

## 추출용매에 따른 복령(*Poria cocos* Wolf)과 산수유(*Corni fructus*) 추출물의 생리활성 효과 비교

오희경<sup>†</sup>

장안대학교 건강과학부 바이오동물보호과  
(2019년 12월 7일 접수: 2019년 12월 27일 수정: 2019년 12월 30일 채택)

### Biological Activities of *Poria cocos* Wolf and *Corni fructus* Extracts based on their extraction solvent

Hee-Kyung Oh<sup>†</sup>

Department of Bio-animal care, Jagan University Samcheonbyeongma-ro 1182, Korea  
(Received December 7, 2019; Revised December 27, 2019; Accepted December 30, 2019)

**요약** : 본 연구는 열수와 에탄올 용매에 따른 복령 및 산수유 추출물의 농도별로 항산화 활성, 항염증 효과 및 신경세포 보호효과에 미치는 영향을 살펴보고자 진행하였다. 추출물들의 총 polyphenol 함량은 복령 열수 추출물에서 가장 높았고, 복령 에탄올 추출물, 산수유 열수 추출물, 산수유 에탄올 추출물 순으로 유의적으로 감소되는 경향을 나타냈다. DPPH 및 ABTS radical 소거 활성능은 추출물의 농도 의존적으로 증가하였고 산수유 열수 추출물은 모든 추출물에서 항산화 활성이 가장 높게 나타났으며, 복령 열수 추출물은 에탄올 추출물에 비해 높은 활성이 확인되었다. 복령과 산수유에 함유된 총 polyphenol과 항산화 성분을 추출하기 위해서는 에탄올 추출방법 보다는 열수 추출방법이 효과적인 방법이라고 사료된다. LPS로 염증이 유도된 RAW 264.7 세포에서 복령추출물이 산수유 추출물에 비해 NO 생성 억제 효과가 우수한 것으로 확인되었다. MPP<sup>+</sup>에 의해 유도된 SH-SY5Y 신경세포에 복령 열수 추출물은 산수유 열수 추출물에 비해 산화적 스트레스로부터 신경세포 보호효과가 우수하게 나타났다. 복령과 산수유 추출방법에 따른 항산화, 항염 및 산화적 스트레스로부터의 신경세포 보호효과를 갖는 기능성 소재로서 가능성이 있다고 사료된다.

**주제어** : 복령, 산수유, 항산화효과, 항염증효과, 신경세포 보호효과

**Abstract** : This study was to investigate the antioxidant, anti-inflammatory and neuronal cell protective effects of *Poria cocos* Wolf and *Corni fructus* extracted by water and 70% ethanol. Total polyphenol content in water extract of *Poria cocos* Wolf was significantly higher than those of other extracts. DPPH and ABTS free radical scavenging activity in water extract of *Corni fructus* was higher than those of other extracts. DPPH and ABTS free radical scavenging activity

<sup>†</sup>Corresponding author  
(E-mail: hkoh01@hanmail.net)

were increased in a dose-dependent manners. In order to effectively extract total polyphenol contents and anti-oxidant components in *Poria cocos* Wolf and *Corni fructus*, hot water extraction method is more efficient than ethanol extraction method. *Poria cocos* extracts were found to be a superior NO production inhibitory effect compared to *Corni fructus* extracts. In a neuronal cell viability assay using MPP<sup>+</sup>, the water extract of *Poria cocos* Wolf protected against MPP<sup>+</sup>-induced neurotoxicity than those of *Corni fructus* extract. It is considered to be a potential functional material with antioxidant, anti-inflammatory and neuronal protective effect against to oxidative stress according to the extract methods of extracting *Poria cocos* Wolf and *Corni fructus*.

**Keywords :** *Poria cocos* Wolf, *Corni fructus*, antioxidant effect, anti-inflammatory effect, neuronal cell protective effect

## 1. 서론

생명유지에 필요한 에너지 생성을 위해 호흡과정에 흡입한 산소 일부는 체내에서 산화적 스트레스를 유발하는 활성산소종(reactive oxygen species, ROS)로 전환되는데 각종 항산화 효소와 항산화 물질은 활성산소종을 제어하고 있는 것으로 알려져 있다. 그러나 여러가지 환경적 요인으로 인해 다량의 활성산소종이 생성되며 이것의 높은 산화력과 불안정성으로 체내에서 단백질, 지질, DNA와 반응하여 염증반응을 촉진시켜 세포 사멸뿐만 아니라 지속적인 염증반응은 점막손상을 촉진시키는 것으로 보고되어져 있다[1]. 인체 내에서 선천적 면역반응을 담당하는 면역세포인 대식세포는 외부의 자극으로 인해 활성화가 일어나며 염증유발물질 분비 자극을 통해 염증반응을 유발함으로써 천식, 기관지염, 동맥경화, 뇌졸중, 알츠하이머병, 파킨슨병과 같은 퇴행성질환을 유발하고 질환을 악화시킨다고 알려져 있다[2]. 따라서 염증질환의 예방 및 치료를 위해 염증유발물질의 발현을 조절할 수 있는 연구가 활발히 진행되고 있으며 천연물에 의한 염증 질환 치료제 및 치료보조제가 각광 받고 있다. 더우기, 치매의 대부분을 차지하고 있는 알츠하이머형 치매(Alzheimer's disease, AD)에 대한 질병 원인과 발병경로가 완벽하게 규명되지 않고 있어서 뚜렷한 약물과 치료법이 없는 실정으로 현재까지 많은 약물들의 유효성과 안정성 검정을 바탕으로 그 효용을 증명해 나가고 있다[3,4].

