생 약 학 회 지
Kor. J. Pharmacogn. 53(4) : 213 ~ 225 (2022)
https://doi.org/10.22889/KJP.2022.53.4.213

오미자 추출물의 Schizandrin 함량 분석 및 생리활성 평가

이정호[1*] · 정경옥[1] · 임소연[1] · 진다몬[1] · 이세원[2] · 임정묵[2]
[1](재)순창건강장수연구소, [2]전북대학교 생명공학부

Analysis of Schizandrin Content and Biological Activities of *Schisandra chinensis* Extract

Jeong Ho Lee[1*], Kyoung Ok Jeong[1], So Yeon Im[1], Da Mon Jin[1], Se-Won Lee[2], and Jeong Muk Lim[2]
[1]Sunchang Research Institute of Health and Longevity, Sunchang 56015, Korea
[2]Division of Biotechnology, Jeonbuk National University, Iksan 54596, Korea

Abstract – *Schisandra chinensis* is widely known to regulate fatigue recovery, lowering blood pressure, and contains several bioactive compounds such as schizadran. In this study, we obtained basic data for the development of health food by measuring the schizandrin content, antioxidant activity, anti-inflammatory, antibacterial activity, and enzyme activity of the hot water extract (SCW) and 40% ethanol extract (SCE) of *S. chinensis* grown in Sunchang-gun, Korea. Schizandrin content was measured as 7.87 ± 0.01 mg/g for SCW and 10.38 ± 0.05 mg/g for SCE. SCE had higher DPPH and ABTS radical scavenging activity than SCW, and the total polyphenol and flavonoid contents were also higher. Both SCW and SCE (500 μg/mL) exhibited more than 55% protective effects against oxidative stress in HepG2 cell lines. Anti-inflammatory efficacy was assessed using RAW 264.7 and Caco-2 cells and both SCW and SCE do not have cytotoxic effects. Anti-inflammatory results showed concentration-dependent NO activity and pro-inflammatory cytokines (TNF-α, IL-1β, IL-6) inhibition. The antibacterial activity increased with increasing dose concentrations of SCW and SCE, and the MIC was 25 mg/mL for *L. monocytogenes*, *S. typhimurium*, and 75 mg/mL for *H. pylori*. In addition, amylase and protease enzyme activity was observed in both SCW and SCE.

Keywords – *Schisandra chinensis*, Antioxidant, Antiinflammatory, Antimicrobial, Schizandrin

경제성장과 더불어 생활수준이 향상됨에 따라 식생활과 식습관이 변화하여 고혈압, 당뇨병, 혈관계 질환 등 성인병을 증가하고 있다. 이들 질환은 체내 활성산소(reactive oxygen species, ROS)와 연관성이 있다. 체내의 활성산소인 hydrogen peroxide, hydroxy radical, superoxide anion radical, singlet oxygen 등은 강한 산화력을 가지고 있어 제거되지 못하면 산화 스트레스를 일으켜 지질과산화를 유도하고 DNA, 세포막, 단백질 등을 손상시킨다.[1-3] 체내에서 활성산소가 생성되면 항산화 방어체계가 작동하여 활성산소에 의한 산화적 스트레스로부터 세포를 보호한다. 하지만 산화 스트레스를 억제시키지 못하거나 방어체계가 비정상적으로 작동하면 질병을 유발시키고 노화를 가속화 시킨다. 항산화 물질인 phenolic compound, ascorbic acid, tocopherol 등은 열 안전성이 낮고, 암을 유발시키는 등의 부작용이 있는 것으로 알려져 있으며, 합성 항산화제인 butylated hydroxyanisole (BHA), butylated hydroxytoluene(BHT)은 독성과 부작용이 있다.[2,4-6] 염증반응(inflammatory response)은 감염, 화학물질과 같은 외부 자극으로부터 인체 손상을 방어하고 손상된 조직을 회복하는 대표적인 면역반응이다. 염증은 대식세포(macrophage)에서 분비되는 cytokines과 염증매개체(inflammatory mediators)에 의해서 조절된다.[6-8] 체내에 염증반응이 발생하면 reactive nitrogen species(RNS), lipopolysaccharide (LPS), cytokine에 의하여 염증이 활성화되어 prostaglandin E2(PGE2), nitric oxide(NO)의 염증인자인 interleukin-6(IL-6), interleukin-1β(IL-1β), tumor necrosis factor-α(TNF-α) 등의 cytokines을 생성하여 인체를 보호한다. O_2^-와 반응하여 peroxynitrite를 생성하는 NO는 RNS의 일종으로 peroxynitrite는 단백질과 지질의 과산화를 유도시켜 세포독성을 일으킨다.[9,10] 대식세포(macrophage)는 체내 항상성과 면역기능을 유지시켜 신체를 보호하며, 유해 물질과 바이러스, 세균 등을 배출시키고, 체내로 염증 유발 물질이 유입되면 이를 배

*교신저자(E-mail) : wooju0717@hanmail.net
(Tel) : +82-63-650-6001

출시키기 위하여 염증 매개 물질을 분비한다.[11-13] 지속적으로 염증반응이 발생하면 대식세포가 과반응하여 NO 생성이 증가하여 세포독성, 혈관 확장, 염증 반응의 항진, 신경조직 손상, 상처 치유 억제 등의 악영향을 일으키고, 자가면역질환, 종양, 암, 관절염, 당뇨, 동맥경화, 염증성 질환 등을 일으킨다.[14-16] 따라서 cytokines 억제는 염증을 억제시키는 항염활성 물질이라 할 수 있다.[16,17]

오미자(*Schisandra chinensis*)는 오미자나무(*Schisandra chinensis* Baill)과에 속하는 낙엽성 목본인 덩굴식물의 열매를 건조한 것으로 생약 및 식품원료 등으로 사용한다. 효능은 피로회복, 혈압강하, 알콜 해독, 항암, 노화억제, 면역조절, 항균, 피로회복, 심장기능 저하, 항당뇨, 간염, 두통 등으로 알려져 있다.[18,19] 함유성분은 citric acid, deoxyschisandrin, ethamigrenal, gomisin N, gomisins A-H, gomisins J-K, lignan, palmitic acid, schindilactones A-G, schisandroln, schizadran, schizandrin A-C, schizandrol B(gomisin A), wuweizidilactones G-H, wuwerizilactone acid, *β*-sitosterol 등이며, schizandrin은 항염, 신경보호, 혈당저하, 항궤양, 중추신경흥분, 만성간염 치료 등의 약리작용이 있는 것으로 알려져 있다.[19,20] 웰빙을 추구하는 현대인은 항산화, 항암, 항염, 면역 등 인체 건강에 유익한 천연물에 대한 관심이 증가되었고, 이와 관련된 생리활성 및 기능성 물질에 대한 연구가 증가하고 있다. 또한 coronavirus disease 2019(COVID-19) 등의 감염성 질병이 증가함에 따라 인체 부작용이 적고 면역증진, 항염 효능을 갖는 기능성 천연물에 대한 관심이 증가하였다.[21-23] 전북 순창은 지형적으로 오미자 재배에 적합하여 재배 면적이 증가하고 있다. 따라서 순창에서 생산된 오미자에 대한 schizandrin 함량 분석과 항산화, 항염, 항균활성 등을 측정하여 건강식품 개발을 위한 기초자료로 활용하고자 한다.

재료 및 방법

실험재료 및 시료 제조 – 본 연구에 사용된 시료는 전북 순창에서 생산된 오미자를 순창군농특산물직판장에서 구입한 후 동결건조기(LP20, IlShinBioBase, Dongducheon, Korea)를 이용하여 건조시켰다. 완전히 건조된 오미자는 분쇄기(HR3752/00, Philips, Amsterdam, Nederland)를 이용하여 분쇄한 후 100 mesh체로 거른 다음 증류수 100 mL를 첨가하여 80℃에서 5시간 추출하였다. 추출액 제조를 위하여 원심분리기(Super-22K, Hanil science industrial, Incheon, Korea)를 이용하여 고형물을 제거하고 0.4 μm 필터로 감압여과시킨 후 감압농축기(N-1000, Eyela, Tokyo, Japan)를 이용하여 농축하였다. 이와 같은 방법으로 40% 에탄올을 이용하여 4시간 추출하여 실험에 사용하였으며, 추출수율은 추출 전 시료의 중량에 대한 추출 후 건조 중량을 백분율로 계산하였다.

재료 및 시약 – 2,2-Diphenyl-1-picryl hygrazyl(DPPH), 2,2-azino-bis[3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid](ABTS), Folin-Ciocalteu's phenol reagent, ascorbic acid, quercetin, gallic acid, potassium persulfate($K_2S_2O_8$), 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide(MTT), lipopolysaccharide (LPS), *n*-ethylendiamine dihydrochloride, amoxicillin, sulfanilamide, minimum essential medium(MEM medium), 2',7'-dichlorofluorescein diacetate(DCFH-DA), 2,2'-azobis(2-amidinopropane) dihydrochloride (AAPH), schizandrin은 Sigma-Aldrich(St. Louis, MO, USA)사 제품, LB Broth, miller(Luria-Bertani), brucella broth는 Difco (Detroit, MI, USA)사 제품, Agar powder는 Daejung(Siheung, Korea)사 제품, fetal bovine serum(FBS)은 HyClone(Pittsburgh, PA, USA)사 제품, penicillin-streptomycin(PS), Hank's balanced salt solution(HBSS)는 HyClone(Pittsburgh, PA, USA)사 제품, dulbecco's modified Essential medium(DMEM)은 Welgene (Seoul, Korea)사 제품, mouse TNF ELISA set은 BD Biosciences(San Diego, CA., USA)사 제품, HPLC용 methanol은 Burdick & Jackson(Muskegon, MI, USA)사 제품을 사용하였다.

