

## 비트 추출물의 암세포 증식 저해 효과

이재혁<sup>1</sup>, 박정숙<sup>2\*</sup>

<sup>1</sup>남부대학교 응급구조학과 교수, <sup>2</sup>남부대학교 간호학과 교수

## Inhibitory Effect of Beet Extract on Cancer Cell Proliferation

Jae-Hyeok Lee<sup>1</sup>, Jeong-Sook Park<sup>2\*</sup>

<sup>1</sup>Professor, Department of Emergency Medical Rescue, Nambu University

<sup>2</sup>Professor, Department of Nursing, Nambu University

**요약** 본 연구의 목적은 다양한 생리활성물질을 함유한 비트 추출물의 다양한 농도를 이용하여 인체 유래 암세포 증식 저해를 살펴보기 위하여 실시하였다. 실험에 사용한 인체 유래 암세포는 6종으로 전립샘암세포 DU145, 폐암세포 A549, 유방암세포 MCF-7, 자궁암세포 HeLa, 간암세포 SNU-182, 담도암세포 SNU-1196을 사용하였으며, 비트 추출물의 다양한 농도에 대한 암세포증식 저해를 CCK-8 방법으로 측정하였다. 암세포증식 저해를 살펴본 결과 비트 추출물은 전립샘암세포 DU145를 모든 농도에서 유의성있게 농도 의존적으로 저해하였으며, 폐암세포 A549, 전립샘암세포 DU-145는 100ug/mL, 1000ug/mL에서 자궁암세포 HeLa, 간암세포 SNU-182, 담도암세포 SNU-1196는 1000ug/mL에서 유의한 증식 저해를 보였다. 실험 결과, 다양한 인체 유래 암세포를 이용한 비트 추출물의 암세포증식 저해는 암 예방 효과 및 기능성 식품 개발의 가능성을 제공한다고 볼 수 있다.

**주제어** : 비트 추출물, 전립샘암세포, 폐암세포, 자궁암세포, 간암세포

**Abstract** The purpose of this study was to examine the inhibition of human cancer cell proliferation by using various concentrations of Beet Extract containing various bioactive ingredients. The six cancer cell lines used in the experiment were prostate cancer cells DU-145, lung cancer cells A549, breast cancer cells MCF-7, cervical cancer cells HeLa, liver cancer cells SNU-182, and biliary tract cancer cells SNU-1196. Human-derived cancer cell lines were used. The inhibition of cancer cell proliferation at various concentrations of Beet Extract was measured by the CCK-8 method. As a result of examining the inhibition of cancer cell proliferation, Beet Extract significantly and concentration-dependently inhibited DU145 of prostate cancer cells at all concentrations, and Lung cancer cells A549 and DU-145 of prostate cancer cells at 100ug/mL and 1000ug/mL, cervical cancer cells HeLa, and liver cancer cells SNU- 182, biliary tract cancer cell SNU-1196 showed significant proliferation inhibition at 1000ug/mL. Experiment result, the cancer cell proliferation inhibitory mechanisms of Beet Extract using various human-derived cancer cell lines can be considered to provide cancer prevention effects and the possibility of developing functional foods.

**Key Words** : Beet Extract, Prostate cancer cell, Lung cancer cell, Cervical cancer cell, Liver cancer cell

\*This paper was supported by research funds from Nambu University, 2020.

\*Corresponding Author : Jeong-Sook Park(pk0207@nambu.ac.kr)

