

수세미오이(Sponge-gourd; *Luffa cylindrica* L.) 추출물의 항산화, 항돌연변이 및 암세포 증식 억제 효과

오 세 인 · *이 미 숙*

서일대학 식품영양과, *한남대학교 식품영양학과

Antioxidative and Antimutagenic Effects and Hyperplasia Inhibitory Activity of Cancer Cells from *Luffa cylindrica* Extracts

Se-In Oh and *Mee-Sook Lee*

Dept. of Food and Nutrition, Seoil College, Seoul 131-702, Korea

*Dept. of Food and Nutrition, Hannam University, Daejeon 305-811, Korea

Abstract

Considering the dearth of information regarding the medicinal properties of *Luffa cylindrica*, we assessed the antioxidative, antimutagenic and hyperplasia inhibitory activity of cancer cells from *Luffa cylindrica* extracts by employing biological and biochemical assays. Ethanol extracts of *Luffa cylindrica* inhibited MDA-BSA (malondialdehyde-bovine serum albumin) conjugation reaction (66.38 ± 2.65), DPPH (1,1-diphenyl-2-picryl-hydrazyl) radical production (60.13 ± 0.42) and lipid peroxidation (56.04 ± 3.24). In this study, *Luffa cylindrica* is believed to exert possible antioxidative effects. The direct and indirect antimutagenic effects of the ethanol extracts of *Luffa cylindrica* were examined by the Ames test using *Salmonella typhimurium* TA98 and TA100. The inhibitory effects on indirect and direct mutagenicity shows a weak tendency, particularly in direct mutagenicity mediated by 2-nitrofluorene in *Salmonella typhimurium* TA98 (5.82 ± 5.74) and in indirect mutagenicity mediated by 2-anthramine in *Salmonella typhimurium* TA100 (5.76 ± 2.15). The ethanol extracts of *Luffa cylindrica* on cancer cell hyperplasia inhibitory activity via MTT (3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide) assay exerted cytotoxic effects on Hela cells (55.83 ± 3.83) and MCF-7 cells (33.03 ± 2.09), which were used in this study. Based on these results, it is believed that the ethanol extracts of *Luffa cylindrica* have antioxidative capacities as well as hyperplasia inhibitory activity of cancer cells. Furthermore, *Luffa cylindrica* is a candidate for the prevention and dietetic treatment of chronic diseases and for the development of functional food.

Key words: antioxidative effect, antimutagenic effect, hyperplasia inhibitory activity, *Luffa cylindrica*

서 론

수세미오이(*Luffa cylindrica* L.)는 박과식물(Cucurbitaceae)에 속하는 덩굴성의 1년생 초본식물로 원산지는 열대아시아로서, 중국이나 일본에서는 오래 전부터 재배 이용되어 왔고, 국내에서도 재배되어 왔다. 어린 과실은 식용으로 이용하며 수액은 화장품이나 건강보조용으로 널리 사용되어 왔다(Lee

TB 2003; Kwan 등 2012). 또한 수세미오이의 과실의 내부 그물 섬유는 약용으로 쓰이기도 하지만, 주방용 세척기구, 육류의 오일여과기, 목욕용 때밀이 등으로 사용되어 왔다. 한방에서는 잎을 악성종양, 악성피부병, 살균, 해열에, 줄기를 살충, 폐렴, 진해에 사용하고, 종자를 해열, 치질, 부종, 살균 등의 치료 목적으로 한방약재로 사용되고 있다(강소신의학원편 1997). 그러나 식품으로서의 관심을 받지 못하고 있다. 수세미오이

* Corresponding author: Mee-Sook Lee, Dept. of Food and Nutrition, Hannam University, Daejeon 305-811, Korea. Tel: +82-42-629-8794, Fax: 82-42-629-8789, E-mail: meesook@hannam.ac.kr

수액은 유기산, 지방산, hydrocarbon, 휘발성 정유성분, 무기 성분, 스테롤, 사포닌, 플라보노이드 등의 유효성분(Chang 등 1991; Park 등 1996)을 포함하고 있으며, 수세미오이는 백혈병세포의 하나인 L1210에 대해 세포독성을 나타냈으며(Bae 등 1991), 분화된 3T3-L1 지방세포에서 중성지방 합성감소와 중성지방 분해 증가로 인한 항비만 효과(Cha 등 2010)가 있다고 보고되었다.

최근 재배 및 수확이 용이한 식물자원을 대상으로 항산화와 항암에 우수한 물질을 찾아내고(Cha 등 2004; Hwang 등 2004; Kim 등 2001; Kim 등 2004; Lee & Nishikawa 2003; Lee 등 2009; Oh & Lee 2007; Shim 등 2002; Shon 등 2001; Yun 등 2009), 그 생리활성을 연구 검토하여 이들을 식품보존제, 건강보조식품, 건강기능성 식품에 이용하고, 더 나아가서 의약품 및 화장품 등에 응용하고 있다. 특히, 유해 활성산소나 유리 라디칼을 제거함으로써 질병을 치료하려는 시도가 활발해지고 있으며, 이와 관련하여 산화 방지 효능이 있는 다양한 소재들이 주목을 받고 있다(Eriksson & Na 1996; Pichumoni & Doraiswamy 1998; Ramaranthnan 등 1995). 암화 과정의 개시단계에서 발생하는 세포 돌연변이는 DNA의 산화적 손상에 의해 초래되며, 그 원인물질 중 하나가 산소를 소비하는 정상적인 세포 대사과정에서도 다량 생성되는 free radical이다. 친전자성을 띤 free radical들은 세포 내 DNA의 친핵성 부위와 결합함으로써 세포변이를 일으키게 된다(Comporti M 1993; Halliwell & Gutteridge 1993). 따라서 대사과정 중 free radical 생성은 세포의 암화에 긴밀하게 연관되어 관여하는 것으로 보인다(Meneghini 등 1993). 또한 암 발병률은 식이요인에 의해 다르게 나타난다는 것이 여러 연구에서 보고되어 식이요인의 중요성이 지적되고 있으며, 식이와 관련된 암의 원인물질을 검색하는 연구가 활발히 진행되고 있으며, 천연물 대체요법 등 새로운 암 예방 물질의 개발로 예방과 치료의 방향이 전환되고 있다.

