

산야초류의 생리활성

함 승 시
강원대학교 농업생명과학대학

I. 서 론

현대인들은 건강관리를 위해 식품의 기능성에 대하여 많은 관심을 가지고 있다. 그 이유는 식품이 단순히 영양적, 기능적 그리고 기호적 기능외에도 생체방어 또는 질병의 치료효과를 나타내고 있기 때문이다. 일상 우리들이 섭취하고 있는 녹색채소류를 비롯한 각종 산야초류들은 각종 비타민류, 무기물류, 색소류, 섬유소 그리고 각종 특수성분 등 중요한 영양소를 풍부하게 함유하고 있어 건강의 유지 증강 및 질병의 예방 등에 크게 기여하고 있다. 일반 채소류들에 대한 항암성 연구 결과 많은 종류의 재료들이 높은 생리활성을 나타낸다는 사실은 잘 알려져 있다. 현재 전 세계적으로 항암제 개발뿐만 아니라 아직도 별다른 치료법이 개발되어 있지 않은 많은 난치성 성인 질환을 치료하기 위해서 천연 식물자원으로부터 미지의 약효성분을 검색 발견하여 새로운 의약품으로 개발하려는 노력이 매우 활발하게 진행되고 있다. 특히 항암제 개발분야에서는 이러한 노력이 더욱 활발한데 그 이유는 기존의 항암제들이 치료의 한계를 가지고 있는 반면 악성종양이 전체 질병문제에서 차지하는 비중이 높아지고 있기 때문이다. 지금까지 암을 극복하려는 인류의 노력에도 불구하고 암 치료의 노력은 제한적인 실패로 판단하여 앞으로의 노력은 전략을 바꾸어 치료보다는 예방에 치중해야 한다는 주장이 나오고 있다.

항암제 개발의 최근 동향을 보면 역시 화학합성이나 천연물로부터 유래하는 많은 관련물질에 대하여 약효여부를 조직적으로 검색하는 대량 검색이 가장 각광을 받고 있는데 이 전략에서는 실험 조작이 간편하면서도 능률적인 생물활성 대량검색 시스템이 가장 각광을 받고 있다.

본 연구실에서는 각종 시험관내에서 실시되는 *In vitro* 검색방법과 소동물을 사용하는 *In vivo* 검색방법 그리고 사람의 대표적인 암으로부터 수립된 암세포주에 대한 생체의 세포독성 검사로 1차 검색을 실시하여 각종 실험 재료들에 대한 항돌연변이성과 세포독성 효과, 항산화효과 그리고 유전독성억제효과 등을 검색하므로써 항암소재로서의 생리활성 기능을 규명하고 이들 식물 자원들을 이용하여 항암 및 암치료에 있어 식품재료로 이용하려는 연구를 수행하고 있다.

식품이나 식물로부터 돌연변이 혹은 암의 유발에 대한 억제 작용을 갖는 물질을 찾아내어 암이나 유전물질에 의한 손상을 예방하려는 연구는 매우 의미 있는 일이라고 본다.

최근 유전물질의 손상에 의해 나타나는 발암에 대하여 관심이 모아지고 있으며 암의 치료 및 예방제 개발을 위해 많은 연구가 이루어져 왔다. 각종 과실을 비롯한 산야초류의 섭취와 암과의 연관성에 대해서도 항암효과 연구가 활발히 진행되고 있으며 일반 과실 채소류들에 대한 항암성 연구결과 많은 종류의 시료들이 높은 생리활성을 나타낸다는 사실은 잘 알려져 있다.

II. Rec-assay에 의한 산야초류의 항변이원성

Bacillus subtilis H17(rec+)과 M45(rec-) 두 균주를 이용한 Rec-assay 결과 직접변이 원인 MNNG에 대한 컴프리 생즙과 가열추출물의 항돌연변이 효과는 생즙 40 μ l/disc 첨가시 MNNG 자체에 의한 생육저지대 30 mm에 비해 20 mm를 나타내므로써 강한 억제효과를 나타낸 반면 가열즙의 경우는 농도증가에 관계없이 26 mm로서 약한 억제 효과를 나타내었다. 그리고 겨우살이의 생즙, alcohol 추출물 그리고 가열추출물은 MMC(2 ng/disc)에 대하여 농도 의존적으로 강한 변이원 억제 활성을 나타내었으며 억제능력은 가열추출물, 알콜추출물 및 생즙 순이었다. 그리고 MNNG(10 μ g/disc)에 대해서도 같은 결과를 나타내었다.

Table 1. The antimutagenic effects of the mistletoe extracts against MNNG in spore rec-assay

Test compound	Dose (μl/disc)	Inhibition zone (mm)		Difference
		M45 (Rec)	H17 (Rec)	
crude extract	10	32	8	24
	20	31	9	22
	30	29	9	20
	40	28	10	18
Alcohol extract	10	30	8	22
	20	31	9	22
	30	30	10	20
	40	29	12	17
Heating extract	10	31	8	23
	20	29	9	20
	30	28	10	18
	40	27	10	17
MNNG		32 (10 μg/10 μl)	8	24

Dose: sample dose (μl/disc)+MNNG (10 μg/disc).

