

뜰보리수 열매의 용매분획별 항산화 및 암세포 증식 억제 효과

김성애 · 오세인* · †이미숙
한남대학교 식품영양학과, *서일대학 식품영양과

Antioxidative and Cytotoxic Effects of Solvent Fractions from *Elaeagnus multiflora*

Sung-Ae Kim, Se-In Oh and †Mee-Sook Lee

Dept. of Food and Nutrition, Hannam University, Daejeon 305-811, Korea

*Dept. of Food and Nutrition, Seoil College, Seoul 131-702, Korea

Abstract

This study was performed to determine the antioxidative and cytotoxic effects of *Elaeagnus multiflora* by examining its scavenging effects on the 1,1-diphenyl-2-picryl-hydrazyl(DPPH) radical, the inhibition of lipid peroxidation, and its inhibitory effects on cancer cell proliferation in HeLa cells, MCF-7 cells, and SNU-638 cells by MTT assay. Here, dried samples were extracted in ethanol at room temperature and fractionated into five different solvent types: hexane, dichloromethane, ethylacetate, butanol, and aqueous partition layers. The hexane(62.92±2.45%) and dichloromethane(65.25±4.74%) fractions of *Elaeagnus multiflora*'s flesh, and the aqueous(94.65±0.02%) and ethylacetate(93.83±0.02%) fractions of *Elaeagnus multiflora*'s seeds, inhibited DPPH radical production. The DPPH radical scavenging effects of the flesh and seed were different according to solvent fractions. The inhibition of lipid peroxidation by the flesh and seed extracts were 76.11±3.66 and 69.57±2.27, respectively, for hexane and 67.57±2.43 and 62.09±0.90, respectively, for the dichloromethane fraction. Among the various partition layers of *Elaeagnus multiflora*'s flesh, hexane and dichloromethane showed the strong cytotoxicities on all the cancer cell lines used in the study. Also, all the fractions of *Elaeagnus multiflora*'s seed exhibited significant effects on the inhibition of cancer cell growth(hexane > dichloromethane > ethylacetate > butanol > aqueous partition layers). These results indicate that the hexane and dichloromethane partition layers of *Elaeagnus multiflora*'s flesh and seed extracts have possible antioxidative and anticancer capacities. Although further studies are needed, the present work suggests that *Elaeagnus multiflora* may be an antioxidative and chemopreventive agent.

Key words: antioxidative effect, DPPH radical scavenging effect, lipid peroxidation, cancer cell proliferation, *Elaeagnus multiflora*.

서론

현대 사회는 경제 성장과 국민 소득의 증대로 건강과 장수에 대한 관심이 높아짐에 따라 각종 부작용을 유발하는 합성식, 의약품에 비해 천연물에서 이를 대처할 수 있는 소재에 관한 연구가 매우 활발히 진행되고 있다¹⁻³). 따라서 천연물질을 대상으로 항산화, 항암성에 대한 검색이 시도되고 있으며 항산화와 항암에 우수한 물질을 찾아내고⁴) 그 생리 활성

을 연구 검토하여 천연물에서 추출하는 등 연구가 활발하게 이루어지고 있다⁵).

뜰보리수(*Elaeagnus multiflora*)는 보리수나무과(Elaeagnaceae) 보리수나무속 (*Elaeagnus*)에 속하며, 일반적으로 cherry silver-berry라고 한다. 국내에서는 주로 관상용 또는 과수로 재배되거나 야생에 분포하고 있다⁶). 뜰보리수의 열매는 점핵과이며 긴 타원형으로 길이가 약 1.5 cm이고 7월에 붉은 색으로 숙성된다. 한방에서는 이 열매를 목반하라 하며, 효능은 오장을 보

† Corresponding author: Mee-Sook Lee, Dept. of Food and Nutrition, Hannam University, Daejeon 305-811, Korea.
Tel: 82-42-629-8794, Fax: 82-42-629-8789, E-mail: meesook@hannam.ac.kr

하고 번열과 소갈을 없앨 뿐만 아니라, 설사와 출혈을 멎게 하며, 소화 불량, 골수염, 부종, 생리 불순 등에 약효가 있다고 알려져 있다⁷⁾.

뜰보리수의 유용성분 분석⁸⁾과 미숙, 완숙, 과숙 등 성숙에 따른 뜰보리수 과실의 영양 성분 분석⁹⁾, 뜰보리수 추출물의 항산화 효과^{10,11)}에 관한 보고가 있으며, 미백 효과¹²⁾ 및 항혈소판 응집반응과 항염증 활성¹³⁾에 대한 보고가 있다.

뜰보리수 열매는 한방 약재로 사용되고 있지만, 식품으로서의 관심은 받지 못하고 있을 뿐만 아니라 그에 대한 연구도 거의 이루어지지 않고 있는 실정이다. 따라서 본 연구에서는 여러 약효가 있다고 알려진 뜰보리수 열매에 대한 식품영양학적 평가 및 기능성 물질 발굴을 통하여 식품의 이용가치 및 가공식품 개발 가능성을 평가하고자 뜰보리수 열매의 과육과 종실 분획 추출물의 DPPH 라디칼 소거 효과, 지질 과산화 저해 효과를 측정하여 항산화 효과를 비교하였고, MTT assay를 이용하여 인체 자궁경부암 세포인 HeLa cell, 인체 유방암 세포인 MCF-7 cell 및 인체 위암 세포인 SNU-638 cell에 대한 암세포 증식 억제 효과를 각각 비교하였다.

재료 및 방법

1. 실험재료

본 실험에서 사용된 시료는 뜰보리수 나무에서 직접 채취해 과육과 종실을 분리한 후 동결건조하여 실험 전까지 -20℃에서 냉동 보관하였다.

2. 시료의 추출 및 순차 용매 분획

시료 일정량(50 g)에 95% 에탄올을 가하여 실온에서 24시간 추출한 후 여과하는 과정을 2회 반복하였다. 이때 얻은 에탄올 추출물은 rotary vacuum evaporator(EYELA, Rotary vacuum evaporator N-N series, Tokyo, Japan)로 농축시킨 후 용매별로 분획하여 hexane 층, dichloromethane 층, ethyl acetate 층, butanol 층 및 물층으로 나누어 비극성에서 극성쪽으로 계통 분획하였다.

