

파래 추출물의 항응고 활성과 항암 활성에 관한 연구

임은정 · 조경련 · 김지영 · 이유현* · 효진녕** · 김영준*** · †조홍연***

한양여자대학 식품영양과, *수원대학교 식품영양학과, **한국원자력의학원 방사선종양연구부
***고려대학교 식품생명공학과

The Anticoagulant and Anticancer Activities of *Enteromorpha intestinalis* Extracts

Eun-Jeong Lim, Kyung-Ryun Cho, Ji-Young Kim, Yoo-Hyun Lee*, Jin-Nyoung Ho**

Young-Jun Kim*** and †Hong-Yon Cho***

Dept. of Food and Nutrition, Hanyang Women's College, Seoul 133-793, Korea

*Dept. of Food and Nutrition, Suwon University, Hwaseong-si, Gyeonggi-do 445-743, Korea

**Laboratory of Radiation Tumor Physiology, Korea Institute of Radiological and Medical Sciences, Seoul 139-706, Korea

***Dept. of Food and Biotechnology, Korea University, Jochiwon, Chungnam 339-700, Korea

Abstract

The study was performed to investigate the biological activity of *Enteromorpha intestinalis*. In order to examine its blood anti-coagulant effects, *Enteromorpha intestinalis* was extracted with cold water, methanol, hot water, HCl and NaOH. In general, the alkali extract of *Enteromorpha intestinalis* was approximately 17 times stronger than the control. The anti-cancer effects of select extracts(methanol, hot water, 0.1 N NaOH, 1 N NaOH) were determined in human melanoma cells(B16/F10), fibrosarcoma cells(HT1080) and breast cancer cells(MCF7) by MTT assay. With the treatment of 250 µg/ml of methanol extracts. HT1080, B16/F10 and MCF7 cell viabilities significantly decreased to 8.06%, 3.62% and 10.10%, respectively. Thus these results strongly support the possible use of *Enteromorpha intestinalis* as a functional materials.

Key words: anticoagulant, anticancer, *Enteromorpha intestinalis*, MTT assay.

서론

의학의 진보에 따라 평균 수명이 현저히 향상되었으나, 서구화된 요즘의 식생활 패턴은 영양적인 측면보다 기호성이 강조되면서 각종 성인병과 암 발생을 증가가 사회문제로 대두되고 있다. 국내 사망자 사망 원인의 절반 이상이 심장·순환기계 질환인 심근경색, 동맥경화증, 심장마비, 뇌출혈로 인한 것이고, 이 비율은 점차 증가 추세에 있다¹⁾. 혈전은 혈류 부전, 혈관 상해, 혈관 내피 세포 및 지질 침착 등의 원인에 의해 생성되어 혈액 순환을 방해하고, 조직으로의 영양 공급 및 산소 공급을 차단하여 뇌출혈, 뇌혈전, 심근경색, 동맥경화 등의 중대한 성인병의 원인이 된다²⁾. 이들 질환들에 대한

예방의학적 측면에서의 혈전의 형성을 방지하고 생성된 혈전을 용해하는 제재는 혈전에 의한 성인병의 중요한 치료제로 그동안 이에 대한 활발한 연구가 진행되어 왔다. 현재까지 알려진 항응고제로는 소의 심장이나 돼지의 소장에서 추출한 heparin^{3,4)}, 거머리 등에서 분리한 hirudin⁵⁾, 유기 합성제재인 coumarin과 warfarin⁶⁾, 해조류 등에서 분리한 합황성 다당류인 fucoidan⁷⁾, 미생물 대사에서 분리된 수종의 peptide 성분^{8,9)} 등이 있다. 또한, 기존의 연구에서 갈조류인 fucoidan¹⁰⁾, alginate¹¹⁾, 홍조류인 agar 다당¹²⁾, carrageenan¹³⁾ 및 porphyran¹⁴⁾ 등과 같이 해조류 유래 황산기를 함유한 산성다당들의 항응고 활성 물질이 많다. 그리고 해조류는 육상식물에 비해 비타민 및 미네랄, 특히 마그네슘, 칼슘, 요오드, 철 등의 함량이 높고¹⁵⁾ 해조

† Corresponding author: Hong-Yon Cho, Dept. of Food and Biotechnology, Korea University, Jochiwon, Chungnam 339-700, South Korea.

Tel: 82-2-2290-2180, Fax: 82-2-2290-2199, E-mail: myann70@hanmail.net

류를 구성하고 있는 다당류의 독특한 구조적인 특성으로 생리활성이 강한 물질로 알려지고 있어 최근 건강식품으로 많이 이용되고 있다^{16~18}). 이러한 점을 고려하여 본 연구에서는 수종의 해조류를 대상으로 항응고 활성을 검색한 후 높은 활성을 나타낸 파래를 선정하여 파래에서 얻은 각각의 추출물들에 대한 혈액 항응고 활성을 검토하였다. 또한, 심장·순환기계 질환과 더불어 현재 전 세계뿐 아니라 우리나라에서도 사망 원인의 첫 번째로 손꼽힐 만큼 많은 사람들을 고통 받는 질병인 암¹⁾의 극복에 도움이 되고자 몇몇 종양세포에 대한 항암 활성도 검토해 봄으로써 임상적으로 무해한 식용의 식물체들로부터 새로운 기능성 물질을 검색하고자 하였다.

