

Physiological Activities of Roots Extracts from *Calystegia japonica*

Yang-Suk Lee, Bok-Dong Choi, Eun-Young Joo and Nam-Woo Kim[†]

Department of Herbal Biotechnology, Daegu Haany University, Gyeongbuk 712-715, Korea

This study was investigated to evaluate the contents of polyphenols and flavonoids, and physiological activities of various extracts from *Calystegia japonica* roots for making good use of their functional materials. The roots of *C. japonica* were extracted with water (WE), ethanol (EE) and hot water (HWE) by different methods. Among these extracts, the highest extracting yield was 30.30% of HWE, while the highest contents of total polyphenols and flavonoids were 40.85% and 6.40% of WE, respectively. The nitrite scavenging abilities were ranged from 31.31% (HWE) to 37.46% (EE) at pH 1.2 and 1.0 mg/ml concentration. In the measurements of electron donating abilities, EE showed the highest effect as 91.83% at 0.3 mg/ml assay concentration, and the electron donating ability was decreased as the extract concentration was increased. In the results of superoxide dismutase (SOD)-like activity, HWE showed the highest effect as 7.15% at 1.0 mg/ml. The tyrosinase inhibition activities of WE and EE were 15.28% and 14.97%, respectively. The xanthine oxidase inhibitory effects were ranged from 97.50 to 99.28% at 1.0 mg/ml. These results indicate that *C. japonica* extract has a good antioxidant effects and could be useful for developing functional products.

Key Words: *Calystegia japonica*, Nitrite scavenging, Electron donating, SOD-like ability, Tyrosinase, Xanthine oxidase

서 론

생활수준의 향상과 평균 수명의 연장으로 건강에 대한 관심과 이와 관련된 기능성 제품의 개발 및 소비가 지속적으로 증가하고 있고, 기호식·음료에서도 건강유지를 위한 기능성 제품이 상품화 되고 있다 (Hong et al., 2006).

생체내 대사과정의 불균형과 화학물질, 공해 등과 같은 물리·화학적 요인으로 인하여 산소가 H₂O₂ (hydrogen peroxide), O₂⁻ (superoxide anion), ¹O₂ (singlet oxygen), ⁻OH (hydroxy radical) 등과 같은 반응성이 높은 활성산소 (reactive oxygen)로 전환되면 강한 산화력으로 인하여 치명적인 산소독성을 일으키며, 이는 효소 불활성화, 지질 산화, DNA 변성, 세포노화 등을 초래하여 암, 뇌질환, 심장병, 동맥경화, 염증, 자가면역질환 등의 심각한 생리적 장애를 일으킨다 (Freeman and Grapo, 1982). 또한 활

성산소가 정상적으로 제거되지 않을 경우 다른 질병의 원인이 되거나 노화와 치매 등에도 관련되어 있는 것으로 알려져 있으며, 식품의 산패와 독성물질 생성 등 유해한 작용을 하는 것으로 보고되어 있다 (Halliwell, 1996). 이러한 활성산소의 생성을 방지하기 위해 butylated hydroxy toluene (BHT), butylated hydroxy anisole (BHA) 등과 같은 합성 항산화제가 이용되고 있으나 이들은 변이유발 및 독성을 나타내어 사용량이 규제되고 있다 (Brannen, 1975). 따라서 이를 대체할 부작용이 적은 천연 항산화제 개발을 위한 많은 연구가 이루어지고 있고, 최근에는 다양한 식물을 대상으로 항산화 활성과 기능성 소재로서의 활용에 대한 연구가 진행되고 있다. 약용식물 및 과채류에는 vitamins, tannin, coumarin, plant sterol, flavonoids 등과 같은 활성물질들이 다량 존재하며, 이들 물질들은 항산화성, 항알러지, 항염증, 항암 등의 다양한 생리활성을 지닌 것으로 밝혀졌다 (Stoner and Mukhtar, 1995). 페놀 화합물은 식물에 존재하는 2차 대사산물로써 탄소수에 따라 페놀산, 탄닌, 플라보노이드 등의 다양한 물질로 나누어지며, 특히 플라보노이드는 페놀 화합물 중 하나로 구조에 따라 항산화 활성과 상관성이 있는 것으로 보고되어 있다 (Kandaswami and Middleton, 1994).

예로부터 야생 식용식물은 중요한 식량자원이었을 뿐만 아니라 민간에서는 질병치료를 위한 대용물로도 사

*접수일: 2009년 10월 14일 / 수정일: 2009년 12월 9일
채택일: 2009년 12월 11일

[†]Corresponding author: Nam-Woo Kim, Department of Herbal Biotechnology, Daegu Haany University, Gyeongsan-si, Gyeongbuk 712-715, Korea.
Tel: 053-819-1438, Fax: 053-819-1440
e-mail: tree@dhu.ac.kr

용되었다. 최근에는 영양학적 가치 이외에도 항산화, 항암, 항균성 등의 기능적 측면에서 관심을 가지게 되면서 상용 채소류와 더불어 섭취량이 증가하고 있다. 또한 성인질환의 예방을 위해 야생 식용식물, 유기농식물이나 식품, 한방생약재를 기존에 사용하던 화학약품 대신에 이용하려는 경향이 증가하고 있으며, 이미 오랫동안 식용하여 왔기 때문에 안정성이 입증되어 있으므로 기능성 식·음료의 재료로 이용할 경우 장기간 섭취가 가능해 큰 효과를 기대할 수 있다.

