

## 대두 분획물의 항돌연변이 및 항암활성 효과

임 선 영\*

한국해양대학교 해양환경생명과학부

Received July 28, 2007 / Accepted September 19, 2007

**Antimutagenicity and Anticancer Activity of Soybean Fractions Extracted by Solvents.** Sun Young Lim\*. *Division of Marine Environment & Bioscience, Korea Maritime University* - Inhibitory effects of several solvent fractions from soybean on mutagenicity using *Salmonella typhimurium* TA 100 in Ames test and growth of human cancer cells (AGS gastric adenocarcinoma, Hep 3B hepatocellular carcinoma and HT-29 colon cancer cells) were studied. The treatment of dichloromethane and ethylacetate fractions (2.5 mg/assay) extracted from soybean to Ames test system inhibited aflatoxin B<sub>1</sub> (AFB<sub>1</sub>) induced mutagenicity by 83%, respectively, and showed a higher antimutagenic effect than other solvent fractions. In case of N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine (MNNG) induced mutagenicity, the ethylacetate fraction showed the highest inhibitory effect (by 67%) among solvent extracts, although the inhibitory effect was not stronger compared with AFB<sub>1</sub> induced mutagenicity. In sulforhodamine B (SRB) assay, the treatment of ethylacetate fraction (2 mg/assay) significantly inhibited the growth of AGS, Hep 3B and HT-29 cancer cells by 66%, 73% and 77%, respectively, followed with the intermediate and dichloromethane fractions. These results indicated that soybean fraction extracted with ethylacetate had higher inhibitory effects on AFB<sub>1</sub> and MNNG in Ames test and growth inhibition activity to human cancer cells was appeared, suggesting that soybean fraction extracted with ethylacetate may contain the biologically active compounds.

**Key words** – Soybean, Ames test, antimutagenicity, cancer cells, sulforhodamine B (SRB) assay

### 서 론

대두의 성분은 영양성분과 비영양성분으로 나눌 수가 있는데 영양성분에는 단백질 40%, 지방 20% 및 전분 25%로 구성되어 있어 쌀을 주식으로 섭취하는 한국인의 식단에서는 대두를 섞어 먹음으로써 단백질 부족 현상을 극복 할 수 있다. 비영양성분에는 콜레스테롤을 함량 저하 및 심혈관 질환 개선효과[5,27], 항산화효과[2,8,20], 항암 작용[16,17,22] 및 골다공증 예방 효과[31] 등의 기능성을 갖는 물질이 포함되어 있는데 여기에는 protease inhibitor, lecithin, saponin, isoflavone 및  $\beta$ -sitosterol 등이 있다. 대두가 항암 작용을 갖는 것은 trypsin inhibitor 같은 단백질도 그 기능의 일부를 담당하는 것으로 대두에서 유래된 trypsin inhibitor는 N-nitroso-bis (2-oxopropyl) amine에 의해 유도된 hamster 췌장암의 초기와 진행단계에서 저해효과를 가진다는 것이 보고[26] 되었고 Syrian male hamster에서 7,12-dimethylbenz [a]anthracen (DMBA)에 의해 유도된 구강암의 억제[15], 마우스의 dimethylhydrazine에 의해 유도된 대장암과 간암의 억제[4], 3-methylcholanthrene에 의해 유도되어진 폐종양 생성을 억제시키는 효과[32]를 가지며 *in vivo* 실험에서 대두에서 유래된 trypsin inhibitor는 피부암, 유방암 및 간암에 대

해서도 항암효과를 나타낸다고 알려져 있다[3]. Lee 등[12]은 1991년 싱가포르에 거주하는 유방암 여성 환자 200명과 건강한 여성 420명을 비교해 본 결과 두 군 간의 콩식품 섭취율에 유의적 차이가 보였으며 콩식품을 섭취하는 경우 유방암 발생률을 50%로 감소시킬 수 있는 것으로 나타났다고 보고하였다. 따라서 대두 속에는 protease inhibitor 이외에도 황색 물질인 isoflavone이 함유되어 있어 이것이 항암 및 항산화 작용 등의 생리 작용을 나타낸다고 보고되었다. 대두 속에 존재하는 isoflavone은 genistein, daidzein 및 glycitein이 당과 결합한 형태로 들어있는데 이 함량은 대두의 품종과 재배 조건 등에 따라 크게 다르다[21]. 또한 대두 속에 함유된 식물성 화합물 중 phytic acid에 의한 항암효과도 알려져 있다 [28]. Phytic acid는 6개의 인산기를 갖고 있는 inositol 즉 inositol hexaphosphate로 대두 속에 약 1-2% 함유되어 있다. Phytic acid는 마그네슘, 철, 아연과 같은 무기질의 흡수를 저해하기 때문에 영양학적으로 바람직하지 않는 성분으로 취급되어 왔다. 그러나 이런 부정적인 시각에 반하여 phytic acid의 여러 가지 생리활성이 밝혀졌는데 phytic acid는 소장에서 자유라디칼을 생성하는 철과 함께 불용성 복합체를 형성하여 강력한 항산화제로 작용하여 철에 의한 지질 산화 반응을 감소시킴으로써 결과적으로 잠재적 발암 물질의 생성을 억제한다고 보고되었다[6]. Shamsuddin [23]은 phytic acid 공급식이의 섭취에 의한 DMBA로 유도된 유방암의 발암 억제 효과 측정 연구에서 유방암 수와 유발율을 감소시켰

