합니다.



비영리. 귀하는 이 저작물을 영리 목적으로 이용할 수 없습니다.



변경금지. 귀하는 이 저작물을 개작, 변형 또는 가공할 수 없습니다.

- 귀하는, 이 저작물의 재이용이나 배포의 경우, 이 저작물에 적용된 이용허락조건을 명확하게 나타내어야 합니다.
- 저작권자로부터 별도의 허가를 받으면 이러한 조건들은 적용되지 않습니다.

저작권법에 따른 이용자의 권리는 위의 내용에 의하여 영향을 받지 않습니다.

이것은 [이용허락규약\(Legal Code\)](#)을 이해하기 쉽게 요약한 것입니다.

[Disclaimer](#)

2012년

2012년 2월
석사학위논문

2월

석사학위논문

수박외피 추출물이
인체 난소암 세포주에 미치는 영향

수박외피 추출물이

인체 난소암 세포주에 미치는 영향

조선대학교 보건대학원

대체 의학과

강재국

강재국

수박외피 추출물이
인체 난소암 세포주에 미치는 영향

Effects of the Exocarp of *Citrullus lanatus* Extracts on
Ovarian Cancer Cells

2012년 2월 24일

조선대학교 보건대학원

대체 의학과

강재국

수박외피 추출물이
인체 난소암 세포주에 미치는 영향

Effects of the Exocarp of *Citrullus lanatus* Extracts on
Ovarian Cancer Cells

지도교수 문 경 래

이 논문을 대체의학 석사학위신청 논문으로 제출함

2011년 10월

조선대학교 보건대학원

대체 의학과

강 재 국

강재국의 대체의학 석사학위논문을 인준함

위원장 조선대학교 교수 서재홍 (인)

위 원 조선대학교 교수 박상학 (인)

위 원 조선대학교 교수 문경래 (인)

2011년 11월

조선대학교 보건대학원

목 차

도표 목차	ii
영문 초록	iii
I. 서 론	1
II. 재료 및 연구 방법	3
1. 실험을 위한 재료	
2. 시 약	
3. 세포 배양 및 화학적 처리	
4. 시료 준비	
5. MTS 분석	
6. Western blot 분석	
7. 통계 처리	
III. 결 과	7
1. 메탄올 추출물에서 MTS assay에 의한 세포생존율	
2. 열수 추출물에서 MTS assay에 의한 세포생존율	
3. 메탄올 추출물, Western Blotting, iNOS 및 COX-2 발현량	
4. 열수 추출물, Western Blotting, iNOS 및 COX-2 발현량	
IV. 고 찰	11
V. 결 론	13
VI. 참고문헌	14

도 표 목 차

도표 1. 메탄올 추출물에서 MTS assay에 의한 세포생존율	7
도표 2. 열수 추출물에서 MTS assay에 의한 세포생존율	8
도표 3. 메탄올 추출물에서 Western blotting에 의한 iNOS와 COX-2 발현량 측정	9
도표 4. 열수 추출물에서 Western blotting에 의한 iNOS와 COX-2 발현량 측정	10

ABSTRACT

Effects of the Exocarp of *Citrullus lanatus* Extracts on Ovarian Cancer Cells

Kang Jae-Kook

Advisor : Prof. Moon, Kyung-Rye, M.D., Ph.D

Graduate School of Health Science

Chosun University

Objective : This study is on the effects of the anti-cancer activity of extracts from watermelon peels on ovarian cancer cells.

Methods : MTS assay was used to detect the effects of extracts from watermelon peels on the viability of ovarian cancer cells. Western blotting was used to see the effects of extracts from watermelon peels on inducible nitric oxide synthase(iNOS) and cyclooxygenase-2(COX-2) expressions.

Results : Methanol extracts from watermelon peels slightly reduced ovarian cancer cells depending on time and concentration. Also it dramatically reduced cyclooxygenase-2(COX-2) and iNOS expressions at various concentrations.

MTS assay results are as follows ;

1. Methanol extracts from watermelon peels slightly reduced ovarian cancer cells depending on time.
2. Methanol extracts from watermelon peels slightly reduced ovarian cancer

- cells depending concentration. There are no difference in cell survival rate at any time or concentration.
3. Hot water extracts from watermelon peels did not reduce ovarian cancer cells at any given time.
 4. Hot water extracts from watermelon peels did not reduce ovarian cancer cells at any concentration. There was no difference in cell survival rate at any given time or concentration.

Western blot results are as follows :

5. Methanol extracts from watermelon peels dramatically reduced inducible Nitric Oxide Synthase(iNOS) expression at various concentration and reduced cyclooxygenase-2(COX-2) expression at the concentration of 100~200 $\mu\text{g}/\text{ml}$.
6. Hot water extracts from watermelon peels dramatically reduced inducible Nitric Oxide Synthase(iNOS) expression at various concentration and reduced cyclooxygenase-2(COX-2) expression at 200 $\mu\text{g}/\text{ml}$.

Conclusion : Methanol extracts of watermelon peels slightly reduced cell viability of human ovarian cancer cell lines by 10-20% at 400 $\mu\text{g}/\text{ml}$. Also, Methanol extracts reduced iNOS expression by 92% and COX-2 expression at various concentration. Hot water extracts of watermelon peels reduced the expression of iNOS at all concentrations.

