

원산지별 감초 추출물의 항산화 활성 비교 연구

한 셋 별·구 현 아·김 수 지·김 혜 진·권 순 식·김 해 수·전 소 하·황 준 필·박 수 남[†]

서울과학기술대학교 에너지바이오대학 정밀화학과, 화장품종합기술연구소
(2012년 8월 30일 접수, 2013년 3월 8일 수정, 2013년 3월 13일 채택)

Comparative Study on Antioxidative Activity of *Glycyrrhiza uralensis* and *Glycyrrhiza glabra* Extracts by Country of Origin

Saet Byeol Han, Hyun A Gu, Su Ji Kim, Hye Jin Kim, Soon Sik Kwon, Hae Soo Kim,
So Ha Jeon, Jun Pil Hwang, and Soo Nam Park[†]

Department of Fine Chemistry, Cosmetic R&D Center, College of Energy and Biotechnology,
Seoul National University of Science and Technology, 232, Gongneung-ro, Nowon-gu, Seoul 139-743, Korea
(Received August 30, 2012; Revised March 8, 2013; Accepted March 13, 2013)

요약: 본 연구에서는 한국과 중국 감초(*Glycyrrhiza uralensis*) 및 우즈베키스탄 감초(*Glycyrrhiza glabra*)를 이용하여 원산지별 감초 추출물의 항산화 활성에 관한 비교 연구를 수행하였다. 감초 추출물의 자유 라디칼(1, 1-phenyl-2-picrylhydrazyl, DPPH) 소거활성(FSC₅₀)은 각 3가지 원산지 중 한국 감초가 50% 에탄올 추출물(21.15 µg/mL), 에틸아세테이트 분획(29.15 µg/mL), 아글리콘 분획(3.26 µg/mL)에서 모두 가장 우수한 활성을 나타내었다. 루미놀-의존성 화학발광법을 이용한 Fe³⁺-EDTA/H₂O₂ 계에서 생성된 활성산소종(reactive oxygen species, ROS)에 대한 감초 추출물의 총 항산화능(OSC₅₀)은 중국 감초의 50% 에탄올 추출물(1.00 µg/mL)과 에틸아세테이트 분획(0.34 µg/mL)이 가장 높은 활성을 나타내었다. Rose-bengal로 증감된 사람 적혈구의 광용혈에 대한 억제 효과를 측정하였을 때 원산지별 감초의 50% 에탄올 추출물과 아글리콘 분획 모두 농도범위(5 ~ 50 µg/mL)에서 농도의존적으로 세포 보호 효과를 나타내었으며, 특히 아글리콘 분획(10 µg/mL)의 경우 한국 감초($\tau_{50} = 847.4$ min)가 동일한 종인 중국 감초($\tau_{50} = 194.3$ min)보다 약 4배 더 우수한 활성을 나타내었다. 이상의 결과를 통해 미백 소재로만 주로 사용되어오던 감초 추출물이 천연 항산화제로서 화장품 분야에 응용될 수 있을 것으로 예상된다. 특히 세포 보호 효과가 우수한 것으로 보아 감초 추출물이 자외선으로 유도된 ¹O₂와 외 ROS로부터 피부를 효과적으로 보호할 수 있을 것으로 예상된다.

Abstract: In this work, comparative study on antioxidative activities of extracts from *Glycyrrhiza uralensis* (*G. uralensis*) produced in Korea and in China and *Glycyrrhiza glabra* (*G. glabra*) produced in Uzbekistan was conducted. Among three origins, 50% ethanol extracts (21.15 µg/mL), ethyl acetate fraction (29.15 µg/mL) and aglycone fraction (3.26 µg/mL) of *G. uralensis* from Korea showed the higher free radical (1,1-phenyl-2-picrylhydrazyl, DPPH) scavenging activity (FSC₅₀) than extracts from other origins. Reactive oxygen species (ROS) scavenging activities (OSC₅₀) of extracts from three origins on ROS generated in Fe³⁺-EDTA/H₂O₂ system were investigated using luminol-dependent chemiluminescence assay. 50% ethanol extract (1.00 µg/mL) and ethyl acetate fraction (0.34 µg/mL) of *G. uralensis* from China showed the most prominent ROS scavenging activity. The protective effects of extract/fractions of *G. uralensis* and *G. glabra* extracts on the rose-bengal sensitized photohemolysis of human erythrocytes were investigated. 50% ethanol extract and aglycone fraction of *G. uralensis* and *G. glabra* extracts from three origins showed cellular protective effects in a concentration dependent manner (5 ~ 50 µg/mL). Aglycone fraction of *G. uralensis* from Korea ($\tau_{50} = 847.4$

[†] 주 저자 (e-mail: snpark@seoultech.ac.kr)

min)especially showed cellular protective effects four times higher than that from China ($\tau_{50} = 194.3$ min). These results indicate that *G. uralensis* and *G. glabra* extracts, which have been used as whitening agent, could be applicable to functional cosmetic ingredient as a natural antioxidant. Judging from the prominent cellular protective effects, it is concluded that *G. uralensis* and *G. glabra* extracts can protect the skin from $^1\text{O}_2$ and various ROS induced by UV.