\*Corresponding author

Tel : +82-51-410-4757, Fax : +82-51-404-3988

E-mail : sylim@hhu.ac.kr

다고 보고하였다.

현재까지 대두에 관한 연구로는 주로 isoflavoen류에 의한 항산화 및 항암효과에 대해 집중되어 왔다. 따라서 본 연구에는 식품으로써 전체 대두의 항돌연변이 및 항암활성 효과를 알아보기 위하여 핵산으로 지질을 제거한 후 다시 메탄올로 추출하였고 이것을 더욱 분획하여 디클로로메탄, 중간층, 에틸아세테이트, 부탄올, 물 분획물들을 얻은 후에 Ames 실험계에서 이들 분획물들에 의한 항돌연변이 효과와 인체 암세포들(AGS gastric adenocarcinoma, Hep 3B hepatocellular carcinoma cells, HT-29 colon cancer cells)를 이용하여 sulforhodamine B (SRB) assay법에 의한 암세포 성장 억제 효과를 확인하고자 한다.

### 재료 및 방법

#### 대두의 용매 추출 및 분획

대두(US number 1 soybean)는 화영식품(주)으로부터 구입하였고 대두의 항돌연변이 및 항암활성 물질을 추출하기 위해 극성이 다른 용매로 더욱 분획하였다. 대두(10 kg)를 분말화하고 핵산으로 3회 추출(hexane extract)하고 얻어진 잔사물(9715 g)을 2배 메탄올로 95°C에서 환류 냉각기를 사용하여 3회 추출(686 g)하였다(methanol extract). 회전식 진공 농축기를 이용하여 농축한 후, 다시 디클로로메탄(dichloromethane fraction), 에틸아세테이트(ethylacetate fraction) 및 부탄올(butanol fraction) 순서로 분획할때기를 이용하여 분획한 후 회전식 진공 농축기로 용매를 제거하고 각각 디클로로메탄 분획물(230 g), 중간 분획물(intermediate fraction, 113 g), 에틸아세테이트 분획물(6 g) 및 부탄올 분획물(36 g) 및 물 분획물(302 g)을 얻었다. 각각의 분획물들은 회전식 진공 농축기로 완전히 용매를 제거한 후 dimethylsulfoxide (DMSO)에 녹여 실험에 사용하였다(Fig. 1).

#### Ames 돌연변이 유발실험

*Salmonella typhimurium* TA100은 *S. typhimurium* LT-2의 histidine auxotroph로서 미국 California 대학의 B.N. Ames 박사로부터 제공받아 정기적으로 histidine 요구성, deep rough (*rfa*) 돌연변이, *uvrB* 돌연변이, R factor 등의 유전형질을 확인하면서 실험에 사용하였다. 간접 돌연변이 유발물질인 aflatoxin (AFB<sub>1</sub>)은 Sigma Chemical Co. (St. Louis, MO, USA)에서 구입하여 DMSO에 녹여 실험에 사용하였고 직접 돌연변이원인 N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine (MNNG)는 Sigma Chemical Co.에서 구입하여 증류수에 녹여 실험에 사용하였다. 간접돌연변이원인 AFB<sub>1</sub>의 경우 활성화를 위하여 Maron과 Ames의 방법[20]에 따라 S9 mixture를 첨가하였다. 항돌연변이 실험은 미리 건열 멸균시킨 glass cap tube에 S9 mix 혹은 phosphate buffered saline (PBS) 0.5

