

생약으로부터 조제된 수증기 증류물의 면역활성

이창호¹ · 김인호¹ · 김영언¹ · 김용조² · 황종현³ · 유광원^{3†}

¹한국식품개발연구원 식품자원이용연구부

²투원씨비걸스

³청주과학대학 김치식품과학과

Effect of Steam Distillates Prepared from Herbal Medicines on Immunostimulating Activity

Chang-Ho Lee¹, In-Ho Kim¹, Young-Eon Kim¹, Yong-Jo Kim²,
Jong-Hyun Hwang³ and Kwang-Won Yu^{3†}

¹Food Material Processing Technology Division, Korea Food Research Institute,
Songnam 463-746, Korea

²Two One-C Vigorous Cooperation, Seoul 134-864, Korea

³Dept. Kimchi and Food Science, Chongju National College of Science and Technology,
Chungbuk 368-701, Korea

Abstract

Of hot-water extracts prepared from 30 kinds of herbal medicines, *Acanthopanax senticosus* (75.6% inhibition of control), *Atractylodes macrocephala* (71.3%), *Panax ginseng* (70.0%), *Glycyrrhiza uralensis* (66.3%) and *Angelica acutiloba* (63.1%) showed the potent tumor metastasis inhibition activity against colon 26-M3.1 lung carcinoma at 2.5 mg/kg body weight, whereas the other extracts had a little activity, except for *Pueraria thunbergiana* (58.6%) and *C. leticulata* (54.9%) having the intermediate activity. We also found that *Citrus leticulata* (1.80-fold of control), *A. macrocephala* (1.73-fold), *A. senticosus* and *G. uralensis* (1.64-fold) enhanced on Peyer's patch cells mediated-hematopoietic response at 100 µg/mL. In addition, these active herbal medicines were prepared into steam distillates to improve the food rheology as beverage, and to remove the inactive components. Among these steam distillates, *A. macrocephala*, *G. uralensis* and *A. senticosus* showed the significant tumor metastasis inhibition activity at 2.5 mg/kg body weight (58.7%, 50.3% and 41.9%, respectively), and *A. macrocephala* had the potent activity even at 0.25 mg/kg body weight (49.7%). In treatments of steam distillates with Peyer's patch cells, *A. macrocephala* and *A. senticosus* significantly increased the bone marrow cell proliferation even at 10 µg/mL (1.49- and 1.28-fold of control). Although steam distillates had lower activity than hot-water extracts, herbal medicines, such as *A. macrocephala* and *A. senticosus*, showed the high immunostimulating activity in hot-water extracts as well as steam distillates. Therefore, these results assumed the possibility that steam distillates from herbal medicines might be utilized to food industry for beverage.

Key words: herbal medicine, hot-water extract, steam distillate, tumor metastasis inhibition, bone marrow cell proliferation

서 론

악성종양 즉, 암을 극복하기 위한 방법으로는 수술요법(surgery), 방사선요법(radiation therapy), 약물요법(chemotherapy) 및 면역요법(immunotherapy) 등이 이용되고 있으나 악성종양의 억제 및 재발의 문제는 여전히 심각하게 대두되고 있는 실정이다. 또한 실질적으로 종양의 치료에서도 1차 종양은 수술요법을 통하여 제거될 수 있으나, 수술부위에 남겨진 소량의 암은 다시 성장하면서 암 자체의 특성인 전이능

력을 획득할 수 있고, 이렇게 성장하여 악성화된 종양은 면역요법, 약물요법 혹은 방사선요법의 단독으로는 임상에서 치료효과의 한계를 보이고 있다. 따라서 많은 학자들은 이러한 종양 극복의 어려움을 해소하기 위한 방법으로 면역요법을 포함하는 병용투여법(1,2)에 기대를 가지고 있으며, 본 연구 또한 이러한 항암 상승작용을 유도하는 활성물질(biological response modifier, BRM)을 생약으로부터 얻고자 진행하였다.

한편, 장관 림프상 조직, 즉 GALT(gut associated lymph-

[†]Corresponding author. E-mail: kwyu@cjnc.ac.kr
Phone: 82-43-820-5333, Fax: 82-43-820-5333

oid tissue)의 여러 면역기관 중 Peyer's patch는 장관 내 핵 심적인 림프기관일 뿐만 아니라 IgA 생산의 유도부위로 알려져 있다(3). 특히, Peyer's patch의 lumen dome은 항원의 uptake와 handling에 중요한 전문화된 M cell로 구성되어 flattened epithelium으로 덮여있으며(4), lumen으로부터 가용성 항원, 세균과 바이러스 등을 pinocytosis나 phagocytosis에 의해 섭취하여 림프세포에 이동시킴으로써 세포의 활성화에 기여하는 것으로 알려져 있다(5). 즉, 장관 내에 있는 Peyer's patch의 림프구들은 M cell에 의해 섭취된 항원과 반응하여 활성화 되고, 림프소절의 germinal center에서 분화, 성숙되면 장으로부터 빠르게 이동하여 MLN(me-senteric lymph node)을 거친 후 systemic circulation에 도달하는 것이다(6). 결국 Peyer's patch를 포함한 장관면역계는 장관의 면역학적 방어계에 기여할 뿐만 아니라 systemic inflammation을 조절하여 결과적으로 알레르기 반응, 자가 면역질환 등을 효과적으로 억제할 수 있는 것이다. 본 실험은 생약이 구강을 통해 복용되어 장관면역계를 충분히 자극할 수 있다는 전제하에, 일반적으로 만성질환으로부터 고통을 호소하는 환자들의 신체조절 및 항암제 치료 중 야기되는 골수세포의 증식억제 부작용을 완화시킬 목적으로 복용되는 전통 생약을 대상으로 골수세포 증식활성을 검토하였다.

