

인진(茵陳)으로 쓰이는 사철쭉과 더위지기 추출물의 항산화 활성

서경순, 윤경원^{1*}

신흥제약사, ¹순천대학교 한약자원학과

Antioxidant Activities of Extracts from *Artemisia capillaris* *T*_{HUNB.} and *Artemisia iwayomogi* *K*_{ITAM.} used as Injin

Kyoung Sun Seo and Kyeong Won Yun^{1*}

Shinhung Pharmaceuticals Company, Yeosu 540-955, Korea

¹Department of Oriental Medicine Resources, Suncheon National University, Suncheon 540-742, Korea

Abstract - The antioxidant activities of *Artemisia capillaris* and *Artemisia iwayomogi* used as Injin (Korean herbal name) were investigated. The DPPH radical scavenging activity of the ethylacetate fractions obtained from the *Artemisia capillaris* and *Artemisia iwayomogi* was higher than other fractions. No DPPH radical scavenging activity was observed in hexane fractions. The nitrite scavenging activity was the highest at pH 1.2, and the peroxide value for linoleic acid was increased during the incubation.

Key words - *Artemisia capillaris*, *Artemisia iwayomogi*, Injin, DPPH radical scavenging activity, Nitrite scavenging activity, Peroxide value

서 언

최근 식생활의 변화 및 흡연, 과음 및 스트레스와 같은 간접적 인자들의 활성화로 발생하는 당뇨, 비만, 암의 억제 또는 예방 및 치료를 목적으로 약용식물에 대한 연구가 활발히 이루어지고 있다(황 등, 1998; 정 등, 2004). 환경적 요인에 의해 생성될 수 있는 자유기는 지질에 산화적 손상과 밀접한 연관이 있다(Ames, 1989). 활성산소는 생체내에 존재하는 항산화제인 superoxide dismutase(SOD)와 같은 저분자물질이나 free radical scavenger 역할을 하는 vitamin E, β -carotene, vitamin C 및 glutathione 등의 기작에 의해 대부분이 소멸되지만 과량의 활성산소나 지속적인 활성산소 생성으로 항산화 방어계와 균형이 깨지게 되면 질환을 일으키게 된다(차 등, 1998). 따라서 항산화 성분의 섭취나 항산화효소 활성증가 등으로 체내 항산화효능을 증진시키는 것은 누적되는 산화적 손상에 대항하기 위해서 매우 중요하게 보고되고 있으며(신, 2001; 정 등, 2004), 더불어 항산화물질을 함유한 천연자원에 대한 관심도 증가되고 있다(정 등, 2000).

쭉(*Artemisia*)속 식물의 정유성분은 살충, 향균 등 여러 가지 생리활성이 있는 것으로 알려져 있으며(정 등, 1989), 인진 에탄올추출물은 고혈압, 비만 등의 성인병 치료 및 예방에 효과가 있고 간기능 보호 및 항산화 효과가 있다고 보고되었다(Nam *et al.*, 1999). 사철쭉의 추출액은 지질의 과산화 방지와 GOT, GPT의 활성도가 상승되는 것을 방지하는 효과가 있다고 소개되었다(Kimura *et al.*, 1985).

대한약전외한약(생약)규격집(식품의약품안전청, 2007)에서는 사철쭉(*Artemisia capillaris* *T*_{humb.})의 지상부를 인진(茵陳)으로, 더위지기(*Artemisia iwayomogi* *K*_{itam.})의 지상부를 한인진(韓茵陳)이라고 규정하고 있다. 그러나 사철쭉과 더위지기는 인진(茵陳)으로 혼용되어지고 있으며 이들 식물에 대한 항산화 효능에 관한 구체적인 비교연구가 되어 있지는 않다. 아울러 생화학적 작용은 정확히 알려져 있지는 않으나 사철쭉과 더위지가 노화방지 및 성인병에 유효한 효과를 나타내는 것으로 알려져 있어 근래에 그 수요가 증가하고 있다.

본 연구에서는 사철쭉과 더위지기의 용매별 추출물에 대한 항산화효과를 확인하고자 한다.

