

瞿麥의 抗突然變異 活性에 관한 研究

서운교, 정지천

동국대학교 한의과대학 내과학교실

Abstract

A Study on Antimutagenic Activities of the Extracts from *Dianthi Herba*

Un-Kyo Seo, Ji-Cheon Jeong

Department of Internal Medicine, College of Oriental Medicine, Dongguk University

Antigenotoxicity test (SOS chromotest) and antimutagenicity test (Ames test) were carried out using water-soluble and methanolic extracts from *Dianthi Herba*. Antigenotoxic activity of methanolic extract against mutagens both MNNG and NQO was much more effective than that of water-soluble one. When the extract was added to the certain concentration (100 μl /tube), antigenotoxic activities against both mutagens were enhanced. Against the mutagen MNNG with Ames test, antimutagenic activity of the methanolic extract was better than that of water-soluble one. The 74.6% of inhibition ratio for revertant forming CFU/plate was shown at 300 μl /plate of the methanolic extract.

Key Word : Antigenotoxicity, antimutagenicity, *Dianthi Herba*.

교신저자 : 정지천

경기도 성남시 분당구 수내동 분당한방병원 3내과

Tel : 031-710-3751 E-mail : high418@hanmail.net

접수 : 2003/10/23 수정 : 2003/10/24 채택 : 2003/10/31

I. 緒 論

突然變異란 조직의 자율적인 과잉적 성장으로 개체에 대해서 아무런 의의가 없거나 손해 되면서 정상조직을 파괴하는 기능을 가지고 있다. 이러한 突然變異의 긍정적인 면은 자연선택을 할 수 있는 다양성을 제공하여 진화의 근거가 되어왔지만 腫瘍과 같이 개체에 치명적인 작용을 하는 부정적인 면도 있다¹⁻³⁾.

최근의 抗突然變異 작용이 있는 성분에 관한 보고로는 flavonoid⁴⁻⁷⁾에 대한 연구가 대부분을 차지하고 있으며, 이러한 성분을 함유하고 있는 천연물 중 무, 쑥, 메밀 등의 食用植物⁸⁻¹¹⁾ 및 藥用植物¹²⁻¹⁴⁾의 抗突然變異 活性에 관한 보고가 있다. 현재까지 抗突然變異 活性을 검색하기 위하여 개발된 여러 가지 방법 중에서 Ames test¹⁵⁻¹⁶⁾가 가장 많이 사용되어 왔으며 보다 정확히 측정하기 위하여 최근에는 SOS chromotest¹⁷⁾도 병행되어 사용하고 있다.

瞿麥은 石竹科에 속한 다년생 초목인 술패랭이꽃 *Dianthus superbus* var. *longicalycinus* (MAX) WILLIAMS의 지상부를 건조한 것으로 利水通淋, 破血通經 등의 효능이 있어 淋證이나 經閉 등의 치료에 활용되고 있다. 또한 항암치료에도 응용¹⁸⁻²⁴⁾되고 있어 抗突然變異 효과가 기대되는데 이에 관한 연구로는 突然變異原 benzo [a] pyrene에 대한 抗突然變異 효능²⁵⁾과 mouse의 Sarcoma-180에 대한 억제 효과²⁶⁻²⁸⁾ 등이 보고 되었다.

이에 저자는 瞿麥의 열수 추출물과 메탄올 추출물을 제조하여 突然變異原의 하나인 MNNG, NQO에 대한 抗突然變異 활

성을 측정하여 유의성 있는 결과를 얻었기에 보고하는 바이다.

II. 實驗 材料 및 方法

1. 材料

1) 藥材

瞿麥(*Dianthi Herba*)은 동국대학교 부속 한방병원에서 건조된 약재를 入手하여 사용하였다.

2) 使用 細菌 및 試藥

① 公試 菌株

抗突然變異 實驗의 SOS chromotest를 위하여 사용한 *Escherichia coli* PQ37(*sfiA::Mud(Ap lac)cts lacΔU169 mal⁺, uvrA, galE galY, PhoC, rfa*) 菌株는 동국대학교 자연과학대학 생물학과 미생물 실험실로부터 入手하여 사용하였다. Antimutagenecity 실험을 위하여 사용한 *Salmonella typhimurium* TA1538(*hisG46 rfa-uvrB*) 菌株는 한국과학기술연구원 생명공학연구소 유전자은행으로부터 分讓받아 사용하였다.

② 使用 試藥

突然變異原으로 사용된 4-nitroquinoline N-oxide(NQO)와 N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine(MNNG)는 Fluka社에서 購入하였으며 蒸溜水에 녹여 사용하였다. β -galactosidase, alkaline phosphatase, o-nitrophenyl- β -galactoside, p-nitrophenyl phosphate, sodium dodecyl sulfate(SDS), β -mercaptoethanol과 緩衝溶液에 必要한 試藥은 Sigma社에서, 培地 製造에 必要한 試藥은 Difco社에서 購入하

여 使用하였다.

3) 機器 및 裝置

瞿麥의 열수 및 메탄을 추출물의 製造를 위하여 Eyela社의 rotary evaporator (NE-1S) 減壓濃縮機를 利用하여 濃縮하였고, IIsin社의 Bondiro(FD 5505)를 利用하여 凍結乾燥하였다. 培地의 製造, 滅菌, 培養, 瞿麥의 抽出을 위하여 使用한 器機는 國產製作器機를 使用하였다.

細菌의 生長, 抗突然變異 效能의 測定시 濁度 및 吸光度의 測定을 위하여 日本 Shimadzu社의 分光光度計(UV-160A spectrophotometer)를 使用하였다.

2. 方法

1) 瞿麥의 열수 및 메탄을 추출물의 製造

一般試驗法에 따라 瞿麥의 乾燥重量 100 g에 蒸溜水 300~900 ml를 添加하여 121°C 重湯器에서 3시간 동안 重湯, 열수 추출물을 製造하였다. 重湯液을 濾過한 후, 減壓濃縮機에서 濾液이 50 ml이 되도록 濃縮하였다. -20°C에서 24시간 凍結한 후, 減壓乾燥(-50°C, 9 mmTorr)하여 乾燥粉末을 얻어 試料로 使用하였다.

