

수수(Sorghum)의 항돌연변이 및 항발암 효과

부산대학교 식품영양학과 및 암연구소

권영미 · 박건영

Antimutagenic and Anticarcinogenic Effect of Sorghum

Young-Mi Kweon and Kun-Young Park

Department of Food Science and Nutrition and Pusan Cancer Research Center,
Pusan National University, Pusan 609-735, Korea

Antimutagenic effects of some cereals, legumes and oil seeds were studied using Ames test on *Salmonella typhimurium* TA100. The methanol extracts of brown rice, sorghum, black sesame, white sesame, and perilla seeds effectively inhibited the mutagenicity induced by aflatoxin B₁ (AFB₁). To separate and identify the antimutagenic and anticarcinogenic compounds from sorghum, the methanol extract was fractionated by using various solvents such as dichloromethane, ethylacetate and butanol. Among the solvent fractions from the methanol extract of sorghum, the dichloromethane fraction significantly reduced the mutagenicity induced by AFB₁ in *Salmonella typhimurium* TA100. Using eukaryotic cells of C3H/10T1/2 cells, the anticarcinogenic effect of the methanol extract and the dichloromethane fraction of sorghum was evaluated. It revealed that they inhibited the cytotoxicity of the MCA and reduced transformed foci induced by MCA.

Key Words: Sorghum, Antimutagenic, Anticarcinogenic, C3H/10T1/2 cells

서 론

최근 한국인의 식생활은 간편화 및 서구화 추세에 있으며, 이로 인한 순환기계 질환 및 암 등 식원병의 발병이 급격히 증가하고 있다.^{1,2)} 특히, 암에 의한 사망률이 매년 증가하고^{2,3)} 있기에 암예방효과와 관련된 돌연변이 억제, 항발암, 항산화 및 노화억제효과 등의 생물 활성인자를 검색하는 연구가 활발히 전개되고 있다. 이러한 생리기능

성분의 탐색은 부작용이 비교적 적으면서 일상적인 섭취로 지속적인 효과를 나타내며, 질병예방의 의미를 갖는 식품에서 찾으려는 추세이다.

최근 암예방을 위한 식품연구에서 임상적으로 암예방 가능성이 높은 것은 과일과 채소에 풍부하게 들어 있는 retinoid,⁴⁾ carotenoids,^{4,5)} phytochemicals⁵⁾ 등과 같은 식품중에 존재하는 다양한 미량원소들로 알려져 있다. 그리고 식품내의 항돌연변이 물질로는 porphyrin, fatty acids, polyphenols, sulfhydryl 화합물, 셀레늄, 식이 섬유소 등이 활성이 있는 것으로 알려져 있으며,^{6,7)} 그 밖의 다양한 식품내 존재하는 효소,⁸⁾ 지방산,⁹⁾ 비타민,¹⁰⁾ 항산화제¹¹⁾ 등에서도 돌연변이 억제활성이 차례로 밝

혀지고 있다.

이처럼 과채류, 약용식물, 해조류, 어류, 향신료 등을 중심으로 항돌연변이 및 항암효과에 대한 연구가 활발히 이루어지고 있는 반면에 곡류, 두류 등에 대한 연구는 아직 미흡한 실정이다. 특히 우리나라의 경우 쌀 중심의 곡류를 주식으로 하는 식생활임을 감안할 때 쌀을 포함한 곡류에 함유된 항돌연변이 물질의 유무와 그 활성을 검토해 보는 것은 매우 의미있는 일이라 생각된다. 곡류는 전분의 함량이 많아서 과일과 채소류처럼 생리 활성 물질들이 다양하게 다량 존재할 가능성은 적겠지만, 우리 식생활에서 매일 섭취하는 양이 많고 지속적으로 섭취하는 식품이기 때문에 그 잠재적인 효과를 기대할 수 있을 것이라고 생각된다. 하지만 실제 곡류에 대한 구체적인 연구는 많지 않고, 쌀,¹²⁾ 현미¹³⁾의 항돌연변이 활성에 대한 연구, 쌀의 가공처리에 따른 항돌연변이 활성변화,¹⁴⁾ 곡류 및 두류의 항변이원성 활성 검색,¹⁵⁾ 그리고 곡류 함유 항변이원성 물질 검색과 변이원성 억제효과 분석¹⁶⁾ 등의 연구가 있다.

