

자외선이 조사된 인간피부섬유아세포에 복분자 추출물이 미치는 영향

정향숙* · 하지혜* · 김 영* · 오성호* · 김승섭* · 정명훈* · 이현용****†

*강원대학교 BT특성화학부대학, **강원대학교 생명공학연구소

Effects of *Rubus coreanus* Extracts on Ultraviolet-A Irradiated Cultured Human Skin Fibroblasts

Hyang Suk Jeong*, Ji Hye Ha*, Young Kim*, Sung Ho Oh*, Seoung Seop Kim*, Myoung Hoon Jeong*, and Hyeon Yong Lee****†

*College of Bioscience & Biotechnology, Kangwon National Univ., Chuncheon 200-701, Korea.

**Research Institute of Bioscience and Biotechnology, Kangwon National Univ., Chuncheon 200-701, Korea.

ABSTRACT : Sunlight, and in particular its UV component, is the major environmental trigger that underlies the major signs of human skin and skin cancer in general. Therefore, this study was carried out to investigate the UV protection effects of *R. coreanus*. *R. coreanus* was extracted by ultra high pressure extraction process at 500 MPa and 30 °C for 5 and 15 minutes. The cytotoxicity of the extracts extracted by ultra high pressure process on human dermal fibroblast cell CCD-986sk, human kidney normal cell HEK293, and human lung normal cell HEL299 was measured as 17.5%, 16.5% and 14.0%, respectively in adding 1.0 mg/ml of the samples, which was much lower than that from conventional water extraction method at 100 °C as 23.2%, 22.5%, 21.2%. The secretion of NO⁻ from macrophage showed 15.9 μM on the *R. coreanus* extract from this process, which was higher than others. Prostaglandin E₂ (PGE₂) production from UV-induced human skin cells was also greatly decreased down to 510 pg/ml, compared to the control. From the results, we considered that the extracts from *R. coreanus* could be potent natural materials for skin anti-inflammation agent, and could be used as a potential anti-aging for the photo-damaged skin.

Key Words : Ultra High Pressure, *Rubus coreanus* Miquel, Cytotoxicity, PGE₂, UV-Protection

서 언

최근 UV로 인한 피부 노화에 적극적으로 대처하여 피부의 건강을 지키려는 노력이 남녀노소를 불문하고 높아지고 있다. 피부는 형태학적 변화를 직접 눈으로 관찰할 수 있을 뿐 아니라 조직을 생검하기 용이하기 때문에 노화 현상을 연구하는데 있어서 가장 적합한 대상이다 (Cho *et al.*, 2003). UV는 피부를 늙게 할 뿐만 아니라 색소 침착과 피부암 등 여러 가지 피부 질환의 원인이 되기도 한다. UV를 심하게 쬐면 피부 표면의 수분이 증발하며, 심할 경우 수분을 보유한 진피 층이 손상되어 마르고 갈라지면서 피부의 결이 거칠어진다. 이것이 반복되면 피부의 각질층이 단단해져서 회복이 힘들어지는데, 이와 같은 현상은 얼굴뿐 아니라 신체 피부 전반적으로 일어난다. 이러한 피부 건조증이 심하면 가려움증이 생기고 긁어서 세균 감염을 일으키는 악순환을 겪게 된다. 피부는 같은

유해자극에 반복되어 노출되면 피부 경화로 표피 세포의 증식과 함께 각질층이 두꺼워져서 처음 유해자극 노출 시 나타났던 반응에 비하여 점점 약한 반응을 나타낸다. 이와 관련해 UVB가 무모 생쥐의 피부 수분 유지기능에 손상을 주는 것이 연구된 바 있다 (Yoon *et al.*, 1995). 피부의 탄력이 떨어지면서 주름이 생긴다. UV와 같은 외부 스트레스로 인해 피부 탄력 섬유인 콜라겐과 엘라스틴이 분해되어 피부 탄력이 떨어지게 되고 자연스럽게 주름이 생기고 피부가 처지거나 표면이 거칠어지게 된다 (Gilchrest, 1989).

복분자(*Rubus coreanus* Miquel)는 장미과에 속하고 우리나라 중부 이남의 산기슭 양지에 자라는 식물로 높이가 2~3 m 정도이며, 줄기는 흰 분이 덮여 있고 갈고리 모양의 가시가 있는 열매 약재이다 (Bae, 2000). 본초강목에 기록된 약리 효과를 보면, 이들 천연약재가 인체에 안전하면서도 약효가 다른 한약에 비해 뛰어나며, 간 기능을 강화하여 시력을 증진시

†Corresponding author: (Phone) +82-33-250-6455 (E-mail) hyeonl@kangwon.ac.kr
Received 2009 July 9 / Revised 2009 July 28 / Accepted 2009 September 30

