

## Evaluation of Acetylcholinesterase Inhibitory and Antioxidative Activities of *Rhus javanica*

Jong-Sup Bae<sup>1#</sup>, Hyun-Shik Lee<sup>2#</sup>, Ha Yeong Lee<sup>1</sup>, Byung-Hyuk Yoo<sup>3</sup>,  
Taewan Kim<sup>4</sup>, Yong Han Kim<sup>5</sup>, Tae Hoon Kim<sup>5\*</sup>

<sup>1</sup>College of Pharmacy, Research Institute of Pharmaceutical Sciences, Kyungpook National University, Daegu 702-701, Korea

<sup>2</sup>School of Life Sciences, College of Natural Sciences, Kyungpook National University, Daegu 702-701, Korea

<sup>3</sup>Department of Food Science and Technology, Yeungnam University, Gyeongsan 712-749, Korea

<sup>4</sup>Department of Food Science & Biotechnology, Andong National University, Andong 760-749, Korea

<sup>5</sup>Department of Herbal Medicinal Pharmacology, Daegu Haany University, Gyeongsan 712-715, Korea

### 오배자 추출물의 Acetylcholinesterase 저해 및 항산화 활성 평가

배종섭<sup>1#</sup> · 이현식<sup>2#</sup> · 이하영<sup>1</sup> · 유병혁<sup>3</sup> · 김태완<sup>4</sup> · 김용한<sup>5</sup> · 김태훈<sup>5\*</sup>

<sup>1</sup>경북대학교 약학과, 약학연구소, <sup>2</sup>경북대학교 자연과학대학 생명과학부, <sup>3</sup>영남대학교 식품공학과,

<sup>4</sup>안동대학교 식품생명공학과, <sup>5</sup>대구한의대학교 한약재약리학과

#### Abstract

Antioxidant capacity and acetylcholinesterase (AChE) inhibitory activity of the aqueous methanolic extract of *Rhus javanica* were investigated *in vitro*. The antioxidant properties was measured by radical scavenging assays using DPPH and ABTS<sup>+</sup> radicals. The AChE inhibitory efficacy of *R. javanica* was tested by Ellman's assay and the total phenolic content was determined using a spectrophotometric method. All tested samples showed a dose-dependent AChE inhibitory and radical scavenging activities. In particularly, ethyl acetate (EtOAc)-soluble portion from the methanolic extract of *R. javanica* showed significantly higher inhibitory activity than other organic solvent soluble-portions in an AChE and radical scavenging assay systems. These results suggest that *R. javanica* may be possess potential benefits which might be useful in development of antioxidant and anti-alzheimer's disease ingredient.

**Key words :** *Rhus javanica*, antioxidant activity, DPPH, ABTS<sup>+</sup>, acetylcholinesterase (AChE)

#### 서 론

알츠하이머병은 만성적인 퇴행성신경질환으로서 인지 능력의 손실을 초래하며, 행동이상을 초래하며 심한 경우 죽음에 이르기도 한다. 현재까지 치매의 다양한 원인이 알려져 있으며, 치매의 종류로서는 알츠하이머성 치매, 혈관성 치매, 기타 알코올중독, 외상, 파킨슨병의 후유증으로 오는 치매로 구분되며 알츠하이머성 치매가 가장 일반적이며, 전 세계적으로 약 2만 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 신경계 기능의 기능저하를 방지하고 강화하려는 측면에서 아세틸콜린의 분해효소인 acetylcholinesterase (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

\*Corresponding author. E-mail : skyey7@dhu.ac.kr  
Phone : 82-53-819-1371, Fax : 82-53-819-1339

#Two authors equally contributed to this work.

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).

