大韓本草學會誌 제24권 제4호(2009년 12월)
Kor. J. Herbology 2009 ; 24(4) : 121-126

쑥부쟁이 추출물의 아세틸콜린에스테라제 저해 및 항산화 활성

배종섭[1], 김태훈[2*]

1: 대구한의대학교 한방제약공학과 2: 대구한의대학교 한약재약리학과

Acetylcholinesterase Inhibitory and Antioxidant Properties of *Aster yomena* Extract

Jong-Sup Bae[1], Tae Hoon Kim[2*]

1: Department of Herbal Pharmaceutical Engineering, Daegu Haany University
2: Department of Herbal Medicinal Pharmacology, Daegu Haany University

ABSTRACT

Objectives : To evaluate the radical scavenging and acetylcholinesterase (AChE) inhibitory activities of the ethylacetate (EtOAc)-soluble portion of a methanolic extract of *Aster yomena,* three different assay systems were performed.

Methods : The antioxidant activity of *A. yomena* extract was tested as its capacity to scavenging free radicals of DPPH and $ABTS^{+}$, which has been widely used to evaluate the antioxidant activity of natural products from plant sources. AChE inhibitory activity was tested against mouse brain AChE by spectrophotometric method of Ellman using ELISA microplate reader.

Results : The methanolic extract *of A. yomena* was fractionated and the EtOAc-soluble portion showed significant AChE inhibitory and free radical scavenging effects. Also the EtOAc-soluble portion revealed the highest phenolic contents as compared to the other extracts.

Conclusions : These results indicate that phenolic compounds may be important constituents that give rise to the anti-AChE and antioxidative activities of *A. yomena* extract. Further phytochemical studies on this plant, for nutraceutical or pharmaceutical application, are warranted.

Key words : Acetylcholiesterase (AChE) inhibition, antioxidant, DPPH, $ABTS^{+}$, Compositae, Aster *yomena*

서 론

알츠하이머병은 만성적인 퇴행성 신경질환으로서 인지능력의 손실과 행동이상을 초래하며 심한 경우 죽음에 이르기도 한다. 치매의 원인은 다양해서 알츠하이머성 치매, 혈관성 치매, 기타 알코올중독, 외상, 파킨슨병의 후유증으로 오는 치매로 구분되며 알츠하이머성 치매가 가장 일반적이며, 전 세계적으로 약 2억 5천만 명의 환자가 있는 것으로 추정된다. 이는 암, 심장질환, 뇌졸중에 이어 노인 사망의 네 번째 원인이 되고 있으며, 85세 이상 인구의 약 47%가 알츠하이머병 증상을 나타내고 있는 상황이다[1,2]. 알츠하이머성 치매의 발병기전에 대해 연구가 진행되고 있으나, 현재까지는 중추신경계에서 아세틸콜린 기능의 감소, 아밀로이드 단백질 침착으로 유발되는 노인반, 타우단백질을 주성분으로 하는 신경섬유덩어리의 생성 등과 밀접한 관계가 있는 것으로 알려져 있다. 그중에서도 콜린성 신경계기능의 기능저하를 방지하고 강화하려는 측면에서 아세틸콜린의 분해효소인 Acetylcholiesterase (AChE) 억제제는 주목되고 있으며 알츠하이머형의 치매에 유효하다고 알려져 있다[3]. 현재 physostigmine 및 tacrine 등의 AChE 저해제는 짧은 반감기와 간독성, 구토, 오심 및 설사 등의 부작용 때문에 사용에 한계가 있다고 알려져 있으며, 알킬피리디움 중합체인 dehydroevodianine (DHED) 및 carbamate형 AChE 저해제 또한 생체대사적 문제와 부작용 등으로 인해서 보다 나은 AChE 저해제를 찾기 위한 연구가 진행되고 있는 실정이다[4].

* 교신저자 : 김태훈, 경북 경산시 유곡동 290번지 대구한의대학교 한약재약리학과 천연물화학교실
· Tel : 053-819-1371 · E-mail : skyey7@dhu.ac.kr
· 접수 : 2009년 11월 21일 · 수정 : 2009년 12월 11일 · 채택 : 2009년 12월 21일

쑥부쟁이(*Aster yomena* Hond)는 국화과에 속하는 다년초로서 지하 경으로 뻗어 번식하며, 한국·일본·중국 및 시베리아 등지에 널리 분포하며, 우리나라에서는 전국각지의 산야의 약간 습기 있는 곳에 흔히 자생한다[5]. ≪본초강목≫, ≪본초습유≫, ≪중약대사전≫, ≪복건민간약초≫, ≪운남중포약≫에서는 형양, 청열, 해독작용의 효능이 있고 특히 항염증작용, 말라리아치료, 토혈, 인후통, 요도염, 수종, 혈리, 창상출혈, 인후마비, 단독, 어혈작용, 해독작용 등이 있다고 알려져 있다. 또한 ≪동의보감≫에서는 해열제, 이뇨제로 이용하며, 민간요법에서는 기침, 천식 등에 쓰이고 있으며, 잎은 즙을 내어 벌레 물린 데에도 사용한다고 알려져 있다[6].