복령(*Poria cocos* Wolf)은 소나무의 뿌리에 기생하며 구멍장이버섯과에 속하는 버섯의 일종으

로 이노작용, 진정작용, 심신수축 강화작용이 있으며 항암, 항종양, 항염증 등 각종 효능도 잘 알려져 있다[5]. 복령 중에 함유되어 있는 U-pachymaran, pachymaran, carboxymethyl 등은 강력한 항암효과를 나타내고[5], (1,3)-(1,6)- $\beta$ -D-glucan은 항종양 효과를 가진 것으로 보고한 바 있다[6]. 또한 복령의 성분인 triterpene은 항구토작용, 항염증작용 및 항피부암에 효과를 가진 것으로 보고된 바 있다[7,8].

산수유(*Corni fructus*)는 층층나무과의 낙엽교목인 산수유 나무(*Cornus officinalis*) 열매의 씨를 제거하고 햇볕에 말린 것을 말하며 간경작용, 항산화작용, 혈압강화작용, 항암 및 항균작용 등이 있는 것으로 알려져 있다[9-11]. 산수유에 대한 연구로는 산수유 물 추출물이 항히스타민 효과를 나타내고[12] 산수유 메탄올 추출물은 항산화와 mouse 대식세포에서의 항염증 효과를 가진 것으로 보고된 바 있다[13] 특히 산수유 중에 함유되어 있는 loganin 성분은 활성산소종을 감소시켜 산화적 스트레스 완화효과를 가진 것으로 나타내고 인지력 향상에 효과를 나타내는 것으로 보고된 바 있다[14].

따라서 본 연구에서는 체내 활성산소종 제거 능력이 우수하다고 규명된 복령과 산수유를 열수와 에탄올 용매에서 추출한 복령 추출물과 산수유 추출물의 항산화 활성과 항염증 활성 및 산화적 스트레스에 의한 신경세포 보호효과에 미치는 영향을 분석하여 추출용매 조건에 따라 복령과 산수유를 기능성 소재로 활용할 수 있는 기초자료로 제공하고자 실시하였다.

## 2. 실험

### 2.1. 재료 및 시약

본 연구에 사용한 복령(*Poria cocos* Wolf)은 경상북도 영천 지역에서 자생하여 건조시킨 복령을 구입하여 사용하였다. 산수유(*Corni fructus*)는 전남 구례에서 재배한 것으로 씨를 제거한 건조제품을 구입하였다. 시약으로 사용한 ethanol, tannic acid, 2 mM 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH), Vitamin C, Folin reagent, sodium carbonate( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ), 2,2'-azino-bis(3-ethyl-benzthiazoline-6-sulfonic acid) diammonium salt (ABTS) 시약은 Sigma-Aldrich(St. Louis, MO, USA)로부터 특급시약을 구입하여 사용하였다. 세포독성 측정에 사용된 FBS(fetal bovine serum)는 Gibco(Thermo Fisher Scientific Inc., USA), DMEM 배지는 Cellgro Mediatech (Mediatech Inc., USA)와 MTT assay kit는 Roche company(South Sanfransico, USA)에서 구입했다. NO 생성저해효과 측정에 사용된 lipopolysaccharide(LPS)는 Sigma-Aldrich(St. Louis, MO, USA), Griess reagent(Nitric Oxide detection kit)는 iNtRON(Korea)에서 구입하였으며, 실험에 사용된 Raw 264.7 세포(마우스 대식 세포)는 한국세포주은행으로부터 공급받아 사용하였다. 신경세포보호효과 측정에 사용된 MPP<sup>+</sup>와 dimethyl sulfoxide(DMSO)는 Sigma-Aldrich(St. Louis, MO, USA), SH-SY5Y 세포는 한국세포주은행(Seoul, Korea)으로부터 공급받아 사용하였다.

