한국농화학회지 제43권 제2호(2000)
J. Korean Soc. Agric. Chem. Biotechnol.
Vol. 43, No. 2, pp.141~147 (2000)

한약재 열수추출물의 항산화효과 검정

남석현* · 강미영[1]

아주대학교 생명과학과, [1]경북대학교 가정교육과

초 록 : 130종의 식물성 한약재 열수 추출물의 항산화활성 및 세포에 대한 항변이원성과의 관련성을 조사하였다. 항산화활성은 DPPH 자유라디칼에 대한 전자공여능 및 Fenton반응에 의해서 생성되는 hydroxyl radical(·OH) 소거능을 각각 측정하였다. 조사한 대다수의 한약재들이 전자공여능 및 ·OH 소거능을 가지고 있었는데, DPPH 자유라디칼에 대한 전자공여능이 가장 큰 한약재는 필발(*Piper longum* L.)이었으며, ·OH 소거능이 가장 큰 한약재는 석곡(*Dendrobium moniliforme* L.)이었다. 항산화활성의 측정 결과, 전자공여능 및 ·OH 소거능이 대조구에 비하여 모두 50% 이상이 되는 항산화 효과가 큰 한약재는 지모(*Anemarrhena asphodeloides* Bunge)를 포함하여 24종이었다. 항변이원성을 뚜렷하게 나타내는 11종의 한약재가 Cu^{2+} 존재하에서 DNA의 손상이 유도될 수 있는지 여부를 조사한 결과, 택사(*Alisma canaliculatum* All. Br.)와 백자인(*Nitraria sibirica* Pall), 오약[*Lindera strychifolia* (Sieb. et Zucc) Villar]을 제외한 모든 시료에 의하여 DNA의 손상이 일어난다는 사실을 알았다. 또한 택사와 백자인은 화학적 돌연변이원인 mitomycin C가 유발하는 DNA 손상도 강하게 억제함을 확인하였다. (1999년 12월 23일 접수, 2000년 2월 21일 수리)

서 론

우리나라를 비롯한 동양권에서 오랜기간 동안 질병치료와 예방의 목적으로 사용되어온 한약재는 식물의 2차 대사산물이 가지는 생체에 대한 생리활성 효과를 이용하는 천연재료로서 경험적으로 선택·이용되면서 인체에 대한 안전성은 대체로 검증된 것들이라 할 수 있다. 이러한 점에서 한약재 자체를 기능성식품의 소재로 가공·이용하는 방법이나, 함유된 생리활성 물질을 추출하여 목적지향적 기능성식품용 첨가제로 이용하는 방법에 대한 연구가 수행될 필요가 있다. 산업화로 인해 발생되는 다양한 공해물질에 대한 지속적인 접촉을 피할 수 없는 현대인의 환경조건에서는 각종 활성산소종(reactive oxygen species, ROS) 이 체내에 축적될 기회가 많을 뿐 아니라, 생체내 산소 라디칼반응은 생체조직의 노화나 악성종양을 비롯한 성인병 발병의 원인이 되고 있다.[1-3] 그러나 현재까지도 이들 성인병의 치료에는 한계가 있으므로 항산화 효과가 풍부한 식품을 일상적으로 섭취함으로써 이들 식품구성성분의 생체조절 기능에 대한 효과를 병행하는 방법 등이 다양하게 검토되고 있는 실정이다.[4-6] 우리나라에서는 한약재를 일상생활에 다양한 방법으로 섭취해 온 민간요법 등이 있기 때문에 한약재를 이용하여 항산화기능을 가진 기능성식품, 또는 항산화성 식품첨가제의 개발 및 상품화가 용이할 것으로 본다. 이를 위해서는 한약재가 가지는 변이원성, 항변이원성, 그리고 세포독성에 대한 체계적인 검정이 필요하므로 前報[7]에 이들에 대한 검토를 시도하였으며, 본 실험에서는 한약재 열수추출물의 항산화 효과를 측정하기 위해서 DPPH 자유라디칼에 대한 전자공여능 및 Fenton반응에 의해서 생성되는 ·OH소거능을 측정하였다. 또한 이들 항산화성과 前報에서 검토했던 한약재가 가지는 변이원성, 항변이원성 및 세포증식에 미치는 효과와의 관계를 고찰함으로써 한약재를 이용한 건강 기능성 신소재의 개발을 위한 자료를 확보하여 기능성 식품 개발에 활용할 수 있는 지표를 마련하고자 한다.

찾는말 : 한약재, 전자공여활성, 라디칼 소거활성
*연락저자 : Tel : 82-331-219-2619; Fax : 82-331-219-1615
E-mail : shnam@madang.ajou.ac.kr

재료 및 방법

시료 및 시약

130종의 한약재는 시중의 한의원에서 구입하였으며, 구입한 건조생약 12 g에 탈이온수를 120 ml씩 첨가하여 3시간동안 가압조건에서 가열 추출하였다. 얻어진 열수 추출액을 여과한 다음, 여액이 8 g이 되도록 감압 농축한 것을 시료로 사용하였다. 실험에 사용한 시약 중 1,1-diphenyl-2-picryl hydrazyl (DPPH), 2-thio barbituric acid(TBA), 2-deoxy-D-ribose 및 기타 화학시약은 모두 Sigma사(St. Louis, USA)의 제품을 사용하였다.

