J. Appl. Biol. Chem. 52(2), 45-50 (2009)

Article

개비자나무(*Cephalotaxus koreana*) 추출물의 항균활성 및 세포독성

조철희[1] · 유귀재[1] · 김소영[1] · 이건순[2] · 김진현[3] · 현정오[4] · 채희정[1]*

[1]호서대학교 식품생물공학과, 식품기능안전연구센터 및 기초과학연구소, [2]한국농업대학 교양공통학부,
[3]공주대학교 화학공학과, [4]서울대학교 산림과학부

Antimicrobial Activity and Cell Cytotoxicity of Korean Plum-yem Extract

Chul Hee Cho[1], Guijae Yoo[1], Soyoung Kim[1], Gun-Soon Lee[2], Jin-Hyun Kim[3], Jung-Oh Hyun[4], and Hee Jeong Chae[1]*

[1]*Department of Food and Biotechnology, Center for Food Function and Safety and Basic Science Institute, Hoseo University, Asan 336-795, Korea*
[2]*Departmant of Living Sciences, Korea National Agricultural College, Hwasung 445-760, Korea*
[3]*Department of Chemical Engineering, Kongju National University, Kongju 314-401, Korea*
[4]*Department of Forest Sciences, Seoul National University, Seoul 151-742, Korea*

Received March 4, 2009; Accepted June 5, 2009

Antimicrobial activity and cell cytotoxicity of Korean Plum-yem (*Cephalotaxus koreana*) extract were evaluated for the development of a functional biomaterial. And the chemical compositions of Korean Plum-yem extract (KPE) were analyzed. KPE showed high antimicrobial activities against various microorganisms including gram-positive bacteria, gram-negative bacteria, yeasts and molds. KPE showed cytotoxic activity dose-dependently against blood cancer cell line K562. Additionally, the KPE showed no significant adverse effect in hemolysis and no mutagenicity. It was suggested that KPE could be used as a functional biomaterial for functional food and cosmetics

Key words: *antimicrobial activity, cell cytotoxicity,* Cephalotaxus koreana, *Korean Plum-yem, toxicity evaluation*

서 론

세계적으로 사망원인의 1, 2위를 차지하고 있는 암에 대한 약물 치료는 대부분 합성 화학약품에 의존하고 있다. 이들 합성항암제 중 상당수는 조혈 및 면역기능에 이상을 초래하고 암세포 이외의 정상세포에도 독성을 나타내고 있어 특이적이며 선택적인 항암제의 개발이 요구되고 있는 실정이다[Lee 등, 2000; Doll, 1992]. 최근에는 면역기능을 높여 주고 암세포에만 선택적으로 작용하는 천연 항암제를 생약재로부터 개발하려는 많은 연구가 수행되고 있다[Park 등, 2007; Jo 와 Min, 2007].

최근 천연물인 수목 추출성분의 생리활성 및 항균효과에 관한 연구가 많이 이루어지고 있다[Yoo 등, 2001]. 수목 유래의 추출성분은 항곰팡이, 항균, 살충 등의 각종 약리작용이 있으며, 매우 광범위하게 응용될 수 있다[Chon 등, 2003]. 수목의 항균효과에 대한 보고로는 산벚나무로부터 항균활성을 가지는 유효물질의 분리[Kim 등, 1999], 느티나무의 심재 추출물 및 떡갈나무의 목질부, 수피, 잎 부위에서 추출되는 유효 성분의 항균활성이 보고된 바 있다[Min, 1998].

국내에는 1100여종의 유용 자생식물자원이 있는 것으로 알려져 있고[Park 등, 2005], 그 중 약 70%는 초본식물이고, 나머지 30% 정도가 목본식물이다[Park 등, 2001]. 최근 국내산 식물체로부터 세포독성효과를 검정한 연구에 의하면 짚신나물, 삼백초, 층꽃나무 등이 강한 세포독성을 갖는다고 보고된 바 있다[Seo 등, 2008; Kim, 2008]. 이와 같이 현재까지 여러 종류의 식물들이 유용한 항암활성 물질들을 함유하고 있는 것으로 보고되고 있다. 따라서 여러 식물을 이용하여 이들 유용물질들의 기능에 대해 보다 더 심도있는 연구를 하고 이를 기반으로 한 새로운 생물제제의 개발이 필요하다.

