

## 한국산 인삼의 Polyphenol 분획물의 항산화, Phospholipase A<sub>2</sub> 및 암세포증식 억제효과

최희진 · 한호석 · 박정혜 · 손준호<sup>1</sup> · 배중호<sup>2</sup> · 심태수<sup>3</sup> · 최 청\*

영남대학교 생물산업공학부, <sup>1</sup>한국식품연구소, <sup>2</sup>대구미래대학 제과제과코레이션과, <sup>3</sup>창원진문대학 식품영양과

(2003년 4월 9일 접수, 2003년 6월 19일 수리)

한국산 인삼을 60% acetone으로 추출하여 Sepadex LH-20 gel column chromatography, MCI-CHP 20 gel column chromatography,  $\mu$ -Bondapak C<sub>18</sub> gel column chromatography을 이용하여 polyphenol 분획물을 3 종류를 분리하여 항산화 효과, phospholipase A<sub>2</sub> 저해효과 및 암세포 증식억제 효과를 검토하였다. 항산화 효과에서 분획물 I은 150 ppm에서 Cu<sup>2+</sup>, KO<sub>2</sub> 그리고 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>에 대하여 각각 48.16%, 79.71%, 43.55%를 나타내었고 DPPH 수소공여능은 분획물 II가 200 ppm에서 35.17%의 라디칼소거능을 보였다. 분획물 III는 Fe<sup>2+</sup>, OH가 존재 시 150 ppm에서 48.49%, 25%의 항산화효과를 나타내었다. Phospholipase A<sub>2</sub> 저해활성은 분획물 III이 60  $\mu$ g/ml에서 48.9%의 활성을 나타냈다. HT 29 cell에 대한 인삼의 세포 독성은 분획물 II에서 0.25 mg/ml에서 73.29%의 가장 높은 억제능을 나타내었다.

**Key words:** 인삼, 폴리페놀분획물, 항산화, phospholipase A<sub>2</sub> 저해, 암세포증식 억제효과

### 서 론

인삼은 오갈피나목과(Araliaceae) 인삼속(*Panax*)에 속하는 다년생 초본류로서 한방에서는 그 뿌리를 인삼(*Ginseng Radix*)이라 하며 현재 우리나라 뿐만 아니라 소련, 미국, 캐나다, 중국 그리고 일본 등지에서도 재배되고 있으며 우리나라 인삼은 고려인삼이라 부른다. 한국인삼의 학명은 *Panax ginseng* C. A. Meyer로 어원을 보면 Pan은 “모든것”이며 Axos는 “의학”이라는 뜻으로 만병통치라는 의미를 가진다.<sup>1)</sup> 인삼의 약효는 Gariques<sup>2)</sup>가 인삼으로부터 무정형의 배당체 혼합물을 분리하여 panaquilon이라고 명명한 이래 Brekhman<sup>3)</sup>는 유효성분으로서 사포닌 성분을 제시하였다. 그 후 사포닌 성분을 중심으로 많은 연구가 이루어지기 시작하여 중추신경계, 각종 스트레스, 피로, 발육, 각종체내대사물질, 조혈작용, 향균력 등에 관한 약리작용이 밝혀졌다.<sup>4-6)</sup> 그러나, 사포닌 성분만이 유효성분인지에 대한 의문으로 비사포닌 성분에 대한 연구가 이루어지기 시작하여 인삼 속에 함유한 polyacetylene 성분들이 암세포 증식을 억제한다 하였다.<sup>7-9)</sup> 또 인삼에서 항산화 활성작용을 하는 페놀성 성분을 분리, 정제한 결과 사포닌 외에도 유효한 성분이 인삼에 존재한다는 것이 제시된바 있다.<sup>10-14)</sup>

노화의 원인은 대사과정에서 생성된 유해물질의 축적,<sup>15)</sup> 생체 내 free radical에 의한 세포 내 지질 과산화물생성<sup>16,17)</sup> 등이 알려져 있다. 식품이나 유기물에서 산소와의 결합으로 자동산화가 이루어진다. 이로 인하여 식품의 변색, 풍미변화 및 유지의 산패뿐만 아니라 노화도 유발시킨다. 이러한 반응을 억제시키는 항산화제는 금속이온의 착염화기능, superoxidase dismutase 활성

과 효소유사활성에 의한 free radical 포집력으로 radical 반응을 종결시키는 역할은 한다.<sup>18,19)</sup> 노화를 유발하고 식품의 산소노출로 인한 식품의 품질 저하 시에 산소에서 유리되는 superoxide anion radical(O<sub>2</sub><sup>·-</sup>), hydroxy radical(OH<sup>·</sup>), singlet oxygen(<sup>1</sup>O<sub>2</sub>) 및 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 등의 활성산소 역할에 관한 연구가 보고된 바 있다.<sup>20)</sup> 철이나 구리분자의 존재 시 이러한 radical은 Harver-Weiss반응,<sup>21)</sup> Fenton 반응<sup>22)</sup> 또는 Fe<sup>3+</sup>이 O<sub>2</sub><sup>-</sup>에 의해 Fe<sup>2+</sup>으로 전환 시 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>와 OH<sup>·</sup>의 활성산소기를 생성하여 최종적으로 O<sub>2</sub><sup>-</sup>, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, RO<sup>·</sup>, ROO<sup>·</sup> 등의 이차 radical을 생성하여 산화를 촉진시켜주는 역할을 하므로<sup>23)</sup> 이러한 유지의 산화과정에서 malondialdehyde는 2차 산화생성물이며 식품의 산패 뿐만 아니라 노화,<sup>24)</sup> 돌연변이성,<sup>25)</sup> 발암성<sup>26)</sup>과 관련됨이 보고된 바 있다.