메탄을 추출물의 製造는 메탄올을 溶媒로 condenser가 附着된 soxhlet을 使用하여 抽出한 條件 이외에는 열수 추출물의 製造 方法과 같았다 (Scheme 1).

2) 瞿麥 추출물의 antigenotoxicity 活性 測定

사용한 SOS chromotest는 Quillardet 등의 方法¹⁷⁾을 변형하여 수행하였다 (Scheme 2).

① 公試 菌株의 培養

前 培養된 1.0 ml의 *E. coli* PQ37을 100

ml의 LB medium(조성; bacto yeast extract 0.5%, bacto tryptone 1.0%, NaCl 1.0%)에 接種하여 37°C에서 4시간 동안 660 nm에서의 濁도가 0.8~0.9에 이르도록 진탕배양하였다.

② Antigenotoxicity 活性의 測定

試驗管에 培養된 *E. coli* PQ37 배양액 600 μ l, 各 突然變異原(1.0 mM) 30 μ l, 열수 및 메탄을 추출물(10 mg/ml)을 0, 50, 100, 300, 500 μ l를 添加한 후 SOS 反應을 誘導하였다. 37°C에서 2시간 동안 定置한 후, 시료에 의한 색도 영향을 배제하기 위해 원심분리 후, 상등액을 제거하고, 배지를 이용해 세척하여 β -galactosidase와 alkaline phosphatase 酵素 活性을 測定하였다.

β -galactosidase 酵素 活性은 2.7 ml의 B 완충액(조성; Na_2HPO_4 16.1 g, NaH_2PO_4 5.5 g, KCl 0.75 g, MgSO_4 0.25 g, SDS 1.0 g, β -mercaptoethanol 2.7 ml, 증류수 1,000 ml, pH 7.0)을 넣어 37°C에서 10분간 정치하여 온도를 均一化시킨 다음, 0.6 ml의 o-nitrophenyl- β -galactoside 溶液(ONPG 4.0 mg/ml in phosphate buffer (pH 7.4))을 添加하여 20분간 發色反應을 維持하였다. 2.0 ml의 2.0 M Na_2CO_3 용액을 添加하여 反應을 停止시킨 후, 415 nm에서의 吸光度를 測定하였다.

Alkaline phosphatase 酵素 活性은 B 緩衝液 대신에 P 緩衝液(組成: Tris · base 121 g, SDS 1.0 g, 증류수 1,000 ml, pH 8.8)을 ONPG 溶液 대신에 p-nitrophenyl phosphate 溶液(PNPP 4.0 mg/ml)을 사용한 것 이외에는 β -galactosidase 효소 활성의 측정과 同一한 方法으로 수행하였다. 酵素反應의 停止를 위하여 1.0 ml의 2.5 M

HCl를 添加한 다음 10분 동안 定置하고, 1.0 ml의 2.0 M Tris-HCl buffer를 添加하였다.

각 酵素의 活性(unit)은 反應이 終了된 후 측정된 415 nm에서의 吸光度에 1000을 곱한 후 反應時間(20 초)으로 나눈 값을 1 unit로 定議하였다(Table 1).

Ratio(R)값은 β -galactosidase unit를 alkaline phosphatase unit로 나눈 값으로 定議하였다. SOS 反應의 誘導 程度를 나타내는 誘導指數(induction factor; IF)는 추출물 시료를 添加한 시험구의 각 濃度別 R 값(Rc)을 抽出物 試料가 添加되지 않은 R 값(Ro)으로 나눈 값으로 定議하였다(Table 1).

3) 瞿麥 추출물의 Ames test에 의한 抗 突然變異 活性的 測定

Maron과 Ames의 方法¹⁵⁻¹⁶⁾을 變形하여 使用하였다.

① 公試 菌株의 培養

24시간 前 배양된 *S. typhimurium* TA1538 1.0 ml을 100 ml의 LB medium에 接種하였다. 37°C에서 4시간 진탕배양한 후, 1/10로 稀釋하여 使用하였다.

② 抗突然變異(antimutagenicity) 活性的 測定 (Table 1)

멸균된 cap tube에 稀釋된 100 μ l의 菌株液, 520 μ l의 0.2 M phosphate buffer(pH 7.4), 각각 0, 100, 300 μ l의 열수 및 메탄올 추출물(10 mg/ml), 50 μ l의 突然變異原 溶液(1.0 mg/ml)을 混合한 다음, vortex하여 37°C에서 30분간 定置하였다. 이 혼합액에 200 μ l의 HB 용액을 添加한 후 3초간 vortex하였다. 이 混合한 溶液에 45°C의 2.0 ml soft agar를 添加하였다. 上記의 方法으로 製造된 最終 混合

液을 미리 제조된 20 ml의 AMA에 골고루 塗抹하였다. 塗抹된 한천배지를 37°C에서 48시간 배양한 다음 出現하는 復歸 콜로니 수(revertant CFU/plate)를 測定하였다. 瞿麥 추출물에 의하여 抑制된 突然變異-誘發-抑制率(IRR, %)은 Table 2의 식에 의하여 구하였다.

4) 瞿麥 추출물의 公試 細菌에 대한 細胞毒性(cytotoxicity) 實驗

實驗에 使用된 *E. coli* PQ37 및 *S. typhimurium* TA1538에 대한 열수 및 메탄올 추출물의 細胞毒性(cytotoxicity)을 測定하였다. LB medium에 4시간 동안 前培養한 *E. coli* PQ37과 *S. typhimurium* TA1538을 接種한 후, 24시간 동안 배양하여 분광광도계의 660 nm 파장에서 탁도를 측정하여 추출물이 각 세균의 生長을 억제하는지 측정하였다. 병행하여 前배양된 각 세균을 10^{-4} 배로 稀釋하여 각 추출물이 濃度別로 添加된 LB agar plate(0~2.5 mg/tube)에 희석하였다. 細菌液 100 μ l를 塗抹하여 24시간 동안 培養하여 生育抑制 阻止環의 유무로 세균의 生長억제 여부를 判定하였다.

III. 實驗 結果

瞿麥의 열수 및 메탄올 추출물의 突然變異原 MNNG 및 NQO에 대한 抗突然變異 活性的을 SOS chromotest를 利用한 antigenotoxicity 試驗과 Ames의 方法을 利用한 antimutagenicity 試驗을 隨行하였다.

