

13종 허브추출물의 슈퍼옥사이드 소거능과 세포독성 및 면역증강 효과의 *in vitro*계 검색

정하열 · 김현배*

국립 한경대학교 식품공학과 및 식품생물산업연구소, *(주)바이오니아

In vitro Studies on the Superoxide Scavenging Activities, the Cytotoxic and the Immunomodulating Effects of Thirteen Kinds of Herbal Extracts

Ha-Yull Chung and Hyun-Bae Kim*

The Department of Food Science & Technology and
Institute of Food & Bio Research Hankyong National University

*Bioneer Corporation

Abstract

The superoxide scavenging activities of thirteen kinds of herbal extracts were examined together with their cytotoxic and immunomodulating effects. The extracts of 6 kinds of herbs such as eucalyptus, mate, peppermint, sage, thyme and yarrow, so called medicinal herbs, showed above 70% of the superoxide scavenging activities. They also showed cytotoxicities against the cancer cell lines of Hepa-1c1c7 and KB-3-1 as well as the normal fibroblast cell line of mouse. The IC_{50} values of above 6 herb extracts on the cancer cell lines were above or similar to the IC_{50} values on the normal cell line, so it was unable to observe the herb extract which showed cytotoxicity only to the cancer cell lines. Considering the results of nitric oxide test that the sage extract was the only one having the immunomodulating effect(37% of positive control), there was no significant relationship between the superoxide scavenging activities of herbs and their immunomodulating effects.

Key words : superoxide scavenging activity, herbs, cytotoxicity, immunomodulating effect

서 론

최근에 들어 우리 나라에서도 국민소득의 증가와 함께 의학 및 생명과학의 발달로 인하여 평균 수명이 증가하고 있는 추세이나, 생활의 풍족에 따른 식습관의 변화와 공해와 같은 환경 조건의 악화 등으로 인하여 암, 심장병, 뇌졸중과 같은 성인병의 발병률이 높아지고 있는 상황이다⁽¹⁾. 이러한 성인병들은 주로 생체조직 내의 구성성분이 과다한 산화작용에 의하여 점차 퇴화해 가는 퇴행성질환으로서 대체적으로 생체내의 유리기에 의한 세포막의 손상으로부터 직접, 간접적으로 발생이 가능하다는 학설이 제시되고 있다⁽²⁾. 이와 같은

유리기에 의한 세포손상설에 의하면 효소적 혹은 비효소적으로 생성되는 유리기는 화학반응성이 강하므로 생체성분과 반응하여 비가역적 장애물질을 형성시키는 것으로 알려져 있다^(3,4,5). 생체 분자의 산화적 상해를 유발하는 활성산소는 생체조직 중에서 superoxide dismutase(SOD)⁽⁶⁾, catalase, peroxidase⁽⁷⁾ 등과 같은 여러 종류의 효소작용에 의해 소거되는데 그 중에서도 SOD는 생체산소의 독성을 방지하는데 중요한 위치를 차지하고 있다⁽⁸⁾. 특히 peroxidase는 효소적으로도 제거되나 우리가 섭취하고 있는 식품 중에는 과잉의 활성산소를 특이적으로 포착하거나 소광시켜 이들에 의한 산소상해를 억제할 수 있는 성분이 다수 존재하고 있으므로 이를 이용하여 노화와 질병을 예방하고 식품에 있어서의 산화적인 품질열화를 최소화하는 방안이 제기되고 있다⁽⁹⁾.

이에 따라 많은 천연의 식품 성분에 대하여 활성산소 소거기능이 검색되어 그 결과가 보고되고 있는데

Corresponding author : Ha-Yull Chung, The Department of Food Science & Technology, Hankyong National University, Ansung, Korea
Tel : 82-31-670-5156
Fax : 82-31-677-0990
E-mail : chungyh1@hnu.hankyong.ac.kr

