

## 음나무 내피 추출물의 항돌연변이원성 및 세포독성 효과

김명조\*† · 김주성\* · 강원희\* · 연규동\*\*

\* 강원대학교 농업생명과학대학 식물응용과학부, \*\* 대영영농법인

### Antimutagenic and Cytotoxic Effects of Extracts of *Kalopanax pictus* NAKAI Endodermis

Myong Jo Kim\*†, Ju Sung Kim\*, Won Hee Kang\* and Kyu Dong Yeon\*\*

\* Division of Applied Plant Science, College of Agriculture and Life Science, Kangwon National University Chunchon, Korea

\*\* Dae Young Corporated Farming Association

**ABSTRACT :** This study was performed to determine the antimutagenic and cytotoxic effect of *Kalopanax cortex* endothelium. Methanol extract was used on *Salmonella typhimurium* TA98, TA100 and three cancer cell lines. In the Ames test, methanol extract of *Kalopanax cortex* endothelium alone did not exhibit any mutagenicity but showed substantial inhibitory effects against mutation induced by 4-nitroquinoline-1-oxide(4NQO), N'-methyl- N'-nitrosoguanidine(MNNG) and benzo(a)pyrene(B(a)P). The methanol extract of *Kalopanax cortex* endothelium showed approximately 79.29% and 75.38% inhibitory effect on the mutagenesis induced by 4NQO and B(a)P, respectively, against TA98 strain. Whereas 79.49%, 89.3% and 68.85% inhibitions were observed on the mutagenesis induced by 4NQO, MNNG and B(a)P against TA100 strain. Methanol extracts from *Kalopanax cortex* endothelium showed high antimutagenic effects against 4NQO, MNNG and B(a)P. The anticancer effects of methanol extract from *Kalopanax cortex* endothelium against human lung carcinoma(A549), human breast adenocarcinoma (MCF-7) and human hepatocellular carcinoma(Hep3B) were investigated. The treatment of 0.5mg/ml *Kalopanax cortex* endothelium methanol extracts had the highest cytotoxicity against A549(81.54%), followed by MCF-7(81.92%) and Hep3B (78.57%). In contrast 0.5mg/ml treatment of methanol extracts from *Kalopanax cortex* endothelium had only 4~25% cytotoxicity on normal human liver cell(293).

**Key words :** antimutagenic, MNNG, 4NQO, B(a)P, Trp-P-1, *Salmonella typhimurium*, cytotoxic

## 서 론

식품 및 영양물질이 암을 유발시키는 가장 큰 요인이라는 보고 뿐만 아니라 유전물질 손상에 의한 발암에 대하여 관심이 높아지고 있으며 이에 따른 암의 치료제 개발과 예방요법 등의 창출에 많은 연구가 진행되고 있다. 또한, 이미 개발된 합성 의약품들도 사용량이나 사용빈

도에 따라 체내에서 부작용이나 독성 등이 밝혀지고 있다(Rhew, 1985). 우리가 일상 생활에서 섭취하고 있는 식품 성분들은 기존항암제와는 달리 세포독성 및 유전독성이 거의 없기 때문에 인체에 안전하게 사용될 가능성 이 높아 우수한 치료제를 천연물로부터 개발하고자 하는 노력이 전세계적으로 이루어지고 있는 실정이다. 최근 국내 연구 활동이 여러 분야에서 활발하게 이루어지고

† Corresponding author (Phone) : Myong Jo Kim., 033-250-6410, E-mail : kimmjo@kangwon.ac.kr

Received May 10 2002 / Accepted May 31 2002

있으나, 특히 천연물과 전통 식품 및 한약제제를 대상으로 유용한 기능을 검색하려는 노력은 상당히 활목할 만한 성과를 보이고 있고 암을 비롯한 만성질환(chronic disease)에 대한 국민의 관심이 고조되고 있는 현 시점에서 식이 성분 또는 그 합성 유도체들에 의한 화학적 암 예방 연구가 상당히 활성화 될 것으로 기대된다(Suh, 1997).

