

들깨잎과 참깨잎 추출물의 항산화 활성 및 대장암세포 증식 억제 활성 비교분석

곽영은 · 기서하 · 노은경 · 신하늘 · 한영주 · 이유나 · 주지형[†]
충북대학교 식품영양학과

Comparison of Antioxidant and Anti-proliferative Activities of Perilla (*Perilla frutescens* Britton) and Sesame (*Seasamum indicum* L.) leaf extracts

Youngeun Kwak, Seoha Ki, Eun Kyoung Noh, Ha Neul Shin, Young-ju Han, Yuna Lee, and Jihyeung Ju
Department of Food and Nutrition, Chungbuk National University

Abstract

This study was to compare the antioxidant and anti-proliferative activities of perilla (*Perilla frutescens* Britton) and sesame (*Seasamum indicum* L.) leaf extracts. The total polyphenol levels of sesame leaf (634.7 ± 1.2 mg gallic acid equivalent/100 g dried leaf) were higher than those of perilla leaf (408.7 ± 4.6 mg gallic acid equivalent/100 g dried leaf; $p < 0.001$). The total flavonoid levels of sesame leaf (166.7 ± 17.3 mg quercetin equivalent/100 g dried leaf) were also higher than those of perilla leaf (108.2 ± 3.7 mg quercetin equivalent/100 g dried leaf; $p < 0.05$). ABTS radical- and DPPH radical-scavenging activities of sesame leaf extracts (78.9% and 18.2%, respectively) were higher than those of perilla leaf extracts (46.0% and 9.0%, respectively; $p < 0.01$). Both perilla and sesame leaf extracts significantly inhibited the growth of HCT116 human colon cancer cells. However, the inhibitory activities of sesame leaf extracts were more pronounced than those of perilla leaf extracts ($p < 0.001$). These results indicate that sesame leaf extracts have higher antioxidant and anti-proliferative activities than perilla leaf extracts. More studies are needed in order to enhance the sensory value of sesame leaf and to develop sesame leaf as health/functional food ingredients.

Key words : Sesame leaf, perilla leaf, antioxidant activity, anti-proliferative activity, HCT116 colon cancer cell

1. 서론

깨는 일반적으로 참깨(*Seasamum indicum* L.)와 들깨(*Perilla frutescens* Britton)로 나뉜다. 참깨와 들깨 모두 통화 식물목으로 분류되지만, 세부적으로는 참깨는 참깨과에 속하는 쌍떡잎 식물이며 들깨는 꿀풀과에 속하는 일년생 초본 식물이다(이창복 2003). 참깨와 들깨 모두 주로 종실이나 기름의 형태로 식용되고 있는데, 이들 식품은 한국인에게 있어 예

너지, 지방, 조섬유, 칼슘 등의 섭취를 위한 주요 급원으로서(제5기 국민건강영양조사, 보건복지부 2010) 한국인의 식생활에 있어 매우 중요한 역할을 하고 있다. 들깨의 경우는 독특한 향미가 있는 잎 부위 또한 빈번히 식용되고 있는데, 들깨 잎은 생채로서 쌈 등의 목적으로 이용되거나 여러 가지 방식으로 조리되어 나물, 김치 등의 다양한 형태로 이용되고 있다. 제5기 국민건강영양조사에 따르면 들깨잎 또한 한국인에게 있어 조섬유 및 칼슘 등의 섭취를 위한 주요 급원 식품이다(보건복지부 2010). 그러나 참깨의 잎은 들깨잎과는 달리 독특한 향미를 가지고 있지 않아 그 기호성이 낮기 때문에 거의 식용되지 않고 있는 실정으로, 사실상 폐 농산물 자원이라고 할 수 있다.

들깨와 참깨의 종실 및 기름의 기능성은 선행연구에서 보고된 바 있다(Ahn CY 등 1992, Hong EY 등 1997, Kim YJ

[†]Corresponding author: Jihyeung Ju, Department of Food and Nutrition, College of Human Ecology, Chungbuk National University
Tel: +82-43-261-2681
Fax: +82-43-267-2742
E-mail: jujih@chungbuk.ac.kr

등 2009, Kim SY 2000, Lim SY 2009, Park DS 등 2001, Park HS 등 1990). 또한 들깨잎의 기능성으로는, 폴리페놀 성분 함량(Bang CS 2007), 플라보노이드 성분 함량(Bang CS 2007, Kim JH와 Kim MK, 1999), 항산화 활성(Bang CS 2007, Kim JH와 Kim MK, 1999, Lee KY 등 1993, Oh SI와 Lee MS 2003, Saita E 등 2012), 간 독성에 대한 보호 효과(Kim MK 등 2007), 항염성(Ueda H 등 2002), 항돌연변이성(Lee KY 등 1992, Oh SI와 Lee MS 2003), 항고지혈증 및 항동맥경화 활성(Kim GJ 등 1999a, Kim GJ 등 1999b, Kim GJ 등 1999c), 항비만 활성(Kim MJ와 Kim HK 2009), 대장암세포 및 혈액암세포 증식 억제 활성(Kwak CS 등 2009, Lee KY 1992), 피부 종양 형성 억제 활성(Ueda H 등 2003) 등과 관련하여 다양한 선행연구들이 보고된 바 있다. 그러나 참깨잎은 통상적으로 식용되고 있지 않기 때문에 그 기능성 등과 같은 식품학적 가치에 대한 연구는 거의 전무할 실정이다.

이에 본 연구에서는 참깨잎과 들깨잎의 항산화 활성 및 암세포 증식 억제 활성을 비교·분석하여, 참깨잎의 항산화 및 항암 기능성을 조명하고자 한다. 이러한 연구는 앞으로 참깨잎의 다양한 기능성 및 관련 작용기전을 규명하고, 나아가 참깨잎을 이용한 기능성 식품을 개발하기 위한 기초 자료로 이용될 수 있을 것으로 생각된다.

