

구절초 전초 물 추출물과 에탄올 추출물의 항산화 활성

정규진

한남대학교 문화예술대학원 향장미용학과

Antioxidant activity of Water and Ethanol Extracts *Chrysanthemum zawadskii* Whole Plant

Kyu-Jin Chung

Division of Cosmetic Beauty, Graduate School of Culture and Arts, Hannam University

요약 본 연구는 식품, 화장품, 약품 등에 사용되는 합성 물질을 대체할 수 있는 천연물질에 대한 소비자의 요구가 늘어남에 따라 전통적으로 사용해 오던 약용식물의 약리 활성을 확인하기 위해 수행되었다. 자원의 효율적 활용과 경제성을 고려해 국내 자생 식물 중 구절초를 선정하였고, 식물 전체의 페놀성 화합물 함량과 활성산소 소거 활성을 분석하여 항산화 활성을 평가하고자 하였다. 구절초 전초를 물(CD)과 80% 에탄올(CE)로 각각 추출한 후에, 각 시료의 폴리페놀과 플라보노이드 함량, DPPH 및 ABTS radical 소거능, 세포 생존율, ROS 생성량을 측정하였다. 폴리페놀과 플라보노이드 함량은 CD가 76.3 ± 0.4 mg GAE/g, 49.6 ± 2.9 mg/g, CE는 69.6 ± 0.5 mg GAE/g, 39.4 ± 0.1 mg/g로 분석되었다. DPPH와 ABTS radical 소거 활성 분석 결과, CD와 CE 모두 $1,000 \mu\text{g}/\text{mL}$ 농도에서 DPPH radical 소거 활성은 85%, ABTS radical 소거 활성은 94% 이상으로 나타났다. 세포 생존율은 CD와 CE 모두 1, 10, $100 \mu\text{g}/\text{mL}$ 농도에서 100% 이상이었다. CD와 CE는 세포 내 ROS 생성량을 농도 의존적으로 억제하였다. 페놀성 화합물의 함량은 CD가 높았으나 DPPH, ABTS radical 소거활성, ROS 생성량 분석 결과에서 CE가 다소 우수한 활성을 나타냈다.

Abstract Consumer demand for natural substances to replace synthetics in food, cosmetics, and medicine continues to increase. This study was undertaken to verify the pharmacological activity of a traditionally used medicinal plant. Gujeolcho (*Chrysanthemum zawadskii* var. *latilobum* K), a domestic plant, was selected for its availability and economic feasibility, and its antioxidant activity was evaluated by analyzing the phenolic compound content and free radical scavenging activity of whole plant extracts. The whole plant was extracted with water (CD) or 80% ethanol (CE), and polyphenol and flavonoid contents, DPPH and ABTS radical scavenging abilities, effects on cell viability, and inhibitory effects on cellular ROS production of both extracts were measured. Polyphenol and flavonoid contents were 76.3 ± 0.4 mg GAE/g and 49.6 ± 2.9 mg/g, respectively, for CD, and 69.6 ± 0.5 mg GAE/g and 39.4 ± 0.1 mg/g, respectively, for CE. The extracts exhibited DPPH and ABTS radical scavenging activities by > 85% and > 94% at $1,000 \mu\text{g}/\text{mL}$. Cell viability remained at 100% for CD and CE at 1, 10, and $100 \mu\text{g}/\text{mL}$, and CD and CE concentration-dependently inhibited intracellular ROS production. While CD had the higher phenolic content, CE had better DPPH and ABTS radical scavenging activities and more strongly inhibited ROS.

Keywords : Antioxidant, Natural Material, Native Plant, Whole Plant Extract, *Chrysanthemum Zawadskii* Var

본 논문은 저자의 박사 논문 일부를 수정 보완한 논문임.

*Corresponding Author : Kyu-Jin Chung(Hannam Univ.)

email: doccap@naver.com

Received April 24, 2024

Revised May 28, 2024

Accepted July 5, 2024

Published July 31, 2024

1. 서론

산업화와 의학 기술의 급속한 발전은 환경적 스트레스를 증가시킨 한편 기대 수명도 연장시켰다. 환경변화와 기대 수명의 연장은 건강에 대한 관심으로 이어지며 일상적으로 사용하고 섭취하는 제품에 포함된 합성 화학성분의 안전성에 대한 의문과 우려가 상승하고 있다. 이러한 흐름으로 합성 화학성분을 대체할 수 있는 천연물에 대한 수요가 증가하고 있고, 이에 부응하여 소재 개발 연구가 활발히 진행되고 있다.