20세기 후반에 들어 현대의약으로 치료가 어려운 만성질환이 증가 일로에 있으며, 특히 체질성(constitutional) 질환이나 심인성(psychosomatic) 질환의 금증 및 합성의약품의 심각한 부작용 등으로 인하여 식물체 유래의 약리활성 물질에 대한 많은 관심과 연구가 몰리게 되었다(7). 전통적으로 이러한 천연재료를 이용한 약물을 주로 열수로 추출하여 이용되어 왔는데 이러한 추출물 중에는 alkaloids, flavonoids 및 terpenoids와 같은 저분자 물질(8)과 다당류, 단백질, tannin 등과 같은 고분자 물질(9)이 다양하게 존재되어 있다. 저분자 물질이 갖는 생물활성과 이에 대한 연구는 비교적 상세히 과학적인 해명이 이루어져 왔지만 대부분이 메탄올 또는 에탄올과 같은 물 이외의 용매를 사용하여 추출함으로서(10), 식품의 형태로 섭취하는 경우 가공상의 어려움을 초래하였으며, 활성 저분자 물질에 대한 비활성 고분자 물질의 혼입에 의한 양적인 증가 등이 식품에 이용되는 활성 저분자 물질의 소재로서의 제약을 가져 왔다.

본 연구에서는 생약의 식품소재로서의 이용에 제약을 주는 이러한 요소들을 극복하기 위한 방법으로 생약을 대상으로 열수추출물을 조제하여 면역활성을 비교한 후 활성이 높은 생약을 수증기 중류물로 조제하여 활성을 검토하고 이를 식품, 특히 음료화 할 수 있는 가능성을 모색하고자 하였다.

재료 및 방법

실험재료 및 시약

전통 생약의 열수추출물 및 수증기 중류물에 관한 면역활

성을 검색하기 위한 30종의 생약은 투원씨비겔스(Seoul, Korea)로부터 제공받았으며(Table 1), 높은 면역활성을 보인 가시오가피(*A. senticosus*), 갈근(*P. thunbergiana*), 감초(*G. uralensis*), 구기자(*Lycium chinense*), 당귀(*A. acutiloba*), 백출(*A. macrocephale*), 인삼(*P. ginseng*)과 진피(*C. leticulata*)는 수확시기나 재배지가 다른 여러 종류의 생약을 사용하였다. 한편, RPMI-1640 medium, Hank's balanced salt solution(HBSS), Eagle's minimal essential medium(EM-EM), fetal bovine serum(FBS), 비타민 용액, 비필수아미노산, L-glutamic acid와 thioglycollate는 Gibco사(Grand Island, NY, USA)로부터 구입하였다. 또한 Penicillin, streptomycin, amphotericin B는 Flow Lab.사(Irvine, Scotland)로부터, 골수세포 증식을 위한 Alamar BlueTM은 Alamar Bio-Sciences Inc.사(Sacramento, CA, USA)의 제품을 사용하였다.

면역활성 검색을 위한 각종 생약의 열수추출물 조제

전통 생약 30종의 열수추출물을 조제하기 위하여 각각의 생약 20 g에 중류수 400 mL를 첨가하고 중류수가 반으로 감소될 때까지 추출한 후 금속체(No. 50)를 이용하여 상동액과 잔사로 분리하였다. 잔사에는 다시 동량의 중류수를 첨가한 후 2회 반복 추출하고, 7,000 rpm에서 30분간의 원심분리를 통해 불용성 침전물을 제거한 후, 투석과 동결건조의 과정에 의해 열수추출물을 조제하였다. 또한 30종의 생약 열수추출물 중 면역활성이 높았던 가시오가피, 갈근, 감초, 구기자, 당귀, 백출, 인삼과 진피는 생약의 산지와 수확시기에 따라 활성의 차이가 있을 수 있기에 이를 검토하기 위해 재배조건에 따른 다양한 종류의 생약을 구입하여 동일방법으로 열수추출물을 조제한 후 종양전이 억제활성과 골수세포 증식활성을 비교하였다.

생약으로부터 수증기 중류물의 조제

열수추출물 중 면역활성이 높았던 생약의 수증기 중류물을 조제하기 위하여 추출공정을 연속수증기 중류법에 사용하는 Likens-Nickerson 장치(J & W Scientific, Folsom, CA, USA)를 이용하였다(11). 즉, 추출관 한쪽에는 중류수 300 mL와 한약재 30 g을 가하여 가열 추출하고 다른 한쪽은 *n*-pentane과 diethyl ether를 2:1의 비율로 혼합하여 혼합액 50 mL를 43°C에서 가열하여 수증기 중류물을 조제하였다. 1시간 정도 가열한 후 용매가 든 플라스틱을 떼어내고 수분을 제거하기 위하여 sodium sulfate를 넣고 냉장 보관하였다. 냉장 보관된 용매를 꺼내어 질소가스로 최종부피가 2 mL되게 농축하고 농축된 생약의 수증기 중류물을 이용하여 면역활성을 검토하였다.

