

## 민들레(*Taraxacum mongolicum* H.) 추출분획물이 위장보호에 미치는 효능 평가

한소희<sup>1</sup> · 황정근<sup>1</sup> · 박수남<sup>2</sup> · 이길홍<sup>2</sup> · 고강일 · 김기수 · 김기호\*

<sup>1</sup>(주)알로에마임 중앙연구소, <sup>2</sup>서울산업대학교 정밀화학과, (주)바이오랜드 생명공학연구소

### Potential Effect of Solvent Fractions of *Taraxacum mongolicum* H. on Protection of Gastric Mucosa

So Heui Han<sup>1</sup>, Jung Keun Hwang<sup>1</sup>, Soo Nam Park<sup>2</sup>, Kil Hong Lee<sup>2</sup>,  
Kang Il Ko, Ki Su Kim, and Ki Ho Kim\*

Bioland Ltd, R&D Center

<sup>1</sup>Aloemaiim Co., Ltd, R&D Center

<sup>2</sup>Department of Fine Chemistry, Seoul National University of Technology

Mongolian dandelion (*Taraxacum mongolicum* H.) extracted with solvents having different polarities were prepared to investigate protection activity of gastric mucosa. Ethanol extracts were successively reextracted with methylene chloride, and *n*-butanol. Concentrations of total flavonoids and luteolin in *n*-butanol extracts were 27.75 and 1.14%, respectively, much higher than those of other solvent extracts. Results of anti-microbial activity test against *Helicobacter pylori* and urease inhibition test revealed *n*-butanol extract exerted higher inhibition (13.16%) than other solvent extracts. Based on 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) assay, *n*-butanol extract showed the highest efficiency of free radical-scavenger activity among the extracts (SC<sub>50</sub> 47 µg/mL). Erythrocytic photohemolysis tests, for the protection of cell membrane showed that half-life of human erythrocytes was increased by the addition of *n*-butanol extract ( $\tau_{50}$  = 172 min; C = 5.0 µg/mL). These results indicate *n*-butanol extract of Mongolian dandelion may be useful as an adjuvant for gastric diseases.

**Key words:** *Taraxacum mongolicum* H., gastric mucosa, *Helicobacter pylori*, urease inhibition, photohemolysis

## 서 론

민들레(*Taraxacum mongolicum* H.)는 Mongolian dandelion 이라고도 불리우며 우리나라 각지의 산과 들에서 자라는 국화과의 여러 해살이 풀로써 잎은 긴 버들잎 모양이고 큰 톱니가 있다. 여름철에 꽃대가 나오고 그 끝에는 노란 꽃이 피며 꽃필 때 뿌리째 캐어 물에 씻어 말린 것이 전초이고 이를 포공영이라고도 부르는데, 이는 이담 작용이 있으며 위액의 분비를 빠르게 한다고 알려져 있다(1). 우리나라에서는 어리고 연한 잎은 건위효과가 있어 건위 소화약(1-4), 그리고 밥맛을 돋우는 약으로서 회복기 환자들의 영양식사에 널리 쓰이고 있다(1). 유럽에서는 이의 잎을 샐러드로, 뿌리는 커피 대용으로 사용하기도 한다(5). 그 외, 중국 및 북미에서는 전통적인 민간약으로 잘 알려져 상처치유에 사용되어져 왔다(6). 민들레의 주요 성

분으로는 hydroxycinnamic acid, chicoric acid, monocaffeoyltartaric acid, 그리고 chlorogenic acid 등이 있으며, 잎 부위는 coumarins, cichoriin, aesculin, 비타민 C(50-70 mg/100 g), 그리고 비타민 D(5-9 mg/100 g)를, 꽃 부위는 luteolin 7-glucoside, quercetin, 그리고 luteolin 등을 함유하고 있다(4,7). 기존의 민들레 추출물에 대한 약리적 연구로서 Lee 등(8)은 민들레의 물 분획물을 이용하여 이 항위염 효과가 있음을 보고하였고, Ho 등(9)은 ethanol 분획층의 desacetylmaticarin 성분이 항알러지 활성(anti-allergic activity)이 있음을 보였다. 그리고, Hu 등(10)은 민들레 추출물이 항산화 활성이 있어 프리라디칼(free radical)을 소거하며, Mascolo 등(11)은 동물에서 항염(anti-inflammation)활성이, Kotobuki 등(12)은 항종양(anti-tumor)활성이, Takasaki 등(13,14)은 항암(anti-cancer)활성이 있음을 보고한 바 있다.

본 연구에서는 민들레의 단순 추출물로부터 제조된 민들레 추출분획물이 위장보호제로서의 잠재적인 가능성을 알아보기 위한 일련의 실험들을 수행하였다. 우선 민들레의 total ethanol 추출물을 여러 용매들을 이용하여 순차적으로 분획하고 각 분획물의 총 플라보노이드와 luteolin의 함량을 분석하였다. 위장보호 효능평가로 위점막(gastric mucosa)에 존재하면서 만성위염(chronic gastritis), 십이지장 궤양(ulcer) 등의 질환을 유발시키

\*Corresponding author: Ki Ho Kim, Bioland Ltd, R&D Center, 39-4 Songjeong, Byogchon, Chonan, Chungnam 330-863, Korea  
Tel: 82-41-564-8615  
Fax: 82-41-561-8646  
E-mail: biorandrd@biolandltd.com

는 *Helicobacter pylori*(15)에 대한 항균효과와 이 균이 분비하는 효소 urease(16,17)에 대한 활성 저해를 시험하였다. 또한 프리라디칼 소거작용(free radical scavenging)과 사람 적혈구상에서 활성산소(<sup>1</sup>O<sub>2</sub>, singlet oxygen)로 유도된 세포 손상에 대한 보호 효과를 시험하여 간접적인 위점막세포 보호능을 시험하였고 이러한 결과들을 바탕으로 민들레 분획물의 위장보호제로서의 가능성을 살펴보았다.

