

## 생약추출물의 Cytochrome P450 약물대사 효소계 저해활성

정혜광 · 유호진<sup>1</sup> · 장영수 · 박성준 · 문영희 · 우은란\*

조선대학교 약학대학, <sup>1</sup>의과대학

### Inhibitory Effects of Medicinal Herbs on Cytochrome P450 Drug Metabolizing Enzymes

Hye Gwang Jeong, Ho Jin You<sup>1</sup>, Young-Su Chang, Sung Jun Park,  
Young Hee Moon and Eun-Rhan Woo\*

College of Pharmacy, <sup>1</sup>College of Medicine, Chosun University

**Abstract** – The MeOH ext., CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> Frac., EtOAc Frac., *n*-BuOH Frac., and H<sub>2</sub>O Frac. of 23 Korean medicinal herbs were prepared and were tested the inhibitory effects on Cytochrome P450 (Cyp) 1A1/2, 2B1/2, 2E1. Among the tested samples, the extracts of *Selaginella tamariscina*, *Euonymus alatus*, *Salvia miltiorhiza*, *Angelica acutiloba*, *Rheum palmatum*, *Paeonia moutan*, *Scutellaria barbata*, *Tribulus terrestris*, *Hedyotis diffusa*, *Curcuma zedoaria*, *Rehmania glutinosa*, *Trogopteris xanthipes*, *Melandryum firmum*, *Achyranthes bidentata*, *Leonurus sibiricus*, *Panax ginseng*, *Paeonia lactiflora*, *Poncirus trifoliata*, *Cnidium officinale*, *Cyperus rotundus*, *Corydalis ternata* showed significant inhibitory effects on Cyp 1A1/2, 2B1/2, 2E1. The IC<sub>50</sub> values of those extracts were found to be below 50 µg/ml.

**Key word** – Cytochrome P450, medicinal herbs, 50% inhibition concentration (IC<sub>50</sub>)

포유동물의 Cytochrome P450 (Cyp) 약물대사 효소계는 대부분이 간장내의 실질세포인 간세포의 endoplasmic-reticulum에 존재하며 flavoprotein, NADPH-cytochrome P450 reductase와 hemoprotein isozymes 으로 구성되어 있다.<sup>1-3)</sup> P450 약물대사 효소계는 생체내 물질 뿐만 아니라 체외에서 유입된 약물, 환경에서 유래하는 각종 유해 물질, 발암이나 돌연변이 등을 유발시키는 여러 화학물질(Xenobiotics)의 체내 활성화를 유도하며 이들 중 일부는 암의 initiation, promotion과 tumor progression을 유발시키는 것으로 알려져 있어 이 분야에 대한 많은 연구가 이루어지고 있다.<sup>1,3,4-5)</sup>

Cyp 약물대사 효소계는 상황에 따라 화학물질을 대사시켜 보다 쉽게 체외로 배출되게 하지만 또한 이들 대사물질들은 보다 반응성이 강한 친전자성 성격을 가지게 함으로써 세포내의 단백질 및 핵산들과 결합하여 독성과 발암성, 돌연변이원으로 변화하게 하는 데도 작용한다. 대사에 의해 독성물질로 변화되는 대표적인 물질로서는 polyaromatic

hydrocarbons, aromatic amines, carbon tetrachloride 및 각종 저분자 유기물질, 기타 식품조리 중에 생성되는 각종 nitrosamine과 heterocyclic amine, 그리고 곡류에 존재하는 aflatoxin 등이 해당되며, 또한 의약품으로 사용되는 acetaminophen 등도 Cyp 대사에 의해 독성이 증가된다.<sup>4,11)</sup>

