

Nyasol의 항산화 활성에 대한 이론적 연구

최종근

청운대학교 화학생명공학과

A Theoretical Study on Antioxidant Activity of Nyasol

Jongkeun Choi

Department of Chemical and Biological Engineering, Chungwoon University

요약 Nyasol은 *Anemarrhena asphodeloides* Bunge로부터 분리된 리그난 계열의 화합물로 강력한 티로시나아제 억제, 해열, 심장강화, 이뇨, 항균 및 항산화 활성을 지닌 것으로 알려졌다. 본 연구에서는 이 화합물의 항산화 특성을 체계적으로 설명하기 위해 B3LYP 하이브리드 함수 및 6-311+G(d,p) 기저함수를 사용한 밀도범함수 이론(DFT)에 기반한 이론적 계산을 수행하였다. Omega2를 사용하여 생성된 24개의 초기 구조를 Gaussian 16으로 최적화한 후, 추가적인 계산을 위하여 서로 다른 세 개의 conformer를 선택하였다. 전자적 성질들의 계산 결과는 nyasol이 라디칼 소거능을 가지며 4'-OH가 4-OH보다 더 클 것임을 보여주었다. 그러나 이 결과를 잘 알려진 항산화제들과 비교할 때 nyasol은 상대적으로 약한 라디칼 소거능을 갖는 것으로 결론되었으며, 이것은 이전에 보고된 실험 데이터와도 유사하였다. 또한, hydrogen atom transfer (HAT), single electron transfer-proton transfer (SETPT) 및 sequential proton loss electron transfer (SPLET)의 세 가지 다른 항산화 반응 메커니즘을 기체상과 에탄올 및 물 매질에서 조사하였다. 세가지 메커니즘을 비교한 결과 HAT가 열역학적으로 우세한 메커니즘일 것으로 예측되었다.

Abstract Nyasol is a lignan isolated from *Anemarrhena asphodeloides* Bunge with potent anti-tyrosinase, antipyretic, cardiogenic, diuretic, antibacterial, and antioxidant activities. In this study, theoretical calculations based on density functional theory (DFT) using the B3LYP hybrid functional and the 6-311+G(d,p) basis sets were conducted to explain the antioxidant behavior of nyasol. After twenty-four initial structures had been generated by Omega2 and optimized by Gaussian 16, three distinct conformers were selected for further calculations. Electronic property results showed that nyasol has radical scavenging activity and that 4'-OH is more potent than 4-OH. However, nyasol has weaker radical scavenging activity than well-known antioxidants. And, the results obtained by calculation agreed with published experimental data. In addition, three different mechanisms for the antioxidant effect of nyasol, viz., hydrogen atom transfer (HAT), single electron transfer-proton transfer (SETPT), and sequential proton loss electron transfer (SPLET), were studied and compared in the gas phase and ethanol and water medium. The results obtained showed HAT was thermodynamically dominant.

Keywords : *Anemarrhena asphodeloides* Bunge, Antioxidant, BDE, DFT, Hydrogen Atom Transfer, Nyasol

*Corresponding Author : Jongkeun Choi(Chungwoon Univ.)

email: jkchoi@chungwoon.ac.kr

Received November 23, 2023

Accepted February 6, 2024

Revised January 17, 2024

Published February 29, 2024

1. 서론

내·외적인 산화적 스트레스는 피부 노화의 주요 원인이다. 지속적인 활성산소 노출은 기미, 주근깨, 색소 침착 그리고 피부암을 유발한다. 자외선에 의한 광증감 반응으로 발생한 단일항 산소는 생체 고분자 물질의 변형을 가져와 노화를 촉진한다[1]. 또한 미토콘드리아의 정상적인 세포호흡 과정에서도 소비되는 산소의 대략 1-2%가 슈퍼옥사이드로 전환되는 것으로 알려졌다[2]. 따라서 이들 활성산소를 없애기 위해서 세포에는 내재적인 방어기전으로 superoxide dismutase, catalase 그리고 glutathione peroxidase 등과 같은 항산화 효소와 비타민 C, 비타민 E, glutathione 등 항산화제가 존재한다[3]. 하지만 외부 환경 요인에 의하여 과도하게 활성산소가 발생하면 내재적인 항산화 체계가 무력화되고 각종 질병이 유발된다[4]. 최근 소득 수준이 높아지고 삶의 질이 높아지면서 고령화가 가속화되고 있어 항산화제의 연구와 이를 이용한 항노화 제품 개발이 꾸준히 이루어지고 있다.

한 개 이상의 페놀 구조를 가지고 있는 폴리페놀이 항산화 활성을 보인다는 것은 널리 알려져 있다[5]. 폴리페놀은 구조적 특징에 따라 flavonol, flavone, chalcone 그리고 리그난(lignan)으로 분류할 수 있다. 리그난은 채소 및 과일과 다양한 식물에 존재하며 스테로이드와 유사한 구조를 가지고 있기 때문에 식물성 에스트로젠(phytoestrogen)으로 여겨지고 있다[6]. 리그난은 항염, 항산화 효능을 가지고 있으며 심혈관질환으로 인한 사망률을 낮추어주고 지방암과 전립선암 예방 효능 등이 알려져 있다[7,8]. cis-Hinokiresinol라고도 불리는 nyasol은 리그난 계열에 속한 화합물[9]로 Park 등[10]에 의해 지모 뿌리의 에탄올 추출물로부터 여러 단계의 역상 칼럼크로마토그래피를 거쳐 분리, 동정되었다. Nyasol은 다른 리그난과 같이 에스트로젠 수용체 베타의 항진제(agonist) 활성을 가지고 있으며[11], nitric oxide(NO)의 생성을 억제할 뿐만 아니라 항염증, 항아토피 활성과 tyrosinase를 억제하는 미백효과가 확인되었다[10,12].

본 연구에서는 nyasol의 열역학적 값을 이론적으로 계산하고 이들 값을 이용하여 nyasol의 항산화력과 항산화 기작을 밝히고자 하였다. Nyasol의 구조를 최적화한 다음 frontier molecular orbital (FMO), molecular electrostatic potential (MEP)와 전역 반응 인자(global reactivity descriptor)들을 분석하여 nyasol의

항산화력을 잘 알려진 항산화제와 비교하였다. 또한 Bond dissociation energy (BDE), ionization energy (IE), proton dissociation enthalpy (PDE), proton affinity (PA) 그리고 electron transfer enthalpy (ETE) 값들을 구하고 이로부터 hydrogen atom transfer (HAT), single electron transfer followed by proton transfer (SETPT) 그리고 sequential proton loss electron transfer (SPLET)의 항산화 기작에 대한 가능성을 확인하였다.

