

## SOS Chromotest에서 숙지황 물 추출물의 세포내 항돌연변이 효과

안병용 · 이갑상 · 맹일경\* · 송근섭\*\* · 최동성\*\*\*

연광대학교 생명자원과학부, \*전북대학교 식품공학과,

\*\*이리농공전문대학 식품공업과, \*\*\*우석대학교 생물식품 및 환경화학부

### Bio-antimutagenic effects of water extract from *Rehmannia glutinosa* Liboschitz in SOS Chromotest

Byung-Yong Ahn, Kap-Sang Lee, Il-Kyung Maeng\*,

Geun-Seoub Song\*\* and Dong-Seong Choi\*\*\*

Division of Life Science and Natural Resource, Wonkwang University

\*Department of Food Science and Technology, Chonbuk National University

\*\*Department of Food Engineering, Iri National College of Agriculture & Technology

\*\*\*Division of Food, Enviromental and Chemical engineering and Biotechnology, Woosuk University

#### Abstract

The antimutagenic activity of the water extract of *Rehmannia glutinosa* Liboschitz (RG) on the mutagenicity induced by 4-nitroquinoline 1-oxide (4-NQO), *N*-methyl-*N'*-nitro-*N*-nitrosoguanidine (MNNG), mitomycin C (MMC), aflatoxin B<sub>1</sub> (AFB<sub>1</sub>) and benzo(a)pyrene [B(a)P] were studied using the SOS Chromotest with *Escherichia coli* PQ37. The water extract of RG was separated into methanol soluble and methanol insoluble parts. The methanol soluble part exhibited higher inhibition effects than the methanol insoluble part against the mutagenic activities of five mutagens. Step-wise fractionation of methanol soluble part was done using methanol, ethyl acetate and water. Among these fractions, water fraction had the strongest inhibitory effects against the mutagenicity of five model mutagens, showing 4.5~29.5% inhibition, but the AFB<sub>1</sub> mutagenic potency was increased slightly by ethyl acetate fraction. The water fraction was further partitioned by sephadex LH-20 column chromatography, and 9 subfractions were obtained. The fraction III showed the strongest inhibitory effects with dose response against the mutagenic activities induced by all the tested chemical mutagens. The inhibition rates of fraction III at concentration of 400 µg/assay were 29%, 35%, 38%, 25% and 24% against 4-NQO, MNNG, MMC, AFB<sub>1</sub> and B(a)P, respectively. The fraction III also exhibited a strong bio-antimutagenicity against 4-NQO and AFB<sub>1</sub> by showing more than 40% inhibition.

Key word: *Rehmannia glutinosa* Liboschitz, SOS chromotest, bio-antimutagenic effects, dose response

## 서 론

기능성 식품 또는 의약품 소재로의 용도개발을 위한 기초 자료와 한방의 과학화 측면에서 생약재를 포함한 천연물의 생리활성 물질에 대한 관심이 증대되고 있으며 그 중에서도 암발생 메카니즘과 관련된 돌연변이 억제 작용 물질에 관한 연구가 활발히 진행되고 있다. 천연물을 대상으로 한 항돌연변이원성 탐색 연구 결과, 마늘<sup>(1)</sup>, 생강<sup>(2)</sup>, 계피<sup>(3)</sup>, 파고지<sup>(4)</sup>, 레모그라스<sup>(5)</sup>, 쇠비

림<sup>(6)</sup>, 쪽<sup>(7)</sup>과 같이 전통적으로 식용되어온 생약재에서 많은 항돌연변이원성 효과가 보고되어지고 있다. 또한 활성물질을 분리하여 그의 작용기작에 관한 연구가 활발하게 진행되고 있으며 대표적인 예로써 Ohta 등은 cinnamaldehyde<sup>(8)</sup>와 vanillin<sup>(9)</sup>, 송 등<sup>(10)</sup>은 cinnamaldehyde의 세포내 항돌연변이 효과의 작용 메카니즘을 밝힌 바 있다.

돌연변이 억제물질은 작용방식에 따라 세포내 항돌연변이원(bio-antimutagen)과 세포외 항돌연변이원(desmutagen)으로 구분되며 세포내 항돌연변이원성 물질은 질병은 물론 유전독성물질에 의해 유도되는 돌연변이를 차단하여 암의 예방적 해석에 기여하므로<sup>(11)</sup>

Corresponding author: Dong-Seong Choi, Division of Food, Enviromental and Chemical Engineering and Biotechnology, Woosuk University, Wanju, Chonbuk 565-701, Korea

