

머위(*Petasites japonicus*) 추출물의 항산화와 항암활성 효과

서훈석, 정봉환¹, 조용구*

충북대학교 농업생명환경대학 식물자원학과, ¹서원대학교 친환경 바이오소재 및 식품센터

The Antioxidant and Anticancer Effects of Butterbur (*Petasites japonicus*) Extracts

Hun-Seok Seo, Bong-Hwan Chung¹ and Yong-Gu Cho*

Department of Crop Science, College of Agriculture, Chungbuk National University, Cheongju 361-763, Korea

¹Bio Organic Material & Food Center, Seowon University, Cheongju 361-742, Korea

Abstract - The antioxidant activities of the extracts of butterbur (*Petasites japonicus*) derived from different extraction methods were investigated. SOD (superoxide dismutase)-like activity differed according to the extraction solvents, showing a greater antioxidant effect with ethanol solvent than that of water. Ethanol extracts of butterbur leaves showed higher SOD-like activity of 96.7% than those of water extracts. The contents of polyphenolic compounds were higher in water extracts than those in ethanol extracts. The highest content of polyphenolic compounds was 223mg/g dry weight for butterbur leaves. EDA of butterbur roots was 61.5% in the water extract and EDA in butterbur leaves was 34.9% in the ethanol extract. The anticancer effects with the extracts of butterbur were experimented by fractionations with different solvents. 41.9% of the growth of stomach cancer cells, SNU-719, were inhibited and also 72.7% of the growth of liver cancer cells, Hep3B, were inhibited by the butanol fractions of butterbur, while not affecting the growth of normal cell, DC 2.4.

Key words - SOD-like activity, EDA (electron donating ability), Polyphenol, Anticancer, Stomach cancer, Liver cancer

서 언

오래 전부터 인간은 질병의 고통에서 벗어나기 위한 다양한 방법을 활용하여 왔으며, 이중 일상 주변에 있는 식물을 이용한 방법은 인류의 역사와 함께 하여 왔고 현대에 들어서 약용식물을 이용한 단계로 발전하였다고 볼 수 있다.

건강에 대한 관심이 높아지면서 무공해 작물에 대한 소비가 늘어났고, 약용식물에 대한 중요성이 높이 평가되어 그 수요가 급증하므로 고품질 약용식물의 안정적 공급이 절대적으로 필요하다. 이러한 약용식물에 대한 영양적인 측면이나 약리적인 작용에 대해서 그 효능을 밝히려는 노력이 점차 고조되고 있다. 약용식물은 신약의 개발의 중요한 위치를 차지하고 있고, 식용식물의 항산화 효과에 대한 검색들도 이루어지고 있다(Cho *et al.*, 2001). 특히 최근의 다양한 질환 중 암과 높은 상관관계가 있다는 연구보고와 함께 약용식물의 수요가 급증하면서 크게 주목받

고 있다(Yoo *et al.*, 2007; Lee *et al.*, 2006; Lee *et al.*, 2007). 따라서 한방에서 쓰이는 약용 자원의 개발, 유효 성분의 동정 및 우수 신품종의 육성이 절실하다.

머위(*Petasites japonicus*)는 중국, 일본 및 우리나라의 제주도, 울릉도, 남부지방과 중부지방의 산야지 특히 햇볕이 잘 드는 산비탈의 숲이나 계곡 주변의 습지에서 자생하는 국화과(Compositae)에 속하는 다년생 초본식물이다. 머위는 30cm의 높이로 자라고 꽃은 5, 6월에 피며 암수의 구별이 있어 암그루는 꽃이 희고 수그루는 황백색으로 구별이 가능하다. 화경과 잎 자루는 식용으로 사용하는데 특유한 향기와 쓴맛이 있으며, 한 방에서는 꽃봉오리를 관동화라 하여 한약재로 사용한다(Oh *et al.*, 2006). 민간에서는 진해, 거담, 건위, 진정, 소종, 이노, 풍한 등에 효능이 있는 것으로 알려져서 오랫동안 사용하여 왔으며(Cho *et al.*, 2006), 예로부터 어린 잎을 채취하여 쌈과 생채로 이용하거나 염병은 나물로 이용하고 탕의 재료로 이용하였다(Choi, 2002).