일반적으로 Cyp 효소는 광범위한 기질특이성(substrate specificity)을 갖고 있지만 몇몇 기질의 경우 특정 isozyme에 의해 대사가 되고 이를 이용한 특정 isozyme의 효소 활성이 검색에 이용되고 있다.<sup>1-3,12-13)</sup> 외부에서 유입된 화학물질의 독성화에 가장 많이 관여하는 Cyp isozymes으로는 Cyp 1A1/2, 2B1/2 및 2E1이 있다. Cyp 1A1/2, 2B1/2에 의해 대사되는 여러 물질들로는 polyaromatic hydrocarbons, benzo(a)pyrene, 2-acetaminoflourene, N-demethylaminoazobenzen, dibenzo(a,h)anthracene, aflatoxin 등이 있고 이 효소의 유도를 촉진시키는 물질들은 돌연변이, 발암 그리고 최기성 등의 독성을 유발시키는 것으로 알려져 있다. Cyp isozyme 중 Cyp 2E1은 ethanol에 의해서 유도되는 효소로서 acetaminophen, aliphatic alcohols, acetone, carbon tetrachloride, N-nitrosodimethylamine과 같은 작은 유기 분

\*교신저자(E-mail) : wooer@mail.chosun.ac.kr

자들의 대사 및 독성에 관여한다.<sup>6,9)</sup> 따라서, Cyp 1A1/2 및 Cyp 2E1의 활성도는 각종 방향족 탄화수소와 저분자 유기물질 등에 의해 발생하는 발암과 밀접한 관계가 있다.

최근 기능성 식품에 대한 관심이 고조되고 있으며 마늘, 양파, 배추, califlower, 녹차 열매 등에 항돌연변이 및 항발암물질들을 함유하고 있다는 보고가 있으며 또한 몇 가지 약용식물에서도 이러한 항돌연변이 및 항발암물질이 함유되어 있다는 보고가 있다.<sup>14-21)</sup>

이러한 연구배경하에 본 연구에서는 천연물로부터 화학물질의 발암 및 돌연변이를 억제하는 활성성분을 찾기 위하여 전통의서에 근거하여 활혈화어(活血化瘀) 활성이 있는 것으로 알려지고 있는 23종의 생약으로부터 조제한 115종의 추출물 및 분획물에 대해 Cyp 1A1/2, 2B1/2, 2E1에 대한 효소활성도를 측정하였기에 이에 보고하고자 한다.

## 재료 및 방법

**실험재료** - 본 실험에 사용한 생약은 원광대학교 한의과대학 우원홍 교수 연구실에서 구입하여 보내온 것으로 전문가의 정확한 감정을 거친 후 실험재료로 사용하였으며 표본은 조선대학교 약학대학 표본실에 보관중이다.

**실험동물** - 생후 6-8주 된 약 150 g의 SPF(Specific Pathogenic Free) male Sprague-Dawley rat를 한국화학연구원 안정성 연구부로부터 구입하여 실험동물로 사용하였다. 사료와 물은 자유롭게 먹게 하며, 사육실의 온도는 21-24°C, 상대 습도는 40-60%로 유지하였다. 또한 사육실의 밤과 낮이 12시간마다 반복되도록 조절하고 사육실내로 외부 오염물질이 침입하지 않도록 Hepa-filter를 이용하였다.

**추출 분획 및 시료의 제조** - 생약재료를 적당히 세절한 후 600 g을 평량하여 1.5배 용적의 MeOH을 넣고 실온에서 5일간 3회 추출하였다. 여과한 후 여액을 모아 40°C 이하의 수욕상에서 감압농축한 후 일정량을 활성 검색용으로 남겨두고 남은 MeOH 추출물을 증류수에 현탁하고 이어서 CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, EtOAc, *n*-BuOH의 용매로 차례로 분획하였다. 각각의 분획 과정은 3회를 반복하였고 얻어진 유기용매층은 물로 세척하고 이어서 무수 Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>로 탈수한 후 40°C 이하의 수욕상에서 감압농축하였다. 완전히 건조된 추출물은 0.05%의 DMSO에 녹여 활성검색에 사용하였다.

**Microsome 분획 분리** - Cyp 1A1/2의 유도를 위하여 잘 알려져 있는 이들 효소에 대한 유도제인 3-methylcholanthrene(3-MC)을 corn oil에 녹여 40 mg/kg의 용량으로 매일 한번씩 3일 동안 복강주사한 후 24시간 절식시킨 다음 CO<sub>2</sub> 질식사시키고, Cyp 2B1/2의 유도는 phenobarbital을 corn oil에 녹여 80 mg/kg의 용량으로 매일 한번씩 3일 동안 복강

주사한 후 24시간 절식시킨 다음 CO<sub>2</sub>로 질식사시켰다. Cyp 2E1의 유도는 pyridine을 생리식염수에 희석시키고 100 mg/kg의 농도로 매일 한번씩 3일 동안 복강주사하고 마지막 주사 후 24시간동안 절식시키고 CO<sub>2</sub>로 질식사시켰다. 이들 유도체를 처리한 rat의 간으로부터 microsome을 초원심 분리법을 이용하여 분리하였다.

