

식용 및 약용자원의 에스트로젠 활성과 항산화능 평가

최선영 · 임선혜² · 김지선² · 하태열² · 김성란^{2,*} · 강경선¹ · 황인경

서울대학교 식품영양학과, 서울대학교 수의학과¹, 한국식품연구원 식품기능연구본부²

Evaluation of the Estrogenic and Antioxidant Activity of Some Edible and Medicinal Plants

Sun-Young Choi, Sun-Hye Lim², Ji-Sun Kim², Tae-Youl Ha², Sung-Ran Kim^{2,*},
Kyung-Sun Kang¹, and In-Kyeong Hwang

Department of Food and Nutrition, Seoul National University

¹Department of Veterinary Public Health, Seoul National University

²Food Function Research Division, Korea Food Research Institute

Estrogenic and antioxidant activities of ethanol extracts of 45 edible and medicinal plants were evaluated by β -galactosidase assay, and DPPH radical scavenging assay, and TBARS inhibition rate, respectively. Total polyphenol contents were in the range of 8.6 (*Panax notoginseng* Buck F.H. Chen.)-594.7 (*Amomum globosum* Loureiro) mg/g. Direct correlation between the DPPH radical scavenging activity and polyphenol content ($r^2 = 0.61$) was established through simple regression analysis, whereas no correlation was observed between TBARS inhibition rate or β -galactosidase activity and polyphenol content. Among medicinal plants screened, *Glycyrrhiza glabra* L. and *Rheum undulatum* L. showed strong antioxidant and estrogenic activities. Results of this study could be used as fundamental data for selecting potential phytoestrogen candidates.

Key words: antioxidant activity, estrogenic activity, edible and medicinal plant, β -galactosidase assay

서 론

현대 의학 기술의 발달과 경제 수준의 향상으로 인간의 수명이 길어져서 전 세계적으로 노인 인구가 증가하고 있는 추세이며, 여러 연구 분야에서 노인의 건강과 삶의 질 향상을 위해 다양한 연구와 노력을 기울이고 있다. 노화 현상의 하나로 알려진 여성의 갱년기는 수명이 연장됨으로 인해 일생의 1/3 이상을 차지한다는 점이 문제점으로 대두되고 있다(1).

갱년기 이후의 여성은 안면 홍조(hot flash), 심혈관 질환, 골다공증의 위험성이 증가하여 이의 예방책으로 호르몬 대체 요법(estrogen replacement therapy)이 제시되고 있으나(2), 자궁 내막암과 유방암을 증가시킬 수 있다는 위험성이 보고되었으며(3), 이러한 보충제의 사용법, 용량, 오랜 기간 사용시 안전성에 대한 일치된 결과는 없다. 호르몬 대체 요법의 이러한 불확실성은 천연물 소재를 대상으로, 여성 호르몬의 대체 물질을 찾는 연구를 초래하였다(4).

식용 및 약용자원에 존재하는 phytochemical에 대한 관심은

건강식품의 수요증대와 함께 계속 증가하고 있으며 이들로부 터 유용한 물질을 탐색하고 생리활성을 밝히려는 많은 연구가 진행되고 있다(5). 특히 phytoestrogen은 식물에 함유된 페놀화합물로서 구조적으로 에스트로젠과 유사성이 있으며 target site에 따라 에스트로젠 효과 또는 항에스트로젠 효과를 발휘하는 물질이다. 에스트로젠 활성을 가진 작물은 현재 수백종에 이르며 이중 최근의 관심은 식이 및 천연물에 포함되는 phytoestrogen 급원에 집중되어 있다(6).

Phytoestrogen에는 대두 등에 주로 함유된 isoflavone류 뿐만 아니라 곡류 및 종자류, 과채류에 광범위하게 함유된 lignan 및 coumestan류가 속한다(7). 현재까지의 연구에서 대두 isoflavone류 만이 강조되어 왔으나 대두 외 많은 식물 자원 및 식이급원에 함유된 식물성 에스트로젠 급원들로 확대 연구가 필요하다. 또한 우수한 phytoestrogen이 다량 함유된 고유 작물을 계속 발굴하고 그 생리작용 기전을 규명하여 호르몬 의존성 질환 및 만성 고령화 질환 예방에 활용하는 연구가 필요하다. 우수한 식물성 에스트로젠의 이용은 암, 폐경기 증후군, 심혈관 질환과 골다공증을 포함한 호르몬 의존성 질환에 대하여 잠재적인 대체요법을 제공할 수 있을 것이다.

에스트로젠 활성이 기대되어 동양의학에서 약재가 사용된 것은 그 역사가 상당히 오래되었으나, 에스트로젠 활성 측면에서 과학적으로 연구된 식용 및 약용자원은 대두(8-10) 갈근(11,12), 홍화(13-15), 칩(16) 등을 들 수 있다.

*Corresponding author: Sung-Ran Kim, Food Function Research Division, Korea Food Research Institute, San 46-1, Baekhyun-dong, Bundang-gu, Seongnam-si, Gyeonggi-do 463-746, Korea
Tel: 82-31-780-9066
Fax: 82-31-780-9225
E-mail: ran@kfri.re.kr

재조합 효모 분석법(recombinant yeast assay)은 인간 에스트로젠 수용체[*Saccharomyces cerevisiae* ER + LYS 8127(YER)]를 발현하는 재조합 효모를 사용하며, β -galactosidase 활성의 유도로 여러 화합물의 호르몬 활성을 평가할 수 있는 방법이다. 이 방법은 에스트로젠 의존성 유방암 세포인 MCF-7을 이용하는 E-screen 방법(17)과 함께 DDT 같은 환경호르몬(xenoestrogen)을 검출하는 분야에서도 효율적으로 사용되고 있는 방법이다(18). 이외에도 *in vitro*로 에스트로젠 활성을 측정하기 위한 방법으로 에스트로젠 리셉터와 luciferase 리포터유전자가 도입된 HepG2 cell line을 이용한 방법(19), estrogen receptor binding assay(20) 등이 있으나, 재조합 효모 분석법은 재현성이 높고 많은 수의 시료를 빠르고 저렴하게 분석할 수 있는 장점이 있어 활성 탐색에 많이 이용되고 있다.

