

뜰보리수 에탄올 추출물의 산화적 스트레스 억제 효과와 암세포 증식 억제 효과

오 세 인 · 이 미 숙

서일대학 식품영양과, *한남대학교 식품영양학과

Antioxidative and Cytotoxic Effects of Ethanol Extracts from *Elaeagnus multiflora*

Se-In Oh and Mee-Sook Lee

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

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

Abstract

Elaeagnus multiflora, generally referred to as the cherry silverberry, is a plant. *Elaeagnus multiflora* fruit, leaves, and roots have been traditionally utilized in China as a treatment for cough, diarrhea, itch, and foul sores, and even cancer. More importantly, it is being investigated as a food that is capable of reducing the incidence of cancer, and also as a means of halting or reversing the growth of cancers. Considering the dearth of information regarding the medicinal properties of *Elaeagnus multiflora*, we assessed the antioxidative and cytotoxic effects of *Elaeagnus multiflora* by examining its scavenging effects on the 1,1-diphenyl-2-picryl-hydrazyl(DPPH) radical, its inhibitory effects on lipid peroxidation, and its inhibitory effects on cancer cell proliferation in HeLa cells, MCF-7 cells, and SNU-638 cells via MTT assay. Ethanol extracts of *Elaeagnus multiflora* flesh and seed inhibited DPPH radical production(36.91±1.00, 94.17±0.37) and lipid peroxidation (28.18±5.02, 40.30±1.45, respectively). The *Elaeagnus multiflora* seed is believed to exert a possible antioxidative effects against the DPPH radical. The ethanol extracts of *Elaeagnus multiflora* flesh and seed exerted the cytotoxic effects on Hela cells (6.93±1.92, 84.97±0.47), MCF-7 cells(5.45±0.41, 84.97±0.47), and SNU-638 cells(19.39±0.43, 76.84±0.63) used in this study. This result suggests that *Elaeagnus multiflora* seeds in contrast to its flesh, is believed to exert a possible anticancer effect. *Elaeagnus multiflora* seeds are considered to be a the candidate for preventative and dietetic treatment as an anticancer functional food.

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

서론

재배 및 수확이 용이한 식물자원을 대상으로 항산화와 항암에 우수한 물질을 찾아내고^{1~10)} 그 생리활성을 연구 검토하여 이들을 식품보존제, 건강보조식품, 건강기능성 식품에 이용하고 더 나아가서 의약품 및 화장품 등에 응용하고 있다.

뜰보리수(*Elaeagnus multiflora*)는 보리수나무과(*Elaeagnaceae*)

보리수나무속(*Elaeagnus*)에 속하며, 국내에서는 주로 관상용 또는 과수로 재배되거나 야생에 분포하고 있다¹¹⁾. 뜰보리수의 열매는 점핵과이며 긴 타원형으로 길이가 약 1.5 cm이고 7월에 붉은 색으로 숙성된다. 뜰보리수 열매는 한방약재로 사용되고 있지만, 식품으로서의 관심은 받지 못하고 있을 뿐만 아니라 그에 대한 연구도 거의 이루어지지 않고 있는 실정으로 뜰보리수의 유용성분 분석¹²⁾과 미숙, 완숙, 과숙 등 성

* 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

속에 따른 딸보리수 과실의 영양 성분 분석¹³⁾, 딸보리수 추출물의 항산화 효과^{14,15)}에 관한 보고가 있으며, 미백 효과¹⁶⁾ 및 항혈소판 응집반응과 항염증 활성¹⁷⁾에 대한 보고가 있다.

암화 과정의 개시단계에서 발생하는 세포 돌연변이는 DNA의 산화적 손상에 의해 초래되며, 그 원인물질 중 하나가 산소를 소비하는 정상적인 세포 대사과정에서도 다량 생성되는 free radical이다¹⁸⁾. 즉, 친전자성을 띤 free radical들은 세포 내 DNA의 친핵성 부위와 결합함으로써 세포변이를 일으키게 된다. 따라서 대사과정 중 free radical 생성은 세포의 암화에 긴밀하게 연관되어 관여하는 것으로 보인다¹⁹⁾. 또한, 암 발병률은 식이요인에 의해 다르게 나타난다는 것이 여러 연구에서 보고되어 식이요인의 중요성이 지적되고 있다. 최근 식이와 관련된 암의 원인물질을 검색하는 연구가 활발히 진행되고 있으며, 천연물 대체요법 등 새로운 암 예방 물질의 개발로 예방과 치료의 방향이 전환되고 있다.

