

## 약용식물 유래 정유성분 분석 및 산화 스트레스로부터 PC12 신경세포 보호 효과

이지연 · 박정용\* · 김동휘\*\* · 최수지\*\* · 장귀영\*\*\* · †서경혜\*\*\*

충북대학교 식품공학과 박사과정생, \*농촌진흥청 국립원예특작과학원 인삼특작부 연구원,  
\*\*농촌진흥청 국립원예특작과학원 인삼특작부 연구관, \*\*\*농촌진흥청 국립원예특작과학원 인삼특작부 연구사

### Chemical Composition and Protective Effect of Essential Oils Derived from Medicinal Plant on PC12 Neuro-cells Induced by Oxidative Stress

Ji Yeon Lee, Jeong-Yong Park\*, Dong Hwi Kim\*\*, Su Ji Choi\*\*, Gwi Young Jang\*\*\* and †Kyung Hye Seo\*\*\*

Doctor's Student, Department of Food Science and Biotechnology, Chungbuk National University, Chungbuk 28644, Korea.

\*Technician, Development of Herbal Crop Research, National Institute of Horticultural & Herbal Science, RDA, Eumseong 27709, Korea

\*\*Senior Researcher, Development of Herbal Crop Research, National Institute of Horticultural & Herbal Science, RDA, Eumseong 27709, Korea

\*\*\*Researcher, Development of Herbal Crop Research, National Institute of Horticultural & Herbal Science, RDA, Eumseong 27709, Korea

#### Abstract

The purpose of this study was to investigate the protective effect on oxidative stress induced PC12 cells, and volatile flavor composition of essential oils derived from medicinal plant seeds- *Gossypium hirsutum* L. (*G. hirsutum*), *Coix lachryma-jobi* (*C. lachryma-jobi*) and *Oenothera biennis* (*O. biennis*). The essential oils were obtained by the solvent (hexane) extraction method from the seeds. The essential oils of the seeds were analyzed by the solid-phase micro-extraction gas chromatography mass spectrometry (SPME-GC/MS). The major compounds of *G. hirsutum*, *C. lachryma-jobi* and *O. biennis* were cyclonexanol (16.65%),  $\beta$ -asarone (14.29%) and ylangene (50.01%). The DPPH radical scavenging activity ( $IC_{50}$ ) was the highest value of 8.52 mg/mL in the *O. biennis*. Additionally,  $IC_{50}$  values of *G. hirsutum* and *C. lachryma-jobi* were 26.76 mg/mL and 36.81 mg/mL. For the oxidative stress on PC12 cells, we treated with hydrogen peroxide ( $H_2O_2$ ). The pretreatment of oxidative stress induced PC12 cells with all the essential oils preserved or increased their cell viability and *G. hirsutum* and *O. biennis* attenuated the ROS generation (by 68.75% and 56.25% vs.  $H_2O_2$  control). The results of this study suggest that the essential oils derived from medicinal plant seeds could be used as valuable back data as a natural essential oil material to prevent neurodegenerative diseases by protecting neuro-cells.

Key words: essential oil, *Carthamus tinctorius*, *Gossypium hirsutum*, *Coix lachryma-jobi*, *Oenothera biennis*, PC12

#### 서 론

정유(essential oil)는 식물에서 채취한 방향족 알데히드, 테르펜, 각종 에스테르류 화합물 등의 휘발성 유지를 통틀어 일컫는 말이며, 식물의 내분비선에서 분비되는 2차 대사산물로 식물의 거의 모든 부위에 존재한다. 식물에 따라 독특한 향미를 나타내기 때문에 향료, 의약품 및 제식용으로

사용되어져 왔다(Lim 등 2008). 그 중에서도 약용식물(medicinal plant) 내에 존재하는 정유 또한 2차 대사에 의해 약 20~60가지의 정유 성분이 생성되며, 광범위한 항균효과가 있다고 알려져 있다(Akthar 등 2014). 또한, 대표적인 약용식물인 인삼 종자 정유 추출물은 HepG2 세포에서의 산화적 스트레스 억제 활성을 보이며(Song 등 2014), 산초 종자 정유 추출물은 항산화 효과와 대식세포에서의 염증 억제 효

† Corresponding author: Kyung Hye Seo, Researcher, Development of Herbal Crop Research, National Institute of Horticultural & Herbal Science, RDA, Eumseong 27709, Korea. Tel: +82-43-871-5785, Fax: +82-43-871-5759, E-mail: seokh@korea.kr

과가 나타났다고 보고하였다(Kim BA 2014). 오미자 정유 추출물은 U937 백혈병 세포에서 세포사멸을 유도함으로써 항암활성(Choi YH 2015)을 나타내는 등 약용식물 유래 종자들의 생리활성에 대한 연구들이 활발히 이루어지고 있다.