개비자나무(*Cephalotaxus koreana*)는 개비자나무과(*Cephalotaxacase*)에 속하는 상록 침엽 관목으로 예로부터 열매는 구충제로, 잎은 곤충자상에 외용하여 왔다[Powell 등, 1972; Doll과 Peto, 1981; Park 등, 1993; Wattenberg, 1997; Yim 등, 2004]. *Cephalotaxus*속 식물에 대한 연구는 주로 중국과 일본을 중심으로 여러 연구가 이루어졌는데 *Cephalotaxus* 각 종으로부터 알칼로이드를 분리, 동정하고 이들의 항암활성에 대한 연구가 대부분 이었다[Ohnamam과 Holland, 1985]. 현재까지 약 40종

*Corresponding author
Phone: +82-41-540-5642; Fax: +82-41-532-5640
E-mail: hjchae@hoseo.edu
doi:10.3839/jabc.2009.009

이상의 알칼로이드가 개비자나무 여러 종으로부터 분리되었고 [Visani 등, 1997; Miah 등, 1998], 항암 활성을 갖는 개비자나무 알칼로이드는 모두 *cephalotaxine* 유도체로 harringtonine, homoharringtonine, isoharringtonine과 deoxyharringtonine 등이 있다[Zhou 등, 1995]. 개비자나무에서 추출되는 항암물질은 기존의 항암제에 비하여 물에 대한 용해도가 높으며, 그 효능 또한 높아 상품화 가능성이 매우 높은 차세대 항암제로 주목받고 있다[Jingyi 등, 2000].

개비자 나무의 항암 유효성분의 하나인 homoharringtonine (HHT)의 혈액암 세포주 K562에 대한 세포독성은 전보[Yoo 등, 2008]에서 보고한 바 있다. 이것은 의약품으로서 활용이 기대되는 결과로서 식품이나 기능성식품에서는 의약품과 다르게 생리활성 물질을 분리하지 않고 추출물인 상태에서도 기능성 소재로서의 활용성이 기대된다. 따라서 본 연구에서는 개비자나무의 잎과 줄기를 70% 에탄올을 이용하여 추출한 개비자나무 추출물(Korean Plum-yem extract, KPE)의 항균활성 및 세포독성을 탐색하고 개비자나무의 이용가치를 규명함으로써 기초적인 연구정보를 확보하고, 기능성 소재로서의 이용 가능성을 검토하였다.

재료 및 방법

개비자나무 추출물 조제. 본 연구에 사용한 개비자나무(*Cephalotaxus koreana*)는 2006년 2월 광양 백운산에서 채집하였다. 개비자나무의 뿌리를 제외한 경엽부분을 양건하고 분쇄하여 분말로 만들었다. 분말상태의 개비자나무 1 kg을 70% 주정(에탄올) 8 kg과 혼합하여 미리 예열된 80°C의 수욕조(Jeio Tech, Korea)에서 4.5시간 동안 추출하였다. 개비자나무 추출물을 50 mL 튜브에 25 mL씩 넣고 speed vaccum evaporator (Ecospin 3180C, Hanil Co. Ltd, Korea)를 이용하여 동결 건조한 개비자나무 추출물(Korean Plum-yem extract, KPE)을 조제하였다.

일반성분 분석. 일반성분 시험법은 시료 중에 일반적으로 함유되어 있는 성분에 관한 시험법으로서 KPE의 규격, 순도 및 영양가를 평가하기 위하여 수분, 회분, 탄수화물, 단백질, 지방, 섬유질을 조사하였다. 분석은 식품공전의 시험방법[AOAC, 2005]에 의하여 수분 함량은 상압가열건조법, 조단백 함량은 micro-Kjeldahl법으로 측정하였으며, 질소계수 6.25를 사용하여 환산하였다. 조지방 함량은 Soxhlet 추출법을 사용하였고, 회분은 직접회화법으로 측정하였다. 탄수화물 함량은 Bertrand법을 사용하였고, 조섬유 함량은 100에서 수분, 조단백, 조지방, 회분, 탄수화물 함량을 뺀 값을 사용하였다. 각 실험은 3회 반복하여 얻은 평균값을 사용하였다.

HHT 함량 분석. 개비자나무의 유효성분인 homoharringtonine (HHT)의 분석은 Wickremesinhe와 Arteca의 방법[1996]을 변형하여 분석하였다. C18 column(4.6×250 mm, 5 μm)에서 이동상으로는 methanol과 0.1 M ammonium formate 용액을 사용하였다. 용매의 gradient 조건은 1.0 mL/min 유속으로 methanol: ammonium formate가 20:80에서 시작하여 30 min 후 40:60이 되도록 하였다. 각 화합물의 검출은 290 nm 파장에서 측정하였으며, HHT의 정량은 Sigma사에서 구입한 표준 물질의 피크 면적으로 표준 정량선을 작성한 후 계산하였다[Kim 등, 2000].

