

어성초 추출물의 항산화 및 신경세포 보호효과

정희록¹ · 곽지현¹ · 김지혜¹ · 최귀남¹ · 정창호² · 허호진^{1*}

¹경상대학교 농업생명과학대학 식품공학과 및 농업생명과학연구원

²경희대학교 생명과학대학 식품공학과

Antioxidant and Neuronal Cell Protective Effects of an Extract of *Houttuynia cordata* Thunb (a Culinary Herb)

Hee Rok Jeong¹, Ji Hyun Kwak¹, Ji Hye Kim¹, Gwi Nam Choi¹,
Chang-Ho Jeong² and Ho Jin Heo^{1*}

¹Department of Food Science & Technology, and Institute of Agriculture & Life Science,
Gyeongsang National University, Jinju 660-701, Korea

²Department of Food Science & Technology, Kyunghee University, Yongin 446-701, Korea

Abstract

The *in vitro* antioxidant activities and neuronal cell protective effects of 60% (w/v) methanolic extract from *Houttuynia cordata* were investigated. The contents of total phenolics and quercitrin in the extract were 17.71 mg/g and 75.80 µg/g, respectively. DPPH and ABTS radical-scavenging activities were 87.79% and 99.27%, respectively, when the extract was tested at 5 mg/ml. The FRAP (ferric reducing/antioxidant power) assay showed a dose-dependent increase in activity. In a cell viability assay using MTT, the extract protected against H₂O₂-induced neurotoxicity. Lactate dehydrogenase (LDH) leakage was also inhibited by the extract, as was lipid peroxidation as shown using the mouse brain homogenate test. These data indicate that a 60% (w/v) methanolic extract of *Houttuynia cordata* has *in vitro* antioxidant activities, and ingestion there of may reduce the risk of developing neurodegenerative disorders.

Key words : *Houttuynia cordata*, quercitrin, antioxidant activity, neuronal cell protective effect

서 론

현대인들의 생활은 바쁜 일상으로 인해 서구화된 식습관 및 식문화에 지나치게 노출되어 있다. 이러한 환경에 의해 인체의 노화와 암, 심혈관계 질환 등 만성질환이 계속해서 증가함에 따라 소비자들은 식품 소재들의 영양공급측면의 1차적 기능을 넘어 건강 증진 및 질병 예방 효과 측면의 3차적 기능으로 관심이 증대되어 건강기능성 식품에 대한 관심이 꾸준히 증가하고 있다(1).

인체의 노화와 질병을 유발하는 free radicals는 인체 내에서 정상적인 대사과정 중 물리·화학적 및 생물학적 스트레스로 인해 형성되어 세포막을 손상시키고 단백질 분해와

지질의 과산화 등을 일으켜 신경장애와 지질대사 장애 등을 유발시킨다. 나아가 liposome, deoxyribose 및 protein 등을 공격하여 산화를 유발시킴으로서 인체의 노화와 여러 가지 성인질환인 동맥경화증, 류마티스 관절염, 만성염증 및 암 등을 촉진시킨다. 특히 최근에는 산화적 스트레스에 의한 지질의 과산화가 퇴행성 신경질환으로 고려되는 Alzheimer's disease (AD)를 일으킨다는 연구결과들이 보고되고 있다(2). 이러한 산화적 스트레스를 유발하는 free radicals를 억제하는 생리작용으로는 hydrogen peroxidase와 catalase, 그리고 superoxide anion radical을 정상 상태의 산소로 전환시켜 주는 superoxide dismutase (SOD) 등과 같은 효소 반응계와 free radicals에 전자를 공여하여 산화를 억제하는 전자공여작용, 그리고 유사활성 등의 비효소적 반응계가 존재한다(3). 현재 퇴행성 신경질환의 대표적인 치료법으로는 항산화제 처리, 세포이식 및 외과적 수술 등 다양한 치료법이

*Corresponding author. E-mail : hjher@gnu.ac.kr,
Phone : 82-55-751-5476, Fax : 82-55-753-4630

제시 되고 있지만 뇌조직의 경우 일단 손상이 되면 기능 회복이 어렵기 때문에 여러 가지 위험 부담이 있어 적합한 치료제 및 방법이 없는 것이 현실이다. 이에 뇌 신경세포를 포함한 인체 내 신경세포보호 효과를 가지며 뛰어난 항산화 작용을 갖는 천연소재의 개발이 요구되고 있다(4).