이에 본 연구는 우리나라에 자생하는 야생 식용식물을 보다 효율적으로 활용하고자 메꽃 뿌리를 물과 에탄올을 용매로 추출하여 각 추출물에 대한 총 폴리페놀과 플라보노이드 화합물의 함량을 측정하고 발암물질인 nitrosoamine의 저해작용을 나타내는 아질산염 소거능, 지방질 산화 및 노화를 억제하는 작용의 척도로 사용되는 전자공여능, 활성산소 저해작용을 나타내는 SOD 유사활성능, 피부의 미백과 노화, 식품 등의 갈변화에 관련된 tyrosinase 저해 그리고 통풍과 신장질환의 한 원인으로 알려져 있는 xanthine oxidase에 대한 저해효과를 측정하여 메꽃의 식품 및 기타 기능성 제품으로서의 개발 가능성에 대하여 알아보고자 한다.

재료 및 방법

1. 실험 재료

본 실험 재료인 메꽃 (*Calystegia japonica*)은 2007년 5월 중순 경북 경산시 야산에서 채집하였으며, 뿌리를 흐르는 물에 세척한 후 물기를 제거하고 열풍순환건조기 (DR-0160, Hankwang, Korea)에서 40℃ 조건으로 약 15시간 건조하여 추출물 제조를 위한 재료로 사용하였다.

2. 추출물 제조

메꽃 뿌리 추출물은 수직으로 환류냉각관을 부착시킨 둥근 플라스크에 건체 당 10배에 해당하는 증류수와 70% 에탄올을 넣고 각각 80℃와 60℃의 수욕 상에서 3시간 동안 추출하고 이 과정을 3회 반복하여 물 추출물 (WE; water extract)과 에탄올 추출물 (EE; ethanol extract)을 얻었다. 그리고 열수 추출물 (HWE; Hot water extract under high pressure)은 시료의 30배에 해당하는 증류수를 넣고 압력추출기 (DM-701, Korea)를 이용하여 110℃, 1.5 기압 하에서 3시간 동안 추출하였다. 메꽃 뿌리의 3가지 추출물은 여과하여 회전감압농축 (Eyela 400 series, Japan)

한 후 동결건조 (FD 5510 SPT, Ilshin Korea)하여 분말로 제조하였다. 이를 시료로 하여 일정 농도로 3차 증류수 및 80% 에탄올에 희석하여 생리활성을 측정하기 위한 시료액으로 사용하였다.

3. 총 폴리페놀 함량

메꽃 뿌리 추출물에 함유된 폴리페놀 총 함량은 각 추출분말을 증류수에 10 mg/ml로 희석하여 Folin-Denis법 (AOAC, 2005)으로 측정하였다. 시료액 0.2 ml에 folin-ciocalteu's phenol reagent 0.2 ml를 첨가한 후, 혼합하여 3분간 실온에서 반응한 다음, Na₂CO₃ 포화용액 0.4 ml를 가하여 혼합하고 증류수 1.4 ml 첨가하였다. 이를 실온에서 1시간 동안 반응시킨 후 725 nm에서 흡광도를 측정하였다. 폴리페놀의 정량은 tannic acid (Sigma Co., USA)을 이용하여 최종 농도가 0~1,000 µg/ml가 되도록 취하여 위와 동일한 방법으로 측정한 검량선으로 산출하여 폴리페놀 함량을 구하였다.

4. 총 플라보노이드 함량

플라보노이드 함량은 Nieva Moreno 등 (2000)의 방법을 변형하여 80% 에탄올에 메꽃 뿌리 추출물을 10 mg/ml의 농도로 희석하여 시료액 0.1 ml에 10% aluminum nitrate 0.1 ml, 1 M의 potassium acetate 0.1 ml 그리고 80% ethanol 4.7 ml를 가하여 25℃에서 40분간 반응시킨 후 415 nm에서 흡광도를 측정하였다. 총 플라보노이드 정량은 quercetin (Sigma Co., USA)을 이용하여 최종농도가 0~500 µg/ml가 되도록 취하여 위와 동일한 방법으로 측정한 검량선으로부터 산출하여 메꽃 뿌리에 함유된 플라보노이드 함량을 구하였다.

5. 아질산염 소거능 (Nitrite-scavenging ability) 측정

아질산염 소거능은 Kato 등 (1987)의 방법에 따라 1 mM의 아질산염 용액 2 ml에 증류수로 희석한 메꽃 뿌리 추출물을 1 ml씩 첨가하고, 0.1 N HCl과 0.2 M citrate buffer를 완충용액으로 하여 반응용액의 pH를 1.2, 3.0, 6.0으로 각각 보정한 다음, 반응액을 10 ml로 하여 37℃에서 1시간 동안 반응시켰다. 이를 1 ml씩 취하여 2% acetic acid 5 ml를 가하여 griess 시약 (A:B=1:1, A; 1% sulfanilic acid in 30% acetic acid, B; 1% naphthylamine in 30% acetic acid) 0.4 ml 첨가, 혼합하여 실온에서 15분간 반응 후 520 nm에서 흡광도를 측정하였다. 아질산염 소거능은 시료를 첨가하지 않은 대조군의 흡광도와 실험

군의 흡광도 차이를 백분율로 표시하였다. 또한 항산화제인 vitamin C에 대한 아질산염 소거능을 측정하여 시료와 비교 조사하였다.

