J Korean Soc Food Sci Nutr
40(1), 78~83(2011)

한국식품영양과학회지
DOI: 10.3746/jkfn.2011.40.1.078

국화차를 포함하는 허브차의 CCl_4로 유도된 간세포손상 보호 및 항유전독성 효과

이현정[1] · 황용일[2] · 박은주[1] · 최선욱[2†]

[1]경남대학교 식품영양학과
[2]경남대학교 식품생명학과

Antihepatotoxic and Antigenotoxic Effects of Herb Tea Composed of *Chrysanthemum morifolium* Ramat.

Hyun-Jung Lee[1], Young-Il Hwang[2], Eunju Park[1], and Sun-Uk Choi[2†]

[1]Dept. of Food and Nutrition, [2]Dept. of Food Science and Biotechnology, Kyungnam University, Gyeongnam 631-701, Korea

Abstract

The flower of *Chrysanthemum morifolium* Ramat. with antioxidant, anticancer, and anti-inflammatory functions has been a widely used traditional herb as a healthy beverage and medicine. The aim of the present study was to investigate a herb tea consisting of *C. morifolium* Ramat., *Corni fructus* and *Schizandra chinensis* Baillon for its hepatoprotective activity against CCl_4-induced toxicity in freshly isolated rat hepatocytes and antigenotoxic effect against oxidative stress induced DNA damage in human leukocytes. Three different compositions of the herb tea (Mix I, II, and III) were prepared by extracting with water at 90°C. Freshly isolated rat hepatocytes were exposed to CCl_4 along with/without various concentrations of each tea. Protection of rat primary cells against CCl_4-induced damage was determined by the MTT assay. The significant antihepatotoxic effect of the tea was shown in Mix I and II. The increased transaminase (AST and/or ALT) release in media of CCl_4 treated hepatocytes was significantly lowered by all the teas tested. The effect of the tea on DNA damage in human leukocytes was evaluated by Comet assay. All teas showed a protective effect against H_2O_2-induced DNA damage. From these results, it is assumed that herb tea based on *C. morifolium* Ramat., *Corni fructus* and *Schizandra chinensis* Baillon exerted antihepatotoxic and antigenotoxic effects.

Key words: *Chrysanthemum morifolium* Ramat., *Corni fructus*, *Schizandra chinensis* Baillon, antihepatotoxity, antigenotoxictiy

서 론

국화과 *Chrysanthemum*속 식물들은 관상식물로서 가치가 높으며, 우수한 약리효과로 식·약용식물로 사용되어 왔다. 국화과 *Chrysanthemum*속 식물의 대표적인 약리효과로는 항에이즈, 항균, 항진균 및 항산화효과 등이 있으며(1-3), 주로 산국(*C. boreale*)과 감국(*C. indicum* Linne)에서 기능성 생리활성 연구가 보고되었다(4,5). 국화(*C. morifolium* Ramat.)는 전통적으로 위장, 감기, 두통, 현기증, 고혈압 등에 효과적인 것으로 알려져 있고(6), 항바이러스, 항균 및 항암 활성 등이 있는 것으로 보고되어 있다(7,8). 산수유(*Corni fructus*)는 층층나무과(*Cornaceae*)의 낙엽교목인 산수유나무(*Cornus officinalis*)의 열매로서 간경화에 효과적이고, 신경안정, 이뇨, 혈압강하, 항암 및 항균작용이 있다고 한방자료에 기록하고 있으며(9), 다뇨증, 요통, 이명 및 폐결핵 등의 치료제로 이용되어 왔다. 산수유의 대표적인 생리활성 연구로서 항당뇨효과(10), 항산화효과(11,12), 항암효과(13), 항균효과(14) 등이 보고되었다. 오미자(*Schizandra chinensis* Baillon)는 오미자나무과(*Schisandraceae*)의 덩굴성 식물로 알코올해독, 혈당강하, 콜레스테롤 저하, 면역조절, 항암 및 항종양 등의 다양한 생리활성을 가지는 것으로 알려져 있으며(15,16), 최근에는 항산화활성(17-20), 항돌연변이성(21), 아질산 소거능(14,22), 항균성(23-27) 등에 대한 효능도 확인되고 있다.

최근 국내의 건강기능성 추출물을 이용한 차·음료 시장이 확대되고 있고, 국화, 산수유 및 오미자는 이들의 높은 생리활성과 기호도로 인하여 그 활용도가 더욱 높을 것으로 기대된다. 그러나 국화, 산수유 및 오미자 추출물의 생리활성 연구는 활발히 이루어지고 있는 반면에 제조된 차류의 효능에 대한 연구는 부족하며, 특히 혼합 조성물로 제조한 차류의 생리활성 효능에 대한 연구는 아직 보고되지 않고 있는 실정이다.