1. SOS chromotest를 利用한 antigenotoxicity 實驗

SOS chromotest를 利用한 瞿麥의 antigenotoxicity 實驗은 突然變異原 MNNG에 대한 反應 tube 당 100 μ l의 瞿麥 추출물이 添加되었을 때, 抗突然變異 效能은 메탄올 추출물의 경우 induction factor(IF)가 1.40으로 1.49의 열수 추출물과 비교시 우수하였다 (Fig. 1, 2).

突然變異原 NQO에 대해 反應 tube 당 100 μ l의 瞿麥 추출물을 添加하였을 때, 抗突然變異 效能은 메탄올 추출물의 경우 induction factor(IF)가 2.57로 열수 추출물의 3.04와 비교시 메탄올 추출물의 抗突然變異 效能이 더 優秀하였다 (Fig. 3, 4).

瞿麥의 메탄올 추출물의 濃度を 50 μ l, 100 μ l, 300 μ l, 500 μ l로 增加하여 突然變異原 MNNG 및 NQO에 대해 抗突然變異 效能을 측정하였다. 추출물을 100 μ l까지 添加하였을 때 각 突然變異原에 대한 抗突然變異 活性은 모두 增加하였으나, 그 이상의 濃도에서는 거의 같은 結果를 보여 주었으며 突然變異原 NQO의 結果가 더 優秀하였다 (Fig. 5, 6).

瞿麥의 열수 및 메탄올 추출물을 시험한 濃도와 같도록 조절(2.5mg/ml)하여 *E. coli* PQ37의 생육억제 정도를 측정한 結果, 각 추출물의 *E. coli* PQ37에서 대한 세포독성은 없었다 (Fig. 7).

2. Ames test를 이용한 antimutagenicity 實驗

Ames test를 利用한 瞿麥의 antimutagenicity 實驗은 營養原으로 아미노산 histidine을 生合成할 수 없어 最小寒天培地에서 스스로 生長할 수 없는 *S.*

typhimurium TA1538 細菌 菌株를 利用하였다. 突然變異原에 의하여 生成되는 復歸變異株 colony 수를 決定하여, 瞿麥 각 추출물이 어느 정도 突然變異를 抑制하여 復歸變異株의 出現을 抑制하는가의 方法을 活用하여 隨行하였다.

瞿麥의 메탄올 추출물을 使用하여 復歸變異株의 生成率을 測定한 結果, 最小寒天培地 平板 당 出現한 colony의 수는 添加한 추출물의 濃도에 比例하여 減少함을 보여 주었다 (Fig. 8). 300 μ l의 메탄올 추출물을 添加하였을 경우, 復歸變異株 形成 抑制率은 74.6%로 매우 우수한 抗突然變異 活性을 보였다.

使用한 瞿麥 각 추출물의 *S. typhimurium* TA1538 菌株에 대한 細胞毒性을 조사하였다. 瞿麥 메탄올 추출물과 열수 추출물이 첨가(濃도: 25 mg/ml)된 LB broth에 菌株를 接種하여 培養 시간대별 成長 곡선을 측정하였고, 寒天平板培地 상에 균주를 塗抹한 다음, 瞿麥의 열수 및 메탄올 추출물을 적신 濾過紙를 平板培地 위에 位置하여 培養한 結果, 두 추출물의 세포독성은 관찰되지 않았다 (Fig. 9). 이 結果는 瞿麥의 각 추출물의 抗突然變異에 대한 活性이 細胞毒性에 의하여 誘發되지 않았음을 나타내었다.

IV. 考 察

생물의 유전적 다양성은 기본적으로 突然變異라는 유전적 변화에 있고 이러한 突然變異가 生殖細胞에 발생한다면 그 자손이 심각한 病이나 기형으로 사망할 수도 있으며 皮膚나 肝 등과 같은 體細胞에 생

긴 突然變異는 그 細胞를 死滅시키거나 癌을 유발할 수도 있다. 돌연변이는 크게 點突然變異(point mutation)와 染色體突然變異(chromosomal mutation)로 나뉘어지는데 노화과정에서 주로 발생하는 것으로 알려져 있으며, 특히 突然變異는 腫瘍과 밀접한 상관관계가 있어 현재까지 알려진 發癌物質의 85% 이상은 突然變異原이고 非發癌性物質의 경우에도 10% 이하가 突然變異原으로 작용한다는 연구결과도 있듯이 돌연변이와 腫瘍은 밀접한 관계가 있다^{11,29)}.

人體는 유전자작용에 의해서 몸의 각기 부위에서 그 형태를 유지하며 조직기능을 완수하고 있지만 어느 조직의 성분세포가 원래 질서를 혼란시켜 이상하게 增殖(proliferation)된 경우를 腫瘍이라 하며 腫瘍細胞가 미분화인 것일수록 악성도가 높다고 하지만 이것은 細胞의 성숙을 완수치 못한 채로 增殖되기 때문으로 組織으로서 질서를 유지하지 못하기 때문이다. 하지만 양성이라고 해도 腦腫瘍과 같이 기능적 조직기능을 저해하는 경우는 안전하지 못하다¹⁻²⁾.

한방 병증으로 積聚, 癭瘤, 癥瘕, 疝癖, 石癥, 石癰, 등³⁰⁻³²⁾이 종양과 관련이 있다고 하였으며, 原因을 살펴보면 《靈樞》³³⁾에서는 “積之始生, 得寒乃生, 厥乃成積也.”, “熱氣淳盛, 下陷肌膚, 筋髓枯, 內連五臟, 血氣竭, 當其癰下, 筋骨良肉皆無餘, 故命曰疽.”라 하여 寒, 熱과 같은 外邪로 보았고 《難經正義》³⁴⁾에서는 氣之積, 氣之聚라 하여 人體의 氣機와 관련된 것으로 보았으며 《中藏經語釋》³⁵⁾에서는 “夫癰疽瘡腫之所作也. 皆五臟六腑蓄毒不流則生矣. 非獨因榮衛壅塞而發者也.”라 하여 五臟六腑에 蓄

積된 毒素가 病因이 된다고 하였다. 《景岳全書》³⁶⁾에서는 七情, 勞倦, 飲食, 方術 등과도 관련이 있는 것으로 보았다.