일반적으로 식품첨가물로 사용하는 향신료는 식품의 기호성을 높이는 역할 이외에도 산화적 품질저하와 미생물에 의한 변패를 억제하는데 효과가 있는 것으로 알려지고 있다⁽¹⁰⁾. 또한 향신료에 속하는 많은 허브류 식물들이 다양한 향미의 발현을 통하여 식품의 기호성을 증진시키는 작용을 함이 경험적으로 확인되면서 많은 관심을 끌고 있는 실정이다⁽¹¹⁾. 이러한 허브계 식물들은 기원전 2,800년경 고대 이집트시대 이래 지금까지 서구에서 약초 혹은 향초로서 사용되어 온 식물들을 지칭하는 것으로서 지금도 서구 각국에서는 허브계 식물의 대량재배가 날로 증가하고 있다^(10,11). 허브는 이미 널리 알려진 식욕증진 효과 및 생약재로서의 역할 이외에도 그 향기나 풍미가 탁월하고 독특하여 식품 소재로서 선별하여 사용하면 식품의 기호성을 증진시킬 수 있는 매력 있는 소재라고 할 수 있다. 이와 같은 허브류 식물에 대하여 지금까지는 주로 기호성의 증진을 도모시킬 수 있는 소재로서의 사용에 대한 검토와 더불어 산화억제 효과에 대한 연구가 많이 진행되어온 실정이며 허브류 식물에 함유된 정유성분을 중심으로 항산화 효과의 유효성분이 검색되어져 왔다⁽¹²⁾. 일반적으로 많이 알려진 항산화성이 높은 허브류 식물로는 rosemary나 sage 등을 들 수 있는데 이들은 지중해 연안이 원산지이며 향기가 탁월하고 항산화력이 강하여 각종 요리나 소스, 유지식품에 적용되고 있다⁽¹³⁾. 이 밖에도 많은 허브류 식물들이 서구의 전통음식의 재료로서 사용되어왔을 뿐만 아니라 향수, 화장품, 세정 등에도 이용되어 왔다. 이러한 용도 외에도 피로회복, 안면, 진정, 등 스트레스 해소와 더불어 방부, 항균작용, 산화방지, 노화방지 등과 같은 다양한 생리적 기능이 있는 것으로 보고되고 있다⁽¹³⁻¹⁸⁾.

최근 식품산업은 소득 수준의 향상과 식생활 방식의 변화로 여러 형태의 건강식품에 대한 수요가 증가하고 있는 추세이며 이에 따라 인체에 무해하며 건강 증진 기능이 있는 식품소재를 찾기 위한 많은 연구가 진행되고 있는 상황에서 구미 지역에서 전통적으로 사용되어온 허브류 식물들이 나타내는 생리활성을 조사하는 것은 식품 소재로서 허브류 식물들의 적극적 활용을 위한 기초 자료의 확보에서 의미가 있다 할 수 있다. 따라서 본 연구에서는 서구에서 오래 전부터 약용되어온 허브류 식물 중에서 풍미가 우수하고 퇴행성질환 예방의 생리적 효능이 발현될 수 있는 소재를 찾기 위하여, 허브류 식물추출물 중 일부에 대하여 유해 활성산소 소거기능을 검색하였다. 또한 일반적으로 식물 추출물이 나타내는 활성산소 소거능이 식물체내에 함유된 2차 대사산물이나 자체의 고유한 특이성분

에 의해 발현되는 경우가 많으며 이와 같은 생리활성 성분이 부가적으로 나타내는 암세포주에 대한 세포독성이나 대식세포의 활성화와 같은 면역체계의 증강 여부를 조사하기 위하여 활성산소 소거능이 확인된 시료에 대하여 몇 가지 암세포주에 대한 세포독성 효과와 더불어 nitric oxide test에 따라 대식세포의 활성화 정도를 측정하였다.

재료 및 방법

재료

본 실험에서 사용한 허브 추출물들은 Emil Flachsmann AG(Switzerland)에서 제조한 것으로 유럽 지역에서 수거한 허브류 식물을 채취하여 건조 후 자체 공정에 따라 열수로 추출하고 여과, 농축 후 분말화 공정을 거쳐 준비된 것이다.

수퍼옥사이드 소거능

수퍼옥사이드 소거능은 nitro blue tetrazolium(NBT) 환원법에 의해 측정 하였다⁽¹⁹⁾. Superoxide anion radical은 xanthine(0.4 mM/L)이 함유된 0.1 M 인산완충용액(pH 8.0)에 xanthine oxidase(0.049 units/mL)를 반응시켜 생성시키고 NBT(0.24 mM/L)를 첨가하여 생성된 $O_2^{\cdot -}$ 와 반응함에 의해 발색이 되도록 하였으며, 시료를 동시에 투여하여 시료에 의한 수퍼옥사이드 소거 효과를 측정하였다. 이 때 시료가 수퍼옥사이드 소거능을 나타낼 경우 $O_2^{\cdot -}$ 에 의한 NBT 환원 정도가 저해를 받게되어 발색의 강도가 줄어들게 되는 정도를 분광광도계를 이용하여 560 nm에서 측정하였다. 수퍼옥사이드 소거능은 다음의 식에 따라 나타내었다.

