



Inhibitory effect of medicinal plant extracts on xanthine oxidase activity

Jaeho Do¹ · Jungwon Gwak¹ · Jung Jin Rho¹ · Kwangseung Lee¹ · Dong Chung Kim²

약용식물 추출물의 xanthine oxidase 활성 저해 효과

도재호¹ · 광정원¹ · 노정진¹ · 이광승¹ · 김동청²

Received: 30 July 2019 / Accepted: 26 August 2019 / Published Online: 30 September 2019
© The Korean Society for Applied Biological Chemistry 2019

Abstract This study was performed to certify the inhibitory effect of aqueous extracts from sixty-seven medicinal plants on the activity of xanthine oxidase *in vitro*. Among the sixty-seven medicinal plants, *Scutellaria baicalensis* Georgi, *Citrus aurantium* L., *Polygonum multiflorum* Thunb., *Pueraria thunbergiana* (Sieb. et Zucc.) Benth., *Citrus unshiu* Marcov., *Rubus coreanus* Miquel, *Camellia sinensis* L., and *Poncirus trifoliata* Raf. were regarded as effective anti-gout sources. The active substances of *P. multiflorum* root extract were very stable at pH 2.0 and high temperatures. Xanthine oxidase activity was proportionally inhibited when concentrations of *P. multiflorum* extract increased. The aqueous extract from *P. multiflorum* root at a concentration of 2.0 mg/0.1 mL inhibited xanthine oxidase by 73.8%.

Keywords Anti-gout · Medicinal plant extract · *Polygonum multiflorum* Thunb. · Xanthine oxidase

통풍(gout)은 핵산 분해 산물인 퓨린(purine) 대사의 이상에 따른 혈청 중의 요산(uric acid) 농도 증가에 의해 관절 조직에 요

산염 결정이 쌓여서 극심한 통증과 염증을 유발할 뿐만 아니라 신장 질환의 원인이 된다[1]. 최근 우리나라에서도 식생활의 서구화에 따른 비만 및 육류와 알코올 소비량 증가에 의해 통풍 환자가 꾸준히 증가하고 있다[2]. 통풍의 원인이 되는 요산은 xanthine과 hypoxanthine을 기질로 하는 xanthine oxidase의 효소 반응 산물로서 혈액에서 신장을 통해 뇨로 배설되는 물질이다[3]. 비정상적인 요산의 축적이 통풍을 유발하기 때문에 요산 배설 촉진제와 xanthine oxidase의 활성 저해제들이 혈중 요산 농도를 감소시키는 통풍 치료제로 사용되고 있고[4,5], 특히 xanthine oxidase의 저해제인 benzbromarone [5]과 hypoxanthine 유도체인 allopurinol 및 alloxanthine [6] 등이 항통풍 제제로 알려져 있으나 그 부작용으로 인해 여전히 천연 자원에서 새로운 xanthine oxidase의 저해물질을 탐색하는 연구가 지속되고 있다[2,7-10]. 이에 따라 xanthine oxidase 저해 효과를 보이는 천연 소재들이 29종의 한약재[2], 12종의 식용 버섯[7], 차[8,11], 탕자[9], 참취나물[10], 감잎[12] 및 양파껍질[13] 추출물들에서 탐색되어 보고된 바 있다.

본 연구에서는 국내에서 식용으로 사용되는 67종의 약용식물을 대상으로 그들의 열수 추출물이 xanthine oxidase 효소활성에 미치는 영향을 확인하였다. 따라서 본 연구를 통해 xanthine oxidase의 활성을 효과적으로 억제하는 새로운 약용식물 자원을 탐색하고 또한 기존에 보고된 천연 추출물과 비교함으로써 통풍 억제제로의 가능성이 있는 천연 소재의 확보를 위한 기초자료로 활용하고자 한다.

Dong Chung Kim (✉)
E-mail: kimdc@chungwoon.ac.kr

¹R&D center, Korea Ginseng MFG Co., Ltd.

²Department of Chemical Engineering, Chungwoon University, Incheon 22100, Republic of Korea

This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0/>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

재료 및 방법

실험재료

본 실험의 약용식물 원료 67종은 경동 한약도매시장(Seoul, Korea)에서 건조된 것을 구입하였다. 항통풍 대사 효소활성의 측정을 위한 xanthine, uric acid 및 xanthine oxidase (E.C.

1.1.3.2)는 Sigma-Aldrich사(St. Louis, MO, USA)의 제품을, 그 외 시약은 1급 이상을 사용하였다.

약용식물의 추출물 제조

약용식물 원료는 60 °C에서 5시간 동안 재건조한 후 5-10 mm의 크기로 절단하였다. 각각의 원료 5 g에 증류수 100 mL를 넣고 pH 7.0으로 조정한 후 80 °C의 항온진탕수조(Jeio Tech, Daejeon, Korea)에서 8시간 추출하였다. 각 추출혼합액은 10분간 원심분리(2,000×g)하여 상정액을 얻고 0.45 μm의 막여과지(Whatman International, Springfield Mill, England)로 거른 후 xanthine oxidase 저해 효과 확인을 위한 추출물 시료로 사용하였다.