두릅나무과에 속하는 음나무는 예로부터 한방에서 그 수피를 해동피(海桐皮 : *Kalopanaxis Cortex*), 근피를 해동수근(海桐樹根)이라 하여 가래, 기침, 신경통, 류마티스에 쓰이고, 특히 수피와 잎은 피부병, 궤양, 전염성 상처등의 치료에 약효가 있으며, 최근에는 면역활성, 항산화활성, 항염증작용, 강장작용 및 혈당강하 작용 등의 약리작용이 있는 것으로 보고되고 있다(朴, 1961; 申, 1973; 문 등, 1991; 김 등, 1998). 또한 초봄의 새순은 개두릅이라 하여 천연식품으로서 맛과 향기가 독특하여 기호도가 높은 산채로 이용되고 있다. 본 실험은 한방 및 민간에서 약용 및 식용으로 사용되고 있는 음나무 내피의 항돌연변이 및 항암 효과를 검색하기 위하여, 음나무 내피 메탄올 추출물 및 그 분획물을 제조하여 직접 및 간접 변이원에 대한 항돌연변이 효과와 함께 암세포 성장 억제 효과를 실험하고자 하였다.

## 재료 및 방법

### 시료의 추출 및 분획

음건한 음나무 내피 1kg을 MeOH로 일주일씩 침적시켜 3회 반복 냉침 추출하여 메탄올 추출물(217g)을 얻었다. 메탄올 추출물을 중류수에 혼탁시킨 후 n-hexane, EtOAc, BuOH 순으로 용매분획을 실시하였으며, 3회 반복하였다. 위에서 얻은 각 분획을 감압농축한 결과 핵산 분획, 에칠 아세테이트 분획, 부탄올 분획 및 물 분획물을 각각 42.7g, 20.3g, 65.6g, 140.7g씩 얻을 수 있었다.

### 돌연변이 유발원

직접 돌연변이원인 4-nitroquinoline-1-oxide(4NQO), N'-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine(MNNG)는 Sigma사(USA)로부터 구입하였고, 간접 돌연변이원인 benzo(a)pyrene(B(a)P) 그리고 기타시약은 일본 和光純藥 특급시약을 구입하였다. 이를 변이원 물질은 DMSO(Aldrich chemical Co., USA)에 녹여 실험에 사용하였다.

### 세포주 배양

본 실험에 이용된 세포주는 폐암 세포주인 A549(lung carcinoma, human), 유방암 세포주인 MCF-

7(breast adenocarcinoma, human), 간암 세포주인 Hep3B (hepatocellular carcinoma, human), 정상세포로는 간세포주인 293(human embryo liver)을 Korea Cell Line Bank (KCLB)로부터 구입하여 실험실에서 배양하면서 사용하였다. A549, MCF-7세포주는 RPMI(Gibco; Grand Island, NY) Medium 1640 복합배지(1 l 당 RPMI 1pack, NaHCO<sub>3</sub> 2g, Hepes 2g, gentamycin sulfate 0.057g, serum 10%(v/v), pH 7.0~7.2)를, Hep3B 세포주는 DMEM(Dulbecco's Modified Eagle Medium, 1 l 당 DMEM1pack, NaHCO<sub>3</sub> 2g, Hepes 2g, gentamycin sulfate 0.057g, serum 10%(v/v), pH 7.0~7.2)를, 그리고 293 세포주는 MEM(Minimum Essential Medium, 1 l 당 RPMI 1pack, NaHCO<sub>3</sub> 2g, Hepes 2g, gentamycin sulfate 0.057g, serum 10%(v/v), pH 7.0~7.2)를 이용하여 10% fetal bovine serum(Intergen, Purchase, NY)을 첨가하여 95%, 37 °C, 5% CO<sub>2</sub>에 적응시켜 각각 배양(24시간마다 교환)시켰다.

### 생리활성 실험

#### 1) Ames mutagenicity test

돌연변이원성 실험에 사용한 *Salmonella typhimurium*의 histidine 영양 요구성 변이주는 TA98, TA100의 두 종류를 이용하여 Ames test를 개량한 preincubation Mutagenicity test(Matsushima et al, 1980)를 이용하였다. 음나무 내피 추출물 및 분획물을 미리 진열 멸균시킨 glass cap tube에 각각 50μl씩 가하고 여기에 미리 TA culture배지(Difco nutrient broth 0.8g+NaCl 0.5g+중류수 100ml)에서 하룻밤 배양된 균주 100μl를 가한다음 0.2M sodium phosphate buffer(pH 7.4)로 전체량이 700μl가 되도록 하였다. 이것을 37 °C에서 30분간 예비 배양하였다. Histidine/biotin이 첨가된 45 °C의 top agar를 2ml씩 각 tube에 붓고 3초간 vortex하고 minimal glucose agar plate상에 도말하고 평판 고화시켜 37 °C에서 48시간 배양하여 생긴 복귀 돌연변이(his<sup>r</sup> revertant colony)수를 측정하여 돌연변이원성의 유무를 판정하였다.

