천년초 꽃잎의 생리활성

정복미⁺ · 신미옥¹

전남대학교(여수) 영양식품학전공 · ¹양산대학교 커피바리스타제과과

Physiological Activities of *Opuntia humifusa* Petal

Bok-Mi Jung⁺ and Mi-Ok Shin¹

Major in Food Science and Nutrition, Chonnam National University(Yeosu)

¹Department of Coffee Barista Confectionery, Yangsan University

Abstract

This study was conducted to investigate antimicrobial, antioxidant and anticancer activities of *Opuntia humifusa* (OH) petal extracts. The methanol and hexane extracts of OH petals showed their highest antimicrobial activity against *Clostridium perfringens*. The OH petal butanol fraction had the best antioxidative peroxynitrite scavenging activity among OH petal extracts. The DPPH scavenging activity of OH petals was lower than the peroxynitrite scavenging effect. The hexane and methanol fractions at a concentration of 200 µg/mL inhibited proliferation >80% in four kinds of human cervical cancer cells(B16F10, HepG2, HT-29 and MCF-7). In particular, the anticancer effect against B16F10 human skin cancer cells at the same concentration was higher than that in the other cancer cells.

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

1. 서론

천년초(*Opuntia humifusa*, OH)는 선인장과 식물로 부채선인장아과(Opuntioideae) 부채선인장(Opuntia)속으로 부르며, 줄기의 형태가 손바닥과 비슷하여 손바닥선인장으로 불린다(In JG 등 2006). 천년초는 5월부터 6월까지 노란 꽃이 피고, 뿌리에서는 삼 냄새가 나서 태삼이라고 불린다(Lee DH

2011). 가을에는 붉은 열매를 수확하며, 겨울에는 비닐하우스가 없는 노지에서 영하의 혹한에도 자체의 수분을 절반으로 감소시켜 얼어 죽지 않고 생명력을 유지하는 특성을 갖고 있다. 또한, 병충해에 죽지 않아 농약 등 제초제나 화학비료를 사용하지 않으며 자연 상태 그대로 재배한다(Cha MN 2010).

천년초의 가시를 제외한 줄기, 열매, 뿌리, 꽃은 각각의 영양성분 및 색소가 함유되어 있어 상품가치가 뛰어나며, 각각의 특성을 살려 제품화가 가능하다. 특히 천년초는 페놀성 물질과 플라보노이드, 식이섬유, 비타민 C, 칼슘, 무기질 및 아미노산, 복합 다당류 등과 인체에 중요한 각종 영양성분을 함유하고 있으며(Cho IK 등 2009), 그 중에서도 식이섬유소와 칼슘은 다른 식물에 비해 다량 함유되어 있다(Choi JH 2010).

⁺Corresponding author : Bok-Mi Jung, Chonnam National University
Yeosu, Chonnam 550-749, Korea
Tel : 82-61-659-3414
Fax : 82-61-659-3419
E-mail : jbm@chonnam.ac.kr

천년초의 생리활성에 관한 연구로는 항산화 및 병원성 미생물에 대한 항균효과(Lee KS 등 2004, Lee KS 등 2005), 자궁경부암 및 유방암에 대한 항암효과(Choi HJ 등 2005, Yoon JA 등 2009), 간 보호 효과(Park MK 등 2005) 등이 진행되었고, 천년초를 이용한 가공제품에 관한 연구는 우리 밀 식빵(Kim KT 등 2007), 증편(Cho EJ 등 2007), 절편(Kim MH와 Hong GJ 2009) 및 젤리(Cho Y와 Choi MY 2009), 칼국수(Jung BM 2010)가 보고되고 있다. 천년초의 생리활성 및 가공제품에 관한 연구는 주로 천년초의 열매와 줄기로 이루어졌으며, 꽃에 대한 연구는 전무한 실정이다.

그러므로 본 연구에서는 천년초 꽃잎(*Opuntia humifusa* petal)을 시료로 하여 항균, 항산화 효과 및 암세포 성장억제효과를 각각 검토하여 향후 천년초의 응용범위를 다양화하기 위한 일환으로 본 연구를 실시하여 보고하고자 하였다.