### 2.2. 시료추출

건조 복령 100 g과 산수유 100 g 각각을 증류수 1,000 mL에 넣고 90°C에서 6시간씩 가열 환류하면서 3회 추출하여 열수 추출물을 얻었다. 건조 복령 100 g과 산수유 100 g 각각을 70% ethanol 1,000 ml을 가한 후 실온에서 6시간동안 3회 반복하여 추출하였다. 시료의 열수 및 70% 에탄올 추출물은 여과 한 뒤 수욕 상에서 회전식 감압농축기(N-1000S-W, EYELA, Tokyo, Japan)로 농축하고 동결건조기(Bondiro Vacuum Freeze-Dryer, Ilshin Lab Co., Ltd, Seoul, Korea)에서 건조 후 수분을 완전히 제거 하였다. 건조된 추출물을 -70°C 냉동고에서 보관하였다.

### 2.3. 총 polyphenol 함량

추출용매에 따른 시료추출물 용액 1 mL와 Folin reagent 2 mL를 혼합하여 3분 동안 실온에서 반응시킨 후 10%  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  2 ml을 혼합하고 암실에서 40분 동안 반응시켰다. 상등액 500  $\mu\text{l}$ 를 취하여 96well에 옮긴 후 microplate reader(UV-1601PC, Shimadzu, Kyoto, Japan)를 이용하여 760 nm에서 흡광도를 측정하였다[15]. 표준검량곡선은 tannic acid를 표준물질로 하여 작성하였고 총 polyphenol 함량을 구했다.

### 2.4. DPPH free radical 소거활성

추출용매에 따른 시료추출물 용액 1mL에 2 mM 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) 1 mL을 첨가하여 교반한 후 30분 동안 방치하여 양이온 radical을 형성시킨 후 518 nm에서 흡광도는 UV-spectrophotometer(UV-1601PC, Shimadzu, Japan)를 이용하여 측정하였다. 대조구는 Vitamin C를 사용하여 측정하였으며, DPPH radical 소거활성은 100-(시료첨가구에 대한 흡광도/시료무첨가구에 대한 흡광도) $\times 100$ 으로 나타내었다[16].

### 2.5. ABTS 활성

추출용매에 따른 시료추출물 용액 0.5 mL와 희석한 7.4 mM 2,2'-azino-bis(3-ethyl-benzthiazoline-6-sulfonic acid) diammonium salt(ABTS)용액 0.5 mL를 첨가하여 암소에서 60분 동안 방치시킨 뒤 흡광도는 UV-spectrophotometer (UV-1601PC, Shimadzu, Japan)를 이용하여 737nm에서 측정하였다. 양성 대조군으로는 Vitamin C를 사용하였고 ABTS radical 소거활성은 100-(시료첨가구에 대한 흡광도/시료무첨가구에 대한 흡광도) $\times 100$ 으로 나타내었다 [17].

### 2.6. 세포독성

실험에 사용한 Raw 264.7 세포는 10% FBS와 1% penicillin와 streptomycin이 첨가된 DMEM 배지를 이용하여 37°C에서 5%  $\text{CO}_2$  조건에서 배양하였다. 추출용매에 따른 복령과 산수유 추출물의 세포독성은 MTT Kit 시약을 이용하여 세포 생존율을 측정하였다. 96 well plate에  $4.0 \times 10^4$  cells/well이 되도록 Raw 264.7 세포를 분주하여 이를 다시 24시간 동안 균일하게 배양 후 상층액을 제거하고 각 시료의 농도별로 처리하여 24시간 배양하였다. 배양이 끝난 후 각 well에

MTT 시약 5  $\mu\text{L}$ 을 처리하여 37°C 에서 2시간 동안 배치한 후 상층액을 제거하였다. 각 well에 DMSO로 녹이고 590nm에서 microplate reader (Molecular Devices, USA)로 흡광도를 측정하였다.

### 2.7. NO 생성 저해효과

24 well plate에  $2 \times 10^5$  cells/mL이 되도록 Raw 264.7 세포를 분주하여 24시간 동안 배양하였다. 배양 후 추출용매에 따른 복령과 산수유 추출물의 농도별로 시료를 처리하고 1시간 뒤 lipopolysaccharide(LPS)를 1  $\mu\text{g/mL}$ 의 농도로 첨가하고 37°C에서 24시간 동안 배양하였다. 세포 배양 상등액 100  $\mu\text{L}$ 를 취하여 Griess reagent을 1:1 비율로 첨가하여 10분 동안 반응 시킨 후 570nm에서 microplate reader(Molecular Devices, USA)를 이용하여 흡광도를 측정하였다.

### 2.8. 신경세포 보호효과

96-well plate에 계대배양한 SH-SY5Y 세포를 균일하게 분주하고 24시간 동안 배양 후, 추출용매에 따른 시료추출물 용액을 농도별로 처리 한 후 3시간 동안 배양한다. 이에 1 mM MPP<sup>+</sup>를 각각 첨가하여 24시간동안 반응 시킨 후 MTT stock solution을 첨가하여 37°C에서 3시간 배양한다. 배양 후 DMSO 100  $\mu\text{L}$ 를 첨가하고 흡광도는 microplate reader(UV-1601PC, Shimadzu, Kyoto, Japan)를 이용하여 570 nm에서 측정하였으며 세포 생존율은 대조구에 대한 % 농도로 산출하였다.