Schizandrin 분석 – 오미자 추출물 내 schizandrin의 함량을 측정하기 위하여 각 추출물을 추출 용매를 이용하여 5,000 mg/L 농도로 용해시킨 후, 0.2 μm syringe filter로 여과시켜 분석 시료로 사용하였다. 표준 용액인 schizandrin은 HPLC용 methanol을 이용하여 1,000 mg/L 농도로 제조하였다. 표준 용액을 시료는 동일한 조건으로 분석하여 검량선(표준곡선)을 작성한 후 추출물 내 schizandrin의 함량을 측정하였다. HPLC 분석기기는 HPLC system(Agilent 1200 series, Agilent Technologies, USA), Diode array detector (DAD G1315D; 254nm), column은 Agilent ZORBAX EclipsePlus C18(4.6 × 250 mm, 5 μm)을 사용하였다. 분석 조건은 1.0 mL/min, column 온도는 25℃로 설정하여 water/acetonitrile (A/B, v/v)를 B; 0분: 20%, B; 5분: 40%, B; 13분: 60%, B; 20분: 20%의 조건으로 분석하였다(Table I).[24-26] 분석에 사용된 이동상은 HPLC용 용매를 사용하였으며, 사용 전에 감압 여과 및 탈기시켜 사용하였다.[27,28] 순창산 오미자 내 schizandrin 함량을 타 지역에서 생산된 오미자와 비교하기

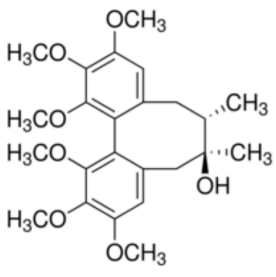

Fig. 1. The structures of standards; schizandrin.

Table I. Analytical conditions of HPLC

Instrument	HPLC system(Agilent, 1200 series)		
Detector	Diode array detector (DAD G1315D) (254nm)		
Column	Agilent ZORBAX EclipsePlus C18 (4.6 × 250 mm, 5 μm)		
Temperature	25℃		
Flow rate	1.0 mL/min		
Injection volume	10 μL		
Mobile phase	Time (min)	Water	Acetonitrile
	0	80	20
	5	60	40
	13	40	60
	20	80	20
Run time	30 min		

위하여 경북지역에서 생산된 오미자를 앞서 수행한 분석방법과 동일한 방법으로 분석하였다.

항산화 활성 – DPPH 라디칼 소거활성은 Wang 등[29]의 방법을 일부 변형하여 측정하였다. 오미자 각 추출물을 312.5-10,000 μg/mL 농도로 조제된 시료 40 μL와 0.2 mM DPPH 용액 180 μL을 96-well plate에 혼합하고 37℃에서 30분간 반응시킨 후 microplate reader(Infinite Pro 200, Tecan, Austria)를 이용하여 515 nm에서 흡광도를 측정하였다. DPPH 라디칼 소거활성은 아래 식으로 산출하였으며, DPPH 라디칼을 50% 감소시키는 SC(scavenging concentration)$_{50}$ 값으로 표시하였으며, 대조군으로 ascorbic acid를 사용하였다.

DPPH radical scavenging 활성(%) =

$$1 - \left(\frac{\text{시료 첨가군의 흡광도}}{\text{시료 무 첨가군의 흡광도}}\right) \times 100$$

ABTS 라디칼 소거활성은 Berg 등[30]의 방법을 일부 변형하여 측정하였다. 7 mM ABTS 용액에 2.4 mM의 potassium persulfate를 첨가하고 12시간 반응시킨 후 흡광도(734 nm)가 1.0이 되도록 증류수를 이용하여 조정하였다. 농도별로 조제된 시료 10 μL와 ABTS 용액 190 μL을 96-well plate에 혼합시켜 상온에서 10분간 반응시킨 후 microplate reader를 이용하여 흡광도(734 nm)를 측정하였다. ABTS 라디칼 소거활성은 아래 식으로 산출하였으며, ABTS 라디칼을 50% 감소시키는 SC_{50} 값으로 표시하였으며, 대조군으로 ascorbic acid를 사용하였다.

ABTS radical scavenging 활성(%) =

$$1 - \left(\frac{\text{시료 첨가군의 흡광도}}{\text{시료 무 첨가군의 흡광도}}\right) \times 100$$

총 폴리페놀 및 총 플라보노이드 함량 – 총 폴리페놀 함량은 Folin-Denis법[31]을 일부 변형하여 측정하였다. 농도별로 조제한 시료 1 mL에 1 N Folin-Ciocalteu's reagent 0.5 mL, 5% Na_2CO_3 1 mL을 첨가시켜 암소에서 1시간 반응시킨 후 UV-Vis spectrophotometer(Agilent 8453, Agilent, CA, USA)를 이용하여 흡광도 725 nm에서 분석하였다. 총 폴리페놀 함량은 gallic acid의 표준곡선(25-200 μL/mL)을 이용하여 측정하였고, 회귀식은 y=0.0055x-0.0318(R^2=0.9969)로 나타났으며, 총 폴리페놀 함량을 mg gallic acid equivalent (GAE)/g로 표현하였다.

총 플라보노이드 함량은 Moreno 등[32]의 방법으로 측정하였다. 시료 0.5 mL에 10% aluminum nitrate 용액 0.1 mL와 1 M potassium acetate 용액 0.1 mL를 순차적으로 첨가한 후, ethanol 4.3 mL를 첨가시켜 40분간 실온에서 반응시킨 후 UV-Vis spectrophotometer를 이용하여 흡광도 415 nm에서 분석하였다. 총 플라보노이드 함량은 quercetin의 표준곡선(20-100 μL/mL)을 이용하여 측정하였고, 회귀식은 y=0.0014x+0.0011(R^2=0.9989)로 나타났으며, 총 플라보노이드 함량을 mg quercetin equivalent(QE)/g로 표현하였다.

인간 간암 세포주(HepG2 cell) 내 항산화 활성 – 인간 간암 세포주(HepG2 cell)내 항산화 활성인 cellular antioxidant activity(CAA) 분석은 Liu과 Huang[33]의 방법을 응용하여 측정하였다. HepG2 cell을 96 well plate에 5×10^5 cells/mL로 37℃, 5% CO_2 incubator에서 24시간 배양한 후 각 well의 배지를 제거하고 HBSS 50 μL로 2회 세척하였다. 그 후 100 μL MEM medium(25 μM DCFH-DA)에 각 추출물을 농도별로 조성한 시료를 처리하여 1시간 동안 배양 후 HBSS 로 1회 세척을 진행하고 100 μL AAPH solution을 첨가하여 1시간 동안 10분 간격으로 UV-Vis spectrophotometer를 이용하여 excitation 485 nm, emission 538 nm 조건에서 형광분석을 수행하였다.

세포독성 측정 – RAW 264.7 cell에 대한 세포독성은 96 well plate에서 RAW 264.7 cell은 1×10^5 cells/well의 농도로 세포를 5% CO_2 incubator에서 24시간 배양한 후 well plate에 각 추출물 시료를 농도별로 처리하여 CO_2 incubator에서 24시간 배양하였다. 배양한 세포는 MTT 시약 0.5 mg/mL로 4시간 동안 반응시키고 상등액을 제거 뒤 생성되는 formazan을 DMSO 100 μL을 첨가하여 완전히 용해시킨 후 UV-Vis spectrophotometer를 이용하여 540 nm에서 흡광도를 측정하였다.[34,35] Caco-2 cell의 세포독성은 96 well plate에 세포를 2.5×10^5 cells/well 농도로 5% CO_2 incubator에서 24시간 배양한 후, 각 추출물 시료를 농도별로 처리하여 24시간 CO_2 incubator에서 배양시켰다. 배양된 세포를 앞서 수행한 방법과 동일하게 처리하여 UV-Vis spectrophotometer를 이용하여 측정하였다.[36,37]

Nitric oxide 생성 억제 측정 – RAW 264.7 cell로부터 생성된 NO 측정은 Green 등[38]의 방법을 응용하여 측정하였다. RAW 264.7 cell을 24 well plate에 1×10^5 cells/well의 농도로 분주하여 37℃, 5% CO_2 incubator에서 24시간 배양한 후, 희석한 LPS(1 μg/mL)와 각 추출물 농도별로 조성한 시료를 첨가한 후 동일한 조건에서 배양하였다. 이후 배양액과 griess 시약(0.1% N-(1-naphtyl) ethylenediamine : 1% sulfanilamide = 1:1)을 처리하여 반응시킨 후 UV-Vis spectrophotometer를 이용하여 570 nm에서 흡광도를 측정하였다. Sodium nitrate를 희석하여 흡광도를 측정하여 표준곡선을 이용하여 NO 생성 억제를 평가하였다.

인간 결장직장암 세포주인 Caco-2 cell로부터 생성된 NO의 양은 Romier-Crouzet 등[39]의 방법을 응용하여 측정하였다. Caco-2 cel을 24 well plate에 2.5×10^5 cells/mL의 농도로 분주하여 37℃, 5% CO_2 incubator에서 48시간 배양한 후, 희석한 LPS(5 μg/mL), TNF-α 500 ng/mL와 시료를 농도별로 첨가한 후 동일한 조건에서 배양하였다. 앞서 수행한 실험방법과 동일하게 배양액과 Griess 시약을 처리하여 반응시킨 후 UV-Vis spectrophotometer를 이용하여 평가하였다.

