

## 겨우살이 추출물의 항돌연변이 효과

함승시\* · 강신태 · 최근표 · 박원봉\* · 이득식

강원대학교 식품생명공학부

\*서울여자대학교 화학과

### Antimutagenic Effect of Korean Mistletoe Extracts

Seung-Shi Ham, Shin-Tae Kang, Kun-Pyo Choi, Won-Bong Park\* and Deuk-Sik Lee

Division of Food and Biotechnology, Kangwon National University, Chuncheon 200-701, Korea

\*Dept. of Chemistry, Seoul Women's University, Seoul 139-774, Korea

#### Abstract

This study was carried out to investigate mutagenicity and antimutagenic effects from crude extract, heating extract and alcohol extract of Korean mistletoe (*Viscum album* L.) on the bacterial short-term tests, such as Ames test, spore rec-assay, SOS spot test and SOS chromotest by using several kinds of mutagens. In the Ames test, each extract did not show any mutagenesis, but each extract showed inhibitory effects of 80~95% and 70~94% against mutagenesis induced by 3-amino-1,4-dimethyl-5H-pyrido[4,3-b]indole(Trp-P-1) and 2-aminofluorene(2-AF) in *Salmonella typhimurium* TA98, respectively. In the spore rec-assay, mistletoe extracts showed antimutagenic effects with inhibition zone in the range of 5~11mm against mutagenicity induced by mitomycin C(MMC, 18mm) and N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine (MNNG, 24mm), respectively. The heating and alcohol extracts in the SOS chromotest showed 96% and 70% inhibition against benzo-a-pyrene[B(a)P] and Trp-P-1 induced mutagenesis, respectively.

**Key words:** Korean mistletoe, Ames test, spore rec-assay, SOS chromotest

#### 서 론

한국산 겨우살이(Korean mistletoe) 식물은 기생식물군으로서 그 숙주식물에 따라 여러 가지 과(科)와 종(種)으로 나누어지며 형태와 구성성분도 각각 다른 것으로 알려지고 있다(1). 한방명으로는 기생목, 동청, 냉청, 해기생, 표기생, 기엽, 비상 등이 있으며, 알려진 효능으로는 요통, 고혈압, 산후, 동상, 강심제, 생리통, 동맥경화증, 상혈제, 동물성장 촉진제 등이 있다. 우리나라에 분포하고 있는 겨우살이(Mistletoe, *Viscum album* L.)류로는 동백나무 겨우살이과(Bifariaceae), 겨우살이과(Viscaceae), 참나무 겨우살이과(Loranthaceae) 등이 있으며, 긴 타원형의 핵질의 잎을 가지고 꽃은 이른 봄에 지며 과실은 구형으로 대개는 약간 투명한 황녹색을 띠며 열매의 표면에 점질액이 있어 조류의 발에 부착하여 다른 수목에 이식되어 발아한다. 세계에 30속 1,500종이 있고 우리나라에는 3속 4종이 알려져 있다. 겨

우살이에는 여러종류의 아미노산으로 구성된 염기성 단백질 복합물질(basic protein complex)들이 존재하며, 이 중 분자량 60,000정도의 histon 모양의 렉틴(lectin)이라는 물질이 있으며, 그밖에 tyramine, inositol, histamine, choline과 몇가지 sterol 및 olenoleic acid가 존재하는 것으로 알려져 있다(2,3). 암의 치료를 위한 겨우살이 의사용은 Steiner(4,5)에 의해 처음 제안되었으며, 그 후 유럽산 겨우살이물추출물이 악성종양에 좋은 효과가 있는 것이 보고되었다. 현재까지 밝혀진 *in vitro* 및 *in vivo* 실험에 의한 겨우살이 실험결과를 종합해 보면 자연살해세포 및 macrophage에 대한 살균능력, 세포독성 효과 및 면역력 증강 효과 등이 보고되었다(6-8). 이들 대부분의 효과는 렉틴, viscotoxins, 다당류 등의 고분자 물질에 의한 것으로 알려져 있고, 특히 렉틴이 강한 활성을 갖고 있는 것으로 보고되고 있다(9). 한편 국내에서는 최근 한국산 겨우살이의 생물학적 활성 및 성분변화에 관한 연구 등이 보고되었다(10-13). 이와같이 겨우살이

\*To whom all correspondence should be addressed

에 대한 연구가 활발한 것은 민간요법에서 겨우살이의 항암 활성이 확인되었기 때문에 연구자들이 과학적인 뒷받침을 이룩하고자 관심을 기울이기 때문으로 판단된다. 한국산 겨우살이의 항암 혹은 암예방 치료제로서의 가능성을 연구한 내용은 아직 미흡한 상태이다. 따라서 본 연구에서는 한국산 겨우살이에 대하여 *in vitro* 실험방법으로서 Ames test, spore rec-assay, SOS chromotest를 행해 겨우살이 생즙, 알콜 및 가열 추출물이 항돌연변이 효과가 있는지를 검토하여 기초자료를 얻었기에 이에 보고하고자 한다.