### 2.9. 통계처리

본 결과의 통계 분석처리는 IBM SPSS statistic ver. 22를 사용하여 산출하였고 각 시료에 대한

유의성은 one-way ANOVA로 분석 한 뒤 Duncan's multiple range test를 시행하여  $p < 0.05$  수준에서 통계처리 하였다. 실험군 당 평균치와 표준편차를 계산하였고 시료 추출물의 군간 차이는 Student's t-test로 분석하였다.

## 3. 결과 및 고찰

### 3.1. 총 polyphenol 함량

추출용매에 따른 복령 및 산수유 추출물의 총 polyphenol 함량 측정 결과는 Table 1과 같다. 복령 열수 추출물의 총 polyphenol 함량은 91.54 mg/g으로 가장 높았고, 복령 에탄올 추출물(67.13 mg/g), 산수유 열수 추출물(49.70 mg/g), 산수유 에탄올 추출물(45.98 mg/g) 순으로 유의적으로 감소경향을 보였다( $p < 0.05$ ). 이를 통해 복령 열수 추출물은 복령 에탄올 추출물, 산수유 열수 추출물 및 산수유 에탄올 추출물에 비해 총 polyphenol 함량을 더 함유하는 것을 확인하였고 복령과 산수유에 포함된 총 polyphenol 함량을 효율적으로 추출하기 위해서는 열수 추출법에 에탄올 추출법보다 더 효율적인 추출법이라고 사료된다.

### 3.2. DPPH radical 소거활성

추출용매에 따른 복령 및 산수유 추출물의 DPPH radical 소거활성능은 Table 2와 같다. 산수유 열수 추출물은 250~1000  $\mu\text{g/mL}$  농도에서 DPPH free radical 소거활성능이 가장 높게 나타났으며, 산수유 에탄올 추출물, 복령 열수 추출물, 복령 에탄올 추출물 순으로 나타났다( $p < 0.05$ ). 2000  $\mu\text{g/mL}$  농도에서는 산수유 열수 및 에탄올 추출물의 free radical 소거활성능이

Table 1. Total polyphenol of different solvent extracts from *Poria cocos* Wolf and *Corni frucus* (mg/g)

	<i>Poria cocos</i> Wolf <sup>1)</sup>		<i>Corni fructus</i>	
	Water extract	70% extract	Water extract	70% extract
Total polyphenol	91.54±0.45 <sup>a</sup>	67.13±2.35 <sup>b</sup>	49.70±0.15 <sup>c</sup>	45.98±0.48 <sup>d</sup>

<sup>1)</sup>The concentrations of all samples was 1,000 ppm.

<sup>2)</sup>All values are expressed as mean±SE of triplicate determinations.

<sup>3)</sup>Means with different superscript within the same row are significantly different by Dun-can's multiple range test( $p < 0.05$ ).

Table 2. DPPH radical scavenging of different solvent extracts from *Poria cocos* Wolf and *Corni frucus* (%)

Concentration (ug/mL)	<i>Poria cocos</i> Wolf <sup>1)</sup>		<i>Corni fructus</i>	
	Water extract	70% extract	Water extract	70% extract
250	3.27±0.38 <sup>1)dC2)</sup>	3.25±0.12 <sup>dC</sup>	11.92±0.47 <sup>dA</sup>	8.94±0.56 <sup>dB</sup>
500	6.01±0.05 <sup>cC</sup>	6.45±0.17 <sup>cC</sup>	36.90±0.14 <sup>cA</sup>	19.57±0.66 <sup>cB</sup>
1000	12.01±0.96 <sup>bC</sup>	13.08±0.08 <sup>bC</sup>	73.11±1.60 <sup>bBA</sup>	50.09±0.04 <sup>bB</sup>
2000	24.39±0.12 <sup>aB</sup>	24.13±0.61 <sup>aB</sup>	86.71±0.47 <sup>aA</sup>	85.95±1.23 <sup>aA</sup>

<sup>1)</sup>All values are expressed as mean±SE of triplicate determinations.

<sup>2)</sup>Means in the column(a-d) and row(A-D) with different superscripts are significantly different by Duncan's multiple range test( $p<0.05$ ).

Table 3. ABTS radical scavenging of different solvent extracts from *Poria cocos* Wolf and *Corni frucus* (%)

Concentration (ug/mL)	<i>Poria cocos</i> Wolf <sup>1)</sup>		<i>Corni fructus</i>	
	Water extract	70% extract	Water extract	70% extract
250	5.65±0.22 <sup>1)dC2)</sup>	4.54±0.31 <sup>dC</sup>	14.00±1.27 <sup>dB</sup>	9.62±0.02 <sup>dB</sup>
500	10.30±0.07 <sup>cC</sup>	8.94±0.39 <sup>cD</sup>	29.97±0.11 <sup>cA</sup>	18.99±0.07 <sup>cB</sup>
1000	21.24±0.48 <sup>bC</sup>	16.37±0.58 <sup>bC</sup>	48.77±1.60 <sup>bA</sup>	36.96±0.33 <sup>bB</sup>
2000	34.22±0.11 <sup>aC</sup>	27.83±0.06 <sup>aD</sup>	88.97±0.07 <sup>aA</sup>	63.94±0.01 <sup>aB</sup>

<sup>1)</sup>All values are expressed as mean±SE of triplicate determinations.

