

Artemisia속 식물들의 항돌연변이 효과

박건영¹, 하정옥¹, 유영범², 이종호², 박종철^{3*}

¹부산대학교 식품영양학과, ²경상대학교 식품영양학과, ³순천대학교 한약자원학과

Antimutagenic Effect of Some *Artemisia* Species

Kun Young Park¹, Jung Ok Ha¹, Young Beob Yu², Jong Ho Lee²
and Jong Cheol Park^{3*}

¹Department of Food Science and Nutrition, Pusan National University, Pusan, 609-735, Korea;

²Department of Food and Nutrition, Kyeongsang National University, Jinju 600-701, Korea; and

³Department of Oriental Medicine Resources, Suncheon National University, Suncheon
540-742, Korea

Abstract - The extracts of aerial parts of *Artemisia princeps* var. *orientalis*, *A. argyi*, *A. capillaris*, *A. rubripes* and *A. laciniata* were investigated on the antimutagenic effect against aflatoxin B₁ (AFB₁). The methanolic extracts of 5 *Artemisia* species reduced the mutagenicity of AFB₁. And also 4,5-O-dicaffeoylquinic acid isolated from *A. princeps* var. *orientalis* revealed the antimutagenic activity.

Key words - antimutagenic: *Artemisia princeps* var. *orientalis*; *A. argyi*; *A. capillaris*; *A. rubripes*; *A. laciniata*, 4,5-O-dicaffeoylquinic acid.

최근 우리나라의 암발생율은 과거에 비해 급격히 증가하고 있으며, 또한 산업이 발달되고, 소득수준이 높아지면서 식습관이 점차 서구화되어 단백질 및 지질이 풍부한 식이로 전환됨에 따라 암을 비롯한 여러가지 성인병 발생이 증가되고 있다. 암 발생에 있어서 식품은 발암 물질의 운반자 또는 발암 전구 물질을 발암 물질로 변하게 하거나 발암성을 돕기도 하고, 세포를 발암물질에 민감하도록 유도하는 등 생체 방어기전의 기능을 떨어뜨리는데 관여하기도 한다. 또 어떤 영양소는 항발암적인 역할로 발암 전구물질의 최종 발암원으로서의 전환억제, 발암물질의 불활성화 또는 표적장기의 세포내의 DNA에 결합되는 과정을 저해하여 직접적으로 DNA의 손상을 막거나, 감소시키기도 한다.^{1,2)} 과일, 채소, 곡류등의 식품은 이 과정에서 발암물질의 독성을 억제한다고

알려져 있으며³⁾ 이와 관련하여 저자 등은 식품을 이용한 항돌연변이 활성연구를 계속하고 있다.^{4,5)} 식품이면서 약용식물인 쑥은 한국을 비롯하여 중국, 일본과 유럽지역 등에 분포되어 있는 국화과에 속하는 번식력이 강한 다년생 초본이다. 나물, 국등 식품으로 다양하게 이용되고 있으며 민간요법 및 한약으로서도 복통, 토사, 자궁출혈, 만성기관지염⁶⁾ 등에 약용하는 식물이다. 쑥을 비롯한 5종의 *Artemisia* 속 식물과 쑥에서 분리한 phenylpropanoid화합물에 대한 항돌연변이 억제효과를 *in vitro*에서 *Salmonella typhimurium* TA 100 균주를 이용하여 관찰하였다.

재료 및 방법

식물 재료 - 쑥(*Artemisia princeps* var. *orientalis*)은 1993년 4월 전남 승주군 서면에서, 황해쑥

*교신저자 : Fax 0661-52-8551

(*A. argyi*), 사철쭉(*A. capillaris*), 덩불쭉(*A. rubripes*), 구와쭉(*A. laciniata*)의 지상부를 1993년 8월 중국 백두산 근교에서 채집하여 감별후 음건, 세절하여 사용하였다. 이 식물들의 표본은 순천대 한약자원학과 표본실에 보관중이다.

시약 및 기기-용매는 특급 및 1급 시약을, column chromatography 용 silica gel 은 kiesel gel 60(70-230 mesh, Merck, No.7734), NMR spectrum은 Bruker AM 200 spectrometer로서 DMSO-d₆ 용매를 사용하여 측정하였다.

