

대두배아 사포닌의 유리기 생성 억제 및 세포독성

류병호[†] · 이홍수* · 김현대*

경성대학교 응용공학부 식품공학과

*동부산대학 호텔외식조리과

Free Radical Scavenging and Cytotoxicity Activities of Soybean Germ Saponin

Beung-Ho Ryu[†], Hong-Su Lee* and Hyun-Dae Kim*

Dept. of Food Science and Biotechnology, Kyungsoong University, Busan 706-608

*Dept. of Hotel Restaurant Cooking, Dong Pusan College, Busan, 612-705, Korea

Abstract

This study was carried out to investigate functional activities of the free radical scavenging and germ of *Glycin max.* Merrill for cytotoxicity toward P338 and L1210 cells derived from mouse.

Effect of crude saponin were examined to oxygen radicals and their scavenger enzymes in liver fractions of Sprague-Dawley(SD) rats. Male rats were fed basic diets of control and experiment diets of 0.5~1.0% crude saponin. There were no significant differences in hydroxy radical(\cdot OH) formation of liver mitochondria and microsomes in 1.0% group, while \cdot OH formations were significantly decrease in 0.5% and 1.0% saponin compared with control group. Their oxygen radical($O_2^{\cdot-}$) scavenging activities were significantly decrease in liver cytosol of 0.5% and 1.0% saponin group compared with control group. Soybean germ saponin was isolated purified by the method of HPLC to investigate the cytotoxicity of mouse cells by using the MTT assay. SA-1 saponin fraction of soybean germ showed to inhibit toward growth cell of P338 and L1210 cells and its showed less than 50% cytotoxicity. These results suggest that the saponin may play a effective role in attenuating a oxygen radical formations and increasing a scavenger enzyme activities.

Key words : soybean germ saponin, free radical scavenging, cytotoxicity.

서 론

대두는 우리나라 또는 중국이 원산지로서 곡류 위주의 식생활을 하는 우리나라 사람들에게 주요한 단백질 공급원중 하나이다.

대두는 두부, 두유, 간장류, 콩나물 등의 가공형태로 즐겨먹고 있는 영양식품으로 양질의 단백질, 지방과 각종 비타민이 들어 있다. 또한 함유된 각종 성분은 항혈전효과, 항산화효과, 고혈압 예방효과 및 항암효과 등 각종 생리활성이 보고되었다¹⁾. 이러한 영양성분 이외의 새로운 가능성을 갖는 성분들이 밝혀지고

있는데²⁾ 대두의 isoflavone은 부위에 따라 함량 차이가 있으며 배아에 약 2%가 함유되어 있어 자엽부에 비하여 그 함량이 많다³⁾. 그 중에서도 isoflavone인 genistein은 동물실험³⁾과 역학조사⁴⁾에 의하면 암을 억제하는 효과가 우수하며 전립선암과 유방암에 효과가 있다고 알려져 있다⁵⁾. Genistein의 항암효과 메카니즘은 superoxide anion의 형성을 억제하고 tumor promoter인 hydrogen peroxide를 소거하여 항산화 작용으로 암을 억제한다고 하였다⁶⁾.

In vitro 실험에서 isoflavone이 유암 및 위암 등의 배양세포의 증식 억제작용이 보고되었고, 역학조사에

[†] Corresponding author : Beung-Ho Ryu

의하면 일본인의 c혈장 중의 대두 isoflavone의 함량이 필란드인보다 대단히 높아 일본인의 전립선암과 유방암 사망율의 저하의 요인이라고 알려져 있다⁴⁾. 그리고 genistein은 여성 호르몬인 estrogen과 유사한 작용을 하기 때문에 phytoestrogen으로 불리기도 하며 여성의 폐경기에 estrogen의 결핍으로 인한 골다공증의 예방에도 효과가 높은 것으로 보고되었다⁷⁾.

한편 대두의 saponin은 체내에서의 과산화지질의 생성을 방지하고 지질대사에 관여하여 노화, 비만방지에 효과가 있고 신기능성 활성이 활발한 것으로 알려져 있다. 이 saponin은 soyasaponin I, II, III, A₁, A₂ 등 5종류로 구성되어 있는데 마우스와 랫드를 사용한 독성 실험 결과 무독성으로 용혈작용에 관여하는 것으로 보고하였다⁸⁻¹⁰⁾.

