

## 천연 식물자원에서 DPPH 라디칼 제거능과 Prolyl Endopeptidase 활성 저해능 탐색

이 영 민 · 김 대 익 · 이 성 현 · 조 수 목 · 전 혜 경 · 박 홍 주 · 이 연 숙\*  
농업과학기술원 농촌자원개발연구소 · 서울대학교 식품영양학과\*

### Investigation of DPPH Radical Scavenging and Prolyl Endopeptidase Inhibitory Activities of Plant Extracts

Lee, Young Min · Kim, Dae Ik · Lee, Sung Hyeon · Cho, Soo Muk · Chun, Hye Kyung ·  
Park, Hong Ju · Lee, Yeon Sook\*

National Rural Resources Development Institute, NIAST, RDA, Suwon, Korea  
Dept. of Food and Nutrition, Seoul National University, Seoul, Korea\*

#### ABSTRACT

The present study was performed to investigate the 1,1-diphenyl-2-picryl hydrazyl (DPPH) radical scavenging and prolyl endopeptidase (PEP) inhibitory activities of plant extracts. The whole extract of *Fragaria yezoensis* inhibited the DPPH radical by 90.4% and the stem of *Ginkgo biloba*, *Gardenia jasminoides for. grandiflora* and *Rhododendron yedoensis var. poukhanense*, the leaves of *Rhododendron mucronulatum var. ciliatum*, *Gardenia jasminoides for. grandiflora* and *Corylus sieboldiana var. mandshurice*, the fruit of *Cornus officinalis*, and the root of *Ginkgo biloba* showed high DPPH radical scavenging activities. In the case of PEP inhibitory activities, high inhibition was observed in the whole plant of *Fragaria ananassa*, *Fragaria yezoensis* and *Hypericum erectum*, the stem of *Actinidia arguta* and *Rhododendron yedoensis var. poukhanense*, the leaves of *Rhododendron yedoensis var. poukhanense* and *Rosa davurica*, the fruit of *Cornus officinalis*, and the root of *Acer okamotoanum*. There was significant correlation ( $P=0.000$ ) between DPPH radical scavenging and prolyl endopeptidase inhibitory activities, thus some of plant extracts such as whole *Fragaria yezoensis*, fruit of *Cornus officinalis* had high activities in both DPPH-scavenging and prolyl endopeptidase inhibition. Therefore, it is required to examine the mechanical interaction between DPPH-scavenging and prolyl endopeptidase inhibitory activities and further studying plant extracts with both these activities is desired to develop agents for preventing and treating of Alzheimer's disease.

Key words: plant extract, 1,1-diphenyl-2-picryl hydrazyl radical scavenging activity, prolyl endopeptidase inhibitory activity

이 논문은 농촌진흥청 국제기술개발사업의 지원으로 수행되었음.

접수일: 2005년 10월 21일 채택일: 2005년 11월 22일

Corresponding Author: Park, Hong Ju Tel: 82-31-299-0560

E-mail: redpark@rda.go.kr

## I. 서론

알츠하이머 질환(Alzheimer's disease)은 1907년 에 독일의 정신과 의사 Alois Alzheimer에 의해서 처음으로 보고된 노인성 치매로, 치매의 가장 흔한 원인질환이며, 뇌세포의 점진적 손상으로 인한 인지 기능의 점진적인 감퇴를 주된 특징으로 한다(김진홍 2000; 민경배 2001). 최근 국민생활 수준의 향상과 의학기술의 발달로 평균수명이 증가하면서 인구의 고령화와 함께 노인의 치매 유병률 증가가 문제시되고 있다. 2005년 7월 현재 우리나라 치매노인이 65세 이상 인구의 8.3%인 36만 4000명으로 추산되어진바 있으며(보건사회연구원 1997), 세계적으로도 알츠하이머 질환 유병률이 2000년에는 2,500만이었고, 새로운 예방 또는 신경보호 요법이 출현하지 않는다면 이 수는 2050년에 11,400만까지 증가할 것으로 예상되어졌다(Wimo et al. 2003).