우리나라의 대표적인 국화과 산채인 쑥부쟁이는 그 자원이 풍부하나 지금까지의 과학적 검증을 통하여 암예방[7], 항균활성[8] 등이 보고된 정도이며 그 밖의 효능검증 및 성분에 관한 연구는 전무한 실정이다. 따라서 본 연구에서는 약용식물로부터 천연활성소재 개발을 목표로 하여 약 300여 종의 천연소재로부터 생리활성을 지표로 한 체계화된 효능평가 시스템을 이용한 스크리닝을 수행한 결과, 쑥부쟁이의 메탄올 추출물에서 강한 AChE 및 항산화 활성을 확인하였으므로 그 결과를 보고하는 바이다.

재료 및 방법

1. 재료

본 실험에 사용한 쑥부쟁이는 2008년 7월에 경북 칠곡지역에서 채집하였으며, 대구한의대학교 한약재약리학과 김용한 교수에 의해 동정 및 확인하였다. 표본시료는 대구한의대학교 한약재약리학과 천연물화학실험실의 표본실에 보관하고 있다(No. AY-07-01). 효소저해 실험에 사용한 acetylcholinesterase 효소원으로는 생쥐의 뇌로부터 추출정제된 것을 이용하였으며 효소반응의 기질로 사용한 acetylthiocholine iodide (ACh), 효소활성 대조약물로 사용한 Tacrine, coupling agent로 사용한 5,5-dithiobis [2-nitrobenzoic acid] (DTNB), 2,2-diphenyl-1-picryl-hydrazyl (DPPH), 2,2′-azinobis-3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid (ABTS)는 Sigma Co (St Louis, MO, USA)에서 구입하여 사용하였으며 기타시약은 시중에서 구입 가능한 최상급 시약을 사용하여 실험하였다. 흡광도 측정은 multiplate spectrophotometer (Infinite F-200, Tecan, Swiss)로 각 흡수대에 따른 흡광도를 측정하였다.

2. 방법

1) 추출 및 분획

신선한 쑥부쟁이 전초 1.0 kg을 분쇄기로 잘게 마쇄한 후, 실온에서 methyl alcohol (MeOH) 8 L로 24시간, 3회 반복 추출한 후 유기용매를 사용하여 극성에 따른 분획을 실시하였다. 즉 메탄올 추출물을 감압 농축하여 메탄올을 제거하고 물에 현탁된 추출시료를 저극성용매인 *n*-hexane으로 먼저 추출한 후 물층을 다시 ethyl acetate (EtOAc), *n*-butyl alcohol (*n*-BuOH)을 이용하여 각각 순차적으로 3회 분획하여 추출하였다. 각 용매추출 분획을 감압 농축하여 건조 시킨 후 n-Hexane 가용분획(40.0 g), EtOAc 가용분획(3.4 g), *n*-BuOH 가용분획(15.1 g), H_2O 가용분획(27.9 g)을 각각 얻었다. 각 가용분획에 대하여 정량적으로 acetylcholinesterase (AChE), 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) radical 및 $ABTS^+$ 라디칼에 대한 활성을 농도별로 측정 및 평가하였다.

2) DPPH 라디칼 소거능 측정

전자공여능은 Blois 방법[9]에 따라 측정하였다. 각 시료용액에 2 mL에 0.2 mM의 희석한 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) 용액 1 mL을 넣고 교반한 후 30분간 방치한 다음 517 nm에서 흡광도를 측정하였다. 전자공여능은 시료용액의 첨가군과 무첨가군의 흡광도 차이를 백분율로 나타내었다. 이때 대조물질로는 (+)-catechin을 각 농도별로 사용하였으며 결과는 시료를 처리하지 않은 군에 대한 %로 표시하였다.

