

섬초롱(*Campanula takesimana* Nakai) 용매 추출물의 항산화 효과

김미선 · 김경희 · 육홍선[†]
충남대학교 식품영양학과

Antioxidative Effects of *Campanula takesimana* Nakai Extract

Mi-Seon Kim, Kyoung-Hee Kim, and Hong-Sun Yook[†]

Dept. Of Food and Nutrition, Chungnam national University, Daejeon 305-764, Korea

Abstract

The study analyzed the total polyphenolic contents, DPPH radical scavenging activities, ABTS radical scavenging activities, reducing power levels, SOD-like activities, and tyrosinase inhibition activities of fractions from *Campanula takesimana* Nakai extract. Total polyphenolic content of the ethyl acetate fraction from *Campanula takesimana* Nakai extract was the highest. The ethyl acetate fraction of *Campanula takesimana* Nakai extract showed the lowest IC₅₀ value (0.13 mg/mL) as well as greater than 98% ABTS radical scavenging activity, which was similar to ascorbic acid. Further, reducing power was significantly higher in the ethyl acetate fraction. The SOD-like activity of edible plant was 70.56% (*n*-butanol fraction) and 62.27% (ethyl acetate fraction) at 1 mg/mL. Tyrosinase inhibition activity of *Campanula takesimana* Nakai extract was reduced to 34.77% in the *n*-butanol fraction and 30.85% in the ethyl acetate fraction at 5 mg/mL. These results suggest that the ethyl acetate and *n*-butanol fractions of *Campanula takesimana* Nakai extract could be applicable as food additives or cosmeceutical ingredients.

Key words: *Campanula takesimana* Nakai, antioxidant, free radical, tyrosinase

서 론

최근 들어 인간의 수명이 증가하고 건강에 대한 관심이 높아짐에 따라 여러 측면에 노화억제와 건강 유지를 위한 기능성 생리활성 물질에 대한 연구가 광범위하게 연구되고 있다(1,2). 생체 내에서 산화와 관련된 현상으로 인식되고 있는 노화의 원인으로 산소에서 유래되는 superoxide anion radical, hydroxyl radical, singlet oxygen 및 H₂O₂ 등과 같은 반응성이 매우 큰 활성산소(active oxygen)의 역할이 대두되어 이들의 제거에 대한 관심이 높아지고 있다(3). 즉, 활성산소는 세포구성 성분들인 지질, 단백질, 당, DNA 등에 대하여 비선택적, 비가역적인 파괴작용을 함으로써 노화는 물론 암을 비롯하여 뇌졸중, 파킨슨 병 등의 노질환과 심장질환, 동맥경화, 피부질환, 소화기질환, 염증, 류마티스, 자가면역질환 등의 각종 질병을 유발한다(4,5).

생체 내에서는 SOD(superoxide dismutase), catalase, peroxidase 등의 항산화 효소와 함께 vitamin C, vitamin E, glutathione과 같은 항산화 물질이 존재하여 산소 상해에 대한 방어기능을 하고 있으나, 생체방어기구에 이상이 초래하게 될 경우 산화적 스트레스가 야기된다(6,7). 신체에는 산화적 스트레스로부터 세포막과 세포내 물질을 보호하기 위한

항산화 기전이 존재하는데 그중 하나는 체내 존재하는 항산화 효소에 의해서, 나머지는 생체 내 여러 가지 항산화 물질과 식이를 통하여 공급되는 항산화 영양소와 polyphenol류와 같은 항산화제에 의한 것이다(8). 이와 같은 활성 산소종을 제거하기 위한 항산화제의 중요성이 부각되고 있으며, 현재 우리주변에서 접할 수 있는 항산화제는 vitamin E류, vitamin C, 탄닌, 안토시아닌, carotenoid류, flavonoid류 등의 천연 항산화제로 생체 내에서 노화를 억제 시키거나, 동맥경화증, 염증, 퇴행성질환 및 암을 예방하는데 아주 효과적인 것으로 보고되어있다(9,10). 반면, 오랫동안 전 세계적으로 사용되어온 합성항산화제인 BHA 및 BHT는 효력은 매우 우수하나 체내 에너지 생산과 세포대사 및 호흡작용을 방해하며 발암성이 있고 독성이 강하다는 문제점이 보고되고 있다(7,11). 따라서 항산화 성분의 섭취나 항산화 효소 활성 증가 등으로 체내 항산화 효능을 증진시키는 것은, 누적되는 산화적 손상에 대항하기 위해서 매우 중요한 것으로 보고되고 있으며, 더불어 항산화 물질을 함유한 천연 자원에 대한 관심이 증가되고 있어 항산화 효과가 높으면서 안전하고 경제적인 식물기원의 천연 항산화제의 개발이 절실히 요구되고 있다(12-14).

우리나라에 자생하는 식물은 약 3,200여종 중에 480여종

[†]Corresponding author. E-mail: yhsuny@cnu.ac.kr
Phone: 82-42-821-6840, Fax: 82-42-821-8887

이 식용으로 이용이 가능하다고 보고 있으나 이는 넓은 의미에서 산채를 이야기하는 것이며(15), 산채는 예로부터 구황 식물로서 우리 조상들이 식량부족으로 어려움을 겪을 때 주로 이용하여 왔으며 비타민, 미네랄, 엽록소를 비롯한 영양소 및 식물 섬유소가 풍부하게 함유되어 있고 특히 산채 고유의 향기와 맛을 가지고 있는 등 채소로서 매우 가치가 높다(16). 현재 100여종의 산채가 알려져 있고, 이 안에는 각종 알칼로이드, 탄닌, 사포닌, 배당체, flavonoid류가 많이 함유되어 있기 때문에 특수한 생리학적 기능을 나타낼 가능성이 매우 높은 것으로 지적되고 있다(7). 국내에서도 자생하는 식용식물의 식품적 가치가 재인식되어 수요가 매년 증가되고 있어, 천연물 즉 식품, 한약 및 민간약 등으로부터 생리활성 물질을 탐구하는 연구가 활발히 진행되고 있다. 최근에는 식품으로서 영양 불균형에서 오는 만성 퇴행성 질환 등을 예방하여 항비만 효과(17), 중금속 해독효과(18), 항돌연변이능(19), 항암·항산화 효과(20), 항균효과(21) 및 유전독성억제능(22)이 높은 것으로 밝혀져 다양한 산채류의 생리학적 기능에 관한 연구 및 개발의 필요성이 강조되고 있다.

