

## 명월초 추출물의 항산화 활성

김 경 진 · 김 아 현\* · 김 지 현\* · 김 도 희\* · 이 서 린\* · 박 지 현\* · 임 지 원 · 하 지 훈 · 박 수 남†

서울과학기술대학교 정밀화학과, 화장품종합기술연구소, \*반포고등학교  
(2015년 6월 10일 접수, 2015년 6월 16일 수정, 2015년 6월 22일 채택)

### Antioxidant Activities of *Gynura procumbens* Extracts

Kyeong Jin Kim, Ah Hyun Gim\*, Ji Hyun Kim\*, Do Hee Kim\*, Seo Rin Lee\*,  
Jee Hyun Park\*, Ji Won Lim, Ji Hoon Ha, and Soo Nam Park†

Department of Fine Chemistry, Seoul National University of Science and Technology,  
232 Gongneung-ro, Nowon-gu, Seoul 139-743, Korea

\*Seoul Ban-po high school, 71 Gomurae-ro, Seocho-gu, Seoul 137-801 Korea

(Received June 10, 2015; Revised June 16, 2015; Accepted June 22, 2015)

**요약:** 본 연구에서는 명월초 추출물의 메탄올 분획물과 아글리콘 분획물을 제조하였고, 이들에 대한 항산화 활성을 측정하였다. 항산화 활성 측정은 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazil (DPPH) radical을 이용한 프리 라디칼 소거활성, 루미놀 발광법을 이용한 활성산소 소거활성(총 항산화능) 및 활성산소( $^1O_2$  등)로 유도된 세포손상에 있어서 세포 보호 효과를 측정하였다. 명월초 추출물의 프리 라디칼 소거활성(FSC<sub>50</sub>)은 메탄올 분획이 90.25  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 이고, 당을 제거한 아글리콘 분획은 81.38  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 를 나타내었다. 총 항산화능(OSC<sub>50</sub>)은 메탄올 분획 16.96  $\mu\text{g}/\text{mL}$ , 아글리콘 분획 12.30  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 로, 프리 라디칼 소거활성 및 활성산소 소거활성 모두 아글리콘 분획에서 큰 활성을 나타내었다.  $^1O_2$ 로 유도된 사람 적혈구의 세포손상에 대한 보호 효과는  $\tau_{50}$  값으로 확인하였다. 5  $\mu\text{g}/\text{mL}$  농도에서 메탄올 분획 및 아글리콘 분획의  $\tau_{50}$ 이 각각 36.7 및 76.1 min으로, 비교 물질인 (+)- $\alpha$ -tocopherol (35.4 min)과 비교했을 때 아글리콘 분획이 약 2배 더 큰 세포 보호 효과를 나타내었다. 이러한 결과들은 명월초 추출물의 아글리콘 분획물이 항노화 관련 화장품에 있어서 항산화소재로서 응용가능성이 있음을 시사하였다.

**Abstract:** In this study, the methanol fraction and aglycone fraction were made from *Gynura procumbens* (*G. procumbens*) extracts and their antioxidative effects were investigated. The free radical scavenging activity (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl, DPPH), total antioxidant capacity by luminol-dependent chemiluminescence assay, and the protective effects against reactive oxygen species (ROS) in erythrocytes were measured to evaluate the antioxidative activities of the extracts. Free radical scavenging activities (FSC<sub>50</sub>) of the methanol fraction and aglycone fraction were 90.25 and 81.38  $\mu\text{g}/\text{mL}$ , respectively. Total antioxidant capacities (OSC<sub>50</sub>) of the methanol fraction and aglycone fraction were 16.96 and 12.30  $\mu\text{g}/\text{mL}$ , respectively. The free radical scavenging activity and total antioxidant capacity of the aglycone fraction were greater than those of methanol fraction. The cellular protective effect on the  $^1O_2$ -induced cellular damage of human erythrocytes was confirmed by  $\tau_{50}$  value. The  $\tau_{50}$  value of the methanol fraction and agly-

† 주 저자 (e-mail: snpark@seoultech.ac.kr)  
call: 02)970-6451

cone fraction were 36.7 min and 76.1 min, respectively in 5  $\mu\text{g/mL}$ , and the aglycone fraction showed about 2 times higher cellular protective effect than (+)- $\alpha$ -tocopherol (35.4 min). These results indicate that the aglycone fraction of *G. procumbens* extracts has application possibility as antioxidant ingredient of cosmetic.