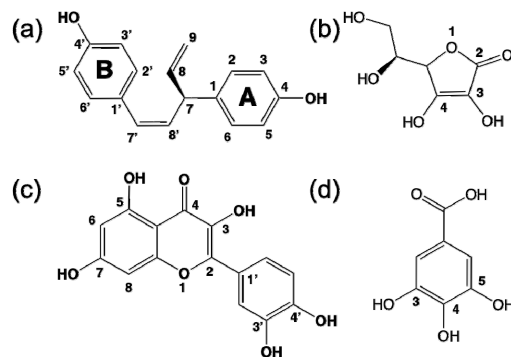


Fig. 1. Molecular structure of nyasol(a), ascorbic acid(b), quercetin(c) and gallic acid(d) with numbered atom sites.

2. 재료 및 방법

2.1 Nyasol의 3차원 구조 파일 준비

Nyasol의 3차원 구조는 PubChem 데이터베이스 (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>)에서 SDF 파일 형식으로 내려받았다[13]. 다양한 nyasol의 conformer들을 탐색하기 위하여 Omega2 (OpenEye Scientific Software, Inc., Santa Fe, NM, USA) 버전 2.5.1.4를 이용하여 기본 설정 조건으로 에너지가 낮은 24개의 conformer들을 생성하였다[14].

2.2 계산 방법

Omega2로 생성한 conformer들의 구조는 GaussView 6[15]을 이용하여 Gaussian 16의 입력파일, GJF로 변환하였다. 또한 nyasol 구조에서 수소를 제거한 구조와 라디칼 구조 등은 GaussView 6를 사용하여 준비하였다. Nyasol 등 모든 화합물들의 전자구조 계산은 Gaussian 16 package[16]를 사용하였다. 또한 GaussView 6과

Schrödinger 사의 PyMOL 2.4 (<https://pymol.org/>)을 이용하여 계산 결과를 시각화하고 분석하였다.

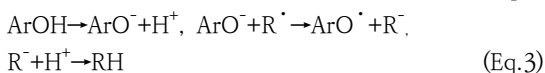
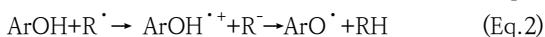
항산화 활성은 주로 전자 밀도에 영향을 받기 때문에 밀도 범함수 이론(density functional theory, DFT)을 사용하여 분자들의 전자구조를 계산하였다[17,18]. DFT 계산에는 6-311+g(d,p)의 기저함수를 사용하였으며 B3LYP (Becke's exchange functional in conjunction[19] with Lee-Yang-Parr[20]) 수준에서 구조를 최적화하고 harmonic vibrational frequency를 계산하였다.

2.3 전역 반응 인자 분석

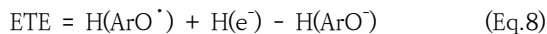
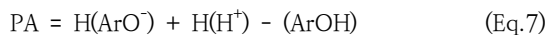
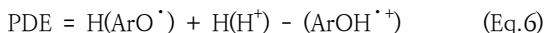
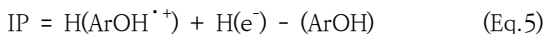
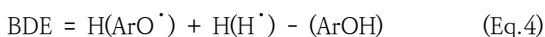
항산화력의 상대적인 비교를 위하여 기체 상태와 용액 상태에서 가장 안정한 구조를 이용하여 ionization potential (IP), electron affinity (EA), hardness (η), softness(S), chemical potential (μ) 등 전역 화학 반응성 예측 인자들을 다음의 관계식으로 계산하였다: $EA = -E_{LUMO}^{\beta}$, $IP = -E_{HOMO}^{\alpha}$, $E_{gap} = E_{LUMO}^{\beta} - E_{HOMO}^{\alpha}$, $\eta = (IP - EA)/2$, $S = 1/2\eta$, $\mu = (IP + EA)/2$ [21-23]. 여기에서, E_{HOMO}^{α} 및 E_{LUMO}^{β} 은 반응성 있는 물질의 알파 및 베타 스핀 상태의 HOMO와 LUMO 에너지를 나타낸다. 물과 에탄올의 매질 조건은 Solvation Model Density (SMD) 모델을 사용하였다[24].

2.4 항산화 기작과 항산화 활성 계산

페놀류 화합물의 라디칼 소거 기작은 HAT (Eq. (1)), SETPT (Eq. (2)), SPLET (Eq. (3))가 있다[23,25].



HAT에서는 ArOH의 반응성은 O-H 결합의 BDE로 예측할 수 있다. 더 작은 BDE 값을 가질수록 더 큰 활성을 가지고 있다고 여길 수 있다. SETPT 기작에서는 ArOH의 IP와 $ArOH^{\cdot+}$ 라디칼 양이온의 PDE 값이 작을수록 더 큰 활성을 가진다고 할 수 있다. ArO^{\cdot} 의 PA와 ETE 값은 SPLET의 기작과 관계가 깊다. 따라서 298 K에서 BDE, IP, PDE, PA 그리고 ETE값을 아래와 같이 구하였으며 양성자의 엔탈피 $H(H^{\cdot})$ 와 전자의 엔탈피 $H(e^{-})$ 는 문헌에 보고된 값을 사용하였다[26,27].



Where, H represents enthalpy.

3. 결과 및 고찰

3.1 Nyasol의 3차원 conformer의 생성과 구조 최적화

Nyasol의 가장 낮은 에너지 구조를 체계적으로 탐색하기 위하여 OpenEye Scientific사의 소프트웨어 Omega2 버전 2.5.1.4를 이용하여 상대적으로 낮은 에너지를 갖는 conformer들을 생성하였다(Fig. 2a). 생성된 24개의 conformer들은 GaussView 6을 이용하여 GJF 파일로 변환한 다음 gaussian 16으로 B3LYP/6-311+G(d,p) 수준에서 에너지를 최적화하였으며 에너지가 낮은 구조는 Fig. 2b~2d와 같다. Nyasol은 2개의 페놀 고리에 결합된 OH(4-OH와 4'-OH) 그룹을 가지고 있으며 Fig. 1에 보인 것과 같이 고리 B는 한 개의 이중결합과 conjugate되어 있다. 2D 구조로 볼 때 고리 A 그리고 C5와 C9는 평면구조를 가질 것으로 생각할 수 있다. 하지만 최적화된 3D 구조(Fig. 2b~2d)는 C9-C10의 단일 결합이 존재하여 평면보다는 뒤틀린 입체 구조를 가질 것으로 예측되었다. 즉, 최적화된 구조에서 C5-C9-C10-C14의 dihedral angle은 60°로 PubChem에서 내려 받은 초기 구조의 90°에서 30°만큼 회전하였다.

