

## 약쑥(*Artemisia princeps* Pamp)의 항산화작용

홍정희<sup>1</sup> · 전정란<sup>2</sup> · 이주현<sup>2</sup> · 이인선<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>계명대학교 전통미생물자원개발 및 산업화연구(TMR)센터

<sup>2</sup>계명대학교 식품가공학과

## Antioxidative Properties of *Artemisia princeps* Pamp

Jung-Hee Hong<sup>1</sup>, Jeong-Lan Jeon<sup>2</sup>, Ju-Hyun Lee<sup>2</sup> and In-Seon Lee<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>The Center for Traditional Microorganism Resources, Keimyung University, Daegu 704-701, Korea

<sup>2</sup>Dept. of Food Sciences and Technology, Keimyung University, Daegu 704-701, Korea

### Abstract

Antioxidant properties of *Artemisia princeps* Pamp were determined using *in vitro* assay systems against 1,1-diphenyl-picrylhydrazyl (DPPH) radical, superoxide ( $O_2^-$ ), hydrogen peroxide ( $H_2O_2$ ), hydroxyl radical ( $HO\cdot$ ) and nitric oxide (NO) radical, as well as rat liver microsomal lipid peroxidation. Among the five solvent fractions, ethyl acetate fractions showed the highest total polyphenol and flavonoid contents at 311.35  $\mu\text{g}/\text{mg}$  and 92.73  $\mu\text{g}/\text{mg}$ , respectively. Ethyl acetate fractions, except for  $H_2O_2$  scavenging activity, also showed the highest scavenging activity; the 50% inhibitory concentration ( $IC_{50}$ ,  $\mu\text{g}/\text{mg}$ ) values for DPPH, superoxide,  $HO\cdot$  and NO radical scavenging were 52.71, 26.47, 58.92 and 65.94, respectively. Additionally, the highest inhibition of rat liver microsomal lipid peroxidation was observed by ethyl acetate fraction.

**Key words:** *Artemisia princeps* Pamp, antioxidant activity, solvent fractions, rat liver microsomal lipid peroxidation

### 서 론

인간을 비롯한 모든 호기성 호흡을 하는 생물들은 산소를 이용하여 생명유지에 필요한 에너지를 발생하는 과정에서 생성되는 활성산소들의 위해작용에 대한 근본적인 자기방어기구를 가지고 있다. 조직의 방어기구에 해소되지 못한 superoxide anion( $O_2^-$ ), hydroxyl radical( $OH\cdot$ ) 및 hydrogen peroxide( $H_2O_2$ ) 등과 같은 활성산소종(reactive oxygen species; ROS)은 세포막 지질을 과산화시키고 이들의 연속 반응에 의하여 alcohol류, aldehyde류, ketone류 등을 생성함으로써 생체내에서 DNA를 손상시켜 암을 유발할 뿐만 아니라, 세포노화, 세포막분해, 지방산화 등 심각한 생리적인 장애를 일으킨다(1,2). 지금까지 활성산소와 free radical 생성을 방지하기 위해 butylated hydroxytoluene(BHT), butylated hydroxyanisole(BHA), propyl gallate(PG), tertiary-butylhydroquinone(TBHQ) 등 수많은 합성항산화물질들이 개발, 이용되어 왔는데(3), 그 중 항산화 효과가 뛰어난 BHT와 BHA는 간 비대, 간장 중 microsomal enzyme 활성 증가, 체내흡수물질의 독성화 혹은 발암 가능성(4) 등의 문제점이 초래되면서 현재 그 사용이 크게 제한을 받고 있다. 따라서 최근 안전성과 기호성이 문제가 되지 않는  $\beta$ -carotene,

L-ascorbic acid 및  $\alpha$ -tocopherol과 같은 천연 항산화제 개발을 위한 많은 연구가 시도되고 있으며, 결명자, 구기자 등 식용식물로부터 항산화 효과가 있는 천연항산화제에 관한 연구가 활발히 이루어지고 있다(5,6).

약쑥(*Artemisia herb*)은 국화과(Compositae)에 속하는 다년생 초본으로서, 전초를 말린 것을 애엽 또는 애초라고 하며, 줄기와 잎은 약용으로, 어린잎은 식용으로, 보통 잎은 뜸쑥을 만들 때 사용한다(7). 우리나라에서는 약쑥이 대한약전 외 규격집에 등재되어 있으며 약쑥은 식용뿐만 아니라 한방에서는 출혈, 코피 지혈 등에 효과가 크다고 알려져 왔으며(8) 그 외에도 강장보혈, 부인병과 건위, 설사치료 등의 목적으로 사용되어온 생약이다(7). 지금까지 약쑥의 생리활성에 연구로는 acetylene, sesquiterpene lactone 등의 휘발성 정유 성분(9,10)에 관한 연구가 주류를 이루었으나, 최근 유발된 위 손상에 대하여 강한 억제작용(9), 혈액암세포(HL-60)의 apoptosis(11) 및 prostaglandin synthase 활성도 억제(12) 등의 여러 가지 효능이 밝혀지고 있으며, 이의 유효 성분은 methoxylated flavonoid의 일종인 eupatilin으로 보고되었다. 쑥의 제반기능 중 항산화에 대한 연구에서 Lee 등(13)은 산쑥(*A. montana* Pampan)이 caffeic acid, catechol, protocatechonic acid 등을 많이 함유하고 항산화효과

