

초피 추출물의 항돌연변이 및 MG-63 암세포 증식억제 효과

김소희 · 박건영¹*

동주여자전문대학 식품영양과, ¹부산대학교 식품영양학과

Inhibitory Effects of Chinese Pepper on the Mutagenicity and the Growth of MG-63 Human Osteosarcoma Cells

Kim, So-Hee and Kun-Young Park¹*

Department of Food and Nutrition, Dong-Ju Women's Junior College, Pusan 604-080, Koera

¹Department of Food Science and Nutrition,

Pusan National University, Pusan 609-735, Korea

Abstract — The inhibitory effects of various extracts from Chinese pepper on the mutagenicity and the growth of MG-63 human osteosarcoma cells were studied. Chinese pepper was extracted with methanol and then the methanol extract was further fractionated by using hexane, chloroform, ethyl acetate and butanol. The methanol extract of Chinese pepper revealed the strong antimutagenic activity on the aflatoxin B₁(AFB₁) and N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine(MNNG) in Ames mutagenicity test and SOS chromotest. Among the solvent extracted fractions from the methanol extract, the hexane fraction exhibited the greatest antimutagenic effect suppressing the mutagenicity of AFB₁ and MNNG with inhibition rate of 98 and 64 percent, respectively. The methanol extract of Chinese pepper also showed the inhibitory effect on the growth of MG-63 human osteosarcoma cells. The hexane fraction and the chloroform fraction from the methanol extract of Chinese pepper were most effective and inhibited the growth of MG-63 cells by 98 and 96 percent after 6 days of incubation at 37°C, respectively.

의학의 발달에도 불구하고 여전히 가장 치료하기 힘든 병의 하나인 암은 환경 요인과 식이에 의해 크게 좌우됨이 여러 연구들을 통해 보고되어 왔다(1, 2). 이러한 연구 추이속에서 암을 유발하는 많은 식이 성분들이 검색되었고, 아울러 최근에는 우리가 일상 섭취하는 식품들이 암의 예방과 억제에 관계가 있음이 주목되고 있다. 또한 식품이 화학 약제와는 달리 생체내에서 큰 부작용을 나타내지 않으리라는 기대와 함께 *in vitro* 및 *in vivo*에서의 다양한 실험을 통하여 식품에 존재하는 많은 항암성분들의 확인과 작용 기작, 이들 물질들의 분리와 동정에 대한 연구가 활발히 진행되고 있다.

항암효과를 가지는 것으로 밝혀진 여러 식품들 가운데 특히 채소류에는 항돌연변이, 항암성분으로 β-

카로틴, 비타민 C, cysteine, polyphenols, peroxidase, 식이섬유들과(3), 색소성분인 클로로필 및 클로로필린(4) 존재함으로써 효과를 가지는 것으로 보고되고 있다.

또한 식이에서 향신료로 쓰이는 채소류에 대하여도 많은 관심을 가지게 되면서 이들도 발암물질의 활성을 변형시키거나 대사과정에서 발암물질을 무독화시키는 작용등을 통하여 항발암효과를 가짐이 알려지고 있다. 즉 풋고추, 생강, 박하잎등이 tryptophan의 열분해산물인 Trp-P-2의 돌연변이를 억제하였다는 보고가 있었으며(5), 마늘은 황함유 물질외에 linoleic acid계 물질등을 함유하여 항돌연변이와 함께 암세포의 증식을 억제시키는 항암효과가 있는 것으로 확인되었다(6, 7) 양파의 경우도 그즙액이 7,12-dmethyl benzo(α) anthracene에 대한 항돌연변이 효과가 있음이 밝혀졌으며(8), 심황(turmeric)으로부터 분리된 phenol 화합물은 발암의 여러 단계에서 항암효과가 있음이 보

Key words: Chinese pepper, antimutagenicity, MG-63 human osteosarcoma cells

*Corresponding author

고되어 있다(9).

한편 한국인의 양념류에서 빠질 수 없는 향신료의 하나인 초피 나무(學名: *Zanthoxylum piperitum* A.P. De Candolle, 英名: Chinese pepper or Japanese pepper, 漢名: 川椒)는 수피를 천초목, 종자를 초목이라 하여 약용으로 이용하고 있으며, 어린잎은 식용, 열매는 향미료로 쓰인다(10). 또한 이들은 식용으로서의 역할 뿐 아니라 살충, 해독작용과 방향성 건위, 정장, 이뇨, 구충작용등도 있음이 인정되고 있다(11). 그러나 초피나무에 대하여는 식품분석적 연구가 많을 뿐 생체에 대한 여러 보호 작용은 물론, 암과의 관계에 대한 연구는 거의 되어 있지 않은 편이다.

따라서 본 연구는 초피나무 중 흔히 식용으로 쓰이는 과피 부분을 메탄올 및 극성이 다른 용매들로 추출, 분리하여 그들의 항돌연변이 효과와 사람의 골육암세포의 증식에 대한 억제 효과를 측정함으로써 더욱 효과있는 분획물을 검색하고 향신료의 하나인 초피의 항(발)암 효과를 검토해 보고자 하였다.