본 연구에서는 에스트로젠 활성과 항산화능이 우수한 식물 및 약용식물을 탐색하고자 이들의 추출물을 제조하고 폴리페놀 함량 및 플라보노이드 함량을 분석하였다. 또한 재조합 효모법에 의한 에스트로젠 활성을 측정하고 라디칼 소거활성 및 rat liver microsome의 지질 과산화 생성 억제능에 의한 항산화 활성을 측정하였다.

재료 및 방법

시료

분헌 고찰을 토대로 시료 45종을 선별하여 영동 약업사(성남)에서 건조된 형태의 규격품을 구입하였다. 시료의 종류는 Table 1과 같으며 시료 표면에 잔류할 수 있는 농약류 등에 의한 에스트로젠 활성 간섭을 배제시키기 위해 3회 초음파 세척 후 상온에서 풍건하였다.

추출물의 제조

건조된 시료를 분쇄 후 10배량의 80% 에탄올을 첨가하고 환류 냉각 장치를 이용하여 80°C에서 4시간 동안 추출하였다. 각 시료의 추출물은 여과지(No. 1, Advantec, Tokyo, Japan)로 여과하였고, 감압 농축기를 이용하여 농축한 뒤 동결 건조하여 분말화 시켰다.

재조합 효모법을 이용한 에스트로젠 활성 측정

Recombinant yeast: CUP1 metallothionein promoter와 hER 유전자를 포함하는 vector와 reporter system으로 estrogen response element, β -gal 유전자를 안정적으로 발현하는 *Saccharomyces cerevisiae* ER + LYS 8127(YER)은 서울대학교 수의과 대학에서 공여받았다. Gaido 등(21)의 방법에 따라, 효모를 성장배지(3.35 g/mL yeast nitrogen base(Sigma Chemical Co., St. Louis, MO, USA), 2% dextrose(Sigma, USA), 30 μ g/mL L-lysine-HCl(Sigma, USA), 35 μ g/mL L-histidine-HCl(Sigma, USA))에서 유지하였다. 효모는 성장배지에 20% glycerol(Sigma, USA)를 첨가하여 -80°C 이하에서 보존하였다.

Yeast Estrogen Receptor(YER) assay: 효모를 성장 배지에 넣은 후 진탕 항온기에서 200 rpm 상태로 증식시켰다. 각 효모를 적정 희석한 후, 500 μ M의 CuSO₄(Sigma, USA)를 첨가하여 50 mL conical tube에 적정량을 분주한 후 각각 물질을 0.1%로 처치하였으며 용매 대조군으로 dimethyl sulfoxide (Sigma, USA)를 사용하였다. 18시간 shaking incubator(200 rpm)에서 배양 후 각 tube의 배양액을 동일한 농도로 희석한 후 96 well

microtiter plate(Nunc, Roskilde, Denmark)에 100 μ L씩 분주하였다. 각 well에 2 mg/mL o-nitrophenyl- β -D-galactopyranoside(ONPG, Sigma, USA), 50 mM β -mercaptoethanol(Sigma, USA), 25 U/g/mL zymolyase 20T(Seigagaku, Tokyo, Japan)를 포함하는 Z buffer를 100 μ L씩 분주하고 20분 후 발색 정도를 microplate reader를 이용하여 415 nm와 595 nm에서 측정하였다.

라디칼 소거활성

항산화 활성은 각 추출물의 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl(DPPH) 라디칼에 대한 전자공여효과로 나타나는 시료의 환원력으로 측정하였다. Blois 등(22)의 방법에 따라 농도별 시료 0.2 mL에 4 \times 10⁻⁴ M DPPH(Sigma, USA) 용액 0.8 mL를 가하여 10초간 혼합하고, 암소에서 10분간 방치 후 525 nm에서 흡광도를 측정하였으며, DPPH의 환원반응이 더 이상 일어나지 않는 steady state 상태에 이르는 시간을 적정 반응시간으로 설정하였다. 이후 각 추출물에 따른 적정 반응시간 동안 상기와 동일한 방법으로 반응시키면서 흡광도를 측정하였으며 항산화 활성 측정은 3회 반복 하였다.

DPPH radical scavenging activity (%) =

$$\left(1 - \frac{\text{Sample absorbance}}{\text{Control absorbance}}\right) \times 100$$

Thiobarbituric Acid Reactive Substance(TBARS) 생성억제능 측정

SD rat의 liver에서 분리한 microsome계에서의 lipid peroxidation에 의한 TBARS 생성억제 효과를 측정하여 항산화 효과를 비교하였다(23). 0.2 mL의 microsome에 0.5% H₂O₂ 0.1 mL, 10 mM FeSO₄ 0.1 mL를 각각 control군과 sample군에 반응시키고, sample blank에는 H₂O₂와 FeSO₄ 대신 phosphate buffer를 0.2 mL 첨가하였다. Control군에는 증류수를 20 μ L, sample군에는 sample을 20 μ L 첨가하여 이를 37°C에서 20분간 가온한 후, 20% acetic acid buffer(0.27 M HCl, pH 3.5) 1.5 mL, 8.1% SDS 0.2 mL, 0.8% TBA 1.5 mL를 첨가하였다. 이를 100°C에서 40분간 가열한 후, 빙냉 하에서 냉각하여 2,500 rpm에서 10분간 원심 분리한 상층액을 spectrophotometer를 사용하여 535 nm에서 흡광도를 측정하여 TBARS 생성 억제능을 구하였다.

총 폴리페놀 및 총 플라보노이드 함량 분석

각 시료 추출물 g당 총 폴리페놀 함량은 Folin-Danis법으로 정량하였다(24). 추출물 희석액 0.1 mL에 Folin 시약 0.1 mL와 2% Na₂CO₃ 2 mL를 가하여 혼합, 발색시키고 30분간 정치 후 750 nm에서 흡광도를 측정하였다. 이때 표준 물질은 (+)-catechin을 기준으로 환산하였다. 또한 g당 총 플라보노이드 함량은 diethylene glycol비색법(naringin 기준)으로 정량하였다(25). 즉, 추출물 희석액 1 mL에 diethylene glycol 10 mL과 1 N NaOH 1 mL를 첨가하였다. 이를 37°C에서 1시간 반응시킨 후 420 nm에서 흡광도를 측정하였다. 이때 표준 곡선은 naringin을 기준으로 하여 검량선을 작성하였다.

