

씀바귀(*Ixeris dentata* Nakai) 생즙 추출물의 생리활성

김명조[†] · 김주성 · 조미애* · 강원희 · 정동명** · 함승시*

강원대학교 식물응용과학부
*강원대학교 바이오산업공학부
**원광대학교 생체공학연구소

Biological Activity of *Ixeris dentata* Nakai juice Extracts

Myong-Jo Kim[†], Ju-Sung Kim, Mi-Ae Cho*, Won-Hee Kang,
Dong-Myong Jeong** and Seung-Shi Ham*

Division of Applied Plant Science, Kangwon National University, Chuncheon 200-701, Korea
*School of Biotechnology and Bioengineering, Kangwon National University, Chuncheon 200-701, Korea
**Institute of Wonkwang Biomedical Eng. Research, Wonkwang University, Iksan 570-749, Korea

Abstract

Ixeris dentata extracts exhibited antimicrobial activity against some bacteria and fungi. Also EtOH extracts showed strong antioxidant activity and RC₅₀ value was 28 µg/mL. The inhibitory effect of *Ixeris dentata* on the mutagenicity in *Salmonella* and cytotoxicity on cancer cell were studied. *Ixeris dentata* extracts showed anti-mutagenic effects of 78.83 and 75.96% on B(a)P in *S. typhimurium* TA98 and TA100, respectively. These extracts showed 78.72% antimutagenicity on TA100 against MNNG. The *Ixeris dentata* extract with strong antimutagenic activities was further fractionated by hexane, ethyl acetate, butanol and water. Butanol fraction was found to be highest in antimutagenic activity against MNNG than the other fractions. Butanol fraction of *Ixeris dentata* revealed the highest cytotoxicity against A549 human lung carcinoma cells in which cell growth was inhibited by 93.75% at 375 µg/mL. Hexane fraction of *Ixeris dentata* exhibited 68.56% inhibition against MCF-7 human breast adenocarcinoma cells at 500 µg/mL. Hexane fraction of *Ixeris dentata* exhibited 84.91% inhibition against Hep 3B human hepatocellular carcinoma cells at 500 µg/mL. From these results, it is considered that *Ixeris dentata* has strong antimutagenic and anticancer effects *in vitro*. However, these extracts and fractions did not show any cytotoxic effect against 293 cells.

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

서 론

국화과에 속하는 썬바귀는 우리나라 중부 이남의 산이나 들, 밭에 나는 다년생 잡초로 25~50 cm 정도로 자란다. 줄기나 잎을 자르면 흰 유즙이 나오며 꽃은 5-7월에 노랑색으로 약 1.5 cm 정도 크기로 핀다. 한방에서는 고채(苦菜), 황과채(黃瓜彩)라고도 불리우며, 그 종류에는 산썬바귀(*Lactuca raddeana*), 흰썬바귀(*Ixeris dentata* ver. *albiflora* Nakai), 번은썬바귀(*Ixeris japonica* Nakai), 냇썬바귀(*Ixeris tamagawaensis*), 갯썬바귀(*Ixeris repens*), 썬썬바귀(*Ixeris stolonifera*) 등이 있다. 용도로는 식용, 약용, 관상용으로 이용되며, 민간에서는 건위, 최면, 진정, 발한, 이뇨 및 종창 등에 약으로 쓰인다(1).

최근 항암물질 탐색 작업의 일환으로 과거 민간요법으로

사용했던 여러 가지 식물들에 대한 연구가 많은 진전을 보고 있다. 특히 Colditw 등(2)은 여러 가지 녹황색 채소류가 암을 예방한다고 보고하였으며, Shinohara 등(3)은 채소 및 과일 등에 존재하는 여러 물질들 중 비타민 C와 같은 비타민류, β-카로틴, dietary fiber류, 리그닌유사화합물 등과 chlorophyll 및 chlorophyllin 등이 돌연변이 유발물질의 활성을 억제할 수 있다고 보고하였다. Morita 등(4)과 Lai 등(5)이 채소류의 돌연변이 유발 억제 효과를 보고하였다. 또한 이(6)는 썬바귀와 같은 산채류의 일종인 고들빼기, 냉이, 민들레, 수리취, 질경이 등의 생즙도 benzo(a)pyrene, 3-amino-1, 4-dimethyl-5H-pyrido-(4,3-b)indole, 2-AF, 4-nitroquinoline-1-oxide의 돌연변이성을 억제시킴을 보고하였으며, Ham(7)은 고들빼기, 냉이, 민들레와 같은 산채류 및 썬바귀 가열즙 역시 돌연변이성이 없다고

[†]Corresponding author. E-mail: kimmjo@kangwon.ac.kr
Phone: 82-33-250-6410. Fax: 82-33-244-6410

보고하였다. 그러므로 이러한 산채류들은 β -카로틴과 비타민 C가 풍부하여 영양공급원으로 뿐만 아니라 생체내 생리활성에도 중요한 역할을 하는 것으로 사료된다.

따라서 우리나라 산야에서 존재하며 예로부터 식용으로 이용되고 있는 산채류인 썸바귀의 생리활성 기능 탐색 작업의 일환으로 썸바귀 생즙 농축액과 그 분획물을 대상으로 항산화 활성, 항미생물 활성, 직접 및 간접 변이원에 대한 항돌연변이 효과 및 암세포 증식 억제 효과를 검토하고자 하였다.