<sup>2)</sup>Means in the column(a-d) and row(A-D) with different superscripts are significantly different by Duncan's multiple range test( $p<0.05$ ).

높게 나타났으며, 복령 열수 및 에탄올 추출물의 소거활성능은 유의적인 차이가 나타나지 않았다 ( $p<0.05$ ). 추출용매(열수, 에탄올)에 따른 복령 및 산수유 추출물의 DPPH radical 소거활성은 농도 의존적으로 증가하게 나타났다( $p<0.05$ ). Table 2에서 대조군인 Vitamin C에 대한 비교결과는 언급하지 않았지만 Vitamin C는 50  $\mu\text{g/mL}$  농도에서 DPPH radical 소거활성능이 98.54%을 나타내었고, 산수유 열수 및 에탄올 추출물은 2000  $\mu\text{g/mL}$  농도에서 각각 86.71%와 85.95%의 소거활성능을 나타내었다. 산수유 에탄올 추출물의 농도가 2000  $\mu\text{g/mL}$ 으로 증가할 경우 DPPH radical 소거활성능이 열수 추출물과 유사하게 나타났다므로 산수유 에탄올 추출 방법보다는 열수 추출 방법에서 항산화 물질을 더 많이 추출하는 것으로 사료된다.

### 3.3. ABTS radical 소거활성

추출용매에 따른 복령 및 산수유 추출물의 ABTS radical 소거활성은 Table 3과 같다. 250~2000  $\mu\text{g/mL}$  농도에서 산수유 열수 추출물은 ABTS radical 소거활성능이 유의적으로 가장 높게 나타났으며, 산수유 에탄올 추출물, 복령 열수 추출물, 복령 에탄올 추출물 순으로 나타났다 ( $p<0.05$ ). 복령 및 산수유 열수 및 에탄올 추출물의 ABTS radical 소거활성은 농도 의존적으로 높게 나타났다( $p<0.05$ ). 산수유 열수 추출물은 산수유 에탄올 추출물보다 더 낮은 농도에서 ABTS radical 소거활성능이 우수하게 보였다. Table 3에서 대조군인 Vitamin C에 대한 비교결과는 언급하지 않았지만 Vitamin C는 50  $\mu\text{g/mL}$  농도에서 ABTS radical 소거활성능이 80.544%를 나타내었으며 산수유 열수 추출물은 2000  $\mu\text{g/mL}$  농도에서 88.97%의 ABTS radical 소거활성능을

나타내어 산수유 열수 추출물이 항산화 능력이 가장 우수한 것으로 사료된다.

### 3.4. 세포독성

RAW 264.7 세포에서 추출용매에 따른 복령 및 산수유 추출물의 농도별(50, 100, 500, 1000  $\mu\text{g/mL}$ )의 세포독성을 확인한 결과는 Fig. 1과 같다. 50~1000  $\mu\text{g/mL}$  농도에서 복령 열수 추출물과 산수유 열수 및 에탄올 추출물은 세포생존을 변화에 유의한 영향을 미치지 않아서 독성이 없는 것을 확인하였다. 복령 에탄올 추출물에서 세포 생존율은 100  $\mu\text{g/mL}$  농도 이상에서 유의적으로 감소하는 경향을 보였으며 500  $\mu\text{g/mL}$  농도 이상에서 급격하게 세포 생존율이 감소하는 것을 확인하였다( $p < 0.05$ ). 복령 에탄올 추출물은 다른 추출물들에 비해 100  $\mu\text{g/mL}$  농도 이상에서 더 낮은 세포 생존율을 보였으므로 항염증 실험은 1~100  $\mu\text{g/mL}$  농도 범위에서 진행하였다.

