

한국산 칩의 Estrogen 활성에 관한 연구

김소정 · 박 철 · 김혜경 · 신완철 · 최석영[†]

울산대학교 생활과학대학 식품영양전공

A Study on the Estrogenicity of Korean Arrowroot (*Pueraria thunbergiana*)

So-Jung Kim, Chul Park, Hae-Gyoung Kim, Wan-Chul Shin and Suck-Young Choe[†]

Dept. of Food and Nutrition, University of Ulsan, Ulsan 680-749, Korea

Abstract

To assess the estrogenicities of Korean arrowroot (*Pueraria thunbergiana*) the contents of nine phytochemicals which are known to present were analyzed by HPLC. Also the estrogenicities of these phytochemicals were assayed using estrogen receptor dependent transcriptional expression assay. Daidzein and puerarin are major compounds in arrowroot, which were contained in the order of: root>stem>leaf>flower>seed. Among the assayed phytochemicals daidzein, genistein, biochanin A, formononetin, puerarin and genistin were highly estrogenic. The total estrogenicities in different parts of arrowroot and those by regions in Korea were also assessed. Roots had the highest estrogenic effects. The estrogenicities also were shown in stem and leaf. The differences in the estrogenicities of arrowroots by regions in Korea were shown. These results demonstrated that the estrogenic phytochemicals content was the highest in Korean arrowroot and also present in stem and leaf.

Key words: arrowroot, estrogenicity, phytoestrogen, transcriptional expression

서 론

다양한 천연물질 및 합성물질이 인간 및 야생동물의 내분비의 정상 기능을 방해하여 암 발생 증대, 생식 이상, 학습 및 행동 이상, 면역 결핍 등의 유해한 영향을 일으킬 수 있다는 우려가 확대되고 있다(1,2). 내분비계의 정상적인 기능을 방해하는 물질을 내분비계 교란물질(endocrine disrupting chemicals 또는 endocrine disrupters) 또는 내분비 장애물질(일명 환경호르몬)이라 한다. 한편 식물 유래 호르몬성 물질들은 중년여성의 폐경기 지연, 골다공증 예방 등 다양한 긍정적 작용으로 기능성 식품으로의 이용이 증대되고 있다. 콩과 식물을 비롯하여 300종 이상의 식물에서 150종 이상의 물질이 내분비 교란물질로 밝혀졌다(3,4).

칩은 콩과식물로 뿌리(葛根, arrowroot)에는 isoflavone 유도체인 daidzin 및 그 아글리콘인 daidzein과 puerarin 등을 함유하고, 잎에는 rokinin, kaempferol-rhamnoside 등이 들어 있다(5). 갈근은 한방에서 갈근탕, 승마갈근탕, 갈화해성탕 등에 처방되며 주로 발한, 해열, 지상(止傷), 두통, 최유(催乳), 권위, 해주독(解酒毒), 진경 등의 처방에 사용되고 있다(6). 또한 칩의 생리활성에 대해서는 해열작용, 혈압강하작용, 술독 제거, 담즙과 위액의 분비 증가, 혈압저하작용, 호흡 조절작용 및 심장박동강화작용, 저산소증 보호효과 활성, 사

염화탄소로 인한 간 손상에 대한 보호효과, 납 독성에 대한 보호작용 등이 알려져 있다(7-10).

Kaufman 등은 칩(*Pueraria lobata*) 뿌리에 건조중량 kg 당 950 mg의 daidzein이 함유되어 있다고 보고하였다(11). 또한 국내 한 연구결과에 의하면 대두에는 총 이소플라본이 daidzein 130~910 mg/kg, genistein 30~1,200 mg/kg, glycitein 20~350 mg/kg 함유되어 있으나, 칩가루에는 daidzein이 6,300 mg/kg 함유되어 있다고 보고하였다.

에스트로젠성 시험법에는 reproductive tract responses를 이용하는 방법(Allen-Doisy assay)(12), non-reproductive tract target tissue response를 이용하는 방법(E-screen assay)(13), 에스트로젠 수용체 결합시험(14), 항체를 이용하는 방법(15), 수용체와 수용체 유전자의 발현을 이용하는 방법(estrogen receptor dependent transcriptional expression assay)(16) 등이 있다. 이 중에 estrogen receptor dependent transcriptional expression assay는 세포에 직접 처리함으로써 중요한 생물학적 효과를 반영해 주고, 수용체와 에스트로젠 복합체에 의한 reporter gene의 발현정도를 쉽게 측정할 수 있어(17,18), 본 연구에서는 본 시스템을 구축하여 에스트로젠성 평가에 이용하였다.