Keywords: *Glycyrrhiza uralensis*, *Glycyrrhiza glabra*, photoaging, antioxidative activity, cellular protective effect

1. 서 론

오늘날 화장품의 개발방향은 소비자 욕구의 다양화와 관련 개발 기술의 발달로 인하여 기존 청결, 피부 미화 등의 단순한 효능을 갖는 화장품에서 다양한 효능·효과를 갖는 화장품 개발로 변화되고 있다. 국내 화장품 법에 근거하여 기능성 화장품은 자외선 차단제, 피부 미백제, 주름 개선제 등 3가지 종류로 한정되어 있다[1]. 이렇듯 기능성 화장품은 노화 방지와 미백 효능에 주안점을 두고 있다고 할 수 있다.

피부가 노화되는 가장 큰 원인으로는 일상생활에서 지속적으로 피부에 노출되는 자외선을 들 수 있다. 자외선으로 유도된 활성산소종(reactive oxygen species, ROS)은 피부의 광산화적 손상을 일으켜 피부노화를 가속화시킨다. ROS란 큰 산화력을 갖는 산소종으로서 superoxide anion radical ($\text{O}_2^{\cdot-}$), hydroxyl radical ($\cdot\text{OH}$)과 같은 산소 중심의 라디칼뿐만 아니라 hydrogen peroxide (H_2O_2), singlet oxygen ($^1\text{O}_2$)와 같은 비라디칼 종 그리고 이들이 생체 성분과 반응하여 생성된 peroxy radical ($\text{ROO}\cdot$), alkoxy radical ($\text{RO}\cdot$) 등이 포함된다. ROS는 산소의 대사과정에서 생기는 자연적인 부산물이지만 자외선이나 스트레스와 같은 환경적 요인에 의해 생체 내 ROS의 수치가 증가하게 된다. 이러한 ROS는 큰 반응성으로 인하여 생체내의 불포화 지방산 및 지질 단백질, 막 지질을 산화시켜 세포 손상 및 DNA 산화와 같은 생체 구성 성분의 손상을 야기한다. 또한 matrix metalloproteinases (MMPs)의 발현을 촉진시켜 진피 내에서 비이상적인 엘라스틴 섬유를 증가시키고 진피에 장력과 안정도를 제공하는 콜라겐 섬유를 감소시킨다고 알려져 있다. 이렇듯 ROS는 생체 내에서 각종 성인병 등의 질병은 물론이고 피부 노화를 일으키는 주요한 원인으로 인식되고 있다[2-7].

피부에는 이러한 산화적 환경으로부터 생체를 보호하기 위한 항산화 방어망이 구축되어 활성산소종에

대한 보호 작용을 한다. 생체 내 항산화 방어막은 superoxide dismutase (SOD), catalase, glutathione peroxidase 등의 항산화 효소와 α -tocopherol, ascorbic acid, carotenoids 등의 비효소적 항산화제로 이루어져 있다. 비교적 반응성이 작은 $\text{O}_2^{\cdot-}$ 와 H_2O_2 는 항산화 효소에 의해 처리되며 반응성이 큰 $\cdot\text{OH}$ 과 $^1\text{O}_2$ 는 비효소적 항산화제에 의해 처리될 수 있다. 이러한 비효소적 항산화제는 ROS와 직접 반응하여 자동산화반응의 개시를 억제하거나 과산화 라디칼에 수소 주개로 작용하여 연쇄 반응을 종결시킴으로써 2차 라디칼의 생성을 억제하는 작용을 한다. 이렇듯 항산화 효소와 비효소적 항산화제는 상호 의존적으로 체내 항산화 방어막을 구축하고 있다. 하지만 지속적인 자외선 노출은 이러한 항산화 네트워크를 붕괴시켜 산화적 스트레스로 인한 피부노화를 가속화시킨다[8-13]. 그러므로 이러한 산화적 불균형 상태를 보완하기 위하여 추가적인 항산화제가 보충되어야한다[14]. 현재 연구되고 있는 항산화제는 크게 합성 항산화제와 천연 항산화제로 구분할 수 있는데, 최근에 몇몇 합성 항산화제와 관련한 위험성에 대한 보고로 인하여 효과적이면서도 독성이 없는 천연 항산화제에 관한 연구가 활발히 진행되고 있다[15,16].

본 연구에서 사용된 감초(Licorice)는 콩과(Legumiosae) 식물에 속하는 다년생 초본으로 한국, 중국 및 일본에서 한약재로서 널리 이용되고 있는 약용식물이다. 대한약전 제 9개정판에 따르면 감초(*Glycyrrhiza uralensis*, *G. uralensis*), 광과감초(*Glycyrrhiza glabra*, *G. glabra*) 및 창과감초(*Glycyrrhiza inflata*, *G. inflata*)의 뿌리 및 뿌리줄기로 규정되어 있다. 현재 국내에 약용으로 유통되는 감초의 대부분은 중국산이며, 최근에 우즈베키스탄 감초의 수입량도 증가하고 있다[17]. 감초는 거의 모든 한약재의 구성성분으로 쓰이는 만큼 항염증 및 항균 활성에 관한 연구가 진행되어 있다[18,19]. 뿐만 아니라 감초의 항산화 활성에 관한 연구가 진행된 바 있으나[20,21], 이는 단편적인 열수 추출 또는

에탄올 추출물에 대한 연구들이 대부분이었으며 항산화 활성에 대하여 감초의 원산지에 따른 비교 연구는 진행되어 있지 않았다.

