

황금 지상부의 항산화 및 항 알러지 활성 성분

차자현 · 김현옥 · 김성건 · 정성희 · 황완균[#]

중앙대학교 약학대학

(Received March 17, 2006; Revised April 11, 2006)

Antioxidant and Antiallergic Activity of Compounds from the Aerial Parts of *Scutellaria baicalensis* Georgi

Ja-Hyun Cha, Hyun-Wok Kim, Sungun Kim, Sung-Hee Jung and Wan-Kyun Whang[#]

College of Pharmacy, Chung Ang University, Seoul 156-756, Korea

Abstract — Roots of *Scutellaria baicalensis* have been used for fever remedy, diuresis, antiphlogistic. For the investigation of the active component from aerial parts of *Scutellaria baicalensis*, MeOH extracts from aerial parts of *Scutellaria baicalensis* were suspended with H₂O, and partitioned by CHCl₃. In order to investigate the efficacy of antioxidative activity, the activity guided fraction and isolation of physiologically active substance were performed. Its H₂O, 30%, 60% MeOH and MeOH fractions were examined on antioxidative activity using DPPH method and TBARS assay. It was revealed that 30% and 60% MeOH fractions have significant anti-oxidative activity. its fractions testing type I allergy, compound 48/80 induced systemic anaphylaxis was applied. As a result, compared with reference (cromolygate), these fraction significantly inhibited systemic anaphylaxis by 71% and 57%, respectively. From 30%, 60% MeOH fraction, five compounds were isolated and elucidated apigenin 6-C- α -L-arabinopyranosyl-8-C- β -D-glucopyranoside (isoschaftside, I), scutellarein 7-O- β -D-glucuronopyranoside (scutellarin, II), apigenin 7-O- β -D-glucuronopyranoside (III), isoscutellarein 8-O- β -D-glucuronopyranoside (IV), kaempferol 3-O- β -D-glucopyranoside (V) through their physicochemical data and spectroscopic methods. We measured radical scavenging activity with DPPH method and anti-lipid peroxidative efficacy on human LDL with TBARS assay. [I < IV \approx V \approx III < II] showed antioxidant activities in order. Type I allergy, compound 48/80 induced systemic anaphylaxis was applied. [V < II < IV] inhibited systemic anaphylaxis in order.

Keywords □ *Scutellaria baicalensis*, DPPH, TBARS assay, antiallergic activity

황금(黃芩)은 꿀풀과(Labiatae)에 속하는 다년생 초본인 속썩은풀(*Scutellaria baicalensis* Georgi)로서 우리나라 남부 지방 산지의 풀밭에서 자란다.^{1,2)} 이 식물은 신농본초경(神農本草經)³⁾에 주제열황달(主諸熱黃疸), 축수(逐水), 하혈폐(下血閉), 악창저식(惡瘡疽蝕), 화양(火瘍)이라고 수록된 황금은 치장열변갈(治壯熱煩渴), 습열사리(濕熱瀉痢), 열림(熱淋), 붕루(崩漏), 태동불안(胎動不安), 제습열(除濕熱)하는 작용이 있어 임상에서 광범위하게 사용되는 약초 중의 하나라고 설명되어 있으며, 소염, 하열, 이뇨, 항균, 진정 등의 목적으로 사용되는 생약이다.⁴⁾

*Scutellaria*속 식물의 지상부에 대한 성분연구로는 1989년에

Miyaichi 등에 의해 *S. indica*에서 chrysin, luteolin, apigenin, scutellarein, scutellarin, apigenin 7-O-glucuronide, chrysin 7-O-glucuronide, isoscutellarein, isoscutellarein 8-O-glucuronide를 분리 보고하였으며,⁵⁾ 1993년에는 Yuldashev 등에 의해 *S. glabrata*에서 chrysin, wogonin, wullcapflavone I, 5,2',6'-trihydroxy-7,8-dimethoxyflavone를 분리하였고,⁶⁾ 1997년에는 Torre 등에 의해 *S. polyodon*에서 neoclerodane diterpenoids인 scupolin A, scupolin B, scupolin C, scupolin D, scupolin E, scupolin F, scupolin G, scupolin H, scupolin I를 분리 보고하였고 2000년에는 Bruno 등에 의해 minor diterpenoids로서 scutalsin, scutalpin O, scupolin J, scupolin K를 분리 보고하였다.^{7,8)} 1998년에 Zhang 등에 의해 *S. planipes*에서 apigenin, wogonin, baicalin, chrysin-7-O- β -D-glucuronide, wogonin-7-O- β -D-glucuronide, acteoside, martynoside, wiscidulin III를 분리

[#]본 논문에 관한 문의는 저자에게로
(전화) 02-820-5611 (팩스) 02-816-7338
(E-mail) whang-wk@cau.ac.kr

하였으며⁹⁾ 2002년에는 Yuldashev 등에 의해 *S. ocellata* and *S. nepetoides*에서 oroxylin A, apigenin, wogonin, 3,7,4'-trihydroxyflavone, cinaroside, baicalin, scutellarin, apigenin-7-O-β-D-glucuronide, wogonoside, nepetoside A를 분리하였다.¹⁰⁾ 또한, Ersoz 등에 의해 *S. galericulata*에서 phenylethanoid glycosides인 martynoside, calceolarioside B, osmanthuside E를 분리 보고하였고 *S. pontica*에서는 phenolic compounds인 apigenin, apigenin-7-O-β-D-glucopyranoside, apigenin-7-O-β-D-glucopyranoside-4'-O-methyl ether 3,5-dihydroxyphenyl β-D-glucopyranoside, 5-hydroxy-7,3',4'-trimethoxyflavone, isovitexin, verbascoside, martynoside 를 분리 보고하였다.^{11,12)} 2004년에는 Bruno 등에 의해 *S. parvula*에서 새로운 neoclerodane diterpenoid인 scuteparvin를 분리 하였다.¹³⁾ 2005년에는 Horvath 등에 의해 *S. baicalensis*의 뿌리와 지상부에서 chrysin, baicalein, apigenin, scutellarein, wogonin, 6-hydroxyflavone, baicalin, scutellarin, apigenin-7-O-glucuronide, chrysin-7-glucuronide, wogonoside 를 분리하였다.¹⁴⁾