대두 중에는 group A saponin에는 Aa, Ab, Ac, Ad, Ae, Af 및 Ag의 7종류가 알려져 있다^{9,11)}. 이 구조는 aglycone의 C-3와 C-22의 위치에 당쇄가 붙은 saponin으로 acetyl기로서 포화된 C-22의 말단의 당이 xylose (Aa)와 glucose(Ab)로 구성되어 있다. 대두의 saponin은 고 지혈증^{12,13)}, 항산화작용^{14,15)} 및 항암작용 등이 보고되고 있다¹⁶⁾. 특히 대두 배아(大豆 胚芽)에 유용성분인 saponin의 함량이 대두에 비하여 월등히 높은 것으로 알려져 있다.

본 연구에 사용된 대두 배아는 대두에 물을 뿌려 일정한 습도를 유지하면서 3~5일간 방치하여 발아시키면 배아가 형성되는데 이를 건조하여 제품으로 하였다. 대두의 종자 부위별 배당체의 함량은 종피(種皮), 자엽(子葉) 및 배아(胚芽)의 경우 각각 0.20%, 0.90% 및 6.33%로 배아의 높은 함량을 나타내고 있으며, isoflavone의 함량은 배아는 1.77%로 종피 0.12%와 자엽 0.61%에 비해 그 함량이 높다. 그리고 saponin의 경우에도 종피 0.03%와 자엽 0.26%가 들어 있으나 배아는 2.78%로 훨씬 높은 함량을 차지하고 있다^{16,17)}.

본 연구는 대두의 영양 성분이 농축된 것으로 알려진 대두 배아를 사용하여 생리활성이 우수한 성분으로 알려진 사포닌을 분리·정제하고 기능성 식품으로 개발하고자 한다.

재료 및 방법

1. 재료

본 연구에 사용된 대두 배아(*Glycine max* Merrill)는 경남 김해시 진영읍 소재 신광식품산업사로부터 건조 대두 배아를 공급받아 사용하였다.

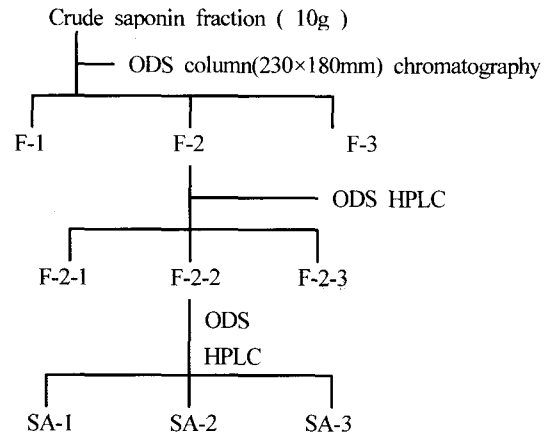


Fig. 1. Isolation procedure of saponin from soybean germ.

2. 대두배아로부터 사포닌의 분리정제

조사포닌 획분을 Shimoyamada 등의 방법¹⁸⁾에 따라 정제하였다. 조사포닌은 ODS column chromatography(YMC GEL ODS-A; 230×18mm, i.d)에 methanol : water(60 : 40 v/v)로 평형시킨 다음 methanol : water (50 : 50 v/v)로 용리시키고 이들 획분을 농축하여 활성을 측정하였다(Fig. 1).

3. TLC에 의한 사포닌의 확인

TLC plate는 Kieselgel 60F-254(Merck Co.)을 사용하여 전개용매는 chloroform : methanol : water(7 : 3 : 1 v/v/v)로 전개시킨 후 건조한 다음 0.1% sulfuric acid와 Ehrlich's 시액용액으로 분무하여 확인하였다¹⁹⁾.

4. HPLC에 의한 사포닌의 분획

HPLC는 water 510 pump(Rheodyne model 7125)은 YMC Pack ODS AM-303(5 μm, 250×4.6mm, i.d)와 YMC Pack ODS-AM-32-7(7 μm, 250×10mm, id)을 사용하였고, Detector는 Hitachi Variable Wavelength UV monitor(210nm)로 분석하였다²⁰⁾.

5. 유리기의 억제 효과

1) 실험동물 및 사육조건

Sprague Dawley (SD)계 흰쥐(male rate: 160±10g)를 2주간 예비 사육한 다음, 그룹당 8마리씩 3개의 대두 배아 사포닌의 활성을 측정하였다. 사육 및 실험조건은 매일 오후 18:00에 체중의 측정과 함께 칭량된 사료를 제공하고 다음 날 사료 잔량을 칭량하여 사료 섭취량을 계산하였다. 동물사육실은 자동 조절(22±2℃ :

65±2% RH)되고, 명암은 12시간 사이클(18:00~06:00)로 자동 조절된다.