재료 및 방법

시료의 추출 및 분획

본 실험에 사용된 초피는 92년 9월부터 10월까지 경남 김해지역에서 수집하여 흔히 식용으로 쓰이는 부분인 종자를 제거한 과피부분을 선별하였다. 이들을 음건한 후 마쇄하여 분말화하고, 냉동보관하면서 시료로 사용하였다. 모든 건조시료들은 20배의 메탄올로 8시간씩 3회 교반 추출하고 회전식 진공 농축기로 농축건조한 후, dimethyl sulfoxide (DMSO)에 녹여 메탄올 추출물로 하였다. 이때 사용된 메탄올 추출물의 농도는 메탄올로 추출하기 전의 건조시료 중량에 대한 농도로 조제하였으며 5~20%의 메탄올추출물을 실험에 사용하였다. 또한 더욱 효과있는 부분만을 정제하기 위하여 메탄올 추출물을 다시 극성이 다른 용매 즉, 헥산과 메탄올, 물을 10:1:9의 비율로 하여 분획여두에서 분획하는 과정을 3번 반복한 후 감압 농축한 것을 헥산 분획물로 얻었다. 그 잔여물을 분획여두에서 다시 클로르포름, 에틸 아세테이트, 부탄올로 각각 3번씩 추출하여 클로르포름, 에틸 아세테이트, 부탄올 분획물로 하고, 남은 잔여물은 수층분획물로 하였으며 모든 추출물은 농축한 후 메탄올 추출물과 같은 방법으로 적당한 농도(10%)로 조제하여 실험하였다.

항돌연변이 효과 실험

Mutagens/Chemicals : Aflatoxin B₁(AFB₁)은 Sigma Chemical Co.(St. Louis, MO. USA)에서 N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine(MNNG)는 Aldrich Chemical Co.(Milwaukee, WI, USA)에서 구입하여 AFB₁은 dimethyl sulfoxide(DMSO, Aldrich Chemical Co.)에 MNNG는 증류수에 녹여 실험에 사용하였다. O-nitrophenyl-D-galacto-pyranoside(ONPG)와 p-nitrophenyl phosphate disodium(PNPP), phosphate buffered saline(PBS)는 Sigma Chemical Co.에서 Dulbecco's modified Eagle's medium(DMEM)와 fetal calf serum(FCS)는 GIBCO Co.(USA)로부터 구입하였다. 이외의 다른 시약 및 배지들은 Sigma사와 Difco사의 제품을 사용하였다.

Ames mutagenicity test : *Salmonella typhimurium* LT-2의 histidine auxotroph인 *Salmonella typhimurium* TA98과 TA100을 미국 California대학의 B.N. Ames 박사로부터 제공받아 정기적으로 histidine 요구성, deep rough(*rfa*)돌연변이, *uvrB* 돌연변이, R factor 등의 유전형질을 확인하면서 실험균주로 사용하였다. 또한 실험에 사용했던 시료와 그 추출물, mutagen, chemical들은 Maron과 Ames(12)의 방법에 따라 toxicity test를 하여 실험계에서 toxicity를 나타내지 않는 범위의 농도에서 실험하였다. Indirect mutagenicity 효과를 검토하기 위해, 약 200g의 Sprague-Dawley rat(male)를 이용하여 Maron과 Ames(12)의 방법에 따라 해부 5일전 Aroclor 1254로 복강주사하여 induction시켜 얻은 간의 microsomal enzyme fraction으로 S9 mixture를 조제하였다. 돌연변이 및 항돌연변이 효과 실험은 Matsushima(13)와 Yamanaka(14)의 방법에 따라 preincubation mutagenicity test를 이용하였다. 즉 S9 mix 0.5 ml(indirect mutagen인 경우) 혹은 phosphate buffer 0.5 ml(direct mutagen인 경우), 12시간 배양된 균주($1\sim 2 \times 10^9$ cells/ml) 0.1 ml, mutagen과 시료 각각 50 μ l씩을 ice bath에 담긴 cap tube에 첨가하여 vortex하고 37°C에서 30분간 preincubation하였다. 45°C의 top agar 2 ml씩을 각 tube에 붓고 3초간 vortex하여 minimal glucose agar plate에 도말하고 37°C에서 48시간 배양한 후 그의 revertant 숫자를 계수하였다.

SOS chromotest : *Escherichia coli* GC4436에서 유래되어 *lacZ* gene이 *sfiA* gene에 삽입되고 *uvrB* mutation과 *rfa* mutation을 가진 *Escherichia coli* PQ 37/plasmid PKM101(PQ 37)을 사용하였으며, 돌연변이

이 및 항돌연변이 효과 실험은 Quillardet의 방법(15)을 변형하여 사용하였다(16). 냉동보관 하였던 균주 50 μ 를 5 ml의 L medium에 접종하여 37°C에서 12~18시간 진탕배양하였다. 이를 다시 5 ml의 L medium에 접종하고 37°C에서 2시간 동안 진탕 배양시킨 것을 (2×10^8 bacteria/ml) L medium에 1/10로 희석하여, DMSO에 녹인 각 시료와 돌연변이 유발 물질들을 각 10 μ 씩 미리 분주해 둔 96 well plate의 각 well에 100 μ 씩 분주하고 90분간 37°C에서 진탕하여 SOS 반응을 유도하였다. 한쪽에는 β -galactosidase의 활성 측정을 위해 ONPG 100 μ , 다른쪽에는 alkaline phosphatase의 활성측정을 위해서 PNPP 100 μ 를 첨가하였다. 발색 시간은 20분으로 하였고, 발색정지를 위해서 각각 1.5 M Na_2CO_3 100 μ , 1 M HCl 50 μ 를 첨가하여 5분간 방치시킨 후 spectrophotometer로 420 nm에서의 흡광도를 측정하였다. 이 O.D. 값을 이용하여 Miller(17)의 공식[Eu = (1000 \times A₄₂₀)/t (min)]에 따라 enzyme unit(Eu)값을 구하였다.

