

황련 열수추출물의 항산화 활성 효과

김용주 · 이문조¹ · 박진우¹ · 김준기* · 최달영 · 김철호²

동국대학교 한의과대학 병리학교실

¹동의공업대학 식품공업과

²동국대학교 한의과대학 생화학교실

Antioxidant Activity of Water-Extract from *Coptis chinensis* Franch.

Yong-Ju Kim, Moon-jo Lee¹, Jin-woo Park¹, June-Ki Kim*, Dall-Yeong Choi and Cheorl-Ho Kim²

Department of Pathology, College of Oriental Medicine, Dongguk University, Kyungju City, Kyung-pook 780-714, Korea

¹Department of Food Technology, Dongeui Technical College, Pusan 614-053, Korea

²Department of Biochemistry and Molecular Biology, College of Oriental Medicine, Dongguk University,
Kyungju City, Kyung-pook 780-714, Korea

Abstract

This study was carried out to investigate the antioxidant activity of the water extract from *Coptis chinensis* Franch. *Coptis chinensis* Franch. exhibited antioxidative activity at all concentration tested. The extract was as good as antioxidative action of the synthetic antioxidants, butylated hydroxytoluene and ascorbic acid; Also, the one was superior to that of natural antioxidant, α -tocopherol. With heavy metal ions (Fe^{3+} , Zn^{2+}) present, *Coptis chinensis* Franch. showed strong antioxidative effect.

Key words – *Coptis chinensis* Franch., Water Extract, Antioxidant Activity

서 론

식품에 함유되어 있는 유지는 가공 및 저장중에 공기중의 산소와 결합하여 과산화물을 만들고 이들의 연쇄반응에 의하여 alcohol류, aldehyde류, keton류 등을 생성하여 생체내에서 DNA를 손상시키거나 암을 유발하기도 하며, 세포의 노화와도 관련이 있는 것으로 알려져 있으며, 또한 과산화지질의 축적은 세포막 형성의 불능이나 파괴를 일으키는 여러 가지 질병을 유발시킨다[1,5,9,10,19,28]. 따라서

이러한 원인물질을 생성하는 유지의 산화(rancidity)를 억제하기 위하여 식품 첨가물로 허용되어 있는 항산화제(antioxidants)를 사용하고 있다. 항산화제는 유지의 산화속도를 억제하는 물질로 기능에 따라 크게 둘로 구분할 수 있다. 첫째는 1차 혹은 연쇄반응 차단 항산화제(chain breaking antioxidant)로 산화반응의 기본물질인 lipid radical과 반응하여 이를 더 안정한 물질로 전환시키므로서 연쇄반응을 차단하거나 자연시키는 작용을 하는 경우와 둘째는 2차 혹은 방어 항산화제(preventive antioxidant)로서 여러 기작에 의해서 연쇄반응 개시 속도를 자연시키는 작용을 하는 물질로 구분할 수 있다[5]. 식품에 사용되는 천연 항산화제로는 tocopherol, flavone 유도체[24], sesamol [7], gossypol,

*To whom all correspondence should be addressed

Tel) 054-770-2374, Fax) 054-770-2650

E-mail : graywolf@dongguk.ac.kr

단백질의 가수분해률[2] 및 일부 향신료등[3,19]이 보고되고 있지만 그 단독으로 사용할 때에는 항산화능이 충분하지 못하기 때문에 실제 사용되고 있는 것은 tocopherol 정도이다. 반면에 BHT, BHA, TBHQ 등과 같은 합성 항산화제는 항산화 효과는 우수하지만 인체에 대한 유해성이 문제되므로 엄격히 제한하고 있다[17]. 따라서 인체에 독성이 없고 강력한 항산화력을 가진 천연 항산화 물질의 개발이 필요하다.