약용식물 추출물의 xanthine oxidase 저해 효과 확인

Xanthine oxidase의 활성은 반응생성물인 요산의 농도를 분광광도계로 측정하는 Stirpe와 della Corte의 방법[14]으로 확인하였다. 효소반응은 0.1 M potassium phosphate 완충용액(pH 7.5)에 xanthine을 녹여 2 mM의 농도로 만든 기질 용액 1.5 mL를 기반으로 하여 시료구에는 각 추출물 시료 0.1 mL와 0.5 U/mL xanthine oxidase 0.05 mL를 넣었고, 대조구에는 추출물 시료 대신 0.1 mL의 증류수와 0.5 U/mL xanthine oxidase 0.05 mL를 넣었다. 시료구와 대조구 모두 37 °C의 항온기에서 5분간 반응시킨 다음 0.5 mL의 20% trichloroacetic acid를 첨가하여 효소 반응을 정지시켰다. 반응액은 10분간 원심분리(2,000×g)하여 단백질을 제거한 후 292 nm에서 흡광도를 측정함으로써 요산의 생성억제 정도를 확인하였다. Xanthine oxidase 저해 활성(%)은 $[1 - (\text{시료구} - \text{시료구 blank}) / \text{대조구}] \times 100$ 으로 계산하였다.

하수오 추출물의 안정성 및 xanthine oxidase 활성 저해 효과

하수오 뿌리 5 g에 증류수 100 mL를 넣고 pH 7.0으로 조정한 후 40-90 °C에서 8시간 동안 추출하여 xanthine oxidase에 대한 저해 활성을 측정하였다. 또한 80 °C에서 8시간 동안 추출하여 얻어진 하수오 뿌리의 물 추출물을 0.01 N HCl을 이용하여 pH 2.0으로 조정한 후 실온에서 4시간 방치하면서 추출물의 xanthine oxidase 활성을 측정하였다.

0.1 M potassium phosphate 완충용액(pH 7.5)에 xanthine을 녹여 2 mM의 농도로 만든 기질 용액 1.5 mL에 0, 0.25, 0.5, 1.0 및 2.0 mg/0.1 mL 농도의 하수오 뿌리 추출물을 각각 0.1 mL 첨가한 후 0.5 U/mL xanthine oxidase를 0.05 mL 부가하여 xanthine oxidase 활성을 측정하였다. 또한 0.1 M potassium phosphate 완충용액(pH 7.5)에 xanthine을 녹여 28.5, 33.3, 40.0, 50.0 μM의 농도로 만든 각각의 기질 용액 0.1 mL에 시험구는 1.0 mg/0.1 mL의 하수오 뿌리 추출물을 0.1 mL 첨가하였고, 대조구는 증류수 0.1 mL를 첨가한 후 시험구와 대조구 모두에 0.5 U/mL xanthine oxidase를 0.05 mL 부가하여 xanthine oxidase 활성을 측정하였다[15].

통계 분석

세 번 반복하여 수행한 실험의 평균값은 SPSS 12.0 (SPSS Inc, Chicago, IL, USA)을 사용하여 평균 ± 표준편차로 나타내었고, t-test를 실시하여 $p < 0.05$ 인 경우 통계적으로 유의하다고 판정하였다[2].

결과 및 고찰

약용식물 추출물의 xanthine oxidase 활성 저해 효과

생약제로 널리 사용되는 약용식물 67종의 약리 활성 부위를 일 상에서 음용하는 조건인 뜨거운 물로 추출하여 항통풍 xanthine oxidase 활성 저해 효과를 확인하였다. Table 1에서 보듯이 석창포 뿌리줄기, 잔대 뿌리, 달래 뿌리, 백수오 뿌리, 황칠나무 잎, 마 뿌리, 감초 뿌리, 구기자나무 껍질(지골피), 황정 뿌리, 누릅나무 껍질(유근피) 및 생강 뿌리줄기의 추출물은 xanthine oxidase의 활성을 전혀 저해하지 못하였다. 감초 뿌리 추출물은 기존의 연구에서 xanthine oxidase의 활성을 1.68% 저해하는 것 [2]으로 나타나 본 연구 결과와 유사하였다. 창출 뿌리, 천마 뿌리, 엄나무 껍질(해동피), 울금 뿌리, 죽여 속껍질, 강황 뿌리, 황기 뿌리, 마늘 뿌리, 연자육, 사상자 및 목향 뿌리의 추출물은 xanthine oxidase의 활성 저해 효과가 5% 이내로 항통풍 효과가 미미한 것으로 나타났다(Table 1). 죽여와 창출 추출물은 기존의 연구에서 xanthine oxidase의 활성을 각각 5.75 및 5.85% 억제하여 본 실험의 결과와 유사하였으나, 해동피 추출물은 기존의 연구에서는 효소 활성을 14.47% 억제하여 본 연구의 결과에 비해 xanthine oxidase 저해 효과가 높았다[2]. 약리 효과가 탁월한 것으로 알려진 인삼[16]의 가공품인 백삼, 태극삼, 홍삼 및 흑삼 추출물은 xanthine oxidase 활성을 3.7-9.1% 저해하는 것으로 나타나 역시 그 효과가 낮았다(Table 1).

