

간접변이원의 돌연변이원성에 대한 생약재 열수 추출물의 효과

송근섭 · 안병용* · 이갑삼* · 맹일경** · 최동성***

이리농공전문대학 식품공업과, *원광대학교 생명자원과학대학,
전북대학교 식품공학과, *우석대학교 생물식품 및 환경화학부

Effect of Hot Water Extracts from Medicinal Plants on the Mutagenicity of Indirect Mutagens

Geun-Seoub Song, Byung-Yong Ahn*, Kap-Sang Lee*,
Il-Kyung Maeng**, Dong-Seong Choi***

Department of Food Engineering, Iri National College of Agriculture & Technology

*Division of Life Science and Natural Resource, Wonkwang University

**Department of Food Science and Technology, Chonbuk National University

***Division of Food, Environmental and Chemical Engineering
and Biotechnology, Woosuk University

Abstract

For screening antimutagenic effects, the effects of 95 medicinal plants on the mutagenicity of aflatoxin B₁ (AFB₁) and benzo(a)pyrene [B(a)P] were investigated using the SOS chromotest with *Escherichia coli* PQ37. The mutagenicity induced by AFB₁ or B(a)P was reduced over 26% by 2 kinds and 8 kinds of medicinal plant, respectively. Eight plants (*Bupleurum falcatum*, *Corydalis ternata*, *Gasfrodia elata*, *Ostericum koreanum*, *Pinellia ternata*, *Poncirus trifoliata*, *Prunus armeniaca* and *Rehmannia glutinosa*) were also shown to have inhibitory effects on both AFB₁ and B(a)P. The mutagenicity induced by AFB₁ or B(a)P was increased over 26% by 46 kinds and 2 kinds, respectively, and 8 medicinal plants (*Chrysanthemum indicum*, *Cinnamomum cassia*, *Cyperus rotundus*, *Morus bombycis*, *Patrinia scabiosaeifolia*, *Petasites japonicus*, *Polygonum multiflorum*, *Thyja orientalis*) increased significantly the mutagenicity of both mutagens. However the 8 plants themselves did not show the mutagenicity in SOS Chromotest with S-9 mix alone. This result suggests that the above 8 plants may have the co-mutagenic activities. In two bacterial mutation system, SOS Chromotest and Ames test, the mutagenic or antimutagenic activities of some medicinal plants were similar except *Ostricum koreanum*, *Eugenia caryophyllata* and *Scutellaria baicalensis*.

Key word: antimutagenic effects, medicinal plants, aflatoxin B₁, benzo(a)pyrene, SOS Chromotest

서 론

식생활 패턴의 변화와 날로 심해지는 환경오염으로 인하여 각종 성인병 및 암 발생이 급격히 증가하는 추세이다. 특히 암은 80%가 환경요인에 의해서 발생되며 그 중에서도 식품의 섭취 패턴과 흡연이 그 원인의 대부분을 차지하고 있다⁽¹⁾. 식품은 발암 요인 중 30% 이상을 차지하는데 주로 암 발생의 개시와 증식 단계에 관여하는 것으로 알려져 있다⁽²⁾. 또한 암 발생의 개

시단계와 돌연변이는 83% 이상의 높은 상관성을 나타내므로⁽³⁾ 암을 예방하는 가장 중요한 방법은 환경이나 식품 중에 존재하는 발암성 인자를 조기 발견하여 효과적으로 차단하는 것이며, 항돌연변이원성 물질이나 항암물질을 섭취하는 것도 암이나 유전 질병을 예방하는 효과적인 방안으로 제안되고 있다⁽⁴⁾. 최근 천연물을 중심으로 한 학문이 발달하면서 천연물에 함유되어 있는 2차 대사산물의 생리활성 작용에 대한 관심이 증대되고 있다. 생약 소재의 경우, 수천년 동안 질병의 예방 및 치료에 사용되어 왔기 때문에 독성 등의 안전성 측면에서 장점이 있으나, 돌연변이를 유발시키는 성분도 극소량 포함되어 있을 것으로 생각

Corresponding author: Dong-Seong Choi, Division of Food, Environmental and Chemical Engineering and Biotechnology, Woosuk University, Wanju, Chonbuk 565-701, Korea

된다. 그러므로 SOS Chromotest를 이용하여 생약재의 항변이원성 및 변이원성 여부를 정확히 파악하는 것은 기능성 식품 또는 의약품 소재로의 용도 개발을 위한 기초 자료의 확보, 한방의 과학화 그리고 독성학적 측면에서도 매우 중요한 연구 과제의 하나라 할 수 있다.

