



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2021-0040629
(43) 공개일자 2021년04월14일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 36/60 (2006.01) A23L 33/105 (2016.01)
A61P 1/16 (2006.01) A61P 39/02 (2006.01)
(52) CPC특허분류
A61K 36/60 (2013.01)
A23L 33/105 (2016.08)
(21) 출원번호 10-2019-0123119
(22) 출원일자 2019년10월04일
심사청구일자 2019년10월04일

(71) 출원인
계명대학교 산학협력단
대구광역시 달서구 달구벌대로 1095, 계명대학교
산학협력관 201호(신당동)
(72) 발명자
양선아
대구광역시 달성군 다사읍 대실역남로 93, 203동
1402호
이재열
대구광역시 남구 현충로12길 16-42
박세호
대구광역시 달서구 장산남로 33, 롯데캐슬 103동
1003호
(74) 대리인
특허법인태백

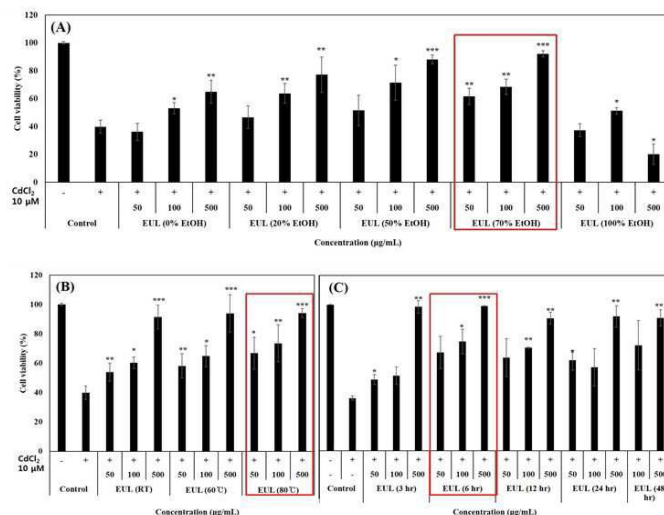
전체 청구항 수 : 총 8 항

(54) 발명의 명칭 보리수나무 잎 추출물을 유효성분으로 함유하는 중금속에 의한 간손상 보호용 조성물

(57) 요약

본 발명은 보리수나무(*Elaeagnus umbellata*) 잎 추출물을 유효성분으로 함유하는 중금속에 의한 간손상 보호용 조성물에 대한 것으로, 상세하게는 보리수나무 잎 에탄올 추출물을 제조하고, 이의 중금속(카드뮴 또는 납)으로부터의 독성 완화를 확인하였다. 본 발명에 따르면, 보리수나무 잎 추출물을 선처리한 HepG2 간세포에 카드뮴을 처리하여 독성을 유도하게 되면, 보리수나무 잎 추출물을 처리하지 않은 HepG2 간세포에 비해 세포독성과 세포 내 흡수(uptake)되는 카드뮴량이 감소됨을 확인함으로써 보리수나무 잎 추출물의 카드뮴에 의한 간 손상 완화 가능성을 확인하여, 중금속에 의한 간손상 예방 및 치료에 유용한 약학조성물 및 건강기능식품에 이용될 수 있다.

대표도 - 도1



(52) CPC특허분류

A61P 1/16 (2018.01)

A61P 39/02 (2018.01)

A23V 2002/00 (2013.01)

A23V 2200/334 (2013.01)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호	S2655825
부처명	중소벤처기업부
과제관리(전문)기관명	중소기업기술정보진흥원
연구사업명	산학협력기술개발(R&D)
연구과제명	보리수나무(<i>Elaeagnus umbellata</i>) 잎 디톡스 활성 분획의 식품 소재화 기술 개발 및
제품화	
기 여 율	1/1
과제수행기관명	제이콥코리아
연구기간	2019.01.01 ~ 2019.11.30

명세서

청구범위

청구항 1

보리수나무(*Elaeagnus umbellata*) 잎 추출물을 유효성분으로 함유하는 중금속에 의한 간 손상 예방 또는 치료용 약학조성물.

