

## Quinone reductase 유도활성 측정에 의한 약용식물의 항암활성 검색

김해홍 · 김동만<sup>1</sup> · 현창기<sup>2,\*</sup>

한동대학교 대학원 생명공학과, <sup>1</sup>연변과학기술대학 생물화공과, <sup>2</sup>한동대학교 생물식품공학부

### Induction of Quinone Reductase by Extracts of Traditional Medicinal Plants

Hai Hong Jin, Dong-Man Kim<sup>1</sup> and Chang-Kee Hyun<sup>2,\*</sup>

Department of Biotechnology, Graduate School, Handong University, Pohang, Kyungbuk 791-708, Korea, Yanbian University of Science and Technology, <sup>1</sup>Department of Biochemical Engineering, Yanji, Jilin 133000, China, and <sup>2</sup>School of Bioscience and Food Technology, Handong University, Pohang, Kyungbuk 791-708, Korea

**Abstract** – Induction of phase II enzymes is a major mechanism of chemoprevention. The induction levels of quinone reductase (QR) activity in cultured murine hepatoma (Hepa 1c1c7) cells by 80%-methanol extracts of traditional medicinal plants were measured. Among the tested 81 plants, the extracts of *Aralia continentalis*, *Magnolia obovata*, and *Viscum album* were found to induce QR activities over 250%. The maximum induction levels obtained were 401.9%, 270.5%, and 301.8% by treatments of the extracts of *A. continentalis* (318 µg/ml), *M. obovata* (53.8 µg/ml) and *V. album* (80.6 µg/ml), respectively. These QR induction activities were more potent than those of the known QR inducers, *t*-butylhydroquinone (170.1%) and  $\beta$ -naphthoflavone (320.0%).

**Key words** – Quinone reductase induction, Chemoprevention, Medicinal plants, Hepa 1c1c7.

사람에게 발생하는 악성종양의 원인 중 85%는 식생활, 흡연, 알코올, 약물, 농약, 감염체 등 비유전적인 것들로 알려져 있다.<sup>1)</sup> 이들 발암작용을 다양한 기작에 의해 차단시키는 여러 항암물질(anticarcinogens)들이 개발되어 왔다.<sup>2)</sup> 그 항암 기작 중 가장 주요한 것으로서 NADP(H):quinone oxidoreductase(quinone reductase, EC 1.6.99.2), glutathione S-transferase (GST, EC 2.5.1.18) 및 UDP-glucuronosyltransferase (EC 2.4.1.17) 등의 phase II enzyme들의 유도 작용을 들 수 있다.<sup>3)</sup> QR은 동물세포 내에서 quinone 화합물을 hydroquinone으로 환원시켜 무독화시키는 효소로서 여러 anticarcinogen들에 의해 GST 등의 다른 phase II enzyme들과 함께 유도된다. QR을 유도하는

활성을 나타내는 성분으로는 polycyclic aromatic hydrocarbons, flavonoids, azo dyes, diphenols, thiocarbamates, isocyanates, 1,2-dithiol-3-thiones 계통의 화합물 등이 밝혀져 있다.<sup>4,5)</sup> 그러나 이들 중 polycyclic aromatic hydrocarbons, flavonoids, azo dyes 등은 phase II enzyme의 유도와 함께 aryl hydrocarbon hydroxylase(AHH, EC 1.14.14.1)과 같은 phase I enzyme의 활성을 동시에 유도해내기 때문에 bifunctional inducer로 분류하여 phase II enzyme 만 선택적으로 유도해내는 monofunctional inducer와 구분하고 있다.<sup>6)</sup>

약용식물의 QR 유도활성에 대해서도 최근 수년간 연구가 활성화되면서 sulforaphane,<sup>5)</sup> brassinin<sup>7)</sup> 및 sulforamate<sup>8)</sup> 등의 주효 성분들이 분리 확인되었다. Sulforaphane은 aliphatic isothiocyanate 구조를 갖는