## 재료 및 방법

### 시약 및 재료

본 실험에서 사용한 민들레(*Taraxacum mongolicum* H.)는 강원도 양양에서 재배 및 건조한 것을 구매하였으며, 모든 추출용 용매는 최상급을 사용하였다. 1,1-Diphenyl-2-picryl-hydrazyl (DPPH), rose bengal, urease, albumin, catechin, 그리고 luteolin은 Sigma-Aldrich사(St. Louis, MO, USA)에서 구입하여 사용하였고, 소혈청(calf serum)은 Gibco-Invitrogen사(Grand Island, NY, USA), Brucella 배지는 Difco Laboratories사(Sparks, MD, USA)의 제품을 사용하였다. Luteolin 함량 분석을 위한 분리 column은 일본 Shiseido사의 Capcell Pak C<sub>18</sub>을, HPLC는 Shimadzu CLASS-VP를 사용하였다. UV-Visible 분광측정기는 Hewlett Packard-8453을 사용하였고, 적혈구 광용혈 실험에는 Spectronic 20D+(Milton Roy)를 이용하였다. 또한, 본 연구에서 사용한 *H. pylori* 219는 경상대학교 의과대학 미생물학교실에서 제공받아 이용하였다.

### 추출 및 분획

건조된 민들레 전초 1kg을 세절하여 10배 용량의 95% ethanol로 80°C에서 3시간 동안 교반 추출하여 여과하고 그 여액을 회전증발기로 감압 농축하여 건조된 추출물을 83 g을 얻었다. 이 ethanol 추출물을 증류수에 현탁시킨 다음 methylene chloride 과 n-butanol을 이용하여 순차적으로 분획하였으며 각 분획의 용매를 감압증발시켜 methylene chloride 분획 4.1 g, n-butanol 분획 13.44 g, 그리고 H<sub>2</sub>O 분획 39.92 g을 각각 얻었다. 각 분획물의 제조과정은 Fig. 1에 나타내었다.

### 총 플라보노이드 정량

얻어진 각 분획물에 대한 총 플라보노이드의 함량 측정은 Zhishen 등(18,19)의 방법을 개량하여 이용하였다. 각 희석된 표준용액 및 측정 용액 2.5 mL를 10 mL 증류수가 들어 있는 용량 플라스크에 넣고 0.75 mL의 5% NaNO<sub>2</sub> 시약을 첨가하여 5분 동안 섞는 후 다시 0.75 mL의 10% AlCl<sub>3</sub> 시약을 넣고 6분 동안 섞어주었다. 그 후 4 mL의 1 N NaOH 용액을 가하고 증류수로 25 mL로 채워 실온에서 1분간 반응시킨 후, 500 nm의 파장에서 각 용액의 흡광도를 측정하였다. 표준용액은 catechin (5, 10, 15, 20 mg/100 mL)를 이용하고 총 플라보노이드 양은 catechin 의 농도와 상응하는 값으로 나타내었다.

### 총 luteolin 정량

Luteolin 표준품 약 3.0 mg을 취하여 메스플라스크에 넣고 methanol을 넣어 50 mL로 하여 표준액으로 하였다. 각 분획물 약 100-200 mg을 취하여 등근플라스크에 넣고 400 mL의 methanol과 40 mL의 1.5 N HCl를 넣고 수욕상에서 4시간 가열한 후 여과하였다. 여액을 메스플라스크에 넣고 methanol을 넣어 100 mL로 만든 후, 0.45 μm 필터로 여과하여 검액으로 사용하였다.

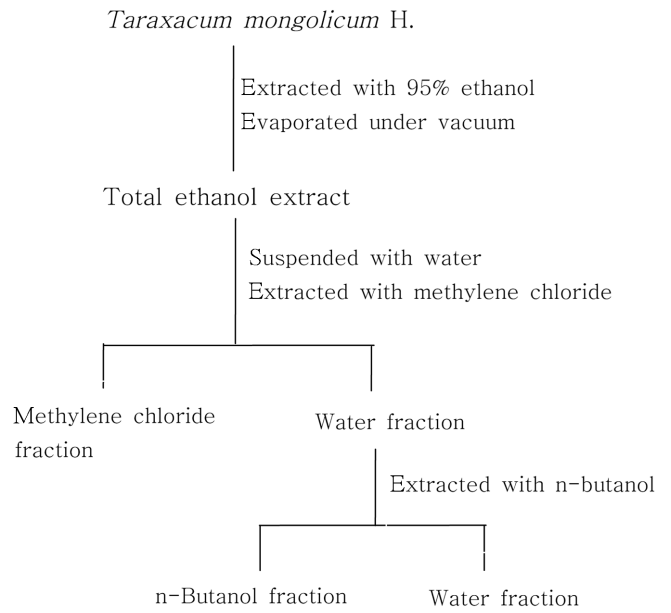


Fig.1. Manufacturing procedure of solvent fractions from *Taraxacum mongolicum* H.