인지질은 생체막을 구성하는 물질로 신호전달과 관련된 세포가 활성시 인지질 분해효소인 여러개의 phospholipase들이 활성화 된다. 이러한 인지질 분해효소들 중 phospholipase A<sub>2</sub>는 인지질의 sn-2위치에 에스테르 결합을 가수분해하여 arachidonic acid와 같은 지방산과 lysophospholipid를 생성한다.<sup>27)</sup> Tanaka 등<sup>28)</sup>과 Kim 등<sup>29)</sup>에 의하여 페놀성 물질이 phospholipase A<sub>2</sub>를 저해한다는 것이 보고된 바 있다.

인삼 중 비사포닌에 대한 항암연구로 Hwang과 Soo,<sup>30,31)</sup> Lee와 Hwang<sup>32)</sup>에 의하여 장암세포 HRT-18, HCT-48 그리고 HT-29세포의 증식을 억제함을 나타내었고 Kim<sup>33)</sup>은 석유에테르 추출물로부터 panaxynol, panaxydol 등 총 5개의 성분을 분리, 추출하여 항암효과를 나타내었다. Polyphenol 화합물의 항암효과로 Park<sup>34)</sup>은 백혈구성 암세포주인 L1210과 장암세포 H-29에 대한 효과를 보고한 바 있으나 이에 관한 연구들은 아직 미비한 실정이다.

본 연구에서는 한국산 인삼으로부터 60%의 아세톤으로 polyphenol 화합물을 분리하여 항산화효과, phospholipase A<sub>2</sub> 및 암세포증식 억제효과를 검토하였다.

\*연락처

Phone: 82-53-810-2952; Fax: 82-53-815-1891  
E-mail: cchoi@yumail.ac.kr

## 재료 및 방법

**실험재료.** 본 실험에서 사용된 인삼(*Panax ginseng* C. A. Meyer)은 1999년 경상북도, 풍기 농협에서 구입한 5년근 수삼, 8 kg을 세척 후 건조하여 사용하였다.

**polyphenol 화합물의 분리.** 인삼의 polyphenol 분획물의 분리는 Choi 등<sup>35)</sup>의 방법에 따라 Sephex LH-20 gel column chromatography, MCI-CHP 20 gel column chromatography, Bondapack C<sub>18</sub> gel column chromatography를 이용하여 TLC와 HPLC로 순도를 검정한 후 3종류의 polyphenol 분획물을 분리한 것을 시료로 사용하였다.

**항산화시료제조.** 항산화 시료제조는 Kim 등<sup>36)</sup>의 방법에 따라서 oil emulsion은 사용하기 전에 제조하여 pH 6.5로 보정한 0.1 M maleic acid buffer 8 ml를 넣은 다음 50 µl의 Tween-20과 0.5 ml 정도의 fish oil을 첨가하고 15분간 교반한 후 KOH 2~3 조각을 넣고 교반 한 후 증류수 150 ml를 첨가하여 0.1 N HCl로 pH 6.5가 되도록 제조하여 사용하였다. 시료 조제는 oil emulsion 0.5 ml에 추출 시료액 0.1 ml를 첨가한 후, 산소종 [50 ppm Fe<sup>2+</sup>, 50 ppm Cu<sup>2+</sup>, 50 ppm potassium superoxide (KO<sub>2</sub>), 40 mM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>와 50 ppm Fe<sup>2+</sup>(·OH)]을 0.1 ml씩 가하고, 항산화제 0.1 ml를 첨가하여 전체 1 ml가 되도록 증류수로 조정하여 실시하였다.

**Thiobarbituric acid reactive substances(TBARS) 측정.** TBARS는 Buege와 Aust<sup>37)</sup>의 방법에 따라 측정하였다. 1 ml 반응 혼합물의 시험관을 37°C 항온조에서 1시간동안 반응시켰다. 반응이 끝나자마자 7.2% dibutylhydroxytoluene(BHT) 50 µl를 시료에 가하여 산화반응을 정지시켰다. 반응 혼합물을 잘 섞은 다음 2 ml thiobarbituric acid/trichloroacetic acid 시약을 가하고 다시 혼합 후 15분간 증탕하였다. 가열 후 찬물에서 식힌 후 2,000×g의 속도로 15분간 원심 분리시킨 후 상층액을 흡광도 531 nm에서 측정하였고, 대조구는 시료 대신에 증류수를 가하여 같은 방법으로 측정하여 비교하였다.

**전자공여능 측정.** 각 추출물의 전자공여작용은 Blois<sup>38)</sup>의 방법을 변형하여 측정하였다. 각 시료 1 ml에 2×10<sup>-4</sup> M의 α,α'-diphenyl-β-picryl-hydrazyl(DPPH) 1 ml를 넣고 교반 한 후 30 분 동안 방치한 다음 517 nm에서 흡광도를 측정하였다.

$$\text{전자 공여능} = \left( \frac{1 - \text{시료첨가구의 흡광도}}{\text{무첨가구의 흡광도}} \right) \times 100$$