**Keywords:** reactive oxygen species, free radical, antioxidant, *Gynura procumbens*, cellular protective effects

## 1. 서 론

피부가 태양광선에 노출되면 피부에서는 자외선의 작용으로 프리 라디칼 또는 활성산소종(reactive oxygen species, ROS)이 생성된다. 활성산소종에는 superoxide anion radical ( $\text{O}_2^{\cdot-}$ )이나 hydroxyl radical ( $\cdot\text{OH}$ )과 같은 산소 라디칼들과 singlet oxygen ( $^1\text{O}_2$ ) 및 hydrogen peroxide ( $\text{H}_2\text{O}_2$ )와 같은 비라디칼들 그리고 이들 활성산소종과 생체 분자들의 반응으로부터 생성되는 peroxy radical ( $\text{ROO}\cdot$ )이나 alkoxy radical ( $\text{RO}\cdot$ ) 등이 있다. 이러한 활성산소종은 정상적인 대사과정 뿐만 아니라, 자외선, 스트레스, 세균감염, 흡연 및 공해와 같은 여러 환경적 요인에 의해서도 생성되어 생체 세포 및 조직에 산화적 손상을 일으키게 된다. 특히 자외선으로 유도된 피부에서의 활성산소 생성은 피부노화의 주요한 원인이며, 이러한 자외선에 의한 피부 노화를 광노화라고 한다[1-4].

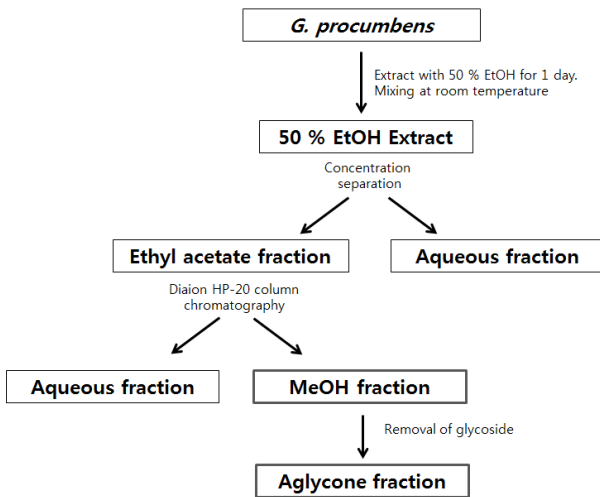
활성산소 중에서  $^1\text{O}_2$ 는 수명이 짧고 반응성이 매우 큰 분자이다.  $^1\text{O}_2$ 은 피부가 자외선에 노출되면 포르피린과 같은 광증감반응을 일으키는 분자가 자외선을 흡수하여 삼중항 상태로 전환된 후 산소에 에너지를 전달함으로써 생성된 활성산소종이다.  $^1\text{O}_2$ 은 특히 광노화에 있어서 핵심적인 역할을 한다. 광증감반응 단계에서  $^1\text{O}_2$ 과 함께 생성된  $\text{O}_2^{\cdot-}$ 는 superoxide dismutase에 의해  $\text{H}_2\text{O}_2$ 로 전환된다. 과산화수소는 이어서 생체 내에서 철이나 구리 이온과 같은 전이금속의 작용으로 산화 반응성이 매우 큰  $\cdot\text{OH}$ 을 생성시킨다(Fenton 반응).  $^1\text{O}_2$ 과 함께  $\cdot\text{OH}$ 은 활성산소 중에서도 반응성이 매우 큰 활성산소로 생체 구성성분이나 세포 손상 또는 광노화에서 주도적인 역할을 한다. 이들  $^1\text{O}_2$ 과  $\cdot\text{OH}$ 은 사람 피부 세포에 있어서 지질과산화, 단백질 산화 및 DNA 손상을 일으킬 뿐만 아니라 사람 피부에서 탄력을 유지해주는 콜라겐 섬유 등 진피의 세포외 매트릭스 구성 단백질들을 파괴시키는 분해효소인 matrix metalloproteinases (MMPs), collagenase 등을 발현

시키는 것으로 보고되고 있다[5-7].

하지만 피부에는 자외선과 활성산소의 광산화적 공격으로부터 피부 세포 및 조직을 지키는 항산화제가 있다. 항산화제에는 superoxide dismutase (SOD), catalase 및 glutathione peroxidase/reductase 등의 효소적 항산화제와 비타민 E, 비타민 C, 유비퀴놀, 카로티노이드, 글루타치온 및 플라보노이드 등의 비효소적 항산화제가 있다. 이들 항산화제들은 피부에서 상호 협력적인 작용으로 항산화 방어망을 구축하여 활성산소로부터 피부 세포 및 조직을 보호하는 역할을 한다. 하지만 자외선에 계속해서 피부가 노출되면 피부에는 과잉의 활성산소가 생성되고 이들 활성산소들은 피부의 항산화제들을 파괴시킴으로써 항산화 방어망을 붕괴시킨다. 이어서 세포 구성 성분인 지질, 단백질 및 DNA 등의 산화적 손상과 진피 매트릭스 고분자의 파괴 등으로 피부노화는 가속화된다[8-11]. 따라서 피부 광노화를 억제하기 위해서는 피부 항산화 방어망이 붕괴되지 않도록 적절한 양의 필요한 항산화제가 피부에 존재해야 한다. 이러한 항산화 방어망 구축에 적절한 새로운 항산화제의 개발은 피부 광노화를 억제하는 측면에서 매우 중요한 것으로 언급되고 있다[12].