따라서 본 연구에서는 여러 약효가 있다고 알려진 수세미오이의 malondialdehyde(MDA)와 bovine serum albumin(BSA)의 conjugation 억제 효과, 1,1-diphenyl-2-picryl-hydrazyl(DPPH) 라디칼 소거효과, 지질과산화 저해효과를 측정하여 항산화 효과를 비교하였고, Ames test를 이용하여 *Salmonella typhimurium* TA98, *Salmonella typhimurium* TA100 균주에서 직접 및 간접 돌연변이 유발 억제능을 탐색하였으며, 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide(MTT) assay를 이용하여 인체 자궁경부암 세포인 HeLa cell, 인체 유방암 세포인 MCF-7 cell에 대한 암세포 증식 억제 효과를 측정하여 수세미오이에 대한 식품영양학적 평가 및 기능성 물질 발굴을 통하여 식품의 이용가치 및 가공식품 개발 가능성을 알아보고자 하였다.

재료 및 방법

1. 실험재료

본 실험에서 사용된 시료는 대전 지역에서 수세미오이를 구입(대전 중앙시장)하고 수세하여 동결건조기(Vacuum freezer dryer, Biotron, Seoul, Korea)에서 동결건조하여 곱게 분쇄한 후 밀봉·냉동 보관(-20°C)하면서 시료로 사용하였다.

2. 에탄올 추출물의 제조

건조시료 일정량(5 g)에 20배의 95% 에탄올(Ducksan, Seoul, Korea)을 가하여 실온에서 stirring하면서 24시간 동안 2회 반복 추출하여 Whatman 여과지 No. 6로 여과한 후, 여과액을 회전 진공증발기(EYELA, Tokyo, Japan)로 감압 농축한 후 냉동보관하였다. 최소량의 0.1M PBS(sodium phosphate buffer, pH 7.4)에 녹여 malondialdehyde(MDA)와 bovine serum albumin(BSA, Sigma, Mo, USA) conjugation 반응을 위한 시료로 사용하였고, dimethyl sulfoxide(DMSO)에 녹여 시료로 지질과산화 억제활성, DPPH 라디칼 소거활성, Ames test를 위한 시료로 사용하였고, 70% 에탄올에 녹여 MTT assay 시료로 사용하였다.

3. 항산화 효과

1) 지질과산화물과 단백질의 결합 억제 효과 측정

Park YH(2000)의 방법에 따라 BSA과 MDA와의 상호결합을 시료들이 억제하는 효과를 비교하였다. BSA(2 mg/ml) 100 μ l, MDA(20 mM) 100 μ l에 0.1M PBS와 수세미오이 추출물을 여러 농도로 혼합한 후 37°C에서 24시간 반응시켰다. 이때 BSA 단백질정량은 Bradford법을 사용하였고(Bradford MM 1976), MDA는 Gomez-Sanchez 등(1990)의 방법에 따라 제조하여 사용하였다. 반응시킨 시료 500 μ l를 Centricron (Centricron YM-10, Amicon, MA, USA)에 넣고 1,400×g에서 2시간 동안 원심분리(Model J2-21 Centrifuge, Beckman, OR, USA)하여 MDA와 BSA의 결합물을 분리한 후, 여분의 염을 제거하기 위하여 증류수 700 μ l를 넣고, 1,400×g에서 2시간 동안 원심분리하였다. 세척은 동일한 방법으로 3회 실시하였다. 세척한 시료를 분리하여 12% SDS-PAGE(SDS polyacryl amide gel electrophoresis)를 120V에서 3시간 동안 실시한 후, gel을 Coomassie 염색하여 Densitometer(BIO-1D Image Analysis, Vilber Lourmat, Germany)로 정량한 다음, 저해율(inhibition rate, %)을 산출하였다.

2) DPPH 라디칼 소거효과 측정

Chen 등(1998)의 방법에 따라 DMSO 10 μ l(대조구)와 DMSO에 녹여 농도별로 희석한 시료 10 μ l에 200 μ M DPPH(1,1-

diphenyl-2-picryl hydrazyl/ethanol) 190 μl 를 가한 후, 37°C에서 30분 동안 반응시킨 다음 517 nm에서 흡광도를 측정하였다 (Molecular Devices, SpectraMAX 340pc, CA, USA). 대조구의 흡광도를 100%로 하였을 때 농도별 저해율(inhibition rate, %)을 구하고, DPPH radical을 50% 소거하는 시료의 농도(IC₅₀)와 50% 억제 효과를 보이는 건조중량(dry weight)을 산출하였다.

