

## 4가지 한방 소재(행인, 호장근, 자초, 강황)의 항산화활성에 관한 연구

김영훈 · 이수미 · 천순주 · 장민정 · 전동하 · 최향자\* · 조우아\*\* · 이진태†

대구한의대학교 화장품약리학과, \*소리소, \*\*남부대학교 향장미용학부

### Study on Anti-oxidant Activity of Four Kinds of Korea Herb Medicine Materials

Young-Hun Kim · Su-Mi Lee · Soon-Ju Cheon · Min-Jung Jang · Dong-Ha Jun  
· Hyang-Ja Choi\* · Woo-A Cho\*\* · Jin-Tae Lee†

Department of Cosmeceutical Science, Daegu Haany University

\*Soriso, \*\*Department of Cosmetic Science, Nambu University

(2007. 11. 12. 접수/2007. 12. 14. 채택)

#### Abstract

There was an increasing interest that herbal medicine and natural material extracts were proved processes of antioxidant, cosmeceutical activity and the other effects. The aim of this study was to assess the antioxidant of extraction of four kinds from *Prunus armeniaca* L., *Reynoutria elliptica*, *Curcuma aromatica*, *Lithospermum erythrorhizon*. RE (*Reynoutria elliptica*) and CA (*Curcuma aromatica*) have good electron donating ability. The water and ethanol extract of RE at a 100 ppm concentration showed over 70%, the water extract at 500 ppm concentration showed 83% and the ethanol extract at 100 ppm concentration showed 86% of CA. Xanthine oxidase inhibition activity of the water extract of LE (*Lithospermum erythrorhizon*) at a 1,000 ppm concentration showed over 44%, on the other hand, RE showed in all lowest effect and there was no inhibition activity of a couple more extracts. In the measurement of nitrite scavenging activity, all extracts showed highly scavenging activity. Especially the water and ethanol extract of RE showed over 99% at 500 ppm, also LE showed over 40% at 10 ppm concentration.

**Key words :** *Lithospermum erythrorhizon*, *Prunus armeniaca* L., *Reynoutria elliptica*, *Curcuma aromatica*, antioxidant, herb medicine

#### I. 서 론

현대사회의 경제 성장과 국민소득의 증대로 건강과 장수에 대한 관심이 높아짐에 따라 각종 부작용을 유발하는 합성식, 의약품에 비해 천연물중 이를 대처할 수 있는 소재에 관한 연구가 매우 활발히 진행되고 있다<sup>1-3)</sup>. 인체는 생명유지에 필요한 에너지를 만들

기 위해 끊임없이 산소를 필요로 하며, 에너지를 만드는 과정에서 필수불가결한 분자이지만 호흡과정에서 흡입한 산소 중 일부분(약 2-3%)은 활성산소라는 유독 작용을 하는 물질로 전환되어 생체에 큰 장애를 일으키는 것으로 알려져 있다. 이러한 활성산소종(reactive oxygen species, ROS)은 체내 효소계, 환원대사, 물리적 또는 환경적 요인 등에 의해 끊임없이 생성되고 있는 일중항산소( $1O_2$ )나 superoxide( $O_2^-$ ), hydroxyl radical ( $\cdot OH$ )과 같은 짝짓지 않은 상태의

†Corresponding author: Jin-Tae Lee  
E-mail: jtlee@dhu.ac.kr

free radical과 과산화수소수(H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) 등으로서 이들은 분자 구조적으로 매우불안정하기 때문에 고분자의 세포성분들을 공격하기 쉽게되어 산화적 스트레스의 환경이 조성 된다. 산화적 스트레스가 노화를 비롯한 각종 질환을 일으키는 중요한 원인으로 밝혀지면서 생체내 활성산소를 제거하는 항산화제에 대한 관심이 점차 증가하고 있다. 체내의 활성 산소종을 조절할 수 있는 천연물 유래의 저분자 항산화 물질에 대하여 많은 연구가 진행되어 왔지만 항산화 활성이 탁월하면서 보다 안전하고 효능이 탁월한 새로운 천연 항산화제의 개발이 절실히 요구되고 있다<sup>4)</sup>. 본 연구에서는 행인, 호장근, 자초, 강황 등의 4가지 한방 소재의 화장품 약리활성인 항산화 활성을 검증하고, 화장품의 산업적 응용을 위하여 화장품 천연소재로서의 적용 가능성을 확인하고자 한다.

