

## 약용식물 추출물의 *Helicobacter pylori*에 대한 항균 활성과 항산화 활성에 미치는 효과

박 영 숙<sup>†</sup> · 김 윤 희

대구대학교 식품영양학과

### The Effect of Medicinal Herb Extract on Antimicrobial Activity against *Helicobacter pylori* and Antioxidant Activity

Young-Sook Park<sup>†</sup> and Yoon-Hee Kim

Dept. of Food & Nutrition, Daegu University, Gyongsbuk 712-714, Korea

#### Abstract

This study was designed to investigate the effect of medicinal herb extract on the antioxidant and antimicrobial activities against *Helicobacter pylori*, which is known as a ulcerogenic pathogen. The concentration of total phenolic compound of *Scutellaria baicalensis*(13.14%) was highest among water extracts and that of *Ulmus parvifolia*(15.12%) was highest among the ethanol extracts. The antioxidant activity of the water extract of *Scutellaria baicalensis* and of the ethanol extract of *Ulmus parvifolia* were 91.00% and 65.03%, respectively, in DPPH assay. The antioxidant activity of the water extract of *Scutellaria baicalensis* and of the ethanol extract of *Ulmus parvifolia* were 32.90% and 27.70%, respectively, in SOD assay. The antioxidant activity of the water extract of *Ulmus parvifolia* and of the ethanol extract of *Glycyrrhiza uralensis* Fischer was 2.15 and 2.17, respectively, in TBARS assay. In disc method, *Scutellaria baicalensis* showed the highest anti-microbial activity against *H. pylori*, followed by *Glycyrrhiza uralensis* Fischer among the water extracts and *Glycyrrhiza uralensis* Fischer showed the highest anti-microbial activity followed by *Radix puerariae* among ethanol extract.

Key words : Antioxidant activity, antimicrobial activity, *Helicobacter pylori*.

#### 서 론

자유 라디칼은 노화와 질병의 원인 중의 하나이다. 자유 라디칼은 적어도 한 쌍의 짝을 짓지 않은 전자를 포함하고 있으며, 원자 및 분자는 기본적으로 어떤 물질과 전자를 공유하여 안정화되려는 경향이 있어 이로 인하여 생체 내에 수많은 자유 라디칼 등 활성 산소종을 생성하게 된다(Kim & Kim 1999, Cho BI 1993). 최근 고혈압, 동맥경화, 뇌졸중 등 심혈관계 질환 및 암이 활성 산소로 인한 생체 내의 산화적 스트레스에 기인함이 밝혀지고 이러한 질병의 예방과 치료의 목적으로 활성 산소종의 과잉 생성을 억제하고, 생성된 활성 산소를 효율적으로 제거할 수 있는 항산화 방어 시스템이 필요하다. 항산화 작용을 가진 천연물의 역할은 매우 중요한데, 이러한 천연 성분들은 항산화 방어 시스템 구축에 있어서 항산화제와 chelating agent로서의 역할을 하여 체내에서 생성된 과잉의 활성 산소를 감소시켜 질병을 예방할 수

있다(Cha et al 1998).

최근 우리나라 사람에게 발생하는 암 중에서 위암이 차지하는 비율이 20.3%이며(Korean Central Center Registry 2003), 우리나라 사람에게 위암 발생률이 높은 것은 식생활환경 등 여러 요인에 기인하겠으나 위염 원인균인 *Helicobacter pylori*에 의한 감염도 그 중요한 요인 중 하나이다(Rhee et al 1988, Rhee et al 1990, Baik et al 1996). 위염, 위궤양, 소화성 궤양, 위암 등의 발생과 밀접하게 관련된 것으로 알려진 *Helicobacter pylori*의 감염 현황은 만 19세 이상 성인의 57.8%로 미국이나 호주의 감염 현황보다도 훨씬 높은 편이다(Cover & Blaser 1995). *H. pylori*에 의한 감염을 치료하는 방법으로는 bismuth 제제, metronidazole, amoxicillin, tetracycline 등을 포함하는 3가지 항균제를 동시에 투여하는 방법이 유효한 것으로 보고되었다(Rauws et al 1988, Hentschel et al 1993). 그러나 이러한 항균제 치료는 환자의 순응도를 필요로 하고, 항생제에 대한 내성, 재발 가능성의 내재, 고비용 등의 문제가 있다. 이러한 문제점을 극복하기 위하여 최근에 백리향(Tabak et al 1996), 중국차(Yee et al 2002), Cashew apple(Kubo et al 1999), 소목과 황련(Lee et al 1999) 등 여러

<sup>†</sup> Corresponding author : Young-Sook Park, Tel : +82-53-850-6834, Fax : +82-53-850-6839, E-mail : yspark@daegu.ac.kr

천연물의 *H. pylori*에 대한 항균 활성이 연구되었다.

최근에는 식물류에 들어 있는 생리 활성 성분에 대한 관심이 높아지고 있으며 이들의 생체 조절 기능 및 질병의 회복이나 예방 등에 관한 가능성이 제시되어 왔다(Huang *et al* 1992, Higasi GS 2004, Ham *et al* 1997). 식물에 존재하는 생리 활성 물질 대부분은 페놀성 화합물이고 이들 페놀성 화합물은 일반적으로 수용성이며 플라보노이드류가 주를 이루고 있으며 항세균, 항알레르기, 항산화, 항종양, 항암, 충치 방지, 심장 질환 및 당뇨병 예방 등의 효과가 있는 것으로 보고되고 있다(Huang *et al* 1992, Ham *et al* 1997, Azuma *et al* 1999).

본 연구에서는 약용 식물로부터 생리 활성 물질 탐색의 일환으로 항산화 효과와 *H. pylori*에 대한 항균 활성 효과를 비교 검토함으로써 위를 보호하고 질병의 원인인 활성 산소를 감소시킬 수 있는 기능성 식품의 소재로서 활용키 위한 기초 자료를 마련하고자 한다.