청구항 2

제1항에 있어서, 상기 보리수나무 잎 추출물은 추출용매로 물, C1 내지 C4의 알콜 또는 이들의 혼합용매로 추출한 추출물인 것을 특징으로 하는 중금속에 의한 간 손상 예방 또는 치료용 약학조성물.

청구항 3

제2항에 있어서, 상기 보리수나무 잎 추출물은 에탄올 추출물인 것을 특징으로 하는 중금속에 의한 간 손상 예방 또는 치료용 약학조성물.

청구항 4

제1항에 있어서, 상기 중금속은 카드뮴 또는 납인 것을 특징으로 하는 중금속에 의한 간 손상 예방 또는 치료용 약학조성물.

청구항 5

보리수나무 잎 추출물을 유효성분으로 함유하는 중금속에 의한 간 손상 예방 또는 개선용 건강기능식품 조성물.

청구항 6

제5항에 있어서, 상기 보리수나무 잎 추출물은 추출용매로 물, C1 내지 C4의 알콜 또는 이들의 혼합용매로 추출한 추출물인 것을 특징으로 하는 중금속에 의한 간 손상 예방 또는 개선용 건강기능식품 조성물.

청구항 7

제6항에 있어서, 상기 보리수나무 잎 추출물은 에탄올 추출물인 것을 특징으로 하는 중금속에 의한 간 손상 예방 또는 개선용 건강기능식품 조성물.

청구항 8

제5항에 있어서, 상기 중금속은 카드뮴 또는 납인 것을 특징으로 하는 중금속에 의한 간 손상 예방 또는 개선용 건강기능식품 조성물.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 보리수나무(*Elaeagnus umbellata*) 잎 추출물을 유효성분으로 함유하는 중금속에 의한 간손상 보호용 조성물에 대한 것이다.

배경 기술

[0002] 보리수나무(*Elaeagnus umbellata* Thunb. Autumn olive)는 보리수나무과(*Elaeagnaceae*) 보리수나무속(*Elaeagnus*)에 속하는 낙엽활엽 관목으로서 국내에서는 합천군 가야면에 널리 분포하고 있으며, 민간에서 보리뽕나무, 뽕뽕, 핑크팝보리수로 알려져 있다. 이는 거제, 고성 등의 지역에서 재배되어 6~7월 수확되는 뜯보리수(*Elaeagnus multiflora* Thunb.) 및 7~8월에 화천, 춘천 등의 지역에서 재배되며 주황색 원형모양의 둥근 열매를 갖는 갈매보리수나무(일명 비타민나무, *Hippophae rhamnoides* L.)와는 달리 10~11월에 열매가 포도송이처럼 열려 붉은색으로 익는다. 열매는 길이 1cm의 구형으로 다소 짙은맛과 단맛을 가지며, 잎은 어긋나고 타원형

으로 잎부분은 짙은 녹색을 띤다. 보리수나무의 열매, 잎과 뿌리를 중국에서 우내자라고 하며, 이질, 지혈, 지사제로 사용되고 있다. 한편 우리나라에서는 보리수나무의 열매를 한방에서는 목반하(木半夏)라고 하며 효능으로는 설사, 출혈, 소화불량 등에 효과가 있는 것으로 알려져 있으며, 민간에서는 열매뿐만 아니라 잎, 뿌리 및 가지를 기침, 천식 등의 치료에 많이 사용하고 있다.

[0003] 보리수나무에 관한 효능 연구는 많지 않은 실정으로 열매, 잎, 꽃 추출물의 항균활성, 열매의 일반성분 및 라이코펜 함량 분석, 열매 추출물의 항산화 및 암세포 증식 억제 효과, 열매와 잎 용매 분획물의 항산화 활성 비교가 보고되어 있으며, 딸보리수 관련 연구로서 잎의 유용성분 분석, 열매추출물의 항산화 및 항암, 미백효과, 항혈소판 및 항염증 등의 보고가 있다.

[0004] 보리수나무는 체계적인 연구가 전무한 상태이며, 식용으로 허가되어 있으나 식품소재로서 활용이 전혀 되지 않고 있다. 이에 본 발명에서는 보리수나무 잎의 기능성(중금속에 대한 간보호 효과) 고부가가치 바이오 소재로서의 활용도를 제고하고자 하였다.

