

## Comparison of Flavonoid Content and Antioxidant Effect of Extracts from *Stachys sieboldii* Miq. and *Lycopus lucidus* Turcz

Jung Woo Lee and Sun Young Lim\*

Division of Marine Bioscience, Korea Maritime and Ocean University, #1, Dongsam-dong, Youngdo-gu, Busan 49112, Korea

Received March 2, 2018 / Revised March 30, 2018 / Accepted April 19, 2018

The flavonoid content and antioxidant effects of extracts from *Stachys sieboldii* Miq. and *Lycopus lucidus* Turcz were compared. The flavonoid content of the acetone + methylene chloride (A+M) extract of *L. lucidus* Turcz was 233.2 mg/g, suggesting that the extract was greater than that of *S. sieboldii* Miq. In the DPPH assay and the A+M and methanol (MeOH) extracts from *L. lucidus* Turcz had greater scavenging effects than those of *S. sieboldii* Miq. ( $p < 0.05$ ). The A+M extract from *L. lucidus* Turcz (0.5 mg/ml concentration) had an 82% scavenging effect in the DPPH assay. In the ABTS assay, A+M extracts from both *S. sieboldii* Miq. and *L. lucidus* Turcz (0.5 mg/ml concentration) had scavenging effects of 90% and 88%, respectively ( $p < 0.05$ ), suggesting that both A+M extracts had greater scavenging effects than those of both MeOH extracts. In a 120 min ROS production assay, all tested extracts dose-dependently decreased the cellular ROS production that was induced by  $H_2O_2$ , as compared to those produced by exposure to the extract-free control. The A+M extracts from both *S. sieboldii* Miq. and *L. lucidus* Turcz had greater inhibitory effects on cellular ROS production than those of both MeOH extracts at all concentrations tested. Treatment with the A+M extracts from *S. sieboldii* Miq. and *L. lucidus* Turcz (0.25 mg/ml concentration) inhibited the cellular ROS production by 60% and 86%, respectively. These results suggest that the A+M extracts of *Stachys sieboldii* Miq. and *L. lucidus* Turcz inhibit cellular oxidation and may contain valuable bioactive compounds, such as flavonoids.

**Key words** : Antioxidant, flavonoids, *Lycopus lucidus* Turcz, reactive oxygen species, *Stachys sieboldii* Miq.

### 서 론

생체 내 산화스트레스(oxidative stress)를 유발하는 다양한 자유라디칼(free radical)은 인간의 노화와 질병의 주요 원인으로 알려져 있으며 고농도의 활성산소종들은 세포막 손상, 단백질 분해, 지질 산화, DNA 변성 등을 초래하여 각종 성인병과 연계되어 있다[12]. 최근 건강에 대한 관심이 높아짐에 따라 이러한 노화억제와 성인병 예방을 위한 항산화물질에 대한 관심도 함께 자유라디칼을 방어하는 항산화물질에 대한 연구가 활발히 이루어지고 있다[7, 15]. 현재 산화스트레스를 막기 위해 천연항산화제 및 합성항산화제가 사용되고 있는데, 이러한 항산화제는 산소를 제거하거나 흡수하는 것이 아니라 자유기와 반응함으로써 특정 비타민류와 필수 아미노산 등의 손실을 최소화 하거나, 유지 제품의 산패를 지연 또는 방지하는 목적으로 사용된다. 생체 내의 항산화 시스템은 1차적으로 비

효소적 항산화제(glutathione, cystathione 등)이며 다음으로 2차적 효소적 시스템(superoxide dismutase, glutathione peroxidase, catalase 등)이 작동하여 1차적 비효소적 항산화제의 항상성 및 부가적 작용에 효소적 시스템이 작동된다[7]. 따라서 식물성 식품에 널리 분포하는 천연 항산화 물질을 충분히 섭취하는 것은 항산화 시스템을 정상적으로 유지하는데 도움이 된다[14].

초석잠(*Stachys sieboldii* Miq.)은 중국의 전통적인 건강채소로서 중국, 일본 및 러시아 등에서 주로 재배되고 있다. 1년생 본초로 줄기는 직립이며, 잎은 장 타원형에, 꽃은 8월 하순에 담홍색으로 이삭모양의 작은 꽃을 개화한다. 뿌리는 가을에 지하에서 3~6 cm 정도로 자라는데 형태가 동충하초와 비슷하고 약효도 비슷하여 식물의 동충하초라고 불린다. 일본에서는 정월 요리에 귀하게 사용되기도 하며, 중국의 중약편에 의하면 뇌경색과 노인성치매 예방에 효과적이며 또한 기억력 증진과 장을 강화하는 효과가 있어 장수채로 알려져 있다[1, 2, 25]. Lee 등[18]은 초석잠 분말을 첨가한 두부의 항산화 활성 및 품질 특성을 연구한 결과 초석잠 첨가 두부가 미첨가 두부보다 기호도와 항산화 활성이 우수함을 보고하였다. Yang [32]은 초석잠을 활용한 기능성 즉석식품 개발 연구에서 돈육 패티 제조 시 초석잠 메탄을 추출물 첨가는 저장 중 지방의 산화 방지, 총균, 대장균 및 식중독균의 증식 억제, 풍미를 향상시킨

#### \*Corresponding author

Tel : +82-10-4781-7549, Fax : +82-51-404-4750

E-mail : sylim@kmou.ac.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.