### 3.5. NO 생성 억제

추출용매에 따른 복령 및 산수유 추출물의 항염증 효과 실험을 위해 LPS로 염증이 유도되어

NO 생성이 증가된 RAW 264.7 세포에 추출물을 농도별(1, 10, 100  $\mu\text{g/mL}$ )로 처리하여 측정된 결과는 Fig. 2와 같다. 추출용매에 따른 복령 및 산수유 추출물의 1  $\mu\text{g/mL}$  농도에서 NO 생성이 저해되는 것은 확인되지 않았다. 추출용매에 따른 복령 및 산수유 추출물의 10  $\mu\text{g/mL}$ 와 100  $\mu\text{g/mL}$  농도별 처리에 따라 NO 생성이 억제됨을 확인할 수 있었고 복령 에탄올 추출물에서 NO 생성 저해 효과가 유의적으로 가장 높게 나타났으나, 다른 실험군들에서는 유의적인 차이가 나타나지 않았다( $p < 0.05$ ). 100  $\mu\text{g/mL}$  농도에서 복령 에탄올 추출물은 가장 낮은 NO 생성량을 보였으며, 복령 열수 추출물, 산수유 열수 추출물, 산수유 에탄올 추출물 순으로 나타났다. 동일농도에서 복령 열수 및 에탄올 추출물은 산수유 열수 및 에탄올 추출물에 비해 NO 생성 억제 효과가 우수한 것으로 확인되었다. 복령 에탄올 추출물이 열수 추출물에 비해 염증을 억제하는 뛰어난 효과가 확인되었지만 복령 에탄올 추출물에서 NO 생성억제가 높은 것은 세포독성 효과로 인해 나타날 가능성이 있으므로 사료된다. 본 실험을 통해 복령과 산수유의 항염효과를 활

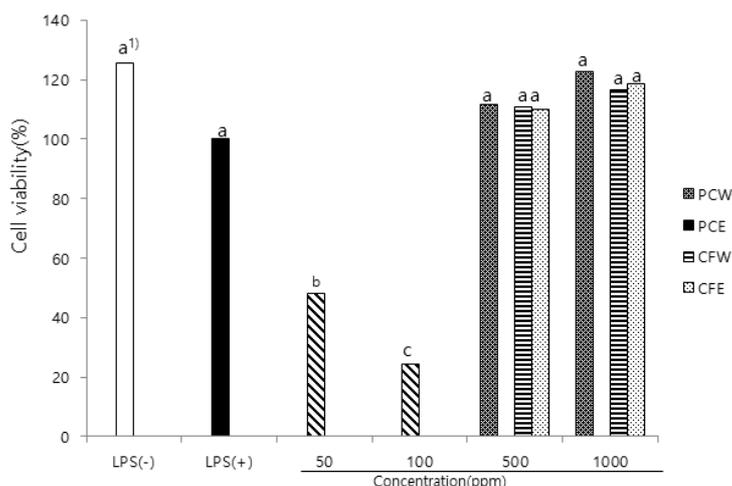


Fig. 1. Cytotoxicity of different solvent extracts from *Poria cocos* Wolf and *Corni fructus* against RAW 264.7 cell stimulated with LPS.

<sup>1</sup>) Values with different superscripts indicate significant differences by Duncan's multiple range tests ( $p < 0.05$ ).

PCW; water extract of *Poria cocos* Wolf, PCE; ethanol extract of *Poria cocos* Wolf  
CFW; water extract of *Corni fructus*, CFE; ethanol extract of *Corni fructus*

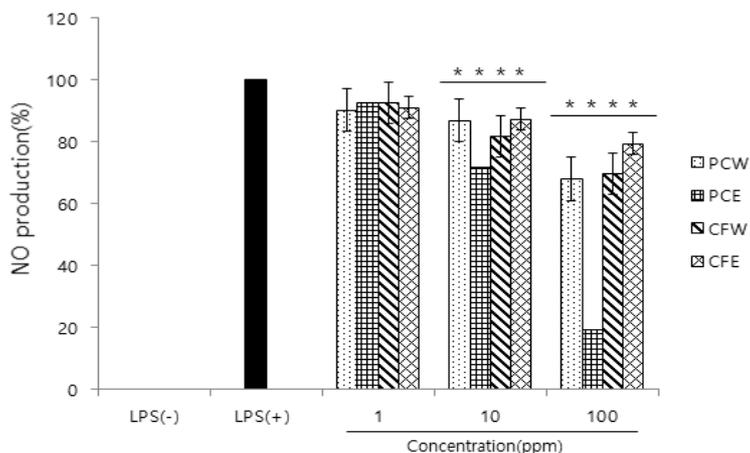


Fig. 2. Effects of different solvent extracts from *Poria cocos* Wolf and *Corni fructus* on the production of NO in RAW 264.7 cells stimulated with LPS.

\*)Values with different superscripts indicate significant differences by Duncan's multiple range tests.( $p < 0.05$ ).

PCW; water extract of *Poria cocos* Wolf, PCE; ethanol extract of *Poria cocos* Wolf  
CFW; water extract of *Corni fructus*, CFE; ethanol extract of *Corni fructus*

용하기 위해서는 복령 열수 추출방법이 산수유 열수추출법보다 더 효과적이라고 사료된다.