3. 항산화 효과

1) DPPH 라디칼 소거 효과 측정

Chen 등¹⁴⁾의 방법에 따라 DMSO 10 μ l(대조구)와 DMSO에 녹여 농도별로 희석한 시료 10 μ l에 200 μ M DPPH(1,1-diphenyl-2-picryl hydrazyl/ethanol) 190 μ l를 가한 후, 37℃에서 30분 동안 반응시킨 다음 517 nm에서 흡광도를 측정하였다(Molecular Devices, SpectraMAX 340pc). 대조구의 흡광도를 100%로 하였을 때 농도별 저해율(inhibition rate, %)을 구하

고, DPPH radical을 50% 소거하는 시료의 농도(IC₅₀)와 50% 억제 효과를 보이는 건조 중량(dry weight)을 산출하였다.

$$\text{억제율(\%)} = \frac{(\text{대조구의 흡광도} - \text{시료처리군의 흡광도})}{\text{대조구의 흡광도}} \times 100$$

2) 지질 과산화 억제 효과 측정

Saija 등¹⁵⁾과 Haase와 Dunkley¹⁶⁾의 방법에 따라 Fe²⁺에 의해 유도된 linoleic acid의 과산화에 대한 억제 활성을 TBA(Thio-barbituric acid, Sigma, MO, USA)로 발색시켜 측정하였다. 10 ml의 10 mM linoleic acid 용액에 시료 20 μ l를 가하고 37℃ shaking incubator에서 1시간 동안 shaking 시킨 후, 0.05 M FeSO₄ · 7H₂O를 20 μ l 첨가한 다음 다시 37℃에서 2시간 동안 shaking시켜 과산화를 유발시켰다. 처리된 linoleic acid 용액 800 μ l를 4℃에서 10분 동안 tempering 시키고, 400 μ l의 TBA 시약을 첨가한 다음 잘 혼합한 후, boiling water bath에서 15분 동안 처리한 후 흐르는 물에 냉각시켰다. 냉각된 용액에 n-butanol을 가하고 잘 섞은 다음 3,000 rpm으로 20분 동안 원심분리하여(Hanil, Union 5KR, Incheon, Korea) butanol 층을 취하여 535 nm에서 흡광도를 측정(Molecular Devices, SpectraMAX 340pc)하였다. Fe²⁺에 의해 유도된 linoleic acid의 과산화물을 TBA로 발색시킨 것을 100%로 가정하였을 때, 농도별 저해율(inhibition rate, %)을 구하고, 흡광도를 50%로 감소시킬 수 있는 시료의 농도(IC₅₀)와 50% 억제 효과를 보이는 건조중량(dry weight)을 산출하였다.

4. 암세포 성장 억제(Cytotoxicity) 효과

1) 암세포 배양

실험에서 사용한 암세포는 인체 자궁경부암세포인 HeLa cell, 인체 유방암 세포인 MCF-7 cell 및 인체 위암 세포인 SNU-638 cell이었다. 이들 세포는 서울대학교 의과대학 생화학실험실에서 *in vitro*로 배양해 온 것을 사용하였다. HeLa cell과 MCF-7 cell은 DMEM 배양액(HyClone, UT, USA)에, SNU-638 cell은 RPMI-1640 배양액(HyClone, UT, USA)에 5% FBS(fetal bovine serum, HyClone, UT, USA)와 항생제가 첨가된 것을 사용하였다.

2) MTT Assay

암세포 증식억제 효과를 측정하기 위해 Carmichael 등¹⁷⁾의 방법에 따라 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide(MTT assay)를 실시하였다. MTT assay는 세포의 생육을 측정하는 방법으로서 살아있는 세포의 미토콘드리아 내의 탈수소효소가 황색 수용성 물질인 MTT에 의해 dark blue

formazan을 생성하는 원리를 이용한다. 암세포를 48 well plate에 1×10^4 cells/well이 되게 300 μ l씩 분주하여 24시간 후 시료를 일정한 농도로 제조하여 10 μ l 첨가하여 37°C, 5% CO₂ 배양기에서 72시간 배양하였다. 여기에 PBS에 5 mg/ml의 농도로 제조한 MTT 용액 30 μ l를 첨가하고 동일한 배양조건에서 4시간을 배양하였다. 배양액을 제거하고 각 well 당 DMSO 300 μ l를 가하여 ELISA reader(Molecular Devices, Spectra MAX 340pc, CA, USA)로 570 nm에서 흡광도를 측정하여 농도별 저해율(inhibition rate, %)을 구하고, 흡광도를 50%로 감소시킬 수 있는 시료의 농도(IC₅₀)와 50% 억제 효과를 보이는 건조 중량(dry weight)을 산출하였다.

5. 통계처리

실험의 결과는 SAS Package(Statistical Analysis System, ver. 5.1)를 이용하여 통계처리 하였다. 모든 실험은 3회 반복하여 평균과 표준 편차를 산출하였고, 각 실험군의 평균치간의 차이의 유의성은 ANOVA 실시 후 $p < 0.05$ 수준에서 Duncan's multiple range test로 검정하였다.