Table 1. Ame's test for KPE using *S. typhimurium* TA98 and TA100

Dose of KPE (mg/mL)	Number of revertant colonies per plate	
	TA98 (frame shift type)	TA100 (base replacement type)
6.25	74	74
25	97	68
50	88	72
100	83	65
HHT (1 mg/mL)	73	69
Negative	66	62

항균활성 분석. 실험에 사용한 균주로는 효모(*Saccharomyces cerevisaes* KCTC 7243), 사상균(*Aspergillus oryzae* KCCM 12530), 그램음성균 3종(*Salmolella typhimurim* ACTC 12023, *Pseudomonas aeruginosa*, ACTC 9027, *Escherichia coli* ACTC 9633), 그램양성균 3종(*Staphylococcus aureus* ACTC 65389, *Bacillus subtillis* ACTC 51189, *Streptococcus mutans* ACTC 25175)을 균주분양기관으로부터 입수하여 사용하였다(Table 1). 동결건조된 KPE를 dimethyl sulfoxide(DMSO, 99.5%, Sigma, MO, USA) 2.5 mL로 용해하여 추출물(KPE)의 최종 고형분 농도를 0.1 g/mL로 조제하였다. 용해된 추출물을 0.22 μm membrane filter(Whatman, England)로 이물질과 균을 제거하고 DMSO를 이용하여 12.5, 25, 50 mg/mL의 농도로 희석하였다. 양성대조군으로 homoharringtonine(HHT, Sigma, MO, USA, 1 mg/mL)을 이용하여 비교실험을 하였다. TSB(triptic soy broth) 배지(10 mL)를 담은 시험관에 동결보관된 시험균주의 seed(0.5 mL)를 접종하여 Table 1에 표시된 최적온도와 120 rpm에서 18시간동안 진탕 배양하였다. 전배양한 배양액을 흡광도가 0.5가 되도록 멸균증류수로 희석한 후, microdilution assay를 이용하여 분석하였다. 96 well plate에 180 μL의 TSB, KPE(0.1 g/mL), 균 희석액(10 μL)의 순으로 첨가한 뒤 최적온도에서 12시간 동안 배양한 후에 660 nm에서 흡광도 값을 측정하여 다음의 식에 의해 계산하였다[Song 등, 1998; Oh 등, 1998].

$$\text{저해율}(\%)=\left[1-\frac{\text{시료처리군의 흡광도}}{\text{대조군의 흡광도}}\right]\times 100$$

세포독성 분석. 시험한 혈액암 세포주(K562, blood leukemia, chronic myelogenous)는 한국세포주은행(Korean Cell Line Bank, KCLB)에서 분양받아 사용하였으며, 세포주 배양 배지로는 RPMI-1640 배지(Hylone Laboratories Inc., UT, USA)에 10% fetal bovaine serum(FBS, Hylone Laboratories Inc., UT, USA)와 1% penicillin-streptomycin(10,000 units/mL pencillin G sodium, 10,000 μg/mL streptomycin, Hylone Laboratories Inc., UT, USA)를 혼합하여 사용하였다. KPE를 phosphate buffered saline(PBS, GIBCO, UT, USA) 2.5 mL로 용해하여 0.22 μm membrane filter(Whatman, England)로 이물질과 균을 제거하고 고형분 함량을 측정하여 80 mg/mL임을 확인하였다. 여과된 KPE를 10, 20, 40, 60, 80 μg/mL의 농도가 되도록

PBS로 희석하여 사용하였고, 양성대조군으로는 HHT를 각각 5, 10 μg/mL의 농도로 PBS에 용해하여 비교 실험을 하였다. 전배양된 K562 세포주(blood leukemia, chronic myelogenous, 6.8×10^6 cells/mL)를 180 μL의 배지에 부유시켜 96 well plate에 분주한 후 시료를 20 μL씩 각 well에 첨가하고, 암세포와 시험물질이 접종된 plate를 CO_2 incubater에 넣고 37°C의 온도와 5% CO_2에서 44시간 동안 배양하였다. 50 μL의 MTT(3-(4,5-dimethylthiazol-2yl)-2,5-diphenyl-2H-tetrazolium bromide) 용액을 모든 well에 가하였고, 37°C에서 4시간 동안 더 배양하였다. 배양이 끝난 후 96 well plate를 1,500 rpm에서 5 min 동안 원심분리를 하여 상등액을 제거하였다. 각 well에 DMSO 200 μL를 가한 후 formazan blue 결정이 녹을 때까지 10분간 가볍게 진탕한 후 microplate reader(VERSA max, Molecular Devices Co., CA, USA)를 이용하여 570 nm에서 흡광도를 측정하였다[Ryu 등, 1982; Fricker와 Buckley, 1996; Skeel과 Ganz, 1999].