3) ABTS+ 라디칼 소거능 측정

쑥부쟁이 MeOH 추출물의 2,2′-azinobis-3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid (ABTS) radical 소거능을 Re[10]의 방법을 변형하여 다음과 같이 측정하였다. 7 mM ABTS (in water)와 2.45 mM $K_2O_8S_2$ 동량을 혼합 후 실온, 암소에서 16시간 방치하여 라디칼의 생성을 유도한 후 $ABTS^+$ 라디칼 용액을 희석하여 734 nm에서 흡광도 값이 1.2~1.3 정도가 되도록 희석하여 사용하였다. 희석한 $ABTS^+$ 라디칼 용액 980 μl 와 생약 추출액 20 μl을 혼합하여 실온에서 15분간 반응시킨 후 734 nm에서 흡광도를 측정하였다. 이때 대조물질로는 (+)-catechin을 각 농도별로 사용하였으며 결과는 시료를 처리하지 않은 군에 대한 %로 표시하였다.

4) Acetylcholinesterase (AChE) 저해능 측정

저해 활성 측정은 Ellman법[11]을 변형하여 수행하였다. 효소는 일정량씩 분주하여 80℃ 이하에서 보관하였으며, 최종 농도는 0.03 unit의 농도로 사용하였으며, 기질은 0.1 M의 odium phosphate buffer (pH 8.0)에 녹인 1,000 μM의 acetylcholine iodide를 사용하였으며, 발색 시약은 39.6 mg의 5,5-dithio-bis (2-nitrobenzoic acid)와 15 mg의 sodium bicarbonate를 0.1 M의 sodium phosphate buffer (pH 7.0) 10 ml에 녹여 제조하였다. 효소 반응은 다음과 같이 전개하였다. 2 ml의 sodium phosphate buffer (pH 8.0)에 200 μl의 DTNB 용액과 100 μl의 효소(0.03 U)를 가한 뒤 37℃에서 10분간 preincubation을 하고, 기질 200 μl를 가해 3분간 반응 후 흡광도(410 nm)를 측정하였다. 이때 대조물질로는 tacrine을 각 농도별로 사

용하였으며 결과는 시료를 처리하지 않은 군에 대한 %로 표시하였다.

5) 총페놀함량 평가

총 페놀화합물은 Folin-Denis 방법[12]으로 측정하였으며, 시료 1 ml에 95% ethanol 1 ml와 증류수 5 ml을 첨가하고 1N Folin-ciocalteu reagent 0.5 ml를 가한 후, 흡광도 725 ml에서 1시간 이내에 측정하여 tannic acid를 이용한 표준곡선으로부터 양을 환산하였다.

3. 통계처리

각 실험은 최소 3번 이상 검정하였고, 실험 결과는 평균±표준오차로 표시하였고, non-paired Student's *t*-test로 검정하여 *p*값이 5% 미만일 때 통계적으로 유의한 것으로 판정하였다.

결 과

1) DPPH 라디칼 소거능 측정

DPPH는 생체 내에 존재하는 라디칼은 아니지만 그자체가 홀수전자를 갖고 있어 517 nm에서 강한 흡광도를 나타낸다. 따라서 항산화능이 있는 물질과 반응하게 되면 안정한 형태로 돌아가면서 흡광도 값이 감소한다. Table 1에서 나타낸 것처럼 쑥부쟁이의 MeOH 추출물 및 각 유기용매 분획에 대해서 라디칼 소거능을 평가한 결과, 125 mg/ml의 농도에서 MeOH 추출물이 49.0±0.5%의 라디칼 소거능을 나타내었으며, 특히 EtOAc 가용부의 62.5 mg/ml의 농도에서는 89.5±0.7%의 매우 우수한 라디칼 소거능을 나타내었다. 이는 positive control로서 녹차의 항산화성분으로 잘 알려져 있는 (+)-catechin과 같은 농도에서 비교하여도 거의 동등한 효능임을 알 수 있었다. n-BuOH 가용부의 125 mg/ml의 농도에서 75.0±0.5%, 62.5 mg/ml의 농도에서 38.7±0.4%의 라디칼 소거능을 나타내었고, 다음으로 H_2O 및 n-Hexane 가용부에서 비교적 약한 라디칼 소거능을 확인하였다. 이들 추출물과 분획의 DPPH 라디칼 소거능을 평가한 결과 총페놀성 화합물의 함량과 라디칼 소거능 사이에는 강한 상관관계가 있는 것을 알 수 있었다.