2) 실험용 사료조성

본 실험에 사용한 기본사료(control group)의 조성은 탄수화물 59.5%(corn starch 44.5%/sucrose 15.0%), 단백질 18.0%(sodium-free casein), 지질 15.0%(lard)로 하였고, 여기에 셀룰로오스(3.0%), 비타민 및 무기질 혼합물을 각각 1.0% 및 3.5%로 첨가, 혼합하여 조제하였다.

그리고 실험 그룹으로서 0.5% 및 1.0% 균의 시료조성은 기본사료의 조성에서 대두 배아 사포닌을 각각 0.5% 및 1.0%를 첨가하는 대신 탄수화물 중의 corn starch를 각각 0.5% 및 1.0%만큼 줄여서 조제하였다.

3) 세포의 분획

간장 세포의 분획은 HEPES완충용액(10mM HEPES, 10mM KCl, 280mM sucrose, pH 7.4)을 사용하여 미토콘드리아, 마이크로솜 및 시토솔 획분으로 분획하여 사용하였다. 이들 획분의 단백질의 함량은 Lowry 등의 방법²¹⁾에 따라 측정하였다.

4) 히드록시 라디칼(\cdot OH)의 함량

Deoxyribose의 파괴 정도로 hydroxyl radical 생성 정도를 측정하였다. 간장획분의 반응성 산소 대사물에 의해 deoxyribose가 파괴되어 aldehyde가 생성되며 이 aldehyde는 산성용액에서 thiobarbituric acid와 반응하여 발색되는 것을 이용한 Halliwell 등의 방법²²⁾에 따라 측정하였다.

5) 과산화수소(H_2O_2)의 함량

과산화수소(hydrogen peroxide)의 생성량은 Thurman 등²³⁾에 따라 실시하였다. 분광광도계를 이용하여 파장 480nm에서 흡광도를 측정하여 표준 검량선에 의해 과산화수소(nmol/mg protein/min)의 함량을 정량하였다.

6) 수퍼옥시드 라디칼의 측정

간장 획분 중의 수퍼옥시드 라디칼(superoxide radical: $O_2 \cdot^-$)의 생성량은 McCord 와 Frodovch의 방법²⁴⁾에 따라 superoxide dismutase를 억제할 수 있는 ferricytochrome C의 환원속도를 측정하였다. 0.1mM EDTA를 함유한 인산완충용액(pH 7.8) 420 μ l에 cyanide의 농도가 50 μ M이 되도록 20mM cyanide 용액을 가한 후 37°C에서 10분간 가온하였다. 이 용액에 시토졸 300 μ l와

0.1mM cytochrome C 50 μ l를 넣어 분광광도계를 사용 550nm에서 흡광도를 시간에 따라 측정하였다. 이때 cytochrome C의 양은 분자흡광계수 19,500 $M^{-1}cm^{-1}$ 로 계산하였다.

6. 세포독성 실험

세포독성의 측정을 위해 사용한 동물세포주는 한국 세포 주은행에서 L1210 (Lymphocytic leukemia, mouse, ATCC CCL-219), P388D1(Lympoid neoplasm, mouse, ATCC CCL-46)을 구입하였다.

1) 동물세포 배양

동물세포는 56°C에서 30분간 열처리한 fetal bovine serum(FBS)을 10% 첨가한 RPMI 1640 배지에 100 units/mL의 penicillin/streptomycin과 20mM Hepes buffer를 첨가하여 37°C 5% CO_2 배양기에서 배양하였다.

2) 세포독성의 측정

동물세포에 대한 시료의 세포독성을 측정하기 위하여 Carmichael 등의 방법²⁵⁾에 따라 MTT assay를 실시하였다. 각 well 당 DMSO 150 μ l를 가하여 30분간 교반한 후 ELISA reader (Molecular Device Co.)로 550nm에서 흡광도를 측정하여 성장억제효과(Growth inhibitory effect(%))=[(대조구의 흡광도 - 시료처리구의 흡광도)/대조구의 흡광도]×100를 구하여 세포독성 활성의 지표로 하였다. 또한, 암세포의 성장을 대조구에 비하여 50% 억제하는 시료의 농도를 IC_{50} 으로 나타내었다. 대조구는 시료 대신 증류수를 첨가하여 실험하였다.