암세포 증식 억제효과 실험

암세포 배양: 사람의 골육암 세포인 MG-63을 한국세포주은행(KCLB)으로부터 분양받아 100 units/ml의 penicillin-streptomycin과 10%의 FCS(fetal calf serum)가 함유된 Dulbecco's modified Eagle's medium(DMEM)을 사용하여 37°C, CO₂ incubator에서 배양하였다. Culture는 일주일에 2~3번 refeeding하고 7~8일만에 PBS(phosphate buffered saline)에 0.05% trypsin-0.02% EDTA를 녹인 용액으로 떼어내어 splitting하고 계대배양하면서 실험에 사용하였다.

암세포 증식 억제효과 측정: 세포를 24 well plate에 2×10^4 cell/ml의 density로 plating하고 하룻밤 배양한 후, 세포가 plate에 부착되었을 때 배양액을 버리고 FCS(10%)와 초피 추출물들이 농도별로 함유된 새로운 DMEM으로 교체하였다. 이 새배양액으로 2일에 한번씩 refeeding하고, 6일후에 증식된 세포수를 hemocytometer로 계수하였다.

통계분석

실험 data로부터 ANOVA를 구한 후 Student's t test와 Duncan's multiple range test로 통계분석하였다.

결과 및 고찰

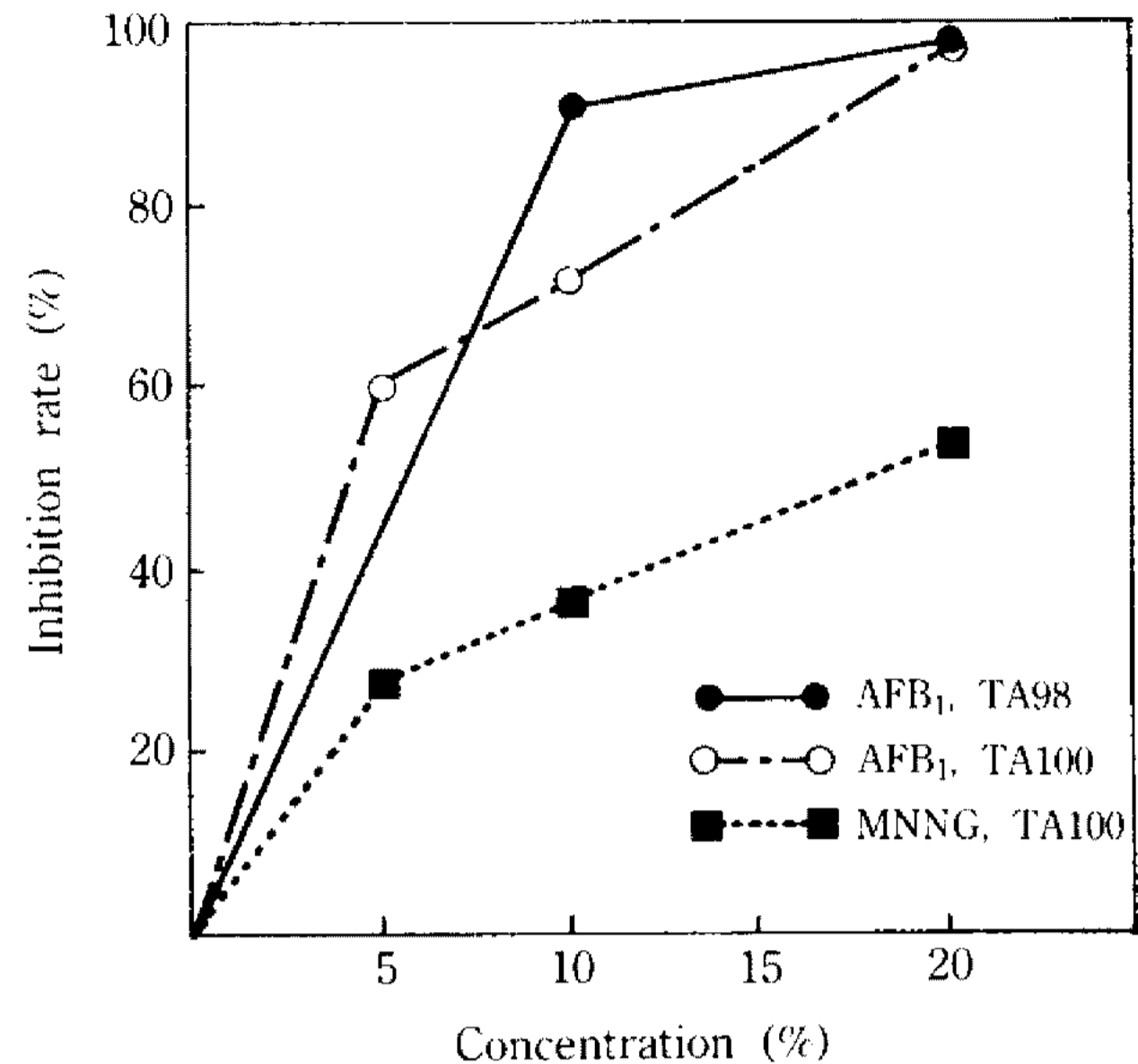


Fig. 1. Inhibitory effects of methanol extract from Chinese pepper on the mutagenicities of aflatoxin B₁(AFB₁, 0.5 μ g/plate) and N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine (MNNG, 0.45 μ g/plate) in *Salmonella typhimurium* TA98 or TA100.