II. 재료 및 방법

1. 실험 재료

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

2. 시료의 추출 및 분획물 제조

천년초(*Opuntia humifusa*, OH) 꽃잎을 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 methanol추출물(OHM)을 얻었다. methanol 추출물(OHM)에 dichloromethane(DCM)과 물을 1:1로 첨가하여 dichloromethane(DCM)층과 수층을 얻었으며 dichloromethane(DCM)층은 hexane과 85% methanol을 첨가하여 hexane(OHMH)층과 methanol(OHMB)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.

3. 분획물의 항균활성 측정

항균 활성 검색에 사용된 균은 모두 gram 양성인 4가지 균주 즉 *Rhodococcus equi*, *Staphylococcus aureus*, *Clostridium perfringens*(welchii균), *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 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.)에 흡수, 건조시켜 균주가 도말된 plate표면에 올려놓은 후 37°C incubator에서 24~48시간 배양하여 paper disc 주위에 생성된 clear zone의 직경(mm)을 5회 반복 측정하여 각각 평균치를 구하였다.

4. Peroxynitrite (ONOO^-) 제거능 측정

96 well plate에 시료를 농도별로 취하고 Crow의 방법(Crow JP 1997)에 의해 ONOO^- 제거능을 측정하였다. 5 mM DTPA(diethylenetriaminepenta acetic acid)과 5 μ M DHR123을 함유하는 sodium phosphate buffer (pH 7.4)를 가하였다. 그리고 10 μ M ONOO^- 를 첨가한 후 microplate multi-detection reader를 사용하여 형광광도(Fluorescence)를 측정하였다. ONOO^- 의 바탕용액은 0.3N 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.

5. 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 방치

하여 520 nm에서 흡광도(Absorbance)를 측정하였다. 시료 무첨가구에는 시료 대신 시료를 녹인 용매 50 μ L를 첨가하여 시료 첨가구에 대한 흡광도의 감소비율로 나타내었다. Positive control로 vitamin C(ascorbic acid, SIGMA)를 동일한 방법으로 실험하여 흡광도 감소를 측정하였다.

6. 암세포 배양

본 실험에 사용된 암 세포주는 인체 간암세포주인 HepG2(human hepatocellular carcinoma), 유방암세포주인 MCF-7(human breast adenocarcinoma pleural effusion)과 대장암세포주인 HT29(human colon adenocarcinoma)와 마우스 유래의 피부암세포주인 B16-F10(mouse melanoma)를 한국 세포주 은행(Korean Cell Line Bank, KCLB)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)를 2 mL씩 처리하여 바닥에서 세포를 분리한 후, 배지로 세포가 골고루 분산되도록 희석하여 세포배양용 petridish에 10 mL씩 분할하여 주입하고 주 2회 계대배양하면서 실험에 사용하였다. 계대 배양 시 각 세포주의 passage number가 10 회 이상일 때는 액체질소탱크로부터 새로운 세포를 꺼내어 다시 배양하여 실험하였다.

7. 암세포 증식 억제 효과 (Cytotoxicity) 측정

천년초 분획물의 암세포 증식 억제 효과는 MTT assay를 사용하여 행하였다. MTT assay는 세포의 생육을 측정하는 방법으로서 황색수용물질인 MTT가 미토콘드리아내의 탈수소효소 작용에 의하여 dark blue formazan을 생성하는 원리를 이용한다. 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. 48시간동안 배양한 후 각 well에 PBS 완충용액에 녹인 MTT 용액을 20 μ L씩 첨가하여 4시간동안 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.

8. 통계처리

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

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

Sample	Solvent			
	Hexane	Methanol	Butanol	Water
<i>Opuntia humifusa</i> petal	1.40	1.71	5.12	18.59

III. 결과 및 고찰

1. 천년초 분획물의 수득율

천년초(*Opuntia humifusa*, OH) 꽃잎을 methanol로 추출하여 hexane층, methanol층, butanol층 및 수층의 용매별로 분획하였다. 천년초 꽃잎 223.59 g에서 hexane 층은 3.13 g(1.40%), methanol 층은 3.81 g(1.71%), butanol 층은 11.44 g(5.12%) 및 수층은 41.56 g(18.59%)을 얻었다. 천년초의 용매별 분획물의 수득율은 용매의 극성이 높을수록 분획물의 수율이 높다는 것을 알 수 있었다.