\*교신저자 : Fax : 054-261-4603

물질로서 broccoli로부터 분리되어 monofunctional inducer의 활성을 갖는 것으로 밝혀졌으며 dimethylbenz(α)anthracene(DMBA)의 발암작용을 효과적으로 저해하였다.<sup>9)</sup> Brassinin은 겨자과 채소류(cruciferous vegetables)에서 분리된 indole 구조를 갖는 dithiocarbamate 화합물로서 실험 쥐에서의 각종 mammary tumor에 대한 저해 및 감소효과를 나타내었다.<sup>7)</sup> 또한 Tephrosia pupurea로부터 몇 가지 새로운 flavonoid 화합물이 분리되었으며 80종 이상의 천연 또는 합성 flavonoid 화합물에 대한 실험 결과 flavone의 단순한 유도체인 4'-bromoflavone이 강력한 QR inducer로 밝혀지기도 하였다.<sup>10,11)</sup> 그러나 우리나라를 비롯한 동북아시아 지역의 다양한 약용식물들에 대한 QR 유도활성에 대하여는 국내외를 막론하고 아직까지 보고된 바가 없다. 따라서 이들 약용식물들로부터 우수한 QR 유도활성을 갖는 약용식물들을 탐색하고 또한 activity-guided fractionation에 의해 주요성분들을 분리해냄으로써 암예방 소재(cancer chemopreventive agents)로의 개발을 시도할 필요가 있다 하겠다.

본 연구에서는 동북아 지역의 뚜렷한 계절 및 기후 특성에 의한 약용식물의 다양성을 감안할 때 보다 우수한 chemopreventive agent가 얻어질 것으로 기대되므로<sup>11)</sup> 중국 길림성 장백산 및 연변자치주 지역에서 생산되는 81종의 약용식물에 대한 QR 유도활성의 탐색 연구를 진행하였다.

## 재료 및 방법

**실험재료** - 중국 길림성 장백산(Changbaishan) 등 연변자치주 지역에서 수집한 81종의 약용식물을 실험에 사용하였다. QR 유도활성 측정에 사용되는 2,6-Dichlorophenolindophenol(DCPIP)은 Sigma(St. Louis, USA)로부터, QR 유도활성 비교물질로 사용되는 *t*-butylhydroquinone(*t*-BHQ) 및 β-naphthoflavone(β-NF) 등의 QR inducer들은 Aldrich(St. Louis, USA)로부터 구입하여 사용하였다.

**추출물의 제조** - 건조한 약용식물 6~10 g 정도를 막자사발을 이용하여 고르게 분쇄하여 분말화하였다. 수분함량이 비교적 높아 분말화가 어려운 시료의 경우는 시료를 막자사발에서 분쇄한 후 동결건조한 후 재차 분쇄하여 분말화하였다. 약용식물 분말 5 g에 50 ml의 80% 메탄올을 가하고 20°C, 250 rpm로 유지한 진탕배양기를 이용하여 12시간 동안 진탕추출하였다.

여과지(Whatman No. 1 filter paper)를 이용하여 여과한 여액을 0.2 μm syringe filter(Satorius AG, Goeettingen, Germany)로 재차 여과하여 얻어진 여액에 대하여 QR 유도활성을 측정하였다.

**동물세포주 및 배양** - QR 유도활성의 측정을 위해서 American Type Culture Collection(ATCC, Rockville, USA)로부터 분양 받은 Hepa 1c1c7 murine hepatoma cell을 사용하였다. 세포를 10% fetal bovine serum(FBS, charcoal heat treated, HyClone Laboratories, Logan, USA)을 함유하는 Dulbecco's Modified Eagle Medium(DMEM, Gibco BRL, Invitrogen Corp., New York, USA) 배지를 사용하여 disposable culture plate(100 mm, Corning, New York, USA)에서 37°C, 5% CO<sub>2</sub> 상태에서 monolayer로 자라도록 하였다.

**세포독성 측정** - 약용식물 추출물의 Hepa 1c1c7 세포에 대한 세포독성을 측정하기 위해서 세포를 5×10<sup>4</sup> cells/ml의 농도로 96-well microtiter plates의 각 well에 100 μl씩 분주하고 24시간 동안 배양(37°C, 5% CO<sub>2</sub>)시킨 후 aspirator로 배양 상등액을 주의를 기울여 제거하고 여러 농도로 희석된 80% 메탄올 추출물 시료 100 μl를 처리한 다음 48시간 동안 다시 배양하였다. 처리된 시료는 우선 추출물 원액을 80% 메탄올을 이용하여 1/2, 1/4, 1/8, 1/16, 1/32, 1/164의 농도로 희석한 후 각각을 배지(10% FBS를 함유하는 DMEM)을 이용하여 100배 희석시켜 제조하였다. 배양이 끝나면 MTT(3-[4,5-dimethylthiazol-2-yl]-2,5-diphenyl tetrazolium bromide, 10 mg/ml) 용액 10 μl를 가하고 4시간 동안 배양하여 formazan을 형성시킨 후 aspirator에 의해 주의하여 상등액을 제거한 다음 0.04 N HCl-isopropanol 용액 100 μl와 20 μl의 3% SDS 용액을 가한다. Plate를 천천히 진탕하면서 바닥에 가라앉은 formazan를 충분히 용해시킨 후 540 nm에서 microplate reader를 이용하여 흡광도를 측정하였다. 이 흡광도는 MTT가 세포에 의해 환원된 양을 나타내며 각 well에 존재하는 생존 세포수와 비례하게 된다. 세포독성은 각 시료의 540 nm 흡광도를 대조군의 540 nm 흡광도에 대한 백분율로 표시한 세포 생존율로 나타내었다.

