

## 국내 자생 콩과 5종 염료 추출물의 항산화 효과 비교

김혜란<sup>1,\*</sup> · 장경수<sup>2</sup> · 장정현<sup>1,†</sup>

<sup>1</sup>대구한의대학교 의과대학 임상병리학과, 교수

<sup>2</sup>부산가톨릭대학교 보건과학대학 임상병리학과, 교수

<sup>1</sup>대구한의대학교 의과대학 임상병리학과, 교수

(2020년 2월 11일 접수; 2019년 2월 24일 수정; 2020년 2월 25일 채택)

### Comparison on Anti-oxidant Effects of Pigment Extracts from Fabaceae 5 species

Hye-Ran Kim<sup>1,\*</sup> · Kyung-Soo Chang<sup>2</sup> · Jeong Hyun Chang<sup>1,†</sup>

<sup>1</sup>Department of Clinical Laboratory Science, College of Medical Sciences, Daegu Haany University,

<sup>2</sup>Department of Clinical Laboratory Science, College of Health Sciences,

Catholic University of Pusan

(Received February 11, 2020; Revised February 24, 2020; Accepted February 25, 2020)

**요 약** : 콩과는 전 세계적으로 약용식물로 흔히 사용된다. 본 연구에서는 약용식물이자 다양한 용도로 사용되는 염료식물인 콩과에 속하는 황기(*Astragalus membranaceus*), 소목(*Caesalpinia sappan L.*), 감초(*Glycyrrhiza uralensis F.*), 갈근 및 갈화(*Pueraria lobate O.*), 자단향(*Pterocarpus santalinus L.*) 추출물을 이용하여 항산화능 및 세포 보호능을 비교하고자 한다. 염료 추출물은 라디칼 소거능, 총 페놀 함량 및 MTT assay를 활용한 간세포 보호능이 확인되었다. 소목(5 mg/mL) 추출물에서 93.49%의 가장 높은 라디칼 소거능을 확인하였으며, 황기(5 mg/mL) 추출물에서 7.83%의 가장 낮은 라디칼 소거능을 확인하였다. 또한 소목 추출물의 총 페놀 함량은 310.93 mg GAE/g extract로 확인되며, 가장 높은 총 페놀함량을 확인하였고, 황기 추출물의 총 페놀 함량은 15.33 mg GAE/g extract로 확인되며 가장 낮은 총 페놀 함량을 확인하였다. 게다가, 가장 높은 항산화능을 나타낸 소목(100 µg/mL) 및 자단향(100 µg/mL) 추출물에서 산화적 스트레스에 대한 세포 보호능을 확인하였다. 이러한 결과 콩과 5종 물질 중 적색 천연색소를 가지는 소목 및 자단향에서 높은 항산화능이 있는 것으로 확인되었다.

**주제어** : 항산화, 라디칼 소거능, 총 페놀 함량, 세포보호능, 콩과

**Abstract** : The Fabaceae family are being used as traditional medicine. The aim of this study was to compare the antioxidant effects as well as the cell protecting effects of extracts of 5 species (*Astragalus membranaceus*, *Caesalpinia sappan L.*, *Glycyrrhiza uralensis F.*, *Pueraria lobate O.*,

<sup>†</sup>Corresponding author

(E-mail: jhchang@dhu.ac.kr)

*Pterocarpus santalinus* L.) in Fabaceae family. The extracts from 5 species were tested by radical scavenging activity test, total phenolic contents and the 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide (MTT) assay on human liver carcinoma (HepG2) cell line. Anti-oxidant effects of the extracts (5 mg/mL) from *C. sappan* was 93.49% by radical scavenging activity test. In addition, *A. membranaceus* extracts showed a weak radical scavenging activity. Anti-oxidant effects of the extracts (5 mg/mL) from *A. membranaceus* was 7.83% by radical scavenging activity test. Total phenolic contents of the extracts from *C. sappan* and *A. membranaceus* were 310.93 mg GAE/g extract, 15.33 mg GAE/g extract, respectively. Cell protecting effects against H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> treatment were observed at 100 µg/mL concentration of *C. sappan* and *P. santalinus* extracts. These results suggest that *C. sappan* and *P. santalinus* might be best anti-oxidant in Fabaceae family.

**Keywords :** Anti-oxidants, radical scavenging activity, Total phenolic contents, Cell protecting effects, Fabaceae Family

## 1. 서론

현대사회에서 질병을 유발하는 원인은 매우 다양하지만, 광범위하게 적용되는 원인은 활성산소종(reactive oxygen species, ROS)의 축적으로 인한 세포손상에서 시작된다[1]. 활성산소종과 같은 자유라디칼은 인접 분자들과 빠르게 반응하는 불안정성 분자로 DNA 및 단백질 산화, 지질 과산화 및 유전자 발현 조절 등에 관여한다[2]. 최근 오염 물질 및 유기용매 등과 같은 외부요인과 인체 내부요인으로 인해 활성산소종이 과잉 생산되며, 활성 산소종 축적에 따른 질병이 증가되고 있다[3-5]. 체내에서는 활성산소종의 유해한 작용으로부터 보호하기 위한 항산화 효소 방어시스템이 있지만, 지속적인 보호를 위해 외인성 항산화제의 필요성은 높아지고 있다[6].

식품 첨가제로 사용되는 butylated hydroxyanisole (BHA) 및 butylated hydroxytoluene (BHT) 등의 합성 물질 항산화제는 지속적인 사용으로 인해 부작용이 보고되고 있으며, 간 손상 및 암 발생 등의 문제를 유발하는 것으로 밝혀졌다[7,8]. 따라서, 이러한 안전성의 문제로 천연 항산화제 개발의 연구의 필요성이 높아지고 있다.