그러므로 많은 학자들에 의하여 약용식물자원과 같은 천연물 소재로부터 얻는 건강기능식품에 연구가 집중되면서, 인체에 부작용이 없으면서도 다양한 성인병을 예방할 수 있는 생리활성물질을 천연물로부터 찾으려는 연구가 다각도로 진행되고 있다(5,6). 이러한 천연식물 소재들 중 어성초(*Houttuynia cordata*)는 삼백초과(Saururaceae)에 속하는 다년생 초본의 야생 약초로서 중국, 일본 및 한국이 원산지이다. 어성초는 전통약용 식물로서 수종, 매독, 방광염, 자궁염, 폐염 및 중풍 등 광범위한 치료효과가 있는 것으로 보고되고 있으며(7) 현재까지 어성초에 관한 연구로는 어성초 뿌리의 항균활성(7), 항산화(8), 항종양(9), 항백혈병 및 고지혈 억제효과(10) 등이 보고되고 있으며, 어성초의 주요 생리활성물질인 quercitrin은 다양한 생리활성 기능들을 가지고 있다고 보고되었다(11). 그러나 현재 국내에서는 항산화성을 기반으로 한 신경세포 보호효과 같은 관련 연구는 아직 미비한 실정이다.

따라서 본 연구에서는 기능성 식품 소재로서의 어성초가 갖는 산업적 활용 가능성을 제시하기 위하여, 예비실험결과 총페놀성 화합물 함량이 가장 높게 나타난 어성초 60% 메탄올 추출물을 이용하여 DPPH, ABTS 및 FRAP과 같은 항산화 활성을 바탕으로 MTT, LDH assays를 활용한 신경세포 보호효과를 측정하였다. 또한 이를 바탕으로 마우스 뇌조직을 이용한 지질 과산화의 저해율을 측정하여 Alzheimer's disease (AD)와 같은 신경 퇴행성 질환에 대한 어성초의 활용가능성을 제안하고자 하였다.

재료 및 방법

실험재료 및 추출물의 제조

본 연구에 사용된 어성초는 경상남도 진주시 내동면 소재에서 재배 중인 어성초를 구입하여 사용하였다. 본 실험에 사용된 시약으로 Folin & Ciocalteu's phenol reagent, 1,1-diphenyl-2-picryl-hydrazyl (DPPH), 2,4,6-tripyridyl-S-triazine (TPTZ) solution, 2,2'-azino-bis(3-ethylbenzthiazoline-6-sulfonic acid) diammonium salt (ABTS), 3-[4,5-dimethylthiazol-2-yl]-2,5-diphenyl tetrazolium bromide (MTT) assay kit, lactate dehydrogenase (LDH) release assay kits, 2-thio barbituric acid (TBA), trichloroacetic acid(TCA)는 Sigma Chemical Co. (St. Louis, MO, USA) 제품을 구입하여 사용하였고, 실험에 사용된 뇌조직은 6주령 Rat 수컷을 (주)샘타코에서 구입하여 사용하였으며, 그 외

사용된 용매 및 시약은 모두 일급 이상의 등급을 사용하였다. 어성초는 60% 메탄올 100 mL에 전초 5 g을 넣어(v/w) 2시간 환류냉각 추출한 후 No. 2 여과지(Whatman plc., Kent, UK)로 여과하여 진공회전농축기(EYLYA Co., Tokyo, Japan)를 이용하여 농축하고 동결 건조하여 냉동보관(-20°C)하면서 실험재료로 사용하였다.

세포 및 배양방법

본 실험에서 사용한 PC12 세포(KCLB 21721, Korean Cell Line Bank, Seoul, Korea)는 신경세포의 특성을 나타내는 세포로 mouse pheochromocytoma로부터 유도된 것을 사용하였다. PC12 세포를 25 mM HEPES, 25 mM sodium bicarbonate, 10% fetal bovine serum (Lonza), 50 units/mL penicillin 및 100 µg/mL streptomycin이 포함된 RPMI 1640 배지에 접종하여 37°C, 5% CO₂ 조건의 배양기에서 배양하였다.

총 페놀화합물 함량 분석

추출 시료 용액 1 mL에 3차 증류수 9 mL을 첨가한 후 Folin & Ciocalteu's phenol reagent 1 mL를 넣고 혼합하여 실온에서 5분간 반응시켰다. 반응용액에 7% Na₂CO₃ 용액 10 mL를 넣어 다시 혼합한 다음 3차 증류수로 25 mL로 정용하였다. 이 혼합 용액을 23°C에서 2시간 동안 정치한 후 760 nm 에서 흡광도를 측정하였다. 측정된 흡광도는 gallic acid를 이용하여 작성된 검량선으로 총 페놀화합물 함량을 계산하였다(12).

Quercitrin 함량 분석

어성초 용매별 추출물의 quercitrin 함량 분석을 위한 시료 추출은 시료 2 g에 각 용매 100 mL를 넣어(v/w) 2시간 동안 환류냉각 추출한 후 100 mL volumetric flask에 정용하여 0.45 µm membrane filter로 여과한 다음 HPLC (U3000, Dionex, CA, USA)로 분석하였다. 분석조건 column은 Shiseido C18 (4.6 mm × 250 mm, 5 µm)을 사용하였고, 이동상은 0.01 M potassium phosphate monobasic pH 3.0 (A)와 methanol (B)을 사용하였으며, 0~80% B 용매를 linear gradient로 30분 동안 분석하였다. 유속은 1.5 mL/min, 주입량은 20 µL, 검출기는 photo diode array detector 및 파장은 280 nm에서 분석하였다.