**Quinone reductase assay** - DCPIP 환원에 의한 QR 활성의 측정은 Benson 등의 방법<sup>12)</sup>에 따라 실시하였다. Hepa 1c1c7 세포를 100 mm 세포배양 plate에 4×10<sup>4</sup> cells/ml 농도로 분주하고 37°C, 5% CO<sub>2</sub>

Table I. Relative QR activities induced by 81 kinds of Chinese herbs

Medicinal plant			Cytotoxicity <sup>1</sup>	Dilution ratio <sup>2</sup>	Relative QR activity
Plant name	Family name	Part			
아다(兒茶, <i>Acacia catechu</i> )	Leguminosae	Rhizoma	96.6	1	120.3
백부자(白附子, <i>Aconitum jaluense</i> )	Araceae	dix	103.5	1	213.3
우슬(牛膝, <i>Achyranthes japonica</i> )	Amaranthaceae	Radix	57.5	-	-
초두구(草頭寇, <i>Alpinia katsumada</i> )	Zingiberaceae	Semen	6.0	8	243.1
고량강(高良薑, <i>Alpinia officinarum</i> )	Zingiberaceae	Radix	4.2	64	196.0
독활(獨活, <i>Aralia continentalis</i> )	Araliaceae	Radix	87.0	1	383.4
청목향(青木香, <i>Aristolochia contorta</i> )	Aristolochiaceae	Radix	3.0	64	203.5
인진(茵陳, <i>Artemisia capillaris</i> )	Compositae	Herba	72.6	2	161.4
세신(細辛, <i>Asarum heterotropoides</i> )	Aristolochiaceae	Herba	80.2	2	220.6
황기(黃耆, <i>Astragalus membranaceus</i> )	Leguminosae	Radix	91.1	1	203.3
창출(蒼朮, <i>Atractylodes chinensis</i> )	Compositae	Rhizoma	83.0	1	224.0
백출(白朮, <i>Atractylodes macrocephale</i> )	Compositae	Rhizoma	102.3	1	148.9
시호(柴胡, <i>Bupleurum falcatum</i> )	Umbelliferae	Radix	101.2	1	139.4
백급(白及, <i>Bletilla striata</i> )	Orchidaceae	Rhizoma	114.8	4	195.4
도두(刀豆, <i>Canavalia gladiat</i> )	Leguminosae	Semen	93.2	1	104.1
자아채(刺兒菜, <i>Carduus crispus</i> )	Compositae	Herba	76.5	4	129.9
석결명(石決明, <i>Cassia occidentalis</i> )	Leguminosae	Semen	107.4	1	113.4
결명자(決明子, <i>Cassia tora</i> )	Leguminosae	Semen	369.6	4	130.3
계혈등(鷄血藤, <i>Caulis spatholobi</i> )	Leguminosae	Herba	147.8	16	151.1
청상자(青箱子, <i>Celosia argentea</i> )	Amaranthaceae	Semen	143.4	16	118.9
감국(甘菊, <i>Chrysanthemum indicum</i> )	Compositae	Flos	92.5	2	236.8
영경귀( <i>Cirsium japonicum</i> var. <i>ussuriense</i> )	Compositae	Radix	92.8	1	179.9
불수(佛手, <i>Citrus medica</i> )	Rutaceae	Fructus	62.3	4	121.6
귤피(橘皮, <i>Citrus reticulata</i> )	Rutaceae	Pericarpium	98.6	1	244.8
청피(靑皮, <i>Citrus unshiu</i> )	Rutaceae	Pericarpium	103.1	1	145.0
천궁(川芎, <i>Cnidium officinale</i> )	Umbelliferae	Rhizoma	68.9	16	131.2
산수유(山茱萸, <i>Cornus officinalis</i> )	Cornaceae	Fructus	133.8	32	92.2
현호색(玄胡索, <i>Corydalis turtschaninovii</i> )	Fumariaceae	Tuber	54.2	8	149.9
과두(巴豆, <i>Croton tiglium</i> )	Euphorbiaceae	Semen	99.5	1	115.4
울금(鬱金, <i>Curcuma aromatica</i> )	ingiberaceae	Rhizoma	60.8	4	194.7
강황(薑黃, <i>Curcuma longa</i> )	Zingiberaceae	Radix	35.7	8	180.6
백선피(白鮮皮, <i>Dictamnus albus</i> )	Rutaceae	Radix	13.0	8	166.0
당귀(當歸, <i>Angelica gigas</i> )	Umbelliferae	Radix	12.3	16	166.3
음양곽(淫羊藿, <i>Epimedium brevicornum</i> )	Berberidaceae	Herba	103.8	1	167.3
해동피(海桐皮, <i>Erythrina variegata</i> )	Leguminosae	Cortex	126.6	16	128.5
두충(杜沖, <i>Eucommia ulmoides</i> )	Eucommiaceae	Cortex	90.3	1	238.5
검실(芡實, <i>Euryale ferox</i> )	Nymphaeaceae	Semen	98.4	1	100.3
소회향(小茴香, <i>Foeniculum vulgare</i> )	Umbelliferae	Semen	77.5	16	106.8
연교(蓮翹, <i>Forsythia suspensa</i> )	Oleaceae	Fructus	74.2	2	240.3
평패모(平貝母, <i>Fritillaria ussuriensis</i> )	Liliaceae	Bulbus	93.1	1	154.2
치자(梔子, <i>Gardenia jasminoides</i> )	Fubiaceae	Fructus	101.9	1	202.2
돌외(七葉膽, <i>Gynostemma pentaphyllum</i> )	Cucurbitaceae	Herba	89.9	1	164.2