다고 보고하였다. 택란(*Lycopus lucidus* Turcz)은 꿀풀과(Labiatae) 썩싸리속(*Lycopus*)에 속하는 다년생 초본으로 중국과 한국에 널리 분포하고 있다. 택란은 습기가 있는 물가에 분포하고 있으며 높이가 약 70 cm 뿌리줄기는 짧고 풀 전체에 털이 난다. 택란의 생리활성에 관한 연구로는 택란 구성성분의 항산화 효과[21, 28, 33] 및 항염증[19] 효과가 보고되어 있다. 최근 연구결과에 따르면 택란 추출물이 유방암 세포 MCF-7의 apoptosis를 유도하여 성장을 저해한다는 보고[13]가 있고 Park 등[21]은 택란 메탄올 추출물이 DNA 손상을 유발하고 세포주기 조절 관련 신호전달 과정을 통해 인간 폐암 세포인 A549의 G1 arrest를 유도하여 세포의 증식을 억제하였다고 보고하였다. 한편 시중에서는 초석잠과 택란이 혼동되어 판매되고 있어 본 연구에서는 다양한 생리활성을 지닌 초석잠과 택란 추출물에 대한 항산화 효능을 택란 추출물과 비교 규명하여 향후 이를 이용한 식품개발을 위한 기초자료를 제시하고자 한다.

## 재료 및 방법

### 실험재료

본 실험에 사용된 초석잠과 택란 뿌리는 미산약초농장(경상북도 대구광역시)로부터 건조 초석잠과 택란 뿌리를 구입하여 사용하였다.

### 추출

건조 초석잠(300 g)과 건조 택란(300 g)을 분쇄한 후 유기용매 추출을 위하여 acetone:methylene chloride를 1:1 비율로 혼합하여 시료가 충분히 잠기도록 하여 24시간 방치한 후 추출하였다. 이 과정을 2회 반복하여 얻은 여액은 40°C 수욕 상에서 rotary vacuum evaporator (N-1000, EYELA, Tokyo, Japan)로 농축하여 acetone/methylene chloride (A+M) 추출물(초석잠 A+M 추출물 0.6 g, 택란 A+M 추출물 0.6 g)을 얻었다. A+M 용매로 추출되지 않은 성분을 methanol (MeOH)로 추출하고자 남은 잔사에 A+M과 동량의 MeOH을 부어 위와 동일한 방법으로 2회 반복한 후 농축하여 MeOH 추출물을 얻었다(초석잠 MeOH 추출물 12.9 g, 택란 MeOH 추출물 7.2 g)[3, 16]. 따라서 본 실험에 사용된 시료는 4가지 추출물들, *S. sieboldii* Miq. A+M, *S. sieboldii* Miq. MeOH, *L. lucidus* Turcz A+M 그리고 *L. lucidus* Turcz MeOH 추출물이다. 실험에는 각각의 추출물들을 dimethyl sulfoxide (DMSO)에 녹여 세포 배지로 필요한 농도로 희석하여 사용하였다.

### 총 플라보노이드 함량 측정

시료 중 총 플라보노이드(flavonoid) 함량은 Chae 등[4]의 방법을 변형하여 다음과 같이 측정하였다. 시료는 용매별 추출물 1 mg을 MeOH 1 ml에 녹여 시험관에 취하고 10 ml의

diethylene glycol을 가하여 잘 혼합한 후 1 N NaOH 1 ml 첨가하여 37°C에서 1시간 동안 반응시킨다. 반응이 끝난 후 UV-visible spectrometer (Helios beta, Thermo electron corporation, Rochester, NY, USA)를 사용하여 420 nm에서 흡광도를 측정하였다. 이때 표준물질은 rutin (Sigma-Aldrich Co., St. louis, Missouri USA)을 사용하여 표준곡선에 의해서 총 플라보노이드 함량을 측정하였다.

### 1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) 라디칼 소거활성

시료의 DPPH 라디칼 소거활성 측정[5]을 위해 먼저 각 추출물을 MeOH로 농도별로 희석하여 사용하였다. DPPH 2 mg을 ethanol 15 ml에 녹여 DPPH 원액을 조제하였다. DPPH 용액 1.2 ml에 DMSO 0.5 ml와 EtOH를 3 ml를 혼합하여 DPPH 희석액을 사용하였다. DPPH 희석액의 흡광도가 0.94~0.97이 되도록 하여 실험에 사용하였다. 시료 0.1 ml와 DPPH 희석액 0.9 ml를 섞은 후 10분 후 UV-visible spectrophotometer (Helios beta, Thermo electron Corporation, Seoul, Korea)로 518 nm에서 측정하였다. 이때 대조군은 천연 항산화제인 L-ascorbic acid와 합성항산화제인 Butylated hydroxytoluene (BHT)를 사용하였다. 초석잠의 DPPH 라디칼 소거활성은 다음의 식에 따라 계산하였다.

$$\text{EDA (electron donating ability) (\%)} = \frac{\text{대조군 흡광도} - \text{실험군 흡광도}}{\text{대조군의 흡광도}} \times 100$$

### 2,2'-Azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) diammonium salt radical cation (ABTS+) 라디칼 소거활성

초석잠 및 택란에 대한 ABTS+ 라디칼 소거활성은 Re 등[24]의 방법으로 측정하였다. 7 mM의 ABTS+와 2.45 mM의 potassium persulfate를 첨가하여 radical생성을 위해 암소에서 16시간 방치한 후, 734 nm에서 흡광도가 0.68~0.72가 되도록 EtOH로 희석하였다. ABTS+ 희석액 0.98 ml와 추출물 0.02 ml를 혼합하여 암소에서 10분간 방치 후 UV-visible spectrophotometer 732 nm에서 흡광도를 측정하였다. 대조군으로는 천연항산화제인 L-ascorbic acid와 합성항산화제인 BHT를 사용하였다. 시료의 ABTS+ 라디칼 소거활성은 DPPH 소거활성의 식에 따라 계산하였다.