따라서 본 연구에서는 한국 감초(*G. uralensis* from Korea), 중국 감초(*G. uralensis* from China) 및 우즈베키스탄 감초(*G. glabra* from Uzbekistan)를 이용하여 3 가지 분획 (50% 에탄올 추출물, 에틸아세테이트 분획, 아글리콘 분획)을 제조하였고 이들의 항산화 활성, $^1\text{O}_2$ 로 유도된 세포손상에 대한 보호 작용을 비교해 보았다. 이와 같은 감초의 원산지별, 분획별 비교 연구를 통해 감초 추출물의 항산화 및 항노화 화장품 소재로서의 이용 가능성을 검토하였다.

2. 재료 및 실험

2.1. 기기 및 시약

자유 라디칼 소거활성에 사용한 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) radical과 화학발광 실험에 사용한 luminol과 EDTA, 적혈구 광용혈 실험에서 광증감제로 사용된 rose-bengal 및 비교물질로 사용된 (+)- α -tocopherol과 L-ascorbic acid은 Sigma (USA)에서 구입하여 사용하였다. 또한 화학발광 실험에 사용한 $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 는 Junsei Chemical Co. (Japan)에서, H_2O_2 는 Daejung Chemical & Metals (Korea)에서 구입하였다. 완충 용액 제조에 사용된 $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$, $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, NaCl 그리고 에탄올, 메탄올, 에틸아세테이트, n-헥산 등 각종 용매는 시판 특급 시약을 사용하였다.

UV-VIS spectrophotometer는 Varian (Australia), 화학발광 실험에 사용된 6-channel LB9505 LT는 Berthold (Germany)사의 제품을 사용하였다. Milton Roy Co. (USA)의 Spectronic 20D는 적혈구 광용혈 실험에 사용되었으며 pH meter는 Hanna (Korea)사 제품을 사용하였다.

2.2. 감초 분획 및 추출

실험에 사용된 한국산(충북 제천) 감초와 우즈베키스탄 감초는 경동시장 약업사를 통해 한약재로 판매되는 원료를 구입하였고, 중국산 감초는 (주)대봉LS에서 제공받아 실험에 사용하였다. 100 g의 건조된 감초를 1 L의 50% 에탄올 용액에 24 h 동안 침적시킨 후 여과 건조하여 50% 에탄올 추출물 파우더를 얻었다.

에틸아세테이트 분획을 만들기 위해, 50% 에탄올

추출물을 감압 농축한 후 n-헥산을 처리하여 비극성 성분을 제거하였다. 이후 에틸아세테이트로 추출한 분획을 감압 농축하여 파우더를 얻었다.

아글리콘 분획을 얻기 위하여 에틸아세테이트 분획에서 얻은 파우더 일부를 사용하여 산 가수분해 반응을 통해 당을 제거하였다. 산 가수분해 반응을 위하여 에틸아세테이트 파우더에 H_2SO_4 및 아세트 용액을 넣고 4 h 동안 중탕 가열하면서 환류·냉각시켰다. 이 용액을 5% KOH/MeOH 용액으로 중화 적정한 후 증류수를 이용하여 산, 염기 및 당 등을 제거하였다. 그 후 다시 에틸아세테이트로 분획 추출하고 이를 감압 농축하여 파우더를 얻었다.

이와 같이 얻어진 원산지별 감초 50% 에탄올 추출물, 에틸아세테이트 분획 및 아글리콘 분획을 이용하여 항산화 활성을 평가하였다.

2.3. 감초 추출물의 항산화 효과 측정

2.3.1. DPPH법을 이용한 자유 라디칼 소거 활성

DPPH법은 시료의 라디칼 소거 능력을 확인할 수 있는 실험법으로서, 비교적 안정한 라디칼인 DPPH에 대한 전자공여능을 통하여 샘플의 환원력을 측정한다. 실험 방법은 메탄올에 용해시킨 0.2 mM DPPH 1 mL에 에탄올 1 mL를 여러 농도의 추출물 1 mL를 첨가하여 섞은 후 실온에서 10 min 동안 반응시킨 다음 spectrophotometer를 이용하여 517 nm에서 흡광도를 측정하였다. 대조군(Control)은 추출물을 첨가하지 않았고, 공시험(Blank)은 DPPH를 첨가하지 않고 시료의 영향을 보정하였다. 자유 라디칼 소거 활성은 다음 식에 의해 DPPH의 농도가 50% 감소되는 필요한 시료의 농도(free radical scavenging activity concentration, FSC₅₀, $\mu\text{g/mL}$)로 표기하였다.

$$\text{Inhibition (\%)} = \left\{ 1 - \left[\frac{A_{\text{Experiment}} - A_{\text{Blank}}}{A_{\text{Control}}} \right] \right\} \times 100$$

2.3.2. 루미놀 발광법을 이용한 Fe^{3+} -EDTA/ H_2O_2 계에 있어서 활성산소 소거 활성(총항산화능)

Fe^{3+} -EDTA/ H_2O_2 계는 각종 ROS ($\text{O}_2^{\cdot-}$, $\cdot\text{OH}$ 그리고 H_2O_2)를 생성시키며 철과 같은 전이금속은 특히 반응성이 큰 $\cdot\text{OH}$ 를 생성시키는데 중요한 역할을 한다.

