

영경취속(*Cirsium japonicum*) 자생식물을 이용한 정신건강 기능성 식품소재 개발

Development of functional food product improving mental health using Korean *Cirsium japonicum* wild plants

주관연구기관	덕성여자대학교
연구책임자	김건희
발행년월	2013-02
주관부처	농촌진흥청
사업관리기관	농촌진흥청
NDSL URL	http://www.ndsl.kr/ndsl/search/detail/report/reportSearchResultDetail.do?cn=TRKO201300014287
IP/ID	14.49.138.138
이용시간	2017/11/03 17:32:42

저작권 안내

- ① NDSL에서 제공하는 모든 저작물의 저작권은 원저작자에게 있으며, KISTI는 복제/배포/전송권을 확보하고 있습니다.
- ② NDSL에서 제공하는 콘텐츠를 상업적 및 기타 영리목적으로 복제/배포/전송할 경우 사전에 KISTI의 허락을 받아야 합니다.
- ③ NDSL에서 제공하는 콘텐츠를 보도, 비평, 교육, 연구 등을 위하여 정당한 범위 안에서 공정한 관행에 합치되게 인용할 수 있습니다.
- ④ NDSL에서 제공하는 콘텐츠를 무단 복제, 전송, 배포 기타 저작권법에 위반되는 방법으로 이용할 경우 저작권법 제136조에 따라 5년 이하의 징역 또는 5천만 원 이하의 벌금에 처해질 수 있습니다.

완결과제 최종보고서

일반과제(), 보안과제(✓)

(과제번호 : PJ008192)

엉겅퀴속(*Cirsium japonicum*) 자생식물을 이용한 정신건강
기능성 식품소재 개발

Development of functional food product improving
mental health using Korean *Cirsium japonicum* wild plants

덕성여자대학교

농촌진흥청

제 출 문

농촌진흥청 장 귀하

본 보고서를 “영경귀속(*Cirsium japonicum*) 자생식물을 이용한 정신건강 기능성 식품소재 개발에 관한 연구”과제의 보고서로 제출합니다.

연구수행기간 : 2011. 5. 1. ~ 2012. 12. 31.

제1세부연구과제 : 영경귀식물자원의 기능성분탐색 및 표준화 연구

제1협동연구과제 : 영경귀추출물을 이용한 스트레스성 정서장애 효능연구

제2협동연구과제 : 영경귀추출물의 제조공정 및 제품개발 연구

2013. 2. 25

주관연구기관명	: 덕성여자대학교
주관연구책임자	: 김 건 희
제1세부연구기관명	: 덕성여자대학교
제1세부연구책임자	: 김 건 희
제1협동연구기관명	: 삼육대학교
제1협동연구책임자	: 정 재 훈
제2협동연구기관명	: CJ제일제당(주)
제2협동연구책임자	: 홍 은 영

주관연구책임자 : 김 건 희

주관연구기관장 : 덕성여자대학교산학협력단장



요 약 문

I. 제 목

- 엉겅퀴속(*Cirsium japonicum*) 자생식물을 이용한 정신건강 기능성 식품소재 개발

II. 연구개발의 목적 및 필요성

□ 엉겅퀴속(*Cirsium japonicum*)은 국화과(Compositae)에 속하는 다년생 초본으로 우리나라의 전국 산야에서 자생함. 엉겅퀴속 식물이 민간요법에 쓰이고는 있지만 생리활성에 대한 과학적 근거를 바탕으로 약리효능에 대한 산업적 측면에서의 연구 및 적용은 미흡한 실정임

□ 최근 건강지향 문화 확산에 따라 건강기능식품은 세계적으로 높은 관심을 보이며, 지속적인 성장세를 보이고 있음. 따라서, 글로벌시장에서 경쟁력 있는 새로운 건강기능소재 및 식품 개발의 필요성이 증가되고 있음

□ 국내 시장현황을 살펴보면 2009년 건강기능식품 제조업체는 총 385개소이며, 총 판매액은 9,598억원으로 전년에 비해 약 19% 증가를 보이고 있음. 하지만, 건강기능식품에 대한 높은 기대감과 일부 제조사들의 과대, 과장광고로 인한 소비자들의 불신감도 상존하고 있기 때문에 더욱 많은 과학적 연구개발을 통한 국내 건강기능식품 산업의 활성화가 필요함

□ 건강기능식품의 총 수입현황을 보면 약 2억9백만 달러로서 국내 총 매출액 대비 약 25% 수준으로 과거에 비해 낮아지기는 했지만, 아직도 높은 수준이며 이들 제품을 대체하고 세계시장에서 경쟁할 수 있는 1등 건강기능식품의 개발과 판매가 이루어져야 함. 특히, 국내산 자생식물들에 잠재되어 있는 기능성의 개발 및 제품화를 통한 산업적 발전뿐만 아니라 농업의 고부가가치 산업 창출이라는 측면에서 시너지 효과를 나타낼 것으로 판단됨

□ 향후 예상되는 산업 및 소비자의 트렌드는 의료비용이 계속 증가되는 것과 관련하여 식품을 통한 사전예방의 중요성이 높아지고, 신체적 건강뿐만 아니라 정신적 건강에 대한 관심이 증가되고 있음. 현대인들은 정신적·육체적 건강을 위협하는 대표

적인 요인으로 스트레스가 가장 관련이 높을 것으로 판단하고 있음. 불안, 수면장애, 기분 저하 및 우울증은 현대인의 정서장애의 대부분을 차지하고 있으며 이들의 경우, 직접적인 치료비용뿐만 아니라 간접비용 또한 매우 크기 때문에 사회·문화적으로 큰 부담이 되고 있기 때문에 점차 세계 사회의 주요 도전과제가 되고 있음

□ 특히, 정서장애 중 하나인 우울증은 의욕저하, 집중력 저하, 무기력, 피로감, 불안, 우울한 기분, 불면증, 식욕저하 따위의 정신적·신체적 증상이 동반되어 나타나고, 기본적인 일상 기능 저하를 유발할 뿐만 아니라 지속적인 자살률의 증가와도 상관관계가 높은 것으로 확인됨. 세계보건기구(WHO)에서는 우울증을 2020년 인류를 괴롭힐 3대 질병의 하나로 선정한 바 있으며, 우리나라의 경우도 그 수가 증가하면서 이미 심각한 사회 병리적 문제로 대두되고 있음

□ 정서장애의 유병률은 바로 사회적 의료비용의 증가로 이어지는데, 우리나라의 우울증, 자살 및 치매로 인한 비용은 연간 약 10조원 규모로 추정됨. 우울증 개선에 대한 다양한 약물요법으로 삼환계항우울제(TCA), 모노아민의 분해를 억제하는 모노아민 산화효소억제제(MOAI), 및 세로토닌재섭취억제제(SSRI) 등이 사용되고 있으나, 심각한 부작용으로 인한 장기간 섭취가 어렵기 때문에 이를 해결할 수 있는 대체 천연물 소재 개발에 많은 노력과 투자가 필요함. 또한 우울과 같은 정서 장애 증상들은 초기에 개선하는 것이 가장 중요하며 재발이 높기 때문에 이에 대한 지속적인 관리 및 사전예방을 위한 건강기능식품을 개발이 절실히 필요한 상황임

□ 국내 대부분의 업체는 정신건강과 관련된 bio-marker의 정립과 평가 기술이 미비하여 관련 기술의 확립이 요구되고 있고, 정서장애 등과 관련된 증상을 개선시켜 정상적인 사회생활을 영위할 수 있도록 과학적이고 체계적인 방법을 모색하는 것이 매우 시급하나 전문의약품은 제외하고 일반 국민이 부작용이 낮으면서 쉽게 접근할 수 있는 일반의약품 내지 건강기능식품 또는 일반식품은 아직 미흡한 실정임

□ 특히, 만병의 근원이라고 할 수 있는 스트레스에 대처할 수 있는 스트레스 완화제나 정신건강 개선 관련 시장이 급속히 증가할 것으로 판단되나, 아직 국내에서는 이 분야의 시장이 형성되어 있다고 보기 어려워 본 연구의 필요성이 있음

□ 따라서, 본 연구에서는 국내에서 자생하는 약 11종의 엉겅퀴속 식물 중 선행 연구를 통해 효능을 확인한 엉겅퀴를 대상으로 부작용이 없는 천연물 유래의 정서장애 개선을 위한 新건강기능식품 개발을 진행하고자 함. 유효한 제품 개발을 통하여, 국민보건 증진에 기여하고 나아가 농업의 소득증가 및 관련 식품산업의 발전을 도모하고자함

Ⅲ. 연구개발의 내용 및 범위

- ☐ 영정귀식물의 원물 수급 및 식물전문가 검증을 통한 종자 확보
 - 국가식물원의 식물분류전문가의 자문 및 검증 활용
- ☐ 영정귀 식물자원의 원물 관리 방안 구축 및 규격화
 - 재배지역의 국가농업담당기관 및 관련 업체와의 협업
- ☐ 지표(기능)성분의 정량분석 시험방법에 관한 검증 및 지표성분의 기능성 탐색
 - 항산화 활성 및 신경세포보호효과 측정
- ☐ 영정귀추출물 산업적 제조공정 표준화 및 대량생산 기술 개발
 - 건강기능식품 소재생산의 경우 GMP(Good Manufacturing Practice)기관에서 생산하여 하므로 제조가능 업체를 탐색하고 시생산 진행
- ☐ 영정귀추출물과 지표성분의 기능성 상관관계 in vitro 연구를 통한 기능성분 확인
 - 혈중 corticosterone 측정, CI의 세포내 이동 검색 시험, Norepinephrine Reuptake에 대한 효능 평가 등
- ☐ 영정귀추출물의 정서장애효능에 대한 추가 mechanism 연구
 - Corticotropin, glucocorticoid, adrenaline 또는 산화적스트레스 자극에 의한 cell line에서의 활성 검증
- ☐ 영정귀추출물과 지표성분의 기능성 상관관계 in vivo 연구를 통한 기능성분 확인
 - 일반 운동 활성(Locomoter activity), Rota-rod test, Wire test, Elevated plus maze test (EPM) test, Chronic mild stress (CMS) test 등의 행동실험 진행
- ☐ 표준화된 영정귀추출물을 대상으로 정서장애 in vivo 연구 수행으로 기능성에 대한 재현성 확인 및 섭취량설정 연구
 - 스트레스 부과 및 행동학적 평가에서 재확인되어야 하는 in vivo 연구 수행
 - Locomoter activity, Rota-rod test, Wire test, EPM test, CMS test 등의 행동 실험 진행, 뇌전도도(EEG) 측정 등 수행 등
- ☐ 기능성소재의 제품화를 위한 제형 검토 및 시생산
 - 상품화 가능한 제형의 screening 및 prototype 개발
 - 마케팅 및 소비자 조사를 통한 최적의 제형 선정

IV. 연구개발결과

□ 엉겅퀴 원물확보를 위하여 재배지역을 탐색하고 일정한 소재생산을 위하여 원물의 규격화 연구를 수행함. 특히, 수확 후 신속한 전처리과정(절단, 세척, 건조 기준) 확립 및 효율적인 추출을 위한 분쇄기준을 설정함

□ 지역별 엉겅퀴의 비교연구를 위하여, 에탄올추출물을 제조하고 이에 대한 항산화 활성(DPPH, ABTS 라디칼 소거활성 측정 및 FRAP, reducing power 측정)을 측정한 결과, 추출물 농도 및 채집 지역에 따른 차이를 확인함

□ 엉겅퀴추출물에 다량 함유되어 있는 지표성분을 탐색하고 분리하여, 최종 2가지 성분(linarin 및 pectolinarin)을 선정하고 이를 품질지표로 설정함

□ 중심합성계획 및 반응표면분석법에 의해 Pilot 추출조건 범위 연구를 수행하였으며, 이를 바탕으로 설정된 추출조건(60~80%주정, 3~4시간, 60~80℃)을 Scale-up test를 수행하여 대량생산 조건을 80~120% 수준에서 확립함

□ Locomotor activity와 Rota-rod test를 통해 엉겅퀴추출물이 일반 운동 활성에 미치는 영향을 확인한 결과, 유의성 있는 변화를 유발하지 않았으며 일부 포천 및 예산지역 엉겅퀴추출물은 일반운동 활성을 증가시키는 경향을 나타냄

□ Forced swimming test로 우울의 정도를 평가한 결과, 평창, 제주, 예산 엉겅퀴추출물 투여시 수영시간을 유의성 있게 증가시켜 항우울 효과가 있음을 확인하였으며, 특히 제주와 예산지역의 엉겅퀴추출물은 농도의존적으로 유의성 있는 항우울 효과를 나타내는 것을 확인함

□ Mild stress를 유발한 후 엉겅퀴추출물을 섭취시킨 결과, 항스트레스 효과를 확인함. 항스트레스 효과는 2주간 스트레스를 부과한 후 표준화된 엉겅퀴추출물 단회 투여, 3주간 스트레스를 주면서 엉겅퀴추출물을 7일 투여, 그리고 4주간의 스트레스가 주어지고 엉겅퀴추출물은 14일간 투여한 후 일반운동활성, Rota-rod test, Elevated plus maze test, 강제수영시험 등을 통해 기능성을 확인한 결과, 표준화된 엉겅퀴추출물이 스트레스에 의한 정서장애를 개선하는 효과가 있음을 확인함

□ 중추신경계 약리 효능 in vitro 검색 방법인 NE reuptake와 Cl^- influx를 확인한 결과, 엉겅퀴추출물은 NE reuptake에 변화를 유발하지 않았으나 Cl^- influx를 증가시킴. 고흥 엉겅퀴를 제외한 제주, 포천, 평창 및 예산의 엉겅퀴추출물이 모두 Cl^-

influx를 증가시켰으며, 예산 엉겅퀴 에탄올 추출물이 Cl^- influx를 가장 크게 증가시킬뿐만 아니라, 예산 엉겅퀴 에탄올 추출물에 의한 Cl^- influx가 GABA antagonist인 bicuculline에 의해 차단되는 것을 확인함

□ 산화적 손상을 입은 신경세포(PC12 cell)에 엉겅퀴추출물을 처리하여 신경세포 보호효과를 확인한 결과, 모든 지역 엉겅퀴추출물이 신경세포보호효과에 효과적이었으며, 특히 강원 및 경기지역의 엉겅퀴가 신경세포에 유의적인 효과를 나타냄

□ 정신건강에 대한 국내 소비자들의 인식 및 니즈분석을 위한 소비자 조사연구를 수행한 결과, 정신피로에 대해 느끼는 자각강도가 진단결과보다 높은 것으로 나타났으며 제품 concept이 긍정적으로 정신건강을 유지할 수 있는 방향으로 설정되어야 할 것으로 판단함. 특히 국내소재에 대한 Story telling을 구축하여 보다 경쟁력 있는 제품개발이 중요한 영역임을 확인하고 추진하고자 함

V. 연구개발결과의 활용계획

□ 스트레스성 정서장애 개선에 관한 건강기능식품 개발

: Target은 과도한 스트레스로 인한 정서장애로 시달리고 있는 학생 및 취업준비자, 시험 등으로 긴장의 해소가 필요한 자, 갱년기 장애의 일부분인 우울증에 시달리고 있는 중년 여성들, 무리한 회사 생활로 인한 극도의 스트레스 상황에 직면하여 불면에 시달리는 중년 남성들임

□ 식약청에서 공식 인정받은 건강기능식품 개발을 통한 관련 산업의 경쟁력

□ 국내외 특허 및 우수 논문 발표를 통한 관련 지적 재산권 확보

□ 산학 공동연구를 통하여 과학적 근거가 확고하게 제시된 기능성 원료로 국가 경쟁력을 확보하여 Global market으로 진출

S U M M A R Y

(영 문 요 약 문)

○ Title : Development of functional food product improving mental health using Korean *Cirsium japonicum* wild plants

Cirsium species grow widely in Asian and Western countries and are used as medicinal plants all over the world. In particular, *Cirsium japonicum* is known as a traditional folk remedy source in Asian countries including Korea. The bioactive phenolic compounds of *Cirsium japonicum* are known apigenin, cirsimaritin, kaempferol, chlorogenic acid, linarin, luteolin, pectolinarin, and quercetin. Among them, chlorogenic acid, linarin and pectolinarin are established index component. The objectives of this study were to investigate the optimum processing condition, to establish the applications as nutraceutical materials and to study the biological activities psychopharmacological activities. *Cirsium japonicum* is cultivated Chungnam for mass production and Standardization.

For utilisation as health functional food, the antioxidant and neuronal cell protective activities of *Cirsium japonicum* extract and its bioactive components (chlorogenic acid, linarin and pectolinarin) investigated. The results of four antioxidant assays (via azinobisethyl-benzothiazoline-6-sulphonic acid radical scavenging (ABTS), diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH), ferric reducing antioxidant power (FRAP) and reducing power assay) showed that activities increased in a dose-dependent manner. The protective effect against H₂O₂-induced oxidative damage on PC12 cell was investigated by measuring cell viability via 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyl tetrazolium bromide (MTT). The extract of *C. japonicum* and its three substances (chlorogenic acid, linarin and pectolinarin) also presented protective effects against H₂O₂-induced neuro toxicity in a dose-dependent manner. Therefore, our study verified that *Cirsium japonicum* extract, chlorogenic acid, linarin and pectolinarin have strong antioxidant and neuronal protective effects.

In order to look for the optimal hebal preparation, *Cirsium japonicum* extracts collected from Koheung, Yesan, Cheju, Pyungchang and Pocheon were compared. The psychopharmacological activities of each extract were investigated using the open field test, the rota-rod test and the forced swimming test. Effect of each extract on Cl^- influx in neuroblastoma cells were also identified. All of the extracts were orally administered at dosages of 50, 100, 200, 400 mg/kg of body weight. Supplementation of *Cirsium japonicum* did not significantly alter psychomotor behaviors such as movement, rearing frequency and total turn angle on the open field. Supplementation of *Cirsium japonicum* extract from Pyungchang (100 mg/kg, p.o.), Cheju (200 and 400 mg/kg p.o.) and Yesan (100 and 200 mg/kg, p.o.) significantly decreased immobile duration and increased mobile duration in the forced swimming test. All of extracts have no influence on NE uptake in HEK-293 cells, but increased Cl^- influx in neuroblastoma cell. The extract from Yesan demonstrated the most potent effect on Cl^- influx. These results indicate that *Cirsium japonicum* extracts from Pyungchang, Cheju and Yesan may alleviate depression, and the extract from Yesan may be the most effective preparation.

Our results indicate that *Cirsium japonicum* could be effective plant materials in premenstrual syndrome and excellent plant materials for the food industry as effective and safe functional food substances.

목 차

제 1 장 서 론	1
제 2 장 국내외 기술개발 현황	4
제 3 장 연구개발수행 내용 및 결과	8
제 4 장 연구개발목표 달성도 및 대외기여도	42
1절 목표대비 대외 달성도	42
2절 정량적 성과	44
제 5 장 연구개발결과의 활용계획	45
제 6 장 연구개발과정에서 수집한 해외과학기술정보	46
제 7 장 기타 중요 변동사항	46
제 8 장 국가과학기술종합정보시스템에 등록된 연구장비 현황	46
제 9 장 참고문헌	47

제1장 서론

제1절 연구개발의 목적

무한경쟁시대에 점차 스트레스 및 이와 관련된 다양한 정신건강(Mental Health) 문제가 나타나고, 그 심각성에 대한 인식의 공감대가 형성되면서 이를 해결하고자 하는 사회적 관심과 노력이 증가하고 있다. 하지만, 원천적으로 정신문제가 발생시 치료에 대한 대중의 부정적인 인식과 전문의약품의 부작용 사례들로 인한 국내 정신건강시장은 아직 대중화되지 못하고 있고 그 심각성은 점차 증가되어가고 있어 이를 해결하기 위한 대안이 시급한 상황이다. 따라서, 국내산 약용식물인 영경귀(*Crisium japonicum*)를 이용한 신체적 건강뿐만 아니라 정신적 건강을 위한 부작용이 없는 천연물 유래 정신건강 식품을 개발하고, 식품 섭취를 통해 정신건강을 증진시키고자 하는 소비자니즈에 부합하는 新건강식품시장을 개척하여 건강식품산업 및 농가의 소득증대 뿐만 아니라 국민 정신보건증진에도 기여하고자 한다.

제2절 연구개발의 필요성

건강지향 문화 확산에 따라 건강기능식품은 세계적으로 높은 관심을 보이며, 지속적인 성장세를 보이고 있다. 건강기능식품의 세계시장규모는 2008년 약 2697억 달러로 추정되며, 2002년 이후로 연평균 8.3%의 성장을 보이고 있는데, 이는 건강기능식품은 일반식품과는 달리 고부가가치 식품으로서 국내·외 식품업계에서 높은 관심 품목이기 때문이다. 특히, 국내 시장현황을 살펴보면 2009년 건강기능식품 제조업체는 총 385개 소이며, 총 판매액은 9,598억원으로 전년에 비해 약 19% 증가를 나타내고 있다. 고시형보다는 개별인정형 건강기능식품 제품들이 비교적 높은 매출을 나타내고 있으며, 이에 대한 선호도는 지속적으로 증가 될 것으로 전망된다(표 1).