The effects of Methanol extracts of watermelon peels on the reduction of cell viability suggest that implementing isolation and purification to the tests can bring out more various clinical effects.

Key words : *Citrullus lanatus*, watermelon peels, ovarian cancer, MTS, iNOS, COX-2

I. 서 론

난소는 자궁 양쪽에 있고 난포를 생산하며 여성호르몬을 만드는 기관이다. 난소암은 이러한 난소에서 비롯된 암이다. 난소암은 한국여성의 생식기 암중에 자궁경부암 다음으로 발생빈도가 높은 암으로 다른 암 중에 비해 발현빈도는 낮고¹⁾ 악성도는 높아서²⁾ 기능적, 심리적으로 손상을 일으키고 이에 따라 사회 심리적으로 장애를 일으켜 효과적인 치료법이 절실히 요구되는 질환이다.³⁾

최근 들어 여러 가지 질환 특히 암 예방과 치료에 천연물이 많이 이용되고 있으며 많은 연구가 진행되고 있어서,^{4,5)} 특히 수박외피에 관한 연구가⁶⁾ 최근에 활발하여 다양한 임상실험 결과에서 부종과 당뇨⁷⁾ 및 in vivo 수준에서⁸⁾ 항암효과가 있거나 암을 상당량 파괴했음을 보여주고 있다.⁹⁾

수박외피에 관한 많은 선행연구를 고찰해 보면, 피부미용,¹⁰⁾ 이노작용,¹¹⁾ 항암효과,¹²⁾ 변비예방,¹³⁾ 고혈압예방,¹⁴⁾ 구내염예방¹⁵⁾ 등 다양한 연구가 진행되었음을 알 수 있으며, 특히 신장과 통풍 예방에 다양한 연구가 진행되었음을 알 수 있었고,¹⁶⁾ 항암연구와 관련하여 항염증에 관한 선행연구가 있었음을 알 수 있었다.

수박외피는 우리나라에서 옛날부터 항염증제¹⁷⁾로 알려져 왔는데, 최근 연구에서 수박외피에서 추출한 lycopene 추출물¹⁸⁾로 동물실험에서 Western blotting과 reverse transcription-polymerase chain reaction(RC-PCR) 분석에 따르면, 수박외피 추출물은 동물의 macrophage cell line에서 inducible Nitric Oxide Synthase(iNOS)와 mRNA 염기서열에 대해 항염증작용을 하는 것으로 나타났다.¹⁹⁾

하지만 이러한 선행연구에도 불구하고, 아직 난소암에 대한 항암작용을 나타내는 수박외피의 연구는 확인 된 바가 없어서 수박외피에 대한 난소암의 효과 검증의 필요성이 커지고 있다.²⁰⁾ 수박외피는 중요한 한약재로써 손수 구하기 쉬운 것으로 선행연구를 보면 신장염과 구내염에 탁월한 효과를 보이고 있어 난소암의 예방과 치료에도 효능을 나타낼 것이라는 예측이 가능해지기 때문이다. 현재 급속히 여성

의 생리적인 문제가 증가되면서, 자궁경부암 뿐만 아니라 난소암도 전이가 가능한 질병²¹⁾이어서, 난소암에 대한 수박외피 추출물에 대한 과학적 고찰이 더욱 필요하다고 생각하여 본 연구를 진행하게 되었다.

본 연구에서는 인체 난소암 세포주의 수박외피 천연 추출물의 두 종류인 열수 추출물 Hot-Water Extracts와 메탄올 추출물 Methanol Extracts을 처리하여 암세포주 억제 효과와 암 표적인자 발현 억제능(COX-2 or iNOS)을 확인하고자 한다.²²⁾

II. 재료 및 연구 방법

1. 실험을 위한 재료

수박외피는 전남 담양군 일대에서 채취하여 수집된 것으로 절단 후 충분히 응달에서 말린 상태에서 분말로 만들어 실험에 사용되었다.

2. 시약

본 실험에 사용한 메탄올 시약은 1급 시약을 사용하였다. LPS, (3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-5(3-carboxymethoxyphenyl)-2H-tetrazolium inner salt(MTS) 및 1% penicillin과 streptomycin 등은 Sigma사(USA)로부터 구입하였다. 더불어 10% FBS, 1% 항생제(Gibco, USA), minimum essential medium(MEM)과 serum free media 등은 Gibco사(USA)의 시약을 구입하여 본 실험에 사용하였다.

3. 세포 배양 및 화학적 처리

난소암 세포주는 American Tissue Culture Collection(Manassas, VA)에서 구입하여 본 실험에 사용하였다. 난소암 세포주는 5% fetal bovine serum(FBS), 100 U/ml streptomycin 등을 첨가한 DMEM으로 5% CO₂의 상태에서 배양하였다.

4. 시료 준비

1) 열수 추출

수박외피의 분말 100g과 증류수 1.3L를 이용하여 약탕기(대웅, DWP-5000M)에서 3시간 동안 가열하여 열수 추출을 하였다. 추출이 끝나고 나면, 부직포 여과지를 이용하여 압착 여과하였다. 여과된 추출물을 50ml 튜브로 나누어 담고 4,000 rpm에서 30분간 원심분리하여 여분의 분말 찌꺼기를 침전시켰다.