$$\text{수퍼옥사이드 소거능(\%)} = \frac{\{(Eb - Ed) - (Ea - Ec)\}}{(Eb - Ed)} \times 100$$

Ea: (시료 0.1 mL + NBT 1.0 mL + xanthine oxidase 효소액 1.0 mL)의 흡광도

Eb: (중류수 0.1 mL + NBT 1.0 mL + xanthine oxidase 효소액 1.0 mL)의 흡광도

Ec: (시료 0.1 mL + NBT 1.0 mL)의 흡광도

Ed: (중류수 0.1 mL + NBT 1.0 mL)의 흡광도

세포독성 실험

세포독성을 측정하기 위한 실험은 sulforhodamine B(SRB) assay 방법에 따라⁽²⁰⁾ 진행하였는데, 식물로부터 추출한 천연물의 일반적인 세포독성 검색에 있어

서 세포배양이 수월하고 실험결과에 재현성이 있으며 국내에서 쉽게 구할 수 있는 몇가지 세포주(KB-3-1; human oral cancer, L929; mouse normal fibroblast, Hepa-1c1c7; mouse hepatoma)에 대하여 실시하였다. 이때 각 시료는 최초 농도 10 mg/mL로 조성 후 원심분리 하여 침전물은 제거하고 상등액을 10배 씩 순차 희석함에 의해 최종 10^{-3} 까지 희석하여 사용하였다. 또한 각각의 시료마다 4가지 농도로 시료를 조제하여 (1,000 µg/mL, 100 µg/mL, 10 µg/mL, 1 µg/mL) 사용하였으며 시료의 농도 별로 3중 반복하여 세포독성 실험을 실시하였다.

SRB assay는 각각의 세포주에 대한 배지로 DMEM (Dulbecco's Modified Eagle Medium, Bio Whittaker, USA), RPMI 1640(Bio Whittaker, USA) 그리고 MEM (Minimum Essential Medium, Bio Whittaker, USA)에 5% fetal bovine serum(FBS, Bio Whittaker, USA)을 첨가하여 사용하였으며, 96 well plate의 각 well당 4.0×10^3 cells의 세포현탁액을 준비하고 각 well당 100 µL 씩 37°C, 5% CO₂ 배양기에서 24시간 배양하였다. 배양 후 80 µL의 배지와 검수액 20 µL를 각 well에 첨가하고 37°C, 5% CO₂ 배양기에서 각 세포주의 doubling time을 고려하여 2 cycle 동안 배양하여 실시하였다. 각 well의 시료가 첨가된 세포현탁액에 50% trichloroacetic acid 50 µL를 첨가하고 4°C에서 1시간 방치한 후 초순수로 5회 세척하였다. 이후 40°C 건조용 오븐에서 30분간 방치하고 0.1% acetic acid에 용해시킨 0.4% SRB 50 µL를 첨가하였다. 다시 30분간 상온에서 방치한 후 1% acetic acid로 5회 세척하고 40°C 건조용 오븐에서 30분 방치한 다음 10 mM unbuffered Tris base(pH 10.5) 200 µL를 첨가 후 용해시킨 다음 ELISA reader를 사용하여 540 nm에서 흡광도를 측정하였다.

면역증강 활성실험

면역증강 활성을 측정하기 위한 실험은 Liu 등⁽²¹⁾의 방법을 참고로 하여 nitric oxide test(NO) 법에 따라 실시하였다. 각 시료는 최초 농도 5 mg/mL로 조성 후 원심분리 하여 침전물은 제거하고 상등액을 2배 씩 순차 희석하여 최종 2~4까지 희석하여 사용하였다. 이때 각각의 시료마다 5가지 농도로 시료를 조제하고(500 µg/mL, 250 µg/mL, 125 µg/mL, 62.5 µg/mL, 31.3 µg/mL) recombinant mouse interferon- γ (PBL biomedical lab., USA)를 첨가하였으며 각 2회 씩 반복 실험하였다. 이때 양성 대조군으로 interferon- γ (IFN- γ , 10 units/mL, Calbiochem, USA) + lipopolysaccharide(LPS,

1 µg/mL, Calbiochem, USA)을 사용하였으며 음성 대조군으로는 배지, IFN- γ , LPS를 각각 사용하였다.

