

각종 변이원에 대한 쇠비름 추출물의 돌연변이 억제 효과

최근표 · 정성원 · 김은정 · 함승시

강원대학교 생명공학부

Inhibitory Effects of *Poturaca oleracea* L. Extract on the Mutagenicity of Various Mutagen

Kun-Pyo Choi, Seung-Won Jung, Eun-Jeong Kim, and Seung-Shi Ham

Division of Food and Biotechnology, Kangwon National University,

Chunchon 200-701, Korea

ABSTRACT

This study was performed to determine the effects of antimutagenicity of *Poturaca oleracea* L. in Korea. In Ames test, the ethanol extract of *Poturaca oleracea* L. inhibited mutagenic activity of N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine(MNNG), 4-nitroquinoline-1-oxide(4NQO), benzo(α)pyrene(B(α)P) and 3-amino-1,4-dimethyl-5H-pyrido-(4,3-b)indole (Trp-P-1) in *Salmonella typhimurium* TA98 and TA100. But hot-water extract *Poturaca oleracea* L. only inhibited mutagenic activity of MNNG in *Salmonella typhimurium* TA100. On 4NQO, the ethanol extract 100~1,600 μ g /plate of *Poturaca oleracea* L. showed a slight inhibitory effect of 13~48%, 4~47% in TA98 and TA100, respectively, but on MNNG, it showed higher inhibitory effect of 6~86% in TA100. And the treatment of 1,600 μ g /plate of ethanol extract of *Poturaca oleracea* L. had strong antimutagenicity with 74~87% inhibition against TA98 and TA100 induced by B(a)P and with 85~93% inhibition against TA98 and TA100 induced by Trp-P-1. The ethanol extract was fractionated with ether, chloroform, ethylacetate, butanol and water. Among them, most of the fraction except water fraction showed strong antimutagenicity effects against mutation induced by 4-NQO, MNNG, B(a)P and Trp-P-1. Chloroform fraction had strong antimutagenicity with 91% inhibition against TA100 induced by MNNG, diethyl etherfraction had strong antimutagenicity with 92%, 98% inhibition against TA98 and TA100 induced by 4NQO, Chloroform fraction had strong antimutagenicity with 97% inhibition against TA100 induced by B(a)P and diethyl etherfraction had strong antimutagenicity with 98% inhibition against both strain induced by Trp-P-1, respectively.

Key words: ames test, antimutagenicity, *Poturaca oleracea* L.

I. 서 론

쇠비름(*Portulaca oleracea* Linne)은 쇠비름과(Porulacaceac)의 한해살이 풀로서 돼지풀, 도둑풀, 말비름이라고 하며 생약명으로는 마치현(馬齒莧)이라고 불린다. 우리나라 전국 각지의 길이나 뚝, 야채밭, 빈터 등에 흔히 자라는 풀이다. 줄기는 원추형이고 가지가 많이 갈라지고 땅에 기어 15~30cm 높이로 자라며 5월에서 9월에 황색의 꽃이 피고 8월부터 종자가 익는다. 식용으로는 봄부터 여름까지 연한 순을 데쳐서 나물로 먹기도 하며, 동양의학인 한방과 민간의약에서는 전초를 중독, 사독, 해독, 종창, 촌충, 이질, 각기, 생목, 혈리, 편도선염, 이노제 등의 약재로 쓰인다¹⁾. 한편 서양의 문헌을 살펴보면 고대 이집트의 Pharaohs시대의 성서에도 언급되어 있으며²⁾ 인간의 의, 식, 주 중 먹는 육구를 해결하기 위하여 사용되어온 영양가가 풍부한 야채로 알려져 있다³⁾. 현재 지중해 지역, 중국, 동남아시아, 중앙 아프리카 및 필리핀 등지에서 셀러드나 과자의 재료로 사용되기도 한다⁴⁾. 쇠비름의 성분 관련 연구로는 1961년 처음 crude protein-free extract에서 다량의 noradrenaline이 포함되어 있다고 발표되었으며⁵⁾ 그밖에도 다량의 K-salt, wax류, dopamine, dopa, vitamine A, B₁, B₂, C, urea, tannin, saponine 등 많은 종류의 아미노산과 alkaloid, coumarin, flavonoid, anthraquinone glycoside, succinic acid, citric acid, glutamic acid, asparaginic acid, glucose, sucrose, fructose 등을 함유한다고 보고되어 있다⁶⁾. 최근에 쇠비름의 기능성을 확인하는 과정에서 쇠비름에는 omega-three fatty acid가 풍부하여 심장병이나 암의 질병을 낮추는데도 효과가 크다고 알려져 있다^{7,8)}. 한편 쇠비름에 많이 함유되어 있는 potassium은 혈압을 낮추는데도 기여한다고 한다⁹⁾. Mohamed¹⁰⁾ 등은 쇠비름의 성장기에 따른 영양 성분의 함량을 분석하였는데 단백질의 함량이 잎에 44.25g/100g(dry weight)이 포함되어 있다고 하였다. 이것으로 쇠비름은 영양적으로도 다른 식물에 비해 손색이 없음을 알 수 있다.

아울러 최근 유전물질의 손상으로 나타나는 발암원에 대한 관심이 높아지고 있으며 암의 치료제 개발 및 예방요법제 개발에 많은 연구가 진행되고 있다¹¹⁾. 암은 돌연변이원이나 발암원, 바이러스 그 이외의 각종 인자에 의해서 유발되어 promotion 및 progression 단계를 거쳐 악성 종양으로 이르게 되는데, 유전 인자로의 변화로 부터 악성 종양세포로의 발현은 일반적으로 오랜 시간이 요구되며¹²⁾ 또한 화학물질에 의해 유도되는 암은 DNA가 손상되어 비정상적인 염기가 형성된 후 복잡한 과정을 거쳐 나타난다고 알려지고 있다¹³⁾. 따라서 암은 돌연변이원을 규명하거나, 돌연변이물질들로부터 인체를 보호할 수 있는 방안을 강구함으로써 예방될 수 있다고 보기 때문에, 돌연변이원이나 발암원을 검색할 수 있는 시험법의 개발 및 이를 이용한 항돌연변이 물질의 검색에 관한 연구가 활발히 진행되고 있다^{14,15)}. 따라서 대부분의 발암물질들은 급성 독성이 아닌, 장기간에 걸친 축적과 생체내에서의 대사 활성화에 의해 돌연변이가 유발되기 때문에, 널리 이용되고 있는 식품이나 천연물로부터 돌연변이 또는 암의 유발에 억제작용을 나타내는 물질을 찾아내어, 암이나 유전물질의 손상을 예방하는 연구는 매우 의미 있는 일로 판단되고 있다¹⁶⁾.