적절한 간은 생리식염수로 잘 세척한 다음 무게를 재고 약 10배의 0.154M KCl을 함유한 0.1M potassium phosphate buffer(pH 7.4)에 넣고 Teflon-glass Homogenizer를 이용하여 균질화시켰다. 균질화된 간을 4°C에서 9000 × g로 30분동안 원심분리한 다음 상층액을 취하여 다시 110,000 × g로 1시간 동안 4°C에서 초원심분리하여 상층액은 cytosol 분획으로 사용하고 microsome 분획은 pellet을 다시 20% glycerol, 1 μM butylhydroxytoluene, 0.154M KCl, 및 1 mM EDTA를 함유한 50 mM Tris-HCl buffer(pH 7.4)로 homogenizer를 이용하여 현탁시킨 다음 소량 분획으로 나누어 -80°C에 보관하였다.

**Cyp 효소 활성도 측정** - Cyp 1A1 및 Cyp 1A2에 특이적인 효소반응으로는 ethoxyresorufin *O*-deethylation(EROD)와 methoxyresorufin *O*-demethylation(MROD) 활성도로 측정하였다. Cyp 2B1/2에 특이적인 효소반응으로는 benzyloxyresorufin *O*-deethylation(BROD) 활성도로 측정하였다. Cyp 2E1에 특이적인 효소반응으로는 aniline hydroxylation 활성도를 측정하였다.<sup>22,23)</sup>

### ① EROD, MROD, 및 BROD 활성도 측정

0.1M potassium phosphate buffer(pH 7.4)에 2 mg/ml의 bovine serum albumin, 10 μM dicoumarol, NADPH regenerating system(5 mM glucose 6-phosphate, 5 unit/ml glucose 6-phosphate dehydrogenase), 10 μM NADPH, 2.5 μM 7-ethoxyresorufin과 microsome 시료를 혼합한 후에 37°C에서 20분간 반응시켰다. 반응 후 형성된 resorufin은 excitation 파장 550 nm, emission 파장 585 nm에서의 fluorescence를 측정하였다. 결과는 pmole resorufin/mg protein/min으로 나타낸다. Microsome 시료내의 단백질의 농도는 Lowry 등의 방법으로 결정하였다.<sup>24)</sup> MROD와 BROD 효소 활성도는 위의 EROD 측정과 동일하며, 단지 7-ethoxyresorufin 대신 각각 7-methoxyresorufin과 7-benzyloxyresorufin을 가하여 측정하였다.

### ② Aniline hydroxylation 활성도 측정

Cyp 2E1과 관련이 있는 aniline hydroxylase의 측정은 기질로 aniline을 사용하여 생성된 4-hydroxy aniline의 양을 630 nm에서 흡광도를 측정함으로써 정량하였다. 간단히 기술하면 aniline(5-20 mM)과 10 μM NADPH, NADPH-regenerating system 및 microsome 시료를 0.1M potassium