이동상으로 acetonitrile:water: acetic acid = 350 : 745 : 5(v/v), 유속 1.0 mL/min, 파장 360 nm(PDA detector)의 조건에서 검액 20 μL를 주입한 후 함량을 분석하였다.

### *H. pylori* 219에 대한 항균력 측정(20,21)

10%의 소혈청이 첨가된 Brucella 배지에 *H. pylori* 219균을 도말하고, 37°C, 10% CO<sub>2</sub> 조건에서 2-3일 배양 후 이 균을 새 Brucella 배지에 다시 도말하였다. 각 분획물을 0.01, 0.25, 0.5%, 그리고 1%의 농도로 ethanol로 희석한 후 20 μL씩 디스크 종이에 처리하여 상온에서 건조시켰다. 건조된 디스크 종이를 *H. pylori* 219 균이 도말되어 있는 dish에 얹고, 37°C, 10% CO<sub>2</sub> 조건에서 3일 배양하여 clear zone(억제대, 또는 억제영역) 형성을 관찰하였다.

### Urease 활성 저해 측정

간접적인 *H. pylori*의 항균효과를 알아보기 위한 방법으로 각 분획물의 urease 저해효과를 측정하였다. 본 실험에 사용한 방법은 Gorin과 Chin 방법(22)을 개량한 것으로, urea가 urease에 의해 분해되면서 CO<sub>2</sub>와 NH<sub>3</sub>가 생성되는데, 이때 생성된 NH<sub>3</sub>를 HCl로 정량하여 효소의 활성을 측정하는 방법이다. 500 mM의 urea가 함유된 0.05%(w/v) 소혈청알부민(BSA, bovine serum albumin) 4 mL을 시험관에 넣고, 여기에 각 분획물 0.4 mL씩 넣은 후, 온도를 25°C로 안정화시켰다. Urease를 200-400 U/mL로 750 mM 인산완충용액(pH 7.0)에 녹여 준비된 효소 용액 0.4 mL를 첨가하고, 초기 pH를 측정하였다. 효소반응 개시 후, 정확히 10분간 반응 시키고, 100 mM 염산용액을 이용하여 측정된 초기 pH가 되도록 하고, 이때 사용된 염산 용액의 양을 정량 측정하였다. Urease 억제 활성은 대조구에 대한 상대 활성 억제효과로 나타내었으며 저해율의 계산은(1 - 시료의 염산 사용량/대조구의 염산 사용량)×100으로 계산하였다.

### DPPH 라디칼 소거 활성 측정

각 분획을 Fujita 등(23)의 방법에 의한 DPPH(1,1-diphenyl

2-picryl hydrazyl) 라디칼 소거법으로 각 분획의 활성을 측정하였다. 여러 농도의 시료를 ethanol에 녹여 2 mL가 되게 하고, 1 mL의 2 mM DPPH/ethanol을 첨가한 후, 실온에서 10분간 방치한 다음 517 nm에서의 흡광도를 측정하였다. 흡광도를 1/2로 감소시키는데 필요한 시료의 농도를  $SC_{50}$ 으로 나타내었으며, 소거율의 계산은  $[(A_{blank} - A_{sample})/A_{blank}] \times 100$ 으로 계산하였다.

### 세포막 보호효과 측정

세포막 보호효과는 적혈구를 이용한 광용혈 실험을 이용하였으며 Park 등(24)의 방법에 따라 수행하였다. 적혈구는 사람 혈액으로부터 분리하였다. 채혈 즉시 헤파린(20 units/mL)이 첨가된 시험관에 넣고 3,000 rpm에서 5분간 원심분리하여 적혈구와 혈장을 분리하고, 분리한 적혈구는 0.9% 생리식염수(phosphate buffered saline, 이하 PBS)로 세척하고 흰색의 백혈구 층을 제거하였다. 이 과정을 3회 반복하여 분리한 적혈구를 4°C의 냉장고에 보관하면서 사용하였고, 모든 시험은 채혈 후 12시간 이내에 행하였다. 각 실험에 사용된 적혈구 현탁액은 O.D.<sub>700</sub> (optical density)이 0.6이었으며, 이 때 적혈구의 수는  $1.5 \times 10^7$  cells/mL 이었다. 이 적혈구 현탁액 3.5 mL을 Round Cell에 넣은 후 시료를 첨가 하였다. 각 분획물을 ethanol 용액으로 희석하여 1%가 되게 한 후 50 µL씩 첨가하였다. 암소에서 30분간 전반응(pre-incubation)을 시킨 후, 광증감제로 0.5 mL의 rose bengal(12 µM)를 가하고, 파라필름(Parafilm, Whatman Laboratory, USA)으로 입구를 봉한 후 15분간 광조사(photo radiation) 하였다. 광용혈에 필요한 광조사는 내부를 검게 칠한 50×20×25 cm 크기의 상자 안에 20 W 형광등을 장치하고, 형광등으로부터 5 cm 거리에 적혈구 현탁액이 담긴 시험관을 형광등과 평행이 되도록 배열한 후 15분간 광조사 하였다. 조사가 끝난 후 암반응(post-incubation)에 의한 적혈구의 파괴정도를 15 분 간격으로 700 nm에서 투광도(transmittance)로부터 측정하였다. 이 과정에서 적혈구 현탁액의 투광도의 증가는 적혈구의 파괴 정도에 비례한다. 모든 실험은 20°C 항온실에서 수행하였다. 민들레 분획물들이 광용혈에 미치는 효과는 광조사 후 암반응 시간에 따른 용혈정도를 나타낸 그래프로부터 적혈구의 50%가 용혈되는 시간인  $\tau_{50}$ 을 구하여 비교하였다.

