

복분자 열매 추출물의 유용 생리활성 탐색

이미경* · 이현수* · 최근표*** · 오덕환* · 김종대* · 유창연** · 이현용*†

* 강원대학교 바이오산업공학부, ** 강원대학교 농업생명과학대학 식물응용과학부, *** 강원전문대학 식품생명과학과

Screening of biological activities of the extracts from *Rubus coreanus* Miq.

Mi Kyoung Lee*, Hyun-Soo Lee*, Geun Pyo Choi***, Deog Hwan Oh*
Jong Dai Kim*, Chang Yeon Yu**, Hyeon Yong Lee*†

*School of Biotechnology and Bioengineering, Kangwon National University, Chunchon 200-701, Korea

**Division of Applied Plant Sciences, College of Agriculture and Life Sciences, Kangwon National University, Chunchon 200-701, Korea

***Dept. Food & Life Science, Gangwon Provincial University, Gangneung, Korea

ABSTRACT : The biological activities of extracts from *Rubus coreanus* Miq. were compared. About 70% of the growth of human hepatocarcinoma and 79% of human gastric cancer cell was inhibited in adding 1.0 mg/ml of the extracts of *Rubus coreanus* Miq. respectively. The growth of human breast cancer cells was also inhibited in adding 1.0 mg/ml of the extracts as well as 78% of the human cancer cells. It was proved that the growth of human normal lung cell, scored as 15% for the extracts. Overall selectivity of the extracts on several human cancer cell line was over 5, which is higher than those from the *Rubus coreanus* Miq. The growth of both human immune B and T cells was enhanced up to 1.4 to 1.8 times by adding the extracts, compared to the controls. The secretion of tumor necrosis factor- α (TNF- α) from T cell was also increased up to 78.8 pg/ml in adding the ethanol extract (0.5 mg/ml). Ethanol extract also increased up to about 70 pg/ml of interleukin-6(IL-6) from B cell. For screening regulate function of blood pressure, angiotensin converting enzyme(ACE) activity was inhibited up to 25% by adding the ethanol extract (1.0 mg/ml). In testing the hypoglycemic activity, 20% of α -glucosidase activity was inhibited for the extracts (0.5 mg/ml). GST activity was increased in the range of 1.2 to 1.6 times by adding extracts.

서 언

생약재는 우리나라를 비롯한 동양권에서 오랜 기간 질병치료와 예방목적으로 사용되어왔으며, 생약재의 2차 대사산물들이 생체에 대한 생리활성을 나타내면서 많은 천연자원에 대한 연구가 활발히 진행되고 있다. 복분자는 장미과에 속하는 식물로서 식용 및 약재용으로 널리 사용되고 있으나 그에 대한 연구가 미흡한 실정이다. 본 연구는 복분자 열매에 대한 세포독성과, 면역 증진 효과를 검

색하고 각종 성인병에 관련된 효소들에 대한 활성등을 검색하여 이들에 대한 이용 및 부가가치를 높이고자 하는 목적으로 진행하였다.

복분자(*Rubus coreanus* Miq.)는 중국, 일본, 우리나라 중남부 지방의 해발 1000m 아래 산기슭에 자생하는 장미과의 낙엽활엽 덩굴성 식물로 7-8월 경에 반구형의 장과로 열매가 열려 붉게 익은 후 검게 변하는데 미성숙 열매를 건조시킨 것을 복분자라 한다(Kim, 1997). 복분자의 용도는 식용, 약용 및 밀원 등으로 이용되며, 한방에서는

† Corresponding author(phone) : 033-250-6455, E-mail : hyeonl@kangwon.ac.kr

Received 13 November 2002 / Accepted 19 February 2003

강장, 명안, 지신, 음위, 양모 등에 약재로 많이 이용되고 있다(Jeong, 1996). 영양성분으로는 무기질의 인과 철 칼륨이 많이 함유하여 있고 특히 유기산과 비타민 C가 많이 포함되어 있으며, phenol 화합물들로 aempferol, quercetin, sanguin H-5, ellagic acid, 3-O-β-D-glucuronide등이 보고 되었다(Lee, 1995). 복분자는 가공 식품 분야에서 음료 등으로 이용되고 있으며, 그에 대한 연구는 유전, 육종 분야, 성분연구, phenol 성분들의 항산화성 등(Lee et al., 2000 ; Hong et al., 2002 ; Ju et al., 1982)이 이루어져 있으나 기타 생리활성에 대한 연구는 미흡한 편이다.

따라서, 본 연구에서는 장미과인 복분자에 대하여 여러 암세포주에 생육억제 활성과 인간 면역 세포에 대한 활성 증진 실험으로 배양 기간동안 세포 생육도의 증진과 cytokine의 분비를 측정하였다. 또한 각종 성인병과 관련하여 여러 효소들의 활성을 측정하였는데, 혈압 상승 억제 효소인 ACE와 식사 후 혈당 상승을 유도하는 효소인 α-glucosidase의 활성 억제를 측정 하였으며, 간에서의 해독작용의 중요 지표 중 하나인 GST의 활성 증진을 측정하였다.

재료 및 방법

1. 실험 재료 및 추출방법

본 실험에 사용한 복분자(*Rubus coreanus* Miq.) 열매는 경동시장에서 국산으로 확인된 것을 구입하여 물로 깨끗이 세척 후 열풍 건조기를 이용하여 24시간 동안 건조 중 잡열 등에 의해 시료내 유용성분들의 손상을 방지하기 위하여 32.5℃에서 건조시킨 후에 추출 수율의 향상을 위해 잘게 분쇄한 후 수직의 환류 냉각기가 부착된 추출 flask에 시료 중량 100g 에 대하여 각각 10배의 증류수와 ethanol을 사용하여 100℃와 78℃에서 12시간 동안 2회 반복 추출하였다. 얻어진 각각의 추출물들은 감압 여과장치로 여과하여 농축·동결건조 한 후 각각의 수율을 계산하여 실험에 사용하였다.