재료 및 방법

실험재료

실험에 사용한 썸바귀(*Ixeris dentata* Nakai) 생즙은 (주)친길로부터 받아서 본 실험에 이용하였다. 썸바귀 생즙 2 pack을 filter paper(185mm ϕ Whatman No.2) 2겹으로 여과시킨 다음 (3.2 L), 핵산, 에칠아세테이트, 부탄올 순으로 용매분획을 실시하였으며, 3회 반복하였다. 위에서 얻은 각 분획을 감압농축한 결과 핵산, 에칠아세테이트, 부탄올 및 물 분획물을 각각 0.3 g, 2.7 g, 5.1 g 77.7 g씩 얻을 수 있었다. *Salmonella typhimurium* TA98과 TA100은 미국 캘리포니아 대학의 B.N. Ames 교수로부터 제공받아 사용하였다. 폐암 세포주인 A549(lung carcinoma, human), 유방암 세포주인 MCF-7(breast adenocarcinoma, human), 간암 세포주인 Hep3B(hepatocellular carcinoma, human), 인간 유래의 정상 간세포주인 293(human embryo liver)을 Korea Cell Line Bank(KALB)로부터 구입하여 실험실에서 배양하면서 실험에 사용하였다.

돌연변이 유발원으로는 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)과 3-amino-1,4-dimethyl-5H-pyrido-(4,3-b)indole DMSO(Aldrich chemical Co., USA)에 녹여 실험에 사용하였다.

DPPH free radical 소거법에 의한 항산화활성

자유 라디칼(free radical)인 1,1-디페닐-2-피크릴하이드라질(1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl, DPPH)을 사용한 항산화 활성 측정방법(8,9)을 이용하였다. 유리 시험관에 4 mL의 메탄올을 넣고 시료 화합물을 농도별(1.5 μ L)로 첨가한 다음 0.15 mM DPPH 용액을 1 mL 첨가하여 실온에서 30분간 반응시키고 517 nm에서 흡광도를 측정하였다. 이 때 RC_{50} (μ g/mL)은 화합물을 첨가하지 않은 대조군의 값을 50% 감소시키는 화합물의 농도를 나타냈으며, 기존의 항산화제인 α -tocopherol 및 BHA와 비교하였다.

항미생물 활성 실험

항미생물 활성을 조사하기 위하여 Kobayasi 등(10)의 포자 발아시험 방법에 따라 조사하였다. 세균에 대한 항균 시험은 피검균으로 *Bacillus subtilis*, *Candida lipolytica*, *Escherichia*

*coli*를 이용하였다. 피검균을 PDB 배지 10 mL를 넣은 직경 25 mm 시험관에 접종하여 37°C에서 12시간 동안 진탕 배양(100 rpm)하여 얻은 배양액을 PDB 배지에 100배로 희석하여 항균 시험에 사용하였다. 시료를 96 well micro assay plate의 제 1번구에 넣고 조제된 균체 현탁액을 분주하여 2배씩 희석하여 사용하였다. 이것을 27°C에서 24시간 동안 암조건에서 배양하면서 세균의 증식을 육안으로 관찰하였다. 항균 활성은 세균의 생육을 억제하는 최저활성농도(MIC: minimum inhibitory concentration)를 측정하였다(10).

또한 곰팡이에 대한 포자발아 억제 시험은 피검균으로 *Aspergillus awamori*, *Aspergillus niger*, *Cladosporium herbarum*, *Hypocrea nigricans* 등을 사용하였다. 곰팡이 배양용 PDB Slant에 곰팡이 포자발아 저해시험용 배지(glucose 0.2%, yeast extract 0.1%, $Na_2HPO_4 \cdot 2H_2O$ 0.37%, citric acid 0.1%) 2 mL를 첨가하여 유리병으로 상기 곰팡이 포자를 분리시키고 이를 다시 gauze로 여과하였다. 그 여과액을 얻어 현미경으로 관찰하면서 1×10^6 의 포자가 관찰될 때까지 희석한 후 96 well micro assay plate에 100 μ L씩 분주하였다. 각각의 시료를 1000 ppm에서 8 ppm 정도까지 serial 2-fold dilution method로 제조하여 30°C에서 암배양하면서 24시간이 경과한 다음 현미경으로 포자발아가 저해되는 최저활성농도(MIC)를 측정하였다.

Ames test를 이용한 mutagenicity test

돌연변이원성 실험에 사용한 *Salmonella typhimurium*의 histidine 영양요구성 변이주는 TA98, TA100의 두 종류를 이용하여 Ames test를 개량한 preincubation mutagenicity test (11)를 이용하였다. 썸바귀 생즙 농축액 및 분획물을 미리 진열 멸균시킨 glass cap tube에 각각 50 μ L씩 가하고 여기에 미리 TA culture배지(Difco nutrient broth 0.8 g + NaCl 0.5 g + 증류수 100 mL)에서 하룻밤 배양된 균주 100 μ L를 가한 다음 0.2 M sodium phosphate buffer(pH 7.4)로 전체량이 700 μ L가 되도록 하였다. 이것을 37°C에서 30분간 예비 배양하였다. Histidine/biotin이 첨가된 45°C의 top agar를 2 mL씩 각 tube에 붓고 3초간 vortex하고 minimal glucose agar plate상에 도말하고 평판 고화시켜 37°C에서 48시간 배양하여 생긴 복귀 돌연변이(his+ revertant colony)수를 측정하여 돌연변이원성의 유무를 판정하였다.

