생 약 학 회 지
Kor. J. Pharmacogn.
32(2) : 108 ~ 115 (2001)

생약추출물의 항산화 활성검색

나민균[1,3] · 안인파[1,4] · 이상명[2] · 홍남두[3] · 유재국[1,3] · 이찬복[3] · 김진표[3] · 배기환[1]*

[1]충남대학교 약학대학, [2]한국생명공학연구원, [3](주)한국신약 자광연구소, [4]연변대학교 약학원

Screening of Crude Drugs for Antioxidative Activity

MinKyun Na[1,3], RenBo An[1,4], SangMyung Lee[2], NamDoo Hong[3], JaeKuk Yoo[1,3], ChanBok Lee[3], JinPyo Kim[3] and KiHwan Bae[1]*

[1]College of Pharmacy, Chungnam National University, Taejon 305-764,
[2]Korea Research Institute of Bioscience and Biotechnology, Taejon 305-600, Korea,
[3]Jakwang Research Institute, HanKookSinYak Co., Ltd., Nonsan 320-850, Korea and
[4]College of Pharmacy, Yanbian University, Yanji 133000, China

Abstract – Based on DPPH radical scavenging activity and lipid peroxidation inhibitory activity, the MeOH extracts of 139 crude drugs were screened in order to search for antioxidants. Among tested samples, the extracts from the seed of *Nelumbo nucifera*, the fruit of *Terminalia chebula* var. *gangetia*, the root of *Salvia miltiorhiza*, the fruit of *Ziziphus jujuba* var. *innermis*, the root bark of *Paeonia moutan*, the fruit of *Rubus coreanus*, the fruit of *Zanthoxylum schinifolium*, the lignum of *Caesalpinia sappan*, the leaf of *Pinus densiflora*, the rhizome of *Alpinia officinarum*, the fruit of *Syzygium aromaticum*, the ramulus and uncus of *Uncaria rhynchophylla*, the root bark of *Lycium chinense*, and the fruit of *Alpinia katsumadai* showed a relatively strong antioxidative activity. Furthermore, the BuOH fraction from the extract of *N. nucifera* showed a potent activity in each assay. The isolation of bioactive compounds has been carried out and will be reported in the next paper.

Key words – Antioxidative crude drugs, *Nelumbo nucifera*, DPPH radical scavenging activity, lipid peroxidation.

노화에 관해서는 현재까지도 많은 연구가 진행되고 있지만, 다양한 현상과 복합적인 특징으로 인해 아직 정확한 기전은 규명되지 못하고 있다. 다만, 수많은 현상학적 연구를 통해 노화에 관한 여러 가지 가설이 제기되었는데, 그 중 대사과정에서 발생하는 활성산소가 노화의 원인이 된다는 가설이 중요하게 받아들여지고 있다.[1)] 즉, 정상적인 대사과정에서 부수적으로 생성되는 활성산소들이 세포 구성성분인 지질, 단백질, 당, DNA 등을 비선택적, 비가역적으로 파괴함으로써 암을 비롯하여 뇌졸중, 동맥경화 같은 심혈관계 질환, 류마티스 같은 만성염증질환, 호흡기질환, 자가면역질환 등 각종 질병을 유발할 뿐만 아니라,[2-6)] 이러한 산화적 손상들이 오랜 시간 축적되어 노화와 죽음에 이르게 된다는 것이다. 이러한 노화의 활성산소설은 1956년 Harman에 의해 처음 제안되었고,[1)] 이후 여러 실험결과들이 이를 뒷받침 해주고 있다. 실험조건을 달리해 식이를 제한하거나 운동량을 감소시키는 등 기초대사율 즉, 산소소비량을 감소시키면 수명이 연장되는 것을 관찰하였다.[7)] 한편, 생체는 산화적 손상으로부터 방어하기 위한 항산화물질들과 superoxide dismutase(SOD), catalase, peroxidase 같은 항산화효소들이 있는데, 나이가 들어 늙어감에 따라 활성산소에 대한 방어능력이 감소한다는 사실이 보고되었다. 늙은 쥐의 간에서 분리된 SOD는 어린 쥐의 SOD보

*교신저자 : Fax : 042-823-6566

다 활성이 낮았다. 특히 초파리에 항산화효소인 SOD와 catalase의 활성을 높여주면 수명이 30% 이상 증가한다는 결과도 활성산소와 노화의 관계를 설명해 주고 있다.[8,9] 따라서 활성산소를 소거할 수 있는 물질(free radical scavenger)이나 지질과산화 억제물질과 같은 항산화제는 활성산소에 의해 유발되는 각종 질환 치료제 및 노화억제제로서 기대되고 있다.