*교신저자(E-mail) : ykw@suncheon.ac.kr

재료 및 방법

시료처리

본 시험에서는 진안약초시험장에서 생육이 왕성한 7월에 채취한 사철쑥(*Artemisia capillaris* Thunberg)와 더위지기(*Artemisia iwayomogi* Kitamura) 두 종식물의 잎만을 분리한 시료와 시중에서 한약재로 유통되어질때와 마찬가지로 잎과 줄기, 네가지 시료를 음건한 후 분쇄하여 분말로 만들었다. 분말이 된 시료를 100 mesh 체로 걸러 본 실험에 사용하였다.

다용매 연속 추출

각 건조시료 30g을 Accelerated Solvent Extractor(ASE 100, Dionex, USA)에 의한 용매별 분획으로 hexane, ether, ethylacetate, methanol 및 water로 연속 추출하여 166ml 추출물을 얻었다. 분획물을 농축하여 30ml로 정용한 후 실험재료로 사용하였다(Fig. 1).

항산화 활성 검정

DPPH radical 소거활성 측정

각 시료의 전자공여능 측정은 Blois(1958)의 방법에 준하여

각 추출물의 DPPH(1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl)에 대한 수소공여 효과로 측정하였다. 즉, 일정 농도의 시료 2ml에 2×10^{-4} M DPPH용액(dissolved in 99% methanol) 1ml를 dissolved 가하고, vortex mixing하여 37°C에서 30분간 반응시켰다. 이 반응액을 흡수분광광도계를 사용하여 517nm에서 흡광도를 측정하였다. 전자공여능(electron donating ability, EDA%)으로 환산하였으며 3회 반복실험하여 얻은 결과를 평균치로 나타내었다.

$$EDA(\%) = (A_{\text{control}} - A_{\text{sample}}) / A_{\text{control}} \times 100$$

A_{control} : 음성대조구(분획 미첨가)의 흡광도

A_{sample} : 실험구(분획 첨가)의 흡광도

아질산염 소거능(nitrite scavenging ability, NSA)

Kato *et al.*(1987)의 방법에 준하여 1mM NaNO₂ 용액 1ml에 각각의 분획물 0.02ml를 가하고 0.1N HCl(pH 1.2), 0.2M citrate phosphate buffer(pH 4.2, pH 6.0)로 각각 pH를 보정한 다음 반응액의 부피를 10ml로 하였다. 용액을 37°C에서 1시간 반응시킨 후 1ml씩 취하고 2% 초산 5ml와 30% 초산에 용해한 Griess 시약(1% sulfanylic acid : 1% naphthylamine = 1 :

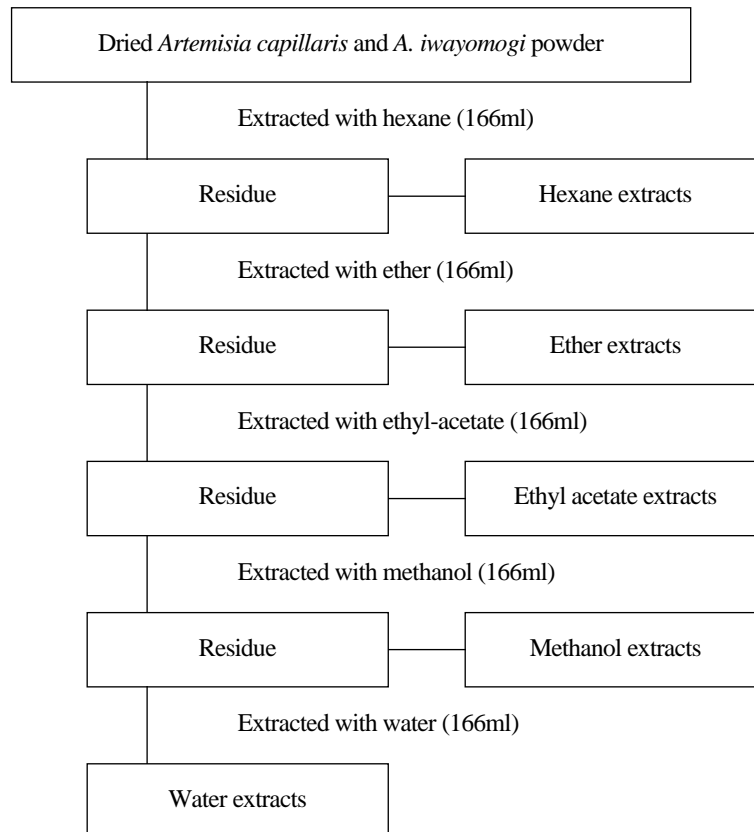


Fig.1. Procedure for extraction of *Artemisia capillaris* and *A. iwayomogi* by various solvents.