저자들은 본 연구에서 조리식품과 가공식품, 담배 연기나 오염된 대기에 함유 가능성이 상대적으로 높고, 체내의 대사작용에 의해 강력한 변이원성 물질로 전환되는 aflatoxin B₁ (AFB₁)과 benzo(a)pyrene [B(a)P]에 대한 항돌연변이원성 인자를 탐색하기 위하여 95종 생약재의 열수 추출물을 bacterial mutation assay를 이용하여 체계적으로 검색하였다.

재료 및 방법

재료 및 시약

본 실험에 사용한 생약재 중 익모초 외 31종은 서울 경동시장 내 생약협회에서, 숙지황 외 62종은 이리시에 소재한 유 한의원에서 기증받아 80 mesh로 분쇄한 후 4°C에 보관하면서 추출용 시료로 사용하였다. 한약은 열증탕하여 음용하므로 시료를 열수 추출하였다. 즉, 시료 10 g에 10배(w/v)량의 증류수를 가하여 100°C에서 2시간 동안 환류추출한 다음, 4,000×g로 20분간 원심분리하여 얻어진 상등액을 감압 여과(Whatman No. 2)하였다. 여과박을 동일하게 재추출하고, 얻어진 여액들을 동결건조하여 -20°C에 보관하면서 사용하였다. 수율은 추출액 조제에 사용된 원료량에 대한 추출액의 동결건조 후 고형분 함량을 백분율로 나타내었다. S-9 분획은 Ong 등의 방법⁵⁾에 따라서 무균적으로 조제하였고, 실험용 동물로는 200±10 g의 7주령된 래트(Sprague Dawley계, male)를, cytochrome P-450 유도물질인 β-naphthoflavone, phenobarbital과 변이원인 AFB₁, B(a)P은 Sigma사 제품을 사용하였다.

시험 균주

SOS Chromotest에서 사용된 *Escherichia coli* PQ37 [sfiA::Mud (Ap lac)cts lacΔU169 mal⁺ uvrA galE galY PhoC rfa]은 P. Quillardet 박사(Pasteur 연구소, France)로 부터, Ames test에서 사용된 *Salmonella typhimurium* TA100 (*hisG46 rfa ΔuvrB R'*)은 B. N. Ames 박사(California 대학, U.S.A.)로 부터 기증받아 각각의 유전형질을 확인한 후 사용하였다.

SOS Chromotest

SOS Chromotest는 Quillardet와 Hofnung의 방법⁶⁾에

준하여 수행하였으며, 변이원의 농도, S-9 분획의 농도, 균의 농도 설정 등의 실험을 선행하여 각각의 최적조건을 설정하였다. L 배지(bacto tryptone 10 g, bacto yeast extract 5 g, NaCl 6 g/L)에 하루밤 배양된 배양액을 2% (v/v)가 되도록 접종하여 37°C에서 약 2시간 진탕배양(5×10^6 CFU/mL) 하였다. 각각의 멸균 시험관에 S-9 mix (AFB₁; 5% S-9 분획, B(a)P; 3% S-9 분획)를 첨가하여 10배(v/v) 희석된 균 배양액 0.6 mL를 분취하고, 여기에 변이원 10 μL [AFB₁ 30 ng/assay, B(a)P 2.5 μg/assay]와 시료 10 μL (100 μg/assay)를 혼합한 다음, 37°C에서 2시간 배양하였다. 생약 시료의 색소로 인한 효소반응 측정의 간섭을 방지하기 위하여 배양액을 4°C에서 25분간 원심분리(1,200×g)하여 상등액을 제거하고 잔사에 0.6 mL의 L 배지를 현탁시켰다. 이 균체 현탁액 0.2 mL를 취하여 각각의 효소 활성을 측정하였다. 단 β-galactosidase는 415 nm, alkaline phosphatase는 400 nm에서 OD를 측정하였으며, 활성단위는 흡광도×1,000/반응시간(분)으로 나타냈다. Ratio(R)값은 β-galactosidase unit/alkaline phosphatase unit로 계산하였고, SOS 반응의 유도정도를 나타내는 유도지수(induction factor; IF)는 R(C)/R(0)로 계산하였다. R(C)는 변이원 및 변이원과 시료를 같이 첨가한 시험구의 R 값이며, R(0)은 변이원과 시료를 첨가하지 않았을 때의 R 값으로 1로 정하였다. 돌연변이 억제효과는 [(IF₀-IF₁)/IF₀]×100으로 계산하였고, 변이원만을 첨가한 양성 대조구의 IF 값은 IF₀, 시료 첨가구의 IF 값은 IF₁로 나타내었다.

