J. Fd Hyg. Safety
Vol. 23, No. 2, pp. 149~156 (2008)

Journal of Food Hygiene and Safety
Available online at http://www.foodhygiene.or.kr

선학초 추출물의 항산화 및 항암활성

민경진* · 송진욱[1] · 차춘근[1]
계명대학교 자연과학대학 공중보건학과, [1]계명대학교 전통미생물 자원개발 및 산업화연구센터

The Antioxidative and Antitumor Activity of Extracts of *Agrimonia pilosa*

Kyung-Jin Min*, Jin-Wook Song[1], and Chun-Geun Cha[1]
Department of Public Health, College of Natural Science, Keimyung University, Daegu 704-701, Korea
[1]The Center for Traditional Microorganism Resources, Keimyung University
(Received March 24, 2008/Accepted June 11, 2008)

ABSTRACT – This study was carried out to investigate the antioxidative and antitumor activities of medicinal plants for the purpose of developing a functional food. The methanol extracts of Agrimonia pilosa was fractionated with five solvents and examined antioxidative activities and enzyme inhibitory activities in addition to growth inhibitory activity of human cancer cell. The contents of total phenol compounds in EtOAc and BuOH fraction were 39.89% and 39.56%, respectively. Strong electron donating abilities(>90%) were shown in these fractions and its abilities were 92.90% (500 μg/ml), 94.47% (1000 μg/ml) in EtOAc fraction and 93.77% (500 μg/ml), 92.90% (1000 μg/ml) in BuOH fraction, respectively. These fractions exhibited more than 50% nitrite scavenging ability and potent inhibition activities to XOase activity (93.06%, 91.73%) at concentration of 1000 μg/ml. In antitumor activity test, hexane fraction showed the strongest growth inhibition activity against HT-29, SNU-1 and HeLa cells. Inhibition levels were 51.50, 90.09% in HT-29, 88.19, 95.11% in SNU-1 and 42.66, 96.40% in HeLa at the concentration of 50, 100 μg/ml, respectively.

Key words : Agrimonia pilosa, Antioxidant, Antitumor

활성 산소는 불안정하고 반응성이 매우 강하여 세포의 구성 성분인 지질, 단백질, 당 및 DNA 등을 비가역적으로 파괴하여 암을 비롯한 뇌질환과 심장질환, 동맥경화, 피부질환, 소화기질환, 염증, 류마티스, 면역질환 등의 각종 질병을 일으키는 것으로 알려져 있다[1]. 활성 산소종이 정상적으로 소거되지 않았을 때는 자유 라디칼에 의해 다른 질병의 원인이 되기도 하고, 인간의 노화와 치매에도 중요한 역할을 하는 것으로 알려져 있으며 식품에서도 산패와 독성물질 생성 등으로 유해한 작용을 하는 것으로 알려져 있다[2-3]. 현재 알려져 있는 대표적인 식물의 생리활성 성분들은 flavonoid, steroid, terpenoid, alkaloid, quinone, tannin, indole, coumarin 및 plant sterol 등이다. 특히 polyphenol류에 속하는 flavonoids와 catechins은 약용식물에는 물론 대두(isoflavone), 녹차(catechins), 사과, 포도(quercetin, anthocyanin) 등 과일과 곡류에도 풍부하게 함유되어 있으며, 항산화 및 항암 활성을 나타내는 것으로 보고되었다[4].

XOase는 생체에서 퓨린, 피리미딘 등 여러 가지 heterocyclic compounds 및 aldehyde류의 대사에 관여하는 비특이적 효소로 xanthine이나 hypoxanthine 으로부터 uric acid를 생성할 뿐만 아니라 유해산소를 생성한다. 이 uric acid의 농도가 혈장 내에서 증가하게 되면 낮은 용해성으로 인하여 혈액 및 세포조직에 축적되어 통풍을 유발하고 신장에 침착되어 신장질환을 일으키기도 한다[5-6].

세계적으로 사망원인의 1·2위를 차지하고 있는 암에 대한 치료는 대부분 합성화학약품을 이용한 치료요법으로 현재 알킬화제, 항대사물질, 항생제, 효소제제, 호르몬, 알칼로이드 및 방사성 동위원소 등 많은 종류의 약제들이 사용되고 있으며, 그 작용기전도 다양하다. 그러나 조혈 및 면역기능에 이상을 초래하고 암세포 이외의 정상세포에도 독성을 나타내고 있어 특이적이며 선택적인 항암제의 개발이 요구되고 있는 실정이다. 최근에는 면역기능을 높여 주고 암세포에만 선택적으로 작용하는 천연 항암제

*Correspondence to: Kyung-Jin Min, Department of Public Health, College of Natural Science, Keimyung University, Deagu 704-701, Korea
Tel: 82-53-580-5229
E-mail: kjm422@kmu.ac.kr

를 생약재로부터 개발하려는 많은 연구가 수행되고 있다[7].

