

## 생육시기별 피자두 추출물의 암세포 증식 억제 효과 및 Quinone Reductase 유도 활성화에 미치는 영향

김현정<sup>1</sup> · 유미희<sup>2</sup> · 이승욱<sup>2</sup> · 박정현<sup>1</sup> · 박동철<sup>3</sup> · 이인선<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>계명대학교 전통 미생물자원 개발 및 산업화 연구센터

<sup>2</sup>계명대학교 식품가공학과

<sup>3</sup>김천대학 식품계열

### Effects of Plum Fruits Extracts at Different Growth Stages on Quinone Reductase Induction and Growth Inhibition on Cancer Cells

Hyun Jeong Kim<sup>1</sup>, Mi Hee Yu<sup>2</sup>, Syngook Lee<sup>2</sup>, Jung Hyun Park<sup>1</sup>,  
Dong Cheol Park<sup>3</sup> and In-Seon Lee<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>The Center for Traditional Microorganism Resources, Keimyung University, Daegu 704-701, Korea

<sup>2</sup>Dept. of Food Science and Technology, Keimyung University, Daegu 704-701, Korea

<sup>3</sup>Div. of Food Science, Gimcheon College, Gimcheon 740-704, Korea

#### Abstract

The plum (*Prunus salicina* L., cv. 'Soldam') fruits were harvested at different growth stages, and then extracted using 80% methanol, respectively. The methanol extracts of plum were investigated for their growth inhibition on 6 kinds of human cancer cells using MTT assay and for their activity to induce quinone reductase (QR) in murine Hepal1c7 cells. Among various methanol extracts of plum, the plum 1~4 (immature fruit), which thin out 10~25 days before final harvest, showed higher anticarcinogenic activity against 5 kinds of cancer cells than plum 5~9 (intermediate-mature and mature fruit). Especially, plum 1 and 2 were exhibited the strongest growth inhibiting activities to AGS, HepG2 and MDA cancer cells. Also the plum extracts induced the activity of QR, an anticarcinogenic marker enzyme, in Hepal1c7 cells while the induction of QR activities by adding plum extracts were shown to be a little difference depending on growth stages. These results suggested that methanol extracts of immature plum can be considered as an effective natural cancer chemoprevention materials.

**Key words:** plum, immature fruit, mature fruit, cytotoxicity, quinone reductase

#### 서 론

암에 대한 이해와 치료법은 계속 발전되어 왔으나 아직도 많은 한계점을 가지고 있어 암은 치료보다 예방이 더욱 강조되어지고 있다. 암의 발생에는 80~90%가 환경 혹은 화학물질에 대한 노출에 의해 유발되며 이중 40~60%가 식이와 관련된다고 보고되고 있다(1). 그러나 우리가 섭취하는 식품에는 암의 발생을 억제하거나 지연시키는 효과가 있는 성분이 포함되어 있어 이들 성분의 확인과 작용 기작, 물질의 분리나 동정에 대한 연구가 많이 진행되고 있다(2,3).

암예방(cancer chemoprevention)에 관련된 물질은 발암물질의 대사과정에 변화를 가져오거나 암화과정에서 생성되는 대사물질 또는 대사과정에서 생성되는 부산물과 상호작용하여, 특정효소의 발현 및 기능을 변화시킬 수 있는 물

질을 의미하며(4), 이런 암 예방에 대한 많은 연구가 지속적으로 이루어져 여러 산채류, 생약류, 해조류, 버섯류 등이 항암 및 암 예방에 관한 효과가 보고되었다(5-8). 그리고 몇몇 비타민류, 섬유질류, 미량영양소와 2-difluoromethylornithine(DFMO), oltipraz 및 dehydroepiandrosterone 등이 세포 내에서 종양형성 과정을 억제하거나 혹은 종양이 악성으로 발전하는 과정을 억제하여 암을 예방한다고 확인되었다(9,10). 특히 자연계에 존재하는 천연물로부터 암의 예방 또는 치료할 수 있는 인자를 찾으려는 연구가 국내외에서 진행되어, 녹차의 catechins, 감귤류의 limonene, 콩의 isoflavone, 토마토의 lycopene 및 포도의 resveratrol 등이 보고(11,12)되고 있다.