Table I. Continued

Medicinal plant			Cytotoxicity <sup>1</sup>	Dilution ratio <sup>2</sup>	Relative QR activity
Plant name	Family name	Part			
익모초(益母草, <i>Leonurus artemisia</i> )	Lebiatae	Herba	117.9	32	131.2
소목(蘇木, <i>Caesalpinia sappan</i> )	Leguminosae	Wood	102.2	1	186.0
고본(藎本, <i>Ligusticum tenuissimum</i> )	Umbelliferae	Radix	62.6	4	185.1
금은화(金銀花, <i>Lonicera japonica</i> )	Caprifoliaceae	Flos	74.7	8	111.6
구기자(枸杞子, <i>Lycium chinense</i> )	Solanaceae	Fructus	98.3	1	114.8
황련화(黃蓮花, <i>Lysimachia davurica</i> )	Primulaceae	Fructus	27.6	64	98.4
후박(厚朴, <i>Magnolia obovata</i> )	Magnoliaceae	Cortex	97.0	1	249.9
동규자(冬葵子, <i>Malva verticillata</i> )	Malaceae	Semen	102.4	1	134.3
상백피(桑白皮, <i>Morus alba</i> )	Moraceae	ortex	108.6	1	220.7
육두구(肉豆蔻, <i>Myristica fragrans</i> )	Myristicaceae	Fructus	68.9	2	134.9
백작약(白芍藥, <i>Paeonia japonica</i> )	Ranunculaceae	Radix	119.2	4	151.2
적작약(赤芍藥, <i>Paeonia lactiflora</i> )	Ranunculaceae	Radix	68.1	32	124.6
작약(芍藥, <i>Paeonia lactiflora</i> var. <i>hortensis</i> )	Ranunculaceae	Radix	93.2	2	242.7
단피(丹皮, <i>Paeonia suffruticosa</i> )	Paeoniaceae	Cortex	62.2	4	190.2
삼칠(三七, <i>Panax notoginseng</i> )	Araliaceae	Radix	65.0	4	155.3
옥죽(玉竹, <i>Polygonatum odoratum</i> )	Liliaceae	Rhizoma	101.4	1	236.9
호장(虎杖, <i>Polygonum cuspidatum</i> )	Polygonaceae	Rhizoma	135.4	32	147.2
하고초(夏枯草, <i>Prunella asiatica</i> )	Labiatae	Herba	143.4	16	106.1
오매(烏梅, <i>Prunus mume</i> )	Rosaceae	Fructus	96.0	1	113.2
갈근(葛根, <i>Pueraria lobata</i> )	Leguminosae	Radix	97.6	1	184.8
백두옹(白頭翁, <i>Pulsatilla chinensis</i> )	Ranunculaceae	Radix	32.9	-	-
황정(黃精, <i>Polygonatum falcatum</i> )	Liliaceae	Radix	91.0	1	212.4
하수오(何首烏, <i>Polygonum multiflorum</i> )	Polygonaceae	Radix	36.0	8	196.6
금앵자(金櫻子, <i>Rosa laevigata</i> )	Rosaceae	Semen	83.4	1	123.1
단삼(丹蔘, <i>Salvia miltirrhiza</i> )	Labiatae	Radix	68.8	8	141.8
지유(地榆, <i>Sanguisorba officinalis</i> )	Rosaceae	Radix	15.2	16	137.6
단향(檀香, <i>Santalum album</i> )	Santalaceae	Wood	119.6	8	180.1
운목향(云木香, <i>Saussurea lappa</i> )	Compositae	Radix	2.4	64	217.2
삼릉(三稜, <i>Scirpus yagara</i> )	Cyperaceae	Herba	103.2	4	154.0
현삼(玄蔘, <i>Scrophularia buergeriana</i> )	Scrophylariaceae	Radix	97.8	1	151.4
황금(黃芩, <i>Scutellaria baicalensis</i> )	Labiatae	Radix	16.5	32	141.7
희렴초(豨薟草, <i>Siegesbeckia orientalis</i> )	Compositae	Herba	95.9	1	218.3
한방기(漢防己, <i>Stephania tetrandra</i> )	Menispermaceae	Radix	3.6	8	127.1
오령지(五靈脂, <i>Trogopterus xanthipes</i> )	Petauristidae	Faeces	106.6	2	128.5
구승(勾藤, <i>Uncaria rhynchopylla</i> )	Rubiaceae	Ramulus	124.5	8	107.7
상기생(桑寄生, <i>Viscum album</i> )	Loranthaceae	Herba	95.5	1	255.6
만형자(蔓荊子, <i>Vitex trifolia</i> )	Verbenaceae	Fructus	52.8	8	157.5