Received November 13, 2021

Revised December 10, 2021

Accepted February 20, 2022

Published February 28, 2022

## 1. 서론

생활 수준 향상과 소득증가, 그리고 수명의 연장은 건강에 대한 관심의 확대와, 스스로 건강을 관리하고 병을 미리 예방하는 예방중심 건강법으로 패러다임 전환에 이르렀다. 특히 암 등의 난치성 질병의 예방 및 관리를 위한 식생활에 대한 관심과 정보 요구 역시 증가하고 있다[1,2]. 더우기 노령 인구 증가와 사회구성 연령 분포의 변화에 따른 만성질환 유병률의 변화와 함께 다양한 연령층에서 암 발생 증가 및 암 치료에 대한 부담도 크게 증가 하는 것으로 보고 되고 있다[3]. 이에 소비자들 역시 건강한 식생활패턴과 건강유지로 암의 예방 및 치료를 위해 기능성식품이나 건강 소재에 대한 관심이 커지고 있으며 특별히 천연소재의 항암 활성에 대한 연구에 많은 관심을 보이고 있다[4,5]. 각종 질병 치료 및 암 예방을 위해 다양한 과일과 채소의 성분 연구가 되었고 특히 토마토의 lycopene, 포도의 resveratrol, 딸기의 fisetin 등은 항노화와 노화로 인한 질병에도 효과가 있는 것으로 보고되고 있다[6-8]. 암세포의 발생은 정상세포가 신생세포로 변형되는 과정으로 산화스트레스와 염증에 의해 유도되며 과일과 채소에 풍부하게 존재하는 Phytochemicals는 항산화, 항염, 항암 성분으로 부적절한 세포의 변형을 억제 한다[9,10]. 대표적인 Phytochemicals은 Carotenoids, Phenolic compounds Alkaloids, Betalains, 등이 있으며, 특히 betalains은 한정된 식물에 들어 있는 색소로 적색에서 보라색을 나타내는 betacyanins 과 노란색을 나타내는 betaxanthins이 있으며 이 둘을 총칭하여 betalains이라 한다[11].

비트는 betalains을 함유하는 거의 유일한 식물이며 [12] 명아주과 식물인 비트(*Beta vulgaris* L.)의 원뿌리로 유럽 남부가 원산지다. 기후가 따뜻한 제주도에서 잘 자라며 특유의 붉은색으로 빨간 무라고도 불리며 다양한 영양소를 함유하고 있다[13]. 독특한 붉은 색을 함유한 비트는 다양한 요리에 사용되며 유럽에서는 주스로 가공되어 건강기능성 식품으로 판매된다[14]. 비트의 생리활성으로는 각종 미네랄과 비타민이 풍부하여 면역계, 심혈관계, 빈혈 등에 좋다고 알려져 있으며, betaine, polyphenols, carotenoids, flavonoids, saponins, betalains 등과 같은 항산화 성분이 들어 있어 산화스트레스, 항염, 항암등에 효과가 큰 것으로 알려져 있다 [15-17]. anthocyanins보다 항산화 효과가 2배 이상 높은 betalains이 풍부한[18] Beet Extract의 다양한

농도를 이용하여 인체 유래 암세포인 전립샘암세포 DU145, 폐암세포 A549, 유방암세포 MCF-7, 자궁암세포 HeLa, 간암세포 SNU-182, 담도암 세포 SNU-1196에 처리하여 암세포 증식 저해에 미치는 영향을 검토해 보고자 한다.

## 2. 연구방법

### 2.1 재료

비트는 유기농원료를 구입하여 사용하였으며 약 10kg를 음건 세절 후 2.5kg을 methanol로 진탕 하면서 50℃에서 40시간 동안 2회 추출 하였다. Rotary vacuum evaporator(EYELA, Tokyo, Japan)을 사용하여 수욕상에서 감압 농축하여 methanol 엑스를 얻었으며, 냉동 보관 후 시료로 사용하였다. 암세포 배양 배지는 5% FBS 함유한 Dulbecco's modified eagle medium(DMEM)을 사용하였으며 FBS, 항생제, trypsin-EDTA은 GIBCO (Grand Island Biological Co., NY, USA) 를 사용하였고, 나머지 시약은 분석용 시약 특급, Sigma-Aldrich Co. Ltd(Irvine, UK) 시약을 사용하였다

### 2.2 암세포배양

실험에 사용한 암세포는 6종으로 전립샘암세포 DU-145, 폐암세포 A549, 유방암세포 MCF-7, 자궁암세포 HeLa, 간암세포 SNU-182, 담도암 세포 SNU-1196이며, 한국 세포 주 은행 (KCLB)에서 분양 받은 인체 유래 암세포를 사용하였다. 각각의 세포배양을 위해 100mm petri dish에 5% FBS 함유한 DMEM배지를 사용하여 5% CO<sub>2</sub> incubator 에서 48시간 계대 배양하였다.