통계분석

모든 실험은 3회 이상 반복하여 실시하였으며, SAS 8.02 프로그램을 이용하여 평균치와 표준편차로 표시하였다. 분산분석(ANOVA) 후 유의성을 검증하였고, $\alpha = 0.05$ 수준에서 Duncan's multiple range test를 실시하였다. 에스트로젠 활성 및 항산화능

Table 1. List of plants used for experiment

	Scientific name	Part	Cultivation country	Korean name	Abbreviation
1	<i>Glycyrrhiza glabra</i> L.	root	Russia, Japan	감초	GG
2	<i>Curcuma longa</i> L.	root	China	강황	CL
3	<i>Aconitum carmichaeli</i> Debx.	root	China	경포부자	AC
4	<i>Psidium guajava</i> L.	fruit	Korea	구아바	GU
5	<i>Ulmus davidiana</i> var. japonica	root, stem, leaves	China	느릅	UD
6	<i>Angelica gigas</i> Nakai	root	China	당귀	AG
7	<i>Rheum undulatum</i> L.	root	China	대황	RU
8	<i>Eucommia ulmoides</i> Oliver	bark	China	두충	EU
9	<i>Perilla frutescens</i> Britton var. japonica Hara	seed, defatted meal	Korea	들깨	PF
10	<i>Auricularia auricula-judae</i> Quel.	fruit	Korea	목이버섯	AA
11	<i>Fagopyrum esculentum</i> Moench	seed (germinated)	Korea	발아메밀	FE
12	<i>Oryza sativa</i> L.	seed (germinated)	Korea	발아현미	OS
13	<i>Hedyotis diffusa</i> Willd	leaves	China	백화사설초	HD
14	<i>Poria cocos</i> Wolf	stem	China	복령	PC
15	<i>Rubus crataegifolius</i> Bunge	flesh, seed	China	복분자	RC
16	<i>Allium tuberosum</i> Rottler	stem	Korea	부추	AT
17	<i>Amaranthus mangostanus</i> L.	seed	Korea	비름	AM
18	<i>Torilis japonica</i> DC.	fruit	China	사상자	TJ
19	<i>Dioscorea batatas</i> Decaisne	root	China	산약	DB
20	<i>Panax notoginseng</i> Buck F.H. Chen.	root	China	삼칠근	PN
21	<i>Morus alba</i> L.	bark	Korea, China	상백피	MA
22	<i>Phellinus linteus</i> Berk. et Curt.	fruit	Korea	상황버섯	PL
23	<i>Punica granatum</i> L.	flesh	Korea, Iran, Uzbekistan	석류	PG
24	<i>Acorus gramineus</i> Solander	root	China	석창포	AG
25	<i>Phlomis umbrosa</i> Turcz.	root	China	속단	PU
26	<i>Equisetum hyemale</i> L.	stem	China	속새	EH
27	<i>Opuntia ficus-indica</i> var. saboten	fruit, stem	Korea	손바닥선인장	OF
28	<i>Cimicifuga heracleifolia</i> Kom.	root	China	승마	CH
29	<i>Bupleurum falcatum</i> L.	root	China	시호	BF
30	<i>Lxeris dentata</i> Nakai	root	China	썸바귀	LD
31	<i>Amaranthus caudatus</i> L.	seed	Korea	아마란스	AM
32	<i>Houttuynia cordata</i> Thunb	leaves	Japan	어성초	HC
33	<i>Polygala tenuifolia</i> Willd	root	China	원지	PT
34	<i>Ginkgo biloba</i> L.	seed	Korea	은행	GB
35	<i>Paeonia lactiflora</i> Pallas	root	China	작약	PA
36	<i>Eugenia caryophyllata</i> Thunb	bark	China	정향피	EC
37	<i>Sesamum indicum</i> L.	seed, defatted meal	Korea	참깨	SI
38	<i>Gastrodia elata</i> Blume	root	China	천마	GE
39	<i>Amomum globosum</i> Loureiro	seed	China	초두구	AG
40	<i>Cuscuta japonica</i> Choisy	seed	China	토사자	CJ
41	<i>Pleuropteris multiflorus</i> Turcz.	root	China	하수오	PM
42	<i>Kalopanax pictus</i> Nakai	bark	China	해동피	KP
43	<i>Carthamus tinctorius</i> L.	flower	China	홍화	CT
44	<i>Coptis japonica</i> Makino	root	China	황련	CO
45	<i>Polygonatum stenophyllum</i> Maxim.	root	China	황정	PS

과 폴리페놀 함량의 연관성은 단순 회귀 분석을 실시하여 검토하였다.

결과 및 고찰

에스트로젠 활성

시료 추출물을 대상으로 1 mg/mL과 100 µg/mL의 두 가지 농도에서 에스트로젠 활성을 측정하였다. 17β-estradiol(E2) 및 에스트로젠성 물질은 재조합 효모(*Saccharomyces cerevisiae* ER + Lys 8127) 내로 유입되어 expression vector에 의해 발현된 호르몬 수용체와 결합하고 이는 다시 receptor vector에서 β-galactosidase의 발현을 유도하게 된다. 에스트로젠 활성은 β-galac-

tosidase의 발현 여부 즉, ONPG가 β-galactosidase에 의해 전환되는 o-nitrophenol의 황색 발색으로 검출된다. 양성 대조군으로 사용한 17β-estradiol(E2)는 10⁻⁹ M에서 최대 활성을 나타내었으며, 이 농도에서 E2 활성과 시료추출물의 에스트로젠 활성을 비교한 결과는 Fig. 1과 같다.