III. Ames 실험계를 이용한 산야초류 추출물의 돌연변이 억제활성

지금까지 수집종류의 산야초류의 생즙, 가열즙 또는 alcohol 추출물들이 *Salmonella typhimurium* TA98과 TA100 두 균주를 이용한 Ames 실험계에서 Benzo(α)pyrene, 2-AF, Trp-P-1, MNNG, MMC 그리고 4NQO와 같은 발암 물질들에 대해서 높은 항돌연변이 효과가 인정되었으며 생즙의 경우 TA98을 이용한 B(α)P의 억제활성에서 개미취를 비롯한 뽕미나리, 참나물, 질경이, 수리취, 참취, 달래 등은 90% 이상 억제하였으며 TA100에 대해서는 뽕미나리, 참나물, 민들레, 수리취, 질경이 등이 80% 이상 높은 억제활성을 나타내었다.

2-AF에 대한 억제 효과에서 TA98에서는 수리취, 두릅, 쑥, 돌미나리, 질경이, 냉이, 썸바귀, 고들빼기, 민들레, 부추, 쇠비름 등이 80% 이상 억제효과를 보였으나 TA100에서는 쑥, 수리취, 돌미나리, 냉이, 두릅 등이 80% 이상 억제효과를 나타내었다.

육류를 지나치게 태웠을 때 생성되는 간접변이 원인 Trp-P-1에 대한 억제 효과에서도 TA98 균주에서 질경이, 돌미나리, 두릅, 수리취, 쑥, 쇠비름, 썸바귀, 민들레, 부추, 돌나물, 고들빼기, 방가지똥, 참비름 등은 80% 이상의 발암물질 억제 활성을 나타내었으며 TA100에 대해서도 돌나물, 쑥, 썸바귀, 수리취, 돌미나리, 참비름, 두릅 등은 83% 이상의 높은 억제활성을 보였다. 한편 컴프리 추출물의 경우 TA98에서 생즙이 69.5%, 가열즙이 85.0%의 억제효과를 보인 반면 TA100에서는 생즙이 49.6%, 가열즙이 70.0%의 억제효과를 나타내었다.

한편 직접변이원인 4NQO에 대해서는 TA98과 TA100 두 균주에서 썸바귀와 부추 추출물이 80% 이상의 억제효과를 나타내었다. 산채류 생즙에 의한 발암물질 억제활성과 비교하기 위하여 100°C에서 20분간 가열처리한 산채류즙의 항돌연변이성 실험결과 B(α)P에 대하여 TA98에서는 참취 87.5%, 참나물 86.9% 그리고 원추리 가열즙이 86.2%의 강한 억제활성을 보였으며, 그 외 소루쟁이, 곰취, 머위, 개미취, 두릅, 잔대 및 뽕미나리 순으로 나타났다. TA100 균주에서는 두릅 79.7%, 개미취 76.8%, 잔대 72.3% 및 참취 가열즙이 70.2%의 변이원 억제활성을 나타내었고 그 외 곰취, 참취, 뽕미나리 및 원추리 가열즙도 대조구 보다 50% 이상의 변이원 억제활성을 보였다. 특히 곰취 ethanol, methanol, water, non-heating 추출물의 3가지 변이원에 대한 항돌연변이원성을 검토한 결과 TA100에서는 MNNG에 대하여 200 μg/plate의 농도첨가에 ethanol 추출물이 84.7%의 억제효과를 보였고 4NQO에 대해서는 67.9%의 억제효과를 나타내었으며 Trp-P-1에 대하여서는 70.1%의 억제효과를 나타냄으로서 가장 높은 항돌연변이 활성을 가지고 있음을 알 수 있었으며 TA98 보다 높은 억제효과를 나타내었다.

한편 케일의 생즙, acetone, ether 및 methanol 추출물에 의한 직접변이원인 MMC와 4NQO에 대한 돌연변이 억제효과에서 공시시료 모두에서 강한 항돌연변이 효과를 나타내었으며 겨우살이 생즙, alcohol 그리고 가열처리한 추출물에 의한 MNNG, MMC, 4NQO, B(α)P 및 Trp-P-1에 대해서도 추출물의 종류에 따라 다소 차이는 있으나 공시시료 모두 항돌연변이 효과를 나타내었다.

Table 2. Inhibitory effects of edible mountain herb juices on B(α)P in *Salmonella typhimurium* TA98 and TA100 in the presence of S-9mix