2) $ABTS^+$ 라디칼 소거능 측정

Re의 방법을 변형하여 7 mM ABTS (in water)와 2.45 mM $K_2O_8S_2$ 동량을 혼합한 후, 실온, 암소에서 16시간 방치하여 라디칼의 생성을 유도한 후, $ABTS^+$ 라디칼 소거능을 측정하였다. 그 결과 Table 2에서 보는 것처럼 쑥부쟁이 MeOH 추출물의 62.5 mg/ml 농도에서는 62.1±0.6%의 ABTS+ 라디칼 소거능을 나타냄을 알 수 있었으며, 각 분획물 중에서도 특히 EtOAc 가용부의 62.5 mg/ml의 농도에서 82.8±0.6%의 매우 우수한 라디칼 소거능을 나타내었으며, positive control인 (+)-catechin과 동등한 효능을 나타내었다. *n*-BuOH 가용부의 125 mg/ml의 농도에서 82.8±0.5%, 62.5 mg/ml의 농도에서 61.7±0.5%의 라디칼 소거능을 나타내었고, 다음으로 H_2O 및 *n*-Hexane 가용부에서 약한 효능을 나타내었다. 이상의 결과로부터 $ABTS^+$ 라디칼 소거능 또한 DPPH 라디

Table 1. DPPH Radical Scavenging Activity and Total Phenolic Contents of the *Aster yomena* extracts

	Total phenolic contents[a,b]	DPPH (% inhibition)[a,b]				
		500 mg/ml	250 mg/ml	125 mg/ml	62.5 mg/ml	31.3 mg/ml
MeOH extract	4.25±0.3	93.1±0.5	92.1±1.2	49.0±0.3	24.4±0.6	11.0±2.3
n-Hexane layer	1.63±0.7	36.3±1.3*	16.3±1.6**	13.1±1.1*	8.5±0.5*	6.0±1.7**
EtOAc layer	4.72±0.8**	98.1±1.3*	94.8±2.7**	93.2±0.5	89.5±0.6**	65.0±2.6
n-BuOH layer	4.21±0.5**	96.1±1.5*	94.5±1.4*	75.0±0.5**	38.7±0.5	19.8±1.8**
H_2O layer	1.67±0.5	88.2±0.2	43.2±1.5*	23.0±0.2**	10.5±0.3	6.3±1.2*
(+)-Catechin[c]	ND[d]	99.8±1.7	98.9±01.6	98.3±0.1	98.1±0.6	97.5±2.7

a : Data expressed in g equivalent tannic acid to 100g of extract. b : Results are expressed as mean ±SEM of triple experiments. Significantly different from the control value. * : $p < 0.05$, ** : $p < 0.01$ (Students' t test). c : Positive control. d : Not determined.

Table 2. Summary of $ABTS^+$ Radical Scavenging Activity of the *A. yomena* extracts

	ABTS (% inhibition)[a]				
	500 mg/ml	250 mg/ml	125 mg/ml	62.5 mg/ml	31.3 mg/ml
MeOH extract	93.7±2.7	78.6±1.7	73.8±0.3	62.1±0.6	36.7±1.1
n-Hexane layer	43.6±1.5**	19.7±2.3**	15.7±1.1**	2.1±0.5**	1.2±2.1*
EtOAc layer	99.8±0.8	99.7±1.5	91.9±0.5**	82.8±0.6*	69.6±2.3
n-BuOH layer	98.9±0.3*	98.1±0.5*	82.8±0.5**	61.7±0.5**	23.6±1.6*
H_2O layer	25.5±0.8**	7.3±0.5**	6.3±0.2**	1.2±0.3	0.8±1.9
(+)-Catechin[b]	99.8±1.6	99.7±1.8	99.7±0.1	99.3±0.6	96.0±1.3

a : Results are expressed as mean ±SEM of triple experiments. Significantly different from the control value. * : $p < 0.05$, ** : $p < 0.01$ (Students' *t* test). b : Positive control.

Table 3. AChE Inhibitory Effect of the *A. yomena* extracts

	Percentage of inhibition ± SEM[a] against AChE					
	500 mg/ml	250 mg/ml	125 mg/ml	62.5 mg/ml	31.3 mg/ml	15.7 mg/ml
MeOH ext.	77.5±0.5	72.7±0.8	68.1±0.3	65.0±0.8	64.1±0.5	59.7±0.5
n-Hexane layer	62.7±0.2**	60.4±0.7*	57.4±0.6*	54.9±1.2*	53.1±0.7*	50.1±0.7*
EtOAc layer	99.9±0.6**	98.4±1.2*	90.6±0.5	84.7±0.7	84.7±0.7*	80.1±0.3*
n-BuOH layer	68.5±0.3**	61.7±0.3*	57.1±0.8*	53.2±0.5*	53.1±0.3*	52.2±0.9*
H_2O layer	59.2±0.6*	57.9±0.6*	56.8±1.1*	54.4±0.5*	52.7±0.8*	48.7±0.5*
Tacrine[b]	99.3±0.7	91.6±0.5	91.0±0.5	90.8±0.8	90.0±0.5	89.1±0.3

a : Results are expressed as mean ±SEM of triple experiments. Significantly different from the control value. * : $p < 0.05$, ** : $p < 0.01$ (Students' *t* test). b : Positive control.