명월초(*G. procumbens*)는 국화과에 속하는 다년생 식물로서, 인도네시아, 태국 그리고 말레이시아와 같은 동남아 전역에 많이 분포되어 있다. 이 명월초는 당뇨, 염증, 류머티스염 및 항암 등에 효능이 있는 것으로 알려져 있는 전통의학 생약제로 사용되고 있다. 또한 이를 가지고 다양한 피부질환의 치료 목적을 위한 쥘질약으로도 사용된다는 보고도 있다. 현재 당뇨, 항염증, 고혈압 및 항암 등에서 명월초 추출물이 효과가 있다는 보고들이 있다[13-19]. 하지만 명월초를 화장품 항산화소재로서 응용하기 위한 연구는 미흡한 실정이다[20-21].

본 논문에서는 명월초의 추출물을 가지고 피부에서의 광노화에 대한 항산화 효과를 알아보기 위하여 DPPH로 유도된 free radical 소거활성과  $\text{Fe}^{3+}$ -EDTA/ $\text{H}_2\text{O}_2$ 계에서



**Figure 1.** Scheme for preparation of the fractions obtained from *G. procumbens*.

생성되는 다양한 ROS ( $H_2O_2$ ,  $\cdot OH$ ,  $O_2^{\cdot -}$ )에 대한 소거활성 및  $^1O_2$ 로 유도된 세포손상에 대한 보호 효과를 확인하였다. 따라서, 이를 통하여 명월초가 갖는 새로운 항산화능을 확인하고, 명월초 추출물이 항산화 작용을 갖는 화장품원료로서 응용 가능성이 있는지를 조사하고자 하였다.

## 2. 실험 및 방법

### 2.1. 기기 및 시약

UV-visible spectrophotometer는 Varian (Australia)사의 Cary 50, 적혈구 광용혈에 사용한 Spectronic 20D는 Milton Roy Co. (USA) 제품, 화학발광 실험에 사용된 6-channel LB9505 LT는 Berthold (Germany)사의 제품, pH meter는 Istek (Korea)사 제품을 사용하였다.

EDTA, luminol, heparin, 증감제로 사용된 rose bengal, DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) radical은 Sigma Chemical Co. (USA)에서 구입하여 사용하였다. 기타  $FeCl_3 \cdot 6H_2O$ 는 Junsei Chemical Co. (Japan) 제품을,  $H_2O_2$ 는 Dae Jung Chemical & Metals (Korea)사 제품을 사용하였다. 명월초 분획 추출에 이용한 Diaion HP-20은 Sigma-Aldrich Co. (USA)에서 구입하였다. 완충용액 제조에 사용된  $Na_2HPO_4 \cdot 12H_2O$ ,  $NaH_2PO_4 \cdot 2H_2O$ , NaCl, trizma base, HCl 그리고 에탄올, 메탄올, 에틸아세테이트, n-헥산 등 각종 용매는 시판 특급 시약을 사용하였다.

비교물질로 사용한 (+)- $\alpha$ -tocopherol (1,000 IU vitamin E/g), L-ascorbic acid는 Sigma (USA)에서 구입하였다. 본 실험에 사용한 명월초는 2014년 7월 경 광명시에 있는 광명화훼조경에서 구입하였다.

### 2.2. 명월초 분획 및 추출

명월초 100 g을 잘게 자른 후 50% 에탄올 2 L를 이용하여 24 h 동안 침적시킨 후 여과하였다. 이 여액을 감압 농축하고 에틸아세테이트 분획한 후, 이를 감압·농축하여 에틸아세테이트 분획을 얻었다.

에틸아세테이트 분획에 있는 클로로필을 제거하기 위해 Diaion HP-20 수지를 충전시킨 컬럼크로마토그래피를 통해 물 분획과 메탄올 분획을 얻었다. 메탄올 분획물 일부를 산 가수분해 반응을 이용하여 당을 제거시켜 아글리콘 분획물을 제조하였다. 실험 방법은 메탄올 분획물 일정량에  $H_2SO_4$  및 아세톤 용액을 넣고, 4 h 동안 중탕 가열하면서 환류·냉각시킨다. 환류시킨 용액을 5% KOH-MeOH 용액으로 중화 적정한다. 중화 적정 후 다시 에틸아세테이트 층을 분획하고 이를 감압·농축하여 실험에 사용하였다(Figure 1).