이상과 같이 돌연변이 시험법에 대한 연구보고가 국내외에서 많이 나오고 있으며 산체류 추출물의 돌연변이원성 및 항돌연변이원성 효과에 대한 연구도 함¹⁷⁾, 이¹⁸⁾, 한¹⁹⁾, 이²⁰⁾ 등에 의해 많이 보고됨으로써 많은 관심의 대상이 되고 있다. 따라서 본 실험은 돌연변이 시험법으로 널리 알려진 Ames test를 이용하여 우리나라 전역에 널리 자라고 있으나 식품학적 가치가 그다지 높지 않은 쇠비름의 항돌연변이 활성을 검토하여 기능성 식품 자원으로서의 역할을 뒷받침하고자 한다. 쇠비름 추출물과 그 분획물을 제조하여 돌연변이원성 억제 활성을 검토하였으며 이로써 암해석의 기초자료를 얻을 수 있다고 본다.

II. 재료 및 방법

1. 재료 및 시약

본 실험에 사용한 쇠비름(*Portulaca oleracea* L.)

은 강원도 춘천시 근교에서 자생하는 것을 94년 8~9월 사이에 채취하였으며, 동결건조하여 분쇄한 후 -30°C 냉동고에 보관하면서 시료로 사용하였다. Nicotinamide adenine dinucleotide phosphate(NADP), glucose-6-phosphate(G-6-P)는 Sigma사의 것을, histidine, biotin은 일본 Kanto 회사의 것을 구입하여 사용하였고, 발암물질인 4-nitroquinoline-1-oxide(4NQO), N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine(MNNG), benzo(α)pyrene(B(α)P), 3-amino-1,4-dimethyl-5H-pyrido-(4,3-b)indol(Trp-P-1)은 Sigma사 제품 및 일본 和光純藥 특급시약을 사용하였고 그 외 시약도 특급품을 사용하였다. 한편 추출용매인 물은 이온교환수지를 통과시킨 증류수를, ethanol, diethyl ether, chloroform, ethylacetate, buthanol 등의 유기용매는 일급시약을 증류하여 사용하였다.

2. 쇠비름 추출물의 조제

강원도 춘천시 근교에서 자생하는 쇠비름을 Miki²¹⁾ 등의 방법에 따라 흐르는 수돗물로 잘 세척하고 증류수로 다시 세척한 후 동결건조기로 건조하였다. 추출에 적합하도록 세절 및 분쇄한 후 수직으로 환류냉각기를 부착시킨 플라스크에 시료의 중량에 대하여 10배의 에틸알코올을 가하여 45°C 수욕상에서 12시간 3회 추출하여 여과 농축하여 에탄올 추출물로 하였다. 그 후 종종 추출 검색한 시료들이 용매 선택에 따라서 위음성(false negative) 효과를 나타내는 경우가 있으므로 에탄올 추출물의 잔사를 건조하여 에탄올을 완전히 제거한 후 이온교환수지를 통과한 증류수를 가하여 3회 가열 추출하여 hot-water extract로 하였다.

3. 쇠비름 추출물의 분획

에탄올로 추출하여 얻은 농축물을 용매의 극성에 따라 분별분리를 행하여 diethyl ether, chloroform, ethylacetate, buthanol, aqueous 층으로 극성의 차이에 의해 다섯가지 분획으로 조제하였다. 분리된 각각의 용매 혼합물은 감압농축시켜 용매를 제거하여 농축물을 얻었다²¹⁾.

3. S-9의 조제

돌연변이 유발물질인 benzo(a)pyrene(B(a)P), 3-amino-1,4-dimethyl-5H-pyrido(4,3-b)indol(Trp-P-1)를 활성형으로 만들기 위해 체중이 200g되는 Sprague-Dawley rat(male)를 사용하여 S-9 fraction을 조제하였다. S-9 fraction은 Maron과 Ames 등²²⁾의 방법을 개량하여²³⁾ 조제하였다. 모든 실험조작은 이전에 발표된 것처럼²⁴⁾ $0\sim 4^{\circ}\text{C}$ 의 냉동실에서 무균적으로 행하였고 유도물질로는 phenobarbital(PB)과 5,6-benzoflavone(BF)을 사용하였다. S-9 mixture는 S-9 fraction 10%, $\text{MgCl}_2\cdot\text{KCl}$ salt 2%, 1M glucose-6-phosphate(G6P) 0.5%, 1M nicotin adenin dinucleotide(NADP) 4%, 0.2M phosphate buffer(pH 7.4) 및 멸균수를 혼합 조제하였다.