DPPH 자유라디칼에 대한 전자공여능 측정

0.1 mM DPPH, 40%에탄올, 0.04 mM sodium acetate(pH 5.5)를 포함한 혼합용액 2.5 ml에 열수추출농축 시료 5 μl를 넣어서 실온에서 30분간 반응시킨 후, 잔존하는 DPPH 라디칼을 517 nm에서의 흡광도를 UV/VIS Spectrophotometer(V-550 JASCO, Japan)로 측정하여 계산하였다. 전자공여능(%)은 $(1-A_S/A_C)\times100$으로 산출하였는데, 여기서 A_S와 A_C는 각각 실험구와 대조구에서의 흡광도를 나타낸다.[8]

Hydroxy radical (·OH) 소거능 측정

10 mM $FeSO_4$, 10 mM EDTA, 10 mM 2-deoxyribose를 함

Table 1. Effect of hot water extracts from the medicinal plants on electron donating ability, OH scavenging activity, cell growth effect and antimutagenicity using *coli* PQ37 as indicator cell

Scientic name/ Korean name	Electron donating ability		· OH scavenging activity		Cell growth effect[1)]	Antimuta-genicity[2)]
	OD at 517 nm	%	OD at 532 nm	%	%	%
Control	0.71±0.02	0	0.010±0.01			
Acanthropanax sessiliflorus Seed/오가피	0.15±0.01	80	0.453±0.04	8	55	-37
Achyranthes japonica Nakai/우슬	0.18±0.01	78	0.235±0.04	54	70	-6
Acorus graminueus Soland/석창포	0.18±0.01	45	0.316±0.04	37	4	-15
Adenophora triphylla. var. japonica Hara/사삼	0.14±0.01	81	0.426±0.01	14	58	-41
Akebia quinata Decne/목통	0.13±0.01	83	0.296±0.03	41	25	-84
Albizzia julibrissin Durazz/합환피	0.14±0.01	80	0.100±0.01	81	-6	-31
Alisma canaliculatum All. Br./택사	0.41±0.02	63	0.186±0.03	64	-11	18
Alpinia katsumadai Hayata/초두구	0.12±0.02	83	0.432±0.01	11	23	-58
Alpinia officinarum Itan./양감	0.14±0.03	81	0.466±0.01	6	-15	-35
Amomum kravanh Pierre *ex* Gagnep./백두구	0.75±0.04	80	0.389±0.01	22	36	-40
Amomum tsaoko Crevost et Lemarie/초과	0.28±0.03	60	0.438±0.01	12	46	-71
Amomum villosum Lour./사인	0.20±0.01	73	0.396±0.04	21	69	-77
Anemarrhena asphodeloides Bunge/지모	0.11±0.01	86	0.090±0.01	83	56	-55
Angelica dehurica B. et Hooker/백지	0.36±0.01	39	0.116±0.01	78	3	-58
Angelica gigas Nakai/당귀	0.14±0.01	80	0.192±0.02	62	45	-60
Angelica tenuissima Nakai/고본	0.24±0.03	13	0.086±0.01	84	60	-63
Anredera baselloides Baill./등삼	0.49±0.07	31	0.128±0.01	76	11	-53
Arctium lappa L./우방자	0.19±0.00	74	0.343±0.01	31	57	-29
Areca catechu L./빈랑	0.14±0.02	80	0.474±0.02	2	44	-9
Arecha cotechu Lu/대복피	0.12±0.01	83	0.352±0.01	29	4	-35
Arisaema japonica Thunb./남성	0.67±0.02	6	0.469±0.03	5	0	-49
Artemisia lavandulaefolia Dc/애엽	0.45±0.01	37	0.459±0.02	7	36	-37
Artensia capillais thunb./인진	0.32±0.02	57	0.461±0.03	7	31	-50
Asarum sieboldii Miq./세신	0.45±0.03	37	0.367±0.02	27	43	-16
Asparagus cochinchinensis Merr./천문동	0.32±0.02	56	0.465±0.02	4	1	-34
Aster tataricus (L.) f./자완	0.28±0.04	62	0.295±0.01	41	23	-22
Astragalus membranaceus Bunge/황기	0.61±0.01	16	0.419±0.02	15	20	-14
Atractylodes chinensis (Dc.) Koidz./창출	0.10±0.01	86	0.159±0.03	69	52	-48
Atracyodes mscrocephala Koidz./백출	0.11±0.01	59	0.251±0.04	51	8	-59
Bupleurum falcatum L./시호	0.13±0.01	83	0.228±0.01	55	34	-26
Carthamus tinctrius L./홍화	0.64±0.03	10	0.293±0.04	42	76	-36
Chaenomeles sinensis Koehne/목과	0.11±0.01	86	0.260±0.01	48	-45	30
Chelidonium majus var. asiaticum (Hara) Ohwi/백굴채	0.57±0.02	20	0.376±0.01	24	55	7
Chrysanthemum zawadskii var. latilobum Kitamura/구절초	0.51±0.12	18	0.418±0.02	16	52	-23
Chrysathemum boreale makino/감국	0.18±0.03	76	0.366±0.01	26	26	-41
Chrysosplenium davidianum Decne. *ex* Maxim/마황	0.26±0.03	63	0.425±0.03	14	2	-78
Cimicifuga heracleifolia Kom./승마	0.41±0.02	51	0.448±0.02	10	31	8
Cinnamimum loureirii Nees./육계	0.13±0.01	83	0.392±0.03	21	-2	-35
Cinnamoum cassia Presl./계지	0.20±0.01	74	0.401±0.03	19	7	-102
Citrus aurantium L./지각	0.31±0.05	56	0.309±0.01	38	25	-53
Citrus unshiu Markovich/진피	0.19±0.03	75	0.219±0.01	57	25	-41
Clematis mandshurica Rupr. var. Koreana Nakai/위령선	0.20±0.02	73	0.263±0.02	48	32	-11
Cnidium officinale Makino/천궁	0.46±0.02	37	0.144±0.03	72	44	-81
Coix lachrymajobi L. var. mayuen Stapf./의이인	1.49±0.06	35	0.350±0.22	30	34	-1
Coptis japonica Nakai/황련	0.67±0.02	7	0.426±0.01	14	36	17
Corus officinalis S. et Z./산수유	0.22±0.03	69	0.447±0.01	10	32	5
Crataegus pinnafida Bunge/산사	0.14±0.01	82	0.364±0.01	27	60	58
Crataegus pinnatifida Bunge/산사초혹	0.18±0.01	76	0.365±0.02	27	-56	66
Curcuma zedoaria Ros./봉출	0.70±0.01	2	0.168±0.03	67	20	-60
Cyperus rotundus L./향부자	0.17±0.01	76	0.357±0.01	28	-14	-83
Dendrobium moniliforme L./선곡	0.26±0.03	63	0.061±0.02	89	39	0
Dictamnus dasycarpus Turcz./백선피	0.61±0.02	16	0.251±0.03	50	-52	-19
Dioscorea batatas Decne./산약	0.84±0.03	30	0.483±0.01	2	-8	-8