수수(sorghum)는 학명이 *Sorghum bicolor* (L.) Moench로서 포아과(禾本科)에 속하는 일년생 초본이다.¹⁷⁾ 수수는 쌀, 밀, 옥수수, 보리 다음으로 생산량이 많은 식용작물로서¹⁸⁾ 가식부 100 g당 단백질 10.9 g, 지방 3.2 g, 탄수화물 73 g, 조식이섬유 2.3 g, 회분 1.6 g, 칼슘 2.7 mg, 철 4.3 mg, 티아민 0.3 mg, 니아신 2.8 mg, 리보플라빈 0.138 mg 함유하고 있다. 일반적으로 수수의 단백질 함량은 쌀, 보리, 밀, 옥수수보다 높은 편이다.¹⁹⁾ 수수의 지방산 조성은 옥수수와 거의 유사한데, linoleic acid (49%), oleic acid (31%), palmitic acid (14%)이고, 이외에도 linolenic acid (2.7%), stearic acid (2.1%), arachidonic acid (0.2%)가 함유되어 있다.¹⁹⁾

수수는 주요 곡류들 중에서 tannin (polymeric polyphenols)을 함유하는 유일한 작물이다. 모든 수수는 phenols을 함유하고, 대부분은 flavonoids을 함유하지만, 착색된 종자만이 condensed tannin을 가진다. 수수의 주된 flavonoids는 flavans이다.¹⁹⁾ 수수 외피의 색깔은 anthocyanin이 anthocyanidin 색소나 flavonoid compounds와 결합에 의해 나타나는데, 붉은 수수의 주된 색소는 lutoforol이다.²⁰⁻²³⁾

따라서 본 연구에서는 곡류를 비롯한 두류와 종실류 중 우리나라 식생활에서 주식 또는 잡곡으로 자주 이용되는 농산물을 선정하여 이들의 항돌연변이 효과를 검토하고, 그 결과 가장 큰 항돌연변이 활성을 나타내었던 수수로부터 활성 물질을 분리하고자 용매 극성 별로 분획을 하여 그 분획물들의 항돌연변이 효과를 검토해 보았으며 그 결과 활성이 크게 나타난 디클로로메탄층에 대해서는 C3H mouse embryo 세포인 C3H/10T1/2 세포를 사용하여 진핵세포에서 발암원에 의한 암화과정에서 항발암 작용을 검토하였다.

재료 및 방법

1) 시료의 조제

(1) 재료: 쌀(*Oryza stiva* L., Rice), 통보리(*Hordeum vulgare* L., Barley), 통밀(*Triticum aestivum* L., Wheat), 수수(*Sorghum bicolor* L. Moench, Sorghum), 차조(*Setaria italica*, Glutenous millet), 팥(*Vigna angularis* L., Small red bean), 흰깨(*Sesamum indicum* L., White sesame), 검정깨(*Sesamum indicum* L., Black sesame), 들깨(*Perilla frutescens* var. *japonica* Hara, Perilla seeds)은 충북 보은군 회인골에서 재배된 우리 농산물로서 농협에서 구입하여 시료로 사용하였으며, 현미(*Oryza stiva* L., Brown rice), 울무(*Coix lacryma-jobi* L. var. *Mayuen*, Job's tears), 노란콩(*Glycine max* L., Yellow soybean), 검정콩(*Phaseolus vulgaris* L., Black soybean)은 자연건강연구원(부산시 동대신동 소재)에서 유기농법으로 재배한 것을 구입하여 사용하였다.

(2) 시료의 메탄올 추출물: 시료들은 잘 수세한 후, 동결 건조하고 분쇄한 다음, 건조시료 중량의 20배의 메탄올을 첨가하고 12시간 교반을 2회 반복하여 메탄올 추출물을 얻었다. 이것을 회전식 진공농축기로 농축한 후, dimethyl sulfoxide (DMSO)에 녹여서 실험에 사용하였다.

(3) 수수의 분획물 제조: 수수는 수세하여 동결 건조하고 분쇄한 후, n-hexane으로 3회 추출하여 탈지시킨 후, 잔사의 20배의 메탄올로 3회 교반 추출하였다. 이것을 회전식 진공농축기를 이용하여 감압 농축한 후, 다시 디클로로메탄, 에틸아세테이트, 부탄올 및 물로 분획하여 농축시켜, DMSO

에 녹여서 실험에 사용하였다.

2) 항돌연변이 및 항발암실험

(1) Ames 돌연변이 유발실험^{25~27)}

① **돌연변이원/발암원**; Aflatoxin B₁ (AFB₁)은 간접돌연변이원으로 미국 Sigma사에서 구입하여 dimethyl sulfoxide (DMSO)에 녹여서 사용하였다.

