

Protective Effect against Oxidative Stress in Medicinal Plant Extracts

Jeong-Hee Kim*, Eun-Ju Lee, Dong-O Shin¹, Sung-Eun Hong¹, and
Jin-Kyu Kim²,

Department of Oral Biochemistry, College of Dentistry, Institute of East-West Medical Research Institute,
KyungHee University, Seoul, 130-701, Korea, and ¹Korea Atomic Ennergy Research Institute, Daejeon,
305-353, Korea

약용식물 추출물의 산화적 스트레스에 대한 방어효과

김정희* · 이은주 · 신동오¹ · 홍성언¹ · 김진규²

경희대학교 치과대학 생화학교실, 동서의학연구소, ¹경희의료원 치료방사선과, ²한국원자력연구소
(2000년 1월 10일 접수, 2000년 5년 18일 채택)

Abstract - Protective effect of medicinal plant extracts against oxidative stress were screened in this study. Methanol extracts from 48 medicinal plants, which were reported to have antioxidative or anti-inflammatory effect were prepared and screened for their protective activity against chemically-induced and radiation-induced oxidative stress by using MTT assay. Thirty three samples showed protective activity against chemically-induced oxidative stress in various extent. Among those samples, extract of *Glycyrrhiza uralensis* revealed the strongest activity (25.9% at 100 $\mu\text{g/ml}$) with relatively lower cytotoxicity. Seven other samples showed higher than 20% protection at 100 $\mu\text{g/ml}$. These samples were tested for protection activity against radiation-induced oxidative stress. Methanol extract of *Alpina officinarum* showed the highest activity (17.8% at 20 $\mu\text{g/ml}$). Five fractions were prepared from the each 10 methanol extracts which showed high protective activity against oxidative stress. Among those fraction samples butanol fractions of *Areca catechu var. dulcissima* and *Spirodela polyrrhiza* showed the highest protective activities (78.8% and 77.2%, respectively, at 20 $\mu\text{g/ml}$).

요약 - 본 연구에서는 약용식물 추출물을 대상으로 하여 산화적 스트레스에 대한 방어효과를 검색하였다. 항산화 또는 항염증 효과가 보고된 총 48 종의 약용식물에서 메탄올 추출물 시료를 제조하고 1차적으로 이들의 과산화수소에 의해 유도된 산화적 스트레스에 대한 방어활성을 검색하였다. 이들 중 33 시료에서 다양한 정도의 활성이 검색되었으며, 그 중 감초의 메탄올 추출물 시료가 100 $\mu\text{g/ml}$ 의 농도에서 25.9%의 가장 높은 활성을 보였다. 그 외 100 $\mu\text{g/ml}$ 의 농도에서 20% 이상의 방어 활성이 나타난 시료는 감인, 단삼, 두충, 목단피, 부평초, 연자육 등이었다. 우수한 활성이 검색된 시료에 대하여 감마선에 의해 유도된 산화적 스트레스에 대한 방어활성을 검색한 결과 양강의 메탄올 추출물에서 17.8% (at 20 $\mu\text{g/ml}$)의 가장 높은 활성이 검색되었다. 방어 활성이 우수한 10개의 시료에 대하여 각각 5 개의 분획시료를 제조하여 방어활성을 검색하였다. 이 들 분획시료 중 빈랑자 및 부평초의 butanol 분획이 각각 78.8% 및 77.2%로 가장 우수한 방어 활성이 검색되었다.

서 론

최근 들어 질병의 진단 및 치료 시의 방사선 표지물질 사용 및 외부 방사선 조사의 증가 등 의료계에서의 원자력의 사용이 증가하고 있으며, 원자력

발전 및 비파괴 검사 등 산업적인 원자력의 이용 또한 증가하고 있는 추세이다. 이러한 원자력의 평화적 사용이 증가함에 따라 인체가 방사선에 노출될 가능성이 점차 늘어나고 있다. 또한 대기 오염이 심각해지고 오존층이 파괴됨에 따라 세포

손상 효과가 강한 자외선 등이 지표에까지 도달하게 되고 따라서 이러한 비전리 방사선에 인체가 노출될 가능성 또한 높아지고 있다. 따라서 이러한 방사선과 인체 또는 세포 수준에서의 상호작용에 대한 연구 및 방사선의 유해한 작용을 방어할 수 있는 방어제의 개발이 시급한 실정이다.