본 연구는 한국산 칩의 에스트로젠성을 평가하고자 칩에서 에스트로젠성이 있다고 알려진 성분들의 함량을 HPLC로

[†]Corresponding author. E-mail: sychoe@mail.ulsan.ac.kr
Phone: 82-52-259-2373, Fax: 82-52-259-1699

측정하였고, 그 성분들의 에스트로젠성을 estrogen receptor dependent transcriptional expression assay를 이용하여 분석하였으며, 칩의 부위별, 지역별 총 에스트로젠성을 조사하였다.

재료 및 방법

재료

실험에 사용한 칩은 울산, 경상북도 풍기, 충청북도 제천, 전라남도 목포, 경기도 포천, 강원도 태백 등 지역별로 직접 채취한 것을 사용하였다.

시약

17 β -Estradiol, biochanin A, daidzein, daizin, genistein, genistin, glycitein, glycitin, puerarin은 Sigma(St. Louis, MO)에서 구입하였다. Formononetin은 Indofine(Somerville, NJ, USA)에서 구입하였다. Reporter gene을 가지고 있는 plasmid(TK-Luciferase)는 Clontech(Palo, Alto, CA)에서 구입하였고, neomycin 저항성 유전자를 가지고 있는 pcDNA3.1(+)은 Invitrogene(Carlsbad, CA)에서 구입하였다. Restriction endonuclease, DNA modifying enzymes, enhanced chemiluminescence(ECL) reagent는 Amersham(Arlington Island, NY)에서 구입하였고, luciferase는 Promega(Madison, WI)에서 구입하였다. Mammalian cell culture media와 항생제 G418은 Gibco BRL(Grand Island, NY)에서 구입하였다.

시료 추출

건조 시료 1 g에 1 N HCl 3 ml를 넣고 항온수조(98~100°C)에서 2시간 가열, 냉각한 다음 NaOH를 가하여 중화시켰다. 중화액은 0.1% acetic acid를 함유한 70% ethanol 수용액 3 mL를 가하여 교반 후 원심분리(12,500×g, 5 min)하여 상층액을 취해 membrane filter(0.2 μ m)로 여과한 후, 여액을 사용하였다.

Phytochemicals의 HPLC 분석

Phytochemicals의 HPLC 정량분석은 Varian 230(HPLC, Model varian 230, Varian, USA)을 사용하였고, 컬럼은 Intersil ODS-2(4.6 mm×150 mm, Chrompack, USA)을 사용하였다. 이동상은 0.1% acetic acid in CH₃CN(35°C)와 0.1% acetic acid in water를 사용하였고, 유속은 1.0 mL/min으로 254 nm에서 흡광도를 측정하였다.

에스트로젠에 특이적으로 반응하는 세포주 제작

사람의 유방암세포(MCF-7)를 배양(1.0×10^7)하여 calcium phosphate coprecipitation method(Lee 등, 1995)로 pTK-ERE 30 μ g과 pcDNA 3.1(+) 3 μ g을 세포 내로 transfection 하였다. Selection marker를 갖는 다른 벡터(neomycin 저항성 유전자를 가지고 있는 pcDNA3.1(+))를 동시에 cotransfection 하였다(18,19). 벡터가 들어간 세포는 항생제에 대한

저항단백질을 갖게 되고 항생제(neomycin) 존재 하에서 살아남게 되므로 이를 이용하여 벡터가 들어간 세포는 클론을 형성할 수 있다. 이 클론을 선택적으로 취하여 배양하였다. 2일간 nonselective media에서 배양 후, 항생제 G418 750 μ g/mL을 가하고 약 2주 배양하였다. 약 2주간 배양 후 각 클론을 96 well plate에 옮기고 각 클론을 1 nM 17 β -estradiol을 처리하고 이에 의해 luciferase 발현이 증가한 것을 지표로 하여 활성이 나타나는 클론을 선발하였다(이하 MCF 7-ERE cell이라 함). 선발된 클론은 17 β -estradiol에 매우 민감하게 반응하는데, 1 pM에서 유도되기 시작하여 1 nM에서 포화되는 것으로 나타났다(ED₅₀ = 7.3 pM). 에스트로젠의 양을 증가시켰을 때 측정되는 luminescence가 증가하는 조건을 확립하여 검량선을 그렸다.

세포 배양

Stably transfected MCF-7 세포를 10% BCS(bovine calf serum)를 포함한 L-DMEM 배지에서 5% CO₂-95% air로 유지시킨 CO₂ incubator에서 37°C로 계대 배양하였다.

