

양하의 근경에서 향균, 항암활성 물질분리 및 구조동정

농촌진흥청 난지농업연구소

장기창*, 김성철, 송은영, 노나영, 문두영, 엄영철

Isolation and Structure Identification of Antibacterial and Anticancer Substances from the Rhizome of *Zingiber mioga* Roscoe

National Institute of Subtropical Agriculture. RDA.

Ki-Chang Jang*, Seong-Cheol Kim, Eun-Young Song, Na-Young Ro, Doo-Young Moon, Yeong-Cheol Um

실험목적

우리나라에는 총 4,596종의 식물이 있으며 그 중에서 1,841종(40%)이 제주도에 분포하고 있다. 이 중 500여종은 제주에만 분포하고 있는 특산 자생종이며 50여종은 세계적으로도 희귀종으로 알려져 있다. 이와 같은 엄청난 자원을 가지고 있으면서도 이들을 이용한 연구는 아직 미흡한 실증이다. 그래서 이들 자생식물을 이용한 고부가가치의 기능성 물질 탐색 및 개발연구를 수행하였다.

재료 및 방법

○ 실험재료

양하는 생강과의 여러해살이풀로써 줄기의 길이가 40~100 cm정도이며, 잎은 피침형 또는 좁은 장타원형이다. 지하경의 끝에 인편엽으로 싸인 길이 5~7 cm의 꽃차례가 달리며 담황색으로 여기에서 9월에서 10월 사이에 꽃이 피게 된다. 우리나라에서는 제주도 및 남해안 일대에 자라며, 독특한 향과 맛이 있어 어린순이나 꽃차례를 향신 채소, 샐러드, 튀김, 장아찌 등으로 식용하고 한방과 민간에서 뿌리줄기를 진통(鎮痛), 거담(祛痰), 건위(健胃) 등의 약재로 사용되는 식물이다.

○ 실험방법

양하의 근경을 80% 메탄올로 실온에서 2주 동안 2회 추출 후 여과한 여액을 회전식 진공농축기로 농축하였다. 이 농축액을 소량의 클로로포름에 용해시킨 후 컬럼 크로마토그래피를 실시하여 얻어진 분획물들을 에테르로 재결정하여 화합물을 분리하였다. 이렇게 분리한 화합물을 NMR, IR 등의 분광광도기를 이용하여 구조동정한 결과 labdane-type diterpene계열 화합물로 밝혀졌다. 분리한 물질의 항균력 검색은 한천배지확산법으로 균의 증식이 억제되었던 부위의 직경을 측정하는 것과 효소면역측정기로 흡광도를 측정하여 증식억제효과를 검정하였다. 항암활성시험은 3-(4,5-dimethyl-thiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide(MTT) 방법으로 조사하였다. 배양된 암세포에 배지를 첨가하고 잘 혼합하여 암세포수를 1×10^4 cells/ml로 조정된 다음, 96 well microtiter plate에 준비된 암세포를 180 μ l씩 첨가하고 24시간 동안 배양시킨 후 화합물을 농도별 용매에 녹인 후 20 μ l를 well에 첨가하여 37°C, 5% CO₂하에서 48시간 배양하였으며, 이때 대조구는 시료대신 배지를 동량 첨가하여 동일한 조건으로 배양하였다. 배양 후 MTT시약을 20 μ l를 첨가한 후 다시 4시간 더 배양하였다. 배양종료 후 생성된 결정을 DMSO에 용해시켜 효소면역측정기로 550 nm에서 흡광도를 측정하여 증식 억제능을 검정하였다.