\*Corresponding author. E-mail: inseon@kmu.ac.kr  
Phone: 82 53 580 5538, Fax: 82 53 580 5538

가 뛰어난 것으로 보고한 바 있다. 또한 참쑥, 약쑥, 인진쑥의 에탄올 추출물 중 인진쑥의 항산화성이 가장 큰 것으로 알려져 있으며 인진쑥의 생리활성물질로서 scoparone, capillarartemisin A와 B, capillarisin 뿐 아니라 cirsilineol, crisimaritin, genkwanin, rhamnocitrin 등 4종의 flavonoids가 보고되고 있다(14). 이처럼 *Artemisia*류에는 caffeic acid, catechol, protocatechumic acid, scoparone, capillarartemisin A와 B, capillarisin, cirsilineol, crisimaritin, genkwanin, rhamnocitrin 등(13,14)의 플라보노이드를 포함한 다양한 페놀류 화합물이 다량으로 함유되어 있어 항산화 효과 및 생체 내 지질과산화 억제 등 성인병에 대한 예방 효과가 있을 것으로 기대되나 항산화계의 구체적인 연구는 아직까지 미비한 실정이다.

본 연구에서는 약쑥의 항산화 효과를 조사하고자 약쑥 열수추출물을 극성에 따른 순차 용매 분획하여 총 폴리페놀 및 플라보노이드 함량, 활성산소종 소거능 및 간 microsome을 이용한 지질과산화 억제 효과 등을 관찰하였다.

## 재료 및 방법

### 실험재료

약쑥은 2006년 7월 중순에 대구 약령시장에서 구입하여 실험재료로 사용하였다. Tannic acid, quercetin, 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl(DPPH), 2-deoxyribose, peroxidase, ABTS(2,2'-azino-bis(3-ethylbenzthiazoline)-6-sulfonic acid), thiobarbituric acid(TBA), trichloroacetic acid(TCA)는 Sigma 회사(St. Louis, MO, USA)에서 구입하여 사용하였다. 그 외 모든 시약은 분석용 특급 시약을 사용하였다.

### 쑥추출물 및 용매분획물 제조

건조 쑥(100 g)에 10배량의 3차 증류수를 가하고 80°C에서 2시간 3회 반복 추출한 후 여과 및 농축하여 쑥추출물(13.32 g)을 얻었다. 다음, 쑥 물추출물 10 g에 10배의 3차 증류수를 가하여 용해시킨 후 여기에 동량의 *n*-hexane(*n*-HX)을 가하여 격렬히 교반하여 분획한 후 얻어진 상층을 감압농축시켜 *n*-HX 분획물(0.16 g)을 얻었고, 하층은 chloroform(CHCl<sub>3</sub>), ethyl acetate(EtOAc) 및 *n*-butanol(*n*-BuOH)로 순차적으로 용매 분획하여 얻어진 각 분획물을 감압농축하여 CHCl<sub>3</sub>(0.28 g), EtOAc(0.20 g), *n*-BuOH(1.22 g) 및 water(4.76 g)를 얻은 것을 밀봉하여 4°C에 보관하면서 실험에 사용하였다. 이때 쑥 추출물 및 각 분획물의 추출 수율은 추출 전 쑥 건조물에 대한 추출물의 완전건조 후 무게백분율로 계산하였다.

### 총 폴리페놀 함량 측정

총 폴리페놀 함량은 Folin-Denis법(15)을 변형하여 다음과 같이 측정하였다. 즉, 각 농도별 분획물 1 mL에 Folin-

Ciocalteau 시약 및 10% Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 용액을 각 1 mL씩 차례로 가한 다음 실온에서 1시간 정치한 후 UV/visible spectrophotometer(UVIKON 922, Kontron, Italy)를 사용하여 700 nm에서 흡광도를 측정하였다. 이때 총 폴리페놀 화합물은 tannic acid를 이용하여 작성한 표준곡선으로부터 환산하여 함량을 구하였다.

### 총 플라보노이드 함량 측정

총 플라보노이드 함량은 Moreno 등(16)의 방법에 의해 측정하였다. 각 농도별 분획물 100 µL를 취하여 10% aluminum nitrate와 1 µM potassium acetate를 함유하는 80% ethanol 4.3 mL에 혼합하여 실온에서 40분 정치한 뒤 415 nm에서 흡광도를 측정하였다. 이 때 총 플라보노이드 함량은 quercetin을 이용하여 작성한 표준곡선으로부터 환산하여 함량을 구하였다.

