

건조 도라지 추출물 및 분획물의 총 페놀계 화합물 함량 및 인체 암세포 증식 억제효과

황성연 · 최향미 · 임선영*
한국해양대학교 해양환경생명과학부

Total Phenolics of Dried *Platycodon grandiflorum* and Its Effect on Growth of Human Cancer Cell Lines

Seong Yeon Hwang, Hyang Mi Choi, and Sun-Young Lim*
Division of Marine Environment & Bioscience, Korea Maritime University

Abstract We investigated the effects of extracts from dried *Platycodon grandiflorum* on total phenolic content and growth of cancer cell lines (HT-29 and AGS). Total phenolic contents of acetone/methylene chloride (A+M) extract and methanol (MeOH) fraction were 4.53 and 27.22 TAE mg/100 g, respectively. Among the fractions, *n*-butanol (*n*-BuOH) fraction contained the highest phenolic content. Treatments of crude extracts and fractions significantly inhibited the growth of HT-29 and AGS cancer cell lines ($p < 0.05$). Among the fractions, *n*-BuOH fraction exhibited the highest inhibitory effect and was then sub-fractionated by reverse phase flash column chromatography (rfc). The rfc 1-3 exhibited a higher inhibitory effect on proliferation of both cancer cells. The rfc 1 contained the highest phenol content. Our results showed that *n*-BuOH fraction possessed a potent inhibitory effect on proliferation of human cancer cells. We suggested that this anticancer activity was partially related to the content of phenolic compounds.

Keywords: *Platycodon grandiflorum*, total phenol content, human cancer cell, growth inhibition, anticancer

서 론

암은 국내 전체 사망률의 가장 높은 원인 중의 하나로 발생 원인에 대해서는 아직 명확하게 규명되지 않고 있으나 90% 이상이 물리적 환경 또는 화학물질에 노출됨으로써 발생하고 있으며 이러한 요인 중 식이가 40-60%을 차지한다고 알려졌다(1). 식품에 존재하는 발암 및 돌연변이 유발물질의 유형에는 천연식품 자체에 존재하는 물질, 식품의 저장, 가공 및 조리에서 생성되는 물질, 살충제, 농약 또는 식품첨가물과 같은 화학물질의 세 범주가 있다(2). 하지만 식품 중에는 이들 발암 및 돌연변이 유발물질 뿐만 아니라 항암 및 항돌연변이 물질도 상당량 존재하는 것으로 알려져 있어(3), 이에 따른 연구 및 기능성 식품 개발이 활발하게 이루어지고 있다. 인간의 암 발생이나 노화현상은 생체 내에서 산화되는 생리기능에 스트레스를 가하는 현상인 산화스트레스(oxidative stress)를 유발하는 자유기(free radical)에서 기인하는 것으로 알려져 있으며(4), 산화스트레스를 막기 위해 천연항산화제와 합성항산화제가 사용되고 있다. 그러나 대표적인 합성항산화제인 butylated hydroxy anisole (BHA)는 여러 연구 결

과 실험동물의 간에서 microsomal enzyme activity를 증가시킨다는 것이 알려지면서, 이들 합성항산화제의 안전성에 대하여 논란이 제기되어 현재는 그 사용량이 법적으로 규제되어 있다(5,6). 따라서 최근에는 일상적으로 섭취하고 있는 식용식품에서 천연항산화제를 탐색하는 연구가 활발히 진행되고 있으며, 현재 알려진 천연 항산화 영양성분으로는 β -carotene, 비타민 E, 비타민 C 등의 비타민과 Se 같은 미량무기질 및 페놀계 화합물들로 이들의 항암효과 또한 항산화 능력에 기인한다고 보고되었다(7,8). 특히 페놀계 화합물은 생체내에서 다양한 생리활성을 나타내는 것으로 알려져 천연물로부터 항산화 물질을 추출하려는 연구가 다각도로 이루어지고 있다(9).

도라지(*Platycodon grandiflorum*)는 초롱꽃과(Companulaceae)의 다년생초본의 뿌리로서 한국을 위시하여 중국 및 일본 등지에서 널리 자생하며 일반식용뿐만 아니라 다양한 약리작용으로 한방에서 약재로 사용되는 산채식품이다(10). 특히 한방에서는 도라지가 거담, 배농, 진해약, 편도염 등에 효과가 있으며 감기, 천식, 폐결핵에 거담제로 유용하며 늑막염에도 효과가 있는 것으로 알려졌다. 이러한 도라지의 효능이외에도 항염증작용, 중추신경 억제작용, 혈압강화작용, 용혈작용 및 항보체활성 등이 보고되었다(11,12). 그러나 도라지의 항산화 및 항암효과에 대한 연구는 미미하다. Kang 등(13)은 도라지 용매별 추출물들 중 특히 에틸아세테이트 분획물이 butylated hydroxy toluene (BHT)와 비슷한 강한 항산화 효과를 가진 물질을 함유하고 있다고 보고하였고 비타민 C 첨가로 인한 항산화 상승효과도 확인하였다. Nagao 등(14)은 도라지 추출물은 고형암 및 복수암에 대한 강력한 항종양 효능을 나타내었다고 보고하였다. 현재 도라지는 분말, 청, 즙, 환

