

정향 및 목향과 백지를 혼합한 한약재 에탄올 추출물의 항산화 효능

윤석나^{1#}, 김유진², 김미려², 유왕근^{3*}

1 : 대구한의대학교 일반대학원 보건학과, 2 : 대구한의대학교 한의과대학 본초약리학교실
3 : 대구한의대학교 보건학부

Anti-oxidant effect of ethanol extract from mixture including Caryophylli Flos, Aucklandiae Radix and Angelicae Dahuricae Radix

Seok Na Youn^{1#}, Yoo Jin Kim², Mi Ryeo Kim², Wang Keun Yoo^{3*}

1 : Department of Public Health Graduate School, Daegu Haany University, Gyeongsan, Gyeongbuk, Korea
2 : Department of Herbal Pharmacology, Daegu Haany University, Daegu, Korea
3 : Department of Health Science, Daegu Haany University, Gyeongsan, Gyeongbuk, Korea

ABSTRACT

Objectives : Herbal medicinal mixture (JMB) are consisted of Caryophylli Flos, Aucklandiae Radix and Angelicae Dahuricae Radix. Each of herbal medicines has studied on anti-oxidant effect. So this study was conducted to investigate efficacy and potency of JMB on anti-oxidation.

Methods : The JMB was extracted at room temperature by 80% ethanol. And total polyphenol contents, total flavonoid contents in JMB ethanol extract were determined by colorimetric method. Also, DPPH, ABTS free radical scavenging capacity and reducing power of JMB ethanol extract were measured at 100, 500, 1000, 5000 $\mu\text{g}/\text{ml}$ concentrations by spectrometric assay. Positive control was used BHA (butylated hydroxyanisole).

Results : The total polyphenol contents and total flavonoid contents of the extract were 55.38 mg/TAEg, 513.72 mg/RUEg, respectively. Also, DPPH free radical scavenging capacity and reducing power of JMB ethanol extract in treated concentrations (100, 500, 1000, 5000 $\mu\text{g}/\text{ml}$) increased dose dependently. In particular, DPPH free radical scavenging capacity of JMB ethanol extract at 500, 1000, 5000 $\mu\text{g}/\text{ml}$ was similar to positive control (BHA) at high concentration (50, 100 $\mu\text{g}/\text{ml}$). ABTS free radical scavenging capacity of JMB ethanol extract at 500, 1000, 5000 $\mu\text{g}/\text{ml}$ was similar to BHA at high concentration (50, 100 $\mu\text{g}/\text{ml}$). Also, reducing power was showed that JMB ethanol extract at 5000 $\mu\text{g}/\text{ml}$ was similar to BHA at high concentration (50, 100 $\mu\text{g}/\text{ml}$).

Conclusions : These results suggest that JMB ethanol extract has effects to scavenge free radicals. Therefore, JMB has potential and applicable benefits for development of materials and products to have anti-oxidation functions.

Key words : Anti-oxidant, JMB, free radical scavenging capacity, total polyphenols, total flavonoids

I. 서 론

정향(Caryophylli Flos)은 정향나무과(Myristicaceae)에 속

한 상록교목인 정향수(Eugenia caryophyllata Thunb.)의 꽃 봉우리를 채취한 것이다¹⁾. 맛은 맵고 성질이 따뜻하며 독이 없으며²⁾, 강렬한 맛과 특이한 냄새를 가진다. 서양에서는 주로 꽃

*Corresponding author : Wang Keun Yoo, Department of Health Science, Daegu Haany University, 1 Haany-daero, Gyeongsan, Gyeongbuk.

· Tel : +82-53-819-1411 · E-mail : wkyoo@dhu.ac.kr

#First author : Seok Na Youn, Department of Public Health Graduate School, Daegu Haany University, 1 Haany-daero, Gyeongsan, Gyeongbuk.

· Tel : +82-51-200-1529 · E-mail : seokna99@hanmail.net

· Received : 11 October 2018 · Revised : 05 November 2018 · Accepted : 25 November 2018

봉우리를 향신료와 방부제로 사용하였으며, 그 외에 치약의 향기성분과 치통에 대한 진통제 등으로도 활용되었다^{3,4}. 한의학에서는 비위(脾胃)를 따뜻하게 하고, 객란(霍亂), 분돈기(奔豚氣)와 냉기로 배가 아프고 음낭이 아픈 것을 치료하는 등 주로 약재로 사용되었다⁵. 정향의 주성분은 eugenol, eugenyl acetate, beta-caryophyllene와 2-heptanone, eugenol salicylate, methyl salicylate, chavicol 등으로 정유 성분을 가진다⁶. 또한, 항산화, 항균 등의 효과를 가지는 플라보노이드의 성분 중 rhamnetin, keampferol을 함유한다⁷. 최근 논문에서 따르면 항산화, 항균, 항진균 작용 등의 다양한 약리활성을 나타낸다고 보고되었다⁸⁻¹¹.

목향(Aucklandia Radix)은 국화과(Compositae)에 속한 다년생 식물인 운목향(*Saussurea lappa*)의 뿌리로서 한의학에서는 구토, 설사 및 염증치료 등에 사용되고 있으며 대표적인 이기제이다¹². 성질이 따뜻하고 맛은 맵고 쓰며 한의학에서는 행기지통, 건비소식의 효능이 있어 복통, 설사, 구토, 식체, 이질 등에 주로 사용되어 왔다¹³. 주성분은 costunolide와 dehydrocostus lactone 등으로 sesquiterpene 및 sesquiterpene lactone계 화합물을 함유하고 있다^{14,15}. 목향의 주성분은 항염증, 항균, 혈관생성 억제 효능 등의 많은 약리학적 효능을 가진다고 보고되었다¹⁶⁻¹⁸.

