J. Fd Hyg. Safety
Vol. 22, No. 2, pp. 120~126 (2007)

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

Bulnesia sarmienti 추출물의 항산화 및 항암효과

조대현* · 민경진 · 차춘근[1]
계명대학교 자연과학대학 공중보건학과, [1]계명대학교 전통미생물자원개발 및 산업화연구센터

The Antioxidant and Antitumor Effects of the Extract of *Bulnesia sarmientia*

Dae-Hyoun Jo*, Kyung-Jin Min, 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, Daegu 704-701, Korea
(Received March 8, 2007/Accepted May 24, 2007)

ABSTRACT – Present study have been performed to develop *Bulnesia sarmienti* as a functional food. Methanol, n-hexane, chloroform, ethyl acetate and butanol extracts of *Bulnesia sarmienti* contained total phenol by 5.81 to 7.47%. It is high content than fruits which were known as high contests of total phenol. The electron donating ability of the extract of *Bulnesia sarmienti* were increased along with increasing concentrations of extracts. At 500 μg/mL and 1000 μg/mL, the all extracts showde more than 80% of scavenging abilities, which means the equal effect of the antioxidant, BHT. Nitrite scavenging abilities were measured as follows: methanol, butanol, 5.53, 5.77% at 100 μg/mL, respectively. The ethyl acetate extract was 73.29% at 1000 μg/mL which showed the highest activity and methanol, butanol, n-hexane, chloroform and water extract were 65.65, 65.02, 47.49, 52.51, 45.54% which also showed relatively high activities. The growth inhibitory effects of each solvent extract on tumor cell were as follows: test against SUN-1, the gastric carcinoma cell, exhibited the highest inhibitory effects at 100 μg/mL where the n-hexane extract was 61.6%. The ethyl acetate and water extracts did not revealed any inhibitory effects. Hela, the uterine carcinoma cell, exhibited the highest inhibitory effects at 100 μg/mL where the n-hexane extract was 75.1%. The water extracts did not revealed any inhibitory effects. HT-29, the colon carcinoma cell, also exhibited the highest inhibitory effects at 100 μg/mL where n-hexane extract was 57.4%. In conclusion, *Bulnesia sarmienti* have been shown the antioxidant and antitumor effects, and that it is expected to be developed as functional foods.

Key words: *Bulnesia sarmienti*, Antioxidant, Antitumor

일반적으로 식품첨가물로 사용하는 향신료는 식품의 기호성을 높이는 역할 이외에도 산화적 품질저하와 미생물에 의한 변패를 억제하는데 효과가 있는 것으로 알려지고 있다[1]. 또한 향신료에 속하는 많은 허브류 식물들이 다양한 향미의 발현을 통하여 식품의 기호성을 증진시키는 작용을 함이 경험적으로 확인되면서 많은 관심을 끌고 있는 실정이다[2]. 일반적으로 많이 알려진 항산화성이 높은 허브류 식물로는 rosemary나 sage 등을 들 수 있는데 이들은 지중해 연안이 원산지이며 향기가 탁월하고 항산화력이 강하여 각종 요리나 소스, 유지식품에 적용되고 있다[3]. 또한 치료가 매우 힘든 알러지, 만성통증, 고지혈증, 암, 관절염, 심장계질환과 같은 난치병 치료에 허브를 사용하여 많은 효과를 나타내고 있음이 속속 밝혀지고 있다[4,5]. 허브의 유효 성분으로는 terpenoids, flavonoids, lignans, sulfide, polyphenols, carotenoids, coumarins, saponin, curcumins, plant sterols phthalides 등의 다양한 구조들이 밝혀져 있으며 허브의 가장 주요한 분획으로 간주되고 있는 정유(essential oil)의 주성분이 terpenoids로서 이들 terpenoid들의 유효성에 대한 탐구가 다각도로 이루어져야 할 것으로 판단된다. 또한 허브의 성분들에 강한 항암효과[6]가 있음을 밝히고 섭취할 것을 권장하고 있으며 이들이 과일, 야채들에 의한 항암효과의 성분들과 유사함을 제시하고 있음으로서[7,8] 허브의 의학적 적용범위가 난치병인 암에까지 이름을 알 수 있다. 이와 같은 허브들에 의한 항암효과 외에 유해산소 대사기구에 관한 연구결과들이 보

*Correspondence to: Jo Dae Hyoun, Department of Public Health, College of Natural Science, Keimyung University, Daegu 704-701, Korea
Tel: 82-53-580-6459, Fax: 82-53-580-6465
E-mail: eogus0728@kmu.ac.kr

고되고 있다[9,10]. 이 연구에 사용된 허브의 일종인 *Bulnesia sarmienti*는 구아이악우드(Guaiacwood)라고 불리기도 하며, 아메리카 대륙의 원주민들이 주로 대사성질환 치료제로 사용해오던 전통약제이다. 체내의 독소와 노폐물을 배설시키고 혈액정화능력이 탁월해 조직세포를 회생시키는 능력이 우수한 것으로 알려져 있어서 식용 및 생리활성물질의 이용가능성이 높으나, 아직까지 활성물질의 이용가능성에 대한 체계적이고 과학적인 연구는 부족한 실정이다.

