

차조기 (*Perilla frutescens* var. *acuta kudo*) 잎의 물과 에탄올 추출물의 항산화 활성

김미향¹ · 강우원¹ · 이난희² · 권대준³ · 최응규^{4,*}

¹상주대학교 식품영양학과, ²대구가톨릭대학교 식품영양학과, ³아시아대학교 한약자원학과, ⁴아시아대학교 한방식품영양학과

Antioxidant Activities of Extract with Water and Ethanol of *Perilla frutescens* var. *acuta kudo* Leaf

Mi-Hyang Kim¹, Woo-Won Kang¹, Nan-Hee Lee², Dae-Jun Kwoen³ and Ung-Kyu Choi^{4,*}

¹Department of Food Science & Nutrition, Sangju National University
²Department of Food Science & Nutrition, Catholic University of Daegu
³Department of Oriental Medicinal Resources, Asia University
⁴Department of Oriental Medicinal Food and Nutrition, Asia University

Received July 2, 2007; Accepted November 7, 2007

This study was conducted to examine antioxidant activities of *Perilla frutescens* var. *acuta* leaf. For the this purpose, DPPH radical scavenging activity, lipid oxidation inhibition, SOD-like activity, and xanthine oxidase inhibitor activity of water extract, ethanol extracts (30, 50, 70, and 95%) and the fractions obtained from these extracts were determined. The electron donating abilities of the chloroform fraction obtained from the 70% and 95% ethanol extracts were 50%, and that of the ethyl acetate fraction for all of the extracts was above 75%. In particular, the electron donating ability of the ethyl acetate fraction of the 70% ethanol extract showed the greatest activity with 200.5 ppm of RC₅₀ value. The 70% ethanol extract was most effective to inhibit the automatic oxidation of linoleic acid at 40°C storage. The highest inhibition effects appeared in the chloroform and ethyl acetate fractions of the water extract, and the 30, 50, and 70% ethanol extracts, and the highest lipid oxidation inhibiting effect of the 95% ethanol extract occurred in the hexane and acetate fractions. The SOD-like activity of the water extract was 30.3%, and the activities of the various concentration of ethanol extracts were 28-32% and the activity of the 70% ethanol extract was the highest. The SOD-like activity of the ethyl acetate fraction of the 70% ethanol extract was highest with 1,549.0 ppm of IC₅₀ value. Xanthine oxidase inhibition activity was greatest in the water extract and the activities of the ethanol extracts were 36-41.2%. The xanthine oxidase inhibition activity of the ethyl acetate fraction of the water extract was highest. In summary, we found that electron donating ability, lipid oxidation inhibition, and SOD-like activity of *Perilla frutescens* var. *acuta* leaf were greatest in the ethyl acetate fraction of the 70% ethanol extract, and xanthine oxidase inhibition activity was highest in the ethyl acetate fraction of the water extract.

Key words: *Perilla frutescens* var. *acuta kudo*, electron donating activity, SOD-like activity, xanthine oxidase

서 론

현대인들은 연장된 수명만큼이나 건강하게 살려고 하는 욕구가 점차로 높아지고 있으며, 이를 반영하는 사회현상의 하나로 건강 기능성 식품의 소비가 지속적으로 늘고 있다¹⁾. 그러나 식생활의 서구화, 공해 물질에의 노출, 스트레스 등으로 인해 여

러 가지 만성적인 질병에 위협을 받고 있으며, 다양한 원인의 누적으로 발생하는 성인병은 인체 내 활성 산소의 생성과 관련이 있다는 연구가 보고되고 있다²⁻⁵⁾. 활성 산소는 여러 가지 원인으로 발생하는데 정상적인 일상생활에서도 생겨나며 이를 방어하는 superoxide dimutase(SOD), catalase(CAT), glutathione peroxidase(GSH-Px) 등의 효소에 의해 제거된다⁶⁻⁸⁾. 그러나 과다하게 생겨나 제거되지 않은 활성 산소는 세포막의 지질과 결합하여 과산화물을 만들고 연속 반응에 의해 alcohol류, aldehyde류 및 ketone류 등을 생성함으로써 생체 내 DNA를 손상시켜 암을 유발하거나 세포노화 등을 촉진시키게 된다^{9,10)}. 현재까지