Hemolysis 분석. 실험에 사용한 시료는 5, 10, 20, 40, 80 mg/mL의 농도가 되도록 PBS로 희석하여 사용하였고, 양성 대조군으로는 HHT를 3 mg/mL의 농도가 되도록 PBS에 용해하여 비교 실험을 하였다. 정상 성인의 혈액을 원심분리하여 혈청을 제거한 후 차가운 PBS로 세 번 세척하여 준비한 5% 적혈구 용액 100 μL를 PBS 100 μL와 혼합한 후 시험물질 20 μL를 가하였다. 37°C에서 30 min 동안 진탕 배양시킨 후에 600 μL의 PBS를 각 시험관에 넣고 3분간 원심분리한 후 상등액의 흡광도를 540 nm에서 측정하였다[Bernheimer와 Rudy, 1986; Rainey 등, 1991].

변이원성 분석. 변이원성 시험에 사용한 *Salmonella typhimurium* LT2 유래의 TA98, TA100 균주는 한국생명공학연구원에서 분양받아 계대 유지한 것을 사용하였다. Ame's의 원법을 변형하여 유전독성의 검색과 감도가 높은 preincubation법을 수행하였다[Quiladet 등, 1982; Pang 등, 1990]. 24시간 동안 배양된 균주 TA98(3.3×10^9 cells/mL)과 TA100(3.8×10^9 cells/mL)의 배양액을 각각 0.1 mL씩 취하여 KPE(6.25, 25, 50, 100 mg/mL) 0.05 mL과 인산완충액(phosphate buffer, pH 7.4) 0.5 mL를 cap tube에 넣어 혼합한 후 37°C에서 30분간 preincubation하였다. Preincubation 후 45°C에서 용해한 histidine/biotine이 첨가된 top agar 2 mL을 변이원성 검색용 배지(minimal glucose agar) 위에 중층으로 배양하여 콜로니수를 계측하였다. 각 시험구당 3개의 plate를 이용하여, 콜로니 수의 평균치를 수집하였고, 시험물질을 처리한 모든 군에 있어 복귀변이체수가 음성대조군의 2배 이상이면 복귀돌연변이 유발능을 양성으로 판정하였다.

결과 및 고찰

일반성분 분석. 개비자나무 추출물(Korean Plum-yem extract, KPE)를 식품소재로서 이용가능성을 확인하기 위해 KPE의 기초적인 일반성분을 조사하였다. 일반성분 시험법은 시료 중에 일반적으로 함유되어 있는 성분에 관한 시험법으로서 시료의 규격과 순도 및 영양가를 평가하기 위한 방법이다. 분석결과, KPE는 건물(dry matter) 기준으로 회분 13.7%, 탄수화물 71.9%, 조지방 8.9%, 조섬유 4.1%, 조단백 1.4%를 함유하고 있는 것으로 나타났다. 건조전의 추출액의 수분함량이 98.5%이었다.

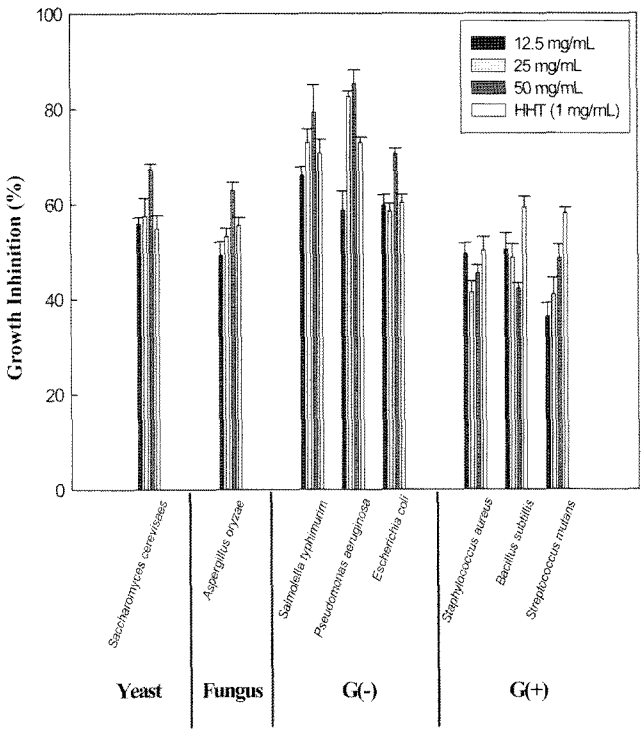

Fig. 1. Antimicrobial activity of KPE and HHT.

