

백지의 항산화성 및 생리기능

이양숙¹ · 장상민² · 김남우^{1†}

¹대구한의대학교 한방생약자원학과

²남성고등학교

Antioxidative Activity and Physiological Function of the *Angelica dahurica* Roots

Yang-Suk Lee¹, Sang-Min Jang² and Nam-Woo Kim^{1†}

¹Dept. of Herbal Biotechnology, Daegu Haany University, Gyeongbuk 712-715, Korea

²Namsung High School, Jeonbuk 570-974, Korea

Abstract

We analyzed the contents of polyphenol compounds, the antioxidant activity and the physiological activity to investigate the functional effects of extracts from *Angelica dahurica* by the reflux water extraction (RW), reflux ethanol extraction (RE) and pressure heating water extraction (PW). The content of phenolic compounds of PW was the highest at 156.30 mg/g, and those of RW and RE were 31.69 mg/g and 26.34 mg/g, respectively. The electron donating ability (EDA) were in the range of 30.56%~52.74% and superoxide dismutase (SOD) like activity were 10.96%~23.24% at 1,000 µg/mL. The nitrite scavenging ability of PW at pH 1.2 was 61.47%, higher than those of RW (16.81%) and RE (17.78%). The xanthine oxidase inhibitory were 90.91% and tyrosinase inhibitory rate of RE was the highest (51.71%) at the concentration of 5,000 µg/mL. All extracts were increased with increments of the extract concentrations.

Key words: *Angelica dahurica*, polyphenols, electron donating ability, SOD like activity, nitrite scavenging ability, xanthine oxidase, tyrosinase

서 론

호기성 생물체들은 산소를 전자수용체로 하는 호흡을 통해 에너지를 획득한다. 이러한 생명체에 산소는 생명 유지에 절대적으로 필요한 물질이지만, 대사과정의 불균형, 화학물질, 공해 등과 같은 물리·화학적 요인으로 인해 H₂O₂(hydrogen peroxide), O₂⁻(superoxide anion radical), ^1O₂(singlet oxygen), -OH(hydroxy radical) 등과 같은 반응성이 높은 활성 산소(reactive oxygen)로 전환된다. 이 활성산소들은 강한 산화력으로 생체막의 불포화지방산을 산화시켜 지질과 산화물의 축적과 조직의 과산화적 손상을 초래함으로써 효소의 불활성화, 세포노화, 동맥경화, 당뇨병, 뇌졸중, 암과 같은 질병과 DNA합성 억제, 광합성 저해, 엽록체 파괴 등의 심각한 생리적 장애를 일으킨다(1~3). 그러므로 생체내의 free radical 생성을 막는 것이 질병 예방을 위한 중요한 과제 중 하나이다.

천연식물에 함유된 폐놀성 화합물들은 phenolic acid, phenylpropanoid류, flavonoid류 등이 대부분이며, 연쇄반응 중에 alkyl radical이나 alkylperoxy radical에 수소를 공

여하여 그 radical을 제거함으로써 산화를 억제하는 작용을 가진 물질이 되며(4), 항균, 항알러지, 항산화, 항암 및 심장질환, 충치 등의 예방에 효과가 있는 것으로 보고되고 있다(5~8).

오랫동안 안전하게 사용해 왔던 천연약물인 한약이나 전승약물로서의 생약 또는 민간약은 아직도 고전적인 기재나 계승된 구전에 의거하며, 유효성분이나 독성 등이 뚜렷이 밝혀지지 않은 상태에서 치료제로 이용되고 있는 것이 많다. 이러한 천연물 중에는 매우 적은 양으로도 현저한 활성을 나타낼 수 있는 각종 생리활성 물질을 내포하고 있는 경우가 있다. 따라서 생리활성 물질을 천연물에서 탐색 분리하여 항균, 항암, 면역력 강화 등 생리활성에 유용하고자 하는 연구가 이루어지고 있다(9,10). 특히 유용 식용식물 및 생약제재 등의 천연물로부터 특정성분을 추출하여 천연 항산화제나 식품 및 화장품 첨가제 및 보존제 등을 개발하려는 연구가 활발히 진행되고 있다(11,12).

한방 생약자원 중 하나인 백지(白芷)는 가을에 꽃대가 올라오기 전에 채취한 구렁대(*Angelica dahurica*)의 뿌리를 전조한 것으로 산형과(Umbelliferae) *Angelica*속의 다년생

*Corresponding author. E-mail: tree@dhu.ac.kr
Phone: 82-53-819-1438, Fax: 82-53-819-1272

초본이다. 백지는 진정(鎮靜), 진경(鎮痙) 효과가 있어 감기, 두통, 어지럼증 및 치통 등에 사용하고, 풍한을 없애고 어혈을 풀어 혈액순환을 촉진시켜 안면신경통, 산전산후의 혈뇨, 하혈 등의 치료에 이용된다. 또한 고름을 없애고 새 살이 잘 돋아나게 하여 음과 벼침, 치루, 기미와 주근깨 흉터 등의 피부질환 치료 등에도 효과적으로 사용되고 있는 방향성 생약재 중 하나이다(13-15).

백지에는 다량의 당과 무기질을 함유하며(16), 20여종 이상의 coumarin 성분과 imperatorin, angelicosin, anomalin(17-22) 및 약 0.07%의 정유성분을 함유하는 것으로 보고되어 있다(13). 이러한 약리적 성분 및 치료제로서의 기능을 지닌 백지에 대한 연구로는 간의 약물대사효소 억제 및 대사저해 활성(23), acetylcholinesterase 저해 활성(24), 항혈전(25), 콜라겐 생성촉진(22), 백혈병(26) 등에 효과가 있다고 보고된 바 있다. Schinella 등(27)은 기생충인 *Trypanosoma*에 대하여 40%의 억제율을 보인다고 하였으며, 포도상구균(28)과 식물병원균에 대하여 항균활성을 보고되었다. 그리고 Kwon 등(29)은 항균활성을 나타내는 6종류의 coumarine과 ferulic acid의 화학적 구조에 대하여 연구한 바 있다. 이와 같이 유용한 한방생약자원인 백지는 다양한 성분을 함유하며, 항혈전, 콜라겐 생성, 항균 등과 같은 약리적 효과가 알려져 있음에도 불구하고, 백지에 관한 항산화활성이나 생리활성에 관한 기초 연구 자료는 미흡하다.