Salmonella typhimurium reversion assay (Ames test)

Ames test를 개량한 preincubation법⁷⁾으로 실시하였다. 돌연변이 억제효과는 [(M-S₀/M-S₁)×100]으로 계산하였고, 변이원만을 첨가했을 때의 복귀 돌연변이주의 수를 M, 자연복귀 돌연변이주의 수를 S₀, 변이원과 시료를 첨가했을 때의 복귀 돌연변이주의 수를 S₁로 나타내었다.

결과 및 고찰

SOS Chromotest를 이용한 변이원성에 대한 생약재의 효과

AFB₁과 B(a)P으로 유도된 돌연변이원성에 대한 95종의 생약재 열수 추출물의 효과는 Table 1과 같다. AFB₁의 변이원성에 대하여 26% 이상 상승효과를 나타낸 생약재는 계피 외 45종이었으며, 이들 중 계피,

Table 1. Effects of hot water extracts from medicinal plants on the mutagenicity of indirect mutagens in *E. coli* PQ37

Scientific Name	Part used	Korean name	Yield (%)	Activity ¹⁾	
				AFB ₁	B(a)P
<i>Achyranthes japonica</i> Nakai	Root	우슬	48	-	≡
<i>Aconitum carmichaeli</i> Debx.	Root	건부자	12	---	++++
<i>Acorus gramineus</i> Soland.	Rhizome	석창포	23	-	+
<i>Adenophora triphylla</i> var. <i>japonica</i> Hara	Root	사삼	55	-	≡
<i>Akebia quinata</i> Decne.	Steam	목통	13	----	-
<i>Alpinia oxyphylla</i> Miq.	Fruit	익지인	22	----	-
<i>Anemarrhena asphodeloides</i> Bunge	Rhizome	지모	42	---	≡
<i>Angelica gigas</i> Nakai	Root	당귀	41	-	+
<i>Angelica dahurica</i> Benth. et Hook f.	Root	백지	42	≡	++++
<i>Anselica tenuissima</i> Nakai	Root	고분	38	-	≡
<i>Anthriscus sylvestris</i> Hoffm	Root	전호	42	-	≡
<i>Aralia continentalis</i> Kitagawa	Root	독활	38	≡	+
<i>Arctium lappa</i> L.	Fruit	우방자	14	----	+
<i>Areca catechu</i> L.	Seed	빈랑	13	≡	+++
<i>Artemisia lavandulaefolia</i> DC.	Leaf	애열	20	----	+++
<i>Artemisia capillaris</i> Thunb	Whole	인진	17	----	+
<i>Asarum sieboldii</i> Miq.	Root	세신	25	+	≡
<i>Astragalus membranaceus</i> Bunge	Root	황기	36	≡	+
<i>Atractodes macrocephala</i> Koidz	Rhizome	백출	45	≡	≡
<i>Bupleurum falcatum</i> L.	Root	시호	32	++	++
<i>Cassia tora</i> L.	Seed	결명자	26	--	+
<i>Chaenomeles sinensis</i> Koehne	Fruit	모과	39	----	≡
<i>Chelidonium majus</i> var. <i>asiaticum</i> (Hara) Ohwi.	Whole	백굴채	12	-	+
<i>Chrysanthemum indicum</i> L.	Flower	감국	47	----	--
<i>Cibotium barometz</i>	Rhizome	구척	31	----	≡
<i>Cinnamomum cassia</i> Presl.	Cortex	계피	16	----	--
<i>Cinnamomum cassia</i> Presl.	Stem	계지	4	----	≡
<i>Citrus unshiu</i> Markovich	Cortex	진피	34	---	+
<i>Clematis mandshurica</i> Rupr. var. <i>Koreana</i> Nak.	Root	위령선	29	≡	≡
<i>Cnidium officinale</i> Makino	Rhizome	일천궁	44	+	≡
<i>Codonopsis pilosula</i> Nannf.	Root	당삼	16	≡	+
<i>Corydalis ternata</i> Nakai.	Tuber	현호색	22	+	+
<i>Cornus officinalis</i> S. et Z.	Fruit	산수유	58	----	-
<i>Curcuma zedoaria</i> Rosc.	Rhizome	봉출	14	---	-
<i>Cynanchum wilfordii</i>	Root	하수오	36	++	≡
<i>Cyperus rotundus</i> L.	Rhizome	향부자	33	---	≡
<i>Dendrobium moniliforme</i> Sw.	Whole	석곡	15	-	-
<i>Dioscorea batatas</i> Decne.	Rhizome	산약	15	-	-
<i>Epimedium koreanum</i> Nakai	Whole	음양곽	15	----	≡
<i>Eucommia ulmoides</i> Oliver	Cortex	두충	8	-	--
<i>Eugenia caryophyllata</i> Thunb.	Flower	정향	36	----	++++
<i>Euryale ferox</i> Salisbury	Seed	검실	28	---	-
<i>Evodia rutaecarpa</i> Benth	Fruit	오수유	21	----	--
<i>Forsythia koreana</i> Nakai	Fruit	연교	15	----	≡
<i>Gardenia jasminoides</i> Ellis	Fruit	치자	33	--	≡
<i>Gasfrodia elata</i> Bl.	Rhizome	천마	31	+	+
<i>Gleditsia sinensis</i> Lam.	Leaf	조각자	9	----	++
<i>Glycyrrhiza uralensis</i> Fisch.	Root	감초	30	--	≡
<i>Kalopanax pictus</i> Nakai	Cortex	해동피	10	----	≡
<i>Ledebouria seseloides</i> Wolff	Root	방풍	41	+	≡
<i>Leonurus sibiricus</i> L.	Whole	익모초	14	+++	≡

