

## 포도나무가지 추출물의 프리라디칼 소거 작용 및 염증 발현 매개인자 생성 억제 효과

허선경<sup>1</sup> · 김선숙<sup>1</sup> · 허연희<sup>1</sup> · 안수미<sup>2</sup> · 이병곤<sup>2</sup> · 이상국<sup>1,\*</sup>

<sup>1</sup>이화여자대학교 약학대학, <sup>2</sup>(주)태평양기술연구원

## Effects of the Grapevine Shoot Extract on Free Radical Scavenging Activity and Inhibition of Pro-inflammatory mediator Production in RAW264.7 Macrophages

Sun-Kyung HUR<sup>1</sup>, Sun-Sook KIM<sup>1</sup>, Yeon Hoi HEO<sup>1</sup>, Soo Mi AHN<sup>2</sup>,  
Byeong-Gon LEE<sup>2</sup> and Sang Kook LEE<sup>1,\*</sup>

<sup>1</sup>College of Pharmacy, Ewha Womans University, Seoul 120-750, Korea

<sup>2</sup>Pacific Corporation R&D Center, Kyounggi 449-900, Korea

(Received August 27, 2001; accepted September 25, 2001)

**Abstract** – Free radical scavengers or quenching agents for reactive oxygen species (ROS) present in consumable fruits, vegetables, and beverages have received considerable attention as potential antioxidants, and thus uses for treatment of several human diseases. In this study, grapevine shoot extract (GSE) containing high concentration of resveratrol and viniferine was evaluated for antioxidant potential and inhibition of pro-inflammatory mediator production. Utilizing 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) scavenging activity and xanthine oxidase (XOD) inhibition assay the GSE showed inhibitory effects of DPPH radical scavenging and XOD activity with the IC<sub>50</sub> values of 34.5 and 155 µg/ml, respectively. In addition, GSE also exhibited the inhibition of prostaglandin E<sub>2</sub> (PGE<sub>2</sub>) and nitric oxide (NO) production in lipopolysaccharide (LPS)-induced mouse macrophage RAW264.7 cells with the IC<sub>50</sub> value of 6.4 and 14.5 µg/ml, respectively. This result suggests that grapevine shoot extract has the potential activity as a natural antioxidant or antiinflammatory agent.

**Key words** □ Grapevine shoot extract (GSE), Antioxidant activity, Prostaglandin E<sub>2</sub>, Nitric oxide, Anti-inflammatory agent

프리라디칼 특히 활성산소종(reactive oxygen species, ROS)은 암화, 염증발현 및 여러 가지 퇴행성 질환의 발생에 깊이 관여하는 것으로 알려지고 있다(Fischer-Nielsen 등, 1994; Cerutti와 Trump, 1991; Halliwell 등, 1992; Ames 등, 1993). 한편, 염증 발현 및 암세포 성장에 유도성 cyclooxygenase(inducible COX)에 의해 생성되는 프로스타글란딘류(prostaglandins, PGs)가 주요한 역할을 하는 것으로 알려지고 있으며(Huang 등, 1998; Sheng 등, 1998; Tsujii 등, 1998), COX는 COX-1과 COX-2의 두 가지 이성체효소(isozyme)가 알려지고 있고, 생체내에서 아라키돈산(arachidonic acid)으로부터 PGs 생합성에 관여한다(Vane 등, 1998). COX-1은 대부분의 생체조직에서 일정수준으로 발현되어 정상적인 생리활성을 유지하는데 필요한 PGs 생성에 관여하는 것으로 여

겨지고 있으나(Amiram 등, 1988), COX-2는 일반 정상조직에서는 그 발현의 정도가 매우 낮으나 염증성 인자나 세포 성장인자, 발암원, 종양촉진인자등의 작용에 의하여 빠르고 일시적으로 발현되는 효소로 알려지고 있어 염증 및 암세포 성장에 주요한 역할을 담당하고 있을 것으로 여겨지고 있다(Dean 등, 1991; Akarasereenont 등, 1995; Subbaramaiah 등, 1996). 따라서 최근의 연구에서는 COX-2에 선택적인 저해제의 개발을 통하여 항염증제 및 암예방제 개발을 이루고자 하는 연구가 진행중이다(Oshima 등, 1996). 또한 일산화질소(nitric oxide, NO)의 경우도 과다한 생성은 염증 반응의 악화, 암화, 순환계 질환과 밀접한 연관이 있는 것으로 여겨지고 있어, NO 생성에 관여하고 있는 유도 nitric oxide synthase(inducible nitric oxide synthase, iNOS) 활성 억제제도 항염증제 및 암예방제로의 가능성이 대두되고 있다(Oshima와 Bartsch, 1994; Yun 등, 1996). 활성산소종 및 PGs, NO 등

\*To whom correspondence should be addressed.