한편 *Scutellaria*속 생리활성 연구를 보면 2000년 Skaltsa 등에 의해 *S. albida*의 정유성분에 대하여 항균활성을 확인하였고,¹⁵⁾ 2002년에는 Ersoz 등에 의해 *S. galericulata*에서 phenylethanoid glycosides 성분이 항균활성이 있음을 발표하였으며, 2005년에는 Shang 등에 의해 *S. baicalensis* flavonoid가 쥐의 국소빈혈에 의해 기억력장애와 신경상해의 유발을 감소시킴이 보고되었다.¹⁶⁾

본 연구는 *Scutellaria*속 식물의 지상부에 대한 성분연구와 생리활성 연구가 보고 되었지만 *S. baicalensis*의 지상부에 대한 연구가 미흡한 점에 착안, 사용을 하지 않는 지상부에도 활성성분이 함유되어 있을 것으로 사료되어 본 연구를 착수하였고 분획물 및 분리한 compound들에 대한 분석과 각각의 항산화 및 항알러지 활성에 대한 결과를 보고하고자 한다.

재료 및 방법

실험 재료

본 실험에 사용한 황금(*Scutellaria baicalensis*) 지상부는 2003년 11월에 전라남도 고흥에서 직접 채집하여 중앙대학교 약품자원식물학교실에서 식물학적 감정을 거친 후 음건한 후 3 kg을 재료로 사용하였다.

시약 및 기기

UV/VIS는 Human TU-1800PC(KOREA)를 사용하였고 Centrifuge는 Centrikon T-1180(Italy)를 사용하였다. FAB-MS spectrometer 측정에 사용된 것은 VG 70-VSEQ(England)이고 Source는 ionized by 35 keV Cs⁺ ion beam를 Matrix는 glycerol 을 사용하였다. ¹H-NMR spectrometer는 Bruker, Avance 500,

500 MHz(USA)를 ¹³C-NMR spectrometer는 Bruker, Avance 500, 125 MHz(USA)를 사용하였다. TLC 확인시험에는 Kieselgel 60 F₂₅₄(Merck, Germany)를 사용하여 이동상 CHCl₃ : MeOH : H₂O(70 : 30 : 4)와 EtOAc : EtOH : H₂O(8 : 2 : 1)의 조성을 이용하였고 검출시약으로는 Ethanolic-FeCl₃ solution과 10%-H₂SO₄ in EtOH(heating)에서 발색을 하였고 UV-lamp(254 nm)에서도 확인을 하였다. 컬럼은 Diaion HP-20(Nippon Rensui Co., Japan), Sephadex LH-20(25~100 μm, Pharmacia, Sweden), MCI gel CHP20P(75~150 μ. Mitsubishi. Japan), ODS gel(400~500 mesh, Waters, USA)를 사용하였다. 시약으로는 L-Ascorbic acid, 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl, Ethylenedia minetetraacetic acid-2Na, Human plasma LDL, Potassium bromide Sodium azide, 1,1,3,3-Tetraethoxypropane, Trichloroacetic acid(Sigma Chemical Co., U.S.A.), Thiobarbituric acid(Fluka Chemika, Germany)를 사용하였다.

시약의 제조

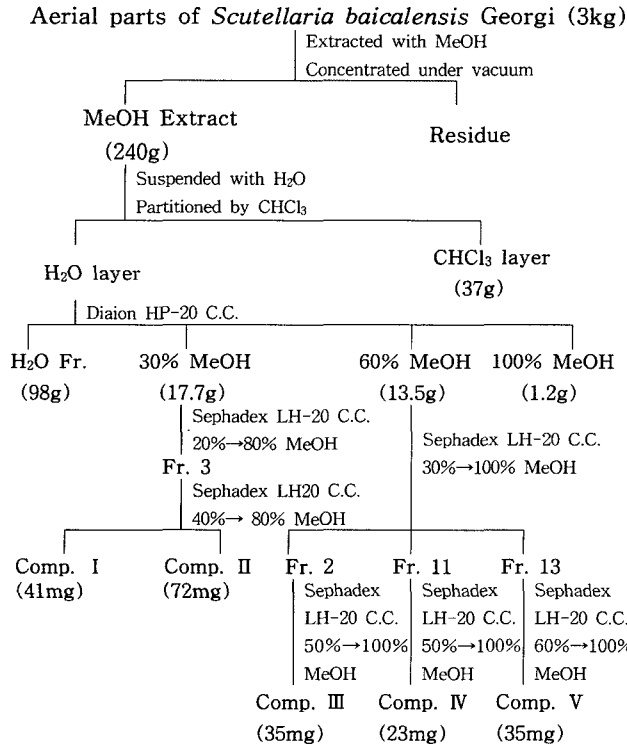
0.1 mM DPPH(1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl)은 DPPH 39.4 mg을 ethanol에 용해시켜 1000 ml이 되도록 용시 조제한다. Phosphate buffered saline(PBS : pH 7.4)은 Na₂HPO₄ 3.58 g, NaCl 8.77 g, NaN₃ 0.20 g에 증류수를 가하여 1000 ml이 되도록 조제한다. 1 mM CuSO₄ 용액은 CuSO₄ 0.025 g에 증류수를 가하여 100 ml이 되도록 조제한다. 1 mM EDTA 용액은 EDTA-2Na 0.029 g에 증류수를 가하여 100 ml이 되도록 조제하고 1% TBA 시액은 Thiobarbituric acid 1 g에 0.05 N NaOH를 가하여 100 ml이 되도록 조제한다. 25% TCA 시액은 Trichloroacetic acid 25.0 g에 증류수를 가하여 100 ml이 되도록 조제하며 10 nM 1,1,3,3-Tetraethoxypropane 용액은(TBARS 시험용 MDA 표준용액) 0.022 g을 PBS에 가해 10 ml이 되도록 한 후 이 용액의 0.1 ml를 취하여 PBS로 희석시켜 100 ml이 되도록 하며 용시 조제한다.

