

Antibacterial, Antioxidative and Anti-proliferative Activity against Human Colorectal Cell of *Pimpinella brachycarpa*

Seon-Mi Ahn, Mi-Sun Kim, In-Chang Jung and Ho-Yong Sohn[†]
Dept. of Food and Nutrition, Andong National University, Andong 760-749, Korea

참나물의 항균, 항산화 활성 및 대장암세포 성장억제 활성 평가

안선미 · 김미선 · 정인창 · 손호용[†]
안동대학교 식품영양학과

Abstract

Pimpinella brachycarpa, called as cham-na-mul in Korea, is an edible popular herb. However, the study of biological activity of *P. brachycarpa* is still rudimentary in worldwide. In this study, from the cultivated *P. brachycarpa*, we prepared the methanol extract and its subsequent solvent fractions, and their antimicrobial, antioxidation, and anti-proliferative activities were evaluated. The fraction yields of n-hexane (H), methylene chloride (EC), ethylacetate (EA), butanol (B), and water residue (W) from the methanol extract were 18.71, 0.7, 0.56, 4.57, and 71.51%, respectively. Analysis of total flavonoid and total polyphenol showed that the EA fraction contained the highest contents (89.23 and 200 mg/g), and the W residue has the lowest contents (19.6 and 2.27 mg/g) among the factions. In antimicrobial activity assay, the EA fraction showed a broad-range antibacterial activity, while the H fraction is effective against gram positive bacteria. In antioxidation activity assay, EA and B fraction showed strong DPPH anion and ABTS cation scavenging activities including reducing power, and H and MC fraction showed effective nitrite scavenging activity (71.43~83.82 µg/mL of IC₅₀). In a while, only B fraction showed strong anti-proliferative activity against human colorectal cancer HCT-116 (166 µg/mL of IC₅₀) as a dose-dependent manner up to 200 µg/mL. These results suggest that the EA and B fraction of *P. brachycarpa* could be developed as functional food ingredients.

Key words : antibacterial, antioxidant, anti-proliferative, *Pimpinella brachycarpa*

서 론

참나물(*Pimpinella brachycarpa*)은 쌍떡잎 식물 산형화목 산형과의 방향성 여러해살이풀로, 주로 한국 및 중국 동북부의 산지 나무그늘에서 자라며 독특한 향으로 기호성이 높은 식용식물이다. 미나리향이 강해 산미나리라고도 불리며, 주로 쌈 채소, 나물 및 튀김으로 이용되며, 한방에서는 그 뿌리를 야축규, 그 잎을 야근채라고 부르며 간염과 고혈압 치료에 이용되어 왔다(1). 참나물은 과거에는 주로 산에서 채집하여 이용하였으나, 점차 고급산채로 인식되면서 최근에는 경북 북부지역 농가에서 대량 재배되고 있다(2,3). 참나물은 수확시기 및 재배조건에 따라 수분함량 및 향미의

차이가 많이 나며, 일반적으로 조단백질, 조지방, 조탄수화물 및 조회분량이 각각 3.1%, 0.1%, 7.5% 및 2.0% 정도 함유하는 것으로 알려져 있다(4,5). 독특한 향기성분은 isobutanal, β-mycene, trans-caryophyllene, trans-β-farnesene 등이 관련된 것으로 알려져 있다(1,5).

현재까지 참나물과 관련된 학술 연구는 국내에서 일부 이루어져 왔으며, 외국에서 참나물을 연구한 경우는 거의 없다. 국내 참나물 관련 연구는 참나물의 callus 유도 생산에 관한 연구(6,7), 참나물의 phospholipase D의 cDNA 연구(8)가 있으나, 대부분의 연구는 다양한 가공방법에 따른 품질 특성에 대한 연구가 차지하고 있다. 최근에는 다양한 건조 방법에 따른 품질 특성(9), 감마선 조사 및 블랜칭에 따른 품질특성(3), 참나물을 이용한 향료 개발(10) 및 김치 및 기능성 식품개발(1), 다양한 저장조건에서 참나물 김치 생

[†]Corresponding author. E-mail : hysohn@andong.ac.kr
Phone : 82-54-820-5491, Fax : 82-54-820-7804

리활성 성분 변화(2) 등이 보고된 바 있다.

한편 참나물의 유용 생리활성에 대한 연구로는 항산화 활성(11), 돌연변이 억제 및 알코올 유도성 간손상 보호효과(12), 고콜레스테롤 억제활성(13), 항혈전 활성(14) 등은 보고된 바 있으나 항균 활성 및 항대장암 활성은 아직까지 보고된 바 없다. 따라서, 본 연구에서는 최근 고급 식용 산채로서 각광받고 있는 참나물의 메탄올 추출물 및 이의 순차적 유기용매 분획물을 조제하고 이들의 항산화, 항균 및 대장암세포 생육억제 활성을 평가하고자 하였으며, 그 결과 ethylacetate 분획에서 광범위한 항세균 활성과 항산화 활성을, n-hexane 및 methylene chloride 분획에서 우수한 nitrite 소거능을, butanol 분획에서 우수한 대장암세포 생육 억제 활성을 확인하였기에 이에 보고하는 바이다.