*Corresponding author
Phone: 82-53-819-8201; Fax: 82-53-819-8135
E-mail: cuk8272@hanmail.net

항산화제로 이용되고 있는 것들 중에서는 BHA와 BHT와 같은 합성 항산화제는 독성이 문제가 되고 있고^{11,12)} α -tocopherol이나 ascorbic acid와 같은 천연 항산화 물질에 대한 관심이 높으며^{13,14)}, 이들과 유사한 활성을 가진 천연 물질과 소재의 개발 등에 대한 연구가 활발하게 진행되고 있다¹⁵⁻²⁰⁾.

차조기는 깻잎과 형태가 유사하며 잎의 한쪽 면이나 양면 모두가 자색을 띠므로 자소엽이라 불리기도 한다. 이미 한약재로 한방에서는 천식, 기침, 가래, 인후염, 소화불량, 요통, 불면증, 당뇨병 등의 처방에 이용되고 있고, 일본에서는 매실 장아찌(우메보시)를 염색하는 재료로 잘 알려져 있다. 차조기 잎의 자색 성분은 anthocyanin이며, 비타민 B₁, B₂, B₆, niacin, C, E 등과 철, 칼슘, 마그네슘, 아연 등이 풍부하여 비타민과 무기질 공급 식품이다²¹⁾. 또한 항균, 항곰팡이 작용 외에 알레르기 증상을 완화시키는 효과, 항 노화 및 항암 효과 등이 다수 보고되어 있다. 윤 등²²⁾은 차조기 잎 메탄올 추출물이 *Helicobacter pylori*에 대하여 강한 항균력을 나타낸다고 하였고, 이 등²³⁾은 식품 부패 미생물과 병원성 미생물에 자소 잎 추출물이 항균력을 보인다고 하였다. Okuyama²⁴⁾의 보고에 의하면 차조기 씨유가 알리지 반응 및 노화 등에 유의적인 억제 효과를 기대할 수 있다고 하였으며, Nakayama 등²⁵⁾은 α -linolenic acid가 풍부한 차조기 씨유가 암 발병율을 효과적으로 억제한다고 보고하였다. 또 한 등²⁶⁾은 소엽 메탄올 추출물의 chloroform 분획이 세포 독성 없이 암세포를 억제시키는 것으로 보고 하였다. 차조기의 화학 성분에 관한 연구도 다수 있어서 수면 연장의 작용이 있는 것으로 알려진 perillaldehyde가 정유 성분의 50% 이상을 차지하며²⁷⁾, essential oil, flavonoids²⁸⁾, rosmarinic acid²⁹⁾, stigmasterol³⁰⁾, monoterpene glycoside^{31,32)}, cyanogenic glycoside³³⁾, diglucanoflavone³⁴⁾ 등이 보고되었다. 일부 항산화 물질 분리를 시도하여 vinyl caffeate 및 trans- ρ -menth-8en-7yl caffeate 등을 분리하였다³⁵⁾. 이러한 차조기의 기능성 성분의 분리에 관한 연구가 진행되고 있으나, 목적으로 하는 추출에 적절한 용매의 선별과 기능성 확인 및 활성 측정 등에 관한 연구는 미진하다. 본 연구에서는 차조기 추출의 용매를 달리하여 용매별 추출물의 항산화 활성을 검증하고자 물 추출물과 30, 50, 70 및 95% 에탄올 추출물 그리고 이들 각각의 추출물의 단계별 분획성분들의 전자 공여능, 지질 산화 억제능, SOD 유사 활성 및 xanthine oxidase 저해 활성을 측정하였다.

재료 및 방법

재료. 차조기 잎은 2005년 5월에 경북 칠곡에서 수확한 것을 흐르는 물로 세척하고 음건하여 보관하면서 필요시마다 분쇄하여 분말을 사용하였다.