일부 잘 알려지지 않은 산채류들은 소규모의 5일장이나 시골의 매일장에서 판매가 이루어지고 있는데, 이 산채류들 중의 하나인 섬초롱(*Campanula takesimana* Nakai)은 우리나라 울릉도에서 자생하는 숙근초로서 한국, 중국, 일본 등지에서 널리 자생하는 초롱꽃에 비해 털이 적고 전체적으로 소형이며, 연한 자주색을 띠는 것이 특징이다(23). 섬초롱은 다화성으로 개화기간이 길고 화형이 아름답기 때문에 절화 및 분화용으로 개발 가치가 높음에 따라 화훼화하기 위한 다양한 연구가 이루어져 왔다(24,25). 섬초롱꽃은 화훼 외에 한방과 민간에서는 뿌리를 천식, 보익, 경풍, 한열, 편도선염, 인후염 등의 치료약재로도 사용하며(23), 어린 순과 잎은 나물용 및 쌈용으로 이용된다(26). 그러나 섬초롱의 재배학적인 면에 관한 연구는 일부 수행되어 있으나, 생리학적 기능이나 활성성분에 대한 연구들은 전무한 실정이다.

따라서 본 연구에서는 산채류 가운데 섬초롱의 생리 효능을 체계적으로 밝히기 위한 기초 자료를 얻고자 *in vitro*에서 80% 에탄올 추출물과 순차적 분획물에 대하여 항산화 효과를 검증하고 천연물소재로서 기능성 식품, 화장품 개발을 위한 기초자료로 제공하고자 연구를 수행하였다.

재료 및 방법

재료

실험에 사용된 섬초롱(*Campanula takesimana* Nakai)은 6월에 강원도농업기술원 특화작물시험장으로부터 제공받아, 일주일간 음건하였고 마쇄하여 분말로 만든 후 각종 항산화 및 생리활성 관련 분석을 실시하였다.

용매별 추출물 제조

건조된 섬초롱은 시료 200 g당 15배량(w/v)의 80% 에탄

Campanula takesimana Nakai

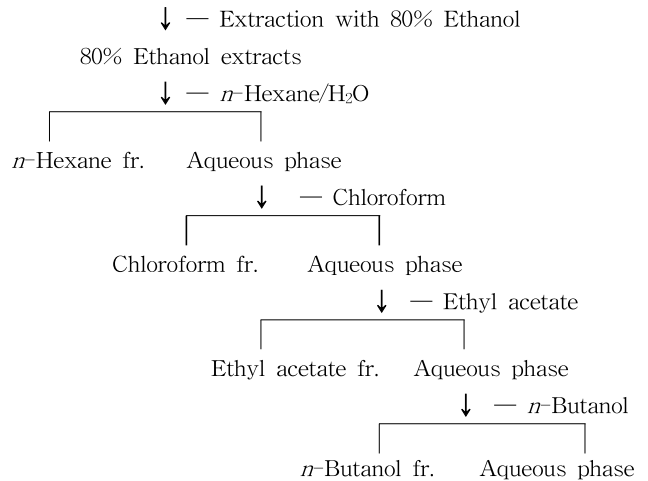


Fig. 1. Procedure for the extraction and fractions of *Campanula takesimana* Nakai by various solvents.

올로 24시간 동안 3회 추출한 다음, 추출액은 여과지(Whatman No.4, Middlesex, UK)로 여과하였다. 여액을 40°C 수욕상에서 rotary vacuum evaporator(EYELA A-1000S, Tokyo Rikakikai Co., Tokyo, Japan)로 용매를 제거하고 감압·농축한 후 동결 건조하여 4°C 이하로 냉장보관하면서 실험에 사용하였다. 80% 에탄올 추출물을 Fig. 1과 같이 separating funnel에 의한 용매별 분획으로 *n*-hexane, chloroform, ethyl acetate 및 *n*-butanol로 연속 추출한 후 각 분획물을 rotary vacuum evaporator로 감압·농축한 다음 동결 건조시켜 수율을 계산하였다.

총 폴리페놀 함량

폴리페놀 화합물 함량은 페놀성 물질인 phosphomolybdic acid와 반응하여 청색을 나타내는 원리를 이용한 Folin-Denis 방법(27)을 이용하여 측정하였다. 1 mg/mL 농도로 methanol에 용해시킨 시료액 0.2 mL와 Folin-Ciocalteu's phenol reagent(Sigma, St. Louis, MO, USA) 0.2 mL를 첨가하여 혼합한 후 3분간 실온에서 반응시킨 뒤, 10% sodium carbonate(Na_2CO_3) 용액 3 mL를 가하여 암실에서 1시간 동안 방치하여 상등액을 765 nm에서 흡광도를 측정하였다. Gallic acid(Sigma)를 이용하여 표준곡선을 작성한 후 이 검량곡선으로부터 시료중의 총 폴리페놀 함량을 구하였다.

