

배풍등 분획물의 항균 및 암세포 증식 억제효과

신 미 옥

신라대학교 식품영양학과

Received October 7, 2005 / Accepted December 5, 2005

The Effects on Antimicrobial and Cytotoxicity of *Solanum lyratum* Fractions. Mi-Ok Shin. Dept. of Food and Nutrition, Silla University, Busan 617-736, Korea – In this study, we investigated antimicrobial and cytotoxicity effects to each fraction extracted from *Solanum lyratum* (SL), which were extracted methanol (SLM) and then the extract was fractionated into five different types : hexane (SLMH), ethyl ether (SLMEE), ethylacetate (SLMEA), butanol (SLMB) and aqueous (SLMA). The antimicrobial activity was analyzed by the paper disc method. Among the various solvent fractions, SLMEA showed the strongest antimicrobial activities. The cytotoxicity of SL fractions on HeLa, MCF-7, HT-29 and HepG2 cells was evaluated by MTT assay. Among various partition layers, SLMEE showed the strongest cytotoxic effects to all cancer cell lines. We also observed that quinone reductase (QR) was induced by all fraction layers of SL to HepG2 cells. Since the QR-induced effects of SLMEE on HepG2 cells at 160 µg/ml concentration showed 2.1 when compared with a control value of 1.0, inducer of QR for cancer protection may be contained in this fraction.

Key words – antimicrobial, cytotoxicity, quinone reductase, *Solanum lyratum*

현대 과학의 발달에도 불구하고 암은 사람의 질병 중 가장 우위를 차지하고 있다. 그러나 아직 그 기작과 확실한 치료방법이 밝혀져 있지 않고 있으며, 우리나라의 경우에서도 전체 사망 원인 중 제1위를 차지하고 있다. 암 발생의 80~90%는 물리적 환경 혹은 화학물질의 부작용에 의해 유발되며 이 원인 중 40~60%가 잘못된 식이와 관련 있는 것으로 보고 되고 있다[15,16]. 우리가 일상생활에서 섭취하는 식품에는 약이 되는 유효성분이 많이 있으며 합성화학약제와 달리 생체 내에서 항산화 및 항 발암 등의 작용을 나타내어 암 발생을 억제하거나 지연시키는 효과들이 알려지고 있고, 또한 오랫동안 민간약의 형태로 사용되어지고 있거나 문헌적 근거들이 보고된 천연물에서도 그 유효성분과 치료제로서의 개발 가능성이 증대되어지고 있다[3,4,7]. 최근에는 이와 같은 생체활성물질의 확인과 그 작용기작들 그리고 이들 물질들의 분리와 동정에 대한 연구들이 많이 진행되고 있다 [10-12,16].

대표적인 암 예방 기전의 연구에 사용하는 생화학적 분석 방법은 체내 독성물질이나 발암물질을 무독화시키는 phase II 효소인 quinone reductase (QR)와 glutathione S-transferase (GST) 활성유도와 phase I 효소인 cytochrome P450 효소 활성 억제, glutathione 생성, transformed cell에서 그 함량이 증가되는 polyamine 생성억제 등의 측정이 있다[26]. QR는 간세포에서 주로 생성되는 phase II enzyme의 한 종류로 quinone을 환원시켜 무독하게 만들고 세포내에 유도되어 여러 돌연변이 물질에 의해 일어나는 돌연변이와 종양화

를 막아주고 발암물질을 무독하게 하는 역할을 한다[27]. 이러한 QR 유도 활성을 통한 암 예방 효과를 검색한 연구로서 Steinkellner 등[25]은 십자화과 식물에서 QR 유도 활성을 보았고, Shon과 Nam등[24]은 *Phellinus linteus*, *P.igniarius* 및 *grocybe cylindracea*의 추출물에서 QR 활성을 보았으며, Gerhäuser 등[6]은 잘 알려진 암예방 물질들을 대상으로 하여 암 예방 물질 검색을 위한 실험 방법으로 QR을 사용하여 연구하였다. 또한 Bae와 Shim등[1,20]은 당근잎, 감자껍질 등의 폐기되는 농산 부산물을 이용해 높은 QR 유도 활성 효과를 확인하였다.

본 연구에서 사용된 배풍등(*Solanum lyratum*)은 가지과 (Solanaceae)에 속하는 다년초로서 덩굴성 半低木으로 결실기는 11월이며 한국, 중국 등지에 자생하며, 열매를 白英이라고 하고 전초를 비상초라 하는데 민간에서 만성간염, 수종, 옹종, 습진, 류마치스성 관절통, 소변분리, 말라리아, 황달을 치료하는데 사용하며, 해열 진통제로 약용하고 있다[14,18]. 이 식물에 대하여서는 rutin[22], steroidal sapogenins[8], steroid alkaloidal glycosides[13] 및 glycoalkaloids[29] 등이 알려져 있으며, 흰쥐의 간상해와 독성에 대한 보호효과[23,28] 및 antianaphylactic 활성을[9] 나타내는 것으로도 알려져 있다. 본 연구실에서는 식생활에서 애용되는 식품의 생리활성 기능을 중점으로 천연물 활성물질 탐색 연구를 실시해 오고 있으며[2,21], 본 연구에서는 배풍등 분획물의 항균 및 항발암 효과를 검색하기 위하여 paper disc test를 통해 항균효과 실험을 하였고, 항발암효과 측정을 위해서는 인체 암세포주를 이용한 MTT (3-[4,5-dimethylthiazol-2-yl]-2,5-diphenyl tetrazolium bromide) assay 및 암예방 효소계인 QR 유도 활성효과를 비교 측정하여 배풍등 분획물이 가지는 생리활성 효과를 검토하였다.