재료 및 방법

재료 및 시약

실험에 사용한 참나물은 경북 안동에서 2010년 6월 재배한 시료로, 참나물 12 kg을 3일간 음건한 후, 추출에 적합하도록 절단한 후 10배 부피의 메탄올(Daejung Chemicals & Metals Co, LTD, Sihyung, Kyunggi, Korea)을 가하여 상온에서 3회 추출하였다. 이후 추출액은 filter paper (Whatsman No 2)로 거른 후 감압 농축(Eyela Rotary evaporator N-1000, Tokyo Rikakikai Co, LTD, Tokyo, Japan)하였다. 분획물 제조를 위해서는, 메탄올 추출물을 물에 현탁한 후 n-hexane, methylene chloride, ethylacetate 및 butanol을 이용하여 순차적으로 분획하고 최종적으로 물 잔류물을 회수하였으며(15), filter paper (Whatsman No 2)로 거른 후 다시 감압 건조하여 분말화 하였다. 각각의 시료 분말은 DMSO (Dimethyl sulfoxide)에 녹인 후, 적당한 농도로 희석하여 항균, 항산화, 및 대장암세포 생육억제 활성 평가에 사용하였다. 기타 사용한 시약은 시약급 이상으로 Sigma Co (St. Louis, MO, USA)의 제품을 구입하여 사용하였다.

총 플라보노이드, 총 폴리페놀, 총당 및 환원당 정량

총 플라보노이드의 함량 측정은 기존에 보고한 방법(16)에 따라 측정하였으며, 5 mg/mL 농도가 되도록 조제한 각각의 추출물 및 분획물 시료를 18시간 메탄올 교반 추출하고 여과한 추출 검액 400 μ L에 90% diethylene glycol 4 mL를 첨가하고 다시 1 N NaOH 40 μ L를 넣고 37°C에서 1시간 반응 후 420 nm에서 흡광도를 측정하였다. 표준시약으로는 rutin을 사용하였다. 총 폴리페놀 함량은 추출 검액 400 μ L에 50 μ L의 Folin-ciocalteau, 100 μ L의 Na_2CO_3 포화용액을 넣고 실온에서 1시간 방치한 후 725 nm에서 흡광도를 측정하였다(16). 표준시약으로는 tannic acid를 사용하였다. 한편 총당은 phenol-sulfuric acid법(15)을 이용하여 정량하

였으며, 환원당은 dinitrosalicylic acid 변법(15)을 사용하여 측정하였다.

항균 활성 평가

참나물의 항균 활성을 평가하기 위해 그람 음성균으로 *Escherichia coli* KCTC 1682, *Pseudomonas aeruginosa* KACC 10186, *Proteus vulgaris* KCTC 2433, *Salmonella typhimurium* KCTC 1926을, 그람 양성균으로는 *Bacillus subtilis* KCTC 1924, *Listeria monocytogenes* KACC 10550, *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228, *Staphylococcus aureus* KCTC 1916을 사용하였다. 한편 항진균 활성 평가를 위해서는 *Saccharomyces cerevisiae* IF0 0233 및 칸디다증 진균감염증 원인균 *Candida albicans* KCTC 1940를 사용하였다(17,18). 먼저, 항세균 활성 평가의 경우, Nutrient broth (Difco Co, Detroit, MI, USA)에 각각의 세균을 접종하여 37°C에서 24시간 동안 배양한 후, 각 균주를 OD값이 0.1이 되도록 조정하여 Nutrient agar 배지를 포함하는 멸균 petri dish (90×15 mm, 녹십자, 한국)에 100 μ L 도말하고, 각각의 시료 5 μ L를 멸균 disc-paper (지름 6.5 mm, Whatsman No 2)에 가하여 37°C에서 24시간 동안 배양하였으며, 진균의 경우에는 Sabouraud dextrose 배지(Difco Co. USA)를 이용하여 동일한 방법으로 30°C에서 24시간 동안 배양 후 생육 저지환의 크기를 측정하여 항균활성을 평가하였다(19). 대조구로는 항세균제인 ampicillin과 항진균제인 miconazole (Sigma Co, St. Louis, MO, USA)을 각각 1 μ g/disc 농도로 사용하였으며, 생육저지환의 크기는 육안으로 생육이 나타나지 않는 부분의 지름을 mm 단위로 측정하였고, 3회 이상 평가 후 대표 결과로 나타내었다(20).