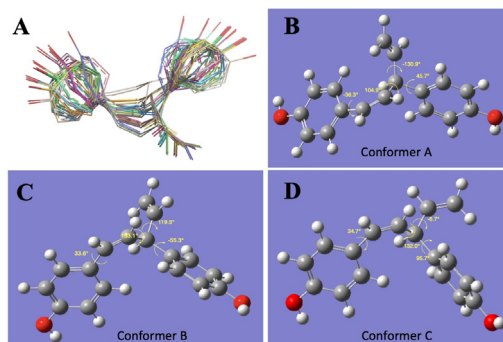


Fig. 2. The multi-conformer of nyasol generated by Omega2 (A) and three different conformers optimized by B3LYP/6-311+G (d, p) gaussian 16 (B, C and D).

또한 최적화된 구조에서 수소결합 등 분자 내 비공유

상호작용은 확인할 수 없었다. 일반적으로 폴리페놀은 수소 원자 이동 메커니즘을 통해 라디칼을 소개한다. 즉, 페놀의 수산기로부터 수소 원자가 전달되어 산화성 라디칼이 된다[28]. 원자가 결합 이론에 따르면 페놀 수산기의 O-H 결합 길이가 길수록 결합 에너지가 작다. 즉, 페놀 수산기의 결합 길이가 길수록 수소 원자가 전달되는 항산화 반응이 쉽게 일어난다[29,30]. 따라서 화합물에서 페놀 수산기들의 결합 길이를 분석하는 것은 폴리페놀 화합물의 항산화 활성을 결정하는 효과적인 방법 중 하나이다. Nyasol의 항산화 활성에 직접적인 영향을 주는 두 O-H 결합 모두 0.97054 Å로 동일하였다. 따라서 4'-OH와 4-OH의 항산화력은 유사할 것이다.

3.2 FMO 분석

FMO 분석은 유기화합물의 반응성과 전자 이동을 이해하는 효과적인 방법으로 항산화 특성을 알아볼 수 있는 중요한 특성이다[31]. HOMO 에너지는 전자를 주는 능력과 관련이 있으며 HOMO 에너지가 낮을수록 최외각 전자가 안정하여 환원력이 낮다[32]. 또한 HOMO의 형태와 위치는 라디칼이 공격하는 위치를 결정하며 HOMO와 LUMO의 에너지 차이는 반응성과 관련이 있다. FMO 이론에 따르면 화합물의 높은 반응성은 HOMO와 LUMO 에너지 간의 작은 에너지 차이의 특징을 가지며, 이는 이러한 화합물이 유연한 전자 수용체로 작용할 수 있다는 것을 의미한다[28]. Fig. 3에 nyasol conformer 3개에 대한 기체 상태에서 계산된 FMO 분포와 에너지를 나타내었다. Fig. 3에서 볼 수 있듯이, nyasol의 FMO는 전형적인 π 분자 궤도 특성을 나타내며 B ring에 고르게 분포되어 있다. Conformer별로 차이를 확인

하기는 어려웠으며 nyasol의 HOMO 에너지는 -5.99 eV이고 LUMO 에너지는 -0.98 eV이었다(Table 1). 이를 문헌에 보고되어 있는 다른 항산화제의 계산결과와 비교하였다. HOMO 에너지는 비교 대상의 항산화제에 비하여 높았으며 LUMO는 유사하였다. 문헌에 보고된 nyasol의 항산화 활성이 상대적으로 낮은 것을 설명하는 것이라 생각한다. 또한 Fig. 2에 보인 것과 같이 conformer에 관계없이 HOMO는 B 고리에 위치하며 HOMO-1은 A고리에 위치함을 알 수 있었다. 이는 4'-OH의 반응성이 4-OH에 비하여 클 것이라는 것을 의미한다.

3.3 전역 반응 인자

가장 안정한 구조의 HOMO와 LUMO 에너지를 이용하여 전역 반응 인자 값들을 구하고 문헌에 보고된 항산화제들의 계산 결과와 비교하였다(Table 1). IP, EA, hardness, softness 그리고 chemical potential 등은 분자의 반응성을 설명하는데 유용하다[38,39]. IP가 작을수록 라디칼 양이온으로 변하는 경향이 강하다. EA는 화학결합에서 원자가 전자를 잡아당기는 정도이다. Hardness는 분자의 안정성을 확인할 수 있는 지표로 화학 반응 중 분자 내 작은 변동을 일으키는 다양한 요소에 대한 분자의 저항력을 반영한다. 반면에 softness는 분자가 전자를 받아들이는 능력이다. 또한 chemical potential은 전자의 평형 상태에서 전자의 탈출 경향과 동일하다. Nyasol의 전역 반응 인자 값들은 다른 잘 알려진 항산화 물질과 비교할 때 유사한 값들을 보여주었다(Table 1). 따라서 비교대상의 항산화제와 비교하여 크기 않더라도 nyasol의 항산화력이 작지 않을 것으로 예측할 수 있다.

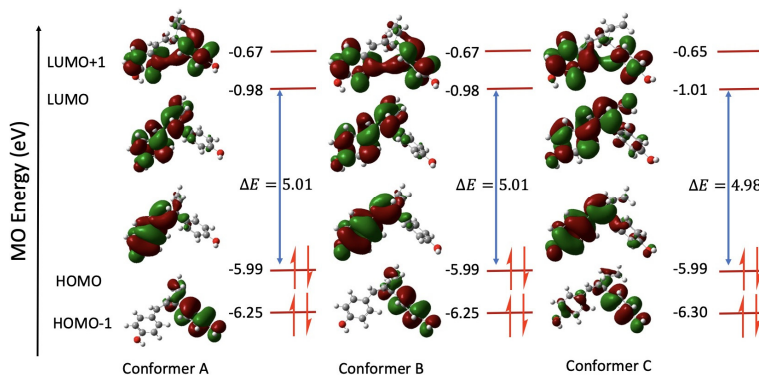


Fig. 3. Energy diagram of the frontier molecular orbitals of three nyasol conformers, along with their energy gaps (eV)

Table 1. Comparison of the global reactivity descriptors (eV) of nyasol with reference to the antioxidant molecules in the gas phase and in ethanol and water medium.