그 중요성이 강조되고 있다. 따라서 이러한 연구의 일환으로 필자들은 95종 생약재 열수 추출물을 bacterial mutation assay를 이용하여 4-NQO, MNNG, MMC, AFB<sub>1</sub>, B(a)P의 변이원성에 대한 돌연변이원성 억제효과를 체계적으로 검색하였으며<sup>(12,13)</sup>, 그 결과 5종의 변이원에 의해 유도된 변이원성을 공통적으로 억제하는 속지황 외 수종의 생약재를 발견하였다. 속지황, 지황 (*Rehmannia glutinosa*)은 한방에서 필수적인 약재로써 애용되고 있으며, 속지황에 관한 연구는 주로 화학적인 성분들의 규명<sup>(14)</sup>과 제초제인 paraquat에 대한 내성<sup>(15)</sup>을 중심으로 이루어져 왔으며 생리활성에 관한 연구는 거의 찾아볼 수 없었다.

본 연구에서는 돌연변이 유도 특성이 각기 다른 직접변이원(3종)과 간접변이원(2종)으로 유도된 돌연변이원성에 대하여 속지황 물 추출물의 억제 효과를 조사하고, 활성성분의 정제 및 세포내 항돌연변이원성을 밝히고자 본 연구를 수행하였다.

## 재료 및 방법

### 재료 및 시약

본 실험에 사용한 속지황은 이리시 소재 유 한의원에서 기증받아 사용하였다. 4-Nitroquinoline 1-oxide (4-NQO), *N*-methyl-*N*'-nitro-*N*-nitrosoguanidine (MNNG)는 Fluka (Switzerland) 회사로부터 구입하였으며, mitomycin C (MMC)는 중외제약 제품을, aflatoxin B<sub>1</sub> (AFB<sub>1</sub>), benzo(a)pyrene [B(a)P], β-naphthoflavone 및 phenobarbital은 Sigma (U.S.A.)사 제품을 사용하였다. S9 분획 조제는 Ong 등<sup>(16)</sup>의 방법에 따라서 무균적으로 행하였고 실험용 동물로는 200±10 g의 7주령된 래트(male Sprague Dawley)를, 유도물질로는 phenobarbital과 β-naphthoflavone을 사용하였다. 시험균주인 *Escherichia coli* PQ37은 Quillardet 박사(Pasteur 연구소, France)로부터 *Salmonella typhimurium* TA100은 Ames 박사(California 대학, U.S.A.)로부터 기증받아 각각의 유전형질을 확인한 후 사용하였다.

### 추출 및 용매분획

감압건조된 시료에 10배(w/v)량의 증류수를 가하여 수욕상에서 환류냉각하면서 2회 추출한 후 여과 및 동결건조하여 물 추출물로 사용하였다. 물 추출물을 메탄올 가용성 및 불용성 분획물로 분리한 후 농축, 동결건조 하였다. 메탄올 가용성 분획물을 증류수에 녹인 후 에틸아세테이트, 부탄올, 물층으로 순차 용매분획을 실시하였으며 수용성 분획물은 멸균된 2차 멸균

수에, 에틸 아세테이트와 부탄올 분획물은 dimethylsulfoxide (DMSO)에 용해하여 사용하였다.

### 돌연변이원성 억제시험

SOS Chromotest는 Quillardet와 Hofnung의 방법<sup>(17)</sup>에 준하여 수행하였다. 즉 L medium에  $5 \times 10^8$  CFU/mL 농도로 배양된 종배양액을 2%(v/v)가 되도록 집중하여 37°C에서 약 2시간 진탕배양( $5 \times 10^8$  CFU/mL) 하였다. 직접변이원의 경우 L medium으로 10배(v/v) 희석된 균 부유액을, 간접변이원의 경우 S9 mix (AFB<sub>1</sub>; 5%, B(a)P; 3%)에 10배(v/v) 희석된 0.6 mL의 균 배양액을 분취하고 여기에 10 μL의 변이원과 10 μL (100 μg/assay)의 시료를 혼합한 다음, 37°C에서 210 rpm으로 2시간 배양하였다. 이 때 첨가된 양성 대조 물질(돌연변이원)의 사용량은 dose response test를 실시하여 최적의 농도를 설정한 후 사용하였다.

시료 색소로 인한 흡수 spectrum 영향을 차단하기 위하여 배양액을 4°C에서 3,500 rpm으로 25분간 원심 분리하여 상정액을 제거한 후 잔사에 0.6 mL의 L medium을 현탁시켰다. 이 현탁액 0.2 mL을 취하여 Quillardet와 Hofnung<sup>(17)</sup>의 방법과 동일하게 각각의 효소 활성을 측정하였다. 활성 단위는 흡광도×1,000/반응시간(분)으로 나타냈으며, R (Ratio)값은 β-galactosidase unit/alkaline phosphatase unit로 계산하였고 R(0)값을 1로 정하였다. 유도지수(induction factor, IF)는 SOS 유전자의 유도정도를 나타내며, R(C)/R(0)로 계산하였고 R(C)은 변이원 및 변이원과 시료를 첨가한 시험구의 ratio 값이다. R(0)은 변이원을 첨가하지 않는 농도의 ratio 값이며, 음성 대조구 IF 값은 1로 정하였다. 시료의 돌연변이 억제효과는  $[(IF_0 - IF) / IF_0] \times 100$ 으로 산출하였고 여기서 IF<sub>0</sub>는 양성대조구의 IF 값이며, IFs는 시험물질의 IF 값이다.