선행기술문헌

특허문헌

[0005] (특허문헌 0001) 한국등록특허 제10-1873297호 (2018.06.26. 등록)

발명의 내용

해결하려는 과제

[0006] 이에, 본 발명에서는 보리수나무(*Elaeagnus umbellata*) 잎 추출물을 유효성분으로 함유하는 중금속에 의한 간손상 보호용 조성물을 제공하는 데에 그 목적이 있다.

과제의 해결 수단

[0007] 상기 문제점을 해결하기 위해, 본 발명은 보리수나무 잎 추출물을 유효성분으로 함유하는 중금속에 의한 간손상 예방 또는 치료용 약학조성물을 제공한다.

[0008] 또한, 본 발명은 보리수나무 잎 추출물을 유효성분으로 함유하는 중금속에 의한 간손상 예방 또는 개선용 건강기능식품 조성물을 제공한다.

발명의 효과

[0009] 본 발명은 보리수나무(*Elaeagnus umbellata*) 잎 추출물을 유효성분으로 함유하는 중금속에 의한 간손상 보호용 조성물에 대한 것으로, 상세하게는 보리수나무 잎 에탄올 추출물을 제조하고, 이의 중금속(카드뮴 또는 납)으로부터의 독성 완화를 확인하였다. 본 발명에 따르면, 보리수나무 잎 추출물을 선처리한 HepG2 간세포에 카드뮴을 처리하여 독성을 유도하게 되면, 보리수나무 잎 추출물을 처리하지 않은 HepG2 간세포에 비해 세포독성과 세포내 흡수(uptake)되는 카드뮴량이 감소됨을 확인함으로써 보리수나무 잎 추출물의 카드뮴에 의한 간손상 완화가능성을 확인하여, 중금속에 의한 간손상 예방 및 치료에 유용한 약학조성물 및 건강기능식품에 이용될 수 있다.

도면의 간단한 설명

[0010] 도 1은 카드뮴 처리된 HepG2 cell에서 보리수나무 잎 추출물의 세포보호 효과를 나타낸다.

도 2는 HepG2 cell에서 카드뮴 흡수(uptake)에 대한 보리수 잎 추출물의 억제효과를 나타낸다.

도 3은 HepG2 cell에서 납 독성에 대한 보리수 잎 추출물의 보호효과를 나타낸다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0011] 본 발명은 보리수나무(*Elaeagnus umbellata*) 잎 추출물을 유효성분으로 함유하는 중금속에 의한 간손상 예방 또는 치료용 약학조성물을 제공한다.