항돌연변이 실험에 사용된 발암물질은 MNNG, 4NQO, B(a)P 및 Trp-P-1을 사용하였다. 미리 진열 멸균시킨 glass cap tube에 썸바귀 생즙 농축액 및 분획물을 각각 50 μ L 첨가한 다음 대사 활성물질이 필요한 경우에는 본 실험실에서 제조한 S-9 mix를 250 μ L씩 각각 첨가하였다. 여기에 하룻밤 배양된 균주를 100 μ L씩 주입한 후, 0.2 M sodium phosphate buffer (pH 7.4)로 전체량이 700 μ L가 되도록 하였다. 이것을 20분간 preincubation한 다음 histidine/biotin이 첨가된 45°C의 top agar를 2 mL씩 각 tube에 붓고 3초간 vortex하고 minimal glucose agar plate상에 도말하고 평판 고화시켜 37°C에서 48

시간 배양하여 생긴 복귀 돌연변이(his + revertant colony)수를 측정하여 돌연변이원성의 유무를 판정하였다.

돌연변이 억제효과의 정도(Inhibition rate)는 아래의 식에 의하였다.

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

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

한편 실험에 사용된 썬바귀 생즙 농축액 및 분획물과 돌연변이 유발물질의 농도는 예비실험(12)(dose response 및 독성 검사)을 통하여 결정하였다.

암세포 증식 억제 효과

세포주 배양: A549, MCF-7 세포주는 RPMI(Gibco; Grand Island, NY) Medium 1640 복합배지(1당 RPMI 1 pack, NaHCO₃ 2 g, Hepes 2 g, gentamycin sulfate 0.057 g, serum 10%(v/v), pH 7.0~7.2)를, Hep3B 세포주는 DMEM(Dulbeco's Modified Eagle Medium, 1당 DMEM 1 pack, NaHCO₃ 2 g, Hepes 2 g, gentamycin sulfate 0.057 g, serum 10%(v/v), pH 7.0~7.2)를, 그리고 293 세포주는 MEM(Minimum Essential Medium, 1당 RPMI 1 pack, NaHCO₃ 2 g, Hepes 2 g, gentamycin sulfate 0.057 g, serum 10%(v/v), pH 7.0~7.2)를 이용하여 10% fetal bovine serum(Intergen, Purchase, NY)을 첨가하여 37°C, 5% CO₂에 적응시켜 각각 배양시켰다.

SRB assay: SRB(Sulfo Rhodamine B) 분석법(13)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 5×10⁴ cells/mL 농도로 100 μL씩 각 well에 첨가한다. 24시간 동안 배양(37°C, 5% CO₂)시킨 후, 0.2 M 이하의 DMSO로 녹인 시료를 0.125, 0.25, 0.375, 0.5 mg/mL의 농도로 100 μL씩 첨가하여 48시간 동안 다시 배양하였다. 그 후 상등액을 aspirator로 조심스럽게 제거하고 냉장보관한 10%(w/v) trichloroacetic acid(TCA)를 100 μL씩 첨가한 후 1시간 동안 4°C에서 방치한 후 증류수로 5회 헹구었다. 실온에서 건조시킨 후 1%(v/v) acetic acid에 녹인 0.4%(w/v) SRB 용액 100 μL를 첨가해 30분 동안 염색시켰다. 세포와 결합되지 않은 SRB 염색액은 1%(v/v) acetic acid용액으로 4회 정도 헹군 다음, 다시 건조시킨 후 10 mM Tris buffer(pH 10.5) 100 μL로 세포와 결합되어 있는 염색제를 충분히 녹인 후 540 nm에서 흡광도를 측정하였다.

통계분석

실험에서 측정된 결과는 실험군당 평균(mean)과 표준편차(SEM)로 나타냈으며, 이들 데이터들은 SAS(Statistical Analysis System) program을 이용하여 분산분석을 한 후 Student's test와 Duncan's multiple range test로서 분석하였다.