키고, 기운을 돋우는 효과 외에도, 성기능을 높여주고 소변의 배설을 쉽게 해주어 천연 자연강장제 외에 남성의 전립선 및 배뇨기능에 탁월한 효과가 있는 것으로 알려져 있다 (Kim *et al.*, 2008). 복분자의 유용 생리 활성 물질은 간과 신장에 효과적으로 작용해 튼튼하게 한다. 생리 활성 물질의 종류로는 열매에서는 sanguin H-4, gallic acid, 잎에서는 ellagic acid, quercetin, 줄기에서는 epicatechin, procyanidin B-4 등이 보고되었다 (Yang *et al.*, 2007). 복분자는 현재 식용으로 청량음료와 다류 등으로 이용되고 주류의 원료로서 크게 각광받고 있으며 이를 뒷받침하기 위한 기초생리활성 자료들이 많이 보고되었다. 특히 초고압 공정을 도입한 복분자의 면역 활성 증진 연구는 기존의 전통적인 방법으로 추출한 추출물과 비교했을 때 유용한 기술로 평가되고 있다 (Kwon *et al.*, 2007). 최근에는 복분자의 생리활성을 바탕으로 하여 복분자 과즙을 첨가한 푸딩의 품질 특성에 대한 연구가 진행되었다 (Yoo *et al.*, 2008). 그러나 향장품에 대한 복분자의 생리활성 효능에 관한 연구는 미흡한 편이다.

초고압 처리는 최근 약용작물에서 영양소와 비영양성의 식물성 화학물질 섭취에 있어 가장 효율적으로 활용될 수 있는 추출 기술이다. 초고압 기술은 약용 식물의 중요 구성 성분을 단시간에 추출 하는 것이 가능하며, 불순물이 거의 없어 높은 순도의 단일 성분을 쉽게 얻을 수 있는 장점을 가진다 (Deliza *et al.*, 2005). 초고압 처리는 천연 소재의 보존성, 물성, 기능성을 향상시켜준다. 100~1000 MPa의 압력을 이용하여 압력매체로 물이나 오일의 압력을 순간적으로 균일하게 전달시키는 원리이다. 소재의 가공에서 열처리와 압력처리는 모두 체내 대사성을 향상시키는데, 열처리는 화학변화가 많이 일어나는데 반하여 압력처리는 화학적으로 큰 변화를 일으키지 않는 장점이 있다. 따라서 초고압 공정은 비가열처리 가공방법이므로 천연 소재 내의 주요 성분을 변성시키지 않아 신선감을 유지시킬 수 있는 가공기술로 평가되고 있고, 기존의 가열처리에 의한 소재의 조직감 및 풍미 저하 등을 극복할 수 있다.

본 연구에서는 기존의 열수추출 방법을 통해 얻은 복분자 추출물과 초고압 추출물을 비교하였다. NO⁻ 생성량 측정, PGE₂ 측정을 통해 섬유아세포에서 피부면역에 미치는 효과를 알아보고 더 나아가 향장소재와 관련된 분야에 활용하기 위한 기초 자료로 이용하고자 연구를 수행하였다. 인간 정상 세포와 피부섬유아세포에서의 세포 독성을 비교함으로써 피부 면역 증진 소재로의 안전성을 확인하였다.

재료 및 방법

1. 실험재료

본 실험에 사용된 복분자 (*Rubus coreanus*)는 2008년 7월

에 발교산 부근에서 채취한 것을 건시료로 구입하여 상온에서 보관하면서 사용하였다. 초고압 추출은 복분자 50 g을 비닐 팩에 증류수와 함께 넣어 공기가 들어가지 않도록 잘 밀봉한 후, 초고압 추출 장치 (Ilshin autoclave, Korea) 를 이용하여 500 MPa의 압력을 5분, 15분으로 추출 조건을 설정하여 실행하였다. 초고압 추출이 끝난 시료를 각각 수직 환류 냉각기에 부착된 추출 flask에 시료 중량에 대하여 각각 10배의 증류수를 추출용매로 사용하여 100°C에서 24시간 추출하였다. 대조군으로는 복분자 50 g을 초고압 추출과정은 제외하고 나머지는 같은 조건인 100°C에서 24시간 열수 추출하였다. 얻어진 추출물들을 감압여과장치 (Rotary Vacuum Evaporator N-N series, EYELA, Germany)로 여과하여 농축을 하였고, 동결건조를 한 후에 실험에 사용하였다 (Kim *et al.*, 2008). 기존의 방법대로 추출한 추출물은 NE로, 초고압 추출물은 5분, 15분 각각 HPE5, HPE15로 표기하였다.