Sample	Dose (μl/plate)	Inhibition (%)		Sample	Dose (μl/plate)	Inhibition (%)	
		TA98	TA100			TA98	TA100
<i>Aster tataricus</i>	50	72.6	25.5	<i>Ligularia fischeri</i>	50	53.5	51.6
	100	85.5	30.4		100	74.9	60.9
	200	92.9	42.4		200	75.6	63.7
	300	96.6	43.8		300	79.6	67.6
<i>Scilla scilloides</i>	50	41.5	32.6	<i>Aster scaber</i>	50	56.2	72.9
	100	46.3	39.4		100	82.3	78.1
	200	60.8	60.6		200	87.9	78.4
	300	62.2	65.2		300	90.9	78.4
<i>Rumax crispus</i>	50	34.1	16.6	<i>Petasites japonicus</i>	50	39.8	57.9
	100	54.4	32.5		100	69.2	68.2
	200	79.9	32.3		200	88.6	73.1
	300	85.1	52.7		300	88.9	78.5
<i>Hemerocallis fulva</i>	50	58.4	30.6	<i>Adenophora triphylla</i>	50	66.2	69.4
	100	70.3	83.9		100	76.6	74.5
	200	94.1	90.1		200	83.3	77.5
	300	96.0	92.3		300	88.6	77.2
<i>Pimpinella brachycarpa</i>	50	76.2	75.5	<i>Portulaca oleracea</i>	50	6.2	30.1
	100	88.2	78.9		100	43.6	45.0
	200	89.8	83.2		200	58.3	60.3
	300	94.3	83.5		300	79.7	72.2
<i>Youngia sonchifolia</i>	50	22.3	30.2	<i>Synurus deltooides</i>	50	75.6	75.0
	100	40.5	40.3		100	89.3	80.4
	200	70.1	42.5		200	93.4	83.5
	300	71.5	49.4		300	93.2	85.7
<i>Capsella bursapastoris</i>	50	55.2	61.2	<i>Lxeris dentata</i>	50	42.3	44.2
	100	62.8	63.3		100	70.6	52.1
	200	78.0	71.4		200	85.5	62.3
	300	82.1	72.6		300	85.6	62.7
<i>Taraxacum platycarpum</i>	50	46.2	55.4	<i>Plantago asiatica</i>	50	90.1	68.3
	100	71.3	70.1		100	92.0	79.1
	200	84.5	79.3		200	93.1	79.7
	300	87.0	80.7		300	93.3	80.8
<i>Sonchus oleraceus</i>	50	8.2	20.3	<i>Amaranthus lividus</i>	50	32.0	32.2
	100	31.4	38.2		100	51.3	57.3
	200	43.7	49.6		200	73.6	57.8
	300	61.6	58.8		300	79.4	65.4
<i>Allium tuberosum</i>	50	10.2	14.5	<i>Allium monanthum</i>	50	8.3	19.8
	100	20.1	21.2		100	11.7	31.9
	200	20.2	29.1		200	24.4	51.9
	300	21.5	30.7		300	90.0	59.3

인진쑥의 발암물질 억제효과 실험결과 생즙, 에탄올추출물 및 물추출물의 경우 *Salmonella typhimurium* TA100 균주에서 직접 변이원 물질인 MNNG(0.5 μg/plate)에 대하여 시료를 50 μg/plate 첨가시 생즙의 경우는 83%의 높은 억제 효과를 나타내었으며 에탄올추출물의 경우는 35% 그리고 물추출물의 경우는 20%의 억제효과를 나타내었다. 한편 간접 변이원인 Trp-P-1(5 μg/plate)의 발암물질에 대해서도 생즙 50 μg/plate 첨가시 70%의 높은 억제효과를 나타내었으며 에탄올추출물에 대해서는 30%, 물추출물에 대해서는 15%의 낮은 억제효과를 나타내었다.

IV. SOS chromotest에 의한 산야초 추출물의 돌연변이 억제활성

E.coli PQ37/plasmid pKM101 균주를 이용한 SOS chromotest 실험결과 쇠비름의 열수추출물과 ethanol추출물의

Table 3. Effect of ethanol extract of *Poturaca oleracea* L. against the mutagenicity of 4-nitroquinoline-1-oxide(4NQO, 0.4 µg/plate), benzo(α)pyrene(B(α)P, 10 µg/plate) and 3-amino-1,4-dimethyl-5H-pyrido-(4,3-b)indole(Trp-P-1, 0.15 µg/plate) in *salmonella typhimurium* TA98¹⁾

Concentration of ethanol extract in DMSO (µg/plate)	Revertants/plate ²⁾ (%) ³⁾		
	4NQO	B(α)P	Trp-P-1
Spontaneous	142±10	132±12	128±9
0	542±14	185±12	604±13
100	490±14 (13)	161±14 (31)	322±14 (59)
200	479±18 (15)	144±11 (53)	286±14 (67)
400	434±13 (27)	120±12 (84)	245±12 (75)
800	458±12 (21)	108±12 (87)	175±19 (90)
1600	350±14 (48)	108±14 (87)	161±13 (93)

1) Mutagenicity was tested with S-9mix

2) Each value represents mean±S.D. of triplicate plates

3) The percentage of inhibition of mutagenicity by *Poturaca oleracea* L. ethanol extract.

