

천문동 건근의 항산화 효과에 관한 연구

구경윤¹ · 김원백¹ · 박소해¹ · 김민지¹ · 김보람¹ · 황지희¹ · 김민정¹
손홍주² · 황대연³ · 김동섭⁴ · 이충열⁵ · 이희섭¹

¹부산대학교 식품영양학과 및 김치연구소, ²부산대학교 생명환경화학학과
³부산대학교 바이오소재학과, ⁴부산대학교 식품공학과, ⁵강림오가닉

Antioxidative Properties of *Asparagus cochinchinensis* Root

Kyoung Yoon Koo¹, Won Baek Kim¹, So Hae Park¹, Minji Kim¹, Bo Ram Kim¹,
Jihoe Hwang¹, Min Jung Kim¹, Hong Joo Son², Dae Youn Hwang³,
Dong Seob Kim⁴, Chung Yeoul Lee⁵, and Heeseob Lee¹

¹Department of Food Science and Nutrition and Kimchi Research Institute,

²Department of Life Science and Environment Biochemistry, ³Department of Biomaterials Science, and

⁴Department of Food Science & Technology, Pusan National University

⁵Gangrim Organics

ABSTRACT This study was performed to compare the antioxidative activities of methanol extracts from *Asparagus cochinchinensis* with whole root (W-AC), flesh (F-AC), and root bark (B-AC). To evaluate the antioxidative properties of their methanol extracts, 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl radical, nitrite, hydroxyl radical, 2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonate) radical scavenging activities, and contents of total flavonoid and polyphenol contents were measured. B-AC extract showed the highest antioxidative activity, whereas F-AC extract showed the lowest. For B-AC extract, caffeic acid was isolated by preparative high-performance liquid chromatography and confirmed by liquid chromatography-mass spectrometry and absorption spectroscopy, which showed 1.6% of total polyphenol contents among all methanol extracts.

Key words: *Asparagus cochinchinensis*, antioxidative activity, polyphenol, caffeic acid

서 론

천문동(*Asparagus cochinchinensis* (Lour.) Merr.)은 한국, 중국, 일본에서 분포하는 백합과(Liliaceae) 식물로 예로부터 건근(덩이뿌리)을 식용 및 약용으로 널리 사용하고 있으며(1-3), 천문동의 건근에는 asparagine, β -sitosterol, 5-methoxy-methylfurfural, 점액질, steroidal saponin, furostanol saponin, phenol 화합물, 단당류, 올리고당류, 다당류 등이 함유된 것으로 알려졌다(2-5).

천문동 건근은 항염증, 이노작용, 진해제, 항균, 신경안정, 타액 분비 촉진, 해열 등 다양한 치료 효과가 있어(3,6) 예로부터 전통한방의학에서 진정제 및 안정제와 같은 부가적인 효과와 함께 간염, 피부염, 천식 그리고 뇌 질환과 관련하여 염증 질환을 치료하기 위해 이용되어 왔다(7). 또한 객혈, 당뇨, 변비, 부어오름, 인후통 그리고 폐암 등에 효능이 있어

그 치료제로 사용되고 있다(5).

천문동의 생리활성과 관련된 연구로는 천문동 열수 추출물을 이용한 free radical 소거능 및 LPS로 활성화된 RAW 264.7 cell을 이용한 NO 생성 저해(8), β -sitosterol 성분의 mouse S-180 leukemia와 폐암 저해(9), 신경아교세포(astrocyte)에서 TNF- α 분비 억제(10), Hep G2 세포에서 TNF- α 로 유도된 apoptosis의 저해(1)가 보고되고 있다. 또한 천문동 에탄올 추출물을 이용하여 뼈의 대사와 관련해서 조골세포 분화를 촉진하고 파골세포 생성을 억제하는 효과(2)와 쥐의 피부에 12-O-tetradecanoyl-phorbol-13-acetate(TPA)로 유도된 염증을 억제하는 효과(6) 등이 연구되고 있다.

천문동 건근은 전통한방의학에서 여러 질환의 치료제로 사용되고 있으므로 천문동에 존재하는 생리활성물질을 활용한 효능 연구와 관련된 연구 결과들이 보고되고 있으나 대부분은 염증반응의 억제와 관련된 연구가 대부분이며, 그 밖의 다양한 생리활성에 관해서는 체계적인 연구가 이루어지고 있지 못한 실정이다. 또한, 천문동은 수확 후 건조하여 사용하게 되는데 이때 껍질이 잘 벗겨지기 때문에 대부분은 껍질을 제거한 채로 사용하고 있다.

Received 3 December 2015; Accepted 12 February 2016

Corresponding author: Heeseob Lee, Department of Food Science and Nutrition, College of Human Ecology, Pusan National University, Busan 46241, Korea

E-mail: heeseoble@pusan.ac.kr, Phone: +82-51-510-2838

따라서 본 연구에서는 천문동 건근을 전체, 근피, 속으로 나누어 메탄올로 추출한 후 각각에 대한 항산화 활성을 비교하였고, 항산화 활성이 높은 부분을 분리하여 천문동 건근에 존재하는 생리활성물질 중에서 항산화 활성에 영향을 주는 물질을 확인하고자 하였다.

재료 및 방법

실험재료

본 실험에 사용된 천문동은 전북 고창군 소재의 천문농원에서 17년간 재배된 것을 2014년에 구입하여 동결 건조한 후, 저온실(4°C)에 보관하여 사용하였다.

시료 추출

천문동 건근은 각각 전체(whole root; W-AC), 근피(root bark; B-AC), 속(flesh; F-AC)으로 분리한 후 micro hammer-cutter mill(Type 3, Culatti Co., Zurich, Switzerland)을 이용하여 50 mesh로 분쇄한 다음 80% 메탄올로 25°C, 12시간씩 3회 추출한 후 filter paper(No. 2, Whatman, Maidstone, UK)로 여과하였고, 얻어진 여액은 감압농축기(EYELA N-1100 series, Tokyo Rikakikai Co., Ltd., Tokyo, Japan)에서 농축 후 동결 건조하여 실험에 사용하였다.

항산화 활성 측정

Free radical 소거 활성 측정: 50% 에탄올에 용해한 추출물 100 µL와 60 µM 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) 100 µL를 96 well plate에 넣은 후 혼합하고 차광하여 상온에서 30분간 방치시킨 다음 microplate reader (Tecan Sunrise, Hombrechtikon, Switzerland)를 사용하여 540 nm에서 흡광도를 측정하였다. 시료를 첨가하지 않은 대조군과 비교하여 DPPH 소거 효과를 나타내었다(11).

