

## Anti-adipogenic, Anti-inflammatory, and Anti-proliferative Activities of Extracts from Lees and Nuruk

Jung-Bin Son<sup>1</sup>, Seung Hoon Lee<sup>1</sup>, Ho-Yong Sohn<sup>2</sup>, Woo-Chang Shin<sup>3</sup> and Jong-Sik Kim<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Department of Biological Sciences, Andong National University, Andong 760-749, Korea

<sup>2</sup>Department of Food and Nutrition, Andong National University, Andong 760-749, Korea

<sup>3</sup>Research Institute, Kooksoondang Brewery Co. Ltd., Seongnam 460-120, Korea

Received March 13, 2015 / Revised June 9, 2015 / Accepted July 13, 2015

This study examined extracts from five different kinds of lees and nuruk and their organic solvent fractions in terms of several biological functions, such as anti-adipogenic, anti-inflammatory, and anti-proliferative activities. The anti-adipogenic activity was investigated by treating mouse pre-adipocyte 3T3-L1 cells with one extract (YE) and four organic solvent fractions (YAc, PAc, RAc, and WPAC) during adipogenesis. Among the treated samples, the ethyl acetate fraction of W-Ju lees (WPAC) showed the strongest anti-adipogenic effect, which was confirmed with oil red O staining and down-regulation of pro-adipogenic genes such as *PPAR-gamma* and *SCD-1*. Treatment with WPAC also reduced the expression of *PPAR-gamma* in a time-dependent manner. The effects of five different extracts were examined on nitric oxide (NO) production in mouse RAW 264.7 cells to determine anti-inflammatory activity. The ethyl acetate fraction of B-Ju lees (PAc) significantly decreased NO production in LPS-stimulated RAW 264.7 cells and it also inhibited NO production in a dose-dependent manner. The PAc fraction also dramatically decreased the viability of human colorectal cancer HCT116 cells in a dose-dependent manner. In addition, PAc increased the expression of *NAG-1* and *ATF3* genes in a dose dependent manner. Overall, these results indicate that lees and nuruk have several biological functions, including anti-adipogenic, anti-inflammatory, and anti-proliferative activities.

**Key words** : Anti-adipogenesis, anti-inflammation, anti-proliferation, lees, nuruk

### 서 론

주박(lees)은 쌀, 물, 누룩, 효모 등을 이용하여 청주나 약주를 발효한 후 술을 걸러내는 과정에서 생성되는 부산물로서, 현재 산업 폐기물로 지정되어 있어 동물 사료 첨가제 등 제한적으로 이용되고 있는 상태이며 추가비용을 들여 폐기하고 있는 실정이다[10]. 그러나, 최근에는 산업적으로 알코올, 효소, 유기물 등을 포함하는 천연소재로 주목 받고 있으며, 주박 추출물에 의한 항당뇨 활성[6], 항균활성 및 항산화 효과[7] 등에 대한 연구결과가 보고되었다.

누룩(nuruk)은 밀 또는 보리, 옥수수, 쌀, 호밀과 같은 곡류에 누룩곰팡이를 접종시킨 후 수일 간 번식시킨 것으로, 술 제조시 곡물을 발효시키는데 사용한다. 국내에서 전통적으로 사용되는 누룩은 풍부한 전분 분해효소활성을 가지고 있어 효율적인 당화를 유도하고 효모를 통해 발효과정을 수행하

로 병행복발효식 한국 전통주 양조 과정에서 독특한 향과 맛을 내는 데에 중요한 역할을 하고 있다[5]. 최근에는 이러한 누룩의 일정한 품질 유지를 위한 공정 개발[11]과, 누룩에 의한 세포독성 및 항염증 활성[9] 등에 대한 연구결과가 발표되었다. 그러나, 주박과 누룩에 함유되어 있는 천연소재의 발굴과 이용을 위해서는 다양한 생리활성연구와 활성기전 연구가 지속적으로 진행되어야 할 것으로 생각된다.

한국인의 주요 사망 원인인 암과 심혈관 질환이 공통적으로 비만과 관련 있는 것으로 알려져 있어서[14], 다양한 천연물 소재에 의한 항비만 활성에 대한 연구의 필요성이 대두되고 있다. 특히 비만이 식습관으로부터 기인되며 대장, 췌장, 유방, 전립선암 역시 식생활과 관련된 암이라는 점에서[12], 천연물 소재를 이용한 항비만, 항암 연구가 활발하게 진행되고 있다[8]. 그러나, 주박 및 누룩 추출물에 의한 항비만 및 항암활성에 대한 보고는 매우 미미한 실정이다. 또한, 천연물 소재에 의한 화학적 암 예방법이 효과적인 암 예방법으로 대두되고 있어[15], 향후 항비만 및 항암 활성을 가지고 있는 새로운 천연물 소재의 발굴에 대한 연구는 지속될 것으로 생각된다.