Table 4. Inhibitory effects of mistletoe extract on the induction of SOS function by B(α)P

Test compound	Dose (µg/assay)	B(α)P (0.5 µg/assay)				
		β-G (units)	A-P (units)	Ratio	IF	IR
Crude extract	0	27.80	16.863	1.701	4.3663	-
	5	18.50	16.550	1.117	2.864	44.6
	10	18.15	17.130	1.059	2.715	49.0
	20	17.50	17.680	0.989	2.530	54.5
	40	17.15	17.900	0.958	2.456	56.7
Alcohol extract	0	28.60	17.045	1.677	4.344	-
	5	30.35	22.090	1.373	3.556	23.6
	10	19.90	18.590	1.070	2.772	47.0
	20	19.20	16.136	1.189	3.080	37.8
	40	10.45	17.454	0.598	1.549	83.6
Heating extract	0	26.90	17.909	1.502	3.921	-
	5	18.90	18.454	1.021	2.665	43.0
	10	17.20	18.272	0.938	2.449	50.4
	20	16.80	18.772	0.945	2.467	49.8
	40	17.75	17.863	0.657	1.715	96.3

항돌연변이효과에서는 시료농도 320 µg/assay에서 4NQO에 대해서는 40%, MNNQ에서는 50%의 억제활성을 나타내었으나 열수추출물의 경우 4NQO에 대해서는 억제활성을 나타내지 않았으며 MNNG에 대해서도 30% 정도로 억제활성이 다소 감소하였다. 그리고 겨우살이의 생즙, alcohol 추출물 그리고 가열추출물은 B(α)P와 Trp-P-1에 대하여 모두 변이원 억제활성을 나타내었으며 B(α)P에 대해서는 가열추출물의 경우 최대 96%, Trp-P-1에 대해서는 알콜 추출물이 70%의 억제활성을 나타내었다.

한편 케일의 생즙, acetone, diethylether 그리고 methanol추출물의 MMC(40 ng/assay) 및 4NQO(20 ng/assay)에 대한 항돌연변이성 실험 결과 생즙 추출물의 경우 MMC에 대해 55%의 억제활성을 나타내었고 acetone추출물에서는 71%의 높은 억제활성을 나타내었다.

V. 산야초류 추출물의 DNA 절단능실험

식품성분에 의한 DNA의 손상은 복제 전사등의 과정을 거쳐 단백질의 합성에 영향을 미치고 최종적으로는 생체에 여러 가지 기능을 나타낸다. DNA의 절단이나 여기에 유래하는 돌연변이등 미생물을 이용하는 단기 시험법은 식품의 기능을 검색하는 수단으로서 널리 이용되고 있다. 10종류의 산채 및 4종류의 버섯에 대하여 기능성 성분을 검색한 결과 산채의 종류 및 공존하는 균속등에 의해서 다르지만 DNA의 절단, Rec-assay, 항변이원등에 활성이 관찰 되었다.

표 7. 산야초류 추출물의 DNA 절단실험

산채류	DNA 절단		변이원 억제 ²⁾ (%)	
	λDNA (Cu ²⁺)	Rec-assay ¹⁾ (급속)	Ames 시험	
			TA-98	TA-100
가열수추출액				
곰취	+	+(Zn ²⁺)	+	++
두릅	-	-	+	++
머위	+	-	++	±
잔대	+	+(Pb ²⁺ , Zn ²⁺)	+	++
소루쟁이	-	+(Pb ²⁺)	+	±
참나물	-	+(Zn ²⁺)	++	±
참취	-	-	++	++
개미취	+	+(Cu ²⁺ , Fe ²⁺ , Mn ²⁺ , Zn ²⁺)	++	++
맷미나리	-	-	++	+
알코올추출액				
석이버섯	+	+(Zn ²⁺ , Ni ²⁺)	+++	+++
목이버섯	+	+(Cu ²⁺ , Zn ²⁺)	++	+++
송이버섯	-	-	+++	+++
표고버섯	+	+(Cu ²⁺ , Zn ²⁺)	++	+++

¹⁾+: 생육저지대 5 mm 이상, -: 생육저지대 5 mm 이하

²⁾변이원 benzo(α)pyrene: ± 0~25%, +: 26~50%, ++: 51~75%, +++: 76~100%.

VI. LDL을 이용한 산야초류 추출물의 항산화 실험

인간의 혈장에서 분리한 low density lipoprotein을 이용한 항산화효과는 4가지측면에서 추출물 및 분획물들에 대하여 검증되었으며 지질 산화에 따라 발생하는 MDA(malondi-aldehyde)를 thiobarbituric acid와 반응시켜 측정된 MDA 값은 곰취 추출물의 농도가 증가함에 따라 감소하는 경향을 보임으로서 산화가 추출물들에 의해 억제됨을 알 수 있었다. methanol 추출물이 15 µg/ml농도 첨가시 71.7%(13.36 nmol/mg)의 억제율과 MDA값을 나타냄으로서 가장 좋은 효과를 보였다. 분획물의 경우 ethylacetate분획물이 동일농도에서 97%(1.351 nmol/mg)의 산화억제율과 MDA값을 나타내어 분획물이 crud한 시료보다 높은 항산화효과를 가지고 있음을 알 수 있었다.

산화 시간에 따른 MDA값의 변화량은 25 µg/ml의 농도첨가시 ethanol, metanol, water 추출물의 경우 4시간까지 산화를 억제하였고 6시간대부터 산화 억제력이 떨어지기 시작하였다. 분획물의 경우에는 20 µg/ml의 농도첨가시 ethylacetate 분획물의 경우 8시간 까지 산화를 억제함으로써 강력하고 지속적인 항산화효과를 나타내었다.

LDL표면의 charge변화를 측정하므로써 산화정도를 나타내는 agarose gel electrophoresis에서는 ethanol, methanol, water추출물과 ethylacetate 분획물 및 물분획에서 항산화효과를 나타내었다.