따라서 본 연구에서는 여러 약효가 있다고 알려진 딸보리수 열매를 과육과 종실로 분리하여 DPPH 라디칼 소거 효과, 지질 과산화 저해 효과를 측정하여 항산화 효과를 비교하였고, 인체 자궁경부암 세포인 HeLa cell, 인체 유방암 세포인 MCF-7 cell 및 인체 위암 세포인 SNU-638 cell에 대한 암세포 증식 억제 효과를 측정함으로써 식품영양학적 평가 및 기능성 물질 발굴을 통하여 식품의 이용가치 및 가공식품 개발 가능성을 평가하고자 한다.

재료 및 방법

1. 실험재료

본 실험에서 사용된 시료는 대전지역에서 서식하는 딸보리수 나무에서 성숙된 것을 7월에 직접 채취해 과육과 종실을 분리한 후 동결건조하여 실험 전까지 -20°C 에서 냉동 보관하였다.

2. 에탄올 추출물의 제조

딸보리수 열매의 과육과 종실의 에탄올 추출물은 건조시료 일정량(5 g)에 20배의 95% 에탄올을 가하여 실온에서 24시간 동안 2회 반복 추출하여 Whatman 여과지 No 6로 여과한 후 여과액을 회전 진공증발기(EYELA, Rotary vacuum evaporator N-N series, Tokyo, Japan)로 감압 농축한 후 냉동보관하였다가 dimethyl sulfoxide(DMSO)에 녹여 시료로 지질 과산화 억제 활성, DPPH 라디칼 소거 활성을 위한 시료로 사용하였고, 70% 에탄올에 녹여 MTT assay 시료로 사용하였다.

3. 항산화 효과

1) DPPH 라디칼 소거 효과 측정

Chen 등²⁰⁾의 방법에 따라 DMSO 10 μl (대조구)와 DMSO에 녹여 농도별로 희석한 시료 10 μl 에 200 μM DPPH(1,1-diphenyl-2-picryl hydrazyl/ethanol) 190 μl 를 가한 후, 37°C 에서 30분 동안 반응시킨 다음 517 nm에서 흡광도를 측정하였다(Molecular Devices, SpectraMAX 340 pc, CA, USA). 대조구의 흡광도를 100%로 하였을 때 농도별 저해율(inhibition rate, %)을 구하고, DPPH radical을 50% 소거하는 시료의 농도(IC₅₀)와 50% 억제 효과를 보이는 건조 중량(dry weight)을 산출하였다.

2) 지질 과산화 억제 효과 측정

Saija 등²¹⁾과 Haase와 Dunkley²²⁾의 방법에 따라 Fe^{2+} 에 의해 유도된 linoleic acid의 과산화에 대한 억제 활성을 TBA(thiobarbituric acid, Sigma, MO, USA)로 발색시켜 측정하였다. 10 ml의 10 mM linoleic acid 용액에 시료 20 μl 를 가하고 37°C shaking incubator에서 1시간 동안 shaking시킨 후, 0.05 M $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 를 20 μl 첨가한 다음 다시 37°C 에서 2시간 동안 shaking시켜 과산화를 유발시켰다. 처리된 linoleic acid 용액 800 μl 를 4°C 에서 10분 동안 tempering시키고, 400 μl 의 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 측정하였다. Fe^{2+} 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 건조 중량(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, USA)에 5% fetal bovine serum(FBS, HyClone, UT, USA)와 항생제가 첨가된 것을 사용하였다.