**Phospholipase A<sub>2</sub> 저해활성 측정.** 효소는 cPLA<sub>2</sub>(cytosolic PLA<sub>2</sub>)와 sPLA<sub>2</sub>(secretory PLA<sub>2</sub>)를 cloning 하여 sf-9 cell에서 발현시킨 후 정제한 것을 사용하였고 기질은 1-palmitoyl-2-[1-<sup>14</sup>C] arachidonyl-L-3-phosphatidylethanolamine(Amersham Co.)을 사용하였다. 저해활성 측정은 1 M Tris-HCl buffer(pH 9.0) 10 µl, 40 mM CaCl<sub>2</sub> 10 µl, 1% BSA 10 µl, 20 ng의 PLA<sub>2</sub> 20 µl첨가하여, 20 nmole의 기질을 5 µl를 함유한 전체용적 100 µl을 혼합한 후, 반응용액을 37°C 항온수조에서 진탕하면서 30 분 동안 반응시킨 후 생성된 유리지방산을 Dole의 방법<sup>39)</sup>으로 추출하였다. 즉, 반응액에 Dole's 용액, 560 µl을 넣어 반응을

정지시킨 후, 40 µl의 증류수를 가하여 혼합한 후 4°C에서 3000 rpm에서 원심분리 하여 150 µl의 상층액을 취하여 n-heptane을 분리하였다. 여기에 100 mg의 silica gel과 0.8 ml의 n-heptane을 넣어 미반응 기질을 흡착시킨 후 혼합하여 5분 동안 4°C에서 원심분리하여 n-heptane층을 취하고 액체검광계수기(liquid scintillation counter)로 유리된 [<sup>14</sup>C] 지방산의 양을 측정하였다. 저해활성은 기질만 처리한 대조구에 대하여 백분율로 나타내었다.

**암세포 증식 억제능.** 인삼에서 분리한 성분의 암세포주(human colon HT-29)에 대한 세포 증식 억제효과는 [3-(4,5-dimethyl thiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide](MTT) 방법<sup>40)</sup>으로 조사하였다. 배양된 암세포에 배지(FBS)를 첨가하고 잘 혼합하여 암세포 수를 1×10<sup>4</sup> cells/ml로 조정한 다음, 96 well microtiter plate에 준비된 암세포를 198 µl씩 첨가하고 24시간동안 배양시킨 후 각 농도의 종피 색소 추출물을 2 µl씩 well에 첨가하여 총 200 µl되게 한 후, 37°C, 5% CO<sub>2</sub> 하에서 48 시간 배양하였으며 이때 대조군은 시료대신 시료 녹인 용액을 동량 첨가하여 동일한 조건으로 배양하였다. 배양 후 MTT 시약을 10 µl 첨가하여 반응을 정지시키고 배지 90 µl를 첨가한 후 다시 4시간 더 배양하였다. 배지와 시약을 제거한 후 well에 부착된 formazon 결정을 200 µl의 dimethyl sulfoxide(DMSO)에 용해 시켜 cell plate reader로 590 nm에서 흡광도를 측정하였다. 세포 증식 억제효과는 다음과 같이 계산하였다.

$$\text{Cytotoxicity (\%)} = \frac{\text{대조군의 흡광도} - \text{시료처리군의 흡광도}}{\text{대조군의 흡광도}} \times 100$$

## 결과 및 고찰

**TBARS법에 의한 항산화효과.** 본 실험에서 어유의 산화에 영향을 끼치는 radical들과 산화촉진을 시켜주는 Fe<sup>2+</sup>와 Cu<sup>2+</sup>가 존재시의 항산화효과를 TBARS 방법에 의하여 효과를 검토한 결과는 Fig. 1과 Fig. 2와 같다. Fe<sup>2+</sup>가 존재시 어유의 항산화 작용에서 대조구에 비하여 BHA와 분획물 I, II, III에서 높은 항산화 활성을 나타내었다. 분획물 III는 150 ppm에서 48.49%로 합성항산화제인 BHA보다는 낮지만 다른 분획물 보다 높은 활성을 나타내었다. 분획물 I과 분획물 II도 150 ppm에서 28.16%, 33.08%의 활성을 보였다. Lee와 Park은<sup>41)</sup> phenolic acid류 중 150 ppm의 caffeic acid가 linoleic acid 상에서 40 µM FeCl<sub>2</sub> 하에서 76.9% 저해율을 나타낸다고 보고하였다. Han 등<sup>42)</sup>은 간 호모게네이트에 Fe<sup>2+</sup> 첨가 시 2 M maltol에 의하여 완전히 저해되었고 Masataka 등<sup>43)</sup>은 microsome의 지질과산화가 polyphenol 성분이 Fe<sup>2+</sup>와의 결합에 의하여 불활성 됨을 밝혔다. 지방산화 촉진자인 Cu<sup>2+</sup>에 대한 항산화효과는 분획물 I이 150 ppm에서 48.16%의 활성을 나타내었으나 분획물 II는 활성이 미미하였으며 분획물 III에 대한 효과는 나타나지 않았다. KO<sub>2</sub>에 대한 항산화효과는 Fig. 3에서와 같이 분획물 I과 분획물 II에서 150 ppm에서 79.71%, 80.29%의 높은 효과를 나타냈으며 합성 항산화제인 BHA보다 높았다. Fig. 4에서는

