

차가버섯 물 추출물의 추출온도에 따른 효능 비교 연구(II) -항산화 효능, 소염 및 항암 효과 연구-

박규천[#], 한효상, 이영중^{*}

경원대학교 한의과대학 본초학교실

The Comparative Study of the Effects of Fructificatio Inonoti Obliqui Aqueous Extract according to the Extraction Temperature(II) -Anti-oxidative Activity, anti inflammatory effect and cancer cell multiplication inhibition effect-

Kyu-Cheon Park[#], Hyo-Sang Han, Young-Jong Lee^{*}

Dept. of Herbology, College of Oriental Medicine, Kyungwon University
Seongnam 461-701, Korea

ABSTRACT

Objectives : The present study purposed to compare the antioxidant effect, anti inflammatory effect and cancer cell multiplication inhibition effect of Fructificatio Inonoti Obliqui aqueous extract according to extraction temperature.

Methods : We medicated animal models, which had experimental oxidation, with Fructificatio Inonoti Obliqui total extract and 50℃ low temperature leachate, and performed hematological analysis and blood chemical analysis with measuring SOD, GSH, catalase, NO and MDA content in the liver. In addition, we made comparative observation of anti inflammatory effect and anti-cancer effect.

Results : Compared to the control group, both the group medicated with Fructificatio Inonoti Obliqui total extract and with 50℃ low-temperature leachate were found to decrease the number of thrombocytes in blood plasma and NO content while to increase SOD activity and catalase activity significantly. Both groups also showed anti-inflammatory effect against THP-1 cells and a multiplication inhibition effect against liver cancer cells and stomach cancer cells significantly.

Conclusions : Both Fructificatio Inonoti Obliqui total extract and Fructificatio Inonoti Obliqui 50℃ low-temperature leachate have significant antioxidant effect, anti inflammatory effect and anti cancer effect.

Key words: Inonotus obliquus, Fructificatio Inonoti Obliqui, anti-oxidative effect, anti-inflammatory effect, anti-cancer effect

* 교신저자 : 이영중. 경기도 성남시 수정구 복정동 산 65, 경원대학교 한의과대학 본초학교실.

· Tel: 031-750-5415 · E-mail : garak@kyungwon.ac.kr

제1저자 : 박규천, 경원대학교 한의과대학 본초학교실

· 접수 : 2007년 11월 12일 · 수정 : 2007년 12월 11일 · 채택 : 2007년 12월 21일

서 론

차가버섯 *Inonotus obliquus* (Fr.) Pilat은 소나무 비늘버섯과(Hymenochaetaceae)에 속하는 약용 버섯으로, 주로 북위 45° 이상의 러시아를 비롯한 한랭지역에서 자생하는 검은 자작나무, 오리나무, 물푸레나무 등에 기생하는 균핵이다^{1,2)}.

中華本草⁵⁾에는 동속의 *Inonotus cuticularis* (Bull. ex Fr.)Karst가 습樹菌이라는 명칭으로 수재되어 있는데, 중국의 吉林, 江蘇, 浙江, 福建, 湖南, 廣東, 臺灣 등지에 분포하며,味甘 性平하여 順氣, 益神, 祛風, 抗腫瘤의 효능이 있어서 胃病, 麻風, 腫瘤 등을 치료하는 효능이 있다고 하였다.

차가버섯은 뜨거운 물에 우려먹는 방법으로 일찍부터 이용되어 왔으며¹³⁾, 차가버섯을 비롯한 대부분 버섯류의 생리활성 성분중에서 항종양 활성 성분은 물 추출물중에 함유된 다당체에 기인하는 것으로 알려져 있어서 차가버섯의 적절한 효능과 경제성을 고려할 때 수용성 추출물이 가장 바람직하다고 하였다¹⁹⁾. 그리고 시중에서 차가버섯을 복용하는 방법으로 고온으로 煎湯하여 복용하는 경우와, 50°C 내외에서 우려 먹는 경우 등이 있는데, 추출온도에 따른 효능의 차이에 대해서는 아직 보고된 바가 없다.

따라서 본 연구에서는 차가버섯의 추출온도에 따른 효능의 변화를 구명하기 위하여 차가버섯 물 추출물의 추출 온도에 따른 항산화 효과, 소염 효과, 암세포 증식 억제 효과를 비교하여 유의한 결과를 얻었기에 보고하는 바이다.

실 험

1. 재료

1) 약재

실험에 사용된 차가버섯 *Inonotus obliquus* (Fr.) Pilat은 러시아 이르크츠크 주에서 생산되었으며, 허벤텡 주식회사(서울, 한국)에서 2004년 수입한 것을 구입하여 기원의 眞僞와 품질의 優劣을 暎園大學校 韓醫科大學 本草學教室에서 감정하였다.

2) 동물

동물은 雄性인 6주령의 Sprague-Dawley 흰쥐를 (주)샘타코로부터 공급받아 실험당일까지 고형사료(抗生劑 無添加, 삼양사료)와 물을 충분히 공급하고,

실온 22±2°C를 유지하여 2주일간 실험실 환경에 적응시킨 후 실험에 사용하였다.

2. 방법

1) 추출

(1) 전탕 추출

차가버섯 100g에 1L의 증류수를 가하고 약탕기(웅진약탕기, 한국)를 이용하여 3시간 동안 끓인 다음 여과지로 여과한 후 감압증류장치를 이용하여 수분을 제거하여 분말 20.5g을 얻었다.

(2) 저온 침출

차가버섯의 분말 100g에 1L의 증류수를 가하고 진탕 배양기(Jeiotec, 한국)를 이용하여 50°C에서 3시간 동안 저온 침출 하였다. 진탕 후 여과지로 여과한 다음 감압증류장치를 이용하여 수분을 제거하고 분말 16g을 얻었다.

2) 산화 동물모델에서의 항산화 효과 측정

(1) AAPH[2,2'-azobis(2-amidinopropane) dihydrochloride]에 의한 산화적 스트레스 유발 및 약물 투여 SD 흰쥐를 각 정상군, 대조군, 차가버섯 전탕액군(FIOD), 차가버섯 50°C 저온 침출액군(FIO 50°C)으로 나누어 실험 하였다. 흰쥐는 각 군 8 마리씩으로 하였다. 대조군은 50mg/kg의 AAPH를 매일 1회씩 7일간 복강에 투여 하였고, 치료 군에는 AAPH 투여와 함께 1%의 차가버섯 전탕액과 50°C 저온 침출액을 200μl씩 7일간 매일 1회씩 경구 투여 하였다. 약물 투여 종료 후 12시간 절식 시킨 다음 간 조직 적출과 채혈을 실시하였다.

(2) Hematology 분석

실험 종료 24시간 후 ethyl ether를 이용해 흰쥐를 마취한 후 심장 채혈 법으로 채혈하였다. 채혈한 혈액은 CBC bottle에 넣어 적혈구, 백혈구, 혈소판 수치를 (주)이원 임상검사센터(대전, 한국)에 의뢰하여 측정하였다.

(3) Blood chemistry 분석

실험 종료 24시간 후 ethyl ether를 이용해 흰쥐를 마취한 후 심장 채혈 법으로 채혈하였다. 채혈한 혈액은 6,500rpm 15분간 원심 분리하여, LDL cholesterol, total bilirubin, albumin, glucose를 (주)이원 임상검사센터(대전, 한국)에 의뢰하여 측정하였다.

(4) 간장에서의 항산화 효과 측정

① 간 조직의 분획

간 조직의 일부를 적출한 후 Bansal등의 방법²²⁾에 의해 4배의 150mM KCl을 가하여 homogenizer를 이용하여 균질화 하였다. 균질화 한 조직을 1차 원심분리(1,000rpm 20분)한 후 균질화 되지 않은 조직 등을 제거하고 2차 원심분리(4,000rpm 30분)하여 상등액을 취하여 NO, GSH, catalase를 측정하였고, 나머지는 3차 원심분리(20,000rpm 1시간) 후 상등액을 취하여 SOD, malondialdehyde(MDA)를 측정하였다.