표 1. 건강기능식품 생산실적 현황 (2006~2009)

연 도	총 판매액 (억원)	내 수 용		수 출 용	
		판매액(억원)	판매량(톤)	판매액(억원)	판매량(톤)
2006	7,008	6,637	10,933	371	667
2007	7,235	6,888	10,239	346	339
2008	8,031	7,516	12,990	514	697
2009	9,598	9,184	19,293	415	592
2009성장률	△ 19.5	△ 22.2	△ 48.5	▽ 19.3	▽ 15.1

* 출처: 식품의약품안전청

하지만, 건강기능식품에 대한 높은 기대감으로 인한 일부 제조사들의 과대, 과장광고가 증가하고 이에 대한 소비자들의 불신감도 상존하고 있기 때문에 보다 많은 과학적 연구개발을 바탕으로 경쟁력 있는 건강기능식품 산업의 활성화가 필요한 상황이다.

최근, 신체적 건강뿐만 아니라 정신적 건강에 대한 관심이 증가되고 있고, 약물이 아닌 식품섭취를 통한 사전예방에 대한 소비자 니즈가 표출되고 있으며 이는 지속적인 증가 추세를 나타낼 것이라는 것이라고 관련 업계는 전망하고 있다. 현대인들은 정신적·육체적 건강을 위협하는 대표적인 요인으로 스트레스가 가장 관련이 높을 것으로 나타나고 있으며 특히 불안, 수면장애, 기분 저하 및 우울증은 현대인의 정서장애의 대부분을 차지하고 있으며 이들의 경우, 직접적인 치료비용뿐만 아니라 간접비용 또한 매우 크기 때문에 사회·문화적으로 큰 부담이 되고 있기 때문에 점차 세계 사회의 주요 도전과제가 되고 있다. 정서장애의 유병률은 바로 사회적 의료비용의 증가로 이어지는데, 우리나라의 우울증, 자살 및 치매로 인한 비용은 연간 약 10조원 규모로 추정된다(표 2).

표 2. 우울증, 자살 및 치매로 인한 국내 사회적 비용 현황 (국립서울병원, 2006)

구분	우울증	자살	치매
사회적 비용	3조 856억 원	2조 153억 원	4조 4,000억 원

정서장애 중 하나인 우울증은 의욕저하, 집중력 저하, 무기력, 피로감, 불안, 우울한 기분, 불면증, 식욕저하 따위의 정신적·신체적 증상이 동반되어 나타나고, 기본적인 일상 기능 저하를 유발할 뿐만 아니라 지속적인 자살률의 증가와도 상관관계가 높은 것으로 확인되었다. 세계보건기구(WHO)에서는 우울증을 2020년 인류를 괴롭힐 3대 질병의 하나로 선정한 바 있으며, 우리나라의 경우도 그 수가 증가하면서 이미 심각한 사회 병리적 문제로 대두되고 있다.

우울증 개선에 대한 다양한 약물요법으로 삼환계 항우울제(TCA), 모노아민의 분해를 억제하는 모노아민 산화효소 억제제(MOAI), 및 세로토닌재섭취억제제(SSRI) 등이 사용되고 있으나, 다양한 부작용으로 인한 장기간 섭취가 어렵기 때문에 이를 해결할 수 있는 대체 천연물소재 개발에 많은 노력과 투자가 필요한 상황이다. 또한 우울과 같은 정서 장애 증상들은 초기에 개선하는 것이 가장 중요하며 재발이 높기 때문에 이에 대한 지속적인 관리 및 사전예방을 위해 지속적으로 섭취 가능한 건강기능식품의 개발이 절실히 필요한 상황이다.

하지만 현재까지, 국내에서는 정신건강과 관련된 bio-marker의 정립과 평가 기술이 미비하여 관련 기술의 확립이 요구되고 있고, 정서장애 등과 관련된 증상을 개선시켜 정상적인 사회생활을 영위할 수 있도록 과학적이고 체계적인 방법을 모색하는 것이 매우 시급하나 전문의약품은 제외하고 일반 국민이 부작용이 낮으면서 쉽게 접근할 수 있는 건강기능식품 또는 일반식품은 아직 미흡한 실정이다. 특히, 만병의 근원이라고 할 수 있는 스트레스에 대처할 수 있는 스트레스 완화제나 정신건강 개선 관련 시장이 급속히 증가할 것으로 판단되나, 아직 국내에서는 이 분야의 시장이 형성되어 있다고 보기 어려운 실정이다.

따라서, 국내산 식물자원 중 선행연구에서 일부 정신건강소재로의 가능성을 확인한 영경귀속(*Crisium japonicum*) 식물자원을 대상으로 보다 심화연구를 진행하고 산업화가 가능성에 대한 평가를 진행해보고자 한다. 영경귀는 국화과(Composite)에 속하는 다년생 초본으로 우리나라의 전국 산야에 자생하는 것으로 알려져 있으며, 민간에서는 봄철 어린 잎과 줄기를 나물이나 국의 재료로 이용하였고, 여름 및 가을철에는 전초(全草)를 채취하여 건조한 후 약용으로 이용한 것으로 본초서에 기록되어 있으나, 정신건강관련 과학적 근거는 미흡한 상황이므로 이에 대한 연구를 수행하고자 한다.

국내 건강식품시장이 성장기를 거쳐 성숙기로 전환되는 시점에 도달했다고 전문가들은 예측하고 있고 고속화, 고령화 사회가 가속화되면서 정신건강에 대한 수요층이 두터워지고 있기 때문에 국내에서도 정신건강 증진식품 시장이 크게 성장할 것으로 전망되고 있으며, 소비자니즈에 대한 검증도 확인되고 있다. 이러한 상황에 빠르게 대응하기 위해 국내 자생식물인 영경귀(*Crisium japonicum*)의 정신건강개선 기능성을 확인하고 제품화 가능성을 확인해보고자 한다.

제2장 국내외 기술개발 현황

제1절 국내 기술개발 현황

국내 정신건강 분야 R&D는 신체건강에 비해 상대적으로 등한시 되어 왔으나, 근래에 들어 식품에 함유되어 있는 생리활성물질이 뇌기능 및 정신건강에 영향을 미친다는 과학적인 연구결과가 많이 보고됨에 따라 식품 R&D 분야에서 정신건강 증진 기능성 식품에 대한 연구개발이 활성화되고 있다. 사회가 복잡해지고 누구나 다양한 스트레스의 영향 아래 생활하게 되기 때문에, 이러한 스트레스가 우울증 등과 같은 정서 장애를 야기하는 것으로 보고되어 있어서 스트레스성 정서 장애 개선을 위한 기능성 식품 소재 개발 분야가 향후 건강기능식품 카테고리에서 유망 분야로 자리매김할 것으로 예측된다.

현재 정서장애를 대표하는 건강기능식품의 시장은 스트레스 해소 시장으로 표면적으로 나타나고 있으며, 심리적·신체적 긴장 상태로 인한 불면증, 노이로제(불안장애), 우울증 등을 느끼는 소비자들이 스트레스 해소 제품들을 구매하는 것으로 파악되고 있다. 2008년 이후로 국내에서 정서장애에 대한 기능성 소재로 인정받고 제품은 출시되었으나 스트레스와 관련된 광범위한 소비자 커뮤니케이션 언어를 사용함으로써 그 매출은 미비한 실정이며, 소비자는 좀 더 구체적이고 과학적인 기능을 요구하고 있어 국내 소비자들의 unmet needs를 충족시켜 줄 수 있는 구체적이며 과학적인 원료를 개발할 필요가 있다.

점차 건강기능식품의 제형이 일반식품형태를 선호하는 추세를 반영하여 발굴 기능성 소재들의 생체이용률을 극대화 검증 및 다양한 식품 매트릭스에서의 이용률을 확인하는 연구의 수행도 필수적일 것으로 예측된다. 또한, 수입제품의 도입보다는 국내산 자생식물자원 중 스트레스성 정서장애(우울증 등)에 효과적인 소재를 발굴하고 新기능성 검증으로, 국내 고유 브랜드의 가치 창출에 의한 세계시장 확보를 위한 초석을 마련하고 글로벌한 시장개척이 필요한 시점이다.

천연식물자원에 존재하는 식물화학성분의 탐색뿐만 아니라 기능적 측면이 중요하게 부각되면서, 약물이 아닌 생리활성 성분이 함유되어 있는 건강기능식품의 섭취로 특정 질병의 발생을 예방하거나, 개선시키는 방안의 욕구가 증대되면서 이에 대한 제품 개발 연구가 가속화되고 있다. 특히, 국내산 자생식물자원에 대한 연구가 활발해지면서 함유되어 있는 생리활성물질 및 기존에 연구되지 않았던 新기능성에 대한 검증 및 제품개발에 대한 니즈가 소비자 및 산업체측면 모두에서 높은 관심으로 나타나고 있다.

영정귀속 식물에는 정유와 triterpene 화합물이 주로 함유되어 있는데, 정유로서 aplotaxene, dihydroaplotaxene, tetrahydroaplotaxene, cyperene, caryophyllene, α -himachalene 등이 분리되어 있고, triterpene 화합물로서 α -및 β -amyrin 등이 확인되었으며, 최근에 polyacetylene 화합물이 분리되었다. 그 외에 확인된 화합물로서 flavonoids, phenolic acids, lignans, poly-acetylenes, acetylenes, sterols, sesquiterpene lactones, 그리고 alkaloids가 있으며 이들이 여러 가지 생리활성에 관련됨. 특히, 자생하는 영정귀(그림 1)에서는 항산화에 관련되는 다양한 flavonoid가 상당량 포함되어 있음이 보고되고 있으며, 본 연구팀의 선행연구를 통하여 본 연구팀의 수행연구결과에서 영정귀추출물이 항 스트레스 효능이 있음을 확인하였고, 이와 연관된 정서 장애 개선 효능도 일부 확인하였다.



그림1. 영정귀(*Cirsium japonicum*)

제2절 국외 기술개발 현황

국가별로 건강기능식품에 대한 개념과 분위기 차이는 있으나, 건강기능식품에 대한 관심과 성장은 지속 될 것으로 예상되므로, 우리나라도 이에 대한 투자와 지원 노력이 필요하다. 미국 및 유럽의 경우 세계에서 가장 큰 시장을 형성하고 있으며, 영양과 기능성 식품에 대한 인식 및 지식이 높은 수준으로 섭취기간도 상대적으로 긴 편에 속하며, 건강을 지키기 위한 예방차원의 섭취라는 인식이 강하게 자리 잡고 있다. 비타민, 무기질 관련 품목이 주를 이루고 있으며 2009년에는 오메가3, 코엔자임 Q10의 성장이 특색을 보이고 있으며 아직 정신건강관련 issue의 강도는 아시아지역에 비하여 크지 않은 것으로 판단되고 있다.

일본의 경우는 초고령화 사회의 도래로 신체적 건강에 대한 관심 역시 지속적으로 높아지고 있으며, 이로 인한 건강기능식품의 소비자 1인당 지출비용은 전 세계적으로

가장 높은 것이 현실이다. 또한 최근 잦은 지진 및 쓰나미 등으로 인한 자연재해로 정신적인 피로도가 굉장히 높아진 상황이며 이에 대한 해결방안을 강구하고 있는 상황이다. 중국의 경우는 건강과 웰빙에 대한 의식개선과 확대 그리고 소득증가로 인해 건강기능식품의 성장세를 지속하고 있으며, 단일 비타민 종류인 C, E, B가 성장세를 보이며 프로바이오틱스, 은행잎추출물 등과 같은 건강기능식품 시장의 성장도 눈에 띄게 증가하는 것이 특징이다.

특히 아시아지역의 경우 문화적인 영향으로 서양에 비하여 감정표출에 대한 자유도가 떨어지고, 고속성장하는 과정에서 많은 정신적 문제가 발생하는 것으로 확인되었다. 실제로 관련 식품산업박람회에 참관하여 분석하여 보면 크게 두시장의 트렌드 차이를 발견할 수 있었다. 하지만 이는 시간적 차이이지 정신건강의 issue은 전 세계적으로 관심의 대상임을 어렵지 않게 확인 할 수 있었다.

전 세계적인 건강기능식품의 제품 출시율에 따라 건강기능식품 트렌드를 살펴보았을 때, 건강기능식품 트렌드는 3가지 주요 sector로 나누어지며, Mood/Mental Health management (정신건강 개선에 관한 기능성 식품)가 한 축으로 성장하고 있음을 알 수 있다(그림 2).



그림 2. 세계 건강기능식품 출시의 3대 트렌드

(출처; Datamonitor Analysis, dietary supplement market trend & opportunities, April 29, 2009)

천연식물자원에 존재하는 식물화학성분의 탐색뿐만 아니라 기능적 측면이 중요하게 부각되면서, 약물이 아닌 생리활성 성분이 함유되어 있는 건강기능식품의 섭취로 특정 질병의 발생을 예방하거나, 개선시키는 방안의 욕구가 증대되면서 이에 대한 제품 개발 연구가 가속화되고 있다.

영정귀속 식물의 약리작용은 국내·외에서 오랫동안 민방에서 사용하였고, 그 약리성분(pertolirarin, acacetin, rhamnoglicoside, ciryneol A, A, C, D, E, heptadecene 성분 등 함유)에 대한 보고와 다양한 flavonoids에 대한 연구가 보고 되고 있으나, 주로 영정귀 뿌리에 국한하여 연구를 진행되어 왔다. 일본에서는 건조 영정귀뿌리를 사용하여 신경통 및 류마티즘에 유효한 crude drug인 "Wazokudan"이 개발 되었다. 하지만, 본 연구팀에서 관심을 가지고 개발하고자 하는 한국산 영정귀(*Cirsium japonicum*) 전초를 대상으로 연구된 결과는 매우 미흡한 실정이다.

따라서, 본 연구에서는 세계적인 동향을 반영하여 정신건강 유지 및 개선을 위한 국내산 영정귀식물을 이용한 기능성 소재를 개발하여 국내시장뿐만 아니라, Global market 선점을 위한 경쟁력 있는 연구를 수행하고자 한다.

제3장 연구개발수행 내용 및 결과

제1절 엉겅퀴 규격화 연구

1. 엉겅퀴 재배현황

일반적으로 엉겅퀴는 전국에 자생하는 것을 채취하여 이용하고 있고, 재배화에 성공한 농가가 거의 없었기 때문에 예측 불가능한 원물수급 및 가격변동은 대량생산 및 산업화의 굉장한 장애가 되었으며, 이 문제를 해결하기 위해서 다양한 방향에서의 연구가 필요하였다. 일반적으로 지금까지 진행되는 건강기능식품관련 연구들의 경우, 대부분 기능성 연구 결과도출에만 집중하여 진행되어 왔다. 하지만 이렇게 연구된 우수한 소재들이 산업화 및 제품화가 되지 못한 가장 큰 이유는 원물의 경쟁력이 확보되지 못하였기 때문이다. 따라서, 대량생산을 위한 엉겅퀴 원물확보를 위하여 재배지역을 탐색하고 일정한 소재생산을 위하여 원물의 규격화 연구를 수행하였다.

2. 엉겅퀴 원료수급 및 전처리

지역별로 자생하고 있는 엉겅퀴를 수급하여 1차적으로 원물의 전처리 방법을 연구하였으며, 원물의 원가 절감측면을 고려하여 설정하였다. 식물분류전문가의 검증을 통해 총 5지역(강원, 경기, 충남, 전남, 제주지역)의 엉겅퀴 원물을 확보하였으며(그림 3), 재배지역을 전략구매팀과 계속적으로 탐색한 결과, 충남지역에 재배화에 성공한 농가를 확보하여 원물의 규격화 연구를 협력하여 수행하였다(그림 4).



그림 3. 엉겅퀴 지역별 원료수급 현황 및 전처리 과정



그림 4. 영정귀재배현장

영정귀의 경우 선행연구에서 뿌리부분에서는 기능성이 나타나지 않았으므로, 지상부를 사용하였으며 길이가 1m가 넘기 때문에 절단작업을 거친 후 2차에 걸친 세척과정 후 열풍건조와 동결건조를 이용하여 건조에 따른 성분차이 및 기능성 여부를 확인하였다. 그 결과, 건조방법에 따른 기능성 및 성분차이는 크지 않은 것으로 확인하였고 전처리에 소요되는 단가를 고려하여 열풍건조방법(최종수분함량 5%이하로 설정)을 선정하였다. 특히, 수확 후 바로 전처리가 진행되지 않는다면 원물의 신선도 및 물류 보관에 따른 비용이 발생하고 이는 즉각적인 원가상승이 발생하기 때문에 수확과 동시에 원물전처리가 진행 될 수 있는 프로세스 구축이 매우 중요한 부분이라 할 수 있다. 건조된 영정귀의 추출효율을 높이기 위한 분쇄공정도 테스트해본 결과 산업현장에서는 중분쇄로 진행하는 것이 더 효과적인 것으로 판단되었다.

3. 품질지표성분설정

경기, 강원, 전남, 제주, 예산 지역의 영정귀추출물에 성분 차이 확인을 위하여 확립된 HPLC 분석조건으로 연구를 수행하였으며, 동일지역의 영정귀를 이용하여 부위별(지상부, 지하부), 건조방법(열풍건조, 동결건조)에 따른 성분변화 차이를 확인하였다.

선행연구에서 선정한 지표성분은 apigenin이었으나, 제품화시 품질지표로 관리하기에는 미량성분이기 때문에 1%이상 함유되어 있는 성분탐색을 진행하였다. 지표성분으로 추정되어지는 flavonoid계열 중 일반적으로 많이 알려져 있는 10종에(Rutin, Naringin, Myricetin, Rescetratrol, Luteolin, Quercetin, Naringenin, Apigenin, Kaempferol, Hesperetin) 대한 HPLC분석 조건을 확립하고(Figure 1), 그 결과, 국내 자생 영정귀의 3종의 대표적 물질을 확인하였지만(Figure 2), 그 중 2종의 Unknown 성분에 대한 확인을 위하여 물질분리연구를 수행하였으며, EtOAc fraction을 open chromatography 진행하여 2가지 조결정을 얻어 재결정과정을 거쳐 순수하게 정하였으며(Figure 2), 이외 1가지 성분에 대해서도 추가로 LC/MS 분석을 통하여 성분은 연구하였다. 최종적으로 후보성분(linarin 및 pectolinarin, Figure 3)을 선정하였으며, 이중 가장 유효하면서 안전성이 확보된 성분을 추구 산업화 품질지표성분으로 확정하고자 한다.