## 재료 및 방법

### 겨우살이 추출물의 조제

강원도 고성에서 참나무에 기생하는 겨우살이(*Viscum album* L.)를 구입하여 3종류의 추출물을 조제하였다. 첫번째는 겨우살이를 세척한 후 믹서기로 같은 다음 녹즙기(Green Power Co., LTD, Korea)로 다시 갈아서 즙을 만들었다. 얻어진 즙을 여과지(Whatman No.2)로 여과하고 여액을 10,000rpm에서 30분간 원심분리하였다. 상등액을 동결건조시킨 후 얻은 건조분말을 DMSO에 녹여 시료로 사용하였다(생즙 추출물; crude extract). 두번째는 겨우살이를 세척하여 믹서기로 같은 다음 증류수를 가해 100°C에서 30분간 끓인 후, 이 후의 과정은 생즙 추출액의 과정과 동일하게 제조하였다(가열 추출물; heating extract). 세번째는 겨우살이를 세척하여 같은 다음 에탄올을 가해 38시간 동안 추출하여 얻어진 추출물을 여과지로 여과하고 여액을 10,000rpm에서 30분간 원심분리시켰다. 상등액에 남아있는 알콜성분을 제거시키기 위해 감압농축기로 농축하였다. 그리고 동결건조기로 동결건조시킨 후 DMSO에 용해시켜 시료로 사용하였다(알콜 추출물; alcohol extract).

### Ames test

Ames법을 개량한 preincubation법(14)을 이용하되 대사활성물질이 필요한 경우에는 S-9mix를 첨가하였다. 겨우살이의 농도는 모두 5µg/µl로 조제하였으며, 미리 건열멸균시킨 시험관에 각 50, 100, 200, 300µl씩 분주하고 *S. typhimurium* TA98 혹은 TA100을 하룻밤 배양시킨 배양용액 100µl, 그리고 S-9mix 250µl를 가한 후 0.2M sodium phosphate buffer(pH 7.4)로 전체 용량이 700µl가 되도록 하였다. 이것을 37°C에서 20분간 진탕배양한 다음 histidine/biotin이 첨가된 top agar를 2ml씩 가하여 잘 혼합한 후에 minimal glucose agar

plate상에 평판고화시킨 후에 37°C에서 48시간 배양하여 His<sup>+</sup> 복귀변이 colony수를 계측하여 돌연변이원성의 유무를 판정하였다. 또한 항돌연변이 실험에서는 양성 변이원 물질의 농도를 Trp-P-1의 경우는 0.1µg/plate를, 2-AF의 경우는 20µg/plate를 사용하였다. 한편 시료의 독성 여부를 알아보기 위하여 예비실험을 행하였으며, 독성실험 및 돌연변이성 실험을 실시하여 판단하였다(14). 추출물의 사용농도를 300µl/plate까지 첨가하여도 변이원성을 나타내지 않아 이 농도를 최고 농도로 결정하여 항돌연변이성 실험을 행하였다.

### Spore rec-assay

*B. subtilis* 야생주인 H17(rec<sup>+</sup>) 및 변이주인 M45(rec<sup>-</sup>)를 사용하는 spore rec-assay는 Kada 등(15)의 방법에 준하여 행하였다. 우선 세가지 양성변이원 물질의 변이원성을 조사하기 위하여 N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine(MNNG, 1µg/µl), mitomycin C(M-MC, 2ng/10µl), 4-nitroquinoline-1-oxide(4NQO, 20ng/10µl)를 H17 및 M45 포자 한천배지상의 네개의 paper disc에 각각 10, 20, 30, 40µl씩 농도를 증가시켜 순서대로 주입하였다. 또한 겨우살이 추출물의 변이원성 유무를 조사하기 위하여 시료용액 5µg/µl를 조제하여 paper disc에 10, 20, 30, 40µl씩 순서대로 주입하였고, 금속이온의 영향을 조사하기 위하여 Al<sup>3+</sup>, Cu<sup>2+</sup>, Fe<sup>2+</sup>, Mn<sup>2+</sup>, Ni<sup>2+</sup>, Pb<sup>2+</sup>, Zn<sup>2+</sup>을 2.5mM용액으로 조제하여 금속이온 용액 10µl(5µg/µl)를 주입하였다. 이들을 4°C에서 8시간 cold incubation시킨 후, 37°C에서 16시간 배양하여 paper disc 주위에 생성된 생육저지대의 직경을 측정하여 변이원성 유무를 조사하였다. 한편, MNNG(10µg/10µl)와 MMC(2ng/10µl)의 두가지 변이원물질을 항돌연변이성 실험의 양성변이원 물질로 사용하였으며, 이들은 대사활성물질(S-9mix)을 필요로 하지 않기 때문에 첨가하지 않았다(16). 겨우살이의 농도는 5µg/µl로 96well plate에 10, 20, 30, 40µl씩을 주입한 후 변이원 물질을 10µl씩 주입하였다. 37°C에서 30분간 반응시킨 후 미리 조제해 둔 H17 및 M45 포자한천 plate상의 paper disc에 주입하였다. 4°C에서 15시간 동안 cold incubation 시키고 다시 37°C에서 16시간 배양하여 paper disc 주위에 생성된 생육저지대의 직경을 측정하여 돌연변이원성 및 항돌연변이성 유무를 판정하였다.