② SOD activity

SOD assay kit(Dojindo. JAPAN)를 이용하여 측정하였고, 450nm에서 흡광도를 측정한 후 SOD activity를 계산 하였다.

③ GSH

Glutathione kit(Dojindo. JAPAN)를 이용하여 측정하였고 405nm에서 흡광도를 측정한 후 GSH의 농도를 계산하였다.

④ NO assay

Nitric oxide assay kit(Dojindo. JAPAN)를 이용하여 측정하였고, 450nm에서 흡광도를 측정한 후 NO의 함량을 계산하였다.

⑤ Lipid peroxidation

Lipid peroxidation assay kit(Oxford Biomedical Research. USA)를 이용하여 측정하였고 586nm에서 흡광도를 측정한 후 MDA를 계산하였다.

⑥ Catalase activity

Catalase 활성도 측정은 Abei의 방법²⁴⁾에 따라 3.0ml cuvette에 130nm phosphate buffer(pH 7.0) 500 μ l, 간 분획물 40 μ l 와 증류수 660 μ l를 혼합하여 기질인 15mM H₂O₂ 농도에 의한 흡광도의 감소율을 측정하였다. 효소의 활성도는 1분 동안 1 μ M의 H₂O₂를 분해시키는 효소의 량을 1unit로 표시하였다.

3) THP-1 세포에 대한 소염 효과 측정

THP-1 세포를 한국세포주 은행에서 공급받아 37 $^{\circ}$ C CO₂ incubator에서 배양 하였다.

배양한 세포를 96well plate에 2x10⁶/well세포씩 분주한 후 각 분획물 희석액을 가하여 1시간 동안 배양 하였다. 배양 후 10 μ g/ml의 LPS (lipopolysaccharide)를 처리한 후 48시간 배양하였다. 그리고 원심분리(1,200rpm 5분)한 후 상등액을 취하고 ELISA kit (Biosource.USA)을 이용하여 IL-6, IL-1b를 측정하였다.

4) 항암 효과 측정

(1) 간암세포 증식 억제 효과

간암 세포 증식 억제 효과 측정은 SRB assay법²¹⁾을 약간 변형하여 사용하였다. 간암 유래의 HepG2 세포(한국 세포주 은행)를 37 $^{\circ}$ C의 5% CO₂ incubator에서 배양한 후 Trysin-EDTA를 처리하여 단일 세포들이 되도록 떼어내어 96well plate에 2x10⁶ cells/well 가 되도록 분주하고 incubator에서 2시간 동안 배양 하였다. 배양 후 각 차가버섯 전탕액과 전탕액의 n-BuOH 분획물, 차가버섯 50 $^{\circ}$ C 추출물과 추출물의 n-BuOH 분획물을 1%로 하여 가한 후 48시간 배양 하였다. 배양 종료 후 배양액을 버리고 D-PBS로 2회 washing 후 각 well에 50%TCA(trichloroacetic acid)를 50 μ l 씩 가하여 4 $^{\circ}$ C에서 1시간동안 방치 하였다. 증류수로 5회 washing 후 공기 중에서 건조하였다. 건조된 후 SRB(0.4%/1% acetic acid) 용액을 100 μ l/well씩 가하고 실온에서 30분간 염색하였다. 그리고 0.1% acetic acid 용액으로 5회 washing 후 공기 중에서 건조하고 10mM Tris Base 100 μ l/well로 용해 시켰다. ELISA reader를 이용하여 흡광도 540nm에서 측정하였다. n-BuOH 분획물은 “차가버섯 물 추출물의 추출온도에 따른 효능 비교 연구(I)”에서 분획한 것을 사용하였다.

(2) 위암세포 증식 억제 효과

위암 세포 증식 효과 측정은 MTT assay 법²⁵⁾을 사용하였다. 위암 유래의 SNU-1 세포(human. 한국 세포주 은행)를 96 well plate의 2x10⁶cells/well이 되도록 넣고 37 $^{\circ}$ C의 5% CO₂ incubator에서 12시간 배양한 후 차가버섯 전탕액과 전탕액의 n-BuOH 분획물, 차가버섯 50 $^{\circ}$ C 추출물과 추출물의 n-BuOH 분획물을 1%로 하여 가한 후 48시간 배양 하였다. 배양 후 각 well에 MTT solution을 100 μ l씩 첨가하여 4시간동안 incubation시킨 후, 각 well에 100 μ l의 DMSO를 첨가하여 15-20분간 plate shaker로 흔들어 준 뒤 ELISA reader를 사용하여 wave length 540nm에서 흡광도를 측정하였다. n-BuOH 분획물은 “차가버섯 물 추출물의 추출온도에 따른 효능 비교 연구(I)”에서 분획한 것을 사용하였다.

5) 통계처리

본 실험에서 얻은 결과를 ANOVA multi t-test (JAVA, Bonferroni Ver 1.1)로 분석하여 p값을 구하였다. 각 실험군을 대조군과 비교하여 p<0.05 일 때 유의성이 있는 것으로 판정하였다.

결 과

1. Hematology 분석

각 실험군의 혈액을 채취하여 적혈구, 백혈구 및 혈소판의 수를 측정하였다(Table 1).

Table 1. Hematology Analysis

	RBC(x10 ⁶ /μl)	WBC(x10 ³ /μl)	PLT(x10 ³ /μl)
Normal	8.9±0.2	7.1±0.5	501.7±4.2
Control	7.6±0.3	9.5±0.5	865.7±161.3#
FIOd	9.0±1.6	7.3±1.0	487.0±86.8**
FIO50C	8.7±0.5	7.9±3.2	588.8±101.8*

The rats were injected intraperitoneally (i.p) with AAPH for 7 days (once a day, 50mg/kg) and orally administered with the decoction extract and 50°C aqueous extract from Fructificatio Inonoti Obliqui (1%) for 7 days (once a day, 200μl). The animals were anesthetized with ethyl ether and the blood samples were taken from the heart.

Normal: Normal SD rat

Control: AAPH injection

FIOd: AAPH + Fructificatio Inonoti Obliqui decoction

FIO50C: AAPH + 50°C aqueous extract from Fructificatio Inonoti Obliqui

Values represent the means ± SD of 8 rats.

** : P<0.01 * : P<0.05 compared to control group.

: 0.05 compared to normal group.

1) 적혈구 수

각 실험군의 혈액을 채취하여 적혈구의 수를 측정 한 결과, 대조군에서 정상군에 비하여 적혈구 수가 감소하였으나 유의성은 없었고, 차가버섯 투여군에서는 대조군에 비하여 적혈구 수가 증가하였으나 유의성은 보이지 않았다(Fig. 1).

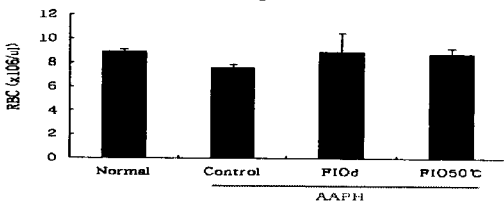


Fig. 1. Effects of decoction extract and 50°C aqueous extract from Fructificatio Inonoti Obliqui on RBC population in blood of oxidated rat.

The rats were injected with AAPH(50mg/kg) intraperitoneally(i.p.) once a day for 7days. The rats in FIOd and FIO50C groups were treated with decoction extract and 50°C aqueous extract from Fructificatio Inonoti Obliqui (1%) respectively for 7 days(one time/day, 200μl).The animals were anesthetized with ethyl ether and

the blood samples were taken from the heart and the number of RBC was measured.