한약은 인간의 건강을 유지하거나 질병을 치료하기 위해 오랜 옛날부터 이용되어 왔다. 최근에 와서는 이를 한약재들로부터 여러 가지 약리효과가 보고되고 있는데, 예를 들면 영지버섯의 항암성 물질의 분리[17], 한약재 추출물[25],갓(*Brassica juncea*) 추출물[14], 자초[27] 및 어성초의 항균성[13], 꾸지 뽕나무잎의 생리활성 물질[16]에 관한 연구 등이 있다. 활성산소의 예방 및 제거와 관련된 한의학적 연구는 주로 노화와 관련하여 補腎[29,32,35,37] 혹은 活血化瘀[30,31] 등의 약물을 중심으로 진행되어 왔으나, 최근 더덕[22], 쑥[21], 뿐나무[4], 갈근[26], 자소자[19] 및 음양과[18] 등의 한약재에 대한 항산화성에 관한 연구들이 보고되고 있으며 文 등[23]은 시호의 疏肝機轉이 활성산소로 인한 산화적 손상을 억제하는 기전과 밀접한 관련이 있음을 제시하였고, 특히 李 등[20]은 황련과 같이 清熱燥濕하는 약물인[38] 황백 추출물의 항산화 효과를 보고한 바가 있다. 가능성 제품제조를 위한 金 등[20]의 조사에 의하면 기타의 한약제에서도 정도의 차이는 있으나 우수한 항산화 효과가 보고되어 다양한 약제들에 대한 조사 연구가 요망된다.

황련(*Coptis chinensis* Franch.)은 바구지과에 속하는 여러 해살이 풀인 천황련과 동속 식물의 뿌리 줄기를 말린 것으로[34], 한의학에서 주로 清熱燥濕, 燥火解毒하는[38,36] 작용으로 쓰여지고 있어, 현대 약리학의 항생제 및 소염제의 범주에 속하는 것으로 볼 수 있다[36]. 현재 임상적으로 널리 사용되고 있는 일부 항염제의 항산화 효과와 항산화제의 항염 효과는 작용기전에 있어 서로 밀접한 관계를 가지고 있을 것으로 추정되어[6,11,12] 황련의 항산화 효과에 대한 규명이 요구된다. 따라서 본 연구에서는 한약재로 널리 쓰이고 있는 황련 추출물에 대하여 약리효과 중의 하나로 할 수 있는 항산화 활성을 대해 검토하였다.

재료 및 방법

시료제조 방법

본 실험에 사용된 시료는 중국 사천지역에서 재배되어 수입된 황련(*Coptis chinensis* Franch.)의 근경으로서 동국대학교 부속한방병원에서 구입하여 정선한 뒤 흐르는 물에 세정한 다음, 일정한 크기로 자른 후 그늘에서 건조시킨 후 분쇄하여 -30°C의 냉동고에 보관하였다. 건조된 시료 200 g을 이온교환수지를 통과시킨 3차 종류수 2 ℥와 함께 중탕 플라스크에 넣고 120분간 가열하여 열수추출한 다음 여과한 여액을 rotary vacuum evaporator를 이용하여 농축한 다음 -30°C에 냉동 보관하여 사용하였다.

실험재료

이 실험에 사용된 모든 화학물질은 상업적으로 이용이 가능한 것이다. Linoleic acid는 Fruka Chemie AG (Switzerland)에서 구입한 것으로 함유된 성분의 비율은 linoleic acid 55%, oleic acid 35%, 기타 10%이다. 황련의 항산화 활성과의 비교를 위한 기준의 항산화제로는 BHT, α -tocopherol, ascorbic acid를 사용하였다. BHT (butylated hydroxytoluene)는 Ueno Co.(Japan)에서 구입한 순도 99%의 것을 사용하였고, α -tocopherol은 Roche Co.(Switzerland)에서 구입한 순도 95%의 것을 사용하였으며, ascorbic acid는 Dakeda Co. (Japan)에서 구입한 순도 99%를 사용하여 각각 1% 농도로 조제하여 사용하였다. 황련의 금속이온 봉쇄효과를 측정하기 위하여 사용된 Fe^{3+} 및 Zn^{2+} ion은 농도 1000 ppm의 $FeCl_3$ 및 $ZnCl_2$ 표준용액을 사용하였다.