머위 뿌리의 추출물은 편두통, 위궤양, 천식 예방에 사용되었

*교신저자(E-mail) : ygcho@cbnu.ac.kr

으며(Brattstrom, 2003), *Petasites*종 추출물은 혈압 강하 효과도 있음이 밝혀졌다(Wang *et al.*, 2001). 주요 성분으로는 꽃으로부터 angelic acid, capronic acid, caprylic acid, procatechuic acid를 잎과 줄기에서는 petasin과 hemicellulose 등이 분리되었다(Kikuchi, 1973). 꽃눈에서는 sesquiterpenoid인 fukinanolide, fukinnolide, petasin, isopetasin 등이 분리되었으며, 뿌리 및 줄기에서 sesquiterpenoid인 eremopetasidione과 phenolic compound인 petasiphenone 및 eremophilanolide 등이 분리되었다(Yaoita *et al.*, 1994). 약리학적 연구로는 *in vitro*에서 머위 추출물의 항알레르기 효과가 확인되었으며(Choi, 2002), 머위를 먹인 rat과 mouse에 대한 병리학적 관찰 등이 보고되었다(Jee *et al.*, 1996). 머위로부터 분리한 petasiphenol은 apoptosis 저해 및 항산화 활성을 나타내는 성분으로 밝혀졌다(Lee *et al.*, 2000). 머위 첨가 식이가 마우스 혈장 지질 수준 및 항산화 지표에 미치는 영향에 대한 연구에서는 머위 섭취군에서 혈장의 총콜레스테롤 함량과 동맥경화 지수가 낮게 나타났다. 장기 및 혈장의 항산화 지표를 평가한 결과 항산화 물질 함량 및 효소 활성이 높게 나타났으며, 지질, 단백질, DNA의 산화적 손상도가 적게 나타나 머위가 체내 산화적 방어 능력에 효과적임을 알 수 있었다. 특히, 간의 GSH 함량, GR 및 SOD의 활성이 높았으며, 간과 신장의 지질 산화물 함량, 간과 심장의 단백질 산화도, 혈장의 DNA 손상 정도가 낮게 나타났다. 따라서 머위 섭취가 지방 대사 및 항산화에 효과적이라고 할 수 있다(Oh *et al.*, 2006).

본 연구는 머위 수집종의 뿌리, 줄기, 잎을 사용하여 물과 에탄올 추출물의 항산화 활성을 분석하였고, 유기용매를 사용하여 머위 추출물의 분획별 위암 및 간암세포에 대한 항암활성 정도를 조사하였다.

재료 및 방법

실험 재료

1) 재료

전국 각지의 산야에서 자생하는 머위(*Petasites japonicus*)를 수집하여 충북 괴산군 청안면에 위치한 시험포장에 이식하여 관리하였다. 재식거리는 120cm 이랑에 90cm 간격으로 1주씩 정식하여 재배하였으며, 재배시 잡초와의 경합(競合)을 막기 위해 부직포로 멀칭을 하였다. 이듬해 5월 중순 머위를 수확하여 수세 후 40°C 건조실에서 2일간 음건하였고 마쇄하여 분말로 만든 후 각종 항산화 및 항암성 관련 분석을 실시하였다.

2) 분석용 시료 제조

물 추출의 경우에는 시료분말을 2%(w/v)가 되도록 하여 고압

멸균기에서 121°C에서 15분 동안 추출하였고, 여과지를 이용하여 걸러낸 후 추출물을 냉동 보관하여 실험에 사용하였다.

에탄올추출은 시료분말을 2%(w/v)가 되도록 하여, 40°C에서 1시간 동안 반응시켰고, 여과지를 이용하여 걸러낸 후 추출물을 냉동 보관하여 실험에 사용하였다.

실험 방법

1) SOD 유사활성

SOD(Superoxide dismutase) 유사활성 측정방법은 Marklund의 방법에 따라 각 시료 추출액 80 μ l에 Tris-HCl 1.2ml와 7.2mM Pyrogallol 80 μ l를 가하여 잘 혼합하여 25°C 항온수조에서 10분간 반응시킨 다음, 1 N HCl 40 μ l를 가하여 반응을 정지시키고 420nm에서 흡광도를 측정하여 계산하였다(Marklund *et al.*, 1974).