② **S9 mixture 조제**: 간접돌연변이원을 활성화시키기 위하여 Maron과 Ames²⁸⁾의 방법에 따라 간의 microsomal enzyme mixture인 S9 mixture를 조제하였다. 약 200 g의 웅성 Sprague-Dawley계 쥐의 간효소 유도를 위하여 Aroclor 1254를 corn oil 1 ml당 200 mg의 농도가 되게 희석하여 1회 복강 주사하고(500 mg/kg) 5일 후에 간을 적출하였다. 4°C 무균 상태에서 적출한 간을 0.15 M KCl 용액으로 수회 세척하고 간 무게의 3배량의 0.15 M KCl 용액을 가하여 homogenizer (Potter-Elvehjem apparatus, U.S.A.)로 균질화하였다. 이것을 9,000×g에서 10분간 원심 분리하여 상등액인 S9 fraction을 얻었다. 이 S9 fraction 1 ml, MgCl₂-KCl salts 0.2 ml, 1M glucose-6-phosphate 0.05 ml, 1M NADP 0.4 ml, 0.2M phosphate buffer (pH 7.4) 5 ml 및 멸균 증류수 0.05 ml를 각각 역순으로 혼합하여 S9 mixture를 조제하였다.

③ 항돌연변이 실험²⁸⁾

가. 시료의 독성실험(dose response test): 시료의 균주에 대한 독성 유무를 살펴보기 위해서 시료를 실험에 사용하기 전에 독성실험을 행하여 독성이 나타나지 않는 범위내에서 시료의 첨가농도를 결정하였다. 먼저 멸균된 cap test tube에 top agar를 2 ml씩 분주한 후 균주 100 μl와 희석된 시료 100 μl를 첨가하여 가볍게 vortex한 후, nutrient agar plate에 분주, 고화시켜서 37°C에서 24시간 배양시킨 다음 그 독성 유무를 판정하였다.

나. 항돌연변이 실험: 항돌연변이 실험은 *Salmonella typhimurium* TA100균주를 이용하여 pre-incubation test²⁸⁾를 하였다. 0.5 ml의 S9 mix에 하룻밤 배양한 균주(1~2×10⁹cells/ml) 0.1 ml, 희석 시료 50 μl와 돌연변이 유발물질 50 μl을 ice bath에 담긴 cap tube에 첨가하여 가볍게 vortex하고, 37°C에서 20분간 예비 배양하였다. 45°C의 top agar 2 ml씩을 예비 배양한 각 tube에 붓고 3초간

vortex하여 minimal glucose agar plate에 도말하고 37°C에서 48시간 배양한 후 revertant 숫자를 계수하였다. 한편, 실험에 사용된 시료와 돌연변이 유발물질의 농도는 예비실험(dose response test 및 독성실험)을 통하여 결정하였다.

돌연변이 억제효과의 정도(inhibition rate)는 아래 식에 의해 계산하였다.

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

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

(2) C3H/10T1/2 cell에서 암화억제 실험

① **C3H/10T1/2 cell 및 배양^{29,30)}**: 실험에 사용된 mouse embryo cell인 C3H/10T1/2 세포는 한국세포주은행(서울대학교 의과대학)으로부터 제공받았다. 세포는 100 unit/ml의 penicillin-streptomycin과 10% fetal calf serum (FCS)가 함유된 basal medium eagle (BME)을 사용하여 37°C, 5% CO₂ incubator에서 배양하였다. 배양 중인 C3H/10T1/2 세포는 일주일에 2~3번 refeeding하고 7~8일 배양한 후 PBS로 세척한 뒤 0.05% trypsin-0.02% EDTA로 분리 계대배양하면서 실험에 사용하였다.

② **세포 독성실험**: Cytotoxicity test의 실험방법은 C3H/10T1/2 세포를 2,000 cells/5 ml의 농도로 60 mm dish에 seeding하고, 24시간 동안 배양한 후 배양액을 버리고 free serum medium에 3-methylcholanthrene(MCA, 5 μg/ml)와 시료를 첨가한 후 5 ml씩 60 mm dish에 feeding하였다. 한편, 대조군에는 MCA와 DMSO를 첨가하여 24시간 배양하였다. 실험군과 대조군을 10% FCS가 함유된 신선한 배지로 refeeding하면서 일주일 배양 후 메탄올로 고정화하여 Giemsa stain으로 염색한 뒤 20 또는 그 이상으로 균집을 이룬 cell colony를 계수하여 아래 공식에 따라 C3H/10T1/2 세포에 대한 cytotoxicity 억제효과를 측정하였다.

$$\text{Cytotoxicity} = \frac{\text{Number of surviving colonies on treated dishes}}{\text{Number of surviving colonies on control dishes}}$$

③ Transformation test^{31,32}; C3H/10T1/2 세포를 2,000 cells/5 ml로 계수하여 60 mm dish에 seeding한 후 24시간 동안 배양하였다. 배양액을 버리고 free-serum medium에 MCA (5 µg/ml)와 시료를 넣고 48시간 동안 배양하고 대조군에는 MCA와 DMSO를 첨가하였다. 새로운 배지로 refeeding한 후 7일 간격으로 계속 refeeding하면서 6주간 37°C, 5%CO₂ incubator에서 배양하였다. 그 후 메탄올로 고정화하고 Giemsa stain으로 염색하여 transformed foci가 형성되는 집약도에 따라 3가지 type (type I, II, III)로 구분하여 계수하였다.