現代中醫³⁷⁻⁴⁰⁾에서는 正虛邪實, 氣滯血瘀, 臟腑失調, 痰濕結聚, 熱毒內結 등으로 보고 益氣健脾, 滋陰補血, 溫補脾腎 등의 扶正法과 理氣活血, 活血祛瘀, 清熱解毒, 軟堅散結, 化痰祛濕 등의 治療法 외에 扶正祛邪의 兼治法을 사용한다.

抗癌作用에 대한 실험으로는 지금까지 細胞毒性 반응을 알아보는 抗癌效果에 관한 것과 免疫機能과 관련된 실험으로 나뉘는데 韓方治法으로 살펴보면 祛邪法에 해당하는 清熱利水, 活血祛瘀의 효능을 가진 藥物과 扶正法에 해당하는 補益劑가 主를 이룬다⁴¹⁻⁴⁴⁾.

화학적으로 添加하는 變異原 物質의 作用 기작에 따라, 直接突然變異原(Directly acting mutagen)과 間接突然變異原(Indirectly acting mutagen)으로 구분된다. 일반적으로 直接突然變異原은 니트로소구아니딘으로 대표되는 알킬화제와 같이 이들은 화학적 反應性이 풍부한 대사활성화를 필요로 하지 않는 化合物이다. 대표적인 化合物로서 methylmethanesulfonate (MNS), ethylmethanesulfonate (EMS), N-methyl-N-nitro-N-nitrosoguanidine (MNNG), sodium azide (NaN₃) 등이 있다. 間接突然變異原은 그 자신은 反應性이 없어 突然變異를 일으키지 않지만, 대사에 의해 反應性이 있는 變異原으로 변환되는 化合物이다. 따라서 間接突然變異原은 突然變異原으로 作用하기 위해서 대사활성 단계를 꼭 거쳐야 된다. 대부분의 기작은 밝혀져 있지 않지만 benzopyrene의 경우 소포체막에 붙어 있는 시토크롬

P₄₅₀에 의해서 活性化되는데, 시토크롬 P₄₅₀에 의해서 酸化되는 과정에서 1단계와 2단계의 대사산물을 발생시키며 이들은 直接突然變異原으로써 작용을 하게 된다.

따라서 直接突然變異에 의해 誘發되는 突然變異의 抑制作用은 直接的으로 突然變異原에 作用하여 突然變異原을 不活性化시키거나 또는 回復에 관련된 다른 酵素活性을 誘發시켜 作用하게 된다. 그리고 間接突然變異原에 의해 誘發되는 突然變異를 抑制하는 作用은 1, 2차 대사산물을 생성하는 酵素를 抑制하거나 생성되는 조건을 變化시킴으로써 대사산물생성을 抑制하여 突然變異를 抑制하게 된다

본 실험에 사용한 N-methyl-N-nitro-N-nitrosoguanidine (MNNG)와 4-nitroquinoline N-oxide (NQO)의 경우, 突然變異를 일으키는데 있어 化學的 反應性이 풍부하여 대사활성화가 필요하지 않는 直接突然變異原이며, 염기치환(base substitution)작용으로 착오염기쌍을 惹起시켜 염기 轉移를 일으킨다(AT→GC, GC→AT; transition mutation).

현재 우리나라에서 통용되고 있는 瞿麥은 石竹科에 속한 다년생 초목인 술패랭이꽃 *Dianthus superbus* var. *longicalycinus* (MAX) WILLIAMS와 패랭이꽃 *D. chinensis* L.의 2가지가 대다수를 차지하고 있다⁴⁵⁾. 異名으로는 巨句麥, 大蘭, 南天竺草 등으로 불리며 주성분으로 소량의 alkaloid를 포함하고 利水通淋, 破血通經 등의 效能¹⁸⁻²¹⁾이 있어 抗癌治療에 있어서도 그와 관련된 膀胱癌이나 子宮癌 등 泌尿生殖器系의 腫瘍治療에 주로 응용되고 있다²²⁻²⁴⁾.

瞿麥을 이용한 抗突然變異 실험으로는

Huei Lee 등²⁵⁾이 36종류의 抗癌效果가 있는 약물들에 대한 突然變異原 picrolonic acid와 benzo [a] pyrene에 대한 抗突然變異 效果가 있는지에 관한 실험이 있었으며, 瞿麥은 다른 11가지의 약물과 같이 중등도의 抗突然變異 效果가 있다고 판명되었다. 그리고 抗癌效果에 관한 보고로는 *in vitro* 실험^{26,27)}에서 瞿麥의 열수 추출물이 JTC-26세포의 抑制率이 90-100%에 이르지만 정상세포에 대한 抑制率도 66.7%나 된다고 하였고 mouse의 Sarcoma-180 세포 성장에 대한 抑制率도 35.9%에 이른다고 하여 같은 실험을 한 藥材 중 仙鶴草 다음으로 效果가 좋다²⁸⁾고 하였다.

본 실험에서도 瞿麥의 열수 추출물과 메탄을 추출물의 抗突然變異 및 抗酸化 效果를 측정한 결과, 瞿麥의 메탄을 추출물이 열수 추출물에 比較하여 더 우수한 抗突然變異 활성이 있었다.

瞿麥 추출물의 突然變異原 MNNG에 대한 抗突然變異 활성은 메탄을 추출물에서 優秀하였고, 瞿麥 추출물의 濃度を 증가시켰을 경우 메탄을 추출물에서만 抗突然變異 활성은 증가하였다.

突然變異原 NQO에 대한 抗突然變異 활성은 메탄을 추출물과 열수 추출물 모두에서 優秀하였지만 瞿麥 추출물의 濃度を 증가하였을 경우 메탄을 추출물에서만 抗突然變異 활성은 증가하였다.

Ames test를 이용한 抗突然變異이 활성의 復歸變異株 抑制率은 突然變異原으로 MNNG를 사용하여 瞿麥의 抗突然變異 활성을 測定하였을 때, 메탄을 추출물이 優秀한 效能을 보여주었다. 사용한 瞿麥 각 추출물의 *E. coli* PQ37 菌株와 *S. typhimurium* TA1538 菌株에 대한 細胞毒

성에 관한 실험을 한 결과 시험한 두 추출물에 대한 細胞毒性이 없었다. 이 결과는 瞿麥의 각 추출물의 抗突然變異에 대한 활성이 細胞毒性에 의하여 誘發되지 않았음을 입증하였다.