결과 및 고찰

DPPH free radical 소거법에 의한 항산화활성 효과

썬바귀 생즙 농축액 및 분획물에 대한 DPPH free radical 소거법에 의한 항산화활성을 검정한 결과 에칠아세테이트 분획물의 RC₅₀값이 28 μg/mL로 강한 항산화활성을 나타내었다(Table 1). 예로부터 식품 또는 한약재로 사용된 자생 식물에서 에틸 알콜과 물을 용매로 사용하여 추출물을 얻은 뒤 이들 추출물의 항산화력을 검사한 보고(16)에 따르면, 썬바귀는 항산화 지수가 1.01로서 항산화 물질을 상당히 생산하는 것으로 알려졌다. 상기의 보고와 본 보고는 에칠아세테이트와 물과 같은 추출용매와 시료를 준비하는 과정에 차이로 인해 정확한 비교를 하는 것이 용이하지 않지만 항산화 물질이 썬바귀 식물체에 존재한다는 사실이 밝혀졌다. 또한 썬바귀의 혈청 지질저하작용에 대한 연구(17)에 따르면 100 g의 분말에는 178.5 mg의 ascorbic acid가 들어 있는 것으로 보고되어 있다. Vitamin C의 산화를 억제하는 플라보노이드가 한국산 썬바귀에 존재한다는 보고(18)도 있으나 항산화 효과에 대한 언급은 없다. 썬바귀 생즙 농축액 및 분획물이 항산화 작용을 보이는 것은 이미 보고된 ascorbic acid와 플라보노이드의 작용에 의한 것으로 사료되나 그 밖에도 다른 항산화 화합물에 대한 연구가 이어져야 할 것이다.

항미생물 활성 효과

썬바귀 생즙 농축액 및 분획물의 항미생물 활성을 검색하기 위하여 세균과 곰팡이에 대해 항미생물 활성을 측정된 결과를 Table 2에 나타냈다. 곰팡이 균주에 대해서는 생즙 농축액이 분획물에 비하여 우수한 활성을 나타냈으며, 특히 *Hypocrea nigricans*에 대해서는 대조구인 cyclohexamide(13 μg/mL)보다 우수한 활성(8 μg/mL)을 나타내었다. 반면에 세균 균주에 대해서는 에칠아세테이트 분획물이 우수한 활성을 나타내었으며 균주에 대해서는 대조구인 tetracycline(125 μg/mL)와 유사한 활성(125 μg/mL)을 나타내었다. 항미생물제는 단백질의 합성, 물질의 세포막 통과억제, 유전자의 전사억제 등의 효과로 나타난다. 또한 세포내 거대분자들인 DNA, RNA, 그리고 단백질 등과 같은 중요 인자들의 합성을 방해하여 효과를 나타낼 수도 있다. Tetracycline은 aminoacyl-tRNA가 라이보솜에

Table 1. DPPH free radical scavenging activity of extract and fractions from *Ixeris dentata* Nakai juice extracts

Extracts and fractionation	RC ₅₀ ¹⁾ (μg/mL)
Juice extract	>100
Hexane fraction	70
EtOAc fraction	28
BuOH fraction	33
Aqueous fraction	35
α-tocopherol	12
BHA	14

¹⁾Amount required for 50% reduction of DPPH after 30 min.

Table 2. Antimicrobial activities of the extract and fractions from *Ixeris dentata* Nakai juice extracts

Extracts and fraction	MIC ¹⁾ (µg/mL)						
	Fungi strain ²⁾				Bacteria strain ²⁾		
	A.a	A.n	C.h	H.n	B.s	C.l	E.c
Juice extract	125	125	125	8	12	>1000	1000
Hexane fraction	1000	500	250	500	1000	>1000	1000
EtOAc fraction	500	125	250	500	25	250	250
BuOH fraction	500	250	125	250	1000	500	500
Aqueous fraction	500	250	125	32	>1000	>1000	1000
Tetracycline					125	125	125
Cyclohexamide	25	13	25	13			

¹⁾The MIC values against bacteria and fungi were determined by the serial 2-fold dilution method. The growth of the bacteria was evaluated by the degree of turbidity of the culture with the naked eye, and the sporegermination of fungi was examined under a microscope.

²⁾A.a: *Asperigillus awamori*. A.n: *Asperigillus niger*.
 C.h: *Cladosporium herbarum*. H.n: *Hypocrea nigricans*.
 B.s: *Bacillus subtilis*. C.l: *Candida lypolytica*.
 E.c: *Escherichia coli*.

결합하는 것을 방해하여 단백질의 신장을 방해하고, cyclohexamide도 tetracycline와 마찬가지로 단백질의 합성을 방해한다. 썸바귀와 근연종인 산썸바귀의 성분조성을 연구보고(19)한 내용에 따르면 triterpenoid 계통인 β-amyrin, α-amyrin, lupeol, pseudotaraxasterol, taraxaterol, 그리고 germanicol 등이 존재하는 것으로 알려졌다. 이들 중 β-amyrin과 α-amyrin은 항미생물 효과가 있는 것으로 보고되어 있다(20,21). 그러나 썸바귀 생즙 농축액 및 분획물 중 항미생물 활성을 나타내는 물질 분리 및 정확한 항생기작은 앞으로 더 연구되어야 할 것이다.

항돌연변이 효과

Ames assay에서 양성반응을 나타내며, 직접변이원 MNNG와 4NQO, 간접변이원인 B(a)P과 Trp P-1을 사용하여 썸바귀 생즙액의 돌연변이성 억제효과를 검토하였다. Ames test 결과 음성대조군의 복귀 돌연변이 집락수는 TA98이 13 ± 3, TA100은 192 ± 8이었다. 각 시료 자체의 돌연변이원성을 실험한 결과, 집락수가 음성대조군에 비하여 농도 의존성을 나타내지 않으므로 돌연변이원성을 나타내지 않는 것으로 판단되었다(자료 미제시).