방사선에 의한 세포 손상의 과정은 방사선이 목표물을 직접 이온화시키는 직접작용과 방사선이 세포내의 원자 또는 분자와의 상호작용을 통해 free radical을 생성하고 생성된 free radical이 목표물을 손상시키는 간접작용으로 나누어진다 (1). 인체가 가장 빈번히 접촉하는 종류의 방사선에 의한 손상은 대부분이 간접작용에 의한다. 세포의 70%가 수분으로 구성되어 있으므로, 세포에 방사선을 조사하였을 때 방사선과 물 분자 (H_2O)가 반응하여 이온 라디칼을 생성하고 ($H_2O \rightarrow H_2O^+ + e^-$), 생성된 이온 라디칼이 또 다른 물분자와 반응하여 반응성이 높은 hydroxy radical ($OH \cdot$)을 생성하게 된다 ($H_2O^+ + H_2O \rightarrow H_3O^+ + OH \cdot$). Hydroxy radical은 반응성이 아주 높으며, 확산에 의해 주변의 DNA 등의 중요한 거대분자에 산화적 손상을 입혀 DNA strand break를 초래하게 된다 (2). 이러한 DNA 등의 손상 결과로 방사선에 노출된 세포는 apoptosis라는 과정을 거쳐 사멸하게 된다 (3). 방사선이 세포 내에서 chromosome aberration과 같은 거대분자를 손상시키는 작용에 대해서는 어느 정도 밝혀져 있으나 (4-7), 방사선에 의해 손상을 입은 세포의 apoptosis 유도 및 신호전달에 대한 생화학적 및 분자생물학적 메카니즘에 대한 이해는 아직 미흡한 실정이다.

지금까지 개발된 방사선 방어제의 후보물질은 대개 thiol계 화합물이며 그 중 합성 aminothiol인 WR-2721 [S-2-(3-aminopropylamino) ethylphosphorothioic acid] 및 그 유도체인 WR-1065 (WR-2721의 dephosphorylated form)만이 방사선에 의한 손상의 감소 효과가 우수하다고 알려져 있다 (8-11). Thiol계 화합물의 방사선 방어 효과는 라디칼 제거, 산소 농도의 저하 및 유해한 산화물의 제거, 단백질의 환원상태의 유지 및 DNA 손상의 회복 촉진 등으로 생각되어지고 있다 (12-15). 하지만 대부분의 방사선 방어제 후보물질은 심각한 부작용으로 인하여 사용상의 제한을 받고 있다.

따라서 부작용이 적으며, 우수한 활성을 가지는 방사선 방어제 후보물질의 개발이 필요하다. 최근 여러 난치성 질환의 치료제 개발에 있어서 천연물

에서부터 약효를 검색하여 신약으로 개발하려는 노력이 활발하게 진행되고 있으며 (16), 이에 부응하여 약용식물에서 방사선 방어 후보물질을 개발하려는 노력이 최근 시도되고 있다. 하지만 인삼 추출물 및 그 분획 (17-23) 및 천연물 복합제제 (24)에서 방사선 방어효과가 있다고 보고되었을 뿐으로, 보다 체계적이고 광범위한 천연물에서의 방사선 방어효과 검색이 요구되고 있다. 본 연구에서는 여러 천연 약용식물의 추출물에서 방사선 방어제 개발을 위한 활성을 검색하여 부작용이 적고 방사선 방어활성이 우수한 후보물질을 도출하고자 하였다. 1차적으로 방사선이 세포손상의 주원인이 되는 활성산소물질을 생성하는 과산화수소수를 이용한 활성산소종에 대한 각종 천연물 추출물의 방어효과를 검색하고, 그 활성이 좋은 시료들에 대하여 감마선에 대한 방어효과를 검색하여 그 결과를 보고하고자 한다.