2) 총 폴리페놀 함량(Total polyphenolic content) 측정

총 폴리페놀 함량은 Folin-Ciocalteu's 방법에 의해 분광광도계(spectrophotometer)를 이용하여 측정하였다. 우선 검량선을 작성하기 위해 표준물(Gallic acid)을 증류수로 희석 후 농도별로 희석하였다. 각각 시험관에 넣고, 2% Na₂CO₃, 50% Folin과 Ciocalteu's phenol reagent를 첨가하여 30분간 방치 후 분광광도계를 사용하여 760nm에서 흡광도를 측정하였다. 시료는 위와 동일 방법으로 실시한 다음 O.D. 값을 구하고 농도를 계산하여 시료 중의 총 폴리페놀 함량으로 역산하였다(Slinkard *et al.*, 1977).

3) DPPH에 대한 전자공여능(Electron donating ability, EDA) 측정

전자공여능은 Blois의 방법을 변형하여 분석하였다(Blois, 1958). 앞에서 준비한 분석용 시료 중에 100 μ l를 취하여 1 \times 10⁻⁴M DPPH 1.4ml를 잘 혼합시켜 4분 경과 후 원심분리기에서 12000rpm으로 3분 동안 원심분리 하였다. 상등액만을 취하고 실온에서 10분경과 후 525nm에서 흡광도를 측정한 것을 무첨가구와 비교하여 백분율로 나타내었다.

4) 암세포 생존 억제성 측정

약용식물의 분획물 제조는 시료로 사용한 머위는 건조 후 분쇄하여 메탄올 1:5(W/V)로 첨가한 후 상온에서 3회 추출하고 여과하여, 회전 진공증발기로 농축한 후 80% 메탄올을 첨가하여 극성에 따라 hexane, ethyl acetate, butanol 및 물 분획의 순으로 순차 용매 분획하였다. 각 용매 분획물은 rotary evaporator로 농축한 후 냉동건조하여 DMSO로 녹여 시료로 사용하였다.

4-1) 세포주 배양(Cell culture)

세포주 배양은 실험에 사용한 세포주는 암세포로서 인간 위 암세포인 SNU-719, 간암세포인 Hep3B를 한국 세포주 은행에서 분양받아 실험에 사용하였고, 시료 자체의 세포 독성을 알아보기 위하여 정상세포로서 인간의 면역력 세포인 DC2.4를 분양받아 사용하였다. 실험에 사용한 SNU-719는 RPMI-1640 배지에 10% FBS를 첨가하고 1% penicillin-streptomycin, 2-mercaptoethanol 250µl를 첨가하여 실험에 사용하였고, Hep3B 세포와 DC2.4 세포는 DMEM 배지에 10% FBS를 첨가하고 1% penicillin-streptomycin, 2-mercaptoethanol 250 µl를 첨가하였다. 세포배양은 37°C, 5% CO₂ incubator에서 T-75 culture flask에 배양하였다.

4-2) 암세포 억제 분석

XTT assay는 Hep3B 간암세포와 DC2.4 정상세포는 DMEM 배지에서 48시간 배양하여 1×10⁵cell/well이 되게 농도를 조정하였고, SNU-719 위암세포는 RPMI-1640 배지에 48시간 배양하여 1×10⁵cell/well이 되게 농도를 조정하여 실험하였다. 96 well plate에 배지와 세포 100µl씩 분주하고 100µg/ml, 200µg/ml, 300µg/ml, 400µg/ml, 500µg/ml 농도의 시료를 2µl씩 첨가하여 37°C, 5% CO₂ incubator에서 12시간 배양하였다. 이에 XTT 용액을 50µl 첨가하여 3시간 동안 37°C, 5% CO₂ incubator에서 발색시킨 후 ELISA reader를 이용하여 흡광도를 450~650nm에서 측정하였다.

결과 및 고찰

SOD 유사활성

머위(*Petasites japonicus*)의 뿌리, 잎, 줄기의 물과 에탄올 추출물의 추출 용매별 SOD 유사활성을 측정한 결과는 Table 1 과 같다. 머위의 각 부위별 물과 에탄올 추출물 중에서 SOD 유

사활성은 머위 잎의 에탄올 추출물에서 96.7%로서 가장 높은 SOD 유사활성을 나타내었으며, 물 추출물에서는 머위 뿌리에서 86.7%로 높았다.