본 연구에서는 약용식물 종자인 면화자(*Gossypium hirsutum* L.; *G. hirsutum*), 의이인(*Coix lachryma-jobi*; *C. lachryma-jobi*) 및 월견자(*Oenothera biennis*; *O. biennis*)를 사용하였다. 면화자는 전 세계에서 가장 널리 재배되고 있는 육지면이라고 불리는 면의 종자이며, 오일을 추출하고 남은 찌꺼기에서 항산화 및 항종양 효과가 있다(Nagatsu 등 2000; Park 등 2007). 의이인은 울무의 종자의 종피를 제거한 것이며, 지질함량 및 지방산이 풍부하고, 항염증 및 항종양 등의 작용이 있다고 보고되었다(Lee 등 2019). 또, 달맞이꽃의 종자를 월견자라고 하며, 불포화 오메가 지방산, 포화 지방산과 같은 많은 성분들이 다량 포함되어 있어 피부노화, 항산화 및 항염 등의 다양한 활성을 나타낸다고 보고되었다(Kim 등 2015). 하지만, 아직까지 이들의 종자에서 추출한 정유성분에 대한 신경세포 보호활성은 미흡하며, 이에 대한 연구가 요구된다.

세포 내 ROS(reactive oxygen species)는 세포의 지질, 단백질 및 DNA에 손상을 일으켜 신경계 질환을 포함한 각종 질병을 유발하는 산화 스트레스로서 알려져 있으나, 항산화제로 인해 세포 내의 ROS 수준을 감소시킬 수 있다(Schieber & Chandel 2014). 특히, 신경세포는 산화적 스트레스에 취약한 구조 특성을 가지고 있으며, 세포 내 ROS의 증가는 퇴행성 뇌신경질환과 기억력 장애를 유발하는 것으로 알려져 있다(Heo 등 2004). 따라서, ROS의 생성을 조절하여 그 항상성을 유지하는 것이 매우 중요하다(Ozben T 2007).

따라서, 본 연구에서는 한국에 자생하는 약용식물 유래 정유성분에 대한 신경세포 보호효과 및 성분조성 등을 구명하였으며, 이를 통한 약용식물 유래 정유의 신경세포 손상 보호 효과를 통한 기능성 소재 개발 가능성을 제시하였다.

## 재료 및 방법

### 1. 추출물 준비

본 연구에서 사용된 종자는 2019년에 한국생약협회에서 구입하여 사용하였다. 정유 성분 추출을 위해 면화자(*G. hirsutum*), 의이인(*C. lachryma-jobi*) 및 월견자(*O. biennis*)의 종자는 각 시료 100 g을 hexane(시료/용매 비율, 1:10)을 이용하여 실온에서 1일 동안 3번 교반 추출하였다. 각 시료를 추출한 후에, 추출물을 여과한 후 농축기(BUCHI, Meierseggstrasse, Flawil, Switzerland)를 사용하여 용매를 모두 제

거하였다. 각 정유 추출물은  $-80^{\circ}\text{C}$ 에 보관하여 실험에 사용하였다.

### 2. 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl(DPPH) 라디칼 소거능 측정

DPPH(Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA) 라디칼 소거능은 이전 논문의 방법을 참고하여 수행하였다(Lee 등 2018). 간략하게 정유 추출물(0.625~10 mg/mL in DMSO) 25  $\mu\text{L}$ 를 DPPH 용액 225  $\mu\text{L}$ 와 혼합하여 어두운 곳에서 30분 동안 실온에서 반응하였다. DMSO 25  $\mu\text{L}$ 와 DPPH 용액 225  $\mu\text{L}$  혼합액을 대조군으로 사용하였으며, 흡광도는 multi plate reader(Biotek, Winooski, VT, USA)를 사용하여 517 nm에서 측정하였다. 모든 실험은 3회 수행되었고, 소거능은 다음 식( $[\% \text{소거능} = (A_{\text{대조군}} - A_{\text{추출물}}) / A_{\text{대조군}}$ ])에 따라 계산한 후, 50% 저해하는 농도 값인  $\text{IC}_{50}$ 을 사용하여 각 값을 작성하였다.