### SOS chromotest

SOS chromotest는 Quillardet(17) 및 기존의 방법(18,19)에 따라서 행하였다. *E. coli* PQ37의 배양배지는

L-배지를 사용하였으며, 발색기질은 B-buffer(pH 7.0)와 P-buffer(pH 8.8)에 용해하여 사용하였고 발색정지액으로는 2M Tris용액, 1.5M Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, 1M HCl을 사용하였다. 양성변이원 물질로서는 benzo- $\alpha$ -pyrene(B( $\alpha$ )P, 0.5 $\mu$ g/assay), 3-amino-1,4-dimethyl-5H-pyrido[4,3-b]indole(Trp-P-1, 0.25 $\mu$ g/assay)의 두가지 강력한 화학 돌연변이원 물질을 사용하였으며, 시료의 농도는 모두 4 $\mu$ g/ $\mu$ l로 조제하여 2배의 연속희석 농도로 조제하여 실험에 사용하였다. 효소 unit값 및 induction factor (IF)값은 UV 분광광도계로 OD<sub>405</sub>값을 측정하여 Miller (20)의 식에 따라 구하였다. 또한 항돌연변이성은 각 돌연변이원에 대한 억제효과를 백분율로 나타내었다.

통계분석

대조군과 각 시료에 대한 실험결과로부터 얻은 data를 SAS 프로그램을 이용하여 분산분석 및 Duncan 다범위 검증(Duncan's multiple range test)을 실시하였다.(21)

결과 및 고찰

Ames test 의한 항돌연변이 효과

겨우살이 추출물의 *S. typhimurium* TA98 및 TA100에 대한 돌연변이원성 실험결과를 Fig. 1에 나타내었다. 시료의 농도를 각 plate당 50, 100, 200, 300 $\mu$ l를 첨가하였을 때 시료 농도가 증가함에도 불구하고 TA98 및 TA100 두 균주의 colony수의 뚜렷한 변화가 없는 것으로 미루어 겨우살이 추출물 자체의 돌연변이원성은 없는 것으로 확인되었다. 그리고 겨우살이 추출물의 항돌연변이성 효과를 알아보기 위해 발암물질인 Trp-P-1 (Fig. 2)과 2-AF(Fig. 3)를 첨가하여 이들 발암물질에 대한 억제효과를 검토하였다. Fig. 2는 TA98 균주를 이용하여 Trp-P-1과 대사활성 물질인 S-9mix를 함께 첨가하여 발암물질에 대한 억제효과를 나타낸 것으로서 농도가 증가함에 따라 매우 높은 억제효과를 나타내고 있다. 특히 200 $\mu$ l/plate의 농도를 첨가시 생즙 추출물의 경우가 95% 이상으로 가장 높은 활성을 나타내었으며, 가열추출물은 90%, 그리고 알콜 추출물의 경우는 약 80%까지 억제활성을 나타내었다. 이와같은 결과는 겨우살이 추출물이 단백질의 가열분해로 생기는 강력한 발암물질인 Trp-P-1에 억제활성이 강한 것을 알 수 있었다. 또한 TA100 균주에 있어서도 200 $\mu$ l/plate 첨가시 생즙 추출물이 85%, 알콜 추출물이 75%의 강한 억제활성을 나타내었다. 이와같이 생즙 추출물이 강한 억제