### 2.3. 명월초 추출물의 항산화 효과 측정

#### 2.3.1. DPPH법을 이용한 Free Radical 소거활성

DPPH법은 시료의 라디칼 소거능을 평가할 수 있는 실험법으로서, 비교적 안정한 라디칼인 DPPH에 대한 전자공여능을 통하여 시료의 환원력을 측정한다. 실험 방법은 메탄올에 용해시킨 0.2 mM DPPH 용액 1 mL에 에탄올 1 mL를 첨가하고 여러 농도의 명월초 추출물 1 mL를 첨가하여 섞은 다음 실온에서 10 min 동안 방치 후 spectrophotometer로 517 nm에서 흡광도를 측정하였다. 그 활성의 크기는 시료를 넣지 않은 경우를 대조군(control)으로 하고 시료를 넣은 것을 실험군(experiment)으로 하였다. 자유 라디칼 소거활성은 DPPH의 농도가 50% 감소되는데 필요한 시료의 농도 (free radical scavenging activity,  $FSC_{50}$ ,  $\mu g/mL$ )로서 표기하였으며, 자유 라디칼(DPPH) 소거활성(%)을 계산하는데 사용한 식은 다음과 같다.

$$\text{Inhibition (\%)} = \left\{ 1 - \left[ \frac{(A_{\text{Experiment}} - A_{\text{Blank}})}{A_{\text{Control}}} \right] \right\} \times 100$$

### 2.3.2. Luminol 발광법을 이용한 $Fe^{3+}$ -EDTA/ $H_2O_2$ 계에 있어서 활성산소 소거활성(총 항산화능)

$Fe^{3+}$ -EDTA/ $H_2O_2$  계는 다양한 ROS ( $O_2^{\cdot -}$ ,  $\cdot OH$  그리고  $H_2O_2$ )를 생성시키고, 철은 이 반응에서 촉매로 작용한다. 따라서 이 계를 이용하면 ROS에 대한 총 항산화능을 측정할 수 있으며, 이 총 항산화능에는 활성산소의 생성을 막아주는 킬레이트 작용도 포함될 수 있다. 생성된 ROS의 검출은 루미놀과 ROS와의 반응을 통한 화학발광을 측정함으로써 확인할 수 있다.

화학발광 측정용 튜브에 증류수 1.78 mL를 넣고 여러 농도의 명월초 추출물을 넣었다. 여기에 25 mM EDTA 40  $\mu$ L 및 5 mM  $FeCl_3 \cdot 6H_2O$  10  $\mu$ L를 가한 후 35 mM luminol 80  $\mu$ L를 넣고 흔들어 섞어 주었다. 이어서 화학발광기의 cell holder에 튜브를 넣고 5 min 동안 항온 시킨 후 150 mM  $H_2O_2$  40  $\mu$ L를 넣고 화학발광을 25 min 동안 측정하였다. 대조군(control)은 시료용액 대신에 증류수를 넣고, 공시험(blank)은 시료군과 조건이 동일하나  $H_2O_2$ 와  $FeCl_3 \cdot 6H_2O$  대신 증류수를 첨가하였다. 화학발광기 6-channel LB9505 LT의 각 채널은 실험 전에 보정하여 채널 간의 차이가 거의 없도록 하였다. 화학발광으로 측정된 저해율(%)은 다음 식과 같이 나타내었고, 활성산소 소거활성의 크기는 화학발광의 세기가 50% 감소되는데 필요한 시료의 농도(reactive oxygen species scavenging activity,  $OSC_{50}$ ,  $\mu$ g/mL)로서 표기하였다.

$$\text{Inhibition (\%)} = \frac{(\text{Control의 cpm} - \text{Sample의 cpm})}{(\text{Control의 cpm} - \text{Blank의 cpm})} \times 100$$

## 2.4. Photohemolysis법을 이용한 세포 보호 효과 측정

### 2.4.1. 적혈구 현탁액 제조

적혈구는 건강한 성인 남녀로부터 얻었다. 채혈 즉시 heparin이 첨가된 시험관에 넣은 후, 3,000 rpm으로 5 min 동안 원심분리하여 적혈구와 혈장을 분리하고, 분리한 적혈구는 0.9 % saline phosphate buffer (pH 7.4,  $Na_2HPO_4 \cdot 12H_2O$  9.6 mM,  $NaH_2PO_4 \cdot 2H_2O$  1.6 mM)로 세척하여 원심분리하고 흰색의 백혈구 층은 제거하였다. 3회 반복하여 세척, 분리한 적혈구는 4  $^{\circ}C$ 의 냉장고에 보관하면서 사용하였으며 모든 실험은 채혈 후 12 h 이내에 행하였다. 광용혈 실험은 이미 확립된 방

법에 따라 수행하였다[1]. 실험에 사용된 적혈구 현탁액은 700 nm에서 O.D.값이 0.6이었으며 이때 적혈구 수는  $1.5 \times 10^7$  cells/mL이었다.