(3) 통계 분석: 대조군과 각 시료들로부터 얻은 실험자료들은 SAS system에서 Duncan's multiple range test를 이용하여 통계분석 하였다.

결 과

곡류, 두류 및 종실류 시료들의 간접 돌연변이 원인 AFB₁에 대한 항돌연변이 효과를 Ames 실험계를 이용하여 검토해 보았다(Table 1). 곡류 시료로는 현미, 백미, 보리, 밀, 수수, 차조, 울무이며, 두류 시료로는 노란콩, 검정콩, 팥, 땅콩이고, 종실류로는 참깨, 검은깨, 들깨로서 이들의 메탄올 추출물을 얻어서 실험에 사용하였다. 실험에 사용된 시료의 양은 2.5 mg/plate였으며, Table 1에 나타난 바와 같이 *Salmonella typhimurium* TA100에 대한 AFB₁의 돌연변이 활성을 가장 크게 억제한 것은 수수(86%)와 현미(60%)였고, 종실류 중에서도 검은깨(66%), 들깨(63%)가 50% 이상의 돌연변이 억제 효과를 나타내었고 시료들 중에서는 수수가 가장 큰 항돌연변이 효과를 나타냄을 알 수 있었다.

Table 2는 Ames 실험계에서 수수 메탄올 추출물의 AFB₁에 대한 항돌연변이 효과를 시료 첨가 농도별로 살펴 본 것이다. 그 결과 수수 메탄올 추출물을 plate 당 0.63, 1.25, 2.5 mg씩 첨가시 첨가 농도에 비례하여 돌연변이 억제효과도 67, 80, 93%로 증가되는 것으로 나타나서, 수수 메탄올 추출물은 첨가 농도에 의존적으로 항돌연변이 효과를 나타냄을 알 수 있었다. 이와 같은 실험 결과를 토대로 수수 메탄올 추출물로부터 항돌연변이 활성 물질을 분리하기 위하여 기초단계로 용

Table 1. Effects of methanol extracts (2.5 mg/plate) of various cereals, legumes, and oil seeds on the mutagenicity of aflatoxin B₁ (AFB₁, 1.5 µg/plate) in *Salmonella typhimurium* TA100

Samples	Revertants/Plate	Inhibition(%)
Spontaneous Control	106 ± 1 ¹ 1162 ± 91 ^a	
Cereals	Brown rice	534 ± 38 ^b 60
	Rice	935 ± 46 ^c 21
	Barley	1076 ± 24 ^b 8
	Wheat	796 ± 18 ^e 35
	Sorghum	255 ± 12 ¹ 86
	Glutenous millet	866 ± 1 ^d 28
	Job's tears	760 ± 2 ^e 38
Legumes	Yellow soybean	760 ± 30 ^e 36
	Black soybean	870 ± 29 ^d 28
	Small red bean	1022 ± 83 ^b 13
	Peanuts	644 ± 41 ^f 49
Oil seeds	White sesame	957 ± 16 ^c 19
	Black sesame	464 ± 11 ^h 66
	Perilla seeds	502 ± 40 ^{gh} 63

¹Values are mean ± SD

^{a-h}Means with the different letters beside data are significantly different at the 0.001 level of significance as determined by Duncan's multiple range test using SAS system.

Table 2. Effect of methanol extracts of sorghum on the mutagenicity induced by aflatoxin B₁ (AFB₁, 0.15 µg/plate) in *Salmonella typhimurium* TA100

Sample	Final conc. (mg/plate)	Revertants/Plate	Inhibition rate(%)
Spontaneous Control		102 ± 14 ¹ 798 ± 27	
AFB ₁ + Sorghum methanol ext.	0.63	320 ± 56	67
	1.25	242 ± 39	80
	2.50	153 ± 4	93

¹Values are mean ± SD

매 극성별 분획을 하여 6개의 분획물을 얻었다. 분획물들의 항돌연변이 활성을 알아보기 위하여 Ames 실험을 한 결과, 분획물들을 최종 농도 0.5, 1.25 mg/plate 첨가시 디클로로메탄 희분(수율: 30%)이 87%와 95%, 에틸아세테이트(수율: 3.6%)

획분의 경우도 89%와 97%의 저해율을 나타내어 서(Table 3) 이 분획물들이 AFB₁의 돌연변이 활성을 효과적으로 저해함을 알 수 있었고, 이들 분획물속에 주요 활성물질들이 존재할 가능성이 높은 것으로 추측된다. 그래서 본 실험에서는 분획물의 수율을 고려하여 보다 수율이 높았던 디클로로메탄 획분과 메탄올 추출물의 항발암효과를 C3H10T1/2 세포를 이용하여 비교, 검토해 보았다.