항돌연변이 실험에 사용된 발암물질은 MNNG, 4NQO 및 B(a)P을 사용하였다. 미리 진열 멸균시킨 glass cap tube에 염나무 내피 추출물 및 분획물을 각각 50μl 첨가한 다음 대사 활성물질이 필요한 경우에는 본 실험실에서 제조한 S-9 mix(MgCl<sub>2</sub>-KCl salts 0.2ml, 0.2M phosphate buffer, pH 7.4 5ml, 0.1M NADP 0.4ml, 1M glucose-6-phosphate 0.05ml, Rat liver S-9 fraction 1ml, Sterile distilled water 3.35ml)를 250μl씩

각각 첨가하였다. 여기에 하룻밤 배양된 균주를  $100\mu\text{l}$ 씩 주입한 후, 0.2M sodium phosphate buffer(pH 7.4)로 전체량이  $700\mu\text{l}$ 가 되도록 하였다. 이것을 20분간 preincubation한 다음 histidine/biotin이 첨가된  $45^\circ\text{C}$ 의 top agar를  $2\text{ml}$ 씩 각 tube에 붓고 3초간 vortex하고 minimal glucose agar plate상에 도말하고 평판 고화시켜  $37^\circ\text{C}$ 에서 48시간 배양하여 생긴 복귀 돌연변이(hist revertant colony)수를 측정하여 돌연변이원성의 유무를 판정하였다. 돌연변이 억제효과의 정도(Inhibition rate)는 아래의 식에 의하였다.

$$\text{Inhibition rate}(\%) = 100 \times \{(a-b)/(a-c)\}$$

여기서 a는 돌연변이원에 의해 유도된 복귀돌연변이의 수, b는 시료를 처리하였을 때의 복귀돌연변이의 수이며, c는 돌연변이원과 시료가 없을 경우의 자연복귀돌연변이의 수이다.

실험에 사용된 음나무 내피 추출물 및 분획물과 돌연변이 유발물질의 농도는 예비실험(Maron & Ames, 1983) (dose response 및 독성검사)을 통하여 결정하였다.

## 2) SRB assay

SRB(Sulfo Rhodamine B) 분석법(Martin & Martin, 1997)은 세포 단백질 염색을 이용하여 세포 증식이나 독성을 측정하는 방법으로  $10\%$  fetal bovine serum 및 각각의 암세포주(A549, Hep3B, MCF-7)를 함유하는 RPMI 1640과 DMEM 배지를  $5 \times 10^4 \text{ cells/ml}$  농도로  $100\mu\text{l}$ 씩 각 well에 첨가한다. 24시간 동안 배양( $37^\circ\text{C}$ ,  $5\% \text{ CO}_2$ )시킨 후, 0.2M 이하의 DMSO로 녹인 시료를  $0.125$ ,  $0.25$ ,  $0.375$ ,  $0.5\text{mg/ml}$ 의 농도로  $100\mu\text{l}$ 씩 첨가하여 48시간 동안 다시 배양하였다. 그 후 상동액을 aspirator로 조심스럽게 제거하고 냉장 보관한  $10\%(w/v)$  trichloroacetic acid(TCA)를  $100\mu\text{l}$ 씩 첨가한 후 1시간 동안  $4^\circ\text{C}$ 에서 방치한 후 중류수로 수회 헹구었다. 실온에서 건조 시킨 후  $1\%(v/v)$  acetic acid에 녹인  $0.4\%(w/v)$  SRB 용액  $100\mu\text{l}$ 를 첨가해 30분 동안 염색 시켰다. 세포와 결합되지 않은 SRB 염색액은  $1\%(v/v)$  acetic acid 용액으로 수회 헹군 다음, 다시 건조 시킨 후  $10\text{mM}$  Tris buffer(pH 10.5)  $100\mu\text{l}$ 로 세포와 결합되어 있는 염색제를 충분히 녹인 후  $540\text{nm}$ 에서 흡광도를 측정하였다.

## 통계분석

실험에서 측정된 결과는 실험군당 평균(mean)과 표준 편차(SEM)로 나타냈으며, 이들 데이터들은 SAS (Statistical Analysis System) program을 이용하여 분산분석을 한 후 Student's test 와 Duncan's multiple range

test로서 분석하였다.

