

기생초 꽃 추출물의 생리활성

황인국¹ · 김현영¹ · 신소림² · 이철희² · 이준수¹ · 장금일¹ · 정현상^{1*}

¹충북대학교 식품공학과, ²충북대학교 원예학과

Biological Activities of *Coreopsis tinctoria* Nutt. Flower Extracts

In Guk Hwang¹, Hyun Young Kim¹, So Lim Shin², Cheol Hee Lee²,
Junsoo Lee¹, Keum Il Jang¹, and Heon Sang Jeong^{1*}

¹Department of Food Science and Technology, Chungbuk National University, Cheongju 361-763, Korea

²Department of Horticultural Science, Chungbuk National University, Cheongju 361-763, Korea

Abstract. This study was conducted to evaluate the antioxidant activity, Angiotensin I Converting Enzyme (ACE) inhibitory activity, α -glucosidase inhibitory activity, nitrate synthesis inhibitory activity, and antiproliferation inhibitory effect on ethanol extract and its solvent fractions of *Coreopsis tinctoria* Nutt. Ethyl acetate fraction was the strongest at 1,1-diphenyl-2-picryl hydrazyl (DPPH) ($IC_{50} = 0.100 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$) and 2,2'-Azino-bis-(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) (ABTS) ($15.785 \text{ mg AA eq} \cdot 10 \text{ mg}^{-1}$) radical scavenging activity, ACE (40.96% at $1 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$), and α -glucosidase ($IC_{50} = 0.125 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$) inhibitory effect among the solvent fractions. Nitrate synthesis inhibitory activity of ethanol extract, chloroform fraction, and ethyl acetate fraction effectively inhibited NO formation in a dose-dependent manner without the cytotoxic effect. Ethanol extract and its solvent fractions inhibited growth of HCT-116 colon cancer cells in a dose-dependent manner. n-Hexane fraction showed the highest antiproliferation inhibitory effect of $0.041 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ among fractions.

Additional key words: antioxidant activity, antiproliferation inhibitory effect, α -glucosidase inhibitory activity, nitrate synthesis inhibitory activity

서 언

국화과(Compositae) 식물은 세계에 널리 분포하며 약 920속 20,000종이 알려져 있고, 지금까지 우리나라에서 자생 또는 귀화되어있는 것으로 밝혀진 국화과 식물의 수는 약 300여 종이 있다. 예로부터 국화과 식물들은 민간에서 약용 및 식용으로 사용되어 왔으며, 한방에서는 해열, 해독, 진통, 두통, 이뇨, 항진균작용, 항산화작용, 항염증 작용 등의 약효가 널리 알려져 약용소재로 다양하게 사용되어 왔다(Choi 등, 2006a; Jeong 등, 1998; Kang 등, 2008).

기준에 보고된 국화과 식물의 생리활성으로는 감국(*Chrysanthemum indicum* L.)의 항균활성(Nam과 Yang, 1995), 항암활성 및 면역조절활성(Cheng 등, 2005), 산국의 항산화활성(Han, 2003), 항암효과(Nam 등, 1997), aldose reductase 저해효과(Shin 등, 1995) 및 nitric oxide 생성 저해효과(Yoshikawa

등, 2002), 구절초(*Chrysanthemum zawadskii*)의 항균활성(Lee와 Lee, 2007; Woo와 Lee, 2008) 및 항산화활성(Son 등, 2000) 등이 있으며, 그 밖에 톱풀, 참취, 개쑥부쟁이, 엉겅퀴(Lee 등, 2006; Moon 등, 2000; Woo 등, 2008)등의 항산화 연구가 보고되어 있다.

최근 한국인은 국민소득의 증대, 생활 패턴의 서구화 및 식생활 변화로 각종 암, 성인병과 만성퇴행성 질환 발병률이 증가하고 있어 건강에 대한 관심이 높아지고 기능성제품에 대한 요구가 증대되고 있다(Kim 등, 2008; Oh와 Kim, 2006). 다양한 식물자원에 함유되어 있는 생리활성 성분과 이들 천연자원을 기능성 소재로 활용하기 위한 연구가 시도되고 있어 관상용으로 사용하던 다양한 원예식물의 생리활성을 분석하여 다방면으로 활용할 필요가 있다.

본 연구에서 사용한 기생초(*Coreopsis tinctoria* Nutt.)는 북아메리카가 원산지인 국화과 식물로 7-10월에 피는 꽃의 색이 선명하고 화려하며 생명력이 강하여 실내외 조경 소재로 주로 사용되고 있으며, 북미에서는 주요 천연 염료로도 사용되고 있다(Lee, 1999; Woo 등, 2010). 또한 기생초는

*Corresponding author: hsjeong@cbnu.ac.kr

※ Received 4 March 2010; Accepted 11 June 2010.

약용소재로도 활용되었는데, 아메리카 원주민은 기생초의 뿌리를 설사약 및 구토약으로 사용하였고, 포르투갈에서는 전통적으로 기생초의 꽃 봉오리로 만든 차를 당뇨병환자의 혈당을 낮추는데 사용하였다(Dias 등, 2009). 최근에는 기생초 꽃의 메탄올 추출물에서 12종의 flavonoid가 분리 및 동정되었으며(Zhang 등, 2006), 기생초 추출물의 우수한 항당뇨효과(Dias 등, 2009) 및 항산화활성(Woo 등, 2010) 등이 보고되면서 기생초 꽃의 기능성소재로서의 활용가치가 높게 평가되고 있으며, 이들의 다양한 생리활성에 관한 연구의 필요성이 증가되고 있다. 기생초는 우리나라에서 노지 재배가 가능한 귀화식물이며, 생명력이 강하여 재배효율이 높고 가을철 화려한 꽃이 흐드러지게 피므로 수확량이 많은 장점이 있다. 또한 초장이 30-100cm 정도로 꽃을 수확하기 편리하며 조경소재로 사용하기도 적합하다. 따라서 기생초의 꽃은 관상가치, 재배효율 및 생리활성을 겸비한 유용 식물자원으로 활용될 수 있을 것으로 기대된다.