이 염증 및 암화 과정에 깊이 관여하고 있음이 밝혀지고 있어 최근 이들 염증 매개인자들을 조절할 수 있는 물질의 탐색이 활발히 진행되고 있으며 특히 과일, 채소, 음료 등 식품류를 비롯한 천연물로부터 효능 물질을 밝히고자하는 노력을 기울이고 있다. 이들 미량 원소 중 폴리페놀성화합물 항산화제(polyphenolic antioxidants)가 산화적스트레스 및 염증과 관련된 질환의 예방 및 치료제로서의 가능성이 최근의 연구에서 관심을 끌고 있다(Dragsted, 1998; Mukhtar와 Agarwal, 1996). 그 중 포도(*Vitis vinifera*)에서 유래되는 페놀성화합물이 천연항산화제로서의 역할이 크게 대두되고 있다. 프로시아니딘(procyanidins), 안토시아닌(anthocyanins), 비니페린(viniferine) 및 레스베라트롤(resveratrol) 등의 물질이 포도의 주요한 페놀성화합물 구성 요소로서 알려져 있으며 특히 스티베린 계열의 레스베라트롤의 항산화 효능 및 항염증, 암세포성장억제 및 암예방 효능 물질로서의 가능성 연구 결과가 최근 많이 보고되고 있다(Jang 등, 1997). 레스베라트롤의 유용성이 점차 증가할 것으로 여겨지며 포도의 경우 포도껍질에 많이 분포하고 있으며 포도씨에 비해 포도껍질의 가공상의 어려움 등이 있어 실제 포도껍질의 활용성 부분에서 여러 한계가 있어왔다. 따라서 본 연구에서는 포도껍질에 함유된 것과 유사한 항산화성 페놀성화합물을 함유한 또 다른 원료의 확보와 유용성 증대의 일환으로 포도나무의 어린가지에서 추출한 추출물로부터 레스베라트롤을 비롯한 페놀성화합물을 높은 농도로 함유토록 제조한 원료에 대하여 생물활성을 검증하기 위하여 항산화활성 및 마우스 대식세포 배양에서 염증 반응과 밀접한 관련성이 있는 염증 매개인자의 생성에 미치는 영향을 검토하였다.

## 실험방법

### 시험물질 및 시약

포도나무가지 추출물(grapevine shoot extract, GSE)의 제조 및 공급 : 포도나무 어린가지 건조물 1kg에 아세톤 7리터를 가하고 상온에서 교반하면서 20시간 추출한 후 여과하고 그 여액을 증발건조시켰다. 추출건조물 25g에 대하여 50% 에탄올 250ml를 첨가한 후 상온에서 1시간 교반한 다음 원심분리하여 상등액을 취하여 증발건조 시킨것으로 Actichem, Inc.(Montauban, France)에서 제공받았으며 성상은 갈색을 띤 파우더로서 HPLC등의 성분분석으로 resveratrol이 10%, viniferine이 약 12% 정도 일정하게 함유하게 제조된 제품(Batch # R 10151, 제법특허 WO 01/03713 A1)으로 냉장보관하여 실험시 DMSO에 녹여 사용하였다.

1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl(DPPH), xanthine, xanthine oxidase, lipopolysaccharide(LPS), N-(1-naphthyl)ethylenediamine, sulfanilamide, sulforhodamine B(SRB), sodium nitrite 등의 시약은 Sigma Chemical Co.(St. Louis, MO,

USA)에서 구입하였다. Dulbecco's modified Eagle's medium(DMEM), minimal essential medium with Earles' salt(MEME), fetal bovine serum, non-essential amino acid solution(10 mM, 100X), trypsin-EDTA solution(1X), antibiotic-antimycotic solution(PSF) 등은 GIBCO-BRL(Gaithersburg, MD, USA)에서 구입하였다. Prostaglandin E<sub>2</sub>(PGE<sub>2</sub>) 및 PGE<sub>2</sub>-acetylcholinesterase는 Cayman Co.(Ann Arbor, MI, USA)에서 구입하였으며, 항-PGE<sub>2</sub> 항체는 (주)태평양기술연구소로부터 제공받았다.

### 1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl(DPPH) 프리 라디칼 소거법 측정

시료를 DMSO에 10 mg/ml 농도로 녹이고 5배씩 연속적으로 희석하여 5 µl를 취하여 96-well plate에 넣고 최종 농도가 300 µM이 되도록 DPPH solution(95 µl)을 가하고 37°C에서 30분간 반응시킨 후 515 nm에서 흡광도를 측정하였다. 대조군으로 DMSO를 사용하였으며, % 소거능은 시료의 값과 DMSO 대조군과의 비교값으로부터 구하였다(Lee 등, 1998a).