칼 소거능과 동일하게 총페놀성 화합물의 함량과 라디칼 소거능 사이에는 강한 상관관계가 있음을 시사하였다.

3) Acetylcholinesterase (AChE) 저해능 측정

쑥부쟁이 추출물 및 각 유기용매 분획에 대해서 생쥐의 뇌로부터 추출 정제된 AChE에 대한 *in vitro* 저해효과를 acetylcholine iodide를 기질로 사용하여 평가하였다. 그 결과, 쑥부쟁이의 MeOH 추출물은 31.3 mg/ml 농도에서 60% 이상의 저해효능을 나타내었으며, 쑥부쟁이 분획물 중에서 EtOAc 가용부의 경우 15.7 mg/ml의 저 농도에서 80.1±0.3%의 매우 우수한 AChE 저해능을 나타내었으며, 이 활성은 positive control인 tacrine과 비교하여도 동등한 효능임 알 수 있었다. 또한 15.7 mg/ml의 실험농도에서 *n*-BuOH층에서 52.2±0.9%의 저해능을 나타내었으며, H_2O 및 n-Hexane가용부에서도 약 50%의 저해효능을 나타내었다(Table 3).

고 찰

노화에 관해서는 많은 연구가 진행되고 있지만, 다양한 현상과 복합적인 특징으로 인해 아직 정확한 기전은 규명되지 못하고 있다. 다만 최근의 현상학적 연구를 통해 노화 및 노화에 관련된 각종 퇴행성 질환 및 생활 습관성 질병이 사회적 문제가 되고 있으며 그 원인이 활성산소에 기인된 것으로 알려져 있으며, superoxide, nitric oxide, nitrogen dioxide, hydroxyl, peroxynitrite 등과 같은 활성산소 종들은 인간의 대사과정 중에 끊임없이 발생되어 노화 및 관련 질병의 주요 인자로 작용하고 있다[13]. 이런 활성산소의 독성을 억제하기 위한 항산화 활성 물질로서 아스코르빈산, 토코페롤, 카로티노이드, 플라보노이드, 비타민, 탄닌, 인지질 등의 천연 항산화제와 함께 butylated hydroxy anisol (BHA) 및 butylated hydroxy tolunen (BHT) 등의 합성 항산화제가 개발되었으며, 천연 항산화제들은 항산화력이 비교적 낮고 합성 항산화제의 경우는 생체 효소 및 지방의 변이원성 및 독성으로 인체에 암을 유발할 수 있다는 보고가 있어[14], 보다 안전하고 강한 항산화제의 개발이 요구되고 있는 실정이다. 따라서 최근에는 각종 생약추출물 등에서 보다 안전하고 항산화효과가 뛰어난 천연 항산화제를 개발하기 위한 많은 연구가 활발히 이루어지고 있다[15].

플라보노이드를 포함하는 페놀성 화합물은 천연에 광범위하게 존재하는 대표적 화합물 군으로 약용식물뿐만 아니라 과일, 채소 등에 광범위하게 존재하며 phenolic acid, flavonoid, tannin, coumarin, lignan, quinone, stilbene, curcuminoid 등이 포함한다. 대부분의 페놀성 화합물의 경우 우수한 항산화, 암예방, 항염증, 항암, 항바이러스, 항균 및 항돌연변이 등의 활성을 나타내며 구조활성 상관관계에 대해서도 다수의 연구를 통해 입증되어 있다.[15-19] 특히 플라보노이드 화합물의 항산화 활성은 일반적으로 하이드록실기의 개수, 결합위치 및 당과의 결합여부와 깊은 관계가 있음이 알려져 있으며, 전통약용식물로부터 분리된 관련 화합물에 대하여 항산화 활성을 포함한 각종 생리활성은 구조와 깊은 상관관계가 있음이 체계적으로 증명되어졌다[20].