Nitrite 소거능: 발암성 물질인 nitrosoamine 생성의 전구체로 작용하는 아질산염(nitrite)의 소거능을 측정하는 방법은 다음과 같다(12,13). 아질산나트륨(1 mM NaNO₂) 용액 1 mL에 시료 2 mL를 섞고 0.1 N HCl을 사용하여 반응 용액의 pH를 1.2로 조정하였다. 반응용액의 부피를 10 mL로 조정(D.W 첨가)한 후 37°C에서 1시간 동안 반응시키고 test tube에 1 mL씩 취한 다음 2% 초산용액(acetic acid) 5 mL를 첨가하고 사용 직전에 조제한 Griess 시약(30% acetic acid로 조제한 1% sulfanilic acid와 1% naphthylamine을 1:1 비율로 혼합한 것) 0.4 mL를 가하여 잘 혼합한 후 15분간 방치하고 540 nm에서 흡광도를 측정하여 남아 있는 아질산염을 구하였다. 대조군은 Griess 시약 대신에 증류수 0.4 mL를 가하여 상기의 방법으로 실시하였다.

$$N(\%) = \left(1 - \frac{A-C}{B}\right) \times 100$$

N: nitrite scavenging activity

A: absorbance of 1 mM NaNO₂ added sample after standing for 1 h

B: absorbance of 1 mM NaNO₂

C: absorbance of control

Hydroxyl radical 소거능: Hydroxyl radical(·OH) 소거능은 Chung 등(14)에 따라 비색 정량하였다. 천문동 부위별 추출물을 PBS buffer(pH 7.4)에 용해한 시료 175 µL에 10 mM FeSO₄-EDTA 25 µL, 10 mM deoxyribose 25 µL, 10 mM H₂O₂ 25 µL를 첨가하여 37°C에서 4시간 동안 반응시켰다. 2.8%(w/v) trichloroacetic acid 250 µL와 1%(w/v) tribarbituric acid 250 µL를 첨가하고 끓여서 반응 정지시킨 후 냉각시킨 다음 540 nm에서 흡광도를 측정하였다. 시료를 첨가하지 않은 대조군과 비교하여 hydroxyl radical 소거 효과를 나타내었다.

총 항산화능(Trolox equivalent antioxidant capacity, TEAC): 총 항산화능은 TEAC 값으로 나타내었으며(15), 7 mM 2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonate)(ABTS)와 2.45 mM potassium persulfate를 혼합하여 ABTS radical cation(ABTS^{·+})를 만들어 12시간 이상 방치한 후 734 nm에서 흡광도가 0.70±0.02가 되도록 5 mM PBS(pH 7.4)로 조정된 다음 실험에 사용하였다. 20 µL의 시료와 Trolox(표준물질)에 ABTS^{·+} 용액 1 mL를 첨가하여 734 nm에서 6분간 흡광도를 측정하고 시료의 총 항산화능은 Trolox 표준용액을 이용하여 작성한 표준곡선으로부터 구하였다.

플라보노이드 및 폴리페놀 함량

총플라보노이드 함량은 Davis법을 일부 변형하여 비색 정량하였다(16). 천문동 부위별 추출물 100 µL에 90% diethylene glycol 1 mL 및 1 N NaOH 1 mL를 가하고 잘 혼합한 후 37°C에서 1시간 반응시킨 다음 420 nm에서 흡광도를 측정하였다. 이때 총플라보노이드 함량은 quercetin을 이용한 검량선에 의해 계산하였다.

총폴리페놀 함량은 Folin-Denis법을 일부 변형하여 비색 정량하였다(17). 천문동 부위별 추출물 50 µL에 증류수 500 µL, Folin-Ciocalteu 시약 100 µL를 혼합하여 암소에서 3분간 방치 후 10%(w/v) Na₂CO₃ 용액 100 µL와 증류수 350 µL를 첨가하여 잘 섞고 암소에서 1시간 방치한 다음 725 nm에서 흡광도를 측정하였다. 이때 총페놀화합물 함량은 caffeic acid를 이용한 검량선에 의해 계산하였다.

항산화 물질의 분리

천문동 메탄올 추출물을 20% 메탄올로 희석하여 syringe filter(0.45 µm)로 필터링한 후 100 mg/mL의 시료를 Sep-Pak plus cartridge C18(Waters Corporation, Milford, MA, USA)에 주입한 후 증류수(Fraction I), 30% 메탄올(Fraction II), 50% 메탄올(Fraction III), 100% 메탄올(Fraction IV)의 분획으로 나누어 사용하였다. 이후 prepa-

rative HPLC(LC-forte/R, YMC Co., Ltd., Kyoto, Japan)를 이용하여 항산화 활성이 높은 물질을 분리하였다. 시료를 10 mg/mL의 농도로 30% 메탄올에 희석하여 syringe filter(0.45 µm)로 필터링한 후 YMC-Triart C18(10.0 mm×250 mm, i.d. 5 µm, YMC Co., Ltd.)에 주입하였고, diode-array detector를 사용하여 220 nm, 270 nm 및 320 nm에서 분석하였으며, 이동상으로는 0.1% formic acid를 함유한 3차 증류수(solvent A)와 acetonitrile(solvent B)을 사용하였다. 이동상의 농도구배를 0~20 min B: 10→20%, 20~40 min B: 20→100%, 40~60 min B: 100%로 하여 4.7 mL/min 유속으로 분리하였다.

Thin layer chromatography(TLC) 분석

Silica gel 60 F254(Merck, Darmstadt, Germany) TLC plate를 110°C 건조기(Chan Shin Scientific Co., Pocheon, Korea)에서 1시간 동안 활성화한 후 시료를 각각 20 µL씩 spotting 하여 chloroform : methanol : distilled water(14 : 6 : 1, v/v)의 용매를 사용하여 실온에서 전개하였다. TLC plate 건조한 후 254 nm에 해당하는 UV를 조사하여 UV영역을 흡광하는 물질을 분석하였으며, 이후에 0.3%(w/v) N-(1-naphthyl)-ethylenediamine과 5%(v/v) H₂SO₄를 함유한 methanol solution에 담근 후 110°C 건조기에서 10분간 가열하여 발색하였다(18).