SOD는 superoxide radical을 산소로 산화시키는 천연 항산화제인데 식물 추출물의 일부 저분자 물질들은 산화방지 및 노화억제 등 SOD와 유사한 활성을 지니면서 열에 약하고 흡수율이 낮은 SOD의 단점을 보완하는 기능을 갖는다. 본 실험에서 머위 잎의 에탄올과 물 추출물에서 높은 SOD 유사활성을 나타낸 것은 기존에 나물로 이용해온 머위를 머위 차와 같은 항산화 건강식품으로 이용가치가 높을 것으로 생각된다.

총 폴리페놀 함량(Total polyphenolic content)

머위의 뿌리, 잎, 줄기의 물과 에탄올 추출물의 각 추출 용매별 총폴리페놀 함량을 측정한 결과는 Table 2와 같다. 머위 추출물의 총폴리페놀 함량은 물 추출에서 월등히 높은 함량을 나타냈으며, 물 추출물 중에 머위 잎이 223mg/g dry weight로 가장 높은 함량을 나타내었다. 식물에 존재하는 많은 phytochemical 중 폴리페놀화합물은 여러 가지 식품에 널리 분포되어 있으며 천연항산화제로써 작용할 수 있는데(Cho et al., 2001), 머위 잎의 물 추출물에서 폴리페놀화합물의 함량이 높은 것은 머위 잎을 차로 활용할 가능성이 높음을 보여주었다.

전자공여능(Electron donating ability, EDA)

DPPH가 아스코르빈산 및 토코페롤, polyhydroxy 방향족화합물, 방향족 아민류에 의해 전자나 수소를 받아 불가역적으로 안정한 분자를 형성하여 환원되어짐에 따라 짙은 자색이 탈색되어지는 원리를 이용하여 측정한 추출물의 전자공여능 효과는 Table 3과 같다. 추출물 시료의 전자공여능 효과를 살펴보면 물 추출물에서는 머위 뿌리가 61.5%, 에탄올 추출물에서는 머위 잎이 34.9%로 가장 높은 전자공여능을 나타냈다. 식물체의 부위별로 전자공여능효과가 다를 수 있다. 기존에 이루어졌

Table 1. SOD-like activity of extracts by water and ethanol from root, leaf and stalk of butterbur (*Petasites japonicus*)

Parts	Solvents	Activity (%)	
		Water extracts	Ethanol extracts
Root		86.7	63.2
Leaf		84.3	96.7
Stalk		-	82.1

Table 2. Total polyphenolic contents of extracts by water and ethanol from root, leaf and stalk of butterbur (*Petasites japonicus*)

Parts	Solvents	Activity (mg/g dry weight)	
		Water extracts	Ethanol extracts
Root		113.8	5.6
Leaf		223.0	9.0
Stalk		-	7.0

Table 3. Electron donating ability (EDA, %) of extracts by water and ethanol from root, leaf and stalk of butterbur (*Petasites japonicus*)

Parts	Solvents	Activity (%)	
		Water extracts	Ethanol extracts
Root		61.5	9.5
Leaf		52.9	34.9
Stalk		-	20.2

던 실험의 경우(Cho *et al.*, 2001)는 머위 잎에 대해서 한 가지 추출액을 사용해 이루어졌지만, 본 연구에서는 연구 결과의 상용화 활용을 위해 뿌리, 줄기, 잎에 대해 각 부위별로 물과 에탄올 두 가지의 추출액을 사용해 실험을 하였다. 물의 경우는 약초차나 음료로서의 개발 가능성을 보기 위한 것이고, 에탄올의 경우는 그 외의 다른 식품 소재로서의 개발 가능성을 보기 위한 것이다.