Normal: Normal SD rat

Control: AAPH injection

FIOd: AAPH injection and treatment with Fructificatio Inonoti Obliqui decoction

FIO50C: AAPH injection and treatment with 50°C aqueous extract from Fructificatio Inonoti Obliqui

Values represent the mean ± SD of 8 rats

2) 백혈구 수

각 실험군의 혈액을 채취하여 백혈구의 수를 측정 한 결과, 대조군은 정상군에 비하여 백혈구의 수가 증가하였으나 유의성은 없었고, 차가버섯 투여군에서는 대조군에 비하여 감소하였으며 50°C 저온 침출액에 비하여 전탕액에서 더 감소하였으나 유의성은 없었다(Fig. 2).

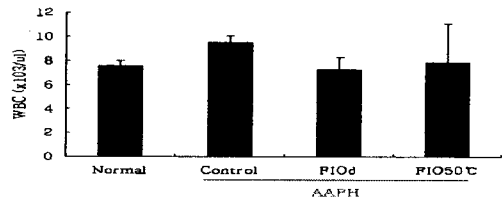


Fig. 2. Effects of decoction extract and 50°C aqueous extract from Fructificatio Inonoti Obliqui on WBC population in blood of oxidated rat.

The rats were injected with AAPH(50mg/kg) intraperitoneally(i.p.) once a day for 7days. The rats in FIOd and FIO50C groups were treated with decoction extract and 50°C aqueous extract from Fructificatio Inonoti Obliqui (1%) respectively for 7 days(one time/day, 200μl). The animals were anesthetized with ethyl ether and the blood samples were taken from the heart and the number of WBC was measured.

Normal: Normal SD rat

Control: AAPH injection

FIOd: AAPH injection and treatment with Fructificatio Inonoti Obliqui decoction

FIO50C: AAPH injection and treatment with 50°C aqueous extract from Fructificatio Inonoti Obliqui Values represent the mean ± SD of 8 rats

3) 혈소판 수

각 실험군의 혈액을 채취하여 혈소판 수를 측정 한 결과, 정상군에 비하여 대조군에서 혈소판이 유의성 있게 증가하였고, 차가버섯 투여군에서는 대조

군에 비하여 유의성 있게 감소하였으며, 전탕액에서 50℃ 저온 침출액보다 더욱 큰 감소를 나타내었다 (Fig. 3).

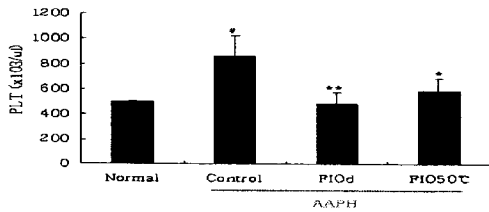


Fig. 3. Effects of decoction extract and 50℃ aqueous extract from Fructificatio Inonoti Obliqui on PLT population in blood of oxidated rat.

The rats were injected with AAPH(50mg/kg) intraperitoneally(i.p.) once a day for 7days. The rats in FIOd and FIO50C groups were treated with decoction extract and 50℃ aqueous extract from Fructificatio Inonoti Obliqui (1%) respectively for 7 days(one time/ day. 200μl). The animals were anesthetized with ethyl ether and the blood samples were taken from the heart and the number of PLT was measured.

Normal: Normal SD rat

Control: AAPH injection

FIOd: AAPH injection and treatment with Fructificatio Inonoti Obliqui decoction

FIO50C: AAPH injection and treatment with 50℃ aqueous extract from Fructificatio Inonoti Obliqui

Values represent the mean ± SD of 8 rats

** : P<0.01 * : P<0.05 compared to control group, # : 0.05 compared to normal group.

2. Blood chemistry 분석

각 실험군에서 취한 혈청에서 albumin, total bilirubin, LDL cholesterol 및 glucose를 측정하였다 (Table 2).

Table 2. Blood Chemistry Analysis

	Albumin (g/dl)	Total bilirubin (mg/dl)	LDL cholesterol (mg/dl)	Glucose (mg/dl)
Normal	2.90±0.06	0.240±0.017	16.2±1.9	128.3±4.0
Control	2.61±0.14#	0.153±0.015	24.7±0.6#	57.3±4.0###
FIOd	2.81±0.14	0.203±0.042	20.3±5.1	151.7±21.2*
FIO50C	2.78±0.09	0.172±0.023	17.3±3.0	65.4±10.5

The rats were injected intraperitoneally (i.p) with AAPH for 7

days (once a day. 50mg/kg) and orally administered with the decoction extract and 50℃ aqueous extract from Fructificatio Inonoti Obliqui (1%) for 7 days (once a day. 200μl). The animals were anesthetized with ethyl ether and the blood samples were taken from the heart.

Normal: Normal SD rat

Control: AAPH injection

FIOd: AAPH + Fructificatio Inonoti Obliqui decoction

FIO50C: AAPH + 50℃ aqueous extract from Fructificatio Inonoti Obliqui

Values represent the means ± SD of 8 rats.

: 0.05, ### : 0.001 compared to normal group,

*** : P<0.001 compared to control group.

1) Albumin

각 실험군에서 취한 혈청에서 albumin을 측정한 결과, 대조군은 정상군에 비하여 유의성 있게 감소하였고, 차가버섯 투여군에서는 대조군에 비하여 증가하였으나 유의성은 없었다. 차가버섯의 전탕액에서 50℃ 저온 침출액보다 약간 더 증가하였으나 통계적 유의성은 없었다(Fig. 4).

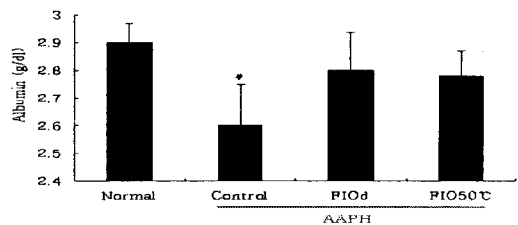


Fig. 4. Effects of decoction extract and 50℃ aqueous extract from Fructificatio Inonoti Obliqui on serum albumin level of oxidated rat.

The rats were injected with AAPH(50mg/kg) intraperitoneally(i.p.) once a day for 7days. The rats in FIOd and FIO50C groups were treated with decoction extract and 50℃ aqueous extract from Fructificatio Inonoti Obliqui (1%) respectively for 7 days(one time/ day. 200μl). The animals were anesthetized with ethyl ether and the blood samples were taken from the heart and the serum albumin level was measured.

Normal: Normal SD rat

Control: AAPH injection

FIOd: AAPH injection and treatment with Fructificatio Inonoti Obliqui decoction

FIO50C: AAPH injection and treatment with 50℃ aqueous extract from Fructificatio Inonoti Obliqui

Values represent the mean ± SD of 8 rats. # : P<0.05 compared to normal group.

2) Total bilirubin

각 실험군에서 취한 혈청에서 total bilirubin을 측정 한 결과, 대조군은 정상군에 비하여 유의성 있게 감소하였고, 차가버섯 투여군에서는 대조군에 비하여 증가하였으나 유의성은 없었다. 차가버섯의 전탕액에서 50°C 저온 침출액보다 total bilirubin이 더 증가하였으나 통계적 유의성은 없었다(Fig. 5).

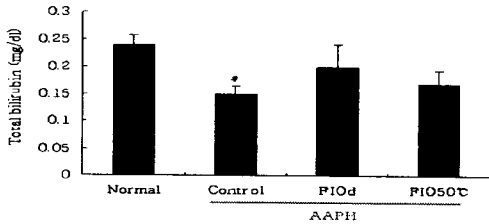


Fig. 5. Effects of decoction extract and 50°C aqueous extract from Fructificatio Inonoti Obliqui on total bilirubin level in serum of oxidated rat.