현재 알츠하이머 질환의 주요한 치료제는 아세틸콜린 분해 저해제(acetylcholin esterase inhibitors)로서, 콜린성 신경전달(cholinergic transmission)의 감소가 알츠하이머에서 인지, 기능, 행동적 증상에 중요한 역할을 한다는 콜린성 가설(cholinergic hypothesis)에 기초한 것이다(Lane et al. 2004; Francis et al. 1999). Tacrine, donepezil, rivastigmine 및 galantamine 의 네 가지 약물이 FDA(U.S. Food and Drug Administration)의 승인을 받았으나, 그 중 하나인 tacrine의 경우 간독성 때문에 지금은 거의 사용되지 않고 있다(Lleo et al. 2005). 이 외에 알츠하이머 질환 환자의 뇌에서 산화적 스트레스와 자유 라디칼의 축적에 대한 보고(Rottkamp et al. 2004; Behl 2005)로 알츠하이머 질환의 잠재적 치료로서 항산화제가 대두된 바 있다. 항아밀로이드 요법 또한 새롭게 제안되어 있는데 알츠하이머 질환의 발병 및 진행에 주요 인자로 고려되어지는 아밀로이드 베타 단백질의 생성을 감소시키거나 제거를 증가시키는 두 가지 방법으로 접근할 수 있다(Citron 2004). 이 중 베타 아밀로이드 생성에 관여하는 효소로서 추정되는 것이 PEP(prolyl endopeptidase)이며(Ishiuira 1990), PEP 저해제에 의해서 amyloid-like deposition

이 억제됨이 보고되었다(Kato 1997). 치매의 예방 및 치료를 위한 무독성의 약물 개발을 위해서 많은 연구가 수행되고 있으나 아직까지 치매의 발병 기전이나 뚜렷한 효능을 가진 치료제에 대한 보고가 없는 실정이어서 새로운 자원에서 알츠하이머 질환의 치료제로서의 가능성을 탐색하는 것이 중요하다.

따라서 본 연구에서는 당근(*Daucus carota var. sativa*), 고추나물(*Hypericum erectum*), 딸딸기(*Fragaria yezoensis*) 등의 전초 추출물 35종과 은행나무(*Ginkgo biloba*)의 줄기, 산철쭉(*Rhododendron yedoensa var. poukhanense*)의 잎, 선인장(*Opuntia ficus-indica var. saboten*)의 열매 등 부위별 추출물 36종의 식물 추출물 71종에서 DPPH 라디칼 소거능과 PEP 활성 저해율을 측정함으로써 치매의 예방 및 치료를 위한 약품개발의 기초자료로 제공하고자 한다.

## II. 재료 및 방법

### 1. 시험재료

본 연구에 사용된 식물 추출물은 메탄올 추출된 것으로, 한국생명공학연구소 한국식물추출물 은행에서 분양 받았다. 식물 추출물은 총 71종이며 당근(*Daucus carota var. sativa*), 고추나물(*Hypericum erectum*), 딸딸기(*Fragaria yezoensis*) 등의 전초 추출물이 35종, 은행나무(*Ginkgo biloba*)의 줄기, 산철쭉(*Rhododendron yedoensa var. poukhanense*)의 잎, 선인장(*Opuntia ficus-indica var. saboten*)의 열매 등 부위별 추출물이 36종이었다.

### 2. 항산화 활성의 측정

식물추출물들의 항산화 활성 측정은 시료의 항산화 검색법으로서 유리라디칼의 제거작용 실험으로 Yoshida 등(1989)의 방법에 따라 각 시료의 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl(DPPH) 라디칼에 대한 제거 효과를 측정하였다. 시료를 메탄올에 녹인 뒤(50 ppm) 160  $\mu$ l를 분취하여 96 well microplate(ELISA reader)에 넣은 후  $1.5 \times 10^{-4}$  M 농도로 메탄올에 용해시킨 DPPH 용액 40  $\mu$ l와 잘

혼합한다. 이 반응 혼합액을 실온에서 30분간 방치한 후, 520 nm에서 ELISA reader로 측정한다. 결과 값은 시료를 첨가하지 않은 대조군과 비교하여 유리 라디칼의 제거활성을 나타냈으며 positive control로는 L-ascorbic acid를 사용하였다. 항산화 활성 측정은 2회 반복하였다.

### 3. PEP(Prolyl endopeptidase)저해활성의 측정

PEP 저해활성 측정은 Toda 등(1992)의 방법에 의하여 측정하였다. 0.1M tris buffer(pH 7.0) 200 µl와 0.25 unit/ml의 효소 20 µl 그리고 sample (125ppm) 10 µl의 혼합액을 96well microplate(37°C)에서 10분간 반응시킨 후 기질로써 20 mM Z-Gly-Pro-pNA 20 µl를 가한 후, 37°C에서 30분간 반응시킨다. 반응 후 96 well microplate reader (ELISA reader)를 이용하여 410 nm 흡광도를 측정한다(A). 따로 tris buffer(pH 7.0) 240 µl, sample 10 µl의 혼합액을 준비하여 410 nm 흡광도를 측정한다(B) 후 아래의 식을 이용하여 저해율을 구하였으며 이때 control은 sample 대신 sample을 녹인 용매를 사용하여 측정한 흡광도 값이다. PEP 저해 활성 측정은 2회 반복하였다.

$$\text{Inhibition rate(\%)} = \frac{\text{Control} - (A - B)}{\text{Control}} \times 100$$

### 4. 통계처리

실험결과는 SPSS 10.0 프로그램을 이용하여 평균±표준편차로 제시하였으며 변수간의 상관성은 관찰값을 차례로 순위를 매긴 뒤 순위를 이용해서 비모수적 상관계수인 스피어만상관계수 (Spearman correlation coefficient)로 구하였다.