4. 돌연변이원성 및 항돌연변이원성 실험

Ames test를 개량한 preincubation법을²¹⁾ 이용하였으며 *Salmonella typhimurium* TA98과 TA100 균주를 사용에 앞서 원법²²⁾에서 제시한 방법에 따라 유전형질을 확인하였다. 쇠비름 추출물들의 항돌연변이원성을 확인하기 위해 추출물의 농도는 $32\text{mg}/\text{ml}$ 의 농도로 조제하여 2배 희석법으로 희석하여 사용하였으며, 변이원 물질의 농도는 4NQO의 경우 TA98에서는 $0.4\mu\text{g}/\text{plate}$, TA100에서는 $0.1\mu\text{g}/\text{plate}$ 를, MNNG의 경우 $0.45\mu\text{g}/\text{plate}$, Trp-P-1는 TA98에서는 $0.15\mu\text{g}/\text{plate}$, TA100에서는 $0.3\mu\text{g}/\text{plate}$ 를, B(α)P의 경우는 $10\mu\text{g}/\text{plate}$ 를 사용하였다. 항돌연변이 실험은 ice bath에 담긴 glass cap tube에 쇠비름추출물 시료 $50\mu\text{l}$, 돌연변이 유발물질 $50\mu\text{l}$, 대사 활성물질이 필요한 경우는 S-9 mix 0.25ml 씩 각각 첨가하고 여기에 하룻밤 배양한 배양균주($1\sim 2\times 10^9$ cell/ml)를 0.1ml 씩 주입한 후 0.2M phosphate buffer(pH 7.4)로 최종부피 0.7ml 가 되도록 하였다. 이것을 가볍게 vortex하여 잘 혼합한후 37°C 에서 48시간 배양한 후 생성된 revertant 수를 계측하여 항돌연변이성 유무를 판정하였다. 추출 시료와 변이원 물질의 농도는 예비실험을 통하여 결정하였으며 활성은 변이원 물질의 활성에 대한 시료의 억제율(inhibition %)로 나타내었으며

다음 식으로 산출하였다²²⁾.

$$\text{Inhibition (\%)} = \frac{M - S_1}{M - S_0} \times 100$$

이며 여기서 M은 돌연변이 물질만 존재한 경우의 복귀 돌연변이 수를 나타내며 S₁은 시료를 첨가하였을 때의 복귀 돌연변이 수를, S₀는 자연 복귀돌연변이(spontaneous revertant)수이다.

III. 결과 및 고찰

1. 쇠비름 에탄올 추출물의 항돌연변이원성

식품을 포함한 천연물의 항돌연변이원 검색시 먼저 시료의 돌연변이원성을 검토하는데 S-9의 microsomal activation에 의해서 돌연변이원성을 나타낼 수 있으므로 S-9계를 포함한 것과 포함하지 않은 것을 모두 실험하여 보았는데 본 실험에서 자료는 나타내지 않았지만, 쇠비름 에탄올 추출물을 포함한 실험군과 시료를 포함하지 않고 용매인 DMSO만 포함한 실험군과의 차이가 나타내지 않아 쇠비름 에탄올추출물의 돌연변이원성은 관찰되지 않았다.

Table 1은 3가지 양성변이원에 대한 쇠비름 에탄올추출물의 항돌연변이원성을 나타낸 결과이다. *Salmonella typhimurium* TA98에서 직접변이원인

Table 1. Effects of ethanol extract of *Porturaca oleracea* L. on the mutagenicity of 4NQO, B(α)P and Trp-P-1 *Salmonella typhimurium* TA98¹⁾

Concentration of ethanol extract in DMSO (μg /plate)	Revertants /plate ²⁾ (inhibition %) ³⁾		
	4NQO ⁴⁾	B(α)P	Trp-P-1
Spontaneous	142±10	132±12	128±9
Control	542±14	185±12	604±13
100	490±14(13)	161±14(31)	322±14(59)
200	479±18(15)	144±11(53)	286±14(67)
400	434±13(27)	120±12(84)	245±12(75)
800	458±12(21)	108±12(87)	175±19(90)
1,600	350±14(48)	108±14(87)	161±13(93)

1) Mutagenicity was tested with S-9 mix

2) Each value represents mean±SD of triplicate plates.

3) The percentage of inhibition of mutagenicity by *Porturaca oleracea* L. ethanol extract

4) 4NQO 0.4μg /plate, B(α)P 10μg /plate and Trp-P-1 0.15μg /plate

Table 2. Effects of ethanol extract of *Porturaca oleracea* L. on the mutagenicity of 4NQO, MNNG, B(α)P and Trp-P-1 *Salmonella typhimurium* TA100¹⁾

Concentration of ethanol extract in DMSO (μg /plate)	Revertants /plate ²⁾ (inhibition %) ³⁾			
	4NQO ⁴⁾	MNNG	B(α)P	Trp-P-1
Spontaneous	142±10	132±12	128±13	129±10
Control	1126±14	1119±12	553±13	457±13
100	1080±14(4)	1055±14(6)	331±14(52)	269±14(57)
200	1020±18(11)	608±11(51)	301±14(59)	337±14(37)
400	984±13(14)	371±12(75)	266±12(68)	250±12(63)
800	806±12(33)	320±12(80)	260±19(69)	202±19(78)
1,600	659±14(47)	262±14(86)	237±13(74)	178±13(85)

1) Mutagenicity was tested with S-9 mix

2) Each value represents mean±SD of triplicate plates.

3) The percentage of inhibition of mutagenicity by *Porturaca oleracea* L. ethanol extract

4) 4NQO 0.1μg /plate, MNNG 0.45μg /plate, B(α)P 10μg /plate and Trp-P-1 0.3μg /plate

Table 3. Effects of hot-water extract of *Porturaca oleracea* L. on the mutagenicity of 4NQO, B(α)P and Trp-P-1 *Salmonella typhimurium* TA98¹⁾

Concentration of hot-water extract in water (μg /plate)	Revertants /plate ²⁾ (inhibition%) ³⁾		
	4NQO ⁴⁾	B(a)P	Trp-P-1
Spontaneous	130 \pm 9	128 \pm 8	144 \pm 12
Control	599 \pm 14	189 \pm 10	603 \pm 13
100	568 \pm 12(7)	170 \pm 8(31)	598 \pm 18(1)
200	562 \pm 16(8)	168 \pm 11(34)	582 \pm 18(5)
400	542 \pm 18(12)	160 \pm 12(47)	584 \pm 22(4)
800	520 \pm 22(17)	158 \pm 6(50)	567 \pm 29(8)
1,600	506 \pm 10(20)	155 \pm 14(55)	540 \pm 13(14)

1) Mutagenicity was tested with S-9 mix

2) Each value represents mean \pm SD of triplicate plates.