6. 전자공여능 측정

Blois (1958)의 방법을 변형하여 일정 농도의 시료 2 ml에 0.2 mM 농도의 DPPH 용액 (dissolved in 99% ethanol) 1 ml 가하여 혼합 후, 37°C에서 30분간 반응시켰다. 이 반응액을 517 nm에서 흡광도를 측정하여 시료 첨가구와 시료 대신 증류수를 첨가한 대조구 사이의 흡광도의 차이를 백분율로 나타내어 전자공여능으로 나타내었다. 또한 vitamin C의 전자공여능을 측정하여 시료와 비교하였다.

7. SOD 유사활성능 측정

메꽃 뿌리 추출물의 SOD 유사활성은 Marklund와 Marklund (1975)의 방법에 따라 증류수에 일정 농도로 녹인 시료 0.2 ml에 pH 8.5로 보정한 tris-HCl buffer (50 mM tris aminomethane + 10 mM EDTA) 2.6 ml와 7.2 mM의 pyrogallol (Sigma Co., USA) 0.2 ml를 첨가하여 25°C에서 10분간 반응시켰다. 반응 완료 후 1 N HCl 0.1 ml를 가하여 반응을 정지시킨 다음 420 nm에서 흡광도를 측정하여 시료액 첨가군과 시료 무첨가군과의 흡광도의 차이를 백분율로 표시하였다. 그리고 vitamin C의 SOD 유사활성능을 측정하여 시료와 비교 조사하였다.

8. Tyrosinase 저해활성

Tyrosinase 저해활성을 측정하기 위하여 Yagi 등 (1987)의 방법에 따라 메꽃 뿌리 추출물을 일정 농도로 희석한 시료액 0.1 ml와 0.175 M sodium phosphate buffer (pH 6.8) 0.5 ml에 10 mM L-DOPA를 녹인 기질액 0.2 ml의 혼합액에 mushroom tyrosinase (110U/ml) 0.2 ml 첨가하여 25°C에서 2분간 반응시켜 반응액 중에 생성된 DOPA chrome을 475 nm에서 흡광도를 측정하였다. 시료를 첨가하지 않은 대조군의 흡광도를 측정하여 시료 첨가구와의 흡광도 차이를 백분율로 나타내었으며 vitamin C에 대한 tyrosinase 저해활성을 측정하여 메꽃 뿌리 추출물과 비교하였다.

9. Xanthine oxidase 저해활성

Stirpe와 Corte (1969)의 방법에 따라 증류수를 첨가하여 희석한 시료액 0.1 ml에 0.1 M potassium phosphate

Table 1. Extraction yield by different extraction methods and solvents from *Calystegia japonica* roots

| Sample | WE | EE | HWE |
|-----------|-------|-------|-------|
| Yield (%) | 28.32 | 26.24 | 31.30 |

WE: Water extract, EE: Ethanol extract, HWE: Hot water extract under high pressure

buffer (pH 7.5) 0.6 ml와 xanthine 2 mM을 녹인 기질액 0.2 ml를 첨가하였다. 여기에 0.2 U/ml 농도의 xanthine oxidase (Sigma, USA) 1 ml를 넣고 25°C에서 15분간 반응시킨 후 1 N HCl 1 ml를 가하여 반응을 정지시켰다. 이를 292 nm에서 흡광도를 측정하여 반응액 중에 생성된 uric acid를 산출하였으며, 시료 첨가구와 무첨가구의 흡광도 감소율을 백분율로 나타내어 xanthine oxidase 저해활성으로 표시하였다. 그리고 vitamin C를 위와 동일한 방법으로 측정하여 시료와 비교하였다.

10. 통계처리

메꽃 뿌리 추출물에 대한 결과는 SPSS 17.0 통계 프로그램을 이용하여 분석하였으며, 시료간 차이를 검정하기 위하여 ANOVA test를 이용하였으며, 유의적인 경우 유의적인 경우 다군간의 차이는 $P < 0.05$ 수준에서 Duncan's multiple range test로 사후 검정하였다.

결 과

1. 추출 수율

추출온도와 용매가 상이한 상태에서의 메꽃 뿌리 추출물의 수율을 측정한 결과 100°C 이상의 고온과 고압에서 물을 용매로 추출한 열수 추출물 (HWE)이 31.30%로 추출물의 고형분 수율이 가장 높았으며, 80°C에서 물을 용매로 사용한 물 추출물 (WE)에서는 28.32% 그리고 70% 에탄올을 용매로 60°C에서 추출된 에탄올 추출물 (EE)에서는 26.24%의 수율을 나타내었다 (Table 1).

2. 총 폴리페놀과 플라보노이드 함량 측정

메꽃 뿌리 추출물의 고형분에 함유된 폴리페놀과 플라보노이드의 총 함량을 측정한 결과 Fig. 1과 같이 폴리페놀 27.52~40.85%였으며, 플라보노이드는 1.86~6.40%가 함유하여 세가지 추출물 중 WE가 40.85%의 폴리페놀과 6.40%의 플라보노이드를 함유하여 가장 많은 생리활성물질을 함유하였으며, EE는 39.48%의 폴리페놀과 5.20%의 플라보노이드를 함유하였다. EE와 WE는 폴리

페놀의 함량에는 유의적 차이는 없었으나 수율이 가장 높았던 HWE와 비교하면 폴리페놀을 약 1.4배, 플라보노이드는 약 2.8배 이상 많이 함유하였다 ($P<0.05$).

