

ISSN 1229-8565 (print)

한국지역사회생활과학회지

Korean J Community Living Sci

<http://dx.doi.org/10.7856/kjcls.2017.28.1.29>

ISSN 2287-5190 (on-line)

28(1): 29~43, 2017

28(1): 29~43, 2017

## 농가소득 창출을 위한 식용식물의 항산화, 항염, 항혈전 및 항비만 효과 탐색

이 선 혜 · 김 남 석 · 최 봉 검 · 박 연 희 · 김 정 봉 · 장 환 희 · 황 유 진 · 최 정 숙 · 이 성 현<sup>†</sup>

농촌진흥청 국립농업과학원 기능성식품과

### Evaluation of Antioxidant, Anti-Inflammatory, Antithrombotic, and Antiobesity Activities in Cultured Edible Plants to Increase Farm Income

Seon-Hye Lee · Nam-Seok Kim · Bong-Kyoum Choi · Yeon-Hee Park · Jung-Bong Kim ·

Hwan-Hee Jang · Yu-Jin Hwang · Jeong-Sook Choe · Sung-Hyen Lee<sup>†</sup>

Dept. of Agrofood Resources, Rural Development Administration, Wanju, Korea

#### ABSTRACT

We studied the antioxidant, the anti-inflammatory, antithrombotic, and antiobesity activities of seven different kinds of edible plants. 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) and ABTS radical scavenging activities were determined as a measurement of antioxidant activity. NO production inhibition by the macrophage cell line (Raw 264.7) treated with lipopolysaccharide (LPS) was carried out to assess anti-inflammatory activity. Thrombin inhibitory activity was measured for its antithrombotic function and inhibition of 3T3-L1 cell differentiation was evaluated as a measurement of antiobesity activity. Total phenolic components and total flavonoid contents were measured to determine functional materials in medicinal plants. Common sage, Japanese lady bell, and hairy agrimony showed high antioxidant activity ( $IC_{50}$ ) of less than 100  $\mu$ g/mL. All samples used in this study showed anti-inflammatory activity. Common sage, hairy agrimony, and hooker chives showed antithrombotic effects. Hairy agrimony showed the highest antithrombotic effect (98.1%). Common sage, Japanese lady belly, hairy agrimony, and hooker chives showed reduced 3T3-L1 cell differentiation and hooker chives strongly inhibited lipid accumulation in the cells compared to other medicinal plants. Common sage and hairy agrimony contained more than 1 mg GAE/g of phenolic compounds and more than 1 mg CE/g of flavonoids. Functional activities were different by plant part and extraction method from each sample. These results suggest that common sage, Japanese lady belly, hairy agrimony, and hooker chives may be used as healthy food sources with antioxidant, anti-inflammatory,

This work was supported by the Cooperative Research Program for Agriculture Science & Technology Development (PJ01097701, PJ01049004), Rural Development Administration, Republic of Korea.

Received: 20 September, 2016 Revised: 19 October, 2016 Accepted: 12 January, 2017

<sup>†</sup>Corresponding Author: Sung-Hyen Lee Tel: +82-63-238-3702 E-mail: lshin@korea.kr

This is an Open-Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

antithrombotic, and antiobesity activities, and appropriate extracting methods from each plant need to be developed.

**Key words:** antioxidant activity, anti-inflammatory, antithrombotic, antiobesity, phenolic compound

## I. 서론

심혈관 질환은 대한통계협회의 조사에 의하면, 한국 주요 사망원인 중의 하나로 인구 10만 명당 52.4 명의 높은 사망률(2위)을 보이고 있다(Korean Statistical Association 2015). 심혈관 질환은 다양한 원인(고혈압, 당뇨, 고지혈증, 비만 등)에 의해 발생하며 심비대증, 심부전, 심근경색, 심근손상 등이 이에 속하는데(Wood 2001), 체내 활성산소종의 증가, 염증 과민 반응, 과도한 혈전 생성 및 체지방 증가와 관련된 것으로 보고되고 있다.

활성산소종(reactive oxygen species, ROS)은 체내 전자 운반과정에서 불완전하게 환원되거나 사이토카인 등에 의해 생성된다. 우선 생체 내 항산화 활성을 띠는 물질을 파괴하여 피부노화를 일으키고, 이러한 활성산소종이 발생함에 따라 항상성이 깨지면서 면역력과 방어력이 약해져 신체와 피부에 문제를 일으키고 주름형성, 여드름, 아토피 등의 피부질환을 유발시키며, 노화에 영향을 미쳐 각종 성인병 유발의 원인이 된다(Maxwell 1995; Jeong et al. 2011). 또한, 산화스트레스에 의한 반응으로 체내의 당, 지질, 단백질 그리고 DNA의 변형 및 파괴를 일으킨다고 알려져 있다(Harold et al. 2007). 따라서 이러한 활성산소종에 의한 산화작용으로부터 생체를 보호할 수 있는 항산화제에 대한 연구들이 활발히 진행되고 있다(Oh 2005). 슈퍼옥사이드(superoxide), 하이드록시 라디칼(hydroxyl radical), 과산화수소(hydrogen peroxide) 등 활성산소종의 대사산물은 생체지질의 과산화를 일으키고 생체막을 변형시켜 효소의 불활성, 세포노화 당뇨, 만성염증질환, 뇌졸중 및 심장질환, 암 등을 일으킨다(Hammond et al. 1985). 이러

한 활성산소를 억제하는 물질은 천연물질에 많이 함유되어 있으며 특히 식물 유래의 물질에 대한 항산화 연구가 진행되어 왔다(Seog et al. 2002).

우리 인체에서 혈액은 신체 각 조직으로 산소와 영양분을 공급하고 노폐물을 제거함으로 각 조직의 항상성 유지에 중요한 역할을 하며, 정상적인 상태에서는 출혈이나 혈전에 흐름을 받지 않는다. 그러나 다양한 원인으로 혈관벽이 파괴되면 혈소판은 다양한 혈구세포와 함께 내피세포의 손상으로 노출된 콜라겐과 결합되고 이는 급속한 혈전을 형성하여 지혈 작용을 수행한다. 그러나 과도한 혈소판 응집은 혈전 생성을 촉진시켜 정상적인 혈액순환을 저해한다(Sweeney et al. 1990; Lee 1995).

현대사회는 가공식품 소비의 증가, 식생활의 서구화로 인한 비만이 증가하는 추세이며 비만은 영양성분을 과다 섭취함에 따른 에너지 불균형이 원인으로, 호흡기, 순환계, 위장, 근골격 질환에 많은 관련이 있는 것으로 알려져 있다. 최근 식습관의 변화 및 각종 스트레스로 인한 질병의 발병과 관련하여 고혈압, 동맥 경화증 등의 심혈관 질환이 증가하고 있으며 이는 전체 사망률의 약 35% 이상으로 심각한 실정이다(Visscher & Seidell 2001).

현재까지 심혈관계 질환을 치료 및 예방하기 위한 연구가 지속되고 있지만 개발된 합성치료제의 부작용으로 인한 근육통, 배내장, 면역기능 약화 등의 문제가 있어(Wiwanitkit & Wiwanitkit 2011) 천연물을 이용한 치료제 개발에 관심이 높아지고 있다.

산마늘(*Allium victorialis* var. *platyphyllum*)은 백합과 다년생 초본식물로서 중국, 우리나라 북부지방과 울릉도의 숲에서 자란다. 산마늘은 외상이나 타박상, 코피를 그치게 하고, 어혈로 인한 동통 증상에 효

과가 있으며, 콜레스테롤 생합성 저해, 비만억제, 항동맥경화, 항돌연변이원성 및 세포보호 등에 대한 효과가 있는 것으로 보고되었다(Doh et al. 2011; Park et al. 2011). 유효성분으로는 냄새의 근원인 diallyl disulfide, methyl allyl disulfide, methyl allyl trisulfide, 항혈전작용이 있는 3,4-dihydro-3-vinyl-1,2-dithiin, 2-vinyl-1,3-dithiin, 1-kestose, neokestose 와 astragalín, quercetin, kaempferol 및 ferulic acid 등이 보고되어 있다.

배암차즈기(*Salvia plebeia* R. Br.)는 꿀풀과에 속하는 일년생 혹은 이년생 직립초목으로 우리나라 전국에서 자생한다. 예로부터 기침, 천식, 염증 등에 효과가 있다고 알려져 있으며, 유효성분으로 flavonoid 와 phenol성 물질, saponin 등이 보고되어 있다(Lim et al. 2007; Choi et al. 2014).

