

## 대추의 장내세균 유해효소 $\beta$ -Glucuronidase와 Tryptophanase 저해효과

이영경 · 김동현\* · 한명주

경희대학교 식품영양학과, \*경희대학교 약학과

### Inhibitory Effect of *Zizyphi fructus* on $\beta$ -Glucuronidase and Tryptophanase of Human Intestinal Bacteria

Young-Kyoung Rhee, Dong Hyun Kim\* and Myung Joo Han

Department of Food Science and Nutrition, Kyung Hee University

\*College of Pharmacy, Kyung Hee University

#### Abstract

In human intestine, more than 100 species of bacteria reside and dietary factors may alter the bacterial flora which produce bacterial enzymatic activities. Especially  $\beta$ -glucuronidase and tryptophanase activities in colon are closely associated with occurrence of colon cancer. Therefore, the inhibitory effect of traditional herbal food extracts on these intestinal bacterial enzymes are measured. The results of this study showed that *Zizyphi fructus* and *Glycyrrhizae radix* decreased not only  $\beta$ -glucuronidase and tryptophanase productions of human intestinal bacteria but also inhibited potently  $\beta$ -glucuronidase and tryptophanase. Among solvent-extracted fraction of tested herbal foods, ether fraction of *Glycyrrhizae radix* and ethylacetate fraction of *Zizyphi fructus* inhibited potently  $\beta$ -glucuronidase and tryptophanase. Thus, ethylacetate fraction of *Zizyphi fructus* separated six components by silica gel column chromatography. The component having  $R_f=0.34$  and  $R_f=0.43$  (developing solvent,  $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$  (3:1)) showed the highest inhibitory effect of  $\beta$ -glucuronidase and tryptophanase among them.

Key words: colon cancer,  $\beta$ -glucuronidase, tryptophanase, intestinal bacteria, *Zizyphi fructus*

#### 서 론

대장암은 북미, 서유럽을 비롯한 선진국에서 발생 빈도가 높은 반면 남미, 아프리카, 아시아 등에서는 그 빈도가 낮다<sup>(1,2)</sup>. 그러나, 최근 우리나라에서도 암 등의 성인병 발생 경향이 서구 선진국과 유사해져 가는 추세를 보이고 있다. 이러한 경향은 식습관의 차이에 의한 것으로 단백질, 지방의 많은 섭취와, 섬유소의 적은 섭취가 대장암의 발생에 영향을 미치는 요인으로 보고되고 있다<sup>(2,4)</sup>. 육류의 섭취가 많은 서양인들은 채소류의 섭취가 많은 동양인들 보다 대장암 발생이 높다. 그러나 유럽에서도 핀란드인의 경우는 육류의 섭취가 많은데도 대장암의 발생이 현저히 낮았으며 그 이유는 요구르트 섭취 때문인 것으로 밝혀졌다<sup>(5,7)</sup>. 고지방식은 장내세균의 효소를 유도할 뿐 아니라 담즙

배설을 촉진하여 장내미생물에 의해 과도한 2차 담즙산과 스테로이드 대사체등을 생성함으로써 대장암 발생과 관계있는 것으로 알려져 있다<sup>(8,9)</sup>. 채소의 섭취가 적고 육류의 섭취가 높은 선진국의 식단은 장내세균의 7 $\alpha$ -dehydrogenase,  $\beta$ -glucuronidase 및 tryptophanase의 활성을 높여 2차 담즙산, 독성물질의 탈포합 또는 indole 등의 생성을 증가시켜 대장암을 일으키는 것으로 생각된다<sup>(9,11)</sup>. 장내세균의 구성은 음식물, 연령, 유산균 섭취, 발암원의 흡수 등에 의해 영향을 받으며 그 결과 장내세균이 생산하는 효소활성도 영향을 받는다. 예를들면,  $\beta$ -glucuronidase는 간에서 benzo(a)pyrene 등의 유독성 물질이 gluconic acid conjugate로 무독화되어 장으로 보내졌을 때 이 결합을 끊어 주어 발암원을 제공한다.  $\beta$ -Glucuronidase의 생산성은 *Clostridium* sp.에서 가장 높고 *Bacteroides* sp., *Eubacterium* sp., *Peptostreptococcus* sp. 등도 이 효소를 생산하고 있으나 *Bifidobacterium* sp.에서는  $\beta$ -glucuronidase의 활성이 없다<sup>(12,13)</sup>. Tryptophanase는 tryptophan을 분해하여

Corresponding author: Myung Joo Han, Department of Food Science and Nutrition, Kyung Hee University, #1 Hoegi-dor., Dongdaemun-gu, Seoul 130-701, Korea

indole 등의 방광암, 대장암 유발물질을 생성한다. 장내세균중 *Bacteroides* sp., *Citrobacter* sp. 등이 tryptophanase 활성을 보이는 균주이다<sup>(11)</sup>. 이와같이 장내세균 효소는 대장암과 같은 성인병과 밀접한 관계를 가지고 있으며 성인병의 발생을 억제하기 위해서는 장내의 pH에 의해 영향을 받는데 장내의 높은 pH에 의해  $\beta$ -glucuronidase, tryptophanase 활성이 유도되므로 장내 pH를 낮추어 효소 활성을 저하시키거나,  $\beta$ -glucuronidase를 직접 저해하여 발암원의 생성을 억제하는 것은 바람직하다<sup>(12,14,15)</sup>.