항균활성 분석. 수목 유래의 추출성분이 항균, 항진균 등의 약리작용을 갖는 것으로 보고된 바 있어 본 연구에서도 KPE의 항균활성에 대하여 검토하였다. KPE의 농도에 따른 항균활성은 Fig. 1에서 보는 바와 같이 시험한 모든 균에 대하여 시험한 농도범위(12.5, 25, 50 mg/mL)에서 성장 저해현상을 나타내었다. 8종의 시험균주 중 그램 음성균인 *Pseudomonas aeruginosae*가 KPE에 가장 민감하게 생육 저해현상을 보였고, 마찬가지로 그램 음성균이며 식중독 유발균인 *Salmonella thyphimurim, Escherichia coli* 순이었다. 그램 양성균이 그램 음성균에 비해 생육저해효과가 작은 것으로 나타났다. *Streptococcus epidermidis, Escherichia coli, Staphylococcus aureus, Streptococcus mutans*를 이용한 동백나무 추출물의 항균효과에 관한 보고에서는 그램 양성인 *Streptococcus epidermidis*가 동백나무 추출물에 가장 민감하게 생육 저해현상을 보였고, *Streptococcus mutans, Escherichia coli, Staphylococcus aureus*순이었다[Hahn, 2005]. 개비자나무 추출물을 이용한 본 연구의 실험결과는 동백나무 추출물이 주로 그램 양성균에 대하여 항균활성을 갖는 것과 대비되는 결과로서, KPE가 그램 음성균이며 식중독 유발균에 대한 항균제로 활용 가능함을 시사하였다.

세포독성 분석. 본 연구팀은 전보[Yoo 등, 2008]에서 개비자나무의 유효성분으로 알려진 homoharringtonine(HHT)의 혈액암 세포주 K562에 대한 세포증식 저해 활성을 보고한 바 있다. 즉, 총 약물처리 시간에 따른 최적 투여조건 결정 실험에서 HHT를 각각 9일, 6일, 3일 동안 매일 처리할 경우 0.27, 0.37, 1.10 mM의 농도에서 K562세포의 성장을 50% 정도 감소시킴

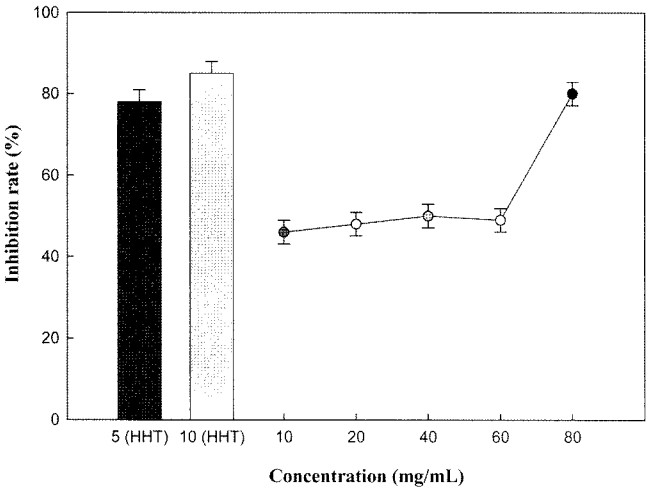

Fig. 2. Cytotoxicity of KPE and HHT on K562 cell lines.

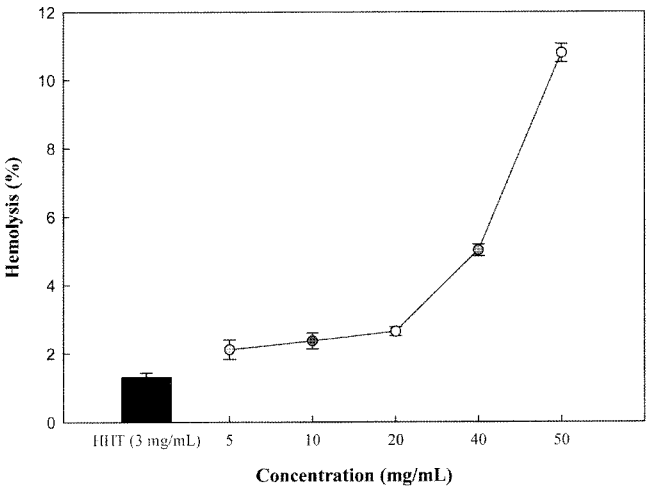

Fig. 3. Hemolysis rate of KPE and HHT.

을 확인하였고, 기존 백혈병 치료제로 사용되고 있는 adriamycin과의 비교실험 결과에서는 HHT가 K562 세포주에 대하여 adriamycin과 유사한 항암효과가 있는 것을 확인하였다. 이는 HHT의 항암제로서의 응용 가능성을 시사하는 결과였다. 따라서 본 실험에서는 고순도의 HHT 대신 HHT를 함유하고 있는 crude 상태의 추출물인 KPE의 세포증식 저해활성을 검토하였다. 본 연구에서 조제한 KPE는 HPLC로 분석한 결과 HHT의 체류시간이 22.85분이었고 KPE는 54.6±9.0 mg/g의 HHT를 함유하고 있는 것으로 나타났다. Fig. 2에서 보는 바와 같이 혈액암 세포주(K562)를 이용하여 KPE의 세포독성을 분석한 결과 고형분 기준 80 μg/mL의 농도에서 현저한 암세포 저해활성을 보였고, IC_{50}값이 40 μg/mL로 산출되어 K562 세포주가 KPE에 의해 민감하게 반응함을 확인하였다. 대조군으로 사용한 HHT 역시 5, 10 μg/mL의 농도에서 각각 78, 85%의 높은 암세포 저해활성을 보였다. 이는 분리정제되지 않은 KPE가 항암 소재로서의 가능성을 보여주는 결과이다.

