

Antioxidant and Cancer Cell Growth Inhibition Activity of Five Different Varieties of *Artemisia* Cultivars in KoreaRa-Jeong Kim¹, Min-Jung Kang², Cho-Rong Hwang², Woo-Jae Jung² and Jung-Hye Shin^{2*}¹Department of Biomedical Science, Gyeongsang National University, Gyeongnam 660-701, Korea²Namhae Garlic Research Institute, Gyeongnam 668-812, Korea

Received April 24, 2012 / Revised June 20, 2012 / Accepted June 20, 2012

Antioxidant and cancer cell growth inhibition activity of hot water extract from five different varieties of *Artemisia* (*A. Argyi* H., *A. iwayomogi Kitamura*, *A. Princeps Var Orientalis* HARA, *A. princeps Pampanini* and *A. annua* L.) in Korea was studied. We determined the phenol and flavonoid contents and examined antioxidant assay, such as DPPH, NO radical scavenging, activity ferric-reducing antioxidant power (FRAP), and bleaching inhibition activity in the β -carotene linolic acid system. Also, we performed HeLa and MCF-7 cancer cell growth inhibition assay of *Artemisia* extracts. Total phenol and flavonoid contents were the highest in *A. iwayomogi Kitamura* followed by *A. Argyi* H. DPPH radical scavenging activity was the highest in *A. Argyi* H. at 50 μ g/ml concentration, NO radical scavenging activity was more than 50% in *A. Princeps Var Orientalis* HARA, *A. princeps Pampanini*, and *A. annua* L. at 200 μ g/ml concentration. FRAP was higher in *A. Argyi* H. and *A. iwayomogi Kitamura*. Antioxidant activity in the β -carotene linolinolic system was also higher in *A. Argyi* H. and *A. iwayomogi Kitamura* by 60.50% and 56.90% at 100 μ g/ml concentration, respectively. In cancer cell growth inhibition activities at 400 μ g/ml concentration, *A. iwayomogi Kitamura* showed greater than 80% on HeLa cell. *A. princeps Pampanini* and *A. Argyi* H. extract had growth inhibition activities greater than 80% on MCF cell. The results of this study suggest that the antioxidant and anticancer activities in various *Artemisia* are a promising source of functional food ingredients.

Key words : *Artemisia*, antioxidant activity, cancer cell growth inhibition activity

서 론

쑥은 국화과(Compositae)의 쑥속(*Artemisia*)에 속하는 번식력이 강한 다년생 초본으로 한국이나 중국, 일본 등 아시아 지역과 유럽지역 등에서 널리 분포되어 있으며, 국내에서는 약 300여 종이 자생하는 것으로 알려져 있다[24]. 쑥의 잎과 열매 등은 식용 및 약용으로 이용되어 왔으며 민간요법에서는 쑥의 전초를 말려 진정, 경련, 마비 및 전신강직 등의 치료와 복통, 토혈, 만성간염, 식육부진 및 만성 위장염 등의 한방약재로 사용하여 왔다[28].

현재 국내에서 인진쑥, 약쑥, 참쑥, 산쑥 등을 소재로 하여 다양한 연구가 이루어지고 있는데, 이 중 인진쑥은 항산화, 항암, 체내 지질대사 촉진 및 간독성 저하효과 등이 보고되어 있다[14]. 약쑥은 용매별 추출물의 항산화 활성과 관련된 연구 결과 ethyl acetate 분획물의 활성이 가장 높는데, 이는 시료 중의 총 페놀 및 플라보노이드 함량에 기인된 것으로 알려져 있다[12]. 참쑥에서 분리 동정된 flavonoid는 지질과산화물을 효과적으로 억제하여 비타민 E보다 높은 항산화 작용을 가지며 [29], 강화사자발쑥은 원형 발암 유전자(proto-oncogene)인 Bcl-2의 발현을 조절하여 암세포의 축적을 감소시킨다[23]. 개

똥쑥은 최근 chlorogenic acid, salicylic acid 등의 phenolic acid와 epicatechin, catechin 및 gallo-catechin gallate 등의 catechin류와 같은 성분들의 높은 항산화 및 항암활성이 입증됨으로써 세계적으로 주목받고 있는 생약재로 평가되고 있다 [34]. 또한 개똥쑥에 함유된 sesquiterpene계의 artemisinin은 강력한 항말라리아 작용을 지닌 것으로 알려져 현재 의약품으로도 이용되고 있으며[22], 정유성분으로는 linalool, 1,8-cineral, p-cymene, thujone, camphor 등이 규명되어 있다[8]. 그밖에 쑥의 생리활성과 관련하여 휘발성 향기성분에 의한 항돌연변이성[18], 항염증성[38], 황색포도상구균(*Staphylococcus aureus*)에 대한 항균성[3] 및 사철쑥의 HeLa 세포고사 효과[25] 등이 보고되어 있다.

국내에 자생하고 있는 쑥은 생산지역에 따라 성분 또는 생리활성 등에 차이가 있는데[4,32], 사철쑥, 더위지기쑥, 제비쑥, 넓은잎쑥, 뽕쑥, 산쑥 및 물쑥 등의 총 페놀 함량을 측정할 결과 품종 및 수집지역에 따라 다양한 함량의 변이를 보였으며, 동일 속의 쑥이라 할지라도 온도 및 습도와 같은 환경적인 조건은 식물체에 생성되는 항산화 물질이나 항산화력에 크게 영향을 주는 것으로 보고되어 있다[6]. 전국에서 수집한 다양한 쑥으로 제조한 쑥차의 아질산염 소거능 및 SOD 활성 또한 품종에 따라 큰 차이를 보여[7], 건강식품의 원료를 확보함에 있어 우수한 품종을 선발하는 것이 식품산업의 새로운 목표로 부각되고 있다. 그러나 지금까지 대다수의 쑥에 관한 연구는

***Corresponding author**

Tel : +82-55-860-8947, Fax : +82-55-860-8960

E-mail : whanbee@hanmail.net

특정품종의 쑥을 소재로 하여 다양한 분야의 기능성을 검증하고 있으며, 품종별 쑥의 특성 및 생리적 기능성 등을 비교한 연구는 매우 미미한 실정이다.

따라서 본 연구에서는 국내에서 재배되고 있는 5종의 쑥을 시료로 하여 물 추출물의 항산화 및 항암 활성을 비교 분석함으로써 쑥의 활용도를 높이고 기능성 소재로서의 이용 증진을 위한 기초 자료를 제공하고자 하였다.