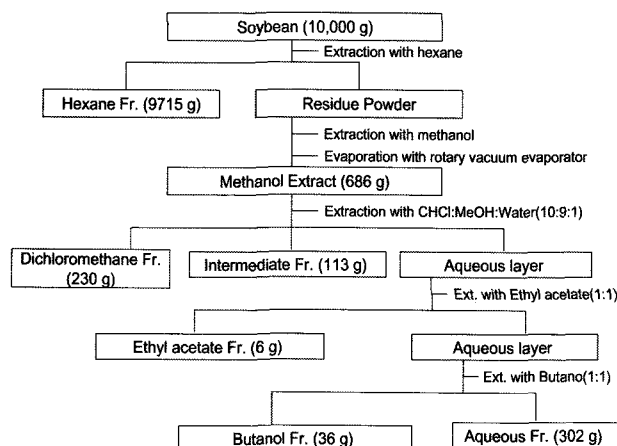


Fig. 1. Scheme for the solvent fractionation from soybean powder.

ml, 하룻밤 배양된 균주 0.1 ml (1~2×10<sup>9</sup> cells/ml)와 돌연변이 유발물질 (50 μl)을 가한 후, 시료를 1.25 mg/plate 가하여 37°C에서 20분간 예비 배양한 다음 histidine/biotin이 첨가된 top agar (45°C) 2 ml씩을 가하고 vortex하여 minimal glucose agar plate에 도말하고 37°C에서 48시간 배양한 후 revertant 숫자를 계수하였다. 돌연변이 억제효과의 정도(inhibition rate)는 아래식에 의해 계산하였다[1,14].

$$\text{Inhibition rate (\%)} = 100 \times [(a-b)/(a-c)]$$

여기서 a는 돌연변이원에 의해 유도된 복귀돌연변이원수, b는 시료를 처리하였을 때의 복귀돌연변이의 수이며, c는 돌연변이원과 시료가 없을 경우의 자연복귀돌연변이원의 수이다.

#### Sulforhodamine (SRB) assay법

인체 위암세포(AGS gastric adenocarcinoma cells), 인체 간암세포(Hep 3B hepatocellular carcinoma cells) 및 인체 결장암세포(HT-29 colon cancer cells)는 한국 세포주 은행(서울의대)으로부터 분양받아 배양하였다. SRB assay를 위하여 암세포를 96 well plate에 well당 40,000 cells/ml이 되도록 seeding하고 24시간 배양 후 세포가 plate에 부착되면 시료 추출물 100 μl를 첨가한 후 37°C, 5% CO<sub>2</sub> incubator에서 배양하였다. 이때 blank에는 시료와 10% fetal calf serum (FCS)를 함유한 배지만 넣고 대조군에는 세포와 시료대신에 DMSO를 첨가하였다. 배양 48시간 후에 배지를 제거한 후 PBS로 한번 씻은 후 50% TCA를 첨가하여 4°C에서 냉장 방치하였다. 1시간 후 Trichloroacetic acid (TCA)를 제거하고 증류수로 5번 씻은 후 실온에서 건조시킨 후 0.4% sulforhodamine B 100 μl 첨가하여 30분간 염색시켰다. 다음 1% acetic acid로 5번 씻은 후 다시 실온에서 건조시킨 후 0.01 M tris base를 150 μl를 첨가한 후 510 nm에서 흡광도를 측정하였다[19,24].

**통계분석**

대조군과 각 시료로부터 얻은 실험 자료로부터 ANOVA를 구한 후 Duncan's multiple range test를 이용하여 통계 분석하였다.