Ames test는 preincubation<sup>(18)</sup>법을 이용하였다. 돌연변이 억제효과는  $[(M - S_1) / (M - S_0)] \times 100$ 으로 계산하였고 돌연변이 물질만 존재한 경우의 복귀 돌연변이 수는 M, 자연복귀 돌연변이 수는 S<sub>0</sub>, 돌연변이원과 시료를 첨가하였을 경우의 복귀 돌연변이 수는 S<sub>1</sub>로 나타내었다.

### 세포내 항돌연변이원성 시험

Sato 등의 방법<sup>(19)</sup>을 이용하여 세포내 항돌연변이 효과를 조사하였다. 즉 멸균된 cap tube에 L medium으로 10배(v/v) 희석된 본배양액 0.6 mL와 10 μL의 변이원을 혼합하여, 37°C에서 210 rpm으로 20분 동안 preincubation하여 DNA 손상을 유도한 후, 5 mL의 PBS (phosphate buffer saline, pH 7.2) 용액으로 4°C에서

4,500×g로 20분간 원심 분리하여 세척하였다. 그런 다음 100 µg/assay의 시료와 0.6 mL의 L medium을 첨가하여 동일한 조건에서 100분간 배양하였다. 배양종료 후 효소활성 측정과 세포내 항돌연변이원성 산출은 돌연변이원성 억제시험법과 동일하게 실시 하였다.

**칼럼크로마토그래피에 의한 활성분획 정제 및 TLC**

수용성 분획물(0.1 g/0.5 mL)을 sephadex LH-20 column (2×70 cm)에 loading한 다음 10% 메탄올로 1 drop/10 sec씩 용출시키면서 10분당 1 cell씩 분획하였으며 자외선(280 nm) 흡수특성이 동일한 용출액을 모아 농축 및 동결건조 후 시료로 사용하였다. TLC plate는 silica gel plastic sheet (Kieselgel 60 F<sub>254</sub>, Merck)를, 전개용매는 n-butanol:AcOH:diethyl ether:H<sub>2</sub>O (9:6:3:1)를 사용하였고 발색시약은 10% 황산용액을 사용하였다.

**결과 및 고찰**

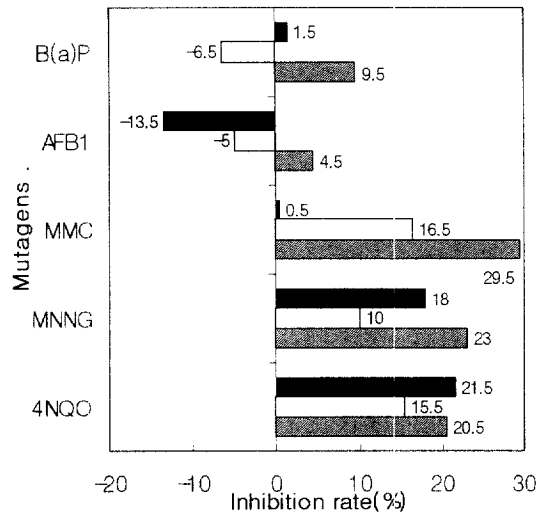
**용매분획물의 돌연변이원성 억제효과**

숙지황 물 추출물로부터 준비된 메탄올 가용성 분획물과 불용성 분획물은 숙지황 10 g으로부터 물 추출물 5.5 g, 메탄올 가용성 분획물 약 4 g, 불용성 분획물 약 1.5 g을 얻었으며, 이를 이용하여 4-NQO, MNNG, MMC, AFB<sub>1</sub> 및 B(a)P에 대한 돌연변이원성 억제효과를 살펴본 결과 메탄올 가용성 분획물의 억제효과가 더 우수한 것으로 나타났다(Table 1). 따라서 메탄올 가용성 분획물을 에틸아세테이트, 부탄올과 물을 사용하여 차례로 분획한 결과 메탄올 가용성 분획물의 중량에 대하여 각각 95.25%, 3.4% 및 1.35%의 수율을 나타내었다. 5-model mutagen에 대하여 각 분획물의 농도별 억제효과를 조사 한 결과, 직접변이