Chung(2000)은 손바닥 선인장의 용매별 추출물의 수율을 측정된 결과 극성이 낮을수록 수율이 낮았음을 보고하여 본 연구와 유사한 결과를 나타냈고, Lee 등(2005)은 천년초 줄기의 수율에서 수층이 가장 높게 나타났다고 하였는데 이는 동일 시료에서 부위는 다르지만 일반적으로 천년초의 경우 물 추출물의 수율이 가장 높게 나타나는 것을 알 수 있었다.

2. 분획물의 항균효과

사용한 각 균주에 대해 용매별 천년초 꽃잎 분획물의 항균효과 결과는 Table 2와 같다. *Rhodococcus equi*에 대한 천년초 꽃잎의 각 용매별 분획물의 clear zone의 크기를 측정한 결과, OHMH 층에서는 모든 농도에서 항균효과가 있었으며 2, 5, 10, 20 mg/mL에서 각각 7.0 ± 0.00 , 8.5 ± 0.71 , 9.0 ± 0.00 , 9.75 ± 0.88 mm의 clear zone이 측정되었고, OHMM 층에서는 최고 농도인 20 mg/mL에서 8.35 ± 0.47 mm의 clear zone이 측정되었다. 그러나 다른 분획층인 OHMA와 OHMB층에서는 항균 효과가 나타나지 않았다. 독소형 식중독 유발균인 *Staphylococcus aureus*에 대한 천년초 꽃잎의 각 용매별 분획물의 측정 결과, OHMM층에서는 10 mg/mL부터 항균효과가 있었으며, 특히 최고 농도인 20 mg/mL에서 9.0 ± 0.00 mm의 clear zone이 측정되었다. OHMH 층에서는 5 mg/mL부터 항균효과가 나타났으며, 최고 농도인 20 mg/mL에서는 10.9 ± 0.55 mm의 clear zone이 측정되었다. 역시 다른 분획층인 OHMA와 OHMB층에서는 항균 효과가 나타나지 않았다. 가스괴저균인 *Clostridium perfringens*에 대한 결과에서는 OHMA와 OHMB층에서는 항균 효과가 나타나지 않았으나 OHMM 층에서는 10 mg/mL 농도에서는 8.81 ± 0.59 mm로 나타났고, 최고 농도인 20 mg/mL에서 10.28 ± 0.44 mm의 clear zone이 측정되었다. OHMH층의 경우 10 mg/mL 농도에서는 10.43 ± 0.53 mm, 최고 농도인 20 mg/mL에서는 11.64 ± 0.47 mm의 clear zone이 측정되었다. 그러나 *Bacillus cereus*의 경우 모든 농도와 분획물에서 항균효과가 나타나지 않았음을 알 수 있었다. Chung(2000)은 백년초의 추출물을 이용해 항균활성을 측정한 결과 그람음성균보다 그람양성균에서 효과적이라고 보고하였다. Lee 등(2005)은 천년초 줄기를 추출하여 병원성 식중독 미생물 6종에 대해 항균활성을 측정한 결과 ethyl acetate 분획물이 가장 우수한 항균효과를 나타냈다고 보고하였는데 사용된 균주는 달랐으나 본 연구에서는 hexane 층에서 항균효과가 높게 나타났는데 이러한 결과로 볼때 추출 용매, 사용 균주 및 천년초의 부위에 따라 항균효과가 약간씩 달라짐을 알 수 있었다.

Table 2. Antimicrobial activity of *Opuntia humifusa* petal

Strains	Concentration (mg/mL)	Fractions ¹⁾			
		OHMA	OHMB	OHMM	OHMH
<i>Rhodococcus equi</i>	2	-	-	-	+ ²⁾ (7.0 ± 0.00 ³⁾)
	5	-	-	-	++(8.5 ± 0.71)
	10	-	-	-	+++(9.0 ± 0.00)
	20	-	-	++(8.35 ± 0.47)	+++(9.75 ± 0.88)
<i>Staphylococcus aureus</i>	2	-	-	-	-
	5	-	-	-	++(7.33 ± 0.51)
	10	-	-	++(7.5 ± 0.47)	++(8.25 ± 0.48)
	20	-	-	+++(9.0 ± 0.00)	++++(10.9 ± 0.55)
<i>Clostridium perfringens</i>	2	-	-	-	-
	5	-	-	-	-
	10	-	-	+++(8.81 ± 0.59)	++++(10.43 ± 0.53)
	20	-	-	++++(10.28 ± 0.44)	++++(11.64 ± 0.47)
<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.