천연물 소재 개발의 일환으로 동양권에서 전통적으로 질병 치료나 예방을 위해 사용해 오던 약용식물의 활성을 과학적으로 검증하려는 시도가 활발히 이루어지고 있다. 이런 천연물들은 오랜 기간에 걸쳐 인체에 대한 효능이나 안전성이 경험적으로 증명이 된 것이라 볼 수 있다. 이에 본 연구에서도 민간에서 오랫동안 사용해 왔던 약용식물 가운데 국내에서 자생하고 있으며, 연중 수확이 가능하고 병해충에도 강해 산업적으로 활용도가 높은 구절초를 선정해 그 약리 효능을 과학적으로 검증하고자 하였다.

구절초(*Chrysanthemum zawadskii* var. *latilobum* K)는 국화과에 속하는 여러해살이 풀로, 가을에 채취하여 환으로 제조하거나 우려서[1,2] 기관지염, 폐렴 등의 다양한 염증 질환부터 부인병, 위장병 및 고혈압까지 광범위하게 사용되어 온 약용식물이다[3,4].

구절초 효능에 관한 선행연구를 살펴보면, 구절초 메탄올 추출물에서 분리한 linarin의 항염 및 해열 활성[1], 항산화 활성[5], 간보호 효능[6]이 실험적으로 확인되었다. 국화과 꽃의 향기 성분을 비교·분석한 연구에서 구절초 꽃에서 가장 높은 항산화 활성이 나타났으며[7], 비듬균에 대한 구절초 추출물의 항균 활성[8], 구절초의 부위별 메탄올 추출물의 항산화 활성[9], 구절초 추출물의 항비만 활성[10], 구절초 꽃 추출물의 항산화, 항염 및 미백 활성[11] 등 항산화제를 비롯해 항균, 항암, 항비만 등 다양한 활성이 보고되고 있다. 구절초 추출물에서 분리한 단일 성분이나 향기 성분, 구절초 부위별 활성에 대한 연구는 많이 이루어지고 있으나 전초의 활성을 검증한 연구 결과는 오히려 아직 부족한 편이다.

천연물에는 다양한 화합물이 함께 존재하는데, 이러한 화합물들이 상호작용하여 더 강력한 효과를 발휘하며 광범위한 활성을 나타내기 때문에 천연물 전체를 사용했을 때 더욱 균형적인 효과를 기대할 수 있다.

식물의 부위별 추출은 수확시기나 수확량에서 한계를

가지기 때문에 식물 전체를 사용했을 때와 비교해 경제적으로 효율이 떨어질 수 있다. 천연물에 대한 수요가 높아지는 현 상황에서, 식물 내 생리활성 물질의 단일 추출은 과잉 수확이나 생태계 파괴를 초래할 수 있으므로 자원의 효율적 활용과 지속 가능성을 확보하기 위해 추출물 전체의 활용 가치를 평가할 필요가 있다.

이에 본 연구에서는 구절초 전초의 항산화 활성을 분석하여 항산화 소재로서의 활용 가치를 평가하고자 하였다.

2. 재료 및 방법

2.1 시료 추출 각 제목

(주)옴니허브에서 구입한 구절초 *Chrysanthemum zawadskii* var. *latilobum* K) 30g을 증류수 500ml와 80% 에탄올 500ml에 각각 넣어 3시간 동안 추출한 후 여과액을 얻어 감압 농축하였다. 농축된 용액을 동결 건조하여 -80℃에서 보관하며 증류수에 필요한 농도로 희석하여 사용하였다.

2.2 세포 배양

한국세포주은행에서 구입한 Raw 264.7 세포를 10% FBS (fetal bovine serum, Invitrogen Co., USA)와 1% penicillin/streptomycin (Gibco BRL Co., USA)로 제조된 DMEM(Dulbecco's Modified Eagle's Medium, Gibco BRL Co., USA)배지에서 배양(37℃, 5% CO₂, Forma scientific Co., USA)하였다.

2.3 세포 생존율 평가

세포를 1.5×10^5 cells/well로 분주하여 24시간 배양(37℃, 5% CO₂)하였으며, CD와 CE를 1, 10, 100 μg/ml의 농도로 각각 처리하여 24시간 동안 다시 배양하였다. 배양 후에 CCK-8 용액을 10 μl 첨가하고 30분 동안 반응시킨 뒤 450nm에서 흡광도를 측정하였다. 결과는 대조군에 대한 세포 생존율을 백분율로 표시하였다.

2.4 항산화 활성 평가

2.4.1 폴리페놀 함량 평가

10mg/ml 농도의 구절초 증류수 추출물(CD)과 구절초 80% 에탄올 추출물(CE) 1ml에 각각 50% Folin-Ciocalteu's phenol reagent 0.5ml (Merck Co., Germany)를 첨가하여 암실에서 3분간 반응시켰다. 이

후 탄산소듐(sodium carbonate, Sigma Co., USA) 1ml와 7.5ml 증류수를 차례로 혼합하여 30분간 반응시킨 뒤 12,000rpm에서 10분 동안 원심분리하여 얻은 상청액의 흡광도를 760nm에서 측정하였다. 폴리페놀 함량은 gallic acid (Sigma Co., USA)를 표준물질로 하여 작성한 검량선에 따라 함량을 계산하였다.

