

씀바귀 뿌리 추출물의 항산화성, 항돌연변이원성 및 항암활성 효과

김명조*† · 김주성* · 정동명** · 함승시*** · 유창연*

* 강원대학교 농업생명과학대학 식물응용과학부, ** 원광대학교 생체공학연구소, *** 강원대학교 바이오산업공학부

Effect of Antioxidant, Antimutagenicity and Anticancer of Root Extract from *Ixeris dentata* Nakai

Myong Jo Kim*†, Ju Sung Kim*, Dong Myong Jeong**, Seung Shi Ham*** and Chang Yeon Yu*

* Division of Applied Plant Science, College of Agriculture and Life Science, Kangwon National University, Chuncheon, Korea

** Institute of Wonkwang Biomedical Eng. Research, Wonkwang University, Iksan, Korea

*** School of Biotechnology and Bioengineering, Kangwon National University, Chuncheon, Korea

ABSTRACT : *Ixeris dentata* root were extracted with methanol and then fractionated with *n*-hexane, EtOAc and BuOH to get active fractions. and their antioxidant and antimicrobial activities in each fraction were determined. Ethyl acetate fraction of *Ixeris dentata* root showed strong antioxidant activities, but aqueous fraction did not show any activities. But in the antimicrobial test, aqueous fraction showed strong antimicrobial activities except to *Escherichia coli*. especially, aqueous fraction showed the strongest activities against *Hypocrea nigricans*. and butanol fraction showed the strongest activities against *Cladosporium herbarum*. This study was performed to determine the antimutagenic and cytotoxic effect of *Ixeris dentata* root methanol extract on *Salmonella typhimurium* TA98, TA100 and cancer cell lines using ames test and cytotoxicity assay, respectively. Cancer cell lines include human lung carcinoma(A549), human breast adenocarcinoma(MCF-7) and human hepatocellular carcinoma (Hep 3B). Futher fractionations with hexane, ethyl acetate, butanol and water from methanol extract of *Ixeris dentata* root were performed to obtain effective fraction, methanol extracts showed 79.94% inhibitory effect on the mutagenesis induced by N'-methyl- N'-nitro-N-nitrosoguanidine(MNNG) against TA100, while 89.99% inhibition was observed on the mutagenesis induced by 4-nitroquinoline-1-oxide(4NQO) against TA98. In the meanwhile, butanol fraction showed 89.92% and 71.01% inhibitory effect on the mutagenesis induced by benzo(a)pyrene(B(a)P) against TA98 and TA100, respectively. Ethyl acetate fraction showed the strongest effect against A549, MCF-7 and Hep3B at the same concentration compared to those of other fration.

Key words : *Ixeris dentata*, antimutagenic, MNNG, 4NQO, B(a)P, Trp-P-1, *Salmonella typhimurium*

서 론

일상생활에서 섭취하고 있는 각종 식품으로부터 생체내에서 어떠한 유해성과 부작용이 없는 약리성분을 찾으려

는 노력이 계속되고 있다. 또한 일반 채소류를 포함하여 식용 및 약용으로 쓰이는 야생 식물자원들로부터 약리성분을 찾으려는 연구가 활발히 진행되고 있는 추세이다. 썸바귀는 국화과에 속하는 여러해살이풀로 주로 한국,

† Corresponding author (Phone) : Myong Jo Kim, 033-250-6410, E-mail : kimmjo@kangwon.ac.kr

Received 26 July 2002 / Accepted 22 August 2002

일본, 중국에 분포하며 고채(苦菜) 씬배나물이라고도 한다. 주로 산과 들에 자생하고 높이는 30cm 전후로 자라며 줄기나 잎을 자르면 흰 즙이 나온다. 예로부터 어린 순과 뿌리를 나물로 이용하였으며, 꽃은 5-7월에 노랑색으로 1.5cm 정도 크기로 핀다(이, 1979).

원나라 문종 때 중국약전인 음선정요(陰癘正要)에서는 씬바귀를 얼굴이나 눈의 노란 기운을 없애주며, 오장(五臟)의 사기(邪氣)를 쫓아 안심(安心), 익기(益氣), 총찰(聰察), 경신(輕身), 내노(耐老)의 효과를 가져다 준다고 하여 '천정채(天淨菜)'라 하였다. 또한, 민간에서는 진정, 최면, 해열, 조혈, 건위, 소화불량, 폐렴, 간염, 타박상, 종기 및 식용촉진 등에 오래부터 사용되었다(福田次郎, 1988).

이러한 씬바귀에 대하여는 aliphatics와 triterpenoids (Arai et al, 1963), sesquiterpene glycoside 등의 성분이 함유(Seto et al, 1986)됨이 알려져 있다. 또한 씬바귀의 메탄올 추출물은 고콜레스테롤혈증을 가진 쥐에 대한 개선효과(Choi et al, 1990)와 당뇨쥐의 혈당을 감소시키고 혈액의 triglyceride와 총 cholesterol의 수준을 감소시키는 지방 저하 효과를 가지며 주성분으로는 cynaroside(luteolin 7-O-β-D-glucoside)가 보고(Choi et al, 1991)된 바 있다(Kim, 1995).