### 3.6. 신경세포 보호효과

복령 및 산수유 열수 추출물이 MPP<sup>+</sup>에 의해 유도된 SH-SY5Y 세포의 산화적 스트레스 생성 억제에 미치는 효과를 측정된 결과는 Fig. 3과 같다. 대조구(100%)에 비해 MPP<sup>+</sup> 처리구에서는 신경세포 생존율이 30.82%으로 확인되었다. 10  $\mu\text{g/mL}$ 와 100  $\mu\text{g/mL}$  농도에서 복령 열수 추출물의 신경세포 생존율은 산수유 열수 추출물과 MPP<sup>+</sup>에 비해 유의적으로 높게 나타났다 ( $p < 0.05$ ). 복령 열수 추출물의 신경세포 생존율은 농도 의존적으로 증가하게 나타났다. 독성평가 결과를 토대로, SH-SY5Y 세포에 대한 추출물의 실험농도는 100  $\mu\text{g/mL}$  농도 이하에서 실험하였으며 대식세포 생존을 실험에서 복령 에탄올 추출물에서 세포독성 효과가 관찰되어, 신경세포에서는 열수 추출물을 사용하여 비교하였다. Sohn과 Kim [18]의 연구에서 4주 동안 치매를 유도한 쥐에 산수유 열수 추출물을 투여한 결과 뇌 조직의 아세틸콜린 함량은 증가하고 아세틸콜린

에스테라제 활성은 억제하였으며 치매 예방에 도움이 되는 것으로 보고하였다. 본 실험결과에서 복령 열수 추출물은 산수유 열수 추출물에 비해 신경세포 보호효과가 더 우수한 것으로 나타났다. 이를 통해 복령 열수 추출물에 항산화 물질이 함유되어 있는 것을 확인하였고, 항치매 소재로서의 개발 가능성을 확인하였다.

## 4. 결론

본 연구는 열수와 에탄올 용매에 따른 복령 및 산수유 추출물의 농도별로 항산화 활성, 항염증 효과 및 신경세포 보호효과에 미치는 영향을 살펴보고자 진행하였다. 추출물들의 총 polyphenol 함량은 복령 열수 추출물에서 가장 높았고, 복령 에탄올 추출물, 산수유 열수 추출물, 산수유 에탄올 추출물 순으로 유의적으로 감소되는 경향을 나타냈다. 복령과 산수유에 포함된 총 polyphenol 함량을 효율적으로 추출하기 위해서는 에탄올 추출보다는 열수 추출법이 더 효율적 추출법이라고 사료된다. DPPHS 및 ABTS

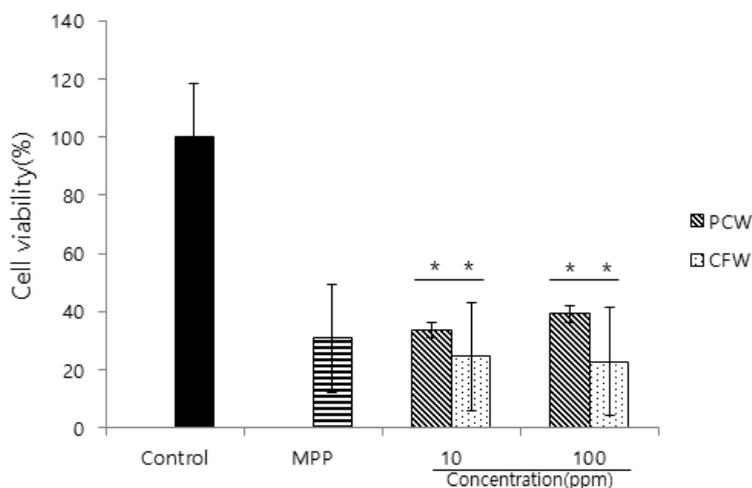


Fig. 3. Effects of water solvent extracts from *Poria cocos* Wolf and *Corni fructis* against MPP-induced cell death in SH-SY5Y cell system

<sup>1\*)</sup>Values with different superscripts indicate significant differences by Duncan's multiple range tests. ( $p < 0.05$ ).

PCW; water extract of *Poria cocos* Wolf, CFW; water extract of *Corni fructus*

radical 소거활성능은 추출물의 농도 의존적으로 증가하였고 산수유 열수 추출물은 모든 추출물에서 항산화 활성이 가장 높게 나타났으며, 복령 열수 추출물은 에탄올 추출물에 비해 높은 활성이 확인되어 복령과 산수유에 함유된 항산화 성분을 추출하기 위해서는 에탄올 추출방법 보다는 열수 추출방법이 효과적인 방법이라고 사료된다. LPS로 염증이 유도된 RAW 264.7 세포에서 복령 열수 및 에탄올 추출물은 산수유 열수 및 에탄올 추출물에 비해 NO 생성 억제 효과가 우수한 것으로 확인되었다. MPP<sup>+</sup>에 의해 유도된 SH-SY5Y 세포에 복령 열수 추출물은 산수유 열수 추출물에 비해 산화적 스트레스로부터 보호 효과가 우수하게 나타났으며, 산수유 열수 추출방법보다 복령 열수 추출방법이 항산화성을 기반으로 한 신경세포 보호효과를 나타내는 것으로 판단된다. 따라서 본 연구결과는 복령과 산수유 추출방법에 따른 항산화, 항염 및 산화적 스트레스로부터의 신경세포 보호효과에 미치는 효능을 비교하여 추출조건을 제시함으로써 퇴행성질환을 예방할 수 있는 기초자료로 제공 할 수 있을 것으로 사료된다.