최근 생활환경 및 식생활 패턴의 변화 등으로 현대인들은 생체조직의 노화와 관련된 각종 퇴행성 질환 및 생활습관성 질병이 사회적 문제로서 주목을 받고 있으며 그 원인이 활성산소에 기인된 것으로 알려져 있으며, superoxide, nitric oxide, nitrogen dioxide, hydroxyl, peroxynitrite 등과 같은 활성 산소 종들은 인간의 대사과정 중에 끊임없이 발생되어 노화 및 관련 질병의 주요 인자로 작용하고 있다(5,6). 현재 널리 사용되고 있는 항산화제로서는 butylated hydroxy anisol (BHA) 및 butylated hydroxy toluene (BHT) 등의 합성 항산화제이며, 이들을 50 mg/kg/day 이상의 고용량으로 장기간 복용 시 지질대사의 불균형과 암을 유발시킬 수 있기 때문에 사용을 제한을 권고하고 있는 상황이다(7). 이러한 합성 항산화제를 대체할 수 있는 우수한 소재의 개발이 지속적으로 요구되고 있는 실정이며(8), 기능성 소재물질에 관한 탐색 연구는 주로 민간요법이나 한방에서 이미 효능이 검증된 소재를 활용하고 있으며, 식이가 가능하고 부작용이 적은 천연물을 이용한 연구가 활발히 이루어지고 있다(9).

노화와 관련된 질환 중, 치매는 뇌세포의 퇴화로 말미암아 기억력, 인지 능력 감퇴, 학습력 저하 등의 증세를 나타내게 되는 질환이다. 뇌세포의 퇴화의 주된 원인인 노화는 혈액중 활성 산소나 노화물질이 많아지면서 더욱 가속화되는 것으로 알려져 있다(10,11). 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 등이 AChE에 대해 뛰어난 저해 효능을 나타냄이 보고되었으며 약물로서의 개발이 진행되고 있는 시점이다(12,13).

오배자는 옷나무과(*Anacardiaceae*)에 속하는 붉나무에 진딧물(*Melaphis chinensis*)이 기생하여 생긴 벌레집으로서, 예로부터 수렴지사제, 회상출혈 치료에 이용되어져왔으며 오배자에 존재하는 고농도의 탄닌은 염료 및 잉크 등의 제조에 사용되어져 왔다(14). 오배자에는 항산화, 항혈전, 항바이러스 및 멜라닌 생성성 억제 활성 등이 보고 되어져 있으며(14-17), 이들 활성과 관련된 화합물은 gallotanin류 및 triterpenoid 화합물 등이 알려져 있다. 본 연구에서는 약용식물로부터 천연활성소재 개발을 목표로 하여 약 300여종의 천연소재로부터 생리활성을 지표로 한 체계화된 효능평가 시스템을 이용한 스크리닝을 수행한 결과, 오배자의 메탄올 추출물에서 우수한 AChE 및 항산화 활성을

확인하였으므로 그 결과를 보고하는 바이다.

## 재료 및 방법

### 실험재료

본 실험에 시료로 사용한 건조 오배자(*Rhus javanica*)은 2007년 10월에 충남 아산에서 채집한 것을 세척하고 잘게 세절한 다음 사용하였으며, 표본시료는 본대학교의 한약재 약리학과 천연물화학실험실에 보관하고 있다. 본 실험에서 사용된 시약으로 Folin and Ciocalteu's phenol reagent, gallic acid, 2,2'-azinobis-3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid (ABTS), 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH), (+)-catechin 및 tacrine은 Sigma Chemical Co (St Louis, MO, USA) 구입하여 사용하였고, 그 외에 사용된 용매 및 시약은 모두 일급 이상의 등급을 사용하였다.

### 추출물의 제조 및 분획

건조된 오배자 1 kg을 분쇄기로 잘게 마쇄한 후 80% methanol (MeOH) 10 L로 3일간 3회 반복 추출한 후 얻어진 용액을 여과한 후, 감압 농축하여 얻어진 결과물(82 g)에 대해 AChE 저해효능을 평가한 결과 62.5 mg/mL의 농도에서 68.1±0.8%의 우수한 저해능을 나타내었고, 항산화 효능의 평가로 이용된 DPPH 및 ABTS<sup>+</sup> 라디칼에 대해서 15.6 mg/mL의 시험농도에서 각각 58.5±1.2과 72.9±1.7%의 우수한 소거능을 나타내었다. 활성물질의 형태를 추정하기 위하여 농축 분말 450 g에 대하여 10% MeOH 3 L로 현탁하여 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(24.6 g), EtOAc 가용분획(265.2 g), *n*-BuOH 가용분획(37.2 g), H<sub>2</sub>O 가용분획(98.7 g)을 각각 얻었으며 각 분획물을 대상으로 라디칼 소거능 및 AChE 저해능을 평가하였다.