염증반응은 대식세포(macrophage)가 병원체에 반응하여 tumor necrotic factor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ), IL-1 $\beta$  등과 같은 염증유발인자(pro-inflammatory cytokine)를 생성하고, inducible nitric oxide synthase (iNOS)와 cyclooxygenase-2 (COX-2)를 합성

#### \*Corresponding author

Tel : +82-54-820-5798, Fax : +82-54-820-7705

E-mail : jsk@anu.ac.kr

This is an Open-Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

하여 nitric oxide (NO) 및 prostaglandin E<sub>2</sub> (PGE<sub>2</sub>)를 생성한다[5, 16, 17]. NO는 무기저분자 라디칼로서 염증반응 시 신경 전달기능, 혈액응고 및 혈압조절기능과 암세포에 대항하는 면역기능 등에서의 역할이 알려져 있으며[2], 항염증 활성 평가 시 하나의 지표로 활용되고 있다. 최근 누룩으로부터 분리한 지질화합물이 NO 생성 저해를 함으로써 항염증 활성을 가지고 있는 것으로 보고된 바 있다[9].

본 연구에서는 주박 및 누룩 추출물에 의한 지방세포형성 억제활성, 항염증 활성 및 암세포 성장 억제활성 등의 다양한 생리활성과 그 기전에 대하여 연구하였다. 이러한 연구결과는 주박 및 누룩의 새로운 천연물 소재로서의 활용 가능성에 대한 기초자료를 제공해 줄 것으로 기대된다.

### 재료 및 방법

#### 추출물 및 분획물의 제조

본 연구에서 사용된 주박 및 누룩 추출물과 ethyl acetate 분획물은 (주)국순당에서 총 5종을 공급받아 사용하였다. 시료로 사용된 주박 및 누룩은 80% 에탄올에 48시간 상온에 추출하고, 추출액은 filter paper (Whatman No. 2)로 거른 후 분말화 하고 E-Ju 주박 추출물(YE)을 획득하였다. 또한, 분획물 제조를 위해서는 에탄올 추출물을 42°C에서 감압 농축하여 ethyl acetate를 1:1로 섞은 용액에 현탁하고 감압 건조한 뒤, 분말화 하여 E-Ju 주박의 ethyl acetate 분획물(YAc), B-Ju 주박의 ethyl acetate 분획물(PAc), nuruk의 ethyl acetate 분획물(RAc), W-Ju 주박의 ethyl acetate 분획물(WPac)을 획득하였다. 각각의 시료 분말은 DMSO (Dimethyl Sulfoxide, Sigma, USA)에 녹인 후 사용하였다(Fig. 1).

#### 동물세포배양

본 연구에 사용한 동물세포주는 총 3종으로서 지방세포형성 억제활성 연구에는 마우스 전지방세포주인 3T3-L1, 항염증 활성 연구에는 마우스 대식세포주인 RAW 264.7 그리고 암세포 항성장 활성 연구에는 인간 대장암 세포주인 HCT116 를 사용하였다. 마우스 전지방세포주인 3T3-L1 배양시에는 10% BS (Bovine Serum, Gibco, USA)를 사용하였고, HCT116과 RAW 264.7 세포주 배양의 경우 FBS (Fetal Bovine Serum, Gibco-BRL, USA)를 사용하였으며 1% penicillin 및 streptomycin (WelGene, Korea)이 함유된 Dulbecco's Modified Eagle Medium (DMEM, Gibco, USA)을 사용하였다.

#### 전지방세포 분화 유도 및 추출물 처리

마우스 전지방세포 3T3-L1의 성장이 100% confluent 상태가 될 때까지 배양한 후, 분화를 유도하였다. 세포가 confluent 상태가 되었을 때 10% FBS (Fetal Bovine Serum, Gibco, USA), 1% penicillin 및 streptomycin이 포함된 Dulbecco's Modified

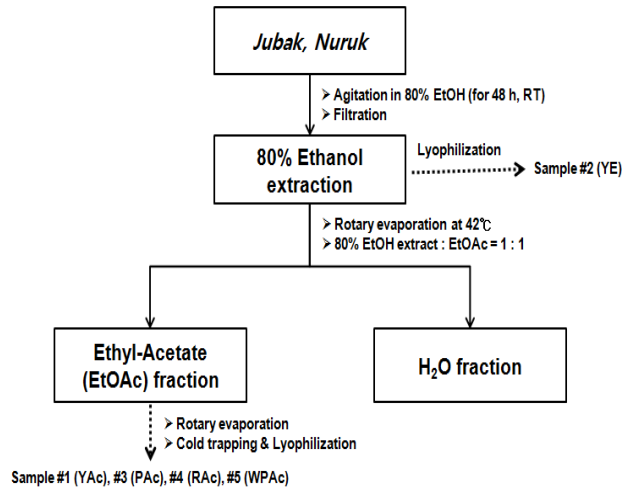


Fig. 1. Flow-Scheme of Sample Preparation. Ethyl acetate fraction of E-Ju lees extract (YAc), E-Ju lees extract (with 80% ethanol) (YE), ethyl acetate fraction of B-Ju lees extract (PAc), ethyl acetate fraction of Nuruk extract (RAc), ethyl acetate fraction of W-Ju lees extract (WPac).