2.4.2 플라보노이드 함량 평가

10mg/ml 농도의 CD와 CE 0.1ml에 0.9ml의 80% 에탄올을 혼합하여 제조한 0.5ml에 10% aluminium niatate (Sigma Co., USA), 0.1ml의 1M potassium acetate (Sigma Co., USA), 4.3ml의 80% 에탄올을 각각 첨가하여 실온에서 40분간 반응시킨 후, 12,000rpm에서 10분 동안 원심분리하여 얻은 상청액의 흡광도를 415nm에서 측정하였다. 플라보노이드 함량은 quercetin (Sigma Co., USA)로 작성한 표준곡선에 따라 함량을 계산하였다.

2.4.3 DPPH radical 소거 활성

1, 10, 100, 1,000µg/ml 농도로 희석한 CD와 CE 100µl에 DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl, Sigma Co., USA) 0.2 mM의 용액 150µl를 각각 혼합하여 세포배양기 (37°C, 5% CO₂)에서 30분 동안 반응시킨 뒤 517nm에서 흡광도를 측정하였다. 대조군에는 증류수를 넣었고 DPPH 용액의 대조군으로 에탄올을 넣어 보정값을 얻었다. DPPH 자유라디칼 소거율은 다음 식에 따라 구하여 백분율로 나타내었다.

$$\text{소거율}(\%) = (A - B) / A \times 100$$

A: 시료가 첨가된 반응물의 흡광도

B: 대조군의 흡광도

2.4.4 ABTS radical 소거 활성

CD와 CE의 농도를 1, 10, 100, 1,000µg/ml로 희석하였다. 7.4 mM의 ABTS와 2.6 mM potassium persulphate를 혼합하여, 암소에서 24시간 방치한 뒤 732nm에서의 흡광도 값이 1.5 이하가 나오도록 희석하였다. 희석된 ABTS+ 용액 95µl와 각각의 시료를 5µl 혼합하여 실온에서 10분간 반응시킨 뒤, 732nm에서 흡광도를 측정하였다. 대조군에는 증류수를 넣었으며, 대조군에 대한 ABTS 라디칼 소거율은 다음 식에 따라 구하여 백분율로 나타내었다.

$$\text{소거율}(\%) = (1 - A/B) \times 100$$

A: 시료가 첨가된 반응물의 흡광도

B: 대조군의 흡광도

2.4.5 ROS 생성량

12 well plate에 Raw 264.7 세포를 2×10^5 cells/well로 분주하여 24시간 배양(37°C, 5% CO₂)한 뒤 농도별 CD와 CE와 1µg/ml의 농도의 LPS(Sigma Co., USA)를 처리한 후 24시간 동안 다시 배양하였다. 1,200rpm에서 원심분리하여 수확한 세포를 PBS로 세척하고 10µM의 DCFH-DA를 첨가하여 15분간 상온, 암소에 두었다. PBS를 넣고 원심분리한 후 유세포 분석기(flow cytometer, FACS : Becton Dickinson, Co., USA)로 형광강도의 세기에 따른 변화를 측정하였으며, 대조군에 대한 ROS 생성량을 백분율로 나타내었다.

2.5 통계처리

실험은 3회 이상 반복 수행되었으며, 시료 간 비교는 one-way analysis of variance (ANOVA)와 Student's t-test를 사용하여 통계적 유의성을 검증하였다 (*p<0.05, **p<0.01, ***p<0.001).

3. 결과 및 고찰

3.1 세포 생존율 평가

세포 생존율을 측정된 결과는 Fig. 1과 같다. 대조군을 $100.0 \pm 5.6\%$ 로 나타냈을 때, 1, 10, 100 µg/ml 농도에서 CD는 $104.1 \pm 2.0\%$, $107.0 \pm 7.0\%$, $107.1 \pm 5.6\%$ 로, CE는 $106.0 \pm 4.0\%$, $105.7 \pm 1.5\%$, $113.2 \pm 4.0\%$ 로 분석되었다.

3.2 항산화 활성

3.2.1 폴리페놀 및 플라보노이드 함량 평가

식물에 존재하는 페놀계 화합물은 식물이 생존하는 과정에서 생성된 2차 대사산물 중 하나로 플라보노이드, 탄닌, 안토시아닌 등이 포함된다[3,12]. 페놀계 화합물은 항균, 항염, 항암 등 다양한 생리활성을 가지며[13], 특히, 폴리페놀과 플라보노이드는 프리라디칼과 활성산소종의 생성을 억제하고 활성을 저해하는 강한 항산화성 물질로 알려져 있다[14-16].