백지(Angelicae Dahuricae Radix)는 산형과(Umbelliferae) *Angelica* 속의 다년생 초본으로 꽃대가 올라오기 전 채취한 구릿대의 뿌리를 건조한 것이다. 성질은 따뜻하고 맛은 매우며, 감기, 어지럼증, 두통, 치통 등에 진정 및 진경 효과가 있다. 또한 어혈을 풀어주고 풍한을 제거하여 혈액순환의 촉진으로 안면신경통, 산전산후의 하혈, 혈뇨 등을 치료한다¹⁹⁻²¹. 백지에는 다량의 무기질과 당을 함유하고²², 20여종 이상의 coumarin 성분과 angelicosin, imperatorin, anomalin과 정유성분을 함유한다²³⁻²⁸. 이러한 백지의 성분은 항혈전²⁹, 항균작용²⁶, 약물대사효소 억제 및 대사 저해 활성³⁰, acetylcholinesterase 저해 활성³¹, 콜라겐 생성 촉진²⁸, 백혈병³² 등에 약리학적 효능을 가진다. 또한, Lee 등³³의 연구에서는 백지의 항산화 효과가 보고된 바 있다.

활성산소종(reactive oxygen species, ROS)은 생체 내에서 발생하는 것으로 superoxide anion radical, hydroxyl radical, singlet oxygen, hypochlorite, hydrogen peroxide 등을 포함한다. ROS는 단백질, DNA, 세포 분자들의 산화적 스트레스를 일으켜 세포 사멸 및 암 발생 등 다양한 질병을 유도한다³⁴. 항산화제는 이러한 ROS를 제거시킴으로써 생체내산화성 스트레스로 인하여 생성되는 산화물질들을 억제 또는 중화시켜 ROS로부터의 세포손상을 방어하는 역할을 한다³⁵. 다양한 합성 항산화제 물질들이 개발되어 이용되고 있지만, 합성 항산화제의 과량 사용시 암 유발 등 부작용의 가능성이 있다.

식물에 함유된 페놀 화합물(phenolic compound)은 식물의 광합성 과정에서 생성되어 활성산소로부터 자신을 보호할 수 있는 효소와 이차 대사산물로서 free radical을 수용할 수 있는 phenolic hydroxyl기를 여러 개 가지고 있는 물질이다. 거대한 분자들과 결합하여 활성산소종을 제거하는 것으로 알려지고 있어³⁶⁻³⁸, 천연물이나 한방제제 및 각종 식물성 소재로부터 더

안전하고 생체방어력을 증가시킬 수 있는 천연 항산화제로서의 항산화 기능성 물질을 탐색하는 많은 연구들이 진행되고 있다³⁹.

따라서 본 저자들은 항산화 효능이 보고된 각각의 한약재를 혼합하여 총 폴리페놀과 플라보노이드 함량을 측정하였고, DPPH, ABTS, 환원력 등으로 free radical 소거능을 분석한 결과, 뛰어난 항산화 효과를 나타내는 것을 확인하였으므로 이를 보고하고자 한다.

II. 재료 및 방법

1. 시료 추출

정향, 목향, 백지(중국산, 조은제약(안양, 한국))에 재료의 10배수에 해당하는 80% ethanol을 첨가하여 24시간 실온 추출한 후 12시간 초음파 추출하였다. Adcantec Filter paper NO.2 이용하여 여과 후 Rotavapor R-210을 사용하여 50°C에서 감압 농축하였다. 15 brix로 농축 후 deep freezer에서 -70°C로 동결한 뒤 Freeze Dryer FDB-5503을 이용하여 동결 건조 하였다.

Table 1. Composition of mixed herbal medicine (JMB) ethanol extract

Component of mixture	Dose (g)
Caryophylli Flos	25
Aucklandia Radix	25
Angelicae Dahuricae Radix	50
Total	100

2. 총 폴리페놀 함량 측정

Phosphomolydic acid가 페놀성 물질과 반응하여 청색으로 발색되는 측정법으로 폴리페놀 함량을 측정하였다. 5% DMSO에 희석한 5000 µg/ml 농도의 JMB 에탄올 추출물 0.5 ml와 Folin & Ciocalteu's phenol reagent (Sigma) 0.5 ml를 잘 혼합한 뒤 상온에서 3분간 반응시켰다. 3분 후 10% Na₂CO₃ (sodium carbonate, Junsei) 0.5 ml를 첨가하여 충분히 혼합시킨 뒤 상온에서 1시간 반응시켰다. UV/VIS Spectrophotometer (Lambda35, Perkin Elmer)로 760 nm에서 흡광도를 측정하였으며 측정된 흡광도의 값은 tannic acid (Sigma)를 표준물질로 한 표준검정곡선을 작성하여 총 폴리페놀 함량을 계산하였다.

3. 총 플라보노이드 함량 측정

5% DMSO에 희석한 5000 µg/ml 농도의 JMB 에탄올 추출물을 0.1 N NaOH (Generay Biotech) 0.2 ml와 diethylene glycol (Junsei) 2 ml를 혼합하여 상온에서 1시간 동안 반응시켰다. 1시간 후 420 nm에서 흡광도를 측정하였으며 표준검정곡선은 rutin hydrate (Sigma)을 표준물질로 하였다.

4. DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl)

free radical 소거능 측정

양성대조군은 앞선 항산화 실험의 농도를 토대로 하여⁴⁰⁻⁴²⁾ butylated hydroxyanisole (BHA, Sigma)를 5 µg/ml, 10 µg/ml, 50 µg/ml, 100 µg/ml의 농도로 하여 사용하였다. 5% DMSO를 용매로 하여 JMB 에탄올 추출물을 농도별로 희석하여 각각 1 ml와 에탄올에 희석한 0.4 mM DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl, Sigma) 0.05 ml를 vortex mixer (G-560, Scientific industries)로 혼합하였다. 상온에서 30분간 차광하여 반응시킨 반응액을 517 nm에서 흡광도를 측정하였다.