잔대(*Adenophora triphylla*)는 쌍떡잎식물 초롱꽃목 초롱꽃과의 다년생 식물로서, 사삼(沙蔘), 제나라고도 불린다. 초여름에 잎과 줄기를 나물로 먹고, 뿌리는 식용 및 약용으로 사용되어 왔다. 항돌연변이, 항종양, 항산화 등이 보고되어 있다. 에탄올추출물은 비만 마우스에서 항산화 효과와 염증 억제 효과, 인슐린 저항성 효과가 있으며, 천식 동물모델에서 잔대의 뿌리 추출물은 항염효과가 있는 것으로 보고되었다(Jang et al. 2015).

무(*Raphanus sativus*)는 쌍떡잎 식물 양귀비목 겨자과에 속하는 한해살이 또는 두해살이 초본으로, 항산화, 항균, 인간 암세포의 증식억제, 배변촉진, 항염 등이 알려져 있다. 무청은 항고혈압 활성, 콜레스테롤 축적 억제 효과, 위장 자극 저하 및 자궁수축의 기능이 보고되었다(Lee et al. 2013)

짚신나물(*Agrimonia pilosa*)은 장미과에 속하는 다년생 숙근초로서 북반구 온대, 남아메리카 그리고 우리나라의 경기, 충청, 전라도에 걸쳐 자생하고 있다. 항균, 항고혈압 효능이 밝혀졌고 최근에는 짚신나물의 물질들이 제약원료, 건강식품, 식물성 영양제 등으로 쓰인다. 유효성분으로 비타민 K, 탄닌, luteolin-7- $\beta$ -glucoside, apigenin-7- $\beta$ -glucoside, 페놀성 배당

체 등이 보고되었으며 특히 agrimoniin의 항암효과가 잘 알려져 있다(Jang et al. 2008; Kim et al. 2011).

삼채는 과 속(屬) 식물로 식이 유효 화합물이 마늘보다 많은 것으로 알려져 있다. 히말라야 고랭지에서 자생하나 최근 국내에서 재배면적이 100만평에 달하고, 지역특화작목으로 확산되고 있다. 삼채는 당, 섬유소, 단백질, ascorbic acid, total phenol, phytosterol 등이 양파보다 많이 함유되어 있으며 항당뇨 및 항염증 효과가 보고되었다(Bae & Bae 2012; Kim et al. 2015, 2016).

현재까지 심혈관계 질환 치료와 예방을 위한 연구가 지속되고 있지만 개발된 합성치료제의 부작용으로 인해(Wiwanitkit & Wiwanitkit 2011) 천연물 및 천연소재를 원료로 한 약물개발에 관심이 높아지고 있다. 심혈관 질환 예방 소재 평가 요인으로 항산화, 항염, 항혈전 및 항비만 효과가 분석되고 있으며, 다양한 식품 소재에서 각각의 기능성을 평가해 왔으나 이들 요인을 동시에 복합적으로 분석한 연구 결과는 없는 실정이다. 따라서 본 논문에서는 심혈관 질환 개선을 위해 사용되고 있는 식품 소재를 가지고 항산화, 항염, 항혈전 및 항비만 요인에 대해 분석하였다.

식품원료는 잎과 뿌리를 분리하여 사용하므로, 부위별로 나누어 기능성을 평가하였다. 삼채의 경우에는 연구소재의 상용화를 위하여 다양한 추출방법을 통해 분석시료를 제조하였으며, 이전의 보고와 같이 발효과정을 거치면서 체지방 감소와 같은 생리활성이 증대됨에 따라(Kim et al. 2015) 발효 및 비발효군의 효과 또한 분석되었다.

## II. 연구방법

### 1. 추출물 제조

본 실험에 사용한 식품소재는 Table 1에 제시하였다. 모든 시료는 수세 후 동결건조(PVIFD 10R, Ilshin, Korea) 한 후 균일하게 분쇄하여 추출에 사용하였다. 발효삼채는 Kim et al.(2015)의 연구에서와 같은 방법으로 가공하여 사용하였다. 70% 주정 추출물 제조를 위해, 시료 100 g에 증량 대비 20배의 70% 발효

주정을 가하고 실온에서 24시간씩 2회 반복하여 교반추출(SK-71, Jeio Tech, Korea)하였다. 열수 추출물 제조를 위해 시료 50 g에 중량 대비 20배의 3차 증류수를 가하고, 80~100℃에서 중탕 추출기(Daihan Scientific, Korea)를 이용하여 2시간씩 2회 반복하여 추출하였다. 각각의 추출물은 Filter paper(No.6, ADVANTEC, Japan)를 이용하여 감압여과하고, 감압농축기(N-1000, Eyela, Japan)를 사용하여 농축한 후 동결건조하여 -80℃에서 보관하였으며 산화방지를 위해 밀폐된 갈색 용기에 보관하면서 본 실험에 사용하였다. 본 논문에는 평가한 항목 중에서 한 항목에 서라도 유의적으로 활성을 보인 소재 및 추출방법을 중심으로 보고하고자 한다. 배암차즈기와 삼채의 경우 건강기능식품 원료로서의 가능성을 가지고 실험이 진행되고 있어 열수 추출물 결과를 제시하였고, 삼채는 발효 처리하였을 때 체지방 감소효과가 증가되어 (Lee et al. 2015) 본 실험에서도 비교 분석하였다.

## 2. 항산화 활성 평가

### 1) DPPH 라디칼 소거능

각 추출물에 대한 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) radical 소거능은 Blois 등의 방법을 변형하

여 측정하였다(Blois 1958). 양성대조군으로는 Ascorbic acid 및 Trolox(6-hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchroman-2-carboxylic acid)를 이용하였으며, 농도별 시료 20  $\mu$ L에 0.15 mM DPPH(Sigma, USA)용액 160  $\mu$ L를 가한 후 실온에서 30분간 반응시켜 518 nm(SpectraMax M5, Molecular Devices, CA, USA)에서 흡광도를 측정하였다. 모든 시료는 10 mg/mL의 농도가 되도록 증류수에 녹여 사용하였으며, DPPH radical 소거능은 [1-시료 첨가구의 흡광도/무처리구의 흡광도] $\times$ 100으로 계산하여 백분율로 나타내었다.

### 2) ABTS 라디칼 소거능

ABTS[2,2'-azino-bis(3-ethylbenz-thiazoline-6-sulfonic acid)] radical 소거능은 Re et al.(1999)의 방법을 변형하여 측정하였다. 7.4 mM ABTS 용액과 2.6 mM potassium persulfate를 혼합하여 실온, 암소에서 약 15시간 반응시켜 radical을 형성시킨 후, 3차 증류수로 희석하여 사용하였다. 양성대조군으로는 ascorbic acid와 trolox를 이용하였으며, 증류수에 녹인 시료(10 mg/mL)는 다시 농도별로 희석하여 시료 20  $\mu$ L에 300  $\mu$ L의 ABTS 용액을 첨가하고, 실온에서 30분간 반응시킨 후 734 nm(SpectraMax M5, Molecular

**Table 1.** Common name, scientific name, and plant part used in this experiment

| Common name                       | Scientific name                                    | Plant part    |
|-----------------------------------|--|---------------|
| Green garlic                      | <i>Allium scorodorpasum</i>                        | Stems, Leaves |
| Bear's garlic                     | <i>Allium victorialis</i> var. <i>platyphyllum</i> | Stems, Leaves |
| Common sage, AP <sup>1)</sup>     | <i>Salvia plebeia</i> R. Br.                       | Leaves        |
| Common sage, AP, WE <sup>2)</sup> | <i>Salvia plebeia</i> R. Br.                       | Leaves        |
| Common sage, SP <sup>3)</sup>     | <i>Salvia plebeia</i> R. Br.                       | Roots         |
| Japanese lady bell, AP            | <i>Adenophora triphylla</i>                        | Leaves        |
| Japanese lady bell, SP            | <i>Adenophora triphylla</i>                        | Roots         |
| Radish                            | <i>Raphanus sativus</i>                            | Roots         |
| Hairy agrimony                    | <i>Agrimonia pilosa</i>                            | Leaves        |
| Hooker chives, AP                 | <i>Allium hookeri</i>                              | Leaves        |
| Hooker chives, AP, WE             | <i>Allium hookeri</i>                              | Leaves        |
| Hooker chives, SP, WE             | <i>Allium hookeri</i>                              | Roots         |
| Hooker chives, SP, fermented      | <i>Allium hookeri</i>                              | Roots         |
| Hooker chives, SP, fermented, WE  | <i>Allium hookeri</i>                              | Roost         |

<sup>1)</sup>AP; aerial part <sup>2)</sup>WE; water extract <sup>3)</sup>SP; subterranean part

Devices, CA, USA)에서 흡광도를 측정하였다. 각 시료의 ABTS radical 소거능은 [1-시료 첨가구의 흡광도/무처리구의 흡광도]×100으로 계산하여 백분율로 나타내었다.