**Table 1.** Inhibitory activities of medicinal plant extracts on the Cytochrome P 450 enzymes

Plant	Part used	Family	Frac. <sup>a)</sup>	IC <sub>50</sub> (µg/ml)			
				Cyp 1A1	Cyp 1A2	Cyp 2B1/2	Cyp 2E1
<i>Selaginella tamariscina</i> (권백)	Whole plant	Selaginellaceae	M	55.1	50.2	53.1	>300.0
			D	56.4	45.8	37.1	>300.0
			E	4.9	91.5	41.5	114.8
			B	79.0	>300.0	>300.0	>300.0
			H	>300.0	>300.0	>300.0	>300.0
<i>Euonymus alatus</i> (귀전우)	Stem bark	Celastraceae	M	53.0	68.0	41.5	>300.0
			D	50.7	76.7	11.0	121.1
			E	>300.0	>300.0	>300.0	127.6
			B	>300.0	>300.0	>300.0	64.3
			H	>300.0	>300.0	>300.0	37.1
<i>Salvia miltiorhiza</i> (단삼)	Root	Labiatae	M	78.7	83.8	174.0	241.7
			D	62.1	9.8	48.0	52.8
			E	46.2	55.1	>300.0	>300.0
			B	>300.0	86.7	>300.0	>300.0
			H	>300.0	>300.0	>300.0	157.6
<i>Angelica acutiloba</i> (당귀)	Root	Umbelliferae	M	>300.0	ND	5.6	>300.0
			D	80.0	ND	2.6	>300.0
			E	>300.0	ND	11.0	>300.0
			B	>300.0	ND	>300.0	>300.0
			H	>300.0	ND	>300.0	>300.0
<i>Rheum palmatum</i> (대황)	Root	Polygonaceae	M	24.0	ND	43.0	17.7
			D	3.0	ND	21.0	20.0
			E	36.5	ND	32.0	63.4
			B	48.0	ND	55.0	21.5
			H	>300.0	ND	>300.0	>300.0
<i>Paeonia moutan</i> (목단)	Root bark	Paeoniaceae	M	>300.0	ND	>300.0	>300.0
			D	73.6	ND	22.0	>300.0
			E	24.0	ND	34.0	>300.0
			B	>300.0	ND	>300.0	>300.0
			H	>300.0	ND	>300.0	>300.0
<i>Scutellaria barbata</i> (반지련)	Whole plant	Labiatae	M	39.0	66.9	37.0	>300.0
			D	26.2	>300.0	5.4	>300.0
			E	4.1	44.1	47.6	>300.0
			B	33.3	>300.0	186.9	>300.0
			H	>300.0	>300.0	>300.0	>300.0
<i>Tribulus terrestris</i> (백질려)	Fruit	Zygophyllaceae	M	>300.0	>300.0	96.5	>300.0
			D	59.1	60.4	6.6	>300.0
			E	56.7	74.9	50.0	>300.0
			B	>300.0	>300.0	59.4	>300.0
			H	>300.0	>300.0	>300.0	>300.0
<i>Hedyotis diffusa</i> (백화사설초)	Aerial plant	Rubiaceae	M	>300.0	>300.0	>300.0	>300.0
			D	57.1	>300.0	17.8	>300.0
			E	46.0	>300.0	>300.0	>300.0
			B	>300.0	>300.0	>300.0	>300.0
			H	>300.0	>300.0	>300.0	>300.0