3) The percentage of inhibition of mutagenicity by *Porturaca oleracea* L. hot-water extract

4) 4NQO 0.4 μg /plate, B(α)P 10 μg /plate and Trp-P-1 0.15 μg /plate

Table 4. Effects of hot-water extract of *Porturaca oleracea* L. on the mutagenicity of 4NQO, MNNG, B(α)P and Trp-P-1 *Salmonella typhimurium* TA100¹⁾

Concentration of hot-water extract in water (μg /plate)	Revertants /plate ²⁾ (inhibition%) ³⁾			
	4NQO ⁴⁾	MNNG	B(a)P	Trp-P-1
Spontaneous	122 \pm 11	133 \pm 12	138 \pm 12	119 \pm 11
Control	1128 \pm 34	1350 \pm 32	680 \pm 18	480 \pm 23
100	1102 \pm 24(3)	1200 \pm 34(12)	674 \pm 24(1)	440 \pm 14(11)
200	1042 \pm 28(9)	1140 \pm 21(17)	660 \pm 14(4)	438 \pm 20(12)
400	1080 \pm 33(5)	480 \pm 12(71)	568 \pm 12(1)	430 \pm 18(14)
800	1022 \pm 22(11)	363 \pm 14(81)	580 \pm 29(18)	412 \pm 18(19)
1,600	984 \pm 14(14)	220 \pm 10(93)	540 \pm 23(26)	410 \pm 14(19)

1) Mutagenicity was tested with S-9 mix

2) Each value represents mean \pm SD of triplicate plates.

3) The percentage of inhibition of mutagenicity by *Porturaca oleracea* L. hot-water extract

4) 4NQO 0.1 μg /plate, MNNG 0.45 μg /plate, B(α)P 10 μg /plate and Trp-P-1 0.3 μg /plate

4NQO에 대해서는 쇠비름 에탄올 추출물 1,600 μg /plate에서 48%의 낮은 억제효과를 나타내었으나 농도를 증가시키에 따라 농도 의존적인 것을 알 수 있었다. Table 2의 TA100의 경우도 TA98에서와 같이 낮은 억제효과를 나타내었다. 그러나 B(a)P과 Trp-P-1의 경우는 농도를 증가시키에 따라 역시 돌연변이 억제효과도 증가됨을 알 수 있었다. Table 2는 4가지 양성변이원에 대한 쇠비름 에탄올 추출물의 항돌연변이원성을 나타낸 결과이다. MNNG는 frame shift mutagen에 대해서 복귀돌연변이를 나타내는 TA98 실험계에는 변이원성을 나타내지 않으므로 TA100에서만 실험을 하였다. 쇠

비름 에탄올 추출물은 MNNG에 대하여 TA100에서 저농도에서는 다소 낮은 억제 활성을 나타내었으나 농도가 증가함에 따라 1,600 μg /plate에서 86%의 높은 억제 활성을 나타내었다. 이는 쇠비름 추출물이 강한 친핵성(nucleophilic character)으로 인하여 MNNG가 RNA, DNA의 결합을 방지하였거나 항산화제의 역할을 발휘하여 돌연변이물질의 산화적 활성화에 의한 친전자성(electrophiles)으로의 전환을 저지함으로써 일어난 결과라고 추론된다. 그리고 microsomal enzyme의 대사활성화에 의해서만 돌연변이원성을 나타내는 간접 돌연변이원인 B(α)P에 대해서는 TA98, TA100 모두 강한 항돌

연변이 효과를 나타내었다. 따라서 쇠비름 추출물은 S-9 mix중의 간효소 추출물(microsomal enzyme)에 직접 작용하여 B(α)P의 대사활성화에 작용하여, enzyme의 activation을 저해하거나 hydration 등의 해독화에 관계가 있는 효소들의 활성을 증가 시켰을 가능성이 크다. TA98에서 B(a)P에 대하여 800 μ g /plate에서 87%의 억제 효과를 나타내었다. 한편 아미노산 가열 열분해물인 Trp-P-1에 대한 항돌연변이원성 실험에서는 base pair substitution mutagen에 대해 돌연변이원성을 나타내는 TA100보다 frame shift mutagen에 대해서 변이원성을 나타내는 TA98에서 더 높은 억제활성을 나타내었다. Trp-P-1 0.15 μ g /plate 첨가시 복귀 돌연변이수가 604 \pm 13 /plate였으나 쇠비름 에탄올 추출물 1600 μ g /plate 첨가시 161 \pm 13 /plate로 93%의 높은 억제 효과를 나타내었다. 이상에서 알 수 있듯이 쇠비름 에탄올 추출물은 4가지 양성 변이원에 대하여 전체적으로 높은 항돌연변이 효과를 나타내었다. 함¹⁷⁾, 이¹⁸⁾, 한¹⁹⁾ 등은 산채류 가열즙 및 생즙의 항돌연변이원성을, 그리고 이²⁰⁾ 등은 녹색채소류의 항돌연변이원성에 대하여 보고하였는데 위의 연구결과가 이를 뒷받침하여 주고 있다. 따라서 쇠비름 에탄올추출물의 유효성분 분리를 목적으로 용매의 극성의 차이를 이용한 분리분별 방법으로 분획을 하여 생리활성을 검토하며 추가적인 실험을 행하였다.