본 연구는 한방에서 약용식물로 사용되는 백지를 새로운 기능성 소재로 활용하기 위한 연구의 일환으로 환류 추출방법과 가압 열수 추출방법을 이용, 추출하여 폴리페놀 화합물의 함량을 측정하고, 전자공여능, SOD 유사활성, 아질산염 소거능 등을 조사하였다. 그리고 xanthine oxidase 및 tyrosinase 저해 활성을 측정하여 백지의 생리학적 기능성에 대하여 조사하였다.

재료 및 방법

실험 재료

본 실험 재료인 백지는 2004년 7월에 경북 경산의 한약재 생산 농가에서 구릿대(*A. dahurica*)를 채집하여 뿌리만 따로 분리하였고, 이를 세척하고 물기를 제거한 후 잘게 잘라 -75°C에서 보관하면서 사용하였다.

추출물 제조

백지의 환류 물 추출물(reflux water extract: RW)과 환류 에탄올 추출물(reflux ethanol extract: RE)은 환류냉각관을 부착시킨 둥근플라스크에 생체 시료 당 10배에 해당되는 증류수 및 70% 에탄올을 넣고 80°C와 60°C의 수욕 상에서 3시간씩 3회 반복 추출하였다. 백지의 가압 열수 추출물(pressure heating water extract: PW)은 시료의 30배 분량의 증류수를 넣고 압력 추출기(KSNP B1130, Kyungseo Korea)로

110°C, 1.5 기압 하에서 3시간 동안 추출하였다. 모아진 추출액은 filter paper로 여과한 다음, rotatory vacuum evaporator(Eyela 400 series, Japan)로 감압농축한 후에 동결건조(FD 5510 SPT, Ilshin, Korea)하여 분말로 제조하였으며, 추출물은 일정 농도로 희석하여 폴리페놀 및 항산화성과 생리활성 측정을 위한 시료로 사용하였다.

총 폴리페놀 화합물 함량

백지 추출물은 동결 건조된 시료를 DW에 10 mg/mL의 농도로 희석하여 Folin-Denis(30,31)법으로 측정하였다. 즉 시료를 1 µg/mL 농도로 증류수에 녹인 다음, Folin-Ciocalteu's phenol reagent 0.2 mL를 첨가한 후, vortex하여 3분간 실온에서 방치한 다음, Na₂CO₃ 포화용액 0.4 mL를 가하여 혼합하였다. 여기에 증류수를 1.4 mL 가하고 실온에서 1시간 동안 반응시킨 후 UV/VIS spectrophotometer를 사용하여 725 nm에서 흡광도를 측정하였다. 총 폴리페놀 화합물은 tannic acid를 이용하여 최종농도가 0, 37.5, 75, 150, 300 µg/mL가 되도록 취하여 위와 같은 방법으로 725 nm에서 흡광도를 측정하여 표준곡선으로부터 백지 추출물의 총 폴리페놀 화합물 함량을 구하였다.

전자공여능 측정

백지 추출물의 전자공여능 측정은 Blois의 방법(32)에 준하여 백지 추출물의 DPPH(1,1-diphenyl-2-picryl hydrazyl)에 대한 수소공여 효과로 측정하였다. 일정 농도의 시료 2 mL에 2×10^{-4} M DPPH용액(dissolved in 99% ethanol)을 1 mL 가하고, vortex mixing하여 37°C에서 30분간 반응시켰다. 이 반응액을 517 nm에서 흡광도를 측정하였으며 전자공여능은 시료 첨가 전·후의 흡광도 차이를 백분율(%)로 나타내었다.

SOD 유사활성 측정

백지 추출물의 SOD 유사활성은 Marklund과 Marklund(33)의 방법에 따라 과산화수소(H₂O₂)로 전환시키는 반응을 촉매하는 pyrogallol의 생성량을 측정하여 SOD 유사활성으로 나타내었다. 즉, 일정 농도의 시료 0.2 mL에 pH 8.5로 보정한 tris-HCl buffer(50 mM tris [hydroxymethyl] amino-methane + 10 mM EDTA, pH 8.5) 2.6 mL와 7.2 mM pyrogallol 0.2 mL를 첨가하여 25°C에서 10분간 반응 후, 1 N HCl 0.1 mL를 가하여 반응을 정지시켰다. 반응액 중 산화된 pyrogallol의 양은 420 nm에서 흡광도를 측정하였다. SOD 유사활성은 백지 추출물의 첨가구와 무첨가구 사이의 흡광도의 차이를 백분율(%)로 나타내었다.

아질산염 소거능 측정

아질산염(NaNO₂) 소거 작용은 Kato 등(34)의 방법에 따라 다음과 같이 측정하였다. 1 mM의 NaNO₂ 용액 2 mL에 일정 농도의 백지 추출물을 첨가하고, 여기에 0.1 N HCl(pH 1.2)과 0.2 M citrate buffer를 사용하여 반응용액의 pH를

각각 1.2, 3.0, 6.0으로 조정한 후, 반응용액의 부피를 10 mL로 하여 37°C에서 1시간 동안 반응시킨 후 각각 1 mL씩 취하였다. 여기에 2% acetic acid를 5 mL를 첨가하고, Griess reagent(A:B=1:1, A: 1% sulfanilic acid in 30% acetic acid, B: 1% naphthylamine in 30% acetic acid) 0.4 mL 첨가하여 vortex mixing 후, 실온에서 15분간 반응시켰다. 반응시킨 시료를 520 nm에서 흡광도를 측정하였고, 대조구는 Griess reagent 대신 증류수 0.4 mL를 가하여 상기와 동일한 방법으로 측정하여 백지 추출물의 첨가구와 무첨가구 사이의 흡광도 차이를 백분율(%)로 나타내었다.

