

인체 암세포 성장 및 DNA 합성 억제에 미치는 된장 분획물의 영향

임선영* · 이숙희¹ · 박건영¹

한국해양대학교 해양환경생명과학부, ¹부산대학교 식품영양학과

Received July 6, 2005 / Accepted August 12, 2005

Effect of Solvent Fractions from Methanol Extract of Doenjang on Inhibition of Growth and DNA Synthesis of Human Cancer Cells. Sun-Young Lim*, Sook-Hee Rhee¹ and Kun-Young Park¹. *Division of Marine Environment & Bioscience, Korea Maritime University, Busan 606-791, Korea, ¹Dept. of Food Science and Nutrition, Busan National University, Busan 609-735, Korea* – Growth and DNA synthesis inhibitory effects of doenjang methanol extract and its solvent fractions on AGS human gastric adenocarcinoma cells, Hep 3B human hepatocellular carcinoma cells, HT-29 human colon cancer cells and MG-63 human osteosarcoma cells were studied. The treatment of doenjang methanol extract (200 µg/ml) with the AGS, Hep 3B, HT-29 and MG-63 cancer cells after 6 days of incubation inhibited the growth of cancer cells by 32%, 51%, 84% and 33%, respectively. To separate active compounds of doenjang, doenjang methanol extract was fractionated with dichloromethane, ethylacetate, and butanol. Among the solvent fractions, the dichloromethane and ethylacetate fractions showed the highest growth inhibitory effects on various cancer cells. For example, the dichloromethane and ethylacetate fractions (200 µg/ml) significantly inhibited the growth of various cancer cells by 89~96% and 62~86%, respectively. DNA synthesis of AGS and Hep 3B cancer cells was significantly inhibited by adding dichloromethane fraction (200 µg/ml) up to 94% and 80%, respectively. Similarly, the ethylacetate fraction (200 µg/ml) showed a 95% inhibition rate of DNA synthesis in AGS cells. These results suggest that the dichloromethane and ethylacetate fractions have specific active compounds, which will explain this anticancer effect of doenjang.

Key words – doenjang, solvent fractions, human cancer cell, growth inhibition, DNA synthesis

콩을 원료로 한 장류는 한국을 비롯하여 중국, 인도네시아 및 일본 등지에서 오래 전부터 가공, 이용되어 온 전통적인 콩 발효 식품이다. 그 예로 일본의 경우 우리나라의 된장과 유사한 미소가 있으며 일찍이 장류에 대한 연구를 추진하여 미소의 생리활성들, 즉 혈중 콜레스테롤 저하효과[21], 항돌연변이효과[1] 항산화효과[32], 항암효과[22], 방사능 물질 배제효과[6] 등에 관한 연구 결과를 보고함으로써 1986년 구소련의 체르노빌 원전폭발 사고 때 이 지역 주민들의 일본된장에 대한 소비가 급격히 증가하였다고 한다. 이외에도 인도네시아에서 널리 섭취되고 있는 콩 발효 식품 중의 하나인 템페의 경우, 대두 발효과정에서 β -glucosidase의 작용으로 isoflavone이 유리되어 이들에 의한 혈관 생성 저하로 인하여 결국 암예방 효과가 있는 것으로 보고되었다[14].

최근, 우리나라에서도 전통 발효식품 중의 하나인 된장에 관한 많은 연구가 진행되어 된장의 항돌연변이[23-25,33] 및 항산화성[3,5,16]에 관하여 보고되었으며 된장은 각종 성인병 예방뿐만 아니라 암을 예방하는 건강식으로 알려지고 있다. 저자들은 *in vitro* Ames 실험계[23] 및 SOS 실험계[20]에서 된장 메탄올 추출물은 미소를 포함한 다른 콩 관련 발효식품에 비해 항돌연변이 효과가 현저하게 높았음을 보고하였고

된장의 암예방 효과는 된장을 끓은 후에도 있었으며 여러 종류의 발암원에 대해 항돌연변이 활성이 있음을 확인하였다. 또한 이러한 된장의 생리활성 효과는 *in vivo* 초파리 실험에서도 증명되어 체세포 염색체상의 돌연변이를 크게 억제하였음을 보고하였다[20]. 항돌연변이성 이외에도 Ra 등[28]은 된장에 혈전 용해능과 β -glucosidase 효소를 생산하는 미생물이 존재한다고 보고하였으며 앞으로 된장의 이러한 특성을 이용하여 혈전용해능을 가지고 isoflavone의 소화섭취가 용이한 된장 제조의 개발에 많은 관심이 모아지고 있다[13]. 동의보감에 의하면 “장류는 모든 어육, 채소, 버섯의 독을 지우고 또 열상과 화독을 다스린다” 고 하여 우리 선조들에게 된장은 맛을 내는 조미료의 역할 뿐만 아니라 민간요법에서는 해독, 해열 작용이 있는 만병통치약으로 여겨져 왔다. 따라서 여러 실험을 통해 된장은 발암물질에 의한 돌연변이를 억제하여 암을 예방하는 식품이라고 할 수 있으므로 된장의 성분 중 항암효과를 나타내는 활성물질을 구체적으로 분리 동정하여 안전성을 확보하면서 과학화와 함께 활성물질을 더욱 강조한 기능성 재래식 된장의 개발이 필요하다.

