

천년초 줄기의 항균, 항산화 및 항암효과에 관한 연구

정복미^{1*} · 신미옥² · 김형락³

¹전남대학교(여수) 영양식품학전공

²양산대학교 커피바리스타제과과

³부경대학교 식품영양학과

The Effects of Antimicrobial, Antioxidant, and Anticancer Properties of *Opuntia humifusa* Stems

Bok-Mi Jung^{1*}, Mi-Ok Shin², and Hyung-Rak Kim³

¹Major in Food Science and Nutrition, Chonnam National University, Jeonnam 550-749, Korea

²Dept. of Coffee Barista Confectionery, Yangsan University, Gyeongnam 626-740, Korea

³Dept. of Food Science and Nutrition, Pukyong National University, Busan 608-737, Korea

Abstract

This study was performed to investigate antimicrobial, antioxidant, and anticancer properties of *Opuntia humifusa* (OH) stems. OH stems were extracted with hexane, methanol, butanol and water. The methanol and hexane fraction exhibited strong antimicrobial activities on three strains of microbes, *Rhodococcus equi*, *Staphylococcus aureus*, and *Clostridium perfringens*. In the peroxynitrite scavenging effect (ONOO⁻) of OH stems, the anti-oxidative activity of methanol, butanol and water fraction but not hexane fraction showed significant increases in a concentration-dependent manner. The DPPH radical scavenging activities of OH stems were high in the butanol fraction compared with other fractions. Anti-proliferation effects on the B16-F10, HepG2, HT29, and MCF-7 cell lines were significantly higher in the methanol and hexane fractions than in the water and butanol fractions at 100 µg/mL concentration of extracts. These results suggest that OH stems can be used for the development of functional foods with biological activity.

Key words: *Opuntia humifusa* stem, antimicrobial, antioxidant, anticancer

서 론

최근 자연계에 존재하는 식물류 중에 인체의 생체리듬을 조절하고 질병의 방지와 노화 억제 등 생체조절기능을 가지는 성분들이 다량 함유되어 있다는 것이 많은 연구들에 의해 밝혀지고 있다. 천년 식물들 중 선인장은 건조한 기후에 적응력이 뛰어난 식물로 예로부터 민간에서는 선인장의 줄기를 변비치료, 이뇨작용, 장운동의 활성화 및 식욕증진의 목적으로 사용하여 왔고 특히 줄기는 피부질환, 류마티스 및 화상치료에 민간요법으로 사용되고 있다(1).

손바닥 선인장 중 주로 제주도에서 재배되고 있는 백련초의 경우 줄기의 총길이가 1.5~2 m이며 영하의 온도에서 생육이 불가능하나 천년초는 줄기의 길이가 30~40 cm이고 영하 20°C의 혹한에서도 자체 수분을 절반 이하로 감소시켜 겨울노지에서 얼어 죽지 않는 강인한 생명력을 자랑하는 한국 토종 손바닥 선인장으로(2) 그 종류가 다르며 연구자에 따라 동일 식물로 취급하여 비교 고찰하기도 한다.

천년초는 페놀성 물질과 플라보노이드(3,4) 외에도 탄수화물, 아미노산, 비타민, 칼슘 등이 함유되어 있으며, 특히 칼슘이 식물성 식품으로는 상당히 많이 함유되어 있다(5). 우리나라에서 천년초 재배는 충청도지역을 시작으로 전북, 경남, 경기도, 전남지역 등 점차 국내에서 재배하는 농가가 확대되고 있는 추세이며, 농가 소득을 높일 수 있는 고부가가치 작물로 기대되고 있다.

지금까지 천년초의 생리활성에 관한 연구로는 항산화 및 병원성 미생물에 대한 항균효과(2,6), 자궁경부암 및 유방암에 대한 항암효과(3,7), 간 보호 효과(8) 등이 진행되었고, 최근에는 천년초 다당의 구조분석(9) 등 천년초에 대한 자세한 연구가 보고되고 있으나 아직까지 연구결과는 많지 않으며 천년초에 대한 항산화, 항균, 항암효과에 대한 연구는 연구자에 따라 시료의 재배지역, 이용부위, 시료 추출 용매의 종류, 측정방법, 사용한 미생물의 종류, 항암세포주의 종류에 따라 연구결과가 달라질 수 있다.

그러므로 본 연구에서는 전남 여수시 돌산에서 유기농으

*Corresponding author. E-mail: jbm@chonnam.ac.kr
Phone: 82-61-659-7414, Fax: 82-61-659-3419

로 재배되고 있는 천년초의 부위 중에서도 사계절 내내 이용 가능하며, 다른 부위보다 비중이 가장 많은 부분을 차지하는 줄기(*Opuntia humifusa* stem)를 시료로 하여 타 연구자들이 이용한 미생물 종류, 항산화 측정방법, 항암 세포주를 달리 하여 천년초의 생리활성효과를 각각 검토하여 보고하고자 하였다.