결과 및 고찰

1. 항산화 효과

1) DPPH Radical 소거 효과

딸보리수 열매의 과육과 종실 추출물의 각 농도별 DPPH 라디칼 소거 활성을 추출 용매별로 측정하여 항산화 효과를 알아본 결과는 Fig. 1, 2와 같다. DPPH 라디칼 소거 효과에 대한 각 과육 분획 추출물의 효과를 살펴보면 dichloromethane 층(65.25%), hexane 층(62.92%)이 가장 효과가 좋았고 ethylacetate 층(47.13%), butanol 층(18.64%), 물 층(5.01%) 순으로 나타났다. Hong 등¹¹⁾은 딸보리수 열매의 과육의 씨를 분리시킨 다음 분쇄한 과육에서 DPPH radical 소거 효과를 측정하였는데, 물 추출물에 대한 전자공여능은 에탄올 추출물이나 메탄올 추출물에 비해 낮은 농도에서 비교적 높은 활성을 보였다. 전체적으로 메탄올 추출물에서 높은 활성을 나타내었으며 딸보리수 추출물의 농도가 증가할수록 전자공여능이 증가하는 경향을 나타내었는데, 이는 본 연구결과와도 일치하였다. Song 등¹⁸⁾은 쥘레영지버섯 추출물의 DPPH radical 소거 활성이 농도에 의존적인 경향을 나타내었다고 보고하였다. Cha 등¹⁹⁾은 오디의 물 추출물보다 에탄올 추출물이 전자공여능이 더 우수하다고 하였고, Shim 등²⁰⁾은 매실의 메탄올 추출물에서 항산화력이 높게 나타난다고 보고하였으며, Shon 등²¹⁾은 도라지 추출물에서 에탄올>메탄올>물 추출물 순으로 추출용매에 따라서 DPPH 라디칼 소거 활성

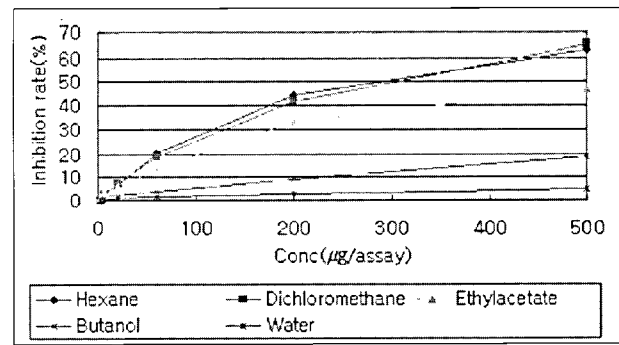


Fig. 1. Scavenging effects of DPPH radical by solvent fractions from *Elaeagnus multiflora*'s flesh.

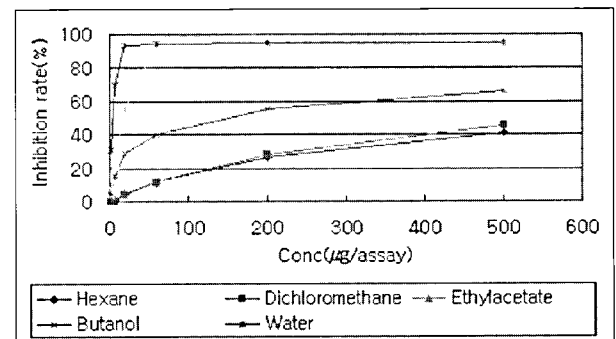


Fig. 2. Scavenging effects of DPPH radical by solvent fractions from *Elaeagnus multiflora*'s seed.

이 다르다고 보고하였다.

종실 분획 추출물에서는 물 층(94.65%), ethylacetate 층(93.83%)이 가장 효과가 좋았고, butanol 층(65.91%), dichloromethane 층(45.31%), hexane 층(41.07%)의 순으로 나타났다. DPPH 라디칼 소거 활성 효과는 과육 분획 추출물에서는 비극성쪽 용매 추출물에서, 종실 분획 추출물에서는 극성쪽 용매 분획 추출물에서 그 효과가 높았으며, 농도에 따른 저해율은 각 과육과 종실 분획 추출물의 농도가 증가할수록 DPPH 라디칼 소거 활성이 증가하였다. DPPH 라디칼 소거 효과에 대한 각 과육과 종실의 분획 추출물의 효과를 살펴보면 과육에서 60% 이상의 저해율을 보여준 분획은 hexane 층과 dichloromethane 층이었고, 종실에서 90% 이상 저해율을 보여준 분획은 물 층과 ethylacetate 층이었다. 따라서 과육과 종실의 DPPH 라디칼 소거 효과는 극성에 따른 용매 분획에 따라 다른 것을 알 수 있었고 과육보다는 종실에서 더 효과적이었다. Kang 등²²⁾에 의하면 DPPH 라디칼 소거 활성 효과는 phenolic acids, flavonoids 및 기타 phenolic 물질에 의한 항산화 작용이며, 이러한 물질의 환원력이 클수록 DPPH 라디칼 소거 활성이 크다고 하였다.

DPPH radical을 50% 소거하는 시료의 농도(IC₅₀) 값과 IC₅₀

Table 1. Dry and wet weights of solvent fractions from *Elaeagnus multiflora*'s flesh and *Elaeagnus multiflora*'s seed corresponding to IC₅₀ values of DPPH radical scavenging effect

	Flesh		Seed	
	IC ₅₀ ($\mu\text{g}/\text{assay}$)	Dry weight (mg)	IC ₅₀ ($\mu\text{g}/\text{assay}$)	Dry weight (mg)
Hexane	367.8	22.0	2186.8	3215.9
Dichloromethane	361.6	97.2	1365.2	455.1
Ethylacetate	1790.9	38.7	18.0	0.5
Butanol	-	-	126.8	8.5
Water	-	-	3.6	0.2

값을 나타내주는 건조 중량은 Table 1과 같다. 과육 분획 추출물에서 dichloromethane층의 IC₅₀은 361.6 $\mu\text{g}/\text{assay}$ 이고 hexane층의 IC₅₀은 367.8 $\mu\text{g}/\text{assay}$ 이었고 ethylacetate 층은, 1790.9 $\mu\text{g}/\text{assay}$ 이었으며 butanol 층과 물 층에서는 구할 수가 없었다. 종실 분획 추출물에서 IC₅₀은 물 층(3.6 $\mu\text{g}/\text{assay}$), ethylacetate 층(18.0 $\mu\text{g}/\text{assay}$), butanol 층(126.8 $\mu\text{g}/\text{assay}$), dichloromethane 층(1,365.2 $\mu\text{g}/\text{assay}$), hexane 층(2,186.8 $\mu\text{g}/\text{assay}$) 순이었다.