CD와 CE의 폴리페놀과 플라보노이드 함량 측정결과는 Table 1에서와 보는 바와 같이 CD는 각각 $76.3 \pm 0.4\text{mg GAE/g}$, $49.6 \pm 2.9\text{mg/g}$ 로 측정되었고, CE는 각각

69.6±0.5mg GAE/g, 39.4±0.1mg/g로 측정되었다. 증류수 추출물인 CD가 에탄올 추출물인 CE보다 폴리페놀과 플라보노이드의 함량이 높았는데, CE의 경우 남구절초 에탄올 추출물의 폴리페놀(62.84mg/g)과 플라보노이드(38.23mg/g)의 함량을 조사한 Woo[17]의 결과와 유사한 결과가 나타났다. Woo는 추출 시간과 추출 방법에 따라 항산화 물질의 함량이 변화함을 보고하였는데, 본 연구에서는 용매에 따라 함량 변화가 있음을 관찰할 수 있었다.

한편, 구절초를 포함한 국화과 3종의 항산화 효과를 식물의 부위별로 분석한 Woo[18]의 또 다른 연구 결과에서 구절초 꽃과 잎줄기의 폴리페놀 함량은 각각 35.27 ± 0.71mg/g과 23.31 ± 0.48mg/g로, 플라보노이드 함량은 각각 11.84 ± 0.73mg/g과 14.07 ± 0.17mg/g로 분석되었다. 이 연구에서 잎줄기보다 구절초 꽃의 페놀성 화합물의 함량이 많았는데, 본 연구에서 구절초 전초에서 추출한 페놀성 화합물의 함량보다는 적었다.

CD와 CE의 폴리페놀과 플라보노이드의 함량 결과는 전통적으로 사용하던 20종의 약용식물(황기, 하수오, 당귀, 인삼, 토사자, 오미자, 오가피, 감초, 음양곽 등)의 페놀성 화합물의 함량을 조사한 Kim[19]의 연구 결과와 비교했을 때, 음양곽(81.2 mg/g)을 제외한 19종보다 폴리페놀 함량이 더 높았으며 플라보노이드 함량은 감초(49.6mg/g)를 제외한 19종보다 높았다. 따라서 구절초 전초 추출물은 항산화 소재로서의 활용 가치가 매우 높을 것으로 예상된다.

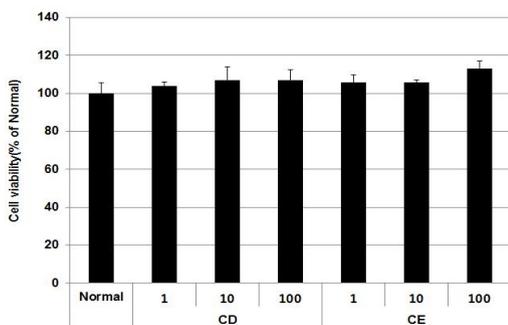


Fig. 1. Effect of CD and CE on the viability of Raw 264.5 cells. CD is a distilled water *Chrysanthemum zawadskii* var. *latilobum* K extract, and CE is an 80% ethanol extract. Cells were treated with CD and CE at each concentration (1, 10, and 100 µg/ml) and cultured for 24 hours. 10 µl of Cell Counting Kit-8 solution was added, reacted for 30 minutes, and absorbance was measured at 450nm.

Table 1. Polyphenol and flavonoid content of *Chrysanthemum zawadskii* var. *latilobum* K extract.

Sample	Polyphenol content (mg GAE ¹⁾ /g)	Flavonoid content (mg/g)
CD	76.3±0.4	49.6±2.9
CE	69.6±0.5	39.4±0.1

¹⁾Total phenol content was expressed as GAE (milligram of gallic acid equivalent). CD is a distilled water *Chrysanthemum zawadskii* var. *latilobum* K extract, and CE is an 80% ethanol extract.

3.2.2 DPPH radical 소거 활성 평가

DPPH radical 소거법은 짙은 보라색을 띠는 DPPH radical이 항산화 물질과 반응하면서 무색으로 변화되는 정도를 측정해 물질의 항산화 능력을 평가하는 방법이다. CD와 CE의 DPPH radical 소거 활성을 측정한 결과는 Fig. 2에서 보는 바와 같이 1, 10, 100, 1,000 µg/ml 농도에서 CD는 각각 13.6±1.4%, 19.9±1.7%, 55.1±0.1%, 86.7±1.6%로, CE는 각각 13.1±1.6%, 18.7±1.6%, 56.9±2.6%, 88.7±2.2%로 측정되어 두 시료 모두 농도 의존적으로 활성이 증가했다. 구절초의 부위별 메탄올 추출물의 항산화 활성을 조사한 Chung[9]의 연구에서는 4mg/ml 농도에서 꽃과 잎줄기, 뿌리의 DPPH radical 소거 활성이 각각 89.87%, 87.64%, 75.03%로 나타났는데, 본 연구에서 CD와 CE 모두 1mg/ml 농도에서 이와 유사한 항산화 활성을 나타냈다. 이는 부위별 추출물보다 전초 추출물이 낮은 농도에서 유사한 효과를 발휘할 수 있음을 시사한다. 따라서 구절초 전초를 활용할 경우, 더 경제적으로 항산화 효과를 기대할 수 있을 것으로 생각된다.