³⁾ Mean $\pm$ SD(n=7~10)

3. Peroxynitrite (ONOO⁻) 제거능 측정

Table 3은 천년초 꽃잎의 각 용매별 분획물의 peroxynitrite(ONOO⁻) 제거능을 측정한 결과를 나타냈다. 용매 분획별 항산화 활성은 추출물의 농도가 증가할수록 항산화 효과가 유의적으로($\alpha < 0.05$) 높게 나타났음을 알 수 있었다. 동일한 농도에서 용매별로 보면 최고농도인 1000 μ g/mL에서 positive control인 penicillamine은 97.5%의 ONOO⁻ 제거활성을 나타낸 결과에 대해 천년초 꽃잎의 OHMB층에서는 $90.7 \pm 1.27\%$, OHMM층의 경우 $80.3 \pm 3.28\%$, 그리고 OHMA층에서는 $68.8 \pm 3.11\%$ 의 제거능이 측정되어 유의적인($\alpha < 0.05$) 차이를 나타냈다. 천년초를 이용하여 peroxynitrite 제거능을 측정한 결과는 없었으므로 본 연구와 비교하기는 어려웠으나 천년초 꽃잎의 경우 peroxynitrite 제거능을 이용한 항산화연구에서 부탄올층에서 우수한 항산화 효과가 나타난 것을 알 수 있었다.

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

Concentration (μ g/mL)	Peroxynitrite scavenging activity(%)				
	OHMH	OHMM	OHMB	OHMA	Penicillamine
10	0	39.16 $\pm$ 3.95 ^{1)(d2)(B3)}	33.17 $\pm$ 1.05 ^{dC}	9.22 $\pm$ 2.12 ^{dD}	57.90 $\pm$ 0.40 ^{dA}
100	0	48.13 $\pm$ 4.07 ^{cB}	49.17 $\pm$ 2.44 ^{cB}	26.69 $\pm$ 2.37 ^{cC}	94.46 $\pm$ 0.75 ^{cA}
500	0	59.65 $\pm$ 2.29 ^{bc}	83.93 $\pm$ 1.95 ^{bb}	53.50 $\pm$ 0.28 ^{bd}	96.27 $\pm$ 0.56 ^{ba}
1000	0	80.29 $\pm$ 3.29 ^{aC}	90.72 $\pm$ 1.28 ^{aB}	68.77 $\pm$ 3.11 ^{aD}	97.50 $\pm$ 0.30 ^{aA}

¹⁾ Mean $\pm$ SD (n=3)

²⁾ The different small letters mean significant difference among the different concentrations(column) in the same solvent(α < 0.05).

³⁾ The different capital letters mean significant difference among the solvent at the same concentration in the row(α < 0.05).

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

Concentration (μ g/mL)	DPPH radical scavenging activity(%)				
	OHMH	OHMM	OHMB	OHMA	Vitamin C
100	0 ^{dD}	3.74 $\pm$ 0.92 ^{1)(d2)(C3)}	3.86 $\pm$ 0.25 ^{dC}	5.52 $\pm$ 1.43 ^{cB}	74.67 $\pm$ 0.56 ^{cA}
500	0.48 $\pm$ 0.12 ^{cD}	20.48 $\pm$ 0.65 ^{cB}	20.49 $\pm$ 0.19 ^{cB}	6.15 $\pm$ 1.65 ^{cC}	81.80 $\pm$ 0.90 ^{ba}
1000	3.69 $\pm$ 0.15 ^{be}	37.33 $\pm$ 0.90 ^{bb}	31.83 $\pm$ 0.68 ^{bc}	12.10 $\pm$ 0.74 ^{bd}	96.40 $\pm$ 0.25 ^{aA}
2000	5.92 $\pm$ 1.09 ^{aE}	58.21 $\pm$ 0.60 ^{aB}	49.07 $\pm$ 0.41 ^{aC}	20.73 $\pm$ 1.39 ^{aD}	96.43 $\pm$ 0.10 ^{aA}

¹⁾ Mean $\pm$ SD (n=3)

²⁾ The different small letters mean significant difference among the different concentrations(column) in the same solvent(α < 0.05).