추출 및 분리-음건 세절한 5종의 *Artemisia*속 식물 지상부 각 5g에 MeOH 100 ml, 쭉에 80% acetone 100 ml을 가하여 수욕상에서 3시간동안 환류 냉각하면서 추출하여 엑스를 얻었다. 쭉의 분획과 성분분리를 위해 1.5 kg의 쭉 지상부를 MeOH로 추출하여 농축한 후 10% MeOH 로 녹여 잔사를 제거한 후 용매의 극성을 증가시킨 계통 분획법에 의해 Hexane, CHCl₃, EtOAc, n-BuOH 및 H₂O 분획분을 얻었다. 이중 EtOAc 분획분을 silica gel column chromatography로서 CHCl₃-MeOH-H₂O (5:1:1, 하층), CHCl₃-MeOH-H₂O (25:8:5, 하층) 및 CHCl₃-MeOH-H₂O (65:35:10, 하층) 용출 용매로 화합물 1 및 2를 분리하였다.

화합물 1-¹H-NMR (DMSO-d₆) δ: 7.82(1H, d, J=16.1Hz, H-3), 7.56(1H, d, J=8.0 & 1.5Hz, H-9), 7.21(1H, td, J=8.0 & 8.0 & 1.5Hz, H-8), 6.89(1H, td, J=8.0 & 8.0 & 1.5Hz, H-7), 6.79(1H, d, J=8.0 & 1.5Hz, H-6), 6.51(1H, d, J=16.1Hz, H-2); ¹³C-NMR (DMSO-d₆) δ: 168.2(C-1), 156.7(C-5), 139.6(C-3), 131.5(C-7), 128.9(C-9), 120.9(C-4), 119.4(C-8), 118.3(C-2), 116.2(C-6)

화합물 2-¹H-NMR (DMSO-d₆) δ: 7.46(1H, d, J=15.7Hz, H-7''), 7.41(1H, d, J=15.7Hz, H-7'), 6.99(2H, s, H-2'' & 2'), 6.95(2H, d, J=8.2Hz, H-6'' & 6'), 6.72(1H, d, J=8.0Hz, H-5''), 6.71(1H, d, J=8.0Hz, H-5'), 6.20(1H, d, J=15.7, H-8''), 6.14(1H, d, J=15.7, H-8'), 5.52(1H, m, H-3), 4.93(1H, m, H-4), 4.19(1H, bs, H-5)

돌연변이 유발물질-Aflatoxin B₁(AFB₁)은 Sigma 회사 (St. Louis, Mo, USA)에서 구입하여 DMSO (Aldrich chemical Co., USA) 녹여 사용하였다.

항돌연변이 효과-실험에 사용한 TA100 균주는 *Salmonella typhimurium* LT-2로부터 유래한 histidine 요구주로서, 유전형질 확인시험은 histidine 요구성, deep rough (*rfa*) 돌연변이, *uvrB* 돌연변이, R-factor를 다음과 같이 확인하였다. *his/bio* plate에서만 생존함을 확인하였고, 세포벽의 lipopolysaccharide가 부분적으로 결핍되어 돌연변이 물질이 세포벽을 용이하게 통과하는 deep rough(*rfa*) 돌연변이는 Nutrient agar plate를 이용해 cristal violet solution을 적신 paper disk의 clear zone(14 mm)을 확인하였다. DNA excision repair system의 gene을 결손한 *uvrB* 돌연변이는 Nutrient agar plate에서 15 W의 UV lamp로 33 cm거리에서 8초간 조사하여 생육유무를 확인하였으며, ampicillin에 내성을 나타내는 pKM101 plasmid를 가지는 균주 특성은 ampicilline plate에서 생육을 확인하였다. 간접 돌연변이원 (AFB₁)을 활성화시키기 위하여 Ames의 방법⁷⁾에 따라 S9 mixture를 첨가하였다. S9 mixture는 쥐의 간으로부터 얻은 S9 fraction 10%에 MgCl-KCl salts (2%), 1M glucose-6-phosphate (0.5%), 1M NADP (4%), 0.2M phosphate buffer (pH 7.4) 및 멸균수를 혼합하여 S9 mixture를 조제하였다. 항돌연변이 실험은 preincubation mutagenicity test⁸⁾를 이용하였다. 미리 건열 멸균시킨 glass cap tube 에 S9 mix 0.5 ml, 하룻밤 배양된 균주 (1²×10⁹ cells/ml) 0.1 ml와 돌연변이 유발물질 50 μl, 시료 50 μl(용매:DMSO)를 ice bath에 담긴 cap tube에 넣어 vortex하고 37 °C에서 30분간 예비 배양하였다. 45 °C의 top agar 2 ml씩을 각 tube에 붓고 3초간 vortex하여 minimal glucose agar plate에 도말하고 37 °C에서 48시간 배양한 후 revertant 숫자를 계수하였다. 시료중 추출물 및 분획물은 각 plate당 1.25 mg, 2.5 mg을, 화합물은 0.1 mg, 1.0 mg을 DMSO 50 μl에 녹여 항돌연변이 실험에 사용하였다. 실험에 사용된 시료와 돌연변이 유발물질의 농도는 예비실험(dose reponse 및 독