재료 및 방법

실험재료 및 추출물의 제조

실험에 사용된 쑥 5종 중 섬약쑥(*Artemisia Argyi* H.)은 경남 남해군, 개똥쑥(*Artemisia annua* L.)은 경남 하동군에서 자생하는 쑥을 제공받아 이물질을 제거하고 그늘에서 20일간 자연 건조하였고, 약쑥(*Artemisia Princeps Var Orientalis* HARA), 강화사자발쑥(*Artemisia princeps Pampanini*) 및 인진쑥(*Artemisia iwayonogi Kitamura*)은 건조된 것을 온라인을 통해 산지로부터 직접 구입하여 재료로 사용하였다.

건조된 쑥 100 g에 10배수의 증류수를 가하여 60°C 수욕상에서 12시간씩 2회 반복하여 추출한 후 여액을 모두 모아 동결 건조하여 냉동 보관하면서 시료로 사용하였다. 각 동결건조물은 탈이온수로 농도를 조정하여 실험에 사용하였으며, positive control로 항산화, 항비만 및 항노화 등이 뛰어나다고 알려진 ascorbic acid를 사용하였다[13].

총 페놀 및 플라보노이드 함량 측정

총 페놀 함량은 Folin-Denis 법[9]에 따라 시료 추출물 1 ml에 Folin-Ciocalteu 시약 0.5 ml 및 10% Na₂CO₃ 용액 1 ml를 차례로 가하여 실온에서 1시간 반응시킨 후 760 nm에서 흡광도를 측정하였다. 총 플라보노이드의 함량은 Moreno 등[31]의 방법에 따라 추출물 1 ml에 10% aluminum nitrate 및 1 M potassium acetate를 0.1 ml를 각각 가한 후 80% ethanol 4.3 ml를 가하여 혼합하고 암실에서 40분간 반응시킨 다음 415 nm에서 흡광도를 측정하였다. 총 페놀 및 플라보노이드 함량은 표준물질인 gallic acid 및 quercetin (Sigma Co., St. Louis, USA)을 이용한 검량선에 의해 계산하였다.

라디칼 소거활성

DPPH 라디칼 소거활성[2]은 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH)에 대한 전자공여 효과로 측정하였다. 96 well plate에 10 mg/100 ml ethanol의 DPPH 용액 100 µl에 일정농도의 시료액 50 µl를 가한 후 상온에서 10초간 plate shaker (MX2, FINEPCR, Seoul, Korea)로 혼합한 후 30분간 반응시켜 multilabel reader (VICTORTMX3, PerkinElmer, U.S.A)를 이용하여 520 nm에서 흡광도를 측정하였다.

Nitric oxide (NO) 소거활성[36]은 시료 1 ml에 10 mM so-

dium nitroprusside 용액 0.5 ml와 20 mM phosphate buffer (pH 7.4) 2 ml를 각각 가하여 상온에서 150분간 반응시켰다. 여기에 0.3 ml의 Griess reagent (1% sulfanilamide를 함유하는 5% H₃PO₄ + 0.1% naphthylethylenediamide 용액, 1:1)를 가한 후 542 nm에서 흡광도를 측정하였다. 각각의 라디칼 소거활성은 [1-(시료첨가구의 흡광도-시료 대조군의 흡광도/무첨가구의 흡광도)]×100으로 나타내었다.

FRAP (ferric reducing antioxidant power)법에 의한 항산화 활성 측정

쑥 5종에 대한 FRAP 측정은 pH 3.6의 300 mM acetate buffer, 40 mM HCl에 용해한 10 mM TPTZ (2,4,6-tripyridyl-s-triazine) 용액 및 20 mM FeCl₃·6H₂O를 각각 10:1:1 (v/v/v)의 비율로 미리 혼합한 다음 37°C의 수욕상에서 5분 동안 가온한 뒤 FRAP 측정용 기질로 사용하였다. 96 well plate에 시료액 40 µl, FRAP 기질액 100 µl 및 증류수 40 µl를 차례로 혼합하여 37°C에서 4분간 반응시킨 후 593 nm에서 흡광도를 측정하였으며, FeSO₄로 작성한 검량식에 대입하여 환산하였다[1].

β-Carotene linoleic acid system을 이용한 항산화 효과 측정

쑥 5종의 항산화력은 β-carotene linoleic acid system에서 β-carotene의 탈색정도로 측정하였다[30]. β-carotene 10 mg을 chloroform 10 ml에 용해시킨 후 linoleic acid 40 mg 및 tween-40 400 mg을 혼합하고 40°C에서 감압 농축하여 chloroform을 제거하였다. 잔류 emulsion에 3차 증류수를 가하여 100 ml로 만든 다음 기질액으로 사용하였다. 시료 10 µl 및 기질액 200 µl를 반응시킨 다음 최초에 490 nm에서 흡광도를 측정하고, 55°C에서 30분 반응시킨 후에 한번 더 측정하였으며, 대조군은 시료대신 증류수를 사용하였다. 계산식은 [1-(시료구 감소율/대조군 감소율)]×100을 사용하였다.

암세포 증식억제 활성 측정

인체 자궁경부 상피암 세포주(HeLa) 및 유방암 세포주(MCF-7)는 한국세포주은행(KCLB, Korea Cell Line Bank, Seoul, Korea)에서 분양받아 10% FBS, 5,000 unit/ml의 penicillin-streptomycin을 첨가한 RPMI-1640 배지를 사용하여 7°C, 5% CO₂ incubator에서 배양하였다. 시료액에 의한 암세포의 성장 저해능은 CCK-8 assay (Cell Counting Kit 8, Dojindo Molecular Technologies, Inc. Gaithersburg, MD, USA)로 측정하였으며, 세포 배양용 96 well plate에 3×10⁴ cells/ml을 80 µl씩 분주하여 37°C 및 5% CO₂ incubator에서 24시간 동안 배양한 후, 농도를 달리한 시료액을 20 µl씩 접종하였다. 이를 다시 24시간 배양한 후 CCK-8 용액 10 µl를 첨가하여 37°C에서 3시간 배양하고 ELISA reader로 450 nm에서 흡광도를 측정하였다. 암세포 성장 저해능(%)은 시료를 첨가

하지 않은 대조군의 흡광도 대비 시료 처리군의 흡광도 비로부터 산출하였다.

