

땃두릅(*Aralia continentalis*)의 항산화 성분

김주선*, 강삼식, 최재수¹, 이명환², 이택수²

서울대학교 천연물과학연구소, ¹부경대학교 식품생명과학과, ²서울여자대학교 자연과학대학

Antioxidant Components from *Aralia continentalis*

Ju Sun Kim*, Sam Sik Kang, Jae Sue Choi¹,

Myung Whan Lee² and Taik Soo Lee²

Natural Products Research Institute, Seoul National University, Seoul 110-460;

¹Department of Food and Life Science, Pukyong National University, Pusan 608-737;

and ²College of Natural Sciences, Seoul Women's University, Seoul 139-774, Korea

Abstract—The root of *Aralia continentalis* Kitagawa (Araliaceae) have been used as an analgesic and fever remedy, and for treatment of rheumatism in Chinese medicine, whereas the young leaves are used for ingredient of salad. Antioxidant activity of the young leaves of *A. continentalis* was determined by measuring lipid peroxide produced when a mouse liver homogenate was exposed to the air at 37°C, using 2-thiobarbituric acid (TBA) and by evaluation the radical scavenging activity on 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) radical. Chromatographic separation of active fraction led to the isolation of six flavonoids, among which quercetin, hyperoside and kaempferol showed strong antioxidant activities, while 6'-O-acetyl astragalin, astragalin and trifolin were inactive. Adenosine, oleanolic acid 28-O-glucosyl ester and salsolose C methyl ester isolated from the somewhat active BuOH fraction exhibited no antioxidant activities.

Key words—*Aralia continentalis*; antioxidant activity; DPPH; TBA; flavonoid; adenosine; saponin.

땃두릅(*Aralia continentalis* Kitagawa)은 두릅나무과(Araliaceae)에 속하는 다년생 초본으로 한국, 중국, 일본등지에서 야생 또는 재배되고 있는 식물로서 뿌리는 한방에서 독활(獨活)이라하여 진통, 부종, 해열, 치통, 관절염 등의 치료에 사용되어 온 생약재이며,^{1,2)} 어린잎과 줄기는 특유의 향이 있어 인기있는 고급나물로 해외에 수출되기도하는 유용한 식물자원이다. 이 식물에 관하여서는 뿌리인 독활에서 항염증작용성분,³⁻⁵⁾ 혈소판응집억제작용과 그 성분^{6,7)}에 관한 보고가 있었고, 어린잎으로 부터

는 정유성분에 관한 보고⁸⁾가 있었으며, 저자 등이 이 식물의 어린잎으로 부터 flavonoid 성분을 분리 보고⁹⁾한 바 있다.

불포화도가 큰 지방산이 쉽게 산화되어 생성된 과산화물은 생체 여러조직에서 세포막의 변화, 효소활성의 감소, DNA 손상과 돌연변이 및 퇴행성 장애를 일으켜 암, 심장병 및 노화 등 각종 성인병을 유발하는 것으로 알려져있다.¹⁰⁻¹³⁾ 따라서 이들 질병의 예방과 치료를 위해 보다 효과적인 항산화제의 개발이 요구되어왔으며, 특히 보다 안전하고 우수한 천연물로부터의 새로운 천연항산화제개발에 많은 관심이 모아지고 있다. 이에 본 연구에서는 땃두릅의 MeOH

*교신저자 : Fax 02-743-3323

extract가 DPPH radical 소거효과에 의한 검색과 TBA에 의한 비색정량법의 검색결과 우수한 항산화 활성을 나타내어 그 성분을 분리하고 구조를 구명하였다.

재료 및 방법

실험재료 - 1993년 5월 수원 농촌진흥청 작물시험장에서 재배 되고 있는 땃두릅 어린잎을 채취, 음건하여 실험재료로 사용하였다.