실험동물과 세포배양

생후 7주령의 자성 C3H/He 또는 Balb/c 마우스를 (주)대한바이오링크(충북)에서 구입한 후, 사육조에 5마리씩 넣고 정수된 물과 실험동물용 펠렛사료(삼양사료주식회사, 인천)

Table 1. Immunological activities of hot-water extracts obtained from traditional herbal medicines

| Scientific name | Number of lung metastasis (sample; 2.5 mg/kg body weight) | Fluorescence intensity (sample; 100 µg/mL) |
|----------------------------------|--|---|
| Control | 162±32 | 450±30 |
| <i>Acanthopanax senticosus</i> | 39±7* ¹⁾ | 740±40* |
| <i>Angelica acutiloba</i> | 59±12* | 670±60 |
| <i>Artemisia scoparia</i> | 86±18* | 610±50 |
| <i>Astragalus membranaceus</i> | 94±29 | 630±40* |
| <i>Atractylodes macrocephale</i> | 46±9* | 780±50* |
| <i>Cassia tora</i> | 101±25 | 530±50 |
| <i>Cervus elaphus</i> | 106±20* | 590±60 |
| <i>Cervus nippon</i> | 96±27 | 630±40* |
| <i>Cinnamomum zeylanicum</i> | 122±36 | 410±20* |
| <i>Citrus reticulata</i> | 73±13* | 810±40* |
| <i>Cnidium officinale</i> | 135±37 | 570±50 |
| <i>Cordyceps sinensis</i> | 86±16* | 630±60 |
| <i>Cornus officinalis</i> | 138±45 | 520±50 |
| <i>Cuscuta chinensis</i> | 123±38 | 430±20* |
| <i>Cynanchum wilfordii</i> | 119±23* | 580±60 |
| <i>Dioscorea japonica</i> | 120±38 | 550±30* |
| <i>Eucommia ulmoides</i> | 105±20* | 650±40* |
| <i>Ganoderma lucidum</i> | 82±21 | 620±30* |
| <i>Glycyrrhiza uralensis</i> | 54±9* | 740±30* |
| <i>Liriopae spicata</i> | 134±27* | 570±60 |
| <i>Lycium chinense</i> | 126±35 | 690±30* |
| <i>Paeonia albiflora</i> | 115±21* | 570±30* |
| <i>Panax ginseng</i> | 48±8* | 610±50 |
| <i>Poria cocos</i> | 124±35 | 410±20* |
| <i>Pueraria thunbergiana</i> | 67±18 | 690±40* |
| <i>Rehmannia glutinosa</i> | 118±22* | 580±50 |
| <i>Rubus schizostylus</i> | 128±41 | 540±60 |
| <i>Schizandra chinensis</i> | 123±37 | 570±50 |
| <i>Zingiber officinale</i> | 103±18* | 600±40* |
| <i>Zizyphus vulgaris</i> | 136±44 | 560±60 |

¹⁾Each value was expressed as the mean±SD of quadruplicate assays, and *p<0.05; significant difference between control and sample.

를 자유공급하였으며 스트레스를 받지 않도록 주의하여 사육하였다. 종양세포주인 colon 26-M3.1 lung carcinoma의 배양은 7.5% FBS, 비타민 용액, sodium pyruvate, 비필수아미노산 및 L-glutamic acid이 함유된 EMEM 배지를 이용하였으며 5% CO₂, 95% 습도 및 37°C의 조건에서 배양하였다.

골수세포 증식활성 측정법

골수세포 증식활성은 Hong 등의 방법(12)에 의거하여 측정하였다. 즉, C3H/He 마우스의 소장벽 상에 존재하는 Peyer's patch를 조심스럽게 잘라내어 Hank's balanced salt solution(HBSS)이 담겨진 petri dish에 옮기고 조직을 파괴하여 Peyer's patch 세포를 조제하고 금속체(No. 200)로 염파하였다. 여과된 세포현탁액은 RPMI 1640-FBS(5% FBS 함유된 RPMI-1640)로 세척하여 2×10⁶ cells/mL RPMI 1640-FBS의 세포농도로 조정한 후 96-well plate에 180 µL 씩 분주하고 적당한 농도로 희석한 시료를 20 µL 씩 첨가하여 37°C, 5% CO₂ 배양기에서 5일간 배양한 후 상등액을 회수하여 골수세포 증식활성에 사용하였다. 한편, 골수세포는 동일종 마우스의 대퇴부 뼈로부터 회수하였는데, 즉 주사기를 이용하여 뼈 속에 HBSS를 주입하고 골수세포를 회수한

후 상기와 같이 여과, 세척하여 2.5×10⁵ cells/mL RPMI 1640-FBS의 세포농도로 조정하고 96-well plate에 100 µL 씩 분주하였다. 분주된 골수세포에 Peyer's patch 세포와 시료의 반응으로부터 회수한 상등액과 RPMI 1640-FBS를 각각 50 µL 씩 첨가하고 37°C, 5% CO₂ 배양기에서 6일간 배양하였다. 골수세포의 증식활성도는 시료와 Peyer's patch 세포와의 반응으로부터 회수한 상등액을 골수세포와 반응시켜 골수세포가 증식되는 정도로서 나타내는데, 증식도 측정은 Alamar Blue™이 골수세포에 의해 발색되는 측정법을 사용하였다(13). 즉, 배양종료 12시간 전에 Alamar Blue™ 20 µL를 첨가한 다음 Fluoroskan II(Labsystems, Helsinki, Finland)를 이용하여 excitation 544 nm와 emission 590 nm에서 형광도를 측정한 후, 생리식염수를 시료 대신 사용한 대조구와 골수세포의 증식도를 비교하여 정량화하였다.

