

원지

麻黃 추출물이 항산화에 미치는 영향

- 송성민 · 송윤경 · 임형호 경원대학교 한의과대학 한방재활의학과교실
- 권기록* 상지대학교 한의과대학 침구과
- 임태진** 상지대학교 동물자원학부 생명공학과

Effects of Ephedrae Herba on the activity of antioxidant

Seong-Min Song, Yun-Kyung Song, Hyung-Ho Lim, Ki Rok Kwon** · Tae Jin Lim***

* Dept. of Oriental Rehabilitation Medicine, Oriental Medical College, Kyung-won University

** Korean Medical College, Sangji University

*** Division of Animal resources and life science, Sangji University

ABSTRACT

- Objectives** The purpose of this study was to investigate the antioxidative effects of *Ephedrae Herba* extract.
- Methods** Total antioxidant status was examined by total antioxidant capacity(TAC), total antioxidant response(TAR) against potent free radical reactions, total phenolic content, DPPH radical scavenging activities, and the inhibitory effect of the extract on lipid peroxidation in rat liver mitochondria.
- Results**
1. TAC and TAR of *Ephedrae Herba* extract at the concentration of 5mg/ml were 3.76 and 1.65 mM Trolox equivalents, respectively.
 2. Total phenolic content of *Ephedrae Herba* extract at the concentration of 5mg/ml was 3.52 mM gallic acid equivalent.
 3. Concentration of *Ephedrae Herba* extract at which DPPH radical scavenging activity was inhibited by 50% was 0.46mg/ml as compared to 100% by pyrogallol solution as a reference.
 4. *Ephedrae Herba* extract at the concentration of 2mg/ml significantly decreased TBARS concentration by 97%, showing that *Ephedrae Herba* extract prevented lipid peroxidation at the low concentration.
- Conclusion** Thus antioxidant effects of *Ephedrae Herba* extract appear to be due to, at least in part, the prevention from free radicals-induced oxidation, followed by inhibition of lipid peroxidation.

Key word *Ephedrae Herba*, antioxidative effects, free radical

1. 서론

최근 노화 및 암, 염증, 동맥경화, 심장병, 치매 등 각종 질병과 유리 자유기와 관련된성이 대두되면서¹⁾, 유리 자유기의 발생을 억제하고 이들에 의한 산화작용으로부터 생체를 보호하고 노화를 예방할 수 있는 항산화제 개발에 대한 관심이 증가하고 있다.

유리 자유기들은 생체막에 존재하는 불포화 지방산을 산

화시켜 막의 유동성을 저해하고, 효소와 receptor의 활성을 손상시키며, 막 단백질에 손상을 입혀 결국 세포의 불활성화를 일으키는 작용을 통하여 노화 및 각종 질병발생에 기여하는 것으로 알려져 있다²⁾.

항산화제에 대한 연구는 McCord와 Fridovich³⁾가 O₂ 유리 자유기를 소거하는 효소인 SOD를 발견한 것을 계기로 시작되었으며, butylated hydroxytoluene(BHT), butylated hydroxyanisole(BHA)등과 같은 합성 항산화제와 α-tocopherol, vitamin C, carotenoids, flavonoids, 탄닌 등

과 같은 일부 천연 항산화제 등이 개발 및 발견되었다^{4,5)}. 그러나 합성항산화제는 독성, 저활성 및 용도의 한계성 등의 여러 가지 문제로 인하여 사용에 제한을 받고 있어, 실용성이 크고 안전한 저분자 천연 항산화제 개발을 위한 연구에 초점이 맞추어지고 있다⁴⁾.

국내에서 이에 대한 연구로는 녹차⁶⁾, 보이차⁷⁾의 항산화효과에 대한 연구가 있었고, 한의계에서는 石斛⁸⁾, 薄荷⁹⁾, 黃芩¹⁰⁾, 葛根¹¹⁾, 大黃¹²⁾, 山查¹³⁾와 같은 단일약재와 加味小健中湯¹⁴⁾, 五子衍宗丸¹⁵⁾, 清心蓮子湯¹⁶⁾, 補中益氣湯 및 六味地黃丸¹⁷⁾ 등의 複合處方 및 藥鍼¹⁸⁾ 등의 항산화 효과에 대한 연구가 있었다.

또한 비만과 항산화 효과에 대한 영향을 동시에 분석한 實脾飲¹⁹⁾, 小青龍湯²⁰⁾에 대한 보고가 있었는데, 비만이 내피조직 장애 발생과 관련이 있으며²¹⁾, 내피조직 장애(endothelial dysfunction)를 유발하는 원인으로서 유리 자유기가 언급되고 있어 관련성을 추정해 볼 수 있으나 아직 구체적인 관련성에 대한 연구는 찾아보기 어렵다. 본 연구는 체중감량 및 운동수행능력 향상효과에 대한 다양한 임상보고가 있으며, 임상에서 비만치료를 다용되고 있는 마황^{23, 24, 25, 26)}이 항산화에 어떠한 영향을 미치는지 알아보기 위해 계획되었다.

항산화능 측정법은 기본적으로 지질과산화 연구와 관련이 있는 것으로 지질의 산화분해에서 항산화제를 함유한 시료의 효과를 측정하는 직접적인 방법과, 실질적인 산화분해나 금속전이 효과와는 관련이 없는 유리 자유기들을 소거하는 능력을 측정하는 간접적인 방법이 있다²⁷⁾. 고등식물에서 발견되는 천연 항산화물질 중 가장 많은 부분을 차지하는 것이 페놀성 화합물로서, 천연 항산화제에 대한 연구에서 총 페놀 함량에 대한 측정은 일반적이다.

본 연구에서는 마황 추출물의 항산화작용을 규명하기 위해 간접적인 방법 중에서 가장 많이 사용되고 있는 총 항산화능(TAC), 총 항산화 반응(TAR), DPPH 유리 자유기 소거작용에 대한 실험 및 직접적인 방법으로 TBARS 분석을 통해 마황의 지질과산화억제효과를 살펴보았으며, 그 외 천연물 항산화물질인 페놀성 화합물의 함량을 측정하여 유의한 결과를 얻었기에 보고하는 바이다.