지질산화에 따라 발생하는 conjugated diene은 곰취추출물의 경우 Cu²⁺로 산화시켰을 때 발생하는 control(0.37)의 수치를 약1.06배에서 2.8배까지 감소시키는 효과를 나타내었고 분획물의 경우 control(0.41)에 대하여 약 2.2배에서 3.2배까지의 감소효과를 나타냄으로서 산화억제효과가 있음을 알 수 있었다.

LDL내부에 존재하는 apo B-100부분에 대하여 산화에 따른 degradation 정도를 측정하기 위하여 SDS-PAGE를 이용하여 분석한 결과 non-heating 추출물의 경우를 제외하고는 native LDL의 band와 유사한 band를 나타내었다. Densitometer를 이용한 수치적인 apo B-100함량은 native LDL의 함량을 100%로 하였을 때 ethanol, methanol, water 추출물의 경우 77.8%, 92.5%, 82.3%의 함량을 나타내었다. 분획물의 경우 hexane, ethylacetate 및 물분획물에서 각각 38.75%, 94.5%, 65.46%의 함량을 나타냄으로서 ethylacetate 분획물이 산화를 억제함으로써 apo B-100의 degradation을 막아주고 있음을 알 수 있었다.

VII. 산야초류 추출물의 Cytotoxicity

산야초류 에탄올 추출물의 항암활성 검색을 위하여 인간의 폐암세포인 A549(Lung carcinoma, Human), 유방암 세포인 MCF-7(Breast adenocarcinoma, Human), 섬유육종암 세포인 HT1080(Fibrosarcoma, Human), 간암세포인

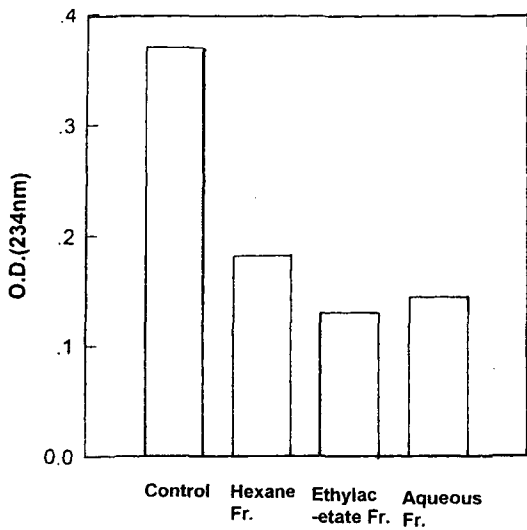


Fig. 1. Inhibitory effects of each fraction (20 µg/ml) from the ethanol extracts of *Ligularia fischeri* on conjugated diene formation.

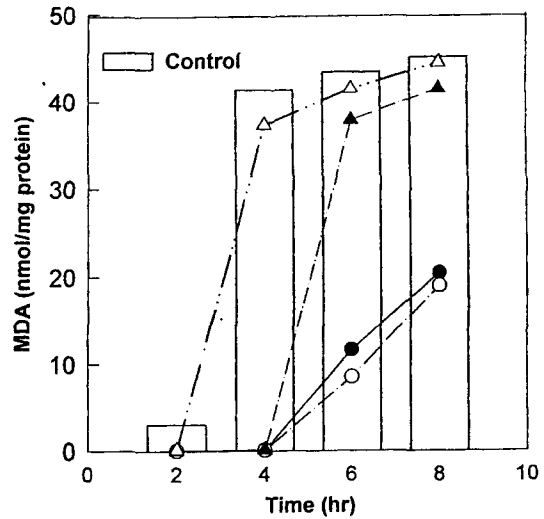


Fig. 2. Inhibitory effects of *Ligularia fischeri* extracts (25 µg/ml) according to LDL oxidation time. ● Ethanol, ⊖ Methanol, △ Non-heating, ▲ Water.

Hep3B(Human hepatocellular carcinoma), 그리고 정상세포인 WRL68(Human embryo, liver) 등의 암세포를 이용한 세포독성 실험에서 A549에 시료농도를 0.5 µg/µl 첨가시 더덕 55.2%, 두릅 93.7%, 개미취 68.9%, 겨우살이 62.2%, 참취 55.0% 그리고 아스파라거스 추출물이 54.0%로 비교적 높았으며 부추 6.7%, 민들레 33.9%, 원추리 48.8% 그리고 돌나물 추출물이 31.1%로 비교적 낮았다. 10가지 산야초류 추출물 중 두릅이 가장 높은 세포독성 효과를 나타내었다. 또한 MCF-7에 대한 세포독성 실험에서 0.5 µg/µl 첨가시 개미취 82.9%, 참취 65.2%로 취나물을 제외한 다른 산야초류들은 두릅 27.5%, 부추 4.4%, 민들레 34.9%, 더덕 24.8%, 원추리 44.3%, 돌나물 15.0%, 아스파라거스 49.9%로 낮은 세포독성 효과를 나타내었다. 섬유육종세포인 HT1080에 대한 실험결과 0.5 µg/µl 첨가시 두릅 53.8%, 개미취 84.9%, 참취 49.0% 및 아스파라거스 59.2%의 높은 세포독성 효과를 나타내었으며, 부추 3.7%, 민들레 17.5%, 더덕 30.7%, 원추리 31.8% 그리고 돌나물이 42.4%의 낮은 세포독성효과를 나타내었다. 한편 Hep3B에 대한 세포독성결과 0.5 µg/µl 첨가시 두릅 94.2%, 원추리 53.6%, 개미취 71.3%, 겨우살이 59.6%, 참취 53.1% 그리고 아스파라거스는 54.5%의 높은 세포독성효과를 나타낸 반면 부추 12.61%, 민들레 37.1%, 더덕 50.5% 그리고