이와 같이 우리의 식생활과 대장암이 밀접한 관계를 가지므로 본 연구에서는 일반적으로 이용되고 있는 식품에 국한하지 않고 한방에서 건강식품(藥善)으로 사용되고 있는 재료들이 장내세균 효소인  $\beta$ -glucuronidase, tryptophanase의 활성에 미치는 효과를 조사하여 대장암을 예방할 수 있는 건강식품을 개발하는 자료로 삼고자 한다.

## 재료 및 방법

### 재료

*Ginseng radix* (수삼), *Sojae Germinatum semen* (대두황편), *Puerariae flos* (갈화), *Sophorae Subprostratae radix* (산두근), *Cassiae semen* (결명자), *Glycyrrhizae radix* (감초), *Albiziae cortex* (합환피), *Sophorae flos* (괴화), *Gleditsiae spina* (조각자), *Pteridium aquilinum* (고사리), *Condonopsos lonceolata* (더덕), *Zizyphi fructus* (대추), *Undraia pinnatifida* (미역), *Prunus persica* (복숭아), *Schizandrae fructus* (오미자), *Arctum leppa* (우영), *Puerariae radix* (갈근), *Theae folium* (녹차)은 경동시장에서 구입하였다. General anaerobic medium (GAM)은 Nissui Pharm. Co. Ltd (Japan)에서 p-nitrophenyl  $\beta$ -D-glucuronide와 tryptophan은 Sigma Co. (USA)에서 구입하였다. *E. coli* HGU-3균주는 저자 등이 사람의 장내세균총으로부터 유해한  $\beta$ -glucuronidase 분리한 균주<sup>(16)</sup>를 사용하였으며, 기타 시약은 특급시약을 사용하였다.

### 재료의 추출 및 분획

각 재료 50 g에 증류수 250 mL를 가하여 4시간 동안 환류냉각법으로 추출하여 물추출액을 얻고 그 잔사에 증류수 12 mL를 가하여 4시간 동안 추출한 후 여과하여 앞에서 얻은 물추출액과 합하였다(Fig. 1). 200 mL 물추출액을 ether로 3회(1회는 400 mL, 2회, 3회는 각각 200 mL) 추출하여 ether층을 얻고 계속하

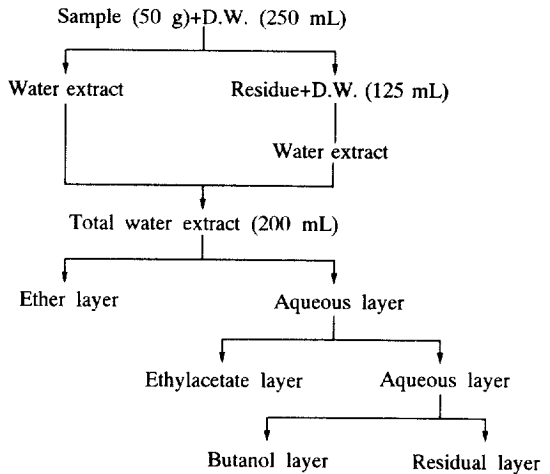


Fig. 1. Procedure for the fractionation of each herbal food extract.

여 ethylacetate와 butanol로 추출하여 얻은 분획과 나머지 부분(물층)을 나누어 감압 농축한 후 실험시료로 사용하였다.

### 한방식품 첨가배지에서 장내세균총의 배양시 배지의 pH 및 효소 생산성 측정

GAM배지 5 mL에 lactose, 각시료의 물추출물을 0.5%, 1% 가하여 배지의 pH를 7.2로 맞춘 후 멸균하고 사람(20대 건강한 성인남자의 장내세균총으로 신선한 분변을 혐기성 배지로 10배 희석한 액을 5  $\mu$ L 이식하여 37°C에서 혐기적 배양기(Coy Laboratory Products Inc.)에서 20시간 배양한 후 pH 및  $\beta$ -glucuronidase와 tryptophanase의 활성을 측정하였다.