염증성 cytokine(TNF-α, IL-1β, IL-6) 분비량 – RAW 264.7 cell을 24-well plate에 5×10^5 cell/well이 되도록 분주하고 24시간 동안 37℃, 5% CO_2 배양기에서 배양하였다. 이후 농도별로 제조한 오미자 시료를 세포에 2시간 동안 처리한 다음, 각 well에 1 μL/mL의 LPS를 처리하고 24시간 동안 배양하였다. 이후 배양 상층액을 수거하여 실험에 사용하고, ELISA reader(Infinite Pro 200, Tecan, Austria)를 이용하여 TNF-α, IL-1β, IL-6의 분비량을 manufacturer's instruction 실험방법으로 측정하였다.[38-40]

항균활성 – 한천 확산법(agar well diffusion)과 디스크 확산법(paper disc diffusion)으로 *Listeria monocytogenes, Salmonella typhimurium*에 대한 항균활성을 clear zone 생성으로 측정하였다. Broth microdilution method으로 최소성장억제농도(minimum inhibitory concentration; MIC)와 최소살균농도(minimum bactericidal concentration; MBC)를 측정하였다. 각 추출물을 농도별로 조성하여 첨가된 시료를 LB broth에 negative control과 균주 처리군으로 분류하여 각각의 균을 접종한 후 37℃에서 24시간 배양하고 microplate reader를 이용하여 흡광도(600 nm)로 균주의 생장 변화로 MIC를 측정하였다. 시료의 항균활성을 확인하고, 생균수 측정법으로 항균활성의 역가를 측정하여 MBC를 결정하였다. 균주배양액에 시료농도를 MIC보다 높은 농도인 400 mg/mL 첨가하고 LB agar 배지에 도포시켜 24시간 배양한 후 생균수를 측정하여 사멸된 균수가 99.9%가 넘는 최소농도를 MBC로 결정하였다.[41,42] 각 추출물이 농도 별로 조성된 시료가 첨가된 Brucella broth 배지를 분주한 후 *H. pylori* 균주를 각각 0.5×10^7 CFU/mL씩 첨가하여 37℃, 24시간, 10% CO_2 배양기에 배양하였다. 상기와 같은 방법으로 균주의 생장 변화 및 사멸 정도를 측정하여 MIC와 MBC 농도를 결정하였다.[41,43,44]

소화효소 활성 – α-Amylase 효소활성은 Bernfeld[45]의 방법을 변형하여 측정하였다. 1.0%(w/v) Soluble starch solution (20 mM sodium phosphate buffer, 6.7 mM sodium chloride, pH 6.9) 250 μL에 각 추출액 500 μL를 혼합하여 37℃에서 30분간 반응시켰다. 이후 96 mM dinitrosalicylic acid(DNS) solution을 0.5 μL을 첨가하여 100℃에서 5분 동안 반응시킨 다음 4℃에서 3분간 방치시킨 후 microplate reader를 이용하여 540 nm에서 흡광도를 측정하였다. 표준곡선은 0.2% (w/v) maltose을 이용해 작성하였으며, 효소활성도(unit definition)는 위의 조건(37℃, pH 6.9)에서 starch로부터 1분 동안에 생성되는 1.0 μg의 maltose양을 1 unit로 정의하였다. Protease 효소활성은 Kim 등[46]의 방법을 변형하여 측정하였다. 1.25 mL의 0.65%(w/v) casein buffer(casein 6.5 g/mL, 50 mM potassium phosphate buffer, pH 7.5)를 37℃에서 5분간 반응시킨 후 각 추출액 0.5 mL를 첨가하여 37℃에서 10분간 반응시켰다. 이후 110 mM의 trichloroacetic acid 2.5 mL 첨가하여 반응을 정지시킨 후, 37℃에서 30분 동안 반응시켰다. 반응과정에서 생성된 침전물은 0.45 μm syringe filter로 여과한 다음, 반응액 2 mL에 500 mM sodium carbonate solution 5 mL와 0.5 M Folin & Ciocalteu's phenol reagent 1 mL를 혼합하였다. 이후 37℃에서 30분간 반응시킨 후 microplate reader를 이용하여 660 nm에서 흡광도를 측정하였다. 표준물질인 L-tyrosine은 상기와 동일한 방법으로 분석 후 얻은 표준곡선을 이용하였으며, 1 unit는 1분 동안 tyrosine 1 μg을 유리시키는 양을 환산하여 계산하였다.

통계처리 – 모든 실험의 통계처리는 통계 패키지인 Sigma plot(sigma plot for window version 10.0, USA) program을 이용하여 각 측정 군의 평균±표준편차를 산출하였으며, 두 군 간의 분석은 Student's t-tes 를 실시하였고 3

군 이상의 군간 분석은 one-way ANOVA와 사후 분석으로 Tukey's multiple comparison test를 실시하였다. $p<0.05$를 유의성 있는 것으로 해석하였다.

결과 및 고찰

추출 – 전북 순창에서 생산된 오미자를 동결건조기를 이용하여 완전히 건조시킨 후 분쇄하여 100 mesh체로 균질화시킨 후 추출하였다. 물 추출물은 오미자 20 g에 증류수 100 mL를 첨가하고 80℃에서 5시간 동안 추출하였으며, 원심분리기를 이용해 15분간 3,000 rpm로 원심 분리시켜 고형물을 제거하고 0.4 μm 필터 시킨 후 감압농축기를 이용하여 농축하였다. 추출 수율은 추출 전의 시료의 중량에 대한 추출 후 건조 중량을 백분율로 계산하였다. 물 추출물(SCW)은 3.5 g (17.5%)의 추출물을 얻었으며, 40% 에탄올 추출물(SCE)은 위와 같은 방법으로 80℃에서 4시간 추출하여 4.6 g (23.0%)을 얻었다(Table II).

Schizandrin 함량 분석 – 오미자에 함유된 schizandrin은 간기능 강화, 항염증, 항암작용, 항산화, 고혈압 예방, 건망증 예방, 신경보호, 혈당저하, 항궤양, 중추신경흥분, 만성간염치료, 중추신경흥분작용 등의 효능을 갖고 있으며, 특히 염화탄소(CCl_4^-)로부터 간 손상 보호, 부교감신경시스템의

Table II. Extraction yield of *Schisandra chinensis* extracted with different solvents

Sample	Extraction conditions	Extraction Yield (w/w, %)
SCW	Sample 20 g, water 100 mL, 80℃, 5h	3.5 g (17.5%)
SCE	Sample 20 g, 40% EtOH 100 mL, 80℃, 4h	4.6 g (23.0%)

SCW : Water extract *S. chinensis*, SCE; 40% Ethanol extract *S. chinensis*

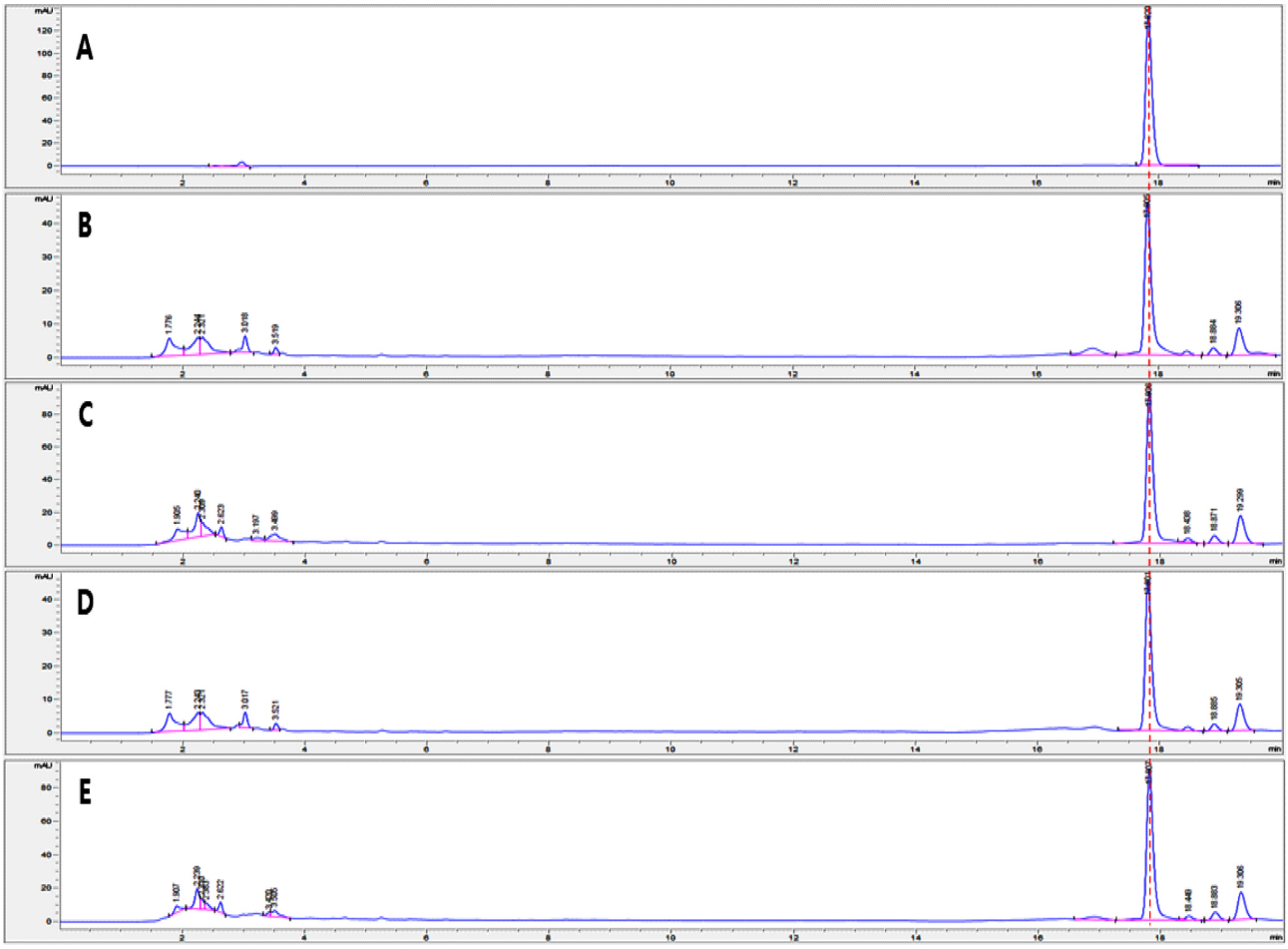

Fig. 2. HPLC chromatogram of schizandrin standard and *Schisandra chinensis* extract. A: Schizandrin standard, B: *S. chinensis* water extract from Sunchang, C: *S. chinensis* 40% Ethanol extract from Sunchang, D: *S. chinensis* water extract from Gyeongbuk, E: *S. chinensis* 40% Ethanol extract from Gyeongbuk.