### 3. 항염증 평가

#### 1) 세포 배양

식품소재 추출물은 phosphate buffered saline (PBS)(pH 7.4)를 이용하여 10 mg/mL의 농도로 제조되었으며, 0.2  $\mu$ m의 필터를 이용하여 여과 후 실험에 사용하였다. 실험에 사용한 마우스의 대식세포주인 Raw 264.7 세포는 한국세포주은행(KCLB)으로부터 분양 받아 사용하였고, 세포배양을 위해 10%(v/v) Fetal Bovine Serum(FBS)과 1%(v/v) penicillin-streptomycin을 포함하는 Dulbecco's Modified Eagle's Medium(DMEM) 배지(Gibco, USA)를 사용하였다. 세포는 CO<sub>2</sub> 배양기(37°C, 5% CO<sub>2</sub>)에서 배양하였다.

Raw 264.7 대식세포에서 추출물 자체의 독성을 평가하기 위하여 Raw 264.7 대식세포를 96 well plate에 2×10<sup>5</sup> cells/well의 농도에서 24시간 배양하고, 추출물을 200  $\mu$ L(1000, 500, 250  $\mu$ g/mL)에서 처리한 후 24시간 동안 배양하였다. 세포 생존율은 CellTiter96<sup>®</sup> Aqueous 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-5-(3-carboxymethoxyphenyl)-2-(4-sulfophenyl)-2H-tetrazolium (MTS) 시험 키트(Promega, USA)를 사용하여 분석하였으며, 추출물을 처리하지 않은 대조군과 비교하여 %로 표시하였다.

#### 2) 항염증

Lipopolysaccharide(LPS)로 자극된 Raw 264.7 대식세포에서 추출물의 항염증 효과는 다음과 같은 방법으로 분석되었다. Raw 264.7 세포를 96 well plate에 2×10<sup>5</sup> cells/well 농도로 분주하고 37°C에서 24시간 동안 배양한다. 추출물(Table 1)은 LPS(1  $\mu$ g/mL)를 함유한 DMEM 배지를 이용하여 250, 500, 1000  $\mu$ g/mL 농도로 희석하였다. 24시간 배양된 plate에 희석된 추출물을 200  $\mu$ L씩 처리하고 24시간 동안 배

양하였다. 양성 대조구로는 dexamethasone (Sigma, USA)을 사용하였다. 배양이 완료된 plate에서 상등액을 흡입하여 제거하고 100  $\mu$ L의 멸균된 PBS 완충용액을 분주하였다. 세포생존율의 측정을 위해 20  $\mu$ L의 CellTiter96<sup>®</sup> Aqueous 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-5-(3-carboxymethoxyphenyl)-2-(4-sulfophenyl)-2H-tetrazolium(MTS) 시험 키트(Promega, USA)를 사용하였으며, 30분 후에 490 nm(SpectraMax M5, Molecular Devices, CA, USA)에서 흡광도를 측정하여 세포독성을 분석하였다.

LPS로 자극된 Raw 264.7 대식세포에서 추출물 처리에 의한 nitric oxide(NO)생성 비교를 위해 반응이 완료된 plate로부터 상등액 50  $\mu$ L을 수집하였다. NO 분석은 Griess 시약(Promega, USA)을 이용하여 분석하였다. 상등액에 50  $\mu$ L의 1% sulfanilamide 용액을 혼합한 후 5분 동안 실온에서 반응시켰다. 이후 50  $\mu$ L의 0.1% N-(1-Naphthyl) ethylenediamine dihydrochloride 용액을 혼합하여 5분 동안 반응한 후 540 nm에서 흡광도를 측정하였고, 표준물질로는 sodium nitrite를 사용하였다.

### 4. 항혈전 평가

트롬빈에 대한 저해활성 측정을 위해 96 well plate에 10 mM HEPES, 150 mM NaCl, 0.1% bovine serum albumin을 포함하는 HBSS 완충용액(pH 7.5) 40  $\mu$ L와 트롬빈용액(50 NIH units/mL) 30  $\mu$ L를 분주하였다. 양성 대조군으로는 acetylsalicylic acid (Aspirin, Sigma, USA)를 사용하였고, 시료는 농도별로 제조된 추출물을 사용하였다. 10  $\mu$ L의 시료 및 대조군을 각각 분주하고 혼합하여 37°C에서 30분 동안 반응시켰다. 160  $\mu$ L의 기질용액(1 mM  $\beta$ -Ala-Gly-Arg-p-nitroanilide diacetate, Sigma)을 첨가한 후 37°C에서 60분 동안 반응시켰으며 405 nm (Spectra Max M5, Molecular Devices, CA, USA)에서 흡광도를 측정하였으며, 트롬빈 활성 저해율은 다음 식에 의해 산출하였다.

저해율(%)= [1-시료 첨가구의 흡광도/  
시료 무 첨가구의 흡광도]×100

## 5. 항비만 평가

### 1) 3T3-L1 세포 배양

본 실험에 사용한 mouse embryo 유래의 3T3-L1 지방전구세포는 한국세포주은행(KCLB)으로부터 분양받아 사용하였다. 세포 배양을 위해 10% Bovine Calf Serum(BCS, Gibco, USA)과 1% penicillin-streptomycin solution을 첨가한 DMEM 배지(Gibco, USA)를 사용하여 37°C, 5% CO<sub>2</sub> 조건 하에서 배양하였다.

### 2) 세포독성

3T3-L1세포에서 추출물의 독성을 측정하기 위하여 CellTiter96<sup>®</sup> Aqueous 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-5-(3-carboxymethoxyphenyl)-2-(4-sulfophenyl)-2H-tetrazolium(MTS) 시험 키트(Promega, USA)를 사용하였다. 3T3-L1 지방전구세포를 96 well plate에 5×10<sup>4</sup> cells/well의 농도로 접종한 후 24시간 배양하였다. 대조군으로는 DMEM+BCS 배지를 사용하였고, 1.9~1000 µg/mL의 농도로 제조된 추출물은 100 µL/well의 용량으로 37°C, 5% CO<sub>2</sub>에서 24시간 동안 처리하였다. 처리가 완료된 plate는 상등액을 흡입하여 제거한 다음 100 µL/well의 멸균된 PBS용액을 분주하고 20 µL/well의 MTS 용액을 첨가한 후에 30분 동안 배양되었다. 세포독성은 490 nm(SpectraMax M5, Molecular Devices, CA, USA)에서 흡광도를 측정하여 평가하였다.

### 3) 3T3-L1 세포 분화

3T3-L1 지방전구세포의 지방 세포로의 분화는 24 well plate에 5×10<sup>4</sup> cells/well의 농도로 세포를 분주하여 48시간 동안 배양한 후 100% confluency가 되면 48시간 더 배양하여 세포가 충분히 밀집되게 배양하였다(Day 0). 0.5 mM IBMX(3-isobutyl-1-methylxanthine), 1 µM dexamethasone, 1 µg/mL

insulin(MDI solution) 및 10% FBS을 포함하는 DMEM 배지와 함께 추출물을 농도별로 처리하여 분화를 개시하였으며, 2일 동안 배양하였다(Day 2). 이후 5 µg/mL insulin 및 추출물을 농도별로 포함하는 DMEM+FBS배지로 교환하고, 2일에 한 번씩 배지를 교환하여 6일간 더 배양하였다(Day 8). 추출물의 3T3-L1 세포독성 평가를 통해 3T3-L1 지방전구세포가 지방세포로의 분화개시 및 분화지연을 위한 처리 농도를 결정하였다. 추출물을 세포독성이 없는 농도(추출물 처리 후 세포증식률 80%이상을 나타낸 농도)로 희석하여 처리하였을 때 분화가 완료된 3T3-L1 세포는 Oil-red O 용액으로 염색한 후 관찰하였으며, 지방세포 내 축적된 지질을 정량하였다. 세포분화 억제능은 시료를 처리하지 않은 무처리 대조군과 비교하여 산출하였다.