### DPPH free radical 소거능 측정

전자공여능은 Blois와 Banda(17)의 방법을 변형하여 DPPH에 대한 전자공여 효과로 시료의 환원력을 측정하였다. 각 분획물을 농도별로 99% 메탄올에 용해시킨 후, 800 µL를 취하여 메탄올에 녹인 DPPH용액(0.15 mM) 200 µL와 혼합하여 30분 경과 후에 517 nm에서 흡광도를 측정하였다.

### Superoxide anion 소거능 측정

Superoxide anion 소거활성은 측정은 Kweon 등(18)의 방법에 따라 xanthine/xanthine oxidase에 의해 발생하는 superoxide anion radical를 항산화제가 제거시키는 정도를 확인하는 실험으로써 nitro blue tetrazolium(NBT)의 감소 정도를 통하여 항산화능을 측정하였다. 시료 100 µL, 0.1 mM xanthine과 0.1 mM NBT 혼합액 900 µL를 넣고 0.05 mM EDTA가 포함된 50 mM potassium phosphate buffer(pH 7.4)에 녹인 xanthine oxidase(0.05 unit/mL) 100 µL를 첨가하여 37°C에서 20분 동안 반응시켰다. 다음, 여기에 2.0 N HCl을 400 µL를 첨가하여 반응을 중지시키고 560 nm에서 흡광도를 측정하였다.

### Hydrogen peroxide 소거능 측정

Hydrogen peroxide 소거활성은 Park 등(19)의 방법에 따라 96-well microplate에 phosphate buffered saline(PBS) 100 µL, 분획물 20 µL를 넣고 1 mM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>를 가하여 5분 방치한 다음, 1.25 mM ABTS 30 µL와 PBS에 녹인 peroxidase (1 U/mL) 30 µL를 첨가하여 37°C에서 10분간 반응시킨 후 405 nm에서 흡광도를 측정하였다.

### Hydroxyl radical 소거능 측정

Hydroxyl radical 소거활성은 2-deoxyribose oxidation 방법(20)을 변형하여 측정하였다. Hydroxyl radical은 FeSO<sub>4</sub> · 7H<sub>2</sub>O의 존재하에서 Fenton 반응으로 생성시켰다. 반응용액은 10 mM FeSO<sub>4</sub> · 7H<sub>2</sub>O 용액, 10 mM EDTA 용액과 10 mM 2-deoxyribose 용액을 각각 200 µL를 첨가한 후

각 분획물 200  $\mu$ L와 0.1 M phosphate buffer 용액(pH 7.4) 1 mL를 넣어 혼합시킨 후 총 부피가 1.8 mL가 되도록 조절하였다. 반응용액에 10 mM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 200  $\mu$ L를 넣어 37°C에서 4시간 동안 반응시킨 후 2.8% TCA와 50 mM NaOH에 용해시킨 1% TBA를 각각 1 mL씩 첨가시키고, 100°C에서 10분간 발색시킨 후 532 nm에서 흡광도를 측정하였다.

**Nitric oxide radical 소거능 측정**

Nitric oxide radical 소거활성은 Sreejayan과 Rao(21)의 방법을 변형하여 다음과 같이 측정하였다. 각 농도별 분획물은 5 mM sodium nitroferricyanide dihydrate(SNP)와 혼합하여 25°C에서 150분간 반응한 후 반응혼합액을 96-well micro plate에 주입하여 1% sulphanilamide(in 5% phosphoric acid)와 0.1% naphthylethylene diamine-dihydrochloride(1:1, v/v)를 넣어 실온에서 10분간 반응한 후 540 nm에서 흡광도를 측정하였다. 이 때 표준곡선은 NaNO<sub>2</sub>를 농도별로 조절하여 사용하였다.

**쥐 간 microsome의 지질과산화 억제효과 측정**

Sprague-Dawley 중 수컷으로부터 간 microsome 분획을 Slater와 Sawyer(22)의 방법에 따라 분리하여 사용하였다. FeSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O/L-ascorbic acid(23)에 의해 유도된 쥐 간 microsome의 지질과산화물을 Ohkawa 등의 TBA방법(24)으로 TBARS를 측정하였다. 즉, 쥐 간 microsome(2 mg/mL 0.1 mL), 50 mL Tris-HCl buffer(pH 7.5, 1.5 mL)와 각 시료(0.2 mL)를 함유한 반응액에 5 mM FeSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O와 0.1 mM L-ascorbic acid를 각각 0.1 mL씩 가하여 37°C에서 60분간 반응시켜 microsome의 지질과산화를 유도하였으며, 이 혼합액에 3.0 M TCA-25 N HCl 0.5 mL를 가하여 반응을 중지시킨 후 원심분리하여 얻은 상등액을 1 mL 취하여 여기에 0.67% TBA 수용액 1 mL를 가하고 마개를 하여 100°C에서 30분간 가열시킨 후 얼음물에 냉각하고 이를 535 nm에서 흡광도를 측정하였다.