2. 쇠비름 hot-water extract의 항돌연변이원성

쇠비름 에탄올 추출물의 잔사를 건조하여 에탄올을 완전히 제거한 후 이온 교환수지를 통과한 증류수를 첨가하여 10시간 가열 추출한 쇠비름 hot-water extract의 양성변이원에 대한 돌연변이원성 억제효과를 Table 3, 4에 나타내었다. Frame shift mutagen에 대해서 변이원성을 나타내는 TA98에서는 4NQO, B(α)P 및 Trp-P-1의 각각의 변이원에 대하여 아주 낮은 변이원성 억제효과를 나타내었다. 그러나 base pair substitution mutagen에 대해 돌연변이원성을 나타내는 TA100에 대해서는 MNNG에서만 1600 μ g /plate 첨가시 93%의 강한 항돌연변이 효과를 나타내었다. 쇠비름 hot-

water extract는 종종 추출 검색한 시료들이 용매 선택에 따라서 위음성(false negative)효과를 나타내는 경우가 있으므로 실시하였는데 쇠비름 추출물 중 항돌연변이원성을 나타내는 성분이 물로 추출한 것보다는 에탄올로 추출한 것이 강한 항돌연변이원성을 나타내었으므로 쇠비름 hot-water extract는 순수물질 분리를 위해 분획을 하여 추가적인 실험을 하지 않았다.

3. 쇠비름 에탄올 추출물로부터 얻은 분획물들의 항돌연변이원성

쇠비름 에탄올 추출물들이 4NQO, MNNG, B(α)P 및 Trp-P-1 각각에 대하여 전체적으로 높은 항돌연변이원성을 나타내므로, 돌연변이 억제효과를 나타내는 쇠비름 성분들의 특성을 규명하고자 1차적으로 용매의 분획에 의해 계통분획을 하였다. 그 분획물들을 회전진공농축기로 농축하여 diethyl ether 분획물, chloroform 분획물, ethylacetate 분획물, butanol 분획물, water 분획물로 하여 항돌연변이 효과를 검색하였다. Fig. 1은 쇠비름 에탄올 추출물로부터 얻은 용매 분획물들의 MNNG에 대

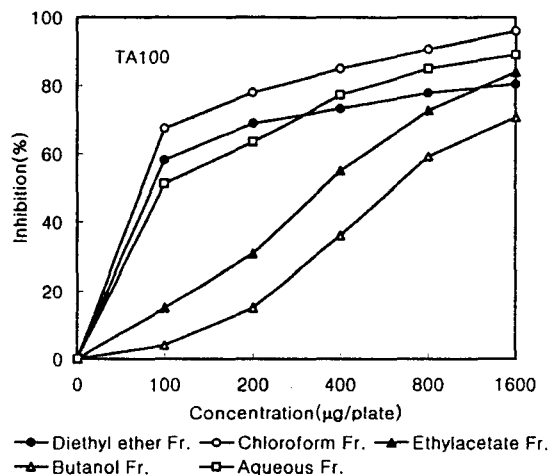


Fig. 1. Effect of solvent fraction of *Portulaca oleracea* L. ethanol extract on the mutagenicity of MNNG in *Salmonella typhimurium* TA100. ●:Diethyl ether Fr., ○:Chloroform Fr., ▲:Ethylacetate Fr., △:Butanol Fr., □:Aqueous Fr.

한 변이원성 억제결과를 나타내었다. MNNG는 직접 돌연변이원으로 체내에서 alkyldiazo hydroxide와 같은 높은 reactive electrophiles로 분해된 후 alkylation을 생성하여 DNA 염기의 nucleophilic site를 공격하여 alkylation을 일으킨다. 이러한 alkylation 결과 DNA breaking, chromosomal abnormality, mutation등을 야기시키는 것으로 알려져 있다²⁵⁾. MNNG에 대한 분획물들의 항돌연변이원성은 한 분획물에서만 나타나지 않고 각 분획물에서 나타나므로 단일성분에 의한 작용만은 아니라고 생각되며 여러성분들의 복합 작용에 의한 것으로 생각된다. 각종 분획물의 억제율은 chloroform>ethylacetate>diethyl ether>buthanol>water 분획물 순으로 나타났다. 특히 chloroform 분획물은 100 μ g/plate에서 69%, 200 μ g/plate 78%, 400 μ g/plate 85%, 800 μ g/plate 89%, 그리고 1,600 μ g/plate에서는 95%로 농도에 의존적인 강한 효과를 나타내었다. 또한 쇠비름 에탄올추출물의 4가지 분획물중 물 분획물은 4NQO, B(a)P, Trp-P-1의 다른 돌연변이원에서는 제일 낮은 억제활성을 나타내었으나, MNNG에서는 강한 항돌연변이 효과를 나타내었다. 100 μ g/plate에서 50%, 200 μ g/plate

63%, 400 μ g/plate 73%, 800 μ g/plate 82%, 그리고 1,600 μ g/plate에서는 90%로 순차적으로 농도에 의존적인 강한 효과를 볼 수 있었다. MNNG 혹은 그 동족체인 ENNG는 투여에 의해 쥐의 선위 (forestomach)에서 암을 발생시킬 수 있기 때문에 위암 연구에 많이 이용되고 있다. 이들의 발암 작용은 핵산의 alky화와 DNA염기 배열에 이상을 일으키는 유전적인 작용과, 단백질, 아미노산의 니트로아미노화 등 DNA의 정보 발현에 이상을 일으키는 것으로 알려져 있다²⁵⁾. 따라서 쇠비름 에탄올 추출물의 분획물들은 이러한 기전에 작용하여 항돌연변이원성을 나타내는 것으로 추측된다. Fig. 2는 4NQO에 대한 변이원성 억제효과를 검토한 결과로서 TA98에서는 각 분획물 모두 400 μ g/plate의 낮은 농도에서는 각 분획물이 각각 21, 14, 18, 15%, 그리고 30%의 낮은 억제활성을 각각 나타내었으나 diethyl ether 분획물과 chloroform 분획물에서 1,600 μ g/plate 첨가시 154 \pm 13 및 192 \pm 9로 양성대조구 629 \pm 12보다 92% 및 84%의 높은 억제활성을 나타내었다. TA100에서는 diethyl ether 분획물과 ethylacetate 분획물에서 높은 활성을 나타내었다. diethyl ether 분획물은 98%, ethylacetate 분획물