본 연구에서는 여러 가지 인체 암세포들을 이용한 암세포 성장 억제 실험과 DNA 합성 저해 실험을 통하여 된장 메탄올 추출물과 메탄올 추출물을 극성이 다른 용매로 더욱 분획하여 얻어진 분획물들에 의한 인체 암세포 성장 억제 효과를 검토하였다.

*Corresponding author

Tel : +82-51-410-4757, Fax : +82-51-410-3988

E-mail : sylim@bada.hhu.ac.kr

재료 및 방법

된장의 용매 추출 및 분획

된장은 화염식품 (주)으로부터 구입하여 동결 건조한 후 분말로 만들었고 헥산으로 3 회 추출하고 잔사물을 2 배의 메탄올로 95℃에서 환류냉각기를 사용하여 3 회 추출하였다. 회전식 진공 농축기(Buchi oll & 461, Switzerland)를 이용하여 농축한 후, 다시 클로로메탄올로 추출하고 잔사물을 에틸아세테이트로 추출한 후 마지막으로 부탄올로 추출하고 남은 잔사물을 수증기로 하여 각 추출물의 용매를 제거하고 dimethyl sulfoxide (DMSO)에 녹여 실험에 사용하였다(Fig. 1).

사용시약 및 기구

세포배양을 위해 Dulbecco's modified Eagle's medium (DMEM), fetal calf serum (FCS), 0.05% trypsin-0.02% EDTA 그리고 100 unit/ml penicillin-streptomycin을 Gibco사 (USA)로부터 구입하고 사용하였고 세포 배양은 CO₂ incubator (Sanyo, model MCO96, Japan)를 사용하여 실험하였다.

암세포 및 암세포 배양

한국 세포주 은행(서울의대)으로부터 인체 위암세포(AGS human gastric adenocarcinoma cell), 인체 결장암세포(HT-29 human colon cancer cell), 인체 간암세포(Hep 3B human hepatocellular carcinoma cell), 인체 골육암 세포(MG-63 human osteosarcoma cells)를 분양받아 본 실험실에서 배양하면서 실험에 사용하였다. AGS, HT-29, Hep 3B 그리고 MG-63 암세포를 100 units/ml의 penicillin-streptomycin과 10% FCS

가 함유된 DMEM 배지를 사용하여 37℃, 5% CO₂ incubator에서 배양하였다. 배양 중인 세포를 일 주일에 2 번 refeeding 하고 일 주일 후 phosphate buffered saline (PBS)으로 세척한 뒤 0.05% trypsin-0.02% EDTA (Gibco Co., USA)로 부착된 세포를 분리하여 원심분리 한 후 집적된 암세포에 배지를 넣고 피펫으로 암세포가 골고루 분산되도록 잘 혼합하여 75 mm³ cell culture flask에 10 ml씩 일정수 분할하여 주입하고 계속 6~7 일마다 계대 배양하면서 실험에 사용하였다. 계대 배양시 각각의 passage number를 기록하였고 passage number가 10 회 이상일 때는 새로운 암세포를 액체 질소 탱크로부터 꺼내어 다시 배양하여 실험하였다.

암세포 성장 억제 및 DNA 합성 저해 실험

암세포 배양과 동일한 방법으로 배양하되 원심분리 한 후 집적된 암세포를 골고루 분산되도록 잘 혼합하여 24 시간 well plate 에 20,000 cells/ml의 농도를 seeding하여 하룻밤 배양하였다. 각 시료 유기용매 추출물을 첨가하여 2 일 마다 배지로 교체해서 배양 6 일 후에 증식된 세포를 0.05% trypsin-0.02% EDTA로 분리하여 각 세포수를 hemocytometer로 측정하여 대조군과 비교하여 암세포 성장 억제효과를 관찰하였다[9-11]. DNA 합성 저해 효과 실험은 각 시료 유기용매 추출물 50 µg/ml, 100 µg/ml 및 200 µg/ml를 첨가하여 배양 48 시간 후에 3 µCi/ml의 [³H]thymidine이 표지화된 배지로 교체한 후 2 시간 동안 배양한 후 표지화된 배지를 제거하고 고형성분을 1 ml의 PBS로 2 번 씻은 다음 1 ml의 5% cold TCA를 첨가하여 4℃에서 냉장 방치하였다. 1 시간 후 TCA를 제거하고 250 µl의 1% SDS를 첨가하여 cells을 분리하기 위