## 결과 및 고찰

### 총 플라보노이드 함량 분석

민들레 추출분획물의 총 플라보노이드의 함량을 Table 1에 나타내었다. *n*-Butanol 분획층에서 총 플라보노이드의 함량이

**Table 1. Contents of total flavonoids in solvent fractions from *Taraxacum mongolicum* H.**

Fraction	Total flavonoids <sup>1)</sup> (mg/g)	Yield <sup>2)</sup> (g)	Content <sup>3)</sup> (%)
Total ethanol	10.20 ± 0.17	83	12.25
Methylene chloride	0.83 ± 0.06	4.1	20.14
<i>n</i> -Butanol	3.73 ± 0.09	13.44	27.75
Water	0.40 ± 0.02	39.92	1.00

<sup>1)</sup>mg of total flavonoids in whole dried parts of *Taraxacum mongolicum* H.

<sup>2)</sup>g of each extracts obtained as dried basis.

<sup>3)</sup>content % of total flavonoids in each dried extract.

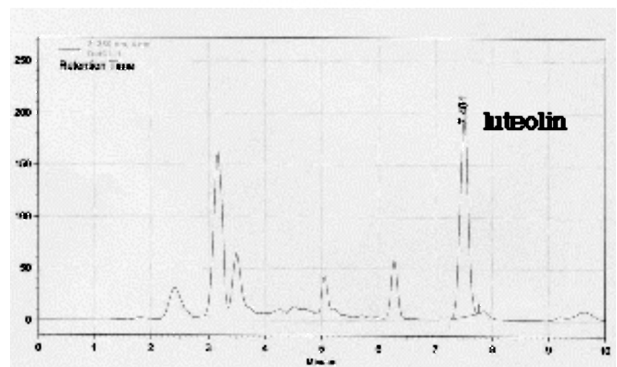
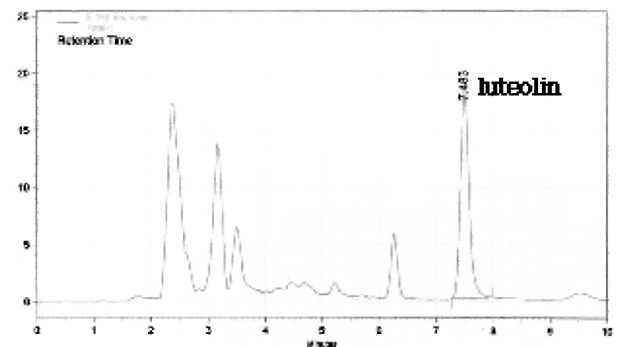
27.75%로 가장 높은 함량을 나타내었으며 물분획층에서는 1.00%로 가장 낮은 함량을 나타내었고 일반적으로 사용하는 용매극성에 따른 분획방법의 결과와 유사하게 *n*-butanol 분획층에서 플라보노이드의 함량이 가장 높은 함량을 나타내었다. 사람의 경우 3일간 플라보노이드가 함유되지 않은 음식을 먹은 후 400 mg의 은행잎 추출물을 섭취한 다음 1시간 후 플라보노이드 성분인 quercetin과 kaempferol의 평균 농도는 2.3 및 0.3 µM로 계산되었고, 이러한 농도는 수시간 지속되었으며, 총 플라보노이드의 양은 그 이상이었다고 보고되고 있다(25). 일반적으로 플라보노이드의 항산화작용은 실험적으로 0.1-100 µM 농도 범위에서 조사되고 있다. 따라서 상기에서 계산된 농도에서 플라보노이드가 생체내에 존재하면 이들은 생체내에서도 항산화 작용을 나타낼 가능성이 있음을 시사한다.

### 총 luteolin 양 분석

Luteolin은 민들레의 플라보노이드 성분 중의 하나로 지표물질로 선택하기 위하여 함량을 분석하였다. 결과는 Table 2에 나타내었고, HPLC chromatogram을 Fig. 2에 나타내었다. *n*-Butanol 분획에서 총 luteolin 양은 1.14 %로 가장 많은 함량을 나타내었고, 분획 수층에서 0.002%로 가장 낮았다.

**Table 2. Concentration of luteolin in solvent fractions from *Taraxacum mongolicum* H.**

Fractions	Luteolin (%)
Total ethanol	0.20 ± 0.03
Methylene chloride	0.42 ± 0.02
<i>n</i> -Butanol	1.14 ± 0.04
Water	0.002 ± 0.0001



**Fig. 2. HPLC chromatograms of total ethanol extract (A) and *n*-butanol fraction (B) obtained from *Taraxacum mongolicum* H.**

**Table 3. Antimicrobial activity of solvent fractions from *Taraxacum mongolicum* H. against *H. pylori* 219**

Conc. (µg/mL)	Diameter (mm)			
	Total ethanol	Methylene chloride	<i>n</i> -Butanol	Water
0	8 <sup>1)</sup>	8	8	8
10	8	8	8	8
25	8	8	8	8
50	8	8	8	8
100	8	8	10 ± 0.4	8

<sup>1)</sup>The size of inhibitory zone with no activity is 8 mm (diameter of disc paper).