재료 및 방법

실험 재료

본 실험에 사용된 천년초(*Opuntia humifusa*, OH) 줄기는 2008년 6월 전남 여수시 돌산읍 라파엘 농장에서 구입하여 동결건조 하였다. 이 시료를 추출·분획하여 항균, 항산화 및 암세포 성장억제 효과의 측정에 사용하였다.

시료의 추출 및 분획물 제조

천년초 줄기를 동결건조 한 후 상온에서 methanol을 사용하여 2회 추출하고, 다시 methanol과 dichloromethane (DCM)을 1:1로 섞은 용액으로 2회 추출하였다. 추출한 시료를 여과한 후 rotary evaporator로 감압 농축시켜 methanol 추출물(OHM)을 얻었다. OHM에 DCM과 물을 1:1로 첨가하여 DCM층과 수층을 얻었으며 DCM층은 hexane과 85% methanol을 첨가하여 hexane(OHMH)층과 methanol(OHMM)층으로 분획하였으며, 수층은 butanol을 첨가하여 다시 butanol(OHMB)층과 수층(OHMA)을 얻었다. Hexane, methanol 및 butanol 층은 감압 농축하였고, 수층은 동결건조 후 본 실험에 사용하였다.

분획물의 항균활성 측정

항균 활성 검색에 사용된 균은 모두 gram 양성인 4가지 균주 즉 *Rhodococcus equi*, *Staphylococcus aureus*, *Clostridium perfringens*(*welchii*균), *Bacillus cereus*를 이용하였으며, 각 균의 생육 및 보존을 위해 사용한 배지는 nutrient agar, beef extract, peptone을 사용하였다. 항균실험에 사용한 균주는 한국미생물보존센터에서 분양받아 활성화시켜 사용하였다. 각 용매 분획물의 항균효과는 paper disc method(10)로 다음과 같이 실험하였다. 항균용 평판 배지를 멸균 후 각 20 mL씩 petri dish에 분주하여 응고시킨 후 배양한 시험 균을 무균적으로 첨가하여 배지 위에 다시 100~200 μ L씩 분주하여 평판배지를 만들었다. 각 용매 분획물의 농도를 2, 5, 10, 20 mg/mL를 가하여 멸균된 disc(직경 6 mm, Toyo Roshi Kaisha, Ltd., Tokyo, Japan)에 흡수, 건조시켜 균주가 도달된 plate 표면에 올려놓은 후 37°C incubator에서 24~48시간 배양하여 paper disc 주위에 생성된 clear zone의 직경(mm)을 5회 반복 측정하여 각각 평균치를 구하였다.

Peroxynitrite(ONOO⁻) 제거능 측정

96 well plate에 시료를 농도별로 취하고 Crow의 방법(11)에 의해 ONOO⁻ 제거능을 측정하였다. 5 mM DTPA(dieth-

ylenetriaminepenta acetic acid)와 5 μ M DHR123을 함유하는 sodium phosphate buffer(pH 7.4)를 가하였다. 그리고 10 μ M ONOO⁻를 첨가한 후 microplate multi-detection reader (Bio-Tek Instrument, Winooski, VT, USA)를 사용하여 형광광도(fluorescence)를 측정하였다. ONOO⁻의 바탕용액은 0.3 N NaOH를 사용하였고 평균한 값으로 소거율을 계산하였다. Peroxynitrite 소거효과 실험에 사용된 시약인 dihydrorhodamine 123(DHR 123)과 peroxynitrite는 각각 molecular probes(Eugene, OR, USA)와 Cayman Chemical Co. (Ann Arbor, MI, USA)로부터 구입한 것을 사용하였다.

DPPH free radical 소거효과

전자공여능은 아래의 방법에 의하여 시료의 DPPH의 환원력을 측정하였다. 각 시료 50 μ L에 1.5×10^{-4} M DPPH(2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) 용액 200 μ L를 가하고, vortex mixer로 10초간 진탕한 후 실온에서 30분 동안 방치하여 520 nm에서 흡광도(absorbance)를 측정하였다. 시료 무첨가구에는 시료 대신 시료를 녹인 용매 50 μ L를 첨가하여 시료 첨가구에 대한 흡광도의 감소 비율로 나타내었다. Positive control로 vitamin C(ascorbic acid, Sigma, St. Louis, MO, USA)를 동일한 방법으로 실험하여 흡광도 감소를 측정하였다.