삼주(백출) 뿌리줄기, 오가피 껍질, 천궁 뿌리줄기, 지귀자(헛개나무 열매), 대추 열매, 구기자 열매, 모싯대(제니) 뿌리, 피마자 잎, 오미자 열매 및 용안육 추출물은 xanthine oxidase 활성을 5 이상 10% 이내에서 저해하는 것으로 나타났다(Table 1). 삼주(백출) 추출물은 기존의 연구에서 xanthine oxidase의 활성을 3.96% 억제하여 본 실험의 결과와 유사하였다[2].

육계 껍질(계피), 후박 뿌리껍질, 한련초 잎, 개실새삼 열매(토사자), 속단 뿌리, 원지 뿌리, 향유 잎, 산수유 열매, 강황, 굴 껍질(진피), 산사자, 자소엽 잎 및 구릿대(백지) 뿌리줄기 추출물은 xanthine oxidase 활성을 10 이상 20% 이내에서 저해하는 것으로 나타나 그 효과가 크지 않았다(Table 1). 구릿대(백지) 추출물은 기존의 연구에서 xanthine oxidase의 활성을 19.12% 억제하여 본 실험의 결과와 일치하였으나, 굴 껍질(진피) 추출물은 기존의 연구에서 효소 활성을 6.89% 억제하여 본 연구의 결과에 비해 xanthine oxidase 저해 효과가 다소 낮게 나타났다[2].

당귀 뿌리, 홍화 꽃, 개나리(연교) 열매, 구절초 잎, 뽕나무 껍질(상백피), 인동초(금은화) 꽃망울, 박하 잎, 우영 뿌리, 산초 열매 및 숙지황 뿌리줄기 추출물은 xanthine oxidase 활성을 20 이상 40% 이내에서 저해하는 것으로 나타나 항통풍 천연 소재로서의 활용 가능성을 보여주었다(Table 1). 인동초(금은화) 추출물은 기존의 연구에서 xanthine oxidase의 활성을 27.81% 억제하여 본 실험의 결과와 일치하였으나, 개나리(연교)와 홍화 추출물은 기존의 연구에서 효소 활성을 10% 이내에서 억제하여 본 연구의 결과와 차이가 있었다[2].

지실(탱자나무의 미성숙 과일), 녹차 잎, 복분자 열매, 갈근(쑤이) 뿌리, 하수오 뿌리, 지각(광굴 열매) 및 황금 뿌리 추출물은 xanthine oxidase의 활성을 40% 이상 강력하게 저해하는 것으로 나타나 항통풍 천연 소재로의 활용 가치가 높다고 할 수

Table 1 Effect of aqueous extracts from various medicinal plants on the inhibition of xanthine oxidase activity