†Corresponding author. E-mail: suchoi@kyungnam.ac.kr
Phone: 82-55-249-2852, Fax: 82-505-999-2171

간은 신체에서 대사, 분비, 저장, 해독기능을 담당하는 핵심기관이며, 간 손상은 이러한 간 기능의 손상을 의미하는 것이다(28). 간질환은 주로 독성화합물, 알코올 과다섭취, 감염 및 자가면역질환이 원인이며, 지방과다섭취, 피로, 과음 또는 스트레스에 의해 유도되는 만성 간질환인 지방간이나 간경변은 간암으로까지 이행된다. 간 손상을 일으키는 대표적인 유도물질의 하나인 사염화탄소(carbon tetrachloride, CCl_4)는 생체 내 활면소포체에 존재하는 cytochrome P450 monooxygenase의 작용에 의해 trichloromethyl peroxyl radical(·CCl_3)로 전환되고, 이 radical은 간세포에 손상을 유도한다. ·CCl_3은 소포체 막의 인지질을 공격하여 지질과산화를 일으키며(29), 지질과산화의 분해산물들은 소포체의 구조를 붕괴시키고, 소포체 내 효소활성저하 및 단백질 합성저해 등을 일으켜 지방간 변성을 유발하며, 혈중 aspartate aminotransferase(AST) 및 alanine aminotransferase(ALT) 유리, 간세포 괴사 및 섬유화 등을 일으키는 것으로 알려져 있다(30).

Superoxide, hydroxyl radical 및 hydrogen peroxide와 같은 활성산소종(reactive oxygen species)에 의해 발생하는 산화적 스트레스는 DNA 손상을 유도할 뿐만 아니라(31), 노화 또는 암, 심혈관 질환과 같은 질병 발생을 초래한다(32). 한편, 식물에 풍부한 항산화 성분들은 산화적 DNA 손상을 감소시키고, 암으로부터 보호하는 역할을 하는 것으로 알려져 있는데, 특히 국화과 *Chrysanthemum*속 식물은 flavonoids, phenols 및 phenolic acids를 풍부하게 함유하고 있으며(33,34), 그중 flavonoids의 건강증진효과가 보고된 바 있다(35). 그러나 인체세포를 이용한 국화, 산수유 및 오미자의 DNA 손상 억제효과에 관한 연구는 부족한 실정이다.

따라서 본 연구에서는 민간 및 한방에서 애용되고 있는 국화, 산수유 및 오미자로 구성된 국화차 조성물의 간세포손상 보호효과 및 항유전독성 활성을 분석하여 국화차 조성물의 새로운 생리활성을 탐색하고자 하였다.

재료 및 방법

재료

본 실험에 사용한 실험동물은 경남대학교 동물사육실에서 22±2°C, 상대습도 55±5%, 12시간 명암주기로 사육한 200~250 g의 Sprague-Dawley(SD, Hanasangsa, Busan, Korea)계 수컷 흰쥐를 사용하였다. Fetal bovine serum, Williams′ medium E, Hank′s balanced salt solution (HBSS), penicilline-streptomycin은 Gibco BRL(Grand Island, NY, USA) 제품을 사용하였다. Carbon tetrachloride(CCl_4), collagenase, dexamethason, insulin, HEPES, $CaCl_2 \cdot H_2O$, $NaHCO_3$, 3-(4,5-Dimethyl-thiazol-2-yl)-2,5-diphenyl-tetrazolium bromide(MTT), dimethyl sulfoxide (DMSO)는 Sigma Chemical Co.(St. Louis, MO, USA)에서 구입하였고, ethylene glycol tetraacetic acid(EGTA)는 Amresco Inc.(Solon, OH, USA)에서 구입하였다.

시료추출 및 제조

국화차 조성물은 마산에서 재배된 국화로 제조한 황국, 백국, 산수유, 오미자 혼합차의 비율을 마산시에서 제공받아 현재 시판중인 국화 혼합침출차의 배합비를 고려하여 Table 1과 같은 조성으로 황국, 백국, 산수유 및 오미자를 혼합하였다. 국화차 조성물 5 g에 500 mL의 물을 가하여 90°C에서 5분간 추출하였다. 각각의 추출물은 여과지(Whatman No. 1)로 감압여과한 후, -70°C에서 동결건조 하여 시료로 사용하였다. 각 건조시료는 HBSS에 녹여 0.2 μm membrane으로 여과한 후 분석에 사용하였다.