3) 지질과산화 억제 효과 측정

Saija 등(1995)과 Haase & Dunkley(1969)의 방법에 따라 Fe²⁺에 의해 유도된 linoleic acid의 과산화에 대한 억제활성을 TBA(Thiobarbituric acid, Sigma, MO, USA)로 발색시켜 측정하였다. 10 ml의 10 mM linoleate 용액에 시료 20 μl 를 가하고, 37°C shaking incubator에서 1시간 동안 shaking시킨 후, 0.05 M FeSO₄ · 7H₂O를 20 μl 첨가한 다음 다시 37°C에서 2시간 동안 shaking시켜 과산화를 유발시켰다. 처리된 linoleate 용액 800 μl 를 4°C에서 10분 동안 tempering시키고, 400 μl 의 TBA 시약을 첨가한 다음 잘 혼합한 후, boiling water bath에서 15분 동안 처리한 후 흐르는 물에 냉각시켰다. 냉각된 용액에 *n*-butanol을 가하고 잘 섞은 다음 3,000 rpm으로 20분 동안 원심분리하여(Hanil, Union 5KR, Incheon, Korea), *n*-butanol층을 취하여 535 nm에서 흡광도를 측정(SpectraMAX 340pc, Molecular Devices, CA, USA)하였다. Fe²⁺에 의해 유도된 linoleate의 과산화물을 TBA로 발색시킨 것을 100%로 가정하였을 때, 농도별 저해율(inhibition rate, %)을 구하고, 흡광도를 50%로 감소시킬 수 있는 시료의 농도(IC₅₀)와 50% 억제 효과를 보이는 건조중량(dry weight)을 산출하였다.

4. 돌연변이 억제 효과 측정

Salmonella typhimurium TA98, TA100 균주를 이용하여 항돌연변이능을 측정하였다. 정기적으로 이들 균주의 histidine 요구성, deep rough(*rfa*) 돌연변이, *uvrB* 돌연변이와 R factor 등의 유전형질을 확인하였다. 이들 균주는 nutrient broth(Difco)에 접종, 배양하여 현탁액 1 ml당 DMSO 90 μl 를 가하여 냉동보관용 tube에 채워 액체질소(Thermolyne, Bio Cane™ 20)에 보관하면서 사용하였다. Master plate에 배양한 균주를 nutrient broth에 접종하여 37°C에서 14~16시간 동안 진탕배양(KMC-8480S, Vison Scientific Co., Seoul, Korea)한 후 1~2×10⁹ cells/ml의 밀도가 되도록 하여 실험에 사용하였다.

돌연변이 유발물질로는 간접 또는 직접돌연변이 물질을 사용하였는데, 간접돌연변이 물질로는 환경성 돌연변이 물질인 2-anthramine(2-AA, Sigma, MO, USA)을 사용하였고, 직접돌연변이 물질로는 2-nitrofluorene(2-NF, Aldrich, WI, USA)와 sodium azide phosphate(Sigma, USA)를 사용하였다. 2-AA와 2-NF는 DMSO에 녹여 사용하였고, sodium azide phosphate는

증류수에 녹여 사용하였다. 각 돌연변이 유발물질은 2-AA의 경우, TA98과 TA100에서 2.5 $\mu\text{g}/\text{plate}$, 2-NF는 TA98에서 4 $\mu\text{g}/\text{plate}$, sodium azide phosphate는 TA100에서 2 $\mu\text{g}/\text{plate}$ 의 농도로 사용하였다.

항돌연변이 유발실험을 위한 배지 및 시약의 조제는 Maron & Ames(1983)의 방법에 따라 행하였으며, Mutsushima 등(1980)의 방법에 따라 실험하였다. 모든 실험은 ice bath상에서 행하였고, 중복 실험하였다. 대사활성 물질이 필요한 간접돌연변이 물질을 사용할 때는 S9 mix(11-01L RAT LIVER LS-9, Moltax, NC, USA)를 첨가하였다. DMSO에 녹인 시료 90 μl 와 배양한 실험균주 0.1 ml, 돌연변이 유발물질 10 μl , 직접돌연변이원에는 0.5 ml의 0.1 M phosphate buffer(pH 7.4)를, 간접돌연변이원에는 0.5 ml의 S9 mix를 멸균된 시험관에 첨가한 후 가볍게 vortex하여 37°C shaking water bath (KMC-1205SW1, Vison Co., Seoul, Korea)에서 30분 동안 예비 배양하였다. 0.5 mM histidine/biotin 용액을 100 ml당 10 ml 첨가한 45°C 정도의 Top agar를 2 ml씩 각 시험관에 붓고, 3초간 vortex한 후 minimal glucose agar plate에 부어 여러 방향으로 기울여 고루 퍼지게 한 후 굳게 하였다. 그 다음 plate를 뒤집어 37°C incubator (VS-1203P3, Vison scientific Co., Seoul, Korea)에서 48시간 배양한 후 각각의 복귀돌연변이주(revertant colonies)를 계수하였고, 돌연변이 억제율(inhibition rate, %)을 구하였다.

5. 암세포 성장억제(Cytotoxicity) 효과

1) 암세포 배양

인체 자궁경부암세포인 HeLa cell와 인체 유방암 세포인 MCF-7 cell은 서울대학교 의과대학 생화학실험실에서 *in vitro*로 배양해온 것을 사용하였다. HeLa cell과 MCF-7 cell은 DMEM 배양액(HyClone, UT, USA)에 5% fetal bovine serum(FBS, HyClone, UT, USA)과 항생제(100 U/ml penicillin, Sigma, MO, USA)가 첨가된 것을 사용하였다.

2) MTT assay

암세포 증식 억제 효과를 측정하기 위해 Denizot & Lang (1966)의 방법에 따라 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-5-diphenyl-tetrazolium bromide(MTT) assay를 실시하였다. MTT assay는 세포의 생육을 측정하는 방법으로서 살아있는 세포의 미토콘드리아 내의 dehydrogenase가 황색 수용성 물질인 MTT에 의해 dark blue formazan을 생성하는 원리를 이용한다. 암세포를 48 well plate에 1×10⁴ cells/well이 되게 300 μl 씩 분주하여 24시간 후 시료를 일정한 농도로 제조하여 10 μl 첨가하여 37°C, 5% CO₂ 배양기에서 72시간 배양하였다. 여기에 PBS에 5 mg/ml의 농도로 제조한 MTT 용액 30 μl 를 첨가하고, 동일한

배양조건에서 4시간을 배양하였다. 배양액을 제거하고 각 well 당 DMSO 300 μl 를 가하여 ELISA reader(Molecular Devices, SpectraMAX 340pc)로 570 nm에서 흡광도를 측정하여 농도별 저해율(inhibition rate, %)을 구하고, 흡광도를 50%로 감소시킬 수 있는 시료의 농도(IC₅₀)와 50% 억제 효과를 보이는 건조중량(dry weight)을 산출하였다.