### $\beta$ -Glucuronidase와 tryptophanase 효소활성

조효소액 조제: 혐기성 배양기에서 미리 배양한 *E. coli* HGU-3균주<sup>(16)</sup>를 0.5%가 되도록 1.5 L의 GAM배지에 이식하여 20시간 배양후 5000 xg에서 20분간 원심분리하고 생리식염수로 세척하고, 그 침전에 50 mL의 0.1 M phosphate buffer를 가하여 현탁하여 초음파 처리하고 얻은 상등액을 황산암모늄(포화 30-60%)으로 분획하여 투석후 DEAE-cellulose column chromatography를 행하여 얻은 활성분획을 조효소액으로 사용하였다( $\beta$ -glucuronidase, 0.4 mole/min/mg protein; tryptophanase, 0.15 mole/min/mg protein).

$\beta$ -Glucuronidase의 활성 측정: 효소액 0.1 mL에 10 mM p-nitrophenyl- $\beta$ -D-glucuronide 0.02 mL, 0.1 M phosphate buffer (pH 7.0) 0.28 mL, 증류수 0.1 mL를 넣어 37°C에서 한시간 반응시킨 후 0.25 N NaOH 0.5 mL를

가하여 반응을 종료시키고 D.W. 1 mL를 가하여 원심 분리(2000×g, 20분)한 후 상등액으로 405 nm에서 흡광도를 측정하였다<sup>(6)</sup>.

**Tryptophanase의 활성 측정:** 효소액 0.1 mL에 complete reaction mixture 2 mL, 0.04 M tryptophan 0.1 mL, 증류수 0.1 mL를 넣어 37°C에서 30분 반응시킨 후 color reagent 2 mL를 가하여 반응을 종료시키고 원심 분리(2000×g, 10분)하고 상등액으로 550 nm에서 흡광도를 측정하였다<sup>(17)</sup>.

**저해활성 측정:** β-Glucuronidase와 tryptophanase의 저해활성을 측정시에는 위의 효소측정 방법에서 증류수 대신에 추출 재료의 분획물을 첨가하여 반응시켰다.

대추의 ethylacetate분획으로부터 β-glucuronidase와 tryptophanase 저해성분의 분리

Silica gel 60을 채워서 만든 column (3.3×22 cm)에 대추 ethylacetate분획 2.5 g을 loading하였다. 용매는 chloroform:methanol=1:1 (v/v)을 사용하였고 각 분획을 30 mL씩 받아서 β-glucuronidase 및 tryptophanase 저해율을 측정하였다. 분획의 분리정도는 TLC (전개 용매 chloroform : methanol=3:1(v/v))로 확인하였다.

**결과 및 고찰**

한방식품 물추출물의 장내세균 기인성 β-glucuronidase 및 tryptophanase 생산저해 효과

경구투여되는 한방식품은 상당부분이 위에서 거의 흡수되지 않고 장까지 도달하기 쉽다<sup>(18)</sup>. 이러한 점을 착안하여 한방에서 사용되어지는 식품들의 물추출물을 장내세균 배양 배지에 첨가하였을 때 배지의 pH에 미치는 영향을 조사하였다. 한방식품을 첨가하여 만든 배지에 장내세균총을 이식한 경우 예외없이 균의 성장은 잘 이루어졌으며, Table 1에 나타난 것과 같이 실험에 사용한 대부분의 한방식품이 장내세균을 증식시켰다. 대조군은 장내세균을 이식하기 전의 배지 pH 7.2에서 장내세균의 배양후 pH 6.2로 낮아졌으나 0.5%의 오미자를 함유한 배지에서는 pH를 5이하로 저하시키는 탁월한 효과가 있었으며, 감초, 더덕, 대추, 우영, 갈근도 pH 5.2~5.6으로 pH저하 효과를 관찰할 수 있었다. 1%의 한방식품을 함유한 배지에서는 대추, 복숭아, 오미자가 pH를 5이하로 저하시켰다. 한 등<sup>(19)</sup>이 보고한 몇가지 식품의 신속한 유산균 증식제 검색 결과와 비교해 볼 때 한방식품에 의한 배지의 pH저하는 장내세균중 산의 생성이 많은 유산균과 같은 균주의 증식에 기인된 것으로 생각된다. 이들 한방식품에

**Table 1. The final pH of the medium culturing human intestinal bacteria for 20 hr in the medium containing each herbal food extract**