### 4) Triglyceride 축적 저해효과 확인 :

#### Oil-red O 염색 및 정량

3T3-L1 지방전구세포의 분화정도 및 세포 내에 생산되는 triglyceride의 축적이 저해되는지 확인하기 위하여 분화가 완료되는 시점인 Day 8에 Oil-red O 염색을 수행하였다. 24 well plate에 분화된 3T3-L1 지방전구세포를 PBS로 세척한 후 10% formalin(Sigma, USA)으로 2시간 동안 고정하였다. Oil Red O(Sigma, USA)는 0.7 g을 200 mL의 isopropanol(Sigma, USA)에 녹여 stock solution을 만들어 사용하였다. Stock solution은 증류수를 가하여 60%로 희석한 후 여과지(Whatman, USA)로 여과하고 고정된 지방세포에 250 µL씩 가한 후 1시간 반응시켰다. 반응이 끝난 세포는 60% isopropanol로 세척한 후 증류수로 세척하여 완전히 건조하였다. 염색이 완료된 plate는 위상차 현미경(Nikon, Tokyo, Japan)을 이용하여 10배의 배율로 관찰하였다. 또한 정량적 분석을 위하여 염색한 세포에 100% isopropanol을 가하여 색소를 용출시켰으며 이것을 96 well plate에 200 µL씩 옮겨서 500 nm(SpectraMax M5, Molecular Devices, CA, USA)에서 흡광도를 측정하였다.

## 6. 기능성 성분 분석

### 1) 총 페놀 함량

총 페놀 함량은 Folin-Denis법을 변형하여 측정하였다. 96 well plate에 20  $\mu$ L의 시료와 100  $\mu$ L의 3차 증류수를 분주하여 혼합하였고, 20  $\mu$ L Folin-Ciocalteu's phenol 시약(Sigma, USA)을 넣고 실온에서 5분 동안 반응시킨 후 60  $\mu$ L의 7.5% sodium carbonate를 분주하고 30분간 차광하여 반응시켰다. 반응 종료 후 765 nm(SpectraMax M5, Molecular Devices, CA, USA)에서 흡광도를 측정하였으며, 표준물질로는 gallic acid를 사용하였다. 시료의 페놀 함량은 gallic acid의 표준곡선을 바탕으로 하여 gallic acid equivalent(GAE) mg/g로 나타내었다.

### 2) 총 플라보노이드 함량

총 플라보노이드 함량은 colorimetric 방법을 변형하여 측정하였다(Iqbal & Bhanger 2006). 96 well plate에 20  $\mu$ L의 시료와 100  $\mu$ L의 3차 증류수를 분주하여 혼합하였다. 10  $\mu$ L의 5% sodium nitrite를 넣고 실온에서 5분 동안 반응시킨 후 10  $\mu$ L의 10% aluminium chloride를 분주하고 5분간 차광하여 반응시켰다. 반응 종료를 위해 1 N의 sodium hydroxide를 넣어 혼합하고, 510 nm(SpectraMax M5, Molecular Devices, CA, USA)에서 흡광도를 측정하였다. 표준물질로는 (+)-catechin을 사용하였으며, 시료의 플라보노이드 함량은 (+)-catechin의 표준곡선을 바탕으로 (+)-catechin equivalent(CE)mg/g로 나타내었다.

## 7. 통계처리

모든 실험결과는 SPSS package program(SPSS Inc., ANOVA)을 이용하여 분석한 후, 평균과 표준편차로 표시하였다. 대조군 대비 시료 처리 효과는 student t-test, 같은 농도에서 시료별 효과의 비교는 Duncan's multiple range test 결과에 따라 유의성을 제시하였다.

## III. 결과 및 고찰

### 1. 항산화 활성

심혈관계 질환에는 활성산소가 관련되어 있으며, 활성산소 증가에 의한 세포막의 손상은 혈관내피 세포의 손상을 유도하여 심혈관계 질환의 원인이 된다. 본 실험에서 심혈관 질환 예방을 목적으로 사용되는 식용식물들의 항산화 활성을 분석한 결과는 다음과 같다.

#### 1) DPPH 라디칼 소거활성

사용된 소재의 추출물을 이용하여 DPPH 라디칼 소거 활성을 확인한 결과(Table 2), 배암차즈기 잎, 잔대 잎, 짚신나물의  $C_{50}$  값이 100  $\mu$ g/mL이하로 라디칼을 소거하는 효과가 우수한 것으로 나타났다. 배암차즈기는 항산화효과가 높은 것으로 알려져 있는데(Choi et al. 2014; Chen & Kang 2014), 70% 주정에서 열수추출시보다 6배 이상 활성이 높아 추출방법에 따라 활성이 다른 것을 보여주고 있다.

#### 2) ABTS 라디칼 소거활성

소재의 ABTS 라디칼 소거 활성을 확인한 결과(Table 2)도 DPPH 라디칼 소거 활성과 유사한 경향을 보였으며, 배암차즈기 잎, 잔대 잎, 짚신나물, 발효삼채의  $IC_{50}$  값이 100  $\mu$ g/mL 이하로 나타났다. 배암차즈기 잎, 잔대 잎, 짚신나물은 두 가지 항산화 효과 측정방법에서  $IC_{50}$  값이 100  $\mu$ g/mL 이하로 우수한 소재로 나타났으며, 대체적으로 뿌리보다는 잎 그리고 삼채의 경우 열수보다는 70% 주정 추출물에서 효과가 높았으며, 발효처리시에  $IC_{50}$  값이 감소하여 항산화 활성이 향상되는 것으로 나타났다.

Son et al.(2002)은 고혈압 및 심혈관 질환에 처방되는 산사(山楂)의 DPPH 라디칼 소거능에서는 800  $\mu$ g/mL에서 60.4%의 소거능을 보였고, phosphatidylcholine hydroperoxides의 생성 억제효능에서 최대 79.25%의 지질과산화 억제를 제시하면서 항산화와 심혈관 질환 예방 효과의 관련성을 제시하였다. 따라서 배암차

즈기, 잔대 및 쉐신나물의 높은 항산화 효과는 심혈관 질환 예방 소재의 가능성을 갖고 있다 하겠다.

## 2. 항염 활성

O<sub>2</sub><sup>-</sup>, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, 그리고 NO는 LPS를 통해 대식세포에서 생산된다. NO는 종양이나 세균 등에 대해 방어하는 역할을 하나 과도한 NO 생성은 독성 라디칼로 작용하여 세포나 조직의 손상을 일으키고(Baek et al. 2009) 염증을 유발하게 된다. 따라서 기능성 소재의 항염 활성을 측정하기 위해 Raw 264.7세포에 LPS를 처리하고 NO 생성억제 활성을 평가하는 방법이 사용되고 있다(Jeong et al. 2012; Choi et al. 2014).

### 1) Raw 264.7 대식세포에서의 세포독성

추출물 자체의 독성을 평가하였을 때 배암차즈기 뿌리, 잔대 뿌리 및 쉐신나물 잎은 1,000 µg/mL 농도에서 세포 증식율을 대조군에 비하여 감소시켰으나, 500 µg/mL 이하의 농도에서 모든 시료가 자체 독성

을 보이지 않았다(Table 3).

Raw 264.7 대식세포에서 염증유발물질로 사용되는 LPS를 추출물과 함께 처리하여 세포독성을 확인하였다. 그 결과 모든 시료가 500 µg/mL 이하의 농도에서 LPS에 대해 농도 의존적으로 세포를 보호하는 효과가 있었다(Table 3). 특히 풋마늘, 무, 발효삼채 뿌리는 유의한 수준에서 세포를 보호하는 효과가 우수한 것으로 나타났다. 무는 항산화 및 항염 효과가 있는 것으로 보고되고 있는데(Lee et al. 2013), 본 실험결과에서 무는 세포를 보호하여 항염 효과를 보이는 것으로 해석된다.