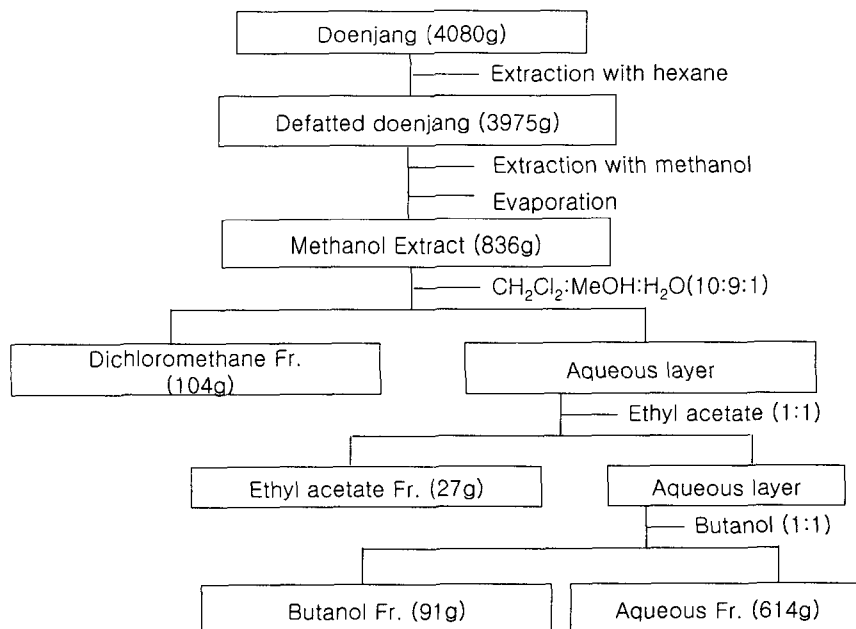


Fig. 1. The procedure for solvent fractions of doenjang.

하여 55℃에서 1 시간 동안 가열하였다. Vial에 옮긴 후 125 µl의 H₂O로 2 번 씻어내고 3.5 ml의 cocktail을 첨가한 후 vortexing 하여 Beckman LS 250 Scintillation counter (USA) 로 radioactivity를 측정하였다[12].

통계분석

실험결과는 Mean±SD로 나타내었고 분석된 실험 데이터 는 대조군과 각 시료로부터 얻은 실험 자료로부터 one-way ANOVA를 실시하여 유의성이 있을 경우에 post-hoc test로 Duncan's mutple range test를 실시하여 95% 수준에서 유 의성을 검증하였다.

결과 및 고찰

암세포 성장 억제 효과

암세포계(AGS 인체 위암세포, Hep 3B 인체 간암세포, HT-29 인체 결장암세포, MG-63 골육암 세포)를 이용하여 된장 메탄올 추출물과 이들로부터 유기 용매로 추출한 분획물들 이 암세포 성장에 미치는 효과를 검토하였다. AGS 인체 위 암세포를 이용하여 항암효과를 실험한 결과, 된장의 메탄올 추출물은 첨가농도 200 µg/ml에서 32%의 억제효과를 나타 내었고 된장 메탄올의 분획물들 중에서는 디클로로메탄층이 가장 저해효과가 높았는데 200 µg/ml 농도로 첨가했을 때 위암세포 성장을 90%로 억제시키는 효과를 나타냄을 관찰 할 수 있었다 (Fig. 2). 에틸아세테이트 분획물을 동일 첨가농 도로 투여했을 때 62%의 저해효과를 보였다. Kruechi 등[15] 은 일본된장을 비롯한 콩으로 만든 식품은 nitrite를 파괴하 고 N-nitrosamine 생성을 방해하므로 이들로 인한 위암 발생 을 감소시켜 준다고 보고하였다. Fig. 3은 인체 간암세포인 Hep 3B를 이용하여 된장 메탄올 추출물 및 그 분획물이 암 세포 성장에 미치는 영향을 살펴 본 것이다. 첨가농도 200 µg/ml에서 메탄올 추출물은 51%로 암세포 증식을 억제하였으 나 디클로로메탄, 에틸아세테이트 분획물의 저해효과가 각 각 89%, 86%로 매우 높았다. 인체의 결장암세포인 HT-29 세 포를 이용하여 된장의 메탄올 추출물 및 그 분획물의 암세포 성장 저해 효과를 살펴 본 결과는 Fig. 4와 같다. 첨가농도 200 µg/ml에서 메탄올 추출물, 디클로로메탄, 에틸아세테이트 분 획물은 각각 84%, 91%, 71%로 암세포 증식을 억제하였다. 된 장 메탄올 추출물은 다른 인체 암세포들과 비교했을 때 특히 결장암 세포의 증식을 크게 억제시켰다. Fig. 5는 MG-63 인 체의 골육암 세포의 경우로 첨가농도 200 µg/ml에서 메탄올 추출물은 33%로 낮은 저해효과를 보였으나 메탄올 추출물의 분획물들 중에는 디클로로메탄 분획물은 96%로 저해효과가 가장 높았으며, 다음으로 에틸아세테이트 분획물이 71%로 암 세포 증식을 억제시켰음을 관찰 할 수 있었다. 이상의 연어 진 결과로 된장의 메탄올 추출물과 그 분획물은 여러 인체