Eagle Medium (DMEM, Gibco, USA)에 분화유도 물질인 IBMX 용액(1,000X, Cayman, USA), Dexamethasone 용액(1,000X, Cayman, USA) 그리고 Insulin 용액(1,000X, Cayman, USA)을 각각 1 µl/ml가 되도록 첨가하여 2일간 분화를 유도하였다. 분화 중에 주박 및 누룩 추출물이 지방형성과정에 미치는 영향을 확인하기 위하여 배지에 각 추출물을 0.1 mg/ml의 농도로 처리하고 대조구로서 DMSO를 각각 처리하였다. 그 후 2일 뒤 Insulin 용액(1,000X, Cayman, USA)만 1 µl/ml가 되도록 첨가한 배지와 각 추출물 0.1 mg/ml를 각각 처리하여 배지를 교환하였고, 분화유도 4일 후에는 추출물만을 처리한 배지로 배양액을 교환해 주어 4일간 배양하였다. 또한 배지는 2일 간격으로 새로운 배지로 교환해주었다.

#### Nitric oxide (NO) 생성 측정

Nitric oxide (NO) 생성을 측정하기 위해 RAW 264.7 세포를 96 well plate의 각 well에 1×10<sup>5</sup>개의 세포를 접종한 후 24시간 동안 배양하였다. 그 후 lipopolysaccharide (LPS, Sigma, USA) 200 ng/ml를 처리하고 1시간 후 DMSO에 녹인 주박 및 누룩 추출물을 처리하여 24시간 동안 배양하였다. 생성된 NO의 양은 Griess 시약(1% sulfanilamide, 0.1% naphylethylenediamine in 2.5% phosphoric acid)을 이용하여 세포 배양액 중에 존재하는 NO<sub>2</sub>의 형태로 측정하였다. 세포 배양상등액 100 µl와 Griess 시약 100 µl를 혼합하여 96-well plate에서 5분간 반응시키고 NanoQuant Plate™ (Tecan Trading AG, Switzerland)를 사용하여 540 nm에서 흡광도를 측정하였다. 결과 수치는 4개의 독립적인 well에서 수행한 값을 mean±SD 값으로 나타내었다.

**세포 생존율 연구(Cell viability assay)**

대장암 세포주 HCT116에 주박 및 누룩 추출물을 다양한 농도로 24시간 처리한 후 cell viability assay를 수행하였다. 즉, 96 well plate의 각 well에 1×10<sup>5</sup>개의 세포주를 접종하여 24시간 동안 배양한 후, 주박 및 누룩 추출물을 24시간 처리 후, MTS용액 (Promega, USA)을 각 well당 20 µl씩 첨가하고 37°C, 5% CO<sub>2</sub> incubator에서 4시간 동안 반응시켰다. 반응이 끝난 후 NanoQuant Plate™ (Tecan Trading AG, Switzerland)를 이용하여 490 nm에서 흡광도를 측정하였다. 결과 수치는 4개의 독립적인 well에서 수행한 값을 mean±SD 값으로 나타내었다.

**Total RNA 추출 및 Reverse transcription-PCR**

Total RNA 추출은 수확한 세포주로부터 RNeasy mini kit (Qiagen, USA)을 이용하여 제조사의 프로토콜에 따라 수행하였다. 최종적으로 정제한 total RNA는 NanoQuant Plate™를 이용하여 흡광도를 측정하여 정량하였다. 정량화한 RNA는 reverse transcription (RT)-PCR에 사용하였다. 수확한 세포주로부터 추출한 total RNA 1 µg을 주형으로, PrimeScript™ RT-PCR Kit (TaKaRa, Japan)을 이용하여 제조사의 매뉴얼에 따라 cDNA를 제조하였다. PCR에 사용한 primer 디자인은 Primer 3 program (<http://frodo.wi.mit.edu/>)을 이용하였으며 Bioneer (Korea)사로부터 제조하여 사용하였다(Table 1, 2). PCR은 PrimeScript™ RT-PCR Kit (TaKaRa, Japan)를 이용하여 제조사의 매뉴얼에 따라 실험을 수행하였다. PCR 반응은 94°C에서 5분간 denaturation을 실시한 뒤, 94°C에서 30초, 5

8°C에서 30초, 72°C에서 30초의 cycle을 30번 반복한 후, 마지막으로 72°C에서 10분간 반응시켰다.