Luciferase 효소 활성 측정

혈청 내 steroid를 제거하기 위해 charcoal-dextran으로 처리한 5% BCS를 포함한 L-DMEM(without phenol red) 배지에 5.0×10^3 cells로 나누어 96 well plate에 넣고 24시간 후 시료를 첨가하였다. 36시간 배양 후, Dulbecco's PBS로 2회 세척하고 1% Triton X-100을 함유한 완충액(20 mM Tris, pH 8.0, 1% Triton X-100, 150 mM NaCl, 2 mM DTT)을 넣고 5~6회 resuspend하여 cell을 lyse시켰다. Cell lysate(5 μ L)를 luciferase activity assay reagent(Promega) 25 μ L와 혼합한 다음 luciferase의 기질인 luminol을 첨가한 후 생성되는 luminescence를 Luminometer(Cytofluor 2300, Perspective Biosystems, Framingham, MA)로 측정하였다. Luciferase 활성은 relative light unit(RLU)로 나타내었으며 (18,20), 배양액에 의해 일어나는 background RLU 값을 측정 luciferase 값에서 제하였다.

통계 처리

용량-반응 곡선은 횡축에 대수용량, 종축에 RLU 활성을 도시하였고, 이들 데이터를 logistic dose-response function(Microcal Origin, Version 5.0, Microcal Software Inc., MA, USA)으로 적합화 하였다. 효율(efficiency; % maximal value) 및 효능(potency; EC₅₀)은 적합함수로부터 구하였다.

결 과

칩 중의 phytochemicals 함량

HPLC를 이용하여 측정된 칩 중의 phytochemicals 함량에 대한 결과를 Table 1에 나타내었다. Table 1에서 보는 바와 같이 칩 중에는 뿌리에 가장 많이 함유되어 있었으며, 그 다음으로 줄기, 잎, 꽃, 씨 순으로 많이 함유되어 있었다. 또한 뿌리

Table 1. Content ($\mu\text{g/g}$, dry basis) of various phytochemicals in different parts of *Pueraria thunbergiana* by HPLC analysis

Phytochemicals	Root	Stem	Leaf	Flower	Seed
Biochanin A ($\mu\text{g/g}$)	8.0 ± 2.1	0.3 ± 0.1	0.9 ± 0.3	1.8 ± 0.4	ND ¹⁾
Daidzein ($\mu\text{g/g}$)	$1,175.5 \pm 200.4$	396.6 ± 46.7	36.9 ± 11.5	27.3 ± 0.9	3.8 ± 1.8
Daidzin ($\mu\text{g/g}$)	72.4 ± 15.5	48.7 ± 17.7	0.5 ± 0.2	2.3 ± 0.9	ND
Formononetin ($\mu\text{g/g}$)	149.4 ± 30.3	47.5 ± 15.3	5.0 ± 1.5	2.2 ± 0.7	0.8 ± 0.3
Genistein ($\mu\text{g/g}$)	42.1 ± 10.8	22.3 ± 6.8	15.2 ± 4.7	10.2 ± 3.7	16.7 ± 6.9
Genistin ($\mu\text{g/g}$)	144.2 ± 22.3	12.0 ± 3.4	4.5 ± 1.8	13.0 ± 4.5	3.0 ± 1.0
Glycitein ($\mu\text{g/g}$)	231.3 ± 56.8	17.4 ± 7.3	9.2 ± 4.1	ND	2.4 ± 0.8
Glycitin ($\mu\text{g/g}$)	166.2 ± 35.6	14.4 ± 3.6	19.2 ± 4.5	23.8 ± 7.8	2.8 ± 1.4
Puerarin ($\mu\text{g/g}$)	$5,245.3 \pm 304.5$	689.1 ± 130.4	20.2 ± 4.5	6.4 ± 3.2	5.6 ± 2.7

¹⁾Not detected.

에는 puerarin 함량이 제일 많았으며($5,245 \mu\text{g/g}$), daidzein ($1,175 \mu\text{g/g}$), glycitein($231 \mu\text{g/g}$), glycitin($166 \mu\text{g/g}$), formononetin($149 \mu\text{g/g}$), genistin($144 \mu\text{g/g}$), genistein($42 \mu\text{g/g}$) 순으로 함유되어 있었다. 또한 뿌리에서는 시험에 사용한 9종의 phytochemical 모두가 검출되었다. 이는 최근 Lee 등(21)이 콩의 genistein과 daidzein 함량이 각각 평균 $342 \mu\text{g/g}$, $467 \mu\text{g/g}$ 이라고 한 것과 비교하면 칩 뿌리에는 훨씬 많은 양이 함유되어 있음을 알 수 있었다.