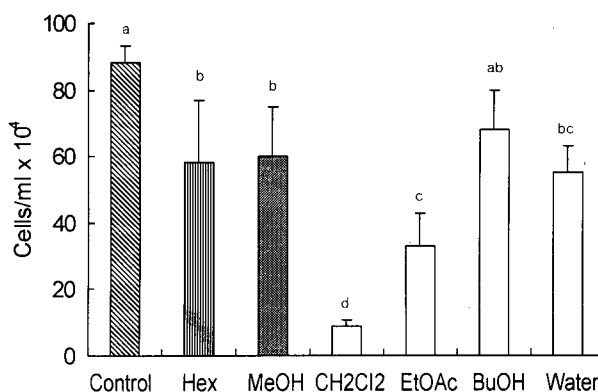


Fig. 2. Inhibitory effect of solvent fractions (200 µg/ml) from methanol extract of defatted doenjang on the growth of AGS human gastric adenocarcinoma cells after 6 days of incubation at 37°C.

Hex, Hexane extract; MeOH, Methanol extract of defatted doenjang; CH₂Cl₂, Dichloromethane fraction from methanol extract of defatted doenjang; EtOAc, Ethylacetate fraction from methanol extract of defatted doenjang; BuOH : Buthanol fraction from methanol extract of defatted doenjang; Water, Water fraction from methanol extract of defatted doenjang.

^{a-d}Means with the different letters are significantly different at the 0.05 level of significances as determined by Duncan's multiple range test.

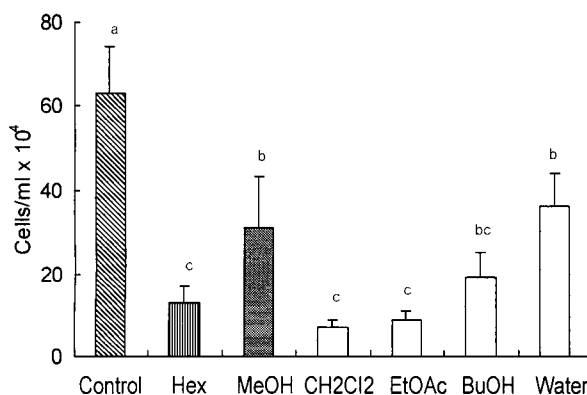


Fig. 3. Inhibitory effect of solvent fractions (200 µg/ml) from methanol extract of defatted doenjang on the growth of Hep 3B human hepatocellular carcinoma cells after 6 days of incubation at 37°C.

Hex, Hexane extract; MeOH, Methanol extract of defatted doenjang; CH₂Cl₂, Dichloromethane fraction from methanol extract of defatted doenjang; EtOAc, Ethylacetate fraction from methanol extract of defatted doenjang; BuOH : Buthanol fraction from methanol extract of defatted doenjang; Water, Water fraction from methanol extract of defatted doenjang

^{a-c}Means with the different letters are significantly different at the 0.05 level of significances as determined by Duncan's multiple range test.

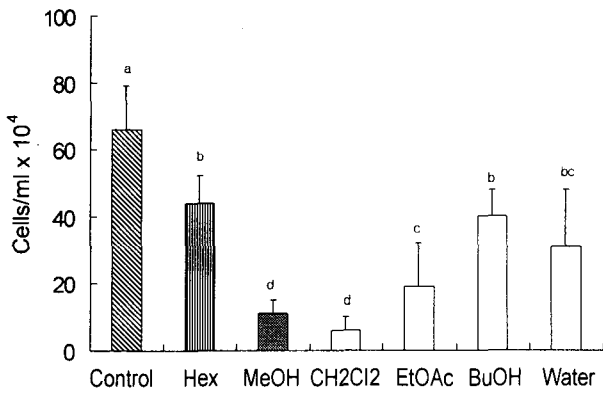


Fig. 4. Inhibitory effect of solvent fractions (200 µg/ml) from methanol extract of defatted doenjang on the growth of HT-29 human colon cancer cells after 6 days of incubation at 37°C.

Hex, Hexane extract; MeOH, Methanol extract of defatted doenjang; CH₂Cl₂, Dichloromethane fraction from methanol extract of defatted doenjang; EtOAc, Ethylacetate fraction from methanol extract of defatted doenjang; BuOH : Buthanol fraction from methanol extract of defatted doenjang; Water, Water fraction from methanol extract of defatted doenjang

^{a-d}Means with the different letters are significantly different at the 0.05 level of significances as determined by Duncan's multiple range test.

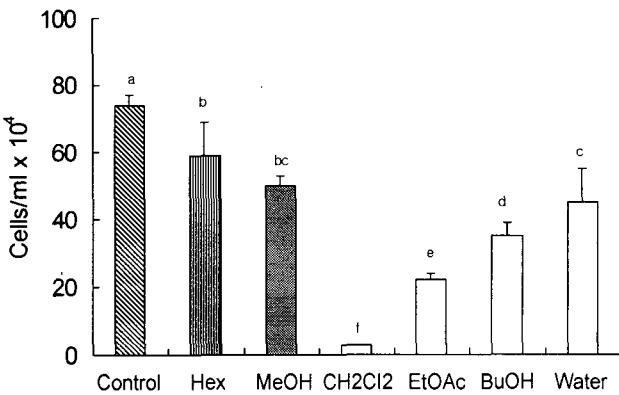


Fig. 5. Inhibitory effect of solvent fractions (200 µg/ml) from methanol extracts of defatted doenjang on the growth of MG-63 human osteosarcoma cells after 6 days of incubation at 37°C.