Table 1. Continued

Plant	Part used	Family	Frac. <sup>a)</sup>	IC <sub>50</sub> (μg/ml)			
				Cyp 1A1	Cyp 1A2	Cyp 2B1/2	Cyp 2E1
<i>Curcuma zedoaria</i> (봉출)	Rhizome	Zingiberaceae	M	>300.0	ND	4.0	>300.0
			D	>300.0	ND	6.2	>300.0
			E	>300.0	ND	>300.0	>300.0
			B	>300.0	ND	>300.0	>300.0
			H	>300.0	ND	>300.0	>300.0
<i>Sparganium erectum</i> (삼릉)	Rhizome	Sparganiaceae	M	>300.0	ND	>300.0	>300.0
			D	>300.0	ND	54.5	>300.0
			E	>300.0	ND	>300.0	>300.0
			B	>300.0	ND	>300.0	>300.0
			H	>300.0	ND	>300.0	>300.0
<i>Rehmania glutinosa</i> (생지황)	Root	Scrophulariaceae	M	>300.0	ND	>300.0	>300.0
			D	>300.0	ND	38.0	>300.0
			E	>300.0	ND	>300.0	>300.0
			B	>300.0	ND	>300.0	>300.0
			H	>300.0	ND	>300.0	>300.0
<i>Trogopterus xanthipes</i> (오령지)	Faeces	Petauristidae	M	35.0	56.7	49.9	>300.0
			D	45.3	>300.0	65.8	117.7
			E	9.4	74.6	55.3	80.5
			B	50.6	>300.0	89.4	148.1
			H	>300.0	>300.0	>300.0	>300.0
<i>Melandryum firmum</i> (왕불유행)	Whole plant	Caryophyllaceae	M	>300.0	>300.0	70.9	>300.0
			D	49.7	78.5	44.0	>300.0
			E	74.1	>300.0	>300.0	176.6
			B	>300.0	>300.0	>300.0	104.6
			H	>300.0	>300.0	>300.0	134.1
<i>Achyranthes bidentata</i> (우슬)	Root	Amaranthaceae	M	>300.0	ND	>300.0	>300.0
			D	>300.0	ND	24.0	>300.0
			E	>300.0	ND	>300.0	>300.0
			B	>300.0	ND	>300.0	>300.0
			H	>300.0	ND	>300.0	>300.0
<i>Leonurus sibiricus</i> (익모초)	Aerial part	Labiatae	M	77.5	>300.0	62.7	27.8
			D	46.6	69.3	45.6	188.0
			E	8.4	70.4	153.7	40.0
			B	>300.0	>300.0	>300.0	156.0
			H	>300.0	>300.0	>300.0	100.3
<i>Panax ginseng</i> (인삼)	Root	Araliaceae	M	>300.0	157.7	115.4	>300.0
			D	44.1	26.1	8.5	>300.0
			E	>300.0	>300.0	71.1	>300.0
			B	>300.0	>300.0	>300.0	>300.0
			H	>300.0	>300.0	>300.0	>300.0
<i>Paeonia lactiflora</i> (작약)	Root	Paeoniaceae	M	>300.0	>300.0	>300.0	>300.0
			D	69.8	47.1	52.1	>300.0
			E	55.8	44.9	62.4	211.0
			B	>300.0	>300.0	>300.0	>300.0
			H	>300.0	>300.0	>300.0	>300.0

Table 1. Continued

Plant	Part used	Family	Frac. <sup>a)</sup>	IC <sub>50</sub> (µg/ml)			
				Cyp 1A1	Cyp 1A2	Cyp 2B1/2	Cyp 2E1
<i>Poncirus trifoliata</i> (지실)	Fruit	Rutaceae	M	7.3	107.8	36.5	>300.0
			D	5.9	60.5	6.0	154.3
			E	70.0	>300.0	121.0	>300.0
			B	>300.0	>300.0	>300.0	123.2
			H	>300.0	>300.0	>300.0	151.9
<i>Cnidium officinale</i> (천궁)	Rhizome	Umbelliferae	M	>300.0	ND	12.6	>300.0
			D	>300.0	ND	13.5	>300.0
			E	>300.0	ND	>300.0	>300.0
			B	>300.0	ND	>300.0	>300.0
			H	>300.0	ND	>300.0	>300.0
<i>Cyperus rotundus</i> (향부자)	Rhizome	Cyperaceae	M	>300.0	ND	2.5	>300.0
			D	>300.0	ND	1.8	>300.0
			E	>300.0	ND	11.0	>300.0
			B	>300.0	ND	>300.0	>300.0
			H	>300.0	ND	>300.0	>300.0
<i>Corydalis ternata</i> (현호색)	Tuber	Papaveraceae	M	9.4	68.4	87.1	47.9
			D	3.9	9.0	41.7	15.7
			E	39.0	77.7	78.9	22.5
			B	>300.0	>300.0	112.7	9.1
			H	>300.0	>300.0	>300.0	72.0
<i>Carthamus tinctorius</i> (홍화)	Semen	Compositae	M	>300.0	ND	>300.0	>300.0
			D	>300.0	ND	50.8	>300.0
			E	>300.0	ND	>300.0	>300.0
			B	>300.0	ND	>300.0	>300.0
			H	>300.0	ND	>300.0	>300.0

<sup>a)</sup> M : MeOH ext., D : CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> frac., E : EtOAc frac., B : n-BuOH frac., H : H<sub>2</sub>O frac.

phosphate buffer(pH 7.4)에 혼합한 후 37°C shaking water incubator에서 20 min 동안 반응시킨 다음 20% TCA를 가하여 반응을 종결시키고 5% phenol과 2.5N NaOH를 가하여 혼합한 다음, 2.5N Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>를 가하여 30분동안 실온에서 방치하면서 발색시켰다. 630 nm에서 흡광도를 측정하고 4-hydroxyaniline 검량선으로부터 활성도를 계산하였다.