원심 분리 후 상층액 만을 두 겹의 여과지(Whatman No.1)를 이용하여 감압여과 하였다. 감압 여과된 추출물을 회전증발 농축기를 이용하여 농축한 후, 동결건조기를 이용하여 동결 건조하였다. 동결건조가 끝난 후 곱게 분쇄하여 실험에 사용하도록 하였다.

2) 메탄올 추출

99% 메탄올 1L에 수박외피 분말 100g을 24시간 침지시켰다. 이 때 2~3 시간 단위로 교반하여 시료가 골고루 섞이도록 하면서 추출물을 유도하였다. 추출 후 두 겹의 여과지를 이용하여 감압 여과한 후 1차적인 메탄올 추출액을 만들었다. 여과된 추출액을 회전증발 농축기를 이용하여 감압 농축하였다. 이 때 water bath의 온도를 35~37℃를 유지하여 메탄올을 제거하여 농축하였다.

추출농축액을 chloroform과 1:1의 비율로 혼합하여 강하게 vortexing(소용돌이)한 후 4,000 rpm에서 30분간 원심 분리하여 엽록소 및 여분의 잔여 미세 시료를 층 분리하였으며, 하층의 chloroform이 무색이 될 때까지 3회 이상 반복적으로 과정을 수행하였다.

원심분리를 통하여 엽록소를 완전히 제거한 후 상층액 만을 수거하여 회전 증발 농축시켰다. 증발 농축 시킬 때 소량의 메탄올을 넣어 농축 효율을 증대시켰다. 농축 추출액을 동결 건조한 후 분쇄하여 실험에 사용하였다.

또한 ethyl acetate 처리를 위하여 상기 방법으로 동일하게 처리한 후 chloroform 층이 무색이 되면, 상층액만을 새로운 튜브로 옮긴 후 ethyl acetate 와 1:1의 비율로 혼합한 후 4,000 rpm에서 2분간 원심분리 하였다.

상층액만을 새로운 용기로 옮겨 담고 원심분리 후 남겨진 하층부에 다시 ethyl acetate를 처리하여 상기 방법으로 반복하여 상층부만을 기존에 옮겨 담은 용액이 있는 용기로 수합하였다. 상기 과정을 총 3회 반복하여 ethyl acetate를 이용한 폴리페놀화합물을 완전히 얻어내도록 하였다.

옮겨져서 수합된 상층부액을 회전 감압 농축기를 이용하여 감압농축하고 ethyl acetate를 완전히 제거되고 얻어진 고체 화합물의 질량을 측정하여 DMSO를 이용 100 mg/ml이 되도록 희석하여 사용하도록 하였다.

5. MTS 분석

수박외피 추출물을 이용한 세포생존율(Cell Viability) 측정은 Cell titer 96 Aqueous One Solution Cell Proliferation Assay Kit(Promega, Madison, WI)로 제작사의 실험 매뉴얼에 따라 측정하였다.

난소암 세포들은 96-well plate에 분주하고 수박외피 추출물의 농도별 처리 후에 24, 48 시간 후에 시간 경과에 따른 세포생존율 반응을 조사하였다.

MTS(3-(4,5-dimethylthiazol-20yl)-(3-carboxymethoxyphenyl)-2-(4-sulphophenyl)-2H-tetrazolium) solution을 첨가하여 ELISA microplate reader(Molecular Devices, Sunnyvale, CA, USA)로 492 nm와 690 nm에서 흡광도와 변화를 측정하여 대조군에 대한 세포생존율을 백분율로 표시하였다.

각 농도별로 약제가 갖는 흡광도를 보정하기 위하여 세포를 뺀 배지를 같이 배양하여 대조군과 실험군의 흡광도를 비교 보정하여 세포생존율을 백분율로 표시하였다.

6. Western blot 분석

수박외피 추출물은 처리한 후 난소암 세포들을 수확하고 분쇄하였다. 단백질 상등액 fraction은 SDS로 전기영동한 후 membranes로 옮기고 5% skim milk(fat-free milk)로 blocking하였으며, indicated antibodies로 hybridization 하였다. Horse radish peroxidase-conjugated secondary antibody된 protein bands는 chemiluminescence detection kit로 관찰 측정하였다.

7. 통계 처리

각각의 실험들은 3회 반복 이상으로 실험 하였으며 실험 결과는 평균값±표준 편차로 계산하여 측정하였다. 실험 결과의 통계분석은 Student's t-test를 이용하였으며, p값이 0.05 이하인 경우에 실험 결과가 통계적으로 유의한 것으로 판명하였다.

III. 결 과

1. 수박외피 추출물이 인체 난소암 세포주에 미치는 영향 (메탄올 추출물에서 MTS assay에 의한 세포생존율)

인체 난소암 세포주의 세포독성(Cytotoxicity)을 알아보기 위하여, 수박외피 메탄올 추출물을 농도를 달리하여 0, 50, 100, 200, 400 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 에서 처리한 후 24시간 및 48시간 경과한 다음 암세포 생존율을 측정하였다. 도표 1과 같이 농도 400 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 에서 처리 후 24시간 경과 후 20%의 암세포 성장 억제율을 보였고, 48시간 경과 후 10% 억제율을 보였다. 이 결과로 수박외피 메탄올 추출물은 농도와 시간의 의존성을 가지지 않는다고 보여진다.