- [0012] 바람직하게는, 상기 중금속은 카드뮴 또는 납일 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.
- [0013] 본 발명의 보리수나무 잎 추출물은 당업계에 공지된 통상의 방법에 따라, 즉, 통상적인 온도와 압력의 조건 하에서, 통상적인 용매를 사용하여 제조될 수 있으며, 바람직하게는 물, C1 내지 C4의 알콜 또는 이들의 혼합용매를 사용하여 추출되며, 보다 바람직하게는 70% 에탄올을 사용하여 추출할 수 있다.
- [0014] 본 발명의 조성물이 약학 조성물인 경우, 약학 조성물의 약제 제제 형태는 과립제, 산제, 피복정, 정제, 캡슐제, 좌제, 시럽, 증, 현탁제, 유제, 점적제 또는 주사 가능한 액제 및 활성 화합물의 서방출형 제제 등으로 제형화 될 수 있다. 본 발명의 약학 조성물은 유효 성분 이외에 약제학적으로 적합하고 생리학적으로 허용되는 보조제를 사용하여 제조될 수 있으며, 상기 보조제로는 부형제, 붕해제, 감미제, 결합제, 피복제, 팽창제, 윤활제, 활택제 또는 향미제 등의 가용화제를 사용할 수 있다. 본 발명의 약학 조성물은 투여를 위해서 유효 성분 이외에 추가로 약제학적으로 허용 가능한 담체를 1 종 이상 포함하여 약학 조성물로 바람직하게 제제화할 수 있다. 액상 용액으로 제제화되는 조성물에 있어서 허용 가능한 약제학적 담체로는, 멸균 및 생체에 적합한 것으로서, 식염수, 멸균수, 링거액, 완충 식염수, 알부민 주사용액, 텍스트로즈 용액, 말토 텍스트린 용액, 글리세롤, 에탄올 및 이들 성분 중 1 성분 이상을 혼합하여 사용할 수 있으며, 필요에 따라 항산화제, 완충액, 정균제 등 다른 통상의 첨가제를 첨가할 수 있다. 또한 희석제, 분산제, 계면활성제, 결합제 및 윤활제를 부가적으로 첨가하여 수용액, 현탁액, 유탁액 등과 같은 주사용 제형, 환약, 캡슐, 과립 또는 정제로 제제화할 수 있다.
- [0015] 본 발명의 약학 조성물은 정맥내, 동맥내, 복강내, 근육내, 동맥내, 복강내, 흉골내, 경피, 비측내, 흡입, 국소, 직장, 경구, 안구내 또는 피내 경로를 통해 통상적인 방식으로 투여할 수 있다. 본 발명의 약학 조성물의 유효성분의 유효량은 질환의 예방 또는 치료 요구되는 양을 의미한다. 따라서, 질환의 종류, 질환의 중증도, 조성물에 함유된 유효 성분 및 다른 성분의 종류 및 함량, 제형의 종류 및 환자의 연령, 체중, 일반 건강 상태, 성별 및 식이, 투여 시간, 투여 경로 및 조성물의 분비율, 치료 기간, 동시 사용되는 약물을 비롯한 다양한 인자에 따라 조절될 수 있다.
- [0016] 또한, 본 발명은 보리수나무 잎 추출물을 유효성분으로 함유하는 중금속에 의한 간 손상 예방 또는 개선용 건강기능식품 조성물을 제공한다.
- [0017] 바람직하게는, 상기 중금속은 카드뮴 또는 납일 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.
- [0018] 본 발명의 보리수나무 잎 추출물은 당업계에 공지된 통상의 방법에 따라, 즉, 통상적인 온도와 압력의 조건 하에서, 통상적인 용매를 사용하여 제조될 수 있으며, 바람직하게는 물, C1 내지 C4의 알콜 또는 이들의 혼합용매를 사용하여 추출되며, 보다 바람직하게는 70% 에탄올을 사용하여 추출할 수 있다.
- [0019] 본 발명의 조성물이 건강기능식품 조성물인 경우, 건강기능식품 조성물은 분말, 과립, 정제, 캡슐, 시럽 또는 음료의 형태로 제공될 수 있으며, 상기 건강기능식품 조성물은 유효성분 이외에 다른 식품 또는 식품 첨가물과 함께 사용되고, 통상적인 방법에 따라 적절하게 사용될 수 있다. 유효성분의 혼합량은 그의 사용 목적 예를 들어 예방, 건강 또는 치료적 처치에 따라 적합하게 결정될 수 있다.
- [0020] 상기 건강기능식품 조성물에 함유된 유효성분의 유효용량은 상기 약학조성물의 유효용량에 준해서 사용할 수 있으나, 건강 및 위생을 목적으로 하거나 또는 건강 조절을 목적으로 하는 장기간의 섭취의 경우에는 상기 범위 이하일 수 있으며, 유효성분은 안전성 면에서 아무런 문제가 없기 때문에 상기 범위 이상의 양으로도 사용될 수 있음은 확실하다.
- [0021] 상기 건강식품의 종류에는 특별한 제한이 없고, 예로는 육류, 소세지, 빵, 초코렛, 캔디류, 스낵류, 과자류, 피자, 라면, 기타 면류, 껌류, 아이스크림류를 포함한 낙농제품, 각종 스프, 음료수, 차, 드링크제, 알콜 음료 및 비타민 복합제 등을 들 수 있다.
- [0022] 본 발명에 있어서, 중금속에 의한 간 손상으로 인해 발병할 수 있는 간질환은 급성간염, 만성간염, 지방간증, 간경화증, 간섬유화증, 간암, 약물에 의한 간염, 황달 등일 수 있으나, 이에 한정되는 것은 아니다.
- [0023] 이하, 본 발명의 이해를 돕기 위하여 실시예를 들어 상세하게 설명하기로 한다. 다만 하기의 실시예는 본 발명의 내용을 예시하는 것일 뿐 본 발명의 범위가 하기 실시예에 한정되는 것은 아니다. 본 발명의 실시예는 당업계에서 평균적인 지식을 가진 자에게 본 발명을 보다 완전하게 설명하기 위해 제공되는 것이다.
- [0024] <실시예 1> 보리수나무 잎의 추출물 제조
- [0025] 건조 상태의 보리수나무 잎을 파쇄하여 에탄올 용매조건(0%, 20%, 50% 70%, 100%), 온도조건(RT{25℃}, 60℃,