### 결과 및 고찰

생약자원으로부터 화학물질의 발암 및 돌연변이를 억제하는 활성성분을 찾기 위하여 한방에서 활혈화어 활성이 있는 것으로 알려진 생약 23종을 엄선하여 메탄올로 추출한 후 각각의 추출물을 증류수로 현탁하고 이어서 CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, EtOAc, n-BuOH의 용매로 차례로 분획, 농축하여 각각의 생약에 대해 M(MeOH ext), D(CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> Frac.), E(EtOAc Frac.), B(n-BuOH Frac.), H(H<sub>2</sub>O Frac.)의 분획물을 조제하였다. 생

약 시료를 300 µg/ml, 100 µg/ml, 33.3 µg/ml, 11.1 µg/ml, 3.3 µg/ml의 농도의존적인 방법으로 Cyp 1A1/2, 2B1/2, 2E1에 대한 효소활성도를 측정하여 결과를 Table 1에 나타내었다. 검색결과 Cyp 1A1에 대해 IC<sub>50</sub>가 50 µg/ml 이하로 나타난 시료는 권백의 E, 단삼의 E, 대황의 M, D, E, B, 목단의 E, 반지련의 M, D, E, B, 백화사설초의 E, 오령지의 M, D, E, 왕불유행의 D, 익모초의 D, E, 인삼의 D, 지실의 M, D, 현호색의 M, D, E 분획이었고 Cyp 1A2에 대해 IC<sub>50</sub>가 50 µg/ml 이하로 나타난 시료는 권백의 D, 단삼의 D, 반지련의 E, 인삼의 D, 작약의 D, E, 현호색의 D 분획이었다. 한편 Cyp 2B1/2에 대한 활성검색 결과 IC<sub>50</sub>가 50 µg/ml 이하로 나타난 시료는 권백의 D, E, 귀전우의 M, D, 단삼의 D, 당귀의 M, D, E, 대황의 M, D, E, 목단의 D, E, 반지련의 M, D, E, 백질려의 D, E, 백화사설초의 D, 봉출의 M, D, 지황의 D, 오령지의 M, 왕불유행의 D, 우슬의 D, 익모초의 D, 인삼의 D, 지실의 M, D, 천궁의 M, D, 향부자

의 M, D, E, 현호색의 D 분획이었으며 Cyp 2E1에 대해  $IC_{50}$ 가 50  $\mu\text{g/ml}$  이하로 나타난 시료는 귀전우의 H, 대황의 M, D, B, 익모초의 M, E, 현호색의 M, D, E, B 분획이었다.

한방에서는 질병의 치료에 주로 부정거사법을 활용하고 있으며 암의 치료에 있어서는 부정거사 외에 활혈화어 방법이 주로 병용되고 있다. 본 연구에서 실험재료로 선정된 23종의 생약은 한방에서 활혈화어활성이 있는 것으로 알려진 약재들이다. Cyp 1A1/2, 2B1/2, 2E1은 주로 화학물질의 발암원 및 돌연변이원으로의 전환에 관련된 효소들로서 이들 생약의 메탄올 추출물 및 분획물들의 Cyp 효소 활성도에 대한 검토는 새로운 개념의 항암제 개발 또는 암 예방물질 탐색에 단초를 제공할 수 있는 의미있는 연구라 하겠다.