수수의 메탄올 추출물과 디클로로메탄 분획물이 C3H/10T1/2 cell에서 발암물질인 MCA에 의한

독성을 어느 정도 저해하는지를 측정하였다(Table 4). 수수 메탄올 추출물을 25 µg/assay 첨가시 23%의 보호효과를 나타냈으나 50 µg/assay에서는 49%의 보호효과를 나타내었다. 그리고 디클로로메탄 분획물을 25 µg/assay, 50 µg/assay 첨가시에 각각 49%, 83%의 보호효과를 나타내어서 이들 추출물이 MCA의 C3H/10T1/2 cell에 대한 cytotoxicity를 일정한 비율로 억제하고 있음을 나타내었다.

한편 C3H10T1/2 cell을 이용하여 발암원 MCA에 대한 수수의 메탄올 추출물과 디클로로메탄 분획물의 발암성 저해효과를 측정 한 결과는 Table 5와 같다.

발암원 투여 결과 형성된 transformed foci를 Type I, Type II, Type III로 구분하게 되는데, Type I은 C3H 마우스에 접종된 후 종양을 형성하지 않는 반면, Type II는 접종 후 50% 정도로 종양을 형성하고, Type III는 85% 이상의 비율로 종양을 형성하는 것으로 연구되어 있다.^{33,34} MCA만 첨가한 대조군의 경우는 형성된 Type II와 Type III foci의 합계가 17였는데 비해 수수의 메탄올 추출물과 디클로로메탄 획분을 처리하였을 경우 시료 농도 50 µg/ml에서, Type II와 Type III foci의 합계가 각각 11.7개와 11.3개로 각각 감소되어 이들 추출물은 MCA에 의한 transformation foci 형성을 거의 비슷한 정도로 억제시키는 것으로 나타났다.

Table 3. Effects of the fractionated samples from methanol extract of defatted sorghum (0.5, 1.25 mg/plate) on the mutagenicity of aflatoxin B₁ (AFB₁, 0.5 µg/plate) in *Salmonella typhimurium* TA100

Samples	Revertants/Plate	
	0.5 mg/plate	1.25 mg/plate
Spontaneous Control	116 ± 4 1095 ± 24 ^a	106 ± 1 1162 ± 91 ^a
Hexane fr.	672 ± 65 ^d (43) ¹	415 ± 28 ^c (69)
MeOH soluble fr. (MSF)	377 ± 15 ^e (74)	181 ± 16 ^{fg} (93)
Dichloromethane fr.	239 ± 26 ^f (87)	163 ± 1 ^{fg} (95)
Ethyl acetate fr.	226 ± 22 ^{fg} (89)	147 ± 6 ^g (97)
BuOH fr.	912 ± 99 ^b (18)	782 ± 18 ^c (32)
Aqueous fr.	1011 ± 10 ^b (27)	831 ± 46 ^c (27)

¹Inhibition rate(%)

^{a-g}Means with the different letters beside data are significantly different at the 0.001 level of significance as determined by Duncan's multiple range test using SAS system.

고 찰

지금까지 식품에 대한 항돌연변이, 항산화 효과

Table 4. Cytotoxic effect of C3H/10T1/2 cells treated with 3-methylcholanthrene (MCA, 10 µg/ml) plus different levels of dichloromethane (CH₂Cl₂) fraction and methanol extract from sorghum

Sample	Final conc. (µg/ml)	Cell colony	Cytotoxicity ²
Control (MCA)		44.3 ± 2.5 ¹	1.00
MCA + Methanol ext.	25	54.3 ± 2.1	1.23
	50	66.0 ± 2.6	1.49
MCA + CH ₂ Cl ₂ fr.	25	66.0 ± 2.6	1.49
	50	80.7 ± 5.7	1.83

¹Value are mean ± SD

²Cytotoxicity = $\frac{\text{Number of surviving colonies of treated dishes}}{\text{Number of surviving colonies of control dishes}}$

Table 5. Inhibitory effects of the dichloromethane (CH₂Cl₂) and methanol extract from sorghum on the transformation of C3H/10T1/2 cells treated with 3-methylcholanthrene (MCA, 10 µg/ml)

Carcinogen+sample	Total number of foci			
	Type I foci	Type II foci	Type III foci	Type II+Type III
MCA (control)	4.7±1.51	7.7±0.6	9.3±2.1	17.0
MCA+Methanol ext. (50 µg/ml)	3.0±0	4.7±0.6	7.0±1.0	11.7
MCA+CH ₂ Cl ₂ fr. (50 µg/ml)	4.3±2.1	5.0±1.0	6.3±1.5	11.3