식물도 광합성 과정에서 활성산소종, 특히 superoxide가 많이 생성되기 때문에, 이런 산화적 손상으로부터 보호할 수 있는 많은 효소들과 선택적으로 발달한 이차대사산물 등의 방어체계가 잘 발달되어 있을 것으로 기대된다. 그러므로 식물은 그 자체가 항산화물질을 함유하고 있는 중요한 자원이 될 수 있다. 따라서 식물로부터 노화억제를 위한 항산화제 탐색은 의미가 있을 것으로 사료된다. 이에 대한 기초 자료로서 본 실험에서는 국내에서 유통되는 140여 종의 생약 MeOH 추출물에 대하여 DPPH radical 소거활성 및 지질과산화 억제활성을 조사하였으며, 그 중에서 비교적 항산화활성이 강하고 연구가 미흡한 연자(*Nelumbo nucifera*, Nymphaeaceae) 추출물에 대해 순차적으로 용매분획한 후 각 분획물의 DPPH radical 소거활성 및 지질과산화 억제활성을 측정하였다.

재료 및 방법

재료 – 본 실험에 사용한 생약은 (주)한국신약에서 구입하여 감정한 것을 사용하였으며, 확증표본은 (주)한국신약 자광연구소 생약실험실에 보관되어 있다.

추출 및 시료의 제조 – 생약 재료를 적당히 세절한 후 MeOH을 넣고 실온에서 2주간 추출하였다. 여과한 후 추출액 일부를 microcentrifuge tube에 넣고 완전히 농축하여 추출물의 무게를 측정하였다. 건조된 추출물에 DMSO를 넣어 최종농도가 100 μg/ml가 되도록 하였다.

DPPH radical 소거활성 검색[10,11] – 기존의 방법을 약간 변형하여 96 well plate에 시료 10 μl씩을 넣고 DPPH soln.(2.0×10^{-4} M, Ethanol) 190 μl를 가한 후 실온에서 30분간 반응시켜 각 반응액의 흡광도를 520 nm에서 측정하였다. 대조구로는 시료 대신 DMSO를 가해 시료의 흡광도 감소 정도를 조사하였으며, DPPH radical을 50% 소거시키는 시료의 농도를 IC_{50}로 하였다. Positive control로는 BHA 및 α-tocopherol을 사용하여 항산화효과를 비교하였다.

DPPH radical 소거활성(%)

$= (A_{control} - A_{sample})/A_{control} \times 100$

$A_{control}$: 시료를 첨가하지 않은 대조구의 흡광도

A_{sample} : 시료를 첨가한 반응구의 흡광도

Rat liver microsomes의 분리[12,13] – Microsomes는 Sprague-Dawley rat(180~220 g)의 간으로부터 차등 원심분리법으로 분리하였으며, 모든 조작은 0~4°C의 저온에서 행하였다. Rat로부터 간을 적출하여 얼음으로 냉각된 0.9% 생리식염수에 넣고 2~3회 세척한 후 간 1 g 당 9배 량의 0.25 M sucrose 용액을 넣고 조직분쇄 하였다. 4°C, 9000 g에서 20분간 원심분리한 후 다시 상등액을 4°C, 105000 g에서 60분간 초원심분리하여 microsomes 분획을 얻었다. 이것을 50 mM Tris-buffer(pH 7.5)로 희석시키고 Bio-Rad protein assay kit을 사용하여 단백질정량을 하였다.

지질과산화 억제활성 측정[13] – Fe^{2+}/ascorbate 반응계에 의하여 최종 생성된 hydroxyl radical은 지질원인 microsomes을 산화시켜 malondialdehyde(MDA)가 생성되는데, 이것을 thiobarbituric acid(TBA)와 반응시켜 분광학적 방법으로 정량 하였다. Microsomes(10 mg protein/ml) 50 μl, 50 mM Tris-buffer(pH 7.5) 750 μl, 5 mM sodium dodecyl sulfate 50 μl와 시료 50 μl를 넣은 후 2 mM $FeSO_4 \cdot 7H_2O$와 1 mM ascorbic acid 혼합액 100 μl를 넣고 37°C에서 30분간 반응시켰다. 반응액에 3 M TCA-2 N HCl(1:1) 혼합용액 250 μl를 가하여 반응을 정지시킨 후 3000 rpm에서 10분간 원심분리시켰다. 상등액 1 ml를 취해 0.67% TBA 용액 250 μl를 가하고 100°C에서 10분간 끓인 후 532 nm에서 그 흡광도를 측정하였다. 각 시료의 지질과산화 억제활성은 대조구에 대한 MDA의 생성 감소 정도로써 산출하였으며, 지질과산화 반응을 50% 억제시키는 농도를 IC_{50}로 하였다. Positive control로는 BHA 및 α-tocopherol을 사용하였다.