암세포 배양

본 실험에 사용된 암 세포주는 인체 간암세포주인 HepG2 (human hepato-cellular carcinoma), 유방암세포주인 MCF-7(human breast adenocarcinoma pleural effusion)과 대장암세포주인 HT29(human colon adenocarcinoma)와 마우스 유래의 피부암세포주인 B16-F10(mouse melanoma)을 한국세포주은행(Korean Cell Line Bank, Seoul, Korea)에서 구입하여 배양시킨 후 실험에 사용하였다.

HepG2, MCF-7, HT29와 B16F10의 각 세포주는 37°C, 5% CO₂ 조건하에서 배양하였고, 주 2~3회 정도 배지를 교환하고 세포배양용 petri dish에 각 세포주가 5×10^4 cells/mL 정도 증식되면 phosphate buffered saline(PBS)로 2번 세척한 후 trypsin-ethylenediamine tetraacetic acid(EDTA, Gibco, Grand Island, NY, USA)를 2 mL씩 처리하여 바닥에서 세포를 분리한 후, 배지로 세포가 골고루 분산되도록 희석하여 세포배양용 petri dish에 10 mL씩 분할하여 주입하고 주 2회 계대배양하면서 실험에 사용하였다. 계대 배양 시 각 세포주의 passage number가 10회 이상일 때는 액체질소탱크로부터 새로운 세포를 꺼내어 다시 배양하여 실험하였다.

암세포 증식 억제 효과(cytotoxicity) 측정

천년초 분획물의 암세포 증식 억제 효과는 MTT(3-[4,5-dimethyl thiazol-2-yl]-2,5-yl tetrazolium bromide) assay를 사용하여 행하였다. MTT assay는 세포의 생육을 측정하는 방법으로서 황색수용물질인 MTT가 미토콘드리아내의

탈수소효소 작용에 의하여 dark blue formazan을 생성하는 원리를 이용하였다. 이를 위해 각 세포주를 1×10^4 cells/well의 농도로 맞추고 96 well에 각각 200 μ L씩 첨가하여 24시간 동안 37°C, 5% CO₂ incubator에서 배양한 후 용매종류별 분획물을 각각 일정량의 dimethyl-sulfoxide(DMSO)에 녹여서 25, 50, 100, 150, 200 μ g/mL의 농도로 첨가하였다. 48시간 동안 배양한 후 각 well에 PBS 완충용액에 녹인 MTT 용액을 20 μ L씩 첨가하여 4시간 동안 다시 배양시킨 후, well 바닥에 형성된 formazan이 흩어지지 않게 상등액을 제거하고 DMSO와 ethanol을 1:1로 혼합한 용액 200 μ L를 첨가하여 천천히 녹인 후 multi-detection microplate를 이용하여 50 nm에서 흡광도를 측정하였다. 대조군 세포수를 100%로 하였을 때의 상대적인 세포성장 억제율을 구하였다.

통계처리

본 실험의 연구에서 평균 실험결과는 7~10회 반복 측정하였고, 항산화 및 항암효과에 대한 실험결과는 3회 반복 측정 후 IBM SPSS statistics(version 19, Chicago, IL, USA)를 사용하여 측정된 결과의 평균과 표준편차를 나타내었고, 시료의 항산화활성은 농도별, 용매별로 ANOVA와 Duncan's multiple range test로 검정하였으며, 항암효과는 시료농도 100 μ g/mL에 대해서만 용매별 유의성 검정을 실시하였다.

결과 및 고찰

천년초 줄기 분획물의 수율

천년초 줄기를 methanol로 추출하여 hexane층, methanol층, butanol층 및 수층의 용매별로 분획하였다. 천년초 줄기

Table 1. Fraction yield from *Opuntia humifusa* stem by various solvents (Unit: %)

| Sample | Solvent | | | |
|------------------------------|---------|----------|---------|-------|
| | Hexane | Methanol | Butanol | Water |
| <i>Opuntia humifusa</i> stem | 0.44 | 0.16 | 1.01 | 2.70 |

583 g에서 hexane층은 2.55 g(0.44%), methanol층은 0.91 g(0.16%), butanol층은 5.87 g(1.01%) 및 수층은 15.73 g(2.70%)을 얻었다(Table 1). 천년초의 용매별 분획물의 수율은 용매의 극성이 높을수록 분획물의 수율이 높다는 것을 알 수 있었다.

Chung(12)은 손바닥 선인장의 용매별 추출물의 수율을 측정할 결과 극성이 낮을수록 수율이 낮았음을 보고하여 본 연구와 유사한 결과를 나타냈고, Lee 등(6)은 천년초 줄기의 수율에서 수층이 가장 높게 나타났다고 하였는데 이는 본 연구와 동일하게 나타났음을 알 수 있었다.