HPLC 분석

Photodiode array detector(PAD)와 charged aerosol detector(CAD; ESA, Chelmsford, MA, USA)가 연결된 HPLC(iLC300, Interface Engineering Co., Ltd., Seoul, Korea)에 YMC-Triart C18(4.6 mm×250 mm, i.d. 5 µm, YMC Co., Ltd.) 칼럼을 이용하여 HPLC 분석을 수행하였다. 1 mL/min의 유속으로 preparative HPLC와 같은 용매 조건으로 분석을 진행하였으며, 데이터 분석 및 프로세스는 Clarity™ chromatography software(DataApex, Prague, The Czech Republic)를 사용하였다.

LC-MS 분석

Hybrid quadrupole time-of-flight(Q-TOF) mass spectrometer(6530, Agilent Technologies, Santa Clara, CA, USA)를 Agilent 1290 Infinity HPLC system(Agilent Technologies, Waldbronn, Germany)에 연결하여 분석하였으며, MS 분석의 조건은 ESI(electrospray ionization)를 negative ion 모드 상태에서 gas temperature 300°C, gas flow 9 L/min, nebulizer pressure 45 psig, sheath temperature 350°C, sheath gas flow 11 L/min, VCap 4,000 V, fragmentor 120이었고, 유속은 0.5 mL/min, injection volume은 3 µL로 사용하였다. 데이터 분석 및 프로세스는 MassHunter Qualitative Analysis Software, version B.0600(Agilent Technologies)을 사용하였다.

통계분석

모든 통계분석은 SPSS Ver 14.0 software(SPSS Inc., Chicago, IL, USA)를 이용하여 각 측정군의 평균과 표준편차를 산출하고 처리 간의 차이 유무를 one-way ANOVA로 분석한 뒤 Duncan's multiple range test를 이용하여 *P* < 0.05의 범위에서 유의성을 검정하였다.

결과 및 고찰

천문동 부위별 항산화 활성

80% 메탄올로 추출한 천문동 건근의 추출 수율은 Table 1과 같고, 추출 수율은 속(F-AC)이 79.1%, 건근 전체(W-AC) 62.8%, 근피(B-AC) 12.0%의 순서였으며, 부위에 따른 항산화 활성은 free radical 소거능, nitrite 소거능, hydroxy radical 소거능 및 총항산화능을 측정하여 분석하였다.

Free radical 소거능은 DPPH를 이용해서 분석하여 Table 2에 나타내었으며, 대조군으로는 ascorbic acid와 BHA를 사용하였다. DPPH 소거능은 근피 82.11%, 건근 전체 18.38%, 속 부분 8.58%로 천문동 건근 껍질 부분이 가장 높았으며, 이러한 경향은 배(19)와 발아 전 벼(20)의 부위별 에탄올 추출물에서 껍질, 전체, 속 순서대로 DPPH 라디칼 소거능이 높은 결과와 유사한 경향을 나타내었다. 또한 같은 백합과의 알로에 베라(21)와 생마늘(22) 추출물, 멀꿀(23), 식류(24), 자두(25), 단감(26)에서도 껍질 부위가 속에 비해서 높은 소거능이 나타남을 알 수 있다. 천문동과 근연 식물인 맥문동 메탄올 추출물의 경우 1 mg/mL의 농도에서 DPPH 라디칼 소거능이 28.91%인 것과 비교하였을 때(27) 천문동 껍질의 DPPH 라디칼 소거능이 상대적으로 우수함을 확인할 수 있었다.

Nitrite 소거능은 DPPH radical 소거능과 유사한 경향을 나타내었으나 근피는 상대적으로 DPPH radical 소거능에 비해 낮은 반면, 건근 전체와 속에 있어서는 상대적으로 높은 소거능을 나타내었다(Table 2). 이러한 경향은 탕자(28)의 껍질, 속에서도 유사한 경향을 나타내었으며, 멀꿀(*Stantonia hexaphylla*)(23), 단감(26)에서도 껍질이 속보다 높은 아질산염 소거능을 나타내었다. 특히 같은 백합과의 식물인 맥문동 건근(27)과 양파(29) 메탄올 추출물은 1 mg/mL의 농도에서 아질산염 소거능이 각각 33.67%, 44.40%로 천문동 근피 부위의 아질산염 소거능이 더 높음을 확인할 수 있었다.

Table 1. Yield of dried *Asparagus cochinchinensis* root extract by 80% methanol

80% methanol extract	Yield (%)
Root bark (B-AC)	12.0±0.3
Whole root (W-AC)	62.8±0.7
Flesh (F-AC)	79.1±0.6

Values are mean±SD.

Table 2. Antioxidative activities of dried *Asparagus cochinchinensis* root extract by 80% methanol

Samples	DPPH radical scavenging activity (%)	Nitrate scavenging activity (%)	Hydroxyl radical scavenging activity (%)	TEAC mM Trolox equivalent (%)
B-AC ¹⁾	82.11±0.85 ^b	65.51±0.59 ^c	46.92±0.81 ^b	8.53±0.00 (99.89±0.06) ^a
W-AC ¹⁾	18.38±0.74 ^c	42.74±0.20 ^d	38.53±0.45 ^c	7.53±0.01 (76.70±0.37) ^c
F-AC ¹⁾	8.58±0.42 ^d	35.76±0.34 ^c	34.73±1.06 ^d	7.17±0.01 (68.17±0.13) ^d
BHA	84.80±0.42 ^{a2)}	70.32±1.10 ^{b4)}		8.49±0.00 (99.01±0.04) ^b
Ascorbic acid	84.31±0.52 ^{a3)}	73.85±0.20 ^{a5)}		8.52±0.01 (99.73±0.33) ^a
Trolox			55.32±0.45 ^{a6)}	

Values are mean±SD.

^{a-c}Means with different letters in the same column are significantly different by Duncan's multiple range test ($P<0.05$).

¹⁾The concentration was 1 mg/mL; ²⁾25 µg/mL; ³⁾5 µg/mL; ⁴⁾150 µg/mL; ⁵⁾50 µg/mL; ⁶⁾500 µg/mL.