한편 자두는 신라시대 때부터 재배되고 있는 오래된 과실로 장미과 뽕나무속 자두아속에 속하며, 원산지에 따라 동양

\*Corresponding author. E-mail: insoon@kmu.ac.kr  
Phone: 82-53-580-5538, Fax: 82-53-580-6447

계 자두(*Prunus salicina*), 유럽계 자두(*Prunus domestica*) 및 북미원산의 미국 자두(*Prunus americana*)로 나눌 수 있다(13). 우리 나라에서 재배하고 있는 자두는 모두가 동양계 자두로서 물기가 많고 단맛이 높아 생식에 적당하며, 추위에 강하고 토양 적응성이 높아 전국적으로 재배가 가능하다. 동양계 자두의 품종은 크게 대석조생, 뷰티, 포모사, 산타로사, 솔담, 켈시 등이 있으며, 그중 피자두는 솔담(Soldam) 품종으로 8월 중순에 주로 수확되고, 과중은 100~130 g으로 속과 겉이 붉으며 과육은 부드럽고 유연하고 즙이 많으며 감미는 높고 산미가 적당하나 향기가 적은 특징을 가진다.

자두의 조성은 품종과 재배환경에 따라 다소 차이가 있지만 수분 85%, 당질 12.6%, 섬유 1.1% 그리고 미량의 무기질과 몇몇 수용성 비타민 등으로 구성되고, 특히 무기질 중에서 칼슘 함량이 타 과실에 비해 2~4배 높다. 또한 자두는 사과산, 구연산 등의 유기산, 과당, 유리 아미노산 및 카로티노이드 등의 유용성분도 비교적 많이 함유하고 있다(14).

예로부터 자두는 간장 치료제로 이용되고, 얼굴의 기미 제거, 골다공증 예방, 여성호르몬 형성, 주름살 예방, 피부 보호, 빈혈 예방, 숙취해소, 풍치 및 충치 치료, 정혈 작용, 식욕 증진, 스트레스 해소 및 피로 회복 등에 효과가 있다고 알려지고 있다(15). 최근 자두는 flavonoid와 phenolic acid와 같은 천연 폐쇄 화합물을 다량 함유하고 있어(16) 우리가 일상 섭취하는 천연 항산화제의 기능을 가지며, 특히 Wang 등(17)은 자두가 사과보다 4.4배의 높은 항산화능을 가진다고 보고하였다.

그러나 자두류에 관한 생리활성 연구는 아직도 미비한 실정이며, 특히 과실의 결실 조절을 위해 속아내기로 폐기되는 미숙과에 관한 연구는 거의 이루어지지 않고 있는 실정이다.

따라서 본 연구에서는 천연 자원인 자두류에 관한 생리활성을 미숙과로부터 완숙과에 이르는 생육 시기별에 따른 메탄올 추출물을 각각 제조한 다음, 이들 각 추출물의 암세포 증식 억제 효과 및 암 예방 효소로 알려진 quinone reductase 유도 활성을 검색하여 암 예방 효과를 가진 기능성 식품으로 개발을 위한 기초 자료로 살펴보았다.

## 재료 및 방법

### 실험 재료

김천지역의 자두 농장에서 2002년 6월 26일부터 8월 6일까지 5일 간격으로 아홉 차례 피자두를 채취하였다. 즉 피자두 미숙과에서 완숙과에 이르기까지 각각의 시료를 채취하여 분석하기 전까지 -20°C의 냉동고에 보존하였다.

### 시료의 제조

냉동 보관된 피자두 시료는 먼저 물에 깨끗이 수세한 후 100 g을 취해 80% 메탄올을 첨가한 후 24시간씩 3회 반복 정지 추출하였다. 추출물은 여과지(Whatman No. 1, England)를 사용하여 여과하고, 회전 감압 농축기(R-3000, Buchi,

Germany)로 농축하여 동결건조를 한 후 시료로 사용하였다.

### 암세포 배양

본 실험에 사용된 암세포주는 인간 유래의 세포주로 위암 세포인 AGS, 자궁경부암세포인 Hela, 간암세포인 HepG2, 유방암 세포인 MDA-MB-231와 MCF-7 그리고 혈액암 세포인 U937를 한국 세포주 은행으로부터 분양받아 사용하였다. 이들 세포들은 RPMI-1640 배지와 MEM 배지에 10% FBS(fetal bovine serum)와 1% antibiotics(penicillin/streptomycin)을 첨가하여 5% CO<sub>2</sub>가 존재하는 37°C 배양기에서 2~3일에 한번씩 계대배양하였다. 그리고 QR 유도활성 측정을 위한 Hepal1c7 세포(mouse hepatoma cell)의 경우, 10% FBS를 함유한  $\alpha$ -MEM 배지에서 37°C, 5% CO<sub>2</sub> 상태에서 계대배양하면서 사용하였다.