2) 지질 과산화 억제 활성

Fe²⁺에 의해 유도된 linoleic acid의 과산화 억제 활성에 대한 각 과육과 종실 분획 추출물의 농도별 저해율은 Fig. 3, 4와 같다. 과육 분획물 중 hexane 층(76.11%)과 dichloromethane 층(67.57%)은 가장 효과가 좋았고, 상대적으로 ethylacetate 층, 물 층의 효과는 적었다. 종실 분획 추출물에서는 hexane 층(69.57%)이 가장 높은 효과를 보였고, dichloromethane 층(62.09%), ethylacetate 층(54.09%), butanol 층(48.83%), 물 층(26.67%) 순이었다. 농도별로 살펴보면, 대부분의 분획 추출물에서 농도가 증가할수록 지질 과산화 억제 활성이 증가하였으나, 과육 분획 추출물 중 dichloromethane 층은 100 $\mu\text{g}/\text{assay}$ 농도에서 67.57%의 저해율을 보여주었고 그 이상의 농도에서 농도가 증가할수록 저해율이 감소하였고 ethylacetate 층과 물 층의 효과는 거의 없었지만 농도가 증가할수록 감소하는 경향을 보였다. 과육과 종실 분획 추출물 모두에서 60% 이상의 지질 과산화 억제율을 보여준 분획은 hexane 층과 dichloromethane 층으로 비극성 분획에서 효과적이었다.

뜰보리수 열매 추출물에 linoleic acid를 이용한 thiocyanate의 방법으로 항산화를 측정한 Hong 등¹¹⁾에 의하면 추출물의 농도가 증가할수록 항산화 활성 또한 증가하는 추세를 보였고 물 추출물보다는 에탄올 추출물과 메탄올 추출물에서 그 효과가 더 좋았다고 보고하였다.

과육과 종실 추출물의 IC₅₀ 값과 IC₅₀ 값을 나타내는 건조

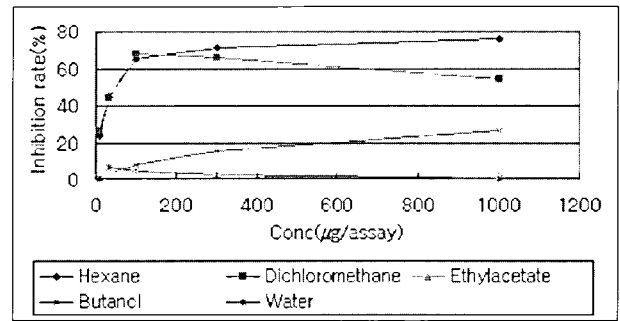


Fig. 3. Antioxidative effects of solvent fractions from *Elaeagnus multiflora*' flesh on lipid peroxidation.

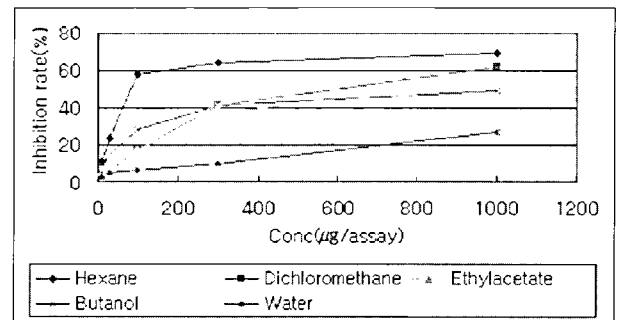


Fig. 4. Antioxidative effects of solvent fractions from *Elaeagnus multiflora*'s seed on lipid peroxidation.

중량을 살펴보면 Table 2와 같다. 과육 분획 추출물에서 IC₅₀ 값은 dichloromethane 층이 38.7 $\mu\text{g}/\text{assay}$ 으로 가장 낮았고, hexane 층(57.0 $\mu\text{g}/\text{assay}$), butanol 층(112,091.0 $\mu\text{g}/\text{assay}$)순이었고 ethylacetate 층과 물 층은 값을 구할 수 없었다. 종실 분획 추출물에서는 hexane 층(137.6 $\mu\text{g}/\text{assay}$), dichloromethane 층(595.3 $\mu\text{g}/\text{assay}$), ethylacetate 층(1,002.2 $\mu\text{g}/\text{assay}$), butanol 층(1,051.5 $\mu\text{g}/\text{assay}$), 물 층(901,857.5 $\mu\text{g}/\text{assay}$) 순으로 나타났다.

Table 2. Dry and wet weights of solvent fractions from *Elaeagnus multiflora* corresponding to IC₅₀ values of Fe²⁺-induced linoleate peroxidation

	Flesh		Seed	
	IC ₅₀ ($\mu\text{g}/\text{assay}$)	Dry weight (mg)	IC ₅₀ ($\mu\text{g}/\text{assay}$)	Dry weight (mg)
Hexane	57.0	3.4	137.6	202.4
Dichloromethane	38.7	10.4	595.3	198.4
Ethylacetate	-	-	1002.2	29.4
Butanol	112091.0	119.4	1051.5	70.4
Water	-	-	901857.5	38181.9

2. 암세포 성장 억제(Cytotoxicity) 효과

1) HeLa Cell에 대한 성장 억제 효과

뜰보리수 열매의 과육과 종실 추출물의 인체 자궁경부암 세포인 HeLa cell에 대한 성장 억제 효과는 Fig. 5, 6과 같다. 과육의 분획 추출물에서 HeLa cell에 대한 성장 억제 효과는 hexane 층, dichloromethane 층에서 91.89%와 91.32%의 억제 효과를 보였고 ethylacetate 층, butanol 층, 물 층에서는 억제 효과가 낮았다(21.66%, 11.55%, 5.32%). 농도에 따른 암세포

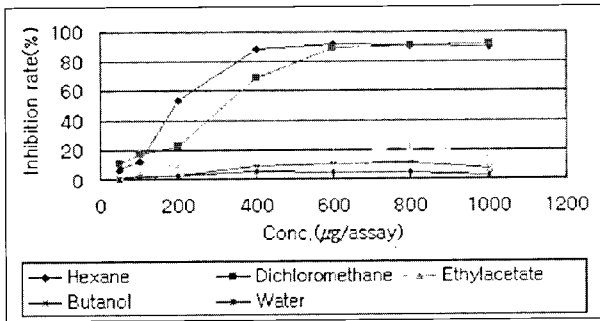


Fig. 5. Inhibitory effects of solvent fractions from *Elaeagnus multiflora*'s flesh on HeLa cell growth.