따라서 *Bulnesia sarmienti*의 용매별 분획을 통해 각 분획별 항산화 효과를 검색하여 각종 항산화능에 대한 개별적 특성을 조사하였다. 또한, 각 분획별 추출물에 대하여 *in vitro*상에서의 세포독성측정법으로 널리 사용되고 있는 MTT검색법을 사용하여 항암세포 증식 억제 효과를 측정함으로서 기능성 식품으로의 활용가능성에 대한 기초자료로 활용하고자 한다.

실험재료 및 방법

실험재료

실험재료로 사용한 *Bulnesia sarmienti*는 시중 한약재상에서 건조한 상태의 것을 구입하였으며, 데시케이터에서 보관하여 사용하였다(구입한 실험재료는 보관상태, 건조과정, 원산지 등에 따라 차이가 있음을 미리 밝혀두고자 한다).

기기 및 시약

시료의 추출 및 분획에 사용된 용매 methanol, n-hexane, chloroform, ethyl acetate 및 n-butanol은 J. T. Baker (Mallickrodt Baker Inc., USA)사의 특급시약을 사용하였으며, 세포배양에 사용된 Dulbecco's modified eagle medium (DMEM), RPMI1640(L-glutamine, 300 mg/L), antibiotic-antimyotic, fetal bovine serum(FBS)는 Gibco BRL(Invitrogen Co., USA)사의 특급 시약을 사용하였고, MTT[3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyl tetrazolium brmide] solution, DPPH(α,α-diphenyl-β-picrylhydrazyl), DMSO(dimethyl sulfoxide)은 Sigma(Sigma Chem. Co., USA)사, 그 외 시약은 모두 특급 이상을 구입하여 사용하였다.

실험에 사용한 기기로는 동결건조기(Thermo Savant, SuperModulyo, USA), ELISA reader (Molecular Device, SpecTRA MAX340, Austria), rotary vacuum evaporator (N-1000, Eyela, Japan), microplate spectrophotometer (SPECTRA max 340PC, Molecular Devices, USA), CO_2 incubator(MCO-17AIC, Sanyo, Japan), microplate shaker (SH30, FINEPCR, Korea), high centrifuge(Supra22K, Hanil, Korea) 등이었고, 그 외 실험실에서 사용하는 일반기구들을 사용하였다.

실험방법

분획물의 조제 – *Bulnesia sarmienti*추출물은 시료에 10배량(w/v)의 80% methanol을 가하여 24시간씩 3회 정치추출하였다. 추출액은 여과지(Adventec toyo2, Toyo Roshi Kaisha, Japan)를 사용하여 2회 여과하고 rotary vacuum evaporator로 농축하여 methanol추출물로 사용하였다. Methanol 추출물에 일정량의 증류수를 가하여 현탁 시킨 후 증류수와 동량의 n-hexane을 가하여 진탕하고 방치한 다음 분획 후 농축하여 n-hexane 분획물을 얻었다. 남아있는 수용성층을 이와 같은 방법으로 chloroform, ethyl acetate 및 n-butanol을 첨가하여 순차 분획한 후 농축하여 각각 chloroform 분획물, ethyl acetate 분획물 및 n-butanol 분획물을 얻었고 남은 수용성층은 농축하여 물 분획물로 하였다. 위 분획물들은 데시케이터에 보관하면서 이 실험에 사용하였다.

총 페놀 함량 분석 – 메탄올 추출물과 분획물에 대한 총 페놀 함량은 Folin-Denis 방법[11]에 따라 분광광도계를 이용하여 760 nm에서 흡광도를 측정하여 분석하였다. 각각 분획물을 DMSO를 이용하여 일정 농도로 녹인 후 0.5 mL씩 test tube에 취하여 증류수 7 mL을 첨가하고 Folin-Ciocalteau's phenol reagent 0.5 mL를 넣고 5분간 혼합하였다. 그리고 탄산나트륨 포화용액 1 mL을 넣은 후 혼합하여 실온에서 1시간 방치시키고 760 nm에서 흡광도를 측정하였다. 총 페놀 함량을 측정하기 위해 표준물질 tannic acid를 DMSO에 녹여 일정한 농도별로 조제하고 시료와 동일한 방법으로 실험하여 검량곡선을 작성하고 tannic acid로써 추출물들의 총 페놀 함량을 정량하였다.