### Xanthine oxidase(XOD) 억제 효능 측정

Xanthine 용액(100 µM), xanthine oxidase(0.04 units), 시료 용액을 포함한 0.1 M 인산완충액(pH 7.8)을 실온에서 5분간 배양하면서 요산생성(uric acid formation) 정도를 295 nm에서 측정하였다. 대조군으로 DMSO를 함유한 용액의 O.D. 값의 변화와 시료 처리군에서의 O.D.값의 비교값으로부터 XOD 억제 효능을 측정하였다. 각 시료군은 duplicate로 측정하였다(Lee 등, 1998a).

### LPS 처리에 의한 PGE<sub>2</sub> 생성 저해 활성 측정

마우스 대식세포주인 RAW264.7 세포(American Type Culture Collection, Rockville, USA)를 10% FBS-DMEM에 현탁하여 10×10<sup>5</sup> cells/ml로 한 후, 이 현탁액에 최종 농도가 500 µM이 되도록 aspirin을 첨가해 세포에 잔존하는 cyclooxygenase(COX) 효소의 활성을 비가역적으로 억제하였다. 세포현탁액을 96-well plate의 각 well에 200 µl씩 가하고 4시간 동안 배양하여 부착시킨 다음, 부착된 세포를 PBS로 2회 세척하고 각 well에 1 µg/ml의 LPS를 함유한 10% FBS-DMEM 200 µl씩을 가하였다. 이때, 대조군에는 LPS가 없는 배지를 가하였다. LPS가 포함된 배지로 교환한 후 곧바로 검색 시료를 처리하여 20시간 동안 배양한 후 그 상층액을 취하여 유리된 prostaglandin양을 효소면역분석법으로 정량하였다. 항-PGE<sub>2</sub> 항체가 부착되어 있는 plate의 각 well에 회수한 상층액과 함께 PGE<sub>2</sub>-acetylcholinesterase tracer를 넣어 상온에서 18시간 배양하고 well에 남아 있는 용액을 씻어 낸 후, 0.05% Tween

20-phosphate buffer solution으로 각 well을 5회 세척 후 Ellman 시액 200  $\mu$ l를 각 well에 가한 후 7시간 배양한다 음 405 nm에서 흡광도를 측정하였다. PGE<sub>2</sub> 표준품으로 검량선을 작성하여 각 시료 처리한 배양액중의 PGE<sub>2</sub> 생성량을 구하였다. 100% 활성은 LPS를 처리한 군과 처리하지 않은 군에서 생성된 PGE<sub>2</sub>의 차이를 기준으로하여 각 시료의 억제율을 구하였다.

$$\% \text{ 억제율} = [1 - (\text{시료처리군의 PGE}_2\text{량} / \text{용매처리 대조군의 PGE}_2\text{량})] \times 100$$

#### LPS에 의한 nitric oxide(NO) 생성 저해 활성 측정

세포를 phenol red가 들어 있지 않은 10% FBS-DMEM으로  $8 \times 10^5$  cells/ml로 한 다음 24-well plate의 각 well당 1 ml 씩 가하여 4시간 동안 배양하여 부착시켰다. LPS 1  $\mu$ g/ml을 함유한 배지로 교환하고 동시에 시료를 가하여 20시간 배양한 후 상층액을 회수하여 96-well plate에 각 well 당 배양액 100  $\mu$ l씩 넣고 Griess 시약을 150  $\mu$ l씩 가해 10분간 가볍게 흔들어 준 후 ELISA reader를 이용하여 570 nm에서 흡광도를 측정하였다. NaNO<sub>2</sub>를 표준품으로하여 검량선을 작성하여 각 시료를 처리한 배양액 중의 NO 생성량을 구한 다음 그 값으로부터 각 시료 처리군에서의 저해 활성을 측정하였다.

$$\% \text{ 억제율} = [1 - (\text{시료처리군의 NO량} / \text{용매처리 대조군의 NO량})] \times 100$$

#### 암세포 성장에 미치는 영향 측정

세포성장에 미치는 영향은 SRB법으로 측정하였다(Lee 등, 1998b). 암세포주(A549, human lung carcinoma; Col2, human colon carcinoma)를 10% FBS, 1% PSF 등을 함유한 MEME 배지에서 계대 배양한 세포를 96-well plate의 각 well에 10% DMSO에 녹아있는 시료 10  $\mu$ l와 세포현탁액 190  $\mu$ l( $5 \times 10^4$  cells/ml)를 넣고 3일간 배양하였다. 최소 16 well에 실험에 사용한 동일한 세포현탁액 190  $\mu$ l를 넣고 30분간 배양하여 zero-day control로 하였다. 배양한 세포에 대하여 TCA로 고정시킨 후 SRB 용액으로 염색한 후 Tris-base로 염색액을 용해시킨 다음 515 nm에서 흡광도를 측정하였다. 세포의 생존율을 10% DMSO를 대조군으로하여 각 시험 물질 처리에 따른 생존율을 아래의 식에 따라 환산하였다.

