P-129

홍화자 분획물의 항산화 및 항염증 효과

대구경북한방산업진흥원 : 황은영, 김동희, 박태순, 황주영, 김희정, 심보람, 전동하, 손준호*

Antioxidative and Anti-inflammatory Effects of Fractions from *Carthamus tinctorius* seed on LPS-Stimulated RAW 264.7 Cells.

Daegu gyeongbuk institute for oriental medicine industry
Eun-Young Hwang, Dong-Hee Kim, Tae-Soon Park, Ju-Young Hwang, Hui-Jeong Kim, Bo-Ram Sim, Dong-Ha Jun, Jun-Ho Son*

실험목적

본 연구에서는 홍화자 분획물에 대한 항산화제나 기능성 소재로 이용하기 위하여 분획물에 함유된 플라보노이드와 폴리페놀 화합물의 함량을 측정, 각 분획물의 DPPH ·소거능을 통한 항산화 활성효과를 측정하였다. 또한 더 나아가 항염증 효과의 가능성을 지닌 소재를 발굴 하고자 Nitric oxide radical 저해활성 측정을 하였다.

재료 및 방법

○실험재료

1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH), potassium persulfate, Folin-ciocalteu phenol reagent, Ammonium trichloride 등

○실험방법

1) 총 폴리페놀 함량

총 폴리페놀 함량은 Folin-Denis법을 응용하여 측정

2) 총 플라보노이드 함량

총 플라보노이드 함량은 Nieva Moreno 등의 방법에 의해 측정

3) α-α-Diphenyl-β-picrylhydrazyl (DPPH) radical 소거활성

Blois 방법을 이용하여 측정

4) 세포 생존율 측정

시료에 대한 세포 생존율은 MTT {3-(4,5-methylthiazol-2-yl)-2,5-diphenylte trazolium bromide} colorimetric assay 방법으로 실험

5) Nitric oxide radical 저해활성 측정

세포의 상층액에서 Nitrite에 대한 nitrate로 환원된 후의 안전한 형태인 griess reagent(Sigma, USA)를 사용하여 측정

주저자 연락처 : 손준호 E-mail : bio115@hanmail.net Tel : 053-810-0320

실험결과

70% 에탄올 홍화자 추출물의 분획층(Hexane, EtOAc, BuOH, Water) 중 EtOAc 층에서 폴리페놀 및 플라보노이드 함량은 142.67 ± 3.55 μg/mg, 12.06 ± 0.13 μg/mg로 가장 높았으며, 이는 DPPH · 소거능 RC_{50}값 22.66 ± 3.87 μg/ml로 높은 항산화력을 나타냈다. 또한 Raw 264.7 세포 생존율은 분획층 모두 5 μg/ml, 50 μg/ml에서 100%이상은 생존율을 나타나 독성이 없음을 확인하였다. 이를 바탕으로 nitric oxide 생성 측정한 결과 EtOAc 층에서 가장 낮게 생성되었다. 따라서 70% 에탄올 홍화자 추출물의 분획층 중 EtOAc 층이 가장 높은 항산화효과를 확인하였고, 항염증 효과 가능성을 지닌 소재임을 확인하였다.

Table 1. Total polyphenol and flavonoid contents activity of fractions from *Carthamus tinctorius* seed.

Fraction	Total polyphenols (μg/mg)[1)]	Total flavonoids (μg/mg)[2)]
Hexane	54.27 ± 5.48[3)]	0.29 ± 0.05[3)]
EtOAc	142.67 ± 3.55	12.06 ± 0.13
BuOH	99.22 ± 1.11	9.60 ± 0.76
Water	94.29 ± 1.81	2.22 ± 0.35

1) Milligrams of total polyphenol content/ug of plants based on tannic acid as standard.
2) Milligrams of total flavonoid content/ug of plants based on quercetin as standard.
3) Each value is mean ± S.D. (n±3).

Table 2. Scavenging effects of butylated hydroxyanisole (BHA), ascorbic acid and fractions from *Carthamus tinctorius* seed on α, α-diphenly-β-picrylhydrazyl radicals (DPPH)

Fraction	RC 50 (ug/ml)[1)]
Hexane	3419 ± 3.30[2)]
EtOAc	22.66 ± 3.87
BuOH	147.93 ± 1.01
Water	219.50± 1.52
BHA	1.67 ± 0.86
Ascorbic acid	3.52 ± 0.97

1) Concentration required for 50% reduction of DPPH · at 30 min agter starting the reaction.
2) Each value is mean ± S.D. (n±3).

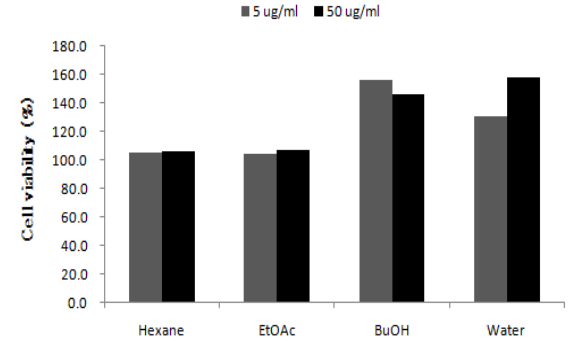

Fig. 1. Cell viability of fractions from *Carthamus tinctorius* seed on Raw 264.7 cell.

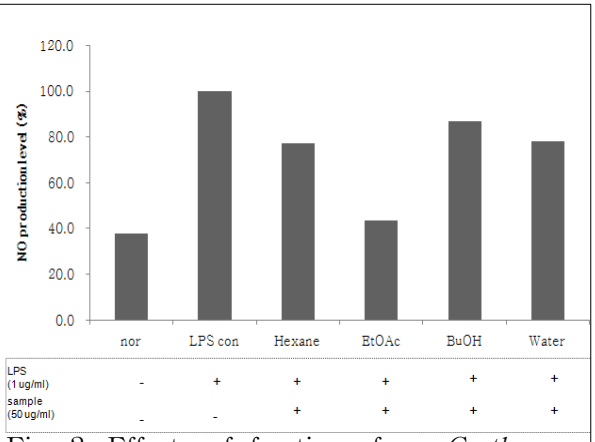

Fig. 2. Effects of fractions from *Carthamus tinctorius* seed on the production of nitric oxide in Raw 264.7 cell.