통계처리

각 실험은 5회 이상 반복 측정 후 SPSS 12.0을 사용하여 통계처리 하였으며, 각각의 시료에 대해 평균±표준편차로 나타내었다. 각 시료군에 대한 유의차 검정은 분산분석을 한 후 $p < 0.05$ 수준에서 Duncan's multiple test에 따라 분석하였다.

결과 및 고찰

추출수율, 총 페놀 및 플라보노이드 함량

쑥 5종의 추출수율은 약쑥이 33.20%로 가장 높았고 다음으로 강화사자발쑥(31.62%), 섬애약쑥(31.60%), 개똥쑥(30.96%) 및 인진쑥(26.53%) 순서였다. 쑥 5종추출물의 총 페놀 화합물과 플라보노이드 함량을 측정한 결과 Fig. 1과 같이 인진쑥의 총 페놀 함량이 68.43±0.96 mg/g으로 유의적으로 높았으며, 다음으로는 섬애약쑥(53.70±1.07 mg/g), 개똥쑥(43.18±0.17 mg/g), 약쑥(38.29±0.49 mg/g) 및 강화사자발쑥(33.51±0.43 mg/g) 순서였다. 플라보노이드 함량도 인진쑥이 37.06±0.41 mg/g으로 가장 높았고, 섬애약쑥은 36.89±0.52 mg/g으로 인

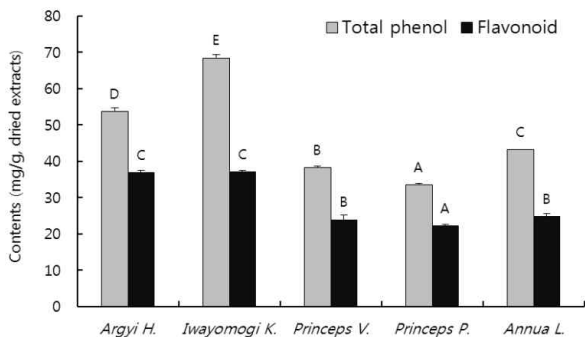


Fig. 1. Total phenol and flavonoid contents of different varieties *Artemisia*. Each value represents mean±SD, n=5. A-E Means with different superscript in the same column are significantly different at $p < 0.05$.

진쑥과 유의차가 없었다. 약쑥, 강화사자발쑥 및 개똥쑥의 플라보노이드 함량은 22.23±0.46~24.80±0.83 mg/g 범위였으며, 서로 간에 유의차가 없었다.

Jung 등[16]의 연구에서 인진쑥 메탄올 추출물의 총 페놀 함량은 60.07 mg/g이고, 플라보노이드 함량은 20.86 mg/g이었으며, Ha 등[10]은 섬애약쑥의 잎 에탄올 추출물의 페놀 함량이 23.08 mg/g으로 잎, 줄기 및 뿌리의 타 용매 추출물에 비해 높다고 하였다. 또한 Ryu 등[33]은 개똥쑥의 부위별 총 페놀 및 플라보노이드 함량은 잎의 물과 에탄올 추출물에서 각각 88.19 mg/g과 99.98 mg/g으로 줄기 추출물보다 2배 가량 높다고 하였다. 각각의 연구는 본 연구와 유사하거나 다소 차이를 나타내었는데, 이는 시료의 추출부위, 추출시간 및 온도 차이에 따른 결과라 사료된다.

식물 중 페놀 및 플라보노이드는 항암 및 항산화 등 다양한 생리활성을 나타내며, 한국에 자생하는 약용 식물 중 총 폴리페놀 함량이 30 mg/g 이상이면 항산화 활성이 뛰어나다고 보고된 바 있는데[11], 본 연구에서 쑥 5종의 총 페놀 함량을 측정한 결과 모두 30 mg/g 이상이므로 쑥의 항산화 활성이 높을 것으로 기대 되었다.

쑥이 함유한 페놀화합물 및 플라보노이드 물질 연구 중 Kang 등[17]은 쑥 열수 추출물에서 chlorogenic acid의 함량이 총 페놀물질의 약 40%를 차지한다고 보고하였으며, Ryu 등[34]은 개똥쑥에는 protocatechuic acid, chlorogenic acid, salicylic acid 등 총 12종의 페놀화합물과 3종의 플라보노이드 (rutin, quercetin 및 kaempferol) 물질이 검출되었다고 보고한 바 있다.

라디칼 소거활성

쑥 5종의 물 추출물의 DPPH 및 NO 라디칼 소거활성을 측정한 결과는 각각 Table 1 및 2와 같다. DPPH 라디칼 소거활성(Table 1)은 DPPH 반응액에 첨가된 시료의 농도가 증가됨에 따라 활성이 유의적으로 상승하였다. 섬애약쑥 및 약쑥은 10 µg/ml의 저농도에서 라디칼 소거활성이 30% 이상으로 높았다. 또한 섬애약쑥은 50 µg/ml, 인진쑥은 100 µg

Table 1. DPPH radical scavenging activity of different varieties *Artemisia* (%)

	Concentration (µg/ml)					
	10	25	50	100	200	400
<i>Argyi H.</i>	30.18±0.86 ^{aD}	36.91±2.65 ^{bD}	59.22±1.56 ^{cE}	67.81±0.82 ^{dD}	87.43±1.83 ^{eD}	92.31±1.23 ^{fD}
<i>Iwayomogi K.</i>	18.95±0.71 ^{aC}	19.75±2.64 ^{aB}	35.75±0.56 ^{bC}	50.13±0.76 ^{cC}	71.79±2.20 ^{dC}	90.96±0.38 ^{eD}
<i>Princeps V.</i>	30.13±0.83 ^{aD}	31.85±0.91 ^{aC}	40.86±1.71 ^{bD}	48.39±1.13 ^{cC}	66.10±2.06 ^{dB}	86.88±1.64 ^{cC}
<i>Princeps P.</i>	16.76±2.35 ^{aBC}	21.44±2.49 ^{bb}	27.67±2.80 ^{cB}	35.91±1.94 ^{dA}	52.66±2.25 ^{eA}	69.60±2.17 ^{fA}
<i>Annu L.</i>	15.54±3.82 ^{aAB}	19.50±4.45 ^{aB}	25.26±4.06 ^{bb}	37.00±2.84 ^{cA}	54.55±2.45 ^{dA}	76.92±3.62 ^{eB}
Ascorbic acid	13.05±1.51 ^{aA}	13.76±0.89 ^{aA}	16.78±1.51 ^{bA}	42.42±1.40 ^{cB}	96.52±1.17 ^{dE}	99.18±0.03 ^{eE}

Each value represents mean±SD, n=5.