Peroxide value (POV)의 측정방법

Hayase [8] 등의 방법에 따라 과산화물가(Peroxide value, POV)를 측정하여 항산화성의 지표로 하였다. 즉 250 mL 용 삼각플라스크에 linoleic acid 1 g과 에탄올 20 mL 및 5, 10, 25 mg의 시료를 첨가 후 0.2 M 인산 완충액(pH 7.0) 2.5 mL를 주입하여 50°C의 배양기에 48시간 저장 후 분액 깔대기에 옮겨 chloroform 25 mL를 가한 뒤에 하층부만 취하였다. 이 용액에 빙초산 25 mL와 포화 KI 용액 1 mL를 주입후 5분간 방치시켜 증류수 50 mL를 가한 다음 전분 용액 1 mL를 가하여 1/100 N $Na_2S_2O_3$ 용액으로 적정하여 아래 식에 의거 POV를 산출하였으며, 또한 대조구로서 기준 항산화제를

시료 대신 첨가하여 동일한 방법으로 항산화성을 측정하였다.

$$\text{POV}(\text{meq/kg}) = \frac{S \times F \times N \times 1000}{\text{linoleic acid(g)}}$$

S: 1/100N $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 용액의 소비량

F: 1/100N $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 용액의 factor

N: $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 용액의 노르말 농도

결과 및 고찰

황련 열수추출물의 항산화효과

유지에 대한 황련의 항산화 효과를 확인하기 위하여 linoleic acid를 기질로하여 황련 추출물을 5 mg, 10 mg 및 25 mg을 각각 첨가하고 50°C에서 6일간 저장하여 항산화 효과를 조사하고 그 결과를 Fig. 1에 나타내었다. 황련 추출물에 있어서의 항산화 효과는 무첨가구에 비해 모든 구에서 우수한 항산화능을 나타내었으며, 추출물의 농도가 증가할수록 항산화 효과도 증가하는 것으로 나타났다. 그리고 항산화 효과를 경시적으로 관찰하기 위하여 황련 추출물을 각각 5 mg 및 10 mg을 첨가하고 50°C에서 저장하면서 측정한 결과를 Fig. 2에 나타내었다. 여기서는 모든 구가 시간경과에 따른 유도기의 연장효과가 상당히 우수한 것으로 나타났다. 이는 보고되고 있는 한약재[19,20,23] 및 식용식물[21,22]의 항산화 효과들과 같이 우수한 것으로 나타났다.

황련 열수추출물과 기존 항산화제와의 항산화성 비교

식품 첨가물로서 많이 이용되고 있는 항산화제와의 항

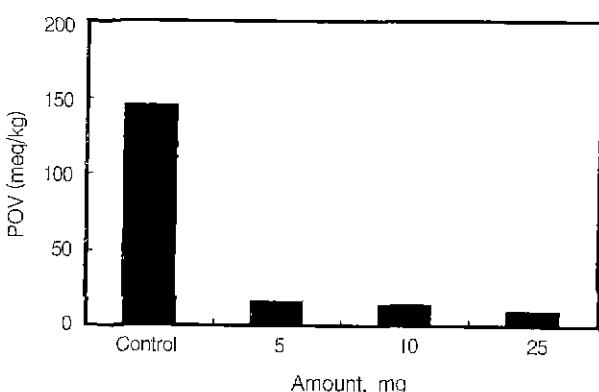


Fig. 1. Antioxidative effect of *Coptis chinensis* Franch. Each amount of *Coptis chinensis* Franch. was incubated with linoleic acid (LA) at 50°C for 6 days.

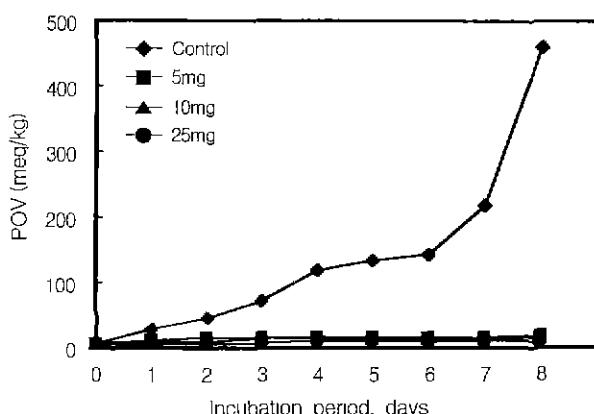


Fig. 2. Period-course in antioxidative effect of *Coptis chinensis* Franch. Five and ten milligrams of *Coptis chinensis* Franch. were incubated with linoleic acid (LA) at 50°C.