5. ABTS radical 소거능 측정

양성 대조군은 BHA를 사용하였으며 2'-azino-bis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid; ABTS+)의 색을 띤 양이온 라디칼이 감소하는 것을 측정하였다. 100 ml 증류수에 희석한 2.45 mM potassium persulfate (Sigma)에 7 mM ABTS (2,2-azino-bis (3-ethylbenzthiazoline-6-sulfonic acid) diammonium salt, Sigma)와 혼합하였다. 상온에서 차광한 후 16시간 방치시켜 ABTS+를 생성시켰다. ABTS+가 0.7±0.05의 값을 나타내도록 에탄올에 희석하여 734 nm에서 흡광도를 측정하였다. 에탄올에 희석하여 만든 ABTS 시약 1 ml와 5% DMSO를 용매로 한 JMB 에탄올 추출물 0.05 ml를 혼합하였다. 30℃에서 20분 반응시킨 후 734 nm에서 흡광도를 측정하였다.

6. Reducing power (환원력) 측정

JMB 에탄올 추출물을 100, 500, 1000, 5000 µg/ml의 농도로 5% DMSO에 희석한 후 각각 0.1 ml를 분주하였다. JMB 에탄올 추출물에 0.2 M 인산 완충액 (phosphoric acid, Duksan, pH 6.8) 0.25 ml와 1% potassium ferricyanide (K₃Fe(CN)₆,

Duksan) 0.25 ml를 혼합하여, 항온수조(WB-11, Daihan scientific) 50℃에서 20분간 반응시켰다. 반응액에 10% TCA (trichloroacetic acid, Duksan)를 0.25 ml 첨가하였다. 원심 분리를 3000 rpm에서 10분간하여 상층액을 취하였다. 발색반응을 유도시키기 위해 ferric chloride (FeCl₃)를 0.1% 농도로 하여 0.05 ml를 넣은 후 700 nm에서 흡광도를 측정하였다.

7. 통계처리

실험결과 통계 처리는 SPSS 11.5 (SPSS Inc., USA)를 사용하여 분석하였다. one-way-ANOVA를 실시하여, 분석결과에 대한 p<0.05 수준에서 Duncan 사후 검정을 통하여 각 군 간의 평균값에 대한 유의성을 나타내었다.

Ⅲ. 결 과

1. 총 폴리페놀 및 총 플라보노이드 함량

JMB 에탄올 추출물의 항산화 활성을 평가하기 위해 항산화 관련 작용이 보고되어 있는 총 폴리페놀과 총 플라보노이드 함량을 측정하였다. 추출물에 함유된 총 폴리페놀 및 플라보노이드는 건조 시료의 g당 tannic acid와 rutin의 mg으로 나타내었을 때 각각 55.38 mg/TAEg, 513.72 mg/RUEg 이었다(Table 2).

Table 2. The total polyphenol and total flavonoid contents of ethanol extract from mixed herbal medicine (JMB).

	Total polyphenols	Total flavonoids
	(mg/TAEg) ¹⁾	(mg/RUEg) ²⁾
JMB	55.38 ± 1.15	513.72 ± 1.21

The data were expressed as the mean ± SD. (n=3).
1) Tannic acid equivalents. 2) Rutin equivalents.

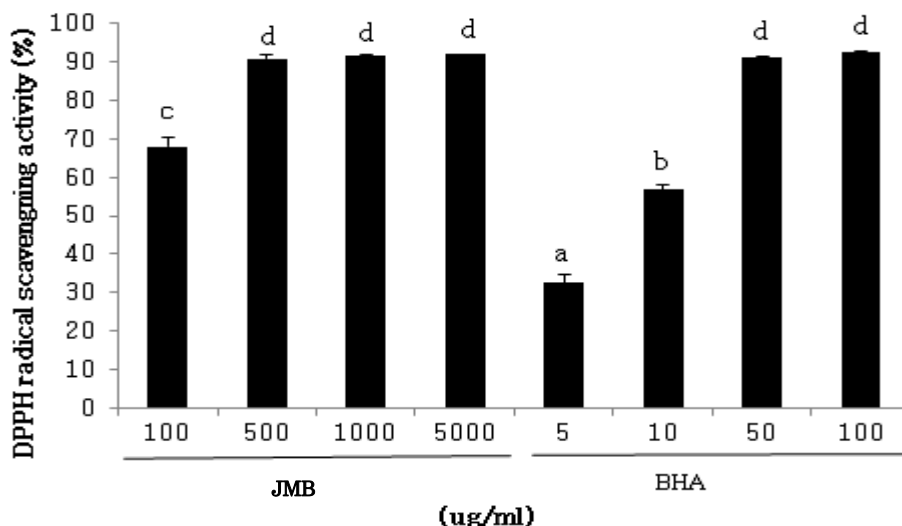


Figure 1. DPPH free radical scavenging activities of ethanol extract from mixed herbal medicine (JMB). The data were expressed as the mean ± SD (n=3). ^{abcd}Means not sharing a common letter are significantly different among the BHA group at p<0.05.

2. DPPH free radical 소거활성

JMB 에탄올 추출물의 항산화 활성을 평가하기 위해 DPPH 라디칼 소거능을 측정하였다. 추출물 및 양성대조군인 BHA의 처리농도별로 소거활성을 측정한 결과, JMB 에탄올 추출물과 BHA가 농도 의존적으로 유의하게 증가하였다. 100 $\mu\text{g/ml}$, 500 $\mu\text{g/ml}$, 1000 $\mu\text{g/ml}$, 5000 $\mu\text{g/ml}$ 의 농도로 JMB 에탄올 추출물을 처리한 결과 각각 67.84%, 90.88%, 91.77%, 91.96%를 나타냈다. 양성 대조군인 BHA를 5 $\mu\text{g/ml}$, 10 $\mu\text{g/ml}$, 50 $\mu\text{g/ml}$, 100 $\mu\text{g/ml}$ 의 농도로 처리한 결과 32.63%, 56.65%, 91.28%, 92.64%로 측정되었다. 따라서 JMB 에탄올 추출물의 500 $\mu\text{g/ml}$, 1000 $\mu\text{g/ml}$, 5000 $\mu\text{g/ml}$ 에서 고농도의 BHA와 유의적인 차이가 없는 것으로 보임으로써 지방질 산화 억제 및 인체 내의 활성 라디칼에 의한 노화를 억제시키는 DPPH 라디칼 소거 활성

이 탁월함을 보여주었다 (Figure 1).