Xanthine oxidase 저해 활성

Xanthine oxidase 저해 활성 측정은 Stirpe와 Corte(35)의 방법에 따라 실시하였다. 각 시료용액 0.1 mL와 0.1 M potassium phosphate buffer(pH 7.5) 0.6 mL에 xanthine 2 mM을 녹인 기질액 0.2 mL를 첨가하였다. 여기에 xanthine oxidase(0.2 U/mL) 0.1 mL를 가하여 37°C에서 5분간 반응시킨 후 1 N HCl 1 mL를 가하여 반응을 정지시킨 후, 반응액 중에 생성된 uric acid를 흡광도 292 nm에서 측정하였다. 백지 추출물에 대한 xanthine oxidase 저해 활성은 시료용액의 첨가구와 무첨가구의 흡광도 감소율을 백분율(%)로 나타내었다.

Tyrosinase 저해 활성

Tyrosinase 저해 활성은 Yagi 등(36)의 방법에 따라 측정하였다. 0.175 M sodium phosphate buffer(pH 6.8) 0.5 mL에 10 mM L-DOPA를 녹인 기질액 0.2 mL와 시료용액 0.1 mL를 혼합한 용액에 mushroom tyrosinase(110 U/mL) 0.2 mL 첨가하여 25°C에서 2분간 반응시킨 후, 생성된 DOPA chrome을 흡광도 475 nm에서 측정하였다. Tyrosinase 저해 활성은 시료용액의 첨가구와 무첨가구의 흡광도 감소율을 백분율(%)로 나타내었다.

통계처리

본 연구의 실험은 독립적으로 3회 이상 반복 실시하여 실험결과를 평균±표준편차로 나타내었다. 실험군간의 유의성을 검정하기 위하여 SPSS 12.0 for windows program을 이용하여 ANOVA test를 행한 후 유의성이 있는 경우, $p < 0.05$ 수준에서 Duncan's multiple range test를 실시하였다.

결과 및 고찰

총 폴리페놀 화합물 함량

백지 추출물에는 생리활성에 영향을 주는 것으로 알려진 폴리페놀이 26.34 mg/g ~ 156.30 mg/g 함유된 것으로 분석되었다(Fig. 1). 가압 열수 추출물인 PW에서 156.30 ± 1.74 mg/g으로 가장 많았으며, 환류 물 추출물인 RW는 31.69 ± 1.08 mg/g, 환류 에탄올 추출물인 RE에서는 26.34 ± 0.16

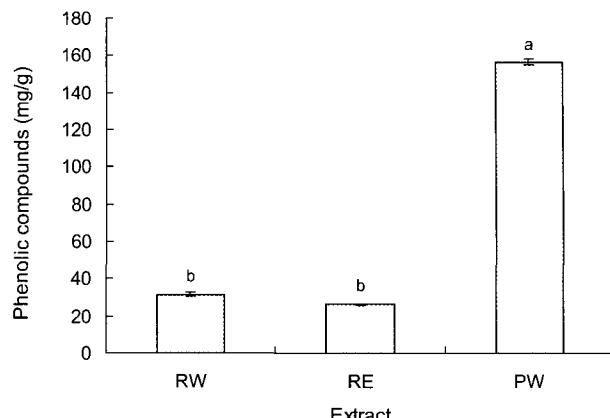


Fig. 1. Contents of total phenolic compounds by extraction methods and solvents from *A. dahurica* roots.

RW: Reflex water extract, RE: Reflex ethanol extract, PW: Pressure heating water extract. Bars within different letters are significantly different at $p < 0.05$ by Duncan's multiple range test.

mg/g의 폴리페놀 화합물을 함유하였다. 즉 110°C의 고온에 높은 압력을 이용하여 추출한 가압 열수 추출물인 PW는 RW와 RE보다 5배~6배 높은 폴리페놀을 함유하였다.

본 실험 결과를 Cha 등(37)의 꾸지뽕 나무 물 추출물의 폴리페놀 함량이 뿌리 13.1 mg/g이라는 보고와 율피 57.6 mg/g, 칡뿌리 21.0 mg/g, 그리고 호두에서 20.6 mg/g을 함유한다는 Lee와 Lee(38)의 결과와 비교하면, 백지의 PW 추출물의 폴리페놀 함량이 매우 높았으며, RW와 RE는 율피보다는 낮았으나 칡과 호두보다는 높았다. Moon 등(39)의 상황버섯(17.93 mg/g), 갈근(5.50 mg/g), 당귀(0.52 mg/g) 등의 결과와 비교하면, 백지 추출물이 더 많은 폴리페놀을 함유하는 것으로 분석되었다. 특히 동일과에 속하는 당귀와 비교하면 50배~300배 이상 높은 것으로 할 수 있다. 그러므로 백지는 항산화 효능을 나타내는 폴리페놀을 다량 함유하고 있어 천연 항산화제로서 이용가치가 높은 것으로 생각되며, 특히 가압 열수 추출방법을 이용하면 더욱 효과적으로 폴리페놀을 추출할 수 있다.

전자공여능

백지 추출물을 농도에 따라 전자공여능을 측정한 결과 1,000 µg/mL의 농도에서 30.56%~52.74%로 나타났다(Fig. 2). RW에서는 9.46%~52.74%로 가장 높은 전자공여능을 나타내었으며, RE에서는 3.38%~33.45%, 그리고 가압 열수 추출물인 PW에서는 20.43%~30.56%이었다. 백지 추출물은 농도가 증가함에 따라 유의적으로 전자공여능도 증가하였다($p < 0.05$). 100 µg/mL 농도에서 PW의 전자공여능은 가장 높았으나, 1,000 µg/mL의 농도에서는 RW가 가장 높았으며 PW와 RE는 유사한 효과를 나타내었다.