IC₅₀값은 CD와 CE가 각각 55.3 µg/ml 과 51.7 µg/ml로 나타났는데, 이는 Kim[19]의 연구에서 20종의 약용식물 중에서 폴리페놀화합물의 함량과 항산화 활성이 높은 것으로 확인된 산수유(80 µg/ml), 오가피(75 µg/ml), 음양곽(92 µg/ml), 해동피(140 µg/ml)의 radical 소거 활성 IC₅₀값과 비교할 때도 낮은 값으로 확인되어 천연 항산화 소재로서 가능성이 매우 높다고 판단된다.

한편, 페놀성 화합물의 총량이 더 많았던 CD가 CE에 비해 DPPH radical 소거 활성이 높을 것으로 예측하였으나 CE가 약간 우세했는데, 이런 결과는 다른 연구에서도 종종 관찰된다. 대체로 물이 포함된 용매를 사용할 경우, 물로 인해 형성된 수산기 라디칼이 시료 내 항산화 물질과 반응한 결과로 해석되는데[17,20], 본 연구의 결과 역시 증류수를 용매로 사용한 CD에서 수산화 라디칼

형성이 증가한 결과로 보인다.

3.2.3 ABTS radical 소거 활성 평가

Potassium persulfate와 함께 반응시켜 생성한 ABTS radical cation이 시료 내 항산화 물질에 의해 탈색되는 정도를 측정하여 항산화 활성을 평가하는 방법이다.

CD와 CE의 ABTS radical 소거 활성을 측정된 결과, Fig. 3에서 보는 바와 같이 1, 10, 100, 1,000 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 농도에서 CD는 각각 $1.9\pm 0.7\%$, $7.1\pm 0.3\%$, $31.8\pm 2.8\%$, $94.4\pm 0.1\%$ 로, CE는 각각 $0.8\pm 0.4\%$, $5.4\pm 0.5\%$, $22.5\pm 1.3\%$, $94.7\pm 0.1\%$ 로 측정되어 모두 농도 의존적인 증가를 확인했다(Fig. 3.). 이 결과를 Chung[9]이 보고한 구절초의 부위별 메탄올 추출물의 ABTS radical 소거 활성과 비교해 보면, DPPH radical 소거 활성의 결과와 같은 경향을 보였다.

4mg/ml 농도에서 꽃과 잎줄기, 뿌리가 각각 95.21%, 97.05%, 79.11%로 나타났으며 이는 CD와 CE가 1mg/ml 농도에서 나타낸 활성과 거의 동등한 수준의 활성을 보여 ABTS radical에 대해서도 구절초의 부분 추출물보다 전초 추출물이 더 낮은 농도에서 효과적임을 확인했다.

IC₅₀값은 CD와 CE가 각각 466.7 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 과 491.9 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 로 계산되어 DPPH radical에 대해서는 우수한 활성을 갖지만, ABTS radical에 대해서는 상대적으로 낮은 활성을 가지는 것으로 분석되었다. 두 가지 방법으로 측정된 결과의 활성 차이는 각각 다른 radical을 사용하고, 시료 내 항산화 물질의 반응 양상의 차이에서 기인한 결과로 생각된다[21].

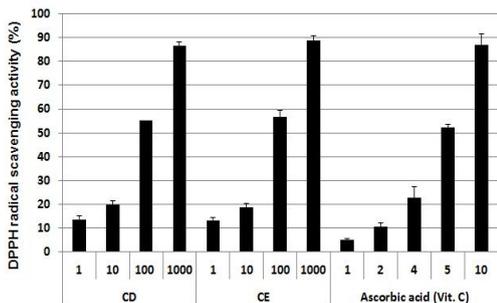


Fig. 2. DPPH radical scavenging activity of *Chrysanthemum zawadskii* var. *latilobum* K extract. CD is a distilled water *Chrysanthemum zawadskii* var. *latilobum* K extract, and CE is an 80% ethanol extract. 100 μl of each concentration (1, 10, 100, 1,000 $\mu\text{g}/\text{ml}$) was mixed with 150 μl of 0.2mM DPPH solution, reacted for 30 minutes at 37°C in the dark at room temperature, and measured at 517nm using a spectrophotometer.

한편, 페놀성 화합물의 양이 많았던 CD의 활성이 CE와 비교해 다소 낮게 나타난 경향은 DPPH radical 소거 활성 결과와 유사하게 나타났다.