3. ABTS radical 소거능 측정

ABTS는 항산화 활성을 탐색하기에 안정한 자유라디칼의 특징을 가지는 항산화 바이오 마커이므로 JMB 에탄올 추출물을 처리 후 소거능을 측정하였다. 100 $\mu\text{g/ml}$, 500 $\mu\text{g/ml}$, 1000 $\mu\text{g/ml}$, 5000 $\mu\text{g/ml}$ 의 농도로 JMB 에탄올 추출물을 처리한 결과, 각 농도별로 84.88%, 92.03%, 91.87%, 91.75%를 나타내었다. 양성 대조군인 BHA를 5 $\mu\text{g/ml}$, 10 $\mu\text{g/ml}$, 50 $\mu\text{g/ml}$, 100 $\mu\text{g/ml}$ 의 농도로 처리한 결과 각각 40.12%, 74.26%, 91.71%, 91.75%로 농도 의존적으로 증가하였으며, JMB 에탄올 추출물의 처리농도인 중~고농도(500 $\mu\text{g/ml}$ 이상)에서 고농도의 BHA의 효능과 유사하여 통계적으로 차이가 없었다(Figure 2).

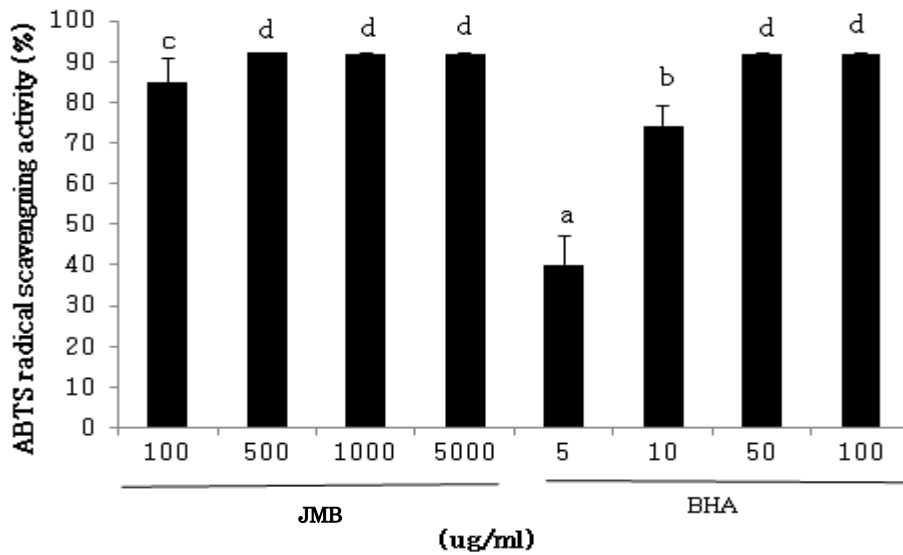


Figure 2. ABTS radical scavenging activities of ethanol extract from mixed herbal medicine (JMB). The data were expressed as the mean \pm SD ($n=3$). ^{abcd}Means not sharing a common letter are significantly different among the BHA group at $p<0.05$.

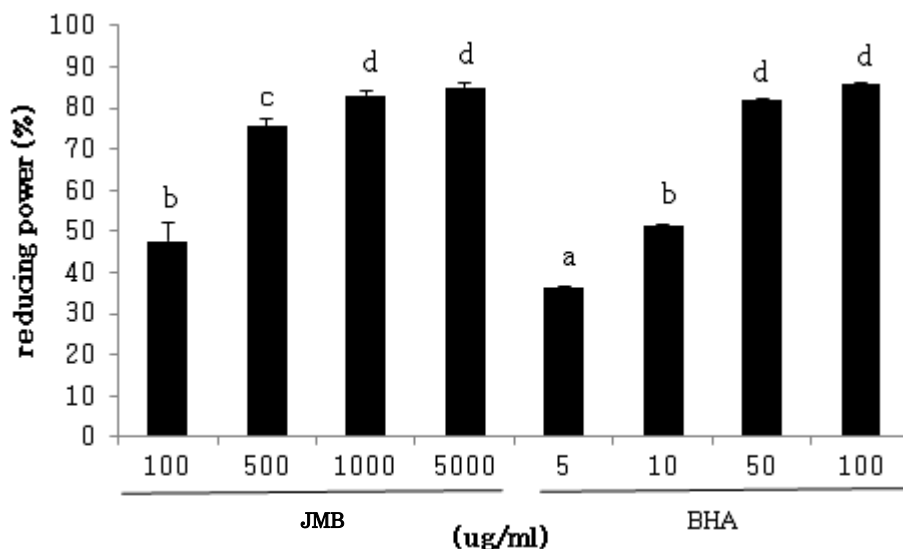


Figure 3. Reducing power of ethanol extract from mixed herbal medicine (JMB). The data were expressed as the mean \pm SD ($n=3$). ^{abcd}Means not sharing a common letter are significantly different among the BHA group at $p<0.05$.

4. Reducing power (환원력) 측정

환원력은 항산화제로서 사용될 수 있는 시료를 측정하기에 가장 대표적인 지표로 산화된 물질을 환원시키는 능력을 의미한다. JMB 에탄올 추출물의 환원력을 각 처리농도에서 측정된 결과, 각각 47.53%, 75.56%, 82.99%, 85.01%를 나타내었으며 농도 의존적으로 유의한 증가를 보였다. 한편 양성대조군인 양성 대조군인 BHA를 5 $\mu\text{g/ml}$, 10 $\mu\text{g/ml}$, 50 $\mu\text{g/ml}$, 100 $\mu\text{g/ml}$ 의 농도로 처리한 결과 각각 36.43%, 51.41%, 81.83%, 85.85%를 나타내었다. 따라서 JMB 에탄올 추출물의 1000 $\mu\text{g/ml}$, 5000 $\mu\text{g/ml}$ 처리농도에서는 고농도의 양성 대조군과 통계적으로 유의한 차이가 나타나지 않았다(Figure 3).