간세포 배양 및 CCl_4에 의한 간세포의 독성유도

Collagenase perfusion 방법에 의해 SD 흰쥐에서 간세포를 분리하였다(36). 분리된 간세포를 5×10^5 cells/mL로 희석하여 24 well plate(Falcon, Primaria™, Franklin Lakes, NJ, USA)에서 배양 분주하여 5% CO_2, 37°C에서 배양하였다. 간세포를 배양한지 3시간이 지난 후 새로운 배양액으로 교환하고 농도별로 국화차 조성물을 처리하여 24시간 동안 세포를 배양한 후 10 mM CCl_4를 90분간 처리하여 간세포 독성을 유도하였으며, 독성이 유도된 간세포는 세포생존율(MTT assay) 측정에 이용하였으며, 배양액을 취하여 aspartate transaminase(AST) 및 alkaline aminotransferase (ALT)의 활성을 측정하였다.

Microculture tetrazolium(MTT) reduction assay

CCl_4로 유도된 간세포 손상에 대한 국화차 조성물의 보호효과를 보기 위해 MTT 방법으로 세포 생존율을 측정하였다. CCl_4 및 국화차 조성물 처리가 끝난 간세포에 MTT 시약(5 mg/mL)을 첨가하고 37°C에서 1시간 동안 배양하였다. MTT의 생성물인 blue crystal의 formazan을 확인한 후 DMSO 1 mL을 가해 실온에서 15분간 방치한 후 ELISA reader(Tecan, Sunrise™, Salzburg, Austria)를 이용하여 540 nm에서 흡광도를 측정하여 세포의 viability %를 산출하였다.

Table 1. Composition and extraction yield of three herb tea mixtures (%)

Tea mixture	*C. morifolium* Ramat. Yellow	*C. morifolium* Ramat. White	*Corni fructus*	*Schizandra chinensis* Baillon	Extraction yield
Mix I	90	5	3	2	43.36
Mix II	85	10	3	2	43.36
Mix III	80	10	8	2	44.38

AST 및 ALT 활성 측정

CCl_4 및 국화차 조성물을 처리한 간세포의 배양액을 취하여 3000 rpm, 4°C에서 5분간 원심분리 한 다음 상등액에서의 ALT 및 AST 활성을 측정하였다. ALT 및 AST 농도는 진단키트 시약(Bio Clinical System, Anyang, Korea)을 이용하여 photometric autoanalyzer(CH-100 plus, SEAC, Calenzano, Italy)로 흡광도를 측정하였으며, 국화차 조성물의 AST 및 ALT 활성은 CCl_4 단독 처리군의 효소활성에 대한 상대적인 비율(%)로 나타내었다.

산화적 DNA 손상 보호능 측정(Comet assay)

건강한 성인남성으로부터 채혈한 신선한 전혈을 Histopaque 1077을 이용해 백혈구를 분리한 후 본 실험에 사용하였다. Singh 등(37)의 alkaline comet assay 방법에 따라 전혈 200 μL로부터 분리한 백혈구에 국화차 조성물을 1, 10, 25, 50 μg/mL의 농도로 처리하여 37°C에서 30분간 반응시킨 후, 4°C에서 200 μM H_2O_2를 5분간 반응시켜 산화적 손상을 유도하였다. 반응이 끝난 백혈구를 PBS로 세척하여 원심분리한 후 100 μL 0.7% low melting agarose gel(LMA)에 골고루 섞은 다음, 1% normal melting agarose(NMA)로 코팅처리 되어있는 슬라이드 위에 골고루 분산되게 한 후 4°C 냉장고에 보관하였다. Agarose가 굳으면, 슬라이드를 75 μL 1% LMA로 한 층 더 고정시키고, 4°C의 lysis 완충용액(2.5 M NaCl, 100 mM EDTA, 10 mM Tris, 1% sodium lauryl sarcosine, 1% Triton X-100, 10% DMSO)에서 1시간 동안 처리하였다. 4°C의 전기영동 완충용액(300 mM NaOH, 10 mM Na_2EDTA, pH 13.0)에 슬라이드를 놓고 20분간 unwinding 시킨 후 25 V/300 mA의 전압으로 20분간 전기영동 하였다. 슬라이드는 차가운 중성용액(0.4 M Tris, pH 7.5)에 5분간 3회, 에탄올에 5분간 세척한 후 ethidium bromide(20 μL/mL)로 염색하여, image analysis(Komet version 5.0, Kinetic Imaging, Liverpool, UK)와 fluorescence microscopy(LEICA DMLB, Wetzlar, Germany)를 통해 꼬리부분 내의 DNA 함량(tail intensity)을 측정하였다.