80℃), 시간조건(3, 6, 12, 24, 48시간)으로 추출하였다. 추출한 시료는 Advantec (No. 5A, Tokyo, Japan) 여과지로 여과한 후 감압농축기를 이용하여 농축한 다음 동결 건조하여 분석용 시료로 사용하였다.

<실시예 2> 보리수나무 잎 추출물에 대한 항산화 및 중금속에 대한 간 보호효과

보리수나무 잎 추출물에 대한 항산화 평가는 DPPH 라디칼 소거능, ABTS 라디칼 소거능, 폴리페놀 함량 그리고 플라보노이드 함량 측정으로 확인하였다. 보리수나무 잎 추출물에 대한 간 보호 효과를 확인하기 위해 HepG2 cell을 이용하였다.

1. 보리수나무 잎 에탄올 및 열수 추출물의 항산화 효과

(1) 실험방법

1-1) ABTS 라디칼 소거능

14 mM의 ABTS 시약과 4.9 mM의 포타슘 퍼설파이트(potassium persulfate) 용액을 1:1 부피비(volume percentage)로 혼합 후, 상온에서 24시간 반응시켰다. 1.5 ml tube에 ABTS 시약 180 μ l와 보리수나무 잎 추출물을 희석한 용액 20 μ l를 넣어 반응시켰다. 상온에서 10분간 암실 반응 후, ELISA reader 기기(734 nm)를 이용하여 흡광도를 측정하였다.

1-2) DPPH 라디칼 소거능

0.2 mM의 DPPH 시약을 준비하고, 96-well plate에 각각 보리수나무 잎 추출물을 희석한 용액을 넣었다. 그리고 각 well 당 100 μ l의 DPPH 시약을 반응시켰다. 상온에서 30분간 암실 반응 후, ELISA reader 기기(517 nm)를 이용하여 흡광도를 측정하였다.

1-3) 폴리페놀 함량

96-well plate에 2배 희석한 Folin reagent 60 μ l를 넣은 후, 보리수나무 잎 추출물을 희석한 용액 60 μ l를 넣고 3분간 정치시켰다. 그 후, 10% Na₂CO₃ 용액 60 μ l를 넣어 반응시켰다. 30℃에서 1시간 반응 후, ELISA reader 기기(700 nm)를 이용하여 흡광도를 측정하였다.

1-4) 플라보노이드 함량

1.5 ml tube에 100% EtOH 860 μ l, 10% 질산 알루미늄(aluminum nitrate) 20 μ l, 그리고 1 M 포타슘 아세테이트(potassium acetate) 20 μ l를 넣고 다양한 농도의 보리수나무 잎 추출물을 희석한 용액 100 μ l를 넣어 반응시켰다. 상온에서 40분간 반응 후, ELISA reader 기기(415 nm)를 이용하여 흡광도를 측정하였다.

(2) 실험결과

보리수나무 잎 추출물의 항산화 평가 결과, 보리수나무 잎 추출물 모두 ABTS 라디칼 소거능, DPPH 라디칼 소거능, 폴리페놀과 플라보노이드 함량이 우수함을 나타내었다(표 1).