2. 세포주 및 세포 생육 배지

실험에 이용된 세포주는 인간 피부 섬유아세포인 CCD-986sk (human, skin fibroblast, KCLB, KOREA)와 인간 폐 정상세포인 HEL299 (human, lung, KCLB, KOREA)로 세포 배양에 필요한 배지로 RPMI 1640을 사용하였고, 인간 신장 정상세포인 HEK293 (human, kidney, KCLB, KOREA)는 배지로 MEM (minimum essential medium)을 사용하였다. 그 밖에 배양에 필요한 시약으로 hepes buffer (SIGMA, USA)와 FBS (fetal bovine serum) (GIBCO, USA), gentamycin sulfate (SIGMA, USA), trysin-EDTA (SIGMA, USA)를 사용하였다. 각 세포는 RPMI 1640 배지와 MEM 배지에서 10% heating-inactivated FBS로 적응시켜 배양하여 실험에 이용하였다.

3. 정상세포 독성 측정

세포독성 측정을 위해서 SRB assay를 이용하여 측정하였다. Sulforhodamine B (SRB) assay는 세포 단백질을 염색하여 세포의 증식이나 독성을 측정하는 방법으로 실험 대상 세포인 HEK293 (in 10% FBS media)의 농도를 4~5×10⁴ cells/ml로 96 well plate의 각 well에 100 μl씩 첨가하여 24시간 배양 (37°C, 5% 동안 CO₂)한 후, 각각의 시료를 최종농도 0.2, 0.4, 0.6, 0.8, 1.0 mg/ml로 100 μl씩 첨가하여 48시간 배양하였다. 배양이 완료 된 후에 상등액을 제거하고 차가운 10% (w/v) TCA (trichloroacetic acid)를 100 μl 가하여 4°C에서 1 시간동안 방치한 후 증류수로 4~5회 세척하여 TCA를 제거하고 실온에서 plate를 건조한 뒤 각 well에 1% (v/v) acetic acid에 녹인 0.4% (w/v) SRB용액을 100 μl씩 첨가하고 상온에서 30분 동안 염색시켰다. 결합되지 않은 SRB 염색액은 1% acetic acid로 4~5회 정도 세척, 건조시킨 후에 10 mM

Tris buffer 100 μ l를 첨가하여 염색액을 녹여낸 후 540 nm에서 microplate reader를 이용하여 흡광도를 측정하였다 (Dol and Peto, 1981).

4. Macrophage에서의 nitric oxide 생성능 측정

사용된 세포주는 마우스 유래 RAW 264.7 대식세포이며, 세포는 10% heat-inactivated bovine serum과 90% DMEM (Dulbecco's modified Eagle's medium)을 이용하여 24well plate에 $4\sim5\times 10^4$ cells/well의 농도로 넣은 다음, 시료를 첨가하거나 첨가하지 않고 5% CO₂ incubator 안에서 37°C에서 48 시간 동안 배양하여 실험에 사용하였다. 대식세포에서 발생하는 nitric oxide의 양은 활성화된 대식세포 배양액에 축적되어 있는 nitrite의 양을 microplate assay를 이용하여 정량함으로써 측정하였다. 먼저 시료를 처리하고 48시간 동안 세포를 배양하고 상등액 50 μ l를 취하여 동일부피의 Griess시약 (1% sulfanilamide/0.1% N-(1-naphthyl)-ethylenediamine dihydrochloride/2.5% H₃PO₄)을 첨가하여 실온에서 10분간 반응시킨 후 ELISA reader (Molecular Devices, USA)를 이용하여 540 nm의 흡광도를 측정하였다. Nitrite의 표준물질로는 sodium nitrite를 사용하였으며 농도는 0.25 μ M에서부터 4 μ M까지 DMEM 배지로 2배씩 희석하여 얻은 표준곡선과 비교하여 계산하였다. NO생성능의 양성 대조구 물질로는 LPS를 사용하였다.

5. PGE₂를 이용한 UV 억제 활성 측정

UV 조사는 COX-2 (cyclo-oxygenase-2) enzyme의 양을 크게 변화시켜 높은 수준의 PGE₂ (Prostaglandin E₂) 발현량을 나타낸다. 인간 섬유아세포인 CCD-986sk 세포를 10% FBS와 DMEM 배지에 현탁하여 1×10^6 cells/ml로 조정된 뒤 37°C, 습도 5%의 CO₂ incubator에서 24시간 배양하여 사용하였다. 이 현탁액에 aspirin을 50 μ M이 되도록 첨가하여 세포에 잔존하는 COX-2 효소의 활성을 비가역적으로 억제시켜 PGE₂ 양을 동일하게 조절하였다. 다음으로 세포 현탁액과 시료를 96 well 세포 배양관 각 well에 20 μ l씩 첨가하고 37°C, 습도 5% CO₂ 배양기에서 UV filter (Coralife, 35W, UV)를 이용하여 UVA (6.3 J/cm²)를 2시간 동안 조사하였다. 배양 후 세포를 well 바닥에 부착시키고, 부착된 세포를 PBS (phosphate buffered saline)으로 2회 세척한 후, 표면에 남아 있는 세포를 실험에 사용하였다. PGE₂ Express EIA Short kit를 이용하였으며, 항 PGE₂ 항체가 부착되어 있는 plate의 각 well에 희석한 상층액과 함께 PGE₂-acetylcholinesterase tracer를 넣어 상온에서 18시간 배양하고, 각 well에 남아있는 용액을 말끔히 털어낸 후, 0.05% tween 20-phosphate buffer solution으로 각 well을 5회 세척하고 Ellman 시약 200 μ l를 각 well에 넣은 후 7시간 배양하여 405 nm에서 흡광도를 측