재료 및 방법

1. 실험 재료 및 시약

본 실험의 재료 중 파래(*Enteromorpha intestinalis*)는 완도산으로 완도군 수산업협동조합에서 건조된 것을 구입하여 blender로 분쇄한 후 사용하였다. 혈액 항응고 활성 측정용 시약은 Dade[®] Actin[®] Activated Cephaloplastin Reagent는 Dade사(NY, USA)제품을 사용하였고, 혈액 항응고 활성 측정시 이용되는 혈장(platelet pool plasma)은 건강한 성인에서 채혈하여 사용하였다. 그 외 기타 시약은 시판 일급 혹은 특급 시약을 사용하였다.

2. 추출 용매에 따른 항응고 활성 검토

파래 5 g에 각각 메탄올, 증류수, 1 N NaOH, 1 N HCl을 100 ml씩 가해 2시간 환류 추출하였으며, 이 중 1 N NaOH과 1 N HCl 추출물은 증화시켜 원심분리(2,051×g, 20분)(JE-21, Backman, CA, USA)한 후 유기 용매 추출물의 상등액은 감압 건조하고, 그 외 추출물의 상등액은 증류수에 투석, 동결 건조하여 얻은 추출물을 1,000 µg/ml의 농도로 제조하여 APTT 법으로 항응고 활성을 측정하였다.

3. 알칼리 추출 농도에 따른 항응고 활성 검토

측정 결과 가장 높은 항응고 활성을 나타낸 알칼리 추출 조건을 0.1 N NaOH, 1 N NaOH, 2.5 N NaOH로 농도를 달리하여 추출한 후 얻어진 추출물을 상기의 방법으로 시료를 제조하고 항응고 활성을 측정하였다.

4. APTT에 의한 항응고 활성 측정

내인성 혈액응고 및 전반적인 항응고 활성은 activated partial thromboplastin time(APTT)으로 측정하였다^{19,20}). 시료를 함유한 100 µl의 건강한 성인의 혈장을 APTT 진단시약 100 µl와 혼합한 후 37°C에서 정확히 3분간 예열한 다음 37°C에서 미

리 예열된 20 mM CaCl₂ 100 µl를 가한 후 blood coagulation analyzer(BC2210, (주)京都第一科學, Kyoto, Japan)를 사용하여 응고가 될 때까지의 시간을 기록하였으며, 대조구는 시료를 첨가하지 않은 순수한 혈장 100 µl를 이용하여 응고 시간을 측정하였다.

5. 암세포주 및 배양 조건

항암 활성 실험에 이용된 HT1080(fibrosarcoma cell, 섬유육종세포), MCF7(breast cancer cell, 유방암세포) cell은 10% FBS (fetal bovine serum, FBS, Gibco, Rocville, MD, USA)와 1% penicillin-streptomycin(100 IU-100 µg/ml)이 첨가된 RPMI 1640 medium에 B16/F10(melanoma cell, 피부흑색종세포) cell, HepG2 (hepatoblastoma cell, 간암)은 10% FBS와 1% penicillin-streptomycin(100 IU-100 µg/ml)이 첨가된 DMEM high glucose medium에 접종하여 37°C, 5% CO₂, humidified atmosphere에서 배양하였다.

각각의 cell은 일주일에 2~3회 배지를 교환하면서 6~8일간 배양한 후 배지를 제거하고 PBS(pH 7.4)로 세척한 뒤 0.25% trypsin-0.02% EDTA 용액을 처리하여 부착된 cell을 분리시켜 원심분리하고, 모아진 cell을 새 medium이 담긴 T-75 flask에 일정량 분할 접종하여 계대 배양하였다.

6. MTT Assay에 의한 항암 효과 측정

본 실험에 사용한 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyl tetrazolium bromide(MTT) 정량은 Mosmann²¹⁾이 개발하고 Kotnik²²⁾ 등이 변형시킨 방법으로 Fig. 1과 같이 실시하였다. 96 well plate의 각 well에 세포 부유액 100 µl(1×10⁵ cells/ml)를 접종하여 37°C의 CO₂ 배양기에서 24시간 배양한 후 농도별로 희석된 시료 100 µl를 넣고 37°C의 CO₂ 배양기에서 48시간 배양한 후 상층액을 버렸다. 그리고 PBS(pH 7.4) buffer에 5 µg/ml 농도로 녹여 MTT 용액을 각 well 당 20 µl씩 첨가하여 은박지로 포장하여 빛을 차단한 후 3시간 반응 후 상층액을 버리고 DMSO를 100 µl씩 넣고 15분간 실온에서 방치한 후 ELISA reader(Model 550, BIO-RAD Laboratories, CA, USA)로 570 nm에서 흡광도를 측정하여 대조군과 비교하여 다음과 같은 계산식으로 cell viability를 계산하였다.

$$\text{Cell viability(\%)} = \frac{(\text{OD of sample} - \text{OD of blank})}{(\text{OD of control} - \text{OD of blank})} \times 100$$

결과 및 고찰

1. 추출 용매에 따른 항응고 활성 검토

파래의 추출 용매에 따른 항응고 활성을 비교하기 위하여

용매를 달리하여 추출물을 제조하고 각각의 항응고 활성을 검토하였다.