II. 재료 및 방법

1. 깻잎 추출물 제조 및 수율 측정

본 실험에서 사용된 들깨잎은 충남 금산이 산지로 표시된 것을 대형마트에서 구입하였고, 참깨잎은 충북 청원 농가에서 직접 획득하였다. 깻잎은 세척 후 물기를 제거하고 -70℃ 냉동고(DF8520, IlshinBioBase, Yangju, Korea)에서 약 48시간 동안 보관한 후 동결건조기(PH1316, IlshinBioBase, Yangju, Korea)를 이용하여 건조시켰다. 건조된 깻잎은 믹서기(MU-5300, TC Angel, Seoul, Korea)를 이용하여 분쇄한 후 분쇄된 깻잎 시료 0.5 g에 80% 에탄올 20 mL를 첨가하고 4시간 동안 교반하였다. 이어 1500 rpm에서 원심분리(A320101, Gyrozen, Daejun, Korea)한 뒤 상층액을 취하였다. 이중 일부는 -20℃ 냉동고(R-B547QM, LG, Seoul, Korea)에 보관하면서 항산화 성분 함량 분석 및 항산화 활성 측정에 이용하였다. 그 외 상층액은 감압농축기(NB-503CIR, N-biotek, Bucheon, Korea)를 사용하여 에탄올 용매를 완전히 휘발시킨 후 -20℃ 냉동고에 보관하면서 암세포 처리에 이용하였다.

깻잎 추출물의 수율은 추출에 이용된 동결건조한 깻잎 시료의 무게 대비 에탄올 용매를 완전히 휘발시킨 후 추출물의 무게를 %로 나타내었다.

2. 총 폴리페놀 및 총 플라보노이드 함량 측정

총 폴리페놀 함량은 Folin-Ciocalteu의 방법을 변형하여 측정하였다. 증류수 150 μ L에 7.5% Na_2CO_3 300 μ L와 Folin

Ciocalteu's phenol reagent(Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA) 45 μ L를 차례로 첨가한 후, 깻잎 추출물 시료 45 μ L를 넣고 실온에서 15분간 반응시켰다. 반응액은 10,000 rpm에서 2분간 원심분리한 후 상층액을 취하고, plate reader(Imark, Bio-Rad Laboratories, Hercules, CA, USA)를 이용하여 655 nm의 파장에서 흡광도를 측정하였다. 여러 가지 농도의 gallic acid(Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA)는 시료와 동일한 방법으로 반응시킨 후 흡광도를 측정하였고, 이로부터 얻은 표준검량곡선을 이용하여 시료의 폴리페놀 함량(mg gallic acid equivalent/100 g dried leaf)을 산출하였다.

총 플라보노이드 함량은 깻잎 추출물 시료와 AlCl_3 (20 mg/mL)를 1:1 비율로 혼합하고 실온에서 15분 반응시킨 후 plate reader를 이용하여 415 nm의 파장에서 흡광도를 측정하였다. 여러 가지 농도의 quercetin(Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA)은 시료와 동일한 방법으로 반응시킨 후 흡광도를 측정하였고, 이로부터 얻은 표준검량곡선을 이용하여 시료의 총 플라보노이드 함량(mg quercetin equivalent/100 g dried leaf)을 산출하였다.

3. ABTS radical 및 DPPH radical 소거 활성 측정

깻잎의 radical 소거 활성은 ABTS(2,2'-azino-bis(3-ethylbenzthiazline-6-sulfonic acid) diammonium salt, Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA)법 및 DPPH(2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl, Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA)법을 이용하여 측정하였다.

ABTS법에서는, 7.4 mM ABTS와 2.6 mM potassium persulfate(Kanto chemical co. Inc, Japan)를 혼합하고 실온 환경인 암소에서 24시간 보관하면서 radical을 형성시켰다. ABTS radical 용액은 깻잎 추출물 시료(4 mg/mL)와 혼합하고 실온에서 20분간 반응시킨 후 plate reader를 이용하여 750 nm의 파장에서 흡광도를 측정하였다. ABTS radical 소거활성(%)은 ((대조구 흡광도-시료 흡광도)/대조구 흡광도)*100 식을 이용하여 산출하였다.

DPPH법에서는, 100% 에탄올을 용매로 암소에서 준비한 0.75 mM DPPH와 깻잎 추출액 시료(4 mg/mL)를 1:1로 혼합하고 15분간 암소에서 반응시킨 후 plate reader를 이용하여 540 nm의 파장에서 흡광도를 측정하였다. DPPH radical 소거활성(%)은 ((대조구 흡광도-시료 흡광도)/대조구 흡광도)*100 식을 이용하여 산출하였다.

4. 암세포 배양 및 깻잎 추출물 처리

본 연구에서는 HCT116 인간 대장암 세포주(한국세포주은행, Seoul, Korea)를 사용하였으며, 10% fetal bovine serum(FBS, Thermo Scientific, Logan, UT, USA) 및 항생제(100 units/mL penicillin와 0.1 mg/mL streptomycin; Welgene Inc., Daegu, Korea)가 함유된 McCoy's 5A(Gibco, New York city, NY, USA) 배지를 이용하여 37℃, 95% 습도, 5% CO_2 환경으로 유지되는 incubator(MCO-15AC, Sanyo, Osaka, Japan)에서

배양하면서 실험에 이용하였다. 들깨잎 추출물 및 참깨잎 추출물은 dimethyl sulfoxide(DMSO)에 녹여서 500 mg/mL 농도로 stock solution을 제조하여 -20℃에서 보관하다가 실험 직전에 배지를 이용하여 원하는 추출물 농도로 희석한 후 세포에 처리하였다. 암세포 형태 관찰 및 증식 측정 실험에서 대조구 세포의 처리를 위해서는, 최종적으로 추출물 처리 세포에 사용하게 된 DMSO 농도(배지 대비 0.5%(v/v) 이하)와 동일한 농도의 DMSO를 함유한 배지를 실험 직전에 별도로 제조하여 이용하였다. 추출물 처리 시 사용한 배지에는 일반 배양 배지와는 달리 FBS를 첨가하지 않았다.