**결과 및 고찰**

**Ames test에 의한 항돌연변이 효과**

잠재적 생리활성 기능을 가질 것으로 예상되어지는 여러 가지 후보물질들의 항돌연변이 활성을 알아보기 위한 방법으로 경제성 및 간편성 때문에 Ames 실험계가 세계적으로 널리 이용되어 왔다. 이에 본 연구에서도 *Salmonella typhimurium*을 돌연변이 시킨 histidine 요구성 균주인 *S. typhimurium* TA100 등을 이용하여 균주에 돌연변이물질들을 노출시킨 다음 minimal glucose agar plate에 형성된 his+ 복귀 돌연변이의 colony 수를 계수하여 돌연변이 및 항돌연변이성의 유무를 판정하였다[1,14]. 대두 메탄올 추출물(MeOH)과 각 분획물들을 실험에 사용한 농도(2.5 mg/plate)에 대한 독성실험을 한 결과 독성이 나타나지 않았다(data not shown). 2.5 mg/plate 농도를 정한 이유는 선행된 연구에서 기타 식품들로부터 추출된 용매 추출물의 경우 독성이 없는 범위에서 높은 활성을 나타내므로 결정하였다. 대두를 먼저 헥산(Hex)으로 지방을 제거한 후 메탄올로 추출한 추출물에서 항돌연변이성 물질을 분리하기 위해 극성이 다른 용매인 디클로로메탄(CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>), 에틸아세테이트(EtOAc), 부탄올(BuOH)로 분획하여 각 분획물의 항돌연변이 효과를 검토해 보았다. Table 1에서 나타나는 것과 같이 간접돌연변이원인 AFB<sub>1</sub>에 대한 돌연변이 억제효과는 대두의 메탄올 추출물(MeOH)을 2.5 mg/plate 농도로 첨가했을 때 37%의 돌연변이 저해효과를 나타내었고 같은 첨가농도에서 메탄올 분획물들 중 디클로로메탄 분획물(CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>)과 에틸아세테이트 분획물(EtOAc)은 각각 83%로 상당히 높은 항돌연변이 효과를 나타내었다. 중간 분획물(Inter)의 경우는 56%의 항돌연변이 효과를 나타내었으나 다른 분획물들의 경우 항돌연변이 효과가 낮았다. 한편, 직접돌연변이원인 MNNG의 경우, AFB<sub>1</sub>에 비해 돌연변이 저해효과가 떨어지지만 그 중에서도 에틸아세테이트 분획물(EtOAc)이 67%로 가장 높은 항돌연변이 효과를 나타내었으며 중간 분획물과 디클로로메탄 분획물(CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>)은 각각 63%, 49%의 돌연변이 저해효과를 나타내었다(Table 2). Mirsalis 등[18]은 콩 추출물이 화학발암물질을 무독화시키는 데 필요한 특이한 효소들 즉 glutathione S-transferase (GST)와 UDP-glucuronyl transferase의 활성을 증가시켰다고 보고하였다.

**SRB assay법에 의한 항암활성 효과**

최근 미국 국립 암 연구소 등지에서 많이 사용되어지고

Table 1. Effect of various soybean extracts against mutagenicity induced by aflatoxin B<sub>1</sub> (AFB<sub>1</sub>, 0.5 µg/plate)

Sample (2.5 mg/plate)	Revertants/plate	Inhibition rate (%) <sup>1</sup>
Spontaneous	119±23 <sup>2</sup>	
Control (AFB <sub>1</sub> )	982±38 <sup>a</sup>	
Soybean Hex ext. <sup>3</sup>	570±161 <sup>b</sup>	48
MeOH ext.	667±73 <sup>b</sup>	37
CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> Fr.	262±39 <sup>d</sup>	83
Inter Fr.	439±30 <sup>c</sup>	63
EtOAc Fr.	270±36 <sup>d</sup>	83
BuOH Fr.	497±61 <sup>c</sup>	56
Water Fr.	581±41 <sup>b</sup>	46

<sup>1</sup>Inhibition rate (%) = (Control-Sample)/(Control-Spontaneous)\*100

<sup>2</sup>Values are mean±SD. <sup>a-d</sup>Means with the different letters are significantly different at the 0.05 level of significances as determined by Duncan's multiple range test.

<sup>3</sup>Hex, hexane ext.; MeOH, methanol ext. of defatted soybean; CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, dichloromethane fr. of the methanol ext.; Inter, intermediate fr. of the methanol ext; EtOAc, ethylacetate fr. of the methanol ext.; BuOH, Butanol fr. of the methanol ext.; Water, Water fr. of the methanol ext.

Table 2. Effect of various soybean extracts against mutagenicity induced by N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine (MNNG, 0.36 µg/plate)

Sample (2.5 mg/plate)	Revertants/plate	Inhibition rate (%) <sup>1</sup>
Spontaneous	107±26 <sup>2</sup>	
Control (MNNG)	1555±57 <sup>a</sup>	
Doenjang Hex ext. <sup>3</sup>	1007±223 <sup>b</sup>	38
MeOH ext.	931±138 <sup>b</sup>	43
CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> Fr.	851±91 <sup>c</sup>	49
Inter Fr.	644±67 <sup>d</sup>	63
EtOAc Fr.	589±30 <sup>d</sup>	67
BuOH Fr.	976±128 <sup>b</sup>	40
Water Fr.	1076±108 <sup>b</sup>	33

<sup>1</sup>Inhibition rate (%) = (Control-Sample)/(Control-Spontaneous)\*100

<sup>2</sup>Values are mean±SD. <sup>a-d</sup>Means with the different letters are significantly different at the 0.05 level of significances as determined by Duncan's multiple range test.