기기 - 용점은 Mitamura-Riken의 미량용점 측정기를 사용하여 측정하였으며 보정하지 않았다. IR은 JASCO FT/IR-5300, UV는 Gilford 2600 또는 Hitachi U-3210, MS는 Hewlett Packard 5985B GC/MS system, NMR은 Varian FT-80A(80 MHz) 및 Bruker AM-300(300 MHz)를 사용하여 측정하였다.

실험동물 - 암수 구별없이 체중 20~25 g의 ICR 계 mouse를 시판 고형사료로 사육하여 실험동물로 하였다.

DPPH radical 소거효과에 의한 항산화활성 검색¹⁴⁾ - 각 분획 및 단일성분 3 mg을 취해 MeOH로 25 ml로 정용한후 각각의 농도를 480 µg/4 ml, 320 µg/4 ml, 160 µg/4 ml, 80 µg/4 ml, 40 µg/4 ml, 20 µg/4 ml, 10 µg/4 ml로 희석한 용액 4 ml와 MeOH로서 1.5×10^{-4} M/ml 농도가 되게 한 DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl)용액 1 ml씩을 vortex로 균일하게 혼합한 다음 실온에서 30분간 방치한후 520 nm에서 optical density(O.D.)를 측정하였다. 항산화 효과는 대조군에 대한 50% 흡광도의 감소를 나타내는 검체의 농도(EC₅₀)로 표시하였다. 각 시료를 3회 반복실험하여 평균 하였다.

TBA비색정량법에 의한 항산화활성 검색(간조직의 과산화지질 정량)¹⁵⁾ - Mouse 간 1 g에 saline 5 ml를 가하여 빙냉하에서 마쇄한 다음 간 마쇄액에 saline을 가하여 10 ml가 되도록 하였다. 이 간 마쇄액 0.3 ml에 검액 또는 증류수 0.1 ml를 가하고 37°C에서 4시간 incubation하여 생성된 과산화지질을 TBA법으로 정량하였다. TBA 값은 532 nm에서 흡광도가 0.1일 때를 1 unit로 한후 생쥐 간 1 g에 대한 TBA값을 환산하여 표시하였다.

추출 및 분획 - 음건한 땃두릅 어린잎 1.4 kg을

MeOH로 수욕상에서 3시간씩 3회 반복 추출한 후 감압 농축하여 MeOH엑스(139 g)를 얻었다. 이 MeOH 엑스를 물에 현탁시킨 후 *n*-hexane, CHCl₃, EtOAc 및 BuOH로 순차적으로 분획하였다. 각 분획들을 농축하여 hexane 분획(37.3 g), CHCl₃ 분획(7.8 g), EtOAc 분획(10.0 g), BuOH 분획(28.9 g) 및 H₂O 잔사(53.5 g)를 얻었다.

EtOAc 분획의 column chromatography - EtOAc 분획을 silica gel column에 걸고 CHCl₃:MeOH:H₂O=7:2:0.5의 용출용매로 chromatography를 실시하여 22개의 소분획을 얻었다. 소분획 2, 3, 4 및 5를 각각 Sephadex LH-20 column에 걸어 MeOH로 용출시켜 소분획 2와 3으로 부터 화합물 1을, 소분획 4로 부터 화합물 2를 얻었으며, 소분획 4와 5로 부터 얻은 분획을 다시 silica gel column에 걸어 몰포화된 EtOAc로 용출시켜 화합물 3을 얻었다. 소분획 8은 농축한 후 MeOH을 가해 재결정을 반복하여 화합물 4를 얻었다. 또한 소분획 11 및 17 역시 Sephadex LH-20 column에 걸어 MeOH로 용출시켜 소분획 11로 부터 화합물 5를, 소분획 17로 부터 화합물 6을 각각 얻었다.