3. 아질산염 소거능

화학적 발암물질로 알려져 있는 nitrosoamine의 생성을 저해하는 아질산염 소거능을 pH와 농도에 따라 측정한 결과 1.0 mg/ml에서 pH 1.2 조건의 EE와 WE가 각각

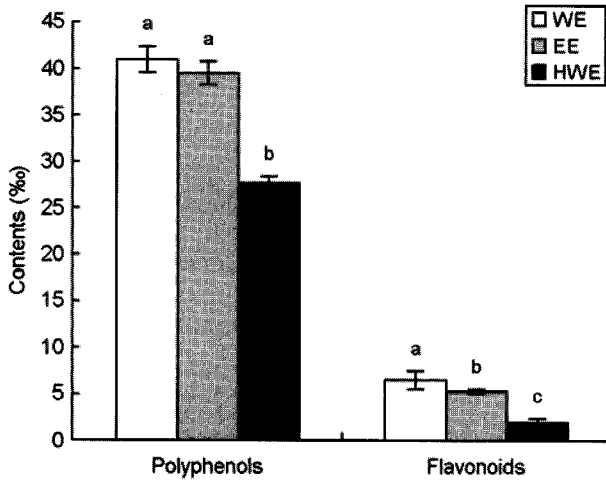


Fig. 1. Contents of total polyphenols and flavonoids of *Calystegia japonica* roots extracts by different extraction methods and solvents. The results are mean \pm SD of triplicate determinations. a-c: The value with different superscripts within the bar are significantly different at $P<0.05$ by Duncan's multiple range test (WE: Water extract, EE: Ethanol extract, HWE: Hot water extract under high pressure).

37.46%와 36.99%로 가장 높은 소거효과를 보였다. pH 3.0에서는 EE가 32.71%, WE는 32.11%로 pH 1.2보다는 낮은 아질산염 소거능을 나타내었으나 두 추출물간의 유의적 차이가 없었다 ($P<0.05$). pH 6.0에서는 WE가 6.25%로 pH 1.2와 3.0과 비교하면 매우 낮은 활성을 나타내었다 (Table 2).

4. 전자공여능

전자공여 작용을 측정하는 DPPH는 비교적 안정된 free radical로서 활성물질이 환원되어 자색으로 탈색되는 정도에 따라 항산화 활성 정도를 파악할 수 있다. 용매와 추출방법이 상이한 메꽃 뿌리 추출물의 전자공여능은 0.3 mg/ml에서 EE가 91.83%로 가장 높은 활성을 보였으며, WE에서도 90.46%의 전자공여효과를 나타내었다. EE는 0.3 mg/ml 이상의 농도에서 90% 이상의 전자공여능을 나타내어 농도의 증가에 따른 유의적 차이는 없었으며, WE에서도 추출물의 농도가 증가할수록 전자공여능은 낮아졌으나 85% 이상의 활성을 나타내었다 ($P<0.05$). 비교군인 vitamin C는 약 95% 이상의 전자공여능을 나타내어 메꽃 뿌리보다는 높은 활성을 나타내었다 (Fig. 2).

5. SOD 유사활성능

Superoxide dismutase (SOD)는 항산화 효소 중의 하나로 세포에 해로운 환원산소를 과산화수소로 전환시키는 반응을 촉매하는 효소로서 인체 내에서 생성된 과산화수소를 peroxidase, catalase에 의해 무해한 물분자와 산소

Table 2. Nitrite scavenging abilities of the *Calystegia japonica* roots extracts by different extraction methods and solvents and vitamin C

| pH | Concentration (mg/ml) | Nitrite scavenging ability (520 nm) % of control | | | |
|-----|-----------------------|--|-------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|
| | | WE | EE | HWE | Vitamin C |
| 1.2 | 0.1 | 3.96 \pm 0.74 ^b | 3.50 \pm 0.31 ^b | 3.43 \pm 0.38 ^b | 53.29 \pm 0.22 ^a |
| | 0.3 | 13.89 \pm 0.11 ^b | 13.86 \pm 0.88 ^b | 10.93 \pm 0.50 ^c | 97.70 \pm 0.45 ^a |
| | 0.5 | 23.37 \pm 0.22 ^b | 20.05 \pm 0.31 ^c | 16.74 \pm 0.75 ^d | 99.34 \pm 0.08 ^a |
| | 1.0 | 36.99 \pm 0.22 ^b | 37.46 \pm 0.40 ^b | 31.31 \pm 0.92 ^c | 99.34 \pm 0.16 ^a |
| 3.0 | 0.1 | 3.20 \pm 0.52 ^c | 4.32 \pm 0.12 ^b | 3.02 \pm 0.236 ^c | 31.46 \pm 0.59 ^a |
| | 0.3 | 12.45 \pm 0.21 ^b | 14.78 \pm 0.46 ^b | 9.53 \pm 0.20 ^c | 55.07 \pm 0.61 ^a |
| | 0.5 | 20.02 \pm 0.43 ^b | 21.38 \pm 0.31 ^b | 16.52 \pm 0.12 ^c | 67.93 \pm 0.41 ^a |
| | 1.0 | 32.11 \pm 0.24 ^b | 32.71 \pm 0.46 ^b | 24.04 \pm 0.40 ^c | 83.85 \pm 0.45 ^a |
| 6.0 | 0.1 | 3.21 \pm 0.79 ^a | 0.62 \pm 0.49 ^b | 2.42 \pm 0.36 ^a | 3.12 \pm 0.32 ^a |
| | 0.3 | 5.28 \pm 0.17 ^b | 1.58 \pm 0.43 ^d | 3.46 \pm 0.70 ^c | 13.32 \pm 0.64 ^a |
| | 0.5 | 5.39 \pm 0.53 ^b | 1.98 \pm 0.10 ^d | 3.98 \pm 0.26 ^c | 26.89 \pm 0.72 ^a |
| | 1.0 | 6.25 \pm 0.88 ^b | 2.37 \pm 0.17 ^c | 5.77 \pm 0.17 ^b | 47.82 \pm 0.57 ^a |

WE: Water extract, EE: Ethanol extract, HWE: Hot water extract under high pressure.