추출물 중 감초(GG), 경포부자(AC), 대황(RU), 백화사설초(HD), 상백피(MA) 추출물은 에스트로젠 활성이 매우 높았으며, 특히 감초와 대황은 양성 대조군인 E2에 근접하는 에스트로젠 활성(>95%)을 나타내었다. 또한 경포부자(AC), 어성초(HC), 복분자(RC), 상백피(MA), 원지(PT), 은행(GB), 홍화(CT)도 유의적으로 높은 흡광도를 나타내어 에스트로젠성이 관찰되었다. 강황(CL), 구아바(GU), 상황버섯(PL), 석류(PG)의 경우 실험한 농

Table 2. Radical scavenging activity (%) and TBARS inhibition rate (%) of ethanol extracts from medicinal plants

No.	Plants	DPPH scavenging activity (%) ¹⁾	TBARS inhibition rate (%) ¹⁾
1	<i>Glycyrrhiza glabra</i> L. (Russia)	14.66 ± 0.59 ^{o2)}	43.29 ± 7.34 ^{cdefg}
1	<i>Glycyrrhiza glabra</i> L. (Japan)	86.20 ± 5.89 ^c	47.34 ± 6.80 ^{bcde}
2	<i>Curcuma longa</i> L.	61.48 ± 2.69 ^f	32.00 ± 0.01 ^{ghijkl}
3	<i>Aconitum carmichaeli</i> Debx.	5.38 ± 0.65 ^{uv}	57.61 ± 13.09 ^{ab}
4	<i>Psidium guajava</i> L.	96.17 ± 0.21 ^a	61.66 ± 7.14 ^a
5	<i>Ulmus davidiana</i> var. japonica (root)	91.16 ± 0.26 ^b	63.11 ± 5.31 ^a
5	<i>Ulmus davidiana</i> var. japonica (leaves)	22.70 ± 1.26 ^m	-2.4 ± 1.80 ^w
5	<i>Ulmus davidiana</i> var. japonica (stem)	91.17 ± 2.33 ^b	44.23 ± 0.87 ^{cdef}
6	<i>Angelica gigas</i> Nakai	-1.08 ± 0.52 ^{yz}	28.02 ± 2.51 ^{hijklm}
7	<i>Rheum undulatum</i> L.	74.31 ± 1.96 ^e	35.85 ± 7.81 ^{defghij}
8	<i>Eucommia ulmoides</i> Oliver	13.83 ± 0.80 ^{no}	14.92 ± 8.15 ^{opqrst}
9	<i>Perilla frutescens</i> Briton var. japonica Hara (seed)	29.62 ± 0.80 ^{kl}	46.70 ± 16.12 ^{cdef}
9	<i>Perilla frutescens</i> Briton var. japonica Hara (defatted meal)	57.66 ± 3.03 ^g	43.57 ± 5.58 ^{cdefg}
10	<i>Auricularia auricula-judae</i> Quel.	5.08 ± 0.93 ^{uv}	23.35 ± 7.55 ^{klmnop}
11	<i>Fagopyrum esculentum</i> Moench	62.33 ± 0.78 ^f	28.70 ± 14.76 ^{hijklm}
12	<i>Oryza sativa</i> L.	7.41 ± 1.05 ^{rst}	39.91 ± 15.59 ^{cdefgh}
13	<i>Hedyotis diffusa</i> Willd	10.92 ± 0.91 ^{opq}	13.88 ± 2.04 ^{opqrstu}
14	<i>Poria cocos</i> Wolf	4.08 ± 1.86 ^{uvw}	23.38 ± 4.06 ^{ijklmn}
15	<i>Rubus crataegifolius</i> Bunge (flesh)	94.99 ± 0.07 ^a	35.76 ± 3.13 ^{defghij}
15	<i>Rubus crataegifolius</i> Bunge (seed)	95.77 ± 0.11 ^a	47.81 ± 5.78 ^{bcd}
16	<i>Allium tuberosum</i> Rottler	-2.17 ± 0.76 ^z	13.22 ± 0.30 ^{pqrstu}
17	<i>Amaranthus mangostanus</i> L.	38.28 ± 3.35 ⁱ	2.27 ± 3.64 ^{uvw}
18	<i>Torilis japonica</i> DC.	5.91 ± 0.29 ^{stu}	4.78 ± 0.61 ^{tuvw}
19	<i>Dioscorea batatas</i> Decaisne	3.24 ± 0.54 ^{uvw}	8.18 ± 3.01 ^{rstuvw}
20	<i>Panax notoginseng</i> Buck F.H. Chen.	1.79 ± 0.55 ^{wxy}	5.73 ± 1.79 ^{uvw}