통계처리

모든 데이터의 통계처리는 SPSS/Windows 14.0을 이용하여 분석하였고 결과는 평균±표준편차로 나타내었으며, 신뢰수준 95%($p<0.05$)에서 평균값들에 대해 유의성을 검증하였다. 각 항목은 일원배치분산분석(one-way ANOVA)을 시행하여 F값을 구하고, Duncan's multiple range test를 이용하여 각 구간의 유의성 차이를 검증하였다.

결과 및 고찰

추출물의 수율

국화차 조성물의 추출수율은 Table 1과 같이 국화차 조성물 I, II, III형에서 각각 43.36%, 43.36%, 44.38%를 나타내었으며, 유의적인 차이는 없었다.

Table 2. Effect of herb tea on the viability of primary cultured rat hepatocyte

Concentration (mg/mL)		Cell viability (%)
CCl_4 (-)		100.0±6.6[1)d2)]
CCl_4 (+)		61.0±9.8[a]
Mix I[3)]	0.01	86.2±5.4[bcd]
	0.1	95.0±15.8[cd]
	1	82.5±8.2[cd]
Mix II	0.01	81.5±4.4[bc]
	0.1	91.7±4.1[bc]
	1	79.4±5.9[bc]
Mix III	0.01	70.3±6.0[ab]
	0.1	72.4±8.5[ab]
	1	74.8±11.7[ab]

[1)]Values are mean±SD.
[2)]Values with different superscripts in the same column are significantly different at $p<0.05$ by Duncan's multiple range test.
[3)]The composition of each mixture is shown in Table 1.

Cell viability

국화차 조성물의 세포독성을 측정하기 위해 10 mM의 CCl_4를 처리한 간세포에 농도별(0.01~1 mg/mL)로 국화차 조성물을 처리한 후 MTT assay로 세포생존율을 측정하였다(Table 2). CCl_4처리군은 CCl_4를 처리하지 않은 대조군의 세포생존률(99.99%)에 대해 61.04%의 세포생존율이 나타내었으며, 이 결과로 CCl_4에 의해 세포독성이 유도되었음을 확인하였다. 국화차 조성물 I형과 II형은 CCl_4처리군과 비교하였을 때 30.1~55.7% 정도 유의적으로 높은 세포생존율을 나타내었으며, 국화차 조성물 III형은 CCl_4처리군에 비해 세포생존율이 9~13% 정도 증가하는 경향은 있었으나, 유의적인 차이는 나타나지 않았다. 또한 각 그룹에서 농도에 따른 세포생존률의 차이는 나타나지 않았다. 국화차 조성물은 CCl_4로 유도된 간세포 독성에 대한 보호 효과를 나타내었으며, 국화차 조성물의 배합유형에 따라 간세포독성을 보호하는 효과에 차이가 있음을 알 수 있었다.

국화차 조성물의 AST, ALT 유리 억제능

국화차 조성물에 의한 CCl_4에 의해 유도된 간세포독성의 보호효과를 측정하기 위하여 CCl_4를 처리한 간세포 배지 내 AST 및 ALT 활성을 대조군의 활성과 비교하여 나타내었다(Table 3). AST, ALT 두 효소는 간세포 내에 존재하고 간세포 손상 시 간세포의 막 투과성 항진으로 배지내로 유출되므로 그 활성 정도로 간 손상을 확인할 수 있다. 국화차 조성물 I형의 0.01 mg/mL 처리군은 CCl_4 대조군(100%)에 비하여 65.5%의 AST 유리억제능을 보였으며, 0.1 mg/mL과 1 mg/mL 처리군에서 각각 52.1%, 43.3%의 AST 유리억제능을 보여주어 0.01 mg/mL의 저농도 처리에 의해 높은 AST 유리 억제능을 나타내었다. 국화차 조성물 II는 0.01, 0.1 및 1 mg/mL 처리군에서 각각 47.4%, 44.0% 및 52.1%의 AST 유리억제능을 보였으며, 조성물 III의 경우 0.01, 0.1 및 1 mg/mL 처리군에서 각각 18.0%, 18.5% 및 37.7%의

Table 3. Effect of herb tea on the activities of AST and ALT in media of CCl_4 treated primary cultured rat hepatocytes