<sup>3</sup>Hex, hexane ext.; MeOH, methanol ext. of defatted soybean; CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, dichloromethane fr. of the methanol ext.; Inter, intermediate fr. of the methanol ext; EtOAc, ethylacetate fr. of the methanol ext.; BuOH, Butanol fr. of the methanol ext.; Water, Water fr. of the methanol ext.

있는 SRB assay는 특히 항암제를 대량적으로 그리고 신속하게 검토할 수 있다는 장점을 지닌 실험방법이다[19,24]. 이에

본 연구에서는 위암, 간암 및 결장암세포를 이용하여 대두 메탄을 추출물 및 그 분획물들에 대해 SRB assay를 행하여 암세포 증식 억제효과를 살펴보았다. Fig. 2A는 인체 위암세포인 AGS를 이용하여 대두 메탄을 추출물 및 그 분획물들의 암세포 저해효과를 보여주고 있다. 선행된 연구 결과를 토대로 대두의 용매 추출물의 농도는 2 mg/assay로 결정하였고 대두 메탄을 추출물의 경우 44%의 위암세포 증식 억제효과를 나타내었다. 대두 메탄을 추출물의 분획물들 중 에틸아세테이트층(EtOAc)의 저해 효과가 가장 높았는데 동일농도에서 66%로 위암세포 성장을 저해시키는 효과를 나타냄을 관찰할 수가 있었고 디클로로메탄(CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>)과 중간 분획물(Inter)의 경우에는 각각 54% 및 51%의 저해효과를 나타내었다. 반면, 다른 분획물의 경우 다소 낮은 암세포 증식 억제효

과를 보였다. Hep 3B 인체 간암세포의 경우, 대두 메탄을 추출물을 2 mg/assay 투여했을 때 60%의 저해효과를 나타내었으며 여기에서도 분획물들 중에서 에틸아세테이트 분획물(EtOAc)이 73%로 가장 높은 저해효과를 보였고, 그 다음으로 중간 분획물(Inter)과 디클로로메탄(CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>)으로 각각 65% 및 56%의 저해효과를 나타내었다(Fig. 2B). Fig. 2C는 인체 결장암세포인 HT-29를 이용하여 대두 메탄을 추출물 및 그 분획물의 저해효과를 보여주고 있다. 대두의 메탄을 추출물은 첨가농도 2 mg/assay에서 44%의 억제효과를 가졌고 대두 메탄을 추출물의 분획물들 중 에틸아세테이트층(EtOAc)의 저해 효과가 가장 높았는데 동일농도에서 77%의 결장암세포 성장을 저해시키는 효과를 나타냄을 관찰할 수 있었고 중간 분획물(Inter)과 디클로로메탄(CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>)은 각각 63% 및 52%의 저해 효과를 보였고 다른 분획물들의 경우 그 저해효과가 다소 낮았다. Ames test를 이용한 항돌연변이 실험과 SRB assay에 의한 저해효과 실험에서 대두의 분획물들 중에서 에틸아세테이트 분획물의 억제효과가 가장 큰 것으로 나타남을 알 수 있었으므로 이 분획물 속에 활성 물질이 존재할 것으로 추정되어진다. 한 등[7]은 대두의 메탄을 추출물은 인체 위암 및 대장암세포의 증식을 억제시켰으며 그 저해효과는 대두 유래 이소플라본 중의 하나인 glycitein에 의한 항암활성과 유사하였다고 보고하였고 대두의 용매별 추출물에 의한 항산화효과에서도 메탄을 추출물의 항산화능이 가장 우수하였고 항산화력도 genistein과 거의 유사하였다고 언급하였다. 성과 박[25]은 노란콩, 검은콩 및 현미의 메탄을과 아세톤의 두 추출물은 호르몬 의존형 유방암 세포인 MCF-7의 경우 전반적으로 배양시간과 농도 의존적으로 유방암의 세포생존율을 억제하였으나 호르몬 비의존형 유방암 세포인 MDA-MB-231에서는 두류 추출물의 경우 그 저해효과가 적게 나타났다고 보고하였다. 반면, 세포생존율 결과와는 달리 호르몬 의존형 세포(MCF-7)에서는 노란콩, 검은콩 및 현미 추출물에서 모두 유의적 apoptosis가 일어나지 않았으나 호르몬 비의존형 세포(MDA-MB-231)에서는 메탄을 추출물 처리군이 대조군에 비해 apoptosis된 세포가 유의적으로 증가한 것을 관찰하였다고 보고하였다.