산화 효과를 비교하기 위하여 합성 항산화제인 BHT 및 ascorbic acid와 천연 항산화제인 α -tocopherol과 황련 추출물의 항산화성을 비교하여 그 결과를 Fig. 3에 나타내었다. 즉, linoleic acid 1 g에 황련 추출물 5 mg 및 항산화제 5 mg을 각각 첨가하여 50°C에서 저장하면서 경시적으로 측정한 결과 BHT, ascorbic acid와 같은 강한 항산화력을 나타내었으며, α -tocopherol 보다는 항산화성이 아주 우수한 것으로 나타났다. 또한 시간경과에 따른 유도기의 연장효과

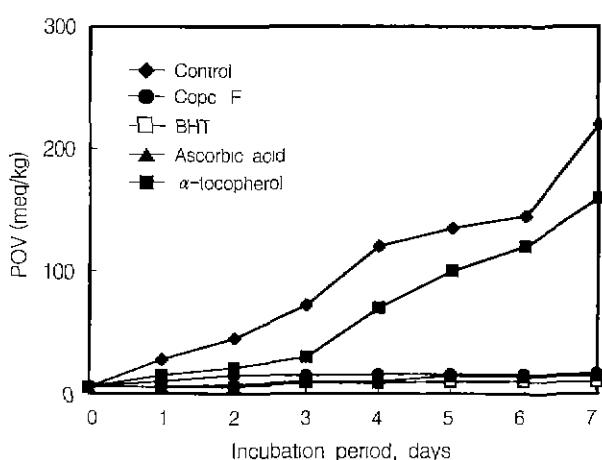


Fig. 3. Comparison of antioxidative effect of *Coptis chinensis* Franch. with antioxidants in the period course. Five milligrams of *Coptis chinensis* Franch. were incubated with linoleic acid (LA) at 50°C.

도 상당히 우수한 것으로 나타났다.

황련 추출물의 금속이온 봉쇄작용

유지의 자동산화를 촉진시키는 금속이온에 대한 황련의 금속이온 봉쇄효과를 조사하기 위하여 linoleic acid 1 g에 황련 추출물 5 mg 및 10 mg과 금속(Fe^{3+} , Zn^{2+})이온 2 ppm을 각각 첨가하여 50°C에서 6일간 저장시켜 항산화 효과를 측정하고 그 결과를 Fig. 4에 나타내었다. 즉 linoleic acid 단독에 비하여 linoleic acid와 금속이온을 함께 첨가한 경우가 항산화 효과는 크게 떨어진 것으로 나타났다. 그러나 황련 추출물과 금속이온을 함께 첨가한 경우 황련 추출물 무첨가 구에 비하여 항산화 효과가 우수하게 나타났다. 그리고 금속이온 첨가에 따른 항산화 효과를 경시적으로 관찰하기 위하여 황련 추출물을 각각 5 mg 및 10 mg을 첨가하고 50°C에서 저장하면서 측정한 결과를 Fig. 5 및 6에 나타내었다. 여기서는 모든 구가 금속이온과 황련 추출물을 함께 첨가된 구가 금속이온 단독구보다 시간경과에 따른 유도기의 연장효과가 아주 우수한 것으로 나타났다. 이는 황련 추출물이 금속이온의 공존하에서 유지의 자동산화에 관여하는 양성의 금속이온과 상호 반응하여 황련 추출물질-금속 복합체 생성에 의한 금속 봉쇄작용 때문이라 생각된다.

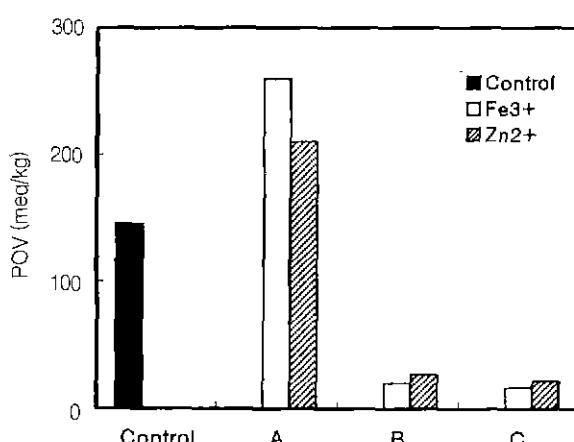


Fig. 4. Antioxidative effect of *Coptis chinensis* Franch. on metal (Fe^{3+} , Zn^{2+})ion-catalysed peroxidation of linoleic acid (LA). *Coptis chinensis* Franch. and metal ion (2 ppm) were incubated with linoleic acid (LA) at 50°C for 6 days.