The rats were injected intraperitoneally (i.p) with AAPH for 7 days (once a day, 50mg/kg) and orally administered with the decoction extract and 50°C aqueous extract from Fructificatio Inonoti Obliqui (1%) for 7 days (once a day, 200 μ l). The animals were anesthetized with ethyl ether and the blood samples were taken from the heart and the level of total bilirubin in serum was measured.

Normal: Normal SD rat

Control: AAPH injection

FIOd: AAPH + Fructificatio Inonoti Obliqui decoction

FIO50°C: AAPH + 50°C aqueous extract from Fructificatio Inonoti Obliqui

Values represent the means \pm SD of 8 rats.

#: P<0.05 compared to normal group.

3) LDL cholesterol

각 실험군에서 취한 혈청에서 LDL cholesterol을 측정 한 결과, 대조군은 정상군에 비하여 유의성 있게 증가하였고, 약물 투여군에서는 대조군에 비하여 감소하였으나 유의성은 없었으며, 차가버섯의 전탕액보다 50°C 저온 침출액에서 약간 더 감소하였다 (Fig. 6).

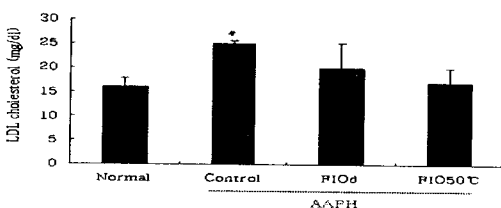


Fig. 6. Effects of decoction extract and 50°C aqueous extract

from Fructificatio Inonoti Obliqui on LDL cholesterol level in serum of oxidated rat.

The rats were injected intraperitoneally (i.p) with AAPH for 7 days (once a day, 50mg/kg) and orally administered with the decoction extract and 50°C aqueous extract from Fructificatio Inonoti Obliqui (1%) for 7 days (once a day, 200 μ l). The animals were anesthetized with ethyl ether and the blood samples were taken from the heart and the level of LDL cholesterol in serum was measured.

Normal: Normal SD rat

Control: AAPH injection

FIOd: AAPH + Fructificatio Inonoti Obliqui decoction

FIO50°C: AAPH + 50°C aqueous extract from Fructificatio Inonoti Obliqui

Values represent the means \pm SD of 8 rats.

#: P<0.05 compared to normal group.

4) Glucose

각 실험군에서 취한 혈청에서 glucose의 생성을 측정 한 결과, 대조군은 정상군에 비하여 유의성 있게 감소하였고, 차가버섯 전탕액 투여군에서는 대조군에 비하여 유의성 있게 증가하였고, 차가버섯 50°C 저온 침출액 투여군에서는 약간 증가하였으나 유의성은 없었다(Fig. 7).

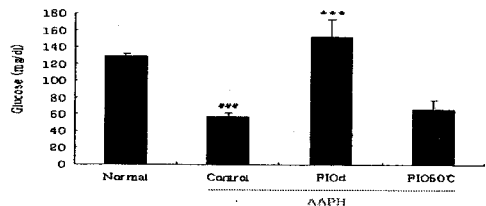


Fig. 7. Effects of decoction extract and 50°C aqueous extract from Fructificatio Inonoti Obliqui on serum glucose level of oxidated rat.

The rats were injected intraperitoneally (i.p) with AAPH for 7 days (once a day, 50mg/kg) and orally administered with the decoction extract and 50°C aqueous extract from Fructificatio Inonoti Obliqui (1%) for 7 days (once a day, 200 μ l). The animals were anesthetized with ethyl ether and the blood samples were taken from the heart and the serum glucose level was measured.

Normal: Normal SD rat

Control: AAPH injection

FIOd: AAPH + Fructificatio Inonoti Obliqui decoction

FIO50°C: AAPH + 50°C aqueous extract from Fructificatio Inonoti Obliqui

Values represent the means \pm SD of 8 rats.

***: P<0.001 compared to control group, ###: P<0.001 compared to normal group.

3. 간장에서의 항산화 효과

흰쥐에서 적출한 간 조직을 분획하여 SOD의 활성, GSH의 함량, NO함량, MDA함량 및 catalase의 함량을 측정하였다(Table 3).

Table 3. Antioxidative Effect of the FIOd and FIO50°C

	SOD(%)	GSH ($\mu\text{mol}/\ell$)	NO ($\mu\text{mol}/\ell$)	MDA ($\mu\text{mol}/\text{ml}$)	Catalase (U/mg)
Normal	96.2±5.1	94.4±5.6	24.2±9.7	2.9±0.1	287.7±13.5
Control	75.8±11.0#	31.6±4.8#	111.9±9.4	3.9±0.4#	117.0±33.5#
FIOd	104.3±1.0	43.5±6.1	40.4±11.1	3.1±0.1*	223.3±13.6
FIO50°C	104.3±1.6	50.8±16.2	46.7±3.4*	3.3±0.3	199.7±18.3

The rats were injected intraperitoneally (i.p) with AAPH for 7 days (once a day, 50mg/kg) and orally administered with the decoction extract and 50°C aqueous extract from Fructificatio Inonoti Obliqui (1%) for 7 days (once a day, 200 μl). After the animals were sacrificed, the liver was removed and the concentrations of SOD, glutathione, NO, MDA and catalase in liver were estimated.

Normal: Normal SD rat

Control: AAPH injection

FIOd: AAPH + Fructificatio Inonoti Obliqui decoction

FIO50°C: AAPH + 50°C aqueous extract from Fructificatio Inonoti Obliqui

Values represent the means \pm SD of 8 rats.

#: 0.05, ##: 0.001 compared to normal group,

*: P<0.05 **: P<0.01, ***: P<0.001 compared to control group.

1) SOD assay

흰쥐에서 적출한 간 조직을 분획하여 SOD의 활성을 측정한 결과, 대조군은 정상군에 비하여 유의성 있게 감소하였고, 차가버섯 투여군에서는 SOD의 활성이 대조군에 비하여 유의성 있게 증가하였다(Fig. 8).

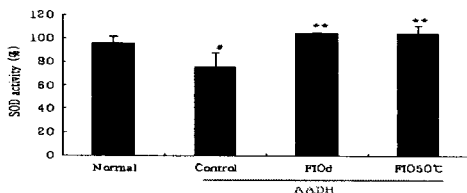


Fig. 8. Effects of decoction extract and 50°C aqueous extract from Fructificatio Inonoti Obliqui on the SOD activity in liver.

The rats were injected intraperitoneally (i.p) with AAPH for 7 days (once a day, 50mg/kg) and orally administered with the decoction extract and 50°C aqueous extract from Fructificatio Inonoti Obliqui (1%) for 7 days (once a day, 200 μl). After the animals were sacrificed, the liver was removed and SOD was estimated.

Normal: Normal SD rat

Control: AAPH injection

FIOd: AAPH + Fructificatio Inonoti Obliqui decoction

FIO50°C: AAPH + 50°C aqueous extract from Fructificatio Inonoti Obliqui

Values represent the means \pm SD of 8 rats.

**P<0.01 compared to control group,

#P<0.05 compared to normal group.

2) GSH assay

흰쥐에서 적출한 간 조직을 분획하여 GSH의 함량을 측정한 결과, 대조군은 정상군에 비하여 유의성 있게 감소하였고, 약물 투여군에서는 차가버섯 50°C 저온 침출액에서 대조군에 비하여 유의성 있게 증가하였고 차가버섯 전탕액에서는 증가하였으나 유의성은 없었다(Fig. 9).

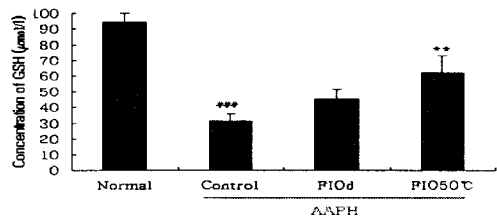


Fig. 9. Effects of decoction extract and 50°C aqueous extract from Fructificatio Inonoti Obliqui on the concentration of hepatic glutathione.