## 재료 및 방법

### 1. 재료 및 조제

항산화 활성, 항균 활성, 항염증 활성을 비교하기 위해 실험에서 사용된 약재는 2005년 4월과 8월에 경상북도 경산시 한국생약협회로부터 구입한 국내산 갈근(*Radix puerariae*), 감초(*Glycyrrhiza uralensis* Fischer), 구기자(*Lycium chinensis* Miller), 당귀(*Angelica gigas* Nakai), 감잎(*Persimmon* Leaf), 차조(*Perilla frutescens*), 여성초(*Houttuynia Cordata* Thunb), 오가피(*Acanthopanax cortex*), 유근피(*Ulmus parvifolia*), 황급(*Scutellaria baicalensis*)의 10종이었다.

건조된 한약재 시료 각각 5 g 씩 취하여 물과 에탄올로 각각 추출하였다. 열수 추출물은 시료와 증류수를 1:20(w/v)로 혼합하여 100℃의 수욕조상에서 2시간 추출하고, Whatman(No. 2) 여과지로 여과한 후 잔사를 같은 방법으로 2회 반복, 총 3회 추출하고 추출액을 농축하여 25℃ 진공 건조기로 완전히 건조하여 -4℃에 저장하면서 시료로 사용하였다.

에탄올 추출물은 시료와 에탄올을 1:20(w/v)로 혼합하여 25℃에서 24시간 정지시킨 후 Whatman(No. 2) 여과지로 여과한 후 잔사를 같은 방법으로 2회 반복, 총 3회 추출하고 용액을 rotatory vacuum evaporator로 감압 농축 후 진공 건조기로 완전히 건조하여 -4℃에 저장하면서 분석에 사용하였다.

### 2. 추출물의 수율 및 페놀 화합물 함량 측정

추출물을 25℃에서 진공 건조한 후 칭량하여 수율을 조사하였다. 총 폴리페놀 화합물의 함량은 페놀성 물질이 phosphomolybdate와 반응하여 청색을 나타내는 현상을 이용하여 측정된 Cha 등(Cha *et al* 1999)의 방법으로 측정하였다. 즉,

한약재 추출물 건조 시료를 증류수로 5 mg/mL의 농도로 희석시킨 다음 1 mL를 시험관에 취하고 증류수를 가하여 2 mL를 만든 후, 2% sodium carbonate 용액 2 mL를 넣어 혼합한 후 2N Folin-Ciocalteu's reagent 0.2 mL를 첨가한다. 30분 뒤에 Spectrophotometer(UV-1601, Shimadzu)로 725 nm에서 흡광도를 측정하였다. 이 때 총 폴리페놀 화합물은 tannic acid를 이용하여 작성한 표준 곡선으로부터 함량을 구하였다. Tannic acid를 이용한 표준 곡선은 tannic acid를 50% 메탄올 용액에 녹여 최종농도가 0, 5, 10, 15, 20, 30, 50  $\mu$ L/mL 용액이 되도록 취하여 위와 같은 방법으로 725 nm에서 흡광도를 측정하여 작성하였다.

### 3. 항산화 활성 측정

#### 1) 전자 공여능(Electron Donating Ability: EDA)의 측정

전자 공여능은 Blois(Bios MS 1958)의 방법에 따라  $4.0 \times 10^{-4}$ M DPPH 용액(99.9% ethanol에 용해) 2.8 mL에 한약재 추출물 0.2 mL(5mg/mL)를 넣고 30분 후 516 nm에서 Spectrophotometer(UV-1601, Shimadzu)를 사용하여 흡광도를 측정하였으며 아래 공식에 의해 전자 공여능을 계산하였다. 이때 활성의 비교를 합성 항산화제인 butyl hydroxy toluene(BHT)를 시료 첨가량의 1/10을 사용하여 BHT 첨가군으로 하였다.

$$\text{전자 공여능(\%)} = 100 - \left[ \left( \frac{\text{시료 첨가군의 흡광도}}{\text{무첨가군의 흡광도}} \right) \times 100 \right]$$

#### 2) Superoxide Dismutase(SOD) 유사 활성 측정

Marklund & Marklund(1974)의 방법에 따라 각 시료 0.2 mL(5 mg/mL)에 pH 8.5로 보정한 Tris HCl buffer 3 mL와 7.2 mM pyrogallol 0.2 mL를 가하고 25℃에서 10분간 방치 후 1N HCl 1 mL로 반응 정지시킨 후 420 nm에서 Spectrophotometer(UV-1601, Shimadzu)를 사용하여 흡광도를 측정하였으며 아래 공식에 의해 SOD 유사 활성을 계산하였다. 이때 활성의 비교를 합성 항산화제인 butyl hydroxy toluene(BHT)를 시료 첨가량의 1/10을 사용하여 BHT 첨가군으로 하였다.

$$\text{SOD 유사 활성(\%)} = 100 - \left[ \left( \frac{\text{시료 첨가군의 흡광도}}{\text{무첨가군의 흡광도}} \right) \times 100 \right]$$

#### 3) Thiobarbituric Acid Reactive Substances(TBARS) 측정

2-thiobarbituric acid는 지방산의 산화 생성물인 malondialdehyde와 반응하여 TBA색소(붉은 색소)를 형성한다. 이 발색의 정도를 비색정량하여 지방에 대한 한약재 추출물의 항산화성을 측정하였다. 콩 식용유(주)오뚜기) 3.0 g을 시험관

에 취한 후 시료 0.2 mL(5 mg/mL)를 가하였고 여기에 벤젠 10 mL를 가하여 유지를 잘 용해한 다음 TBA 시액 10 mL를 가하고 때때로 흔들며 주면서 4분간 방치하였다. 이것을 분액 깔대기에 옮기고 정치하여 2층으로 분리한 후 아래층을 screw cap 시험관에 모아 마개를 잘 한 다음 끓는 물 속에서 30분간 가열하였다. 이를 흐르는 물에서 급속히 냉각한 후 그 용액 일부를 Spectrophotometer(UV-1601, Shimadzu)로 530 nm 에서 흡광도를 측정하였다. 추출물이 첨가된 각 시료의 TBARS 값을 대조군의 값과 비교한 relative antioxidant effectiveness(RAE)값으로 항산화 효과를 비교하였다. 이때 활성의 비교를 합성 항산화제인 butyl hydroxy toluene(BHT)를 시료 첨가량의 1/10을 사용하여 BHT 첨가군으로 하였다.