따라서, 본 연구에서는 기생초 꽃 추출물 및 용매분획물의 항산화활성, ACE 저해활성, α -glucosidase 억제능, 항염활성 및 항암활성을 평가하여 기능성 소재로서의 가능성을 제시하기 위한 기초 자료로 활용하고자 하였다.

재료 및 방법

실험 재료

본 실험에 사용한 기생초의 꽃은 2008년 9월 충북 괴산군 소재의 실험포장에서 노지 재배한 것을 채취하여 -70°C 에 보관하면서 실험에 사용하였다.

추출물 제조 및 용매분획

기생초 꽃 50g에 70% 에탄올 500mL을 가하여 80°C 수욕조에서 3시간 동안 3회 환류 추출한 후 추출액을 감압여과 한 후 회전진공농축기(EYELA N-1000, Tokyo Rikakikai Co., Tokyo, Japan)를 이용하여 40°C 에서 용매를 완전히 제거한 후 동결건조기(Modulyod-115, Thermo Electron Co., Waltham, MA, USA)로 동결건조 하였다. 동결 건조물 5g을 증류수 200mL로 재용해하여 n-hexane, chloroform, ethyl acetate, n-butanol 및 water순으로 용매 분획하였으며, 감압농축한 후 동결건조하여 -20°C 에 보관하면서 실험에 사용하였다.

항산화활성

기생초 꽃 추출물과 용매분획물의 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl(DPPH) radical 소거활성은 Tepe 등(2006)의 방법을 변형하여 측정하였다. Positive control로는 BHA(butylated

hydroxyanisole), L-ascorbic acid 및 α -tocopherol를 사용하였다. 시료 0.2mL에 1×10^{-4} M DPPH(Sigma Chemical Co., St. Louis, MO, USA) 용액(99% ethanol에 용해) 0.8mL를 가한 후, vortex mixer로 10초간 진탕하고 30분 후에 UV-VIS spectrophotometer(UV-1650PC, Shimadzu, Kyoto, Japan)를 이용하여 525nm에서 흡광도를 측정하였다. 이때 전자공여능(Electron donating ability, EDA%)은 시료 첨가구와 비첨가구의 흡광도 차이를 백분율(%)로 구하였으며, 추출물의 EDA(%) 값을 50% 감소시키는 IC_{50} (50% Inhibition concentration) 값으로 표현하였다.

기생초 꽃 추출물과 용매분획물의 ABTS radical을 이용한 총 항산화력은 Re 등(1999)과 Choi 등(2006b)의 방법을 변형하여 측정하였다. 2,2'-Azino-bis-(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid)(ABTS, Sigma Chemical Co.) 7.4mM과 potassium persulphate 2.6mM을 하루 동안 암소에 방치하여 $\text{ABTS}^{\cdot+}$ 양이온을 형성시킨 후 이 용액을 735nm에서 흡광도 값이 1.4-1.5가 되도록 물 흡광계수($\epsilon = 3.6 \times 10^4 \text{ M} \cdot \text{cm}^{-1}$)를 이용하여 증류수로 희석하였다. 희석된 $\text{ABTS}^{\cdot+}$ 용액 1mL에 추출액 50 μL 를 가하여 흡광도의 변화를 정확히 60분 후에 측정하였으며, 표준물질로서 L-ascorbic acid(Sigma-Aldrich, St Louis, Mo. USA)를 동량 첨가하였고, 총 항산화력은 AEAC(L-ascorbic acid equivalent antioxidant capacity, $\text{mg AA e q} \cdot 10\text{mg}^{-1}$)로 표현하였다.

Angiotensin I Converting Enzyme(ACE) 저해활성 측정

기생초 꽃 추출물과 용매분획물의 ACE 저해능은 Cushman 등(1971)과 Kwon 등(2006a)의 방법을 변형하여 측정하였다. ACE 정제효소액 및 HHL(Hippuryl-His-Leu) 기질은 300mM sodium chloride가 포함된 150mM borate buffer(pH 8.3)에 용해하여 사용하였다. 추출물 100 μL 에 0.2mU ACE 정제효소액 80 μL 와 5mM HHL 100 μL 를 가한 다음 37°C 에서 60분간 반응시켰다. 1M HCl 250 μL 를 가하여 반응을 정지시킨 후 0.45 μm syringe filters(Millipore, Billerica, MA, USA)로 여과한 다음 HPLC(Younglin ACME 9000 system, Anyang, Korea)로 분석하였다. Column은 Nova-Pak[®] C18(3.9mm \times 150mm, 4 μm , Waters Corp., Milford, MA), mobile phase는 A를 10mM phosphoric acid (pH 2.5), B를 methanol로 사용하여 A:B의 초기비율을 100:0으로 시작하여 8분에 40:60, 13분에 0:100, 18분에 100:0의 비율로 단계적인 gradient system을 사용하였다. Flow rate는 $0.8\text{mL} \cdot \text{min}^{-1}$ 로, injection volume은 20 μL , detector는 UV-detector(228nm)를 사용하였다.