^{a-f} Means with different superscripts in the same row are significantly different at $p < 0.05$.

^{A-E} Means with different superscript in the same column are significantly different at $p < 0.05$.

/ml, 약쭉, 강화사자발쭉 및 개똥쭉은 200 µg/ml 농도에서 라디칼 소거활성이 50% 이상이였으며, 400 µg/ml 농도에서는 섬애약쭉, 인진쭉 및 ascorbic acid만이 90% 이상의 소거활성을 나타내었다. 50 µg/ml까지의 저농도에서는 쭉 추출물들의 활성이 매우 높아 오히려 ascorbic acid보다 활성이 더 높았다. Kim 등[20]도 25~400 µg/ml 범위에서 사철쭉의 용매 분획별 DPPH 라디칼 소거활성을 측정한 결과 부단올과 핵산 추출물의 IC₅₀값이 각각 183.7 µg/ml, 230.1 µg/ml로 ascorbic acid (203.8 µg/ml)에 비해 활성이 더 우수하였다고 보고한 바 있다.

NO 라디칼 소거활성(Table 2)도 추출물의 농도가 증가함에 따라 200 µg/ml 농도까지는 유의적으로 상승하였으나, 400 µg/ml 농도에서는 활성이 다소 감소하였다. NO 라디칼 소거활성은 DPPH 라디칼 소거활성에 비하여 상대적으로 활성이 낮아 최고활성은 53% 정도에 불과하였다. 5종의 쭉 중 섬애약쭉이 50 µg/ml 농도까지는 타 쭉에 비해 유의적으로 높은 활성을 나타내었으나, 100~200 µg/ml 농도에서는 약쭉, 강화사자발쭉 및 개똥쭉의 활성이 49.22±2.04~53.61±1.58%로 50% 이상의 높은 활성을 나타내었으며, 이들 시료간의 활성에는 유의차가 없었다. 또한 모든 농도에서 쭉 5종의 NO 라디칼 소거활성이 ascorbic acid에 비해 현저히 높았다.

Choi 등[6]은 쭉 수집종의 항산화 활성을 측정한 결과 쭉 추출물의 총 페놀화합물 함량에 비례하여 라디칼 소거활성이

증가한다고 하였는데, 본 연구에서 DPPH 라디칼 소거능은 일치하였으나 NO 라디칼 소거활성은 다소 차이가 있었다. Kim 등[21]은 제주재래종 감귤류 10종에 대해서 수확시기별 총 폴리페놀 함량과 NO 라디칼 소거활성을 측정한 결과 총 폴리페놀 함량이 높지 않았던 병균, 감자, 인창귤이 모든 수확시기에서 50% 이상의 소거활성을 나타내는 것으로 보아 NO 라디칼 소거활성은 총 폴리페놀 함량과 상관성이 크지 않다고 보고한 바 있다. 이는 라디칼 종류에 따라 반응하는 시료의 생리활성 물질이나 그 결합정도가 달라지므로 라디칼 소거활성이 차이가 나는 것으로 사료된다[35].

FRAP법에 의한 항산화 활성

FRAP법은 DPPH 및 ABTS 라디칼 소거활성 측정법과는 다른 메커니즘의 항산화 측정법으로 시료가 Fe³⁺을 Fe²⁺로 환원시킬 때 Fe²⁺가 나타내는 흡광도를 측정하여 항산화 활성을 평가하는 방법이며[40], 대부분의 항산화제가 환원력을 가지고 있다는 점에 착안하여 고안되었다[1].

섬애약쭉, 인진쭉, 약쭉, 강화사자발쭉 및 개똥쭉 추출물의 FRAP법에 의한 항산화 활성을 FeSO₄ 당량으로 나타낸 결과는 Table 3과 같다. 쭉 5종 모두 추출물의 농도가 증가함에 따라서 FRAP법에 의한 항산화 활성도 유의적으로 증가하였다. 식물체의 환원력은 페놀화합물의 함량에 비례하며[37], FRAP법에 의한 환원력도 시료의 총 페놀 함량이 높을수록

Table 2. Nitric oxide (NO) radical scavenging activity of different varieties *Artemisia* (%)

	Concentration (µg/ml)					
	10	25	50	100	200	400
<i>Argyi H.</i>	14.62±1.29 ^{aD}	26.27±3.33 ^{bD}	38.35±3.33 ^{cC}	43.08±1.77 ^{dC}	39.97±1.80 ^{cdC}	36.58±1.22 ^{cB}
<i>Iwayomogi K.</i>	10.93±1.60 ^{aC}	22.17±1.27 ^{bCD}	31.57±1.82 ^{eB}	37.67±1.78 ^{dB}	36.15±1.34 ^{dB}	31.33±2.08 ^{eB}
<i>Princeps V.</i>	7.38±0.51 ^{aB}	18.57±3.95 ^{bBC}	37.71±3.05 ^{cC}	53.61±1.58 ^{dE}	52.80±2.35 ^{dD}	49.15±6.34 ^{dD}
<i>Princeps P.</i>	4.74±0.37 ^{aA}	18.37±0.12 ^{bBC}	35.77±0.98 ^{cC}	52.23±1.73 ^{eDE}	50.12±0.73 ^{eD}	45.90±3.56 ^{dCD}
<i>Annua L.</i>	12.73±1.06 ^{aCD}	16.75±0.89 ^{bB}	30.84±0.81 ^{eB}	49.22±2.04 ^{eD}	50.16±0.36 ^{eD}	43.07±0.36 ^{dC}
Ascorbic acid	6.07±1.68 ^{aAB}	8.68±2.61 ^{abA}	9.73±0.94 ^{abA}	19.99±1.68 ^{cA}	18.83±3.52 ^{cA}	11.09±0.00 ^{bA}

¹⁾Each value represents mean±SD, n=5.

^{a-e}Means with different superscripts in the same row are significantly different at *p*<0.05.

^{A-E}Means with different superscript in the same column are significantly different at *p*<0.05.