NO test는 ICR계 mouse(수컷, 20~25 g)복강에 4% thioglycolate 2 mL을 주사하여 대식세포를 활성화시킨 후 DMEM으로 복강을 세척하여 4°C에서 멸균처리된 시험관에 회수하고 10% FBS가 함유된 DMEM 배지에서 배양하여 96 well plate의 각 well 당 70 µL 씩 9×10^4 cells의 세포를 분주하고 시료와 LPS는 well 당 20 µL 씩, IFN- γ 는 well 당 10 µL 씩 첨가하였으며 그 외에는 이들 대신 배지를 30 µL씩 첨가한 후 37°C, 5% CO₂ 배양기에서 48시간 배양하였다. 배양 후에는 새로운 96 well plate에 well 당 0.5 N HCl을 5 µL씩 그리고 85 µL의 대식세포 배양액을 첨가하고 상온에서 10분간 진탕 교반 한 후 ELISA reader로 540 nm에서 흡광도를 측정하여 공시험으로 하고 90 µL의 Griess 시약(sulfanilamide : NED = 1 : 1, Promega, USA)을 첨가하여 상온에서 20분간 진탕 교반 한 후 ELISA reader로 540 nm에서 흡광도를 측정하여 시료에 대하여 생성된 NO₂를 산출하였다.

결과 및 고찰

수퍼옥사이드 소거능 실험

본 연구에서는 구미 지역에서 전통적인 향미 소재로서 사용되어온 허브 식물들 중에서 건강증진 효과를 기대할 수 있는 허브소재를 검색하기 위한 첫 단계로서 향미가 좋은 13종류의 허브를 선정하고 이들의 수퍼옥사이드 소거능을 NBT 환원법에 의하여 측정하여 발생된 수퍼옥사이드의 70% 이상을 소거하는 허브를 잠정적으로 선정할 때 13종류의 허브추출물 중에서 eucalyptus(84.9%), mate(90.0%), peppermint(78.8%), sage(72.4%), thyme(70.5%), yarrow(73.8%) 등 이었으며 나머지 7가지 허브 추출물들은 60% 미만의 수퍼옥사이드 소거능을 나타내었다(Fig. 1). 허브류 식물은 크게 aromatic 허브와 medicinal 허브 및 spicing, gardening을 위한 허브 등으로 나눌 수 있는데 수퍼옥사이드 소거능이 70% 이상인 6가지 종류의 허브들은 전통적으로 대부분 medicinal 허브로 분류되고 있어서⁽¹³⁻¹⁵⁾ 이들이 나타내는 수퍼옥사이드 소거능은 생리작용을 나타내는 성분과 연관이 있을 것으로 추측할 수 있었다. 이러한 medicinal 허브 식물들에서는 지금까지 여러 가지 약리 작용이 확인되고 있는데 여기에는 피로회복, 진정 등 스트레스 해소와 더불어 방부, 항균작용, 산화방지, 노화방지 등과 같은 다양한 생리적 기능이 있는 것으로 보고되고 있으며⁽¹³⁻¹⁸⁾ 이와 같은 생리활성과

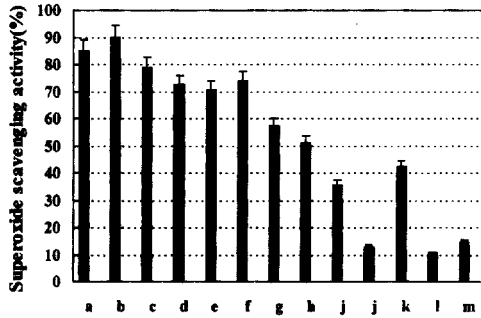


Fig. 1. Superoxide scavenging activities of 13 kinds of herbal extracts.

(a: eucalyptus, b: mate, c: peppermint, d: sage, e: thyme, f: yarrow, g: elder flowers, h: liquorice, i: artichoke, j: colanut, k: hops, l: pine, m: valerian)

더불어 유해 활성산소의 일종인 수퍼옥사이드에 대한 소거능이 있는 것을 확인 할 수 있었다. 본 연구 결과 eucalyptus의 수퍼옥사이드 소거능은 84.9%로 나타났는데 eucalyptus는 이미 항산화제로서 산업적으로 이용되고 있기도 하며 mate, sage, thyme과 같이 medicinal herb로 분류되고 있는 허브들은 대부분 구미 지역에서 감기 예방이나 피로회복을 위한 음용 소재로서 사용되어 지고 있다.⁽¹³⁻¹⁸⁾

세포독성실험

13종 허브추출물에서 정상세포주(L-929) 및 암세포주(KB-3-1, Hepa-1c1c7)에 대하여 나타내는 세포독성을 SRB assay 방법에 의하여 측정하여 생존세포율(cell viability, %)을 얻고 100%에서 생존세포율을 감하여 세포성장 억제율로 산출하였다. 세포독성실험 결과에서 각각의 세포주에 1,000 µg/mL 투여시 공히 50% 이상의 세포성장 억제율을 나타낸 허브추출물은 13종류 허브추출물에서 eucalyptus, mate, peppermint, sage, thyme, yarrow 등 이었으며 이들은 모두 수퍼옥사이드 소거능이 70% 이상으로 측정되어 다른 허브들에 비하여 수퍼옥사이드 소거능이 상대적으로 강한 허브들이었다(Table 1).