### 세포 내 활성산소종(reactive oxygen species) 생성 억제 효과

한국 세포주 은행(서울의대)으로부터 인체 섬유종세포(HT-1080)를 분양받아 본 실험실에서 배양하면서 실험에 사용하였다. HT-1080 세포는 100 units/ml의 penicillin-streptomycin (Gibco, Granisland, NY, USA)과 10% Fetal bovine serum (FBS, Corning cellgro, Manassas, Virginia, USA)이 함유된

Roswell Park Mineral Institute (RPMI) 1640 (Lonza, Walkersville, Virginia USA) 배지를 사용하여 37°C, 5% CO<sub>2</sub> incubator (MCO-15AC, SANYO, Electric Biomedical Co., Ltd., Tokyo, Japan)에서 배양하면서 배양 중인 세포를 일주일에 2번 새로운 배지로 바꿔주었다. 일주일 후 phosphate buffered saline (PBS)으로 세척한 뒤 0.05% trypsin-0.02% EDTA (Gibco)로 부착된 세포를 분리하여 원심분리 한 후 집적된 세포에 배지를 넣고 피펫으로 세포가 골고루 분산되도록 잘 혼합하여 cell culture flask에 10 ml씩 일정한 수로 분할하여 주입하고, 6일마다 계대 배양하면서 실험에 사용하였다. 세포 내 활성산소종은 DCFH-DA (2',7'-Dichlorodihydrofluorescein diacetate) assay [17]로 측정하였다. DCFH-DA는 세포 내 활성산소종과 반응하여 형광물질(Dichlorofluorescein, DCF)을 만들어 내는 것으로 이 시약을 세포 속에 넣어 발생하는 형광을 측정함으로써 세포 내의 활성산소종을 측정할 수 있다. 세포를 96 well cell culture plate에 분주한 후 24시간 배양하고, PBS로 씻은 후 20 µM DCFH-DA를 각 well에 분주하여 37°C, 5% CO<sub>2</sub> incubator에서 20분간 pre-incubation하였다. 각 well에 시료를 처리하여 37°C, 5% CO<sub>2</sub> incubator에서 1시간 배양한 후, DCFH-DA를 없애고 세포는 다시 PBS로 씻은 후 500 µM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>를 처리하여 시간 별로 DCF fluorescence를 excitation 488 nm, emission 530 nm에서 microplate reader (VICTOR3, Perkin Elmer, Waltham, Massachusetts, USA)로 측정하였다. 대조군들(blank군과 control군)은 시료 대신 PBS를 처리하며, control군은 500 µM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>를 처리를 하고, blank군은 500 µM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>대신 PBS를 처리하여 측정하였다.

**통계분석**

실험결과는 Mean ± SEM (Standard Error of Mean)으로 나타내었다. 분석된 실험 데이터는 대조군과 각 시료로부터 얻은 실험 자료로부터 one-way ANOVA를 실시하여 유의성을 검증하였고 사후검정은 Tukey's test를 실시하였다.

**결과 및 고찰**

**초석잠 및 택란 추출물의 총 플라보노이드 함량**

초석잠의 용매별 추출물의 총 플라보노이드 함량은 Table 1에 나타내었다. 초석잠 A+M 및 MeOH 추출물들의 총 플라보노이드 함량은 각각 57.1±1.08 및 37.4±0.12 mg/g으로 초석잠 A+M 추출물의 총 플라보노이드 함량이 높았다. 택란 A+M 및 MeOH 추출물들의 총 플라보노이드 함량은 각각 233.2±2.60 및 46.3±0.54 mg/g으로 택란 A+M 추출물의 총 플라보노이드 함량이 높았다. 따라서 총 플라보노이드 함량은 초석잠 및 택란 A+M 추출물에서 높게 나타남을 알 수 있었다. Jeon과 Park [11]은 초석잠 분말의 총 폴리페놀, 총 플라보노이드 및 총 탄닌의 함량은 각각 139.1 mg gallic acid equivalent (GAE)/

Table 1. Contents of total flavonoids of extracts from *Stachys sieboldii* Miq. and *Lycopus lucidus* Turcz

Samples <sup>1)</sup>	Total flavonoid contents (mg/g) <sup>2)</sup>
<i>S. sieboldii</i> Miq. A+M	57.1±1.08 <sup>b3)</sup>
<i>S. sieboldii</i> Miq. MeOH	37.4±0.12 <sup>d</sup>
<i>L. lucidus</i> Turcz A+M	233.2±2.60 <sup>a</sup>
<i>L. lucidus</i> Turcz MeOH	46.3±0.54 <sup>c</sup>

<sup>1)</sup>*S. sieboldii* Miq. A+M, extract with acetone+methylene chloride; *S. sieboldii* Miq. MeOH, extract with methanol; *L. lucidus* Turcz A+M, extract with acetone+methylene chloride; *L. lucidus* Turcz MeOH, extract with methanol  
<sup>2)</sup>mg rutin equivalent/g dry weight  
<sup>3)</sup>Values are expressed as mean ± SD. Values in the same column with different letters are significantly different at *p*<0.05 using Turkey's test.

g dry weight (dw), 74.3 mg quercetin equivalent (QE)/g dw, 40.4 mg tannic acid equivalent/g dw로 분석되었다고 보고하였다. Chung과 Lee [6]의 연구에서 초석잠 70% 에탄올 추출물의 총 폴리페놀 함량이 24.58 mg/g이었다. Lee 등[19]은 초석잠 70% 에탄올 추출물의 총 폴리페놀과 총 플라보노이드 함량이 38.62 mg GAE/g과 221.00 mg QE/g이었다. Yang [33]은 택란을 생, 수증 및 주증하여 건조한 것과 이를 볶음 처리한 결과 건조시료의 경우 총 플라보노이드 함량은 주증 1.26 mg rutin/g, 수증 1.05 mg rutin/g, 생 0.95 mg rutin/g이고 볶은 택란 추출물의 경우 총 플라보노이드 함량은 주증 1.26 mg rutin/g, 수증 1.05 mg rutin/g, 생 0.95 mg rutin/g 로 나타내었다고보고하였다. 이런 차이는 초석잠 및 택란의 재배환경, 추출용매의 종류, 추출온도 및 시간 같은 추출 조건 등의 차이에 기인한 것으로 생각된다.