본 연구에서는 씬바귀 뿌리가 갖는 생리활성 기능을 탐색하여 기능성 식품의 개발 및 의약 신소재 개발의 기초 자료를 얻고자 본 실험을 수행하였다.

재료 및 방법

시료의 추출 및 분획

실험에 사용한 씬바귀(*Ixeris dentata* Nakai) 뿌리는 (주)천길로부터 받아서 본 실험에 이용하였다. 씬바귀 뿌리 1kg을 MeOH에 일주일간 침적시켜 3회 반복 냉침 추출하여 메탄올 추출물(56g)을 얻었다. 메탄올 추출물을 증류수에 현탁시킨 후 *n*-hexane, EtOAc, BuOH 순으로 용매분획을 실시하였으며, 3반복하였다. 위에서 얻은 각 분획을 감압 농축한 결과 핵산, 에칠아세테이트, 부탄올 및 물 분획물을 각각 6.3g, 1.3g, 2.9g, 45g씩 얻을 수 있었다.

돌연변이 유발원

직접 돌연변이원인 4-nitroquinoline-1-oxide(4NQO), N'-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine(MNNG)는 Sigma사(USA)로부터 구입하였고, 간접 돌연변이원인 benzo(a)pyrene(B(a)P) 그리고 기타시약은 일본 和光純藥 특급시약을 구입하였다. 이들 변이원 물질은 DMSO

(Aldrich chemical Co., USA)에 녹여 실험에 사용하였다.

세포주 배양

본 실험에 이용된 세포주는 암세포로 폐암 세포주인 A549(lung carcinoma, human), 유방암 세포주인 MCF-7(breast adenocarcinoma, human), 간암 세포주인 Hep3B (hepatocellular carcinoma, human), 정상세포로는 간세포주인 293(human embryo liver)을 Korea Cell Line Bank (KCLB)로부터 구입하여 본 실험실에서 배양하면서 실험에 사용하였다. A549, MCF-7 세포주는 RPMI(Gibco: Grand Island, NY) Medium 1640 복합배지(1당 RPMI 1pack, NaHCO₃ 2g, HEPES 2g, gentamycin sulfate 0.057g, serum 10%(v/v), pH 7.0)를, Hep3B 세포주는 DMEM(Dulbecco's Modified Eagle Medium, 1당 DMEM1pack, NaHCO₃ 2g, HEPES 2g, gentamycin sulfate 0.057g, serum 10%(v/v), pH 7.0)를, 그리고 293 세포주는 MEM(Minimum Essential Medium, 1당 RPMI 1pack, NaHCO₃ 2g, HEPES 2g, gentamycin sulfate 0.057g, serum 10%(v/v), pH 7.2)를 이용하여 10% fetal bovine serum(Intergen, Purchase, NY)을 첨가하여 37 5% CO₂에 적응시켜 각각 배양시켰다.

생리활성 실험

1) DPPH free radical 소거법에 의한 항산화활성

자유 라디칼 (Free radical)인 1,1-디페닐-2-피크릴하이드라질(1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl, DPPH)을 사용한 항산화활성 측정방법 (Xing et al, 1996; Choi et al, 1993)을 이용하였다. 유리 시험관에 4ml의 메탄올을 넣고 시료 화합물을 농도별 (1.5μl)로 첨가한 다음 상기 DPPH (0.15mM) 용액을 1ml 첨가하여 실온에서 30분간 반응시키고 517nm에서 흡광도를 측정하였다. 이 때 RC₅₀(μg/ml)은 화합물을 첨가하지 않은 대조군의 값을 50% 감소시키는 화합물의 농도를 나타냈으며, 기존의 항산화제인 α -tocopherol 및 BHA와 비교하였다.

2) 항미생물 활성 실험

항미생물 활성을 조사하기 위하여 Kobayasi 등의 포자 발아시험 방법(Kobayasi et al, 1996)에 따라 조사하였다. 세균에 대한 항균 시험은 피검균으로 *Bacillus subtilis*, *Candida lypolytica*, *Escherichia coli*를 이용하였다. 피검균을 PDB 배지 10ml를 넣은 직경 25mm 시험관에 접종하여 37 에서 12시간 동안 진탕 배양(rpm 100 정도)하여 얻은 배양액을 PDB 배지에 100배로 희석하여 항균 시험에 사용하였다. 시료를 96 well micro assay plate의

제 1번구에 넣고 조제된 균체 현탁액을 분주하여 2배씩 희석하여 사용하였다. 이것을 27 에서 24시간 동안 암 조건에서 배양하면서 세균의 증식을 육안으로 관찰하였다. 항균 활성은 세균의 생육을 억제하는 최저농도 (MIC50 : minimum inhibitory concentration)를 측정한다 (Kim et al, 1997).