IV. 고 찰

최근 서구화된 식생활로 인한 비만, 고콜레스테롤증, 고지혈, 고혈압, 당뇨, 동맥경화 등의 질병과 급속한 경제성장으로 인해 생활 습관병이 발병하여 여러 합병증이 유발된다고 보고되었다⁴³⁾. 특히, 이러한 식습관과 스트레스로 인한 활성산소의 증가는 각종 질병의 원인이 된다. 또한, 평균수명이 늘어나고 인구 고령화가 급증함에 따라 소비자들의 생활수준 및 위생수준의 향상과 건강에 관한 관심이 높아지고 있으며⁴⁴⁾, 웰빙에 대한 만성질환, 성인병 등을 예방할 수 있는 기능성 식품의 선호도가 증가하고 있다. 따라서 약리학적 기능을 가진 천연물을 이용한 기능성 식품 개발에 따른 연구가 활발히 진행되고 있다⁴⁵⁾. 본 연구에서 사용된 복합 한약재의 구성 한약재인 정향 및 목향은 방향이 있는 이기약이며, 백지는 해표약으로서 풍한사를 없애고 혈액순환을 원활히 하여 통규, 지통시키므로^{2,13,19)} 항염, 항산화, 항혈전 등 활성산소와 관련된 생활습관병이나 스트레스나 면역관련 질환의 개선을 포함하는 항산화 효능이 뛰어난 것으로 사료되어 기초연구인 본 실험을 진행하였다.

항산화제는 천연 항산화제와 합성 항산화제로 구분되는데 대표적인 합성 항산화제는 butylated hydroxytoluene (BHT), butylated hydroxyanisole (BHA)로 식품첨가물로 이용된다³⁵⁾. 합성 항산화제는 저렴한 가격으로 널리 사용되지만 과량 섭취 시 암 등의 부작용이 우려되어 안전성이 보장된 천연 항산화제의 개발이 요구되고 있다⁴⁶⁾.

폴리페놀 화합물은 과일 및 엽채류 등 식물계에 널리 분포되어 있으며 flavonoids, tannins, isoflavones, anthocyanins, catechins, lignans, resveratrols 등을 함유한다^{47,48)}. 폴리페놀에 다수 존재하는 hydroxy radical (-OH)는 여러 화합물과 쉽게 결합하는 특성을 가져 항산화, 항염, 항암 등의 효과가 뛰어나다^{49,50)}. 플라보노이드는 담황색의 페놀계 화합물에 속하는 성분으로 식물, 곡물, 과일 등에 풍부하게 함유되어 있다⁵¹⁾. 항염, 항암, 항바이러스 등의 효과가 있으며 항산화 효과로 활성산소종을 제거한다고 알려져 있다⁵²⁻⁵⁵⁾. 본 실험에서 쓰 총 폴리페놀과 플라보노이드의 함량을 측정된 결과 총 폴리페놀의 함량이 55.38 mg/g, 총 플라보노이드의 함량이 513.72 mg/g으로 높게 나타났다. 총 플라보노이드 함량이 폴리페놀 함량에 비해 높게 나타난 것은 Kim 등⁵⁶⁾의 연구에서 여러 식물의 폴리페

놀 및 플라보노이드 함량을 측정하였을 때 추출 과정과 용매에 따라 반드시 폴리페놀의 함량이 높게 나타나지 않는다고 보고된 것으로 보아 추출 과정과 용매를 달리하여 추가적인 실험이 진행되어야 한다고 사료된다.

DPPH radical 소거능은 항산화 활성을 측정하는 대표적인 반응물질이며 그 자체로 안정한 자유라디칼이다. 자색의 화합물이 노란색으로 탈색되는 원리를 이용한 방법으로 hydroxy radical (-OH)을 함유하는 페놀계 화합물을 가지는 물질에서 수소 공여로 인한 라디칼 소거 활성이다⁵⁷⁾. 본 연구에서 JMB 에탄올 추출물을 농도별로 처리하여 측정된 결과 67.84%, 90.88%, 91.77%, 91.96%를 나타내었으며 32.63%, 56.65%, 91.28%, 92.64%인 BHA와 비교하여 고농도인 BHA와 통계적인 차이를 나타나지 않는 것으로 보아 높은 소거활성이 측정되었다.

ABTS radical 소거능은 폴리페놀계의 화합물을 함유하는 물질에서 소거활성이 증가되며 DPPH radical 소거능과 유의적인 상관관계를 갖는다^{56,58)}. Radical의 기질에 따라 선택적으로 작용하는 페놀계 물질이 존재하므로 DPPH와 ABTS radical 소거능을 모두 측정하였다. ABTS radical 소거 활성을 농도별로 측정된 결과 84.88%, 92.03%, 91.87%, 91.75%를 나타내었으며 양성대조군인 BHA는 40.12%, 74.26%, 91.71%, 91.75%로 측정되었다. DPPH radical 소거능과 유사하게 JMB 에탄올 추출물의 중~고농도(500 $\mu\text{g/ml}$ 이상)에서 BHA의 고농도와 통계적인 차이가 없었다.

환원력은 활성 산소와 유리기에 작용하는 전자 공여능으로 항산화 활성을 검정하는 수단이다. 항산화 활성이 큰 물질일수록 녹색에 가깝게 발색되며 높은 흡광도를 나타낸다⁵⁹⁾. 본 실험에서는 JMB 에탄올 추출물과 BHA를 농도별로 처리한 결과 각각 47.53%, 75.56%, 82.99%, 85.01%와 36.43%, 51.41%, 81.83%, 85.85%를 나타내었으며 농도 의존적으로 유의한 증가를 보였다. 또한 추출물의 고농도와 BHA의 고농도에서 유의적인 차이가 나타나지 않았다.