*Corresponding author

Tel : +82-51-309-5462, Fax : +82-51-309-5687

E-mail : shinunicom@daum.net

재료 및 방법

실험 재료

본 실험에 사용된 배풍등(*Solanum lyratum*, SL)은 경남 언양의 가지산에서 채집하였고 확증표본은 부산대학교 약학대학 생약표본실에 보관하였다. 음건한 배풍등을 추출·분획하여 각 균주에 대한 항균효과와 암세포주에 대한 암세포 증식억제 효과(cytotoxicity) 및 QR 유도 활성 물질 검색에 사용하였다.

암세포 증식억제 실험에 사용된 시약 중 NP-40과 menadione은 Sigma사(St. Louis, USA) 제품을 사용하였고 flavin adenine dinucleotide (FAD), dicumarol 및 glucose-6-phosphate dehydrogenase는 Amresco사(USA) 제품을 구입하였으며, minimum essential medium (MEM), Dulbecco's Eagle modified medium (DMEM)과 phosphate buffered saline (PBS) 등은 Gibco-BRL (Grand Island Biologic Co. USA)에서 구입하였으며, 그 외 연구에 사용된 용매 및 시약은 특급을 사용하였다.

시료의 추출 및 분획물 제조

시료로 사용된 배풍등(SL)은 음건 후 세절하여 메탄올을 첨가한 후 37°C에서 진탕한 후 4시간 동안 3회 반복 추출하고 회전식 진공 농축기로 감압 농축시킨 후 동결 건조하여 배풍등의 methanol 추출물(SLM)을 얻고, 이 추출물을 각 용매별로 분획하여 hexane층(SLMH), ethylether층(SLMEE), ethylacetate층(SLMEA), butanol층(SLMB) 및 수층분획물(SLMA)로 각각 분획하고 각 층을 감압 농축 후 동결 건조하여 분말로 만들어 시료로 사용하였다.

용매 분획별 항균활성 측정

계통분획 추출물의 항균성 검색은 paper disc method [5]를 이용하였으며, *Proteus mirabilis*, *Streptococcus aureus*, *Serratia marcescens* 및 *Bacillus subtilis* 등이 항균활성을 위해 사용되었다. 각 균의 생육 및 보존을 위해 사용한 배지는 Nutrient agar (Difco), Yeast extract, Malt extract를 사용하였다. 항균성 시험용 평판 배지는 멸균 후 petri dish에 20 ml씩 분주하여 응고시키고 전 배양한 각종 시험균을 무균적으로 첨가하여 기층용 배지 위에 다시 0.1 ml씩 분주하여 이중의 평판배지를 만들었다. 각 용매 분획별 추출물의 농도를 500에서 2000 µg/disc까지 시료의 농도를 증량시키면서 멸균된 disc (직경 8 mm, Toyo Roshi Kaisha, Ltd.)에 흡수, 건조시켜 균주가 도달된 plate 표면에 올려놓은 후 37°C incubator에서 24시간 배양하여 disc 주위에 생성된 clear zone의 직경(mm)으로부터 각 분획물의 항균활성을 측정하였으며 이 실험을 5회 반복하여 평균치를 나타내었다.

암세포 배양

본 실험에 사용한 암세포주는 자궁 경부암 세포인 HeLa (human cervix adenocarcinoma), 유방암 세포인 MCF-7 (human breast adenocarcinoma pleural effusion), 대장암세포인 HT-29 (human colon cancer cell) 및 인체 간암 세포인 HepG2 (human hepatocellular carcinoma)를 2003년 7월 부산대학교 의과대학 생화학교실에서 제공받았다. HepG2, HeLa, MCF-7 세포주는 DMEM medium에 HT-29 세포주는 RPMI1640 배지에 10% fetal bovine serum (FBS)과 1% 100 units/ml의 penicillin streptomycin 10 ml가 함유된 배지를 사용하여, 37°C 5% CO₂ incubator에서 monolayer로 배양하였다.

암세포 증식억제 효과측정

배풍등 추출 분획물의 암세포 증식억제 효과는 MTT assay를 사용하여 행하였다[4,16].