이 실험에서는 이러한 ROS에 의해 루미놀에 나타나는 빛을 화학발광기로 검출하여 측정하였다. 실험 방법은 화학발광 측정용 튜브에 증류수 1.78 mL를 넣고 여러 농도의 추출물을 50 μ L 첨가한 후, 2.5 mM EDTA 40 μ L, 5 mM FeCl₃ · 6H₂O 10 μ L, 35 mM 루미놀 80 μ L를 넣고 섞은 후 5 min 동안 항온시켰다. 그 후 Fenton 반응을 일으키기 위해 150 mM H₂O₂ 40 μ L를 넣고 25 min 동안 화학발광 정도를 측정하였다. 대조군(Control)은 추출물 대신 증류수를 첨가하였고, 공시험(Blank)은 FeCl₃ · 6H₂O와 H₂O₂ 대신 증류수를 첨가하였다. 활성산소 소거활성은 다음 식에 의해 화학발광의 세기가 50% 감소되는데 필요한 시료의 농도(reactive oxygen species scavenging activity concentration, OSC₅₀, μ g/mL)로 표기하였다.

$$\text{Inhibition (\%)} = \frac{(\text{Control의 cpm} - \text{Sample cpm})}{(\text{Control의 cpm} - \text{Blank의 cpm})} \times 100$$

2.4. Photohemolysis법을 이용한 세포 보호 효과 측정

2.4.1. 적혈구 현탁액 제조

적혈구는 건강한 성인 남녀 3명으로부터 채혈하였고, 즉시 heparin이 첨가된 시험관에 넣었다. 3,000 rpm으로 5 min 동안 원심분리하여 혈구와 혈장을 분리하였고, 분리한 혈구는 0.9% saline phosphate buffered saline (pH 7.4, Na₂HPO₄ · 12H₂O 9.6 mM, NaH₂PO₄ · 2H₂O 1.6 mM)로 3회 반복해서 세척하여 원심분리하고 흰 색의 백혈구 층은 제거하였다. 분리한 적혈구는 4 °C의 냉장고에 보관하면서 사용하였고, 모든 실험은 채혈 후 12 h 이내에 행하였다. 실험에 사용된 적혈구 현탁액은 700 nm에서 O.D. 값이 0.6이었으며 이때 적혈구 수는 1.5×10^7 cells/mL이었다.

2.4.2. 감초 추출물의 광용혈 억제 효과

적혈구 현탁액 3.5 mL를 파이렉스 시험관(No. 9820)에 넣은 후 추출물을 농도별로 각각 50 μ L씩 첨가한 후 암소에서 30 min 동안 pre-incubation 시켰다. 그 후 광증감제로 사용된 12 μ M rose-bengal 0.5 mL를 가하고 15 min 동안 광조사하여 광증감 반응을 일으켰다. 15 min의 광조사가 끝난 후 암반응 시간에 따른 적혈구의 용혈 정도를 15 min 간격으로 700 nm에서 투광도

(transmittance, %)를 측정하였다. 이 700 nm의 파장에서 적혈구 현탁액의 투광도 증가는 적혈구의 용혈 정도에 비례한다. 모든 실험은 20 °C 항온을 유지하며 진행하였다. 데이터는 다음 식에 의해 적혈구의 50%가 용혈 되는데 걸리는 시간인 τ_{50} 으로 나타내었다.

대조군(Control)은 τ_{50} 이 30 min으로 오차범위 ± 1 min 이내로 모든 경우의 실험에서 재현성이 양호하게 나타났다. Rose-bengal을 첨가하고 광조사를 안 했을 경우와 rose-bengal을 첨가하지 않고 광조사만 했을 경우는 모두 암반응 120 min까지는 용혈이 거의 일어나지 않았다. 모든 실험은 3회 반복하여 평균하였다.

$$\text{Relative protective effects} = \frac{\text{Sample } \tau_{50}}{\text{Control } \tau_{50}}$$

3. 결과 및 고찰

3.1. 감초 추출물의 항산화 활성

3.1.1. DPPH법을 이용한 자유 라디칼 소거 활성

피부가 자외선에 노출되어 생성되는 ROS 중에는 \cdot OH, O₂⁻과 같은 라디칼 종이 포함되어 있다. 이러한 라디칼 종은 짝을 이루지 않은 홀 전자를 가지고 있기 때문에 에너지가 높고 반응성이 크다. 이러한 불안정한 라디칼 종과 이온에 의해 생성된 ROS는 자동산화 반응을 개시한다. 자동산화 반응이 개시되면 피부 노화를 야기하는 지질, 단백질 및 DNA가 산화된다. (+)- α -Tocopherol, flavonoid 등과 같은 항산화제는 ROS 및 이온 유도된 지질 라디칼에 의해 개시된 지질 과산화 연쇄 반응에서 라디칼에 수소주개로 작용하여 연쇄반응을 종결시킨다. 때문에 라디칼 소거 활성은 이러한 피부노화를 막는 중요한 요인이다. 이와 같이 라디칼 소거 능력을 확인하기 위하여 원산지별 감초 추출물과 DPPH를 반응시켰으며 비교 물질로는 (+)- α -tocopherol을 사용하였다.