## 결과 및 고찰

### 1) 음나무 내피 추출물들의 돌연변이 유발 억제 효과

#### 메탄올 추출물의 효과

본 실험에 사용된 Ames 검사법을 위한 균주는 *S. typhimurium* TA98과 TA100이며, preincubation test법에 준하였다. *S. typhimurium* 계통 중 TA98은 frame shift형의 병이원성을, TA100은 base-pair substitution형 변이원을 검출하는데 이용되는 균주이다. 각 균주에 대하여 음나무 내피 추출물들이 독성을 나타내지 않는 범위에서 직접 돌연변이원(MNNG, 4NQO)과 간접 돌연변이원(B(a)P)에 대하여 실험을 실시하였다.

Ames test 결과 음성대조군의 복귀 돌연변이 집락수는 TA98이  $13 \pm 3$ , TA100은  $192 \pm 8$ 이었다. 각 시료 자체의 돌연변이원성을 실험한 결과, 집락수가 음성 대조군에 비하여 농도 의존성을 나타내지 않으므로 돌연변이원성을 나타내지 않는 것으로 판단되었다.

Fig. 1은 음나무 내피를 먼저 메탄올로 추출한 후, 돌연변이원을 달리하여 Ames mutagenicity test로서 추출물의 농도 증가에 따른 돌연변이 유발 억제효과를 실험한 결과이다. 음나무 내피 추출물의 메탄올 추출물은 활성화를 위해 S9 mix를 필요로 하는 B(a)P( $10\mu\text{g}/\text{plate}$ )에 대해  $75\mu\text{g}/\text{plate}$ 의 농도까지는 유의적으로 돌연변이 유발 억제 효과를 나타내나 그 이후로는 감소함을 보였으며, 대체적으로 TA98에서 더 강한 돌연변이 억제 효과를 보였다. 활성화를 필요로 하지 않는 직접 돌연변이원인 MNNG( $0.4\mu\text{g}/\text{plate}$ )와 4NQO( $0.15\mu\text{g}/\text{plate}$ )에 대해서

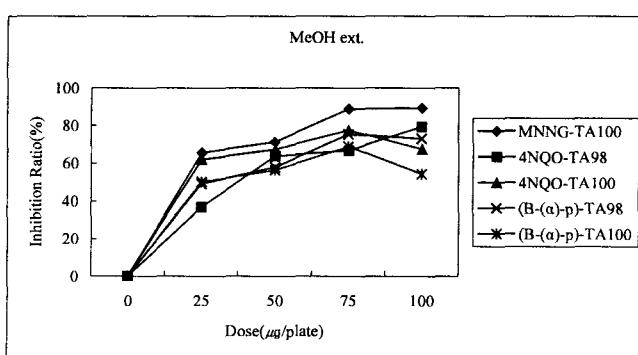


Fig. 1. Inhibitory effects of methanol extract from *Kalopanax cortex* endothelium on mutagenicities of MNNG( $0.4\mu\text{g}/\text{plate}$ ), 4NQO( $0.15\mu\text{g}/\text{plate}$ ) and B(a)P( $10\mu\text{g}/\text{plate}$ ) in *Salmonella typhimurium* TA98 and TA100.

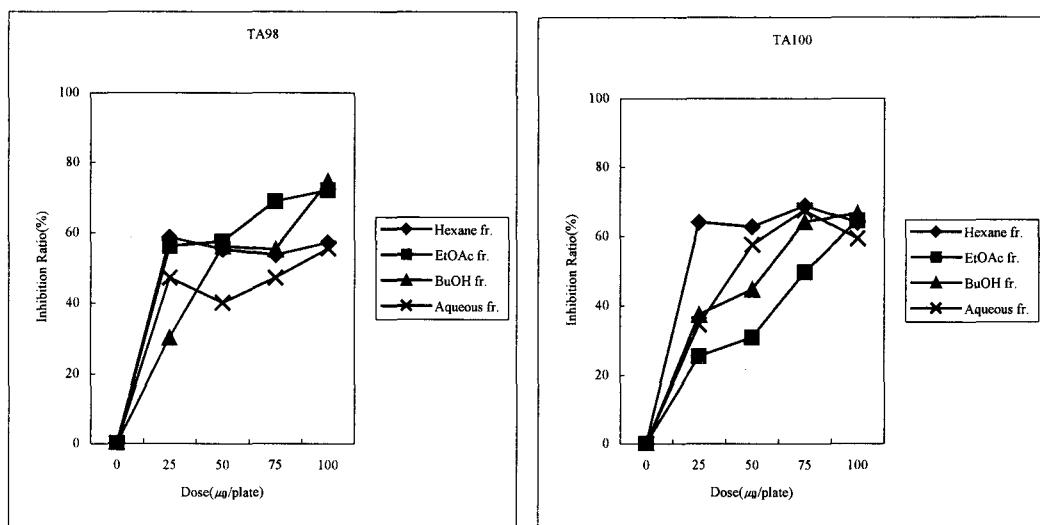


Fig. 4. The antimutagenic effects of each fraction of *Kalopanax cortex* endothelium extract against B(a)P (10 μg/plate) on *Salmonella typhimurium* TA98 and TA100.