### 총페놀성 화합물 함량 평가

총 페놀성 화합물의 함량은 Folin-Denis 방법(18)에 따라 측정하였으며, 추출물 혹은 분획물을 1.0 mg/mL 농도로 조제한 후, 75 mL의 증류수가 함유된 100 mL의 메스 플라스크에 1 mL넣고 잘 혼합하여 Folin-Denis 시액 5 mL와 탄산나트륨 포화용액 10 mL를 차례로 넣은 다음 증류수로 100 mL 용량으로 채운다. 이것을 잘 혼합하여 실온에서 30분 방치한후, UV/VIS 분광광도계로 725 nm에서 흡광도를 측정하였으며, 표준물질은 gallic acid를 이용하여 표준곡선을 작성하여 양을 환산하였다.

### Acetylcholinesterase (AChE) 저해능 측정

저해 활성 측정은 Ellman법(19)을 변형하여 수행하였으

며, 효소는 일정량씩 분주하여 80°C 이하에서 보관하였으며, 최종 농도는 0.03 unit의 농도로 사용하였으며, 기질은 0.1 M의 odium phosphate buffer (pH 8.0)에 녹인 1000 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°C에서 10분간 preincubation을 하고, 기질 200 µL를 가해 3분간 반응 후 흡광도 (410 nm)를 측정하였다. 이때 대조물질로는 tacrine을 각 농도별로 사용하였으며 결과는 시료를 처리하지 않은 군에 대한 %로 표시하였다.

#### DPPH 라디칼소거능 측정

전자공여능은 Blois 방법(20)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.

#### ABTS<sup>+</sup> 라디칼 소거능 측정

오배자 80% ethanol 추출물의 2,2'-azinobis-3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid (ABTS) radical 소거능을 Re의 방법(21)을 변형하여 다음과 같이 측정하였다. 7 mM ABTS (in water)와 2.45 mM K<sub>2</sub>O<sub>8</sub>S<sub>2</sub>동량을 혼합 후 실온, 암소에서 16시간 방치하여 라디칼의 생성을 유도한 후 ABTS<sup>+</sup> 라디칼 용액을 희석하여 734 nm에서 흡광도 값이 1.2~1.3 정도가 되도록 희석하여 사용하였다. 희석한 ABTS<sup>+</sup> 라디칼 용액 980 µL와 생약 추출액 20 µL을 혼합하여 실온에서 15분간 반응시킨 후 734 nm에서 흡광도를 측정하였다. 이때 대조물질로는 1 mM ascorbic acid를 사용하였으며 결과는 시료를 처리하지 않은 군에 대한 %로 표시하였다.

## 결과 및 고찰

#### 총 페놀성 화합물 함량

오배자 80% MeOH 추출물 및 각 분획물에 함유하고 있는 총 페놀성 화합물의 함량을 Table 1에 나타내었으며, EtOAc 분획물이 100 g당 23.0 g의 페놀성 화합물을 함유하는 것으로 나타났으며, *n*-BuOH 분획물이 22.0 g, *n*-hexane 분획물이 4.7 g의 페놀성 화합물의 함량이 확인되었다. 또한 H<sub>2</sub>O층에서는 100 g당 4.3 g의 상대적으로 낮은 총 페놀성 화합물 함량을 나타내는 것으로 분석되었다.

**Table 1. Total phenolic contents of the methanolic extract and organic solvent fractions of *R. javanica***

Samples	Extraction Yield (g/100 g)	Phenolic Contents (g GAE/100 g DW) <sup>a</sup>
80% MeOH ext.	45	22.0
<i>n</i> -Hexane layer	2.5	4.7
EtOAc layer	26.5	23.0
<i>n</i> -BuOH layer	3.7	22.0
H <sub>2</sub> O layer	9.9	4.3

<sup>a</sup>Data expressed as grams of gallic acid (GAE) equivalents per 100g dry weight (DW).