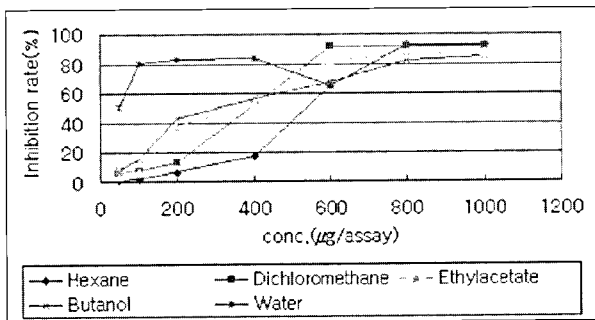


Fig. 6. Inhibitory effects of solvent fractions from *Elaeagnus multiflora*'s seed on HeLa cell growth.

성장 억제 효과를 살펴보면, 과육 분획 추출물에서 hexane 층은 600 µg/assay에서 가장 높은 억제 효과를 보였고, dichloromethane 층은 분획 추출물 농도가 증가함에 따라 억제 효과가 높아졌다.

종실의 분획 추출물에서는 hexane 층, dichloromethane 층에서 91.98%와 91.87%의 억제 효과를 보였고, 나머지 분획 추출물에서도 84% 이상의 억제 효과를 보였다. 각각의 분획 추출물 농도에 따른 HeLa cell 성장 억제 효과를 살펴보면, 종실 분획 추출물의 경우 hexane 층, dichloromethane 층, ethylacetate 층, butanol 층에서는 농도가 높아짐에 따라 억제 효과가 높아졌으나, 물 층 추출물에서는 100 µg/assay에서 80.20%의 저해 효과를 나타내어 다른 분획물과 다르게 저농도에서 효과적이었다.

과육과 종실 추출물 수율의 차이에 따라 IC₅₀값과 IC₅₀값을 보여주는 건조 중량은 Table 3, 4와 같다. 과육 추출물에서 hexane 층의 IC₅₀값은 185.9 µg/assay으로 가장 효과가 좋았고 dichloromethane 층이 240.2 µg/assay, ethylacetate 층이 52,088.0 µg/assay이었으며, butanol 층, 물 층은 효과가 없었다. 종실 추출물에서 IC₅₀값은 물 층(26.4 µg/assay)에서 가장 효과가 좋았고, 다음이 butanol 층(282.7 µg/assay), ethylacetate 층(285.3 µg/assay), dichloromethane 층(288.2 µg/assay), hexane 층(404.3 µg/assay) 순이었다.

2) MCF-7 Cell에 대한 성장 억제 효과

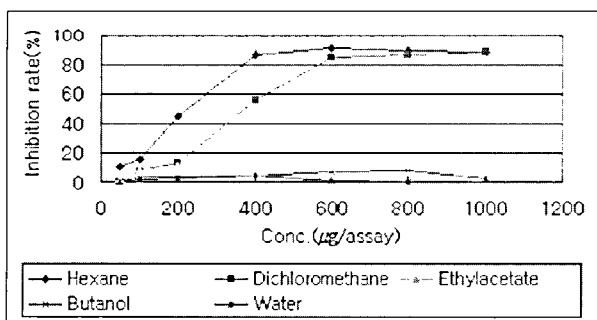
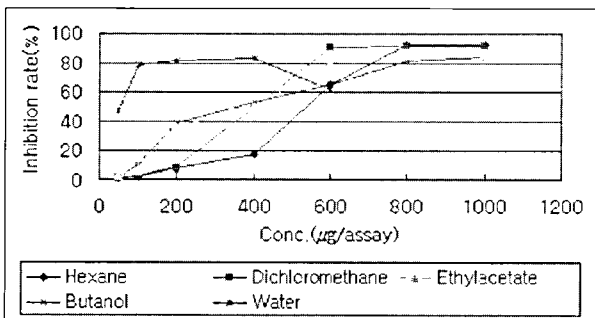
인체 유방암 세포인 MCF-7 cell에 대한 뜰보리수 열매의 과육과 종실 분획 추출물의 암세포 성장 억제 효과는 Fig. 7, 8과 같다. 즉, 과육의 분획 추출물에서 hexane 층과 dichloromethane 층에서 각각 90.34%, 87.85%의 억제 효과를 보였고 ethylacetate 층, butanol 층, 물 층 추출물에서는 억제 효과가 낮았다(15.78%, 7.73%, 4.53%). 분획 추출물 농도에 따른 암세포 성장 억제 효과를 살펴보면, hexane 층은 600 µg/assay에서 가장 높은 억제 효과를 보였고, dichloromethane 층은 농도가 높아짐에 따라 억제 효과가 높아졌다.