**결과 및 고찰**

**주박 및 누룩 추출물이 지방세포 형성과정에 미치는 영향**

주박 및 누룩 추출물이 마우스 전지방 세포주인 3T3-L1 세포의 지방세포형성과정에 미치는 영향을 확인하기 위하여, 지방세포형성을 유도하면서 각 주박 추출물을 0.1 mg/ml의 농도로 처리하고 대조구로는 DMSO를 각각 처리 하였다. 그 결과, 분화 유도 후 DMSO를 처리한 대조구와 YAc (E-Ju 주박의 ethyl acetate 분획물), YE (E-Ju 주박 추출물)를 처리한 경우에는 지방세포형성이 정상적으로 일어난 반면, PAc (B-Ju 주박의 ethyl acetate 분획물), RAc (nuruk의 ethyl acetate 분획물), WPAc (W-Ju 주박의 ethyl acetate 분획물) 처리군에서는 지방세포 형성이 현저히 억제되는 것을 확인 할 수 있었다(Fig. 2A). 또한, 지방세포형성 유무를 명확하게 구분하기 위하여 oil red O 염색을 수행하였다. 그 결과, YAc, YE를 처리한 경우에는 대조구와 유사하게 형성된 지방세포가 염색되어 붉게 확인되었으며, 이에 반해 PAc, RAc, WPAc 처리군에서는 지방세포 형성이 거의 관찰되지 않았다(Fig. 2B). 연구에 사용한 총 5 종의 시료 중 PAc, RAc, WPAc가 지방세포 형성억제 활성을 가지는 것으로 판단된다.

**주박 및 누룩 추출물에 의한 pro-adipogenic 유전자의 발현 변화**

Table 1. Sequences of oligonucleotide primers of mouse *Adiponectin*, *PPAR-γ*, *SCD-1* and *GAPDH* genes

Gene name	GenBank Acc. No.	Sequences
<i>Adiponectin</i>	NM_009605	F: 5'-GTTGCAAGCTCTCCTGTTCC-3' R: 5'-TCTCCAGGAGTGCCATCTCT-3'
<i>PPARγ</i>	NM_011146	F: 5'-GAACGTGAAGCCCATCGAGG-3' R: 5'-GTCCTTGTAGATCTCCTGGA-3'
<i>SCD-1</i>	NM_009127	F: 5'-TGGGTTGGCTGCTTGTG-3' R: 5'-GCGTGGCAGGATGAAG-3'
<i>GAPDH</i>	NM_002046	F: 5'-TGCACCACCAACTGCTTAG-3' R: 5'-GGATGCAGGGATGATGTTCC-3'

Table 2. Sequences of oligonucleotide primers of human *NAG-1*, *ATF3* and *GAPDH* genes

Gene name	GenBank Acc. No.	Sequences
<i>NAG-1</i>	NM_004864	F: 5'-CTCTCAGATGCTCCTGGTGT-3' R: 5'-GAATCTTCCCAGCTCTGGTT-3'
<i>ATF3</i>	NM_001040619	F: 5'-TGGTGTGTTGAGGATTTTGTCT-3' R: 5'-ATTTCTTTCTCGTCGCTCT-3'
<i>GAPDH</i>	NM_002046	F: 5'-CTGACCTGCCGTCTAGAAA-3' R: 5'-GAGCTTGACAAAAGTGGTCGT-3'

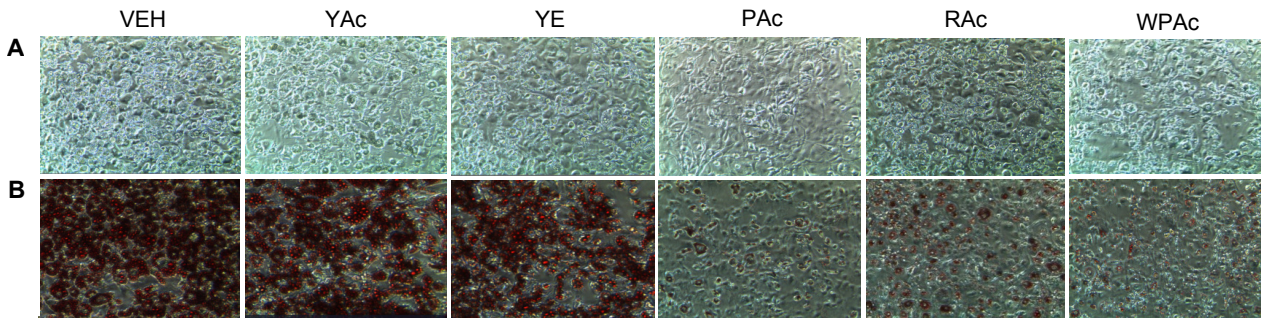


Fig. 2. Effects of ethyl acetate fractions of lees and nuruk extracts on pre-adipocyte differentiation. Mouse 3T3-L1 pre-adipocyte cells were treated with five different kinds of fractions and extracts during adipogenesis. After 8 days, differentiated cells were stained with oil red O solution. (A) before staining, (B) after staining.