## II. 재료 및 방법

### 1. 실험 재료

#### 1) 시료

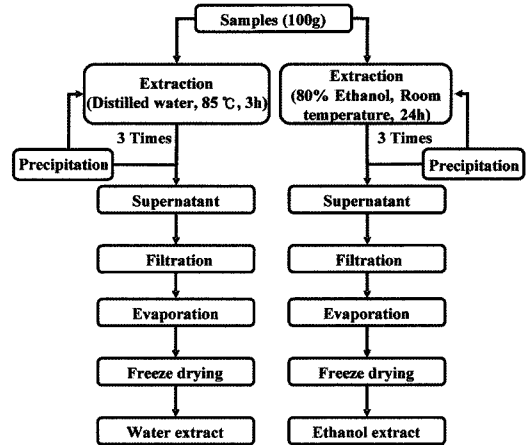
본 실험에 사용된 행인(*Prunus armeniaca L*, PA)과 호장근(*Reynoutria elliptica*, RE), 자초(*Lithospermum erythrorhizon*, LE), 강황(*Curcuma aromatica*, CA)은 경북 영천시 소재의 (주)동우당 제약에서 구입하여 사용하였다.

#### 2) 시료 추출

각 시료의 추출은 Fig. 1과 같이 열수와 에탄올 추출을 하였다. 각 시료에 정제수와 80% 에탄올을 각각 시료의 10배양으로 가하여 실온에서 24시간동안 침지한 상등액만을 여과하였다. 이를 3회 반복한 추출액을 농축하여 동결 건조 후 사용하였다.

#### 3) 시약 및 기기

항산화 관련 실험에는 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH, Sigma chemical Co., USA), Pyrogallol(Sigma chemical Co., USA), Xanthine(Sigma chemical Co., USA), Xanthine oxidase(Sigma chemical Co., USA), Butylated hydroxyanisole(Sigma chemical Co., USA), Sodium nitrite(Junsei Chemical Co., Japan), Griess



<Fig. 1> Procedure for extraction from four kinds of Korean Herbs extract

reagent(Sigma chemical Co., USA) 등을 사용하였다. 미백활성실험에는 Mushroom tyrosinase(Sigma chemical Co., USA), L-3,4-dihydroxyphenyl-alanine(L-DOPA, Sigma chemical Co., USA), Ascorbic acid(Sigma chemical Co., USA) 등을 사용하였다. 아질산염 소거능 측정실험에서는 Sodium nitrite(Junsei Chemical Co., Japan), Griess reagent(Sigma chemical Co., USA) 등을 사용하였다.

본 실험에 사용된 기기 및 기구는 다음과 같다. UV/vis spectrophotometer(Hitachi 200-10, Japan), ELISA reader(Bio rad, Co., Japan), B.O.D Incubator(Hanbaek Co., Korea), Autoclave(Hanbaek Scientific Co., Korea), Mini-PROTEAN 3 Cell(Bio rad, Co., Japan), Mini Trans-Biot Electrophoretic Transfer Cell(Bio rad, Co., Japan)등을 사용하였다.

### 2. 실험 방법

#### 1) DPPH 라디칼 소거능

전자공여능(EDA: electron donating abilities)은 Blois<sup>5)</sup> 방법에 따라 다음과 같이 측정하였다. 각 시료용액 100 μL에 0.2 mM의 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH)를 50 μL 넣고 교반한 후 30분간 방치한 다음 517 nm에서 흡광도를 측정하였다.

$$\text{전자공여능(\%)} = \left( 1 - \frac{\text{시료 첨가구의 흡광도}}{\text{부첨가구의 흡광도}} \right) \times 100$$

## 2) Xanthine oxidase 저해활성

Xanthine oxidase 저해활성 측정은 Stirpe와 Corte의 방법<sup>6)</sup>에 따라 측정하였다. 각 시료용액 0.1 mL와 0.1M potassium phosphate buffer(pH 7.5) 0.6 mL에 xanthine(2 mM)을 녹인 기질 액 0.2 mL를 첨가하고 xanthine oxidase(0.2 U/mL) 0.1 mL를 가하여 37°C에서 15분간 반응시킨 후 1N HCl 1 mL를 가하여 반응을 종료시킨 다음 반응액 중에 생성된 uric acid를 흡광도 292 nm에서 측정하였다.