정하였다. PGE₂를 표준품으로 검량선을 작성하여 각각의 시료를 처리한 배양액에서의 PGE₂ 생성량을 구하였다.

6. HPLC에 의한 생리활성 물질의 분석

복분자 초고압 병행 추출물을 HPLC 분석용 water에 녹여 0.45 μ m 막 filter로 여과하여 200 ppm의 농도로 측정하였다. HPLC 기기는 Waters (High Performance Liquid Chromatograph, USA)를 사용하여 분석하였다.

Column은 C18 5 μ , 용매는 정제된 water와 acetonitril을 8:2 비율로 조제하여 사용하였고, 유속은 0.5 μ l/min, detector의 흡광도는 350 nm로 하였다. 복분자의 스탠다드 물질로는 catechin, caffeic acid, taxifolin, ferulic acid를 같은 조건으로 조제하여 사용하였다.

7. 통계처리

SPSS program (ver. 12.0, SPSS Inc., Chicago, IL, USA)의 T-test로 검정하였으며 모든 data는 평균 \pm 표준오차 (Mean \pm standard error)로 나타내었다. 또한 p < 0.05인 경우를 통계적 유의성이 있는 것으로 판정하였다.

결과 및 고찰

1. 정상세포 독성 측정

실험에 사용된 복분자 시료 농도는 각각 0.2, 0.4, 0.6, 0.8 그리고 1.0 mg/ml로 조절하여 정상세포 및 섬유아세포에 대한 성장 효과를 검토하였다. Fig. 1은 복분자의 HEK293 정상 세포에 대한 독성을 나타낸 것으로 최고 농도인 1.0 mg/ml에서 초고압 15분 공정의 RHPE15가 16.5%로 낮은 세포 독성을 나타냈고, 일반 열수추출물인 RWE가 22.5%의 높은 세포독성을 나타냈다. 인간 폐 정상 세포 HEL299에 대한 세포 독성은 최고 농도인 1.0 mg/ml에서 초고압 15분 공정의 RHPE15가 14.0%로 가장 낮은 세포독성을 보였다. 인간 섬유아세포인 CCD-986sk의 세포독성 또한 모든 추출물 중 RHPE15가 1.0 mg/ml의 농도에서 17.5%로 낮은 세포독성을 나타냈고, WE가 23.2%로 높은 독성을 나타냈다. 세 가지 세포의 정상 세포 독성 실험 결과, 모두 초고압 추출물이 가장 낮은 세포독성을 보였으며 초고압 처리를 실시할 경우 일반 추출물보다 세포독성이 낮아지는 효과를 확인할 수 있다. 이것은 약용 작물들이 가지고 있는 독성 물질이 초고압으로 인해 변성되거나 파괴되어 독성이 낮아지는데 영향을 미친 것으로 보인다.

초고압 공정의 도입으로 천연물의 단백질 변형 및 세포벽 파괴가 유도되어 용매가 세포 내부 깊숙이 침투하여 용출이 용이하게 되며, 유용 성분의 수득을 또한 향상된다. 기존 학계의 초고압 공정에 의한 홍경천의 독성 감소를 확인한 실험과 비교했을 때 최고 농도에서 HEK293의 세포독성이 20.4%,