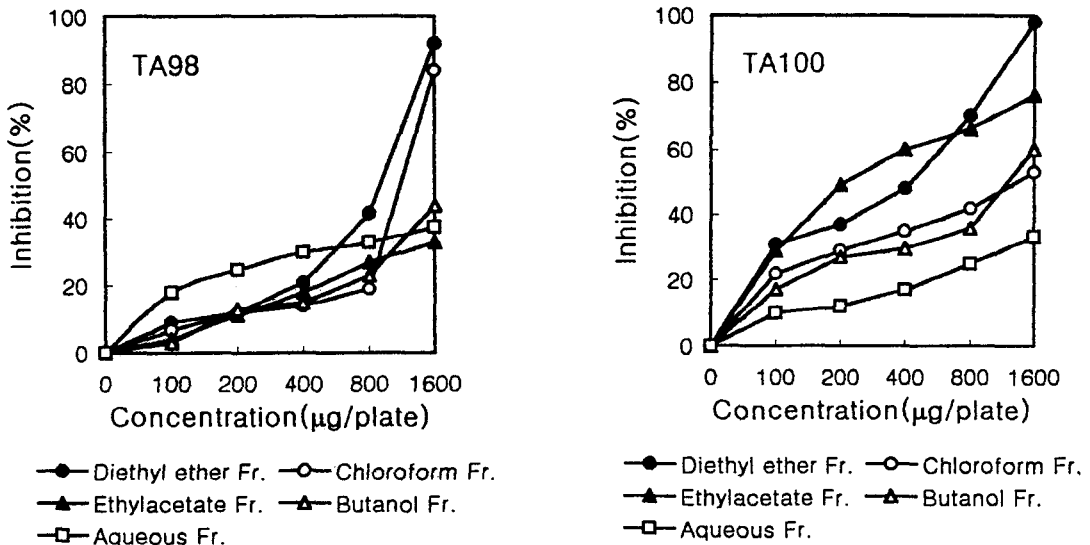


Fig. 2. Effect of solvent fraction of *Portulaca oleracea* L. ethanol extract on the mutagenicity of 4NQO in *Salmonella typhimurium* TA98 and TA100. ●:Diethyl ether Fr., ○:Chloroform Fr., ▲:Ethylacetate Fr., △:Butanol Fr., □:Aqueous Fr.

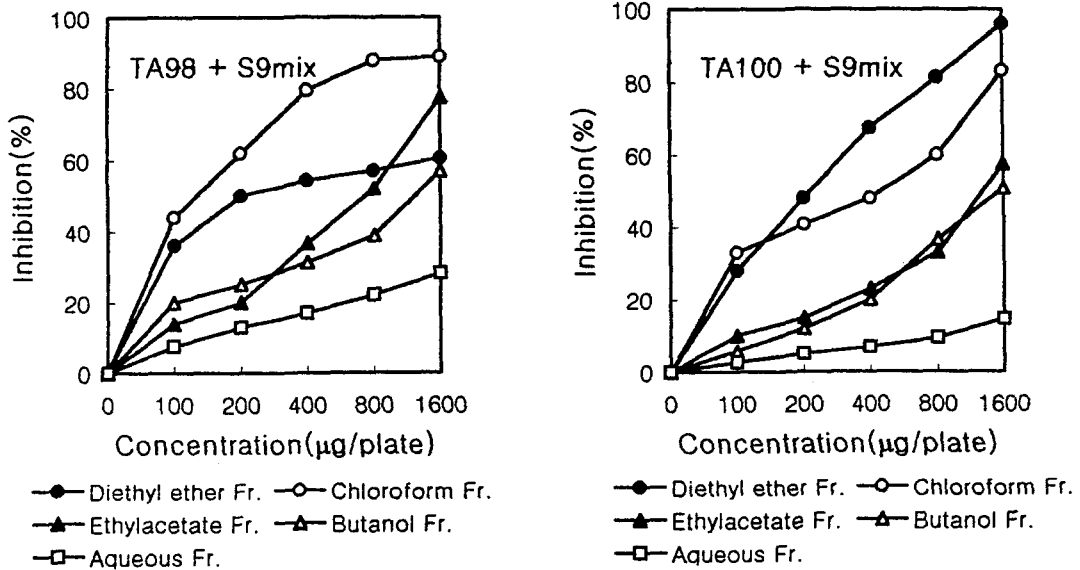


Fig. 3. Effect of solvent fraction of *Portulaca oleracea* L. ethanol extract on the mutagenicity of B(α)P in *Salmonella typhimurium* TA98 and TA100 with S9mix. ●:Diethyl ether Fr., ○:Chloroform Fr., ▲:Ethylacetate Fr., △:Butanol Fr., □:Aqueous Fr.

은 72%의 활성을 나타내었다. 그러나 극성화합물이 많이 녹아 있는 water 분획물은 30%의 낮은 활성을 나타내었다.

Fig. 3은 환경오염물중에서 특히 주목되는 B(α)P에 대한 돌연변이원성 억제효과를 검토한 결과로서 B(α)P는 유기 화합물의 연소 과정에서 생성되고, 체내에 들어오면 cytochrome P-450에 의하여 산화되어 7,8-diol체로 된 후 diepoxide로 재산화되어 간장을 표적장기로 독성을 발현하는 강력한 돌연변이원이다. B(α)P는 반응성이 좋으므로 생체내에서 주로 RNA나 DNA중의 구아닌 염기와 반응하여 부가체를 형성한다²⁵⁾. 앞서서 diethyl ether 분획물이 4NQO에 대해서 높은 억제효과를 보였으나 B(α)P에서는 반대로 chloroform 분획물과 ethylacetate 분획물에서 높은 활성을 나타내었다. TA98에서 chloroform 분획물은 200 μ g/plate 49%, 400 μ g/plate 84%, 800 μ g/plate 86%, 그리고 1,600 μ g/plate에서는 89%로 농도 의존적으로 돌연변이 억제효과를 나타내었다. 또한 TA100에서는 diethyl ether 분획물이 가장 높은 활성을 나타내었

다.

