

생약재 추출물의 hyaluronidase 저해 및 라디칼 소거활성 검색

이윤미, 최수임, 곽진오, 백인걸, 허태련
인하대학교 생물공학과
전화 (032) 860-7511. FAX (032) 872-4046

Abstract

For the screening of anti-inflammation and antioxidative activities, ethanolic extract of 40 species of traditional herbal medicines were examined *in vitro* their hyaluronidase inhibitory effect and radical scavenging activity. *Astragali Radix*, *Eucommia Cortex*, *Schizandrae Fructus*, *Scutellaria Radix* and *Moutan Radicis Cortex* showed more than 50% hyaluronidase inhibitory effects. *Moutan Radicis Cortex*, *Paeoniae Radix Alba*, *Plantaginis Semen* and *Sorbus commixta Hedl.* showed more than 90% in electron donating activity. The scavenging effects of ethanolic extracts on hydroxyl radical showed significantly activity.

서론

Hyaluronidase는 mucopolysaccharide-splitting enzyme의 하나로서 혈관계 투과성에 관여하며, 염증반응 시 유리되는 chemical mediator의 방출에도 관여하는 등 염증발현과 관련이 있는 효소로 알려져 있다¹⁾. 활성산소종(reactive oxygen species, ROS)은 화학반응, 대사 과정, 과도한 스트레스 등 체내의 다양한 생화학적 자극에 의하여 생성되며, 지질의 불포화 지방산 사슬이나 단백질의 아미노아실 사슬 혹은 뉴클레오티드와 핵산내의 염기 및 당 잔기와 반응할 수 있는 라디칼종의 생성을 야기한다. 특히, 이들 ROS는 염증발현 및 여러 가지 퇴행성 질환의 발생에 깊이 관여한다는 사실이 보고되고 있다²⁾. 본 연구에서는 천연 식물 자원으로부터 항염증, 항산화 및 항관절염에 활성을 갖는 유용한 물질을 검색하기 위해서 40여 가지의 국내산 약용 생약재를 선정하였고 이들에 대하여 hyaluronidase 활성 저해 효과와 DPPH와 hydroxyl 라디칼에 대한 소거활성을 측정하였다.

재료 및 방법

시료 추출물의 조제 및 용매분획

각각의 시료 50 g에 95% 에탄올(시약용 1급)을 가하여 침지하고, 24시간 방치한 후 여과하는 과정을 3회 반복 실행해 얻은 여액을 농축한 후 증류수에 현탁시켜

n-hexane, chloroform, ethyl acetate, water 순으로 분획을 실시하여 농축 후 시료로 사용하였다.

Hyaluronidase 저해활성

Hyaluronidase 억제효과는 sodium hyaluronic acid로부터 형성된 N-acetylglucosamine을 glucosazoline 유도체로 변형시킨 후 *p*-dimethylaminobenzaldehyde로 발색시켜 흡광도를 측정하여 효소활성을 정량화하였다³⁾.

라디칼에 대한 소거능

DPPH 자유라디칼에 대한 전자공여능 측정은 0.1mM DPPH(in ethanol) 1 mL에 시료 100 μ L를 넣어 실온에서 30분간 반응시킨 후, 잔존하는 DPPH 라디칼을 517 nm에서의 흡광도를 UV Spectrophotometer로 측정하여 계산하였다⁴⁾. Hydroxyl 라디칼 소거능⁵⁾은 deoxyribose 산화법을 약간 변형하여 실시하였다. Fenton 반응에 의해 생성된 hydroxyl 라디칼은 2-deoxy-D-ribose를 산화시켜 malondialdehyde로 분해된다.

결과 및 고찰

40 여종의 생약재 ethanol 추출물의 hyaluronidase에 대한 저해활성을 측정한 결과, 1 mg/mL의 농도에서 황기, 두충, 오미자, 황금, 오가피, 목과, 목단피, 산사가 50% 이상의 저해활성을 나타내었고, 이들에 대하여 hexane, chloroform, ethyl acetate, water로 순차적으로 용매분획하여 측정한 결과(Table 1), 모든 시료의 ethyl acetate와 water 분획에서 높은 활성을 보였다. DPPH 라디칼에 대한 전자공여능은 두충, 목단피, 백작약, 차전자, 마가목 에탄올 추출물이 1 mg/mL 농도에서 90% 이상으로 대조군으로 이용한 BHA와 α -tocopherol과 유사한 활성을 나타내었으며, 2-deoxyribose 산화법에 따른 hydroxyl 라디칼 소거활성에서 대부분의 에탄올 추출물 시료에서 모두 높은 활성을 나타내었다. 이들에 대한 용매분획물의 활성을 측정한 결과(Table 2), DPPH 라디칼에 대해서는 ethyl acetate 분획물(1 mg/mL)이 높은 활성을 보였으며, hydroxyl 라디칼에 대하여 두충, 목단피, 백작약, 복분자의 용매분획에 따른 활성은 각각의 용매분획층에서 유사한 활성도를 보였으나, 물층에서의 활성은 비교적 낮았다.