DPPH radical 소거활성

80% 메탄올로 용해시킨 0.1 mM DPPH 용액을 517 nm에서 흡광도 값이 1.00±0.02이 나오도록 80% 메탄올로 희석시켜 사용하였다. 1~5 mg/mL 농도의 추출물 0.1 mL에 흡광도 값을 맞춘 DPPH 용액 2.9 mL를 가한 후 vortex mixer로 균일하게 혼합한 다음 실온에서 30분간 방치한 후 UV-spectrophotometer (UV-1601, Shimadzu, Tokyo,

Japan)를 이용하여 517 nm에서 흡광도를 측정하였다(13). DPPH radical 소거활성은 아래의 식에 의해 계산하였다.

Radical scavenging activity(%) =

$$\frac{\text{대조구의 흡광도} - \text{시료의 흡광도}}{\text{대조구의 흡광도}} \times 100$$

ABTS radical 소거활성

1.0 mM 2,2'-azobis-(2-amidinopropane)dihydrochloride (AAPH)와 2.5 mM 2,2'-azino-bis(3-ethylbenzthiazoline-6-sulfonic acid) diammonium salt (ABTS)를 150 mM NaCl이 더해진 100 mM phosphate buffer (pH 7.4)와 함께 혼합하여 68°C water bath에서 30분 동안 열을 가하고 실온에서 10분 동안 식힌다. ABTS 용액은 734 nm에서 흡광도 값이 0.65±0.02이 나오도록 buffer로 희석시켜 사용하였다. 시료용액 20 µL에 흡광도 값을 맞춘 ABTS 용액 980 µL를 혼합하여 37°C에서 10분간 반응시키고, 734 nm에서 흡광도를 측정하였다(13).

FRAP (Ferric reducing/antioxidant power) assay

FRAP assay에 사용된 시약은 0.3 M sodium acetate buffer(pH 3.6)와 40 mM HCl로 용해시킨 10 mM 2,4,6-tripyridyl-S-triazine (TPTZ) solution, 그리고 20 mM FeCl₃ solution을 사용하였다. 미리 제조된 sodium acetate buffer, TPTZ solution 및 FeCl₃ solution을 각각 10 : 1 : 1(v/v/v)의 비율로 혼합하여 37°C에서 10~15분간 incubation 시켜 FRAP reagent를 준비하였다. FRAP reagent 1.5 mL를 추출물 50 µL에 혼합하여 vortex하여 실온에서 30분간 방치한 후 593 nm에서 흡광도를 측정하였다(14).

세포 생존율 측정

Hydrogen peroxide(H₂O₂)에 의해 유도된 PC12 세포에 대한 보호효과는 MTT reduction assay로 측정하였다(15). 어성초 60% 메탄올 추출물을 농도별로 PC12 cell에 처리하여 48시간동안 pre-incubation한 후, 200 µM H₂O₂를 각각 3시간동안 처리하였다. 이 상태의 PC12 cell에 MTT stock solution을 처리하여 37°C에서 3시간 incubation한 후, MTT solubilization solution 100 µL를 첨가하여 반응을 종결시켰다. 마지막으로 흡광도는 microplate reader (680, Bio-rad, Tokyo, Japan)를 이용하여 570 nm와 690 nm에서 측정하였다. Positive control은 vitamin C (200 µM)를 사용하였고, cell viability는 control group에 대한 % concentration으로 나타났다. 또한 어성초 60% 메탄올 추출물을 48시간동안 pre-incubation한 후 LDH assay kit (Sigma Co., St. Louis, MO, USA)으로 세포막 손상효과를 측정하였다(15).

지질의 과산화 억제활성

뇌 조직을 이용한 지질과산화 생성물인 malondialdehyde

(MDA) 생성 억제활성측정은 Chang 등의 방법(16)을 변형하여 사용하였다. 뇌 부위 조직에 10 volume의 ice cold Tris-HCl buffer (20 mM, pH 7.4)에 균질화시킨 후 4°C에서 15분간 12,000 g으로 원심분리하였다. 상등액 0.1 mL에 10 µM FeSO₄ 0.1 mL, 0.1 mM ascorbic acid 0.1 mL 및 시료 0.2 mL를 첨가하여 37°C에서 1시간 동안 배양하였다. 이 반응액에 28% trichloroacetic acid 0.1 mL를 첨가하여 반응을 종결시키고, 1% thiobarbituric acid 0.3 mL를 첨가하여 80°C에서 30분간 가열한 후 532 nm에서 흡광도를 측정하였다.

통계처리

모든 실험은 3회 반복 실시하여 mean±SD로 나타내었으며, 각 평균값에 대한 검증은 SAS version 6.12 (SAS Institute, Cary, NC, USA)를 이용하여 평균과 표준오차를 나타내었다.