항산화 활성 평가

참나물 추출물 및 이의 분획물의 항산화 활성은 DPPH (1,1-diphenyl-2-picryl hydrazyl) 음이온 소거능, ABTS [2,2-azobis(3-ethylbenzothiazoline-6- sulfonate)] 양이온 소거능, nitrite 소거능 및 환원력 측정으로 평가하였다(21). 먼저 DPPH 음이온 소거능 측정의 경우, 다양한 농도로 희석한 시료 20 μ L에 99.5% 에탄올에 용해시킨 2×10^{-4} M DPPH용액 380 μ L를 넣고 혼합하여 37°C에서 30분 동안 반응시킨 후, 516 nm에서 microplate reader (Asys Hitech, Expert96, Asys Co, Eugendorf, Austria)를 사용하여 흡광도를 측정하였다. DPPH 음이온 소거능은 시료첨가구와 비첨가구의 백분율로 표시하였다. ABTS 양이온 소거능 측정의 경우, 7 mM ABTS 5 mL와 140 mM potassium persulfate 88 mL를 섞은 후 상온에서 16시간 빛을 차단하여 ABTS 양이온을 형성시켰으며, 이후 이 용액을 414 nm에서 흡광도 값이 1.5가 되도록 에탄올로 희석하였다. 조제된 희석용액 190 mL와 참나물 시료 10 mL를 혼합한 후 상온에서 6분간 반응시킨 후 734 nm에서 흡광도를 측정하고 다음의

식에 의해 ASA를 결정하였다(21).

$$\text{ASA} (\%) = \frac{C-S}{C} \times 100, \text{ C: DMSO 첨가시 흡광도, S: 시료 첨가시 흡광도.}$$

한편 nitrite 소거능 측정의 경우, 아질산염 용액(1 mM)에 시료용액을 가하고 여기에 0.1 N HCl을 가해 pH 1.2로 조정 한 후, 37°C에서 1시간 반응시킨 후 Griess reagent (Sigma Co, St. Louis, MO, USA)를 가하고 혼합하였다. 이후 15분간 실온에서 방치 후 520 nm에서 흡광도를 측정하여 잔존 nitrite 양을 측정하였다. NSA(%)는 다음의 식에 의해 계산 하였다[21].

$$\text{NSA} (\%) = \frac{1-(A-C)}{B} \times 100, \text{ A: 1 mM nitrite 용액에 시료를 첨가하여 1시간 반응시킨 후의 흡광도, B: 1 mM nitrite 용액의 흡광도, C: 참나물 시료의 흡광도.}$$

환원력 평가는 Oyaizu 등의 방법(15)을 변형하여 측정하였다. 에탄올에 용해한 시료 2.5 mL에 0.2 M sodium phosphate buffer (pH 6.6) 2.5 mL와 10% potassium ferricyanide 2.5 mL를 첨가하고 50°C에서 20 분간 반응시킨 후, 10% trichloroacetic acid 2.5 mL를 첨가하여 반응을 종료 하고 4000 x g에서 10분간 원심분리하여 상등액을 회수하였다. 회수한 상등액은 증류수로 2배 희석한 후, 신선하게 조제된 0.1% ferric chloride 용액과 5:1 (v/v) 비율로 혼합하고 700 nm에서 흡광도를 측정하여 평가하였다. 상기의 항산화 실험에서 대조구로는 vitamin C를 사용하였으며, 용매 대조구로는 DMSO를 사용하였다. 각각의 활성 평가는 각각 3회 이상 반복한 실험의 평균과 편차로 표시하였으며, 소거능 평가에서 50%의 소거능이 나타나는 시료 농도를 IC₅₀ (Inhibitory Concentration 50)로 나타내었다(21).

대장암세포 성장억제 활성 평가

인간유래 대장암세포 HCT-116 세포주의 배양 및 계대에는 Dulbecco's Modified Eagle Medium (Gibco-BRL Inc., USA)를 사용하였으며, 10% Fetal Bovine Serum (Gibco-BRL Inc., USA), 1% penicillin 및 streptomycin (WelGene Inc., Daegwon, Korea)을 첨가하여 사용하였다(22). 한편 조

제된 참나물 메탄올 추출물 및 이의 분획물들이 HCT-116 세포주의 생육에 미치는 영향은 One solution cell proliferation assay kit (Promega, USA)을 이용하여 평가하였다(22). 즉, 96 well plate에 well당 3×10³ 개의 세포를 접종하고 24시간 배양한 후 다양한 농도의 참나물 추출물 및 분획 물을 각각 처리하고 24시간 동안 반응시킨 후, 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-5-(3-carboxymethoxyphenyl)-2-(4-sulfophenyl)-2H-tetrazolium (MTS; Promega, USA) 용액을 각 well 당 20 µL씩 넣고 37°C, 5% CO₂ incubator에서 4시간 동안 반응 시켰으며, 반응 종료 후 96 well plate reader (Expert 96 UV ASYS Hitech, Austria)를 이용하여 490 nm에서 흡광도를 측정하여 성장률을 계산하였다. 결과 수치는 4개의 독립적인 well 에서 수행한 값을 평균과 편차 값으로 나타내었으며, 50% 성장억제를 나타내는 농도를 IC₅₀로 표시하였다(23).