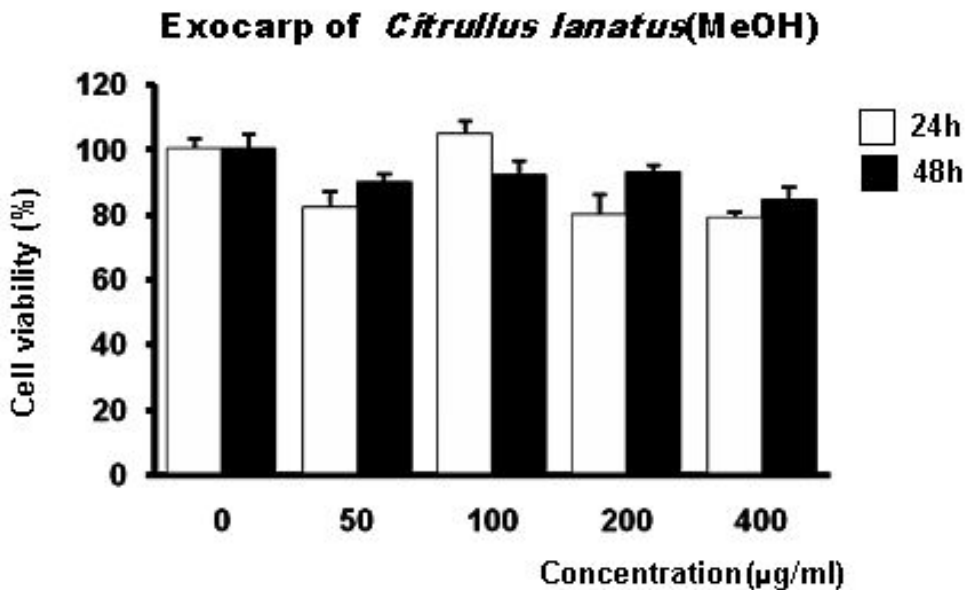


도표 1. 수박외피 메탄올 추출물의 인체 난소암 세포주의 세포성장율 억제에 관한 효과(농도 0, 50, 100, 200, 400 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 에서 처리 후 24 및 48시간 경과)

2. 수박외피 추출물이 인체 난소암 세포주에 미치는 영향 (열수 추출물에서 MTS assay에 의한 세포생존율)

인체 난소암 세포주의 세포독성(Cytotoxicity)을 알아보기 위하여, 수박외피 열수 추출물을 농도를 달리하여 0, 50, 100, 200, 400 $\mu\text{g/ml}$ 에서 처리 후 24 및 48 시간 경과한 다음 암세포 생존율을 측정하였다. 도표 2와 같이 각 농도에서 24 및 48시간 경과 후 각각 암세포 성장억제율을 측정하였으나 그 억제율은 20% 내외로 미미하였다. 이 결과로 수박외피 열수 추출물은 농도와 시간의 의존성을 가지지 않는다고 보여진다.

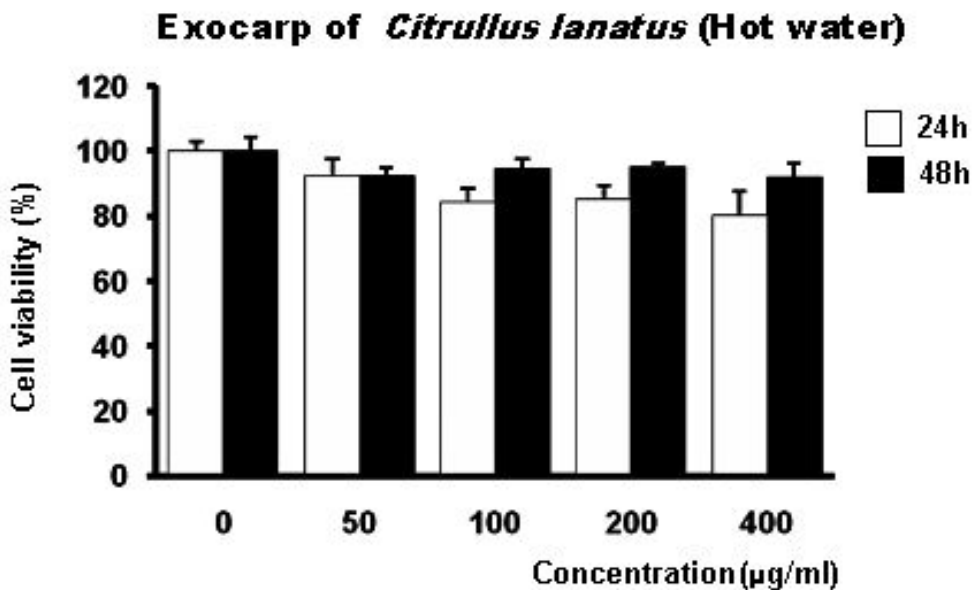


도표 2. 수박외피 열수 추출물의 인체 난소암 세포주의 세포성장을 억제에 관한 효과(농도 0, 50, 100, 200, 400 $\mu\text{g/ml}$ 에서 처리 후 24 및 48시간 경과)

3. 수박외피 추출물이 인체 난소암 세포주에 미치는 영향

(메탄올 추출물에서 Western Blotting에 의한 iNOS와 COX-2 발현양)

COX-2 및 iNOS 발현양을 측정하기 위하여, 실험군과 대조군을 나누고, 대조군에서 house keeping gene인 β -actin(indicating non-interference in cellular mechanism)을 측정하여, 실험군의 COX-2 및 iNOS 발현양과 비교 하였다.