Colon 26-M3.1 lung carcinoma의 종양전이 모델

시료의 항종양 효과는 colon 26-M3.1 lung carcinoma를 이용하는 실험동물 종양전이 모델을 이용하였다(14). 실험동물로 Balb/c 마우스를 사용하였으며, 종양의 접종은 2.7×10⁴의 colon 26-M3.1 lung carcinoma 세포를 정맥주사(iv)

하였다. 14일 후에 마우스를 희생시키고 종양의 표적기관인 폐를 적출하여 Bouin's 용액에서 전이된 종양을 고정시킨 후 종양의 군집 수를 측정하였다. 한편 시료에 대한 항종양 전이효과는 종양만 접종한 대조군과 비교함으로서 조사하였고, 시료 단독의 활성은 종양접종 2일 전 혹은 1일 후에 1회 정맥주사하였다.

통계처리

실험결과들은 평균치 \pm SD로 나타내었고 student t-test를 이용하여 통계처리한 후 $p<0.05$ 수준에서 유의성을 검정하였다.

결과 및 고찰

30종의 생약 열수추출물에 대한 면역활성의 비교

30종 국내산 전통 생약의 면역활성을 검토하기 위하여 생약시료를 대상으로 decoction 방법으로 열수추출물을 조제하였다. 이와 같이 조제된 시료의 열수추출물을 대상으로 종양전이 억제활성을 검색한 결과, Table 1에서 나타낸 바와 같이 가시오가피(*A. senticosus*, 75.6% 종양전이 억제), 백출(*A. macrocephale*, 71.3%), 인삼(*P. ginseng*, 70.0%), 감초(*G. uralensis*, 66.3%), 당귀(*A. acutiloba*, 63.1%) 및 갈근(*P. thunbergiana*, 58.1%)과 진피(*C. leticulata*, 54.4%) 등이 대조군(종양함유군)에 비해 2.5 mg/kg body weight의 농도에서 50% 이상의 높은 종양전이 억제활성을 나타내었다. 또한 이러한 생약으로부터 조제된 열수추출물은 골수세포 증식활성의 결과에서도 시료농도 100 μ g/mL에서 진피(대조군의 1.8배)와 함께, 종양전이 억제활성에서 높은 활성을 보인 백출(대조군의 1.73배), 가시오가피와 감초(1.64배) 및 갈근과 구기자(1.53배) 등이 대조군에 비해 1.5배의 높은 골수세포 증식활성을 보여주었다(Table 1). 그러나 그 외의 생약에서는 거의 활성을 보이지 않았으며 계피(*Cinnamomum zeylanicum*), 백복령(*Poria cocos*) 및 토사자(*Cuscuta chinensis*) 등에서는 오히려 대조군보다 낮은 골수세포의 증식활성을 보였는데 이러한 원인은 열수추출물에 세포독성을 갖는 물질이 함유되어 있는 것으로 추정된다(Table 1).

한편, 생약의 경우에는 생약의 채취시기나 재배지에 따라 생리활성에 큰 차이를 나타내고 있기 때문에(15), 본 실험에서도 종양전이 억제활성과 골수세포 증식활성이 대조군에 대해 각각 50% 이상 또는 1.5배 높은 가시오가피(AS), 갈근(PT), 감초(GU), 구기자(LC), 당귀(AA), 백출(AM), 인삼(PG) 및 진피(CL) 등에 관하여 그 수확시기나 산지가 다른 여러 종류의 생약을 대상으로 육종조건에 따른 활성과의 관계를 비교하였다. 8종의 면역활성이 높은 전통 생약을 대상으로 여러 회사로부터 구입한 수확시기나 산지가 다른 생약에 의해 제조된 다양한 품목에 대하여 열수추출물을 조제한 후 골수세포 증식활성을 검토한 결과, 각 생약은 수확시기나 산지가 다른 것에 의해 활성의 차이를 보이고 있어 육종조건에

따라 활성물질의 함유량에 변화가 있음을 시사하였다. 인삼에 있어서는 두 종류의 PG는 높은 골수세포 증식활성을 나타내었으나 다른 종류의 PG에서는 미약한 활성을 보였고, 갈근과 구기자의 경우에는 한 종류의 PT와 LC만이 높은 골수세포 증식활성을 갖는 것에 비해 다른 두 종류에는 거의 활성이 없었다(Fig. 1). 갈근, 구기자 및 인삼이 이런 경향을 보이는 것과는 달리 가시오가피, 감초, 당귀, 백출 및 진피는 시료에 관계없이 높은 골수세포 증식활성을 보여주었으며, 특히 백출 및 가시오가피는 어떠한 시료의 종류에 대해서도 높은 골수세포 증식활성을 갖고 있음을 알 수 있었다(Fig. 1).