Parameters	Nyasol			Ascorbic acid	Quercetin	Gallic acid	
	Gas	Ethanol	Water	Gas	Gas	Gas	Water
E_{HOMO}	-5.99	-5.90	-5.93	-6.50	-6.85	-6.51	-6.32
E_{LUMO}	-0.98	-0.89	-0.91	-0.90	-0.95	-1.59	-1.51
ΔE_{gap}	5.01	5.01	5.02	5.60	5.90	4.93	4.81
IP	5.99	5.90	5.93	6.50	6.85	6.51	6.32
EA	0.98	0.89	0.91	0.90	0.95	1.59	1.51
μ	-3.48	-3.40	-3.42	-3.70	-3.90	-4.05	-3.92
η	2.46	2.50	2.51	2.70	2.95	2.47	2.41
S	0.20	0.20	0.20	0.19	0.17	0.20	0.21
Calculation Method	B3LYP/6-311+(d,p)			B3LYP/6-311(d,p)	M062X/6-311+G(d,p)	B3LYP/6-311++(d,p)	
Ref.	Current work			[33]	[34]	[35]	
DPPH scavenging activity (EC_{50} , μM)	175			11.8	5.5	5.1	
Ref.	[36]			[37]	[37]	[37]	

Ionization Potential (IP), Electron Affinity (EA), Electronic chemical potential (μ), Hardness (η), Softness (S)

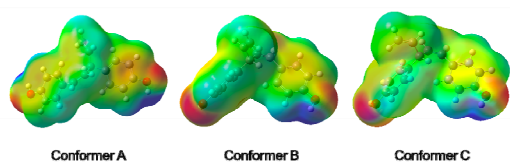


Fig. 4. MEP isosurface diagram of three nyasol conformers.

Table 2. The O-H BDE (kcal mol⁻¹) in the gas phase and in ethanol and water medium.

Compound	Sites	Gas	Ethanol	Water	Ref.	
Nyasol	4-OH	81.4	81.6	82.2	[33]	
	4'-OH	79.6	79.1	79.8		
Ascorbic acid	3-OH	79.5	75.8	75.6		
	4-OH	74.5	74.8	74.8		
Quercetin	3-OH	85.1	82.0	79.6		[34]
	5-OH	100.9	94.8	91.9		
	7-OH	92.7	94.4	92.2		
	3'-OH	88.4	86.2	83.8		
	4'-OH	77.9	82.3	80.3		
Gallic Acid	3-OH	84.6	-	81.5		[35]
	4-OH	77.2	-	76.0		
	5-OH	77.9	-	78.6		

3.4 MEP surface

GaussView 6 소프트웨어를 이용하여 nyasol의 세 가지 conformer들에 대한 MEP 다이어그램을 그렸다 (Fig. 4). 이를 통해 반응성을 보다 효과적이고 시각적으로 확인할 수 있다. 전자가 풍부하여 음전하를 띠는 위치는 빨간색으로 표시하고 전자가 부족하여 상대적으로 양

전하를 띠는 곳은 파란색으로 표시하였다. 따라서 파란색 위치는 친전자 반응이 빨간색은 친핵 반응이 일어날 가능성이 높다[29]. Fig. 4에 보인 것과 같이 세 conformer를 모두에서 분자의 양쪽 끝에 위치한 OH 작용기가 주요 활성위치임을 알 수 있다.

3.5 HAT 기작

페놀 수산기의 결합 에너지를 가늠하기 위해서는 O-H 결합의 결합 길이 외에도 BDE가 있다. BDE의 크기는 라디칼이 페놀 수산기의 수소를 전달 받는 용이성과 반응 후 생성된 화합물의 라디칼 안정성과 연관되어 있다 [40]. 즉, 항산화제의 수소가 전달되어 라디칼에 옮겨지고 라디칼의 소거가 일어나는 HAT 기작과 직접적인 관계가 있다. 일반적으로 페놀 수산기의 BDE 값이 작을수록 해당 위치의 페놀 수산기에서 수소 원자를 빼앗기 쉽고 항산화 활성이 크다고 할 수 있다[40]. B3LYP/6-311+(d,p) 수준에서 계산한 nyasol의 BDE 값들을 Table 2에 나타내었다. Nyasol의 4-OH에 비하여 4'-OH BDE 값은 용매조건에 따라 1.8 ~ 2.5 kcal mol⁻¹ 만큼 낮아 4'-OH의 반응성이 더 클 것으로 예측되었다. 또한 대체로 물보다는 기체상의 조건으로 계산한 BDE 값이 작았지만 그 차이가 0.8 kcal mol⁻¹ 이하로 크지 않았다. 문헌에 보고된 항산화제의 계산결과와 비교할 때 nyasol의 BDE 값은 상대적으로 큰 값을 보였으며 이것은 문헌에 보고된 실험결과에서 nyasol의 EC₅₀ 값이 강력한 환원제에 비하여 10배 이상 높은 것을 설명하는 결과이다.

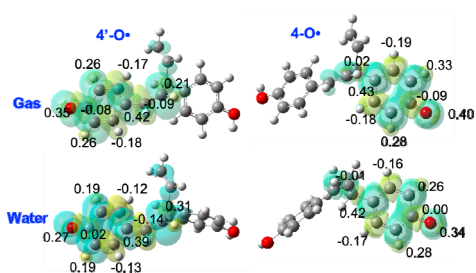


Fig. 5. Spin density maps of the 4'-O and 4-O radicals formed from OH groups of nyasol.

BDE의 결과를 설명하기 위해 nyasol 라디칼들의 스핀 밀도(spin density) 분포를 조사하였다(Fig. 5). 스핀 밀도가 낮아지면 BDE 값이 감소한다[41]. 항산화 반응의 결과 생성된 자유 라디칼의 안정성은 화합물의 항산화 활성과 중요한 연관성이 있다. 항산화제는 자유 라디칼과 반응하여 자신이 자유 라디칼이 되지만 생성된 라디칼이 안정하기 때문에 연쇄 반응을 일으키지는 않는다. 즉, 홀 전자가 더 잘 분산되면 더 안정한 라디칼이 형성되어 항산화력이 더 크게 된다. 결국, 스핀 밀도는 BDE와 직접적으로 관련이 있으며, 스핀밀도가 잘 분산되면 소거 반응속도가 빨라지고 스핀밀도가 낮으면 BDE 값도 작다. Fig. 5에서 볼 수 있듯이, 두 시스템에서 4'-OH 라디칼의 스핀밀도가 더 잘 분산되어 있으며 이것은 고리 B와 C7'-C8'의 이중결합이 conjugation되어 있기 때문이다. 또한 4'O의 산소 원자가 4O보다 0.05~0.07만큼 스핀 밀도가 낮다. 따라서 이 두 시스템의 BDE 값의 차이를 만드는 것으로 생각할 수 있다. 또한 물에서의 스핀 밀도는 기체상에 비하여 더 잘 분산되어 있으며 이것은 물에서 반응성이 큰 것으로 예측된다

고 할 수 있다.