또한, 곰팡이에 대한 포자발아 억제 시험은 피검균으로 *Aspergillus awamori*, *Asperigillus niger*, *Cladosporium herbarum*, *Hypocrea nigricans*등을 사용하였다. 곰팡이 배양용 PDB Slant에 곰팡이 포자발아 저해시험용 배지(glucose 0.2%, yeast extract 0.1%, Na₂HPO₄ 12H₂O 0.37%, citric acid 0.1%) 2ml를 첨가하여 유리봉으로 상기 곰팡이 포자를 분리시키고 이를 다시 gauze로 여과하였다. 그 여과액을 얻어 현미경으로 관찰하면서 1x10⁶의 포자가 관찰될 때까지 희석한 후 96 well micro assay plate에 100μl씩 분주하였다. 각각의 시료를 1000ppm에서 8ppm 정도까지 serial 2-fold dilution method로 제조하여 30 에서 암배양하면서 24시간이 경과한 다음 현미경으로 포자발아가 저해되는 최저 활성농도(MIC)를 측정하였다.

3) Ames mutagenicity test

돌연변이원성 실험에 사용한 *Salmonella typhimurium*의 histidine 영양요구성 변이주는 TA98, TA100의 두 종류를 이용하여 Ames test를 개량한 preincubation Mutagenicity test(Matsushima et al, 1980)를 이용하였다. 썸바귀 뿌리 추출물 및 분획물을 미리 건열 멸균시킨 glass cap tube에 각각 50μl씩 가하고 여기에 미리 TA culture배지(Difco nutrient broth 0.8g+NaCl 0.5g+증류수 100ml)에서 하룻밤 배양된 균주 100μl를 가한 다음 0.2M sodium phosphate buffer(pH 7.4)로 전체량이 700μl가 되도록 하였다. 이것을 37 에서 30분간 예비 배양하였다. histidine/biotin이 첨가된 45 의 top agar를 2ml씩 각 tube에 붓고 3초간 vortex하고 minimal glucose agar plate상에 도말하고 평판 고화시켜 37 에서 48시간 배양하여 생긴 복귀 돌연변이(hist+ revertant colony)수를 측정하여 돌연변이원성의 유무를 판정하였다.

항돌연변이 실험에 사용 된 발암물질은 MNNG, 4NQO 및 B(a)P를 사용하였다. 미리 건열 멸균시킨 glass cap tube에 썸바귀 뿌리 추출물 및 분획물을 각각 50μl첨가한 다음 대사 활성물질이 필요한 경우에는 본 실험실에서 제조한 S-9 mix를 250μl씩 각각 첨가하였다. 여기에 하룻밤 배양된 균주를 100μl씩 주입한 후, 0.2M sodium phosphate buffer(pH 7.4)로 전체량이

700μl가 되도록 하였다. 이것을 20분간 preincubation한 다음 histidine/biotin이 첨가된 45 의 top agar를 2ml씩 각 tube에 붓고 3초간 vortex하고 minimal glucose agar plate상에 도말하고 평판 고화시켜 37 에서 48시간 배양하여 생긴 복귀 돌연변이(hist+ revertant colony)수를 측정하여 돌연변이원성의 유무를 판정하였다.

돌연변이 억제효과의 정도(Inhibition rate)는 아래의 식에 의하였다.

$$\text{Inhibition rate(\%)}=100\{(a-b)/(a-c)\}$$

여기서 a는 돌연변이원에 의해 유도된 복귀돌연변이의 수, b는 시료를 처리하였을 때의 복귀돌연변이의 수이며, c는 돌연변이원과 시료가 없을 경우의 자연복귀돌연변이의 수이다.

한편 실험에 사용된 썸바귀 뿌리 추출물 및 분획물과 돌연변이 유발물질의 농도는 예비실험(Maron & Ames, 1983) (dose reponse 및 독성검사)을 통하여 결정하였다.

4) SRB assay

SRB(Sulfo Rhodamine B) 분석법(Martin, & Martin, 1997)은 세포 단백질 염색을 이용하여 세포 증식이나 독성을 측정하는 방법으로 10% fetal bovine serum 및 각각의 암세포주(A549, Hep3B, MCF-7)를 함유하는 RPMI 1640과 DMEM 배지를 5x10⁴ cells/ml 농도로 100μl씩 각 well에 첨가한다. 24시간 동안 배양(37 5% CO₂)시킨 후, 0.2M 이하의 DMSO로 녹인 시료를 0.125, 0.25, 0.375, 0.5mg/ml의 농도로 100μl씩 첨가하여 48시간 동안 다시 배양하였다. 그 후 상등액을 aspirator로 조심스럽게 제거하고 냉장보관한 10%(w/v) trichloroacetic acid(TCA)를 100μl씩 첨가한 후 1시간 동안 4 에서 방치한 후 증류수로 수회 헹구었다. 실온에서 건조시킨 후 1%(v/v) acetic acid에 녹인 0.4%(w/v) SRB 용액 100μl를 첨가해 30분 동안 염색시켰다. 세포와 결합되지 않은 SRB 염색액은 1%(v/v) acetic acid 용액으로 수회 헹군 다음, 다시 건조시킨 후 10mM Tris buffer(pH 10.5) 100μl로 세포와 결합되어 있는 염색제를 충분히 녹인 후 540nm에서 흡광도를 측정하였다.