### 2) Nitric oxide 함량

Raw 264.7 대식세포를 LPS 및 추출물과 함께 처리한 결과 LPS만을 처리한 대조군에서 NO 생성량이 증가하였고, 양성대조군으로 사용된 dexamethasone은 NO 생성량을 44.7% 수준으로 낮추었다. Raw 264.7 대식세포에 추출물을 함께 처리한 경우 추출물

**Table 2.** Antioxidant activities of the plant extracts by DPPH and ABTS radical scavenging activities

| Treatment                         | DPPH IC <sub>50</sub> (µg/mL) | ABTS IC <sub>50</sub> (µg/mL) |             |
|-----------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|-------------|
| PC <sup>1)</sup>                  | Ascorbic acid                 | 66.5 ± 0.1*                   | 9.3 ± 0.2*  |
|                                   | Trolox                        | 98.1 ± 8.4*                   | 16.0 ± 2.3* |
| Green garlic                      | 1363.0 ± 72.3*                | 1729.0 ± 192.4*               |             |
| Bear's garlic                     | 1027.4 ± 54.1*                | 1028.4 ± 6.4*                 |             |
| Common sage, AP <sup>3)</sup>     | 32.4 ± 2.4*                   | 37.5 ± 0.8*                   |             |
| Common sage, AP, WE <sup>4)</sup> | 131.4 ± 3.0*                  | 73.5 ± 2.8*                   |             |
| Common sage, SP <sup>5)</sup>     | 100.2 ± 4.6*                  | 62.0 ± 0.3*                   |             |
| Japanese lady bell, AP            | 50.9 ± 8.3*                   | 59.1 ± 1.6*                   |             |
| Japanese lady bell, SP            | 6682.9 ± 569.9*               | 13484.8 ± 7728.3*             |             |
| Radish                            | 6697.1 ± 522.6*               | 3129.8 ± 467.3*               |             |
| Hairy agrimony                    | 38.3 ± 1.7*                   | 40.7 ± 0.7*                   |             |
| Hooker chives, AP                 | 2115.5 ± 32.8*                | 1273.3 ± 120.8*               |             |
| Hooker chives, AP, WE             | 6508.6 ± 785.5*               | 1178.0 ± 78.4*                |             |
| Hooker chives, SP, WE             | 7238.2 ± 2396.0*              | 4514.8 ± 817.1*               |             |
| Hooker chives, SP, fermented      | 293.1 ± 1.6*                  | 139.3 ± 1.2*                  |             |
| Hooker chives, SP, fermented, WE  | 216.5 ± 16.7*                 | 80.6 ± 2.5*                   |             |

<sup>1)</sup>PC; positive control <sup>2)</sup>ND; not detected <sup>3)</sup>AP; aerial part <sup>4)</sup>WE; water extract <sup>5)</sup>SP; subterranean part

\*Significant difference compared to control untreated with any of extracts at  $p < 0.01$

**Table 3.** Effects of the plant extracts on NO production by LPS-treated Raw 264.7 cells

| Treatment                         | Conc.<br>( $\mu\text{g/mL}$ ) | Cell viability<br>(%) | LPS-treated cells               |                        |
|-----------------------------------|-------------------------------|-----------------------|---------------------------------|------------------------|
|                                   |                               |                       | NO production (%)               | Cell proliferation (%) |
| NC <sup>1)</sup>                  | –                             | 100.0 $\pm$ 3.4*      | 24.0 $\pm$ 0.1 <sup>a</sup>     | 141.8 $\pm$ 1.9*       |
| LPS                               | 1                             | 74.5 $\pm$ 5.6        | 100.0 $\pm$ 0.4 <sup>v</sup>    | 100.0 $\pm$ 1.5        |
| Dexamethasone                     | 125                           | –                     | 44.7 $\pm$ 0.3 <sup>a,cd</sup>  | 146.7 $\pm$ 2.9        |
|                                   | 1000                          | 118.4 $\pm$ 8.7*      | 57.9 $\pm$ 0.5 <sup>a,b</sup>   | 151.3 $\pm$ 10.9       |
| Green garlic                      | 500                           |                       | 81.5 $\pm$ 2.1 <sup>a,op</sup>  |                        |
|                                   | 250                           |                       | 96.1 $\pm$ 2.4 <sup>uv</sup>    |                        |
| Bear's garlic                     | 1000                          | 102.9 $\pm$ 5.7*      | 67.4 $\pm$ 2.1 <sup>a,jk</sup>  | 111.1 $\pm$ 7.7*       |
|                                   | 500                           |                       | 84.8 $\pm$ 0.7 <sup>a,pq</sup>  |                        |
|                                   | 250                           |                       | 91.7 $\pm$ 0.5 <sup>a,stu</sup> |                        |
| Common sage, AP <sup>2)</sup>     | 1000                          | 97.0 $\pm$ 3.3*       | 32.6 $\pm$ 3.1 <sup>a,b</sup>   | 131.1 $\pm$ 3.1        |
|                                   | 500                           |                       | 45.8 $\pm$ 0.5 <sup>a,c</sup>   |                        |
|                                   | 250                           |                       | 74.5 $\pm$ 1.2 <sup>a,lm</sup>  |                        |
| Common sage, AP, WE <sup>3)</sup> | 1000                          | 113.7 $\pm$ 2.3*      | 41.4 $\pm$ 0.5 <sup>a,cd</sup>  | 131.2 $\pm$ 9.8        |
|                                   | 500                           |                       | 71.9 $\pm$ 1.4 <sup>a,l</sup>   |                        |
|                                   | 250                           |                       | 89.9 $\pm$ 1.7 <sup>a,rs</sup>  |                        |
| Common sage, SP <sup>4)</sup>     | 1000                          | 78.8 $\pm$ 4.9*       | 45.0 $\pm$ 2.1 <sup>a,de</sup>  |                        |
|                                   | 500                           | 111.7 $\pm$ 3.0*      | 67.6 $\pm$ 0.0 <sup>a,jk</sup>  | 121.0 $\pm$ 4.3*       |
|                                   | 250                           |                       | 81.8 $\pm$ 0.7 <sup>a,op</sup>  |                        |
| Japanese lady bell, AP            | 1000                          | 107.1 $\pm$ 6.7*      | 63.1 $\pm$ 6.9 <sup>a,i</sup>   |                        |
|                                   | 500                           |                       | 78.3 $\pm$ 1.9 <sup>a,mno</sup> | 118.0 $\pm$ 3.4*       |
|                                   | 250                           |                       | 91.4 $\pm$ 0.9 <sup>a,st</sup>  |                        |
| Japanese lady bell, SP            | 1000                          | 91.5 $\pm$ 4.8*       | 81.2 $\pm$ 3.6 <sup>a,op</sup>  |                        |
|                                   | 500                           | 99.3 $\pm$ 6.1*       | 91.4 $\pm$ 1.9 <sup>a,st</sup>  | 117.3 $\pm$ 4.6*       |
|                                   | 250                           |                       | 95.6 $\pm$ 1.7 <sup>tu</sup>    |                        |
| Radish                            | 1000                          | 109.7 $\pm$ 1.1*      | 63.4 $\pm$ 0.2 <sup>a,ij</sup>  | 160.9 $\pm$ 9.7        |
|                                   | 500                           |                       | 80.3 $\pm$ 0.1 <sup>a,no</sup>  |                        |
|                                   | 250                           |                       | 91.7 $\pm$ 0.9 <sup>a,stu</sup> |                        |
| Hairy agrimony                    | 1000                          | 70.1 $\pm$ 5.9*       | 29.0 $\pm$ 0.1 <sup>a,b</sup>   |                        |
|                                   | 500                           | 117.3 $\pm$ 6.3*      | 55.3 $\pm$ 0.7 <sup>a,gh</sup>  | 122.0 $\pm$ 5.4*       |
|                                   | 250                           |                       | 76.3 $\pm$ 1.4 <sup>a,lmn</sup> |                        |
| Hooker chives, AP                 | 1000                          | 99.7 $\pm$ 3.6*       | 40.1 $\pm$ 1.4 <sup>a,c</sup>   | 113.6 $\pm$ 6.8*       |
|                                   | 500                           |                       | 75.9 $\pm$ 0.2 <sup>a,tuv</sup> |                        |
|                                   | 250                           |                       | 86.4 $\pm$ 0.9 <sup>a,qr</sup>  |                        |
| Hooker chives, AP, WE             | 1000                          | 136.7 $\pm$ 1.1*      | 67.9 $\pm$ 0.5 <sup>a,k</sup>   | 122.0 $\pm$ 4.6*       |
|                                   | 500                           |                       | 86.5 $\pm$ 2.1 <sup>a,qr</sup>  |                        |
|                                   | 250                           |                       | 93.1 $\pm$ 5.2 <sup>stu</sup>   |                        |
| Hooker chives, SP, WE             | 1000                          | 109.1 $\pm$ 11.1*     | 74.1 $\pm$ 0.2 <sup>a,lm</sup>  | 99.4 $\pm$ 2.1*        |
|                                   | 500                           |                       | 88.4 $\pm$ 0.1 <sup>a,qrs</sup> |                        |
|                                   | 250                           |                       | 92.6 $\pm$ 0.2 <sup>a,stu</sup> |                        |
| Hooker chives, SP, fermented      | 1000                          | 130.5 $\pm$ 1.1*      | 52.8 $\pm$ 1.4 <sup>a,fg</sup>  | 139.8 $\pm$ 0.5        |
|                                   | 500                           |                       | 77.8 $\pm$ 2.1 <sup>a,mno</sup> |                        |
|                                   | 250                           |                       | 88.9 $\pm$ 1.2 <sup>a,qrs</sup> |                        |
| Hooker chives, SP, fermented, WE  | 1000                          | 102.2 $\pm$ 1.9*      | 50.0 $\pm$ 4.5 <sup>a,f</sup>   |                        |
|                                   | 500                           |                       | 74.5 $\pm$ 0.7 <sup>a,lm</sup>  | 110.5 $\pm$ 2.1*       |
|                                   | 250                           |                       | 88.4 $\pm$ 0.1 <sup>a,qrs</sup> |                        |

<sup>1)</sup>NC; negative control <sup>2)</sup>AP; aerial part <sup>3)</sup>WE; water extract <sup>4)</sup>SP; subterranean part

\*Significant difference compared to control(LPS) at  $p < 0.01$

<sup>a-u</sup> Values with different superscript in the same column are significantly different ( $p < 0.05$ ) among treatments by duncan's multiple range test.