5. 암세포 형태 관찰 및 증식 측정

HCT116 세포의 형태를 관찰하기 위해서는, 세포배양용 12-well plate(Corning Inc., New York city, NY, USA)에 HCT116 세포(8 x 10³ cell/well)를 분주하였다. 24시간 후 세포에 깻잎 추출물 시료(1 mg/mL)를 함유한 배지를 24시간 또는 48시간 동안 처리하고 위상차현미경(X100; Primo Vert, Carl Zeiss, Oberkochen, Germany)을 이용하여 세포 형태를 관찰하였다.

세포 증식을 측정하기 위해서는, 세포 배양용 96-well plate에 HCT116 세포(5 × 10³ cell/well)를 분주하고, 24시간 후 1, 2, 4 mg/mL 농도의 들깨잎 추출물 또는 참깨잎 추출물을 함유한 배지를 이용하여 48시간 또는 72시간 동안 처리하였다. 이 때 최종적으로 세포에 처리되는 DMSO 농도는 120시간 처리 시까지 세포 생존 정도에 영향이 없음을 예비 실험을 통하여 확인하였던 0.5%(v/v) 이하가 되도록 조정하였다. 이후 0.5 mg/mL의 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide(MTT; Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA)를 함유한 배지로 갈아주고 4시간 동안 37° C에서 incubation 한 후 배지는 제거하고 환원된 formazan dye는 DMSO를 첨가하여 녹여내었다. 이어 plate reader를 이용하여 540 nm의 파장에서 흡광도를 측정하고, 깻잎 추출물이 처리된 세포의 생존 정도를 대조구 대비 %로 나타내었다.

6. 통계처리

본 연구를 통하여 얻어진 결과는 SPSS 프로그램을 이용하여 분석하였다. 들깨잎과 참깨잎 추출물의 총 폴리페놀 및 총 플라보노이드 성분 함량과 암세포 증식 억제 활성을 비교하기 위해서는 two-tailed student t-test를 실시하였고 p<0.05 일 때 유의적 차이가 있다고 판단하였다. 들깨잎 추출물, 참깨잎 추출물, L-ascorbic acid간의 radical 소거 활성 비교와 들깨잎 추출물, 참깨잎 추출물 각각의 처리 농도에 따른 암세포 증식 억제 활성의 변화는 one-way ANOVA를 이용하여 분석한 후 p<0.05일 때 사후 분석으로서 Tukey test를 실시하여 농도 간의 유의적 차이를 검증하였다.

III. 결과 및 고찰

1. 추출 수율

동결 건조한 깻잎 시료를 80% 에탄올로 추출하여 얻은 추출물의 수율은 Table 1과 같다. 들깨잎과 참깨잎 시료의 추출 수율은 각각 7.5%와 3.5%로, 두 시료에서 모두 10% 미만의 추출 수율을 나타내었다. 들깨잎의 에탄올 추출 수율은 선행 연구에서 약 1.5%(Bang CS 2007)와 11.8%(Kim JH와 Kim MK, 1999)로 보고된 바 있다. 이러한 추출수율의 차이는 연구마다 이용한 건조 깻잎 시료 중량 대비 추출 용매의 용량, 에탄올 % 함량 등의 추출 조건이 다르기 때문인 것으로 생각된다.

Table 1. Extraction yield of perilla and sesame leaves

Scientific name	Common name	Yield(%) ¹⁾
<i>Perilla frutescens</i> Britton	Perilla	7.5
<i>Sesamum indicum</i> L.	Sesame	3.5

¹⁾Extract(g)/dried leaf(g)

2. 총 폴리페놀 및 총 플라보노이드 함량

폴리페놀은 식물성 식품에 광범위하게 함유되어 있는 항산화 성분이고, 플라보노이드는 페놀 화합물에 속하면서 C6-C3-C6의 기본 구조를 가지는 화합물의 총칭이다. 본 연구에서는 대표적인 항산화 성분인 폴리페놀과 플라보노이드 함량을 측정하여 들깨잎과 참깨잎의 항산화 성분 함량을 비교하고자 하였다.

들깨잎과 참깨잎에 함유된 총 폴리페놀 함량을 측정한 결과는 Fig. 1과 같다. 들깨잎의 총 폴리페놀 함량은 408.7 ± 4.6 mg gallic acid equivalent/100 g으로, 들깨잎의 에탄올 추출물의 총 폴리페놀 함량을 보고하였던 Bang의 연구(Bang CS 2007) 결과(약 589 mg/100 g)보다는 다소 낮은 수준이었으나 Kim의 연구(Kim MJ 2010) 결과(약 160 mg/100 g)보다는 높은 수준이었다. 이는 각기 다른 연구에서 이용된 들깨잎 시료의 재배 조건 및 수확 시기 등이 다르고, 연구마다 추출 방법 및 조건에 다소 차이가 있기 때문인 것으로 생각된다. 여러 가지 쌈채소의 에탄올 추출물을 이용하여 총 폴리페놀 함량을 비교한 Bang의 연구에서, 들깨잎의 총 폴리페놀 함량은 뉴비트잎의 함량의 약 50% 수준이었으나, 적케일잎, 비트잎, 적겨자잎 등의 함량과는 비슷하였으며, 치커리, 양상추 등의 함량보다는 약 2-3배 높은 것으로 보고되었다(Bang CS 2007). 한국인 상용 과채의 에탄올 추출물을 이용하여 총 폴리페놀 함량을 비교한 Kim의 연구에서는, 들깨잎의 총 폴리페놀 함량은 홍고추, 취나물, 숙의 함량의 약 82-84% 정도로 약간 낮았으나, 그 밖의 36종의 채소의 총 폴리페놀 함량보다는 높았으며 특히 양상추, 무, 오이, 호박, 양배추, 당근 등의 함량보다는 약 5-15배 높은 것으로 보고되었다(Kim MJ 2010). Hwang 등의 연구에서 배추와 양배추 에탄올 추출물을 이용