DPPH radical 소거능 측정

항산화활성은 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl(DPPH, Sigma)를 이용하여 시료의 라디칼 소거효과(radical scavenging effect)를 측정하는 Blois법(28)을 활용하였다. 각 분획물을 농도별(0.1, 0.3, 0.5, 0.7, 1.0 mg/mL)로 제조한 시료 0.2 mL에 0.2 mM DPPH 0.6 mL를 가하고 vortex mixing 후 실온에서 15분간 반응시킨 후 분광광도계를 이용하여 517 nm에서 흡광도를 측정하여 DPPH의 환원에 의한 흡광도 감소를 조사하였다. 무처리구와 처리구의 값을 비교하여 free

radical 소거활성을 결정하였다. 이때 IC₅₀(mg/mL)은 추출물을 첨가하지 않은 대조군의 값을 50% 감소시키는 추출물의 농도를 나타냈으며, 기존의 항산화제인 ascorbic acid를 대조군으로 사용하여 비교하였다.

ABTS radical scavenging activity 측정

ABTS radical scavenging activity의 측정은 Pellegrin 등(29)의 방법에 의해 측정하였다. 즉, 7 mM ABTS와 140 mM K₂S₂O₈을 5 mL:88 μL로 섞어 어두운 곳에 14~16시간 방치시킨 후, 이를 absolute ethanol과 1:88 비율로 섞어 734 nm에서 대조구의 흡광도 값이 0.7±0.002가 되도록 조절한 ABTS solution을 사용하였다. 500 μg/mL 농도의 시료용액 50 μL와 ABTS solution 1 mL를 30초 동안 섞은 후 2.5분간 incubation 하여 734 nm에서 흡광도를 측정하여 아래의 식에 의해 저해율을 계산하였다.

$$\text{Radical scavenging activity (\%)} = \left(1 - \frac{\text{반응구의 흡광도}}{\text{대조구의 흡광도}}\right) \times 100$$

Reducing power 측정

Reducing power는 Oyaizu(30)의 방법에 따라 측정하였다. 농도를 각각 달리하여(0, 50, 200, 300, 400 μg/mL) 첨가한 추출물 1 mL에 sodium phosphate buffer(0.25 mL, 200 mM, pH 6.6)와 potassium ferricyanide(0.25 mL, Sigma)를 혼합시켰다. 그리고 혼합물을 50°C에서 20분 동안 incubation 시킨 후 trichloroacetic acid(0.25 mL, 10%, w/v)를 첨가시킨 후 10분 동안 3000 rpm으로 원심분리를 시켜 상정액(0.5 mL)에 탈이온수(0.5 mL)와 1% ferric chloride(0.1 mL, Sigma)를 첨가시켰고, UV/Visible spectrophotometer(Shimadzu UV-1800, Shimadzu Co., Kyoto, Japan)를 사용하여 700 nm에서 흡광도를 측정하였다.

Superoxide dismutase(SOD) 유사 활성 측정

Marklund와 Marklund(31)의 방법의 변형을 이용하여 시료의 SOD 유사활성을 측정하였다. 즉, 시료 0.1 g에 50 mM tris-cacodylic acid buffer(TCB, pH 8.2) 10 mL를 가한 후, 0.1 N NaOH와 HCl로 pH를 8.2로 조절하였다. 이 용액 0.9 mL에 20 mM pyrogallol(1,2,3-benzenetriol, Sigma, 10 mM HCl을 용매로 하여 제조) 0.1 mL를 첨가한후 1 mL pipette로 3회 혼합하여 2분후 420 nm에서 흡광도 변화를 측정하였다.

$$\text{SOD-like activity (\%)} = \left(1 - \frac{A-B}{C}\right) \times 100$$

A: Absorbance at 420 nm determined with test sample
B: Absorbance at 475 nm determined with buffer instead of pyrogallol

C: Absorbance at 475 nm determined with buffer instead of test sample

Tyrosinase 저해 활성

섬초롱 추출물의 tyrosinase 저해 활성은 Yagi 등(32)의 방법에 따라 측정하였다. 0.175 M Sodium phosphate buf-

fer(pH 6.8) 0.5 mL에 10 mM L-DOPA를 녹인 기질액 0.2 mL와 시료용액 0.1 mL를 혼합한 용액에 mushroom tyrosinase(110 U/mL) 0.2 mL 첨가하여 25°C에서 2분간 반응시킨 후, 생성된 DOPA chrome을 spectrophotometer의 475 nm에서 흡광도를 측정하였다. Tyrosinase 저해 활성은 시료용액의 첨가구와 무첨가구의 흡광도 감소율을 백분율(%)로 나타내었다.

$$\text{Tyrosinase inhibition ability (\%)} = \left(1 - \frac{A-B}{C}\right) \times 100$$

A: Absorbance at 475 nm determined with test sample
B: Absorbance at 475 nm determined with buffer instead of enzyme

C: Absorbance at 475 nm determined with buffer instead of test sample

통계처리

모든 실험은 3회 이상 반복 실시하였으며, 얻어진 결과들은 SPSS 14.0(Statistical Package for Social, SPSS Inc., Chicago, IL, USA) software를 이용하여 유의적 차이가 있는 항목에 대해서 Duncan's multiple range test로 p<0.05 수준에서 유의차 검정을 실시하였다.