No	Scientific name	Korean name	Part used	Inhibitory activity (%)
1	<i>Scutellaria baicalensis</i> Georgi	Hwanggeum	Root	86.4±5.9 ¹⁾
2	<i>Citrus aurantium</i> L.	Jigak (Gwanggeul)	Fruit	80.8±3.9
3	<i>Polygonum multiflorum</i> Thunb.	Hasuo	Root	50.5±3.4
4	<i>Pueraria thunbergiana</i> (Sieb. et Zucc.) Benth.	Galgeun (Chirck)	Root	46.0±3.7
5	<i>Citrus unshiu</i> Marcor.	Cheongpi	Rind of immature fruit	46.0±4.5
6	<i>Rubus coreanus</i> Miquel	Bokbunja	Fruit	44.9±3.1
7	<i>Camellia sinensis</i> L.	Nokcha (Green tea)	Leaf	44.6±3.0
8	<i>Poncirus trifoliata</i> Raf.	Jisil (Taengja)	Immature fruit	40.8±2.7
9	<i>Rehmannia glutinosa</i> (Gaertn.) Libosch. ex Steud.	Sookjihwang	Rhizome	39.4±2.8
10	<i>Zanthoxylum schinifolium</i> Siebold & Zucc.	Sancho	Fruit	39.2±2.9
11	<i>Arctium lappa</i> L.	Wueong	Root	29.2±3.7
12	<i>Mentha arvensis</i> Linne var. <i>piperascens</i> Malinvaud	Barkha	Leaf & stalk	28.5±4.4
13	<i>Lonicera japonica</i> Thunb.	Indongcho (Keumeunhwa)	Flower bud	27.4±4.4
14	<i>Morus alba</i> L.	Bbong-namoo (Sangbaekpi)	Bark of root	24.9±2.3
15	<i>Dendranthema zawadskii</i> var. <i>latilobum</i> (Maxim.) Kitam.	Goojeolcho	Leaf & stalk	23.6±3.4
16	<i>Forsythia koreana</i> (Rehder) Nakai	Gaenari (Yeungyo)	Fruit	21.4±3.0
17	<i>Carthamus tinctorius</i> L.	Honghwa	Flower	21.2±3.8
18	<i>Angelica gigas</i> N.	Danggui	Root	21.2±5.4
19	<i>Angelica dahurica</i> Bentham et Hooker	Guridae (Baekji)	Rhizome	19.2±4.7
20	<i>Perilla frutescens</i> var. <i>acuta</i> (Odash.) Kudo	Jasoyeop	Leaf	17.6±1.1
21	<i>Crataegus pinnatifida</i> Bunge	Sansaja	Fruit	16.4±2.3
22	<i>Citrus unshiu</i> S. Marcov.	Geul (Jinpi)	Rind	16.3±3.2
23	<i>Teucrium veronicoides</i> Maxim.	Gwakhyang	Whole	15.4±2.5
24	<i>Cornus officinalis</i> Siebold et Zucc.	Sansuyu	Fruit	15.2±2.9
25	<i>Elsholtzia ciliata</i> (Thunb.) Hyl.	Hyangyoo	Leaf	13.6±2.2
26	<i>Polygala tenuifolia</i> Willd.	Wonji	Root	13.5±2.1
27	<i>Phlomis umbrosa</i> Turcz.	Sokdan	Root	13.4±2.4
28	<i>Cuscuta chinensis</i> Lam.	Gaesilsaesam (Tosaja)	Seed	10.8±3.0
29	<i>Eclipta prostrata</i> L.	Hanryeuncho	Leaf & stalk	10.7±3.4
30	<i>Magnolia officinalis</i> Rehd. et Wils.	Hoobaak	Rhizodermis	10.5±1.8
31	<i>Cinnamomum cassia</i> Presl	Yeukgae (Gaepi)	Bark of tree	10.1±3.0
32	<i>Dimocarpus longan</i> Lour.	Yonganyook	Fruit	9.9±3.0
33	<i>Schizandra chinensis</i> Baillon	Omija	Fruit	9.6±2.4
34	<i>Ricinus communis</i> L.	Pimaja	Leaf	9.6±4.0
35	<i>Panax ginseng</i> C. A. Meyer	Taegeuksam (Taegeuk ginseng)	Root	9.1±2.0
36	<i>Adenophora remotiflora</i> (Siebold & Zucc.) Miq.	Mosidae (Jeni)	Root	8.8±2.0
37	<i>Lycium chinense</i> Mill.	Googija	Fruit	8.4±1.7
38	<i>Zizyphus jujuba</i> var. <i>inermis</i> (Bunge) Rehder	Daechu	Fruit	7.9±2.8
39	<i>Panax ginseng</i> C. A. Meyer	Hongsam (Red ginseng)	Root	7.6±1.7
40	<i>Hovenia dulcis</i> Thunb.	Jigooja	Fruit	6.5±1.6
41	<i>Cnidium officinale</i> Makino	Cheonkoong	Rhizome	5.7±2.0
42	<i>Eleutherococcus sessiliflorus</i> (Rupr. et Maxim.) S. Y. Hu	Ogapi	Bark of tree & root	5.3±1.6
43	<i>Atractylodes ovata</i> (Thunb.) DC.	Sabjoo (Baekchool)	Rhizome	5.3±1.8
44	<i>Inula helenium</i> L.	Mokhyang	Root	4.8±1.6
45	<i>Torilis japonica</i> (Houtt.) DC.	Sasangja	Fruit	4.7±1.6
46	<i>Panax ginseng</i> C. A. Meyer	Baeksam (White ginseng)	Root	4.6±2.5
47	<i>Nelumbo nucifera</i> Gaertn.	Yeunjayeuk	Root	4.1±1.3
48	<i>Allium sativum</i> L.	Maneul	Root	4.0±1.3

Table 1 Continued

No	Scientific name	Korean name	Part used	Inhibitory activity (%)
49	<i>Panax ginseng</i> C. A. Meyer	Heuksam (Black ginseng)	Root	3.7±0.9
50	<i>Astragalus membranaceus</i> Bunge	Hwanggi	Root	3.1±1.3
51	<i>Curcuma longa</i> L.	Ganghwang	Root	3.0±1.1
52	<i>Bambusae caulis</i>	Jookyeu	Inner bark	2.9±1.2
53	<i>Curcuma aromatica</i> Salasb.	Eulgeum	Root	2.4±0.9
54	<i>Kalopanax septemlobus</i> (Thunb. ex Murray) Koidz.	Eum-namoo (Haedongpi)	Bark of tree & root	2.0±1.2
55	<i>Gastrodia elata</i> Blume	Cheonma	Root	1.9±0.9
56	<i>Atractylodes chinensis</i> Koidz.	Changchool	Root	1.4±0.8
57	<i>Acorus gramineus</i> Soland.	Seokchangpo	Rhizome	n.d ²⁾
58	<i>Adenophora triphylla</i> var. <i>japonica</i> Hara	Jandae	Root	n.d
59	<i>Allium monanthum</i> Maxim.	Dalrye	Root	n.d
60	<i>Cynanchum wilfordii</i> Hemsley	Baeksuo	Root	n.d
61	<i>Dendropanax moribifera</i> Nakai	Hwangchil-namoo	Leaf	n.d
62	<i>Dioscorea batatas</i> Decne.	Ma (Sanyak)	Root	n.d
63	<i>Glycyrrhiza uralensis</i> Fisch.	Gamcho	Root & rhizome	n.d
64	<i>Lycium chinense</i> Mill.	Gugija-namoo (Jigolpi)	Bark of root	n.d
65	<i>Polygonatum falcatum</i> A. Gray	Hwangjeong	Root	n.d
66	<i>Salix babylonica</i> L.	Nureup-namoo (Yoogeunpi)	Bark of tree	n.d
67	<i>Zingiber officinale</i> Roscoe	Saenggang (Geongang)	Rhizome	n.d