노화와 관련된 질환 중, 치매는 뇌세포의 퇴화로 말미암아 기억력·인지능력 감퇴, 학습력 저하 등의 증세를 나타내게 되는 질환이다. 뇌세포의 퇴화의 주된 원인인 노화는 혈액중 활성 산소나 노화물질이 많아지면서 더욱 가속화 되는 것으로 알려져 있다[21,22]. 현재까지 치매치료와 관련된 AChE 저해제개발을 위하여 다수의 천연소재가 스크리닝되었고, quercetin, (-)-epigallocatechin gallate, trans-resveratrol, curcumin, berberine, (-)-oleocanthal, rosmarinic acid 등의 다양한 골격의 화합물과 다수의 alkaloid, flavonoid 등 이 AChE에 대해 뛰어난 저해 효능을 나타냄이 보고되었다[23,24].

국화과 다년초인 쑥부쟁이는 뛰어난 항산화효능을 나타내며 그 성분으로서는 chlorogenic acid 및 그 유도체, 페놀성 화합물이 함유되어 있음이 알려져 있다[25,26]. 쑥부쟁이 MeOH 추출물에 대해서 녹차의 항산화 성분으로서도 잘 알려져 있는 천연 항산화제인 (+)-catechin을 대조군으로 하여 DPPH, ABTS+ 라디칼 소거법에 의한 항산화활성을 평가한 결과, 항산화 활성은 시료의 처리농도에 비례하게 효능을 나타내는 것으로 확인되었으며 그중에서도 EtOAc 가용부에서 가장 강한 활성을 나타내었다. 이들 활성이 추출물 상태임에도 불구하고 단일 화합물인 (+)-catechin과 거의 동등한 활성을 나타내었으며 쑥부쟁이의 추출물 속에 강한 항산화 활성을 가지는 활성물질의 존

재를 시사하였다. 또한 이들 활성과 총 페놀성 화합물의 함량의 상관관계를 평가한 결과, DPPH 및 $ABTS^+$ 라디칼 소거능은 페놀함량과 밀접한 관계가 있다는 보고[27]에 근거하여 쑥부쟁이의 항산화 활성과 페놀성 화합물의 연관성을 평가한 결과, Table 1에서 나타낸 것처럼, DPPH, $ABTS^+$ 라디칼 소거능은 페놀성 화합물의 함량이 많은 EtOAc층에 집중됨을 확인하였고, 이는 쑥부쟁이의 항산화 활성이 쑥부쟁이 추출물에 존재하는 페놀성 화합물이 관여함을 시사하였다. 본 연구와 더불어 쑥부쟁이의 성분 중 chlorogenic acid, quercetin, kaempferol 등의 존재가 알려져 있으며 이들 성분을 포함한 강력한 항산화 성분이 풍부하게 EtOAc 가용부에 존재할 가능성이 크다고 사료된다. 최근 10여 년 동안 항치매 효능을 가지는 선도화합물 개발을 위해 AChE 저해제가 주목 받고 있으며 수백 종의 생약추출물에 대해서 AChE 저해능을 평가하여 황련(*Coptis japonica*), 황백(*Phellodenron amurense*), 오수유(*Evodia officinalis*), 빈랑자(*Areca catechu*), 후추(*Piper nigrum*) 등의 추출물이 100 mg/ml의 농도에서 60% 이상의 활성을 나타내며, 농도 의존적으로 효소 활성을 저해하는 보고가 있다[28]. 또한 황련, 황백에 포함되어있는 alkaloid인 berberine 및 관련 protoberberine 화합물이 높은 AChE 저해능을 나타냄을 알게 되었고, 이들 화합물에 대해서 경구투여나 복강주사에 의한 약물 투여 방식으로 치매 및 퇴행성 뇌질환에서 중요한 약물작용점으로 간주하고 있는 대뇌 중추에 분포한 cholinergic neuron에 존재하는 receptor에 직접 영향여부 등의 조사를 현대 과학적 실험기법을 통해 검증되어지고 있으며 치매치료제로서의 효능이 점차 입증되어 지고 있다[29].

쑥부쟁이 MeOH 추출물의 경우 15.7 mg/ml의 저 농도에서 59.7±0.5%의 우수한 AChE 저해능을 나타내었으며, 이활성은 농도 의존적이였다. 또한 페놀성 화합물 함량이 높은 EtOAc 가용부에서도 80.1±0.3%의 매우 우수한 AChE 저해능을 나타내었으며, positive control인 tacrine과 동등한 효능을 나타내었다. 항산화 효능에서 나타난 것과 같이 쑥부쟁이 EtOAc층에는 AChE 저해능이 뛰어난 화합물의 존재가 시사되며, 식의약품 소재개발을 위한 구체적인 자료 수립을 위하여 효소활성을 나타내는 성분들에 대해 활성유도분획법(activity-guided isolation)에 따라 활성물질을 추적, 분리하는 연구를 수행 중에 있다.