한편, 30종의 전통 생약 중 항상 일정하게 높은 면역활성을 나타낸 생약 중 가시오가피는 우리나라 한방에서도 풍습비통, 요술연약, 수종에 오래전부터 사용되어 온 생약으로서, 현재 식품공전에서 결명자, 구지자 등과 함께 기호식품으로

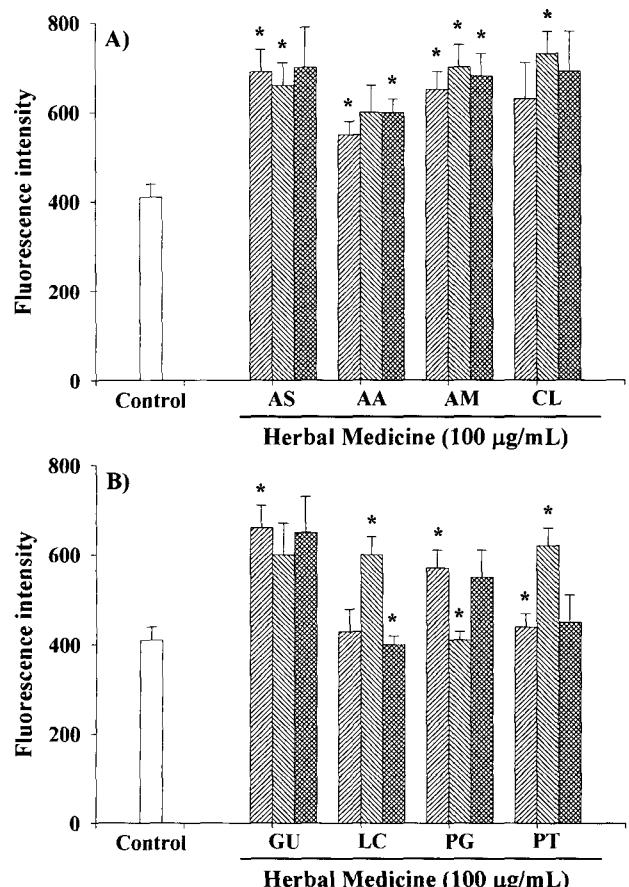


Fig. 1. Bone marrow cell proliferating activities of hot-water extracts obtained (A) from various kinds of *Acanthopanax senticosus*, *Angelica acutiloba*, *Atractylodes macrocephala* and *Ciris leticulata*, and (B) from various kinds of *Glycyrrhiza uralensis*, *Lycium chinense*, *Panax ginseng* and *Pueraria thunbergiana*.

□, Control (only saline without sample); ▨, ▨ and ▨, Samples of various kinds of each herbal medicine. AS, *A. senticosus*; AA, *A. acutiloba*; AM, *A. macrocephala*; CL, *C. leticulata*; GU, *G. uralensis*; LC, *L. chinense*; PG, *P. ginseng*; PT, *P. thunbergiana*. Values represent the means \pm SD ($n=4$). * $p<0.05$, significance between control and hot-water extract of each herbal medicine.

분류된 식품허가 물질이며 이미 생체에 대한 안전성 검증이 완료된 물질이다(16). 특히, 러시아 혹은 유럽에서의 가시오가피는 인삼을 능가하는 약효를 가지는 물질로 인정되고 있고, 약리학적 효능으로는 피로, 스트레스, 면역계 등에 작용하여 생체의 항상성을 유지시키는 adaptogen으로서의 탁월한 효과가 있음이 보고되었다(17-21). 또한, 생약의 육종조건에 무관하게 높은 면역활성을 나타낸 백출의 경우에도 digestive medicine이나 tonic으로 사용되고 있는 한약의 구성 생약으로, 한방에서는 습한 성질을 가지고 있어서 비장을 보호하는 역할을 하고 설사를 멎게 하며 배가 더부룩해지는 것을 치료하는 것으로 알려진 생약이다. 일반적으로 창출 (*Atractylodes lancea*)과 혼동되기 쉬우나 본초강목이 작성된 이후로는 창출은 건조한 성질을 가지고 있어 위장을 보호하는 성질이 있기 때문에 백출과 구분하여 한방에서 사용되고 있다.

생약으로부터 조제된 수증기 증류물의 면역활성 비교

전통 생약재 식물시료로부터 조제된 열수추출물의 활성검색 결과로부터(Table 1), 50% 이상의 높은 종양전이 억제활성을 나타내면서 육종조건별 생약의 종류에 대해 활성에 차이를 나타내지 않았던 시료인 가시오가피, 감초, 당귀, 백출 및 진피에 대해 decoction과 감압농축 장치를 이용하여 수증기 증류물을 조제한 후, 종양전이 억제활성을 검토하였다. 2.5 mg/kg body weight의 고농도에서는 Fig. 2에 제시한 바와 같이 열수추출물 활성검색의 결과와 유사하게 백출(58.7%의 종양전이 억제활성), 감초(50.3%) 및 가시오가피(41.9%)의 순으로 종양전이 억제활성이 대조군보다 높게 나타났으며, 특히 백출의 경우에는 0.25 mg/kg body weight의 낮은 농도에서도 49.7%의 종양전이 억제활성을 나타내어 가시오