**Table 1. Inhibitory effects of water extract, methanol-soluble and methanol-insoluble parts of *Rehmannia glutinosa* on the mutagenicity of 5 model mutagens in *E. coli* PQ37**

Mutagens (conc./assay)	Inhibition rate (%)		
	water extract	methanol insoluble	methanol soluble
4-NQO (30 µg)	20±0.5 <sup>b)</sup>	11±0.0	28±0.5
MNNG (1500 µg)	27±1.0	25±0.5	35±0.0
MMC (30 µg)	28±0.5	25±0.5	35±0.5
AFB <sub>1</sub> (30 µg)	13±0.5	10±1.5	18±2.0
B(a)P (2500 µg)	24±0.1	13±0.1	28±1.0

Data are represented as mean±S.D of triplicate experiments.



**Fig. 1. Comparison of inhibitory effects of among the solvents fractions (100 µg/assay) from methanol soluble part of *Rehmannia glutinosa* on the mutagenicity of 5 model mutagens in *E. coli* PQ37 (▨: Aqueous fraction, □: Butanol fraction, ■: Ethyl acetate fraction).**

원(4-NQO, MNNG, MMC)에 대하여 수용성 분획은 20.5~29.5%의 억제활성을 나타내었다(Fig. 1). 이는 맹<sup>(20)</sup>이 보고한 숙지황 용매 분획물 중 수용성 분획물은 4-NQO와 MMC로 유도된 *S. typhimurium* TA100의 돌연변이 수를 감소시킨 보고와 유사한 반면, MNNG의 돌연변이원성에 대한 효과는 상반되므로 향후 이에 관한 연구가 뒤따라야 할 것이다. 에틸아세테이트 분획물은 AFB<sub>1</sub>의 변이원성을 13.5% 상승시켰고 부탄올 분획물은 AFB<sub>1</sub>의 경우 5%, B(a)P의 경우 6.5% 변이원성 상승효과를 나타내어 숙지황 물 추출물에는 간접변이원성을 상승 및 억제 시키는 성분이 혼재되어 있는 것으로 판단되었다. 천연물에 존재하는 후라보노이드계 성분은 AFB<sub>1</sub> 및 E(a)P의 대사 활성을 촉진 또는 억제 시키며, 특히 flavone, tangeritin, nobiletin, 7,8-benzoflavone은 AFB<sub>1</sub>으로 유도되는 revertants를 크게 증가시키며<sup>(21)</sup>, Waters 등<sup>(22)</sup>은 식물색소인 알카로이드, 후라보노이드 및 카로티노이드계 성분들이 간접변이원의 대사활성효소인 cytochrome P-450을 활성화시킴으로써 AFB<sub>1</sub>의 변이원성이 상승됨을 보고하였다.

이러한 결과들을 유추해 볼 때 AFB<sub>1</sub>의 변이원성을 상승시킨 물질은 용매분획 과정 중 부탄올과 에틸아세테이트 층으로 대부분 전이된 색소성분일 것으로 생각된다.

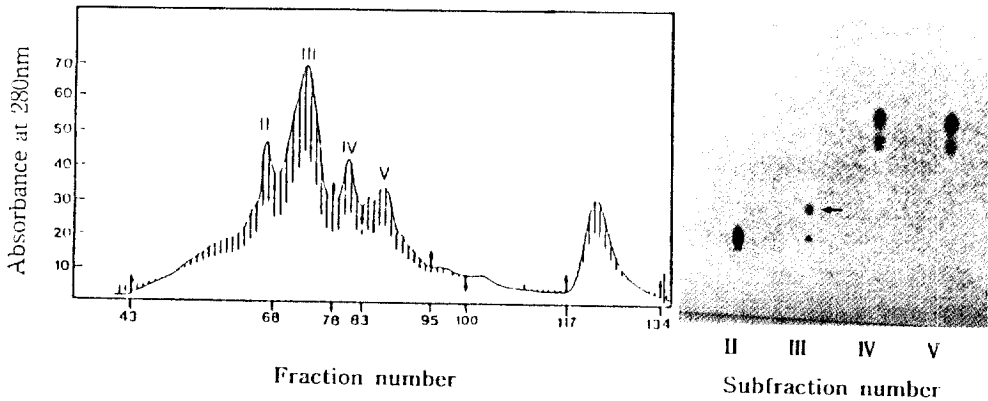


Fig. 2. Chromatography and TLC patterns of the subfractions separated by sephadex LH-20 column chromatography.