선학초(*Agrimonia pilosa*)는 장미과에 속하는 다년생 숙근초로서 용아초, 황아초, 지선초, 짚신나물 등으로 부르기도 한다. 예부터 민간요법, 녹즙 등으로 널리 이용되어 왔고, 폐암, 간암, 식도암, 종양, 통증제거, 지사, 토혈, 혈뇨, 자궁출혈 등에 치료 약물로서 널리 이용되어 왔다[8]. 최근에는 선학초 추출물에서 항균성[9], 항고혈압[10] 작용이 있음이 보고되었다.

이 연구에서는 전통적으로 사용되어져 온 약용식물 24종의 메탄올 추출물에 대한 선행 연구로 총페놀 함량과 전자공여능을 측정하였다. 그 중 총 페놀 함량과 전자공여능이 높았던 선학초를 선택하여 메탄올 추출물을 극성별 유기 용매로 분획하고 분획별 항산화 및 항암 활성을 알아보았다.

실험재료 및 방법

실험재료

실험에 사용한 선학초(*Agrimonia pilosa*)는 2006년 10월 대구약령시에서 건조 상태의 국산재료를 구입하여 사용하였다.

기기 및 시약

실험에 사용된 시약은 특급 및 일급 시약으로 Folin-ciocalteu's phenol reagent, 2, 2-diphenyl-1-picryl-hydrazyl (DPPH), xanthine, xanthine oxidase, trichloroacetic acid (TCA), ascorbic acid, butylated hydroxy toluene (BHT), potassium phosphate(monobasic, dibasic), sulfanilic acid, naphthylamine, 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyterazoliumbromide (MTT)은 Sigma사(USA), dimethyl sulfoxide (DMSO), sodium nitrite, sodium carbonate, tannic acid은 Merck사(Germany) 제품을 사용하였고, 시료의 추출 및 분획에 사용된 용매로 methanol, *n*-hexane, chloroform, ethyl acetate 및 n-butanol은 Burdick & Jackson사(USA)의 HPLC급 시약을 사용하였다. 세포배양에 사용된 Dulbecco's modified eagle's medium (DMEM, 4.5 g/*l* glucose & L-Glutamine), fetal bovine serum(FBS)은 Cambrex사(USA), Roswell park memorial institute medium(RPMI, 2.05 mM L-Glutamine), penicillin은 Hyclone사(USA) 제품을 사용하였다.

실험에 사용한 기기로는 rotary vacuum evaporator (N-1000, Eyela, Japan), UV/VIS spectrophotometer (V-550, JASCO, USA), microplate spectrophotometer (SPECTRA max 340PC, Molecular Devices, USA), CO_2 incubator (MCO-17AIC, Sanyo, Japan), microplate shaker (SH30, FINEPCR, Korea), high speed centrifuge (Supra22K, Hanil, Korea) 등을 사용하였다.

선학초 분획물의 조제

선학초(*Agrimonia pilosa*)의 건조시료 5배량의 methanol을 가하여 5일간 때때로 흔들어 주며 3회 반복 추출하고 여과지(Adventec toyo2, Toyo Roshi Kaisha, Japan)를 사용하여 여과하였다. 여액을 45°C에서 감압농축하고 농축액을 동결 건조하여 methanol 추출물로 사용하였다. 용매별 분획은 methanol 추출물에 약 5배수의 증류수를 가하여 현탁 시킨 후 증류수와 같은 양의 hexane을 가하여 진탕하고 방치한 후 용매층을 감압농축하고 동결 건조하여 hexane 분획을 얻었다. 남아있는 수용성층을 동일한 방법으로 chloroform, Ethyl acetate 및 Butanol을 첨가하여 순차적으로 분획한 후 농축하여 각각 chloroform, Ethyl acetate 및 Butanol 분획으로 사용 하였고 남은 수용성층은 농축하여 water 분획으로 하였다. 모든 분획들은 데시케이터에서 보관하며 실험에 사용하였다.

총 페놀 함량 분석

선학초(*Agrimonia pilosa*)의 용매별 분획에 대한 총 페놀 함량은 Folin-Denis방법[11]에 따라 분광광도계를 이용하여 760 nm에서 흡광도를 측정하여 분석하였다. 각각의 분획을 DMSO에 일정 농도로 녹인 후 0.5 ml씩 test tube에 취하여 증류수 7 ml을 첨가하고 Folin-Ciocalteau's phenol reagent 0.5 ml를 넣고 1분간 혼합하였다. 여기에 탄산나트륨 포화용액 1 ml을 넣은 후 혼합하여 실온에서 1시간 방치시키고 760 nm에서 흡광도를 측정하였다. 총 페놀 함량을 정량하기위해 표준물질 tannic acid를 DMSO에 녹여 일정한 농도별로 조제하고 시료와 동일한 방법으로 실험하여 검량선을 작성하고 각 분획의 총 페놀 함량을 측정하였다.