의 농도 의존적으로 유의적인 수준에서 NO 생성량이 감소하였으며, 추출물 농도가 낮아질수록 NO 생성을 억제하는 효과가 유의적으로 감소하였다(Table 3). 1,000  $\mu\text{g/mL}$  농도에서 세포 독성을 보이지 않는 소재로 배암차즈기 잎이 대조군에 비하여 67% 이상 가장 높은 NO 생성 억제능을 보였고, 삼채 뿌리의 경우 발효 처리하였을 때 NO 생성 억제능이 20% 이상 높아지는 결과를 보였다. 무도 1,000  $\mu\text{g/mL}$ 에서 약 37%의 NO 생성 억제 활성을 보였는데, 이것은 위에서 제시한 LPS에 대한 세포 보호 효과와 관련된 것으로 보인다. 그러나 잔대는 다른 추출물에 비하여 NO 생성 억제효과가 적고, 농도에 따른 NO 생성 억제효과도 크지 않았다.

세포 독성이 없는 수준에서 항염 활성을 평가하였을 때 배암차즈기(Jeong et al. 2012)와 작약 추출물(Im & Lee 2012)은 Raw 264.7세포에서의 NO 생성 억제 효과가 보고되었는데, Han et al.(2001)은 항산화 혹은 항산화 효과가 있는 물질은 NF- $\kappa$ B의 활성을 억제하고 Raw 264.7세포의 iNOS 유전자 발현을

조절하여 NO생산을 저해하는 것으로 설명하였다.

### 3. 항혈전 효과

항혈전 효과는 혈액응고효소인 트롬빈을 추출물과 함께 처리한 후 트롬빈의 활성을 분석하여 제시하였다(Table 4). 본 실험에 사용된 시료(500  $\mu\text{g/mL}$ ) 중에서 배암차즈기 잎, 짚신나물과 삼채 뿌리에서 52.4~98.1%의 항혈전 효과가 나타났다. 같은 농도에서 짚신나물(98.1%)이 가장 높은 항혈전 효과를 보였으며, 삼채 뿌리를 발효처리하였을 때 항혈전 활성이 향상되는 것으로 나타났다.

Shin et al.(2008a)에 의하면 버섯의 균사체를 이용한 한약재를 발효시킨 결과 DPPH 소거능 및 thrombin 억제능이 발효 전에 비해 각각 20.7~59%와 13.9~31.4% 증가한다고 하였다(Shin et al. 2008b). 본 실험에서도 발효 처리에 의해 항혈전 효과가 높아졌고, 앞으로 발효 방법에 따른 항혈전 효과 비교가 수행되어야 할 것으로 생각된다. 식물 중에서 골쇄보의 경우 DPPH 소거능과 thrombin 억제효과가 동시

**Table 4.** Thrombin inhibition effect of the plant extracts

| Treatment                         | Thrombin inhibition (%) |
|-----------------------------------|-------------------------|
| Aspirin (50 $\mu\text{g/mL}$ )    | 41.9 $\pm$ 1.9*         |
| Green garlic                      | ND <sup>1)</sup>        |
| Bear's garlic                     | ND                      |
| Common sage, AP <sup>2)</sup>     | 54.1 $\pm$ 0.9*         |
| Common sage, AP, WE <sup>3)</sup> | ND                      |
| Common sage, SP <sup>4)</sup>     | ND                      |
| Japanese lady bell, AP            | ND                      |
| Japanese lady bell, SP            | ND                      |
| Radish                            | ND                      |
| Hairy agrimony                    | 98.1 $\pm$ 0.2*         |
| Hooker chives, AP                 | ND                      |
| Hooker chives, AP, WE             | ND                      |
| Hooker chives, SP, WE             | ND                      |
| Hooker chives, SP, fermented      | 67.3 $\pm$ 1.9*         |
| Hooker chives, SP, fermented, WE  | 52.4 $\pm$ 5.0*         |

<sup>1)</sup>ND; not detected <sup>2)</sup>AP; aerial part <sup>3)</sup>WE; water extract <sup>4)</sup>SP; subterranean part

\*Significant difference compared to control untreated with any of extracts at  $p < 0.01$

에 증가되어 복합 특정 기능성의 강화 원재료로 취급하고 있는데(Shin et al. 2008a, 2008b), 본 연구에서도 배암차즈기와 쫄신나물은 향산화 효능과 thrombin 억제능 등이 동시에 관찰되어 그 활용 방안이 주목된다.

4. 항비만 효과

1) 3T3-L1 세포독성

3T3-L1 지방전구세포에서 추출물의 세포독성을 확인한 결과 독성을 나타내지 않는 범위는 1.95~250 µg/mL 이었다. 세포독성이 높아 제일 낮은 농도를 처리한 시료는 풋마늘(0.48~3.9 µg/mL)이었으며, 산마늘과 쫄신나물은 높은 농도에서도 세포독성이 없어 31.25~250 µg/mL의 범위에서 사용하였다 (Table 5).

2) 3T3-L1 분화 억제능

동맥경화와 심혈관 질환의 발생은 비만수준과 밀접한 관계가 있다고 알려져 있으며, 비만의 예방과 치료를 위해 식품이나 천연물에서 효과적인 치료제

를 찾는 연구가 진행되고 있다(Jee et al. 2006; Pi-Sunyer 2009). 본 연구에서 식용식물의 3T3-L1 분화 억제능을 평가하기 위하여 먼저 3T3-L1 세포에서 세포독성과 분화 억제능을 확인하였다. 추출물의 지방 세포 분화 억제능의 범위는 4.1~15.2%로, 삼채 지상부(15.2%)가 가장 높은 분화 억제능을 보였으며 (Table 5), 이들 소재의 지방축적 억제 효과는 심혈관 질환 예방에 도움을 줄 수 있을 것으로 기대된다. 삼채 뿌리는 발효시 비만 마우스에서 체지방 감소효과가 높아지는 것으로 보고되었고(Kim et al. 2015) 본 연구에서도 유사한 경향을 보였으나 발효 방법 및 관련된 기전 연구가 계속되어야 할 것으로 생각된다.

5. 기능성 성분

1) 총 페놀함량

사용된 소재에서 총 페놀함량을 분석한 결과 모든 소재에서 페놀함량이 확인되었다(Table 6). 1 mg GAE/g 이상의 페놀을 함유한 시료는 3종으로 배암차즈기 지상부, 잔대 지상부, 쫄신나물로, 예측한 바

Table 5. Inhibitory effects of the plant extracts on the lipid accumulation in 3T3-L1 cells

| Treatment                         | Concentration (µg/mL) | Inhibitory effects (%) |
|-----------------------------------|-----------------------|------------------------|
| Green garlic                      | 3.9                   | ND <sup>1)</sup>       |
| Bear's garlic                     | 250.0                 | ND                     |
| Common sage, AP <sup>2)</sup>     | 62.5                  | 9.4 ± 0.1*             |
| Common sage, AP, WE <sup>3)</sup> | 62.5                  | 11.2 ± 0.5*            |
| Common sage, SP <sup>4)</sup>     | 62.5                  | ND                     |
| Japanese lady bell, AP            | 62.5                  | ND                     |
| Japanese lady bell, SP            | 62.5                  | 4.1 ± 0.8*             |
| Radish                            | 15.6                  | ND                     |
| Hairy agrimony                    | 250                   | 9.6 ± 1.3*             |
| Hooker chives, AP                 | 31.2                  | 15.2 ± 0.4*            |
| Hooker chives, AP, WE             | 31.2                  | 7.4 ± 1.7*             |
| Hooker chives, SP, WE             | 31.2                  | 7.7 ± 1.8*             |
| Hooker chives, SP, fermented      | 31.2                  | ND                     |
| Hooker chives, SP, fermented, WE  | 62.5                  | 8.1 ± 0.5*             |

<sup>1)</sup>ND; not detected <sup>2)</sup>AP; aerial part <sup>3)</sup>WE; water extract <sup>4)</sup>SP; subterranean part

The values were calculated as a percentage of absorbance of Control. Each value was expressed as the mean ± SD.