## III. 결과 및 고찰

### 1. 항산화 활성의 효과

알츠하이머 질환이 자유라디칼에 의한 뇌조직 중의 뇌세포 파괴 및 지질과산화물의 축적과 관련되어 보고되었으므로(Domenico 2002; Behl 1999) 식물 자원에서 치매의 예방 및 치료 소재로서의 가능성을 탐색하기 위하여 식물 추출물의 라디칼

에 전자를 주는 환원력을 조사하였다.

전보(박홍주 등 2004)에서와 같이 식물 전초부위 추출물에서 DPPH 라디칼의 저해 활성으로 항산화력을 살펴본 결과(Table 1), 딸기(*Fragaria yezoensis*)에서 90.4%, 딸기(*Fragaria ananassa*)와 나문재(*Suaeda asparagoides*)에서 88.4%, 그리고 제비쭉(*Artemisia japonica*), 털질경이(*Plantago depressa*), 고추나물(*Hypericum erectum*), 박하(*Mentha arvensis var. piperascens*), 참마(*Dioscorea japonica*) 등에서 85% 이상으로 DPPH 라디칼을 소거시키는 높은 항산화력을 보였다. 고추나물(*Hypericum erectum*)의 경우, 항산화 활성을 갖는 flavonoid 성분이 분리된 바 있어(정철만 등 1997), 본 연구결과에서의 고추나물의 항산화효과와 유사한 경향이었으며 다른 식물 추출물에서도 항산화 활성을 나타내는 성분에 관한 연구가 추후 필요할 것으로 판단된다.

식물 줄기, 잎, 열매, 뿌리 부위 추출물에서 마찬가지로 DPPH 라디칼의 제거효과로 항산화력을 살펴 본 결과(Table 2), 은행나무(*Ginkgo biloba*), 치자나무(*Gardenia jasminoides for. grandiflora*), 산철쭉(*Rhododendron yedoense var. poukhanense*) 등의 줄기에서 88% 이상의 높은 라디칼 제거 효과가, 잎 부위 추출물에서는 털진달래(*Rhododendron mucronulatum var. ciliatum*), 치자나무(*Gardenia jasminoides for. grandiflora*)와 물개암나무(*Corylus sieboldiana var. mandshurice*)에서 89% 이상의 DPPH 라디칼 제거 효과가 나타났다. 다음으로 생열귀나무(*Rosa davurica*)의 잎 부위에서 높은 항산화력이 나타났고 사재훈 등(2002)이 생열귀나무로부터 강력한 항산화 효과를 확인하였으며 그 활성성분에 관한 연구를 보고한 바 있다. 생열귀나무 잎의 메탄올 분획물의 DPPH 자유라디칼 소거법에 의한 항산화성 또한 IC<sub>50</sub>이 6.4 µg 수준인 강한 활성으로 보고되어 본 연구의 결과와 일치하였다(김준범 등 2004). 그리고 열매 부위 추출물에서는 산수유(*Cornus officinalis*)에서 94.6%로서 positive control로 사용한 L-ascorbic acid의 DPPH 라디칼 저해 활성은 96.9%와 가장 근접하였으며, 뿌리 부위의 추출물에서는 은행나무(*Ginkgo biloba*), 우산고로쇠(*Acer okamotoanum*),