그 결과 파래의 냉수 추출물, 메탄올 추출물과 1 N HCl 추출물에서는 항응고 활성을 나타내지 않았으나, 열수 추출물에서는 1000 $\mu\text{g/ml}$ 의 농도에서 시료를 포함하지 않는 순수 혈장으로 측정된 대조구가 36초인데 비해 469초로 13배의 높은 활성을 보였고, 1 N NaOH 추출물에서는 388초로 대조구에 비해 10.8배의 높은 활성을 보였다(Table 1). 실험 결과, 열수 추출물의 수용성 획분과 알칼리 추출물이 매우 높은 항응고 활성을 나타내었는데, 이러한 수용성 획분에는 단백질이나 다당 등의 고분자류의 함량이 높아 이는 기존의 연구에서 해조류 유래 항응고 활성 물질의 경우 고분자류가 활성에 중요하게 관여한다는 보고와 일치하는 것으로 보인다^{23,24}). 또한, 해조류의 경우 황산기 함량이 높은 수용성 다당류가 항응고 활성에 중요하게 관여하고 있는 것으로 보고되어 있기 때문에 이러한 황산기 함유 수용성 다당류의 관여를 무시할 수 없는 것으로 생각되었다^{25,26}). 순수한 물보다는 알칼리 용액에 의한 추출물이 높은 항응고 활성을 나타낸 것은 지금까지 보고된 많은 항응고 활성 물질들이 구조적으로 함황성 다당류²⁷)인 점을 고려하면 순수한 물보다는 산이나 알칼리 용액에서의 높은 추출 효과를 기대할 수 있다. 이에 따라 활성이 높았던 알칼리 추출물의 추출 용액의 농도에 따른 활성 비교를 위해서 0.1 N NaOH, 1 N NaOH, 2.5 N NaOH 용액으로 농도에 따른 항응고 활성을 비교 검토해 보았다. 그 결과(Table 2) 0.1 N NaOH 용액 추출물의 항응고 활성은 600초로 대조구에 비해 17배 높은 강한 항응고 활성을 보였고, 1 N NaOH 용액 추출물은 388초로 대조구에 비해 10.8배의 높은 항응고 활성을 보였다. 마지막으로 2.5 N NaOH 용액 추출물의 항응고 활성은 58.1초로 대조구에 비해 1.6배였다. 추출 용매의 알칼리 농도에 따른 항응고 활성 검토 결과 0.1 N NaOH에서 최고를 보였으며, 농도가 높아짐에 따라 활성이 감소하였다. 이는 알칼리 추출시 저농도에서는 파래로부터 항응고 활성 물질의 분리가 용이해져 항응고 물질의 활성이 높았으나, 농도가 높아질 경우 이미 분리된 활성 물질이 알칼리에 의해 분해되면서 활성이 감소된 것으로 사료된다²⁸).

Table 1. Anti-coagulant activities of crude extract¹⁾ from *Enteromorpha intestinalis*

Scientific name	Anti-coagulant activity(sec) ²⁾				
	Fr. I ³⁾	Fr. II ⁴⁾	Fr. III ⁵⁾	Fr. IV ⁶⁾	Fr. V ⁷⁾
<i>Enteromorpha intestinalis</i>	55.9	41.4	469.0	44.5	388.0

¹⁾ The concentration of each extract was 1,000 $\mu\text{g/ml}$, ²⁾ Clotting time of activated partial thromboplastin time(APTT) and its control time was 36 sec, ³⁾ Fr. I: Cold water extract fraction, ⁴⁾ Fr. II: Methanol extract fraction, ⁵⁾ Fr. III: Hot water extraction fraction,

⁶⁾ Fr. IV: 1 N HCl extract fraction, ⁷⁾ Fr. V: 1 N NaOH extract fraction.

Table 2. Alkali extraction¹⁾ conditioning of *Enteromorpha intestinalis* for anti-coagulant activity

Scientific name	Anti-coagulant activity(sec) ²⁾		
	Fr. I ³⁾	Fr. II ⁴⁾	Fr. III ⁵⁾
<i>Enteromorpha intestinalis</i>	600.0	388.0	158.1

¹⁾ The concentration of each extract was 1,000 $\mu\text{g/ml}$,

²⁾ Clotting time of activated partial thromboplastin time(APTT) and its control time was 36 sec,

³⁾ Fr. I: 0.1 N NaOH extract fraction,

⁴⁾ Fr. II: 1 N NaOH extract fraction,

⁵⁾ Fr. III: 2.5 N NaOH extraction fraction.

Table 3. Comparison of anti-coagulant activities of among the different concentration of *Enteromorpha intestinalis*

Concentration($\mu\text{g/ml}$)	Anti-coagulant activity(sec) ¹⁾
1,000	600
500	287
100	58.1

¹⁾ Clotting time of activated partial thromboplastin time(APTT) and its control time was 36 sec.

2. 농도에 따른 항응고 활성의 검토

실험 결과 1,000 $\mu\text{g/ml}$ 의 농도에서 600초로 높은 항응고 활성을 나타낸 파래 0.1 N NaOH 용액 추출물의 항응고 활성을 농도 변화에 따라 검토해 본 결과(Table 3), 500 $\mu\text{g/ml}$ 의 농도에서도 287초로 대조구에 비해 8배의 높은 항응고 활성을 나타냈으며, 100 $\mu\text{g/ml}$ 의 낮은 농도에서도 58.1초로 대조구에 비해 1.6배의 높은 항응고 활성을 확인할 수 있었다.