본 실험은 정향, 목향, 백지를 혼합하여 항산화 효과를 확인하기 위해 실행되었다. Cha 등⁶⁰⁾의 연구에서 DPPH radical 소거능을 통해 1000 $\mu\text{g/ml}$ 정향의 항산화 활성을 측정하였을 때 51.61%가 측정되었다. 목향의 80% 에탄올 추출물을 이용한 Lee 등⁶¹⁾의 연구에서는 DPPH와 ABTS radical 소거 활성이 1 $\mu\text{g/ml}$, 10 $\mu\text{g/ml}$, 100 $\mu\text{g/ml}$ 의 처리농도에서 각각 $6.6 \pm 1.7\%$, $23.0 \pm 1.9\%$, $87.5 \pm 1.0\%$ 와 $0.7 \pm 0.5\%$, $9.1 \pm 1.1\%$, $47.7 \pm 2.8\%$ 로 측정되었다. 또한, 백지를 실험한 Lee 등⁶²⁾의 연구에서는 100 $\mu\text{g/ml}$ 에서 1000 $\mu\text{g/ml}$ 까지의 농도에서 DPPH radical 소거능이 3.38%~33.45%로 측정되었다. 본 연구에서는 100 $\mu\text{g/ml}$, 500 $\mu\text{g/ml}$, 1000 $\mu\text{g/ml}$, 5000 $\mu\text{g/ml}$ 의 처리농도에서 DPPH와 ABTS radical 소거 활성능이 각각 67.84%, 90.88%, 91.77%, 91.96%와 84.88%, 92.03%, 91.87%, 91.75%로 측정되었다. 따라서, JMB 에탄올 추출물은 기존의 연구에서 보고한 단독 한약재의 항산화 활성결과보다 우수한 항산화 활성을 보였다. 또한 일반적인 천연유래 시료의 항산화력보다 뛰어난 효력을 보였으며, 양성대조군으로 사용된 합성 BHA와도 비교할만한 항산화 효능, 효력을 보임으로써 한약재 3종 복합물

이 산화과정에서 유도되는 자유기의 소거 활성이 우수함을 나타냈다. 본 논문에서는 데이터를 제시하지는 않았지만 OH- 소거능에서도 우수한 효과를 보였다. 또한 추출용매별 항산화 활성의 탐색 연구에서도 용매별로 차이를 보여 항산화과정에는 지용성물질이 관여하는 것으로 생각된다. 그러므로 추후 세포에서의 항산화와 관련된 기전 및 유효 성분 분석 등에 대한 추가 연구가 필요할 것으로 판단되며, JMB는 항산화와 관련된 건강 기능 식품 및 화장품, 의약 원료 등의 기능성 소재로 활용될 가능성이 있을 것으로 사료된다.

V. 결 론

본 연구에서는 JMB 80% 에탄올 추출물의 기초연구로서, 항산화 활성을 실험한 결과 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. JMB 에탄올 추출물의 총 폴리페놀 및 총 플라보노이드 함량이 높게 측정되었다.
2. JMB 에탄올 추출물의 DPPH radical 소거능을 측정된 결과 농도 의존적으로 유의하게 증가하였고, 중~고농도 (500 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 이상)에서 양성 대조군인 BHA의 효능과 유사하여 통계적으로 차이가 없었다.
3. JMB 에탄올 추출물의 ABTS radical 소거능은 농도 의존적이었으며, 중~고농도(500 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 이상)에서는 양성 대조군인 BHA의 효능과 유사하게 나타나 통계적으로 차이가 없었다.
4. JMB 에탄올 추출물의 환원력은 농도 의존적으로 유의하게 증가하였고, 양성 대조군인 BHA와 고농도(500 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 이상)에서 효능이 유사하여 통계적으로 차이가 없었다.

따라서 실험 결과 한약재 복합물인 JMB 에탄올 추출물의 항산화능이 탁월하였으므로, 항산화와 관련된 질환의 예방 및 치료를 위한 식품, 의약품 및 화장품 소재로서의 활용 가능성이 기대된다.

References

1. Textbook compilation committee of herbal pharmacology. Herbal pharmacology. Shinilbooks, 2006 ; 2 : 608-610.
2. Professor committee of herbal medicine in Korea. Herbal medicine. The Korean pharmaceutical association. Seoul, 1995 ; 409-411.
3. Park SI. Inhibition effect of clove extract on the thermal oxidation of commercial edible oils. Hankyong national university master's degree, 2004.
4. Dong S. Physiological activities of clove by the different extraction solvents Hankyong national University master's degree, 2004.
5. Heo J, Donguibogam. Bubinbooks, 2005 ; 1 : 3588.
6. Chaieb K, Zmantar T, Ksouri R, Hajlaoui H, Mahdouani K, Abdely C, Bakhrouf A. Antioxidant properties of the essential oil of *Eugenia caryophyllata* and its antifungal activity against a large number of clinical candida species. *Mycoses*, 2007 ; 50(5) : 403-406.
7. Hollman PCH, Katan MB. Absorption, metabolism and health effects of dietary in man. *Biomed & Pharmacother*, 1997 ; 51 : 305-310.
8. Prasad NS, Raghavendra R, Lokesh BR, Naidu KA. Spice phenolics inhibit human PMNL 5-lipoxygenase. *Prostaglandins leukot essent fatty acids*, 2004 ; 70 : 521-528.
9. Mytle N, Anderson GL, Doyle MP, Smith MA. Antimicrobial activity of clove (*Syzygium aromaticum*) oil in inhibiting *Listeria monocytogenes* on chicken frankfurters. *Food Control*, 2006 ; 17 : 102-107.
10. Gowda NKS, Malathi V, Suganthi RU. Effect of some chemical and herbal compounds on growth of *Aspergillus parasiticus* and aflatoxin production. *Anim Feed Sci Technol*, 2004 ; 116 : 281-291.
11. Kim SI, Yi JH, Tak JH, Ahn YJ. Acaricidal activity of plant essential oils against *Dermanyssus gallinae* (Acari: Dermanyssidae). *Vet Parasitol*, 2004 ; 120 : 297-304.
12. Jeon YJ, Lee HS, Yeon SY, Ko JH, An KM, Yu SW, Kang JH, Hwang BY, Kin TY. Inhibitory effect of dehydrocostuslactone isolated from *Saussurea Radix* on CDK2 activity. *Kor J Pharmacogn*, 2005 ; 36 : 97-101.
13. The textbook compilation committee of herbalogy of oriental medical schools in nation. *Herbalogy*. Seoul : Younglim Publisher, 2011 : 395-396.
14. Jung NH, Ha JY, Min KR, Shibata F, Nakagawa H, Kang SS, Chang IM, Kim YS. Reynosis from *Saussurea lappa* as inhibitor on CINC-1 induction in LPS-stimulated NRK-52E cells. *Planta Med*, 1998 ; 64 : 454-456.
15. Kang SH, Kim JS, Chi HJ, Chang SY, Ha KW. Isolation and quantitative determination of costunolide from saussurea root. *Kor J Pharmacogn*, 1999 ; 30 : 48-53.
16. Wedge DE, Galindo JC, Macias FA. Fungicidal activity of natural and synthetic sesquiterpene lactone analogs. *Phytochem*, 2000 ; 53 : 747-757.
17. Park HJ, Jung WT, Basnet P, Kadota S, Namba T. Syringin 4-O-beta glucoside, a new phenylpropanoid