### 암세포 증식 억제 효과

피자두 메탄올 추출물의 암 세포주에 대한 세포증식 억제 효과는 MTT assay(18)로 조사하였다. 먼저 각 세포수를 1×10<sup>5</sup> cell/mL이 되게 한 후 96 well plate에 100  $\mu$ L/well씩 넣고 시료를 10  $\mu$ L/well씩 분주하여 48시간 37°C, 5% CO<sub>2</sub> incubator에서 배양하였다. 그 후 MTT시약(50 mg/mL)을 10  $\mu$ L/well씩 넣어 4시간 더 배양한 후 1,000 rpm에서 10분간 원심분리하여 상등액을 제거한 다음, DMSO를 100  $\mu$ L/well씩 첨가하여 섞어준 후 micro plate reader로 550 nm에서 흡광도를 측정하였다. 이때 대조군 세포수를 100%로 정하고 상대적인 세포성장 억제율을 구하였다.

### Quinone reductase(QR) 유도 활성

항암 효소로 알려진 QR 유도활성 측정은 hepal1c7 세포를 10% FBS를 함유한  $\alpha$ -MEM 배지에서 배양하여 시료의 독성을 먼저 확인 후 세포성장 저해가 없는 시료 농도를 결정한 다음, hepal1c7 세포를 plate에 3×10<sup>4</sup> cell/mL로 분주하고 48시간 37°C, 5% CO<sub>2</sub> incubator에서 배양한 세포에 적당한 농도의 시료를 첨가하여 24시간 더 배양하였다. 배양이 완료되면 배지를 제거하고 PBS로 3회 세척 후 세포에 triton X-100을 첨가하여 lysis한 다음, 1,000 rpm에서 10분간 원심분리하여 상등액을 취해 QR 효소 활성과 단백질 함량을 측정하였다. QR 효소활성은 Benson 등의 방법(19)에 따라 2,6-dichloro-phenolindophenol(DCPIP)을 환원시키는 정도를 600nm에서 흡광도를 측정하여 나타내었다. 이때 QR 효소활성은 1분간 감소되는 흡광도와 DCPIP의 양을 분자흡광 계수로부터 환원된 DCPIP의 양을 계산하여 세포 균질액의 단백질 함량을 측정하여 nmols DCPIP reduced/min/mg protein으로 나타낸 후 시료 처리군에 대한 QR 활성과 대조군의 활성 비율로 나타내었다. 그리고 단백질의 함량은 BSA를 표준단백질 용액으로 하고 bincinchoninc acid protein kit(Sigma, USA)를 이용하여 표준 검량선을 구한 다음 그 양을 산출하였다.

통계분석

대조군과 각 시료에 대한 실험결과는 평균±표준편차 (mean±SD)로 표시하였으며, 각 실험군 간의 유의성 검정은 Duncan's multiple range test로 분석하였다.

결과 및 고찰

생육시기에 따른 피자두의 크기 변화

피자두의 생육 시기별에 따른 변화를 조사한 결과, 처음 채취한 피자두의 무게는 17.3 g에서, 5일 간격으로 채취하여 최종 수확후의 무게는 86.8 g으로 생육이 진행될수록 점점 비대해졌으며, 또한 직경 및 크기도 피자두의 생육이 진행될수록 점점 증가하였다. 과일의 숙성 시기의 구분은 주로 색깔로 판정되어지는데 (20), 피자두의 경우도 Table 1과 같이 크게 세 부류로 구분하였다. 피자두의 최종 수확 20~40일 전까지의 녹색을 띠는 피자두 1~4의 경우는 미숙과로, 최종 수확 20~40일 전까지의 녹색/붉은색의 피자두 5~6은 중간 숙과, 최종 수확 0~10일 전까지의 붉은색 피자두 7~9의 경우는 완숙과로 구분하였으며, 이들 각각의 피자두를 메탄올 추출물로 조제하였다.

생육시기에 따른 피자두 추출물의 암세포 증식 억제 효과

피자두 메탄올 추출물의 암세포 증식 억제 활성은 인간 유래의 6종의 암세포를 이용하여 조사하였다. 먼저 위암세포주인 AGS에 시료를 1, 2, 4 mg/mL 농도로 각각 첨가했을 때의 암세포 증식 억제 효과를 살펴본 결과 Table 2와 같이, 1 mg/mL의 농도에서는 처음 수확된 피자두 1의 경우에만 63%의 비교적 높은 저해활성을 보였고, 다른 시료에서는 저해 활성을 보이지 않았다. 시료 농도가 2 mg/mL에서는 피자두 1에서 95% 정도의 높은 암세포 증식 억제 효과를 보였으며, 피자두 2의 경우도 75%의 높은 저해활성을 확인하였으나 나머지 시료에서는 저해 활성을 보이지 않았다.