본 실험 결과는 1,000 µg/mL 농도의 민들레 뿌리 물 추출물에서 50% 이상의 전자공여능을 나타낸다는 결과(40)와 Kim 등(41)의 국내산 생약 추출물의 300 µg/mL의 농도에서

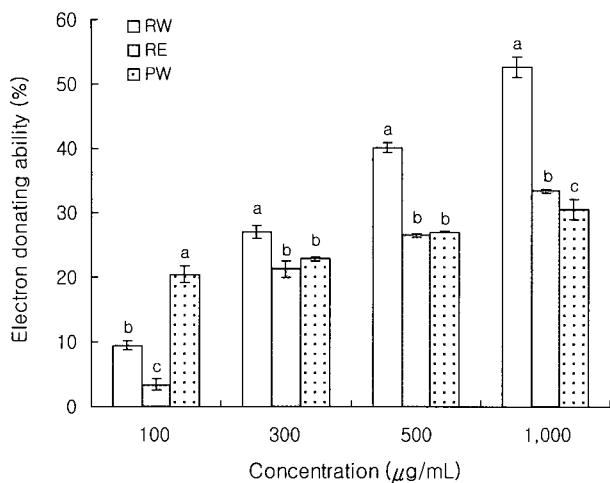


Fig. 2. Electron donating ability of various extracts from *A. dahurica* roots.

The abbreviations of introductory remarks are the same as in Fig. 1. Bars within different letters are significantly different at $p<0.05$ by Duncan's multiple range test.

작약(86.6%), 목단(80.4%) 등의 전자공여 효과를 나타낸다는 보고와 비교하면, 백지 추출물의 전자공여능은 낮다고 할 수 있다. 그러나 약용식물의 메탄올 추출물에 대한 전자공여능을 측정한 Moon 등(39)은 백지에서 11.49%의 전자공여능을 나타낸다는 결과와 비교하면, 본 실험의 환류 물 추출물의 전자공여능이 4.5배 이상 높았다. 또한 당귀(13.71%), 갈근(18.38%), 감초(39.26%) 등과 비교하여도 백지 추출물의 전자공여능이 더 높은 것으로 분석되었다.

SOD 유사활성능

백지 추출물의 SOD 유사활성능을 농도에 따라 측정한 결과 RE에서는 8.48%~23.24%였으며, RW에서는 6.28%~15.86%, 그리고 PW에서는 1.29%~10.96%이었으며, 추출물의 농도가 증가함에 따라 SOD 유사활성능도 유의적으로 증가하였다($p<0.05$)(Fig. 3). 백지에서 환류 에탄올 추출물인 RE가 가장 높은 SOD 유사활성 효과를 나타내었으며 PW보다 2배 이상 높은 것으로 나타났다. 이는 Lee 등(42)의 싸리 추출물과 Jung 등(43), An과 Lee(44) 등에서 에탄올 추출물이 더 높은 SOD 유사활성능을 나타낸다는 결과와 일치하였다.

본 실험 결과를 한국산 약용식물을 대상으로 한 Lim 등(45)의 감초(35.63%), 인진(25.40%), 황기(23.13%), 천궁(18.47%) 등의 SOD 유사활성에 대한 결과와 비교하면, 1,000 $\mu\text{g/mL}$ 농도의 환류 에탄올 추출물(23.24%)의 SOD 유사활성이 감초와 인진보다는 낮았으나, 백지(17.67%), 맷문동(10.53%), 만삼(10.73%)보다 높았다. 또한 An과 Lee(44)의 산사자 물 추출물과 에탄올 추출물이 12% 미만의 활성을 나타낸다는 결과와 비교하면, 백지가 기존에 보고된 여러 종류의 천연물보다 더 높은 활성도를 갖는다고 할 수 있다. 따라서 백지 추출물은 항산화효과가 높은 천연차원으

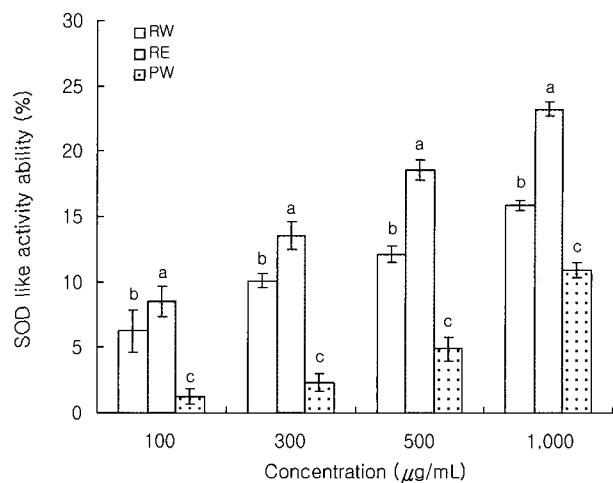


Fig. 3. Superoxide dismutase (SOD) like activity of various extracts from *A. dahurica* roots.

The abbreviations of introductory remarks are the same as in Fig. 1. Bars within different letters are significantly different at $p<0.05$ by Duncan's multiple range test.

로 이용이 가능할 것이다.

아질산염 소거능

낮은 산성조건에서 쉽게 발암성 물질인 nitrosamine을 생성하는 아질산염에 대해 알아보고자 백지 추출물을 상이한 pH 조건하에서 100~1,000 $\mu\text{g/mL}$ 의 농도에서 아질산염 소거능을 측정하였다(Table 1).

pH 1.2에서 RW는 1.36%~16.81%, RE는 3.59%~17.78%, PW는 15.68%~61.47%의 아질산염 소거능을 나타내어 가압 열수 추출물인 PW가 환류 추출물인 RW와 RE와 비교하여 3배~11배 이상 높은 아질산염 분해효과를 나타내었다.