### 2.4.2. 명월초 추출물의 광용혈 억제 효과

적혈구 현탁액 3.5 mL를 파이렉스 시험관(No. 9820)에 넣은 후, 시료용액을 첨가하였다. 추출물을 농도별로 각각 50  $\mu$ L씩 첨가하고 암소에서 30 min 동안 pre-incubation 시킨 후, 광증감제 rose-bengal (12  $\mu$ M) 0.5 mL를 가하고 파라필름(Whatman laboratory sealing film, UK)으로 입구를 막은 후 15 min 동안 광조사하였다.

광용혈에 필요한 광조사는 내부를 검게 칠한 50 cm  $\times$  20 cm  $\times$  25 cm 크기의 상자 안에 20 W 형광등을 장치하고, 형광등으로부터 5 cm 거리에 적혈구 현탁액이 담긴 파이렉스 시험관을 형광등과 평행이 되도록 배열한 후 15 min 동안 광조사하였다. 광조사가 끝난 후 암반응(post-incubation) 시간에 따른 적혈구의 파괴 정도를 15 min 간격으로 700 nm에서 투광도(transmittance, %)로부터 구하였다. 이 과정에서 적혈구 현탁액의 투광도 증가는 적혈구의 용혈 정도에 비례한다. 모든 실험은 20  $^{\circ}C$  항온실에서 행하였다. 미성숙 복분자 추출물의 광용혈에 미치는 효과는 post-incubation 시간과 용혈 정도로 구성된 그래프로부터 적혈구의 50%가 용혈되는 시간인  $\tau_{50}$ 을 구하여 비교하였다. 모든 경우의 실험에서 대조군은  $\tau_{50}$ 이 30.1 min으로 오차범위  $\pm$  0.5 min 이내로 재현성이 양호하게 나타났다.

## 2.5. 통계처리

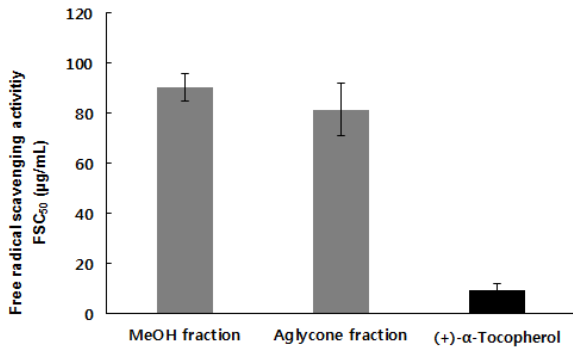
모든 실험은 3회 반복하였고 통계분석은 5% 유의 수준에서 Student's t-test를 행하였다.

## 3. 결과 및 고찰

### 3.1. 명월초 추출물의 항산화 활성

#### 3.1.1. DPPH법을 이용한 자유 라디칼 소거활성

피부가 자외선에 노출되어 생성되는 ROS 중에는  $\cdot OH$ ,  $O_2^{\cdot -}$ 과 같은 라디칼 종이 포함되어 있다. 이러한 라디칼은 짝을 이루지 않은 홀전자를 가지고 있기 때문에 에너지가 높고 반응성이 높아 세포막에서 지질 과산화반응의 자동산화반응을 개시함으로써 조직 손



**Figure 2.** Free radical scavenging activities(FSC<sub>50</sub>) of fractions of *G. procumbens* extracts and reference.

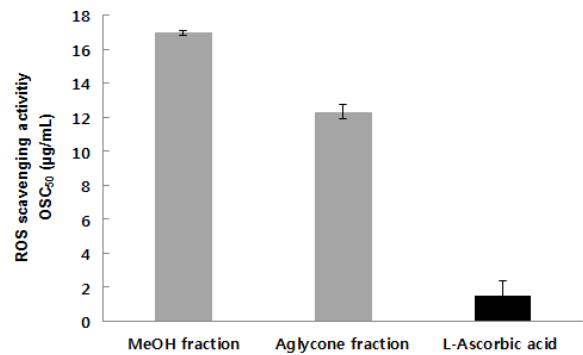
상을 야기한다. 이때 비타민 E 등의 항산화제는 ROS로 유도되는 세포막의 지질과산화 연쇄 반응에서 생성된 지질 라디칼에 전자를 제공함으로써 연쇄반응을 종결시킨다. 이와 같이 전자 하나를 제공함으로써 라디칼을 소거하는 능력, 즉 환원력을 통해서 그 물질에 대한 항산화능을 측정할 수 있다. 안정화된 구조의 자유라디칼인 DPPH를 이용하여 명월초 추출물의 소거활성을 측정하였다.