표 1

Extraction Condition	Solvent (RT, 6hr)				Temperature (70% EtOH, 6hr)			Time (70% EtOH, 80°C)				
	0% EtOH	20% EtOH	50% EtOH	70% EtOH	RT	60°C	80°C	3 hr	6 hr	12 hr	24 hr	48 hr
Yeild (%)	10.87	10.86	8.61	8.07	7.27	14.77	16.83	14.33	15.14	14.82	14.35	11.58
ABTS radical scavenging effect (IC ₅₀ , µg/mL)	15.38 ±0.62	12.95 ±0.18	10.87 ±0.06	12.02 ±0.25	12.53 ±0.20	7.85 ±0.21	6.69 ±0.34	9.96 ±0.14	9.44 ±0.48	7.36 ±0.71	10.76 ±0.22	9.12 ±0.05
DPPH radical scavenging effect (IC ₅₀ , µg/mL)	50.11 ±13.41	41.38 ±7.64	26.85 ±1.64	22.51 ±0.66	21.54 ±2.99	15.16 ±0.94	9.54 ±0.66	12.26 ±0.69	8.64 ±0.31	13.92 ±1.26	15.23 ±2.50	16.96 ±7.76
Polyphenol contents (µg/mg)	152.98 ±3.20	195.89 ±2.38	231.31 ±2.75	221.51 ±4.99	184.09 ±1.66	212.60 ±171	241.15 ±7.93	203.43 ±3.41	232.70 ±6.78	243.65 ±1.96	230.83 ±1.67	222.12 ±1.59
Flavonoid contents (µg/mg)	6.78 ±0.70	7.83 ±0.28	10.30 ±0.59	17.10 ±0.56	18.50 ±0.34	31.33 ±0.57	37.45 ±0.94	33.47 ±0.44	37.33 ±0.38	41.44 ±0.88	38.82 ±0.40	38.25 ±0.47

[0041] **2. HepG2 간세포에서 보리수나무 잎 추출물의 중금속(카드뮴)에 대한 보호 효과**

[0042] (1) 실험방법

[0043] 2-1) HepG2 cell에서 카드뮴 독성에 대한 보리수 잎 추출물의 보호효과

[0044] 카드뮴 처리된 HepG2 세포에 대한 보리수나무 잎 추출물의 세포 보호능을 측정하기 위해 MTT assay를 실시하였다. HepG2 cell을 24-well plate에 2×10^5 cell/well이 되게 분주하여 5% CO₂ incubator에서 20~24시간 동안 배양한 후, 보리수나무 잎 추출물의 농도별로 처리 후 5% CO₂ incubator에서 20~24시간 동안 예비 배양하였다. CdCl₂의 최종농도가 10 μM이 되도록 처리 후 24시간동안 반응하고, PBS에 녹인 MTT (5 mg/ml) 용액 50 μl를 각 well에 넣고 incubator에서 4시간 동안 반응시켰다. 그 후 상등액을 제거하고, 각 well에 200 μl의 DMSO를 첨가하여 생성된 포르마잔 결정(formazan crystal)을 용해시켜 550 nm 파장에서 ELISA reader로 흡광도를 측정하였다. 측정한 포르마잔(formazan) 생성 정도는 정상적인 세포의 값과 비교하여 백분율(%)로 표시하였다.

[0045] 2-2) HepG2 cell에서 카드뮴 흡수(uptake)에 대한 보리수 잎 추출물의 억제효과

[0046] 보리수나무 잎 추출물의 HepG2 cell에 카드뮴 흡수(uptake) 억제효과를 확인하기 위해 ICP-MS(Agilent 7500cx)를 사용하였다. HepG2 cell을 6-well plate에 5×10^5 cell/well이 되게 분주하여 5% CO₂ incubator에서 20~24시간 동안 예비 배양하였다. 보리수 잎 추출물의 농도별로 처리 후 5% CO₂ incubator에서 20~24시간 동안 배양하였다. CdCl₂의 최종농도가 10 μM이 되도록 처리 후 24시간 동안 반응하고, PBS를 이용하여 2회 세척하고, PBS로 세포를 포집하였다. 세포수를 1×10^6 cell/ml으로 계수(count)하여 왕수(염산 3 : 질산 1) 1.8 ml와 증류수 18 ml로 희석하여 80℃에서 3시간 동안 반응한다. 필터한 뒤 ICP-MS를 이용하여 용액 내의 카드뮴을 측정하였다.

[0047] (2) 실험결과

[0048] 2-1) 카드뮴 처리된 HepG2 cell에서 보리수나무 잎 추출물의 세포보호 효과

[0049] 카드뮴 처리된 HepG2 cell에서 보리수 잎 추출물의 세포 보호효과를 측정한 결과, 보리수 잎 추출물 모두 농도의존적으로 세포생존율이 증가함을 알 수 있었다(도 1).