현재 Cyp 1A1/2, 2B1/2, 2E1에 대해  $IC_{50}$ 가 50  $\mu\text{g/ml}$  이하로 나타난 *Selaginella tamariscina*(권백), *Euonymus alatus*(귀전우), *Salvia miltiorhiza*(단삼), *Angelica acutiloba*(당귀), *Rheum palmatum*(대황), *Paeonia moutan*(목단), *Scutellaria barbata*(반지련), *Tribulus terrestris*(백질려), *Hedyotis diffusa*(백화사설초), *Curcuma zedoaria*(봉출), *Rehmania glutinosa*(생지황), *Trogopteris xanthipes*(오령지), *Melandyrum firmum*(왕불유행), *Achyranthes bidentata*(우슬), *Leonurus sibiricus*(익모초), *Panax ginseng*(인삼), *Paeonia lactiflora*(작약), *Poncirus trifoliata*(지실), *Cnidium officinale*(천궁), *Cyperus rotundus*(항부자), *Corydalis temata*(현호색)의 분획 가운데 Cyp 1A1/2, 2B1/2, 2E1을 동시에 저해하는 *Selaginella tamariscina*(권백), *Euonymus alatus*(귀전우), *Salvia miltiorhiza*(단삼), *Scutellaria barbata*(반지련), *Tribulus terrestris*(백질려), *Trogopteris xanthipes*(오령지), *Leonurus sibiricus*(익모초), *Poncirus trifoliata*(지실)을 중심으로 활성-유도 분획법(activity-oriented purification procedure)에 의한 활성 성분의 분리를 수행하고 있다.

## 결 론

*Selaginella tamariscina*(권백)을 비롯하여 한방에서 활혈화어활성이 있는 것으로 알려진 생약 23종을 엄선하여 메탄올 추출물을 조제하고 이어서 각각의 메탄올 추출물에 대하여 M(MeOH ext), D( $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  Frac.), E(EtOAc Frac.), B(*n*-BuOH Frac.), H( $\text{H}_2\text{O}$  Frac.)의 분획물을 조제하였다. 각 시료들에 대해 화학물질의 발암원 및 돌연변이원으로의 전환에 관련된 Cyp 1A1/2, 2B1/2, 2E1에 대한 활성을 검색한 결과 *Selaginella tamariscina*(권백)을 비롯한 십여종의 생약 재가 농도의존적으로 저해활성을 나타내었으며  $IC_{50}$ 가 50  $\mu\text{g/ml}$  이하로 나타났다.

## 사 사

본 연구는 보건복지부 한방치료기술연구개발사업(HMP-99-O-01-0003)의 지원으로 수행되었으며 이에 감사드립니다.

## 인용문헌

- Guengerich, F.P. (1987) Chapter 1. Enzymology of rat liver cytochrome P-450. In "Mammalian Cytochrome P-450" Vol. 1., by F.P. Guengerich, CRC Press, Florida, pp 1-54.
- Guengerich, F.P. (1988) Role of cytochrome P-450 enzymes in chemical carcinogenesis and cancer chemotherapy. *Cancer Res.* **48**: 2946-2954.
- Guengerich, F.P. (1989) Analysis and characterization of enzymes. In "Principles and Methods of Toxicology" Hayes, A.W. ed. Raven Press, New York, pp 779-813.
- Ioannides, C., Lum, P.Y., and Parke, D.V. (1984) Cytochrome P448 and the activation of toxic chemicals and carcinogens. *Xenobiotica* **14**: 119-137.
- Denison, M.S., Vella, L.M., and Okey, A.B. (1986) Structure and function of the Ah receptor for 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin. *J. Biol. Chem.* **261**: 3987-3996.
- Nelson, S.D., Mitchell, J.R., Timbrell, J.A., Snodgrass, W.R., and Corcoran, G.B. (1976) Isoniazid and iproniazid activation of metabolites to toxic intermediates in man and rat. *Science* **193**: 901-903.
- Lewis, J.G., Stewart, W., and Adams, D.O. (1988) Role of oxygen radicals in induction of DNA damage by metabolites of benzen. *Cancer Res.* **48**: 4762-4765
- Seeff, L.B., Cuccherini, B.A., Zimmerman, H.J., Alder, E., and Benjamin, S.B. (1986) Acetaminophen hepatotoxicity in alcoholics. *Ann. Intl. Med.* **104**: 399-404.
- Koop, D.R., Laethem, C.L., and Schnier, G.G. (1989) Identification of ethanol-inducible P450 isozyme 3a (P450 E1) as a benzene and phenol hydroxylase. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* **98**: 278-288.
- English, J.C., and Ander, M.W. (1985) Evidence for the metabolism of N-nitrosodimethylamine and carbon tetrachloride by a common isozyme of cytochrome P450. *Drug Metabol. Dispos.* **13**: 449-452.
- Klensler, T.W., Egner, P.A., Dolan, P.M., Groopman, J.D., and Roebuck, B.D. (1987) Mechanism of protection against Aflatoxin tumorigenicity in rats fed 5-(2-pyrazinyl)-4-methyl-1,2-dithiol-3-thione (oltipraz) and related 1,2-dithiol-3-thiones and 1,2-dithiol-3-ones. *Cancer Res.* **47**: 4271-4277.
- Lubet, R.A., Mayer, R.T., Cannon, J.W., Nims, R.W., Burke, M.D., Wolf, T., and Guengerich, F.P. (1985a) Dealkylation of pentoxyresorufin: A rapid and sensitive assay for measuring induction of cytochrome P450 by phenobarbital and other xenobiotics in the rat. *Arch. Biochem. Biophys.* **238**: 43-78.