전자공여능 측정

전자공여능은 Blois의 방법[12]으로 측정하였다. 각각의 분획을 100 μg/ml, 500 μg/ml, 1000 μg/ml의 농도로 methanol에 녹여 조제하고 1 ml를 test tube에 취하였다. 여기에 4×10^{-4} M의 DPPH 용액 4 ml를 가하여 vortex mixer로 10초간 진탕하고 실온에서 20분 동안 방치한 후에 520 nm에서 흡광도를 측정하였다. 추출물 무 첨가구에는 시료 대신 methanol 1 ml를 첨가하여 동일하게 실험하고 추출물 첨가구에 대한 흡광도의 감소비율로 전자공여능을 나타내었다. Positive control로 합성 항산화제인 BHT를 동일한 방법으로 실험하여 각각의 분획 추출물이 가지는 환원력

과 비교하였으며, 다음 식으로 전자공여능(%)을 구하였다.

$$\text{전자공여능}(\%) = \left(1 - \frac{\text{추출물 첨가구의 흡광도}}{\text{추출물 무 첨가구의 흡광도}}\right) \times 100$$

아질산염 소거능 측정

아질산염 소거능은 Gray와 Dugan의 방법[13]에 따라 측정하였다. 1 mM $NaNO_2$용액 1 ml에 각각의 분획 추출물을 농도별로 0.5 ml가하고 0.1 N HCl을 사용하여 반응용액의 pH를 1.2로 조절하여 반응용액의 최종부피를 5 ml로 하였다. 이 용액을 37℃에서 1시간 동안 반응 시키고 각 반응액을 1 ml씩 취하여, 2% acetic acid용액 5 ml, Griess 시약(30% 초산으로 각각 조제한 1% sulfanilic acid와 1% naphthylamine을 1 : 1 비율로 혼합하여 사용직전 제조한 것) 0.4 ml을 가하여 잘 혼합하였다. 실온에서 15분간 방치한 후 520 nm에서 흡광도를 측정하고 잔존하는 아질산량을 측정하였다. 이 때 추출물 무 첨가구는 증류수 0.5 ml를 가하여 같은 방법으로 실험하였으며, positive control로 ascorbic acid를 사용하여 아질산염 소거능을 비교하였다. 실험에 사용된 농도는 100 μg/ml, 500 μg/ml, 1000 μg/ml이었고 소거능(%)은 다음 식에 따라 구하였다.

$$\text{소거능}(\%) = \left(1 - \frac{\text{A-B}}{\text{C}}\right) \times 100$$

A : 1 mM $NaNO_2$ 용액에 추출물를 가하여 1시간 반응 후의 흡광도

B : 시료자체의 흡광도(Griess 시약 대신 증류수 0.4 ml를 가한 흡광도)

C : 1 mM $NaNO_2$ 용액에 증류수를 가하여 1시간 반응 후의 흡광도

Xanthine Oxidase(XOase) 저해활성

XOase 저해활성은 Stripe와 Corte의 방법[14]에 따라 측정하였다. 효소의 반응에 사용된 기질액은 0.1 M potassium phosphate buffer (pH 7.5)에 xanthine 2 mM의 농도로 조제하였고, XOase는 0.2 unit/ml가 되도록 buffer에 녹여 사용하였다. 즉 기질액 3 ml에 각각의 분획을 농도별로 0.2 ml 첨가하고 여기에 효소액 0.2 ml를 가하여 37°C에서 15분 동안 반응 시키고 20% TCA 1 ml로 반응을 종료시킨 다음 반응액 중에 생성된 uric acid의 양을 흡광도 292 nm에서 측정하였다. Positive control로 ascorbic acid를 사용하여 저해활성을 비교하였으며, 실험에 사용된 농도는 100 μg/ml, 500 μg/ml, 1000 μg/ml이었고 저해율(%)은 다음 식에 따라 구하였다.

$$\text{저해율}(\%) = \left(1 - \frac{\text{추출물 첨가구의 흡광도}}{\text{추출물 무 첨가구의 흡광도}}\right) \times 100$$

암세포 성장 저해활성

실험에 사용한 3종류의 인간유래 세포는 대장암 세포인 HT-29(KCLB 30038), 위암 세포인 SNU-1(KCLB 00001), 자궁경부암 세포인 HeLa (KCLB 10002)로서 한국세포주은행(KCLB)으로부터 분양받아 사용하였다. 대장암과 위암 세포에는 RPMI1640(L-glutamine 300 mg/*l*)배지를, 자궁경부암 세포에는 DMEM(4.5 g/*l* glucose & L-Glutamine) 배지를 사용하였고, 각각에 56°C water bath에서 30분간 inactivation 처리한 FBS 10% (v/v)와 antibiotics(penicillin/streptomycin) 1% (v/v)를 첨가하여 사용하였다. 세포의 배양은 37°C, 5% CO_2 incubator에서 배양하였으며, 계대배양은 세포가 충분히 배양된 것을 확인하고 일주일에 2-3회 80%이상의 배지를 교환하여 실시하였다.