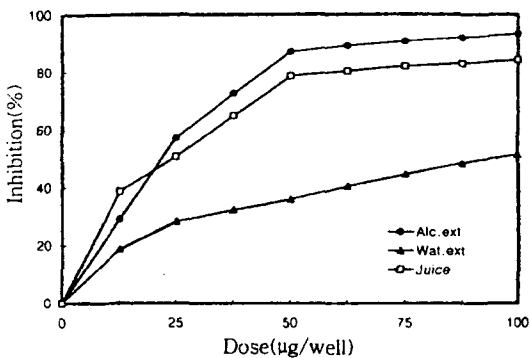


Fig. 3. Inhibitory effects of the fresh juice, water and ethanol extract from *Artemisia iwayomogi* during the growth of human lung cancer cell (A549).

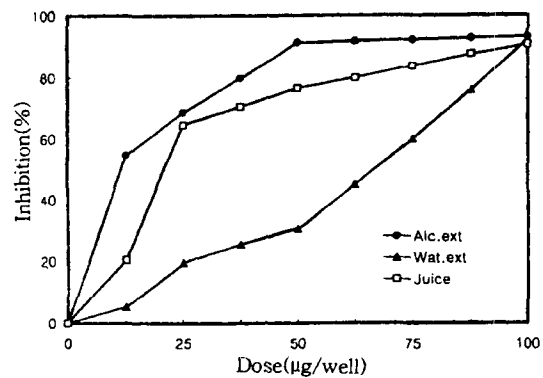


Fig. 4. Inhibitory effects of the fresh juice, water and ethanol extract from *Artemisia iwayomogi* during the growth of human lung breast cell (MCF7).

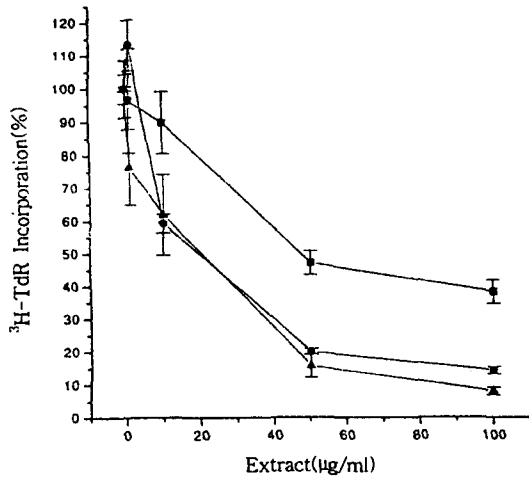


Fig. 5. Tritiated thymidine uptake by Hep G2, Hep 3B, and PLC/PRF/5 cells after treatment with increasing concentrations of *Symphytum officinale* extract.

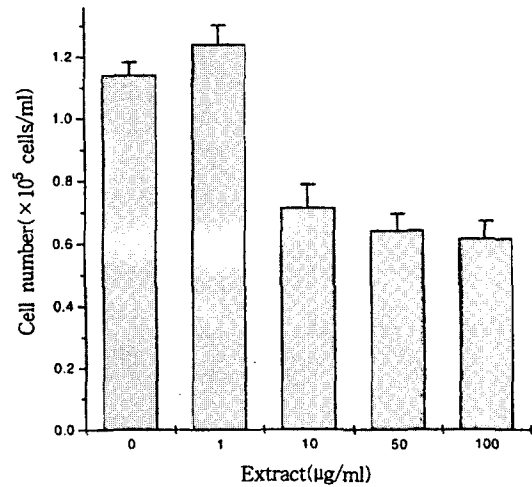


Fig. 6. Determination of Hep G2 cell numbers after treatment with increasing concentrations of *Symphytum officinale* extract.

Hep G2 cells were plated in 6-well dishes and after 12 hr incubation increasing concentrations of *Symphytum officinale* extract were added and then three days later the cell number was counted. Triplicate wells were tested.

들나물 추출물의 경우 32.8%의 낮은 억제효과를 나타내었다. 산야초류 ethanol 추출물의 세포독성 실험에서는 개미취, 참취, 두릅 등의 세포독성이 전체적으로 높은 결과를 나타내었다. 그리고 정상 간세포인 WRL68에 대한 세포독성을 검토한 결과 10가지 산야초류 추출물을 0.5 µg/µl 첨가시 개미취 80.6%, 두릅 73.1%, 아스파라거스 61.2%, 참취 58%, 원추리 41.9%, 겨우살이 38.5%, 더덕 31.1%, 민들레 28.0%순이었다. 암세포에 대한 세포독성이 강한 시료가 역시 정상세포에 대하여서도 세포독성이 강하였다. 한편 부추, 들나물은 정상간세포인 WRL68에 대하여 전혀 세포독성을 나타내지 않았으며 미약하나마 세포의 증식을 증가시키는 경향도 보였다.