Table 1. Effects of various whole plant extracts on inhibition of DPPH and PEP

| Plant species |   | DPPH          | PEP           |
|---------------|---|---------------|---------------|
| Korean name   | Scientific name   | Inhibition(%) | Inhibition(%) |
| 감자            | <i>Solanum tuberosum</i>  | 23.7±0.8      | 0.9±0.1       |
| 갓             | <i>Brassica juncea</i> var. <i>integrifolia</i>                           | 48.9±1.2      | 2.3±0.1       |
| 강아지풀          | <i>Setaria viridis</i>  | 42.7±2.0      | 2.2±0.1       |
| 개갓냉이          | <i>Rorippa indica</i>   | 43.8±0.4      | 6.6±0.9       |
| 갯무            | <i>Raphanus sativus</i> var. <i>hortensis</i> for. <i>raphanistroides</i> | 42.4±0.0      | 6.2±0.3       |
| 고들빼기          | <i>Youngia sonchifolia</i>  | 37.9±2.4      | 1.7±0.3       |
| 고추나물          | <i>Hypericum erectum</i>  | 86.7±1.2      | 86.5±0.3      |
| 괭이밥           | <i>Oxalis corniculata</i>   | 81.1±2.0      | 5.4±0.7       |
| 나문재           | <i>Suaeda asparagoides</i>  | 88.4±0.4      | 2.1±0.8       |
| 냉이            | <i>Capsella bursa-pastoris</i>  | 39.6±1.6      | 1.5±0.4       |
| 넉줄고사리         | <i>Davallia mariesii</i>  | 85.9±0.0      | 35.2±3.4      |
| 당근            | <i>Daucus carota</i> var. <i>sativa</i>                                   | 35.3±0.4      | 6.3±0.6       |
| 두메부추          | <i>Allium senescens</i>   | 31.9±0.4      | 3.5±2.6       |
| 딸기            | <i>Fragaria ananassa</i>  | 88.4±0.4      | 96.6±0.2      |
| 땃딸기           | <i>Fragaria yezoensis</i>   | 90.4±0.0      | 96.3±1.0      |
| 떡쑥            | <i>Gnaphalium affine</i>  | 87.3±1.2      | 6.4±0.5       |
| 메밀            | <i>Fagopyrum esculentum</i>   | 86.7±1.2      | 9.0±0.7       |
| 명아주           | <i>Chenopodium album</i> var. <i>centrorubrum</i>                         | 31.4±0.4      | 3.7±2.9       |
| 물냉이           | <i>Nasturtium officinale</i>  | 40.4±0.4      | 6.4±0.5       |
| 미나리           | <i>Oenanthe javanica</i>  | 25.7±1.2      | -             |
| 미나리냉이         | <i>Cardamine leucantha</i>  | 46.9±1.6      | 7.9±1.0       |
| 박쥐나물          | <i>Cacalia auriculata</i> var. <i>matsumurana</i>                         | 74.6±0.0      | -             |
| 박하            | <i>Mentha arvensis</i> var. <i>piperascens</i>                            | 85.6±0.4      | 6.6±1.0       |
| 벌깨냉이          | <i>Cardamine violifolia</i>   | 47.4±0.0      | 4.9±0.1       |
| 새완두           | <i>Vicia hirsuta</i>  | 87.0±0.8      | 4.2±0.7       |
| 짜리냉이          | <i>Cardamine impatiens</i>  | 45.2±0.8      | 5.5±0.4       |
| 약모밀           | <i>Houttuynia cordate</i>   | 82.8±0.4      | -             |
| 유채            | <i>Brassica campestris</i> subsp. <i>napus</i> var. <i>nippo-oleifera</i> | 47.2±4.4      | 6.9±0.9       |
| 제비쑥           | <i>Artemisia japonica</i>   | 86.2±0.4      | -             |
| 참나물           | <i>Pimpinella brachycarpa</i>   | 39.0±0.0      | 3.2±0.5       |
| 참마            | <i>Dioscorea japonica</i>   | 86.2±0.4      | 15.6±1.1      |
| 털머위           | <i>Farfugium japonicum</i>  | 46.6±0.4      | 3.2±0.6       |
| 털질경이          | <i>Plantago depressa</i>  | 87.3±0.4      | 7.5±2.5       |
| 호밀            | <i>Secale cereale</i>   | 51.4±4.0      | 6.1±0.8       |
| 흰민들레          | <i>Taraxacum coreanum</i>   | 40.7±2.4      | 5.9±3.9       |