**통계분석**

각 시료 분획물의 유리라디칼 소거활성은 시료를 첨가하지 않은 대조구의 흡광도를 1/2로 환원시키는데 필요한 시료의 농도인 IC<sub>50</sub>값으로 나타내었다. 모든 실험결과에 대한 통계처리는 각 실험군별로 표준차이가 있는가를 검증하기 위해 분산분석을 수행하였으며 분산분석 결과 유의성이 발견된 경우 군간의 유의도는 Tukey's HSD test에 의해 분석하였다.

**결과 및 고찰**

**추출수율**

약쑥의 물 추출물 10 g을 *n*-HX, CHCl<sub>3</sub>, EtOAc, *n*-BuOH 및 수층의 용매별로 분획하여 *n*-HX층은 0.16 g(1.6%), CHCl<sub>3</sub>층은 0.28 g(2.8%), EtOAc층은 0.2 g(2.0%), *n*-BuOH

**Table 1. Recovery yields of various solvent fractions from water extract of *Artemisia princeps* Pamp**

Extract	Weight (g) of fraction recovered				
	Fractions				
Water	<i>n</i> HX	CHCl <sub>3</sub>	EtOAc	<i>n</i> BuOH	Water
10	0.16 (1.6)	0.28 (2.8)	0.2 (2.0)	1.22 (12.2)	4.76 (47.6)

10 g of powdered water extract was dissolved in distilled water and partitioned with *n* HX, CHCl<sub>3</sub>, EtOAc, *n* BuOH in order. Values in parenthesis indicate recovered yield (%).

층은 1.22 g(12.2%)을 얻었고, 나머지 water층은 4.76 g(47.6%)의 분획물을 얻었다(Table 1).

**총 폴리페놀 및 총 플라보노이드 함량**

페놀성 화합물은 식물계에 널리 분포되어 있는 2차 대사산물의 하나로서 다양한 구조와 분자량을 가진다. 이들은 phenolic hydroxyl기를 가지기 때문에 단백질 및 기타 거대분자들과 쉽게 결합하여, 항암, 항고혈압, 항염증 및 항산화 등의 다양한 생리활성 기능을 가진다(25). 일반적으로 페놀성 화합물이 항산화작용을 하는 대표적인 물질로 보고되어 있어, 약쑥 분획물의 페놀화합물 및 플라보노이드 함량을 측정된 결과는 Table 2와 같다. *n*-HX층을 제외한 모든 분획물에서 많은 페놀성 화합물을 함유하고 있는 것으로 나타났으며, 그 중 EtOAc층이 311.35  $\mu$ g/mg의 가장 높은 페놀화합물을 함유하고 있었다. 산쑥(*A. montana* Pampan)의 페놀산 추출물을 대두에 첨가한 결과 높은 항산화능을 나타내며 이러한 페놀산은 catechol, vanillin, umbelliferone과 proto-catechuic, ferulic 및 caffeic acids로 알려져 있다(26). 인진쑥의 에탄올 추출물도 항산화성이 크며 인진쑥의 생리활성 성분으로 scoparone, capilartemisin, capaillarisin 등이 있다고 보고되었다(27). 플라보노이드 화합물 또한 *n*-HX층을 제외한 모든 분획물에서 많은 함량을 함유하고 있는 것으로 나타났으며, 그 중 EtOAc층이 92.73  $\mu$ g/mg의 가장 높은 플라보노이드 화합물을 함유하고 있었다.

**DPPH free radical 소거활성**

DPPH는 짙은 자색을 띠는 비교적 안정한 free radical로서 cystein, glutathion과 같은 함황아미노산과 L-ascorbic

**Table 2. Content of total polyphenols and flavonoids of the five different solvent fractions from water extract of *Artemisia princeps* Pamp**

Fractions	Total polyphenol ( $\mu$ g/mg, dry base) <sup>1)</sup>	Total flavonoid ( $\mu$ g/mg, dry base) <sup>2)</sup>
<i>n</i> HX	20.28±2.23 <sup>c</sup>	13.97±2.32 <sup>c</sup>
CHCl <sub>3</sub>	255.33±25.00 <sup>ab</sup>	87.73±6.67 <sup>ab</sup>
EtOAc	311.35±33.06 <sup>a</sup>	92.73±4.42 <sup>a</sup>
<i>n</i> BuOH	283.69±49.36 <sup>ab</sup>	89.06±7.74 <sup>ab</sup>
Water	213.83±24.58 <sup>b</sup>	74.70±4.04 <sup>b</sup>

Each value is mean±SD in triplicate experiments.

<sup>1)</sup>Content was expressed as tannic acid.