Table 1. Classification of plum fruits at nine stages of development according to colour and weight

Stages of fruit development	Colour	Range of weight (g)
Plum 1	Green (immature)	17.29
Plum 2	Green	29.17
Plum 3	Green	35.06
Plum 4	Green	48.89
Plum 5	Green/Red (intermediate)	50.34
Plum 6	Green/Red	53.59
Plum 7	Red (mature)	57.41
Plum 8	Red	60.13
Plum 9	Red	86.77

Plum fruits were harvested at different growth stages. Harvest date: Plum 1, 2002.6.26; Plum 2, 2002.7.1; Plum 3, 2002.7.6; Plum 4, 2002.7.11; Plum 5, 2002.7.16; Plum 6, 2002.7.21; Plum 7, 2002.7.26; Plum 8, 2002.8.1; Plum 9, 2002.8.6. Plum 1~4 (immature fruit) were thin out 20~40 days, plum 5, 6 (intermediate-mature fruit) were thin out 10~20 days and plum 7~9 (mature fruit) were thin out 0~10 days before final harvest.

그러나 시료 농도를 4 mg/mL로 처리하였을 경우 피자두 미숙과인 1~4에서 93~96%로 높은 증식 억제능이 있었으나, 피자두 5~9에서는 거의 저해능을 보이지 않았다. 즉 피자두 미숙과에서 완숙과로 속도가 진전되면서 위암 세포주에 대한 저해 활성이 감소되었다.

과일이 숙성될 때는 복합적인 생화학적 반응이 일어난다 (20,21). 즉 starch의 가수분해, chlorophyll 형질전환에 관여하는 chloroplasts가 chromoplasts로의 전환, carotenoid, anthocyanin 및 phenolic 화합물의 생성, 그리고 휘발성 화합물 등이 형성된다. 따라서 성숙과는 미숙과에 비해 각종 유기산 및 안토시아닌 색소들이 많이 함유(14)되어 있어 미숙과에 비해 암세포 성장 저해 효과가 더 높을 것으로 생각되었으나, 오히려 성숙과의 암세포 성장 저해 효과가 감소되었다. 이는 암세포 성장 억제 효과를 가지는 페놀화합물의 경우 자두류의 미숙과가 완숙과로 속도가 진행됨에 따라 총 페놀 함량과 총산 함량이 점차 감소된다는 보고(22,23)와 관련되는 것으로 보여진다.

자궁경부암세포인 Hela에 대해서는 Table 2와 같이 피자두 미숙과 1과 2의 경우 65~76% 정도의 저해율로 시료 농

Table 2. Inhibitory effect of methanol extracts of plum on the growth of human gastric carcinoma (AGS) and cervical carcinoma (Hela) cell lines

Treatment (mg/mL)	Cell growth (inhibition ratio %)	
	AGS	Hela
Control	0.270±0.012	0.120±0.016
Plum 1	1	0.100±0.011 (63)
	2	0.014±0.002 (95)
	4	0.020±0.001 (93)
Plum 2	1	0.322±0.029 (-)
	2	0.068±0.017 (75)
	4	0.018±0.006 (93)
Plum 3	1	0.444±0.021 (-)
	2	0.207±0.023 (23)
	4	0.016±0.002 (94)
Plum 4	1	0.381±0.048 (-)
	2	0.248±0.018 (8)
	4	0.011±0.001 (96)
Plum 5	1	0.343±0.012 (-)
	2	0.349±0.044 (-)
	4	0.127±0.009 (53)
Plum 6	1	0.364±0.006 (-)
	2	0.358±0.000 (-)
	4	0.313±0.018 (-)
Plum 7	1	0.359±0.016 (-)
	2	0.373±0.003 (-)
	4	0.161±0.046 (41)
Plum 8	1	0.350±0.015 (-)
	2	0.375±0.041 (-)
	4	0.360±0.022 (-)
Plum 9	1	0.338±0.004 (-)
	2	0.413±0.000 (-)
	4	0.148±0.009 (53)

도에 의한 억제 활성의 차이를 보이지 않았고, 피자두 3~5에서는 저농도에서는 낮은 저해 활성을 보이다가 시료 처리 농도가 증가되면서 저해 활성이 더 증가되어 4 mg/mL의 처리시 70% 이상의 저해율을 보였다. 피자두 성숙과인 7, 8의 경우 4 mg/mL의 처리시 54~65% 정도의 낮은 저해율을 보였고 나머지 피자두 추출물들은 저해 활성을 거의 보이지 않았다.