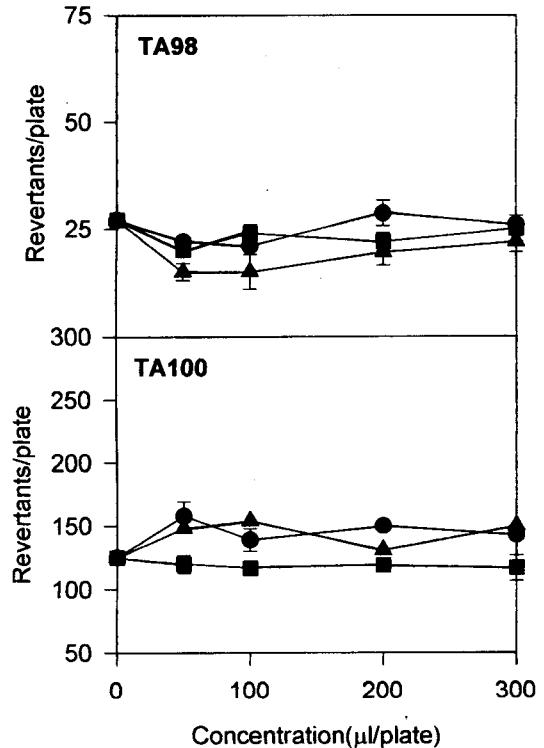


Fig. 1. Mutagenicity of the mistletoe extracts on *Salmonella typhimurium* TA98 and TA100. ●: Crude extract, ■: Alcohol extract, ▲: Heating extract

효과를 갖는 것은 렉틴 성분에 의하기 보다는 chlorophyll, viscotoxin, polysaccharide 등의 영향이 더 클 것으로 생각되었다. 박 등(13)이 보고한 겨우살이 생즙 추출물 중 렉틴성분에 의한 세포독성을 고려하면 본 실험법인 Ames test에서도 그에 대한 영향이 나타날 가능성이 있으나(아직 갖추어진 데이터는 없음), 오히려 양성 변이원에 대한 억제율이 대단히 높은 것으로 미루어 렉틴 성분 이외의 성분으로 판단되었다. 함(22)은 우리나라 산지에서 일반적으로 채취되고 있는 산채류 가운데서 참나물을 비롯한 10여종의 가열즙에 대한 Ames test를 실시하여 거의 모든 산채들이 강한 변이원 억제작용을 나타내는 것으로 보고하였으며, 이(23)는 고들빼기, 냉이, 민들레, 방가지똥, 부추, 수리취, 썸바귀, 쇠비름, 질경이, 참비름, 송대 등 11종류의 산채생즙을 대상으로 Ames test를 이용, 변이원 억제효과를 검토하여 이들 산채 생즙이 강한 돌연변이 억제작용을 나타내며, 이것은 chlorophyll에 의한 억제활성이 주된 요인으로 분석한 바 있다. 김 등(24)에 의하면 겨우살이 중에 chlorophyll a가 7.55%, chlorophyll b가 2.33%, 전체 chlorophyll로서는 9.88% 함유되어 있는 것으로 보고하였다.

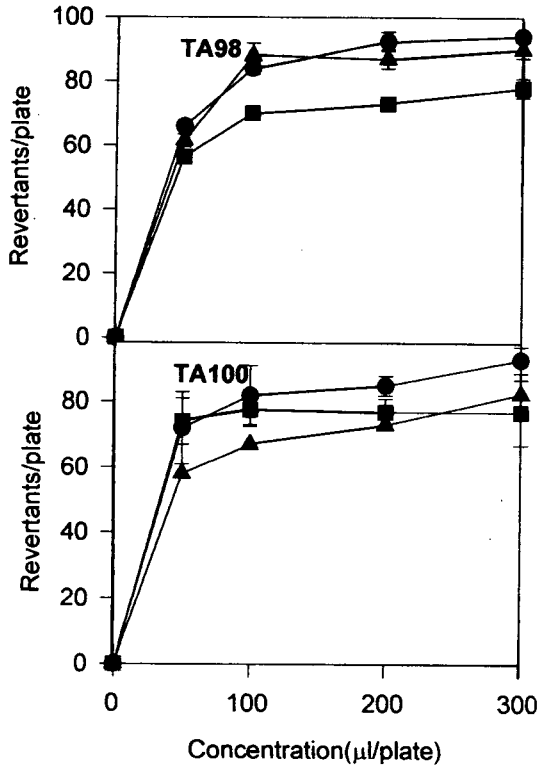


Fig. 2. Antimutagenic effects of the mistletoe extracts against Trp-P-1 in *Salmonella typhimurium* TA98 and TA100.  
 ●: Crude extract, ■: Alcohol extract, ▲: Heating extract