α -Glucosidase 억제활성 측정

기생초 꽃 추출물과 용매분획물의 α -glucosidase 억제활성은 Kim 등(2004)의 방법에 의하여 측정하였다. Positive control로는 acarbose를 사용하였으며, α -glucosidase 효소액 및 ρ -NPG(ρ -nitrophenyl- α -D-glucopyranoside)기질은 0.1M PBS buffer(pH 7.0)에 용해하여 사용하였다. 추출물 50 μ L에 0.35U의 α -glucosidase 효소액 100 μ L를 넣고 혼합하여 37 $^{\circ}$ C에서 10분간 반응시킨 후 1.5mM ρ -NPG를 가하여 37 $^{\circ}$ C에서 20분간 반응시켰다. 1M Na₂CO₃ 1mL를 가하여 반응을 정지시킨 후 405nm에서 흡광도를 측정하여 저해율을 계산하였다.

Nitric oxide(NO) 소거활성 측정

기생초 꽃 추출물과 용매분획물의 nitric oxide radical 소거활성을 측정하기 위해 Griess Detetction kit(iNTRON Biotechnology, Seongnam, Korea)을 사용하였다. RAW 264.7 cell을 96 well plate 에 5×10^3 cells \cdot well⁻¹로 분주하였고, NO 유도제로는 LPS 1 μ g \cdot mL⁻¹을 사용하였다. 시료의 처리 농도는 0.025, 0.050, 0.100mg \cdot mL⁻¹로 24 시간 동안 배양하였고, NO 생성은 Griess Detetction kit를 사용하여 측정하였다. 약물 처리된 96 well에서 세포에 영향을 주지 않도록 주의하면서 상등액 50 μ L을 새로운 96 well로 긴 후, N1 buffer(substrate solution, sulfanilamide in the reaction buffer) 50 μ L를 넣고 상온에서 10분간 반응시킨 후 N2 buffer (coloring solution, naphthylenediamine in the stabilizer buffer) 50 μ L를 넣고 상온에서 10분간 반응시켰다. 흡광도는 ELISA microplate reader로 550nm에서 측정하였으며, 표준 곡선을 얻기 위하여 nitrate standard를 1.56, 3.12, 6.25, 12.5, 25, 50 및 100mM로 제조하여 표준곡선을 만들어 nitrate 농도를 계산하였다.

MTT assay에 의한 항암활성 측정

본 실험에서 사용한 암세포는 HCT-116(colorectal carcinoma: KCLB 10247)이었으며, 한국세포주은행(KCLB, Seoul, Korea)에서 분양 받아 사용하였다. 세포는 10% fetal bovine serum (FBS)와 100U \cdot mL⁻¹ penicillin G, 50 μ g \cdot mL⁻¹ streptomycin을 첨가한 RPMI-1640(Gibco Co., NY, USA)과 DMEM(Gibco Co., NY, USA) medium을 사용하여 5% CO₂, 37 $^{\circ}$ C 배양기에서 배양하였으며, 세포 밀도가 높아지면 5분간 trypsin-EDTA를 처리하여 계대배양을 실시하였다. 암세포 성장억제 효과를 측정하기 위해 Ishiyama 등(1996)의 방법에 따라 MTT assay로 실험하였다. 즉, 1×10^5 cell \cdot well⁻¹ 농도로 96 well plate에 100 μ L씩 분주 한 후 37 $^{\circ}$ C, 5% CO₂ 배양기에서 24 시간 배양 후, 전 배양에 사용된 배지를 제거하고 배지에 일정 농도로 희석된 추출물을 100 μ L를 첨가하여 다시 24시간 배양하였다. 배양 완료 후 2mg \cdot mL⁻¹ 농도의 MTT시약을 well당 10 μ L씩 분주한 다음 37 $^{\circ}$ C, 5% CO₂ 배양기에서 4시간 후 MTT시약이 포함된 배지를 제거하고 dimethyl sulfoxide (DMSO) 100 μ L를 가한 후 상온에서 발색시키고, ELISA microplate reader(ELx808, Bio-tek[®] Inc., USA)로 540nm에서 흡광도를 측정하여 생존율을 계산하였다.

통계분석

통계분석은 SPSS(Statistical package for the social science, Ver 12.0, SPSS Inc., Chicago, USA) program을 이용하여 각 측정 군의 평균과 표준편차를 산출하였다.

결과 및 고찰

항산화활성

기생초 꽃 에탄올 추출물과 용매분획물의 DPPH radical

Table 1. DPPH radical scavenging activity (IC₅₀ value) and total antioxidant activity (AEAC) on the ethanol extract and its solvent fractions of *Coreopsis tinctoria* Nutt.

	DPPH radical scavenging activity, IC ₅₀ value ² (mg \cdot mL ⁻¹)	AEAC (mg AA eq \cdot 10 mg ⁻¹)
70% Ethanol extract	0.100 \pm 0.002	3.427 \pm 0.227
n-Hexane fraction	1.553 \pm 0.028	0.268 \pm 0.009
Chloroform fraction	0.386 \pm 0.005	0.995 \pm 0.074
Ethyl acetate fraction	0.034 \pm 0.001	15.785 \pm 0.082
n-Butanol fraction	0.173 \pm 0.004	2.102 \pm 0.188
Water fraction	0.829 \pm 0.004	0.338 \pm 0.013
BHA	0.032 \pm 0.001	-
Ascorbic acid	0.025 \pm 0.001	-
α -Tocopherol	0.063 \pm 0.001	-

²Concentration of sample to scavenge 50% of the DPPH radicals.