³⁾ The different capital letters mean significant difference among the solvent at the same concentration in the row(α < 0.05).

4. DPPH free radical 소거효과

천년초 꽃잎의 각 용매별 분획물의 DPPH 유리기 소거효과를 측정한 결과는 Table 4에 나타내었다. 2000 μ g/mL의 농도에서 96.4%의 DPPH 유리기 소거효과를 나타낸 positive control인 비타민 C와 비교하였을 때, OHMM층, OHMB층, OHMA층, OHMH층에서 각각 58.2 $\pm$ 0.59%, 49.1 $\pm$ 0.41%, 20.7 $\pm$ 1.39% 및 5.9 $\pm$ 1.09%의 순으로 DPPH 유리기 소거효과를 나타내 메탄올 층에서 가장 높게 나타났으며 용매별로 유의적인(α < 0.05) 차이를 나타냈다. 헥산과 수층에서는 100 μ g/mL와 500 μ g/mL 농도간의 차이는 없었으나 메탄올과 부탄올층에서는 농도가 높아짐에 따라 유의성(α < 0.05)을 나타냈다. Lee 등(2005)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 시료 부위가 다르고, 추출용매가 다르므로 비교하기는

어려웠으나 꽃잎의 경우는 메탄올 층에서 가장 높게 나타났고, 다음으로 부탄올 층으로 나타났다. Cha(2010)의 연구에서는 천년초 줄기보다 열매에서 DPPH 유리기 소거능이 높게 나타났으며, 천년초의 항산화 활성은 추출용매에 대하여 영향을 받는다고 보고하였다.

5. MTT assay

천년초 꽃잎의 각 용매별 분획물의 피부암세포인 B16F10에 대한 암세포 증식 억제 효과를 측정한 결과는 Fig. 1에 제시되었다. 가장 높은 농도인 200 μ g/mL에서 헥산층은 93.3 $\pm$ 0.9%로 성장억제효과가 가장 높게 나타났으며, 메탄올층은 93.1 $\pm$ 0.9%, 수층은 55.9 $\pm$ 3.4%, 부탄올층은 21.5 $\pm$ 1.9%의 효과가 나타났으며, 헥산층과 메탄올층은 100 μ g/mL부터는 차이가 없었으나, 헥산층과 메탄올층이 수층과 부탄올층에 비해 전 농도에서 유의적으로(α < 0.05) 높게 나타났다.

Fig. 1. Inhibitory effect on cell survival of four fractions from the methanol extract of *Opuntia humifusa* petal on B16F10 cells.

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.

Fig. 2는 천년초 꽃잎의 각 용매별 분획물의 간암세포인 HepG2에 대한 암세포 증식 억제 효과를 측정된 결과를 나타낸 것이다. 수층과 부탄올층은 전 농도에서 크게 차이가 없었으며, 헥산층은 낮은 농도에서는 다른 분획물에 비해 효과가 낮았으나 100 µg/mL부터는 수층과 부탄올층보다 증가하기 시작하여 200 µg/mL 농도에서는 모든 분획물에 비해 가장 높게 나타났다. 즉 200 µg/mL 농도에서 헥산층이 $85.2 \pm 3.4\%$ 로 성장억제효과가 가장 높았으며, 메탄올층은 $83.1 \pm 1.0\%$, 부탄올층은 $36.0 \pm 1.3\%$, 수층은 $31.7 \pm 1.7\%$ 의 효과가 나타나 높은 농도에서 헥산층과 메탄올층의 경우 다른 분획물보다 유의적으로($\alpha < 0.05$) 높게 나타났다. Fig. 3은 천년초 꽃잎의 각 용매별 분획물의 대장암세포인 HT-29에 대한 암세포 증식 억제 효과를 측정된 결과를 나타냈다. 전 농도를 통하여 각 분획물에 따른 경향이 비슷하게 나타났으며, 분획물 농도가 200 µg/mL에서 헥산층은 $88.0 \pm 0.2\%$ 로 성장억제효과가 가장 높았고, 메탄올층은 $85.1 \pm 0.5\%$, 수층은 $45.2 \pm 0.8\%$, 부탄올층은 $31.5 \pm 1.5\%$ 의 효과가 나타나 헥산층과 메탄올층이 수층과 부탄올층에 비하여 유의적으로($\alpha < 0.05$) 높게 나타났다. 수층은 150 µg/mL부터는 부탄올층에 비해 유의적으로 높게 나타났다. Fig. 4는 천년초 꽃잎의