결과 및 고찰

80% 에탄올 추출물 및 용매별 분획물 수율

자연 건조하여 마쇄한 시료를 80% 에탄올로 추출하여 감압농축후 고형분 함량의 추출수율은 35.18%이었다. 80% 에탄올 추출물에 대하여 용매별로 분획한 후 추출 수율(dry basis, %)을 계산한 결과는 Table 1과 같다. 섬초롱 80% 에탄올 추출물의 용매별 분획물의 추출 수율은 water(74.53%) > n-butanol(12.73%) > n-hexane(10.82%) > ethyl acetate(1.26%) > chloroform(0.65%)으로 water 분획물에서 가장 높은 수율을 나타내었고, chloroform 분획물에서 가장 낮은 수율을 나타내었다. 참나물(33)과 고려엉덩귀(34)에 관한 연구에서도 water 추출물이 가장 높은 추출 수율을 나타내었다고 보고하였다.

Table 1. Yield of each fractions extracted from *Campanula takesimana* Nakai

Fraction	Yield (% , w/w)
80% Ethanol ¹⁾	35.18
Fractions of 80% ethanol extract ²⁾	
n-Hexane	10.82
Chloroform	0.65
Ethyl acetate	1.26
n-Butanol	12.73
Water	74.53

¹⁾Yield(%)=weight of solid extract/ weight of dry sample×100

²⁾Yield(%)=weight of solid fraction/ weight of 80% ethanol extract×100.

Table 2. Total polyphenol contents of various solvent fractions from 80% ethanol extract of *Campanula takesimana* Nakai

Solvent	Polyphenol contents (mg/g GAE ¹⁾)
80% Ethanol	129.27 ± 0.85 ^{2)(d3)}
<i>n</i> -Hexane	130.98 ± 0.18 ^c
Chloroform	156.79 ± 0.56 ^b
Ethyl acetate	276.26 ± 2.00 ^a
<i>n</i> -Butanol	158.45 ± 0.51 ^b
Water	107.34 ± 0.18 ^c

¹⁾GAE: gallic acid equivalents.

²⁾Values are mean ± SD (n=3).

³⁾Values with different letters within a same column (a-f) differ significant (p<0.05).

총 폴리페놀 함량

일반적으로 식물성분의 항산화 활성은 페놀성 화합물이 원인물질로 관련되어 있는 것으로 알려져 있어 gallic acid를 표준용액으로 하여 작성한 표준곡선으로부터 섬초롱의 총 페놀 함량을 조사하여 Table 2에 나타내었다.

섬초롱의 총 폴리페놀 함량은 80% 에탄올 추출물에서 129.27, *n*-hexane 130.98, chloroform 156.79, ethyl acetate 276.26, *n*-butanol 158.45, water 107.34 mg/g으로 ethyl acetate > *n*-butanol ≈ chloroform > *n*-hexane > 80% ethanol > water 분획물 순으로 나타나 페놀화합물이 주로 ethyl acetate 분획물에 다량 존재함을 확인할 수 있었다.

Lee 등(35)은 울릉도산 산채류의 80% 메탄올 추출물에서 섬고사리 잎 120.69 µg/mg, 물영경귀 잎 130.22 µg/mg, 눈개승마 잎 66.48 µg/mg의 총 폴리페놀 함량을 나타내었다고 보고하였다. Lee 등(36)과 Lee 등(37)이 연잎 분획물과 연근 분획물 중 ethyl acetate 분획물에 가장 많은 페놀함량이 있다고 보고하여 본 연구의 페놀화합물이 주로 ethyl acetate 분획물에 다량 존재한 연구결과와 유사하였으며, Choi 등(38)은 쑥의 폴리페놀 화합물 함량이 사자발쑥 10.2 mg/g, 황해쑥 4.7 mg/g, 인진쑥 7.0 mg/g이라고 보고하였다. 따라서 위의 연구 결과들과 비교할 때, 본 연구의 섬초롱은 많은 폴리페놀 함량을 가지는 것으로 나타났다.

DPPH radical 소거활성

기존에 잘 알려진 항산화제인 ascorbic acid를 양성 대조군으로 하여 섬초롱 추출물 분획물의 항산화 활성에 대한 결과는 Table 3과 같다. DPPH radical 소거활성은 검체 농도에 따른 항산화 활성 변화 곡선으로부터 산화를 50% 억제시키는 농도인 IC₅₀으로 나타내었다. 섬초롱의 DPPH radical 소거활성은 분획물 중에서 ethyl acetate 분획물이 높은 활성을 나타내었고, 양성 대조군인 ascorbic acid와는 유의적인 차이를 나타내지 않았다. *n*-butanol과 chloroform 분획물, *n*-hexane과 80% 에탄올 분획물에서도 유의차가 나타나지 않았으며 water 분획물은 산채류의 분획물중 가장 낮은 활성을 나타내었다.

예로부터 식용 또는 약용식물로 사용된 자생식물 중 씬바

Table 3. DPPH radical scavenging activity and ABTS radical scavenging activity of various solvent fractions from 80% ethanol extract of *Campanula takesimana* Nakai

Solvent	DPPH radical scavenging activity (mg/mL) ¹⁾	ABTS radical scavenging activity (%)
80% Ethanol	1.08 ± 0.01 ^{2)(b3)}	23.82 ± 0.36 ^d
<i>n</i> -Hexane	1.06 ± 0.01 ^b	14.46 ± 0.09 ^f
Chloroform	0.55 ± 0.01 ^c	63.27 ± 0.22 ^d
Ethyl acetate	0.13 ± 0.00 ^d	98.96 ± 0.15 ^b
<i>n</i> -Butanol	0.34 ± 0.00 ^c	66.37 ± 0.35 ^c
Water	4.64 ± 0.32 ^a	6.82 ± 0.17 ^e
Ascorbic acid	0.03 ± 0.00 ^d	99.42 ± 0.15 ^a

¹⁾Amount required for 50% reduction of hydrogen donating activity.

²⁾Values are mean ± SD (n=3).