Table 1. Nitrite scavenging ability of various extracts from *A. dahurica* roots at pH

	Concentration ($\mu\text{g/mL}$)	Extract ¹⁾		
		RW	RE	PW
pH 1.2	100	1.36±1.03 ^{2)c3)}	3.59±1.05 ^b	15.68±1.21 ^a
	300	3.34±1.27 ^c	7.17±1.27 ^b	32.17±1.29 ^a
	500	8.91±1.05 ^b	8.43±1.02 ^b	35.50±0.53 ^a
	1,000	16.81±0.99 ^b	17.78±0.80 ^b	61.47±1.14 ^a
pH 3.0	100	NA ⁴⁾	NA	18.98±0.93
	300	1.79±0.77 ^b	NA	33.15±0.75 ^a
	500	1.88±0.96 ^c	4.17±0.65 ^b	38.42±0.00 ^a
	1,000	13.00±0.43 ^b	14.04±1.19 ^{ab}	54.09±0.14 ^a
pH 6.0	100	NA	NA	NA
	300	1.34±0.48	NA	NA
	500	3.18±1.21	2.73±1.27	2.99±0.29
	1,000	6.58±1.28 ^a	5.32±0.66 ^{ab}	3.68±0.29 ^b

¹⁾The abbreviations of introductory remarks are the same as in Fig. 1.

²⁾All values are mean±SD of triplicate determinations.

³⁾Value with different superscripts within the column are significantly different at $p<0.05$ by Duncan's multiple range test.

⁴⁾NA is not activated.

pH 3.0에서는 RW 1.79%~13.00%, RE 4.17%~14.04%였으며, PW에서는 18.98%~54.09%로 환류 추출물인 RW와 RE의 pH 1.2 조건의 아질산염 소거효과보다 높은 것으로 나타났다. pH 6.0의 조건에서는 RW에서는 1.34%~6.58%, RE에서는 2.73%~5.32% 그리고 PW에서는 2.99%~3.68%의 아질산염 소거능을 나타내는 것으로 분석되었다. 백지의 각 추출물은 농도가 증가함에 따라 아질산염 소거능도 유의적으로 증가하였으며($p<0.05$), pH가 낮은 조건에서는 가압 열수 추출물의 소거능이 더 높았으나 pH 6.0으로 높아진 경우에는 모든 추출물에서 유사한 아질산염 소거능을 나타내었다.

pH 1.2의 조건에서 상황(90.20%), 감초(68.52%), 당귀(57.72%), 갈근(54.94%), 천궁(50.95%) 등의 결과(39)와 비교하면, 상황이나 감초보다는 낮았으나 백지의 PW 추출물에서는 당귀, 갈근, 천궁보다 높은 소거능을 나타내었다. 그리고 Kim 등(46)의 팽이버섯, 하수오, 오미자, 행인 등이 20% 이하의 소거능을 나타내었다는 결과와 비교하면 백지는 높은 아질산염 소거능을 갖는다고 할 수 있다.

pH의 변화에 따른 효과에서는 pH가 높아질수록 아질산염 소거능이 감소한다는 Kim 등(46)과 Lee 등(42)의 결과와 일치하였으며, 아질산염 소거작용의 경향과도 일치하여 위장 내의 낮은 pH 조건하에서 nitrosamine 생성을 효과적으로 억제할 수 있음을 알 수 있다(47,48). 그러므로 아질산염 소거작용이 우수한 백지를 아질산염 및 아민이 함유되어 있는 식품과 함께 섭취 및 가공한다면 nitrosamine의 생성을 효과적으로 억제함과 동시에 높은 산화방지 효과도 기대할 수 있을 것이다.

Xanthine oxidase 저해 활성

Xanthine oxidase(XO)는 생체내의 purine 대사에 관여하는 효소로서, xanthine 또는 hypoxanthine을 산화시켜 urea을 형성하게 한다. 결정화된 urea가 혈장내에 증가되면 골절에 축적되어 염증을 일으키게 되면 심한 통증을 유발하는 통풍으로 되고, 신장에 침착되면 신장질환을 일으키게 된다(49~51). 그리고 XO는 분자상의 산소를 수소 수용체로 이용하여 xanthine을 요산형으로 산화하는 반응을 촉매한다. 따라서 XO의 저해 효과는 free radical의 생성을 억제하므로 항산화, 노화 및 항암 등과 연관되어 생리기능상 중요한 효소라고 할 수 있다.

백지 추출물의 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 에서 5,000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 의 농도로 XO 저해 활성을 측정한 결과는 Fig. 4에 나타내었다. 환류물 추출물인 RW에서는 4.99%~90.32%였으며, PW는 42.23%~85.92% 그리고 환류 에탄올 추출물인 RE에서는 45.1%~90.91%로 가장 높은 XO 저해 효과를 나타내었으며 모든 추출물은 농도가 높아짐에 따라 XO 저해 활성이 증가하였다($p<0.05$).

본 실험 결과는 Moon과 Lee(52)의 1,000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 농도의 잡일 열수 추출물이 82.9%라는 보고와 윤피의 열수 물 추출물은 70%, 에탄올 추출물에서는 63%를 나타낸다는 Jung 등

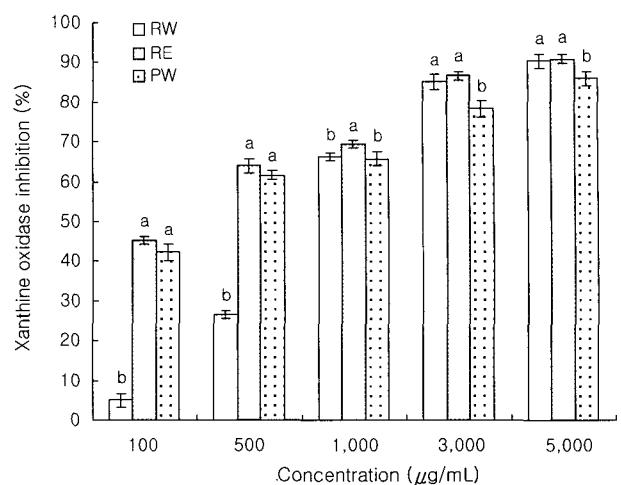


Fig. 4. Xanthine oxidase inhibition of various extracts from *A. dahurica* roots.