***H. pylori* 219에 대한 항균력**

*H. pylori*는 위점막(gastric mucosa)에 존재하면서 만성위염, 위, 십이지장 궤양 등의 위장 질환을 유발시키는 미생물로 알려져 있는데(15,26), 십이지장 궤양의 90-95%, 위궤양의 60-80%에서 이 균이 발견되었다는 보고가 이를 뒷받침하고 있다. 민들레 추출분획물의 *H. pylori* 219에 대한 항균효과는 clear zone의 지름 길이로 비교하였다. 억제 효과가 없을 경우, clear zone의 크기는 디스크 종이의 지름인 8 mm이다. 실험결과 *n*-butanol 분획을 제외하고는 Clear Zone을 나타내지 않아 항균 효과를 보이지 않았다. *n*-Butanol 분획에서 clear zone의 지름은 10 mm로 대조군에 비해 다소 높은 효과를 보였으며, 그 결과는 Table 3에 나타내었다. *n*-Butanol 분획물의 총플라보노이드 함량이 다른 분획물 보다 가장 높은 결과를 나타내는 것과 민들레 추출분획물들의 *H. pylori* 219에 대한 항균효과를 비교하여 보면 민들레 추출물의 플라보노이드 성분이 항균 효과를 나타내는 것으로 판단되어 진다.

**Urease 저해 활성**

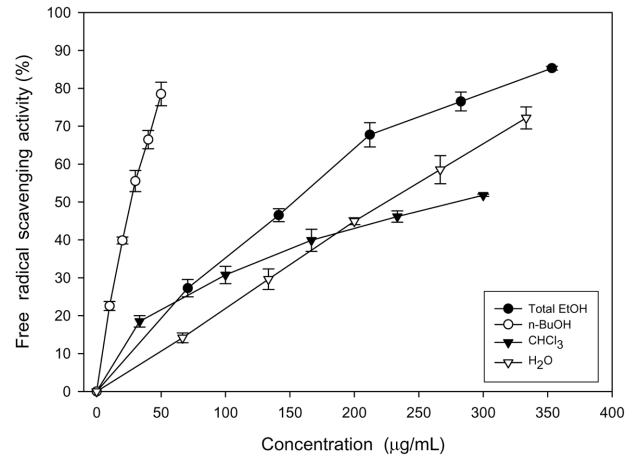
만성위염, 위 십이지장 궤양 같은 위장질환은 *H. pylori*가 관여하며 이 균은 위속의 낮은 pH에서 살아가기 위해서 urease 라는 효소는 분비한다고 알려져 있다(17). Urease에 의한 위점막 장애는 다음의 과정으로부터 일어나는데 위벽으로부터 분비된 요소(urea)는 urease에 의해 가수분해(hydrolysis)되어 NH<sub>3</sub>와 CO<sub>2</sub>를 생성 시킨다. 이 중, NH<sub>3</sub>는 강한 점막장애 작용을 나타내어 위점막 혈류장애를 야기 시킴과 동시에 위산을 중화하여 강한 산성 환경인 위 내에서 *H. pylori*의 생활을 가능하게 한다.

민들레 추출물의 urease 저해는 total ethanol 추출물의 경우 10.53%의 저해 활성을 나타내었고 *n*-butanol 분획에서는 13.16%의 저해율을 보여 분획물 중 가장 좋은 저해효과를 나타내었으며 이것은 *H. pylori*에 대한 *n*-butanol 분획물의 항균효과와

**Table 4. Urease inhibition of solvent fractions obtained from *Taraxacum mongolicum* H.**

Fractions	Concentration (µg/mL)	Initial pH	Final pH	ΔHCl (mL)	ΔpH	Inhibition (%) <sup>1)</sup>
Total ethanol	23	7.11	7.43	3.41 ± 0.04	0.32	10.53 ± 1.05
methylene chloride	23	7.18	7.48	3.31 ± 0.03	0.3	0 ± 0.78
<i>n</i> -butanol	23	7.16	7.5	3.91 ± 0.04	0.34	13.16 ± 1.05
Water	23	7.12	7.43	3.53 ± 0.01	0.31	7.89 ± 0.26
Control	0	7.19	7.53	3.82 ± 0.01	0.34	-

<sup>1)</sup>Inhibition (%)=(1-ΔHCl)×100.



**Fig. 3. Free radical scavenging activities of solvent fractions from *Taraxacum mongolicum* H. using DPPH method.**

일치하는 결과이다. 한편, 분획 수층에서는 *n*-butanol 층보다 낮은 7.89%의 저해 활성을 나타내었으며 그 결과는 Table 4에 나타내었다.

**DPPH 라디칼 소거 활성**

생체대사과정이나 스트레스, 염증 등으로부터 생성되는 라디칼 소거능을 측정하기 위하여 DPPH(1,1-diphenyl-2-picryl hydrazyl) 라디칼을 이용하여 각각의 분획물에 대해 소거활성을 측정하였다. DPPH는 안정한 라디칼로 흡수 전자에 의해 517 nm 부근에서 최대 흡수를 나타내는데, 전자 또는 수소를 받아 환원되면 다시 산화되기 어려워진다. DPPH 법은 항산화 물질의 전자 공여능에 의해 환원되어 고유의 자색이 없어지는 정도로 소거 활성을 나타내는 것으로 농도변화에 따른 각 분획물의 DPPH 라디칼 소거활성을 Fig. 3에 나타내었다. Ethanol 추출물은 70 µg/mL 농도부터 서서히 라디칼 소거 작용을 보이다가 160 µg/mL의 농도에서 50%의 소거율을 보였으며, 그 이상의 농도인 353.3 µg/mL의 농도에서 85.3%의 소거능을 나타냈다. Ethanol 추출물을 순차적으로 분획하여 얻은 methylene chloride 분획에서는 174 µg/mL에서, *n*-butanol 분획은 47 µg/mL에서 50%의 소거율을 보였다. 분획 수층에서는 192 µg/mL에서 50%의 소거율을 나타내었다. 위의 실험결과로부터 *n*-butanol 분획물은 다른 분획물에 비해 가장 높은 라디칼 소거능을 나타내는 것을 알 수 있으며 각 분획의 SC<sub>50</sub> 값은 Table 5에 나타내었다.