Table 3. Ferric reducing antioxidant power (FRAP) of different varieties *Artemisia* (M/100 g)

	Concentration (µg/ml)					
	10	25	50	100	200	400
<i>Argyi H.</i>	3.45±0.24 ^{aE}	11.43±0.28 ^{bD}	23.77±0.31 ^{cE}	50.39±0.83 ^{dD}	95.14±1.64 ^{eC}	177.22±3.78 ^{fD}
<i>Iwayomogi K.</i>	5.18±0.50 ^{aF}	14.81±0.42 ^{bE}	31.77±0.31 ^{cF}	64.33±0.54 ^{dE}	126.06±2.70 ^{eD}	210.40±0.77 ^{fE}
<i>Princeps V.</i>	0.97±0.17 ^{aB}	6.16±0.28 ^{bB}	15.04±0.20 ^{cB}	33.08±0.53 ^{dC}	64.66±0.50 ^{eB}	130.17±1.24 ^{fC}
<i>Princeps P.</i>	0.48±0.26 ^{aA}	5.21±0.53 ^{bA}	11.83±0.11 ^{cA}	26.35±0.17 ^{dA}	52.29±0.60 ^{eA}	104.08±1.22 ^{fA}
<i>Annua L.</i>	1.40±0.26 ^{aC}	7.09±0.10 ^{bC}	15.78±0.13 ^{cC}	31.60±0.90 ^{dB}	62.61±0.43 ^{eB}	121.40±1.76 ^{fB}
Ascorbic acid	2.17±0.09 ^{aD}	11.27±0.36 ^{bD}	19.96±0.42 ^{cD}	51.34±0.29 ^{dF}	173.80±2.09 ^{eE}	243.61±5.50 ^{fF}

Each value represents mean±SD, n=5.

^{a-f}Means with different superscripts in the same row are significantly different at *p*<0.05.

^{A-F}Means with different superscript in the same column are significantly different at *p*<0.05.

활성이 높다고 보고되어 있는데[26], 본 연구에서도 총 페놀 및 플라보노이드 함량이 높았던 인진쑥 및 섬애약쑥의 활성이 타 쑥에 비해 현저히 높았다. 특히, 인진쑥은 약쑥, 강화쑥 및 개똥쑥에 비해서는 약 2배 더 높은 활성을 나타내었다. 인진쑥과 섬애약쑥은 10~100 µg/ml의 저농도에서는 ascorbic acid에 비해 활성이 더 높았다.

Ryu 등[34]은 개똥쑥 물 및 에탄올 추출물의 FRAP는 시료 첨가 농도에 따라 유의적으로 증가하였으며, 줄기 물 추출물의 활성이 가장 높았다고 보고 하였다. 또한 Ha 등[10]은 섬애약쑥의 잎, 줄기 및 뿌리의 60% 에탄올 추출물을 FRAP을 측정 한 결과 잎 추출물이 줄기 및 뿌리 추출물에 비하여 2배 정도 활성이 높았다고 보고 한 바 있다. 이들의 결과는 모두 쑥 추출물의 총 페놀 및 플라보노이드 함량에 의존적인 것으로 보고 하고 있는데, 이는 본 연구결과와도 일치하였다.

β-Carotene linoleic acid system을 이용한 항산화 활성

β-carotene linoleic acid system을 이용한 항산화 활성 측정법은 β-carotene의 황색이 lipid peroxy radical (LOO·)의 첨가에 의하여 탈색 되는 정도를 측정함으로써 산화정도를 측정하는 방법이다[5].

10~400 µg/ml 농도의 쑥 추출물이 β-carotene linoleic acid system계에서 항산화 활성에 미치는 영향을 분석한 결과는 Table 4와 같다. 10 µg/ml의 저농도에서는 약쑥이 13.70±2.53%로 가장 활성이 높았으며, ascorbic acid와 유의차

가 없었다. 시료의 첨가량이 증가함에 따라 쑥 5종과 ascorbic acid 모두 항산화 활성이 유의적으로 증가하였으며, 100 µg/ml 농도에서 섬애약쑥과 인진쑥이 각각 60.54±0.55%와 56.90±1.43%의 높은 항산화 활성을 나타내었다. 400 µg/ml 농도에서는 인진쑥과 강화사자발쑥이 각각 95.83±1.14% 및 95.35±1.54%의 탈색방지 효과를 보였다. 또한 5종의 쑥 모두 10~400 µg/ml 농도에서는 positive control로 이용된 ascorbic acid (16.97±4.74~64.35±2.63%)보다 활성이 더 높았다.

항산화 활성이 좋다고 알려진 블루베리와 라즈베리 매탄올 추출물의 β-carotene 탈색방지 효과는 10 mg/ml 농도에서 각각 53.80%와 36.41%였으며[2], 유자과피 열수 추출물은 10,000 µg/ml 농도에서 24.40~38.17%의 활성을 나타내었다고 보고 되어 있는데[15], 본 연구결과 쑥 열수 추출물은 이들 추출물에 비해 활성이 월등히 높았다.

암세포 증식억제 활성

쑥 5종 추출물이 인체 자궁경부 상피암 세포인 HeLa 및 유방암 세포인 MCF-7의 증식억제에 미치는 영향을 알아보기 위하여 추출물의 농도를 10~400 µg/ml 범위로 달리하여 CCK-8 assay를 실시 하였다(Table 5, 6). Table 5와 같이 쑥의 HeLa 세포에 대한 증식억제 활성은 추출물의 첨가 농도가 증가됨에 따라 유의적으로 상승하였으며, 100 µg/ml 농도에서 개똥쑥이 30% 이상으로 활성이 높았고, 200 µg/ml 농도에서는 섬애약쑥, 인진쑥 및 개똥쑥에서 모두 40% 이상의 HeLa

Table 4. Antioxidant activity of water extracts from different varieties *Artemisia* in β-carotene linoleic acid system (%)