<sup>1</sup>Viability of Hepa 1c1c7 cells with the treatment of crude extract (%)

<sup>2</sup>Dilution of the crude extract to obtain the cell viability between 80% and 100%

에서 48시간 배양한 다음, 세포독성 실험에서 처리하였던 동일한 시료를 첨가하여 24시간 배양하였다. 배

양이 완료되면 배지를 제거하고 phosphate buffered saline(PBS)으로 5 ml씩 3회 반복하여 세척하였다.

Plate에 0.25 M sucrose 용액 1 ml를 가하고 cell scraper를 이용하여 세포를 수집하고 ultrasonic cell disrupter(50W, Kontes, Jackson, MS, U.S.A.)로 세포를 균질화하였다. 세포 균질액(cell extract)을 microcentrifuge(Eppendorf 5415C, Hamburg, Germany)로 원심분리(10,000×g, 10 min)하여 얻은 상등액을 QR 효소활성과 단백질분석에 사용하였다. QR 효소활성은 DCPIP를 환원시키는 정도를 측정하여 나타내었다. 즉, 250 mM Tris-HCl(pH 7.4) 7 ml, bovine serum albumin 용액(70 mg crystalline BSA/30 ml 증류수) 7 ml, 0.1% Tween 20 7 ml, 50 μM FAD 0.7 ml, 2 mM NADH 7 ml, 3차 증류수 30.3 ml을 혼합한 반응액을 제조하고, 이 반응액 2.8 ml에 0.2 ml의 세포 균질액을 혼합하였다. 여기에 40 μM DCPIP 용액 0.3 ml를 첨가함으로써 반응을 시작하고 600 nm에서 2분간 scanning을 수행하였다. QR에 의한 반응을 확인하기 위하여 반응액에 QR의 inhibitor인 dicumarol을 10 μM의 농도로 첨가하여 동일한 실험을 진행하였다. QR 활성은 1분간 감소되는 흡광도와 DCPIP의 molar extinction coefficient( $2.1 \times 10^4 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ )로부터 환원된 DCPIP reduced/min/mg-protein로 구하였다. 각 시료의 QR 유도활성은 대조구의 QR 활성에 대한 시료 처리구의 QR 활성을 백분율로 표시한 상대적 활성치(relative QR activity)로 나타내었다. 세포 균질액의 단백질 함량은 Lowry 방법으로 측정하였다.