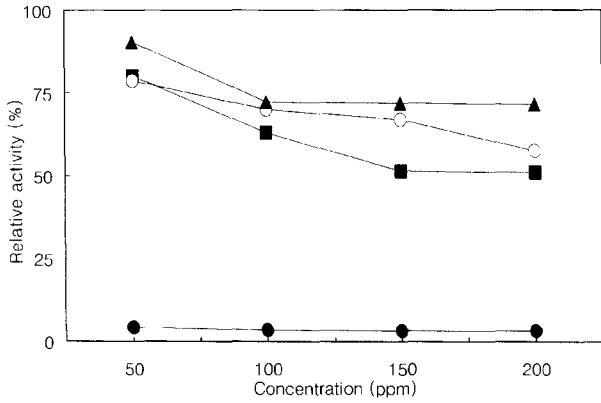


Fig. 1. Inhibition effect of polyphenol fractions purified from ginseng on lipid oxidation in the presence of ferrous ion (Fe<sup>2+</sup>). ●: Butylatedhydroxyanisol (BHA), ▲: Fraction I, ○: Fraction II, ■: Fraction III

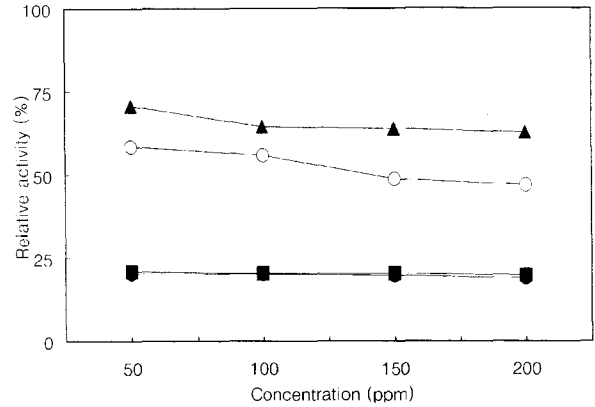


Fig. 3. Inhibition effect of polyphenol fractions purified from ginseng on lipid oxidation in the presence of superoxide (KO<sub>2</sub>). ●: Butylatedhydroxyanisol (BHA), ▲: Fraction I, ○: Fraction II, ■: Fraction III

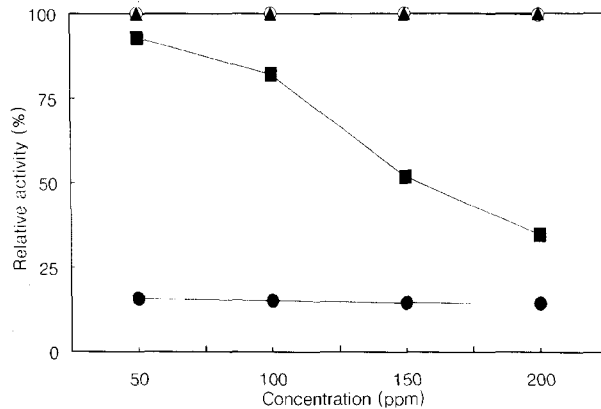


Fig. 2. Inhibition effect of polyphenol fractions purified from ginseng on lipid oxidation in the presence of copper ion (Cu<sup>2+</sup>). ●: Butylatedhydroxyanisol (BHA), ▲: Fraction I, ○: Fraction II, ■: Fraction III

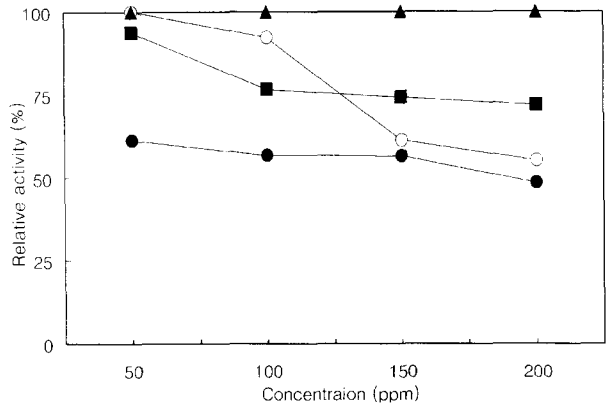


Fig. 4. Inhibition effect of polyphenol fractions purified from ginseng on lipid oxidation in the presence of hydrogen peroxide (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>). ●: Butylatedhydroxyanisol (BHA), ▲: Fraction I, ○: Fraction II, ■: Fraction III

H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>에 대한 항산화효과도 분획물 I이 150 ppm 농도에서 43.55%의 높은 활성을 보였지만 분획물 II는 활성이 없었다. Lee 등<sup>40</sup>의 홍삼에서 수용성 갈변물질에서 농도가 짙을수록 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>의 소거능이 증가함을 나타내었다는 보고와 비슷한 결과를 얻었다. Hydroxy radical에 대한 항산화효과는 분획물 I, II 및 III가 150 ppm 농도에서 각각 19.4%, 15.3% 그리고 25%의 활성을 보였다.

인삼의 항산화성분에 관한 연구는 Han 등<sup>45</sup>에 의하여 메탄올 추출물로부터 얻은 phenolic acid인 maltol을 분리정제 함으로써 시작되어 그 후 salicylic acid, vanillic acid 및 p-coumaric acid가 지질과산화 억제효과를 나타내는 것이 보고되었다<sup>46</sup>. Park 등<sup>47</sup>은 인삼의 석유에테르 추출물에 강한 항산화 물질이 존재함을 *in vitro* 상에서 확인하였고 Han 등<sup>48</sup>은 gallic acid와 protocatechuic acid가 다른 maltol이나 기타의 phenolic acid보다 항산화활성이 강함을 나타냈다. 따라서 인삼 유래 polyphenol 화합물의 항산화성은 대조구에 비하여 첨가구가 높은 항산화 활성을 나타냈으며 BHA와 비하여 좋은 활성을 나타내었으므로 천연항산화제로서의 이용 가능성이 높다고 생각된다.