전자공여능 측정 – *Bulnesia sarmienti*추출물의 전자공여능은 Blois의 방법[12]에 의하여 시료의 DPPH의 환원력을 측정하였다. 각 시료 4 mL에 1.5×10^{-4} M의 DPPH 용액 1 mL를 가하고, vortex mixer로 10초간 진탕한 후 실온에서 30분 동안 방치하여 520 nm에서 흡광도를 측정하였다. 시료무첨가구에는 시료 대신 methanol 4 mL를 첨가하여 시료첨가구에 대한 흡광도의 감소비율로 나타내었다. Positive control로 BHT (butylated hydroxy toluene)를 동일한 방법으로 실험하여 흡광도 감소를 측정하였다.

$$\text{전자공여기능}(\%) = \left(1 - \frac{\text{시료첨가구의 흡광도}}{\text{시료무첨가구의 흡광도}}\right) \times 100$$

아질산염 소거능 측정 – 아질산염 소거능은 Gray와 Dugan의 방법[13]에 준해 측정하였다. 1 mM $NaNO_2$용액 1 mL에 각각의 시료추출물을 1 mL 가하고 0.1N HCl을 사용하여 반응용액의 pH를 1.2로 조절하고 반응용액의 최종부피를 10 mL로 하였다. 이 용액을 37°C에서 1시간 동안 반응 시킨 후 각 반응액을 1 mL씩 취하여, 2% acetic acid 용액 5 mL, Griess 시약(30% 초산으로 각각 조제한 1% sulfanic acid와 1% naphtylamine을 1:1 비율로 혼합하여 사용직전

제조한 것) 0.4 mL을 가하여 잘 혼합하였다. 이를 실온에서 15분간 방치한 후 520 nm에서 흡광도를 측정하고 잔존하는 아질산량을 측정하였다. 이 때 대조구는 Griess 시약 대신 증류수 0.4 mL를 가하여 같은 방법으로 실험하였으며, positive control로 ascorbic acid를 사용하였다. 아질산염 소거능은 시료를 첨가한 경우와 첨가하지 않은 경우의 흡광도 값을 백분율로 나타내었다.

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

A: 1 mM $NaNO_2$ 용액에 시료를 첨가하여 1시간 반응 후의 흡광도

B: 시료자체의 흡광도

C: $NaNO_2$ 용액의 흡광도

IN vitro상의 *Bulnesia sarmienti*추출물의 암세포 성장 억제효과 측정 - 세포 성장 억제효과를 측정하기 위해 사용된 인간유래 암세포로는 자궁경부암 세포주인 Hela와 위암 세포주인 SNU-1, 대장암 세포주인 HT-29로 한국세포주은행(KCLB)으로부터 분양받아 사용하였다. 세포의 증식을 위해 대장암 세포주인 HT-29와 위암 세포주인 SNU-1은 10% FBS(fetal bovine serum)와 1% antibiotics(penisillin/streptimycin)를 함유한 RPMI1640 with L-glutamine (300 mg/L), 25 mM HEPES and 25 mM $NaHCO_3$(Gibco)배지를 사용하였고, 자궁경부암세포주인 Hela는 10% FBS(fetal bovine serum)와 1% antibiotics (penisillin/streptimycin)를 함유한 Dulbecco's modified Eagle's medium(DMEM, Gibco)배지를 사용하여 37°C에서 95% air와 5% carbon dioxide를 공급하고 100% 습도가 유지되는 배양기내에서 배양하였다.

실험을 위해 배양한 세포를 trypsin-EDTA 용액으로 처리하여 부착된 세포를 부유시키고 1000 rpm 5분간 원심분리한 후 상층액을 버리고 배지로 세포 부유액을 만든다. 결정된 적정세포수(1×10^4개)의 세포가 포함된 200 μL의 배지를 96 well plate의 각 well에 분주하고 한 칼럼에는 세포 부유액 대신 배지만을 가해 흡광도 측정시 blank로 사용하였다. 24시간 배양한 후 배지를 교환하고 시료용액을 DMSO로 계단 희석하여 원하는 농도의 10배 용액으로 만들어 4가지 dose농도로서 각 well에 첨가하였다. 4개의 dose로 각 well에 첨가되어진 시료의 최종농도는 5, 10, 50, 100 μg/mL로 하였다. Plate의 두 번째 칼럼에는 검체 대신 DMSO만을 2첨가하여 100% 생존군으로 삼았다. 시료투여가 끝난 plate를 37°C, 95% air, 5% carbon dioxide 배양기에서 24시간 배양하였다. 각 well에 MTT시약 25 μL를 가한 후 배양기에서 3시간 동안 배양한다. 배양 후 배양액을 버리고, DMSO를 200 μL/well씩 넣어 5분간 실온 방치하여 MTT formazen을 용해한 후 ELISA reader로 540 nm 파장에서 흡광도를 측정하였다[14].

결과 및 고찰

분획물의 수율

건조된 *Bulnesia sarmienti*의 각 순차 추출물에 대한 수율은 Table 1과 같다. 건조된 *Bulnesia sarmienti* 200 g에 80% methanol을 가하여 얻은 methanol 추출물은 47.7 g으로 전체 건조 중량의 23.9%로 나타났다.