¹⁾The level of inhibition (+) or increasing (-) activity of medicinal plants was arbitrarily divided into nine categories according to inhibition rate or increasing rate (R) (++++: R ≥ 36%, +++: 35% ≥ R ≥ 26%, ++: 25% ≥ R ≥ 16%, +: 15% ≥ R ≥ 6%, ≡: 5% ≥ R ≥ -5%, -: -6% ≥ R ≥ -15%, --: -16% ≥ R ≥ -25%, ---: -26% ≥ R ≥ -35%, ----: -36% ≥ R). AFB₁ and B(a)P were dissolved in dimethylsulfoxide (DMSO), and DMSO was used as a negative control. All experiments were independently performed twice.

Table 1. Continued.

Scientific Name	Part used	Korean name	Yield (%)	Activity ²⁾	
				AFB ₁	B(a)P
<i>Inula helenium</i> L.	Root	목향	56	≡	≡
<i>Lycium chinense</i> Miller	Fruit	구기자	48	≡	+
<i>Mentharvensis</i> var. <i>piperascens</i> Malinv.	Whole	박하	22	----	--
<i>Morinda officinalis</i> How	Root	파극천	60	+	≡
<i>Morus bombycis</i> Koitzumi	Cortex	상백피	12	----	-
<i>Nelumbo nucifera</i> Gaertner	Seed	연자육	22	-	---
<i>Ophiopogon japonicus</i> Ker-Gawler	Root	맥문동	76	≡	≡
<i>Orobanchae coerulea</i> Steph.	Calis	육종용	43	----	≡
<i>Orostachys japonicus</i> A. Berger	Whole	와송	17	----	≡
<i>Ostericum koreanum</i> Kitagawa	Root	강활	44	++	++
<i>Paeonia lactiflora</i> Pall.	Root	적작약	61	----	+
<i>Paeonia japonica</i> Miyabe et Takeda	Root	백작약	23	----	≡
<i>Paeonia suffruticosa</i> Andrews	Cortex	목단피	27	----	+
<i>Patrinia scabiosaefolia</i> Fish.	Whole	패장	16	----	-
<i>Perilla frutescens</i> var. <i>acuta</i> Kudo	Leaf	소엽	19	----	+++
<i>Petasites japonicus</i> Max.	Flower	관동화	56	----	≡
<i>Phellodendron amurense</i> Rupr.	Cortex	황백	15	≡	≡
<i>Pinellia ternata</i> Breit.	Tuber	반하	17	+	+
<i>Platycodon grandiflorum</i> A. DC.	Root	길경	59	--	-
<i>Polygonatum falcatum</i> A. Gray	Rhizome	황정	58	+	≡
<i>Polygonum multiflorum</i> Thunberg	Root	적하수오	29	----	--
<i>Poncirus trifoliata</i> Rafiensiue	Fruit	지실	32	+++	++
<i>Poria cocos</i> Wolf.	Sclerotium	백복령	4	--	-
<i>Prunus armeniaca</i> L. var. <i>ansu</i> Max.	Seed	행인	8	+	++
<i>Prunus persica</i> Batsch	Seed	도인	18	≡	≡
<i>Psoralea corylifolia</i> L.	Seed	파고지	22	---	++
<i>Pueraria thunbergiana</i> Benth	Flower	갈화	20	---	≡
<i>Pueraria thunbergiana</i> Benth.	Root	갈근	37	--	≡
<i>Rehmannia glutinosa</i> Liboschitz	Rhizome	숙지황	55	+	++
<i>Rheum undulatum</i> L.	Rhizome	대황	38	----	++
<i>Rhus chinensis</i> Mill.	Galla	오배자	25	-	+++
<i>Rosa laevaigata</i> Michx.	Fruit	금앵자	25	-	-
<i>Rubus coreanus</i> Miq.	Fruit	복분자	28	----	++
<i>Salvia miltriorrhiza</i> Bunge	Root	단삼	43	----	+
<i>Scutellaria baicalensis</i> Georgi	Root	황금	55	----	+
<i>Sophora flavescens</i> Aiton	Root	고삼	22	--	+
<i>Scirpus fluviatilis</i> A. Gray	Rhizome	삼릉	12	≡	+
<i>Terminalia chebula</i> Retz	Fruit	가지육	43	---	+++
<i>Thyja orientalis</i> L.	Leaf	측백엽	16	----	-
<i>Ulmus macrocarpa</i> Hance	Root	유근피	21	----	-
<i>Zanthoxylum piperitum</i> A.P. DC.	Pericarp	초피	16	----	≡
<i>Zanthoxylum piperitum</i> DC.	Seed	산초	22	----	≡
<i>Zea may</i> L.	Stigma	옥촉수	13	--	+
<i>Zingiber officinale</i> Rosc.	Rhizome	건강	14	---	-