*Corresponding author: Sun-Young Lim, Division of Marine Environment & Bioscience, Korea Maritime University, Busan 606-791, Korea
Tel: 82-51-410-4757
Fax: 82-51-404-4750
E-mail: sylim@hhu.ac.kr
Received July 31, 2012; revised November 5, 2012;
accepted December 11, 2012

의 가공식품형태로 시중에 유통, 판매되고 있으며 분말 형태가 활용도가 높고, 소비자들이 많이 찾는 경향이 있어 도라지 분말을 이용하여 실험하였다. 본 연구에서 저온진공건조기술(15)을 도입하여 건조과정 중 산소가 거의 차단되어 건조과정 중에 일어날 수 있는 부패와 변질을 최소화하여 도라지를 건조하였고 분말한 후 유기용매로 추출하여 도라지 추출물과 분획물들의 총 페놀계 화합물 함량 및 인체 암세포에 대한 증식 억제효과에 대해 검토하였다.

재료 및 방법

재료

본 실험에 사용된 도라지(*Platycodon grandiflorum*)는 부산 엄궁 농산물 시장에서 구입하여 저온진공건조기(STVD-50, SANYA, Busan, Korea)를 이용하여 상당포화온도 15-25°C, 절대압력 15-40 mmHg에서 24시간 건조시켜 도라지 분말(60 mesh)을 제조하였다.

추출 및 분획

건조된 도라지 분말은 실험 사용 전까지 -70°C의 deep freezer(NF-400SF, NIHON FREEZER, Tokyo, Japan)에 냉동 보관하였다가 유기용매 추출을 위하여 acetone:methylene chloride를 1:1 비율로 혼합하여 도라지 분말이 충분히 잠기도록 하여 24시간 방치한 후 추출하였다. 이 과정을 2회 반복하여 얻은 여액은 40°C 수욕 상에서 rotary vacuum evaporator(N-1000, EYELA, Tokyo, Japan)로 농축하여 acetone/methylene chloride 추출물(A+M)을 얻었다. A+M 용매로 추출되지 않은 성분을 methanol(MeOH)로 추출하고자 남은 잔사에 A+M와 동량의 MeOH로 위와 동일한 방법으로 2회 반복한 후 농축하여 MeOH 분획물을 얻었다. 두 용매로부터 최대 수득한 추출물을 혼합하여 다시 용매 극성에 따라 순차적으로 분획하여 *n*-hexane, 85% aqueous MeOH(85% aq. MeOH), *n*-butanol(*n*-BuOH), water 분획물을 얻었다. 실험에는 각각의 추출물들을 dimethyl sulfoxide(DMSO)에 녹여 세포배지로 필요한 농도로 희석하여 실험에 사용하였다.

Reverse phase flash column chromatography

건조 도라지의 *n*-BuOH 분획에 대해 MeOH와 water의 혼합용매를 사용하여 reverse phase(RP) flash column chromatography를 실시하였으며, 50%(rfc 1), 60%(rfc 2), 70%(rfc 3), 80%(rfc 4), 90% aq. MeOH(rfc 5) 용매 분획을 얻었다. 실험에는 각각의 분획물을 DMSO에 녹여 세포배지로 필요한 농도로 희석하여 실험에 사용하였다.

총 페놀계 화합물 함량 측정

총 페놀계 화합물 함량은 Folin-Denies법(16)을 응용하여 측정하였다. 도라지 추출물 및 용매별 분획물 100 µL을 증류수 1 mL에 녹이고, 10배 희석한 희석액 2 mL에 2배 희석한 Folin-Ciocalteu's phenol reagent 2 mL을 첨가하여 혼합한 다음 3분 동안 방치한 후 10% Na₂CO₃ 용액 2 mL을 넣고 1시간 동안 반응 시킨다. 반응이 끝난 후 UV-visible spectrometer(Helios beta, Thermo electron corporation, Waltham, MA, USA)를 사용하여 750 nm에서 흡광도를 측정하였다. 이때 표준물질로 tannic acid를 사용하였으며 시료와 동일한 방법으로 분석 후 얻은 표준곡선으로부터 총 페놀계 화합물 함량을 TAE(tannic acid equivalent)로 나타내었다.

세포 배양

한국 세포주 은행(Seoul, Korea)으로부터 인체 결장암세포(HT-29), 인체 위암세포(AGS)를 분양받아 본 실험실에서 배양하면서 실험에 사용하였다. HT-29 세포와 AGS 세포는 100 units/mL의 penicillin-streptomycin(GIBCO, Gaithersburg, MD, USA)과 10% FBS (Hyclone, Logan, UT, USA)가 함유된 RPMI 1640(GIBCO)을 사용하여 37°C, 5% CO₂ incubator(MCO-15AC, SANYO Electric Biomedical Co., Tokyo, Japan)에서 배양하면서 배양 중인 세포를 일주일에 2번 새로운 배지로 바꿔주었다. 일주일 후 phosphate buffered saline(PBS)으로 세척한 뒤 0.05% trypsin-0.02% EDTA (GIBCO)로 부착된 세포를 분리하여 원심분리 한 후 집적된 암세포에 배지를 넣고 피펫으로 암세포가 골고루 분산되도록 잘 혼합하여 cell culture flask에 10 mL씩 일정한 수로 분할하여 주입하고, 6-7일마다 계대 배양하면서 실험에 사용하였다.