이상의 실험 결과, 매우 우수한 항응고 활성을 보인 파래 추출물들의 다양한 생리활성 검토를 위해 MIT법²⁹의 의한 항암 활성을 확인해 보았다.

3. 파래 추출물의 B16/F10(melanoma cell cell, 피부흑색 종세포) Cell의 생존율에 미치는 영향

B16/F10(melanoma cell, 피부흑색종세포) 세포를 대상으로

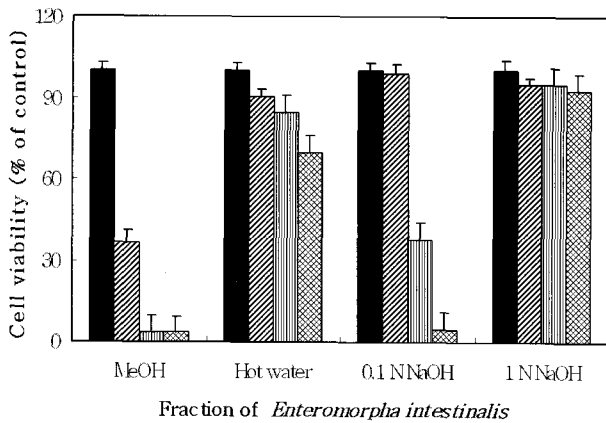


Fig. 1. Cytotoxic activity of *Enteromorpha intestinalis* on B16/F10, melanoma cell growth *in vitro*.

The cell were treated with *Enteromorpha intestinalis* at concentrations of 0 (■), 0.05 (▨), 0.25 (▩), 0.5 (▧) mg/ml for 48 hr. The control group was left untreated with *Enteromorpha intestinalis*. Data are presented as the mean±SD from three independent experiments.

하여 파래 메탄올 추출물, 열수 추출물, 0.1 N NaOH 추출물, 1 N NaOH 추출물들에 대한 MTT assay에 의한 항암 활성의 결과는 Fig. 1과 같다. B16/F10 cell에 대해 파래 메탄올 추출물에서의 세포 생존율은 50 μ g/ml에서 36.38%였고, 250 μ g/ml에서 세포 생존율은 3.62%로 강한 항암 활성을 나타냈으며, 500 μ g/ml의 농도에서 3.29%의 낮은 생존율을 보여 B16/F10 cell에 대한 매우 강한 항암 활성을 나타냄을 알 수 있었다. 낮은 농도에서도 매우 높은 항암 활성을 나타냈던 파래 0.1 N NaOH 추출물에서의 B16/F10 cell에 대해 세포 생존율은 50 μ g/ml에서 99.07%였고, 250 μ g/ml에서 세포 생존율은 37.82%였으며, 500 μ g/ml의 농도에서는 4.58%의 매우 낮은 세포 생존율을 보여 B16/F10 cell에 대한 강한 항암 활성을 확인할 수 있었다.

4. 파래 추출물의 HT1080(fibrosarcoma cell, 섬유육아종) Cell의 생존율에 미치는 영향

파래 메탄올 추출물, 열수 추출물, 0.1 N NaOH 추출물, 1 N NaOH 추출물들에 대한 HT1080(fibrosarcoma cell, 섬유육아종) 세포의 MTT assay에 의한 항암 활성의 결과는 Fig. 2와 같다. HT1080(fibrosarcoma cell, 섬유육아종) 세포에 대해 파래 메탄올 추출물에서의 세포 생존율은 50 μ g/ml에서 55.44%였고, 250 μ g/ml에서 세포 생존율은 8.06%로 강한 항암 활성을 나타냈으며, 500 μ g/ml의 농도에서 8.72%의 낮은 생존율을 보여 HT1080 cell에 대한 매우 강한 항암 활성을 나타냄을 알 수 있었다. 열수 추출물에서의 세포 생존율은 50 μ g/ml에서

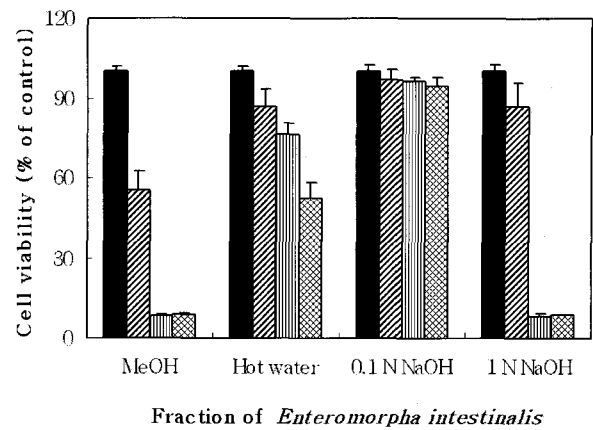


Fig. 2. Cytotoxic activity of *Enteromorpha intestinalis* on HT1080, fibrosarcoma cell growth *in vitro*.

The cell were treated with *Enteromorpha intestinalis* at concentrations of 0 (■), 0.05 (▨), 0.25 (▩), 0.5 (▧) mg/ml for 48 hr. The control group was left untreated with *Enteromorpha intestinalis*. Data are presented as the mean±SD from three independent experiments.