실험재료 및 방법

약용식물 매탄을 추출물 및 분획의 제조

본 연구에 사용된 시료는 경동시장에서 구입한 약용식물을 대상으로 하였다. 시료의 제조는 다음과 같이 실시하였다. 먼저 구입한 약용식물을 작게 분쇄한 후 등근 플라스크에 약 100g을 넣고 70% 메탄올로 80°C로 가열하여 환류하면서 3시간 이상 추출하였다. 이를 상온으로 온도를 낮추고 거름종이를 이용하여 추출액을 거르고 남은 시료를 다시 위와 같은 방법으로 1회 반복하여 추출하고 거름액을 합쳐서 감압 농축하였다. 이를 증류수에 녹여 freezing dryer (Labconco, FreeZone 6, USA)를 이용하여 동결 건조하여 분말로 만든 후 이를 DMSO (dimethyl sulfoxide, Sigma, USA)에 1,000 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$ 가 되게 녹여 -70°C에 보관하였고, 이를 사용할 때는 세포 배양배지 또는 PBS에 여러 가지 농도로 희석하여 사용하였다.

세포배양

본 연구에 사용한 세포주는 V79-4 (Chinese hamster lung fibroblast, ATCC CCL-93)으로 배양액으로는 Dulbecco's modified Eagle's medium 배지 (GibCo, BRL, USA)에 5% FBS (BioWhittaker, USA), streptomycin/penicillin (GibCo, BRL, USA)과 2 mM L-glutamine을 넣고 37°C에서 5% $CO_2/95\%$ air의 조건하에서 배양하였다. 배양하는 동안 배양액은 이틀에 한번씩 같

아주었고, 세포가 배양 접시에 가득 차기 전에 교체하여 주었다.

산화적 스트레스의 처리

1차적인 활성 검색은 과산화수소수에 의한 산화적 스트레스를 스트레스원으로 이용하였다. 여러 농도의 과산화수소수를 세포에 가하고 약 50%의 세포사멸을 유도하는 농도, 100 μ M을 결정하였다. 감마선의 조사는 원격치료장치 (Picker, USA) 60-Co-ray 를 이용하였으며 총 10 Gy를 조사하였다. Dose rate는 0.9 Gy/min였다.

세포독성 측정 실험

세포 독성 측정 실험은 MTT 분석법을 이용하였다. 과산화수소수를 이용한 산화적 스트레스에 대한 각 약용식물의 1차적인 보호효과는 다음과 같이 실시하였다. 세포를 96 well plate에 심은 후 6 시간 동안 배양하고 약용식물 시료를 가한 후 16 시간 동안 배양하였다. 과산화수소수를 100 μ M되게 가하고 24시간 동안 배양한 후 0.1 vol.의 MTT (3-[4,5-dimethylthiazol-2-yl]-2,5-diphenyl tetrazolium bromide, Sigma, USA)를 가하고 4시간 동안 배양하였다. 감마선을 조사한 경우에는 감마선 조사 후 44 시간 동안 배양한 후 MTT를 가하였다. 각 well의 배양액을 제거하고 형성된 formazan 염을 0.04 N HCl이 함유된 isopropanol 100 μ l를 넣고 가볍게 진탕하여 완전히 용해시킨 후, ELISA reader (Bio-rad, USA)로 570 nm의 파장 (reference: 655 nm)에서 흡광도를 측정하였다.

결과 분석

결과의 분석은 다음과 같이 하였다. 먼저 시료를 처리하지 않은 대조군의 흡광도를 세포의 100% 생존율로 하고 과산화수소수 또는 감마선을 처리한 세포에서 얻은 흡광도를 0% 생존율로 하였다. 세포배양배지에 여러 농도의 메탄올 추출물시료 및 분획 시료를 가한 후 상기의 세포배양조건에서 24시간 또는 44 시간 배양 후의 세포의 생존정도를 세포독성측정실험에 기술한 방법으로 측정하였다. 이때 얻어지는 흡광도를 구하여 시료를 처리 시의 세포의 생존 정도를 백분율로 구하였다.