6. 통계처리

실험의 결과는 SAS Package(statistical Analysis system, ver. 5.1)를 이용하여 통계처리 하였다. 모든 실험은 3회 반복하여 평균과 표준 편차를 산출하였고, 각 실험군의 평균치 간의 차이의 유의성은 ANOVA 실시 후 $p < 0.05$ 수준에서 Duncan's multiple range test로 검정하였다.

결과 및 고찰

1. 항산화 효과

1) 지질과산화물과 단백질의 결합 억제 효과

In vitro 상태에서 수세미오이가 체내에서 생성된 지질과산화물이 단백질과 결합하는 반응을 억제하는지를 알아보고자 MDA와 BSA에 수세미오이 에탄올 추출물을 농도별로 첨가하여 전기영동한 후 이를 대조군의 결합 정도에 대한 저해율로 표시한 결과는 Table 1, Fig. 1과 같다. 시료의 농도가 10 mg/assay이었을 때 저해율은 30.98%였고, 시료의 농도가 그의

Table 1. Inhibition rate of ethanol extracts of *Luffa cylindrica* on the conjugated MDA with BSA

Conc. (mg/assay)	Inhibition rate (%)
2.5	16.58±0.30 ^{1)a2)}
5	24.28±2.25 ^b
10	30.98±2.54 ^c
20	45.06±1.69 ^d
40	57.03±0.76 ^e
80	64.04±2.14 ^f
100	66.38±2.65 ^f
IC ₅₀ ³⁾ (mg/assay)	29.60
Dry sample w.t. (mg)	0.03

¹⁾ Values are Mean±SE.

²⁾ Values followed by different letters are significantly different at $p < 0.0001$.

³⁾ Inhibitory activity was expressed as the mean of 50% inhibitory concentration of triplicate determines, obtained by interpolation of concentration-inhibition curve.

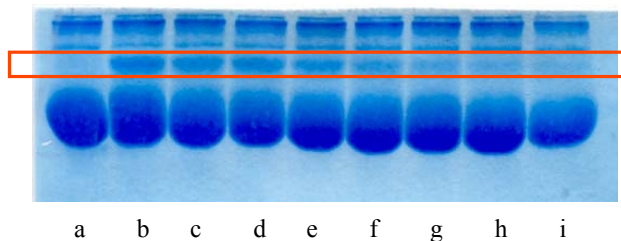


Fig. 1. Inhibitory effects of ethanol extracts of *Luffa cylindrica* on conjugation of malondialdehyde with protein. SDA-PAGE of extracts with MDA and BSA on 12% acryamide gel. a: BSA (100 μl)+PBS (900 μl), b: BSA (100 μl)+MDA (100 μl)+PBS (800 μl), c: BSA (100 μl)+MDA (100 μl)+extract (2.5 μl)+PBS (797.5 μl), d: BSA (100 μl)+MDA (100 μl)+extract (5 μl)+PBS (795 μl), e: BSA (100 μl)+MDA (100 μl)+extract (10 μl)+PBS (790 μl), f: BSA (100 μl)+MDA (100 μl)+extract (20 μl)+PBS (780 μl), g: BSA (100 μl)+MDA (100 μl)+extract (40 μl)+PBS (760 μl), h: BSA (100 μl)+MDA (100 μl)+extract (80 μl)+PBS (720 μl), i: BSA (100 μl)+MDA (100 μl)+extract (100 μl)+PBS (700 μl).

10배인 100 mg/assay이었을 때 저해율은 66.38%였다. 또한 수세미오이 에탄올 추출물의 농도가 증가할수록 MDA와 BSA의 결합으로 인해 생성된 band가 감소함을 볼 수 있어 수세미오이 에탄올 추출물은 지질과산화물인 MDA와 단백질인 BSA와의 결합을 억제시키는 것을 알 수 있었다. 지질과산화물이 단백질과 결합하는 것을 50% 억제하는 IC₅₀은 29.60 mg/assay이었으며, 이를 건조시료 무게로 환산하면 0.03 mg이었다.

2) DPPH radical 소거 효과

수세미오이 에탄올 추출물의 항산화능을 DPPH에 대한 전자공여능(electron donating ability) 즉, DPPH 라디칼 소거능으로 측정된 결과는 Table 2와 같다. 수세미오이 에탄올 추출물의 DPPH 라디칼 소거율은 시료농도 0.20 mg/assay시 23.04%, 0.50 mg/assay시 37.15%, 2.00 mg/assay시 60.13%의 라디칼 제거능을 나타내어, 수세미오이 에탄올 추출물의 처리농도가 증가할수록 DPPH 라디칼 소거 활성이 증가함을 알 수 있었다. Kang 등(1996)에 의하면 전자공여능은 phenolic acids, flavonoids 및 기타 phenol성 물질에 의한 항산화작용의 지표라고 하였으며, 이러한 물질의 환원력이 클수록 DPPH 라디칼 소거 활성이 크다고 하였다. DPPH를 첨가하여 안정한 라디칼을 발생시키는 농도를 100%로 하였을 때, 수세미오이 에탄올 추출물을 첨가하여 DPPH 라디칼을 50% 소거하는 시료의 농도(IC₅₀)는 2.33 mg/assay였고, 이를 건조시료 무게로 환산하면 1.30 mg이었다.