을 이용한 전자공여능에 대한 IC₅₀값과 ABTS radical을 이용한 총 항산화력을 측정할 결과는 Table 1과 같다. 에탄올 추출물의 IC₅₀값은 0.100mg·mL⁻¹이었으며, 용매분획물의 DPPH radical 소거능은 ethyl acetate, n-butanol, chloroform, water 및 n-hexane 분획물이 각각 0.034, 0.173, 0.386, 0.829 및 1.553mg·mL⁻¹ 순으로 ethyl acetate 분획물에서 가장 높은 항산화활성을 나타내었다. 에탄올 추출물의 경우 합성항산화제인 BHA(0.032mg·mL⁻¹)와 천연항산화제인 ascorbic acid(0.025mg·mL⁻¹) 및 α-tocopherol(0.063mg·mL⁻¹) 보다는 낮은 활성을 보였지만, ethyl acetate 분획물은 BHA 및 L-ascorbic acid와 유사하였고 α-tocopherol보다는 2배 높은 항산화활성을 나타내었다.

에탄올 추출물의 총 항산화력은 3.427AEAC이었으며, 용매분획물의 총 항산화력은 ethyl acetate 분획물이 15.785AEAC로 가장 높고, n-hexane 분획물이 0.268AEAC로 가장 낮았다. AEAC 값이 가장 높은 ethyl acetate 분획물은 15.785mg ascorbic acid equivalent·10mg⁻¹ extract residue(AEAC)로써 ethyl acetate 분획물 10mg이 ascorbic acid 15.785mg과 동일한 항산화력을 지니는 것을 의미한다.

용매분획물 중 ethyl acetate 분획물이 가장 높은 항산화활성을 나타낸 것은 Park 등(2009a)과 Nho 등(2009) 등의 결과와 일치하며 항산화활성을 보이는 성분으로 알려진 페놀성 화합물이 ethyl acetate 층으로 많이 이행되었기 때문이라 생각된다.

Woo 등(2008)의 구절초 및 남구절초에 대한 DPPH 및 ABTS radical 소거능(IC₅₀) 측정에서 구절초는 각각 0.128-0.199 및 0.133-0.418mg·mL⁻¹, 남구절초는 각각 0.166-0.179 및 0.170-0.213mg·mL⁻¹ 범위의 항산화활성을 보고하였으며, 자생 쑥부쟁이속 식물인 단양쑥부쟁이, 벌개미취, 참취 및 해국 꽃 추출물은 각각 1.408, 0.593, 0.181 및 0.264mg·mL⁻¹의 항산화활성을 나타낸다고 보고한 결과보다 기생초 꽃 에탄올 추출물이 높은 활성을 나타내었다. 우수한 항산화활성을 보인 기생초 꽃은 천연항산화제로서의 자원가치와 기능성소재로 활용이 가능할 것으로 생각된다.

ACE 저해활성

에탄올 추출물과 용매분획물의 ACE 저해활성을 1mg·mL⁻¹의 농도에서 측정한 결과, 에탄올 추출물은 25.56%의 저해활성을 보였으며 용매분획물의 저해활성은 ethyl acetate, n-butanol, chloroform, n-hexane 및 water 분획물이 각각 40.96, 26.83, 22.26, 21.11 및 14.07% 순으로 나타났다(Fig. 1). 에탄올 추출물과 n-butanol, chloroform 및 n-hexane 분획물은 유사한 활성을 보였고 ethyl acetate 분획물에서 가장

높은 ACE 저해활성을 나타내었다. ACE 저해활성이 우수한 것으로 보고된 식물 추출물의 ACE 저해활성을 분석한 결과 10mg·mL⁻¹농도에서 파인애플 세이지의 잎은 91.2%(Kwon 등, 2006b), 해송이버섯 물 추출물은 53.87%(Jung 등, 2009), 파고지(개암풀의 열매)와 소목(적하수오의 뿌리)의 물과 에탄올 추출물은 50% 이상의 억제활성을 보였으며(Do 등, 2005), 헛개나무 메탄올과 물 추출물의 ACE 저해활성은 4mg·mL⁻¹농도에서 81.1% 및 75.8%의 억제활성을 보였다(Lee 등, 2004). 본 연구에서 기생초 꽃의 에탄올 추출물은 1mg·mL⁻¹의 낮은 농도에서도 ACE 저해활성이 25.56%로 다소 높았으며, 특히 ethyl acetate 분획물은 1mg·mL⁻¹의 낮은 농도에서도 40.96%의 높은 ACE 억제활성을 보였으므로 항고혈압 효과가 있는 천연물로 활용 가능하며, 차후 ethyl acetate 분획물로부터 ACE 저해활성물질의 분리 및 동정 등의 대한 더 많은 연구가 필요할 것으로 생각된다.

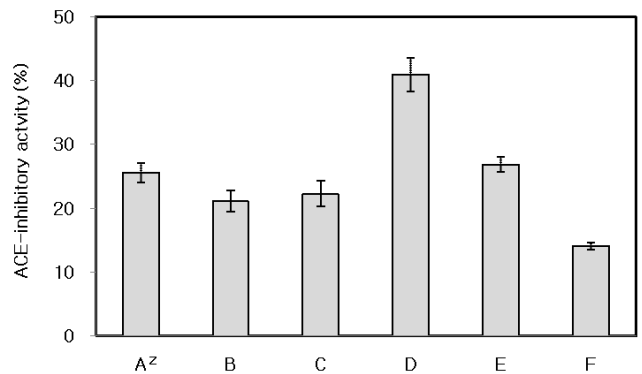


Fig. 1. ACE-inhibitory activity on the ethanol extract and its solvent fractions of *Coreopsis tinctoria* Nutt. (sample concentration: 1 mg·mL⁻¹). ²A: ethanol extract, B: n-hexane fraction, C: chloroform fraction, D: ethyl acetate fraction, E: n-butanol fraction, F: water fraction.