강력한 발암물질로써 직접 변이원으로 사용된 MNNG(0.4 µg/plate)의 경우 *S. typhimurium* TA100 균주에서 시료농도 50 µg/plate에서 부탄올 분획물이 78.72%로 가장 높은 억제효과가 나타났다. 또한, 시료농도 100 µg/plate에서 썸바귀 생즙 농축액, 에칠아세테이트 분획물, 부탄올 분획물에서도 각각 72.52, 71.78, 71.75%로 높은 억제효과를 보였다. 그 외에도 핵산 분획층도 69.7% 이상의 높은 억제 효과를 보였다(Fig. 1). 4NQO(0.15 µg/plate)에 대한 *S. typhimurium* TA98과 TA100 균주 실험결과는 다음과 같았다. TA98 균주에서 시료농도 100 µg/plate에서는 썸바귀 생즙 농축액을 제외한 모든 시료가

70% 이상의 높은 억제효과를 나타내었다. 특히 에칠아세테이트 분획물이 74.21%로 가장 높은 억제효과를 나타냈으며, 부탄올 분획물 역시 73.41%의 높은 억제효과를 나타내었다. 또한, TA100 균주의 경우에서는 에칠아세테이트, 부탄올 분획물에서도 70% 이상의 억제 효과를 보였다. 특히 부탄올 분획물(75 µg/plate)에서 73.11%로 가장 높은 억제 효과를 나타내었다(Fig. 2).

Microsomal enzyme의 대사활성에 의해서만 돌연변이원성을 나타내는 간접변이원으로서 실제로 식품을 통해 흡수될 수 있는 polycyclic aromatic hydrocarbon인 B(a)P과 아미노산 가열분해물인 Trp-P-1을 사용하여 실험을 수행하였다. Trp-P-1(0.15 µg/plate)을 사용한 *S. typhimurium* TA98 균주에서는 시료농도 100 µg/plate에서 모든 시료에서 60% 이상의 높은 억제효과를 나타냈으며 물 분획물(75 µg/plate)에서 83.09%의 가장 높은 억제효과를 보였다. 또한, TA100 균주의 경우, 시료농도 100 µg/plate에서 부탄올 분획물에서 68.88%의 가장 높은 억제효과를 보였으며, 대부분의 시료가 TA98보다 낮은 억제효과를 보였다(Fig. 3). 한편, B(a)P(10 µg/plate)에서는 TA98 균주 100 µg/plate의 시료농도에서는 에칠아세테이트 분획물이 78.83%로 가장 높은 억제효과를 보였으며(Fig. 4), TA100균주 100 µg/plate의 시료농도에서는 핵산 분획물이 75.96%로

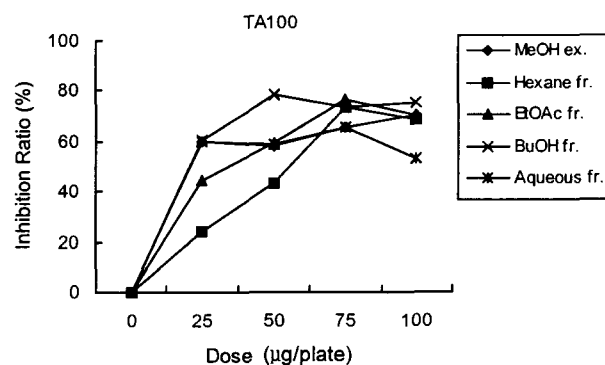


Fig. 1. The antimutagenic effects of each fraction of *Ixeris dentata* Nakai juice extract against MNNG (0.4 µg/plate) on *Salmonella typhimurium* TA100.

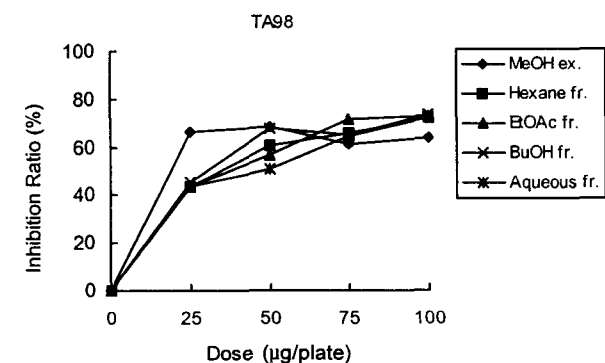


Fig. 2. The antimutagenic effects of each fraction of *Ixeris dentata* Nakai juice extract against 4NQO (0.15 µg/plate) on *Salmonella typhimurium* TA98.

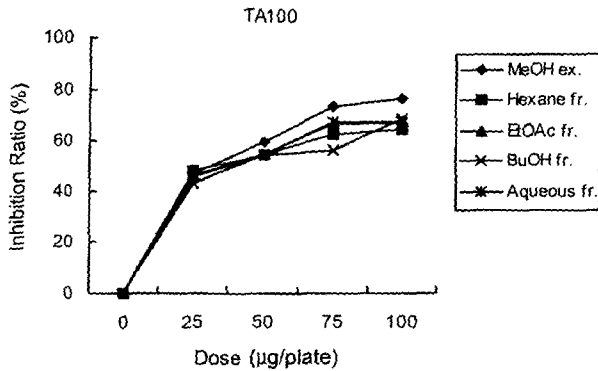


Fig. 3. The antimutagenic effects of each fraction of *Ixeris dentata* Nakai juice extract against Trp-P-1 (0.15 µg/plate) on *Salmonella typhimurium* TA100.