특히 곰취의 ethanol과 metanol 추출물을 1 µg/µl의 농도로 인간 간암세포인 HepG2에 첨가한 결과 79.2%와 86.4%의 항암활성을 나타내었고 분획물의 경우 동일한 농도로 투여하였을 경우 ethylacetate 분획물의 경우 94%의 높은 항암활성을 나타내었다. 한편 자궁암세포인 Hela 세포에 곰취추출물을 첨가하였을 경우 50~56%의 세포독성을 나타내었으나 분획물첨가의 경우 ethylacetate 분획물의 경우 91%의 높은 항암활성을 나타내었다. 그리고 폐암세포인 A549에 대해서도 91.9%의 높은 항암활성을 나타내었다. 그리고 ICR mouse를 이용한 유전독성 억제실험에서도 곰취추출물은 MNNG에 의한 소핵생성의 억제효과는 MNNG 150 mg/kg을 마우스에 투여한 결과 ethanol 추출물의 경우 15~57.9%의 억제효과를 나타내었다. 수리취 ethanol 추출물의 경우도 B(α)P에 의한 소핵생성에 대해 높은 억제효과를 나타내었다.

그리고 간암세포인 HepG2, Hep3B 그리고 PLC/PRF/5 세포주를 이용한 컴프리 추출물의 세포독성 실험에서 Insulin-like growth factor II(IGF-II) 유전자의 분화를 억제하였을 뿐만 아니라 컴프리추출물의 첨가에 따라 HepG2 세포성장 억제효과도 높은 것으로 나타났다. 위암세포주인 KATO III 세포주를 이용하여 쇠비름의 각종 용매추출물 및 수종의 쇠비름 함유성분들에 의한 암세포 증식 억제 실험결과 여러 용매추출물 중에서 chloroform 추출물이 가장 높은 암세포 증식억제효과를 나타내었으며 함유성분 중에서는 dopa, dopamin, noradrenalin, ascorbic and 그리고 tannin 성분들이 강한 억제효과를 나타내었다.

한편 4종류의 인간 암세포를 이용하여 인진쑥의 생즙과 에탄올추출물 그리고 물추출물에 대한 세포독성 실험 결과 인간 폐암세포인 A549의 경우 50 µg/ml의 농도를 첨가하였을 때 에탄올추출물 89%, 생즙 80% 그리고 물추출물이 35%의 사멸효과를 나타내었다. 또한 유방암세포인 MCF7에 대해서는 50 µg/ml 첨가시 에탄올추출물 91%, 생즙 76%, 물 추출물 30%의 억제효과를 나타내었으며, 섬유육종암세포 HT1080에 대해서는 에탄올 추출물

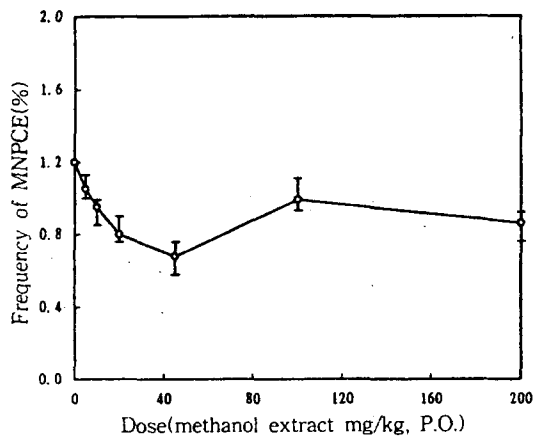


Fig. 7. The antigenotoxic effect of varying doses of methanol extract of *Synurus deltoides* on the frequencies of micronucleated polychromatic erythrocytes induced by benzo[α]pyrene with the methanol extract feeding 12 hour before injection of benzo[α]pyrene.

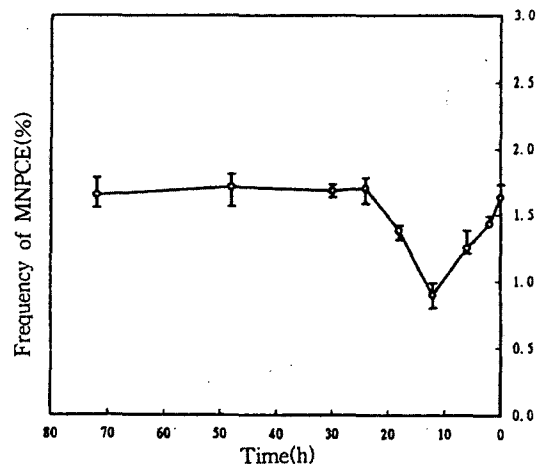


Fig. 8. The antigenotoxic effect of methanol extract of *Synurus deltoides* on the frequencies of micronucleated polychromatic erythrocytes with variation in the time interval between the methanol extract feeding and injection of benzo[α]pyrene.