그리고 간암세포인 HepG2에서는 1 mg/mL농도에서 모든 시료에서 40% 이상의 높은 암세포증식 억제능이 있었고, 2 mg/mL의 농도에서는 미숙과 1~4에서 70~94%의 저해능을 보였다가 성숙과인 피자두 6에서 다시 74%의 저해율을 확인하였다(Table 3). 그리고 4 mg/mL 농도 처리시 미숙과(1~4) 및 중간숙과(5, 6)에서 70% 이상의 높은 저해 활성을 보였으나 성숙과(7~9)로 진행되면서 저해율이 감소되었다. 특히 피자두 미숙과 1이 가장 높은 간암세포증식 억제능이 있음을 확인하였다. 또한 혈액암인 U937 세포주에서는 시료를 4 mg/mL 농도 처리시 피자두 1~5의 경우 70% 정도의 저해능을 보였고, 피자두 6, 7에서 56%의 저해율을 나타내었으며 피자두 8, 9에서도 30% 정도의 비교적 낮은 저해율

을 보였다. 이런 결과는 암세포주별에 따른 차이로 생각된다.

자두는 예로부터 골다공증 예방 및 여성호르몬 형성 등의 효과가 알려져 있어(14), 유방암 세포주에 대한 피자두의 저해활성을 에스트로겐 의존성 세포인 MCF-7과 에스트로겐 비의존성 세포인 MDA를 사용하여 검토한 결과 Table 4와 같다. 먼저 MCF-7 세포에 대해서 피자두 1, 2, 6에서 가장 높은 농도인 4 mg/mL에서 60~70% 정도의 저해율을 보이고 다른 시료 처리군에서는 비교적 낮은 저해 활성을 보였으며, 또 다른 유방암 세포주인 MDA에 대해서는 시료농도 4 mg/mL에서 피자두 1~4의 경우 90% 이상의 가장 높은 저해율을 보이고, 피자두 5, 6, 7, 9에서도 비교적 높은 70% 정도의 저해율을 보였다. 특히 피자두 1의 경우 가장 낮은 농도인 1 mg/mL에서도 74%의 저해율, 2 mg/mL에서는 91%의 저해율을 보여 피자두 추출물중 가장 높은 저해율을 보였다. 그리고 피자두 2, 3도 시료농도에 비례하여 저해율이 증가하였다. 즉 피자두 추출물은 유방암 세포주중 에스트로겐 의존성 세포인 MCF-7의 성장 억제에 관여할 것으로 생각되었으나, 오히려 에스트로겐 수용체가 없는 호르몬 비의존형 세포인 MDA에 대해 더 큰 저해 활성을 나타내었다. 이는 피자두

**Table 3. Inhibitory effect of methanol extracts of plum on the growth of human hepatoma (HepG2) and histiocytic lymphoma (U937) cell lines**

Treatment (mg/mL)	Cell growth (inhibition ratio %)	
	HepG2	U937
Control	0.451±0.013	0.238±0.014
Plum 1	1	0.101±0.010 (78)
	2	0.029±0.004 (94)
	4	0.024±0.007 (95)
Plum 2	1	0.155±0.012 (66)
	2	0.068±0.018 (85)
	4	0.054±0.004 (88)
Plum 3	1	0.207±0.018 (54)
	2	0.151±0.013 (67)
	4	0.122±0.014 (73)
Plum 4	1	0.137±0.018 (70)
	2	0.143±0.012 (68)
	4	0.072±0.009 (84)
Plum 5	1	0.371±0.023 (18)
	2	0.235±0.005 (48)
	4	0.139±0.018 (69)
Plum 6	1	0.218±0.012 (52)
	2	0.115±0.015 (74)
	4	0.105±0.012 (77)
Plum 7	1	0.162±0.011 (64)
	2	0.294±0.025 (35)
	4	0.321±0.017 (29)
Plum 8	1	0.278±0.038 (38)
	2	0.312±0.016 (31)
	4	0.343±0.014 (24)
Plum 9	1	0.267±0.024 (41)
	2	0.326±0.019 (28)
	4	0.345±0.011 (24)

**Table 4. Inhibitory effect of methanol extracts of plum on the growth of human breast cancer (MCF-7 and MDA-MB-231) cell lines**

Treatment (mg/mL)	Cell growth (inhibition ratio %)	
	MCF-7	MDA-MB-231
Control	0.469±0.009	0.413±0.011
Plum 1	1	0.468±0.025 (-)
	2	0.293±0.005 (38)
	4	0.183±0.014 (61)
Plum 2	1	0.380±0.062 (19)
	2	0.312±0.004 (33)
	4	0.141±0.005 (70)
Plum 3	1	0.346±0.019 (26)
	2	0.298±0.020 (36)
	4	0.275±0.011 (41)
Plum 4	1	0.364±0.002 (22)
	2	0.266±0.005 (43)
	4	0.218±0.013 (54)
Plum 5	1	0.283±0.016 (40)
	2	0.0258±0.032 (45)
	4	0.230±0.007 (51)
Plum 6	1	0.374±0.036 (20)
	2	0.212±0.011 (50)
	4	0.146±0.026 (66)
Plum 7	1	0.309±0.015 (28)
	2	0.316±0.012 (26)
	4	0.206±0.000 (52)
Plum 8	1	0.319±0.021 (26)
	2	0.253±0.020 (41)
	4	0.179±0.034 (58)
Plum 9	1	0.372±0.031 (13)
	2	0.352±0.025 (18)
	4	0.394±0.019 (8)