2) MTT Assay

암세포 증식 억제 효과를 측정하기 위해 Carmichael 등²³⁾의 방법에 따라 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide(MTT assay)를 실시하였다. 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 reader로 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

뜰보리수 열매를 과육과 종실로 분리하여 에탄올로 추출한 추출물의 DPPH 라디칼 소거 활성을 측정하여 항산화 효과를 알아본 결과는 Fig. 1과 같다. 뜰보리수 과육 에탄올 추출물의 DPPH 라디칼 소거 효과를 살펴보면 시료 농도 20 μ g/assay시 4.78%, 60 μ g/assay시 10.64%, 200 μ g/assay시 28.32, 500 μ g/assay시 36.91%의 라디칼 제거능을 나타내었다. 뜰보리수 열매 과육 에탄올 추출물의 처리농도가 증가할수록 DPPH 라디칼 소거 활성이 증가함을 알 수 있었으나, 500 μ g/assay에서도 비교적 낮은 DPPH radical 소거 효과(36.91%)를 보여주었다. Kim 등²⁴⁾ 및 Hong 등¹⁴⁾도 뜰보리수 열매의 과육에서 추출물의 농도가 증가할수록 전자공여능이 증가하는 경향을 나타내었고, 에탄올 추출물은 물 추출물에 비해 높은 농도에서 비교적 낮은 활성을 보였고 전체적으로 메탄올 추출물에서 높

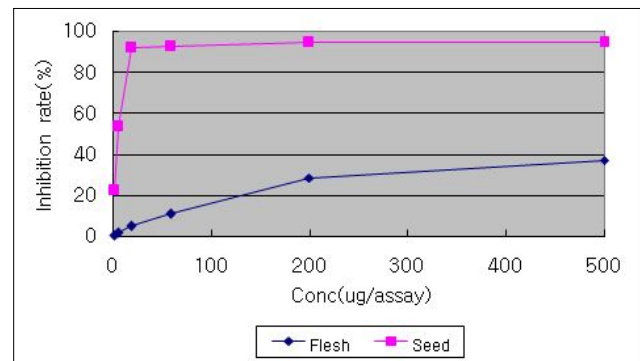


Fig. 1. Scavenging effects of DPPH radical by ethanol extracts from *Elaeagnus multiflora*'s flesh and seed.

은 활성을 나타내었다고 보고하였다.

뜰보리수 종실 에탄올 추출물의 DPPH 라디칼 소거율은 시료 농도 2 μ g/assay시 21.88%, 6 μ g/assay시 53.10%, 20 μ g/assay시 91.55, 500 μ g/assay시 94.26%의 라디칼 제거능을 나타내었다. 뜰보리수 종실 에탄올 추출물의 농도가 20 μ g/assay까지 증가할수록 DPPH 라디칼 소거율은 급격히 증가하여 뜰보리수 종실 에탄올 추출물은 전자공여능이 우수함을 알 수 있었다. 또한, DPPH를 첨가하여 안정한 라디칼을 발생시키는 농도를 100%로 하였을 때, 뜰보리수 에탄올 추출물을 첨가하여 DPPH 라디칼을 50% 소거하는 시료의 농도인 IC₅₀은 과육인 경우 8015.5 μ g/assay였고, 이를 건조 중량으로 환산하면 10.6 mg이고 종실인 경우 4.7 μ g/assay였고, 이를 건조 중량으로 환산하면 0.02 mg이었다(Table 1). 따라서 과육과 종실의 DPPH 라디칼 소거 효과는 과육보다는 종실에서 더 효과적이었다. Kang 등⁵⁾에 의하면 전자공여능이 phenolic acids, flavonoids 및 기타 phenolic 물질에 의한 항산화 작용의 지표라고 하였으며, 이러한 물질은 환원력이 클수록 DPPH 라디칼 소거 활성이 크다고 하였다. Kim 등¹²⁾은 뜰보리수 열매에 항산화성 기능을 가진 폴리페놀의 함량은 0.28 g/100 g이며, 환원형 비타민 C의 함량은 113.35 mg/100g, 산화형 비타민 C의 함량은 431.37 mg/100 g으로 비타민이 풍부하게 함유한 것으로 알려진 레몬에 비해 그 함량이 높다고 보고하였다.