\*Significant difference compared to control untreated with any of extracts at p<0.01.

와 같이 잎 부분에 총페놀 함량이 높은 것으로 나타났다.

2) 총 플라보노이드 함량

본 실험에 사용된 모든 식용식물의 총 플라보노이드 함량을 분석한 결과(Table 6) 플라보노이드 함량은 149.3~1685.3  $\mu\text{g CE/g}$ 이었으며, 배암차즈기, 잔대, 짚신 나물 및 삼채에서 플라보노이드가 분석되었다. 배암차즈기 지상부와 짚신나물은 1 mg CE/g 이상의 플라보노이드를 함유하고 있었다(Table 6).

총 페놀 함량은 phenolic hydroxyl 그룹이 단백질, 2가 금속이온과 결합하는 높은 항산화효과를 가지는 것으로 알려져 있으며(Shin et al. 1994; Jung & Sohn 2014), 본 연구에서는 모든 시료에서 Shin et al.(2008a)이 제시한 마늘의 총 페놀 함량보다 최소 4배~최대 264배 높게 나타났다. 채소류 및 식용식물의 잎, 꽃, 과실, 줄기 등에서 존재(Jang et al. 2010)하는 플라보노이드도 본 연구에 사용된 시료에서 총

폴리페놀함량과 유사한 경향을 보여 Shin et al. (2008a)의 연구에서보다 최소 20배~616배 높게 나타났다. 식물 내에 존재하는 페놀성 화합물들은 체내의 효소단백질과 같은 거대분자와 결합하는 성질을 가지고 있어서 항산화, 항당뇨, 항비만 등과 관련이 있는 것으로 보고되고 있다. 그러므로 본 연구에서 사용된 배암차즈기와 짚신나물도 생마늘 및 흑마늘의 추출물(Jung & Sohn 2014)과 함께 관련된 생리활성이 높은 소재로 활용될 수 있을 것으로 보인다(Sakihama et al. 2002; Scalbert et al. 2005).

총 플라보노이드 함량은 항혈전 활성화와 관련 있는 것으로 보고되고 있는데(Ahn et al. 2010) 본 연구에서도 항산화, 항염, 항혈전 및 항비만 효과가 있는 식용식물 소재들에서 플라보노이드 함량이 높게 나타났다. 따라서 본 실험에 사용된 배암차즈기, 짚신나물, 삼채 등은 플라보노이드 및 폴리페놀 함량이 많고 심혈관 질환 예방과 관련된 항산화, 항염, 항혈전 및 항비만 효과가 있어 다양한 기능성 소재로 개발이

Table 6. Total phenolic and total flavonoid contents of the plant extracts

| Treatment                         | Total phenolic <sup>1)</sup> content<br>( $\mu\text{g GAE/g}$ ) | Total flavonoid <sup>2)</sup> content<br>( $\mu\text{g CE/g}$ ) |
|-----------------------------------|---|---|
| Green garlic                      | 123.1 $\pm$ 4.6   | ND <sup>3)</sup>  |
| Bear's garlic                     | 137.6 $\pm$ 4.5   | ND  |
| Common sage, AP <sup>4)</sup>     | 1754.2 $\pm$ 30.5   | 1424.0 $\pm$ 0.9  |
| Common sage, AP, WE <sup>5)</sup> | 576.4 $\pm$ 21.1  | 149.3 $\pm$ 26.4  |
| Common sage, SP <sup>6)</sup>     | 627.1 $\pm$ 16.6  | 420.7 $\pm$ 5.7   |
| Japanese lady bell, AP            | 1045 $\pm$ 16.6   | 666.0 $\pm$ 10.4  |
| Japanese lady bell, SP            | 56.5 $\pm$ 3.8  | ND  |
| Radish                            | 114.3 $\pm$ 2.6   | ND  |
| Hairy agrimony                    | 2116.2 $\pm$ 63.5   | 1685.3 $\pm$ 29.2   |
| Hooker chives, AP                 | 193.3 $\pm$ 9.0   | 184.1 $\pm$ 5.2   |
| Hooker chives, AP, WE             | 96.7 $\pm$ 2.0  | ND  |
| Hooker chives, SP, WE             | 58.3 $\pm$ 2.2  | ND  |
| Hooker chives, SP, fermented      | 277.9 $\pm$ 3.3   | ND  |
| Hooker chives, SP, fermented, WE  | 357.4 $\pm$ 0.4   | ND  |

<sup>1)</sup>Gallic acid equivalents (GAE,  $\mu\text{g/g}$ ) <sup>2)</sup>(+)-catechin equivalents (CE,  $\mu\text{g/g}$ )

<sup>3)</sup>ND; not detected <sup>4)</sup>AP; aerial part <sup>5)</sup>WE; water extract <sup>6)</sup>SP; subterranean part

가능하며 재배 농가의 수입 증대에도 크게 기여할 수 있을 것으로 보인다.

#### IV. 요약 및 결론

본 연구에서는 그동안 심혈관 질환에 효과가 있다고 알려져 있고, 농가에서 소득 작목으로 재배되고 있는 7종의 식용식물에서 항산화, 항염, 항혈전, 항비만 효능을 살펴보고 이들 기능성과 관련해서 총폴리페놀과 플라보노이드 함량을 분석하였다. 그 결과 배암차즈기, 잔대, 짚신나물, 삼채에서 항산화(DPPH 및 ABTS radical 소거능), 항염, 트립신 억제 및 지방세포내 지질축적 억제효능이 관찰되었고, 부위 및 추출 조건에 따라 활성이 다른 것으로 나타났다. 따라서 이러한 기능성 소재는 인체적용시험 뿐 아니라 기능성 소재의 특성에 맞는 추출 등 가공방법을 고려하고 다양한 식품 개발을 통해 일반 국민이 쉽게 섭취 및 이용할 있게 되길 기대한다. 또한 이러한 소재들을 이용한 다양한 심혈관질환 예방 식품 개발은 우수한 우리 기능성 농산물의 판로 확대 및 농가의 소득 향상에도 기여할 수 있을 것이다.

#### References

Ahn HS, Lee LH(1993) The relationships between obese index and major risk factors in patients with cardiovascular disease. *Korean J Nutr* 26(9), 1071-1084

Ahn SM, Hong YK, Kwon GS, Sohn HY(2010) Evaluation of *in-vitro* anticoagulation activity of 35 different seaweed extracts. *J Life Sci* 20(11), 1640-1647

Bae GC, Bae DY(2012) The anti-inflammatory effects of ethanol extract of *Allium Hookeri* cultivated in south Korea. *Korean J Herbal* 27(6), 55-61

Baek S, Choi JH, Ko SH, Lee YJ, Cha DS, Park EY, Kang YG, Jeon H(2009) Antioxidant and anti-inflammatory effect of *Nardostachys Chinensis* in IFN- $\gamma$ /LPS-stimulated peritoneal macrophage. *Korean J Oriental Physiol Pathol* 23(4), 853-859

Blois MS(1958) Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature* 181(4617), 1199-1200

Chen LI, Kang YH(2014) Antioxidant and enzyme inhibitory activities of Plebeian herba (*Salvia plebeia*

R. Br.) under different cultivation conditions. *J Agric Food Chem* 62(10), 2190-2197

Choi BK, Lee SH, Kim NS, Cho SY, Jang HH, Kim JB, Lee YM, Yoon S, Lee S H(2014) Anti-oxidative and anti-allergic effects of *Salvia plebeia* R. ethanol extracts. *Korean J Pharmacogn* 45(4), 332-337

Doh ES, Chang JP, Kil KJ, Choi MS, Yang JK, Yun CW, Jeong SM, Jeong YH, Lee GH(2011) Antioxidative activity and cytotoxicity of fermented *Allium victorialis* L. extract. *Korean J Plant Res* 24(1), 30-39

Hammond B, Kontos HA, Hess ML(1985) Oxygen radicals in the adult respiratory distress syndrome, in myocardial ischemia and reperfusion injury, and in cerebral vascular damage. *Can J Physiol Pharmacol* 63(3), 173-187

Han YJ, Kwon YG, Chung HT, Lee SK, Simmons RL, Billiar TR, Kim YM(2001) Antioxidant enzymes suppress nitric oxide production through the inhibition of NF- $\kappa$ B activation: role of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> and nitric oxide in inducible nitric oxide synthase expression in macrophages. *Nitric Oxide* 5(5), 504-513