추출하였으나 메탄을보다는 낮은 억제효과를 보였다. 그러나 어떠한 분획에서도 낮은 활성을 보이지 않는 것으로 보아 아마도 여러 성분들에 의한 상승효과로 사료된다.

## 2) 음나무 내피 추출물들의 암세포 성장 저해효과

암세포주(A549, Hep3B, MCF-7)에 대한 음나무 내피 추출물의 암세포 성장 저해효과를 알아보기 위하여 실험한 결과 Table 1과 같이 나타났다. 폐암 세포주인 A549에서는 핵산 분획물(1000 μg/ml)이 81.54%로 가장 높은 억제효과를 나타내었으며, 간암 세포주인 Hep3B, 유방암 세포주인 MCF-7에서도 핵산 분획물(1000 μg/ml)에서 각각 78.57, 81.92%로 가장 높은 억제효과를 보였다. 뿐만 아니라 에칠팔미토이트 분획물(78.08, 76.84%)에서도 우수한 성장 저해효과를 나타냈다. 핵산 및 에칠팔미토이트 분획물에서 우수한 것으로 보아 수용성 성분보다는 폐활성 저분자 화합물이 암세포 성장 저해효과를 나타내는 것으로 사료되며 핵산 분획물만이 시료의 농도가 증가함에 따라 억제효과가 증가하는 것으로 나타났을 뿐 다른 시료에서는 암세포의 성장을 저해 및 죽진시키는 현상을 보이기도 했다. 이러한 현상은 한동(Han et al, 2000)이나 정등(Chung et al, 1997)의 연구 결과에서도 나타나며, 특히 김등(Kim et al, 1999)의 결과에서는 농도가 증가함에 따라 억제효과가 감소하는 현상을 나타내게도 하였다. Fig. 5는 정상 간세포주인 293에 대하여 시료농도에 따른 세포 독성효과를 나타낸 것으로 1000 μg/ml 시료 첨가시 암세포주에 대하여 대부분 50% 전후의 억제율을 보이는데 반해 293세포에 대해서는 25% 이하의 생육 억제율을 보였다. 이는 암세포

Table 1. Growth inhibitory effects of *Kalopanax cortex* endothelium extract and fractations against the human cancer cell lines by SRB assay(unit : %†).

<i>K. cortex</i>	Dose (mg/ml)	A549	Hep3B	MCF-7
MeOH ex.	0.125	11.57±0.08 <sup>†</sup>	49.04±0.05	28.95±0.04
	0.25	43.45±0.12	36.09±0.09	37.72±0.10
	0.375	40.63±0.02	42.82±0.07	51.21±0.02
	0.5	47.47±0.02	48.50±0.01	57.50±0.07
Hexane fr.	0.125	17.88±0.05	29.55±0.02	28.90±0.02
	0.25	56.45±0.03	54.34±0.07	58.41±0.06
	0.375	79.96±0.07	78.08±0.01	72.34±0.08
	0.5	81.54±0.06	78.57±0.10	81.92±0.09
EtOAc fr.	0.125	29.21±0.09	53.97±0.08	28.21±0.02
	0.25	44.98±0.01	70.13±0.17	56.88±0.04
	0.375	54.76±0.02	78.08±0.01	76.84±0.01
	0.5	72.79±0.05	71.03±0.03	73.57±0.0
BuOH fr.	0.125	28.11±0.12	29.95±0.11	33.00±0.01
	0.25	30.21±0.17	36.38±0.06	35.80±0.05
	0.375	41.30±0.08	35.71±0.12	41.57±0.02
	0.5	46.85±0.04	46.91±0.04	64.81±0.06
Aqueous fr.	0.125	50.46±0.19	15.32±0.06	29.60±0.05
	0.25	53.14±0.13	32.61±0.05	29.32±0.02
	0.375	56.67±0.15	34.56±0.10	30.32±0.03
	0.5	60.18±0.12	27.36±0.01	30.99±0.03

† % = (OD<sub>540</sub> of positive control - OD<sub>540</sub> of sample) / OD<sub>540</sub> of positive control × 100.