칼럼크로마토그래피에 의한 분획물 및 fraction III의 돌연변이원성 억제효과

수용성 분획물중에 함유된 돌연변이원성 억제물질을 분리, 정제할 목적으로 칼럼크로마토그래피를 행하여 9개의 subfraction을 얻었으며(Fig. 2). 이에 대한 각각의 억제효과를 시험한 결과 fraction III가 4-NQO, MNNG, MMC, AFB<sub>1</sub>, 및 B(a)P로 유도된 돌연변이원성에 대하여 가장 강한 억제효과를 나타내어 fraction III를 활성 fraction으로 최종 선발하였다(Fig. 3). 그러나 fraction I, II는 MNNG로 유도된 돌연변이에 대하여 2~4%의 상승효과를 나타내었고 fraction IX도 AFB<sub>1</sub>으로 유도된 돌연변이원성을 4% 상승시켰다. 따라서 MNNG에 대하여 co-mutagenic effect를 나타낸 성분은 비교적 고분자인 반면 AFB<sub>1</sub>의 변이원성을 상승시키는 물질은 저분자 물질일 가능성이 시사되었다.

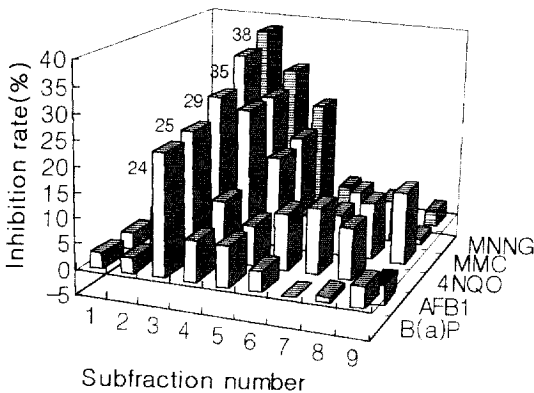


Fig. 3. Inhibitory effects of each subfractions separated by sephadex LH-20 column chromatography from aqueous fraction of *Rehmannia glutinosa* on the mutagenicity of 5 model mutagens in *E. coli* PQ37.

돌연변이 억제효과가 확인된 fraction III의 용량반응(dose response) 활성 관계를 시험한 결과는 Fig. 4와 같다. Fraction III의 농도를 assay당 10, 50, 100, 200, 400, 800  $\mu\text{g}$ 으로 증가시켰을 때 400  $\mu\text{g}/\text{assay}$  농도까지는 직접변이원(4-NQO, MNNG, MMC)으로 유도된 돌연변이원성 억제효과가 뚜렷하게 증가되었으나, 그 이상의 농도에서는 증가효과가 두드러지게 나타나지 않았다. 따라서 400  $\mu\text{g}/\text{assay}$  농도에서 변이원성 억제 시험을 수행하였으며 그 결과 fraction III은 4-NQO,

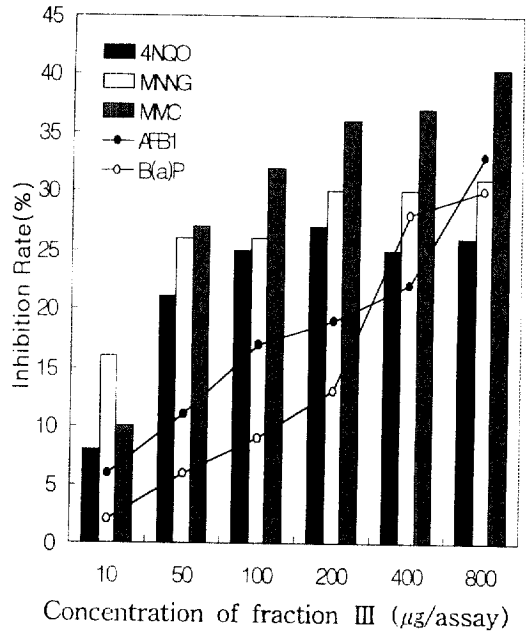


Fig. 4. Inhibitory effects of the fraction III obtained from aqueous fraction of *Rehmannia glutinosa* on the mutagenicity of 5 model mutagens in *E. coli* PQ 37.

MNNG, MMC, AFB<sub>1</sub>, 및 B(a)P로 유도된 돌연변이원성에 대하여 각각 29%, 38%, 35%, 25%, 24% 억제효과를 나타내었다. 그러나 변이원성 억제 효과와 동반하여 alkaline phosphatase 활성도 증가되었는데(자료 미제시) 이는 세포내 항돌연변이 효과로 인하여 생존력이 증가되었을 가능성과 동시에 고농도에서도 세포독성을 나타내지 않음을 시사하는 것이다. 억제활성이 다른 subfraction과 비교하여 상대적으로 높은 fraction II (43-68), III (69-78), IV (79-83), V (84-95) 대상으로 TLC를 수행한 결과 각 lane상에서 각각의 spot가 확인되었다(Fig. 2). 따라서 각 분획물에는 돌연변이원성 억제성분이 혼재되어 있으며, fraction III lane 상에 표시된 spot에 함유된 성분이 강한 억제활성을 나타내는 것으로 추정되었다.