Detector	UV-VIS (340 nm)
Column	Waters Symmetry C18 (4.6 × 150 mm, 5 μm)
Oven Temp.	35°C
Mobile phase	A: 100% ACN B: 0.02% aqueous phosphoric acid Gradient - B were used: 0-6 min, 87% B 6-9 min, 87-85% B 9-17 min, 85-81% B 17-28 min, 81-72% B 28-40 min, 72-87% B
Run time	40 min
Flow rate	1mL/min
Inject vol.	20 μL

Figure 1. HPLC analysis method of phenolic compounds from *Cirsium japonicum*

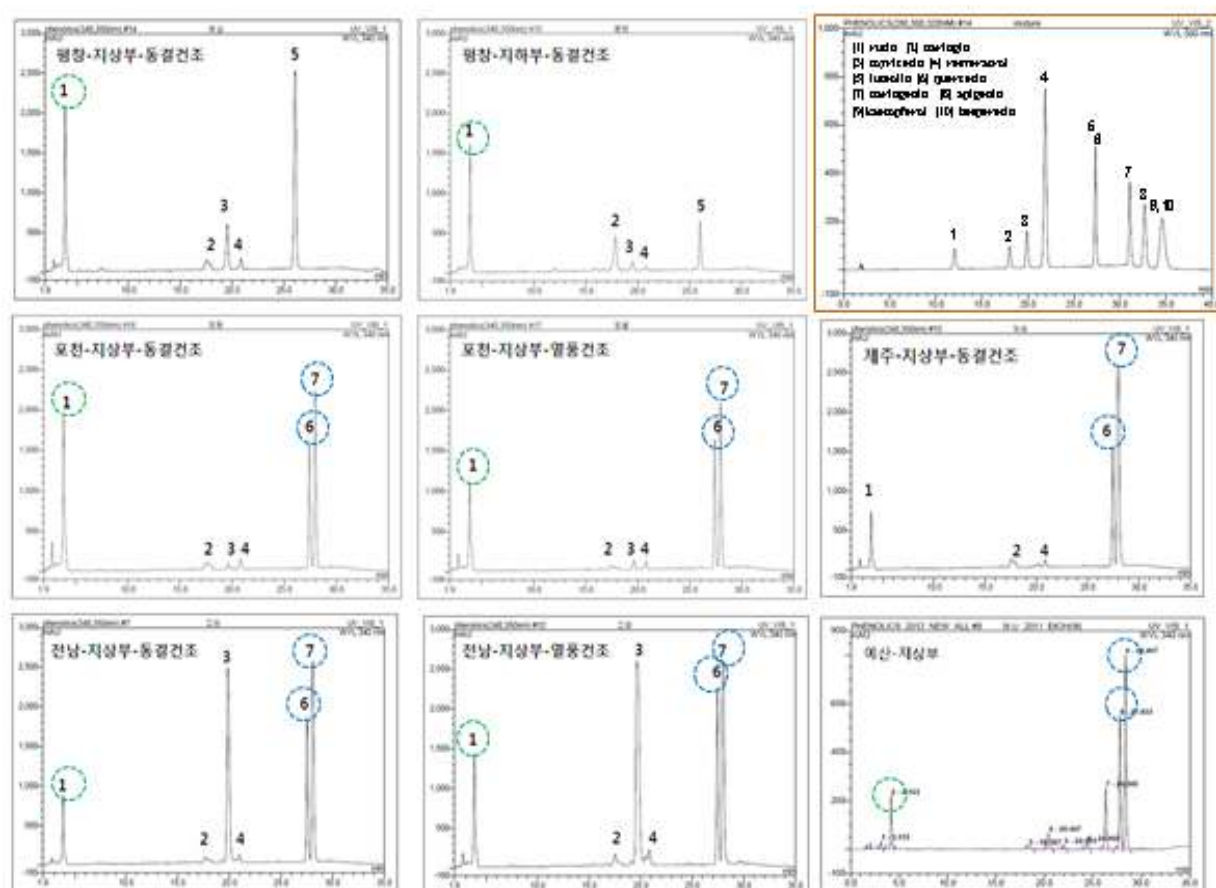


Figure 2. HPLC profiles of *Cirsium japonicum* from different regions

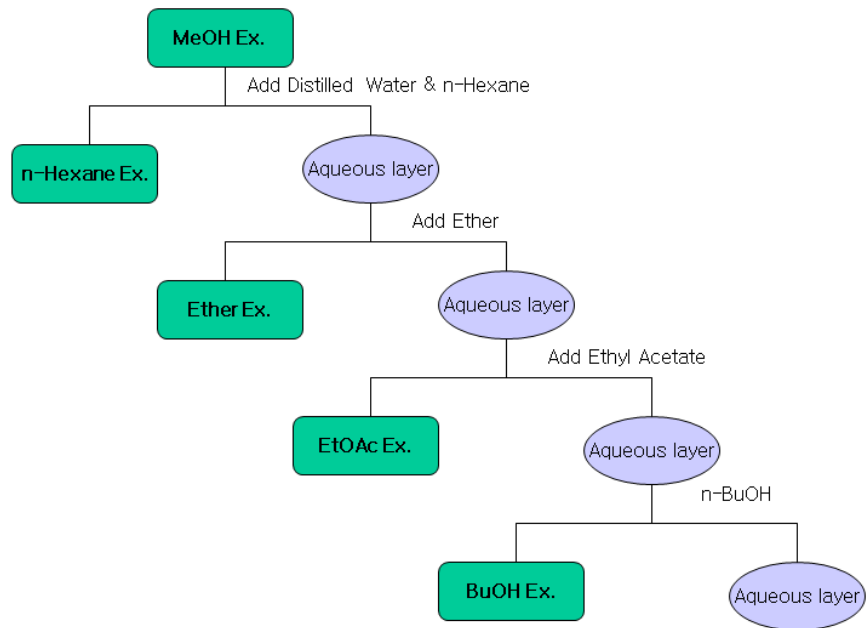


Figure 3. Scheme for preparation of *Cirsium japonicum* extrant and its fractionation.

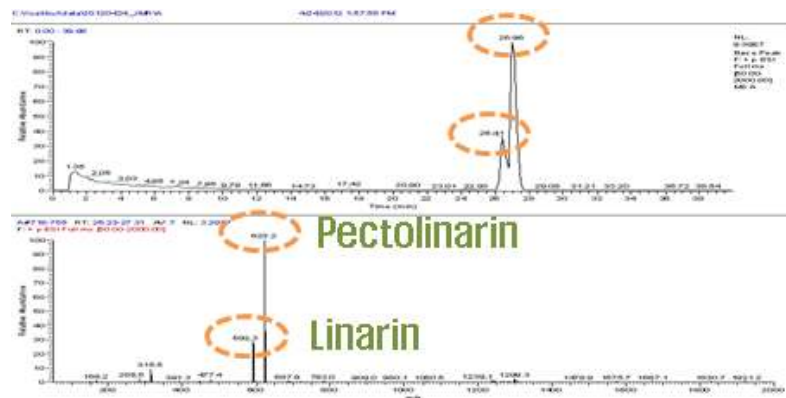


Figure 4. Index compounds of *Cirsium japonicum*

제2절 영경귀 추출조건 연구

1. Pilot 추출조건 설정

추출조건을 설정하기 위하여 추출온도, 추출시간, 주정함량을 증심합성계획법에 의해 설계된 조건(Table 1)에 따라 건조된 영경귀시료 15g을 추출하여 반응표면분석법에 따라 최적의 추출조건을 설정하였다. 최적조건을 기준으로 80~120% 범위의 오차범위를 설정하여 대량생산 조건 설정에 활용하였다.

Table 1. Central composite design for optimization of solvent extraction conditions using a response surface methodology

Exp ¹⁾ no.	Independent variables					
	X ₁ (extraction temperature, °C)		X ₂ (Extraction time, hr)		X ₃ (Ethanol concentration, %)	
1	75	(1)	8	(1)	80	(1)
2	75	(1)	8	(1)	60	(-1)
3	75	(1)	4	(-1)	80	(1)
4	75	(1)	4	(-1)	60	(-1)
5	45	(-1)	8	(1)	80	(1)
6	45	(-1)	8	(1)	60	(-1)
7	45	(-1)	4	(-1)	80	(1)
8	45	(-1)	4	(-1)	60	(-1)
9	60	(0)	6	(0)	70	(0)
10	60	(0)	6	(0)	70	(0)
11	30	(-2)	6	(0)	70	(0)
12	90	(2)	6	(0)	70	(0)
13	60	(0)	2	(-2)	70	(0)
14	60	(0)	10	(2)	70	(0)
15	60	(0)	6	(0)	50	(-2)
16	60	(0)	6	(0)	90	(2)

* the number of experimental conditions by composite design

중심합성계획에 의한 16개 구간의 추출조건에 따라 추출실험을 실시한 결과(Table)는 다음과 같다. 수율을 측정한 결과, 15.20 ~ 23.73 % 범위로 측정되었으며, 예측된 최대값은 추출온도 75 ~ 90°C, 추출시간은 4 ~ 8시간, 에탄올농도 60 ~ 70 % 범위내에서 측정되었으며, 이러한 결과를 바탕으로 수율은 추출시간보다 추출온도 및 에탄올농도에 의해서 영향을 받는 것으로 분석되었다. 총

페놀성 화합물 함량의 예측된 정상점은 최대점으로 최대값은 추출온도 60°C, 추출시간 6시간, 에탄올농도 90%의 추출조건에서 138.15 mg/g extract으로 가장 높은 것으로 확인되었다. 총페놀성 화합물의 함량의 경우, 추출온도는 30 ~ 90°C에서 높은 함량이 모두 검출되는 것으로 보아 추출온도의 영향은 적은 것으로 판단되나, 추출시간 및 에탄올농도는 각각 6 ~ 8시간, 70 ~ 90%으로 특정 범위에서 높은 함량이 나타내는 것을 확인하였으며, 이는 총페놀성 화합물 추출에는 추출시간 및 에탄올농도의 영향이 크게 작용하는 것으로 판단된다.

총플라보노이드 함량은 42.21 ~ 57.54 mg/g extract으로 측정되었으며, 추출온도 60°C, 추출시간 6시간, 에탄올농도 70%의 조건이 가장 최적조건인 것으로 판단되었다. DPPH radical 소거능 측정결과 43.46 ~ 66.94%의 활성이 나타났으며, 추출온도는 60 ~ 75°C, 추출시간 2 ~ 10시간, 에탄올농도 50 ~ 80%의 범위에서 높은 활성을 나타내었음.

DPPH radical 소거능은 추출온도에 큰 영향을 받고 있었으며, 추출시간 및 에탄올농도에 대한 영향은 작은 것으로 나타났다. 추후 각각의 독립변수와 종속변수들 간의 회귀분석 및 반응표면분석법에 의한 최적추출조건을 확립하고, 최적 추출조건에 예측 및 실증시험을 통하여 최적 추출 공정을 확립하였다.

Table 2. Experimental data on total phenolic contents, total flavonoid contents and DPPH radical scavenging activity in *Cirsium japonicum* extract under different conditions based on central composite design for response surface analysis

Exp ¹⁾ no.	Yield (%)	Total phenolics content (mg/g extract)	Total flavonoids content (mg/g extract)	DPPH radical scavenging activity (%)
1	20.47	131.23 ± 0.6	49.31 ± 3.8	61.86 ± 2.2
2	23.07	129.04 ± 2.0	42.41 ± 1.1	61.04 ± 0.9
3	21.47	123.57 ± 2.1	46.51 ± 1.9	63.40 ± 3.0
4	23.73	120.19 ± 1.0	42.58 ± 3.0	56.19 ± 4.0
5	16.53	119.35 ± 5.4	45.36 ± 3.4	47.78 ± 3.7
6	18.07	122.09 ± 2.6	42.80 ± 1.4	46.35 ± 3.8
7	15.20	127.03 ± 2.9	54.27 ± 1.9	55.18 ± 2.4
8	16.53	112.61 ± 3.8	46.71 ± 1.9	48.10 ± 4.3
9	19.40	121.32 ± 6.5	51.73 ± 4.0	56.41 ± 3.5
10	19.47	123.28 ± 2.3	51.86 ± 5.0	50.48 ± 2.3
11	17.07	132.51 ± 6.8	57.83 ± 2.1	43.46 ± 5.7
12	23.13	131.85 ± 3.9	48.91 ± 0.5	45.71 ± 0.7
13	16.53	130.89 ± 5.2	48.14 ± 1.5	62.98 ± 3.7
14	17.47	128.80 ± 1.7	45.83 ± 3.7	61.07 ± 1.2
15	17.20	129.59 ± 0.4	47.91 ± 0.7	66.94 ± 1.1
16	17.40	138.15 ± 6.2	57.54 ± 0.7	56.78 ± 3.1

2. 추출조건 Scale-up 및 대량생산

추출공정 설계 및 구축을 위하여 Pilot test를 통해 설정된 추출조건(추출온도 60~70°C, 추출시간 3~4시간, 추출용매 60~80%)으로 충남지역에서 재배된 엉겅퀴 원물을 이용하여 Scale-up하여 대량생산을 진행하였다. 특히, 건강기능식품소재로 생산하기 위해서는 반드시 GMP(Good Manufacturing Practice; 우수건강기능식품제조기준, 이는 소비자에게 신뢰받는 안전하고 우수한 품질의 건강기능식품을 제조하도록 하기 위한 기준으로서 작업장의 구조, 설비를 비롯하여 원료의 구입으로부터 생산·포장·출하에 이르기까지의 전 공정에 걸쳐 생산과 품질의 관리에 관한 체계적인 기준임) 생산시설을 이용하여야 한다(그림 5).

영정귀추출물을 제조하기 위하여 원료, 정수 준비 → 칭량 → 주정희석 → 투입 → 추출 → 여과(10 μ m) → 감압농축(60℃ 이하) → 살균 (85℃, 30min) → 포장 → 검사 (일반식품 기분규격에 따른 적부 검사)의 과정에 따라 생산을 진행하였다. 3회 반복생산을 진행하여 대량생산의 재현성을 확보하였으며, 시생산된 영정귀추출물의 경우 수율이 약 20% 정도로 확인되었으며, 원물가격 및 생산비를 고려한다면 추후 제품화하였을시 가격경쟁력을 확보하기 어려운 상황이므로, 원가개선을 위한 지속적인 연구개발이 진행되어야 할 것으로 판단된다.



그림 5. GMP 대량생산 추출설비

제3절 엉겅퀴추출물의 항산화물질 및 활성 측정

1. 총 페놀 함량 측정(total phenolic content, TPC)

총 페놀 함량은 Folin-Denis법에 따라 각 추출물을 50 μ L에 Folin reagent 300 μ L을 가하고 혼합한 다음 실온에서 3분간 정치한 후 2% Na₂CO₃ 150 μ L을 가하고 실온에서 2시간 동안 반응시킨 뒤 760 nm에서 흡광도를 측정하였다. 표준물질로는 gallic acid(Sigma Chemical Co., St. Louis, MO, USA)를 사용하여 시료와 동일한 방법으로 분석하여 얻은 검량선으로부터 총 페놀 함량을 산출하였다. 실험은 3회 반복 수행하여 평균값을 제시하였다.

엉겅퀴 에탄올 추출물의 총 폴리페놀 함량을 측정한 결과, 지역별의 엉겅퀴추출물 1000 μ g/mL 농도를 기준으로 경기지역(GG) 140.77 μ g/mL와 강원지역(GW) 140.47 μ g/mL에 유의적으로 동등하게 가장 많이 함유된 것으로 나타났으며 제주지역(JJ) 128.24 μ g/mL와 전남지역(JN) 101.48 μ g/mL 순서로 총 폴리페놀의 함량이 많게 나타나는 것을 확인하였다.

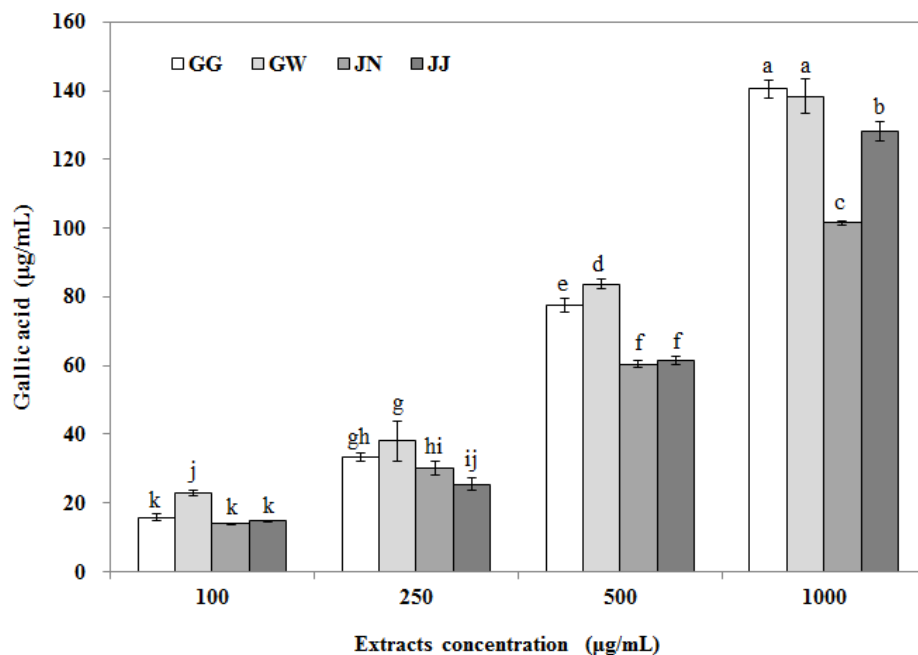


Figure 5. Total polyphenol contents of ethanol extracts from *Cirsium japonicum*. Results are presented as the mean \pm S.D. of 3 independent experiments in triplicate. Different letters are significantly different at $p < 0.05$. * GG; Gyeonggi-do, GW; Gangwon-do, JN; Jeollanam-do, JJ; Jeju-do

2. 총 플라보노이드 함량 측정(total flavonoid content, TFC)

총 플라보노이드 함량은 Davis 방법을 이용하여 측정 하였고, 각각의 시료용액 0.1 mL에 diethylene glycol 1 mL 과 1 N NaOH 0.1 mL을 혼합한 뒤 30℃에서 60분간 유지시킨 다음 420 nm에서 흡광도를 측정하였다. 표준물질로 quercetin(Sigma Co.)을 사용하였으며, 시료와 동일한 방법 으로 분석하여 얻은 검량선으로부터 총 플라보노이드 함량 을 산출하였다. 실험은 3회 반복 수행하여 평균값을 제시하였다.

영경귀 에탄올 추출물의 총 플라보노이드 함량을 측정한 결과, 각각의 지역별 영경귀 추출물 1000 $\mu\text{g/mL}$ 농도를 기준으로 경기지역(47.15 $\mu\text{g/mL}$), 강원지역(41.08 $\mu\text{g/mL}$), 전남지역(39.02 $\mu\text{g/mL}$) 및 제주지역(35.04 $\mu\text{g/mL}$) 순서로 유의적으로 서로 다른 총 플라보노이드의 함량이 나타나는 것을 확인하였다.

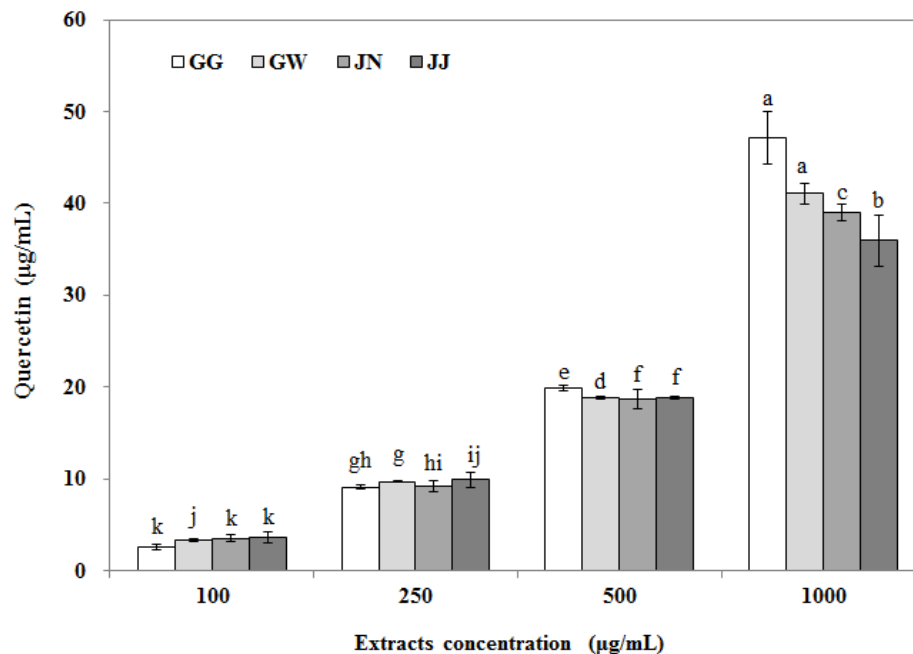


Figure 6. Total flavonoid contents of ethanol extracts from *Cirsium japonicum*. Results are presented as the mean \pm S.D. of 3 independent experiments in triplicate. Different letters are significantly different at $p < 0.05$. * GG; Gyeonggi-do, GW; Gangwon-do, JN; Jeollanam-do, JJ; Jeju-do

3. DPPH free radical 소거능

각 추출물을 농도별로 희석하여 0.2 mM DPPH(1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) 용액을 동일 비율로 가하여 잘 혼합하고, 암소에서 25분간 방치한 후 515 nm에서 흡광도를 측정하였다. 결과 값은 시료를 첨가하지 않은 대조군과 비교하여 라디칼의 제거활성으로 나타내었으며 양성대조군으로는 ascorbic acid를 사용하였다.

지역별 엉겅퀴 에탄올 추출물을 이용하여 DPPH 라디칼 소거활성 측정 결과, DPPH 라디칼 소거활성 측정 결과 모든 추출물의 농도가 증가함에 따라 DPPH 라디칼 소거활성이 증가하는 경향을 보였으며 추출물 농도 및 채집 지역에 따라 라디칼 소거활성이 다양하게 나타나는 것을 확인함. 엉겅퀴추출물 1000 $\mu\text{g/mL}$ 농도 기준으로 비교하였을 시, 강원지역 > 경기지역 > 제주지역 > 전남지역의 순서로 활성이 높은 것으로 나타났으며, 각각 85.84, 75.76, 60.43 및 55.99%의 소거활성을 보였으며, 1000 $\mu\text{g/mL}$ 의 강원지역 엉겅퀴추출물의 항산화 활성은 ascorbic acid의 50 $\mu\text{g/mL}$ 의 활성과 유의적으로 동등한 효과를 나타내어 항산화능이 가장 뛰어난 것을 확인하였다.