BuOH 분획의 column chromatography - BuOH 분획 20 g을 CHCl₃: MeOH:H₂O=7:3:1의 용출용매로 silica gel column chromatography를 실시하여 17개의 소분획을 얻었다. 소분획 5에서 MeOH로 재결정을 반복하여 화합물 7을, 소분획 14를 silica gel column에 걸고 H₂O포화 EtOAc 및 H₂O포화 EtOAc와 MeOH의 혼합용매로 기울기 용리시켜 얻은 화합물을 MeOH로 재결정하여 화합물 8을 각각 얻었다.

BuOH 분획의 methylation 및 column chromatography - BuOH 분획 8 g을 60% dioxane 용액에 녹이고 0.02 N-H₂SO₄ 용액을 가하여 하루밤 방치시켜 생성된 침전을 여과하고 여액을 30°C 이하의 저온에서 감압 농축하여 절반정도가 되게 한 후, BuOH를 가하여 분획하여 BuOH 분획을 중성이 될 때까지 증류수로 세척한 후 감압농축하여 MeOH에 용해시켜 CH₂N₂으로 methylation시킨 다음 silica gel column에 걸고 CHCl₃:MeOH:H₂O=10:2:0.5로 용리시켜 25개의 소분획을 얻었다. 소분획 14에서 MeOH로 재결정을 반복하여 화합물 9를 얻었다.

화합물 1~6의 확인 - EtOAc분획에서 분리한 화합물은 kaempferol(1), quercetin(2), 6"-O-acetyl astragalin(3), astragalin(4), trifolin(5), hyperoside(6)임을 확인하였다.⁹⁾

화합물 7, 8, 9의 확인 - BuOH 분획에서 분리한 화합물 7, 8, 9는 각각 adenosine(7), mp 234~235°C, oleanolic acid 28-O-β-D-glucopyranosyl ester(8), mp 237~240°C, salsolosite C methyl ester(9), mp 229~231°C임을 물리·화학적 및 분광학적방법(NMR, mass, IR)으로 확인한 후 이들을 문헌치¹⁶⁻¹⁸⁾와 비교하여 확정하였다.

결과 및 고찰

맛두릅의 어린잎으로부터 얻은 MeOH엑스의 DPPH radical 소거효과에 의한 항산화검색 결과 우수한 항산화작용을 나타내었다. 이 엑스를 통상적인 방법으로 분획하여 각 분획에 대한 활성을 검토한 바 EtOAc 분획에 강한 항산화 활성성분이 함유되어 있음을 알았으며, BuOH 분획에도 EtOAc 분획보다는 약하나 항산화활성성분이 함유되어 있음을 알았다(Table I). 또한 TBA비색법에 의한 검색에서도 같은 결과를 얻을 수 있었다(Fig. 1). 따라서 이 두 분획을 각각 column chromatography를 실시하여 EtOAc 분획으로 부터는 6종의 flavonoid 화합물을 단리하여 각각 kaempferol(1), quercetin(2), 6"-O-acetyl astragalin(3), astragalin(4), trifolin(5), hyperoside(6)임을 확인하였다.⁹⁾ BuOH 분획으로부터는 3종의 화합물을 단리하여 화합물 7은 adenosine임을 물리·화학

Table I. Scavenging effects of MeOH extract and fractions from *A. continentalis* on 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) radical

Samples	EC ₅₀ ^{a)} (μg)
MeOH extract	104.3
Hexane fraction	>480.0
CHCl ₃ fraction	>480.0
EtOAc fraction	24.6
BuOH fraction	113.9
H ₂ O fraction	414.5
L-Ascorbic acid	6.8

^{a)} The values indicate 50% decrease of DPPH radical and are the means of triplicate data.