추출 및 엑스의 제조

음건한 황금 지상부 3 kg을 MeOH을 가하여 상온에서 2주일 간 3회 추출한 다음 감압농축하여 엑스 240 g을 얻었다. 또한 이 MeOH 추출물을 증류수에 현탁시킨 후 CHCl₃를 가하여 진탕 반복추출하고, 분액깔때기에서 분획하여 CHCl₃층과 수층을 분취한 후 이를 감압농축하여 CHCl₃ 엑스 37 g을 얻었으며 남은 물층을 Diaion HP-20을 이용하여 column chromatography를 실시하여 물 분획물 98 g, 30% MeOH 분획 17.7 g, 60% MeOH 분획 13.5 g, MeOH 분획 1.2 g을 각각 얻었다(Scheme 1).

항산화능 실험

항산화작용측정(DPPH법) - 본 실험은 DPPH(Diphenylpicrylhydrazyl)의 hydrazyl은 질소원자가 불안정한 상태에 있으므로 쉽



Scheme 1 - Extraction and isolation of the compounds from the aerial parts of *Scutellaria baicalensis* Georgi.

계 수소원자를 받아들이는 성질을 가지고 있어 항산화성 물질과 반응하여 수소원자를 받아들임으로써 자체의 정색성을 잃는 것을 이용하였다.

Hatano 등의 방법¹⁷⁾에 의하여 각 fraction 및 단일 물질별 농축 건조물을 100, 200, 500, 1000, 2000, 3000 ppm(99.5% ethanol)의 6가지 농도로 조제한 용액 0.1 ml(control : 99.5% ethanol)에 0.1 mM DPPH용액(99.5% ethanol) 1.9 ml를 가하였다. Vortex mixer로 10초간 진탕한 후 37°C에서 30분 동안 incubation시켰다. 이후 spectrophotometer를 이용하여 515 nm에서 흡광도를 측정하였다. 양성 대조 약물로는 L-ascorbic acid를 25, 50, 100, 200, 500, 1000 ppm(99.5% ethanol)의 6가지 농도로 조제하여 측정하였다. 각 시료의 항산화작용은 DPPH에 대한 전자공여능(Electron donating ability, EDA%)과 IC₅₀치(DPPH radical 형성을 50% 억제하는데 필요한 μl 농도)로 나타내었다. 이후 효과가 좋은 fraction과 단일물질 등은 농도를 낮게(25, 50, 100, 200, 500 ppm)하여 같은 방법으로 측정하였다.

$$EDA(\%) = \frac{\text{Control O.D.} - \text{Sample O.D.}}{\text{Control O.D.}} \times 100$$

Sample O.D. : 시료를 가한 시험액의 흡광도
Control O.D. : 시료 대신 ethanol을 가한 시험액의 흡광도

TBARS assay를 이용한 LDL 지질과산화에 미치는 영향

Human plasma LDL(400 μg 단백질, Sigma), 1 mM CuSO₄ 16 μl, 농도별로 조제한 각 시료 25, 50, 100, 200, 500, 1000 ppm를 100 μl에 PBS(pH 7.4)를 섞어 전체 부피가 1 ml가 되도록 한다. Vortex mixer로 혼화하여 37°C 수욕 상에서 4시간 동안 진탕 배양하여 산화시킨 후 1 mM EDTA 20 μl를 첨가하여 산화를 중지시킨다. 산화된 LDL 용액에 25% trichloroacetic acid 1 ml를 넣어 단백질을 침전시킨 후 그 상등액에 1% thiobarbituric acid 1 ml를 첨가하여 95°C에서 발색시킨 후 냉각시킨다. 생성된 MDA의 양을 532 nm에서 spectrophotometer를 이용하여 측정한다.

MDA 표준시료로는 10 nM 1,1,3,3-tetraethoxypropane 용액을 용시 조제하여 사용한다.

$$MDA \text{ 농도}(nM/ml) = (f/F) \times 10$$

F : 표준시료의 흡광도(532 nm)
f : 검체의 흡광도(532 nm)

각 시료의 LDL 지질과산화 억제효과를 비교검토하기 위해서 Cu²⁺에 의해 유도되는 과산화지질의 생성을 50% 억제하는데 필요한 시료의 농도(IC₅₀)을 측정한다.

전신성 아나필라시스 반응의 실험

각 검체를 saline에 용해하여 경구 투여하였으며 검액 조제시에는 생쥐의 경우에 체중당 kg당 10 ml가 투여되도록 하였으며, 언제나 실험 직전에 제조하여 사용하였다.