콩과(Fabaceae)는 난초과(Orchidaceae)와 국화과(Asteraceae) 다음으로 세 번째로 큰 과(Family)이며, 전 세계적으로 700속 이상, 20,000여종을 구성하고 있다[9]. 본 연구에서 선별한 콩과에 속하는 황기(*Astragalus membranaceus*), 소목(*Caesalpinia sappan* L.), 감초(*Glycyrrhiza*

*uralensis* F.), 갈근 및 갈화(*Pueraria lobate* O), 자단향(*Pterocarpus santalinus* L.)은 질병의 치료제로 사용되는 약용식물이자 다양한 용도로 사용되는 염료식물이다. 황기는 사포닌, 플라보노이드 등을 주요 성분으로 만성질환 치료, 활력 증가를 포함하는 많은 약리학적 특성을 가지는 천연 식물로서[10], 티로시나제 억제 효과[11], 항염증 효과[12] 등의 연구가 되어있다. 소목은 적색소를 함유하며 주성분으로 브라질린을 가지고 있으며[13], 물질자체의 항산화 효과[14], 항염증 효과[15], 브라질린을 이용한 항산화, 항균, 항염증 효과[16] 등에 대한 연구가 이루어져 있다. 감초는 동양 의학에서 자당보다 많이 사용되는 감미료로써 알려져 있으며[17], 항 혈관신생저해 효과[18], 항염증 효과[19] 등에 대한 연구가 이루어져 있다. 갈근은 발열과 이질의 완화 및 고혈압, 심근경색, 부정맥과 같은 심혈관 질환의 치료제로 사용되고 있다[20]. 갈화는 해열제와 진통제와 같은 감기 치료제나 당뇨병을 치료하는 한방의학에 널리 사용되었다[21]. 자단향은 만성 기관기염, 만성 방광염과 같은 만성 염증성 질환 및 발열, 두통, 말라리아 치료제로 사용되어져 왔다[22]. 또한 항염증 및 항산화 효능 등에 대한 연구가 이루어져 있다[23].

본 연구에서는 한국에서 염료식물로 분류되는 콩과에 포함하는 물질을 이용하여 추출물로 분리하고 라디칼 소거능 및 총 페놀함량을 측정하여 물질자체의 항산화 효능을 비교하고, 항산화 관련 효소를 생산하는 간세포에 산화적 스트레스를 유

발하여 물질의 세포보호효과를 확인하여 콩과에 속하는 염료 추출물의 활용 가능성에 대해 제시하고 염료식물 추출물간의 효능 비교를 통해 천연 항산화제 개발을 위한 기초자료로 활용하고자 한다.

## 2. 실험

### 2.1. 추출물 제조

염료식물을 대한민국 충청북도 음성군(GPS : E 128° 62' N 36° 56')에서 경작하였다. 각각의 식물들을 실온에서 methanol (MeOH)로 3번씩 추출하였고(1회 추출 시 하루 동안 추출), 이후 40°C 상태로 건조하였다. 추출물들은 MeOH에 1%로 용해하여 시험에 사용하였다.

### 2.2. 라디칼 소거능

염료식물 추출물의 라디칼 소거능은 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl(DPPH)의 환원력을 이용하여 측정하였다[24]. 최종 농도가 0.1, 0.5, 1, 5 mg/mL로 희석된 물질을 준비하여 10  $\mu$ L씩 분주하고 200  $\mu$ M DPPH (Sigma-Aldrich, USA)를 190  $\mu$ L와 혼합하여 37°C에서 30분 동안 반응시키고 Biotrak II Plate reader (Amersham Life Science, UK)를 이용하여 550 nm에서 흡광도를 측정하였다. 양성 대조군으로는 Quercetin (Sigma-Aldrich, USA)를 사용하였다.

### 2.3. 총 페놀 함량 측정

총 페놀 함량 측정은 Folin-Denis 방법[25]을 변형하여 사용하였다. 0.1% 추출물 50  $\mu$ L와 증류수 1650  $\mu$ L, Folin-Denis (Sigma-Aldrich, USA) 시약 100  $\mu$ L를 혼합하여 2시간 실온에서 반응시켰다. 이후 Spectronic Genesys 5 (Milton Roy Company, USA)를 활용하여 750 nm에서 흡광도를 측정하였다. 표준물질로 Gallic acid (Sigma-Aldrich, USA)를 사용하였다.

### 2.4. 세포 배양 및 독성 측정

본 실험에 사용된 세포는 HepG2 (human liver carcinoma cell line) 세포로 한국세포주은행(KCLB, Korea)에서 분양 받아 사용하였다. 세포 배양 배지로는 Dulbecco's Modified Eagle's Medium (Hyclone, USA)를 사용하였으며, 0.1 mM non-essential amino acids (GIBCO, USA),