결과 및 고찰

참나물 메탄올 추출물 및 순차적 유기용매 분획물의 제조 및 성분분석

실험에 사용된 참나물의 수분함량은 87.3%이었으며, 메탄올 추출수율은 약 4.13%이었다. Lee 등(11)의 경우 80% 에탄올을 용매로 사용한 경우 추출 수율이 12.01%로 보고 한 바 있으나, 이는 사용 용매의 차이와 음건한 시료 대신 냉동 건조한 참나물 시료를 추출에 사용하였기 때문에 나타나는 차이로 판단된다. 메탄올 추출물의 순차적 분획수율 및 이들의 성분 분석결과 Table 1에 나타내었다. 메탄올 추출물로부터 n-hexane, methylene chloride, ethylacetate 및 butanol을 이용한 분획물의 수율은 각각 18.71%, 0.7%, 0.56%, 및 4.57%이었으며, 최종적으로 물 잔류물은 71.51%로 나타났다. 한편 총 폴리페놀 분석 결과 ethylacetate 분획이 200 mg/g으로 가장 높은 함량을 보였으며, methylene chloride 분획, butanol 분획에서 각각 92.84, 72.66 mg/g을 나타내었다. 반면 n-hexane 분획 및 물 잔류물에서는 상대적으로 매우 낮은 함량을 보였다. 건강식품으로 알려진 마

Table 1. The yields of methanol extract and its solvent fractions of *Pimpinella brachycarpa* and their components analysis

Extract/fr. ¹⁾	Yield (%)	Content (mg/g)			
		Total polyphenol	Total flavonoid	Total sugar	Reducing sugar
Methanol Extract	4.13	48.38±6.34 ²⁾	36.97±0.16	340.47±41.32	181.63±3.18
n-Hexane fr.	18.71	18.55±4.41	43.59±5.82	450.51±51.22	72.07±1.75
Methylene chloride fr.	0.70	92.84±1.93	78.32±1.62	438.92±50.18	94.14±2.07
Ethylacetate fr.	0.56	200.00±1.38	89.23±2.83	475.34±53.45	305.75±31.85
n-Butanol fr.	4.57	72.66±18.06	51.93±0.32	275.84±35.51	265.22±6.37
Water residue	71.51	2.27±0.41	19.60±0.53	387.60±45.56	349.98±16.72

¹⁾fr: fraction, ²⁾Values are means±SD of triplicate determinations.

및 체리의 추출물에서도 총 폴리페놀 함량은 ethylacetate 분획에서 가장 높게 나타났으며, 마는 48.3 mg/g(15), 체리는 52.47 mg/g(16)을 나타낸 결과와 비교하면 참나물 메탄올 추출물의 ethylacetate 분획이 상당히 높은 총 폴리페놀 함량을 나타냄을 알 수 있다. 총 플라보노이드 함량 역시 ethylacetate 분획에서 가장 높은 함량을 나타내었으며, 총 폴리페놀 분석결과와 유사한 양상을 나타내었다. 총당의 경우 n-hexane, methylene chloride 및 ethylacetate 분획에서 438~475 mg/g의 높은 함량을 나타내었으며, 물 잔류물에 이어 butanol 분획에서 275 mg/g으로 가장 낮은 함량을 보였다. 그러나 환원당 측정의 경우 물 잔류물이 가장 높은 349 mg/g-fraction을 보였으며, 이어 ethylacetate 분획에서 305 mg/g-fraction을 나타내었다. 환원당 함량의 경우 물 잔류물>ethylacetate 분획>butanol 분획>methylene chloride 분획>n-hexane 분획의 순으로 나타났다.

참나물 추출물 및 분획물의 항균활성

참나물 추출물 및 분획물들의 항균 활성을 평가한 결과는 Table 2에 나타내었다. 대조구로 사용된 항생제 ampicillin 및 miconazole은 실험균주들에 대해 10.0~34.0 mm의 생육억제환을 나타내어 우수한 활성을 나타내었다. 참나물 메탄올 추출물 및 n-hexane 분획물은 실험에 사용된 4종의 그람 양성균에 모두 항균활성을 나타낸 반면, methylene chloride 분획, ethylacetate 분획은 *B. subtilis*에 대해서는 항균활성이 나타나지 않았으며, butanol 분획은 *B. subtilis*와 *S. aureus*에 대해 항균활성이 나타나지 않았다. *S. epidermidis*의 경우에는 물 잔류물을 제외한 모든 분획물에서 생육억제가 나타났으며, n-hexane 분획에서 가장 우수한 항균력을 나타내었다(Fig. 1). 분획물의 대부분을 차지하는 물 잔류물은 그람양성세균뿐만 아니라 그람음성세균 및 진균에 대해 전혀 항균활성을 나타내지 않았다. 한편

Table 2. Antimicrobial activity of the methanol extract and its solvent fractions of *Pimpinella brachycarpa*

Extract/fr. ¹⁾	Growth inhibition zone (mm)									
	Gram positive bacteria				Gram negative bacteria				Fungi	
	BS ²⁾	LM	SE	SA	EC	PA	PV	ST	CA	SC
Methanol Extract	7.0	7.0	9.0	8.0	— ³⁾	—	—	11.0	7.0	—
n-Hexane fr.	10.0	10.0	11.0	10.0	—	—	—	8.0	—	—
Methylene chloride fr.	—	10.0	9.0	11.0	—	—	—	8.0	7.0	—
Ethylacetate fr.	—	9.0	8.0	11.0	7.5	7.0	18.0	8.0	7.0	—
n-Butanol fr.	—	8.0	8.0	—	—	—	—	7.5	7.0	—
Water residue	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
AMP/MIC ⁴⁾	22.0	18.0	27.0	18.0	8.0	10.0	34.0	14.0	24.0	30.0

¹⁾fr: fraction, ²⁾BS: *Bacillus subtilis*, LM: *Listeria monocytogenes*, SE: *Staphylococcus epidermidis*, SA: *Staphylococcus aureus*, EC: *Escherichia coli*, PA: *Pseudomonas aeruginosa*, PV: *Proteus vulgaris*, ST: *Salmonella typhimurium*, CA: *Candida albicans*, and SC: *Saccharomyces cerevisiae*.