II. 재료 및 방법

1. 재료

1) 마황 추출물의 조제

마황은 정선된 제품을 경원대학교 부속한방병원에서 구입하여 본 연구의 시료로 사용하였다. 분쇄한 시료 34.85g을 80% 에탄올(HPLC-grade) 700 ml로 2번 추출한 뒤 증류시켰다. 최종적으로 동결건조기에서 9.49g의 에탄올추출물을 얻었으며, 회수율은 27.2%로 높게 나타났다.

확보된 마황 추출물은 50mg/ml의 농도로 dH₂O에 녹여 4℃에서 보관하면서 적당한 농도로 희석하여 실험에 사용하였다.

2) 시약

2',7'-Dichlorofluorescein-diacetate(DCFH-DA; Molecular Probes, USA), 96-well plate(Becton Dickinson, USA)를 사용하였고, 생화학적 분석에 사용한 다른 모든 화학물과 용매들은 분석급 이상의 시약(Sigma Chemical, st. Louis, USA)을 사용하였다.

3) 실험동물

(주)대한바이오링크로부터 구입한 6주령 수컷 Sprague-Dawley 흰쥐를 실험동물로 사용하였다. 본 실험실에서 사료와 물은 무제한 공급하였고, 사육실 온도는 20-25℃를 유지하였으며 명암은 12시간 주기로 조절되었다. 1주일의 적응기간을 거친 다음 간을 절제한 후 Hovius 등²⁸⁾의 방법에 따라 미토콘드리아를 분리하였다.

2. 방법

1) 총 항산화능 (TAC) 측정

총 항산화능은 Trolox equivalent antioxidant capacity (TEAC) 방법²⁹⁾을 수정한 Erel³⁰⁾의 방법에 따라 TAC를 측정하였다. 산성 pH에서 무색의 환원형 2,2'-azinobis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonate) (ABTS)는 H₂O₂에 의해 청록색의 ABTS⁺로 산화되게 된다. 만일 추출물 내 항산화물질이 존재하게 되면 이들 농도에 비례하여 ABTS⁺는 탈색되며, 이러한 색 변화반응의 결과는 660nm에서의 흡광도로 조사하였다. 시료 추출물의 TAC 측정을 위해 0, 0.15, 0.3, 0.6, 1.5, 2.25 및 3mM의 Trolox를 표준시약으로 사용

하여 표준곡선을 작성하였다.

Trolox는 총 항산화능 측정에 광범위하게 사용되는 전형적인 표준시약으로, TAC 활성은 mM Trolox equivalent로 표기하였다.

2) 총 항산화 반응 (TAR) 측정

유리 자유기 반응에 대한 총 항산화능은 ferric reducing/antioxidant power assay (FRAP) 방법³⁰⁾을 수정한 Erel³²⁾의 방법에 따라 TAR을 측정함으로써 결정하였다. 산성 pH에서 무색의 환원형 *o*-dianisidine은 Fenton 반응에 의해 생성된 OH(hydroxyl radical)에 의해 황갈색의 dianisidyl 유리 자유기로 변화하게 된다. 만일 추출물 내에 항산화물질이 존재하게 되면, 이들 농도에 비례하여 산화반응을 억제시켜 색 변화가 감소하게 된다. 이러한 반응은 444nm에서의 흡광도로 조사하였다. 시료 추출물의 TAR 측정을 위해 0, 0.15, 0.3, 0.6, 1.5, 2.25 및 3mM의 Trolox를 표준시약으로 사용하여 표준곡선을 작성하였다. TAR 활성은 mM Trolox equivalent로 표기하였다

3) 총 페놀 함량 측정

추출물 내 총 페놀 함량은 gallic acid를 표준시약으로 사용하여, Singleton과 Orthofer³³⁾의 방법에 따라 760nm에서 흡광도를 측정함으로써 결정하였다.

시료 추출물의 총 페놀 함량 측정을 위해 0, 0.125, 0.25, 0.5, 1, 1.67 및 2.5mM의 gallic acid를 표준시약으로 사용하여 표준곡선을 작성하였다.

Gallic acid는 총 페놀 함량 측정에 가장 많이 사용되는 전형적인 표준시약으로 총 페놀 함량은 mM gallic acid equivalent로 표기하였다.

4) 1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) 소거활성 측정

DPPH 유리 자유기 소거활성은 Malterud 등³⁴⁾의 방법에 따라 측정하였다. DPPH 용액(45ug/ml 메탄올)을 추출물과 혼합한 다음 515nm에서 흡광도의 감소를 30초 간격으로 5분간 측정하였다. 유리 자유기 소거활성은 pyrogallol 용액(125ug/ml DMSO)의 흡광도 감소를 100%로 기준하여 표기하였다.

5) 지질과산화 측정

추출물의 지질과산화 억제 효과는 흰쥐의 간 미토콘드리아 배양액의 thiobarbituric acid 반응 물질(TBARS) 농도를 측정함으로써 결정하였다. 간 미토콘드리아(0.5mg/ml)를

10uM FeSO₄와 100uM ascorbic acid와 함께 추출물 농도별로 37°C에서 60분간 배양하였다.

미토콘드리아 배양액의 지질과산화는 Stacey와 Klaassen³⁵⁾의 방법에 따라 excitation 파장 530nm와 emission 파장 590nm에서 형광도를 측정함으로써 결정하였다.

TBARS 농도 측정을 위해 0, 16.2, 8.1, 4.05, 2.025, 1.013 및 0.506uM의 1,1,3,3,-tetraethoxypropane을 표준시약으로 사용하여 표준곡선을 작성하였다.

6) 단백질 정량

단백질 함량은 bovine serum albumin(BSA)을 표준시약으로 사용하여 Lowry 등³⁶⁾의 방법에 따라 측정하였다.