Hex, Hexane extract; MeOH, Methanol extract of defatted doenjang; CH₂Cl₂, Dichloromethane fraction from methanol extract of defatted doenjang; EtOAc, Ethylacetate fraction from methanol extract of defatted doenjang; BuOH : Buthanol fraction from methanol extract of defatted doenjang; Water, Water fraction from methanol extract of defatted doenjang

^{a-f}Means with the different letters are significantly different at the 0.05 level of significances as determined by Duncan's multiple range test.

암세포의 증식을 억제하여 *in vitro* 상에서 암예방 효과 및 항암효과가 있는 것으로 추정된다.

현재까지 전통된장의 암세포 성장 억제 효과에 대한 몇몇 연구들이 보고되었다. 예를 들면, Choi 등[4]은 순창 재래식 된장의 메탄올 추출물을 더욱 분획하여 이 중 에틸아세테이트 분획물이 가장 높은 암세포 성장 억제효과가 나타났음을 보고하였다. Song 등[30]은 된장으로부터 추출한 지질 분획물이 인체 K562 백혈암세포, mouse의 Yak1 백혈구 암세포 및 S180 고형암 세포에 독성을 나타내었다고 보고하였다. 다시마를 첨가한 된장 에탄올 추출물의 경우에도 인체 암세포의 성장을 56~90%로 저해하였다고 보고되었다[8]. 이상의 다양한 암세포와 실험방법을 이용한 연구 결과들로부터 우리나라 전통적인 장류인 된장은 항암효과를 가지고 있는 것으로 추정되어지며 본 연구의 결과도 선행된 연구들의 결과들과 일치하였으며 차이점은 기존의 연구에서 사용되지 않았던 여러 가지 인체 암세포들을 중심으로 된장의 암세포 성장 및 DNA 합성 저해 효과를 검토한 것이다. 특히, 된장이 인체 간암세포의 성장을 억제하는 효과가 있다는 것은 매우 고무적인 것으로 간혹 마스크를 통하여 알려진 된장 발효 과정 중에 Aflatoxin 검출과 관련하여 된장 섭취가 오히려 간암의 발생 빈도를 증가시키는 것으로 오해하기가 쉽다. 따라서 본 연구 결과는 이러한 의문점 해결에 기초적인 자료를 제시하는 것으로 사료되어진다. 최근 콩 및 콩을 원료로 한 가공식품의 항암성에 대해서는 여러 차례 보고되었으며 콩을 일상적으로 섭취하고 있는 인구 집단의 경우가 그렇지 않은 집단에 비해서 폐암과 대장암에 걸릴 확률이 적었으며 콩을 많이 섭취하는 동양인의 경우 상대적으로 콩의 섭취가 낮은 서양인들에 비해 유방암, 결장암, 전립선암 등이 훨씬 낮았다고 보고되었다[27,31]. 된장의 원료가 콩이므로 문헌상으로 볼 때 디클로로메탄 분획물에는 linoleic acid[17]가, 에틸아세테이트 분획물에는 isoflavone[2], saponin[29] 등이 함유되어 있는 것으로 추정되어지나 여기에 대해서는 계속 연구 진행 중이다. Park 등[25]은 재래식 된장의 항돌연변이성을 콩으로 제조된 다른 발효식품들, 즉 일본 된장, 청국장, 상품용 된장과의 차이를 비교해 본 결과 재래식 된장의 활성이 가장 컸으며 다음으로 상품용 된장, 청국장, 일본된장의 순이었다고 보고하였고 Lim 등[18]은 이들 암세포들을 이용한 *in vitro* sulforhodamine (SRB) assay에 의한 저해 효과 실험에서도 다른 콩 관련 발효 식품과 원재료들과 비교해 볼 때 된장 메탄올 추출물이 가장 큰 저해 효과를 보였음을 보고하였다. 따라서 된장은 여러 종류의 미생물, 곰팡이류와 세균류들에 의한 발효과정을 거치는 동안 원재료인 콩에서 없었던 혹은 함량이 적은 성분들이 생성되거나 증가되어 항돌연변이 및 항암효과가 더 뛰어난 것으로 여겨진다. 그 가운데 대표적인 것이 genistein으로 그 함량은 콩에서 보다 된장과 같은 콩 발효식품에 상대적으로 높게 함유되어 있고 최근 genistein의

항암성에 관한 보고가 많이 알려져 있으며 특히 유방암 세포의 성장을 억제하는 역할이 있는 것으로 보고되었다[7,26].