이와 같이 수퍼옥사이드 소거능이 다른 허브들에 비해 상대적으로 강하면서 실험에 사용한 각각의 세포주에 대하여 세포성장 억제율이 1,000 µg/mL 투여시 공히 50% 이상인 허브 추출물들을 대상으로 세포독성의 농도 의존성을 면밀히 조사하였다. 이들은 정상 세포인 L-929에 대하여 1,000 µg/mL 투여시 eucalyptus 91.7%, mate 89.7%, peppermint 90.3%, sage 89.6%, thyme 89.2%, yarrow 91.6%의 세포성장 억제효과를 나타내었으나 시료 투여 농도를 100 µg/mL로 할 때

Table 1. IC₅₀ (µg/mL) obtained from cytotoxicity tests of herbal extracts

	Herbs	L 929 ¹⁾	KB-3-1 ²⁾	Hepa-1c1c7 ³⁾
1	Eucalyptus	51	278	263
2	Mate	45	70	150
3	Peppermint	242	271	550
4	Sage	124	251	513
5	Thyme	153	269	495
6	Yarrow	169	138	147
7	Elder flowers	298.3	>1,000	>1,000
8	Liquorice	434.9	>1,000	>1,000
9	Artichoke	>1,000	>1,000	>1,000
10	Colanut	>1,000	>1,000	>1,000
11	Hops	>1,000	>1,000	>1,000
12	Pine	>1,000	>1,000	>1,000
13	Valerian	>1,000	>1,000	>1,000

¹⁾L-929; mouse normal fibroblast cell-line

²⁾KB-3-1; human oral cancer cell-line

³⁾Hepa-1c1c7; mouse hepatoma cell-line

eucalyptus 62.2%, mate 67.3%, peppermint 7.5%, sage 12.9%, thyme 13.9%, yarrow 15.9%의 세포성장 억제 효과를 나타내었다. 이는 eucalyptus 및 mate의 경우 각각 1,000 µg/mL 투여시를 기준(100%)으로 하였을 때의 67.8% 및 75%의 세포성장 억제효과를 나타낸 것에 비하여 peppermint, sage, thyme, yarrow 등은 투여 농도를 1/10으로 줄이는 경우에 각각 8.3%, 14.4%, 15.6%, 17.4%의 세포성장 억제효과를 나타내어 eucalyptus, mate의 정상세포에 대한 독성이 다른 4종류의 허브추출물에 비하여 강한 것으로 나타났다(Fig. 2a).

그리고 구강암 세포주인 KB-3-1에 대하여 1,000 µg/mL 투여시 eucalyptus 92%, peppermint 87.7%, mate 89.7%, sage 89.8%, thyme 89.4%, yarrow 87.4%의 세포성장 억제효과를 나타내어 전체적으로는 87% 이상의 억제효과가 있었으며 정상세포에서와는 달리 이들은 투여 농도를 1/10으로 줄이는 경우에 전체적으로 세포성장 억제효과가 24% 이하로 감소하는 것으로 나타났다(Fig. 2b). 또한 mouse의 간암세포인 Hepa-1c1c7에 대하여는 1,000 µg/mL 투여시 전체적으로 72% 이상의 세포성장 억제효과를 나타내었으며 투여 농도를 1/10으로 줄이는 경우에는 전체적으로 세포성장 억제효과가 15% 이하로 감소하는 것으로 나타났다(Fig. 2c). 이러한 결과를 종합해 볼 때 세포독성을 나타낸 허브추출물들(eucalyptus, peppermint, mate, sage, thyme, yarrow)은 두가지 암세포주 보다 정상세포에 대하여 세포독성이 더 강함을 알 수 있었다.