¹⁾Mean±SD; ²⁾not detected

있다. 특히 황금 및 지각(광굴 열매) 추출물은 xanthine oxidase의 활성을 80% 이상 저해할 정도로 그 효과가 탁월한 것으로 나타났다. 기존의 연구에서도 황금 약침액이 xanthine oxidase의 활성을 강력하게 저해하였고[17], 황금의 물 추출물은 xanthine oxidase의 활성을 87.75% 억제한다고 보고된 바 있어 본 실험의 결과와 일치하였다[2]. 황금의 메탄올 추출물에서 xanthine oxidase 저해 물질인 3,5,7-trihydroxy-2'-methoxyflavone이 분리 동정되었고[18], 특히 황금의 baicalein 성분은 xanthine oxidase의 활성을 강력하게 저해하는 것으로 알려져 있다[19]. 지실(탱자 열매) 추출물은 기존의 연구에서 xanthine oxidase의 활성을 25.7% 억제하여 본 실험의 결과와 유사한 양상을 보여주었다[2]. 특히 특히 지실 껍질의 물 추출물은 37.14 µg/mL의 농도에서 xanthine oxidase의 활성을 50% 저해한다는 보고가 있듯이 이미 항통풍 소재로서 연구가 수행되고 있다[9]. 지각(광굴 열매)의 ethyl acetate 추출물은 강력한 xanthine oxidase 저해 활성을 보유하고 있고, 특히 지각 추출물에 함유되어 있는 플라보노이드 화합물인 naringenin, hesperitin 및 nobiletin이 xanthine oxidase의 활성을 저해하는 주된 물질임이 밝혀진 바 있다[20]. 또한 녹차, 우롱차 및 홍차 추출물은 우수한 xanthine oxidase 저해 활성을 나타내었고, 차에 함유되어 있는 카테킨류 중에 gallate기가 결합되어 있는 (-)-epigallocatechin gallate 및 (-)-epicatechin gallate가 주된 저해 물질임이 보고된 바 있다[8,11]. 갈근(쑥) 뿌리의 70% 에탄올 추출물은 200 µg/mL의 농도에서 xanthine oxidase의 활성을 52% 저해한다는 보고되었듯이 이미 항통풍 소재로서 연구가 수행되었고, 갈근 추출물로부터 puerarin 등의 이소플라본계 화합물이 저해 물질로 분리 동정되었다[21]. 복분자의 경우에도 그 추출물이 xanthine oxidase의 활성을 억

제하여 요산 결정의 생성을 억제한다고 발표된 바 있다[22]. 하수오 잎, 줄기 및 뿌리 추출물은 강력한 항산화 활성을 가지고 있고 emodin 화합물과 quercetin이 항산화 물질로서의 역할을 한다고 알려져 있고[23], 하수오 잎과 줄기 추출물이 xanthine oxidase의 활성을 15.81% 저해한다고 보고[24]된 바 있으나 아직까지 하수오 뿌리의 xanthine oxidase 저해 효과에 대한 연구는 이루어지지 않았다.

하수오 물 추출물의 안정성 및 xanthine oxidase 활성 저해 효과

Table 1에서 보듯이 하수오 뿌리로부터 얻어진 물 추출물이 xanthine oxidase 활성을 효과적 억제하는 것으로 나타나서 하수오 추출물의 열과 pH에 대한 안정성 및 xanthine oxidase 저해 효과를 확인하였다.

하수오 뿌리 추출물에 함유되어 있는 xanthine oxidase 활성 저해 물질을 생리 기능성 소재로 활용하기 위해서는 열 안정성 및 위산에 견디는 내산성이 우수해야 한다. 하수오 뿌리를 40-90 °C의 조건에서 8시간 추출한 결과, 60 °C까지 추출 온도가 증가할수록 xanthine oxidase 저해 활성이 증가하였고, 80 °C까지는 추출물의 효소에 대한 저해 활성이 96.5% 이상 유지되는 것으로 나타났다(Fig. 1A). 하수오 뿌리를 90 °C에서 8시간 추출하여도 xanthine oxidase에 대한 저해 활성이 88.2% 유지되는 것으로 나타나 추출물의 활성성분은 열 안정성이 매우 우수하였다. 하수오 뿌리의 추출 온도가 60 °C 보다 낮은 경우에는 활성 물질의 제대로 추출되지 않아 저해 활성이 낮은 것으로 여겨진다. 또한 하수오 뿌리 추출물을 pH 2의 조건에서 4시간 방치 후에도 xanthine oxidase 저해 활성이 80% 정도 유지되는 것으로 나타나 강산성 조건에서도 안정성이 우수하였다(Fig. 1B).