## 결과 및 고찰

중국 장백산 지역에서 생산되는 81종류의 약용식물에 대하여 80% 메탄올 추출물을 제조하고 우선 80% 메탄올을 이용하여 2배, 4배, 8배, 16배, 32배, 64배의 농도로 희석한 후 Hepa 1c1c7 세포에 대한 세포독성 실험을 거쳐 각 약용식물에 대해 세포독성이 없이 QR 유도활성을 측정할 수 있는 추출물의 희석배수를 결정하였다. 추출물 원액을 기준할 때 한방기(漢防己, *Stephania tetrandra*), 육두구(肉豆蔻, *Myristica fragrans*), 고량강(高良薑, *Alpinia officinarum*), 운목향(云木香, *Saussurea lappa*), 초두구(草頭寇, *Alpinia katsumada*), 청목향(靑木香, *Aristolochia contorta*) 등의 약용식물이 매우 낮은 세포 생존율을 보여 추출물을 높은 희석배수로 희석한 후에 QR 유도활성 측정을 실시하였으나, 많은 약용식물이 낮은 세포독성을

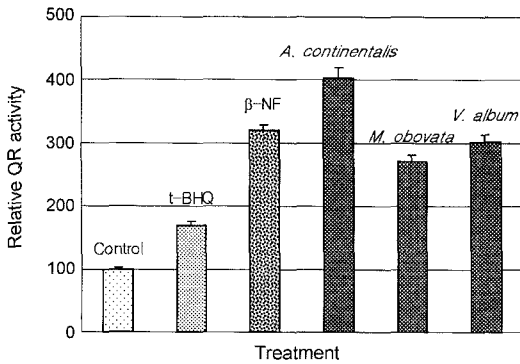
나타내어 추출물 원액을 그대로 활성 측정에 이용할 수 있었으며, 결명자(決明子, 긴강남차)는 오히려 세포 생존율이 370%로서 세포 증식촉진 효과를 보여주기도 하였다(Table I). 우슬(牛膝, *Achyranthes japonica*) 및 백두옹(白頭翁, *Pulsatilla chinensis*)의 경우는 추출물 원액은 세포독성이 현저히 높지는 않았으나 128 배까지 희석시킨 추출물 희석액에서도 세포독성을 나타냄으로써 QR 측정을 할 수 없었다. 각 약용식물의 추출물 원액 및 희석액에 대한 세포독성 실험결과 80-100% 사이의 세포 생존율을 나타내는 농도에서 Hepa 1c1c7 세포를 이용하여 QR 유도활성을 측정하였다. 그 결과 QR 활성을 가장 높게 유도해내는 것은 독활(獨活, *Aralia continentalis*)이었으며 유도된 QR의 상대적 활성치(relative activity)는 383.4%를 나타내었다(Table I). 한편 후박(厚朴, *Magnolia obovata*)과 상기생(桑寄生, *Viscum album*)이 250% 이상의 relative activity를 보이는 QR 유도활성을 나타내었으며, 200% 이상의 유도활성을 보여준 약용식물은 백부자(白附子, *Aconitum jaluense*) 등 18종이었다.

250% 이상의 QR 활성 유도효과를 나타낸 독활, 상기생, 후박 등 3종의 약용식물들은 추출물 원액을 동결건조하여 분말화한 다음 정량화된 농도에 따라 세포독성 및 QR 유도활성을 정밀 측정하였다. 그 결과

**Table II.** Induction of QR by *Aralia continentalis*, *Magnolia obovata*, and *Viscum album*

Plant name	Medicinal plant Concentration (μg/ml)	Cytotoxicity <sup>1</sup>	Relative QR activity
독활(獨活, <i>Aralia continentalis</i> )			
	39.8	95.2±4.5	235.3±9.1
	159.0	94.1±4.9	281.1±8.7
	318.0	93.2±6.7	401.9±16.8
	636.0	86.2±8.4	313.5±9.6
후박(厚朴, <i>Magnolia obovata</i> )			
	13.4	100.9±6.1	164.7±7.8
	26.9	100.1±6.3	245.3±9.3
	53.8	98.8±7.1	270.5±9.9
	107.5	92.9±9.8	271.7±10.4
상기생(桑寄生, <i>Viscum album</i> )			
	20.2	105.1±5.4	188.7±7.4
	40.3	101.2±6.0	276.4±8.1
	80.6	93.8±5.7	301.8±11.8
	161.3	79.4±5.5	284.0±9.2

<sup>1</sup>Viability of Hepa 1c1c7 cells with the treatment of crude extract (%)



**Fig. 1.** Comparison of quinone reductase inductions by 3 selected medicinal plants with known QR inducers. The concentrations treated to Hepa 1c1c7 cells were 30  $\mu$ M, 2  $\mu$ M, 318  $\mu$ g/ml, 53.8  $\mu$ g/ml, 80.6  $\mu$ g/ml for *t*-BHQ,  $\beta$ -NF, the extracts of *A. continentalis*, *M. obovata*, and *V. album*, respectively.