1) 0.4ml를 가하여 15분간 방치한 다음 520nm에서 흡광도를 측정하였다. 대조구는 증류수 0.4ml를 가하여 상기와 동일한 방법으로 측정하여 잔존하는 아질산 양을 구하였으며, 아질산염 소거능은 분획물을 첨가하기 전과 후의 아질산염 백분율(%)로 표시하였다. 실험결과는 3회 반복시험하였다.

$$N(\%) = 1 - \frac{(A-C)}{B} \times 100$$

N : Nitrite scavenging ability

A : Absorbance of 1mM NaNO₂ added sample after standing for 1 hour

B : Absorbance of 1mM NaNO₂

C : Absorbance of control

Linoleic acid에 대한 항산화효과

Linoleic acid 1ml, methanol 20ml, 분획 0.1ml 및 0.2 M phosphate buffer(pH 7.4) 25ml를 취하여 50℃에서 일정 기간동안(3, 5, 7일) 저장한 후 반응액을 분획여두에 옮겨 chloroform을 가하고 3회 반복 추출하였다. Chloroform추출액에 acetic acid 25ml 및 포화 KI 용액 1ml를 가하고 암소에 5분간 방치한 다음 증류수 50ml를 가한 후 가용성 전분을 지시약으로 하여 0.01N Na₂S₂O₃용액으로 적정하였다.

결과 및 고찰

DPPH radical 소거활성

각 시료에 대하여 hexane, ether, ethylacetate, methanol 및 water추출물에 대해 DPPH free radical 소거 효과를 측정하였다(Table 1).

추출물별 DPPH free radical 소거능을 확인한 IC₅₀은 ethylacetate추출물에서 1.56~2.24µg/ml, ether추출물에서 6.65~9.75µg/ml로 나타났으며 methanol추출물은 19.43~36.73µg/ml, water추출물은 12.93~82.91µg/ml의 소거능을 보였다. 추출용매에 따른 DPPH free radical 소거능은

ethylacetate추출물, ether추출물, methanol추출물, water추출물 순이었으며 hexane 추출물에서는 전자공여능이 뚜렷히 나타나지 않았다.

시료별 IC₅₀을 살펴보면 ethylacetate로 추출한 사철쭉 잎추출물에서 1.74µg/ml, 사철쭉 잎과 줄기추출물에서 2.24µg/ml, 더위지기 잎추출물에서 1.81µg/ml, 더위지기 잎과 줄기추출물에서 1.56µg/ml로 나타났다. Ether추출물과 methanol추출물에서도 더위지기가 사철쭉보다 강한 소거능을 나타내었으며 water추출물에서 사철쭉 잎이 더위지기 잎보다 강한 소거능을 나타내었다. 시료별 비교는 실험결과가 일정하게 나타난 ethylacetate추출물과 ether추출물의 DPPH free radical 소거능을 기준으로 더위지기가 사철쭉에 비하여 높은 항산화활성을 나타내었다.

쭉속 식물의 항산화활성 연구로는 황해쭉 잎추출물이 줄기추출물에 비하여 높은 DPPH free radical 소거능을 나타낸다고 보고한 바 있는데(이 등, 2003), 본 연구의 사철쭉 소거능이 더 높은것으로 나타났으며, 우리나라 자생 쭉부쟁이속 4종 식물보다는 낮은 소거능을 보였다(우 등, 2008). 최 등(2007)은 사철쭉의 주요한 약리성분인 coumarin계 scoparone 함량변화를 측정하여 잎보다 줄기와 종실에 함량이 높다고 보고하였고, *in vivo* 실험에서 scoparone은 mouse 간 xanthine oxidase 활성을 감소시킨다고 알려져 있다(허 등, 1987). 한편, 이 등(1999)의 연구에서는 참쭉 *Artemisia princeps* var *orientalis* 에서 분리한 flavonoid 화합물들이 효소적 또는 비효소적으로 지질 과산화를 억제하며 높은 항산화효과를 나타낸다고 하였다. 대부분의 flavonoid 화합물은 ethylacetate층에 존재함을 2-D paper chromatography 방법을 통하여 입증하였다(Mabry *et al.*, 1970). 또한 최 등(2006)은 더위지기가 사철쭉에 비하여 flavonoid 함량이 현저히 높게 나타남을 확인하였다. 따라서 더위지기가 사철쭉에 비하여 높은 항산화 활성을 나타낸 것은 플라보노이드 화합물의 함량에 따른 것으로 사료된다.