최근 Kim 등(22)은 칩의 뿌리, 꽃, 어린순에서 daidzein, genistein, formononetin을 HPLC로 정량분석한 결과 daidzein의 경우 뿌리에서 가장 높았는데 꽃보다 10배 높게 나왔으며, 뿌리에서는 genistein과 formononetin이 검출되었으나, 꽃에서는 검출되지 않았다고 하였다. 또한 뿌리에는 daidzein $10,436 \text{ mg/kg}$, genistein 232 mg/kg , formononetin 309 mg/kg 로 존재한다고 하였다. 그러나 칩에는 puerarin이 다른 daidzein, genistein보다 함량이 높는데(23), Kim 등의 결과에는 puerarin 함량에 대한 언급은 없었다.

Phytochemicals의 에스트로겐성

Phytochemical들의 에스트로겐성은 estrogen receptor dependent transcriptional expression assay 시스템을 이용하여 측정하였다. Fig. 1은 17β -estradiol와 식물성 에스트로겐으로 잘 알려진 phytochemical인 biochanin A, daidzein, formononetin 등($10^{-11} \sim 10^{-4} \text{ M}$)에 대해 용량-반응 곡선을 나타낸 것인데, 모두 용량 의존적으로 에스트로겐성을 나타낼 수 있다. 각 용량-반응 곡선에서 EC_{50} 을 구하여 17β -estradiol와 phytochemicals의 효능(potency)을 비교하여 Table 2에 나타내었다. 효능(potency)은 수용체에 대한 친화성(affinity) 및 수용체를 선택적으로 활성화시킬 수 있는 능력과 연관이 있다(24,25). 시험한 phytochemicals 중에서 daidzein($4.9 \times 10^{-8} \text{ M}$)과 genistein($5.6 \times 10^{-8} \text{ M}$)의 효능이 가장 컸는데, 17β -estradiol($7.3 \times 10^{-12} \text{ M}$)과 비교하여 각각 1.5×10^{-4} 배, 1.3×10^{-4} 배였다. 그 다음으로 biochanin A, formononetin, puerarin, genistin 순이었는데, 이들은 17β -estradiol과 비교하여 1.0×10^{-5} 배 정도였다. Glycitein, daidzin, glycitin 등은 17β -estradiol과 비교하여 1.0×10^{-6} 이었다. 본 연구에서 Aglycone뿐 아니라 그 배당체(daidzein vs daidzin,

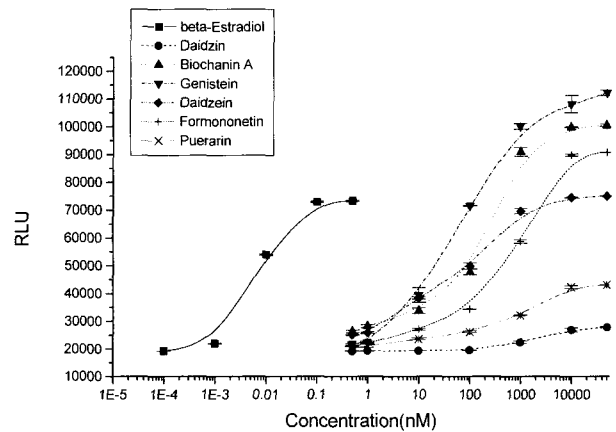


Fig. 1. Dose-response curves of 17β -estradiol and phytochemicals in MCF 7-ERE cells.

Luciferase activities were measured in MCF 7-ERE cells. Independent cultures were analyzed after 36 hr of treatment with increasing concentration of estradiol or phytochemicals, as indicated. Each point represents the mean of at least two analyses. Concentrations are plotted on a log scale.

genistein vs genistin, glycitein vs glycitin)도 에스트로겐성을 보였으며 특히 genistin은 높은 활성을 나타내었다.

Table 2는 Fig. 1에서 나타낸 각 phytochemical의 에스트로겐성 측정으로부터 효율(relative efficiency)을 비교한 것이다. 효율은 상대적인 전사활성(transactivation activity)을 나타내는데 대상물질 $1 \mu\text{M}$ 에서의 luciferase gene induction values와 포화된 농도(1 nM)에서의 17β -estradiol의 luciferase gene induction values(efficiency, 17β -estradiol = 100)의 비(比)를 계산한 값이다. 17β -estradiol에 대한 $1 \mu\text{M}$ 에서의 효율은 genistein>biochanin A>daidzein>genistin>formononetin>puerarin>>glycitein = daidzin = glycitin 순이었다.