암세포의 성장 저해 활성은 Carmichael 등[15]의 colorimetric MTT assay방법을 응용하여 측정하였다. HT-29와 SNU-1 세포는 RPMI1640 배지에서, HeLa 세포는 DMEM 배지에서 72시간 배양하여 실험에 사용하였고, HT-29와 SNU-1 세포는 1×10^4 cell/well이 되게 농도를 조정하고 HeLa 세포는 1×10^3 cell/well로 조정하여 실험하였다. 96-well plate의 12개 컬럼 중 10개의 컬럼에 각각의 농도로 조정한 세포 부유액을 180 μl씩 분주하고 한 칼럼에는 세포가 없는 배지만을 200 μl 가해 흡광도 측정 시 blank로 사용하였다. 분획 추출물은 100% DMSO에 녹인 후 희석하여 DMSO의 배지 내 최종농도가 0.02%가 되도록 하였으며 20 μl씩 각 well에 가한 시료의 최종 농도는 5, 10, 50, 100 μg/ml로 하였다. 한 가지 농도군에 대해서는 1칼럼(6 wells)을 동일한 조건으로 사용하였으며, 나머지 한 칼럼에는 추출물 대신 0.2%의 DMSO만을 20 μl씩 첨가하여 100% 생존군으로 하였다. 암세포와 추출물이 접종된 plate를 37°C, 5% CO_2 하에서 3일간 배양 후 MTT 시약 25 μl를 모든 well에 가하고 다시 4시간 배양하였다. 배양 후 바닥에 형성된 formazan 결정이 흐트러지지 않도록 주의하면서 모든 well의 배지를 제거하고 각 well에 DMSO를

Table 1. Extraction yield of various solvent fractions obtained from 600 g of dry weight *Agrimonia pilosa*

	Agrimonia pilosa	
	Dry weight (g)	Yield (%)
Methanol	55.6	9.27
Hexane	4.8	8.63
Chloroform	5.7	10.25
EtOAc	3.1	5.57
BuOH	8.8	15.82
Water	31.6	56.88

$$\text{Yield}(\%) = \frac{\text{dry weight of extracted fraction (g)}}{\text{dry weight of medicinal plants (g)}} \times 100$$

200 μl/well씩 가하여 10분간 가볍게 진탕하여 결정을 용해한 후 microplate spectrophotometer로 540 nm 파장에서 흡광도를 측정하였다. 이 흡광도는 MTT가 세포에 의해 formazan으로 분해된 양을 나타내며, 이 값은 각 well에 살아있는 세포수와 비례한다.

결과 및 고찰

분획물의 수율

선학초(*Agrimonia pilosa*)의 methanol 추출물과 분획 추출물에 대한 수율은 Table 1과 같다. methanol 추출물의 수율은 9.27%였고 물 추출물이 56.88%로 가장 높았으며 EtOAc 분획물이 5.57%로 가장 낮았다.

총 페놀 함량

선학초(*Agrimonia pilosa*)의 용매별 분획에 대한 총페놀 함량을 측정한 결과 EtOAc, BuOH 분획에서 39.89%, 39.56%로 가장 높았다(Table 2). 지금까지 보고된 대부분의 천연 항산화제는 주로 식물 유래의 polyphenol 물질들이며[4], EtOAc 분획에 여러 가지 생리활성 물질이 존재할 것으로 추측된다.

전자 공여능

노화와 각종 질병의 원인이 생체 내에서 발생하는 hydroxyl radical (OH・), nitric oxide radical (NO), superoxide anion radical(O_2^-・), peroxyl radical(HO_2・), hydrogen peroxide (H_2O_2), hyperchlorous acid(HOCl) 등과 같은 활성 산소종(reactive oxygen species)에 의한 산화적 대사 부산물이 중요한 원인이 된다고 알려져 있다[16].

선학초의 전자공여능은 EtOAc 분획에서 30.97% (100 μg/ml), 92.90% (500 μg/ml), 94.47% (1000 μg/ml), BuOH 분획에서 34.02% (100 μg/ml), 93.77% (500 μg/ml), 92.90% (1000 μg/ml)로 높게 나타났으며, chloroform, water 분획에서도 대조구인 BHT와 비슷한 수준의 전자공여능을 보였다(Fig. 1). 모든 분획물들이 농도에 비례하여 전자공여능이 증가하였고, 이는 모든 분획에서 DPPH를 환원시킬 수 물질이 존재하고 있음을 보여 주는 것이며 분획별 총 페놀 함량과도 깊은 상관성이 있는 것으로 생각된다. 전자공여능은 라디칼에 수소를 공여함으로써 지질과산화 저해뿐만 아니라, 체내에서 발생하는 활성 산소종을 효과적으로 제거할 수 있으며, 따라서 EtOAc, BuOH 분획은 천연 항산화제로서 사용이 가능할 것으로 생각된다.