³⁾Values with different letters within a same column (a-g) differ significant (p<0.05).

귀(39)와 산초(40)는 ethyl acetate 분획에서 가장 높은 DPPH radical 소거활성을 보였다는 연구 결과와 일치하였으나, 참나물(33)은 *n*-hexane 분획, 영경귀 잎(41)은 *n*-butanol 분획, 고려영경귀(34)는 물분획에서 가장 높은 활성을 보였다고 보고하고 있다. 이러한 항산화성의 정도는 식물의 종류 및 이들에 함유되어 있는 항산화 유효성분의 종류와 추출방법에 따라 현저한 차이가 난다고 보고되고 있으며(42), 본 연구 결과 총 페놀함량이 가장 높게 측정된 섬초롱의 ethyl acetate 분획물에서 DPPH radical 소거 활성 또한 높게 측정되어, 각 추출물이 함유하고 있는 총 페놀 화합물의 함량이 증가하면 항산화 활성도 증가한다는 Seo 등(43)의 보고와 유사하였다.

ABTS radical scavenging activity

섬초롱 추출물의 분획별 0.5 mg/mL 농도의 ABTS 라디칼 소거 활성을 평가한 결과, Table 3에 나타난 바와 같이 섬초롱의 ABTS 라디칼 소거 활성은 ethyl acetate > *n*-butanol > chloroform > 80% ethanol > *n*-hexane > water 순으로, ethyl acetate 분획물에서 98.96%로 가장 높은 활성을 보여 항산화 대조군인 ascorbic acid(99.42%) 활성과 비교 시 본 시료의 ethyl acetate 분획물 활성이 뒤떨어지지 않음을 알 수 있었다. Choi 등(44)의 산수유, 복분자, 음양곽, 우슬, 현삼, 지황 등 14종의 생약 추출물이 50 mg/mL 농도에서 90% 이상의 ABTS radical 소거능을 나타내었다고 보고한 것과 비교할 때 본 실험에 사용된 섬초롱의 ethyl acetate 분획물 활성이 우수함을 확인할 수 있었다.

Reducing power

섬초롱 추출물의 분획물을 0.1, 0.3, 0.5, 0.7, 1.0 mg/mL의 농도에서 Fe⁺³이온에서 Fe⁺²이온으로의 환원력을 측정하였으며, 이를 700 nm에서의 흡광도 값으로 나타내었다. 환원력이 클수록 녹색에 가까게 발색되므로 항산화 활성이 큰 물질일수록 높은 흡광도 값을 나타낸다. 섬초롱의 환원력은 모든 용매 분획물 모두 농도가 증가함에 따라 흡광도 수치가

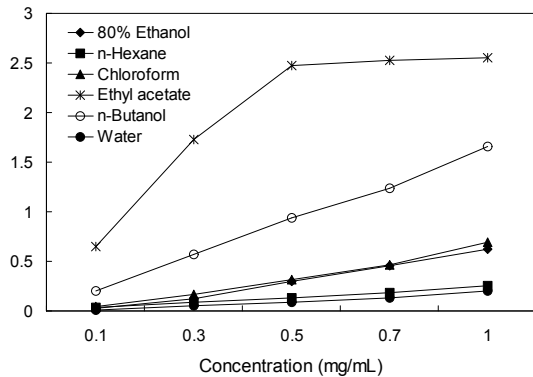


Fig. 2. Reducing power of various solvent fractions from 80% ethanol extract of *Campanula takesimana* Nakai.

유의적으로 증가함을 나타내었다(Fig. 2). 섬초롱 추출물의 분획물 중 ethyl acetate 분획물이 2.55로 가장 높은 흡광도 수치를 나타내었다. Kim 등(45)은 눈개승마 추출물 및 분획물의 환원력을 측정 한 결과 1.0 mg/mL에서 ethyl acetate 분획의 흡광도 수치가 2.69로 가장 높게 나타났으며, 80% 에탄올 추출물 2.37, *n*-butanol 1.74, *n*-hexane 0.76, water 0.56, chloroform 0.38 순으로 흡광도 수치를 나타내었다고 보고하였으며, Lee 등(46)은 제비꽃의 메탄올, 에탄올, 아세톤 추출물(1,000 µg/mL)에서 각각 0.275, 0.233, 0.101의 흡광도 수치를 나타내었다고 보고하였다. 따라서 섬초롱 추출물의 분획물 중 ethyl acetate 분획물이 눈개승마의 ethyl acetate 분획물보다는 낮은 흡광도 수치를 나타내었지만 제비꽃 추출물에 비해서는 비교적 높은 환원력을 나타내었다.

Superoxide dismutase(SOD) 유사 활성

산화방지는 물론 노화억제와도 밀접한 관계가 있는 것으로 알려져 있는 SOD 유사활성은 pyrogallol에 대한 자동산화 반응을 이용하여 측정하였다(Table 4). 섬초롱 추출물의 분획물을 1 mg/mL의 농도로 측정 한 결과 섬초롱은 80% 에탄올 추출물이 16.75%, *n*-hexane 38.42%, chloroform 57.88%, ethyl acetate 62.27%, *n*-butanol 70.56%, water 15.82%로 나타났다. 분획물중 *n*-butanol 분획물에서 가장 높은 SOD 유사활성 효과를 나타냈으나, 대조군인 ascorbic acid의 활성에 비해 낮았고, 80% 에탄올 추출물과 water 분

Table 4. Superoxide dismutase (SOD) like activities of various extracts from *Campanula takesimana* Nakai

Solvent	SOD like activity (%)
80% Ethanol	16.75 ± 1.82 ^{1) f2)}
<i>n</i> -Hexane	38.42 ± 0.26 ^e
Chloroform	57.88 ± 0.38 ^d
Ethyl acetate	62.27 ± 0.14 ^c
<i>n</i> -Butanol	70.56 ± 0.43 ^b
Water	15.82 ± 1.78 ^f
Ascorbic acid	99.95 ± 0.06 ^a

¹⁾Values are mean ± SD (n=3).