초피 추출물의 항돌연변이 효과

초피씨가 식품의 부패미생물에 대해 항균성이 있다는 보고(18)가 있었으므로 초피(초피나무의 과피)의 항돌연변이 효과를 실험하기 전 그 자체가 실험 균주에 대해 독성을 나타내는지와 돌연변이 유발성이 있는지에 대해 검토하였다. 본실험에 사용된 초피 추출물의 농도에서는 균주에 대한 독성도 전혀 없었고 자체의 돌연변이 유발성도 나타나지 않았다(Data는 수록하지 않았음). 초피나무과(Rutaceae)에 속하는 양념류에 대해 rec-assay로 검토하였던 보고(19)에서도 돌연변이성은 나타나지 않았으므로 초피 자체의 돌연변이 유발성은 없는 것으로 사료된다.

초피를 먼저 메탄올로 추출하여 Ames mutagenicity test로서 항돌연변이 효과를 검토한 결과는 Fig. 1과 같다. 초피의 메탄올 추출물은, 활성화를 위해 S9 mix를 필요로 하는 AFB₁(0.5 μ g/plate)에 대해 그 농도에 비례하면서 항돌연변이 효과를 나타내었으며, 메탄올로 추출하기전의 건조시료에 대한 20%의 농도로 system에서 실험한 결과 *Salmonella typhimurium* TA98과 TA100 모두에서 AFB₁의 돌연변이를 97% 이상까지 억제시켰다.

또한 direct mutagen인 MNNG(0.45 μ g/plate)에 대하여도 초피의 메탄올 추출물은 돌연변이를 억제시키는 항돌연변이 효과를 보였다(Fig. 1). 이같은 효

Table 1. SOS response of N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine (MNNG, 0.07 µg/assay) treated with methanol extract of Chinese pepper

Treatment	*A	**Eu	Inhibition rate(%)
Spontaneous	0.232±0.001	11.6	
MNNG	0.278±0.002	13.9	
MNNG+Methanol extract			
10 µg	0.255±0.001	12.8	50.0
100 µg	0.237±0	11.9	89.1

*A₄₂₀ is the optical density at 420 nm

**Eu means enzyme unit. Eu=(1000×A₄₂₀)/20 min

과는 첨가되는 추출물의 농도에 비례하면서 증가하여 메탄올로 추출하기 전의 시료에 대한 20% 농도의 메탄올 추출물의 첨가로 MNNG의 돌연변이를 55%까지 억제시킬 수 있었으나 그 정도는 AFB₁에 대하여서 보다 미흡한 편이었다.

초피의 메탄올 추출물의 항돌연변이 효과를 더욱 확인하기 위하여 SOS chromotest에서 MNNG(0.07 µg/plate)의 SOS response에 대한 효과를 검토하였다. Table 1에서 보듯이 초피의 메탄올 추출물은 SOS chromotest에서도 역시 큰 효과를 나타내어 추출물 10 µg 및 100 µg의 첨가로 MNNG의 SOS response를 각각 50%와 89%까지 억제시키는 항돌연변이 효과를 나타내었다.

31가지의 향신료와 약초 추출물들의 항돌연변이 효과를 검토하였던 연구(20)에서는 향신료나 약초 추출물의 효과가 채소나 과일추출물의 효과보다 훨씬 컸다고 보고하였다. 또한 data를 나타내지는 않았지만, 본 실험에 앞서 항돌연변이 효과를 갖는 식품을 찾기 위해 행하였던 예비 실험에서도 민들레와 썬바귀, 가을 채소인 호박잎, 아주까리잎, 도라지, 초피의 메탄올 추출물 중에서 초피 추출물의 효과가 가장 크게 나타났었다. 그러므로 전통적인 향신료의 하나인 초피의 항돌연변이 효과는 일반 채소류에 비해 월등히 큰 것으로 사료된다.

초피의 메탄올 추출물에서 더욱 효과있는 부분을 정제하기 위해 극성이 다른 용매들로 각각 분리하였던 헥산, 클로르포름, 에틸 아세테이트, 부탄올, 수층 분획물들을 농축한 후 DMSO에 녹여(10% 농도) 이들의 항돌연변이 효과를 실험하였다. 이들 분획물들은 Table 2에서와 같이 AFB₁의 돌연변이를 억제시켰는데 특히 헥산과 부탄올분획물의 효과가 다른 분획물들의 효과에 비해 유의적인 차이(p<0.01)를 보이며

Table 2. Effect of solvent extracted fractions from methanol extract of Chinese pepper on the mutagenicity of aflatoxin B₁(AFB₁, 0.5 µg/plate) in *Salmonella typhimurium* TA100

Treatment	Revertants/plate	Inhibition rate(%)
Spontaneous	110±5	
AFB ₁	680±44 ^{a1}	
AFB ₁ +Hexane fr. ²	163±12 ^e	98.6
Chloroform fr.	335±29 ^c	60.5
Ethyl acetate fr.	465±32 ^b	37.7
Buthanol fr.	118±11 ^d	90.6
Aqueous fr.	327±14 ^c	61.9

¹The different letters are significantly different at the p<0.01 level of significance as determined by Duncan's multiple range test.

²The concentration of solvent extracted fractions employed was 10%.