3.2.4 ROS 생성량 평가

활성산소종(ROS, Reactive Oxygen Species)은 호기성 생명체의 대사 과정에서 자연적으로 형성되는 반응성이 높은 산소 유도 분자들을 말한다. 일정 수준의 ROS는 인체를 방어하지만, 과다 생성되면 세포에 산화적 손상을 입혀 노화, 염증, 심혈관 질환, 암 등 다양한 질병의 발병과 진행에 악영향을 끼친다.

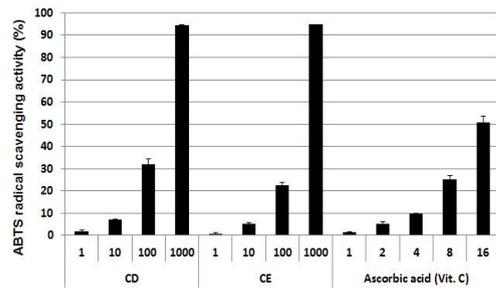


Fig. 3. ABTS radical scavenging activity of *Chrysanthemum zawadskii* var. *latilobum* K extract. CD is a distilled water *Chrysanthemum zawadskii* var. *latilobum* K extract, and CE is an 80% ethanol extract. 5 μl of each concentration (1, 10, 100, 1,000 $\mu\text{g}/\text{ml}$) was mixed with 95 μl of ABTS+ solution diluted to an absorbance value of 1.5 or less at 732nm, reacted at room temperature for 10 minutes, and measured for absorbance at 732nm. Measured.

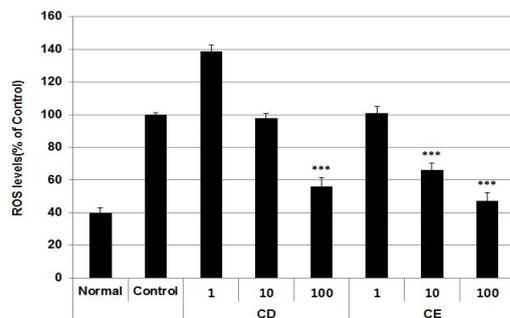


Fig. 4. Effects of CD and CE on ROS production in LPS-induced Raw 264.7 cells. T CD is a distilled water *Chrysanthemum zawadskii* var. *latilobum* K extract, and CE is an 80% ethanol extract. Raw 264.7 cells were treated with various concentrations (1, 10, 100 $\mu\text{g}/\text{ml}$) of CD, CE, and LPS at 1 $\mu\text{g}/\text{ml}$ for 24 hours, and ROS production was analyzed using flow cytometry. (significance of results, *** : $p < 0.001$ compared to control)

CD와 CE의 ROS 생성 억제 활성을 평가하기 위해 시료 처리 후 Raw 264.7 세포 내 ROS 생성량을 측정하였다. Fig. 4에서 보는 바와 같이 대조군을 100%로 했을 때, 1, 10, 100 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 농도에서 CD는 138.5 \pm 3.8%, 98.0 \pm 2.8%, 56.0 \pm 5.6% ($p < 0.001$)로 나타났으며, CE는 100.8 \pm 4.1%, 65.9 \pm 4.3% ($p < 0.001$), 47.2 \pm 5.0% ($p < 0.001$)로 나타나 CD와 CE 모두 농도 의존적으로 ROS 생성을 억제하였다.

4. 결론

본 연구에서는 국내 약용식물 중 자생 지역이 넓고 해충에 강해 재배도 쉬우며, 연중 수확이 가능하다는 점에 주목하여 구절초를 선정하고, 구절초 전초의 천연 항산화제로서의 활용 가능성을 탐색하고자 하였다.

구절초 전초를 증류수(CD)와 80% 에탄올(CE)로 추출한 후, 폴리페놀과 플라보노이드 함량을 분석하고, DPPH와 ABTS radical 소거 활성, 세포 내 ROS 생성량에 미치는 영향을 평가하였다.

총 폴리페놀과 플라보노이드 함량은 CD가 76.3 \pm 0.4 mg GAE/g, 49.6 \pm 2.9 mg/g로, CE는 각각 69.6 \pm 0.5 mg GAE/g, 39.4 \pm 0.1 mg/g로 측정되어 증류수 추출물이 더 많은 페놀성 화합물을 포함하고 있었다.