Table 1. Continued

Scientic name/ Korean name	Electron donating ability		· OH scavenging activity		Cell growth effect[1)]	Antimutagenicity[2)]
	OD at 517 nm	%	OD at 532 nm	%	%	%
Eugenia caryophyllata Thunb/정향피	0.21±0.01	70	0.235±0.01	54	22	-24
Elscholtzia ciliata Hylander./향유	0.30±0.01	59	0.323±0.03	35	40	-16
Epimedium koreanum Nakai/음양각	0.26±0.02	63	0.369±0.04	26	42	-31
Erigeron canadensis L./망초	0.24±0.08	13	0.479±0.04	3	-7	1
Eriobotrya japonica (Thunb.) Lindl./비피엽	0.18±0.01	76	0.366±0.02	27	42	-5
Eucommia ulmoides Oliver/두충	0.20±0.02	75	0.352±0.02	29	48	6
Eugenia caryophyllata Thunb/정향	0.33±0.03	55	0.373±0.02	25	-22	-18
Forsythia koreana Nakai/연교	0.29±0.01	61	0.435±0.11	13	-92	-164
Gardenia jasminoides for. grandiflora Makino/치자	0.15±0.02	79	0.147±0.01	70	17	-11
Gastrodia elata Bl./천마	0.61±0.03	14	0.269±0.01	46	-24	-159
Gentiana scabra Bunge/초용담	0.17±0.02	76	0.215±0.02	58	28	-27
Geoclemys reevessi Gray/구판	0.67±0.01	6	0.328±0.01	34	9	-23
Gleditsia sinensis Lam/조각자	0.11±0.01	86	0.429±0.01	13	51	7
Glycyrrhiza uralensis Fisch./감초	0.22±0.02	70	0.191±0.02	63	115	-36
Hericium caput-medusae (Bull. *ex* Pr.) Pers./소자	0.13±0.02	82	0.396±0.03	21	-64	-4
Imperata cylindrica (L.) Beauv. var. major (Nees) C.E. Hubb./백모	0.14±0.01	82	0.193±0.01	61	45	-32
Inula helenium L./목향	0.20±0.01	72	0.193±0.03	61	-7	-58
Inula japonica Thon./선복화	0.20±0.02	72	0.398±0.01	20	37	-27
Ledebouriella seseloides Wolff./방풍	0.56±0.02	21	0.360±0.01	28	-1	-30
Leonurus sibiricus L./익모초	0.24±0.01	68	0.302±0.01	40	37	5
Ligustrum lucidum Ait./여정실	0.24±0.01	66	0.428±0.06	14	-65	58
Lindera strychifolia (Sieb. et Zucc. Villar)/오약	0.13±0.01	83	0.409±0.01	18	38	24
Liriopis tuber L./백문동	0.32±0.06	55	0.287±0.03	43	34	-37
Loncera japonica Thunb./인동	0.18±0.02	75	0.338±0.01	32	22	-32
Lonicera japonica Thunb./금은화	0.15±0.01	80	0.453±0.05	8	47	-23
Lycium chinense Mill./지골피	0.23±0.02	69	0.410±0.03	17	92	6
Lycopus lucidus Turcz/택란	0.34±0.02	54	0.470±0.02	5	88	22
Lysimachia lobelioides Wall./화피	0.15±0.01	80	0.432±0.04	13	-19	-72
Machilus thunbergii S. et Z./후박	0.18±0.01	76	0.448±0.02	10	25	-82
Megnolia liliflora Desr./신이화	0.22±0.01	70	0.312±0.01	38	52	-55
Melandryum firmum Rohrb./왕불유행	0.25±0.01	66	0.217±0.01	57	58	-3
Mentha arvensis var. piperascens Malinv./박하	0.34±0.04	54	0.282±0.03	42	70	17
Morus bombycis Koitzumi/상백피	0.45±0.04	37	0.207±0.01	59	44	-3
Nelumbo nucifera Gaertner/연자육	0.25±0.01	66	0.416±0.03	16	79	11
Nitraria sibirica Pall/백자인	0.44±0.03	38	0.243±0.02	52	69	16
Nitraria sibirica Pall/백자	0.13±0.01	83	0.211±0.02	58	11	-19
Paeonia suffruticosa Andr./목단피	0.10±0.01	54	0.392±0.02	21	43	-47
Panax Schimseng Nees/인삼	0.76±0.02	16	0.387±0.04	21	82	-40
Perilla frutescens var. acuta Kudo/소엽	0.35±0.01	52	0.408±0.01	18	74	-1
Phellodendron amurense Rupr./황백	0.17±0.01	78	0.111±0.09	79	49	-34
Phlomis umbrosa Turcz./속단	0.20±0.02	73	0.436±0.12	12	117	-34
Pinellia ternata Breit/반하	0.77±0.01	16	0.464±0.05	6	30	10
Piper longum L./필발	0.65±0.03	89	0.188±0.00	62	-12	-18
Plantago asiatica L./차전차	0.40±0.21	44	0.449±0.02	10	-13	-10
Platycodon grandiflorum (Jacq.) A. DC./길경	0.33±0.05	54	0.200±0.02	61	69	-35
Polia cocos (schw.) Wolf./적복령	0.62±0.01	13	0.421±0.03	15	32	1
Polygala tenuifolia Willd./원지	0.16±0.01	79	0.171±0.01	67	6	-56
Polygonum multiflorium Thunberg/황정	0.31±0.03	56	0.488±0.03	2	-8	0
Polyporus umbellatus (Pers.) Fr./저령	0.42±0.02	41	0.238±0.21	53	28	-29
Populus maximorriczii L./청피	0.14±0.01	80	0.265±0.01	47	54	-72
Poria cocos Wolf/백복	0.67±0.05	7	0.459±0.01	7	31	-21
Prunella vulgaris L./하고초	0.55±0.03	23	0.446±0.03	10	75	-7
Prunus armeniaca L. var. ansu Max./행인	0.70±0.02	3	0.435±0.03	12	89	-24
Psoralea corylifolia L./파고지고	0.39±0.03	47	0.166±0.01	68	-37	-34