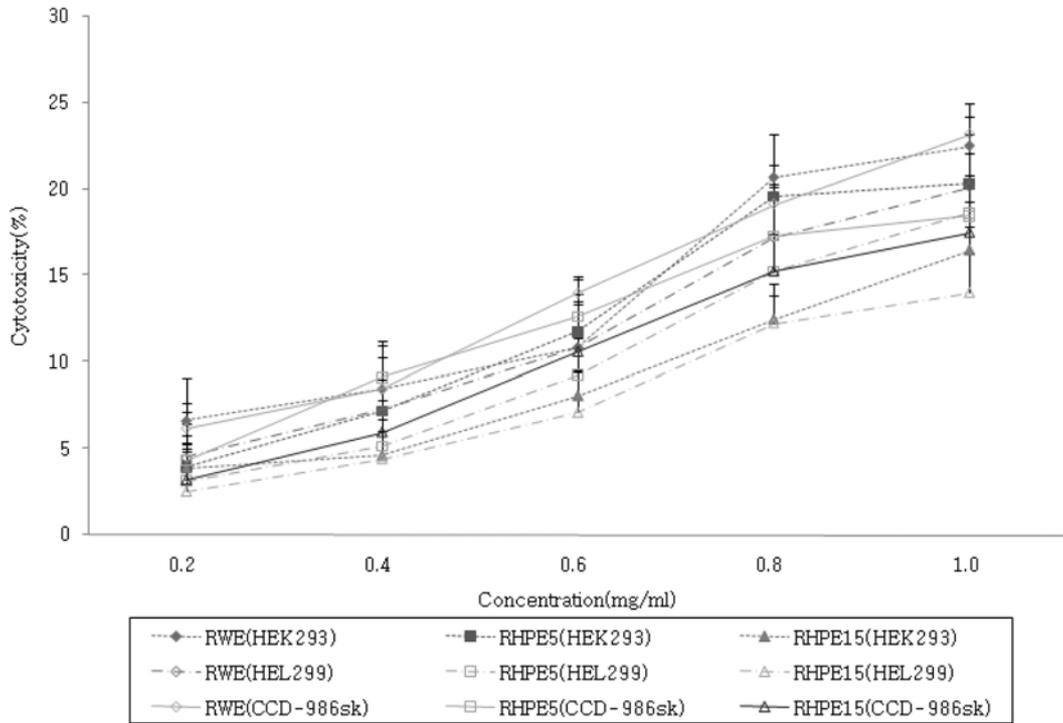


Fig. 1. Cytotoxicity of the extracts from *R. coreanus* by different extraction processes on normal cell line, HEK293, HEL299 and CCD-986sk.

+RWE : normal water extraction at 100°C of *R. coreanus*
 ++RHP5 : high pressure extraction for 5 minutes in RWE
 +++RHPE15 : high pressure extraction for 15 minutes in RWE

HEL299의 세포독성이 21.6%으로 나타난 것으로 미루어보아, 복분자 추출물의 초고압 공정 도입은 정상세포 독성을 20% 이하로 낮출 수 있으므로 연구가치가 충분한 것으로 사료된다 (Kim *et al.*, 2007). 초고압 추출은 수소결합, 전기적 결합, 반데르발스 결합과 같은 에너지 수준이 제한된 약한 결합을 끊어 성분 변성을 유도하여 복분자의 천연물 자체의 독성 저감 효과도 가져오는 것으로 생각된다. 복분자와 같은 한약재는 세포벽이 견고하여 생리활성 물질을 얻기 위해서는 기존의 가공 기술과 다른 초고압을 도입하면 더 효율적으로 생리활성 물질을 얻을 수 있을 것으로 사료되며, 특히 한약재에 작용한 초고압의 높은 에너지와 압력은 보통 열추출로 얻을 수 없는 유용생리활성 물질을 얻을 수 있게 하여 한약재에 함유한 천연물을 재평가할 수 있게 한다.

2. Macrophage에서의 nitric oxide 생성능 측정

대식세포의 NOS (nitric oxide synthase)는 항상 존재하는 것이 아니라 TNF- γ (tumor necrosis factor- γ), TNF- α (tumor necrosis factor- α)와 같은 여러 가지 cytokine과 LPS (E. coli derived lipopolysaccharide)와 같은 세균 내 독소의 영향을 받

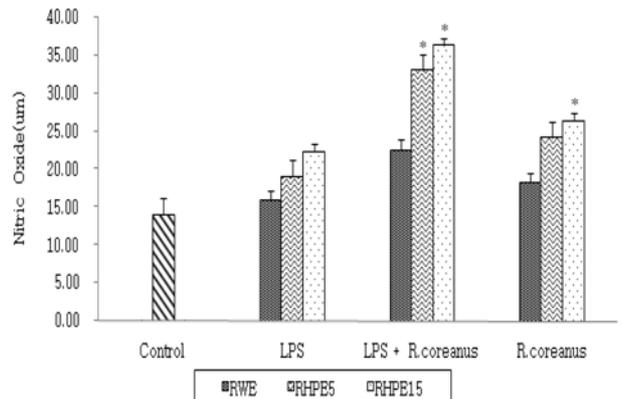


Fig. 2. Nitric oxide production from Raw264.7 cell lines in adding the extracts under several extract conditions from *R. coreanus* (0.5 mg/ml).