Fraction III의 세포내 항돌연변이원성

5종의 변이원에 대해 fraction III는 강한 돌연변이원성 억제 효과와 함께 뚜렷한 용량반응의 억제활성을 나타내었다. 그러나 맹<sup>(20)</sup>에 의하면 속지황 물 추출물의 용매분획물 중 활성분획인 수용성 분획물은 4-NQO의 변이원성을 강하게 억제한 반면 MNNG로 유도된 *S. typhimurium* TA100의 revertants는 증가시킨다고 보고하였다. 따라서 *S. typhimurium* TA100의 revertants assay를 이용하여 속지황 물 추출물의 억제효과를 검색한 결과 직접변이원의 경우 4-NQO의 변이원성을 가장 강하게 억제시켰다(Table 2). 또한 간접변이원의 경우에서도 억제활성효과가 강하게 나타났으나, AFB<sub>1</sub>의 경우 500 µg/assay의 농도에서 미미한 상승효과를 나타내어 200 µg/assay의 농도에서 실험을

**Table 2. Inhibitory effects of water extract of *Rehmannia glutinosa* on the mutagenicity induced by mutagens in *S. typhimurium* TA100**

Mutagens (conc./plate)	Sample (conc./plate)	Spontaneous	Revertants		Inhibition rate(%) <sup>1)</sup>
			sample (-)	sample (+)	
4-NQO (100 ng)	500 µg	126±3.0 <sup>2)</sup>	1284±15.0	946±11.0	29
MNNG (200 ng)	500 µg	138±4.0	880±8.0	894±10.0	-14 <sup>3)</sup>
MMC (30 ng)	500 µg	536±8.0	2023±20.0	1946±18.0	5
AFB <sub>1</sub> (100 ng)	200 µg	140±3.0	1536±36.0	1147±28.0	28
B(a)P (10 µg)	500 µg	128±2.0	917±3.6	607±6.3	39

<sup>1)</sup>Mean ± S.D of the 3 plates.

<sup>2,3)</sup>The symbol (+) and (-) indicate inhibitory and activated effect, respectively.

**Table 3. Bio-antimutagenic effect of the fraction III separated by sephadex LH-20 of aqueous fraction from *Rehmannia glutinosa* on the mutagenicity of 4-nitroquinoline 1-oxide and aflatoxin B<sub>1</sub> in *E. coli* PQ37**

Mutagen	Experiment	β-gal <sup>1)</sup> (unit)	Ap <sup>2)</sup> (unit)	Ratio	Induction factor	Inhibition rate (%)
4-NQO	- negative control	1.53	17.00	0.09	1.00	
	+ positive control	8.20	13.73	0.59	6.52±0.08 <sup>3)</sup>	
	+ antimutagenic test <sup>4)</sup>	6.33	16.53	0.38	4.24 35	35 (33±1.8) <sup>5)</sup>
	- negative control	1.73	20.86	0.08	1.00	
	+ positive control	8.40	19.40	0.43	5.21±0.08	
	+ bio-antimutagenic test <sup>6)</sup>	7.06	22.06	0.32	3.85	54 (52±2.0)
AFB <sub>1</sub>	- negative control	2.26	15.06	0.15	1.00	
	+ positive control	11.06	14.00	0.79	5.25±0.01	
	+ antimutagenic test	11.46	17.46	0.65	4.36	17 (18±1.0)
	- negative control	2.40	19.93	0.12	1.00	
	+ positive control	12.00	20.00	0.60	4.90±0.08	
	+ bio-antimutagenic test	9.40	23.46	0.40	3.32	40 (40±0.3)

<sup>1)</sup>β-Galactosidase activity(units).

<sup>2)</sup>Alkaline phosphatase activity(units).

<sup>3)</sup>Mean ± S.D of 2 dependent assays.

<sup>4)</sup>The fraction III was added simultaneously to mutagen.

<sup>5)</sup>Mean ± S.D of triplicate experimentes.

<sup>6)</sup>For bio-antimutagenic test, 10 µL of mutagen was added to 5 mL of diluted culture and it was pre-incubated for 20 min. After centrifugation and resuspension, the fraction III was added, and the culture was reincubated for 2 hr.

The concentration of test sample was 400 µg/assay.