3. 통계 분석

추출물 농도별 TBARS 농도는 일원분산분석(one-way ANOVA)을 사용하여 분석하였으며, 농도별 평균값의 차이는 Duncan's multiple range test를 사용하여 p<0.05에서 유의성을 조사하였다.

III. 결과

1. 총 항산화능(TAC)

Trolox 농도와 660nm에서의 흡광도 간의 회귀방정식은 Y=1.403-0.321X (Y는 660nm에서의 흡광도이며, X는 Trolox 농도)이었다. Trolox의 농도가 증가함에 따라 유의적으로(r²=0.989) 660 nm에서의 흡광도가 감소하였다.

0.1 및 1mg/ml 농도의 마황 추출물의 TAC는 0.41 및 1.81mM Trolox equivalent이며, 추출물 농도가 증가함에 따라 TAC도 비례적으로 증가하여 5mg/ml 농도에서는 3.76 mM Trolox equivalent를 나타내어 마황 추출물이 농도 의존적으로 ABTS 유리 자유기 소거활성을 나타내고 있음을 알 수 있었다. 그러나 5mg/ml 농도 이상에서는 더 이상의 TAC 증가는 관찰되지 않았다(Fig. 1).

즉, 마황 추출물의 TAC는 5mg/ml 농도 이하에서는 농도 의존적으로 증가한다는 것을 알 수 있다.

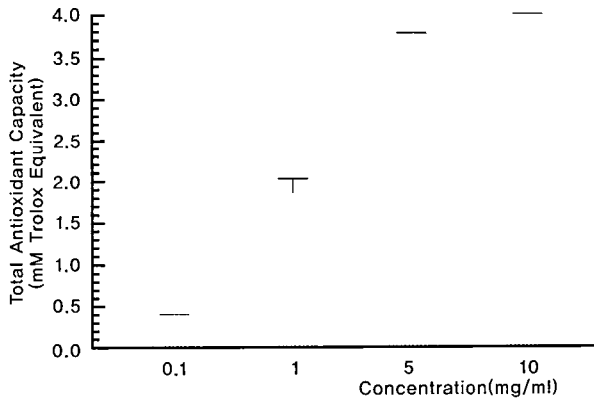


Fig. 1 Total antioxidant capacity of various concentrations of *Ephedrae Herba* extract. Data results were expressed as in terms of mM Trolox equivalent. Each bar represents the mean±SEM of duplicate determinations.

2. 총 항산화 반응(TAR)

Trolox 농도와 444nm에서의 흡광도 간의 회귀방정식은 $Y=1.076-0.174X$ (Y는 444nm에서의 흡광도이며, X는 Trolox 농도)이었다. Trolox의 농도가 증가함에 따라 유의적으로($r^2=0.987$) 444nm에서의 흡광도가 감소하였다.

0.1 및 1mg/ml 농도의 마황 추출물의 TAR은 0.39 및 0.66mM Trolox equivalent이며, 추출물 농도가 증가함에 따라 TAR도 비례적으로 증가하여 5 및 10mg/ml 농도에서는 각각 1.65 및 2.43mM Trolox equivalent를 나타내었다. 따라서 마황 추출물은 농도 의존적으로 dianisidyl 유리 자유기 소거활성을 나타내고 있음을 알 수 있었다(Fig. 2).

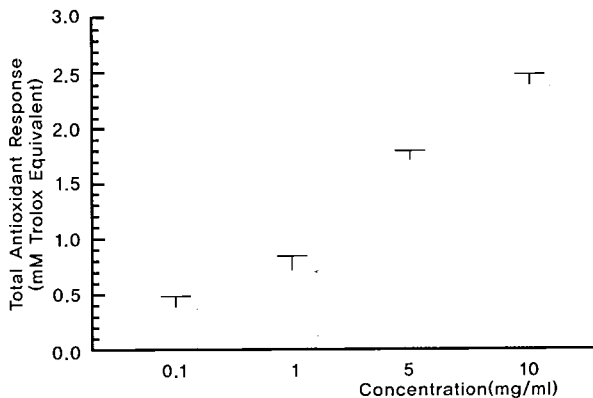


Fig. 2 Total antioxidant response of various concentrations of *Ephedrae Herba* extract. Data results were expressed as in terms of mM Trolox equivalent. Each bar represents the mean±SEM of duplicate determinations.

3. 총 페놀 함량

Phenolic compound는 식물에 존재하는 대표적인 항산화 물질이다. Gallic acid 농도와 760nm에서의 흡광도 간의 회귀방정식은 $Y=0.002+0.719X$ (Y는 760 nm에서의 흡광도이며, X는 gallic acid 농도)이었다. Gallic acid의 농도가 증가함에 따라 유의적으로($r^2=0.998$) 760nm에서의 흡광도도 증가하였다.

0.1mg/ml 농도의 마황 추출물의 총 페놀 함량은 0.20mM gallic acid equivalent이며, 추출물 농도가 증가함에 따라 총 페놀 함량도 비례적으로 증가하여 0.5, 1, 2.5 및 5mg/ml 농도에서는 각각 0.62, 0.99, 2.07 및 3.52 mM gallic acid equivalent를 나타내었다(Fig. 3).

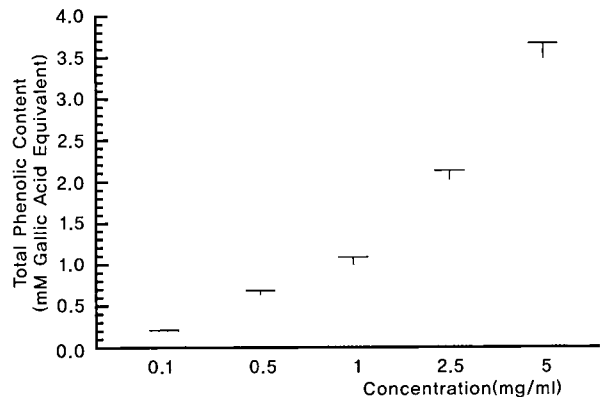


Fig. 3 Total phenolic content of various concentrations of *Ephedrae Herba* extract. Data results were expressed as in terms of mM gallic acid equivalent. Each bar represents the mean±SEM of duplicate determinations.