Table 3. Effect of solvent extracted fractions from methanol extract of Chinese pepper on the mutagenicity of N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine (MNNG, 0.4 µg/plate) in *Salmonella typhimurium* TA100

Treatment	Revertants/plate	Inhibition rate(%)
Spontaneous	95±13 *	
MNNG	947±33 ^{**}	
MNNG+Hexane fr.	402±25 ^d	63.9
Chloroform fr.	505±27 ^c	51.9
Ethyl acetate fr.	497±44 ^c	52.8
Buthanol fr.	501±34 ^c	52.3
Aqueous fr.	620±15 ^b	38.4

*The different letters are significantly different at the p<0.01 level of significance as determined by Duncan's multiple range test.

가장 커서 각각 98%, 90% 이상을 억제시키는 항돌연변이 효과를 나타내었다. Direct mutagen인 MNNG에 대하여도 이들 분획물들은 비슷한 경향을 나타내었으며 헥산분획물이 가장 강한 항돌연변이 효과를 보여 MNNG의 돌연변이를 64%까지 억제시켰다. 그러나 메탄올 추출물에서 분리한 분획물들 역시 대부분 MNNG보다는 AFB₁의 돌연변이를 억제시키는 효과가 컸다.

초피의 항돌연변이 효과에 대하여는 Nataka 등(20)이 물로 추출한 초피의 추출물이 3-amino-1-methyl-5H-pyrido[4.3-b] indole(Try-P-2)의 돌연변이를 90% 이상 억제시켰으며, 이같은 효과는 초피의 물추출물이

S9 system을 저해하는 것이 아니라 활성형의 Try-P-2 자체의 돌연변이성을 억제하기 때문이라 보고한 바 있다.

이같은 보고들과 본 실험의 결과로 미루어 보아 초피의 항돌연변이 효과를 나타내는 성분은 헥산에 잘 용해되는 지용성의 것과 부탄올이나 물에 잘 용해되는 수용성 물질이 함께 존재하면서 활성을 나타내는 것으로 사료된다.

초피 추출물의 암세포 증식억제 효과

초피의 메탄올 추출물은 사람의 골육암 세포인 MG-63 cell의 증식도 억제시키는 효과를 나타내었다. MG-63 cell을 seeding한 후 초피의 메탄올 추출물을 각각의 농도로 첨가한 배양액과 첨가하지 않은 배양액으로 6일간 배양하여 그의 증식억제 효과를 검토하여 Fig. 2와 같은 결과를 얻었다. 즉 초피의 메탄올 추출물은 골육암 세포의 증식을 저해하여 50 μ g, 100 μ g의 첨가로 MG-63 cell의 증식을 억제하거나 세포 독성효과를 나타내어 대조군에 비해 각각 85%와 98%까지 세포수가 감소되었다. 또한 사진은 나타내지 않았지만 이때의 골육암 세포를 inverted microscope로 관찰하였는데, 초피의 메탄올 추출물을 첨가하여 배양한 골육암 세포는 추출물을 첨가하지 않고