86.90%였고, 250 μ g/ml에서 세포 생존율은 76.30%를 나타냈으며, 500 μ g/ml의 농도에서 52.61%로 항암 활성을 확인할 수 있었다. 파래 1 N NaOH 추출물에서의 HT1080 cell에 대해 세포 생존율은 50 μ g/ml에서 87.07%였고, 250 μ g/ml에서 세포 생존율은 8.27%로 매우 낮은 세포 생존율을 보였으며, 500 μ g/ml의 농도에서는 8.50%의 생존율로 대조구에 비해 매우 강한 항암 활성이 나타내었다.

5. 파래 추출물의 MCF7(Brest cancer cell, 유방암) Cell의 생존율에 미치는 영향

파래 메탄올 추출물, 열수 추출물, 0.1 N NaOH 추출물, 1 N NaOH 추출물들에 대한 MCF7(breast cancer cell, 유방암)세포의 MTT assay에 의한 항암 활성의 결과는 Fig. 3과 같다. MCF7(breast cancer cell, 유방암)세포에 대해 파래 메탄올 추출물에서의 세포 생존율은 50 μ g/ml에서 75.2%였고, 250 μ g/ml에서 세포 생존율은 10.1%로 강한 항암 활성을 나타냈으며, 500 μ g/ml의 농도에서 8.7%의 낮은 생존율을 보여 MCF7 cell에 대한 매우 강한 항암 활성을 나타냄을 알 수 있었다. 낮은 농도에서도 매우 높은 항암 활성을 나타냈던 파래 0.1 N NaOH 추출물에서의 MCF7 cell에 대해 세포 생존율은 50 μ g/ml에서 82.8%였고, 250 μ g/ml에서 세포 생존율은 31.0%로 낮은 세포 생존율을 보여 MCF7 cell에 대해 항암 활성을 나타냈으며, 500 μ g/ml의 농도에서는 4.6%의 매우 낮은 세포 생존율을 보여 MCF7 cell에 대한 강한 항암 활성을 나타냄을 알 수 있었다. 파래 1 N NaOH 추출물에서의 MCF7 cell에 대해

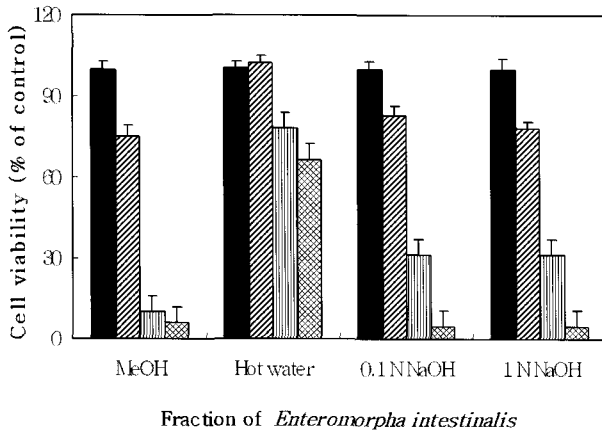


Fig. 3. Cytotoxic activity of *Enteromorpha intestinalis* on MCF7, breast cancer cell growth *in vitro*.

The cell were treated with *Enteromorpha intestinalis* at concentrations of 0(■), 0.05(▨), 0.25(▧), 0.5(▩) mg/ml for 48 hr. The control group was left untreated with *Enteromorpha intestinalis*. Data are presented as the mean±SD from three independent experiments.

세포 생존율은 50 µg/ml에서 77.4%였고, 250 µg/ml에서 세포 생존율은 31.0%로 강한 항암 활성이 있음을 보고하였으며, 500 µg/ml의 농도에서는 4.6%의 매우 낮은 생존율로 대조구에 비해 매우 강한 항암 활성이 있는 것으로 보였다. 이는 기존의 연구에서 MCF7 cell에 대한 해조류의 성장 억제 효과에 관한 연구나 대두와 현미 메탄올, 에탄올 추출물의 효과에 대한 보고와 비교해 볼 때 그 효과가 매우 우수한 것으로 사료된다^{29,30}.

6. 파래 추출물의 HepG2(hepatoblastoma cell, 간암) Cell의 생존율에 미치는 영향

파래 메탄올 추출물, 열수 추출물, 0.1 N NaOH 추출물, 1 N NaOH 추출물들에 대한 HepG2(hepatoblastoma cell, 간암) 세포의 MTT assay에 의한 항암 활성의 결과는 Fig. 4와 같다. HepG2(hepatoblastoma cell, 간암) 세포에 대해 파래 메탄올 추출물에서의 세포 생존율은 50 µg/ml에서 107.9%였으나, 250 µg/ml에서 세포 생존율은 7.6%를 나타냈으며, 500 µg/ml의 농도에서 3.9%의 우수한 항암 효과를 보여주었다. 이는 기존의 HepG2 cell에 대한 식품 유래 곰팡이 배양액의 에틸아세테이트 추출물의 암세포 증식 억제 효과에 관한 연구와 비교해 보아도 그 효과가 매우 우수함을 알 수 있다³¹. 낮은 농도에서도 매우 높은 항암 활성을 나타냈던 파래 0.1 N NaOH 추출물에서의 HepG2 cell에 대해 세포 생존율은 50 µg/ml에서 60.7%였고, 250 µg/ml에서 세포 생존율은 70.4%로 낮은 세포 생존율을 보여 HepG2 cell에 대해 항암 효과를 나타냈으며,