2. 면역 증진 검색

면역 기능 증강 효과는 인간 면역 세포인 T cell(Jurkat)과 B cell(Raji)을 이용하여 검토하였다. 세포의 생육은 10% FBS를 함유하는 RPMI 1640 배지에서 5% CO₂, 37℃에서 배양하였으며, 면역 기능 증강 효과는 24 well plate에 세포를 2.0×10⁴cells/ml의 농도로 조절한 후 0.2 μm의 filter로 여과되어진 시료(0.5mg/ml)들은 24시간이 지난 각각의 well에 첨가한 후 8일간 다시 incubation시켰다. 배양 후 cell을 hemacytometer로 세포 수를 측정

하였다. 그리고 추출물들을 처리하지 않은 대조구와 비교하여 세포의 생육과 세포 수에 따라 면역활성을 측정하였다. 또한 보다 명확한 면역활성 효과를 검증하기 위한 면역세포들이 배지 내에 분비하는 cytokine인 Tumor Necrosis Factor-α와 Interleukine-6의 양은 ELISA kit(Genzyme, USA)를 이용하여 측정되어졌다. 배양액을 원심분리 한 상등액을 다양한 농도의 표준물질들과 함께 37℃에서 30분간 배양 후 450nm에서 흡광도를 측정하여 표준물질을 이용해 표준곡선을 작성하고 이에 시료에서 얻어진 O.D값을 비교하여 cytokine의 양을 측정하였다(Oh, 1991).

3. 암세포의 성장저해 및 독성 실험

실험에 사용된 암세포주는 인간 유래의 간암세포(Hep3B), 위암세포(AGS), 유방암 세포(MCF7), 폐암세포(A549), 정상세포로는 인간 폐세포(Hel299)을 이용하였다. 세포 배양에 사용된 기본배지는 AGS, A549는 RPMI1640 (GIBCO, USA)을 Hep3B, MCF7는 DMEM(GIBCO, USA), 293은 MEM (GIBCO,USA)를 사용하여 FBS를 10% 첨가하여 배양하였다. 실험에 사용한 세포의 초기 농도는 4×10⁴ cells/ml 의 농도로 조절하여 96well tissue culture microplate에 100μl/well씩 접종하여 사용하였다. 암 세포의 생육저해와 정상세포의 세포 독성은 sulforhodamine B(SRB) 방법을 이용하였다(Doyle et al., 1993; Dool et al., 1981).

4. 세포사멸 형태 측정

세포 사멸형태는 염색법을 이용하여 측정(Al-Rubei et al., 1995; Bharat et al., 1985)하였다. 염색시약은 Ca²⁺와 Mg²⁺이 없는 PBS에 acridine orange와 ethidium bromide를 각각 100ug/ml가 되도록 녹였다. 이 두 용액을 섞고 세포농도가 5×10⁶ cells/ml가 되는 세포 현탁액 100μl에 염색시약 4μl를 첨가한 후 형광 현미경으로 세포를 관찰하였다.

5. Microphysiometer를 이용한 세포 산화도 측정

복분자 열매 에탄올 추출물의 세포에 대한 대사(산화)활성도의 영향을 측정하기 위하여 Microphysiometer (Molecular Devices, USA)를 사용하였다(Junferg et al., 1997). 측정조건은 Pump cycle은 total cycle time이 2분으로 하여 최종 측정되는 시간은 30초 간격으로 시료 투여 후 3시간 동안 측정하였다. 각 cell은 Plate속에 있는 capsule cup에 3 10⁵cells/ml의 농도로 세포를 투여하여 37℃, 5% CO₂의 incubator에서 24시간 안정화시킨 다음 측정할 때 spacer, insert를 차례로 넣은 후,

plate 속에 들어있는 capsule cup만을 sensor chamber에 장착하여 측정하였다. 이때 running buffer는 세포의 growth medium으로 하였으며, 본 실험에서는 인간 간암 세포인 Hep3B와 정상 폐세포인 HEL299를 이용했고, running buffer로 세포주에 따라 각각 DMEM과 RPMI 1640배지를 사용하였다(Masanori, 1997; Lingchuan, 1999).

6. ACE 억제 활성 탐색

ACE(angiotensin converting enzyme)는 고혈압을 유도하는 효소이므로 이 효소의 억제 활성을 측정하기 위해 ACE reagent를 사용했다. 실험 전에 모든 반응물을 37로 유지시켜 놓은 후 37 증류수 10ml에 ACE reagent one vial을 용해시키고 1ml씩 취하여 effendorf tube에 넣었다. 각 effendorf tube에 농도별 추출물과 ACE calibrator를 100 μ l씩 첨가한 후 37에서 5분간 반응시켜 340nm에서 흡광도를 측정하여 이것을 초기 A값으로 정하고 다시 5분이 지난 후 측정된 흡광도를 최종 A라 정하였다. 대조구로는 추출물 대신 증류수 0.1ml를 첨가한 것으로 하였다. Control의 ACE(U/L) 값은 아무 것도 첨가하지 않았을 때의 흡광도 변화를 측정된 것으로 하였으며 ACE의 활성 계산은 다음 공식에 준하여 산출하였다(Seico et al., 1996).

$$ACE (U/L) = \frac{(Initial A - Final A)_{test}}{(Initial A - Final A)_{control}} \times active\ of\ ACE\ reagent(50 \frac{U}{L})$$

7. α -glucosidase 억제 기능 탐색

생체 내에서 혈당 상승의 결정적인 역할을 하는 α -glucosidase를 이용하여 실험을 수행하였다(Welling, et al 1996). 먼저 효소를 10mM PIPES buffer에 용해시켜 제조한 효소액과 20mM maltose와 각 추출물을 각각 10 μ l, 40 μ l, 10 μ l를 혼합하여 최종 부피를 60 μ l로 각 추출물을 농도별로 혼합한 후 37에서 20분간 배양한다. 반응액 60 μ l에 1ml DNS 시약을 첨가하고 100 물에서 열탕 처리(10min)하여 반응을 정지시킨 후에 550nm에서 흡광도를 측정하여 효소 반응으로 생성된 환원당을 정량하여 각 추출물을 처리하지 않은 대조구와 비교하여 효소활성 저해율을 계산하였다.