The rats were injected intraperitoneally (i.p) with AAPH for 7 days (once a day, 50mg/kg) and orally administered with the decoction extract and 50°C aqueous extract from Fructificatio Inonoti Obliqui (1%) for 7 days (once a day, 200 μl). After the animals were sacrificed, the liver was removed and GSH concentration was measured.

Normal: Normal SD rat

Control: AAPH injection

FIOd: AAPH + Fructificatio Inonoti Obliqui decoction

FIO50°C: AAPH + 50°C aqueous extract from Fructificatio Inonoti Obliqui

Values represent the means \pm SD of 8 rats.

**P<0.01 compared to control group,

###P<0.001 compared to normal group.

3) NO assay

흰쥐에서 적출한 간 조직을 분획하여 NO함량을 측정한 결과, 대조군은 정상군에 비하여 유의성 있게 증가하였고, 약물 투여군에서는 차가버섯의 전탕액과 차가버섯 50℃ 저온 침출액 모두 대조군에 비하여 유의성 있게 감소하였다(Fig. 10).

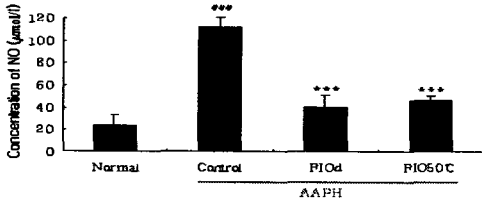


Fig. 10. Effects of decoction extract and 50℃ aqueous extract from Fructificatio Inonoti Obliqui on the concentration of hepatic nitric oxide.

The rats were injected intraperitoneally (i.p) with AAPH for 7 days (once a day, 50mg/kg) and orally administered with the decoction extract and 50℃ aqueous extract from Fructificatio Inonoti Obliqui (1%) for 7 days (once a day, 200µl). After the animals were sacrificed, the liver was removed and NO concentration was measured.

Normal: Normal SD rat

Control: AAPH injection

FIOd: AAPH + Fructificatio Inonoti Obliqui decoction

FIO50C: AAPH + 50℃ aqueous extract from Fructificatio Inonoti Obliqui

Values represent the means ± SD of 8 rats.

***: P<0.001 compared to control group

###: P<0.001 compared to normal group

4) Lipid peroxidation assay

흰쥐에서 적출한 간 조직을 분획하여 MDA함량을 측정한 결과, 대조군은 정상군에 비하여 유의성 있게 증가하였고, 약물 투여군에서는 차가버섯의 전탕액에서 대조군에 비하여 유의성 있게 감소하였으나 차가버섯 50℃ 저온 침출액에서는 감소하였으나 유의성은 없었다(Fig. 11).

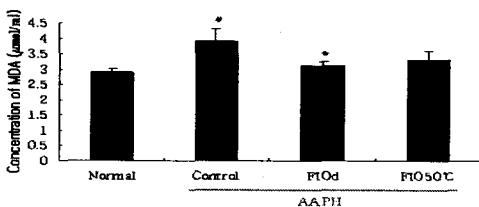


Fig. 11. Effects of decoction extract and 50℃ aqueous extract

from Fructificatio Inonoti Obliqui on the concentration of hepatic MDA.

The rats were injected intraperitoneally (i.p) with AAPH for 7 days (once a day, 50mg/kg) and orally administered with the decoction extract and 50℃ aqueous extract from Fructificatio Inonoti Obliqui (1%) for 7 days (once a day, 200µl). After the animals were sacrificed, the liver was removed and the concentration of hepatic MDA was estimated.

Normal: Normal SD rat

Control: AAPH injection

FIOd: AAPH + Fructificatio Inonoti Obliqui decoction

FIO50C: AAPH + 50℃ aqueous extract from Fructificatio Inonoti Obliqui

Values represent the means ± SD of 8 rats.

#: P<0.05 compared to control group, #: P<0.05 compared to normal group.

5) Catalase activity

흰쥐에서 적출한 간 조직을 분획하여 catalase의 함량을 측정한 결과, 대조군은 정상군에 비하여 유의성 있게 감소하였고, 약물 투여군에서는 차가버섯의 전탕액과 차가버섯 50℃ 저온 침출액 모두 대조군에 비하여 유의성 있게 증가하였다(Fig. 12).

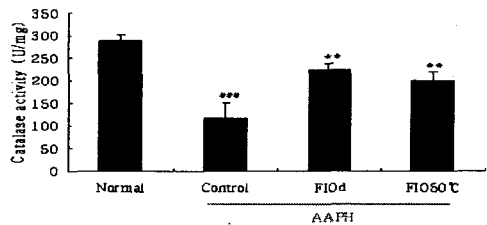


Fig. 12. Effects of decoction extract and 50℃ aqueous extract from Fructificatio Inonoti Obliqui on catalase activity.

The rats were injected intraperitoneally (i.p) with AAPH for 7 days (once a day, 50mg/kg) and orally administered with the decoction extract and 50℃ aqueous extract from Fructificatio Inonoti Obliqui (1%) for 7 days (once a day, 200µl). After the animals were sacrificed, the liver was removed and catalase activity was estimated.

Normal: Normal SD rat

Control: AAPH injection

FIOd: AAPH + Fructificatio Inonoti Obliqui decoction

FIO50C: AAPH + 50℃ aqueous extract from Fructificatio Inonoti Obliqui

Values represent the means ± SD of 8 rats.

**: P<0.01 compared to control group,

###: P<0.001 compared to normal group.

4. THP-1 세포에 대한 소염 효과

THP-1 세포에 차가버섯의 전탕액 및 전탕액의 n-BuOH 분획물과, 차가버섯 50°C 저온 침출액 및 50°C 저온 침출액의 n-BuOH 분획물을 가하고 IL-6 과 IL-1β의 분비를 측정하였다(Table 4).

Table 4. Effects of Total Extract and n-BuOH Fraction of FIOd and FIO50°C on the Levels of IL-6 and IL-1β in THP-1 Cell Culture Supernatant

		IL-6(pg/ml)	IL-1β(pg/ml)
Normal		31±5	6.2±1.3
Control		163±24###	22.2±2.5###
Total ex.	FIOd	115±22	17.8±1.7
	FIO50°C	111±9	17.7±5.7
n-BuOH fraction	FIOd	102±41	18.4±1.4
	FIO50°C	98±16	17.8±2.3

THP-1 cells were treated with total extracts and n-BuOH Fractions of decoction extract and 50°C aqueous extract from Fructificatio Inonoti Obliqui, and IL-6 and IL-1β level were determined using ELISA.

Normal: THP-1 cells

Control: THP-1 cells treated with LPS

FIOd: THP-1 treated with LPS and Fructificatio Inonoti Obliqui decoction

FIO50°C: THP-1 treated with LPS and 50°C aqueous extract from Fructificatio Inonoti Obliqui

Values represent the means ± SD of three independent experiments.

###: P<0.001 compared to normal group.

1) IL-6

THP-1 세포에 차가버섯의 전탕액 및 전탕액의 n-BuOH 분획물과, 차가버섯 50°C 저온 침출액 및 50°C 저온 침출액의 n-BuOH 분획물을 가하고 IL-6 의 분비를 측정하여 비교한 결과, 대조군은 정상군에 비하여 유의성 있게 증가하였으며, 차가버섯 침출액을 처리하였을 때에는 대조군에 비하여 IL-6의 분비가 감소하였으나 유의성은 없었다. 50°C 저온 침출액에서 전탕액에 비하여 약간 더 감소하였으며, n-BuOH fraction에서 total extract보다 IL-6의 분비가 더 감소하였으나, 마찬가지로 유의성은 보이지 않았다(Fig, 13).