Table 1. Dry and wet weights of ethanol extracts from *Elaeagnus multiflora*'s flesh and seed corresponding to IC₅₀ values of antioxidative effects

	DPPH radical scavenging effect		Fe ²⁺ -induced linoleate peroxidation	
	IC ₅₀ (μ g/assay)	Dry weight(mg)	IC ₅₀ (μ g/assay)	Dry weight(mg)
Flesh	8015.5	10.6	159997.1	210.9
Seed	4.7	0.02	7331.0	24.2

¹⁾ Inhibitory activity was expressed as the mean of 50% inhibitory concentration of triplicate determines, obtained by interpolation of concentration-inhibition curve.

2) 지질 과산화 억제 활성

Fe²⁺에 의해 유도된 linoleic acid의 과산화를 유도하는 과정에서 딸보리수 에탄올 추출물에 의한 지질 과산화 억제 효과를 살펴본 결과는 Fig. 2와 같다. 딸보리수 과육 에탄올 추출물의 농도 10 µg/assay시 4.60%, 100.0 µg/assay시 13.05%, 300 µg/assay시 16.53%, 1,000 µg/assay시 28.18%의 저해율을 보여, 딸보리수 과육 에탄올 추출물의 농도가 증가할수록 지질 과산화의 억제 정도가 증가하였으나, 저해 정도는 30% 미만으로 낮았다. 딸보리수 종실 에탄올 추출물의 농도 10 µg/assay시 15.21%, 100 µg/assay시 23.99%, 300 µg/assay시 32.18%, 1,000 µg/assay시 40.30%의 저해율을 보였다. 딸보리수 과육보다는 종실에서 높은 지질 과산화 억제 효과를 보였으나, 그 저해 정도는 40% 정도로 낮았다. Fe²⁺에 의해 유도된 linoleic acid의 과산화에 대한 억제 활성을 TBA로 발색시킨 것을 100%로 가정하였을 때, 딸보리수 과육의 에탄올 추출물을 첨가하여 지질 과산화를 50% 억제하는 IC₅₀ 값은 159,997.1 µg/assay이었으며, 이를 건조 무게로 환산하면 210.9 mg이다. 딸보리수 종실의 농도(IC₅₀)는 7,331.0 µg/assay이었으며, 이를 건조 무게로

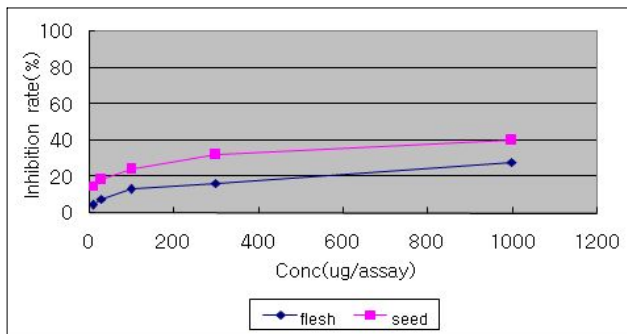


Fig. 2. Antioxidative effects of ethanol extracts from *Elaeagnus multiflora*'s flesh and seed on lipid peroxidation.

환산하면 24.2 mg이다(Table 1). 따라서 이 결과는 딸보리수 열매 추출물에 linoleic acid를 이용한 thiocyanate의 방법으로 항산화를 측정 한 Hong 등¹⁵⁾에 의하면 추출물의 농도가 증가할수록 항산화 활성 또한 증가하는 추세를 보였고, 물 추출물 보다는 에탄올 추출물과 메탄올 추출물에서 그 효과가 더 좋았다고 보고하였다.

딸보리수 과육과 종실 에탄올 추출물의 항산화 효과를 측정한 결과, 딸보리수 종실 에탄올 추출물은 과육보다 DPPH 라디칼 소거과 지질 과산화 억제 활성이 높았으며 특히, 딸보리수 종실 에탄올 추출물은 DPPH 라디칼 소거 활성이 94.26%로 우수함을 알 수 있었다.