는 대두의 genistein처럼 항 에스트로겐 작용(12)과 관계없이 tyrosine kinase, MAP kinase, ribosomal S6 kinases 등의 세포 성장 조절에 필수적인 signal transduction에 관계되는 효소들의 활성을 억제하고, 혈중 에스트로겐과 결합하여 에스트로겐의 세포 분열능을 감소시키는 성호르몬 결합 globulin의 합성을 촉진하여 에스트로겐 유사체로서의 기능과 무관한 항암 기전이 일부 관여한 것으로 보인다.

이와 같이 피자두 미숙과는 높은 암세포 증식 억제능이 존재하였으나 피자두 성숙과는 대체로 낮은 저해 활성을 보여 피자두가 숙성이 될수록 암 세포주에 대한 저해 활성을 보이지 않았다. 특히 피자두 미숙과인 1~4 추출물은 위암세포주인 AGS와 간암세포인 HepG2, 유방암 세포주인 MDA에 대해서 90% 이상의 가장 높은 저해를 보였다. 따라서 수확량 조절을 위해 숙아내기 하는 미숙과에서 여러 암 세포주에 대해 높은 저해활성을 가지므로 이들 미숙과를 이용한 기능성 식품 개발이나 활용방안 등의 검토도 의의가 있다고 하겠다.

**Quinone reductase(QR) 활성**

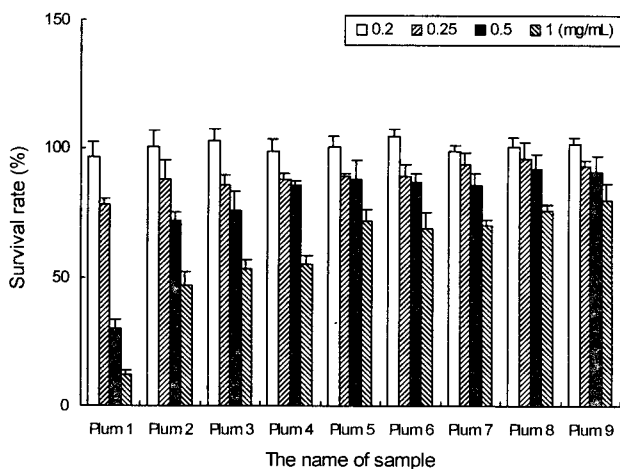
QR는 phaseII 무독화 효소중의 하나로 돌연변이 또는 발암물질 등에 의한 DNA와의 상호작용을 차단하는 효소로, 암세포에서 다른 암 예방 효소계와 공통적으로 그 효소의 양이 증가함으로써 외인성 물질에 대한 저항력이 증가되는 경향이 있다(6,7). 이러한 이유로 phaseII 효소중 암 예방물질의 탐색 지표가 되는 대표적인 효소로 알려져 있다.

이에 피자두 추출물의 QR 유도능을 측정하고자 먼저 Hepalcl7을 유도세포주로 하여 피자두 메탄올 추출물을 0.2~1.0 mg/mL 농도로 첨가하여 2일간 배양한 후 세포독성을 측정된 결과, Fig. 1과 같이 피자두 메탄올 추출물의 1.0 mg/mL 농도 처리시 피자두를 최초 수확한 피자두 1에서 가장 강한 88% 저해능이 있었고 피자두 2~4의 경우 50% 정도의

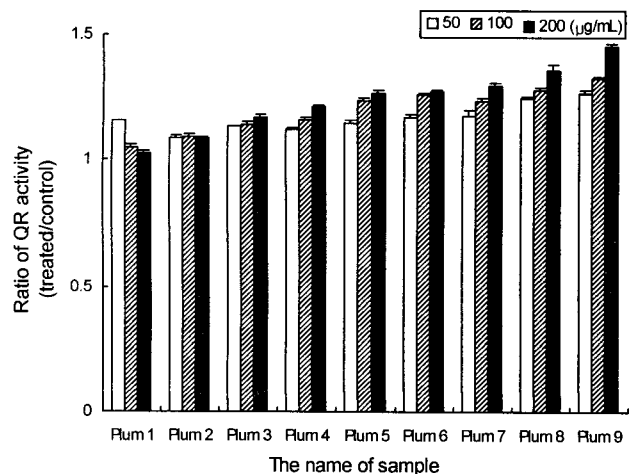
저해능을 보이다가 피자두 5 이상의 시료는 세포 독성을 거의 나타내지 않고 오히려 세포 증식을 유도함을 알 수 있었다. 시료 농도 0.5 mg/mL에서는 피자두 1의 경우만 70% 정도의 저해를 보이고 다른 시료에서는 생존 세포수가 크게 증가하였고, 0.25 mg/mL 농도에서는 미숙과에서 12~22% 정도의 저해율을 보였다. 그러나 Hepalcl7 세포에 대한 피자두 메탄올 추출물의 농도를 0.2 mg/mL 처리시 모든 피자두 추출물에서 세포 독성이 없음을 확인하여 수확시기별에 따른 피자두 메탄올 추출물의 Hepalcl7 세포에서 QR 유도능의 검토는 0.2 mg/mL 이하 농도에서 검색하였다.