분획물의 항균효과

사용한 각 균주에 대해 용매별 천년초 줄기 분획물의 항균 효과 결과는 Table 2와 같다. *Rhodococcus equi*는 그람 양성, 호기성인 구균이며 주로 건조하고 먼지가 많은 흙에 존재하고, 주로 참기름, 들기름, 콩기름 등의 유지류 부패 원인균으로 알려져 있으며, 메탄올과 hexan층에서 2 mg/mL 농도를 제외하고는 모든 농도에서 항균효과가 높게 나타났다. *Staphylococcus aureus*균은 gram 양성, 독소형 식중독 유발균으로 메탄올과 hexan층의 모든 농도에서 항균효과가 나타났으며, 농도 의존적으로 항균효과가 높게 나타났음을 알 수 있었다. Gram 양성, 편성혐기성인 간균인 *Clostridium perfringens*는 메탄올층에서는 2 mg/mL 농도를 제외하고

Table 2. Antimicrobial activity of *Opuntia humifusa* stem

| Strains | Concentration (mg/mL) | Fractions ¹⁾ | | | |
|--------------------------------|-----------------------|-------------------------|------|-------------------|------|
| | | OHMA | OHMB | OHMM | OHMH |
| <i>Rhodococcus equi</i> | 2 | — | — | — | — |
| | 5 | — | — | +++ ²⁾ | ++ |
| | 10 | — | — | +++ | +++ |
| | 20 | — | — | ++++ | ++++ |
| <i>Staphylococcus aureus</i> | 2 | — | — | + | ++ |
| | 5 | — | — | +++ | +++ |
| | 10 | — | — | ++++ | ++++ |
| | 20 | — | — | ++++ | ++++ |
| <i>Clostridium perfringens</i> | 2 | — | — | — | ++++ |
| | 5 | — | — | +++ | ++++ |
| | 10 | — | — | ++++ | ++++ |
| | 20 | — | — | ++++ | ++++ |
| <i>Bacillus cereus</i> | 2 | — | — | — | — |
| | 5 | — | — | — | ++ |
| | 10 | — | — | — | +++ |
| | 20 | — | — | ++ | +++ |

¹⁾OHMA: aqueous layer of methanol extracts of *Opuntia humifusa* (OHM), OHMB: butanol layer of OHM, OHMM: methanol layer of OHM, OHMH: hexane layer of OHM.

²⁾Size of clear zone: +++++, larger than 10.0 mm; +++, 10.0~8.5 mm; ++, 8.5~7.0 mm; +, smaller than 7.0 mm; —, not detected.

모든 농도에서 항균효과가 나타났으며, 핵산층에서는 낮은 농도에서도 항균효과가 아주 높게 나타났다. 그람 양성, 독소형 식중독 유발균인 *Bacillus cereus*는 메탄올층에서도 20 mg/mL의 농도에서만 항균효과가 있었고, 핵산층에서는 2 mg/mL 농도를 제외하고는 항균효과가 있음을 알 수 있었다. 천년초 줄기의 추출물중 4가지 균주에서 항균 효과가 나타난 것은 메탄올과 핵산층이었으며, 4가지 균주 중 *Bacillus cereus*를 제외한 3종에 대해서는 우수한 항균효과를 나타냈다.

Chung(12)은 백년초의 추출물을 이용해 항균활성을 측정 한 결과 그람 음성균보다 그람양성균에서 효과적이라고 보고하였으며, Lee 등(6)은 천년초 줄기를 추출하여 병원성 식중독 미생물 6종에 대해 항균활성을 측정한 결과 ethyl acetate 분획물이 가장 우수한 항균효과를 나타냈다고 하였고 그람 양성세균과 그람 음성세균 간 항균활성의 차이는 거의 보이지 않았다고 보고하였는데 본 연구와 비교했을 때 사용된 균주가 달라 비교하기 어려웠으나 본 연구 역시 Chung(12)의 연구와 같이 그람 양성균에서 효과가 나타났으며 특히 핵산과 메탄올 층에서 항균효과가 높게 나타났는데 이러한 결과로 볼 때 추출용매와 사용 균주에 따라 항균효과가 약간씩 달라짐을 알 수 있었다.