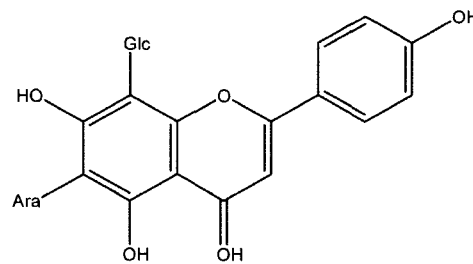
Compound 48/80에 의한 전신성 아나필라시스 반응은 Amir 등¹²⁾의 방법에 따라 실험하였다. 각 군당 mice는 7마리로 하였으며, saline에 조제한 30% MeOH 분획물과 60% MeOH 분획물을 각 10 mg/kg, 30 mg/kg, 100 mg/kg의 농도로 구분하여 6개의 농도군과 control, 양성 대조 약물인 sodium cromoglygate (100 ml/kg)의 총 8개의 군으로 실험하였다. 또한 각 compounds를 50 mg/kg의 농도로 구분하여 5개의 군과 control, 양성 대조 약물인 sodium cromoglygate(100 ml/kg)의 총 7개의 군으로 실험하였다. 비만세포의 탈과립제로 compound 48/80(8 mg/kg)을 생쥐 복강내에 투여하기 60분전에 각 농도별 분획물과 양성 대조약물을 경구투여하였다. 치사율은 아나필라시스를 유발시킨 후 60분 동안 관찰하여 결정하였다.

성분의 분리 및 구조 확인

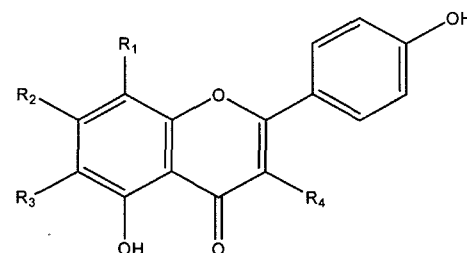
Compound I : FAB-MS(m/z) : 563[M-H]⁺, 473[M-Ara-H]⁺, 311[M-Glc-Ara-H]⁺, ¹H-NMR : DMSO-d₆, δ ppm : 8.03(2H, d, J=8.6 Hz, H-2',6'), 6.90(2H, d, J=8.5 Hz, H-3',5'), 6.82(1H, s, H-3), 4.99(1H, d, s, Ara anomeric H), 4.75(1H, d, J=9.8

Table I – ¹³C-NMR Spectral data of compound I~V in DMSO-d₆

Carbon No.	I	II	III	IV	V
2	164.2	164.1	164.3	163.9	156.8
3	102.6	102.5	103.1	103.5	133.6
4	182.3	182.3	182.0	181.8	177.8
5	160.9	146.9	161.1	156.3	161.5
6	108.1	130.5	99.2	98.9	99.1
7	161.2	149.0	162.5	157.3	164.5
8	105.1	93.6	94.7	125.2	94.1
9	155.1	150.9	156.9	149.3	156.8
10	103.7	105.9	105.5	106.3	104.4
1'	121.6	121.3	121.0	121.1	121.3
2'	129.1	128.5	128.6	128.9	131.3
3'	115.9	116.0	116.0	116.1	115.5
4'	158.2	161.2	161.3	161.2	160.2
5'	115.9	116.0	116.0	116.1	115.5
6'	129.1	128.5	128.6	128.9	131.3
Glc-1	73.3				101.2
2	70.6				74.5
3	78.9				77.7
4	69.8				70.2
5	81.9				76.7
6	61.2				61.2
Ara-1	74.2				
2	73.8				
3	70.9				
4	69.6				
5	68.4				
GlcA-1		99.9	99.3	102.5	
2		72.8	72.8	73.8	
3		75.2	75.6	75.3	
4		71.3	71.2	71.5	
5		75.5	75.3	76.1	
6		170.1	170.1	169.9	



Compound I



	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄
Compound II	H	OGlcA	H	H
Compound III	H	OGlcA	OH	H
Compound IV	OGlcA	OH	H	H
Compound V	H	OH	H	OGlc

Fig. 1 – Structure of compounds I~V.

¹H-NMR : DMSO-d₆, δ ppm : 8.01(2H, d, J=8.8 Hz, H-2', 6'), 6.87(2H, d, J=8.8 Hz, H-3', 5'), 6.43(1H, d, J=1.9 Hz, H-8), 6.19(1H, d, J=1.9 Hz, H-6), 5.41(1H, d, J=7.5 Hz, Glc anomeric H), ¹³C-NMR : DMSO-d₆, δ ppm : Table I.

결 과

분획별 활성 실험의 결과

DPPH를 이용한 항산화능 측정 – 황금 지상부의 H₂O, 30% MeOH, 60% MeOH, 100% MeOH 분획물을 농도별로 100, 200, 500, 1000, 2000, 3000 ppm를 조제하여 DPPH radical 소거활성을 측정된 결과 황금 지상부의 radical scavenging activity는 우수하였으며 대조약물인 ascorbic acid와 비교하였을 때 60% MeOH 분획, 30% MeOH 분획, MeOH 분획, H₂O 분획순으로 활성이 나타났으며, 특히 60% MeOH 분획 및 30% MeOH 분획이 DPPH에 의한 radical scavenging activity가 우수 하였으며 특히 IC₅₀의 경우를 보면 60% MeOH 분획이 25.21 µg/ml로서 30% MeOH 분획의 47.79 µg/ml보다도 우수한 radical scavenging activity를 나타내었다(Fig. 2, Table IV).