21	<i>Morus alba</i> L. (Korea)	27.16 ± 1.06 ^l	35.30 ± 2.00 ^{efghij}
21	<i>Morus alba</i> L. (China)	34.59 ± 2.21 ^j	41.40 ± 9.74 ^{cdefg}
22	<i>Phellinus linteus</i> Berk. et Curt.	55.36 ± 2.69 ^g	7.77 ± 0.27 ^{stuvw}
23	<i>Punica granatum</i> L.(Korea, red)	96.24 ± 0.06 ^a	8.76 ± 0.12 ^{rstuvw}
23	<i>Punica granatum</i> L.(Korea, black)	95.93 ± 0.24 ^a	29.41 ± 5.64 ^{hijklm}
23	<i>Punica granatum</i> L.(Uzbekistan)	96.39 ± 0.03 ^a	29.00 ± 2.67 ^{hijklm}
23	<i>Punica granatum</i> L.(Iran)	96.31 ± 0.06 ^a	7.86 ± 1.94 ^{stuvw}
24	<i>Acorus gramineus</i> Solander	23.47 ± 1.74 ^m	8.65 ± 1.84 ^{rstuvw}
25	<i>Phlomis umbrosa</i> Turcz.	33.44 ± 1.29 ^j	0.67 ± 0.55 ^{vw}
26	<i>Equisetum hyemale</i> L.	9.95 ± 1.45 ^{pqr}	-2.87 ± 0.33 ^w
27	<i>Opuntia ficus-indica</i> var. saboten (fruit)	2.52 ± 0.41 ^{vwxy}	9.94 ± 1.60 ^{rstuv}
27	<i>Opuntia ficus-indica</i> var. saboten (stem)	-3.75 ± 0.85 ^z	2.70 ± 1.12 ^{uvw}
28	<i>Cimicifuga heracleifolia</i> Kom.	77.59 ± 2.98 ^d	21.24 ± 2.82 ^{lmnopq}
29	<i>Bupleurum falcatum</i> L.	1.21 ± 0.19 ^{xyz}	37.69 ± 9.64 ^{defghi}
30	<i>Lxeris dentata</i> Nakai	-0.58 ± 0.78 ^{yz}	24.56 ± 8.52 ^{ijklmnop}
31	<i>Amaranthus caudatus</i> L.	-1.22 ± 0.12 ^z	39.50 ± 7.01 ^{cdefgh}
32	<i>Houttuynia cordata</i> Thunb	62.72 ± 3.39 ^f	18.65 ± 1.81 ^{mnopars}
33	<i>Polygala tenuifolia</i> Willd	12.23 ± 0.66 ^{mop}	35.11 ± 10.11 ^{fghijk}
34	<i>Ginkgo biloba</i> L.	-2.98 ± 0.59 ^z	15.43 ± 4.21 ^{nopqrst}
35	<i>Paeonia lactiflora</i> Pallas	93.47 ± 2.44 ^{ab}	15.60 ± 6.66 ^{nopqrst}
36	<i>Eugenia caryophyllata</i> Thunb	96.30 ± 0.11 ^a	25.46 ± 3.90 ^{ijklmno}
37	<i>Sesamum indicum</i> L. (seed)	7.45 ± 0.44 ^{rst}	45.97 ± 1.76 ^{cdef}
37	<i>Sesamum indicum</i> L. (defatted meal)	8.82 ± 1.03 ^{rst}	50.39 ± 0.27 ^{bc}
38	<i>Gastrodia elata</i> Blume	1.79 ± 1.08 ^{wxy}	21.87 ± 8.60 ^{lmnopq}
39	<i>Amomum globosum</i> Loureiro	94.99 ± 0.13 ^a	44.12 ± 7.17 ^{cdef}
40	<i>Cuscuta japonica</i> Choisy	44.11 ± 2.96 ^h	7.89 ± 0.66 ^{stuvw}
41	<i>Pleuropterus multiflorus</i> Turcz.	6.01 ± 0.55 ^{stu}	6.28 ± 1.59 ^{stuvw}
42	<i>Kalopanax pictus</i> Nakai	44.69 ± 5.60 ^h	11.96 ± 2.73 ^{nopqrst}
43	<i>Carthamus tinctorius</i> L.	24.15 ± 1.20 ^m	17.82 ± 3.05 ^{mnopars}
44	<i>Coptis japonica</i> Makino	31.87 ± 1.36 ^k	20.05 ± 5.56 ^{lmnopqr}
45	<i>Polygonatum stenophyllum</i> Maxim.	1.80 ± 0.51 ^{wxy}	22.62 ± 3.79 ^{lmnopq}