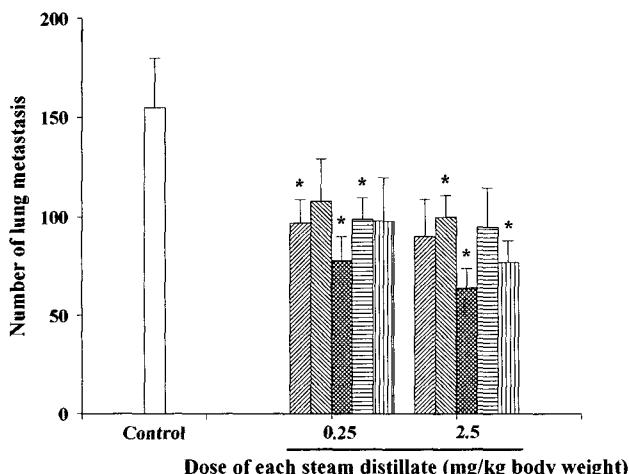


Fig. 2. Tumor metastasis inhibiting activities of steam distillates obtained from the active traditional herbal medicines in case of hot-water extract.

□, Tumor bearing control; ▨, *A. senticosus*; ▨, *A. acutiloba*; ▨, *A. macrophale*; ▨, *C. leticulata*; ▨, *G. uralensis*. Values represent the means \pm SD (n=4). *p<0.05; Significance between control and steam distillate of each herbal medicine.

가피, 당귀 및 진피의 고농도보다도 오히려 유의적으로 높은 활성을 보여주었다. 한편, 골수세포 증식활성에 대한 상기의 동일한 생약으로부터 조제된 수증기 증류물을 측정한 결과, 종양전이 억제활성의 경우와 유사하게 증류물의 경우에도 시료 100 µg/mL에서 백출(대조군의 1.63배 골수세포 증식), 가시오가피(1.44배)와 진피(1.4배)가 열수추출물에서와 같이 다른 생약에 비하여 높은 활성을 갖고 있음을 보여주었으며, 10 µg/mL의 낮은 농도에서도 백출과 가시오가피의 경우에는 유의적으로 대조군에 비하여 높은 골수세포의 증식활성을 보여주었다(1.49배와 1.28배) (Fig. 3).

이상의 결과로부터, 생약으로부터 조제된 수증기 증류물의 종양전이 억제활성과 골수세포 증식활성은 생약재 열수추출물의 면역활성과 비교하여 다소 활성이 저하되고 있는 것을 보여주었다. 이러한 활성감소의 원인은 활성에 관여하는 물질에 기인하는 것으로 생각되어지는데 열수추출물의 경우에는 다당 및 단백질 등의 고분자 물질과 alkaloid, flavonoid 또는 terpenoid 등의 저분자 물질이 혼합되어 활성에 관여할 수 있는 성분이 다량 함유되어 있으나 증류물의 경우에는 고분자 물질의 함량이 현저히 감소되고 주로 저분자 물질만이 함유되어 있음으로서 활성에 영향을 미치는 것으로 생각되어진다(22). 그러나 다소 활성이 저하되더라도 면역활성을 함유하는 수증기 증류물을 이용하여 음료와 같은 형태로 기능성 식품을 제조하는 경우에는 다음과 같은 몇 가지 장점을 제공할 수 있을 것으로 예상된다. 먼저, 열수추출물에는 활성에도 영향을 주지만 식품의 물성 또는 관능에 영향을 줄 수 있는 성분들이 다양하게 함유되어 있지만 이를 수증기 증류물로 조제하는 경우에는 감소시킬 수 있다는 것이다(23). 다음으로 활성물질을 식품의 소재로 이용하는 경우, 열수추출물에는 상대적으로 많은 성분들이 함유되어 있어 식

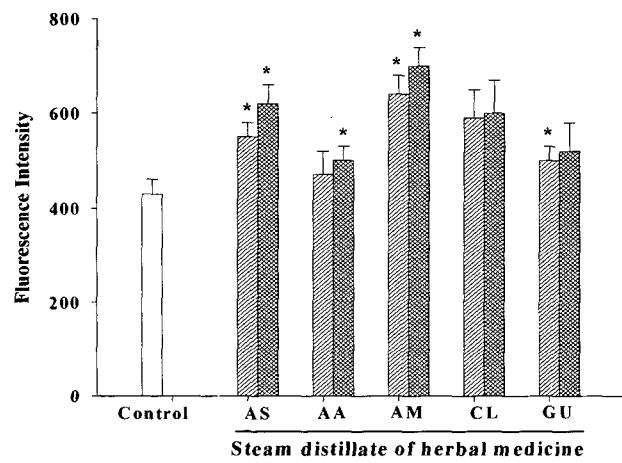


Fig. 3. Bone marrow cell proliferating activities of steam distillates obtained from the active traditional herbal medicines in case of hot-water extract.

□, Control (only saline without sample); ▨, Sample (10 µg/mL); ▨, Sample (100 µg/mL). AS, *A. senticosus*; AA, *A. acutiloba*; AM, *A. macrophale*; CL, *C. leticulata*; GU, *G. uralensis*. Values represent the means \pm SD (n=4). *p<0.05; Significance between control and steam distillate of each herbal medicine.