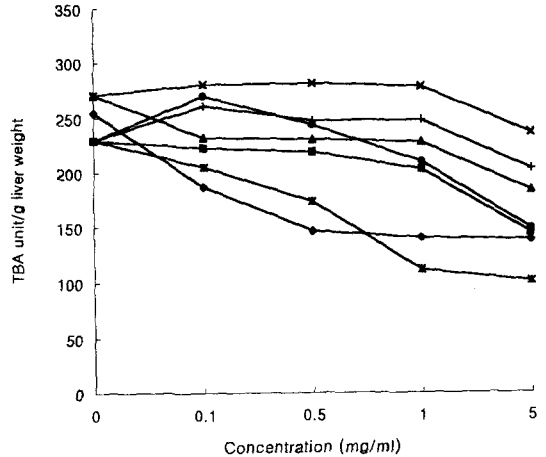


Fig. 1. Effect of the MeOH extract and fractions from *A. continentalis* on lipid peroxidation of liver homogenate (◆: vit. C, ■: MeOH, ▲: Hexane, ×: CHCl₃, *: EtOAc, ●: BuOH, +: H₂O).

적 방법과 분광학적 방법으로 확인 한 후 표준품과 직접적으로 대조하여 확정하였다.¹⁶⁾ Adenosine은 식물에 널리 분포하며 그중 *Angelica acutiloba*,¹⁹⁾ *Allium bakeri*와 *A. sativum*²⁰⁾으로 부터는 혈소판응집 억제작용을 나타내는 유효성분으로 분리 보고된 바 있으나 이 식물로부터는 처음으로 분리되었다. 화합물 8, 9는 물리·화학적 및 분광학적방법(NMR, mass, IR)으로 확인한 후 data를 문헌치^{17,18)}와 비교하여 화합물 8은 oleanolic acid 28-O-β-D-glucopyranosyl ester, 화합물 9는 3-O-β-D-xylopyranosyl(1→4)(β-D-6-O-methyl-glucuronopyranosyl) oleanolic acid 28-O-β-D-glucopyranosyl ester(salsolosite C methyl ester)로 확인하였다.

화학구조가 결정된 이들 화합물들에 대하여 항산화활성을 검색한(DPPH test) 결과 Table II에서 보는 바와 같이 이미 강한 항산화작용이 있는 것으로 알려진 quercetin이^{21,22)} 가장 강한 항산화활성을 나타내었고, 다음은 quercetin의 3-OH에 galactose가 β결합하고 있는 hyperoside가 또한 강한 항산화 활성을 나타내었으며, kaempferol이 그 다음으로 강한 활성을 나타내었는데 나머지 kaempferol의 3-OH에 glucose와 galactose가 각각 결합된 astragalin과 trifolin 및 6"-O-acetyl astragalin은 각각 480 μg의 농도에서도 38.8%, 25.0

Table II. Scavenging effects of *A. continentalis* components on 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) radical

Compound	EC ₅₀ ^{a)} (μg)
Kaempferol	12.0
Quercetin	4.5
6"-O-Acetyl astragalinalin	>480.0
Astragalinalin	>480.0
Trifolinalin	>480.0
Hyperoside	6.0
Adenosine	>480.0
Oleanolic acid	>480.0
28-O-glucoside	
Salsololide C	>480.0
Salsololide C methyl ester	>480.0
L-Ascorbic acid	6.8

^{a)}The values indicate 50% decrease of DPPH radical and are the means of triplicate data.

