

까마중(*Solanum nigrum* L.) 전초 추출물의 항산화 활성

성준섭 · 김경미 · 서지영 · 하지훈 · 박수남[†]

서울과학기술대학교 정밀화학과, 화장품종합기술연구소
(2015년 11월 25일 접수; 2015년 12월 8일 수정; 2015년 12월 14일 채택)

Antioxidative Activities of Whole Plant Extracts of *Solanum nigrum* L.

Joon Seob Seong · Kyoung Mi Kim · Ji Young Suh · Ji Hoon Ha · Soo Nam Park[†]

Department of Fine Chemistry, Cosmetic R&D Center,
Seoul National University of Science and Technology,
232 Gongneung-ro, Nowon-gu, Seoul 139-743, Korea

(Received November 25, 2015; Revised December 8, 2015; Accepted December 14, 2015)

요약 : 본 연구에서는 건조된 까마중(*Solanum nigrum* L.) 전초의 50% 에탄올 추출물, 에틸아세테이트 분획, 아글리콘 분획을 이용하여 항산화 실험을 진행하였다. 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH)을 이용한 자유라디칼 소거 활성(FSC₅₀)은 50% 에탄올 추출물, 에틸아세테이트 분획, 아글리콘 분획에서 각각 215.46 $\mu\text{g/mL}$, 42.43 $\mu\text{g/mL}$, 52.28 $\mu\text{g/mL}$ 이었다. Luminol-의존성 화학발광법을 이용한 Fe³⁺-EDTA/H₂O₂ 계에서의 총항산화능(OSC₅₀) 평가에서, 까마중 50% 에탄올 추출물은 25.25 $\mu\text{g/mL}$, 에틸아세테이트 분획은 7.05 $\mu\text{g/mL}$, 아글리콘 분획은 6.25 $\mu\text{g/mL}$ 를 나타냈다. ¹O₂로 유도된 적혈구 세포손상에 대한 보호효과 측정에서는 까마중 50% 에탄올 추출물 및 아글리콘 분획은 5~25 $\mu\text{g/mL}$ 농도에서는 세포보호효과를 나타냈으나 높은 농도에서는 세포보호 활성을 나타내지 않았다. 이러한 결과를 통해 까마중 추출물 및 분획물들은 항산화 활성을 가지고 있지만, 세포 수준에서는 비교적 높은 농도에서 활성산소로 유도된 세포 손상을 촉진할 수도 있음을 시사한다. 따라서 화장품 등에 까마중 추출물을 응용할 때는 사용상 주의가 필요한 것으로 판단된다.

Abstract : In this study, the antioxidative effects of 50% ethanol extract, ethylacetate fraction and aglycone fraction obtained from dried whole plant of *Solanum nigrum* L. were investigated. The free radical scavenging activities (FSC₅₀) were 215.46 $\mu\text{g/mL}$, 42.43 $\mu\text{g/mL}$ and 52.28 $\mu\text{g/mL}$, respectively. Reactive oxygen species (ROS) scavenging activities (OSC₅₀) in Fe³⁺-EDTA/H₂O₂ system were 25.25 $\mu\text{g/mL}$, 7.05 $\mu\text{g/mL}$ and 6.25 $\mu\text{g/mL}$, respectively. 50% ethanol extract and aglycone fraction showed the cellular protective effect against ¹O₂ induced cellular damage of rabbit erythrocytes at 5~25 $\mu\text{g/mL}$, but not at high concentrations. These results indicated that *S. nigrum* extract/fractions could be used as an antioxidative agent. However, it could induce cellular damage at high concentrations. In conclusion, a special caution is required to use *S. nigrum* extracts as a cosmetic ingredient.

[†]Corresponding author
(E-mail: snpark@seoultech.ac.kr)

Keyword : *Solanum nigrum*, antioxidative effect, reactive oxygen species, cellular protective effect, cosmetic ingredient