+RWE : normal water extraction at 100°C of *R. coreanus*
 ++RHP5 : high pressure extraction for 5 minutes in RWE
 +++RHPE15 : high pressure extraction for 15 minutes in RWE
 * p < 0.05 : significantly different from RWE group

아 NOS 유전자의 발현이 유도되기 때문에 시료를 LPS와 같이 투여하여 NO⁻의 생성능을 확인하였다. Fig. 2에서 확인할

수 있듯이 LPS와 Raw264.7 세포주에 복분자 시료를 처리하여 이틀간 배양한 후, 배양액 중에 NO⁻ (nitric oxide) 농도를 측정된 결과, 아무처리도 하지 않은 대조군 (control)과 비교하였을 때 모든 시료 첨가군에서 높은 활성을 나타내었으며, 특히 LPS와 혼합 처리하였을 때 NO⁻의 생성능이 큰 폭으로 증진되는 것을 확인할 수 있었다.

이를 통해 복분자 초고압 추출물에는 대식세포의 NO⁻ 생성능을 증진시킴으로써 면역 활성을 증진하는 활성이 있으며 이는 LPS 등 세균 내 독소와 함께 상승작용을 나타낼 수 있음을 알 수 있다는 것을 알 수 있다. 한편, 기존의 학계 연구에서는 복분자 물 추출물과 에탄올 추출물의 NOS의 저해 활성을 농도별로 실험하여 에탄올 추출물의 NOS 저해 활성이 좋다는 것을 평가한 바 있다 (Park *et al.*, 2006). 본 연구를 통해 복분자 초고압 추출물에는 Macrophage의 NO⁻ 생산을 활성화시키는 특이 유용성분이 있을 것으로 사료된다. 특히, UV가 지속적으로 피부에 영향을 주게 되면 멜라닌이 과형성되고, 피부 면적이 떨어지며, 체내에 흑색종 세포가 빠르게 자라 피부 종양이 형성되게 된다. 따라서, 복분자 추출물의 흑색종 세포 및 다른 암세포에 대한 독성 및 선택적으로 면역 활성을 나타내는 유효성분에 대한 검색이 진행되어야 할 것으로 사료된다.

3. PGE₂를 이용한 UV 억제 활성 측정

UV를 이용하여 인간 fibroblast인 CCD-986sk를 자극함으로써 염증과 관련이 있는 PGE₂의 생성량을 측정된 결과는 Fig. 3의 (A)와 (B)에 나타내었다. Fig. 3의 (A)는 UV를 조사하지 않은 세포에서의 PGE₂의 발현도를 나타낸 것으로, 시료 첨가를 통한 PGE₂의 생성량은 보통 추출물 군에 비해 낮게 나타났으며 농도 의존적으로 감소하는 경향을 보여 1.0 mg/ml의 농도에서 RHPE15가 510 pg/ml로 가장 낮은 PGE₂ 생성량을 나타내었다. Fig. 3의 (B)는 UV를 조사한 세포에서의 PGE₂ 생성량을 나타낸 것으로, UV 비조사 조건에서와 마찬가지로 시료 첨가를 통해 PGE₂의 생성량이 감소하였으며, 농도 의존적으로 낮아지는 경향을 나타내었다. 또한 UV 비조사 조건에서와 마찬가지로 1.0 mg/ml의 농도에서 RHPE15가 998 pg/ml로 가장 낮은 PGE₂ 값을 나타내며 다른 농도에서도 유의적으로 낮은 수치를 나타내었다. COX-2는 다른 cytokine들에 의해 활성화 되며 궁극적으로 prostaglandin을 증가시키는 효소이다.

이러한 결과는 복분자 초고압 추출물이 COX-2에 작용해 염증 cytokine의 분비를 직접 저해하였을 가능성과, PGE₂가 생성되기 전 단계인 arachidonic acid가 PGH₂ (prostaglandin H₂)로 전환되는 과정을 막았을 가능성을 나타낸다. 복분자 추출물에 대해 PGE₂가 농도 의존적으로 감소하였으므로, 복분자 초고압 추출물이 피부 염증 물질 감소 효과를 가지는 것을