본 연구의 모든 실험결과는 통계 처리하여 평균치와 표준편차를 계산하였으며, 각 실험군 간의 유의성 검정은 Student's t-test로 실시하였다.

결과 및 고찰

1. 대두 배아 조사포닌의 정제의 신기능성

대두배아 추출물을 감압 농축한 후 ODS column (230×18mm)에 넣고 메탄올 : 물 (60 : 40 및 70 : 30 v/v) 혼합액 1 l로 각각 용해시킨 후 감압 농축하여 각 획분을 TLC에 전개하였다. TLC로 전개한 결과 획분 F-1(methanol : water, 60 : 40 v/v)은 사포닌 성분이 없는 것으로 나타났고 F-2(methanol : water, 70 : 30 v/v)는 TLC 상에서 낮은 Rf치를 나타낸 사포닌으로 Ehrlich's 시약에 의하여 양성반응을 나타낸 것으로 보아 furostanol 사포닌으로 생각된다. 획분 F-3 (methanol

fraction)는 Ehrlich's 시약에 의하여 음성반응을 나타내었고 Rf치가 다른 점으로 보아 순수한 saponin이 아닌 것으로 사료된다. 따라서 획분 F-2을 모아 생리활성 실험에 사용하였다. 획분 F-2을 역상 HPLC로 분리하여 F-2-1, F-2-2 및 F-2-3을 얻었다. 이들 중 획분 F-2-2가 활성이 가장 높았다. 획분 F-2-2를 다시 HPLC로 재용리(acetonitrile : water, 44 : 56 v/v) 시켜 SA-1, SA-2 및 SA-3을 얻었다. 이들 중 SA-1의 획분을 DPPH와 POV를 측정 한 결과 항산화 활성이 가장 높은 것으로 나타났다.

2. 유리기의 생성 억제 효과

생체 내에서 지질의 산화에 의하여 생성되는 과산화지질은 세포독성이 강하여 산화적 스트레스를 유발한다. 산화적 스트레스의 유발요인인 활성산소종의 생성은 성인병 또는 노화를 촉진한다. 본 실험에서는 대두 배아 사포닌을 첨가한 식이군에서 히드록시 라디칼(hydroxy radical: ·OH)의 생성에 영향을 미치는 항산화 실험을 하기 위해서 대두 배아에서 추출한 사포닌 중 활성이 가장 높은 SA-1 획분을 사용하였다. Table 1에서 보는 바와 같이 대두 배아 사포닌을 각각 0.5% 및 1.0% 투여한 식이군 간장의 mitochondria 획분에서 ·OH radical의 생성이 각각 14.24±0.31 및 13.83±0.24 nmole/mg protein/min로서 대조군인 15.37±0.34 nmole/mg protein/min보다 낮은 수치를 나타내었다. 또한 간장의 cytosol 획분의 경우 대두 배아 saponin을 각각 0.5 및 1.0% 투여 식이군에서의 과산화수소의 생성은 각각 0.91±0.04 및 0.92±0.03 nmole/mg protein/min으로 대조군의 1.16±0.02 nmole/mg protein/min 보다 낮게 나타나 대두 배아 사포닌이 H₂O₂의 생성에 대한 억제효과가 인정되었다.

한편 간장의 cytosol 획분 중 superoxide radical(O₂^{·-})

Table 1. Effect of crude saponin of soybean germ on hydroxy and hydrogen peroxide in liver membrane of SD rats for 4 weeks

Group	·OH radical (nmol/mg protein/min)		H ₂ O ₂ level (nmol/mg protein/min)
	Mitochondria	Microsome	Cytosol
Control	15.37±0.34	7.06±0.73	1.16±0.02
0.5%	14.24±0.31 ^a	6.80±0.32 ^a	0.91±0.04 ^a
1.0%	13.83±0.24 ^b	5.82±0.14 ^b	0.92±0.03 ^b

Mean±SD with 7 rats per group :

Percent of control values ; ^aP<0.05, ^bP<0.01 compared with control group.