**초석잠 및 택란 추출물의 DPPH 라디칼 소거활성**

초석잠 및 택란 추출물의 DPPH 라디칼 소거활성은 활성산소를 제거할 수 있는 능력인 EDA (electron donating ability, %)로 Table 2에 나타내었다. 각 추출물을 각각 0.05, 0.1, 0.25 및 0.5 mg/ml의 농도로 대조군(L-ascorbic acid, BHT)과 비교하였다. 먼저 추출물들과 비교했을 때 택란 A+M 추출물의 활성산소 소거능이 우수하였다(*p*<0.05). 각 추출물의 IC<sub>50</sub>값은 초석잠 A+M 0.37 mg/ml, 초석잠 MeOH 1.23 mg/ml, 택란 A+M 0.01 mg/ml 및 택란 MeOH 0.21 mg/ml로 나타났다. 이는 앞서 택란 A+M 추출물의 높은 총 플라보노이드 및 총 페놀 함량과 연관 있는 것으로 여겨진다. Jeon과 Park [11]은 초기 DPPH 라디칼의 50%를 소거하는데 필요한 농도(IC<sub>50</sub>)는 초석잠 추출물과 양성 대조군인 BHT, ascorbic acid, α-tocopherol이 각각 1.42와 0.35, 0.28, 0.44 mg/ml로 나타났다고 보고하였다. Baek 등[3]의 연구는 초석잠을 용매 추출한 시료의 항산화 활성이 증류수가 가장 낮았고 hexan, 클로로포름,

Table 2. DPPH radical scavenging effect of extracts from *Stachys sieboldii* Miq. and *Lycopus lucidus* Turcz

Samples <sup>1)</sup>	concentrations (mg/ml)			
	0.05	0.1	0.25	0.5
<i>S. sieboldii</i> Miq. A+M	20.7±0.02 <sup>b2)</sup>	31.5±0.00 <sup>b</sup>	41.1±0.00 <sup>b</sup>	59.3±0.02 <sup>b</sup>
<i>S. sieboldii</i> Miq. MeOH	10.0±0.00 <sup>a</sup>	12.9±0.01 <sup>a</sup>	16.7±0.02 <sup>a</sup>	25.7±0.01 <sup>a</sup>
<i>L. lucidus</i> Turcz A+M	85.9±0.00 <sup>e</sup>	85.7±0.01 <sup>e</sup>	84.8±0.00 <sup>d</sup>	81.7±0.01 <sup>c</sup>
<i>L. lucidus</i> Turcz MeOH	23.7±0.01 <sup>c</sup>	42.6±0.02 <sup>c</sup>	60.8±0.03 <sup>c</sup>	78.3±0.01 <sup>c</sup>
L-ascorbic acid	99.7±0.00 <sup>f</sup>	99.7±0.00 <sup>f</sup>	99.8±0.00 <sup>e</sup>	99.8±0.00 <sup>e</sup>
BHT	53.2±0.00 <sup>d</sup>	68.8±0.00 <sup>d</sup>	86.7±0.00 <sup>d</sup>	91.2±0.00 <sup>d</sup>

<sup>1)</sup>*S. sieboldii* Miq. A+M, extract with acetone+methylene chloride; *S. sieboldii* Miq. MeOH, extract with methanol; *L. lucidus* Turcz A+M, extract with acetone+methylene chloride; *L. lucidus* Turcz MeOH, extract with methanol

<sup>2)</sup>Values are expressed as mean ± SD. Values in the same column with different letters are significantly different at  $p < 0.05$  using Turkey's test.

메탄올, 부탄올, 에틸아세테이트 순으로 높았으며, 에틸아세테이트 분획의 DPPH 라디칼 소거능의 IC<sub>50</sub>는 2.8 µg/ml로 양성 대조군에 비해 높은 항산화 활성을 나타낸다고 보고하였다. 이는 초석잠 추출물이 500 ppm 농도에서 DPPH 라디칼을 85.57% 소거하였다는 Chung과 Lee [6]의 연구결과보다 높은 값이었으나 초석잠 추출물의 DPPH 라디칼 소거능의 IC<sub>50</sub> 45.35 µg/ml이었다는 Lee 등[18]의 연구 결과보다 낮은 값으로 나타났다. Song 등[28]은 택란의 부위별 물 추출물을 100 g/ml 농도에서 DPPH를 측정할 결과 잎 > 뿌리 > 줄기 순으로 뿌리나 줄기보다 잎에서 약 5.6배 이상 가장 높은 전자공여능을 나타내었다고 보고하였다.

**초석잠 및 택란 추출물의 ABTS+ 라디칼 소거활성**

초석잠 및 택란 추출물의 ABTS+ 라디칼 소거활성도 DPPH 라디칼 소거활성과 마찬가지로 전자공여능인 EDA로 Table 3에 나타내었다. 각 용매별 추출물을 각각 0.05, 0.1, 0.25 및 0.5 mg/ml의 농도로 대조군(L-ascorbic acid, BHT)과 비교하였다. 택란 A+M 추출물과 초석잠 A+M 추출물은 합성항산화제인 BHT와 비교하여 0.25 및 0.5 mg/ml농도에서 BHT 경우, 93.5 및 95.3%이며, 초석잠 A+M 추출물은 89.0 및 89.8%의 소거능을 나타내었으며 택란 A+M 추출물은 각각 90.2% 및