Hemolysis 분석. 생체막의 불안정성은 주로 막지질 구성 불포화지방산의 반응성 산소종에 의한 지질 과산화가 가장 큰 원인으로 알려졌다. 적혈구 막지질의 붕괴는 용혈을 수반하기 때문에 간편한 용혈율의 측정은 막지질 붕괴정도를 판단할 수 있는 수단으로서 흔히 이용된다. 본 실험에서는 KPE를 섭취하였을 때 유발되는 용혈율을 측정하여 KPE의 적혈구 막지질 붕괴의 유무를 조사하였다. 이를 통하여 *in vitro* 독성분석의 기초 자료로 사용하고자 하였다. KPE의 hemolysis 분석 결과(Fig. 3), 양성대조군인 HHT(3 mg/mL)의 경우 1.32%로 낮은 hemolysis 현상을 보였으며, KPE는 50 mg/mL의 농도에서 10.8%의 비교적 높은 hemolysis 현상을 보였다. 따라서 KPE 중 hemolysis를 일으키는 물질은 HHT 외에 다른 물질이 있는 것으로 판단된다.

이상의 결과는 *in vitro* 독성분석의 기초 결과로서 KPE의 생물소재로서의 응용 가능성을 시사하는 것으로 추후 *in vivo* 독성시험 등 면밀한 독성 분석이 필요한 것으로 판단된다.

변이원성 분석. 일상생활에서 인간은 수많은 물리, 화학적 발암원에 노출되어 살아가고 있으며 역학적으로 관찰해보면 모든 암의 약 90%가 환경적 요인에 의하여 발생하였다. 천연물 중에도 여러 종류의 돌연변이원성 물질과 발암성 물질이 자연적으로 존재하고 있어 그 중 소량은 일상의 보통 식이를 통하여 섭취되므로 천연물에 대한 돌연변이원성과 발암성에 관련한 다양한 연구가 이루어져 왔다[Kwoen 등, 2006]. Ame's test는 가장 흔히 사용하는 단기간의 돌연변이성 시험이다. 정상적인 박테리아는 외인성 히스티딘을 필요로 하지 않는데 외인성 히스티딘(exogenous histidine)을 필요로 하는 *Salmonella typhimurium*의 돌연변이 종을 만들어 히스티딘이 없는 배지에 시험할 화학물질과 함께 배양하여 돌연변이종이 정상종으로 변화되는 능력을 검사하였다. 정상종으로 돌아가려는 능력이 클수록 그 화학물질은 유전물질을 변화시킬 가능성이 큰 것이므로 그만큼 발암성이 크다고 할 수 있다.

시험물질을 처리한 모든 군에 있어 복귀변이체수가 음성대조군의 2배 이상이고 농도에 의존적으로 증가되면, 시험물질은 돌연변이원성에 대하여 양성으로 판정된다.

본 연구에서 시행한 KPE(6.25, 25, 50, 100 mg/mL)에 대한 Ame's test는 각 시험구 당 2개의 plate를 이용하여, 집락수의 평균치를 얻었다. 그 결과, Table 3에서 보는 바와 같이 base substitution형인 TA100의 집락수는 음성대조군과 비교하여 농도 의존성을 나타내지 않으므로 음성으로 판정되었으며, frame shift형인 TA98에서도 역시 집락수에 있어서 음성대조군과 비교하여 농도 의존성을 나타내지 않았으며 또한 음성대조군에 비교하여 복귀돌연변이 집락수가 2배 이상으로 증가되지 않았으므로 음성으로 판정되었다. 따라서 KPE는 돌연변이원성을 갖지 않는 것으로 판단되었다.

이상의 결과를 통해 개비자나무 추출물이 식품소재로서 응용 가능성이 있음을 확인하였고 향후 추출공정 회수율을 높이기 위한 최적화 실험 및 수목 추출물 특유의 이미와 이취를 제거 또는 완화하기 위한 추가적인 연구를 통하여 기능성소재로 개발할 수 있을 것으로 판단된다.