추출 및 분획물의 조제. 건조 차조기 분말을 물과 30, 50, 70 및 95% 에탄올로 추출하였다. 즉, 물 추출은 차조기 분말 100 g에 대하여 증류수를 7~8배(v/w)로 가하여 hot plate 상에서 5~6시간 교반하면서 가열 추출하였고, 에탄올 추출은 각 농도의 에탄올 용매를 시료에 대해 7~8배(v/w)로 가하여 실온에서 48시간 동안 교반하면서 추출하였다. 추출액은 거즈로 여과하고 건더기는 다시 동일한 방법으로 2회 반복 추출한 다음 이를 모

두 합하여 다시 Whatman No. 2 여과지로 감압 여과하고 회전 감압농축기(EYELA N-1000, Japan)로 감압농축 하였다. 농축된 추출물은 증류수에 현탁시킨 다음 hexane, chloroform, ethyl acetate 및 butanol순으로 용매 분획하고 그 잔사를 물분획물이라 하였다. 추출물과 분획물은 감압 농축하여 일정한 농도로 희석하여 사용하였다.

전자 공여능. DPPH free radical 소거법에 의해 측정하였다³⁶⁾. 메탄올에 일정한 농도로 녹인 시료 0.1 ml에 0.4 mM DPPH용액 2 ml를 넣고 교반 한 후 30분간 실온의 암소에서 방치한 다음 spectrophotometer를 이용하여 517 nm에서 흡광도를 측정하였다. 전자 공여능(%)은 $(1 - \text{시료의 흡광도}/\text{대조구의 흡광도}) \times 100$ 식에 의하여 산출하였다. 이때 시료를 첨가하지 않은 대조구의 흡광도를 50% 감소시키는데 필요한 시료의 농도를 RC₅₀으로 하여 나타내었다.

지질과산화 억제 작용. Linoleic acid 25 mg을 에탄올에 녹여 기질용액으로 하였다. 0.1 M phosphate buffer(pH 7.0) 9.6 ml에 기질용액 10 ml를 넣고 추출 시료액 0.4 ml를 넣어 40°C에서 7일 동안 지질 산화를 관찰하였다. 지질의 산화 억제 효과는 Mitsuda 등³⁷⁾의 방법에 따라 실험하였다. 즉, 반응액 2 ml에 35% trichloroacetic acid(TCA) 1 ml와 0.75% thiobabutaric acid(TBA) 2 ml를 혼합하여 95°C에서 40분간 발색 반응시켰다. 이를 냉각시킨 다음 acetic acid 1 ml와 chloroform 2 ml를 첨가하고 강하게 혼합하여 반응을 정지시키고 4,000 rpm에서 5분간 원심 분리하여 그 상등액을 spectrophotometer를 이용하여 532 nm에서 흡광도를 측정하였다.

SOD 유사활성. 시료 2.0 g에 50 mM tris-cacodylic acid buffer(TCB, pH 8.2) 30 ml를 가하여 2분간 혼합한 후 4°C에서 12,000×g로 30분간 원심분리 하여 상등액을 취한 후 0.1 N NaOH과 HCl 용액으로 pH를 8.2로 조정하였다. 이 용액 0.9 ml에 24 mM pyrogallol을 포함한 10 mM HCl을 0.1 ml 혼합한 후 25°C를 유지시키면서 420 nm에서 2분간의 흡광도 변화를 측정하였다³⁸⁾. 이때 TCB 0.9 ml를 취하여 동일한 방법으로 측정된 흡광도 값의 증가를 대조구로 하였으며, EC₅₀은 pyrogallol의 자동산화를 50% 억제시키는 시료의 농도로 나타내었다. 활성도(%)는 $(\text{대조구의 흡광도} - \text{시료 첨가구의 흡광도}/\text{대조구의 흡광도 변화}) \times 100$ 으로 산출하였다.