Table 2. Contents of total phenolics in various solvent fractions from the methanol extract of medicinal plants

	Total phenolics (%)*				
	Hexane	Chloroform	EtOAc	BuOH	Water
Agrimonia pilosa	6.22	13.70	39.89	39.56	9.74

*% tannic acid equivalent by Folin-Denis method

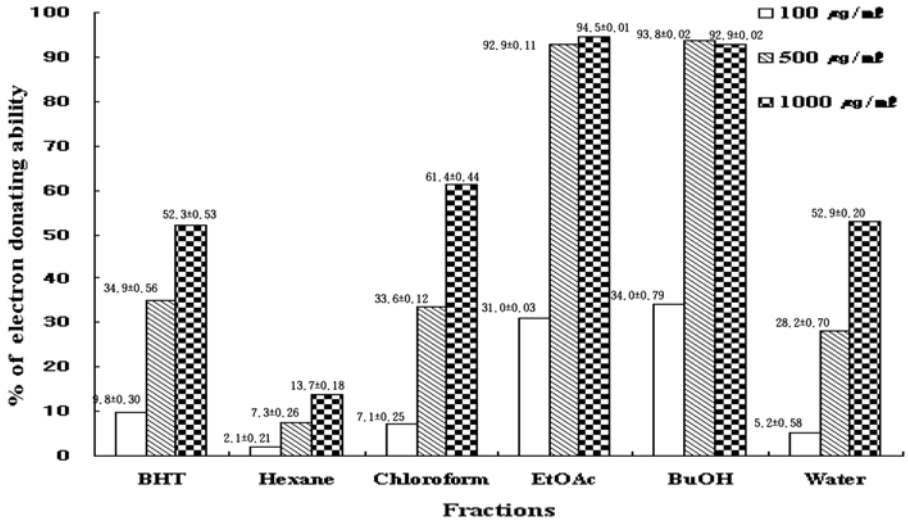

Fig. 1. Electron donating abilities of various solvent fractions from *Agrimonia pilosa*. Each value represents the mean of 3 experiments.

아질산염 소거능

발암에 관여하는 물질로 알려진 nitrite는 독성을 가지고 있고, nitrate도 체내에서 효소작용에 의해 nitrite로 환원되기 때문에 일정농도 이상의 섭취는 인체에 유독하며, 이러한 nitrite의 소거능은 nitrosamine이라는 발암물질의 생성억제와 메트헤모글로빈증 등의 질병을 예방할 수 있다. Gray 와 Dugan[13]은 phenol성 물질인 tannic acid 유도체를 식품 보존료 및 N- nitrosamine 형성 저해제로 사용하기도 하였으며, 또한 야채류나 항신료 등의 추출액이 nitrite를 제거하여 그 위험성을 저하시킬 수 있는 능력이 있는 것으로 알려져 있다[17].

아질산염 소거능은 pH의 의존성이 매우 커 pH가 낮을수록 그 소거능이 증가하고 중성에 가까울수록 소거능이 낮아지는 것으로 알려져 있으며[18], pH 1.2의 조건에서 분획별 아질산염의 소거능을 측정한 결과는 Fig. 2와 같다. 총페놀 및 전자공여능이 높게 나타난 EtOAc 분획에서

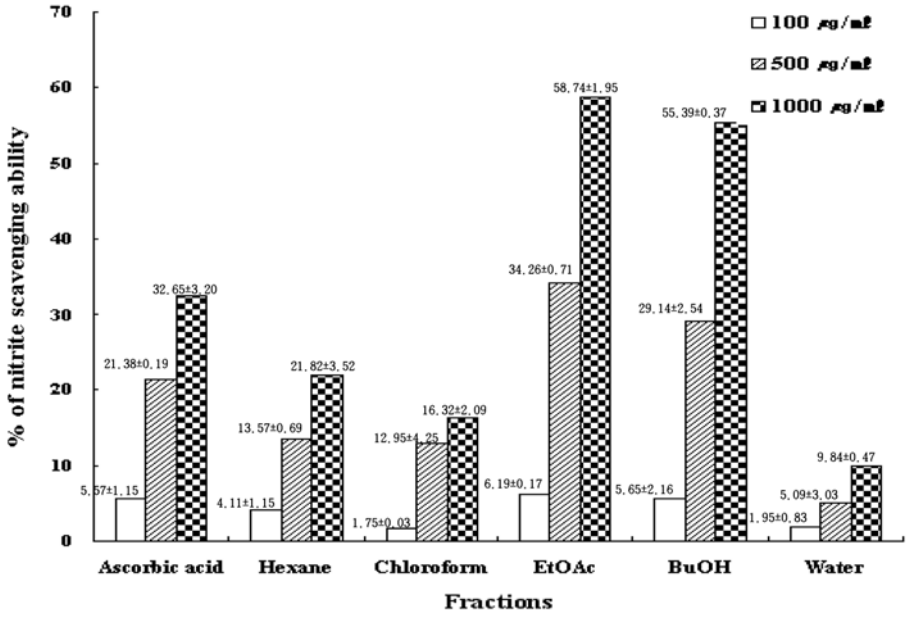

Fig. 2. Nitrite scavenging abilities of various solvent fractions from *Agrimonia pilosa*. Each value represents the mean of 3 experiments.