Relative Antioxidant Effectiveness(RAE) 값=

$$\frac{\text{무첨가군의 흡광도}}{\text{첨가군의 흡광도}}$$

#### 4. *Helicobacter pylori*에 대한 항균 활성 측정

##### 1) 사용 균주 및 배양

실험에 사용한 균주는 위, 십이지장 궤양 원인균인 *Helicobacter pylori*(KCTC 12083)로서 유전자 은행에서 분양을 받아 사용하였다. *H. pylori*의 배양에는 10% fetal bovine serum (FBS, Cat No : SH30397.03, HyClone<sup>®</sup>)을 첨가한 brucella broth(Difco, USA)를 이용하였으며(Yoon *et al* 2004), 배지의 조성은 bacto tryptone 10 g, bacto peptamin 10 g, bacto dextrose 1 g, bacto yeast extract 2 g, sodium chloride 5 g, sodium bisulfite 0.1 g으로 구성되어 있다.

균주의 CFU(colony forming unit) 측정, disc agar diffusion method를 위한 고체 배지 또한 brucella agar 배지를 이용하였으며 이때도 역시 10% FBS를 첨가하여 배지를 제조하였고, 미호기성 조건을 유지시켜 주기 위해서 CO<sub>2</sub> incubator(Sanyo, Japan)는 10% CO<sub>2</sub>, 습도는 항상 95% 이상으로 유지하였으며, 온도는 37°C를 유지하였다.

##### (1) Disc Agar Diffusion 법에 의한 항균 활성 검색

Disc agar diffusion 법은 brucella agar 배지 plate에 *H. pylori* 균액(1×10<sup>7</sup>CFU/mL) 100 uL를 분주하여 멸균 유리봉으로 도말한 다음, 멸균된 disc paper(Ø 10 mm)를 올리고, membrane filter(0.45 um)로 제균한 추출물을 2.5, 5, 10 mg/mL의 농도로 조절한 후 50 uL를 disc paper에 흡수시키고, 대조구로는 멸균수를 흡수시킨 후 37°C의 CO<sub>2</sub> incubator에서 48시간 동안 배양한 다음, disc 주위의 clear zone 생성 유무를 확인하였다.

##### (2) 액체 배양법에 의한 항균 활성 검색

액체 배양법은 Gavidson and Parish(1989)의 방법을 수정하여 측정하였다. 즉, brucella 한천 배지에서 48시간 배양된 *H. pylori*를 멸균된 백금으로 끊어 brucella broth에 흡광도(600 nm)가 1.0이 되도록 현탁하였다. Membrane filter(0.45 um)로 제균한 각 추출물을 2.5, 5, 10 mg/mL의 농도로 조절한 후 균액 9 mL에 각 추출물 1 mL씩을 첨가하여 37°C의 미 호기성 조건에서 18시간 동안 incubation한 다음 600 nm 에서 흡광도 변화를 측정하여 *H. pylori* 성장 억제 효과를 측정하였다. 이때 대조구로는 균액 9 mL에 멸균수 1 mL를 넣은 것을 사용하였으며, 600 nm에서 대조군을 '0'으로 맞추고 흡광도를 측정하였다.

#### 5. 통계 처리

통계 처리는 SPSS(Statistical Package for Social Science, version 10.0)를 이용하여 분산분석(ANOVA)과 Duncan의 다범위 검정법(Duncan's multiple range test)으로 시료간의 유의차를 검증하였다.

## 결과 및 고찰

### 1. 추출물의 수율

10종의 한약재 추출물의 수율은 Table 1에서와 같다. 추출 수율은 추출에 사용된 시료량에 대한 추출물의 총 soluble 함량의 백분비로 계산하였다. 그 결과 에탄올에 비하여 물을 용매로 사용하였을 때 수율이 전체적으로 높았으며, 물을 용매로 사용하였을 때 유근피의 추출 수율이 89.07%로 가장 높았고 황금의 추출 수율은 73.72%였으며 차조의 추출 수율이 11.00%로 가장 낮았다. 에탄올을 용매로 사용하였을 때 당귀의 추출 수율이 12.90%로 가장 높았으며, 황금의 추출 수율이 1.38%로 가장 낮았다.

### 2. 총 폴리페놀 화합물 함량

폴리페놀 화합물은 식물계에 널리 분포되어 있는 2차 대사산물의 하나로서 다양한 구조와 분자량을 가지며, 이들은 phenolic hydroxyl기를 가지고 있기 때문에 단백질 등의 거대 분자들과 결합하는 성질을 가지며 항산화 효과 등의 생리 활성 기능도 가진다(Kuhnau J 1976). 10종의 한약재 추출물에 존재하는 총 폴리페놀 화합물 함량을 측정한 결과는 Table 2와 같다.