90%, 생즙 78% 그리고 물추출물이 30%의 억제효과를 나타내었고 위암세포인 KATO III에 대해서는 에탄올추출물 68%, 생즙 52% 그리고 물추출물이 18%의 세포독성효과를 나타내었다. 4종류의 인간 암세포주에 대한 인진숙의 항암효과는 에탄올추출물에서 강한 효과를 보여주었다.

VIII. 산야초류 추출물의 유전독성 억제 활성

곰취 추출물의 MNNG에 대한 소핵생성 억제효과는 MNNG 150 mg/kg을 복강내에 농도별로 첨가시 ethanol 추출물의 경우 12~57%의 억제율을 보였고, methanol 추출물의 경우 15~58%의 소핵생성 억제율을 나타내었다. 두가지 시료 모두 고른 소핵생성 억제효과를 보임으로서 MNNG에 대한 소핵생성 억제효과와 Ames test에서의 결과가 유사한 것으로 나타나 상호 높은 연관성이 있음을 알 수 있었다.

IX. Nude mice를 이용한 종양억제활성

면역체계를 갖지않는 nude mice를 이용한 항종양 실험에서는 쇠비름의 chloroform추출물이 종양억제활성을 나타내므로서 이들 식용식물 자원들의 생리활성 억제효과 및 항암활성을 확인하였다.

참고문헌

1. Maron, D. M. and B. N. Ames,: Revised methods for the *Salmonella* mutagenicity test. *Mutat. Res.*, 113, 173 (1983).
2. 배재민, 김민선, 박희준, 정혜영, 양한석, 박건영, 문숙희, 최재수: 더위지기의 항돌연변이 물질과 그 작용기전. *대한암학회지*, 24, 352 (1992).
3. Kimura, Y., H. Okuda, T. Okuda, T. Hatano, I. Agata, and S. Artichi,: Studies on the activities of tannins and related compounds from medicinal plants and drugs. VII. Effects of extracts of leaves of *Artemisia* species and caffeic acid and chlorogenic acid on lipid metabolic injury in rats fed peroxidized oil. *Chem. Pharm. Bull.*, 33, 2028 (1985).
4. Michael, C. A., A. S. Dominic, and M. Anue,: Feasibility of drug screenign with panels of human tumor cell lines using a microculture tetrazolium assay. *Cancer Res.*, 48, 589 (1988).
5. Martin, A. and C. Martin,: Comparison of 5 microplate colorimetric assays for in vitro cytotoxicity testing and cell proliferation assays. *Cytotechnology*, 11, 49 (1997).

6. 황병호, 조국난, 최근표, 정성원, 김은정, 함승시: 주목추출물의 발암물질 억제효과 및 암세포에 미치는 영향. 한국식품영양과학회지, 25, 1062 (1996).
7. 김소희: 썬바퀴 추출물의 돌연변이 유발억제효과 및 MG-63 암세포 성장저해효과. 한국영양식량학회지, 24, 305 (1995).
8. 이기동, 김정숙, 배재오, 윤희식: 쑥의 물추출물과 에테르 추출물의 항산화 효과. 한국영양식량학회지, 21, 17 (1992).
9. Morita, K., Y. Nishijima, and T. Kata: Chemical nature of a desmutagenic factor from Burdock, *Agric. Biol. Chem.*, 49(4), 925-932 (1985).
10. Bedwell, S. and W. Jessup: Effects of oxygen-centered free radicals on LDL structure and metabolism, *Biochem. Soc. Trans.*, 15, 259 (1987).
11. Esterbauer, H., G. Striegl, and H. Puhl: The role of vitamin E and carotenoids in preventing oxidation of LDL, *Annu. NY. Acad. Sci.*, 570 (1989a).
12. Shankel, D. M., P. E. Hartman, T. Kada, and A. Hollaender, Eds.: *Antimutagenesis and Anticarcinogenesis Mechanisms*, Plenum Press, New York (1986).
13. Kada, T., K. Morita, and T. Inoue, Antimutagenic action of vegetable factor(s) on the mutagenic principle of tryptophan pyrolysate, *Mutation Res.*, 53, 351 (1978).
14. Lai, C. H., M. N. Butler and T. S. Matney, Antimutagenic activities of common vegetables and their chlorophyll content, *Mutation Res.*, 77, 245 (1980).
15. 함승시, 최근표, 최용순, 이상영: 베릴 flavonoid의 항돌연변이원성 및 지질대사 조절기능에 관한 연구, 한국영양식량학회지, 23(4), 698 (1994).
16. Ashby, J. and H. Tinwell: The serial dosing rodent bone marrow micronucleus assay test protocol; Context, purpose and design of the collaborative study, *Mutation Res.*, 234, 111-14 (1990).
17. Ashby, J. and H. Tinwell, D. Gulati, and J. A. Heddle: Overview of the study in relating to protocol design for the rodent bone marrow micronucleus assay, *Mutation Res.*, 234, 223-248 (1990).
18. Margaret, E. H., L. O. Christopher, and M. F. Alan: Role of lysine in mediating interaction of modified LDL with the scavenger receptor of human monocyte macrophages. *J. Biol. Chem.*, 259, 11305-11311 (1984).