### 2.3 CCK-8 assay

Beet Extract의 다양한 농도에서 인체 유래 암 세포에 대한 증식 저해에 대한 효과는 CCK-8 assay로 측정하였다[19]. 96well plate에 암세포 현탁액  $5 \times 10^3$  cells/well에 100  $\mu$ l 을 분주한 후 CO<sub>2</sub> 인큐베이터에서 24 시간 동안 배양한다. 96well plate에 다양한 농도의 Beet Extract 10  $\mu$ l를 첨가한다. 24시간 동일한 조건에서 배양한 플레이트의 각 well에 CCK-8 solution 10  $\mu$ l를 첨가한다. 플레이트를 2시간 동안 배

양한 후 450 nm에서 ELISA 리더기를 이용하여 흡광도를 측정한다. 측정된 흡광도 값을 이용하여 각각의 암세포 성장 저해를 확인할 수 있다.

## 2.4 통계 분석

실험 결과는 Mean±S.E.로 표기하였으며, 모든 통계 자료는 students' *t*-test를 실시하여  $p < 0.05$  수준에서 유의성을 검증하였다.

## 3. 결과 및 고찰

### 3.1 전립샘암세포 DU-145 증식저해 효과

Beet Extract의 다양한 농도에서 인체 유래 전립샘암세포 DU-145 증식 저해에 미치는 영향을 살펴본 결과 Fig. 1에서 나타난 것처럼, Beet Extract은 10ug/mL, 100ug/mL 및 1000ug/mL에서 유의한 증식 저해를 보여주었다. Mariana 등의 보고에 의하면 비트 잎 추출물을 전립샘암세포 DU-145에 처리 시 성장 관련 신호전달경로를 강력하게 억제하였으며, 뿌리 추출물은 세포사멸 및 세포주기단백질수준 감소를 보여주었다[20]. 이러한 결과는 Beet Extract는 전립샘암세포 DU-145에 대해 항암효과가 있는 것으로 사료 된다.

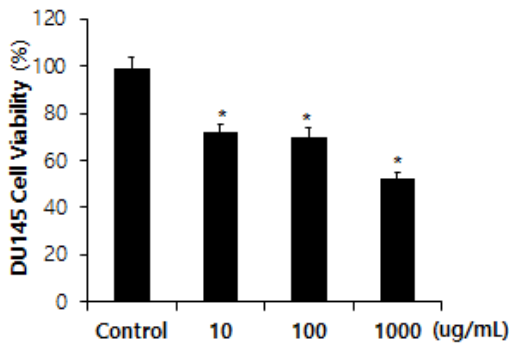


Fig. 1. Inhibitory effect of Beet Extract on human prostate cancer cell DU-145. \*:  $p < 0.05$  significant effect between the control group and each extract group

### 3.2 폐암세포 A549 증식저해 효과

Beet Extract의 다양한 농도에서 인체 유래 폐암세포 A549 증식 저해에 미치는 영향을 살펴본 결과 Beet Extract은 농도 의존적으로 폐암세포 A549에 대하여

증식 저해 효과가 있음을 알 수 있었으며, 특히 Fig. 2에서 나타난 것처럼 Beet Extract 100ug/mL, 1000ug/mL 농도에서 유의미한 암세포증식 저해를 나타냈다. 이 결과는 비트 추출물을 10ug/mL에서 800ug/mL까지 A549에 투여 한 Beltagi 연구에서, 농도 의존적으로 암세포 증식 저해를 보여준 연구결과와 유사한 결과를 보여주었다[21].