Xanthine oxidase 저해활성. 0.1 M potassium phosphate buffer(pH 7.5) 0.6 ml에 일정 농도의 시료 0.1 ml를 가하고 1 mM xanthine(Sigma, USA)을 녹인 기질 용액 0.2 ml를 첨가하였다. 여기에 xanthine oxidase(0.2 unit/ml, Sigma, USA) 0.1 ml를 가하여 37°C에서 5분간 반응시킨 후 1 N HCl 0.2 ml를 가하여 반응을 정지시켰다. 이때 12,000 rpm으로 10분간 원심 분리하여 단백질을 제거 후 생성된 uric acid를 최대 파장 292 nm에서 흡광도를 측정하였다³⁹⁾. Xanthine oxidase의 저해활성은 $[(1 - (S_{\text{abs}} - B_{\text{abs}})/C_{\text{abs}})] \times 100$ 식에 의하여 계산하여 저해율(%)로 나타내었다. 이때 S_{abs}는 xanthine 용액에 시료와 xanthine oxidase를 첨가하여 반응 시킨 후의 흡광도, B_{abs}는 S_{abs}에서 효소액 대신에 증류수를 첨가하여 반응 시킨 후의 흡광도, C_{abs}는 S_{abs}에서 시료 대신에 증류수를 가하여 반응 시킨 후의 흡광도를 나타낸 것이다.

결과 및 고찰

전자 공여능. 차조기의 물추출물과 30, 50, 70 및 95% 에탄올 추출물의 전자 공여능을 측정하고, 이들 각각의 추출물을 hexane, chloroform, ethyl acetate 및 butanol의 순으로 분획하여 얻어진 분획물의 전자 공여능을 측정한 결과를 Fig. 1에 나타내었다. DPPH free radical 소거법은 라디칼이 감소하는 정도를 DPPH의 짙은 자색의 탈색으로 나타낸다. 물 추출물과 에탄올 추출물의 전자 공여능은 95% 에탄올 추출물이 35%로 가장 높았고, 19~35% 범위로 대체적으로 낮게 나타났다. 그러나 이들 각각의 추출물의 ethyl acetate 분획(EF)에서는 모든 추출물에서 75% 이상의 강한 전자 공여능을 보여서, 물추출물의 전자 공여능이 80, 30, 50, 70 및 95% 에탄올 추출이 각각 75, 85, 90 및 80%로 나타나 70% 에탄올 추출물의 EF에서 전자 공여능이 가장 높다. 이것은 천연 항산화 ascorbic acid의 전자 공여능 88% 보다 높은 결과이다. Chloroform 분획(CF)에서는 70%와 95% 에탄올 추출의 CF에서 50% 이상의 비교적 높은 전자 공여능을 갖는 것으로 보이며 50% 이하의 에탄올 추출물이나 물추출물의 CF에서도 항산화 성분이 약하지만 용출되어 지는 것으로 사료된다. Hexane 층 분획(HF)에서는 95% 에탄올 추출물의 HF가 19% 정도이나 전자 공여능이 매우 낮거나 없다고 보여진다. Butanol 분획(BF)에서는 항산화능이 40% 미만으로 강하지는 않으나 물추출물의 BF에서 39.5%로 가장 높았고, 에탄올 추출물에서도 에탄올 혼합율이 낮을수록 항산화능이 높아지는 경향을 나타내었다. 따라서 BF의 항산화 성분은 수용성이 강한 것으로 사료된다. 단계적 분획 후 잔사로 볼 수 있는 물층(WF)은 10% 이하의 낮은 활성을 나타내었다. 결과적으로 차조기 물과 에탄올 추출물의 전자 공여능은 높지 않으나, 이들 추출물의 chloroform, ethyl acetate 및 butanol 분획물에서 50% 이상의 높은 활성을 보였으며, 70% 에탄올 추출물의 ethyl acetate 분획이 90% 이상의 높은 활성을 보였다. Table 1은 가장 높은 활성을 보인 70% 에탄올 추출물의 chloroform, ethyl acetate와 butanol 분획물을 125~2,000 ppm의 농도에서 전자 공여능을 측정하였으며, 라디칼 50% 소거에 요구되는 농도를 확인 한 결과이다. 농도를 증가시킬수록 전자 공여능은 유의적으로 증가하는 것으로 나타났으며 chloroform분획과 ethyl acetate 분획의 RC₅₀은 각각 827.6 ppm과 200.5 ppm으로 확인 되었다.