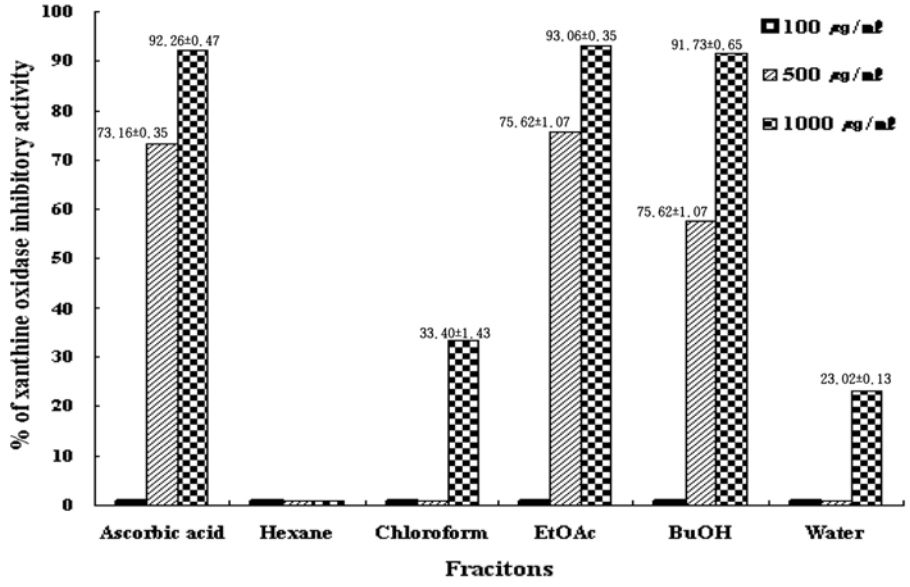

Fig. 3. XOase inhibitory activities of various solvent fractions from *Agrimonia pilosa*. Each value represents the mean of 3 experiments. Thick bar at baseline indicate no effect.

6.19% (100 μg/ml), 34.26% (500 μg/ml), 58.74% (1000 μg/ml), BuOH 분획에서 5.65% (100 μg/ml), 29.14% (500 μg/ml), 55.39% (1000 μg/ml)로 대조구인 ascorbic acid보다 높은 소거능을 보였다. 나머지 분획들은 1.75%-21.82%의 소거능을 보였고 모든 분획에서 농도에 비례하여 소거능이 증가하였다. 이는 모든 분획들에 아질산염을 소거시키는 물질이 존재하고 있음을 의미한다.

XOase 저해활성

생체 내 유리기 생성계의 하나인 XOase는 purine, pyrimidine, pteridine, aldehyde류 및 heterocyclic compound 등의 대사에 관여하는 비특이적 효소로서 생체 내에서는 주로 purine체의 대사산물인 hypoxanthine을 xanthine으로, xanthine을 다시 산화시켜 uric acid를 생성하는 반응의 촉매로 작용한다[19]. 이러한 대사의 최종 산물인 uric acid가 관절에 축적되어 통풍 및 관절염을 일으키고, 심한 경우 신장이나 심장 등에 합병증을 유발하기도 한다[20]. 선학초의 분획 추출물에 대한 XOase 저해활성을 측정한 결과는 Fig. 3과 같다. EtOAc 분획에서 75.62% (500 μg/ml), 93.06% (1000 μg/ml)로 대조구보다 높은 효소저해활성을 보였으며, BuOH 분획에서는 57.66% (500 μg/ml), 91.73% (1000 μg/ml)로 대조구보다 낮거나 유사한 수준의 저해활성을 보였다.

최원식 등[21]은 옻나무 EtOAc 분획에서, 안봉전 등[22]은 배과피의 80% 에탄올 추출물에서 각각 활성 성분을 컬럼크로마토그래피로 분획하고 이들에 대한 총페놀 함량과 XOase 저해활성을 측정한 결과 페놀함량이 높을수록 저해활성 또한 높다고 보고하였으며, 본 연구에서도 EtOAc와 BuOH 분획은 모두 총페놀 함량이 가장 높은 분획으

Table 3. Growth inhibitory abilities of fractions from *Agrimonia pilosa* on HT-29, SNU-1 and HeLa cells