<sup>2)</sup>Content was expressed as quercetin.

acid 및 BHA 등에 의해 환원되어 탈색되므로 다양한 천연소재로부터 항산화물질을 검색하는데 많이 이용되고 있다. Free radical은 인체내에서 지질 또는 단백질 등과 결합하여 노화를 일으키기 쉬운데 페놀성 화합물의 경우 free radical을 환원시키거나 상쇄시키는 능력이 강해 인체내에서 free radical에 의한 노화를 억제하는 척도로 이용할 수 있다(28). 약쑥분획물의 DPPH free radical 소거활성은 Table 3과 같다. 약쑥의 용매분획물은 약 IC<sub>50</sub> 52.71~321.95 µg/mg의 우수한 소거활성을 보였으며, 이 중 EtOAc 분획층이 가장 높은 소거활성을 보였다. 일반적으로 쑥은 다양한 플라보노이드를 함유하고 있으며 6-methoxy flavonoid의 공통적인 구조를 가지고 있고 플라보노이드는 항산화 효과가 대단히 커서, 효소적 또는 비효소적으로 지질과산화물을 효과적으로 억제한다고 보고되었다(29). 또한, An 등(30)은 한약재의 항산화활성을 검증한 실험에서 높은 DPPH 소거능을 보이는 한약재는 폴리페놀처럼 hydroxyl group을 구조 중에 포함하며 DPPH와 반응하기에 적합한 입체구조를 가지는 화합물이 존재하기 때문으로 추정하였다. 본 연구에서도 폴리페놀 함량이 높은 EtOAc 분획층이 DPPH 소거활성이 높은 것을 알 수 있었다.

#### Superoxide anion 소거활성

생체 조직 중에서의 superoxide 생성은 생체내의 산화 환원 과정 중 산소분자가 전자 수용체로 관여하는 경우가 많으며, 그 결과 활성산소의 생성이 가능하다 할 수 있다. 특히 미토콘드리아는 진핵세포에 있어서 에너지 획득의 경로이며, 따라서 세포내에서 산소의 소비가 가장 많은 과정이기에 그것의 내막에 존재하는 전자전달계에서 superoxide를 생성하게 된다고 한다(31). 약쑥 분획물의 superoxide anion (O<sub>2</sub><sup>·-</sup>)의 소거능을 실험한 결과(Table 3) 약 IC<sub>50</sub> 26.47~74.00 µg/mg의 소거활성을 보였다. 그 중 EtOAc 분획층의 IC<sub>50</sub>은 26.47 µg/mg으로, 합성항산화제인 BHA(IC<sub>50</sub>: 49.78 µg/mg)보다 항산화 효과가 우수한 것으로 나타났다.

#### Hydrogen peroxide 소거활성

Hydrogen peroxide는 산소의 환원 대사물질로서 미토콘

드리아나 peroxisome 등의 정상 세포로부터 형성되거나 다양한 외부요소에 의해 형성되는데, DNA 및 단백질 손상을 유발하거나 생체막의 구성성분인 불포화지방산을 공격하여 과산화지질을 생성함으로써 생체 기능의 저하나 노화 및 성인병을 유발하는 것으로 알려져 있다(32,33). 약쑥 분획물의 hydrogen peroxide 소거활성은 *n*-BuOH층의 IC<sub>50</sub>이 166.44 µg/mg로, 합성항산화제인 BHA의 소거활성보다 유의적으로 높음을 알 수 있었다(Table 3).

#### Hydroxyl radical 소거활성

가장 강력한 활성산소로 알려진 hydroxyl radical의 생성량은 반응성 산화 대사물에 의해 deoxyribose가 파괴되어 aldehyde가 생성되어(34) DNA 손상에 의한 돌연변이, 암 등의 발생과도 밀접한 관계가 있다. 따라서 hydroxyl 라디칼을 소거하는 효과는 항산화제로서 그 의의가 크다고 할 수 있다. Fenton 반응에 의해서 생성된 hydroxyl radical 소거활성을 측정된 결과는 Table 3과 같다. DPPH free radical 소거활성 및 superoxide anion(O<sub>2</sub><sup>·-</sup>)의 소거능에 대한 결과와 같이 EtOAc 분획층의 IC<sub>50</sub>값이 58.92 µg/mg으로, 합성항산화제인 BHA(IC<sub>50</sub>: 80.85 µg/mg)보다 유의적(p<0.05)으로 높았다.

#### Nitric oxide 소거활성

Nitric oxide(NO)는 생체내에서 기질인 L-arginine이 nitric oxide synthase(NOS)의 작용으로 citrulline과 함께 생성된다. 생체 내에서 과량으로 생성된 NO는 미토콘드리아의 기능 억제, FeS 함유 효소 기능 저하, DNA 손상유발 및 각종 효소의 작용을 억제하는 것으로 알려져 있다(35). 활성산소 중 하나이며, 최근 염증 유발에 중요한 역할을 하는 것으로 알려진 NO 소거활성을 관찰한 결과(Table 3) EtOAc층의 IC<sub>50</sub>은 65.94 µg/mg으로, 합성항산화제인 BHA와 유의적인 차이가 없었다. 아질산염 소거능은 시료의 첨가량뿐만 아니라 반응계의 pH와 추출용매에 따라 서로 달라지는데, pH 의존도가 매우 커 산성영역에 가까울수록 소거능이 높으며 중성에 가까울수록 소거능이 낮아진다(36). Lim 등(4)은 슬임과 당귀미의 경우 pH 1.2의 영역에서 각각

**Table 3. Radical scavenging activities of the five different solvent fractions from water extract of *Artemisia princeps* Pamp against DPPH, superoxide, hydrogen peroxide, hydroxyl and nitric oxide**