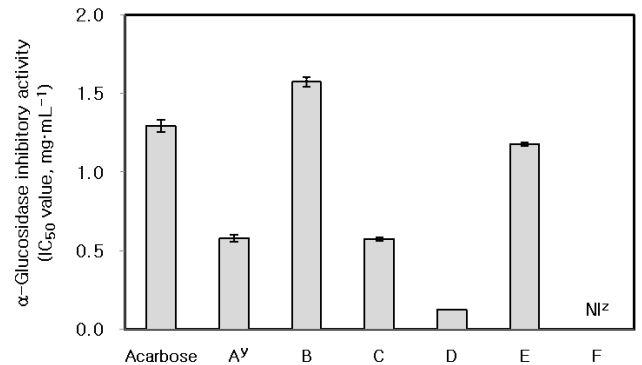


Fig. 2. α-Glucosidase inhibitory activity on the ethanol extract and its solvent fractions of *Coreopsis tinctoria* Nutt. ²No inhibition, less than 10% inhibition at the concentration of 1 mg·mL⁻¹. ¹A: ethanol extract, B: n-hexane fraction, C: chloroform fraction, D: ethyl acetate fraction, E: n-butanol fraction, F: water fraction.

α -Glucosidase 억제활성

에탄올 추출물과 용매분획물에 대한 효모기원의 α -glucosidase 억제활성을 측정 결과는 Fig. 2와 같다. 에탄올 추출물의 IC₅₀값은 0.582mg·mL⁻¹이었으며, 용매분획물의 α -glucosidase 억제활성은 ethyl acetate, chloroform, n-butanol 및 n-hexane 분획물이 각각 0.125, 0.576, 1.177 및 1.574mg·mL⁻¹ 순으로 ethyl acetate 분획물에서 가장 높은 α -glucosidase 억제활성을 나타내었고 water 분획물은 1mg·mL⁻¹의 농도에서 10%이하의 낮은 억제활성을 나타내었다. 에탄올 추출물의 경우 α -glucosidase 저해제로 사용되는 acarbose(1.292 mg·mL⁻¹) 보다 2.2배 높은 활성을 보였고, ethyl acetate 층

경우 10.3배 높은 α -glucosidase 저해활성을 보였다.

더덕(Kim 등, 2009) 및 6년근 황기(Yin 등, 2009)의 에탄올 추출물은 1mg·mL⁻¹의 농도에서 각각 82.05%, 55.10% 및 49.71%의 저해활성을 보였으며, 갈근(최의 뿌리)의 메탄올 추출물은 0.5mg·mL⁻¹의 농도에서 약 20%의 저해활성을 보였고, 순차적 용매분획물 중 chloroform층과 ethyl acetate층에서 IC₅₀값은 각각 0.214 및 0.225mg·mL⁻¹으로 높은 저해 활성을 보였다(Park 등, 2009b). 본 연구에서 기생초 꽃의 에탄올 추출물 및 ethyl acetate층은 효모 기원의 α -glucosidase에 대해 우수한 저해활성을 보였으므로, 향후 α -glucosidase 억제 활성에 관여하는 활성물질을 규명한다면 α -glucosidase 저해효과를 갖는 기능성 소재로의 개발이 가능할 것으로 판단된다.

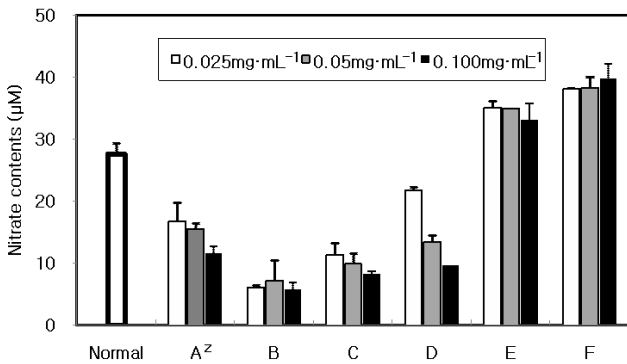


Fig. 3. Nitrate synthesis inhibitory effect of ethanol extract and its solvent fractions of *Coreopsis tinctoria* Nutt. on nitric oxide synthase activity in LPS stimulated RAW 264.7 cells. ²A: ethanol extract, B: n-hexane fraction, C: chloroform fraction, D: ethyl acetate fraction, E: n-butanol fraction, F: water fraction.

NO 소거활성

활성산소 중 하나이며 염증 유발에 중요한 역할을 하는 것으로 알려진 NO 생성에 대한 기생초 꽃의 에탄올 추출물과 용매분획물의 저해효과는 Fig. 3과 같다. RAW 264.7 세포에 LPS와 에탄올 추출물, chloroform 및 ethyl acetate 분획물에서 24시간 동안 동시 처리했을 때 농도 의존적으로 NO의 생성을 억제하는 것으로 나타났으며($p < 0.05$), 0.050 mg·mL⁻¹의 농도에서 각각 43.56, 62.91 및 51.22%의 NO 생성 억제효과를 보였다. 그러나 n-butanol과 water 분획물에서는 저해효과가 없는 것을 확인하였다. 또한 에탄올 추출물 및 용매분획물(0.025, 0.050 및 0.100mg·mL⁻¹)을 처리