황금 및 대황은 100% 이상의 상승효과를 나타내었다. 한편 26% 이상의 억제활성을 나타낸 생약재는 익모초(28%)와 지실(26%)이었다. B(a)P의 변이원성에 대하여 26% 이상 상승효과를 나타낸 생약재는 연자육(33%)과 감국(29%)이었고, 26% 이상 억제활성을 나타낸 생약재는 건부자 외 7종이었으며, 건부자(33%)가 가장 강한 억제활성을 나타내었다. 이와같은 결과는 문 등⁶⁾이 46종 생약재 메탄올 추출물(3,500 µg/plate)의 항돌연변

이원성을 검색한 결과, 와송 외 37종의 생약재가 AFB₁으로 유도된 *S. typhimurium* TA100의 복귀돌연변이를 50% 이상 억제하였으며, 이들 중 19종의 생약재가 90% 이상 억제활성을 나타내었다는 보고와는 많은 차이를 나타내었다. 그러나 이 등⁶⁾이 *S. typhimurium* TA98 revertant assay를 이용한 실험에서 썩 에탄올 추출물의 경우 2,000 µg/plate 농도에서는 lawn 현상이 나타나지 않아 AFB₁의 변이원성에 대한 항돌연변이

원성 측정이 불가능하였다는 보고로 미루어 볼 때, 문 등⁽⁶⁾의 결과와 저자들의 연구 결과가 많은 차이를 나타낸 것은 생약재의 종류, 변이원성의 검색방법, 추출 용매에 따른 용출성분의 차이는 물론 시료 첨가량의 차이가 중요하게 작용하였을 가능성이 크다.