A, linoleic acid (LA)+metal ion; B, LA+metal ion+Copc. F 5 mg; C, LA+metal ion+Copc. F 10 mg. Copc. F: *Coptis chinensis* Franch.

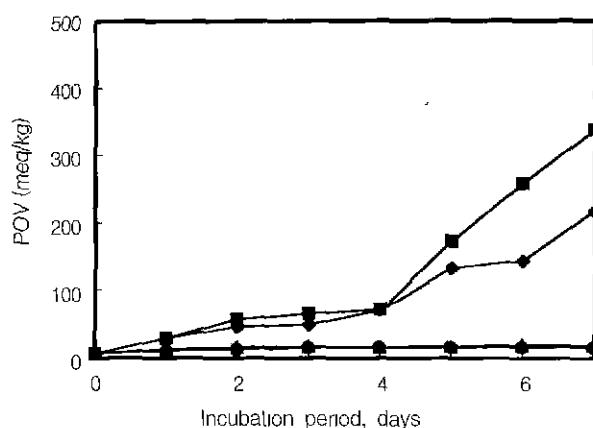


Fig. 5. Period-course in antioxidative effect *Coptis chinensis* Franch. on iron ion-catalysed peroxidation of linoleic acid. Each amount of *Coptis chinensis* Franch. and Fe^{3+} (2 ppm) were incubated with linoleic acid at 50°C.

linoleic acid (LA) alone, —◆—; LA+ Fe^{3+} , —■—; LA+ Fe^{3+} Copc. F 5 mg, —▲—; LA+ Fe^{3+} Copc. F 10 mg —●— Copc. F: *Coptis chinensis* Franch.

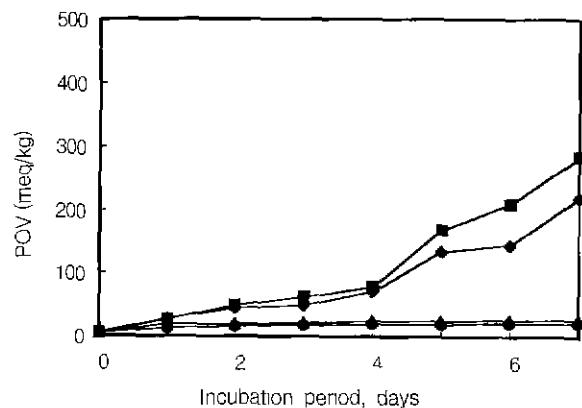


Fig. 6. Period-course in antioxidative effect *Coptis chinensis* Franch. on zinc ion-catalysed peroxidation of linoleic acid. Each amount of *Coptis chinensis* Franch. and Zn^{2+} (2 ppm) were incubated with linoleic acid at 50°C.

linoleic acid (LA) alone, —◆—; LA+ Zn^{2+} , —■—; LA+ Zn^{2+} Copc. F 5 mg, —▲—; LA+ Zn^{2+} Copc. F 10 mg —●— Copc. F: *Coptis chinensis* Franch.

요약

상용되는 한약재의 하나인 황련(*Coptis chinensis* Franch.)를 열수추출하여 얻은 추출물의 유지에 대한 항산화 활성

을 검토하였다. 즉 황련 추출물과 항산화제인 BHT, ascorbic acid 및 α -tocopherol을 각각 linoleic acid에 소정량 첨가하고 50°C에서 일정기간 저장하여 linoleic acid의 산화 안정성을 비교 검토하였으며, 또한 유지 자동산화의 촉진 인자인 금속이온(Fe^{3+} , Zn^{2+})을 첨가하여 황련 추출물의 금속이온 봉쇄효과를 조사하였다.

황련 추출물의 농도에 따른 항산화 효과는 전 농도별에서 높은 항산화 효과를 나타내었다. 그리고 시간 경과에 따른 항산화 효과에 있어서도 정도의 차이는 있지만 각 농도(5 mg 및 10 mg)에서 유도기의 연장효과가 상당히 우수한 것으로 나타났다. 황련 추출물과 항산화제와의 비교에 있어서는 합성 항산화제인 BHT 및 ascorbic acid와 거의 같은 항산화력을 나타내었으며, 천연 항산화제인 α -tocopherol보다는 아주 우수한 것으로 나타났다. 황련 추출물의 금속이온 봉쇄효과에 있어서는 linoleic acid에 황련 추출물과 Fe^{3+} 및 Zn^{2+} 을 첨가한구가 황백 추출물의 무첨가구보다 항산화 효과가 아주 우수한 것으로 나타나 금속이온 봉쇄력이 강한 것으로 나타났다.