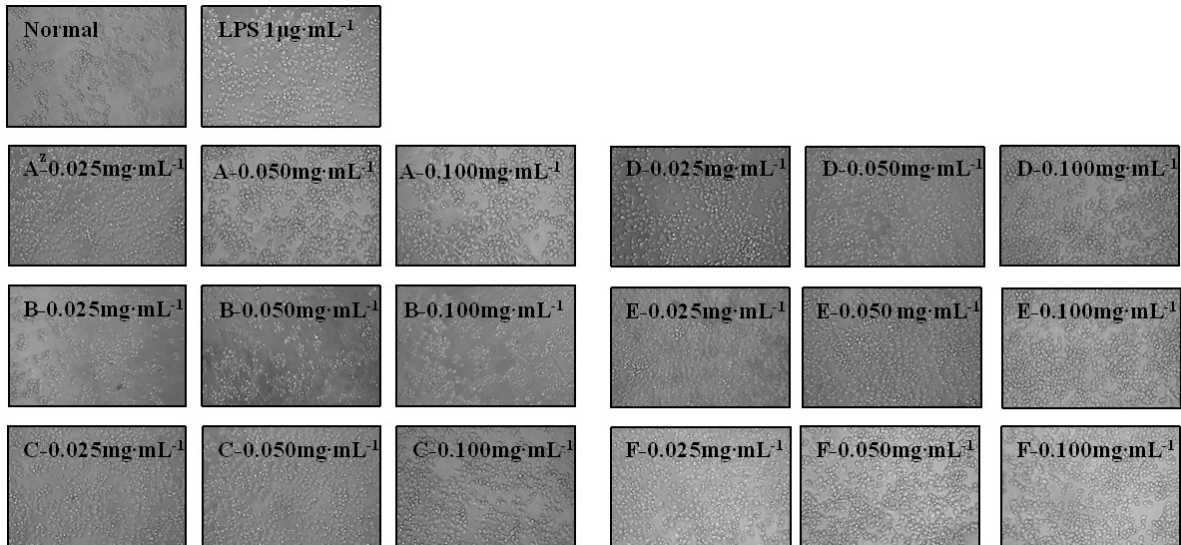


Fig. 4. Photomicrographs ($\times 200$) of the LPS treated with ethanol extract and its solvent fractions of *Coreopsis tinctoria* Nutt. for 24 hr. ²A: LPS 1 μ g·mL⁻¹ treated with ethanol extract of 0.025, 0.050 and 0.100 mg·mL⁻¹, B: LPS 1 μ g·mL⁻¹ treated with n-hexane fraction of 0.025, 0.050 and 0.100 mg·mL⁻¹, C: LPS 1 μ g·mL⁻¹ treated with chloroform fraction of 0.025, 0.050 and 0.100 mg·mL⁻¹, D: LPS 1 μ g·mL⁻¹ treated with ethyl acetate fraction of 0.025, 0.050 and 0.100mg·mL⁻¹, E: LPS 1 μ g·mL⁻¹ treated with n-butanol fraction of 0.025, 0.050 and 0.100 mg·mL⁻¹, F: LPS 1 μ g·mL⁻¹ treated with water fraction of 0.025, 0.050 and 0.100 mg·mL⁻¹.

한 후 세포모양을 관찰한 결과 Fig. 4에서 보는 바와 같이 높은 억제효과를 보였던 n-hexane 분획물에서만 세포독성을 보였으며 그 외 에탄올 추출물, chloroform 및 ethyl acetate 분획물에서는 고농도 처리시에도 RAW 264.7 세포에 대한 세포독성 없이 NO의 생성을 효과적으로 억제함을 알 수 있었다.

항암활성

에탄올 추출물과 용매분획물에 대한 인체유래 대장암세포주의 세포생존율 MTT 방법으로 측정된 결과 Fig. 5와 같으며, 농도 의존적으로 대장암세포의 증식을 억제하는 경향을 보였다($p < 0.05$). 0.250mg·mL⁻¹의 농도에서 에탄올 추출물, n-hexane, chloroform 및 ethyl acetate 분획물에서 60% 이상의 증식억제효과를 나타냈으며, 특히 n-hexane과 chloroform 분획물에서 각 92.77 및 74.12%의 높은 효과를 보였고 n-butanol과 water 분획물은 낮은 증식억제효과를 나타내었다. 0.125mg·mL⁻¹의 농도에서는 n-hexane, chloroform 및 ethyl acetate 분획물이 각각 90.41, 46.20 및 54.44%의 증식억제효과를 나타내었다. 우수한 대장암세포 증식억제효과를 나타낸 에탄올 추출물, n-hexane, chloroform 및 ethyl acetate 분획물의 IC₅₀값은 각각 0.208, 0.041, 0.142 및 0.107mg·mL⁻¹이었다. 대장암세포주에 대한 목련 꽃(Nho 등, 2009) n-hexane, chloroform 및 n-butanol 분획물의 경우 0.210, 0.140 및 0.280mg·mL⁻¹, 선학초(Min 등, 2008) n-hexane과 chloroform 분획물의 경우 0.480과 0.820mg·mL⁻¹의 농도에서 50%의 증식억제활성을 보고하였는데 이는 본 실험에 사용된 기생초 꽃 에탄올 추출물의 n-hexane과 ethyl acetate 분획물보다 낮은 활성을 보였다. 향후 다양한 암세포주에 대한 증식억제 평가 및 활성물질 규명 등의 후속 연구가 필

요할 것으로 판단된다.

초 록

기생초 꽃의 생리활성을 평가하여 천연물 유래 기능성 소재를 개발하기 위하여 에탄올 추출물 및 용매분획물의 항산화활성, ACE 저해활성, α -glucosidase 억제능, 항염활성 및 항암활성을 측정하였다. 에탄올 추출물의 DPPH radical 소거활성(IC₅₀)과 ABTS radical 소거활성은 각각 0.100mg·mL⁻¹ 및 3.427 AEAC였으며, 용매분획물 중 ethyl acetate 분획물이 각각 0.034mg·mL⁻¹ 및 15.785AEAC으로 가장 높았으며, ACE 저해활성 및 α -glucosidase 억제활성도 각각 40.96% 및 0.125mg·mL⁻¹로 ethyl acetate 분획물이 우수하였다. 또한 에탄올 추출물, chloroform 및 ethyl acetate 분획물에서 세포독성 없이 효과적으로 NO의 생성을 억제하였고, 대장암 세포주에 대한 에탄올 추출물, n-hexane, chloroform 및 ethyl acetate 분획물의 IC₅₀값은 각각 0.208, 0.041, 0.142 및 0.107mg·mL⁻¹으로 우수한 증식억제효과를 보였다. 이러한 결과를 종합하여 볼 때, 기생초 꽃의 우수한 생리활성을 이용한 기능성 소재로의 활용이 가능 할 것으로 판단된다.