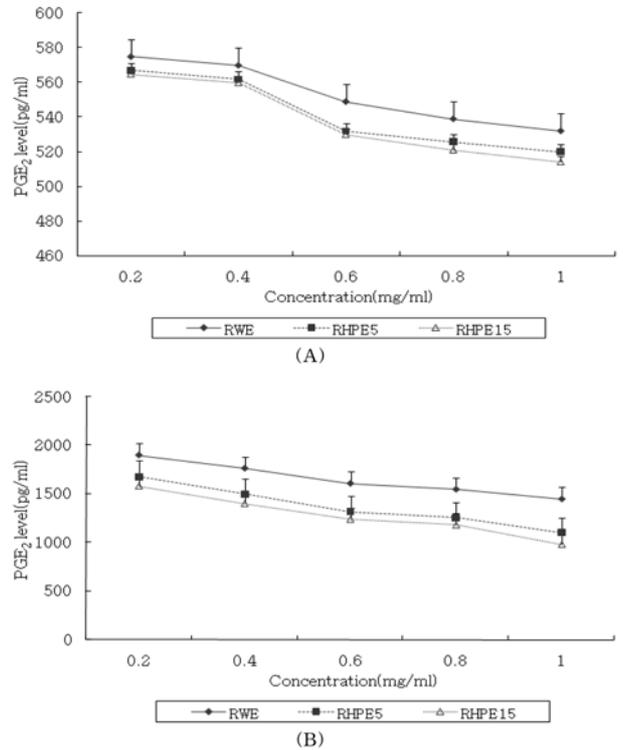
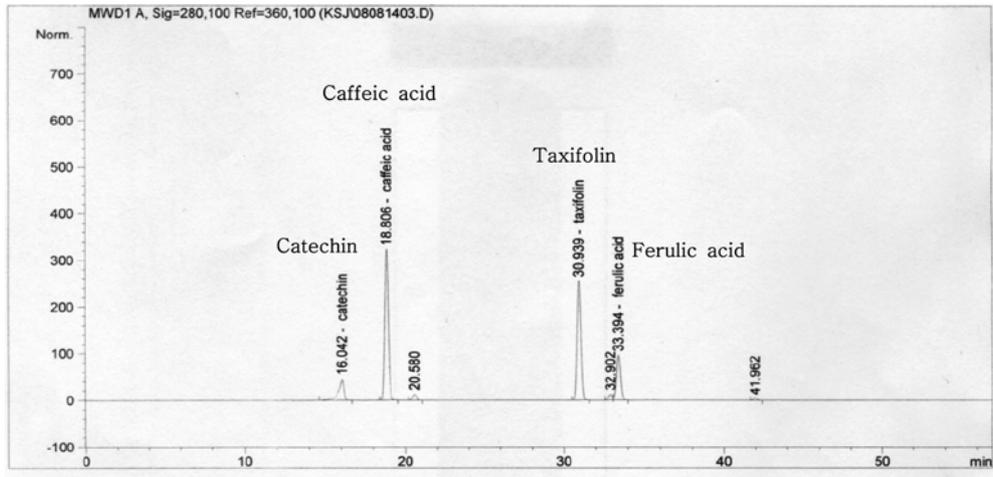


Fig. 3. Effect of *R. coreanus* on PGE₂ secretion of human fibroblast CCD-986sk by (A) Non-UV irradiation and (B) UV radiation +RWE : normal water extraction at 100°C of *R. coreanus* ++RHPE5 : high pressure extraction for 5 minutes in RWE +++RHPE15 : high pressure extraction for 15 minutes in RWE

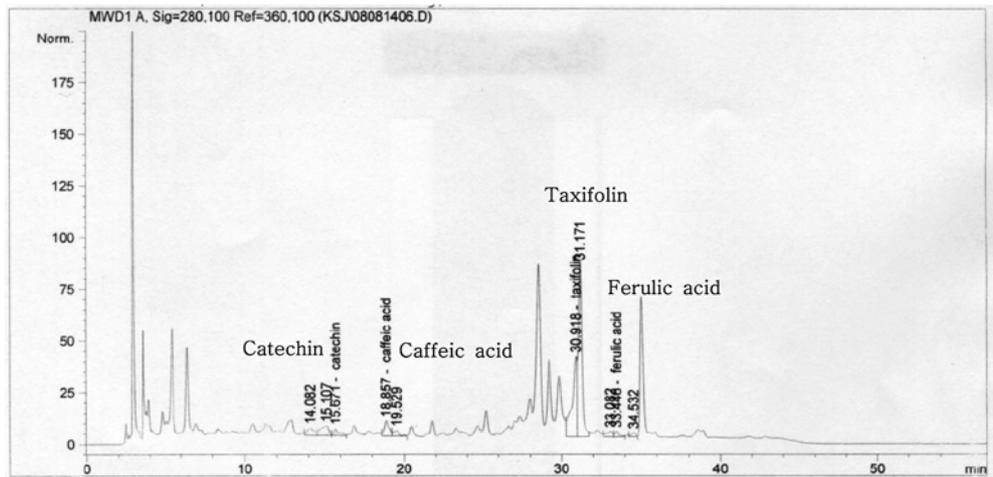
확인하였으나 추가적인 연구를 통해 추출물의 특이적 binding을 조사하고 메커니즘을 밝힘으로써 활성을 탐색하는 실험이 진행되어야 할 것으로 사료된다. 본 연구는 초고압 추출 공정을 통한 복분자의 피부세포 보호 효과를 관찰한 최초 연구로서 가치가 있다.