결과 및 고찰

총 페놀성 화합물 함량 및 quercitrin 함량 분석

어성초에 존재하고 있는 quercitrin과 같은 페놀성 화합물은 천연물에 많이 함유되어 있는 성분으로 이들의 주요 역할은 자유라디칼을 소거하는 것이라는 연구가 많이 보고되고 있으며, 이러한 페놀성 화합물인 플라보노이드나 페놀산 및 안토시아닌 등의 총량인 총 페놀성 화합물 함량은 DPPH radical 소거활성과 같은 항산화 활성에 중요한 인자로 작용한다(17). 어성초 60% 메탄올 추출물의 총 페놀성 화합물 함량과 HPLC로 분석한 quercitrin함량은 Table 1에서 나타난 바와 같다. 어성초 용매별 추출물의 총 페놀성 화합물 함량과 quercitrin 함량은 각각 17.71 mg/g과 75.80 µg/g로 나타났다. Kim 등(18)은 어성초 60% 메탄올 추출물의 총 페놀성 화합물을 측정한 결과 약 18 mg/g으로 나타나 본 실험과 거의 유사한 결과를 보여주었다. 또한 본 연구 결과는 최근 건강 기능성 식품 소재로 이용되고 있는 자색 고구마 메탄올 추출물의 총 페놀성 화합물 함량인 13.1 mg/g(19) 보다 높은 결과를 나타내어 건강 기능성 소재로서의 활용 가능성이 클 것으로 생각된다. 특히 어성초에는 주요 폴리 페놀성 화합물로 quercitrin이 다량 함유되어 있는데 이는 독성완화, 고름억제, 항종양 효과 등 다양한 생리활성 기능들을 가지고 있다고 보고되었다(11). 따라서 어성초 추출물에는 다양한 생리활성을 가지고 있는 quercitrin 및 폴리 페놀성 화합물이 다량 함유되어 있으므로 어성초를 활용한 고부가가치 식품 가공품 및 건강 기능성 식품 소재로써 이용 가능성이 클 것으로 판단된다. 다만 소재로서의 가능성을 보다 구체화하기 위해서는 어성초가 갖는 quercitrin 이외의 주요 성분에 대한 chemical analysis 등이 이루어져야 할 것으로 사료된다.

Table 1. Contents of total phenolics and quercitrin in 60% methanol extracts from *Houttuynia cordata* Thunb.

<i>Houttuynia cordata</i> 60% methanol extract	
Total phenolics contents (mg/g)	17.71±0.22 ¹⁾
Quercitrin contents (µg/g)	75.80±0.37

¹⁾Results are mean±SD (n=3).

항산화 활성

어성초의 60% 메탄올 추출물을 이용하여 DPPH, ABTS radical 소거활성 및 FRAP assay 결과는 Fig. 1과 같다. DPPH radical 소거활성(Fig. 1(A))은 추출물의 농도가 증가함에 따라 DPPH radical 소거활성이 크게 증가하는 경향이 나타났고, 특히 농도 5 mg/mL에서는 87.79%로 가장 높은 DPPH radical 소거 활성을 나타내었으며, positive control로 사용된 vitamin C (1 mg/mL)에 가까운 항산화 활성을 나타내었다. Lee 등(20)은 염생식물의 메탄올 추출물로부터 DPPH radical 소거 활성을 측정된 결과 DPPH radical 소거효과가 폴리페놀 화합물과 같은 비교적 극성이 큰 화합물에 의한 것으로 보고하였다. 따라서 본 연구 결과에서도 어성초 60% 메탄올 추출물의 DPPH radical 소거활성이 높게 나타난 것은 메탄올 추출물이 폴리페놀성 화합물과 같은 비교적 극성이 큰 화합물들이 다량 함유되어 있기 때문이라고 판단된다.

ABTS radical 소거활성 측정(Fig. 1(B))에서도 추출물의 농도가 증가함에 따라 ABTS radical 소거활성이 증가하는 경향을 보였으며, 특히 농도 5 mg/mL에서는 99.27%로 vitamin C 1 mg/mL보다 높은 활성을 나타내면서 우수한 항산화능을 갖는 것으로 드러났다. Jee (21)의 70% 에탄올로 추출한 상백피 추출물의 항산화 활성 및 미백효과에 대한 연구에 따르면, ABTS radical 소거활성 측정에서 농도의 의존적으로 활성이 증가되었으며, 농도 500 µg/mL와 1,000 µg/mL에서는 각각 75.5%와 77.1%로 높은 radical 소거활성이 나타났다고 보고하였다. 약용식물과에 속하고 효능이 유사한 상백피의 실험 결과는 에탄올과 극성도가 거의 유사하고 용매의 혼합비율이 비슷한 60% 메탄올로 추출한 본 실험과 유사한 결과를 나타내었으며, 이는 용매의 특정한 혼합비율에서 radical 소거활성이 가장 높다는 것을 알 수 있다.