$$\text{저해율}(\%) = \left(1 - \frac{\text{시료 첨가구의 흡광도}}{\text{무첨가구의 흡광도}}\right) \times 100$$

## 3) 아질산염 소거능 측정

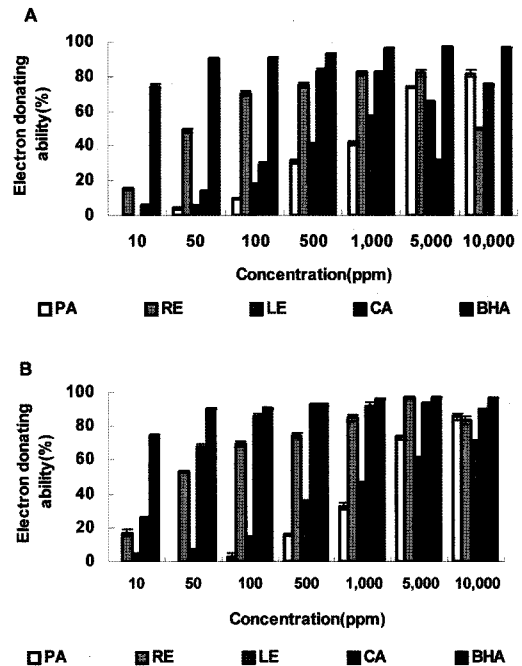
아질산염 소거능 측정은 Gray와 Dugan<sup>7)</sup>의 방법으로 측정하였다. 시료 1 mL과 1 mM NaNO<sub>2</sub> 1 mL에 0.1N HCl로 pH 1.2까지 보정하여 반응용액의 부피를 10 mL로 하였다. 이 반응 용액을 37에서 1시간 반응한 다음 각 반응액 1 mL을 취하여 2% 초산용액 5 mL로 반응정지 시킨 후, Griess reagent 0.4 mL을 첨가하였다. 이를 교반 후, 실온에서 15분간 방치하고 520 nm에서 흡광도를 측정하여 잔존하는 아질산염 양을 측정하였다.

$$\text{아질산염 소거능}(\%) = \left(1 - \frac{\text{시료 첨가구의 흡광도}}{\text{무첨가구의 흡광도}}\right) \times 100$$

# III. 결과 및 고찰

## 1. DPPH 라디칼 소거능

생체막 구성성분을 파괴하며 각종 산화작용을 나타내는 활성산소를 소거하여 줄 수 있는 활성을 알아보기 위하여 측정에 사용된 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH)은 안정한 자유 라디칼로서 시료가 항산화활성을 갖고 있다면, DPPH가 갖고 있는 지질산화에 관여하는 free radical의 비공유결합을 소거하여 DPPH의 환원성을 높일 것이고, 보라색의 DPPH가 환원이 많이 될 수록 보라색을 잃게 되어 UV 측정시 그 수치도 낮아진다<sup>5)</sup>. DPPH를 첨가하여 반응시켜 추출물이 DPPH의 비공유전자를 소거했을 때 그것의 비공유전자로 인해 517 nm 부근에서 최대 흡수치를 나타낸다. 전자 또는 수소를 받으면 517 nm부근에서 흡광도가 감소하며 다시 산화되기 어렵다. 따라서 본



<Fig. 2> Electron donating ability of four kinds of Korean Herbs extract.  
A: Water extract, B: Ethanol extract, PA: *Prunus armeniaca* LINNE. extract, RE: *Reynoutria elliptica* extract, LE: *Lithospermum erythrorhizon* extract, CA: *curcuma aromatica* extract, BHA: butylated hydroxyanisole, Results are means±S.D. of triplicate data.

실험에 사용된 4가지 추출물이 이러한 라디칼을 환원 시키거나 상쇄시키는 능력이 크다면 높은 항산화 활성 및 활성 산소를 비롯한 다른 라디칼에 대한 높은 소거활성을 기대할 수 있다.