Table 1. Continued

Scientic name/Korean name	Electron donating ability		· OH scavenging activity		Cell growth effect[1)]	Antimutagenicity[2)]
	OD at 517 nm	%	OD at 532 nm	%	%	%
Pueraria thunbergiana Benth./갈근	0.25±0.01	65	0.297±0.04	41	2	-28
Rehmannia glutinosa Lib./건지	0.28±0.01	62	0.462±0.01	7	44	-32
Rheum undulatum L./대황	0.52±0.03	27	0.467±0.02	6	4	21
Rubus coreanus Miq./복분자	0.21±0.02	70	0.391±0.02	21	-49	-45
Saxifraga montana H. Sm/산조익초	0.34±0.02	54	0.366±0.01	26	46	-34
Schizonepeta tenuifolia var. japonica Kitakawa/형개	0.22±0.01	69	0.378±0.02	24	60	-8
Scirpus fluviatilis A. Gray/삼릉	0.13±0.01	82	0.429±0.10	13	22	-52
Scutellaria baicalensis Georgi/황금	0.13±0.01	83	0.421±0.04	15	-42	29
Siegesbeckia glabrescens Makino/희첨	0.35±0.03	49	0.472±0.02	5	31	-24
Sinocalamus beecheyanus (Munro.) McClure var. pubescens P.F.Li/죽여	0.09±0.01	55	0.147±0.04	72	-20	-99
Smilax glabra Roxb./토복령	0.12±0.00	83	0.319±0.01	36	78	-18
Sophora tonkinensis Gag--nep./산두근	0.22±0.02	69	0.242±0.02	52	32	-43
Spirodela polyrhiza L./부평초	0.34±0.03	52	0.259±0.01	49	41	-1
Taraxacum mongolium Hand. Mazz/포공영	0.44±0.04	38	0.307±0.02	37	84	-4
Tetrapanax papyrifeus (Hook.) K. Koch/통초	0.61±0.01	14	0.406±0.02	18	55	-19
Teucrium veronispinum Max./꽉향	0.18±0.02	76	0.449±0.03	9	80	-21
Trichosanthis semen L./괄루인	0.31±0.01	58	0.415±0.01	16	-3	-14
Typhonium giganteum Engl./백부근	0.17±0.01	78	0.217±0.01	57	38	-38
Uncaria rhychophylla Pall/조구등	0.25±0.02	66	0.449±0.03	9	39	-105
Vitex trifolia L./만형자	0.45±0.03	38	0.194±0.01	62	68	-5
Xanthium sibiricum Partrin *ex.* Widd./창이자	0.20±0.01	73	0.350±0.01	30	68	-26
Zanthoxylum planispinum Sieb. *ex.* Zucc./죽엽	0.30±0.01	58	0.211±0.01	58	28	-47
Zingiber officinale Rosc./건강포	0.26±0.01	65	0.298±0.03	41	20	-112

Results are average of triplicate experiments.
[1), 2)]; Datas from previous paper[7)].

유한 0.1 M NaH_2PO_4 완충용액 2 ml에 5 μl의 시료를 첨가하고, 다시 여기에 10 mM의 H_2O_2를 넣어서 37°C에서 30분간 반응시켰다. 반응 후, 2.8%의 trichloroacetic acid(TCA)와 1%의 thiobarbituric acid(TBA)를 반응혼합액에 가하여 10분간 끓인 다음, 반응혼합액이 완전히 식으면 532 nm에서의 흡광도를 측정하여 시료의 · OH 소거능(%)을 $[1-(A_S-A_O)/(A_C-A_O)]\times100$의 식에 의거, 구하였다. 여기서 A_S와 A_C는 각각 시료를 첨가한 실험구와 대조구에서의 흡광도를 나타내며, A_O는 37°C에서의 반응이 생략된 시약 혼합액의 흡광도를 나타낸다.[9)]

DNA strand scission의 측정

시료에 의한 DNA strand scission의 유도, 또는 억제활성은 Ueda 등이 개발한 방법에 따라 시료의 첨가로 유도되는 ΦX 174 RF I DNA(BRL, Gaithersberg, USA)의 물리적 형태의 변환정도로 측정하였다.[10)] DNA strand scission의 억제활성을 측정하기 위하여 0.2 μg의 ΦX 174 RF I DNA를 함유하는 100 mM mitomycin C, 0.5 mM sodium borohydride, 0.05 mM $CuCl_2$, 50 mM Tris HCl(pH 7.5) 완충용액에 시료 2 μl를 첨가하여 37°C에서 2시간 반응시켰다. 반응종료 후, stop buffer (50% glycerol, 0.1 M EDTA, 0.1% bromophenol blue)를 1/10 용량 첨가하여 1×TAE buffer로 완충된 1% agarose gel에서 전기영동을 수행하였으며, 시료가 전기영동을 방해할 경우에는 이온교환수지를 이용하여 DNA를 정제한 다음, 전기영동을 수행하였다. 시료자체가 보유하는 DNA strand scission 유도활성 측정에는, 기술한 반응시약 중, mitomycin C와 sodium borohydride를 제외하고 동일한 방법으로 반응을 수행하였다. 시료에 의하여 변환된 물리적으로 서로 다른 형태의 DNA함량을 상대적으로 측정하기 위하여, UV illuminator에 의하여 나타난 super coiled DNA(RF I), open circled DNA(RF II), linear double strand DNA(RF III) band의 intensity를 Image analyzer(Bioimage 50S Series, B.I. System Corp., USA)로 측정하여 supercoil형 DNA에서 다른 형태로의 전환율을 계산하였다.