### 3. 세포 배양

Pheochromocytoma(PC) 12 신경세포는 American type culture collection(ATCC, Manassas, VA, USA)에서 구입하였다. PC12 세포의 생육배지로 1% penicilin/streptomycin(Gibco, Waltham, MA, USA)과 10% fetal bovine serum(FBS; Gibco, Waltham, MA, USA)이 포함된 Dulbecco's modified Eagles medium(DMEM; Gibco, Waltham, MA, USA)을 사용하였고,  $37^{\circ}\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$  조건하에서 배양하였다.

### 4. 세포 생존율 측정

세포 생존율을 평가하기 위한 편리한 방법으로 알려져 있는 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)5-(3-carboxymethoxyphenyl)-2-(4-sulfophenyl)-2H tetrazolium(MTS; Promega, Madison, WI, USA)을 이용하여 측정하였다(Malich 등 1997). PC12 세포를 96 well plate에  $1 \times 10^5$  cell/mL로 분주하여 배양한 후 정유 추출물을 12.5~200  $\mu\text{g}/\text{mL}$  농도로 처리하고, 1일 후 과산화수소( $\text{H}_2\text{O}_2$ ; Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA)를 100  $\mu\text{M}$  농도로 처리하였다. 30분 후 MTS를 5:1(배지 : MTS)의 비율로 처리하고, 1~2시간 이내에 490 nm에서 multi plate reader(Biotek, Winooski, VT, USA)로 흡광도 측정을 하였다.

### 5. 세포 내 ROS 측정

세포 내 ROS 생성량은 2',7'-dichlorofluorescein diacetate(Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA; DCF-DA) 방법을 이용하여 측정하였다(Lee 등 2020). PC12 세포를 96 well black plate에  $1 \times 10^5$  cell/mL로 분주하고, 1일 후 정유 추출

물을 농도별(12.5~200  $\mu\text{g/mL}$ )로 1일 간 전처리하였다. 100  $\mu\text{M}$   $\text{H}_2\text{O}_2$ 를 처리하고, 30분 후 최종농도가 20  $\mu\text{M}$ 이 되도록 DCF-DA를 첨가하여 37°C에서 30분간 염색하고, PBS로 2회 세척하였다. 이후 PBS를 첨가하여 fluorescence spectrometer를 이용해 excitation 485 nm, emission 530 nm에서 측정하였다.

## 6. GC/MS 분석 조건

종자의 정유 성분 분석은 solid-phase micro-extraction gas chromatography mass spectrometry(SPME-GC-MS, GC-MS; GCMS-QP2020, SPME; AOC-6000, Shimadzu Co., Japan)를 이용하였으며, SPME 조건은 65  $\mu\text{m}$ -PDMS/DVB(polydimethylsiloxane/divinylbenzene) fiber를 이용하여 65°C에서 10분 동안 흡착하였다. GC-MS 분석은 HP5MS 컬럼(30 m $\times$ 0.25 mm, 0.25  $\mu\text{m}$ , Agilent Technologies, Santa Clara, CA, USA)을 사용하여 80°C에서 5분간 유지하고, 240°C까지 분당 10°C로 승온 후 240°C에서 34분간 유지하였다. 종자의 정유 성분은 NIST 14 mass spectral library를 이용하여 추정하였다.

## 7. 통계 처리

모든 실험은 평균(mean) $\pm$ 표준편차(standard deviation, SD)로 표기하였고, 3회 반복 실시하였다. 통계 처리는 One-way analysis of variance(ANOVA)를 실시하였고, Tukey's Multiple Comparison test(Prism 5.02 GraphPad Software, San Diego, CA, USA)와 Duncan's test(Statistical Package for the Social Sciences, ver. 21.0 for Window ver. 10; IBM, Armonk, NY, USA)로  $p < 0.05$  수준에서 사후검증을 실시하였다.

## 결과 및 고찰

### 1. 약용식물 유래 정유 추출물의 수율 및 항산화 활성 평가

정유를 추출하기 위한 추출 방법으로는 증기 증류, 용매

추출 및 초임계 유체 추출방법 등이 보고되었다(Nakatsu 등 2000). 그 중 용매 추출의 용매는 hexan, pentan 및 oil류 등을 이용하며, 정유를 추출하기 위한 가장 간단한 방법이고 분석을 위한 가장 이상적인 추출 방법으로 알려져 있다(Nakatsu 등 2000). 따라서, 약용식물을 용매 추출법을 이용하여 추출한 결과, 면화자는 12.6%, 의이인은 5.8%, 월견자는 10.9%의 정유를 획득하였다.