또한 methanol 추출물로부터 용매의 극성을 이용하여 분리한 각 순차 추출물들은 n-hexane추출물 및 ethyl acetate 추출물이 각각 9.45 g, 7.46 g으로 19.8%, 15.6%의 수율을 보였고 chloroform추출물은 0.70 g으로 낮은 수율을 보였다. Butanol추출물 및 물 추출물의 경우에는 각각 17.76 g 및 11.83 g으로 37.2%와 24.8%의 수율을 나타내었다. Methanol 추출물과 개개 순차추출물 건조중량 전체의 무게오차(0.5 g)가 발생한 것은 분획실시중의 손실로 생각된다.

총 페놀 함량

식물계에 널리 분포되어 있는 페놀성 물질은 그들의 phenolics hydroxyl그룹 때문에 단백질 또는 효소, 기타 거대분자들과 결합하는 성질, 항산화효과, 2가 금속이온과의 결합력을 가진다. 단백질과 결합하는 이러한 성질은 미생물 세포와 작용하여 성장저해를 유발시킴으로써 항미생물 효과를 보여주고 항산화 작용에 의한 항암효과가 제안되고 있으며 Pb, Cd과 같은 유해 중금속을 제거시키는 효과를 기대할 수 있다. 그 외에도 어떤 페놀성 물질은 특정한 호르몬과 모세혈관의 유연성에 관계하는 등 다양한 약리효과가 제시되고 있다[15].

*Bulnesia sarmienti*용매별 추출물의 총 페놀 함량의 실험결과는 Table 2와 같다. *Bulnesia sarmienti*용매별 추출물의 농도에 따른 총 페놀 함량을 측정한 결과 ethyl acetate > methanol > butanol > chloroform > n-hexane > 물 순으로 함량이 많았고, 각각 7.47, 6.85, 6.48, 6.30, 5.81, 4.83%이었다. 이정희, 이서래[16]가 국내산 식물성 식품 중 페놀성 물질의 함량을 측정하였는데, 과일류의 경우 0.10~4.55%의 총 페놀 함량을 보였고, 차로 이용되는 감잎과 밤의 속껍질에서는 5%이상의 높은 총 페놀 함량을 보였다고 보

Table 1. Extraction yield of various solvent fractions obtained from 200 g of dry weight *Bulnesia sarmienti*

Extract and Fractions	Dry weight (g)	Yield (%)
Methanol	47.70	23.9
n-Hexane	9.45	19.8
Chloroform	0.70	1.5
Ethyl acetate	7.46	15.6
Butanol	17.76	37.2
Water	11.83	24.8

$$\text{Yield}(\%) = \frac{\text{dry weight of extracted fraction, g}}{\text{dry weight of } B.\ Sarmientia, \text{ g}} \times 100$$

Table 2. Contents of total phenolics in *Bulnesia sarmienti*

Extract and Fractions	Total phenolics(%)*
Methanol	6.85
n-Hexane	5.81
Chloroform	6.30
Ethyl acetate	7.47
Butanol	6.48
Water	4.83

*% tannic acid equivalent by Folin-Denis method

고하였다. 이는 4.83~7.47%의 총 페놀 함량을 보인 *Bulnesia sarmienti*용매별 추출물은 총 페놀 함량이 높음을 알 수 있었다.

전자 공여능

전자공여능의 측정은 지질과산화 연쇄반응에 관여하는 산화성 free radical에 전자를 공여함으로써 free radical의 생성 억제 정도를 간접적으로 측정할 수 있다. 정상인의 체내에는 이러한 free radical을 제거해 주는 방어계로 항산화 비타민류와 같은 비효소계 방어계와 superoxide dismutase, catalase, glutathione peroxidase 등의 효소 방어계가 존재한다고 보고되고 있다[17].

BHT와 *Bulnesia sarmienti*의 용매별 추출물의 농도에 따른 전자공여능의 실험결과는 Fig. 1과 같다. 합성항산화제로서 많이 사용되고 있는 BHT는 100 μg/mL에서 70.83%, 500 μg/mL에서 84.31%, 1000 μg/mL에서 87.56%의 높은 소거능을 보였다. BHT와 추출물의 전자공여능을 비교하였을 때 100 μg/mL에서 methanol과 ethyl acetate추출물은 거의 동등한 소거능을 보였지만, 나머지추출물은 비교적 약한 소거능을 보였다. 500 μg/mL, 1000 μg/mL에서는 모든 추출물에서 80%이상의 높은 소거능으로 BHT와 동등한 효과를 보였다.

모든 추출물에서 농도의 증가에 따라 효과도 비례적으로 증가하였다. 추출물 100 μg/mL에서는 methanol과 ethyl acetate추출물은 각각 67.79, 65.85%의 높은 소거능을 보였으나, n-hexane, chloroform, butanol, 물 추출물에서는 각각 47.53, 45.88, 54.43, 41.26%로 비교적 낮은 소거능으로 나타났다. 500 μg/mL에서는 ethyl acetate와 chloroform 추출물은 83.31, 82.87%의 소거능을 보였고, methanol, n-hexane, butanol, 물 추출물에서는 82.47, 81.45, 82.06, 81.22%의 소거능으로 모든 추출물에서 80%이상의 높은 효과를 나타내었다. 1000 μg/mL에서도 ethyl acetate와 chloroform추출물은 85.69, 85.48%의 소거능을 보였고, methanol, n-hexane, butanol, 물 추출물에서는 83.97, 82.91, 84.29, 82.22%의 소거능으로 모든 추출물에서 80%이상의 높은 효과를 나타내었다.