88.0%로 대조군과 유사한 값을 나타내었다. 각 추출물의 IC<sub>50</sub> 값은 초석잠 A+M 0.07 mg/ml, 초석잠 MeOH 0.38 mg/ml, 택란 A+M 0.02 mg/ml 및 택란 MeOH 0.39 mg/ml로 나타났다. Jeon과 Park [12]은 초석잠 분말의 첨가량을 달리하여 제조한 식빵의 ABTS 라디칼 소거능은 DPPH 라디칼 소거능에 비해 높은 활성을 보였으며 대조군이 가장 낮았고 초석잠 분말의 첨가량이 증가할수록 유의적으로 증가하여 초석잠 분말을 12% 첨가한 식빵은 10 mg/ml 농도에서 60%의 소거능을 나타내었다고 보고하였다. 또한 초석잠 분말 첨가 두부 연구[18]에서 대조군의 ABTS 라디칼 소거능은 32.64%로 가장 낮았으며 초석잠 분말의 첨가량이 농도 증가와 더불어 항산화 활성이 유의적으로 증가함을 보고하였다. 플라보노이드는 폴리페놀에 속하는 성분으로 플라보노이드의 C6-C3-C6를 기본 골격으로 하며 노란색 혹은 담황색을 나타내는 페놀계 화합물의 총칭으로 자연계에 널리 분포하고 있으며 폴리페놀과 같이 채소류와 식물의 잎, 꽃, 과일, 줄기 및 뿌리 등 거의 모든 부위에 함유되어 있다[10]. 플라보노이드는 활성산소종을 효과적으로 제거하여 항산화능이 높다고 알려져 있으며 폴리페놀과 마찬가지로 항바이러스, 항염증, 항암효과가 있는 것으로 알려져 있다[9, 29, 32]. 본 연구에서 사용된 DPPH와 ABTS 라디칼 소거능 활성 측정방법은 대표적인 항산화 측정방법으로 이는

Table 3. ABTS radical scavenging effect of extracts from *Stachys sieboldii* Miq. and *Lycopus lucidus* Turcz

Samples <sup>1)</sup>	concentrations (mg/ml)			
	0.05	0.1	0.25	0.5
<i>S. sieboldii</i> Miq. A+M	35.7±0.01 <sup>c2)</sup>	66.6±0.05 <sup>b</sup>	89.0±0.01 <sup>c</sup>	89.8±0.00 <sup>b</sup>
<i>S. sieboldii</i> Miq. MeOH	9.6±0.00 <sup>a</sup>	20.5±0.00 <sup>a</sup>	37.2±0.02 <sup>b</sup>	63.0±0.02 <sup>a</sup>
<i>L. lucidus</i> Turcz A+M	91.7±0.00 <sup>d</sup>	91.4±0.00 <sup>c</sup>	90.2±0.00 <sup>c</sup>	88.0±0.00 <sup>b</sup>
<i>L. lucidus</i> Turcz MeOH	14.3±0.00 <sup>b</sup>	29.0±0.08 <sup>a</sup>	27.7±0.01 <sup>a</sup>	64.1±0.02 <sup>a</sup>
L-ascorbic acid	99.6±0.00 <sup>d</sup>	99.7±0.00 <sup>c</sup>	99.7±0.00 <sup>d</sup>	99.7±0.00 <sup>c</sup>
BHT	90.9±0.00 <sup>e</sup>	91.3±0.00 <sup>c</sup>	93.5±0.00 <sup>e</sup>	95.3±0.00 <sup>c</sup>

<sup>1)</sup>*S. sieboldii* Miq. A+M, extract with acetone+methylene chloride; *S. sieboldii* Miq. MeOH, extract with methanol; *L. lucidus* Turcz A+M, extract with acetone+methylene chloride; *L. lucidus* Turcz MeOH, extract with methanol

<sup>2)</sup>Values are expressed as mean ± SD. Values in the same column with different letters are significantly different at  $p < 0.05$  using Turkey's test.

항산화능을 지닌 페놀성 물질 함량이 높을수록 소거활성이 증가되므로 free radical 물질인 DPPH와 ABTS의 소거활성과 유의적인 상관관계를 갖는 것으로 알려져 있다[14]. Baek 등[3]은 초석잠 추출물들에 의한 아질산염의 분해작용을 측정 한 결과 pH가 낮을수록 높은 소거능을 보였으며 특히 pH 1.2에서 모든 추출물들에서 80-90% 이상의 분해능을 보였다고 보고 하였다. Na와 Lee [22]는 초석잠과 인삼 에탄올 추출물의 항산화 활성을 비교한 결과 초석잠 에탄올 추출물(2.84 mg GAE/g)이 인삼 에탄올 추출물보다 3.1배 높은 총 페놀함량을 나타 내었으며 DPPH 라디칼 소거능은 16.8배, Ferric reducing antioxidant power (FRAP)는 3.4배 및 Trolox equivalent antioxidant capacity (TEAC)은 2.2배 높은 항산화 활성을 나타내 었다고 보고하였다. 택란 추출물의 항산화 활성은 아질산염 소거능, ABTS 라디칼 소거능, Xanthine oxidase (XOase) 저해 활성, DPPH 라디칼 소거능 순으로 효율성이 있는 것으로 확 인되었고 건조 택란 추출물과 비교했을 때 볶은 택란 추출물 에 의한 항산화 활성이 유의적으로 높은 수치를 나타내었다고 보고되었다[33].

**초석잠 및 택란 추출물의 세포 내 활성산소종(reactive oxygen species) 생성 억제효과**

초석잠 및 택란의 A+M 및 MeOH 추출물을 0.05 및 0.025 mg/ml의 농도로 인체 섬유육종세포(HT-1080)에 처리하여 세 포 내 활성 산소종을 측정 한 결과 두 추출물들 모두 측정시간 120분이 지남에 따라 높은 세포 내 활성산소종 억제효과를 나타내었다(Fig. 1, Fig. 2). A+M 추출물의 경우 MeOH 추출물 과 비교 하였을 때 세포 내 활성산소종을 상대적으로 크게 억제하였으며 특히 택란 A+M 추출물 0.05 mg/ml 농도에서 대조군과 비교하여 높은 억제효과를 나타내었다( $p < 0.05$ )(Fig. 1). 초석잠 추출물의 에틸아세테이트 분획물은  $\alpha$ -tocopherol,