Fig. 2. Inhibitory effect on cell survival of four fractions from the methanol extract of *Opuntia humifusa* petal on HepG2 cells

각 용매별 분획물의 유방암세포인 MCF-7에 대한 암세포 증식 억제 효과를 측정된 결과이다. 분획물의 농도가 50 µg/mL부터 헥산층이 다른 분획물에 비해 유의적으로($\alpha < 0.05$) 높게 나타났으며, 100 µg/mL 농도에서는 메탄올층이 헥산층보다는 낮았으나 수층과 부탄올층에 비해 유의적으로 높았고, 150 µg/mL 농도에서는 메탄올층이 헥산층의 수준으로 높아져 차이가 없었고, 가장 높은 농도인 200 µg/mL에서 헥산층은 $89.9 \pm 1.1\%$ 로 성장억제효과가 가장 높게 나타났고, 다음으로 메탄올층은 $84.7 \pm 2.7\%$ 로 나타나 헥산층과 차이가 없었으며, 수층은 $39.7 \pm 1.5\%$, 부탄올층은 $36.4 \pm 1.4\%$ 의 효과가 나타나 두층간의 차이는 없었으나 헥산과 부탄올층에 비해 유의적으로 낮게 나타났다. 이러한 결과로 볼 때 천년초 꽃잎의 분획물중 4가지 암세포에서 가장 효과가 높게 나타난 것은 헥산층이었고, 다음이 메탄올층으로 나타났고, 간암세포를 제외하고는 다음으로 수층, 부탄올층으로 나타났으나, 간암세포에서는 부탄올층이 수층보다 약간 높게 나타났다. 전체적으로 대부분의 암세포의 경우 헥산층과 메탄올층간의 차이는 없었으나, 헥산층과 메탄올층이 수층과 부탄올층에 비해 유의적으로($\alpha < 0.05$) 높게 나타난 것을 알 수 있었다. Choi 등(2005)은 손바닥선인장(천년초)의 열매와 줄기를 용매 추출한 분획물을 이용하여 자궁경부암 세포주에 대한 항암활성을 측정된 결과 항암활성이 없었음을 보고하

Fig. 3. Inhibitory effect on cell survival of four fractions from the methanol extract of *Opuntia humifusa* petal on HT-29 cells

Fig. 4. Inhibitory effect on cell survival of four fractions from the methanol extract of *Opuntia humifusa* petal on MCF-7 cells

였으나 열매를 효모균으로 발효한 발효액에서는 항암활성을 나타냈다고 보고하였다. 본 연구에서는 자궁경부암 세포는 조사하지 않았으므로 비교하기가 어려웠다. Yoon 등(2009)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 꽃잎의 항암효과가 더 높게 나타나는 것으로 사료된다.