Fractions	IC <sub>50</sub> (µg/mg) <sup>1)</sup>				
	DPPH	O <sub>2</sub> <sup>·-</sup>	H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	HO <sup>·</sup>	NO <sup>·</sup>
BHA <sup>2)</sup>	4.97±0.34 <sup>d</sup>	49.78±5.56 <sup>b</sup>	180.38±5.18 <sup>b</sup>	80.85±6.33 <sup>cd</sup>	56.95±6.08 <sup>c</sup>
<i>n</i> HX	321.95±1.57 <sup>a</sup>	48.65±5.01 <sup>b</sup>	175.13±1.34 <sup>b</sup>	141.52±2.78 <sup>a</sup>	98.40±5.82 <sup>a</sup>
CHCl <sub>3</sub>	55.38±0.98 <sup>b</sup>	74.00±3.26 <sup>a</sup>	174.03±3.41 <sup>b</sup>	77.99±0.95 <sup>d</sup>	81.85±9.85 <sup>ab</sup>
EtOAc	52.71±0.26 <sup>c</sup>	26.47±3.75 <sup>c</sup>	188.39±4.87 <sup>a</sup>	58.92±5.75 <sup>e</sup>	65.94±5.66 <sup>bc</sup>
<i>n</i> BuOH	52.94±0.26 <sup>c</sup>	48.66±5.69 <sup>b</sup>	166.44±4.74 <sup>c</sup>	102.10±3.33 <sup>b</sup>	76.34±7.53 <sup>b</sup>
Water	53.49±0.99 <sup>bc</sup>	47.41±4.92 <sup>b</sup>	172.17±6.20 <sup>b</sup>	93.04±5.65 <sup>bc</sup>	71.66±4.03 <sup>b</sup>

<sup>1)</sup>IC<sub>50</sub> value is the concentration of sample required for 50% inhibition.

<sup>2)</sup>BHA was used as a positive reference.

Each value is expressed as mean±SD in triplicate experiments.

Values with different superscripts within a column are significantly different at p<0.05 by Tukey's test.

**Table 4. Inhibitory effect of the five different solvent fractions from water extract of *Artemisia princeps* Pamp on lipid peroxidation of rat liver microsome**

Fractions	IC <sub>50</sub> (µg/mg) <sup>1)</sup>
BHA <sup>2)</sup>	82.27 ± 7.43 <sup>d</sup>
<i>n</i> HX	191.69 ± 3.88 <sup>a</sup>
CHCl <sub>3</sub>	176.88 ± 8.93 <sup>abc</sup>
EtOAc	163.71 ± 6.94 <sup>f</sup>
<i>n</i> BuOH	176.88 ± 5.46 <sup>bc</sup>
Water	194.97 ± 9.71 <sup>ab</sup>

<sup>1)</sup>IC<sub>50</sub> value is the concentration of sample required for 50% inhibition.

<sup>2)</sup>BHA was used as a positive reference.

Each value is expressed as mean ± SD in triplicate experiments. Values with different superscripts within a column are significantly different at p < 0.05 by Tukey's test.

99.03%, 96.90%의 높은 아질산염 소거능을 나타내었고 pH 3.0에서도 소거능이 높았으나 pH 6.0에서는 소거능이 급격히 낮아졌으며, 일부 시료는 아질산염 소거능이 나타나지 않았다고 보고하였다.

Rat liver microsomal lipid peroxidation 저해효과

과산화지질의 생성은 병태 생리학적 현상이나 조직 손상의 정도를 나타내는 지표로 사용된다(37). 약쑥 분획물의 FeSO<sub>4</sub> · 7H<sub>2</sub>O/L-ascorbic acid에 의해 유도된 쥐 간 microsome의 지질과산화로 억제효과를 측정된 결과는 Table 4와 같다. IC<sub>50</sub>값은 BHA가 82.27, *n*-HX층이 191.69, CHCl<sub>3</sub>층이 176.88, EtOAc층이 163.71, *n*-BuOH층이 176.88 및 water층이 194.97 µg/mg으로 쥐 간 microsome의 지질과산화 억제 효과도 앞서 활성산소종 소거능처럼 EtOAc층이 분획물 중에서 가장 우수하였다.

이상의 결과로부터 약쑥 물 추출물을 용매 분획하여 얻어진 EtOAc 분획물이 가장 높은 총 폴리페놀 및 플라보노이드 함량을 가지고 있었으며, 아울러 활성산소종 소거능 및 쥐 간 microsome 지질과산화 억제효과도 상당히 높음을 알 수 있었기에 향후 이들 EtOAc 분획물을 기능성 항산화 신소재로써 사용할 수 있을 것이며, 나아가 *in vivo*에서 그들의 항산화작용을 측정할 필요성이 있다.