아질산염 소거능

아질산염은 미생물의 독소 및 생육억제와 육색소인 myoglobin과 작용하여 nitrosyl hemochrome을 생성, 발색을 양호하게 한다. 아울러 육제품의 풍미를 향상시키고 지방 산패를 억제하는 기능 때문에 육류 가공 식품에 합성식품 첨가물로 많이 사용되고 있다. 그러나 아질산염은 그 자체가 지니는 독성 때문에 일정농도 이상 섭취하게 되면 혈중의 hemoglobin이 산화되어 methemoglobin증과 같은 각종 중독증상을 일으키는 것으로 보고되어 있다[18]. 단백성 식품이나 의약품 및 잔류농약 등에 존재하는 2급 및 3급 아민 등의 아민류와의 nitroso화 반응을 통하여 nitrosamine을 생성하는 것으로 알려져 있는데[19], 이들 nitrosamine은 동물실험 결과 대부분이 발암성 물질로 밝혀졌다.

*Bulnesia sarmienti*추출물의 아질산염 소거능의 효과를

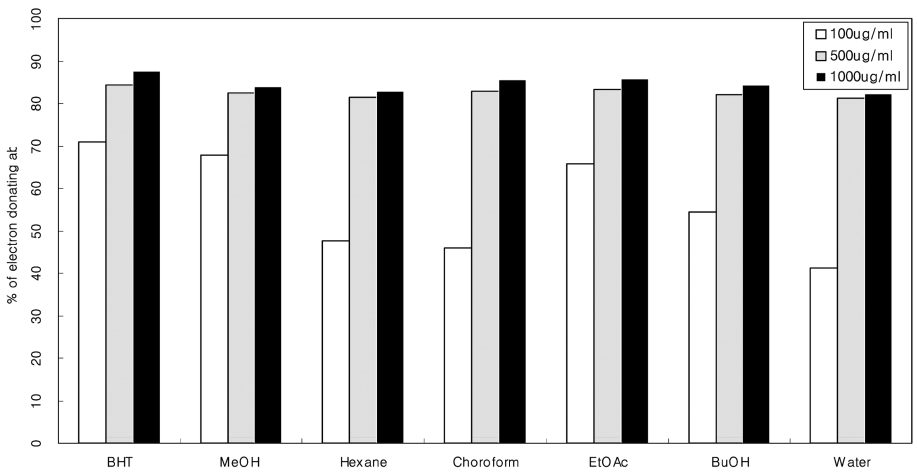

Fig. 1. Electron donating abilities of various solvent fractions obtained from *Bulnesia sarmienti*. The each value represent, mean of three experiments.

측정한 결과는 Fig. 2와 같다. Ascorbic acid는 100 μg/mL, 500 μg/mL, 1000 μg/mL에서 모두 80% 이상의 소거능이 나타났고, *Bulnesia sarmienti*추출물은 농도가 증가할수록 효과도 비례적으로 증가하였다. 100 μg/mL에서 methanol, butanol, ethyl acetate, n-hexane, chloroform, 물 추출물은 각각 4.43, 12.55, 16.72, 1.86, 5.53, 5.77%로 낮은 활성이 나타났다. 500 μg/mL에서 methanol, butanol, ethyl acetate, n-hexane, chloroform, 물 추출물은 38.52, 33.39, 47.41, 21.17, 31.74, 18.02%로 100 μg/mL에서보다 활성이 증가하였고, 1000 μg/mL에서는 ethyl acetate추출물이 73.29%로 가장 높은 활성을 나타내었다. Methanol, butanol, n-hexane, chloroform, 물 추출물은 각각 65.65, 65.02, 47.49, 52.51, 45.54%로 비교적 높은 활성을 보였다.

정해정, 노경림[20]은 applemint, geranium, lemonbalm, rosemary, sage, thyme 등 6종 허브의 아질산염 소거능을 측정한 결과 물 추출물의 아질산염 소거작용은 56.9~86.7%를 나타내었고, methanol추출물의 아질산염 소거작용은 88.8~90.7%의 높은 소거율을 보였다고 보고하였다. 이 결과와 비교해 볼 때 *Bulnesia sarmienti*추출물은 1000 μg/mL에서 6종의 허브와 비슷한 아질산염소거능이 나타났다.