따라서 겨우살이 중에 함유되어 있는 chlorophyll에 의한 항돌연변이 효과도 생각되었다. Fig. 3은 발암물질인 2-AF에 대한 TA98 및 TA100 두 균주에 대해 S-9 mix 첨가하에 겨우살이 추출물의 억제율을 나타낸 것이다. TA98의 경우는 300µl/plate의 첨가농도시 생즙 추출물이 85%, 가열 추출물이 70%, 알콜 추출물이 94%의 강한 억제율을 나타내었으며, 특히 알콜 추출물의 경우는 농도가 증가함에 따라 급격한 억제효과가 있었다. TA100의 경우는 생즙 추출물이 50µl의 농도일 때 이미 67%, 300µl일 때 93%로서 강력한 억제효과를 보여주었다. 이와같이 두종류의 발암물질에 대한 항돌연변이성은 매우 높게 나타난 것을 알 수 있으며, 겨우살이 추출물의 Ames test를 통한 항돌연변이성 실험결과는 겨우살이의 약리효과를 이용한 기능성 식품의 개발이라는 측면에서 귀중한 기초자료가 될 것으로 생각된다.

Spore rec-assay에 의한 항돌연변이 효과

Table 1은 겨우살이 추출물 각각의 돌연변이원성 결

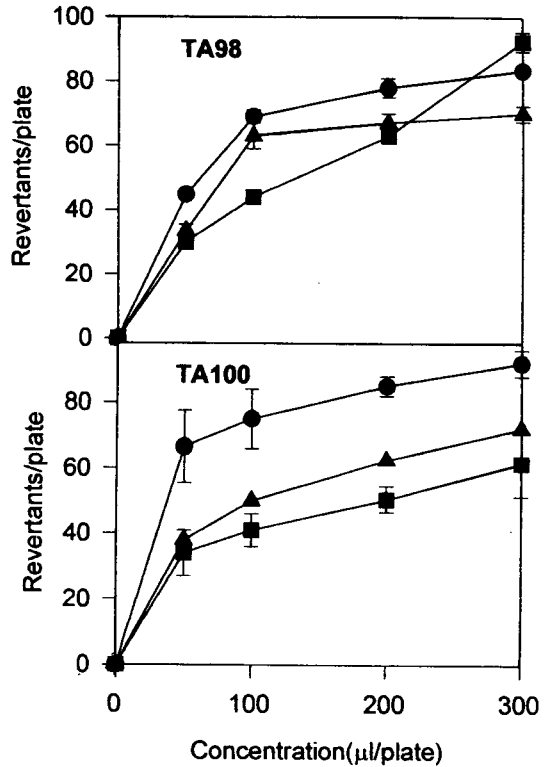


Fig. 3. Antimutagenic effects of the mistletoe extracts against 2AF in *Salmonella typhimurium* TA98 and TA100.  
 ●: Crude extract, ■: Alcohol extract, ▲: Heating extract

과를 나타낸 것이다. 세가지 시료 모두 M45와 H17의 생육저지대의 차가 없었으므로 시료 자체의 변이원성은 없는 것으로 나타났다. 또한 금속이온의 영향을 알아보기 위해 7가지 금속이온에 대해 2.5mM의 농도를 10µl 첨가하였을시의 생육저지대의 차를 분석하였다. 그 결과 Table 2에 나타낸 바와 같이 세가지 시료 모두 금속이온에 대한 영향은 거의 받지 않는 것으로 나타났다. 그러나 가열추출물의 경우 철이온을 첨가하였을 때만이 M45와 H17의 생육저지대의 차가 인정되었다. 두가지 양성 변이원 물질인 MMC(2ng/disc)와 MNNG(10µg/disc)에 대한 겨우살이 추출물의 항돌연변이성의 실험결과를 Table 3과 4에 나타내었다. Table 3에서 알 수 있는 바와같이 MMC에 대한 겨우살이 추출물의 항돌연변이성은 각 시료의 농도를 증가시켜줌에 따라 생육저지대의 차가 점점 감소하여 억제작용을 나타내었다. 각 시료의 농도를 최대 40µl 첨가시 생즙 추출물이 5mm, 알콜 추출물 8mm, 그리고 가열 추출물은 11mm의 생육저지대의 차를 좁히는 결과를 가져왔다. 이 중

**Table 1. The results of the mutagenicity test of the mistletoe extracts in the spore rec-assay**

Treatment	Dose(μl/disc)	Inhibition zone(mm)		Difference	Conclusion
		M45(Rec <sup>-</sup> )	H17(Rec <sup>+</sup> )		
Crude extract	10	8	8	0	-
	20	8	8	0	-
	30	9	10	1	±
	40	10	10	0	-
Alcohol extract	10	9	9	0	-
	20	11	10	1	±
	30	11	11	0	-
	40	12	11	1	±
Heating extract	10	9	9	0	-
	20	11	10	1	±
	30	11	11	0	-
	40	12	12	0	-