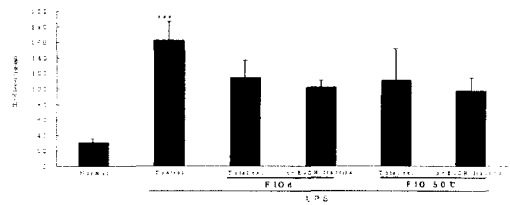


Fig. 13. Effects of total extract and n-BuOH fraction of FIOd and FIO50°C on IL-6 level in THP-1 cell culture supernatant.

THP-1 cells were treated with total extracts and n-BuOH Fractions of decoction extract and 50°C aqueous extract from Fructificatio Inonoti Obliqui, and IL-6 level was determined using ELISA.

Normal: THP-1 cells

Control: THP-1 cells treated with LPS

FIOd: THP-1 treated with LPS and Fructificatio Inonoti Obliqui decoction

FIO50°C: THP-1 treated with LPS and 50°C aqueous extract from Fructificatio Inonoti Obliqui

Values represent the means ± SD of three independent experiments. ###: P<0.001 compared to normal group

###: P<0.001 compared to normal group

2) IL-1β

THP-1 세포에 차가버섯의 전탕액 및 전탕액의 n-BuOH 분획물과, 차가버섯 50°C 저온 침출액 및 50°C 저온 침출액의 n-BuOH 분획물을 가하고 IL-1β의 분비를 측정하여 비교하였다. 대조군은 정상군에 비하여 현저하게 증가하였고, 차가버섯 침출액을 처리하였을 때에는 대조군에 비하여 IL-1β의 분비가 감소하였으나, 유의성은 없었다. 50°C 저온 침출액과 전탕액, n-BuOH fraction과 total extract의 IL-1β 분비 억제 효과는 차이가 미미하였다(Fig, 14).

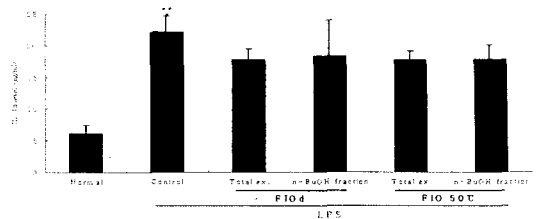


Fig. 14. Effects of total extract and n-BuOH fraction of FIOd and FIO50°C on IL-1β level in THP-1 cell culture supernatant.

THP-1 cells were treated with total extracts and n-BuOH Fractions of decoction extract and 50°C aqueous extract from

Fructificatio Inonoti Obliqui, and IL-1 β level was determined using ELISA.

Normal: THP-1 cells

Control: THP-1 cells treated with LPS

FIOd: THP-1 treated with LPS and Fructificatio Inonoti Obliqui decoction

FIO50 $^{\circ}$ C: THP-1 treated with LPS and 50 $^{\circ}$ C aqueous extract from Fructificatio Inonoti Obliqui

Values represent the means \pm SD of three independent experiments. ###: p<0.001 compared to normal group ###: P<0.001 compared to normal group

5. 항암 효과 측정

차가버섯의 전탕액 및 전탕액의 n-BuOH 분획물과, 차가버섯 50 $^{\circ}$ C 저온 침출액 및 50 $^{\circ}$ C 저온 침출액의 n-BuOH 분획물이 간암세포(HepG2)와 위암세포(SNU-1)의 증식에 미치는 효과를 측정하였다 (Table 5).

Table 5. Effects of the FIOd and FIO50 $^{\circ}$ C on Viability of HepG2 and SNU-1 Cells

		%	HepG2(%)	SNU-1(%)
Total ex.	FIOd	1	36.4 \pm 12.0	35.5 \pm 7.5
		0.1	48.3 \pm 0.5	71.9 \pm 1.2
	FIO50 $^{\circ}$ C	1	46.8 \pm 3.4	61.4 \pm 8.5
		0.1	52.3 \pm 10.4	60.1 \pm 0.4
n-BuOH fraction	FIOd	1	54.7 \pm 4.7	55.9 \pm 2.0
		0.1	51.5 \pm 10.4	62.7 \pm 2.0
	FIO50 $^{\circ}$ C	1	45.3 \pm 8.4	57.8 \pm 5.8
		0.1	59.8 \pm 7.8	59.1 \pm 2.5

HepG2 and SNU-1 Cells were treated with total extracts and n-BuOH Fractions of decoction extract and 50 $^{\circ}$ C aqueous extract from Fructificatio Inonoti Obliqui

FIOd: Treated with decoction extract from Fructificatio Inonoti Obliqui

FIO50 $^{\circ}$ C: Treated with 50 $^{\circ}$ C aqueous extract from Fructificatio Inonoti Obliqui

The values are the mean \pm SD of three independent experiments.

1) 간암세포 증식 억제 효과

차가버섯의 전탕액 및 전탕액의 n-BuOH 분획물과, 차가버섯 50 $^{\circ}$ C 저온 침출액 및 50 $^{\circ}$ C 저온 침출액의 n-BuOH 분획물이 간암 세포(HepG2)의 증식에 미치는 효과를 측정하여 비교한 결과, 차가버섯의 전탕액이 50 $^{\circ}$ C 저온 침출액보다 높은 억제율을 보였고, total extract에서 n-BuOH 분획물보다 높은 억제율을 보였으며, 50 $^{\circ}$ C 저온 침출액의 total extract

를 제외한 나머지 모두 0.1%보다 1%에서 높은 억제율을 보였다(Fig. 15).

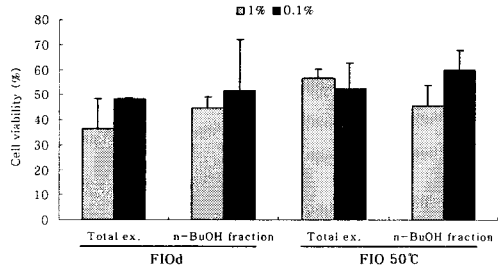


Fig. 15. Effects of total extracts and n-BuOH fractions of FIOd and FIO50 $^{\circ}$ C on HepG2 cell viability.

HepG2 cells (human) were treated with different concentration (1%, 0.1%) of total extracts and n-BuOH fractions of decoction extract and 50 $^{\circ}$ C aqueous extract from Fructificatio Inonoti Obliqui

FIOd: HepG2 cells treated with Fructificatio Inonoti Obliqui decoction

FIO50 $^{\circ}$ C: HepG2 cells treated with 50 $^{\circ}$ C aqueous extract from Fructificatio Inonoti Obliqui

The values are the mean \pm SD of three independent experiments.

2) 위암세포 증식 억제 효과

차가버섯의 전탕액 및 전탕액의 n-BuOH 분획물과, 차가버섯 50 $^{\circ}$ C 저온 침출액 및 50 $^{\circ}$ C 저온 침출액의 n-BuOH 분획물이 위암 세포에 미치는 증식 억제 효과를 측정하여 비교한 결과, 전탕액과 50 $^{\circ}$ C 저온 침출액 모두 total extract보다 n-BuOH fraction에서 높은 억제율을 보였고, 50 $^{\circ}$ C 저온 침출액의 total extract를 제외하고 모두 0.1%보다 1%에서 높은 억제율을 보였다(Fig. 16).

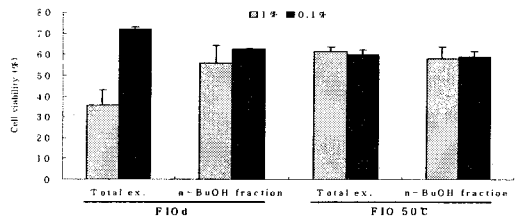


Fig. 16. Effects of total extracts and n-BuOH fractions of FIOd, FIO50 $^{\circ}$ C on SNU-1 cell viability.