칩의 부위별 에스트로겐성 평가

Fig. 2는 칩을 뿌리, 줄기, 잎, 꽃, 종자 등 부위별로 에스트로겐성을 산 가수분해 샘플(H)과 가수분해하지 않은 샘플(N)에 대해 estrogen receptor dependent transcriptional expression assay 시스템을 이용하여 측정할 결과이다. 산 가수분해 샘플(H)에서는 뿌리에서 가장 높게 나타났고 줄기에서도 높은 에스트로겐 활성을 나타냈으며 잎, 꽃, 열매 등에

Table 2. Comparison of the potencies and efficiencies of selected phytochemicals to 17β-estradiol in the receptor dependent transcriptional expression assay

Substances	Potency (EC ₅₀ , M)	Relative efficiency
17β-Estradiol	7.3 × 10 ⁻¹²	100
Biochanin A	2.1 × 10 ⁻⁷	150.2
Daidzein	4.9 × 10 ⁻⁸	98.6
Daidzin	1.9 × 10 ⁻⁶	17.0
Formononetin	8.7 × 10 ⁻⁷	75.4
Genistein	5.6 × 10 ⁻⁸	172.0
Genistin	9.3 × 10 ⁻⁷	85.2
Glycitein	1.9 × 10 ⁻⁶	22.0
Glycitin	1.6 × 10 ⁻⁶	15.1
Puerarin	9.1 × 10 ⁻⁷	40.5

^{a)} Potency is the molar concentration which elicit the 50% of maximal activity.

^{b)} Relative efficiency is relative transactivation activity which is calculated as the ratio of luciferase gene induction values of each compound at a concentration of 1 μM and the luciferase gene induction values of 17β-estradiol at 1 nM. The trans-activation activity of 17β-estradiol was arbitrarily set at 100.

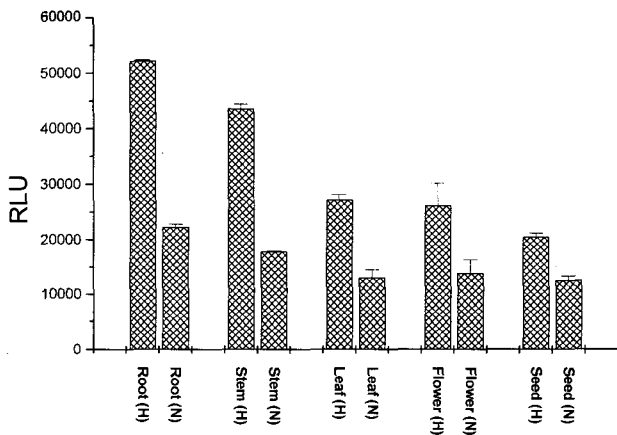


Fig. 2. The relative estrogenicities in different parts of *Pueraria thunbergiana* in the receptor dependent transcriptional expression assay.

Independent cultures were analyzed after 36 hr of treatment with an aliquot (8 μL) of the extracts of some varieties of soybean. Each value represents the mean of at least two analyses. H represents acid-hydrolyzed samples, and N represents nonhydrolyzed samples.

서도 에스트로젠성이 나타났다. 가수분해하지 않은 샘플(N)에서도 가수분해한 샘플과 비슷한 경향을 보여주었다.

칩의 지역별 에스트로젠성

Fig. 3은 울산, 경상북도 풍기, 전라남도 목포, 충청북도 제천, 경기도 포천, 강원도 태백 등 각 지역별 칩의 에스트로젠성을 산 가수분해 샘플(H)과 가수분해하지 않은 샘플(N)에 대해 estrogen receptor dependent transcriptional expression assay 시스템을 이용하여 측정한 결과이다. 지역별로 다소 차이를 보였는데 산 가수분해 샘플(N)에서는 전라남도 목포에서 가장 높았고 그 다음 울산, 충청북도 제천이, 그 다음 경기도 포천, 강원도 태백, 경상북도 풍기 순으로 에스트로젠 활성을 나타내었다. 가수분해하지 않은 샘플(N)에서도 비슷한 순서로 에스트로젠 활성을 나타내었다.