유근피를 제외한 한약재에서 에탄올 추출물에 비하여 열수 추출물의 폴리페놀 화합물 함량이 높게 나타났다. 열수 추출물 중 황금이 13.14%로 가장 높았고 그 다음이 감잎 11.74%, 어성초 10.87%이며 감초가 6.1%로 가장 낮았다. 에탄올 추출물 중 유근피가 15.12%로 가장 높게 나타났으며 구기자

**Table 1. Yield of extracts from medicinal plants by using water and ethanol**

Sample	Solvent	Water extract (%)	Ethanol extract (%)
<i>Radix puerariae</i>		39.20±1.06 <sup>c</sup>	1.39±0.37 <sup>a</sup>
<i>Glycyrrhiza uralensis</i> Fischer		37.33±1.12 <sup>c</sup>	2.64±0.06 <sup>ab</sup>
<i>Lycium chinensis</i> Miller		60.94±0.96 <sup>f</sup>	2.77±0.07 <sup>ab</sup>
<i>Angelica gigas</i> Nakai		55.27±0.41 <sup>c</sup>	12.90±5.02 <sup>c</sup>
Persimmon Leaf		30.72±0.68 <sup>b</sup>	7.54±1.44 <sup>b</sup>
<i>Perilla frutescens</i>		11.00±0.19 <sup>a</sup>	1.88±0.32 <sup>ab</sup>
<i>Houttuynia cordata</i> Thunb		71.64±1.00 <sup>g</sup>	2.39±0.13 <sup>ab</sup>
<i>Acanthopanax cortex</i>		46.78±0.67 <sup>d</sup>	2.72±0.06 <sup>ab</sup>
<i>Ulmus parvifolia</i>		89.07±0.86 <sup>h</sup>	4.28±0.12 <sup>ab</sup>
<i>Scutellaria baicalensis</i>		73.72±0.68 <sup>g</sup>	1.38±0.32 <sup>a</sup>

Values are the mean±SD.

Means with different letters in same column are significantly different at  $p < 0.05$ .

**Table 2. Contents of total polyphenol compound in medicinal plants**

Sample	Solvent	Water extract (%)	Ethanol extract (%)
<i>Radix puerariae</i>		463.45±13.24 <sup>de</sup>	95.09±0.79 <sup>c</sup>
<i>Glycyrrhiza uralensis</i> Fischer		305.32± 1.64 <sup>a</sup>	61.14±0.89 <sup>c</sup>
<i>Lycium chinensis</i> Miller		506.28± 1.00 <sup>f</sup>	6.15±0.45 <sup>a</sup>
<i>Angelica gigas</i> Nakai		375.92± 2.50 <sup>b</sup>	85.15±0.62 <sup>e</sup>
Persimmon Leaf		587.10± 4.19 <sup>h</sup>	65.18±0.31 <sup>c</sup>
<i>Perilla frutescens</i>		422.04±21.95 <sup>c</sup>	6.92±0.49 <sup>a</sup>
<i>Houttuynia cordata</i> Thunb		543.49± 9.63 <sup>g</sup>	25.84±0.52 <sup>b</sup>
<i>Acanthopanax cortex</i>		481.55± 9.91 <sup>ef</sup>	72.89±0.11 <sup>d</sup>
<i>Ulmus parvifolia</i>		435.47± 4.77 <sup>cd</sup>	755.94±5.14 <sup>g</sup>
<i>Scutellaria baicalensis</i>		657.18± 3.70 <sup>i</sup>	62.15±1.39 <sup>c</sup>

Values are the mean±SD.

Means with different letters in same column are significantly different at  $p < 0.05$ .

가 0.12%로 가장 낮은 폴리페놀 화합물의 함량을 나타내었다.

Kim *et al*(2004)의 연구에서 열수 추출물의 총 폴리페놀 화합물을 분석한 결과 갈근이 5,975 mg/100g, 감초가 3,460 mg/100g, 오가피가 6,959 mg/100g으로 나타났으며, Lim *et*

*al*(2004)의 연구에서 폴리페놀 화합물을 분석한 결과 오가피의 총 폴리페놀 화합물은 2,852.8 mg/100g으로 나타나 본 연구 결과에 비해 높게 나타났으나 이는 폴리페놀 화합물의 추출 방법, 분석 방법, 표준 물질 및 품종 등의 차이에 따른 결과로 생각된다.

### 3. 추출물의 전자 공여능(Electron Donating Ability: EDA) 활성

전자 공여 작용은 활성 라디칼에 전자를 공여하여 식품 중의 지방질 산화를 억제하는 목적으로 사용되고, 인체 내에서는 활성 라디칼에 의한 노화를 억제시키는 작용으로 이용되고 있다. 10종의 한약재 추출물에 대한 전자 공여능을 측정한 결과는 Table 3과 같다. 열수 추출물에서 전자 공여능의 수준은 황금이 91%로 가장 높았으며, 어성초가 51.01%, 오가피가 47.20%, 감잎이 40.01%의 활성을 나타냈으며, 감초가 19.47%로 가장 낮았다. 에탄올 추출물에서 전자 공여능의 수준은 유근피가 65.03%로 가장 높았으며, 그 다음으로는 오가피가 31.00%, 감잎이 29.53%, 황금이 28.40%의 활성을 나타냈으며 당귀가 24.98%로 가장 낮았다. 이 값들은 BHT의 활성(32.17%)에 비해 높거나 유사한 것으로 나타났다.