감사의 글

본 연구는 한의학연구지원사업 중 한방의료기술개발연구사업비(# HMP-99-O-11-0006-C)의 지원을 받아 진행되었습니다.

참 고 문 헌

- Barnen, A. L. 1975. Toxicological and biochemistry of BHA, BHT. *J. Am. Oil Chem. Soc.* **52**, 59-64.
- Bishov, S. J., Y. Masuoka and J. G. Kapsalis. 1977. Antioxidant effect of spices herbs and hydrolyzates in freeze dried model system synergistic action with synthtic antioxidants. *J. Food Proc. Preserv.* **1**, 153-159.
- Chang, S. S., O. M. Biserka, A. L. Oliver and C. L. Huang. 1977. Natural antioxidants from rosemary and sage. *J. Food Sci.* **42**, 1102-1107.
- Choi, U., D. H. Shin, Y. S. Chang and J. I. Shin. 1992. Antioxidant Activity of Ethanol Extract from *Rhus javanica* Linne. on Edible Oil. *Kor. J. Food Sci. Technol.* **24**, 320-325.
- Chung, I. M., K. H. Kim and J. K. Ahn. 1998. Screening of Korean Medicinal and Food Plants with Antioxidant Activity. *Kor. J. of Med. Crop Sci.* **6**, 311-322.
- Francosis, H. 1984. Pharmacology of free radicals; recent views on their relation to inflammatory mechanisms. *Life Sci.* **34**, 713-720.
- Fukuda, Y., T. Osawa, S. Kawagishi and Namiki, H. 1988. Oxidative stability of foods fried with sesame oil. *N. S. K. G.* **38**, 28-30.
- Hayase, F. and H. Kato. 1984. Antioxidative components of sweet potatoes. *J. Nutr. Sci. Vitaminol.* **30**, 37-41.
- Hochstein, P. and C. Rice-Evans. 1982. Lipid peroxidation and membrane alterations in erythrocyte survival, In *Lipid peroxides in biology and medicine*. p.81, Academic Press Inc., New York.
- Hofeman, D. G. and W. G. Hoekstra. 1977. Protein against carbon tetrachloride induced lipid peroxidation in the rat by dietary vitamin E selenium and methionine as measured by ethane evolution. *J. Nutr.* **107**, 667-670.
- Joseph, C. F., A. W. Peter. 1982. Role of oxygen derived free radicals and metabolites in leucocyte-dependant inflammatory reactions. *Am. J. Pathol.* **107**, 397-418.
- Joseph, T., C. Jsiane and C. Pierre. 1986. Antioxidant activity of flavonoid with peroxy radical. *Phytochem.* **25**, 383-385.
- Kang, J. M., I. H. Cha, Y. K. Lee and H. S. Ryu. 1997. Identification of Volatile Essential Oil Compounds from *Houttuynia cordata* Thunb. *J. Kor. Soc. Food Sci. Nutr.* **26**, 209-214.
- Kang, S. K., N. K. Sung, Y. D. Kim, S. C. Shin, J. S. Seo, K. S. Choi and S. K. Park. 1994. Screening of Antimicrobial Activity of Leaf Mustard(*Brassica Juncea*) Extract. *J. Kor. Soc. Food Sci. Nutr.* **23**, 1008-1012.
- Kim, H. K., Y. E. Kim, J. R. Do, Y. C. Lee and B. Y. Lee. 1995. Antioxidative Activity and Physiological Activity of Some Korea Medicinal Plants. *Kor. J. Food Sci. Technol.* **27**, 80-85.
- Kim, S. H., N. J. Kim, J. S. Choi and J. C. Park. 1993. Determination of Flavonoid by HPLC and Biological Activities from the Leaves of *Cudrania tricuspidata* Bureau. *J. Kor. Soc. Food Sci. Nutr.* **22**, 68-72.
- Kim, S. W., E. S. Kim and Y. S. Kim. 1995. Studies on the Polysaccharide Extracted from *Ganderma Lucidum*. *J. Kor. Soc. Food Sci. Nutr.* **24**, 147-150.
- Kim, S. Y., J. H. Kim and S. K. Kim. 1992. Isolation