하여 분석한 총 폴리페놀 함량은 약 30 mg/100 g으로 보고되었는데(Hwang ES 등 2012), 이는 본 연구에서 분석된 들깨잎의 총 폴리페놀 함량보다 매우 낮은 수준이었다. 본 연구에서 분석된 참깨잎의 총 폴리페놀 함량은 634.7 ± 1.2 mg gallic acid equivalent/100 g으로, 들깨잎의 총 폴리페놀 함량의 약 1.6배에 해당하는 함량이었다($p < 0.001$).

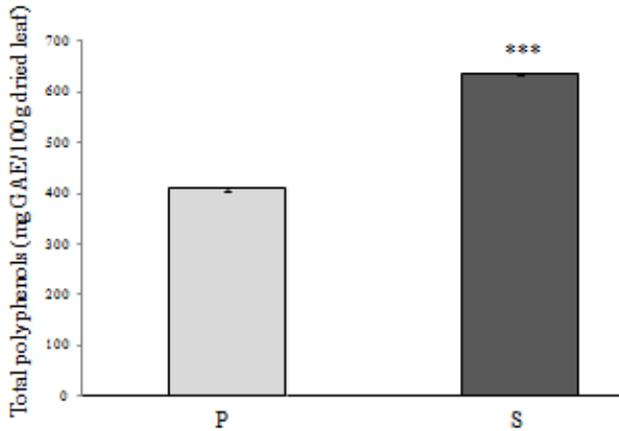


Fig. 1. Total polyphenol levels of perilla and sesame leaves P: perilla leaves; S: sesame leaves; GAE: gallic acid equivalent. All values are presented as mean \pm SD of ≥ 3 determinations. ***: Significant difference between P and S was found by two-tailed student t-test ($p < 0.001$).

들깨잎과 참깨잎에 함유된 총 플라보노이드 함량을 측정된 결과는 Fig. 2와 같다. 들깨잎의 총 플라보노이드 함량은 108.2 ± 3.7 mg quercetin equivalent/100 g로, 들깨잎의 에탄올 추출물을 이용하였을 때 총 플라보노이드 함량을 160 mg/100 g(Kim JH와 Kim MK, 1999) 혹은 215 mg/100 g(Bang CS 2007)으로 보고한 선행연구 결과보다 다소 낮았다. 이러한 결과 또한 총 폴리페놀 함량 결과와 마찬가지로, 각기 다른 연구에서 이용된 들깨잎의 재배 조건 및 수확 시기 등이 다르고 추출 방법 및 조건 등에 다소 차이가 있는 것과 관련이 있을 것으로 생각된다. Bang 등의 연구에서는 들깨잎의 총 폴리페놀 함량은 적케일잎, 양배추잎, 비트잎, 적겨자잎, 청겨자잎, 뉴비트잎 등의 함량보다 약 1.3-2.3배 높았으며, 특히 치커리 잎의 함량보다는 약 19배 높은 것으로 보고되었다(Bang CS 2007). Hwang 등의 연구에서 배추와 양배추의 총 플라보노이드 함량은 약 0.5 mg/100 g으로 보고되었는데(Hwang ES 등 2012), 이는 본 연구에서 분석된 들깨잎의 총 플라보노이드 함량의 약 0.5% 정도에 해당되는 수준이었다. 본 연구에서 분석된 참깨잎의 총 플라보노이드 함량은 166.7 ± 17.3 mg quercetin equivalent/100 g으로, 들깨잎의 총 플라보노이드 함량의 약 1.5배에 해당하는 함량이었다($p < 0.05$).

이렇듯 본 연구에서는 참깨잎의 총 폴리페놀 및 플라보노이드 함량이 들깨잎의 함량보다 더 높은 것으로 나타났다. 그러나 재배 조건 및 산지 등의 환경적인 요인에 의하여 깻잎의 총 폴리페놀 및 플라보노이드 함량이 달라질 수 있다.

따라서 산지 및 재배 조건에 따른 다양한 참깨잎 시료를 획득하고 이들의 총 폴리페놀 및 플라보노이드를 등의 항산화 성분 함량을 측정하여 들깨잎 시료의 함량과 비교하는 후속 연구가 필요할 것으로 생각된다. 한편 들깨잎에서는 caffeic acid, rosmarinic acid 등과 같은 cinnamic acid 유도체와 apigenin과 luteolin과 같은 플라본 등의 폴리페놀 성분이 추출분리된 바 있고(Meng L 등 2008), 폴리페놀 외에도 perillaldehyde, limonen, perillyl alcohol, perillic acid 등과 같은 성분이 분리된 바 있다(Duelund L 등 2012). 또한 2', 3'-dihydroxy-4', 6'-dimethoxychalcone이 항산화성 및 암세포 독성을 일으키는 들깨잎 함유 활성 물질로 보고된 바 있다(Izumi Y 등 2012). 참깨잎은 통상적으로 식용되지 않고 있기 때문에 항산화성을 비롯한 기능성을 나타내는 기능 성분에 관한 연구는 거의 전무한 실정이다. 앞으로 참깨잎에 함유된 폴리페놀을 비롯한 다양한 기능 성분 또한 분리·동정하는 연구가 필요할 것으로 생각된다. 아울러 들깨잎과 참깨잎에서 분리된 각 기능 성분의 함량을 들깨잎과 참깨잎에서 비교·분석하는 연구도 필요할 것으로 생각된다.