Choi *et al*(2003)은 오미자, 황금, 감초 등의 에탄올 추출물이 50% 이상의 전자 공여능을 보였다고 하였으며, Kim *et al*(2004)은 갈근, 감초, 당귀의 열수 추출물이 각각 16.8%,

**Table 3. Electron donating ability of water and ethanol soluble extracts from medicinal plants**

Sample	Solvent	Inhibition activity(%)	
		Water extract	Ethanol extract
<i>Radix puerariae</i>		27.71± 3.65 <sup>ab</sup>	25.84±2.08 <sup>ab</sup>
<i>Glycyrrhiza uralensis</i> Fischer		19.47± 5.94 <sup>a</sup>	27.61±0.08 <sup>ab</sup>
<i>Lycium chinensis</i> Miller		25.33± 7.63 <sup>ab</sup>	27.59±0.33 <sup>ab</sup>
<i>Angelica gigas</i> Nakai		28.65± 4.76 <sup>ab</sup>	24.98±2.72 <sup>a</sup>
Persimmon Leaf		40.01± 4.61 <sup>ab</sup>	29.53±0.24 <sup>ab</sup>
<i>Perilla frutescens</i>		27.80± 7.45 <sup>ab</sup>	26.80±0.89 <sup>ab</sup>
<i>Houttuynia cordata</i> Thunb		51.01±10.05 <sup>b</sup>	27.35±1.94 <sup>ab</sup>
<i>Acanthopanax cortex</i>		47.20± 3.84 <sup>b</sup>	31.00±1.95 <sup>c</sup>
<i>Ulmus parvifolia</i>		36.82±15.58 <sup>ab</sup>	65.03±0.43 <sup>d</sup>
<i>Scutellaria baicalensis</i>		91.00± 6.04 <sup>c</sup>	28.40±0.43 <sup>abc</sup>
BHT		32.17± 4.84 <sup>ab</sup>	32.17±0.17 <sup>c</sup>

Values are the mean±SD.

Means with different letters in same column are significantly different at  $p < 0.05$ .

13.3%, 15.8%의 활성이 나타났다고 보고하였으나 본 연구에서는 황금의 전자 공여능이 91%, 갈근이 27.71%, 당귀의 활성이 28.65%로 두 연구에 비해 높았다.

4. 추출물의 Superoxide Dismutase(SOD) 유사 활성 효과

생체 내에서 생성된 활성 산소는 체내 산화적 장애를 초래한다. SOD는 체내에서 생성된 superoxide anion을 제거하는 항산화 효소이다. 각 한약재 추출물의 산화 억제 작용을 측정된 결과는 Table 4와 같다. 열수 추출물 중에는 황금의 활성능이 32.90%로 높았으며 이 값은 BHT 첨가군의 활성능(35.68%)과 거의 비슷한 값을 보였다. 에탄올 추출물 중에서는 유근피의 활성능이 27.70%로 가장 높았으나 BHT의 활성보다 낮았다.

Koh *et al*(2005)의 연구에 따르면 석류씨 열수 추출물과 에탄올 추출물의 SOD 유사 활성은 15.9%, 34.9%를 나타냈다고 보고하였으며, Lim *et al*(2004)의 연구에 따르면 오가피의 활성능이 13.50%, 구기자의 활성능이 21.27%, 갈근의 활성능이 17.13%, 황금이 23.10%의 활성이 나타났다고 보고하여 본 연구와 유사하거나 높은 경향을 나타내었다.

5. 추출물의 Thiobarbituric Acid Reactive Substances (TBARS)에 의한 항산화성

유지에 10종의 한약재 추출물을 각각 첨가하여 유지가 산

화되는 동안 생성된 thiobarbituric acid reactive substances (TBARS)를 측정하여 대조군의 값과 비교하여 구한 상대적 항산화 효과의 결과는 Table 5와 같다. 열수 추출물이 첨가된 유지의 TBARS는 유근피가 2.15로 가장 높은 활성을 보여주었으며, 황금의 활성은 1.28이었고, 구기자의 활성이 0.39로 가장 낮은 항산화 효과를 보였다. 구기자를 제외한 한약재 열수 추출물이 BHT와 유사한 항산화 효과를 가지는 것으로 나타나 한약재 열수 추출물의 항산화 효과가 강한 것으로 나타났으며 항산화제로서 이용이 가능할 것으로 보인다. 에탄올 추출물 중에는 감초가 2.17로 가장 높은 항산화 효과를 보였고 가장 낮은 값을 보인 구기자를 제외한 9종의 한약재 추출물은 BHT의 항산화 효과와 유사하거나 높은 것으로 나타났다. 한약재 추출물 중 갈근, 당귀, 어성초, 오가피, 유근피, 황금은 열수 추출물의 항산화능이 에탄올 추출물의 항산화 효과보다 높은 것으로 나타났으며, 감초, 감잎, 차조는 에탄올 추출물이 열수 추출물보다 항산화능이 높게 나타났다.

Park YS(2002)의 연구에 의하면 황기, 국화, 구기자, 당귀, 대추 등의 열수 추출물과 에탄올 추출물의 TBARS는 1.41~6.15까지 다양하게 나타났으며 본 연구보다 높은 활성을 나타냈고 합성 항산화제인 BHT와 비교하여 볼 때 유사한 효과를 가지는 것으로 나타나 한약재 추출물이 항산화제로 이용될 수 있을 것으로 생각된다.

Table 4. SOD-like ability of water and ethanol soluble extracts from medicinal plants

Sample	Solvent	Inhibition activity(%)	
		Water extract	Ethanol extract
<i>Radix puerariae</i>		16.80±1.68 <sup>bc</sup>	25.37±0.23 <sup>d</sup>
<i>Glycyrrhiza uralensis</i> Fischer		5.41±0.76 <sup>a</sup>	27.61±0.12 <sup>e</sup>
<i>Lycium chinensis</i> Miller		15.25±1.03 <sup>bc</sup>	23.16±0.41 <sup>c</sup>
<i>Angelica gigas</i> Nakai		21.13±0.20 <sup>cd</sup>	22.78±0.21 <sup>c</sup>
<i>Persimmon</i> Leaf		2.59±0.26 <sup>a</sup>	19.43±0.00 <sup>b</sup>
<i>Perilla frutescens</i>		12.29±1.93 <sup>b</sup>	18.42±0.77 <sup>b</sup>
<i>Houttuynia cordata</i> Thunb		19.47±1.46 <sup>cd</sup>	19.52±0.39 <sup>b</sup>
<i>Acanthopanax cortex</i>		11.98±0.35 <sup>b</sup>	13.51±0.71 <sup>a</sup>
<i>Ulmus parvifolia</i>		24.05±4.86 <sup>d</sup>	27.70±0.45 <sup>e</sup>
<i>Scutellaria baicalensis</i>		32.90±2.57 <sup>e</sup>	24.30±1.55 <sup>cd</sup>
BHT		35.68±1.99 <sup>e</sup>	35.68±0.43 <sup>f</sup>

Values are the mean±SD. Means with different letters in same column are significantly different at  $p < 0.05$ .