SNU-1 cells(human) were treated with different concentrations (1%, 0.1%) of total extracts and n-BuOH fractions of decoction extract and 50 $^{\circ}$ C aqueous extract from Fructificatio Inonoti Obliqui

FIOd: HepG2 cells treated with Fructificatio Inonoti Obliqui decoction

FIG50C: HepG2 cells treated with 50°C aqueous extract from *Fructification Inonoti Obliqui*

The values are the mean \pm SD of three independent experiments.

고 찰

본 연구에서는 차가버섯의 추출온도에 따른 효능의 변화를 구명하기 위하여 차가버섯 물 추출물의 추출 온도에 따른 항산화 효과를 비교 관찰하였다. 저자 들은 차가버섯 물 추출물의 추출온도에 따른 효능 비교 연구(I)에서 차가버섯을 여러 가지 온도(전탕, 50°C, 37°C, 실온)에서 추출하여 그 수율과 DPPH 소거능을 분석한 결과, 전탕액과 50°C 저온 침출액을 사용하기로 하였다.

AAPH[2,2'-azobis (2-aminodinopropane) hydrochloride]는 수용성 azo 화합물의 일종으로, 열분해에 의해서 자유기를 생성하는 것으로 알려져 있다. AAPH가 체내로 투여되면 수분 내에 전신을 순환하며, AAPH가 산소분자와 반응하여 생성된 carbon radical은 peroxy radical을 생성하여 여러 형태의 생물학적 분자와 결합반응을 일으키면서 생체막의 구조를 붕괴시키는 것으로 생각되고 있다³⁵⁾.

본 실험에서는 AAPH 투여에 의해 급성산화증을 일으킨 SD 흰쥐에 차가버섯 전탕액 total extract, 전탕액 n-BuOH 분획물, 차가버섯 50°C 저온 침출액 total extract 및 50°C 저온 침출액 n-BuOH 분획물을 투여한 후, 혈장 적혈구, 백혈구, 혈소판 수, 혈청 albumin, total bilirubin, LDL cholesterol, glucose 및 肝内 SOD, GSH, catalase, NO, MDA 함량 등의 변화를 관찰하였다.

AAPH가 적혈구에 가해지면 적혈구막의 지질과 단백질을 산화시켜 용혈현상을 나타내게 된다³⁶⁾. 본 실험에서 적혈구의 수를 측정한 결과 대조군에서 정상군에 비하여 적혈구 수가 감소하였으며 차가버섯 투여군에서 대조군에 비하여 적혈구 수가 증가하였으나 통계적 유의성은 없었다.

백혈구 수는 대조군에서 정상군에 비하여 증가하였고, 차가버섯 전탕액에서는 감소하였으나 역시 통계적 유의성은 없었다.

혈소판 수는 혈중 free radical에 의해 활성화된다. 본 실험 결과, 대조군 군에서는 정상군에 비해 혈소판 수가 유의하게 증가하였으나, 차가버섯 전탕액 및 50°C 저온 침출액군 모두에서 대조군에 비하여 유의하게 감소하였으며, 특히 차가버섯 전탕액 투여군에서 뚜렷하게 감소하였다. 따라서, 차가버섯은 혈

액 중의 혈소판을 유의하게 감소시킴으로써, 뇌졸중, 동맥경화, 혈전정맥염 등의 혈전질환에 활용될 수 있을 것으로 사료된다.

AAPH로부터 생성된 과산화 자유기에 의해 endoplasmic reticulum에서 과산화반응이 일어나 비가역적 단백질 합성 억제가 일어나고, 이는 혈중 albumin 농도의 감소로 이어진다³⁷⁾. 본 실험 결과, 대조군에서 유의하게 감소하였던 albumin 농도는 차가버섯 투여에 의해 증가하였으나 통계적 유의성은 보이지 않았다.

Total bilirubin 치는 대조군에서 정상군에 비하여 유의하게 감소하였고, 차가버섯 투여군에서는 대조군에 비하여 증가하였으나 통계적 유의성은 없었다.

혈중 LDL cholesterol은 정상적인 경우 세포 내에서 분해되지만, AAPH가 투여되어 산화반응에 의해 세포가 파괴되면 LDL은 분해되지 못하고 혈중에 분포하게 되고, 만일 산화적 스트레스를 받을 경우 축적되어 산화 LDL을 형성하게 된다³⁸⁾. 생성된 산화 LDL은 높은 세포 독성이 있는 지질 과산화물을 가지고 있어 세포 조직에 확산되어 독성을 나타내고, 내피세포에 염증을 일으켜 동맥경화를 유발한다³⁹⁾. 본 실험에서 차가버섯 투여군의 LDL cholesterol 치는 대조군에 비하여 감소하였으나 유의성은 없었다.

혈중 glucose 농도는 대조군에서 정상군에 비하여 유의하게 감소하였으며, 차가버섯 전탕액 투여군에서 대조군에 비하여 유의하게 증가하였다.

SOD는 세포의 정상 성분인 금속을 함유한 효소로서 superoxide radical을 제거하거나 자발적인 dismutation을 촉진시킨다⁴⁰⁾. 본 실험에서 실험동물의 간장 내 SOD 활성도는 대조군에서 정상군에 비하여 유의하게 감소하였으며, 차가버섯 투여군에서는 모두 유의하게 증가하였다.

GSH는 비특이성 내인성 소거제로서, 내피세포 및 간세포에 고농도로 존재한다. 이것은 hydrogen peroxidase를 H₂O로 환원시켜서 산화성 스트레스에 대하여 세포를 보호하는 작용이 있다⁴¹⁾. 본 실험 결과, 肝内 GSH는 대조군에서 정상군에 비하여 유의하게 감소하였으나, 차가버섯 50°C 저온 침출액 처리군에서 대조군에 비하여 유의하게 증가하였다.

NO(nitric oxide)는 cytokine의 영향으로 면역세포에서 생산되어, 면역 염증반응부위에 유리된다. 본 실험 결과, 肝内 NO 함량은 대조군에서 정상군에 비하여 유의하게 증가하였으나, 차가버섯 전탕액과 50°C 저온 침출액 처리군 모두에서 대조군에 비하여 유의하게 감소하였다.

MDA (malondialdehyde)는 세포막에서 다중불포화지방산과 새로운 지질 자유기가 반응하여 산소 radical 화합물이 생성되고, 과잉산소가 존재할 때 과산화 radical이 지질과산화라고 하는 연쇄반응을 일으키게 되어 나오는 지질과 산화물의 지표로서 이용된다⁴²⁾. 본 실험 결과, 지질 과산화도는 대조군에서 정상군에 비하여 유의하게 증가하였으며 차가버섯 전탕액 투여군에서는 대조군에 비하여 유의하게 감소하였다.

Catalase는 세포 소기관인 peroxisome 내에서 과산화수소를 물과 산소로 분해하는 효소로서, 과산화수소에 의한 산화적 손상으로부터 세포를 보호하는 역할을 한다⁴³⁾. 본 실험 결과, 대조군에서 유의하게 감소하였던 catalase 활성도는 차가버섯 전탕액과 50°C 저온 침출액을 투여했을 때 모두 유의하게 증가하였으며, 그 중에서도 차가버섯 전탕액 투여군에서 더욱 높은 활성을 보였다.

차가버섯의 물 추출온도에 따른 소염효과를 비교 관찰하기 위하여 THP-1 세포에 차가버섯 전탕액과 침출액, 그리고 각 분획물을 각각 처리하고 IL-6와 IL-1 β 의 분비량을 비교하였다. IL-6는 활성화 T 세포, 대식세포, monocyte, 혈관내피세포, 섬유아세포에서 분비되는 cytokine으로, B 세포의 분화에 관여하는 중요한 성장인자이며, IL-1 β 는 대식세포, 항원전달세포 등에서 분비되어, 항원전달세포와 T세포를 자극하고 면역글로블린 생산을 담당하여 탐식세포를 자극해 염증 및 발열, 조혈 등의 기능을 수행한다⁴⁴⁾.