주박 및 누룩 추출물에 의한 지방세포형성 억제과정 중 pro-adipogenic 유전자인 *Adiponectin*, *PPAR $\gamma$*  그리고 *SCD-1* 유전자의 발현 변화를 확인하였다. 그 결과, Fig. 3A에서 보는 바와 같이 분획물 PAc, RAc, WPAc를 처리한 경우 *PPAR $\gamma$* 와 *SCD-1* 유전자의 발현이 감소되는 것을 확인할 수 있었고, *Adiponectin* 유전자의 발현은 PAc의 처리에 의해서만 감소되는 것을 확인할 수 있었다. 또한, 분획물 WPAc를 분화유도 후 2일에서 8일까지 처리한 후 *PPAR $\gamma$*  유전자의 발현을 확인한 결과, DMSO만을 처리한 대조구는 분화가 진행됨에 따라 *PPAR $\gamma$*  유전자의 발현이 계속적으로 증가하는 반면, WPAc를 처리한 실험군은 6일이 되는 날부터 발현이 억제되기 시작하여 8일이 되는 시점에는 *PPAR $\gamma$*  유전자의 발현이 완전히 억제

됨을 확인하였다(Fig. 3B). 주박 및 누룩 추출물에 의한 지방세포 억제활성 연구는 매우 미미한 상황이므로, 이러한 연구 결과는 주박 및 누룩 추출물을 활용한 비만 억제용 천연소재 개발 및 관련 산업으로의 활용을 제시할 수 있으리라 기대된다.

**주박 및 누룩 추출물의 Nitric oxide (NO) 생성 저해 활성**

주박 및 누룩 추출물의 항염증 활성을 측정하기 위하여 LPS로 염증을 유도한 RAW 264.7 세포에 각 시료를 0.5 mg/ml의 농도로 처리한 후, NO 생성을 측정하였다. 그 결과, DMSO만을 처리한 대조구에 비해, 추출물 YE와 PAc 처리군에서만 NO 생성이 저해됨을 확인하였다(Fig. 4A). 이 중 가장 높은 NO 생성 저해능력을 보여준 PAc를 다양한 농도(0.5, 1.0, 1.5, 2.0, 2.5 mg/ml)로 24시간 처리한 후 NO 생성을 측정하였다. 그 결과 Fig. 4B에서 보는 것과 같이 PAc에 의해 농도 의존적으로 NO 생성이 억제됨을 확인하였다. 이러한 결과는 누룩곰팡이의 일종인 *Rhizopus oryzae* KSD-815로부터 획득한 추출물이 항염증 활성이 있다는 보고[9]와 유사한 결과를 나타내는 것뿐만 아니라, 주박 추출물에 의한 항염증 활성도 보여주고 있어 향후 전통주의 다양한 구성요소들에 의한 항염증 활성 여부 역시 중요한 연구 대상이 될 수 있으리라 생각된다.

**주박 및 누룩 추출물 처리에 따른 대장암 세포 성장 억제**

주박과 누룩 추출물에 의한 대장암 세포주 HCT116의 성장 억제 활성을 정상적으로 확인하기 위하여 각 시료를 0.5 mg/ml의 농도로 처리한 후, 24시간 후에 cell viability assay를 수행하였다. 그 결과 Fig. 5에서 보는 바와 같이 YAc, PAc에 의해 각각 76.7%, 88.8%, 26%의 세포생존율을 보여준 반면 RAc를 처리한 경우에는 각각 91.2%로 세포생존율의 큰 변화는 없었고, WPAc를 처리한 경우에는 105.4%로 대조구에 비해 세포생존율이 증가하였다(Fig. 5A). PAc의 처리 농도에 따른 대장암 세포주의 생존율을 확인하기 위하여 PAc를 다양한 농도(0.025, 0.125, 0.25, 0.375, 0.5 mg/ml)별로 처리한 후 cell viability assay를 수행하였다. 그 결과 0.025와 0.125 mg/ml PAc 처리군에서는 세포생존율에 미치는 영향이 거의 없었

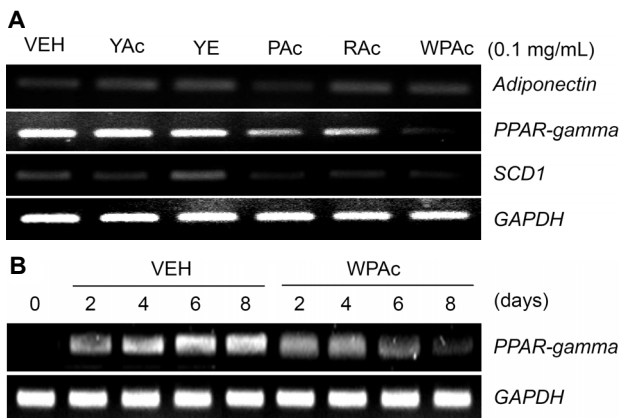


Fig. 3. Down-regulation of *Adiponectin*, *PPAR $\gamma$*  and *SCD1* genes by ethyl acetate fraction of W-Ju lees extract (WPAc). (A) Mouse 3T3-L1 cells were incubated with WPAc during adipogenesis. Total RNAs were prepared from treated cells and used for RT-PCR with *Adiponectin*, *PPAR $\gamma$*  and *SCD1* gene specific primers. (B) Mouse 3T3-L1 pre-adipocytes were treated with WPAc or DMSO for 8 days during adipogenesis. Treated cells were collected at different time points. Total RNAs were extracted from treated cells and used for RT-PCR with *PPAR $\gamma$*  gene specific primers.