추가 주요어 : 항산화활성, 항암활성, α -glucosidase 억제활성, NO생성 억제효과

인용문헌

- Cheng, W., J. Li, T. You, and C. Hu. 2005. Anti-inflammatory and immunomodulatory activities of the extracts from the inflorescence of *Chrysanthemum indicum* Linné. *J. Ethnopharmacol.* 101:334-337.
- Choi, S.H., S. Im, and J.E. Bae. 2006a. Analysis of aroma components from flower tea of German chamomile and *Chrysanthemum boreale* Makino. *Kor. J. Food Cook. Sci.* 22:768-773.
- Choi, Y., S.M. Lee, J. Chun, H.B. Lee, and J. Lee. 2006b. Influence of heat treatment on the antioxidant activities and polyphenolic compounds of shiitake (*Lentinus edodes*) mushroom. *Food Chem.* 99:381-387.
- Cushman, D.W. and H.S. Cheung. 1971. Spectrophotometric assay and properties of the angiotensin I-converting enzyme of rabbit lung. *Biochem. Pharmacol.* 20:1637-1648.
- Dias, T., H. Mota-Filipe, B. Liu, P. Jones, P.J. Houghton, and A. Paulo. 2009. Recovery of oral glucose tolerance by wistar rats after treatment with *Coreopsis tinctoria* infusion. *Phytother. Res.* In press.
- Do, J.R., K.J. Kim, J.H. Jo, Y.M. Kim, B.S. Kim, H.K. Kim, S.D. Lim, and S.W. Lee. 2005. Antimicrobial, antihypertensive and anticancer activities of medicinal herbs. *Kor. J. Food Sci. Technol.* 37:206-213.
- Han, W.S. 2003. Isolation and structure elucidation of radical

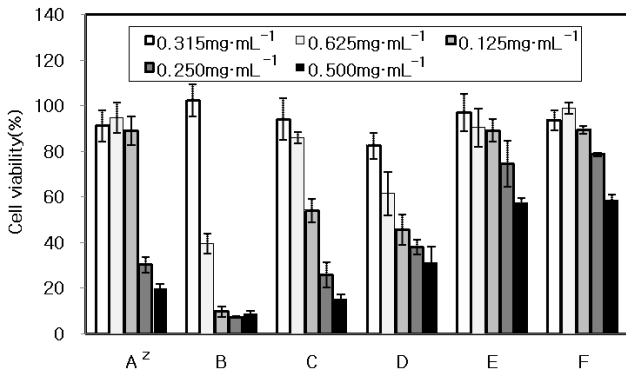


Fig. 5. Antiproliferation of ethanol extract and its solvent fractions of *Coreopsis tinctoria* Nutt. on human colon cancer cell (HCT116). ²A: ethanol extract, B: n-hexane fraction, C: chloroform fraction, D: ethyl acetate fraction, E: n-butanol fraction, F: water fraction.