Table 3. Ionization potentials (IPs, kcal mol⁻¹) of nyasol in the gas phase and in ethanol and water medium.

compound	Gas	Ethanol	Water	Ref.
Nyasol	166.6	127.8	126.7	
Ascorbic acid	196.8	126.2	125.6	[33]
Quercetin	175.3	128.1	127.8	[34]
Gallic acid	189.3	-	118.8	[35]

3.6 SETPT 기작

항산화의 다른 기작 중에 하나는 SETPT로 첫 번째 단계에서 라디칼에 먼저 전자를 제공하고 양이온으로 변환 다음 양성자의 해리가 일어나는 기작이다. IP 및 PDE 값은 SETPT 메커니즘과 관련된 반응 엔탈피이며 용매의 극성에 큰 영향을 받는다[40]. IP와 PDE의 계산 결과를 Table 3과 Table 4에 나타내었다. 첫 번째 단계의 전자를 공여하는 능력은 전자의 비편재화와 반응의 결과 생성된 양이온의 안정화와 관련이 있다. Nyasol의 IP 값들은 용매의 극성이 증가함에 따라 감소하였다. 즉, IP 값이 작을수록 분자가 전자를 공여하는 것이 용이한 것이므로 nyasol의 경우, 극성이 큰 용매일수록 전자 전달 능력이 높다는 것을 의미한다. 이것은 전자 전달 반응의 결과 생성된 양이온이 극성 용매에서 수화되어 기체에서보다 더 낮은 에너지를 갖기 때문이다. 또한 IP 값은 분자의 전체 구조와 π 전자의 비편재화 영향을 받으며, 이는 분자의 전자 전달 능력과 직접적인 관계가 있다[42]. Nyasol은 B ring과 C7'-C8'의 이중결합에 걸친 비편재화된 π 전자가 있다.

Table 4. Proton dissociation enthalpies (PDEs) and IPs+PDEs of nyasol in the gas phase and in the ethanol and water medium.

compound	Sites	PDE (kcal mol ⁻¹)			IPs + PDEs (kcal mol ⁻¹)			Ref.
		Gas	Ethanol	Water	Gas	Ethanol	Water	
Nyasol	4-OH	230.7	14.2	17.8	397.3	142.0	144.5	
	4'-OH	228.9	11.7	15.4	395.5	139.5	142.1	
Ascorbic acid	3-OH	198.3	-10.3	-19.2	395.1	115.9	106.4	[33]
	4-OH	193.4	-11.3	-20.6	390.2	114.9	105.0	
Quercetin	3-OH	223.1	-2.6	-0.5	398.4	125.5	127.3	[34]
	5-OH	238.9	10.2	11.8	414.2	138.3	139.6	
	7-OH	230.7	9.8	12.0	406.0	137.9	139.8	
	3'-OH	226.4	1.6	3.6	401.7	129.7	131.4	
	4'-OH	320.0	25.7	25.2	495.3	153.8	153.0	
Gallic acid	3-OH	211.5	-	7.2	400.8	-	126.0	[35]
	4-OH	204.1	-	1.4	393.4	-	120.2	
	5-OH	204.6	-	4.3	393.9	-	123.1	

그렇지만 HAT 기작이 SETPT 기작에 비하여 항산화 반응이 용이할 것으로 예측되었다. 기체상, 에탄올 및 물에서 nyasol의 IP 값은 4'-OH와 4-OH의 BDE값에 비하여 각각 85, 46, 45 kcal mol⁻¹ 및 87, 49, 47 kcal mol⁻¹ 만큼 큰 값이다. 즉, nyasol의 4'-OH와 4-OH의 HAT기작에 의한 전자 이동이 훨씬 더 쉽다고 할 수 있다. Eq. 5에 따라 구한 IP 값은 용매 환경에 따라 상대적으로 변화가 컸으나 HOMO 에너지 값으로 계산한 IP는 각각 138, 136, 137 kcal mol⁻¹ 으로 Eq. 5에 따라 계산한 결과와 차이가 있었다.

PDE는 화합물의 양성자 해리 능력과 관련되어 있다. 기체와 용매에서의 nyasol의 PDE는 Table 4에 나타내었다. Nyasol에서 양성자가 해리되어 생성된 라디칼 중에서 4'-OH 위치가 4-OH 위치보다 1.1 ~ 1.8 kcal mol⁻¹ 만큼 작았다. 따라서 B ring의 4'-OH가 양성자 해리능력과 항산화 활성이 크다고 할 수 있다. 또한, Table 4에서 볼 수 있듯이 nyasol PDE 값의 순서는 기체 > 물 > 에탄올이다. 이것은 양성자의 수화 엔탈피가 물과 에탄올 용매 조건에서 각각 -252 kcal mol⁻¹, -255 kcal mol⁻¹인 것에 기인한다[38]. Nyasol과 유사하게 다른 항산화제의 경우에도 기체상과 용액 상태에서의 PDE 값의 차이는 200 kcal mol⁻¹ 이상이였다.

3.7 SPLET 기작

항산화제가 자유 라디칼을 제거하는 중요한 메커니즘 중 하나는 SPLET이다. PA 및 ETE는 SPLET 기작의 가능성을 평가하는 데 사용된다. Nyasol의 계산결과를 Table 5에 나타내었다. SPLET 기작은 먼저 수소이온의 해리와 생성된 음이온으로부터 라디칼로의 전자 이동이

일어나는 기작이다. 몇몇 패놀계 항산화제에 대한 연구에서 이 기작이 중요한 것으로 확인되었으며[31,32], 특별히 극성 용매에서 유효한 것으로 알려졌다[43]. Nyasol을 포함한 다른 항산화제의 계산결과에서 기체상에서 PA의 값은 극성 용매에서의 값보다 상당히 크게 나타났다. 따라서 기체상에서는 SPLET기작이 일어나기 어렵다고 할 수 있다. 그리고, nyasol의 계산결과는 극성용매에서도 SPLET 기작이 HAT 기작에 비하여 유력하지 않음을 보여주고 있다. 비교대상이 된 다른 항산화제의 PA 값은 극성 용매에서 25.5 ~ 51.7 kcal mol⁻¹이었으나 nyasol은 138.8 ~ 143.8 kcal mol⁻¹로 nyasol의 BDE 값과 비교해도 더 큰 값을 보여주었다. 따라서 nyasol의 경우 SPLET 기작이 일어나기 어렵다는 결론에 도달하였다. DPPH 라디칼 소거능의 실험결과 nyasol의 경우 다른 항산화제에 비하여 10배 이상 EC₅₀ 값이 큰 것으로, 즉 활성이 낮은 것으로 측정되었다(Table 1). 이것은 다른 항산화제의 경우 극성 용매에서 SPLET 기작에 의해 항산화 활성을 나타내지만 nyasol의 경우 그렇지 않기 때문에 활성의 차이를 보이는 것으로 생각할 수 있다.