지질과산화 억제활성(%)

$= (A_{control} - A_{sample})/(A_{control} - A_{blank}) \times 100$

$A_{control}$: 시료를 첨가하지 않은 대조구의 흡광도

A_{sample} : 시료를 첨가한 반응구의 흡광도

A_{blank} : 시료 및 2 mM $FeSO_4 \cdot 7H_2O$/1 mM ascorbic acid 용액을 첨가하지 않은 blank의 흡광도

연자(*N. nucifera*)의 분획 및 시료제조 – 연자 3 kg

Table I. Antioxidative effect of medicinal plant extracts on the DPPH radical scavenging activity and the lipid peroxidation inhibitory activity

Crude drug[a)]	Botanical origin	Used part[b)]	Family	DPPH radical scavenging activity[c)]	Lipid peroxidation inhibitory activity[d)]
가자	*Terminalia chebula*	Fr	Combretaceae	++++	++++
갈근	*Pueraria lobata*	R	Leguminosae	-	-
감국	*Chrysanthemum indicum*	Fl	Compositae	++	++
감초	*Glycyrrhiza glabra*	R	Leguminosae	+	-
강활	*Ostericum praetericum*	R	Umbelliferae	+	-
강황	*Curcuma longa*	Rh	Zingiberaceae	++	+
건강	*Zingiber officinale*	Rh	Zingiberaceae	+	+
건지황	*Rehmannia glutinosa*	Rh	Scrophulariaceae	-	-
계피	*Cinnamomum cassia*	Sb	Lauraceae	+++	++
고본	*Ligusticum tenuissimum*	R	Umbelliferae	-	-
곽향	*Agastache rugosa*	Wp	Labiatae	-	-
괄루근	*Trichosanthes kirilowii*	R	Curcurbitaceae	-	-
괄루인	*T. kirilowii*	Se	Curcurbitaceae	-	-
구기자	*Lycium chinense*	Fr	Solanaceae	-	-
금은화	*Lonicera japonica*	Fl	Caprifoliaceae	++	++
길경	*Platycodon grandiflorum*	R	Campanulaceae	-	-
내복자	*Raphanus sativus*	Se	Cruciferae	+	-
노근	*Phragmites communis*	Rh	Gramineae	-	-
노회	*Aloe vera*	L	Liliaceae	-	-
다엽	*Thea sinensis*	L	Theaceae	++	++
단삼	*Salvia miltiorhiza*	R	Labiatae	++++	++++
당귀	*Angelica gigas*	R	Umbelliferae	-	-
대조	*Zizyphus jujuba* var. *innermis*	Fr	Rhamnaceae	-	-
대황	*Rheum undulatum*	Rh	Polygonaceae	++	++
도인	*Prunus persica*	Se	Rosaceae	-	-
독활	*Aralia cordata*	R	Araliaceae	-	-
동과자	*Benincasa hispida*	Se	Curcurbitaceae	-	-
동규자	*Malva veaticillata*	Se	Malvaceae	-	-
두충	*Eucommia ulmoides*	Sb	Eucommiaceae	-	-
마자인	*Cannabis sativa*	Se	Moraceae	-	-
마치현	*Portulaca oleracea*	Wp	Portulacaceae	-	-
마황	*Ephedra sinica*	Wp	Ephedraceae	++++	++
만형자	*Vitex rotundifolia*	Fr	Verbenaceae	+	-
맥문동	*Liriope platyphylla*	R	Liliaceae	-	-
모과	*Chaenomeles speciosa*	Fr	Rosaceae	+	+
목단피	*Paeonia moutan*	Sb	Paeoniaceae	++++	+++
목통	*Akebia quinata*	C	Lardizabalaceae	+	-
목향	*Inula helenium*	R	Compositae	+	-
박하	*Mentha arvensis*	T	Labiatae	-	-
방기	*Sinomenium acutum*	R	Menispermaceae	+	-
방풍	*Saposhnikovia seseloides*	R	Umbelliferae	-	-
백과엽	*Ginkgo biloba*	L	Ginkgoaceae	+	+
백두구	*Amomum cardamomum*	Fr	Zingiberaceae	+	-