- glycoside, and costunolide, a nitric oxide synthase inhibitor, from the stem bark of *Magnolia sieboldii*. *J Nat Prod*. 1996 ; 59 : 1128–1130.
18. Jeong SJ, Ltokawa T, Shibuya M, Kuwano M, Ono H, Huguchi R, Miyamoto T. Costunolide, a sesquiterpene lactone from *Saussurea lappa*, inhibits the VEGFR KDR/Flk-1 signaling pathway. *Cancer Lett*. 2002 ; 187 : 129–133.
 19. Lemberkovics E, Czinner E, Szentmihalyi K, Balazs A, Szoke E. Comparative evaluation of *Helichrysis flos* herbal extracts as dietary source of plant polyphenols, and macro- and microelements. *Food Chem*. 2002 ; 78 : 119–127.
 20. Kim HS, Choi HJ. Studies on essential oils of plants of *Angelica* genus in Korea (Ⅲ). *J Kor Pharmacogn*. 1990 ; 21 : 121–125.
 21. Goo BH. Donguibogam. Seoul : Daejungseogwan, 1994.
 22. Kimura T, But PPH, Guo JX, Sung CK. International collation of traditional and folk medicine: Part 1. World scientific, Singapore. 1996 ; 117–118.
 23. Joo EY, Kang WJ. Analysis on the components of the *Angelica dahurica* root. *J Kor Food Preserv*. 2005 ; 12 : 476–481.
 24. Kim SH, Kang SS, Kim CM. Coumarin glycosides from the roots of *Angelica dahurica*. *Arch Pharm Res*. 1992 ; 15 : 73–77.
 25. Kwon YS, Kim CM. Coumarin glycosides from the roots of *Angelica dahurica*. *J Kor Pharmacogn*. 1992 ; 24 : 221–224.
 26. Baek NI, Ahn EM, Kim HY, Park YD. Furanocoumarins from the root of *Angelica dahurica*. *Arch Pharm Res*. 2000 ; 23 : 467–470.
 27. Ryu SY, Kim JC, Kim YS, Kim HT, Kim WK, Choi GJ, Kim JS, Lee SW, Heor JH, Cho KY. Antifungal activities of coumarins isolated from *Angelica gigas* and *Angelica dahurica* against plant pathogenic fungi. *J Kor Pesticide Science*. 2001 ; 5 : 26–35.
 28. Wang NH, Yoshiazaki K, Baba K. Seven new bifuranocoumarins, dahuribirin A–G, from Japanese Bai Zh. *Chem Pharm Bull*. 2001 ; 49 : 1085–1088.
 29. Jin MH, Jung MH, Lim YH, Lee SH, Kang SJ, Cho WG. Promoting synthesis of collagen from *Angelica dahurica* root. *J Kor Pharmacogn*. 2004 ; 35 : 315–319.
 30. Kim CM, Kwon YS, Choi SY. Antithrombotic effect of the BuOH soluble fraction of *Angelica dahurica* root. *J Kor Pharmacogn*. 1995 ; 26 : 74–77.
 31. Shin KH, Kim ON, Woo WS. Effect of the constituents of *Angelica dahurica* Radix on hepatic drug metabolizing enzyme activity. *J Kor Pharmacogn*. 1988 ; 19 : 19–27.
 32. Kim DK, Lim JP, Yang JH, Eom DO, Eun JS, Leem KH. Acetylcholinesterase inhibitors from the roots of *Angelica dahurica*. *Arch Pharm Res* 2002 ; 25 : 856–859.
 33. Pae HO, Oh HC, Yun YG, Oh GS, Jang SI, Hwang KM, Kwon TO, Lee HS, Chung HT. Imperatorin, a furanocoumarin from *Angelica dahurica* (Umbelliferae), induces cytochrome c-dependent apoptosis in human promyelocytic leukaemia, HL-60 cells. *Pharmacol Toxicol*. 2002 ; 91 : 40–48.
 34. Lee YS, Jang SM, Kim NW. Antioxidative activity and physiological function of the *Angelica dahurica* roots. *J Kor Soc Food Sci Nutr*. 2007 ; 36 : 20–26.
 35. Choi JI, Kim YJ, Kim JH, Song BS, Yoon Y, Byun MW, Kwon JH, Chun SS, U Lee JW. Antioxidant activities of the extract fractions from *Suaeda japonica*. *J Kor Soc Food Sci Nutr*. 2009 ; 38 : 131–135.
 36. Shin SR, Hong JY, Nam HS, Yoon KY, Kim KS. Anti-oxidative effects of extracts of Korean herbal materials. *J Kor Soc Food Sci Nutr*. 2006 ; 35 : 187–191.
 37. Jeon YH, Kil JH, Lim SM, Kim MH, Kim MR. Analysis of antioxidative activity and antimutagenic effect of ethanol extract from *Schizandra chinensis* Baillon. *J East Asian Soc Diet Life*. 2008 ; 18 : 746–752.
 38. Kwon TH, Kim JK, Kim TW, Lee JW, Kim JT, Seo HJ, Kim MJ, Kim CG, Jeon DS, Park NH. Antioxidant and anti-lipase activity in *Halocynthia roretzi* extracts. *J Kor Food Sci Technol*. 2011 ; 43 : 464–468.
 39. Park BH, Yang HH, Cho HS. Quality characteristics and antioxidative effect of Yukwa prepared with Lycii Fructus powder. *J Kor Soc Food Sci Nutr*. 2012 ; 41 : 745–751.
 40. Kim YJ, Park HJ, Lee JS, Do EJ, Sohn HR, Jeon SM, Yeum JH, Kim MR. Antioxidant effect of ethanol extract from *Poria cocos* depending on cultivation methods. *Kor J Herbol*. 2016 ; 31(5) : 107–114.
 41. Kim JY, Park HJ, Kim MR. Antioxidant activities of ethanol extract of Shinsun-yukza-hwan, a Korean medicinal recipe. *Kor J Herbol*. 2017 ; 32(5) : 19–25.
 42. Kim YJ, Kim SY, Jeong MJ, Lee UT, Choo ST, Youn SN, Kim MR. Antioxidant effect of ethanol extract from *Plantaginis Herba*. *Kor J Herbol*. 2018 ; 33(3) : 37–43.
 43. Jang YS, Jeong JM. Effects of phyto-extract mixture