항산화 활성을 평가하는 방법은 다양하게 알려져 있지만, 그 중에서도 DPPH 라디칼 소거 활성은 간단하고 매우 짧은 시간 내에 항산화 활성을 확인할 수 있는 방법으로 사용되고 있다(Park SJ 2014). DPPH 라디칼 소거 활성은 정유 추출물의 성분이 DPPH의 라디칼을 뺏거나 제공 또는 공여함으로써 안정하게 만들어 항산화 작용을 하기 때문에(Brand-Williams 등 1995), 약용식물 유래 정유 추출물이 항산화 소재로 이용이 가능한 지를 알아보았다. 항산화 활성 평가를 위한 비교구로 사용한 ascorbic acid는 매우 강한 항산화 특성을 가지고 있다고 잘 알려져 있다(Meister A 1992). 정유 소재의 항산화 활성을 확인하기 위해 DPPH 라디칼 소거 활성을 측정된 결과, ascorbic acid는 20  $\mu\text{g/mL}$ 에서 90.97%로 매우 강한 활성을 가진 반면, 면화자는 7.65~23.21%, 의이인은 5.61~14.90%, 월견자는 16.03~54.82%로 나타났고, 각 정유 추출물의  $\text{IC}_{50}$ 값은 26.76 mg/mL, 36.81 mg/mL 및 8.52 mg/mL로 확인되었다(Fig. 1).

### 2. 약용식물 유래 정유 추출물의 신경세포 보호 효과

과산화수소(hydroperoxide;  $\text{H}_2\text{O}_2$ )는 세포 내에서 높은 독성을 가진 하이드록실 라디칼로 쉽게 전환되는데, 이는 신경세포에 산화적 손상을 일으켜 정상적인 뇌의 노화 및 알츠하이머병과 같은 각종 신경퇴행성 질환을 일으키게 된다(Hwang & Yen 2008). 또한 PC12 신경세포는 신경세포 보호 연구에 유용한 모델을 제공한다고 알려져 있으며, 많은