1. 서론

자외선으로 유도된 피부 세포 및 조직 손상은 자외선의 피부 작용에 대한 활성산소설(reactive oxygen species, ROS)이라는 단일화된 모델을 제공한다. 다시 말하면, 활성산소종은 피부에 대한 자외선의 작용으로 생성된다. 피부에는 활성산소종으로부터 피부를 보호하는 항산화 방어계가 있다. 그러나 이들 방어계는 자외선량이 많으면 압도당할 수 있다. 결과적으로 지질, 단백질 및 DNA와 같은 세포 성분들은 활성산소종에 의한 손상을 받게되어 세포 기능이 변질되고 궁극적으로 피부노화가 일어난다. 이와 같이 자외선으로 유도된 피부노화를 광노화라고 한다[1-3]. 피부노화의 주 원인으로 작용하는 ROS의 종류로는 superoxide anion radical($O_2^{\cdot-}$)과 hydroxyl radical($\cdot OH$)과 같은 라디칼종과 singlet oxygen(1O_2) 및 hydrogen peroxide(H_2O_2)와 같은 비라디칼종, 그리고 이들 ROS와 생체 구성성분과의 반응으로 생성되는 peroxy radical($ROO\cdot$), alkoxy radical($RO\cdot$) 등이 포함된다[4]. ROS는 자외선 뿐만 아니라 정상적인 대사과정에서도 생성되며, 질병상태나 스트레스를 받을 때 과잉으로 생성된다. 또한 공해, 흡연 및 세균에 의해서도 ROS가 생성되는 것으로 알려져 있다. ROS 중에서 반응성이 가장 큰 1O_2 와 $\cdot OH$ 등은 피부 세포 및 조직 손상을 야기하는데 주도적인 역할을 한다. 이들 ROS는 피부에 존재하는 superoxide dismutase, catalase 및 glutathione peroxidase와 같은 항산화효소와 비타민E나 C와 같은 비효소적 항산화제로 이루어진 피부 항산화 방어망을 파괴함으로써 피부를 산화적 스트레스 상태로 변화시킨다. 이와 같이 ROS로 유도된 산화적 스트레스는 지질, 단백질 및 DNA 산화뿐만 아니라 탄력 섬유인 콜라겐과 엘라스틴의 사슬절단 및 비정상적인 교차결합, 히알루론산 사슬의 절단, 콜라겐 등을 분해시키는 matrix metalloproteinase-1 (MMP-1) 발현 증가 및 멜라닌 생성반응 촉진함으로써 결과적으로 피부의 탄력 감소, 주름 및 색소침착 등 피부 노화가 가속화된다[6-9]. 따라서 피부 노화를 억제하기 위해서는

피부에서 생성되는 과잉의 활성산소 생성 억제 및 생성된 활성산소의 효율적인 제거를 위한 적절한 항산화제의 개발과 보충이 이루어져야 한다[10,11].

현재 화장품에 널리 사용되는 항산화제로는 L-ascorbic acid, α -tocopherol이 있다. 이들 항산화제는 열과 빛에 매우 불안정하여 화장품에는 ascorbic acid-2-glucoside나 tocopheryl acetate 등의 유도체 형태로 주로 사용되지만 항산화 활성 등은 많이 감소된다. 본 연구실에서는 광노화를 억제할 목적으로 피부 항산화방어망 구축에 적합한 항산화 소재들을 천연 식물 추출물로부터 개발하고자 하는 연구들을 계속해오고 있다. 또한 활성소재의 안정화 및 효능 증대를 위한 피부흡수증진 시스템 개발 연구도 지속해오고 있다[12-14].

까마중(*Solanum nigrum* L.)은 가지과에 속하는 한해살이 초본으로 생약명으로는 용규라고도 한다. 열매에 해열작용을 하는 solanine과 solamargine이라는 알칼로이드가 주로 함유되어 있고 잎과 줄기에는 사포닌류가 함유되어 있다[15-18]. 약리작용으로는 해열, 이뇨, 해독, 소종 등이 알려져 있고 민간에서는 감기, 만성기관지염, 천식, 종기 및 종양 등에 사용된 것으로 전해지고 있다. 까마중 추출물에 대한 연구로는 사람 종양 세포에 대한 항증식 활성, 항염활성, 간 보호활성 등이 보고되고 있다[19,20]. 한편으로 까마중 열매에 있는 glycoprotein인 solanine 성분은 농도 의존적으로 독성을 나타낼 수 있는 것으로 알려져 있다[21]. 하지만 식물을 익히거나 끓이면 독성 성분은 파괴된다고 보고되고 있다[20]. 일반적으로 토마토, 감자 및 가지의 푸른색 부분에 solanine이 존재한다고 보고되고 있다. Solanine 성분의 독성 등과 관련하여 현재 화장품에서는 까마중 추출물이 화장품 원료로 사용되지 않고 있다.

까마중 추출물의 항산화 활성에 대한 연구는 까마중 잎 추출물의 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) 라디칼 소거활성[22]과 열매에서 추출한 당단백질인 glycoprotein의 DPPH 라디칼 및 $O_2^{\cdot-}$ 등의 소거활성에 대한 연

구가 있다[23]. 그러나 열매를 제외한 까마중 전초 추출물의 각종 ROS(H_2O_2 , $O_2^{\cdot-}$, $\cdot OH$ 등)가 생성되는 계에서 이들 ROS에 대한 총항산화능 평가나 피부 광노화 과정에서 가장 중요한 활성산소인 1O_2 으로 유도된 세포 손상에 대한 보호효과 등 세포 수준에서 항산화나 항노화 활성에 대한 연구는 거의 없는 실정이다. 따라서 본 연구에서는 까마중 전초 추출물 및 분획물들에 대하여 free radical 소거활성, Fe^{3+} -EDTA/ H_2O_2 계에서 생성된 활성산소종에 대한 총항산화능, 1O_2 으로 유도된 적혈구 세포 손상에 대한 세포 보호효과를 측정함으로써 까마중 전초 추출물이 항산화 또는 항노화 화장품 소재로서 응용 가능 여부를 조사하고자 하였다.