³⁾—: No activity. ⁴⁾AMP/MIC: ampicillin/miconazole.

The concentrations of extract/fraction and antibiotics used were 500 µg/disc and 1 µg/disc, respectively. The growth inhibition zone expressed was included a size of disc-paper (6.5 mm of diameter). The data represent a representative result of three independent determinations.

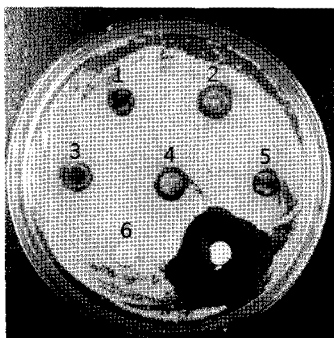


Fig. 1. Antibacterial activity of the methanol extract and its solvent fractions of *Pimpinella brachycarpa* against *Staphylococcus epidermidis*.

Symbols: No. 1: methanol extract of *P. brachycarpa*, No. 2: hexane fraction, No. 3: methylene chloride fraction, No. 4: ethylacetate fraction, No. 5: butanol fraction, and No. 6: water residue of the methanol extract of *P. brachycarpa*. No. 7: ampicillin (1 µg/disc) as commercially available antibacterial agent. The concentrations of samples were 500 µg/disc, respectively.

그람음성세균에 대한 항균력 평가 결과, 물 분획물을 제외한 모든 시료에서 *S. typhimurim*에만 우수한 항균력이 인정되었으며, 특히 ethylacetate 분획은 사용된 4종의 그람음성균 모두에 우수한 활성을 나타내었다. 참나물의 ethylacetate 분획의 경우 그 수율은 매우 낮지만, 제어가 어렵다고 알려진 *E. coli*와 *P. aeruginosa*(24,25)에 대한 항세균 활성은 참나물 활성물질의 광범위 항균제로의 개발 가능성을 제시하고 있다. 항진균 활성의 경우, methylene chloride 분획, ethylacetate 분획 및 butanol 분획에서만 활성이 나타났다. 따라서 그람양성세균의 제어에는 참나물의 n-hexane 분획이, 그람음성세균의 제어에는 ethylacetate 분획이 효과적임을 알 수 있었다(Table 2).

참나물 추출물 및 분획물의 항산화 활성

참나물 추출물 및 이의 분획물을 대상으로 다양한 농도

에서의 DPPH 소거능을 평가한 결과는 Fig. 2a에 나타내었다. 대조구로 사용된 vitamin C의 경우 25 $\mu\text{g/mL}$ 농도에서 65% DPPH 소거능을 나타내어 강력한 항산화능을 확인하였다. 참나물 시료 중에서는 ethylacetate 분획물이 500 $\mu\text{g/mL}$ 농도에서 82% DPPH 소거능을 나타내어 가장 우수한 소거능을 나타내었으며, butanol분획은 동일농도에서 45% 소거능을 나타내었다. 그 외 분획물들의 DPPH 소거능은 매우 미약하였다(Fig. 2a). ABTS 소거능의 경우에는 DPPH 소거능과 동일하게 ethylacetate 분획, butanol 분획 500 $\mu\text{g/mL}$ 농도에서 각각 86% 및 55% 소거능을 나타내었다. 대조구로 사용된 vitamin C의 경우 12.5 $\mu\text{g/mL}$ 농도에서 95% ABTS 소거능을 나타내었다(Fig. 2b). Nitrite 소거능의 경우, 메탄올 추출물, n-hexane 분획, methylene chloride 분획, ethylacetate 분획, butanol분획 및 물 잔류물이 각각 100 $\mu\text{g/mL}$ 농도에서 42%, 58%, 60%, 47%, 34% 및 10% 소거능을 나타내어, 참나물이 다양한 지용성 및 수용성 성분의 nitrite 소거물질을 함유하고 있음을 알 수 있었다(Fig. 2c). 한편 대조구로 사용된 vitamin C는 25 $\mu\text{g/mL}$ 농도에서 87% 소거능을 나타내었다. 환원력 측정의 경우는 Fig. 2d에 나타내었다. vitamin C의 경우 25 $\mu\text{g/mL}$ 농도에서 0.97의 흡광도

(OD₇₀₀)를 나타내었고, 참나물 시료의 경우 ethylacetate 분획 > butanol분획 > 물 잔류물 > methylene chloride 분획 > n-hexane 분획의 순으로 0.82~0.07의 흡광도를 보였다. 전체적인 활성 radical 소거능의 IC₅₀는 Table 3에 나타내었으며, DPPH 음이온 및 ABTS 양이온 소거능의 경우 ethylacetate 분획이, nitrite 소거능의 경우 n-hexane 분획이 가장 우수하였다. 그러나 vitamin C에 비교하면 상대적으로 미약하였다.