명월초 추출물의 메탄올 분획과 아글리콘 분획의 라디칼 소거활성(FSC<sub>50</sub>)은 각각 90.25 ± 5.62 μg/mL, 81.38 ± 10.38 μg/mL로 나타났다(Figure 2). 메탄올 분획보다는 아글리콘 분획이 더 큰 자유라디칼 소거활성을 보였다. 명월초 추출물의 메탄올 분획과 아글리콘 분획은 (+)-α-tocopherol (FSC<sub>50</sub>, 8.98 ± 2.93 μg/mL)과 비교할 때, 약 9~10배 정도 낮은 라디칼 소거활성을 나타내었다.

3.1.2. 루미놀 화학발광법을 이용한 Fe<sup>3+</sup>-EDTA/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>계에 있어서 활성산소 소거활성(총 항산화능)

Fe<sup>3+</sup>-EDTA/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>계에서는 Fe<sup>2+</sup>과 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>에 의해 Fenton 반응이 일어난다. 이러한 Fenton 반응을 경유하여 <sup>1</sup>O<sub>2</sub>을 제외한 대부분의 ROS (O<sub>2</sub><sup>•-</sup>, •OH, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>)가 생성되며, 철과 같은 전이금속은 반응성이 큰 •OH를 생성시키는데 중요한 역할을 한다.

본 실험에서는 루미놀 발광법을 이용하여 총 항산화능을 측정하였다. 루미놀은 Fe<sup>3+</sup>-EDTA/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>계에서 생성된 ROS에 의해 산화되고 들뜬 상태의 아미노프탈산이 된다. 아미노프탈산은 다시 바닥상태로 떨어지면서 발광(420 ~ 450 nm)을 하게 되는데, 이 계에 항



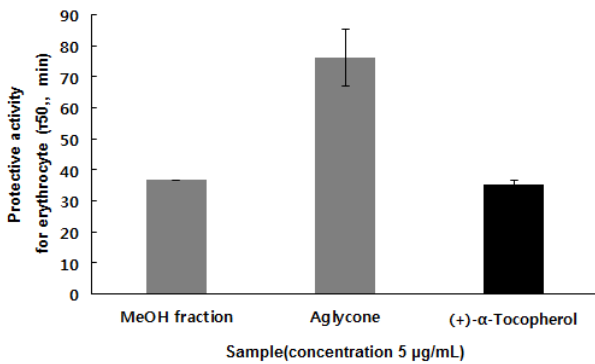
**Figure 3.** Reactive oxygen species scavenging activities (OSC<sub>50</sub>) of fractions of *G. procumbens* extracts and reference in Fe<sup>3+</sup>-EDTA/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> system by luminol-dependent chemiluminescence assay.

산화제가 첨가되면 ROS를 소거하고 화학발광이 감소하는데, 이를 이용하여 ROS 소거활성을 측정할 수 있다. 명월초 추출물의 메탄올 분획과 아글리콘 분획의 활성산소 소거활성(OSC<sub>50</sub>)은 각각 16.96 ± 0.12 μg/mL, 12.30 ± 0.42 μg/mL로 측정되었다(Figure 3). 명월초의 메탄올 분획과 아글리콘 분획은 체내에 존재하는 대표적인 수용성 항산화제인 L-ascorbic acid (OSC<sub>50</sub> = 1.50 ± 0.85 μg/mL)와 비교할 때 활성산소 소거활성은 크지 않았다.

3.1.3. <sup>1</sup>O<sub>2</sub>으로 유도된 사람 적혈구의 파괴에 대한 세포 보호 효과

<sup>1</sup>O<sub>2</sub>은 반응성이 매우 큰 ROS로서, 피부 항산화제를 고갈 시켜 항산화 방어막을 붕괴시키고 세포 막 구성 성분인 인지질을 산화시켜 지질 과산화반응의 자동산화반응을 개시시킨다. 이러한 반응은 세포막의 붕괴를 일으켜 세포를 손상 시켜 용혈을 야기한다. 따라서 사람 적혈구 세포를 이용한 광용혈 실험법은 활성산소에 의한 세포 손상 모델로 적합한 점이 많다. 이 실험법을 이용하여 천연물 추출물을 대상으로 활성산소에 대한 세포 보호 효과를 측정할 수 있다. 본 실험을 통해 광증감제로 사용되는 rose-bengal로 유도된 <sup>1</sup>O<sub>2</sub>에 의한 세포 손상에 있어서 명월초 추출물의 항산화 활성을 평가하였다.