본 실험의 결과 瞿麥 추출물의 抗突然變異에 대한 藥理效能은 매우 유의성이 높았으며, 특히 메탄올 추출물을 사용하였을 때 우수하였다. 이러한 결과를 토대로 향후 瞿麥 추출물에서 藥理作用이 우수한 성분의 分離·精製·分析 實驗 등을 통하여 새로운 항암 및 항암보조제로써 이용할 수 있는 연구를 지속적으로 隨行할 필요가 있을 것으로 사료된다.

V. 結 論

瞿麥의 열수 및 메탄올 추출물을 製造하여 SOS chromotest 및 Ames법을 利用한 抗突然變異 활성을 測定하였다.

瞿麥 추출물의 突然變異原 MNNG 및 NQO에 대한 antigenotoxic SOS chromotest 抗突然變異 결과는 두 突然變異原에 대하여 모두 메탄올 추출물이 열수 추출물보다 우수하였다. 瞿麥의 메탄올 추출물의 첨가 농도를 100 $\mu\text{l}/\text{tube}$ 까지 증가시켰을 경우, 突然變異原 MNNG 및 NQO에 대한 抗突然變異 活性은 모두 증가하였다.

瞿麥의 메탄올 추출물을 사용하여 突然變異原 MNNG에 대한 antimutagenic Ames test 결과는 추출물 첨가 농도의 증가에 따라 抗突然變異 활성도 증가하였다. 300 $\mu\text{l}/\text{plate}$ 의 메탄올 추출물 添加시의 突然變異 形成 抑制率은 74.6%로 매우 우수

하였다.

Acknowledgement

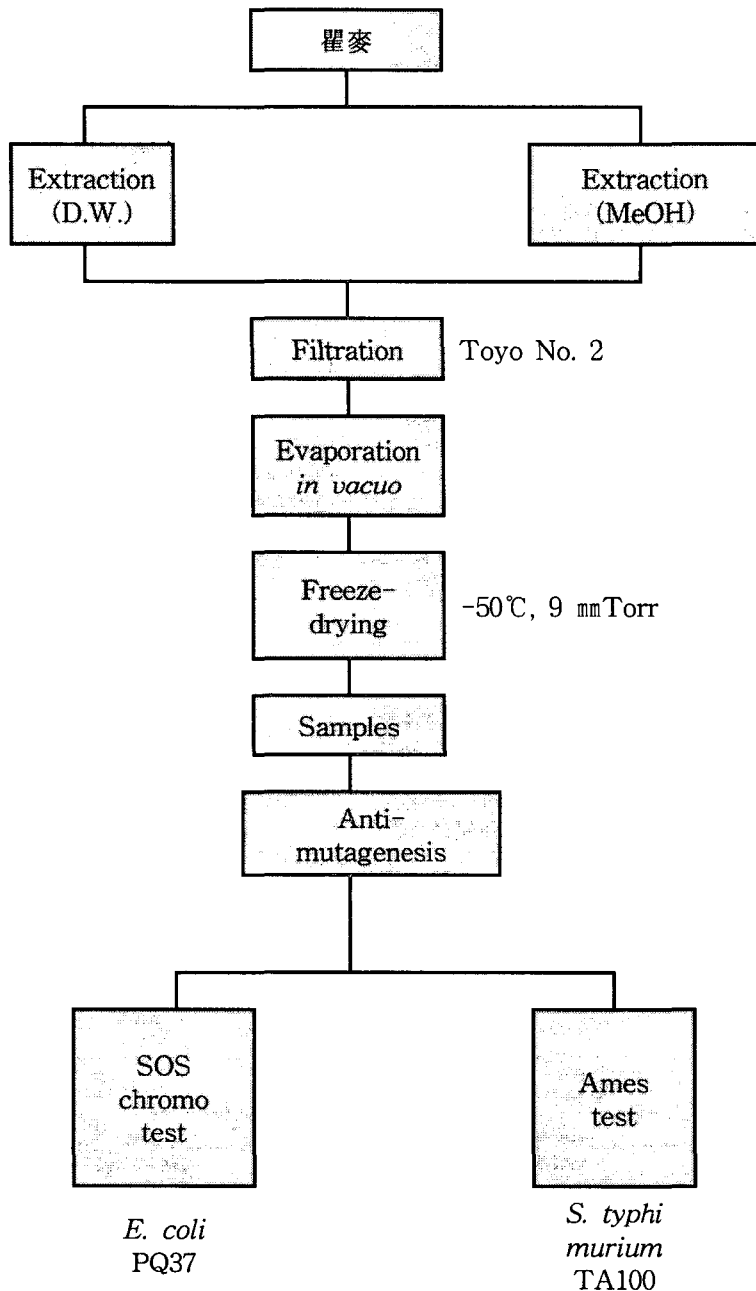
본 연구는 동국대학교 논문게재연구비 지원으로 이루어졌음.