MTT assay는 세포의 생육을 측정하는 방법으로서 살아있는 세포의 미토콘드리아 내의 dehydrogenase가 황색 수용성 물질인 MTT에 의해 dark blue formazan을 생성하는 원리를 이용한다. 이를 위해 각 세포주를 1×10⁵ cells/well의 농도로 맞추고 24 well에 각각 1 ml 첨가하여 24시간 동안 37°C, 5% CO₂ incubator에서 배양한 후 용매 종류별 분획물을 각각 일정량의 dimethyl sulfoxide (DMSO)에 녹여서 100, 200, 300, 400 및 500 µg/ml의 농도로 첨가하였다. 48시간 동안 배양한 후 각 well에 PBS 완충액에 녹인 MTT 용액(3 mg/ml)을 100 µl씩 첨가하여 4시간 동안 다시 배양시킨 후, well 바닥에 형성된 formazan이 흩어지지 않게 상등액을 제거하고 DMSO와 ethanol을 1:1로 혼합한 용액 1 ml를 첨가하여 천천히 녹인 후 UV-visible spectrophotometer를 이용하여 570 nm, 690 nm에서 각각 흡광도를 측정하여 대조군 세포수를 100%로 하였을 때의 상대적인 세포성장 억제율을 구하였다. 같은 방법을 이용하여 정상세포인 liver cell을 이용하여 배풍등 분획물의 세포 독성효과 실험을 하였다.

QR 유도 활성 측정

QR 생성 유도 효과는 Prochaska와 Santamaria의 방법[19] 및 park[17]의 방식을 참조하여 측정하였다. 즉 T-75 flask에서 배양중인 HepG2세포가 80%이상 증식하게 되면 24 well plate의 각 well에 1×10⁴ cells/ml 되도록 HepG2세포를 분주하여, 37°C 5% CO₂ incubator에 24시간 동안 배양한 후 배풍등 추출물을 각각 DMSO에 녹여 40, 80, 120 및 160 µg/ml의 농도로 첨가하고, 다시 24시간 동안 배양한 다음 배양액을 제거하였다. 배지가 제거된 각 well에 250 µl의 lysis buffer (10 mM Tris-Cl, pH 8.0, 14 mM NaCl, 15 mM MgCl₂, 0.5% NP-40)를 첨가한 후 37°C, 5% CO₂ incubator에 10분간 두면서 cell을 lysis한 후 reaction mixture 즉, 10 mM Tris-Cl

(pH 7.4), 0.5 mg/ml BSA, 0.008% tween-20, 40 μM FAD, 0.8 mM glucose-6-phosphate, 2 U/ml glucose-6-phosphate dehydrogenase, 25 μM NADP, 40 μg/ml MTT 및 1 mM menadione을 혼합하여 well에 1 ml씩 첨가하여 5분 동안 반응시킨 후, 반응 정지용액인 10.3 mM dicumarol, 0.5% pyridine, 5 mM potassium phosphate (pH 7.4) 혼합액을 250 μl씩 첨가하여 효소반응을 정지시키고 multi-detection microplate를 이용하여 610 nm에서 흡광도를 측정하여 계산하였다. 그리고 단백질량은 동일한 set의 well plate에 대한 crystal violet 염색방법으로 정량하였다. 24 well plate에 1×10⁴ cells/well 농도로 분주하고, 37°C, 5% CO₂ incubator에서 2시간 배양한 후 증류수로 2분간 세척하였다. 각 well에 0.5% SDS (in 50% EtOH) 용액을 1 ml씩 가하여 37°C incubator에 1시간 방치한 후 610 nm에서 흡광도를 측정하였다. QR 활성 측정(nmol/min/mg protein)은 다음과 같이 하였다.

*** QR activity**

$$= \frac{\text{absorbance change of MTT/min}}{\text{absorbance of crystal violet}} \times 3345 \text{ nmol/mg}$$

통계처리

본 실험에 대한 실험결과는 4번 실험하여 평균치를 나타내었다.

결과 및 고찰

배풍등 추출물의 각 용매별 분획물 수율

음건한 배풍등(SL) 2.6 Kg을 세절하여 메탄올로 추출하여 메탄올 추출물(SLM) 65 g을 얻었으며, 이 메탄올 추출물을 용매별로 각각 분획하여 hexane ext. (SLMH) 18 g, ethyl-ether ext. (SLMEE) 1.5 g, ethylacetate ext. (SLMEA) 2.2 g, butanol ext. (SLMB) 3.4 g 및 H₂O ext. (SLMA) 16.1 g을 얻었다. 각 시료의 용매별 추출물 및 분획물의 수율은 Table 1과 같다.

Table 1. Yields (%) of various solvent fractions of *Solanum lyratum* (SL)

| Fractions | Yields (g) | Yields (%) |
|-----------|------------|------------|
| SLM | 65 | 65 |
| SLMH | 18 | 27.7 |
| SLMEE | 1.5 | 2.2 |
| SLMEA | 2.2 | 3.4 |
| SLMB | 3.4 | 5.5 |
| SLMA | 16.1 | 24.7 |

SLM : methanol ext. SLMH : hexane fraction (fr). SLMEE : ethylether fr. SLMEA : ethylacetate fr. SLMB : butanol fr. SLMA : aqueous fr.