FRAP assay는 시료 내에 존재하는 항산화제에 의해 ferric ion이 ferrous ion으로 환원됨으로써 얻어지는 colored ferrous tripyridyl triazine complex를 593 nm에서 흡광도를 측정함으로써 항산화력을 측정하는 방법이다(22). 어성초의 FRAP assay 결과는 Fig. 1(C)에서 보는 바와 같다. 어성초의 60% 메탄올 추출물의 농도가 1 mg/mL에서 5 mg/mL로 증가함에 따라 흡광도가 농도의존적으로 급격히 증가하는

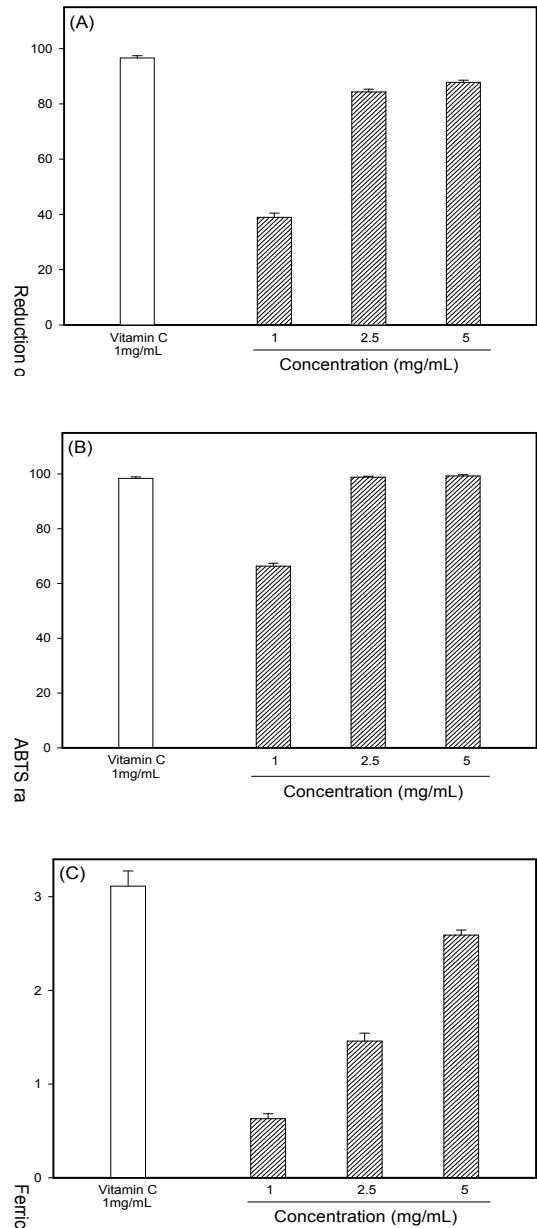


Fig. 1. DPPH (A), ABTS (B) radical scavenging activities and FRAP assay (C) of 60% methanol extracts from *Houttuynia cordata* Thunb.

Results are mean±SD (n=3).

□ : Vit. C, ▨ : 60% MeOH ext.

것으로 나타났다. 특히 농도 5 mg/mL에서는 positive control로 사용한 vitamin C 1 mg/mL에 가까운 활성을 나타내어 상대적으로 우수한 항산화능을 갖는 것으로 나타났다. Osawa (23)은 식물로부터 추출된 페놀성 화합물은 항산화능을 포함한 다양한 생물학적 효능을 나타낸다고 보고하였으며 이들의 효능은 주로 산화·환원력에 의한 것이라고 보고하였다. 따라서 본 실험 결과에서 어성초 60% 메탄올 추출물의 항산화 활성이 증가한 것은 어성초 추출물에 함유

되어 있는 quercitrin과 같은 페놀성 화합물이 산화·환원력에 의해 유리 라디칼을 소거하는 것이라고 생각된다.

신경세포 보호 효과와 세포막 손상 보호효과

Alzheimer's disease (AD) 및 Parkinson's disease (PD)와 같은 신경계 질환은 산화적 스트레스에 의한 신경세포의 사멸에 의해 발생되며, 천연 항산화 소재인 flavonoids, polyphenols 등은 산화적 스트레스로부터 신경세포 보호효과가 뛰어난 것으로 보고되고 있다(24). 어성초 60% 메탄올 추출물의 H_2O_2 에 의해 유도된 산화적 스트레스 상태에서 PC12 세포에 대한 보호 효과를 측정된 결과는 Fig. 2(A)와 같다. Neuronal cell viability는 H_2O_2 를 처리한 처리구에서 control group(96.54%) 대비 56.64%의 생존율을 나타냈고, H_2O_2 와 vitamin C (positive control)를 동시에 처리한 처리구에서는 73.13%의 생존율로 H_2O_2 대비 약 17% 정도의 신경세포 보호효과를 보였다. 어성초 60% 메탄올 추출물을 처리한 시료에서는 100 $\mu\text{g/mL}$ 농도에서 positive control로서의 vitamin C 200 μM 과 유사한 보호효과를 보였으나 농도별 효과는 크기 않은 것으로 나타났다. 그러나 이는 Table 1에서 나타낸 어성초 60% 메탄올 추출물에 함유되어 있는 quercitrin 및 다양한 페놀성 화합물 등으로부터 기인한 것으로 판단된다.