Concentration (mg/mL)		Relative AST activity (%)	Relative ALT activity (%)
CCl_4 (+)		100.0±2.5[1)g2)]	100.0±1.5[bc]
Mix I[3)]	0.01	34.5±3.0[a]	47.7±3.1[a]
	0.1	47.9±0.8[b]	97.3±2.3[bc]
	1	56.7±1.8[d]	101.4±14.3[bc]
Mix II	0.01	52.6±1.3[c]	107.7±6.5[bc]
	0.1	56.0±0.4[d]	93.9±3.8[b]
	1	47.9±2.2[b]	95.5±11.2[bc]
Mix III	0.01	82.0±2.9[f]	109.1±10.5[c]
	0.1	81.5±0.8[f]	105.9±12.9[bc]
	1	62.3±0.8[e]	98.2±4.5[bc]

[1)]Values are mean±SD.
[2)]Values with different superscripts in the same column are significantly different at $p<0.05$ by Duncan's multiple range test.
[3)]The composition of each mixture is shown in Table 1.

AST 유리억제능을 보였다. 국화차 조성물 I, II에서 나타난 바와 같이 AST 유리억제능이 농도의존적으로 나타나지 않는 결과는 각각의 국화차 조성물에서 높은 AST 억제능을 나타내는 농도가 다르다는 것을 보여준다. 이 결과는 국화차 조성물의 복합적인 생리적 작용이 간세포 독성의 보호효과를 나타내는 AST 지표에 대해 차이를 나타내는 것으로 생각된다. 또한 국화차 조성물의 ALT 활성은 국화차 조성물 I형의 0.01 mg/mL 농도에서만 52.3%의 유의적인 ALT 유리억제능을 나타내었으며, 그 외의 처리군에서는 낮은 ALT 유리억제능을 나타내었다. 이와 같은 국화차 조성물 I형의 결과는 저농도에서 높은 AST 유리억제능을 나타낸 것과 같은 경향으로 저농도에서 높은 ALT 유리억제능을 나타낸 것으로 보인다. 이와 같은 결과로 국화차 조성물의 간세포독성 보호효과를 확인할 수 있으며, 국화차 조성물의 CCl_4 유도에 의한 세포독성 보호효과는 ALT보다 AST에서 더 민감하게 나타났다. 이 결과는 일차배양 간세포에서 CCl_4에 의해서 배지 내로 LDH>AST>ALT 순서로 유리가 증가함을 보고한 Kim과 Park(38)의 연구와 일치하는 결과이다.

또한 Kim과 Park(39)의 일차배양 간세포에 1.5 mM CCl_4로 세포독성을 유도하면서 생약시료를 함께 처리한 연구에서 산수유와 오미자에서는 AST 및 ALT의 유리억제능이 나타나지 않음을 보고하였다. 이와 같은 결과를 바탕으로 본 국화차 조성물의 연구결과에도 산수유나 오미자보다 황국 및 백국의 국화차 조성이 CCl_4로 유도된 간세포의 세포독성에 대한 AST 및 ALT 유리 억제능에 더 많은 영향을 미칠 것으로 사료된다.

국화차 조성물의 산화적 스트레스에 대한 DNA 손상 보호 효과

Seo 등(40)은 산수유 열수추출물의 linoleic acid에 대한 항산화력 연구에서 10 μL의 산수유 열수추출물은 50 μL의 0.1% BHT와 같은 강력한 항산화력을 나타내었음을 보고하였으며, Cho 등(41)은 오미자 열수추출물의 DPPH radical

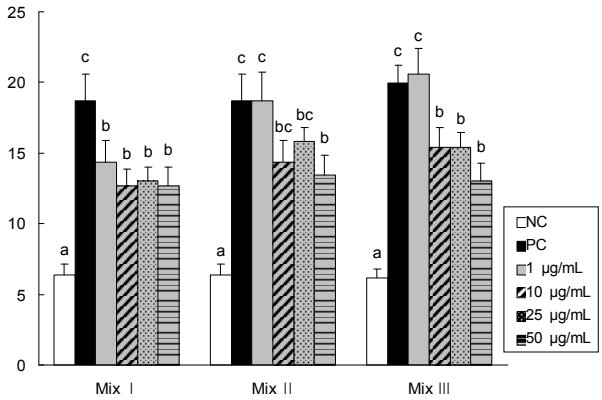

Fig. 1. Effect of herb tea on 200 μM H_2O_2-induced DNA damage in human leukocyte. Values are mean±SD. NC, 1% DMSO treated negative control; PC, 200 μM H_2O_2-treated positive control. Values not sharing the same letter are significantly different at $p<0.05$ by Duncan's multiple range test. The composition of each mixture is shown in Table 1.