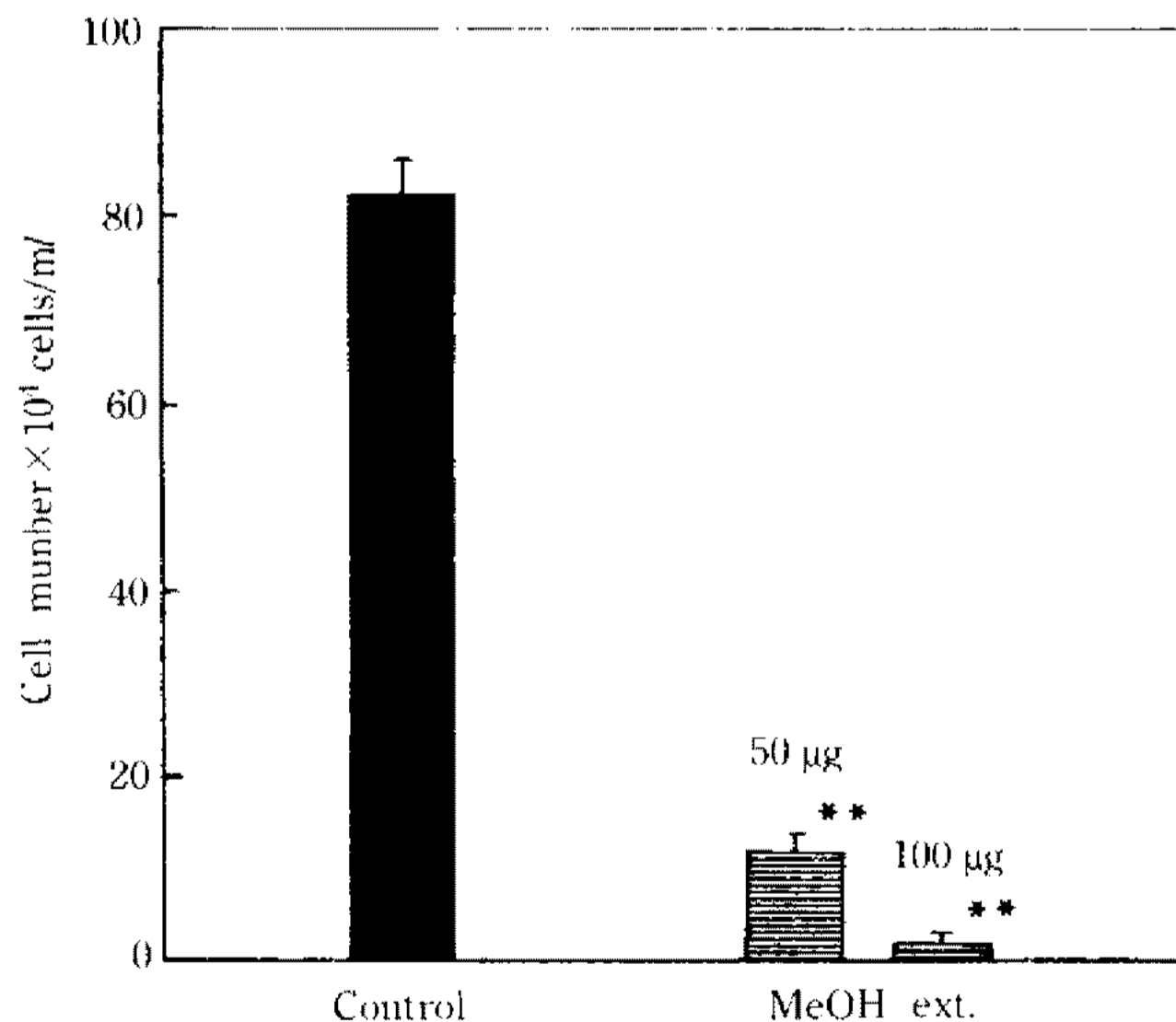


Fig. 2. Growth inhibitory effect of methanol extract (MeOH ext.) from Chinese pepper (50, 100 μ g/plate) in MG-63 human osteosarcoma cell after 6 days of incubation at 37°C.

**The asterisks surmounted on the bars are significantly different from the control by student's t test ($p < 0.01$).

배양한 대조군에 비해 밀도가 낮게 증식되었을 뿐 아니라 변형된 형태를 보였다.

초피의 메탄올 추출물에서 분리한 헥산, 클로르포름, 에틸 아세테이트, 부탄올, 수층분획물들의 효과를 보충 확인하기 위하여 MG-63 cell의 증식에 미치는 영향을 실험하였다(Fig. 3). 이들 각각의 분획물들이 50 μ g씩 첨가된 배지에서 6일간 배양된 MG-63 cell의 증식은 분획물들이 첨가되지 않은 군에 비해 크게 억제되었다. 특히 분획물들 중 헥산분획물과 클로르포름분획물이 다른 분획물들에 비해 통계적인 유의차를 보이며($p < 0.01$) 매우 큰 효과를 보여 각각 MG-63 cell의 증식을 98%와 96%까지 억제시키는 항암효과를 나타내었다. 부탄올추출물도 암세포 증식을 억제시켰으나, 다른 추출물들의 효과에 대한 경향은 항돌연변이 효과에서의 경향과는 달랐다. 즉 부탄올분획물의 항돌연변이 효과는 헥산분획물의 효과와 비슷한 강한 효과가 있었으나, 암세포 증식에 대한 효과는 부탄올분획물보다 오히려 클로르포름분획물에서 더욱 효과가 있었다. 그러므로 초피의 항암효과는 헥산과 클로르포름에 잘 용해되는 몇가지 성분들의 작용이 클 것으로 생각되어진다.

초피와 함께 우리나라 주요 향신료의 하나인 마늘의 경우에는 손 등(6)과 박 등(7)의 연구에서 석유에테르나 클로르포름에 잘 녹는 성분인 지용성 성분이 항돌연변이 및 항암효과를 나타내었으나 수용성 분획