ETE는 SPLET 메커니즘의 마지막 단계의 지표 인자이다. Table 5에서 알 수 있듯이 IP 값(Table 3)들은 기체 상태에서 ETE 값보다 훨씬 크다. 이것은 중성 ETE는 음이온에서 보다 선호되지 않음을 의미하며, 이 결과는 비교대상의 다른 항산화제에서도 동일하다. 극성 매질에서 nyasol의 ETE 값은 100 kcal mol⁻¹이상으로 강한 항산화 활성을 보이는 ascorbic acid 및 gallic acid와 확연히 비교되는 결과이다. 극성 매질에서 nyasol과 다른 항산화제의 ETE 값의 차이는 이들 간의 활성 차이를 설명하고 있다.

Table 5. Proton affinities (PAs), electron transfer enthalpies (ETEs) and PAs+ETEs of nyasol in the gas phase and in ethanol and water medium.

compounds	Sites	PA (kcal mol ⁻¹)			ETE (kcal mol ⁻¹)			PA+ETE (kcal mol ⁻¹)			Ref.
		Gas	Ethanol	Water	Gas	Ethanol	Water	Gas	Ethanol	Water	
Nyasol	4-OH	342.7	141.3	143.8	54.7	102.4	105.4	342.7	141.3	143.8	[33]
	4'-OH	338.5	138.8	141.3	57.0	101.2	104.0	338.5	138.8	141.3	
Ascorbic acid	3-OH	342.1	51.7	38.2	53.1	64.2	67.4	395.2	115.9	105.6	
	4-OH	328.1	37.6	26.4	62.1	77.4	78.5	390.2	115.0	104.9	
Quercetin	3-OH	335.3	29.3	27.7	64.3	96.5	99.5	399.6	125.8	127.2	
	5-OH	340.6	31.3	29.5	74.8	107.2	110.0	415.4	138.5	139.5	
	7-OH	326.1	26.4	25.5	81.1	111.8	114.3	407.2	138.2	139.8	
	3'-OH	340.4	31.7	30.1	62.5	98.3	101.4	402.9	130.0	131.5	
	4'-OH	320.0	25.7	25.2	72.5	100.3	102.7	392.4	126.0	127.9	
Gallic acid	3-OH	417.8	-	51.1	-25.3	41.1	71.7	392.4	-	122.8	
	4-OH	406.1	-	44.9	-23.7	42.8	71.5	382.4	-	116.4	
	5-OH	404.4	-	44.9	-19.6	46.4	74.3	384.8	-	119.3	

4. 결론

본 연구에서는 B3LYP/6-311+g(d,p) 수준에서 이론적인 계산방법을 사용하여 nyasol의 항산화력과 라디칼 소거능의 기작에 대하여 조사하였다. FMO와 전역 반응 인자의 계산 결과와 MEP surface 분석결과 nyasol의 항산화력을 예측할 수 있었으며, nyasol의 4'-OH 위치가 수소 공여의 가장 높은 활성을 지닌 부위임을 확인하였다. 항산화의 세 가지 메커니즘, 즉 HAT, SETPT 및 SPLET은 BDE, IP, PDE, PA 및 ETE등의 열역학적 엔탈피 값에 의해서 설명될 수 있다. Nyasol의 IP 및 PA는 기체와 극성 용매 조건에서 모두 BDE 값보다 크게 나타났다. 따라서 HAT 메커니즘이 열역학적으로 가장 선호된다고 할 수 있다. 이것은 비교 대상의 다른 항산화제가 극성용매 조건에서 SPLET 기작이 우세한 것과 비교되며 nyasol이 상대적으로 항산화력이 낮은 것과 관계가 있다고 사료된다. 즉, 문헌에 보고된 DPPH 실험결과에서 nyasol의 EC₅₀ 값이 10배 이상 큰 것과도 일치하는 계산결과이다.