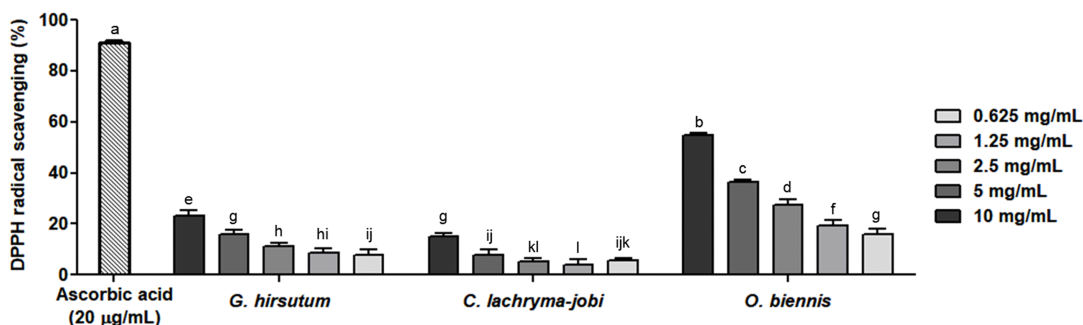


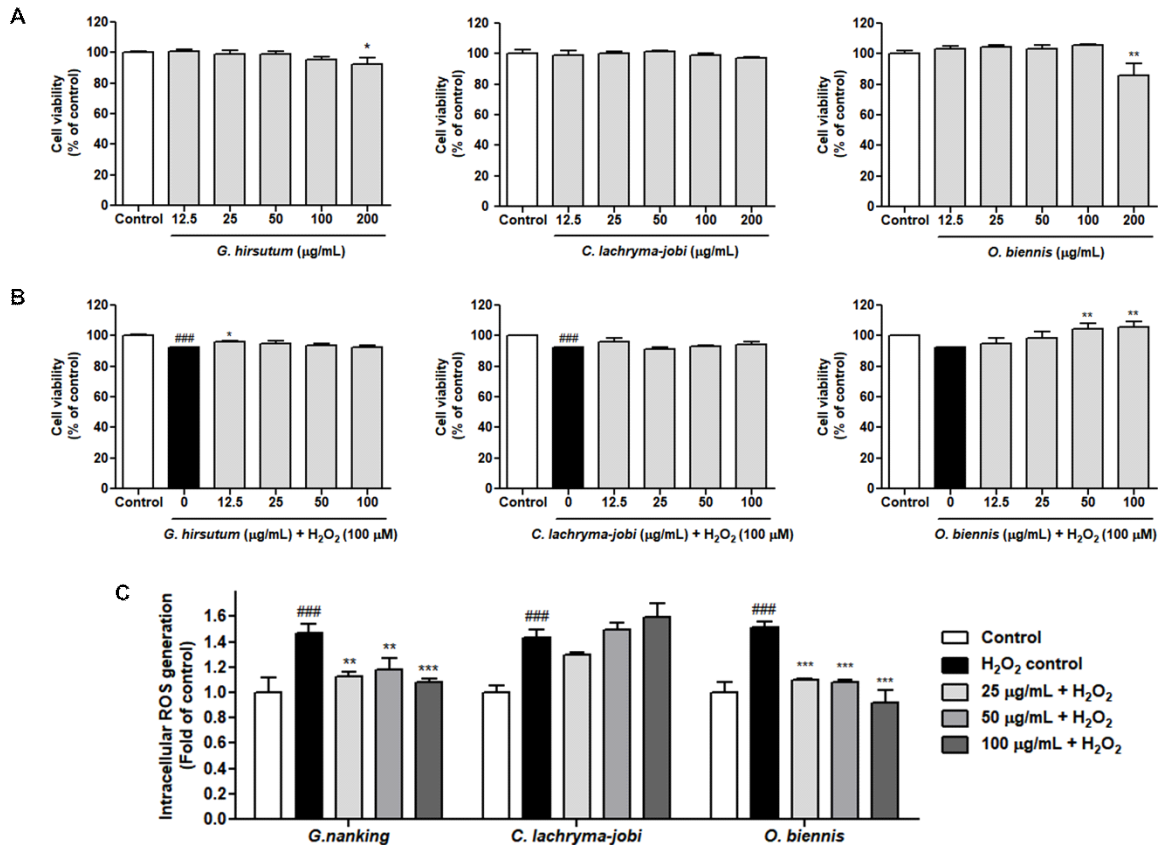
Fig. 1. Antioxidant activity of essential oils of medicinal plants. All values are means $\pm$ standard deviation (S.D.), n=3. Means with different letters are significantly different at  $p < 0.05$  by Duncan's test.

신경보호 연구가 이뤄지고 있다(Greene & Tischler 1976). 본 연구에서는 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>로 산화스트레스를 유도한 PC12 세포에서 정유 추출물의 세포 보호 활성을 측정하기 위해, 살아있는 세포의 미토콘드리아 탈 수소 효소의 활성을 측정하는 MTS 분석법을 실시하여 확인하였다(Malich 등 1997).

모든 정유 추출물을 12.5~200 µg/mL 농도로 처리한 결과는 Fig. 2A에 나타내었으며, 면화자와 월견자의 정유 추출물 200 µg/mL 농도에서 생존율이 유의적으로 감소(92.7% 및 85.6%)하여, 이후 실험에서는 100 µg/mL 농도까지 사용하였다. H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>로 산화 스트레스를 유도한 PC12 세포에서 보호효과를 측정한 결과, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 처리군이 대조군에 비해 유의적으로 생존율이 95.3%로 감소하였다. 반면, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>와 정유 추출물(12.5~100 µg/mL)을 함께 처리하였을 때 생존율은 감소하지 않았으며, 특히 월견자 정유 추출물의 경우 105.9%까지 생존율이 농도의존적으로 증가하는 경향을 나

타내었다(Fig. 2B).