-: No inhibition zone, ±: Length of inhibition zone is less than 5mm

**Table 2. Effects of various metal ions on the spore rec-assay of the mistletoe extract**

Metal ion (2.5mM, 10μl)	4NQO (20ng/10μl)	Crude extract	Alcohol extract	Heating extract
None	++	-	-	-
Al <sup>3+</sup>		-	-	-
Cu <sup>2+</sup>		±	±	±
Fe <sup>2+</sup>		-	-	+
Mn <sup>2+</sup>		-	-	-
Ni <sup>2+</sup>		-	-	-
Pb <sup>2+</sup>		-	-	±
Zn <sup>2+</sup>		-	-	±

++: 5~10mm of inhibition zone. Others is the same as the legend in Table 1

**Table 3. The antimutagenic effects of the mistletoe extracts against mitomycin C(MMC) in spore rec-assay**

Test compound	Dose <sup>1)</sup>	Inhibition zone(mm)		Difference
		M45(Rec <sup>-</sup> )	H17(Rec <sup>+</sup> )	
MMC+ crude extract	10	28	10	18
	20	27	10	17
	30	27	12	15
	40	26	13	13
MMC+ alcohol extract	10	27	11	16
	20	25	12	13
	30	24	12	12
	40	23	13	10
MMC+ heating extract	10	26	13	13
	20	24	13	11
	30	22	13	9
	40	22	15	7
MMC (2ng/10μl)		29	11	18

<sup>1)</sup>Sample dose(μl/disc)+MMC(2ng/disc)

가열추출물이 억제작용이 큰 것은 생즙 추출물 중 레틴 성분의 불활성화(13)와 아울러 열에 안정성이 있는 viscotxin 등의 영향이 강하기 때문인 것으로 생각되었

**Table 4. The antimutagenic effects of the mistletoe extracts against N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine(MNNG) in spore rec-assay**

Test compound	Dose <sup>1)</sup>	Inhibition zone(mm)		Difference
		M45(Rec <sup>-</sup> )	H17(Rec <sup>+</sup> )	
MNNG+ crude extract	10	32	8	24
	20	31	9	22
	30	29	9	20
	40	28	10	18
MNNG+ alcohol extract	10	30	8	22
	20	31	9	22
	30	30	10	20
	40	29	12	17
MNNG+ heating extract	10	31	8	23
	20	29	9	20
	30	28	10	18
	40	27	10	17
MNNG (10μg/10μl)		32	8	24

<sup>1)</sup>Sample dose(μl/disc)+MNNG(10μg/disc)

다. Table 4는 MNNG에 대한 항돌연변이성 결과를 나타낸 것으로서 MNNG에 의한 생육저지대의 차(24mm)는 각 시료의 농도가 증가함에 따라 감소하는 경향을 나타내었다. 최대 40μl 첨가시 생즙 추출물이 6mm, 알콜 및 가열 추출물은 각각 7mm의 생육저지대의 감소효과를 가져왔다. 따라서 양성 변이원인 MMC와 MNNG에 대한 세가지 시료의 항돌연변이성은 spore rec-assay에서도 확인할 수가 있었다.

SOS chromotest에 의한 항돌연변이 효과

SOS chromotest를 이용한 생즙, 알콜, 가열 추출물 등 세가지 시료의 돌연변이원성을 실험한 결과(데이터 생략) 각 추출물의 농도 증가에 따라 induction factor (IF) 값의 뚜렷한 증가나 감소가 없었기 때문에 세가지

Table 5. Inhibitory effects of mistletoe extracts on the induction of SOS function by benzo(α)pyrene[B(α)P]

Test compound	Dose (μg/assay)	B(α)P(0.5μg/assay)				
		β-G <sup>1)</sup> (units)	A-P <sup>2)</sup> (units)	Ratio	IF <sup>3)</sup>	IR <sup>4)</sup>
B(α)P+crude extract	0	27.80	16.863	1.701	4.363	-
	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
B(α)P+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
B(α)P+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	17.772	0.945	2.467	49.8
	40	17.75	17.863	0.657	1.715	96.3

<sup>1)</sup>β-Galactosidase, <sup>2)</sup>Alkaline phosphatase, <sup>3)</sup>Induction factor, <sup>4)</sup>Inhibition rate(%)

Table 6. Inhibitory effects of mistletoe extracts on the induction of SOS function by 3-amino-1,4-dimethyl-5H-pyrido [4,3-b]indole(Trp-P-1)