**Table 2.** Effects of plant(stems, leaves, fruits and roots) extracts on inhibition of DPPH and PEP

| Plant species |   |          | DPPH          | PEP           |          |
|---------------|---|----------|---------------|---------------|----------|
| Korean name   | Scientific name                                 | Part     | Inhibition(%) | Inhibition(%) |          |
| 고추나무          | <i>Staphylea bumalda</i>                        | Stem     | 50.0±2.8      | 5.5±1.3       |          |
| 다래            | <i>Actinidia arguta</i>                         |          | 85.6±0.4      | 93.2±0.2      |          |
| 등취            | <i>Aristolochia manshuriensis</i>               |          | 57.6±0.0      | 3.7±0.1       |          |
| 두충            | <i>Eucommia ulmoides</i>                        |          | 41.8±0.8      | 3.0±1.1       |          |
| 맛두릅나무         | <i>Oplopanax elatus</i>                         |          | 37.9±0.8      | 5.3±2.4       |          |
| 산철쭉           | <i>Rhododendron yedoensa var. poukhanense</i>   |          | 88.4±0.4      | 89.0±0.8      |          |
| 은행나무          | <i>Gingko biloba</i>                            |          | 89.6±3.6      | 78.7±3.3      |          |
| 읍나무           | <i>Kalopanax pictus</i>                         |          | 81.6±2.0      | 13.8±1.5      |          |
| 진달래           | <i>Rhododendron mucronulatum</i>                |          | 86.2±1.2      | 30.3±1.3      |          |
| 치자나무          | <i>Gardenia jasminoides for. grandiflora</i>    |          | 89.3±1.6      | 8.9±0.6       |          |
| 취             | <i>Pueraria thunbergiana</i>                    |          | 49.4±2.0      | 7.8±0.1       |          |
| 털진달래          | <i>Rhododendron mucronulatum var. ciliatum</i>  |          | 87.3±0.4      | 52.7±4.4      |          |
| 헛개나무          | <i>Hovenia dulcis</i>                           |          | 87.6±0.8      | 9.3±0.7       |          |
| 겨우살이          | <i>Viscum album var. coloratum</i>              |          | Leaves        | 57.1±0.0      | 7.8±0.7  |
| 고추나무          | <i>Staphylea bumalda</i>                        | 77.1±2.8 |               | 7.6±1.8       |          |
| 다래            | <i>Actinidia arguta</i>                         | 86.7±0.4 |               | 31.4±1.9      |          |
| 맛두릅나무         | <i>Oplopanax elatus</i>                         | 86.4±2.4 |               | 4.5±4.0       |          |
| 모과나무          | <i>Chaenomeles sinensis</i>                     | 83.9±0.4 |               | 87.6±0.3      |          |
| 무화과           | <i>Ficus carica</i>                             | 41.5±1.2 |               | 1.7±0.2       |          |
| 물개암나무         | <i>Corylus sieboldiana var. mandshurice</i>     | 89.3±1.6 |               | 82.6±1.6      |          |
| 박쥐나물          | <i>Alangium platanifolium var. macrophyllum</i> | 58.8±2.4 |               | -             |          |
| 산철쭉           | <i>Rhododendron yedoensa var. poukhanense</i>   | 86.7±1.2 |               | 92.6±0.5      |          |
| 삼나무           | <i>Cryptomeria japonica</i>                     | 88.7±0.8 |               | 90.7±0.4      |          |
| 생열귀나무         | <i>Rosa davurica</i>                            | 88.7±0.8 |               | 91.8±0.6      |          |
| 은행나무          | <i>Gingko biloba</i>                            | 70.6±2.4 |               | 8.3±0.3       |          |
| 치자나무          | <i>Gardenia jasminoides for. grandiflora</i>    | 89.3±1.6 |               | 5.0±0.6       |          |
| 털진달래          | <i>Rhododendron mucronulatum var. ciliatum</i>  | 89.8±2.4 |               | 90.3±0.4      |          |
| 피마자           | <i>Ricinus communis</i>                         | 87.3±0.4 |               | 32.9±1.6      |          |
| 후박나무          | <i>Machilus thunbergii</i>                      | 86.4±0.0 |               | 61.4±3.0      |          |
| 맥문동           | <i>Liriope platyphylla</i>                      | Fruit    |               | 55.1±2.0      | 2.7±0.6  |
| 산수유           | <i>Cornus officinalis</i>                       |          |               | 94.6±0.4      | 95.3±0.5 |
| 산초나무          | <i>Zanthoxylum schinifolium</i>                 |          | 30.5±2.4      | 1.7±0.3       |          |
| 선인장           | <i>Opuntia ficus-indica var. saboten</i>        |          | 39.8±0.4      | 5.0±0.1       |          |
| 은행나무          | <i>Gingko biloba</i>                            | Root     | 89.0±0.4      | 17.9±1.8      |          |
| 우산고로쇠         | <i>Acer okamotoanum</i>                         |          | 87.6±0.0      | 83.3±1.1      |          |
| 우엉            | <i>Arctium lappa</i>                            |          | 85.6±1.2      | 9.6±0.2       |          |

우영(*Acer okamotoanum*) 모두 약 85% 이상의 DPPH 라디칼 제거 효과를 보였다. 산수유의 항산화성에 대한 다른 연구에서도 물추출물 200 ul 첨가가 90% 이상의 수소공여능을 나타내었으며, linoleic acid 에 대한 항산화력 조사에서도 10 ul 첨가로 0.1% BHT 50 ul와 같은 정도의 강한 항산화 효과를 나타내었다(서권일 등 1999). Streptozotocin 으로 유발된 당뇨병모델에서도 또한 산수유 추출물의 항산화 효과가 보고된 바 있다(김옥경 2005)