최근 청열약 추출물과 AChE 저해와의 상호관련성에 대한 보고가 있으며 청열약의 치매 치료 및 예방제로서의 가능성을 제시하였고, 이중 목단피(*Paeonia suffruticosa*), 연교(*Forsythia viridissima*) 등은 1000 mg/ml의 농도에서 약 90%의 AChE 저해능을 보였으며 각각에 대한 성분연구 및 메커니즘연구가 수행 중에 있음이 보고 되어져있다[30].

본 연구에서 얻어진 강한 항산화능 및 AChE 저해능 등의 자료를 기초로 한 성분연구를 통하여 새로운 acetylcholine성 약물(cholinergic drug) 후보물질을 탐색하고 이들 효소저해제의 치매 치료제로서의 가능성을 확인하기 위한 작용기전 연구는 항치매 천연소재 개발에 중요한 기초자료가 될 것이라 사료된다. 또한 쑥부쟁이의 효능으로 알려져 있는 천식, 해열, 염증에 관한 전무한 과학적 근거에 대해서도 본 연구에서 결과 및 향후 연구를 통하여 위에서 언급한 쑥부쟁이의 효능과의 상관관계에 대해서도 과학적으로 검증할 필요성 있다고 사료된다.

결 론

쑥부쟁이 메탄올 추출물의 항산화 및 항치매 효능을 확인할 목적으로 항산화능은 DPPH, $ABTS^+$ 라디칼 소거능, 항치매 효능은 acetylcholinesterase (AChE) 저해활성 측정 방법으로 평가하였으며 그 결과는 다음과 같다.

1. 쑥부쟁이의 ethyl acetate (EtOAc) 가용부의 DPPH 라디칼 소거능을 평가한 결과, 62.5 mg/ml의 실험농도에서 89.5±0.7%의 우수한 소거능을 나타내었으며, 이는 대조군인 (+)-catechin의 효능과 거의 동등한 활성이었다.
2. $ABTS^+$ 라디칼 소거능을 평가한 결과 쑥부쟁이의 EtOAc 가용부의 62.5 mg/ml의 실험농도에서 82.8± 0.6%의 저해능을 나타내었고, 이는 대조군인 (+)-catechin과 비교하여도 우수한 소거능이었으며, 이들 라디칼 소거능은 페놀성 화합물의 존재에 기인한다고 판단된다.
3. AChE 저해능을 측정한 결과, 15.7 mg/ml의 저 농도에서 80.1±0.3%의 강한 효소 저해능을 나타내었으며, 효소활성은 농도 의존적으로 저해함을 알 수 있었다.

이상의 결과로 보터 쑥부쟁이의 EtOAc 가용부에는 우수한 항산화능과 아세틸콜린에스테라제 저해능이 있음을 알 수 있었다.

감사의 글

이 논문은 2008년도 대구한의대학교 기린연구비지원에 의해 수행되었으며 이에 감사를 드린다.

참고문헌

1. Parnetti L, Senin U, Mecocci P. Cognitive enhancement theraphy for Alzhemer's disease. The way forward. Drugs. 1997 ; 53 : 752-68.
2. Brinton RD, Yamazaki RS. Advances and challenges in the prevention and treatment of Alzhemer's disease. Pharmaceut. Res. 1998 ; 15 : 386-98.
3. Kim WG, Cho KM, Lee CK, Yoo ID. Terreulactone A, a novel meroterpenoid with anti-acethylcholinesterase