4. 1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl(DPPH) 소거활성

DPPH 유리 자유기는 짝을 이루지 못하는 전자쌍 때문에 진한 자색을 띠게 되며, 515nm에서 45µg/ml 농도의 DPPH의 흡광도는 약 1.2로 나타났다. DPPH 용액과 신속히 혼합한 시료의 흡광도 감소는 유리 자유기 소거활성을 나타내며, 시료의 유리 자유기 소거활성은 pyrogallol 용액의 흡광도 감소를 100%로 기준하여 표시하였다.

추출물 농도 0.1mg/ml의 유리 자유기 소거활성은 21.0%이고, 1mg/ml 농도에서 유리 자유기 소거활성은 92.8%로 나타났다. 5 및 10mg/ml 등 농도에서는 각각 94.8, 98.9%이었으나 1mg/ml에 비해 통계적으로 유의한 유리 자유기 소거활성의 변화는 아니었다.

추출물 농도와 유리 자유기 소거활성 간의 회귀분석 결과 50%의 유리 자유기 소거활성에 필요한 마황 추출물의 농도는 0.46mg/ml로 나타나 마황 추출물의 유리 자유기 소거활성이 뚜렷함을 알 수 있었다(Fig. 4).

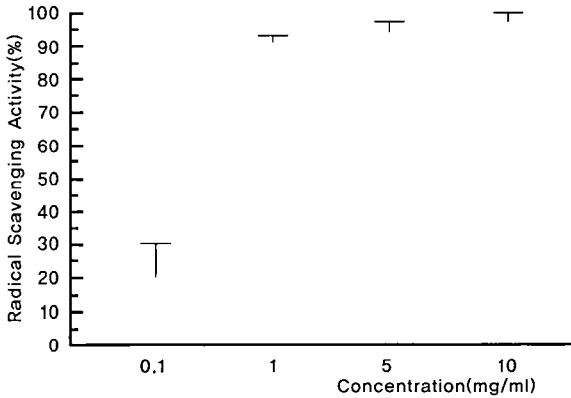


Fig. 4 DPPH radical scavenging activities of various concentrations of *Ephedrae Herba* extract. Data results were expressed as % free radical scavenging activity relative to 100% radical scavenging activity of pyrogallol solution as a reference. Each bar represents the mean±SEM of duplicate determinations.

5. 지질과산화 억제 효과

흰쥐의 간 미토콘드리아(0.5mg 단백질/ml)를 이용하여 추출물의 지질과산화에 미치는 영향을 조사하였다. 지질과산화는 OH· 유리 자유기를 생성하는 FeSO₄/ascorbic acid로 유발시켰으며, TBARS 농도를 측정함으로써 결정하였다.

표준시약 농도와 excitation 파장 530nm/emission 파장 590 nm에서의 형광도 간의 회귀방정식은 Y=5.957+26.673X(Y는 형광도이며, X는 TBARS 농도)이었다.

TBARS 농도가 증가함에 따라 유의적으로($r^2=0.987$) 형광도가 증가하였다.

추출물을 첨가하지 않았을 경우, 즉 0mg/ml 농도에서 10uM FeSO₄와 100 uM ascorbic acid에 의해 유도된 지질과산화는 TBARS 농도를 11.26uM로 증가시켰다. 1mg/ml 농도의 마황 추출물 첨가는 유도된 지질과산화의 TBARS 농도를 감소시키지 못하였으나 2mg/ml 농도의 추출물을 첨가하였을 때 TBARS 농도는 0.36uM로 감소되어, 무첨가에 비해 지질과산화를 97% 정도 현저히($p<0.05$) 억제하였다. 또한 3 및 10, 50mg/ml의 농도 증가에 따라 TBARS 농도가 0.14, 0.13 및 0.09 등으로 감소되었으나 2mg/ml에 비해 통계적으로 유의한 변화는 아니었다. 따라서 마황 추출물의 지질과산

화 억제효과는 1mg/ml과 2mg/ml 사이의 좁은 window에서 일어나고 있음을 알 수 있었다(Fig. 5).

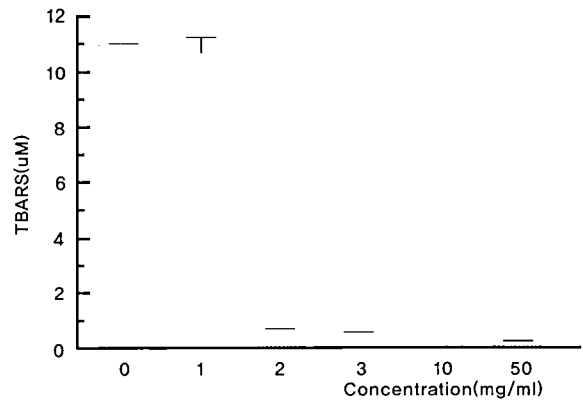


Fig. 5 The effect of *Ephedrae Herba* extract on lipid peroxidation in rat liver mitochondria. Rat liver mitochondria were incubated with FeSO₄/ascorbic acid in the absence or presence of various concentrations of *Ephedrae Herba* extract. Lipid peroxidation was determined by measuring the release of TBARS. Each bar represents the mean±SEM of duplicate determinations.