통계분석

실험에서 측정된 결과는 실험군당 평균(mean)과 표준편차(SEM)로 나타냈으며, 이들 데이터들은 SAS (Statistical Analysis System) program을 이용하여 분산분석을 한 후 Student's test 와 Duncan's multiple range test로서 분석하였다.

결과 및 고찰

1) DPPH free radical 소거법에 의한 항산화활성

썸바귀 뿌리 추출물 및 분획물에 대한 DPPH free radical 소거법에 의한 항산화활성을 검색한 결과 에칠아세테이트 분획물(RC₅₀=12 μ g/ml)이 대조구인 BHA(RC₅₀=14 μ g/ml)나 α -tocopherol(RC₅₀=12 μ g/ml)과 유사한 활성을 나타내었다.

Table 1. DPPH free radical scavenging activity of root extract and fractions from *Ixeris dentata* Nakai

Extracts and Fractions	RC ₅₀ (μ g/ml)
MeOH extract	120
Hexane fraction	68
EtOAc fraction	12
BuOH fraction	39
Aqueous fraction	> 200
α -tocopherol	12
BHA	14

Amount required for 50% reduction of DPPH after 30 min

2) 항미생물 활성 실험

썸바귀 뿌리 추출물 및 분획물의 항미생물 활성을 검색하기 위하여 세균과 곰팡이에 대해 항미생물 활성을 측정된 결과 Table 2에 나타냈다. 곰팡이 균주에 대해서는 물 분획물이 대체적으로 우수한 활성을 나타냈으며,

*Hypocrea nigricans*에서는 대조구인 Cyclohexamide (13 μ g/ml)보다 우수한 활성(8 μ g/ml)을 나타냈으며, *Cladosporium herbarum*에서는 부탄올 분획물(8 μ g/ml)과 메탄올 추출물(16 μ g/ml)에서 대조구(25 μ g/ml)보다 우수한 활성을 나타내었다. 반면에 세균 균주중 *Bacillus subtilis* 균주에 대해서는 물층 분획물(32 μ g/ml)과 에칠아세테이트 분획물(125 μ g/ml)이 우수하였으며, *Candida lypolytica* 균주에 대해서는 핵산 분획물(32 μ g/ml)과 물층 분획물(63 μ g/ml)이 우수하였고, *Escherichia coli* 균주에 대해서는 에칠아세테이트 분획물(125 μ g/ml)과 메탄올 추출물(250 μ g/ml)이 우수한 활성을 나타내었다.

3) 썸바귀 뿌리 추출물들의 돌연변이 유발 억제 효과 메탄올 추출물의 효과

썸바귀 뿌리 추출물의 돌연변이 유발 억제 효과를 검토하기 위하여 이들 썸바귀 뿌리 추출물 자체가 *S. typhimurium* TA98과 TA100 균주에 대한 독성이나 돌연변이 유발성이 있는지에 대하여 독성을 나타내지 않는 범위에서 직접 돌연변이원(MNNG, 4NQO)과 간접 돌연변이원(B(a)P)에 대한 예비실험결과 음성대조군의 복귀 돌연변이 집락수는 TA98이 13 3 TA100은 192 8이었다. 각 시료 자체의 돌연변이원성을 실험한 결과, 집락수가 음성대조군에 비하여 농도 의존성을 나타내지 않으므로 돌연변이원성을 나타내지 않는 것으로 판단되었다(자료 미제시).

농도별 썸바귀 뿌리 추출물을 돌연변이원을 달리하면서 Ames mutagenicity test를 실시한 결과(Fig. 1), 직접 돌연변이원 및 간접 돌연변이원에서 시료의 농도가 증가

Table 2. Antimicrobial activities of the root extract and fractions from *Ixeris dentata* Nakai

Extracts and Fraction	MIC*(μ g/ml)						
	Fungi strain				Bacteria strain		
	A.a	A.n	C.h	H.n	B.s	C.l	E.c
MeOH extract	250	250	16	250	1000	400	250
Hexane fraction	250	250	125	125	500	32	500
EtOAc fraction	250	125	63	125	125	250	125
BuOH fraction	250	125	8	250	500	220	500
Aqueous fraction	63	32	63	8	32	63	1000
Tetracycline					125	125	250
Cyclohexamide	25	13	25	13			

The MIC values against bacteria and fungi were determined by the serial 2-fold dilution method. The growth of the bacteria was evaluated by the degree of turbidity of the culture with the naked eye, and the sporegermination of fungi was examined under a microscope.

A.a : *Asperigillus awamori* A.n : *Asperigillus niger* C.h : *Cladosporium herbarum* H.n : *Hypocrea nigricans* B.s : *Bacillus subtilis* C.l : *Candida lypolytica* E.c : *Escherichia coli*

함에 따라 억제효과가 증가하였다. 특히 4NQO(0.15 μ g/plate)에 대해서는 100 μ g/plate에서 89.99%의 가장 높은 억제효과를 나타냈으며, 다른 돌연변이원에 대해서도 70% 이상의 높은 억제효과를 나타내었다.