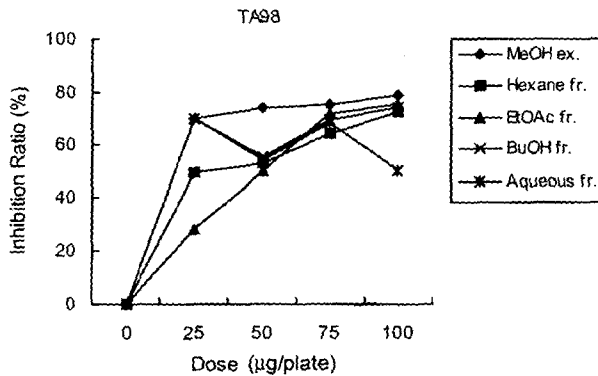


Fig. 4. The antimutagenic effects of each fraction of *Ixeris dentata* Nakai juice extract against B(a)P (10 µg/plate) on *Salmonella typhimurium* TA98.

가장 높은 억제효과를 보였다(자료 미제시).

이(6)는 냉이, 민들레, 수리취, 질경이 등 11종의 산채류 생즙에 대하여 돌연변이 억제율을 조사한 결과 부추, 민들레, 냉이, 수리취, 쑥바귀 그리고 질경이가 B(a)P, Trp-P-1, 2-AF, 4NQO에 의해 유발된 변이원성에 대해 억제활성이 가장 컸다고 보고하였으며, Ito 등(14)은 양파, 가지, 호박 그리고 양배추의 생즙 및 가열즙이 7,12-dimethylbenzo(a)anthracene(DM-BA)에 의해 유발된 돌연변이원성을 억제하는 활성을 갖고 있으며 이것은 양파나 가지에 존재하는 SH 화합물이 glutathione transferase의 활성을 증가시키기 때문이라고 보고하였다(15).

쑥바귀 생즙 농축액 및 분획물의 암세포 증식 억제 효과
쑥바귀 생즙의 암세포 증식 억제 효과를 규명하기 위하여 암세포주(A549, Hep3B, MCF-7)를 이용하였다. 쑥바귀 생즙 농축액 및 용매 극성을 이용한 분획물을 대상으로 암세포주에 대한 증식 억제 효과를 실험한 결과(Table 3), 폐암세포주인 A549세포에서는 물 분획물을 제외한 모든 시료에서 70% 이상의 높은 억제 효과를 나타냈으며, 그 중에 부탄올 분획물(375 µg/mL)이 93.75%로 가장 높은 억제 효과를 나타내었다. 간암 세포주인 Hep3B에서는 핵산 분획물(500 µg/mL)이 84.91%로 가장 높은 억제 효과를 보였다. 또한, 유방암 세포주인 MCF-7

에서도 핵산 분획물(500 µg/mL)이 68.56%의 높은 억제 효과를 보였다. 특히 A549세포에서는 돌출을 제외한 시료에서 이 실험의 최저농도인 125 µg/mL에서 70% 이상의 높은 억제 효과를 나타내었다. 한편, Fig. 5는 인간유래의 정상 간세포 293에 대하여 시료농도에 따른 세포독성 효과를 나타낸 것으로 500 µg/mL 시료 첨가시 암세포에 대하여 대부분 60% 전후의 억제율을 보이는데 반해 293에 대해서는 32% 이하의 생육억제율을 보였다. 이는 암세포에 대한 높은 억제 효과에 비해 정상세포에 대해서는 비교적 낮은 독성효과를 나타냄을 알 수 있었다. 쑥바귀의 메탄올 추출물은 사람의 골육암세포의 성장을 억제시키는 항암 효과도 나타냈다는 보고(22)가 있다. 100 µg의 첨가는 MG-63 세포의 성장률을 76%까지 억제하였

Table 3. Growth inhibitory effects of *Ixeris dentata* Nakai juice extract and fractions against the human cancer cell lines by SRB assay (unit: %¹⁾)

<i>I. dentata</i>	Dose (mg/mL)	A549	Hep3B	MCF-7
MeOH ex.	0.125	73.73±0.2 ²⁾	11.06±0.05	53.44±0.03
	0.25	79.05±0.16	42.04±0.32	52.07±0.04
	0.375	76.25±0.13	45.69±0.08	52.91±0.02
	0.5	83.07±0.13	45.76±0.06	47.46±0.03
	Hexane fr.	0.125	78.29±0.16	34.12±0.07
0.25		72.3 ±0.21	42.51±0.04	53.61±0.03
0.375		81.86±0.14	52.86±0.01	57.86±0.01
0.5		72.86±0.2	84.91±0.01	68.56±0.01
EtOAc fr.		0.125	79.11±0.16	18.53±0.07
	0.25	77.52±0.17	51.95±0.06	50.2 ±0.01
	0.375	86.5 ±0.03	61.48±0.05	57.8 ±0.04
	0.5	80.85±0.14	65.96±0.04	61.99±0.04
	BuOH fr.	0.125	85.27±0.11	41.64±0.07
0.25		78.86±0.16	53.32±0.01	54.73±0.02
0.375		93.75±0.05	68.91±0.03	53.92±0.03
0.5		89.01±0.01	71.54±0.02	51.05±0.05
Aqueous fr.		0.125	50.2 ±0.08	14.33±0.1
	0.25	52.18±0.05	13.89±0.11	60.7 ±0.03
	0.375	53.31±0.05	13.65±0.06	60.2 ±0.01
	0.5	61.5 ±0.04	26.02±0.07	51.05±0.01

¹⁾%=(OD₅₄₀ of positive control - OD₅₄₀ of sample/OD₅₄₀ of positive control)×100.