Table I. Continued

Crude drug[a)]	Botanical origin	Used part[b)]	Family	DPPH radical scavenging activity[c)]	Lipid peroxidation inhibitory activity[d)]
백모근	*Imperata cylindrica*	Rh	Gramineae	-	-
백삼	*Panax ginseng*	R	Araliaceae	-	-
백자인	*Thuja orientalis*	Se	Cupressaceae	-	-
백지	*Angelica dahurica*	R	Umbelliferae	-	-
백질려	*Tribulus terrestris*	Fr	Zygophyllaceae	-	-
백하수오	*Cynanchum wilfordii*	R	Asclepiadaceae	-	-
복령	*Poria cocos*	Sc	Polyporaceae	-	-
복분자	*Rubus coreanus*	Fr	Rosaceae	++++	+++
봉출	*Curcuma zedoaria*	Rh	Zingiberaceae	+	+
비파엽	*Eriobotrya japonica*	L	Rosaceae	++	+++
빈랑자	*Areca catachu*	Se	Palmae	++++	++
사삼	*Adenophora triphylla*	R	Campanulaceae	-	-
사상자	*Torilis japonica*	Fr	Umbelliferae	-	-
사인	*Amomum villosum*	Se	Zingiberaceae	++	++
산두근	*Sophora subprostrata*	R	Leguminosae	-	-
산사	*Crataegus pinnatifida*	Fr	Rosaceae	+	+
산약	*Dioscorea batatas*	Rh	Dioscoreaceae	-	-
산조인	*Zizyphus jujuba*	Se	Rhamnaceae	-	-
산초열매	*Zanthoxylum schinifolium*	Fr	Rutaceae	++++	+++
삼릉	*Sparganium erectum*	Rh	Sparganiaceae	-	-
상백피	*Morus alba*	Sb	Moraceae	-	-
상엽	*M. alba*	L	Moraceae	-	-
석곡	*Dendrobium moniliforme*	Wp	Orchidaceae	++	++
석창포	*Acorus gramineus*	Rh	Araceae	+	+
세신	*Asarum sieboldii*	Wp	Aristolochiaceae	-	-
소목	*Caesalphina sappan*	Li	Leguminosae	++++	+++
소엽	*Perilla sikokiana*	L	Lutaceae	-	-
소회향	*Foeniculum vulgare*	Fr	Umbelliferae	-	-
송엽	*Pinus densiflora*	L	Pinaceae	+++	+++
수세미오이	*Luffa cylindrica*	Fr	Curcurbitaceae	-	-
승마	*Cimicifuga heracleifolia*	Rh	Ranunculaceae	+	-
시호	*Bupleurum falcatum*	R	Umbelliferae	-	-
신이	*Magnolia liliflora*	Fl	Magnoliaceae	-	-
애엽	*Artemisia princeps*	L	Compositae	-	-
양강	*Alpinia officinarum*	Rh	Zingiberaceae	++++	+++
연교	*Forsythia koreana*	Fr	Oleaceae	++	++
연자	*Nelumbo nucifera*	Se	Nymphaeaceae	+++	+++
오매	*Prunus mume*	Fr	Rosaceae	-	-
오수유	*Evodia officinalis*	Fr	Rutaceae	++	+
오약	*Lindera strychnifolia*	R	Lauraceae	+++	++
용담	*Gentiana scabra*	R	Gentianaceae	-	-
우슬	*Achyranthes japonica*	R	Amaranthaceae	-	-
원지	*Polygala tenuifolia*	R	Polygalaceae	-	-
위령선	*Clematis mardshurica*	R	Ranunculaceae	-	-