In vitro상의 *Bulnesia sarmienti*의 암세포 성장 억제효과

*Bulnesia sarmienti*의 용매별 추출물에 대한 암세포 성장 억제효과를 살펴보기 위해 위암세포(SNU-1)와 자궁암세포(Hela), 대장암세포(HT-29)에 대해 암세포 성장 억제효과를 MTTassay로 측정하였다. 각 추출용매에 따른 암세포의 성장 억제효과를 보면 위암세포인 SNU-1은 5 μg/mL에서 butanol, chloroform, methanol, n-hexane추출물이 19.7, 4.3, 6.8, 0.9%의 낮은 억제효과가 나타났고, 10 μg/mL에서 butanol, chloroform, methanol, n-hexane추출물은 24.0, 29.2, 15.3, 12.1%의 억제효과가 나타났다. 50 μg/mL에서 butanol, chloroform, methanol, n-hexane추출물은 42.5, 25.4, 19.9, 45.7%의 억제효과를 보였고, 100 μg/mL에서는 n-hexane추출물이 61.6%로 가장 높은 억제효과를

Table 3. Growth-inhibitory effect of extracts of *Bulnesia sarmienti* on SNU-1

Fractions	Concentration (μg/mL)	Mean ± S.D.[2)]	Inhibition rate(%)[1)]
Butanol	5	0.96±0.05	19.7
	10	0.91±0.20	24.0
	50	0.69±0.17	42.5
	100	0.83±0.29	30.3
Chloroform	5	0.85±0.05	4.3
	10	0.63±0.30	29.2
	50	0.66±0.07	25.4
	100	0.64±0.06	27.8
Ethyl acetate	5	1.06±0.12	-3.9
	10	1.11±0.15	-8.4
	50	1.20±0.16	-16.8
	100	1.42±0.14	-38.4
Methanol	5	0.96±0.02	6.8
	10	0.86±0.02	15.3
	50	0.85±0.04	19.9
	100	0.81±0.04	19.5
n-Hexane	5	1.10±0.15	0.9
	10	0.98±0.11	12.1
	50	0.60±0.07	45.7
	100	0.43±0.02	61.6
Water	5	0.79±0.56	-47.7
	10	0.97±0.06	-27.3
	50	1.09±0.04	-43.8
	100	1.00±0.12	-31.8

[1)]Inhibition rate (%) = [1 − (trested O.D./control O.D.)] × 100
[2)]Values are mean ± S.D.

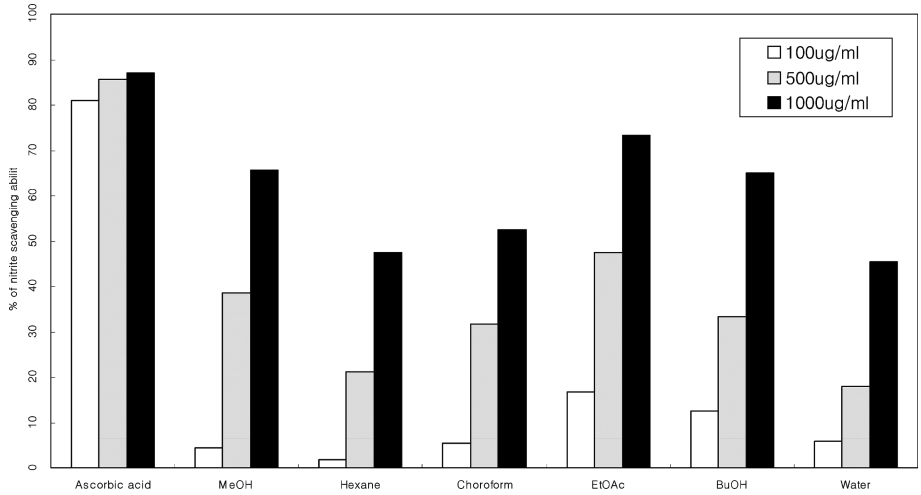

Fig. 2. Nitrite scavenging abilities of various solvent fractions obtained from *Blunesia sarmienti.* The each value represent, mean of three experiments.

Table 4. Growth-inhibitory effect of extracts of *Bulnesia sarmienti* on Hela

Fractions	Concentration (μg/mL)	Mean ± S.D.[2)]	Inhibition rate(%)[1)]
Butanol	5	0.84±0.18	10.0
	10	0.80±0.12	15.5
	50	0.77±0.14	17.5
	100	0.68±0.11	27.5
Chloroform	5	0.91±0.11	6.1
	10	0.82±0.05	15.8
	50	0.74±0.06	23.4
	100	0.63±0.10	35.1
Ethyl acetate	5	0.83±0.12	26.6
	10	0.79±0.15	30.2
	50	0.81±0.12	28.5
	100	0.70±0.02	38.0
Methanol	5	0.95±0.06	6.6
	10	0.93±0.15	8.1
	50	0.89±0.08	12.0
	100	0.86±0.09	15.8
n-Hexane	5	0.98±0.24	15.7
	10	0.90±0.19	22.8
	50	0.42±0.07	63.8
	100	0.29±0.04	75.1
Water	5	1.00±0.15	-10.8
	10	0.99±0.12	-9.6
	50	0.95±0.10	-5.2
	100	1.23±0.24	-35.3

[1)]Inhibition rate (%) = [1-(trested O.D./control O.D.)]×100
[2)]Values are mean ± S.D.