activity from *Aspergillus terreus*. Tetrahedron Lett. 2002 ; 43 : 3197-8.
4. Schneider LS. New therapeutic approaches to Alzheimer's disease. Psychiatry. 1996 ; 57 : 30-6.
5. Kapoor LD. CRC handbook of ayurvedic medicinal plants. Boca Raton : CRC Press. 1990 : 965-81.
6. Yoon HR, Yook CS. Studies on the constituents of *Angelica gigias*. Bull KH pharma Sci. 1995 ; 23 : 55-71.
7. Jung BM, Lim SS, Park YJ, Bae SJ. Inhibitory effects on cell survival and quinone reductase induced activity of *Aster yomena* fractions on human cancer cells. J Korean Soc Food Sci Nutri. 2005 ; 34 : 8-12.
8. Chon SU, Kim DI, Choi YS. Assessments on insecticidal and fungicidal activities by aerial part extracts from several compositae plants. Kor J Weed Sci. 2003 ; 23 : 81-91.
9. Blois MS. Antioxidant activity determination by the use of a stable free radical. Nature. 1958 ; 181 : 1199-200.
10. Re R, Pellegrini N, Proteggente A, Pannala A, Yang M, Rice-Evans C. Antioxidnt activity applying and improved ABTS radical action decolorization assay. Free Radical Biol Med. 1999 ; 26 : 1231-7.
11. Ellman GL, Countney KD, Andress V, Featherstone RM. A new and rapid colorimetric determination acetylcholinesterase activity. Biochem Pharmacol. 1961 ; 7 : 88-95.
12. Gao X, Bjork L, Trajkovski V, Uggla M. Evaluation of antioxidant activities of rosehip ethanol extracts in different test system. J Sci Food Agri. 2000 ; 80 : 2021-7.
13. Shim JS, Kim D, Kim TS, Kim KN. Biological activities of flavonoid glycosides isolated from Angelica keiskei. Korean J Food Sci Technol. 2005 ; 37 : 78-83.
14. Branen AL. Toxicology and biochemistry of butylated hydroxy anisole and butylated hydroxytolune. J Oil Chem Soc. 1975 ; 52 : 59-62.
15. Masaki H, Sakaki S, Atsumi T, Sakurai H. Active-oxygen scavenging activity of plants extracts. Biol Pharm Bull. 1995 ; 18 : 162-6.
16. Chung KT, Wong TY, Huang YW, Lin Y. Tannins and human health: a review. Critical Reviews in Food Science and Nutrition. 1998 ; 38 : 421-64.
17. Cassidy A, Hanley B, Lamuela-Raventos RM. Isoflavones, lignans and stilbenes\origins, metabolism and potential importance to human health. J Sci Food Agric. 2000 ; 80 : 1044-62.
18. Tapiero H, Tew KD, Ba N, Mathe' G. Polyphenols: do they play a role in the prevention of human pathologies? Biomed. Pharma. 2002 ; 56 : 200-7.
19. Cao, G, Sofic, E, Prior, R. Antioxidant and prooxidant behavior of flavonoids: structure - activity relationships. Free Radical Biol Med. 1997 ; 22 : 749-60.
20. Cai YZ, Mei S, Xing J, Luo Q, Corke H. Structure-radical scavenging activity relationships of phenolic compounds from traditional Chinese medicinal plants. Life Sci. 2006 ; 15 : 2872-88.
21. Mattson MP. Pathway towards and away from Alzheimer's disease. Nature. 2004 ; 430 : 631-9.
22. Benson A. Alzheimer's disease: A gangled issue. Drug Discovery Today. 2005 ; 10 : 749-51.
23. Orhan I, Kartal M, Tosun F, Sener B. Screening of various phenolic acids and flavonoid derivatives for their anticholinesterase potential. Z Naturforsh C. 2007 ; 62 : 829-32.
24. Orhan I, Naz Q, Kartal M, Tosun F, Sener B, Choudhary MI. In vitro anticholinesterase activity of various alkaloids. Z Naturforsh C. 2007 ; 62 : 684-8.
25. Heo BG, Park YS, Chon SU, Lee SY, Cho JY, Gorinstein S. Antioxidant activity and cytotoxicity of methanol extracts from aerial parts of Korean salad plants. Biofactors. 2007 ; 30 : 79-89.
26. Nugroho A, Kim KH, Lee KR, Alam MB, Choi JS, Kim WB, Park HJ. Qualitative and quantitative determination of the caffeoylquinic acids on the Korean mountainous vegetables used for chwinamul and their peroxynitrite-scavenging effect. Arch Pharm Res. 2009 ; 32 : 1361-7.
27. Wang SY, Chang HN, Lin KT, Lo CP, Yang NS, Shyur LF. Antioxidant properties and phytochemical characteristics of extracts from *Lactuca indica*. J Agric Food Chem. 2003 ; 26 : 1506-12.
28. Kim JS, Kim YS, Kim SK, Heor J, Lee BH, Choi BW, Ryu G, Park EK, Zee OP, Ryu SY. Inhibitory effects of some herbal extracts on the acetylcholienesterase (AChE) in vitro. Kor J Pharmacgn. 2002 ; 33 : 211-8.
29. Peng WH, Hsieh MT, Wu CR. Effect of long term administration of berberine on scopolamine- induced Amnesia in rats. Jpn J Pharmacol. 1997 ; 74 : 261-6.
30. Kwon YE. Inhibitory potency of acetylcholinesterase and amyloid beta peptide aggregation to the extract of enthusasm reducing herbals. Kor J Pharmacgn. 2007 ; 38 : 308-11.