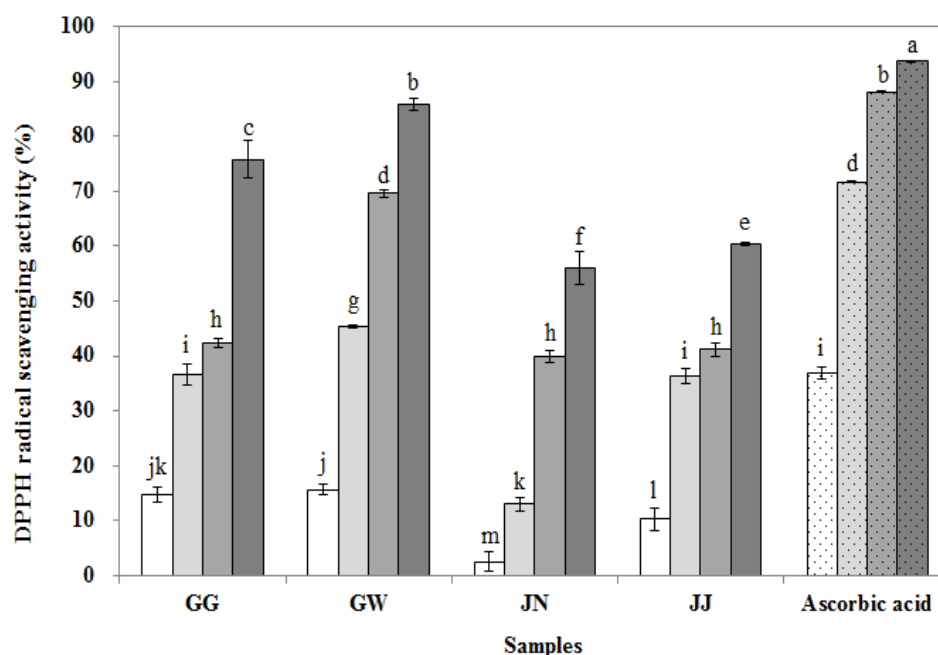


Figure 7. DPPH radical scavenging activities of ethanol extracts from *Cirsium japonicum*. Results are presented as the mean \pm S.D. of 3 independent experiments in triplicate. Different letters are significantly different at $p < 0.05$. * GG; Gyeonggido, GW; Gangwondo, JN; Jeollanamdo, JJ; Jeju

4. ABTS 양이온($ABTS^{+}$) 소거능

7.4 mM ABTS 용액과 2.6 mM 과황산칼륨을 혼합하여 암소에서 약 24시간 반응시킨 후 732 nm에서 흡광도가 0.7 ± 0.03 가 되도록 phosphate buffer saline(pH 7.4)으로 희석하여 사용하였다. 희석한 용액 950 μ L에 농도별로 조제한 시료 50 μ L를 첨가하여 잘 혼합하고 실온에 10분간 방치한 다음 732 nm에서 흡광도를 측정함. 결과 값은 시료를 첨가하지 않은 대조군과 비교하여 라디칼의 제거활성으로 나타냈으며 양성대조군으로는 ascorbic acid를 사용하였다.

영정귀 에탄올 추출물의 ABTS 라디칼 소거활성 결과 역시, DPPH 라디칼 소거활성과 유사하게 추출물의 농도가 증가함에 따라 ABTS 라디칼 소거활성이 증가하는 경향을 나타냈으며, 측정 결과는 Fig. 4과 같다. 농도 1000 μ g/mL에서 지역이 다른 각각의 영정귀의 라디칼 소거활성은 강원지역 > 경기지역 > 제주지역 > 전남지역의 순서로 각각 76.37, 74.56, 69.78 및 63.46%의 소거활성을 나타내었다. 강원지역의 영정귀추출물 1000 μ g/mL은 ascorbic acid의 25 μ g/mL의 활성과 $P < 0.05$ 수준에서 유의적으로 동등한 효과를 나타내는 것으로 확인되었으며, 다른 지역의 영정귀추출물에 비해 전반적으로 항산화능이 가장 뛰어난 것으로 측정되었다.

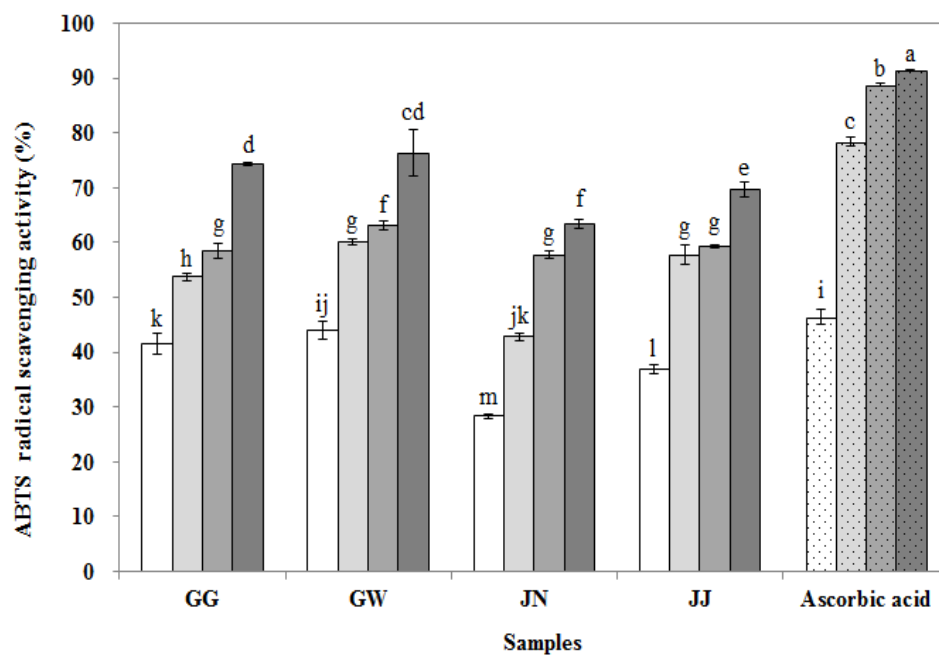


Figure 8. ABTS radical scavenging activities of ethanol extracts from *Cirsium japonicum*. Results are presented as the mean \pm S.D. of 3 independent experiments in triplicate. Different letters are significantly different at $p < 0.05$. * GG; Gyeonggido, GW; Gangwondo, JN; Jeollanamdo, JJ; Jejudo

5. Reducing power

환원력은 Oyaizu 방법에 준하여 측정하였다. 증류수에 용해한 시료 2.5 mL에 0.2 M sodium phosphate buffer(pH 6.6) 2.5 mL과 1% potassium ferricyanide($K_3Fe(CN)_6$) 2.5 mL을 각각 혼합하고 혼합물을 50°C 수욕조(water bath)에서 20분간 반응시킨 후 10% trichloroacetic acid(TCA; CCl_3COOH , w/v) 2.5 mL을 첨가하여 반응액을 3,000 rpm에서 10분간 원심분리한 다음 상등액 5 mL을 증류수 5 mL에 혼합하여 0.1% ferric chloride($FeCl_3 \cdot H_2O$) 1 mL 첨가하고 700 nm에서 흡광도를 측정하였다.

또 다른 항산화 측정법인 환원력을 측정한 결과, DPPH 및 ABTS라디칼 소거활성과 유사하게 추출물의 농도가 증가함에 따라 흡광도 값이 증가하는 것을 확인 할 수 있었으며, 지역별 엉겅퀴추출물 1000 $\mu g/mL$ 농도 기준에서 DPPH 및 ABTS 라디칼 소거 활성 결과와 마찬가지로 강원지역 > 경기지역 > 제주지역 > 전남지역의 순서로 각각 0.58, 0.52, 0.42 및 0.28의 흡광도 값을 타나내었으며 강원지역의 항산화 활성이 가장 뛰어난 것으로 확인되었다.

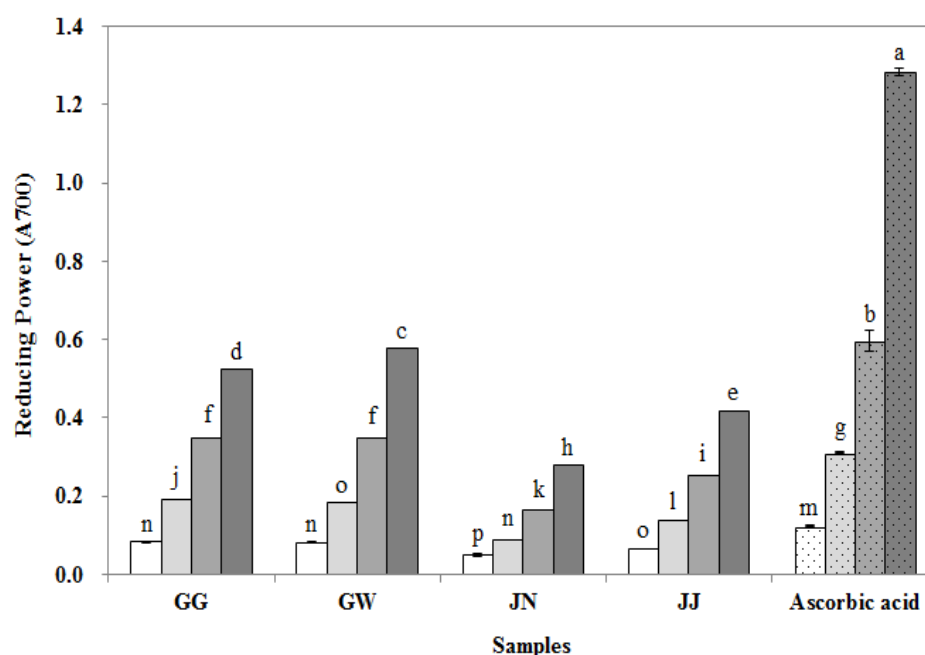


Figure 9. Reducing power of ethanol extracts from *Cirsium japonicum* Results are presented as the mean \pm S.D. of 3 independent experiments in triplicate. Different letters are significantly different at $p < 0.05$. * GG; Gyeonggido, GW; Gangwondo, JN; Jeollanamdo, JJ; Jeju

6. Ferric reducing antioxidant power(FRAP)에 의한 항산화능

FRAP에 의한 항산화능은 Benzie과 Strain의 방법에 따라 측정하였다. 먼저 sodium acetate buffer(0.3M, pH 3.6) 25 mL, 40 mM HCl로 용해한 10 mM 2,4,6-Tris(2-pyridyl)-s-tri-azine(TPTZ, Sigma) 2.5 mL, 20 mM FeCl₃ 2.5 mL 및 증류수 3 mL를 섞어 혼합물을 만들고 실험 직전까지 37°C를 유지하였다. 지역별 엉겅퀴추출물은 다양한 농도로 희석하여 사용함. 실험은 시료액 0.05 mL에 혼합물 1.5 mL를 가한 후 혼합하여 37°C에서 30분간 반응시킨 후 593 nm에서의 흡광도를 측정하였다.

지역별 엉겅퀴 에탄올 추출물의 FRAP assay 결과, 다른 3가지 항산화활성 결과와 유사하게 농도 의존적으로 흡광도 값(철 이온의 환원력)이 급격히 증가하는 것으로 측정됨. 1000 μ L/mL에서 지역이 다른 각각의 엉겅퀴의 FRAP 활성은 강원지역 = 경기지역 = 제주지역 > 전남지역의 순서로 각각 0.77, 0.77, 0.72 및 0.41의 활성을 나타냈으며, 강원지역의 항산화 활성은 ascorbic acid의 50 μ L/mL의 활성과 유의적으로 동등한 효과를 나타내어 항산화능이 가장 뛰어난 것으로 측정됨. 다만, FRAP assay에서는 지역별 엉겅퀴추출물의 활성 차이는 크지 않은 것으로 확인되었다.

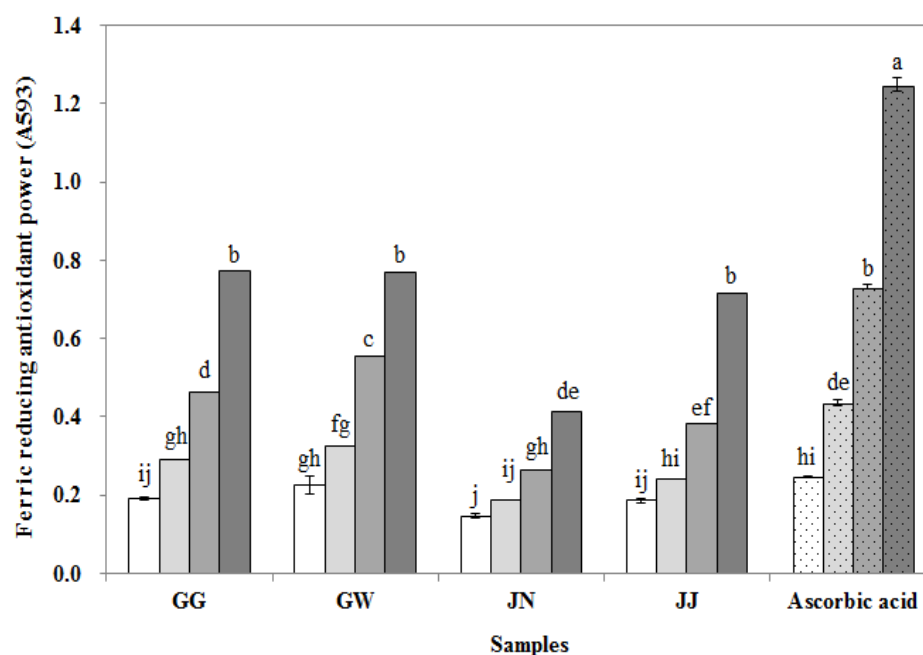


Figure 10. Ferric reducing antioxidant power (FRAP) of ethanol extracts from *Cirsium japonicum*. Results are presented as the mean \pm S.D. of 3 independent experiments in triplicate. Different letters are significantly different at $p < 0.05$. * GG; Gyeonggido, GW; Gangwondo, JN; Jeollanamdo, JJ; Jeju

제4절 엉겅퀴추출물의 신경세포보호효과

1. Assessment of cell viability

MTT assay에 의해 엉겅퀴추출물 조제액 (0~1000 $\mu\text{g/mL}$)을 PC12 cell (2×10^5 cell/well)배양액에 첨가한 후 세포 생존능력을 평가하였다. 세포독성 확인 및 농도설정은 통계처리(t-test)를 통하여 5% 범위내에서 유의적 차이가 없는 경우로 설정하였다.

MTT assay(0~1000 $\mu\text{g/mL}$)를 통해 세포독성을 확인한 결과, 예산(2010, 2011년 수확), 고흥 지역은 500 $\mu\text{g/mL}$ 이상에서 세포독성을 일으켰다. 따라서 세 지역의 시료는 신경세포보호효과연구에서 250 $\mu\text{g/mL}$ 까지를 실험농도로 설정하였다. 포천, 평창지역의 엉겅퀴추출물은 500 $\mu\text{g/mL}$ 까지 세포독성을 유발하지 않았으며, 두 지역의 시료는 신경세포보호효과연구에서 500 $\mu\text{g/mL}$ 까지를 실험농도로 설정하였다.

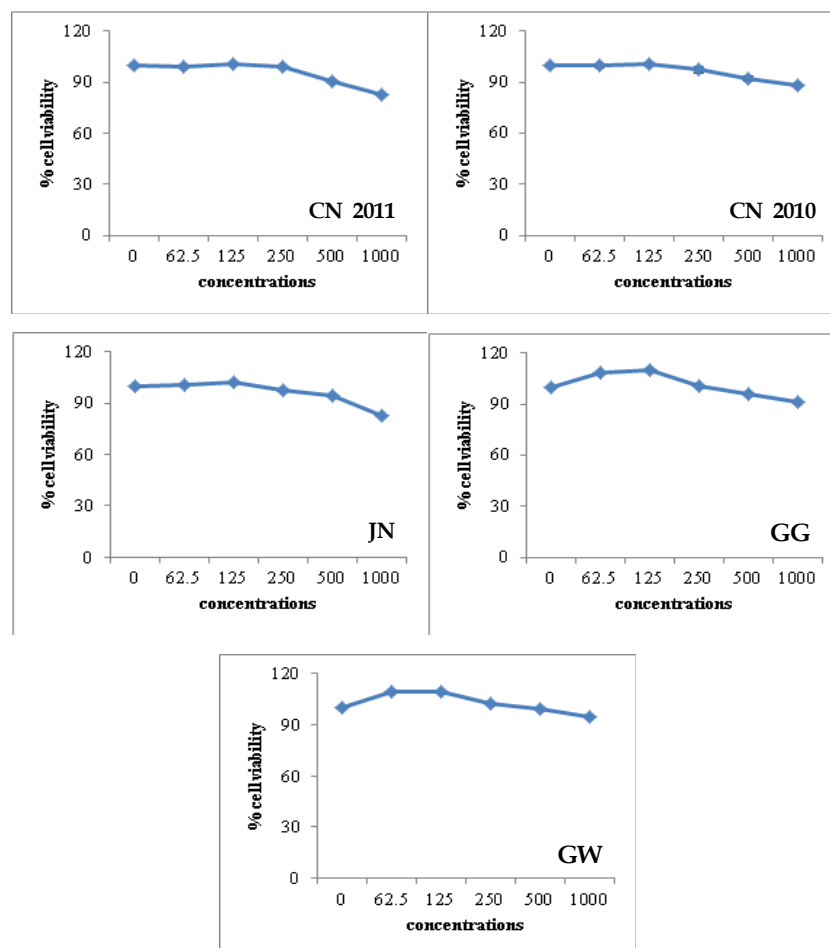


Figure 11. *Cirsium japonicum* extract prevented loss of PC 12 cell viability. Effects of different regions on cell viability in PC12 cells by concentration (0~1000 $\mu\text{g/mL}$)

2. Neuro-protective effect against H₂O₂-induced cytotoxicity

Cell viability와 마찬가지로 MTT assay에 의해 평가하였으며, 과산화수소 250 μ M을 첨가하여 산화적 손상을 입은 PC 12 cell에 엉겅퀴추출물 조제액(0~1000 μ g/mL)을 첨가하여 세포 보호효과를 측정하였다.

엉겅퀴추출물을 처리하여 신경세포보호효과를 확인한 결과, 예산(2010,2011) 및 고흥의 엉겅퀴추출물은 62.5~250 μ g/mL에서 유의적으로 신경세포 보호효과를 나타내었다. 포천 및 평창의 엉겅퀴추출물은 62.5~500 μ g/mL에서 5% 이내에서 유의적으로 신경 세포 보호효과를 나타내었으며, 250~500 μ g/mL에서는 1% 이내에서 유의적인 신경세포 보호효과를 나타내어 두 지역의 추출물이 신경세포 보호작용에 매우 효과적인 것으로 사료된다.

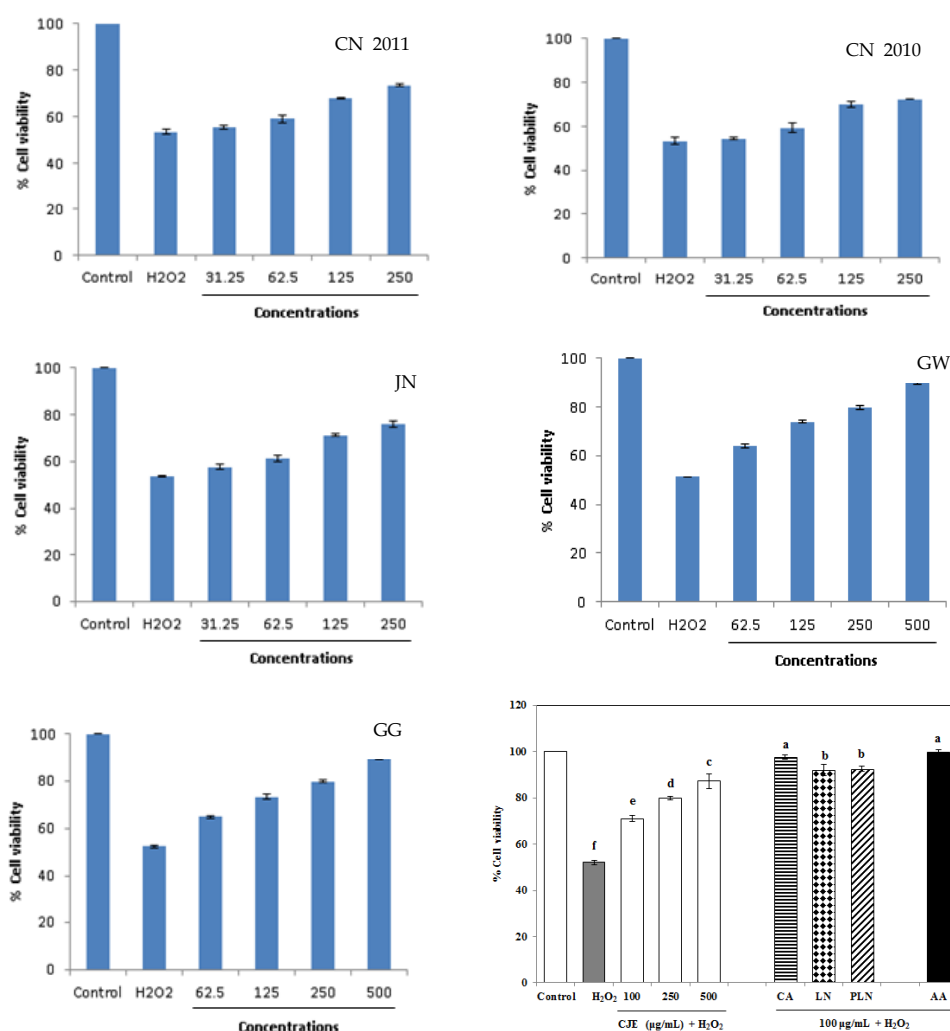


Figure 12. Neuroprotective effects of the whole extract and their phenolic compounds from *Crisium japonicum* on PC 12 cells damaged by oxidative stress of H₂O₂ by MTT assay. Each bar represents mean \pm SD of three separate replications. Different letters on bars indicate.