MTT assay

배양된 암세포는 96-well cell culture plate에 5×10⁴ cells/mL이 되도록 100 µL씩 분주하여 37°C, 5% CO₂ incubator에서 24시간 배양한 후 배지는 제거한 뒤 각 시료를 배지로 희석하여 각 well 당 100 µL씩 첨가하고, 대조군에는 시료 대신 PBS를 100 µL씩 첨가하였다. 이 plate를 다시 37°C, 5% CO₂ incubator에서 24시간 배양하였다. 배양 후 3-(4,5-dimethylthiazol)-2,5-diphenyltetrazolium bromide(MTT) assay(17)를 위하여 MTT 시약 5 mg을 PBS 1 mL로 녹인 후, 10% FBS가 함유된 배지 9 mL와 희석하여 100 µL를 첨가하고 3-4시간 동안 더 배양하여 MTT가 환원되도록 하였다. 배양종료 후 생성된 formazan 결정을 가라앉힌 후 각 well에 형성된 결정이 흐트러지지 않도록 주의하면서 반응 후 남은 MTT가 처리된 배지를 제거하였다. 배지가 제거된 각 well에 formazan 결정을 용해시키기 위하여 DMSO를 100 µL씩 분주하여 5-10분간 반응시켜 microplate reader(VICTOR3, Perkin Elmer, Waltham, MA, USA)로 540 nm에서 흡광도를 측정하였다. 이 흡광도는 MTT가 세포에 의해서 환원된 양을 나타내며, 따라서 각 well에 존재하는 세포의 생존 수와 비례한다.

통계분석

실험결과는 Mean±SEM(Standard Error of Mean)으로 나타내었고 분석된 실험 데이터는 대조군과 각 시료로부터 얻은 실험 자료로부터 *t*-test를 실시하여 유의성을 검증하였고 총 페놀 함량의 경우 one-way ANOVA를 실시하여 유의성이 있을 경우에 post-hoc test로 Duncan's multiple range test를 실시하여 95% 수준에서 유의성을 검증하였다. 총 페놀 함량과 암세포 증식 억제 효과간의 상관관계를 알아보기 위하여 각 항목 양자 간의 상관계수를 도출하여 비교하였다.

결과 및 고찰

건조 도라지 추출물 및 분획물의 총 페놀계 화합물 함량

건조 도라지의 추출물 및 분획물의 총 페놀 함량은 Table 1에 나타내었다. A+M 및 MeOH 분획물은 각각 4.53 및 27.22 TAE mg/100 g 페놀계 화합물 함량을 나타내었고 도라지 추출물을 용매의 극성에 따라 *n*-hexane, 85% aq. MeOH 및 *n*-BuOH, water로 다시 추출하여 얻어진 분획물들은 각각 1.29, 0.95, 14.82 및 8.25 TAE mg/100 g의 페놀계 화합물 함량을 나타내었다. *n*-BuOH 분획물을 RP flash column chromatography로 분획하여 얻은 분획

Table 1. Total phenol content of solvent extracts/fractions from dried *Platycodon grandiflorum*

Samples	Total phenolic content (TAE mg/100 g) ¹⁾
A+M extract	4.53±0.13 ^b
MeOH fraction	27.22±0.83 ^a
Fractions	
<i>n</i> -Hexane	1.29±0.01 ^c
85% aq. MeOH	0.95±0.02 ^d
<i>n</i> -BuOH	14.82±0.77 ^a
Water	8.25±0.33 ^b
<i>n</i> -BuOH fraction	
rfc 1	1.27±0.05 ^a
rfc 2	0.27±0.00 ^b
rfc 3	0.18±0.00 ^c
rfc 4	0.04±0.00 ^d
rfc 5	0.03±0.00 ^d

¹⁾mg/100 g of dried *Platycodon grandiflorum*

The values were expressed as the mean±SEM and values with different superscripts within a column were significantly different at $p<0.05$ by Duncan's multiple range test. A+M, acetone with methylene chloride extract; MeOH, methanol fraction; *n*-Hexane, *n*-hexane fraction; 85% aq. MeOH, 85% aqueous methanol fraction; *n*-BuOH, *n*-butanol fraction; Water, water fraction