결 과

총 48종의 약용식물의 메탄올 추출물에서 1차

적인 방사선 방어효과를 검색하기 위하여, 과산화수소수에 의해 유도된 산화적 스트레스에 대한 약용식물 추출물의 방어효과를 측정하였다. 검색에 사용된 세포주는 활성산소종에 의한 스트레스에 민감하여 다양한 방사선 생물학 연구에 이용되는 Chinese hamster lung fibroblast 세포주를 이용하였다. 약용식물 시료 중 33시료는 그 정도에는 차이가 있으나 활성을 나타내었고, 나머지 15 시료는 방어활성이 관찰되지 않았다 (Table 1). 연구에 사용된 시료 중 100 μ g/ml의 농도에서 산화적 스트레스에 의한 세포손상에 대한 방어효과를 나타내었다. 이 들 시료 중 100 μ g/ml 농도에서 가장 우수한 효과를 나타낸 시료는 감초로 25.9%의 방어활성을 나타내었다. 또한 부평초, 연자육, 목단피 등이 각각 24.9%, 24.2% 및 22.3%의 방어활성을 나타내었으며 그 외 20% 이상의 방어활성을 나타낸 시료는 감인, 두충 및 단삼이었다. 이들 시료는 사용된 농도 범위 (100 - 4 μ g/ml)에서 일반적인 용량 반응 곡선을 나타내었다. 일부 시료에서 20 μ g/ml 농도에서는 방어활성이 관찰되었으나, 오히려 높은 농도인 100 μ g/ml에서는 방어 활성이 나타나지 않았다. 이는 높은 농도에서 이러한 시료의 세포독성에 의한 것으로 사료된다. 20 μ g/ml의 농도에서 우수한 방어활성을 나타낸 시료는 양강, 육계 및 빈랑자로 각각 23.7, 23.6 및 23.5%의 방어활성을 나타내었다.

약용식물의 메탄올 추출물 시료를 이용한 1차 검색 결과에서 우수한 산화적 스트레스에 의한 세포손상에 대하여 방어활성을 나타내는 시료에 대하여 감마선에 의해 유도된 스트레스에 대한 방어활성을 검색하였다 (Table 2). 약용식물 추출물의 감마선에 대한 방어활성은 전반적으로 과산화수소수에 의해 유도된 산화적 스트레스에 대한 방어활성 보다 낮게 나타났다. 사용된 시료 중 가장 높은 활성을 나타낸 시료는 양강으로 20 μ g/ml의 농도에서 17.8%의 방어활성을 나타내었다. 그 외 약용식물 시료 중 10% 이상의 방어활성을 나타낸 시료는 빈랑자, 산수유, 감초 등으로 각각 11.0%, 10.2% 및 10.0%의 활성을 나타내었다.

약용식물의 추출물 시료 중 우수한 산화적 스트레스에 대한 방어효과를 나타낸 일부 시료에 대하여 n-hexane, dichloromethane, ethylacetate, butanol 및 수층 분획시료를 제조하고 이들 분획에 대하여 과산화수소수에 의해 유도된 산화적 스트레스에 대한 방어활성을 검색하였다. 분획을 제조한 시료는 감인 (*Euryale ferox*), 감초 (*Glycyrrhiza uralensis*), 두충 (*Eucommia ulmoides*),

Table 1. Relative protective effects of methanol extracts of medicinal plants on H₂O₂-induced oxidative stress in V79-4 cells.