도표 3과 같이 COX-2의 경우 농도 $200\mu\text{g/ml}$ 으로 갈수록 95% 이상의 억제율의 결과를 확인할 수 있다.

iNOS의 경우 놀랍게도 거의 밴드가 보이지 않을 정도로 밴드가 $50\mu\text{g/ml}$ 에서 95% 억제율을 보였고, $100\mu\text{g/ml}$, $200\mu\text{g/ml}$ 에서는 75%, 85%의 억제율을 보였다. 이 결과는 수박외피 메탄올 추출물의 경우는 농도 $100\sim 200\mu\text{g/ml}$ 이 최적의 조건임을 보여주는 것이다. 도표 3에서 보듯이 메탄올 추출물에서 수박외피의 항암기작은 암표적지표인 COX-2와 iNOS의 단백발현의 결과 모두두드러진 효과를 보임으로 항암효과가 있는 것으로 조사되었다.

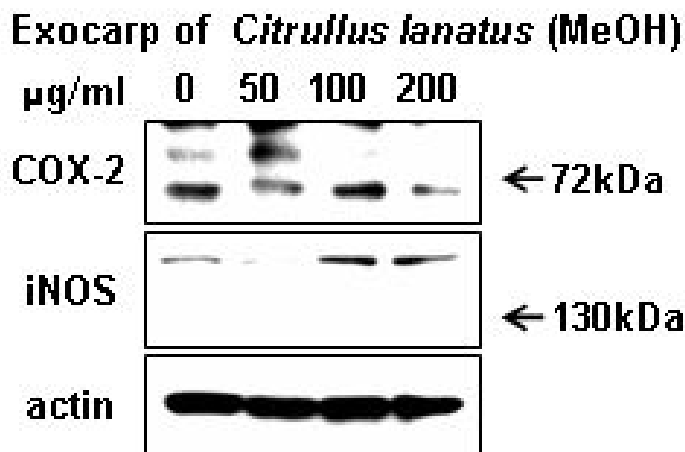


도표 3. 수박외피 메탄올 추출물의 인체 난소암 세포주에서의 COX-2 및 iNOS 발현량 억제효과(농도 0, 50, 100, $200\mu\text{g/ml}$)

4. 수박외피 추출물이 인체 난소암 세포주에 미치는 영향

(열수 추출물에서 Western Blotting에 의한 iNOS와 COX-2의 발현량)

COX-2 및 iNOS 발현량을 측정하기 위하여, 실험군과 대조군을 나누고, 대조군에서 house keeping gene인 β -actin(indicating non-interference in cellular mechanism)을 측정하여, 실험군의 COX-2 및 iNOS 발현량을 비교하였다.

도표 4와 COX-2의 경우 200 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 에서 60%의 억제율을 보였고, iNOS의 경우 놀랍게도 band가 안보여 99%의 억제율을 보여 고무적인 결과를 확인할 수 있었다. 이로써 열수 추출물에서 수박외피의 항암기작은 암표적지표인 COX-2 경로(pathway)가 아니라 iNOS 경로(pathway)인 것으로 보여진다.

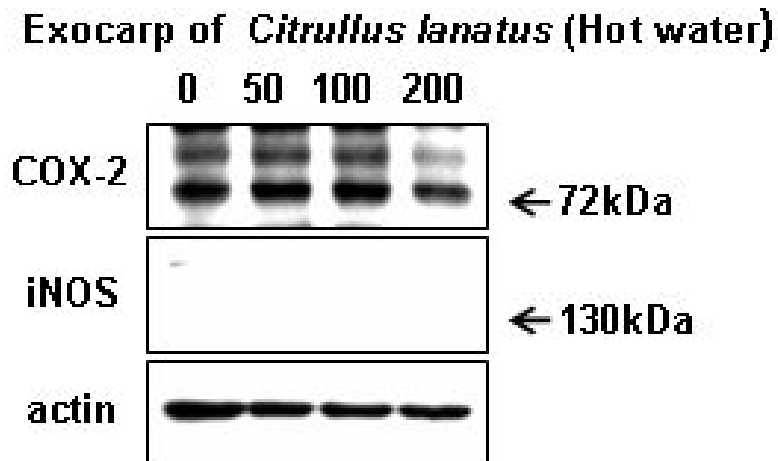


도표 4. 수박외피 열수 추출물의 인체 난소암 세포주의 COX-2 및 iNOS 발현량 억제효과(농도 0, 50, 100, 200 $\mu\text{g}/\text{ml}$)

IV. 고 찰

수박외피는 아프리카 원산의 한해살이풀로 박과식물로서 향명으로는 서과피라고도 하며, 학명은 *the exocarp of Citrullus lanatus var. lanatus (Thunb.)* 이다. 우리나라에서 자생하고 있는데, 덩굴은 기면서 자라고 덩굴손은 다른 물체를 감는다. 전체에 흰빛의 털이 있다. 잎은 어긋나기하고 달걀꼴 또는 달걀모양의 긴 둥근꼴이며 깃꼴로 깊게 갈라지고 길이 10~18cm로서 불규칙한 톱니가 있다. 꽃은 5~6월에 노란빛으로 피며 잎겨드랑이에 1개씩 달린다. 꽃 갓은 5갈래로 갈라진다. 열매는 물열매(漿果)이고 둥글거나 긴 둥근꼴이다. 살은 붉은빛, 흰빛, 노란빛, 녹색이며, 무게는 1~2kg에서 20kg 이상 되는 것까지 다양하다. 품종에 따라 열매살의 빛깔, 열매의 모양, 껍질의 두께가 다르다. 종자는 달걀모양이며 길이 8~13mm이고 흑갈색이며 500개 정도 들어있다. 3배체의 수박은 씨가 없다. 약용으로 이용된다.⁷⁾