신경세포의 세포막은 대부분이 지질성분으로 구성되어 있어서 특히 산화적 스트레스에 매우 취약한 구조를 가지고 있다(25). 이러한 지질 과산화에 의한 세포막 손상으로부터 신경세포를 보호할 수 있는 어성초 메탄올 추출물의 세포막 보호효과를 더불어 알아보기 위해 다음의 연구를 진행하였다. H_2O_2 로 유도된 산화적 스트레스에 대하여 어성초 추출물들의 신경세포의 세포질 성분으로서의 LDH 방출량을 측정된 결과는 Fig. 2(B)와 같다. Control group의 방출량은 28.09% 정도인데 반해 H_2O_2 처리한 구에서는 55.22%의 방출량을 보여 H_2O_2 로 인해 LDH 방출량이 27%정도 증가하는 것으로 나타났다. 반면 vitamin C 200 μM 처리군은 36.13%의 방출량을 보였고, 어성초 60% 메탄올 추출물의 농도별 처리구에서는 LDH 방출량이 감소하였으며, 최대 100 $\mu\text{g/mL}$ 농도에서는 36.01%로 높은 세포막 보호효과를 보여주었다. 이는 역시 어성초 60% 메탄올 추출물의 flavonoids를 포함한 다양한 phenolics들이 세포막에 존재하는 지질의 과산화를 억제하여 세포손상을 보호한 것으로 판단된다.

뇌 조직을 이용한 지질의 과산화 억제활성

본 연구에서는 유해 활성산소에 의한 뇌세포의 산화적 손상에 있어서 어성초 60% 메탄올 추출물에 의한 지질 과산화 억제 효과를 분석하였는데, 이는 뇌세포가 다른 장기에 비하여 특히 불포화 지방산의 함량이 높은 관계로 산화적 손상의 변화를 조사하기가 유리하고, 지질성분의

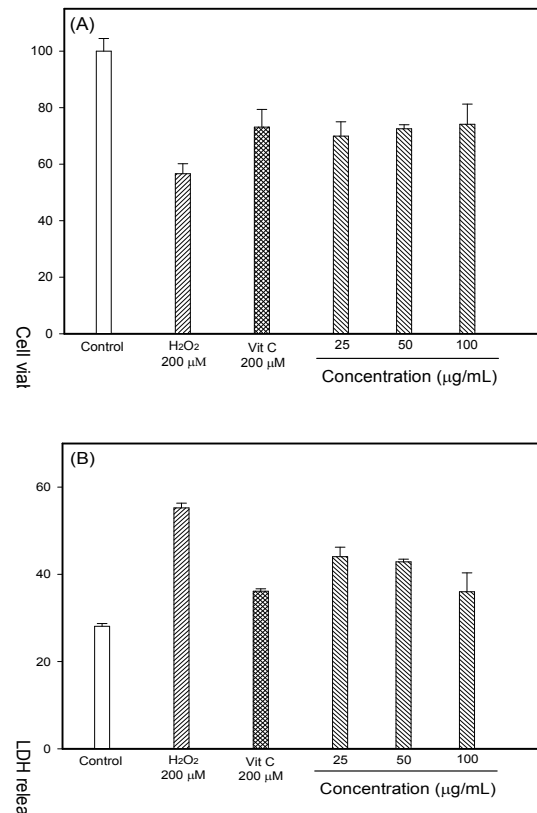


Fig. 2. Protective effect of 60% methanol extracts from *Houttuynia cordata* Thunb against H_2O_2 -induced cell death and membrane damage in PC12 cell system.

PC12 cells were pre-treated for 48 hr with various concentration. The cells were then treated with 200 μM H_2O_2 for 3 hr. Vitamin C(200 μM) was applied as positive control. (A) Levels of cell viability were measured using the MTT assay as described under materials and methods. (B) Inhibition effect of LDH release on H_2O_2 -induced membrane damage was measured with a colorimetric LDH assay kit. Results are mean \pm SD (n=3). □ : Vit. C, ▨ : H_2O_2 , ▩ : Vit. C, ▤ : 60% MeOH ext.