Table I. Continued

Crude drug[a)]	Botanical origin	Used part[b)]	Family	DPPH radical scavenging activity[c)]	Lipid peroxidation inhibitory activity[d)]
의이인	*Coix lacrymajobi*	Se	Gramineae	-	-
익지인	*Alpinia oxyphylla*	Fr	Zingiberaceae	-	-
인진호	*Artemisia capillaries*	Wp	Compositae	+++	++
자근	*Lithospermum erythrorhizon*	R	Boraginaceae	-	-
자완	*Aster tataricus*	R	Compositae	-	-
작약	*Paeonia lactiflora*	R	Paeoniaceae	++++	++
저령	*Polyporus umbellatus*	Sc	Polyporaceae	-	-
적하수오	*Polygonum multiflorum*	R	Polygonaceae	++	++
전호	*Athriscus sylvestris*	R	Umbelliferae	-	-
정향	*Syzygium aromaticum*	R	Myrtaceae	++++	+++
조구등	*Uncaria rhynchophylla*	Ra	Rubiaceae	+++	+++
죽여	*Phyllostachys reticulata*	C	Gramineae	++	++
지골피	*Lycium chinense*	Sb	Solanaceae	++++	++++
지모	*Anemarrhena asphodeloides*	Rh	Haemodoraceae	-	-
지실	*Poncirus trifoliate*	Fr	Rutaceae	-	-
진피	*Citrus unshiu*	Sb	Oleaceae	-	-
차전자	*Plantago asiatica*	Se	Plantaginaceae	-	-
창출	*Atractylodes japonica*	Rh	Compositae	-	-
천궁	*Cnidium officinale*	Rh	Umbelliferae	-	-
천마	*Gastrodia elata*	Rh	Orchidaceae	-	-
천문동	*Asparagus cochinchinensis*	R	Liliaceae	-	-
천오	*Aconitum carmichaeli*	Rh	Ranunculaceae	+	-
천화분	*Trichosanthes kirilowii*	R	Curcurbitaceae	-	-
초두구	*Alpinia katsumadai*	Se	Zingiberaceae	++++	++++
치자	*Gardenia jasminoides*	Fr	Rubiaceae	+	++
택사	*Alisma plantago-aquatica*	Rh	Alismataceae	-	-
토사자	*Cuscuta chinensis*	Se	Convolvulaceae	++	+
파고지	*Psoralea corylifolia*	Se	Leguminosae	-	-
파극천	*Morinda officinalis*	R	Rubiaceae	-	-
파두	*Croton tiglium*	Se	Euphorbiaceae	-	-
패모	*Fritillaria thunbergii*	B	Liliaceae	-	-
편두	*Dolichos lablab*	Se	Leguminosae	-	-
포공영	*Taraxcum mongolicum*	Wp	Compositae	+	+
포황	*Typha orientalis*	P	Typhaceae	+	+
필발	*Piper longum*	Fr	Piperaceae	-	-
하고초	*Prunella vulgaris*	Wp	Labiatae	++	++
해동피	*Kalopanax pictus*	Sb	Araliaceae	++	++
행인	*Prunus armeniaca*	Se	Rosaceae	-	-
향부자	*Cyperus rotundus*	Se	Cyperaceae	+	-
현삼	*Scrophularia buergeriana*	R	Scrophulariaceae	-	-
현호색	*Corydalis ternata*	T	Papaveraceae	-	-
형개	*Schizonepeta tenuifolia*	Wp	Labiatae	+	+
호장근	*Reynoutria japonica*	R	Polygonaceae	++	++
홍화	*Carthamus tinctorius*	Fl	Compositae	-	-

Table I. Continued

Hebal medicine[a)]	Botanical origin	Used part[b)]	Family	DPPH radical scavenging activity[c)]	Lipid peroxidation inhibitory activity[d)]
홍화씨	*Carthamus tinctorius*	Se	Compositae	++	+
황과	*Cucumis sativus*	Fr	Curcurbitaceae	-	-
황금	*Scutellaria baicalensis*	R	Labiatae	++	++
황기	*Astragalus membranaceus*	R	Leguminosae	-	-
황련	*Coptis japonica*	Rh	Ranunculaceae	+	++
황백	*Phellodendron amurense*	Sb	Rutaceae	+	+
후박	*Magnolia obovata*	Sb	Magnoliaceae	++++	++
흑축	*Pharbitis nil*	Se	Convolvulaceae	-	-