**세포막 보호효과**

세포막 보호효과에서 적혈구의 광용혈 실험을 통하여 여러 정보를 얻을 수 있는데, 활성산소에 의한 지질 과산화반응, 단

**Table 5. SC<sub>50</sub> values of solvent fractions on DPPH free radical**

Fraction	SC <sub>50</sub> (μg/mL) <sup>1)</sup>
Total ethanol	160 ± 3.7
Methylene chloride	174 ± 4.4
<i>n</i> -Butanol	47 ± 2.1
Water	192 ± 2.5

<sup>1)</sup>Value represents the concentration (μg/mL) required for 50% reduction of DPPH free radical.

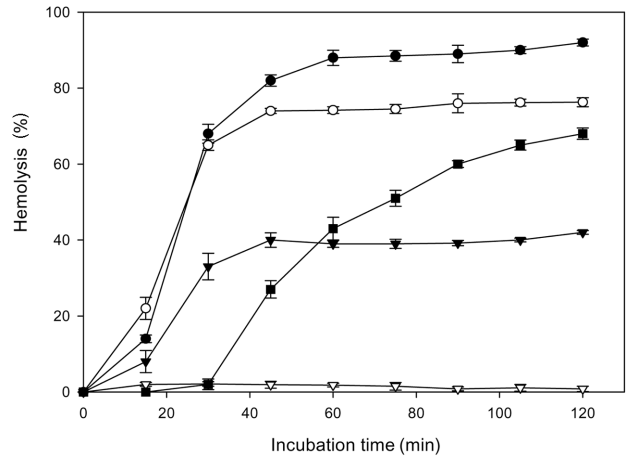
**Table 6. τ<sub>50</sub> values of each fraction from *Taraxacum mongolicum* H. extract on the rose bengal-sensitized photohemolysis of human erythrocytes**

Concentration (μg/mL)	τ <sub>50</sub> (min)			
	0.05	0.5	2.5	5.0
Total ethanol	-	-	-	24 ± 1.4
methylene chloride	24 ± 1.7	34 ± 1.3	-	141 ± 5.7
<i>n</i> -Butanol	37 ± 0.9	38 ± 2.1	-	172 ± 4.3
Water	-	25 ± 2.6	32 ± 1.2	70 ± 3.9

Control τ<sub>50</sub>: 25 min.

백질 산화, 활성산소에 의한 세포 항산화제의 파괴, 그리고 궁극적으로 일어나는 세포의 파괴 등을 조사할 수 있다. 또한, 이 실험법을 이용하여, 천연물을 대상으로 활성산소에 의한 세포 손상(또는 파괴)에 대한 보호효과를 측정할 수 있다. 본 실험에서는 *H. pylori* 균에 의해 생성되는 활성산소 소거능을 광용혈실험으로 측정하여 간접적인 위장보호 효과를 알아보았다. *H. pylori* 균이 위점막에 침착하면 위점막 상피세포는 사이토카인의 일종인 IL-8를 생산하고 호중구에 작용하여 이를 활성화시킨다. 이러한 활성화된 호중구는 탐식작용을 나타냄과 동시에 활성산소의 생성 및 탈과립을 일으킨다. 생성된 활성산소는 그 자체가 점막장애를 일으키고 동시에 위내에 존재하는 염소와 myeloperoxidase의 작용에 의해 차아염소산으로 유도되고 이것은 암모니아에 의해 모노클로라민으로 변환되어 세포장애를 일으킨다(16).

광증감제인 Rose bengal의 존재하에서 광조사로 활성산소를 유도시켜 이로부터 적혈구막 보호효과를 적혈구의 용혈정도로 측정하였다. 대조군의 경우 적혈구 세포가 50% 용혈되는 데 걸리는 시간은 25분으로 나타났다. Rose bengal 없이 광조사만을 한 경우나 광조사 없이 Rose bengal만 현탁액에 들어 있는 경우는 암반응 시간 120분까지 용혈 현상은 보이지 않았다. 각 분획물의 세포막 보호효과에 대한 결과는 Table 6 및 Fig. 4에 나타내었다. 총 ethanol 추출물은 5.0 μg/mL의 농도에서 τ<sub>50</sub> 값이 24분으로 control 값과 거의 유사한 가장 낮은 효과를 보였다. Methylene chloride 분획에서 0.05 μg/mL, 0.5 μg/mL, 5.0 μg/mL 농도에서 τ<sub>50</sub> 값은 각각 24, 34 및 141분이었다. 5.0 μg/mL 농도에서 30분이 지나면서 30%의 용혈을 보였고, 45분 이후에는 40% 정도의 용혈이 계속 유지되다가 130분 이상에서 다시 용혈이 진행되었다. *n*-Butanol 분획은 5.0 μg/mL의 농도에서 150분까지 적혈구가 용혈되지 않고 계속 유지되다가 150분 이상에서 용혈현상을 보였다. τ<sub>50</sub> 값은 172분으로 가장 좋은 결과를 보였으며 0.05 μg/mL, 0.5 μg/mL 농도에서는 τ<sub>50</sub> 값은 각각 37, 38분으로 대조군과 거의 비슷한 결과를 나타내었다. 수층 분획에서는 0.5 μg/mL, 2.5 μg/mL, 5.0 μg/mL 농도에서 τ<sub>50</sub>



**Fig. 4. Dose effect of each extract fraction from *Taraxacum mongolicum* H. on the rose bengal-sensitized photohemolysis of human erythrocytes.**

Irradiation time: 15 min, preincubation time: 30 min, [rose bengal]: 1.5 μM, concentration of each solvent fraction: 5 μg/mL.