Table 5. Growth-inhibitory effect of extracts of *Bulnesia sarmienti* on HT-29

Fractions	Concentration (μg/mL)	Mean ± S.D.[2)]	Inhibition rate(%)[1)]
Butanol	5	0.74±0.13	19.4
	10	0.65±0.02	29.4
	50	0.62±0.06	32.8
	100	0.61±0.01	34.2
Chloroform	5	0.79±0.09	16.2
	10	0.75±0.01	20.4
	50	0.68±0.09	27.1
	100	0.56±0.03	40.2
Ethyl acetate	5	1.16±0.27	5.2
	10	1.00±0.15	17.5
	50	0.98±0.18	19.1
	100	1.01±0.10	16.8
Methanol	5	0.92±0.10	26.6
	10	0.91±0.08	27.1
	50	0.91±0.03	27.2
	100	0.87±0.02	30.3
n-Hexane	5	0.88±0.17	9.6
	10	0.86±0.06	12.0
	50	0.57±0.15	41.8
	100	0.42±0.11	57.4
Water	5	0.85±0.10	27.7
	10	0.98±0.24	16.4
	50	0.76±0.04	34.5
	100	0.67±0.15	43.2

[1)]Inhibition rate (%) = [1-(trested O.D./control O.D.)]×100
[2)]Values are mean ± S.D.

나타내었다. Butanol, chloroform, methanol추출물은 30.3, 27.8, 19.5%의 억제효과가 나타났고, ethyl acetate와 물 추출물은 억제효과가 없었다. 자궁암세포인 Hela는 5 μg/mL에서 butanol, chloroform, ethyl acetate, methanol, n-hexane추출물이 10.0, 6.1, 26.6, 6.6, 15.7%의 억제효과가 나타났고, 10 μg/mL에서 butanol, chloroform, ethyl acetate, methanol, n-hexane추출물은 15.5, 15.8, 30.2, 8.1, 22.8%의 억제효과가 나타났다. 50 μg/mL에서 butanol, chloroform, ethyl acetate, methanol, n-hexane추출물은 17.5, 23.4, 28.5, 12.0, 63.8%의 억제효과를 보였고, 100 μg/mL에서는 n-hexane추출물이 75.1%로 가장 높은 억제효과를 나타내었다. Butanol, chloroform, ethyl acetate, methanol추출물은 27.5, 35.1, 38.0, 15.8%의 억제효과가 나타났고, 물 추출물은 억제효과가 없었다. 대장암세포인 HT-29는 5 μg/mL에서 butanol, chloroform, ethyl acetate, methanol, n-hexane, 물 추출물이 19.4, 16.2, 5.2, 26.6, 9.6, 27.7%의 억제효과가 나타났고, 10 μg/mL에서 butanol, chloroform, ethyl acetate, methanol, n-hexane, 물 추출물은 29.4, 20.4, 17.5, 27.1, 12.0, 16.4%의 억제효과가 나타났다. 50 μg/mL에서 butanol, chloroform, ethyl acetate, methanol, n-hexane, 물 추출물은 32.8, 27.1, 19.1, 27.2, 41.8, 34.5%의 억제효과를 보였고, 100 μg/mL에서는 n-hexane추출물이 57.4%로 가장 높은 억제효과를 나타내었다. Butanol, chloroform, ethyl acetate, methanol, 물 추출물은 34.2, 40.2, 16.8, 30.3, 43.2의 억제효과가 나타났다.

도정룡 등[21)]은 SNU-1 cells에 대해서 정향(*Eugenia aromaticum*)의 물 추출물이 1 μg/mL의 농도에서 43.58%, 호장근(*Polygonum aviculare*)의 ethanol precipitate의 분획물에서는 44.53%의 좋은 세포독성을 나타내었고, Hela cells은 정향 ethanol precipitate분획물의 1 μg/mL 농도에서 69.60%의 좋은 세포독성을 나타내었다고 보고하였다. *Bulnesia sarmienti*추출물 또한 이들과 비슷한 억제효과를 보였다.