200 μ g/plate 49%, 400 μ g/plate 68%, 800 μ g/plate 84%, 1,600 μ g/plate 97%의 억제활성을 나타내었다. 그러나 물 분획물은 TA98과 TA100 모두 1600 μ g/plate에서 각각 15% 및 8%로 각각 낮은 억제활성을 나타내었다. 고기를 150 $^{\circ}$ C 이상으로 태웠을 때 생성되는 아미노산 가열 열분해물인 Trp-P-1에 대한 변이원성 억제효과는 Fig. 4에 나타내었다. TA98과 TA100 모두 높은 항돌연변이 효과를 나타내었으나 특히 TA98에서는 diethyl ether 분획물이 100 μ g/plate 67%, 200 μ g/plate 73%, 400 μ g/plate 82%, 800 μ g/plate 88%, 그리고 1600 μ g/plate에서는 95%로 가장 높은 변이원성 억제효과를 나타내었다. 그 다음으로 chloroform 분획물이 높은 변이원성 억제효과를 나타내었는데 1600 μ g/plate 첨가시 67%의 항돌연변이원성을 나타내었다. 그러나 극성화합물들이 많이 함유되어 있는 분획물들에 대해서는 낮은 억제활성을 볼 수 있었다. TA100에서는 TA98 보다 더 높은 억제활성을 나타내었는데 diethyl ether 분획물을 1,600 μ g/

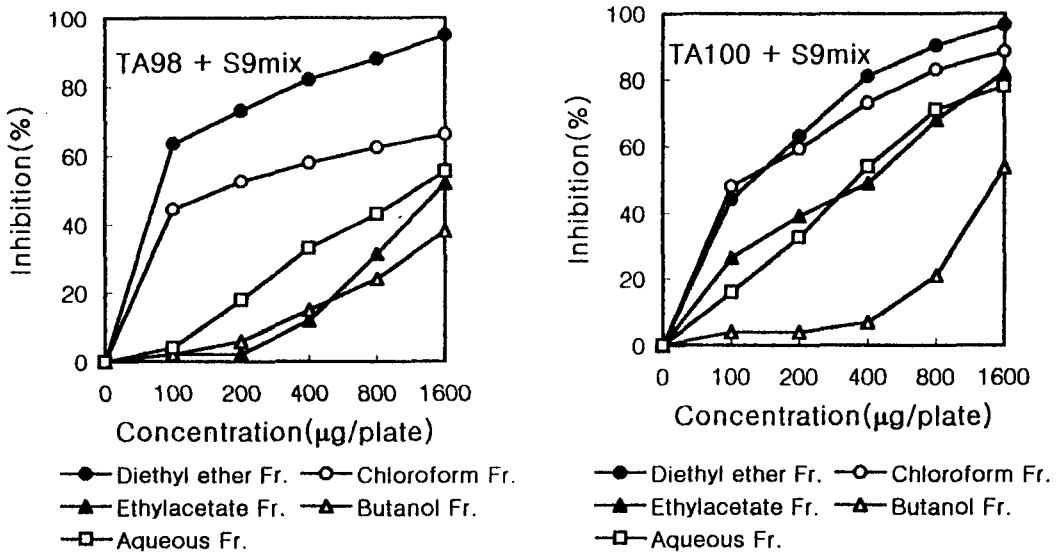


Fig. 4. Effect of solvent fraction of *Portulaca oleracea* L. ethanol extract on the mutagenicity of Trp-P-1 in *Salmonella typhimurium* TA98 and TA100 with S9mix. ●:Diethyl ether Fr., ○:Chloroform Fr., ▲:Ethylacetate Fr., △:Butanol Fr., □:Aqueous Fr.

plate 첨가시에는 거의 자연복귀 영역까지 99% 억제되었다. Trp-P-1은 생체 고분자의 구획 관능기와 직접 반응하지는 않으나 생체내에서 대사를 받아서 암을 일으키는 발암성 전구물질(proximate carcinogen)이다. 사람에게 있어 화학적 발암인자의 99% 이상은 이군에 속한다고 알려져 있다. 2차 발암물질이 생체내에 투여되면 여러 장기의 화학물질 대사효소군에 의해서 일반적인 화학물질과 같이 대사를 받는데 대사과정에서 이들은 화학반응이 큰 대사물로 변환된 후 발암물질로 변환되어 DNA에 alkylation 한다²⁵⁾. 따라서 Trp-P-1에서 쇠비름 분획물들의 항돌연변이 효과는 간효소 추출물(microsomal enzyme)과 결합하거나 불활성화 시킬 수 있고 최종 돌연변이원이 세포내 DNA와 사전 반응하기 전에 trapping하는 것으로 proximate carcinogen에서 ultimate carcinogen으로의 경로에서 항돌연변이 활성을 나타낼 것으로 추정된다.

IV. 결 론

강원도 춘천시 근교 자생하는 쇠비름(*Portulaca oleracea* L.)을 동결건조한 후 세절하여 에탄올로 추출하여 ethanol extract를 얻었다. 그 후 에탄올 추출물의 잔사는 건조하여 에탄올을 완전히 제거시키고 증류수로 가열추출하여 hot-water extract를 얻었다. *Salmonella typhimurium* TA98 및 TA100을 사용한 Ames test를 이용하여 항돌연변이원성을 검토하여 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. Ames test를 이용한 돌연변이원성 및 항돌연변이원 실험결과 쇠비름 에탄올 추출물은 plate당 1,600µg까지 증가시켜도 복귀 돌연변이수의 증감은 없었으므로 시료 자체의 변이원성은 없는 것으로 확인되었다. 4가지 양성 변이원에 대한 변이원성 억제효과를 검토한 결과 에탄올 추출물은 직접 변이원물질과 간접 변이원물질 모두에 대하여 강한 항돌연변이원성을 나타내었다. 그러나 hot-water extract는 4NQO, B(α)P 및 Trp-P-1에는 아주 낮은 돌연변이 억제효과를 나타내었으나 MNNG에서는 1,600µg/plate 첨가시 93%의 높은 돌연변이 억제효

과를 나타내었다.