암세포 DNA 합성 저해 효과

암세포 성장 저해와 세포내의 DNA 합성 저해 사이에 연관이 있을 것으로 예상되어져 AGS 인체 위암세포와 Hep 3B 인체 간암세포를 이용하여 암세포의 DNA 합성 저해효과를 배양 2 일 후 liquid scintillation counter를 이용하여 측정해 보았다. 전보에서 이상의 두 인체 암세포에 된장 메탄올 추출물을 첨가 했을 때 약 70%의 DNA 합성 저해효과를 나타내었고 콩의 메탄올 추출물에 비해 높은 활성을 보였다고 보고하였다[19]. 된장의 메탄올 추출물 중에서 암세포 증식 억제 효과에서 가장 컸었던 디클로로메탄 분획물과 에틸아세테이트 분획물을 AGS 위암세포에 투여한 2 일 후에 세포내의 DNA 합성에 미치는 영향을 측정한 결과는 Table 1과 같다. 된장의 디클로로메탄 분획물 50 µg/ml, 100 µg/ml, 200 µg/ml 농도에서 각각 66%, 73%, 94%의 DNA 합성이 감소되는 것을 관찰하였고 된장의 에틸아세테이트 분획물 50 µg/ml, 100 µg/ml, 200 µg/ml 농도에서 각각 57%, 93%, 95%의 DNA 합성 저해효과를 가지는 것으로 나타났다. 인체 위암세포의 경우, 된장의 메탄올 추출물 중 에틸아세테이트 분획물에서 디클로로메탄 분획물에 비해 높은 DNA 합성 저해 효과를 관찰할 수 있었다. Table 2는 인체 간암세포를 이용하여 된장의 디클로로메탄과 에틸아세테이트 분획물에 의한 암세포 DNA 합성 저해효과를 검토 한 것이다. 된장의 디클로로메탄 분획물의 경우 농도에 의존적으로 그 저해효과가 증가하였으며 첨가농도 200 µg/ml 농도에서 80%의 높은 저해효과를 보였다. 된장의 에틸아세테이트 분획물은 200 µg/ml 농도에서 64%의 저해효과가 나타났는데 AGS 위암세포

Table 1. Effect of dichloromethane (CH₂Cl₂) and ethylacetate (EtOAc) fractions of from methanol extract of defatted doenjang on the [³H] thymidine incorporation in AGS gastric adenocarcinoma cells after 2 days of incubation at 37°C

Sample concentration (µg/ml)	[³ H]thymidine (x cpm)	Inhibition rate (%)
Control	4569±322.1 ^a	-
Doenjang CH ₂ Cl ₂ Fr.	50 1535±288.1 ^b	66
	100 1221±77.5 ^c	73
	200 260±72.2 ^d	94
Doenjang EtOAc Fr.	50 1965±237.4 ^b	57
	100 307±63.8 ^d	93
	200 234±40.6 ^d	95

^{a-d}Means with the different letters are significantly different at the 0.05 level of significances as determined by Duncan's multiple range test.

Table 2. Effect of dichloromethane (CH₂Cl₂) and ethylacetate (EtOAc) fractions of from methanol extract of defatted doenjang on the [³H] thymidine incorporation in Hep 3B hepatocellular carcinoma cells after 2 days of incubation at 37°C

Sample concentration (µg/ml)	[³ H]thymidine (x cpm)	Inhibition rate (%)
Control	1547±216.3 ^a	-
Doenjang CH ₂ Cl ₂ Fr.	50 752±65.2 ^c	51
	100 645±65.7 ^c	58
	200 307±83.2 ^e	80
Doenjang EtOAc Fr.	50 979±30.6 ^b	37
	100 786±112.5 ^c	49
	200 561±65.4 ^d	64

^{a-c}Means with the different letters are significantly different at the 0.05 level of significances as determined by Duncan's multiple range test.

에 비해서 DNA 합성 저해효과가 다소 낮았음을 관찰 할 수 있었고 Hep 3B 간암 세포에서는 디클로로메탄 분획물에 에틸아세테이트 분획물보다 저해효과가 높았음을 살펴 볼 수 있었다. 본 연구의 결과로부터 된장의 암세포 성장 억제 및 DNA 합성 저해효과를 가지는 물질은 디클로로메탄과 에틸아세테이트층으로 두루 분포되어 있음을 추정 할 수 있으며 두 분획물들에 함유되어져 있는 활성물질은 암세포의 종류에 특이적으로 활성을 가지고 있는 것으로 사료된다.

요 약

본 연구는 된장의 항암효과를 검토하기 위해서 된장 메탄올 추출물과 그 분획물들에 의한 여러 인체 암세포들의 성장 억제와 DNA 합성 저해 실험을 행하였다. AGS 인체 위암세포를 이용하여 6일간 배양하여 된장의 메탄올 추출물 200 µg/ml를 처리한 결과 32%의 억제효과를 나타내었고 된장 메탄올의 분획물들 중 디클로로메탄층이 가장 높았으며 200 µg/ml 농도로 첨가했을 때 90%의 위암세포 성장을 저해시켰고 에틸아세테이트 분획물을 동일 첨가농도로 투여했을 때 62%의 저해효과를 보였다. 인체 간암세포인 Hep 3B의 경우, 첨가농도 200 µg/ml에서 메탄올 추출물은 51%로 암세포 증식을 억제하였으나 디클로로메탄, 에틸아세테이트 분획물의 저해효과가 각각 89%, 86%로 매우 높았다. 인체의 결장암세포인 HT-29 세포의 경우, 첨가농도 200 µg/ml에서 메탄올 추출물, 디클로로메탄, 에틸아세테이트 분획물은 각각 84%, 91%, 71%로 암세포 증식을 억제하였다. MG-63 인체의 골육암 세포의 경우, 첨가농도 200 µg/ml에서 메탄올 추출물은 33%로 낮은 저해효과를 보였으나 메탄올 추출물의 분획물들 중에는 디클로로메탄 분획물이 96%로 저해효과가 가장 높았