[a)] Each MeOH extract of herbal medicine was treated at 100 μg/m*l* as the final concentration.
[b)] B: bulbous, C: cauline, Fl: flower, Fr: fruit, L: leaf, Li: ligneous, P: pollen, R: root, Ra: ramulus, Rh: rhizome, Sb: stem bark, Sc: scalerutium, Se: seeds, St: stem, T: tuber, Wp: whole plant.
[c)] DPPH radical scavenging activity was represented as % against control, where -: activity<20%, +: 20≤activity<40%, ++: 40≤activity<60%, +++:60≤activity<80%, ++++: activity≥80%
[d)] Lipid peroxidation inhibitory activity was represented as % against control, where -: activity<20%, +: 20≤activity<40%, ++: 40≤activity<60%, +++:60≤activity<80%, ++++: activity≥80%

에 MeOH을 넣고 24시간씩 2회 환류추출한 후 여과하였다. 추출액을 감압농축하여 MeOH ex. 150 g을 얻었고 물로 현탁시킨 후 *n*-Hexane으로 용매분획하여 *n*-hexane ex. 22 g을 얻었다. 남은 물 현탁액을 Et OAc 및 *n*-BuOH로 순차적으로 용매분획하여 EtOAc ex. 7 g 및 *n*-BuOH ex. 29 g을 얻었다. 이들 용매분획물에 대한 DPPH radical 소거활성 및 지질과산화 억제활성을 평가하기 위해 각각의 용매분획물을 DMSO에 녹이고 단계별로 희석하여 최종농도가 6.25, 12.5, 25.0, 50.0, 100.0 μg/m*l*가 되도록 하였다.

결과 및 고찰

139종의 생약을 MeOH로 추출한 후 각각의 추출물에 대하여 DPPH radical 소거활성 및 지질과산화 억제활성을 검색한 결과를 Table I에 나타내었다. 반응계의 MeOH 추출물의 농도를 100 μg/m*l*로 처리했을 경우 가자, 단삼, 마황, 목단피, 복분자, 빈랑자, 산초열매, 소목, 양강, 작약, 정향, 지골피, 초두구, 후박 등 14종의 추출물이 대조군에 비해 80% 이상 강한 DPPH radical 소거활성을 나타내었고, 그 다음으로 계피, 솔싹, 연자, 오약, 인진호, 조구등, 홍화씨 등 7종의 추출물이 대조군에 비해 60% 이상 소거활성을 나타내었다. 강한 DPPH radical 소거활성을 나타낸 생약 추출물들이 대부분 지질과산화 억제활성도 나타내었다. 반응계의 최종농도를 100 μg/m*l*로 하였을 때 가자, 단삼, 지골피, 초두구 등 4종의 추출물이 대조군에 비해 80% 이상 강한 지질과산화 억제활성을 나타내었고 목단피, 복분자, 비파엽, 산초, 소목, 솔잎, 양강, 연자, 정향, 조구등 등 10종의 추출물이 대조군에 비해 60% 이상 억제활성을 나타내었다. 가자, 단삼, 지골피, 초두구 등은 positive control로 사용한 α-tocopherol과 비교해 비슷하거나 다소 높은 억제활성을 나타내었는데, 이들 추출물을 넣고 반응계에 2 mM $FeSO_4 \cdot 7H_2O$와 1 mM ascorbic acid 혼합액 100 μ*l*를 넣으면 반응액이 흐려지는 것을 관찰할 수 있다. 이는 실험실적으로 지질원을 산화시키기 위해 가한 Fe^{2+} ion을 이들 추출물이 chelation하여 지질원의 산화를 방해하기 때문에 나타나는 결과로 생각된다.

비교적 강력한 DPPH radical 소거활성 및 지질과산화 억제활성을 나타내었던 생약으로부터 항산화물질을 분리하기 위하여 용매분획을 하였다. 연자는 수련과(Nymphaeaceae)에 속하는 연(*Nelumbo nucifera*)의 종자로 타원형이며 길이가 1.2~2.0 cm가량 된다. 한방에서는 익심(益心), 익신(益腎), 보비(補脾), 삽장(澁腸)의 효능이 있어 다몽(多夢), 유정(有精), 임탁(淋濁), 구리(久痢) 등의 치료에 사용되어 왔다.[14,15] 성분으로는 nuciferine, nornuciferine, liriodenine, norarmepavine, oxo- ushinsunine 등의 alkaloid가 보고되어 있으나, 생리활성에 대한 연구는 미흡하다. 연자의

Table II. Antioxidative effect of MeOH extract and its solvent fractions from the seeds of *Nelumbo nucifera* on the DPPH radical scavenging activity assay and the lipid peroxidation inhibitory activity assay

material	DPPH radical scavenging activity IC_{50} [a] (μg/ml)	Lipid peroxidation inhibitory activity IC_{50} [a] (μg/ml)
MeOH extract	52.9	85.2
Hexane fraction	>100	>100
EtOAc fraction	40.2	21.5
BuOH fraction	16.0	5.9
H_2O fraction	43.1	28.6
BHA	12.9	1.1
α-tocopherol	21.0	5.5

[a] IC_{50} values were calculated from regression lines using five different concentrations in triple experiments.