IV. 고찰

노화는 시간경과에 따른 연속적 현상으로, 일정한 외부환경에 대한 적응력의 점진적 소실로 인해 생명력이 감퇴되어 가는 자연적인 현상으로, 노화를 설명하기 위해 많은 가설들이 제안되어 왔다. 그 중에서 노화 관련 변화의 특징인 생리학 적 쇠퇴의 대부분이 유리 자유기에 의한 세포 내 손상에 기인한다는 유리 자유기 이론³⁷⁾이 가장 주목받고 있다. 최근 유리 자유기와 많은 질병의 발생이 서로 관련되는 것으로 알려지고 있으며, 특히 암, 동맥경화, 본태성 고혈압, 당뇨병, 파킨슨병, 알밀로이드증, 알츠하이머병, 치매 등의 근본적인 요인으로 활성산소가 지목되고 있다³⁸⁾.

유리 자유기란 분자 혹은 원자 최외각 전자궤도에 부대전자를 가진 불안정한 화합물을 말하는데, 생체 내 문제가 되는 것은 대사과정에서 부수적으로 생기는 산소원자나 분자에 부대전자가 있는 활성산소로서 O₂(초과산화이온), H₂O₂(과산화수소), OH·(수산화 자유기)이 있다. 이러한 유리 자유기는 단백질의 -SH기와 반응해서 효소의 활성을 잃게 하거나 가교결합의 촉진, DNA, RNA, 효소 및 세포막에 손상을 일으켜 세포 사멸을 유발한다고 알려져 있다³⁹⁾. 또한, 나이가

들어감에 따라 증가하는 유리 자유기에 의해 세포 구성성분의 손상이 초래되어 돌연변이, 효소활성 저하 및 세포막의 변화를 가져와 노화 및 돌연변이, 질병을 유발한다고 보고 되고 있다⁴⁰⁾.

노화속도를 조절하고 유리 자유기와 관련된 질병을 예방하기 위하여 주로 운동, 항산화제, 식이요법 등에 대한 연구가 이루어지고 있으며, 특히 유리 자유기에 기인해서 생성되는 지질과산화물 등의 생체 내 유리 자유기 반응을 저해하는 물질들을 천연생약으로부터 개발하려는 많은 연구들이 시도되고 있다.

국내에서 이에 대한 연구로는 녹차⁶⁾, 보이차⁷⁾의 항산화효과에 대한 연구가 있었고, 한약재는 石斛⁸⁾, 薄荷⁹⁾, 黄芩¹⁰⁾, 葛根¹¹⁾, 大黃¹²⁾, 山査¹³⁾, 仙茅⁴³⁾, 女貞子⁴⁴⁾, 旱蓮草⁴⁴⁾, 熟地黄⁴⁵⁾, 鹿茸⁴⁶⁾, 五味子⁴⁷⁾, 忍冬⁴⁸⁾, 人蔘⁴⁹⁾, 薄荷⁵⁰⁾, 蘇葉⁵⁰⁾, 艾葉⁵⁰⁾, 草果⁵⁰⁾, 枇杷葉⁵⁰⁾, 五倍子⁵⁰⁾ 과 같은 단일약재와 加味小健中湯¹⁴⁾, 五子衍宗¹⁵⁾, 清心蓮子湯¹⁶⁾, 補中益氣湯 및 六味地黄丸¹⁷⁾, 鹿茸大補湯⁵²⁾, 消栓通絡片⁵³⁾, 三精丸⁵⁴⁾, 四君子湯⁵⁵⁾, 清熱消毒飲⁵⁶⁾의 複合處方 및 藥鍼¹⁵⁾ 등의 항산화 효과에 대한 연구가 있었다.

본 연구에서는 임상에서 비만치료에 다용되고 있는 마황²³⁾의 항산화효과를 알아보았으며, 마황은 체중감량 및 운동수행능력 향상효과에 대한 다양한 임상보고가 있고^{24, 25, 26)} 그 외 류마티스성 관절염에 대한 억제작용⁵⁷⁾, 면역활성 증진 효과⁵⁸⁾, 사람의 비점막 섬유아세포 monocyte chemotactic protein 중 MCP-1, MCP-2, MCP-3 분비에 대한 효과⁵⁹⁾, 인슐린성 물질의 함유⁶⁰⁾ 등에 대한 보고가 이루어졌고, 또 마황을 포함한 복합 처방들의 소염 및 진통작용^{61, 62)}, I형IV형의 알리지 반응과 폐손상에 미치는 영향⁶³⁾, 심혈관계에 미치는 영향⁶⁴⁾ 등에 대한 보고가 있어왔다. 그러나 항산화 작용에 대한 근거는 많지 않으며, 독성 및 부작용에 대한 보고가 있으므로 적응증에 따른 안전한 사용량 및 유효용량에 대한 연구 등이 추가적으로 필요한 상황이다.

마황(麻黃)은 마황과에 속한 다년생 초본형태의 관목인 초마황 *Ephedra sinica* S_{TAFR} 또는 동속식물의 줄기를 건조한 것으로 약성이 辛微苦, 溫하며, 肺, 膀胱經에 작용하여 散寒解表, 宣肺平喘, 利水消腫의 효능이 있어 전통적으로 한의학에서는 상기도감염증, 폐렴, 기관지염, 비염이나 담마진 등의 알리지질환, 다발성 관절염 치료 등에 활용해 왔다⁴¹⁾. 주요성분으로 여러 종류의 알칼로이드와 소량의 정유가 함유되어 있는데 알칼로이드는 약 1%를 차지하며 그 중 주요 유효성분은 *l*-ephedrine으로 전체 알칼로이드의 약 80-85%를 차지한다. 정유 중에는 *l*- α -terpineol이 함유되어 있고 이 외에 tannin 등이 있다⁴¹⁾.

마황이 실험적으로 지방조직 세포의 크기와 혈중 지질 농도를 유의하게 감소시키고 열 생산에 관여하는 비만 유전자인 UCP2 mRNA발현을 증가시키며, 면역기능에 관여하는 B cell 및 T cell의 수를 증가시킴으로써 항비만과 항염증 작용을 한다는 보고가 있다⁴²⁾. 이러한 보고들은 전통적으로 마황이 한의학에서 상기도감염증, 폐렴, 기관지염, 비염이나 담마진 등의 알리지질환, 다발성 관절염 치료 등에 활용되어온 것을 입증하는 근거로 볼 수 있다.