품소재로 열수추출물을 이용할 때 양적인 증가를 가져올 수 있는 반면, 수증기 중류물은 상대적으로 고분자류 물질 등의 성분을 제거할 수 있어 동일한 활성을 나타내는데 필요한 양을 감소시킬 수 있다는 장점을 가지고 있다는 것이다(24). 물론 이와 같은 수증기 중류물의 특성을 기능성 음료와 같은 식품산업에 이용하거나 부가가치가 높은 기능성 식품으로 개발하기 위해서는 중류법의 연구 및 물질의 분리 등과 같은 향후 연구가 보다 절실할 것으로 생각된다.

한편, 생약으로부터 조제된 수증기 중류물의 경우에도 열수추출물과 유사하게 백출 및 가시오가피의 2가지 생약이 종양전이 억제활성과 글수세포 증식활성에서 모두 높은 활성을 나타내었는데, 백출의 경우에는 지금까지도 많은 생리활성이 보고되고 있는 생약으로서, 특히 sesquiterpenoids, triterpenoids와 acetylene 유도체 같은 저분자 물질들이 Na^+ , K^+ -ATPase의 저해활성, anti-gastric ulcer 활성 및 neuromuscle connection의 저해활성 등의 생리활성을 갖는 것으로 알려져 있어(25-27), 본 실험에서 다양한 저분자 물질들이 함유된 것으로 보이는 수증기 중류물이 면역활성을 갖는 것과도 관련이 있는 것으로 추정되나 어떤 물질들이 수증기 중류물의 형태로 함유되어 면역활성에 관여하고 있는지에 대해서는 향후 분리와 정제의 과정을 통하여 밝혀져야 될 것으로 생각된다.

요 약

30종의 생약으로부터 조제된 열수추출물 중, 가시오가피(대조군의 75.6% 억제), 백출(71.3%), 인삼(70.0%), 감초(66.3%) 및 당귀(63.1%)는 2.5 mg/kg body weight의 농도에서 colon 26-M3.1 lung carcinoma에 대한 매우 높은 종양전이 억제활성을 나타내었으나, 갈근(58.6%)과 진피(54.9%)를 제외한 다른 생약의 열수추출물은 그다지 높은 활성을 보여주지 않았다. 또한 진피(대조군의 1.80배), 백출(1.73배), 가시오가피와 감초(1.64배) 등은 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 의 농도에서 Peyer's patch 세포를 매개로 한 조혈작용도 증강시킴을 알 수 있었다. 한편, 음료로서의 식품학적인 물성을 개선하고 비활성 성분을 제거하기 위하여, 열수추출물에서 활성을 나타낸 생약을 수증기 중류물로 조제하여 면역활성을 비교한 결과, 백출, 감초와 가시오가피가 2.5 mg/kg body weight에서 유의적인 종양전이 억제활성을 나타내었으며(각각 58.7%, 50.3%와 41.9%), 백출은 0.25 mg/kg body weight의 저농도에서도 높은 종양전이 억제활성을 보여주었다(49.7%). 또한 수증기 중류물을 Peyer's patch 세포와 처리한 결과, 백출과 가시오가피는 10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 의 낮은 농도에서도 글수세포의 증식작용을 유의적으로 증가시키고 있음을 나타내었다(각각 1.49배와 1.28배). 수증기 중류물이 열수추출물보다 다소 낮은 면역활성을 가지고 있다 할지라도, 백출 및 가시오가피 등과 같은 전통 생약은 열수추출물 뿐만 아니라 수증기 중류물에서도

높은 면역활성을 가지고 있음을 보였주었다. 그러므로 이러한 결과는 생약으로부터 조제된 수증기 중류물이 기능성 음료로서 식품산업에 이용될 수 있는 가능성을 시사하고 있다.

감사의 글

본 연구는 2003년도 농림부 농림기술개발사업(102005-02-1-WT011)의 연구비 지원에 의해 수행된 연구결과의 일부로서 이에 감사드립니다.