10% fetal bovine serum (Hyclone, USA)과 항생제 penicillin-streptomycin (GIBCO, USA)을 첨가하여 사용하였다. 배양 조건은 5% CO<sub>2</sub> 배양기에서 37°C 온도로 배양되었다. 배양된 세포를 이용하여 독성 효과를 확인하기 위해 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide (MTT) assay를 변형하여 측정하였다[26]. 세포 농도를 1 X 10<sup>5</sup> 개/mL로 제조하여 100  $\mu$ L씩 분주 후 5% CO<sub>2</sub> 배양기에서 37°C 온도로 24시간 배양하였다. 이후 물질 최종 농도가 10, 100, 200  $\mu$ g/mL 되도록 제조 후 100  $\mu$ L씩 분주하여 5% CO<sub>2</sub> 배양기에서 37°C 온도로 48시간 배양하였다. 5 mg/mL 농도의 MTT (Sigma-Aldrich, USA) 시약을 20  $\mu$ L씩 분주 후 혼합하여 5% CO<sub>2</sub> 배양기에서 37°C 온도로 2시간 반응 시킨다. 이후 배지를 제거하고 dimethyl sulfoxide (DMSO) 200  $\mu$ L를 분주하여 Biotrak II Plate reader (Amersham Life Science, UK)를 활용하여 560 nm에서 흡광도를 측정하였다. 양성 대조군으로는 Quercetin (Sigma-Aldrich, USA)를 사용하였다.

### 2.5. 산화적 스트레스에 대한 세포 보호능 측정

세포 농도를 1 X 10<sup>5</sup> 개/mL로 조정하여 100  $\mu$ L씩 분주 후 5% CO<sub>2</sub> 배양기에서 37°C 온도로 24시간 배양하였다. 이후 물질 최종농도가 10, 100, 200  $\mu$ g/mL 되도록 제조 후 100  $\mu$ L씩 분주하여 5% CO<sub>2</sub> 배양기에서 37°C 온도로 24시간 배양하고 이후, 100 mM 농도의 hydrogen peroxide (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>)를 20  $\mu$ L 분주하여 24시간 배양하였다. 5 mg/mL 농도의 MTT (Sigma-Aldrich, USA) 시약을 20  $\mu$ L씩 분주 후 혼합하여 5% CO<sub>2</sub> 배양기에서 37°C 온도로 2시간 반응 시킨다. 이후 배지를 제거하고 dimethyl sulfoxide (DMSO) 200  $\mu$ L를 분주하여 Biotrak II Plate reader (Amersham Life Science, UK)를 활용하여 560 nm에서 흡광도를 측정하였다. 양성 대조군으로는 Quercetin (Sigma-Aldrich, USA)를 사용하였다.

### 2.6. 통계 분석

실험은 3번 반복을 통해 수행되었으며 결과 값은 평균  $\pm$  표준편차로 나타내었다. 결과 값의 유의성은 SPSS (Statistical Package for the Social Science, Chicago, USA) 통계 프로그램을 통해 확인되었다.

### 3. 결과 및 고찰

#### 3.1. 라디칼 소거능

염료 물질의 라디칼 소거능을 측정한 결과는 Table 1과 같다. 황기 추출물은 0.1, 0.5, 1 mg/mL에서는 효과가 미비하였으며, 5 mg/mL에서 7.83%의 효과를 확인하였다. 소목 추출물은 0.1 mg/mL에서 16.65%, 0.5 mg/mL에서 44.01%, 1 mg/mL에서 80.75%, 5 mg/mL에서 93.46%의 효과를 확인하였다. 감초 추출물은 0.1 mg/mL에서 5.91%, 0.5 mg/mL에서 11.82%, 1 mg/mL에서 53.81%, 5 mg/mL에서 60.22%의 효과를 확인하였다. 갈근 추출물은 0.1, 0.5, 1 mg/mL에서는 10% 미만의 효과를 나타내었으며, 0.5mg/ml에서 29.83%의 효과를 확인하였다. 갈화 추출물도 0.1, 0.5, 1mg/ml에서는 효과가 미비하였으며, 5 mg/mL에서 12.34%의 효과를 확인하였다. 자단향 추출물은 0.1 mg/mL에서 6.91%, 0.5 mg/mL에서 18.53%, 1 mg/mL에서 34.70%, 5 mg/mL에서 87.50%의 효과를 확인하였다. 양성 대조군으로 사용한 quercetin은 0.1 mg/mL에서 36.64%, 0.5 mg/mL에서 83.14%, 1mg/ml에서 85.33%, 5mg/ml에서 86.72%의 효과를 확인하였다. 6가지 추출물 모두 농도 의존적으로 라디칼 소거능을 확인 할 수 있었고, 소목 추출물이 가장 높은 효과를 나타내었으며, 그 다음은 자단향 추출물로 이 두 가지 추출물은 5 mg/mL에서 quercetin보다 높은 효과를 나타내었

다.

활성 산소종으로 인한 세포 보호를 위해 천연 항산화 물질에 대한 연구가 활발한 가운데, 콩과에 속하는 물질의 항산화 효능 평가 결과 소목과 자단향에서 가장 높은 효과를 확인하였다. 두 가지 물질의 공통점은 적색의 천연 색소를 함유하는 물질로서 식물에는 이러한 색소 화합물이 포함되어있다. 가장 일반적으로 알려진 색소화합물인 안토시아닌은 식물계에 널리 분포되어 있으며, 심장질환 및 여러 만성질환을 예방하고, 특히 항산화 효과가 높다고 알려져 있다[27]. 안토시아닌의 한 종류인 프로안토시아니딘은 폴리페놀 플라보노이드 화합물로서, 활성 산소와 산화적 스트레스에 대해 세포를 보호하는 효과 등 다양한 효과를 증명하고 있다[28]. 노랑, 오렌지, 빨간 색소물질인 카르티노이드를 이용한 항산화, 항염증 효과에 대한 연구가 밝혀졌다[29]. 이와 같이 다양한 천연 색소물질의 우수한 효과에 대한 연구가 많이 진행되고 있으며, 높은 항산화 효과를 나타낸 소목 및 자단향 추출물의 색소 물질을 이용한 연구가 필요할 것으로 사료된다.