	Concentration (µg/ml)					
	10	25	50	100	200	400
<i>Argyi H.</i>	5.82±0.27 ^{aA}	26.81±0.21 ^{bE}	42.08±0.67 ^{cE}	60.54±0.55 ^{dD}	77.61±1.19 ^{eE}	94.59±1.91 ^{fCD}
<i>Iwayomogi K.</i>	4.11±0.45 ^{aA}	17.82±1.35 ^{bC}	30.94±2.43 ^{cBC}	56.90±1.43 ^{dD}	74.62±1.12 ^{eD}	95.83±1.14 ^{fD}
<i>Princeps V.</i>	13.70±2.53 ^{aB}	15.80±0.32 ^{aB}	28.98±0.09 ^{bB}	41.88±1.21 ^{cB}	60.12±2.22 ^{dB}	89.74±2.85 ^{eB}
<i>Princeps P.</i>	5.79±0.47 ^{aA}	13.30±0.60 ^{bA}	35.54±1.85 ^{cD}	46.24±0.21 ^{dC}	70.86±0.95 ^{eC}	95.35±1.54 ^{fCD}
<i>Annua L.</i>	5.34±0.32 ^{aA}	18.62±1.50 ^{bCD}	31.88±2.60 ^{cC}	41.99±4.02 ^{dB}	61.95±2.13 ^{eB}	91.91±3.21 ^{fC}
Ascorbic acid	16.97±4.74 ^{aB}	19.73±0.47 ^{abD}	21.57±0.95 ^{bcA}	24.42±2.04 ^{ca}	34.49±1.94 ^{dA}	64.35±2.63 ^{eA}

Each value represents mean±SD, n=5.

^{a-f}Means with different superscripts in the same row are significantly different at $p < 0.05$.

^{A-E}Means with different superscript in the same column are significantly different at $p < 0.05$.

Table 5. Growth inhibition rates of different varieties *Artemisia* on HeLa human cervix epitheloid carcinoma cell (%)

	Concentration (µg/ml)					
	10	25	50	100	200	400
<i>Argyi H.</i>	1.89±1.10 ^{aA}	12.14±1.25 ^{bC}	16.57±0.76 ^{cD}	26.53±0.61 ^{dC}	43.30±2.32 ^{eC}	74.52±0.35 ^{fC}
<i>Iwayomogi K.</i>	9.31±1.10 ^{aC}	13.29±0.11 ^{bC}	13.23±0.96 ^{bC}	24.11±0.27 ^{cB}	45.38±1.96 ^{dC}	82.60±2.47 ^{eD}
<i>Princeps V.</i>	5.78±0.20 ^{aB}	7.59±0.96 ^{bb}	10.56±0.99 ^{cB}	14.27±0.18 ^{dA}	18.69±1.06 ^{eA}	63.67±0.30 ^{fB}
<i>Princeps P.</i>	2.12±0.81 ^{aA}	5.03±0.05 ^{ba}	6.65±1.32 ^{bA}	13.24±0.48 ^{cA}	33.50±0.82 ^{dB}	76.89±1.31 ^{eC}
<i>Annua L.</i>	12.29±1.37 ^{aD}	12.45±0.60 ^{aC}	24.92±0.78 ^{bE}	37.18±1.11 ^{cD}	44.69±0.97 ^{dC}	54.12±0.66 ^{eA}

Each value represents mean±SD, n=5.

^{a-f}Means with different superscripts in the same row are significantly different at $p < 0.05$.

^{A-E}Means with different superscript in the same column are significantly different at $p < 0.05$.

Table 6. Growth inhibition rates of different varieties *Artemisia* on MCF-7 human breast adenocarcinoma cell (%)

	Concentration ($\mu\text{g/ml}$)					
	10	25	50	100	200	400
<i>Argyi H.</i>	10.42 \pm 0.06 ^{aD}	18.89 \pm 0.08 ^{bD}	23.24 \pm 0.07 ^{cD}	27.00 \pm 0.13 ^{dC}	35.17 \pm 0.59 ^{eC}	81.88 \pm 0.89 ^{fC}
<i>Iwayomogi K.</i>	2.18 \pm 0.22 ^{aA}	5.65 \pm 0.74 ^{bA}	13.90 \pm 0.04 ^{cA}	21.56 \pm 0.57 ^{dB}	37.65 \pm 0.94 ^{eD}	61.94 \pm 0.31 ^{fB}
<i>Princeps V.</i>	11.25 \pm 0.37 ^{aD}	16.76 \pm 0.76 ^{bC}	16.64 \pm 0.21 ^{bB}	18.16 \pm 1.91 ^{b^CA}	20.32 \pm 0.25 ^{cA}	36.72 \pm 2.12 ^{dA}
<i>Princeps P.</i>	8.71 \pm 0.04 ^{aC}	10.57 \pm 0.06 ^{bB}	13.91 \pm 0.03 ^{cA}	22.38 \pm 0.83 ^{dB}	37.98 \pm 0.30 ^{eD}	83.35 \pm 0.55 ^{fC}
<i>Annua L.</i>	7.39 \pm 1.26 ^{aB}	9.77 \pm 0.87 ^{bB}	17.01 \pm 0.07 ^{cC}	21.90 \pm 0.90 ^{dB}	33.41 \pm 0.08 ^{eB}	63.35 \pm 0.95 ^{fB}

Each value represents mean \pm SD, n=5.

^{a-f}Means with different superscripts in the same row are significantly different at $p < 0.05$.

^{A-E}Means with different superscript in the same column are significantly different at $p < 0.05$.

세포의 성장억제 활성을 나타내었다. 반면에 약쭉은 200 $\mu\text{g/ml}$ 농도에서 20% 미만으로 활성이 낮았다. 400 $\mu\text{g/ml}$ 농도에서 인진쭉은 80% 이상의 활성을 나타내었고, 섬애약쭉 및 강화사자발쭉은 70% 이상의 높은 활성을 나타내었다.

MCF-7 세포에 대한 증식억제 활성은 Table 6과 같다. 5종의 쭉 중 섬애약쭉은 25~100 $\mu\text{g/ml}$ 농도에서 타 쭉에 비해 유의적으로 활성이 높았다. 200 $\mu\text{g/ml}$ 농도에서는 약쭉을 제외한 모든 쭉의 활성은 30% 이상이었고, 400 $\mu\text{g/ml}$ 농도에서는 강화사자발쭉과 섬애약쭉이 각각 83.35 \pm 0.55 및 81.88 \pm 0.89%로 80% 이상의 유방암 증식억제 활성을 보였다.