천문동 건근의 부위별 hydroxyl radical 소거능은 Table 2와 같으며, 근피 46.92%, 건근 전체 38.53%, 속 34.73%로 나타났다. 전반적인 hydroxyl radical 소거능은 DPPH radical 소거능 및 nitrite 소거능의 결과와 같은 순서로 나타났으나 부위에 따른 차이는 크지 않았다. 천문동 건근 전체를 열수 추출한 결과(8)에서는 ·OH 소거능이 50%(6 mg/mL 농도)로 보고되고 있고 이와 비교할 경우 천문동 메탄올 추출물의 hydroxy radical 소거능이 상대적으로 높은 것을 알 수 있으며, 또한 같은 백합과인 생마늘(22) 에탄올 추출물 1 mg/mL에서 ·OH 소거능이 33.60%인 것과 비교하여도 천문동 껍질, 전체 부위의 ·OH 소거능이 더 높음을 확인할 수 있었다.

천문동 건근의 부위별에 따른 ABTS 양이온 소거능을 Trolox 표준곡선과 비교하여 총항산화능을 측정된 결과는 Table 2와 같으며, 근피 99.89%, 건근 전체 76.70%, 속 68.17%의 순서로 나타나 DPPH 라디칼 소거능, nitrite 소거능, hydroxyl radical 소거능의 결과와 마찬가지로 근피가 가장 높은 총항산화능을 보이며 속 부분이 가장 낮은 총항산화능을 나타내었다. 이러한 경향은 발아 전 벼(20)의 부위별 에탄올 추출물에서 껍질, 전체, 속 순서대로 ABTS 양이온 소거능이 높은 결과와 유사한 경향을 나타내었다. 또한 양파에 열처리하여 제조한 흑양파(30)의 메탄올 추출물 ABTS 양이온 소거능이 66.12%인 것과 비교하였을 때, 천문동 부위별 추출물의 ABTS 양이온 소거능이 더 우수함을 확인할 수 있었다.

플라보노이드 및 폴리페놀 함량

플라보노이드는 C6-C3-C6를 기본골격으로 하는 phytochemical로 여러 가지 식용 및 약용 식물에 다량 함유되어 있으며 천연항산화제로서 작용하는 물질로 알려졌다(31, 32). 천문동 건근의 부위에 따른 총플라보노이드 함량은 Table 3에 나타내었다. 총플라보노이드 함량은 근피 2.03 mg/g, 전체 0.56 mg/g, 속 0.29 mg/g으로 근피의 총플라보노이드 함량이 속보다 7배 정도 높게 나타났다. 이러한 경향은 배(19)의 부위별 추출물에서도 유사한 경향을 나타냈으며, 밀꿀(23), 단감(26), 양파(22) 및 유자(33)의 부위별 추출물에서도 껍질 부분이 속 부분보다 더 많은 함량의 플라보

Table 3. Total flavonoid and polyphenol contents of dried *Asparagus cochinchinensis* root extract by 80% methanol

Samples	Contents (mg/g)	
	Total flavonoid	Total polyphenol
Root bark (B-AC)	2.03±0.07 ^a	13.38±0.16 ^a
Whole root (W-AC)	0.56±0.02 ^b	3.51±0.03 ^b
Flesh (F-AC)	0.29±0.04 ^c	2.92±0.12 ^c

Values are mean±SD.

^{a-c}Means with different letters in the same column are significantly different by Duncan's multiple range test ($P<0.05$).

노이드를 함유하고 있음을 알 수 있었다. 또한 천문동 전체 열수 추출물(8)과 생마늘(22) 에탄올 추출물의 총플라보노이드 함량이 각각 642 µg/g과 0.96 mg/100 g으로 천문동 근피, 건근 전체 및 속에 훨씬 더 많은 양의 총플라보노이드 물질이 존재함을 확인할 수 있었다.

폴리페놀은 식물 내에 존재하는 2차 대사산물 중 하나로 phenolic hydroxyl 기를 보유하고 있으므로 생체 내의 radical에 수소를 공여하여 radical을 제거함으로써 산화억제 작용을 나타내며(34), 페놀성 화합물은 항돌연변이원성, 콜레스테롤 저하작용, 성장작용, 항암 및 항산화 작용 등 다양한 생리활성을 기능을 가지는 것으로 알려졌다(35). 천문동 건근의 부위별 총폴리페놀 화합물 함량은 근피 13.38 mg/g, 건근 전체 3.51 mg/g, 속 2.92 mg/g의 순서로 전반적인 경향은 총플라보노이드 함량과 유사하였으며, 총플라보노이드 함량에서와 같이 배(19), 발아 전 벼(20), 알로에 베라(21), 밀꿀(23), 석류(24), 자두(25), 단감(26), 탕자(28), 유자(33) 등에서도 유사하게 껍질 부분이 속 부분보다 총폴리페놀 함량이 더 높은 경향을 나타내었다. 또한 천문동 전체 열수 추출물(8)과 생마늘(22) 에탄올 추출물의 총폴리페놀 함량이 각각 459 µg/g과 0.87 mg/100 g으로 천문동 근피, 건근 전체 및 속에 훨씬 더 많은 양의 폴리페놀 물질이 존재함을 확인할 수 있었다.

천문동의 건근에 존재하는 폴리페놀의 함량은 플라보노이드보다 부위에 따라서 6.3배에서 10배 정도 높은 함유량을 나타내고 있으며, 앞에서 측정한 DPPH 라디칼 소거능, nitrite 소거능, hydroxyl radical 소거능 및 ABTS 양이온 소거능과 같은 항산화 활성에 직접적으로 영향을 주는 물질

은 천문동의 건근에 존재하는 플라보노이드계열의 물질보다는 폴리페놀계의 물질로 판단되며 폴리페놀 화합물의 탐색 및 동정을 위하여 C18 계열의 칼럼을 이용하여 분리과정을 진행하였다.

항산화 물질의 탐색 및 동정

Sep-Pak C18 cartridge를 이용하여 메탄올 농도에 따라 4개의 분획으로 분리하여 Fraction I~IV로 분리한 후 각 분획의 항산화 활성을 확인하기 위해 DPPH radical 소거능을 측정하였으며, 또한 각 분획의 수율을 측정한 결과는 Table 4와 같다. 근피 분획의 라디칼 소거능은 250 µg/mL의 농도에서 Fraction I~IV가 각각 7.56%, 82.70%, 96.69%, 74.95%로 측정되었으며, 분리된 속 Fraction의 라디칼 소거능은 250 µg/mL의 농도일 때 각각 불검출, 9.07%, 70.84%, 0.42%였다. 앞에서 부위별 메탄올 추출물의 항산화능 결과와 마찬가지로 근피의 분획이 속의 분획보다 상대적으로 높은 DPPH radical 소거능을 나타내었다. 근피 분획

의 DPPH radical 소거능 중에서 Fraction III이 Fraction II보다 유의적으로 높지만 수율을 고려할 경우 Fraction II를 이용하여 항산화 활성을 나타내는 물질을 정제하는 것이 더욱 유리한 것으로 판단되었다.