The abbreviations of introductory remarks are the same as in Fig. 1. Bars within different letters are significantly different at $p<0.05$ by Duncan's multiple range test.

(43)의 결과와 비교하면 백지의 XO 저해율이 낮다고 할 수 있다. 그러나 An과 Lee(44)의 5,000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 의 농도에서 산사자의 추출물이 15.2%~16.2%라는 결과와 비교하면, 백지가 5배 이상의 높은 저해 효과를 나타내었다. 그리고 Yeo 등(53)이 녹차의 XO 저해율이 89.2%~93.2%라는 보고와 유사한 결과를 나타내었으며, 홍차의 78.7%보다는 높았다. 따라서 한방 생약재로 사용되고 있는 백지의 XO 저해 활성은 매우 높은 것으로 분석되었으며, 한방의 진정, 진경과 같은 진통 완화와 감기 등의 증상의 처방에 효과가 있음을 알 수 있다.

Tyrosinase 저해 활성

백지 추출물의 농도에 따른 tyrosinase 저해 활성을 측정한 결과 RE에서 1.67%~51.71%로 가장 높은 저해 활성을 나타내었으며 RW에서는 2.80%~25.27%, 그리고 PW에서는 7.74%~18.74%를 나타내는 것으로 분석되었다(Fig. 5). 가압 열수 추출물인 PW는 100~500 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 의 농도에서는 다른 추출물에 비해 높은 저해율을 나타내었으며, 5,000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 의 농도에서는 환류 에탄올 추출물인 RE에서 51.71%로 RW와 PW보다 높은 저해효과를 나타내었다.

본 실험 결과를 Choi 등(54)의 마황 96%, 연교 54% 그리고 감초에서 52%의 tyrosinase 저해율을 나타낸다는 결과와 Jung 등(55)의 계피(81%), 모과(66%), 그리고 상백피(63%) 등의 결과와 비교하면 백지의 tyrosinase 저해율이 낮았으나, 인삼(27%), 갈근(25%), 산수유(39%), 지모(4%), 두충(17%), 택사(5%), 그리고 복령(0.4%) 등(54,55)과 비교하면 높은 tyrosinase 저해 활성을 나타낸다고 할 수 있다.

이상의 결과에서 백지는 높은 tyrosinase 저해를 나타내므로 피부의 melanin 생성을 촉매하는 tyrosinase 효소를 저해하는데 효과적이며, 미백효과를 나타내는 기능성 화장품 원료 및 식품의 효소적 갈변화를 방지하는 기능성 제품으

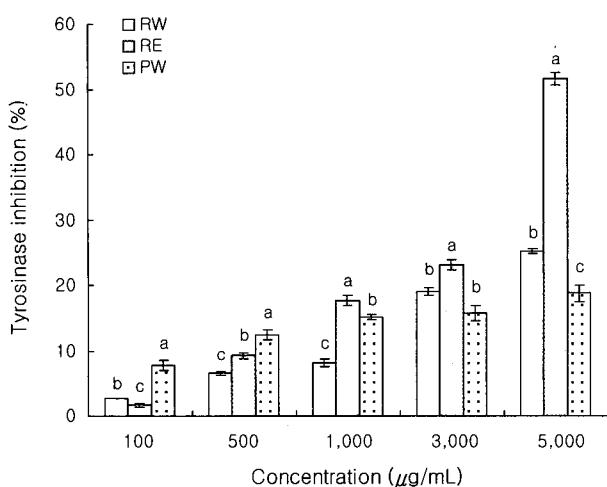


Fig. 5. Tyrosinase inhibition of various extracts from *A. dahurica* roots.

The abbreviations of introductory remarks are the same as in Fig. 1. Bars within different letters are significantly different at $p<0.05$ by Duncan's multiple range test.

로 활용될 수 있을 것으로 생각된다.

요 약

한방에서 생약재로 사용되는 백지를 새로운 기능성 소재로 활용하기 위한 연구의 일환으로 환류 추출방법 가압 열수 추출방법으로 물과 에탄올을 용매로 추출하여 각 추출물에 대한 폴리페놀, 전자공여능, SOD 유사활성능, 아질산염 소거능, xanthine oxidase 및 tyrosinase 저해 활성을 측정하여 백지의 생리활성에 대하여 분석하였다. 백지 추출물의 폴리페놀 함량은 26.34~156.30 mg/g으로 가압 열수 추출물인 PW가 환류 추출물보다 5배 이상 많이 함유된 것으로 분석되었다. 전자공여능은 1,000 $\mu\text{g/mL}$ 농도에서 30.56%~52.74%로 환류 물 추출물인 RW가 가장 높았으며, SOD 유사활성능은 10.96%~23.24%로 RE가 PW보다 2배 이상 높은 활성을 나타내었다. 아질산염 소거능은 pH 1.2의 1,000 $\mu\text{g/mL}$ 의 농도에서 16.81%~61.47%로 PW에서 가장 높은 소거효과를 나타내었으며 pH 3.0에서도 54.09%로 RW와 RE보다도 3배 이상의 높은 아질산염 소거능을 나타내었다. Xanthine oxidase 저해 활성은 5,000 $\mu\text{g/mL}$ 농도에서 85.92%~90.91%로 RW가 가장 높았으며, RE도 유사한 저해활성을 나타내었다. Tyrosinase 저해 활성은 18.74%~51.71%로 RE에서 가장 높았다. 에탄올을 용매로 이용한 RE는 SOD 유사활성능과 tyrosinase 저해 활성이 다른 추출물에 비해 높은 것으로 나타났으며, 가압 열수 추출물인 PW는 고온과 고압으로 가장 많은 폴리페놀이 추출되었으며, 아질산염 소거능도 매우 우수한 것으로 분석되었다. 그러므로 백지는 다량의 폴리페놀과 우수한 생리활성을 나타내므로 천연 항산화제 기능성 제품을 위한 원료로서 유용한 한방

생약자원으로 생각된다.