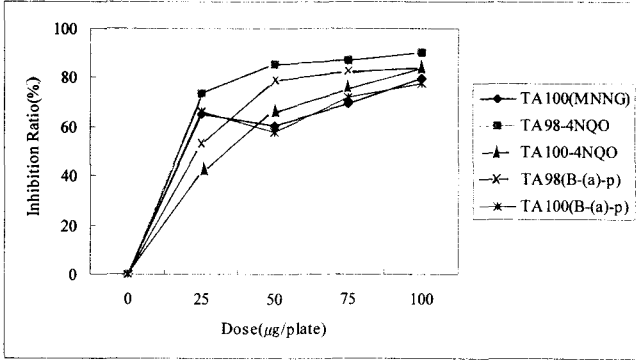


Fig. 1. Inhibitory effects of methanol root extract from *Ixeris dentata* Nakai on the mutagenicities of 4-nitroquinoline-1-oxide (4NQO, 0.15 μ g/plate) and N'-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine(MNNG, 0.4 μ g/plate) and benzo(a)pyrene(B(a)P, 10 μ g/plate) in *S. typhimurium* TA98 and TA100.

분획물의 효과

돌연변이 유발 억제 효과를 나타내는 썬바귀 뿌리 성분들의 특성을 확인하기 위하여 메탄올 추출물을 용매의 극성을 이용하여 hexan, 에칠아세테이트, 부탄올 및 물층

으로 세분화하였다. 각 분획물들의 돌연변이원에 대한 실험 결과 MNNG(0.4 μ g/plate)의 경우 *S. typhimurium* TA100 균주에서 시료농도 50 μ g/plate에서 부탄올 분획물이 66.76%의 억제효과를 나타냈다(Fig. 2). 4NQO(0.15 μ g/plate)에 대한 *S. typhimurium* TA98균주에서 시료농도 100 μ g/plate에서는 물 분획물을 제외한 모든 시료가 70% 이상의 높은 억제 효과를 나타내었으며, hexan, 에칠아세테이트, 부탄올 분획물에서 각각 75.98, 75.98, 79.91%의 높은 억제효과를 나타내었다. 또한, TA100 균주의 경우에는 hexan 분획물을 제외한 모든 시료에서 60% 이상의 억제 효과를 보였다(Fig. 3).

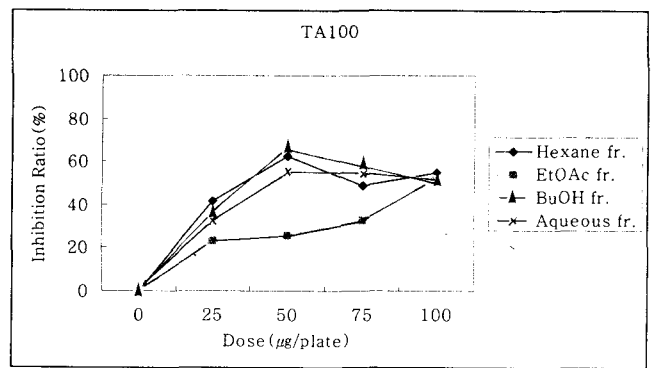


Fig. 2. The antimutagenic effects of each fraction of *Ixeris dentata* Nakai root extract against MNNG(0.4 μ g/plate) on *Salmonella typhimurium* TA100.

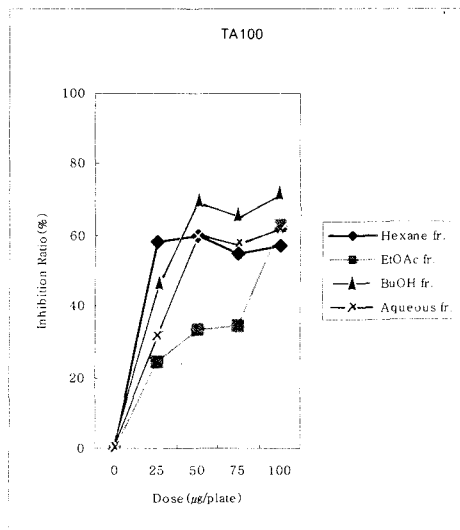
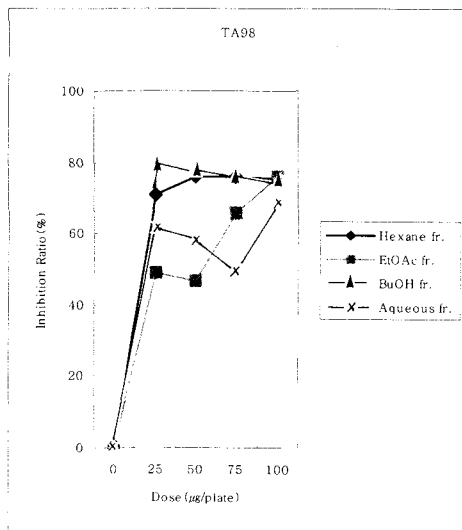


Fig. 3. The antimutagenic effects of each fractions of *Ixeris dentata* Nakai root extract against 4NQO(0.15 μ g/plate) on *Salmonella typhimurium* TA98 and TA100.