초 록

본 연구에서는 개비자나무(*Cephalotaxus koreana*)를 기능성 생물소재로 개발하기 위해 개비자나무 추출물(Korean Plum-yem extract, KPE)의 항균활성, 암세포 증식 억제활성 및 독성을 확인하였고, 일반성분을 조사하였다. KPE의 농도에 따른 항균활성은 그램 양성균, 그램 음성균, 효모 및 사상균에 대하여 성장 저해현상을 나타내었으며, 특히 그램 음성균인 *Pseudomonas aeruginosae*가 KPE에 가장 민감하게 생육 저해현상을 보였고, 마찬가지로 그램 음성균인 *Salmonella thyphimurim, Escherichia coli* 순이었다. 그램 양성균이 그램 음성균에 비해 KPE에 의한 생육저해효과가 작은 것으로 나타났다. 혈액암 세포주를 이용한 KPE의 암세포 증식 억제활성을 분석한 결과 80 μg/mL의 농도에서 현저한 암세포 저해활성을 보였다. 또한, KPE를 섭취하였을 때 유발되는 용혈율을 측정하여 KPE의 적혈구 막지질 붕괴의 유무를 조사한 결과, KPE 중 hemolysis를 일으키는 물질은 KPE의 유효성분인 HHT 외에 다른 물질이 있는 것으로 판단되었으며, Ame's test에 의한 돌연변이원성을 갖지 않음을 확인하였다. 따라서 개비자나무 추출물은 항균과 암세포에 대한 세포독성 등 기능성을 갖는 천연물 소재로서 이를 응용한 기능성 식품 개발이 가능한 것으로 판단된다.

Key words: Cephalotaxus koreana, *개비자나무, 항균 활성, 세포독성, 독성평가*

감사의 글

본 연구는 농림부의 연구비 지원(2003-2006년)에 의하여 이루어진 내용의 일부로서 이에 감사드립니다.

참고문헌

AOAC (2005) Official Methods of Analysis of AOAC International, 18th ed, Association of Offical Analytical Chemists, Washington DC, 223.

Bernheimer AW, and Rudy B (1986) Interactions between membranes and cytolytic peptides. *Biochim Biophys Acta* **864**, 123-141.

Chon SY, Kim DI, and Choi YS (2003) Assessments on insecticidal and fungicidal activities by aerial part extracts from several compositae plantsrial part extracts from several compositae plants. *Kor J Weed Sci* **23**, 81-91.

Doll R (1992) The lessons of life. *Cancer Res* **52**, 2024S-2029S.

Doll R, and Peto R (1981) The cause of cancer: Quantitative estimates of avoidable risks of cancer in the United States today. *J Natl Cancer Inst* **66**, 1191-1192.

Fricker SP, and Buckley RG (1996) Comparison of two colorimetric assays as cytotoxicity endpoints for an *in vitro* screen for antitumor agents. *Anticancer Res* **16**, 3755-3756.

Hahn YS (2005) Antimicrobial effects of *Camellia Japonica* L. leaves extract on food-borne pathogenic microorganisms. *Kor J Food Sci Technol* **37**, 113-121.

Jingyi H, Cheung AP, Wang E, Struble E, Fang K, Nguten N, and Liu P (2000) Stability-indicating LC assay and impurity identification in homoharringtonine samples. *J Pharm Biomed Anal* **22**, 541-554.

Jo MJ, and Min KJ (2007) Anti-microbial activities against oral microbes and growth-inhibitory effect on oral tumor cell of extracts of *Perilla* and *Mugwort*. *Kor J Env Health* **33**, 115-122.

Kim JY, Bae EA, Han MJ, and Kim DH (1999) Inhibitiory activity of *Bacillus licheniformis* AJ on the growth of diarrheal pathogens. *J Appl Pharm* **7**, 385-389.

Kim SI, Choi HK, Song JY, Kim JH, Lee HS, and Hong SS (2000) Analysis of alkaloid contents in Korean plumyem (*Cephalotaxus koreana*): variation with location and season. *Korean J Biotechnol Bioeng* **15**, 434-437.

Kim SM (2008) Composition and cell cytotoxicity of essential oil from *Caryopteris incana* Miq. in Korea. *J Korean Soc Appl Biol Chem* **51**, 238-244.

Kwoen DJ, Youn SJ, Cho JG, Choi UK, and Kang SC (2006) Antioxidant activities and biological properties of *Phellinus linteus* extracts according to different extraction methods. *J Korean Soc Appl Biol Chem* **51**, 124-128.

Lee KG, Mitchell AE, and Shibamoto T (2000) Determination of antioxidant properties of aroma extracts from various beans. *J Agric Food Chem* **43**, 4817-4820.

Miah MA, Hudlicky JT, and Reed JW (1998) Cephalotaxus alkaloids. Academic Press, New York **51**, 199-265.

Min KH (1998) Antifungal activity of the extracts of *Zanthoxylum schinfolium sieb.* et zucc. against dermatophytes. *Mokchae Konghak* **26**, 78-85.