이상의 결과로부터 대두 분획물들 중 특히 에틸아세테이트과 중간 분획물은 *in vitro* Ames test과 SRB assay 법에서 비교적 높은 돌연변이 유발 억제 작용과 항암활성을 나타냈음을 확인 할 수가 있었다. 따라서 대두가 나타내는 항돌연변이 및 암세포 증식 억제 활성 물질은 에틸아세테이트 분획물에 함유되어 있는 것으로 추정되어지며 콩 속에 함유되어 있는 isoflavone [9,11,13]류인 genistein [28,30], daidzein, glycitein이 그 활성물질로서 가능성이 있고 또한 saponin [10]과 식물성 스테로이드도 예상되어지는 활성물질로 여겨지며 여기에 관한 연구로 silica gel 및 thin layer chromatography 등을 이용한 대두 용매 추출물의 정제에 대한 연구

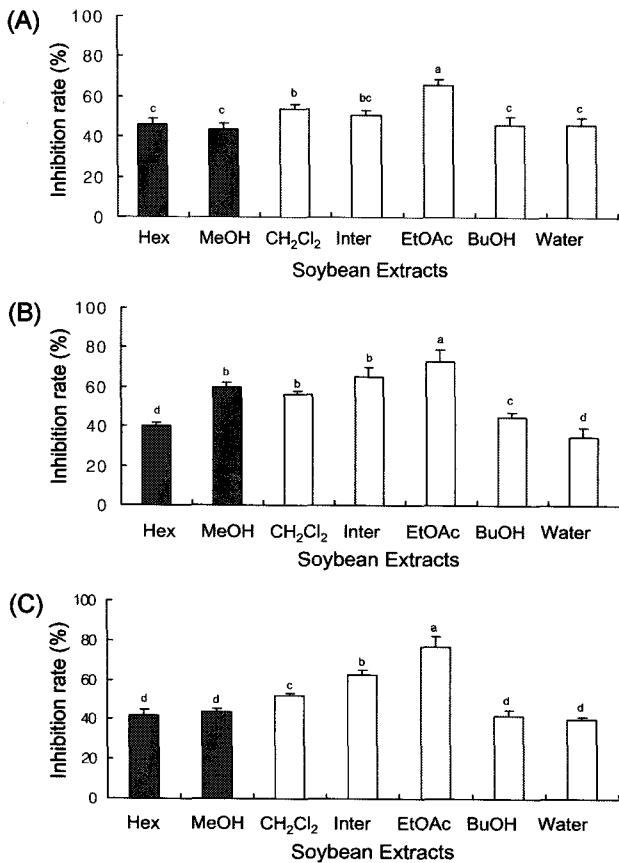


Fig. 2. Effect of growth inhibitions of carcinoma cells by soybean extracts. (A) AGS human gastric adenocarcinoma cells; (B) Hep 3B human hepatocellular carcinoma cells; (C) HT-29 human colon cancer cells. Hex, Hexane ext.; MeOH, MeOH ext. of defatted soybean; CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> fr. of the MeOH ext.; EtOAc, EtOAc fr. of the MeOH ext.; BuOH, BuOH fr. of the MeOH ext.; Water, Water fr. of the MeOH ext. <sup>a-d</sup>Means with the different letters beside symbol are significantly different at the 0.05 level of significances as determined by Duncan's multiple range test.

가 현재 진행 중이다.