BHT, Butylated hydroxyanisole (BHA)와 같은 항산화제에 비해서 과산화지질 형성 억제능, 아질산염 소거능, 전자공여 능이 우수한 항산화 활성을 갖는다고 보고되었다[6, 8]. 또한 Takeda 등[29]은 초석잠으로부터 분리한 페놀성 화합물인 4'-methyl ether 7-O- $\beta$ -(6''-O-acetyl-2''-allosyl)glucoside, isoscutellarein 7-O- $\beta$ -(6''-O-acetyl-2''-allosyl) glucoside, acteoside는 hyaluronidase 활성을 저해하여 염증을 억제하는 작용 을 한다. 초석잠의 항산화 효능과 관련하여 페놀성 및 플라보 노이드의 높은 함량 이외에도 Feng 등[8]은 초석잠으로부터 추 출한 다당류에 의한 라디칼 소거능이 우수함을 밝혔고 이들 다당류는 수소원자 공여자로서 역할 하여 라디칼 연쇄반응을 종결시킴으로서 항산화 효과를 나타낸다고 보고하였다. 택란 의 페놀성 화합물은 rosmarinic acid, rosmarinic acid, ethyl rosmarinic acid와 flavonoids, luteolin, luteolin-7-O-glucuronide methyl ester으로 알려져 있고 이들 성분의 항산화 작용이 보 고되어 있다[32]. Song 등[28]은 택란의 잎, 줄기 뿌리의 물 추출물의 항산화 효과를 비교한 결과 택란 잎의 총 폴리페놀 및 플라보노이드 함량이 가장 높았고 이는 택란 잎의 높은 항산화 활성(DPPH, ABTS, Fe<sup>2+</sup> chelating, hydroxyl radical, SOD)과 높은 아질산염 소거활성과 관련성이 있다고 보고하였 다. Lu 등[20]의 연구결과에서도 택란의 총 페놀함량과 FRAP 및 TEAC 활성사이에 유의적 양의 상관관계가 있다고 보고하였 다. Slusarczyk 등[26]은 택란의 메탄올 추출물, 에틸아세테 이트 추출물 및 디에칠에테르 추출물의 환원력을 비교한 결과 에틸아세테이트 추출물 과 디에칠에테르 추출물에 의한 효과 가 우수하였고 메탄올추출물은 유의적으로 낮은 환원력을 나 타내었다고 보고하였다. Lin 등[20]은 택란 다당류 식이 첨가 는 마우스 혈청과 간 SOD과 glutathione peroxidase의 활성을 증가시켰고 과산화물 함량을 감소시켰다고 보고하였다. 현재 시중에서 혼동되어 판매되고 있는 초석잠과 택란 추출물에

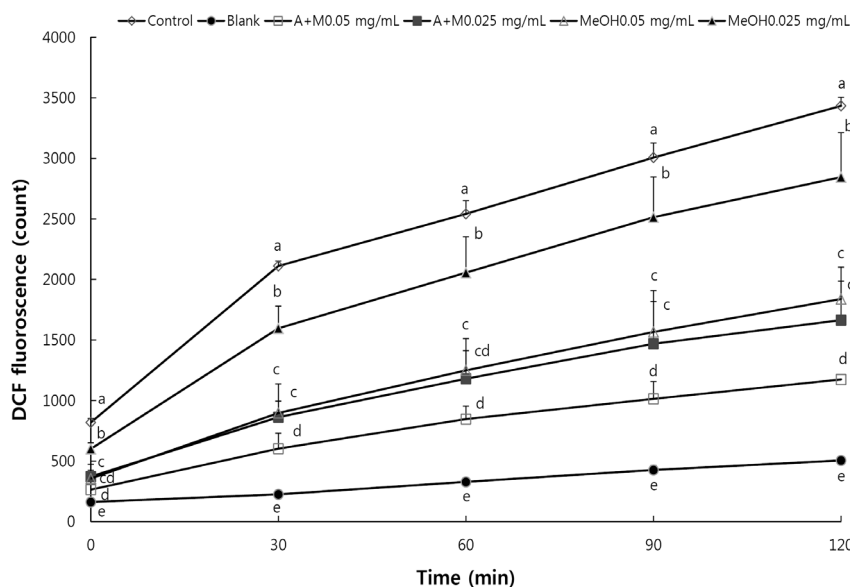


Fig. 1. Inhibitory effect of acetone/methylene chloride (A+M) and methanol (MeOH) extracts from *Stachys sieboldii* Miq. on levels of reactive oxygen species in HT-1080 human fibrosarcoma cells.

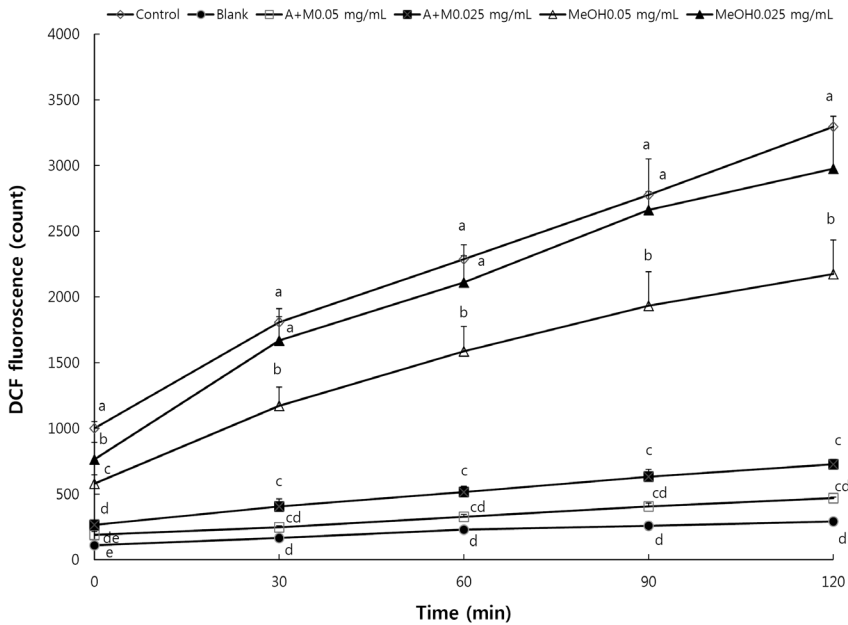


Fig. 2. Inhibitory effect of acetone/methylene chloride (A+M) and methanol (MeOH) extracts from *Lycopus lucidus* Turcz on levels of reactive oxygen species in HT-1080 human fibrosarcoma cells.