8. GST 활성 탐색

복분자 열매 추출물의 해독작용 정도를 측정하기 위하여 간의 중요 해독기전 중의 하나인 GST(gultathion-S-transferase)의 활성을 측정하였다(Benson et al., 1979 ;

Kim et al., 1994). 조제된 반응시약에 대조구로 추출물이 제외된 반응액을 대조구로 하였으며, 각 추출물을 농도별로 첨가하여 37 $^{\circ}$ C에서 5분간 반응시킨 다음 기질로서 1-chloro-2,4-dinitro benzene을 첨가한 후 다시 37에서 2분간 반응시켰다. 반응 후 20% TCA를 가하여 반응을 종결시키고 원심분리 한 후 상등액을 340nm에서 흡광도를 측정된 뒤 다음과 같이 GST의 specific activity와 활성율을 계산하였다.

$$Total\ activity\ (units) = \left(\frac{A_{340}}{9.6} \right) \times \text{희석배수} \times \left(\frac{3ml}{0.1} \right) \times \text{crude extract}(ml)$$

$$Specific\ activity\ (units/ml\ protein) = \frac{\text{total activity}}{\text{total protein}}$$

$$\text{활성율} (\%) = \frac{\text{specific activity}_{test}}{\text{specific activity}_{control}} \times 100$$

각 실험 결과들은 실험군에서 최대치와 최소치를 제외한 자료들의 평균을 계산하였으며, 각 평균치간의 차이는 student t-test에 의해 유의성을 검정하였다.

결과 및 고찰

1. 추출 수율

복분자(*Rubus coreanus* Miq.) 열매의 증류수 및 에탄올 추출물의 수율은 각각 19.05%와 7.96%를 나타내었으며, 증류수 추출물이 에탄올 추출물보다, 2.4배 정도 높은 수율을 나타내었다.

2. 복분자 열매 추출물의 세포독성

정상세포에 대한 세포독성을 측정한 결과는 Fig. 1에 나타내었다. 복분자 열매 추출물의 경우 1.0 mg/ml의 농도에서도 정상세포 생존율을 85%이상으로 유지시켜 정상세포에 대한 안정성이 유지될 것으로 나타났으며, 같은 농도에서 복분자 열매 추출물의 암세포 생육억제활성이 70%이상으로 나타나 시료자체에 의한 독성은 나타나지 않으며, 암세포에 대한 선택적 사멸이 가능할 것으로 사료된다.

각 추출물의 암세포에 대한 생육억제활성은 Fig. 2와 3, Table 1에 나타난 바와 같이 0.1 mg/ml의 낮은 농도에서도 비교적 40~50%의 높은 억제율을 나타내었다. 복분자 열매는 증류수 및 에탄올 추출물 모두 0.5mg/ml이상의 농도에서 유방암 세포주인 MCF7에 대하여 78%이상, 폐암세포주인 A549에 대하여서는 모든 추출물에서 0.5mg/ml의 농도 이상에서 80%이상의 생육억제활성을 나타내었다. 간암세포주인 Hep3B에 대하여서는 증류수 추출물은 0.5mg/ml이상의 농도에서 약 60%정도, 에탄올

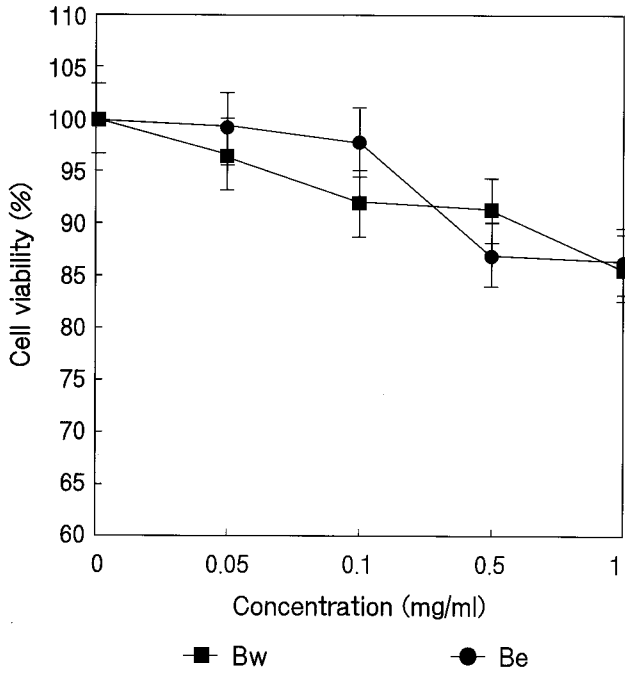


Fig. 1. Cell viability of human normal lung cell, HEL299 in adding the extracts from *Rubus coreanus* Miq.(Bw, H₂O Ex.: Be, EtOH Ex.).

