

## 제주에 자생하는 송악 열매의 생리활성 성분의 효능

제주대학교 생명자원과학대학

김지훈\*, 송창길

### The Biologically Efficacy Component of Fruit in Hedera rhombea which Grows Naturally in Jeju Island

College of Applied Life Science, Cheju National University

Ji-Hun Kim\*, Chang-Khil Song

#### 실험목적

송악 열매의 생리활성 성분을 추출하여, 과거에 한약재로 이용하였던 송악을 재 고찰하고, 현대 사회에 있어 송악의 생리활성 성분이 의약품으로 개발 가능성을 확인하기 위함.

#### 재료 및 방법

제주 도내 해안가에 자생하는 송악 열매를 재료로 하여 단기적 항암제 감수성 검사법 중 현재 많이 사용되고 있는 MTT(Tetrazolium-based colorimetric)검색법으로 96-well plate를 사용하여 검사 결과를 ELISA reader(multiwell microplate reader)를 이용하여 백혈병 세포주를 실험하였고, 폐암에 있어서는 MTT assay 방법과 더불어 시료를 간단히 빠르고 객관성 높게 판단할 수 있는 세포 독성 및 세포 증식 검색법 중 SRB(Sulforhodamin B) assay 방법을 사용하여 폐암 세포주에 대한 항암실험을 하였다. 염증을 억제할 수 있는 항염의 효능을 확인하기 위해 NO( $\mu\text{M}$ )방법을 이용하여 실험을 하였다. MTT assay(세포의 대사활성 측정) : HL-60세포를  $2.0 \times 10^5$  cell/ml의 농도 96 well plate의 각 well에 넣고, 시료를  $100 \mu\text{g/ml}$ 의 농도로 첨가하였다. 이를 4일간 배양한 다음 3-(4,5-dimethylthiazol)-2,5-diphenyltetrazolium bromide(MTT, sigma)  $50 \mu\text{g}$ 을 첨가하고 4시간 동안 더 배양하였다. plat를 1500rpm에서 15분간 원심분리하고 조심스럽게 배지를 제거한 다음, Dimethylsulfoxide(DMSO, sigma)  $200 \mu\text{g}$ 를 첨가하여 MTT의 환원에 의해 생성된 Formazan 침전물을 용해시킨 후 ELISA reader를 사용하여 540nm에서 흡광도를 측정하였다.

#### 실험결과

MTT assay 방법을 이용하여 백혈성 세포주에 주입한 후 성분의 효능을 확인한 결과 백혈병 세포주에 있어 항암효능은 생리활성 성분의 비율이  $25 \mu\text{g/ml}$ 에서 5%정도의 효능,  $50 \mu\text{g/ml}$ 에서 22%정도의 효능,  $100 \mu\text{g/ml}$ 에서 68%정도의 백혈병 세포주에 대해 억제 효능이 있었다.

SRB assay방법을 이용하여 폐암 세포주에 주입한 후 성분의 효능을 확인한 결과 폐암 세포주에 있어 항암 효능은 생리활성 성분의 비율이  $11 \mu\text{g/ml}$ 일 때 3%정도의 효능,  $33 \mu\text{g/ml}$ 일 때 8%정도의 효능,  $100 \mu\text{g/ml}$  일때 93%이상의 효능,  $300 \mu\text{g/ml}$ 일 때 94%정도의 좋은 효능이 확인되었다.

NO assay을 이용하여 염증에 대한 억제효능을 확인한 결과 생리활성 성분의 비율이  $25 \mu\text{g/ml}$ 에서 34%정도의 효능,  $50 \mu\text{g/ml}$ 에서 71%정도의 효능,  $100 \mu\text{g/ml}$ 에서 91%정도의 염증을 억제하는 효능이 나타났다.

Table 1. MTT assay Result(HL-60).

	Blank	Control(P+ E)	100 $\mu$ l/ml	50 $\mu$ l/ml	25 $\mu$ l/ml
1	1.927	1.964	0.642	1.537	1.732
2	1.930	1.943	0.611	1.523	1.609
3	1.937	1.966	0.584	1.572	1.693
4	1.924	1.981	0.659	1.499	1.681
5	1.939	1.976	0.628	1.511	1.742
6	1.925	1.957	0.638	1.534	1.623
Average			0.627	1.529	1.680
Inhibition			68.083	22.152	14.482
SD		$\pm 1.36$	$\pm 2.64$	$\pm 2.53$	$\pm 5.48$

SD; Standard deviation blank; Extinction price  
residue; The result due to the price of extinction

Table 2. Lung cancer cell SRB assay.

unit:  $\mu$ g/ml

Sample	300	100	33	11
<i>Hedera rhombea</i> bean	94%	93%	8%	3%

Result of the anti lung cancer effect followed in consistency difference

Table 3. Control consistency 100 $\mu$ g/ml is effect and error scop. (100 $\mu$ g/ml)

Sample	Ab540	Ab540-Zero Poin	NO(uM)	Inhibition(%)
LPS(-)	0.068	0.007	0.05	
LPS(+)	0.223	0.162	19.67	
1	0.084	0.023	2.08	89.45
2	0.079	0.018	1.44	92.66
3	0.079	0.018	1.44	92.66
4	0.082	0.021	1.82	90.73
5	0.082	0.021	1.82	90.73
Average	0.081	0.020	1.722	91.25
SD				$\pm 1.40$

5 Repetition results of 100 $\mu$ g/ml are shown. Even 91.25% us decreasing effect which is repeated and the standard deviation is  $\pm 1.40$

LPS(-); Normal hour inflammation mortar possibility.

LPS(+); Inflammation mortar material committed hour extreme condition

HR; After physiological active ingredient pouring of *Hedera rhombea* Bean condition.

SD; Standard deviation