5 μg/mL 농도에서 명월초 추출물의 메탄올 분획물과 아글리콘 분획물이 rose-bengal로 유도된 <sup>1</sup>O<sub>2</sub>에 의한 사람 적혈구 세포 손상에 있어서의 세포 보호 효과(τ<sub>50</sub>)는 각각 36.7 min 및 76.1 min을 나타내었다. 기준물질로



**Figure 4.** The cellular protective effects of *G. procumbens* fractions and reference on the  $^1\text{O}_2$ -induced photohemolysis of human erythrocytes (control =  $30.1 \pm 0.5$  min) in  $5 \mu\text{g/mL}$ .

사용한 지용성 항산화제인 (+)- $\alpha$ -tocopherol의  $\tau_{50}$ 은 대조군과 유사한 35.4 min을 나타냈다. (+)- $\alpha$ -tocopherol과 비교하였을 때, 명월초 추출물의 메탄올 분획과 아글리콘 분획은 훨씬 큰 세포 보호 효과를 나타내었다(Figure 4). 본 저자들은 명월초 추출물의 메탄올 분획물과 아글리콘 분획물의 세포 보호 효과를 통해, 화장품에서 항산화제로서의 응용 가능성이 있음을 확인하였다.

#### 4. 결 론

- 1) 명월초 추출물의 자유 라디칼 소거활성(FSC<sub>50</sub>) 측정 결과, (+)- $\alpha$ -tocopherol ( $8.98 \mu\text{g/mL}$ ) > 아글리콘 분획( $81.38 \mu\text{g/mL}$ ) > 메탄올 분획( $90.25 \mu\text{g/mL}$ ) 순서로 나타났다.
- 2) 명월초 추출물의 활성산소 소거활성(총 항산화능, OSC<sub>50</sub>)은 L-ascorbic acid ( $1.50 \mu\text{g/mL}$ ) > 아글리콘 분획( $12.30 \mu\text{g/mL}$ ) > 메탄올 분획( $16.96 \mu\text{g/mL}$ ) 순서로 나타났다.
- 3) 명월초 추출물의  $^1\text{O}_2$ 로 유도된 적혈구 파괴에 대한 효과 실험에서 두 분획 모두  $5 \mu\text{g/mL}$  농도에서 세포보호 효과를 나타내었다.  $5 \mu\text{g/mL}$  농도를 기준으로 메탄올 분획 및 아글리콘 분획의  $\tau_{50}$ 은 각각 36.7, 76.1 min으로 비교 물질인 (+)- $\alpha$ -tocopherol (35.4 min)와 비교했을 때 큰 세포 보호 효과를 나타내었다.

이상의 결과들은 명월초 추출물의 분획물들이 *in vitro* 항산화능 평가(DPPH 및 총 항산화능)에서는 강력한 항산화제로 알려진 (+)- $\alpha$ -tocopherol이나 L-as-

corbic acid의 항산화능에는 미치지 못했지만 세포를 대상으로 실험한 활성산소로 유도된 세포 보호 효과에 있어서는 큰 항산화능을 나타내었다. 앞으로 세포 수준에서의 항산화 효능을 갖는 유효성분의 분리 및 확인을 이루어질 경우 화장품 등에의 항산화 소재로서 응용 가능성이 있을 것으로 사료된다.

#### Reference

1. S. N. Park, Skin aging and antioxidant, *J. Soc. Cosmet. Scientists Korea*, **23**(3), 75 (1997).
2. M. G. Kosmadaki and B. A. Gilchrest, The role of telomeres in skin aging/photoaging, *J. Micron.*, **35**(3), 155 (2004).
3. S. N. Park, Antioxidative properties of baicalein, component from *Scutellaria baicalensis* Georgi and its application to cosmetics (I), *J. Korean Ind. Eng. Chem.*, **14**(5), 657 (2003).
4. S. B. Han, H. A. Gu, S. J. Kim, H. J. Kim, S. S. Kwon, H. S. Kim, S. H. Jeon, J. P. Hwang, and S. N. Park, Comparative study on antioxidative activity of *Glycyrrhiza uralensis* and *Glycyrrhiza glabra* extracts by country of origin, *J. Soc. Cosmet. Scientists Korea*, **39**(1), 1 (2013).
5. M. Wlaschek, K. Briviba, G. P. Stricklin, H. Sies, and K. Scharffetter-Kochanek, Singlet oxygen may mediate the ultraviolet A induced synthesis of interstitial collagenase, *J. Invest. Dermatol.*, **104**, 194 (1995).
6. H. M. Chiang, H. C. Chen, H. H. Chiu, C. W. Chen, S. M. Wang, and K. C. Wen, *Neonauclea reticulata* (Havil.) Merr stimulates skin regeneration after UVB exposure via ROS scavenging and modulation of the MAPK/MMPs/collagen pathway, *Evid. Based Complement. Alternat. Med.*, **2013**, 9 (2013).
7. K. Scharffetter-Kochanek, M. Wlaschek, K. Briviba, and H. Sies, Singlet oxygen induces collagenase expression in human skin fibroblasts, *FEBS Lett.*, **331**, 304 (1993).
8. L. Packer, Ultraviolet radiation (UVA, UVB) and skin antioxidants, *In Free Radical Damage and Its*