Table 5. Relative antioxidative effectiveness(RAE) as TBARS of water and ethanol soluble extracts from medicinal plants

Sample	Solvent	Water extract	Ethanol extract
<i>Radix puerariae</i>		2.02±0.28 <sup>bc</sup>	1.61±0.14 <sup>cd</sup>
<i>Glycyrrhiza uralensis</i> Fischer		2.02±0.19 <sup>bc</sup>	2.17±0.04 <sup>c</sup>
<i>Lycium chinensis</i> Miller		0.39±0.26 <sup>a</sup>	0.14±0.00 <sup>a</sup>
<i>Angelica gigas</i> Nakai		1.55±0.17 <sup>bc</sup>	1.46±0.25 <sup>bc</sup>
<i>Persimmon</i> Leaf		1.39±0.02 <sup>bc</sup>	1.45±0.08 <sup>bc</sup>
<i>Perilla frutescens</i>		1.15±0.07 <sup>ab</sup>	1.16±0.08 <sup>b</sup>
<i>Houttuynia cordata</i> Thunb		2.14±0.28 <sup>c</sup>	1.76±0.10 <sup>cd</sup>
<i>Acanthopanax cortex</i>		1.73±0.54 <sup>bc</sup>	1.10±0.09 <sup>b</sup>
<i>Ulmus parvifolia</i>		2.15±0.32 <sup>c</sup>	1.89±0.06 <sup>de</sup>
<i>Scutellaria baicalensis</i>		1.28±0.08 <sup>bc</sup>	1.21±0.01 <sup>b</sup>
BHT		1.32±0.02 <sup>b</sup>	1.32±0.01 <sup>bc</sup>

Values are the mean±SD. Means with different letters in same column are significantly different at  $p < 0.05$ .

### 6. 추출물의 Disc Agar Diffusion 방법에 의한 *Helicobacter pylori*에 대한 항균 효과

한약재 추출물의 *H. pylori*에 대한 항균 활성은 Disc 방법으로 측정하였다. 10종의 열수 추출물 중 감초, 구기자, 차조,

어성초, 오가피, 황금의 6종류에서 clear zone이 형성되었으며, 이들 중 저해 활성이 가장 강한 것은 황금으로 clear zone이 19.00 mm로 나타났으며 다음은 감초, 어성초, 차조, 구기자 순서이며 오가피는 아주 약한 항균 활성을 보였다. 에탄올 추출물 중 5종류에서 clear zone이 형성되었으며 저해 활성이 가장 큰 것은 감초이며 clear zone이 29.75 mm로 열수 추출물과 에탄올 추출물 중 가장 활성이 강한 것으로 나타났다. 갈근과 당귀는 열수 추출물에는 *H. pylori* 저해 활성이 나타나지 않았으나 에탄올 추출물에는 강한 활성을 보였다.

용매의 종류에 따라 추출물의 항균 활성이 다르게 나타났는데 이는 *H. pylori*에 대한 항균 효과를 가진 물질은 단일 물질이 아님을 시사하는 연구 보고(Lee et al 1999)와 유사한 결과를 보이고 있다.

**Table 6. Growth inhibition effect of Korean medicinal plants water and ethanol extract against *Helicobacter pylori***

Sample	Solvent	Water extract		Ethanol extract	
		Water extract	Ethanol extract	Water extract	Ethanol extract
Control		- <sup>a</sup>	- <sup>a</sup>		
<i>Radix puerariae</i>		- <sup>a</sup>	17.75±0.25 <sup>c</sup>		
<i>Glycyrrhiza uralensis</i> Fischer		16.03±0.48 <sup>c</sup>	29.75±0.25 <sup>f</sup>		
<i>Lycium chinensis</i> Miller		12.01±0.01 <sup>ab</sup>	- <sup>a</sup>		
<i>Angelica gigas</i> Nakai		- <sup>a</sup>	16.35±0.15 <sup>d</sup>		
Persimmon Leaf		- <sup>a</sup>	- <sup>a</sup>		
<i>Perilla frutescens</i>		13.00±1.50 <sup>b</sup>	13.5±0.5 <sup>c</sup>		
<i>Houttuynia cordata</i> Thunb		13.45±0.05 <sup>b</sup>	12.5±0.5 <sup>b</sup>		
<i>Acanthopanax cortex</i>		10.05±0.05 <sup>a</sup>	- <sup>a</sup>		
<i>Ulmus parvifolia</i>		- <sup>a</sup>	- <sup>a</sup>		
<i>Scutellaria baicalensis</i>		19.00±1.00 <sup>d</sup>	- <sup>a</sup>		

Values are the mean±SD.

Means with different letters in same column are significantly different at  $p < 0.05$ .

- : no inhibition.