활성화, 글루타민산염 수송체를 조절하고 세포 밖의 글루타민산염의 농도를 낮춰 중추신경계에 영향을 준다고 보고되었다.[24-26] Schizandrin은 오미자의 주요성분으로 대한약전외한약(생약)규격집에 한약(생약) 부분에 오미자의 지표성분으로 설정되어 있으며, 오미자의 품질관리를 위한 기준성분이다. 오미자를 이용하여 기능성 식품으로 개발하기 위해서는 schizandrin 분석이 요구됨에 따라 오미자에 함유된 schizandrin을 분석하였다. 오미자 각 추출물에 함유된 schizandrin의 함량은 Schizandrin 표준용액의 retention time과 일치하는 peak 면적으로 환산하였다. Schizandrin 표준용액의 retention time은 17.8분대에서 main peak가 관찰되었으며, 오미자 각 추출물에서 schizandrin 표준용액에서와 같은 시간대의 peak가 관찰하였다(Fig. 2). 오미자에 함유된 schizandrin 함량은 SCW은 7.87±0.01 mg/g, SCE는 10.38±0.04 mg/g로 분석되어 에탄올 40% 추출물이 더 많은 양의 schizandrin이 함유하는 것으로 확인되었다(Table III). 이러한 결과는 Choi 등[18]의 연구결과와 유사한 경향으로 오미자 내 schizandrin의 추출조건이 에탄올 함량에 의존적으로 증가하였다. 순창에서 생산된 오미자의 schizandrin 함량을 타 지역에 생산된 오미자와 비교하기 위하여 경북지역에서 생산한 오미자를 Table II와 같은 방법으로 추출한 후 HPLC를 이용하여 분석한 결과 물 추출물에서 7.92±0.03 mg/g, 40%에탄올 추출물에서 10.32±0.06 mg/g으로 분석되었다.

항산화 활성 – 인체 내에서 항산화의 불균형은 노화를 촉진시키며, 각종 성인병을 유발시킨다. 인체 내 라디칼 소거활성은 체내 항산화 시스템을 정상으로 유지시키는 매개체이다. 일반적으로 천연물의 항산화 활성은 전자공여능으로 측정한다. 대표적인 실험법으로 대조군과 항산화 활성을 비교하여 평가하는 DPPH 라디칼 소거활성과 ABTS 라디칼 소거활성을 측정한다.[47-48] DPPH 라디칼 소거활성은 DPPH 용액이 항산화 물질과 반응하면 anion radical이 소거되면서 보라색에서 노란색으로 변하는 원리를 분광광도법으로 측정한다. ABTS 라디칼 소거활성은 청록색을 띄고 있는 ABTS 용액이 potassium persulfate과 반응하면 ABTS 라디칼을 형성하여 cation radical이 항산화 물질에 의해 무색에 가까운 연녹색으로 변하는 원리를 이용하여 측정하는 것으로 극성 및 비극성 추출물 모두 측정할 수 있는 장점을 가지고 있다.[22,47]

오미자 추출물을 312.5-10,000 μg/mL의 농도 범위에서 DPPH 라디칼 소거활성과 ABTS 라디칼 소거활성을 측정하였다(Table IV). DPPH 라디칼 소거활성(SC_{50})은 SCW에서 10.13±0.05 g/mL, SCE은 5.54±0.03 g/mL로 나타났다. 대조군으로 사용된 L-ascorbiac acid는 0.19±0.01 g/mL로 분석되었다. DPPH 라디칼을 소거하는데 필요한 시료의 농도인 SC_{50} 값과 positive control로 사용된 L-ascorbic acid의 SC_{50} 값을 기준으로 relative activity를 비교한 결과, SCW은 1.90%, SCE은 3.47% 수준의 DPPH 라디칼 소거활성이 나타났다. Kim 등[1]의 키토산과 잣잎, 잣껍질 추출물의 항산화 및 항균활성 연구에서 추출물간 DPPH 소거활성은 총 폴리페놀 화합물 함량과 밀접한 관련이 있다고 보고하였다. ABTS 라디칼 소거활성(SC_{50})은 SCW은 9.73±0.05 g/mL, SCE는 6.66±0.03 g/mL로 나타났다. 대조군으로 사용된 L-ascorbiac acid은 0.10±0.01 g/mL로 측정되었다. ABTS 라디칼을 소거하는데 필요한 시료의 농도인 SC_{50} 값과 positive control로 사용된 L-ascorbic acid의 SC_{50} 값을 기준으로 relative activity를 비교한 결과, SCW은 1.05%, SCE는 1.55%로 나타났다.

총 폴리페놀 및 총 플라보노이드 함량 – 식물에 함유된 폴리페놀 화합물은 외부로부터 침입한 물질을 방어하는 물질로서 식물 세포 생성과 활성화 물질이다. 폴리페놀 화합물은 tyrosine과 phenylalanine으로부터 합성되며, 단백질 등

Table III. Schizandrin contents of *Schisandra chinensis* extracts

Sample	Extract	Schizandrin (mg/g)
Sunchang	Water	7.87±0.01
	40% EtOH	10.38±0.04
Gyeongbuk	Water	7.92±0.03
	40% EtOH	10.32±0.06

All values are expressed as mean±SD of triplicate determinations.

Table IV. Measurement of SC_{50} value for antioxidant activity of *Schisandra chinensis* extract

Sample	DPPH radical scavenging		ABTS radical scavenging	
	SC_{50}[1] (g/mL)	Relative activity (%)[2]	SC_{50}[1] (g/mL)	Relative activity (%)[2]
SCW	10.13±0.05	1.90	9.73±0.05	1.05
SCE	5.54±0.03	3.47	6.66±0.03	1.55
AA	0.19±0.01	100.00	0.10±0.01	100.00

SCW; Water extract *S. chinensis*, SCE; 40% Ethanol extract *S. chinensis*, AA; L-Ascorbic acid. L-Ascorbic acid was used as a positive control.
[1]SC_{50}: 50% scavenging concentration of free radical.
[2]Relative activity: a ratio(%) of SC_{50} value of sample compared to that of positive control ascorbic acid.
All values are expressed as mean±SD of triplicate determinations.

Table V. Total polyphenol and flavonoid content of *Schisandra chinensis* extract

Sample	Total polyphenol (mgGAE[1)]/g)	Total flavonoid (mgQE[2)]/g)
SCW	85.7±1.4	42.1±0.6
SCE	99.2±4.5	55.3±0.4

SCW; Water extract *S. chinensis*, SCE; 40% Ethanol extract *S. chinensis*.
[1)]Gallic acid equivalent.
[2)]Quercetin equivalent.
All values are expressed as mean±SD of triplicate determinations.

의 거대분자와 hydroxyl기(-OH)가 결합하여 항산화, 항염, 항암, 항균, 면역증가 등의 생리활성을 가진다.[47,49] 폴리페놀류에 속하는 플라보노이드는 항산화 활성 물질로서 항암, 항염, 항바이러스 효과가 있는 것으로 보고되어 있다. 폴리페놀 함량 측정은 폴리페놀의 산화·환원반응을 응용하여 측정하는 것으로 phosphomolybdic acid와 반응하면 청색으로 발색되는 원리를 이용하여 측정한다.[31,50] 오미자 각 추출물의 총 폴리페놀 함량은 SCW에서 85.7±1.4 mgGAE/g, SCE는 99.28±4.51 mgGAE/g로 분석되었다. 총 플라보노이드 함량은 SCW에서 42.1±0.6 mgQE/g, SCE는 55.3±0.4 mgQE/g로 분석되었다(Table V).

인간 간암 세포주(HepG2 cell) 내 항산화 활성 – Cellular antioxidant activity(CAA) assay는 DCFH-DA probe를 이용하여 측정하는 fluorometric assay이며, 항산화제의 세포막 침투와 세포내 AAPH로 유도된 peroxyl radical을 소거하는 항산화 활성을 측정한다. ROS의 생성량이 높을수록 높은 relative fluoroscence units (RFU)의 값을 나타내므로 항산화 활성을 갖는 소재를 세포에 처리 시 ROS의 소거로 인해 RFU 값이 감소하게 된다.[33] CAA assay를 통해 오미자 추출물의 HepG2 cell 내 항산화 활성을 평가하였다.