- scavengers from *Chrysanthemum boreale* Makino. Kor. J. Med. Crop Sci. 11:1-4.
- Ishiyama, M., H. Tominaga, M. Shiga, K. Sasamoto, Y. Ohkura, and K. Ueno. 1996. A combined assay of cell viability and in vitro cytotoxicity with a highly water-soluble tetrazolium salt, neutral red and crystal violet. Biol. Pharm. Bull. 19: 1518-1520.
- Jeong, Y.J., M.H. Lee, G.D. Lee, N.Y. Park, and J.H. Kwon. 1998. Effects of ethanol from Chrysanthemum petals on the growth inhibition of microorganisms. Kor. J. Postharv. Sci. Technol. 5:299-304.
- Jung, E.B., J.H. Jo, and S.M. Cho. 2009. Hypoglycemic and angiotension converting enzyme inhibitory effect of water and ethanol extracts from Haesongi mushroom (*Hypsizigus marmoreus*). Food Sci. Biotechnol. 18:541-545.
- Kang, J.R., M.K. Lee, and S.M. Kang. 2008. Anti-oxidant property and tyrosinase inhibition activity of various extracts from plants in Compositae plants. J. Kor. Soc. Appl. Biol. Chem. 51:321-328.
- Kim, S.S., J.H. Ha, M.H. Jeong, J.H. Ahn, W.B. Yoon, S.J. Park, D.H. Seong, and H.Y. Lee. 2009. Comparison of biological activities of fermented *Codonopsis lanceolata* and fresh *Codonopsis lanceolata*. Kor. J. Med. Crop Sci. 17:280-285.
- Kim, Y.E., E.Y. Kwon, D. Han, I.H. Kim, and K.H. Ku. 2008. Antioxidant activity, fibrinolysis and angiotensin converting enzyme inhibitory activity of pine mushroom juice (*Tricholoma matsutake* Sing.). J. Kor. Soc. Food Sci. Nutr. 37:535-541.
- Kim, Y.M., M.H. Wang, and H.I. Rhee. 2004. A novel α -glucosidase inhibitor from pine bark. Carbohydr. Res. 339: 715-717.
- Kwon, E.K., Y.E. Kim, C.H. Lee, and H.Y. Kim. 2006a. Screening of nine herbs with biological activities on ACE inhibition, HMG-CoA reductase inhibition, and fibrinolysis. Kor. J. Food Sci. Technol. 38:691-698.
- Kwon, Y.I., D.A. Vatter, and K. Shetty. 2006b. Evaluation of clonal herbs of Lamiaceae species for management of diabetes and hypertension. Asia Pac. J. Clin. Nutr. 15:107-118.
- Lee, C.B. 1999. Illustrated flora of Korea. Hyangmoonsa. Seoul.
- Lee, S.E., J.G. Bang, and N.S. Seong. 2004. Inhibitory activity on angiotensin converting enzyme and antioxidant activity of *Hovenia dulcis* Thunb. Cortex extract. Kor. J. Med. Crop Sci. 12:79-84.
- Lee, S.H., Y.S. Jin, S.I. Heo, T.H. Shim, J.H. Sa, D.S. Choi, and M.H. Wang. 2006. Composition analysis and antioxidant activity from different organs of *Cirsium setidens* Nakai. Kor. J. Food Sci. Technol. 38:571-576.
- Lee, S.H. and J.S. Lee. 2007. Production and characteristics of antidiabetic compound from *Chrysanthemum zawadskii*. Kor. J. Microb. Biotechnol. 35:220-225.
- Min, K.J., J.W. Song, and C.G. Cha. 2008. The antioxidative and antitumor activity of extracts of *Agrimonia pilosa*. J. Food Hyg. Safety. 23:149-156.
- Moon, H.I., S.H. Lyu, J.H. Roh, and O.P. Zee. 2000. Antioxidative compounds of *Achillea sibirica* Ledeb. Kor. J. Med. Crop Sci. 8:1-8.
- Nam, S.H., S.D. Choi, J.S. Choi, D.S. Jang, S.U. Choi, and M.S. Yang. 1997. Effects of sesquiterpene lactones isolated from *Chrysanthemum boreale* M. against sarcoma 180 implanted in ICR mice. J. Kor. Soc. Nutr. 26:144-147.
- Nam, S.H. and M.S. Yang. 1995. Antibacterial activities of extracts from *Chrysanthemum boreale* M. J. Agric. Food Chem. 38:269-272.
- Nho, J.W., I.G. Hwang, E.M. Joung, H.Y. Kim, E.J. Chang, and H.S. Jeong. 2009. Biological activities of *Magnolia denudata* Desr. flower extracts. J. Kor. Soc. Food Sci. Nutr. 38:1478-1484.
- Oh, H.S. and J.H. Kim. 2006. Development of functional soy-based stew sauce including hot water extracts of *Cornus officinalis* Sieb. et Z. Kor. J. Food Culture. 21:550-558.
- Park, J.H., M.R. Baek, B.H. Lee, G.H. Yon, S.Y. Ryu, Y.S. Kim, S.U. Park, and K.S. Hong. 2009a. α -Glucosidase and α -amylase inhibitory activity of compounds from roots extract of *Pueraria thunbergiana*. Kor. J. Med. Crop Sci. 17:357-362.
- Park, S.J., E.H. Shin, and T.S. Hahm. 2009b. Biological activities in the extract of *Flos Sophora japonica* L. J. Kor. Soc. Food Sci. Nutr. 38:9-13.
- Re, R., N. Pellegrini, A. Proteggente, A. Pannala, M. Yang, and C. Rice-Evans. 1999. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. Free Rad. Bio. Med. 26:1231-1237.
- Shin, K.H., S.S. Kang, E.A. Seo, and S.W. Shin. 1995. Isolation of aldose reductase inhibitors from the flowers of *Chrysanthemum boreale*. Arch. Pharm. Res. 18:65-68.
- Son, J.C., N.K. Park, H.S. Hur, M.H. Bang, and N.I. Baek. 2000. Examination and isolation of natural antioxidants from Korean medicinal plants. Kor. J. Med. Crop Sci. 8:94-101.
- Tepe, B., M. Sokmen, H.A. Akpulat, and A. Sokmen. 2006. Screening of the antioxidant potentials of six *Salvia* species from Turkey. Food Chem. 95:200-204.
- Woo, J.H., H.S. Jeong, J.S. Yu, Y.D. Chang, and C.H. Lee. 2008. Antioxidant effect of extracts obtained from four Aster species native to Korea. Kor. J. Plant Res. 21:52-59.
- Woo, J.H., H.S. Jeong, Y.D. Chang, S.L. Shin, and C.H. Lee. 2010. Antioxidant activities of fractions obtained from flowers of *Coreopsis tinctoria* Nutt. Kor. J. Hort. Sci. Technol. 28:115-119.
- Woo, J.H. and C.H. Lee. 2008. Effect of harvest date on antioxidant of *Dendranthema zawadskii* var. *latilobum* (Maxim.) Kitam and *D. zawadskii* var. *yezoense* (Maek.). Kor. J. Plant Res. 21:128-133.
- Yin, Y., S.I. Heo, M.J. Jung, and M.H. Wang. 2009. Antioxidant and antidiabetic effects of various sections of *Astragalus membranaceus*. Kor. J. Pharmacogn. 40:1-5.
- Yoshikawa, M., T. Morikawa, I. Toguchida, S. Harima, and H. Matsudas. 2002. Medicinal flowers. II. Inhibitors of nitric oxide production and absolute stereostructures of five new germacrene-type sesquiterpenes, kikkanols D, D monoacetate, E, F and F monoacetate from the flowers of *Chrysanthemum indicum* L. Chem. Pharm. Bull. 48:651-656.
- Zhang, Y., S. Shi, M. Zhao, Y. Jiang, and P. Tu. 2006. A novel chalcone from *Coreopsis tinctoria* Nutt. Biochem. Syst. Ecol. 34:766-769.