항산화활성 성분을 분리하고자 우선 용매분획물에 대한 항산화활성을 검색하였다. 연자의 MeOH ex.를 물로 현탁시킨 후 hexane, EtOAc 및 BuOH로 순차적으로 용매분획하였고, 완전히 농축하여 DMSO에 녹이고 단계별로 희석하여 DPPH radical 소거활성 및 지질과산화 억제활성을 측정하였다(Table II). 그 결과 MeOH 추출물이 DPPH radical 50% 소거활성 및 지질과산화 억제활성에서 각각 52.9, 85.2 μg/ml의 농도에서 활성을 나타내었다. BuOH 분획물은 16.0 μg/ml의 농도에서 DPPH radical을 50% 소거하는 활성을 나타내어 positive control로 사용했던 BHA(IC_{50} 12.9 μg/ml) 보다는 다소 약한 활성을 보였지만 α-tocopherol(IC_{50} 21.0 μg/ml) 보다는 강한 radical 소거활성을 나타내었다. 지질과산화 억제활성 검색 결과에서도 BuOH 분획물은 IC_{50} 값이 5.9 μg/ml로 분획물들 중 가장 강한 활성을 나타내었다. 이는 positive control로 사용했던 α-tocopherol(IC_{50} 5.5 μg/ml)과 비교해 다소 약하지만 비슷한 정도의 활성을 나타낸 것이다. 연자의 BuOH 분획물 이외에도 DPPH radical 소거활성 검색에서 EtOAc 분획물은 40.2 μg/ml, H_2O 분획물은 43.1 μg/ml에서 활성을 나타냈지만 hexane 분획물은 활성을 나타내지 못했다. 지질과산화 억제활성검색에서는 MeOH 추출물이 85.2 μg/ml의 농도에서 50% 억제활성을 나타내었고, EtOAc 분획물이 21.5 μg/ml, residue가 28.6 μg/ml, H_2O 분획물은 28.6 μg/ml에서 억제 활성을 나타내었으나, hexane 분획물은 활성이 없었다. DPPH radical 소거활성 및 지질과산화 억제활성 실험에서 hexane 분획물이 활성을 나타내지 못한 것으로 보아 비극성 물질군에는 효능이 없는 것으로 판단된다.

이상의 결과에서 연자의 BuOH 분획물에는 α-tocopherol 보다도 훨씬 강력한 항산화물질이 함유되어 있을 것으로 예상된다. 따라서 activity-guided fractionation을 통한 항산화활성 물질분리 등 BuOH 분획물로 활성물질을 분리하고 있으며 이에 관한 연구는 추후에 보고하고자 한다.

결 론

노화 및 여러 질환들의 중요한 원인 중 하나가 활성산소에 의한 것으로 밝혀져 있다. 항산화물질을 생약으로부터 분리하기 위하여 139종의 MeOH 추출물에 대한 활성을 조사하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. DPPH radical 소거활성 검색에서 반응계의 농도를 100 μg/ml로 했을 때, 가자(訶子), 단삼, 마황, 목단피, 복분자, 빈랑자, 산초, 소목, 양강(良姜), 작약, 정향, 지골피, 초두구, 후박 등 14종의 메탄올 추출물이 대조군에 비하여 80% 이상 강한 DPPH radical 소거활성을 나타내었고, 그 다음으로 계피, 송엽(松葉), 연자, 오약, 인진호, 조구등, 홍화자 등 7종의 추출물이 60% 이상 소거활성을 나타내었다.