13종류 허브추출물들의 정상세포주(L-929) 및 암세포주(KB-3-1, Hepa-1c1c7)에 대한 세포독성 실험 결과로부터 각 허브추출물에 대하여 얻은 IC₅₀ 값은 Table

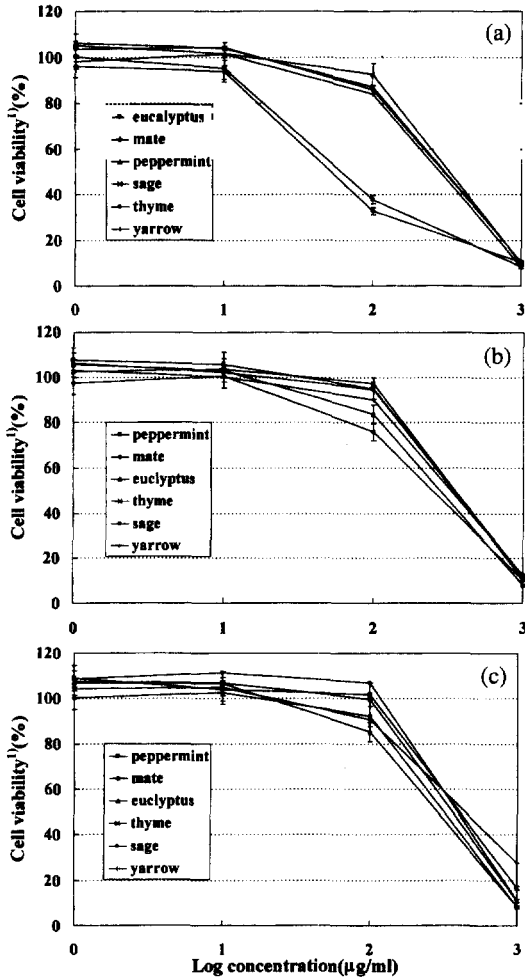


Fig. 2. a. Comparative cytotoxicities of herbal extracts against L-929 (mouse normal fibroblast cell-line), b. Comparative cytotoxicities of herbal extracts against KB-3-1 (human oral cancer cell-line), c. Comparative cytotoxicities of herbal extracts against Hepa-1c17 (mouse hepatoma cell-line).

¹⁾Cell viability; (cell counts at the end of the cell culture-cell counts at the beginning of the cell culture)×100/(cell counts at the beginning of the cell culture)

1과 같았다. 암세포주에 대한 IC₅₀ 값이 230 µg/mL 이상의 시료에 대하여 세포성장 억제효과가 미약한 것으로 간주할 때, 구강암세포에 대하여는 mate(70 µg/mL)와 yarrow(138 µg/mL) 추출물이 효과가 있었으며 간암세포에 대하여도 mate(150 µg/mL), yarrow(147 µg/mL)만이 세포성장 억제효과가 있는 것으로 예측할 수 있었다. 반면에 mate의 경우에 정상세포에 대한 IC₅₀ 값이 45 µg/mL으로서 동일 농도를 투여할 경우 정상세포의 성장이 더 억제될 가능성을 확인할 수 있었다.

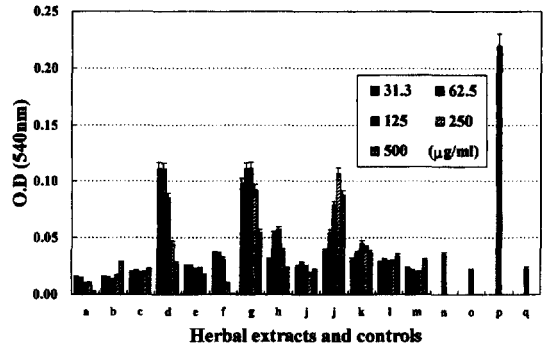


Fig. 3. Comparative immunomodulating activities of the 13 kinds of herbal extracts and controls.

(a: eucalyptus, b: mate, c: peppermint, d: sage, e: thyme, f: yarrow, g: elder flowers, h: liquorice, i: artichoke, j: colanut, k: hops, l: pine, m: valerian, n: interferon γ , o: lipopolysaccharides, p: (n) + (o), q: media)

Yarrow의 경우에는 정상세포에 대한 IC₅₀ 값이 169 µg/mL으로서 두 종류의 암세포주에 대한 IC₅₀ 값인 138 µg/mL, 147 µg/mL과의 차이가 크지 않아 다른 허브추출물들과 마찬가지로 암세포와 정상세포에 대한 세포독성의 차이를 확인할 수 없었다.