²⁾Mean value±SD (n=3).

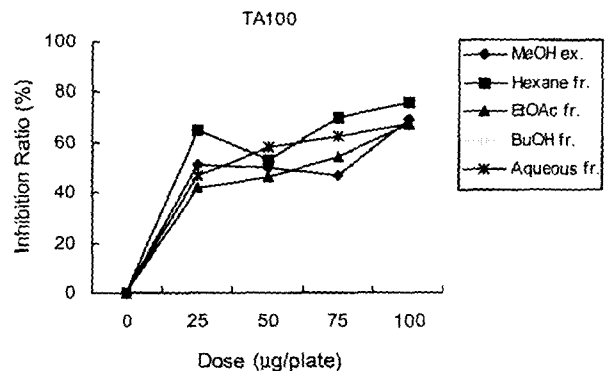


Fig. 5. Growth inhibitory effects of each fraction of *Ixeris dentata* Nakai juice extract on human liver embryo 293.

다. 위의 연구에서 썩바귀의 암세포 저해효과는 지용성 분획물들이 많은 곳의 효과가 큰 것으로 결론을 얻었고, 불포화지방산이 직접 손상을 주거나 동물세포의 면역작용을 강화시켜 세포독성을 나타내는 것으로 해석하였다. 암세포증식효과에 대한 연구는 앞으로 세분화된 실험을 통하여 구명해야 할 것이다.

요 약

생식용 썩바귀의 섭취의 일환으로 생즙의 생리활성을 검색하기 위하여 본 실험을 실시하였다. DPPH free radical 소거법에 의한 항산화활성을 검정한 결과 에칠아세테이트 분획물이 RC₅₀값이 28 µg/mL로 강한 활성을 나타내었다. 항미생물 활성 실험에서는 곰팡이 균주에 대해서는 생즙 농축액이 분획물에 비하여 우수한 활성을 나타냈으며, 특히 *Hypocrea nigricans*에 대해서는 대조구보다 우수한 활성을 나타낸 반면 세균 균주에 대해서는 에칠아세테이트 분획물이 우수한 활성을 나타내었다. 또한 각 균주에 대하여 썩바귀 생즙이 독성을 나타내지 않는 범위에서 직접 돌연변이원(MNNG, ANQO)과 간접 돌연변이원(B(a)P, Trp-P-1)에 대하여 실험을 실시한 결과 강력한 발암물질로써 직접 변이원으로 사용된 MNNG(0.4 µg/plate)의 경우 *S. typhimurium* TA100 균주에서 시료농도 50 µg/plate에서 부탄올 분획물이 78.72%로 가장 높은 억제 효과가 나타났으며, 4NQO(0.15 µg/plate)에 대한 *S. typhimurium* TA98 균주에서 에칠아세테이트 분획물이 74.21%로 가장 높은 억제 효과를 나타냈으며, TA100 균주의 경우에는 부탄올 분획물(75 µg/plate)에서 73.11%로 가장 높은 억제 효과를 나타내었다. Trp-P-1(0.15 µg/plate)을 사용한 *S. typhimurium* TA98 균주에서는 시료농도 100 µg/plate에서 물 분획물(75 µg/plate)에서 83.09%의 가장 높은 억제 효과를 보였고, TA100 균주의 경우, 시료농도 100 µg/plate에서 부탄올 분획물에서 68.88%의 가장 높은 억제 효과를 보였고, B(a)P(10 µg/plate)에서는 TA98 균주 100 µg/plate의 시료농도에서는 에칠아세테이트 분획물이 78.83%로 가장 높은 억제 효과를 보였으며, TA100 균주 100 µg/plate의 시료농도에서는 핵산 분획물이 75.96%로 가장 높은 억제 효과를 보였다. 각종 암세포주(A549, Hep3B, MCF-7)에 대한 증식 억제 효과를 실험을 한 결과, 폐암세포주인 A549세포에서는 부탄올 분획물(375 µg/mL)이 93.75%로 가장 높은 억제 효과를 나타내었고, 간암세포주인 Hep3B에서는 핵산 분획물(500 µg/mL)이 84.91%로 가장 높은 억제 효과를 보였다. 또한, 유방암 세포주인 MCF 7에서도 핵산 분획물(500 µg/mL)이 68.56%의 높은 억제 효과를 보였다. 썩바귀 추출물은 인간 정상 간세포 293에서 시료농도에 따른 증식 억제 효과를 보였다. 1000 µg/mL 시료 첨가 시 암세포에 대하여 대부분 60% 전후의 성장 억제를 하였고, 정상인 293세포에 대해서는 32% 이하로 생육을 억제하였다. 이는 썩바귀 추출물이 암세포의 성장억제에 대한 높은 효과에 비해 정상세포에 대해서는 비교적 낮은 독성을 나타냄을 알

수 있었다.