결과 및 고찰

○ 항균활성 효과

분리한 세 화합물에 대한 항균활성 효과를 한천배지확산법으로 실험한 결과 화합물 1은 *Bacillus subtilis*에서 실험 최소농도인 6.25 $\mu\text{g}/\text{disk}$ 에서도 활성이 나타났으며, *B. cereus*와 *Staphylococcus aureus*에서는 12.5 $\mu\text{g}/\text{disk}$ 이상에서 모두 활성이 나타났다. 화합물 2는 *B. subtilis*와 *B. cereus*에서 12.5 $\mu\text{g}/\text{disk}$ 이상에서 모두 활성이 나타났지만 *S. aureus*에서는 활성이 나타나지 않았다. 화합물 3은 12.5 $\mu\text{g}/\text{disk}$ 이상의 농도에서 세 가지 세균 모두에 활성이 나타났다. 이러한 결과는 현재 식품보존제로 사용되는 benzoic acid 및 sorbic acid와 비교할 때 대략 10배정도 더 강한 항균력을 나타내는 것이다. 이중 가장 활성이 강한 화합물 1을 효소면역측정기로 흡광도를 측정하여 증식억제효과를 실험한 결과 *B. subtilis*와 *B. cereus*에서는 실험 최소농도인 10 ppm 처리시에도 72시간까지 증식억제효과를 보였다. *S. aureus*에서는 25 ppm 이상의 농도에서 72시간까지 완전히 증식이 억제되는 것을 보였다(그림 1).

○ 항암활성 효과

양하에서 항균활성이 가장 강한 화합물 1을 이용하여 B16F10(마우스 피부 흑색종 세포주), HL-60(인간 전골수구성 백혈병 세포주), Jurkat(인간 T 세포 백혈병 세포주), MCF-7(인간 유방암 세포주), A549(인간 폐암 세포주), 그리고 Hep-G2(인간 간암 세포주) 등 총 6개의 암세포주에서 MTT에세이법을 이용하여 항암활성을 검정한 결과 50% 증식 억제농도가 각각 4.12, 10.3, 24.9, 29.5, 36.6, 61.0 ppm으로 확인되었다(표 1). 앞으로 임상실험 등 더욱 세밀한 연구가 이루어져야 하겠지만 제주에 많이 분포하고 있는 양하에서 항암제, 항균제 및 기능성음료 등 다양한 의약품 및 치료 보조식품이 개발되면 부가가치 향상은 물론, 농가소득을 증대시킬 수 있는 유망작물이 될 것으로 기대된다.

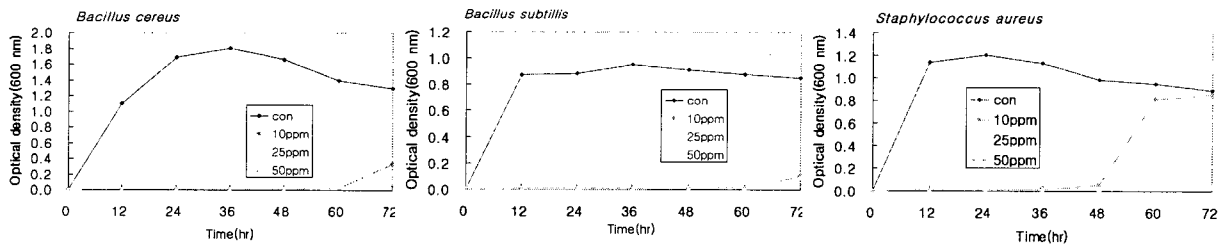


그림 1. 화합물 1의 유해세균(식중독균) 증식억제 효과

표 1. 양하에서 분리한 화합물 1의 항암활성 시험 결과

세포주	화합물 1의 IC ₅₀ ($\mu\text{g}/\text{ml}$)
B16F10(마우스 피부 흑색종 세포주)	4.12±1.42
HL-60(인간 전골수구성 백혈병 세포주)	10.3±0.38
Jurkat(인간 T 세포 백혈병 세포주)	24.9±0.51
MCF-7(인간 유방암 세포주)	29.5±7.97
A549(인간 폐암 세포주)	36.6±5.42
Hep-G2(인간 간암 세포주)	61.0±5.00