2. 암세포 성장 억제(Cytotoxicity) 효과

1) HeLa Cell에 대한 성장 억제 효과

딸보리수 과육과 종실의 에탄올 추출물을 농도별로 첨가하여 인체 자궁경부암 세포인 HeLa cell 증식 억제 정도에 미치는 영향을 알아본 결과는 Fig. 3 및 Table 2와 같다. 딸보리수 과육의 에탄올 추출물 농도가 50 µg/assay이었을 경우 HeLa 세포 증식은 5.65%, 100 µg/assay이었을 경우 6.93% 억제되었고, 그 이상이 농도에서는 딸보리수 과육의 에탄올 추출물 농도가 증가할수록 암세포 증식 억제 효과가 감소하다가 증식 억제 효과가 없었다. 딸보리수 종실의 에탄올 추출물 농도가 100 µg/assay이었을 경우 HeLa 세포의 증식은 16.57%, 200 µg/assay이었을 경우 76.04%, 400 µg/assay이었을 경우 86.78% 저해되었으며, 그 이상의 농도에서는 딸보리수 에탄올 추출물 농도가 증가할수록 오히려 암세포 증식 억제 효과가 감소하였다. 과육과 종실 추출물 수율의 차이에 따라 IC₅₀값과 IC₅₀값을 보여주는 건조 중량을 살펴보면 과육의 경우 측정할 수 없었으며, 종실의 경우는 155.9 µg/assay이고, 건조 중량은 0.5 mg

Table 2. Inhibitory effects of ethanol extracts from *Elaeagnus multiflora*'s flesh and seed on cancer cell growth

Conc. (µg/assay)	HeLa cell inhibition rate(%)		MCF-7 cell inhibition rate(%)		SNU-638 cell inhibition rate(%)	
	Flesh	Seed	Flesh	Seed	Flesh	Seed
50	5.65±0.19 ^{1)2a}	3.21±0.79 ^f	4.06±2.20 ^{1)2a}	0.00±0.0 ^d	0.00±0.00 ^a	2.32±0.95 ^e
100	6.93±1.92 ^a	16.57±3.33 ^e	5.45±0.41 ^a	20.49±3.18 ^e	4.37±3.80 ^a	28.62±8.01 ^d
200	5.24±0.89 ^a	76.04±2.93 ^b	3.68±1.46 ^a	77.17±2.79 ^a	9.93±3.74 ^a	62.00±0.84 ^b
400	2.77±1.35 ^a	86.78±0.42 ^a	1.19±1.04 ^a	84.97±0.47 ^a	10.77±3.24 ^a	74.84±0.63 ^a
600	-	82.06±1.46 ^{ab}	-	79.59±1.66 ^a	12.87±3.08 ^a	76.08±1.38 ^a
800	-	51.92±2.98 ^c	-	45.30±3.39 ^b	15.07±2.78 ^a	61.72±3.95 ^b
1,000	-	29.69±2.66 ^d	-	20.00±3.03 ^c	19.39±0.43 ^a	48.20±1.98 ^c

¹⁾ Values are mean±SE,

²⁾ Values with different letters within a same column are significantly different at $p < 0.05$ by Duncan's multiple range test.

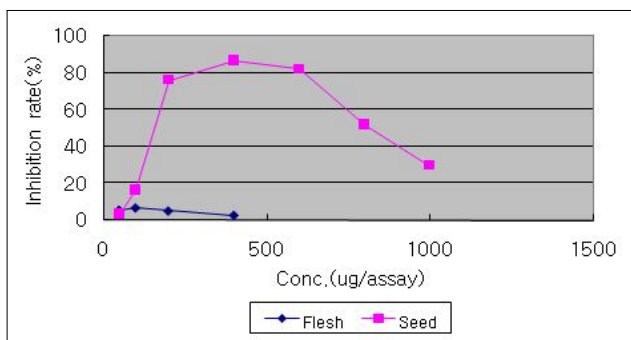


Fig. 3. Inhibitory effects of ethanol extracts from *Elaeagnus multiflora*'s flesh and seed on HeLa cell growth.

이었다(Table 3). 뜰보리수 과육의 에탄올 추출물은 인체 자궁 경부암 세포인 HeLa에 대한 암세포 증식 억제 효과는 적었으나, 뜰보리수 종실의 에탄올 추출물은 HeLa cell에 대해 85% 이상 성장 억제 효과가 있었다.