학 명 (식물명)	과 명	사용부위	방어율 (%)		
			100 μ g/ml	20 μ g/ml	4 μ g/ml
<i>Lycium chinense</i> (구기자)	Solanaceae	Semen	17.8	12.3	7.8
<i>Euryale ferox</i> (감인)	Nymphaeaceae	Semen	21.6	10.5	<5
<i>Glycyrrhiza uralensis</i> (감초)	Leguminosae	Radix	25.9	10.4	9.5
<i>Angelica koreana</i> (강활)	Umbelliferae	Rhizoma	8.0	6.0	<5
<i>Lonicera japonica</i> (금은화)	Caprifoliaceae	Flos	15.6	<5	<5
<i>Trichosanthes kirilowii</i> (괭리인)	Maximowicz	Semen	-	-	-
<i>Broussonetia kazinoki</i> (닥나무)	Moraceae	Cortex	6.0	<5	<5
<i>Solvia miltiorrhiza</i> (단삼)	Labiatae	Raix	20.6	11.8	8.3
<i>Rheum undulatum</i> (대황)	Polygonaceae	Rhizoma	-	13.1	5.3
<i>Eucommia ulmoides</i> (두충)	Eucommiaceae	Cortex	20.0	5.4	<5
<i>Hordeum vulgare</i> (맥아)	Gramineae	Germinate	12.8	7.2	5.1
<i>Paeonia suffruticosa</i> (목단피)	Paeoniaceae	Cortex	22.3	10.6	-
<i>Pachyma hoelen</i> (백복령)	Polyporaceae	Hoelen	-	-	-
<i>Tribulus terrestris</i> (백질려)	Zygophyllaceae	Fructus	-	-	-
<i>Psoralea corylifolia</i> (보골지)	Leguminosae	Semen	-	-	-
<i>Curcuma zedoaria</i> (봉출)	Zingiberaceae	Rhizoma	-	-	-
<i>Aconitum camichaeli</i> (부자)	Debeaux	Radix	-	-	-
<i>Spirodela polyrhiza</i> (부평초)	Lemnaceae	Herba	24.9	7.5	<5
<i>Eriobotrya japonica</i> (비파엽)	Malaceae	Folium	-	13.0	8.6
<i>Areca catechu</i> var. <i>dulcissima</i> (빈랑자)	Palmae	Semen	-	23.5	5.4
<i>Torilis japonica</i> (사상자)	Umbelliferae	Fructus	<5	5.3	7.2
<i>Cornus officinalis</i> (산수유)	Cornaceae	Fructus	19.4	10.5	8.0
<i>Dioscorea batatas</i> (산약)	Dioscoreaceae	Radix	16.0	14.4	11.6
<i>Phytolacca esculenta</i> (상륙)	Houttuyn	Radix	14.3	10.0	7.8
<i>Cacsalpina sappan</i> (소목)	Linne	Body	-	-	-
<i>Perilla frutescens</i> var. <i>acuta</i> (소엽)	Kudo	Herba	-	-	-
<i>Rehmannia glutinosa</i> (숙지황)	Scrophulariaceae	Radix	8.7	5.3	5.1
<i>Cimicifuga heracleifolia</i> (승마)	Ranunculaceae	Rhizoma	-	-	-
<i>Alpinia officinarum</i> (양강)	Zingiberaceae	Rhizoma	-	23.7	<5
<i>Artemisia argyi</i> (애엽)	Compositae	Folium	-	17.1	8.4
<i>Nelumbo nucifera</i> (연자육)	Nymphaeaceae	Semen	24.2	7.7	<5
<i>Ganoderma lucidum</i> (영지)	Polyporaceae	Body	-	-	-
<i>Acanthopanax gracilistylus</i> (오가피)	Araliaceae	Cortex	-	-	-
<i>Rhus javanica</i> (오배자)	Anacardiaceae	Fructus	-	-	-
<i>Lindera strichnifolia</i> (오약)	Villars	Radix	-	14.1	7.0
<i>Solanum nigrum</i> (용규)	Linne	Herba	-	-	-
<i>Ulmus macrocarpa</i> (유근피)	Hance	Cortex	-	15.6	8.9
<i>Cinnamomun cassia</i> (육계)	Gramineae	Radix	<5	23.6	12.8
<i>Leonurus sibiricus</i> (익모초)	Labiatae	Herba	15.0	6.1	<5
<i>Paeonia albiflora</i> Pallas var. <i>trichocarpa</i> (백작약)	Bunge	Radix	12.7	<5	<5
<i>Sorbus amurensis</i> (정공피)	Malaceae	Cortex	-	5.7	<5
<i>Eugenia caryophyllata</i> (정향)	Myrtaceae	Flos	-	8.3	<5
<i>Melia azedarach</i> var. <i>japonica</i> (천련자)	Meliaceae	Fructus	-	5.6	-
<i>Manis pentadactyla</i> (천산갑)	Squamatae	Squama	-	-	-
<i>Smilax china</i> (토복령)	Liliaceae	Radix	-	19.6	11.5
<i>Psoralea corylifolia</i> (파고지)	Leguminosae	Semen	-	-	-
<i>Rosa rugosa</i> (해당교)	Thunb	Radix	<5	6.8	<5
<i>Scrophularia ningpoensis</i> (현삼)	Scrophulariaceae	Radix	-	16.7	6.8

- ; negative protective effect.

Table 2. Relative protective effect of methanol extracts of medicinal plants against 10 Gy of γ -ray-induced oxidative stress.