¹Values are mean±SD

및 항암 효과에 대한 연구가 많이 행해져 오고 있지만, 이러한 연구의 대부분은 채소류,³⁵⁾ 과일류, 해조류,^{36~38)} 어패류^{40,41)} 등과 기호식품으로 이용되는 차,^{42,43)} 포도주,⁴²⁾ 요구르트⁴⁴⁾ 등을 중심으로 이루어져 왔다. 하지만 우리나라 식생활이 쌀밥 위주의 식사라는 점을 감안해 볼 때, 주식으로 이용되는 쌀과 이외에도 주식으로 대용 또는 보조할 수 있는 다른 곡류들과 두류, 이외에도 우리 식단에서 빼놓을 수 없는 참깨, 들깨 등의 종실류에 대한 항돌연변이 활성이나, 항암활성과 같은 생리적 기능성에 대한 연구는 아직 미흡한 실정이다.

곡류, 두류 및 종실류시료들의 항돌연변이 효과를 실험한 결과, 가장 활성이 컸던 시료들은 곡류 중에서는 수수와 현미였고, 종실류 중에서는 검정깨와 들깨였다.

최등¹⁶⁾의 연구에 의하면, SOS chromotest를 이용하여 곡류와 두류의 항변이원성을 검색한 결과 검은콩과 팥의 항돌연변이 활성이 높았다고 하였으며, 또한, linoleic acid model system을 이용하여 항산화 활성을 측정된 결과 쌀겨, 조, 울무, 검정콩에서 높은 항산화활성이 나타났다고 보고하였다. 그리고 전등¹²⁾은 백미와 현미의 메탄올 추출물의 항돌연변이성을 검색해본 결과 Trp-P-1, Trp-P-2, sodium azide (SA), 2-nitrofluorene (2 NF), MMC, AFB₁ 및 4-NQO에 의해 유발된 돌연변이에 대해 억제효과를 나타내며, 특히 간접돌연변이원에 대해 강한 억제활성이 있음을 보고하였으며, 전등¹³⁾은 현미 추출물을 Chinese hamster lung (CHL) cell에 변이원 MMC와 함께 현미 추출물을 투여하였을 경우, 각 농도에서 유의적으로 MMC에 의한 염색체 이상 빈도를 감소시키는 것으로 나타났

고 하였다. 또한 강등¹⁵⁾은 SOS chromotest를 이용하여 쌀을 포함한 곡류와 두류의 70% 에탄올 추출물의 항변이원 활성을 분석한 결과 현미와 메밀의 활성이 현저하게 높았으며, 검정콩과 팥 역시도 활성이 크게 나타났지만, 수수, 조, 대두는 현미보다는 활성이 낮았다고 보고하였다.

수수 메탄올 추출물과 디클로로메탄 분획물의 항발암효과를 검토하기 위하여 C3H10T1/2 세포를 이용하여 cytotoxicity test와 transformation test를 행하였다. 사용한 C3H10T1/2 세포는 C3H mouse embryo 세포로서 진핵세포의 발암기전을 연구하는데 널리 사용되는 세포이며, 이것을 이용해 여러 형태의 돌연변이원에 대한 영향을 실험할 수 있는 특징을 지니고 있다. Cytotoxicity 실험에서 수수 메탄올 추출물과 디클로로메탄 분획물은 효과적으로 발암물질로 인한 세포독성효과를 차단하는 효과를 나타내었다. 그리고 C3H10T1/2 cell에서 MCA에 의한 발암성을 억제하여 대조군에 비해서 수수 메탄올 추출물을 처리시 Type II와 Type III foci의 갯수를 31% 감소시켰고, 디클로로메탄 분획물을 처리시에는 34%를 감소시키는 것으로 나타났다.

이처럼 곡류의 항변이원성에 대한 연구 결과는 항변이원성 측정에 사용한 실험계에 따라서 그 결과에 다소 차이가 있고 시료를 추출한 조건에 따라서도 차이가 있지만 대체적으로 암예방효과가 있는 것으로 추측된다. 본 연구에서 가장 큰 항돌연변이 활성을 나타내었던 수수의 경우는 곡류들 중에서 tannin을 함유하는 유일한 작물이고, 특히 갈색 수수는 free phenolic acids의 함량이 상당히 높은 것으로 알려져 있다. 이와 같은 tannin과 phenolic acids의 항돌연변이 및 항산화 작용,

항암작용에 대한 가능성은 이미 많은 연구가 이루어지고 있다. 실제로 유색미의 왕겨부분의 색소 추출물로부터 강력한 항산화 물질로 flavonoid 물질인 isovitexin을 동정한 바 있다.⁴⁵⁾ 그래서 수수의 이러한 효과는 다른 잡곡류와는 달리 색소와 phenolic acids에 의한 작용이 컸을 것이라고 생각된다.