參 考 文 獻

1. Yoghitoshi, Yawara : 내과진단학, 제 일의학사, pp. 8-9, 1994.
2. 서울대학교 의과대학 : 종양학, 서울대학교 출판부, pp. 1-3, 43-82, 137-138, 1996.
3. Geoffrey M. Cooper : Elements of human cancer, Jones and barlett publishing Inc:7, 240-259, 1992.
4. Kim, H.K. et al. : Effects of antimutagenic flavonoid, galangin on benzo(a)pyrene metabolism in mice, Kor. Biochem. J. 24:141, 1991.
5. MacGregor, J.T : Genetic and carcinogenic effects of plant flavonoids. In Nutritional and toxicological aspects of food safety (Friedman, M. ed.), Plenum Pub., New York, p. 497, 1984.
6. Wattenberg, L.W : Inhibition of neoplasia by dietary constituents, Cancer Res. 43:2448, 1983.
7. Huang, M.T. et al. : Inhibitory effect of 3-hydroxybenzo(a)pyrene on the mutagenicity and tumorigenicity of \pm -7 β , 8- α -dihydroxy-9- α , 10- α -epoxy-7,8,9,10-tetrahydrobenzo(a)pyrene, Cancer Res. 46:558, 1986.
8. 서정숙 外 : 식용식물의 항변이원에 관한 연구, 생약학회지 21:88, 1990.
9. 이성 外 : 쑥 추출물의 항돌연변이 활성효과, Kor. J. Appl. Microbiol. Biotechnol 24:105-110, 1996.
10. 김석중 外 : 무즙의 돌연변이 억제 효과 및 그 특성, 한국식품과학회지 24:193-198, 1992.
11. 함승시 外 : 메밀 flavonoids의 항突然變異原성 및 지질대사 조절 기능에 관한 연구, 한국영양식량학회지 23:698-703, 1994.
12. 김창민 外 : 개너삼의 성분 및 생물활성에 관한 연구, 생약학회지 21:137, 1990.
13. Sakai, Y. et al. : Antimutagenicity of extracts from crude drugs in chinese medicines, Mut. Res. 174:1, 1986.
14. Kakinuma K. et al. : J. Agri. Biol. Chem. 48:1647, 1984.
15. Ames, B.N. et al. : Methods for detecting carcinogenes and mutagens with Salmonella/mammalian -microsome mutagenicity test, Mutat.Res. 31:347-364, 1975.
16. Maron, D.M. et al. : Revised methods for the Salmonella mutagenicity test, Mut. Res. 113:173-215, 1983.
17. Quillardet, P. : The SOS chromotest, a colorimetric bacterial assay for genotoxins: procedures, Mut. Res. 147:65-78, 1985.
18. 馬繼興 : 神農本草經輯注, 人民衛生出版社, pp. 205-206, 1995.
19. 吳儀洛 : 本草從新, 紅巖出版社, pp. 71-78, 1996.
20. 李時珍 : 本草綱目, 重廣出版社, p. 98, 1994.
21. 康秉秀 外 : 本草學, 永林社, pp. 323-325. 1991.
22. 洪性範 : 臨床抗癌中草藥, 成輔社, pp.

- 151-152, 1990.
23. 盛展能 : 抗癌治驗本草, 重慶出版社, pp. 662-664, 1994.
 24. 錢伯文 : 抗癌中藥的臨床效用, 上海翻譯出版公司, pp. 284-285, 1987.
 25. Huei Lee and Jung-Yaw Lin : Antimutagenic activity of extracts from anticancer drugs in Chinese medicine, Mutation Research 204:229-234, 1988.
 26. 常敏毅 : 抗癌中藥, 湖南科學技術出版社, pp. 556-558, 1998.
 27. 潘敏求 外 : 中華腫瘤治療大成, 河北科學技術出版社, p. 195, 1996.
 28. 常敏毅 : 抗癌本草, 湖南科學技術出版社, pp. 337-338, 1987.
 29. 이광웅 外 : 생명과학의 이해, 을유문화사, p. 136, 142, 1996.
 30. 劉嘉湘 : 實用中醫腫瘤手冊, 上海科技教育出版社, pp. 1-2, 1996.
 31. 楊宝印 : 癌症的中藥治療, 河北科學技術出版社, pp. 4-6, 1992.
 32. 賈堃 : 癌瘤防治研究, 成輔社, p. 25, pp. 27-29, 1984.
 33. 郭靄春 : 黃帝內經靈樞校注語譯, 天津科學技術出版社, pp. 386-387, p. 439, 555, 1989.
 34. 葉霖 : 難經正義, 人民衛生出版社, p. 98, 1989.
 35. 李聰甫 : 中藏經語釋, 人民衛生出版社, pp. 77-78, 1990.
 36. 張介賓 : 景岳全書 雜證模選讀, 重慶大學出版社, p. 88, 90, 101, pp.94-95, 1988.
 37. 郁仁存 : 中醫腫瘤學(上), 科學出版社, pp. 65-72, 1991.
 38. 郁仁存 外 : 腫瘤研究, 上海科學技術出版社, pp. 95-133, 156-157, 1991.
 39. 李家庚 外 : 中醫腫瘤防治大全, 北京科學技術文獻出版社, pp.45-47, 608 -609, 1994.
 40. 李岩 編 : 腫瘤臨證備要, 人民衛生出版社, p. 2, pp. 5-6, 1983.
 41. 韓明權 外 : 24味中藥對人肺腺癌細胞核酸和蛋白質及細胞周期的影響觀察, 中國中西醫結合雜誌, 15(3):147-149, 1995.
 42. 姜榮遠 : 丹參的臨床應用概況, 實用中西醫結合雜誌, 10(1):68-69, 1997.
 43. 김성훈 外 : 항암활성 수종생약의 B16-Fo와 A549 암세포에 대한 항전이 효과(1), 대한한의학회지 17(1):111-131, 1996.
 44. 朴涌基 外 : 皂角刺의 抗癌作用에 대한 實驗的 研究, 大韓本草學會誌 12(1):53-63, 1997.
 45. 박종희 : 한약 「瞿麥」의 생약학적 연구, 생약학회지 118:320-327, 1999.

Scheme 1. Experimental scheme for the preparation of sample and for the test of antimutagenicity of *Dianthi Herba*.