Peroxynitrite(ONOO⁻) 제거능 측정

Table 3은 천년초 줄기의 각 용매별 분획물의 peroxynitrite(ONOO⁻) 제거능을 측정한 결과를 나타냈다. 핵산층을 제외한 메탄올층, 부탄올층, 수층의 항산화 활성은 천년초 줄기 추출물의 농도가 증가할수록 항산화 효과가 유의적으로(p<0.05) 높게 나타났음을 알 수 있었다. 특히 메탄올 층에서는 1~20 µg/mL 농도에서 대조군인 penicillamine에 비해 유의적으로(p<0.05) 높게 나타났다. 선인장 종류에 대한 항

산화 측정법으로 peroxynitrite(ONOO⁻) 제거능 측정법을 이용한 연구는 없으므로 본 연구와 비교하기는 어려웠다.

DPPH free radical 소거효과

천년초 줄기의 각 용매별 분획물의 DPPH 유리기 소거능을 측정한 결과는 Table 4에 나타내었다. 천년초 줄기 추출물의 각 용매별 DPPH 유리기 소거능은 농도가 증가함에 따라 소거능도 유의적으로(p<0.05) 증가하였다. 분획물 중에서 가장 효과가 큰 것은 부탄올 층으로 나타났고 다음으로 메탄올>수층>핵산층 순으로 나타났다. 그러나 대조군인 vitamin C보다 유의적으로(p<0.05) 낮게 나타났다.

Lee 등(6)은 천년초 줄기를 용매별로 DPPH 유리기 소거효과를 측정한 결과 에틸 아세테이트 분획물이 가장 우수한 항산화 효과를 나타냈으며, 이는 α-토코페롤의 활성과 견줄만한 효과를 나타냈다고 보고하였는데 본 연구에서는 추출용매가 다르므로 비교하기는 어려웠다. Cha(13)의 연구에서는 에탄올로 추출하여 용매 분획물의 DPPH 유리기 소거능을 측정한 결과 천년초 줄기보다 열매에서 DPPH 유리기 소거능이 높게 나타났으며, 열매와 줄기 모두 에틸아세테이트 층에서 가장 높게 나타났고, 다음으로 부탄올 층으로 나타났으며, 농도 의존적으로 증가하였으나 합성항산화제에 비하여 낮게 나타났다고 보고하여 본 연구에서는 에틸 아세테이트층은 실험하지 않아 비교하기는 어려웠으나 동일한 농도와 동일 용매에서 Cha(13)의 연구보다 본 연구에서 DPPH 유리기 소거능이 더 높게 나타난 것을 알 수 있었다. 그러므로 천년초의 항산화 활성은 추출용매에 대하여 영향을 받는다는 Cha(13)의 연구를 뒷받침한다고 볼 수 있다.

MTT assay

천년초 줄기의 각 용매별 분획물의 암세포 증식 억제 효과

Table 3. Peroxynitrite scavenging effect of four fractions from stem of *Opuntia humifusa* with various solvent

| Concentration (µg/mL) | Peroxynitrite scavenging activity (%) | | | | |
|-----------------------|---------------------------------------|-------------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|
| | OHHM | OHMM | OHMB | OHMA | Penicillamine |
| 1 | 0 | 16.82±0.75 ^{1)(dA2)} | 5.49±0.57 ^{dC} | 2.10±0.33 ^{dD} | 12.20±0.10 ^{dB} |
| 10 | 0 | 58.28±1.90 ^{cA} | 13.88±1.14 ^{cC} | 7.93±0.71 ^{cD} | 55.13±0.15 ^{cB} |
| 20 | 0 | 76.52±0.80 ^{bA} | 23.65±0.48 ^{bC} | 18.76±0.25 ^{bD} | 68.97±0.42 ^{bB} |
| 30 | 0 | 83.68±0.09 ^{aB} | 44.27±1.71 ^{aC} | 24.03±1.33 ^{aD} | 87.43±0.40 ^{aA} |

¹⁾Mean±SD (n=3).

²⁾The different small letters mean significant difference among the different concentrations (column) in the same solvent (p<0.05). The different capital letters mean significant difference among the solvent at the same concentration in the row (p<0.05).

Table 4. DPPH radical scavenging activity of four fractions from stem of *Opuntia humifusa* with various solvent

| Concentration (µg/mL) | DPPH radical scavenging activity (%) | | | | |
|-----------------------|--------------------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|
| | OHHM | OHMM | OHMB | OHMA | Vitamin C |
| 100 | 1.62±0.39 ^{1)(dC2)} | 5.92±1.42 ^{dB} | 6.14±0.72 ^{dB} | 1.89±0.18 ^{dC} | 73.23±0.35 ^{dA} |
| 500 | 5.43±1.73 ^{cE} | 14.37±0.14 ^{cC} | 21.91±0.91 ^{cB} | 8.44±0.48 ^{cD} | 80.73±0.25 ^{cA} |
| 1000 | 7.19±0.21 ^{bE} | 20.52±0.61 ^{bC} | 35.55±0.14 ^{bB} | 15.40±0.23 ^{bD} | 95.00±0.20 ^{bA} |
| 2000 | 10.58±0.33 ^{aE} | 32.86±0.32 ^{aC} | 56.82±1.05 ^{aB} | 29.60±0.48 ^{aD} | 96.90±0.30 ^{aA} |

¹⁾Mean±SD (n=3).