오미자 각 추출물 (0-500 μg/mL)과 DCFH-DA probe 동시에 처리하여 1시간 배양하고, 이후 600 μM의 AAPH를 처리하여 ROS 소거 활성을 측정하였다(Table VI). SCW은 AAPH 처리군 대비 100, 200, 300, 400, 500 μg/mL의 농도에서 각각 78.1±0.1, 67.3±0.1, 65.5±0.9, 56.8±2.7%로 ROS 생성이 감소되었다. SCE의 경우 AAPH 처리군 대비 78.8±2.7, 69.7±1.8, 65.1±1.8, 55.0±1.8%로 ROS 생성이 감소되었다. SCW 추출물 간의 유의미한 차이는 나타나지 않았으나 농도 의존적으로 ROS 소거 활성이 증가하여 세포 내 산화반응을 유의적으로 감소시킬 수 있는 것으로 확인되었다. Yang 등[61]의 연구에 따르면, 개양귀피 잎 추출물 500 μg/mL 농도에서 HepG2 세포의 H_2O_2 산화 자극에 약 25%의 ROS 억제 활성을 나타내어 세포 보호 활성에 대한 효능이 있음을 보고되었다. ROS는 DNA, 세포 내 소기관, 단백질 등을 손상시켜 질병을 유발하는 것으로 알려져 있다. 최근 연구에서 항산화 활성 물질을 처리하면 산화제로 유도된 ROS를 소거하여 HepG2 cell 손상을 억제한다고 보고되었다.[51]

세포생존율 및 NO 생성 억제 – 대식세포는 체내 면역체계를 형성하는 세포로서 인체가 외부로부터 자극을 받으면 NO 등 염증매개물질을 분비하여 염증성 cytokines을 생성한다. 체내의 염증을 악화시키는 NO는 nitric oxide synthase에 의하여 생성되며, 세포독성, 체내방어, 신경전달 등의 기능물질이지만 합성되면 염증 반응을 유발시킨다. 따라서 NO 생성 억제 활성 물질은 인체의 염증성 물질을 억제시키는 지표라 할 수 있다.[52,53] 염증반응에 의하여 NO가 과발현되어 toxic radical로 작용하면 세포손상, 신경 및 조직손상, 유전자 변이 등을 일으켜 뇌막염, 알츠하이머병 등 퇴행성 질환을 유발시키는 요인으로 작용한다. *H. pylori*의 감염으로 위점막이 손상되면 면역세포인 대식세포는 염증세포를 발현시켜 NO를 생성하고, 염증반응을 일으켜 위점막을 손상시킨다.[54-56]

RAW 264.7 대식세포를 MTT assay 실험법으로 오미자 추출물에 대한 세포 독성을 측정하였다. 오미자 각 추출물을 농도별(25-150 μg/mL)로 처리한 결과 SCW는 150 μg/mL 이하의 농도에서 99% 이상의 생존율이 측정되었으며, SCE는 125 μg/mL 이하의 농도에서 100% 생존율이 측정되어 독성이 나타내지 않았음을 확인하였다(Table VII). 이에 따라 독성이 나타나지 않는 농도를 100 μg/mL 이하의 농도로 설정하고 NO 생성과 염증성 cytokine의 분비량 측정 농도로 설정하였다. LPS로 염증 유도된 RAW 264.7 cell에 오

Table VI. Cellular antioxidant activity of *Schisandra chinensis* extracted with water and 40% ethanol against oxidative stress induced by AAPH in HepG2 cell model

Sample	DCF fluorecence intensity (%)				
	Concentration (μg/mL)				
	0	100	200	300	400
SCW	100.0±1.8[a]	78.1±0.1[b]	67.3±0.1[c]	65.5±0.9[c]	56.8±2.7[d]
SCE	100.0±1.8[a]	78.8±2.7[b]	69.7±1.8[c]	65.1±1.8[d]	55.0±1.8[e]

SCW; Water extract *S. chinensis*, SCE; 40% Ethanol extract *S. chinensis*.
All values are expressed as mean±SD of triplicate determinations.
Different superscripts (a-e) indicate significant differences each other at $p<0.05$ by one-way ANOVA and Tukey's multiple comparison test.

미자 각 추출물을 25, 50, 75, 100 μg/mL 농도별로 처리하여 NO 생성량을 측정한 결과 각 추출물은 농도 의존적으로 NO 생성을 억제시켰다. 오미자 각 추출물의 처리농도 25, 50, 75, 100 μg/mL의 농도에서 SCW은 74.3±1.4%, 70.1±1.0%, 62.5±3.3%, 54.2±2.3%, SCE는 74.2±2.8%, 65.7±2.2%, 61.2±2.1%, 53.7±1.0%로 NO 생성이 감소되었다(Table VIII).

Caco-2 cell를 이용하여 MTT assay 실험법으로 오미자 추출물에 대한 세포 독성을 측정하였다. 오미자 각 추출물 50-250 μg/mL 농도로 세포 생존율을 측정한 결과 SCW와 SCE 모두 250 μg/mL 이하의 농도에서 100% 생존율이 측정되어 독성이 나타내지 않았음을 확인하였다(Table VII). 이에 따라 독성이 나타나지 않는 농도를 100 μg/mL 이하의 농도로 설정하고 NO 생성을 측정한 결과 농도 의존적으로 NO 생성을 억제시켰다(Table VIII). 오미자 각 추출물 모두에서 NO 생성 억제가 확인됨에 따라 오미자 추출물은 다양한 염증인자를 억제시킬 수 있을 것으로 판단된다. Park[9] 등의 연구에서 0.2-2 mg/mL의 백선피 메탄올 추출물이 농도 의존적으로 NO 생성을 억제시킨다고 보고하였다. Chitosan-phytochemical conjugates의 NO 생성 억제능 관한 연구에서는 모든 처리농도(50-800 μg/mL)가 RAW 264.7 대식세포에 독성을 나타내지 않았으며, 농도 의존적으로 NO 생성량이 감소됨을 보고하였다[8]. Dilshara[62] 등의 연구에서 500 μg/mL의 오미자 물 추출물이 약 57%의 NO 생성 억제효능을 보였으며, 이는 본 연구결과의 100 μg/mL 처리농도에서 유사한 NO 생성 억제효능을 나타내며 높은 효능을 지니는 것으로 확인되었다.

염증성 cytokine 분비량 – Cytokine은 면역세포에서 분비되는 단백질로 면역세포의 증식 및 분화 조절 등에 의하여 염증을 악화시킨다. Cytokine 염증 반응은 감염이나 외부자극 등의 유해인자로부터 생체를 보호하는 생체 방어 작용이다.[57,58] 대식세포는 면역반응에 관여하여 숙주의 방어와 항상성 유지, 염증반응에 관여하는 세포로서 외부 자극에 의하여 염증반응이 활성화되면 염증성 cytokines을 분비하여 염증을 유발시킨다.[6,57] LPS는 염증 반응을 일으키는 인자로서 LPS를 대식세포에 처리하면 cytokines을 생성한다. Cytokines의 억제는 염증질환을 억제시키는 지표이며, TNF-α, IL-1β, IL-6은 염증반응을 억제하는 pro-inflammatory cytokine이다.[54,55] LPS를 이용하여 RAW 264.7 cell에 염증을 유발

Table VII. Cell viability on Raw 264.7 cell and Caco-2 cell culture incubated for 24 h with *Schisandra chinensis* extract

Sample	Raw 264.7 Cell viability (%)					
	Concentration (μg/mL)					
	25	50	75	100	125	150
SCW	102.4±2.0^{a}	96.7±1.5^{b}	96.1±1.3^{b}	97.6±2.1^{b}	98.0±0.7^{b}	99.8±0.8^{b}
SCE	104.3±0.4^{a}	102.4±0.6^{a}	103.6±0.5^{a}	102.4±1.4^{a}	100.5±0.8^{b}	85.6±3.0^{c}
Sample	Caco-2 Cell viability (%)					
	Concentration (μg/mL)					
	50	100	150	200	250	
SCW	104.3±6.5^{a}	102.0±2.1^{a}	106.5±1.3^{a}	105.6±0.4^{a}	101.6±0.2^{a}	
SCE	102.6±1.9^{a}	99.0±3.9^{a}	101.5±3.7^{a}	103.3±1.8^{a}	103.8±1.6^{a}	

SCW; Water extract *S. chinensis*, SCE; 40% Ethanol extract *S. chinensis*.
All values are expressed as mean±SD of triplicate determinations.
Different superscripts (a-c) indicate significant differences each other at $p<0.05$ by one-way ANOVA and Tukey's multiple comparison test.

Table VIII. Nitric oxide (NO) production activity (%) on LPS-stimulated Raw 264.7 cell and Caco-2 cell culture incubated for 24 h with *Schisandra chinensis* extract

Cell line	Sample	Control	LPS (1 μg/mL)	Concentration (μg/mL) + LPS (1 μg/mL)			
				25	50	75	100
Raw 264.7 cell	SCW	1.9±0.3***	100.0±0.0	74.3±1.4***	70.1±1.0***	62.5±3.3***	54.2±2.3***
	SCE			74.2±2.8***	65.7±2.2***	61.2±2.1***	53.7±1.0***
Caco-2 cell	SCW	0.9±0.1***	100.0±0.0	66.1±1.4***	59.2±1.2***	51.1±2.4***	44.3±1.4***
	SCE			64.2±1.3***	54.3±2.3***	50.2±0.6***	45.1±1.0***

SCW; Water extract *S. chinensis*, SCE; 40% Ethanol extract *S. chinensis*.
All values are expressed as mean±SD of triplicate determinations.
$^{***}p<0.001$ compared to non-treated group by Student's t-test.

Table IX. Inhibitory effect of *Schisandra chinensis* extract on production of inflammatory cytokines (TNF-α, IL-6, IL-1β) in RAW 246.7 cells

Cytokine	Sample	Control	LPS (1 μg/mL)	Concentration (μg/mL) + LPS (1 μg/mL)			
				25	50	75	100
TNF-α (ng/mL)	SCW	2.5±0.0***	11.9±0.3	10.4±0.6*	9.5±0.4***	9.0±0.2***	7.6±1.2***
	SCE			11.4±0.0***	10.2±0.1***	9.3±0.1***	8.3±0.1***
IL-6 (ng/mL)	SCW	0.4±0.0***	24.0±0.2	16.9±1.2***	15.7±0.9***	14.0±0.1***	11.4±1.0***
	SCE			18.5±0.4***	15.9±0.6***	14.9±0.6***	14.2±0.3***
IL-1β (pg/mL)	SCW	2.5±0.0***	11.9±0.3	10.4±0.6*	9.5±0.4***	9.0±0.2***	7.6±1.2***
	SCE		11.9±0.3	11.4±0.0***	10.2±0.1***	9.3±0.1***	8.3±0.1***

SCW; Water extract *S. chinensis*, SCE; 40% Ethanol extract *S. chinensis*.
All values are expressed as mean±SD of triplicate determinations.
***$p<0.001$ compared to non-treated group by Student's t-test.