\* Mean value ± SD (n=3)

는 4NQO-TA100을 제외하고는 추출물의 농도가 증가함에 따라 항돌연변이 효과가 증가하여 89.3%의 높은 돌연변이 유발 억제 효과를 보였다.

#### 메탄을 추출물에서 분획한 분획물의 효과

돌연변이 유발 억제효과를 나타내는 음나무 내피 추출물들의 특성을 자세히 조사하고자 용매의 극성을 이용한 용매 분획을 실시하여 핵산, 에칠아세테이트, 부탄을 그리고 물분획물로 세분화 하였다. 그 결과는 Fig. 2~4에 나타내었다. MNNG(0.4 $\mu\text{g}/\text{plate}$ )의 경우 *S. typhimurium* TA100 균주에서 시료농도 100 $\mu\text{g}/\text{plate}$ 에서 핵산 분획물이 75.53%의 억제효과가 나타났으며, 부탄을 분획물에서도 72.68%의 억제효과를 보였으나 메탄을 추출물 보다는 효과가 낮았다(Fig. 2). 4NQO(0.15 $\mu\text{g}/\text{plate}$ )에 대한 *S. typhimurium* TA98과 TA100 균주 실험 결과는 다음과 같았다. *S. typhimurium* TA98 균주에서 시료농도 100 $\mu\text{g}/\text{plate}$ 에서는 모든 분획물에서 60% 이상의 억제효과를 나타냈으며, 에칠아세테이트 및 물분획물에서 74.21, 73.5%의 높은 억제효과를 나타내었지만 이 또한 메탄을 추출물보다는 효과가 낮았다. *S. typhimurium* TA100 균주의 경우에는 물 분획물을 제외한 모든 분획물에서 70% 이상의 억제효과를 보였다. 특히 핵산 분획물에서 79.49%로 가장 높은 억제효과를 나타냈으며, 에칠아세테이트 및 부탄을 분획물도 78.93, 79.34%의 높은 억제효과를 나타내었다(Fig. 3). Microsomal enzyme의 대사활성에 의해서만 돌연변이원성을 나타내는 간접변이원으로서 실제로 식품을 통해 흡수될 수 있는 polycyclic aromatic hydrocarbon인 B(a)P

를 사용하여 실험을 수행하였다. B(a)P(10 $\mu\text{g}/\text{plate}$ )에서 *S. typhimurium* TA98 균주에서는 시료 농도 100 $\mu\text{g}/\text{plate}$ 에서 부탄을 분획물이 74.53%의 억제효과를 나타냈으며, *S. typhimurium* TA100 균주에서는 시료 농도 75 $\mu\text{g}/\text{plate}$ 에서 핵산 분획물이 68.79%의 억제효과를 보였으나, 메탄을 추출물 보다는 낮은 억제효과를 보였다(Fig. 4). 또한 이 실험에서는 시료의 농도 증가에 따른 항돌연변이 유발 억제효과가 증가하는 것으로 나타났으나 부분적으로는 억제와 촉진 작용이 나타나기도 하였다. 이러한 현상은 문등(Moon & Park, 1995)의 연구 결과에서도 나타나는 것을 확인하였다.

음나무 항돌연변이 효과에서 메탄을 추출물이 항돌연변이 유발 억제효과가 매우 우수하였으므로, 효과가 우수한 부분을 분획하기 위하여 극성이 다른 용매들로

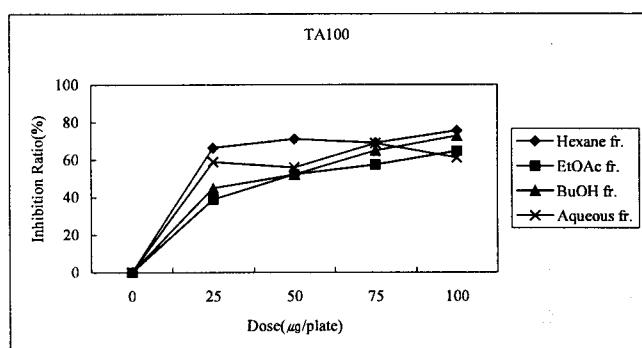


Fig. 2. The antimutagenic effects of each fraction of *Kalopanax cortex* endothelium extract against MNNG(0.4 $\mu\text{g}/\text{plate}$ ) on *Salmonella typhimurium* TA100.