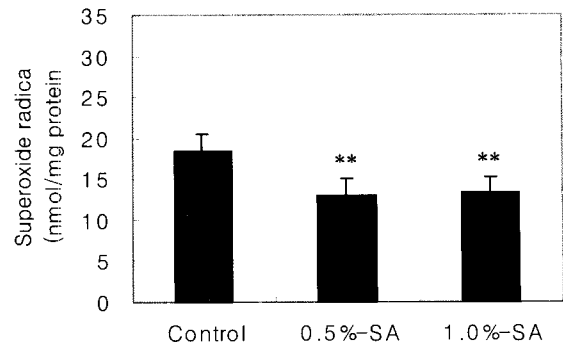


Fig. 2. Effects of saponin of soybean germ on superoxide radical in liver membranes of SD rats for 4 weeks. ** P<0.001 compared with control group

의 생성에 미치는 영향을 실험하였다. Fig. 2에 나타낸 바와 같이 대두 배아 사포닌 식이군을 간장의 cytosol 획분에서 각각 0.5 및 1.0% 투여한 식이군의 O₂^{·-}의 생성은 각각 13.08±0.12, 14.73±0.50 nmole/mg protein으로서 대조군의 18.93±10 nmole/mg protein을 100%로 한 대비에서 69.0% 및 77.8%로서 약 12~31% 정도의 현저한 O₂^{·-}의 생성 억제효과가 인정되었다. 본 실험 결과 대두 배아에서 추출한 사포닌은 활성 산소를 생성하는 초기 단계에서 free radical의 생성을 효과적으로 억제할 수 있을 것으로 기대된다.

이상과 같이 대두 배아 saponin의 식이 첨가가 활성 산소의 생성억제 및 제거효소에 미치는 효과는 0.5~1.0%의 농도를 투여한 식이군에 의하여 간장중의 mitochondria, microsome 및 cytosol의 ·OH, H₂O₂ 및 O₂^{·-} 등의 활성산소의 생성에 있어 유의적으로 억제할 수 있었으므로 대두 배아에서 추출한 saponin이 생체 방어작용에 효과적일 것으로 기대된다.

3. 대두 배아 사포닌의 세포 독성 1차 검색

대두 배아에서 추출한 조사포닌을 ODS column를 통과시킨 후 얻은 SA-1, SA-2 및 SA-3를 세포독성 실험

Table 2. Effect of each fraction. SA-1 purified from soybean germ on the growth of P338D and L1210 cells using MTT assay

Saponin fraction concentration(200µg/mL)	Growth inhibition rate (%)	
	P338D ₁ cells	L1210 cell
SA-1	20.6	36.8
SA-2	48.4	40.4
SA-3	15.3	13.0

Table 3. Comparison of cytotoxicity of saponin, SA-1, SA-2 and SA-3 purified from soybean germ with a various tumour cells using MTT assay

Saponin fraction concentration(200 μ g/mL)	Cytotoxicity (IC ₅₀ , μ g/mL)	
	Mouse cell line	
	P338 D ₁	L1210
SA-1	60.0	64
SA-2	50.0	55
SA-3	80.5	80

험에 사용하였다. 본 연구는 SA-1, SA-2 및 SA-3를 mouse lymphoid neoplasm인 P388D1 cells과 mouse leukemia인 L1210 cell에 첨가하여 세포 독성을 실험하였다. 각 시료에 대하여 P388과 L1210의 성장에 미치는 영향을 실험한 결과를 Table 2에 나타내었다. SA-1, SA-2 및 SA-3를 P388D1에 대해 각각 200 μ g/mL 씩 첨가한 결과 각각 20.6, 48.4 및 15.3%의 높은 성장 억제효과를 나타내었다. 또한 대두 배아로부터 분리·정제한 사포닌을 사용하여 L1210 cells에 대한 억제 효과를 조사한 결과 L1210에 대해 각각 200 μ g/mL 씩 첨가한 농도에서 각각 36.8, 40.4 및 43.0%의 성장 억제효과를 나타내었다.

Table 3에서 나타낸 바와 같이 세포독성에 있어(IC₅₀) P388D₁ 및 L1210의 경우 조사포닌의 획분인 SA-1, SA-2 및 SA-3의 간세포 독성이 각각 60, 50 및 80.5 μ g/mL와 64, 80 및 55 μ g/mL로 나타났다. 동물세포에 대한 대두 배아의 사포닌 획분의 첨가 농도별 P388D1 및 L1210에 대하여 세포독성이 비교적 높게 나타났다. 이러한 결과는 대두 배아로부터 분리·정제한 사포닌 획분이 항암효과가 있는 것으로 사료된다.