그러나 마황의 항산화능을 규명하는 연구는 드물어서 본 연구를 토대로 마황 혹은 마황이 포함된 처방의 임상적인 활용을 넓힐 수 있는 가능성을 제시하고자 한다.

본 실험 결과를 다시 살펴보면, 0.1 및 1mg/ml 농도의 마황 추출물의 TAC는 0.41 및 1.81mM Trolox equivalent이며, 추출물 농도가 증가함에 따라 TAC도 비례적으로 증가하여 5 mg/ml 농도에서는 3.76mM Trolox equivalent를 나타내어 마황 추출물이 농도 의존적으로 H₂O₂에 의해 산화된 ABTS 유리 자유기 소거활성을 나타내고 있음을 알 수 있었다. 그러나 5mg/ml 농도 이상에서는 더 이상의 TAC 증가는 관찰되지 않았다(Fig. 1).

0.1 및 1mg/ml 농도의 마황 추출물의 TAR은 0.39 AC 0.66mM Trolox equivalent이며, 추출물 농도가 증가함에 따라 TAR도 비례적으로 증가하여 5 및 10mg/ml 농도에서는 각각 1.65 및 2.43mM Trolox equivalent를 나타내었다. 따라서 마황 추출물은 농도 의존적으로 dianisidyl 유리 자유기 소거활성을 나타내고 있음을 알 수 있었다(Fig. 2).

추출물 농도 0.1mg/ml의 DPPH 유리 자유기 소거활성은 21.0%이고, 1mg/ml 농도에서 유리 자유기 소거활성은 92.8%로 나타났으며, 더 이상의 농도 증가에 따른 유의한 유리 자유기 소거활성의 변화는 관찰되지 않았다. 추출물 농도와 유리 자유기 소거활성 간의 회귀분석 결과 50%의 유리 자유기 소거활성에 필요한 마황 추출물의 농도는 0.46mg/ml로 나타나 마황 추출물의 유리 자유기 소거활성이 탁월함을 알 수 있었다(Fig. 4).

1mg/ml 농도의 마황 추출물 첨가는 유도된 지질과산화의 TBARS 농도를 감소시키지 못하였으나 2mg/ml 농도의 추출물을 첨가하였을 때 TBARS 농도는 0.36uM로, 무첨가에 비해 지질과산화를 97% 정도 현저히(p<0.05) 억제하였으며, 3, 5 및 10mg/ml의 첨가에서 TBARS 농도는 0.14, 0.13 및 0.09 uM로 감소되었으나 통계적으로 2mg/ml에 비해 유의한 감소는 아니었다. 따라서 마황 추출물의 지질과산화 억제효과는 1mg/ml과 2mg/ml 사이의 좁은 영역에서 일어나고 있음을 알 수 있었다(Fig. 5).

총 페놀 함량은 0.1mg/ml 농도의 마황 추출물에서 0.20mM gallic acid equivalent이었으며, 추출물 농도가 증가함에 따라 총 페놀 함량도 비례적으로 증가하여 0.5, 1, 2.5 및 5mg/ml 농도에서는 각각 0.62, 0.99, 2.07 및 3.52 mM gallic acid equivalent를 나타내었다(Fig. 3).

이 같은 결과들을 종합해 볼 때 마황 추출물은 유리 자유기 소거작용과 지질과산화 억제 활성이 뚜렷했으며, 천연항산화제인 페놀함량도 유의성 있게 나타났다. 따라서 각종 산화 및 노화와 관련된 질환의 예방과 치료의 효능이 있을 것으로 판단된다.

그러나 TAC, DPPH 유리 자유기 소거활성능, 지질과산화 억제효과는 농도에 비례하는 것이 아니라 특정 농도에서 최대 효능을 나타내므로 임상활용에서도 마황의 항산화 작용은 약물투여량에 비례하는 것이 아니라 특정 농도에서 최대 효능을 발휘할 가능성이 있을 것으로 사료된다.

V. 결론

마황의 항산화능을 규명하기 위해 수행된 실험을 통해 다음과 같은 결과를 얻을 수 있었다.

1. TAC 측정결과 마황 추출물이 5mg/ml 이하의 농도에서 농도 의존적으로 ABTS 유리 자유기 소거활성을 나타냈다.
2. TAR 측정에서 마황 추출물은 농도 의존적으로 dianisidyl 유리 자유기 소거활성을 나타냈다.
3. 0.1mg/ml 농도의 마황 추출물의 총 페놀 함량은 0.20mM gallic acid equivalent이었으며, 추출물 농도가 증가함에 따라 총 페놀 함량도 비례적으로 증가하였다.
4. 50%의 DPPH 유리 자유기 소거활성에 필요한 마황 추출물의 농도는 0.46mg/ml이었으며, 1mg/ml 농도에서의 유리 자유기 소거활성은 92.8%이었다.
5. 1mg/ml의 마황 추출물은 유도된 지질과산화의 TBARS 농도를 감소시키지 못하였으나 2mg/ml의 농도에서는 무침가에 비해 지질과산화를 97% 정도 현저히 억제하여 마황 추출물의 지질과산화 억제효과는 1mg/ml과 2 mg/ml 사이의 좁은 영역에서 일어나는 것으로 보인다.

이 같은 결과들을 종합해 볼 때 마황 추출물은 유리 자유

기 소거작용과 지질과산화 억제 활성이 뚜렷했으며, 천연항산화제인 페놀함량도 농도 의존적으로 유의한 것으로 나타났다. 따라서 현재 한방의 임상에서 비만치료, 염증치료 등에 다용되고 있는 마황의 활용범위를 항산화영역으로 확장시켜 볼 가치가 있다고 판단된다.