#### DPPH 라디칼 소거활성

DPPH는 생체 내에 존재하는 라디칼은 아니지만 그 자체가 흡수전자를 갖고 있어 517 nm에서 강한 흡광도를 나타낸다. 따라서 항산화능이 있는 물질과 반응하게 되면 안정한 형태로 돌아가면서 흡광도 값이 감소한다(22). Table 2에서 나타낸 것처럼 오배자 80% MeOH 추출물 및 각 유기용매 분획에 대해서 라디칼 소거능을 평가한 결과, 31.3 mg/mL의 농도에서 80% MeOH 추출물이 83.6±1.3%의 라디칼 소거능을 나타내었으며, 특히, EtOAc 가용부의 31.3 mg/mL의 농도에서 83.6±1.4%의 우수한 라디칼 소거능을 나타내었으며, 이는 positive control로서 녹차의 항산화 성분으로 잘 알려져 있는 (+)-catechin과 같은 농도에서 비교하였을 때 보다 우수한 활성을 나타내었다. *n*-BuOH 가용부의 62.5 mg/mL의 농도에서 52.2±1.2%, 31.3 mg/mL의 농도에서 39.2±1.0%의 라디칼 소거능을 나타내었고, 다음으로 *n*-hexane 가용부 및 H<sub>2</sub>O 층에서 비교적 약한 라디칼 소거능을 나타내었다. DPPH 라디칼 소거능과 총 페놀성 화합물의 함량 사이에는 밀접한 상관관계가 있다는 보고(23)에 근거하여 오배자의 항산화 활성과 페놀성 화합물 함량과의 연관성을 평가한 결과, Table 1 및 2에서 나타낸 것처럼, DPPH 라디칼 소거능은 페놀성 화합물의 함량이 상대적으로 높은 EtOAc 및 *n*-BuOH층에서 가장 높은 것이 확인하였고, 이는 *n*-BuOH층과 유사한 총 페놀성 화합물 함량을 나타내면서도 DPPH 라디칼 소거능이 높은 EtOAc층에 오배자의 주성분으로 알려져 있는 gallotannin류 등의 항산화 활성이 우수한 화합물의 존재를 시사하였으며 이들 활성물질의 동정이 필요하다고 사료된다.

#### ABTS<sup>+</sup> 라디칼 소거능 측정

ABTS<sup>+</sup> 라디칼 소거능을 측정한 결과, Table 3에서 보는 것처럼 오배자 80% MeOH 추출물의 15.6 mg/ml 농도에서는 72.9±1.7%의 ABTS<sup>+</sup> 라디칼 소거능을 나타낼 수 있었으며, 각 분획물중에서도 특히 EtOAc 및 *n*-BuOH 가용부의 31.3 mg/mL의 농도에서 91.2±1.3 및 55.7±1.6%의 매우 우수한 라디칼 소거능을 나타내었으며, positive control인

Table 2. DPPH radical scavenging activity of the crude extract of *R. javanica* and organic solvent-soluble portions

Conc. (mg/mL)	Inhibition (%) <sup>a</sup>					IC <sub>50</sub> (mg/mL)
	250	125	62.5	31.3	15.6	
80% MeOH ext.	95.4±1.7	95.6±1.5	92.6±1.5	83.6±1.3	58.5±1.2	11.4±0.5
<i>n</i> -Hexane layer	44.0±1.3	26.5±0.7	17.2±0.6	7.1±0.5	4.5±0.3	>250
EtOAc layer	96.1±1.8	95.8±1.7	93.9±1.5	83.6±1.4	62.8±1.2	10.4±0.3
<i>n</i> -BuOH layer	89.9±1.5	73.3±1.2	52.2±1.2	39.2±1.0	24.6±0.7	50.4±3.0
H <sub>2</sub> O layer	39.0±0.7	24.0±0.7	15.5±0.5	6.7±0.4	4.3±0.3	>250
(+)-Catechin <sup>b</sup>	92.7±1.7	92.8±1.3	82.8±1.0	69.0±1.0	45.7±0.8	15.6±1.3

<sup>a</sup>Data represent the mean±SD three replications.

<sup>b</sup>Used as a positive control.