¹⁾Antioxidant activity of plant extracts at 1 mg/mL was determined.

²⁾Means within each column with the same superscripts are not significantly different ($p < 0.05$).

Values are means of triplicate determinations ± standard deviation.

Table 3. Flavonoid and polyphenol content of medicinal plant

No.	Medicinal plant name	Polyphenol (mg/g) ¹⁾	Flavonoid (mg/g) ²⁾
1	<i>Glycyrrhiza glabra</i> L.(Russia)	97.62 ± 2.32	142.48 ± 0.55
1	<i>Glycyrrhiza glabra</i> L.(Japan)	261.76 ± 0.08	133.03 ± 0.89
2	<i>Curcuma longa</i> L.	245.58 ± 12.35	394.86 ± 2.31
3	<i>Aconitum carmichaeli</i> Debx.	17.66 ± 0.31	6.89 ± 0.03
4	<i>Psidium guajava</i> L.	378.39 ± 2.10	134.80 ± 2.83
5	<i>Ulmus davidiana</i> var. japonica (root)	214.34 ± 0.69	36.06 ± 0.14
5	<i>Ulmus davidiana</i> var. japonica (leaves)	74.65 ± 6.29	35.13 ± 0.30
5	<i>Ulmus davidiana</i> var. japonica (stem)	223.58 ± 0.97	42.97 ± 0.34
6	<i>Angelica gigas</i> Nakai	69.16 ± 0.61	18.27 ± 0.33
7	<i>Rheum undulatum</i> L.	186.23 ± 5.33	24.47 ± 0.42
8	<i>Eucommia ulmoides</i> Oliver	62.10 ± 0.16	11.01 ± 0.36
9	<i>Perilla frutescens</i> Briton var. japonica Hara (seed)	67.95 ± 0.89	31.87 ± 0.99
9	<i>Perilla frutescens</i> Briton var. japonica Hara (defatted meal)	111.37 ± 0.05	42.66 ± 5.83
10	<i>Auricularia auricula-judae</i> Quel.	22.11 ± 0.05	4.87 ± 0.04
11	<i>Fagopyrum esculentum</i> Moench	122.78 ± 0.02	27.11 ± 0.54
12	<i>Oryza sativa</i> L.	26.74 ± 1.61	9.60 ± 0.40
13	<i>Hedyotis diffusa</i> Willd	72.75 ± 2.95	57.61 ± 0.36
14	<i>Poria cocos</i> Wolf	25.32 ± 0.23	7.07 ± 0.04
15	<i>Rubus crataegifolius</i> Bunge (flesh)	380.62 ± 0.02	115.96 ± 0.19
15	<i>Rubus crataegifolius</i> Bunge (seed)	371.16 ± 0.01	73.74 ± 1.49
16	<i>Allium tuberosum</i> Rottler	23.71 ± 0.19	19.47 ± 0.01
17	<i>Amaranthus mangostanus</i> L.	79.29 ± 2.81	27.20 ± 0.03
18	<i>Torilis japonica</i> DC.	22.06 ± 0.29	14.17 ± 0.29
19	<i>Dioscorea batatas</i> Decaisne	10.68 ± 0.01	2.59 ± 0.04
20	<i>Panax notoginseng</i> Buck F.H. Chen.	8.58 ± 0.84	4.74 ± 0.17
21	<i>Morus alba</i> L. (Korea)	226.72 ± 2.69	57.15 ± 0.64
21	<i>Morus alba</i> L. (China)	229.63 ± 2.91	58.85 ± 0.15
22	<i>Phellinus linteus</i> Berk. et Curt.	81.58 ± 2.94	56.97 ± 0.14
23	<i>Punica granatum</i> L.(Korea, red)	138.16 ± 0.03	43.27 ± 0.39
23	<i>Punica granatum</i> L.(Korea, black)	139.16 ± 0.37	49.77 ± 0.09
23	<i>Punica granatum</i> L.(Uzbekistan)	187.79 ± 2.76	64.66 ± 1.09
23	<i>Punica granatum</i> L.(Iran)	171.61 ± 0.48	53.71 ± 0.91
24	<i>Acorus gramineus</i> Solander	74.85 ± 0.18	13.76 ± 0.13
25	<i>Phlomis umbrosa</i> Turcz.	58.10 ± 1.48	38.19 ± 1.30
26	<i>Equisetum hyemale</i> L.	57.29 ± 0.06	82.40 ± 0.46
27	<i>Opuntia ficus-indica</i> var. saboten (fruit)	32.08 ± 0.04	11.36 ± 0.13
27	<i>Opuntia ficus-indica</i> var. saboten (stem)	36.16 ± 0.12	15.46 ± 0.23
28	<i>Cimicifuga heracleifolia</i> Kom.	171.50 ± 0.02	41.99 ± 0.64
29	<i>Bupleurum falcatum</i> L.	31.52 ± 0.33	9.80 ± 0.18
30	<i>Lxeris dentata</i> Nakai	15.50 ± 0.05	6.49 ± 0.51
31	<i>Amaranthus caudatus</i> L.	12.90 ± 0.23	1.84 ± 0.01
32	<i>Houttuynia cordata</i> Thunb	129.87 ± 0.71	95.78 ± 0.79
33	<i>Polygala tenuifolia</i> Willd	45.69 ± 1.63	53.54 ± 0.23
34	<i>Ginkgo biloba</i> L.	32.94 ± 0.32	0.97 ± 0.14
35	<i>Paeonia lactiflora</i> Pallas	133.80 ± 0.01	82.23 ± 0.65
36	<i>Eugenia caryophyllata</i> Thunb	396.50 ± 0.80	59.54 ± 1.32
37	<i>Sesamum indicum</i> L. (seed)	21.71 ± 0.32	6.20 ± 0.29
37	<i>Sesamum indicum</i> L. (defatted meal)	59.31 ± 0.73	14.57 ± 0.34
38	<i>Gastrodia elata</i> Blume	18.29 ± 0.68	2.36 ± 0.07
39	<i>Amomum globosum</i> Loureiro	594.7 ± 9.91	140.55 ± 5.16
40	<i>Cuscuta japonica</i> Choisy	106.42 ± 3.81	58.07 ± 1.13
41	<i>Pleuropterus multiflorus</i> Turcz.	9.65 ± 0.19	1.73 ± 0.47
42	<i>Kalopanax pictus</i> Nakai	82.19 ± 0.16	31.37 ± 0.11
43	<i>Carthamus tinctorius</i> L.	141.78 ± 0.06	145.99 ± 0.70
44	<i>Coptis japonica</i> Makino	133.11 ± 5.08	126.93 ± 0.50
45	<i>Polygonatum stenophyllum</i> Maxim.	12.24 ± 0.82	1.71 ± 0.49

¹⁾Catechin equivalent.²⁾Naringin equivalent.

Values are means of triplicate determinations ± standard deviation.

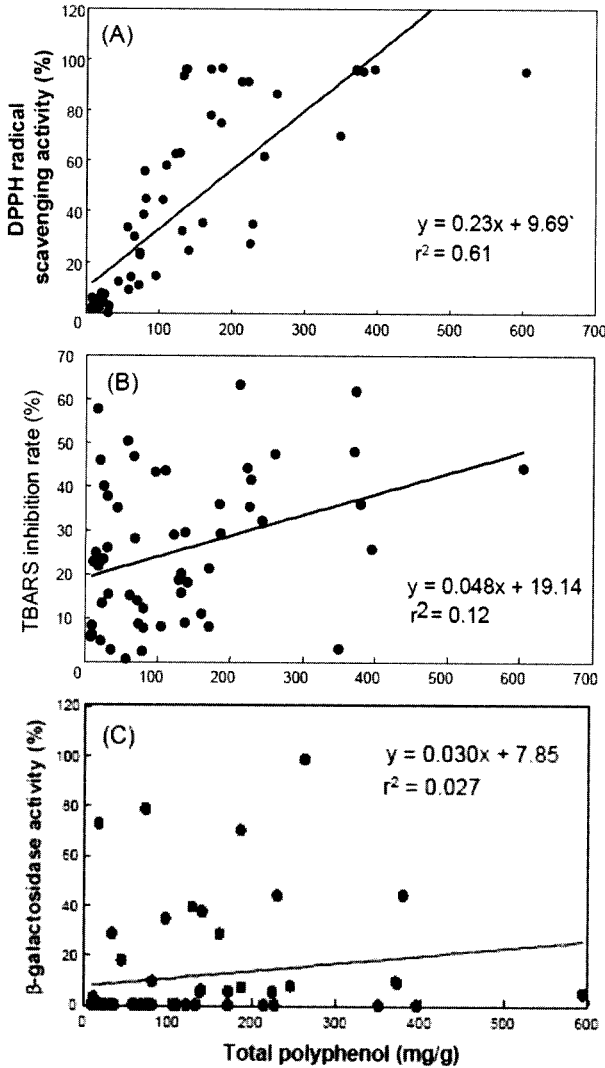


Fig. 2. Relationship between antioxidant activities (A and B) or estrogenic activity (C) and total phenolic contents (catechin equivalent) of medicinal plant extracts.