- and Characterization of Antioxidant Components in *Epimedium koreanum* Nakai. extract. *Kor. J. Food Sci. Technol.* **24**, 535-540.
19. Kim, Y. J., C. K. Kim and Y. J. Kwon. 1997. Isolation of Antioxidative Components of Perillae semen. *Kor. J. Food Sci. Technol.* **29**, 38-44.
20. Lee, M. J., J. W. Park, D. S. Kim, J. K. Kim, D. Y. Choi and C. H. Kim. 1999. Antioxidant and Nitrite Scavenging Activity of Water-Extract from *Phellodendron amurense* Rupr. *Kor. J. Ori. Med. Pathol.* **13**, 112-119.
21. Lee, G. D., J. S. Kim, J. O. Bae and H. S. Yoon. 1992. Antioxidative Effectiveness of Water Extract and Ether Extract in Wormwood(*Artemisia montana* Pampan). *J. Kor. Soc. Food Nutr.* **21**, 17-21.
22. Maeng, Y. S. and H. K. Park. 1991. Antioxidant Activity of Ethanol Extract from Dodok(*Codonopsis lanceolata*). *Kor. J. Food Sci. Technol.* **23**, 311-315.
23. Moon, J. Y., M. J. Choi, K. S. Nam, J. K. Lim. 1996. Effect of Shih(Bupleurum falcatum Linne.) on Lipid Peroxidation by Free Radicals. *Dongguk Journal : Nat. Sci.* **15**, 361-375.
24. Naom, M., B. Gestetner, A. Bondi and Y. Birk. 1976. Antioxidant and antihemolytic of soybean isoflavones. *J. Agric. Food Chem.* **24**, 1174-1176.
25. Park, U. Y., D. S. Chang and H. R. Cho. 1992. Screening of Antimicrobial Activity for Medicinal Herb Extracts. *J. Kor. Soc. Food Sci. Nutr.* **21**, 91-96.
26. Park, C. O., K. S. Kim, Y. A. J and B. H. Ryu. 1997. Antioxidant Activity of Daidzin and Puerari toward Oxidation of Human Low Density Lipoprotein. *J. of Kor. Soc. Food Sci. Nutr.* **26**, 25-29.
27. Park, U. Y., D. S. Chang and H. R. Cho. 1992. Antimicrobial Effect of Lithospermi radix(*Lithospermum erythrorhizon*) Extract. *J. Kor. Soc. Food Sci. Nutr.* **21**, 97-101.
28. Yagi, K. 1987. Lipid peroxides and human disease. *Chem. Phys. Lipids.* **45**, 337.
29. Yoon, C. H., J. C. Jung and S. D. Park. 1995. Effects of Jwagyuyeum and Woogyuyeum on Free Radical Generating Enzyme Activities and Lipid Peroxidation in Senile Rat's Brain. *J. Kor. Ori. Med. Soc.* **16**, 348-364.
30. 金鳴. 1983. 活血化瘀與抗自由基損傷. 中草藥 **24**, 269-272.
31. 内山充. 1985. 過酸化脂質と生體. pp.310-323. 學會出版社. Tokyo.
32. 杜辛. 1992. 環少丹膠囊抗衰弱及治療腎陽虛臨床觀察. 中國中西醫結合雜誌 **12**, 20-22.
33. 木村雄吉, 湯上進, 齊藤浩. 1971. 香辛料の抗酸化性について. 食品工業. **14**, 57-61.
34. 小學館. 1985. 中藥大辭典. pp.175-179. 上海科學技術出版社. Shanghai.
35. 梁曉春. 1990. 腎虛衰老與自由基的關係以及補腎藥對自由基的影響. 中西醫結合雜誌 **10**, 511-512.
36. 李尚仁. 1991. 本草學. pp.501-503. 修書院. Seoul.
37. 陳晏珍. 1989. 腎虛與超氧化物歧化酶關係初探. 中醫雜誌 **30**, 42-43.
38. 陳存仁. 1992. 圖說漢方醫學大辭典(I)《中國藥學大典》. p.124. 東都文化社. Seoul.