Food	pH <sup>1)</sup>	
	0.5%	1%
Control	6.2	6.2
Lactose	5.2	4.3
<i>Ginseng radix</i> (수삼)	6.0	5.6
<i>Sojae Germinatum semen</i> (대두황편)	6.1	5.9
<i>Puerariae flos</i> (갈화)	6.9	7.3
<i>Sophorae Subprostratae radix</i> (산두근)	5.9	5.6
<i>Cassiae semen</i> (결명자)	5.9	5.2
<i>Glycyrrhiziae radix</i> (감초)	5.6	5.2
<i>Albizziae cortex</i> (합판피)	6.0	5.5
<i>Sophorae flos</i> (괴화)	5.9	5.7
<i>Gleditsiae spina</i> (조각자)	6.1	5.7
<i>Pteridium aquilinum</i> (고사리)	7.1	5.2
<i>Condonopsis lonceolata</i> (더덕)	5.3	5.2
<i>Zizyphi fructus</i> (대추)	5.2	4.5
<i>Undraia pinnatifida</i> (미역)	6.2	6.1
<i>Prunus persica</i> (복숭아)	5.0	4.8
<i>Schizandrae fructus</i> (오미자)	3.8	3.5
<i>Arctium leppa</i> (우영)	5.6	5.2
<i>Puerariae radix</i> (갈근)	5.2	5.0
<i>Theae folium</i> (녹차)	z6.4	5.8

<sup>1)</sup>Initial pH of medium is 7.2.

는 장내세균중에서 유산균과 같은 장내의 산 생산균의 증식성분이 있는 것으로 사료된다.

김 등<sup>(19)</sup>에 의하면 장내유산균의 증식은 배지의 pH를 저하시킬 뿐만 아니라 장내세균총이 생산하는 β-glucuronidase의 생산성을 억제하는 것으로 보고하고 있다. 한방식품의 물 추출물을 첨가한 배지에 장내세균총을 배양한 후 β-glucuronidase와 tryptophanase의 생산성에 미치는 효과를 조사하였다. Table 2에 나타난 것과 같이 0.5%의 물 추출물을 첨가한 경우 대부분의 한방식품은 β-glucuronidase를 저해했으며 괴화, 결명자, 감초, 대두황건, 더덕이 70%이상 생산성을 억제하였다. 1%의 한방식품을 함유한 배지에 장내세균총을 배양한 경우 산두근과 괴화는 β-glucuronidase의 생산성을 거의 저해하지 못한 반면 대조군인 lactose를 비롯하여 더덕, 대추, 감초의 경우는 80%이상의 효소생산 저해효과를 나타내었다. 더덕, 대추, 감초는 유산균 증식 효과와 더불어 효소의 저해효과가 있는 것으로 밝혀졌다.

Tryptophanase의 저해 효과는 0.5%를 첨가한 경우 갈근, 갈화, 결명자, 대추황편, 수삼, 더덕, 복숭아 등이 80%이상 생산성을 저해했으며, 오미자, 산두근, 합판피, 괴화, 조각자, 고사리는 거의 효과가 없었다. 1%의 한방식품을 함유한 배지에서 tryptophanase의 생산

**Table 2. Inhibition of each herbal food extract on  $\beta$ -glucuronidase and tryptophanase activities of human intestinal bacteria**

Food	Inhibition (%)			
	$\beta$ -Glucuronidase <sup>1)</sup>		Tryptophanase <sup>2)</sup>	
	0.5% <sup>2)</sup>	1%	0.5%	1%
Control	0	0	0	0
Lactose	60	87	93	100
<i>Ginseng radix</i> (수삼)	43	77	93	98
<i>Sojae Germinatum semen</i> (대두황권)	77	37	97	96
<i>Puerariae flos</i> (갈화)	23	73	88	95
<i>Sophorae Subprostratae radix</i> (산두근)	0	0	0	0
<i>Cassiae semen</i> (결명자)	85	70	85	70
<i>Glycyrrhiziae radix</i> (감초)	78	99	78	99
<i>Albizziae cortex</i> (합환피)	0	0	0	0
<i>Sophorae flos</i> (괴화)	86	0	0	43
<i>Gleditsiae spina</i> (조각자)	21	15	9	0
<i>Pteridium aquilinum</i> (고사리)	0	2	0	0
<i>Condonopsis lonceolata</i> (더덕)	82	91	85	86
<i>Zizyphi fructus</i> (대추)	68	81	77	85
<i>Undraia pinnatifida</i> (미역)	-	-	0	0
<i>Prunus persica</i> (복숭아)	0	7	83	94
<i>Schizandrae fructus</i> (오미자)	49	0	0	29
<i>Arctium leppa</i> (우엉)	53	70	78	83
<i>Puerariae radix</i> (갈근)	0	14	94	92
<i>Theae folium</i> (녹차)	52	-	50	-

<sup>1)</sup>Produced enzyme activity, 0.005 unit per tube.

성에 미치는 효과는 산두근, 합환피, 조각자, 고사리, 미역은 저해효과가 없었으나 수삼, 대두황권, 갈화, 감초, 더덕, 대추, 복숭아, 우엉, 갈근은 80%이상의 저해효과를 보였다.