% 및 18.8%로 거의 활성을 나타내지 않았다. 이와 같은 결과는 flavonoid중에서도 3', 4' 위치에 dihydroxy기를 갖는 flavonoid들이 강한 항산화작용을 나타낸다는 보고들²¹⁻²⁴⁾과 잘 일치함을 알 수 있었으며, C-3이나 C-7에 O-glycosylation은 항산화작용을 약화시킨다는 보고^{21,23,24)}와도 같은 결과를 얻을 수 있었다. 또한 BuOH 분획으로부터 분리된 adenosine과 oleanolic acid 28-O-glucoside와 salsololide C 및 이의 methylester 역시 480 μg 농도에서 17.8%, 6.3%, 4.3% 및 11.8%로 항산화활성을 나타내지 않았다. 그러나 Ohminami 등²⁵⁾의 보고에 의하면 콩(*Glycine max*)에서 분리한 soyasaponin들이 고지방증을 억제하며, 옥수수기름의 열에 의한 과산화를 억제한다고 보고한 바 있으며, Liu 등²⁶⁾은 황기(*Astragalus membranaceus*)에서 분리한 saponin성분들인 astragaloside III, IV 및 VI이 superoxide anion radical을 소거하는 성분들이며 이 성분들은 아마도 xanthin oxidase를 억제하므로써 활성이 나타난다고 보고한 바 있다. BuOH 분획의 TLC를 실시한 결과 EtOAc 분획에서 분리된 flavonoid 성분이 일부 함유되어 있음을 확인할 수 있었으며 BuOH 분획의 주성분인 saponin 성분이 항산화 활성을 나타내지 않는 것으로 보아 BuOH 분획에서 나타난 항산화활성은 EtOAc 분획에서 분리한 이들 flavonoid 성분

에 의한 것으로 생각된다. 이와 같은 결과로 땃두릅의 항산화 활성성분은 quercetin, hyperoside 및 kaempferol임을 확인하였다. 이상에서 살펴본 바와 같이 땃두릅은 특유의 향 뿐 아니라 뛰어난 항산화 활성성분을 함유하여 손쉽게 섭취할 수 있는 우수한 건강보조식품으로서 개발가능성을 기대할 수 있을것으로 생각된다.

인용문헌

1. 이창복 (1989) 대한식물도감, 575. 향문사, 서울.
2. Perry, L. M. (1980) *Medicinal plants of east & southeast asia. Attributed properties and uses*, 41. The MIT Press, London.
3. Han, B. H., Han, Y. N., Han, K. A., Park, M. H. and Lee, E. O. (1983) Studies on the anti-inflammatory activity of *Aralia continentalis* (I). *Arch. Pharm. Res.* 6(1): 17-23.
4. Han, B. H., Park, M. H., Han, Y. N. and Manalo, J. B. (1983) Studies on the anti-inflammatory activity of *Aralia continentalis* (II). *Arch. Pharm. Res.* 6(1): 75-77.
5. Han, B. H., Woo, E. R., Park, M. H. and Han, Y. N. (1985) Studies on the anti-inflammatory activity of *Aralia continentalis* (III). *Arch. Pharm. Res.* 8(2): 59-65.
6. Yun-Choi, H. S., Kim, J. H. and Lee, J. R. (1986) Screening of potential inhibitors of platelet aggregation from plant sources(II). *Kor. J. Pharmacogn.* 17(1): 19-22.
7. Kosela, S., Rasad, A., Achmad, S. A., Wicaksonon, W., Baik, S. K., Han, Y. N. and Han, B. H. (1986) Effects of diterpene acids on malondialdehyde generation during thrombin induced aggregation of rat platelets. *Arch. Pharm. Res.* 9(3): 189-191.
8. Sawamura, M., Lee-Kim, M.-S., Shichiri, K.-I., Tsuji, T. and Machida, K. (1989) Volatile constituents of Japanese and Korean Udo (*Aralia cordata* Thunb.) and Butterbur (*Petasites japonica* Miq.). *Research Reports of the Kochi University* 38: 1-12.
9. Kim, J. S., Kang, S. S., Lee, M. W. and Kim, O. K. (1995) Isolation of flavonoids from the leaves of *Aralia continentalis*. *Kor. J. Pharmacogn.* 26(3): 239-243.
10. Huang, M. T., Osawa, T., Ho, C. T. and Rosen, R. T. (1994) *Food phytochemicals for cancer*