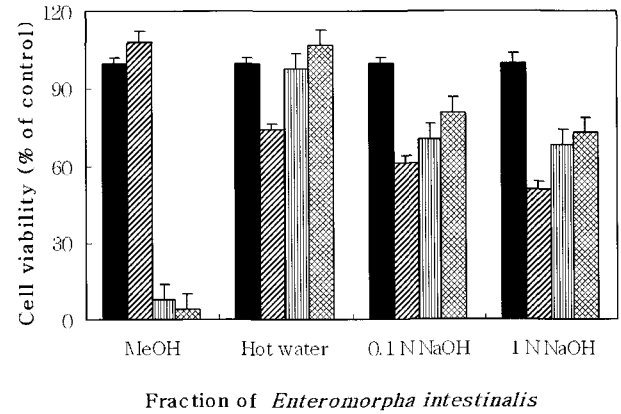


Fig. 4. Cytotoxic activity of *Enteromorpha intestinalis* on HepG2, hepatoblastoma cell growth *in vitro*.

The cell were treated with *Enteromorpha intestinalis* at concentrations of 0(■), 0.05(▨), 0.25(▧), 0.5(▩) mg/ml for 48 hr. The control group was left untreated with *Enteromorpha intestinalis*. Data are presented as the mean±SD from three independent experiments.

500 µg/ml의 농도에서는 80.7%의 세포 생존율을 보여 HepG2 cell에 대한 항암 활성을 확인할 수 있었다. 파래 1 N NaOH 추출물에서의 HepG2 cell에 대해 세포 생존율은 50 µg/ml에서 51.0%였고, 250 µg/ml에서 세포 생존율은 67.9%로 강한 세포 독성이 있음을 보고하였으며, 500 µg/ml의 농도에서는 72.9%의 낮은 생존율로 대조구에 비해 매우 강한 항암 활성이 있는 것으로 보였다.

해조류에 관한 기존의 연구에서 미역, 다시마의 항암 활성과 고혈압 억제 활성³², 김의 콜레스테롤 강하작용 및 항레앙성 작용에 대한 보고¹⁷와 파래의 항균 활성³³ 등 다양한 생리 활성이 규명되고 있어 최근 해조류가 기능성 식품의 원료로 그 유용성이 인식되어지면서 해조류에 대한 연구가 더욱 활발히 진행되고 있다. 항암 활성 연구에서 파래가 면역 기능을 증가시키고 수명 연장율을 효과적으로 높였으며, 고형암 성장 저지 효과가 높아 우수한 항암 효과를 보고한 바 있고³⁴, 해조류에 함유된 fucoidan이 Sarcoma-180, L-1210, Meth-A,B-16 melanoma cell 등과 같은 암세포의 성장을 크게 저해하였다는 보고가 있다³⁵. 또한, 최근의 많은 연구들이 파래를 비롯한 해조류의 추출물이 돌연변이 활성을 억제한다고 보고하고 있는데, *Salmonella typhimurium* TA 1535와 pSK 1002 균주를 이용하여 항돌연변이능을 보고한 기존의 연구³⁶와 톳, 다시마, 미역, 파래, 김을 대상으로 각 해조류 에탄올 추출물을 Ames test를 이용하여 돌연변이 유발 억제능을 검색하고, MTT assay를 이용하여 HeLa cell, MCF-7과 SNU-638 cell에 대한 암세포 성장억제 효과를 비교한 결과, 톳과 파래는 직접 및 간

접작용 돌연변이원에 대한 항돌연변이 효과가 우수한 것으로, 암세포에 대한 항암 효과는 각 시료마다 정도의 차이는 있으나, 5종의 해조류 모두 암세포 증식을 억제하는 것으로 보고도 있다²⁹⁾.

이번 연구 결과는 파래가 중요한 천연자원이 될 수 있다는 가능성을 확인할 수 있었으며, 항암 효과를 좀 더 확실히 이해하기 위하여 세포상의 메카니즘 규명 확인 등의 연구가 더 활발히 이루어져야겠다.

요약 및 결론

우리나라 대표적인 해조류로서 우리의 식탁에 자주 오르는 파래의 생리활성을 규명할 수 있다면 식품도 새로운 측면에서의 가치 부여와 동시에 기능성 식품의 소재로서 응용될 수 있기에 파래를 열수, 메탄올, 알칼리로 추출하여 혈액 항응고 활성과 항암 활성의 생리적 활성을 검토해 보았다.

파래의 추출 용매별 활성 검토 결과 시료를 포함하지 않은 순수 혈장만으로 측정된 대조구의 응고 시간이 36초인 것에 비해 0.1 N NaOH 용액 추출물의 항응고 활성은 1,000 $\mu\text{g/ml}$ 의 농도에서 600초로 가장 높은 활성을 나타내었으며, 농도에 따른 활성 검토 결과 500 $\mu\text{g/ml}$ 와 100 $\mu\text{g/ml}$ 의 낮은 농도에서도 287초와 58.1초로 높은 항응고 활성을 확인할 수 있었다. 이처럼 유기용매나 순수한 물보다는 알칼리 용액에 의한 추출물이 높은 항응고 활성을 나타낸 것은 지금까지 항응고 활성이 보고된 바 있는 갈조류인 다시마에서 추출된 fucoidan 이나³⁷⁾, 매우 높은 항응고 활성을 보고된 톳³⁸⁾과 홍조류인 참도박으로부터 분리된 다당류³⁹⁾ 등과 같이 해조류 유래 항응고 활성 물질들이 구조적으로 함황성 다당류²⁷⁾이라는 독특한 구조적인 특성을 갖는 고분자인 다당류에서 기인한다는 보고와 같은 경향을 나타내는 것으로 보인다.