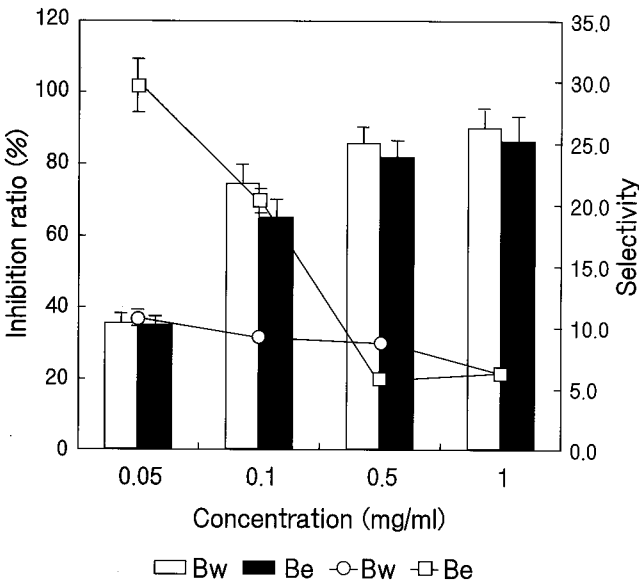


Fig. 2. Inhibition ratio of growth of human lung carcinoma, A549 (bar chart) and selectivity (scatter line) in adding the extracts from *Rubus coreanus* Miq. (Bw, H₂O Ex.: Be, EtOH Ex.).

추출물은 70%이상의 높은 암세포 생육억제활성을 나타내었으며, 위암세포주인 AGS에 대하여 증류수 추출물은 0.5mg/ml이상의 농도에서 약 78%정도, 에탄올 추출물은

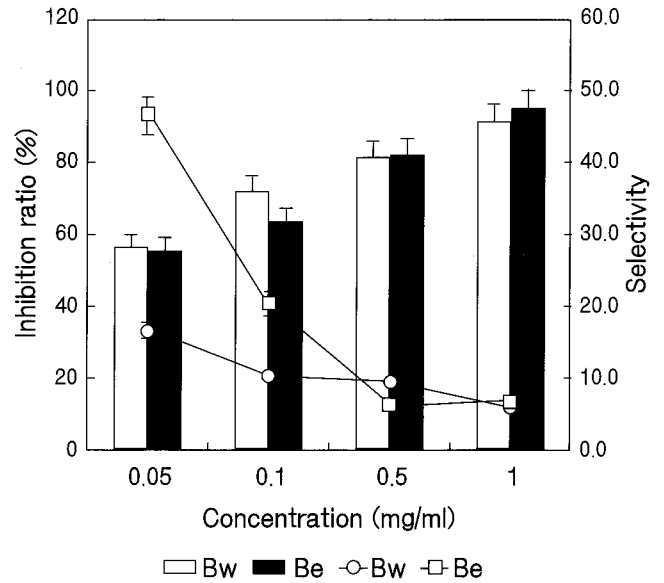


Fig. 3. Inhibition ratio of growth of human breast adenocarcinoma, MCF7(bar chart) and selectivity(scatter line)in adding the extracts from *Rubus coreanus* Miq.(Bw, H₂O Ex.: Be, EtOH Ex.).

89%이상의 높은 암세포 생육억제활성을 나타내었다. 또한 각 추출물의 정상세포독성에 대한 암세포의 억제율을 나타내기 위하여 같은 농도에서의 정상세포 사멸도에 대한 암세포 사멸도의 비를 나타내는 selectivity에 있어서 각 추출물이 0.1mg/ml에서 1.0mg/ml의 농도에서 5이상의 수치를 나타내어 복분자 열매 추출물들이 암세포를 선택적으로 사멸하는 기작을 지닌 것을 확인하였다.

3. 면역활성 탐색 결과

복분자 열매 추출물들이 암세포에 대한 선택적 사멸 기작을 갖고 있는 것으로 확인되어 이들이 인간 면역체계에 서 항체 생성의 중요한 역할을 하는 인간 B와 T 세포주의 생육촉진 실험 결과를 Fig. 4와 5에 나타내었다. 각 증류수 추출물과 에탄올 추출물의 면역세포생육 증진 기능은 Fig. 4에 나타난 바와 같이 0.5mg/ml의 농도에서 B세포의 생장을1.5배 이상 증진시켰으며, 단일클론 항체의 생성 등에 관여하는 cytokine인 IL-6는 물 추출물이 배양 6 일째 0.5mg/ml의 농도에서 최고 70 pg/ml의 분비량을 나타내었다. Fig 5에 나타난 T세포의 경우 1.8배 이상의 생육 증진 효과를 나타내었다. 또한 각 세포사멸이나 면역조절등의 기능을 수행하는 cytokine인 IL-6와 TNF- α 의 생성측정 정도를 측정한 결과, 또한 신호전달계도 활성화시켜 세포사멸을 유도하며, 염증, 감염 및 환경위해 인자에 의해 발현되며 발열, 쇼크, 조직손상, 암세포괴사, 식육

Table 1. Comparison of the ratio inhibiting the growth of four different cancer cell lines in adding the extracts from *Rubus coreanus* Miq.