2. 재료 및 실험

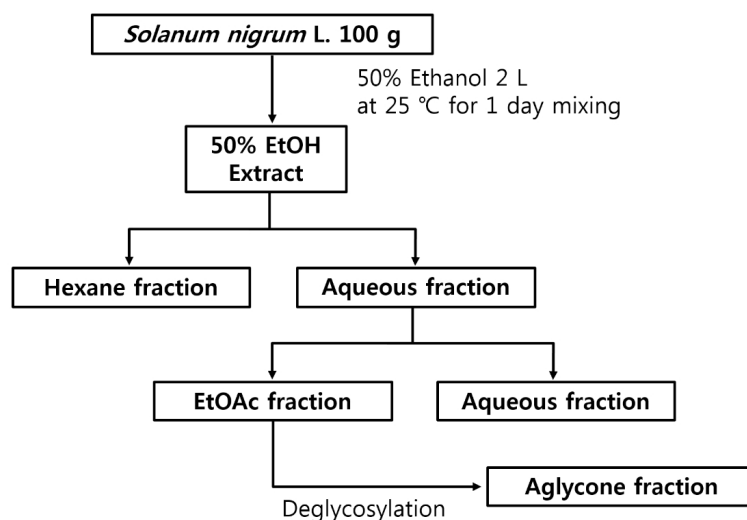
2.1. 기기 및 시약

UV-visible spectrophotometer는 Varian (Australia)사의 Cary 50, 화학발광기는 Berthold (Germany)사의 6-channel LB9505 LT를, 적혈구 광용혈 실험에 사용한 Spectronic 20D는 Milton Roy Co. (USA) 제품을 사용하였고, pH 미터는 Hanna (Korea)사 제품을 사용하였다. EDTA, luminol, heparin, 광증감제로 사용된

rose bengal, free radical 소거 활성에 사용한 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) radical은 Sigma chemical Co. (USA)에서 구입하였다. 기타 $FeCl_3 \cdot 6H_2O$ 는 Junsei Chemical Co. (Japan) 제품을, H_2O_2 는 Dae Jung Chemical & Metals (Korea)사 제품을 사용하였다. 완충용액 제조에 사용된 $Na_2HPO_4 \cdot 12H_2O$, $NaH_2PO_4 \cdot 2H_2O$, NaCl, H_2SO_4 그리고 에탄올(EtOH), 메탄올(MeOH), 에틸아세테이트(EtOAc), n-헥산 등 각종 용매는 시판 특급 시약을 사용하였다. 비교물질로 사용한 (+)- α -tocopherol (1,000 IU vitamin E/g), L-ascorbic acid는 Sigma Chemical Co. (USA)에서 구입하였다. 실험에 사용한 까마중 전초는 2015년 7월 경동시장에서 구입하여 사용하였다.

2.2. 까마중 전초의 추출/분액 및 수율

실험에 사용한 까마중 전초는 Scheme 1.과 같은 방법으로 추출 및 분액을 실시 하였다. 건조된 까마중의 전초(열매 제외) 100 g을 잘게 자른 후 50% 에탄올 2 L를 이용하여 24 h 동안 침적 교반시킨 후 여과하였다. 이 여액을 감압 건조하여 분말(powder)을 얻었다. 그리고 50% 에탄올 추출물을 n-헥산을 이용하여 염록소 등의 비극성 성분을 제거한 뒤 에틸아세테이트를 이용하여 3 회 분획하여 얻은 에틸아세이트 분획을 감압·농



Scheme 1. Preparation of extract/fractions from dried whole plant of *Solanum nigrum* L.

축하여 파우더를 얻었다. 아글리콘 분획은 에틸아세테이트 분획을 산 가수분해 하여 당을 제거하여 얻었다. 아글리콘 분획은 0.1 g의 에틸아세테이트 파우더를 증류수, 아세톤 및 H₂SO₄를 4.5 : 5 : 0.5(v/v) 비율로 혼합한 10 mL 용액에 4시간 동안 중탕 가열하면서 환류·냉각시킨다. 환류시킨 용액을 5% KOH-MeOH 용액으로 중화 적정한다. 중화 적정 후 다시 에틸아세테이트를 이용해 분액하고 이를 감압·농축하여 아글리콘 분획을 제조하였다. 수율은 건조된 까마중 전초(100 g)을 기준으로 계산되었다. 건조된 까마중 전초의 50% 에탄올 추출물은 13.17%, 에틸아세테이트 분획은 0.22%였으며, 에틸아세테이트 분획에서 당을 제거한 아글리콘 분획의 수율은 0.13%로 나타났다.