Ryu [34] 등은 개똥쭉의 잎과 줄기 추출물이 위암 세포인 AGS 및 자궁경부 상피암 세포인 HeLa에 대하여 강한 증식억제 활성이 있으며, 유방암 세포인 MCF-7과 MDA-MB-231의 증식 또한 억제하는 것으로 보고한 바 있다[33]. 인진쭉 추출물은 300 $\mu\text{g/ml}$ 농도에서 위암 세포인 NCI-N87과 결장암 세포인 HT-29에 대해 각각 67% 및 49%의 증식억제 활성이 있으며 [16], 사철쭉은 폐암 세포인 A549에 대해 높은 증식억제 활성이 보고되어 있다[27]. 또한 큰비쭉 용매별 분획물은 인간유래 백혈암 세포인 HL-60에서 apoptosis유도에 의한 세포자멸사를 통해 세포의 증식을 억제하는데 [19], 이러한 쭉 추출물의 암세포 증식억제능은 시료 중에 함유된 페놀화합물에 의한 것으로 페놀화합물이 종양괴사 인자를 활성화시키기 때문으로 보고되어 있다[39].

감사의 글

본 연구는 농림수산식품부에서 시행한 농림기술개발사업 (110021-3)의 연구과제로 수행된 결과의 일부이며 이에 감사드립니다.

References

1. Benzie, I. F. F. and Strain, J. J. 1996. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "antioxidant power": The FRAP assay. *Anal. Biochem.* **239**, 70-76.
2. Blois, M. S. 1958. Antioxidant determination by the use of a stable free radical. *Nature* **181**, 1199-1200.
3. Cho, H. Y., Yoon, S. Y., Park, J. J., Yun, K. W. and Park, J. M. 2006. Antimicrobial activity of water soluble extract from *Artemisia princeps* var. *orientalis*. *Korean J. Biotechnol. Bioeng.* **21**, 129-132.
4. Cho, Y. H. and Chiang, M. H. 2001. Essential oil composition and antibacterial activity of *Artemisia capollaris*, *Artemisia argyi* and *Artemisia princeps*. *Korean J. Intl. Agric.* **13**, 313-320.
5. Choi, J. I., Kim, Y. J., Kim, J. H., Song, B. S., Yoon, Y., Byun, M. W., Kwon, J. H., Chun, S. S and Lee, J. W. 2009. Antioxidant activities of the extract fractions from *suaeda japonica*. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* **38**, 131-135.
6. Choi, Y. M., Chung, B. H., Lee, J. S. and Cho, Y. G. 2006. The Antioxidant activities of *Artemisia spp.* collections. *Korean J. Crop Sci.* **51**, 209-214.
7. Chung, B. H. and Cho, Y. G. 2006. Comparison of antioxidant activities in mugwort teas and commercial teas. *J. Korean Crop Sci.* **51**, 215-219.
8. Fabien, J., Veronique, M., Jean, M. B., Mechel, D. and Josette, V. 2002. Antibacterial and antioxidant activities of *Artemisia annua* essential oil. *Fitoterapia.* **73**, 532-535.
9. Gutfinger, T. 1958. Polyphenols in olive oils. *JAOCS.* **58**, 966-968.
10. Ha, G. J., Jeong, C. H., Jeong, H. R., Heo, H. J., Shon, G. M., Rho, C. W and Kim, N. K. 2011. Antioxidant activities from the different parts of *artemisia argyi* H. using an *in vitro* system. *J. Agric. Life Sci.* **45**, 109-117.
11. Heo, S. I., Jung, M. J., Kim, N. K. and Wang, M. H. 2007. Antioxidant activities and tyrosinase inhibitory effects of Korean medicinal plants. *J. Appl. Biol. Chem.* **50**, 115-119.
12. Hong, J. H., Jeon, J. L., Lee, J. H. and Lee, I. S. 2007. Antioxidative properties of *Artemisia princeps* Pamp. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* **36**, 657-662.
13. Horemans, N., Foyer, C. H., Potters, G. and Asard, H. 2000. Ascorbate function and associated transport systems in plant. *Plant Physiol. Biochem.* **38**, 531-540.
14. Jin, Y. X., Yoo, Y. S., Han, E. K., Kang, I. J. and Chung, C. K. 2008. *Artemisia capillaris* and *Paeclonyces japonica* stimulate lipid metabolism and reduce hepatotoxicity induced carbon tetrachloride in rats. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* **37**, 548-554.
15. Jung, C. H., Choi, S. G. and Heo, H. J. 2008. Analysis of nutritional compositions and antioxidative activities of