## 감사의 글

본 연구는 2019년 장안대학교 연구비로 이루어진 연구로 이에 감사를 표합니다.

## References

1. J. P. Kehrer, L. O. Klotz, "Free radicals and related reactive species as mediators of tissue injury and disease: implications for health", *Crit. Rev. Toxicol.*, Vol.45, pp. 765-798, (2015).
2. W. J. Yoon, J. A. Lee, K. N. Kim, J. Y. Kim, S. Y. Park, "In vitro anti-inflammatory activity of the *Artemisia fukudo* extracts in murine macrophage RAW 264.7 cells", *Korean J. Food Sci. Technol.*, Vol. 39, pp. 464-469, (2007).
3. V. N. Talesa, "Acetylcholine esterase in Alzheimer's disease", *Mech Ageing Dev.*, Vol.122, pp. 1961-1969, (2001).
4. H. R. Jeong, J. H. Kwark, J. H. Kim, G.

- N. Choi, C. H. Jeong, H. J. Heo, "Antioxidant and neuronal cell protective effects of an extract of *Houttuynia cordata* Thumb(a culinary herb)", *Korean J. Food Preserv.*, Vol. 17, pp. 720-726, (2010).
5. M.S. Kwom, S. K. Chung, J. U. Choi, K. S. Song, W. W. Kang. "Quality and functional characteristics of cultivated Hoelen(*Poria cocos* Wolf) under the picking date. *J. Korean Soc Food Sci Nutr.*, Vol. 27, pp. 1034-1040, (1998).
  6. N. Takao, N. Takahashi, M. Kobayash, S. Shoji. "A polysaccharide by laboratory cultivation of *Poria cocos* Wolf", *Carbohydrate Research* Vol. 87, pp. 161-164, (1980).
  7. H. Kanayama, N. Adachi, M. Togami, "A new antitumor polysaccharide from the mycelia of *Poria cocos* Wolf", *Chem Pharm Bull* Vol. 31, pp. 1115-1119, (1993).
  8. H. Nukaya, H. Yamashiro, H. Fukazawa, H. Ishida, K. Tsuji, "Isolation of inhibitors of TPA-induced mouse ear edema from Hoelen, *Poria cocos*". *Chem Pharm Bull* Vol. 44, pp. 847-850, (1996).
  9. S. R. Chung, K.H. Jeune, S. Y. Park, S. J. Jang, "Toxicity and lectins Constituents from the seed of *Cornus officianalis*". *Korean J. Pharmacogn.*, Vol. 24, pp. 177-183, (1993).
  10. O. K. Kim, "Antidiabetic and actioxidative effects of *Corni fructus* in streptozotocin-induced diabetic rats". *J Korean Oil Chemists' Soc*, Vol. 22, pp. 157-167, (2005).
  11. H. K. Joo, D. J. Jang, "Effects of shanshuyu(*Cornus officinalis* Sieb) tea and market of rat". *Korean J Dietary Culture*, Vol. 4, pp. 257-264, (1989).
  12. K. I. Seo, S. W. Lee, K. H. Yang, "Antimicrobial and antioxidative activities of *Corni fructus* extracts". *Korean J Food Preserv*, Vol. 6, pp. 99-103. (1999).
  13. Y. B. Seo, G. J. Kil, Y. K. Lee, Y. C. Lee, "Study on the effects of *Corni fructus* about the anti-allergic action". *Korean J Herboogy* Vol. 1 pp. 1-17, (2002).
  14. Y. J. Kim, D. Y. Son, "Antioxidant activity and suppression of pro-inflammatory mediator of *Corni fructus* extracts in activated RAW 264.7 macrophage", *Korean J. Food preserv.*, Vol.26, pp. 876-882, (2016).
  15. O. Folin, W. Denis, "On phosphotungstic phosphomolybdc compounds as color regents", *J Biol Chem*, Vol.12, pp. 239-249 (1912).
  16. M. S. Blois, "Antioxidant determinations by the ese of a stable free radical", *Nature*, No. 181, pp. 1199-1200 (1958).
  17. R. Roberta, P. Nicoletta, P. Anna, Y. Min, R. E. Catherine, "Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay", *Free Radical Bio Med.*, No. 26, pp. 1231-1237 (1999).
  18. K. H. Sohn, J. S. Kim, "Anti-dementia effects of *Cornus officinalis* S. et Z. extract on the scopolamine Induced dementia in mouse", *Kor. J. Pharmacogn.* Vol.48, pp 304-313, (2017).