소거능이 2.5 mg/mL에서 49.0%, SOD 유사활성이 5 mg/mL 농도에서 69.2%로 비교적 높은 항산화 효과를 나타내었음을 보고하였다. 또한 국화꽃 휘발성 향기성분의 DPPH radical 소거능이 1 g/mL 농도에서 46.36%이었음을 Woo 등(42)이 보고하였다. 이러한 연구결과를 바탕으로 본 연구에서 이용한 국화, 산수유, 오미자로 구성된 국화차 조성물은 항산화력을 바탕으로 산화적 손상에 억제효능을 가질 것으로 기대하였다.

인체 백혈구에 국화차 조성물을 각각 1, 10, 25, 50 μg/mL의 농도로 처리한 후 200 μM H_2O_2로 유발된 산화적 DNA 손상 보호 효과를 측정하였다(Fig. 1). 국화차 조성물 I형 처리 시에 모든 농도에서 200 μM H_2O_2로 산화적 손상을 유도한 양성대조구(positive control, PC)보다 유의적으로 23~32% 낮은 DNA 손상을 나타내었으며, 농도간의 유의적인 차이는 없었다. 국화차 조성물 II형은 50 μg/mL의 고농도 처리 시에 PC에 비하여 유의적으로 DNA 손상이 28% 감소하는 것을 확인할 수 있었다. 마찬가지로 국화차 조성물 III형 처리 시에 10~50 μg/mL에서 PC에 비하여 유의적으로 DNA 손상이 감소하였으며, 10, 25 μg/mL에서 모두 22% 낮은 DNA 손상을 나타내었고, 특히 50 μg/mL 농도에서 34%의 가장 높은 DNA 손상 보호능을 나타내었다. 본 연구의 결과 H_2O_2로 유도된 산화적 손상에 대하여 국화차 조성물 처리 시에 저농도보다 고농도에서 높은 DNA 손상 보호효과가 나타났으며, 국화, 산수유, 오미자의 배합에 따라 항유전독성에 차이가 있음을 추측할 수 있다.

요 약

최근 국내의 건강기능성 추출물을 이용한 차·음료 시장이 확대되고 있고, 국화, 산수유 및 오미자는 이들의 높은 생리활성과 기호도로 인하여 그 활용도가 더욱 높을 것으로 기대

된다. 현재까지 국화, 산수유 및 오미자의 개별적인 생리활성 연구는 활발히 이루어지고 있는 반면, 이들을 혼합하여 제조한 차류의 효능에 대한 연구는 아직 보고되지 않고 있는 실정이다. 따라서 본 연구에서는 CCl_4 처리에 의해 손상된 간세포에 대한 국화차 조성물의 간 기능 보호효과와 인체백혈구에서 H_2O_2로 유도된 산화적 DNA 손상에 대한 국화차 조성물의 항유전독성 효과를 검증하고자 하였다. CCl_4로 유도된 간세포 독성에 대해 국화차 조성물 I형, II형은 유의적인 간세포 보호효과를 나타내었으며, 국화차 조성물 III형은 CCl_4처리군보다 약간 높은 세포생존율을 보였으나 유의적이지는 않았다. CCl_4를 처리에 의해 증가한 간세포 배지 내 AST 및 ALT 활성은 국화차 조성물에 의해 배지 내 효소활성을 감소시킴으로 간세포 보호효과가 있는 것으로 사료되며, 그 효과는 AST 효소활성에 더 큰 영향을 미치는 것으로 나타났다. 특히 국화차 조성물 I형의 0.01 mg/mL 농도에서 가장 높은 AST 및 ALT 유리 억제능을 나타내었다. 이 결과로 국화추출물의 CCl_4 유도에 의해 AST>ALT 순으로 유리가 증가되는 것으로 여겨진다. 국화차 조성물 I형의 1~50 μg/mL, 국화차 조성물 II의 50 μg/mL 및 국화차 조성물 III의 1~50 μg/mL 농도 범위에서 산화적 스트레스로 유도된 인체 백혈구 DNA 손상에 대한 보호효과를 나타내었다. 이러한 결과를 통하여 국화차 조성물의 간세포 손상보호효과와 산화적 스트레스에 대한 인체 백혈구 DNA 손상 보호능을 검증할 수 있었다.

감사의 글

본 논문은 2008년도 경남대학교 학술진흥연구비 지원으로 수행된 연구 결과이며, 이에 감사드립니다.