암세포 생존억제성 분석

위암 및 간암에 대한 항종양 효과를 검토하기 위하여 인체유래 위암세포주 SNU-719와 간암세포주 Hep3B를 선택하여 XTT 분석에 의한 세포 생존율을 조사하였다. 머위의 분획물을 각 세포에 100µg/ml, 200µg/ml, 300µg/ml, 400µg/ml, 500µg/ml 농도별로 증가시킬 때 정상세포인 DC2.4 세포는 생육이 크게 저해되지 않았지만, 위암세포주 SNU-719 및 간암세포주 Hep3B는 무첨가구에 비해 각각 첨가 농도가 높을수록 살아있는 세포가 상대적으로 적었다. 본 실험의 결과는 머위 분획물의 처리 농도가 증가할수록 위암세포주 SNU-719 및 간암세포주 Hep3B의 세포 생육 저해 효과가 커짐을 의미한다.

약용식물 추출물의 SNU-719 위암세포에 대한 암세포 생존억제율을 분석한 결과 머위 추출물의 경우 500µg/ml를 첨가한 부탄올 층에서 41.9%, hexan 층에서 27.7%의 억제율을 보였다.

머위의 에틸아세테이트 층은 6.5%의 낮은 억제율을 나타냈다 (Table 4).

이상의 결과로 볼 때 위암세포주 SNU-719에 대한 머위 추출물의 위암세포 생존 억제 정도는 부탄올>hexan>에틸아세테이트 순서였다.

머위 추출물의 Hep3B 간암세포에 대한 암세포 생존 억제율을 분석한 결과에서도 부탄올 층에서 가장 높은 억제율을 보였다. Hep3B 간암세포에 대하여 머위 추출물을 처리하였을 때 추출물 500µg/ml를 첨가한 부탄올 층에서는 72.7%, hexan 층에서 38.1%의 억제율을 보였다(Table 5).

이상의 결과에서 볼 때 머위 추출물은 위암세포주 SNU-719 보다는 간암세포 Hep3B에 대한 암세포 억제정도가 훨씬 높은 것으로 평가되었다.

사 사

이 논문은 산업자원부 지정 생물건강산업개발연구센터의 지원을 받아 수행된 연구입니다.

적 요

머위의 뿌리, 줄기, 잎을 사용하여 추출물에 따른 항산화 활

Table 4. The growth inhibition (%) of stomach cancer cells, SNU-719, after treatment by five different concentrations of butterbur (*Petasites japonicus*) extracts from hexane, butanol, and ethylacetate solvents

Extraction solvent	Control	Concentration				
		100µg/ml	200µg/ml	300µg/ml	400µg/ml	500µg/ml
Hexane		15.3	15.2	26.4	24.1	27.7
Butanol	(100%)	13.4	17.0	18.5	28.2	41.9
Ethylacetate		7.5	7.1	3.1	9.7	6.5

Table 5. The growth inhibition (%) of liver cancer cells, Hep3B, after treatment by five different concentrations of butterbur (*Petasites japonicus*) extracts from hexane, butanol, and ethylacetate solvents

Extraction solvent	Control	Concentration				
		100µg/ml	200µg/ml	300µg/ml	400µg/ml	500µg/ml
Hexane		12.9	26.5	28.0	39.0	38.1
Butanol	(100%)	21.7	34.3	64.1	69.6	72.7
Ethylacetate		8.1	19.3	25.3	12.6	24.6

성을 분석하였고, 추출물을 분획 정제하여 암세포 성장 억제성을 실험하였다. SOD 유사활성은 머위 잎의 에탄올 추출물이 96.7%의 가장 높은 활성을 보였으며, 추출 용매에 따른 머위의 SOD 유사활성은 물 추출보다는 에탄올 추출물이 더욱 높은 항산화 활성을 나타냈다. 총폴리페놀 함량은 물 추출물에서 전체적으로 높은 함량을 나타내었으며, 머위 잎이 223mg/g dry weight으로 가장 높았다. 시료별로 전자공여능 효과를 살펴보면 머위 뿌리의 물 추출물에서 61.5%, 머위 잎의 에탄올 추출물에서 34.9%로 가장 높은 전자공여능을 나타냈다. 암세포 생존 억제성의 실험에서 머위 추출물의 분획물들은 정상세포 DC2.4의 생육에는 크게 영향을 미치지 않으면서도 위암세포주 SNU-719의 생육은 41.9%로 크게 억제시켰고, 간암세포주 Hep3B의 생육은 72.7% 억제시켰다. 본 연구 결과들을 종합해 볼 때 머위를 이용한 새로운 기능성 식품 소재 및 약용자원식물로 개발이 가능하다.