요 약

이 연구에서는 *Bulnesia sarmienti*의 기능성 식품으로서의 이용성을 증대시키기 위하여 각 용매별 분획추출물의

항산화 효과와 MTT검색법을 사용한 항암 효과를 측정하였다. 총 페놀 함량은 methanol, n-hexane, chloroform, ethyl acetate, butanol, 물 추출물에서 각각 6.85, 5.81, 6.30, 7.47, 6.48, 4.82%로 나타났다. 용매분획별 총 페놀 함량은 ethyl acetate추출물에서 가장 높게 나왔고, 비교적 총 페놀 함량이 높은(0.10~4.55%) 과일류보다도 더 높았다. 전자공여능은 모든 용매추출물에서 농도가 높을수록 그 효과가 증가하였으며 500 μg/mL, 1000 μg/mL에서는 모든 추출물에서 80%이상의 높은 소거능을 보여 합성항산화제인 BHT와 동등한 효과를 보였다. 아질산염 소거능 측정결과, 100 μg/mL에서 methanol, butanol, ethyl acetate, n-hexean, chloroform, 물 추출물은 각각 4.43, 12.55, 16.72, 1.86, 5.53, 5.77%로 낮은 활성이 나타났다. 500 μg/mL에서 methanol, butanol, ethyl acetate, n-hexean, chloroform, 물 추출물은 38.52, 33.39, 47.41, 21.17, 31.74, 18.02%로 100 μg/mL에서보다 활성이 증가하였고, 1000 μg/mL에서는 ethyl acetate추출물이 73.29%로 가장 높은 활성을 나타내었다. Methanol, butanol, n-hexean, chloroform, 물 추출물은 각각 65.65, 65.02, 47.49, 52.51, 45.54%로 비교적 높은 활성을 보였다.

추출용매에 따른 암세포의 성장억제효과를 보면 위암세포인 SNU-1은 100 μg/mL에서 n-hexane추출물이 61.6%로 가장 높은 억제효과를 나타내었고, ethyl acetate 와 물 추출물은 억제효과가 없었다. 자궁암세포인 Hela는 100 μg/mL에서 n-hexane추출물이 75.1%로 가장 높은 억제효과를 나타내었고, 물 추출물은 억제효과가 없었다. 대장암세포인 HT-29도 100 μg/mL에서 n-hexane추출물이 57.4%로 가장 높은 억제효과를 나타내었다. 이상의 결과를 종합해 보면, *Bulnesia sarmienti*는 항산화 및 항암효과가 있는 것으로 판단되며 기능성 식품으로서의 개발가능성을 기대할 수 있을 것으로 생각된다.

감사의 글

본 연구는 산업자원부지원 계명대학교 전통미생물자원개발 및 산업화연구센터의 지원에 의한 것입니다.

참고문헌

1. Choi, Y. J. : Botanical Encyclopedia of Flavor and Seasoning. Ohsung Publishing Co. 53-65 (1992).
2. Cho, T. D. : The Herbs. Daewon Publishing Co. 62-65 (1998).
3. Boxer, A., and P. Back. : The herb book. *Chancellor Press, London. UK.* 57-68 (1980).
4. Tyler, V. E. : Herbs of Choice: The therapeutic use of phytomedicinals. *Haworth Press Inc.* 126-145 (1994).
5. Balchin, M. L. : Essential oil and “aromatherapy”: their modern role in healing. *J. Rus. Soc. Health,* **117**, 324-329 (1997).
6. Caragay, A. B. : Cancer preventive foods and ingredients. *Food Technol.,* **46**, 65-68 (1992).
7. Lam, L. K. T., et al. : Inhibition of chemically induced carcinogenesis by citrus liminoids. *American Chemical Society,* 209-219 (1994).
8. Lee, K. G., A. E. Mitchell, and T. Shibamoto : Determination of antioxidant properties of aroma extracts from various beans. *J. Agr. Food. Chem.,* **43**, 4817-4820 (2000).
9. Kikuzaki, H., and N. Nakatani : Antioxidant effects of some ginger constituts. *J. Food Sci.,* **58**, 1407-1410 (1993).
10. Tian, Q. et al. : Differential inhibition of human cancer cell prolifertion by citirus limonoids. *Nutrition and Cancer,* **40**, 180-184 (2001).
11. Folin, O. and W. Denis : 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 J. L. R. Dugan : Inhibition of N-nitrosoamine formatioin model food system. *J. Food. Sci.,* **40**, 981-986 (1975).
14. 농촌진흥청: 작물의 유용성분 분석 및 평가. 한국작물학회 (2004).
15. 이정희, 이서래 : 식물성 식품중 페놀성 물질의 몇가지 생리활성. 한국식품과학회지, **26(3)**, 317-323 (1994).
16. 이정희, 이서래 : 국내산 식물성 식품중 페놀성 물질의 함량 분석. 한국식품과학회지, **26(3)**, 310-316 (1994).
17. Cao, G. H. M., and R. G. Culter : Oxygen-radical absorbance capacity assay for antioxidants. *Free radical Biol. Med.,* **14**, 303-308 (1993).
18. Peter, F. S. : The toxicology of nitrate, nitrite and N-nitroso compounds. *J. Sci. Food. Agric.,* **26**, 1761-1765 (1975).
19. Crosby, N. T., and R. Sawyer : N-nitrosamines: A review of chemical and biological properties and their estimation in foodstuffs. *Adv. Food. Res.,* **21**, 1-6 (1976).
20. 정해정, 노경림 : Herb추출물의 전자공여능, 항균활성 및 아질산염 소거능 검색. 한국조리학회지, **16(4)**, 372-377 (2000).
21. 도정룡, 김기주, 조진호, 김영명, 김병삼, 김현구, 임상동, 이수원 : 생약재의 항균, 항고혈압 및 항암활성. 한국식품과학회지, **37(2)**, 206-213 (2005).