[0050] 추출용매 비율에 따른 추출조건에서 70% 에탄올, RT(상온), 6시간 조건의 보리수 잎 추출물의 세포 보호능이 500 μg/ml에서 92.06%로 가장 높게 나타나, 70% 에탄올 추출조건으로 선정하였다.

[0051] 추출온도에 따른 추출조건에서 80℃, 70% 에탄올, 6시간 조건의 보리수 잎 추출물의 세포보호능이 500 μg/ml에서 94.08%로 가장 높게 나타나, 추출 온도조건은 80℃로 선정하였다.

[0052] 추출시간에 따른 추출조건에서 6시간, 70% 에탄올, 80℃ 조건의 보리수 잎추출물의 세포보호능이 가장 높게 나타나, 추출 시간조건은 6시간으로 선정하였다.

[0053] 이에, 70% 에탄올, 80℃, 6시간의 추출조건에서 보리수 잎 추출물의 추출조건이 최적조건인 것을 확인하였다.

[0054] 2-2) HepG2 cell에서 카드뮴 흡수(uptake)에 대한 보리수 잎 추출물의 억제효과

[0055] 카드뮴을 처리된 HepG2 cell에서 보리수 잎 추출물의 세포 흡수(uptake)량 억제효과를 측정한 결과, 카드뮴이 처리되지 않은 1×10^6 cell에서 카드뮴량이 4.76 ppb로 측정되었으며, 카드뮴이 처리되었을 경우 33.76 ppb의 카드뮴이 측정되어 흡수(uptake)되는 것을 확인할 수 있었으며, 보리수 잎 추출물을 처리하였을 경우, 250 μg/ml의 농도에서 23.69 ppb로 측정되어 흡수(uptake)량이 29.89% 감소되는 것을 확인하고, 500 μg/ml의 농도에서 13.72 ppb로 측정되어 흡수(uptake)량이 59.40 % 감소되는 것을 확인하여, 농도 의존적으로 흡수(uptake)량이 감소하는 것을 확인하였다. 보리수 잎 추출물이 HepG2 간세포에서 Cd의 흡수(uptake)를 감소함을 알 수 있다(도 2).

[0056] **3. HepG2 간세포에서 보리수나무 잎 추출물의 중금속(납)에 대한 보호 효과**

[0057] (1) 실험방법

[0058] 3-1) HepG2 cell에서 납 독성에 대한 보리수 잎 추출물의 보호효과

[0059] 납 처리된 HepG2 세포에 대한 보리수나무 잎 추출물의 세포보호능을 측정하기 위해 MDA (malondialdehyde) 생성 억제율을 측정하였다. HepG2 cell을 24-well plate에 2×10^5 cell/well이 되게 분주하여 5% CO₂ incubator에서 20~24시간 동안 배양한 후, 보리수나무 잎 추출물의 농도별로 처리 후 5% CO₂ incubator에서 20~24시간 동안 예비 배양하였다. PdCl₂의 최종농도가 100 μ M이 되도록 처리 후 24시간 동안 배양하고, 세포를 포집하여 0.2 N HCl에 현탁하여 60℃에서 세포를 80분 동안 수화하였다. BCA assay를 이용하여 단백질을 정량하고 2 mg 동량의 단백질에 존재하는 MDA를 0.4 mM 메틸 페닐인돌(methyl phenylindole)과 반응하여 생성되는 발색을 ELISA reader로 측정하였다.