●: Control, ○: total ethanol, ▼: methylene chloride, ▽: *n*-butanol, ■: water.

값은 각각 25, 32, 그리고 70분이었다. 5.0 μg/mL 농도에서 30분까지 용혈되지 않고 유지되었으나 그 이상에서 용혈은 계속 서서히 진행되었다. 각 분획물에 대한 용혈에 대한 패턴은 낮은 농도에서는 대조군과 서로 유사하나 효과를 보이는 5.0 μg/mL 농도에서는 용혈시작 시간이나 용혈 패턴은 서로 다를 보였다. 이는 적혈구 세포가 50% 용혈되는데 걸리는 시간에 이르기까지 서로 다른 보호 효과를 보여주는 것으로 용혈이 계속 서서히 진행되는 경우보다 용혈되지 않고 유지되는 시간이 길수록 더 좋은 보호효과를 지닌 물질로 판단된다. 위의 결과들로 볼 때 민들레 추출 분획물 중 광용혈 억제효과가 total ethanol 추출물보다 *n*-butanol 층의 분획물이 가장 높게 나타났을 알 수 있었다.

활성산소(혹은 산소라디칼)과 관련하여 최근 가장 큰 관심의 대상이 되고 있는 질환은 소화성 궤양이라 할 수 있다. 그 이유는 소화성 궤양의 원인이 활성산소에 기인한다는 다음의 두 가지 기전이 제시되고 있기 때문이다. 첫째는 *H. pylori* 감염이다. 우리나라 사람 성인의 80-90% 이상은 위점막이 이 세균에 감염되어 있는데, 이 세균의 감염은 위점막에 백혈구의 침윤을 초래하게 되고 이때 백혈구는 이 세균과 접촉함으로써 활성산소를 생성하게 되며 생성된 활성산소는 위점막에 손상을 초래하여 궤양이라는 병변을 일으킨다고 한다. 둘째는 허혈-재관류 손상(ischemia-reperfusion injury)이다. 끊임없는 스트레스는 교감신경계의 항진을 유발하여 혈관 수축을 일으킨다. 이때 위점막의 혈관 역시 수축되어 위점막의 혈류량은 감소된다. 그러나 스트레스가 제거되면 다시 혈관은 원상으로 확장되어 위점막의 혈류량은 증가하는데 이때 위점막 조직에서는 활성산소가 생성된다. 즉 허혈-재관류에 수반되는 조직반응으로써 이는 소위 스트레스성 위궤양의 발병기전으로 지지를 받고 있다. 따라서 활성산소를 점차적으로 제거하는 물질이 있다면 이는 곧 위궤양의 원인적 치료제로 사용될 수 있는 가능성이 시사되고 있는 것이다. 이러한 점을 고려할 때 민들레 추출물의 라디칼 소거활성과 활성산소에 의한 세포막 손상에서의 보호작용 등은 *H. pylori* 항균작용 및 urease 저해 효과와 더불어 위궤양과 같

은 위점막 손상에 있어서의 보호제나 치료제로서 가능성이 있음을 시사하고 있다.

## 요 약

민들레(*Taraxacum mongolicum* H.) 추출물에 대한 위장보호효과를 측정하기 위하여 민들레를 ethanol로 추출한 후 methylene chloride과 *n*-butanol을 이용하여 용매의 극성에 따라 순차적으로 추출물을 분획하여 각 분획물을 얻었다. 이들 분획물로 총 플라보노이드 및 luteolin 함량을 측정하고 *H. pylori* 항균작용, urease 저해 효과, 프리라디칼소거작용, 세포막 보호 효과에 대해 시험하였다. 각 분획물의 총 플라보노이드와 luteolin 함량을 측정한 결과 *n*-butanol 분획에서 각각 27.75%, 1.14%로 다른 분획들보다 2가지 성분 모두 가장 많이 함유하고 있었다. 효능 시험에서도 *n*-butanol 분획은 위장 질환을 일으키는 직접적인 요인 중 하나인 *H. pylori* 에 대한 항균 및 urease 저해 시험에서 다른 분획물 보다 좋은 결과를 보였다. 또한, 위장 장애의 간접적인 요인이 될 수 있는 라디칼의 소거 작용 및 활성산소로부터 세포막 보호에 대한 각 분획물의 시험에서도 *n*-butanol 분획물이 가장 우수한 효과를 나타내었으며 DPPH 라디칼소거능의  $SC_{50}$  값은 47  $\mu\text{g/mL}$ , 세포막 보호실험에서  $\tau_{50}$  = 172 min( $C = 5.0 \mu\text{g/mL}$ )이었다. 따라서 각 분획물의 성분 분석과 수행되어진 효능 실험 결과들을 비교하여 볼 때 민들레 추출물의 *n*-butanol 분획물이 위점막 보호에 효과가 있음을 예측할 수 있었으며 위장 보호를 위한 조성물의 성분으로 사용될 수 있음을 시사하였다.