$$\% \text{ survival} = \frac{\text{OD}(\text{sample}) - \text{OD}(0\text{-day})}{\text{OD}(10\% \text{ DMSO}) - \text{OD}(0\text{-day})} \times 100$$

#### 결과분석

각 시험항목에서 시료를 처리하지 않은 대조군을 100%로 하였을 때 시료처리군의 값을 DMSO 처리-대조군에 대

한 백분율로 나타내었으며, 대조군과 처리군의 차이는 Student's *t*-test로 비교하였으며, 대조군과 비교하여  $p < 0.05$  일 때 통계학적으로 유의성이 있다고 판정하였으며, 각 시험물질처리는 duplicate 혹은 triplicate 시험의 평균값  $\pm$  SEM으로 구하였다.

#### 실험결과

##### DPPH 프리 라디칼 소거 활성

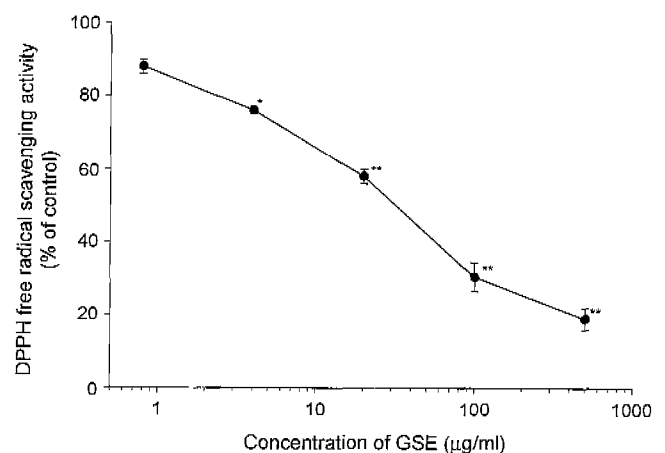
GSE의 프리 라디칼 소거능을 알아보기 위하여 수용액이나 에탄올 등의 용액내에서 비교적 안정한 프리 라디칼 형태를 유지하고 있는 DPPH를 사용하여 라디칼 소거능을 측정하였다. 시험 결과 GSE는 Fig. 1에서 보는 바와 같이 용량의존적으로 DPPH 프리 라디칼 소거 활성 효능을 보였으며 SC<sub>50</sub> 값이 약 34.5  $\mu$ g/ml로 나타났다.

##### XOD 활성 억제 효능

Xanthine oxidase(XOD)는 hypoxanthine을 xanthine을 거쳐 uric acid 생성 반응을 촉매하는 산화 효소로서 산소 존재하에 진행되어 superoxide anion 라디칼(O<sub>2</sub><sup>-</sup>)을 발생시킨다. 따라서 GSE의 효소 반응에 따른 라디칼 소거능을 알아보기 위하여 XOD 억제 효능을 측정하였다. 시험결과 Fig. 2에서 보는 바와 같이 시험 농도 4~500  $\mu$ g/ml에서 농도의존적으로 XOD 억제 활성을 보였으며 대조군과의 비교로부터 IC<sub>50</sub> 값이 약 155  $\mu$ g/ml을 나타내었다.