요 약

본 연구는 약쑥(*Artemisia princeps* Pamp) 추출물의 항산화 효능을 조사하고자, 약쑥 분획물을 이용하여 총 폴리페놀 및 플라보노이드 함량, 활성산소종 소거능 및 간 microsome을 이용한 지질과산화 억제효과 등을 관찰하였다. 약쑥의 폴리페놀 함량 및 플라보노이드 함량은 EtOAc층에서 각각 311.35 µg/mg 및 92.73 µg/mg으로 가장 높게 나타났다. DPPH radical 소거능은 EtOAc층의 IC<sub>50</sub>이 52.71 µg/mg으로 분획물 중에서 가장 높은 소거능을 보였다. Superoxide anion의 소거능은 EtOAc층의 IC<sub>50</sub>은 26.47 µg/mg으로, 합성

항산화제인 BHA(IC<sub>50</sub>: 49.78 µg/mg)보다 항산화 효과가 우수한 것으로 나타났다. Hydrogen peroxide 소거능은 *n*-BuOH층의 IC<sub>50</sub>이 166.44 µg/mg으로, BHA의 소거활성보다 유의적(p < 0.05)으로 높음을 알 수 있었다. Hydroxyl 라디칼 소거능도 EtOAc층의 IC<sub>50</sub>값이 58.92 µg/mg으로, BHA(IC<sub>50</sub>: 80.85 µg/mg)보다 유의적(p < 0.05)으로 높았다. NO 소거능은 EtOAc층의 IC<sub>50</sub>이 65.94 µg/mg으로, BHA와 유의적인 차이가 없었다. 간 microsome에서의 지질과산화 억제효과도 EtOAc층이 분획물 중에서 가장 우수하였다. 이상의 결과로부터 약쑥 분획물의 EtOAc층이 총 폴리페놀 및 플라보노이드 함량이 높음을 알 수 있었으며, 이에 따른 활성산소종 소거능 및 간 microsome을 이용한 지질과산화 억제효과도 관찰할 수 있었다.

감사의 글

이 논문은 2005년도 정부재원(교육인적자원부 학술연구 조성사업비)으로 한국학술진흥재단의 지원(KRF-2005-050-C00015)에 의해 수행된 연구결과의 일부이며 연구비 지원에 감사드립니다.

문 헌

- Halliwell B. 1991. Drug antioxidant effects, a basis for drug selection? *Drugs* 42: 569-605.
- Gardner PR, Fridovich I. 1991. Superoxide sensitivity of the *Escherichia coli* 6 phosphogluconate dehydratase. *J Biol Chem* 266: 1478-1483.
- 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.
- Lim SM, Cho YS, Kim EJ, Bae MJ, Han JP, Lee SH, Sung SK. 1998. Effect of hot water extracts of *Salvia miltorrhiza* Bge., *Prunus persica* Stokes, *Angelica gigas* Nakai and *Pinus strobus* on lipid oxidation. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 27: 399-405.
- Na GM, Han HS, Ye SH, Kim HK. 2004. Extraction characteristics and antioxidative activity of *Cassia tora* L. extracts. *Korean J Food Culture* 19: 499-505.
- Kim HK, Na KM, Ye SH, Han HS. 2004. Extraction characteristics and antioxidative activity of *Lycium chinense* extracts. *Korean J Food Preservation* 11: 352-357.
- Ryu SN, Kang SS. 2004. Analysis of available component in *Artemisiae herba*. *Korean J Crop Sci* 49: 169-175.
- Chen X, Yang L, Howard OM, Oppenheim JJ. 2006. Dendritic cells as a pharmacological target of traditional Chinese medicine. *Cell Mol Immunol* 3: 401-410.
- Ryu SN, Han SS, Yang JJ, Jeong HG, Kang SS. 2005. Variation of eupatillin and jaceosidin content of mugwort. *J Crop Sci* 50: 204-207.
- Cho YH, Chiang MH. 2001. Essential oil composition and antibacterial activity of *Artemisia capillaris*, *Artemisia argyi*, and *Artemisia princeps*. *Kor J Intl Agri* 13: 313-320.
- Kim SH, Kim TS. 2002. Synergistic induction of 1,25 dihydroxyvitamin D<sub>3</sub> and all trans retinoic acid in