TLC를 이용하여 분획된 물질을 분석한 결과는 Fig. 1에서 보는 바와 같이 껍질, 건근 전체 및 속에서 분획별로 비슷한 분리 패턴을 나타내었으나, 껍질 분획의 Fraction II의 UV와 황산 발색에서 검정박스로 표시한 부분이 특징적으로 다른 분획과 차이를 나타내었다. 또한, 근피와 속에서 분리한 Fraction II를 HPLC를 이용하여 UV 320 nm와 CAD를 이용하여 분석한 결과는 Fig. 2의 A~D와 같으며, 근피의 Fraction II가 속의 Fraction II보다 상대적으로 UV 및 CAD에서 검출되는 물질이 상대적으로 많고 분리 가능성도 큰 것으로 판단되었다. 이러한 결과를 바탕으로 재료 및 방법에서 기술한 방법을 이용하여 Fraction II를 preparative HPLC로 5개의 sub-fraction으로 분획하였으며, 각각의 항산화 활성을 측정한 결과 5번째 fraction에서 가장 높은

Table 4. DPPH radical scavenging activity and yields of *A. cochinchinensis* root bark (B-AC) and flesh (F-AC) separated by Sep-Pak C18 cartridge

Samples ¹⁾	B-AC		F-AC	
	DPPH radical scavenging activity (%)	Yield	DPPH radical scavenging activity (%)	Yield
Fraction I	7.56±0.86 ^d	70.18	ND ²⁾	79.30
Fraction II	82.70±1.30 ^b	4.70	9.07±0.34 ^b	3.93
Fraction III	96.69±0.00 ^a	1.25	70.84±1.36 ^a	0.23
Fraction IV	74.95±1.67 ^c	3.15	0.42±1.94 ^c	3.60

Values are mean±SD.

^{a-d}Means with different letters in the same column are significantly different by Duncan's multiple range test ($P<0.05$).

¹⁾The concentration was 250 µg/mL.

²⁾Not detected.

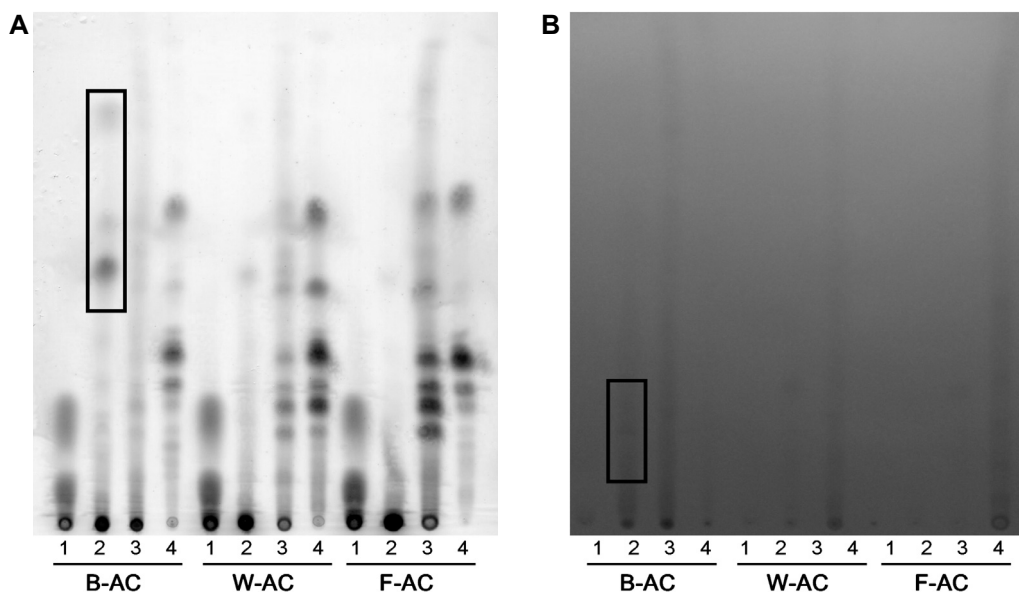


Fig. 1. TLC analysis of fractions separated by Sep-Pak C18 cartridge. A, visualization with N-(1-naphthyl)-ethylenediamine and 5% (v/v) H₂SO₄ and B, visualization at 254 nm. B-AC, root bark; W-AC, whole root; F-AC, flesh; 1, Fraction I; 2, Fraction II; 3, Fraction III; 4, Fraction IV.