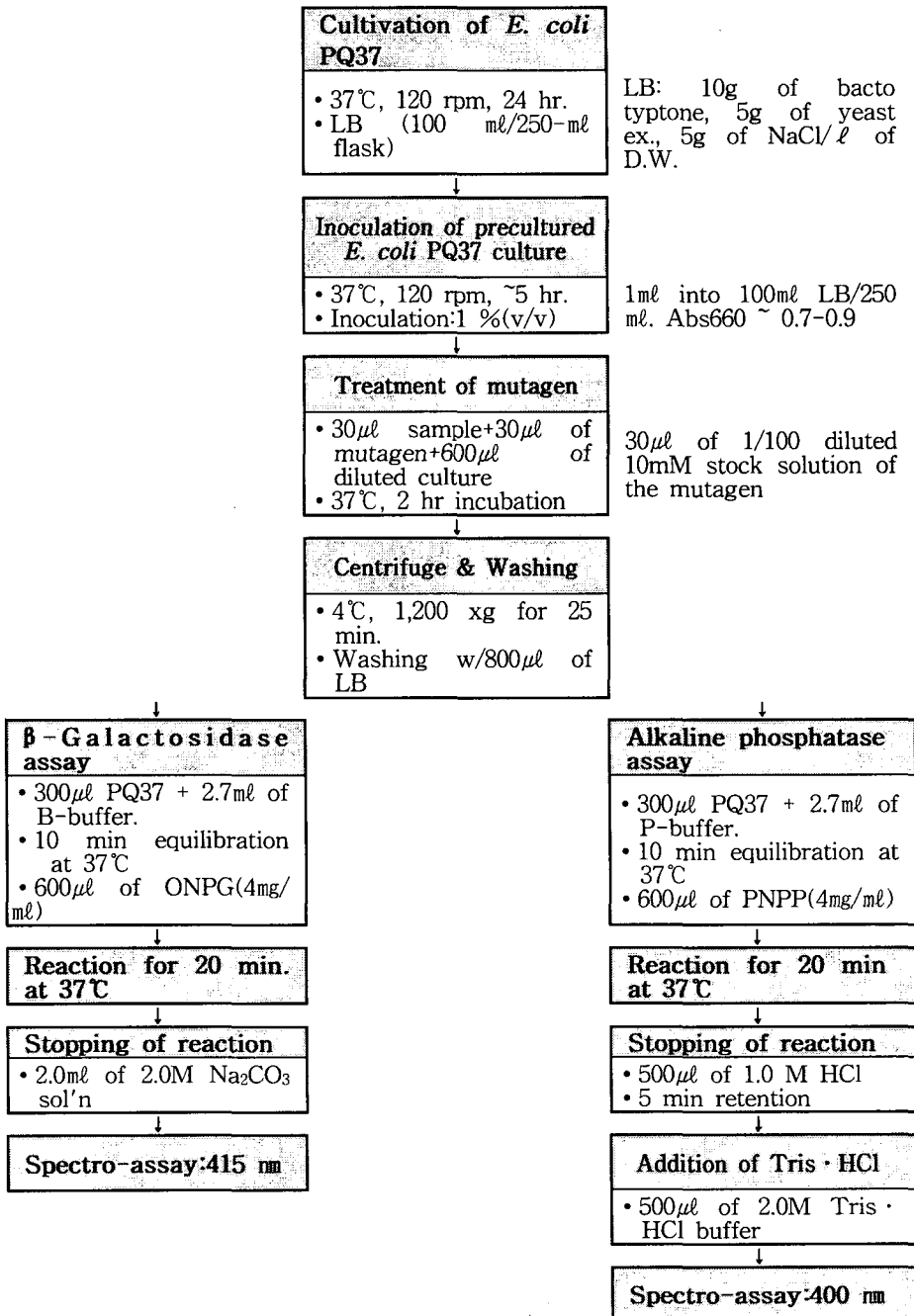
Scheme 2. SOS chromotest for antigenotoxicity of *E. coli* PQ37.

Table 1. Calculation of enzyme activities and factors for antioxidation and antimutagens.

Test		Enzyme activity and calculation
Anti-mutagenesis	SOS chromo test	Activity of β -galactosidase and alkaline phosphatase 1 unit = 1,000 x A₄₂₀/t * A ₄₂₀ = absorbance at 420 nm after reaction * t = reaction time (min)
		Ratio(R) = unit of G/unit of AP * G = β -galactosidase activity * AP = alkaline phosphatase activity
		Induction factor (IF) = Rc/Ro * Rc = R at various conc. of sample * Ro = R at no sample
	Ames test	Inhibition ratio of revertant (IRR) = $[1 - (CFU_{sm} - CFU_{sp}) / (CFU_{mt} - CFU_{sp})] \times 100 (\%)$ * CFU _{sm} = revertant CFU w/sample+mutagen * CFU _{mt} = revertant CFU w/mutagen * CFU _{sp} = spontaneous revertant CFU

Table 2. Composition of media and solutions for antimutagenic Ames test.

Medium and solution	Composition
Trace histidine-biotin solution(HB sol'n)	d-biotin 30.9 mg, L-histidine 24.0 mg, D.W. 250 ml.
Top agar(TA)	NaCl 5 g, agar 6 g, D.W. 1,000 ml.
Minimal glucose agar plate(MGA)	* 50X VB solution 20 ml, 40% glucose 50 ml, agar 15 g, D.W. 930 ml.
* 50X Vogel-Bonner medium E (VB)	MgSO ₄ 10 g, citric acid 100 g, K ₂ HPO ₄ 500 g, Na(NH ₄)PO ₄ 175 g, D.W. 670 ml.

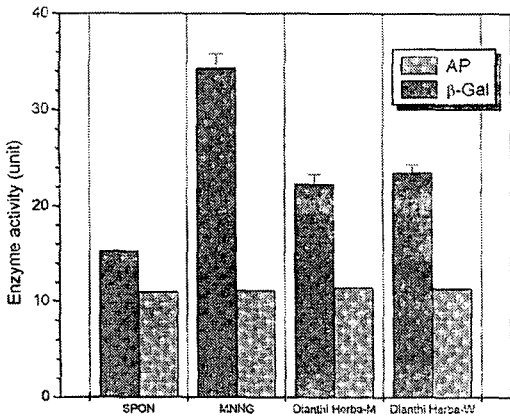


Fig. 1. Enzyme activity of β -galactosidase and alkaline phosphatase against the mutagen, MNNG.

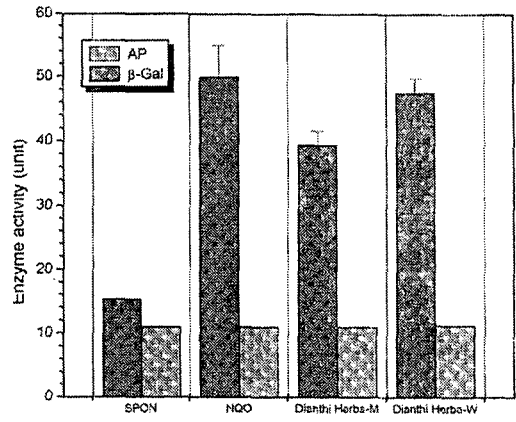


Fig. 3. Enzyme activity of β -galactosidase and alkaline phosphatase against the mutagen, NQO.