참고문헌

1. Ames BN, Shigenaga MK, Hagen TM. Oxidants, antioxidants, and the degenerative disease of aging. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 1993;90:7915-7922.
2. Dean RT, Gieseg, Davies MJ. Reactive species and their accumulation on the radical damaged proteins. Trends Biochem. Sci, 1993;18:437-41.
3. McCord, J. M. and I. Fridovich. Superoxide dismutase. An enzymic function for erythrocyte hemocuprein. J. Biol. Chem. 1969;244:6049-6055.
4. Branen AL. Toxicology and biochemistry of butylated hydroxyanisole and butylated hydroxytoluene. J. Am. Oil. Chem. Soc. 1975;52:59-63.
5. Hahm TS, King DL, Min DB. Food antioxidants. Food and Biotechnology. 1993;2:1-8.
6. 석지혜, 김미경, 주재원, 한지숙, 박정현. 녹차 폴리페놀이 제2형 당뇨병환자의 혈당, 지질 및 항산화체계에 미치는 영향. 당뇨병. 2006;30(3):217-25.
7. 소은미, 정은주, 신장철, 김성현, 백순옥, 김영만, 김일광. 보이차(Pu-erh tea)의 항산화 효과. Analytical Science & Technology. 2006;19(1):39-44.
8. 김영균, 양기호, 조수인. 석곡의 항산화효과. 대한본초학회지. 2005;20(4):53-60.
9. 정광희, 이영중, 성낙술. 박하의 항산화효능에 대한 연구. 대한본초학회지. 2005;20(4):103-112.
10. 조수인, 오원우. 황금의 항산화효과. 대한본초학회지. 2005;20(3):67-74.
11. 김상현, 김연섭. 葛根의 뇌해마 신경세포 손상보호와 항산화 효능에 대한 연구. 동의생리병리학회지. 2005;19(2):416-425.
12. 명성화, 김연섭. 대황의 항산화와 신경세포손상 보호

- 효능에 대한 연구. 동의생리병리학회지. 2005;19(3): 647-665.
13. 김경호, 이송실, 백진웅, 이상재, 김광호. 산사가 노화 유발 흰쥐의 항산화능에 미치는 영향. 대한예방한의학회지. 2004;8(2):65-80.
 14. 박선영, 서정민, 백정환. 가미소견증탕이 D-galactose로 노화를 유발시킨 백서의 항산화능에 미치는 영향. 대한한방소아과학회지. 2005;19(1):153-171.
 15. 김기홍, 정국훈, 김광호, 고성규. 오자연종환이 노화 유발 흰쥐의 항산화능에 미치는 영향. 대한예방한의학회지. 2005;9(1):49-63.
 16. 한병삼, 배영춘, 송승연, 박혜선, 이재홍, 김경요. 청심연자탕의 항산화효과와 기전에 대한 연구. 사상체질의학회지. 2004;16(1):130-147.
 17. 박성민, 임명현, 이준희, 박재현. 보중익기탕과 육미지황탕이 노화촉진생쥐(SAM)의 간장내 항산화작용에 미치는 영향. 대한본초학회지. 2003;18(4):175-191.
 18. 임창수, 김갑성. 작약 약침액의 항산화 효능에 관한 연구. 대한침구과학회지. 1997;14(2):191-198.
 19. 전경택, 금동호, 이명중. 實脾飲이 Zucker rat의 비만 및 항산화에 미치는 영향. 한방재활의학과학회지. 2003;13(2):69-85.
 20. 김봉찬. 小青龍湯이 Zucker rat의 비만 및 항산화에 미치는 영향. 한방재활의학과학회지. 2002;12(4):1-10.
 21. Meyer AA, Kundt G, Lenschow U, SchuffWerner P, Kienast W. Improvement of early vascular changes and cardiovascular risk factors in obese children after a six-month exercise program. J Am Coll Cardiol. 2006 Nov 7;48(9):1865-1870.
 22. Newaz MA, Yusefipour Z, Oyekan A. Oxidative stress-associated vascular aging is xanthine oxidase-dependent but not NAD(P)H oxidase-dependent. J Cardiovasc Pharmacol. 2006 Sep;48(3):88-94.
 23. 황미자, 신현대, 송미연. 한국에서 비만치료에 쓰이는 한약에 대한 문헌 연구. 한방재활의학회지. 2006;16(3):65-81.
 24. Boozer CN, Daly PA, Homel P, Solomon JL, Blanchard D, Nasser JA, Strauss R, Meredith T. Herbal ephedra/caffeine for weight loss: a 6-month randomized safety and efficacy trial. Int J Obes Relat Metab Disord. 2002 May;26(5):593-604.
 25. Boozer CN, Nasser JA, Heymsfield SB, Wang V, Chen G, Solomon JL. An herbal supplement containing Ma Huang-Guarana for weight loss: a randomized, double-blind trial. Int J Obes Relat Metab Disord. 2001 Mar;25(3):316-324.
 26. Coffey CS, Steiner D, Baker BA, Allison DB. A randomized double-blind placebo-controlled clinical trial of a product containing ephedrine, caffeine, and other ingredients from herbal sources for treatment of overweight and obesity in the absence of lifestyle treatment. Int J Obes Relat Metab Disord. 2004 Nov;28(11):1411-1419.
 27. 박영기, 이위영, 안진권. 산림자원을 이용한 항산화 소재 개발 연구동향. Trend in Agriculture & Life Science, TALS 2006;4(1):1-13.
 28. Hovius, R., H. Lambrechts, K. Nocolay and B. de Kruijff. Improved methods to isolate and subfractionate rat liver mitochondria. Lipid composition of the inner and outer membrane. Biochim. Biophys. Acta. 1990;1021:217-226
 29. Re, R., N. Pellegrini, A. Proteggente, A. Pannala, M. Yang and C. Rice-Evans. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. Free Radic. Biol. Med. 1999;26:1231-7.
 30. Erel, O. A novel automated direct measurement method for total antioxidant capacity using a new generation, more stable ABTS radical cation. Clin. Biochem. 2004;37:277-285.
 31. Benzie, I.F. and J.J. Strain. Ferric reducing/antioxidant power assay: direct measure of total antioxidant capacity of biological fluids and modified version for simultaneous measurement of total antioxidant power and ascorbic acid concentration. Methods Enzymol. 1999;299:15-27.
 32. Erel, O. A novel automated method to measure total antioxidant response against potent free radical reactions. Clin. Biochem. 2004;37:112-119.
 33. Singleton, V.L. and R. Orthofer. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. 1999.
 34. Malterud, K.E., T.L. Farbro, A.E. Huse and R.B.