이상의 세포독성 실험결과를 수퍼옥사이드 소거능 측정실험 결과와 비교해 볼 때, 수퍼옥사이드 소거능이 다른 허브들에 비해 상대적으로 높은 eucalyptus, peppermint, mate, sage, thyme, yarrow 등이 Hepa-1c17, KB-3-1과 같은 암 세포주 및 L-929와 같은 정상 세포주에 대하여 세포독성이 있으며, 이들이 나타내는 세포독성력에서 정상세포주와 암세포주에 대하여 별다른 차이를 확인하기 어려웠다.

면역증강 활성실험

본 연구에 사용한 허브추출물들의 일부가 수퍼옥사이드 소거능 및 세포독성력을 갖는 것으로 나타남에 따라 이들이 면역증강 활성유도능도 보유하는지 여부를 파악하기 위하여 대식세포의 면역활성 유도능을 기본적으로 검색하는 NO test를 실시하였다. 대식세포는 면역반응에 있어서 주요한 인자로서 작용하며 면역반응이 일어나는 동안 만들어진 cytokine signal은 면역계의 복잡한 경로를 통해 궁극적으로 대식세포를 활성화하는데 이들은 세포 내 침입한 병원균을 감소시키는 능력을 갖고 있으며 또한 세포 외 종양을 억제하는 능력을 나타내게 된다⁽²²⁾. 따라서 세포독성을 나타낸 허브추출물들의 세포 증식 억제 효과 이외에도 이들이 나타내는 대식세포 활성화 정도를 알기 위하여 본 실험을 실시하였다. 본 실험에서는 대식세포 활

성화의 지표물질로 IFN- γ 와 LPS를 사용하였는데 IFN- γ 는 복강세포에서 분리한 대식세포를 일차적으로 priming 시키는 작용을 하며 LPS는 1차적으로 priming된 대식세포를 triggering 시킴으로서 궁극적으로 대식세포의 활성화를 증가시키게 된다. 13종류 허브추출물에서 수퍼옥사이드 소거능과 세포독성이 상대적으로 강한 eucalyptus, peppermint, mate, sage, thyme, yarrow 들을 대상으로 NO test의 결과를 보면 지표물질인 IFN- γ 와 LPS의 혼합시료에 의한 측정치를 기준(100%)으로 할 때 대식세포 활성화 정도의 백분율을 산출하면 eucalyptus(7.4%), peppermint(7.4%), mate(11.1%), sage(37%), thyme(7.4%), yarrow(14.8%)로서 세포독성을 나타낸 허브추출물 중에서 지표물질과 비교할 때 sage 만이 대식세포를 약 37% 정도 활성화 시키는 능력이 있음을 알 수 있었으며 그 외에 colanut와 elder flowers가 sage와 유사한 정도의 대식세포 활성화 증가를 나타내었다(Fig. 3). 이상의 결과에 의하면 검색한 13 종류의 허브 추출물 중에서 sage만이 미약하나마 대식세포의 활성증가를 유도하는 것을 알 수 있었다. 17세기경부터 유럽과 중국에서 sage는 강장, 진정, 살균 효과를 갖는 medicinal 허브로 사용되어온 것은⁽¹³⁾ 본 연구에서 확인한 sage의 수퍼옥사이드 소거능, 면역증강 유도능과 무관하지 않음을 알 수 있다 하겠다. 이 외에 세포독성을 보인 다른 허브추출물들의 면역체계의 증강에 대한 효과는 추가적으로 B 세포나 T 세포 혹은 NK세포의 활성화 정도에 미치는 영향을 세밀히 파악해 볼 필요가 있는 것으로 사료되었다.

요 약

인간의 체내에서 과량으로 생성된 활성산소가 자체 방어기전에 의해서 분해 혹은 소거되지 않는 경우에 이는 생체 조직 내 세포와 면역체계에 관련된 효소들을 손상시켜 암이나 면역질환과 같은 퇴행성 질환을 야기 시키는 것으로 알려지고 있다. 이에 본 연구에서는 고대 이집트 시대 이래 지금까지 서구에서 약초 혹은 향초로서 사용되어온 13종 허브추출물에 대해서 유해산소 소거능을 검색하고 SRB assay 방법에 따라 두 가지 암세포주(Hepa-1c1c7, KB-3-1)와 정상세포주(L-929)에 대한 세포 독성을 조사하였다. 또한 이들에 의한 대식세포의 활성화와 같은 면역체계의 증강 유도 여부를 파악하기 위하여 NO test에 따라 대식세포의 활성화 정도를 간접적으로 측정하였다. 그 결과 13종류의 허브추출물에서 일반적으로 medicinal 허브로 분류되고 있는 eucalyptus, peppermint, mate, sage, thyme,