항균활성 효과

Table 2는 각 균주에 따른 배풍등 분획별 항균 활성 결과를 나타낸 것이다. 각 균주별로 살펴보면, 단백질 식품부패균인 *Proteus mirabilis*의 경우 시료첨가 농도인 1,000 μg/ml에서 SLMEA층이 약 9.0 mM의 clear zone을 형성하였고, 최종 첨가 농도인 2,000 μg/ml에서는 10.2 mm의 균 생육저지 clear zone이 형성되었다. 그러나 다른 분획층에서는 항균 활성 효과를 볼 수 없었다. 식중독원인균인 *Streptococcus aureus*에서는 SLMEE와 SLMEA의 두층에서 1,500 μg/ml 시료 첨가시 약 10.5 mM 정도의 비슷한 clear zone이 형성되었다. 식품부패균인 *Serratia marcescens*의 경우에서도 *Proteus mirabilis*에서와 같이 SLMEA층에서 가장 높은 항균활성이 나타났으며, 최종 첨가 농도인 2,000 μg/ml에서 비교적 넓은 12 mM의 clear zone이 형성되었다. 그리고 이 균에서는 SLMEE층과 SLMB층에서도 다른 균주와 달리 다소 높은 항균활성을 나타내었다. 즉, SLMEE층은 500 μg/ml첨가시 9 mM를 나타내었고 1,000 μg/ml와 1,500 μg/ml에서 농도 의존적으로 9.2 mM와 10.3 mM의 clear zone이 형성되었으며, 2,000 μg/ml에서도 11.4 mm로 비교적 높은 항균효과를 나타내었다. 그리고 SLMB층에서도 최종농도 2,000 μg/ml에서 10.2 mM의 균 생육저지대를 나타내었다.

곡류 부패균인 *Bacillus subtilis*에서도 앞의 세 균주에서와 같이 SLMEA층의 항균 활성이 가장 높게 나타났으며, 최종 농도인 2,000 μg/ml를 첨가했을 때, 약 12.8 mM의 clear zone을 형성하여 실험에 사용한 다른 균주들에 비해서도 가장 높은 항균활성을 나타내었다. 그리고 SLMEE층에서도 다음으로 항균활성을 보였으며 사용한 다른 균주와 달리 SLMH층에서 미약하나마 특이적인 활성을 나타내었다. 이상의 결과로 실험균주 4종 모두 배풍등의 ethylacetate 분획층인 SLMEA에서 비교적 넓은 clear zone을 형성하여 높은 항균력을 나타냄을 알 수 있었다. 그리고 SLMEE층에서도 다음으로 항균활성을 보였으며, *Serratia marcescens*의 경우는 미약하나마 SLMB층에서도 낮은 항균활성을 볼 수 있었다. 이와 같은 결과는 Kim 등[9]이 고수 추출물을 이용하여 항균 활성 효과를 측정된 결과 ethylacetate 분획물과 ethylether 분획물의 활성 성분이 다른 분획물에 비해 월등히 컸다고 보고한 바와 비슷한 결과였으며, Choi 등[4]은 야생 식용 식물의 약물 대사 활성 성분에 관한 연구에서 부추를 chloroform, ethylacetate 및 butanol로 각각 처리하여 얻은 분획물의 활성 성분을 비교한 결과, ethylacetate 분획물의 활성성분이 월등히 컸다고 보고한 결과와 비슷한 양상을 나타내었다.

본 실험의 결과, 배풍등의 ethylacetate 분획층인 SLMEA에서 배풍등의 다른 용매 분획층에서 보다 높은 항균활성이 나타났으며, 이 결과로 배풍등의 항균활성을 나타내는 생리활성물질들이 이 층에 많이 존재한다고 추측해 볼 수 있었다. 배풍등의 이 분획층에서의 항균활성 물질 규명을 위해 더욱더 많은 연구가 진행되어야 할 것으로 사료되어진다.

Table 2. Antimicrobial activity of various partition layers of *Solanum lyratum*

| Micro-organisms | $\mu\text{g/ml}$ | Clear zone on plate (mM) ²⁾ | | | | |
|----------------------|------------------|--|-------|-----------------|------|------|
| | | SLMH | SLMEE | SLMEA | SLMB | SLMA |
| <i>P. mirabilis</i> | 500 | - | - | - ¹⁾ | - | - |
| | 1000 | - | - | + | - | - |
| | 1500 | - | - | ++ | - | - |
| | 2000 | - | - | ++ | - | - |
| <i>S. aureus</i> | 500 | - | - | - | - | - |
| | 1000 | - | - | - | - | - |
| | 1500 | - | ++ | ++ | - | - |
| | 2000 | - | ++ | ++ | - | - |
| <i>S. marcescens</i> | 500 | - | + | + | - | - |
| | 1000 | - | + | ++ | + | - |
| | 1500 | - | ++ | ++ | + | - |
| | 2000 | - | ++ | +++ | ++ | - |
| <i>B. subtilis</i> | 500 | - | - | - | - | - |
| | 1000 | - | - | ++ | - | - |
| | 1500 | - | + | ++ | - | - |
| | 2000 | + | ++ | +++ | - | - |

¹⁾Values are means \pm SD.

²⁾The fractions extracted with each solvent from *S. lyratum* were absorbed into paper disc by indicated concentration in Table (8 mM, diameter). Antibacterial activities were analyzed by the diameters (mM) of clear zone formed around the colonies. Clear zones for bacterial growth inhibition were indicated as followed. Growth inhibition size of clear zone : +++, larger than 12 mM; ++, 10-12 mM; +, smaller than 10 mM; -, not detected.