남 등²⁶⁾은 60종의 생약 메탄올 추출물을 대상으로 L1210에 대한 1차 스크리닝 실험에서 산국(*Chrysanthemum boreale*), 주목(*Texus cuspidata*)의 IC₅₀이 각각 6.40, 15.52 μ g/mL이라고 밝힌 바 있는데, 배두 배아의 사포닌이 IC₅₀은 보다 낮은 값을 나타내어 암 세포 성장억제효과는 상기의 생약 추출물보다는 낮은 것으로 나타났다. 그러나 이 등²⁷⁾이 초산균체의 추출물의 L1210에 대한 성장억제효과를 조사한 결과 초산균체 추출물 2,000 μ g/mL의 처리농도에서 81% 성장 억제효과를 나타내었다는 것과 비교하면 대두 배아 사포닌의 성장억제효과가 초산균체 추출물보다는 높은 것으로 밝혀졌다.

4. 대두 배아 사포닌의 세포독성

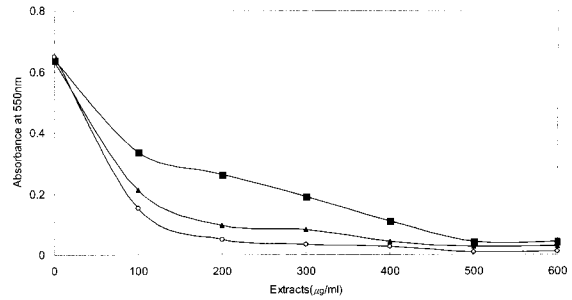


Fig. 3. Effect of saponin fraction of soybean sprout on the growth of mouse lymphoid neoplasm of P388 cells. The sample was carried out incubation at 37 $^{\circ}$ C for 2 days and then the growth was measured at 550nm after MTT assay. ●—● : SA-1, ■—■ : SA-2, △—△ : SA-3.

대두 배아 사포닌 획분인 SA-1, SA-2 및 SA-3을 각각 100~600 μ g/mL씩 첨가하여 농도별에 따른 mouse lymphoid neoplasm인 P388 및 mouse leukemia인 L1210에 대하여 세포독성을 조사하였다.

Fig. 3는 대두 배아의 획분인 SA-1을 P388D1의 성장억제효과를 알아보기 위하여 각각 100, 250 및 300 μ g/mL의 농도로 첨가한 결과 각각 46.3, 89.5 및 98.0%로 추출물의 농도가 증가할수록 억제효과가 증가하는 용량 의존형 억제효과를 나타내었으며 추출물을 500 μ g/mL 이상 첨가하여 관찰한 결과 95.0%로 일정 수준의 억제효과를 유지하였다. 또 대두 배아의 사포닌 획분을 L1210 cells에 대한 성장에 미치는 영향에 대한 실험한 결과를 Fig. 4에 나타내었다. 대두 배아의 메탄올 추출물의 농도를 각각 100, 200, 300, 400, 500 및

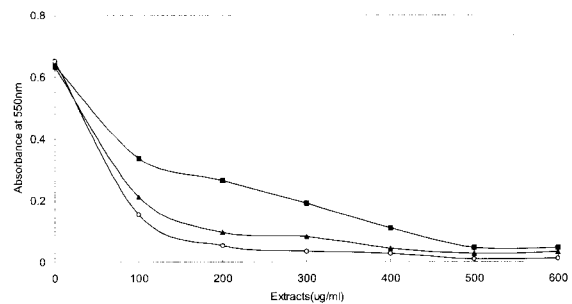


Fig. 4. Effects of saponin fractions of soybean germ on the growth of mouse lymphoid neoplasm of L1210 cells. The sample was carried out incubation at 37 $^{\circ}$ C for 2 days and then the growth was measured at 550nm after MTT assay. ●—● : SA-1, ■—■ : SA-2, △—△ : SA-3.

600 μ g/mL씩 첨가하여 실험하였다. L1210 cells에 대한 성장을 각각 100 및 200 μ g/mL일 때 성장억제효과는 48.9 및 87.6% 정도 나타내었으나, 첨가농도가 300 및 500 μ g/mL일 때는 98.5% 정도로 억제하였다.