성과의 관련성을 비교한 결과(Fig. 2) 폴리페놀의 함량이 높을수록 라디칼 소거능이 높아 양의 상관관계를 나타내었으며 ($r^2=0.61$), Kim 등(35)의 연구 결과와 유사하였다. 반면, 천연물의 polyphenol 함량과 TBARS 생성 억제능, polyphenol 함량과 에스트로젠 활성 간의 상관성은 낮은 상관계수($r^2=0.12, 0.027$)를 나타내었다. 이는 *in vivo* system에서의 항산화능에 관여하는 성분에는 폴리페놀이나 플라보노이드 외에 많은 성분이 관여하며 식용 및 약용식물에 존재하는 유효 성분이 다양하다는 것을 나타낸다. 에스트로젠 활성에도 폴리페놀이나 플라보노이드 외에 리그난 성분 등이 관여한다는 보고가 있고 (36), 폴리페놀 중에도 세포 내로의 흡수나 전달용이성 등에 차이가 많으므로(37-39) 상관성이 낮게 나온 것으로 사료되며 이에 대한 연구가 필요한 것으로 나타났다.

감사의 글

본 연구는 농림부의 농림기술개발사업 지원에 의해 수행된 연구 결과의 일부로 이에 감사드립니다.

요 약

45종 식용 및 약용식물 에탄올 추출물의 에스트로젠 활성 및 항산화활성을 측정하였고 폴리페놀과 플라보노이드 함량을 측정 비교하였다. 재조합 효모법을 이용하여 에스트로젠 활성을 측정한 결과 감초, 강황, 경포부자, 구아바, 느릅(줄기), 도두다미, 백화사철초, 대황, 상백피(중국산), 상황버섯, 석류, 복분자(과육, 씨), 원지, 은행, 초두구, 홍화, 황정이 유의적으로 높은 활성을 나타내었다. 특히, 감초와, 대황은 100 µg/mL의 농도에서 1 mg/mL 보다 더 높은 활성을 나타내었다. DPPH 라디칼 소거능과 TBARS 생성 억제능 두 가지가 모두 우수한 소재는 감초, 구아바, 느릅, 대황, 복분자, 초두구였다. 총 폴리페놀은 초두구가 594.7 mg/g catechin eq.으로 가장 높았으며 삼칠근이 8.6 mg/g catechin eq.으로 가장 낮았고, 플라보노이드 함량은 강황이 약 394.9 mg/g naringin eq.으로 가장 높았고 황정이 1.7 mg/g naringin eq.으로 가장 적었다. 폴리페놀의 함량이 높은 식물의 대부분이 플라보노이드의 함량도 많았다. 시료 추출물의 라디칼 소거 활성과 폴리페놀 함량 간에 양의 상관관계를 나타내었으나($r^2=0.61$), 지질 과산화 억제능 및 에스트로젠 활성과 폴리페놀 함량 간에는 유의적인 상관성이 적었다. 감초, 대황은 에스트로젠 활성이 높으면서 항산화능이 높았다. 이상의 결과는 파이토에스트로젠 활성을 가진 천연 소재를 선정하는데 기초 자료로 활용될 수 있을 것으로 사료된다.

문 헌

1. Kwon SC. Effects of continuously added oral progestin (medroxyprogesterone acetate) on the levels of serum lipid and lipoprotein during estrogen replacement therapy in postmenopausal women. *Korean Soc. Obstetrics Gynecol.* 41: 2442-2446 (1998)
2. Ettinger B. Overview of estrogen replacement therapy: a historical perspective. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 217: 2-5 (1998)
3. Schafer JM, Lee ES, O'Regan RM, Yao K, Jordan VC. Clin. Rapid development of tamoxifen-stimulated mutant p53 breast tumors (T47D) in athymic mice. *Cancer Res.* 6: 4373-4380 (2000)
4. Kronenberg F, Fugh-Berman A. Complementary and alternative medicine for menopausal symptoms: a review of randomized, controlled trials. *Ann. Int. Med.* 137: 805-813 (2002)
5. Marston A, Hostettmann K. Biological and chemical evaluation of plant extracts and subsequent isolation strategy. pp. 67-80. In: *Bioassay Methods in Natural Product Research and Drug Development.* Bohlin L, Bruhn JG (eds). Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, the Netherlands (1999)
6. Farnsworth NR, Bingel AS, Cordell GA, Crane FA, Fong HS. Potential value of plant as sources of new antifertility agents II. *J. Pharmacol. Sci.* 64: 717-754 (1975)
7. Mazur W, Adlercreutz H. Overview of naturally occurring endocrine-active substances in the human diet in relation to human health. *Nutrition* 16: 654-687 (2000)
8. Mazur W, Duke JA, Wahala K, Rasku S, Adlercreutz H. Isoflavonoids and lignans in legumes: Nutritional and health aspects in humans. *J. Nutr. Biochem.* 6: 193-200 (1998)
9. Tham DM, Gardner CD, Haskell WL. Potential health benefits of dietary phytoestrogens: A review of the clinical, epidemiological, and mechanistic evidence. *J. Clin. Endocrinol. Metabol.* 83: 2223-2235 (1998)
10. Franke AA, Custer LJ, Cerna CM, Narala KK. Quantitation of phytoestrogens in legumes by HPLC. *J. Agric. Food Chem.* 42: 1905-1913 (1994)
11. Wang X, Wu J, Chiba H, Umegaki K, Yamada K, Ishimi Y. *Puerariae radix* prevents bone loss in ovariectomized mice. *J. Bone Miner. Metab.* 21: 268-275 (2003)