감사의 글

본 연구는 산업자원부 지역혁신센터사업(대구한의대학교 한방생명자원연구센터)의 지원에 의하여 이루어진 것임.

문 헌

- Hammond B, Kontos HA, Hess ML. 1985. Oxygen radicals in the adult respiratory distress syndrome, in myocardial ischemia and reperfusion injury, and in cerebral vascular damage. *Can J Physiol Pharmacol* 63: 173-187.
- McCord JM. 1987. Oxygen-derived radicals: a link between reperfusion injury and inflammation. *Fed Proc* 46: 2402-2406.
- Gardner DR, Fridovich I. 1991. Superoxide sensitivity of *Escherichia coli* 6-phosphogluconate dehydratase. *J Biol Chem* 266: 1478-1783.
- Labuza TP. 1971. Kinetic of lipid oxidation in foods. *CRC Crit Rev Food Technol* 2: 355-405.
- Frankel EN, Waterhouse Al, Kinsella JE. 1993. Inhibition of human LDL oxidation by resveratrol. *Lancet* 341: 1103-1104.
- Rice-Evans CA, Miller HJ, Oaganga G. 1996. Structure antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids. *Free Radic Biol Med* 20: 933-956.
- Azuma K, Nakayama M, Koshika M, Lpoushi K, Yamaguchi Y, Kohata K, Yamaguchi Y, Ito H, Higashio H. 1999. Phenolic antioxidants from the leaves of *Corchorus olitorius* L. *J Agric Food Chem* 47: 3963-3966.
- Rein D, Paglieroni TG, Wun T, Oearson DA, Schmitz HH, Gosselin R, Keen CL. 2000. Cocoa inhibits platelet activation and function. *Am J Clin Nutr* 72: 30-35.
- Chan KM, Decher EA, Means WJ. 1993. Extraction and activity of carmosine, a naturally occurring antioxidant in beef muscle. *J Food Sci* 58: 1-4.
- Hatano T. 1995. Constituents of natural medicines with scavenging effect on active oxygen species-tannins and related polyphenols. *Natural Medicine* 49: 357-363.
- Tsuda T, Watanabe M, Ohshima K, Norinobu S, Choi SW, Kawakishi S, Osawa T. 1994. Antioxidative activity of the anthocyanin pigments cyanidin 3-O-β-D-glucoside and cyanidin. *J Agric Food Chem* 42: 2407-2410.
- Akaike T, Ijiri S, Sato J, Katsiki T, Maeda H. 1995. Determination of peroxyl radical-scavenging activity in food by using bactericidal action of alkyl peroxyl radical. *J Agric Food Chem* 43: 1864-1870.
- Kim HS, Choi HJ. 1990. Studies on essential oils of plants of *Angelica* genus in Korea (III). *Kor J Pharmacogn* 21: 121-125.
- 구본홍. 1994. 동의보감 한글완역본(허준 저). 대중서관, 서울.
- Kimura T, But PPH, Guo JX, Sung CK. 1996. *International collation of traditional and folk medicine: Part 1*. World scientific, Singapore. p 117-118.
- Joo EY, Kang WJ. 2005. Analysis on the components of the *Angelica dahurica* root. *Korean J Food Preserv* 12: 476-481.
- Kim SH, Kang SS, Kim CM. 1992. Coumarin glycosides from the roots of *Angelica dahurica*. *Arch Pharm Res* 15: 73-77.
- Kwon YS, Kim CM. 1992. Coumarin glycosides from the