암세포 증식억제에 미치는 배풍등 분획물의 영향

자궁경부암세포주인 HeLa, 유방암세포주인 MCF-7, 대장암세포인 HT-29 및 간암세포주인 HepG2에 대한 배풍등 추출물 및 각 분획물의 암세포 증식억제 효과에 대한 결과는 Fig. 1, 2, 3 및 4와 같다.

Fig. 1은 자궁경부암세포주인 HeLa에 용매별 각 시료 분획물을 100, 200, 300, 400 및 500 $\mu\text{g/ml}$ 씩 농도를 증가시키며 첨가하였을 때의 암세포 증식억제 효과를 나타낸 그림이

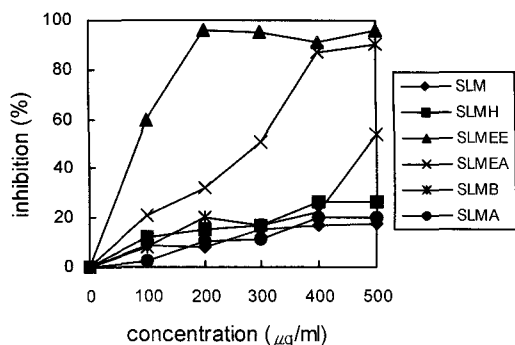


Fig. 1. Inhibitory effect on cell survival of the partition layers separated from methanol extract of *Solanum lyratum* (SL) on HeLa cells. SLM : Methanol extracts of *S. lyratum* (SL), SLMH : Hexane partition layer of SLM, SLMEE : Ethylether partition layer of SLM, SLMEA : Ethylacetate partition layer of SLM, SLMB : Butanol partition layer of SLM, SLMA : Aqueous layer of SLM.

며, 여러 용매분획층 중 ethylether 분획층인 SLMEE에서 그 효과가 가장 뛰어났다. 즉, SLMEE의 시료 농도 200 $\mu\text{g/ml}$ 를 첨가했을 때 이미 95.58%의 높은 암세포 증식억제 효과를 보였고, 500 $\mu\text{g/ml}$ 를 첨가했을 때는 96.08%의 높은 억제 효과가 나타났다. 다음으로 ethylacetate 분획층인 SLMEA에서도 400 $\mu\text{g/ml}$ 첨가시 87.05%, 500 $\mu\text{g/ml}$ 첨가시 90.2%의 암세포 증식억제 효과를 나타내었다. 유방암세포주인 MCF-7에 대한 암세포 증식억제 실험 결과는 Fig. 2에 나타내었으며, Fig. 1의 HeLa 세포주에서와 같이 여러 분획물중 SLMEE와 SLMEA층에서 암세포 증식억제 효과가 높게 나타났다.

즉, 시료농도 200 $\mu\text{g/ml}$ 를 첨가했을 때 SLMEE분획물은

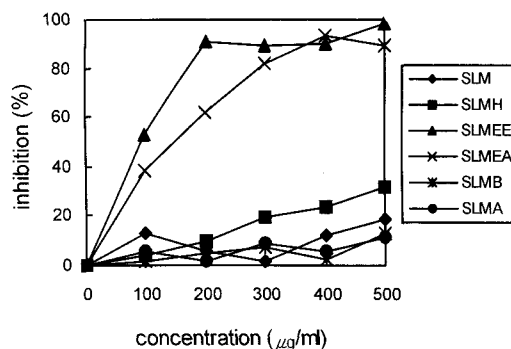


Fig. 2. Inhibitory effect on cell survival of the partition layers from methanol extract of *Solanum lyratum* (SL) on MCF-7 cells.

다른 분획물의 경우보다 암세포 증식억제 효과가 월등히 커서 90.84%의 높은 수치를 보였으며, 최종 첨가농도인 500 µg/ml을 첨가했을 때는 98.64%의 높은 암세포 증식억제 효과를 나타내었다. 다음으로 SLMEA층에서도 최종 첨가농도인 500 µg/ml 첨가시 89.72%의 암세포 증식억제 효과를 나타내었다. Fig. 3은 대장암세포인 HT-29세포주에 대한 결과이며, 이 경우에서도 HeLa와 MCF-7세포주의 경우와 그 결과와 비슷하게 나타났으며, SLMEE분획물 첨가시 암세포 증식억제 효과가 가장 높게 나타났다. 즉, 200 µg/ml를 첨가 했을 때 71.21%의 암세포 증식억제 효과를 나타내었고 500 µg/ml을 첨가했을 때 98.36%의 암세포 증식억제 효과를 나타내었다. 다음으로 SLMEA층에서도 최종 첨가농도인 500 µg/ml 첨가시 83.71%의 암세포 증식억제 효과를 나타내었다. 그리고 이 세포주에서는 SLMH층에서도 최종 첨가농도인 500 µg/ml 첨가시 55%의 암세포 증식억제 효과를 보였으며 또한 SLMB층에서도 상대적으로 미약하지만 500 µg/ml 첨가시 36.78%의 암세포 증식억제 효과를 나타내었다. Fig. 4는 간암 세포주인 HepG2에 대한 결과이며, 역시 SLMEE분획층에서 가장 높은 암세포 증식억제 효과를 나타내어 200 µg/ml을 첨가시 80%의 암세포 증식억제 효과를 나타내었고 500 µg/ml을 첨가했을 때 95.15%의 암세포 증식억제 효과를 나타