참나물 추출물 및 분획물의 대장암세포 생육억제 활성

참나물의 HCT-116 인간 대장암세포에 대한 생육억제활성을 0, 25, 50, 100 및 200 $\mu\text{g/mL}$ 농도에서 평가한 결과, 메탄올 추출물 및 n-hexane 분획은 실험농도 범위에서 암세포 생육에 영향을 주지 않았으며, butanol 분획 및 물 분획물은 암세포 생육을 저해하였다. 특히 butanol 분획은 농도의존적으로 강력한 생육저해를 나타내었으며, 100 및 200 $\mu\text{g/mL}$ 농도에서 각각 57% 및 46%의 세포성장을 나타내었으며, IC₅₀는 166 $\mu\text{g/mL}$ 으로 계산되었다(Fig. 3). 한편 methylene chloride 분획은 농도증가에 따라 암세포 성장을 촉진하였으며, 특히 100 및 200 $\mu\text{g/mL}$ 농도에서 각각 148% 및 135%

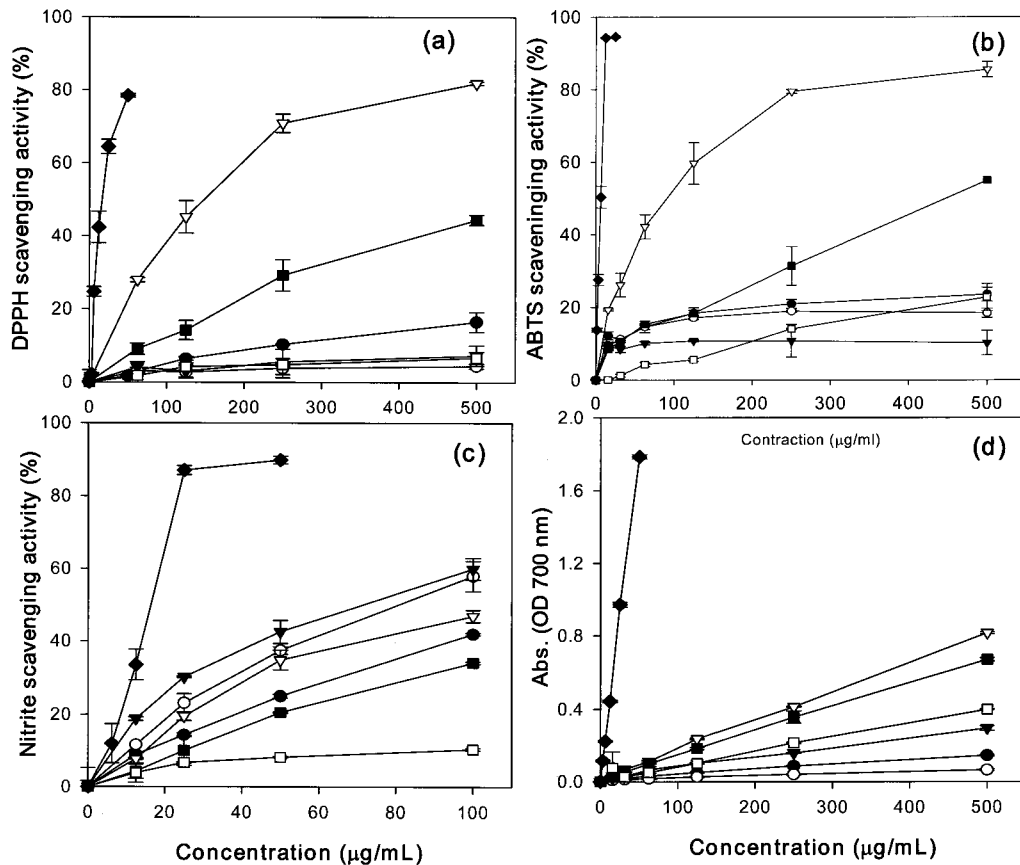


Fig. 2. Radical scavenging activities and reducing power of the methanol extract and its solvent fractions of *Pimpinella brachycarpa*.

(a) DPPH anion scavenging activity, (b) ABTS cation scavenging activity, (c) nitrite scavenging activity and (d) reducing power.

Symbols; ◆: vitamin C, ●: methanol extract, ○: hexane fraction, ▼: methylene chloride fraction, ▽: ethylacetate fraction, ■: butanol fraction, and □: water residue.

의 세포성장을 나타내었다. Ethylacetate 분획의 경우에는 50 µg/mL 농도까지는 세포생육 억제 효과를 나타내었으나, 100 및 200 µg/mL 농도에서는 각각 71% 및 94%의 세포성장을 나타내어 농도에 따른 상반된 세포생육 영향을 나타내었다. 이는 세포생육 저해인자와 이를 방해하는 성분의 혼재로 인해 나타나는 현상으로 이해된다. 본 연구의 참나물 추출물의 경우, 기존의 보고한 마(15), 체리(16)와 같이 다양한 유기용매 분획물에서 각각 다양한 생리활성이 확인되어 고급산채인 참나물이 다양한 우수활성을 가지고 있음을 증명하였으며, 본 연구결과는 참나물을 이용한 기능성식품 제조의 기본자료로 이용될 것이다.