수박외피의 주요 추출 성분으로 항산화제인 carotinoid에 관한 선행연구를 고찰해보면, lycopene이 토마토나 적포도주에 비해 3~6배 많고, 강한 anti-cancer effect, anti-inflammatoty activity와 diurectic effect를 지녔으며,²³⁾ 소량의 lutein, β -carotene, β -cryptoxanthin 등도 항산화작용에 효과있는 것을 보여주었다.²⁴⁾ 또한 Citrulline 성분은 nitric oxide를 증가시켜 혈관확장 효과도 있다.²⁵⁾ 리놀렌산도 풍부해 동맥경화예방에도 도움이 된다.²⁶⁾ 또한 Vitamin B Complex가 많아 한의학에서는 수박외피로 땀띠예방, 이뇨제, 부종, 신장염 예방 등에 사용된다.⁷⁾ 또한 위의 추출 성분으로 cyclooxygenase-1(COX-1)과 cyclooxygenase-2(COX-2) 억제 및 lipopolysaccharide-inducible nitric oxide synthase(LPS-iNOS)를 억제에 유용하다.¹⁹⁾ 한의학에서는 심경과 비경, 신경, 방광경에 작용하여 변갈증, 당뇨병, 고혈압, 감기예방, 부종, 이뇨, 신장염, 임신성부종, 근육이완, 소변불통, 동맥경화, 숙취, 피부염 등에 사용되고 있다.⁷⁾

이러한 연구 성과에 비추어 수박외피가 난소암 세포주에 항암효과를 기대하여 연구를 실시하게 되었으나, 본 연구에서는 난소암 세포주의 세포독성(cytotoxicity)

을 알아보기 위한 실험에서 수박외피 메탄올 추출물의 경우, 농도 0, 50, 100, 200, 400 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 에서 처리 후 24 및 48시간 경과 후 고농도인 400 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 에서 각각 20%, 10%의 암세포 성장 억제율을 보여서 수박외피 메탄올 추출물은 고농도에서 세포항암활성을 미미하게 가진다고 보여진다.

수박외피 열수 추출물의 경우, 농도 0, 50, 100, 200, 400 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 에서 처리후 24 및 48시간 경과 후 고농도인 400 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 에서 세포억제율은 20% 이내로 미미한 효과를 가져서 수박외피 열수 추출물도 농도와 시간의 의존성을 가지지 않는다고 보여진다.

수박외피 메탄올 추출물에서 COX-2 및 iNOS 발현량 측정 결과, COX-2에서 농도 200 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 으로 갈수록 95% 이상의 억제효과를 보였다는 것은 수박외피 메탄올 추출물의 경우는 농도 100~200 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 이 최적의 조건임을 보여주는 것이며, iNOS의 발현양은 거의 밴드가 보이지 않을 정도로 두루 억제했다는 것으로 보아 수박외피의 항암기작은 COX-2경로와 iNOS 경로 모두 두드러진 효과를 보여주며, 이는 수박외피 메탄올 추출물을 전립선 암세포 사멸과 비교해 보았을 때 난소암 항암보조제로 사용할 경우 중요한 단서로 작용될 수 있음을 시사한다.²⁷⁾

한편 수박외피 열수 추출물에서 COX-2 및 iNOS 발현량 측정 결과, 도표 4와 같이 COX-2에서 200 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 에서 60% 억제율을 보였고, iNOS에서는 모든 농도에서 억제 효과를 보였으므로 수박외피 열수 추출물의 경우 수박외피의 항암기작은 COX-2 경로가 아니라 iNOS 경로인 것으로 보아 역시 난소암 항암보조제로서 중요한 단서가 될 수 있음을 시사한다.

또한 이 실험은 in-vitro 실험임으로 추가적으로 in-vivo와 human 실험이 지속적으로 연구되어야 할 필요성이 제기된다.

V. 결 론

소재 수박외피를 가지고 인체 난소암 세포주 실험에서 MTS assay 방식에 의해 세포생존율을 측정에서 수박외피 메탄올 추출물에서 시간과 농도 의존성에서 10~20% 정도로 미미한 효과가 있었고, 또한 열수 추출에서도 시간과 농도의존성에서도 유익한 효과를 보이지 않았다.

한 편, Western Blotting 방식으로 iNOS와 COX-2 발현량 측정에서 열수 추출 및 메탄올 추출 모두 효과가 있었다는 사실을 알 수 있었다. 또한 전체적으로 COX-2 경로 보다는 iNOS 경로에서 많은 항암기작을 보였다.