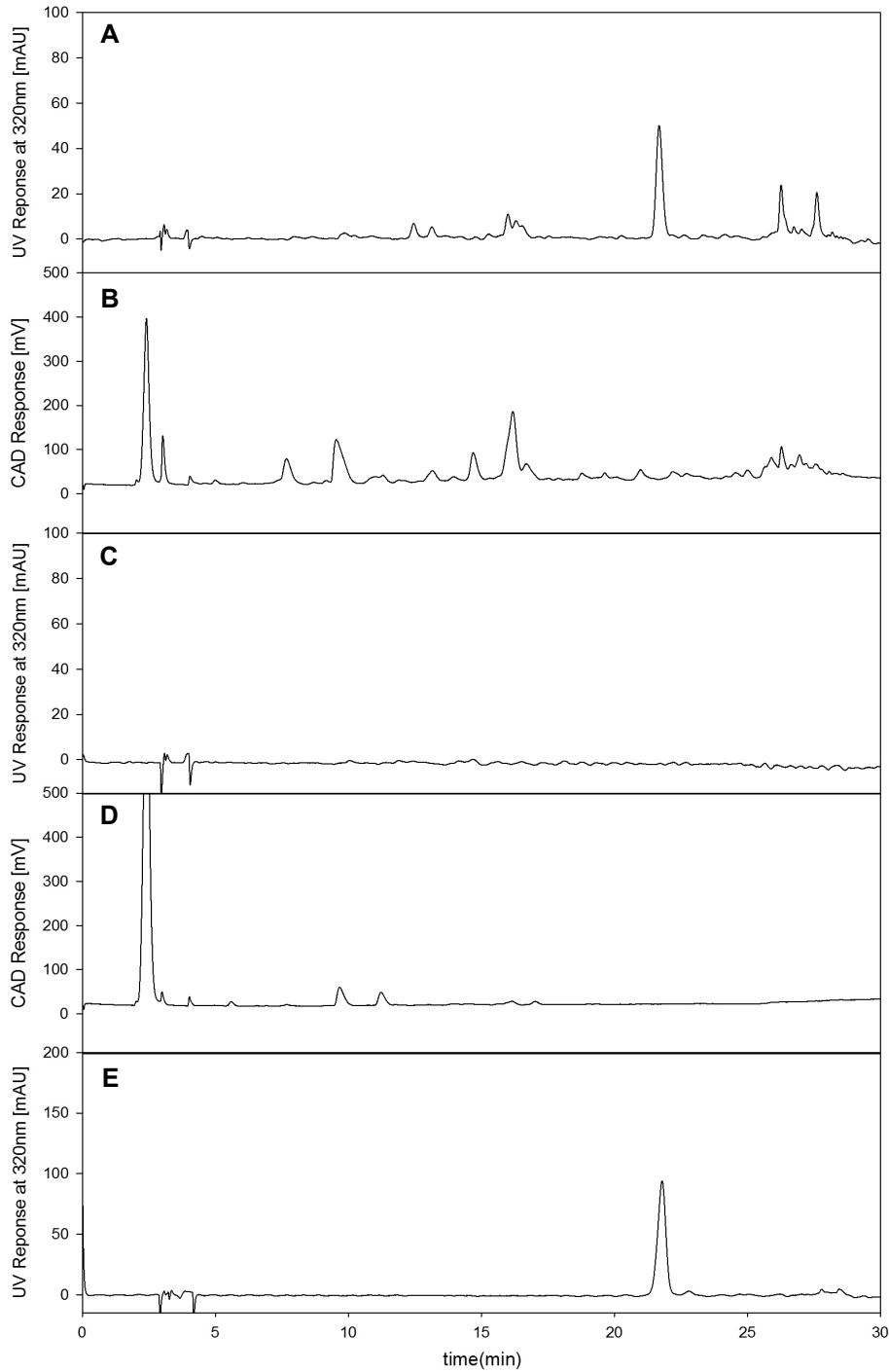


Fig. 2. HPLC chromatogram of separated fractions from *A. cochinchinensis* root bark (B-AC) and flesh (F-AC). Fraction II from B-AC at UV 320 nm (A) and with CAD detector (B), and Fraction II from F-AC at UV 320 nm (C) and with CAD detector (D); Sub-fraction separated from B-AC Fraction II at UV 320 nm (E).

DPPH radical 소거능을 나타냈으며, Fig. 2E에서와 같이 HPLC 상에서 단일 피크를 나타내었다.

분리된 물질의 동정을 위하여 LC-MS의 negative ESI mode를 이용하여 분석한 결과 m/z는 179.09를 나타냈으며 (Fig. 3A), 이는 $[M-H]^-$ 에 해당하는 분자량으로 180의 분자량을 갖는 caffeic acid로 추정되고, caffeic acid를 이용

하여 같은 조건에서 LC-MS를 분석한 결과 Fig. 3B와 같은 질량분석 패턴을 나타내었다. 또한, HPLC로 200~400 nm의 흡수 스펙트럼을 비교한 결과 같은 패턴을 나타내어(data not shown) 근피의 항산화 활성을 나타내는 생리활성물질은 caffeic acid로 판단되었다. 천문동 근피에 존재하는 caffeic acid의 함량은 0.209 mg/g으로 근피에 존재하는 총폴

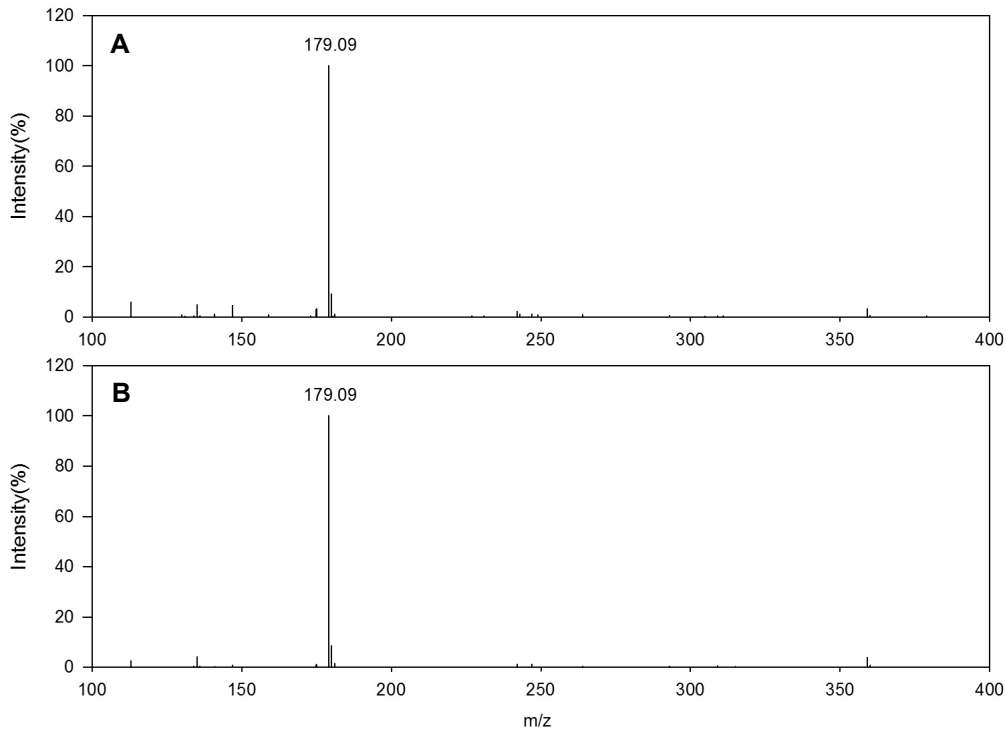


Fig. 3. LC-MS chromatogram of sub-fraction separated from B-AC Fraction II (A) and caffeic acid standard (B).