²⁾Values with different letters within a same column (a-f) differ significant (p<0.05).

획물간의 활성에는 유의차가 나타나지 않았다.

Lim 등(47)의 한국산 약용식물을 대상으로 SOD 유사활성을 조사한 결과 애엽 22.90%, 곽향 16.50%, 박하 15.00%, 익모초 7.53%를 나타낸다는 보고와 비교하면, 섬초롱의 80% 에탄올 추출물과 water 분획물을 제외한 다른 분획물의 경우 비교적 높은 SOD 유사활성을 나타내었으며, An과 Lee (48)의 산사자 물 추출물과 에탄올 추출물이 12% 미만의 SOD 유사활성을 나타낸다는 결과와 비교하면, 섬초롱의 *n*-butanol과 ethyl acetate 분획물은 기존에 보고된 여러 종류의 천연물보다 비교적 높은 SOD 유사활성을 갖으며, 항산화 효과가 높은 천연 자원으로 이용이 가능할 것으로 판단된다.

Tyrosinase 저해 활성

섬초롱 80% 에탄올 추출물과 그 분획물의 tyrosinase 저해 활성 측정은 0.1, 0.5, 1, 5 mg/mL의 농도로 측정하였으며, 산채류 추출물과 분획물 모두 농도가 높아짐에 따라 유의적으로 증가하였다. Fig. 3에서 섬초롱의 *n*-butanol 분획물은 22.36~34.77%, ethyl acetate 분획물은 17.34~30.85%로서 분획물중 유의적으로 높은 tyrosinase 저해 활성을 나타내었으며, chloroform 분획물은 5.96~19.37%로 분획물 중 낮은 활성을 나타내었다.

Choi 등(49)은 methanol 추출물 1 mg/mL의 농도에서 마황(96%), 연교(54%), 감초(52%)의 저해활성을 보고하였다. Park과 Chang(50)은 느타리버섯, 양송이버섯, 영지버섯 및 운지버섯 추출물은 water 분획물(1 mg/mL)에서 각각 40.2, 51.5, 67.3, 48.0%의 높은 tyrosinase 저해 활성을 보였고, 석이버섯 추출물은 ethyl acetate 분획물(1 mg/mL)에서 78.2%의 높은 저해 효과를 보였다는 보고와 비교하면 섬초롱의 tyrosinase 저해활성이 낮았다. 그러나 1,000 µg/mL의 농도에서 지실 15%, 산수유 28%, 갈근 25%, 그리고 산약은 11%의 저해율을 나타내었다고 Choi 등(49)은 보고하였다. 에탄올을 용매로 추출한 가죽나무의 줄기와 잎 추출물에서는 각각 4.05%와 11.94%의 저해효과를 나타낸다는 Lee(51)의 보고와 사리의 에탄올, 물 추출물이 각각 27.61%, 12.96%(1,000

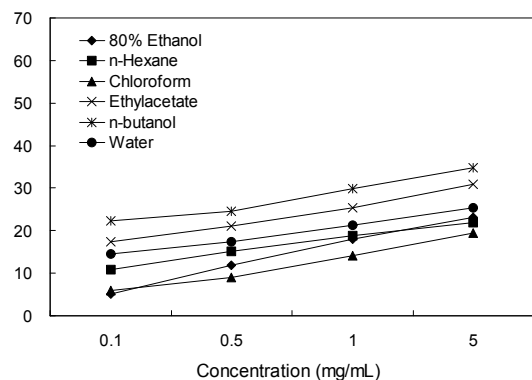


Fig. 3. Tyrosinase inhibition of various solvent fractions from 80% ethanol extract of *Campanula takesimana* Nakai.

µg/mL)라는 Lee 등(52)의 결과를 비교하면, 섬초롱 분획물들은 높은 tyrosinase 저해율을 나타내어 피부나 식품의 갈변화를 방지하는 기능성 제품에 이용가능한 생물자원인 것으로 사료된다.

요 약

본 연구는 섬초롱(*Campanula takesimana* Nakai)의 생리 효능을 체계적으로 밝히기 위한 기초 자료를 얻고자 in vitro에서 80% 에탄올 추출물과 순차적 분획물에 대하여 항산화 효과를 검증하였다. 섬초롱 에탄올 추출물의 추출 수율은 35.18%였으며, 이에 대하여 용매별로 분획한 수율은 water 분획물이 74.53%로 가장 높았으며, *n*-butanol, *n*-hexane, ethyl acetate, chloroform 순이었다. 섬초롱 추출물 및 분획물의 총 폴리페놀 함량은 ethyl acetate 분획물에서 276.26 mg/g으로 가장 높게 나타났다. DPPH radical 소거활성을 측정한 결과, 섬초롱 ethyl acetate 분획물에서 IC₅₀ 값이 0.13 mg/mL로 높은 활성을 나타내었다. 0.5 mg/mL 농도에서의 ABTS 라디칼 소거활성은 ethyl acetate 분획물에서 98% 이상의 활성을 보였으며, 이는 항산화 대조군인 ascorbic acid의 활성과 비교 시 높은 활성을 갖는 것으로 나타났다. 환원력은 분획물 모두 1 mg/mL 농도에서 ethyl acetate 분획물이 유의적으로 높은 흡광도 수치를 나타내었다. SOD 유사활성은 1 mg/mL의 농도로 측정한 결과, 섬초롱은 *n*-butanol 분획물 70.56%, ethyl acetate 분획물 62.27%로 나타났다. Tyrosinase 저해 활성은 5 mg/mL의 농도에서 *n*-butanol 분획물 34.77%, ethyl acetate 분획물 30.85% 순으로 나타났다. 이상의 결과로부터 섬초롱의 추출물 및 분획물 중 ethyl acetate와 *n*-butanol 분획물의 경우 높은 항산화 활성을 나타내어, 천연물소재로서 식품 첨가물 및 화장품 원료로의 가능성이 있는 것으로 사료된다.