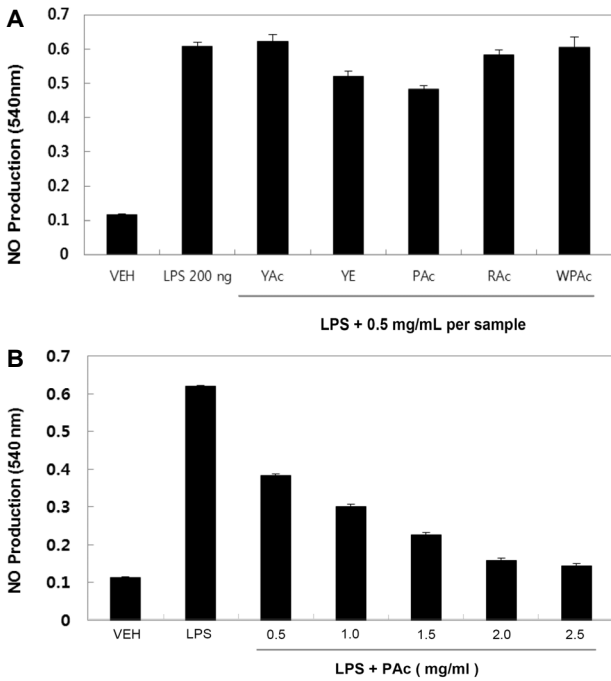


Fig. 4. Suppressive effects of ethyl acetate fractions of lees and nuruk extracts on nitric oxide production. (A) RAW 264.7 cells were treated with five different kinds of fractions and extracts for 18 hr. After treatment, nitric oxide production was measured by nitric oxide assay. (B) RAW 264.7 cells were treated with five different concentration of ethyl acetate fraction of B-Ju lees extract (PAc). And then, nitric oxide production was measured by nitric oxide assay.

으나, 0.25, 0.375, 그리고 0.5 mg/ml PAc 처리군부터 각각 21%, 64%, 75% 정도의 생존을 감소를 보여 PAc에 의한 농도 의존적인 세포생존을 감소를 확인하였다(Fig. 5B).

**분획물 PAc에 의한 NAG-1과 ATF3 유전자의 발현 연구**

분획물 PAc의 처리에 의한 암 억제 유전자인 NAG-1 (Non-steroidal anti-inflammatory drug activated gene-1)과 ATF3 (Activating transcription factor-3) 유전자의 발현 변화를 확인 하였다. 분획물 PAc에 의한 NAG-1과 ATF3의 유전자 발현 변화를 확인하기 위하여 대장암 세포주 HCT116에 PAc를 0.125, 0.25, 0.5 mg/ml의 농도로 각각 처리하였다. 그 결과 PAc의 처리 농도가 증가됨에 따라 NAG-1과 ATF3의 유전자 발현이 농도 의존적으로 증가됨을 확인 할 수 있었다(Fig. 5C). NAG-1 유전자는 TGF-beta superfamily의 한 종류로서, NAG-1 유전자를 과대 발현하는 transgenic mouse 모델에서 항암 활성[1]과 항비만 활성[4]이 있는 것으로 보고되었다. 최근에는 NAG-1이 암 예방 및 항암 활성이 있는 다양한 천연물에 의한 중재자의 역할과 다양한 전사조절인자에 의해 발현이 조절된다는 총설이 보고된바 있다[18]. ATF3 유전자는 항암 활성이 있는 여러 천연물질에 의해 발현이 유도되며 항암 활