Table 3. IC₅₀ values of solvent fractions from *Elaeagnus multiflora*'s flesh on HeLa cell, MCF-7 cell and SNU-638 cell growth

	HeLa cell		MCF-7 cell		SNU-638 cell	
	IC ₅₀ (µg/assay)	Dry weight (mg)	IC ₅₀ (µg/assay)	Dry weight (mg)	IC ₅₀ (µg/assay)	Dry weight (mg)
Hexane	185.9	11.1	190.7	11.4	199.5	11.9
Dichloromethane	240.2	279.3	311.9	362.6	297.3	345.7
Ethylacetate	52088.0	1180.1	-	-	-	-
Butanol	-	-	-	-	-	-
Water	-	-	-	-	-	-

Table 4. IC₅₀ values of solvent fractions from *Elaeagnus multiflora*'s seed on HeLa cell, MCF-7 cell and SNU-638 cell growth

	HeLa cell		MCF-7 cell		SNU-638 cell	
	IC ₅₀ ($\mu\text{g}/\text{assay}$)	Dry weight (mg)	IC ₅₀ ($\mu\text{g}/\text{assay}$)	Dry weight (mg)	IC ₅₀ ($\mu\text{g}/\text{assay}$)	Dry weight (mg)
Hexane	404.3	594.5	401.8	590.9	354.7	521.7
Dichloromethane	288.2	144.1	309.7	154.8	258.3	129.1
Ethylacetate	285.3	7.5	296.5	7.8	334.7	8.8
Butanol	282.7	18.9	320.7	21.5	439.0	29.4
Water	26.4	1.1	33.7	1.4	12.6	0.5

**Fig. 7.** Inhibitory effects of solvent fractions from *Elaeagnus multiflora*'s flesh on MCF-7 cell growth.**Fig. 8.** Inhibitory effects of solvent fractions from *Elaeagnus multiflora*'s seed on MCF-7 cell growth.

종실의 분획 추출물에서는 hexane 층, dichloromethane 층에서 92.01%, 91.44% 이상 억제 효과를 보였고, 나머지 분획 추출물에서도 83% 이상의 억제 효과를 보였다. 각각의 분획 추출물 농도에 따른 암세포 성장 억제 효과를 살펴보면, hexane 층 dichloromethane 층, ethylacetate 층, butanol 층 추출물에서는 농도가 높아짐에 따라 억제 효과가 높아졌으나, 물 층 추출물에서는 100 $\mu\text{g}/\text{assay}$ 에서 78.66%의 저해 효과를 나타내어 다른 분획물과는 다르게 저농도에서 효과적으로 MCF-7 cell에 대한 성장 억제 효과를 보였다.

과육과 종실 추출물 수율의 차이에 따라 IC₅₀값과 IC₅₀값을 나타내는 건조 중량을 살펴보면 Table 3, 4와 같다. 과육 추출물에서 hexane 층의 IC₅₀값이 190.7 $\mu\text{g}/\text{assay}$ 으로 가장 효과가 좋았고, 다음이 dichloromethane 층으로 311.9 $\mu\text{g}/\text{assay}$ 이었고, ethylacetate 층, butanol 층, 물 층은 구할 수가 없었다. 종실 추출물에서 IC₅₀값은 물 층(33.7 $\mu\text{g}/\text{assay}$)에서 가장 효과가 좋았고, 다음이 ethylacetate 층(296.5 $\mu\text{g}/\text{assay}$), dichloromethane 층(309.7 $\mu\text{g}/\text{assay}$), butanol 층(320.7 $\mu\text{g}/\text{assay}$), hexane 층(401.8 $\mu\text{g}/\text{assay}$) 순이었다.

3) SNU-638 Cell에 대한 성장 억제 효과

인체 위암 세포인 SNU-638 cell에 대한 뜰보리수 열매의 과육과 종실 분획 추출물의 성장 억제 효과는 Fig. 9, 10과 같다. 즉, 과육의 분획 추출물에서 hexane 층, dichloromethane 층에서 각각 88.85%, 85.96%의 억제 효과를 보였고 ethylacetate 층, 물 층, butanol 층 추출물에서는 성장 억제 효과가 낮았다 (20.42%, 15.53%, 7.50%). 각각의 분획 추출물 농도에 따른 암세포 성장 억제 효과를 살펴보면, hexane 층은 600 $\mu\text{g}/\text{assay}$ 에서 가장 높은 억제 효과를 보였고, dichloromethane 층은 농도가 높아짐에 따라 억제 효과가 높아졌다.

종실의 분획 추출물에서는 hexane 층, dichloromethane 층에서 91.02%, 91.71% 억제 효과를 보였고 나머지 분획 추출물에서도 84% 이상의 억제 효과를 보였다. 각각의 분획 추출물 농도에 따른 암세포 성장 억제 효과를 살펴보면, hexane 층 dichloromethane 층, ethylacetate 층, butanol 층 추출물에서는 농도가 높아짐에 따라 억제 효과가 높아졌으나 물 층 추출물에서는 50 $\mu\text{g}/\text{assay}$ 에서 60.74%, 100 $\mu\text{g}/\text{assay}$ 에서 78.70%, 400 $\mu\text{g}/\text{assay}$ 에서 84.77%의 저해 효과를 나타내다 그 이상의 농도에서는 농도가 증가함에 따라 저해 효과가 감소하여 물 층은 다른 용매 분획물과는 달리 저농도에서 효과적으로 SNU-638 cell의 성장 억제 효과를 보였다.

과육과 종실 추출물 수율의 차이에 따라 IC₅₀값과 IC₅₀값을 나타내는 건조 중량을 살펴보면 Table 3, 4와 같다. 과육

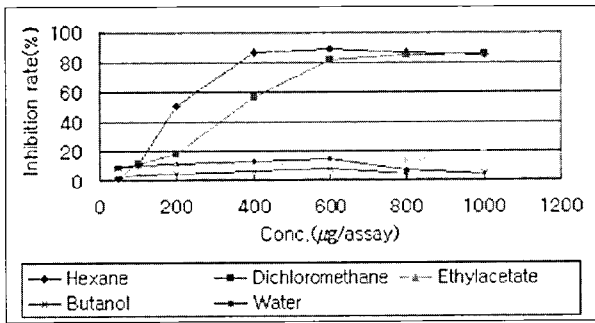


Fig. 9. Inhibitory effects of solvent fractions from *Elaeagnus multiflora*'s flesh on SNU-638 cell growth.

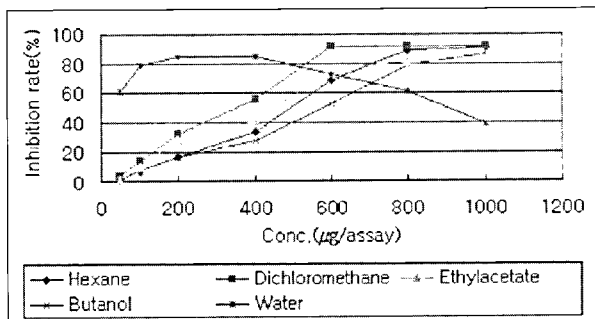


Fig. 10. Inhibitory effects of solvent fractions from *Elaeagnus multiflora*'s flesh on SNU-638 cell growth.