한국, 중국, 우즈베키스탄 감초 추출물의 자유 라디칼 소거 활성(FSC₅₀)을 비교한 결과, 한국 감초의 FSC₅₀은 50% 에탄올 추출물과 아글리콘 분획에서 각각 21.15, 3.26 μ g/mL로 세 원산지 중에서 가장 우수한 활성을 나타내었다. 한국 감초의 50% 에탄올 추출물의 FSC₅₀은 비교 물질로 사용된 (+)- α -tocopherol보다

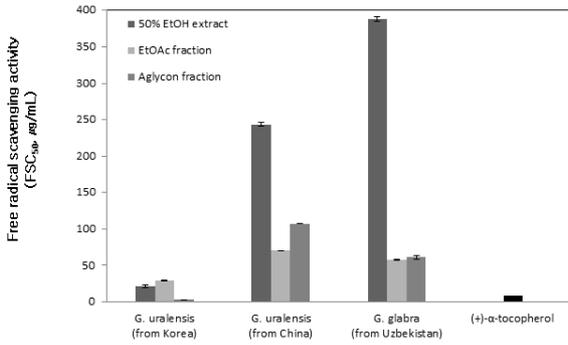


Figure 1. Free radical scavenging activities of extract/fraction of *G. uralensis* (from Korea and China), *G. glabra* (from Uzbekistan) and reference.

다소 낮은 라디칼 소거 활성을 나타내었지만 아글리콘 분획의 경우 (+)- α -tocopherol보다 약 2배 더 우수한 라디칼 소거 활성을 나타내었다. 또한 에틸아세테이트 분획의 경우 중국 감초의 FSC₅₀은 7.04 μ g/mL로 (+)- α -tocopherol과 유사한 활성을 나타내었다(Figure 1).

3.1.2. 루미놀 발광법을 이용한 Fe³⁺-EDTA/H₂O₂ 계에 있어서 활성산소 소거 활성(총항산화능)

Fe³⁺-EDTA/H₂O₂ 계에서는 Fe³⁺와 H₂O₂가 반응하여 Fenton 반응이 일어난다. Fenton 반응을 통하여 대부분의 ROS (\cdot OH, O₂⁻, H₂O₂)가 생성되며 이러한 ROS는 피부 조직 및 세포를 손상시키기 때문에 다양한 활성산소 소거능을 측정하는 것은 항 피부노화 소재로서 큰 의미를 갖는다. 본 실험에서 생성된 ROS는 루미놀을 산화시켜 아미노프탈산을 생성시키고 이는 다시 바닥상태로 떨어지면서 형광을 일으킨다. 따라서 루미놀의 화학발광 정도를 측정함으로써 감초 추출물의 ROS 소거 능력을 확인할 수 있다.

원산지별 감초 추출물의 활성산소 소거 활성을 Figure 2에 나타내었다. 50% 에탄올 추출물과 에틸아세테이트 분획에서 중국 감초의 OSC₅₀은 각각 1.00, 0.34 μ g/mL로 세 원산지 중 가장 우수한 활성을 나타내었으며 비교 물질인 L-ascorbic acid보다 우수한 ROS 소거 능력을 갖는 것으로 확인하였다. 아글리콘 분획에서 우즈베키스탄 감초의 OSC₅₀은 0.31 μ g/mL로 비교 물질인 L-ascorbic acid보다 약 5배 더 높은 활성을 갖는 것을 확인하였다. 또한 한국, 중국 감초의 아글리콘 분획도 비교 물질인 L-ascorbic acid의 약 2배 우수한 활성산소 소거 활성이 있음을 확인하였다.

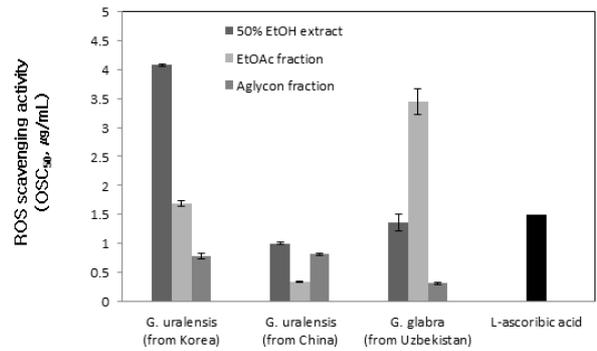


Figure 2. Reactive oxygen species scavenging activities of extract/fraction of *G. uralensis* (from Korea and China), *G. glabra* (from Uzbekistan) and Reference in Fe³⁺-EDTA/H₂O₂ system by luminol-dependent chemiluminescence assay.

3.2. ¹O₂로 유도된 사람 적혈구 파괴에 대한 세포 보호 효과

Photohemolysis법을 이용한 활성산소에 의한 세포손상 모델로 사람 적혈구를 이용하였으며 이를 통해 감초 추출물의 활성산소 소거에 대한 좀 더 실질적인 효능을 확인할 수 있다. 생체에는 porphyrin과 riboflavin과 같은 광증감제가 존재하는데 이러한 광증감제가 자외선에 노출되면 광증감 반응이 일어나 주 생성물인 ¹O₂를 비롯하여 다양한 활성산소가 생성된다. ¹O₂는 반응성이 매우 큰 항산화제로서 생체 내에는 이를 처리할 수 있는 효소가 존재하지 않는다. ¹O₂는 일차적으로 항산화제를 파괴하여 피부 항산화 방어체계를 무너뜨리며 또한 세포막을 투과하여 지질 또는 세포구성 성분들의 자동산화 반응을 개시한다. 이렇게 개시된 연쇄반응은 세포를 파괴시켜 피부노화를 촉진시킨다. 따라서 본 실험에서는 광증감제인 rose-bengal로 유도된 ROS에 대한 감초 추출물의 세포보호 효과를 측정함으로써 감초 추출물의 항산화제로서의 이용 가능성을 확인하였다.