(+)-catechin의 활성에 상당하는 효능을 확인하였다. *n*-Hexane 및 H<sub>2</sub>O 가용부의 62.5 mg/mL의 농도에서 20.1±1.0% 및 21.1±0.8%의 상대적으로 약한 라디칼 소거능을 나타내었다. Table 1에서 나타낸 것처럼 총 페놀성 화합물 함량이 상대적으로 높게 나타난 EtOAc 및 *n*-BuOH층에 ABTS<sup>+</sup> 라디칼 소거 활성물질의 존재가 시사되었으며, 특히 IC<sub>50</sub>값이 31.3 mg/mL 이하로 나타난 EtOAc층에 대해서 이들 활성물질의 동정이 필요하다고 사료된다.

receptor에 직접 영향여부 등의 조사를 현대 과학적 실험기법을 통해 검증되어지고 있으며 치매치료제로서의 효능이 점차 입증되어 지고 있다(25).

전통 약용식물로부터 치매치료 선도물질개발을 목표로 하여 오배자의 80% MeOH 추출물을 극성에 따라 *n*-hexane, EtOAc, *n*-BuOH로 순차 분획하여 얻어진 각 분획에 대하여 AChE를 이용한 실험을 통해 활성을 평가하였다. 그 결과 80% MeOH 추출물의 효소에 대한 저해능은 62.5 mg/mL의

Table 3. ABTS<sup>+</sup> radical scavenging activity of the crude extract of *R. javanica* and organic solvent-soluble portions

Conc. (mg/mL)	Inhibition (%) <sup>a</sup>					IC <sub>50</sub> (mg/mL)
	125	62.5	31.3	15.6	7.8	
80% MeOH ext.	89.0±2.1	86.1±1.8	79.5±1.6	72.9±1.7	51.7±1.2	<7.8
<i>n</i> -Hexane layer	39.6±1.0	20.1±1.0	11.5±1.2	7.3±0.8	3.7±0.7	192.8±8.5
EtOAc layer	98.6±2.1	97.2±1.7	91.2±1.3	87.2±1.2	77.8±0.7	<7.8
<i>n</i> -BuOH layer	87.1±1.6	70.9±1.7	55.7±1.6	32.4±1.1	16.2±0.8	28.5±0.9
H <sub>2</sub> O layer	39.1±0.8	21.1±0.8	12.0±0.8	8.7±0.7	4.5±0.7	197.3±8.0
(+)-Catechin <sup>b</sup>	99.8±1.5	94.8±1.5	71.2±1.3	60.5±0.8	33.1±0.5	12.9±1.1

<sup>a</sup>Data represent the mean±SD three replications.

<sup>b</sup>Used as a positive control.

### AChE 저해활성

최근 수년 동안 항치매 선도화합물 개발을 위해 AChE 저해제가 주목 받고 있으며 수백 종의 생약추출물에 대해서 AChE 저해능을 평가하여 황련(*Coptis japonica*), 황백(*Phellodendron amurense*), 오수유(*Evodia officinalis*), 빈랑자(*Areca catechu*), 후추(*Piper nigrum*) 등의 추출물이 100 mg/mL의 농도에서 60% 이상의 AChE 농도 의존적으로 저해하는 보고가 있다(24). 또한 황련, 황백에 포함되어 있는 alkaloid인 berberine 및 관련 protoberberine 화합물이 높은 AChE 저해능을 나타냄을 알게 되었고, 이들 화합물에 대해서 경구투여나 복강주사에 의한 약물 투여방식으로 치매 및 퇴행성 뇌질환에서 중요한 약물작용점으로 간주하고 있는 대뇌 중추에 분포한 cholinergic neuron에 존재하는

농도에서 68.1±0.8%의 우수한 저해활성을 나타내었으며, EtOAc층의 경우, 62.5 mg/mL의 농도에서 70.0±1.6 mg/mL 저해능을 나타내었고 IC<sub>50</sub> 값이 31.3 mg/mL 이하의 활성을 가지는 것으로 확인하였다. 또한 H<sub>2</sub>O 가용부에서도 IC<sub>50</sub> 값이 83.6±2.7 mg/mL의 비교적 우수한 활성이 확인되었다. 항산화 효능에서 나타난 것과 같이 오배자의 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.