2.3. 까마중 전초 추출물의 항산화 효과 측정

2.3.1. DPPH법을 이용한 Free Radical 소거활성

DPPH법은 시료의 라디칼 소거능을 평가할 수 있는 실험법으로서, 비교적 안정한 라디칼인 DPPH에 대한 전자공여능을 통하여 시료의 환원력을 측정한다. 실험 방법은 메탄올에 용해시킨 0.2 mM DPPH 용액 1 mL에 에탄올 1 mL를 첨가하고 여러 농도의 까마중 전초 추출물 1 mL를 첨가하여 섞은 다음 실온에서 10 min 동안 방치 후 spectrophotometer로 517 nm에서 흡광도를 측정하였다. 그 활성의 크기는 시료를 넣지 않은 경우를 대조군(control)으로 하고 시료를 넣은 것을 실험군(experiment)으로 하였다. 자유라디칼 소거활성은 DPPH의 농도가 50% 감소되는데 필요한 시료의 농도 (free radical scavenging activity, FSC₅₀, μg/mL)로서 표기하였으며, 자유라디칼(DPPH) 소거활성(%)을 계산하는데 사용한 식은 다음과 같다.

$$\text{Inhibition (\%)} = \left\{ 1 - \left[\frac{A_{\text{Experiment}} - A_{\text{Blank}}}{A_{\text{Control}}} \right] \right\} \times 100$$

2.3.2. Luminol 발광법을 이용한

Fe³⁺-EDTA/H₂O₂계에 있어서 활성산소 소거활성(총 항산화능)

Fe³⁺-EDTA/H₂O₂ 계는 다양한 ROS(O₂^{·-}, ·OH 그리고 H₂O₂)를 생성시키고, 철은 이 반응에서 촉매로 작용한다. 따라서 이 계를 이용하

면 ROS에 대한 총 항산화능을 측정할 수 있으며, 이 총 항산화능에는 활성산소의 생성을 막아주는 킬레이트 작용도 포함될 수 있다. 생성된 ROS의 검출은 루미놀과 ROS와의 반응을 통한 화학발광을 측정함으로써 확인할 수 있다. 화학발광 측정용 튜브에 증류수 1.78 mL를 넣고 여러 농도의 까마중 전초 추출물을 넣었다. 여기에 25 mM EDTA 40 μL 및 5 mM FeCl₃·6H₂O 10 μL를 가한 후 35 mM luminol 80 μL를 넣고 흔들어 섞어 주었다. 이어서 화학발광기의 cell holder에 튜브를 넣고 5 min 동안 항온시킨 후 150 mM H₂O₂ 40 μL를 넣고 화학발광을 25 min 동안 측정하였다. 대조군(control)은 시료 용액 대신에 증류수를 넣고, 공시험(blank)은 시료군과 조건이 동일하나 H₂O₂와 FeCl₃·6H₂O 대신 증류수를 첨가하였다. 화학발광기 6-channel LB9505 LT의 각 채널은 실험 전에 보정하여 채널 간의 차이가 거의 없도록 하였다. 화학발광으로 측정된 저해율(%)은 다음 식과 같이 나타내었고, 활성산소 소거활성의 크기는 화학발광의 세기가 50% 감소되는데 필요한 시료의 농도(reactive oxygen species scavenging activity, OSC₅₀)로서 표기하였다.

2.4. 광용혈(Photohemolysis)법을 이용한 세포 보호 효과 측정

2.4.1. 적혈구 현탁액 제조

실험에 사용된 토끼 적혈구는 삼육축산농원(경기도 화성군)에서 구입한 생후 6개월 된 건강한 토끼로부터 얻어 채혈 후 heparin이 첨가된 시험관에 넣어 4 °C의 냉장고에 보관 하고 12 h 이내에 실험에 이용하였다. 이를 3,000 rpm으로 5 min 동안 원심분리하여 적혈구와 혈장을 분리하고, 분리한 적혈구는 0.9 % saline phosphate buffer (pH 7.4, Na₂HPO₄·12H₂O 9.6 mM, NaH₂PO₄·2H₂O 1.6 mM)로 세척하여 원심분리하고 흰색의 백혈구 층은 제거하였다. 3회 반복하여 세척, 분리한 적혈구는 4 °C의 냉장고에 보관하면서 사용하였으며 모든 실험은 채혈 후 12 h 이내에 행하였다. 광용혈 실험은 이미 확립된 방법에 따라 수행하였다. 실험에 사용된 적혈구 현탁액은 700 nm에서 O.D.값이 0.6이었으며 이때 적혈구 수는 1.5 × 10⁷ cells/mL이었다.