The results are mean \pm SD of triplicate determinations.

a-d: The value with different superscripts within the row are significantly different at $P<0.05$ by Duncan's multiple range test.

분자로 전환되게 함으로써 산소 상해로부터 생체를 보호하는 작용을 나타내는 효소이다 (Donnelly et al., 1989). Pyrogallol에 대한 자동산화 반응을 이용하여 메꽃 뿌리

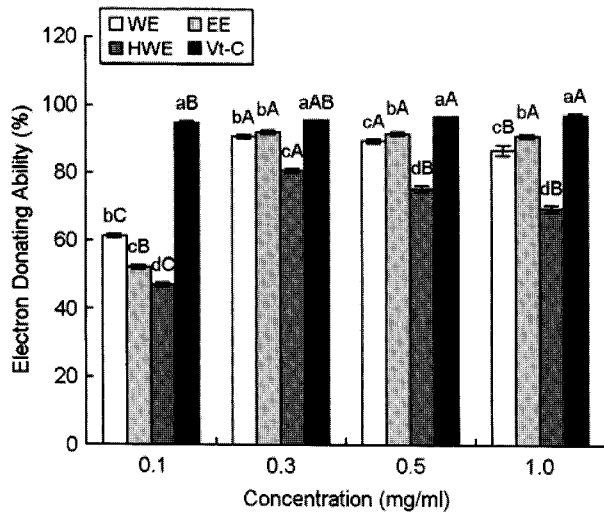


Fig. 2. Electron donating abilities of the *Calystegia japonica* roots extracts by different extraction methods and solvents and vitamin C. The results are mean \pm SD of triplicate determinations. The value with different small (a-d) and capital (A-C) letters in superscripts within the same bar and extract are significantly different at $P < 0.05$ by Duncan's multiple range test (WE: Water extract, EE: Ethanol extract, HWE: Hot water extract under high pressure, Vt-C: Vitamin C).

추출물의 SOD 유사활성능을 0.1~1.0 mg/ml의 농도에서 측정된 결과 아질산염 소거효과와 전자공여능이 우수한 메꽃의 WE와 EE는 1.0 mg/ml의 농도에서만 약 1%의 SOD 유사활성을 나타내었으며 HWE는 7.15%의 활성을 나타내었다. 비교군인 vitamin C는 99%의 SOD 유사활성능을 보여 메꽃 뿌리 추출물이 매우 낮은 효과를 나타내었다 (Table 3).

6. Tyrosinase 저해활성

생물체내 tyrosinase의 생합성 과정에서 만들어지는 페놀류의 고분자 천연색소인 melanine은 피부에 자외선, 건조, 극한 온도 등에 대한 저항력을 높여주지만, 과도한 멜라닌 생성은 기미, 주근깨, 검버섯 등과 같은 색소 침착과 피부노화를 촉진시키며 (Sanchez-Ferer et al., 1995), 야채나 과일류 특히, 감자의 갈변화 현상을 일으킨다 (Bell and Weeler, 1986). 메꽃 뿌리 추출물의 tyrosinase에 대한 저해효과를 측정된 결과 1.0 mg/ml의 농도에서 총 폴리페놀과 플라보노이드 함량이 높은 WE와 EE가 각각 15.28%와 14.97%로 두 추출물간에 유의적 차이는 없었으며, HWE의 8.29%보다 약 1.8배 높은 tyrosinase 저해활성을 나타내었다. 비교군인 vitamin C는 96.85%의 tyrosinase 저해효과를 보였다 (Table 4).

Table 3. Superoxide dismutase (SOD)-like activities of the *Calystegia japonica* roots extracts by different extraction methods and solvents and vitamin C

| Concentration (mg/ml) | SOD-like activity (420 nm) % of control | | | |
|-----------------------|---|-----------------|-----------------|------------------|
| | WE | EE | HWE | Vitamin C |
| 0.1 | - | - | 4.04 \pm 0.53 | 99.19 \pm 1.17 |
| 0.3 | - | - | 4.84 \pm 0.69 | 99.32 \pm 0.00 |
| 0.5 | - | - | 5.07 \pm 1.06 | 99.77 \pm 0.20 |
| 1.0 | 0.99 \pm 0.21 | 1.62 \pm 0.22 | 7.15 \pm 1.22 | 99.77 \pm 0.00 |

WE: Water extract, EE: Ethanol extract, HWE: Hot water extract under high pressure.

The results are mean \pm SD of triplicate determinations.

a-d: The value with different superscripts within the row are significantly different at $P < 0.05$ by Duncan's multiple range test.