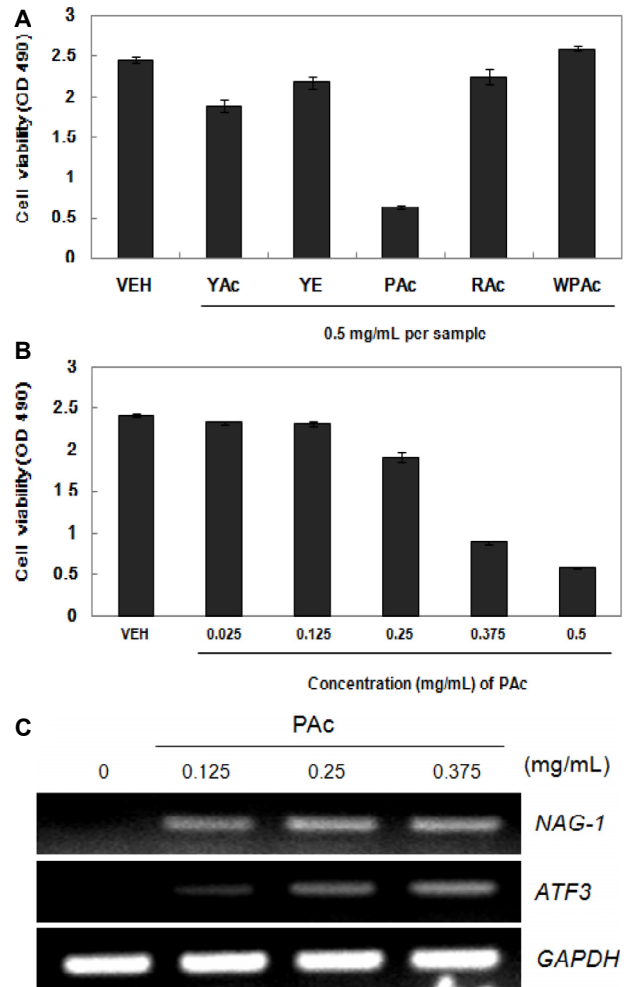


Fig. 5. Effects of the ethyl acetate fractions of lees and nuruk extracts on HCT116 cell viabilities and on expression of NAG1 and ATF3 genes. (A) HCT116 cells were treated with five different kinds of fractions and extracts for 24 hr. And then, cell viability was measured by MTS assay. (B) HCT116 cells were incubated with five different concentrations of ethyl acetate fraction of B-Ju lees extract (PAc). And then, cell viability was measured with MTS assay. (C) HCT116 cells were treated with three different concentrations of PAc for 24 hr. And then, total RNAs were extracted from treated cells and used for RT-PCR with NAG-1 and ATF3 gene specific primers.

성과 관련이 있는 것으로 보고 되었다[3, 13, 14]. 이러한 연구 결과는 분획물 PAc에 의한 암세포 성장 억제 활성은 항암 유전자인 NAG-1과 ATF3 유전자의 발현증가와 관련이 있는 것으로 판단된다. 그러나, 항암유전자의 발현 증가와 세포성장 억제활성의 직접적인 관련성은 siRNA등을 이용한 추가실험을 진행해야 될 것으로 판단된다.

본 연구에서는 전통주 제조시 사용되는 누룩과 부산물로 발생하는 주박 추출물 및 이들의 유기용매 분획물을 5종 제조

하고, 이들에 의한 지방세포형성 억제활성, 항염증 활성 및 암세포 성장 억제활성을 연구하였다. 이러한 연구결과는 전통주 제조시 사용되는 누룩과 부산물인 주박의 다양한 산업 제품의 천연재료로 활용 가능성을 제시한다.

### 감사의 글

본 연구는 2012년도 농림수산식품부 고부가가치식품기술개발사업(과제번호 112073-3)에 의해 수행되었으며, 이에 감사드립니다.