지질과산화 억제 작용. 지질산화와 관련한 항산화 효과를 검토하기 위하여 linoleic acid에 차조기 추출물과 분획물을 가하

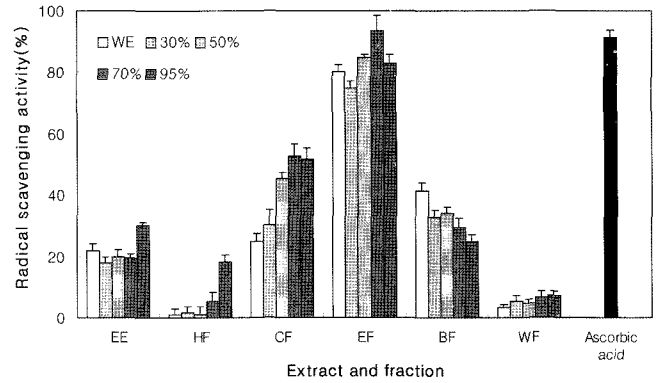


Fig. 1. Electron donating abilities of water and ethanol extract and its fractions derived from *Perilla frutescens* var. *acuta kudo* leaf. The concentration of all tested samples and ascorbic acid was 1,000 ppm. EE: ethanol extract, HF: hexane fraction, CF: chloroform fraction, EF: ethyl acetate fraction, BF: butanol fraction, WF: water fraction.

여 40°C에서 7일간 TBA값의 변화를 측정한 결과는 Fig. 2에 나타내었다. 저장 온도 40°C에서 linoleic acid의 자동산화는 저장 1일에 TBA값이 0.101을 나타내었으며 4일에는 0.214로 TBA값이 2배 이상 증가하였고, 7일에는 0.295 이었다. 물추출물(WE)의 TBA 값은 저장 7일 기간 내내 대조구보다 낮은 27~38% 정도의 억제능을 보였다. 분획물에서는 hexane 분획과 물 분획은 TBA값이 대조구와 큰 차이 없는 것으로 나타났으나 ethyl acetate 분획이 7일 까지 60%의 저해 효과를 나타내어 지질 산화를 억제하는 효과가 가장 높았다. Butanol 분획(BF)은 5일에 48.2%, chloroform 분획(CF)은 4일에 52.3%의 저해효과를 보였으나 이후 저해율은 낮아졌다. 30% 에탄올 추출물은 저장 5일까지 38.9%의 저해를 나타내었으며, 이후 저해율은 감소하여 7일에 22.7%로 나타났다. 분획물은 chloroform, ethyl acetate 및 butanol 분획물에서 7일 동안 무첨가보다 32.2-54.2%의 저해효과를 보였으며 그 중 ethyl acetate 분획이 저장 기간 내 저해율이 가장 높았다. 50% 에탄올 추출물은 4일에 57.1%의 저해효과를 보였으며, 5-7일까지 41.7~51.4%의 억제 효과를 유지하여 지질산화를 효과적으로 지연하는 것으로 나타났다. 50% 에탄올 추출의 분획물에서는 CF와 EF 및 BF에서 4일째에 TBA 값이 각각 0.102, 0.074 및 0.084로 무첨가의 0.214보다 52.3~65.4% 낮았으며 CF와 EF 분획은 저장 7일까지 50% 이상의 산화 억제 효과를 보였다. HF는 5일에 37.8%의 저해 효과를 나타내었으나 7일에 15.9%로

Table 1. Electron donating abilities and RC₅₀ values of 70% ethanol extract and its fractions derived from *Perilla frutescens* var. *acuta kudo* leaf

Concentration (ppm)	Electron donating abilities of 70% EtOH extract and fractions (%)			
	Extract	CHCl ₃ fraction	EtOAc fraction	BuOH fraction
125	5.2	10.2	29.3	2.6
250	5.9	19.5	52.9	5.9
500	8.9	38.7	79.3	12.4
1,000	19.4	52.5	93.4	28.3
2,000	26.7	58.9	98.7	29.6
RC ₅₀	>2,000	827.6	200.5	>2,000