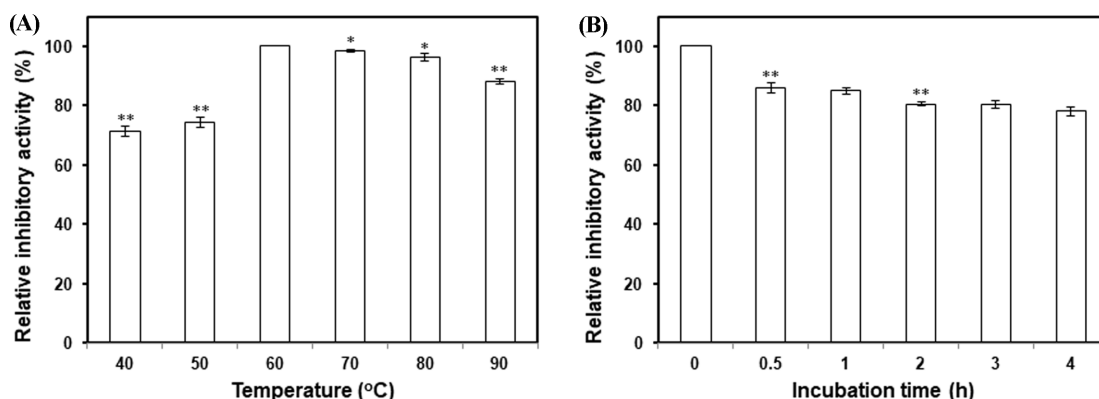


Fig. 1 Stability of the aqueous extract from *Polygonum multiflorum* root at high temperatures and pH 2.0. Data were means and SD of triplicate measurements. (A) *P. multiflorum* root was extracted at 40, 50, 60, 70, 80, and 90 °C, respectively. Data were statistically different from the value of 60 °C (* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$). (B) The aqueous extract from *P. multiflorum* root was incubated for 0, 0.5, 1.0, 2.0, 3.0, and 4.0 h at pH 2.0, respectively. Data were statistically different from the value of previous group (** $p < 0.01$)

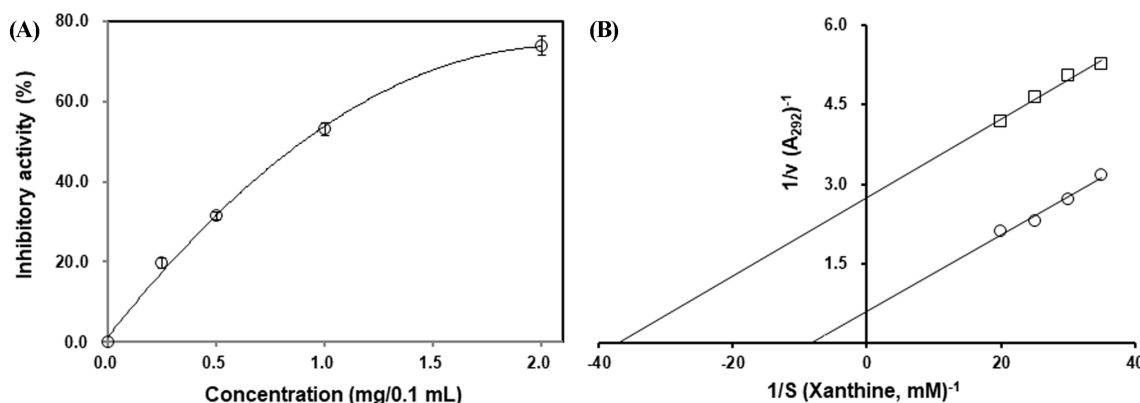


Fig. 2 Inhibitory effect of the aqueous extract from *Polygonum multiflorum* root on xanthine oxidase activity. (A) Xanthine oxidase activity according to the increased concentration of aqueous extract from *P. multiflorum* root. Data were means and SD of triplicate measurements. (B) Typical Lineweaver-Burk plot of xanthine oxidase activity in the absence (-○-) and presence (-□-, 1.0 mg/0.1 mL) of the aqueous extract from *P. multiflorum* root

실제로 천연물 소재를 식품 산업에 활용하기 위해서는 열수로 추출하는 조건에 맞게 열 안정성이 우수해야 하고, 음용 후 위산에 견디기 위해 pH 안정성이 우수해야 한다[25]. 하수오 뿌리 추출물은 열 안정성 및 위산에 견디는 내산성이 뛰어나 항통풍의 생리활성 소재로 활용 가능성이 우수하다고 볼 수 있다.