물 rfc 1-5의 페놀계 화합물 함량을 측정된 결과, rfc 1은 1.27 TAE mg/100 g 페놀계 화합물 함량을 나타내어 다른 분획물들과 비교했을 때 유의적으로 높았고 rfc 2-5는 각각 0.27, 0.18, 0.04 및 0.03 TAE mg/100 g의 페놀계 화합물 함량을 나타내었다. Jeong 등(18)은 도라지의 총 페놀계 화합물 함량 측정실험에서 chloroform, water 및 butanol 분획물들을 각각 비교한 결과 butanol 분획물에서 총 페놀계 화합물 함량이 높은 것으로 확인하였다. 이러한 결과는 본 연구결과와 유사하여 *n*-BuOH 분획물에서 총 페놀계 화합물 함량이 가장 높았고 선행된 연구(19)에서 용매별 분획물들 중 *n*-BuOH 분획물에 의한 세포내 활성산소종 억제 효과가 가장 높았음을 확인하였다. Kim 등(20)은 자생식물과 생약자원 추출물의 폴리페놀, 플라보노이드 함량과 항산화능의 상관관계를 분석한 결과 양의 상관관계는 플라보노이드 함량과 항산화능의 관계에서만 나타났고 항산화능과 폴리페놀계 화합물 함량 그리고 폴리페놀계 화합물 함량과 플라보노이드 함량간에는 상관관계가 나타나지 않았다고 보고하였다. 따라서 폴리페놀계 화합물 종류에 따라 항산화능의 차이가 있을 것으로 여겨지며 폴

리페놀계 화합물 중 특정 성분에 기인하는 것으로 해석되고 있다. Lee 등(21)은 도라지 추출물을 silica gel column을 이용하여 석유에테르와 에틸에테르를 구배하여 얻은 분획물 I-V의 총 페놀 함량을 측정된 결과 분획물 II에서 가장 높은 페놀 함량이 측정되어 이 분획물이 강력한 항산화 및 항암활성을 가진 화합물을 함유하고 있다고 보고하였다. 페놀계 화합물은 생체 내에서 항산화, 암 예방 및 비만 억제 효능 등 다양한 생리활성을 나타내는 것으로 알려져 천연물로부터 항산화 및 항암 물질을 추출하려는 연구가 이루어지고 있다(22).

인체 암세포 증식 억제효과

건조 도라지 추출물 및 분획물의 인체 암세포 증식 억제효과를 조사하기 위해 MTT assay를 행하였다. Fig. 1은 건조 도라지의 A+M 추출물과 MeOH 분획물을 0.05에서 1 mg/mL의 여러 농도로 인체 결장암세포(HT-29)에 처리했을 때 인체 암세포 증식 억제효과를 나타낸 것이다. 저온건조건조방법으로 건조된 도라지 분말의 A+M 추출물 및 MeOH 분획물은 대조군과 비교했을 때 HT-29 세포의 증식을 유의적으로 억제시켰다($p<0.05$). A+M 추출물을 1 mg/mL 첨가농도로 처리했을 때 91%의 높은 억제효과를 나타내었으며($p<0.05$), IC_{50} 은 0.38 mg/mL이었다. MeOH 분획물의 경우, 0.5 및 1 mg/mL의 첨가농도에서 90%이상의 암세포 증식 억제효과를 나타내었고($p<0.05$), IC_{50} 은 0.27 mg/mL로 HT-29 세포에 대한 증식 억제효과가 A+M 추출물보다 높게 나타났다. Fig. 2는 인체 위암세포(AGS)에 대한 결과를 나타낸 것으로, A+M 추출물은 1 mg/mL의 첨가농도에서 92%의 높은 억제효과를 나타내었으며($p<0.05$), IC_{50} 은 0.38 mg/mL이었다. MeOH 분획물의 경우, 0.5 및 1 mg/mL의 첨가농도에서 90% 이상의 암세포 증식 억제효과를 나타내었고, IC_{50} 은 0.26 mg/mL로 각 추출물들은 HT-29 세포의 결과와 유사하였다. 건조 도라지의 분획물들을 농도별로 HT-29 암세포에 처리하였을 때(Fig. 3), 농도 의존적으로 암세포의 증식을 억제하였고, 특히 *n*-BuOH 분획물에 의한 저해 활성이 가장 높았다. *n*-BuOH 분획물의 경우 0.1 mg/mL 이상의 농도에서 90% 이상의 높은 암세포 증식 억제효과를 나타내었으며($p<0.05$) (Fig. 3C), IC_{50} 은 0.04 mg/mL이었다. *n*-Hexane과 85% aq. MeOH 분획물의 경우, 각각 0.81 및 0.35 mg/mL의 IC_{50} 값을 나타내었다($p<0.05$)(Fig. 3A, 3B). Fig. 4는 AGS 암세포에 대한 저해효과로 건조 도라지 분획물들을 농도별로 처리하였을 때 HT-29 세포와 유사하게 *n*-BuOH 분획물에 의한 저해 활성이 높았다. *n*-BuOH 분획물의 경우 0.5 mg/mL 이상의 농도에서 90% 이상의 높은 암세포 증식 억제효과를 나타내었으며($p<0.05$) (Fig. 4C), IC_{50} 은 0.06 mg/mL이었다. *n*-Hexane 및 85% aq. MeOH 분획물의