2. Prolyl endopeptidase 활성의 저해율 측정

PEP는 알츠하이머 질환의 발생 및 진행에 중요한 인자로 알려져 있는 아밀로이드 베타 단백질의 생성에 관여하는 효소로서, 항치매 물질을 탐색하고자 식물 추출물의 PEP 저해 활성을 측정하였다. 식물 전초 추출물에서 PEP 활성의 저해율을 측정하여 비교한 결과(Table 1), 딸기(*Fragaria ananassa*)에서 96.6%, 딸딸기(*Fragaria yezoensis*)에서 96.3%, 고추나물(*Hypericum erectum*)에서 86.5%의 높은 저해율을 보였다. 그 다음으로는 녀줄고사리(*Davallia mariesii*)와 참마(*Dioscores japonica*)가 각각 35.2%, 15.6%의 저해율을 보였으며 그 외의 전초 추출물은 10% 미만으로 PEP의 활성을 저해하였다.

식물 부위별 추출물에서 PEP 활성의 저해율을 측정하여 비교한 결과(Table 2), 줄기 부위의 경우 다래(*Actinidia arguta*), 산철쭉(*Rhododendron yedoensa var. poukhanense*), 은행나무(*Ginkgo biloba*), 털진달래(*Rhododendron mucronulatum var. ciliatum*), 진달래(*Rhododendron mucronulatum*)의 순으로 93.2%, 89.0%, 78.7%, 52.7%, 30.3%의 저해율을 보였다. 잎 부위에서는 산철쭉(*Rhododendron yedoensa var. poukhanense*)과 생열귀나무(*Rosa davurica*), 삼나무(*Cryptomeria japonica*), 털진달래(*Rhododendron mucronulatum var. ciliatum*)에서 90% 이상의 높은 PEP 활성 저해율을 보였으며, 모과나무(*Chaenomeles sinensis*), 물개암나무(*Corylus sieboldiana var. mandshurice*)가 80% 이상의 저해율을 나타냈다. 열매 추출물에서는 산수유(*Cornus officinalis*)가 95.3%의 저해율을, 뿌리 추출물에서는 우산고로쇠(*Acer okamotoanum*)가

83.3%의 저해율을 나타내 가장 높게 관찰되었다. 항산화활성과는 달리 본 연구에서 탐색한 식물자원의 PEP 활성에 대한 연구가 거의 없는 실정이어서, 본 연구 결과는 PEP 활성 저해를 탐색에 중요한 기초자료를 제공할 수 있을 것이다.

3. DPPH 라디칼의 소거능과 PEP 활성 저해율 사이의 상관성

식물 추출물 71종에 대해서 DPPH 라디칼 소거능과 PEP 활성 저해율을 차례로 순위를 매긴 뒤 순위를 이용해서 비모수적 상관계수인 스피어만상관계수를 구하였다. 그 결과, Figure 1에 제시된 것처럼 DPPH 라디칼 소거능과 PEP 활성 저해율 사이에 유의수준 0.000에서 양의 상관관계가 있었다. 딸딸기(*Fragaria yezoensis*) 전초, 산수유(*Cornus officinalis*) 열매 부위의 경우 DPPH 라디칼 소거능과 PEP 활성 저해율에서 모두 90% 이상의 활성을 보였다. 또한 고추나물(*Hypericum erectum*)의 전초, 딸기(*Fragaria ananassa*)의 전초, 다래(*Actinidia arguta*)의 줄기, 산철쭉(*Rhododendron yedoensa var. poukhanense*)의 줄기와 잎, 생열귀나무(*Rosa davurica*), 삼나무(*Cryptomeria japonica*), 털진달래(*Rhododendron mucronulatum var. ciliatum*)의 잎 부위에서 DPPH 라디칼 소거능과 PEP 활성 저해율에 대하여 85% 이상의 활성이 관찰되었다. Chung 등(2003)이 *Phyllanthus ussurensis*로부

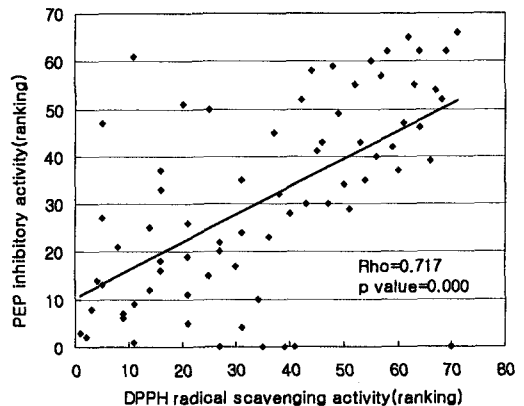


Figure 1. Correlationship of DPPH radical scavenging and PEP inhibitory activities of plant extracts