Fractions	Con.[1]	Growth inhibitory activity (%) (treated/control)[2]		
		HT-29	SNU-1	HeLa
n-Hexane	5	11.63 ± 0.59	16.84 ± 1.39	4.44 ± 0.37
	10	20.53 ± 0.17	21.39 ± 0.68	15.04 ± 0.33
	50	51.50 ± 0.94	88.19 ± 0.50	42.66 ± 0.84
	100	90.07 ± 0.59	95.11 ± 0.73	96.40 ± 0.59
	IC50(μg/ml)	48.113	26.513	51.856
Chloroform	5	–[3]	8.64 ± 0.31	–
	10	–	15.63 ± 0.53	4.53 ± 0.21
	50	6.35 ± 0.42	44.65 ± 0.68	6.24 ± 0.30
	100	74.30 ± 0.22	89.56 ± 0.65	17.13 ± 0.40
	IC50(μg/ml)	82.117	53.666	
EtOAc	5	–	–	1.72 ± 0.10
	10	–	–	5.55 ± 0.14
	50	–	–	11.53 ± 0.37
	100	–	–	22.64 ± 0.61
BuOH	5	–	–	3.98 ± 0.33
	10	–	3.29 ± 0.23	7.41 ± 0.23
	50	–	51.26 ± 0.38	13.64 ± 0.46
	100	–	57.33 ± 0.63	25.83 ± 0.52
Water	5	–	–	1.26 ± 0.24
	10	–	–	6.20 ± 0.38
	50	–	–	17.74 ± 0.38
	100	–	29.12 ± 0.72	45.09 ± 0.12

[1]Concentration(μg/ml)
[2]The values are mean ± S.D. of three replications
[3]– : indicate no effect

로써 페놀함량에 비례하여 XOase 활성을 저해함을 알 수 있었다. 즉 이들 분획들은 유해산소 억제 효과뿐만 아니라 통풍예방에도 효과가 있을 것으로 생각된다.

암세포 성장 저해활성

선학초 분획에 대한 세 가지 암세포 성장 저해활성을 측정한 결과는 Table 3과 같다. HT-29, SNU-1, HeLa세포에 대해서 hexane 분획의 성장 저해율이 11.63%~90.07%, 16.84%~95.11%, 4.44%~96.40%로 다른 분획들에 비해 높았다. 또한 각각의 세포에 대한 50% 성장저해 농도(IC50)는 48.11 μg/ml, 26.51 μg/ml, 51.86 μg/ml이었다. Chloroform 분획에서 각각의 성장 저해율은 HT-29에서 6.35%~74.30% (IC50 = 82.12 μg/ml), SNU-1에서 8.64%~89.56% (IC50 = 53.67 μg/ml)로 hexane 다음으로 높았고, HeLa 세포에서는 BuOH과 water 분획에서 각각 3.98%~25.38%, 1.26%~45.09%로 hexane 분획 다음으로 저해 활성이 높았다. 모든 분획에서 농도에 비례하여 성장이 저해되는 세포는 HeLa 세포뿐이었으며, HT-29세포에서 EtOAc, BuOH, water 분획은 성장 저해활성이 없었다.

EtOAc와 BuOH 분획은 총페놀 함량과 DPPH라디칼 소거능이 다른 분획에 비해 높게 나타난 분획으로 SNU-1 세포에 대한 저해활성은 상반되는 결과를 보여 주었다. 결과적으로 EtOAc 분획에 존재하는 성분들은 전자공여능은 우수하나 암세포의 성장 억제 물질은 거의 존재하지 않으며, BuOH 분획에 존재하는 성분은 전자공여능 뿐만 아니라 암세포의 성장도 어느 정도 저해할 수 있는 물질들인 것으로 추정되어 앞으로 더 많은 연구가 필요할 것으로 생각 된다.

감사의 글

본 연구는 지식경제부지원 계명대학교 전통미생물자원개발 및 산업화연구센터의 지원에 의한 것입니다.

요 약

선학초 메탄올 추출물을 유기용매를 이용하여 분획하고 각각의 분획별 항산화 및 항암 활성을 조사하였다. 항산화 활성으로 총페놀, 전자공여능, 아질산염 소거능을, 효소저해 활성으로 XOase 저해 활성을 조사하였으며, 암세포인 HT-29, SNU-1, HeLa 세포에 대한 성장 저해 활성을 조사하여 기능성 식품으로의 개발 가능성을 알아보고자 하였다.

총 페놀 함량은 EtOAC와 BuOH 분획에서 39.89%, 39.56%로 가장 높았고, 전자공여능 또한 EtOAC 분획에서 92.90% (500 μg/ml), 94.47% (1000 μg/ml), BuOH 분획에서 93.77% (500 μg/ml), 92.90% (1000 μg/ml)로 90% 이상이었다. 아질산염 소거능도 1000 μg/ml의 농도에서 50% 이상이었으며, XOase 저해활성은 93.06% (EtOAC) 와 91.73% (BuOH)로 높은 활성을 보였다. 암세포 성장 저해활성을 측정한 결과 hexane 분획에서 가장 높았고 HT-29에 대해 11.63%-90.07%, SNU-1에 대해 16.84%-95.11%, HeLa에 대해 4.44%-96.40%였다.