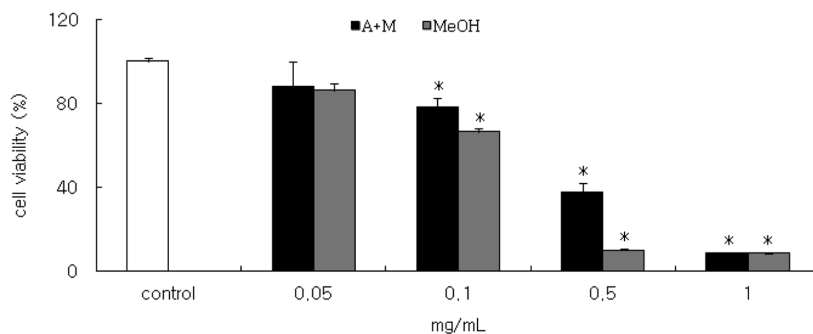


Fig. 1. Inhibitory effects of acetone/methylene chloride (A+M) extract and methanol (MeOH) fraction of dried *Platycodon grandiflorum* on the growth of HT-29 human colon cancer cells. A+M, acetone with methylene chloride extract; MeOH, methanol fraction. * $p<0.05$, significant effect between the control and each extract

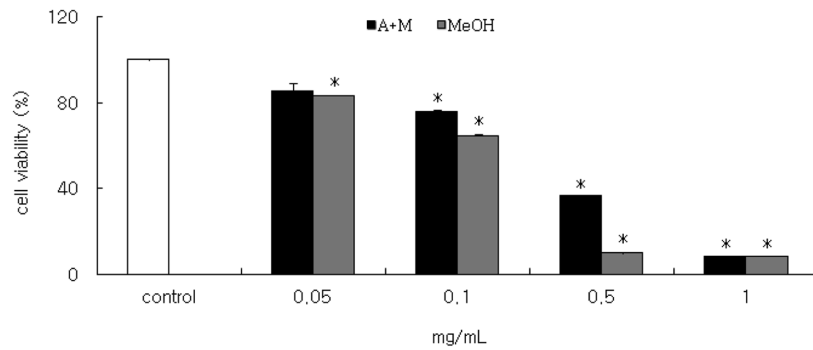


Fig. 2. Inhibitory effects of acetone/methylene chloride (A+M) extract and methanol (MeOH) fraction of dried *Platycodon grandiflorum* on the growth of AGS human gastric adenocarcinoma cells. A+M, acetone with methylene chloride extract; MeOH, methanol fraction. * $p < 0.05$, significant effect between the control and each extract

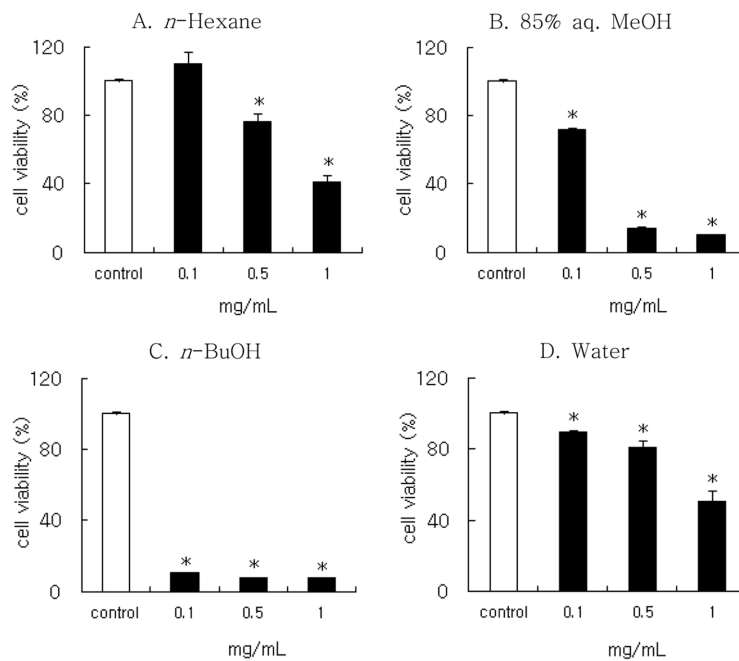


Fig. 3. Inhibitory effects of fractions of extracts from dried *Platycodon grandiflorum* on the growth of HT-29 human colon cancer cells. n-Hexane, n-hexane fraction; 85% aq. MeOH, 85% aqueous methanol fraction; n-BuOH, n-butanol fraction; Water, water fraction * $p < 0.05$, significant effect between the control and each fraction

IC₅₀은 각각 0.72 및 0.25 mg/mL이었으며 HT-29 세포와 비교하여 더 높은 암세포 억제효과를 나타내었다. 총 페놀 함량은 85% aq. MeOH 분획물에서 가장 높게 나타났으나 건조 도라지의 추출물과 분획물들 중 특히 n-BuOH 분획물의 억제효과가 높게 나타났으므로, 활성 성분의 분리를 위해 n-BuOH 분획물을 RP flash column chromatography로 분획하였다. Fig. 5는 0.001에서 0.05 mg/mL의 농도로 HT-29 세포에 처리했을 때 인체 암세포 증식 억제효과를 나타낸 것으로 0.05 mg/mL 농도의 경우 rfc 1-5의 분획물에서 90% 이상의 높은 억제효과를 나타내었으며($p < 0.05$), rfc 1-3의 경우, 0.005 mg/mL 이상의 농도에서 80% 이상의 억제율을 나타내었다($p < 0.05$). Fig. 6은 AGS 세포에 대한 결과를 나타낸 것으로, HT-29 세포와 마찬가지로 rfc 1-3의 분획물이 0.005 mg/mL 이상의 농도에서 높은 암세포 증식 억제효과를 나타내었다($p < 0.05$). Kim 등(23)은 다년생 도라지(장길)의 항암 활성을 살펴본 결과 복수암에 대한 항암효과는 대조군과 비교했을 때, 장길 투여군의 생존일수 연장율이 128%로 나타났으며, 고형암에 대한