으며, 다음으로 에틸아세테이트 분획물이 71%로 암세포 증식을 억제시켰다. 된장의 메탄올 추출물 중에서 암세포 증식 억제 효과에서 가장 컸었던 디클로로메탄 분획물과 에틸아세테이트 분획물을 AGS 위암세포에 투여한 2 일 후에 세포 내의 DNA 합성에 미치는 영향을 측정한 결과, 된장의 디클로로메탄 분획물 50 µg/ml, 100 µg/ml, 200 µg/ml 농도에서 각각 66%, 73%, 94%로 DNA 합성이 감소되었고 된장의 에틸아세테이트 분획물 50 µg/ml, 100 µg/ml, 200 µg/ml 농도에서 각각 57%, 93%, 95%의 DNA 합성 저해효과를 나타내었다. 인체 간암세포의 경우, 된장의 디클로로메탄 분획물은 200 µg/ml 농도에서 80%의 높은 저해효과를 보였고 에틸아세테이트 분획물은 200 µg/ml 농도에서 64%의 저해효과를 나타내었다. 이상의 얻어진 결과로 된장의 메탄올 추출물과 그 분획물은 여러 인체 암세포의 증식을 억제하고 DNA 합성도 저해하여 *in vitro* 상에서 암예방 효과 및 항암효과가 있는 것으로 추정된다.

참고 문헌

- Asahara, N., X. B. Zhang and Y. Ohta. 1992. Antimutagenicity and mutagen-binding activation of mutagenic pyrolyzates by microorganisms isolated from Japanese miso. *J. Sci. Food Agric.* **58**, 395-401.
- Bae, E. A., T. W. Kwon and G. S. Moon. 1997. Isoflavone contents and antioxidative effects of soybeans, soybean curd and their by-products. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* **26**, 371-375.
- Cheigh, H. S., K. S. Park, G. S. Moon and K. Y. Park. 1990. Antioxidative characteristics of fermented soybean paste and its extracts on the lipid oxidation. *J. Korean Soc. Food Nutr.* **19**, 163-167.
- Choi, S. Y., M. J. Cheigh, J. J. Lee, H. J. Kim, S. S. Hong, K. S. Chung and B. K. Lee. 1999. Growth suppression effect of traditional fermented soybean paste (Doenjang) on the various tumor cells. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* **28**, 458-463.
- Choi, G. S., S. Y. Lim and J. S. Choi. 1998. Antioxidant and nitrile scavenging effect of soybean, meju and doenjang. *Korean J. Life Sci.* **8**, 473-478.
- Clement, J. J., M. S. Gorman, I. Wodinsky, R. Catande and R. K. Johnson. 1980. Enhancement of anti-tumor activity of alkylating agents by the radio-sensitizer misonidazole. *Cancer Res.* **40**, 4165-4172.
- Coward, L., N. C. Barnes, K. D. R. Stechell and S. Barnes. 1993. Genistein, daidzein, and -glucoside conjugates: anti-tumor isoflavones in soybean foods from American and Asian diets. *J. Agric. Food Chem.* **41**, 1961-1967.
- Cui, C. B., E. Y. Lee, D. S. Lee and S. S. Ham. 2002. Antimutagenic and anticancer effects of ethanol extract from Korean traditional doenjang added sea tangle. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* **31**, 322-328.
- Franceschi, R. T., W. M. James and G. Zerlauth. 1985. 1 α , 25-dihydroxy vitamin D3 specific regulation of growth, morphology and fibronectin and a human osteosarcoma cell line. *J. Cell Physiol.* **123**, 401-409.
- Goldburg, E., H. Nitowsky and S. Colowick. 1965. The role of glycolysis in the growth of tumor cells. *J. Biol. Chem.* **240**, 2791-2796.
- Hwang, W. I., H. S. Son, R. H. Ji and N. G. Baik. 1989. Effects of *Panax ginseng* and sodium ascorbate (Vitamin C) treatment on cancer cell growth I. Synergism of combined *Panax ginseng* and vitamin C action *in vitro*. *Korean J. Ginseng Sci.* **13**, 242-247.
- Kageyama, K., Y. Onoyama, M. Nakanishi, I. Matsu-Yuasa, S. Otani, S. Morisawa. 1989. Synergistic inhibition of DNA synthesis in Ehrlich ascite tumor cells by a combination of unsaturated fatty acids and hyperthermia. *J. Applied Toxicol.* **9**, 1-4.
- Kim, D. H., H. P. Song, K. Y. Kim, J. O. Kim and M. W. Byun. 2004. A correlation between fibrinolytic activity and microflora in Korean fermented soybean products. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* **33**, 41-46.
- Kiriakidis, S., O. Hogemeier, S. Starcke, F. Dombrowski, J. C. Hahne, M. Pepper, H. C. Jha and N. Wernert. 2005. Novel tempeh (fermented soybean) isoflavones inhibit *in vivo* angiogenesis in the chicken chorioallantoic membrane assay. *Br. J. Nutr.* **93**, 317-323.
- Kurechi, T., K. Kikugawa, S. Fukuda and M. Hasunuma. 1981. Inhibition of N-nitrosamine formation by soya products. *Food Cosmet. Toxicol.* **19**, 425-428.
- Lee, J. S. and H. S. Cheigh. 1997. Antioxidative characteristics of isolated crude phenolics from soybean fermented foods (doenjang). *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* **26**, 376-382.
- Lim, S. Y., S. H. Rhee, S. Y. Yi and K. Y. Park. 1997. Growth inhibitory effect and changes in membrane phospholipid fatty acid composition on MG-63 and AZ-521 human cancer cells by linoleic acid. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* **26**, 662-668.
- Lim, S. Y., K. Y. Park and S. H. Rhee. 1999. Anticancer effects of doenjang in *in vitro* sulforhodamine B (SRB) assay. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* **28**, 240-245.
- Lim, S. Y., S. H. Rhee and K. Y. Park. 2004. Inhibitory effect of methanol extract of Doenjang on growth and DNA synthesis of human cancer cells. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* **33**, 936-940.
- Lim, S. Y., S. H. Rhee, K. Y. Park, H. S. Yun and W. H. Lee. 2004. Inhibitory effect of methanol extracts and solvent fractions from doenjang on mutagenicity using *in vitro* SOS chromotest and *in vivo* *Drosophila* mutagenic system. *J. Korean Soc. Food Nutr.* **33**, 1432-1438.
- Matsuo, M. 2004. Low-salt-O-miso produced from Koji fermentation of oncome improves redox state and cholesterolemia in rats more than low-salt soybean-miso. *J. Nutr. Sci. Vitaminol. (Tokyo)* **50**, 362-366.
- Messina, M. and V. Messina. 1991. Increasing use of soyfoods and their potential in cancer prevention. *J. Am. Diet Assoc.* **91**, 836-840.
- Park, K. Y., S. H. Moon, H. S. Baik and H. S. Cheigh. 1990. Antimutagenic effect of doenjang (Korean fermented soy paste) toward aflatoxin B₁. *J. Korean Soc. Food Nutr.* **19**,