- duced differentiation of HL 60 leukemia cells by yomogin, a sesquiterpene lactone from *Artemisia princeps*. *Planta Med* 68: 886 890.
12. Koshihara Y, Neichi T, Murota S, Lao A, Fujimoto Y, Tatsuno T. 1983. Selective inhibition of 5 lipoxygenase by natural compounds isolated from Chinese plants, *Artemisia rubripes* Nakai. *FEBS Lett* 158: 41 44.
  13. Lee KD, Kim JS, Bae JO, Yoon HS. 1992. Antioxidative effectiveness of water extract and ether extract in worm wood (*Artemisia montana* Pampan). *J Korean Soc Food Nutr* 21: 17 22.
  14. Lim SN. 1995. Physiological activation of wormwood (*Artemisia capillaris*). *PhD Dissertation*. Yonsei University.
  15. Aldini G, Piccoli A, Beretta G, Morazzoni P, Riva A, Marinello C, Maffei Facino R. 2006. Antioxidant activity of polyphenols from solid olive residues of c.v. Coratina. *Fitoterapia* 77: 121 128.
  16. Moreno MI, Isla MI, Sampietro AR, Vattuone MA. 2000. Comparison of the free radical scavenging activity of propolis from several regions of Argentina. *J Ethnopharmacol* 71: 109 114.
  17. Blois MS, Banda PW. 1976. Detection of occult metastatic melanoma by urine chromatography. *Cancer Res* 36: 3317 3323.
  18. Kweon MH, Hwang HJ, Sung HC. 2001. Identification and antioxidant activity of novel chlorogenic acid derivatives from bamboo (*Phyllostachys edulis*). *J Agric Food Chem* 49: 4646 4655.
  19. Park SW, Chung SK, Park JC. 2000. Active oxygen scavenging activity of luteolin 7 O β D glucoside isolated from *Humulus japonicus*. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 29: 1127 1132.
  20. Oya T, Osawa T, Kawakishi S. 1997. Spice constituents scavenging free radicals and inhibiting pentosidine formation in a model system. *Biosci Biotechnol Biochem* 61: 263 266.
  21. Sreejayan N, Rao MNA. 1997. Nitric oxide scavenging by curcuminoids. *J Pharm Pharmacol* 49: 105 107.
  22. Slater TF, Sawyer BC. 1971. The stimulatory effects of carbon tetrachloride on peroxidative reactions in rat liver fractions in vitro. Inhibitory effects of free radical scavengers and other agents. *Biochem J* 123: 823 828.
  23. Gutierrez AM, Reboledo GR, Arcemis CJ, Catala A. 2000. Non enzymatic lipid peroxidation of microsomes and mitochondria isolated from liver and heart of pigeon and rat. *Int J Biochem Cell Biol* 32: 73 79.
  24. Ohkawa H, Ohishi N, Yagi K. 1979. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Anal Biochem* 95: 351 358.
  25. Kim HJ, Jun BS, Kim SK, Cha JY, Cho YS. 2000. Polyphenolic compound content and antioxidative activities by extracts from seed, sprout and flower of safflower (*Carthamus tinctorius* L.). *J Korean Soc Food Sci Nutr* 29: 1127 1132.
  26. Lee KD, Kim JS, Bae JO, Yoon HS. 1992. Antioxidative effectiveness of water extract and ether extract in worm wood (*Artemisia montana pampan*). *J Korean Soc Food Nutr* 21: 17 22.
  27. Wang H, Zou H, Ni J, Kong L, Gao S, Guo B. 2000. Fraction and analysis of *Artemisia capillaris* Thunb. by affinity chromatography with human serum albumin as stationary phase. *J Chromatogr A* 18: 501 510.
  28. Kim HK, Kim YE, Do JR, Lee YC, Lee BY. 1995. Antioxidative activity and physiological activity of some Korean medicinal plants. *Korean J Food Sci* 27: 80 86.
  29. Kang YH, Cha HS, Kim HM, Park YK. 1997. The nitrite scavenging and electron donating ability of pumpkin extracts. *Korean J Food & Nutr* 10: 31 36.
  30. An BJ, Lee JT, Lee SA, Kwak JH, Park JM, Lee JY, Son JH. 2004. Antioxidant effects and application as natural ingredient of Korean *Sanguisorbae officinalis* L. *J Korean Soc Appl Biol* 47: 244 250.
  31. Petrone WF, English DK, Wong K, McCord JM. 1980. Free radicals and inflammation: superoxide dependent activation of a neutrophil chemotactic factor in plasma. *Proc Natl Acad Sci USA* 77: 1159 1163.
  32. Finkel T, Holbrook NJ. 2000. Oxidants, oxidative stress and the biology of ageing. *Nature* 408: 239 247.
  33. Martindale JL, Holbrook NJ. 2002. Cellular response to oxidative stress: signaling for suicide and survival. *J Cell Physiol* 192: 1 15.
  34. Casado JA, Merino J, Cid J, Subira ML, Sanchez Ibarrola A. 1996. Oxidizing agents and free radicals in biomedicine. *Rev Med Univ Navarra* 40: 31 40.
  35. Cui FJ, Li TZ, Lee SJ, Park SJ, Lim Y, Kim KA, Chang BJ, Lee JH, Lee MH, Choe NH. 2006. The effects of air borne particulate matters on the alveolar macrophages for the iNOS expression and nitric oxide with nitro tyrosinated proteins formation. *Tuberculosis and Respiratory Diseases* 60: 426 436.
  36. Lee JM, Ahn MS. 1997. A study on nitrite scavenging ability of tea extracts. *Korean J Dietary Culture* 12: 567 572.
  37. Babizhayev MA. 2005. Analysis of lipid peroxidation and electron microscopic survey of maturation stages during human cataractogenesis: pharmacokinetic assay of Can C N acetylcarnosine prodrug lubricant eye drops for cataract prevention. *Drugs R D* 6: 345 369.

(2007년 3월 2일 접수; 2007년 4월 30일 채택)