결과 및 고찰

항산화 효과 측정을 위해서 열수추출물 시료 10 mg이 가지는 라디칼 소거능력을 비교하였다. 즉, 화학반응에 의하여 실험적으로 생성된 DPPH 자유라디칼에 대한 전자공여능 및 Fenton반응에 의해서 생성되는 · OH 소거능을 각각 측정하였다. Table 1에 정리한 바와 같이 대다수의 한약재들은 DPPH 자유라디칼에 대한 전자공여 및 Fenton반응에 의해서 생성되는 · OH 소거 효과는 가지고 있었다. DPPH 자유라디칼에 대한 전자공여능이 가장 큰 한약재는 필발(*Piper longum* L.)이었으며 목과, 창출, 지모, 조작자, 시호, 오약, 황금, 목통, 초두구, 대복피, 육계, 백자, 토복령, 백모, 소자, 삼릉, 산사, 빈랑, 백두구, 화피, 오가피, 합환피, 당귀, 청피, 금은화의 25종의 한약재들은 대조군에 비해서 80% 이상의 DPPH 자유라디칼에 대

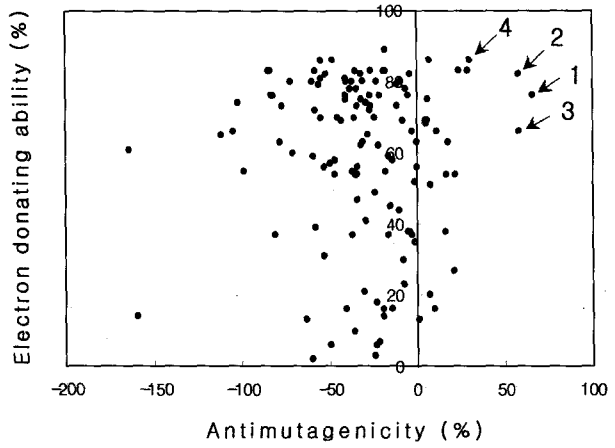

Fig. 1. Interrelationship between antimutagenicity and electron-donating activity of medicinal plants. The arrows indicate the following samples; 1, Sansachoheug (*Crataegus pinnatifida* Bunge); 2, Sansa (*Crataegus pinnatifida* Bunge); 3, Yeojeongsil (*Ligustrum lucidum* Ait.); 4, Mokgwah (*Chaenomeles sinensis* Koehne).

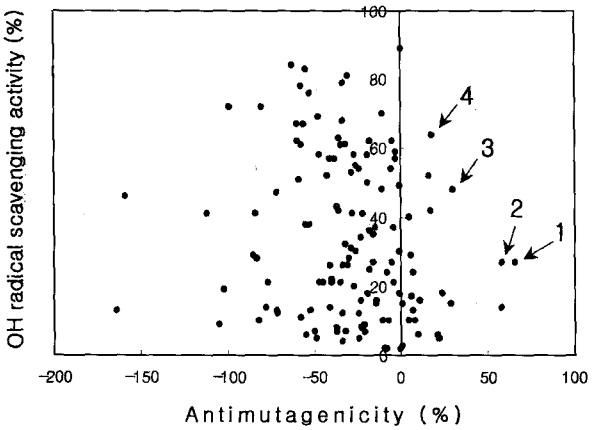

Fig. 2. Interrelationship between antimutagenicity and hydroxyl radical (· OH) scavenging activity of medicinal plants. The arrows indicate the following samples; 1, Sansachoheug (Crataegus pinnatifida Bunge); 2, Sansa (*Crataegus pinnatifida* Bunge); 3, Mokgwah (*Chaenomeles sinensis* Koehne); 4, Taeksa (*Alisma canaliculatum* All. Br.).

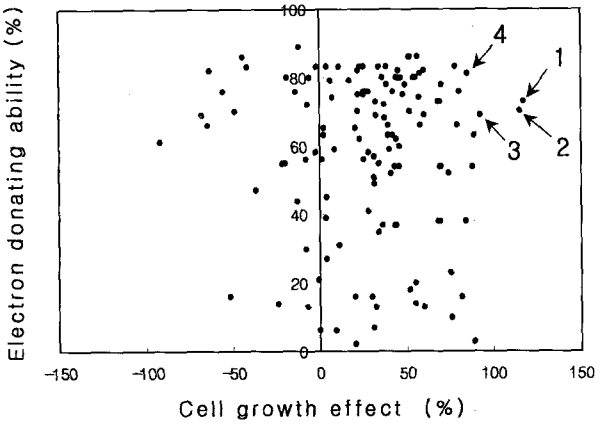

Fig. 3. Interrelationship between cell growth effect and electron-donating activity of medicinal plants. The arrows indicate the following samples; 1, Sokdan (*Phlomis umbrosa* Turcz.); 2, Gamcho (*Glycyrrhiza uralensis* Fisch.); 3, Gwaghyang (*Teucrium veronispium* Max.); 4, Yanggam (*Alpinia officinarum* Itan.).

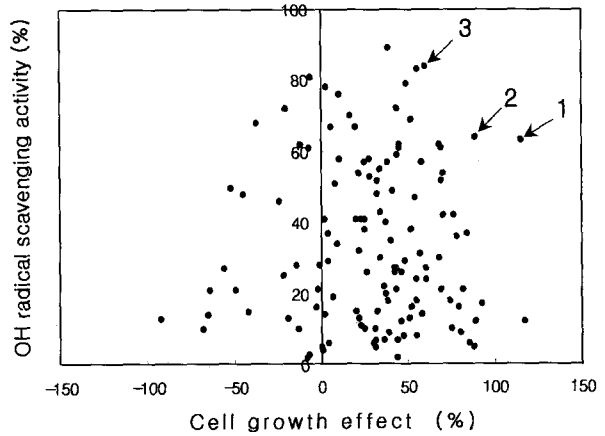

Fig. 4. Interrelationship between cell growth effect and hydroxyl radical (· OH) scavenging activity of medicinal plants. The arrows indicate the following samples; 1, Gamcho (*Glycyrrhiza uralensis* Fisch.); 2, Taeksa (*Alisma canaliculatum* All. Br.); 3, Gobon(*Angelica tenuissima* Nakai).