#### 3.2. 총 페놀 함량

염료 물질 6종의 총 폴리페놀 함량은 gallic acid를 기준물질로 측정하였으며, 그 결과는 Table 2와 같다. 황기 추출물은 15.33 mg GAE/g extract, 소목 추출물은 310.93 mg GAE/g extract, 감초 추출물은 48.27 mg

Table 1. Radical scavenging activity of pigment extracts from fabaceae 5 species

Extracts	Concentration (mg/mL)			
	0.1	0.5	1	5
<i>A. membranaceus</i>	1.04 ± 0.90	1.32 ± 0.60	2.28 ± 1.20	7.83 ± 0.80
<i>C. sappan</i>	16.65 ± 2.14	44.01 ± 4.47	80.75 ± 3.49	93.49 ± 0.18
<i>G. uralensis</i>	5.91 ± 0.76	11.82 ± 1.45	53.81 ± 2.63	60.22 ± 4.48
<i>P. lobate</i> (root)	3.39 ± 1.75	4.99 ± 1.10	7.15 ± 1.41	29.83 ± 1.95
<i>P. lobate</i> (flower)	0.96 ± 1.28	1.60 ± 0.82	1.64 ± 1.22	12.34 ± 0.98
<i>P. santalinus</i>	6.91 ± 0.79	18.53 ± 2.03	34.70 ± 2.16	87.50 ± 0.42
Quercetin	36.64 ± 0.90	83.14 ± 2.01	85.33 ± 0.53	86.72 ± 0.52

Abbreviation: *A. membranaceus*, *Astragalus membranaceus*; *C. sappan*, *Caesalpinia sappan* L.; *G. uralensis*, *Glycyrrhiza uralensis* F.; *P. lobate*, *Pueraria lobate*; *P. santalinus*, *Pterocarpus santalinus* L. Data were expressed as mean ± standard deviation (n = 3).

Table 2. Total phenolic content of pigment extracts from fabaceae 5 species

Extracts	Total phenolic content (mg GAE/g extract)
<i>A. membranaceus</i>	15.33 ± 0.23
<i>C. sappan</i>	310.93 ± 3.49
<i>G. uralensis</i>	48.27 ± 0.46
<i>P. lobate</i> (root)	71.47 ± 3.61
<i>P. lobate</i> (flower)	47.20 ± 2.12
<i>P. santalinus</i>	99.87 ± 1.85

Abbreviation: *A. membranaceus*, *Astragalus membranaceus*; *C. sappan*, *Caesalpinia sappan* L.; *G. uralensis*, *Glycyrrhiza uralensis* F.; *P. lobate*, *Pueraria lobate*; *P. santalinus*, *Pterocarpus santalinus* L. Data were expressed as mean ± standard deviation (n = 3).

GAE/g extract, 갈근 추출물은 71.47 mg GAE/g extract, 갈화 추출물은 47.20 mg GAE/g extract, 자단향 추출물은 99.87 mg GAE/g extract를 확인하였다. 소목 추출물이 가장 높은 효과를 나타내었으며, 그 다음은 자단향 추출물이 높았으며, 갈근, 감초, 갈화, 황기 순서로 높은 총 페놀 함량 결과를 확인하였다. 이 결과는 라디칼 소거능 결과와 상관성 있는 결과를 나타내었다. 천연 항산화제로서 필수적인 역할을 하는 페놀은 천연물질에서 페놀 함량 측정을 통해 항산화능이 평가 될 수 있다. 항산화능을 나타내는 guava (*Psidium Guayba* L.), mango (*Mangifera indica* L.), barbados cherry (*Malpighia glabra* L.)은 약 24, 44, 49 mg GAE/g의 총 페놀 함량이 확인되었으며[30], 이러한 결과는 콩과 6가지 물질 중 황기를 제외한 소목, 감초, 갈근, 갈화 및 자단향에서 더 많은 총 페놀 함량을 확인하였다.

### 3.3. 세포 독성 효과

염료 물질의 간세포에서 독성을 나타내는 농도를 확인한 결과는 Table 3와 같다. 황기 추출물은 25, 50, 100, 200  $\mu\text{g/mL}$  모든 농도에서 100% 이상의 세포 생존율을 나타내며 독성을 나타내지 않았고, 소목 추출물은 25  $\mu\text{g/mL}$ 에서는 100% 이상의 세포 생존율을 나타냈지만, 50  $\mu\text{g/mL}$ 에서는 73.16%, 100  $\mu\text{g/mL}$ 에서는 39.12%, 200  $\mu\text{g/mL}$ 에서는 38.42% 세포 생존율을 나타내며 세포 독성을 확인하였다. 감초 추출물은 25  $\mu\text{g/mL}$ 에서는 100% 이상의 세포 생