대두 및 대두발효식품의 항암성에 대한 국외의 연구는 대두관련식품 섭취와 암으로 인한 사망률과의 상관관계를 역학적으로 조사하는 방법, 암 세포에 대한 성장억제효과를 조사하는 *in vitro* assay 및 동물실험을 통한 *in vivo* assay 등으로 진행되어 왔다. 한편, 우리의 전통 장류에 대한 연구에서는 윤 등의 보고에 따르면 들연변이원의 작용을 억제함으로써 암 발생 (initiation)을 예방하는 것으로 나타났으며²⁸⁾, 본 연구에서는 대두 배아가 *in vitro* assay에서 암세포의 성장을 억제하는 효과가 있음을 확인하였다. 따라서 앞으로 암 세포주에 대한 세포독성을 나타내는 물질을 분리 정제하여 그 구조를 밝히고, 동물실험을 통한 *in vivo* assay 확인 연구가 진행되어야 항암성을 확실히 밝힐 수 있을 것으로 사료된다.

요 약

대두 배아로부터 saponin을 분리·정제하여 유리기 억제효과 및 동물의 암세포에 대한 세포 독성을 조사하였다. 유리기 억제활성에 대한 결과를 보면 대두 배아 saponin을 0.5 및 1.0%씩 첨가한 급여 식에서 4주 동안 사육한 후 간장을 절취하여 간장 획분의 활성산소 및 항산화 관련 효소에 대하여 평가하였다. 간장의 mitochondria 및 microsome 획분의 hydroxy radical(\cdot OH)의 생성에 미치는 영향에서 급여식에 사포닌을 첨가한 급여군에서 \cdot OH기의 생성억제 효과를 나타내었다.

간장의 microsome 획분에서도 0.5 및 1.0% 투여군에서 H₂O₂ 생성억제 효과가 인정되었다. 또한 간장의 cytosol획분에서 O₂ \cdot^- 의 생성은 대조군에 비하여 현저한 억제 효과를 나타내었다.

대두 배아 사포닌의 세포독성을 P338 (mouse lymphoid neoplasm)과 L1210 (mouse leukemia) 세포주를 사용하여 실시한 결과 200 μ g/mL 농도에서 높은 성장억제효과를 나타내었다. 그리고 처리 농도에 따른 대두 배아 추출물이 P338과 L1210에 대한 성장 효과 실험에서도 200 μ g/mL에서 높은 성장억제 효과가 나타났으며 농도가 높을 수록 완전히 억제되는 것을 볼 수 있었다.

참고문헌

1. 大久保一良, 吉城由美子, 吉越昌樹, 本知玄, 工藤重光 : 大豆配糖體 成分의 種類, 構造, 遺傳性, 生理活性. : 뉴-푸드인드스트리-, **36**, 17-27 (1994).
2. Wang, H. and Murphy, P. A. : Isoflavone composition of American and Japanese soybeans in Iowa, Effects of variety crop year and location. *J. Agric. Food Chem.*, **42**, 1674-1677 (1994).
3. Sharma, O. P., Adlercreutz, H., Strandberg, J. D., Zirkin, B. R., Coffey, D. S. and Ewing, L. L. : Soy of dietary source plays a preventive role against the pathogenesis of prostatitis in rats. *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.*, **43**, 557-564 (1992).
4. Adlercreutz, H. : Phytoestrogens : Epidemiology and a possible role in cancer protection. *Environ. Health Perspect.*, **103**, 103-112 (1995).
5. Adlercreutz, H., Hockerstedt, K., Bannwart, C., Bloigu, S., Hamalainen, E., Fotsis, T. and Ollus, A. : Effect of dietary components, including lignans and phytoestrogens on sex hormone binding globulin. *J. Steroid Biochem.*, **27**, 1135-1144 (1987).
6. Wei, H., Cai, Q. and Rahn, R. : Inhibition of UV light and Fenton reaction-induced oxidative DNA damage by the soybean isoflavone genistein. *Carcinogenesis*, **17**, 73 (1996).
7. Messina, M. J., Persky, V., Setchell, K. D. R. and Barnes, S. : Soy intake and cancer risk, a review of *in vitro* and *in vivo* data, *Nutr. and Cancer*, **21**, 113-124 (1994).
8. Price, K. R., Johnson, I. T. and Fenwick, C. R. : The chemistry and biological significance of saponins in foods and feeding stuffs. *CRC Crit. Rev. Food Sci. Nutr.*, **26**, 27-135 (1987).
9. Shiraiwa, M., Kudou, S., Shimoyamada, M., Harada, K. and Okubo, K. : Composition and structure of "group A" saponin in soybean seed. *Agric. Biol. Chem.*, **55** (2), 315-22 (1991).
10. Tsukamoto, C., Kikuchi, A., Harada, K., Kitamura, K., Kudoh, S., Wasaki, T. and Okubo, K. : Group A acetyl saponin deficient mutant from the wild soybean. *Phytochem.*, **31** (12), 4193-4142(1988).
11. Kudou, S., Tonomura, M., Tsukamoto, C., Shmoyamada M., Uchida, T. and Okubo, K. : Isolation and structural elucidation of main genuine soybean saponin. *Biosci. Biotech. Biochem.*, **56**(1), 142-143 (1992).
12. Tsukamoto, C., Kikuchi, A., Kudou, S., Tonomura, M., Harada, K., Iwasaki, T. and Okubo, K. : Genetic improvement of saponin components in soybean. ACS Symposium series 546, Food Phytochemicals for Cancer Prevention, American Chemical Society, Washinton DC., USA, pp. 372-379 (1994).
13. 有地法 : 新規サポニン物質, 特許出願公開, 昭 56-64000 (1997).