결 론

곡류, 두류 및 종실류 시료들의 Ames 실험계에서 항돌연변이 효과를 검토해 본 결과, 시료 메탄올 추출물들은 AFB₁에 대해서는 수수와 현미가 가장 큰 저해효과를 나타내었고, 이외 흰깨, 들깨 등의 종실류도 50% 이상의 저해효과를 나타내었다. 그리고 수수의 분획물중에서는 디클로로메탄 획분과 에틸아세테이트 획분이 AFB₁에 대해 큰 돌연변이 억제효과를 나타내었다. 수수 메탄올 추출물과 디클로로메탄층은 진핵세포인 C3H/10T1/2 세포를 이용한 cytotoxicity test에서도 MCA의 작용을 억제하는 것으로 나타났으며, 활성분획물에 의한 발암과정의 저해기전을 검토하기 위해 실시한 transformation test에서도 type II와 type III foci의 형성을 감소시켜서 in vitro 실험계에서는 발암 물질로 인한 돌연변이 및 암발생을 억제하는 효과가 있는 것으로 나타났다.

감사의 글

이 연구는 (주)엄마사랑의 연구비지원에 의한 것으로 이에 감사를 드립니다.

참고 문헌

- 1) 공세권, 황나미. 약성 신생물질의 이환 및 사망에 관한 고찰. 한국인구보건연구원 보고서 II 1983; 21.
- 2) 인구보건논집. 보건사회부 1992; 38.
- 3) 보건사회백서. 보건사회부 1992; 86.
- 4) Bertram JS, Pung A, Churley M, Kappok IV, TJ, Wilkins LR, Cooney RV. Diverse carotenoids protect against chemically induced neoplastic transformation. *Carcinogenesis* 1991; 12: 671.
- 5) Wattenberg LW. Inhibition of neoplasia by minor dietary constituents. *Cancer Res* 1983; 43: 2448s.
- 6) Kata T, Kaneko K, Matsuzaki T, Hara Y. Detection and chemical identification of natural bio-antimutagens, a case of green tea factor. *Mutat Res* 1985; 150: 127.
- 7) Morita K, Nishijima Y, Kata T. Chemical nature of a desmutagenic factor from burdock. *Agric Biol Chem* 1985; 49: 925.
- 8) Inoue T, Morita K, Kata T. Purification and properties of plant desmutagenic factor for the mutagenic principle of tryptophan pyrolysate. *Agric Biol Chem* 1981; 45: 345.
- 9) Kim SH, Kim JO, Lee SH, Park KY, Park HJ, Chung HY. Antimutagenic compounds identified from the chloroform fraction of garlic (*Allium sativum*). *J Korean Soc Food Nutr* 1991; 20: 253.
- 10) Limsylianco CY, Sylianco WL. Antigenotoxic effect of vitamins. *J Asian Food* 1992; 7: 100.
- 11) Chen C, Pearson AM, Gray JI. Effects of synthetic antioxidants (BHA, BHT and PG) on the mutagenicity of IQ like compounds. *Food Chem* 1992; 43: 177.
- 12) 전향숙, 김인호, 김영진, 김길환. 쌀 추출물의 돌연변이 억제효과. 한국식품과학회지 1994; 26: 188.
- 13) 전향숙, 김인호, 김현정. 현미 추출물이 Mitomycin C로 유발된 CHL세포의 염색체이상에 미치는 영향. 한국식품과학회지 1995; 27: 1003.
- 14) 김인호, 전향숙, 하태열, 문태화. 쌀의 돌연변이 억제활성에 미치는 가공처리의 영향. 한국식품과학회지 1995; 27: 944.
- 15) 강미영, 최영희, 남석현. 쌀을 포함한 곡류 및 두류의 항변이원 활성 검색. 한국농화학회지 1996; 39: 419.
- 16) 최영희. 곡류 함유 항변이원성 물질 검색과 변이원성 억제 효과 분석. 경북대학교 박사학위논문 1996.
- 17) 식물대보감(상권, 자원편). 일흥출판사, 1989; 440.
- 18) 한국식물 名考. 아카데미서적, 1996; 1418.
- 19) Dendy DAV. Sorghum and Millets (*Chemistry and technology*). American association of cereal chemists, Inc., St. Paul, Minnesota, USA, 1995.
- 20) Nip WK, Burns EE. Pigment characterization in grain sorghum. I. Red varieties. *Cereal Chem* 1969; 46: 490.
- 21) Nip WK, Burns EE. Pigment characterization in grain sorghum, II. White varieties. *Cereal Chem* 1971; 48: 74.
- 22) Bate-Smith EC, Rasper V. Tannins of grain sorghum : luteoforol (leucoluteolinidin), 3', 4, 4', 5, 7-pentahydroxyflavan. *J Food Sci* 1969; 34: 203.
- 23) Bate-Smith EC. Luteotorol (3', 4, 4', 5, 7-pentahydroxyflavan. in *Sorghum vulgare L. Phytochemistry* 1969; 8: 1803.
- 24) Hahn DH, Faubion JM, Rooney LW. Sorghum phenolic acids. Their high performance liquid chromatography separation and their relation to fungal resistance. *Cereal Chem* 1983; 60: 255.