전자공여능에 의한 항산화효과. 한국산 인삼으로부터 분리한 polyphenol 화합물의 DPPH 수소공여능 측정결과는 Fig. 6에서 보는바와 같이 분획물 II가 200 ppm에서 35.17%의 높은 radical 소거능을 나타내었다.

Lee 등<sup>49</sup>은 홍삼에서 분리한 수용성 갈변물질의 DPPH에 의한 수소공여능은 증류수를 가한 추출물에서 ascorbic acid, α-tocopherol보다 강한 소거능을 보임으로써 인삼가열 중의 수용액에서 갈변물질이 항산화활성 물질과 상관성이 존재함을 밝혔다. Kim 등<sup>49</sup>은 홍삼의 메탄올 액기스에서 강력한 항산화활성을 가진 물질을 분리한 결과 maltol임을 TLC와 HPLC로 확인하였다. Wee<sup>50</sup>는 인삼의 DPPH에 의한 수소공여능측정으로 인삼의 항산화활성을 나타내는 phenolic acid로서 ferulic acid, p-hydroxybenzoic acid, gentisic acid 및 caffeic acid를 분리, 동정하였다.

Kang 등<sup>51</sup>은 페놀성 화합물 중에서 gallic acid의 전자공여능의 활성이 6 mM에서 90%이상의 전자공여능을 나타냄으로써 페놀성 물질 중 환원력이 큰 것이 활성이 높다는 것과 비슷한 결과를 얻었다.

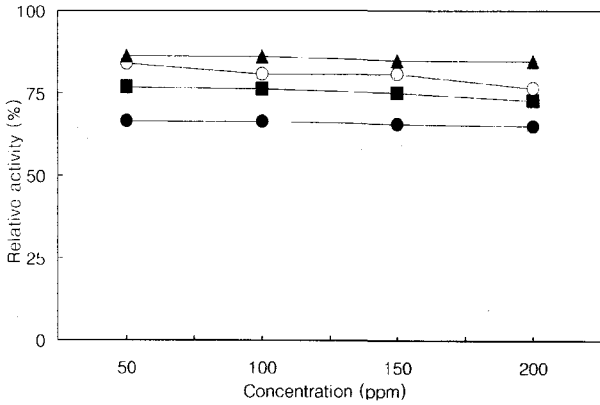


Fig. 5. Inhibition effect of polyphenol fractions purified from ginseng on lipid oxidation in the presence of hydroxyl radical ion ( $\cdot\text{OH}$ ). ●: Butylatedhydroxyanisol (BHA) ▲: Fraction I ○: Fraction II ■: Fraction III

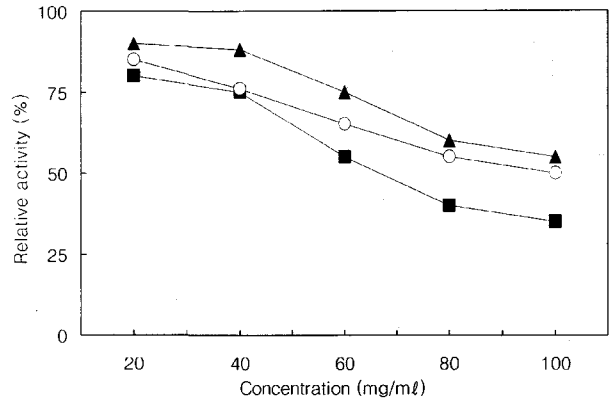


Fig. 7. cPLA<sub>2</sub> inhibitory effect of polyphenol fractions from ginseng. ▲: Fraction I, ○: Fraction II, ■: Fraction III

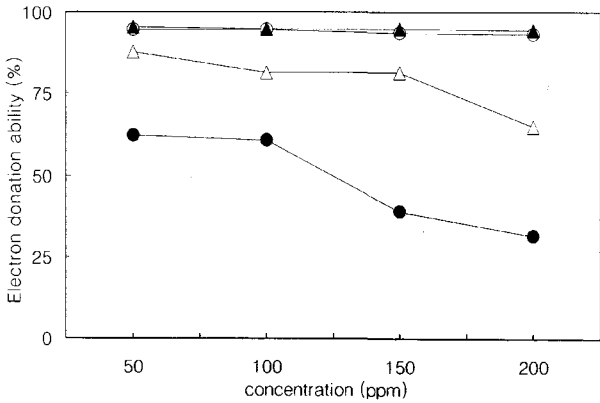


Fig. 6. Electron donating abilities of polyphenol fractions purified from ginseng. ●: Butylatedhydroxyanisol (BHA), ▲: Fraction I, ○: Fraction II, ■: Fraction III

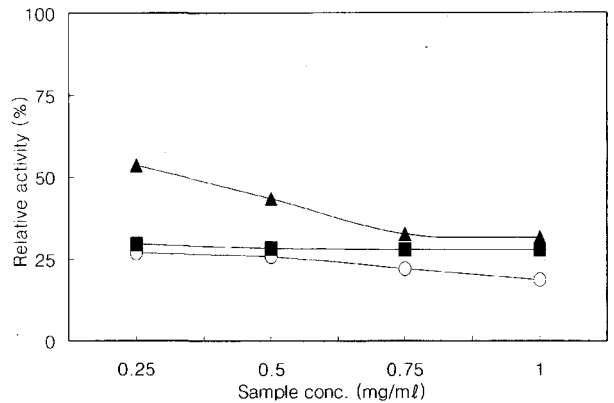


Fig. 8. Cytotoxic effects of polyphenol fractions purified from ginseng on human colon cell by MTT assay (HT29). ▲: Compound I, ○: Compound II, ■: Compound III

**Phospholipase A<sub>2</sub> 저해활성.** 혈소판 세포에 분포하며, 류마티스성 관절염을 앓고 있는 환자의 synovial fluid에서도 가용성 형태로 발견되어 염증과 관련된 질병에 관여하고 있는 것으로 알려있는 phospholipase A<sub>2</sub>에 대한 저해활성을 살펴본 결과는 Fig. 7과 같다.