14. Yoshicoshi, M., Yoshiki, Y., Okubo, K., Sato, J. and Sasaki, Y. : Prevention of hydrogen peroxide damage by soybean saponins to mouse fibroblasts, *Planta Medica*, **6**, 252-255 (1996).
15. 有地滋 : 代謝作用藥劑, 特許出願公開, 昭 56-160981 (1980).
16. Kawano, K., Sato, H. and Sakamura, S. : Isolation and structure of furostanol saponin in asparagus edible shoots. *Agric. Biol. Chem.*, **41**, 1-8 (1997).
17. Liu, C. L., Chen, Y. Y., Ge, S. B. and Li, B. G. : Studies on the constituents from Cioscorec plants II . Isolation and identification of steroidal saponins from Bi'oscereg cojjeffii Hook F. *Ifoxue fuefgo*. **18**, 597-606 (1983).
18. Shimoyamada, M., Suzuki, M., Sonta, H., Maruyama, M. and Okubo, K. : Antifungal Lctivity of the saponin fraction obtained from *Asparagus officinalis* L. and its active principle, *Agric. Biol. Chem.*, **54**, 2553-2557 (1990).
19. Agrwal, P. K., Jain, D. C., Gupta, R. K. and Thakur, R. S. : Carbon-13 NMR spectroscopy of steroidal sapogenins and steroidal saponins, *Phytochemistry*, **24**, 2479-2496 (1985).
20. Bogacheva, N. G., Kiselev, V. P. and Kogan, L. M. : Isolation of 3, 6-bisglycoside of yamogenin from *Tgonella foemungaecum*. *Khim Prir Soedin* 268-269 (1976).
21. Lowry, O. H., Roseborough, N. J., Farr, L. A. and Randall, R. J. : Protein measurement with Folin-Phenol reagent. *J. Biol. Chem.*, **193**, 265-275 (1951).
22. Halliwell, B. and Gutteridge, J. M. C. : Formation of a thiobarbituric acid-reactive substance from deoxyribose in the persence of iron salts. *FEBS Lett.*, **128**, 347-350 (1981).
23. Thurman, F. C., Ley, J. C. and Scholz, R. : Hepatic microsomal ethanol oxidation. *Eur. J. Biochem.*, **25**, 420-430 (1972).
24. McCord, J. M. and Frdovch, I. : Superoxide dismutase. An enzyme funtion for erythro cuprein(heme cuprein). *Chem. J. Biol.*, **244**, 6049-6054 (1969).
25. Charmichael, J., Degroff, W. G., Gazdar, A. F., Minna, J. D. and Michell, J. B. : Evaluation of a terazolium based semiautonated colorimetric assay, assessment of chemo sentivity testing, *Cancer Res.*, **47**, 9366 (1987).
26. 남상해, 양민석 : 산국으로부터 항암활성 성분의 분리, *한국농화학회지*, **38**, 273 (1995).
27. 이병우, 유익제, 유무영, 황우익, 최춘언 : 초산관체 추출물의 *in vitro*의 암세포 증식 억제효과, *한국식품과학회지*, **27**, 445 (1995).
28. 윤기도, 권동진, 홍석찬, 김수일, 정건섭 : 대두 및 대두발효식품의 항돌연변이성, *한국산업미생물학회지* (1996).

(2002년 4월 8일 접수)