한편, AFB₁과 B(a)P은 cytochrome P-450에 의존하는 multi-functional oxidase⁽¹⁰⁾, flavine-containing monooxygenase (FMN)⁽¹¹⁾와 prostaglandin H synthase⁽¹²⁾에 의해 활성화되어지나 여러 cofactor에 의해 활성화 및 불활성화의 정도가 변화되어 독성의 크기가 달라지게 된다. Buening⁽¹³⁾은 열수 추출물에 쉽게 용출되는 수용성 flavonoid⁽¹⁴⁾가 AFB₁의 대사활성을 강하게 촉진시킨 반면에 B(a)P의 대사활성을 저해시키는 이상효과(diphasic effect)를 보고한 바 있다. 특히, 7,8-benzoflavone, 5,6-benzoflavone, flavone 등은 AFB₁-exo-8,9-epoxide의 형성을 촉진시켜⁽¹⁵⁾ AFB₁의 독성을 증가시키나⁽¹⁰⁾, 7,8-benzoflavone은 estradiol 2-hydroxylase 활성을 촉진시킴으로써 B(a)P의 발암성을 감소시킨다⁽¹⁶⁾. 본 연구에서 건부자 외 22종 생약재의 열수 추출물이 두 종류의 간접변이원에 대하여 이상효과를 나타내었으며, 이들 대부분이 AFB₁에 대해서는 변이원성을 상승시키는 반면에 B(a)P에 대해서는 변이원성 억제 활성을 나타내었기 때문에, 이들 생약재 열수 추출물중에는 B(a)P 대사활성화 관련 효소의 활성은 억제시키는 반면 AFB₁ 대사활성화 관련 효소의 활성을 촉진시키는 성분들이 함유되어 있을 가능성이 시사되었다.

AFB₁과 B(a)P 모두에 대하여 돌연변이 억제활성을 나타낸 생약재는 시호, 현호색, 천마, 강 활, 만하, 지실, 행인 및 숙지황이었다. 행인의 성분인 amygdalin⁽¹⁷⁾

은 가수분해에 의해 cytochrome oxidase의 억제 활성을 갖는 cyanic acid를 생성한다⁽¹⁸⁾. 본 연구에서 행인이 두 종류의 변이원 모두에 대하여 억제활성을 나타낸 결과(Table 1)는 S-9 mix에 함유된 효소들이 불활성화됨으로 써 pro-mutagen의 ultimate mutagen으로의 전환이 저해되었을 것으로 추정된다. 감국, 계피, 향부자, 삼백피, 패장, 관동화, 적하수오 및 측백잎은 두 종류 변이원 모두에 대하여 변이원성 유발을 크게 상승시켰으나, S-9 mix와 이들 생약재 열수 추출물만을 첨가한 실험에서 자체의 변이원성은 없는 것으로 나타났다(Table 2). 따라서 이들 생약재 열수 추출물중에는 AFB₁과 B(a)P의 변이원성을 상승시켜주는 보돌연변이 활성(co-mutagenic activity) 성분이 존재할 가능성이 있는 것으로 생각되었다.

Salmonella typhimurium reversion assay에서 변이원성에 대한 생약재의 효과

SOS Chromotest와 Ames test는 활성물질을 구별하

Table 3. Effects of hot water extracts from medicinal plants on the mutagenesis of aflatoxin B₁ in *S. typhimurium* TA100

Scientific name	Revertants/plate	Activity(%) ³⁾
Spontaneous	140	
Positive control	1536	
<i>Corydalis ternata</i> ¹⁾	1269	+19
<i>Ledebouriella seseloides</i> ¹⁾	1508	+2
<i>Leonurus sibiricus</i> ¹⁾	1234	+22
<i>Ostericum koreanum</i> ¹⁾	1841	-22
<i>Poncirus trifoliata</i> ¹⁾	1108	+31
<i>Rehmannia glutinosa</i> ¹⁾	1147	+28
Spontaneous	140	
Positive control	1133	
<i>Chaenomeles sinensis</i> ²⁾	1714	-59
<i>Cinnamomum cassia</i> ²⁾	1676	-55
<i>Eugenia caryophyllata</i>	641	+50
<i>Forsythia korean</i> ²⁾	1526	-40
<i>Mentharvensis piperascens</i> ²⁾	1378	-25
<i>Perilla frutescens</i> ²⁾	1729	-60
<i>Petasites japonicus</i>	1263	-13
<i>Polygonum multiflorum</i> ²⁾	1360	-23
<i>Rubus coreanus</i> ²⁾	1243	-11
<i>Scutellaria baicalensis</i> ²⁾	222	+92
<i>Thuja orientalis</i> ²⁾	1411	-28
<i>Zanthoxylum piperitum</i> ²⁾	1617	-49

All values are the average of 2 plates. The amount of mutagen is 100 ng/plate.

¹⁾The samples showed inhibitory effect on AFB₁ mutagenicity in SOS Chromotest.

²⁾The samples showed increasing effect on AFB₁ mutagenicity in SOS Chromotest.

³⁾+: inhibitory effect, -: increasing effect.