대추, 감초 등은 장내 pH저하 효과 뿐만 아니라 대장암 유발 효소( $\beta$ -glucuronidase, tryptophanase)의 생산성을 억제하는 효과도 우수했다. 이러한 점을 감안한다면 이들 식품의 섭취는 발암원의 생성을 억제함에 의해 대장암 예방 효과가 있을 것으로 사료된다.

#### 한방식품의 장내세균의 유해효소 저해효과

한방식품(藥善)에서 사용되는 식품에 대하여 장내 유해효소를 생산하는 *E. coli* HGU-3 를 사용하여  $\beta$ -glucuronidase와 tryptophanase를 저해하는 효과를 측정하였다(Table 3).  $\beta$ -Glucuronidase를 저해하는 식품으로는 감초가 가장 우수했으며 그 다음으로 대추, 갈근, 갈화가 비슷한 정도로 우수했다. 그러나 미역, 오미자 등은 거의 효과가 없었다. Tryptophanase활성을 저해하는 식품으로는 대추가 가장 우수했으며, 그 다음으로는 녹차, 복숭아였다.

이와 같이 장내세균의 유해효소의 저해효과를 갖는 식품들은 이들 효소의 생산성을 억제하는 올리고당과는 다른 기전으로 발암억제효과를 나타낼 것으로 생

**Table 3. Inhibition of herbal food extract on activities of  $\beta$ -glucuronidase and tryptophanase from *E. coli* HGU-3, a human intestinal bacterium**

Inhibition (%)	Food <sup>1)</sup>	
	$\beta$ -Glucuronidase <sup>2)</sup>	Tryptophanase <sup>3)</sup>
Control	0	1
Lactose	0	0
<i>Ginseng radix</i> (수삼)	11	12
<i>Sojae Germinatum semen</i> (대두황권)	52	1
<i>Puerariae flos</i> (갈화)	77	2
<i>Sophorae Subprostratae radix</i> (산두근)	65	0
<i>Cassiae semen</i> (결명자)	62	1
<i>Glycyrrhiziae radix</i> (감초)	91	25
<i>Albizziae cortex</i> (합환피)	65	0
<i>Sophorae flos</i> (괴화)	75	0
<i>Gleditsiae spina</i> (조각자)	32	0
<i>Pteridium aquilinum</i> (고사리)	38	29
<i>Condonopsis lonceolata</i> (더덕)	35	23
<i>Zizyphi fructus</i> (대추)	75	92
<i>Undraia pinnatifida</i> (미역)	0	36
<i>Prunus persica</i> (복숭아)	4	73
<i>Schizandrae fructus</i> (오미자)	0	10
<i>Arctium leppa</i> (우엉)	26	46
<i>Puerariae radix</i> (갈근)	77	21
<i>Theae folium</i> (녹차)		

<sup>1)</sup>Final concentration of each herbal food was 0.5 mg/mL.

<sup>2)</sup>Used enzyme activity, 0.01 unit per tube.

<sup>3)</sup>Used enzyme activity, 0.03 unit per tube.

각된다. Lactose를 첨가한 경우 배지의 pH를 저하시켰으며 그 결과 β-glucuronidase의 생산성이 저해되는데 반해 대추와 감초에는 pH를 낮추는 성분과 함께 효소의 활성을 직접 저해할 수 있는 물질을 함유하고 있는 것으로 생각된다. 즉, 대추와 감초같은 식품은 장내세균의 발암원의 생성과정을 촉매하는 β-glucuronidase 등을 직접 저해함으로써 발암전구체를 발암물질로 전환하는 것을 억제하여 대장암 예방효과를 나타낼 것으로 생각된다.

**감초, 대추, 수삼, 갈근의 분획물의 β-glucuronidase 및 tryptophanase생산저해 효과**

장내세균층의 효소활성억제효과와 pH 저하효과가 있는 식품중에서 감초, 갈근, 대추와 우리 식생활에서 많이 이용되고 있는 수삼의 물추출물을 극성별로 분획하여 배지에 첨가하고 배지의 pH를 7.2로 조정 한 후 장내세균을 이식하여 배양한 후 배지의 pH를 조사 하였다(Table 4). 감초의 residual분획, 대추의 ethylacetate 분획 과 residual 분획, 수삼의 ethylacetate 분획과

**Table 4. The final pH of the medium culturing human intestinal bacteria for 20 hr in the medium containing each layer of herbal food extract**