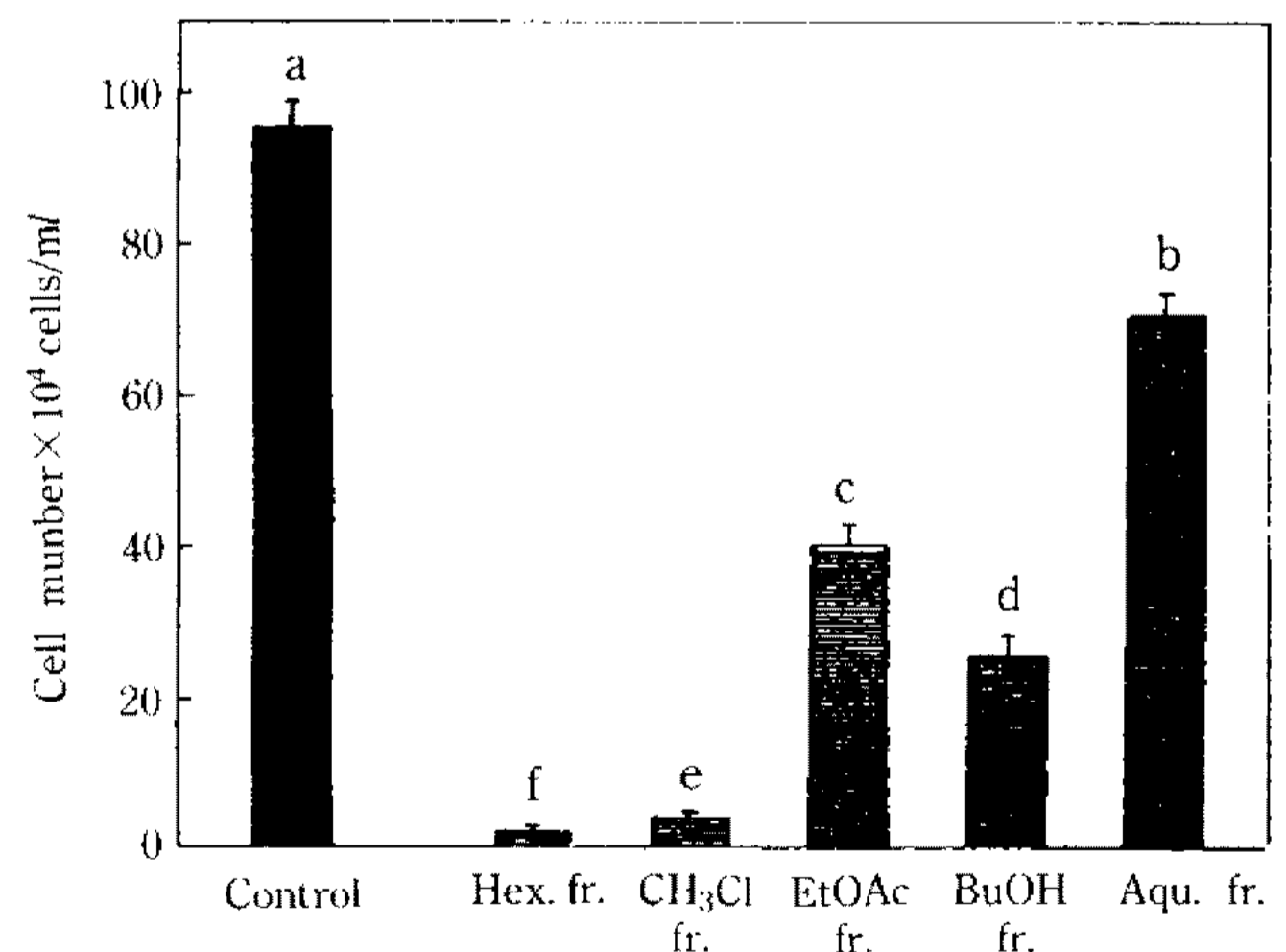


Fig. 3. Growth inhibitory effect of solvent extracted fractions (fr.) from methanol extracts of Chinese pepper in MG-63 human osteosarcoma cell after 6 days of incubation at 37°C.

The different letters surmounted on the bars are significantly different at the $p < 0.01$ level of significance as determined by Duncan's multiple range test.

물에서는 효과가 없음이 보고되었으며, 마늘의 항돌연변이 효과가 있었던 성분들을 동정한 실험(21)에서 그 성분들 중 methyl linoleate가 주요 화합물임이 밝혀졌었다. 심황(tumeric)에서도 항암성분으로 curcumin I과 curcumin III가 동정되었는데 이들 성분들은 쥐에서 benzopyrene(BP)으로 유도된 위암과 dimethylbenzanthracene(DMBA)로 유도된 피부암에 대해 효과가 있었으며 이들은 생체내에서의 발암 물질의 대사과정에서 활성화 과정을 변경하거나 무독화하는 작용등에 의해 발암의 여러 단계, 즉 initiation, promotion 또는 progression 과정에서 항(발)암 효과를 나타내는 것으로 보고되고 있다(9). 그러나 본 연구에서의 초피의 항돌연변이 효과나 항암효과는 헥산분획물의 효과가 가장 크기는 하였으나 다른 분획물에서도 각각 효과가 나타났으므로 초피의 활성 물질은 한 성분이 아니라 여러 활성 물질이 존재하여 작용한 것으로 사료된다.

또한 초피에는 신미(辛味) 성분으로 지방산 계통인 sanshool과 polyphenol류인 tannin 등이 많이 함유되어 있는 것으로 알려져 있는데(11), 녹차나 감잎의 tannin의 경우 발암물질의 불활성화와 제거를 촉진하거나 면역성을 향상시키는 등의 기작을 통하여 항돌연변이 효과, 항암 및 수명연장효과 등을 나타낸다고 보고(22, 23)되어 있다.

초피와 암과의 관계에 대한 연구가 거의 되어 있지 않은 실정에서 이상에서와 같은 초피나무의 과피부분의 항돌연변이 효과나 암세포 증식에 미치는 영향에 대한 검토는 그 의의가 크다 하겠다. 그러나 앞으로 보다 더 광범위한 여러 종류의 발암물질에 대한 항발암효과와 암세포에 대한 영향, *in vivo*에서의 항암 효과 및 항(발)암 기작에 대한 초피의 효과를 더욱 증명할 수 있는 연구가 계속되어야 할 것으로 사료된다.

요 약

초피나무의 과피 부분의 메탄올 추출물과 이를 더욱 분리한 헥산, 클로르포름, 에틸 아세테이트, 부탄올, 수층분획물들의 항돌연변이 효과를 Ames mutagenicity test와 SOS chromotest를 이용하여 검토하고 사람의 골육암 세포인 MG-63 cell의 증식에 대한 억제 효과를 실험하였다. 초피의 메탄올 추출물은 Ames mutagenicity test 에서 aflatoxin B₁(AFB₁)과 N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine(MNNG)의 돌연변이

유발성을 크게 저해하였는데($p < 0.01$), AFB₁에 대하여는 시료에 대한 20% 농도 추출물의 첨가로 거의 90% 이상까지도 억제시킬 수 있었다. 한편 초피의 메탄올 추출물은 SOS chromotest에서도 MNNG의 SOS response를 억제시키는 강한 항돌연변이 효과를 나타내었다. 아울러 그의 활성 분획물을 찾기 위하여 메탄올 추출물을 극성이 다른 용매들로 분획한 분획물들중에는 특히 헥산분획물이 가장 큰 항돌연변이 효과를 나타내어 AFB₁에 대하여는 98% 이상을, MNNG에 대하여는 64%까지 돌연변이성을 억제시켰으며, 부탄올추출물도 비교적 큰 항돌연변이 효과가 있었다. 그리고 초피의 메탄올 추출물은 100 µg의 첨가로 사람의 골육암 세포인 MG-63의 증식을 98%까지 억제시키는 항암 효과를 보였다. 메탄올 추출물에서 분리한 헥산분획물과 클로르포름분획물(10% 농도)도 암세포에 대하여 현저한 효과를 나타내어 MG-63 cell의 증식을 각각 98%, 96%까지 억제시켰다.