LDL 산화에 대한 억제효과 측정 – 황금 지상부의 각 분획들을 100, 200, 500, 1000, 2000, 3000 ppm의 6가지 농도에 대하여 LDL 지질과산화에 대한 억제활성을 실험한 결과 대조약물인

Hz, Glc anomeric H), ¹³C-NMR : DMSO-d₆, δ ppm: Table I.

Compound II : FAB-MS(m/z) : 461[M-H]⁺, 285[M-GlcA-H]⁺, ¹H-NMR : DMSO-d₆, δ ppm: 7.93(2H, d, J=8.5 Hz, H-2', 6'), 6.94(2H, d, J=8.4 Hz, H-3', 5'), 6.99(1H, s, H-8), 6.82(1H, s, H-3), 5.22(1H, d, J=7.4 Hz, GlcA anomeric H), ¹³C-NMR : DMSO-d₆, δ ppm: Table I.

Compound III : FAB-MS(m/z) : 445[M-H]⁺, 269[M-GlcUA-H]⁺, ¹H-NMR : DMSO-d₆, δ ppm : 7.96(2H, d, J=8.6 Hz, H-2', 6'), 6.95(2H, d, J=8.6 Hz, H-3', 5'), 6.87(1H, s, H-8), 6.86(1H, d, J=2.0 Hz, H-6), 6.47(1H, d, J=2.0 Hz, H-3), 5.27(1H, d, J=7.1 Hz, GlcA anomeric H), ¹³C-NMR : DMSO-d₆, δ ppm : Table I.

Compound IV : FAB-MS(m/z) : 461[M-H]⁺, 285[M-GlcA-H]⁺, ¹H-NMR : DMSO-d₆, δ ppm : 8.06(2H, d, J=8.6 Hz, H-2', 6'), 6.92(2H, d, J=8.6 Hz, H-3', 5'), 6.82(1H, s, H-8), 6.28(1H, s, H-3), 4.81(1H, d, J=7.8 Hz, GlcA anomeric H), ¹³C-NMR : DMSO-d₆, δ ppm : Table I.

Compound V : FAB-MS(m/z) : 447[M-H]⁺, 285[M-Glc-H]⁺,

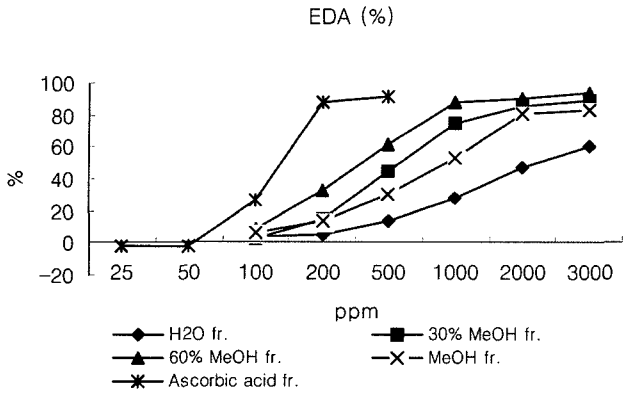


Fig. 2 – The Radical scavenging activities of fractions on DPPH from aerial parts of *Scutellaria baicalensis*.

Table II – Effect from fractions of aerial parts of *Scutellaria baicalensis* on systemic anaphyaxis induced by compound 48/80 in mice

Samples	Dose (mg/kg)	No. of animals	Live	Mortality (%)
Control	-	7	0	100
30% MeOH Fr.	10	7	0	100
	30	7	2	71
	100	7	5	29
60% MeOH Fr.	10	7	0	100
	30	7	3	57
	100	7	4	43
Cromolygate	100	7	3	57

Table III – Effect from compounds of aerial parts of *Scutellaria baicalensis* on systemic anaphyaxis induced by compound 48/80 in mice

Samples	Dose (mg/kg)	No. of animals	Live	Mortality (%)
Control	-	7	0	100
Comp. I	50	7	0	100
Comp. II	50	7	3	57
Comp. III	50	7	0	100
Comp. IV	50	7	5	29
Comp. V	50	7	2	57
Cromolygate	100	7	3	57

Table IV – IC₅₀ values from aerial parts of *Scutellaria baicalensis* on DPPH

Sample	IC ₅₀ (μg/ml)
H ₂ O Fr.	115.05
30% MeOH Fr.	47.79
60% MeOH Fr.	25.21
MeOH Fr.	62.83
Ascorbic acid	9.39

ascorbic acid와 비교하였을 때 60% MeOH 분획, 30% MeOH 분획, MeOH 분획, H₂O 분획순으로 활성이 나타났으며 순으로

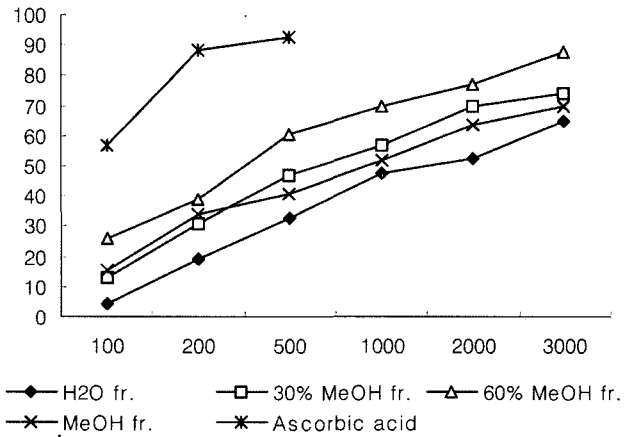


Fig. 3 – Effect from fractions of aerial parts of *Scutellaria baicalensis* on Cu²⁺-induced LDL lipid peroxidation.