Food	pH <sup>1)</sup>		
	0	0.25%	0.5%
None	6.2		
Lactose		5.7	5.3
<i>Glycyrrhizae radix</i> (감초)			
Total extract		5.7	5.7
Ether layer		6.2	5.8
Ethylacetate layer		6.2	6.2
Butanol layer		5.8	5.5
Residual layer		5.0	4.6
<i>Zizyphi fructus</i> (대추)			
Total extract		5.2	5.0
Ether layer		6.0	6.0
Ethylacetate layer		5.9	5.3
Butanol layer		6.0	5.7
Residual layer		5.5	5.1
<i>Ginseng radix</i> (수삼)			
Total extract		5.4	5.3
Ether layer		6.0	5.8
Ethylacetate layer		5.6	5.3
Butanol layer		5.9	5.9
Residual layer		5.3	4.9
<i>Puerariae radix</i> (갈근)			
Total extract		6.3	5.0
Ether layer		6.3	5.0
Ethylacetate layer		6.7	6.5
Butanol layer		6.2	6.1
Residual layer		5.9	5.6

<sup>1)</sup>Initial pH of medium is 7.2.

residual 분획, 갈근의 residual 분획에서 pH저하 효과가 나타났다. 대부분의 경우 수용성 분획에서 pH저하 효과가 있는 것으로 보아 수용성 성분인 탄수화물에 의하여 유산균이 증식된 것으로 사료된다.

감초, 대추, 수삼, 갈근 물추출물의 각 분획을 장내세균 배양시 첨가하여 배양하는 경우 장내세균이 생산하는 β-glucuronidase의 효소활성에 미치는 효과를 측정 한 결과 대추는 모든 분획에서 효소활성을 저해하는 효과가 나타났으며 그중에서 ethylacetate 분획과 residual 분획에서 우수한 효과를 보였다(Table 5). 수삼은 ethylacetate 분획과 residual 분획에서, 감초와 갈근은 각각 butanol 분획과 residual 분획에서 약간의 저해 효과를 보였다. Tryptophanase에 미치는 효과는 Table 5에 나타난 것과 같이 감초는 각 분획이 전반적으로 효과가 있었으며 대추는 ethylacetate 분획과 residual 분획에서, 수삼은 residual 분획에서 효소 활성억

**Table 5. Inhibition of each layer of herbal food extract on β-glucuronidase and tryptophanase activities of human intestinal bacteria**

Food	Inhibition (%)					
	β-Glucuronidase <sup>1)</sup>		Tryptophanase <sup>1)</sup>			
	0	0.25%	0.5%	0	0.25%	0.5%
None	0			0		
Lactose	63		85	72		84
<i>Glycyrrhizae radix</i> (감초)						
Total extract	11		74	82		77
Ether layer	64		94	62		97
Ethylacetate layer	53		46	85		95
Butanol layer	9		63	85		95
Residual layer	59		50	85		94
<i>Zizyphi fructus</i> (대추)						
Total extract	73		90	77		90
Ether layer	55		92	0		5
Ethylacetate layer	79		83	0		89
Butanol layer	33		83	0		-
Residual layer	72		89	0		65
<i>Ginseng radix</i> (수삼)						
Total extract	55		51	0		82
Ether layer	0		27	0		9
Ethylacetate layer	49		77	75		9
Butanol layer	0		68	0		0
Residual layer	81		83	78		91
<i>Puerariae radix</i> (갈근)						
Total extract	0		1	29		44
Ether layer	73		9	91		90
Ethylacetate layer	11		0	0		13
Butanol layer	0		67	8		4
Residual layer	22		76	0		45

<sup>1)</sup>Produced enzyme activity, 0.005 unit per tube.

<sup>2)</sup>Produced enzyme activity, 0.02 unit per tube.

제 효과를 보였다.

감초, 대추, 수삼, 갈근 물추출물 분획의  $\beta$ -glucuronidase 및 tryptophanase 효소의 저해 효과를 조사한 결과 대추의 ethylacetate 분획이  $\beta$ -glucuronidase 저해 활성이 가장 우수하게 나타났다.

감초, 대추, 수삼, 갈근의 유기용매 추출 분획의 장내 세균의 유해효소 저해효과

장내세균 기인성 유해효소의 생산억제효과가 있었던 한방식품과 우리나라의 전통적인 약선 식품에 대하여 유기용매를 분획하여 장내유해효소의 저해효과에 대하여 측정하였다(Table 6).  $\beta$ -Glucuronidase 저해 효과가 우수한 감초의 경우 butanol 분획이 우수했으며, 인삼의 경우에는 ether 분획이 가장 우수했고, 대추 및 갈근의 경우에는 ethylacetate 분획과 ether 분획이 우수했다. Tryptophanase 저해효과는 감초, 대추, 갈근 및 수삼의 ethylacetate 분획과 ether 분획이 우수했으며, 감초의 ether 분획이 가장 우수했으며, 그 다음이 갈근의 ethylacetate 분획, 대추의 ethylacetate 분

**Table 6. Inhibition of each layer of herbal food extract on activities of  $\beta$ -glucuronidase and tryptophanase from *E. coli* HGU-3, a human intestinal bacterium**