### 7. 추출물의 액체 배양에 의한 *Helicobacter pylori*에 대한 항균 효과의 검정

*H. pylori* 액체 배지에 균주를 분주하고, 제공된 각 추출물을 주입한 후 배양하여 spectrophotometric method로 균수를 측정된 결과는 Table 7과 같이 열수 추출물의 항균 효과는 황금이 가장 강한 것으로 나타났는데 2.5 mg/mL에서 어성초와 황금이 거의 같은 항균 활성을 나타냈으나 농도가 높아질수록 항균 효과는 황금에서 훨씬 강하게 나타났으며 그 외 갈근, 차조기, 오가피에서 항균 효과가 나타났다. 에탄올 추출물의 항균 효과는 열수 추출물에 비하여 약하게 나타났으며 어성초에서 2.5 mg/mL의 농도에서 항균 활성이 나타나 농도가 높을수록 비례하여 항균 활성이 나타났으나 당귀에

**Table 7. The change of absorbance at 600nm according to dose of Korean medicinal herb water and ethanol extract**

Sample	Solvent	Absorbance at 600nm									
		Water extract(mg/mL)					Ethanol extract(mg/mL)				
		0	2.5	5	7.5	10	0	2.5	5	7.5	10
<i>Radix puerariae</i>		0	-0.015	-0.042	-0.061	-0.093	0	-0.068	0.029	0.041	0.056
<i>Glycyrrhiza uralensis</i> Fischer		0	0.031	-0.037	-0.120	-0.245	0	0.021	-0.027	-0.100	-0.145
<i>Lycium chinensis</i> Miller		0	0.088	-0.004	-0.024	-0.053	0	0.098	0.142	0.173	0.211
<i>Angelica gigas</i> Nakai		0	0.073	-0.15	-0.02	0.003	0	0.043	-0.237	-0.172	-0.068
Persimmon Leaf		0	0.03	0.014	0.01	0.009	0	0.113	-0.012	0.042	0.091
<i>Perilla frutescens</i>		0	-0.204	-0.131	-0.147	-0.194	0	0.227	0.063	0.091	0.169
<i>Houttuynia cordata</i> Thunb		0	-0.269	-0.276	-0.251	-0.246	0	-0.007	-0.099	-0.063	-0.052
<i>Acanthopanax cortex</i>		0	-0.187	-0.282	-0.29	-0.299	0	0.083	-0.033	0.012	0.145
<i>Ulmus parvifolia</i>		0	0.071	0.084	0.068	0.073	0	0.051	0.064	0.058	0.063
<i>Scutellaria baicalensis</i>		0	-0.269	-0.374	-0.375	-0.381	0	0.095	0.014	0.019	0.023

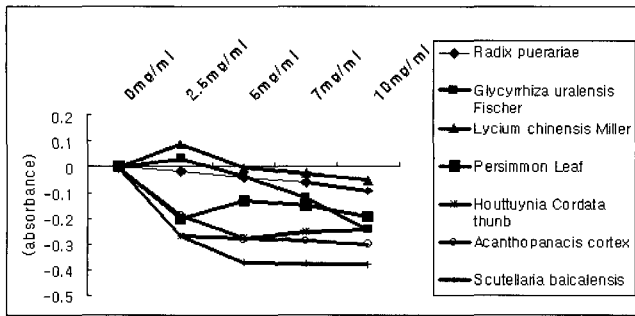


Fig. 1. The change of absorbance at 600 nm according to dose of Korean medicinal herb water and ethanol extract.

서는 5 mg/mL에서 활성이 나타나 오히려 10 mg/mL에서의 항균 활성은 5 mg/mL보다 약한 것으로 나타났다(Fig. 1).

### 요약 및 결론

10종의 약용 식물을 열수와 에탄올로 추출하여 항산화성과 *Helicobacter pylori* 균에 대한 항균 활성을 검색하였다. 총 페놀 함량은 열수 추출물 중에서는 황금이 657.18 mg/100g으로 가장 높았고 에탄올 추출물 중에서는 유근피가 755.94 mg/100g으로 가장 함량이 높았다.

전자 공여능은 열수 추출물 중에서 황금이 91%로 가장 높았으며, 에탄올 추출물 중에서 유근피가 65.03%로 가장 높았고 BHT의 32.17%보다 활성이 높았다. SOD 유사 활성은 열수 추출물 중에서 황금이 32.90%로 가장 높았고, 에탄올 추출물 중에서 유근피의 활성이 27.70%로 가장 높았으나 BHT의 35.68%보다 낮았다. TBARS는 열수 추출물 중에서는 유근피가 2.15로 가장 높은 활성을 나타냈으며, 에탄올 추출물에서는 감초의 활성이 2.17로 가장 높았으며 BHT의 값 1.32보다 높거나 유사함을 보였다. Disc 한천 방법을 이용한 *H. pylori*에 대한 항균 활성은 열수 추출물에서는 황금이 10 mg/mL 농도에서 19.00 mm의 생육 저해환을 형성하였고, 에탄올 추출물에서는 감초가 10 mg/mL 농도에서 29.75 mm의 생육 저해환을 형성하였다. 액체 배양에 의한 *H. pylori*에 대한 항균효과는 열수 추출물에서는 갈근, 차조, 여성초, 오가피, 유근피, 황금은 2.5 mg/mL 농도에서 항균 활성이 나타나 추출물의 농도가 높아 갈수록 항균 활성이 강해졌으며 그중 황금이 가장 강한 항균 활성을 보였으며 에탄올 추출물에서는 감초가 2.5 mg/mL에서는 항균 활성이 나타나지 않았으나 5 mg/mL 농도부터 항균 활성이 나타나 추출물의 농도가 높아감에 따라 비례하여 강한 항균 활성을 보였다.

약용 식물의 열수 추출물과 에탄올 추출물의 항산화성과 *H. pylori*에 대한 항균 효과를 검색한 결과 황금 열수 추출물이 항산화 활성과 항균 효과가 우수한 것으로 나타났다.

### 감사의 글

이 논문은 2004학년도 대구대학교 연구비 지원에 의하여 수행된 것으로 이에 감사드립니다.