1. 수박외피 메탄올 추출물은, 농도 400 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 에서 처리 후 24 및 48시간 경과 후 각각 20%와 10%의 암세포 성장 억제율을 보임으로서 농도와 시간의 의존성을 가지지 않는다.
2. 수박외피 열수 추출물의 경우, 각 농도에서 처리 후 24 및 48시간 경과 후 각각 암세포 성장 억제율은 10% 내외로 미미하였으므로 농도와 시간의 의존성을 가지지 않는다.
3. 수박외피 메탄올 추출물에서 COX-2 및 iNOS 발현량 측정의 경우, COX-2에서 농도 200 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 로 갈수록 95% 이상의 억제효과를 보였으므로 농도 100~200 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 이 최적의 조건임을 알 수 있고, iNOS의 발현량의 경우 모든 농도에서 두드러진 효과를 보인 것으로 보아 항암효과가 있는 것으로 조사된다.
4. 수박외피 열수 추출물에서 COX-2 및 iNOS 발현량 측정의 경우, COX-2에서 200 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 에서 60%의 억제율을 보였고, iNOS의 경우 모든 농도에서 99%의 억제율을 보여 고무적인 결과를 확인할 수 있었다. 이로써 열수 추출물에서 수박외피의 항암기작은 암표적지표인 COX-2 경로(pathway)가 아니라 iNOS 경로(pathway)인 것으로 보여진다.

VI. 참고 문헌

- 1) Kim Hye Young, Lee Hyun Kyung, Lee Seung Wook, Jeong Ji Yeon : "*Epidemiologic Characteristics of the Ovarian Cancer in Korea.*" J Kor Soc Health Stat. 2000;25(1):67-77.
- 2) Kim Ji Eun, Seo Ki Yun, Park Choong Hak, Park Jin Wan : " *Diagnostic Efficacy of the Risk of Malignancy Index in Early Detection of Ovarian Cancer.*" Kor J Obstet Gynecol. 2006;49(8):1660-1666.
- 3) Bae DH, Park SK, Jang KT, Kang, JM, Jang, JY : "*Taxol-Carboplatin regimen as Salvage Therapy in Patients with recurrent or drug-refractory Ovarian Cancer after Failure of Platinum based Chemotherapy.*" Kor J Obstet Gynecol. 1999;41(9): 2423-2428.
- 4) Kim DH, Deung YG, Choi JB, Lee YM, Yoon YS, Kim KY, Jang BS, Lee KJ : "*Anticancer Effect of Ascorbic Acid and Saengshik on CT-26 Colon Cancer.*" Kor J Electr Microsc. 2008;38(1):1-9.
- 5) Nam Mi Kyung : "*The Effect of Red Cabbage Extract (Brassica Oleracea L. Var. Capitata F. Rubra) on the Apoptosis in Human Breast Cancer MDA-MB-231 Cells.*" 학위논문(석사)-덕성여자대학교 대학원 : 식품영양학과 2011. 2.
- 6) Cha Eun Jeung : "*The Effect of Plant Extracts on Tyrosinase and Antioxidant Enzyme Activity.*" 학위논문(석사)-숙명여자대학교 대학원 : 약학과생명약학전공 2003. 2
- 7) Lim Yong Sub : "*A historical study of vegetables on the pharmaceutical quality and home remediation.*" 학위논문(석사)-서울시립대학교 산업대학원 : 환

8) Altaş S, Kızıl G, Kızıl M, Ketani A, Haris PI : "*Protective effect of Diyarbakır watermelon juice on carbon tetrachloride-induced toxicity in rats.*" Food Chem Toxicol. 2011 Sep;49(9):2433–8.

9) Marzouk B, Marzouk Z, Haloui E, Fenina N, Bouraoui A, Aouni M. : "*Screening of analgesic and anti-inflammatory activities of Citrullus colocynthis from southern Tunisia.*" J Ethnopharmacol. 2010 Mar 2;128(1):15–9.

10) Garriga T, Guilarte M, Luengo O, Guillén M, Labrador-Horrillo M, Fadeeva T, Sala A, Cardona V. : "*Frozen fruit skin prick test for the diagnosis of fruit allergy.*" Asian Pac J Allergy Immunol. 2010 Dec;28(4):275–8.

11) Lorenz PR, Lippmann F, Dürrling K, Solf M, Geissler J. : "*Pharmaco-toxicological and clinical studies with colocynth pulp extracts (Extr. colocynthis fructus).*" Arzneimittelforschung. 2005;55(11):621–630.

12) Tannin-Spitz T, Grossman S, Dovrat S, Gottlieb HE, Bergman M. : "*Growth inhibitory activity of cucurbitacin glucosides isolated from Citrullus colocynthis on human breast cancer cells.*" Biochem Pharmacol. 2007 Jan 1;73(1):56–67. Epub 2006 Sep 17.

13) Kumar S, Kumar D, Manjusha, Saroha K, Singh N, Vashishta B. : "*Antioxidant and free radical scavenging potential of Citrullus colocynthis (L.) Schrad. methanolic fruit extract.*" Acta Pharm. 2008 Jun;58(2):215–20.

14) Ziyat A, Legssyer A, Mekhfi H, Dassouli A, Serhrouchni M, Benjelloun W. : "*Phytotherapy of hypertension and diabetes in oriental Morocco.*" J

Ethnopharmacol. 1997 Sep;58(1):45–54.

15) Zou J, Lu H, Pan Z. : "*Clinical study of watermelon frost runhou tablet treatment for pharynx and larynx oral cavity.*" Lin Chuang Er Bi Yan Hou Ke Za Zhi. 2003 Apr;17(4):253–5.