원산지별 감초 추출물의 비교 물질로서 지용성 항산화제인 (+)- α -tocopherol을 사용하였으며 결과 값은 적혈구 세포가 50% 파괴되는데 걸리는 시간(τ_{50})으로 표시하였다(Tables 1 ~ 3). 이 값은 시료의 세포보호 활성이 클수록 높게 나타난다. 시료를 넣지 않은 대조군의 경우 적혈구 세포가 50% 파괴되는데 걸리는 시간은 약 30 ± 1 min으로 재현성이 양호하게 나타났다.

원산지별 감초의 대부분의 분획은 비교 물질인 (+)- α -tocopherol보다 우수한 세포보호 효과를 나타내었

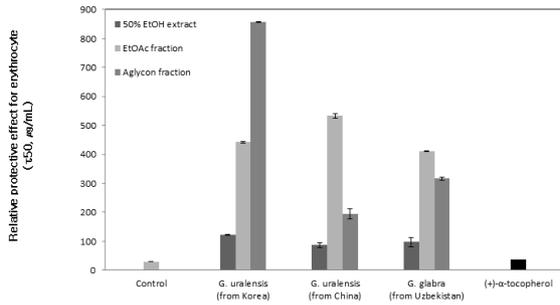


Figure 3. The cellular protective effects of extract/fraction of *G. uralensis* (from Korea and China), *G. glabra* (from Uzbekistan) and Reference at 10 μg/mL on the rose-bengal sensitized photohemolysis of human erythrocytes (Control = 30.0 ± 1.0 min).

Table 1. Cellular Protective Effects of Extract/Fraction from *G. uralensis* (from Korea) and Reference on the Rose-bengal Sensitized Photohemolysis of Human Erythrocytes

Concentration, μg/mL	τ ₅₀ (Half time of hemolysis ¹⁾)			
	5	10	25	50
50% EtOH extract	74.2 (± 6.40)	123.0 (± 1.20)	337.3 (± 2.60)	700.0 (± 8.50)
EtOAc fraction	627.0 (± 59.00)	442.0 (± 7.00)	601.0 (± 69.00)	44.3 (± 3.25)
Aglycon fraction	346.5 (± 2.40)	857.4 (± 15.50)	1596.5 (± 43.60)	2539.3 (± 12.80)
(+)-α-Tocopherol	-	38.00 (± 1.80)	-	74.33 (± 6.35)

¹⁾ Control, τ₅₀ = 30.0 ± 1.0 min

으며 특히 50% 에탄올 추출물과 아글리콘 분획은 농도의존적인 세포보호 효과를 나타내었다. 한편 에틸아세테이트 분획은 0 ~ 25 μg/mL의 농도 범위에서는 농도의존적인 세포 보호 효과를 나타내었지만 50 μg/mL의 농도에서는 세포 보호 효과가 감소하는 것을 확인하였다. 이와 같은 결과로 보아 에틸아세테이트 분획은 고농도에서 세포독성을 가지는 것으로 예상된다.

동일한 중인 한국 감초와 중국 감초의 세 분획 모두 10, 50 μg/mL의 농도에서 (+)-α-tocopherol보다 월등히 높은 세포 보호 효과를 갖는 것을 확인하였다. 특히 10 μg/mL를 기준으로 하였을 때 한국 감초의 아글리콘 분획은 중국 감초의 아글리콘 분획보다 약 4배

더 우수한 세포 보호 효과를 나타내었다(Figure 3). 한국 감초의 아글리콘 분획의 세포 보호 효과는 비교물질인 (+)-α-tocopherol보다 약 22배 높은 효과를 나타내었으며 이는 한국 감초의 아글리콘 분획이 항산화제로서 응용 가능성이 매우 크다는 것을 나타낸다.

Table 2. Cellular Protective Effects of Extract/Fraction from *G. uralensis* (from China) and Reference on the Rose-bengal Sensitized Photohemolysis of Human Erythrocytes

Concentration, μg/mL	τ ₅₀ (Half time of hemolysis ¹⁾)			
	5	10	25	50
50% EtOH extract	68.3 (± 0.70)	86.4 (± 2.70)	199.6 (± 26.00)	393.3 (± 2.10)
EtOAc fraction	337.2 (± 40.70)	532.6 (± 7.40)	500.1 (± 32.10)	303.4 (± 12.90)
Aglycon fraction	123.4 (± 0.60)	194.3 (± 1.10)	626.2 (± 37.00)	1158.5 (± 25.40)
(+)-α-Tocopherol	-	38.00 (± 1.80)	-	74.33 (± 6.35)

¹⁾ Control, τ₅₀ = 30.0 ± 1.0 min

Table 3. Cellular Protective Effects of Extract/Fraction from *G. glabra* (from Uzbekistan) and Reference on the Rose-bengal Sensitized Photohemolysis of Human Erythrocytes

Concentration, μg/mL	τ ₅₀ (Half time of hemolysis ¹⁾)			
	5	10	25	50
50% EtOH extract	75.1 (± 2.70)	97.0 (± 2.10)	95.4 (± 2.8)	422.5 (± 0.50)
EtOAc fraction	248.8 (± 7.0)	410.9 (± 17.90)	592.4 (± 45.90)	351.2 (± 5.50)
Aglycon fraction	232.3 (± 20.80)	316.8 (± 4.90)	744.9 (± 27.90)	1078.8 (± 6.30)
(+)-α-Tocopherol	-	38.00 (± 1.80)	-	74.33 (± 6.35)