2) MCF-7 Cell에 대한 성장 억제 효과

인체 유방암 세포인 MCF-7 cell에 대한 뜰보리수 열매 과육과 종실의 에탄올 분획 추출물의 성장 억제 효과는 Fig. 4 및 Table 2와 같다. MCF-7 세포수는 뜰보리수 과육의 에탄올 추출물 농도가 50 ug/assay이었을 경우 4.06%, 100 ug/assay이었을 경우 5.45%이었으며, 그 이상의 농도에 서는 뜰보리수 에탄

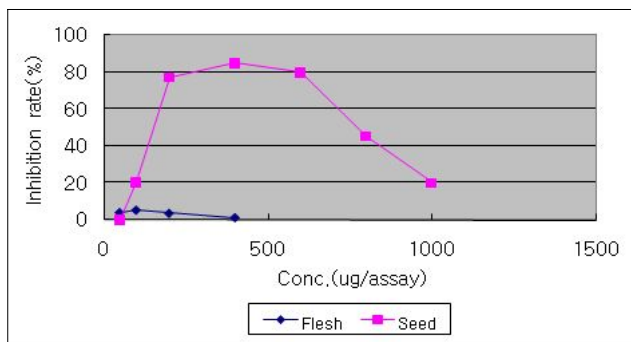


Fig. 4. Inhibitory effects of solvent fractions from *Elaeagnus multiflora* on MCF-7 cell growth.

올 추출물 농도가 증가할수록 오히려 암세포 증식 억제 효과가 감소하다가 100 ug/assay 이상의 농도에서는 억제 효과가 없었다. 뜰보리수 종실의 경우 MCF-7 세포수는 에탄올 추출물 농도가 100 ug/assay이었을 경우 20.49%, 200 ug/assay이었을 경우 77.17%이었으며, 400 ug/assay이었을 경우 84.97%로 세포 증식 억제 효과가 증가하였다가 그 이상의 농도에서는 감소하였다. MCF-7 cell에 대한 뜰보리수 에탄올 추출물의 성장 억제 효과는 HeLa cell과 유사한 경향을 보여주었다. IC₅₀값과 IC₅₀값을 보여주는 건조 중량을 살펴보면 과육의 경우 측정할 수 없었으며, 종실의 경우는 155.8 ug/assay이고, 건조 중량은 0.5 mg이었다(Table 3).

3) SNU-638 Cell에 대한 성장 억제 효과

인체 위암 세포인 SNU-638 cell에 대한 뜰보리수 열매의 과육과 종실 에탄올 추출물의 성장 억제 효과는 Fig. 5 및 Table 2와 같다. 뜰보리수 과육의 에탄올 추출물 농도가 100 ug/assay이었을 경우 SNU-638 세포수는 4.37%, 400 ug/assay이었을 경우 10.77%이었으며 800 ug/assay이었을 경우 15.07%이었고, 1,000 ug/assay이었을 경우, 19.39%로 농도가 과육의 에탄올 추출물 농도가 증가함에 따라 SNU-638 cell에 대한 성장 억제 효과가 증가하였으나 그 저해율은 20%를 초과하지 못하였다. 뜰보리수 종실의 에탄올 추출물 농도가 100 ug/assay이었을 경우, MCF-7 세포수는 28.62%, 200 ug/assay이었을 경

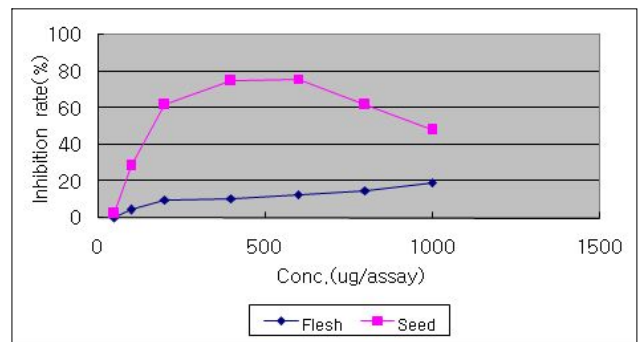


Fig. 5. Inhibitory effects of ethanol extracts from *Elaeagnus multiflora*'s flesh and seed on SNU-638 cell growth.