Sample	Solvent	Concentration (mg/ml)	Inhibition ratio(%)				Selectivity			
			A549	AGS	MCF7	Hep3B	A549	AGS	MCF7	Hep3B
<i>R. coreanus</i>	H ₂ O	0.05	35.9	41.78	56.63	25.09	10.8	12.5	17.0	7.5
		0.1	75.64	59.48	71.85	48	9.1	7.1	8.6	5.8
		0.5	86.29	78.89	78.6	59.64	8.6	7.9	7.9	6.0
		1	90.75	91.63	91.69	77.09	6.1	6.1	6.1	5.1
	EtOH	0.05	35.54	39.78	30.12	11.45	29.6	33.2	25.1	9.5
		0.1	65.81	61.41	64.83	50	20.6	19.2	20.3	15.6
		0.5	81.87	89.41	79.38	70	6.0	6.6	5.8	5.1
		1	88.36	94.07	95.22	73.82	6.2	6.6	6.7	5.2

부진, 다른 cytokine의 발현, 세포분열, 세포분화, 세포사멸(apoptosis)등 광범위한 생리기능을 유도하는 중요한 cytokine 인 TNF- α (Eli, et al., 1991)도 복분자 물 추출물이 배양 6일째 최고 78.8 pg/ml의 분비량을 나타내었다. 복분자 열매의 경우 물 추출물이 에탄올 추출물에 비하여 높은 면역세포의 생육 증진활성을 나타냄을 확인하였다. 이는 암세포의 생육억제활성에 있어서 에탄올 추출물들과 비슷하거나 낮은 활성을 나타내 것에 반대되는 것으로 복분자에 포함된 면역활성 기능이 있는 유용성분 물질이 높은 온도에서 잘 녹아 나오는 수용성 물질로 사료되어

진다. 또한 물 추출물의 경우 에탄올 추출물에 비하여 약 2배 이상의 높은 수율을 나타내어 이를 잘 활용할 경우 용매의 수율 및 가격 측면에서 좀더 효율적인 복분자의 이용이 가능하리라고 예상된다. 또한 복분자 추출물들의 인간 면역 T cell에 대한 세포 사멸형태를 acridine orange와 ethidium bromide로 형광염색하여 측정된 결과, Fig. 6에 나타난 바와 같이 배양 3일째부터 20% 이상의 세포들이 자가 사멸 형태로 사멸함을 확인할 수 있었다.

높은 암세포 생육억제 활성을 나타낸 복분자 에탄올 추출물들이 암세포와 정상세포에 미치는 영향을 Microphysiometer를

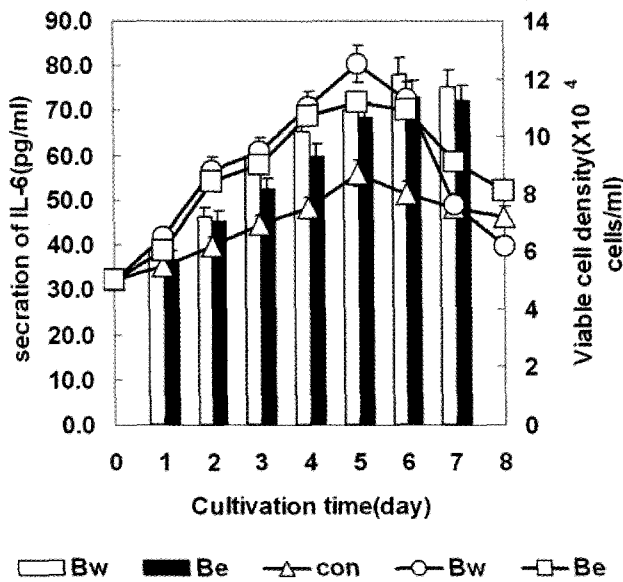


Fig. 4. The relationship between the growth of human Immune B-cell (scatter line), and the secretion of cytokines IL-6 (bar chart) by adding 0.5mg/ml of the extracts from *Rubus coreanus* Miq. (Bw, H₂O Ex.; Be, EtOH Ex.).

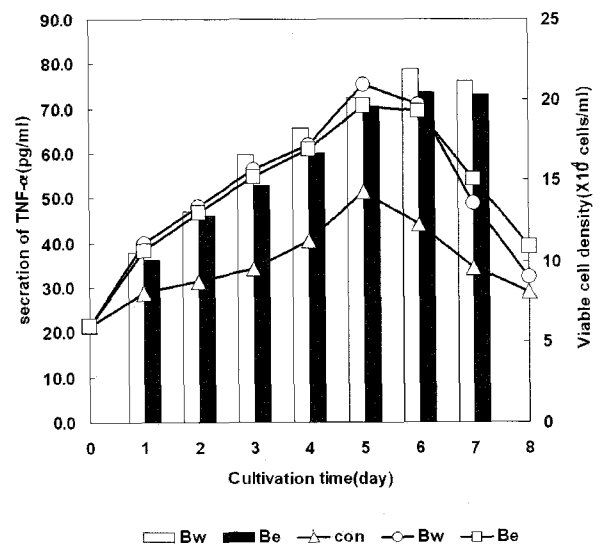


Fig. 5. The relationship between the growth of human Immune T-cell (scatter line), and the secretion of cytokines TNF- α (bar chart) by adding 0.5mg/ml of the extracts from *Rubus coreanus* Miq. (Bw, H₂O Ex.; Be, EtOH Ex.).

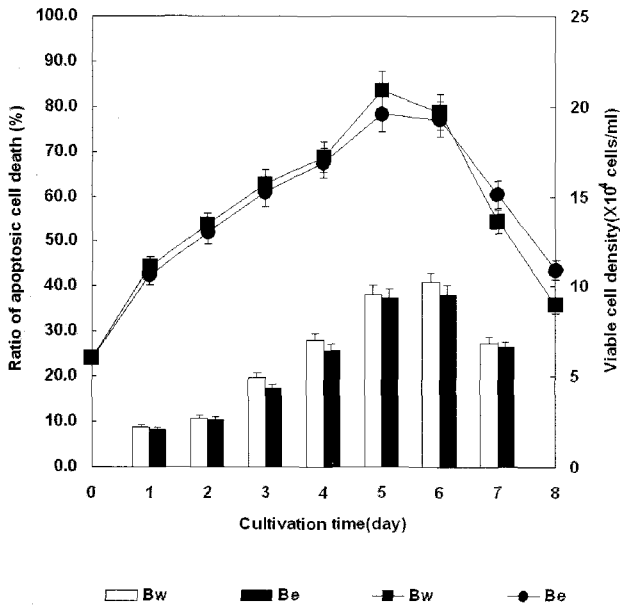


Fig. 6. Cell growth (scatter line) and the change in death pattern (bar chart) of human immune T cells in adding 0.5 mg/ml of the extracts from *Rubus coreanus* Miq. (Bw, H₂O Ex.; Be, EtOH Ex.).