²⁾The different small letters mean significant difference among the different concentrations (column) in the same solvent (p<0.05). The different capital letters mean significant difference among the solvent at the same concentration in the row (p<0.05).

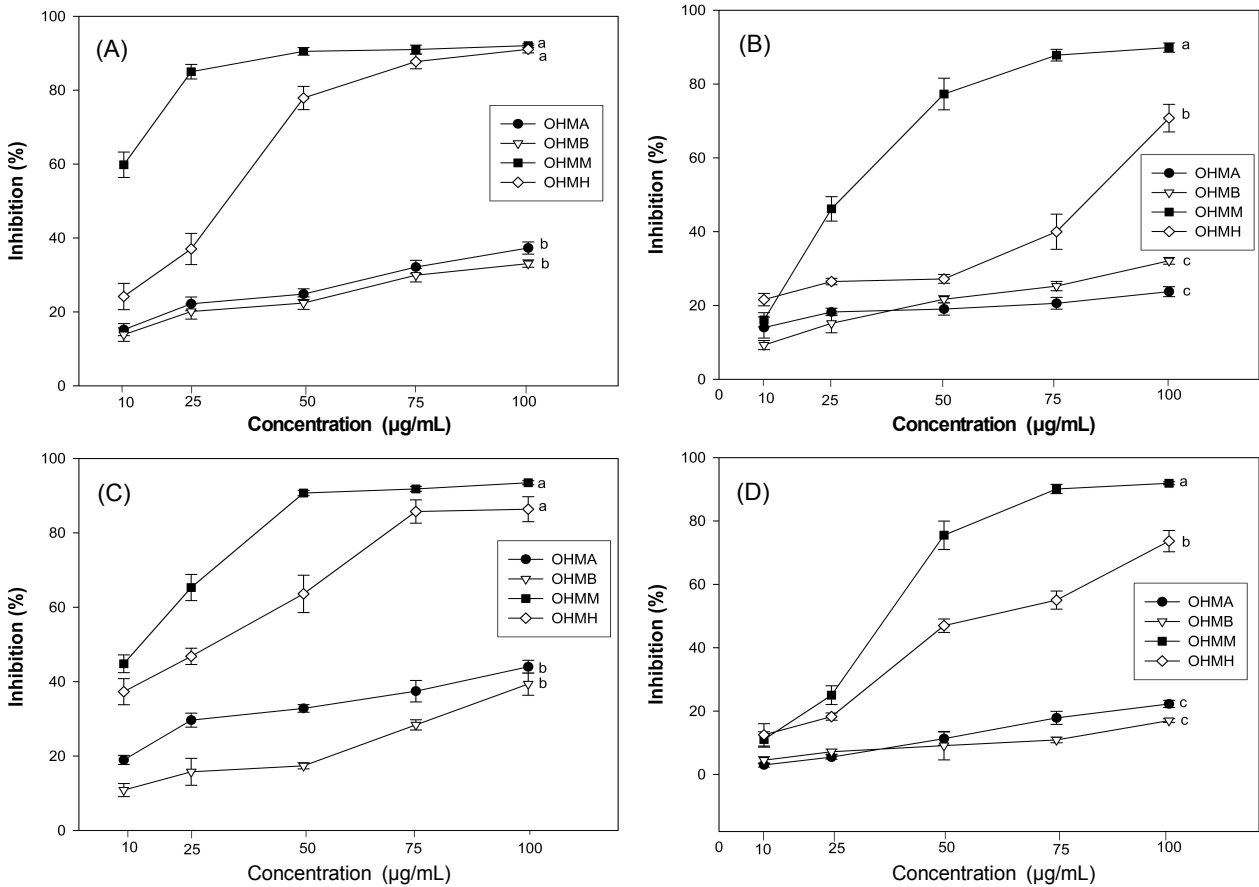


Fig. 1. Inhibitory effect on cell survival of four fractions from the methanol extract of *Opuntia humifusa* stem on B16F10 cells (A), HepG2 cells (B), HT-29 cells (C) and MCF-7 cells (D). OHMA: aqueous layer of methanol extracts of *Opuntia humifusa* petal (OHM), OHMB: butanol layer of OHM, OHMM: methanol layer of OHM, OHMH: hexane layer of OHM.