항암효과에서도 장길 투여군의 중앙치사율이 62%로 나타나 강력한 항암활성을 보였다고 보고하였다. 또한 암세포 접착 저해활성에서도 장길 추출물의 농도가 0.125 mg/mL 이상일 때 암전이를 크게 억제함을 확인하였다. Nagao 등(14)은 도라지의 이눌린 성분만을 추출하여 실험한 결과 경구투여시 복수암에서 30일 이상 생존이 2마리이고 생존일수 연장율이 131%로 나타났다고 보고하였다. Lee 등(24)은 도라지의 물과 석유에테르 추출물의 세포 증식 억제효과를 mouse DBA/2 strain 유래의 백혈병성 임파모세포인 L1210과 인체 결장암세포인 HCT-48 및 직장암세포인 HRT-18을 대상으로 분석한 결과 수용성 추출물보다는 석유에테르추출물이 모든 암세포에 대하여 현저히 높은 항암효과를 나타내었다고 보고하였다. Shon 등(25)에 의하면 장생도라지 메탄올 추출물의 농도 증가에 따른 돌연변이 억제 효과는 높았으며, 메탄올 추출물의 분획물 중 에틸아세테이트층과 부탄올층에서 돌연변이 억제효과가 높았고 장생 도라지의 약리 성분은 사포닌을 비롯한 아미노산, 섬유소 및 indole 화합물의 효과로 추정하였다.

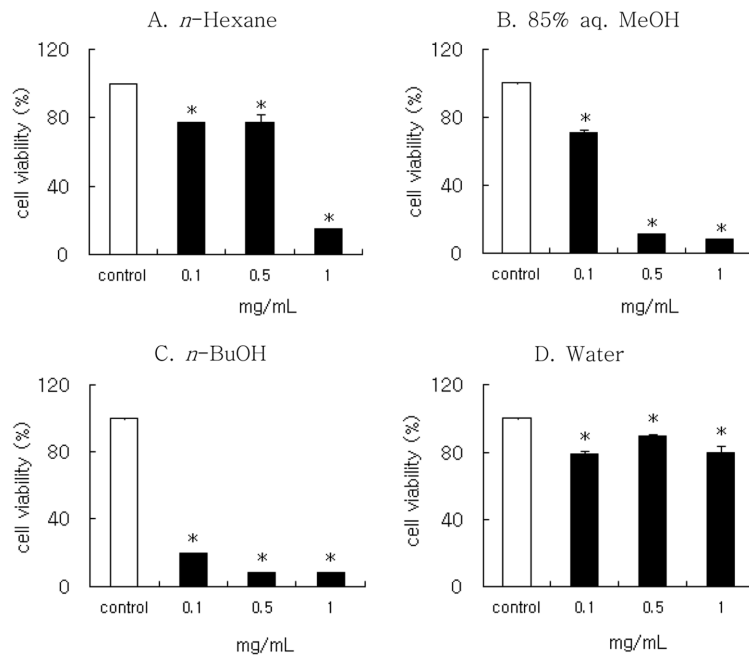


Fig. 4. Inhibitory effects of fractions of extracts from dried *Platycodon grandiflorum* on the growth of AGS human gastric adenocarcinoma cells. *n*-Hexane, *n*-hexane fraction; 85% aq. MeOH, 85% aqueous methanol fraction; *n*-BuOH, *n*-butanol fraction; Water, water fraction. * $p < 0.05$, significant effect between the control and each fraction

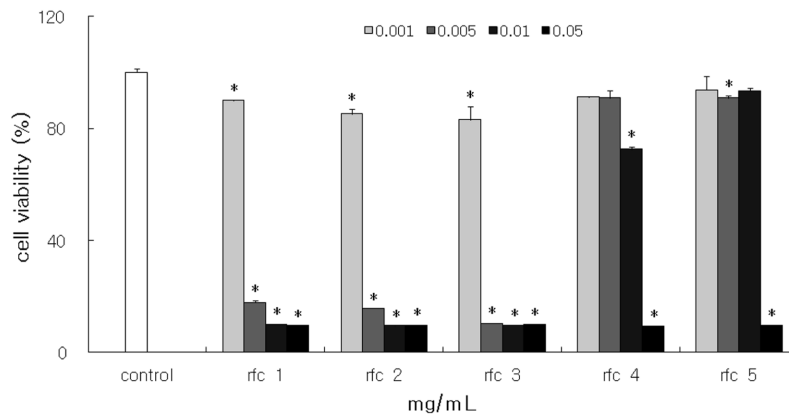


Fig. 5. Inhibitory effects of rfc 1-5 of *n*-BuOH fraction from dried *Platycodon grandiflorum* on the growth of HT-29 human colon cancer cells. * $p < 0.05$, significant effect between the control and each extract