Table 4. Tyrosinase inhibitory of the *Calystegia japonica* roots extracts by different extraction methods and solvents and vitamin C

| Concentration (mg/ml) | Tyrosinase inhibition (475 nm) % of control | | | |
|-----------------------|---|-------------------------------|------------------------------|-------------------------------|
| | WE | EE | HWE | Vitamin C |
| 0.1 | 1.14 \pm 0.28 | - | - | 88.74 \pm 1.41 |
| 0.3 | 7.15 \pm 0.13 | 2.04 \pm 0.00 | - | 91.22 \pm 1.35 |
| 0.5 | 8.46 \pm 0.28 ^b | 5.61 \pm 0.51 ^c | 2.45 \pm 0.33 ^d | 93.92 \pm 0.00 ^a |
| 1.0 | 15.28 \pm 0.56 ^b | 14.97 \pm 0.59 ^b | 8.29 \pm 0.86 ^c | 96.85 \pm 0.39 ^a |

WE: Water extract, EE: Ethanol extract, HWE: Hot water extract under high pressure.

The results are mean \pm SD of triplicate determinations.

a-d: The value with different superscripts within the row are significantly different at $P < 0.05$ by Duncan's multiple range test.

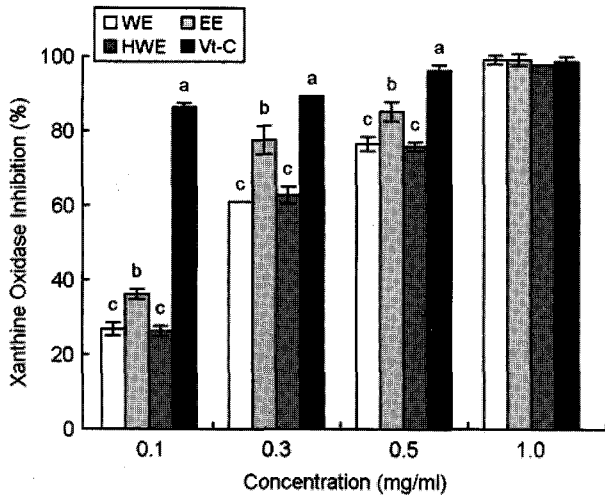


Fig. 3. Xanthine oxidase inhibitory of the *Cabystegia japonica* roots extracts by different extraction methods and solvents and vitamin C. The results are mean \pm D of triplicate determinations. The value with different superscripts (a-d) within the row are significantly different at $P < 0.05$ by Duncan's multiple range test (WE: Water extract, EE: Ethanol extract, HWE: Hot water extract under high pressure, Vt-C: Vitamin C).

7. Xanthine oxidase 저해활성

생체내 purine 대사에 관여하는 효소인 xanthine oxidase는 산소를 수소 수용체로 이용하여 xanthine을 urea로 산화하는 반응을 촉매하며, 혈액내 증가시 관절이나 주위 조직에 염증 및 심한 통증을 동반하는 통풍을 일으키며, 신장에 침착 시 신장질환을 유발하는 효소이다 (Storch and Ferber, 1988). 따라서 xanthine oxidase의 저해효과는 free radical의 생성을 억제하므로 항산화, 노화 및 항암 등 생물학적으로 중요한 의미를 가진다. 이에 메꽃 뿌리 추출물에 대한 xanthine oxidase 저해율을 측정된 결과 1.0 mg/ml에서 97% 이상의 저해율을 나타내어 비교군인 vitamin C와 유사한 저해효과를 나타내었다. 저농도인 0.3 mg/ml의 농도에서도 vitamin C보다는 낮았으나 세가지 추출물 모두 60% 이상의 xanthine oxidase 저해효과를 보였으며 특히 EE는 77%의 저해율을 나타내었다 (Fig. 3).

고 찰

우리나라의 들에 널리 자생하는 다년생 초본인 메꽃은 백색 지하경이 사방으로 길게 자라며, 경엽에서 나온 긴 화서 끝에 나팔꽃 모양의 분홍색 꽃이 피고, 뿌리를 포함한 모든 부분은 약재로 사용한다 (Lee, 1993). 각 부위마다 독특한 풍미가 있는 메꽃의 어린잎은 나물이나 녹

즙으로 마시며, 뿌리는 찌거나 삶아 밥이나 죽 또는 떡을 만든다. 한의학에서는 메꽃을 청열, 보기작용이 있어 얼굴의 주근깨를 없애고 혈색을 좋게 하며 혈압강하의 효능이 있다고 하였다. 메꽃에 관한 연구로는 형태, 유전적 특성 (Kim and Choi, 1983), 성분분석 (Oh et al., 1995) 및 식량자원으로 개발하기 위한 부위별 휘발성 풍미성분 (Lee and Choi, 1994) 등 다양한 연구가 진행되었다.

고형화된 메꽃 뿌리 추출물의 수율은 열수 추출물인 HWE가 31.30%로 가장 높았으며, 용매는 물을 사용한 경우가 에탄올보다 수율이 더 높았고, 추출 시 온도는 높을수록 수율이 우수한 것으로 분석되었다. Joo와 Kim (2008)은 추출조건과 용매에 따라 수율에 차이가 있으며, 에탄올 보다는 물을 용매로 이용할 경우, 추출시간이 길수록, 에너지 강도가 높을수록 추출물의 수율이 높다고 하여 본 실험결과와 일치하였다. 또한 Lee와 Hwang (2000)도 80°C에서 100°C로 추출온도가 증가하면 고형분의 절대량이 상당히 증가한다고 하였다. 이는 열수 추출물이 고온 고압의 조건하에서 메꽃 뿌리의 섬유조직에 용매의 침투력이 높아지면서 추출물의 수율이 증가한 것으로 메꽃 뿌리의 추출물 획득을 위한 가장 적합한 방법인 것으로 판단된다.