## 요 약

대두를 먼저 헥산(Hex)으로 지방을 제거한 후 메탄올로 추출한 추출물에서 항돌연변이성 및 항암활성 물질을 분리하기 위해 극성이 다른 용매인 디클로로메탄(CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>), 에틸아세테이트(EtOAc), 부탄올(BuOH)로 분획하여 각 분획물의 항돌연변이 및 항암활성 효과를 검토하였다. AFB<sub>1</sub>에 대한 돌연변이 억제효과는 대두의 메탄올 추출물(MeOH)의 분획물들 중 디클로로메탄 분획물(CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>)과 에틸아세테이트 분획물(EtOAc)은 2.5 mg/plate 첨가농도에서 각각 83%로 상당히 높은 항돌연변이 효과를 나타내었다. 중간 분획물(Inter)의 경우는 56%의 항돌연변이 효과를 나타내었으나 다른 분획물들의 경우 항돌연변이 효과가 낮았다. 한편 MNNG의 경우, AFB<sub>1</sub>에 비해 돌연변이 저해효과가 떨어지지만 그 중에서도 에틸아세테이트 분획물(EtOAc)이 67%로 가장 높은 항돌연변이 효과를 나타내었으며 중간 분획물과 디클로로메탄 분획물(CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>)은 각각 63%, 49%의 돌연변이 저해효과를 나타내었다. 대두의 메탄올 추출물은 첨가농도 2 mg/assay에서 44%의 인체 위암세포의 증식 억제효과를 가졌고 대두 메탄올 추출물의 분획물들 중 에틸아세테이트층(EtOAc)의 저해 효과가 가장 높았는데 동일농도에서 66%로 위암세포 성장을 저해시키는 효과를 나타내었고 디클로로메탄(CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>)과 중간 분획물(Inter)의 경우에는 각각 54% 및 51%의 저해효과를 나타내었다. Hep 3B 인체 간암세포의 경우, 대두 메탄올 추출물을 2 mg/assay 투여했을 때 60%의 저해효과를 나타내었으며 여기에서도 분획물들 중에서 에틸아세테이트 분획물(EtOAc)이 73%로 가장 높은 저해효과를 보였다. 대두의 메탄올 추출물은 첨가농도 2 mg/assay에서 44%의 인체 결장암세포 증식 억제효과를 가졌고 대두 메탄올 추출물의 분획물들 중 에틸아세테이트층(EtOAc)의 저해 효과가 가장 높았는데 동일농도에서 77%의 결장암세포의 성장을 저해시키는 효과를 나타내었다. 이상의 결과로부터 대두 분획물들 중 특히 에틸아세테이트 분획물에 의한 항돌연변이 및 항암활성효과가 가장 높았으므로 이 분획물에 주로 isoflavone류가 함유되어 있으므로 에틸아세테이트 분획물을 더욱 정제하여 연구할 필요가 있다고 여겨진다.

## 참 고 문 헌

- Ames, B. N., J. McGann and E. Yamasaki. 1975. Method for detecting carcinogens and mutagens with the *Salmonella*/mammalian-microsome mutagenicity test. *Muta. Res.* **31**, 347-364.
- Bae, S. and G. S. Moon. 1997. A study on the antioxidative activities of Korean soybeans. *J. Kor. Soc. Food*

- Sci. Nutr.* **26**, 203-208.
- Becker, F. F. 1981. Inhibition of spontaneous hepatocarcinogenesis in C3H/HeN mice by Edi Pro A, an isolated soy protein. *Carcinogenesis* **2**, 1213-1214.
- Billings, P. C., P. M. Newberne and A. R. Kennedy. 1990. Pretease inhibitor suppression of colon and anal gland carcinogenesis induced by dimethylhydrazine. *Carcinogenesis* **11**, 1083-1086.
- Damasceno, N. R., M. A. Gidlund, H. Goto, C. T. S. Dias, F. S. Okawabata and D. S. P. Abdalla. 2001. Casein and soy protein isolate in experimental atherosclerosis: influence on hyperlipidemia and lipoprotein oxidation. *Ann. Nutr. Metab.* **45**, 38-46.
- Graf, E., J. R. Mahoney, R. G. Bryant and J. W. Eaton. 1984. Iron-catalyzed hydroxyl radical formation. Stringent requirement for free iron coordination site. *J. Biol. Chem.* **259**, 3620-3624.
- Han, J. S., T. Y. Ha and S. R. Kim. 2006. Studies on physiological properties of isoflavone from soybean and its processing properties. *J. Kor. Soc. Food Sci. Nutr.* **35**, 1427-1433.
- Hayes, R. E., G. N. Bookwalter and E. B. Bagley. 1977. Antioxidant activity of soybean flour and derivatives. *J. Food Sci.* **42**, 1527-1532.
- Hilakivi, C. L., I. Onojafe, M. Raygada, E. Cho, T. Skar, I. Russo and R. Clarke. 1999. Prepubertal exposure to zearalenone or genistein reduces mammary tumorigenesis. *Br. J. Cancer* **80**, 1682-1688.
- Konoshima, T. and K. H. Lee. 1986. Antitumor agents, 82. Cytotoxic sapogenols from *aesculus hippocastanum*. *J. Nat. Proc.* **49**, 650-656.
- Lamartiniere, C. A., J. Moore, M. Holland and S. Barnes. 1995. Neonatal genistein chemoprevents mammary cancer. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* **208**, 120-123.
- Lee, H. P., L. Gourley, S. W. Duffy, J. Esteve, J. Lee and N. E. Day. 1991. Dietary effects on breast-cancer risk in Singapore. *Lancet* **337**, 1197-1200.
- Lu, L. J. W., K. F. Anderson, J. J. Grady and M. Nagamani. 1996. Effects of soya consumption for one month on steroid hormones in premenopausal women: Implications for breast cancer risk reduction. *Cancer Epidemiol. Biomarkers & Prev.* **5**, 63-70.
- Maron, D. M. and B. N. Ames. 1983. Reversed methods for the *Salmonella* mutagenicity test. *Muta. Res.* **113**, 173-215.
- Messadi, D. V., P. Billings, G. Shklar and A. R. Kennedy. 1986. Inhibition of oral carcinogenesis by a protease inhibitor. *J. Natl. Cancer Inst.* **76**, 447-452.
- Messina, M. and V. Messina. 1993. Increasing use of soyfoods and their potential role in cancer prevention. *J. Am. Diet Asso.* **91**, 836-840.
- Messina, M., V. Persky, K. D. R. Setchell and S. Branes. 1994. Soy intake and cancer risk: A review of the *in vitro* and *in vivo* data. *Nutr. Cancer* **21**, 113-131.
- Mirsalis, J. C., C. M. Hamilton, J. E. Schindler, C. E. Green and J. E. Dabbs. 1993. Effects of soya bean flakes and licorice root extract on enzyme induction and tox-