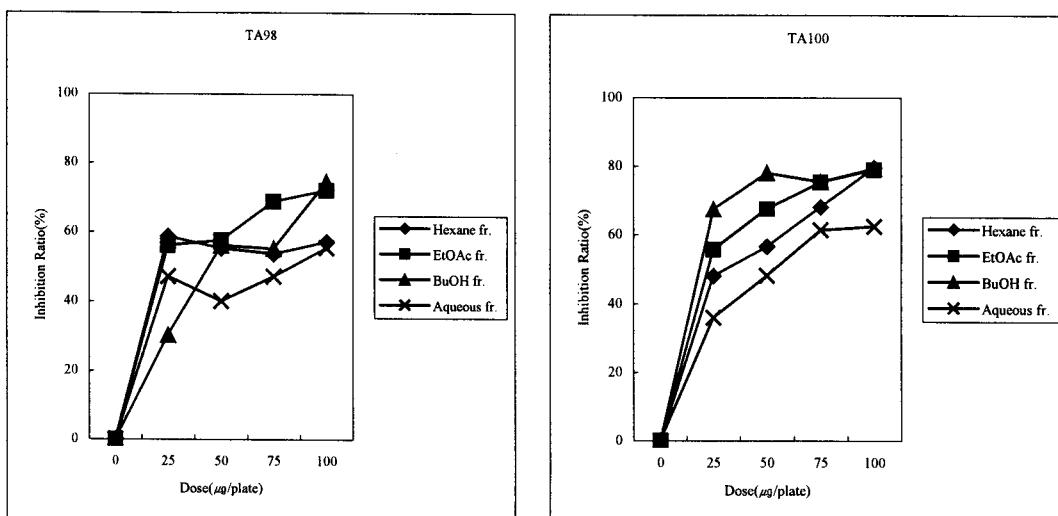


Fig. 3. The antimutagenic effects of each fraction of *Kalopanax cortex* endothelium extract against 4NQO(0.15 $\mu\text{g}/\text{plate}$ ) on *Salmonella typhimurium* TA98 and TA100.

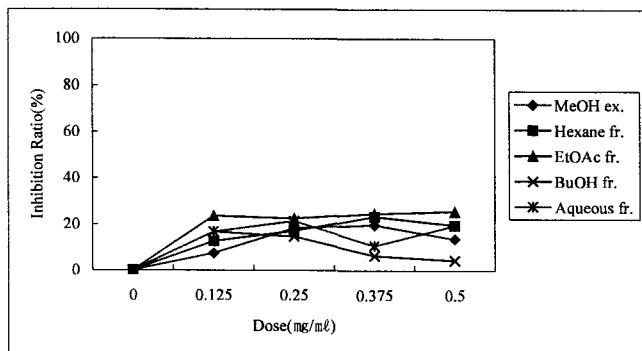


Fig. 5. Growth inhibitory effects of each fraction of *Kalopanax cortex* endothelium extract on human embryo liver (293).

에 대한 높은 억제효과에 비해 정상세포에 대해서는 비교적 낮은 독성효과를 나타냄을 알 수 있었다.

이상에서 살펴본 것과 같이 음나무 내피 추출물의 항돌연변이 및 암세포 성장 저해효과 실험에서 보면 항돌연변이 실험에서는 메탄올 추출물이 가장 우수하였으며, 다른 분획물에서도 우수하게 나타났다. 암세포 성장 저해실험에서는 핵산 분획물이 가장 우수하였으며 에칠아세테이트 분획물도 우수하였다. 이것으로 보아 핵산에 잘 용해되는 폐놀성 성분들의 작용이 더 클것으로 추측되어지나 다른 분획에서도 효과가 있었으므로 여러 성분들의 상승작용으로 사료된다.

현재 활성이 높게 나타난 분획물들을 대상으로 화합물을 분리하여 화학적으로 구조해석을 실시 중에 있으며 이러한 결과를 바탕으로 신기능성 식품, 의약품 등의 소재로 활용이 기대된다.

## 적  요

본 실험은 돌연변이원성 억제작용을 검토하기 위하여 Ames test에서 양성반응을 나타내며, 물질 그 자체로서 돌연변이를 유발하는 직접 변이원물질로 MNNG와 4NQO 그리고 대사활성을 필요로 하는 간접 변이원 물질인 B(a)P를 사용하여 각각의 농도에 따른 돌연변이원성 억제효과를 검토하였다.