Harold ES, Darrell EA, Evan IF, John AM(2007) A review of the interaction among dietary antioxidants and reactive oxygen species. *J Nutr Biochem* 18(9), 567-579

Im DY, Lee KI(2012) Nitric oxide production inhibitory effect and antibacterial activity of the extract and fractions from paeoniae radix. *Korean J Pharmacogn* 43(2), 173-178

Iqbal S, Bhanger MI(2006) Effect of season and production location on antioxidant activity of *Moringa oleifera* leaves grown in Pakistan. *J Food Compos Anal* 19(6-7), 544-551

Jang HH, Kim MJ, Cho SY, Kim JB, Lee SH, Lee YM(2015) Anti-inflammatory and anti-allergic effects of *Adenophora triphylla* var. *japonica* extract. *J East Asian Soc Diet Life* 25(5), 813-821

Jang SH, Yu EA, Han KS, Shin SC, Kim HK, Lee SG(2008) Changes in total polyphenol contents and DPPH radical scavenging activity of *Agrimonia pilosa* according to harvest time and various part. *Korean J Med Crop Sci* 16(6), 397-401

Jang TO, Yoo YH, Hwang YC, Kim HK, Woo HC(2010) Total polyphenol content and antioxidative activities of mistletoe (*Viscum album*) extracts by supercritical carbon dioxide. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 39(1), 20-24

Lee SH, Sull JW, Park J, Lee SY, Ohrr H, Guallar E, Samet JM(2006) Body-mass index and mortality in Korean men and women. *N Engl J Med* 355(8), 779-787

Jeong HR, Kim JH, Jo YN, Jeong JH, Heo HJ(2011) Characterization as cosmetic substances of chestnut inner skin extracts with antioxidant activity. *J Agric Life Sci* 45(6), 183-191

Jeong HR, Sung MS, Kim YH, Ham HM, Choi YM, Lee

- JS(2012) Anti-Inflammatory Activity of *Salvia plebeia* R. Br. Leaf through Heme Oxygenase-1 Induction in LPS-Stimulated RAW264.7 Macrophages. *J Korea Soc Food Sci Nutr* 41(7), 888-894
- Jung IC, Sohn HY(2014) Antioxidation, Antimicrobial and Antithrombosis Activities of Aged Black Garlic (*Allium sativum* L.). *Korean J Microbiol Biotechnol* 42(3), 285-292
- Kim BS(2011) Selection of desirable cultivar for organic cultivation of carrot. *Res Plant Dis* 17(1), 95-98
- Kim KM, Chun SB, Koo MS, Choi WJ, Kim TW, Kwon YG, Chung HT, Timothy RB, Kim YM(2001) Differential regulation of NO availability from macrophages and endothelial cells by the garlic component S-allyl cysteine. *Free Radic Biol Med* 30(7), 747-756
- Kim MR, Mo EK, Kim SH, Sok DE(1993) Inhibition of lipoxygenase activity by the extract of various processed garlic -inhibitory effect of garlic extracts on soybean lipoxygenase activity-. *J Korean Soc Food Nutr* 22(3), 280-285
- Kim NS, Choi BK, Lee SH, Jang HH, Kim JB, Kim HR, Kim DK, Kim YS, Yang JH, Kim HJ, Lee SH(2015) Effects of *Allium Hookeri* on glucose metabolism in type II diabetic mice. *Korean J Pharmacogn* 46(1), 78-83
- Kim NS, Choi BK, Lee SH, Jang HH, Kim JB, Kim HR, Choi JS, Cho YS, Kim YS, Yang JH, Kim YS, Lee SH(2016) Effects of *Allium Hookeri* extracts on glucose metabolism in type 2 diabetic mice. *Korean J Pharmacogn* 47(2), 158-164
- Kim TH, Kim JM, Baek JM, Kim TW, Kim DJ, Park JH, Choe M(2011) Antioxidant and Whitening effects of *Agrinonia pilosa* Ledeb water extract. *Korea J Med Crop Sci* 19(3), 177-184
- Korean Statistical Association(2015) Annual report on the cause of death statistics. Korean Statistical Association, Seoul, Korea
- Lee HS(1995) How safe is the readministration of streptokinase? *Drug Saf* 13(2), 76-80
- Lee SH, Kim NS, Choi BK, Jang HH, Kim JB, Lee YM, Kim DK, Lee CH, Kim YS, Yang JH, Kim YS, Kim HJ, Lee SH(2015) Effects of *Allium hookeri* on Lipid Metabolism in Type II Diabetic Mice. *Korean J Pharmacogn* 46(2), 148-153
- Lee YS, Kwon KJ, Kim MS, Sohn HY(2013) Antimicrobial, antioxidant and anticoagulation activities of Korean Radish (*Raphanus sativus* L.) leaves. *Korean J Microbiol Biotechnol* 41(2), 228-235
- Lim JA, Yun BW, Baek SH(2007) Antioxidative activity and nitrite scavenging ability of methanol extract from *Salvia plebeia* R. Br. *Korean J Med Crop Sci* 15(3), 183-188
- Maxwell SJ(1995) Prospects for the use of antioxidant therapies. *Drugs* 49(3), 345-361
- Oh SJ(2005) Aging of human body. Seoul: Tamkudang
- Park SJ, Nam M, Kim JS, Lee YH, Lee JB, Kim MK, Lee JS, Choi HS, Kim JS, Moon JS, Kim HG, Lee SH(2011) First report of the virus diseases in victory onion (*Allium victorialis* var. *platyphyllum*). *Res Plant Dis* 17(1), 66-74
- Pi-Sunyer X(2009) The medical risks of obesity. *Postgrad Med* 121(6), 21-33
- Re R, Pellegrini N, Proteggente A, Pannala A, Yang M, Rice-Evans C(1999) Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radic Biol Med* 26(9-10), 1231-1237
- Sakihama Y, Cohen MF, Grace SC, Yamasaki H(2002) Plant phenolic antioxidant and prooxidant activities: phenolics-induced oxidative damage mediated by metals in plants. *Toxicol* 177(1), 67-80
- Scalbert A, Johnson IT, Saltmarsh M(2005) Polyphenols : antioxidants and beyond. *Am J Clin Nutr* 81(1), 215-217
- Schwartz IF, Hershkovitz R, Iaina A, Gnassin E, Wollman Y, Chenichowski T, Blum M, Levo Y, Schwartz D(2002) Garlic attenuates nitric oxide production in rat cardiac myocytes through inhibition of inducible nitric oxide synthase and the arginine transporter CAT-2 (cationic amino acid transporter-2). *Clin Sci* 102(5), 487-493
- Seog HM, Seo MS, Kim HM, Ahn MS, Lee YT(2002) Antioxidative activity of barley polyphenol extract (BPE) separated from pearling by-products. *Korean J Food Sci Technol* 34(5), 889-892
- Shin JH, Choi DJ, Lee SJ, Cha JY, Kim JG, Sung NJ(2008a) Changes of physicochemical components and antioxidant activity of garlic during its processing. *J Life Sci* 18(8), 1123-1131
- Shin SJ, Kwon SK, Lee KH, Sung ND, Choi WY(1994) Extraction and characterization of antibacterial components from the roots of evening primrose (*Oenothera oclarata* Jacquin). *J Agric Sci* 21(1), 54-59
- Shin YK, Jang HS, Kim JS, Ryu HY, Kim JK, Kwun IS, Sohn HY(2008b) Solid fermentation of medicinal herb using *Phellinus baumii* mycelium and anti-thrombin and antioxidation activity of its methanol extract. *Korean J Microbiol Biotechnol* 36(3), 201-208
- Son CW, Chae JK, Kim GW, Shin HM(2002) Effects of *Crataegi Fructus* on the vascular relaxation and antioxidative status. *Korean J Orient Physiol Pathol* 16(1), 67-71
- Sweeney JD, Hoerning LA, Behrens AN, Novak E, Swank RT(1990) Thrombocytopenia after desmopressin but absence of in-vitro hypersensitivity to ristocetin. *Am J Clin Pathol* 93(4), 522-525

Visscher TL, Seidell JC(2001) The public health impact of obesity. *Annu Rev Public Health* 22(1), 355-375

Wiwanitkit S, Wiwanitkit, V(2011) Inappropriate concomitant use of amlodipine and simvastatin: a report on its incidence in a primary care unit. *Indian J Endocrinol Metab* 15(4), S409-S409

Wood D(2001) Established and emerging cardiovascular risk factors. *Am Heart J* 141(2), S49-S57