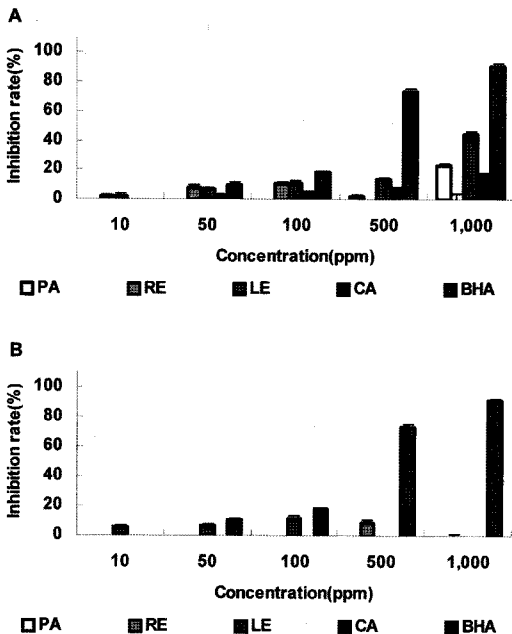
4가지 한방소재 추출물의 DPPH 라디칼 소거 활성을 측정한 결과 Fig. 2와 같이 나타내었다. 4가지 추출물 중 가장 뛰어난 항산화 효과를 지니는 것은 호장근과 강황으로 호장근은 열수, 에탄올 추출물 모두 100 ppm에서 약 70%의 활성을 보였으며, 강황은 열수 추출물이 500 ppm에서 83%, 에탄올 추출물은 100 ppm에서 86%로 높은 효과를 나타내었다. 그 외 행인과 자초의 열수, 에탄올 추출물의 활성 또한 농도 의존적으로 증가함을 알 수 있었고 모두 10,000 ppm에서 지표 물질인 BHA에 가까운 효과를 보여주었다.

## 2. Xanthine oxidase의 저해활성 측정결과

Xanthine oxidase는 purine 대사에 관여하는 효소

로서 xanthine 또는 hypoxanthine으로부터 urate를 형성하며 urate가 혈장 내에 증가되면 골절에 축적되어 심한 통증을 유발하는 통풍과 신장에 침착되어 신장 질환을 일으키는 효소로 알려져 왔다<sup>8-11)</sup>. 통풍을 일으키는 원인 물질인 요산은 hypoxanthine과 xanthine에서 xanthine oxidase의 촉매로 산화되어 요산이 되며, 요산 생성 효소인 xanthine oxidase는 Mo와 Fe를 함유하는 flavoprotein이다. 또한, xanthine oxidase는 분자상의 산소를 수소 수용체로 이용하여 xanthine을 uric acid형으로 산화하는 반응을 촉매 한다. 따라서 xanthine oxidase의 저해효과는 유리 라디칼의 생성 억제와 더불어 생물학적으로 중요한 의의를 가진다고 할 수 있다.

4가지 한방소재 추출물 xanthine oxidase의 저해활성을 측정한 결과 Fig. 3와 같이 나타내었다. 4가지 추출물 중, 자초의 열수 추출물이 1,000 ppm에서 44%의 효과가 있음을 보여주었다. 반면에 호장근은 매우 낮은 xanthine oxidase 저해 효과를 나타내었고 그 외 추출물 또한 저해활성을 보여주지 않았다.

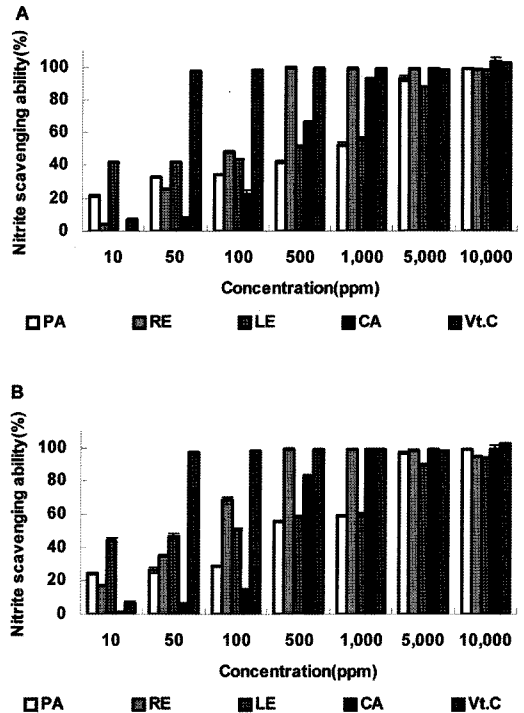


<Fig. 3> Xanthine oxidase inhibition of four kinds of Korean Herbs extract.