한 전자공여능을 가지고 있었다. 한편 Fenton반응에 의해서 생성되는 · OH 소거능이 가장 큰 한약재는 석곡(*Dendrobium moniliforme* L.)이었으며 고본, 합환피, 지모, 황백, 백지, 등삼, 죽여, 천궁, 치자, 창출, 파고지고, 봉출, 원지, 감초, 택사, 만형자, 필발, 목향, 백모, 길경 등 20종의 한약재들은 비교군에 비해서 60% 이상의 · OH 소거능을 가지고 있었다. 이상 열거한 한약재 열수 추출물의 경우, 전자공여능과 라디칼 소거능 효과간에는 일부 일치하는 경우를 발견할 수 있었다(지모, 합환피, 창출, 백모). 한편, 백부근, 백모, 산두근, 선복화, 길경, 초웅담, 목향, 황백, 치자, 지모, 죽여, 우슬, 감초, 진피, 창출, 원지, 정향피, 합환피, 백자, 당귀, 택사, 필발, 죽엽, 백출, 왕불유행 등 25종의 한약재는 전자공여능 및 · OH 소거 효과 모두가 대조군에 비해서 50%이상을 나타내고 있어, 장차 이들을 시료로 다양한 *in vivo*, *ex vivo* 및 *in vitro*에서의 항산화효과에 대한 실험을 수행함으로써, 적극적으로 이들을 항산화기능성 식품이나 첨가제로 사용하기 위한 검토가 필요하리라 생각한다.

각종 변이원에 의한 돌연변이 발생의 원인으로서, 변이원에 의한 자유 라디칼의 발생이 주요한 원인이라는 보고가 다수 발표되어 있는 것으로 보아,[11-14] 시료가 가지는 유해 라디칼 소거활성과 항변이원성은 밀접하게 연관되어 있으리라 생각할 수 있겠다. 특히 세포막 지질과산화 반응이 자유라디칼에 의하여 촉발될 뿐 아니라, 생체 DNA의 초기손상까지 일으킨다는 사실을 감안하여[14] Table 1에 나타낸 유해라디칼 소거활성으로 대표되는 항산화활성과 세포 유전물질인 DNA가 손상되는 것을 억제하는 활성인 항변이원성에 대한 각 측정치들을 도표화하여 그 연관성을 정리하였다. 한약재들의 전자공여능과 항변이원성 효과와의 관계를 그래프의 좌표에 표시해 보면(Fig. 1), 전자공여능이 있으면서 항변이원성 효과가 있는 한약재들은 그래프의 우측상단에 표시된 점들로서 박하, 산사, 오약, 황금, 여정실, 백자인, 택란, 목과, 산사초혹, 연자육 택사, 대황의 12종임을

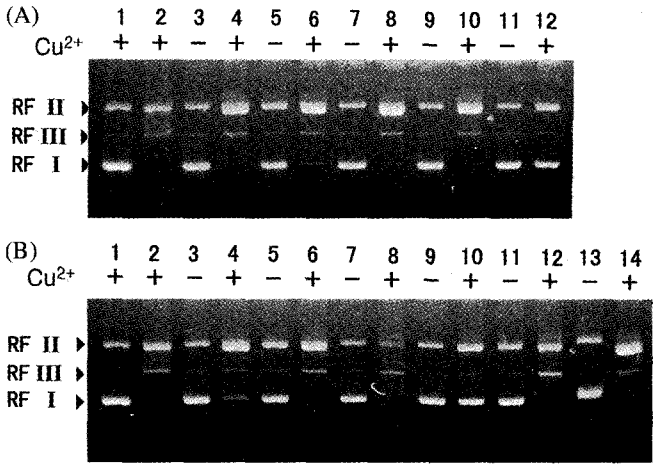

Fig. 5. Induction of DNA strand scission by hot water extracts from various medicinal plants via Cu^{2+} mediated Fenton reaction. (A) Agarose gel electrophoretogram of DNA incubated with following samples; 1, sample-free control without mitomycin C and sodium borohydride; 2, samlpe-free control with mitomycin C and sodium borohydride; 3 and 4, Bahkha (*Mentha arvensis* var. piperascens Malinv.); 5 and 6, Sansachoheug (*Crataegus pinnatifida* Bunge); 7 and 8, Taekran (*Lycopus lucidus* Turcz.); 9 and 10, Hwangryeon (*Coptis japonica* Nakai); 11 and 12, Taeksa (*Alisma canaliculatum* All. Br.). (B) Agarose gel electrophoretogram of DNA incubated with following samples; 1, sample-free control; 2, mitomycin C and sodium borohydride-incubated control; 3 and 4, Ohyak (*Lindera strychifolia* Sieb. et Zucc. Villar); 5 and 6, Sansa (*Crataegus pinnafida* Bunge); 7 and 8, Mokgwah (*Chaenomeles sinensis* Koehne); 9 and 10, Paekjain (Nitraria sibirica Pall); 11 and 12, Yeojeongsil (*Ligustrum lucidum* Ait.); 13 and 14, Hwanggeum (*Scutellaria baicalensis* Georgi). (+) and (-) indicate the reaction condition with or without $CuCl_2$, respectively.