2.4.2. 까마중 전초 추출물 및 분획의 세포 보호 효과 측정

적혈구 현탁액 3.5 mL를 파이렉스 시험관(No. 9820)에 넣은 후, 시료용액을 첨가하였다. 시료를 농도별로 각각 50 μ L씩 첨가하고 암소에서 30 min 동안 pre-incubation 시킨 후, 광증감제 rose-bengal (12 μ M) 0.5 mL를 가하고 파라필름(Whatman laboratory sealing film, UK)으로 입구를 막은 후 15 min 동안 광조사 하였다. 광용혈에 필요한 광조사는 내부를 검게 칠한 50 cm \times 20 cm \times 25 cm 크기의 상자 안에 20 W 형광등을 장치하고, 형광등으로부터 5 cm 거리에 적혈구 현탁액이 담긴 파이렉스 시험관을 형광등과 평행이 되도록 배열한 후 15 min 동안 광조사 하였다. 광조사가 끝난 후 암반응(post-incubation) 시간에 따른 적혈구의 파괴 정도를 15 min 간격으로 700 nm에서 투광도(transmittance, %)로부터 구하였다. 이 파장에서 적혈구 현탁액의 투광도 증가는 적혈구의 용혈 정도에 비례한다. 모든 실험은 20 $^{\circ}$ C 항온실에서 행하였다. 까마중 전초 추출물 및 분획의 광용혈에 미치는 효과는 post-incubation 시간과 용혈 정도로 구성된 그래프로부터 적혈구의 50%가 용혈 되는 시간인 τ_{50} 을 구하여 비교하였다. 모든 경우의 실험에서 대조군은 τ_{50} 이 32.6 min으로 오차범위 \pm 0.1 min 이내로 재현성이 양호하게 나타났다.

3. 결과 및 고찰

3.1. DPPH법을 이용한 자유라디칼 소거활성

자외선에 의해 발생하는 활성산소들 중 $O_2^{\cdot-}$ 및 $\cdot OH$ 과 같은 라디칼 종은 반응성이 매우 높아 세포막과 결합하여 지질과산화반응의 자동산화반응을 개시시킬 수 있다. 생체내에 존재하는 항산화제인 비타민 E 등은 지질 라디칼에 전자를 제공함으로써 연쇄반응을 종결시킨다. 이와 같이 전자를 제공함으로써 라디칼을 소거하는 능력인 환원력을 통해서 시료의 자유라디칼 소거활성(free radical scavenging concentration, FSC₅₀)을 측정할 수 있다. 따라서 본 실험에서는 비교적 안정한 라디칼로 존재하는 DPPH를 이용하여

까마중 추출물 및 분획의 라디칼 소거활성을 측정하였다.

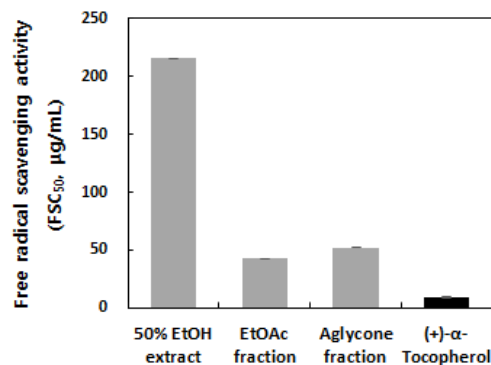


Fig. 1. Free radical scavenging activities of extract/fractions of whole plant of *Solanum nigrum* L. and (+)- α -tocopherol.

자유 라디칼이 50% 소거되는 농도인 FSC₅₀은 까마중 전초 50% 에탄올 추출물이 215.46 μ g/mL, 에틸아세테이트 분획이 42.43 μ g/mL, 아글리콘 분획이 52.28 μ g/mL로 나타났다(Fig. 1). 이들은 항산화제로 잘 알려진 (+)- α -tocopherol (FSC₅₀, 8.98 μ g/mL)보다는 비교적 낮은 활성을 보였으며, 에틸아세테이트 및 아글리콘 분획은 50% 에탄올 추출물보다 약 4배 높은 활성을 나타냈다.

50% 에탄올 추출물에 비하여 에틸아세테이트 분획의 자유 라디칼 소거활성이 약 5배 이상 크게 나타났다. 이와 같이 에틸아세테이트 분획의 자유 라디칼 소거활성이 높은 이유는 에틸아세테이트 분획이 50% 에탄올 추출물로부터 얻은 것이고, 추출 용매인 에틸아세테이트는 극성이 중간 정도로 까마중 전초 추출물 중에서 용매의 극성과 비슷한 극성을 나타내는 luteolin, quercetin, rutin, catechin 등의 플라보노이드와 페놀성 화합물들의 함량 비율이 높기 때문인 것으로 판단된다. 이와 같은 경향은 아글리콘 분획에서도 비슷했다. 아글리콘 분획은 에틸아세테이트 분획에 있는 배당체의 가수분해물과 아글리콘 성분들이 주를 이루고 있으므로 활성이 비슷하게 나온 것으로 추정된다.