산화가 세포막 손상 및 기타 단백질 손상(25)과도 관계가 깊어 본 연구를 진행하였다. 어성초 60% 메탄올 추출물을 이용한 지질 과산화 억제 활성은 Fig. 3에서 보는 바와 같다. 추출물의 농도가 증가함에 따라 저해 활성이 증가하는 것으로 나타났고, 특히 100 $\mu\text{g/mL}$ 에서는 55.61%로 positive control로 사용된 산화 방지제 catechin 100 $\mu\text{g/mL}$ 에 가까운 저해 활성을 보여주어 뛰어난 산화 방지 효과가 있는 것으로 나타났다. Chua 등(26)은 계피 나무 가지 조추출물과 분획물들의 지질의 과산화억제 활성에 관한 연구 결과 총 페놀성 화합물의 함량이 높게 나타난 부탄올 및 에틸 아세테이트 층에서 뛰어난 저해활성을 보여주었다. 이는 추출물의 용매에 따라 지질의 과산화를 억제하는 효과가 크게 다르다는 것으로 보여지며, 향후 본 연구에서도 메탄올 뿐만 아니라 다양한 용매 조건에서 나타나는 지질의 과산화 억제 활성에 관한 추가적인 연구가 필요할 것으로 생각된다. 한편 앞선 결과에서 나타난 퇴행성 신경 질환을 유발하는 원인중 하나인 신경세포막의 파괴는 불포화 지방산을

다량 함유하고 있는 mouse brain을 대상으로 진행된 본 실험에 의하여 지질의 과산화에 있다는 것을 다양한 병인학적 기작의 일부로서 보여주었다. 본 연구결과를 종합해 볼 때 quercitrin 및 다양한 페놀성 화합물을 함유한 어성초 60% 메탄올 추출물은 항산화 및 산화적 스트레스로부터 나타나는 지질의 과산화로 인한 신경세포 보호효과를 나타내어 퇴행성 신경질환 등을 예방할 수 있는 기능성 식품 소재로서의 활용 가치가 높다고 판단된다.

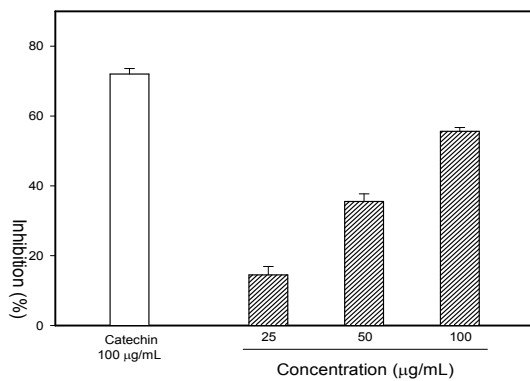


Fig. 3. Effects of 60 % methanol extracts from *Houttuynia cordata* Thunb on both ferric ion and ascorbic acid-induced lipid peroxidation on mouse brain homogenates. Results are mean±SD (n=3).

□ : Catechin, ▨ : 60% MeOH ext.

요 약

본 연구에서는 예비실험결과 높은 총 페놀 화합물 함량 (17.71 mg/g)을 나타낸 어성초 60% 메탄올 추출물의 항산화 효과 및 신경세포 보호효과를 알아보기 위해 다양한 연구를 진행하였다. 어성초의 DPPH와 ABTS radical 소거 활성 및 FRAP assay결과 농도 의존적인 경향이 나타났으며, 높은 항산화 활성을 보여주었다. MTT, LDH assay를 통한 신경세포 보호효과를 측정된 결과 MTT 실험에서는 어성초 60% 메탄올 추출물의 모든 농도에서 positive control로서의 vitamin C와 유사한 세포 생존율을 나타냈고, LDH 실험에서는 추출물에 의한 농도 의존적인 효소 방출량 감소가 관찰되었다. 또한 LDH 실험에서 나타난 신경세포막 파괴의 원인을 확인하고자 뇌 조직을 이용한 지질의 과산화 억제 활성을 측정된 결과 농도 의존적으로 지질의 과산화가 억제 되는 것으로 나타나 지질의 과산화는 신경세포의 파괴를 유발시킬 수 있다는 가능성을 확인하였다. 본 연구결과를 종합해 볼 때 quercitrin 및 다양한 페놀성 화합물을 함유한 어성초 60% 메탄올 추출물은 항산화 및 산화적 스트레스로부터 나타나는 지질의 과산화로 인한 신경세

포 보호효과를 나타내어 퇴행성 신경질환 등을 예방할 수 있는 기능성 식품 소재로서의 활용 가치가 높다고 판단된다.

감사의 글

본 연구는 정부의 재원으로 한국연구재단(KRF- 2008-521-F00074) 및 지식경제부 지역산업기술개발과제(경남-2009-70007068)의 지원을 받아 수행된 연구 결과로 이에 감사드립니다.