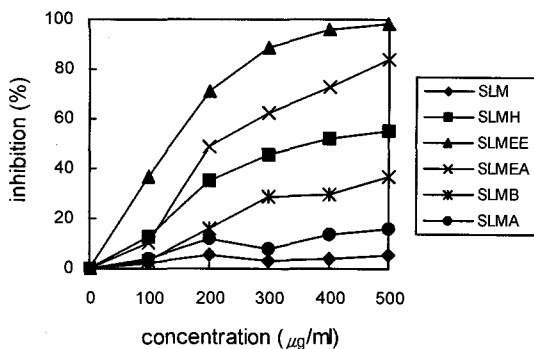


Fig. 3. Inhibitory effect on cell survival of the partition layers from methanol extract of *Solanum lyratum* (SL) on HT-29 cells.

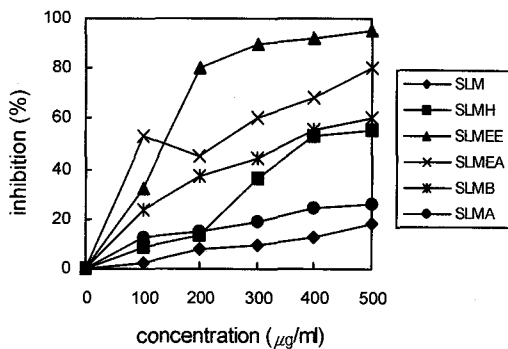


Fig. 4. Inhibitory effect on cell survival of the partition layers from methanol extract of *Solanum lyratum* (SL) on HepG2 cells.

내었다. 다음으로 SLMEA층에서도 최종 첨가농도인 500 µg/ml 첨가시 80%의 암세포 증식억제 효과를 나타내었다. 그리고 Fig. 3의 결과에서와 같이 SLMB층의 500 µg/ml을 첨가시 60%의 암세포 증식억제 효과를 보였으며, SLMH층에서도 500 µg/ml을 첨가 시 상대적으로 미약하나 55.62%의 억제율을 나타내었다. 그러나 나머지층에서는 모든 세포주에서와 마찬가지로 20%이하의 낮은 암세포 증식억제 효과를 나타내었다. 이상의 결과에서 볼 때, 4종의 암세포주 모두 비극성 용매층인 ethylether 분획층인 SLMEE에서 다른 분획층에서 보다 높은 암세포 증식억제 효과(cytotoxicity)를 나타내었으며, SLMEA층에서도 다음으로 높은 암세포 증식억제 효과를 나타내었다. 이와 같은 실험 결과로 미루어 볼 때 배풍 등의 암세포 성장 저지를 일으키는 생리활성 물질은 비극성 용매층인 ethylether 분획층인 SLMEE에 가장 많이 존재한다고 추측해 볼 수 있었고, 배풍 등의 분리물질들인 steroidal sapogenins 및 steroid alkaloidal glycosides의 여러 생리 활성효과와 rutin의 항산화효과 등에 대해서도 생각해 볼 수 있다[8,13,14,22,29]. 또한, 본 연구결과를 통해 배풍 등 분획물의 자궁경부암세포주인 HeLa, 유방암세포주인 MCF-7, 대장암세포인 HT-29 및 간암세포주인 HepG2에 대한 암세포 증식억제 효과를 확인할 수 있었으며 특히, 대표적인 여성암 세포주인 자궁경부암세포주 HeLa와 유방암세포주 MCF-7에서는 SLMEE와 SLMEA 두층이 월등히 높은 암세포 증식억제 효과를 나타내어 배풍 등 분획물의 시료의 여성암에 대한 항발암효과가 기대되어지고, 대장암세포인 HT-29 와 간암세포주인 HepG2에서도 높은 암세포 증식억제 효과를 나타내어 대장암과 간암에 대한 항발암 효과도 기대어진다. 앞으로 더욱 심도있는 연구를 통해 이들 분획층의 생리 활성물질들을 규명하고 구조동정과 그 기전들을 알아 보고자한다.

QR 유도활성 효과

본 연구에 도입된 QR 유도 활성 측정을 보다 신속하고 정확하게 하기 위해 본 실험에서는 QR 유도활성을 가진 인체 간암세포주인 HepG2를 사용하여 실험을 행하였으며, 그 결과는 Fig. 5에 나타내었다.