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

	HeLa cell		MCF-7 cell		SNU-638 cell	
	IC ₅₀ (ug/assay)	Dry weight(mg)	IC ₅₀ (ug/assay)	Dry weight(mg)	IC ₅₀ (ug/assay)	Dry weight(mg)
Flesh	-	-	-	-	405005.5	533.9
Seed	155.9	0.5	155.8	0.5	196.4	0.7

¹⁾ Inhibitory activity was expressed as the mean of 50% inhibitory concentration of triplicate determines, obtained by interpolation of concentration-inhibition curve.

우 62.00%이었으며 400 $\mu\text{g}/\text{assay}$ 이었을 경우 유방암 세포 수는 74.84%, 600 $\mu\text{g}/\text{assay}$ 이었을 경우 76.08%로 에탄올 추출물 농도가 증가할수록 세포 증식 억제 효과가 증가하였다가 그 이상의 농도에서 HeLa 세포와 MCF-7 cell에서와 마찬가지로 세포 증식 억제 효과가 감소하였다. 딸보리수 과육과 종실 추출물 수율의 차이에 따라 IC_{50} 값과 IC_{50} 값을 보여주는 건조 중량을 살펴보면 과육의 경우 405,005.5 $\mu\text{g}/\text{assay}$, 533.9 mg이었고, 종실의 경우는 196.4 $\mu\text{g}/\text{assay}$ 이고 건조 중량은 0.7 mg이었다(Table 3). Kim 등²⁴⁾은 딸보리수 열매의 과육과 종실을 hexane 층, dichloromethane 층, ethyl acetate 층, butanol 층 및 물 층으로 용매별로 분획하여 분획 추출물별로 살펴본 결과, 인체 자궁경부암 세포인 HeLa cell, 인체 유방암 세포인 MCF-7 cell 및 인체 위암 세포인 SNU-638 cell에 대한 암세포 증식 억제 효과는 딸보리수 과육에서 비극성층인 hexane 층과 dichloromethane 층은 85% 이상의 성장 억제 효과를 보였으며, ethylacetate 층, 물 층, butanol 층 추출물에서는 성장 억제 효과는 낮았으며, 종실의 경우 모든 용매 분획물에서 80% 이상의 성장 억제 효과가 있었다고 보고하였다.

HeLa cell과 MCF-7 cell에 대한 과육 에탄올 추출물의 저해 효과는 거의 미미하였고, SNU-638 cell에서도 20% 미만의 저해 효과를 보여준 반면, 종실 에탄올 추출물에서는 HeLa cell과 MCF-7 cell에 대한 성장 억제 효과는 400 $\mu\text{g}/\text{assay}$ 에서 각각 86.78%, 84.97% 정도의 억제 효과를 보였고, SNU-638 cell에서도 74.84%의 세포 증식 억제 효과가 있음을 알 수 있었다. 따라서 딸보리수 종실은 과육 에탄올 추출물 보다 HeLa cell, MCF-7 cell, SNU-638 cell에 대한 암세포 증식 저해 효과가 우수하며 딸보리수 종실은 과육에 비하여 우수한 항암 기능을 가지는 효과를 보였기에 향후 항암 기능성 식품 및 가공식품 개발 가능성의 여지가 있다고 사료된다.

요약 및 결론

딸보리수의 생리적 기능에 대한 활성을 탐색하기 위하여 딸보리수 열매를 과육과 종실로 분리하여 에탄올로 추출한 후 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 측정 한 결과는 다음과 같다.