감사의 글

본 연구는 2000년도 보건복지부의 보건의료기술연구개발사업(HMP-00-PT-04-0006)과 (주)천길바이오텍의 일부 지원에 의해서 수행되었으며, 이에 감사드립니다.

문 헌

1. 이창복. 1979. 원색한국기증식물도감. 아카데미서적, 서울.
2. Colditw GA, Branch LG, Lipnick RJ, Willett WC, Rosner B, Posner BM, Hennekens CH. 1985. Increased green and yellow vegetable intake and lowered cancer deaths in an elderly population. *Am J Clin Nutr* 41: 32-35.
3. Shinohara K, Kuroki S, Miwa M, Kong ZL, Hosoda H. 1988. Antimutagenicity of dialyzates of vegetables and fruits. *Agric Biol Chem* 52: 1369-1372.
4. Morita K, Hara M, Kada T. 1978. Studies on natural desmutagens; Screening for vegetable and fruit factors active in inactivation on mutagenic pyrolysis products from amino acids. *Agric Biol Chem* 42: 1235-1239.
5. Lai CH, Butler MN, Matney TS. 1980. Antimutagenic activities of common vegetables and their chlorophyll content. *Mutat Res* 77: 245-248.
6. Lee JH. 1989. Studies on the desmutagenic effect of the edible mountain herb juices. *MS Thesis*. Kangwon National University.
7. Ham SS. 1988. Desmutagenic activity of heated mountain herb juices. *J Korean Soc agric Chem Biotechnol* 31: 38-45.
8. Xiong Q, Kadota S, Tadota T, Namba T. 1996. Antioxidative effects of phenylethanoids from *Cistanche deserticola*. *Biol Pharm Bull* 19: 1580-1585.
9. Choi JS, Park JH, Kim HG, Young HS, Mun SI. 1993. Screening for antioxidant activity of plants and marine algae and its active principles from *Prunus daviana*. *Kor J Pharmacology* 24: 299-303.
10. Kobayasi A, Kim MJ, Kawaz K. 1996. Uptake and exudation of phenolic compounds by wheat and antimicrobial components of the root exudate. *Z Naturforsch* 51c: 527- 533.
11. Matsushima T, Sugimura T, Nagao M, Yahagi T, Shirai A, Sawamura M. 1980. Factors modulating mutagenicity in microbial test. In *Short-terms for detecting carcinogens*. Norphth KH, Garner RC, eds. Springer, Berlin. p 273-285.
12. Maron DM, Ames BN. 1983. Revised methods for the *Salmonella* mutagenicity test. *Mutation Res* 113: 173- 215.
13. Martin A, Martin C. 1997. Comparison of 5 microplate colorimetric assay for *in vitro* cytotoxicity testing and cell proliferation assays. *Cytotechnology* 11: 49-54.
14. Ito Y, Maeda S, Sugiyama T. 1986. Suppression of 7,12-dimethylbenzo(a)anthracene-induced chromosome aberrations in rat bone marrow cells by vegetable juices. *Mutation Research* 172: 55-60.
15. Han KS, Ham SS, Jeong EH, Lee HK. 1992. Antimutagenic effects of the edible mountain herb juices against Trp-P-1 and 2-AF. *Kor J Food Hygiene* 7: 161-168.
16. Choi U, Shin DH, Chang YS, Shin JI. 1992. Screening of natural antioxidant from plant and their antioxidant effect. *Kor J Food Sci Technol* 24: 142-148.
17. Lim SS, Lee JH. 1997. A study on the chemical composition and hypocholesterolaemic effect of *Aster scaber* and *Ixeris dentata*. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 26: 123-129.

18. Chung KH, Yoon KR, Kim JP. 1994. Flavonoidal constituent in Korean *Lactuca dentata* Makino. *Kor J Dietary Culture* 9: 131-136.
19. Park HJ, Yun SY, Kwak TS, Choi JS, Park JH. 1995. Triterpenoid constituents of the herbs of *Lactuca raddeana*. *Kor J Med Crop Sci* 3: 151-155.
20. Ramesh N, Viswanathan MB, Saraswathy A, Balakrishna K, Brindha P, Lakshmanaperumalsamy P. 2001. Phytochemical and antimicrobial studies on *Drynaria quercifolia*. *Fitoterapia* 72: 934-936.
21. Hidalgo BD, de los Rios C, Crescente O, Caserta A. 1998. Antibacterial and chemical evaluation of *Chromolaena moritziana*. *J Ethnopharmacol* 59: 203-206.
22. Kim SH. 1995. Inhibitory effects of *Ixeris dentata* on the mutagenicity of aflatoxin B₁, N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine and the growth of MG-63 human osteosarcoma cells. *Kor J Food Sci Nutr* 24: 305-312.

(2002년 8월 6일 접수; 2002년 10월 8일 채택)