Medicinal plant	Protection (%)*
<i>Euryale ferox</i> (감인)	1.6±0.2
<i>Glycyrrhiza uralensis</i> (감초)	10.0±1.8
<i>Solvia miltiorrhiza</i> (단삼)	0.6±0.1
<i>Eucommia ulmoides</i> (두충)	2.6±0.8
<i>Paeonia suffruticosa</i> (목단피)	0.04±0.1
<i>Spirodela polyrrhiza</i> (부평초)	4.7±0.1
<i>Areca catechu var. dulcissima</i> (빈랑자)	11.0±2.0
<i>Cornus officinalis</i> (산수유)	10.2±1.8
<i>Alpinia officinarum</i> (양강)	17.8±4.9
<i>Nelumbo nucifera</i> (연자육)	0.4±0.8
<i>Cinnamomun cassia</i> (육계)	4.8±0.3
<i>Smilax china</i> (토복령)	1.0±1.3

* Conc. of each sample used was 20 $\mu\text{g/ml}$.

목단피 (*Paeonia suffruticosa*), 부평초 (*Spirodela polyrrhiza*), 빈랑자 (*Areca catechu var. dulcissima*), 양강 (*Alpinia officinarum*), 연자육 (*Nelumbo nucifera*), 육계 (*Cinnamomun cassia*), 토복령 (*Smilax china*) 등 10종의 시료였다. 이들의 메탄올 추출물을 상기에 열거한 5개의 분획으로 나누어 시료를 제조하였으며, 이들 각 분획의 산화적 스트레스에 대한 방어활성 검색 결과는 Table 3과 같다. 활성검색에 사용된 시료의 농도는 20 $\mu\text{g/ml}$ 이었다. 분획 시료 중에서 가장 우수한 방어활성을 나타낸 시료는 빈랑자의 butanol 분획으로 78.8±16.9%의 방어활성을 보였으며, 부평초의 butanol 분획에서도 77.2±3.7%의 우수한 방어활성이 검색되었다. 분획시료 중 40% 이상의 방어활성을 나타낸 시료는 상기의 두 분획시료 외에 감초의 ethylacetate 분획시료 (48.7±7.3%), 양강의 ethylacetate 분획시료 (48.7±5.6%) 및 토복령의 ethylacetate 분획시료 (41.0±5.9%)에서도 우수한 방어활성이 검색되었다. 그 외 분획시료 중 20% 이상의 방어활성을 나타낸 시료는 빈랑자의 ethylacetate 분획시료 (35.5±7.6%), dichloromethane 분획시료 (34.0±6.7%) 등 9 개의 분획시료 였다.

Table 3. Protective effect of fractions of medicinal plant extracts against oxidative stress in V79-4 cells.

Medicinal plant	Fraction	Protection (%)*
<i>Euryale ferox</i> (감인)	Hexane	18.0±4.3
	CH ₂ Cl ₂	15.8±3.5
	EtOAc	<5
	BuOH	<5
<i>Glycyrrhiza uralensis</i> (감초)	Hexane	-
	CH ₂ Cl ₂	-
	EtOAc	48.7±7.3
	BuOH	25.2±6.6
<i>Eucommia ulmoides</i> (두충)	Hexane	-
	CH ₂ Cl ₂	9.9±2.2
	EtOAc	20.7±4.9
	BuOH	7.8±1.6
<i>Paeonia suffruticosa</i> (목단피)	Hexane	-
	CH ₂ Cl ₂	21.2±5.4
	EtOAc	<5
	BuOH	<5
<i>Spirodela polyrrhiza</i> (부평초)	Hexane	<5
	CH ₂ Cl ₂	-
	EtOAc	34.2±3.7
	BuOH	77.2±3.7
<i>Areca catechu var. dulcissima</i> (빈랑자)	Hexane	14.5±3.6
	CH ₂ Cl ₂	34.0±6.7
	EtOAc	35.5±7.6
	BuOH	78.8±16.9
<i>Alpinia officinarum</i> (양강)	Hexane	<5
	CH ₂ Cl ₂	11.0±1.8
	EtOAc	48.7±5.6
	BuOH	<5
<i>Nelumbo nucifera</i> (연자육)	Hexane	-
	CH ₂ Cl ₂	27.2±4.8
	EtOAc	15.7±4.1
	BuOH	10.3±2.4
<i>Cinnamomun cassia</i> (육계)	Hexane	-
	CH ₂ Cl ₂	16.1±3.5
	EtOAc	26.2±6.1
	BuOH	22.2±5.5
<i>Smilax china</i> (토복령)	Hexane	-
	CH ₂ Cl ₂	29.1±2.8
	EtOAc	41.0±5.9
	BuOH	-
	H ₂ O	-

* Conc. of each sample used was 20 $\mu\text{g/ml}$.