16) Barri ME, Onsa TO, Elawad AA, Elsayed NY, Wasfi IA, Abdul–Bari EM, Adam SE. : "*Toxicity of five Sudanese plants to young ruminants.*" J Comp Pathol. 1983 Oct;93(4):559–75.

17) Marzouk B, Marzouk Z, Fenina N, Bouraoui A, Aouni M. : "*Anti-inflammatory and analgesic activities of Tunisian Citrullus colocynthis Schrad. immature fruit and seed organic extracts.*" Eur Rev Med Pharmacol Sci. 2011 Jun;15(6):665–72.

18) van Breemen RB, Pajkovic N. : "*Multitargeted therapy of cancer by lycopene.*" Cancer Lett. 2008 Oct 8;269(2):339–51. Epub 2008 Jun 27.

19) Rafi MM, Yadav PN, Reyes M. : "*Lycopene inhibits LPS-induced proinflammatory mediator inducible nitric oxide synthase in mouse macrophage cells.*" J Food Sci. 2007 Jan;72(1):S069–74.

20) Czeczuga–Semeniuk E, Bielawski T, Lemancewicz D, Rusak M, Wołczyński S. ; "*Vitamin A family compounds, estradiol, and docetaxel in proliferation, apoptosis and immunocytochemical profile of human ovary endometrioid cancer cell line CRL–11731.*" Folia Histochem Cytobiol. 2009;47(5):S127–35.

21) Hu SL, Zhou ZR, Zhang YJ. : "*Calcified metastases from ovarian carcinoma highlighted by F–18 FDG PET/CT: report of two cases.*" Abdom

Imaging. 2011 Sep 7.

22) Kim Min-Geun ,Ku Kang-Mo, Kang Young-Hwa : "*Cytotoxicity of the Rhizomes Extract of Alpinia galanga in Murine Hepatoma Cell Line.*"

Proc Kor Soc Crop Sci Conf. 2007;33(6):7-175

23) Katherine LS, Edgar CC, Jerry WK, Luke RH, Julie CD. : "*Extraction conditions affecting supercritical fluid extraction (SFE) of lycopene from watermelon.*" Bioresour Technol. 2008 Nov;99(16):7835-41.

24) Chandrika UG, Fernando KS, Ranaweera KK. : "*Carotenoid content and in vitro bioaccessibility of lycopene from guava (Psidium guajava) and watermelon (Citrullus lanatus) by high-performance liquid chromatography diode array detection.*" Int J Food Sci Nutr. 2009 Nov;60(7):558-66.

25) Figueroa A, Sanchez-Gonzalez MA, Perkins-Veazie PM, Arjmandi BH. : "*Effects of watermelon supplementation on aortic blood pressure and wave reflection in individuals with prehypertension: a pilot study.*" Am J Hypertens. 2011 Jan;24(1):40-4.

26) Atrooz OM. : "*The antioxidant activity and polyphenolic contents of different plant seeds extracts.*" Pak J Biol Sci. 2009 Aug 1;12(15):1063-8.

27) Chaturvedi M, Mali PC, Ansari AS. : "*Induction of reversible antifertility with a crude ethanol extract of Citrullus colocynthis Schrad fruit in male rats.*" Pharmacol. 2003 May;68(1):38-48.

저작물 이용 허락서

학과	대체의학과	학 번	20108621	과정	석사과정
성 명	한 글 : 강 재 국 한 문 : 姜 宰 國 영 문 : Kang Jae-Kook				
주 소	전라남도 담양군 담양읍 지침리 132-10번지 이치과의원				
연락처	E-MAIL : mogyver001@hanmail.net (010-2612-9558)				
논문제목	한 글 : 수박외피 추출물이 인체 난소암 세포주에 미치는 영향 영 어 : Effects of the Exocarp of <i>Citrullus lanatus</i> Extracts on Ovarian Cancer Cells				

본인이 저작한 위의 저작물에 대하여 다음과 같은 조건아래 조선대학교가 저작물을 이용할 수 있도록 허락하고 동의합니다.

- 다 음 -

1. 저작물의 DB구축 및 인터넷을 포함한 정보통신망에의 공개를 위한 저작물의 복제, 기억장치에의 저장, 전송등을 허락함
2. 위의 목적을 위하여 필요한 범위 내에서의 편집·형식상의 변경을 허락함.
3. 배포·전송된 저작물의 영리적 목적을 위한 복제, 저장, 전송 등은 금지함.
4. 저작물에 대한 이용기간은 5년으로 하고, 기간종료 3개월 이내에 별도의 의사 표시가 없을 경우에는 저작물의 이용기간을 계속 연장함.
5. 해당 저작물의 저작권을 타인에게 양도하거나 끄는 출판을 허락을 하였을 경우에는 1개월 이내에 대학에 이를 통보함.
6. 조선대학교는 저작물의 이용허락 이후 해당 저작물로 인하여 발생하는 타인에 의한 권리 침해에 대하여 일체의 법적 책임을 지지 않음.
7. 소속대학의 협정 기관에 저작물의 제공 및 인터넷 등 정보통신망을 이용한 저작물의 전송·출력을 허락함.

동의여부 : 동의(○) 반대 ()

2011년 12월 일

저작자 : 강 재 국 (印)

조선대학교 총장 귀하