존율을 나타냈지만, 50  $\mu\text{g/mL}$ 에서는 97.72%, 100  $\mu\text{g/mL}$ 에서는 77.89%, 200  $\mu\text{g/mL}$ 에서는 19.82% 세포 생존율을 나타내며 세포 독성을 확인하였다. 갈근 추출물은 25  $\mu\text{g/mL}$ 에서는 100% 이상의 세포 생존율을 나타냈으며, 50, 100, 200  $\mu\text{g/mL}$  농도에서도 90% 이상의 세포 생존율을 확인하였다. 갈화 추출물은 25, 50, 100  $\mu\text{g/mL}$  농도에서 100% 이상의 세포 생존율을 확인하였고, 200  $\mu\text{g/mL}$ 에서도 98.16%의 세포 생존율을 확인하였다. 자단향 추출물은 25  $\mu\text{g/mL}$  농도에서 100% 이상의 세포 생존율을 나타내며 독성을 나타내지 않았고, 50  $\mu\text{g/mL}$ 에서는 72.81%, 100  $\mu\text{g/mL}$ 에서는 44.04%, 200  $\mu\text{g/mL}$ 에서는 26.05%의 세포 생존율을 나타내었다. 또한 양성 대조군으로 사용된 Quercetin은 200  $\mu\text{g/mL}$  이하 농도에서 100%이상의 세포 생존율을 나타내며 세포 독성을 나타내지 않았다. 이러한 결과를 바탕으로 황기 추출물은 200  $\mu\text{g/mL}$  이하, 소목, 감초, 갈근 및 자단향 추출물은 25  $\mu\text{g/mL}$  이하, 갈화 추출물은 100  $\mu\text{g/mL}$  이하에서 간세포에 대한 독성을 나타내지 않는 것으로 확인하였다.

### 3.4. 세포 보호 효과

간세포에서 산화적 스트레스 유발에 대한 염료 물질의 세포 보호 효과를 확인한 결과는 Table 4와 같다. 황기, 감초, 갈근, 갈화 추출물은 25, 50, 100  $\mu\text{g/mL}$  모든 농도에서 세포 보호능을 확인할 수 없었지만, 소목은 농도 의존적으로 25  $\mu\text{g/mL}$ 에서는 19.56%, 50  $\mu\text{g/mL}$ 에서는

22.19%, 100  $\mu\text{g/mL}$ 에서는 33.60%의 세포 생존율을 나타내며 산화적 스트레스에 대한 세포 보호능을 나타내었다. 또한 자단향 추출물은 25, 50  $\mu\text{g/mL}$ 에서는 세포 보호능을 확인 할 수 없었지만 100  $\mu\text{g/mL}$ 에서는 29.91%의 세포 생존율을 나타내며 산화적 스트레스에 대한 세포 보호능을 나타내었다. 또한 양성 대조군으로 사용된 Quercetin은 농도 의존적인 세포 보호능을 나타내었다. 이미 보고 된 멀꿀 열매 추출물은 과산화수소로 유도된 산화적 스트레스에 대해 농도

의존적으로 간세포 보호능을 나타내며[31] 유사한 결과를 확인하였다.

염료 물질 6가지 추출물 중 가장 높은 세포 보호 효과를 나타낸 소목 추출물(100  $\mu\text{g/mL}$ )의 시간에 따른 세포 생존율을 확인한 결과는 Fig. 1과 같다. 소목 추출물을 24시간 처리된 그룹에서는 물질을 처리 않은 군과 비교하였을 때 높은 생존율을 나타내어 산화적 스트레스에 대한 세포 보호 효과를 확인하였지만, 48 및 72시간 처리된 그룹에서는 세포 독성에 따라 세포 보호 효과를

Table 3. Cell viability of pigment extracts from fabaceae 5 species

Extracts	Concentration ( $\mu\text{g/mL}$ )			
	25	50	100	200
<i>A. membranaceus</i>	117.72 $\pm$ 2.90	117.02 $\pm$ 0.55	111.58 $\pm$ 1.39	107.46 $\pm$ 2.74
<i>C. sappan</i>	104.74 $\pm$ 5.18	73.16 $\pm$ 2.79	39.12 $\pm$ 1.98	38.42 $\pm$ 0.95
<i>G. uralensis</i>	100.70 $\pm$ 0.30	97.72 $\pm$ 0.85	77.89 $\pm$ 1.39	19.82 $\pm$ 0.40
<i>P. lobate</i> (root)	103.51 $\pm$ 6.22	91.40 $\pm$ 3.99	90.09 $\pm$ 4.23	90.09 $\pm$ 4.90
<i>P. lobate</i> (flower)	100.18 $\pm$ 5.73	102.02 $\pm$ 0.92	100.00 $\pm$ 3.98	98.16 $\pm$ 3.23
<i>P. santalinus</i>	101.32 $\pm$ 5.55	72.81 $\pm$ 5.92	44.04 $\pm$ 5.73	26.05 $\pm$ 3.48
Quercetin	114.67 $\pm$ 5.03	104.00 $\pm$ 5.29	106.67 $\pm$ 2.89	102.67 $\pm$ 3.06

Abbreviation: *A. membranaceus*, *Astragalus membranaceus*; *C. sappan*, *Caesalpinia sappan* L.; *G. uralensis*, *Glycyrrhiza uralensis* F.; *P. lobate*, *Pueraria lobate*; *P. santalinus*, *Pterocarpus santalinus* L. Data were expressed as mean  $\pm$  standard deviation (n = 3).