3.2.2. Luminol 발광법을 이용한 Fe^{3+} -EDTA/ H_2O_2 계에 있어서 활성산소 소거 활성(총 항산화능)

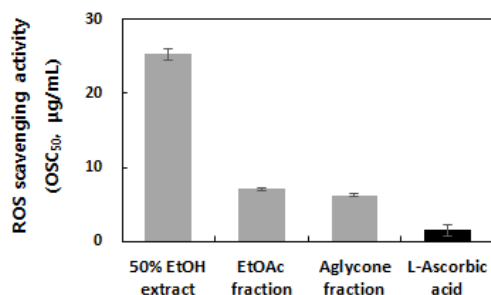


Fig. 2. ROS scavenging activities of extract/fractions of whole plant of *Solanum nigrum* L. and L-ascorbic acid in Fe^{3+} -EDTA/ H_2O_2 system by luminol-dependent chemiluminescence assay.

본 실험에 사용한 Fe^{3+} -EDTA/ H_2O_2 계에서는 Fenton 반응을 통해 다양한 종류의 활성산소가 생성된다. Luminol은 활성산소와 반응하여 들뜬 상태가 되고 이어서 바닥상태로 되면서 발광한다. 이 계에 항산화제를 첨가하면 감소된 활성산소에 의해 화학발광은 감소하는데 이를 이용하여 총 항산화능(ROS scavenging concentration, OSC₅₀)을 평가하였다. 활성산소가 50%감소하는 농도인 OSC₅₀은 까마중 전초 50% 에탄올 추출물이 25.25 µg/mL, 에틸아세테이트 분획이 7.05 µg/mL, 아글리콘 분획이 6.25 µg/mL로 나타났다 (Fig. 2). 이들은 수용성 항산화제로 잘 알려진 L-ascorbic acid (1.50 µg/mL)보다는 약간 낮은

활성을 나타냈다. 까마중 에틸아세테이트 및 아글리콘 분획은 50% 에탄올 추출물 보다 약 4배 높은 총 항산화 활성을 나타냈다. 이러한 경향은 앞에서 설명한 free radical 소거활성의 경우와 같다. 이 경우도 에틸아세테이트 분획물이 50% 에탄올 추출물보다도 플라보노이드나 페놀성 화합물들이 많기 때문에 활성산소 소거활성 즉, 총 항산화능이 4배나 더 크게 나온 것으로 판단된다. 아글리콘 분획에서도 에틸아세테이트 분획과 같이 거의 비슷한 항산화능을 나타냈다.

3.2.3. 1O_2 으로 유도된 적혈구의 파괴에 대한 세포보호 효과

피부에는 porphyrin이나 riboflavin과 같은 다양한 광증감제들이 존재하며 이들은 자외선에 노출될 때 광증감 반응을 통해 1O_2 과 여러 ROS를 생성시킨다. 특히 광증감반응의 주 생성물인 1O_2 는 반응성이 매우 강한 활성산소로서 피부 항산화제를 고갈시켜 항산화 방어망을 붕괴시키고, 세포막에서 라디칼 반응을 개시시켜 지질과산화반응을 유발하여 세포 손상을 촉진시킨다. 본 연구에서는 세포막의 지질이중층과 유사한 적혈구 세포를 이용한 항산화 평가 시스템을 이용하여 1O_2 로 유도된 세포손상에 대한 보호효과를 평가하고자 하였다. 까마중 전초의 50% 에탄올 추출물, 에틸아세테이트 및 아글리콘 분획의 1, 10, 25 및 50 µg/mL를 처리하고 광증감제인 rose-bengal로 1O_2 으로 유도된 적혈구 세포 파괴가 50%가 되는 시간(τ_{50} , min)을 측정하여 세포보호효과를 평가하였다(Table 1).

까마중 추출물의 50% 에탄올 추출물의 τ_{50} 은 5, 10, 25, 50 µg/mL에서 각각 35.8, 35.7, 40.2, 20.3 min, 에틸아세테이트 분획은 각각

Table 1. Cellular Protective Effects of Extract/Fractions of Whole Plant of *Solanum nigrum* L. and (+)- α -Tocopherol on the Rose-bengal Sensitized Photohemolysis of Rabbit Erythrocytes in 0.9% Saline Phosphate Buffer (pH 7.4).