우수한 항응고 활성을 나타낸 파래의 메탄올 추출물, 열수 추출물, 0.1 N NaOH 추출물, 1 N NaOH 추출물에 대해 B16/F10(melanoma cell, 피부흑색종세포), HT1080(fibrosarcoma cell, 섬유육아종세포), MCF7(breast cancer cell, 유방암세포), HepG2 (hepatoblastoma cell, 간암세포) cell에 대하여 MTT법으로 항암 활성을 측정하였다. 실험 결과 파래는 실험한 4종의 종양 세포 모두에 항암 활성을 나타냈으며, 특히 저분자 획분인 메탄올 추출물과 고분자 획분인 알칼리 용액 추출물은 실험한 모든 종양세포에 대한 강한 항암 활성을 확인할 수 있었다. 또한, 낮은 농도에서도 매우 높은 항응고 활성을 나타냈던 파래 0.1 N NaOH 추출물의 경우 이들 실험 종양 세포에 대한 항암 활성 또한 매우 우수함을 확인할 수 있었다.

이상의 실험 결과에서 파래의 항응고 활성과 항암 활성을 검토를 통해 그 우수한 생리적 활성을 확인할 수 있었으며,

이에 따라 새로운 기능성 식품의 소재로서 활용 가능성이 높을 것으로 검토되었다.

감사의 글

본 연구는 농림부 농림기술개발사업(106013-03-2-CG000)의 지원에 의해 수행한 연구결과의 일부로서 이에 감사드립니다.

참고문헌

1. Korea National Statistical Office. 2006. Annual Report on the Cause of Death Statistics. Seoul, Korea
2. Kim, YT. Identification of the fibrinolytic bacterial strain from Chungkook-jang. PhD. Thesis, Sejong Uni., Seoul, Korea. 1994
3. Richard, L and Mueller, MD. History of drugs for thrombotic disease. *Circulation*. 89:432-450. 1994
4. Hahn, BS, Wu, S, Kim, SW and Kim, YS. Evaluation of anticoagulant and fibrinolytic activities from crude extracts of insects. *Kor. J. Pharmacogn.* 30:409-412. 1999
5. Lee, SK, Sohn, JH, Choi, ES and Rhee, SK. Screening and purification of anticoagulant proteins from Korean leeches. *Kor. Biochem. J.* 26:227-233. 1993
6. Lurence, AH. Antiplatelet and anticoagulant therapy, blood: Principles and practice of hematology, pp.226-248, Lippincott JB Company. Philadelphia. USA. 1995
7. Collic, S, Fisher, AM, Tapon-Bretraudiere, J, Boisson, C, Durant, P and Jozenfonvics, J. Anticoagulant properties of a fucoidan fraction. *Thromb. Res.* 64:143-154. 1991
8. Lee, SS and Kim, SM. Studies on proteolytic and fibrinolytic activity of *Bacillus subtilis* JM-3 isolated from anchovy sauce. *Kor. J. Food Sci. Technol.* 34:283-289. 2002
9. Dougson, KS and Price, RG. A note on the determination of the ester sulphate content of sulphated polysaccharides. *Biochem. J.* 84:106-110. 1992
10. Vidal, CB, Chaubet, F, Chevolut, L, Siquin, C, Theveniaux, J, Millet, J, Sternberg, C, Mulloy, B and Fischer, AM. Relationship between antithrombotic activities of fucans and their structure. *Drug Devel. Res.* 51:216-224. 2000
11. Kim, DS and Park, YH. Uronic acid composition, block structure and some related properties of alginic acid. *J. Kor. Fish. Soc.* 18:29-36. 1985
12. Do, JR. Extraction and purification of agar from *Gelidium*