분획물 III가 가장 높게 나타났으므로 이 분획물은 염증유발을 억제하고 지질과산화물의 축적을 저해할 것으로 사료된다. Kim 등<sup>52)</sup>은 석이로부터 분리한 페놀성 물질인 orcinol과 orsellinic acid의 sPLA<sub>2</sub>(secretory PLA<sub>2</sub>)에 대한 저해활성을 본 결과 각각 0.72 mM, 0.26 mM에서 50%의 저해율을 나타낸 것으로 보고하였다. Kim 등<sup>53)</sup>은 *Umbilicaria esculenta*로부터 sPLA<sub>2</sub> 저해율이 0.17 mM에서 50% 저해율을 나타내는 lecanoric acid를 분리, 동정하였다.

**암세포 증식억제 효과.** 인삼으로부터 분리한 polyphenol 화합물들의 항암효과를 인간으로부터 유래한 결장암세포인 HT 29 cell line에 대하여 검색한 결과는 Fig. 8에서와 같다. 인삼에서 분리한 3종류의 분획물이 0.5 mg/ml에서 50%이상의 저해율을 나타내었다. 분획물 II는 0.25 mg/ml에서 73.29%의 가장 높은 억제효과를 나타내어 분획물 중 가장 높은 항암효과를 보

였다.

인삼의 항암효과는 예로부터 임상실험을 통하여 많이 밝혀지고 있으나 비사포닌성분의 항암효과는 Hwang과 Cha<sup>54)</sup>의 인삼이 석유에테르추출물 중 항암효과가 있는 분획이 존재한다는 것이 밝혀지면서 지용성 성분이 인체암세포에 미치는 영향<sup>31)</sup>을 연구한 결과 HT 29 cell line의 48시간 배양 시 50 μg/ml에서 50% 저해율을 나타내는 것으로 보고되었다. Kim<sup>33)</sup>은 석유에테르 추출물에서 L1210의 항암 작용을 나타내었고 Lee와 Hwang 등<sup>55)</sup>은 인삼에서 사포닌과 석유에테르추출물의 항암효과를 비교 연구한 결과 암세포증식은 사포닌계 성분에서는 존재하지 않고 석유에테르추출물에서 존재함을 밝혔다. Park<sup>34)</sup>은 감잎의 polyphenol 화합물에서 L1210과 HT-20에서 항암효과를 보고하였고 Hagiwara 등<sup>56)</sup>도 녹차의 polyphenol 성분이 쥐에서 azoxymethane에 의해 유도된 대장암에 억제작용을 나타내었으므로 polyphenol 화합물의 암세포 증식억제효과가 인정됨에 따라 이에 관한 연구가 더욱 기대되는 바이다.