2. 쇠비름 에탄올 추출물의 활성물질 분리를 위하여 용매분획을 실시하여 변이원성 억제효과를 검토한 결과 각각의 돌연변이원에 대하여 높은 변이원성 억제효과를 볼 수 있었다. 직접변이 원인 MNNG와 4NQO에 대한 변이원 억제효과를 살펴보면, MNNG에서는 chloroform 분획물이 TA100에서 91%로 가장 높은 억제효과를 나타내었으며, 4NQO에서는 diethyl ether분획물이 TA98에서 92%, TA100에서 98%로 가장 높은 억제효과를 나타내었다. 한편 간접돌연변이원인 B(a)P에서는 chloroform분획물이 TA98에서 89%로 가장 높은 억제효과를 나타내었으나 TA100에서는 diethyl ether분획물이 97%로 가장 높은 억제 활성을 나타내었다. Trp-P-1에서는 diethyl ether 분획물이 TA98에서 98%, TA100에서 98%의 높은 억제효과를 나타내었다. 그러나 물 분획물은 MNNG에서만 90%의 높은 돌연변이 억제효과를 나타내었다.

이상의 결과에서 살펴보듯이 쇠비름 추출물의 항돌연변이원성은 단일성분에 의한 작용만은 아니라고 생각되며 여러 가지 성분들의 복합작용에 의한 것으로 추측된다.

V. 참고문헌

1. 김태정 : 약이 되는 야생초, 대원사, 1989.
2. Kesden, D. and Will, A. A. Jr. : Purslane : An ubiquitous garden weed with nutritional potential. Proc. Fla. State Hort. Soc., 100, 195, 1994.
3. Vengris, J., Dunn, S., and Stacewicz-Sapuncakis, M. : Life history studies as related to weed control in the Northeast. 7. Comon purslane. Research Bulletin, #58. Amherst : The University of Massachusetts, Agricultural Experimental Station, 1972.
4. Herklots, G. A. C. : Purslane : Vegetable in Southeast Asia, South China Morning Post. Ltd., Hong Kong, 1972.
5. Haynes, L. J. and Magnus, K. E. : High concentration of (-)noradrenaline in *Porulaca oleracea* L., Nature, September 9, 1961.
6. 김재희 : 쇠비름의 약리작용에 관한 연구, 숙명여자대학교 대학원 석사학위논문, 1984.
7. Simopoulos, A. P. and Salem, N. : Cholesterol in food rich in omega-three fatty acid. N. Engl. J. Med., 315, 1986.
8. Simopoulos, A. P. : Omega-three fatty acid in health and disease and in growth and development. Am. J. Clin. Nutr. 54, 438, 1991.
9. Horan, M. J., Blaustein, M. P., Dunbar, J. B., and Grundy, S. : NIH report on research challenges in nutrition and hypertension. Hypertension, 7(5), 818, 1985.
10. Ali, I. Mohamed, and Ahmed S., Hussein : Chemical composition of Porslane(*Porulaca oleracea*). Plant Foods for Human Nutrition, 45, 1, 1994.
11. Flora, S. D. and Ramel, C. : Mechanisms of inhibitors of mutagenesis and carcinogenesis. classification and overview, Mut. Res., 247, 221, 1988.
12. Roverfroid, M. B. : Dietary modulation of experimental neoplastic development. : role of fat and fiber content and calorie intake, Mut. Res., 259, 351, 1991.
13. Ramel, C., Alekperov, U. K., Ames, B. N., Kada, T. and Wattenberg, L. W. : Inhibitors of mutagenesis and their relevance to carcinogenesis. Mut. Res., 168, 47, 1986.
14. Renne, H. W. : *In vivo* effects of single on combined dietary antimutagens on mutagen-induced chromosomal aberrations. Mut. Res., 244, 185, 1990.
15. Waters, M. D., Brady, A. L., Stack, H. F. and Brockman, H. E. : Antimutagenicity

- profiles for some model compounds. *Mut. Res.*, 238, 57, 1990.
16. Wall, M. E., Wanim, M. C., Hughes, T. J. and Taylor, H. : *J. Nat. Prod.*, 51, 866, 1988.
 17. 함승시 : 산채류 가열즙의 돌연변이 억제작용에 관한 연구. *한국농화학회지*, 31(1), 38, 1986.
 18. 이재훈 : 산채류 생즙의 항돌연변이원성에 관한 연구. 강원대학교 석사학위 논문, 1989.
 19. 한규석, 함승시, 정의호 : 2AF에 의해 유발된 미생물 변이원성에 미치는 들미나리의 돌연변이 억제작용. *한국위생학회지*, 8(4), 22, 1993.
 20. 이경임 : 녹황색 채소류의 항돌연변이 및 암세포 증식억제효과. 부산대학교 대학원 박사학위 논문, 1992.
 21. Miki, N., Hiroyuki, H., Takahiko, S., Hisamitsu, N., and Hideaki, K. : Isolation of substances from glossy privet inhibiting the mutagenicity of benzo(a)pyrene in bacteria. *Mutation Res.*, 319, 1, 1993.
 22. Ames, B. N. and Maron, D. M. : Revised methods for the salmonella typhimurium mutagenicity test. *Mutation Res.*, 113, 173, 1983.
 23. Matsusshima, T., Sawamura, M., Hara, K., and Sugimura, T. : A safe substitute for polychronated biphenyls as an inducer test. In "*in vitro* matabolic activation in mutagenesis testing" de Serres, F. J., Fouts, J. R., Bend, J. R. and Philpot, R.M.(eds), Eleseir, N. Holland Amsterdam, p. 85, 1987.
 24. 함승시, 최근표, 최용순, 이상영 : 메밀 flavonoid의 항돌연변이원성 및 지질대사 조절 기능에 관한 연구. *한국영양식량학회지*, 23(4), 698, 1994.
 25. 한국약학대학협의회 위생약학분과회, 최신위생약학, 신일상사, 1993.

(1997년 10월 27일 접수)