4. HPLC에 의한 생리활성 물질의 분석

초고압 공정에 의한 복분자 추출물을 정성적인 분석법인 HPLC를 이용하여 측정하여 본 결과, 초고압 공정을 15분 병행한 추출물에서 peak가 다양하고 많이 검출되는 것을 관찰할 수 있었다. Fig. 4과 같이, 초고압 추출 공정을 한 추출물에서 생리활성이 있는 것으로 밝혀진 천연물에서 발견되는 catechin, caffeic acid, taxifolin, ferulic acid 등의 스탠다드 물질이 과량 용출되어 나온 것을 확인하였다. 이 peak들의 면적이나 분포의 차이가 앞서 실험을 했던 피부 면역 증진 효과가 초고압 추출물에서 보통 추출물에 비해 더 좋은 생리활성도를 보였다는 것들을 증명할 수 있는 결과로 사료된다.



(A)



(B)

Fig. 4. HPLC Analysis of *R. coreanus* extracts.

(A) Typical HPLC chromatograms of standard (catechin, caffeic acid, taxifolin and ferulic acid) on *R. coreanus*.

(B) Typical HPLC chromatograms of RHPE15

+RHP15 : high pressure extraction for 15 minutes in *R. coreanus* water extracts.

감사의 글

본 연구는 농촌진흥청 바이오그린 21 (과제번호 : 20070401034013) 연구지원으로 수행된 것으로 이에 심심한 사의를 표합니다.

LITERATURE CITED

Bae GH. (2000). The medicinal plants of Korea. Kyohak

Publishing Co., Ktd. Seoul, Korea. p. 231-231.

Cho KH, Lee MK, Jo SJ, Kim KH, Park KC, Eun HC and Chung JH. (2003). Histologic changes in the skin with photoaging. Korean Dermatological Association. 41:754-760.

Deliza R, Rosenthal A, Abadio FBD, Silva CHO and Castillo C. (2005). Application of high pressure technology in the fruit juice processing: benefits perceived by consumers. Journal of Food Engineering. 67:241-246.

Dol R and Peto R. (1981). The causes of cancer; quantitative estimates of avoidable risks of cancer in the United States today. Journal of the National Cancer Institute. 66:1192-1308.

- Gilchrest BA.** (1989). Skin aging and photoaging. *Journal of the American Academy of Dermatology*. 21:610-613.
- Kwon MC, Kim CH, Na CS, Kwak HG, Kim JC and Lee HY.** (2007). Comparison of immuno-modulatory regulatory activities of *Rubus coreanus* Miquel by ultra high pressure extracts process. *Korean Journal of Medical Crop Science*. 15:398-404.
- Kim CH, Kwon MC, Syed AQ, Hwang B, Nam JH, and Lee HY.** (2007). Toxicity reduction and improvement of anticancer activities from *Rhodiola sachalinensis* A. Bor by ultra high pressure extracts process. *Korean Journal of Medical Crop Science*. 15:411-416.
- Kim CH, Kwon MC, Han JG, Na CS, Kwak HG, Choi GP, Park UY and Lee HY.** (2008). Skin-Whitening and UV-protective effects of *Angelica gigas* Nakai extracts on ultra high pressure extraction process. *Korean Journal of Medicinal Crop Science*. 16:255-260.
- Kim SD, Lee BH, Sohn DW, Cho YH, Lee SM, Kim JO and Kim SW.** (2008). The effect of herbal formulation KH-305 mainly consisted of *Rubus Coreanus* on benign prostatic hyperplasia-induced rat. *The Korean Society of Pharmacognosy*. 39:80-85.
- Park JH, Oh SM, Lim SS, Lee YS, Shin HK, Oh YS, Choe NH, Park JH and Kim JK.** (2006). Induction of heme oxygenase-1 mediates the anti-inflammatory effects of the ethanol extract of *Rubus coreanus* in murine macrophages. *Biochemical and Biophysical Research Communication*. 351: 146-152.
- Yoo OK, Back HI and Cha YS.** (2008). Quality characteristics of pudding added with bokbunja (*Rubus coreanus* Miquel) fruit juice and bokbunia wine. *Korean Journal of Food Culture*. 23:616-620.
- Yoon DH, Kim HO, Kim TY, Kim JW and Song KY.** (1995). The effect of ultraviolet B irradiation on the skin barrier function in hairless mice. *Korean Dermatological Association*. 33:669-678.
- Yang HM, Lim SS, Lee YS, Shin HK, Oh YS and Kim JK.** (2007). Comparison of the anti-inflammatory effects of the extracts from *Rubus coreanus* and *Rubus occidentalis*. *Korean Journal of Food Science and Technology*. 39:342-347.