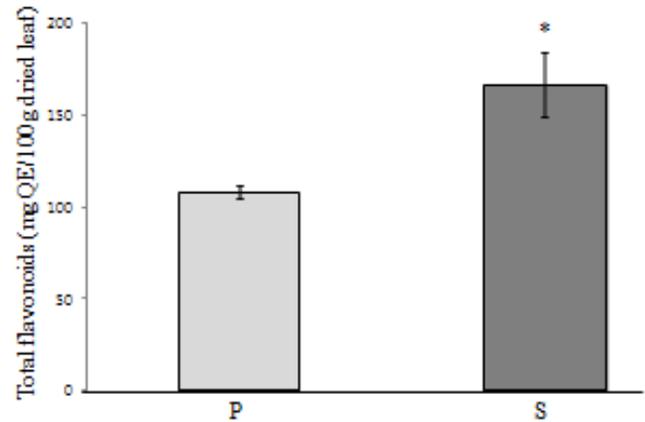


Fig. 2. Total flavonoid levels of perilla and sesame leaves P: perilla leaves; S: sesame leaves; QE: quercetin equivalent. All values are presented as mean \pm SD of ≥ 3 determinations. *: Significant difference between P and S was found by two-tailed student t-test ($p < 0.05$).

3. ABTS radical 및 DPPH radical 소거활성

들깨잎과 참깨잎 추출물의 ABTS radical 및 DPPH radical 소거활성은 각각 Fig. 3과 4와 같다. ABTS radical 소거활성은 들깨잎의 경우 46.0%, 참깨잎의 경우 78.9%로, 들깨잎 추출물 또는 참깨잎 추출물과 같은 농도(4 mg/mL)에서의 L-ascorbic acid 활성(94.5%)보다는 낮았다($p < 0.01$). 그러나 참깨잎의 활성은 들깨잎의 활성의 약 1.7배로, 참깨잎의 ABTS radical 소거활성이 들깨잎의 활성보다 유의적으로 높은 것으로 나타났다($p < 0.01$). DPPH radical 소거활성은 들깨잎의 경우 9.0%, 참깨잎의 경우 18.2%로 들깨잎 또는 참깨잎 추출물과 같은 농도(4 mg/mL)의 L-ascorbic acid의 활성(92.7%)보다는 모두 낮았지만, 참깨잎의 활성은 들깨잎의 활성의 약 2배에 달하였다

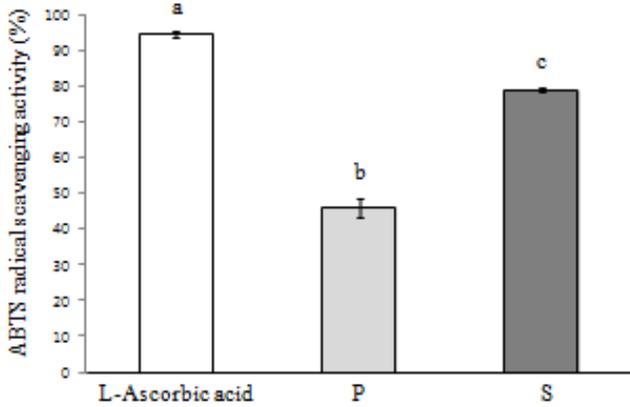


Fig. 3. ABTS radical scavenging activities of perilla and sesame leaf extracts

P: perilla leaves; S: sesame leaves. Same concentrations of P, S, and L-ascorbic acid (4 mg/mL) were used. All values are presented as mean \pm SD of ≥ 3 determinations. Different superscripts (a-c) mean significant difference among P, S, and L-ascorbic acid by one-way ANOVA followed by Tukey test ($p < 0.01$).

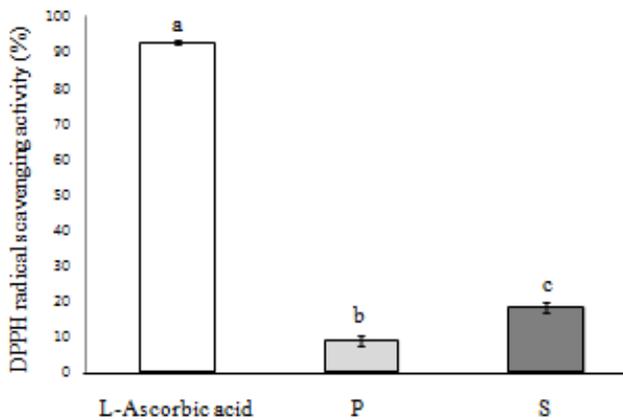


Fig. 4. DPPH radical scavenging activities of perilla and sesame leaf extracts

P: perilla leaves; S: sesame leaves. Same concentrations of P, S, and L-ascorbic acid (4 mg/mL) were used. All values are presented as mean \pm SD of ≥ 3 determinations. Different superscripts (a-c) mean significant difference among P, S, and L-ascorbic acid by one-way ANOVA followed by Tukey test ($p < 0.01$).

($p < 0.01$). 이와 같은 radical 소거활성 결과는 참깨잎의 총 폴리페놀 및 플라보노이드 함량이 들깨잎 함량의 약 1.5-1.6배로 측정된 것과 일치하는 결과로 생각된다. 총 7종의 채소의 에탄올 추출물을 이용하여 DPPH radical 소거활성을 비교한 Oh와 Lee의 연구에서, 들깨잎의 활성은 썩갯, 돌미나리의 활성보다는 낮았으나, 참깨의 활성과는 비슷하였으며, 돌나물의 활성보다는 높은 것으로 보고되었다(Oh SI과 Lee MS 2003). 같은 연구에서 들깨잎의 DPPH radical 소거활성은 특히 부추, 시금치의 활성보다는 현저히 높은 것으로 보고되었는데, 부추와 시금치의 DPPH radical 소거활성을 위한 IC50값은 들깨잎

의 IC50값의 약 23배와 408배에 각각 달하였다(Oh SI과 Lee MS 2003). 총 40종의 채소의 에탄올 추출물을 이용하여 DPPH radical 소거활성을 비교한 Kim의 연구에서, 들깨잎의 활성은 썩갯의 활성과 비슷한 수준이었고 이들의 활성은 다른 38종의 채소의 활성보다 높은 것으로 보고되었다(Kim MJ 2010). 특히 무, 오이, 팽이버섯 등의 DPPH radical 소거활성을 위한 IC50값은 들깨잎의 IC50값의 약 15-26배에 달하여, 들깨잎의 활성은 이들 채소의 활성에 비하여 월등히 높은 것으로 보고되었다(Kim MJ 2010).