참고문헌

1. Park SH, Hwang HS, Han JH. (2004) Development of drink from composition with medicinal plants and evaluation of its physiological function. Korean J. Nutr., 37, 364-372
2. Ames BN, Shigenaga MK, Hagen TM. (1993) Oxidant, antioxidants, and the degenerative disease of aging. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 90, 7915-7922
3. Jeong CH, Choi GN, Kwak JH, Kim JH, Choi SG, Shim KH, Heo HJ. (2009) Effect of storage temperature and water activity on antioxidant activities of powdered green tea extracts. Korean J. Food Preserv., 16, 333-341
4. Yoon MY, Lee BB, Kim JY, Kim YS, Park EJ, Lee SC, park HR. (2007) Antioxidant activity and neuroprotective effect of Psoralea corylifolia linne extract. Korean J. Pharmacogn., 38, 84-89
5. Aruoma OI, Halliwell B, Aeschbach R, Loligers J. (1992) Antioxidant and pro-oxidant properties of active rosemary constituents: carnosol and carnosic acid. Xenobiotica, 22, 257-268
6. Halliwell B, Gutteridge JM. (1990) The antioxidants of human extracellular fluids. Arch. Biochem. Biophys., 280, 1-8
7. Song JH, Kim MJ, Kwon HD, Park IH. (2003) Antimicrobial activity of fractional extracts from *Houttuynia Cordara* root. J. Korean Soc. Food Sci. Nutr., 32, 1053-1058
8. Lee YJ, Shin DH, Jang YS, Sin JH. (1993) Antioxidative effects of fractions from sequential ethanol extracts of *Houttuynia cordata*, Portulacaceae and sesame cake. J. Korean Soc. Food Nutr., 25, 683-686
9. Kim SK, Ryu SY, Choi SU, Kim YS. (2001) Cytotoxic alkaloids from *Houttuynia cordata*. Arch. Pharm. Res., 24, 518-521
10. Chung CK, Ham SS, Lee SY, Oh DH, Choi SY, Kang,

- IJ, Nam SM. (1999) Effects of *Houttuynia cordata* ethanol extracts on serum lipids and antioxidant enzymes in rats fed high fat diet. J. Korean Soc. Food Sci. Nutr., 28, 205-211
11. Miao MS, Li ZG. (2000) Modern practical chinese traditional medicine quality control technology. People's Hygiene Press, Beijing, p.43
 12. Kim DO, Jeong SW, Lee CY. (2003) Antioxidant capacity of phenolic phytochemical from various cultivars of plums. Food Chem., 81, 321-326
 13. Kim DO, Lee KW, Lee HJ, Lee CY. (2002) Vitamin C equivalent antioxidant capacity (VCEAC) of phenolic phytochemicals. J. Agric. Food Chem., 50, 3713-3717
 14. Jeong CH, Choi GN, Kim JH, Kwak JH, Kim DO, Kim YJ, Heo HJ. (2010) Antioxidant activities from the aerial parts of *Platycodon grandiflorum*. Food Chem., 118, 278-282
 15. Heo HJ, Cho HY, Hong BS, Kim EK, Kim BK Shin DH. (2001) Protective effect of 4',5-dihydroxy-3',6,7-trimethoxyflavone from *Artemisia asiatica* against A β -induced oxidative stress in PC12 cells. Amyloid, 8, 194-201
 16. Chang ST, Wu JH, Wang SY, Kang PL, Yang NS, Shyur LF. (2001) Antioxidant activity of extracts from *Acacia confusa* bark and heartwood. J. Agric. Food Chem., 49, 3420-3424
 17. Jeong CH, Choi SG, Heo HJ. (2008) Analysis of nutritional components and evaluation of functional activities of *Sasa borealis* leaf tea. Korean J. Food Sci. Technol., 40, 586-592
 18. Kim JY, Yi YS, Lim YH. (2009) Biological and antifungal activity of herbal plant extracts against *Candida* species. Kor. J. Microbiol. Biotechnol., 37, 42-48
 19. Song J, Chung MN, Kim JT, Chi HY, Son JR. (2005) Quality characteristics and antioxidative activities in various cultivars of sweet potato. Korean J. Crop. Sci., 50, 141-146
 20. Lee HJ, Kim YA, Ahn JW, Lee BJ, Moon SG, Seo YW. (2004) Screening of peroxynitrite and DPPH radical scavenging activities from salt march plants. Korean J. Biotechnol. Bioeng., 19, 57-61
 21. Jee SO. (2009) Antioxidant activities and whitening effect of the mulberry (*Morus alba L.*) root bark extracts. Korean J. Plant Res., 22, 145-151
 22. Benzie IFF, Strain JJ. (2009) The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "antioxidant power": The FRAP assay. Anal. Biochem., 239, 70-76
 23. Osawa T. (1994) Novel natural antioxidant for utilization in food and viological system. In Postharvest Biochemistry of Plank Food Material in the Tropics, Uritani I, Garcia VV, Mendoza EM, Japan Scientific Societies Press, Tokyo, Japan, p.241-251
 24. Zhao B. (2009) Natural antioxidants protect neurons in alzheimer's disease and parkinson's disease. Neurochem. Res., 34, 630-638
 25. Uchida K, Stadtman ER. (1993) Covalent attachment of 4-hydroxynonenal to glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase. A possible involvement of intra and intermolecular cross-linking reaction. J. Biol. Chem., 268, 6388-6393
 26. Chua MT, Tung YT, Chang ST. (2008) Antioxidant activities of ethanolic extracts from the twigs of *Cinnamomum osmophloeum*. Bioresour. Technol., 99, 1918-1925

(접수 2010년 4월 30일, 수정 2010년 8월 31일 채택 2010년 9월 3일)