- roots of *Angelica dahurica*. *Kor J Pharmacogn* 24: 221-224.
19. Baek NI, Ahn EM, Kim HY, Park YD. 2000. Furanocoumarins from the root of *Angelica dahurica*. *Arch Charm Res* 23: 467-470.
 20. Ryu SY, Kim JC, Kim YS, Kim HT, Kim WK, Choi GJ, Kim JS, Lee SW, Heor JH, Cho KY. 2001. Antifungal activities of coumarins isolated from *Angelica gigas* and *Angelica dahurica* against plant pathogenic fungi. *Korean J Pesticide Science* 5: 26-35.
 21. Wang NH, Yoshiyasaki K, Baba K. 2001. Seven new bifuranocoumarins, dahuribirin A-G, from Japanese Bai Zh. *Chem Pharm Bull* 49: 1085-1088.
 22. Jin MH, Jung MH, Lim YH, Lee SH, Kang SJ, Cho WG. 2004. Promoting synthesis of collagen from *Angelica dahurica* root. *Kor J Pharmacogn* 35: 315-319.
 23. Shin KH, Kim ON, Woo WS. 1988. Effect of the constituents of *Angelica dahurica* Radix on hepatic drug metabolizing enzyme activity. *Kor J Pharmacogn* 19: 19-27.
 24. Kim DK, Lim JP, Yang JH, Eom DO, Eun JS, Leem KH. 2002. Acetylcholinesterase inhibitors from the roots of *Angelica dahurica*. *Arch Pharm Res* 25: 856-859.
 25. Kim CM, Kwon YS, Choi SY. 1995. Antithrombotic effect of the BuOH soluble fraction of *Angelica dahurica* root. *Kor J Pharmacogn* 26: 74-77.
 26. Pae HO, Oh HC, Yun YG, Oh GS, Jang SI, Hwang KM, Kwon TO, Lee HS, Chung HT. 2002. Imperatorin, a furanocoumarin from *Angelica dahurica* (Umbelliferae), induces cytochrome c-dependent apoptosis in human promyelocytic leukaemia, HL-60 cells. *Pharmacol Toxicol* 91: 40-48.
 27. Schinella GR, Tournier HA, Prieto JM, Rios JL, Buschiazzo H, Zaidenberg A. 2002. Inhibition of *Trypanosoma cruzi* growth by medical plant extracts. *Fitoterapia* 73: 569-575.
 28. Lechner D, Stavri M, Oluwatuyi M, Pereda-Miranda R, Gibbons S. 2004. The anti-staphylococcal activity of *Angelica dahurica*. *Phytochemistry* 65: 331-335.
 29. Kwon YS, Kobayashi A, Kajiyama SI, Kawazu K, Kanzaki H, Kim CM. 1997. Antimicrobial constituents of *Angelica dahurica* roots. *Phytochemistry* 44: 887-889.
 30. Swain T, Hillis WE, Ortega M. 1959. Phenolic constituents of *Prunus domestica*. I. Quantitative analysis of phenolic constituents. *J Sci Food Agric* 10: 83-88.
 31. AOAC. 2005. *Official Method of Analysis*. 18th ed. Association of official analytical chemists, Washington DC, USA. Vol 45, p 21-22.
 32. Blois MS. 1958. Antioxidant determination by the use of a stable free radical. *Nature* 181: 1199-1200.
 33. Marklund S, Marklund G. 1975. Involvement of superoxide amino radical in the oxidation of pyrogallol and a convenient assay for superoxide dismutase. *Eur J Biochem* 47: 468-474.
 34. Kato H, Lee IE, Chuyen NV, Kim SB, Hayase F. 1987. Inhibition of nitrosamine formation by nondialyzable melanoidins. *Agric Biol Chem* 51: 1333-1338.
 35. Stirpe F, Corte ED. 1969. The regulation of rat liver xanthine oxidase. *J Biol Chem* 244: 3855-3861.
 36. Yagi A, Kanbara T, Morinobu N. 1986. The effect of tyrosinase inhibition for aloe. *Planta Medica* 3981: 517-519.
 37. Cha JY, Kim HJ, Chung CH, Cho YS. 1999. Antioxidative activities and contents of polyphenolic compound of *Cudrania tricuspidata*. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 28: 1310-1315.
 38. Lee JH, Lee SR. 1994. Analysis of phenolic substances content on Korea plant foods. *Korean J Food Sci Technol* 26: 310-316.
 39. Moon JS, Kim SJ, Park YM. 2004. Activities of anti-oxidation and alcohol dehydrogenase inhibition of methanol extracts from some medicinal herbs. *Korean J Food Preserv* 11: 201-206.
 40. Kang MJ, Shin SR, Kim K. 2002. Antioxidative and free radical scavenging activity of water extract from dandelion (*Taraxacum officinale*). *Korean J Food Preserv* 9: 253-259.
 41. Kim HK, Kim YE, Do JR, Lee YC, Lee BY. 1995. Antioxidative activity and physiological activity of some Korean medical plants. *Korean J Food Sci Technol* 27: 80-85.
 42. Lee YS, Joo EY, Kim NW. 2005. Antioxidant activity of extracts from the *Lespedeza bicolor*. *Korean J Food Preserv* 12: 75-79.
 43. Jung SH, Jo WA, Son JH, Choi EY, Park CI, Lee IC, An BJ, Son AR, Son AR, Kim SK, Kim YS, Lee JT. 2005. A study on the application of cosmetic materials and the physiological activities of *Forsythia koreana* Nakai. *Kor J Herbology* 20: 61-68.
 44. An BJ, Lee JT. 2002. Studies on biological activity from extract of *Crataegi fructus*. *Kor J Herbology* 17: 29-38.
 45. Lim JD, Yu CY, Kim MJ, Yun SJ, Lee SJ, Kim NY, Chung IM. 2004. Comparison of SOD activity and phenolic compound contents in various Korean medicinal plants. *Korean J Medicinal Crop Sci* 12: 191-202.
 46. Kim SM, Cho YS, Sung SL. 2001. The antioxidant ability and nitrate scavenging ability of plant extract. *Korean J Food Sci Technol* 33: 623-632.
 47. Park YB, Lee TG, Kim OK, Do JR, Yeo SG, Park YH, Kim SB. 1995. Characteristics of nitrite scavenger derived from seeds of *Cassia tora* L. *Korean J Food Sci Technol* 27: 124-128.
 48. Chung SY, Kim MK, Yoon S. 1999. Nitrite scavenging effect of method fraction obtained from green yellow vegetable juices. *Korean J Food Sci Technol* 28: 342-347.
 49. Wyngaarden JB, Holmes EW Jr. 1977. Molecular nature of enzyme regulation in purine biosynthesis. *Ciba Found Symp* 48: 43-64.
 50. Storch I, Ferber E. 1988. Detergent-amplified chemiluminescence of lucigenin for determination of superoxide amino production by NADPH oxidase and xanthine oxidase. *Anal Biochem* 169: 262-267.
 51. Hatano T, Yasuhara T, Yoshihara R, Okuda T. 1991. Inhibitory effects of galloylated flavonoids on xanthine oxidase. *Planta Medica* 57: 83-86.
 52. Moon SH, Lee MK. 1998. Inhibitory effects of xanthine oxidase by boiled water extract and tannin from persimmon leaves. *Korean J Food Nutr* 11: 354-357.
 53. Yeo SG, Park YB, Kim IS, Kim SB, Park YH. 1995. Inhibition of xanthine oxidase by tea extracts from green tea, oolong tea and black tea. *J Korea Soc Food Sci Nutr* 24: 154-159.
 54. Choi BW, Kee BH, Kang JH. 1998. Screening of the tyrosinase inhibitors from marine algae and medicinal plants. *Kor J Pharmacogn* 29: 237-242.
 55. Jung SW, Lee NK, Kim SJ, Han DW. 1995. Screening of tyrosinase inhibitor from plants. *Korean J Food Sci Technol* 27: 891-896.

(2006년 11월 22일 접수; 2006년 12월 21일 채택)