Table V – IC₅₀ Value from fractions of aerial parts of *Scutellaria baicalensis* on Cu²⁺-induced LDL lipid peroxidation

Sample	IC ₅₀ (μg/ml)
H ₂ O Fr.	58.86
30% MeOH Fr.	39.62
60% MeOH Fr.	23.60
MeOH Fr.	45.01
Ascorbic acid	5.47

LDL에 대한 과산화지질 억제효과가 우수하였으며 DPPH를 이용한 항산화 활성 시험에서와 같이 60% MeOH 분획, 30% MeOH 분획에서 과산화지질억제 활성이 높게 나타났다. 또한 IC₅₀의 경우 60% MeOH 분획이 23.60 μg/ml로서 ascorbic acid 5.47 μg/ml에 비해 약하나 어느 정도 수준의 억제 작용은 있는 것으로 보였다(Fig. 3, Table V).

전신성 아나필라시스 측정 – 황금 지상부의 30% MeOH과 60% MeOH 분획을 각 10 mg/kg, 30 mg/kg, 100 mg/kg의 3가지 농도에 대하여 각 군당 7마리의 mice로 전신성 아나필라시스 대한 유의성 감소를 실험한 결과 농도에 따라 유의적으로 치사율이 감소하였다. 10 mg/kg의 투여량에서는 control과 같이 아나필라시스의 감소가 나타나지 않았지만 30 mg/kg 투여량에서는 치사율의 감소가 나타났다. 특히 대조약물인 cromolygate와 비교하였을 때 100 mg/kg의 농도에서 30% MeOH 분획, 60% MeOH 분획물에서 대조약물보다 적은 치사율이 나타났으며 이는 30% MeOH 분획물에서 확연하게 드러났다. 이는 cromolygate의 항알러지 효과가 황금 지상부의 30% MeOH, 60% MeOH 분획물에서도 나타남에 따라 우수한 항알러지 효과를 가진다고 볼 수 있다(Table II).

분리된 성분의 항산화 활성

황금 지상부 각각의 분획물에 대해 항산화 활성 실험 결과 우수한 활성을 보인 30% MeOH 분획과 60% MeOH 분획에서 분

리한 5개 compounds의 항산화 활성 측정을 위해 DPPH법에 의한 각각의 radical scavenging activity와 LDL의 지질과산화에 대한 억제 효과를 측정하였다.

DPPH를 이용한 항산화능 측정 - 각 compound의 농도를 25, 50, 100, 200, 500, 1000 ppm으로 조제하여 각각의 compound의 DPPH radical에 대한 scavenging activity를 실험한 결과 일부 compound에서 양성 대조약물로 사용한 L-ascorbic acid와 유사한 radical scavenging activity를 나타내었으며, [compound I (IC₅₀ 62.30 µg/ml) < compound III (IC₅₀ 28.96 µg/ml) < compound IV (IC₅₀ 21.55 µg/ml) < compound V (IC₅₀ 10.75 µg/ml) < compound II (IC₅₀ 2.71 µg/ml)]의 순으로 우수한 radical scavenging activity를 나타내었다(Fig. 4, Table VI).

LDL 산화에 대한 억제효과 측정 - 30% MeOH 분획물, 60% MeOH 분획물에서 분리한 각 compound의 농도를 25, 50, 100, 200, 500, 1000 ppm으로 LDL 지질과산화에 대한 억제활성을 실험한 결과 대조약물인 ascorbic acid와 비교하였을 때 [compound I (IC₅₀ 12.43 µg/ml) < compound IV (IC₅₀ 8.36 µg/ml) < compound V (IC₅₀ 6.82 µg/ml) < compound III (IC₅₀ 5.42 µg/ml) < compound II (IC₅₀ 1.44 µg/ml)]로 우수한 과산화지질억제작용을 나타내었다(Fig. 5, Table VII).

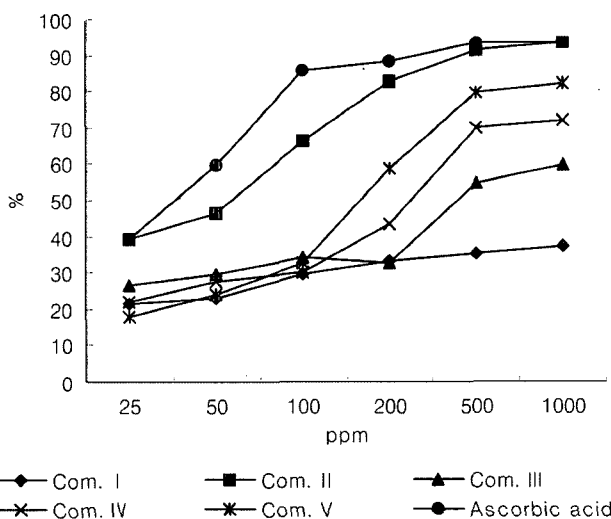


Fig. 4 - The Radical scavenging activities of compound I~V on DPPH.