τ_{50} (Half time of hemolysis)				
Concentration (µg/mL)	5	10	25	50
50% EtOH extract	35.8 (± 0.0)	35.7 (± 0.4)	40.2 (± 1.9)	20.3 (± 0.6)
EtOAc fraction	31.9 (± 2.7)	24.4 (± 0.3)	20.0 (± 1.9)	14.3 (± 0.1)
Aglycone fraction	48.0 (± 0.8)	46.3 (± 0.8)	36.5 (± 0.1)	15.3 (± 0.3)
(+)- α -Tocopherol	36.1 (± 0.1)	37.7 (± 0.1)	38.2 (± 0.4)	43.9 (± 1.2)

* Control, $\tau_{50} = 32.6 \pm 0.1$ min.

31.9, 24.4, 20.0, 14.3 min, 아글리콘 분획은 각각 48.0, 46.3, 36.5, 15.3 min으로 나타난다. 항산화제인 (+)- α -tocopherol은 36.1, 37.7, 38.2, 43.9 min으로 나타난다. 50% 에탄올 추출물은 50 $\mu\text{g/mL}$ 을 제외하고 농도-의존적으로 세포보호효과를 보였으며, 비교물질인 (+)- α -tocopherol과 유사한 세포보호효과를 보였다. 반면 고농도인 50 $\mu\text{g/mL}$ 에서 τ_{50} 은 20.3 min으로 감소하였다. 까마중 에틸아세테이트 분획은 농도가 높아짐에 따라 컨트롤(32.6 \pm 0.1 min)보다 더 빨리 용혈을 촉진시켰다. 아글리콘 분획은 5, 10 $\mu\text{g/mL}$ 농도에서는 (+)- α -tocopherol보다 높은 세포보호효과를 나타낸 반면, 고농도인 25, 50 $\mu\text{g/mL}$ 에서는 용혈작용을 촉진시켰다. 위 결과를 통해 까마중 추출물 및 분획에는 적혈구의 용혈작용을 촉진하는 성분이 존재함을 알 수 있었으며 특히, 에틸아세테이트 분획에 많이 포함되어 있을 것으로 사료되어진다.

4. 결론

- 1) 까마중 전초 추출물의 자유라디칼 소거활성(FSC₅₀) 측정 결과, (+)- α -tocopherol (8.98 $\mu\text{g/mL}$) > 에틸아세테이트 분획(42.43 $\mu\text{g/mL}$) > 아글리콘 분획(52.28 $\mu\text{g/mL}$) > 50% 에탄올 추출물(215.46 $\mu\text{g/mL}$) 순서로 나타났다.
- 2) 까마중 전초 추출물의 활성산소 소거활성(총항산화능, OSC₅₀)은 L-ascorbic acid (1.50 $\mu\text{g/mL}$) > 아글리콘 분획(6.25 $\mu\text{g/mL}$) > 에틸아세테이트 분획(7.05 $\mu\text{g/mL}$) > 50% 에탄올 추출물(25.25 $\mu\text{g/mL}$) 순서로 나타났다.
- 3) ¹O₂으로 유도된 적혈구 세포의 파괴에 대한 세포보호효과(τ_{50}) 측정 결과, 50% 에탄올 추출물 및 아글리콘 분획의 경우 5~25 $\mu\text{g/mL}$ 에서 각각 세포보호효과를 나타냈다. 하지만 에틸아세테이트 분획의 경우는 농도 의존적으로 용혈을 촉진시켰다.

이러한 결과들을 까마중 전초 추출물 및 분획들이 항산화 활성이 있음을 확인하였다. 특히, 자유라디칼 소거활성 및 총항산화능이 50% 에탄올

추출물보다 에틸아세테이트 및 아글리콘 분획에서 약 4배 이상 크게 나타났다. 이는 까마중 전초 추출물에 존재하는 luteolin, quercetin, rutin, catechin 등의 플라보노이드와 페놀성 화합물들의 함량 비율이 높기 때문인 것으로 보인다[24,25]. 그러나 적혈구 세포를 대상으로 한 활성산소로 유도된 세포 손상에서 일부 아글리콘 분획에서만 낮은 농도에서만 세포보호 효과가 나타났고 높은 농도에서는 용혈 촉진 작용을 나타냈다. 이는 까마중 전초에 존재하는 사포닌이나 알칼로이드 성분들에 의한 결과로 추정되며, 추후 연구를 통해 그 용혈 메커니즘을 알아볼 필요가 있다고 사료된다.

감사의 글

본 연구는 2015년 서울과학기술대학교 교내연구비 지원으로 수행되었습니다.