- 156-162.
24. Park, K. Y., S. H. Moon and S. H. Rhee. 1995. Antimutagenic effect of doenjang (Korean soy paste) - Inhibitory effect of doenjang stew and soup on the mutagenicity induced by aflatoxin B₁. *Environ. Muta. Carinogen.* **14**, 145-1521.
25. Park, K. Y., S. Y. Lim and S. H. Rhee. 1997. Antimutagenic and anticarcinogenic effects of doenjang. *J. Korean Assoc. Cancer Prevention* **1**, 99-107.
26. Peterson, G. 1995. Evaluation of the biochemical target of genistein in tumor cells. *J. Nutr.* **125**, 784S-789S.
27. Phillips, R. L. 1981. Role of life-style and dietary habits in risk of cancer among Seventh Day Adventists. *J. Cancer Res.* **35**, 3515-3522.
28. Ra, K. S., S. H. Oh, J. M. Kim and H. J. Suh. 2004. Isolation of fibrinolytic enzyme and β -glucosidase producing strains from Doenjang and optimum conditions of enzyme production. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* **33**, 439-442.
29. Rao, A. V. and M. K. Sung. 1995. Saponins as anticarcinogens. *J. Nutr.* **125**, 717S-724S.
30. Song, S. K., K. H. Kim and H. S. Kim. 2001. Cytotoxic effects and components of lipid fractions from soybean products on cancer cell lines. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* **30**, 1266-1271.
31. Takahashi, M., K. Imaida, F. Furukawa and Y. Hayashi. 1991. Inhibitory effects of soybean trypsin inhibitor during initiation and promotion phases of N-nitrosobis (2-oxopropyl) amine-induced hamster pancreatic carcinogenesis. In "Chemically induced cell profiration: Implications for risk assessment" Wiley-Less. Inc., p145-154.
32. Yen, G. C. and H. H. Lai. 2003. Inhibition of reactive nitrogen species effects in vitro and in vivo by isoflavones and soy-based food extracts. *J. Agric. Food Chem.* **51**, 7892-7900.
33. Yoon, K. D., D. J. Kwon, S. S. Hong, S. I. Kim and K. S. Chung. 1996. Inhibitory soybean and fermented soybean products on the chemically induced mutagenesis. *Korean. J. Appl. Microbiol. Biotechnol.* **24**, 525-528.