천연물에 존재하는 생리활성물질 대부분은 다양한 구조와 분자량을 가진 페놀성 화합물로서 식물계에 널리 분포하며, phenolic hydroxyl (OH)기를 가지고 있어 단백질 및 거대분자들과 결합하는 성질을 가진다 (Kuhnau, 1976). 이들 페놀성 화합물은 flavonoid류가 주를 이루며 항균, 항염증, 항산화, 항암 등 다양한 질환의 예방에 효과가 있는 것으로 알려져 있다 (Aruoma, 1994). 페놀성 항산화제들은 연쇄반응 과정에서 alkyl radical이나 alkylperoxy radical에 수소를 공여하여 radical을 제거시킴으로써 산화를 억제한다 (Labuza, 1971). 실험결과 물을 용매로 80°C에서 추출한 WE가 40.85%의 폴리페놀과 6.40%의 플라보노이드를 함유하였으며, 70% 에탄올을 용매로 60°C의 조건에서 추출한 EE는 각각 39.48%와 5.20%를 함유하였다. 그리고 WE와 EE 1 mg/ml은 pH 1.2의 조건에서 약 37%의 아질산염 소거효과를 나타내었다. 아질산염 화합물은 약 300여종의 보고되어 있으며, 이중 90% 이상이 암을 유발하는 것으로 보고되어 있다. 특히 수산물이나 식육제품에 첨가되어 독소생성억제와 발색 및 산패의 방지제로 널리 이용되고 있는 아질산염은 그 자체가 독성을 나타내며 일정 농도 이상 섭취 시 혈중 hemoglobin의 산화로 methemoglobin을 형성, 중독 증상을 일으키는 것

으로 보고되어 있다 (Peter, 1975). 또한 amine류를 함유하는 식품과 같이 섭취했을 때 위장내의 낮은 산성조건에서 쉽게 발암성 물질인 nitrosamine이 생성될 가능성이 증가하게 된다 (Park et al., 1995). Shenoy와 Choughuley (1989)은 페놀이 amine의 nitrosation의 저해제로 작용한다고 보고하였으며, Walker 등 (1982)은 catechol과 같은 페놀류 물질이 산성조건에서 경쟁적으로 nitrite와 반응한다고 하였다. 그리고 Takashi 등 (1978)은 폴리페놀 화합물이 아질산염을 효과적으로 분해하여 nitrosoamine 생성을 효과적으로 억제한다고 보고하였으며, 본 실험에서도 폴리페놀과 플라보노이드 함량이 많은 WE와 EE의 아질산염 소거능이 높았다. 또한 WE와 EE는 페놀성 물질에 대한 항산화 지표라고 할 수 있고, 지방질 산화를 억제 및 free radical에 의한 노화를 억제하는 척도로도 이용되는 전자공여능에서도 90% 이상의 활성을 나타내었다. 한방생약재나 약용식물들은 전자공여능을 나타내며 이들 중 민들레 뿌리에서는 50% 이상의 전자공여능과 (Kang et al., 2002), 작약과 목단에서는 각각 86.6%와 80.4%라고 보고하여 (Kim et al., 1995), 이들과 비교하면 메꽃 뿌리 추출물에서 더 우수한 활성을 나타내었다. 그리고 free radical의 생성을 억제하여 항산화 등과 관련된 생리 기능상 중요한 효소인 xanthine oxidase에 대한 저해효과를 측정된 결과에서도 메꽃 뿌리의 세가지 추출물은 97% 이상의 저해효과를 나타내어 비교군인 vitamin C와 유의적 차이가 없었다. 그러나 melanin 색소 형성에 관계하는 효소인 tyrosinase에 대한 저해는 WE와 EE가 15%의 저해율을 나타내어 vitamin C와 비교하여 매우 낮았다. 그리고 SOD 유사활성능의 측정에서도 WE와 EE는 거의 효과가 없었으며 HWE에서만 낮은 활성을 나타내었다.

예로부터 식용 및 약용으로 이용되고 있는 메꽃 뿌리를 추출용매와 방법이 상이한 추출물의 생리활성을 확인한 결과 추출물의 수율은 낮았으나 60℃에서 에탄올을 용매로 추출한 EE에서 가장 높은 아질산염 소거능과 전자공여능 그리고 xanthine oxidase 저해효과를 나타내었으며, 80℃의 조건에서 물을 용매로 추출한 WE는 세가지 추출물 중 폴리페놀과 플라보노이드 함량이 가장 많았고 tyrosinase 저해효과가 높았으며, 전자공여능과 아질산염 소거 및 xanthine oxidase 저해효과에서도 EE보다는 낮았으나 유의적 차이가 없었다. 본 실험결과 메꽃 뿌리 추출물은 높은 항산화성을 나타내며 유용하게 이용할 수 있음을 제시하였다. 따라서 메꽃 뿌리를 천연

항산화제나 의약품 및 기능성 식품이나 제품 등의 소재로 사용 가능할 것으로 판단된다. 그러나 메꽃 추출물의 생리활성 효과를 더욱 자세히 규명하기 위해서는 메꽃 추출성분의 생리활성물질의 분자적 구조 분석을 비롯한 약리학적 활성에 관한 연구가 지속적으로 이루어져야 될 것으로 사료된다.

감사의 글

본 연구는 지식경제부 지역혁신센터사업(대구한대학교 한방생명자원연구센터)의 지원에 의하여 이루어진 것임.