수행하였으며 이는 cytochrome P450에 의한 대사활성화 효소의 저해의 영향이 아님을 알 수 있었다. 간접변이원은 cytochrome P450에 의한 대사활성화로 산화되어져 변이원으로 작용하므로 간접변이원에 대한 항돌연변이원성은 세포내 및 세포외에서 변이원의 작용을 불활성화 시키는 작용 이외에도 변이원에 대한 cytochrome P450의 산화를 억제하는 영향을 고려해야 한다. 또한 S-9 분획 조제시 사용되는 유도물질에 따라 억제효과의 차이가 있을 수 있으나 직접변이원의 경우 대사활성화 없이도 돌연변이를 유발할 수 있기 때문에 직접변이원에 대한 항돌연변이원성은 세포내 및 세포외 항돌연변이원성을 정확하고 편리하게 평가할 수 있다. 따라서 직접변이원의 경우 두시험계에서 활성이 인정된 4-NQO와 간접변이원의 경우 활성화 효소의 저해 영향이 배제된 AFB<sub>1</sub>을 선별하여 세포내·외의 항돌연변이 효과를 검토하였다(Table 3). 그 결과 억제활성 용량반응에서 최저 농도인 400 µg/assay에서 4-NQO의 경우 세포외 항돌연변이 효과는 33±1.3%, 세포내 항돌연변이 효과는 52±2%를 나타내어 억제효과가 세포내에서 더 크게 나타났으며 AFB<sub>1</sub>의 변이원성에 대해서도 세포내에서 억제효과가 더 상승되었다. 따라서 숙지황에 존재하는 활성분획물은 세포외에서 변이원의 작용을 불활성화시키기 보다는 주로 세포내에서 DNA의 손상을 차단하거나 수복을 돕는 과정에 작용했을 것으로 생각되므로 1) 오류경향 SOS 수복저해, 2) 오류경향 SOS 수복 충실도 증가, 3) 제거, 재조합 및 부정합 수복과 같은 오류가 없는 DNA 수복의 증가, 4) 세포내 제거와 같은 개별적 또는 복합적 작용에 의한 것으로 설명될 수 있다<sup>6)</sup>.

따라서 이러한 억제 메카니즘에 관한 상세한 연구와 함께 활성물질의 분리 및 동정을 위한 연구를 수행중에 있다.

## 요 약

숙지황 물 추출물의 항돌연변이 활성을 4-nitroquinoline 1-oxide (4-NQO), N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine (MNNG), mitomycin C (MMC), aflatoxin B<sub>1</sub> (AFB<sub>1</sub>), benzo(a)pyrene [B(a)P]의 변이원성에 대하여 SOS Chromotest로 조사하였다. 숙지황 물 추출물을 메탄올 가용성 부분과 불용성 부분으로 분리하여 시험한 결과 5종 변이원의 활성에 대하여 메탄올 가용성 분획은 불용성 분획 보다 강한 억제효과를 나타내었다. 따라서 메탄올 가용성 분획을 에틸아세테이트, 부탄올, 물 분획 순으로 순차용매 분리하였고 그 분획물

중, 물 분획이 5종 변이원의 돌연변이원성에 대하여 가장 강한 억제효과(4.5~29.5%)를 나타내었고, 에틸아세테이트 분획은 AFB<sub>1</sub>의 변이원성을 촉진하였다. Sephadex LH-20 column chromatography를 이용하여 물 분획을 정제하여 9 분획을 얻었으며, 이들 중 fraction III가 시험한 5종의 변이원으로 각각 유도된 변이원성에 대하여 용량반응의 억제효과와 함께 가장 강한 억제활성을 나타내었다. 400 µg/assay 농도의 Fraction III는 4-NQO, MNNG, MMC, AFB<sub>1</sub> 및 B(a)P의 돌연변이원성에 대하여 각각 29, 35, 38, 25, 24% 억제효과를 나타내었다. Fraction III는 4-NQO, AFB<sub>1</sub>의 변이원성에 대하여 40% 이상의 강한 세포내 항돌연변이원성을 나타내었다.

## 감사의 글

본 연구는 1997년도 원광대학교 교내연구비로 이루어졌으며, 연구비 지원에 감사드립니다. *E. coli* PQ37를 제공해주신 P. Quillardet, 박사(Pasteur 연구소, France)와 *S. typhimrium* TA100을 제공해 주신 B.N. Ames 박사(California 대학, U.S.A.)에게 감사를 드립니다.