- amansii*. *J. Kor. Fish. Soc.* 30:423-27. 1997
13. Pintaro, SJ and Gilbert, SW. The effects of carrageenan on drug-metabolizing enzyme system activities in the guinea pig. *Food Chem. Toxicol.* 28:807-811. 1990
 14. Park, JK, Koo, JG, Do, JR and Yang, CB. Effect of crude porphyrin extracted from *Porphyra yezoensis*. *J. Kor. Fish. Soc.* 31:127-131. 1998
 15. A comprehensive bibliography on the fishery special commodity in Korea. National Federation of Fisheries Cooperatives. 2000
 16. Choi, JH, Kim, IS, Kim, JI and Yoon, TH. Studies on antiaging action of brown algae(*Undaria pinnatifida*). *J. Kor. Fish. Soc.* 25:181-188. 1992
 17. Cho, KL and Lee, DS. Antitumor and immunomodulating effects of seaweeds toward Sarcoma-180 cell. *J. Kor. Soc. Food Sci. Nutr.* 21:544-550. 1992
 18. Chio, SJ, Jun, WJ, Yu, KW, Shin, DH, Hong, BS, Cho, HY and Yang, HC. Purification and characterization of angiotension I-converting enzyme inhibition from *Porphyra yezoensis*. *J. Kor. Soc. Food Sci. Nutr.* 29: 719-725. 2000
 19. Cattaneo, F, Trento, F, Pescador, R, Porta, R and Furro, L. Pharmacodynamics of the anticoagulant activity(APTT) of an algal polysaccharide. *Thromb. Res.* 105:455-457. 2002
 20. Hahn, BS, Wu, S, Kim, SW and Kim, TS. Evaluation of anticoagulant and fibrinolytic activities from crude extracts of insects. *Kor. J. Pharmacogn.* 30:409-412. 1999
 21. Mosmann, T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival : Application to proliferation and cytotoxic assays. *J. Immunol. Methods.* 65:55-63. 1983
 22. Kotnic, V and Fleischmann, WR. Jr. A simple and rapid method to determine hematopoietic growth factor activity. *J. Immunol. Methods.* 129:23-30. 1990
 23. Silva, TM, Alves, LG and Queiroz, KCS. Partial characterization and anticoagulant activity of a heterofucan from the brown seaweed *Padina gymnospora*. *Brazilian J. Med. Biol. Res.* 38:523-533. 2005
 24. Albuquerque, LRL, Queiroz, KCS, Alves, LG, Santos, EL, Leite, EL and Rocha, HAO. Heterofucans from *Dictyota menstrualis* have anticoagulant activity. *Brazilian J. Med. Biol. Res.* 37:167-171. 2004
 25. Dougson, KS and Price, RG. A note on the determination of the ester sulphate content of sulphated polysaccharides. *Kor. Biochem. J.* 84:106-110. 1992
 26. Collicc, S, Fisher, AM, Tapon-Brethaudiere, J, Boisson, C, Durant, P and Jozenfonvics, J. Anticoagulant properties of a fucoidan fraction. *Thromb. Res.* 64:143-154. 1991
 27. Scully, MK, Ellis, V and Kakkar, VV. The anticoagulant properties of mast cell product, chondroitin sulfate E. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 41:489-499. 1986
 28. Sylvania, C, Catherine, BV and Jacqueline, J. A low molecular weight fucoidan fraction from the brown seaweed *Pelvetia canaliculata*. *Phytochemistry.* 35:697-700. 1994
 29. Kim, SA, Kim, J, Woo, MK, Kwak, CS and Lee, MS. Antimutagenic and cytotoxic effects of ethanol extracts from five kinds of seaweeds. *J. Kor. Soc. Food Nutr.* 34:451-459. 2005
 30. Sung, MK and Park, MY. Cytotoxic and apoptotic effects of soybean and brown rice extracts on hormone dependent/independent breast cancer cell lines. *J. Kor. Soc. Food Sci. Nutr.* 31:521-526. 2002
 31. Im, HG, Yu, MH, Chung, DW and Lee, IS. Inhibitory effects of fungal metabolites isolated from foodstuffs on the growth of human cancer cell lines. *Kor. J. Food Sci. Technol.* 3:262-267. 2006
 32. Cho, KL and Lee, DS. Antitumor effect and immunology activity of seaweeds toward Sarcoma-180. *J. Kor. Soc. Food Nutr.* 23:345-352. 1990
 33. Kim, SJ and Young, SH. Effect of Green laver on the extension of shelf-life of muk. *Kor. J. Soc. Food Sci.* 14:119-123. 1998
 34. Lee, YS, Kim, DS and Ryu, BH. Antitumor and immunomodulating effects of seaweeds toward Sarcoma-180 cell. *J. Kor. Soc. Food Nutr.* 21:544-550. 1992
 35. Ryu, BH, Kim, DS, Cho, KJ and Sin, DB. Antitumor activity of seaweeds toward sarcoma-180. *Kor. J. Food Sci. Technol.* 21:595-600. 1989
 36. Okai, Y, Higashi-Okai, K, Nakamura, S, Yano, Y and Otani, S. Suppressive effects of the extracts of Japanese edible seaweeds on mutagen-induced umu C gene expression in *Salmonella typhimurium*(TA 1535/pSK 1002) and tumor promoter-dependent ornithine decarboxylase induction in BALB/c 3T3 fibroblast cells. *Cancer Lett.* 25:25-32. 1994
 37. Koo, JG, Jo, KS, Do, JR and Woo, SJ. Isolation and purification of fucoidans from *Laminaria religiosa* and *Undaria* in Korea. *J. Kor. Fish. Soc.* 28:227-236. 1995
 38. Kim, JG, Seo, HS, Cho, HY and Yang, HC. Studies on the blood anticoagulant polysacchride isolated from hot water extracts of *Hizikia fusiforme*. *J. Kor. Soc. Food Nutr.* 27:

1204-1210. 1998

39. Yoon, JA, Yu, KW, Jun, WJ, Cho, HY, Son, YS and Yang, HC. Screening of anticoagulant activity in the extracts of edible seaweeds and optimization of extraction condition. *J.*

Kor. Sco. Food Nutr. 29: 1098-1106. 2000

(2008년 1월 21일 접수; 2008년 3월 20일 채택)