Table 4. Cell protection ability of pigment extracts from fabaceae 5 species

Extracts	Concentration ( $\mu\text{g/mL}$ )			
	0	25	50	100
<i>A. membranaceus</i>	15.53 $\pm$ 0.19	17.02 $\pm$ 1.19	16.93 $\pm$ 0.15	17.37 $\pm$ 0.70
<i>C. sappan</i>	15.53 $\pm$ 0.19	19.56 $\pm$ 0.30	22.19 $\pm$ 2.14*	33.60 $\pm$ 3.18*
<i>G. uralensis</i>	15.53 $\pm$ 0.19	15.88 $\pm$ 0.15	15.53 $\pm$ 1.21	17.11 $\pm$ 0.26
<i>P. lobate</i> (root)	15.53 $\pm$ 0.19	18.42 $\pm$ 0.53	19.47 $\pm$ 0.46	19.91 $\pm$ 1.75
<i>P. lobate</i> (flower)	15.53 $\pm$ 0.19	15.70 $\pm$ 0.40	15.88 $\pm$ 0.61	16.84 $\pm$ 1.21
<i>P. santalinus</i>	15.53 $\pm$ 0.19	17.37 $\pm$ 1.73	17.89 $\pm$ 1.37	29.91 $\pm$ 4.44*
Quercetin	15.53 $\pm$ 0.19	25.00 $\pm$ 2.00*	31.67 $\pm$ 1.15*	54.00 $\pm$ 4.00*

Abbreviation: *A. membranaceus*, *Astragalus membranaceus*; *C. sappan*, *Caesalpinia sappan* L.; *G. uralensis*, *Glycyrrhiza uralensis* F.; *P. lobate*, *Pueraria lobate*; *P. santalinus*, *Pterocarpus santalinus* L. Data were expressed as mean  $\pm$  standard deviation (n = 3). Significant differences from control are indicated (p < 0.05).

확인할 수 없었다. 이러한 결과는 소목 추출물 자체의 세포 보호 효과는 다소 떨어지지만 물질 자체 내에 간세포 보호능을 나타내는 특이적인 물질이 있을 것으로 사료된다. 본 연구에서 소목을 포함하는 콩과 5종 염료식물 추출물 중 소목 추출물에서 가장 높은 총 페놀 함량을 확인하였는데, 이러한 결과가 소목 추출물의 세포 보호 효과를 나타내는 것으로 예상된다. 플라보노이드와 같은 대사산물을 포함하는 약용식물은 현저한 항산화 효과 및 다양한 활성을 가진다고 보고되고 있으며 이는 암 치료에도 중요한 역할을 한다고 알려져 있다[32]. 따라서, 본 연구 결과를 바탕으로 콩과 5종 물질 중 항산화능을 나타낸 상위 물질인 소목 및 자단향의 물질 분리 및 색소 물질을 활용한 추가적인 연구가 요구된다.

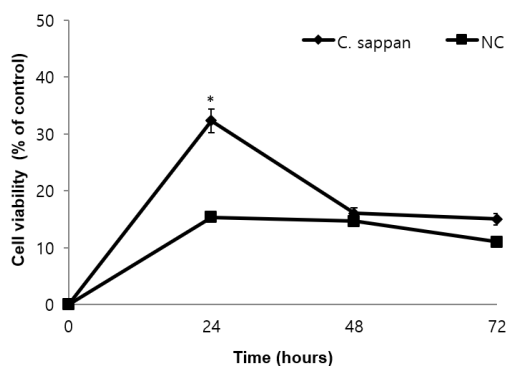


Fig. 1. Cell protection ability of *Caesalpinia Sappan* L extracts against oxidative stress.

Abbreviation: *C. sappan*, *Caesalpinia sappan* L.; NC, negative control. L. Data were expressed as mean  $\pm$  standard deviation (n = 3). Significant differences from control are indicated ( $p < 0.05$ ).

#### 4. 결론

본 연구는 국내에 자생하며 콩과에 속하는 염료식물 황기, 소목, 감초, 갈근, 갈화 및 자단향을 이용하여 추출물로 분리하고 항산화능 및 세포 보호능을 비교하였다. 항산화능을 나타내는 라디칼 소거능 측정 결과 5 mg/mL 농도에서 황기, 소목, 감초, 갈근, 갈화 및 자단향 추출물은 각각

7.83, 93.49, 60.22, 29.83, 12.34, 87.50%의 라디칼 소거능을 나타내었다. 황기, 소목, 감초, 갈근, 갈화 및 자단향 추출물의 총 페놀 함량은 각각 15.33, 310.93, 48.27, 71.47, 47.20, 99.87 mg GAE/g extract로 확인되며 라디칼 소거능 결과와 상관성을 확인하였다. 또한 각각의 물질에 대한 간세포의 독성 효과를 확인한 결과 황기 추출물은 200  $\mu$ g/mL 이하, 소목, 감초, 갈근 및 자단향 추출물은 25  $\mu$ g/mL 이하, 갈화 추출물은 100  $\mu$ g/mL 이하에서 간세포에 대한 독성을 나타내지 않는 것으로 확인하였다. 산화적 스트레스로 유발된 간세포에서 세포 보호능을 확인한 결과 소목 추출물 25, 50, 100  $\mu$ g/mL 농도 및 자단향 추출물 100  $\mu$ g/mL에서 세포 보호능을 확인하였다. 본 연구를 통해 콩과에 속하는 염료식물 6가지 중 소목, 자단향, 갈근, 감초, 갈화, 황기 순으로 항산화능을 확인하였으며, 이 중 상위물질 소목 및 자단향에서 세포 보호능을 확인하였다. 이러한 결과는 높은 항산화능을 가지는 물질은 세포 보호능을 나타낼 수 있음을 나타낸다. 또한 콩과 5종 물질 중 적색 천연색소를 가지는 소목 및 자단향에서 항산화능 및 세포 보호능이 확인된 결과를 바탕으로 물질 분리를 통한 색소 물질의 추가적인 연구가 요구되며, 본 연구 결과는 천연 항산화제 개발을 위한 기초자료로 활용할 수 있을 것으로 사료된다.