Microsomal enzyme의 대사활성에 의해서만 돌연변이 원성을 나타내는 간접변이원으로서 실제로 식품을 통해 흡수될 수 있는 polycyclic aromatic hydrocarbon인 B(a)P(10 μ g/plate)에서는 TA98 균주에서 100 μ g/plate의 시료

농도에서는 부탄올 분획물이 89.92%로 가장 높은 억제 효과를 보였으며, TA100 균주에서는 에칠아세테이트 분획물이 76.86%로 가장 높은 억제효과를 나타내었다 (Fig. 4).

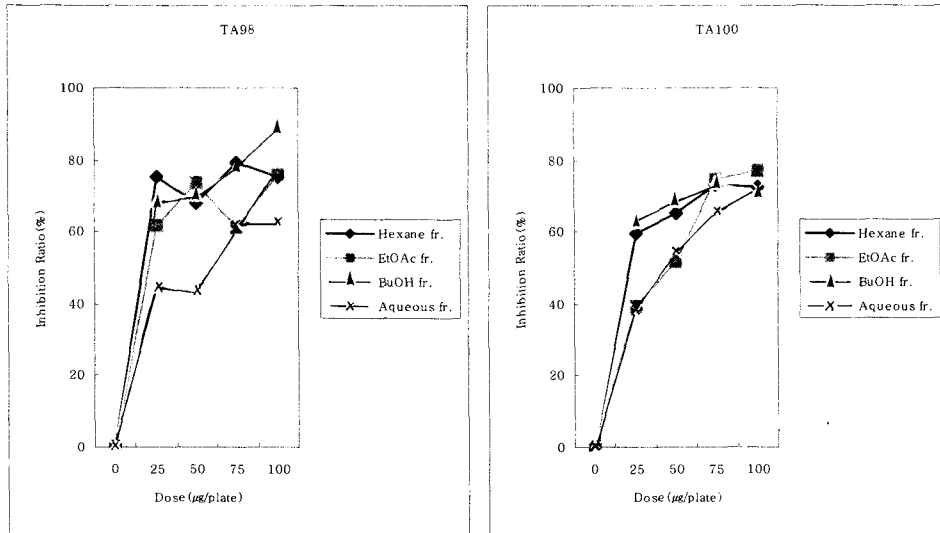


Fig. 4. The antimutagenic effects of each fraction of *Ixeris dentata* Nakai root extract against B(a)P(10 μ g/plate) on *Salmonella typhimurium* TA98 and TA100.

4) SRB assay

암세포주(A549, Hep3B, MCF-7)에 대한 쯔바귀 뿌리 추출물의 세포독성을 알아보기 위하여 실험한 결과 Table 3과 같이 나타났다. 폐암 세포주인 A549세포에서는 에칠아세테이트 분획물(250 μ g/ml)이 91.67%로 가장 높은 억제효과를 나타내었고, 간암 세포주인 Hep3B에서는 에칠아세테이트 분획물(500 μ g/ml)이 75.01%로 가장 높은 억제효과를 나타냈으며, 유방암 세포주인 MCF-7에서도 에칠아세테이트 분획물(500 μ g/ml)이 84%로 가장 높은 억제효과를 보였다. Fig. 5는 정상 간세포주인 293에 대하여 시료농도에 따른 세포독성 효과를 나타낸 것으로 500 μ g/ml 시료 첨가시 암세포에 대하여 대부분 50% 전후(불 분획물 제외)의 억제율을 보이는데 반해 293세포에 대해서는 29% 이하의 생육억제를 보였다. 이는 암세포에 대한 높은 억제효과에 비해 정상세포에 대해서는 비교적 낮은 독성효과를 나타냄을 알 수 있었다.

그러므로 항돌연변이 억제 활성 및 항암 활성을 나타내는 물질의 분리 및 동정 그리고 이들 물질을 이용한 임상실험들 보다 구체적인 연구가 심도있게 이루어져야 할 것으로 사료된다.

Table 3. Growth inhibitory effects of *Ixeris dentata* Nakai root extract and fractions against the human cancer cell lines by SRB assay (unit : %[†])