제5절 지역별 엉겅퀴추출물의 항우울 효과 비교

1. 일반 행동 평가

Locomotor activity와 Rota-rod test를 통해 정신약리활성 즉, 각성, 과잉행동, 불안, 운동저하, 정서, 진정 및 수면 등에 대한 효능을 확인하였다. 엉겅퀴추출물은 일반 운동 활성화에 유의성 있는 변화를 유발하지 않았으며, 포천 엉겅퀴추출물과 예산 엉겅퀴추출물은 일반운동 활성을 증가시키는 경향을 나타내었다(Figure 13). Rota-rod test에서도 엉겅퀴추출물들이 변화를 유발하지 않았지만 포천 엉겅퀴추출물 50mg/kg과, 예산 엉겅퀴추출물 100 mg/kg에서 처음 떨어질 때까지의 시간이 증가하고 떨어진 횟수가 감소하는 경향이 나타나서 운동집중력과 운동지속능을 증가시키는 경향이 보였으나 유의성은 없었다(Figure 14).

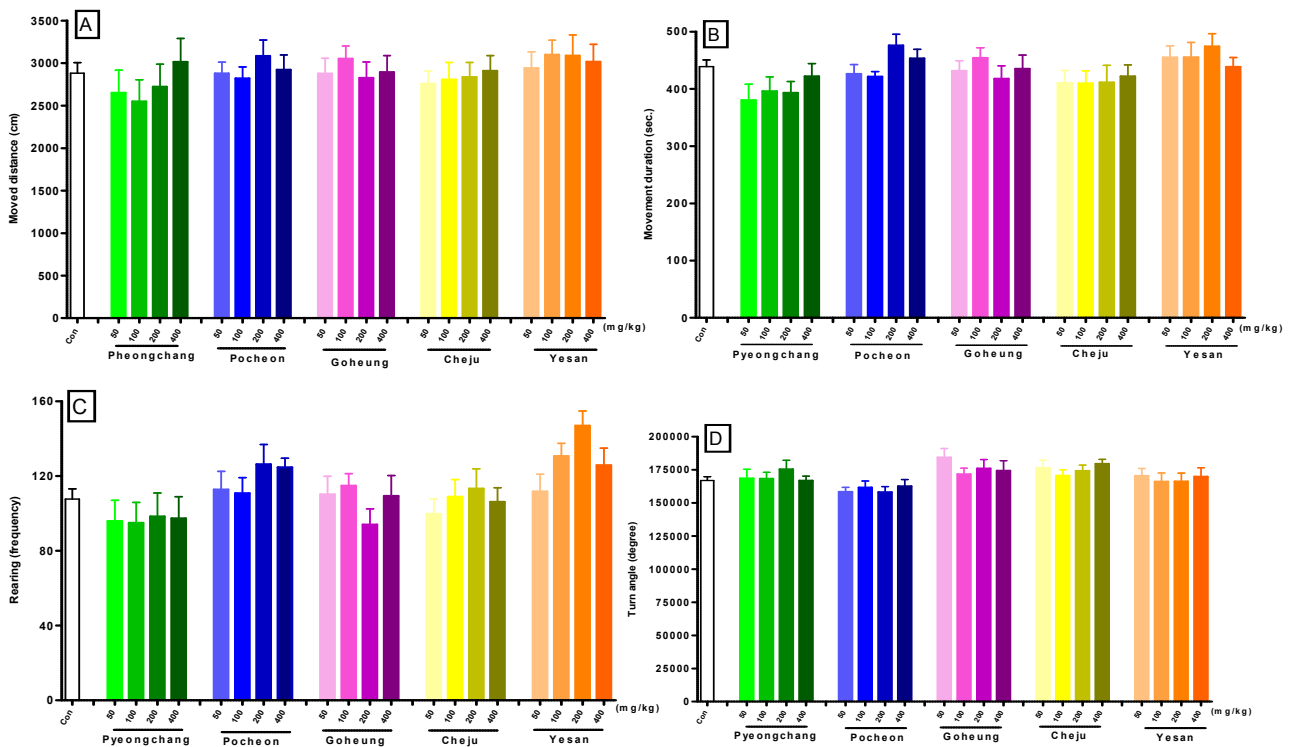


Figure 13. Effects of *Cirsium japonicum* extracts on Locomotor activity in mice (n=9~10). Each bar represents the mean \pm S.E.M of the moved distance (A), movement duration (B), rearing frequency (C) and turn angle (D) for 10 minutes.

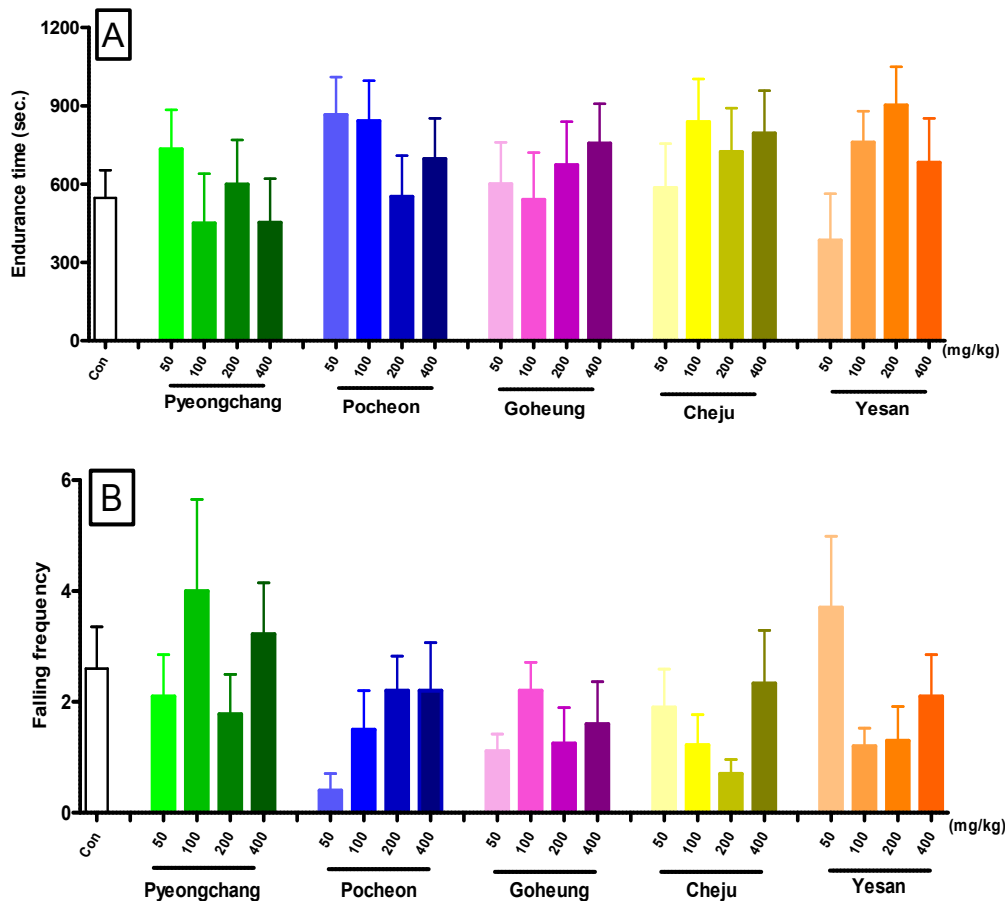


Figure 14. Effects of *Cirsium japonicum* extracts on activity on the rotating rod in mice (n=9~10). Each bar represents the mean \pm S.E.M of endurance time(A) and falling frequency(B) from rotating rod.

2. 우울 행동 및 독성 평가 (Forced swimming test)

Forced swimming test는 강제수영을 시킬 때에 수영하는 시간의 변화를 통해 우울의 정도를 평가하는 방법이다. 평창 엉겅퀴추출물은 100mg/kg 투여시 수영시간을 유의성 있게 증가시켜 항우울 효과를 나타내었으며, 제주 엉겅퀴추출물은 농도 의존적으로 200, 400mg/kg에서 유의성 있는 항우울 효과를 나타냈다. 예산 엉겅퀴 에탄올 추출물은 100, 200mg/kg에서 유의하게 항우울 효과가 나타났다(Figure 15). 상기 결과를 통해 항우울 효과는 제주와 예산의 엉겅퀴추출물이 우수한 것으로 사료된다.

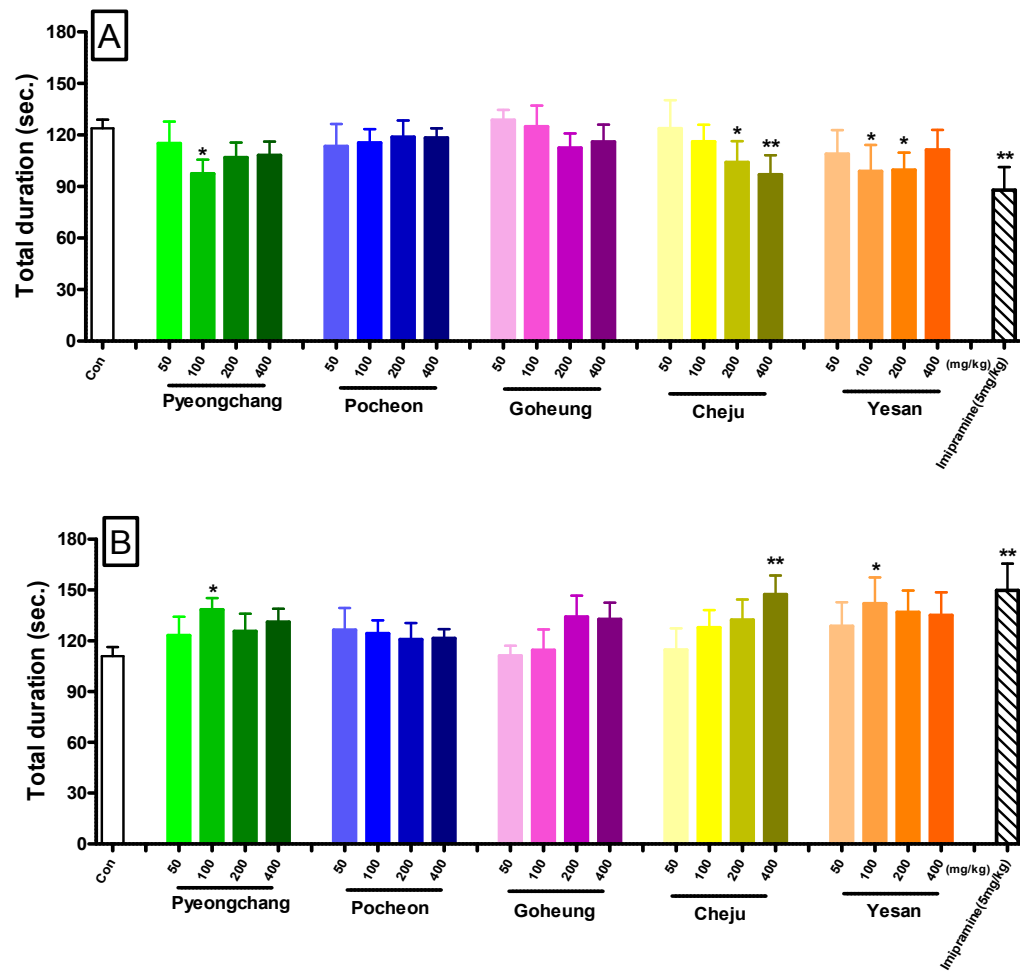


Figure 15. Effect of *Cirsium japonicum* extracts on activity on the forced swimming test in mice (n=9) Each bar represents the mean \pm S.E.M. of immobile duration(A) and mobile duration(B) for 4 minutes (* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ versus control group).

3. 중추신경계 약리 효능 in vitro 검색

지역별 엉겅퀴추출물들이 NE reuptake와 Cl^- influx에 미치는 영향을 확인하였다. 엉겅퀴추출물은 NE reuptake에 변화를 유발하지 않았으나(Figure 16) Cl^- influx를 변화시켰다. 고흥 엉겅퀴추출물은 Cl^- influx에 영향을 미치지 않았으나, 제주산 엉겅퀴추출물, 평창 엉겅퀴추출물, 포천 엉겅퀴추출물 모두 Cl^- influx를 증가시켰으며, 예산 엉겅퀴추출물이 Cl^- influx를 가장 크게 증가시켰다. 예산 엉겅퀴추출물의 효과를 비교하였을 때에는 물 추출물보다 에탄올 추출물의 효과가 더 우수하였다. 또한 예산 엉겅퀴 에탄올 추출물에 의한 Cl^- influx가 GABA antagonist인 bicuculline에 의해 차단되는 것을 확인하였다(Figure 17).

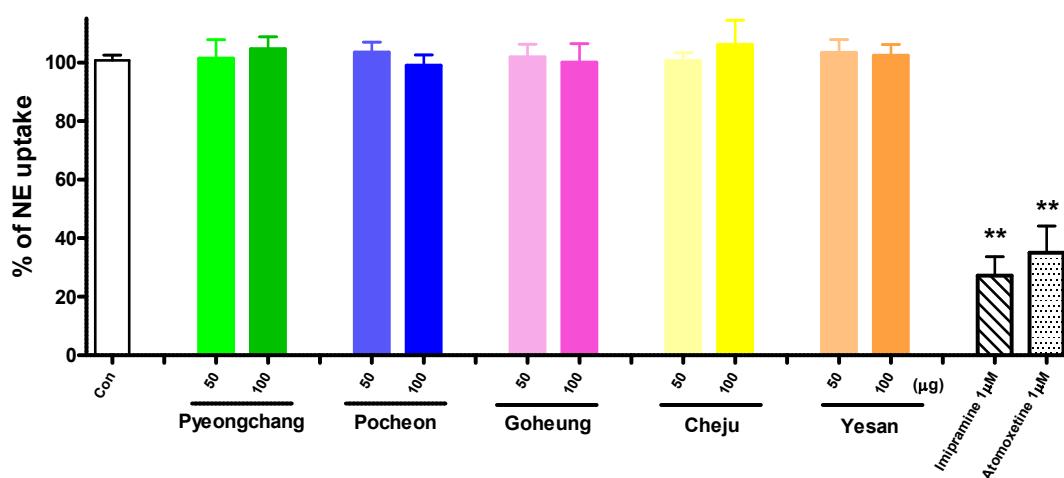


Figure 16. Effects of *Cirsium japonicum* extracts on NE uptake in CHO cell. Each bar represents the mean \pm S.E.M of percentage of NE uptake (** $p < .01$ versus control group).

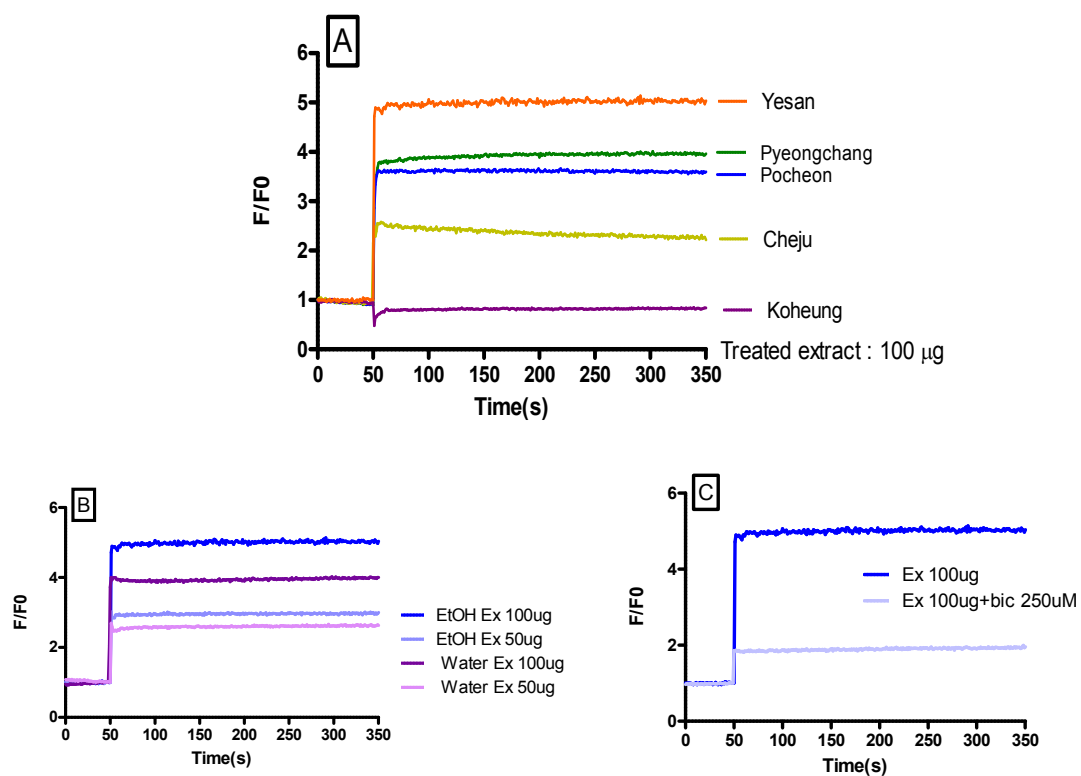


Figure 17. Effects of *Cirsium japonicum* extracts on $[Cl^-]_i$ in neuroblastoma cells. Fluorescence was monitored in the excitation wavelength at 365nm and the emission wavelength at 450nm using the Cl^- sensitive indicator, N-(6-methoxyquinolyl) acetoylester(MQAE). Contents of influx Cl^- ion was expressed as a peak (a.u.).

제6절 제주산 엉겅퀴추출물의 항불안 효과

항불안 효과는 제주산 엉겅퀴추출물에서 가장 우수하게 나타났다. 엉겅퀴추출물은 일반운동활성에 유의성 있는 변화를 유발하지 않았으나, 중앙영역에서의 일반운동활성은 증가시키는 경향을 나타내었다(Figure 18). 제주 엉겅퀴추출물은 100mg/kg의 용량을 투여했을 때 open arm에 들어가는 횟수와 머무르는 시간이 가장 유의성 있게 증가되어 항불안 효과를 나타내었다(Figure 19). 또한 제주산 엉겅퀴추출물은 Cl^- influx를 유발하였으며, bicuculline에 의해 부분적으로 차단되었다. 추출물 1-200 $\mu g/ml$ 을 투여하면 용량 의존적으로 Cl^- influx를 유발하는 것을 확인할 수 있었다(Figure 20).

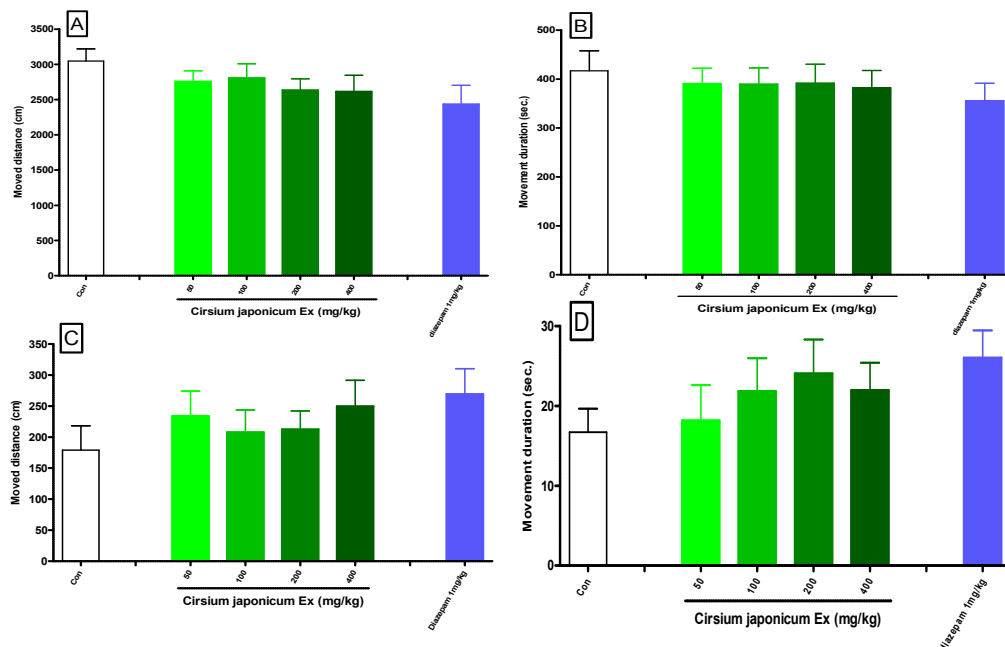


Figure 18. Effects of *Cirsium japonicum* extracts on Locomotor activity in mice (n=9~10). Each bar represents the mean \pm S.E.M of the moved distance (A), movement duration (B) in 42cm \times 42cm or center area(15cm \times 15cm, C and D) for 10 minutes.