Table 2. Scavenging effects of DPPH radical by ethanol extracts of *Luffa cylindrica*

Conc. (mg/assay)	Inhibition rate (%)
0.01	10.8 ±3.90 ^{1)a2)}
0.02	12.88±3.23 ^a
0.06	15.15±3.56 ^a
0.20	23.04±3.63 ^b
0.50	37.15±2.05 ^c
1.00	47.07±2.15 ^d
2.00	60.13±0.42 ^e
IC ₅₀ ³⁾ (mg/assay)	2.33
Dry sample w.t. (mg)	1.30

¹⁾ Values are Mean±SE.

²⁾ Values followed by different letters are significantly different at $p<0.0001$.

³⁾ Inhibitory activity was expressed as the mean of 50% inhibitory concentration of triplicate determines, obtained by interpolation of concentration-inhibition curve.

3) 지질과산화 억제 활성

Fe²⁺에 의해 유도된 linoleate의 과산화를 유도하는 과정에서 수세미오이 에탄올 추출물에 의한 지질과산화 억제 효과를 살펴본 결과는 Table 3과 같다. 수세미오이 에탄올 추출물의 농도 0.30 mg/assay시 20.40%, 1.00 mg/assay시 40.37%, 4.00 mg/assay시 56.04%의 저해율을 보였으며, 에탄올 추출물의 농도가 증가할수록 지질과산화의 억제 정도가 증가하였으나, 2.00 mg/assay 이상의 농도에서는 완만한 증가를 보여주었다. Fe²⁺에 의해 유도된 linoleate의 과산화에 대한 억제 활성을 TBA로 발색시킨 것을 100%로 가정하였을 때, 수세미오이 에탄올 추출물을 첨가하여 50%로 지질과산화를 감소시킬 수 있는 농도(IC₅₀)는 2.79 mg/assay이었으며, 이를 건조시료 무게로 환산하면 6.23 mg이다. Kim & Han(2005)에 의하면 68종의 식물체로부터 얻어진 수용성 추출물이 활성산소에 의해 유도된 흰쥐 뇌조직의 지질과산화에 미치는 영향을 연구한 결과, 버섯류는 80%, 엽채류는 65%, 근채류는 25%, 과채류는 11%의 지질과산화 억제 효과 있다고 보고하였다. 일반적으로 과채류의 지질과산화 억제능은 약하였으나, 이에 비해 수세미오이는 55% 이상의 항산화력을 보여 다른 과채류에 비해 우수한 항산화효능을 보였다.

수세미오이 에탄올 추출물의 항산화 효과를 탐색하기 위해 MDA와 BSA conjugation 억제 반응, DPPH 라디칼 소거 활성, 지질과산화 억제 활성을 측정된 결과 측정법에 따라 항산화 효과의 정도는 차이가 있었으나, 수세미오이 에탄올 추출물은 모든 측정법에 대해 55% 이상의 항산화 효과가 있었다.

Table 3. Antioxidative effects of ethanol extracts of *Luffa cylindrica* on Fe⁺-induced linoleate peroxidation

Conc. (mg/assay)	Inhibition rate (%)
0.03	1.62±1.62 ^{1)a2)}
0.10	5.73±1.39 ^a
0.30	20.40±3.45 ^{ab}
1.00	40.37±4.44 ^{bc}
2.00	52.33±4.51 ^c
4.00	56.04±3.24 ^c
IC ₅₀ ³⁾ (mg/assay)	2.79
Dry sample w.t. (mg)	6.23

¹⁾ Values are Mean±SE.

²⁾ Values followed by different letters are significantly different at $p<0.05$.

³⁾ Inhibitory activity was expressed as the mean of 50% inhibitory concentration of triplicate determines, obtained by interpolation of concentration-inhibition curve.

IC₅₀은 MDA와 BSA conjugation 억제 반응은 29.60 mg/assay이고, DPPH 라디칼 소거 활성은 2.33 mg/assay였으며, 지질과산화 억제 활성은 2.79 mg/assay였다. 따라서 IC₅₀으로 비교해 보았을 때 수세미오이 에탄올 추출물은 DPPH 라디칼 소거 활성이 상대적으로 가장 우수함을 알 수 있었고, 그 다음은 지질과산화 억제 활성이었으며, 단백질 산화를 억제하는 활성은 가장 적었음을 알 수 있었다.

2. 항돌연변이능

Ames test로 수세미오이 에탄올 추출물의 직접작용 항돌연변이능을 측정하기 위하여 직접돌연변이 물질인 2-nitrofluorene (4 µg/plate)를 틀변경 변이주인 *Salmonella typimurium* TA98에, sodium azide(2 µg/plate)를 사용하여 염기쌍 치환 변이주인 *Salmonella typimurium* TA100으로 실험한 결과는 Table 4와 같다. *Salmonella typimurium* TA98에서 직접작용 돌연변이능에 대한 저해 효과는 수세미오이 에탄올 추출물 농도 1.0~14.0 mg/plate까지 항돌연변이능이 없었으며, 18.0 mg/plate 농도에서 5.82%의 낮은 항돌연변이능을 보여주었다. *Salmonella typimurium* TA100인 경우에도 1.0~10.0 mg/plate 농도에서 돌연변이 억제작용이 없었으며, 14.0 mg/plate 농도에서 4.54%, 18.0 mg/plate 농도에서 13.36%의 항돌연변이능을 보여주었다.