아질산염 소거능(nitrite scavenging ability: NSA)

산도(pH 1.2, 4.2, 6.0)를 달리한 분획별 추출물과 대조군은

Table 1. DPPH radical scavenging of fractions of *A. capillaris* and *A. iwayomogi*

Fraction	IC ₅₀ (±SD, µg/ml) ^{†)}				BHT
	<i>A. capillaris</i> leaf	<i>A. capillaris</i> leaf+stem	<i>A. iwayomogi</i> leaf	<i>A. iwayomogi</i> leaf+stem	
Hexane	0	4.01 ± 0.0	0	0	
Ether	9.75 ± 0.0	7.20 ± 0.0	6.89 ± 0.01	6.65 ± 0.01	
Ethylacetate	1.74 ± 0.0	2.24 ± 0.0	1.81 ± 0.0	1.56 ± 0.0	1.25
Methanol	27.77 ± 0.3	36.73 ± 0.62	19.43 ± 0.04	28.98 ± 0.07	
Water	13.78 ± 0.23	42.03 ± 2.88	82.91 ± 1.32	12.93 ± 0.13	

^{†)}Inhibitory activity was expressed as the mean of 50% inhibitory concentration of triplicate determines, obtained by interpolation of concentration-inhibition curve.

로 항산화제인 BHT(Butylated Hydroxytoluene)와의 아질산염 소거작용을 비교한 결과는 Fig. 2와 같다.

각 pH 조건에서 아질산염 소거능은 전반적으로 비극성 용매의 추출물보다는 극성 용매인 methanol 추출물과 ethylacetate 추출물에서 높은 소거능을 보였다. pH 1.2에서 ethylacetate 추출물은 53.8~84.3%로 가장 높은 소거능을 나타내었으며 methanol과 hexane 추출물에서도 비교적 양호한 소거능을 보였다. Water 추출물과 ether 추출물에서는 소거능이 확실히 나타나지 않았다. 강 등(1995)의 연구에서 용매에 따른 썩의 아질산염 분해능이 70% acetone 추출물에서 양호하게 나타났다

고 보고하여 본 실험의 결과와 유사하였다. 식물종과 부위에 따른 아질산염 소거능은 더위지가 사철썩에 비하여 상대적으로 높은 소거능을 나타내었으며 잎과 줄기추출물에 비하여 잎추출물의 소거능이 약간 높게 나타났다. 임 등(2007)의 연구에서는 배암차조기 메탄올추출물을 첨가하였을 때 아질산염소거능이 pH 1.2에서 44.29%, pH 3.0에서 33.3%, pH 6.0에서 11.5%로 보고되어진 바, 본 실험의 ethylacetate 추출물에 비하여 약한 소거능을 나타내었지만 pH 증가에 따라 각 분획물의 소거능은 감소하였고, 이는 nitrosamine생성은 pH 의존적이며 아질산염 소거능 역시 강산성에서 높으며 pH가 높아질수록 감소한다는