참고문헌

- G.B. Gori. 1979. Dietary and nutritional implications in the multifunctional etiology of certain prevalent human cancers. *Cancer* **43**: 2151-2160.
- Doll, R. and R. Peto. 1981. The causes of cancer. *J. Natl. Cancer Inst.* **66**: 1191-1308.
- Shinohara, K., S. Kuroki, M. Miwa, Z-L. Kong, and H. Hosoda. 1988. Antimutagenicity of dialyzates of vegetables and fruits. *Agric. Biol. Chem.* **52**: 1369-1374.
- Ong, T.M., W.Z. Whong, S. Stewart, and H.E. Brockman. 1986. Chlorophyllin: a potent antimutagen against environmental and dietary complex mixture. *Mutat. Res.* **173**: 111-115.
- Morita, K., M. Hara, and T. Kada. 1978. Studies on natural desmutagens: Screening for vegetable and fruit factors active in inactivation on mutagenic pyrolysis products from amino acids. *Agric. Biol. Chem.* **42**: 1235-1238.
- 손홍수, 황우익. 1990. 마늘 중 지용성 성분의 암세포 증식 억제 효과 연구. *한국영양학회지* **23**: 135-145.
- 박건영, 김소희, 서명자, 정해영. 1991. 마늘의 돌연변이 유발 억제 및 HT-29 결장암 세포의 성장 저해 효과. *한국식품과학회지* **23**: 370-374.
- Ito, Y., S. Maeda, and T. Sugiyama. 1986. Suppression of 7, 12-dimethyl-benzo(α)-anthracene-induced chromosome aberrations in rat bone marrow cells by vegetable juices. *Mutat. Res.* **172**: 55-60.
- Nagabhushan, M. and S.V. Bhide. 1992. Curcu-

- min as an inhibitor of cancer. *J. Am. Coll. Nutr.* **11**: 192-198.
10. H. Mitsuhashi. 1988. Illustrated medicinal plants of the world in colour, Pp. 255-258. HoKuryukan.
 11. 생약학 연구회. 1988. 현대 생약학 Pp. 98-99.
 12. Maron, D.M. and B.N. Ames. 1983. Revised methods for the Salmonella mutagenicity test. *Mutat. Res.* **113**: 173-215.
 13. Matsushima, T., T. Sugimura, M. Nagao, T. Yahagi, A. Shirai, and M. Sawamura. 1980. Factors modulating mutagenicity in microbial test. Pp. 273-285. In Norphth, K.H. and R.C. Garmer. (eds.), *Short-term test systems for detecting carcinogens*, Springer. Berling.
 14. Yamanaka, H., M. Nagao, T. Sugimura, T. Fuuya, A. Shirai, and T. Matsushima. 1979. Mutagenicity of purrolizidine alkaloids in the *Salmonella*/mammalian microsome test. *Mutat. Res.* **68**: 211-216.
 15. Quillardet, P. and M. Hofnung. 1985. The SOS chromotest, a colorimetric bacterial assay for genotoxins: Procedures. *Mutat. Res.* **147**: 65-78.
 16. 문숙희. 1993. 감잎의 향돌연변이 및 항암효과. 부산대학교 박사학위논문.
 17. J. Miller. 1972. *Experiments in molecular genetics*. Cold spring harbor laboratory. Cold Spring Harbor, New York.
 18. 이병완, 신동화. 1991. 식품 부패 미생물의 증식을 억제하는 천연항균성물질의 검색. 한국식품과학회지 **23**: 200-204.
 19. Ungsurungsie, M. and D. Suthienkul. 1982. Mutagenicity screening of popular Thai spices. *Fd. Chem. Toxic.* **20**: 527-530.
 20. Natake, M., K. Kanazawa, M. Mizumo, N. Ueno, T. Kobayashi, G. Danno, and S. Minamoto. 1989. Herb water-extracts markedly suppress the mutagenicity of Trp-P-2. *Agric. Biol. Chem.* **53**: 1423-1425.
 21. Kim, S.H., J.O. Kim, S.H. Lee, K.Y. Park, H.J. Park, and H.Y. Chung. 1991. Antimutagenic compounds identified from the chloroform fraction of garlic(*Allium sativum*). *J. Korean Soc. Food Nutr.* **20**: 253-259.
 21. Hagiwara, N., M. Tateishi, M. Kim, T. Yamane, and T. Takahashi. 1991. Inhibition of azaxymethane-induced colon carcinogenesis in rat by tea polyphenols. Pp. 190-194. *Proceeding of the international symposium on tea science*. Shizuoka.
 22. Athar, M., W.A. Khan, and H. Mukhtar. 1989. Effect of dietary tannic acid on epidermal, lung and forestomach polycyclic aromatic hydrocarbon metabolism and tumorigenicity in Sencar mice. *Cancer Res.* **49**: 5784-5792.

(Received October 25, 1993)