- 25) Matsushima T, Sugimura T, Nagao M, Yahagi T, Shirai A, Sawamura M. Factors modulating mutagenicity in microbial test, In "Short-term test systems for detecting carcinogens". Norphth KH, Garner RC. (eds.), Springer, Berling, 1980; 273.
- 26) Yahagi T, Nagao M, Sugimura T, Funya A, Matsu-shima T. Mutagenicity of purrolizidine alkaloids in the *Salmonella*/mammalian-microsome test. *Mutat Res* 1979; 68: 211.
- 27) Ames BN, McCann J, Yamasaki E. Methods for detecting carcinogens and mutagens with the *Salmonella*/mammalian-microsome mutagenicity test. *Mutat Res* 1975; 31: 347.
- 28) Maron DM, Ames BN. Revised methods for the *Salmonella* mutagenicity test. *Mutat Res* 1983; 113: 173.
- 29) Nennow S, Garland H, Curtis G. Improved transformation of C3H/10T1/2 cells by direct- and indirect-acting carcinogens. *Carcinogenesis* 1980; 3: 377.
- 30) Reznikoff CA, Bertram JS, Brankow DW, Heidelberger C. Quantitative and qualitative studies of chemical transformation of cloned C3H mouse embryo cells sensitive to postconfluence inhibition of cell division. *Cancer Res* 1973; 33: 3239.
- 31) Bertram JS, Heidelberger C. Cell cycle dependency of oncogenic transformation induced by N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine in culture. *Cancer Res* 1974; 34: 526.
- 32) Jones PA, Laug WE, Cardner A, Nye CA, Fink LM, Benedict WF. *In vitro* correlates of transformation in C3H/10T1/2 clone 8 mouse cell. *Cancer Res* 1976; 36: 2863.
- 33) Shoemaker RH, Wolpert-Defilippes MK, Kern DH, Lieber MM, Makuch RW, Melnick NR, Miller WT, Salmon SE, Simon RM, Venditti JM, Von Hoff DD. Application of a human tumor colony-forming assay to new drug screening. *Cancer Res* 1985; 45: 2145.
- 34) Weisenthal LM, Lippman ME. Clonogenic and non-clonogenic *in vitro* chemosensitivity assays. *Cancer Treatment Reports* 1985; 69: 615.
- 35) 이경임. 녹황색 채소류의 항돌연변이 및 암세포 증식억제 효과. 부산대학교 박사학위논문, 1992.
- 36) Hajime O, Yasushi S, Kanko Y, Isamu U, Koichi K. Possible antitumor promoting properties of marine algae and *in vivo* activity of *Wakame* seaweed extract. *Biosci Biotech Biochem* 1994; 56: 994.
- 37) Furusawa E, Furusawa S. Anticancer activity of a natural product, viva-natural, extracted from *Undaria pinnatifida* on intraperitoneally implanted Lewis lung carcinoma. *Oncology* 1985; 42: 364.
- 38) 조은주. 미역(*Undaria pinnatifida*).(귀)의 *in vitro* 항돌연변이, 항발암 및 항암효과. 부산대학교 대학원 석사학위논문, 1996.
- 40) 류병호. 새우껍질에서 추출한 키토산의 항암 및 면역활성. 한국영양식량학회지 1992; 21: 154.
- 41) 황우익, 백나경, 황윤경, 이성동. 참치 추출물의 항암 및 면역효과. 한국영양식량학회지 1992; 21: 353.
- 42) Zhou J, Ashoori F, Suzuki S, Nishigaki I, Yagi K. Protective effect of chlorogenic acid on lipid peroxidation induced in the liver of rats by carbon tetrachloride or C⁶⁰-irradiation. *J Clin Biochem Nutr* 1993; 15: 119.
- 43) Aeschbacher HU, Jaccaud E. Inhibition by coffee of nitrourea mediated DNA damage in mice. *Fd Chem Toxicol* 1990; 28: 633.
- 44) Fernandes CF, Shahani KM. Anticarcinogenic and immunological properties of dietary *Lactobaclli*. *J Food Prot* 1990; 53: 704.
- 45) Remarathnam N, Osawa T, Namiki M, Kawakishi S. Chemical studies on novel rice hull, II. Identification of isovitexin, A C-glycosyl flavonoid. *J Agric Food Chem* 1989; 37: 316.