2. 지질과산화 억제활성 검색에서 반응계의 농도를 100 μg/ml로 했을 때 가자, 단삼, 지골피, 초두구 등 4종의 메탄올 추출물이 대조군에 비해 80% 이상 강한 지질과산화 억제활성을 나타내었고 목단피, 복분자, 비파엽, 산초, 소목, 송엽, 양강, 정향, 조구등 등 10종의 메탄올 추출물은 대조군에 비해 60% 이상 억제활성을 나타내었다. 가자, 단삼, 지골피, 초두구 등은 positive control로 사용한 α-tocopherol과 비교해 비슷하거나 다소 높은 억제활성을 나타냈는데, 이는 실험실적으로 지질원을 산화시키기 위해 가한 Fe^{2+} ion을 이들 추출물이 chelation하여 지질원의 산화를 방해하기 때문에 나타나는 결과로 생각된다.

3. 용매분획물의 DPPH radical 소거활성 측정 결과, BuOH 분획물은 IC_{50} 값이 16.0 μg/ml로 positive control인 α-tocopherol(IC_{50} 21.0 μg/ml) 보다 강력한 활성을 나타내었다. EtOAc 분획물은 40.2 μg/ml, residue는 43.1 μg/ml, MeOH 추출물은 52.9 μg/ml 정도의 농도에서 50% 소거활성을 나타내었으나, hexane 분획물은 DPPH radical 소거활성을 나타내지 못했다.

4. 용매분획물의 지질과산화 억제활성 측정 결과, BuOH 분획물은 IC_{50} 값이 5.9 μg/ml로 분획물들 중 가장 강력한 활성을 보여주었으며, 이는 positive control로 사용했던 α-tocopherol(IC_{50} 5.5 μg/ml)과 비교해서도 비슷한 정도의 활성이었다. 그 다음으로 EtOAc 분획물은 21.5 μg/ml, residue는 28.6 μg/ml, MeOH 추출물은 85.2 μg/ml 정도의 농도에서 50% 억제활성을 나타내었으나 hexane 분획물은 지질과산화 억제활성을 나타내지 못했다.

인용문헌

1. Harman, D. (1986) Free radical theory of aging: Role of free radicals in the origination and evolution of life, aging and disease processes, 3-49. Alan R Liss, New York.
2. Halliwell, B. and Gutteridge, J. M. C. (1984) Oxygen toxicity, oxygen radicals, transition metals and disease. *Biochem. J.* 219: 1-14.
3. Freeman, B. A. and Grapo, J. D. (1982) Biology of disease: free radicals and tissue injury. *Lab Invest.* 47: 412-426.
4. Ames, B. N. (1983) Dietary carcinogens and anticarcinogens, oxygen radicals and degenerative disease. *Science.* 221: 1256-1264.
5. Fridovich, I. (1986) Biological effects of the superoxide radical, *Arch. Biochem. Biophys.* 247: 1-11.
6. Vishwanath, M. S. (1995) Role of antioxidants in health maintenance. *Nutrition in Clinical Practice.* 10: 19-25.
7. Medvedev, Z. A. (1990) An attempt at a rational classification of theories of aging. *Biol. Rev.* 65: 375-398.
8. Orr, W. C. and Sohal, R. S. (1994) Extension of life-span by overexpression of superoxide dismutase and catalase in *Drosophila melanogaster. Science.* 263: 1128-1130.
9. Sohal, R. S., Agarwal, S. and Orr, W. C. (1995) Simultaneous overexpression of copper and zinc-containing superoxide dismutase and catalase retards age-related oxidative damage and increases metabolic potential in *Drosophila melanogaster. J. Biol. Chem.* 270: 15671-15674.
10. Blois, M. S. (1958) Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature.* 181: 1199-1200.
11. Taco, T., Kitatani, F., Watanabe, N., Yagi, A. and Sakata, K. (1994) A simple screening method for antioxidants and isolation of several antioxidants produced by marine bacteria from fish and shellfish. *Biosci. Biotech. Biochem.* 58: 1780-1783.
12. Maxwell, A. G., Masato, Y. and Yoko, A. (1999) Free radical scavenging action of medicinal herbs from Ghana Thonningia sanguinea on experimentally-induced liver injuries. *General Pharmacol.* 32: 661-667.
13. Nguyen, T. T. H., Kinzo, M., Ryoji, K., Kazuo, Y. and Hiroshi, W. (1998) In vitro antioxidant activity of Vietnamese ginseng saponin and its components. *Biol. Pharm. Bull.* 21: 978-981.
14. 배기환 (2000) 한국의 약용식물, 158, 교학사, 서울.
15. 김창민, 신민교, 안덕균, 이경순 (1997) 완해 중약대사전, 2957-2960, 도서출판 정담, 서울.

(2001년 4월 6일 접수)