대한 항산화 효능을 살펴본 결과 택란 A+M 추출물의 플라보노이드 함량이 높았으며 이는 택란 A+M 추출물의 우수한 항산화 효과와도 연관성이 있음을 시사한다. 본 연구는 다양한 생리활성이 보고되어 있는 초석잠과 택란 추출물을 이용한 식품개발을 위한 초기 예비실험으로 향후 기초 자료를 제시하고자 한다.

### 감사의 글

본 과제(결과물)은 2017년 대한민국 미래창조과학부의 재원으로 한국연구재단의 지원을 받아 수행된 기초연구사업(NRF-2017R1A2B4005915)의 연구결과입니다.

### References

- Bae, J. H., Jang, J. R. and Lim, S. Y. 2014. Production of glutathione and reactive oxygen species in cell line HT-1080 treated with chub mackerel (*Scomber japonicus*) extracts. *Philipp. Agric. Sci.* **97**, 180-184.
- Baek, H. S., Song, S. K., Na, Y. S. and Ryu, B. H. 2003. Antioxidant activities of *Stachys sieboldii* MIQ. stalks. *Kor. J. Biotechnol. Bioeng.* **18**, 266-271.
- Baek, H. S., Na, Y. S., Kim, D. H., Lee, C. H., Ryu, B. H. and Song, S. K. 2004. Antioxidant Activities of *Stachys sieboldii* MIQ Roots. *J. Life Sci.* **14**, 1-7.
- Chae, S. K., Kang, G. S., Ma, S. J., Bang, K. W., Oh, M. M. and Oh, S. H. 2002. *Standard food analysis*. Jigu publishing Co Paju, Korea p 381-382.
- Chen, H. H., Muranmoto, K., Yamauchi, F., Fujimoto, K. and Nokihara, K. 1995. Antioxidative properties of histidine-containing peptides designed from peptide fragment found in the digests of a soybean protein. *J. Agric. Food*

- Chem.* **46**, 49-53.
- Chung, M. J. and Lee, C. Y. 1993. Antioxidative characteristics of plant phenolic compounds. *J. Life Sci.* **3**, 9-17.
- Donida, B., Jacques, C. E. D., Mescka, C. P., Rodrigues, D. G. B., Marcheti, D. P., Ribas, G., Gliugliani, R. and Vargas, C. R. 2017. Oxidative damage and redox in lysosomal storage disorders: Biochemical markers. *Clin. Chim. Acta* **466**, 46-53.
- Feng, K. F., Chen, W., Sun, L., Liu, J., Zhao, Y., Li, L., Wang, Y. and Zhang, W. 2015. Optimization extraction, preliminary characterization and antioxidant activity *in vitro* of polysaccharides from *Stachys sieboldii* Miq. Tubers. *Carbohydr. Polym.* **125**, 45-52.
- Heim, K. E., Tagliaferro, A. R. and Bobiyya, D. J. 2002. Flavonoid antioxidants: Chemistry, metabolism, and structure-activity relationships. *J. Nutr. Biochem.* **13**, 572-584.
- Hetog, M. G. L., Hollman, P. C. H. and Van de Putter, B. 1993. Content of potentially anticarcinogenic flavonoids of tea infusions, wines and fruit juice. *J. Agric. Food Chem.* **41**, 1242-1246.
- Jeon, K. S. and Park, S. I. 2015. Antioxidative Properties of Chinese Artichoke (*Stachys sieboldii* Miq) added white bread. *Kor. J. Culinary Res.* **21**, 120-132.
- Kehrer, J. P. and Klotz, L. O. 2015. Free radicals and related reactive species as mediators of tissue injury and disease: implications for health. *Crit. Rev. Toxicol.* **45**, 765-798.
- Kim, D. Y. and Ghil, S. H. 2009. Effect of *Lycopus lucidus* Trucz on cell growth of human breast cancer cells, MCF-7. *J. Exo. Biomed. Sci.* **15**, 147-152.
- Kim, E. J., Choi, J. Y., Yu, M. R., Kim, M. Y., Lee, S. H. and Lee, B. H. 2012. Total polyphenols, total flavonoid contents, and antioxidant activity of Korean natural and medicinal plants. *Kor. J. Soc. Food Sci. Technol.* **44**, 337-342.
- Kim, J. W., Moon, J. S. and Choe, T. B. 2014. Comparison of antioxidant activity of Kenaf extract and its flavonoids.