Food <sup>1)</sup>	Inhibition (%)	
	$\beta$ -Glucuronidase <sup>2)</sup>	Tryptophanase <sup>3)</sup>
<i>Glycyrrhizae radix</i> (감초)		
Total extract	90.2	20.3
Ether layer	2.0	98.0
Ethylacetate layer	49.0	54.6
Butanol layer	64.7	31.4
Residual layer	9.0	0
<i>Zizyphi fructus</i> (대추)		
Total extract	75	71.9
Ether layer	98	47.9
Ethylacetate layer	96.1	56.6
Butanol layer	60.8	10.1
Residual layer	1	13.6
<i>Ginseng radix</i> (수삼)		
Total extract	8	9.9
Ether layer	74.5	6.5
Ethylacetate layer	43.3	9.5
Butanol layer	35.3	29.4
Residual layer	1	23.4
<i>Puerariae radix</i> (갈근)		
Total extract	66.7	18.5
Ether layer	35.3	49.1
Ethylacetate layer	74.5	75.3
Butanol layer	17.6	21.3
Residual layer	0	18.7

<sup>1)</sup>Final concentration of each herbal food was 0.5 mg/mL.

<sup>2)</sup>Used enzyme activity, 0.01 unit per tube.

<sup>3)</sup>Used enzyme activity, 0.03 unit per tube.

**Table 7. Inhibition of compounds from *Zizyphi fructus* on  $\beta$ -glucuronidase and tryptophanase of *E. coli* HGU-3, a human intestinal bacterium**

Compound <sup>1)</sup> (Rf value)	Inhibition (%)	
	$\beta$ -Glucuronidase <sup>2)</sup>	Tryptophanase <sup>3)</sup>
0.98	14	18
0.65	44	0
0.43	55	71
0.34	72	36
0.22	52	60
0.16	33	0

<sup>1)</sup>Final concentration of each herbal food was 0.1 mg/mL.

<sup>2)</sup>Used enzyme activity, 0.01 unit per tube.

<sup>3)</sup>Used enzyme activity, 0.03 unit per tube.

획 순이었다. 대추의 경우 ethylacetate 분획이 tryptophanase와  $\beta$ -glucuronidase를 효과적으로 저해하였다.

대추의 ethylacetate분획성분의  $\beta$ -glucuronidase 및 tryptophanase 저해효과

$\beta$ -Glucuronidase 및 tryptophanase 저해 효과가 가장 우수한 대추의 ethylacetate분획을 silica gel column chromatography로 성분분획을 실시하여 6종(Rf=0.98, 0.65, 0.43, 0.34, 0.22, 0.16)을 분리하고  $\beta$ -glucuronidase 및 tryptophanase 저해활성을 측정한 결과,  $\beta$ -glucuronidase는 Rf가 0.34인 화합물이 가장 우수했으며, tryptophanase는 Rf가 0.43인 화합물이 가장 우수했다 (Table 7).

이와 같이 대추에는 장내세균 기인성 유해효소를 억제하는 효과가 우수한 성분이 함유되어져 있어 대장암을 유발할 수 있는 발암물질의 생성이 낮아질 뿐 아니라 이들 유해효소의 생산성을 억제하는 효과도 우수했다. 한편, 대추는 우리나라에서는 한방에서 널리 사용되는 한방약물이기도 하지만 우리 식생활에서 많이 사용되는 건강식품이다. 이상과 같은 결과로 미루어보면, 대추는 우리 식생활에서 대장암과 같은 성인병 예방에 크게 기여하고 있는 것으로 생각된다.

## 요 약

우리의 식생활과 대장암이 밀접한 관계를 가지므로 일반적으로 이용되고 있는 식품과 한방에서 건강식품으로 사용되고 있는 재료들이 장내세균 효소인  $\beta$ -glucuronidase 및 tryptophanase 활성에 미치는 효과를 조사하였다. 한방식품 물추출물을 장내세균 배양배지에 첨가하였을때 pH 저하효과,  $\beta$ -glucuronidase, tryptophanase 활성억제 효과를 측정한 결과, 대추, 감초는