추출물에서 hexane 층의 IC_{50} 값이 199.5 μg 으로 가장 효과가 좋았고, dichloromethane 층의 IC_{50} 값은 297.3 $\mu\text{g/assay}$ 이었고, ethylacetate 층, butanol 층, 물 층은 효과가 없었다. 종실 추출물에서 IC_{50} 값은 물 층 (12.6 $\mu\text{g/assay}$)에서 가장 효과가 좋았고, 다음이 dichloromethane 층(258.3 $\mu\text{g/assay}$), ethylacetate 층 (334.7 $\mu\text{g/assay}$), hexane 층(354.7 $\mu\text{g/assay}$), butanol 층(439.0 $\mu\text{g/assay}$) 순이었다.

인체 자궁경부암 세포인 HeLa cell, 인체 유방암 세포인 MCF-7 cell 및 인체 위암 세포인 SNU-638 cell에 대한 암세포 증식 억제 효과는 매우 유사한 경향을 나타내었다. 즉, 딸보리수 과육에서 비극성층인 hexane 층과 dichloromethane 층은 85% 이상의 성장 억제 효과를 보였으며, ethylacetate 층, 물 층, butanol 층 추출물에서는 성장 억제 효과는 낮았다. 종실의 경우 비극성층인 hexane 층과 dichloromethane 층은 90% 이상의 성장 억제 효과를 보였으며, 나머지 모든 용매 분획물에서도 80% 이상의 성장 억제 효과가 있었다.

요약 및 결론

딸보리수 열매에 대한 식품영양학적 평가 및 기능성 물질

발굴을 통하여 식품의 이용가치 및 가공식품 개발 가능성을 평가하고자 딸보리수 열매의 항산화, 항암 효과가 어느 정도 인지 확인해 보고자 한다. 즉, 딸보리수 열매의 과육과 종실 분획 추출물의 DPPH 라디칼 소거 효과, 지질 과산화 저해 효과를 측정하여 항산화 효과를 비교하였고, MTT assay를 이용하여 인체 자궁경부암 세포인 HeLa cell, 인체 유방암 세포인 MCF-7 cell 및 인체 위암 세포인 SNU-638 cell에 대한 암세포 증식 억제 효과를 측정한 결과는 다음과 같다.

- DPPH 라디칼 소거 효과에 대한 각 과육의 분획 추출물의 효과를 살펴보면 dichloromethane 층(65.25%), hexane 층(62.92%)이 가장 효과가 좋았고 ethylacetate 층(47.13%), butanol 층(18.64%), 물 층(5.01%) 순으로 나타났다. 종실 분획 추출물에서는 물 층(94.65%), ethylacetate 층(93.83%)이 가장 효과가 좋았고 butanol 층(65.91%), dichloromethane 층(45.31%), hexane 층(41.07%)의 순으로 나타났다. 따라서 과육과 종실의 DPPH 라디칼 소거 효과는 극성에 따른 용매분획에 따라 그 효과가 다른 것을 알 수 있었고 과육보다는 종실에서 더 효과적이었다.
- 지질 과산화 억제율은 과육 분획물 중 hexane 층(76.11%)과 dichloromethane 층(67.57%)에서 가장 효과가 좋았고 ethylacetate 층, 물 층의 효과는 거의 없었다. 종실 분획 추출물에서는 hexane 층(69.57%)이 가장 높은 효과를 보였고 dichloromethane 층(62.09%), ethylacetate 층(54.09%), butanol 층(48.83%), 물 층(26.67%) 순이었다. 과육과 종실 분획 추출물 모두에서 60% 이상의 지질 과산화 억제율을 보여준 분획은 hexane 층과 dichloromethane 층으로 비극성 분획에서 효과적이었다.
- 자궁경부암 세포인 HeLa cell에 대한 성장 억제 효과는 과육의 분획 추출물에서 hexane 층, dichloromethane 층에서 91.89%, 91.32%의 억제 효과를 보였고 ethylacetate 층, butanol 층, 물 층에서는 억제 효과가 낮았다(21.66%, 11.55%, 5.32%). 종실의 분획 추출물에서는 hexane 층, dichloromethane 층에서 91.98%, 91.87% 억제 효과를 보였고 나머지 분획 추출물에서도 84% 이상의 억제 효과를 보였다.
- 인체 유방암 세포인 MCF-7 cell에 대한 성장 억제 효과는 딸보리수 과육의 분획 추출물에서 hexane 층과 dichloromethane 층에서 각각 90.34%, 87.85%의 억제 효과를 보였고, ethylacetate 층, butanol 층, 물 층 추출물에서는 억제 효과가 낮았다(15.78%, 7.73%, 4.53%). 종실의 분획 추출물에서는 hexane 층, dichloromethane 층에서 92.01%, 91.44% 억제 효과를 보였고 나머지 분획 추출물에서도 83% 이상의 억제 효과를 보였다.
- 위암 세포인 SNU-638 cell에 대한 암세포 성장 억제 효과

는 과육의 분획 추출물에서 hexane 층, dichloromethane 층에서 각각 88.85%, 85.96%의 억제 효과를 보였고 ethylacetate 층, 물 층, butanol 층 추출물에서는 성장 억제 효과가 낮았다(20.42%, 15.53%, 7.50%). 종실의 분획 추출물에서는 hexane 층, dichloromethane 층에서 91.02%, 91.71% 억제 효과를 보였고 나머지 분획 추출물에서도 84% 이상의 억제 효과를 보였다.