IV. 요약 및 결론

본 연구는 천년초의 꽃잎을 이용하여 추출, 분획과정을 거쳐서 각각 water, butanol, methanol, hexane 층을 얻었고 각 층의 항균, 항산화 및 암세포 성장억제효과를 측정하여 다음과 같은 결과를 얻었다. 항균실험 결과에서는 3가지의 균주에서 OHMM, OHMH층에서 농도 의존적으로 항균효과가 증가하였고, 특히 다른 균주에 비해 *Clostridium perfringens*에 대해 뛰어난 항균효과를 나타냈다. 천년초 꽃잎의 항산화 효과에서 peroxynitrite(ONOO⁻) 제거능 측정결과, 부탄올, 메탄올, 수층 순으로 항산화효과가 높게 나타났으며, 특히 부탄올층에서 가장 우수한 항산화 효과가 나타났다. 반면 DPPH free radical 소거효과는 peroxynitrite(ONOO⁻) 제거능 측정에서 보다는 낮게 나타났다. 4가지 암세포 증식 억제효과 실험에서는 200 µg/mL에서 모두 80% 이상으로 높은 효과를 보였고, 동일농도에서 피부암 세포에 대한 항암억제 효과가 가장 높게 나타났으며, 다음으로 유방암, 대장암, 간암 순으로 나타났으며, 핵산층에서 비교적 높게 나타났다.

이와 같은 결과로 볼 때 지금까지 연구되지 않은 천년초 꽃잎 또한 항균, 항산화, 항암효과에 뛰어난 활성을 나타내어 앞으로 여러 가지 유용한 기능성 식품과 제품의 개발을 기대할 수 있을 것으로 보인다.

참고문헌

- Cha MN. 2010. Physicochemical properties and antioxidant activities of *opuntia humifusa*, MS thesis, Chonbuk National University, Jeonju, Korea, pp 12-14
- Cho EJ, Kim MJ, Choi WS. 2007. Quality properties of Jeung-pyun with added with prickly pear(Cheonnyuncho) powder. J East Asian Societary Life 17:903-910

- Cho IK, Jin SW, Kim YD. 2009. Analysis of components in the parts of *Opuntia ficusindica* from Shinan Korea. Korean J Food Preserv 16:742-746
- Cho Y, Choi MY. 2009 Quality characteristics of jelly containing added pomegranate powder and *Opuntia humifusa* powder. Korean J Food Cookery Sci 25:134-142
- Choi HJ, Park SC, Hong TH. 2005. Anti-tumor activity of fermented lipid *Opuntia humifusa* in cervical cancer cells and its chemical composition. Korean J Soc Food Sci Nutri 34:1525-1530
- Choi, JH. 2010. Structural analysis and immuno-stimulating characteristics of *Opuntia humifusa*. MS thesis. Kyonggi University. Seoul, Korea, p 4
- Chung HJ. 2000. Antioxidative and antimicrobial activities of *Opuntia ficus indica* var. *saboten*. Korean J Food Cookery Sci 16:160-166
- Crow JP. 1997. Dichlorodihydrofluorescein and dihydrorhodamine 123 are sensitive indicators of peroxynitrite in vitro: implications for intracellular measurement of reactive nitrogen and oxygen species. Nitric Oxide 1:145-157
- In JG, Lee BS, Han SH, Shin CW, Yang DC. 2006. A study of the origin of Chunnyeuncho *Opuntia*. Korean J Medicinal Corp Sci 14:566-567
- Jung BM. 2010. Quality characteristics and storage properties of wet noodle with added Cheonnyuncho fruit powder. Korean J Food Cookery Sci 26:821-830
- Kim KT, Choi AR, Lee KS, Joung YM and Lee KY. 2007. Quality characteristics of bread made from domestic Korean wheat flour containing cactus Chounnyuncho (*Opuntia humifusa*) powder. Korean J Food Cookery Sci 23:461-468
- Kim MH, Hong GJ. 2009. Quality properties of Jeolpyun supplemented with Cheonnyuncho (*Opuntia humifusa*). Korean J Food Cookery Sci 25 :415-420
- Lee DH. 2011. The Effect of (Chunneyonho) *Opuntia humifusa* extract on the atopy skin condition. MS thesis. Seokyeong University, Seoul, Korea p 10
- Lee KS, Kim MG, Lee KY. 2004. Antimicrobial effect of the extracts of cactus Chounnyuncho (*Opuntia humifusa*) against food borne pathogens. Korean J Soc Food Sci Nutri 33:1268-1272
- Lee KS, Oh CS, Lee KY. 2005. Antioxidative effect of the fractions extracted from a cactus cheonnyuncho (*Opuntia humifusa*). Korean J. Food Sci Technol 37:474-478
- 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
- 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. Korean J Soc Food Sci Nutr 38:1679-1684