이용하여 시간에 따른 세포의 산화도로 측정된 결과는 Fig. 7에 나타낸 바와 같다. Microphysiometer를 이용한 시간에 세포의 산화도 측정은 세포가 시료 투여 후 나타내는 산화도를 시간에 따라 나타냄으로서 시료의 처리시간 및 적정농도 등을 확인할 수 있도록 하는 방법으로, 복분자 열매 에탄올 추출물을 이용하여 간암세포(Heb3B)와 정상세포(HEL299)에 대한 대사(산화)활성도의 영향을 3시간 동안 측정된 결과, 0.5ml/ml 농도의 에탄올 추출물을 투여 후 서서히 세포의 산화가 나타남을 확인하였고, 정상세포에 비하여 암세포에 있어서 세포의 산화속도가 급격히 증가됨을 확인하였다. 이는 기존의 MITT 방법의 경우 48시간 후 측정된 세포의 사멸 결과만을 나타내어 실제 시료의 약물 전달 기능을 파악하기 어려웠던 것에 비하여 (Micael), 이의 빠른 산화 속도는 세포사멸 기작에 관련, 시료가 세포의 사멸에 미치는 반응속도와 전달되는 속도가 동등하다는 것을 나타낸다. 또한, 간암세포의 경우 같은 농도에서 시료 투여 48시간 후 약 70% 정도의 생육저해를 나타내고 있는데, 산화도의 양상으로 미루어 세포가 약물에 대한 반응이 매우 빠르게 나타남을 알 수 있었다. 이는 기존의 화학약제들처럼 그대로 세포내로 관통해 cytosol에서 작용하기보다는, 복분자 추출물이 상대적으로 큰 분자량과 복합성분으로 구성되어, 우선 대상 세포막의 수용체에 작용, 세포내 신호전달체계를 활성화하여 세포 산화를 촉진시키는 것으로 예측할 수 있는 중요한

결과로 사료된다. 또한 이를 기능성 식품으로 개발시 세포사멸효과 보다 면역증진기능을 야기하는 기능성을 중심으로 면역증진활성을 지닌 제품을 중점 개발하는 것이 바람직할 것으로 사료되어진다.

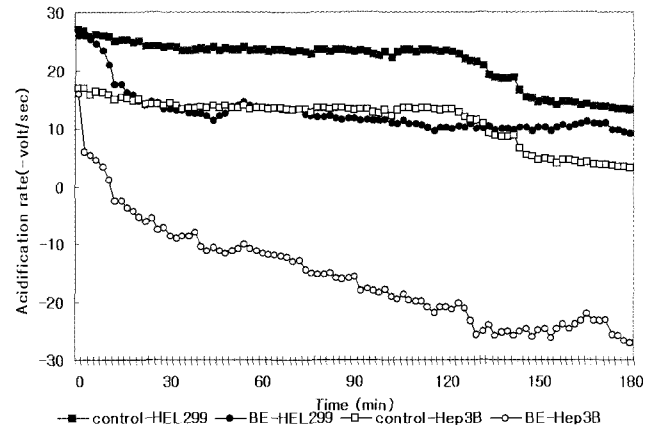


Fig. 7. The result of measuring cellular activity of human hepatocellular carcinoma and normal lung cell in adding 0.5mg/ml of the ethanol extracts from *Rubus coreanus* Miq. using a microphysiometer.

4. 성인병과 관련된 여러 효소들의 활성을 측정

각종 성인병과 관련된 효소들인 ACE, α -glucosidase, GST의 활성을 측정된 결과는 Fig. 8-10에 나타내었다.

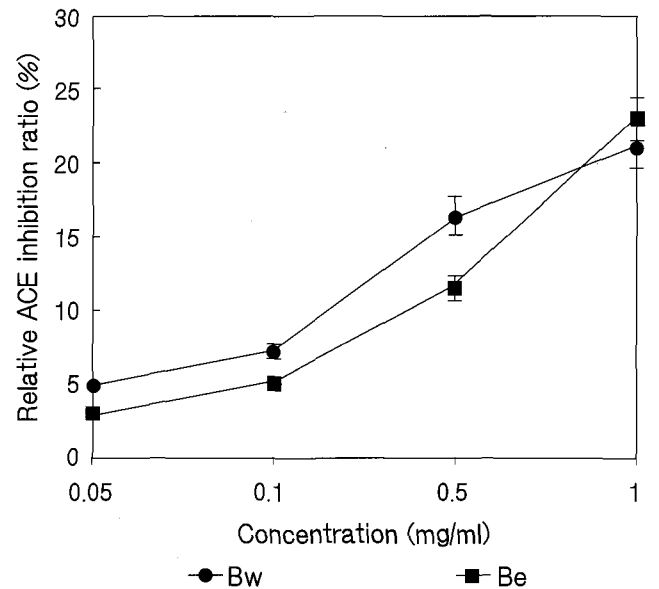


Fig. 8. Inhibition effects on angiotensin converting enzyme(ACE) in adding of the extracts from *Rubus coreanus* Miq. (Bw, H₂O Ex.; Be, EtOH Ex.).