<i>I. dentata</i>	Dose(mg/ml)	A549	Hep3B	MCF-7
MeOH ex.	0.125	65.1 \pm 1 [†]	15.13 \pm 0.03	43.46 \pm 0.03
	0.25	50.07 \pm 0.07	32.93 \pm 0.04	59.78 \pm 0.02
	0.375	65.13 \pm 0.11	37.75 \pm 0.05	55.47 \pm 0
	0.5	71.15 \pm 0.04	58.81 \pm 0.04	54.83 \pm 0.03
Hexane fr.	0.125	27.7 \pm 0.06	24.48 \pm 0.07	42.35 \pm 0.06
	0.25	36.18 \pm 0.06	32.13 \pm 0.05	47.72 \pm 0.04
	0.375	47.74 \pm 0.11	41.92 \pm 0.09	41.87 \pm 0.02
	0.5	51.66 \pm 0.12	51.45 \pm 0.11	53.53 \pm 0.04
EtOAc fr.	0.125	88.15 \pm 0.02	69.76 \pm 0.02	44.87 \pm 0.06
	0.25	91.67 \pm 0.05	76.66 \pm 0.01	81.8 \pm 0.01
	0.375	90.96 \pm 0.01	74.49 \pm 0.01	79.19 \pm 0.01
	0.5	91.16 \pm 0.01	75.01 \pm 0.02	84 \pm 0.01
BuOH fr.	0.125	31.86 \pm 0.15	29.83 \pm 0.06	24.05 \pm 0.02
	0.25	50.1 \pm 0.12	20.43 \pm 0.14	35.95 \pm 0.05
	0.375	59.76 \pm 0.11	64.81 \pm 0.01	56.26 \pm 0.02
	0.5	66.3 \pm 0.05	55.61 \pm 0.11	61.83 \pm 0.05
Aqueous fr.	0.125	27.86 \pm 0.19	33.33 \pm 0.01	13.09 \pm 0.05
	0.25	38.48 \pm 0.14	20.47 \pm 0.04	10.52 \pm 0.03
	0.375	31.14 \pm 0.17	45.98 \pm 0.18	24.66 \pm 0.02
	0.5	34.66 \pm 0.12	53.26 \pm 0.18	31.03 \pm 0.02

[†] OD₅₄₀ of positive control - OD₅₄₀ of sample/ OD₅₄₀ of positive control)x100.

[‡] Mean value SD(n=3)

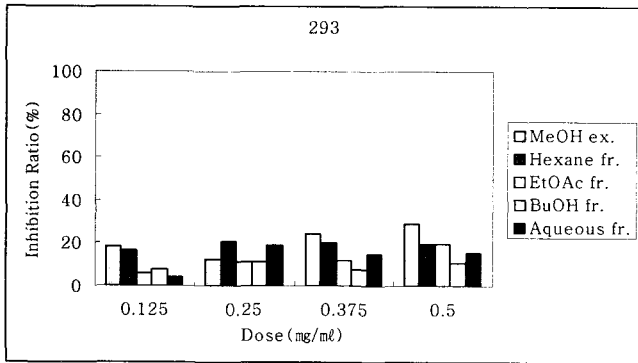


Fig. 5. Growth inhibitory effects of each fraction of *Ixeris dentata* Nakai root extract on human liver embryo 293.

적 요

썬바귀 뿌리 추출물 및 분획물에 대한 DPPH free radical 소거법에 의한 항산화활성을 검색한 결과 에칠아세테이트 분획물($RC_{50}=12\mu\text{g/ml}$)이 대조구인 BHA($RC_{50}=14\mu\text{g/ml}$)나 α -tocopherol($RC_{50}=12\mu\text{g/ml}$)과 유사한 활성을 나타내었다. 항미생물 활성을 측정된 결과 곰팡이 균주에 대해서는 물 분획물이 대체적으로 우수한 활성을 나타내었다. *Hypocrea nigricans*에서는 대조구인 Cyclohexamide($13\mu\text{g/ml}$)보다 우수한 활성($8\mu\text{g/ml}$)을 나타냈으며, *Cladosporium herbarum*에서는 부탄올 분획물($8\mu\text{g/ml}$)과 메탄올 추출물($16\mu\text{g/ml}$)에서 대조구($25\mu\text{g/ml}$)보다 우수한 활성을 나타내었다. 반면에 세균 균주중 *Bacillus subtilis* 균주에 대해서는 물층 분획물($32\mu\text{g/ml}$)과 에칠아세테이트 분획물($125\mu\text{g/ml}$)이 우수하였으며, *Candida lypolytica* 균주에 대해서는 핵산 분획물($32\mu\text{g/ml}$)과 물층 분획물($63\mu\text{g/ml}$)이 우수하였고, *Escherichia coli* 균주에 대해서는 에칠아세테이트 분획물($125\mu\text{g/ml}$)과 메탄올 추출물($250\mu\text{g/ml}$)이 우수한 활성을 나타내었다.

돌연변이원성 억제작용을 검토하기 위하여 Ames test에서 양성반응을 나타내며, 물질 그 자체로서 돌연변이를 유발하는 직접 변이원물질로 MNNG와 4NQO 그리고 대사활성을 필요로 하는 간접 변이원 물질인 B(a)P을 사용하여 각각의 농도에 따른 돌연변이원성 억제활성 결과 MNNG($0.4\mu\text{g/plate}$)의 경우 *S. typhimurium* TA100 균주에서 시료농도 $100\mu\text{g/plate}$ 에서 메탄올 추출물이 79.94%로 가장 높은 억제효과가 나타났다. 4NQO($0.15\mu\text{g/plate}$)에 대한 *S. typhimurium* TA98 균주에서 메탄올 추출물이 89.99%로 가장 높은 억제효과를 나타냈으며, TA100 균주의 경우에서도 메탄올 추출물에서 84.56%

로 가장 높은 억제 효과를 나타내었다.