4. 대장암세포의 형태 변화 및 증식 억제 활성

본 연구에서는 HCT116 인간 대장암세포를 이용하여 들깨잎 추출물 또는 참깨잎 추출물의 처리에 따른 암세포의 형태 변화를 관찰하고 암세포 증식 억제 활성을 측정하였다.

먼저 들깨잎 추출물 또는 참깨잎 추출물 처리에 따른 HCT116 세포의 형태 변화를 관찰한 결과는 Fig. 5와 같다. 추출물을 처리하지 않은 세포(대조구)는 모든 시점에서 안정적인 부착 상태를 유지하였고 시간이 경과함에 따라 HCT116 세포 특유의 형태를 유지하면서 잘 증식하고 있는 것을 관찰할 수 있었다. 그러나 들깨잎 추출물(1 mg/mL)을 처리한 세포는 대조구와 비교하였을 때 안정적으로 부착하여 잘 생존하고 있는 세포의 수는 현저히 감소하였고, 죽어서 떠다니는 세포의 수는 크게 증가한 것을 관찰할 수 있었다. 이러한 현상은 같은 농도의 참깨잎 추출물(1 mg/mL)을 처리한 세포에서도 발견되었는데, 그 정도는 더욱 심한 것으로 관찰되었다. 즉, 들깨잎 추출물이 처리된 세포에서보다 참깨잎 추출물이 처리된 세포에서, 잘 부착하고 있는 세포의 수는 더 적었고 죽어서 떠다니는 세포 수는 더 많은 것으로 관찰되었다.

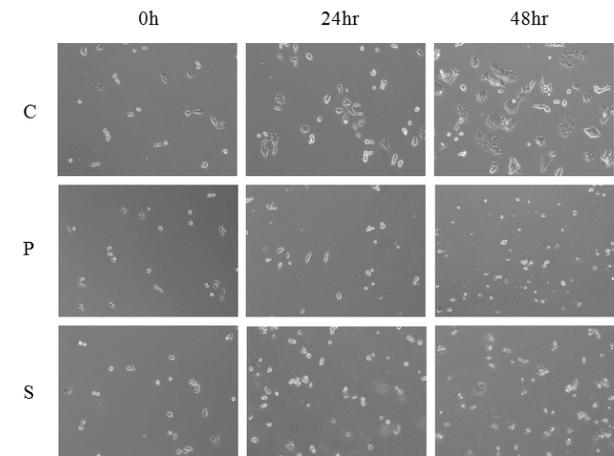


Fig. 5. Morphological changes of HCT116 colon cancer cells by perilla and sesame leaf extracts

C: control (treated with DMSO at the same concentration used for the treatment of perilla or sesame leaf extracts); P: perilla leaves; S: sesame leaves. HCT116 cells were treated with P or S extract at the concentration of 1 mg/mL for 24 hr and 48 hr. Representative area was selected in each treatment.

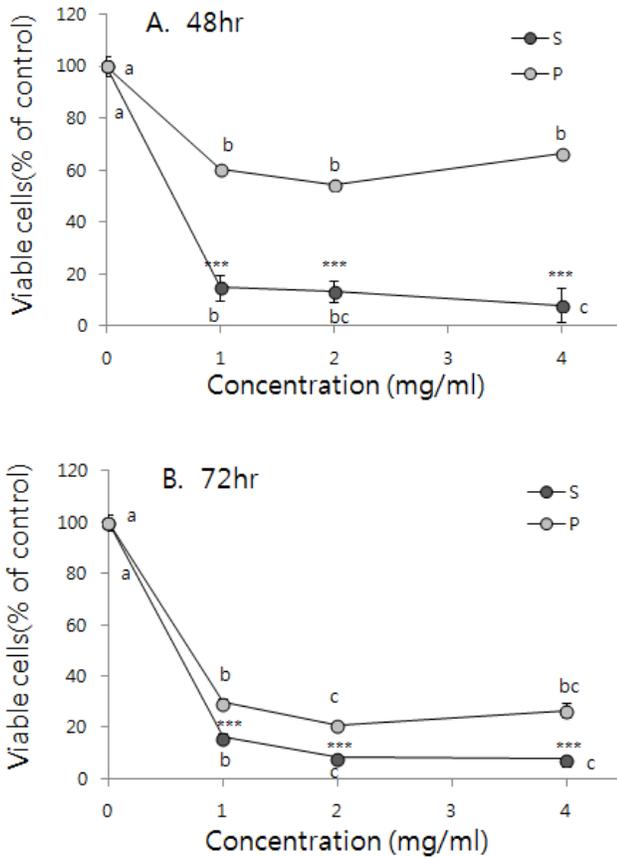


Fig. 6. Anti-proliferative activities of perilla and sesame leaf extracts in HCT116 colon cancer cells

P: perilla leaves; S: sesame leaves, HCT116 cells were treated with P or S extract at the concentration of 1, 2, and 4 mg/mL for 48 hr and 72 hr. All values are presented as % of DMSO-treated control in the mean \pm SE of 8 determinations. Different letters(a-c) mean statistical differences among different concentrations of same leaf extracts. ***: Statistical difference between anti-proliferative activities of P and S extracts at the same concentration was found by two-tailed student t-test ($p < 0.001$).