Table VI - IC₅₀ values from compound I~V against the DPPH radical

Sample	IC ₅₀ (µg/ml)
Com. I	62.30
Com. II	2.71
Com. III	28.96
Com. IV	21.55
Com. V	10.75
Ascorbic acid	0.83

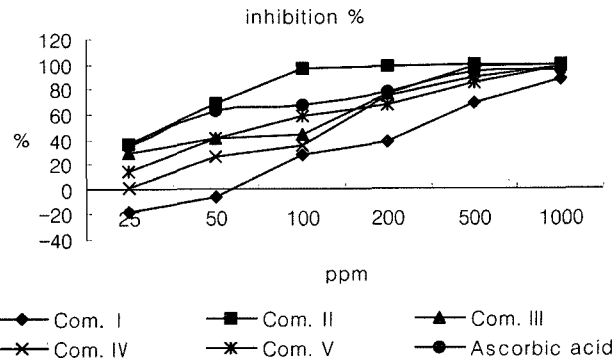


Fig. 5 - Effect from compounds of aerial parts of *Scutellaria baicalensis* on Cu²⁺-induced LDL lipid peroxidation.

Table VII - IC₅₀ Value from compounds of aerial parts of *Scutellaria baicalensis* on Cu²⁺-induced LDL lipid peroxidation

Sample	IC ₅₀ (µg/ml)
Com. I	12.43
Com. II	1.44
Com. III	5.42
Com. IV	8.36
Com. V	6.82
Ascorbic acid	0.85

각 compound를 농도별 25, 50, 100, 200, 500, 1000 ppm으로 조제하여 각각의 compound의 LDL 산화에 대한 억제효과를 측정한 결과 1000 ppm의 고농도에서는 양성대조약물로 사용한 L-ascorbic acid(IC₅₀ 0.85 µg/ml)와 비슷한 저해율을 보였으나 저농도일수록 그 차이는 현저하였다. compound II가 양성대조약물과 유사한 활성을 나타내었다.

분리된 성분의 전신성 아나필라시스 반응 - 황금 지상부의 30% MeOH과 60% MeOH 분획에서 분리된 각 compounds를 각 군당 7마리의 mice에 대하여 50 mg/kg 농도로 경구투여 후 compound 48/80로 유발시킨 전신성 아나필라시스 대한 유의성 감소를 실험한 결과 [compound V < compound II < compound IV]로서 치사율이 낮음을 관찰하였다. 특히 양성대조약물인 cromolygate의 치사율이 57%임에 반해 이들 compounds는 이보다 유사하거나 낮은 치사율을 보였으며, 특히 compound IV의 치사율이 29%를 나타남에 따라 compound 48/80에 의해 유발된 아나필라시스의 억제율이 높고 이는 항알러지 효과가 우수하다고 볼 수 있다(Table III).

결론

황금 지상부의 MeOH 엑스를 탈지한 후 Diaion HP-20을 이용, H₂O, 30% MeOH, 60% MeOH, MeOH 분획을 얻었고 이들 4가지 분획물에 대해서 activity guided fractionation 방법에 따라 DPPH radical에 대한 scavenging activity와 LDL의 lipid

peroxidation을 이용한 TBARS assay로 항산화 활성을 실험하였다. 그 결과 30% MeOH, 60% MeOH 분획에서 항산화효과가 있었으며, 60% MeOH 분획(IC₅₀ 25.21 µg/ml)에서 ascorbic acid(IC₅₀ 9.39 µg/ml)보다는 약하지만 우수한 radical scavenging activity를 보였으며 [H₂O 분획 < MeOH 분획 < 30% MeOH 분획(IC₅₀ 47.79 µg/ml) < 60% 분획(IC₅₀ 25.21 µg/ml)], 또한 과산화지질 실험에 있어서도 ascorbic acid(IC₅₀ 5.47 µg/ml)보다는 약하지만 우수한 수준의 활성[H₂O 분획 < MeOH 분획 < 30% MeOH 분획(IC₅₀ 39.62 µg/ml) < 60% 분획(IC₅₀ 23.60 µg/ml)]을 관찰할 수 있었다. 그리고 전신성 아나필라시스 실험에서 30% MeOH과 60% MeOH의 100 mg/kg 투여량에서 30% MeOH과 60% MeOH의 치사율은 대조약물이 57%인 반면에 이들은 29%와 43%의 낮은 치사율을 보였으며 대조약물인 cromolygate보다 우수한 항알러지 효과를 나타내었다.

우수한 항산화 활성과 항알러지 활성이 관찰된 30% MeOH 분획과 60% MeOH 분획을 gel column chromatography를 실시하여 5개의 화합물을 분리하였다. 30% MeOH Fr.에서 Compound I, II를, 60% MeOH Fr.에서 Compound III, IV, V를 각각 분리하였으며 이들의 물리화학적 성상과 각종 기기분석(MS, ¹H-NMR, ¹³C-NMR) 결과를 통해 Compound I은 apigenin 6-C-α-L-arabinopyranosyl-8-C-β-D-glucopyranoside(isoschaftside), compound II는 scutellarein 7-O-β-D-glucuronopyranoside(scutellarin), compound III은 apigenin 7-O-β-D-glucuronopyranoside, compound IV는 isoscutellarein 8-O-β-D-glucuronopyranoside, compound V는 kaempferol 3-O-β-D-glucopyranoside로 확인 동정하였다.

각각의 성분에 대한 항산화 활성 실험 결과 5가지의 화합물에서 [compound I < compound III(IC₅₀ 28.96 µg/ml) < compound IV(IC₅₀ 21.55 µg/ml) < compound V(IC₅₀ 10.75 µg/ml) < compound II(IC₅₀ 2.71 µg/ml)] 순으로 우수한 radical scavenging activity를 보였으며, 특히 compound II는 ascorbic acid과 유사한 IC₅₀을 나타내며 강력한 활성을 보여주었다. 또한 과산화지질 실험에 있어서도 ascorbic acid(IC₅₀ 0.85 µg/ml)와 거의 동등한 수준의 활성[compound I < compound IV(IC₅₀ 8.36 µg/ml) < compound V(IC₅₀ 6.82 µg/ml) < compound III(IC₅₀ 5.42 µg/ml) < compound II(IC₅₀ 1.44 µg/ml)]을 관찰할 수 있었다.