A: Water extract, B: Ethanol extract, PA: Prunus armeniaca LINNE. extract, RE: Reynoutria elliptica extract, LE: Lithospermum erythrorhizon extract, CA: curcuma aromatica extract, BHA: butylated hydroxyanisole, Results are means±S.D. of triplicate data.

### 3. 아질산염 소거능

아질산염이 니트로사민의 전구체인 nitrous anhydride (N<sub>2</sub>O<sub>3</sub>)와 같은 활성 니트로소화 물질을 생성하고, 이 nitrous anhydride가 2차 아민과 결합하여 발암물질인 N-nitrosamine을 생성하는 것으로 보고되고 있으며<sup>12,13)</sup>, Nitrosamine은 체내에서 diazoalkane(C<sub>n</sub>H<sub>2n</sub>N<sub>2</sub>)으로 변화하여 핵산이나 단백질 또는 세포내의 성분을 alkyl화함으로써 암을 유발 한다<sup>14)</sup>. 또한 아질산염은 그 자신이 독성을 갖고 있기 때문에 일정한 농도 이상 계속 섭취 시 혈액중의 헤모글로빈을 산화시켜 메트헤모글로빈증을 유발하는 것<sup>15)</sup>으로 알려진 이후, nitrosamine 생성억제인자에 대한 연구가 진행되고 있다. ascorbic acid가 nitrosamine 생성을 억제한다고 보고된 이래<sup>16)</sup>, α-tocopherol, 황화합물, phenolic guaiacol, resorcinol등의 phenol계 물질들이 nitro화 반응을 억제한다는 사실이 보고되었다<sup>17)</sup>.



<Fig. 4> Nitrite scavenging ability of four kinds of Korean Herbs extract.

A: Water extract, B: Ethanol extract, PA: Prunus armeniaca LINNE. extract, RE: Reynoutria elliptica extract, LE: Lithospermum erythrorhizon extract, CA: curcuma aromatica extract, Vt.C: Ascorbic acid, Results are means±S.D. of triplicate data.

4가지 한방소재 추출물의 아질산염 소거능을 측정 한 결과 Fig. 4와 같이 나타내었다. 모든 추출물이 높은 소거능을 나타내었으며 호장근은 열수, 에탄올 추출물 모두 500 ppm에서 99%의 소거능으로 지표물질인 ascorbic acid보다 높은 효과를 나타내었고, 자초는 열수, 에탄올 추출물 모두 10 ppm에서 40% 이상의 효과를 보여주었다. 나머지 추출물 모두 농도 의존적으로 아질산염 소거능이 증가하는 것을 알 수 있었다.

#### IV. 결론 및 고찰

4가지 한방소재(행인, 호장근, 자초, 강황)의 열수, 에탄올 추출물의 항산화 활성을 측정한 결과 다음과 같다.

1. 4가지 추출물 중 가장 뛰어난 항산화 효과를 지니는 것은 호장근과 강황으로 호장근은 열수, 에탄올 추출물 모두 100 ppm에서 약 70%의 활성을 보였으며, 강황은 열수 추출물이 500 ppm에서 83%, 에탄올 추출물은 100 ppm에서 86%로 높은 효과를 나타내었다.

2. 4가지 추출물 중, 자초의 열수 추출물이 1,000 ppm에서 44%의 효과가 있음을 보여주었다. 반면에 호장근은 매우 낮은 xanthine oxidase 저해 효과를 나타내었고 그 외 추출물 또한 저해활성을 보여주지 않았다.

3. 호장근은 열수, 에탄올 추출물 모두 500 ppm에서 99%의 소거능으로 지표물질인 ascorbic acid보다 높은 효과를 나타내었고, 5000 ppm에서는 4가지 한방소재 모두 지표물질과 동일한 효과를 나타내었다.