시킨 후 오미자 각 추출물을 처리한 후 TNF-α, IL-1β, IL-6의 생성량 측정하여 염증성 cytokine의 생성 억제 효능을 평가하였다(Table IX). RAW 264.7 cell에 LPS 처리함에 따라 cytokine인 TNF-α, IL-1β, IL-6 생성이 증가하였다. TNF-α 생성은 LPS로 단독 처리군에서 11.9±0.3 ng/mL, 비처리 대조군은 2.5±0.0 ng/mL로 분석되었으며, 오미자 각 추출물 100 μg/mL 농도에서 SCW은 7.6±1.2 ng/mL, SCE는 8.3±0.1 ng/mL로 억제되었다. IL-6 생성 억제는 오미자 각 추출물 100 μg/mL에서 SCW은 11.4±1.0 ng/mL, SCE는 14.2±0.3 ng/mL로 억제되었다. IL-1β 생성은 LPS로 단독 처리군에서 11.9±0.3 pg/mL, 비처리 대조군은 2.5±0.0 pg/mL로 분석되었으며, 오미자 각 추출물 100 μg/mL 농도에서 SCW은 7.6±1.2 pg/mL, SCE는 8.3±0.1 pg/mL로 억제되었다. 오미자 추출물의 처리 농도가 증가함에 따라 TNF-α, IL-1β, IL-6 생성도 농도 의존적으로 억제하였다. Tian 등[59]의 연구에 따르면 호박 50% 에탄올 추출물 50 μg/mL를 LPS로 염증 유도된 RAW 264.7세포에 처리한 후 TNF-α를 측정한 결과 약 33% 저해시켰으며, 처리 농도가 증가함에 따라 TNF-α, IL-6 생성이 농도 의존적으로 감소하였다고 보고되었다. 또한, 오미자의 주요 성분인 schisantherin A를 RAW 264.7세포에 25 μg/mL 처리시 TNF-α, IL-6 및 IL-1β가 각각 약 60, 55, 17% 억제되었다고 보고된 연구결과와 유사하게 측

Table X. Antibacterial activity against *L. monocytogenes, S. typhimurium* and *H. pylori* of *Schisandra chinensis* extract

Bacteria	Sample	Diffusion Assay	Diameter of clean zone (mm)		
			Concentration (mg/disc)		
			1	2	3
L. monocytogenes	SCW	Agar well	8.32[a]	14.89[b]	17.23[c]
		Paper disc	3.54[a]	9.56[b]	14.07[c]
	SCE	Agar well	11.90[a]	18.53[b]	22.17[c]
		Paper disc	8.21[a]	12.93[b]	14.73[c]
S. typhimurium	SCW	Agar well	N.D.	1.60[a]	8.81[b]
		Paper disc	1.24[a]	6.49[b]	9.70[c]
	SCE	Agar well	3.32[a]	11.23[b]	17.26[c]
		Paper disc	2.78[a]	6.05[b]	9.97[c]
H. pylori	SCW	Agar well	9.01[a]	14.15[b]	16.73[c]
		Paper disc	3.91[a]	8.84[b]	9.49[c]
	SCE	Agar well	6.15[a]	8.86[b]	10.83[c]
		Paper disc	1.92[a]	7.29[b]	9.27[c]

SCW; Water extract *S. chinensis*, SCE; 40% Ethanol extract *S. chinensis*.
N.D.: Not detected.
Values are expressed as mean±SD of triplicate determinations.
Different superscripts (a-c) in the same column indicate significant differences each other at $p<0.05$ by one-way ANOVA and Tukey's multiple comparison test.

Table XI. MIC and MBC of *Schisandra chinensis* extract against *L. monocytogenes*, *S. typhimurium* and *H. pylori*

Bacterial	Sample	Concentration (mg/mL)								MIC (mg/mL)	MBC (mg/mL)
		25	50	75	100	125	150	175	200		
L. monocytogenes	SCW	-	-	-	-	-	-	-	-	25	100
	SCE	-	-	-	-	-	-	-	-	25	75
S. typhimurium	SCW	-	-	-	-	-	-	-	-	25	100
	SCE	-	-	-	-	-	-	-	-	25	25
H. pylori	SCW	+	+	-	-	-	-	-	-	75	200
	SCE	+	+	-	-	-	-	-	-	75	200

+: Growth, -: Growth inhibition

정되었다.[63]

항균활성 – 오미자 각 추출물의 *L. monocytogenes, S. typhimurium*, *H. pylori*에 대한 항균활성을 agar well diffusion와 paper disc diffusion 분석법으로 측정하였다 (Table X). *L. monocytogenes*의 활성은 SCW의 3 mg/disc 농도에서 agar well diffusion은 17.23 mm, paper disc diffusion은 14.07 mm로 clear zone이 나타났으며, SCE의 agar well diffusion은 22.17 mm, paper disc diffusion은 14.73 mm의 clear zone이 나타났다. *S. typhimurium*의 활성은 SCW의 3 mg/disc 농도에서 agar well diffusion은 8.81 mm, paper disc diffusion은 9.70 mm의 clear zone이 나타났으며, SCE에서는 agar well diffusion은 17.26 mm, paper disc diffusion은 9.97 mm의 clear zone이 나타났다. *H. pylori*의 활성은 SCW의 3 mg/disc 농도에서 agar well diffusion은 16.73 mm, paper disc diffusion은 9.49 mm의 clear zone이 나타났으며, SCE는 agar well diffusion은 10.83 mm, paper disc diffusion은 9.27 mm의 clear zone이 나타났다. SCW보다 SCE에서 *L. monocytogenes*, *S. typhimurium, H. pylori*에 대한 항균활성이 높게 나타났다.

오미자 각 추출물이 *L. monocytogenes, S. typhimurium, H. pylori*의 생육을 저해시키는 최소농도 설정은 각 균의 생장이 검출되지 않는 농도로 설정하였다. 각 균에 대한 최소사멸농도를 확인하기 위하여 최소저해농도 이상의 오미자 각 추출물을 배지에 도말시켜 최소사멸농도를 확인하였다 (Table XI). *L. monocytogenes*의 최소저해농도(MIC)는 SCW와 SCE 모두 25 mg/mL로 측정되었으며, 최소사멸농도(MBC)는 SCW은 100 mg/mL, SCE는 75 mg/mL로 나타났다. *S. typhimurium*의 MIC는 SCW와 SCE 모두 25 mg/mL로 측정되었으며, MBC는 SCW에서 100 mg/mL, SCE는 25 mg/mL로 나타났다. *H. pylori*에 대한 활성은 SCW와 SCE 모두 MIC는 75 mg/mL, MBC는 100 mg/mL로 측정되었다. 발효 옻나무 껍질 95℃, 8시간 열수 추출물에서 *H. pylori* 생장억제 활성을 디스크 확산법으로 측정한 결과, 시료농도 2 mg에서 paper disc 주변으로 4.0 mm의 생장억제가 확인되었다고 보고된 연구결과보다 높게 측정되었다.[60] Lee와 Lee[23]의 연구에서 두릅 열수추출물의 *H. pylori*에 대한 항균활성 연구에서 최소저해농도(MIC)는 150 mg/mL, 최소사멸농도(MBC)는 400 mg/mL로 보고된 연구결과보다 활성이 높게 측정되었다.

소화효소 활성 – 오미자 각 추출물에 대한 소화효소 활성을

Table XII. Evaluation of digestive enzyme activity through α-amylase and protease activity of *Schisandra chinensis* extract

α-Amylase activity (Unit/mL)					
Sample	Concentration (mg/mL)				
	5	10	15	20	25
SCW	0.9±0.0***	1.6±0.0***	2.2±0.0***	2.8±0.0***	3.5±0.1***
SCE	1.3±0.0***	2.0±0.0***	3.0±0.0***	3.6±0.0***	4.0±0.1***
Protease activity (Unit/mL)					
Sample	Concentration (mg/mL)				
	20	40	60	80	100
SCW	0.11±0.00***	0.14±0.01***	0.18±0.01***	0.25±0.01***	0.28±0.00***
SCE	0.14±0.00***	0.26±0.00***	0.31±0.01***	0.45±0.01***	0.56±0.00***

SCW; Water extract *S. chinensis*, SCE; 40% Ethanol extract *S. chinensis*.
All values are expressed as mean±SD of triplicate determinations.
*** $p<0.001$ compared to non-treated group by Student's t-test.

측정하였다(Table XII). 오미자 각 추출물의 처리함량이 증가함에 따라 α-amylase 효소활성과 protease 효소활성이 증가하였다. α-Amylase 효소활성은 SCW 25 mg/mL 농도에서 3.5±0.1 unit/mL으로, 저농도인 5 mg/mL의 0.9±0.0 unit/mL 보다 약 3.5배 높게 측정되었다. SCE의 경우 25 mg/mL에서 4.0±0.1 unit/mL로 분석되었으며, 저농도인 5 mg/mL(1.3±0.0 unit/mL) 보다 약 3배 높게 측정되었다. Protease 효소활성은 SCW 100 mg/mL에서 0.28±0.00 unit/mL으로, 저농도인 20 mg/mL의 0.11±0.00 unit/mL 보다 약 2.5배 높게 측정되었다. SCE 100 mg/mL에서 0.56±0.00unit/mL로 분석되었으며, 저농도인 20 mg/mL에서는 0.14±0.00 unit/mL로 약 4배 높게 분석되었다. 오미자는 α-amylase 효소와 protease 효소활성을 지닌 것으로 판단된다.