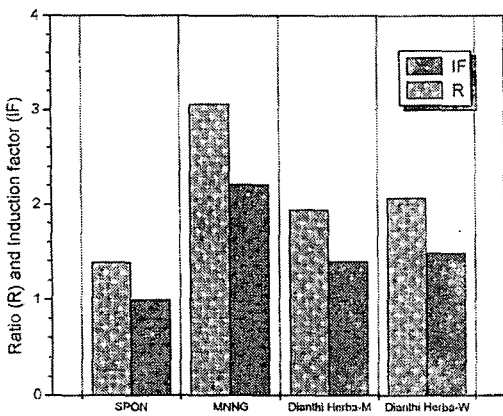


Fig. 2. Ratio of enzymes and induction factor of *Dianthi Herba* against the mutagen, MNNG.

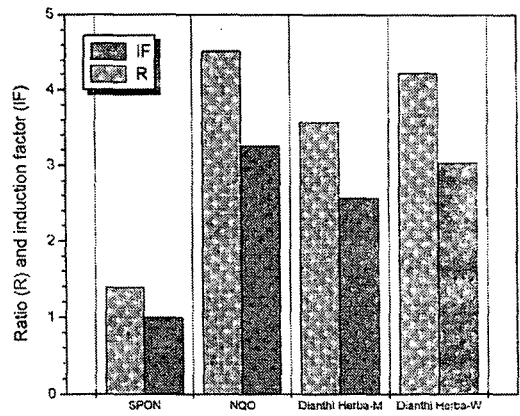


Fig. 4. Ratio of enzymes and induction factor of *Dianthi Herba* against the mutagen, NQO.

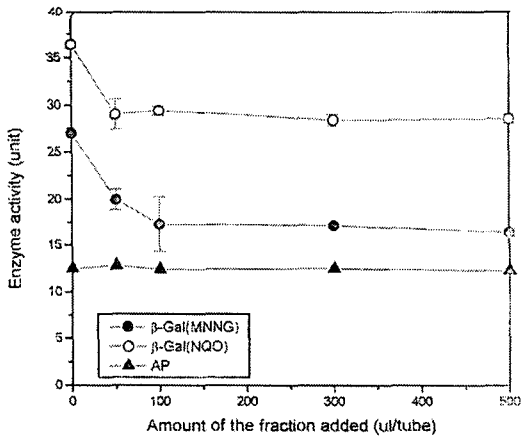


Fig. 5. Effect of concentration of *Dianthi Herba* extract on enzyme activities against mutagens, MNNG and NQO.

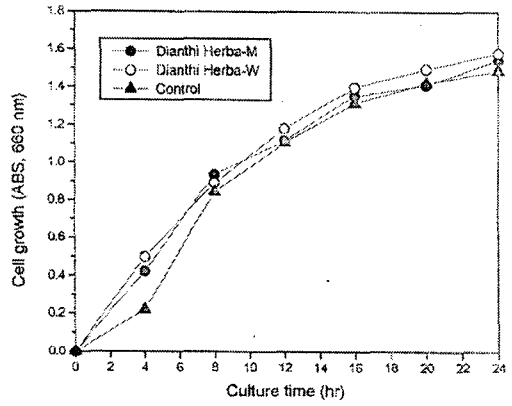


Fig. 7. Effect of *Dianthi Herba* extract on cell growth of *E. coli* PQ37.

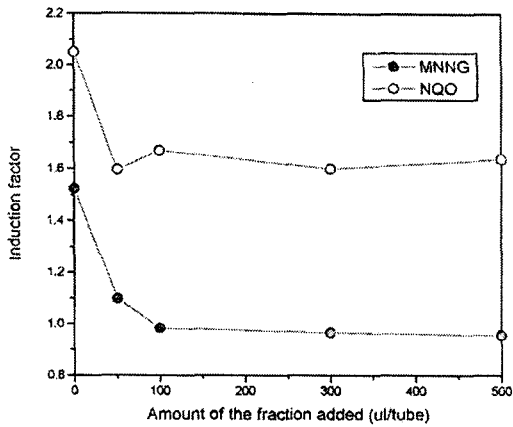


Fig. 6. Effect of concentration of *Dianthi Herba* extract on induction factor against mutagens, MNNG and NQO.

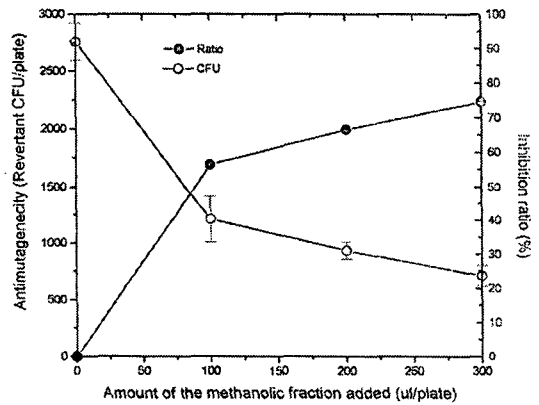


Fig. 8. Inhibitory effect of *Dianthi Herba* on the formation of revertants in *S. typhimurium* TA1538.

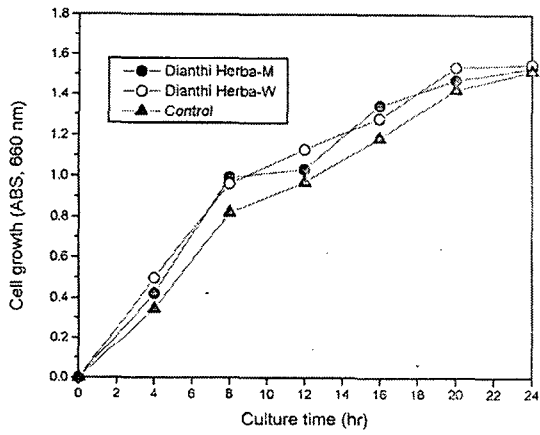


Fig. 9. Effect of *Dianthi Herba* extract on cell growth of *S. typhimurium* TA1538.