문 헌

1. Hu CQ, Chen K, Shi Q, Kilkuskie RE, Cheng YC, Lee KH. 1994. Anti-AIDS agents, 10. Acacetin-7-O-beta-D-galactopyranoside, an anti-HIV principle from *Chrysanthemum morifolium* and a structure-activity correlation with some related flavonoids. *J Nat Prod* 57: 42-51.
2. Sassi AB, Harzallah-Skhiri F, Bourgougnon N, Aouni M. 2008. Antimicrobial activities of four Tunisian *Chrysanthemum* species. *Ind J Med Res* 127: 183-192.
3. Marongiu B, Piras A, Porcedda S, Tuveri E, Laconi S, Deidda D, Maxia A. 2009. Chemical and biological comparisons on supercritical extracts of *Tanacetum cinerariifolium* (Trevir) Sch. Bip. with three related species of chrysanthemums of Sardinia (Italy). *Nat Prod Res* 23: 190-199.
4. Park NY, Lee KD, Jeong YJ, Kwon JH. 1998. Optimization of extraction conditions for physicochemical properties of ethanol extracts from *Chrysanthemum boreale*. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 27: 585-590.
5. Yu JS, Hwang IG, Woo KS, Chang YD, Lee CH, Jeong JH, Jeong HS. 2008. Physicochemical characteristics of *Chrysanthemum indicum* L. flower tea according to different pan-firing times. *Korean J Food Sci Technol* 40: 297-302.
6. Park NY, Kwon JH, Kim HK. 1998. Optimization of extraction conditions for ethanol extracts from *Chrysanthemum morifolium* by response surface methodology. *Korean J Food Sci Technol* 31: 1189-1196.
7. Nam SH, Yang MS. 1995. Antibacterial activities of extracts from *Chrysanthemum boreale* M. *J Agric Food Chem* 38: 269-272.
8. Nam SH, Yang MS. 1995. Isolation of cytotoxic substances of extracts from *Chrysanthemum boreale* M. *J Agric Food Chem* 38: 273-277.
9. Seo KI, Lee SW, Yang KH. 1999. Antimicrobial and antioxidative activities of *Corni fructus* extracts. *Korean J Postharvest Sci Technol* 6: 99-103.
10. Park YK, Whang WK, Kim HI. 1995. The antidiabetic effects of extracts from *Cornus officinalis* seed. *Chung-Ang J Pharm Sci* 9: 5-11.
11. Kim YE, Lee YC, Kim HK, Kim CJ. 1997. Antioxidative effect of ethanol fraction for several Korean medicinal plant hot water extracts. *Korean J Food Nutr* 2: 141-144.
12. Kim OK. 2005. Antidiabetic and antioxidative effects of *Corni fructus* in streptozotocin-induced diabetic rats. *Korean J Oil Chem Soc* 22: 157-167.
13. Kim BH, Park KU, Kim JY, Jeong IY, Yang GH, Cho YS, Lee ST, Seo KI. 2004. Purification and characterization of anticarcinogenic compound from *Corni fructus*. *Korean J Food Sci Thechnol* 36: 1001-1007.
14. Kim YD, Kim HK, Kim KJ. 2003. Antimicrobial activity of solvent fraction from *Cornus officinalis*. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 32: 829-832.
15. Mok CK. 2005. Quality characteristics of instant tea prepared from spray-dried *Omija* (*Schizandra chinensis* Baillon) extract/grape juice mixture. *Food Eng Prog* 9: 226-230.
16. Oh SL, Kim SS, Min BY, Chung DH. 1990. Composition of free sugars, free amino acid, non-volatile organic acids and tannins in the extracts of *L. chinesis* M., *A. acutiloba* K., *S. chinensis* B. and *A. sessiliflorum* S. *Korean J Food Sci Technol* 22: 76-81.
17. Lee JS, Lee SW. 1991. The studies of composition of fatty acids and antioxidant activities in parts of Omija (*Schizandra chinensis* Baillon). *Kor J Dietary Culture* 6: 147-153.
18. Jung GT, Ju IO, Choi JS, Hong JS. 2000. The antioxidative, antimicrobial and nitrite scavenging effects of *Schizandra chinensis* Pyprecht (Omija) seed. *Korean J Food Sci Technol* 32: 928-935.
19. Kim JS, Choi SY. 2008. Physicochemical properties and antioxidative activities of *Omija* (*Schizandra chinensis* Baillon). *Korean J Food & Nutr* 21: 35-42.
20. Fukushima M, Kimura S. 1989. Studies on cosmetic ingredients from crude druge (I). *Shoyakugaku Zasshi* 43: 142-147.
21. Jang EH, Pyo YH, Ahn MS. 1996. Antioxidant effect of *Omija* (*Schizandra chinensis* Baillon) extracts. *Korean J Soc Food Sci* 12: 372-376.
22. Lee SH, Lim YS. 1997. Antimicrobial effects of *Schiznadra chinensis* extract against *Listeria monocytogenes*. *Kor J Appl Microbiol Biotechnol* 25: 442-447.
23. Lee SH, Lim YS. 1998. Antimicrobial effects of *Schizandra chinensis* extract on pathogenic microorganism. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 27: 239-243.
24. Ji WD, Jeong MS, Chung HC, Choi UK, Jeong WH, Kweon DJ, Kim SY, Chung YG. 2001. Growth inhibition of water extract of *Schizandra chinensis* Baillon on the bacteria. *J Food Hyg Safety* 16: 89-95.
25. Lee JY, Min YK, Kim HY. 2001. Isolation of antimicrobial substance from *Schizandra chinensis* Baillon and anti-