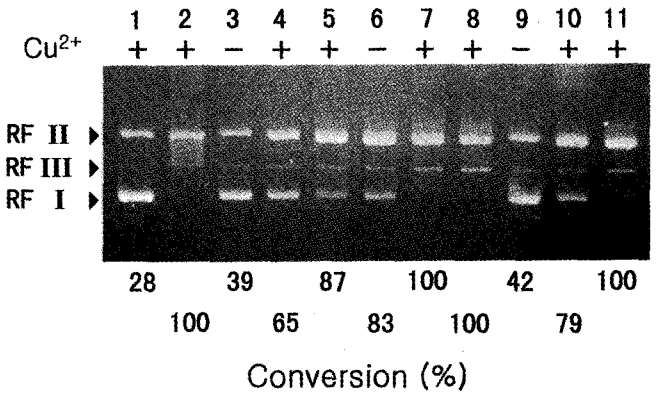

Fig. 6. Inhibitory effect of hot water extracts from various medicinal plants on DNA strand scission induced by mitomycin C. 1, sample-free control without mitomycin C and sodium borohydride; 2, sample-free control with mitomycin C and sodium borohydride; 3, 4, and 5, 10 μg, 20 μg and 10 μg sample extracted from Taeksa (*Alisma canaliculatum* All. Br.), respectively; 6, 7, and 8, 10 μg, 20 μg and 10 μg sample extracted from Ohyak [*Lindera strychifolia* (Sieb. et Zucc.) Villar], respectively; 9, 10, and 11, 10 μg, 20 μg, and 10 μg sample extracted from Paekjain (*Nitraria sibirica* Pall), respectively. (+) and (-) indicate the reaction condition with or without CuCl2, respectively.

알 수 있었다. 또한 ·OH 소거능이 있으면서 항변이원성 효과가 있는 한약재들은 Fig. 2의 우측에 집중된 점들로서 박하, 산사, 오약, 황금, 여정실, 백자인, 목과, 산사초흑, 연자육, 택사의 10종을 지적할 수 있으나 두가지의 활성이 모두 강한 한약재를 발견하기 어려웠다.

이 밖에 항산화활성과 세포증식활성과와의 연관성을 살펴보면 Fig. 3과 4에서 알 수 있듯이 상당히 많은 종류의 한약재가 항산화활성을 가지면서 동시에 세포증식활성도 가지고 있음을 알 수 있다. 항산화활성을 가진다고 본 실험에서 분류된 한약재 가운데 항변이원성이 뚜렷하게 검출된(16% 억제 이상) 한약재는 박하, 산사, 오약, 황금, 여정실, 백자인, 택란, 목과, 황련, 산사초흑, 택사의 11종으로 나타났다. 이중에서 황련의 항산화활성(특히 전자공여능)이 극히 낮은 것을 제외하고 나머지 10종의 한약재는 유의할만한 수준의 항산화활성과 항변이원성을 모두 보유함을 알 수 있었다. 본 실험에 사용한 시료내에는 다양한 성분의 물질들이 존재할 것으로 추정되지만, 한약재를 약용이나 기호식품으로 섭취하는 경우 대부분 열탕추출물의 상태로 복용함을 생각할 때, 이들 한약재가 가지는 유전독성을 조사할 필요가 있기 때문에, 한약재가 DNA의 손상에 미치는 효과를 *in vitro*에서 조사하였다. Fig. 5에서 보는 것처럼 택사와 백자인을 제외한 나머지 시료들이 Cu^{2+} 존재하에서 DNA의 손상을 일으킨다는 것을 반응기질로 사용한 supercoil형 ΦX174 RF I DNA가 strand scission 에 의하여 open circle형 RF II DCu^{2+}, Fe^{2+}, Zn^{2+}, Mn^{2+}, Mg^{2+}, Co^{2+}의 5종의 이온을 사용하여 조사한 결과, Cu^{2+}와 Fe^{2+}만이 DNA의 손상을 유도하였다. 특히 Cu^{2+}가 DNA의 손상을 강력하게 유도하였으나, 이 활성은 EDTA(0.1 mM)에 의하여 완전히 억제되었다(미발표 결과). 이 결과는 Cu^{2+}의 존재하에서 시료에 함유된 아미노당이나 플라보노이드, 페놀화합물 등에 의하여 DNA의 strand scission이 일어났을 가능성을 시사한다.[15-19] 특히 목과(lane 8)에서 DNA의 손상이 가장 강하게 일어났는데(Fig. 5B), 관찰된 DNA 손상활성이 ·OH scavenger로 알려진 2-aminoethyl-isothiouronium-bromide-HBr(AET)나 2-mercaptoethylamine-HCl(cysteamine)이나 catalase에 의하여 비교적 효율적으로 억제되는 현상을 발견할 수 있었다(미발표결과).[17] 이미 기술한 택사(*Alisma canaliculatum* All. Br.)와 백자인(*Nitraria sibirica* Pall)이 보여준 DNA strand scission에 대한 억제활성은 오약(lane 4)에서도 약하지만 검출되었다(Fig. 5B). 따라서 DNA strand scission에 대한 억제활성을 가진 한약재들이 화학적 돌연변이원인 mitomycin C로 유발시킨 DNA의 손상도 억제할 수 있는지 여부를 조사하였다.[10] 그 결과, Fig. 5에서 측정된 DNA 손상억제 활성과 마찬가지로 오약은 화학적 돌연변이원으로 유발된 DNA 손상을 억제할 수 없는 반면, 택사(lane 5)와 백자인(lane 11)은 사용된 시료가 조추출물임에도 불구하고 DNA의 손상을 뚜렷하게 억제하였으며, 특히 택사의 억제활성이 백자인보다 높은 경향을 보였다(Fig. 6).

본 실험에 사용한 시료에는 다양한 생리활성 물질들이 혼재되어 있을 것으로 생각되기 때문에, 각 활성물질의 분리, 정제 및 생물학적 활성의 검정은 반드시 필요하다고 본다. 항변이원활성, 항산화활성 및 세포증식 촉진활성을 동시에 나타내는 한약재는 향후 식품분야 등 다양한 산업적 활용이 기대되기 때문에, 특히 이들 한약재에 주목하여 특이한 생리활성 물질의 분리, 정제를 추진 중에 있다. 그러나 한약재는 열탕 추출물의 상태로 복용하는 것이 일반화되어 있으므로, 널리 처방되어 사용

되는 한약재들의 열탕 추출물이 가지는 항산화 효과, 세포증식 촉진효과, 세포독성 효과 및 항변이원 효과의 체계적 구명은 전통적으로 건강증진 보조제로 한약재의 복용이 일상화된 우리나라에서 한약제의 선택적 복용을 위한 한 지표의 설정에 크게 이바지하리라고 생각된다.