Table 2. Mutagenicity of hot water extracts from medicinal plants in *E. coli* PQ37 with S-9 mix

Scientific Name	Induction factor	
	5% S9mix	3% S9mix
Negative control	1.0	1.0
Positive control	4.02 ¹⁾	3.01 ²⁾
<i>Chrysanthemum indicum</i>	0.89	1.01
<i>Cinnamomum cassia</i>	0.92	1.06
<i>Cyperus rotundus</i>	0.94	0.99
<i>Morus bombycis</i>	0.91	0.96
<i>Patrinia scabiosaefolia</i>	0.88	0.95
<i>Polygonum multiflorum</i>	0.95	0.94
<i>Thuja orientalis</i>	1.18	1.36
<i>Xanthium strmarium</i>	0.87	0.96

The amount of each sample is 100 µg/assay.

All experiments were independently performed twice.

¹⁾AFB₁ (30 ng/assay) was used as positive control.

²⁾B(a)P (2.5 µg/assay) was used as positive control.

Table 4. Inhibitory effects of hot water extracts from medicinal plants on the mutagenicity of benzo(a)pyrene in *S. typhimurium* TA100

Scientific name	Revertants/plate	Inhibition rate (%)
Spontaneous	128	
Positive control	917	
<i>Areca catechu</i>	182	+93
<i>Cassia tora</i>	807	+14
<i>Lycium chinense</i>	771	+19
<i>Ostericum koreanum</i>	580	+43
<i>Rehamannia glutinosa</i>	733	+24
<i>Salvia miltiorrhiza</i>	769	+19

The amounts of mutagen and test sample are 10 µg/plate and 500 µg/plate respectively.

All values are the average of 2 plates.

는 민감도와 신뢰도가 약간 다를 수가 있으므로 SOS Chromotest에서 항돌연변이의 효과와 돌연변이 상승 효과가 있었던 시료들을 Ames test로 조사하여 활성의 유의성을 검증하였다(Table 3). AFB₁에 대하여 항돌연변이 효과가 있었던 6종의 시료 중 강활을 제외한 시료는 200 µg/plate 농도에서 돌연변이 억제 효과를 나타내어 SOS Chromotest의 결과와 일치하는 경향이 있었다. SOS Chromotest에서 AFB₁ 변이원성에 대하여 상승효과를 나타낸 시료중 정향과 황금을 제외한 시료는 500 µg/plate 농도에서 복귀돌연변이주의 수를 증가시켜 SOS Chromotest와 유사한 결과가 얻어졌으나 정향과 황금은 Ames test에서 각각 50, 92%의 강한 억제활성을 나타내었다. 정향의 물 추출물은 *Clostridium perfringens*에 대하여 강한 항균활성⁽¹⁹⁾을 나타내고 수종의 미생물에 대해서도 살균효과가 있다고 보고된⁽²⁰⁾ 바 있어, 시료의 첨가량이 상대적으로 높았던 Ames test에서 정향과 황금이 강한 항돌연변이 효과를 나타낸 것은 항균작용 또는 활성화효소의 억제작용에 일부 기인했을 것으로도 사료된다.

SOS Chromotest에서 B(a)P으로 유도된 돌연변이원성에 대한 억제효과를 나타낸 6종의 시료에 대해서 Ames test로 시험한 결과는 Table 4와 같다. 500 µg/plate 농도에서 모든 시료는 SOS Chromotest와 동일한 억제효과를 나타내었으며, 빈랑은 *S. typhimurium* TA 100에서 보다 높은 억제율(93%)을 나타내었다. 이와 같이 서로 다른 bacterial mutation system에서 강활, 황금과 정향을 제외한 다수의 생약시료는 두 종의 모델 변이원에 대하여 유의성 있는 활성 효과를 나타내었다.