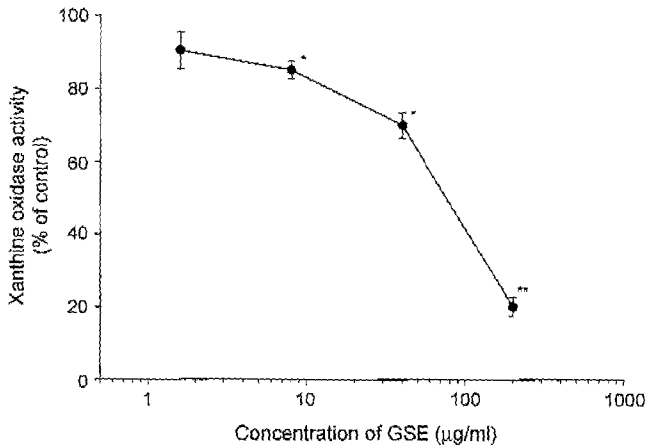
##### PGE<sub>2</sub> 생성 저해 효능

PGE<sub>2</sub>를 비롯한 prostaglandin 류들은 세포내에서 염증

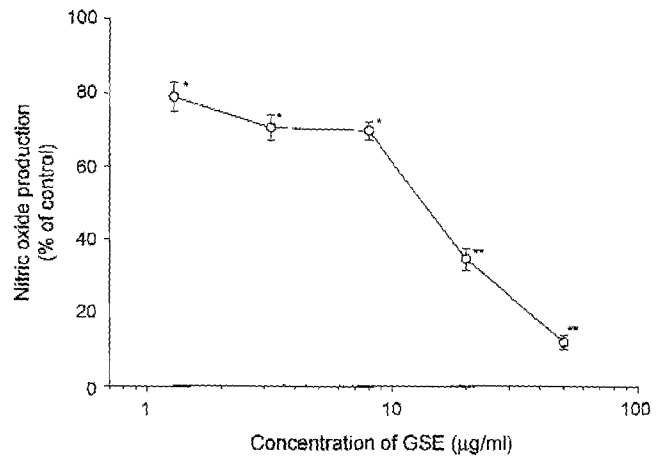


**Fig. 1.** Effect of GSE on 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) free radical scavenging activity. Each value represents mean  $\pm$  SEM (n=3 determinations). DPPH free radical scavenging activity for test sample was determined with 300  $\mu$ M DPPH ethanolic solution.

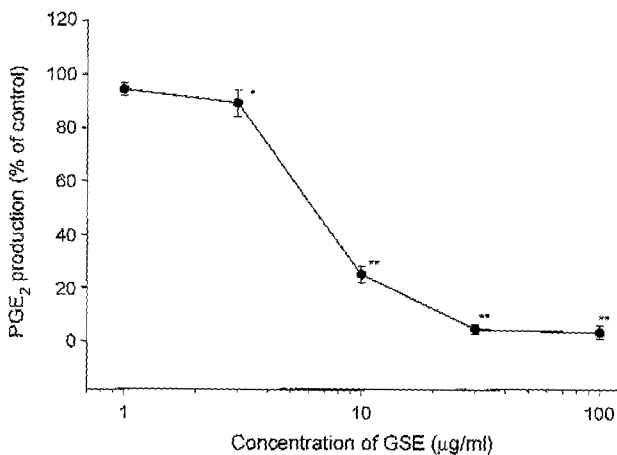
\* $p < 0.05$ , \*\* $p < 0.01$  compared to control.



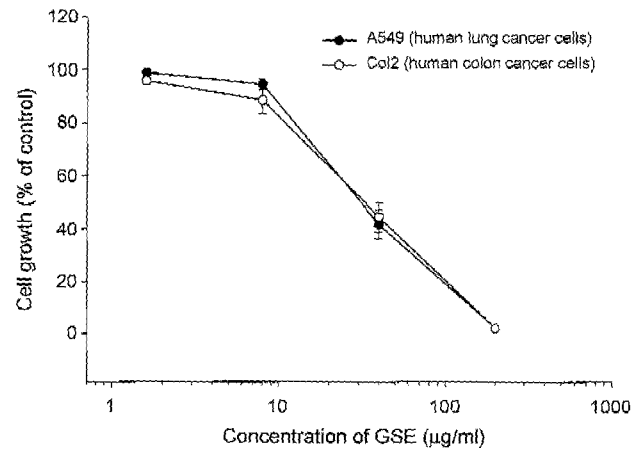
**Fig. 2.** Dose-dependent inhibitory effect of GSE on xanthine oxidase activity. Xanthine oxidase activity was monitored by uric acid formation determining absorbance at 295 nm. Incubation mixtures consisted of 0.1 M phosphate buffer (pH 7.8), xanthine (100 µM), xanthine oxidase (0.04 units), and GSE (indicated concentrations) to yield a final volume of 1.0 ml. Reactions were initiated by the addition of xanthine oxidase. Data represent mean ± SEM of duplicate determinations. \*p<0.05, \*\*p<0.01 compared to control.



**Fig. 4.** Inhibitory effect of GSE on LPS-induced nitric oxide (NO) generation in RAW264.7 cells. RAW264.7 cells were treated with LPS (1 µg/ml), and test sample dissolved in DMSO at the indicated concentrations. After 20 h, the nitric oxide levels were measured by the Griess reaction in culture medium. All values represent mean ± SEM of triplicate determinations relative to DMSO-treated control groups. \*p<0.05, \*\*p<0.01 compared to control.



**Fig. 3.** Suppressive effect of GSE on LPS-induced PGE<sub>2</sub> production in RAW264.7 cells. RAW264.7 cells were incubated with LPS (1 µg/ml), and DMSO, or with test sample dissolved in DMSO as the indicated concentrations for 20 h. The PGE<sub>2</sub> levels were determined using a commercial experimental kit (Cayman Co., Ann Arbor, MI, USA). Results are mean ± SEM of triplicate determinations relative to DMSO-treated control groups. \*p<0.05, \*\*p<0.01 compared to control.