세포의 산화 스트레스의 정도는 세포 내 ROS 생성량과 관련이 있다(Bak 등 2012; Lee 등 2020). 따라서 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>로 산화 스트레스를 유도한 PC12 세포의 세포 내 ROS 생성량을 측정한 결과, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 처리군이 대조군에 비해 1.6배 유의적으로 증가하였다(Fig. 2C). 그러나, 면화자 및 월견자 정유 추출물의 세포 내 ROS 생성량의 경우 1.1 및 0.9배까지 유의적으로 감소하였다. Bak 등(2012)의 연구에서는 인삼 종자에서 추출한 정유를 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>로 산화적 스트레스를 유도한 HepG2 세포주에 처리하였을 때, 1배 이하의 수준으로 감소되었다고 보고하였다(Bak 등 2012). 이러한 결과로 보아, 본 실험에 사용한 약용식물 유래 정유 추출물이 항산화 효과를 가지고 있다고 판단된다. 하지만 의미인 정유 추출물의 경우, 농도 의존적으로 1.6배까지 증가하는 경향을 나타내었다. 이는 세포 내 ROS를 감소시키는 경로가 아닌 다른 경로



**Fig. 2. Protect effect by essential oils of medicinal plants on H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-induced PC12 cells.** (A) Cytotoxicity of essential oils of medicinal plants on PC12 cells. (B) Cell viability of essential oils of medicinal plants on H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-induced PC12 cells. (C) Intracellular ROS generations of essential oils of medicinal plants on H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-induced PC12 cells. All values are means ± standard deviation (S.D.), n=3. Significance was determined using analysis of variance (ANOVA); ###*p*<0.001 and ###*p*<0.01 comparing H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> non-treated control, \**p*<0.05, \*\**p*<0.01 and \*\*\**p*<0.001, comparing H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> treated control.

와 관련이 있는 것으로 사료된다.

### 3. 약용식물 유래 정유 추출물의 성분 분석

종자의 정유 성분을 GC/MS로 유용한 성분을 분석한 결과, 면화자는 5종, 의이인은 10종 및 월견자는 4종으로 확인되었다(Table 1). 면화자 종자의 주요 성분은  $\gamma$ -terpinene (2.57%), cyclohexanone(9.95%), ylangene(14.31%), caryophyllene(2.99%) 및 cyclohexanol(16.65%)이었으며, 의이인 종자의 정유성분은 camphene(2.67%),  $\beta$ -myrcene(1.64%), D-limonene(1.74%),  $\gamma$ -terpinene(7.79%), o-cymene(2.22%), cyclohexanone(2.26%), ylangene(2.97%), caryophyllene(2.23%), cyclohexanol(3.55) 및  $\beta$ -asarone(14.29%)이었다. 월견자 종자의 정유성분은  $\gamma$ -terpinene(12.35%), o-cymene(8.85%), ylangene(50.01%) 및 caryophyllene oxide(5.33%)로 확인되었다.

약용식물의 종자에서도 다른 식물들과 마찬가지로 terpenoid 류의 성분이 가장 높은 함량을 가진 것으로 나타났다(Lim 등 2008). Terpenoid류는  $C_5H_8$ 인 isoprene 탄화수소 단위와 이로부터 만들어진 alcohol, ketone 및 aldehyde 등의 화합물을 말하며, monoterpene 및 sesquiterpene류가 특히 식물의

향기에 중요하게 작용한다고 알려져 있다(Choi HS 2019). 공통적으로 나타나고 월견자 종자의 정유성분에 가장 많이 함유된 향기성분인  $\gamma$ -terpinene은 monoterpene으로 방향성이 매우 높은 것으로 알려져 있으며, 다른 지방산의 과산화를 지연시키는 항산화 작용을 한다고 알려져 있으며(Foti & Ingold 2003), Ylangene은 sesquiterpene으로 다양한 식물의 정유에 함유되어 있으며, LPS로 유도한 대식세포에서 항염증 효과가 있는 것으로 알려져 있다(Hunter & Brogden Jr 1964; Cheng 등 2010). Caryophyllene 및 caryophyllene oxide 또한 sesquiterpene으로 암세포의 성장과 증식에 영향을 미치는 항암활성 및 진통 억제 효과가 있는 것으로 알려져 있다(Fidyt 등 2016). 이러한 다양한 생리활성은 본 논문에서 제시한 약용식물 유래 종자의 정유 추출물의 신경세포 보호 활성뿐만 아니라, 다른 활성도 나타낼 수 있음을 시사한다.