**참고문헌**

1. Korea ginseng. (1993) In *Annual Report of Korean ginseng & tobacco research institute*. pp. 1-6.

2. Garriques, S. S. (1854) On panaquilon, a new vegetable substance. *Ann. Chem. Pharm.* **40**, 231-233.
3. Brekhman, I. I. (1957) Gosudarst Isdat et Med. Lit. Leningrad. 1-18.
4. Han, B. H. (1972) Current status of Korean ginseng research. *Kor. J. Pharmacog.* **3**, 151-160.
5. Park, C. W. (1984) The studies of pharmacology of ginseng. *Biochemistry News* **4**, 37-56.
6. Jin, H. K., Kim, S. H. and Lee, J. K. (1982) Studies of the physiological activity of Korean ginseng. *Kor. J. Appl. Microbiol. Bioeng.* **10**, 101-108.
7. Hwang, W. I. and Oh, S. K. (1984) A study on the anticancer activities of lipid soluble ginseng extract and ginseng saponin derivatives against some cancer cells. *Korean J. Ginseng Sci.* **8**, 153-166.
8. Hwang, W. I. and Oh, S. K. (1996) Effects of petroleum extract of ginseng root on some enzyme activity in human colon cancer cell. *Korean J. Ginseng Sci.* **10**, 27-35.
9. Ko, S. R. (1993) Comparative study on chemical components and biological activities of panax species, Ph. D. Thesis, Chonbuk National University, Chonju, Korea.
10. Lee, H. O. and Park, O. J. (1998) Antioxidant effects of phenolic acid and ginseng extract in aqueous system. *Korean J. Food Sci. Technol.* **30**, 34-438.
11. Han, B. H., Park, M. H., Woo, L. K., Woo, W. S. and Han, Y. N. (1979) Studies on the antioxidant components of Korean ginseng (I). *Korean Biochem. J.* **12**, 33-40.
12. Han, B. H. and Park, M. H. (1978) Studies on the antioxidant components of Korean ginseng (II). *Biochem. J.* **9**, 169-171.
13. Han, B. H., Park, M. H. and Han, Y. N. (1985) Studies on antioxidant components of Korean ginseng (V): The mechanism of antioxidant activity of maltol and phenolic acid. *Korean Biochem. J.* **18**, 337-340.
14. Park, J. D., Kim, M. W. and Wee, J. J. (1987) Isolation and identification of free phenolic acids in Korean ginseng. *Korean J. Food Sci. Technol.* **19**, 392-396.
15. Kawashima, S. (1969) The possible role of lipoperoxide in aging. *Nagoya J. Med. Sci.* **32**, 303-326.
16. Harman, D. Aging. (1956) A theory based on free radical and radiation chemistry. *J. Gerontol.* **11**, 298-300.
17. Dicker, E. A., Crum, A. D. and Calvert, J. T. (1992) Differences in the antioxidant mechanism of carnosine in the presence of copper and iron. *J. Agric. Food Chem.* **40**, 756-759.
18. Chan, W. K. M., Decker, E. A., Lee, J. B. and Butterfield, D. A. (1994) EPR spintrapping studies of the hydroxyl radical scavenging activity of carnosine and related dipeptides. *J. Agric. Food Chem.* **42**, 1407-1410.
19. Babizhayev, M. A., Seguin, M. C., Gueyne, J., Evstigneeva, R. P., Ageyeva, E. A. and Zheltukhina, G. A. (1994) L-carnosine ( $\beta$ -alanyl-L-histidine) and carbinine ( $\beta$ -alanylhistamine) act as natural antioxidants with hydroxyl radical-scavenging and lipid-peroxidase activities. *Biochem. J.* **304**, 509-913.
20. Tien, M. and Aust, S. D. (1981) Superoxide dependent lipid peroxidation. *Fed. Proc.* **40**, 179-182.
21. Fridovich, I. (1986) Biological effect of the superoxide radical irwin fridovich. *Arch. Biochem. Biophys.* **247**, 1-11.
22. Thomas, C., Glenn, F. V. and Christone, C. W. (1993) The hydrolysis product of icre-187 promotes iron-catalysed hydroxylradical production via the fenton reaction. *Biochem. Pharmacol.* **15**, 1967-1972.
23. Fricovich, I. (1989) Superoxide dimutases. *J. Biol. Chem.* **264**, 7761-7764.
24. Minotti, G. and Ausst, S. D. (1987) The requirement for iron (III) in the initiation of lipid peroxidation by iron (II) and hydrogen peroxide. *J. Biol. Chem.* **262**, 1098-1104.
25. Lee, S. H. and Min, D. B. (1990) Effects, quenching mechanisms and kinetics of carotenoids in chlorophyll sensitized photooxidation of soybean oil. *J. Agric. Food Chem.* **38**, 1630-1634.
26. Addis, P. B. (1986) Occurrence of lipid oxidation products in foods. *Food Chem. Toxicol.* **24**, 1021-1030.
27. Dennis, E. A. and Boyer, P. D. (1983) The enzymes. Academic press, New York. **16**, pp. 307-353.
28. Tanaka, K., Arita, H. and Inoue, K. (1993) Phospholipase A<sub>2</sub> inhibitors. *Prot. Nucl. Acid Enzym.* **38**, 1988-1999.
29. Kim, J. W., Song, K. S., Chang, H. W., Yu, S. H. and Yoo, I. D. (1995) A phospho-lipase A<sub>2</sub> inhibitor isolated from *umgiliaria esculenta*. *Kor. J. Appl. Microbiol. Biotechnol.* **23**, 526-530.
30. Hwang, W. I. and Soo, K. O. (1984) A study on the anticancer actives of lipid soluble ginseng extract and ginseng saponin derivatives against some cancer cells. *Korean J. Ginseng Sci.* **8**, 153-166.
31. Hwang, W. I. and Soo, K. O. (1986) Effects of petroleum extract of ginseng root on some enzyme activity in human colon cancer cells. *Korean J. Ginseng Sci.* **10**, 27-35.
32. Lee, S. H. and Hwang, W. I. (1986) Inhibitory effect of petroleum ether extract of panax ginseng root against growth of human cancer cells. *Korean J. Ginseng Sci.* **10**, 141-150.
33. Kim, S. I. (1988) Studies on the cytotoxic components of the Korean ginseng root, Ph. D. Thesis, Chungnam National University, Daejeon, Korea.
34. Park, M. H. (1998) Effect of polyphenol compounds from persimmon leaves (*Diospyros kaki* folium) on immunofunctional and biological activity, Ph. D. Thesis, Yeungnam University, Kyungsan, Korea.
35. Choi, H. J., Zhang, Y. B., An, B. J. and Choi, C. (2002) Identification of biologically active compounds from *panax ginseng* C. A. Meyer. *Korean J. Food Sci. Technol.* **34**, 493-497.
36. Kim, S. M., Cho, Y. S. and Sung, S. K. (1999) Effect of ethanol extracts in pinus densiflora, lithospermum erythrorizon on the lipid oxidation of oil emulsion. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* **28**, 984-989.
37. Buege, J. A. and Aust, S. D. (1978) Microsomal lipid peroxidation. *Methods Enzymol.* **105**, 302-305.
38. Blois, M. S. (1958) Antioxidant determination by the use of a stable free radical. *Nature* **26**, 1198-1199.
39. Dole, V. P. and Meinertz, H. (1960) Microdetermination of long-chain fatty acids in plasma and tissues. *J. Biol. Chem.* **235**, 2595-2599.
40. Dariusz, S., Sarah, J. S. Richard, H. C. and Michael, B. (1960) An improved MTT assay. *J. Immuno. Methods* **157**, 203-207.