**Fig. 5.** GSE inhibited the growth of cancer cells. Cells (A549, human lung carcinoma; Col2, human colon carcinoma) were plated at 10,000 cells/well in 96-well plate. Cultures were treated with DMSO or GSE at the concentrations of 1-200 µg/ml of medium. After 3 day incubation, the viable cells were determined by SRB dye staining method. Data represent mean ± SEM of triplicate determinations relative to DMSO-treated control groups.

반응을 매개하는 것으로 알려지고 있어 GSE의 항염증 효능을 알아보기 위하여 exogenous LPS 처리에 따라 COX 발현을 유도시킨 마우스 대식 세포에서 PGE<sub>2</sub> 생성에 미치는 영향을 검토하였다. Fig. 3에 나타난 바와 같이 GSE 처리에 따라 PGE<sub>2</sub> 생성이 농도의존적으로 억제됨을 알 수 있

었으며, 시험농도 30 µg/ml에서 95% 이상의 억제 효능을 보였으며 IC<sub>50</sub> 값이 6.4 µg/ml을 나타내었다.

**Nitric oxide(NO) 생성 저해 효능**

Fig. 4에서 보는 바와 같이 GSE 처리에 따라 LPS로 유도시킨 iNOS의 발현으로 생성되는 NO를 농도의존적으로 억제

함을 알 수 있었으며 IC<sub>50</sub> 값이 14.5 µg/ml로 나타났다.

### 암세포 성장 억제 효능

GSE의 암세포 성장에 미치는 영향을 알아보기 위하여 암세포주인 사람 폐암(A549) 및 결장암(Co12) 세포 배양에서 SRB법으로 측정하였다. 시험 물질 처리에 따라 암세포의 성장을 농도의존적으로 억제함을 알 수 있었으며 시험 물질 농도 40 µg/ml에서 폐암세포는 대조군에 비하여 약 40%, 결장암세포에 대하여 약 44%의 성장을 보였으며(Fig. 5), 시험농도 200 µg/ml에서는 95% 이상의 성장 억제율을 나타내었다.

## 고 찰

최근 천연물에 존재하는 항산화성 물질의 다양한 약리 효과가 밝혀지면서 과일, 채소, 음료 등에 함유된 물질의 규명 및 효능 있는 천연물에 대한 소재 개발이 활발히 이루어지고 있다. 특히 포도의 경우 최근의 일련의 연구에서 뚜렷한 약리 효과가 알려지고 있는 천연 재료중의 하나이다. "French Paradox"라고도 일컬어지는 사실중의 하나는 프랑스에서는 고콜레스테롤 식이 및 알코올 소비는 상대적으로 많으나 심장병에 의한 사망률이 다른 유럽지역에 비교하여 적은 것은 적포도주의 섭취와 무관하지 않을 것으로 여겨지고 있으며, 실제로 적포도주가 저밀도지질단백(LDL)치를 감소시킨다는 보고가 있다(Frankel 등, 1993; Kondo 등, 1994). 효능 물질로서 최근에 polyphenol성 물질인 레스베라트롤(resveratrol)이 주요한 성분일 것으로 여겨지고 있는데, 레스베라트롤은 포도껍질에 많이 함유되어 있으며, 이외 호장근, 오디, 땅콩류 등 70여종의 식물류에도 포함되어 있는 성분으로 라디칼 소거 작용 등이 있어 여러 만성질환이나 노화와 관련된 질환에도 효능이 있을 것으로 여겨지고 있다(Nonomura 등, 1963). 특히 레스베라트롤이 항산화 작용 및 항염증 효과, 암예방효과 등 다양한 약리작용이 보고되고 있어 이들 다기능성 성분이 다량 함유된 포도껍질의 활용성에 대한 기능성 식품 및 화장품 원료로서의 응용성에 대하여 연구가 활발히 진행되고 있다. 본 연구에서는 포도씨 및 포도껍질의 다기능성 물질의 유용성에 입각하여(Chan 등, 2000; Waffo-Tenguo 등, 2001) 이들 항산화성 다기능성 물질을 다량 얻을 수 있는 방법중의 하나로서 포도나무의 어린가지로부터 얻은 추출물(grapevine shoot extract, GSE)이 고함량의 레스베라트롤 및 비니페린(viniferine)을 함유하는 것을 확인하여 이들 추출물의 유용성 평가의 일환으로 프리 라디칼 소거능 및 염증 발현 인자의 생성에 미치는 효과를 검색하였다. 프리 라디칼(free radical), 특히 활성 산소종(reactive oxygen species, ROS)은 세포내의 DNA, RNA, 단백질에 작용하여 산화적스트레스를 가함으로써 각