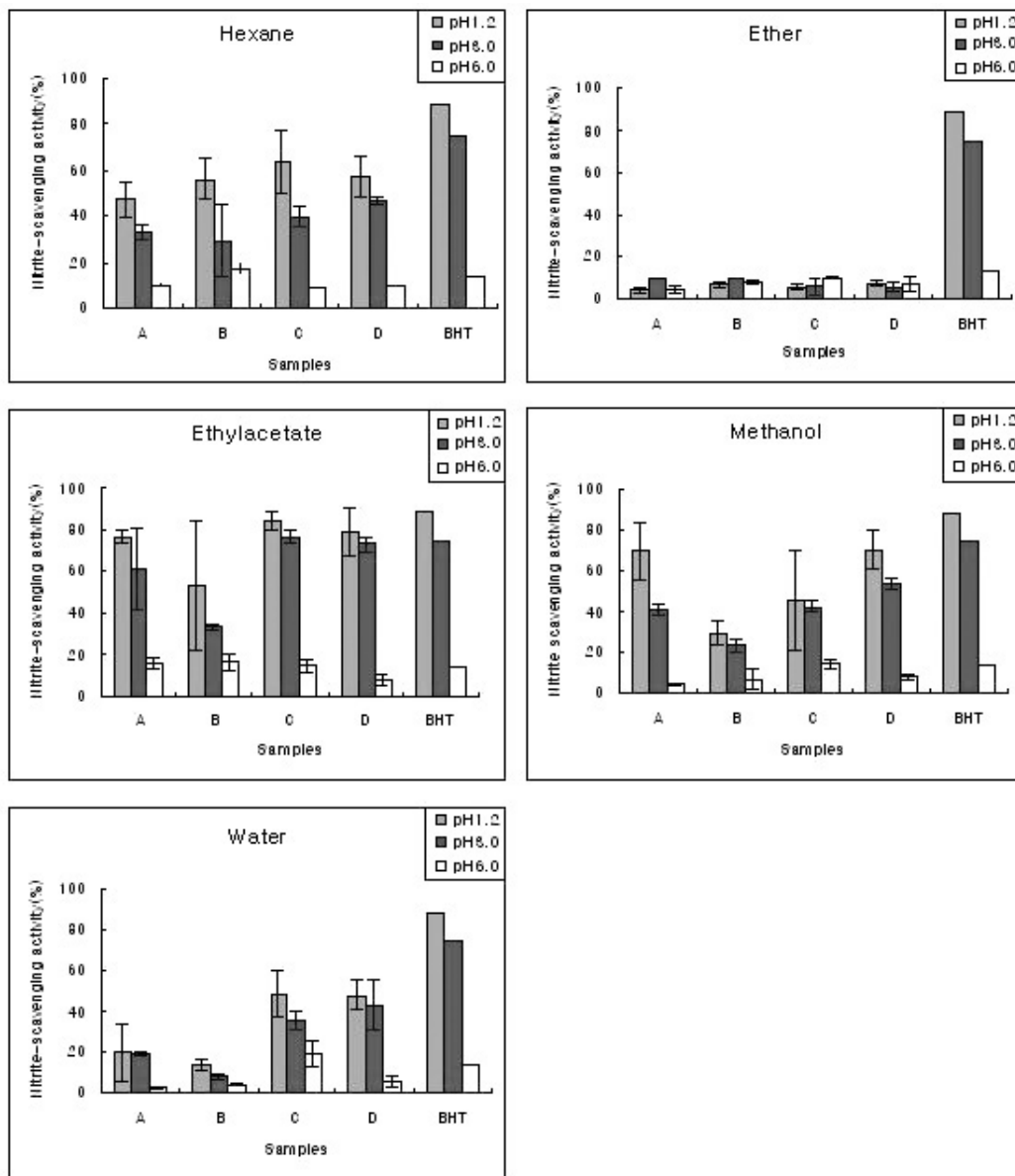


Fig. 2. Nitrite scavenging activity of fractions of *A. capillaris* and *A. iwayomogi* under different pH conditions. A: *A. capillaris* leaf, B: *A. capillaris* leaf + stem, C: *A. iwayomogi* leaf, D: *A. iwayomogi* leaf + stem.

보고와 일치하였다(Fang *et al.*, 2002).

생체내에서도 효과적인 아질산염 소거작용을 통해 nitrosamine 생성을 억제 한다는 기존 연구결과(Gray and Dugan, 1975)에 준하여 더위시기가 사철쑥에 비하여 강한 항산화활성을 나타낼 것으로 사료된다.