Table I. Effect of extract of *Artemisia* species on the mutagenicity induced by aflatoxin B₁ (AFB₁, 1 µg/plate) in *Salmonella typhimurium* TA 100

Korean name	Scientific name	Extract	Dose (mg/plate)	Revertants/plate	Inhibition rate (%)
		Spontaneous		130±10 ^a	
		AFB ₁		505±6	
쑥	<i>A. princeps</i> var. <i>orientalis</i>	methanol	1.25	278±2	61
			2.5	217±12	77
쑥	<i>A. princeps</i> var. <i>orientalis</i>	80% acetone	1.25	309±26	52
			2.5	220±10	76
황해쑥	<i>A. argyi</i>	methanol	1.25	295±15	56
			2.5	250±16	68
사철쑥	<i>A. capillaris</i>	methanol	1.25	237±3	71
			2.5	176±32	88
덤불쑥	<i>A. rubripes</i>	methanol	1.25	207±6	79
			2.5	163±16	91
구와쑥	<i>A. laciniata</i>	methanol	1.25	240±28	71
			2.5	191±38	84

^aThe values are mean±S.D. of three replications.

Table II. Effect of fraction of *Artemisia princeps* var. *orientalis* on the mutagenicity induced by aflatoxin B₁ (AFB₁, 1 µg/plate) in *Salmonella typhimurium* TA 100

Fraction	Dose (mg/plate)	Revertants/plate	Inhibition rate (%)
Spontaneous		130±10 ^a	
AFB ₁		505±6	
Hexane fr.	1.25	327±26	47
	2.5	223±42	75
CHCl ₃ fr.	1.25	239±9	71
	2.5	249±28	68
EtOAc fr.	1.25	258±7	66
	2.5	265±1	64
BuOH fr.	1.25	292±8	57
	2.5	207±18	79

^aThe values are mean±S.D. of three replications.

성실험)을 통하여 결정하였으며 사용된 추출물의 농도에서는 시험균에 대해 독성을 전혀 나타내지 않았다.

결과 및 고찰

간접 돌연변이물질로 사용된 AFB₁ 은 *Aspergillus flavus*와 *A. parasiticus*에 의해 생성되는 제2차 대사산물로 잠재적인 hepatotoxin으로 강한 발암성을 가진 물질이며 liver mixed-func-