실험 결과 차가버섯의 전탕액과 50°C 저온 침출액 모두 IL-6와 IL-1 β 의 분비를 억제하였으나, 추출 온도나 분획에 따른 차이는 보이지 않았다.

간암세포와 위암세포에 차가버섯 전탕액과 차가버섯 50°C 저온 침출액 및 그 분획물을 처리하여 암세포 증식 억제효과를 관찰하였다. 실험에 이용된 간암세포 HepG2는 epithelial like human hepatoblastoma이며 (cellbank), 위암세포 SNU-1은 lymphoblast-like adenocarcinoma로 TGF- β 의 성장 억제 효과에 저항성을 갖고 있다⁴⁵⁾.

실험 결과, 차가버섯 전탕액과 50°C 저온 침출액 모두 간암세포 및 위암세포의 증식을 억제하였다. 간암세포에 대하여는 전탕액이 50°C 저온 침출액보다, total extract가 n-BuOH 분획물보다 높은 증식 억제 효과를 보였으나 위암세포에서는 추출 온도나 분획에 따른 차이를 발견할 수 없었다.

이상의 결과를 종합하면, 차가버섯 전탕액과 차가버섯 50°C 저온 침출액은 모두 유의한 항산화 효과,

소염 효과 및 항암 효과를 지니고 있음을 알 수 있다. 저자 등이 앞서 보고한 차가버섯 물 추출물의 추출 온도에 따른 효능 비교 연구(I) 결과에서는, 총 페놀 함량은 차가버섯 전탕액이 50°C 저온 침출액보다 높았으나, in vitro 및 in vivo 실험 결과 전탕액과 50°C 저온 침출액의 항산화 효능은 거의 유사한 것으로 나타났으며, total extract가 n-BuOH 분획물보다 높은 항산화 효능을 나타내었다. 그러므로 차가버섯을 복용할 경우 고온으로 煎湯하거나 50°C에서 우려서 복용하는 방법 모두 가능하다고 사료된다.

결론

차가버섯 물 추출물의 추출 온도에 따른 항산화 효과를 동물실험을 통해 비교 분석한 결과 다음의 결론을 얻었다.

1. 산화적 스트레스가 유발된 흰쥐의 혈장 혈소판 수는 차가버섯 전탕액과 50°C 저온 침출액 투여군 모두에서 대조군에 비하여 유의하게 감소하였고, 혈중 glucose는 차가버섯 전탕액 투여군에서 대조군에 비하여 유의하게 증가하였다.

2. 산화적 스트레스가 유발된 흰쥐의 간장내 SOD 활성도는 차가버섯 전탕액 투여군과 50°C 저온 침출액 투여군 모두에서, GSH 함량은 차가버섯 50°C 저온 침출액 투여군에서, catalase 활성도는 차가버섯 전탕액과 50°C 저온 침출액 투여군에서 모두 대조군에 비하여 유의하게 증가하였으며, NO 함량은 차가버섯 전탕액과 50°C 저온 침출액 투여군 모두에서, MDA는 차가버섯 전탕액 투여군에서 대조군에 비하여 유의하게 감소하였다.

3. 차가버섯 전탕액과 50°C 저온 침출액 모두 THP-1 세포에 대한 소염 효과와, 간암세포 및 위암세포의 증식 억제 효과를 나타내었다.

이상의 결과에서 차가버섯 전탕액과 차가버섯 50°C 저온 침출액은 모두 항산화 효과를 지니고 있으므로, 차가버섯을 고온으로 煎湯하거나 50°C에서 우려서 복용하는 방법 모두 가능하다고 사료된다.

참고문헌

1. Kier L. Triterpenes of *Poria obliqua*. J. Pharm. Sci. 1961;50:471-474.

2. Shibirina AN. Chemical characteristics of compounds extracted from *Inonotus obliquus*. Chem. Abstr. 1967;66:17271-17279.
3. 國家中醫藥管理局《中華本草》編委會. 中華本草. 上海:上海科學技術出版社. 1999;1:544.
4. 함승시, 오상화, 김영균, 신광순, 장현유, 정국훈. 차가버섯 분획물의 항산화활성 및 유전독성 억제효과. 한국식품영양과학회지. 2003;32(7):1071-1075.
5. 차재영, 전병삼, 박정원, 문재철, 조영수. 차가버섯과 어성초 함유 발효 조성물이 인체 위암 AGS 및 대장암 HCT-15 세포 생육에 미치는 영향. J. Korean Soc. Appl. Biol. Chem. 2004;47(2):202-207.
6. Bansal VS, Hattori H, Orihel D, Kanfer JN. Distribution of selected phospholipid modifying enzymes in rat brain microsomal subfractions prepared by density gradient zonal rotor centrifugation. Neurochem Res. 1985;10(4):439-51.
7. Roos D, Weening RS, Wyss SR, Abei HE. Protection of human neutrophils by endogenous catalase: studies with cells from catalase-deficient individuals. J Clin Invest. 1980;65(6):1515-22.
8. Cookson J, Dai F, Smith V, Heald RA, Loughton CA, Stevens MF, Burger AM. Pharmacodynamics of the G-quadruplex-stabilizing telomerase inhibitor RHPS4 in vitro: activity in human tumor cells correlates with telomere length and can be enhanced, or antagonized, with cytotoxic agents. Mol Pharmacol. 2005;8.
9. Masmann. Rapid calorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays. J Immunol Methods 65. 1983:55-63.
10. Terao K, Niki E. Damage to biological tissues induced by radical initiator 2,2'-azobis(2-aminodinopropane) hydrochloride and its inhibition by chain-breaking antioxidants. J Free Radical in Biol Med. 1986;2:193-201.
11. Zhang AQ, Zhu QY, Luk YS. Inhibitory effects of jasmine green tea epicatechin isomers on free radical-induced lysis of red blood cells. Life Science. 1997;61:383-394.
12. Terao K. Liver injuries induced by free radical. J Toxicol Pathol 1989;2:11-18.
13. Esterbauer H, Gebicki J, Pohl H. and Jurgens G. The role of lipid peroxidation and antioxidants in oxidative modification of LDL. Free Radic. Biol Med. 1992;13341-390.
14. Morel DW, Hessler JR and Chisolm GM. Low density lipoprotein cytotoxicity induced by free radical peroxidation of lipids. J Lipid Res. 1983;24:1070-1076.
15. McCord JM, Fridovich I. Superoxide dismutase. An enzymic function for erythrocyte hemocuprein. J Biol Chem. 1969;244(22):6049-55.
16. Meister A. Glutathione deficiency produced by inhibition of its synthesis, and its reversal applications in research and therapy. Pharmacol Ther 1991;51:155-194.
17. Sumida S, Tanka K, Kitao H and Nakadomo H. Exercise induced lipid peroxidation and leakage of enzymes before and after Vitamin E supplementation. Int. J. Biochem. 1989;21:835-838.
18. Deisseroth A and Dounce AL. "Catalase physical and chemical properties, Mechanism of catalysis, and physiological role" Physiological reviews. 1970;50:319-375.
19. Abbas AK, Lichman AH and Pober JS. Cellular and molecular immunology(1st ed). Philadelphia: W.B. Saunders Company. 1991.
20. Park K, Kim SJ, Bang YJ, Park JG, Kim NK, Roberts AB, et al. Genetic changes in the transforming growth factor beta (TGF-beta) type II receptor gene in human gastric cancer cells: correlation with sensitivity to growth inhibition by TGF-beta. Proc Natl Acad Sci U S A. 1994;91:8772-6.