문 헌

- Goldberg I. 1994. Functional Foods. Chapman & Hall Press, New York, NY, USA. p 3-550.
- Sadaki O. 1996. The development of functional foods and materials. *Bioindustry* 13: 44-50.
- Frdorich I. 1978. The biology of oxygen radicals. *Science* 201: 875-881.
- Branen AL. 1975. Toxicological and biochemistry of butylated hydroxyanisole and butylated hydroxytoluene. *J Am Oil Chem Soc* 52: 59-65.
- Farag RS, Badei AZMA, EI Baroty GSA. 1989. Influence of thyme and clove essential oils in cottonseed oil oxidation. *J Am Oil Chem Soc* 66: 800-804.
- Park SN. 1997. Skin aging and antioxidants. *J Soc Cos Chem Kor* 23: 75-132.
- Heo SI, Wang MH. 2008. Antioxidant activity and cytotoxicity effect of extracts from *Taraxacum mongolicum* H. *Kor J Pharmacogn* 39: 255-259.
- Lee YM, Lee JJ, Lee MY. 2008. Antioxidative effect of *Pimpinella brachycarpa* ethanol extract. *J Life Sci* 18: 467-473.
- Atouia AK, Mansouria A, Boskoub G, Kefalas P. 2005. Tea and herbal infusions: Their antioxidant activity and phenolic propolis. *Food Chem* 89: 27-36.
- Elzaawely AA, Xuan TD, Tawata S. 2005. Antioxidant and antibacterial activities of *Rumex japonicus* HOUTT. aerial parts. *Biol Pharm Bull* 28: 2225-2230.
- Joung YM, Park SJ, Lee KY, Lee JY, Suh JK, Hwang SY, Park KE, Kang MH. 2007. Antioxidative and antimicrobial activities of *Lilium* species extracts prepared from different aerial parts. *Korean J Food Sci Technol* 39: 452-457.
- Chang SS, Ostric-Matijasevic B, Hsieh OAL, Huang CL. 1977. Natural antioxidants from rosemary and sage. *J Food Sci* 42: 1102-1106.
- Jeong SJ, Lee JH, Song NH, Seong SN, Lee SE, Baeg NI. 2004. Natural products organic chemistry; screening for antioxidant activity of plant medicinal extracts. *J Korean Soc Appl Biol Chem* 47: 135-140.
- Kim EJ, Ahn MS. 1993. Antioxidative effect of ginger extracts. *Korean J Soc Food Sci* 9: 37-42.
- Rural Development Administration. 1999. Wild vegetables cultivation (Standard farming handbook-60). Suwon, Korea. p 110-111.
- Lim SJ, Park NJ. 1994. A study on the development of new recipes of 5-Korean wild vegetables. *Korean J Soc Food Sci* 10: 412-419.
- Hendrich S, Lee KW, Xu X, Wang HJ, Murphy PA. 1994. Defining food components as new nutritions. *J Nutr* 124: 1789S-1792S.
- Ueda S, Kuwabara Y, Hirai N, Sasaki H, Sugahara T. 1991. Antimutagenic capacities of different kinds of vegetables and mushrooms. *Nihon Shokubun Kogyoo Cakkaishi* 38: 507-514.
- Hwang BH, Zhao JL, Choi KP, Jung SW, Kim EJ, Ham SS. 1996. The antimutagenic and anticancer effect of *Taxus cuspidate* extracts. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 25: 1062-1068.
- Jhee OH, Yang CB. 1996. Antioxidative activity of extract from *Bangah* herb. *Korean J Food Sci Technol* 28: 1157-1163.
- Lee BW, Shin DH. 1991. Screening of natural antimicrobial plant extract on food spoilage microorganisms. *Korean J Food Sci Technol* 23: 200-204.
- Ham SS, Lee SY, Oh DW, Jung SW, Kim SH, Chung CK, Kang IJ. 1998. Antimutagenic and antigenotoxic effects of *Ligularia fischeri* extracts. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 27: 745-750.
- Kim TG. 1996. *Campanula punctata* Lamarck. In *Korean resources plants*. Seoul national Univ. Press, Seoul, Korea. p 186-188.
- Choi NH, Kim GH, Jeong BR. 2006. Effect of CO₂ concentration, temperature, and photosynthetic photon flux on the photoautotrophic growth of *Campanula punctata* Lam. var. *rubriflora* Mak. and *Campanula takesimana* Nakai in vitro. *Flower Res J* 14: 283-288.
- Kim WS, Yang HK, Lee DW, Lee JS. 1996. Floral morphology, seed germination, and photosynthesis of *Campanula takesimana* Nakai native to Korea. *J Kor Soc Hort Sci* 37: 704-707.
- Heo BG, Yu SY, Kim BW, Yang SY, Cho JY, Chon SU, Jang HG, Kim HJ, Park YJ. 2006. Comparative study on the edible wild plants in the literature and traditional markets. *J Kor Soc Plants People Environ* 8: 30-45.
- Folin O, Denis W. 1912. On phophotungstic-phosphomolybdic compounds as color reagents. *J Bio Chem* 12: 239-

