

유색보리 추출액의 프리라디칼 소거능과 항암 활성

단국대학교 생명자원과학대학 : 이지영*, 박상구, 이동진

Free Radical Scavenging and Anticancer Activities of Extracts from Colored Barley Germplasms

Coll. of Bio-resources Science, DanKook Univ. : Ji-young Lee*, Sang-Koo Park, Dong Jin Lee,

실험목적

본 실험은 유색 보리의 종실에 함유되어 있는 항산화성 및 항암활성을 검정하여 신기능성 보리 품종육성을 위한 교배친 활용 및 기능성 식품소재 개발을 위한 기초자료를 얻고자 실시하였다.

재료 및 방법

공시재료 : 터키 원산의 Turkey 82 등 유색종 겉보리 193점과, 일본 원산의 F-167 등 유색종 쌀보리 53점 등 246점

시료추출 : 시료는 100% Ethyl alcohol 에서 추출하였다. 추출액은 vacuum pump를 이용하여 건조시킨 후 용도에 따라 Methyl alcohol (DPPH assay) 또는 Dimethylsulfoxide (MTT assay) 를 이용하여 적정 농도로 용해후 사용하였다.

Bio-activity assay :

○ Anti-oxidant assay: DPPH (1,1-Diphenyl-2-picryl-hydrazyl) assay

0.75 mg/mL 농도의 약물을 96 well plate의 각 well에 100 uL 씩 분주하고, 다시 여기에 150 uM DPPH (59.145 mg/mL in methanol) 용액 150 uL를 첨가하여 섞은 다음 37 °C에서 30분간 반응시키고 518nm에서 흡광도를 측정하였다. 평가기준으로는 각 well의 평균 OD₅₁₈값을 구하여 대조군의 평균 OD₅₁₈ 값에 대한 백분율 값을 산출하였다.

○ Anti-cancer assay: MTT (Microculture Tetrazolium) assay

세포(B16 mouse melanoma cells) 부유액 (5×10^4 cells/mL)을 96 well plate의 각 well에 100uL 씩 분주하여 37 °C, 5% CO₂ incubator 에서 24시간 배양하였다. 30 mg/mL의 약물을 300 ug/mL 농도로 각 well에 처리하고 위와 동일한 조건하에서 48시간 동안 배양하였다. cell seeding 후 72시간 경과후 각 well에 MTT용액 (2mg/mL in distilled water) 을 50 uL씩 처리하고 4시간 동안 배양하였다. 각 well의 formazan 결정을 DMSO로 녹인 후 microplate reader (540nm)에서 흡광도를 측정하였다.

실험결과

1. 유색보리의 free radical 소거능은 300 ug/mL 농도에서 겉보리 및 쌀보리가 모두 10% 이하에서 90% 이상까지 매우 다양한 범위로 분포하였다.
2. 공시품종중 70%이상의 항산화 활성을 보인 유전자원은 겉보리가 28점 및 쌀보리 8점이었다.
3. 겉보리와 쌀보리의 항암활성 역시 10% 이하의 매우 낮은 활성도를 띄는 품종과, 70% 이상의 비교적 높은 항암 활성을 갖는 품종으로 대비되었으며, D.S.B-414 등 90점의 유색 겉보리가 대비품종인 영남보리보다 항암 활성이 높았으며, 유색 쌀보리의 경우 D.S.B-61 등 17점이 대비품종인 무안보리 보다 높은 높은 활성을 보였다.

*연락처 : 이지영 E-mail : ocean-jj@hanmail.net 전화 : 041-550-3622

Table 1. Free radical scavenging activity by DPPH and anticancer activities by MTT assay in covered barley germplasms

Degree of inhibition (%)	Antioxidant activity (300 ug/ml)			Anti-cancer activity (100 ug/ml)		
	No. of accessions	Ratio	Check variety	No. of accessions	Ratio	Check variety
90 -100	13	6.7	A.A.*	0	0	Cis-**
70 - 90	15	7.8		0	0	
50 - 70	24	12.4		31	16.1	
30 - 50	69	35.8		59	30.7	
10 - 30	65	33.7	Youngnam bori	62	32.3	Youngnam bori
0 - 10	7	3.6		40	20.8	
Total	193	100		192	100	

* : Ascorbic acid (standard substance of DPPH assay), **: Cis-Diammineplatinum-(II)-dichloride (standard substance of anti-cancer assay)

Table 2. Free radical scavenging activity by DPPH and anticancer activities by MTT assay in naked barley germplasms

Degree of inhibition (%)	Antioxidant activity (300 ug/ml)			Anti-cancer activity (100 ug/ml)		
	No. of accessions	Ratio	Check variety	No. of accessions	Ratio	Check variety
90 -100	2	3.8	A.A.*	0	0	Cis-**
70 - 90	6	11.3		0	0	
50 - 70	6	11.3		1	1.9	
30 - 50	8	15.1	Muanbori	2	3.8	
10 - 30	31	58.5		14	26.9	
0 - 10	0	0		35	67.3	Muanbori
Total	53	100		52	100	

* : Ascorbic acid (standard substance of DPPH assay), **: Cis-Diammineplatinum-(II)-dichloride (standard substance of anti-cancer assay)