#### References

1. E. J. Kim, J. Y. Choi, M. Yu, M. Y. Kim, S. Lee, B. H. Lee, "Total Polyphenols, Total Flavonoid Contents, and Antioxidant Activity of Korean Natural and Medicinal Plants", *Korean Journal of Food Science and Technology*, Vol.44, No.3 pp. 337-342, (2012).
2. C. D. Fernando, P. Soysa, "Total phenolic, flavonoid contents, in-vitro antioxidant activities and hepatoprotective effect of aqueous leaf extract of *Atalantia ceylanica*", *BMC Complementary and Alternative Medicine*, Vol.14, No.1 pp. 395-401, (2014).
3. Y. J. Lee, D. B. Kim, J. S. Lee, J. H. Cho, B. K. Kim, H. S. Choi, B. Y. Lee,

- O. H. Lee, "Antioxidant activity and anti-adipogenic effects of wild herbs mainly cultivated in Korea", *Molecules*, Vol.18, No.10 pp. 12937-12950, (2013).
4. S. Tobwal, W. Fan, C. J. Hines, W. R. Folk, N. Ercal, "Antioxidant potential of *Sutherlandia frutescens* and its protective effects against oxidative stress in various cell cultures", *BMC Complementary and Alternative Medicine*, Vol.14, No.1 pp. 271-281, (2014).
  5. P. B. Rakhunde, S. Saher, S. A. Ali, "Neuroprotective effect of *Feronia limonia* on ischemia reperfusion induced brain injury in rats", *Indian Journal of Pharmacology*, Vol.46, No.6 pp. 617-621, (2014).
  6. T. Debnath, S. R. Park, D. H. Kim, J. E. Jo, B. O. Lim, "Anti-oxidant and anti-inflammatory activities of *Inonotus obliquus* and germinated brown rice extracts", *Molecules*, Vol.18, No.8 pp. 9293-9304, (2013).
  7. S. Kumar, R. Sandhir, S. Ojha, "Evaluation of antioxidant activity and total phenol in different varieties of *Lantana camara* leaves", *BMC Research Notes*, Vol.7, No.1 pp. 560-568, (2014).
  8. T. Chipiti, M. A. Ibrahim, N. A. Koorbanally, M. S. Islam, "In vitro antioxidant activities of leaf and root extracts of *Albizia antunesiana* harms", *Acta poloniae pharmaceutica*, Vol.70, No.6 pp. 1035-1043, (2013).
  9. J. P. Dzoyem, L. J. McGaw, J. N. Eloff, "In vitro antibacterial, antioxidant and cytotoxic activity of acetone leaf extracts of nine under-investigated Fabaceae tree species leads to potentially useful extracts in animal health and productivity", *BMC Complementary and Alternative Medicine*, Vol.14, No.1 pp. 147-153, (2014).
  10. H. J. Park, H. Y. Kim, K. H. Yoon, K. S. Kim, I. Shim, "The Effects of *Astragalus Membranaceus* on Repeated Restraint Stress-induced Biochemical and Behavioral Responses", *The Korean Journal of Physiology & Pharmacology*, Vol.13, No.4 pp. 315-319, (2009).
  11. J. H. Kim, M. R. Kim, E. S. Lee, C. H. Lee, "Inhibitory effects of calycosin isolated from the root of *Astragalus membranaceus* on melanin biosynthesis", *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, Vol.32, No.2 pp. 264-268, (2009).
  12. J. K. Ko, C. W. Chik, "The protective action of radix *Astragalus membranaceus* against hapten-induced colitis through modulation of cytokines", *Cytokine*, Vol.47, No.2 pp. 85-90, (2009).
  13. I. K. Bae, H. Y. Min, A. R. Han, E. K. Seo, S. K. Lee, "Suppression of lipopolysaccharide-induced expression of inducible nitric oxide synthase by brazilin in RAW 264.7 macrophage cells", *European Journal of Pharmacology*, Vol.25, No.3 pp. 237-242, (2005).
  14. S. Badami, S. Moorkoth, S. R. Rai, E. Kannan, S. Bhojraj, "Antioxidant activity of *Caesalpinia sappan* heartwood", *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, Vol.26, No.11 pp. 1534-1537, (2003).
  15. S. Q. Wu, M. Otero, F. M. Unger, M. B. Goldring, A. Phrutivorapongkul, C. Chiari, A. Kolb, H. Viernstein, S. Toegel, "Anti-inflammatory activity of an ethanolic *Caesalpinia sappan* extract in human chondrocytes and macrophages", *Journal of ethnopharmacology*, Vol.138, No.2 pp. 364-372, (2011).
  16. N. P. Nirmal, P. Panichayupakaranant, "Antioxidant, antibacterial, and anti-inflammatory activities of standardized brazilin-rich *Caesalpinia sappan* extract", *Pharmaceutical Biology*, Vol.53, No.9 pp. 1339-1343, (2015).
  17. W. T. Chung, S. H. Lee, J. D. Kim, N. S. Sung, B. Hwang, S. Y. Lee, C. Y. Yu, H. Y. Lee, "Effect of the extracts from *Glycyrrhiza uralensis* Fisch on the growth characteristics of human cell lines: Anti-tumor and immune activation