종 유전적 변화 및 질환을 야기시키는 중요한 인자이기도하다. 실험 결과 GSE는 화학적 프리 라디칼인 DPPH 소거능이 있으며(Fig. 1), XOD를 저해함으로써 XOD에 의해 매개되는 활성산소종인 superoxide anion(O<sub>2</sub><sup>-</sup>)의 제거 효능도 지니고 있음을 알 수 있다(Fig. 2). 또한, 체내 염증 발현의 주요인자로서 프로스타글란딘(prostaglandins, PGs)류 및 일산화질소(nitric oxide, NO)의 역할이 대두되고 있다. 특히 염증발현에 관련되는 매개인자 생성에 역할을 담당하는 유도 효소에 의해 생성된 PGs 및 NO는 염증 반응을 야기시키고 암화 과정을 촉진하는 것으로 여겨지고 있어 이들 효소 억제제의 개발이 항염증제 및 암예방제 개발과 밀접한 관련성이 있다. PGs 생합성에 관여하는 효소로는 cyclooxygenase(COX)를 들 수 있으며 염증 매개에는 유도효소인 COX-2가 역할을 수행하며, NO 생성과 관련하여서는 iNOS가 촉매 역할을 담당하고 있다. 따라서 COX-2 및 iNOS 억제제는 항염증제 개발 및 암예방제 개발의 주요 target이 되고 있는 실정이다. 시험물질인 GSE는 LPS에 의해 유도된 효소의 발현에 따른 PGE<sub>2</sub> 및 NO 생성을 억제하는 효과를 보임으로서(Fig. 3 & 4) 염증 발현을 억제하고 암화 과정을 차단할 수 있을 것으로 여겨진다. 더불어 GSE가 암세포 성장을 억제하는 것으로 나타났기에(Fig. 5) 암예방제로서의 가능성도 있을 것으로 사료되며 이와 관련된 연구는 보다 깊이 있는 연구의 필요성이 대두된다.

이상의 결과로부터 포도나무 어린가지로부터 레스베라트롤, 비니페린등의 페놀성화합물이 고함유도록 제조된 GSE는 산화적스트레스를 완화하며 염증 발현과 관련된 인자의 세포내 생성을 억제하는 효능을 보임으로서 레스베라트롤 등에서 기대되는 식물에스트로젠성 효능 뿐아니라 항산화효과를 겸비한 원료로서 항산화제 혹은 항염증제 및 암예방제로서의 가능성이 있는 원료물질군으로 여겨지며, 따라서 기능성 식품, 화장품 등의 원료로서의 활용성이 높을 것으로 사료된다.

### 감사의 말씀

본 연구는 연구비 일부를 (주)태평양 연구비(2000년)로 수행되었으며 이에 감사 드립니다.

### 참고문헌

- Akarasereenont, P., Bakhle, Y. S., Thiemernam, C. and Vane, J. R. (1995) Cytokine-mediated induction of cyclo-oxygenase-2 by activation of tyrosine kinase in bovine endothelial cells stimulated by bacterial lipopolysaccharide. *Br. J. Pharmacol.* **115**, 401-408.
- Ames, N. B., Shigenaga, M. K. and Hagen, T. M. (1993) Oxidants, antioxidants, and the degenerative diseases of aging. *Proc.*