References

- [1] H. Masaki, "Role of antioxidants in the skin: anti-aging effects", *Journal of dermatological science*, Vol.58, No.2, pp.85-90, May 2010. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.idermsci.2010.03.003>
- [2] J. F. Turrens, "Mitochondrial formation of reactive oxygen species", *The Journal of physiology*, Vol.552, No.2, pp.335-344, Oct. 2003. DOI: <https://doi.org/10.1113/jphysiol.2003.049478>
- [3] L. He, T. He, S. Farrar, L. Ji, T. Liu, X. Ma, "Antioxidants Maintain Cellular Redox Homeostasis by Elimination of Reactive Oxygen Species", *Cellular physiology and biochemistry : international journal of experimental cellular physiology, biochemistry, and pharmacology*, Vol.44, No.2, pp.532-553, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1159/000485089>
- [4] M. Nita, A. Grzybowski, "The Role of the Reactive Oxygen Species and Oxidative Stress in the Pathomechanism of the Age-Related Ocular Diseases and Other Pathologies of the Anterior and Posterior Eye Segments in Adults", *Oxidative medicine and cellular longevity*, Vol.2016, pp.3164734, Jan. 2016. DOI: <https://doi.org/10.1155/2016/3164734>
- [5] F. Shahidi, P. Ambigaipalan, "Phenolics and polyphenolics in foods, beverages and spices: Antioxidant activity and health effects -A review", *Journal of Functional Foods*, Vol.18, pp.820-897, Oct. 2015. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.iff.2015.06.018>
- [6] C. Rodríguez-García C, Sánchez-Quesada, E. Toledo, M. Delgado-Rodríguez, J. J. Gaforio, "Naturally Lignan-Rich Foods: A Dietary Tool for Health Promotion?", *Molecules*, Vol.24, No.5, pp.917, Mar. 2019. DOI: <https://doi.org/10.3390/molecules24050917>
- [7] I. Ionkova, "Anticancer lignans--from discovery to biotechnology", *Mini reviews in medicinal chemistry*, Vol.11, No.10, pp.843-856, Sep. 2011. DOI: <https://doi.org/10.2174/138955711796575425>
- [8] H.-J. Hwang, J. A. Yoon, K.-O. Shin, "Chemical Properties of Lignans, Their Effects on Human Health, and the Enhancement of Milk Function of Lignans" *Journal of Milk Science and Biotechnology*, Vol.36, No.23, pp.1-94, June 2018. DOI: <https://doi.org/10.22424/jmsb.2018.36.2.81>
- [9] H. J. Park, J. Y. Lee, S. S. Moon, B. K. Hwang, "Isolation and anti-oomycete activity of nyasol from *Anemarrhena asphodeloides* rhizomes", *Phytochemistry*, Vol. 64, No.5, pp.997-1001, Nov. 2003. DOI: [https://doi.org/10.1016/s0031-9422\(03\)00462-x](https://doi.org/10.1016/s0031-9422(03)00462-x)
- [10] Y. J. Park, C.-S. Ku, M.-J. Kim, M. K. Lee, K. O. Kim, H. W. Ryu, H.-H. Song, D. Y. Kim, S.-R. Oh, "Cosmetic Activities of Nyasol from the Rhizomes of *Anemarrhena Asphodeloides*", *Journal of Applied Biological Chemistry*, Vol.58, No.1, pp.31-38, Mar. 2015. DOI: <https://doi.org/10.3839/jabc.2015.007>
- [11] H. Yang, S. Baggett, R. Staub, S. Chow, L. F. Bjeldanes, D. Leitman, I. Cohen, "Norlignans from *Anemarrhena asphodeloides* Displaying Selective Estrogen Beta (ER β) Activity. *Planta Medica*, Vol.74, No.3, P-78, Feb. 2008. DOI: <https://doi.org/10.1055/s-2008-1075274>
- [12] M. H. Lee, D. I. Jang, J. Choi, "The Assessment of the Skin-Whitening and Anti-Wrinkling Effects of *Anemarrhena asphodeloides* Bunge Root Extracts and the Identification of Nyasol in a Developed Cream Product", *Cosmetics*, Vol.10, No.3, pp.73, May 2023. DOI: <https://doi.org/10.3390/cosmetics10030073>
- [13] S. Kim, T. Cheng, S. He, P. A. Thiessen, Q. Li, A. Gindulyte, E. E. Bolton. (2022). "PubChem Protein, Gene, Pathway, and Taxonomy Data Collections: Bridging Biology and Chemistry through Target-Centric Views of PubChem Data", *Journal of molecular biology*, Vol.434, No.11, pp.167514, Jun. 2022. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jmb.2022.167514>
- [14] P. C. Hawkins, A. Nicholls, (2012). "Conformer generation with OMEGA: learning from the data set and the analysis of failures". *Journal of chemical information and modeling*, Vol.52, No.11, pp.2919-2936, Nov. 2012. DOI: <https://doi.org/10.1021/ci300314k>
- [15] R. Dennington, T. A. Keith, J. M. Millam, GaussView, Version 6; Semichem Inc.: Shawnee Mission, KS, USA., 2016.
- [16] M. J. Frisch, et al., Gaussian 16 Rev. C.01,