References

1. M. Yaar and B. A. Gilchrest, Photoaging: Mechanism, Prevention and Therapy, *Br. J. Dermatol.*, **157**(5), 874 (2007).
2. L. Packer, Ultraviolet Radiation (UVA, UVB) and Skin Antioxidants, In: Free Radical Damage and Its Control, (C. A. Rice-Evans and R. H. Burdon, eds), *Elsevier Science B. V.*, **239** (1994).
3. S. N. Park, Effects of Flavonoids and Other Phenolic Compounds on Reactive Oxygen-mediated Biochemical Reactions, Ph.D. Thesis, Seoul National University, (1989).
4. H.-U. Simon, A. Haj-Yehia, and F. Levi-Schaffer, Role of Reactive Oxygen Species (ROS) in Apoptosis Induction, *Apoptosis.*, **5**, 415 (2000).
5. S. N. Park, Antioxidative Properties of Baicalein, Component from *Scutellaria baicalensis* Georgi and its Application to Cosmetics (I), *J. Korean Ind. Eng. Chem.*, **14**(5), 657 (2003).
6. Y. J. Ahn, B. R. Won, M. K. Kang, J. H.

- Kim, and S. N. Park, Antioxidant Activity and Component Analysis of Fermented *Lavendula Angustifolia* Extracts, *J. Soc. Cosmet. Scientists Korea*, **35**(2), 125 (2009).
7. L. C. Magdalena and Y. A. Tak, Reactive oxygen species, Cellular Redox System, and Apoptosis, *Free Radic. Biol. Med.*, **48**(6), 749 (2010).
 8. R. S. Sohal and W. C. Orrb., The Redox Stress Hypothesis of Aging, *Free Radic. Biol. Med.*, **52**(3), 539 (2012).
 9. S. N. Park, Protective Effect of Isoflavone, Genistein from Soybean on Singlet Oxygen induced Photohemolysis of Human Erythrocytes, *Korean J. Food Sci. Technol.*, **35**(3), 510 (2003).
 10. L. Packer, Ultraviolet Radiation (UVA, UVB) and Skin Antioxidants, *Free radical damage and its control.*, **28**, 239 (1994).
 11. K. Scharffetter-Kochanek, Photoaging of the Connective Tissues of Skin: Its Prevention and Therapy, *Adv. Pharmacol.*, **38**, 639 (1997).
 12. S. N. Park, D. H. Won, J. P. Hwang and S. B. Han, Cellular Protective Effects of Dehydroeffusol Isolated from *Juncus effusus* L. and the Mechanisms underlying These Effects, *J. Ind. Eng. Chem.*, **20**(5), 3046 (2014).
 13. J. E. Kim, H. J. Lee, M. S. Lim, M. A. Park, and S. N. Park, Cellular Protective Effect and Liposome Formulation for Enhanced Transdermal Delivery of *Priscaria hydropiper* L. extract, *J. Soc. Cosmet. Scientists Korea*, **38**(1), 15 (2012).
 14. S. Jeon, C. Y. Yoo, and S. N. Park, Improved Stability and Skin Permeability of Sodium Hyaluronate-chitosan Multilayered Liposomes by Layer-by-Layer Electrostatic Deposition for Quercetin Delivery, *Colloids Surf. B Biointerfaces*, **129**, 7 (2015).
 15. D. Xia, Z. Fangshi, Y. Yun, and L. Min, Purification, Antitumor Activity *in vitro* of Steroidal Glycoalkaloids from Black Nightshade (*Solanum nigrum* L.), *Food chemistry*, **141**, 1181 (2013).
 16. X. Zhao, X. He, G. Wang, H. Gao, G. Zhou, W. Ye, and X. Yao, Steroidal Saponins from *Solanum nigrum*, *J. Nat. Prod.*, **69**, 1158 (2006).
 17. A. E. Elsadig, S. A. Alia, and G. R. James., Changes in The Steroidal Alkaloid Solasodine during Development of *Solanum nigrum* and *Solanum incanum*, *Phytochemistry*, **46**, 489. (1997).
 18. T. Ikeda, H. Tsumagari, and T. Nohara, Steroidal Oligoglycosides from *Solanum nigrum*, *Chem. Pharm. Bull. (Tokyo)*, **48**, 1062 (2000).
 19. M. Sikdar and U. Dutta, Traditional Phytotherapy among The Nath People of Assam, *Ethno-Med.*, **2**(1) 39 (2008).
 20. R. Jain, A. Sharma, S. Gupta, J. P. Sarethy, and R. Gabrani, *Solanum nigrum*: Current Perspectives on Therapeutic Properties., *Altern Med Rev.*, **16**(1), 78 (2011).
 21. D. Glossman-Mitnik, CHIH-DFT Determination of The Molecular Structure and Infrared and Ultraviolet Spectra of Gamma-solanine, *Spectrochim. Acta. A Mol. Biomol. Spectrosc.*, **66**, 208 (2007).
 22. U. S. Akula and B. Odhav, *In Vitro* 5-Lipoxygenase Inhibition of Polyphenolic Antioxidants from Undomesticated Plants of South Africa, *J. Med. Plants Res.*, **2**(9), 207 (2008).
 23. K.S. Heo and K.T. Lim, Antioxidative Effects of Glycoprotein Isolated from *Solanum nigrum* L., **7**(3), 349 (2004).