13. Lubet, R.A., Nims, R.W., Mayer, T.C., and Schechman, L.M. (1985b) Measurement of cytochrome P450-dependent dealkylation of alkoxyphenoxazone in hepatic S9s and hepatocyte homogenates : Effect of dicumarol. *Mutation Res.* **142**: 127-131.
14. Sparmins, V.L., Barany, G., and Wattenberg, L.W. (1988) Effects of organosulfur compounds from garlic and onions on benzo(a)pyrene-induced neoplasia and glutathione S-transferase activity in the mouse. *Carcinogenesis.* **9**: 131-134.
15. Wattenberg, L.W., Sparmins, V.L., and Barany, G. (1989) Inhibition of N-nitrosodiethylamine carcinogenesis in mice by naturally occurring organosulfur compounds and monoterpenes. *Cancer Res.* **49**: 2689-2692.
16. Pan, J., Hong, J.-Y., Li, D., Schuetz, E.G., Guzelian, P.S., Huang, W., and Yang, C.S. (1993) Regulation of cytochrome P450B1/2 genes by diallyl sulfide, disulfiram, and other organosulfur compounds in primary cultures of rat hepatocytes. *Biochem. Pharmacol.* **45**: 2323-2329.
17. Wei, M., Tye, L., Bickers, D.R., and Brit, D.F. (1990) Inhibitory effect of apigenin, a plant flavonoid, on epidermal ornithine decarboxylase and skin tumor promotion in mice. *Cancer Res.* **50**: 499-502.
18. Wang, Z.Y., Cheng, S.J., Zhou, Z.C., Athar, M., Khan, W.A., Bickers, D.R., and Mukhtar, H. (1989a) Antimutagenic activity of green tea polyphenols. *Mutat. res.* **223**: 273-285.
19. Wang, Z.Y., Khan, W.A., Bickers, D.R., and Mukhtar, H. (1989b) Protection against polycyclic hydrocarbon-induced skin tumor initiation in mice by green tea polyphenols. *Carcinogenesis.* **10**: 411-415.
20. Sakai, Y., Nagas, H., Ose, Y., Sato, T., Yamada, A., Hibi, M., and Yamada, F. (1989) Antimutagenicity of extract from crude drugs in Chinese medicines. *Mutat. Res.* **174**: 1-5.
21. Mukhtar, H., Das, M., Khan, W.A., Wang, Z.Y., Bik, D.P., Bickers, D.R. (1988) Exceptional activity of tannic acid among naturally occurring plant phenols in protection against DMBA, BP, 3-Mc and N-methyl-N-nitrosourea-induced skin tumorigenesis in mice. *Cancer Res.* **48**: 2631-2635.
22. Burke, M.D., Thompson, S., Weaver, R.J., Wolf, C.R., and Mayer, R.T. (1994) Cytochrome P450 specificities of alkoxyresorufin O-dealkylation in human and rat liver. *Pharmacol.* **48**: 923-936.
23. Dicker, E., McHugh, T., and Cederbaum, A.I. (1990) Increased oxidation of p-nitrophenol and aniline by intact hepatocytes isolated from pyrazole-treated rats. *Biochem. Biophys. Acta.* **1035**: 249-256.
24. Lowry, O.H., Rosenbrough, N.J., Farr, A.L., and Randall, R.J. (1951) Protein measurement with the folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.* **193**: 265-275.

(2002년 1월 16일 접수)