- on adiposity and serum lipid levels in obese mice induced by high fat diet. *J Kor Soc Food Sci Nutr*. 2010 ; 39 : 1439–1445.
44. Ku JI, Kong MR, Lee YS. Anti-aging and antioxidant activity of ultrasonification ethanolic extract from *Portulaca oleracea*. *J Invest Cosmetol*, 2015 ; 11(2) : 97–106.
 45. Kim JW, Kim SD, Youn KS. Antioxidant activity of Hwangki and Beni-Koji extracts and mixture. *J Kor Soc Food Sci Nutr*. 2011 ; 40 : 1–6.
 46. Williams GM, Iatropoulos MJ, Whysner J. Safety assessment of butylated hydroxyanisole and butylated hydroxytoluene as antioxidant food additives. *Food Chem Toxicol*, 1999 ; 37(9) : 1027–1038.
 47. Urquiaga I, Leighton F. Plant polyphenol antioxidants and oxidative stress. *Biol Res*. 2000 ; 33 : 55–64.
 48. Dai J, Mumper RJ. Plant phenolics: Extraction, analysis, and their antioxidant and anticancer properties. *Molecules*. 2010 ; 15 : 7313–7352.
 49. Lu Y, Foo LY. Antioxidant and radical scavenging activities of polyphenols from apple pomace. *Food Chem*. 2000 ; 68 : 81–85.
 50. Cha JY, Kim HJ, Chung CH, Cho YS. Antioxidative activities and contents of polyphenolic compound of *Cudrania tricuspidata*. *J Kor Soc Food Sci Nutr*. 1999 ; 28 : 1310–1315.
 51. Hetog MGL, Hollman PCH, Van de Putte B. Content of potentially anticarcinogenic flavonoids of tea infusions, wines and fruit juice. *J Agr Food Chem*. 1993 ; 41 : 1242–1246.
 52. Tsao R. Chemistry and biochemistry of dietary polyphenols. *Nutrients*. 2010 ; 2 : 1231–1246.
 53. Heim KE, Tagliaferro AR, Bobilya DJ. Flavonoid antioxidants: Chemistry, metabolism, and structure-activity relationships. *J Nutr Biochem*. 2002 ; 13 : 572–584.
 54. Williams RJ, Spencer JP, Rice-Evans C. Flavonoids: Antioxidants or signaling molecules? *Free Radic Bio Med*. 2004 ; 36 : 838–849.
 55. Sohn HY, Ryu HY, Jang YJ, Jang HS, Park YM, Kim SY. Evaluation of antimicrobial, antithrombin, and antioxidant activity of aerial part of *Saxifraga stolonifera*. *Kor J Microbiol Biotechnol*. 2008 ; 36 : 195–200.
 56. Kim EJ, Choi JY, Yu MR, Kim MY, Lee SH, Lee BH. Total polyphenols, total flavonoid contents, and antioxidant activity of Korean natural and medicinal plants. *Kor J Food Sci Technol*. 2012 ; 44(3) : 337–342.
 57. Cho BY, Lee JH, Choi SI, Jung TD, Choi SH, Ra MJ, Kim SY, Kang IJ, Han KC, Lee OH. Changes in antioxidant and antiobesity activities of *Cirsium setidens* Nakai ethanolic extract depending on different harvest time. *J Food Hyg Saf*. 2017 ; 32 : 234–242.
 58. Rice-Evans CA, Miller NJ, Paganga G. Antioxidant properties of phenolic compounds. *Trends Plant Sci*. 1997 ; 2 : 152–159.
 59. Kim JH, Kim JK, Kang WW, Ha YS, Choi SW, Moon KD. Chemical composition and DPPH radical scavenger activity in different sections of safflower. *J Kor Soc Food Sci Nutr*. 2003 ; 32 : 733–738.
 60. Cha JY, Yang HJ, Jeong JJ, Seo WS, Park JS, Ok M, Cho YS. Tyrosinase inhibition activity and antioxidant capacity by fermented products of some medicinal plants. *Journal of life science*. 2010 ; 20(6) : 940–947.
 61. Lee HJ, Lim MH. Biochemical antioxidant activity and inhibitory effect of extract of *Aucklandia lappa* Decne against cell differentiation in 3T3-L1 adipocytes. *J Kor Soc Cosm*. 2018 ; 24(1) : 76–84.
 62. Lee YS, Jang SM, Kim NW. Antioxidative activity and physiological function of the *Angelica dahurica* roots. *J Kor Soc Food Sci Nutr*. 2007 ; 36(1) : 20–26.