이상의 결과에서 선학초의 EtOAc, BuOH 분획물은 항산화 활성이 있는 기능성 식품으로의 개발이 가능할 것으로 생각되며, hexane, chloroform 분획은 위암, 대장암과 자궁경부암 치료보조제로서의 개발을 위한 추가적인 연구가 필요하다고 생각된다.

참 고 문 헌

1. 유형은, Leaniza, 배영주, 이대형, 박종상, 관한식, 김하근, 이종수: 각종 약용 식물로부터 노화 억제 관련 생리활성 물질의 탐색 및 추출조건. 한국식품영양학회지, **34(8)**, 1136-1142 (2005).
2. Halliwell, B., and Aruoma, O. I. : DNA damage by oxygen-derived species. Its mechanism and measurement in mammalian systems. *FEBS Lett*. **281**, 9-19 (1991).
3. Halliwell. B. : Antioxidants in human health and disease. *Ann. Rev. Nutr*. **16**, 33-50 (1996).
4. Rice-Evans, C. A., Miller, N. J. and Paganga, G. : Structure antioxidants activity relationship of flavonoids and phenolic acids. *Free Radical Biol. Med*. **20**, 933-956 (1996).
5. Ziegler, D. W., Hutchison, H. D. and Kissing, R. F. : Induction of xanthine oxidase by virus infections in newborn mice. *Infect. Immun*. **3**, 237-242 (1971).
6. Duke, E. J., Joyce, P. and Ryan, J. P. : Characterization of alternative molecular forms of xanthine oxidase in the mouse. *J. Biochem*. **131**, 187-194 (1973).
7. Lee, K. G., Mitchell, A. E. and Shibamoto, T. : Determination of antioxidant properties of aroma extracts from various beans. *J. Agr. Food Chem*. **43**, 4817-4820 (2000).
8. 신민교.: 임상본초학. 영림사, 서울. pp. 384-386 (1997).
9. 배지현, 손미애: 선학초 추출물이 식중독 유발세균의 증식에 미치는 영향. 한국영양학회지 **38(2)**, 112-116 (2005).
10. 조국현 : 선학초 부탄올 추출물의 혈관 이완 효과에 대한 연구. 석사학위논문. 원광대학교한의학전문대학원(2005).
11. Folin, O., and Denis, W.: On phosphotungastic phosphomolybdic compounds as color reagents. *J. Biol. Chem*. **12**, 239-249 (1912).
12. Blois, M. S.: Antioxidant determination by the use of a stable free radical. *Nature* **181**, 1199-1200 (1958).
13. Gray, J. I., and Dugan, Jr L. R. : Inhibition of N-nitrosamine formation on model food system. *J. Food Sci*. **40**, 981-984 (1975).
14. Stripe, F. and Corte, E. D. : The regulation of rat liver xanthine oxidase. *J. Biol. Chem*. **244**, 3855-3863 (1969).
15. Carmichael, J., De Graff W. G., Gazder, A. F., Minna, J. D. and Mitchell, J. B. : Evaluation of tetrazonlium-based semi-automated colorimetic assay. Assesment of chemosensitivity

testing. *Cancer Res*. **47**, 936 (1987).
16. Wiseman, H. : Dietary influences on membrane function; important in protection against oxidative damage and disease. *Nutritional Biochemistry*, **7**, 26-31 (1996).
17. Walker, R. : Naturally occurring nitrate/nitrite in food. *J. Sci. Food Agric*. **26**, 1735-1739 (1975).
18. 박찬성: 한약재 추출물의 항산화작용 및 아질산염 소거작용. 한국식품저장유통학회, **12(6)**, 631-636 (2005).
19. Hayashi, T., Sawa, K. and Morita, N. : Inhibition of cow's milk xanthine oxidase by flavonoids. *J. Nat. Prod*. **51**, 345-352 (1988).
20. 조영제, 천성숙, 권효정, 김정환, 이경환, 안봉전, 추재원 : 뽕잎(Morus alba L.)의 물과 80% ethanol 추출물의 angiotensin converting enzyme과 xanthine oxidase에 대한 활성억제 탐색. 한국응용생명화학회지, **49(2)**, 114-124 (2006).
21. 최원식, 김동길, 이영행, 김장억, 이성은 한국산 옻나무로부터 추출분리한 생리활성 물질들의 항산화 효과 및 세포독성. 한국응용생명화학회지, **45(3)**, 168-172 (2002).
22. 안봉전, 이진태, 곽재훈, 박정미, 이진영, 손준호, 배종호, 최청: 한국산 배과피 폴리페놀 분획군의 생리활성효과. 한국응용생명화학회지, **47(1)**, 92-95 (2004).