## 요약 및 결론

본 연구에서는 약용식물 유래 종자의 정유를 용매추출법으로 추출하여 이들 추출물의 항산화 활성, 신경세포 보호

**Table 1. Composition of essential oils from the medicinal plants of constituents and its bio-activity**

Medicinal plants	Number	Rt <sup>a</sup> (min)	Area (%)	Composition
<i>G. nanking</i>	1	9.727	2.57	$\gamma$ -Terpinene
	2	18.449	9.95	Cyclohexanone
	3	18.735	14.31	Ylangene
	4	23.626	2.99	Caryophyllene
	5	25.430	16.65	Cyclohexanol
<i>C. lachryma-jobi</i>	1	5.351	2.67	Camphene
	2	7.134	1.64	$\beta$ -Myrcene
	3	8.3	1.74	D-Limonene
	4	9.726	7.79	$\gamma$ -Terpinene
	5	10.673	2.22	o-Cymene
	6	18.441	2.26	Cyclohexanone
	7	18.731	2.97	Ylangene
	8	23.620	2.23	Caryophyllene
	9	25.423	3.55	Cyclohexanol
	10	50.722	14.29	$\beta$ -Asarone
<i>O. biennis</i>	1	9.484	12.35	$\gamma$ -Terpinene
	2	10.417	8.85	o-Cymene
	3	18.407	50.01	Ylangene
	4	23.301	5.33	Caryophyllene oxide

<sup>a</sup> The retention time.

효과 및 정유 성분 분석을 실시하였다. DPPH 라디칼 소거능에 의한 항산화 활성은 월견자의 종자 정유추출물의 IC<sub>50</sub> 값이 8.52 mg/mL로 가장 높은 항산화 활성을 보였고, 면화자와 의이인의 종자 정유 추출물의 IC<sub>50</sub> 값은 월견자보다 약 3~5배 높았다. 또한, 월견자의 종자 정유 추출물은 PC12 세포에서 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>로 유도한 산화적 스트레스로부터 세포 생존율을 증가시켰고, 면화자와 월견자의 종자 정유 추출물은 세포 내 ROS의 생성 또한 유의적으로 감소시켰다. 따라서, 항산화 활성을 가진 월견자 정유 추출물은 신경세포 내 ROS의 생성을 억제함으로써 산화적 스트레스로부터 신경세포를 보호하는 것으로 나타났다. 약용식물 유래 종자에서 추출한 주요 정유성분으로 면화자에서는 cyclohexanol(16.65%), 의이인에서는 β-asarone(14.29%) 및 월견자에서는 ylangene(50.01%) 등의 함량이 특히 높음을 알 수 있었다. 본 연구를 통해 국내산 약용식물의 종자 정유 추출물은 신경세포를 보호함으로써 신경 퇴행성 질환을 예방하기 위한 천연 정유소재로서의 기초 자료로 활용될 수 있을 것으로 기대된다.

## 감사의 글

본 연구는 원예특작시험연구사업(사업번호: PJ 01389503)의 지원에 의해 이루어진 결과로 이에 감사 드립니다.