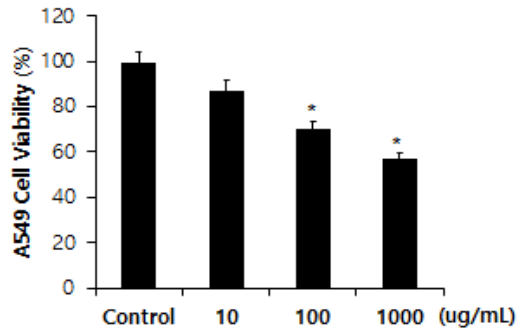


Fig. 2. Inhibitory effect of Beet Extract on human lung cancer cell A549. \*:  $p < 0.05$  significant effect between the control group and each extract group

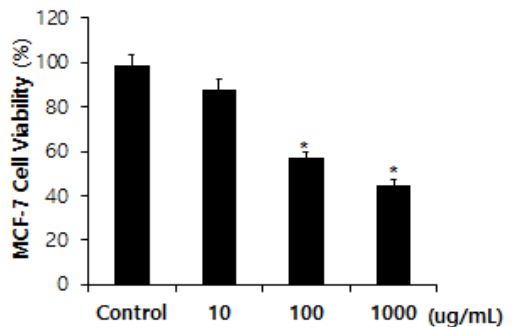


Fig. 3. Inhibitory effect of Beet Extract on human breast cancer cell MCF-7 \*:  $p < 0.05$  significant effect between the control group and each extract group

### 3.3 유방암세포 MCF-7 증식저해 효과

Beet Extract의 다양한 농도에서 인체 유래 유방암세포 MCF-7 증식 저해에 미치는 영향을 살펴 본 결과, Beet Extract는 농도 의존적으로 증식 저해 작용을 나타내었다 이는, Fig. 3에서 나타난 것처럼 Beet Extract 100ug/mL, 1000ug/mL 농도에서 유의미한 저해 효과를

보여주었다. 이 결과는 Concha 등의 연구결과와 같은 양상을 나타내었다 이연구는 Beet extract를 유방암세포 MCF-7에 처리 후 암세포 증식억제 효과를 비교시 일반 항암제인 4-hydroxytamoxifen 56.5%보다 80.6%로 높은 암세포 증식억제 효과를 나타내었다 [22].

### 3.4 인체 유래 자궁경부암세포 HeLa 증식저해 효과

Beet Extract의 다양한 농도에서 인체 유래 자궁경부암세포 HeLa 증식 저해에 미치는 영향을 살펴본 결과 Fig. 4에서 보여주는 것처럼, Beet Extract 1000ug/mL에서 유의한 증식저해효과를 보여주었다. Stefhani 등은 비트의 뿌리와 잎 추출물을 자궁경부암세포 HeLa에 처리 시 암세포 생존력 억제와 집락수 감소를 보고하였으며 리보솜단백질의 S6 인산화 억제와 세포주기진행을 조절하는 cyclin D1발현이 감소됨을 보고하였다[23]. 이러한 결과를 볼 때 Beet Extract는 자궁경부암세포 HeLa에 대하여 단백질 발현억제 작용을 보여준다고 사료된다.

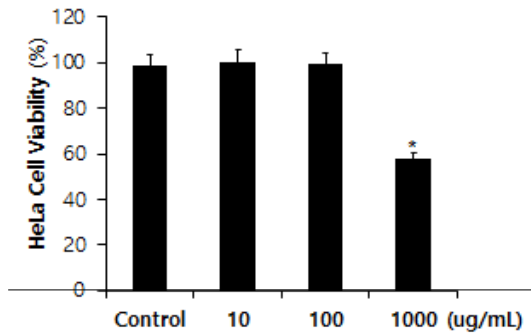


Fig. 4. Inhibitory effect of Beet Extract on human cervical cancer cell HeLa. \*:  $p < 0.05$  significant effect between the control group and each extract group.