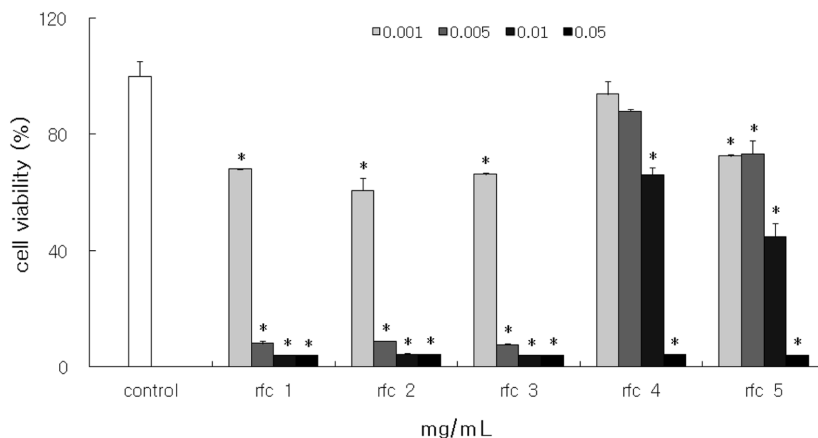


Fig. 6. Inhibitory effects of rfc 1-5 of *n*-BuOH fraction from dried *Platycodon grandiflorum* on the growth of AGS human gastric adenocarcinoma cells. * $p < 0.05$, significant effect between the control and each extract

건조 도라지 추출물 및 분획물의 총 페놀계 화합물 함량과 암세포 증식 억제활성간의 상관관계를 살펴 본 결과 총 페놀계 화합물 함량과 위암세포주(AGS)와 결장암세포주(HT-29) 세포독성간에 각각 $r^2=0.4232$ 와 $r^2=0.4156$ 의 상관관계를 나타내었다. 따라서 이상의 결과로부터 도라지의 항산화 및 암세포 증식 억제효과는 페놀계 화합물들 및 페놀 화합물들 중 특정 성분과 관련이 있는 것으로 추정되며 *n*-BuOH 분획물의 rfc 1-3 분획물들이 암세포 성장 억제효과를 나타내는 활성물질을 함유하는 것으로 여겨지며 분리 정제를 통하여 손쉽게 접할 수 있는 도라지를 이용한 기능성 식품 개발이 필요할 것으로 여겨진다.

요 약

본 연구에서는 도라지를 건조한 후 분말화하여 유기용매로 추출하여 도라지 추출물 및 분획물의 총 페놀계 화합물 함량 및 인체 암세포에 대한 증식 억제효과에 대해 검토하였다. 건조 도라지의 총 페놀계 화합물 함량 측정 실험에서 A+M 추출물과 MeOH 분획물은 각각 4.53 및 27.22 TAE mg/100 g의 페놀계 화합물 함량을 나타내었으며, 건조 도라지 분획물들 중 *n*-BuOH 분획물은 14.82 TAE mg/100 g로 가장 높은 페놀계 화합물 함량을 나타내었다. *n*-BuOH 분획물을 다시 RP flash column chromatography로 분획하여 얻은 분획물들(rfc 1-5) 중 rfc 1은 다른 분획물들보다 유의적으로 높은 페놀계 화합물 함량을(1.27 TAE mg/100 g) 나타냈다. 건조 도라지 추출물의 인체 암세포들(HT-29 및 AGS)에 대한 증식 억제효과 실험에서 A+M 추출물 및 MeOH 분획물은 인체 암세포 증식을 유의적으로 억제하였으며($p<0.05$) 두 암세포에 대한 증식 억제효과에는 차이가 없었다. 건조 도라지 분획물들을 농도별로 처리하였을 때에도 *n*-BuOH 분획물의 IC₅₀이 0.06 mg/mL로 가장 활성이 높았고 *n*-BuOH 분획물의 rfc 1-5를 암세포에 0.001-0.05 mg/mL의 농도로 처리했을 때 rfc 1-3의 경우, 0.005 mg/mL 이상의 농도에서 높은 암세포 증식 억제효과를 나타내었다. 이상의 연구결과로부터 건조 도라지의 *n*-BuOH 분획물에 의한 강력한 암세포 증식 억제효과는 높은 함량의 페놀계 화합물에 기인한 것으로 여겨지며 향후 분획물의 분리 정제를 통한 새로운 기능성 물질의 개발이 필요할 것으로 사료된다.

감사의 글

본 과제(결과물)은 국토해양부의 지원으로 수행한 해양에너지 전문인력 양성사업의 연구결과입니다.