- Natl. Acad. Sci. USA* **90**, 7915-7922.
- Amiram, R., Angela, W., Ned, S. and Philip, N. (1988) Regulation of fibroblast cyclooxygenase synthesis by interleukin-1. *J. Biol. Chem.* **263**, 3022-3024.
- Cerutti, P. A. and Trump, B. F. (1991) Inflammation and oxidative stress in carcinogenesis. *Cancer Cells* **3**, 1-7.
- Chan, M. M.-Y., Mattiacci, J. A., Hwang, H. S., Shah, A. and Fong, D. (2000) Synergy between ethanol and grape polyphenols, quercetin, and resveratrol, in the inhibition of the inducible nitric oxide synthase pathway. *Biochem. Pharmacol.* **60**, 1539-1548.
- Dean, A. K., Bradley, S. F., Brian, C. V., Robert, W. L. and Harvey, R. H. (1991) TIS 10, a phorbol ester tumor promoter-inducible mRNA from Swiss 3T3 cells, encodes a novel prostaglandin synthase/cyclooxygenase homologue. *J. Biol. Chem.* **266**, 12866-12872.
- Dragsted, L. O. (1998) Natural antioxidants in chemoprevention. *Arch. Toxicol.* **20**, 209-226.
- Fischer-Nielsen, A., Jeding, I. B. and Loft, S. (1994) Radiation-induced formation of 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine and its prevention by scavengers. *Carcinogenesis* **15**, 1609-1612.
- Frankel, E. N., Kanner, J., German, J. B., Parks, E. and Kinsella, J. E. (1993) Inhibition of oxidation of human low-density lipoprotein by phenolic substances in red wine. *Lancet* **341**, 454-457.
- Halliwell, B., Gutteridge, J. M. C. and Cross, C. E. (1992) Free radicals, antioxidants, and human diseases: Where are we now? *J. Lab. Clin. Med.* **119**, 598-620.
- Huang, M., Stolina, M., Sharma, S., Mao, J. T., Zhu, L., Miller, P. W., Wollman, J., Herschman, H. and Dubinet, S. M. (1998) Non-small cell lung cancer cyclooxygenase-2-dependent regulation of cytokine balance in lymphocytes and macrophage: Up-regulation of interleukin 10 and down-regulation of interleukin 12 production. *Cancer Res.* **58**, 1208-1216.
- Jang, M., Cai, L., Udeani, G. O., Slowing, K. V., Thomas, C. F., Beecher, C. W. W., Fong, H.H., Farnsworth, N. R., Kinghorn, A. D., Mehta, R. G., Moon, R. C. and Pezzuto, J. M. (1997) Cancer chemopreventive activity of resveratrol, a natural product derived from grapes. *Science* **275**, 218-220.
- Kondo, K., Matsumoto, A., Kurata, H., Tanahashi, H., Koda, H., Amachi, T. and Itakura, H. (1994) Inhibition of low-density lipoprotein with red wine. *Lancet* **344**, 1152.
- Lee, S. K., Cui, B., Mrhta, R. R., Kinghorn, A. D. and Pezzuto, J. M. (1998b) Cytostatic mechanism and antitumor potential of novel 1H-cyclopenta[b]benzofuran lignans isolated from *Aglaia elliptica*. *Chemico-Biol. Interact.* **115**, 215-228.
- Lee, S. K., Mbwanbo, Z. H., Chung, H., Luyengi, L., Gamez, E. J. C., Mehta, R. G., Kinghorn, A. D. and Pezzuto, J. M. (1998a) Evaluation of the antioxidant potential of natural products. *Comb. Chem. & High Through. Screening* **1**, 35-46.
- Mukhtar, H. and Agarwal, R. (1996) Skin cancer chemoprevention. *J. Invest. Dermatol. Sym. Proc.* **1**, 209-214.
- Nonomura, S., Kanagawa, H. and Makimoto, A. (1963) Chemical constituents of polygonaceous plants. I. Studies on the components of Ko-jo-kon (*Polygonum cuspidatum* Sieb. et Zucc.). *Yakugaku Zasshi* **83**, 988.
- Oshima, H. and Bartsch, H. (1994) Chronic infections and inflammatory processes as cancer risk factors: possible role of nitric oxide in carcinogenesis. *Mutat. Res.* **305**, 253-264.
- Oshima, M., Dinchuk, J. E., Kargman, S. L., Oshima, H., Hancock, B., Kwong, E., Trzaskos, J. M., Evans, J. F. and Taketo, M.M. (1996) Suppression of intestinal polyposis in APC<sup>Δ716</sup> knockout mice by inhibition of prostaglandin endoperoxide synthase-2 (COX-2). *Cell* **87**, 803-809.
- Sheng, H., Shao, J., Morrow, J. D., Beachamp, R. D. and DuBois, R. N. (1998) Modulation of apoptosis and Bcl-2 expression by prostaglandin E2 in human colon cancer cells. *Cancer Res.* **58**, 362-366.
- Subbaramaiah, K., Telang, N., Ramonetti, J. T., Araki, R., Devito, B., Weksker, B. B. and Dannenberg, A. J. (1996) Transcription of cyclooxygenase-2 is enhanced in transformed mammary epithelial cells. *Cancer Res.* **56**, 4424-4429.
- Tsuji, M., Kawano, S., Tsujii, S., Sawaoka, H., Hori, M. and DuBois, R. N. (1998) Cyclooxygenase regulates angiogenesis induced by colon cancer cells. *Cell* **93**, 705-716.
- Vane, J. R., Bakhle, Y. S. and Botting, R. M. (1998) Cyclooxygenase 1 and 2. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* **38**, 97.
- Waffo-Teguo, P., Lee, D., Cuende, M., Merillon, J.-M., Pezzuto, J. M. and Kinghorn A. D. (2001) Two new stilbene dimer glucosides from grape (*Vitis vinifera*) cell cultures. *J. Nat. Prod.* **64**, 136-138.
- Yun, H. Y., Dawson, V. L. and Dawson, T. M. (1996) Neurobiology of nitric oxide. *Crit. Rev. Neurobiol.* **10**, 291-316.