터 분리한 PEP 저해제가 corilagin임을 규명하였고 hydroxide, superoxide anion radical, hydrogen peroxide, 그리고 DPPH와 같은 reactive oxygen species를 효과적으로 저해할 수 있음을 보고한 바 있다. 따라서 PEP 활성 저해 메커니즘에 대한 항산화 작용의 영향을 더욱 더 조사할 필요가 있을 것으로 판단되며, 산수유와 딸딸기와 같이 항산화활성과 PEP 활성 저해능이 모두 높은 식물 자원은 알츠하이머 질환의 치료 및 예방 물질로서의 개발 가능성이 큰 것으로 보인다.

#### IV. 요약

현재 알츠하이머 질환의 주요한 치료제는 아세틸콜린 분해 저해제(acetylcholinesterase inhibitors)이나, tacrine의 경우 간독성 때문에 지금은 거의 사용되지 않고 있다. 이외에 알츠하이머 질환의 잠재적 치료로서 항산화제와 항아밀로이드 요법이 대두되어 치매의 예방 및 치료를 위한 무독성의 약물 개발을 위해서 많은 연구가 수행되고 있으나 아직까지 치매의 발병 기전이나 뚜렷한 효능을 가진 치료제에 대한 보고가 없는 실정이다. 따라서 본 연구에서는 새로운 자원에서 알츠하이머 질환의 치료제로서의 가능성을 탐색하고자 전초 추출물 35종과 부위별 추출물 36종의 식물 추출물 71종에서 DPPH 라디칼 소거능과 PEP 활성 저해율을 측정하였다.

항산화 활성을 살펴 본 결과, 식물 전초에서는 딸딸기(*Fragaria yezoensis*)에서 90.4%의 라디칼 제거 효과를 보였고, 은행나무(*Ginkgo biloba*), 치자나무(*Gardenia jasminoides for. grandiflora*), 산철쭉(*Rhododendron yedoensa var. poukhanense*)등의 줄기, 털진달래(*Rhododendron mucronulatum var. ciliatum*), 치자나무(*Gardenia jasminoides for. grandiflora*)와 물개암나무(*Corylus sieboldiana var. mandshurice*)의 잎 부위에서 88% 이상의 높은 라디칼 제거 효과를, 산수유(*Cornus officinalis*) 열매 부위 추출물에서는 약 95% DPPH 라디칼 제거 효과를, 은행나무(*Ginkgo biloba*), 우산고로쇠(*Acer okamotoanum*)등의 뿌리 부위에서 85% 이상의 DPPH 라디칼 제거 효과를 보였다. PEP 활성의 저

해율을 측정하여 비교한 결과, 식물 전초의 경우 딸기(*Fragaria ananassa*), 딸딸기(*Fragaria yezoensis*), 고추나물(*Hypericum erectum*)에서 높은 저해율을 줄기 부위의 경우 다래(*Actinidia arguta*), 산철쭉(*Rhododendron yedoensa var. poukhanense*)의 줄기 부위, 산철쭉(*Rhododendron yedoensa var. poukhanense*)과 생열귀나무(*Rosa davurica*), 삼나무(*Cryptomeria japonica*), 털진달래(*Rhododendron mucronulatum var. ciliatum*)의 잎 부위에서 90% 이상의 높은 PEP 활성 저해율을, 산수유(*Cornus officinalis*)의 열매 추출물이 95.3%의 저해율을, 우산고로쇠(*Acer okamotoanum*) 뿌리 추출물이 83.3%의 저해율을 나타냈다. 식물 추출물 71종에서 딸딸기(*Fragaria yezoensis*) 전초, 산수유(*Cornus officinalis*) 열매 부위의 경우 DPPH 라디칼 소거능과 PEP 활성 저해율에서 모두 90% 이상의 활성을 보이는 등 DPPH 라디칼 소거능과 PEP 활성 저해율 사이에 유의수준 0.000에서 양의 상관관계가 있었다. 따라서 PEP 활성 저해 메커니즘에 대한 항산화 작용의 영향을 더욱 더 조사할 필요가 있을 것으로 판단되며, 산수유와 딸딸기와 같은 식물 자원은 항산화활성과 PEP 활성 저해능이 모두 높으므로 알츠하이머 질환의 치료 및 예방 물질로서의 개발 가능성이 큰 것으로 보인다.

#### 감사의 글

본 연구는 농촌진흥청 국책기술개발사업의 지원으로 수행된 것이며, 그 지원에 감사드립니다.