B(a)P($10\mu\text{g/plate}$)에서는 TA98 균주에서 $100\mu\text{g/plate}$ 의 시료농도에서는 부탄올 분획물이 89.92%로 가장 높은 억제효과를 보였으며, TA100 균주에서는 메탄올 추출물이 77.47%로 가장 높은 억제효과를 나타내었다.

암세포주(A549, Hep3B, MCF-7)에 대한 썬바귀 뿌리 추출물의 세포독성을 알아보기 위하여 실험한 결과, 폐암세포주인 A549세포에서는 에칠아세테이트 분획물($250\mu\text{g/ml}$)이 91.67%로 가장 높은 억제효과를 나타내었고, 간암세포주인 Hep3B에서는 에칠아세테이트 분획물($500\mu\text{g/ml}$)이 75.01%로 가장 높은 억제효과를 나타냈으며, 유방암 세포주인 MCF-7에서도 에칠아세테이트 분획물($500\mu\text{g/ml}$)이 84%로 가장 높은 억제효과를 보였다. 정상 간세포주인 293에 대하여 시료농도에 따른 세포독성 효과를 나타낸 것으로 $500\mu\text{g/ml}$ 시료 첨가시 암세포에 대하여 대부분 50% 전후(물 분획물 제외)의 억제율을 보이는데 반해 293세포에 대해서는 29% 이하의 생육억제율을 보였다. 이는 암세포주에 대한 높은 억제효과에 비해 정상세포에 대해서는 비교적 낮은 독성효과를 나타냄을 알 수 있었다.

감사의 글

본 연구는 2000년도 보건복지부의 보건 의료기술연구개발사업(HMP-00-PT-04-0006)과 (주)천길바이오텍의 일부 지원에 의해서 수행되었으며, 이에 감사드립니다.

LITERATURE CITED

Arai YY, Kusumoto M, Nagao K, Shiojima H, Ageta (1963) Composite constituents: Aliphatics and triterpenoids isolated from the whole plants of *Ixeris debilis* and *I. dentata*. *Yakugaku Zasshi*, 103 : 356-359.

Choi IS, Young HS, Kim BW (1990) Hypoglycemic and hypolipidemic effects of *Ixeris dentata* in diabetes rats. *Arch. Pharm. Res.*, 13 : 269-273.

Choi IS, Chung HY, Young HS (1990) A preliminary study on hypocholesterolemic and hypoglycemic activities of some medical plants. *Kor. J. Pharmacogn.*, 21 : 153-157.

Choi JS, Park JH, Kim HG, Young HS, Mun SI (1993) Screening for antioxidant activity of plants and marine algae and its active principles from *Prunus daviana*. *Kor. J. Pharmacology*, 24 : 299-303.

Kim MJ, Kwak SS (1997) Induction of Phytoalexins by Uptake of Naphthoquinones in Cell Cultures of *Petunia*. *J. Kor. Soc. Agric. Chem. Biotechnol.*, 40(4) : 352-356.

Kim SH (1995) Inhibitory Effects of *Ixeris Dentata* on the Mutagenicity of Aflatoxin B1, N-methyl-N'-nitro-N-

- nitrosoguanidine and the Growth of MG-63 Human Osteosarcoma Cells. J. Kor. Soc. Food Nutr. 24(2) : 305-312.
- Kobayasi A, Kim MJ, Kawaz K** (1996) Uptake and exudation of phenolic compounds by wheat and antimicrobial components of the root exudate. Z. Naturforsch. 51c : 527-533.
- Matsushima T, Sugimura T, Nagao M, Yahagi T, Shirai A, Sawamura M** (1980) Factors modulating mutagenicity in microbial test. In Norphth. K.H. and Gamer, R.C.(eds.), Short-terms for detecting carcinogens. Springer, Berlin. p 273-285.
- Maron DM, Ames BN** (1983) Revised methods for the Salmonella mutagenicity test. Mutation Res., 113 : 173-215.
- Martin A, Martin C** (1997) Comparision of 5 microplate colorimetric assay for *in vitro* cytotoxicity testing and cell proliferation assays. Cytotechnology, 11 : 49-54.
- Ohkawa H, Ohishi N, Ygi K** (1979) Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. Anal. Biochem., 95 : 351-358.
- SAS** (1988) SAS USER ' guide: Statistics. Ver. 6.03 Ed. SAS Institute Inc. Cary.
- Seto M, Miyasa T, Fukushima S** (1986) Sesquiterpene lactones from *Ixeris dentata* Nakai. Chem. Pham. Bull., 34 : 4170-4176.
- Xiong Q, Kadota S, Tadata T, Namba T** (1996) Antioxidative effects of phenylethanoids from *Cistanche deserticola*. Biol. Pharm. Bull., 19 : 1580-1585.
- 이창복** (1979) 원색한국기중식물도감. 아카데미서적.
- 福田次郎** (1988) 原色牧野和漢藥草大圖鑑. 北隆館. 東京. p 1068.