요 약

본 연구에서는 항염증 및 항산화 활성을 갖는 유용한 물질을 검색하기 위해 40여 가지 생약재를 에탄올을 이용하여 추출한 후 hyaluronidase 억제 및 라디칼 소거 활성을 측정하였다. hyaluronidase 활성을 저해시키는 물질로서 황기, 목단피, 오미자 등이 높은 효과를 보였고, 목단피, 백작약, 복분자 등은 유리 라디칼종에 대해 높은 소거 활성을 나타내어 조직 손상 및 염증 질환에 매우 유용한 소재로서 이용될 수 있으리라 사료된다.

참고문헌

1. Lee, N.-H., Lee, S.-J., Jung, D.-S., Bu, H.-J., Yang, H.-C. and K.-Z. Riu, "Screening of the Tyrosinase Inhibition and Hyaluronidase inhibition activities, and radical scavenging effects using plants in Cheju"(2001), *Korean J. Pharmacogn.* 32, 175-180.
2. Fisher-Nielsen, A., Jeding, I. B. and Loft, S. "Radiation induced formationn of 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine and its prevention by scavengers"(1994), *Carcinogenesis* 15, 1609-1612.
3. Kim, Y.-S., Noh, Y.-K., LEE, G.-I. and Y.-K. Kim, "Inhibitory effects of Herbal Medicines on hyaluronidase activity"(1995), *Korean. J. Pharmacogn.* 26, 265-272.
4. Blois, M. S. "Antioxidative determination by the use of a stable free radical"(1958), *Nature* 181, 1199-1200.
5. Chung, S.-K., Osawa. T. and Kawakishi, S. "Hydroxyl radical scavenging effects of spices from Brown mustard(*Brassica nigra*)"(1997), *Biosci. Biotech. Biochem.* 61, 118

Table 1. Hyaluronidase inhibitory activities of ethanolic extracts and its solvent fraction from herbal medicines

Sample	Inhibition (%)			
	<i>n</i> -Hexane	Chloroform	Ethyl acetate	Water
<i>Acanthopanax Cortex</i>	3.0 ± 3.03	16.8 ± 0.03	54.8 ± 1.23	69.6 ± 2.44
<i>Astragali Radix</i>	-	20.5 ± 0.90	64.9 ± 0.68	65.3 ± 1.38
<i>Chaenomelis Fructus</i>	-	-	48.9 ± 2.07	58.2 ± 4.36
<i>Moutan Radicis Cortex</i>	8.6 ± 2.01	-	64.6 ± 1.39	67.3 ± 1.23
<i>Schizandrae Fructus</i>	10 ± 0.28	2.6 ± 0.07	59.0 ± 2.79	67.1 ± 2.11
<i>Scutellaria Radix</i>	9.2 ± 0.92	20.0 ± 1.12	43.8 ± 0.72	55.2 ± 0.78

Concentration of each extract was 10 mg/L.

Table 2. Radical scavenging activities of ethanolic extracts and its solvent fraction from herbal medicines on DPPH radical and hydroxyl radical

Sample	Solvent	DPPH radical scavenging activity		(OH·) scavenging activity	
		O.D at 517nm	Inhibition(%)	O.D at 520nm	Inhibition(%)
<i>Eucommia Cortex</i>	<i>n</i> -Hexane	0.519 ± 0.008	50.1 ± 0.82	0.248 ± 0.005	85.5 ± 0.33
	Chloroform	0.751 ± 0.003	27.8 ± 0.25	0.214 ± 0.004	87.6 ± 0.27
	Ethyl acetate	0.046 ± 0.004	95.6 ± 0.36	0.545 ± 0.003	67.3 ± 0.21
	Water	0.620 ± 0.032	40.4 ± 0.24	1.118 ± 0.001	35.0 ± 0.56
<i>Moutan Radicis Cortex</i>	<i>n</i> -Hexane	0.329 ± 0.011	68.3 ± 0.98	0.222 ± 0.003	87.1 ± 0.18
	Chloroform	0.771 ± 0.002	25.9 ± 0.17	0.220 ± 0.003	87.2 ± 0.17
	Ethyl acetate	0.050 ± 0.020	95.2 ± 0.21	0.316 ± 0.001	81.4 ± 0.07
	Water	0.325 ± 0.003	68.75 ± 0.83	1.084 ± 0.029	25.5 ± 0.43
<i>Paeoniae Radix Alba</i>	<i>n</i> -Hexane	0.519 ± 0.008	50.1 ± 0.82	0.219 ± 0.006	87.3 ± 0.37
	Chloroform	0.751 ± 0.003	27.8 ± 0.25	0.209 ± 0.001	87.8 ± 0.07
	Ethyl acetate	0.046 ± 0.004	95.6 ± 0.36	0.236 ± 0.003	86.2 ± 0.19
	Water	0.281 ± 0.024	72.98 ± 0.30	1.118 ± 0.001	23.2 ± 0.069
<i>Rubus coreanus Miq.</i>	<i>n</i> -Hexane	0.974 ± 0.001	6.3 ± 0.06	0.471 ± 0.002	71.9 ± 0.127
	Chloroform	0.088 ± 0.001	91.5 ± 0.10	0.248 ± 0.002	85.5 ± 0.153
	Ethyl acetate	0.085 ± 0.001	91.8 ± 0.10	0.241 ± 0.004	85.9 ± 0.288
	Water	0.720 ± 0.037	30.8 ± 0.20	0.959 ± 0.005	34.2 ± 0.360

Concentration of each extract was 1 mg/mL.