환경성 돌연변이 물질인 2-anthramine(2.5 µg/plate)을 사용하여 *Salmonella typimurium* TA98과 *Salmonella typimurium* TA100으로 수세미오이 에탄올 추출물의 간접작용 항돌연변이능을 측정된 결과는 Table 5와 같다. 간접작용 돌연변이능에 대한 저해 효과는 *Salmonella typimurium* TA98에서 1.0~

Table 4. Effects of ethanol extracts from *Luffa cylindrica* on direct mutagenicity mediated by 2-nitrofluorene in *Salmonella typhimurium* TA98 and sodium azide in *Salmonella typhimurium* TA100

Extracts Conc. (mg/plate)	<i>Salmonella typhimurium</i> TA98		<i>Salmonella typhimurium</i> TA100	
	Revertants/plate	Inhibition rate (%)	Revertants/plate	Inhibition rate (%)
1.0	868±112 ¹⁾	0 ^{a2)}	2,006± 7	0 ^{2)a}
2.0	841±128	0 ^a	1,983± 5	0 ^a
6.0	814±118	0 ^a	1,933± 4	0 ^a
10.0	797±114	0 ^a	1,846±21	0 ^a
14.0	731±144	0 ^a	1,688±20	4.54±4.54 ^a
18.0	580± 94	5.82±5.74 ^b	1,532±22	13.36±5.17 ^b

¹⁾ Values are Mean±SE. ²⁾ Values followed by different letters are significantly different at $p<0.05$.

Table 5. Effects of ethanol extracts from *Luffa cylindrica* on indirect mutagenicity mediated by 2-anthramine in *Salmonella typhimurium* TA98 and *Salmonella typhimurium* TA100 with S9 mix

Extracts Conc. (mg/plate)	<i>Salmonella typhimurium</i> TA98		<i>Salmonella typhimurium</i> TA100	
	Revertants/plate	Inhibition rate (%)	Revertants/plate	Inhibition rate (%)
1.0	2,239±109 ¹⁾	0 ^{a2)}	2,453±67	0 ^a
2.0	2,168±156	0 ^a	2,425±53	0 ^a
6.0	2,107±145	1.43±0.86 ^a	2,382±74	0 ^a
10.0	2,031±158	5.14±0.02 ^b	2,206±26	0 ^a
14.0	1,885±219	12.33±3.53 ^c	2,026±6	0 ^a
18.0	1,706±166	20.68±1.67 ^d	1,851±83	5.76±2.15 ^b

¹⁾ Values are mean±SE. ²⁾ Values followed by different letters are significantly different at $p<0.05$.

2.0 mg/plate 에탄올 추출물 농도에서는 효과가 없었으나, 10.0 mg/plate에서 5.14%, 14.0 mg/plate에서 12.33%, 18.0 mg/plate에서 20.68%의 돌연변이 저해효과가 있었다. *Salmonella typhimurium* TA100에서는 표코버섯 에탄올 추출물의 농도가 1.0~14.0 mg/plate일 때 항돌연변이능이 없었으며, 18.0 mg/plate 농도에서 5.76%의 낮은 항돌연변이능을 보여주었다. 수세미오이의 에탄올 추출물은 활성화된 돌연변이 물질에 직접 결합하여 돌연변이성을 제거하는 작용과 간접작용 돌연변이원에 관련한 전구물질을 최종 돌연변이물질로 전환되는 작용은 약한 편이다. 특히, 직접돌연변이 물질인 2-nitrofluorene를 처리한 *Salmonella typhimurium* TA98와 간접돌연변이 물질인 2-anthramine를 처리한 *Salmonella typhimurium* TA100에서는 항돌연변이 효과가 거의 없었다.

3. 암세포 성장억제(Cytotoxicity) 효과

수세미오이 에탄올 추출물을 농도별로 첨가하여 인체 자궁경부암 세포인 HeLa cell 증식 억제 정도에 미치는 영향을 알아본 결과는 Table 6과 같다. 수세미오이의 에탄올 추출물 농도가 0.05 mg/assay이었을 경우, HeLa 세포 증식은 28.17%, 0.15 mg/assay이었을 경우 36.50% 억제되었고, 1.00 mg/assay이었

Table 6. Inhibitory effects of ethanol extracts from *Luffa cylindrica* on HeLa cell and MCF-7 cell growth

Conc. (mg/assay)	HeLa cell Inhibition rate (%)	MCF-7 cell Inhibition rate (%)
0.01	13.42±1.68 ^{1)a2)}	1.20±0.69 ^{1)a2)}
0.05	28.17±4.51 ^b	7.80±0.20 ^b
0.15	36.50±3.77 ^c	10.94±0.66 ^c
0.50	42.30±3.82 ^{cd}	12.55±0.49 ^{cd}
1.00	43.71±3.19 ^d	14.27±0.32 ^d
1.50	52.10±4.65 ^e	20.15±1.36 ^e
2.00	55.83±3.83 ^e	33.03±2.09 ^f
IC ₅₀ ³⁾ (mg/assay)	1.24	656.74
Dry weight (mg)	2.74	1,457.48

¹⁾ Values are Mean±SE.

²⁾ Values followed by different letters are significantly different at $p<0.05$.

³⁾ Inhibitory activity was expressed as the mean of 50% inhibitory concentration of triplicate determines, obtained by interpolation of concentration-inhibition curve.

을 경우 43.71% 억제되었으며, 2.00 mg/assay이었을 경우 55.83% 저해되었다. 수세미오이 에탄올 추출물의 IC₅₀값과 IC₅₀값을 보여주는 건조중량을 살펴보면 1.24 mg/assay이고, 건조 중량은 2.74 mg이었다.