12. Wang JF, Guo YX, Niu JZ, Liu J, Wang LQ, Li PH. Effects of *Radix Puerariae* flavones on liver lipid metabolism in ovariectomized rats. *World J. Gastroenterol.* 10: 1967-1970 (2004)
13. Jeon SM, Han J, Lee HJ, Lee IK, Moon KD, Choi MS. The effects of Korean safflower (*Carthamus tinctorious* L.) seed powder supplementation diet on bone metabolism indices in rats during the recovery of rib fracture. *Korean Nutr. Soc.* 31: 1049-1056 (1998)
14. Choi YS, Cho SH. Effects of defatted safflower seed powder on intestinal physiology and fecal short-chain fatty acids in ovariectomized female rats fed high cholesterol diets. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 30: 528-534 (2001)
15. Cho SH, Lee HR, Kim TH, Choi SW, Lee WJ, Choi Y. Effects of defatted safflower seed extract and phenolic compounds in diet on plasma and liver lipid in ovariectomized rats fed high-cholesterol diets. *J. Nutr. Sci. Vitaminol.* 50: 32-37 (2004)
16. Kim SJ, Park C, Kim HG, Shin WC, Choe SY. A study on the estrogenicity of Korean arrowroot (*Pueraria thunbergiana*). *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 33: 16-21 (2004)
17. Soto AM, Sonnenschein C, Chung KL, Fernandez MF, Olea N, Serrano FO. The E-screen assay as a tool to identify estrogens: An update on estrogenic environmental pollutants. *Environ. Health Perspect.* 103: 113-122 (1995)
18. Park JS, Lee BJ, Kang KS, Tai JH, Cho JJ, Cho MH, Inoue T, Lee YS. Hormonal effects of several chemicals in recombinant yeast, MCF-7 cells and uterotrophic assays in mice. *J. Microbiol. Biotechnol.* 10: 293-299 (2000)
19. Gaido KW, Leonard LS, Maness SC, Hall JM, McDonnell DP, Saville B, Safe S. Differential interaction of the methoxychlor metabolite 2,2-bis-(p-hydroxy phenyl) -1,1,1-trichloroethane with estrogen receptors alpha and beta. *Endocrinology* 140: 5746-5753 (1999)
20. Arcaro KF, Vakharia DD, Yang Y, Gierthy JF. Lack of synergy by mixtures of weakly estrogenic hydroxylated polychlorinated biphenyls and pesticides. *Environ. Health Perspect.* 106: 1041-1046 (1998)
21. Gaido KW, Leonard LS, Lovell S, Gould JC, Babai D, Protier CJ, McDonnell DP. Evaluation of chemicals with endocrine modulating activity in a yeast based steroid hormone receptor gene transcription assay. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 143: 205-212 (1997)
22. Blois MS. Antioxidant determination by the use of a stable free radical. *Nature* 181: 1199-1201 (1958)
23. Ohkawa H, Ohishi N, Yaki K. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Anal. Biochem.* 95: 35-41 (1979)
24. Singleton VL, Rossi JA. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdenic-phosphotungstic acid. *Am. J. Enol. Vitic.* 16: 144-158 (1965)
25. NFRI. *Manuals of Quality Characteristic Analysis for Food Quality Evaluation* (2). National Food Research Institute, Tsukuba, Japan. p. 61 (1990)
26. Tamir S, Eizenberg M, Somjen D, Stern N, Shelach R, Kaye A, Vaya J. Estrogenic and antiproliferative properties of glabridin from licorice in human breast cancer cells. *Cancer Res.* 60: 5704-5709 (2000)
27. van der Sluis AA, Dekker M, Vererk R, Jongen WMF. An improved, rapid in vitro method to measure antioxidant activity. Application on selected flavonoids and apple juice. *J. Agric. Food Chem.* 48: 4116-4122 (2000)
28. Sato M, Ramarathnam N, Suzuki Y, Ohkubo T, Takeuchi M, Ochi H. Varietal differences in the phenolic content and superoxide radical scavenging potential of wines from different sources. *J. Agric. Food Chem.* 44: 37-41 (1996)
29. Bors W, Saran M. Radical scavenging by flavonoid antioxidants. *Free Radic. Res. Comm.* 2: 289-294 (1987)
30. Fitzpatrick DF, Hirschfiel SL, Coffey RG. Endothelium-dependent vasorelaxing activity of wine and other grape products. *Am. J. Physiol.* 265: H774-H778 (1993)
31. Miksicek RJ. Commonly occurring flavonoids have estrogenic activity. *Mol. Pharmacol.* 44: 37-43 (1993)
32. Breinholt V, Larsen JC. Detection of weak estrogenic flavonoids using a recombinant yeast strain and a modified MCF-7 cell proliferation assay. *Chem. Res. Toxicol.* 11: 622-629 (1998)
33. Collins-Burow BM, Burow ME, Duong BN, McLachlan JA. Estrogenic and antiestrogenic activities of flavonoid phytochemicals through estrogen receptor binding-dependent and -independent mechanisms. *Nutr. Cancer* 38: 229-244 (2000)
34. Kim SY, Kim JH, Kim SK, Oh MJ, Jung MY. Antioxidant activities of selected oriental herb extracts. *J. Am. Oil. Chem. Soc.* 71: 633-640 (1994)
35. Kim EY, Baik IH, Kim JH, Kim SR, Rhyu MR. Screening of the antioxidant activity of some medicinal plants. *Korean J. Food Sci. Technol.* 36: 333-338 (2004)
36. Fujimoto N, Kohta R, Kitamura S, Honda H. Estrogenic activity of an antioxidant, nordihydroguaiaretic acid (NDGA). *Life Sci.* 74: 1417-1425 (2004)
37. Hollman PCH, v.d. Gaag M, Mengelers MJB, van Trijp JMP, de Vries JHM, Katan MB. Absorption and disposition kinetics of the dietary antioxidant quercetin in man. *Free Radic. Biol. Med.* 21: 703-707 (1996)
38. Morito K, Hirose T, Kinjo J, Hirakawa T, Okawa M, Nohara T, Ogawa S, Inoue S, Muramatsu M, Masamune Y. Interaction of phytoestrogens with estrogen receptors α and β . *Biol. Pharmacol. Bull.* 24: 351-356 (2001)
39. Walle T. Absorption and metabolism of flavonoids. *Free Radic. Biol. Med.* 36: 829-837 (2004)