결 론

본 연구는 전북 순창에서 생산한 오미자의 물과 40% 에탄올 추출물에 대한 schizandrin 함량과 항산화, 항균, 항염 소화효소 활성을 측정하여 향후 건강식품 개발을 위한 기초자료로 활용하고자 하였다. 오미자의 schizandrin 함량은 SCW 7.87±0.01 mg/g, SCE 10.38±0.04 mg/g으로 측정되었으며, DPPH 및 ABTS 라디칼 소거활성(SC_{50})을 통해 항산화 활성을 비교한 결과 SCE(5.54, 6.66 g/mL)가 SCW(10.13, 9.73 g/mL) 보다 높은 항산화 활성을 나타났다. 총 폴리페놀 함량과 총 플라보노이드 함량은 SCE가 SCW보다 높은 함량을 지니는 것으로 확인되었다. 오미자의 세포 내 항산화 활성에서 추출물 간의 유의미한 차이는 나타나지 않았으나, 농도 의존적으로 산화 스트레스를 억제하였다. RAW 264.7 및 Caco-2 세포를 활용해 NO 활성 및 전염증성 cytokine의 함량을 측정하여 항염증 효능을 확인한 결과, 농도 의존적으로 활성이 증가하였으며 특히 SCW가 더 높은 활성을 나타났다. 오미자 추출물은 다양한 병원성 미생물에 대한 높은 항균활성을 지닌 것으로 확인되었다. α-Amylase와 protease 효소활성은 오미자 추출물의 처리농도가 증가함에 따라 효소활성도 증가하였다. 이상의 연구결과를 바탕으로 오미자는 항염증 및 항산화 효과를 갖는 건강기능식품 소재로의 개발이 가능할 것이라 사료된다.

인용문헌

1. Kwon, K. M., Kim, J. H., Yang, J. H., Ki, B., Hwang, I. H. and Kim, D. K. (2020) Antioxidant activity of ethyl acetate fraction of the guzeunggupo-processed *Platycodon grandiflorum* A. De Candolle roots in *Caenorhabditis elegans*. *Kor. J. Pharmacogn*. **51**: 325-331.
2. Kim, J. H., Jeong, C. H., Choi, G. N., Kwak, J. H., Choi, S. G. and Heo, H. J. (2009) Antioxidant and neuronal cell protective effects of methanol extract from *Schizandra chinensis* using an *in vitro* system. *Korean J. Food Sci. Technol*. **41**: 712-716.
3. Choi, B. K., Lee, S. H., Kim, N. S., Cho, S. Y., Jang, H. H., Kim, J. B., Lee, Y. M., Yoon, S. and Lee, S. H. (2014) Antioxidative and anti-allergic effects of *Salvia plebeia* R. ethanol extracts. *Kor. J. Pharmacogn*. **45**: 332-337.
4. Lee, H., Han, Y. B., Ko, W., Kim, N., Kim, J., Lee, D. S. and Woo, E. R. (2020) The comparison between various solvents extracts of Mahaenggamsuk-tang on the anti-oxidative, anti-inflammatory and neuro-protective effects. *Kor. J. Pharmacogn*. **51**: 163-170.
5. Lee, Y. S. (2007) Antioxidative and physiological activity of extracts of *Angelica dahurica* leaves. *Korean J. Food Preserv.* **14**: 78-86.
6. Soory, M. (2009) Relevance of nutritional antioxidant in metabolic syndrome, ageing and cancer: potential for therapeutic targeting. *Infect. Dis. Drug Targets* **9**: 400-414.
7. Lee, E. B., Ahn, D., Kim, B. J., Lee, S. Y., Cha, Y. S., Lee, J. H., Park, J. S. and Kim, D. K. (2014) Effects of ethyl acetate fraction of *Vigna angularis* on stress resistances and antioxidative activities in *Caenorhabditis elegans*. *Kor. J. Pharmacogn*. **45**: 227-232.
8. Je, J. Y. (2015) Chitosan-phytochemical conjugates: preparation, antioxidant, and NO inhibition in LPS-stimulated macrophages. *J. Chitin Chitosan.* **20**: 245-250.
9. Park, J. S., Shin, T. Y., Kim, D. K. and Lee, J. H. (2011) The effects of Dictamni radicis cortex on the iNOS expression and proinflammatory cytokines production. *Kor. J. Pharmacogn*. **42**: 348-353.
10. Kim, H. Y., Woo, S. O., Kim, S. G., Bang, K. W., Choi, H. M., Moon, H. J. and Han, S. M. (2019) Anti-inflammatory activities of drone Pupae (*Apis mellifera* L.) in macrophages. *J. Apic.* **34**: 255-259.
11. Lee, D. J. and Jeong, J. C. (2006) Peroxynitrite scavenging activity of *Samjunghwan*. *Korean J. Orient. Int. Med.* **27**: 178-187.
12. Radi, R. B., Beckman, J. S., Bush, K. M. and Freeman, B. A. (1991) Peroxynitrite oxidation of sulfhydryls. The cytotoxic potential of superoxide and nitric oxide. *J. Biol. Chem.* **266**: 4244-4250.
13. Min, J. Y. and Park, Y. K. (2009) Effect of Dipsaci Radix water extract on LPS-induced inflammatory response in RAW 264.7 mouse macrophages. *Kor. J. Herb.* **24**: 189-195.
14. Park, J. C., Han, H. S., Lee, S. B. and Lee, K. T. (2016) Inhibitory effects of kaempferol-7-O-β-D-glucoside on LPS-induced NO, PGE2 and inflammatory cytokines production in RAW 264.7 macrophages. *Kor. J. Pharmacogn*. **47**: 295-300.
15. Kim, S. K., Park, C. G., Ryu, S. N., Bang, J. K. and Lee B. H. (2000) Schizandrin, oil compounds, and their extraction yield in fruits of *Schisandra chinensis* Baillon. *Korean J.*

Crop Sci. **45**: 158-162.
16. Chiou, W. F., Chou, C. J. and Chen, C. F. (2001) Camptothecin suppresses nitric oxide biosynthesis in RAW 264.7 macrophages. *Life Sci.* **69**: 625-635.
17. Jung, S. A., Kim, K. B. W. R., Kim, M. J., Kim, D. H., Chan, S. W., Kim, H. J., Jeong, D. H., Jeong, H. Y., Kim, T. W., Cho, Y. J. and Ahn, D. H. (2012) Trypsin inhibitory activity of water extracts from *Ecklonia cava* as affected by temperature and pH. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* **41**: 840-845.
18. Choi, E. O., Lee, B. S., Park, Y. S., Seo, E. O. and Chung, B. W. (2008) Extraction condition from *Schisandra chinensis* Baillon for beverage development of schizandrin concentration. *Korean J. Biotechnol. Bioeng*. **23**: 271-275.
19. Koo, D. C., Suh, W. S., Baek, S. Y. and Shim, S. H. (2011) Quantitative Determination of Lignans from *Schizandra chinensis* by HPLC. *Kor. J. Pharmacogn*. **42**: 233-239.
20. Avula, B., Choi, Y. W., Srinivas, P. V. and Khan, I. A. (2005) Quantitative determination of lignan constituents from *Schisandra chinensis* by liquid chromatography. *Chromatographia* **61**: 515-518.
21. Cha, M. H. and Kim, Y. K. (2008) Analysis of consumption values of a seaweed functional food. *Korean J. Food Culture* **23**: 462-468.
22. Lim, J. M., Lee, J. S. and Lee, J. H. (2020) Evaluation of physiological activity of soybean extract for cosmetic material development. *J. Invest Cosmetol*. **16**: 11-22.
23. Lee, S. W. and Lee, J. H. (2021) Anti-inflammatory and anti-*Helicobacter* effects of the *Aralia elata* hot-water extract. *Korean J. Food Preserv.* **28**: 279-287.
24. Kim, Y. E., Kim, E. N. and Jeong, G. S. (2019) Isolation and quantitative analysis of schisandrin, gomisin A and gomisin M_2 from *Schisandra chinensis*. *Kor. J. Pharmacogn*. **50**: 148-153.
25. Kim, K. S., Kang, S. S. and Ryu, S. N. (2002) Quantitative analysis of lignans from fruits of *Schizandra chinensis*. *Kor. J. Pharmacogn*. **33**: 272-276.
26. Lee, S., Moon, H. K., Lee, S. W., Moon, J. N., and Kim, J. K. (2014) Effects of drying methods on quality characteristics and antioxidative effects of Omija (*Schizandra chinesis* bailon). *Korean J. Food Preserv.* **21**: 341-349.
27. Kim, Y., Ha, N., Han, S. H., Jeon, J. Y., Hwang, M., Im, Y. J., Lee, S. Y., Chae1, S. W. and Kim, M. G. (2013) Confirmation of schizandrin as a marker compound in Jangsu Omija powder. *Korean Soc. Food Sci. Nutr*. **42**: 244-248.
28. Seo, C. S., Kim, J. H. and Shin, H. K. (2019) Quantitative analysis of schizandrin and gomisin A in traditional herbal formula, Saengmaek-san. *Korean Herb Med. Inf*. **7**: 137-145.
29. Wang, K. J., Zhang, Y. J. and Yang, C. R. (2005) Antioxidant phenolic compounds from rhizomes of *Polygonum paleaceum*. *J. Ethnopharmacol.* **96**: 483-487.
30. Berg, R., Haenen, G., Berg, H. and Bast, A. (1999) Applicability of an improved trolox equivalent anti,oxidant capacity (TEAC) assay for evaluation of antioxidant capacity measurements of mixtures. *Food Chem.* **66**: 511-517.
31. Singleton, V. L. and Rossi, J. A. (1965) Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *Am. J. Enol. Vitic.* **16**: 144-158.
32. Moreno, M., Isla, M., Sampietro, A. R. and Vattuone, M. A. (2000) Comparison of the free radical-scavenging activity of propolis from several regions of Argentina. *J. Ethnopharmacol.* **71**: 109-114.
33. Liu, S. and Huang H. (2015) Assessments of antioxidant effect of black teaextract and its rationals by erythrocytehaemolysis assay, plasma oxidation assay andcellular antioxidant activity (CAA) assay. *J. Funct. Foods* **18**: 1095-1105.
34. Alley, M. C., Scudiero, D. A., Monks, A., Hursey, M. L., Czerwinski, M. J., Fine, D. L., Abbott, B. J., Mayo, J. G., Shoemaker, R. H. and Boyd, M. R. (1988) Feasibility of drug screening with panels of human tumor cell lines using a microculture tetrazolium assay. *Cancer Res*. **48**: 589-601.
35. Boligon, A. A., Machado, M. M. and Athaydem, M. L. (2014) Technical evaluation of antioxidant activity. *Med. Chem*. **4**: 517-522.
36. Shon, D. H., Kim, M. H., Kim, Y. C. and Kim, S. S. (2010) Effect of Korean red ginseng on the stability of the tight junction of intestinal epithelial cells. *Korean J. Food Sci. Technol*. **42**: 335-342.
37. Walia, N. and Chen, L. (2020) Pea protein based vitamin D nanoemulsions: Fabrication, stability and in vitro study using Caco-2 cells. *Food Chem*. **305**: 125475.
38. Green, L. C., Wagner, D. A., Glogowski, J., Skipper, P. L., Wishnok, J. S. and Tannenbaum, S. R. (1982) Analysis of nitrate, nitrite, and [15N] nitrate in biological fluids. *Anal. Biochem*. **126**: 131-138.
39. Romier-Crouzet, B., Van De Walle, J., During, A., Joly, A., Rousseau, C., Henry, O., Larondelle, Y. and Schneider, Y. J. (2009) Inhibition of inflammatory mediators by polyphenolic plant extracts in human intestinal Caco-2 cells. *Food Chem. Toxicol*. **47**: 1221-1230.
40. Jo, S. H., Kim, M. E., Cho, J. H., Lee, Y. J., Lee, J. W., Park, Y. D. and Lee. J. S. (2019) Hesperetin inhibits neuroinflammation on microgliaby suppressing inflammatory cytokines and MAPK pathways. *Arch. Pharm. Res.* **42**: 695-703.
41. Lehrer, R. I., Rosenman, M., Harwig, S. S. S. L., Jackson, R. and Eisenhauer. P. (1991) Ultrasensitive assays for endogenous antimicrobial polypeptides. *J. Immunol Methods* **137**: 167-173.
42. Akbar, A., Sadiq, M. B., Ali, I., Muhammad, N., Rehman, Z., Khan, M. N., Muhammad, J., Khan, S. A., Rehman F. U. and Anal. A. K. (2019) Synthesis and antimicrobial activity of zinc oxide nanoparticles against foodborne pathogens *Salmonella typhimurium* and *Staphylococcus aureus*. *Biocatal. Agric. Biotechnol*. **17**: 36-42.
43. Osuagwu, S. O., Smart, I. T., Oluma, H. O. A. and Adibe. O.