Test compound	Dose (μg/assay)	Trp-P-1(0.25μg/assay)				
		β-G(units) <sup>1)</sup>	A-P(units) <sup>2)</sup>	Ratio	IF <sup>3)</sup>	IR <sup>4)</sup>
Trp-P-1+crude extract	0	25.05	15.772	1.588	4.072	-
	5	19.70	16.000	1.231	3.156	29.8
	10	19.25	15.818	1.216	3.117	31.1
	20	18.70	15.545	1.202	3.082	32.2
	40	13.95	15.636	0.892	2.287	58.1
Trp-P-1+alcohol extract	0	26.05	15.727	1.656	4.291	-
	5	18.75	15.681	1.195	3.095	36.3
	10	16.60	15.954	1.040	2.694	48.5
	20	16.60	15.500	1.070	2.772	46.2
	40	12.25	15.818	0.774	2.005	69.5
Trp-P-1+heating extract	0	25.60	15.409	1.661	4.337	-
	5	18.15	16.045	1.131	2.953	41.5
	10	17.35	16.454	1.054	2.751	47.5
	20	16.65	16.590	1.003	2.618	51.5
	40	15.60	16.727	0.930	2.428	57.2

<sup>1)~4)</sup>Refer to the legend in Table 5

추출물 시료 자체의 변이원성은 없는 것으로 나타났다. 항돌연변이성에 관한 실험에서는 양성변이원으로서 B(α)P와 Trp-P-1을 이용하여 각각의 변이원에 대한 세가지 추출물의 돌연변이 억제효과를 알아보았다. Table 5는 B(α)P에 대한 각 추출물의 돌연변이 억제활성을 나타낸 결과이다. B(α)P(0.5μg/assay)에 대한 생즙 추출물의 IF값이 40μg 첨가시 4.363에서 2.456으로 약 57%의 억제활성을 나타냈고, 알콜 추출물은 IF값이 4.344에서 1.549로 감소, 약 84%의 억제활성을 보였다. 그리고 가열 추출물은 IF값이 3.921에서 1.715로 감소, 약 96%의 매우 높은 억제활성을 나타내었다. Table 6는 실험결과로서, 변이원인 Trp-P-1에 의해 유발된 IF값이 생즙 추출물 40μl첨가시 4.072에서 2.287로 감소되어

Trp-P-1(0.25μg/assay)에 대한 항돌연변이성에 대한 약 58%의 억제활성을 나타내었고, 알콜 추출물은 4.291에서 2.005로 감소, 약 70%의 강한 억제활성을 나타내었다. 또한 가열 추출물의 경우는 4.337에서 2.428로 감소되어 약 57%의 억제활성을 보였다. 이와 같이 SOS chromotest에서는 알콜추출물과 가열추출물이 양성 변이원에 대해 억제활성을 나타내었는데 B(α)P에 있어서는 특히 가열 추출물이 매우 강한 억제활성과, Trp-P-1에 있어서는 알콜 추출물이 강한 억제활성을 나타내었다.

이와같이 Ames test, spore rec-assay, SOS chromotest에서의 실험결과를 미루어 볼 때 겨우살이의 생즙, 알콜 및 가열 추출물은 정도의 차이는 있었으나 강

력한 양성 변이원 물질에 대해 항돌연변이성을 나타내었으며, 추출물 중의 어떤 성분이 어느 정도의 억제활성을 갖는지 정량적인 실험이 급후 기대된다.

요 약

참나무에 기생하는 한국산 겨우살이(Mistletoe, *Viscum album*)를 채취하여 생즙, 알콜, 가열추출하여 시료를 조제한 후 *S. typhimurium* TA98과 TA100 균주를 이용한 Ames test, *B. subtilis* HI7(rec+)과 M45(rec-)를 이용한 spore rec-assay, *E. coli* PQ37/plasmid pKM101을 이용한 SOS chromotest를 행하여 항돌연변이성을 시험하였다. TA98를 사용한 Ames test의 항돌연변이원성에서 Trp-P-1에 대하여 200 $\mu$ l/plate 첨가시 생즙 95%, 가열 추출물 90%, 알콜 추출물 80%의 억제활성을 나타내었으며 2-AF에 대하여서는 300 $\mu$ l/plate 첨가시 생즙 85%, 가열 추출물 70%, 알콜 추출물 94%의 억제활성을 나타내었다. Spore rec-assay이용한 항돌연변이원성에서는 세가지의 각 추출물들을 10~40 $\mu$ l 첨가시 MMC(18mm)와 MNNG(24mm)에 대한 생육저지대를 5~11mm 감소시켜 주는 결과를 보였다. 한편 SOS chromotest에서는 B(a)P와 Trp-P-1에 대해 시료 모두 IF값을 감소시켰으며, B(a)P에 있어서 가열 추출물 40 $\mu$ l 첨가시 최대 96%, Trp-P-1에 대해서는 알콜 추출물이 70%까지 억제활성을 나타내었다.

