

Effect of ultrasonification on immuno-stimulatory activities of the extracts from Korean medicinal herbs

Jin Hong Park, Hyun Soo Lee, Chul Hyung Mun, Dae Ho Kim and Hyeon Yong Lee
School of Biotechnology and Bioengineering, Kangwon National University, Chunchon 200-701, Korea
TEL : +82-33-250-6455, FAX : +82-33-256-4819, e-mail : jinhong77@empal.com

Abstract

The effect of ultrasonification on immuno-stimulatory activities of extracts *Acanthopanax senticosus* Harms, *Ephedra sinica* Stapf, *Rubus coreanus* Miq and *Artemisia capillaris* Thunb was observed by the growth of human immune cells. The extracts yield make a comparative study of water extracts and water extract with ultrasonification at 40°C, 60°C and 100°C. The yield is highest in the water extracts with ultrasonification at 60°C. The growth of human T-cell was increased up to 13.8×10^4 viable cells/ml in adding ultrasonification extracts. The treated extracts increased up to 10.5×10^4 pg/cells that TNF- α specific secretion of human T-cell. These results suggested that biological activities of water extracts with ultrasonification have more strong than water extracts in human immune system.

Key words: Korean medicinal herbs, Human T-cell, TNF- α

서론

비열 처리 기술 중 초음파는 세척, 의약, 추출 등의 여러 분야에 이용되어 왔으며, 최초 용매 내에서 초음파의 공동 효과에 의해 반응성 향상, 특정성분의 추출 공정에 도입되어 공정의 효율을 높이는 효과가 있는 것으로 연구하고 있다. 특히 식물로부터의 초음파를 이용한 추출이 생물 활성물과 식물성분의 용매 추출동안 초음파를 이용하는 것이 효과가 있는 것으로 나타나고 있다^{1,2)}.

이에 본 연구에서는 기능성 소재로 이용되고 있는 생약재인 가시오갈피(*Acanthopanax senticosus* Harms), 마황(*Ephedra sinica* Stapf), 복분자(*Rubus coreanus* Miq), 인진쑥(*Artemisia capillaris* Thunb)의 가공 수율 증진 및 유용 생리 활성기능의 이용 확대를 위해 기존의 이용되어온 열수 추출을 이용한 물 추출에 초음파를 병행하는 추출 공정을 이용해 열수 추출물과 면역활성을 비교하고자 한다.

재료 및 방법

재료 및 초음파 추출 조건

실험에 사용한 생약재료는 가시오갈피, 마황, 복분자, 인진쑥으로 각 시료를 수직 환류 냉각기가 부착된 추출 flask에 시료중량에 대하여 각각 10배의 증류수를 추출용매로 사용하여 40°C, 60°C, 100°C에서 추출하였으며, 100°C는 12시간 동안, 40°C, 60°C는 24시간 동안 추출한 것을 다시 초음파 추출기(Asia industry, Korea)를 통하여 각각의 온도인 40, 60, 100°C에서 60 KHz의 초음파로 30분간 초음파 추출을 병행하였다. 얻어진 각각의 추출물들은 감압 여과장치로 여과하여 농축 후 동결건조 한 뒤에 각각의 수율을 계산하였다.

Human CD4⁺ T-cell line에 대한 생육 증진 및 Cytokine 측정

면역세포들이 배지 내에 분비하는 cytokine인 Tumor necrosis factor- α 와 Interleukine-6의 양은 ELISA kit(genzyme, USA)를 이용하여 인간 면역 세포인 Jurkat(Human CD4⁺ T-cell line)을 이용하여 면역활성을 측정하였다. 시료 첨가 후 면역활성 측정은 MTT assay³⁾를 이용하여 450 nm에서 흡광도를 측정하여 cytokine의 양을 측정하였다.

결과 및 고찰

초음파 병행 추출과 열수 추출물의 수율

가시오갈피(*Acanthopanax senticosus* Harms), 마황(*Ephedra sinica* Stapf), 복분자(*Rubus coreanus* Miq), 인진쑥(*Artemisia capillaris* Thunb)의 추출 수율은 Table 1과 같다. 물 추출과 물 추출 후 초음파를 병행한 모든 조건 중 100°C에서 많은 추출 수율을 보였지만, 물 추출물과 초음파 병행 추출물을 비교하면 60°C의 물 추출물보다 초음파 병행 추출물이 2배에 가까운 수율 증진을 나타내었고 추출량도 많았다. 그 중 복분자가 가장 높은 추출 수율을 보였는데, 이는 복분자 성분중 대다수를 차지하는 phenol성 물질의 증가로 인하여 기존의 물 추출에 비하여 초음파 병행추출물의 수율이 비교적 낮은 온도에서도 높게 나타나는 것은 초음파 조사시 용존산소나 기포를 액외로 방출시키는 탈기현상을 일으켜 상승작용을 일으킴으로 인하여 기존의 물 추출보다 더 효율적인 추출이 이루어져 수율이 높게 나타나는 것으로 보여진다.