- Kor. J. Aesthet. Cosmetol. **12**, 203-210.
16. Kong, C. S., Um, Y. R., Lee, J. I., Kim, Y. A., Lee, J. S. and Seo, Y. W. 2008. Inhibition effect of extracts and its solvent fractions isolated from *Limonium tetragonum* on the growth of human cancer cells. *Kor. J. Biotechnol. Bioeng.* **23**, 177-182.
  17. LeBel, C. P., Ischiropoulos, H. and Bondy, S. C. 1992. Evaluation of the probe 2', 7'-Dichlorofluorescein as an indicator of reactive oxygen species formation and oxidative stress. *Chem. Res. Toxicol.* **5**, 227-231.
  18. Lee, J. E., Jin, S. Y. and Han, Y. S. 2014. Antioxidant activities and quality characteristics of tufu supplemented with Chinese artichoke powder. *Kor. J. Food Nutr.* **27**, 10-21.
  19. Lee, Y. J., Kang, D. G., Kim, J. S. and Lee, H. S. 2008. *Lycopus lucidus* inhibits high glucose-induced vascular inflammation in human umbilical vein endothelial. *Vascul. Pharmacol.* **48**, 38-46.
  20. Lin, C. R., Zuo, S. Y., Xiong, W. and Chen, G. Y. 2012. Antioxidation effects of *Lycopus lucidus* polysaccharides on aged mice induced D-galactose. *Medicinal Plants* **3**, 53-55.
  21. Lu, Y. H., Huang, J. H., Li, Y., Ma, T., Sang, P., Wang, W. and Gao, C. 2015. Variation in nutritional compositions, antioxidant activity and microstructure of Ly root at different harvest times. *Food Chem.* **183**, 91-100.
  22. Na, B. R. and Lee, J. H. 2017. Antioxidative capacities *Stachys sieboldii* Miq. of and Ginseng powders and their effects on quality characteristics of cookies. *J. Kor. Soc. Food Sci. Nutr.* **46**, 68-76
  23. Park, H. J., Jin, S., Oh, Y. N., Yun, S. G., Lee, J. Y., Kwon, H. J. and Kim, B. W. 2013. Induction of G1 arrest by methanol extract of *Lycopus lucidus* in human lung adenocarcinoma A549 cells. *J. Life Sci.* **23**, 1109-1117.
  24. Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M. and Rice-Evans, C. 1999. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radic. Biol. Med.* **26**, 1231-1237.
  25. Ryu, B. H. and Kim, S. O. 2004. Effects of methanol extract of *Stachys sieboldii* Miq. on acetylcholine esterase and monoamine oxidase in rat brain. *Kor. J. Food Nutr.* **17**, 347-355.
  26. Slusarczyk, S., Hajnos, M., Skalicka-Wozniak, K. and Matkowski, A. 2009. Antioxidant activity of polyphenols from *Lycopus lucidus* Turz. *Food Chem.* **113**, 134-138.
  27. Sohn, H. Y., Ryu, H. Y., Jang, H. S., Park, Y. M. and Kim, S. Y. 2008. Evaluation of antimicrobial, antithrombin, and antioxidant activity of aerial part of *Saxifraga stolonifera*. *Kor. J. Microbiol. Biotrechmol.* **36**, 195-200.
  28. Song, Y. J., Chang, J. P. and Yoo, J. H. 2016. Antioxidant activities of water extracts from different parts of *Lycopus lucidus* Turcz. ex Benth. *Kor. J. Herbaology* **31**, 21-28.
  29. Takeda, Y., Fujita, T., Satoh, T. and Kakegawa, H. 1985. On the glycosidic constituents of *Stachys sieboldii* MIQ. and their effects on hyaluronidase activity. *Yakugaku Zasshi: J. Pharmaceutical Soc. Jp.* **105**, 955-959.
  30. Williams, R. J., Spencer, J. P. and Rice-Evans, C. 2004. Flavonoids: Antioxidants or signaling molecules? *Free Radic. Biol. Med.* **36**, 838-849.
  31. Woo, E. R. and Piao, M. S. 2004. Antioxidative constituents from *Lycopus lucidus*. *Arch. Pharmacol. Res.* **27**, 173-176.
  32. Yang, M. R. 2012. The analysis of bioactive materials in *Stachys sieboldii* Miq. And its application on functional ready-to-eat food. *PhD Dissertation*. Gyengnam National University, Chagwon, Korea.
  33. Yang, M. O. 2017. Antioxidant properties of hot water extract of *Lycopus lucidus* Turcz Tubers. *Kor. J. Community Living Sci.* **28**, 103-113.

## 초록 : 초석잠 및 택란 추출물의 플라보노이드 함량 및 항산화 활성 비교

이정우 · 임선영\*

(한국해양대학교 해양생명과학부)

초석잠 acetone+methylene chloride (A+M) 및 methanol (MeOH) 추출물들의 총 플라보노이드 함량은  $57.05 \pm 1.08$  및  $37.42 \pm 0.12$  mg/g으로 A+M 추출물의 총 플라보노이드 함량이 높았다. 택란 A+M 및 MeOH 추출물들의 총 플라보노이드 함량은  $233.22 \pm 2.60$  및  $46.31 \pm 0.54$  mg/g으로 A+M 추출물의 총 플라보노이드 함량이 높았다. 이에 따라 총 플라보노이드 함량은 A+M 추출물에서 높게 나타남을 알 수 있었다. 각 용매별 추출물들의 1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) 라디칼 소거활성을 각각 0.05, 0.1, 0.25 및 0.5 mg/ml의 농도로 대조군 [L-ascorbic acid, Butylated hydroxyl toluene (BHT)]과 비교하였다. 먼저 추출물들과 비교했을 때 택란 A+M 추출물은 다른 추출물과 비교했을 때 활성산소 소거능이 우수하였다. 이는 앞서 택란 A+M 추출물의 높은 총 플라보노이드 및 총 페놀 함량과 연관성이 있는 것으로 여겨진다. 2,2'-Azino-bis (3-ethylbenothiazoline-6-sulfonic acid) diammonium salt radical cation (ABTS+) 라디칼 소거활성에서도 택란 A+M추출물과 초석잠 A+M추출물은 합성 항산화제인 BHT와 비교하여 0.25 및 0.5 mg/ml 농도에서 BHT 경우, 93.5 및 95.3%이며, 초석잠 A+M추출물은 89.0 및 89.8%의 소거능을 나타내었으며 택란 A+M추출물은 각각 90.2% 및 88.0%로 대조군과 유사한 값을 나타내었다. 초석잠 및 택란 A+M 및 MeOH 추출물을 0.05 및 0.025 mg/ml의 농도로 인체 섬유육종세포(HT-1080)에 처리하여 세포 내 활성 산소종을 측정된 결과 두 추출물들 모두 측정시간 120분이 지남에 따라 높은 세포 내 활성 산소종 억제효과를 나타내었다. A+M 추출물의 경우 MeOH 추출물과 비교 하였을 때 세포 내 활성산소종을 상대적으로 크게 억제하였으며 특히 택란 A+M 추출물 0.05 mg/ml 농도에서는 대조군과 비교하여 높은 억제효과를 나타내었다. 따라서 본 연구 결과는 택란 A+M 추출물에 의한 항산화 효과가 우수하였고 이는 택란 초석잠 A+M 추출물의 높은 함량의 플라보노이드와도 연관성이 있음을 나타낸다.