그 결과 직접 변이원으로 사용된 MNNG(0.4 $\mu$ g/plate)의 경우 *S. typhimurium* TA100 균주에서 시료농도 100 $\mu$ g/plate에서 메탄올 추출물이 89.3%로 가장 높은 억제효과가 나타났다. 또한, 핵산, 부탄올 분획물에서도 각각 75.53, 72.68%로 높은 억제효과를 보였다. 4NQO(0.15 $\mu$ g/plate)에 대한 *S. typhimurium* TA98 균주에서 시료농도 100 $\mu$ g/plate에서 메탄올 추출물이 79.

29%로 가장 높은 억제효과를 나타냈으며, TA100 균주의 경우에서는 핵산 분획물에서 79.49%로 가장 높은 억제효과를 나타내었다. 또한, B(a)P(10 $\mu$ g/plate)에서는 TA98, TA100 두 균주에서 모두, 75 $\mu$ g/plate의 시료농도에서 메탄올 추출물이 75.38, 68.85%로 가장 높은 억제효과를 보였다.

암세포주(A549, Hep3B, MCF-7)에 대한 음나무 내피 추출물의 세포독성을 알아보기 위하여 실험한 결과 폐암 세포주인 A549에서는 핵산 분획물(1000 $\mu$ g/ml)이 81.54%로 가장 높은 억제효과를 나타내었으며, 간암 세포주인 Hep3B에서도 핵산 분획물(1000 $\mu$ g/ml)이 78.57%로 가장 높은 억제효과를 나타냈다. 유방암 세포주인 MCF-7에서도 핵산 분획물(1000 $\mu$ g/ml)이 81.92%로 가장 높은 억제효과를 보였으며, 에칠아세테이트 분획물에서도 우수한 성장 저해효과를 나타냈다. 정상 간세포주인 293에 대한 시료농도에 따른 세포독성 효과를 보면 1000 $\mu$ g/ml 시료 첨가시 암세포주에 대하여 대부분 50% 이상의 억제율을 보이는데 반해 293세포에 대해서는 25% 이하의 성장 저해효과를 보였다. 이는 암세포주에 대한 높은 억제효과에 비해 정상 세포주에 대해서는 비교적 낮은 독성효과를 나타냄을 알 수 있었다.

## LITERATURE CITED

- Chung KS, Yoon KD, Kwon DJ, Hong SS, Choi SY (1997) Cytotoxicity Testing of Fermented Soybean Products with Various Tumour Cells using MTT Assay. Kor J Appl Microbiol Biotechnol 25(5) : 477-482.
- Han EJ, Roh SB, Bae SJ (2000) Cytotoxicity of *Daucus carota* L. on Various Cancer Cells. J Korean Soc Food Nutr 29(1) : 153-160.
- Kim HJ, Lee IS, Lee KR (1999) Antimutagenic and Anticancer Effects of *Ramaria* (Fr.) Rick Extracts. J Korean Soc Food Nutr 28(6) : 1321-1325.
- Maron DM, Ames BN (1983) Revised methods for the *Salmonella* mutagenicity test. Mutation Res 113 : 173~215.
- Martin A, Martin C (1997) Comparision of 5 microplate colorimetric assay for *in vitro* cytotoxicity testing and cell proliferation assays. Cytotechnology 11 : 49-54.
- Matsushima T, Sugimura T, Nagao M, Yahagi T, Shirai A, Sawamura M (1980) Factors modulating/ mutagenicity in microbial test. In Norphth. K.H. and Garner, R.C.(eds.), Short-terms for detecting carcinogens. Springer, Berlin. p. 273-285.
- Moon SH, Park KY (1995) Antimutagenic Effects of Boiled Water Extract and Tannin from Persimmon Leaves. J Korean Soc Food Nutr 24(6) : 880-886.
- Rhew TH (1985) Food, nutrition and cancer. J Korean Soc Food Nutr 14 : 305-313.

- SAS (1988) SAS USER' guide; Statistics. Ver. 6.03 Ed. SAS Institute Inc. Cary.
- Suh YJ (1997) Cancer chemoprevention by food. Food Science and Industry 30 : 59-63.
- 김영희, 김종평, 윤봉식, 문선식, 유익동 (1998) 염나무 유래 신규 항산화물질. 천연항암자원에 관한 국제학술회의 논문집. 한국 약용작물학회 11(2) : 89-109.
- 문관심 (1991) 약초의 성분과 이용. 일월서각. pp. 419.
- 朴基興 (1961) 藥用植物學各論. 東明社. pp. 207.
- 申佶求 (1973) 申氏本草學. 壽文社. pp. 209.