(2021) Antibacterial activity and phytochemical properties of selected medicinal plants against *Salmonella typhi, Salmonella paratyphi A, B and C*, clinical isolates in Lafia, Nigeria. *Am. Sci. Res. J. Eng. Technol. Sci.* **81**: 203-221.
44. Takarada, K., Kimizuka, R., Takahashi, N., Honma, K., Okuda, K. and Kato, T. (2004) A comparison of the antibacterial efficacies of essential oils against oral pathogens. *Oral Microbiol. Immunol.* **9**: 61-65.
45. Bernfeld, P. (1995) Amylases α and β. methods in enzymology. *Methods Enzymol.* **1**: 149-158.
46. Kim, M. H., Rho, J. H. and Kim, M. J. (2011) Stabilizing and optimizing properties of crude protease extracted from Korean figs. *Korean J. Food Cookery Sci.* **27**: 29-37.
47. Park, J. S., Lee, J. S. and Lee, J. H. (2020) Antioxidative and antimutagenic effects of *Panicum miliaceum* L. *Korean J. Food Preserv.* **27**: 261-269.
48. Im, D. Y., Pyo, B. S., Kim S. M. and Lee, K. I. (2017) Measurement of the anti-oxidative properties of extract from medicinal plants using an on-line HPLC-DPPH assay. *J. Life Sci.* **27**: 44-49.
49. Kwon, B. S., Park, S. K., Kim, J. M., Kang, J. Y., Park, S. H., Kang, J. E., Lee, C. J., Park, S. B., Yoo, S. K., Lee, U. and Heo, H. J. (2018) Antioxidant capacity and hepatoprotective effect of ethyl acetate fraction from shoot of *Aralia elata* on alcohol-induced cytotoxicity. *Korean J. Food Sci. Technol.* **50**: 216-224.
50. Kim, E. J., Choi, J. Y., Yu, M. R., Kim, M. Y., Lee, S. H., and Lee, B. H. (2012) Total polyphenols, total flavonoid contents, and antioxidant activity of Korean natural and medicinal plants. *Korean J. Food Sci. Technol.* **44**: 337-342.
51. Yang, H. S., Kim, M. J., Kim, M., Im, P. R. and Choe, J. S. (2021) Antioxidant activity and hepatoprotective effects of extracts from different parts of *Papaver rhoeas* L. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* **50**: 1-9.
52. Cho, E. J., Lee, J. H., Sung, N. Y. and Byun, E. H. (2017) Anti-inflammatory effects of *Annona muricata* leaf ethanol extracts. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* **46**: 681-687.
53. Kang, B. K., Kim, K. B. W. R., Kim, M. J., Bark, S. W., Pak, W. M., Kim, B. R., Ahn, N. K., Choi, Y. U. and Ahn, D. H. (2014) Anti-inflammatory activity of an ethanol extract of *Laminaria japonica* root on lipopolysaccharide-induced inflammatory. *Korean J. Food Sci. Tecnnol*. **46**: 729-733.
54. Mannick, E. E., Bravo, L. E., Zarama, G., Realpe, J. L., Zhang, X. J., Ruiz, B., Fontham, E. T. H., Mera R, Miller M. J. S. and Correa, P. (1996) Inducible nitric oxide synthase, nitrotyrosine, and apoptosis in *Helicobacter pylori* gastritis: effect of antibiotics and antioxidants. *Cancer Res.* **56**: 3238-3243.
55. Chung, H, T., Pae, H. O., Choi, B. M., Billiar, T. R. and Kim, Y. M. (2001) Nitric oxide as a bioregulator of apoptosis. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **282**: 1075-1079.
56. Kawamata, H., Ochiai, H., Mantani, N. and Terasawa, K. (2000) Enhanced expression of inducible nitric oxide synthase by Juzen-taiho-to in LPS-activated Raw 264.7 cells a murine macrophage cell line. *Am. J. Chin. Med.* **28**: 217-226.
57. Chang, J., Xuan, L. J., Xu, Y. M. and Zhang, J. S. (2002) Cytotoxic terpenoid and immunosuppressive phenolic glycosides from the root bark of *Dictamnus dasycarpus*. *Planta Med.* **68**: 425-429.
58. Namkoong, S., Jang, S. A., Sohn, E. H., Bak, J. P., Sohn, E. S., Koo, H. J., Yoon, W. J., Kwon, J. E., Jeong, Y. J., Meng, X., Han, H. S. and Kang, S. C. (2015) Comparative study of *Lisea japonica* leaf and fruit extract on the anti-inflammatory effects. *Korean J. Plant Res*. **28**: 145-152.
59. Tian, Y., Zhou, S., Takeda, R., Okazaki, K., Sekita, M. and Sakamoto, K. (2021) Anti-inflammatory activities of amber extract in lipopolysaccharide-induced RAW 264.7 macrophages. *Biomed. Pharmacother.* **141**: 111854.
60. Choi, E. Y., Suk, K. T., Choi, H. S., Kim, M. K., Kwon, Y. S. and Kim, M. J. (2016) Anti-inflammatory activities of fermented *Rhus verniciflua* stem bark extract and its growth inhibitory effect on *Helicobacter pylori*. *Korean J. Food Sci. Technol.* **48**: 502-507.
61. Yang, H. S., Kim, M. J., Im, P. R. and Choe J. S. (2021) Antioxidant Activity and hepatoprotective effects of extracts from different parts of *Papaver rhoeas* L. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* **50**: 1-9.
62. Dilshara, M. G., Jayasooriya, R. G. P. T., Kang, C. H., Lee, S., Park, S. R., Jeong, J. W., Choi, Y. H., Seo, Y. T., Jang, Y. P. and Kim, G. Y. (2013) Downregulation of pro-inflammatory mediators by a water extract of *Schisandra chinensis* (Turcz.) Baill fruit in lipopolysaccharide-stimulated RAW 264.7 macrophage cells. *Environ. Toxicol. Pharmacol*. **36**: 256-264.
63. Ci, X., Ren, R., Xu, K., Li, H., Yu, Q., Song, Y., Wang, D., Li, R. and Deng, X. (2010) Schisantherin A exhibits anti-inflammatory properties by Down-Regulating NF-κB and MAPK signaling pathways in lipopolysaccharide-treated RAW 264.7 cells. *Inflammation*. **33**: 126-136.

(2022. 8. 9 접수; 2022. 9. 14 심사;
2022. 11. 16 게재확정)