- icity in B6C3F1 mice. *Food Chem. Toxic.* **31**, 343-350.
19. Monks, A., D. Scudiero, P. Skehan, R. Shoemaker, K. Paull, D. Vistica, C. Hose, J. Langley, P. Cronise, A. Vaigro-Wolff, M. Gray-Goodrich, H. Campbell, J. Mayo and M. Boyd. 1991. Feasibility of a high-flux anticancer drug screen using a diverse panel of cultured human tumor cell lines. *J. Natl. Cancer Inst.* **83**, 757-766.
  20. Pratt, D. E. 1972. Water soluble antioxidant activity in soybeans. *J. Food Sci.* **37**, 322-323.
  21. Price, K. R. and G. R. Fenwick. 1985. Naturally occurring estrogens in foods: a review. *Food Addit. Contam.* **2**, 73-106.
  22. Sarkar, F. H. and Y. Li. 2003. Soy isoflavones and cancer prevention. *Cancer Invest.* **21**, 817-818.
  23. Shamsuddin, A. M. 1999. Metabolism and cellular functions of IP6: a review. *Anticancer Res.* **19**, 3733-3736.
  24. Skehan, P., R. Storeng, D. Scudiero, A. Monks, J. McMahon, D. Vistica, J. T. Warren, H. Bokesch, S. Kenney and M. R. Boyd. 1990. New colorimetric cytotoxicity assay for anticancer-drug screening. *J. Natl. Cancer Inst.* **82**, 1107-1112.
  25. Sung, M. K. and M. Y. Park. 2002. Cytotoxic and apoptotic effects of soybean and brown rice extracts on hormone dependent/independent breast cancer cell lines. *J. Kor. Soc. Food Sci. Nutr.* **31**, 521-526.
  26. Takahashi, M., K. Imaida, F. Furukawa and Y. Hayashi. 1991. Inhibitory effects of soybean trypsin inhibitor during initiation and promotion protease of N-nitrosobis(2-oxopropyl)amine-induced hamster pancreatic carcinogenesis. *Pro. Clin. Biol. Res.* **369**, 145-154.
  27. Teixeira, S. R., S. M. Potter, R. Weigel, S. Hannum, J. W. Jr. Erdman and C. M. Hasler. 2000. Effects of feeding 4 levels of soy protein for 3 and 6 wk on blood lipids and apolipoproteins in moderately hypercholesterolemic men. *Am. J. Clin. Nutr.* **71**, 1077-1084.
  28. Vincent, A. and L. A. Fitzpatrick. 2000. Soy isoflavones: are they useful in menopause? *Mayo Clin. Proc.* **75**, 1174-1184.
  29. Vucenik, I., K. Sakamoto, M. Bansal and A. M. Shamsuddin. 1993. Inhibition of rat mammary carcinogenesis by inositol hexaphosphate (Phytic acid). A pilot study. *Cancer Lett.* **75**, 95-102.
  30. Wang, T. T. Y., N. Sathyamoorthy and J. M. Phang. 1996. Molecular effects of genistein on estrogen receptor mediated pathway. *Carcinogenesis* **17**, 271-275.
  31. William, J. P., S. E. Jordan, S. Barnes and H. Blair. 1998. Tyrosine kinase inhibitor effects on avian osteoclastic acid transport. *Am. J. Clin. Nutr.* **68S**, 1369-1374.
  32. Witschi, H. and A. R. Kennedy. 1989. Modulation of lung tumor development in mice with the soybean derived Bowman-Birk protease inhibitor. *Carcinogenesis* **10**, 2275-2277.