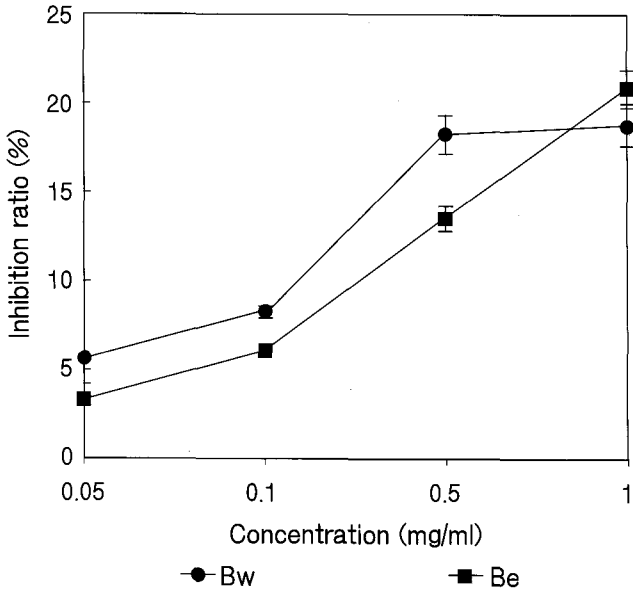


Fig. 9. Inhibition effects on α -glucosidase in adding of the extracts from *Rubus coreanus* Miq.(Bw, H₂O Ex.: Be, EtOH Ex.)

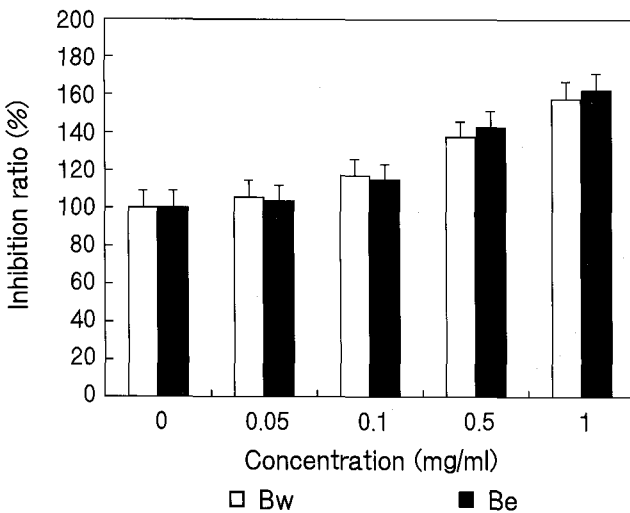


Fig. 10. The effect of the extracts from *Rubus coreanus* Miq.(Bw, H₂O Ex.: Be, EtOH Ex.) on enhancing GST activity.

고압을 유도하는 효소인 ACE (angiotensin converting enzyme)의 억제 활성을 측정하는 결과는 Fig. 8에 나타낸 바와 같이 1.0mg/ml의 농도에서 에탄올 추출물이 25% 정도의 활성을 나타내었으며, 생체 내에서 혈당 상승의 결정적인 역할을 하는 α -glucosidase의 작용을 20mM maltose를 기질로 하여 측정하는 결과 0.5mg/ml이하의 농도에서는 물 추출물이 약간 높은 효과를 나타내었고, 1mg/ml의 농도에서는 에탄올 추출물이 효과가 높았으나

유의적인 차이는 나타나지 않았다(Fig. 9). 복분자 열매 추출물들의 해독작용 정도를 측정하기 위하여 간의 중요 해독기전 중의 하나인 GST(gultathion-S-transferase)의 활성을 측정하는 결과가 Fig. 10에서와 같이 1.0mg/ml의 농도에서 추출물 모두 대조구에 비하여 1.6배 정도 높은 GST 활성을 나타내었다.

적 요

복분자 열매의 추출물 모두 1.0mg/ml 이하의 농도로 투여시는 정상세포 생존율을 85%이상으로 유지시켜 시료 자체에 의한 독성은 나타나지 않으며, 각 추출물의 암세포에 대한 생육억제활성은 0.1 mg/ml의 낮은 농도에서도 비교적 40~50%의 높은 억제율을 나타내었다. 추출물들은 0.5mg/ml이상의 농도에서 MCF7에 대하여 78%이상, A549에 대하여서는 81%이상의 생육억제활성을 나타내었다. Hep3B에 대하여서는 70%이상의 높은 암세포 생육억제활성을 나타냈으며, AGS에 대하여 에탄올 추출물들이 약 79%정도의 암세포 생육억제활성을 나타내었다. 각 추출물의 selectivity에 있어서 각 추출물이 0.1mg/ml에서 1.0mg/ml의 농도에서 5이상의 수치를 나타내어 복분자 열매 추출물들이 암세포를 선택적으로 사멸하는 기작을 지닌 것을 확인하였다. 또한 각 시료들의 면역세포생육 증진 기능은 0.5mg/ml의 농도에서 B세포의 생장을 1.5배 이상 T세포의 경우 1.8배 이상의 생육증진효과를 나타내었다. 또한 물 추출물들이 에탄올 추출물에 비하여 높은 면역세포의 생육 증진활성을 나타냄을 확인하였고, cytokine의 생성측정 정도를 측정하는 결과, IL-6는 물 추출물이 배양 6일째 0.5mg/ml의 농도에서 최고 70 pg/ml의 분비량을 나타내었으며, TNF- α 도 물 추출물이 배양 6일째 최고 78.8 pg/ml의 분비량을 나타내었다. Acridine orange와 ethidium bromide로 형광 염색하여 인간 면역 T cell에 대한 세포 사멸형태를 측정하는 결과 배양 3일째부터 20% 이상의 세포들이 자가 사멸 형태로 사멸함을 확인할 수 있었으며, 높은 암세포 생육억제 활성을 나타낸 복분자 추출물들을 Microphysiometer를 이용하여 암세포(Heb3B)와 정상세포(HEL299)에 대한 대사(산화)활성도의 영향을 3시간 동안 측정하는 결과, 0.5mg/ml 농도의 에탄올 추출물을 투여 후 서서히 세포의 산화가 나타남을 확인하였고, 정상세포에 비하여 암세포에 있어서 세포의 산화속도가 급격히 증가되었다. 각종 성인병과 관련된 효소들인 ACE, α -glucosidase, GST의 활성을 측정하는 결과는 고혈압을 유도하는 효소인 ACE (angiotensin converting enzyme)와 생체 내에서 혈당 상승의 결정적인 역할을 하는 α -glucosidase의 작용의 경우 약간의 효