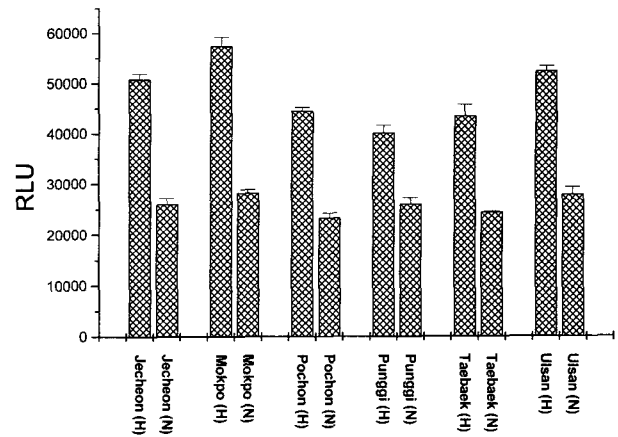


Fig. 3. The relative estrogenicities in *Pueraria thunbergiana* harvested from different regions.

Footnotes as in Fig. 2.

고 찰

본 연구에서는 한국산 칩에서 에스트로젠성이 알려진 다양한 phytochemicals 함량을 HPLC로 정량하였고, 각각의 에스트로젠성을 estrogen receptor dependent transcriptional expression assay을 이용하여 검색하였다. Table 1에서 보는 바와 같이 phytochemicals은 칩 중에는 뿌리에 가장 많이 함유되어 있었으며, 그 다음으로 줄기, 잎, 꽃, 씨 순으로 많이 함유되어 있었다. 뿌리에 있는 puerarin(5,245 μg/g), daidzein(1,175 μg/g), genistein(42 μg/g) 함량을 Lee 등(21)이 콩에서 측정된 genistein과 daidzein 함량(각각 평균 342 μg/g, 467 μg/g)과 비교해 보면 뿌리에는 많은 양의 isoflavone이 함유되어 있음을 알 수 있다.

Fig. 1에서 보는 바와 같이 본 연구에서 사용한 luciferase reporter gene을 transfect시킨 stable cell line(MCF 7-ERE)이 17β-estradiol에 용량-의존적으로 반응함을 보여주었다. 또한 9종의 phytochemicals에 대해서도 용량-의존적으로 반응하였다. 이는 MCF 7-ERE 시스템이 에스트로젠성 평가에 적합하게 적용될 수 있음을 보여 주고 있다. 즉, yeast-based estrogen receptor assay에서는 17β-estradiol에 대한 EC₅₀이 2.3 × 10⁻¹⁰ M이었는데(17), 반면에 본 assay 시스템에서는 EC₅₀이 7.3 × 10⁻¹² M이므로 본 시스템이 더 민감하게 반응함을 알 수 있다.

에스트로젠과 호르몬 유사물질은 용량-의존적으로 작용하며 각 물질의 에스트로젠성은 그 효능(potency)과 효율(efficiency)로 특성화될 수 있다. Table 1에서 보는 바와 같이 효능은 daidzein(4.9 × 10⁻⁸), genistein(5.6 × 10⁻⁸)이 가장 강력하였다. 17β-estradiol(7.3 × 10⁻¹² M)과 효능을 비교하면 약 daidzein은 1.5 × 10⁻⁴배, genistein은 1.3 × 10⁻⁴배였다. 효율은 genistein이 가장 높았고, biochanin A, formononetin, daidzein 순으로 높았다. 그러나 phytochemicals의 에스트로젠성 효능과 효율은 세포 및 시스템에 따라 다소 다른 결과를

보여 준다. 즉, Reinli와 Block(26)은 human endometrial adenocarcinoma cell의 alkaline phosphatase 활성을 이용한 *in vitro* assay에서 estradiol(1,186), coumestrol(2.40), genistein(1.00), daidzein(0.16), biochanin A(<0.08), formononetin(<0.01)이라고 보고하였다. 이러한 차이는 사용한 세포 및 세포에서의 uptake, 대사 등의 차이에 기인한다고 할 수 있다.

본 연구 결과 daidzein, genistein, glycitin의 배당체인 genistin, daidzin, glycitein 등이 transactivation 활성을 증가시켰다. 배당체가 체내 위장관에서 흡수되는지에 대해서는 논란이 많은데, Piskula 등(27)은 실험쥐의 위장에서 daidzein과 genistein은 흡수되지만, daidzin과 genistin은 흡수되지 않는다고 주장하였고, 반대로 Hollman과 Katan(28)은 양과에 있는 quercetin rutoside가 인체에서 그 aglycone인 quercetin보다 더 잘 흡수됨을 보고하기도 하였다. 배당체가 체내 위장관에서 흡수되는지에 대해서는 논란이 많지만, 본 cell system에서 배당체들이 세포 내로 흡수되어 활성을 나타내었다.