Linoleic acid에 대한 항산화효과

Linoleic acid에 추출물 분획을 첨가하여 50°C에서 일정기간 동안(3, 5, 7일) 저장시켜 생성된 과산화물가(peroxide value, POV)를 측정된 결과는 Fig. 3과 같다. 3일간 저장한 linoleic

acid 기질에 대한 추출물별 항산화활성은 ethylacetate추출물에서 367~423meq/kg로 가장 높게 나타났으며 hexane, methanol, water, ether 추출물 순으로 강하게 나타났다. 시료별로는 더위시기가 사철쑥에 비하여 조금 높은 활성을 보였으며 잎 추출물과 잎과 줄기추출물사이의 차이는 유의적이지 않았다. 5일, 7일이 경과하여도 각 분획물의 순서에는 변함이 없었다. 이러한 결과는 기질이 다르고 측정방법이 다름에도 불구하고 DPPH radical 소거효과와 유사한 경향을 나타냈으며, DPPH radical 소거활성이 강할수록 항산화효과가 높다는 이전의 연구 결과들과 비슷하였고(Fang *et al.*, 2002), 당귀와 감초가

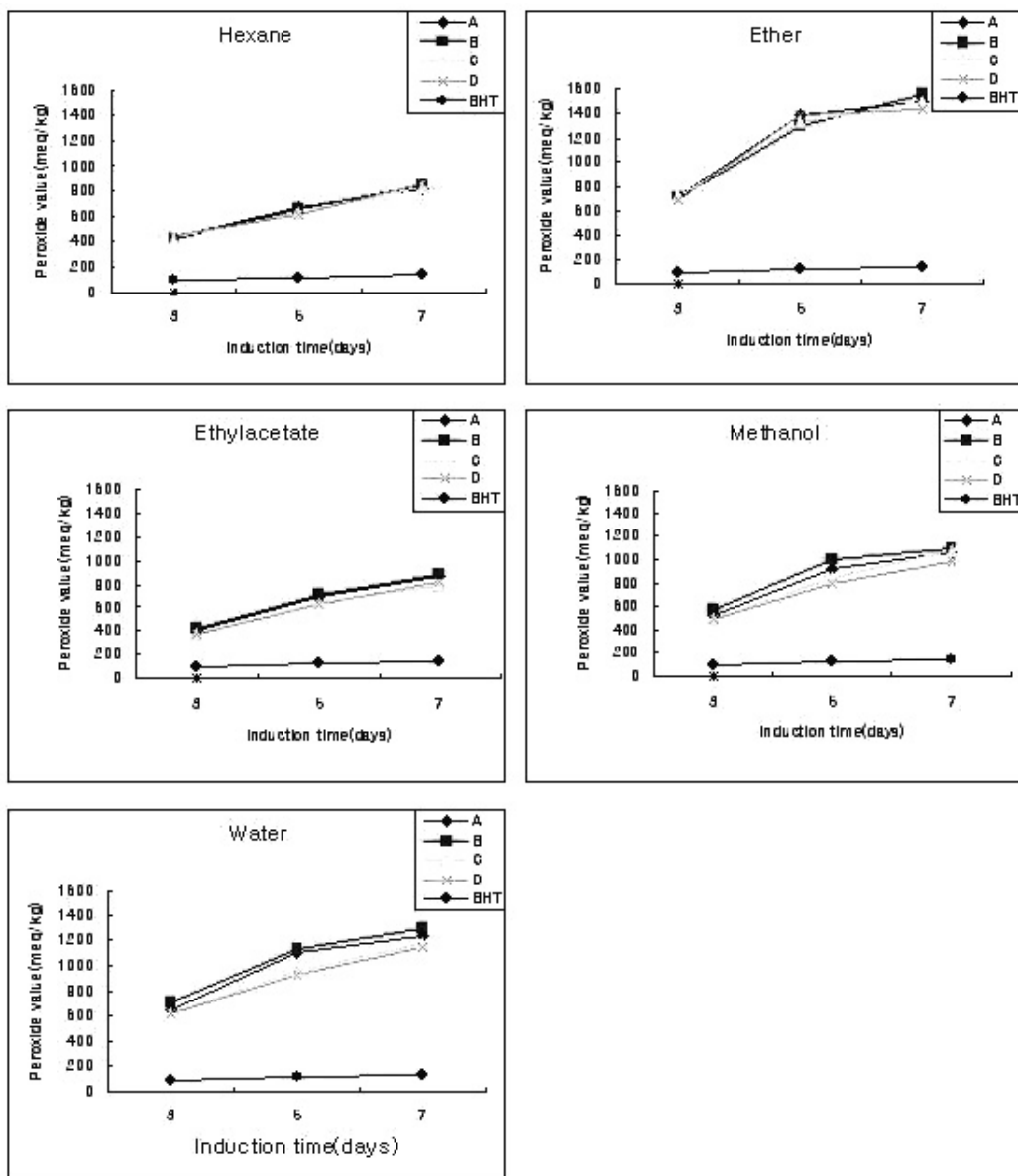


Fig. 3. The antioxidation rate of linoleic acid on added fractions of *A. capillaris* and *A. iwayomogi* during incubation at 50°C for 7 days. A: *A. capillaris* leaf, B: *A. capillaris* leaf + stem, C: *A. iwayomogi* leaf, D: *A. iwayomogi* leaf + stem.

linoleic acid에 대하여 강한 항산화효과를 나타낸 연구결과(김 등, 2004)보다 사철쭉과 더위지기의 linoleic acid에 대한 항산화효과는 다소 약하지만 이 등(2002)이 보고한 시판 한약재의 항산화활성 검증에서 쑥속 식물인 애엽의 linoleic acid에 대한 항산화효과에 비하여는 높은 것으로 판단된다. 또한 DPPH radical 소거활성, 아질산염소거능과 linoleic acid에 대한 항산화 효과에서 더위지기가 사철쭉에 비하여 약간 높은 항산화 활성을 나타냄을 확인하였다.

적 요

본 실험은 전자공여능에 따른 IC₅₀을 살펴본 것으로 ethylacetate로 추출한 사철쭉 잎추출물에서 1.74 μ g/ml, 잎과 줄기추출물에서 2.24 μ g/ml, 더위지기 잎추출물에서 1.81 μ g/ml, 잎과 줄기추출물에서 1.56 μ g/ml로 가장 낮은 농도를 나타내었으며 다음으로 ether추출물, methanol추출물, water추출물 순이었으며 hexane추출물에서는 전자공여능이 뚜렷이 나타나지 않았다. ethylacetate와 ether 추출물의 DPPH free radical 소거능을 기준으로 더위지기가 사철쭉에 비하여 높은 항산화활성을 나타내었다.