- Control*, eds. C. A. Rice-Evans and R. H. Burdon, 239 Elsevier Science B. (1994).
9. G. E. Rhie, M. H. Shin, J. Y. Seo, W. W. Choi, K. H. Cho, K. H. Kim, K. C. Park, H. C. Eun, and J. H. Chung, Aging- and photoaging-dependent changes of enzymic and nonenzymic antioxidants in the epidermis and dermis of human skin *in vivo*, *J. Invest. Dermatol.*, **117**(5), 1212 (2011).
  10. K. J. A. Davies, Protein damage and degradation by oxygen radical, *J. Biol. Chem.*, **262**, 9895 (1987).
  11. O. ten Berge, S. G. A. van Veisen, B. Glovannone, C. A. F. M. Bruljnzeel-Koomen, E. F. Knol, K. Guikers, and H. van Weelden, Assessment of cyclobutane pyrimidine dimers by digital photography in human skin, *J. Immun. Methods*, **373**(1-2), 240 (2011).
  12. D. H. Won, S. B. Han, J. P. Hwang, S. J. Kim, J. N. Park, and S. N. Park, Antioxidative effect and tyrosinase inhibitory activity of *Lindera obtusiloba* blume extracts, *J. Soc. Cosmet. Scientists Korea*, **38**(4), 297 (2012).
  13. K. Algariri, K. Y. Meng, I. J. Atangwho, M. Z. Asmawi, A. Sadikun, V. Murugaiyah, and N. Ismail, Hypoglycemic and anti-hyperglycemic study of *Gynura procumbens* leaf extracts, *Asian Pac. J. Trop. Biomed.*, **3**(5), 358 (2013).
  14. M. Ja. Kim, H. J. Lee, S. Wiryowidagdo, and H. K. Kim, Antihypertensive effects of *Gynura procumbens* extract in spontaneously hypertensive rats, *J. Med. Food*, **9**(4), 587 (2006).
  15. P. Hakim, H. A. Sani, and M. Mat Noor, Effects of *Gynura procumbens* extract and glibenclamide on sperm quality and specific activity of testicular lactate dehydrogenase in streptozotocin-induced diabetic rats, *MJBMB*, **16**(2), 10 (2008).
  16. Z. Hassan, M. F. Yam, M. Ahmad, and A. P. M. Yusof, Antidiabetic properties and mechanism of action of *Gynura procumbens* water extract in Streptozotocin-induced diabetic rats, *Molecules*, **15**, 9008 (2010).
  17. D. Puangpronpitag, S. Chaichanadee, W. Naowaratwattana, C. Sittiwet, K. Thammasarn, A. Luerang, and N. Kaewseejan, Evaluation of nutritional value and antioxidative properties of the medicinal plant *Gynura procumbens* extract, *Asian J. Plant Sci.*, **9**(3), 146 (2010).
  18. N. A. Nurulita, E. Meiyanto, Sugiyanto, E. Matsuda, and Masashi Kawaichi, *Gynura procumbens* modulates the microtubules integrity and enhances distinct mechanism on doxorubicin and 5-fluorouracil-induced breast cancer cell death, *Orient. Pharm. Exp. Med.*, **12**(3), 205 (2012).
  19. M. N. Iskander, Y. Song, I. M. Coupar, and W. Jiratchariyakul, Antiinflammatory screening of the medicinal plant *Gynura procumbens*, *Plant Foods Hum. Nutr.*, **57**, 233 (2002).
  20. J. O. Kim, C. W. Lee, E. K. Kim, S. J. Lee, N. H. Park, H. S. Kim, H. K. Kim, K. H. Char, Y. P. Jang, and J. W. Kim, Inhibition effect of *Gynura procumbens* extract on UV-B-induced matrix-metalloproteinase expression in human dermal fibroblasts, *J. Ethnopharmacol*, **137**, 427 (2011).
  21. C. S. Hewa, and L. H. Gama, The identification of high abundant proteins in the leaves of *Gynura procumbens*, *Biotechnol. Equip.*, **24**(4), 2132 (2010).