이어서 들깨잎과 참깨잎 추출물의 HCT116 세포 증식 억제 활성을 측정된 결과는 Fig. 6과 같다. 들깨잎 추출물 1, 2, 4 mg/mL을 48시간 처리하였을 때 세포 생존율은 각각 60, 55, 67%로, 33-45%의 세포 증식 억제 효과를 보였다($p < 0.05$). 들깨잎 추출물 1, 2, 4 mg/mL을 72시간 처리하였을 때는 각각 30, 21, 27%의 세포 생존율을 보여, 70-79%의 세포 증식 억제 효과를 나타내었다($p < 0.05$). 선행연구(Lee KY 1992)에서는 들깨잎의 메탄올 추출물을 본 연구에서 이용한 농도보다 낮은 농도(250 μ g/mL)에서 긴 시간(6일) 동안 처리하였을 때 약 98%의 HT29 대장암세포 증식 억제 효과가 있다고 보고한 바 있다. 본 연구 결과에서도 볼 수 있듯이 48시간에서 72시간으로 들깨잎 추출물의 처리 시간을 증가시켰을 때 증식억제 활성이 증가 하였으므로, 들깨잎 추출물을 더욱 긴 시간동안 처리한다면 본 연구에서 이용된 농도보다 낮은 농도에서도

활성이 커질 것으로 사료된다. Park 등의 연구에서는 비타닌 나무 잎의 에탄올 추출물(1 mg/mL)을 HT29 대장암세포에 24 시간 동안 처리하였을 때 약 60%의 증식억제 활성이 있다고 보고되었고(Park YH 등 2010), Jung 등의 연구에서는 나무딸기류 과일 5종의 에탄올 추출물(1 mg/mL)을 HT29 대장암세포에 24시간 동안 처리하였을 때 약 40-60%의 증식억제 활성이 보고되었다(Jung H 등 2012). 참깨잎 추출물의 경우에는, 1, 2, 4 mg/mL 농도에서 48시간 동안 처리하였을 때 각각 대조구의 활성 대비 15, 13, 8%의 세포 생존율을 보였고, 72시간 동안 처리하였을 때는 각각 대조구의 활성 대비 16, 8, 7%의 세포 생존율을 보여, 처리 시간에 큰 영향 없이 전반적으로 높은 세포 증식 억제 활성(84-93%)을 보였다. 또한 참깨잎의 대장암세포 증식 억제 활성은 실험에 이용된 모든 농도 및 시점에서 들깨잎의 활성보다 높았고($p < 0.001$), 특히 48시간 시점에서 그 차이가 두드러졌다. 이와 같은 결과를 기초로 하여, 앞으로 참깨잎과 들깨잎의 항암성을 비교 평가하는 *in vitro* 및 *in vivo* 연구가 필요할 것으로 생각된다.

IV. 요약

들깨잎은 독특한 향미가 있어 다양한 형태로 빈번히 식용되고 있는 반면 참깨잎은 특별한 향미가 없어 그 기호성이 낮아 거의 식용되지 않는 폐자원이다. 들깨잎의 경우 다양한 기능이 보고된 바 있으나, 참깨잎의 경우에는 통상적으로 식품으로 이용되는 자원이 아니기 때문에 그 기능성에 대한 연구가 전무한 실정이다. 이에 본 연구에서는 들깨잎과 참깨잎의 항산화 성분함량 및 활성을 비교하여, 참깨잎의 항산화 및 항암 기능성을 조명해 보고자 하였다. 식물성 식품에 널리 존재하는 대표적인 항산화 성분인 폴리페놀과 플라보노이드의 함량을 들깨잎과 참깨잎 추출물에서 측정된 결과, 참깨잎의 총 폴리페놀 및 총 플라보노이드 함량은 들깨잎의 함량의 약 1.5-1.6배 수준이었으며($p < 0.05$), 참깨잎의 ABTS radical 및 DPPH radical 소거활성 또한 들깨잎 활성의 약 1.7-2배 수준이었다($p < 0.01$). 또한 참깨잎은 들깨잎보다 대장암세포의 성장을 억제하는 활성이 높은 것으로 나타났다($p < 0.001$). 이러한 연구 결과는 향후 참깨잎의 항암성을 포함한 다양한 기능성 및 관련 작용기전을 규명하고, 나아가 참깨잎을 이용한 기능성 식품을 개발하기 위한 기초자료로 이용될 수 있을 것으로 생각된다. 또한 참깨잎의 기호성을 증진시키기 위한 조리과학적 연구 등과 같은 참깨잎의 식품학적 가치를 재조명하는 다양한 연구들이 앞으로 종합적으로 수행된다면, 이제까지 폐자원으로 여겨졌던 참깨잎의 새로운 자원화를 통한 경제적인 효과도 기대할 수 있을 것으로 생각된다.

V. 감사의 글

이 논문은 2012년도 정부(교육과학기술부)의 재원으로 한국

연구재단의 지원을 받아 수행된 기초연구사업 (NRF-2010-0025311)으로 이에 감사드립니다.