- Wallingford, CT., 2016.
- [17] V. K. Rajan, C. K. Hasna, K. Muraleedharan, (2018) "The natural food colorant Peonidin from cranberries as a potential radical scavenger - A DFT based mechanistic analysis", *Food chemistry*, Vol.262, pp.184-190, Oct. 2018.
DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.04.074>
- [18] G. L. C. de Souza, K. A. Peterson, "Benchmarking antioxidant-related properties for gallic acid through the use of DFT, MP2, CCSD, and CCSD(T) approaches", *The journal of physical chemistry. A*, Vol.125, pp.198-208, Jan. 2021.
DOI: <https://doi.org/10.1021/acs.jpca.0c09116>
- [19] A. D. Becke, "Density-functional thermochemistry. III. The role of exact exchange", *The Journal of Chemical Physics*, Vol.98, No.7, pp.5648-5652, Apr. 1993.
DOI: <https://doi.org/10.1063/1.464913>
- [20] C. Lee, W. Yang, R. G. Parr, "Development of the Colle-Salvetti correlation-energy formula into a functional of the electron density". *Physical review. B, Condensed matter*, Vol.37, No.2, pp.785-789, Jan. 1998.
DOI: <https://doi.org/10.1103/physrevb.37.785>
- [21] L. R. Domingo, P. Patricia, "Global and local reactivity indices for electrophilic/nucleophilic free radicals", *Organic & Biomolecular Chemistry*, Vol.11 No.26 pp.4350-4358, May 2013.
DOI: <https://doi.org/10.1039/C3OB40337H>
- [22] R. Kakkar, M. Bhandari, R. Gaba, "Tautomeric transformations and reactivity of alloxan", *Computational and Theoretical Chemistry*, Vol.986, No.15, pp.14-24, Apr. 2012.
DOI: <https://doi.org/10.1016/j.comptc.2012.01.038>
- [23] M. Rouhani, "Evaluation of structural properties and antioxidant capacity of Proxison: A DFT investigation", *Computational and Theoretical Chemistry*, Vol.1195, pp.113096, Jan. 2021.
DOI: <https://doi.org/10.1016/j.comptc.2020.113096>
- [24] A. V. Marenich, C. J. Cramer, D. G. Truhlar, "Universal Solvation Model Based on Solute Electron Density and on a Continuum Model of the Solvent Defined by the Bulk Dielectric Constant and Atomic Surface Tensions", *The journal of physical chemistry. B*, Vol.113, No.18, pp.6378-6396, May 2009.
DOI: <https://doi.org/10.1021/jp810292n>
- [25] S. Mahmoudi, M. M. Dehkordi, M. H. Asgarshamsi, "Density functional theory studies of the antioxidants—a review", *Journal of Molecular Modeling*, Vol.27, No.9, pp.271, Aug. 2021.
DOI: <https://doi.org/10.1007/s00894-021-04891-1>
- [26] J. E. Bartmess, "Thermodynamics of the Electron and the Proton", *Journal of Physical Chemistry*, Vol.98, No.25, pp.6420-6424, Jun. 1994.
DOI: <https://doi.org/10.1021/j100076a029>
- [27] J. Rimarčík, V. Lukeš, E. Klein, M. Ilčin, "Study of the solvent effect on the enthalpies of homolytic and heterolytic N-H bond cleavage in p-phenylenediamine and tetracyano-p-phenylenediamine", *Journal of Molecular Structure: THEOCHEM*, Vol.952, No.1-3, pp.25-30, Jul. 2010.
DOI: <https://doi.org/10.1016/j.theochem.2010.04.002>
- [28] Y. Boulmouk, K. Belguidoum, F. Meddour, H. Amira-Guebailia, "Investigation of antioxidant activity of epigallocatechin gallate and epicatechin as compared to resveratrol and ascorbic acid: Experimental and theoretical insights", *Structural Chemistry*, Vol.32, pp.1907-1923, Mar. 2021.
DOI: <https://doi.org/10.1007/s11224-021-01763-5>
- [29] S. A. de Souza Farias, K. S. da Costa, J. B. L. Martins, "Analysis of Conformational, Structural, Magnetic, and Electronic Properties Related to Antioxidant Activity: Revisiting Flavan, Anthocyanidin, Flavanone, Flavonol, Isoflavone, Flavone, and Flavan-3-ol", *ACS omega*, Vol.6, No.13, pp.8908-8918, Mar. 2021.
DOI: <https://doi.org/10.1021/acsomega.0c06156>
- [30] M. Saqib, S. Iqbal, A. Mahmood, R. Akram, "Theoretical Investigation for Exploring the Antioxidant Potential of Chlorogenic Acid: A Density Functional Theory Study", *International Journal of Food Properties*, Vol.19, No.4, pp.745-751, 2016.
DOI: <https://doi.org/10.1080/10942912.2015.1042588>
- [31] H. A. De Abreu, I. Aparecida dos S. Lago, G. P. Souza, D. Piló-Veloso, H. A. Duarte, A. F. de C. Alcântara, "Antioxidant activity of (+)-bergenin—a phytoconstituent isolated from the bark of *Sacoglottis uchi* Huber (Humireaceae)", *Organic Biomolecular Chemistry*, Vol.6, No.15, pp.2713-2718, Jun. 2008.
DOI: <https://doi.org/10.1039/B804385J>
- [32] K. Sadasivam, R. Kumaresan, "Antioxidant behavior of mearnsetin and myricetin flavonoid compounds—a DFT study", *Spectrochimica acta. Part A, Molecular and biomolecular spectroscopy*, Vol.79, No.1, pp.282-93, Jun. 2011.
DOI: <https://doi.org/10.1016/j.saa.2011.02.042>
- [33] H. Boulebd, H. "Comparative study of the radical scavenging behavior of ascorbic acid, BHT, BHA and Trolox: Experimental and theoretical study", *Journal of Molecular Structure*, Vol.1201, pp.127210, Feb. 2020.
DOI: <https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2019.127210>
- [34] Y. Z. Zheng, G. Deng, Q. Liang, D. F. Chen, R. Guo, R. C. Lai, "Antioxidant Activity of Quercetin and Its Glucosides from Propolis: A Theoretical Study". *Scientific reports*, Vol.7, No.1, pp.7543, Aug. 2017.
DOI: <https://doi.org/10.1038/s41598-017-08024-8>
- [35] P. Škorňa, M. Michalík, E. Klein, "Gallic acid: thermodynamics of the homolytic and heterolytic phenolic O—H bonds splitting-off", *Acta Chimica Slovaca*, Vol.9, No.2, pp.114-123, Dec. 2016.
DOI: <https://doi.org/10.1515/acs-2016-0020>
- [36] J. S. Negi, P. Singh, G. P. Joshi, M. S. Rawat, V. K. Bisht, "Chemical constituents of Asparagus", *Pharmacognosy reviews*, Vol.4, No.8, pp.215-20, Jul. 2010.

DOI: <https://doi.org/10.4103/0973-7847.70921>

- [37] D. Villaño, M. S. Fernández-Pachón, M. L. Moyá, A. M. Troncoso, M. C. García-Parrilla, "Radical scavenging ability of polyphenolic compounds towards DPPH free radical", *Talanta*, Vol.71, No.1, pp.230-235, Jan. 2007. DOI: <https://doi.org/10.1016/i.talanta.2006.03.050>
- [38] J. Hossen, M. A. Ali, S. Reza, "Theoretical investigations on the antioxidant potential of a non-phenolic compound thymoquinone: a DFT approach", *Journal of molecular modeling*, Vol.27, No.6, pp.173, May 2021. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00894-021-04795-0>
- [39] D. Kalita, R. Kar, J. G. Handique, "A theoretical study on the antioxidant property of gallic acid and its derivatives", *Journal of Theoretical and Computational Chemistry*, Vol.11, No.02, pp.391-402. 2012. DOI: <https://doi.org/10.1142/S0219633612500277>
- [40] J. Wang, H. Tang, B. Hou, P. Zhang, Q. Wang, B. L. Zhang, Y.-W. Huang, Z.-M. Xiang, C.-T. Zi, X.-J. Wang, J. Sheng, "Synthesis, antioxidant activity, and density functional theory study of catechin derivatives", *RSC advances*, Vol.7, pp.54136-54141, Nov. 2017. DOI: <https://doi.org/10.1039/C7RA11496F>
- [41] J. S. Wright, E. R. Johnson, G. A. DiLabio, "Predicting the activity of phenolic antioxidants: theoretical method, analysis of substituent effects, and application to major families of antioxidants", *Journal of the American Chemical Society*, Vol.123, No.6, pp.1173-1183, Jan. 2001. DOI: <https://doi.org/10.1021/ja002455u>
- [42] N. Nenadis, M. Z. Tsimidou, "Contribution of DFT computed molecular descriptors in the study of radical scavenging activity trend of natural hydroxybenzaldehydes and corresponding acids", *Food Research. International*, Vol.48, No.2, pp.538-543, Oct. 2012. DOI: <https://doi.org/10.1016/i.foodres.2012.05.014>
- [43] A. Mittal, R. Kakkar, "The effect of solvent polarity on the antioxidant potential of echinatin, a retrochalcone, towards various ROS: a DFT thermodynamic study", *Free radical research*, Vol.54, No.10, pp.777-786, Oct. 2020. DOI: <https://doi.org/10.1080/10715762.2020.1849670>

최 종 근(Jongkeun Choi)

[정회원]



- 1993년 2월 : 서울대학교 농화학과 (농학사)
- 1995년 2월 : 서울대학교 농화학과 (농학석사)
- 2006년 8월 : 서울대학교 화학부 (이학박사)
- 2013년 3월 ~ 현재 : 청운대학교 화학생명공학과 교수

<관심분야>

단백질 3차 구조, 분자 모델링, 기기분석, 천연물 화학, 화장품, 신약개발