- 249.
28. Blois MS. 1958. Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature* 181: 1199-1200.
 29. Pellegrin N, Ke R, Yang M, Rice-Evans C. 1999. Screening of dietary carotenoids and carotenoid-rich fruit extracts for antioxidant activities applying 2,2'-azinobis(3-ethylenbenzothiazoline-6-sulfonic acid) radical cation decolorization assay. *Methods Enzymol* 299: 379-389.
 30. Oyaizu M. 1986. Studies on product of browning reaction prepared from glucose amine. *Jpn J Nutr* 44: 307-315.
 31. Marklund S, Marklund G. 1974. Involvement of the superoxide anion radical in the autoxidation of pyrogallol and a convenient assay for superoxide dismutase. *Eur J Biochem* 47: 469-474.
 32. Yagi A, Kanbara T, Morinobu N. 1986. The effect of tyrosinase inhibition for aloe. *Plant Medica* 52:517-519.
 33. Lee YM, Lee JJ, Lee MY. 2008. Antioxidative effect of *Pimpinella brachycarpa* ethanol extract. *J Liê Sci* 18: 467-473.
 34. Lee SH, Jin YS, Heo SH, Shim TH, Sa JH, Choi DS, Wang MH. 2006. Composition analysis and antioxidative activity from different organs of *Cirsium setidens* Nakai. *Korean J Food Sci Technol* 38: 571-576.
 35. Lee SO, Lee HJ, Yu MH, Im HG, Lee IS. 2005. Total polyphenol contents and antioxidant activities of methanol extracts from vegetables produced in Ullung island. *Korean J Food Sci Technol* 37: 233-240.
 36. Lee KS, Kim MG, Lee KY. 2006. Antioxidative activity of ethanol extract from lotus (*Nelumbo nucifera*) leaf. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 35: 182-185.
 37. Lee JJ, Ha JO, Lee ML. 2007. Antioxidative activity of lotus root (*Nelumbo nucifera* G.) extracts. *J Liê Sci* 17: 1237-1243.
 38. Choi BB, Lee HJ, Bang SK. 2004. Studies on the amino acid, sugar analysis and antioxidative effect of extracts from artemisia sp. *Korean J Food Sci Technol* 17: 86-91.
 39. Kim MJ, Kim JS, Cho MA, Kang WH, Jeong DM, Ham SS. 2002. Biological activity of *Ixeris dentata* Nakai juice extracts. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 31: 924-930.
 40. Jang MJ, Woo MH, Kim YH, Jun DY, Rhee SJ. 2005. Effects of antioxidative, DPPH radical scavenging activity and antithrombogenic by the extract of sancho (*Zanthoxylum schinifolium*). *Korean J Nutr* 38: 386-394.
 41. Lee HK, Kim JS, Kim NY, Park SU, Kim MJ, Yu CY. 2003. Antioxidant, antimutagenicity and anticancer activities of extracts from *Cirsium japonicum* var. *ussuriense* KIT-AMARU. *Korean J Medicinal Crop Sci* 11: 53-61.
 42. Kim JG, Kang YM, Eum GS, Ko YM, Kim TY. 2003. Antioxidative activity and antimicrobial activity of extracts from medicinal plants (*Akebia quinata* Decaisn, *Sciruflyviatilis* A. Gray, *Gardenia jasminoides* for. *grandiflora* Makino). *J Agric Liê Sci* 37: 69-75.
 43. Seo YH, Kim IJ, Yie AS, Min HK. 1999. Electron donating ability and contents of phenolic compounds, tocopherols and carotenoids in waxy corn (*Zea mays* L.). *Korean J Food Sci Technol* 31: 581-585.
 44. Choi SS, Yim DS, Lee SY. 2009. Radical scavenging activities and protective effects against oxidative damage to DNA of extracts from medicinal plants with known osteoprotective effects. *Kor J Pharmacogn* 40: 143-149.
 45. Kim MS, Kim KH, Jo JE, Choi JJ, Kim YJ, Kim JH, Jang SA, Yook HS. 2011. Antioxidant and antimicrobial activities of *Aruncus dioicus* var. *kamtschaticus* Hara extracts. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 40: 47-55.
 46. Lee BB, Park SR, Han CS, Han DY, Park EJ, Park HR, Lee SC. 2008. Antioxidant activity and inhibition activity against α -amylase and α -glucosidase of *Viola mandshurica* extracts. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 37: 405-409.
 47. Lim JD, Yu CY, Kim MJ, Yun SJ, Lee SJ, Kim NY, Chung IM. 2004. Comparison of SOD activity and phenolic compound contents in various Korean medicinal plants. *Korean J Medicinal Crop Sci* 12: 191-202.
 48. An BJ, Lee JT. 2002. Studies on biological activity from extract of *Crataegi Fructus*. *Kor J Herbology* 17: 29-38.
 49. Choi BW, Kee BH, Kang KJ, Lee ES, Lee NH. 1998. Screening of the tyrosinase inhibitors from marine algae and medicinal plants. *Kor J Pharmacogn* 29: 237-242.
 50. Park YH, Chang SK. 1997. Screening of inhibitory effect of edible mushrooms on tyrosinase and isolation of active component. *J Fd Hyg Safety* 12: 195-199.
 51. Lee YS. 2007. Physiological activities of ethanol extracts from different parts of *Ailanthus altissima*. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 36: 389-394.
 52. Lee YS, Joo EY, Kim NW. 2006. Polyphenol contents and physiological activity of the *Lespedeza bicolor* extracts. *Korean J Food Preserv* 13: 616-622.

(2012년 6월 27일 접수; 2012년 8월 17일 채택)