각 첨가물의 농도에 따라서 QR 활성이 증가하는 경향을 보였으며, MTT 방법으로 암세포 증식 억제 효과를 측정했을 때 그 효과가 가장 높았던 ethylether 분획층인 SLMEE층에서 가장 높은 QR유도활성이 나타났다. 다음으로는 SLMEA층에서도 다소 낮지만 QR유도활성이 나타났으며, 다른 분획층에서는 그 효과가 아주 미약하였다. Ethylether 분획층인 SLMEE의 경우 용매 대조군을 1.0로 하여 비교한 결과, HepG2 세포주에 배풍 등시료의 각 분획물을 40, 80, 120 및 160 µg/ml의 농도로 첨가했을 때 각각 1.16, 1.53, 1.87 및 2.1로 QR 유도활성효과가 농도 의존적으로 유의성 있게 증가하였으며, 특히 배풍 등의 여러 용매 분획물 중 SLMEE층에서 암예방 지표인 2.1배의 QR유도활성을 보였으므로 이 분획층

참고 문헌

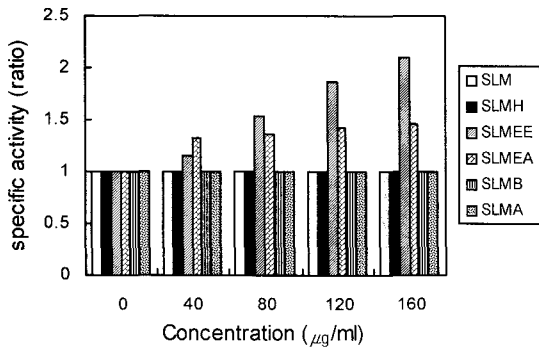


Fig. 5. Effects of the partition layer from methanol extract of *Solanum lyratum* (SL) on the induction of QR on HepG2 cells.

에서의 암예방 효소계 quinone reductase의 inducer가 존재함을 추정할 수 있었다. 더욱더 심도 있는 연구를 통해 생리활성 물질을 추적하여 그 구조를 동정함으로써 암 예방 효과를 지닌 기능성 생리활성물질에 대한 유의한 자료가 될 수 있을 것으로 사료되어진다.

요 약

민간에서 만성간염, 수종, 옹종, 습진, 류마치스성 관절통, 소변분리, 말라리아, 황달을 치료하는데 사용하며, 해열 진통제로 약용하고 있는 배풍등을 metanol (SLM)로 먼저 추출하고 이를 hexane (SLMH), ethylether (SLMEE), ethylacetate (SLMEA), butanol (SLMB) 및 수증 (SLMA) 등 다섯가지의 각 용매별로 분획하여 배풍등의 항균 및 항발암 효과를 연구하였다.

먼저 paper disc method를 이용하여 배풍등의 항균효과를 알아 보았다. *P. mirabilis*, *S. aureus*, *S. marcescens* 및 *B. subtilis*의 4가지 사용균주에 배풍등의 각 분획물을 처리한 결과, 모든 균주에서 SLMEA층에서 가장 높은 항균 활성 효과를 나타내었고, 그 다음으로는 SLMEE층에서 항균 활성 효과를 나타내었다.

배풍등의 암세포 증식억제 효과(cytotoxicity)를 MTT assay로 실험한 결과, 4종의 암세포주 HeLa, MCF-7, HT-29 및 HepG2 모두 배풍등의 ethylether 분획층인 SLMEE층에서 가장 높은 암세포 증식억제 효과를 보였으며, 암예방 QR 유도 활성을 HepG2 세포주를 이용하여 실험한 결과에서도, 다른 분획층에 비해 비극성 용매층인 SLMEE층에서 유의적으로 QR유도 활성을 증가시키는 것으로 나타났다. 이상의 실험 결과를 미루어 볼 때, 극성과 비극성을 둘 다 가지는 SLMEE층에서의 항균활성 물질과 비극성 용매층인 SLMEE층에서의 암 예방 물질의 단계적인 분리 동정을 통한 생리활성 물질의 개발이 기대되어진다.