### References

- Baek, S. J., Okazaki, R., Lee, S. H., Martinez, J., Kim, J. S., Yamaguchi, K., Mishina, Y., Martin, D. W., Shoieb, A., McEntee, M. F. and Eling, T. E. 2006. Nonsteroidal anti-inflammatory drug-activated gene-1 over expression in transgenic mice suppresses intestinal neoplasia. *Gastroenterology* **131**, 1553-1560.
- Cha, C. C., Lee, H. W. and Choi, M. Y. 1998. Antioxidative and antimicrobial effects of nut species. *Kor. J. Pharm.* **29**, 28-34.
- Cho, K. N., Shkhthankar, M., Lee, S. H., Yoon, J. H. and Baek, S. J. 2007. Green tea catechin (-)-epicatechin gallate induces tumor suppressor protein ATF3 via EGR-1 activation. *Eur. J. Cancer* **43**, 2404-2412.
- Chrysovergis, K., Wang, X., Kosak, J., Lee, S. H., Kim, J. S., Foley, J. F., Travlos, G., Singh, S., Baek, S. J. and Eling, T. E. 2014. NAG-1/GDF-15 prevents obesity by increasing thermogenesis, lipolysis and oxidative metabolism. *Int. J. Obes.* **10**, 1555-1564.
- Kim, M. J. 2002. The study about traditional Nuruk. *Kor. J. Food Sci. Technol.* **9**, 324-329.
- Kim, S. M., and Cho, W. K. 2006. Effect of *Takju* (Korean turbid rice wine) lees on the serum glucose levels in streptozotocin-induced diabetic rats. *J. Kor. Soc. Food Culture* **21**, 638-643.
- Kim, T. Y., Jeon, T. W., Yeo, S. H., Kim, S. B., Kim, J. S. and Kwak, J. S. 2010. Antimicrobial, antioxidant and SOD-like activity effect of *Jubak* extracts. *Kor. J. Food Nutr.* **23**, 299-305.
- Kim, Y. J., Kim, B. H., Lee, S. Y., Kim, M. S., Pack, C. S., Rhee, M. S., Lee, K. H. and Kim, D. S. 2006. Screening of medicinal plants for development of functional food ingredients with anti-ovesity. *J. Kor. Soc. Appl. Biol. Chem.* **49**, 221-226.
- Kojda, G. and Harrison, D. 1999. Interactions between NO and reactive oxygen species : pathophysiological importance in atherosclerosis, hypertension, diabetes and heart failure. *Cardiovasc. Res.* **43**, 562-571.
- Kwak, H. Y., Lee, S. J., Lee, D. Y., Jung, N., Bae, N. H., Hong, S. Y., Kim, G. W. and Baek, N. I. 2008. Cytotoxic and anti-inflammatory activities of lipids from the Nuruk (*Rhizopus oryzae* KSD-815). *J. Kor. Soc. Appl. Biol. Chem.* **51**, 142-147.
- Lee, D. Y. 1968. The ecological studies on *Aspergillus kawachii* Kitahara. *Kor. J. Microbiol.* **6**, 113-121.
- Lee, H. J. 2003. The effect of chemo prevention of cancer by food ingredient. *Kor. J. Food Sci. Technol.* **25**, 1-15.
- Park, G. H., Park, J. H., Song, H. H., Eo, H. J., Kim, M. K., Lee, J. W., Lee, M. H., Cho, K. H., Lee, J. R., Cho, H. J. and Jeong, J. B. 2014. Anti-cancer activity of Ginger (*Zingiber officinale*) leaf through the expression of activating transcription factor-3 in human colorectal cancer cells. *BMC Complement Altern. Med.* **14**, 408-415.
- Piyanuch, R., Sukhthankar, M., Wandee, G. and Baek, S. J., 2007. Berberine, a natural isoquinoline alkaloid, induces NAG-1 and ATF3 expression in human colorectal cancer cells. *Cancer Lett.* **2**, 230-240.
- Surh, Y. J. Cancer chemoprevention with dietary phytochemicals. *Nat. Rev. Cancer* **3**, 768-780.
- Storck, M., Schilling, M., Burkhardt, K., Prestel, R., Abendroth, D. and Hammer, C. 1994. Production of pro-inflammatory cytokines and adhesion molecules in *ex-vivo* xenogeneic kidney perfusion. *Transpl. Int.* **7**, 647-649.
- Wink, D. A. and Mitchell, J. B. 1998. Chemical biology of nitric oxide: Insights into regulatory, cytotoxic and cytoprotective mechanism of nitric oxide. *Free Radic. Biol. Med.* **25**, 434-456.
- Yang, M. H., Kim, J., Khan I. A., Walker, L. A. and Khan, S. I. 2014. Nonsteroidal anti-inflammatory drug activated gene-1 (NAG-1) modulators from natural products as anti-cancer agents. *Life Sci.* **2**, 75-84.

**초록 : 주박과 누룩의 추출물에 의한 지방세포형성억제, 항염증 및 항성장 활성**손정빈<sup>1</sup> · 이승훈<sup>1</sup> · 손호용<sup>2</sup> · 신우창<sup>3</sup> · 김종식<sup>1\*</sup>(<sup>1</sup>국립안동대학교 생명과학과, <sup>2</sup>국립안동대학교 식품영양학과, <sup>3</sup>㈜국순당 연구소)

본 연구에서는 5종의 주박과 누룩의 추출물 및 유기용매 분획물을 제조하고, 이들에 의한 지방세포형성억제, 항염증 및 항성장 활성을 연구하였다. 지방세포형성억제 활성 연구를 위하여 마우스 전지방 세포인 3T3-L1 세포주에 지방세포형성을 유도한 후 추출물 및 분획물 5종을 처리하였다. 처리한 시료 중 W-Ju의 에틸아세테이트 분획물(WPac)이 가장 뚜렷한 지방세포형성 억제 활성을 보여 주었다. 이것은 oil red O 염색과 pro-adipogenic 유전자의 발현 감소에 의해 증명되었다. 또한, WPac의 처리는 시간 의존적으로 *PPAR-gamma* 유전자의 발현을 감소시켰다. 항염증 연구를 위하여 RAW 264.7 세포주에서 5종의 시료에 의한 nitric oxide (NO) 생산에 미치는 영향을 연구하였다. 5종의 시료 중 B-Ju의 에틸아세테이트 분획물(PAc)의 처리에 의해 LPS로 활성화된 RAW 264.7 세포에서 NO 생산이 가장 높게 저해되었고, 또한 농도 의존적인 저해 양상을 보여 주었다. 게다가, PAc는 인간 대장암 세포주인 HCT116의 세포 생존율을 현저하게 감소시켰으며, 또한 농도 의존적인 생존율 저해 양상을 보여 주었다. 또한, PAc는 *NAG-1*과 *ATF3* 유전자의 발현도 농도 의존적으로 감소시켰다. 종합적으로, 이러한 연구결과는 주박과 누룩이 지방세포형성억제 활성, 항염증 활성 그리고 항성장 활성 등 다양한 생리활성을 가지고 있음을 시사한다.