DPPH radical과 ABTS radical 소거 활성은 CD와 CE 모두 농도 의존적인 증가 양상이 나타났다. 1,000 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 농도에서 DPPH radical의 경우, CD는 86.7 \pm 1.6%로, CE는 88.7 \pm 2.2%로 나타났으며, ABTS radical의 경우, CD는 94.4 \pm 0.1%로, CE는 94.7 \pm 0.1%로 나타났다. 두 종류의 radical 소거 활성을 평가한 결과, 페놀성 화합물의 함량이 높았던 CD보다 CE의 활성이 약간 우수했는데, 이는 용매의 차이에 따른 결과로 보인다. 용매의 차이가 수산화 radical의 생성량에 영향을 미치고, 용매에 물이 포함된 경우 수산화 radical 생성량이 많아져 시료 내 항산화 물질과의 반응성이 높아진다[20]. 이러한 가능성의 결과가 본 연구에서 나타난 것으로 판단된다. 추가적인 실험을 통해 두 용매로부터 추출된 화합물의 구체적인 조성 및 생리활성에 관한 연구가 필요하리라 생각된다.

CD와 CE의 세포 생존율은 1~100 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 농도에서 100% 이상의 세포 생존율을 보여 실험 농도 범위에서는 세포에 대한 유해성이 나타나지 않아 세포 실험 농도를 확정하였다.

세포 내 ROS 생성량은 1 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 농도에서는 CD와 CE 모두 증가했다. 10 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 농도에서 CD는 98.0 \pm 2.8%로, CE는 65.9 \pm 4.3% ($p < 0.001$)로 분석되어 두 시료 간 ROS 생성 저해 활성에 큰 차이가 있었다. 100 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 농도에서 CD는 56.0 \pm 5.6% ($p < 0.001$), CE는 47.2 \pm 5.0% ($p < 0.001$)로 나타나 두 시료 간 활성 차이는 줄어들었으나 CE가 CD에 비해 우수한 활성을 나타냈다. 결과적으로 동일 농도에서 ROS 생성 저해 활성이 우수한 시료는 CE로 판단된다.

이상의 결과를 종합하면, 구절초 전초 증류수 추출물과 에탄올 추출물 모두 천연 항산화제로서의 활용 가능성이 있으며, 특히 80% 에탄올 추출물의 활용 가치가 높은 것으로 판단된다. 향후, 용매 선택에 따른 추출물 내 화합물 조성을 비교하는 연구를 통해, 두 화합물 조성 간의 차이점을 확인하고 활성의 차이가 어떤 조성의 차이에 기인한 것인지 연구가 더 필요하리라 생각된다.

References

- [1] Y. Y. Kim, S. Y. Lee, D. S. Yim, "Biological Activities of Linarin from *Chrysanthemum zawadskii* var. *latilobum*". *Yakhak Hoeji*. Vol. 45, No.6, pp. 604-610, 2001.
- [2] J. H. Kim, D. K. Ahn, "A study on the effect of *Chrysanthemum sibiricum* Fischer". *The Korea Journal of Herbology*, Vol.4, pp. 15-21, 1989.
- [3] R. J. Lim. *Flora Medica Coreana*, Agricultural Publishing House, 1998, p.186
- [4] D. H. Won, G. W. Ha. *Medicinal Plant Encyclopedia*, Korea Food and Drug Safety Headquarters, 1997, p.72
- [5] Y. J. Kim, S. E. Kim, H. S. Lee, S. Y. Hong, S. E. Kim, Y. J. Kim, J. H. Lee, S. J. Park, J. H. Kim, Y. J. Park, H. K. Kim, "Comparison of linarin content and biological activity in ethanol extraction of *Chrysanthemum zawadskii*". *Journal of the Korean Society of Food Science and Nutrition*, Vol.45, No.10, pp. 1414-1421, 2016.
DOI: <https://doi.org/10.3746/jkfn.2016.45.10.1414>
- [6] S. J. Kim, H. I. Cho, S. J. Kim, J. H. Park, J. S. Kim, Y. H. Kim, S. K. Lee, J. H. Kwak, S. M. Lee, "Protective effect of linarin against d-galactosamine and lipopolysaccharide-induced fulminant hepatic failure." *European Journal of Pharmacology*, 738, pp. 66-73, 2014.
DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2014.05.024>
- [7] K. S. Woo, J. S. Yu, I. G. Hwang, Y. R. Lee, C. H. Lee, H. S. Yoon, J. S. Lee, H.S. Jeong, "Antioxidative activity of volatile compounds in flower of *Chrysanthemum*