tion oxygenase와 연관된 효소에 의해 활성형으로 전환된다.⁹⁾ 저자 등은 쑥에는 항돌연변이효과를 나타내는 휘발성 향기성분을 보고한바 있다.¹⁰⁾ 이에 관한 연구의 일환으로서 쑥, 황해쑥, 사철쑥, 덩불쑥, 구와쑥의 5종 *Artemisia*속 식물을 채집하여 추출물에 대한 AFB₁에 대한 항돌연변이 효과를 관찰하였다. 쑥 및 황해쑥의 전초는 애엽이라하여 한방에서 통경, 지혈, 지통 등의 작용으로 약용하며,⁶⁾ 茵陳蒿로서 이담, 소염이뇨 등에 사용되는 사철쑥은 일본에서 사용되고, 우리나라에서는 같은 목적으로 더위지기(*A. iwayomogi*)를 약용하고 있다.¹¹⁾ 덩불쑥은 1.25 mg/plate에서 79%, 2.5 mg/plate에서는 91%의 강력한 활성이, 백두산 특산식물인 구와쑥은 2.5 mg/plate에서 84%의 억제율을 나타내었다. 사철쑥은 1.25 mg/plate에서 71%, 2.5 mg/plate에서는 88%의 높은 저해효과를 나타내었다. 나머지 *Artemisia*속 식물의 methanol 추출물도 유사한 정도의 효과가 관찰되며, 쑥의 탄닌화합물 연구를 위해 추출한 80% acetone 추출물도 2.5 mg/plate에서 76%의 저해활성을 나타내었다 (Table I). 따라서 *Artemisia*속 식물 대부분은 AFB₁에 항돌연변이 효과가 있음을 알수 있다. 쑥에서 활성물질 연구를 위해 쑥 MeOH 추출물을 계통분획하여 hexane, CHCl₃, EtOAc 및 n-BuOH 가 용부로 분획하였다. 각 분획물에서 항돌연변이 효과

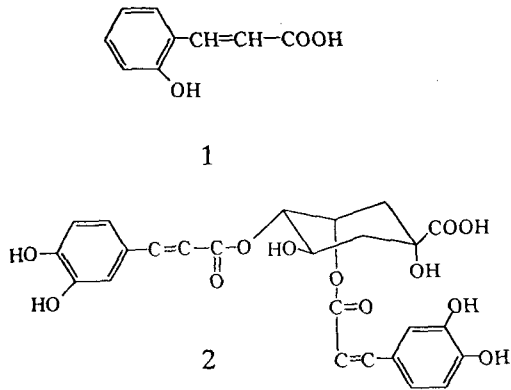


Fig. 1. Structures of *o*-coumaric acid(1) and 4,5-O-dicaffeoylquinic acid(2).

Table III. Effect of compounds isolated from *Artemisia princeps* var. *orientalis* on the mutagenicity induced by aflatoxin B₁ (AFB₁, 1.5 µg/plate) in *Salmonella typhimurium* TA100

Compound	Dose (mg/plate)	Revertants/plate	Inhibition rate (%)
Spontaneous		110 ± 1 ^a	
AFB ₁		1219 ± 71	
<i>o</i> -coumaric acid	0.5	863 ± 41	32
	1.0	838 ± 6	34
4,5-O-dicaffeoylquinic acid	0.5	632 ± 15	54
	1.0	389 ± 82	75

^aThe values are mean ± S.D. of three replications.

는 관찰되며, 2.5 mg/plate 농도에서 hexane 분획물이 75%, CHCl₃ 분획물 68%, EtOAc 64%, n-BuOH 분획물은 79%의 억제효과가 나타났다 (Table II). 각 분획물에서 거의 유사한 효과가 관찰되는 것은 추출물과 비슷한 농도를 사용했기 때문이라 사료된다. 그중 ethyl acetate 분획물을 silica gel column chromatography를 이용하여 2종의 화합물을 분리하였다. 화합물 1과 2는 이미 같은 식물에서 분리한 phenylpropanoid인 *o*-coumaric acid와 4,5-O-dicaffeoylquinic acid(DCQA)의 NMR data가 각각 일치하였다(Fig.1).¹²⁾ 이들 화합물들의 활성실험에서는 DCQA는 0.5 mg/plate에서 53%, 1.0 mg/plate에서는 75%의 저해효과를 나타내었다(Table III). 식용 및 약용으로 많이 사용되는 쑥은 독특한 향기와 맛으로 인해 떡류와 쑥국, 쑥나물등으로 이용하거나 튀김용, 떡무늬

용, 쑥색갈용, 쑥냄새용 등의 식품첨가물로 사용하는 등 여러가지 형태의 식품으로 이용되고 있다. 그리고 유럽에서는 알코올음료와 비알코올음료를 제조하는 등 음료 생산에도 이용되고 있으며,¹³⁾ 민간요법 및 한약의 원료로서 복통, 토사, 자궁출혈, 만성간염, 만성기관지염, 천식등에 약효⁶⁾가 있는 것으로 알려져 있다. 따라서 우리나라에서 많은 소비량을 차지하는 식용 및 약용식물인 *Artemisia*속 식물의 항돌연변이 활성은 매우 흥미있는 결과라 사료되며, 생화학적인 항돌연변이 기작에 대한 지속적인 연구가 필요하다고 하겠다.