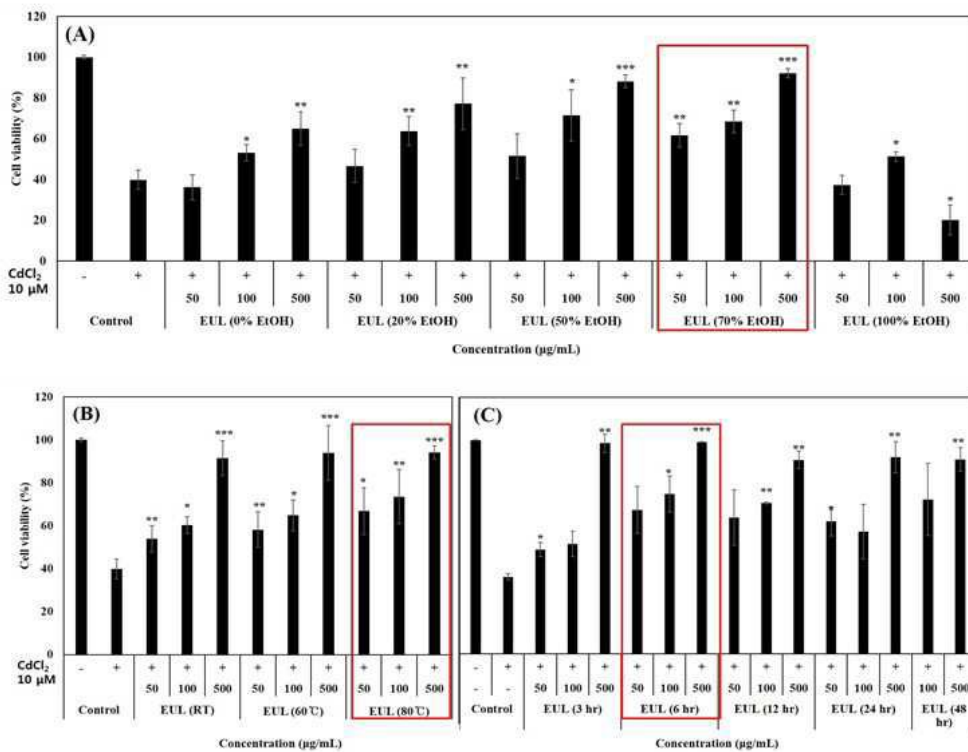
[0060] (2) 실험결과

[0061] 납이 처리된 HepG2 cell에서 보리수 잎 추출물의 MDA 생성 억제효과를 측정한 결과, 납을 처리한 HepG2 cell에서 처리하지 않은 세포에 비해 MDA 생성이 70%의 증가를 보였으며, 보리수 나뭇잎 추출물을 처리하였을 경우, 500 μ g/mL의 농도에서 46.87% 생성억제율을 확인할 수 있었으며, 보리수 나뭇잎 추출물의 농도의존적으로 MDA 생성량이 감소함을 확인할 수 있었다(도 3).

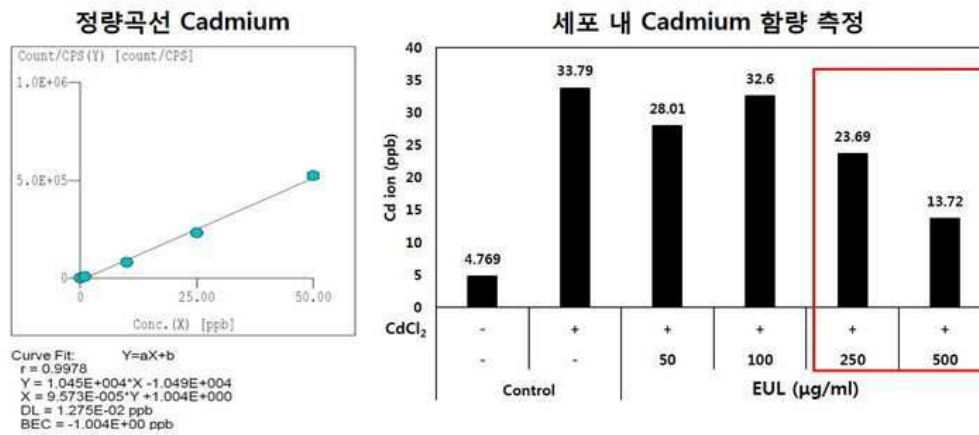
[0062] 이상으로 본 발명 내용의 특정한 부분을 상세히 기술하였는 바, 당업계의 통상의 지식을 가진 자에게 있어서, 이러한 구체적 기술은 단지 바람직한 실시양태일 뿐이며, 이에 의해 본 발명의 범위가 제한되는 것이 아닌 점은 명백할 것이다. 따라서 본 발명의 실질적인 범위는 첨부된 청구항들과 그것들의 등가물에 의하여 정의된다고 할 것이다.

도면

도면1



도면2



도면3