¹⁾ Control, τ₅₀ = 30.0 ± 1.0 min

4. 결 론

1) 원산지별 감초 추출물의 자유 라디칼 소거 활성(FSC₅₀)을 비교한 결과 50% 에탄올 추출물은 한국 감초(21.15 μg/mL) > 중국 감초(243.22 μg/mL) > 우즈베키

스탄 감초(388.25 $\mu\text{g/mL}$) 순서로 나타났다. 에틸아세테이트 분획은 한국 감초(29.15 $\mu\text{g/mL}$) > 중국 감초(70.35 $\mu\text{g/mL}$) > 우즈베키스탄 감초(57.48 $\mu\text{g/mL}$) 순서로 나타났으며 아글리콘 분획은 한국 감초(3.26 $\mu\text{g/mL}$) > 우즈베키스탄 감초(61.50 $\mu\text{g/mL}$) > 중국 감초(107.53 $\mu\text{g/mL}$) 순서로 나타났다. 중국 감초의 50% 에탄올 추출물 및 아글리콘 분획과 우즈베키스탄 감초의 세 분획 모두 비교 물질인 (+)- α -tocopherol보다 상당히 낮은 자유 라디칼 소거 활성을 나타내었다. 반면에 중국 감초의 에틸아세테이트 분획과 한국 감초의 세 분획 모두 비교 물질인 (+)- α -tocopherol과 유사한 활성을 나타내었으며 특히 한국 감초의 아글리콘 분획은 (+)- α -tocopherol보다 높은 자유라디칼 소거 활성을 갖는 것을 확인하였다.

2) 원산지별 감초 추출물의 활성산소 소거 활성(OSC₅₀)을 확인한 결과, 50% 에탄올 추출물은 중국 감초(1.00 $\mu\text{g/mL}$) > 우즈베키스탄 감초(1.36 $\mu\text{g/mL}$) > 한국 감초(4.08 $\mu\text{g/mL}$) 순서로 나타났다. 에틸아세테이트 분획은 중국 감초(0.34 $\mu\text{g/mL}$) > 한국 감초(1.69 $\mu\text{g/mL}$) > 우즈베키스탄 감초(3.44 $\mu\text{g/mL}$) 순서로 나타났으며 아글리콘 분획은 우즈베키스탄 감초(0.31 $\mu\text{g/mL}$) > 한국 감초(0.75 $\mu\text{g/mL}$) > 중국 감초(0.82 $\mu\text{g/mL}$) 순서로 나타났다. 한국 감초의 50% 에탄올 추출물과 에틸아세테이트 분획 및 우즈베키스탄 감초의 에틸아세테이트 분획을 제외한 모든 분획에서 비교 물질인 L-ascorbic acid보다 높은 활성산소 소거 활성을 확인하였다. 각 원산지별로는 한국과 우즈베키스탄 감초는 아글리콘 분획, 중국 감초는 에틸아세테이트 분획이 가장 높은 활성산소 소거 활성을 나타내었으며 그 중에서도 우즈베키스탄의 아글리콘 분획이 가장 높은 활성을 나타내었다.

3) 원산지별 감초 추출물의 ¹O₂로 유도된 적혈구 파괴에 대한 세포 보호 효과 실험 결과, 원산지별 감초의 50% 에탄올 추출물과 아글리콘 분획은 농도의존적으로 세포 보호 효과가 증가하였다. 하지만 세 원산지의 에틸아세테이트 분획에 대하여 한국 감초와 우즈베키스탄 감초는 25 $\mu\text{g/mL}$ 농도 이상에서, 중국 감초는 10 $\mu\text{g/mL}$ 농도 이상에서 세포 보호 효과가 감소하는 것으로 세포 독성을 갖는 것으로 사료된다. 10 $\mu\text{g/mL}$ 농도를 기준으로 하였을 때 원산지별 감초 추출물의 50% 에탄올 추출물의 경우 τ_{50} 은 한국 감초

(123.00 min) > 우즈베키스탄 감초(97.00 min) > 중국 감초(86.40 $\mu\text{g/mL}$) 순서로 나타났다. 에틸아세테이트 분획의 τ_{50} 은 중국 감초(532.60 min) > 한국 감초(442.00 min) > 우즈베키스탄 감초(410.90 $\mu\text{g/mL}$) 순서로 나타났다. 아글리콘 분획의 τ_{50} 은 한국 감초(857.40 min) > 우즈베키스탄 감초(316.80 min) > 중국 감초(194.30 $\mu\text{g/mL}$) 순서로 나타났다. 원산지별 감초의 모든 분획은 비교 물질로 사용한 (+)- α -tocopherol보다 높은 세포보호 활성을 나타내었으며, 특히 아글리콘 분획에서 동종인 한국 감초는 중국 감초보다 약 4배 더 높은 세포 보호 활성을 나타내었다.

본 연구에서는 감초의 원산지별 항산화 효과를 확인·비교하였으며 이를 통해 *G. uralensis* 종인 한국과 중국 감초의 높은 항산화 활성을 확인하였으며 특히 한국 감초가 우수한 세포 보호 효과를 나타내는 것을 확인하였다. 이렇듯 원산지별 감초 추출물은 항산화 활성 및 세포 보호 효과에 차이를 나타내었는데 이는 각 감초가 재배되는 지역의 토양 및 기온, 일조량, 강수량 등의 재배 환경 차이와 이들을 채취한 후의 가공, 유통, 보존하는 방법의 차이 때문인 것으로 여겨진다. 이상의 연구 결과를 통해 원산지별 감초 추출물이 항산화 및 항노화 기능성 화장품 소재로서 다양하게 응용될 수 있음을 보고하는 바이다.