한편 이들 성분들의 전신성 아나필라시스 반응을 실험한 결과 [compound V < compound II < compound IV]로서 치사율이 낮음을 관찰할 수 있었는데, 특히 compound IV의 치사율은 29%로 양성대조약물인 cromolygate의 57%의 치사율보다도 훨씬 낮은 치사율은 나타남에 따라 우수한 항알러지 효과를 보여주었다. 결과적으로 항산화 활성에서는 compound II가 가장 활성이 강했으며 항알러지 활성에서는 compound IV가 뛰어난 활성이 있음을 알 수 있었다.

이상과 같이 사용되지 않는 황금 지상부로부터 기존의 지하부에서 분리된 성분들이 분리됨과 동시에 이들이 우수한 항산화 활성 및 항알러지 효과를 가지고 있고, 또한 분획 레벨에서의 활성이 성분 못지않게 우수하게 나타나 앞으로 황금 지상부의 성분과 엑스를 이용한 천연항산화물질 및 항알러지의 의약자원으로 개발가능성이 높다고 사료된다.

문 헌

- 1) 배기환 : 한국의 약용식물, 교학사, p 446 (2000).
- 2) 한국약용식물학 연구회 : 종합 약용식물학, 학창사, p 278 (2005).
- 3) 손성연 : 신농본초경, 의도한국사영인 2, p 13 (2002).
- 4) 이상인, 안덕균 : 본초학, 영림사, p. 178 (1992).
- 5) Miyaichi, Y., Kizu, H., Tomimori, T. and Lin, C. Ching : Studies on the constituents of *Scutellaria* species. XI. On the flavonoid constituents of the aerial parts of *Scutellaria indica* L. *Chem. Pharm. Bull.* **37**, 794 (1989).
- 6) Yuldashev, M. P., Batirov, E. K. and Malikov, V. M. : Flavonoids of the aerial parts of *Scutellaria glabrata*. *Khimiya Prirodnykh Soedinenii* **3**, 471 (1993).
- 7) Bruno, M., Bondi, M. L., Rosselli, S., Piozzi, F. and Servettaz, O. : Minor diterpenoids from *Scutellaria polyodon*. *Journal of Natural Products* **63**, 1032 (2000).
- 8) Torre, M. C., Rodriguez, B., Bruno, M., Vassallo, N., Bondi, M. L., Piozzi, F. and Servettaz, O. : Neoclerodane diterpenoids from *Scutellaria polyodon*. *Journal of Natural Products* **60**, 1229 (1997).
- 9) Zhang, Y., Guo, Y., Ageta, H., Harigaya, Y., Onda, M., Hashimoto, K., Ikeya, Y., Okada, M. and Maruno, M. : Studies on the constituents of aerial parts of *Scutellaria planipes*. *Journal of Chinese Pharmaceutical Sciences* **7**, 100 (1998).
- 10) Yuldashev, M. P., Karimov, A. and Yu, S. : Flavonoids of *Scutellaria ocellata* and *S. nepetoides*, Yunusov institute of the chemistry of plant substances. *Chemistry of Natural Compounds* **37**, 431 (2002).
- 11) Ersoz, T., Harput, U. S., Saracoglu, I., Calis, I. and Ogihara, Y. : Phenolic compounds from *Scutellaria pontica*. *Turkish Journal of Chemistry* **26**, 581 (2002).
- 12) Ersoz, T., Tasdemir, D. and Calis, I. : Phenylethanoid glycosides from *Scutellaria galericulata* *Turkish Journal of Chemistry* **26**, 465 (2002).
- 13) Bruno, M., Rosselli, S., Maggio, A., Piozz, F., Scaglioni, L. and Servettaz, O. : Scuteparvin, a new neoclerodane diterpenoid from *Scutellaria parvula*. *Biochemical Systematics and Ecology* **32**, 755 (2004).
- 14) Horvath, C. R., Martos, P. A. and Saxena, P. K. : Identification and quantification of eight flavones in root and shoot tissues of

- the medicinal plant Huang-qin (*Scutellaria baicalensis* Georgi) using high-performance liquid chromatography with diode array and mass spectrometric detection. *Journal of Chromatography* **1062**, 199 (2005).
- 15) Skaltsa, H. D., Lazari, D. M., Mavromati, A. S. and Tiligada, E. A. : Composition and antimicrobial activity of the essential oil of *Scutellaria albida* ssp. *albida* from Greece, Constantinidis, Theophanis A. *Planta Medica* **66**, 672 (2000).
- 16) Shang, Y., Cheng, J., Qi, J. and Miao, H. : Scutellaria flavonoid reduced memory dysfunction and neuronal injury caused by permanent global ischemia in rats. Institute of Chinese Materia Medica. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior* **82**, 67 (2005).
- 17) Hatano, T., Edamatsu, R., Hiramatus, M., Mori, A., Fujita, Y., Yasuhara, T., Yoshida, T. and Okuda, T. : Effects of the interaction of tannins with co-existing substances. IV. Effects of tannins and related polyphenols on superoxide anion radical, and on 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl radical. *Chem. Pharm. Bull.* **37**, 2016 (1989).