인체 유방암 세포인 MCF-7 cell에 대한 수세미오이의 에탄올 추출물의 성장억제 효과는 Table 6과 같다. MCF-7 세포수는 수세미오이의 에탄올 추출물 농도가 0.15 mg/assay이었을 경우 10.94%, 1.00 mg/assay이었을 경우 14.27%이었으며, 2.00 mg/assay이었을 경우 33.03%이었다. IC₅₀값과 IC₅₀값을 보여주는 건조중량을 살펴보면 656.74 mg/assay이고, 건조 중량은 1,457.48 mg이었다. 수세미오이 에탄올 추출물은 인체 자궁경부암 세포인 HeLa에 대해 55% 이상 암세포 증식 억제 효과가 있었으며, MCF-7 cell의 성장 억제 효과는 HeLa cell보다 적었으나 어느 정도 증식 억제 효과는 있었다.

요약 및 결론

수세미오이에 대한 식품영양학적 평가의 및 생리적 기능에 대한 활성을 탐색하기 위하여 수세미오이를 에탄올로 추출한 후, 항산화 효과, 돌연변이 유발 억제 효과, 암세포 증식 억제 효과를 측정하여 얻은 결과는 다음과 같다.

수세미오이 에탄올 추출물은 MDA의 교차결합 형성은 100 mg/assay이었을 때 66.38% 저해하여 지질과산화물에 대한 단백질 보호효과가 있었으며, DPPH 라디칼 소거 활성은 2.00 mg/assay일 때 60.13% 저해하였으며, Fe²⁺에 의해 유도된 지질의 과산화는 4.00 mg/assay일 때 56.04% 억제하였으며, 처리농도가 증가할수록 저해율은 증가하였다. IC₅₀ 값으로 항산화능을 상대적으로 비교하였을 때 수세미오이 에탄올 추출물은 DPPH 라디칼 소거 활성>지질과산화 억제능>지질과산화물과 단백질의 결합 억제 효과 순이었다. 또한 Ames test를 이용하여 돌연변이 유발 억제능을 알아본 결과, 수세미오이의 에탄올 추출물은 간접작용 돌연변이원에 관여한 전구물질을 최종 돌연변이물질로 전환되는 작용과 활성화된 돌연변이물질에 직접 결합하여 돌연변이성을 제거하는 작용은 약한 편이며, 특히, 직접돌연변이 물질인 2-nitrofluorene를 처리한 *Salmonella typhimurium* TA98과 간접돌연변이 물질인 2-anthramine를 처리한 *Salmonella typhimurium* TA100에서는 항돌연변이 효과가 거의 없었다. MIT assay를 수세미오이의 에탄올 추출물의 암세포 증식 억제 효과를 측정하여 얻은 결과, 자궁경부암 세포인 HeLa cell은 2.00 mg/assay시 55.83% 증식 억제 효과가 있었으며, 인체 유방암 세포인 MCF-7 세포는 33.03% 증식 억제 효과가 있었다. 수세미오이 에탄올 추출물은 인체 유방암 세포인 MCF-7 세포보다는 자궁경부암 세포인 HeLa cell에서 더 효과적으로 암세포 증식을 억제하였다.

본 연구로 수세미오이는 항산화성과 암세포 증식 억제 효과가 있음을 알 수 있었고, 이를 토대로 수세미오이를 이용함으로써 광범위하게는 만성 성인병의 예방 및 치료에 효과가 있으리라 사료된다. 또한 본 연구의 결과는 수세미오이를 기능성 식품의 식품소재의 제품 개발에 유용하게 사용될 수 있는 기초자료로 활용될 수 있으리라 본다.

감사의 글

이 논문은 2011년도 서일대학 교내학술연구비 지원에 의하여 연구되었습니다.

참고문헌

- Bae KH, Chi JM, Chang KW. 1991. The study on effective components in various parts of *Luffa cylindrica* and development for removal of the flesh from its fruits: (III) Cytotoxic activity of leaf, stem and seed extracts against L1210 cells and antibacterial activity against streptococcus mutants OMZ176. *Kor J Pharm* 22:249-251
- Bradford MM. 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal Biochem* 72:248-254
- Cha SY, Jang JY, Lee YH, Lee GO, Lee HJ, Hwang KT, Kim YJ, Jun WJ, Lee JM. 2010. Lipolytic effect of methanol extracts from *Luffa cylindrica* in mature 3T3-L1 adipocytes. *J Kor Soc Food Sci Nutr* 39:813-819
- Cha WS, Shin HR, Park JH, Oh SL, Lee WY, Chun SS, Choo JW, Cho YJ. 2004. Antioxidant activity of phenol components from mulberry fruits. *Kor Food Preserv* 11:383-387
- Chang KW, Moon CS, Lee HD, Lee CJ, Lee UC. 1991. Determination of the effective components in the various parts of *Luffa cylindrica* (L.) Roemer and development to remove the flesh from its fruit: (I) Determination of chemical components in the various parts of *Luffa cylindrica* (L.) Roemer by GC and GC/MS. *J Kor Agric Chem Soc* 34:366-372
- Chen HM, Muramoto K, Yamauchi F, Fujimoto K, Nokihara K. 1998. Antioxidative properties of histidine-containing peptides designed from peptide fragments found in the digests of a soybean protein. *J Agric Food Chem* 46:49-53
- Cheng GC, Lee JY, Kim DC, Suh SO, Hwang WI. 2000. Inhibitory effect of *Salvia miltiorhiza* extract on growth of some cancer cells. *J Kor Soc Food Sci Nutr* 29:726-731
- Comporti M. 1993. Lipid peroxidation: An overview. In: Free