결 론

본 연구에서는 전통적으로 사용되어 오는 약용 식물 중에서 항염증작용, 항산화작용 등이 보고된 약용식물 약 50종을 선정하여 이들의 추출물에서 활성산소종에 의한 산화적 스트레스를 방어하는 활성을 검색하였다. 총 48 시료 중에서 33 시료에서 다양한 정도의 활성이 나타났다. 감초의 메탄올 추출물 시료가 100 $\mu\text{g/ml}$ 농도에서 과산화 수소수에 의한 산화적 스트레스에 대한 방어 활성이 가장 높게 나타났으며, 감초의 동일 농도에서 20% 이상의 방어 활성을 나타낸 시료는 총 7 시료였다. 높은 농도 (100 $\mu\text{g/ml}$)에서 세포독성이 나타났으나 20 $\mu\text{g/ml}$ 농도에서 20% 이상의 방어 활성을 나타낸 시료는 양강 등 3 시료였다. 이들 시료를 대상으로 감마선에 대한 방어 활성을 검색하였을 때 20 $\mu\text{g/ml}$ 농도에서 양강이 17.8%로 가장 높은 활성이 관찰되었다. 이 둘 시료를 용매의 극성도에 따라 5 분획으로 나누어 추출하고 이들 분획의 활성산소종에 의한 세포손상에 대한 방어 활성을 검색한 결과 빈랑자 (*Areca catechu* var. *dulcissima*) 및 부평초 (*Spirodela polyrrhiza*)의 butanol 분획에서 각각 78.8% 및 77.2%의 높은 방어 활성이 검색되었다.

이러한 약용식물의 추출물이 *in vitro*에서 활성산소종에 의한 산화적 스트레스에 대한 방어 활성을 나타내었으나 *in vivo*에서의 실험을 통하여 *in vivo*에서의 활성을 확인할 필요가 있다고 사료된다. 또한 본 결과에서 우수한 산화적 스트레스에 대한 방어 활성이 나타난 분획에 대해서는 향후 활성을 나타내는 물질들 단일 순수화합물로 분리하고 그 물질의 산화적 스트레스에 대한 방어 활성 작용기전을 규명하는 연구가 계속되어야 할 것이다.

감사의 말씀

본 연구는 과학기술부의 원자력 연구 개발사업의 지원으로 수행되었기에 이에 감사드립니다. 또한 교육부의 두뇌한국 21 사업에서 일부 지원되었기에 이에 감사드립니다.

참고문헌

1. E.J. Hall, "Molecular biology in radiation therapy: the potential impact of recombinant technology on clinical practice." *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.*, 30, 1019-1028 (1994).
2. J.F. Ward, "DNA damage as the cause of ionizing radiation-induced gene activation." *Radiat. Res.*, 138, S85-S88 (1994).
3. C.B. Thompson, "Apoptosis in the pathogenesis and treatment of disease." *Science*, 267, 1456-1462 (1995).
4. W.N. Hittelman and M. Pollard, "A comparison of the DNA and chromosome repair kinetics after γ irradiation." *Radiat. Res.*, 92, 497-509 (1982).
5. M. Frankenberg-Schwagger, "Review of repair kinetics for DNA damage induced in eukaryotic cells *in vitro* by ionizing radiation." *Radiother. Oncol.*, 14, 307-320 (1989).
6. J.S. Prosser, A.A. Edward and D.C. Lloyd, "The relationship between colony-forming ability and chromosomal aberrations induced in human T-lymphocytes after γ -irradiation." *Int. J. Radiat. Biol.* 58, 293-301 (1990).
7. J.M. Buatti, L.R. Rivero and T. Jorgensen, "Radiation-induced single-strand breaks in freshly isolated human leukocytes." *Radiat. Res.*, 132, 200-206 (1992).
8. D.J. Grdina, B. Nagy, C.K. Hill, R.L. Wells and C. Peraino, "The radioprotector WR-1065 reduces radiation-induced mutations at the hypoxanthine-guanine phosphoribosyl transferase locus in V79 cells." *Carcinogenesis*, 6, 929-931 (1985).
9. D.J. Grdina and B. Nagy, "The effect of 2-[(aminopropyl)amino] ethanethiol (WR-1065) on radiation-induced DNA damage and reappear and cell progression." *British J. Cancer*, 54, 933-941 (1986).
10. G.D. Smoluk, R.C. Fahey, P.M. Calabro-Jones, J.A. Aguilera and J.F. Ward, "Radioprotection of cells in culture by WR-2721 and derivatives: Form of the drug responsible for protection." *Cancer Res.*, 48, 3641-3647 (1988).
11. W.J.F. van der Vijgh and G.J. Peters, "Protection of normal tissues from the