## References

- Akthar MS, Degaga B, Azam T. 2014. Antimicrobial activity of essential oils extracted from medicinal plants against the pathogenic microorganisms: A review. *Issues Biol Sci Pharm Res* 2:1-7
- Bak MJ, Jun M, Jeong WS. 2012. Antioxidant and hepatoprotective effects of the red ginseng essential oil in H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-treated HepG2 cells and CCl<sub>4</sub>-treated mice. *Int J Mol Sci* 13:2314-2330
- Brand-Williams W, Cuvelier M-E, Berset C. 1995. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT-Food Sci Technol* 28:25-30
- Cheng SY, Lin EH, Huang JS, Wen ZH, Duh CY. 2010. Ylangene-type and nardosinane-type sesquiterpenoids from the soft corals *Lemnalia flava* and *Paralemnalia thyrsoidea*. *Chem Pharm Bull* 58:381-385
- Choi HS. 2019. Chemical composition of the essential oils from *Ligularia fischeri* and *Ligularia fischeri* var. *spiciformis*. *Korean J Food Nutr* 32:284-293
- Choi YH. 2015. Apoptotic cell death of human leukemia U937 cells by essential oil purified from *Schisandrae semen*. *J Life Sci* 25:249-255
- Fidy K, Fiedorowicz A, Strzdała L, Szumny A. 2016. β-caryophyllene and β-caryophyllene oxide-natural compounds of anticancer and analgesic properties. *Cancer Med* 5:3007-3017
- Foti MC, Ingold KU. 2003. Mechanism of inhibition of lipid peroxidation by γ-terpinene, an unusual and potentially useful hydrocarbon antioxidant. *J Agric Food Chem* 51:2758-2765
- Greene LA, Tischler AS. 1976. Establishment of a noradrenergic clonal line of rat adrenal pheochromocytoma cells which respond to nerve growth factor. *Proc Natl Acad Sci USA* 73:2424-2428
- Heo HJ, Kim DO, Choi SJ, Shin DH, Lee CY. 2004. Potent inhibitory effect of flavonoids in *Scutellaria baicalensis* on amyloid beta protein-induced neurotoxicity. *J Agric Food Chem* 52:4128-4132
- Hunter GLK, Brogden Jr WB. 1964. Structure of ylangene. *J Org Chem* 29:982-983
- Hwang SL, Yen GC. 2008. Neuroprotective effects of the citrus flavanones against H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-induced cytotoxicity in PC12 cells. *J Agric Food Chem* 56:859-864
- Kim BA. 2014. Anti-oxidant and anti-inflammatory activities of *Zanthoxylum schinifolium* essential oil. *J Korean Appl Sci Technol* 31:440-445
- Kim HY, Lee YJ, Yoon JJ, Kho MC, Han BH, Choi ES, Park JH, Kang DG, Lee HS. 2015. Vascular relaxation induced by the water soluble fraction of the seeds from *Oenothera odorata*. *J Physiol Pathol Korean Med* 29:492-497
- Lee JY, Park JY, Kim DH, Kim HD, Ji YJ, Seo KH. 2020. *Erigeron annuus* protects PC12 neuronal cells from oxidative stress induced by ROS-mediated apoptosis. *Evidence-Based Complementary Altern Med* 2020:3945194
- Lee JY, Park JY, Lee DY, Kim HD, Kim GS, Lee SE, Seo KH. 2018. Anti-inflammatory effects of streamed *Platycodon grandiflorum* against UVB radiation-induced oxidative stress in human primary dermal fibroblast. *Korean J Food Nutr* 31:495-501
- Lee JY, Park JY, Park CG, Kim DH, Ji YJ, Choi SJ, Oh MW, Hwang H, Lee Y, Jeong J, Lee JH, Seo KH. 2019. Validation of a method and evaluation of antioxidant activity for the simultaneous determination of

- riboflavin and coixol in *Coix lacryma-jobi* var. *ma-yuen* stapf sprouts. *Korean J Crop Sci* 64:452-458
- Lim SS, Lee YS, Kim HM, Ahn YH, Shin KH, Lee S. 2008. GC/MS analysis of volatile constituents from broad-leaved deciduous trees. *Korean J Plant Res* 21:237-248
- Malich G, Markovic B, Winder C. 1997. The sensitivity and specificity of the MTS tetrazolium assay for detecting the *in vitro* cytotoxicity of 20 chemicals using human cell lines. *Toxicology* 124:179-192
- Meister A. 1992. On the antioxidant effects of ascorbic acid and glutathione. *Biochem Pharmacol* 44:1905-1915
- Nagatsu A, Zhang H, Mizukami H, Okuyama H, Sakakibara J, Tokuda H, Nishino H. 2000. Tyrosinase inhibitory and anti-tumor promoting activities of compounds isolated from safflower (*Carthamus tinctorius* L.) and cotton (*Gossypium hirsutum* L.) oil cakes. *Nat Prod Lett* 14:153-158
- Nakatsu T, Lupo Jr AT, Chinn JW, Kang RKL. 2000. Biological activity of essential oils and their constituents. In Atta-ur-Rahman (Ed.), *Studies in Natural Products Chemistry*. vol.21, pp. 571-631. Elsevier
- Ozben T. 2007. Oxidative stress and apoptosis: impact on cancer therapy. *J Pharm Sci* 96:2181-2196
- Park GH, Kim KM, Kwak TS, Lee WK. 2007. Heterosis, combining ability analysis, and components of genetic variation for the yield related character in cotton (*Gossypium hirsutum* L.). *Korean J Plant Res* 20:168-176
- Park SJ. 2014. Antioxidant and anti-adipogenic effects of ethanolic extracts from *Ixeris dentata* Nakai. *Korean J Culin Res* 20:133-142
- Schieber M, Chandel NS. 2014. ROS function in redox signaling and oxidative stress. *Curr Biol* 24:R453-R462
- Song JH, Shon MS, Kim HO, Kim JS, Kim ES, Kim GN. 2014. Anti-oxidant activity of oil extracted from ginseng seed. *Korean J Aesthet Cosmetol* 12:235-240
- 
- Received 30 March, 2020  
Revised 02 April, 2020  
Accepted 10 April, 2020