각 pH 조건에서 아질산염 소거능은 전반적으로 비극성 용매의 추출물보다는 극성 용매인 methanol추출물과 ethylacetate 추출물에서 높은 소거능을 보였다. pH 1.2에서 ethylacetate추출물은 53.75~84.25%로 가장 높은 소거능을 나타내었으며 methanol추출물과 hexane추출물에서도 비교적 양호한 소거능을 보였고, water추출물과 ether추출물에서는 소거능이 확실히 나타나지 않았다.

3일간 저장한 linoleic acid 기질에 대한 추출물별 항산화활성은 ethylacetate추출물에서 367~423meq/kg로 가장 높게 나타났으며, hexane, methanol, water, ether추출물순이었고 더위지기가 사철쭉에 비하여 조금 높은 활성을 보였으며 잎추출물과 잎과 줄기추출물사이의 차이는 유의적이지 않았다.

사 사

이 논문은 2007년도 정부재원(교육인적자원부 학술연구조성사업비)으로 한국학술진흥재단의 지원을 받아 연구되었음(KRF-2007-521-F00012).

인용문헌

Ames, B.N. 1989. Endogenous oxidative DNA damage, aging, and cancer. *Free Radical Res. Commun.* 7: 121-128.

Blois, M.S. 1958. Antioxidant determination by the use of a stable free radical. *Nature* 26: 1199-1744.

Fang, Y.Z., S. Yang and G. Wu. 2002. Free radicals antioxidants and nutrition. *Nutrition* 18: 872-879.

Gray, J.I. and J.R. Dugan. 1975. Inhibition of N-nitrosamine formation in model food systems. *J. Food Sci.* 40: 981-984.

Kato, H., C. Lee, N.V. Kim and S.B. Hayase. 1987. Inhibition of nitrosamine formation by nondialyzable melanoidins. *Agric. Bio. Chem.* 51: 1333-1338.

Kimura, Y., H. Okuda, T. Okuda, T. Hatano, I. Agrat and S. Arichi. 1985. Studies on the activities of tannins and related compounds from medicinal plants and drug. Effect of extracts of leaves of *Artemisia* species and caffeic acid and chlorogenic acid on lipid metabolic injury in rats fed peroxidized oil. *Chem. Pharm. Bull.* 33: 2028-2034.