pH 저하효과 뿐만 아니라 대장암 유발효소인  $\beta$ -glucuronidase 및 tryptophanase의 활성을 억제하는 효과도 우수하였다. 한방식품 물추출물의  $\beta$ -glucuronidase 및 tryptophanase의 효소를 직접저해하는 효과도 대추, 감초가 우수하였다. 감초, 대추, 수삼, 갈근의 유기용매 분획물의  $\beta$ -glucuronidase 및 tryptophanase 생산성 저해효과는 감초의 ether 분획과 대추의 ethylacetate 분획이 가장 우수하게 나타났다.  $\beta$ -Glucuronidase 효소 저해활성이 가장 우수한 분획은 대추의 ether 및 ethylacetate 분획이었으며 그 다음이 인삼의 ether 분획과 감초의 ether 분획이었다. Tryptophanase 효소저해활성은 감초의 ether 분획과 대추의 ethylacetate 분획이 우수했다.  $\beta$ -Glucuronidase 및 tryptophanase 저해효과가 가장 우수한 분획을 silica gel column chromatography로 성분 분획을 하여 6종(Rf=0.98, 0.65, 0.43, 0.34, 0.22, 0.16)을 분리 하였는데  $\beta$ -glucuronidase 저해효과는 Rf가 0.34인 화합물이 가장 우수 하였으며 tryptophanase 저해효과는 Rf가 0.43인 화합물이 가장 우수 하였다. 대추에는 장내세균 기인성 유해효소를 억제하는 효과가 있는 성분이 함유되어 대장암의 발암물질 생성이 낮아지고 이들 유해효소의 생산성을 억제하는 효과가 우수하게 나타났다. 그러므로 대추는 우리 식생활에서 대장암과 같은 성인병 예방에 크게 기여하고 있는 것으로 생각된다.

## 감사의 글

본 연구는 1997년도 경희대학교 교내연구비에 의해 수행되었기에 감사를 드리는 바입니다.

## 문헌

1. Drassar, B.S. and Irving D.: Environment factor and cancer of the colon and breast. *Br. J. Cancer*, **27**, 167 (1973)
2. Berg, J.W. and Hawell, M.A.: The geographic pathology of bowel cancer. *Cancer*, **34**, 807 (1974)

3. Reddy, B.S. and Wynder, E.L.: Large bowel carcinogenesis-fecal constituents of populations with diverse incidence rates of colon cancer. *JNCI*, **50**, 1437 (1973)
4. Moore, W.E.C. and Holdeman L.V.: Discussion of current bacteriological investigations of the relationship between intestinal flora, diet, and colon cancer. *Cancer Research*, **35**, 3418 (1975)
5. Goldin, B. and Gorbach, L.: Alterations in fecal microflora enzymes related to diet, age, lactobacillus supplements and dimethylhydrazine. *Cancer*, **40**, 2421 (1977)
6. Stemmermann G.N.: Patterns of disease among Japanese living in Hawaii. *Arch. Environ. Health*, **20**, 266 (1970)
7. Willet, W.C. and MacMahon, B.: Diet and cancer-an overview. *New Eng. J. Med.* **310**, 633 (1984)
8. Reddy, B.S. and Wynder, E.L.: Metabolic epidemiology of colon cancer. *Cancer*, **39**, 2533 (1977)
9. Thorton, J.R.: High colonic pH promotes colorectal cancer. *Lancet*, **16**, 1081 (1981)
10. Wiseburger, J.W. and Reddy, B.S.: Fecal bacterial  $\beta$ -glucuronidase control by diet. *Science*, **183**, 416 (1974)
11. Kim, D.H.: *Herbal medicines and intestinal microflora* (in Korean). Shinilsangsa, p.147 (1993)
12. Tomomatsu, H.: Health effect of oligosaccharides. *Food Tech.*, **48**(10), 61 (1994)
13. Kinoshita, N. and Gelvoin, H.V.:  $\beta$ -Glucuronidase catalyzed hydrolysis of benzo-a-pyrene-glucuronide and binding to DNA. *Science*, **199**, 307 (1978)
14. Kim D.H., Kang, H.J., Kim, S.W. and Kobashi, K.: pH-inducible  $\beta$ -glucosidase and  $\beta$ -glucuronidase of intestinal bacteria. *Biol. Pharm. Bull.*, **15**(6), 1667 (1992)
15. Kim, D.H. and Han, M.J.: Inhibition of intestinal bacteria enzymes by lactic acid bacteria (in Korean). *Yakhak Hoeji*, **39**, 169 (1995)
16. Kim, D.H.: Characterization of  $\beta$ -glucuronidase and  $\beta$ -glucosidase of alkalotolerant intestinal bacteria. *Biol. Pharm. Bull.*, **17**(3), 423 (1994)
17. Kim, D.H., Lee, J. H., Bae, E. A. and Han, M.J.: Induction and inhibition of indole production of intestinal bacteria. *Arch. Pharm. Res.*, **18**(5), 351 (1995)
18. Han, M.J., Im, H.Y. and Kim, D.H.: Rapid detection of growth factors of intestinal lactic acid bacteria (in Korean). *Korea J. Food Hygiene*, **8**(2), 91 (1993)
19. Kim, D.H., Jang, I.S., Park, J.B. and Lee, S.W.: Protective roles of mushrooms in experimental carcinogenesis. *Arch. Phar. Res.*, **18**(2), 79 (1995)

(1997년 8월 4일 접수)