감사의 글

본 논문은 농촌진흥청 공동연구사업(과제번호: PJ008489)의 지원에 의해 이루어진 것임 .

참 고 문 헌

1. J. S. Song and Y. A. Kim, A study on the future market prospect of domestic functional cosmetics industry, *J. Korean Soc. Design Culture.*, **15**(4), 258 (2009).
2. G. E. Rhie, M. H. Shin, J. Y. Seo, W. W. Choi, K. H. Cho, K. H. Kim, K. C. Park, H. C. Eun, and J. H. Chung, Aging- and photoaging-dependent changes of enzymic and nonenzymic antioxidants in the epidermis and dermis of human skin *in vivo*, *J. Invest. Dermatol.*, **117**(5), 1212 (2011).
3. M. G. Kosmadaki and B. A. Gilchrest, The role of

- telomeres in skin aging/photoaging, *J. Micron.*, **35**(3), 155 (2004).
4. S. Pillai, C. Oresajo and J. Hayward, Ultraviolet radiation and skin aging: roles of reactive oxygen species, inflammation and protease activation, and strategies for prevention of inflammation-induced matrix degradation-a review, *Int. J. Cosmet. Science*, **27**(1), 17 (2005).
 5. J. L. McCullough and K. M. Kelly, Prevention and Treatment of skin aging, *Annals of the New York Academy of Science*, **1067**, 323 (2006).
 6. M. Berneburg, H. Plettenberg, and J. Krutmann, Photoaging of human skin, *Photodermatol Photoimmunol Photomed.*, **16**, 239 (2000).
 7. J. C. Tilak, K. K. Bloor, S. Sane Ketaki, S. Ghaskadbi Saroj, and R. D. Lele, Free radicals and antioxidants in human heaths: Current status and future prospects, *J. Association of Physicians of India*, **52**, 796 (2004).
 8. T. F. Slater, Free-radical mechanisms in tissue injury, *J. Biochem.*, **222**(1), 15 (1984).
 9. L. L. Ji, Antioxidants and oxidative stress in exercise, *Exp. Biol. Med.*, **222**(3), 283 (1999).
 10. M. Valko, D. Leibfritz, J. Moncol, M. T. D. Cronin, M. Mazur, and J. Telser, Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease, *Int. J. Biochem. Cell Biol.*, **39**(1), 44 (2007).
 11. A. R. Kim, J. E. Kim, and S. N. Park, Antioxidative activity and component analysis of *Phellinus liteus* extracts, *J. Soc. Cosmet. Scientists Korea*, **37**(4), 309 (2011).
 12. H. J. Lee and S. N. Park, Antioxidative effect and active component analysis of *Quercus salicina* blume extracts, *J. Soc. Cosmet. Scientists Korea*, **37**(2), 143 (2011).
 13. B. Halliwell, Reactive species and antioxidants. Redox biology is a fundamental theme of aerobic life, *American Society of Plant Biologists.*, **141**(2), 312 (2006).
 14. D. H. Won, S. B. Han, J. P. Hwang, S. J. Kim, J. N. Park, and S. N. Park, Antioxidative effect and tyrosinase inhibitory activity of *Lindera obtusiloba* blume extracts, *J. Soc. Cosmet. Scientists Korea*, **38**(4), 297 (2012).
 15. B. Uttara, A. V. Singh, P. Zamboni, and R. T. Mahajan, Oxidative stress and neurodegenerative diseases: A review of upstream and downstream antioxidants therapeutic options, *Curr Neuropharmacol.*, **7**(1), 65 (2009).
 16. V. Lobo, A. Patil, and N. Chandra, Free radicals, antioxidants and functional foods: Impact on human health, *Pharmacogn Rev.*, **4**(8), 118 (2010).
 17. J. H. Park, Q. Wu, K. H. Yoo, H. I. Yong, S. M. Cho, I. S. Chung, and N. I. Back, Cytotoxic effect of flavonoids from the roots of *Glycyrrhiza uralensis* on human cancer cell lines, *J. Appl. Biol. Chem.*, **54**(1), 67 (2011).
 18. T. S. Yoon, M. S. Cheon, S. J. Kim, A. Y. Lee, B. C. Moon, J. M. Chun, B. K. Choo, and H. K. Kim, Evaluation of solvent extraction on the anti-inflammatory efficacy, *Korean J. Medicinal Crop Sci.*, **18**(1), 28 (2010).
 19. E. Y. Ahn, D. H. Shin, N. I. Back, and J. A. Oh, Isolation and identification of antimicrobial active substance from *Glycyrrhiza uralensis*, *Korea J. Food Sci. Technol.*, **30**(3), 680 (1998).
 20. K. S. Woo, I. G. Hwang, Y. H. Noh, and H. S. Jeong, Antioxidant activity of heated licorice (*Glycyrrhiza uralensis* Fisch) extracts in Korea, *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.*, **36**(6), 689 (2007).
 21. S. J. Kim, D. H. Kweon, and J. H. Lee, Investigation of antioxidative activity and stability of ethanol extracts of licorice roots (*Glycyrrhiza glabra*), *Koream J. Food Sci. Technol.*, **38**(4), 584 (2006).