- Korean commercial blueberry and raspberry. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* **37**, 1375-1381.
16. Jung, M. J., Yin, Y., Heo, I. S. and Wang, M. H. 2008. Antioxidant and anticancer activities of extract from *artemisia capillares*. *Korean J. Pharmacogn.* **39**, 194-198.
 17. Kang, Y. H., Park, Y. K., Oh, S. R. and Moon, K. D. 1995. Studies on the physiological functionality pine needle and mugwort extract. *Korean J. Food Sci. Technol.* **27**, 978-984.
 18. Kim, J. O., Kim, Y. S., Lee, J. H., Kim, M. N., Rhee, S. H., Moon, S. H. and Park, K. Y. 1992. Antimutagenic effect of the major volatile compounds identified from mugwort (*Artemisia asiatica naka*) leaves. *J. Korean Soc. Food Nutr.* **21**, 308-313.
 19. Kim, K. N., Lee, J. A., Yoon, W. J., Kim, J. Y., Song, G. P. and Park, S. Y. 2007. The cytotoxicity of *Artemisia Fukudo* extracts against HL-60 cells. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* **36**, 819-824.
 20. Kim, K. S., Lee, S. H., Lee, Y. S., Jung, S. H., Park, Y. M., Shin, K. H. and Kim, B. K. 2003. Anti-oxidant activities of the extracts from the herbs of artemisia apiacea. *J. Ethnopharmacology.* **85**, 69-72.
 21. Kim, Y. D., Mahinda, S., Koh, K. S., Jeon, Y. J. and Kim, S. H. 2009. Reactive oxygen species scavenging activity of jeju native citrus peel during maturation. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* **38**, 462-469.
 22. Klayman, D. L., Lin, A. J., Acton, N., Scovill, J. P., Hoch, J. M., Milhous, W. K., Theohardes, A. D. and Dobek, A. S. 1984. Isolation of artemisinin (qinghaosu) from *Artemisia annua* growing in the United States. *J. Nat. Prod.* **47**, 715-717.
 23. Kwon, M. C., Kim, C. H., Kim, H. S., Lee, S. H., Chio, G. P., Park, U. Y., You, S. G. and Lee, H. Y. 2007. Optimal extract condition for the enhancement of anticancer activities of *Artemisia princeps* Pampanini. *Korea J. Med Crop. Sci.* **15**, 233-240.
 24. Lee, C. B. 1997. *Korea botanical book* pp. 292, Jin Myung Publication Co., Seoul, Korea.
 25. Lee, H. J., Kim, K. H., Park, J. K. and Hwang, E. H. 2008. Effects of *Artemisia capillaris* thunberg on apoptosis in HeLa cells. *Korean J. Nutr.* **41**, 22-30.
 26. Lee, H. R., Jung, B. R., Park, J. Y., Hwang, I. W., Kim, S. K., Choi, J. U., Lee, S. H. and Chung, S. K. 2008. Antioxidant activity and total phenolic contents of grape juice products in the Korean market. *Korean J. Food Preserv.* **15**, 445-449.
 27. Lee, M. K., Choi, G. P., Ryu, L. H., Lee, G. Y., Yu, C. Y. and Lee, H. Y. 2004. Enhanced immune activity and cytotoxicity of *Artemisia capillaris* Thunb. extracts against human cell line. *Korean J. Medicinal. Crop Sci.* **12**, 36-42.
 28. Lee, S. D., Park, H. S., Kim, D. W. and Bang, B. H. 2000. Bioactive constituents and utilities of *Artemisia sp* as medicinal herb and food stuff. *Korean J. Food Nutr.* **13**, 490-505.
 29. Lee, S. J., Chung, H. Y., Lee, I. K. and Yoo, I. D. 1999. Isolation and identification of flavonoid from ethanol extracts of *Artemisia vulgaris* and their antioxidant activity. *Korean J. Food Sci. Technol.* **31**, 815-822.
 30. Miller, H. E. 1971. A simplified method for the evaluation of antioxidants. *JAOCs.* **18**, 439-452.
 31. Moreno, M. I. N., Isla, M. I., Sampietro, A. R. and Vattuone, M. A. 2000. Comparison of the free radical scavenging activity of propolis from several region Argentina. *J. Ethnopharmacol.* **71**, 109-114.
 32. Rho, T. H. and Seo, G. S. 1993. Growth characteristics and chemical components in local collection of *Artemisia sp*. *Korean J. Med Crop. Sci.* **1**, 171-177.
 33. Ryu, J. H., Kim, R. J., Lee, S. J., Kim, I. S., Lee, H. J. and Sung, N. J. 2011. Nutritional properties and biological activities of artemisia annua L. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* **40**, 163-170.
 34. Ryu, J. H., Lee, S. J., Kim, M. J., Shin, J. H., Kang, S. K., Cho, K. M. and Sung, N. J. 2011. Antioxidant and anticancer activities of *Artemisia annua* L. and determination of functional compounds. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* **41**, 509-516.
 35. Shin, J. H., Lee, S. J., Seo, J. K., Cheon, E. W. and Sung, N. J. 2008. Antioxidant activity of hot-water extract from yuzu (*Citrus junos* SIEB ex TANAKA) peel. *J. Life Sci.* **18**, 1745-1751.
 36. Song, H. S. and Moon, K. Y. 2006. *In vitro* antioxidant activity profiles of β -glucans isolated from yeast *saccharomyces cerevisiae* and mutant *saccharomyces cerevisiae* IS2. *Food Sci. Biotechnol.* **15**, 437-440.
 37. Tabart, J., Kevers, C., Pincemail, J., Defraigne, J. O. and Dommes, J. 2009. Comparative antioxidant capacities of phenolic compounds measured by various tests. *Food Chem.* **113**, 1226-1233.
 38. Tariq, M., Mossa, J. S., Al-Yahya, M. A., Parmar, N. S. and Ageel, A. M. 1987. Evaluation of *Artemisia inculta* for anti-inflammatory activity in rats. *Am J. Chin. Med.* **15**, 127-132.
 39. Xu, Q., Mori, H., Sakamoto, O., Uesugi, Y. and Koda, A. 1989. Immunological mechanisms of antitumor activity of some kinds of crude drugs on tumor necrosis factor production. *Int. J. Immunopharmacol.* **11**, 607-613.
 40. Yoo, K. M., Kim, D. O. and Lee, C. Y. 2007. Evaluation of different methods of antioxidant measurement. *Food Sci. Biotechnol.* **16**, 177-182.

초록 : 국내산 품종별 쑥의 항산화 및 암세포성장 억제활성김라정¹ · 강민정² · 황초롱² · 정우재² · 신정혜^{2*}¹경상대학교 의생명과학과, ²(재)남해마늘연구소

섬애약쑥, 인진쑥, 약쑥, 강화사자발쑥 및 개똥쑥 열수 추출물을 제조한 다음 항산화 및 항암활성을 비교 분석하였다. 5종의 쑥 추출물 중 총 페놀 함량은 인진쑥에서 유의적으로 가장 높았으며, 다음으로 섬애약쑥, 개똥쑥, 약쑥 및 강화사자발쑥 순이었다. 플라보노이드 함량도 인진쑥이 가장 높았고, 섬애약쑥은 인진쑥과 유의차가 없었다. 추출물의 농도를 달리하여 항산화능을 측정된 결과, DPPH 라디칼 소거능은 50 µg/ml 농도에서 섬애약쑥의 활성이 가장 높았고, NO 라디칼 소거능은 200 µg/ml 농도에서 약쑥, 강화사자발쑥 및 개똥쑥이 약 50% 이상의 활성을 나타내었으며, 이들 시료간에 유의차는 없었다. FRAP법에 의한 항산화능은 섬애약쑥 및 인진쑥에서 높게 나타났으며, β-carotene 존재 하에서의 항산화능 또한 섬애약쑥 및 인진쑥이 100 µg/ml 농도에서 50% 이상의 높은 활성을 나타내었다. 400 µg/ml 농도에서 인체 자궁경부 상피암 세포인 HeLa의 증식억제 활성은 인진쑥이 80% 이상으로 활성이 높았고, 유방암 세포인 MCF-7의 대해서는 강화사자발쑥과 섬애약쑥이 80% 이상의 증식억제 활성을 보였다. 이상의 결과, 쑥 추출물은 높은 항산화 활성과 암세포 증식억제 활성을 나타내었으며, 특히 항산화 활성은 ascorbic acid 이상의 높은 활성을 나타내어 천연 기능성 식품 소재로써 활용 가치가 높을 것으로 생각된다.