Table 1. Comparison extraction yields of water extract and ultrasonification extract from *Acanthopanax senticosus* Harms, *Ephedra sinica* Stapf, *Rubus coreanus* Miq and *Artemisia capillaris* Thunb.

| Sample | Extraction temperature(°C) | Yields(% v/v) | |
|----------------------|----------------------------|---------------|-------|
| | | I | II |
| <i>A. senticosus</i> | 40 | 6.30 | 2.78 |
| | 60 | 7.80 | 3.13 |
| | 100 | 10.80 | 5.02 |
| <i>E. sinica</i> | 40 | 7.90 | 3.03 |
| | 60 | 10.14 | 5.35 |
| | 100 | 12.7 | 7.31 |
| <i>R. coreanus</i> | 40 | 10.75 | 6.09 |
| | 60 | 16.56 | 10.32 |
| | 100 | 20.50 | 16.16 |
| <i>A. capillaris</i> | 40 | 6.28 | 3.40 |
| | 60 | 9.54 | 5.34 |
| | 100 | 16.37 | 9.69 |

I : Ultrasonification Extract II : Water extract

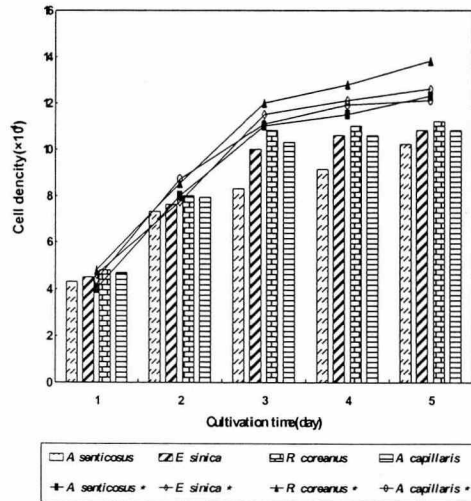


Fig. 1. The growth of human T-cell in adding the (1 mg/ml) water extracts and *water extracts with ultrasonification and at 60°C.

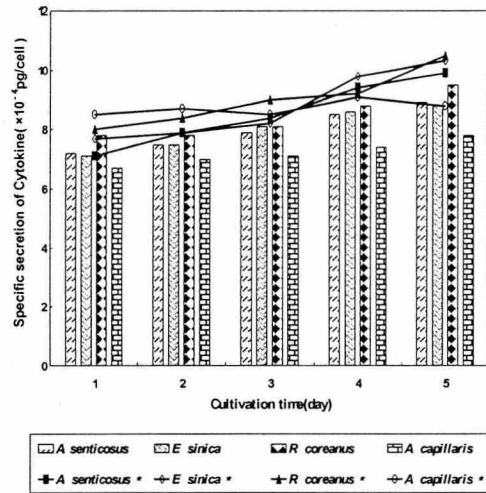


Fig. 2. Kinetics of secretion TNF- α from human T-cell cultured in adding water extracts and *water extracts with ultrasonification at 60°C.

면역 활성도와 비교

각 추출물을 가지고 총 5일간 Human T-cell의 생육도와 TNF- α 분비량을 확인하였다. Fig. 1에서 복분자(*Rubus coreanus* Miq) 초음파 병행 추출물이 1.0 g/L에서 12×10^4 cell/ml로 증진 효과가 가장 크게 나타났으며 초음파 병행 추출물들 대부분이 물 추출물들 보다 더 높은 증진효과를 가져왔다. Fig. 2에서 5일 동안의 TNF- α 의 분비량을 측정된 결과도 Fig. 1과 마찬가지로 증진효과가 큰 복분자(*Rubus coreanus* Miq) 초음파 병행 추출물이 가장 좋은 것으로 나타났다. Fig. 1, 2에서도 알 수 있듯이 초음파 병행 추출물이 물 추출물에 비해 T-cell의 생육을 활성화시키고 cytokine 분비량을 촉진하는 것을 알 수 있다. 이는 초음파를 통해 복분자의 phenolic 성분 및 식물성분의 증가로 인하여 상승작용을 나타낸 것으로 생각된다.

요 약

물 추출과 초음파를 병행한 모든 조건 중 60°C에서 초음파 병행 추출물이 보다 높은 추출 수율을 보였고 그 중 복분자가 가장 높은 추출 수율을 보였다. 또한 총 5일간 인간 면역세포인 T-cell의 생육도와 Cytokine 분비량을 확인한 결과도 마

찬가지로 물 추출물보다는 초음파를 병행한 추출물이 더 높은 면역 증진 효과를 보였다. 이는 초음파를 통해 발생하는 액체 상호간의 상승작용으로 인하여 생약 재중에 함유되어 있는 많은 phenol성 물질 및 식물성분의 증가로 생리활성 물질의 증가를 가져오기 때문이다. 더욱이 100°C가 아닌 60°C에서 더 높은 면역 증진 활성을 보인 이유는 액체 상태의 과도한 열로 인하여 내부 식물성분의 파괴 및 열 변성을 가져와 이런 결과를 가져온 것으로 생각된다.

이상의 결과로 기존의 100°C 물 추출물보다는 60°C의 비교적 낮은 온도에서 초음파 추출을 통한 생약재의 추출물들이 더 높은 활성을 나타내므로 초음파 추출에 대한 다양한 실험 모델을 통해 더 많은 실험이나 기능성 식품 및 소재 개발에 이용되고자 한다.

References

1. Toma. M., M. Vinatoru, L. Paniwnyk and T. J. Mason (2001), "Investigation of the effects of ultrasound on vegetal tissues during solvent extraction", *Ultrasonics Sonochem.* **8**, 137-142.
2. M. Vinatoru (2001), "An overview of the ultrasonically assisted extraction of bioactive principles from herbs", *Ultrasonics Sonochem.* **8**, 303-313.
3. Carmichael, J., W. G. DeGraff, A. F. Gazdar, J. D. Minna and J. B. Mitchell (1987), "Evaluation of a tetrazolium-based semiautomated colorimetric assay: assessment of chemosensitivity testing", *Cancer Res.* **47**, 936-942.