microbial effect. *Korean J Food Sci Technol* 33: 389-394.
26. Jeon YH, Kil JH, Lim SM, Kim MH, Kim MR. 2008. Analysis of antioxdative activity and antimutagenic effect of ethanol extract from *Schizandra chinensis* Baillon. *J East Asian Soc Dietary Life* 18: 746-752.
27. Do JR, Kim SB, Park YH, Park YB, Kim DS. 1993. The nitrite-scavenging effects by the component of traditional tea materials. *Korean J Food Sci Technol* 25: 530-534.
28. Wolf PL. 1999. Biochemical diagnosis of liver diseases. *Indian J Clin Biochem* 14: 59-90.
29. McCay PB, Lai EK, Poyer Jl, DuBose CM, Janzen EG. 1993. Oxygen and carbon-centered free radical formation during carbon tetrachloride metabolism. Observation of lipid radicals in vivo and in vitro. *J Biol Chem* 259: 2135-2143.
30. Halliwell B, Gutteridge JM. 1985. The importance of free radicals and catalytic metal ions in human disease. *Mol Aspects Med* 8: 89-193.
31. Poirier MC, Weston A. 2002. DNA damage, DNA repair, and mutagenesis. In *Encyclopedia of Cancer*. Bertino JR, ed. Academic Press, Boston, MA, USA. p 79-87.
32. Helim KE, Tagliaferro AR, Bobilya DJ. 2002. Flavonoid antioxidants: chemistry, metabolism and structure-activity relationships. *J Nutr Biochem* 13: 572-584.
33. Lee JS, Kim HJ, Lee YS. 2003. A new anti-HIV flavonoid glucuronide from *Chrysanthemum morifolium*. *Planta Med* 69: 859-861.
34. Matsuda H, Morikawa T, Toguchida I, Harima S, Yoshikawa M. 2002. Medicinal flowers. VI. Absolute stereostructures of two new flavanone glycosides and a phenylbutanoid glycoside from the flowers of *Chrysanthemum indicum* L.: their inhibitory activities for rat lens aldose reductase. *Chem Pharm Bull (Tokyo)* 50: 972-975.
35. Hertog MG, Feskens EJ, Hollman PC, Katan MB, Kromhout D. 1993. Dietary antioxidant flavonoids and risk of coronary heart disease: the Zutphen Elderly Study. *Lancet* 342: 1007-1011.
36. Ichihara A, Nakamura T, Tanaka K. 1982. Use of hepatocytes in primary culture for biochemical studies on liver functions. *Mol Cell Biochem* 43: 145-160.
37. Singh PN, McCoy MT, Tice RR, Schneider EL. 1988. A simple technique for quantitation of low levels of DNA damage in individual cells. *Exp Cell Res* 175: 184-191.
38. Kim YS, Park KH. 1995. Screening method for antihepatotoxic activity using CCl_4-induced cytotoxicity in primary cultured rat hepatocytes. *Kor J Pharmacogn* 26: 51-56.
39. Kim YS, Park KH. 1994. Effect of traditional drugs on CCl_4-induced cytotoxicity in primary cultured rat hepatocytes. *Kor J Pharmacogn* 25: 388-394.
40. Seo KI, Lee SW, Yang KH. 1999. Antimicrobial and antioxidative activities of *Corni Fructus* extracts. *Korean J Postharvest Sci Technol* 6: 99-103.
41. Cho HE, Choi YJ, Cho EK. 2010. Antioxidant and nitrite scavenging activity and α-glucosidase inhibitory effect of water extract from *Schizandra chinensis* Baillon. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 39: 481-486.
42. Woo KS, Yu JS, Hwang IG, Lee YR, Lee CH, Yoon HS, Lee JS, Jeong HS. 2008. Antioxidative activity of volatile compounds in flower of *Chrysanthemum indicum*, *C. morifolium*, and *C. zawadskii*. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 37: 805-809.

(2010년 10월 14일 접수; 2010년 11월 30일 채택)