피자두 메탄올 추출물의 QR 유도 활성은 Fig. 2와 같이 피자두 처리시 생육시기별 차이 없이 모든 시료에서 1.0 이상의 QR 유도능을 보였으며, 시료농도가 증가할수록 미숙과에 비해 완숙과에서 더 큰 QR 유도능을 보였다. 즉 시료농도 0.05 mg/mL에서는 미숙과인 피자두 1에서 1.2배의 QR 유도능을 보이다가, 피자두 완숙과 8, 9에서 1.3배의 QR 유도 활성을 보였고, 시료 농도 0.2 mg/mL에서는 피자두가 숙성될수록 QR 유도 활성이 증가하여 특히 피자두 9의 경우 1.4배의 가장 강한 QR 유도능을 보였다. 따라서 피자두 추출물은 돌연변이 및 발암 물질의 대사과정시 생성된 quinone에 의한 세포내 독성 및 세포내 DNA 손상을 제거하므로 암 예방 물질로 추정되는 QR inducer가 존재하는 것으로 생각된다.

이와 같이 생육시기별 피자두의 항암 활성을 검토한 결과 피자두의 미숙과 추출물은 성숙과에 비해 높은 암세포 증식 억제능이 존재하였고, 또한 생육시기별 차이 없이 모든 피자두 추출물은 QR 유도능이 있음을 확인하였다. 이에 피자두의 이용방안 증대와 함께 수확량 조절을 위해 숙아내기 하는 피자두 미숙과를 이용한 기능성 제품 개발이나 미숙과의 이용 방안 등의 기초적 자료로 활용도 의의가 있다고 하겠다.



**Fig. 1.** Survival rate of methanol extracts of plum against murine Hepalcl7 cells. The methanol extracts of plum fruits were added to cells at the concentration of 0.2~1.0 mg/mL.



**Fig 2.** Effects of methanol extracts of plum on induction of quinone reductase activity in murine Hepalcl7 cells.

## 요 약

피자두를 6월 말경에 처음으로 수확하여 5일 간격으로 9 차례 채취한 다음, 피자두의 최종 수확 15~40일 전까지의 피자두 1~4의 경우는 미숙과로, 피자두 5, 6은 중간숙과, 최종 수확 0~10일 전까지의 피자두 7~9의 경우는 완숙과로 구분하였다. 이들 시료는 각각 메탄올 추출물을 제조하여 6종의 인간유래 암 세포주에 대한 성장 억제 효능을 조사하였다. 피자두 추출물 1~2 mg/mL 농도 처리시 피자두 미숙과 1, 2에서 위암세포주인 AGS와 자궁경부암세포인 Hela, 간암세포인 HepG2, 유방암 세포주인 MDA, 혈액암인 U937 세포에 대해서 63~95% 정도의 높은 저해율을 보였다. 그리고 시료 농도 4 mg/mL 처리시 세포주별 관계없이 피자두 미숙과 및 중간숙과에서 70% 정도의 저해율을 보였다. 특히 피자두 미숙과인 1~4 추출물은 AGS, HepG2, MDA 세포주에 대해서 90% 이상의 가장 높은 저해를 보였다. 한편 수확 시기별에 따른 피자두 추출물의 Hepalcl7 세포에 대한 QR 유도능의 측정시 피자두 메탄올 추출물을 세포 독성이 없는 0.2 mg/mL 이하 농도로 처리한 결과, 모든 시료에서 1.0 이상의 QR 유도능을 보여 수확시기별에 따른 QR 유도능 차이를 보이지 않았으며, 또한 시료농도가 증가할수록 미숙과에 비해 완숙과에서 더 큰 QR 유도능을 보였다.

## 감사의 글

본 연구는 한국과학재단 목적기초연구(R03-2002-000-00019-0(2002))지원 및 과학기술부·한국과학재단 지정 계명대학교 전통 미생물자원 개발 및 산업화 연구센터의 지원에 의해 수행되었음에 감사드립니다.