를 측정된 결과는 Fig. 1에 제시하였다. (A)는 피부암세포인 B16F10에 대한 결과로 천년초 줄기의 수층 분획물의 10~100 µg/mL의 농도에서 15~37%, 부탄올층은 13~33%로 억제 효과가 낮게 나타난 반면 메탄올층은 60~92%, 헥산층은 24~91%로 높게 나타나 수층과 부탄올층에 비하여 유의적으로($p < 0.05$) 높게 나타난 것을 알 수 있었다. (B)는 천년초 줄기의 각 용매별 분획물의 간암세포인 HepG2에 대한 암세포 증식 억제 효과를 측정된 결과를 나타낸 것으로 추출물 10~100 µg/mL의 농도에서 수층은 14~24%, 부탄올층은 9~32%, 메탄올층은 16~90%, 헥산층은 22~71%로 나타나 100 µg/mL의 농도를 기준으로 메탄올층이 유의적으로($p < 0.05$) 높았고, 다음으로 헥산층, 부탄올층과 수층으로 나타났다. (C)는 천년초 줄기의 각 용매별 분획물의 대장암세포인 HT-29에 대한 암세포 증식 억제 효과를 측정된 결과를 나타냈다. 수층은 19~44%, 부탄올층은 11~39%, 메탄올층은 45~93%, 헥산층은 37~86%를 나타내 역시 메탄올층이 유의적으로 가장 높았고, 헥산층>수층>부탄올층 순으로 나타났다. (D)는 천년초 줄기의 각 용매별 분획물의 유방암세포인 MCF-7에 대한 암세포 증식 억제 효과를 측정된 결과이다. 수층은 3~22%, 부탄올층은 5~17%, 메탄올층은 11~92%,

헥산층은 12~74%로 나타났으며 메탄올층>헥산층>수층>부탄올층 순으로 나타났다. Yoon 등(3)은 천년초선인장 열매 추출물을 이용한 유방암 세포 증식억제에 관한 연구에서 물 추출물이 세포독성에는 영향을 주지 않으면서 유방암 세포를 효과적으로 억제한다는 사실을 보고하였으며, 열매의 추출물 농도는 100, 500, 1000 µg/mL의 농도를 사용하여 본 연구보다 고농도를 이용한 사실을 고려해 보았을 때, 열매에 비해 줄기의 항암효과가 더 높게 나타나는 것으로 사료된다. Choi 등(7)은 손바닥선인장(천년초)의 열매와 줄기를 용매 추출한 분획물을 이용하여 자궁경부암 세포주에 대한 항암 활성을 측정된 결과 항암활성이 없었음을 보고하였으나 열매를 효모균으로 발효한 발효액에서는 항암활성을 나타냈다고 보고하였다. 본 연구에서는 자궁경부암 세포는 조사하지 않았으므로 비교하기가 어려웠다. Choi와 Shin(9)은 천년초로부터 분리한 조 다당 CNC-0는 폐암세포에서 농도 의존적으로 항전이 활성을 나타냈다고 보고하여 천년초가 폐암세포의 증식 억제에도 효과가 있음을 알 수 있었다. 사람과 동물의 항암효과를 나타내는 몇 가지 식물추출물(14,15)은 항산화효과와 관련이 있는 것으로 보고, 이 항산화 효과의 대부분은 플라보노이드 등을 포함하는 식물에서 유래된 페

높게 화합물로 이루어져 있다고 연구된 바(16) 천년초 선인장의 열매와 줄기의 경우에도 다량의 플라보노이드가 함유되어 있는 것으로 알려져(6,13) 이들 플라보노이드가 여러 종류의 암세포주에 항암효과를 나타내는 것으로 사료된다.