결 론

쑥(*Artemisia princeps* var. *orientalis*), 황해쑥(*A. argyi*), 사철쑥(*A. capillaris*), 덩불쑥(*A. rubripes*), 구와쑥(*A. laciniata*)등 5종의 *Artemisia*속 식물에 대해 AFB₁을 이용한 항돌연변이 효과를 검색한 결과, 덩불쑥의 MeOH 추출물이 1.25 mg/plate에서 79%, 2.5 mg/plate에서 91%의 강한 활성이 관찰되었으며 나머지 *Artemisia*속 식물들의 저해효과도 인정되었다. 쑥의 분획물중 n-BuOH 분획물이 비교적 강한 항돌연변이 효과가 나타났으며, 활성성분 연구를 위해 EtOAc 분획물에서 분리한 4,5-O-dicaffeoylquinic acid는 1.0 mg/plate에서 75%의 돌연변이 억제활성이 관찰되었다.

인용문헌

- Joossen, J. V. and Kestelcote, H. (1988) Salts and stomach cancer. In Reed, P. I. and Hill, M. J. (eds.), Gastric carcinogenesis, 105-118. Elsevier Science Publishers, Amsterdam.
- Micozzi, M. S. and Tangrea, J. A. (1989) General introduction: Rationale for the nutritional prevention of cancer. In Moon, T. E. and Micozzi, M. S. (eds.), Nutrition and cancer prevention, 3-12. Marcel Dekker, Inc., New York.
- Wattenberg, L. W. (1985) Chemoprevention of cancer. *Cancer Res.* 45: 1-8.
- Lee, K. I., Park, K. Y. and Rhee, S. H. (1992) Antimutagenic effect of green-yellow vegetables toward aflatoxin B₁ and 4-nitro-

- quinoline-1-oxide. *J. Korean Soc. Food Nutr.* 21: 143-147.
5. Lee, K. I., Rhee, S. H., Kim, J. O., Chung, H. Y. and Park, K. Y. (1993) Antimutagenic and antioxidative effects of Perilla leaf extracts. *J. Korean Soc. Food Nutr.* 22: 175-180.
 6. Kim, J. K. (1984) Illustrated natural drugs encyclopedia. 244 Namsandang, Seoul.
 7. Ames, B. N., McCann, J. and Yamasaki, E. (1975) Methods for detecting carcinogens and mutagens with the Salmonella mammalian-microsome mutagenicity test. *Mutat. Res.* 31: 347-369.
 8. Matsushima, T., Sugimura, T., Nagao, M., Yahagi, T., Shirai, A. and Sawamura, M. (1980) Factors modulating mutagenicity in microbial test. In Norphth, K. H. and Garner, R. C. (eds.), Short-terms for detecting carcinogens. 273-285, Springer, Berlin.
 9. Lawson, T., Nunnally, J., Walker, B., Bresnick, E., Wheeler, D. and Wheeler, M. (1989) Isolation of compounds with antimutagenic activity from Savoy Chieftain cabbage. *J. Agric. Food Chem.* 37:1363-1369.
 10. Yook, C. S. (1989) Coloured medicinal plants of Korea. 524. Academic press, Seoul.
 11. Kim, J. O., Kim, Y. S., Lee, J. H., Kim, M. N., Rhee, S. H., Moon, S. H. and Park, K. Y. (1992) Antimutagenic effect of the major volatile compounds identified from Mugwort leaves. *J. Korean Soc. Food Nutr.* 21: 308-313.
 12. Park, J. C., Young, H. S., Yu, Y. B. and Lee, J. H. (1994) Isolation of phenylpropanoids from the herb of *Artemisia princeps* var. *orientalis*. *Kor. J. Phrmacogn.* 25: 70-72.
 13. Bicchi, C., D'Amato, A., Nano, G. M. and Frat-tine, C. (1984) Capillary GLC controls of some Alpine *Artemisia* and of the related liqueurs. *Chromatographia* 18: 560-564.

(1996년 3월 27일 접수)