본 연구에서 얻어진 우수한 항산화능 및 AChE 저해능 등의 자료를 기초로 한 성분연구를 통하여 새로운 acetylcholine

**Table 4. Inhibitory effects of the crude extract of *R. javanica* and organic solvent-soluble portions against AChE**

Conc. (mg/mL)	Inhibition (%) <sup>a</sup>					IC <sub>50</sub> (mg/mL)
	500	250	125	62.5	31.3	
80% MeOH ext.	94.8±1.7	86.0±1.3	75.6±0.8	68.1±0.8	26.4±0.7	51.4±3.7
<i>n</i> -Hexane layer	52.0±1.2	47.2±1.1	41.8±1.0	38.7±0.7	22.1±0.8	>250
EtOAc layer	98.7±1.6	90.2±1.5	80.9±1.3	70.0±1.6	64.0±0.9	<31.3
<i>n</i> -BuOH layer	77.3±1.5	63.2±1.2	59.3±0.9	47.7±1.2	35.4±0.8	80.7±6.8
H <sub>2</sub> O layer	63.2±1.3	59.6±1.7	55.0±1.4	52.8±1.2	27.3±0.7	83.6±4.7
Tacrine <sup>b</sup>	96.3±1.6	94.0±1.7	92.1±1.2	90.0±0.8	88.3±0.7	2.2±0.2

<sup>a</sup>Data represent the mean±SD three replications.

<sup>b</sup>Used as a positive control.

성 약물(cholinergic drug) 후보물질을 탐색하고 이들 효소 저해제의 치매 치료제로서의 가능성을 확인하기 위한 작용기전 연구는 항치매 천연소재 개발에 중요한 기초자료가 될 것이라 사료된다.

## 요 약

건조 오배자를 80% MeOH로 침지 추출하여 얻어진 추출물에 대해 *n*-hexane, EtOAc 및 *n*-BuOH로 순차 용매 분획하였고, 얻어진 결과물에 대하여 DPPH 및 ABTS<sup>+</sup> radical 소거능 및 AChE 저해활성을 평가하였다. DPPH 라디칼 소거능은 총 페놀성 화합물의 함량이 상대적으로 높은 EtOAc층에서 IC<sub>50</sub>값이 10.4±0.3 mg/mL으로 대조군인 (+)-catechin과 비교하였을 때 우수한 라디칼 소거능을 확인하였고, 오배자 추출물에 존재하는 총 페놀성 화합물의 함량과 라디칼 소거능과의 연관성을 시사하였다. 또한 ABTS<sup>+</sup> 라디칼 소거능은 EtOAc층이 IC<sub>50</sub>값이 7.8 mg/mL 이하였고, *n*-BuOH층이 IC<sub>50</sub> = 28.5±0.9 mg/mL으로 상대적으로 우수한 활성이 확인 되었으며, 이는 우수한 활성물질의 존재가 시사되었다. 또한, AChE 저해활성을 측정된 결과, 우수한 ABTS<sup>+</sup> 라디칼 소거능을 나타낸 EtOAc층의 IC<sub>50</sub>은 각각 31.3 mg/mL 이하의 저해율을 나타내었으며 이는 대조군인 tacrine에 비해 다소 낮으나 분획물일 때의 활성임을 감안할 때 단일물질로 정제할 경우 더욱 우수한 효능의 화합물이 존재할 가능성을 시사하였다. 향후 이들 활성물질 동정을 통한 활성 기작에 대한 연구가 필요하며 본 연구결과는 천연물유래의 우수한 라디칼 소거능 및 AChE 저해능을 가지는 새로운 선도화합물 발굴을 위한 기초자료로 이용될 수 있을 뿐만 아니라 오배자의 식물 화학적 성분연구에 대한 기초자료로 활용가능하리라 사료된다.

## 감사의 글

본 연구는 2010학년도 경북대학교 신입교수정착연구비

에 의하여 연구되었으며 이에 감사드립니다.