### 3.5 간암세포 SNU-182 증식저해 효과

Beet Extract의 다양한 농도에서 인체 유래 간암세포 SNU-182에 대한 증식 저해에 미치는 영향을 살펴본 결과 Beet Extract가 농도 의존적으로 증식 저해 효과를 나타내지는 않았으나, Fig. 5에서 보여주는 것처럼, Beet Extract 1000ug/mL에서는 유의미한 증식 저해 효과를 나타내었다. D.Vijaya 등은 간암세포 HepG2에 Betalain을 다양한 용량으로 투여 시 암세포증식이 억

제됨을 보고 하였으며 300ug/mL의 농도 이상에서 암세포 증식 저해 효과가 유의적으로 나타났다[24]. 이는 본 실험에 사용된 간암세포 SNU-182에 대한 Beet Extract와 순수 성분인 Betalain 300ug/mL 과의 농도 차이로 볼 때 간암세포 SNU-182에 대한 Beet Extract의 증식저해 농도는 1000ug/mL 이상에서 농도 의존적으로 저해할 것으로 사료 되며 추후 보완연구가 필요하다.

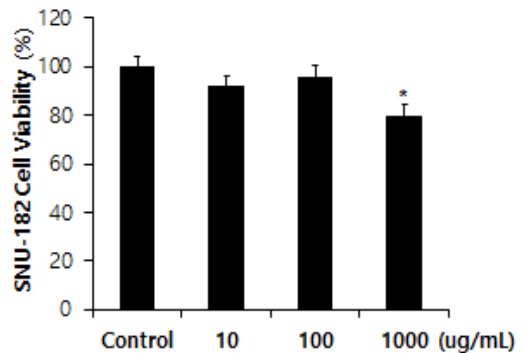


Fig. 5. Inhibitory effect of Beet Extract on human liver cancer cell SNU-182. \*:  $p < 0.05$  significant effect between the control group and each extract group.

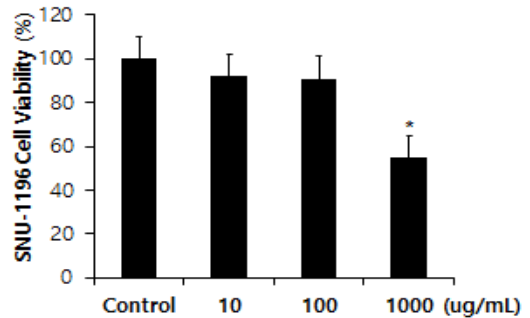


Fig. 6. Inhibitory effect of Beet Extract on human biliary tract cancer SNU-1196. \*:  $p < 0.05$  significant effect between the control group and each extract group

### 3.6 담도암세포 SNU-1196 증식저해 효과

Beet Extract의 다양한 농도에서 인체 유래 담도암세포 SNU-1196에 대한 증식 저해에 미치는 영향을 살펴본 결과 간암 세포인 SNU-182와 마찬가지로 Beet

Extract은 농도 의존적으로 증식 저해를 보여주지 않았으나, Fig. 6에서 보여주는 것처럼, Beet Extract 1000ug/mL에서 유의한 증식 저해를 보여주었다. 암세포 SNU-182에 대한 Beet Extract의 증식저해 농도는 1000ug/mL 이상에서 농도 의존적으로 저해할 것으로 사료 되며 추후 보완연구가 필요하다.