쑥의 부위별 에스트로젠성 분석 결과, 뿌리에서 에스트로젠성이 가장 높게 나타났고, 줄기, 잎, 꽃, 열매 등에서도 에스트로젠성이 확인되었다. 이는 Table 1에서 에스트로젠성 phytochemical들의 함량이 뿌리에서 가장 높은 결과와 일치한다.

채취지역에 따른 쑥의 에스트로젠성 분석 결과 지역별로 다소간의 차이를 나타냈지만, 이 결과는 쑥의 채취시기, 성장 정도, 건조 방법 등 많은 요인에 의한 것으로 사료되며, 이에 대한 충분한 연구가 필요하다고 사료된다.

이상의 연구 결과 한국산 쑥에는 에스트로젠성이 큰 puerarin, daidzein, genistein이 다량 함유되어 있으며, 뿌리뿐 아니라 줄기, 잎, 꽃, 씨 등에도 함유되어 있음을 알 수 있었다. 또한 estrogen receptor dependent transcriptional expression assay를 이용하여 이들의 에스트로젠 활성을 평가한 결과, 그 효능에서는 daidzein, genistein이 가장 강력하였고, 효율은 genistin이 가장 높았으며, biochanin A, formononetin, daidzein 순으로 높았다. 쑥의 부위별 에스트로젠성을 측정 한 결과 뿌리에서 가장 높게 나타났고 줄기, 잎, 꽃, 열매 등에서도 에스트로젠성이 나타났다.

요 약

한국산 쑥(*Pueraria thunbergiana*)의 에스트로젠성을 평가하기 위하여 9종의 물질의 함량을 HPLC로 측정하였고, 그들의 에스트로젠성을 *in vitro* screening test인 estrogen receptor dependent transcriptional expression assay를 이용하여 평가하였다. Phytochemical 함량을 분석한 결과 쑥의 대표적 에스트로젠성 물질인 daidzein의 경우, 뿌리>줄기>잎>꽃>종자의 순서로 나타났고, 쑥에서 가장 함량이 많은 puerarin의 경우도 뿌리>줄기>잎>꽃>종자 순서로 함유되

어 있었다. Phytochemical들의 에스트로젠 활성도 측정 결과 효능(potency)은 daidzein>genistein>>biochanin A>formononetin>puerarin>genistin>>glycitein = daidzin = glycitin 순이었다. 17 β -estradiol에 대한 1 μ M에서의 상대효율(relative efficiency)은 genistein>biochanin A>daidzein>genistin>formononetin>puerarin>>glycitein = daidzin = glycitin 순이었다. 또한 쑥의 부위별, 지역에 따른 쑥의 에스트로젠성을 조사하였다. 쑥의 부위별 에스트로젠성은 뿌리>줄기>잎>꽃>종자 순으로 나타났다. 또한 지역별로도 쑥의 에스트로젠성에서 차이를 보였다: Mokpo>Ulsan>Jecheon>Pochon>Taebaek>Punggi. 이상의 결과 쑥에는 다양한 에스트로젠성 물질이 다량 함유되어 있으며, 뿌리에 가장 많고, 줄기 등 다른 부위에도 함유되어 있음을 알 수 있었다.

감사의 글

본 논문은 2002년 울산대학교의 연구비에 의하여 연구되었음.

문 헌

1. McLachlan JA, Korach KS. 1995. Symposium on estrogens in the environment, III. *Environ Health Perspect* 104 (Suppl. 7): 2-7.
2. Barrett J. 1996. Phytoestrogens, friends or foes? *Environ Health Perspect* 104: 478-482.
3. Colborn T, Dumanoski D, Myers JP. 1996. *Our Stolen Future*. Penguin Books, New York, p 76.
4. Lamartiniere CA, Murrill WB, Manzollilio PA, Zhang J-X, Barnes S, Zhang X, Wei H, Brown NM. 1998. Genistein alters the ontology of mammary gland development and protects against chemically-induced mammary cancer in rats. *Proc Soc Exp Biol Med* 217: 358-364.
5. Han DS. 1988. *Pharmacognosy*. Dong-Myung Sa, Seoul, 190-194.
6. Han SH. 2000. Effects of *Pueraria radix* on enzyme activities of serum and lead level of the tissues of the Pb-administered rats. *Korean J Food Sci Technol* 32: 914-919.
7. Zeng CY, Zhang LY, Zhou YP, Fan LL. 1982. Pharmacological studies on *Pueraria radix*. *Clin Med J* 95: 145-150.
8. Xie CL, Lin RC, Antony V, Lumeng L, Li TK, Zao ZH, Wang GF. 1993. Daidzein a potent selective inhibitor of human mitochondrial aldehyde dehydrogenase. *Proc Natl Acad Sci USA* 90: 1247-1250.
9. Han SH, Kim JB, Min SG, Lee CH. 1995. The effect of *Puerariae radix* administration on liver function in carbon tetrachloride-treated rats. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 25: 713-720.
10. Oh J, Lee KS, Son HY, Kim SY. 1990. Antioxidative components of *Pueraria* root. *Korean J Food Sci Technol* 22: 793-800.
11. Kaufman PB, Duke JA, Brielmann H, Boik J, Hoyt JE. 1997. A comparative survey of leguminous plants as sources of the isoflavones, genistein and daidzein: implications for human nutrition and health. *J Altern Complement Med* 3: 7-12.