Table 3. The radical scavenging activity of the methanol extract and its solvent fractions of *Pimpinella brachycarpa*

Extract/fr. ^{b)}	Radical scavenging activity: IC ₅₀ (µg/mL)		
	DPPH	ABTS	Nitrite
Methanol Extract	>500	>500	>500
n-Hexane fr.	>500	>500	71.43
Methylene chloride fr.	>500	>500	83.82
Ethylacetate fr.	314.54	253.19	>500
n-Butanol fr.	436.99	264.91	>500
Water residue	>500	>500	>500
Vit.C	16.82	31.6	49.9

^{b)}fr: fraction

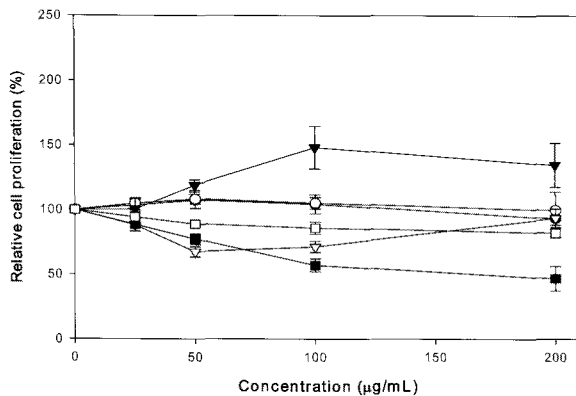


Fig. 3. Changes of cell proliferation by treatment of the methanol extract and its solvent fractions of *Pimpinella brachycarpa* in HCT-116 human colorectal cells.

The samples (100 µg/well) were used to treat into HCT-116 human colorectal cell in 96 well microplate for 24 h, respectively, and the cell proliferation was determined using One-solution cell proliferation assay kit. Symbols; ●: methanol extract, ○: hexane fraction, ▼: methylene chloride fraction, ▽: ethylacetate fraction, ■: butanol fraction, and □: water residue.

요 약

참나물은 광범위하게 이용되는 식용산채임에도 불구하고

고 그 연구는 전 세계적으로 미미한 상태이다. 본 연구에서는 최근 고급 식용 산채로서 각광받고 있는 참나물의 메탄올 추출물을 조제하고, 이로부터 n-hexane, methylene chloride, ethylacetate 및 butanol을 이용하여 순차적 유기용매 분획물과 물 잔류물을 조제하여 각각의 항산화, 항균 및 대장암세포 생육억제 활성을 평가하였다. 참나물 메탄올 추출물의 71.51%는 물 잔류물로 이행되어 추출물 대부분이 수용성 물질이었으며, n-hexane, methylene chloride, ethylacetate 및 butanol 분획 효율은 각각 18.71, 0.7, 0.56, 및 4.57%로 나타났다. 총 플라보노이드 및 총 폴리페놀 함량은, 분획수율이 가장 낮은 ethylacetate 분획에서 가장 높았으며 물 잔류물에서 가장 낮았다. 항균 활성 평가결과, ethylacetate 분획에서 그람양성 및 그람음성세균에 대해 광범위한 항균 활성을 나타내었으며, 특히 그람양성세균에는 n-hexane 분획이, 그람음성세균에는 ethylacetate 분획이 효과적이었다. 항산화 활성의 경우 ethylacetate 및 butanol 분획에서 양호한 DPPH 및 ABTS 소거능, 환원력을 나타내었으며, n-hexane 및 methylene chloride 분획에서 우수한 nitrite 소거능을 나타내었다. 한편 butanol 분획에서는 다른 분획과는 달리 우수한 인간 대장암세포 생육억제 활성을 나타내었다. 본 연구 결과는 참나물을 이용한 기능성 식품 개발 및 ethylacetate 분획을 대상으로 한 유용 소재개발의 기본 자료로 활용될 것이다.

감사의 글

본 연구는 농림수산식품부 식품기술개발사업의 지원에 의해 수행된 연구과제의 일부로 이에 감사드립니다.

참고문헌

1. Chang KM (2007) A study on the utilization of *Pimpinella brachycarpa* N for developing as functional foods. *Kor J Food Culture*, 22, 274-282
2. Choi MH, Kim GH (2002) A study on quality characteristics of *Pimpinella brachycarpa* kimchi during storage at different temperatures. *J Kor Soc Food Sci Nutr*, 31, 45-49
3. Choi NS, Oh SS, Lee JM (2001) Change of biologically functional compounds of *Pimpinella brachycarpa* (Chamnamul) by blanching conditions. *Kor J Dietary Culture*, 16, 388-397
4. Chang KM, Chung MS, Kim MK, Kim GH (2007) Analysis of mineral and volatile compounds in *Pimpinella brachycarpa* N by ICP-AES and SDE, HS-SPME-GC-MS.