### 문헌

- Azuma K, Nakayama M, Koshika M, Ippoushi K, Yamaguchi Y, Kohata K, Yamauchi Y, Ito H, Higashio H (1999) Phenolic antioxidants from the leaves of *Corchorus olitorius* L. *J Agric Food Chem* 47: 3963-3966.
- Baik SC, Youn HS, Chung MH, Lee WK, Cho MJ, Ko GH, Park CK, Kasai H, Rhee KH (1996) Increased oxidative DNA damage in *Helicobacter pylori*-infected human gastric mucosa. *Cancer Res* 56: 1279-1282.
- Blois MS (1958) Antioxidant determination by the use of a stable free radical. *Nature* 26: 1199-1200.
- Cha BC, Lee BW, Choi MY (1998) Antioxidative and antimicrobial effects of nut species. *Korean J Pharmacogn* 29: 28-32.
- Cha JY, Kim HJ, Chung CH, Cho YS (1999) Antioxidative activities and contents of polyphenolic compound of *Cudrania tricuspidata*. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 28: 1310-1315.
- Cho BI (1993) Toxicity of oxygen free radical and clinical use of scavengers. *Kon-kuk J Medicinal Sci* 3: 115-130.
- Choi SI, Lee YM, Heo TR (2003) Screening of hyaluronidase inhibitory and free radical scavenging activity *in vitro* of traditional herbal medicine extracts. *Korean J Biotechnol Bioeng* 18: 282-288.
- Cover TL, Blaser MJ (1995) A bacterial cause of gastritis, peptic ulcer disease and gastric cancer. *ASM News* 61: 21-26.
- Gavidson PH, Parish ME (1989) Methods for testing the efficacy of food antimicrobials. *Food Technol* 43: 148-152.
- Ham SS, Hong JK, Lee JK (1997) Antimutagenic effects of juices from edible Korean wild herbs. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 26: 155-161.
- Hentschel E, Brandstatter G, Dragosics B, Hirschl AM, Nemecek H, Schutze K, Taufer M, Wurzer H (1993) Effect of ranitidine and amoxicillin plus metronidazole on the eradication of *Helicobacter pylori* and the recurrence of duodenal ulcer. *N Engl J Med* 328: 308-312.
- Higasi GS (2004) Appraisal of antioxidative activity from vegetable. *Japan J Food Ind* 57: 56-64.
- Huang MT, Ho CT, Lee CY (1992) Phenolic compounds in

- food. In phenolic compounds in food and their effects on health II. Maple Press, New York. pp 2-7.
- Kim EY, Baik IH, Kim JH, Kim SR, Rhyu MR (2004) Screening of the antioxidant activity of some medicinal plants. *Korean J Food Sci Technol* 36: 333-338.
- Kim JD, Kim JH (1999) Development of antioxidant tea for anti-aging. *Bull Uosu Nat'l Univ* 14: 401-409.
- Koh JH, Hwang MO, Moon JS, Hwang SY, Son JY (2005) Antioxidative and antimicrobial activities of pomegranate seed extracts. *Korean J Food Cookery Sci* 21: 171-179.
- Korean Central Center Registry, Ministry of Health and Welfare, Republic of Korea (2003) Annual report of the Korean Central Center Registry.
- Kubo JJ, Lee R, Kubo I (1999) Anti-*Helicobacter pylori* agents from the Cashew Apple. *Agric Food Chem* 47: 533-537.
- Kuhnau J (1976) The flavonoids ; a class of semi essential food components ; their role in human nutrition. *World Rev Nutr Diet* 24: 117-120.
- Lee JJ, Kim SH, Chang BS, Lee JB, Huh CS, Kim TJ, Baek YJ (1999) The antimicrobial activity of medicinal plants extracts against *Helicobacter pylori*. *Koran J Food Sci Technol* 31: 764-770.
- Lim JD, Yu CY, Kim MJ, Yun SJ, Lee SJ, Kim NY, Chung IM (2004) Comparison of SOD activity and phenolic compound contents in various Korean medicinal plants. *Korean J Medicinal Crop Sci* 12: 191-202.
- Marklund S, Marklund G (1974) Involvement of superoxide anion radical in the oxidation of pyrogallol and a convenient assay for superoxide dismutase. *Eur J Biochem* 47: 469-474.
- Park YS (2002) Antioxidatives activities and contents of polyphenolic compound of medicinal herb extracts. *J East Asian Soc Dietary Life* 12: 23-31.
- Rauws EA, Langenberg W, Houthoff HJ, Zanen HC, Tytgat CN (1988) *Campylobacter pyloridis*-associated chronic active antral gastritis: a prospective study of its prevalence and the effect of antibacterial and antiulcera treatment. *Gastroenterol* 9: 33-40.
- Rhee KH, Cho MJ, Kim JB, Choi SK, Park CK, Kim YC, Choi JH, Choe KJ (1988) A Prospective study on the *Campylobacter pylori* isolated from patients of gastroduodenal inflammatory condition. *J Korean Soc Microbiol* 23: 9-16.
- Rhee KH, Youn HS, Baik SC, Lee WK, Cho MJ, Choi HJ, Maeng KY, Ko KW (1990) Prevalence of *Helicobacter pylori* infection in Korean. *J Korean Soc Microbiol* 25: 475-490.
- Tabak M, Artmom R, Potasman I, Neeman I (1996) *In vitro* inhibition of *Helicobacter pylori* by extracts of thyme. *J Apply bacteriol* 80: 667-672.
- Yee YK, Koo MW, Szeto ML (2002) Chinese tea consumption and lower risk of *Helicobacter* infection. *J Gastroenterol Hepatol* 17: 552-555.
- Yoon YS, Lee SH, Baek NI, Kim HY, Park CH (2004) Inhibition of cell growth and urease activity of *Helicobacter pylori* by medicinal plant extracts. *Korean J Biotechnol Bioeng* 19: 187-191.

(2006년 1월 10일 접수, 2006년 3월 22일 채택)