하수오 뿌리의 물 추출물은 농도에 비례하여 xanthine oxidase의 활성을 저해하는 것으로 나타났다(Fig. 2A). 효소 반응액에 1.0 mg/0.1 mL 농도의 하수오 추출물 처리로 xanthine oxidase 활성이 53% 저해되었으며, 2.0 mg/0.1 mL 농도의 추출물을 첨가하였을 때는 효소 활성이 73.8% 저해되었다. 비록 하수오 추출물이 단일 물질이 아니어서 K_i 값을 구하지는 못하지만, 하수오 추출물은 xanthine에 대한 xanthine oxidase의 활성을 uncompetitive하게 저해하는 것으로 나타났다(Fig. 2B). Uncompetitive 저해의 경우, 저해제는 효소-기질의 복합체에는 결합하여 저해 효과를 나타내지만 유리되어 있는 효소에는 결합하지 못하는 저해 양상을 보여준다[26]. 요산의 경우에도 xanthine oxidase의 활성을 uncompetitive하게 저해한다고 알려져 있고[26], 운향(*Ruta graveolens* L.) 추출물로부터 얻어진

rutin과 quercetin은 xanthine oxidase 활성의 경쟁적 저해제[27]로, 금떡쑥(*Gnaphalium hypoleucum* DC.) 추출물의 luteolin-4-O-glucoside과 luteolin은 혼합형 저해제[28]로 보고된 바 있다. 향후 하수오 추출물로부터 xanthine oxidase의 활성 저해 물질을 분리 동정한 후 저해 메커니즘을 확인하는 연구가 필요할 것이다.

이상의 결과로부터 67종의 약용식물 중 당귀 뿌리, 홍화 꽃, 개나리(연교) 열매, 구절초 잎, 뽕나무 껍질(상백피), 인동초(금은화) 꽃망울, 박하 잎, 우엉 뿌리, 산초 열매 및 숙지황 뿌리 줄기 추출물은 항통풍 후보 소재로 연구 대상이 될 수 있고, 특히 지실, 녹차 잎, 복분자 열매, 청피, 갈근(쇠) 뿌리, 하수오 뿌리, 지각 및 황금 뿌리 추출물은 xanthine oxidase의 활성을 탁월하게 저해함으로써 항통풍 천연소재로서 효과가 있을 것으로 기대된다. 황금, 지각, 지실, 갈근, 복분자 및 녹차 추출물의 xanthine oxidase 저해 효과에 대해서는 이미 연구가 수행된 바 있어, 본 연구에서는 하수오 뿌리를 대상으로 그 추출물이 xanthine oxidase의 활성을 농도에 비례하여 억제하고 열과 산에 대한 안정성도 우수한 것으로 밝힌 바 있다. 향후 하수오 뿌

리 추출물을 대상으로 xanthine oxidase 활성저해 성분을 분리하여 그 구조를 동정하고, 억제 메커니즘을 규명함으로써 향통풍 천연 소재로 활용할 수 있을 것이다.

초 록

약용식물 67종의 생리활성 부위를 대상으로 열수 추출물이 *in vitro*에서 xanthine oxidase의 활성에 미치는 효과를 확인하였다. 약용식물 중에서 황금, 지각, 하수오, 갈근, 청피, 복분자, 녹차 및 지실 추출물은 xanthine oxidase의 활성을 강력하게 저해하여 향통풍 천연소재로서의 활용 가능성이 높게 나타났다. 하수오 뿌리 추출물은 열과 pH에 대한 안정성이 우수하였고, 농도에 비례하여 xanthine oxidase의 활성을 저해하였다. 하수오 추출물은 2.0 mg/0.1 mL의 농도에서 xanthine oxidase에 대해 73.8%의 저해 효과를 나타내었다.

Keywords 약용식물 추출물 · 하수오(*Polygonum multiflorum* Thunb.) · 향통풍 · Xanthine oxidase

감사의 글 본 논문은 2019년도 청운대학교 연구년 지원에 의한 것입니다.