리페놀 함량의 1.6%에 해당하였다. Caffeic acid는 hydroxycinnamic acid 계열로 리그닌의 생합성에 중요한 전구물질이며(36), 과일, 야채, 커피 및 차 등의 다양한 식물 유래의 식품에 풍부한 물질로서 항염증, 항암, 항바이러스, 항혈전 및 신경세포 보호 효과 등의 생리활성이 있는 것으로 보고되고 있다(37-43).

천문동을 약용 및 식용으로 사용할 때 건조의 단계에서 껍질이 쉽게 벗겨지기 때문에 대부분은 껍질을 제거한 후 속 부분만을 일반적으로 사용하고 있다. 본 연구를 통해서 천문동에 항산화 활성을 나타내는 물질은 폴리페놀계의 화합물로서 속보다 껍질 부분에 4~5배가량의 폴리페놀 화합물이 존재하며, 이러한 항산화 효능을 나타내는 폴리페놀 물질로는 caffeic acid가 존재함을 밝혔다. 기존의 연구 결과에서 천문동이 항염증 활성은 높지만 상당히 낮은 수준의 항산화 활성을 보이는 이유는 껍질을 사용하지 않고 속 부분만을 사용한 결과로 판단되며, 따라서 천문동이 지닌 효능을 최대한으로 사용하기 위해서는 천문동의 건조 후에 껍질을 제거하지 않고 사용하는 것이 바람직한 것으로 생각한다.

요 약

본 연구에서는 천문동 건근의 부위에 따른 항산화 활성을 비교하여 이와 관련된 물질을 탐색하고 동정하였다. 천문동 건근에서 항산화 활성이 높은 부위는 껍질에 해당하고 DPPH radical 소거능, nitrite 소거능, hydroxy radical 소거능 및 ABTS 양이온 소거능과 같은 항산화 활성이 껍질 부위에서

상대적으로 높은 것을 확인할 수 있었으며, 이러한 결과는 껍질에 존재하는 폴리페놀 화합물에 의한 것으로 판단되었다. 껍질에 존재하는 항산화 활성 물질을 HPLC를 이용하여 분리하고 동정한 결과 리그닌의 생합성에 중요한 전구물질인 caffeic acid가 주요 항산화 활성 물질이었으며, 이러한 결과를 토대로 천문동이 지닌 효능을 최대한으로 사용하기 위해서는 천문동의 건조 후에 껍질을 제거하지 않고 사용하는 것이 바람직한 것으로 생각한다.

감사의 글

본 연구는 농림수산식품기술기획평가원의 고부가가치식품 기술개발사업(과제번호: 114034-3) 지원을 받아 수행되었습니다.

REFERENCES

1. Koo HN, Jeong HJ, Choi JY, Choi SD, Choi TJ, Cheon YS, Kim KS, Kang BK, Park ST, Chang CH, Kim CH, Lee YM, Kim HM, An NH, Kim JJ. 2000. Inhibition of tumor necrosis factor- α -induced apoptosis by *Asparagus cochinchinensis* in Hep G2 cells. *J Ethnopharmacol* 73: 137-143.
2. Lee SY, Kim SN, Kim JK. 2008. Effects of *Asparagus cochinchinensis* (Lour.) Merr. on the stimulation of osteoblast differentiation and inhibition of osteoclast generation. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 37: 16-19.
3. Xiong D, Yu LX, Yan X, Guo C, Xiong Y. 2011. Effects of root and stem extracts of *Asparagus cochinchinensis* on biochemical indicators related to aging in the brain and liver of mice. *Am J Chin Med* 39: 719-726.