인용문헌

- Blois, M.S. 1958. Antioxidant determination by the use of a stable free radical. *Nature* 26: 1198-1202.
- Brattstrom, A. 2003. A newly developed extract (Ze 339) from butterbur (*Petasites hybridus* L.) is clinically efficient in allergic rhinitis (hay fever). *Phytomedicine* 10: 50-52.
- Cho, B.S., J.J. Lee, J.O. Ha and M.Y. Lee. 2006. Physicochemical composition of *Petasites japonicus* S. et Z. Max. *Korean J. Food Preserv.* 13(5): 661-667(in Korean).
- Cho, S.Y., Y.B. Han and K.H. Shin. 2001. Screening for antioxidant activity of edible plants. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 30(1): 133-137(in Korean).
- Choi, O.B. 2002. Anti-allergic effects of *Petasites japonicum*. *Korean J. Food & Nutr.* 15(4): 382-385(in Korean).
- Jee, Y.H. and C.S. Lee. 1996. Pathological changes on rats and mice fed with *Petasites japonicus* Maxim. *Korean J. Vet. Res.* 36(2): 417-428(in Korean).
- Kikuchi, M. 1973. Studies on the constituents of the flower stalk of *Petasites japonicus* Maxim VII. on the components of the volatile oil. *Yakugaku Zasshi* 93: 123-126.
- Lee, C.H., M.C. Chung, H.J. Lee and Y.H. Kho. 2000. An apoptosis regulator isolated from *Petasites japonicus*. *Korean J. Food Sci. Technol.* 32(2): 448-453(in Korean).
- Lee, K.S., M.G. Kim and K.Y. Lee. 2006. Antioxidative activity of ethanol extract from Lotus (*Nelumbo nucifera*) Leaf. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 35(2): 182-186.
- Lee, J.S., Y.K. Park, Y.S. Ahn, H.S. Kim, M.N. Chung, B.C. Jeong and J.K. Bang. 2007. Antioxidative and biological activities of extracts of sweetpotato tips. *Korean J. Crop Sci.* 52(2): 228-238.
- Marklund, S. and M. Gudrun. 1974. Involvement of the superoxide anion radical in the autoxidation of pyrogallol and a convenient assay for superoxide dismutase. *Eur. J. Biochem.* 47: 469-474.
- Oh, S.H., Y.H. Yang, O.Y. Kwan and M.R. Kim. 2006. Effects of diet with added Butterbur(*Petasites japonicus* Maxim) on the plasma lipid profiles and antioxidant index of mice. *J. East Asian Soc. Dietary Life.* 16(4): 399-407.
- Slinkard, K. and V.L. Singleton. 1977. Total phenol analysis: automation and comparison with manual method. *Am. J. Ecol. Vitic.* 28(1): 49-56.
- Wang, G.J., A.Y. Shum, Y.L. Lin, J.F. Liao, X.C. Wu, J. Ren and C.F. Chen. 2001. Calcium channel blockade in vascular smooth muscle cell is major hypotensive mechanism of S-petasin, a hypotensive sesquiterpene from *Petasites formosanus*. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 297: 240-246.
- Yaoita, Y. and M. Kikuchi. 1994. Eremopetasidione a Norsesquiterpenoid from the rhizomes of *Petasites japonicus*. *Phytochem.* 37: 1765-1766.
- Yaoita, Y. and M. Kikuchi. 1994. Petasiphenone a phenolic compound from rhizomes of *Petasites Japonicus*. *Phytochem.* 37: 1773-1774.
- Yaoita, Y. and M. Kikuchi. 1994. Structures of six new eremophilanolides from the rhizomes of *Petasites Japonicus*. *Pharm. Bull.* 42: 1944-1947.
- Yoo, J.S., Y.K. Song and H.H. Lim. 2007. Studies on the antioxidant effects of *Carthami Flos* extract. *J. Korean Oriental Med.* 28(1): 137-147.

(접수일 2008. 3. 20; 수락일 2008. 5. 30)