- Sund, Antioxidant and radical scavenging effects of anthraquinones and anthrones. *Pharmacology* 1993;47:77-85.
35. Stacey, N.H. and C.D. Klaassen. Inhibition of lipid peroxidation without prevention of cellular injury in isolated rat hepatocytes. *Toxicol. Appl. Pharm.* 1981;58:8-18.
36. Lowry, O.H., N.J. Rosebrough, A.L. Farr and R.J. Randall. Protein measurements with the Folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.* 1951;193:265-275.
37. Beckman, K. B., and Ames, B. N. The Free Radical Theory of Aging Matures. *Physiol. Rev.* 1998;78:547-581.
38. 신부안 외. 노인의학 I. 광주:전남대학교 대학원 의과과. 1981;18-23.
39. Harman, D.: Aging: A theory based on free radical chemistry. *J. Gerontology*, 1956;11:298-298.
40. Barry, H., Okezie, I. A. and Ellis, H.: DNA and Free Radical. Ellis Horwood, West Sussex, England, 1993;1.
41. 김호철. 한약약리학. 집문당. 2001;63-66.
42. 임경아, 조여원. 마황(麻黃)추출물이 흰쥐에서 체지방 조직의 UCP2 발현과 면역세포에 미치는 영향. *한국영양학회지;학술대회지.* 2002;88-88.
43. 정수영. 선모의 청각세포에서 항산화 효과와 *Streptococcus mutans*에 대한 치아우식 활성능 억제 연구. 원광대학교 대학원, 석사학위논문. 2005.
44. 강승호. 女貞子, 旱蓮草 및 二至丸의 항산화활성 및 혈압에 미치는 영향에 관한 연구. 동국대학교 대학원, 석사학위논문. 2004.
45. 유태원. 숙지황의 GC-1 spg Cell에 대한 항산화 효과. 경희대학교 대학원, 석사학위논문. 2006.
46. 박정열. 녹용의 GC-1 spg Cell에 대한 항산화 효과. 경희대학교 대학원, 석사학위논문. 2006.
47. 김현구, 나경민, 예수향, 한호석. 오미자 추출물의 추출특성 및 항산화 효과. *한국식생활문화학회지.* 2004;19(5):484-490.
48. 최춘환. 인동의 항산화 활성성분. 부경대학교 대학원, 석사학위논문. 2006.
49. 이승은, 성낙술, 방진기, 강승원, 이성우, 정태영. 인삼 추출물의 Angiot-ensin Converting Enzyme 저해 효과와 항산화 활성. *한국약용작물학회지.* 2003;11(3):236-245.
50. 정성제, 이진희, 송효남, 성낙술, 이승은, 백남인. 약용 식물 추출물의 항산화 활성 검색. *한국농화학회지.* 2004;47(1):135-140.
51. 차배천, 임태진, 이광희, 이승배. 오배자 성분이 항산화 및 간보호 효과. *한국약용작물학회지.* 2000;8(2):157-164.
52. 이경애, 정혜영. 전통 한약탕제인 녹용대보탕의 생리 활성 효과. *한국식품영양과학회지.* 2004;33(1):28-33.
53. 조정숙. 소전통락편(消栓通絡片)의 항산화 및 신경세포 보호작용. *동국의학.* 2004;11(1):277-286.
54. 김진원. 三精丸의 항산화 효과. 동국대학교, 석사학위논문. 2006.
55. 조수인. 四君子湯의 抗酸化 効果. 동의대학교, 석사학위논문. 2000.
56. 안봉전, 이진태, 이창언, 손준호, 이진영, 박태순, 이인철, 송미애, 천순주, 지선영. 청열소독음(靑熱消毒飲)과 구성약재의 암세포 독성, 항균 및 항산화 효과. *대한분초학회지.* 2005;20(4):41-51.
57. Sung Yong Kim, Kun Ho Son, Hyun Wook Chang, Sam Sik Kang, Hyun Pyo Kim. Antiarthritic Activity of Twenty Seven Plant Extracts. *한국응용약물학회;학술대회지.* 1997;99-99.
58. 김대호, 박진홍, 김정화, 김철희, 유진현, 권민철, 이현용. 저온 추출 공정에 의한 마황과 복분자의 면역 활성 증진 효과. *한국약용작물학회지.* 2005;13(3):81-86.
59. 김현미, 이향숙, 김정선, 조정제, 유영천, 안현중, 최훈, 임강현. 麻黃의 사람 비점막 섬유아세포 monocyte chemotactic protein 중 MCP-2 및 MCP-3 분비에 대한 효과. *대한분초학회지.* 2002;17(1):29-38.
60. 주영승, 고병섭. 동의보감 당뇨 처방에 사용되는 한약재에서 인슐린성 물질(Insulin-Like substance)의 탐색. *한국농화학회지.* 2002;45(1):47-52.
61. 김혜경, 최종원, 이정규, 김순신. 계작지모탕의 항염진통효과. *생약학회지.* 1995;26(1):96-97.
62. 이성임, 정명현, 문영희. 오약순기산의 소염 진통작용에 관한 연구. *생약학회지.* 1994;25(1):100-100.
63. 이종년. 麻黃定喘湯이 I型 IV型的 알러지 反應과 肺損傷에 미치는 影響. 대전대학교, 석사학위논문. 1997.
64. 장재호. 麻黃附子細辛湯이 실험동물의 심혈관계에 미치는 영향. 원광대학교, 석사학위논문. 1994.