## 참고문헌

- Parnetti L, Senin U, Mecocci P (1997) Cognitive enhancement therapy for Alzheimer's disease. The way forward. *Drugs*, 53, 752-768
- Brinton RD, Yamazaki RS (1998) Advances and challenges in the prevention and treatment of Alzheimer's disease. *Pharmaceut Res*, 15, 386-398
- Kim WG, Cho KM, Lee CK, Yoo ID (2002) Terreulactone A, a novel meroterpenoid with anti-acetylcholinesterase activity from *Aspergillus terreus*. *Tetrahedron Lett*, 43, 3197-3198
- Schneider LS (1996) New therapeutic approaches to Alzheimer's disease. *Psychiatry*, 57, 30-36
- Ahmad S. 1995. Oxidative stress and antioxidant defenses in biology. Chapman & Hall, New York.
- Halliwell B (1991) Drug antioxidant effects. *Drugs*, 42, 569-605
- Shim JS, Kim SD, Kim TS, Kim KN (2005) Biological activities of flavonoid glycosides isolated from *Angelica keiskei*. *Korean J Food Sci Technol*, 37, 78-83
- Branen AL (1975) Toxicology and biochemistry of butylated hydroxy anisole and butylated hydroxytoluene. *J Oil Chem Soc* 52, 59-62
- Masaki H, Sakaki S, Atsumi T, Sakurai H (1995) Active-oxygen scavenging activity of plants extracts. *Biol Pharm Bull*, 18, 162-166
- Mattson MP (2004) Pathway towards and away from Alzheimer's disease. *Nature*, 430, 631-639
- Benson A (2005) Alzheimer's disease: A gangled issue. *Drug Discovery Today*, 10, 749-751
- Orhan I, Kartal M, Tosun F, Sener B (2007) Screening

- of various phenolic acids and flavonoid derivatives for their anticholinesterase potential. *Z Naturforsch C*, 62, 829-832
13. Orhan I, Naz Q, Kartal M, Tosun F, Sener B, Choudhary MI (2007) In vitro anticholinesterase activity of various alkaloids. *Z Naturforsch C*, 62, 684-688
  14. Cha BC, Lee SB, Rhim TJ, Lee KH (2000) Constituents of antioxidative activity and free radical scavenging effect from Galla Rhois (*Rhus javanica* Linne). *Kor J Pharmacogn*, 31, 185-189
  15. Song GY, Park BJ, Kim SH (2002) Antithrombotic effect of Galla Rhois. *Kor J Pharmacogn*, 33, 120-123
  16. Kurokawa M, Basnet P, Ohsugi M, Hozumi T, Kadota S, Namba T, Kawana T, Shiraki K. (1999) Anti-herpes simplex virus activity of moronic acid purified from *Rhus javanica* in vitro and in vivo. *J Pharmacol Exp Ther*, 289, 72-78
  17. Chen LG, Chang WL, Lee CJ, Lee LT, Shin CM, Wang CC (2009) Melanogenesis inhibition by gallotannins from Chinese galls in B16 mouse melanoma cells. *Biol Pharm Bull*, 32, 1447-1452
  18. Gao X, Bjor, L, Trajkovski V, Uggla M (2000) Evaluation of antioxidant activities of rosehip ethanol extracts in different test system. *J Sci Food Agri*, 80, 2021-2027
  19. Ellman GL, Countney KD, Andress V, Featherstone RM (1961) A new and rapid colorimetric determination acetylcholinesterase activity. *Biochem Pharmacol*, 7, 88-95
  20. Blois MS (1958) Antioxidant activity determination by the use of a stable free radical. *Nature*, 181, 1199-1200
  21. Re R, Pellegrini N, Proteggente A, Pannala A, Yang M, Rice-Evans C (1999) Antioxidant activity applying and improved ABTS radical action decolorization assay. *Free Radical Biol Med*, 26, 1231-1237
  22. Torel J, Gillard J, Gillard P (1986) Antioxidant activity of flavonoids and reactivity with peroxy radical. *Phytochemistry*, 25, 383-385
  23. Wang SY, Chang HN, Lin KT, Lo CP, Yang NS, Shyur LF (2003) Antioxidant properties and phytochemical characteristics of extracts from *Lactuca indica*. *J Agric Food Chem*, 26, 1506—1512
  24. Kim JS, Kim YS, Kim SK, Heor J, Lee BH, Choi BW, Ryu G, Park EK, Zee OP, Ryu SY (2002) Inhibitory effects of some herbal extracts on the acetylcholinesterase (AChE) in vitro. *Kor J Pharmacogn*, 33, 211-218
  25. Peng WH, Hsieh MT, Wu CR (1997) Effect of long term administration of berberine on scopolamine-induced Amnesia in rats. *Jpn J Pharmacol*, 74, 261-266

---

(접수 2012년 8월 6일 수정 2012년 8월 24일 채택 2012년 9월 21일)