과가 있었으나 유의적이지 못 하였으며, 간의 중요 해독 기전 중의 하나인 GST(gultathion-S-transferase)의 활성을 측정 한 결과 1.0mg/ml의 농도에서 GST 활성을 1.6 배 정도 높이는 것으로 나타내었다. 이러한 복분자를 기능성식품으로 개발 시 면역증진기능을 야기하는 기능성을 중심으로 면역증진활성을 지닌 제품을 중점 개발하는 것이 바람직할 것으로 생각되어 지며, 이를 통하여 복분자의 부가가치를 높이고 이들에 대한 수요가 증가가 가능할 것으로 사료되어진다.

사 사

본 연구는 과기부의 지역개발용역사업 [강원도 농산자원의 고부가가치 창출을 위한 핵심기술개발, 과제번호 0101029-1-1(2001213)]의 지원으로 수행된 것으로 이에 심심한 사의를 표합니다.

LITERATURE CITED

- Al-Rubei M, Singh RP, Goldman MH, Emery AN (1995) Death mechanisms and animal cells in conditions of intensive agitation. *Biotechnol. Bioeng.* 45: 463
- Bharat BA, William JK, Philip EH, Barbara M, Steven AS, William JH, Timothy SB, Glenn EN, David VG, Richard NH (1985) Human tumor necrosis factor. *J. Biol. Chem.* 260(4): 2345-2354.
- Benson AM, Bueding E, Cha YN, Heine HS, Talalay P (1979) Elevation of extrahepatic glutathions S-transferase and epoxide hydratase activities by 2(3)-tert-butyl-4-hydroxyanisole. *Cancer Res.* 39: 2971-~2977.
- Choi JS, Park JH, Kim HG, Young HS, Mun SI (1993) Screening for antioxidant activity of plants and marine algae and its active principles from *Prunus davidiana*. *Kor. J. Pharmawgnoiy.* 24: 299-303.
- Dool R, Peto R (1981) The causes of cancer : Quantitative estimates of avoidable risks of cancer in the United States today. *J. Natl. Cancer Inst.* 66(6): 1192.
- Doyle A, Griffiths JB, Newell DG (1993) Cell & Tissue culture : Laboratory procedures. Wiley.
- Junferg Y, Xiang C, Gao CM, Li YZ (1997) Voltammetric Behavior of Living cells T. shanghaiensis and its Bioanalytical Application. *Bioelectrochemistry and Bioenergetics.* 44: 89-93.
- Kim SH, Park ES, Jo TH, Choi JW (1994) The study of Pretreated GE-132 on the Mepatic Glutathione S-Transferase Activity in Rat. *J. Korean Soc. Food Nutr.* 23(4): 581~586.
- Lingchuan C, Armen HT (1999) Identification of Distinct Signalling Pathways for Somatostatin Receptors SSTR1 and SSTR2 as Revealed by Microphysiometry. *Cell. Signal.* 11(7): 499-505.
- Masakico S, Masubi M (1995) Enhancement of plasma fibrinolysis in vitro by Jararhagin. *Toxicon.* 33(12): 1605-1617.
- Masanori K, Hiroshi K (1997) Creation of and In vivo Cytosensor Using Engineered Mesangial Cells. *Biol. Pharm. Bull.* 22(3): 1394-1399.
- Seico Y, Kazumaxa S, Gunki F (1996) Isolation from -Zein of Thermolysin peptides with Angiotensin I-Converting Enzyme Inhibitory Activity. *Biosci. Biotech. Biochem.* 60(40): 661-663.
- Wellling D, Tina J, Mikael B, Troels S, Michael RS (1996) Evaluation of Isofagomine and Its Derivatives as Potent Glycosidase inhibitors. *Biochemistry.* 35: 2788-2795.
- Xiong Q, Kadota S, Tadota T, Namba T (1996) Antioxidative effects of phenylethanoids from *Cistanche deserticola*. *Biol. Pharm. Bull.* 19: 1580-1585.
- 김재길 (1984) 원색약물전연대사전. 남산당. 서울.
- 오오진 (1991) 쇠비름이 세포성 및 체액성 면역반응계에 끼치는 영향. 숙명여자대학교 대학원 석사학위논문
- 이민원 (1995) 복분자 딸기 잎의 페놀성 물질. *약학회지* 39(2): 200-204
- 이종원, 도재호 (2000) 복분자 열매의 총 페놀 성분의 정량 및 항산화 활성 *한국식품영양과학회지.* 29(5): 943-947
- 정태현 (1955) *한국식물도감*, 교육사. 서울.
- 주광지, 박정미 (1982) 과즙색소 Anthocyanin 의 안전성에 관한 연구. *한국식품영양과학회지*, 11(3): 67-74
- 홍용표, 김만조, 홍경낙 (2002) 복분자딸기 자연집단의 유전 다양성. *한국임학회. 학술연구 발표논문집*