REFERENCES

- AOAC. Official method of analysis. 18th ed., 2005. 45: 21-22. Association of official analytical chemists. Washington D.C. USA.
- Aruoma OI. Nutrition and health aspects of free radicals and antioxidants. Food Chem Toxicol. 1994. 32: 671-683.
- Bell AA, Weeler MH. Biosynthesis and melanin. Ann Rev Phytopathol. 1986. 24: 411-451.
- Blois MS. Antioxidant determination by the use of a stable free radical. Nature 1958. 181: 1199-1200.
- Branen AL. Toxicological and biochemistry of butylated hydroxyanisole and butylated hydroxytoluene. J Am Oil Chem Soc. 1975. 52: 59-63.
- Donnelly JK, McLellan KM, Walker JL, Robinson DS. Superoxide dismutases in foods. A review Food Chem. 1989. 33: 243-270.
- Freeman BA, Grapo JD. Biology of disease; free radicals and tissue injury. Lab Invest. 1982. 47: 412-426.
- Halliwel B. Antioxidants in human health and disease. Ann Rev Nutr. 1996. 16: 33-50.
- Hong SP, Jeong HS, Jeong EJ, Shin DH. Quality characteristic of beverage with *Gastrodia elata* blume extract. J Food Hyg Safety 2006. 21: 31-35.
- Joo EY, Kim NW. Polyphenol contents and antioxidant activity of extracts from *Angelica dahurica* root after different conditions of microwave-assisted extraction. Korean J Food Preser. 2008. 15: 133-138.
- Kandaswami C, Middleton EJ. Free radical scavenging and antioxidant activity of plant flavonoids. In: Free radicals in diagnostic medicine. 1994. pp. 351-376. Armstrong D (de). Plenum Press, New York and London.

- Kang MJ, Shin SR, Kim K. Antioxidative and free radical scavenging activity of water extract from Dandelion (*Taraxacum officinale*). Korean J Food Preser. 2002. 9: 253-259.
- Kato H, Lee IE, Chuyen NV, Kim SB, Hayase F. Inhibition of nitrosamine formation by nondialyzable melanoidins. Agric Biol Chem. 1987. 51: 1333-1338.
- Kim HK, Kim YE, Do JR, Lee YC, Lee BY. Antioxidative activity and physiological activity of some Korean medical plants. Korean J Food Sci Technol. 1995. 27: 80-85.
- Kim YS, Choi BY. Chromosome number, morphological and anatomical study on *Calystegia* in Korea. Kor J Plant Tax. 1983. 13: 89-107.
- Kuhnau J. The flavonoids; A class of semiessential food components; Their role in human nutrition. World Rev Nutr Diet. 1976. 24: 117-120.
- Labuza TP. Kinetic of lipid oxidation in foods. CRC Rev Food Technol. 1971. 2: 335.
- Lee BY, Hwang JB. Physicochemical characteristics of *Agastache rugosa* O. Kuntze extracts by extraction conditions. Korean J Food Sci Technol. 2000. 32: 1-8.
- Lee MS, Choi HS. Volatile flavor components in various edible portions of *Calystegia japonica* (THUNB) CHOIS. Korean J Food Sci Technol. 1994. 26: 359-364.
- Lee TB. Illustrated Flora of Korea. 5th ed. 1993. p 635. Hyangmoonsa, Seoul, Korea.
- Marklund S, Marklund G. Involvement of superoxide amino radical in the oxidation of pyrogallol and a convenient assay for superoxide dismutase. Eur J Biochem. 1975. 47: 468-474.
- Nieva Moreno MI, Isla MI, Sampietro AR, Vattuone MA. Comparison of the free radical-scavenging activity of propolis from several regions of Argentina. J Ethnopharmacol. 2000. 71: 109-114.
- Oh YC, Lee CS, Park EJ. A chemotaxonomic study on the genus *Calystegia* (Convolvulaceae) in Korea. Kor J Plant Tax. 1995. 25: 13-24.
- Park. YB, Lee TG, Kim OK, Do JR, Yeo SG, Park YH, Kim SB. Characteristics of nitrite scavenger derived from seeds of *Cassia tora* L. Korean J Food Sci Technol. 1995. 27: 124-128.
- Peter FS. The toxicology of nitrate, nitrite and N-nitroso compounds. J Sci Food Agric. 1975. 52: 1761-1764.
- Sanchez-Ferer A, Rodriguez-Lopez JN, Garcia-Canova F, Garcia-Carmona F. Tyrosinase a comprehensive review of its mechanism. Biochem Biophys Acta. 1995. 1247: 1-11.
- Shenoy NR, Choughuley ASU. Effect of certain phenolics on nitrosamine formation. J Agric Food Chem. 1989. 37: 721-725.
- Stirpe F, Corte ED. The regulation of rat liver xanthine oxidase. J Biol Chem. 1969. 244: 3855-3861.
- Stoner GD, Mukhtar H. Polyphenols as cancer chemopreventive agents. J Cell Bio Chem. 1995. 22: 169-180.
- Storch I, Ferber E. Detergent-amplified chemiluminescence of lucigenin for determination of superoxide amino production by NADPH oxidase and xanthine oxidase. Anal Biochem. 1988. 169: 262-267.
- Takashi Y, Yamamoto M, Tamura A. Studies on the formation of nitrosamines; The effects of some polyphenols on nitrosation of diethylamine. J Food Hyg Soc. 1978. 19: 224-229.
- Walker EA, Pignatelli B, Friensen M. The role of phenols in catalysis of nitrosamine formation. J Sci Food Agric. 1982. 33: 81-86.
- Yagi A, Kanbara T, Morinobu N. Inhibition of mushroom-tyrosinase by aloe extract. Planta Med. 1987. 53: 517-519.