Mabry, T.J., K.R. Markham and M.B. Thomas. 1970. The systematic identification of flavonoids. *Journal of Molecular Structure* 10: 320.

Nam, S.M., J.G. Kim, S.S. Han, S.J. Kim, M.E. Chung and C.K. Chung. 1999. Effects of *Artemisia iwayomogi* K_{ITAMURA} ethanol extracts on lowering serum and liver lipids in rats. *J. Kor. Soc. Food Sci. Nutr.* 28: 199.

강운한, 박용곤, 오상룡, 문광덕. 1995. 솔잎과 쑥 추출물의 기능성 검토. *한국식품과학회지* 27: 978-983.

김은영, 백인희, 김정현, 김성란, 류미라. 2004. 항산화활성을 나타내는 약용식물 소재 탐색. *한국식품과학회지* 36: 333-338.

신춘혜. 2001. *Rumex crispus*의 에칠아세테이트 추출물의 항산화 성분 관련 연구. *한국생물공학회지* 16: 592-602.

우정향, 정현상, 유정식, 장영득, 이철희. 2008. 자생 쑥부쟁이속 식물 4종 추출물의 항산화 효과. *한국자원식물학회지* 21: 52-59.

이상준, 정하열, 이인경, 유익동. 1999. 쑥의 에탄올 추출물에 함유된 Flavonoid 들의 분리 및 동정과 이들의 항산화 효과. *한국식품과학회지* 31: 815-822.

이승은, 성낙술, 박춘근, 성정숙. 2002. 시판 한약재에 대한 항산화 활성 검증. *한국약용작물학회지* 10: 171-176.

이승은, 성낙술, 방진기, 박춘근, 성정숙, 송진. 2003. 한국산 약용식물의 항산화 효과. *한국약용작물학회지* 11: 127-134.

임진아, 윤보원, 백승화. 2007. 배암차즈기 메탄올 추출물의 항산화 활성 및 아질산염 소거능. *한국약용작물학회지* 15: 183-188.

정기태, 주인옥, 최정식, 홍재식. 2000. 오미자종자의 항산화성, 항균성, 아질산염소거능. *한국식품과학회지* 32: 928-935.

정병선, 이병구, 심선택, 이정근. 1989. 쑥씨 중의 정유성분이 미

- 생물의 생육에 미치는 영향. 한국식생활문화학회지 4: 417-424.
- 정성제, 이진희, 송효남, 성낙술, 이승은, 백남인. 2004. 약용 식물 추출물의 항산화 활성 검색. 한국응용생명화학학회지 47: 135-140.
- 정혁, 김상기, 김상국, 성미영, 김현정, 김범학, 김유영. 2004. 흡연 시 인삼, 쑥, 솔잎 추출물이 폐 세포의 구조와 항산화 효소에 미치는 영향. 한국생물공학회지 19: 138-142.
- 차배천, 이해원, 최무영. 1998. Nut류의 항산화 및 항균효과. 생약학회지 29: 28-34.
- 최소라, 주인옥, 유동현, 송영은, 장익, 류정. 2007. 사철쑥의 수확 시기에 따른 생육특성과 주성분 변화. 한국약용작물학회지 15: 189-193.
- 최용민, 정봉환, 이준수, 조용구. 2006. 쑥 수집종의 항산화력. 한국작물학회지 51: 209-214.
- 한승호, 우나리아, 이송득, 강명화. 2006. 국내 자생 식물 추출물의 항산화 활성 및 항균효과. 한국약용작물학회지 14: 49-55.
- 황윤경, 김동정, 황우익, 한용봉. 1998. 쑥(*Artemisia princeps* Pampan) 추출 성분의 암세포 증식 억제효과. 한국영양학회지 31: 799-808.
- 식품의약품안전청. 2007. 대한약전외한약(생약)규격집. 신일상사, 서울. pp. 285, 371.
- 허근, 이상일, 박종민, 최종원. 1987. Scoparone이 Mouse 간(肝) Xanthine Oxidase 활성에 미치는 영향. 자원문제연구 6: 119-122.

(접수일 2008. 4. 30; 수락일 2008. 6. 2)