요 약

본 연구는 천년초 줄기를 이용하여 항균, 항산화, 항암 등 천년초의 생리활성 효과를 연구하였으며 그 결과는 다음과 같다. 천년초 줄기의 추출물중 gram 양성균인 4가지 균주 (*Rhodococcus equi*, *Staphylococcus aureus*, *Clostridium perfringens*, *Bacillus cereus*)에서 항균 효과가 나타난 것은 메탄올과 핵산층이었으며, 4가지 균주 중 *Bacillus cereus*를 제외한 3종에 대해서는 우수한 항균효과를 나타냈다. 천년초 줄기의 peroxynitrite(ONOO⁻) 제거능 측정결과 핵산층을 제외한 메탄올층, 부탄올층, 수층의 항산화 활성은 천년초 줄기 추출물의 농도가 증가할수록 항산화 효과가 유의적으로(p<0.05) 높게 나타났다. 천년초 줄기 추출물의 각 용매별 DPPH 유리기 소거능은 농도가 증가함에 따라 소거능도 유의적으로(p<0.05) 증가하였으며, 부탄올>메탄올>수층>핵산층 순으로 높게 나타났다. 천년초 줄기의 암세포 증식 억제 효과에서 피부암 세포의 경우 50~100 µg/mL의 농도에서 메탄올층과 핵산층이 수층과 부탄올층에 비하여 유의적으로(p<0.05) 높게 나타났다. 간암세포인 HepG2의 경우 추출물 100 µg/mL의 농도를 기준으로 메탄올층이 유의적으로(p<0.05) 높았고, 핵산층>부탄올층>수층의 순으로 나타났다. 대장암세포인 HT-29 역시 메탄올층이 유의적으로 가장 높았고, 핵산층>수층>부탄올층 순으로 나타났다. 유방암세포인 MCF-7은 메탄올층>핵산층>수층>부탄올층 순으로 효과가 높게 나타났다. 이와 같은 결과로 볼 때 천년초 줄기의 항균, 항산화, 항암 효과가 높게 나타나 줄기를 활용한 항균제품이나 여러 가지 가공제품을 개발하는데 기초 자료로 활용할 수 있다.

문 헌

1. Kim TJ. 1996. *Korean resources plants*. Seoul National University in press, Seoul, Korea. p 140-141.
2. Lee KS, Kim MG, Lee KY. 2004. Antimicrobial effect of

- the extracts of cactus Cheonnyuncho (*Opuntia humifusa*) against food borne pathogens. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 33: 1268-1272.
3. Yoon JA, Hahm SW, Park JE, Son YS. 2009. Total polyphenol and flavonoid of fruit extract of *Opuntia humifusa* and its inhibitory effect on the growth of MCF-7 human breast cancer cells. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 38: 1679-1684.
4. Lee KS, Lee KY. 2010. Biological activity of phenol compound from a cactus Cheonnyuncho (*Opuntia humifusa*) in Korea. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 39: 1132-1136.
5. Choi JH. 2010. Structural analysis and immuno-stimulating characteristics of *Opuntia humifusa*. *MS thesis*. Kyonggi University, Seoul, Korea. p 4.
6. Lee KS, Oh CS, Lee KY. 2005. Antioxidative effect of the fractions extracted from a cactus Cheonnyuncho (*Opuntia humifusa*). *J Korean Food Sci Technol* 37: 474-478.
7. Choi HJ, Park SC, Hong TH. 2005. Anti-tumor activity of fermented lipid *Opuntia humifusa* in cervical cancer cells and its chemical composition. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 34: 1525-1530.
8. Park MK, Lee YJ, Kang ES. 2005. Hepato protective effect of Cheonnyuncho (*Opuntia humifusa*) extract in rats treated carbon tetrachloride. *Korean J Food Sci Technol* 37: 822-826.
9. Choi JH, Shin KS. 2011. Structural analysis of anti-metastatic polysaccharide isolated from *Opuntia humifusa*. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 40: 214-222.
10. Davidson PM, Parish ME. 1989. Methods for testing the efficacy of food antimicrobials. *Food Technol* 1: 148-155.
11. Crow JP. 1997. Dichlorodihydrofluorescein and dihydro-rhodamine 123 are sensitive indicators of peroxynitrite in vitro: implications for intracellular measurement of reactive nitrogen and oxygen species. *Nitric Oxide* 1: 145-157.
12. Chung HJ. 2000. Antioxidative and antimicrobial activities of *Opuntia ficus indica* var. *saboten*. *Korean J Food Cookery Sci* 16: 160-166.
13. Cha MN. 2010. Physicochemical properties and antioxidant activities of *Opuntia humifusa*. *MS Thesis*. Chonbuk National University, Jeonju, Korea. p 12-14.
14. Lee YJ, Jin YR, Lim WC, Ji SM, Choi SH, Jang SY, Lee SK. 2003. A ginsenoside-RH1, a component of ginseng saponin, activates estrogen receptor in human breast carcinoma MCF-7 cells. *J Steroid Biochem Mol Biol* 84: 463-468.
15. Byun KS, Lee YW, Jin J, Lee MK, Lee HY, Yu CY, Lee JH. 2005. Genotoxicity and cytotoxicity in human cancer and normal cell lines of the extracts of *Rhododendron brachycarpum* D. Don leaves. *Kor J Med Corp Sci* 13: 199-205.
16. Ahn EM, Han JT, Kwon BM, Kim SH, Baek NI. 2008. Anti-cancer activity of flavonoids from *Aceriphyllum rossii*. *J Korean Soc Appl Biol Chem* 51: 309-315.

(2011년 10월 19일 접수; 2011년 12월 26일 채택)