#### 4. 결론

본 연구는 Beet Extract의 인체 유래 암세포 증식 저해에 미치는 영향을 살펴보기 위하여 실시 되었다. 실험에 사용한 암세포는 인체 유래 암세포 6종으로 전립샘암세포 DU-145, 폐암세포 A549, 유방암세포 MCF-7, 자궁암세포 HeLa, 간암세포 SNU-182, 담도암 세포 SNU-1196를 사용하였다. Beet Extract의 다양한 농도에 따른 증식 저해 효과를 확인해 본 결과 Beet Extract은 대부분의 암세포에서 농도 의존적으로 증식을 저해하였다. 특히, 전립샘암세포 DU145를 모든 농도에서 유의성 있게 농도 의존적으로 저해하였으며 폐암세포 A549, 전립샘암세포 DU-145는 100ug/mL, 1000ug/mL에서 자궁암세포 HeLa, 간암세포 SNU-182, 담도암 세포 SNU-1196는 1000ug/mL에서 유의한 증식 저해를 보였다. 결과적으로, 다양한 인체 유래 암세포에 대한 Beet Extract의 암세포 증식 저해 효과는 매우 의미가 있었으며 다양한 음식의 재료로 사용하는 비트가 암 예방효과 및 암 증식 저해 효과가 있으며 차후 기능성 식품 개발 및 천연항암소재로서의 개발 가능성이 매우 높다고 사료된다.

#### REFERENCES

[1] K. Azuma, M. Nakayama, M. Koshioka, K. Ippoushi, Y. Yamaguchi, K. Kohata, Y. Yamauchi, H. Ito & H. Higashio. (1999). Phenolic antioxidants from the leaves of *Corchorusolitorius* L. *J Agric Food chem*, 47, 3963-3966

[2] R. L.Siegel, K. D. Miller & A. Jemal (2016). Cancer statistics. *CA Cancer J Clin*, 66, 7-30.

[3] I. Goleberg. (1994). Functional Foods. *Chapman & Hall Press, New York, USA*, 350-550.

[4] O. Sadaki. (1996). The development of functional foods and material. *Bio-industry*, 13, 44-50.

[5] J. Kanner, S. Harsel & R. Granit (2001).

Betalains-a new class of dietary cationized antioxidants. *J Agric Food Chem*, 49, 5178-5185.

[6] X. Wang, Y. Ouyang, J. Liu, M. Zhu, G. Zhao & W. Bao. (2014). Fruit and vegetable consumption and mortality from all causes, cardiovascular disease, and cancer: systematic review and dose-response meta-analysis of prospective cohort studies. *BMJ*, 349.

[7] J. H. Lee & J. S. Park. (2021). Inhibitory effect of celeriac extract on cancer cell proliferation. *Journal of The Korea Convergence Society*, 12(9), 179-183.

[8] K. Y. Park, K. I. Lee & S. K. Lee. (1992). Inhibitory effect of green/yellow vegetables on the mutagenicity in Salmonella assay system and on the growth on AZ-521 human gastric cancer cells. *J Korean Soc Food Nutr* 21, 149-153.

[9] J. H. Lee & J. S. Park. (2020). Antioxidant effect of traditional food ingredient. *Journal of The Korea Convergence Society*, 11(2), 309-314.

[10] R. C. Garcia, C. A. Gonzalez, A. Agudo & E. Riboli. (1999). Intake of specific carotenoids and flavonoids and the risk of gastric cancer in Spain. *Cancer Causes Control*, 10, 71-75.

[11] T. Lapidot, S. Harel, B. Akiri, R. Granit & J. Kanner. (1999). pH-dependent forms of red wine anthocyanins as antioxidants. *J Agric Food Chem*, 49, 5178-5185.

[12] F. Constabel & H. Nassif-Makki. (1971). Betalainbildung in beta-calluskulturen. *Ber Dtsch Bot Ges* 84:

[13] A. Pavlov, P. Kovatcheva, D. Tuneva, M. Ilieva & T. Bley. (2005). Radical scavenging activity and stability of betalains from *Beta vulgaris* hairy root culture in simulated conditions of human gastrointestinal tract. *Plant Food Human Nutr*, 60, 43-47.

[14] C. H. Lee, M. Wettasinghe, B. W. Bollin & K. L. Parkin. (2005). Betalains, phase II enzyme-inducing components from red beetroot (*Beta vulgaris* L.) extracts. *Nutr Cancer*, 53, 91-103.

[15] A. Gliszczynska-Swiglo, H. Szymusiak & P. Malinowska. (2006). Betanin, the main pigment of red beet: Molecular origin of its exceptionally high free radical-scavenging activity. *Food Addit Contam*, 23, 1079-1087.