- Bae, S. J., 2002. The effects of anticarcinogenic activity of *Solanum tuberosum* peel fractions. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* **31**, 905-909.
- Bae, S. J., 2002. The effects on antimicrobial and anticarcinogenic activity of momordica charantia L. *J. Korean Nutr.* **35**, 880-885.
- Bissett, D. L., J. R. Chatter and D. P. Hannon. 1991. Chronic ultraviolet radiation-induced increases in skin iron and the photopotentive effect of topically applied iron chelators. *Photochem. Photobiol.* **54**, 215-223.
- Choi, J. S., S. H. Park and I. S. Kim. 1989. Studies on the active principles of wild vegetables on biotransformation of drug. *Kor. J. Pharmacogn.* **20**, 117-122.
- Konorr, D. 1987. Food biotechnology it's organization and potential. *Food Technol.* **41**, 95-100.
- Gerhäuser, C., K. Klimo, E. Heiss, I. Neumann, A. Gamal-Eldeen, J. Knauft, G. Y. Liu, S. Sitthimonchai and N. Frank. 2003. Mechanism-based *in vitro* screening of potential cancer chemopreventive agents. *Mutat. Res.* **523**, 163-172.
- John, T. P., S. S. Sharad, S. S. Mohammad, T. T. Robert and C. Yogesh. 1998. Mechanisms of anticarcinogenic properties on curcumin ; the effect of curcumin on glutathione linked detoxification enzymes in rat liver. *The International J. Biochem. and Cell Biology* **30**, 445-456.
- Kang, S. Y., S. H. Sung, J. H. Park, J. H. Cho and Y. C. Kim. 2000. A phenolic glucoside and steroidal sapogenins of *Solanum lyratum*. *Yakhak Hoej.* **44**, 534-538.
- Kim, H. M., E. J. Lee and E. J. Lee. 1998. *Solanum lyratum* inhibits anaphylactic reaction and suppresses the expression of L-histidine decarboxylase mRNA. *Immunopharmacol. Immunotoxicol.* **20**, 135-146.
- Kim, Y. D., S. K. Kang and O. J. Choi. 2001. Antimicrobial activity of coriander (*coriandrum sativum* L.) extract. *J. Korean Soc. Food Sci. Nitr* **30**, 692-696.
- Kwack, S. N., 1991. Studies on salt tolerance of vegetables, bulletin of institute of littoral biota. *Mokpo National University* **8**, 51-64.
- Lee, S. M., S. H. Rhee and K. Y. Park. 1997. Antimutagenic effect of various cruciferous vegetables in *Salmonella* assay-system. *J. Fd Hyg. Safety* **12**, 321-327.
- Lee, Y. Y., F. L. Hsu and T. Nohara. 1997. Two new soladulcidine glycosides from *Solanum lyratum*. *Chem. Pharm. Bull.* **45**, 1381-1382.
- Murakami, K., H. Ezima, Y. Takahashi, Y. Takeda, T. Fujita, A. Sato, Y. Nagayama and T. Nohara. 1985. Studies on the constituents of *Solanum lyratum* plants V. The constituents of *S. lyratum* Thumb. II. *Chem. Pharm. Bull.* **33**, 67-73.
- Ong, T. M., W. Z. Whong, S. Stewart and H. E. Brockman. 1986. Chlorophyllin; a potent antimutagen against environmental and dietary complex mixture. *Mutat. Res.* **173**, 111-115.

16. Park, B. J., H. S. Suh, G. S. Chung and J. K. Sohn. 1987. Studies on protoplast culture and fusion in cruciferae. *Korean J. Breed* **19**, 230-234.
17. Park, H. J., 1998. Induction of quinone reductase and its regulatory mechanism at the transcriptional level by *Scutellaria baicalensis*, Ph. D. Dissertation, *Yonsei University*.
18. 박종희, 이정규. 2000. 상용약용식물도감, 164-165. 신일상사, 서울.
19. Prochaska, H. J. and A. B. Santamaria. 1988. Direct measurement of NAD(P)H : Quinone reductase from cells cultured in microtiter wells : A screening assay for anticarcinogenic enzyme inducers. *Anal. Biochem.* **169**, 328-336.
20. Shim, S. M., M. H. Kim and S. J. Bae. Cytotoxicity and quinone reductase induced effects of *Daucus carota* L. leaf extracts on human cancer cells. 2001. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* **30**, 86-91.
21. Shim, S. M., S. W. Choi and S. J. Bae. 2000. Effects of quinone reductase induction and cytotoxicity of the angelica radix extracts. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* **29**, 147-152.
22. Shim, K. H., H. S. Young, T. W. Lee and J. S. Choi. 1996. Studies on chemical components and antioxidative effect of *Solanum lyratum* Thumb. *Kor. J. Pharmacogn.* **26**, 130-138.
23. Shin, M. O., J. H. Park and J. O. Moon. 2003. Effect of *Solanum lyratum* extract on dimethylnitrosamine-induced liver damage in rats. *Kor. J. Pharmacogn.* **34**, 60-64.
24. Shon, Y. H. and K. Nam. Antimutagenicity and induction of anticarcinogenic phase II enzymes by basidiomycetes. 2001. *Journal of Ethnopharmacology* **77**, 103-109.
25. Steinkellner, H., S. Rabot, C. Freywald, E. Nobis, G. Scharf, M. Chabicovsky, S. Knasmüller and F. Kassie. 2001. Effects of crucifrous vegetable and their constituents on drug metabolizing enzymes involved in the bioactivation of DNA-reactive dietary carcinogens. *Mutat. Res.* **480**, 285-297.
26. Talalay, P and A. M. Benson. 1982. Elvation of quinone reductase activity by anticarcinogenic antioxidants. *Advances in Enzyme Regulation* **20**, 287-300.
27. Wefers, H., T, Komai, P. Talalay and H. Sies. 1984. Protection against reactive oxygen species by NAD(P)H : quinone reductase induced by the dietary antioxidant butylated hydroxyanisole (BHA). *Federation of European Biochemical Societies* **169**, 63-66.
28. Yang, J. H., C. U. Choi, D. K. Kim, K. R. Lee and O. P. Zee. 1996. Effect of *Solanum lyratum* extract on the hepatotoxicity of acbon tetrachloride in rats. *Kor. J. Pharmacogn.* **27**, 167-172.
29. Ye, W. C., H. Wang, S. X. Zhao and C. T. Che. 2001. Steroidal glycolalkaloid from *Solanum lyratum*. *Biochem. System. Ecology.* **29**, 421-423.