- activities“, *Cytotechnology*. Vol.37, No.1 pp. 55–64, (2001).
18. J. M. Kim, K. S. Kim, Y. W. Lee, C. K. Cho, H. S. Yoo, J. Y. Bang, E. Y. Kim, I. C. Kang, “Anti-angiogenic effects of water extract of a formula consisting of *Pulsatilla koreana*, *Panax ginseng* and *Glycyrrhiza uralensis*“, *Journal of Chinese Integrative Medicine*. Vol.9, No.9 pp. 1005–1013, (2011).
  19. J. Zhang, W. Gao, S. Yan, Y. Zhao, “Effects of Space Flight on the Chemical Constituents and Anti-Inflammatory Activity of Licorice (*Glycyrrhiza uralensis* Fisch)“, *Iranian journal of pharmaceutical research*, Vol.11, No.2 pp.601–609, (2012).
  20. S. B. Chen, H. P. Liu, R. T. Tian, D. J. Yang, S. L. Chen, H. X. Xu, A. S. Chan, P. S. Xie, “High-performance thin-layer chromatographic fingerprints of isoflavonoids for distinguishing between *Radix Puerariae Lobate* and *Radix Puerariae Thomsonii*“, *Journal of Chromatography A*. Vol.1121, No.1 pp. 114–119, (2006).
  21. K. T. Lee, I. C. Sohn, Y. K. Kim, J. H. Choi, J. W. Choi, H. J. Park, Y. Itoh, K. Miyamoto, “Tectorigenin, an isoflavone of *Pueraria thunbergiana* Benth., induces differentiation and apoptosis in human promyelocytic leukemia HL-60 cells“, *Biological & Pharmaceutical Bulletin*, Vol.24, No.10 pp. 1117–1121, (2001).
  22. J. Y. Cho, J. Park, P. S. Kim, E. S. Yoo, K. U. Baik, M. H. Park, “Savinin, a lignan from *Pterocarpus santalinus* inhibits tumor necrosis factor- $\alpha$  production and T cell proliferation“, *Biological and Pharmaceutical Bulletin*. Vol.24, No.2 pp. 167–171, (2001).
  23. D. Kumar, “Anti-inflammatory, analgesic, and antioxidant activities of methanolic wood extract of *Pterocarpus santalinus* L.”, *Journal of Pharmacology & Pharmacotherapeutics*, Vol.2, No.3 pp. 200–202, (2011).
  24. S. M. Lee, M. K. Na, R. B. An, B. S. Min, H. K. Lee HK, “Antioxidant activity of two phloroglucinol derivatives from *Dryopteris crassirhizoma*“, *Biological & Pharmaceutical Bulletin*. Vol.26, No.9 pp. 1354–1356, (2003).
  25. A. A. Bellail, O. E. Shaltout, M. M. Youssef, A. M. A. El Gamal, “Effect of Home-Cooking Methods on Phenolic Composition and Antioxidant Activity of Sweetpotato (*Ipomoea batatas* (L.) Lam.) Cultivars Grown in Egypt”, *Food and Nutrition Sciences*, Vol.3, No.4 pp. 490–499, (2012).
  26. Y. S. Shin, H. J. Jo, S. W. Lee, Y. O. Kim, Y. P. Hong, K. S. Chang, “Analysis of anti-oxidant activity of medicinal plants according to the extracted parts”, *Journal of Medicinal Plants Research*, Vol.6, No.31 pp. 4615–4624, (2012).
  27. L. L. Sun, W. Gao, M. M. Zhang, C. Li, A. G. Wang, Y. L. Su, T. F. Ji, “Composition and antioxidant activity of the anthocyanins of the fruit of *Berberis heteropoda* Schrenk“, *Molecules*, Vol.19, No.11 pp. 19078–19096, (2014).
  28. E. Mansouri, L. Khorsandi, H. A. Abedi, “Antioxidant effects of proanthocyanidin from grape seed on hepatic tissue injury in diabetic rats“, *Iranian Journal of Basic Medical Sciences*, Vol.17, No.6 pp. 460–464, (2014).
  29. M. Hernández-Ortega M, A. Ortiz-Moreno, M. D. Hernández-Navarro, G. Chamorro-Cevallos, L. Dorantes-Alvarez, H. Necochea-Mondragón, “Antioxidant, antinociceptive, and anti-inflammatory effects of carotenoids extracted from dried pepper (*Capsicum annum* L.)“, *Journal of Biomedicine and Biotechnology*, Vol.2012 (2012).
  30. K. L. Araújo, M. Magnai, J. A. Nascimento, A. L. Souza, P. S. Epaminodas, A. L. Souza, N. Queiroz, A. G. Souza, “Antioxidant activity of co-products from guava, mango and

- barbados cherry produced in the Brazilian northeast”, *Molecules*, Vol.19, No.3 pp. 310–319, (2014).
31. G. Lee, J. Kim, H. Kang, D. Bae, C. Y. Choi, “Antioxidant Activities and Hepato-protective Effects of *Stauntonia hexaphylla* Fruit Extract Against  $H_2O_2$ -induced Oxidative Stress and Acetaminophen-induced Toxicity”, *Journal of Life Science*, Vol.28, No.6 pp. 708–717, (2018).
32. R. S. Tagne, B. P. Telefo, J. N. Nyemb, D. M. Yemele, S. N. Njina, S. M. Goka, L. L. Lienou, A. H. Nwabo Kamdje, P. F. Moundipa, A. D. Farooq, “Anticancer and antioxidant activities of methanol extracts and fractions of some Cameroonian medicinal plants”, *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*, Vol.7, No.1 pp. 442–447, (2014).