#### 참고문헌

- 김옥경(2005) 산수유 추출물이 Streptozotocin으로 유발된 흰쥐의 항당뇨 및 항산화 작용에 미치는 효과. 한국유화학회지 22(2), 157-167.
- 김준범·최승필·이득식·함승시(2004) 한국산 생열귀나무(*Rosa Davurica* Pall.) 잎의 성분 및 항산화 효과에 관한 연구. 한국식품저장유통학회지 11(1), 106-110.
- 김진홍(2000) 알츠하이머 질환과 에스트로젠. 대한폐경학회지 6(1), 3-11.
- 민경배(2001) 치매의 원인, 치료 그리고 예방. 상담

- 과 선교 34(0), 19-31.
- 사재훈 · 신인철 · 정경진 · 심태흠 · 오홍석 · 박상균 · 정의호 · 김석남 · 김광기 · 최대성 · 권용수 · 김창민(2002) 생열귀나무의 카테킨 함량 및 항산화효과. *생약학회지* 33(3), 177-181.
- 박홍주 · 이성현 · 김대익 · 허은영 · 조수목(2004) 한국 약식동원 식물자원의 항산화 활성 비교. *한국지역사회생활과학회지* 15(4), 11-16.
- 변용찬 · 한영자 · 이상현 · 박종한(1997) 치매관리 Mapping 개발 연구. 보건사회연구원 정책보고서 6-a-016(14).
- 서권일 · 이상원 · 양기호(1999) 산수유 추출물의 항균 및 항산화성. *한국식품저장유통학회지* 6(1), 99-103.
- 정철만 · 황은주 · 권학철 · 김선여 · 배기환 · 지옥표 · 이강노(1999) 고추나물의 항산화 활성 Flavonoid 성분. *생약학회지* 30(2), 196-201.
- Behl C(2005) Oxidative stress in Alzheimer's disease: implications for prevention and therapy. *Subcell Biochem* 38, 65-78.
- Chung SK, Nam JA, Jeon SY, Kim SI, Lee HJ, Chung TH, Song KS(2003) A prolyl endopeptidase-inhibiting antioxidant from *Phyllanthus ussuriensis*. *Arch Pharm Res*. 2003 Dec;26(12):1024-8.
- Citron M(2004) Strategies for disease modification in Alzheimer's disease. *Nat Rev Neurosci* 5(9), 677-685.
- Domenico P(2002) Alzheimer's disease and oxygen radicals: new insights. *Biochemical Pharmacology* 63, 563-567.
- Francis PT, Palmer AM, Snape M, Wilcock GK(1999) The cholinergic hypothesis of Alzheimer's disease: a review of progress. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 66(2), 137-147.
- Ishiura S, Nishikawa T, Tsukahara T, Momoi T, Ito H, Suzuki K, Sugita H(1990) Distribution of Alzheimer's disease amyloid A4-generating enzymes in rat brain tissue. *Neurosci Lett* 115(2-3), 329-334.
- Kato A, Fukunari A, Sakai Y, Nakajima T(1997) Prevention of amyloid-like deposition by a selective prolyl endopeptidase inhibitor, Y-29794, in senescence-accelerated mouse. *J Pharmacol Exp Ther* 283(1), 328-335.
- Lane RM, Kivipelto M, Greig NH(2004) Acetylcholinesterase and its inhibition in Alzheimer disease. *Clin Neuropharmacol* 27(3), 141-149.
- Leo A, Greenberg SM, Growdon JH(2005) Current Pharmacotherapy for Alzheimer's Disease. *Annu Rev Med*. [Epub ahead of print].
- Rottkamp CA, Nunomura A, Raina AK, Sayre LM, Perry G, Smith MA(2004) Oxidative stress, antioxidants, and Alzheimer disease. *Alzheimer Dis Assoc Disord* 14(supple 1), S62-66.
- Toda S, Obi Y, Numata K, Hamagishi Y, Tomita K, Komiyama N, Kotake C, Furumai T, Oki T(1992) Eurystatins A and B, new prolyl endopeptidase inhibitors. I. Taxonomy, production, isolation and biological activities. *J Antibiotics* 45, 1573-1579.
- Wimo A, Winblad B, Aguero-Torres H, von Strauss E(2003) The magnitude of dementia occurrence in the world. *Alzheimer Dis Assoc Disord* 17(2), 63-67.
- Yoshida T, Mori K, Hatano T, Okumura T, Uehara I, Komagoe K, Fujita T, Okuda T(1989) Studies on inhibition mechanism of autoxidation by tannins and flavonoids. V. Radical-scavenging effects of tannins and related polyphenol on DPPH radical. *Chem Pharm Bull* 37, 1919-1921.