이와 같은 4가지 한방소재의 항산화능을 측정 한 결과로 항산화가 우수한 화장품 약리활성 물질로서 화장품의 기능성 소재로 이용할 수 있을 것으로 사료 된다.

#### 감사의 글

본 연구는 산업자원부 지역산업공통기술 개발 사업(70000475)의 지원으로 수행되었으며, 이에 감사드립니다.

#### 참고문헌

1) Kim, H.K, Na, G.M., Ye, S.H. and Han, H.S. (2004). Extraction characteristics and antioxioidative of *Schi-*

*zandra chinensis* extracts. Kor. J. Food. Culture, 19, pp.484-490.

2) Kim, E.J. and Ahn, M.S. (1993). Antioxidative effect of ginger extracts. Kor. J. Food Sci., 9, pp.37-42.

3) Hwang, E.J., Cha, Y.U., Park, M.H., Lee, J.W. and Lee, S.Y. (2004) Cytotoxicity and chemosensitizing effect of camelia tea extract. J. Kor. Soc. Food Sci. Nutr., 33, pp.487-493.

4) Kim, H.J., Jin, C.B. and Lee, Y.S. (2007) Antioxidative Activities of Phenolic Compounds Isolated from *Inonotus obliquus*. J. Kor. Soc. Pharm., 38, pp.1-16.

5) Blois, M.S. (1958) Antioxidant determination by the use of a stable free radical. *Nature*, 26, pp.1199-1120.

6) Stirpe, F., Della, Corte, E. (1969). The regulation of rat liver xanthine oxidase. Conversion in vitro of the enzyme activity from dehydrogenase (type D) to oxidase (type O). *J Biol Chem.*, 244(14), pp.3855-63.

7) Gray, J. and Dugan, L.R. (1975). Inhibition of N-Nitrosamine formation in model food system, *J. Food. Sci.*, 40, pp.981-985.

8) Wyngaarden, J.B. and Holmes, E.W. Jr (1977). Molecular nature of enzyme regulation in purine biosynthesis. *Ciba Found Symp.*, 48, pp.43-64.

9) Storch, J. and Ferber, E. (1988). Detergent-amplified chemiluminescence of lucigenin for determination of superoxide anion production by NADPH oxidase and xanthine oxidase. *Anal Biochem.*, 169(2), pp.262-7.

10) Kelley, W.N. and Wyngaarden, J.B. (1974). Enzymology of gout. *Adv Enzymol Relat Areas Mol Biol.*, 41(0), pp.1-33.

11) Hatano, T., Yasuhara, T., Fukuda, T., Noro, T. and Okuda, T. (1983). Phenolic constituents of licorice. Structures of licopyranocoumarin, licoaryl coumarin and glisoflavone, and inhibitory effects of licorice phenolics on xanthine oxidase. *Chem Pharm Bull.*, 37(11), pp.3005-9.

12) Shank, R.C. (1975). Toxicology of N-nitrosocompounds. *Toxicol.Appl. Pharmacol.*, 31, p.361.

13) Bartsh, H., Ohshima, H. and Pignatelli, B. (1988). Inhibition of endogenous nitrosation: Mechanism and implications in human cancer prevention, *Mut.Res.*, 202, pp.307-324.

14) Kim, D.S., Ahn, B.W., Yeum, D.W., Lee, D.H., Kim, S.B. and Park, Y.H. (1987). Degradation of carcinogenic nitrosamine formation factor by natural food components. 1. Nitrite-scavenging effects of vegetable extracts. *Bull. Korean. Fish. Soc.*, 20, pp.463-468.

15) Mirvish, S.S. (1970). Kinetics of dimethylamine nitrosation in relation to nitrosamine carcinogenesis. *J. Nat. Cancer. Inst.*, 44, pp.633.

16) Bartsh, H., Ohshima, H. and Pignatelli, B. (1988). Inhibition of endogenous nitrosation: Mechanism and implica-

- tion in human cancer prevention, *Mutation Research*, 202, p.307.
- 17) Kim, S.B., Ahn, B.W., Yeum, D.M., Lee, D.H., Park, Y.H. and Kim, D.S. (1987). Degradation of cacinogetic nitrosamine factor by natural food components. 2. Nitrite-Scavenging effects of seaweed extracts. *Bull. Korean. Fish. Soc.*, 20, pp.469-475.