- cytotoxic effects of chemotherapy and radiation by amifostine (Ethyol): preclinical aspects." *Seminars in Oncol.*, 21, 2-7 (1994).
12. E.A. Bump, B.A. Cerce, R. Al-Sarraf, S.M. Pierce and C.J. Koch, "Radioprotection of DNA in isolated nuclei by naturally occurring thiols at intermediate oxygen tension." *Radiat. Res.*, 132, 94-104 (1992).
 13. E.A. Bump and J.M. Brown, "Role of glutathione in the radiation response of mammalian cells *in vitro* and *in vivo*." *Pharmacol. Ther.*, 47, 117-136 (1990).
 14. J.C. Livesey and D.J. Reed, "Chemical protection against ionizing radiation." *Adv. Radiat. Biol.*, 13, 285-353 (1987).
 15. J.H. Kim, E.J. Lee, J.W. Hyun, S.H. Kim, W. Mar and J.K. Kim, "Reduction of radiation-induced chromosome aberration and apoptosis by dithiothreitol." *Arch. Pharm. Res.*, 21, 683-687 (1998).
 16. J.M. Pezzuto, "Plant-derived anticancer agents." *Biochem. Pharmacol.* 53, 121-133 (1997).
 17. A. Takeda, M. Yonezawa and N. Katoh, "Restoration of radiation injury by ginseng I. Responses of X-irradiated mice to ginseng extracts." *J. Rad. Res.*, 22, 323-330 (1981).
 18. M. Yonezawa, N. Katoh and A. Takeda, "Restoration of radiation injury by ginseng II. Some properties of the radioprotective substances." *J. Radiat. Res.*, 22, 336-343 (1981).
 19. A. Takeda, N. Katoh and M. Yonezawa, "Restoration of radiation injury by ginseng III. Radioprotective effect of thermostable fractions of ginseng extract on mice, rats and guinea pigs." *J. Radiat. Res.*, 23, 150-157 (1982).
 20. J.-S. Zhang, C.P. Sigdestad, M.A. Gemell and J. Grdina, "Modification of radiation response in mice by fractionated extracts of *Panax ginseng*." *Radiat. Res.*, 112, 156-163 (1987).
 21. C.K. Cho, T.H. Kim, S.Y. Yoo, K.H. Koh, M.S. Kim, J.H. Kim, S.H. Kim, H.K. Yoon and Y.H. Ji, "The effect of alkaloid fraction of Korean ginseng on the radiation-induced DNA strand breaks." *J. Kor. Soc. Ther. Radiol.*, 13, 113-120 (1995).
 22. S.H. Kim, H. Oh, S.E. Lee, Y.S. Lee, T.H. Kim, K.S. Jeong and S.Y. Ryu, "Induction of micronuclei in human and muse lymphocytes irradiated with gamma radiation and effect of *Panax ginseng* C. A. Meyer." *J. Kor. Asso. Radiat. Prot.*, 22, 153-160 (1997).
 23. S.Y. Yoo, C.K. Cho, M.S. Kim, H.J. Yoo, S.H. Kim and T.H. Kim, "An experimental study of radioprotective effect of ginseng alkaloid fraction on cellular damage." *J. Kor. Asso. Radiat. Prot.*, 22, 195-205 (1997).
 24. J.H. Kim, S.H. Kim, E.J. Lee, J. Gao, Z. Wu, W. Mar and I.M. Chang, "Radioprotective effect of Lifukang, a Chinese medicinal plant prescription." *Natural Product Sci.* 4, 26-31 (1998).