41. Lee, H. O. and Park, O. J. (1998) Antioxidant effects of phenolic acid and ginseng extract in aqueous system. *Korean J. Food Sci. Technol.* **30**, 434-438.
42. Han, B. H. and Park, M. H. (1978) Studies on the antioxidant components of Korean ginseng (II). **9**, 169-171.
43. Masataka, Y. and Keiko, M. (1998) Interaction of iron with polyphenolic compounds, application to antioxidant characterization. *Anal. Biochem.* **257**, 40-44.
44. Lee, J. W., Do, J. H. and Shim, K. H. (1999) Antioxidant activity of the water soluble browning reaction products isolated from Korean red scavenging. *J. Ginseng Res.* **23**, 176-181.
45. Han, B. H., Park, M. H., Woo, L. K., Woo, W. S. and Han, Y. N. (1979) Studies on the antioxidant components of Korean ginseng (I). *Korean Biochem. J.* **12**, 33-40.
46. Han, B. H., Park, M. H. and Han, Y. N. (1985) Studies on the antioxidant components of Korean ginseng. *Korean Biochem. J.* **18**, 337-340.
47. Park, T. H., Hong, J. T. and Hong, S. Y. (1982) Studies on the antioxygenic substances in panxa ginseng roots. *Korean Food Sci. Technol.* **14**, 130-135.
48. Han, B. H., Park, M. H. and Han, Y. N. (1985) Studies on antioxidant components of Korean ginseng (V). The mechanism of antioxidant activity of maltol and phenolic acid. *Korean Biochem. J.* **18**, 337-340.
49. Kim, M. W., Choi, Y. J., Cho, Y. H. and Hong, S. K. (1980) Study on the components of the anti-oxidant activity of panax ginseng. *J. Korean Agri. Chem. Soci.* **23**, 173-177.
50. Wee, J. J. (1989) Isolation and identification of constituents from antioxidant and hematopoietic fractions of *panax ginseng* C. A. Meyer. Ph. D. Thesis, Seoul National University, Seoul, Korea.
51. Kang, Y. H., Park, Y. K. and Lee, G. D. (1996) The nitric scavenging and electron donating ability of phenolic compounds. *Korean J. Food Sci. Technol.* **28**, 232-239.
52. Kim, J. W., Song, K. S., Yoo, I. D., Chang, H. W., Yu, S. H., Bae, K. G. and Min, T. J. (1996) Two phenolic compounds isolated from *umgiliaria esculenta* as phospholipase A<sub>2</sub> inhibitors. *Korean J. Mycology* **24**, 237-242.
53. Kim, J. W., Song, K. S. and Chang, H. W. (1995) A phospholipase A<sub>2</sub> inhibitor isolated from *umbilicaria esculenta*. *Kor. J. Appl. Microbiol. Biotechnol.* **23**, 526-530.
54. Hwang, W. I. and Cha, S. M. (1978) A cytotoxic activity of extract of *panax ginseng* root against some cancer cell. In *proc. 2nd Int. Ginseng Symp.* pp. 47-52.
55. Hwang, W. I. and Oh, S. K. (1984) A study on the anticancer actives of lipid soluble ginseng extract and ginseng saponin derivatives against some cancer cells. *Korean J. Ginseng Sci.* **8**, 153-166.
56. Hagiwara, N., Tateishi, M., Kim, M., Yamane, T. and Takashi, T. (1994) In *Proceeding of the international symposium on tea science: Inhibition of axoxymethane-induced colon carcinogenesis in rat by tea polyphenols*. Seoul, Korea. pp. 190-194.

#### Antioxidantive, Phospholipase A<sub>2</sub> Inhibiting, and Anticancer Effect of Polyphenol Rich Fractions from *Panax ginseng* C. A. Meyer

Hee-Jin Choi, Ho-Suk Han, Jung-Hye Park, Jun-Ho Son<sup>1</sup>, Jong-Ho Bae<sup>2</sup>, Tae-Su Seung<sup>3</sup> and Cheong Choi\*  
(Department of Food Science & Technology College of Natural resources Yeungnam University, Kyungsan, 712-749, Korea; <sup>1</sup>Korea Advanced Food Research Institute, Seoul 137-060, Korea; <sup>2</sup>Department of Confectionery Decoration, Daegu Mirae College, Kungsan, 712-716, Korea; <sup>3</sup>Department of Food & Nutrition, Changwon Junior College, Changwon, 641-771, Korea)

**Abstract:** The polyphenol fractions of Korean ginseng were purified using Sephadex LH-20, MCI gel, Bondapak C<sub>18</sub>, TLC, and HPLC from the 60% acetone soluble fraction. Fraction I showed 48.16%, 79.71% and 43.55% inhibition at 150 ppm against lipid oxidation in the presence of copper ion, superoxide and hydrogen peroxidation. Electron donating abilities of fraction II showed 35.17% inhibition at 200 ppm. Fraction III showed 48.49% and 25% inhibition at 150 ppm against lipid oxidation in the presence of ferrous ion and hydroxy radical ion. The phospholipase A<sub>2</sub> inhibitory effect of fraction III was 48.9% at the concentration of 60 µg/ml. The cytotoxic effects of fraction II was the highest (73.29% at 0.25 mg/ml) among the tested polyphenol fractions.

Key words: ginseng, polyphenol fraction, antioxidant, phospholipase A<sub>2</sub> inhibiting activity, anticancer

\*Corresponding author