[16] J. H. Kim, K. M. Kwon, E. S. Lee, D. K. Kim, J. S. Park & J. H. Lee. (2020). Antioxidant activity of beta vulgaris L. methanol extract in *caenorhabditis elegans*. *Kor. J. Pharmacogn*. 51(3), 192-198.

- [17] K. H. Kim, S. A. Lee & H. S. Yook. (2007). Effects of gamma irradiation on physicochemical properties of red beet and stability of betalin in the red beet (*Beta vulgaris* L.). *J Korean Soc Food Sci*, 36(4), 453-457.
- [18] S. S. Hong. (2000). The drying characteristics of food stuff(beet) by freeze drying. *J Ind Sci Tech Institute* 14, 49-58.
- [19] S. F. Jin, H. L. Ma, Z. L. Liu, S. T. Fu, C. P. Zhang, & Y. He. (2015). XL413, a cell division cycle 7 kinase inhibitor enhanced the anti-fibrotic effect of pirfenidone on TGF- $\beta$ 1-stimulated C3H10T1/2 cells via Smad2/4. *Exp Cell Res*, 10, 339(2), 289-299.
- [20] M. C. S. Mancini, L. G. S. Ponte, C. H. R. Silva, I Fagundes, I. C. B. Pavan, S. A. Romeiro, L. G. S. Silva, Ana, P. Morelli, M. A. Rostagno & F. M. Simabuco. (2021) Beetroot and leaf extracts present protective effects against prostate cancer cells, inhibiting cell proliferation, migration, and growth signaling pathways. *Phytotherapy research*, 35(9), 5241-5258.
- [21] H. S. Beltagi, H. I. Mohamed, B. M. H. Megahed, M. Gamal & G. Safwat. (2018). Evaluation of some chemical constituents, antioxidant, antibacterial and anticanceractivities of *beta vulgaris* L. root. *Fresenius Environmental Bulletin*, 27(9), 6369-6378.
- [22] J. Concha, C. W. einstein & M. E.Zuniga. (2013). Production of pectic extracts from sugar beet pulp with antiproliferative activity on a breast cancer cell line. *Front. Chem. Sci. Eng.* 7, 482-489.
- [23] S. A. Romero, I. C. B. Pavan, A. P. Morelli, M. C. S. Mancini, L. G. S. Silva, I Fagundes, Ca. H. R. Silva, L. G. S. Ponte, M. A. Rostagno, R. M. N. Bezerra & F. M. Simabuco. (2021). Anticancer effects of root and beet leaf extracts (*Beta vulgaris* L.) in cervical cancer cells (HeLa). *Phytotherapy Research*, 1-13.
- [24] D.Vijaya & N. Thangaraj. (2020). A Study on the antioxidant and anticancer activity of red beet pigment of betalains from aeta vulgaris. *The International journal of analytical and experimental modal analysis*, 12(2), 2436-2439.

## 이 재 혁(Jae-Hyeok Lee)

[정회원]



- 1987년 2월 : 우석대학교 약학과 (약학사)
- 1989년 2월 : 우석대학교 약학과 (약학석사)
- 2005년 2월 : 우석대학교 약학과 (약학박사)
- 2005년 2월 ~ 2018년 2월 : 남부대학교 한방제약개발학과 교수
- 2018년 3월 ~ 현재 : 남부대학교 응급구조학과교수
- 관심분야 : 천연물
- E-Mail : jhlee@nambu.ac.kr

## 박 정 숙 (Jeong-Sook Park)

[정회원]



- 1996년 2월 : 원광대학교 약학과 (약학석사)
- 2002년 2월 : 원광대학교 약학과 (약학박사)
- 2006년 3월 : 남부대학교 대체의학과 교수
- 2014년 9월 ~ 현재 : 남부대학교 간호학과교수
- 관심분야 : 생약학, 면역학, 대체의학
- E-Mail : pk0207@nambu.ac.kr