- indicum*, *C. morifolium*, and *C. zawadskii*." *Journal of the Korean Society of Food Science and Nutrition*, Vol. 37, No.6, pp. 805-809, 2008.
DOI: <https://doi.org/10.3746/ikfn.2008.37.6.805>
- [8] S. H. Lee, J. S. Lee, "Production and Characteristics of Antidandruff Compound from *Chrysanthemum zawadskii*.", *Microbiology and Biotechnology Letters*, Vol.35, No.3, pp. 220-225, 2007.
- [9] H. J. Chung, I. S. Jeon, "Antioxidative activities of methanol extracts from different parts of *Chrysanthemum zawadskii*.", *Korean Journal of Food Preservation*, Vol.18, No.5, pp. 739-745, 2011.
DOI: <https://doi.org/10.11002/kjfp.2011.18.5.739>
- [10] J. PARK, K. S. Jin, H. J. Kwon, B. W. Kim, "Antiobesity activity of *Chrysanthemum zawadskii* methanol extract.", *Journal of Life Science*, Vol.25, No.3, pp. 299-306, 2015.
DOI: <https://doi.org/10.5352/JLS.2015.25.3.299>
- [11] S. H. YOU, J. S MOON, "A study on anti-oxidative, anti-inflammatory, and melanin inhibitory effects of *Chrysanthemum sibiricum* extract.", *Journal of the Korean Applied Science and Technology*, Vol.33, No.4, pp. 762-770, 2016.
DOI: <https://doi.org/10.12925/jkocs.2016.33.4.762>
- [12] E. J. Kim, J. Y. Choi, M. R. Yu, M. Y. Kim, S. H. Lee, B. H. Lee, "Total polyphenols, total flavonoid contents, and antioxidant activity of Korean natural and medicinal plants." *Korean Journal of Food Science and Technology*, Vol.44, No.3, pp. 337-342, 2012.
DOI: <https://doi.org/10.9721/KJFST.2012.44.3.337>
- [13] Shen Y, Jin L, Xiao P, Lu Y, Bao JS, "Total phenolics, flavonoids, antioxidant capacity in rice grain and their relations to grain color, size and weight.", *Journal of Cereal science*, Vol.49, pp. 106-111, 2009.
DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2008.07.010>
- [14] Y. S. Kim, S. J. Lee, J. W. Hwang, E. H. Kim, P. J. Park, B. T. Jeon, "Antioxidant activity and protective effects of extracts from *Helianthus tuberosus L.* leaves on t-BHP induced oxidative stress in chang cells.", *Journal of the Korean Society of Food Science and Nutrition*, Vol. 40, No.11, pp. 1525-1531, 2011.
DOI: <https://doi.org/10.3746/ikfn.2011.40.11.1525>
- [15] S. I. Oh, M. S. Lee, "Functional activities of ethanol extracts from *Flammulina velutipes*.", *The Korean Journal of Food and Nutrition*, Vol.23, No.1, pp. 15-22, 2010.
- [16] H. W. Kang, "Antioxidant and anti-inflammatory effect of extracts from *Flammulina velutipes* (Curtis) Singer.", *Journal of the Korean Society of Food Science and Nutrition*, Vol.41, No.8, pp. 1072-1078, 2012.
DOI: <https://doi.org/10.3746/ikfn.2012.41.8.1072>
- [17] J. H. Woo, S. L. Shin, Y. D. Chang, C. H. Lee, "Antioxidant effect according to extraction method in extracts of *Dendranthema zawadskii var. yezoense* and *Cosmos bipinnatus*." *Korean Journal of Horticultural Science and Technology*, Vol.28, No.3, pp. 462-468, 2010.
- [18] J. H. Woo, S. L. Shin, H. S. Jeong, C. H. Lee, "Antioxidant effect of extracts obtained from three *Chrysanthemum* species.", *Journal of the Korean Society of Food Science and Nutrition*, Vol.39, No.4, pp. 631-636, 2010.
DOI: <https://doi.org/10.3746/ikfn.2010.39.4.631>
- [19] E. Y. Kim, I. H. Baik, J. H. Kim, S. R. Kim, M. R. Rhyu, "Screening of the antioxidant activity of some medicinal plants.", *Korean Journal of Food Science and Technology*, Vol. 36, pp. 333-338, 2004.
- [20] L. Paniwnyk, E. Beaufoy, J. P. Lorimer, T. J. Mason, "The extraction of rutin from flower buds of *Sophora japonica*." *Ultrasonics Sonochemistry*, Vol.8, No.3, pp. 299-301, 2001.
DOI: [https://doi.org/10.1016/S1350-4177\(00\)00075-4](https://doi.org/10.1016/S1350-4177(00)00075-4)
- [21] M. Wang, Li. J. M. Rangarajan, Y. Shao, E. J. LaVoie, T. C. Huang, C. T. Ho, "Antioxidative phenolic compounds from sage (*Salvia officinalis*)." *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, Vol.46, No.12, pp. 4869-4873, 1998.
DOI: <https://doi.org/10.1021/jf980614b>

정 규 진(Kyu-Jin Chung)

[정회원]



- 2017년 2월 : 충남대학교 약학과 (약학 박사)
- 2017년 8월 : 대전대학교 미용의학과 (보건학 박사)
- 2021년 3월 ~ 현재 : 한남대학교 문화예술대학원 향장미용학과 교수

〈관심분야〉

향장학, 피부과학, 대체의학