Oh DH, Ham SS, Park BK, Ahn C, and Yu JY (1998) Antimicrobial activity of natural medicinal herbs on the food spoilage or foodborne disease microorganisms. *Kor J Food Sci Technol* **30**, 957-953.

Ohnamam T, and Holland JF (1985) Homoharringtonine as a new antilcukemic agent. *J Clin Onco* **3**, 604-606.

Pang HA, Lee YW, Suh NJ, and Chang IM (1990) Toxicological study on Korean tea materials: Screening of potential mutagenic activities by using SOS chromotest. *Kor J Phamacol* **21**, 83-87.

Park HS, Min KJ, Cha CG, Song JW, and Song JC (2007) Antimicrobial activities against oral microbes and growth-inhibitory effect on oral tumor cell by extract of *Paeonia lactiflora*. *Kor J Env Health* **33**, 21-29.

Park JB, Hyun JW, Lim KH, Shin JE, Won YJ, Yi YD, Shin KH, Chang IM, and Woo WS (1993) Antineoplastic effect of extracts from traditional medicinal plants. *J Kor Pharmacogn* **24**, 223-230.

Park SM, Jung HJ, and Yeo SH (2005) Antigungal activity of extract from *Xanthium strumarium* L. against plant pathogenous fungi. *J Life Sci* **15**, 692-695.

Park YK, Lee HJ, Lee SS, Choi DH, Yeo WH, and Oh JS (2001) Studies on biological activity of wood extractives-Antifungal activity of isoflavonoids from *Sopbora japonica*. *Mokchae Konghak* **29**, 89-96.

Powell RG, Weisleder D, and Smith CR (1972) Antitumor alkaloids from *Cephalotaxus harringtonia*: structure and activity. *J Pham Sci* **61**, 1227-1230.

Quiladet P, Huisaman OD, and Hofunung M (1982) SOS chromotest, a direct assay of induction of an SOS function in *Eschrichia coli* K-12 to measure genotoxicity. *Proc Natl Acad Sci USA* **79**, 5971-5980.

Rainey PB, Brodey CL, and Johnstone K (1991) Biological properties and spectrum of activity of tolaasin, a lipodepsupeptide toxin produced by the mushroom pathogen *Pseudomonas tolaasii*. *Physiol Mol Plant Pathol* **39**, 57-70.

Ryu SH, Moon KH, and Pack MY (1982) Primary screening for growth inhibitors of L1210 cells from oriental herbs. *J Kor Appl Microbiol Bioeng* **1**, 53-58.

Seo HS, Chung BH, and Cho YG (2008) Antioxidant and Anticancer Effects of Agrimony (*Agrimonia pilosa L.*) and Chinese Lizardtail (*saururus chinensis Baill*). *Korean J Medicinal Crop Sci* **16**, 139-143.

Skeel RT, and Ganz PA (1999) Systematic assessment of the patient with cancer chemotherapy. *Anticancer Res* **19**, 34-35.

Song JH, Kwon HD, Lee WK, and Park IH (1998) Antimicrobial activity and composition of extract from *Smilax china* root. *J Kor Soc Food Sci Nutr* **27**, 574-584.

Visani G, Russo D, Ottaviani E, Tosi P, Damiani D, Michelutti A, Manfroi S, Baccarani M, and Tura S (1997) Effects of homoharringtonine alone and in combination with alpha interferon and cytosine arabinoside on '*in vitro*' growth and induction of apoptosis in chronic myeloid leukemia and normal hematopoetic progenitors. *Leukemia* **11**, 624-628.

Wattenberg LW (1997) An overview of chemoprevention: current state and future prospects. *Proc Soc Exp Biol Med* **216**, 133-141.

Wickremesinhe ERM, and Arteca RN (1996) HPLC separation of cephalotaxine, harringtonine and homoharringtonine from callus and root cultures of *Cephalotaxus harringtonia*. *J Liq Chrom Rel Technol* **19**, 889-897.

Yim HB, Lee G, and Chae HJ (2004) Cytotoxicity of ethanol extract of *Raphanuse sativus* on human lung cancer cell lines. *J Kor Soc Food Sci Nutr* **33**, 287-290.

Yoo GJ, Cho CH, Lee GS, Ryoo ZY, and Chae HJ (2008) *in vitro* anticancer activity and *in vivo* chronic toxicity of homoharringtonine. *J Korean Soc Appl Biol Chem* **51**, 124-128.

Yoo SY, Kim JC, Kim YS, and Kim HT (2001) Antifungal activities of coumarins isolated from *Angelica gigas* and *Angelica dahurica* against plant pathogenic fungi. *Kor J Pestic Sci* **5**, 26-35.

Zhou DC, Zittoun R, and Marie JP (1995) Homoharringtonine: an effective new natural product in cancer chemotherapy. *Bull Cancer* **82**, 987-995.