yarrow 등의 수퍼옥사이드 소거능이 다른 허브들에 비해 상대적으로 강한 것으로 나타났다. 또한 이들은 Hepa-1c1c7, KB-3-1과 같은 암세포주 및 L-929와 같은 정상세포주에 대하여도 세포독성을 나타냈으며 이때 각각의 허브추출물에 의해 측정된 암세포주에 대한 IC₅₀ 값들은 정상세포주에 대한 IC₅₀ 값들보다 크거나 유사한 경향을 나타내어 암세포주에만 선택적으로 세포독성을 나타내지 않았다. 면역증강 활성실험에 있어서는 수퍼옥사이드 소거능이 다른 허브들에 비해 상대적으로 강한 6종류의 허브추출물 중에서 sage 만이 표준시료의 37% 정도의 활성을 나타내어 각 시료의 수퍼옥사이드 소거능과 면역증강 활성과의 연관성은 크지 않은 것으로 나타났다.

문 헌

1. Lee, Y.J. Get out of the superoxide from the body. pp. 44-48. In: KBS Bureau of Cultural Business, Seoul, Korea (1998)
2. McCord, J.M. Free radicals and inflammation: Protection of synovial fluid by superoxide dismutase. Science 185: 529-531 (1974)
3. Petrone, W.F., English, D.K., Wong, K. and McCord, J.M. Free radicals and inflammation: Superoxide-dependent activation of a neutrophil chemotactic factor in plasma. Proc. Nat'l. Acad. Sci. USA 77: 1159-1160 (1980)
4. Draper, H.H. and Bird, R.P. Antioxidants and cancer. J. Agric. Food Chem. 32: 433-435 (1984)
5. Wiseman, H. Dietary influences on membrane function: Importance in protection against oxidative damage and disease. J. Nutr. Biol. Chem. 7: 2-3 (1996)
6. Fridovich, I. Superoxide dismutase an adaption to paramagnetic gas. J. Biol. Chem. 264: 7761-7762 (1989)
7. Starke, P.E. and Farber, J.L. Endogenous defense against the cytotoxicity of hydrogen peroxide in cultured rat hepatocytes. J. Biol. Chem. 260: 86-88 (1985)
8. Fridovich, I. Superoxide dismutase. Adv. Enzymol. 41: 36-37 (1974)
9. Halliwell, B., Murcia, M.A., Chirico, S. and Aruoma, O.I. Free radicals and antioxidants in food and in vivo: What they do and how they work. CRC Rev. Food Sci. Nutr. 35: 7-8 (1995)
10. Choi, Y.J. Botanical Encyclopedia of Flavor and Seasoning, pp. 53-65. Ohsung Publishing Co., Seoul, Korea (1992)
11. Cho, T.D. The Herbs, pp. 62-65. Daewon Publishing Co., Seoul, Korea (1998)
12. Chung, H.Y. Screening of herb extracts containing the scavenging activity of superoxide anion produced by xanthine oxidase. Thesis Collection of Hankyong National University 29: 123-127 (1997)
13. Boxer, A. and Back, P. The herb book, pp. 57-68. Chancellor Press, London, UK (1980)

14. Clevely, A. and Richmond, K. The complete book of herbs, pp. 51-52. Smithmark Publishing Inc., New York, USA (1995)
 15. Bremness, L. The complete book of herbs, A practical guide to growing and using herbs, pp. 238-242. Viking Studio Books, New York, USA (1988)
 16. Chapman, A. The country kitchen Herbs, pp. 6-7. Weldon Publishing Inc, Willoughby, UK (1992)
 17. Ody, P. Home herbal, pp. 29-47. Dorling Kindersley Publishing Inc., New York, USA (1995)
 18. Holt, G. Complete book of herbs, pp. 18-19. Henry Holt Co., New York, USA (1992)
 19. Wakou Joonyaku Gokyo Technical Service Center. SOD test method. Wakou Joonyaku Gokyo Inc., Tokyo, Japan (1996)
 20. Skephan, P. New colorimetric cytotoxicity assay for anticancer drug screening. J. Nat'l Cancer Inst. 82: 1107-1110 (1990)
 21. Liu, W.K. Activation of peritoneal macrophages by polysaccharopeptide from the mushroom. Immunopharmacol. 26: 139-140 (1993)
 22. Oh, C.H. Introductory New Immunology, pp.191-197. Jigu Publishing Co., Seoul, Korea (1998)
-
- (1999년 5월 29일 접수)