독활의 경우 318  $\mu$ g/ml의 농도로 처리하였을 때 가장 높은 QR 유도활성인 401.9%의 QR 활성 증가효과를 나타내었다(Table II). 상기생은 80.6  $\mu$ g/ml의 농도에서 301.8%의 최고 QR 유도활성을 나타내었고 후박은 53.8  $\mu$ g/ml 이상의 농도에서 최고치의 QR 유도활성치(270% 수준)를 유지하였다.

이들 3종의 약용식물들의 활성이 이미 우수한 QR 유도활성을 가진 것으로 알려진 대표적인 QR inducer, 즉 *t*-butylhydroquinone(*t*-BHQ) 및  $\beta$ -naphthoflavone( $\beta$ -NF)과 비교할 때 어느 정도의 활성을 나타내는지 확인하기 위하여 *t*-BHQ 및  $\beta$ -NF에 대하여 동일한 실험조건으로 QR 유도활성을 측정하였다. 그 결과 *t*-BHQ와  $\beta$ -NF를 각각 30  $\mu$ M과 2  $\mu$ M의 농도로 처리할 때 170.1% 및 320.0%의 최대 QR 유도활성치를 나타내었다(Fig. 1). 이러한 QR 유도활성 실험치는 김 등이 대두 isoflavone인 genistein의 QR 유도활성 연구에서 대조구로서 이 두 물질에 대한 QR 유도활성을 실험한 결과와 유사하게 일치하고 있음을 알 수 있었다.<sup>13)</sup> 본 연구에서 활성이 확인된 약용식물 중 특히 독활의 QR 유도활성은 404%로서 기존의 강력한 QR inducer인  $\beta$ -NF 보다도 우수한 QR 유도활성을 가지고 있음이 확인되었다(Fig. 1).

이로써 독활, 상기생, 후박 등이 차 또는 탕재의 추출물 형태로, 또는 QR 유도활성의 주효성분이 분리, 정제된 형태로 암예방 기능의 항암소제로 이용될 수 있는 가능성을 제시할 수 있게 되었다. 본 연구팀에서는 독활이 나타내는 높은 QR 유도활성의 주효 성

분을 activity-guided fractionation에 의해 확인, 분리해내기 위하여 분획별 활성 탐색 연구를 진행 중에 있다. 아울러 독활이 바람직한 chemopreventive agent로 이용되기 위해서는 aryl hydrocarbon hydroxylase(AHH)의 활성의 유도에는 영향이 없어야 하므로 AHH 활성유도에 대한 연구도 동시에 진행하고 있다. AHH는 benzo( $\alpha$ )pyrene과 같은 물질을 발암물질로 활성화하는데 관여되는 효소이므로 단일 어떤 물질이 AHH만 활성화시키고 QR 유도활성이 없다면 그것은 결국 발암을 유도할 수 있는 위험한 물질임을 의미하게 된다.<sup>6,14)</sup> 따라서 약용식물에서 추출 제조된 추출물에 대한 AHH 유도활성 측정은 매우 중요한 의미를 갖게 되며, 추출물에서 AHH 유도활성이 나타난다 하더라도 단일 성분으로 분리되었을 때에는 오히려 AHH 유도활성이 없이 QR 유도활성만을 나타낼 수도 있으므로 주효성분 분리연구에 있어서도 병행되어야 하는 내용이다.