MCF-7 cell, MCF-7 cell 과 SNU-638 cell에서 유사한 암세포 성장 억제 효과가 있었는데, 과육보다는 종실에서 더 효과적이며 과육에서는 비극성인 hexane 층, dichloromethane 층 추출물에서 그 세포 성장 저해 효과가 우수했으며(85% 이상), ethylacetate 층, butanol 층, 물 층 추출물에서는 저해 효과가 적었다. 종실의 분획 추출물에서는 hexane 층, dichloromethane 층, ethylacetate 층, butanol 층, 물 층 추출물 순으로 모든 분획 추출물에서 80% 이상의 억제 효과가 있었다.

딸보리수의 과육과 종실 분획 추출물에서 항산화 효과와 암세포 성장 억제 효과에 의해 새로운 기능성 식품의 소재로서 활용 가능성이 높을 것으로 추측되며 아울러 각종 기능성 식품 개발의 기초 자료로서 국민 건강 증진에 기여할 것으로 이에 대한 계속적인 연구가 진행되어야 할 것으로 사료된다.

감사의 글

이 논문은 2006년도 한남대학교 학술연구조성지원비 지원에 의하여 연구되었음.

참고문헌

- Kim, HK, Na, GM, Ye, SH and Han, HS. Extraction characteristics and antioxidative of *Schizandra chinensis* extracts. *Kor. J. Food Culture*. 19:484-490. 2004
- Kim, EJ and Ahn, MS. Antioxidative effect of ginger extracts. *Kor. J. Food Sci.* 9:37-42. 1993
- Hwang, EJ, Cha, YU, Park, MH, Lee, JW and Lee, SY. Cytotoxicity and chemosensitizing effect of camelia tea extract. *J. Kor. Soc. Food Sci. Nutr.* 33:487-493. 2004
- Cheng, GC, Lee, JY, Kim, DC, Suh, SO and Hwang, WI. Inhibitory effect of *Salvia miltiorhiza* extract on growth of some cancer cells. *J. Kor. Soc. Food Sci. Nutr.* 29:726-731. 2000
- Ji, WD, Jeong, HC, Lee, SJ and Chun, YG. Antimicrobial activity and distilled components of garlic and ginger. *J. Agric. Chem. Biotechnol.* 40:514-518, 1997
- 조무행. 원색한국수목도감. p372. 아카데미, 서울. 한국. 1989
- 박종희. 한국약초도감, pp.953-954. 도서출판 신일상사, 서울. 한국. 2004
- Kim, NW, Joo, EY and Kim, SL. Analysis on the components of fruit of *Elaeagnus multiflora* Thumb. *Kor. J. Food Preserv.* 10:534-539. 2003
- Hong, JY, Nam, HS, Kim, NW and Shin, SR. Changes on the components of *Elaeagnus multiflora* fruits during maturation. *Kor. J. Food Preserv.* 13:643-648. 2006
- Hong, JY, Nam, HS, Lee, YS, Kim, NW and Shin, SR. Antioxidant activity of ethanol extracts from fruits of *Elaeagnus multiflora* Thumb. during maturation. *Kor. J. Food Preserv.* 13:643-648. 2006
- Hong, JY, Nam, HS, Lee, YS, Yoon, KY, Kim, NW and Shin, SR. Study on the antioxidant activity of extracts from the fruit of *Elaeagnus multiflora* Thumb. *Kor. J. Food Preserv.* 13:413-419. 2006
- Chang, ZQ, Park, SC, Oh, BC, Lee, YS, Shin, SR and Kim, NW. Antioxidant activity and whitening effects for extracts of *Elaeagnus multiflora*. *Kor. J. Medicinal Crops Sci.* 14: 514-515. 2006
- Chang, ZQ, Park SC, Oh BC, Lee YS, Shin, SR and Kim, NW. Anti-platelet aggregation and anti-inflammatory activity for extracts of *Elaeagnus multiflora*. *Kor. J. Medicinal Crops Sci.* 14:516-517. 2006
- Chen, HM, Muramoto, K, Yamauchi, F, Fujimoto, K and Nokihara, K. Antioxidative properties of histidine-containing peptides designed from peptide fragments found in the digests of a soybean protein. *J. Agric. Food Chem.* 46:49-53. 1998
- Saija, A, Scalese, M, Lanza, M, Marzullo, D, Bonina, F and Castelli, F. Flavonoids as antioxidant agents: Importance of their interaction with biomembranes. *Free Radical Biology & Medicine* 19:481-486. 1995
- Haase, G and Dunkley, WL. Ascorbic acid and copper in linoleate oxidation. I. Measurement of oxidation by ultraviolet spectrophotometry and the thiobarbituric acid test. *J. Lipid Research.* 10:555-560. 1969
- Charmichael, J, Degraff, WG, Gazdar, AF, Minna, JD and Michell, JB. Evaluation of a tetrazolium based semiautomated colorimetric assay, assessment of chemosensitivity testing. *Cancer Res.* 47:936. 1987
- Song, JH, Lee, HS, Hwang, JK, Chung, TY, Hong, SR, and Park, KM. Physiological activities of *Phelliums ribis*

- extracts. *Kor. J. Food Sci. Technol.* 35:690-695. 2003
19. Cha, WS, Shin, HR, Park, JH, Oh, SL, Lee, WY, Chun, SS, Choo, JW and Cho, YJ. Antioxidant activity of phenol components from mulberry fruits. *Kor. Food Preserv.* 11:383-387. 2004
20. Shim, JH, Park, MW, Kim, MR, Lim, KT and Park, ST. Screening of antioxidant in *Fructus mune*(*Prunes mune* Sieb. et Zucc.) extracts. *J. Kor. Soc. Agric. Chem. Biotechnol.* 45:119-123. 2002
21. Shon, MY, Seo, JK, Kim, HJ and Sung, NY. Chemical compositions and physiological activities of Doraji(*Platycodon grandiflorum*). *J. Kor. Soc. Food Sci. Nutr.* 30:717-720. 2001
22. Kang, YH, Park, YK, Oh, SR and Moon, KD. Studies on the physiological functionality of pine needle and mugwort extract. *Kor. J. Food Sci. Technol.* 27:978-984. 1995
-
- (2007년 5월 14일 접수; 2007년 5월 31일 채택)