- Kor J Food Culture, 22, 246-253
5. Lee JJ, Choo MH, Lee MY (2007) Physicochemical compositions of *Pimpinella brachycarpa*. J Kor Soc Food Sci Nutr, 36, 327-331
 6. Kwon SJ, Hong SW, Kim NS, Kim JC (2004) Isolation of callus-specific mRNAs from differentiating embryogenic somatic calli of *Pimpinella brachycarpa* by cDNA-AFLP. Mol Cells, 17, 39-44
 7. Son SI, Kim JC (1999) Cloning and characterization of homeodomain-zip gene, Phc5 in embryogenic callus derived from *Pimpinella brachycarpa* suspension cultured cells. Kor J Plant Tissue Culture, 26, 121-126
 8. Cha YR, Lee KW, Moon YH, Kim JC, Han TJ, Lee WS, Cho SH (1998) Cloning of a cDNA encoding phospholipase D from *Pimpinella brachycarpa*. Mol Cells, 8, 19-26
 9. Lee MK, Kim SH, Ham SS, Lee SY, Chung CK, Kang IJ, Oh DH (2000) The effect of far infrared ray-vacuum drying on the quality changes of *Pimpinella brachycarpa*. J Kor Soc Food Sci Nutr, 29, 561-567
 10. Song HS, Choi HS, Lee MS (1997) Usefulness of *Pimpinella brachycarpa* as natural spice by sensory analysis. Kor J Food Sci, 13, 669-673
 11. Lee YM, Lee JJ, Lee MY (2008) Antioxidative effect of *Pimpinella brachycarpa* ethanol extract. J Life Sci, 18, 467-473
 12. Choo MH, Lee JJ, Lee MY (2007) Effect of *Pimpinella brachycarpa* ethanol extract on chronically ethanol-induced liver damage in rats. J Life Sci, 17, 1406-1413
 13. Lee JJ, Choo MH, Lee MY (2006) Effect of *Pimpinella brachycarpa* extract on lipid metabolism in rats fed high cholesterol diet. J Kor Soc Food Sci Nutr, 35, 1151-1158
 14. Kwon CS, Kwon YS, Kim YS, Kwon GS, Jin I, Ryu GC, Sohn HY (2004) Inhibitory activities of edible and medicinal herbs against human thrombin. J Life Sci, 14, 509-513
 15. Kim JI, Jang HS, Kim JS, Sohn HY (2009) Evaluation of antimicrobial, antithrombin, and antioxidant activity of *Dioscorea batatas* Decne. Kor J Microbiol Biotechnol, 37, 133-139
 16. Ahn SM, Ryu HY, Kang DK, Jung IC, Sohn HY (2009) Antimicrobial and antioxidant activity of the fruit of *Prunus avium* L. Kor J Microbiol Biotechnol, 37, 371-376
 17. Sohn HY, Kum EJ, Ryu HY, Jeon SJ, Kim NS, Son KH (2006) Antifungal activity of fistulosides, steroidal saponins, from *Allium fistulosum* L. J Life Sci, 16, 310-314
 18. Kum EJ, Park SJ, Lee BH, Kim JS, Son KH, Sohn HY (2006) Antifungal activity of phenanthrene derivatives from aerial bulbils of *Dioscorea batatas* Decne. J Life Sci, 16, 647-652
 19. Sohn HY, Kum EJ, Kwon YS, Kwon GS, Jin I, Kwon HY, Kwon CS, Son KH (2003) Screening of anti-candidosis agent from medicinal and wild plants. J Life Sci, 13, 604-617
 20. Ryu HY, Ahn SM, Shin YK, Sohn HY (2010) Antimicrobial and hemolytic activity of oriental medicinal herbs. Kor J Microbiol Biotechnol, 38, 190-1976
 21. Ahn SM, Hong YK, Kwon GS, Sohn HY (2011) Evaluation of antioxidant and nitrite scavenging activity of seaweed extracts. J Life Sci, 21, 576-583
 22. Sohn HY, Shin YK, Kim JS (2010) Anti-proliferative activities of solid-state fermented medicinal herbs using *Phellinus baumii* against human colorectal HCT116 cell. J Life Sci, 20, 1268-1275
 23. Sohn HY, Kwon CS, Kwon GS, Lee JB, Kim E (2004) Induction of oxidative stress by endosulfan and protective effect of lipid-soluble antioxidants against endosulfan-induced oxidative damage. Toxicol Lett, 151, 357-365
 24. Ryu HY, Ahn SM, Kim JS, Jung IC, Sohn HY (2010) Antimicrobial activity of fruit of *Crataegus pinnatifida* Bunge against multidrug resistant pathogenic *Pseudomonas aeruginosa* and *Candida* sp. Kor J Microbiol Biotechnol, 38, 77-83
 25. Sohn HY, Son KH, Kwon CS, Kwon GS, Kang SS (2004) Antimicrobial and cytotoxic activity of 18 prenylated flavonoids isolated from medicinal plants: *Morus alba* L., *Morus mongolica* Schneider, *Broussonetia papyrifera* (L.) Vent, *Sophora flavescens* Ait and *Echinosophora koreensis* Nakai. Phytomedicine, 11, 666-672