12. Reel JR, Lamb V, Neal BH. 1996. Survey and assessment of mammalian estrogen biological assays for hazard characterization. *Fundan Appl Toxicol* 34: 288-305.
13. Soto AM, Sonnenschein C, Chung KL, Fernandez MF, Olea N, Serrano FO. 1995. The E-Screen assay as a tool to identify estrogens: An update on estrogenic environmental pollutants. *Environ Health Perspect* 103 (Suppl. 7): 113-122.
14. Kuiper GGJM, Lemmen JG, Carsson B, Corton JV, Safe SH, van der Saag PT, van der Burg B, Gustafsson J-Å. 1998. Interaction of estrogenic chemicals and phytoestrogens with estrogen receptor β . *Endocrinology* 139: 4252-4263.
15. Lopicc KO, Hampl R, Hill M, Whi K, Maharik NA, Adlercreutz H. 1998. Radioimmunoassay of free genistein in human serum. *J Steroid Biochem Molec Biol* 64: 261-268.
16. Miksicek RJ. 1993. Commonly occurring plant flavonoids have estrogenic activity. *Mol Pharmacol* 44: 37-43.
17. Gaido KW, Leonard LS, Lovell S, Gould JC, Babai D, Portier CJ, McDonnell DP. 1997. Evaluation of chemicals with endocrine modulation activity in a yeast-based hormone receptor gene transcription assay. *Toxicol Appl Pharmacol* 143: 205-212.
18. Kramer V, Helferich WG, Bergman A, Klasson-Wehler E, Giesy JP. 1997. Hydroxylated polychlorinated biphenyl metabolites are anti-estrogenic in a stably transfected human breast adenocarcinoma (MCF7) cell line. *Toxicol Appl Pharmacol* 144: 363-376.
19. Lee SJ, Kim CM, Lee SD, Park JG, Ryi SH, Suh PG. 1995. Overexpression of phospholipase C α 1 in colorectal carcinomas is associated with overexpression of factors that bind its promoter. *J Biol Chem* 270: 16378-16384.
20. Lee SK, Choi HS, Song MR, Lee MO, Lee JW. 1998. Estrogen receptor, a common interaction partner for subset of nuclear receptors. *Mol Endocrinol* 12: 1184-1192.
21. Lee MH, Park YH, Oh HS, Kwak TS. 2003. Isoflavone content in soybean and its processed products. *Korean J Food Sci Technol* 34: 365-369.
22. Kim CS, Ha HK, Kim HJ, Lee JH, Song KY. 2002. *Pueraria lobata* Ohwi as an osteoporosis therapeutics. *Korean J Food Sci Technol* 34: 710-718.
23. Gang C, Jianxia Z, Jiannong Y. 2001. Determination of puerarin, daidzein and rutin in *Pueraria lobata* (Wild). Ohwi by capillary electrophoresis with electrochemical detection. *J Chromatography A* 923: 255-262.
24. Klinge CM, Peale FVJ, Hilf R, Bambara RA, Zain S. 1992. Cooperative estrogen receptor interaction with consensus or variant estrogen responsive elements in vitro. *Cancer Res* 52: 1073-1081.
25. Dove S, Schoeneberger H. 1993. Computer modelling of estrogenic transcriptional activation can account for different types of dose-response curves of estrogens. *J Steroid Biochem Mol Biol* 46: 163-176.
26. Reinli K, Block G. 1996. Phytoestrogen content of foods—A compendium of literature values. *Nutrition and Cancer* 26: 123-148.
27. Piskula MK, Yamakoshi J, Iwai Y. 1999. Daidzein and genistein but not their glucosides are absorbed from the rat stomach. *FEBS Lett* 447: 287-291.
28. Hollman PCH, Katan MB. 1997. Absorption, metabolism and health effects of dietary flavonoids in man. *Biomed Pharmacother* 51: 305-310.

(2003년 8월 6일 접수; 2003년 11월 8일 채택)