## 문 헌

- Mun KS. Asteracete (Compositae). pp. 750-751. In: Components and Uses of Medical Plants, Ilweolseogak, Seoul, Korea (1999)
- Kim TJ. Compositae. Vol. 4, p. 307. In: Korean Resources Plants. Seoul National University Press, Seoul, Korea (1996)
- Kim JK. Compositae. Vol. 1, p. 77. In: Illustrated Natural Drugs Encyclopedia. Namsundang, Seoul, Korea (1997)
- Jo JW. Compositae. Vol. 10, p. 514. In: Encyclopedia of Oriental Medicine, Kyeong Hee University Press, Seoul, Korea (1999)
- Racz-Kotilta E, Racz G, Solomon A. The action of *Taraxacum officinale* extracts on the body weight and diuresis of laboratory animals. *Planta Med.* 26: 212-217 (1974)
- Jiangsu New Medical College. Compositae. pp. 2459-2462. In: Traditional Chinese medicine Dictionary, Shanghai Science and Technology Publishing House, Shanghai, China (1986)
- Williams CA, Goldstone F, Greenham J. Flavonoids, cinnamic acids and coumarins from the different tissues and medicinal preparations of *Taraxacum officinale*. *Phytochemistry* 42: 121-127 (1996)
- Lee EB, Kim JK, Kim OK. The antigestric effect of *Taraxaci Herba*. *Kor. J. Pharmacogn.* 24: 313-318 (1993)
- Ho C, Choi EJ, Yoo GS, Kim KM, Ryu SY. Desacetylmaticarin, an anti-allergic component from *Taraxacum platycarpum*. *Planta Med.* 64: 577-578 (1998)
- Hu C, KITTS David D. Antioxidant, prooxidant, and cytotoxic activities of solvent-fractionated dandelion (*Taraxacum officinale*) flower extracts *in vitro*. *J. Agric. Food Chem.* 51: 301-310 (2003)
- Mascolo N, Autore G, Capasso F, Menghini A, Fasulo MP. Biological screening of Italian medicinal plants for anti-inflammatory activity. *Phytother. Res.* 1: 28-31 (1987)
- Mizuno D. Antitumor agent. Japan patent 5,600,117 (1981)
- Takasaki M, Konoshima T, Tokuda H, Masuda K, Arai Y, Shiojima K, Ageta H. Anti-carcinogenic activity of *Taraxacum* plant. I. *Biol. Pharm. Bull.* 22: 602-605 (1999)
- Takasaki M, Konoshima T, Tokuda H, Masuda K, Arai Y, Shiojima K, Ageta H. Anti-carcinogenic activity of *Taraxacum* plant. II. *Biol. Pharm. Bull.* 22: 606-610 (1999)
- Warren JR. Unidentified curved bacilli on gastric epithelium in active chronic gastritis. *Lancet.* 1: 1273-1275 (1983)
- Cover TL, Puryear W, Perez-perez GI, Blaser MJ. Effect of urease on HeLa cell vacuolation induced by *Helicobacter pylori* cytotoxin. *J. Infect. Immun.* 59: 1264-1270 (1991)
- Odake S, Morikawa T, Tsuchiya M, Imamura L, Kobashi, K. Inhibition of *Helicobacter pylori* urease activity by hydroxamic acid derivatives. *Biol. Pharm. Bull.* 17: 1329-1332 (1994)
- Zhishen J, Mengcheng T, Jianming W. The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. *Food Chem.* 64: 555-559 (1999)
- Kim DO, Jeong SW, Lee CY. Antioxidant capacity of phenolic phytochemicals from various cultivates of plums. *Food Chem.* 81: 321-326 (2003)
- Midolo PD, Bell JM, Lambert JR, Turnidge JD, Grayson ML. Antimicrobial resistance testing of *Helicobacter pylori* a comparison of test and disk diffusion methods. *Pathology* 29: 411-414 (1997)
- Decross AJ, Marshall BJ, Mecallum RW, Hoffman SR, Barrett LR, Guerrant RL. Metronidazole susceptibility testing for *Helicobacter pylori*: comparison of disk, broth, and agar dilution method and their clinical relevance. *J. Clin. Microbiol.* 31: 1971-1974 (1993)
- Gorin G, Chin CC. A new method of assay and the specific enzyme activity. *Anal. Biochem.* 17: 49-59 (1966)
- Fujita Y, Uehara I, Morimoto Y, Nakashima M, Hatano T, Okuda T. Studies on inhibition mechanism of autoxidation by tannins and flavonoids. II. inhibition mechanism of caffeetannin isolated from leaves of artemisia species on lipoxygenase dependent lipid peroxidation. *Yakugaku Zasshi* 43: 27-32 (1995)
- Park SN. Protective effect of isoflavone, genistein from soybean on singlet oxygen induced photohemolysis of human erythrocytes. *Korean J. Food Sci. Technol.* 35: 510-518 (2003)
- Takahama U. Flavonoids. Protein Nulceic acid and Enzyme. 33: 2994-2999 (1988)
- Bae EA, Han MJ, Kim NJ, Kim DH. Anti-*Helicobacter pylori* activity of herbal medicines. *Biol. Pharm. Bull.* 21: 990-992 (1998)

(2004년 9월 9일 접수; 2004년 12월 21일 채택)