- prevention* I, 50,57-59,71-73. American Chemical Society, Washington.
11. Ho, C. T., Osawa, T., Huang, M. T. and Rosen, R. T. (1994) *Food phytochemicals for cancer prevention* II, 20-31,155,183-186. American Chemical Society, Washington.
 12. Kwon, M. J., Joun, Y. S. and Song, Y. O. (1994) The degree of lipid oxidation of rat liver fed peroxidized lipid and its effects on anti-oxidative system. *J. Korean Soc. Food Nutr.* 23(6):899-970.
 13. Huang, H. T., Ho, C. T. and Lee, C. Y. (1992) *Phenolic compounds in food and their effects on health* II, 54-70, 122. American Chemical Society, Washington.
 14. Yoshida, T., Mori, K., Hatano, T., Okumura, T., Uehara, I., Komagoe, K., Fujita, Y. and Okuda, T. (1989) Studies on inhibition mechanism of autoxidation by tannins and flavonoids. V. Radical-scavenging effects of tannins and related polyphenols on 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl radical. *Chem. Pharm. Bull.* 37(7): 1919-1921.
 15. Han, Y. N., Oh, H. K., Hwang, K. H. and Lee, M. S. (1994) Antioxidant components of Gardenia fruit. *Kor. J. Pharmacogn.* 25(3): 226-232.
 16. Son, K.H., Do, J. C. and Kang, S. S. (1991) Isolation of adenosine from the rhizomes of *Polygonatum sibiricum*. *Arch. Pharm. Res.* 14(2): 193-194.
 17. Kang, S. S., Kim, J. S., Kim, O. K. and Lee, E. B. (1993) Triterpenoid saponins from the root barks of *Aralia elata*. *Arch. Pharm. Res.* 16(2): 104-108.
 18. Kawai, H., Nishida, M., Tashiro, Y., Kuroyanagi, M., Ueno, A. and Satake, M. (1989) Studies on the structures of Udosaponins A, B, C, D, E and F from *Aralia cordata* THUNB. *Chem. Pharm. Bull.* 37(9): 2318-2321.
 19. Torhzuka, K., Nishiyama, P., Adachi, I., Kawashiri, N., Ueno, N., Terasawa, K. and Hori-kosh, I. (1986) Isolation of a platelet aggregation inhibitor from *Angelicae radix*. *Chem. Pharm. Bull.* 34: 5011-5015.
 20. Okuyama, T., Fujita, K., Shibata, S., Hoson, M., Kawada, T., Masaki, M. and Yamate, N. (1989) Effects of Chinese drugs "Xiebai" and "Dasuan" on human platelet aggregation (*Allium bakeri*, *Allium sativum*). *Planta Med.* 55: 242-244.
 21. Pathak, D., Pathak, K. and Singla, A. K. (1991) Flavonoids as medicinal agents-Recent advances. *Fitoterapia* LXII(5): 371-389.
 22. Farkas, L., Gabor, M. and Kallay, F. (1986) *Flavonoids and biflavonoids 1985*, 423-434. Elsevier, Amsterdam.
 23. Husain, S. R., Cillard, J and Cillard, P. (1987) Hydroxy radical scavenging activity of flavonoids. *Phytochemistry* 26: 2489-2491.
 24. Damon, M., Michel, F., Le Doucen C. and Crastes de P.A. (1986) Effect of flavonoids on the release of highly reactive oxygen species by polymorphonuclear cells. Chemiluminescence study. *Bull. Liaison-Groupe Polyphenols.* 13: 569-573 [*Chem. Abstr.* 107, 228456 (1987)].
 25. Ohiminami, H., Kimura, Y., Okuda, H., Arichi, S., Yoshikawa, M. and Kitagawa, I. (1984) Effects of soyasaponins on liver injury induced by highly peroxidized fat in rats. *Planta Med.* 50: 440-441.
 26. Liu, X. J., Jiang, M. H., Yu, Z. K., Zheng, J. M., Gong, Z. M., Zhang, J. H. and Dai, R. H. (1993) Studies on biologically active principles of Huangqi, root of *Astragalus membranaceous*. Isolation and detection of constituents scavenging superoxide anion. *J. Chinese Pharm. Sci.* 2: 80-83.

(1998년 1월 16일 접수)