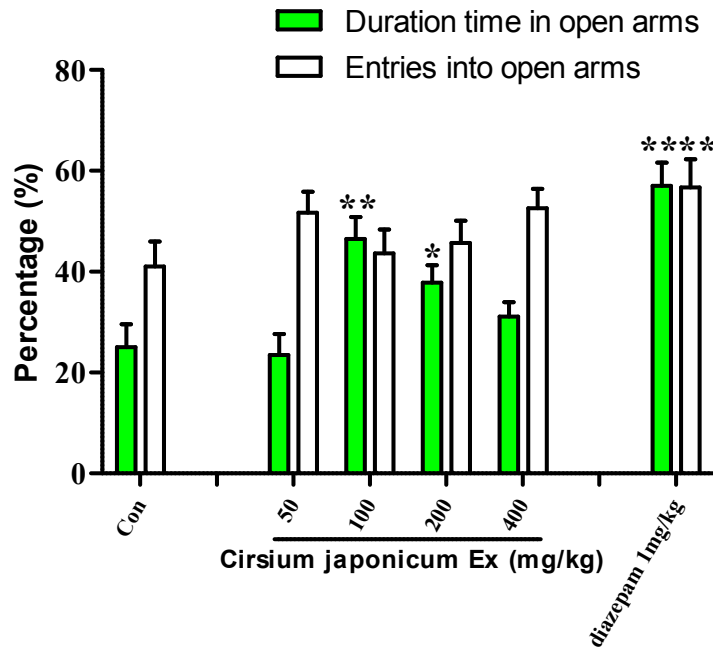


Figure 19. Effects of *Cirsium japonicum* extracts collected from Cheju on elevated plus maze in mice (n=9~10). Each bar represents the mean \pm S.E.M of the percentages of duration time in open arms (A), and entries into open arms (B) for 5 minutes (* $p < .05$, ** $p < .01$ versus control group).

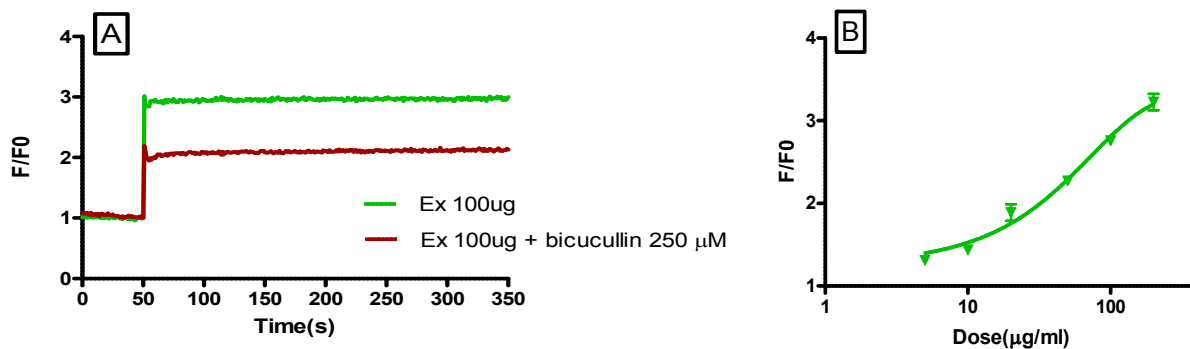


Figure 20. Effect of *Cirsium japonicum* extracts collected from Cheju on [Cl⁻]_i in neuroblastoma cells. Fluorescence was monitored in the excitation wavelength at 365nm and the emission wavelength at 450 nm using the Cl⁻-sensitive indicator, N-(6-methoxyquinolyl) acetoylester (MQAE). Contents of influxed Cl⁻ ion were expressed as a peak.

제7절 표준화된 영정귀추출물의 항스트레스 효과

상기 실험결과를 토대로 하여 영정귀추출물 표준품을 제조하고 예측할 수 없는 mild stress를 부과한 후 항스트레스 효과를 확인하였다. 스트레스는 4주 동안 주어졌으며 항스트레스 효과는 2주간 스트레스를 부과한 후 표준화된 영정귀추출물 단회 투여시와, 3주간 스트레스를 주면서 영정귀추출물을 7일 처치한 때, 그리고 4주간의 스트레스가 주어지고 영정귀추출물은 14일간 투여한 후에 일반운동활성, Rota-rod test, Elevated plus maze test, 강제수영시험 등을 통해 확인하였다.

1. 2주 동안 스트레스 부과 후 영정귀추출물 단회 투여의 효과

표준화된 영정귀추출물 100, 200mg/kg을 경구투여한 후 일반운동활성을 확인하였으며, 유의한 차이가 나타나지 않았으나 스트레스를 부과한 그룹들이 움직이는 거리가 증가하는 경향이 있었다(Figure 21). Rota-rod test에서도 유의성은 없으나 스트레스에 의해 운동집중력 및 운동지속능이 증가하는 경향이 나타났다(Figure 22). 2주간의 스트레스는 Elevated plus maze에서 닫힌 공간에 머무르는 시간 및 횟수를 증가시켰으나, 영정귀추출물 단회 투여시 유의성은 없지만 열린 열린 공간에 머무르는 시간 및 횟수가 증가하는 경향이 나타났다(Figure 23). Forced swimming test에서는 스트레스에 의해 수영시간이 유의성 있게 감소하였으며, 200mg/kg의 영정귀추출물 투여에 의해 항 우울 효과가 나타남을 확인하였다 (Figure 24).

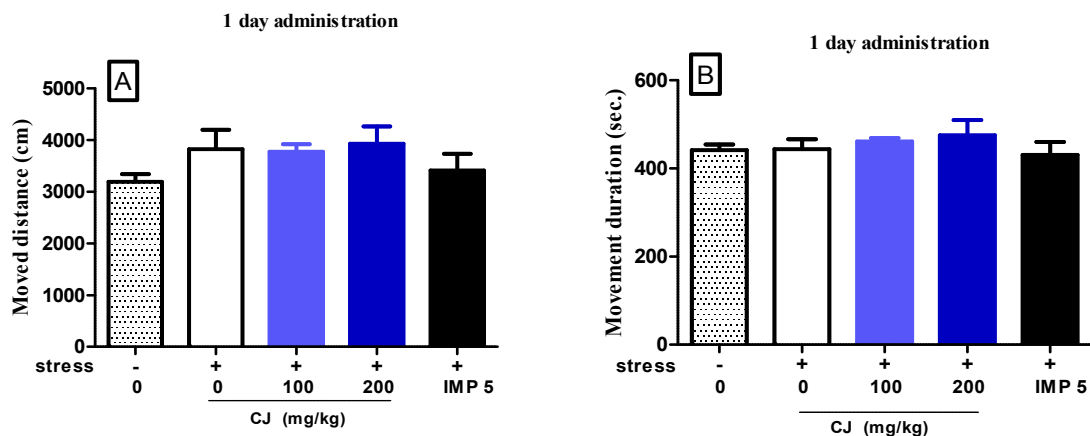


Figure 21. Effects of 1 day administration of CJ extracts on locomotor activity in mice chronically exposed to unpredictable mild stress (n=6~7). Each bar represents the mean \pm S.E.M of the moved distance(A) and movement duration(B) for 10 minutes.

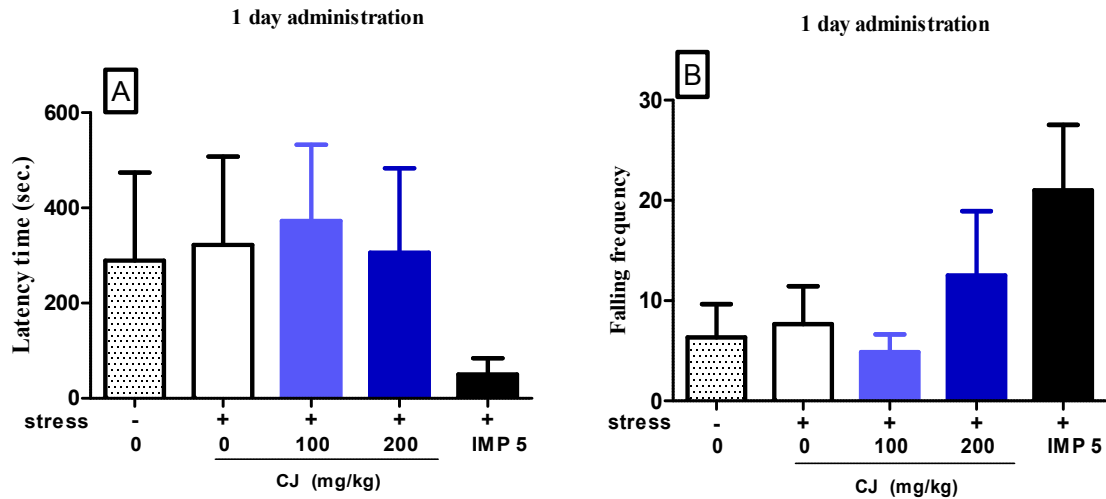


Figure 22. Effects of 1 day administration of CJ extracts on rotarod in mice chronically exposed to unpredictable mild stress (n=6~7). Each bar represents the mean \pm S.E.M of endurance time on the rotating rod and falling frequency for 20 minutes.

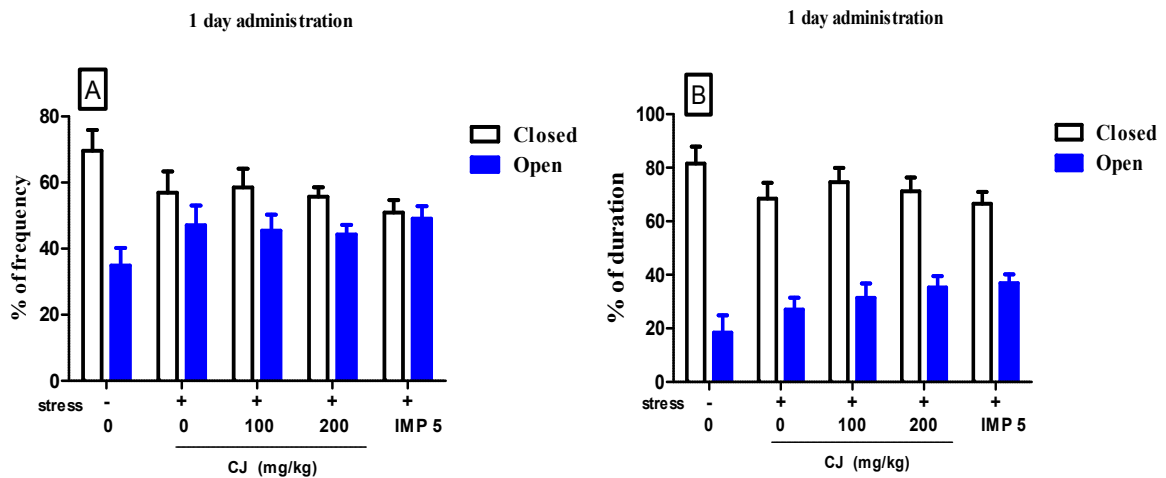


Figure 23. Effects of 1 day administration of CJ extracts on elevated plus maze in mice chronically exposed to unpredictable mild stress (n=6~7). Each bar represents the mean \pm S.E.M of the percentage of frequency and duration in each arms for 5 minutes. (* $p < 0.05$, versus stress control group).

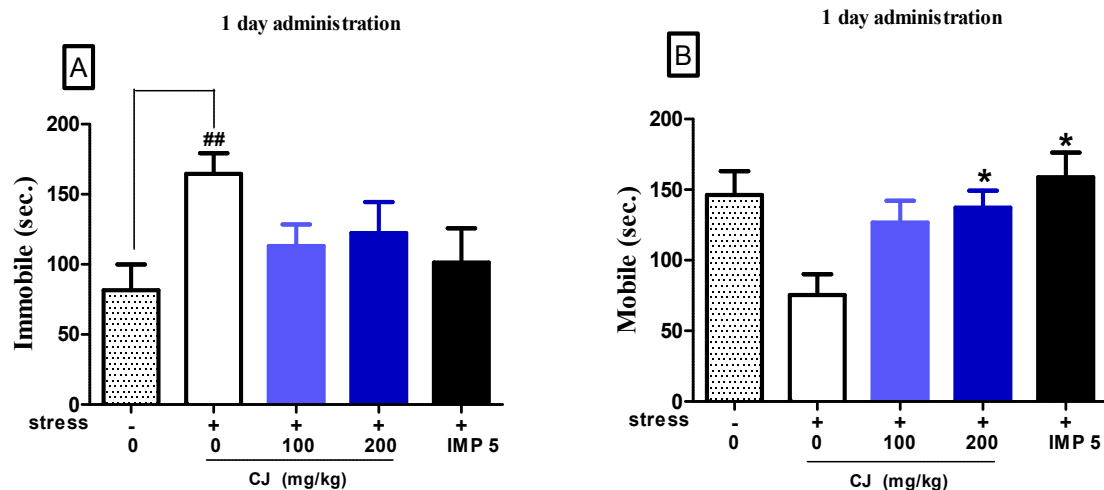


Figure 24. Effects of 1 day administration of CJ extracts on the forced swimming test in mice chronically exposed to unpredictable mild stress (n=6). Each bar represents the mean \pm S.E.M of immobile duration and mobile duration for 4 minutes(* $p < 0.05$ versus stress control group and ## $P < 0.01$. versus no stress group).

2. 3주 동안 스트레스 부과 후 엉겅퀴추출물 7일 투여의 효과

3주 동안의 스트레스는 일반운동활성을 유의성있게 감소시켰으며, 표준화된 엉겅퀴추출물 100, 200mg/kg을 7일 투여한 경우에는 일반운동활성이 증가하는 경향이 나타났으나 유의성은 없었다(Figure 25). Rota-rod test에서도 유의성은 없으나 스트레스에 의해 운동집중력 및 운동지속능이 감소하는 경향이 나타났다(Figure 26). 3주 동안의 스트레스는 Elevated plus maze에서 유의성 있는 변화를 유발하지 않았다(Figure 27). Forced swimming test에서는 스트레스에 의해 수영시간이 감소되는 경향이 있으나 유의성은 없었다. 엉겅퀴추출물 100mg/kg을 7일간 투여하면 유의성 있게 수영 시간이 증가하는 것을 확인하였다(Figure 28).

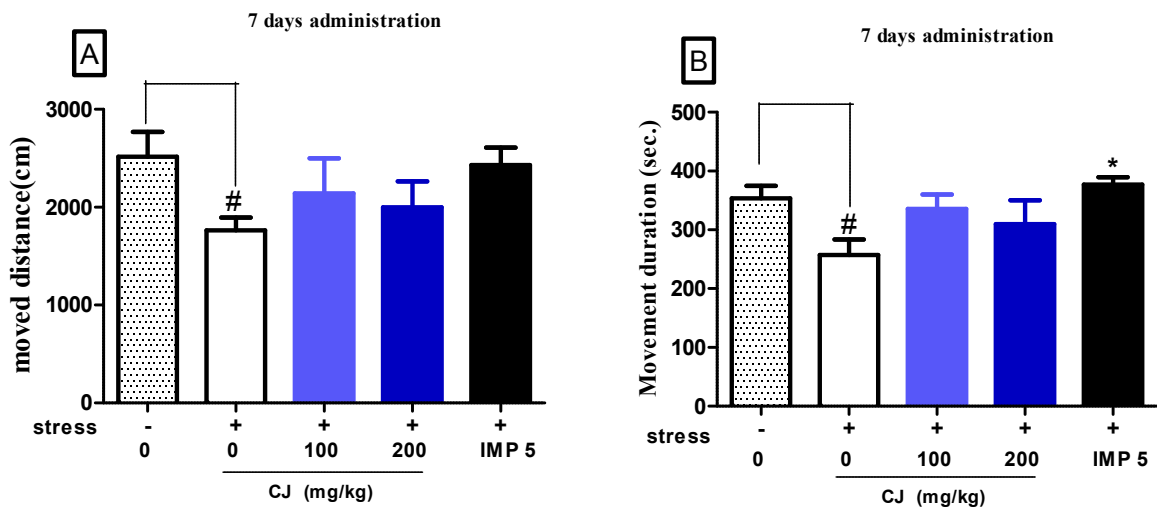


Figure 25. Effects of 7 day administration of CJ extracts on locomotor activity in mice chronically exposed to unpredictable mild stress (n=6 ~ 7). Each bar represents the mean \pm S.E.M of the moved distance and movement duration for 10 minutes. (* $p < 0.05$.versus stress control group and # $P < 0.05$. versus no stress group).

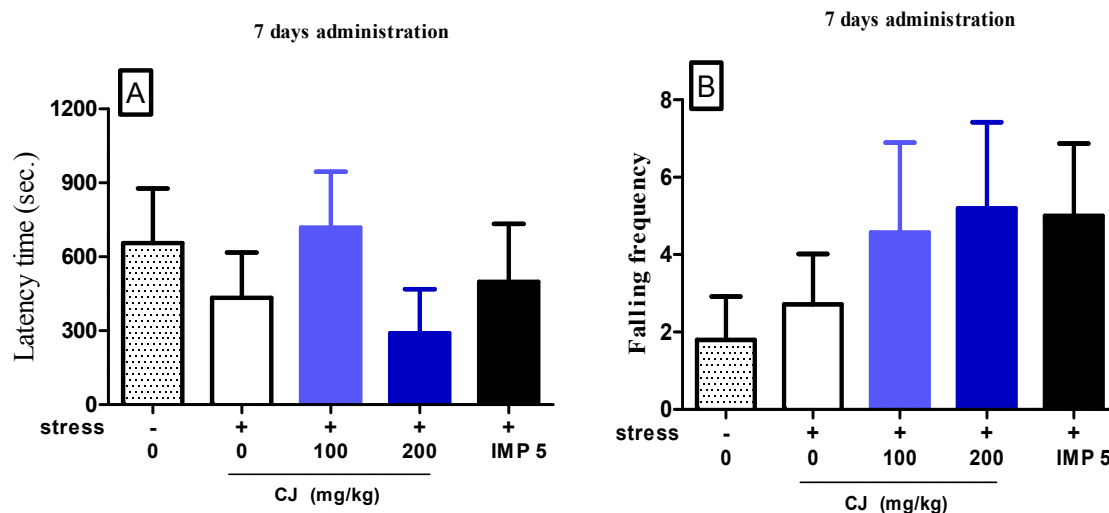


Figure 26. Effects of 7 day administration of CJ extracts on rotarod in mice chronically exposed to unpredictable mild stress (n=6~7). Each bar represents the mean \pm S.E.M of endurance time on the rotating rod and falling frequency for 20 minutes. (* $p < 0.05$ versus stress control group).

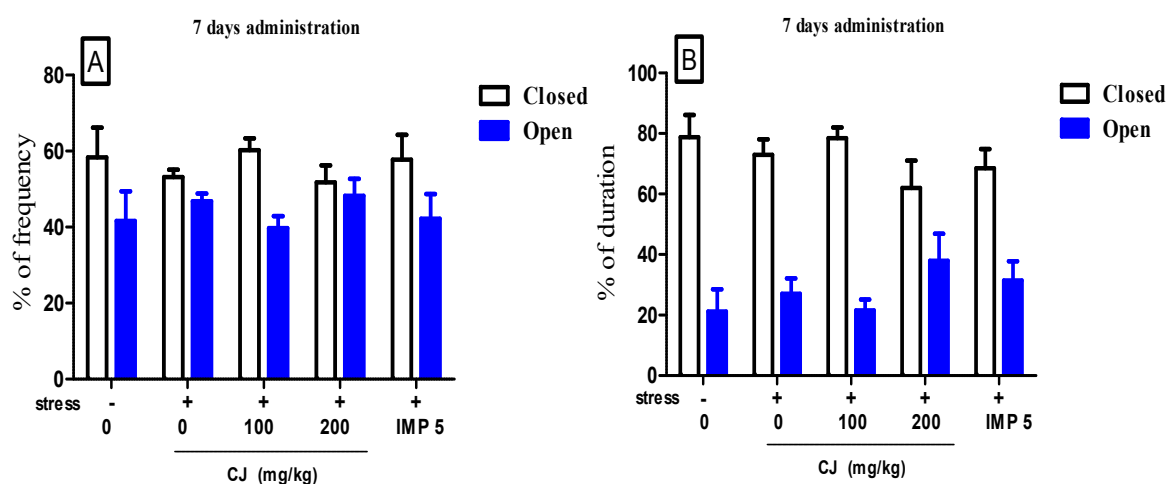


Figure 27. Effects of 7 day administration of CJ extracts on elevated plus maze in mice chronically exposed to unpredictable mild stress (n=6~7). Each bar represents the mean \pm S.E.M of the percentage of frequency and duration in each arms for 5 minutes. (* $p < 0.05$. versus stress control group).