## 결론

Quinone reductase(QR) 등의 phase II enzyme를 유도해내는 활성은 암예방 기작의 매우 중요한 기작 중의 하나이다. 본 연구에서는 중국 길림성 연변 자치주 지역에서 수집된 81종의 약용식물에 대한 QR 유도활성을 측정하였다. Hepa 1c1c7 murine hepatoma 세포에 각 약용식물의 80% 메탄올 추출물 시료를 세포독성이 없는 농도로 희석 조절하여 처리한 후 시료를 처리하지 않은 대조구에 대한 상대적인 QR 활성의 증가를 측정하여 QR 유도활성을 측정된 결과 독활(*Aralia continentalis*), 후박(*Magnolia obovata*) 및 상기생(*Viscum album*)이 250% 이상의 QR 활성을 유도함을 발견하였다. 이들 약용식물 추출물의 농도에 따른 QR 유도활성 측정 결과, 독활은 318  $\mu$ g/ml의 농도에서 404.4%, 후박은 53.8  $\mu$ g/ml의 농도에서 271.6%, 상기생은 80.6  $\mu$ g/ml의 농도에서 303.2%에 이르는 QR 유도활성을 나타내었다. 이러한 활성은 이미 QR inducer로 알려진 *t*-butylhydroquinone 및  $\beta$ -naphthoflavone의 유도활성이 각각 170.1%와 320.0%에 머무르고 있는 것과 비교할 때 매우 높은 QR 유도활성이라 평가할 수 있었다. 즉 본 연구를 통해 독활, 후박, 상기생을 이용한 우수한 chemopreventive agent의 개발이 매우 가능성이 높음을 알 수 있었다.

## 사 사

본 연구를 위해 시료수집과 자료조사를 도와주신 중국 길림성 연길시 연변과학기술대학 정명환 선생님께 감사드립니다.

## 인용문헌

1. Doll, R. (1992) The lessons of life. *Cancer Res.* 52: 2024S-2029S.
2. Wattenberg, L. W. (1997) An overview of chemoprevention: current state and future prospects. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 216: 133-141.
3. Prochaska, H. J., De Long, M. J. and Talalay, P. (1985) On the mechanism of induction of cancer protective enzymes: A unifying proposal. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 82: 2832-8236
4. Prochaska, H. J. and Santamaria, A. B. (1988) Direct measurement of NAD(P)H:Quinone reductase from cells cultured in microtiter wells: A screening assay for anticarcinogenic enzyme inducers. *Anal. Biochem.* 169: 328-336.
5. Zhang, Y. S., Talalay, P., Cho, C. G. and Posner, G. H. (1992) A major inducer of anticarcinogenic protective enzymes from broccoli - Isolation and elucidation of structure. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 89: 2399-2403.
6. Prochaska, H. J. and Talalay, P. (1988) Regulatory mechanisms of monofunctional and bifunctional anticarcinogenic enzyme inducers in murine liver. *Cancer Res.* 48: 4776-4782.
7. Mehta, R. G., Liu, J., Constantinou, A., Thomas, C. F., Hawthorne, M., You, M., Gerhuser, C., Pezzuto, J. M., Moon, R. C. and Moriarty, R. M. (1995) Cancer chemopreventive activity of brassinin, a phytoalexin from cabbage. *Carcinogenesis* 16: 399-404.
8. Gerhauser, C., You, M., Liu, J., Moriarty, R. M., Hawthorne, M., Mehta, R. G., Moon, R. C. and Pezzuto, J. M. (1997) Cancer chemopreventive potential of sulforamate, a novel analogue of sulforaphane that induces phase 2 drug-metabolizing enzymes. *Cancer Res.* 57: 272-278.
9. Zhang, Y. S., Kensler, T. W., Cho, C. G., Posner, G. H. and Talalay, P. (1994) Anticarcinogenic activities of sulforaphane and structurally related synthetic norbornyl isothiocyanates. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 91: 3147-3150.
10. Chang, L. C., Gerhauser, C., Song, L., Farnsworth, N. R., Pezzuto, J. M. and Kinghorn, A. D. (1997) Activity-guided isolation of constituents of *Tephrosia purpurea* with the potential to induce the phase II enzyme, quinone reductase. *J. Nat. Prod.* 60: 869-873.
11. Kinghorn, A. D., Cui, B., Ito, A., Chung, H. S., Seo, E. K., Long, L. and Chang L. C. (2000) Fractionation of plants to discover substances to combat cancer. In Cutler, S.J. and Cutler, H.G. (ed.), *Biologically active natural products: pharmaceuticals, 17-24.* CRC Press, Boca Raton, Florida.
12. Benson, A. M., Hunkeler, M. J. and Talalay, P. (1980) Increase of NAD(P)H:Quinone reductase by dietary antioxidants; Possible role in protection against carcinogenesis and toxicity. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 77: 5216-5220.
13. Kim, J. S., Nam, Y. J. and Kwon, T. W. (1996) Induction of quinone reductase activity by genistein, soybean isoflavone. *Food Sci. Biotech.* 5(1): 70-75.
14. Prochaska, H. J. (1994) Screening strategies for the detection of anticarcinogenic enzyme inducers. *J. Nutr. Biochem.* 5: 360-367.

(2001년 5월 28일 접수)