References

- Harrold L (2013) New developments in gout. *Curr Opin Rheumatol* 25: 304–309
- Shin YJ, Hwang JM, Lee SC (2013) Antioxidant and xanthine oxidase inhibitory activities of hot water extracts of medicinal herbs. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 42: 1712–1716
- Duke EJ, Joyce P, Ryan JP (1973) Characterization of alternative molecular forms of xanthine oxidase in the mouse. *J Biochem* 131: 187–190
- Yu TF, Gutman AB (1967) Uric acid nephrolithiasis in gout. *Ann Int Med* 67: 1133–1148
- Lee MH, Graham GG, Williams KM, Day RO (2008) A benefit-risk assessment of benzbromarone in the treatment of gout. Was its withdrawal from the market in the best interest of patients?. *Drug Saf* 31: 643–665
- Pacher P, Nivorozhkin A, Szabó C (2006) Therapeutic effects of xanthine oxidase inhibitors: renaissance half a century after the discovery of allopurinol. *Pharmacol Rev* 58: 87–114
- Zanabaatar B, Song JH, Seo GS, Noh HJ, Yoo YB, Lee JS (2010) Screening of anti-gout xanthine oxidase inhibitor from mushrooms. *Kor J Mycol* 38: 85–87
- Yeo SG, Park YB, Kim IS, Kim SB, Park YH (1995) Inhibition of xanthine oxidase by tea extracts from green tea, oolong tea and black tea. *J Korean Soc Food Nutr* 24: 154–159
- Lee YS, Yoon HG, Kim NW (2010) The physiological activities of ripe fruit of *Poncirus trifoliata*. *Korean J Food Preserv* 17: 698–705
- Lee EH, Park HJ, Kim NH, Hong EJ, Park MJ, Lee SH, Kim MU, An BJ, Cho YJ (2016) Biological activities of *Aster scaber* extracts. *Korean J Food Preserv* 23: 393–401
- An BJ, Kim WK, Choi JY, Kwon IB, Choi C (1992) Structure and isolation of xanthine oxidase inhibitor from oolong tea. *Kor J Food Sci Technol* 24: 558–562
- Moon SH, Lee MK, Chae KS (2001) Inhibitory effects of the solvent fractions from persimmon leaves on xanthine oxidase activity. *Kor J Food Nutr* 14: 120–125
- Ra KS, Chung SH, Suh HJ, Son JY, Lee HK (1998) Inhibitor of xanthine oxidase from onion skin. *Kor J Food Sci Technol* 30: 697–701
- Stripe F, Della CE (1969) The regulation of rat xanthine oxidase. Conversion *in vitro* of enzyme activity from dehydrogenase (type D) to oxidase (type O). *J Biol Chem* 244: 3855–3863
- Nagao A, Seki M, Kobayashi H (1999) Inhibition of xanthine oxidase by flavonoids. *Biosci Biotechnol Biochem* 63: 1787–1790
- Do J, Gwak J, Rho JJ, Lee K, Irfan M, Rhee MH, Kim DC (2018) Aqueous extract of taeguk ginseng inhibits platelet aggregation and thrombus formation. *J Med Food* 21: 1137–1144
- Kim SI, Moon JY, Kim KS, Kim DH, Nam KS, Lim JK (1997) Antioxidative effects of *Scutellariae radix* aquacupuncture solution on lipid peroxidation induced by free radicals. *Kor J Oriental Preventive Medical Society* 1: 48–54
- Kim SC, Ahn KS, Park CK, Jeon BS, Lee JT, Park WJ (2006) Isolation of antioxidative compound from *Scutellaria baicalensis* G. *Korean J Medicinal Crop Sci* 14: 212–216
- Huang Y, Tsang SY, Yao X, Chen ZY (2005) Biological properties of baicalin in cardiovascular system. *Curr Drug Targets Cardiovasc Haematol Disord* 5: 177–184
- Liu K, Wang W, Guo BH, Gao H, Liu Y, Liu XH, Yao HL, Cheng K (2016) Chemical evidence for potent xanthine oxidase inhibitory activity of ethyl acetate extract of *Citrus aurantium* L. dried immature fruits. *Molecules* 21: 302
- Son E, Yoon JM, An BJ, Lee YM, Cha J, Chi GY, Kim DS (2019) Comparison among activities and isoflavonoids from *Pueraria thunbergiana* aerial parts and root. *Molecules* 24: 912
- Huh J, Simu SY, Han Y, Ahn JC, Yang DC (2018) *Dendropanax morbifera* and *Rubus coreanus* Miq. extracts inhibit the formation of uric acid crystal by reducing xanthine oxidase activity. *Proceedings of the Plant Resources Society of Korea Conference*, 95
- Lin HT, Nah SL, Huang YY, Wu SC (2010) Potential antioxidant components and characteristics of fresh *Polygonum multiflorum*. *J Food Drug Anal* 18: 120–127
- Huang WY, Cai YZ, Xing J, Corke H, Sun M (2008) Comparative analysis of bioactivities of four *Polygonum* species. *Planta Med* 74: 43–49
- Kim DC, Chae HJ, In MJ (2004) Existence of stable fibrin-clotting inhibitor in salt-fermented anchovy sauce. *J Food Comp Anal* 17: 113–118
- Radi R, Tan S, Prodanov E, Evans RA, Parks DA (1992) Inhibition of xanthine oxidase by uric acid and its influence on superoxide radical production. *BBA-Protein Struct M* 122: 178–182
- Pirouzpanah S, Rashidi MR, Delazar A, Razavieh SV, Hamidi AA (2009) Inhibitory effect of *Ruta graveolens* L. extract on guinea pig liver and bovine milk xanthine oxidase. *Iran J Pharm Sci* 5: 163–170
- Zhang HJ, Hu YJ, Xu P, Liang WQ, Zhou J, Liu PG, Cheng L, Pu JB (2016) Screening of potential xanthine oxidase inhibitors in *Gnaphalium hypoleucum* DC. by immobilized metal affinity chromatography and ultrafiltration-ultra performance liquid chromatography-mass spectrometry. *Molecules* 21: 1242