문 헌

1. Doll R, Peto R. The cause of cancer; quantitative estimate of avoidable risks of cancer in the United States today. *J. Natl. Cancer Inst.* 66: 1191-1308 (1981)
2. Sugimura T, Sato S. Mutagens-carcinogens in foods. *Cancer Res.* 43: 2415s-2421s (1983)
3. Renner HW. *In vivo* effect of single or combined dietary antimutagens on mutagens-induced chromosomal aberrations. *Mutat. Res.* 244: 185-188 (1990)
4. Biesalski HK. Free radical theory of aging. *Curr. Opin. Clin.*

- Nutr. 5: 5-10 (2002)
5. Brannen AL. Toxicology and biochemistry of butylated hydroxy toluene and butylated hydroxy anisole. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 52: 59-63 (1975)
6. Ito N, Fukushima S, Hasebawa A. Carcinogenicity of BHA in F344 rats. *J. Natl. Cancer Inst.* 70: 343-352 (1983)
7. Kromhout D. Essential micronutrients in relation to carcinogenesis. *Am. J. Clin. Nutr.* 45: 1361-1467 (1987)
8. Park SJ, Park DH, Kim SS, Gon J, Lee HY. Chemical compositions of fermented *Codonopsis lanceolata*. *J. Food Sci. Nutr.* 38: 396-400 (2009)
9. Kang MH, Choi CS, Kim ZS, Chung HK, Min KS, Park CG, Park HW. Antioxidant activities of ethanol extract prepared from leaves, seed branch, and aerial part of *Crotalaria sessiflora* L. *Korean J. Food Sci. Technol.* 34: 1098-1102 (2002)
10. Kim AJ, Han MR, Jeoung KH, Cho JC, Park WJ, Han CW, Chang KH. Physiological evaluation of Korea ginseng, *deoduk* and *doragi* pickles. *Korean J. Food Nutr.* 4: 443-447 (2008)
11. Kim HD, Lee JW. Analysis of components of saponin from ginseng, platycodon, and Japanese touchwood. *Korean Soc. Food Nutr.* 21: 91-96 (1972)
12. Tada T, Kaneiwa Y, Shoji J, Shibata S. Saponins of the root of *P. grandiflorum*. Isolation and the structure of *platycodin*. *Chem. Pharm. Bull.* 23: 2965-2969 (1975)
13. Kang BY, Kim M, Bae SJ. Enhancement of antioxidation effect of *Platycodon grandiflorum* with vitamin C on the DLPC liposomes. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 31: 506-510 (2002)
14. Nagao T, Matsuda H, Namba K, Kubo M. Immune pharmacological studies on platycodi radix II : Antitumor activity of inulin from *Platycodi radix*. *Shoyakugaku Zasshi.* 40: 375-380 (1986)
15. Kim KK, Sung BY, Jung HS, Choi SY, Moon SB. A study on the thermal characteristics of the large low temperature vacuum dryer for biological drying. *J. Korean Soc. Marine Eng.* 24: 427-434 (2000)
16. Folin O, Denis W. On phosphotungstic-phosphomolybdic compounds as color reagents. *J. Biol. Chem.* 12: 239-249 (1912)
17. Denizot F, Lang R. Rapid colorimetric assay for cell growth and survival: Modifications to the tetrazolium dye procedure giving improved sensitivity and reliability. *J. Immunol. Methods* 89: 271-277 (1986)
18. Jeong CH, Choi GN, Kim JH, Kwak JH, Kim DO, Kim YJ, Heo HJ. Antioxidant activities from the aerial parts of *Platycodon grandiflorum*. *Food Chem.* 118: 278-282 (2010)
19. Jang JR, Hwang SY, Lim SY. Inhibitory effect of extracts of *platycodon grandiflorum* (the balloon flower) on oxidation and nitric oxide production. *Korean J. Food Preserv.* 18: 65-71 (2011)
20. Kim EJ, Choi JY, Yu M, Kim MY, Lee S, Lee BH. Total polyphenols, total flavonoid contents, and antioxidant activity of Korean natural and medicinal plants. *Korean J. Food Sci. Technol.* 44: 337-342 (2012)
21. Lee JY, Hwang WI, Lim ST. Antioxidant and anticancer activities of organic extracts from *Platycodon grandiflorum* A. De Candolle roots. *J. Ethnopharmacol.* 93: 409-415 (2004)
22. Frei B, Higdon JV. Antioxidant activity of tea polyphenols *in vitro*: Evidence from animal studies. *J. Nutr.* 133: 3275-3284 (2003)
23. Kim YS, Lee BE, Kim KJ, Lee YT, Cho KB, Chung YC. Antitumor and immunomodulatory activities of the *P. grandiflorum* cultivated for more than 20 years. *Yakhak Hoeji* 42: 382-387 (1998)
24. Lee JY, Hwang WI, Lim ST. Effect of *Platycodon grandiflorum* DC extract on the growth of cancer cell lines. *Korean J. Food Sci. Technol.* 30: 13-21 (1998)
25. Shon MY, Seo JK, Kim HJ, Sung NJ. Antimutagenic effect of extract of *Platycodon grandiflorum*. *Korean J. Food Sci. Technol.* 33: 651-655 (2001)