요 약

항돌연변이원성 물질을 탐색하기 위하여 AFB₁, B

(a)P의 돌연변이원성에 대한 95종 생약재 열수 추출물의 효과를 SOS Chromotest를 이용하여 검색하였다. AFB₁의 변이원성을 26%이상 억제시킨 생약재는 익모초와 지실이었으며, B(a)P의 변이원성을 26%이상 억제시킨 생약재는 건부자 외 7종이었다. 두 종류의 변이원 모두에 대하여 억제활성을 나타낸 생약재는 시호, 현호색, 천마, 강활, 반하, 지실, 행인 및 숙지황이었다. AFB₁의 변이원성을 26%이상 상승시킨 생약재는 계피 외 45종이었으며, B(a)P의 변이원성을 26%이상 상승시킨 생약재는 연자육과 감국이었다. 생약재의 열수 추출물은 AFB₁으로 유도된 변이원성을 대부분 증가시켰으나 B(a)P의 변이원성은 증가시키지 않았다. 두 종류의 변이원성을 모두 뚜렷하게 증가시킨 생약재(감국, 계피, 향부자, 삼백피, 패장, 관동화, 적하수오, 측백엽)의 열수 추출물 그 자체는 변이원성을 나타내지 않았으므로 변이원성 유발을 도와주는 보돌연변이 활성을 나타냈다. Ames test에서도 강활, 정향, 황금을 제외한 생약재에서 SOS Chromotest와 유사한 결과가 얻어졌다.

감사의 글

E. coli PQ37를 제공해주신 P. Quillardet 박사(Pasteur 연구소, France)와 *Salmonella typhimurium* TA100을 제공해 주신 B. N. Ames 박사 (California 대학, U.S.A.)에게 감사를 드린다.

문 헌

1. 최동성, 고힌영 : 식품기능화학, 지구문화사, p.109 (1995)
2. Mohn, G.R.: Bacterial systems for carcinogenicity testing. *Mutation Res.*, **87**, 191 (1981)
3. Hathcock, J.N.: Mutagens in cooked foods, Nutritional toxicology, Vol. II, Academic Press Inc., Orlando, p.57 (1987)
4. Ferguson, L.R.: Antimutagen as cancer chemopreventive agents in the diet. *Mutation Res.*, **307**, 395 (1994)
5. Ong, T.M., Mukhtar, M., Wolf, C.R. and Zeiger, E.: Differential effects of cytochrome P450-inducers on promutagen activation capabilities and enzymatic activities of S9 from rat liver. *J. Environ. Pathol. Toxicol.*, **4**, 55 (1980)
6. Quillardet, P. and Hofnung, M.: The SOS Chromotest, a colorimetric bacterial assay for genotoxins: procedures. *Mutation Res.*, **147**, 65 (1985)
7. Maron, D.M. and Ames, B.N.: Revised methods for the *Salmonella* mutagenicity test. *Mutation Res.*, **113**, 173 (1983)
8. 문숙희, 박건영, 정혜영, 양한석 : 민간 생약재의 아플라톡신 B₁에 대한 항돌연변이 효과. 한국식품위생안전학

- 회지, 10, 219 (1995)
9. 이성, 권동진, 유진영, 정동효 : 쑥 추출물의 항돌연변이 효과. 산업미생물학회지, 24, 105 (1996)
 10. Eaton, D.L. and Gallagher, E.P.: Mechanism of aflatoxin carcinogenesis. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.*, 34, 135 (1994)
 11. Ziegler, D.M.: Recent studies on the structure and function of multisubstrate flavin containing monooxygenases. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.*, 33, 179 (1993)
 12. Eling, T.E., Thompson, D.C., Foureman, G.L., Curtis, J. F. and Hughes, M.F.: Prostaglandin H synthase and xenobiotic oxidation. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.*, 30, 1 (1990)
 13. Buening, M.K., Chang, R.L., Huang, M.-T., Fortner, J. G., Wood, A.W. and Conney, A.H.: Activation and inhibition of B(a)P and AFB₁ metabolism in human liver microsomes by naturally occurring flavonoids. *Cancer Res.*, 41, 67 (1981)
 14. 林孝三 : 増訂 植物色素, 養賢堂, 東京, p.174 (1988)
 15. 오현숙 : Cytochrome P450 3A 4의 활성기작에 대한 연구. 원광대학교, 박사학위논문 (1995)
 16. Shimada, T. and Guengerich, F.P.: Evidence for cytochrome P-450NF, the nifedipine oxidase, being the principal enzyme involved in the bioactivation of aflatoxins in human liver. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 86, 462 (1989)
 17. Huang, K.C.: The pharmacology of chinese herbs, CRC Press, p.215 (1993)
 18. 강삼식, 윤혜숙, 장일무 : 천연물 과학, 서울대학교 출판부, 서울, p.188 (1988)
 19. 신현경 : 장내균총 개선을 위한 신소재 탐색. 식품과학과 산업, 20, 83 (1992)
 20. 岡崎寛藏, 加勝宏, 苦田部武男 : 生薬の抗菌性(第2報). 薬学雑誌, 71, 1 (1951)

(1997년 8월 18일 접수)