1. DPPH 라디칼 소거 활성을 측정한 결과, 딸보리수 과육의 에탄올 추출물 농도가 500 $\mu\text{g}/\text{assay}$ 이었을 경우 36.91%의 저해율을 보였으며, 종실의 경우 94.17%로 에탄올 추

출물 농도가 증가할수록 저해율은 증가하였다. Fe^{2+} 에 의해 유도된 지질의 과산화에 대한 저해율은 딸보리수 과육의 에탄올 추출물 농도가 1,000 $\mu\text{g}/\text{assay}$ 이었을 경우 28.18%의 저해율을 보였으며, 종실의 경우 40.30%로 종실의 에탄올 추출물 농도가 증가할수록 저해율은 증가하였다. 딸보리수의 과육과 종실의 항산화 효과를 살펴보면 종실이 과육보다 항산화능이 높았으며, 특히 딸보리수의 종실의 에탄올 추출물의 DPPH 라디칼 소거 활성은 94.17% 정도의 높은 활성을 보여주었다. 측정법에 따른 항산화 효과를 IC_{50} 값으로 상대적 비교하였을 때 딸보리수 추출물의 DPPH 라디칼 소거 활성능은 지질 과산화 억제 효과보다 강하였음을 알 수 있었다.

2. 자궁경부암 세포인 HeLa cell에 대해 딸보리수 과육의 에탄올 추출물은 증식 억제 효과는 적었으나(100 $\mu\text{g}/\text{assay}$ 시 6.93%), 딸보리수 종실의 에탄올 추출물 농도가 400 $\mu\text{g}/\text{assay}$ 이었을 경우 86.78%의 성장 억제 효과가 있었고, 그 이상의 농도에서는 농도가 증가할수록 HeLa cell 증식효과가 감소하였다. 딸보리수 과육의 에탄올 추출물 농도가 100 $\mu\text{g}/\text{assay}$ 이었을 경우, 인체 유방암 세포인 MCF-7 세포수의 증식 억제율은 5.45%이었으며, 종실의 경우 에탄올 추출물 농도가 400 $\mu\text{g}/\text{assay}$ 이었을 경우 84.97%로 MCF-7 cell에 대한 딸보리수 에탄올 추출물의 성장 억제 효과는 과육과 종실에서 모두 HeLa cell과 유사한 경향을 보여주었다. 인체 위암 세포인 SNU-638 cell에 대한 성장 억제를 살펴보면 딸보리수 과육의 에탄올 추출물 농도가 1,000 $\mu\text{g}/\text{assay}$ 이었을 경우 19.39%로 농도가 과육의 에탄올 추출물 농도가 증가함에 따라 SNU-638 cell에 대한 성장 억제 효과가 증가하였으나, 그 저해율은 20% 이하였다. 딸보리수 종실의 에탄올 추출물 농도가 600 $\mu\text{g}/\text{assay}$ 이었을 경우, 유방암 세포수는 76.08%로 에탄올 추출물 농도가 증가할수록 세포 증식 억제 효과가 증가하였다가 그 이상의 농도에서 HeLa 세포와 MCF-7 cell에서와 마찬가지로 세포 증식 억제 효과가 감소하였다.

딸보리수의 종실은 암세포 성장 억제 효과에 의해 새로운 기능성 식품의 소재로서 활용 가능성이 높을 것으로 추측되며, 아울러 각종 기능성 식품 개발의 기초자료로서 국민 건강 증진에 기여할 것으로 이에 대한 지속적인 연구가 진행되어야 할 것으로 사료된다.

감사의 글

이 논문은 2007년도 서일대학 교내연구비 지원에 의하여 연구되었음.

참고문헌

- 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
- 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
- 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
- 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
- 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
- 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
- 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* Thunb. *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
- Meneghini, R, Martins, EAL and Calderaro, M. DNA damage by reactive oxygen species: The role of metal. In: Free Radicals: From Basic Science to Medicine: Molecular and Cell Biology Updates(Poli G, Albano E & Dianzani MU, eds.), pp.102-112. Birkhauser Verlag, Basel, Switzerland. 1993
- Comporti, M. Lipid, peroxidation: An overview. In: Free Radicals: From Basic Science to Medicine: Molecular and Cell Biology Updates(Poli G, Albano E & Dianzani MU, eds.), pp. 65-79. Birkhauser Verlag, Basel, Switzerland. 1993
- 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, Scalse, 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
- Kim, SA, Oh, SI and Lee MS. Antioxidative and cytotoxic effects of solvent fractions from *Elaeagnus multiflora*. *Kor. J. Food & Nutr.* 20:134-142. 2007