문 헌

- Kudo C, Saito M, Yoshida T. 1995. The inhibitory effect of preoperative imunochemotherapy on the lymph node metastasis of murine MM48 tumor. *Immunopharm* 30: 139-146.
- Kadhim S, Penney C, Lagraoui M, Heibein J, Attardo G, Zacharie B, Connolly T, Gagnon L. 2000. Synergistic anti-tumor activity of a novel immunomodulator, BCH-1393, in combination with cyclophosphamide. *Int J Immunopharmacol* 22: 659-671.
- Sminia T, Wilders MM, Janse EM, Hoefsmit EC. 1983. Characterization of non-lymphoid cells in Peyer's patches of the rat. *Immunobiol* 164: 136-143.
- Trier J. 1991. Structure and function of intestinal M cells. *Gastroenterol Clin North Am* 20: 531-547.
- Bockman DE, Cooper MD. 1973. Pinocytosis by epithelium associated with lymphoid follicles in the bursa of fabricius, appendix and Peyer's patches: An electron microscopic study. *Am J Anat* 136: 455-478.
- James SP, Zeitz M. 1994. Human gastrointestinal mucosal T cells. In *Handbook of mucosal immunology*. Pearay LO, Jiri M, Michael EL, Warren S, Jerry RM, John B, eds. Academic Press, London, UK. p 275-285.
- Yamada H. 1992. Chemical and pharmacological studies on efficacy of Japanese and Chinese herbal medicines. *Kitasato Arch Exp Med* 65: 1-22.
- Son EJ, Kim JH, Kim HA, Baek SH, Kho YH, Kim MR, Lee CH. 2003. A caspase inducing inhibitor isolated from *Caesalpinia sappan*. *Korean J Food Sci Technol* 35: 680-683.
- Hwang JH, Lee KH, Yu KW. 2003. Characterization of the immunologically active components of *Glycyrrhiza uralensis* prepared as herbal kimchi. *Nutr and Food* 8: 29-35.
- Kang MH, Choi CS, Kim ZS, Chung HK, Min KS, Park CG, Park HW. 2002. Antioxidative activities of ethanol extract prepared from leaves, seed, branch and areial part of *Crotalaria sessiflora* L. *Korean J Food Sci Technol* 34: 1098-1102.
- Filek G, Bergamini M, Lindner W. 1995. Steam distillation-solvent extraction, a selective sample enrichment technique for the gas chromatographic-electron-capture detection of organochlorine compounds in milk powder and other milk products. *J Chromatogr A* 712: 355-364.
- Hong T, Matsumoto T, Kiyohara H, Yamada H. 1998. Enhanced production of hematopoietic growth factors through T cell activation in Peyer's patches by oral administration of Kampo (Japanese herbal) medicine, "Juzen-Taiho-To". *Phytomedicine* 5: 353-360.
- Page B, Page M, Noel C. 1993. A new fluorometric assay for cytotoxicity measurements *in vitro*. *Int J Oncol* 3: 473-

- 476.
14. Yoon TJ, Yoo YC, Kang TB, Baek YJ, Huh CS, Song SK, Lee KH, Azuma I, Kim JB. 1998. Prophylactic effect of Korean mistletoe (*Viscum album coloratum*) extract on tumor metastasis is mediated by enhancement of NK cell activity. *Int J Immunopharmacol* 20: 163-172.
 15. Yu KW, Shin KS. 2001. Bone marrow cell proliferation activity through intestinal immune system by the components of *Atractylodes lancea* DC. *Korean J Food Sci Technol* 33: 135-141.
 16. Hwang SH, Ha ES, Yu KW, Shin KS, Lee SH, Lee JK, Lee KH. 2003. Effect of the crude polysaccharides fraction from *Eleutherococcus senticosus* as a immunoadjuvant to soluble antigens (BSA and OVA). *Yakhak Hoeji* 47: 167-175.
 17. Cheng, XJ, Li PZ, Sheng XH, Li BJ, Zhu CL. 1984. Anti-tumor and immunological activities of *Acanthopanax senticosus* (Rupr. et Maxim.) Harms polysaccharides. *Chinese J Cancer* 3: 191-197.
 18. Davydov M, Krikorian AD. 2000. *Eleutherococcus senticosus* (Rupr. & Maxim.) Maxim. (Araliaceae) as an adaptogen: a closer look. *J Ethnopharmacol* 72: 345-393.
 19. Lin CC, Huang PC. 2000. Antioxidant and hepatoprotective effects of *Acanthopanax senticosus*. *Phytother Res* 14: 489-494.
 20. Yi JM, Hong SH, Kim JH, Kim HK, Song HJ, Kim HM. 2002. Effect of *Acanthopanax senticosus* stem on mast cell-dependent anaphylaxis. *J Ethnopharmacol* 79: 347-352.
 21. Yoon TJ, Lee SW, Shin KS, Choi WH, Hwang SH, Seo SH, Kim SH, Park WM. 2002. Effect of hot water extract from *Acanthopanax senticosus* on systemic anaphylaxis. *Korean J Food Sci Technol* 34: 518-523.
 22. Yamada H. 1991. Natural products of commercial potential as medicines. *Curr Opin Biotech* 2: 203-210.
 23. Kim IH, Chung NH, Han D, Lee CH, Oh SW. 2003. Extraction condition of beverage base for the processing of *Hydrangea serrata* Seringe. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 32: 1168-1171.
 24. Hayashi K, Kamiya M, Hayashi T. 1995. Virucidal effects of the steam distillate from *Houttuynia cordata* and its components on HSV-1, influenza virus, and HIV. *Planta Med* 61: 237-241.
 25. Kimura M, Diwan PV, Yanagi S, Konno Y, Nojima H, Kimura I. 1995. Potentiating effects of β -eudesmol-related cyclohexylidene derivatives on succinylcholine-induced neuromuscular block in isolated phrenic nerve-diaphragm muscles of normal and alloxan-diabetic mice. *Biol Pharm Bull* 18: 407-410.
 26. Hwang JM, Tseng TH, Hsieh YS, Chou FP, Wang CJ, Chu CY. 1996. Inhibitry effect of atractylon on tert-butylhydroperoxide induced DNA damage and hepatic toxicity in rat hepatocytes. *Arch Toxicol* 70: 640-644.
 27. Satoh K, Nagai F, Ushiyama K, Kano I. 1996. Specific inhibition of Na^+, K^- -ATPase activity by atractylon, a major component of Byaku-jutsu, by interaction with enzyme in the E2 state. *Biochem Pharmacol* 51: 339-343.

(2004년 1월 27일 접수; 2004년 4월 2일 채택)