문 헌

1. Becker, H. : Botany of European mistletoe(*Viscum album* L.). *Oncology*, **43**(suppl.1), 2(1986)
2. Vester, F. : Amino acid pattern and malignant growth. *Biochem. Biophys. Acta*, **104**, 98(1965)
3. Vester, F., Steel, A., Stoll, M. and Mulle, M. : Zur Kenntnis der inhaltsstoffe von *Viscum album* III, isolierung und reinigungcancerostatischer protein fraktionen. *Physiol. Chem. Hoppe-Seyler*, **349**, 125(1968)
4. Steiner, R. : *Geisteswissenschaft und medezin*. Rudolf Press, London, p.70(1924)
5. Steiner, R. : *Spiritual sciences and medicine*. Rudolf Stienner Publishing Co., London(1920)
6. Timoshenko, A. V. and Gabius, H. J. : Efficient induction of superoxide release from human neutrophils by the galactoside-specific lectin from *Viscum album*. *Biol. Chem. Hoppe-Seyler*, **374**, 237(1993)
7. Gayon, G. R., Jung, M. L., Scala, D. D. and Beck, J. P. : Comparison of the effects of fermented and unfermented mistletoe preparations on cultured tumor cells.

- Oncology*, **43**(suppl.1), 35(1986)
8. Hajto, T., Hostanska, K., Frei, K., Rordorf, C. and Gabius, H. J. : Increased secretion of tumor necrosis factor  $\alpha$ , interleukin 6 by human mononuclear cells exposed to  $\beta$ -galactoside-specific lectin from clinically applied mistletoe extract. *Cancer Res.*, **50**, 3322(1990)
9. Bocci, V. : Mistletoe(*Viscum album*) lectins as cytokine inducers and immunoadjuvant in tumor therapy. A review. *J. Biol. Regul. Homeost. Agent*, **7**, 1(1993)
10. 박원봉, 김희석 : 유산균 발효에 의한 겨우살이중의 레틴성분의 변화; 분리 및 정제. *한국약학회지*, **38**, 687(1994)
11. 윤택준, 유영춘, 홍은경, 조영호, 이석원, Azuma, L., 유보림, 김중배 : Macrophage의 IL-1 및 TNF- $\alpha$ 의 분비유도에 있어서 한국산 겨우살이 추출물이 미치는 영향. *한국생약학회지*, **25**, 132(1994)
12. 박원봉, 김희숙, 나혜복, 함승시 : 유산균 발효에 의한 겨우살이중의 레틴성분의 변화; pH, 온도의 영향, 당특이성, 림프구 자극분열 효과. *한국약학회지*, **39**, 24(1995)
13. 박종훈, 현창기, 신현길, 여익현 : 가열처리, 당의 첨가 및 발효에 의한 한국산 겨우살이의 세포독성 변화. *한국식품과학회지*, **29**, 362(1997)
14. Yakagi, T., Degawa, M., Seino, Y., Matsushima, T., Nagao, M., sugimura, T. and Hashimoto, Y. : Mutagenicity of carcinogenic azo dyes and their derivatives. *Cancer Lett.*, **1**, 91(1975)
15. Kada, T., Tuikawa, K. and Sadaie, Y. : *In vitro* and host-mediated "rec-assay" procedures for screening chemical mutagens; and phloxine, a mutagenic red dye detected. *Mutation Res.*, **16**, 165(1972)
16. Sugimura, T., Sato, S., Nagao, M., Matsushima, T., Seino, Y., Takeuchi, M. and Kawachi, T. : Overlapping of carcinogens and mutagens, In "*Fundermentals in cancer prevention*" Univ. of Tokyo Press, Tokyo/Baltimore, p.191(1976)
17. Quillardet, P. and Hofnung, M. : The SOS chromotest, a colorimetric bacterial assay for genotoxins; procedures. *Mutation Res.*, **147**, 65(1985)
18. Ohta, T., Nakamura, N., Moriya, M., Shirasu, Y. and Kada, T. : The SOS-function-inducing activity of chemical mutagens in *Eschrichia coli*. *Mutation Res.*, **131**, 101(1984)
19. Wilhelm, V. D. H., Claudia, B., Rainer, G. and Armin, B. : Evaluation of the SOS chromotest. *Mutation Res.*, **203**, 205(1990)
20. Miller, J. : *Experiments in Molecular Genetics*. Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor, N.Y., p.121(1972)
21. SAS Institute : SAS/STAT User Guide, release 6.30 edition (1988)
22. 함승시 : 산채류 가열즙의 돌연변이 억제작용에 관한 연구. *한국농화학회지*, **31**, 36(1988)
23. 이재훈 : 산채류 생즙의 항돌연변이원성에 관한 연구. 강원대학교 석사학위논문(1989)
24. 김희숙, 박원봉, 함승시 : 겨우살이의 성분분석. 서울여자대학교 자연과학연구논문집, **4**, 116(1993)