4. Zhu GL, Hao Q, Li RT, Li HZ. 2014. Steroidal saponins from the roots of *Asparagus cochinchinensis*. *Chin J Nat Med* 12: 213-217.
5. Shen Y, Xu CL, Xuan WD, Li HL, Liu RH, Xu XK, Chen HS. 2011. A new furostanol saponin from *Asparagus cochinchinensis*. *Arch Pharm Res* 34: 1587-1591.
6. Lee DY, Choo BK, Yoon T, Cheon MS, Lee HW, Lee AY, Kim HK. 2009. Anti-inflammatory effects of *Asparagus cochinchinensis* extract in acute and chronic cutaneous inflammation. *J Ethnopharmacol* 121: 28-34.
7. Huang KC. 1993. *The pharmacology of Chinese herbs*. CRC Press, Boca Raton, FL, USA. p 361.
8. Samad NB, Debnath T, Hasnat A, Pervin M, Kim DH, Jo JE, Park SR, Lim BO. 2014. Phenolic contents, antioxidant and anti-inflammatory activities of *Asparagus cochinchinensis* (Loureiro) Merrill. *J Food Biochem* 38: 83-91.
9. Huang KC. 1993. *The pharmacology of Chinese herbs*. CRC Press, Boca Raton, FL, USA. p 224.
10. Kim H, Lee E, Lim T, Jung J, Lyu Y. 1998. Inhibitory effect of *Asparagus cochinchinensis* on tumor necrosis factor- α secretion from astrocytes. *Int J Immunopharmacol* 20: 153-162.
11. Hatano T, Edamatsu R, Hiramatsu M, Mori A, Fujita Y, Yasuhara T, Yoshida T, Okuda T. 1989. Effects of the interaction of tannins with co-existing substances. VI. Effects of tannins and related polyphenols on superoxide anion radical, and on 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl radical. *Chem Pharm Bull* 37: 2016-2021.
12. Kato H, Lee IE, Chuyen NV, Kim SB, Hayase F. 1987. Inhibition of nitrosamine formation by nondialyzable melanoidins. *Agric Biol Chem* 51: 1333-1338.
13. Kim DS, Ahn BW, Yeum DM, Lee DH, Kim SB, Park YH. 1987. Degradation of carcinogenic nitrosamine formation factor by natural food components. *Bull Korean Fish Soc* 20: 463-468.
14. Chung SK, Osawa T, Kawakishi S. 1997. Hydroxyl radical-scavenging effects of spices and scavengers from brown mustard (*Brassica nigra*). *Biosci Biotechnol Biochem J* 61: 118-123.
15. Roberta RE, Pellegrini N, Proteggenti A, Pannala A, Yand M, Rice-Evans C. 1999. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biol Med* 26: 1231-1237.
16. Xu ML, Hu JH, Wang L, Kim HS, Jin CW, Cho DH. 2010. Antioxidant and anti-diabetes activity of extracts from *Machilus thunbergii* S. et Z. *Korean J Med Crop Sci* 18: 34-39.
17. Gutfinger T. 1981. Polyphenols in olive oils. *J Am Oil Chem Soc* 58: 966-968.
18. Robyt JF, Mukerjee R. 1994. Separation and quantitative determination of nanogram quantities of maltodextrins and isomaltodextrins by thin-layer chromatography. *Carbohydr Res* 251: 187-202.
19. Choi JJ, Yim SH, Choi JH, Park JH, Nam SH, Lee HC. 2013. Antioxidant activity of *Pyrus pyrifolia* fruit in different cultivars and parts. *Korean J Food Preserv* 20: 222-226.
20. Kim HY, Hwang IG, Kim TM, Park DS, Kim JH, Kim DJ, Lee J, Jeong HS. 2011. Antioxidant and angiotensin converting enzyme I inhibitory activity on different parts of germinated rough rice. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 40: 775-780.
21. Cho E, Kim S, Bang S, Kim DC, In MJ, Chae HJ. 2014. Biological activity of *Aloe vera* gel and skin extracts. *Korean Soc Biotechnol Bioeng J* 29: 437-442.
22. Kim JY, Cho JY, Na HS, Choi GC, Park JS, Lee JH, Jeong SH, Moon JH. 2012. Analysis of the various constituents and comparison of biological activities of different parts of *Allium victorialis* var. *platyphyllum*. *Korean J Food Sci Technol* 44: 100-105.
23. Park YJ, Park YS, Towantakavanit K, Park JO, Kim YM, Jung KJ, Cho JY, Lee KD, Heo BG. 2009. Chemical components and biological activity of *Stauntonia hexaphylla*. *Korean J Plant Res* 22: 403-411.
24. Kim MS, Yun SH, Na HS, Park HJ, Choi GC, Yang SI, Lee JH. 2013. Chemical compositions and functional characteristics of Korean and imported pomegranate (*Punica granatum* L.). *Korean J Food Preserv* 20: 342-347.
25. Jung GT, Ju IO, Chio DG, Jeong JS, Ryu J, Ko BR, Choi JS, Choi YG. 2005. Chemical characteristics and physiological activities of plums (Oishiwase and Formosa). *Korean J Food Sci Technol* 37: 816-821.
26. Choi JH, Lee EY, Kim GJ, Park IH, Kim JS, Choi GB, Jung SG, Ham YS. 2006. Physicochemical properties and physiological activities of Ulsan sweet persimmon peel-flesh according to cultivars. *J Korean Soc Appl Biol Chem* 49: 309-314.
27. Seo SJ, Kim NW. 2010. Physiological activities of leaf and root extracts from *Liriope platyphylla*. *Korean J Food Preserv* 17: 123-130.
28. Lee YS, Yoon HG, Kim NW. 2010. The physiological activities of ripe fruit of *Poncirus trifoliata*. *Korean J Food Preserv* 17: 698-705.
29. Kwak HJ, Kwon YJ, Jeong PH, Kwon JH, Kim HK. 2000. Physiological activity and antioxidative effect of methanol extract from onion (*Allium cepa* L.). *J Korean Soc Food Sci Nutr* 29: 349-355.
30. Yang YR, Park YK. 2011. Comparison of antioxidant activities of black onion extracts. *Korean J Food Preserv* 18: 954-960.
31. Choi SY, Lim SH, Kim JS, Ha TY, Kim SR, Kang KS, Hwang IK. 2005. Evaluation of the estrogenic and antioxidant activity of some edible and medicinal plants. *Korean J Food Sci Technol* 37: 549-556.
32. Hertog MGL, Hollman PCH, Katan MB. 1992. Content of potentially anticarcinogenic flavonoids of 28 vegetables and 9 fruits commonly consumed in the Netherlands. *J Agric Food Chem* 40: 2379-2383.
33. Shin JH, Lee SJ, Kang MJ, Yang SM, Sung NJ. 2009. Biological activities of yuza grown in different areas. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 38: 1485-1491.
34. Labuza TP, Dugan Jr LR. 1971. Kinetics of lipid oxidation in foods. *CRC Crit Rev Food Technol* 2: 355-405.
35. Choi SY, Cho HS, Sung NJ. 2006. The antioxidative and nitrite scavenging ability of solvent extracts from wild grape (*Vitis Coignetia*) skin. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 35: 961-966.
36. Humphreys JM, Chapple C. 2002. Rewriting the lignin roadmap. *Curr Opin Plant Biol* 5: 224-229.
37. Meyer AMBS, Heinonen M, Frankel EN. 1998. Antioxidant interactions of catechin, cyanidin, caffeic acid, quercetin, and ellagic acid on human LDL oxidation. *Food Chem* 61: 71-75.
38. Foley S, Navaratnam S, McGarvey DJ, Land EJ, Truscott TG, Rice-Evans CA. 1999. Singlet oxygen quenching and the redox properties of hydroxycinnamic acids. *Free Radical Biol Med* 26: 1202-1208.
39. Zhang M, Zhou J, Wang L, Li B, Guo J, Guan X, Han Q, Zhang H. 2014. Caffeic acid reduces cutaneous tumor necrosis factor alpha (TNF- α), IL-6 and IL-1 β levels and amel-

- iorates skin edema in acute and chronic model of cutaneous inflammation in mice. *Biol Pharm Bull* 37: 347-354.
40. Chang HT, Chen IL, Chou CT, Liang WZ, Kuo DH, Shieh P, Jan CR. 2013. Effect of caffeic acid on Ca^{2+} homeostasis and apoptosis in SCM1 human gastric cancer cells. *Arch Toxicol* 87: 2141-2150.
41. Khan KA, Kumar N, Nayak PG, Nampoothiri M, Shenoy RR, Krishnadas N, Rao CM, Mudgal J. 2013. Impact of caffeic acid on aluminium chloride-induced dementia in rats. *J Pharm Pharmacol* 65: 1745-1752.
42. Huang Y, Jin M, Pi R, Zhang J, Chen M, Ouyang Y, Liu A, Chao X, Liu P, Liu J, Ramassamy C, Qin J. 2013. Protective effects of caffeic acid and caffeic acid phenethyl ester against acrolein-induced neurotoxicity in HT22 mouse hippocampal cells. *Neurosci Lett* 535: 146-151.
43. Kim JH, Wang Q, Choi JM, Lee S, Cho EJ. 2015. Protective role of caffeic acid in an $A\beta_{25-35}$ -induced Alzheimer's disease model. *Nutr Res Pract* 9: 480-488.