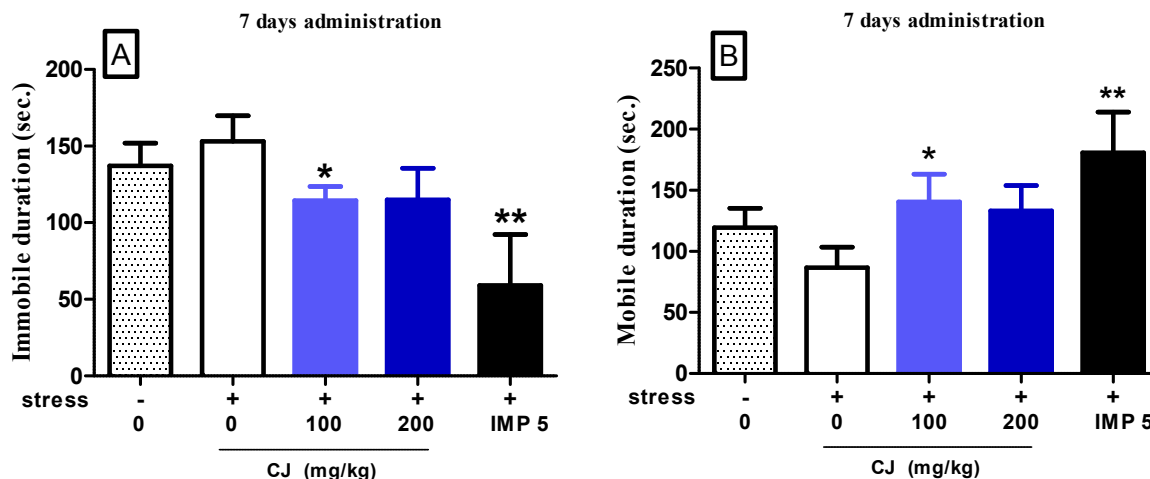


Figure 28. Effects of 7 day administration of CJ extracts on the forced swimming test in mice chronically exposed to unpredictable mild stress (n=6). Each bar represents the mean \pm S.E.M of immobile duration and mobile duration for 4 minutes(* $p < 0.05$ versus stress control group).

3. 4주 동안 스트레스 부과 후 엉겅퀴추출물 14일 투여의 효과

4주 동안의 예측할 수 없는 스트레스는 일반운동활성을 감소시키는 경향이 있었으며, 표준화된 엉겅퀴추출물 200mg/kg을 14일 투여한 경우에는 스트레스 투여군에 비해 일반운동활성이 유의성 있게 증가하였다(Figure 29). 4주 동안의 스트레스는 Rota-rod test에서 운동집중력 및 운동지속능에 변화를 유발하지 않았고(Figure 30), Elevated plus maze에서도 유의성 있는 변화가 나타나지 않았다(Figure 31). Forced swimming test에서는 스트레스에 의해 수영시간이 감소되는 경향이 있으나 유의성은 없었으며, 엉겅퀴추출물 14일 투여시에 스트레스 군에 비해 수영 시간이 증가하는 경향이 나타났다(Figure 32). 이러한 결과를 통해 스트레스는 우울증을 유발할 수 있으나 14일간의 스트레스에 의해 가장 유의성 있는 변화가 나타났으며 장기간의 스트레스에는 어느 정도 적응하는 경향이 있음을 확인할 수 있었다. 표준화된 엉겅퀴추출물 100mg/kg에 의해 스트레스에 의한 정서장애를 개선하는 효과가 있음을 확인하였다.

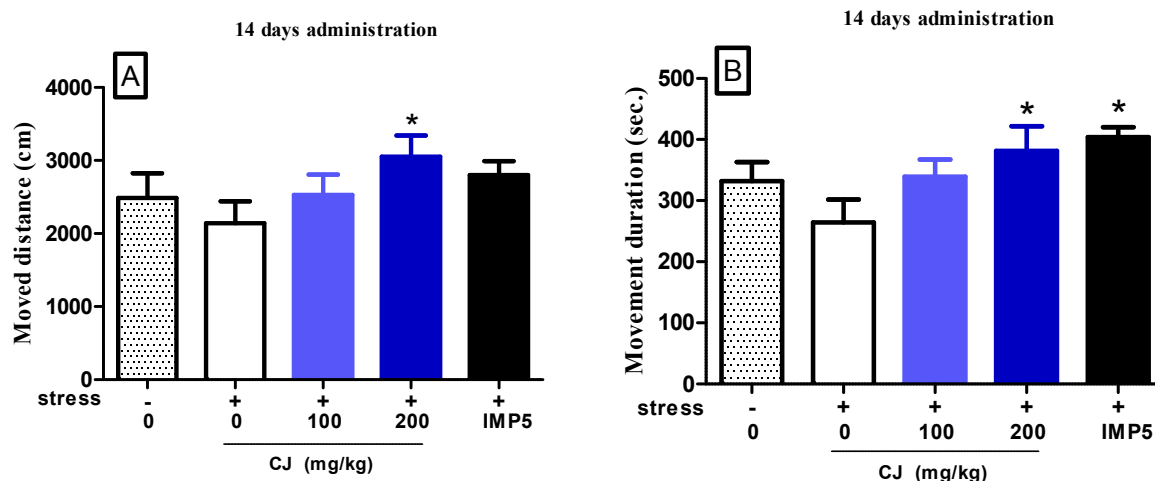


Figure 29. Effects of 14 day administration of CJ extracts on locomotor activity in mice chronically exposed to unpredictable mild stress (n=6~7). Each bar represents the mean \pm S.E.M of the moved distance and movement duration for 10 minutes. (* $p < 0.05$ versus stress control group).

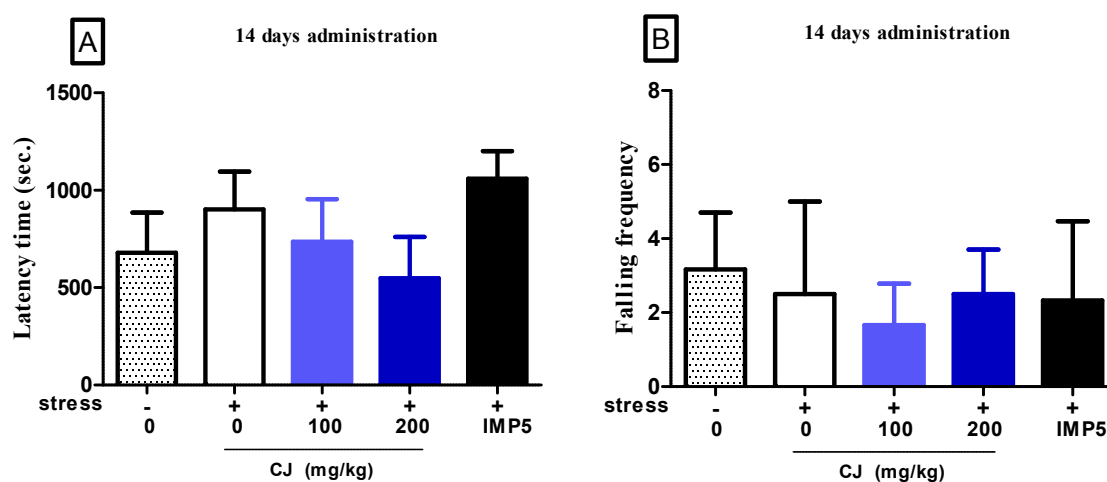


Figure 30. Effects of 14 day administration of CJ extracts on rotarod performance in mice chronically exposed to unpredictable mild stress (n=6~7). Each bar represents the mean \pm S.E.M of endurance time on the rotarod and falling frequency for 20 minutes. (* $p < 0.05$ versus stress control group).

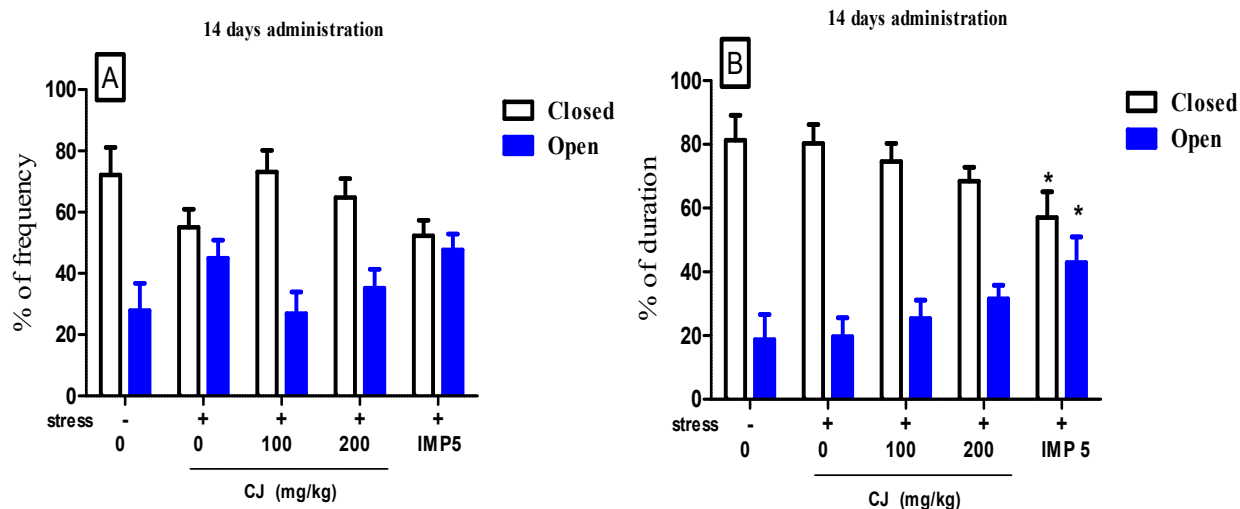


Figure 31. Effects of 14 day administration of CJ extracts on elevated plus maze in mice chronically exposed to unpredictable mild stress (n=6~7). Each bar represents the mean \pm S.E.M of the percentage of frequency and duration in each arms for 5 minutes. (* $p < 0.05$. versus stress control group).

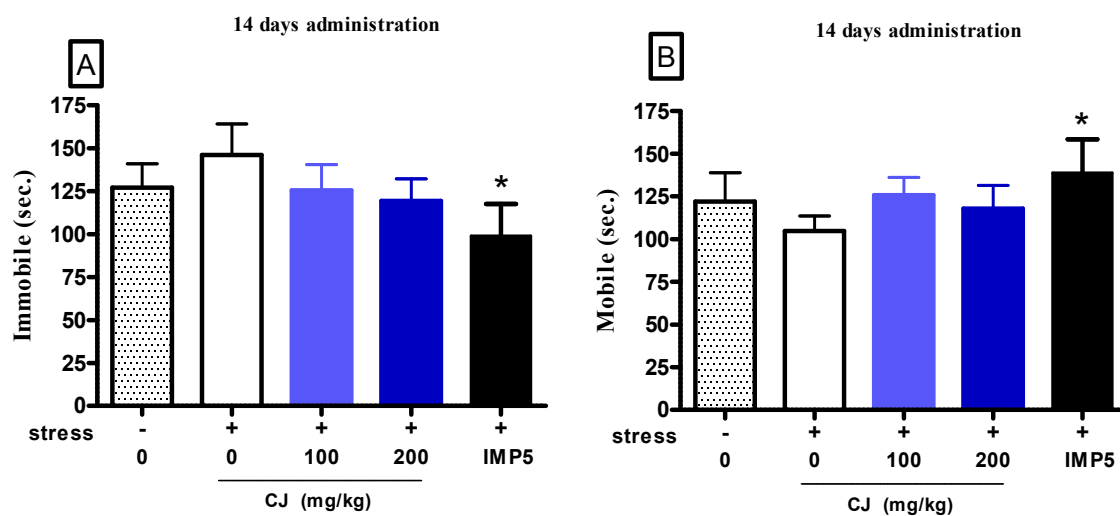


Figure 32. Effects of 14 day administration of CJ extracts on the forced swimming test in mice chronically exposed to unpredictable mild stress (n=6). Each bar represents the mean \pm S.E.M of immobile duration and mobile duration for 4 minutes(* $p < 0.05$ versus stress control group).

제8절 엉겅퀴추출물과 지표성분의 기능성상관관계에 대한 in vitro 연구

엉겅퀴추출물의 지표성분으로써 linnarin, pectolinnarin, chlorogenic acid, luteolin 10mg/kg을 투여한 후 항우울 효과를 확인하였으며, luteolin 투여시에 수영시간이 유의성 있게 증가하는 것을 확인하였다(Figure 33). 이러한 결과를 통해 luteolin이 엉겅퀴추출물의 항우울 효과에 기여하는 것으로 사료되어 NE reuptake assay와 Cl^- influx test를 통해 그 기전을 살펴보았다. 엉겅퀴추출물과 luteolin 모두 NE reuptake에는 변화를 유발하지 않았으나(Figure 34), Cl^- influx를 유발하는 효과가 있었다. Luteolin의 효과는 용량의존적이며 GABA 길항제인 bicuculline에 의해 차단되었다. 따라서 엉겅퀴추출물의 지표성분으로 luteolin이 적합한 것으로 사료되었다(Figure 35).

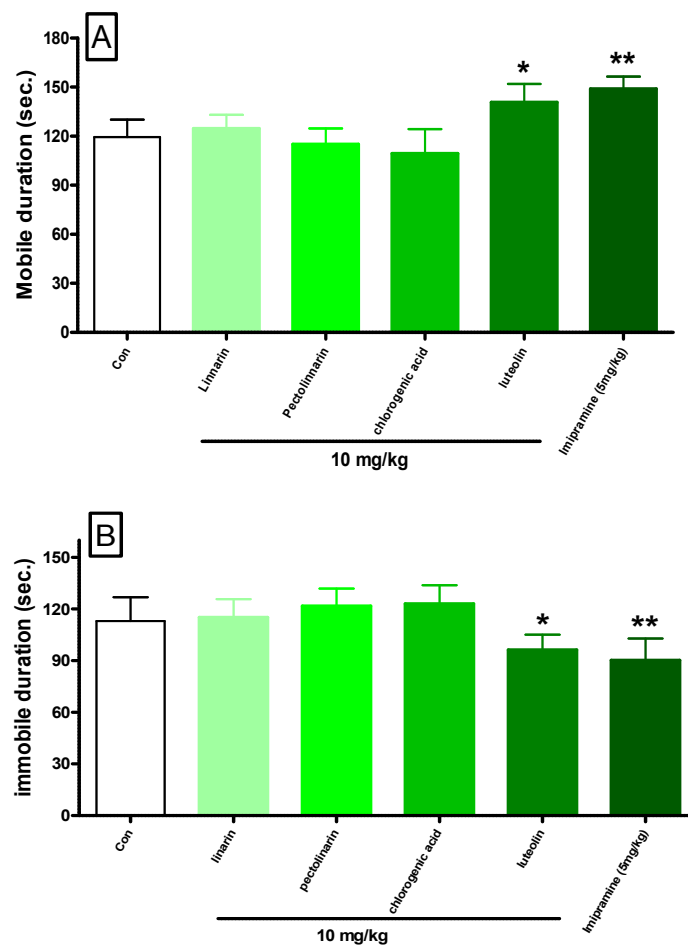


Figure 33. Effects of four compounds of CJ extracts on the forced swimming test in mice (n=9~10). Each bar represents the mean \pm S.E.M of mobile duration(A) and immobile duration(B) for 4 minutes(* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ versus control group).

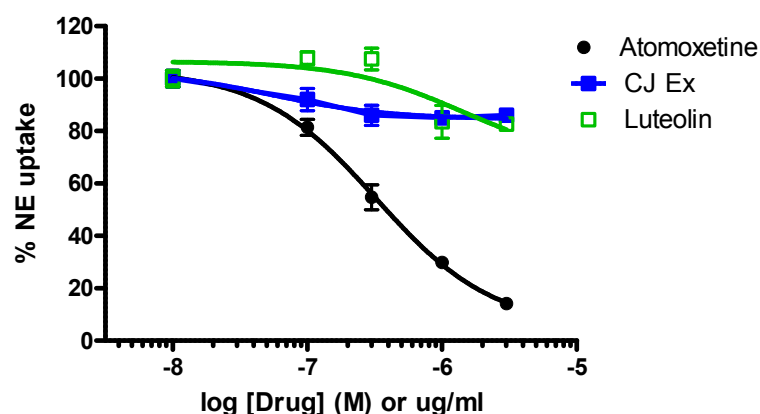


Figure 34. Effects of *Cirsium japonicum* extracts and luteolin on NE uptake in CHO cell. Each bar represents the mean \pm S.E.M of percentage of NE uptake.

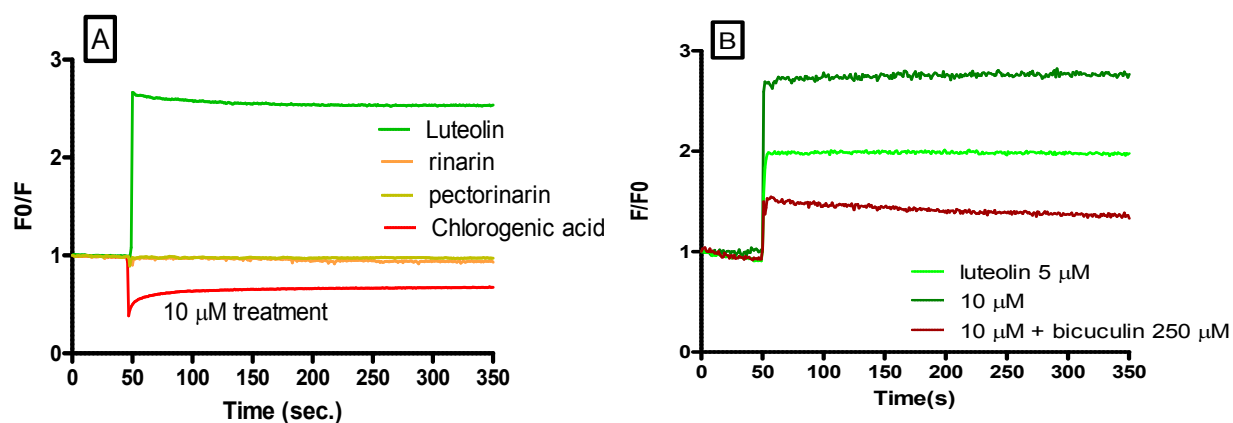


Figure 35. Effects of four compounds of *Cirsium japonicum* extracts on $[Cl^-]_i$ in neuroblastoma cells. Fluorescence was monitored in the excitation wavelength at 365nm and the emission wavelength at 450nm using the Cl^- -sensitive indicator, N-(6-methoxyquinolyl) acetoylester(MQAE). Contents of influx Cl^- ion was expressed as a peak (a.u.).

제9절 영정귀추출물을 이용한 정신건강관련 제품Concept 연구

전 세계적인 건강기능식품의 제품 출시률에 따라 건강기능식품 트렌드를 살펴보았을 때, 3가지 주요 sector로 나누어지는데 이중 Mood/Mental Health management (정신 건강 개선에 관한 기능성 식품)가 한축으로 성장하고 있는 것으로 분석되고 있으나, 국내의 소비자들의 인식 및 니즈 분석이 거의 되어 있지 않고 있는 실정이라 우선 보다 광범위하게 스트레스 및 그로 인한 정신관련 증상들에 대한 소비자 조사를 실시하였다.

Target 소비자층은 스트레스 노출수위가 높은 그룹을 선정하여 진행하였으며, 스트레스를 느끼는 정도, 해결방안 및 이를 건강식품 또는 건강기능식품으로 해결하는 것에 대한 연관성에 대해 질문하고 응답을 분석하여 新건강기능식품의 시장접근 방향을 결정하였다.

스트레스 및 그로 인한 증상들에 대한 병원용 검진지 및 open question을 통한 결과를 비교하여 본 결과, 진단보다는 자각정도가 더 큰 것으로 확인되었으며 일반적으로 다른 건강기능식품 카테고리와는 다른 영역임을 확인 할 수 있었다. 또한 이러한 결과는 정신건강관련 통계자료를 토대로 한 시장크기보다 더 클 것이라고 추정되었다.

제품concept은 부정적인 측면에서의 접근보다는 긍정적인 해소방안으로의 접근하여, 제품구매 시 타인의 시선에서 자유로울 수 있도록 구축해야 할 것으로 판단하였다. 뿐만 아니라, 소재의 효능연구뿐만 아니라 초콜릿, 허브티, 매운 음식이외의 국내산 약용작물이 정신건강에 도움을 줄 수 있다는 story 구축을 통한 제품개발 연구가 매우 중요할 것으로 확인되었다.

이외 추가로 본 연구팀은 당초 계획에는 없었으나, 정신건강 및 이에 대한 건강식품 소재에 대한 Global trend를 분석하기 위하여 사내지원을 통한 국제박람회 참관을 진행하고 변화하는 건강기능식품 시장 트렌드를 분석하였다.

- DSM은 vitamins, carotenoids 및 fine chemicals 제조 및 성분배합을 전문으로 하는 회사임

- **Relaxation & Sleep을 위한 Vitamins & Nutritional lipids 제품**

- Vitamin B12는 수면의 질을 증가시켜줌 [Quali-B]
- Niacin과 vitamin B6은 serotonin과 melatonin의 생산에 필수성분으로 수면Cycle에 도움
- Vitamin D은 mood와 circadian rhythm의 영향을 주는 요인으로 수면질에 영향을 줌
- Omega 3는 뇌세포막의 중요 구성 성분이며, serotonin, noradrenalin 및 dopamine과 같은 neurotransmitters의 분비 및 조절에 중요한 작용을 함
- Minerals 중 magenesium과 Zinc은 relaxation에 중요한 작용을 함



Quali-B

Quali-D

- **Relaxation을 위한 Nutraceuticals**

- Chamomile은 신경의 긴장을 완화시켜줌
- Lemon Balm은 GABA를 증가시키고 calming effect를 줌
- L-theanine은 Blood-brain barrier을 통과할 수 있는 성분으로 alpha-wave brain activity를 증가시켜 relaxation에 좋은 효과를 줌

- **Sleep을 위한 Nutraceuticals**

- Tryptophan은 serotonin의 전구물질로 수면시간 증가에 효과적
- Valerian은 relax와 수면에 도움을 줄 수 있음, 임상연구를 통해서도 확인 됨.