참고문헌

1. Giacosa, A. and Filiberti, R. (1996) Free radicals, oxidative damage and degenerative disease. *Eur. J. Cancer Prev.* **5**, 307-312.
2. Halliwell, B. (1994) Free radicals and antioxidants: A personal view. *Nutrition Rev.* **52**, 253-265.
3. Palmer, H. J. and Paulson, K. E. (1997) Reactive oxygen species and antioxidants in signal transduction and gene expreesion. *Nutrition Rev.* **55**, 353-361.
4. Ferguson, L. R. (1994) Antimutagen as cancer chemopreventive agents in diet. *Mutation Res.* **307**, 395-410.
5. Decker, E. A. (1995) The role of phenolics, conjugated linoleic acid, carnosine, and pyrroloquinoline quinone as nonessential dietary antioxidants. *Nutrition Rev.* **53**, 49-58.
6. Tawfiq, N., Wanigatunga, S., Heaney, R. K., Williamson, G. and Fenwick, G. R. (1994) Induction of the anti-carcinogenic enzyme quinone reductase by food extracts using murine hepatoma cells. *Eur. J. Cancer Prev.* **3**, 285-292.
7. Nam, S. H., Jung, J. E. and Kang, M. Y.(1999) Screening of the mutagenicity and antimutagenicity of the hot-water extracts from medicinal plants. *Hanguk Nongwhahak Hoechi* **42**, 344-350.
8. Yen, G.-C. and Chen, H.-Y. (1995) Antioxidant activity of various tea extracts in relation to their antimutagenicity. *J. Agric. Food Chem.* **43**, 27-32.
9. Unno, T., Sakane, I., Masumizu, T., Kohno, M. and Kakuda, T. (1997) Antioxidative activity of water extracts of *Lagerstroemia specious* leaves. *Biosci. Biotech. Biochem.* **61**, 1772-1774.
10. Ueda, K., Morita, J. and Komano, T. (1982) Action of mitomycin C reduced with sodium borohydride on bacteriophage ΦX174 and its single and double stranded DNAs. *Agri. Biol. Chem.* **46**, 1695-1697.
11. Boscoboinik, D., Szewczyk, A. and Azzi, A. (1991) Inhibition of cell proliferation by α-tocopherols: Role of protein kinase C. *J. Biol. Chem.* **266**, 6188-6194.
12. Komiyama, K., Iizuka, K., Yamaoka, M., Watanabe, H., Tsuchiya, N. and Umezawa, I. (1989) Studies on the biological activity of tocotrienols. *Chem. Pharm. Bull.* **37**, 1369-1371.
13. Bieri, J. G., Corash, L. and Hubbard, V. S. (1983) Medical uses of vitamin E. *New Engl. J. Med.* **308**, 1063-1071.
14. Ueda, K., Kobayashi, S., Morita, J. and Komano, T. (1985) Site-specific DNA mutation caused by lipid peroxidation products. *Biochim. Biophys. Acta* **824**, 341-348.
15. Morita, J., Ueda, K., Nakai, K., Baba, Y. and Komano, T. (1983) DNA strand breakage *in vitro* by autoxidized unsaturated fatty acids. *Agri. Biol. Chem.* **47**, 2977-2979.
16. Nanjou, S., Fujii, S., Tanaka, K., Ueda, K. and Komano, T. (1984) Induction of strand breakage in ΦX174 RF I DNA by aminosugar derivatives. *Agri. Biol. Chem.* **48**, 2865-2867.
17. Nanjou, S., Fujii, S., Tanaka, K., Ueda, K and Komano, T. (1985) Induction of single strand scission in ΦX174 RF I DNA by D-isoglucosamine. *Agri. Biol. Chem.* **49**, 459-466.
18. Yamada, K., Shirahata, S., Murakami, H., Nishiyama, K., Shinohara, K. and Omura, H. (1985) DNA breakage by phenol compounds. *Agri. Biol. Chem.* **49**, 1423-1428.
19. Kobayashi, S., Ueda, K. and Komano, T. (1990) The effects of metal ions on the DNA damage induced by hydrogen peroxide. *Agri. Biol. Chem.* **54**, 69-76.

Screening of Antioxidative Activity of Hot-Water Extracts from Medicinal Plants

Seok Hyun Nam* and Mi Young Kang[1](*Department of Biological Science, Ajou University, Suwon 442-749, Korea; [1]Department of Home Economics, College of Teacher's Education, Kyungpook National University, Taegu 702-701, Korea*)

Abstract : Interrelation between the antioxidative activity of hot-water extracts of 130 medicinal plants and their cellular antimutagenic activity was investigated. Antioxidative activity was evaluated by assaying electron-donation to DPPH free radical and scavenging of hydroxyl radical (· OH) generated through Fenton rection, respectively. All medicinal plants examined in this study exhibited markedly electron-donating ability and radical scavenging ability in each assay system. The results demonstrated the fact that Pilbal (*Piper longum* L.) is the strongest in electron-donating activity, on the other hand, that Seokgok (*Dendrobium moniliforme* L.) is the strongest in ·OH scavenging activity. When evaluated their antioxidative activities, 24 medicinal plants including Jimo (*Anemarrhena asphodeloides* Bunge) were found to be the medicinal plants carrying strong antioxidative activity, which exhibited more than 50% activity compared to the control group in both electon-donating and free radical scavenging. The experiment was also performed to examine whether 11 medicinal plants having significant antimutagenicity damage DNA in the presence of Cu^{2+}, showing the fact that all samples tested, except Taeksa (*Alisma canaliculatum* All. Br.), Paekjain (Nitraria sibirica Pall) and Ohyak (*Lindera strychifolia* Sieb. et Zucc. Villar) are capable of inducing DNA strand break. We also found that Taeksa and Paekjain strongly block DNA strand break induced by chemical mutagen mitomycin C.

Key words : medicinal plants, electron-donating activity, radical scavenging activity
*Corresponding author