## 문 헌

- Zhang, Y.S., Chen, X.R. and Yu, Y.N.: Antimutagenic effect of garlic (*Allium sativum* L.) on 4NQO-induced mutagenesis in *Escherichia coli* WP2. *Mutation Res.*, **227**, 215 (1989)
- Nakamura, H., and Yamamoto, T.: Mutagen and antimutagen in ginger, *Zingiber officinal*. *Mutation Res.*, **103**, 119 (1982)
- Kakinuma, K., Koike, J., Kotani K., Ikegawa, N., Kada, T. and Nomoto, M.: Cinnamaldehyde: identification of antimutagen from a crude drug, cinnamon cortex. *Agric. Biol. Chem.*, **48**, 1905 (1984)
- Wall, M.E., Wani, M.C., Manikumar, G., Hughes, T.J Taylor, H., Mcgivney, R. and Waner, J.: Plant antimutagenic agents, 3. coumarins. *J. Nat. Prod.*, **51**, 1148 (1988)
- Vinitketkumnuen, U., Puatanachokchai, R., Kongtawelert, P., Nertprasertsuke, L., Matsushima, T.: Antimutagenicity of lemon grass (*Cymbopogon citratus* Stapf) to various known mutagens in Salmonella mutation assay. *Mutation Res.*, **341**, 71 (1994)
- Choi, K.P.: Studies on the antimutagenic and anticancer effects of *Portulaca oleracea* L. extract (in Korean). M. S. Thesis, Kangwon Nat'l Univ., Seoul, Korea (1996)
- Lee, S., Kwon, D.J., Yoo, J.Y. and Chung, D.Y.: Effect of mungwort extract on the *in vitro* mutagenicity, desmutagenicity (in Korean). *Kor. J. Appl. Microbiol. Biotechnol.*, **24**, 105 (1996)
- Ohta, T., Watanabe, K., Moriya, M. and Shirasu, Y.: An-

- timutagenic effects of cinnamaldehyde on chemical mutagenesis in *Escherichia coli*. *Mutation Res.*, **107**, 219 (1983)
9. Ohta, T., Watanabe, M., Shirasu, Y. and Inoue, T.: Post-replication repair and recombination in *uvrA umuC* strains of *Escherichia coli* are enhanced by vanillin, an antimutagenic compound. *Mutation Res.*, **201**, 107 (1982)
  10. Song, G.S., Han, S.B. and Choi, D.S.: The mechanism of antimutagenic effect of cinnamaldehyde on chemical mutagenesis (in Korean). *Korean J. Food & Nutr.*, **10**, 407 (1997)
  11. Kuroda, Y. and Inoue, T.: Antimutagenesis by factors affecting DNA repair in bacteria. *Mutation Res.*, **202**, 387 (1988)
  12. Song, G.S., An, B.Y., Maeng, I.K., Kwon, Y.J., Han, S. B. and Choi, D.S.: Antimutagenicity screening of water extracts from chinese herbs with SOS chromotest with several direct mutagens. *Foods and Biotech.*, **6**, 214 (1977)
  13. Song, G.S., An, B.Y., Lee, G.S., Maeng, I.K. and Choi, D.S.: Effect of hot water extracts from medicinal plants on the mutagenicity of indirect mutagens (in Korean). *Korean J. Food. Sci. Technol.*, **29**, 1288 (1997)
  14. 이경순: 생약 한약재 품질 표준화 연구 보고서. 보건복지부 보고서, p.99 (1996)
  15. Chun, J.C., Kim, S.E. and Ma, S.Y.: Inactivation of paraquat by aqueous extract of *Rehmannia glutinosa*. *Pestic. Sci.* **50**, 5 (1997)
  16. Ong, T.M., Mukhtar, M., Wolf, C.R. and Zeiger, E.: Differential effects of cytochrome P450-inducers on promutagen activation capabilities and enzymatic activities of S-9 from rat liver. *J. Environ. Pathol. Toxicol.*, **4**, 55 (1980)
  17. Quillardet, P. and Hofnung, M.: The SOS Chromotest, a colorimetric bacterial assay for genotoxins: procedures. *Mutation Res.*, **147**, 65 (1985)
  18. Maron, D.M. and Ames, B.N.: Revised methods for the Salmonella mutagenicity test. *Mutation Res.*, **113**, 173 (1983)
  19. Sato T., Chikuzawa K., Yamamori H., Ose Y., Nagase H., and Kito H.: Evaluation of SOS Chromotest for the detection of antimutagens. *Environ. Mol. Mutagenesis*, **17**, 258 (1991)
  20. Maeng, I.K.: Antimutagenic effects of korean medicinal plants on the mutagenesis induced by direct acting mutagens (in Korean). *M.S. Thesis*, Chonbuk Nat'l Univ., Seoul, Korea (1997)
  21. Buening, M.K., Chang, R.L., Huang, M.T., Fortner, J.G., Wood, A.W. and Conney, A.H.: Activation and inhibition of B(a)P and AFB<sub>1</sub> metabolism in human liver microsomes by naturally occurring flavonoids. *Cancer Res.*, **41**, 67 (1981)
  22. Waters, M.D., Brady, A.L., Stack, H.F. and Brockman, H.E.: Antimutagenicity profiles for some compounds. *Mutation Res.*, **238**, 59 (1990)

---

(1997년 8월 14일 접수)