## 문 헌

- Sporn MB. 1998. Carcinogenesis and cancer. *Cancer Res* 51: 6215-6218.
- American Cancer Society. 1997. Cancer facts and figures.
- Ashendel CL. 1995. Diet, signal transduction and carcinogenesis. *J Nutrition* 125: 686-691.
- Gould MN. 1997. Cancer chemoprevention and therapy by monoterpenes. *Environ Health Perspec* 105: 977-979.
- Park SH, Kim OK, Lee KR. 2001. Antimutagenic and quinone reductase inducing activities of *Hericium erinaceus* extracts. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 30: 1287-1292.
- Kwon CS, Kim JH, Son KH, Kim YK, Lee JS, Lim JK, Kim JS. 2002. Induction of quinone reductase, an anticarcinogenic marker enzyme, by medicinal Herb extracts. *Nutraceuticals and Food* 7: 358-366.
- Heo YH, Lee SK. 2001. Potential Induction of quinone reductase activity of natural products in cultured murine Hepalcl7 cells. *Natural Product Sciences* 7: 38-44.
- Shim SM, Choi SW, Bae SJ. 2001 Effects of *Prnica granatum* L. fractions on quinone reductase induction and growth inhibition on several cancer cells. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 31: 80-85.
- Choi YJ, Lim SY, Woo JH, Kwon YK, Suh SI, Lee SH, Choi WY, Kim JG, Lee IS, Park JW, Kwon TK. 2000. Sodium orthovanadate potentiates EGCG-induced apoptosis that is dependent on ERK pathway. *Biochem Biophys Res Commun* 270: 793-797.
- Clapper ML, Wood M, Leahy K. 1995. Chemopreventive activity of oltipraz against N-nitrosobis(2-oxopropyl) amine-induced ductal pancreatic carcinoma development and effect on survival of Syrian golden hamsters. *Carcinogenesis* 16: 2159-2165.
- Dong Z. 2003. Molecular mechanism of the chemopreventive effect of resveratrol. *Mutat Res* 523-524: 145-150.
- Sung MK, Park MY. 2002. Cytotoxic and apoptotic effects of soybean and brown rice extracts on hormone dependent/independent breast cancer cell lines. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 31: 521-526.
- Kim JY. 1973. *Home Fruit Tree*. Oseung Press, Seoul. p 207.
- Chung KH. 1999. *Morphological characteristics and principal component analysis of plums*. Dept. of Fruit Breeding. National Horticultural Research Institute, R.D.A., Suwon, Korea. p 310-440.
- Sung YJ, Kim YC, Kim MY, Lee JB, Chung SK. 2002. Approximate composition and physicochemical properties of plum (*Prunus salicina*). *J Korean Soc Agric Chem Biotechnol* 45: 134-137.
- Kim DO, Jeong SW, Lee CY. 2003. Antioxidant capacity of phenolic phytochemicals from various cultivars of plums. *Food Chem* 81: 321-326.
- Wang H, Cao G, Prior RL. 1996. Total antioxidant capacity of fruits. *J Agr Food Chem* 44: 701-705.
- Green LM, Reade JL, Ware CF. 1984. Rapid colorimetric assay for cell viability: Application to the quantitation of cytotoxic and growth inhibitory lymphokines. *J Immunological Methods* 70: 257-263.
- Benson A, Hunkeler MJ, Talay P. 1980. Increase of NAD(P)H: quinone reductase by dietary antioxidants. Possible role in protection against carcinogenesis and toxicity. *Proc Natl Acad Sci* 77: 5216-5220.
- Ana LV, Luiz CT. 2000. Chemical composition of acerola fruit (*Malpighia puniceifolia* L.) at three stages of maturity. *Food Chem* 71: 195-198.
- Valero D, Martinez-Romero D, Valverde JM, Guillen F, Serrano M. 2003 Quality improvement and extension of shelf life by 1-methylcyclopropene in plum as affected by ripening stage at harvest. *Innovative Food Sci Emerging Technologies* 4: 339-348.
- Nakatani N, kayano S, kikuzaki H, Sumino K, Katagiri K, Mitani T. 2000. Identification, quantitative determination, and antioxidative activities of chlorogenic acid isomers in prune (*Prunus domestica* L.) *J Agr Food Chem* 48: 5512-5516.
- Sandra AA, Demerval CL, Olga MM, Faria O. 2001. Activity of pectinmethylesterase, pectin content and vitamin C in acerola fruit at various stages of fruit development. *Food Chem* 74: 133-137.

(2004년 7월 16일 접수; 2004년 9월 23일 채택)