참고문헌

- 이창복. 2003. 대한식물도감. 향문사. 서울. pp 856-867
- 보건복지부. 2010. 2010 국민건강통계-국민건강영양조사 제5기 1차년도 통계집
- Ahn CY, Hyun KH, Park KH. 1992. Investigation of antioxidative substances in black sesame seed. *Korean J Food Sci Technol* 24(1):31-36
- Bang CS. 2007. Antioxidant and antiproliferative activities of the ethanol extracts from leafy vegetables. Master's thesis, Chungbuk National University. pp 24-36
- Hong EY, Kang HJ, Kwon CS, Nam YJ, Suh MJ, Kim JS. 1997. Modulation of cellular quinone reductase inducibility by roasting treatment and acid hydrolysis of perilla. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 26(2):186-192
- Duelund L, Amiot A, Fillon A, Mouritsen OG. 2012. Influence of the active compounds of perilla frutescens leaves on lipid membranes. *J Nat Prod* 75(2):160-166
- Hwang ES, Hong E, Kim G. 2012. Determination of bioactive compounds and anti-cancer effect from extracts of Korean cabbage and cabbages. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 25(2):259-265
- Izumi Y, Matsumura A, Wakita S, Akagi K, Fukuda H, Kume T, Irie K, Takada-Takatori Y, Sugimoto H, Hashimoto T, Akaike A. 2012. Isolation, identification, and biological evaluation of Nrf2-ARE activator from the leaves of green perilla (*Perilla frutescens* var. *crispa* f. *viridis*). *Free Radic Biol Med* 53(4):669-679
- Jung H, Lee HJ, Cho JL, Hwang KT. 2012. Antioxidant and anti-proliferative activities of rubus fruits in Korea. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 41(12):1649-1655
- Kim GJ, Kim YG, Kim HS. 1999a. Effect of perilla frutescens extract on the lipid contents of serum in streptozotocin-induced Rats. *J Agri Tech Dev Inst* 3:193-198
- Kim GJ, Kim YG, Kim HS. 1999b. Effect of perilla frutescens extract on the detoxification enzyme activity of hepatic lipid peroxidation in streptozotocin-induced rats. *J Agri Tech Dev Inst* 3:199-203
- Kim GJ, Kim YG, Kim HS. 1999c. Effect of perilla frutescens extract on the hepatic enzyme activities in streptozotocin-induced rats. *J Agri Tech Dev Inst* 3:205-212
- Kim JH, Kim MK. 1999. Effect of dried leaf powders and ethanol extracts of perilla frutescens, artemisia princeps var. orientalis and aster saber on lipid metabolism and antioxidative capacity in rats. *Korean J Nutr* 32(5):540-551
- Kim MK, Lee HS, Kim EJ, Won NH, Chi YM, Kim BC, Lee KW. 2007. Protective effect of aqueous extract of perilla frutescens on tert-butyl hydroperoxide-induced oxidative hepatotoxicity in rats. *Food Chem Toxicol* 45(9):1738-1744
- Kim MJ, Kim HK. 2009. Perilla leaf extract ameliorates obesity and dyslipidemia induced by high-fat diet. *Phyther Res* 23(12):1685-1690
- Kim MJ. 2010. Antioxidant activity by total polyphenolic contents of regularly consumed 60 vegetables and fruits in Korea. Master's thesis, Kyung Nam University. pp 27-33
- Kim YJ, Hwang SY, Son JY. 2009. Physiological activities of sesame, black sesame, perilla and olive oil extracts. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 38(3):280-286
- Kim SY. 2000. Determination of antioxidative components in sesame oil by HPLC. Master's thesis, Seoul Women's University. pp 24-27, 49-50
- Kwak CS, Yeo EJ, Moon SC, Kim YW, Ahn HJ, Park SC. 2009. Perilla leaf, perilla frutescens, induces apoptosis and G1 phase arrest in human leukemia HL-60 cells through the combinations of death receptor-mediated, mitochondrial, and endoplasmic reticulum stress-induced pathways. *J Med Food* 12(3):508-517
- Lee KY. 1992. Inhibitory effects of green-yellow vegetables on the mutagenicity induced by various mutagens and on the growth of human cancer cells. Doctorate thesis, Pusan National University. pp 55-58
- Lee KY, Rhee SH, Kim JO, Chung HY, Park KY. 1993. Antimutagenic and antioxidative effects of perilla leaf extracts. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 22(2):175-180
- Lim SY. 2009. Inhibitory effect of linum usitatissimum and perilla frutescens as sources of omega-3 fatty acids on mutagenicity and growth of human cancer cell lines. *J Life Sci* 19(12):1737-1742
- Meng L, Lozano YF, Gaydou EM, Li B. 2008. Antioxidant activities of polyphenols extracted from perilla frutescens varieties. *Molecules* 14(1):133-140
- Oh SI, Lee MS. 2003. Screening for antioxidative and antimutagenic capacities in 7 common vegetables taken by Korean. *J Korean*

Soc Food Sci Nutr 32(8):1344-1350

Park DS, Lee KI, Park KY. 2001. Quantitative analysis of dietary fibers from perilla frutescens seeds and antimutagenic effect of its extracts. J Korean Soc Food Sci Nutr 30(5):900-905

Park HS, Ahn B, Yang CB. 1990. Studies on the functional properties of sesame and perilla protein isolate. Korean J Food Sci Technol 22(3):350-356

Park YH, Lim SH, Ham HJ, Jeong HN, Lee KJ, Kim KH, Kim S. 2010. Comparison of biological activities of extracts from different parts of seabuckthorn (*Hippophae rhamnoides* L.). J Korean Soc Food Sci Nutr 39(7):975-979

Saita E, Kishimoto Y, Tani M, Iizuka M, Toyozaki M, Sugihara N, Kondo K. 2012. Antioxidant activities of perilla frutescens against low-density lipoprotein oxidation in vitro and in human subjects. J Oleo Sci 61(3):113-120

Ueda H, Yamazaki C, Yamazaki M. 2002. Luteolin as an anti-inflammatory and anti-allergic constituent of perilla frutescens. Biol Pharm Bull 25(9):1197-1202

Ueda H, Yamazaki C, Yamazaki M. 2003. Inhibitory Effect of perilla leaf extract and luteolin on mouse skin tumor promotion. Biol Pharm Bull 26(4):560-563

2012년 11월 13일 접수; 2012년 12월 13일 심사(수정); 2013년 3월 5일 채택