- Radicals: From Basic Science to Medicine: Molecular and Cell Biology Updates (Poli G, Albano E & Dianzani MU, eds.). pp. 65-79. Birkhauser Verlag, Basel, Switzerland
- Denizot F, Lang R. 1966. Rapid colorimetric assay for cell growth and survival modification to the tetrazolium dye procedure giving improved sensitivity and reliability. *J Immunol Methods* 89:271-277
- Eriksson CJ, Na A. 1996. Antioxidant agents in raw materials and processed food. *Biochem Soc Symp* 61:221-234
- Gomez-Sanchez A, Hermonsini I, Mayo I. 1990. Cleavage and oligomerization of malondialdehyde under physiological conditions. *Tetrahedron Letters* 28:4077-4080
- Haase G, Dunkley WL. 1969. Ascorbic acid and copper in linoleate oxidation. I. Measurement of oxidation by ultraviolet spectrophotometry and the thiobarbituric acid test. *J Lipid Research* 10:555-560
- Halliwell B, Gutteridge JMC. 1993. Free Radicals in Biology and Medicine. 2nd ed. pp. 86-133. Glarendon Press, Oxford, UK
- Hwang EJ, Cha YU, Park MH, Lee JW, Lee SY. 2004. Cytotoxicity and chemosensitizing effect of Camelia tea extract. *J Kor Soc Food Sci Nutr* 33:487-493
- Kang YH, Park YK, Lee GD. 1996. The nitrite scavenging and electron donating ability of phenolic compounds. *Kor J Food Sci Technol* 28:232-239
- Kim HK, Na GM, Ye SH, Han HS. 2004. Extraction characteristics and antioxidative of *Schizandra chinensis* extracts. *Kor J Food Culture* 19:484-490
- Kim SJ, Han D. 2005. Effect of plants extracts on lipid peroxidation of rat brain tissue induced by reactive oxygen species. *Kor J Food Sci Technol* 37:976-982
- Kim SM, Cho YS, Sung SK. 2001. The antioxidant ability and nitrite scavenging ability of plant extracts. *Kor J Food Sci Technol* 33:626-632
- Kwan JH, Kim JW, Lee YH, Shim HS. 2012. Sclerotium rot of sponge gourd caused by *Sclerotium rotfsii*. *Res Plant Dis* 18:54-56
- Lee IS, Nishikawa A. 2003. Polyzellus multiplex, a Korean wide mushroom, as a potent chemopreventive agent against stomach cancer. *Life Sci* 73:3225-3234
- Lee SR, Nam DY, Lee HJ, Park CH, Heo JC, Kim JG, Lee JM, Lee CY, Park HJ, Lee SH. 2009. Analysis of anti-tumor activity of *Flammulina velutipes* extract on B16 cells. *Kor J Food Preserv* 16:599-603
- Lee TB. 2003. Coloured Flora of Korea. p.914. Hyangmoonsa, Seoul, Korea
- Maron DM, Ames BN. 1983. Revised methods for the *Salmonella* mutagenicity test. *Mutat Res* 113:173-215
- Meneghini R, Martins EA, Calderaro M. 1993. DNA damage by reactive oxygen species: The role of metal. In: Free Radicals: From Basic Science to Medicine: Molecular and Cell Biology Updates (Poli G, Albano E & Dianzani MU, eds.). pp. 102-112. Birkhauser Verlag, Basel, Switzerland
- Mutsushima T, Sugimura T, Nagao M, Yahagi T, Shirai A, Sawamura M. 1980. Factors modulating mutagenicity in microbial test, In "Short-term Test, Systems for Detecting Carcinogens". Norphth KH and Garner RC (eds.). p. 273. Springer, Berling
- Oh SI, Lee MS. 2007. Antioxidative stress and antimutagenic effects of *Lentinus edodes* ethanol extracts. *Kor J Food Nutr* 20:341-348
- Park JS, Chang KW, Lee JI. 1996. Inorganic components and some physical properties of sap from sponge-gourd (*Luffa cylindrica* L.) as affected by collection time. *Agric Chem Biotech* 39:67-69
- Park YH. 2000. Effect of polyamine on modification of biomodics by aldehyde. Ph.D. in Medicine Thesis, Seoul National Uni. Seoul, Korea
- Pichumoni SS, Doraiswamy PM. 1998. Current status of antioxidant therapy for Alzheimer's disease. *J Am Geriatr Soc* 46:1566-1572
- Ramaranthnan N, Osawa T, Ochi H, Kawakishi S. 1995. The contribution of plant food antioxidants to human health. *Trend Food Sci Technol* 6:75-82
- Saija A, Scalse M, Lanza M, Marzullo D, Bonina F, Castelli F. 1995. Flavonoids as antioxidant agents: Importance of their interaction with biomembranes. *Free Radical Biol Medicine* 19:481-486
- Shim JH, Park MW, Kim MR, Lim KT, Park ST. 2002. Screening of antioxidant in fructus mune (*Prunes mune* Sieb. ct Zucc.) extracts. *J Kor Soc Agric Chem Biotechnol* 45:119-123
- Shon MY, Seo JK, Kim HJ, Sung NY. 2001. Chemical compositions and physiological activities of *Doraji* (*Platycodon grandiflorum*). *J Kor Soc Food Sci Nutr* 30:717-720
- Song JH, Lee HS, Hwang JK, Chung TY, Hong SR, Park KM. 2003. Physiological activities of *Phelliums ribis* extracts. *Kor J Food Sci Technol* 35:690-695

Yun MJ, Oh SI, Lee MS. 2009. Antioxidative and antimutagenic effects of *Agaricus bisporus* ethanol extracts. *J Kor Soc Food Sci Nutr* 38:19-24

강소신의학원편. 1977. 중약대사전. pp. 791-795. 상해과학출판사

접 수 : 2012년 10월 15일
최종수정 : 2012년 11월 15일
채 택 : 2012년 11월 20일