- **DSM의 정신건강 제품line**

- 최근 Empower your mind, Energize your mind, Relax your mind 시리즈를 개발함
- 논의를 통해 최적의 배합비율 설정하여 제조 공급할 수 있다고 함



제4장 연구개발목표 달성도 및 대외기여도

제1절 목표대비 달성도

영정귀 원물확보 및 소재생산을 위한 산업화 조건설정 및 영정귀추출물을 이용한 정신건강관련 제품의 concept 연구를 목표로 진행하였다. 그 결과, 영정귀 재배지역별 성분 및 기능성연구의 상관성을 확인하고 재배화에 성공한 농가와의 협력을 통한 계획적인 원물확보 가능성을 확립하였으며, 원물의 규격화 설정연구를 통하여 일관된 원물공급체계의 기반을 확보하였다. 또한, 지속적인 계약재배를 통한 농가의 소득증대도 창출하였으며, 수확 후 대량의 원물전처리를 위한 설비 및 전처리 협력업체를 확보하여 수확부터 추출전 단계까지의 프로세스를 창출하였다. 이는 건강식품소재개발에 있어서 매우 중요한 부분이며, 점차 원물관리 및 원가경쟁력 확보라는 개념에서 그 중요성은 충분히 강조될 수 있다.

또한 영정귀추출물 대량생산을 위한 추출조건의 최적화 및 scale-up연구를 수행한 결과, GMP시설에서 생산가능한 조건이면서 지표성분 및 수율함량 우수한 조건을 설정하였으며 반복생산을 통한 추출조건의 재현성을 확인하였으며, 주정의 재사용을 통한 생산원가절감에도 성공하였다. 건강기능식품 소재에서 중요한 지표물질 설정은 품질관리 및 유효성분 함량 표준화라는 관점에서 중요한 요인이므로, 1%이상 함유하고 있으며 특징적인 성분을 탐색하고 물질 분리하여 2가지 성분 확인하고 설정을 완료하였다. 추후 적용제품의 제형에 따라, 안정성을 고려하여 지표성분으로 활용하고자 한다.

더불어 기능성 지표 물질은 정신건강 외에 대표적인 퇴행성 뇌질환인 알츠하이머질병에 대한 연구 (항산화 활성 및 산화적 스트레스에 대한 신경세포보호효과)결과 영정귀추출물 및 영정귀에 함유된 폴리페놀 화합물이 효과적임을 검증하였다.

표준화된 영정귀추출물 소재에 대한 스트레스성 정서장애 in vitro 추가 mechanism 연구 및 표준화된 영정귀추출물을 대상으로 스트레스성 정서장애 in vivo 재현성 연구 및 섭취량설정을 연구하였다. 결과적으로 본 연구에서는 표준화된 영정귀추출물소재에 대한 추가 mechanism 연구에서 GABA를 통한 Cl^- influx 증가에 의한 것으로 확인되었고, 표준화된 영정귀추출물을 대상으로 스트레스성 정서장애 개선 효과의 재현성을 확인하였으며 100mg/kg의 용량이 적절한 것으로 사료 된다.

평창, 포천, 고흥, 제주, 예산의 영정귀추출물들의 항우울 효과를 비교한 결과 예산 영정귀추출물이 가장 우수한 항우울 효과를 가지고 있었으며, 제주산 영정귀추출물은 200mg/kg 이상에서는 항우울 효과를 100 mg/kg에서는 유의성 있는 항불안 효과를

나타내었다. 이러한 결과를 토대로 표준화된 엉겅퀴추출물소재의 스트레스성 정서장애 개선효과를 검증하여 100 mg/kg에서 항우울 효과의 재현성을 확인하였으며, 엉겅퀴추출물의 네가지 성분 중(chlorogenic acid, linarin, pectolinarin, luteolin) luteolin이 항우울 효과에 기여하였다. 엉겅퀴의 정서장애 개선효과 기전을 NE reuptake, Cl⁻ influx test를 통해 확인한 결과 GABA성 신경전달을 통해 Cl⁻ influx를 유발하는데 기인하는 것으로 사료되었다.

新카테고리인 정신건강관련 건강기능식품 제품개발을 위해서는 무엇보다도 제품의 Concept 분석을 위해 소비자 조사 및 마케팅 분석을 진행하였으며, 그 가능성을 검증하였다. 정신건강개선 시장에 대한 소비자 니즈는 분명히 있으나, 건강식품 또는 건강기능식품이 이를 해결해 줄 수 있는가에 대한 의구심을 해결할 수 있는 연결고리 방안 마련의 필요성을 소비자조사결과를 통해 확인하였다. 정신건강시장을 대중화하기 위해서는 과학적 연구결과를 바탕으로한 story telling 구축이 반드시 수반되어야 하는 것을 확인하였으며, Global trend에서도 재확인 하였다.

제2절 정량적 성과

세부(협동)과제명	과제책임자	성과물유형	성과물명	성과물주담당자	적용년월	승인여부
영경귀식물자원의 기능성분 탐색 및 표준화 연구	김건희	논문게재 (SCI)	Antioxidant activities and protective effects of extract of <i>Cirsium japonicum</i> on hydrogen peroxide-induced oxidative damage in PC12 cells	김건희	'13.3	미승인
		논문게재 (비SCI)	국내산 영경귀추출물의 항산화성분 및 활성	장미란	'12.6	승인
		논문게재 (비SCI)	지역별 영경귀추출물의 항균 활성		'13.3	미승인
		학술발표	Antibacterial activity of two different parts of <i>Cirsium japonicum</i> (aboveground and underground part) of Gangwon, Korea		'12.6	승인
			The antibacterial activity of <i>Cirsium japonicum</i> of four different regions of Korea		'12.6	승인
			Antioxidative Components and Activity of Domestic <i>Cirsium japonicum</i> Extracts		'12.6	승인
영경귀추출물을 이용한 스트레스성 정서장애 효능연구	정재훈	논문게재 (비SCI)	원료 생약 추출물의 최적화를 위한 한국 5개 지역에서 채집된 대개 추출물들의 항우울 효과 비교	정재훈	'12.12	승인
		논문게재 (SCI)	The involvement of magnoflorine on the sedative and anxiolytic effects of <i>Sinomeni Caulis et Rhizoma</i> in mice.	정재훈	'13	승인
		논문게재 (SCI)	Luteolin is involved in the antidepressant like effects of <i>Cirsium japonicum</i> in mice, through modulation of the GABA _A receptor.	정재훈	'13.3	미승인
		논문게재 (SCI)	The anxiolytic-like effects of ethanol extract of <i>Cirsium japonicum</i> in mice	정재훈	'13.3	미승인
		학술발표	Involvement of magnoflorin in the psychopharmacological effects of <i>Sinomeni Caulis et Rhizoma</i> in mice	정재훈	2012	승인
		학술발표	Comparison of the antidepressant activity of <i>Cirsium japonicum</i> hebal extracts collected from 5 different regions of Korea determining the optimal herbal preparation	정재훈	2012	승인
		학술발표	Antidepressant like effects of CJ-SU in mouse models of forced swimming test	정재훈	2011	승인
		학술발표	Comparison between <i>Cirsium japonicum</i> from Pyeongchang and Pocheon in psychological effect	정재훈	2011	승인
영경귀추출물의 제조공정 및 제품개발 연구	홍은영	특허	영경귀추출을 함유하는 정신건강 개선 및 치료용 조성물 개발	김건희 정재훈 홍은영	'13.3	미승인

제5장 연구개발결과의 활용계획

본 연구결과를 기반으로 영정귀추출물이 스트레스성 정서장애 개선에 관한 건강기능식품을 개발하여 긴장, 불안, 우울등의 정신건강 이상증상에 시달리고 있는 소비자들에게 해결방안을 제시하고, 새로운 건강기능식품 시장을 창출하고자 한다. 또한 추후 개별인정형 소재로 허가기관의 인정을 받아 산업경쟁력을 확보하고 국내외 특허 및 우수 논문발표를 지속적으로 follow-up하여 지적재산권을 강화하고 이를 기반으로 Global market에 진출하여 국산제품의 점유율을 증가시키고자 하며, 국내외 특허 및 우수 논문 발표를 통한 관련 지적 재산권 확보하고자 한다.

제6장 연구개발과정에서 수집한 해외과학기술정보

해당사항 없음

제7장 기타 중요 변동사항

해당사항 없음

제8장 국가과학기술종합정보시스템에 등록된 연구장비 현황

해당사항 없음

제9장 참고문헌

1. China Pharmacopoeia Committee. Pharmacopoeia of the People's Republic of China. Chemical Industry Press, Beijing. 2000; 1:42.
2. Eisenberg AM. Medicines for Treating Depression. A Review of the Research for Adults. Comparative Effectiveness Review Summary Guides for Consumers [Internet]. Rockville (MD): Agency for Healthcare Research and Quality (US); 2005 (2012).
3. Ganzera M, Pacher A. and Stuppner H. Differentiation of *Cirsium japonicum* and *C. setosum* by TLC and HPLC-MS. *Phytochem Anal.* 16, 205 (2005).
4. Fang J, Xia C, Cao Z, Zheng JZ, Reed E and Jiang BH. Apigenin inhibits VEGF and HIF-1 expression via PI3K/AKT/p70S6K1 and HDM2/p53 pathways. *FASEB J.* 19, 342 (2005)
5. Han JY, Ahn SY, Kim CS, Yoo SK, Kim SK, Kim HC, Hong JT, Oh KW. Protection of apigenin against kainate-induced excitotoxicity by anti-oxidative effects. *Biol Pharm Bull.* 2012; 35:1440-1446.
6. Ishida H, Umino T, Tsuji K, Kosuge T. Studies on antihemorrhagic substances in herbs classified as hemostatics in Chinese medicine. VII. On the antihemorrhagic principle in *Cirsium japonicum* DC. *Chem Pharm Bull (Tokyo).* 1987; 35:861-864.
7. Liao Z, Chen X and Wu M. Antidiabetic effect of flavones from *Cirsium japonicum* DC in diabetic rats. *Arch. Pharm. Res.* 33, 353 (2010).
8. Lou H, Fan P, Perez RG and Lou H. : Neuroprotective effects of linarin through activation of the PI3K/Akt pathway in amyloid- β -induced neuronal cell death. *Bioorg Med Chem.* 19, 4021 (2011).
9. Liu S, Luo X, Li D, Zhang J, Qiu D, Liu W, She L and Yang Z. : Tumor inhibition and improved immunity in mice treated with flavone from *Cirsium japonicum* DC. *Int. Immunopharmacol.* 6, 1387 (2006).
10. Losi G, Puia G, Garzon G, de Vuono MC and Baraldi M. Apigenin modulates GABAergic and glutamatergic transmission in cultured cortical neurons. *Eur. J. Pharmacol.* 502, 41 (2004).
11. Jang S, Dilger RN, Johnson RW. Luteolin Inhibits Microglia and Alters Hippocampal-Dependent Spatial Working Memory in Aged Mice. *J. Nutrition.* vol. 140 (10) 1892-1898
12. Williams JW, Mulrow CD, Chiquette E, Nol PH, Aguilar, C. and Cornell, J. A systematic review of newer pharmacotherapies for depression in adults: evidence report summary. *Ann. Intern. Med.* 132, 743 (2000).
13. Zh F, Kong LY. and Peng SX. : Studies on the chemical constituents of *Cirsium*

- japonicum DC. Yao, Xue Xue Bao. 38, 442 (2003).
14. Zhu LH, Bi W, Qi RB, Wang HD, Wang ZG. Zeng Q, Zhao YR and Lu DX. Luteolin reduces primary hippocampal neurons death induced by neuroinflammation. *Neurol Res.* 33, 927 (2011).
 15. 한국약학대학 협의회 약물학 분과회 저 : 약물학, 신일상사, 서울 p. 208 (2002)
 16. Choi YJ. 1987. Cultivation and Utilization of wild edible. Osung Press. p 337.
 17. Lee SJ. 1966. Korean Folk Medicine. Seoul National University Press. Seoul. p 145-146.
 18. Ishida H, Umino T, Tsuji K, Kosuge T. Studies on antihemorrhagic substance in Herbs classified as hemostatics in Chinese medicine VII. On the antihemorrhagic principle in *Cirsium japonicum* DC. *Chem. Pharm. Bull* 35(2): 861.
 19. Kim SJ, Kim GH. 2003. Identification for flavones in different parts of *Cirsium japonicum*. *J Food Sci Nutr* 8: 330-335.
 20. Fang J, Xia C, Cao Z, Zheng JZ, Reed E, Jiang BH. 2005. Apigenin inhibits VEGF and HIF-1 expression via PI3K/AKT/p70S6K1 and HDM2/p53 pathways. *FASEB J* 19: 3423.
 21. Lee HK, Kim JS, Kim NY, Kim MJ, Park SU, Yu CY. 2003. Antioxidant, antimutagenicity and anticancer activities of extracts from *Cirsium japonicum* var. *ussuriense* KITAMURA. *Kor J Medicinal Crop Sci* 11(1): 53-61.
 22. Lee MK, Moon HC, Lee JH, Kim JD, Yu CY, Lee HY. 2002. Screening of immune enhancing activities in medicinal herbs, Compositae. *Kor J Medicinal Crop Sci* 10(1): 51-57.
 23. Liu S, Luo x, Li D, Zhang J, Qui D, Liu W, She L, Yang Z. 2006. Tumor inhibition and improved immunity in mice treated with flavone from *Cirsium japonicum* DC. *Int Immunopharmacol* 6(9): 1389-1393.
 24. Park HK, Yoon SY, Choi JH, Ko HS, Suh YW, Lee YS, Kim GH, Chung MS, Cheong JH. 2006. The antidepressant effects of *Cirsium japonicum* in ICR mice. *J Pharm Soc Korea* 50(6): 429-435.
 25. Lim DK, Choi U, Shin DH. 1996. Antioxidative activity of ethanol extract from Korean medicinal plants. *Kor J Food Sci Tech* 28: 83-89.
 26. Folin O, Denis W. 1912. On phosphotungstic-phosphomolybdic compounds as color reagents. *J Biol Chem* 12: 239-249.
 27. Ko SH, Kim SI, Han YS. 2008. The quality characteristics of yogurt add supplemented with low grade dried-persimmon extracts. *Kor J Food Cookery Sci* 24: 735-741.
 28. Blois MS. 1958. Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature* 181: 1199-1200.

29. Re R, Pellegrini N, Proteggente A, Pannala A, Yang M, Rice-Evans C. 1999. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radic Biol Med* 26: 1231-1237.
30. Oyaizu M. 1986. Studies on products of browning reactions; antioxidant activities of products of browning reaction prepared from glucose amine. *Jpn J Nutr* 44: 307-315.
31. Benzie IFF, Strain JJ. 1996. The Ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of antioxidant power: The FRAP assay. *Anal Biochem* 239: 70-76.
32. Gary R. Beecher. 2003. Overview of dietary flavonoids: nomenclature, occurrence and intake. *J Nutr* 133: 3248S-3254S
33. Jeong JA, Kwon SH, Lee CH. 2007. Screening for antioxidative activities of extracts from aerial and underground parts of some edible and medicinal ferns. *Kor J Plant Res* 20: 185-192.
34. Villaño D, Fernández-Pachón MS, Moyá ML, Troncoso AM, García-Parrilla MC. 2007. Radical scavenging ability of polyphenolic compounds towards DPPH free radical. *Talanta*. 71: 230-235.
35. Choi Y, Jeong HS, Lee J. 2007. Antioxidant activity of methanolic extracts from some grains consumed in Korea. *Food Chem* 103: 130-138.
36. Park SII, Kim KS. 2004. Isolation and identification of antioxidant flavonoids from *Salicornia herbacea* L. *J Kor Soc Appl Biol Chem* 47: 120-123.
37. Wang MF, Shao Y, Li JG, Zhu NQ, Rangarajan M, Lavoie EJ, Ho CT. 1998. Antioxidative phenolic compounds from sage (*Salvia officinalis*). *J Agric Food Chem* 46: 4869-4873.
38. Kim I, Jeong C, Park S, Shim K. 2011. Nutritional components and antioxidative activities of Jujube (*Zizyphus jujuba*) fruit and leaf. *Korean J Food Preserv* 18: 341-348

주 의

1. 이 보고서는 농촌진흥청에서 시행한 「차세대바이오21사업」의 연구보고서입니다.
2. 이 보고서의 내용을 인용·발표할 때는 반드시 농촌진흥청에서 시행한 「차세대바이오21사업」의 결과임을 밝혀야 합니다.
3. 국가과학기술 기밀유지에 필요한 내용은 대외적으로 발표 또는 공개해서는 안됩니다.

주요 연구성과 요약

엉겅퀴(*Cirsium japonicum*) 자생식물을 이용한 정신건강 기능성 식품소재 개발

□ 연구 배경

- 식품을 통한 건강의 사전예방 중요성 증가, 신체적 건강뿐만 아니라 정신적 건강에 대한 관심이 증가
 - 현대인의 정신적, 육체적 건강을 위협하는 대표적 요인인 스트레스로 인한 다양한 정신건강의 위험수위 증가
 - 직접적인 치료비용뿐만 아니라 간접비용 또한 매우 크기 때문에 사회문화적으로 큰 부담이 되고 있기 때문에 점차 세계 사회의 주요 도전분야가 될 것으로 판단
- 특히, 국내의 경우 정신건강의 적신호가 켜져 있는 상태이며, 이에 대한 기반연구 및 제품개발에 대한 기반이 매우 미비한 실정임

□ 주요 연구성과

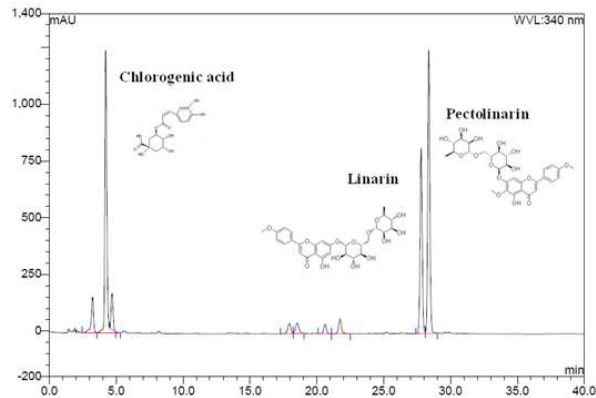
- 국내산 식물자원 중 정신건강에 도움이 되는 소재 선정
 - 국내의 다양한 지역의 분포되어 있는 엉겅퀴식물자원을 연구하고 재배 및 효능 연구를 결합하여 최적의 원물규격을 선정
- 선정된 엉겅퀴식물의 재배-수확-전처리(세척, 절단, 건조) 체계 구축
 - 재배기간, 부위별 등에 따른 차이 연구 확인
 - 가공비용을 최소화 하는 전처리 process 구축



<엉겅퀴재배현장>

- 규격화된 엉겅퀴에 함유되어 있는 유효성분 및 효능을 나타내는 최적의 추출조건 확립

- GMP시설에서의 대량생산조건 확립 및 재현성 확보
- 엉겅퀴의 3가지 주요 지표 활성 성분 설정



<포천 지역 엉겅퀴추출물의 HPLC 분석 결과>

- DPPH, ABTS, FRAP, Reducing power의 항산화 활성 평가 결과 엉겅퀴의 뛰어난 항산화능이 확인됨
- 산화적스트레스를 입은 PC12 신경세포가 엉겅퀴추출물에 의해 효과적으로 보호되는 것이 관찰됨
- 표준화된 엉겅퀴추출물소재에 대한 추가 mechanism 연구에서 GABA를 통한 Cl^- influx 증가에 의한 것으로 확인됨
- 표준화된 엉겅퀴추출물을 대상으로 스트레스성 정서장애 개선 효과의 재현성을 확인하였으며 100 mg/kg의 용량이 적절한 것으로 사료됨
- 표준화된 엉겅퀴추출물소재의 스트레스성 정서장애 개선효과를 검증하여 100 mg/kg에서 항우울 효과의 재현성을 확인하였으며, 엉겅퀴추출물의 네가지 성분 중 luteolin이 항우울 효과에 기여하였음
- 엉겅퀴의 정서장애 개선효과 기전을 NE reuptake, Cl^- influx test를 통해 확인한 결과 GABA성 신경전달을 통해 Cl^- influx를 유발하는데 기인하는 것으로 사료됨

□ 파급효과

- 국산 엉겅퀴를 활용한 부작용이 없는 新건강기능식품 개발을 통한, 국민보건 증진, 농업 소득증가 및 관련 식품산업의 발전을 도모