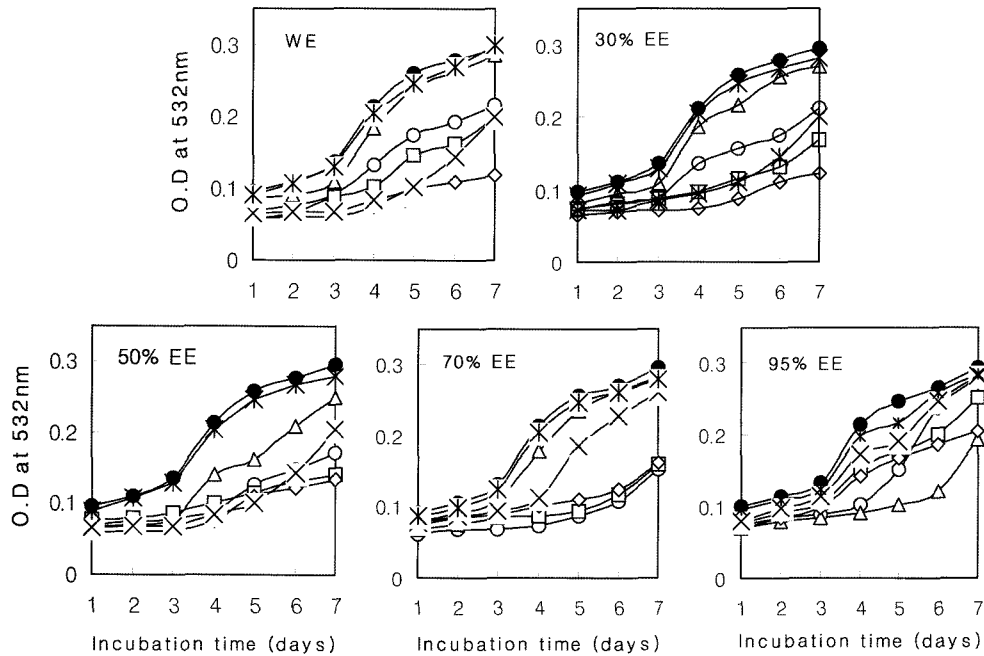


Fig. 2. Changes in TBA value of water and ethanol extract and its fractions decribed from *Perilla frutescens* var. *acuta kudo* leaf. Symbols; ●-●: control, ○-○: ethanol and water extract, △-△: hexane-fraction, □-□: chloroform fraction, ◇-◇: ethyl acetate fraction, ×-×: butanol fraction. *-*: water fraction.

극히 낮아졌다. 70% 에탄올 추출물은 저장 4일에 TBA값이 0.072로 급속한 산화가 진행되어 0.213의 값을 보인 무첨가구와 비교하여 66.2% 낮은 값을 나타내었으며, 저장 5일과 7일까지도 지속적으로 억제되어 66.1%와 50.1%의 지연효과를 나타내었다. 70% 에탄올 추출의 분획물에서는 CF와 EF에서 상당히 높은 지질 억제효과가 나타났는데 7일째 까지도 50%의 억제 효과를 나타내었다. Butanol 분획(BF)에서는 4일에 0.112로 무첨가구보다 47.4%의 낮은 TBA값을 보였으나 이후 급격하게 증가하여 6~7일 사이에는 무첨가구보다 15.9~11.5%로 지연효과를 빠르게 상실하는 것으로 나타났다. 반면 HF와 WF에서는 억제 효과가 낮았다. 95% 에탄올 추출에서는 저장 4일까지 TBA값이 0.103으로 51.87% 억제 되었으며 이후 TBA값이 급격히 증가하여 6일 이후에는 무첨가구와 별 차이가 없었다. 95% 에탄올 추출의 분획물에서는 모든 분획에서 5일까지 무첨가구보다 낮은 TBA값을 나타내어 지질산화를 억제하는 것으로 나타났다. Hexane 분획물(HF)이 저장 6일까지 TBA값이 0.121로 무첨가구 보다 58.70% 낮은 값으로 2배의 지연효과를 보여 분획물 중 산화억제효과가 가장 높았다. Ethyl acetate 분획(EF)은 4일에 TBA가 다소 증가하는 경향을 보였으나 이후에도 산화가 서서히 진행되는 양상으로 7일까지 무첨가구보다 지질산화가 30%정도 억제 효과를 유지하여 HF첨가구와 함께 가장 낮은 것으로 확인 되었다. Chloroform 층(CF)은 6일까지 24.7~27.9% 산화 억제 효과를 보였으며 butanol 층도 5일 까지 20.0~22.27%의 유의적인 지연효과를 나타내었다. 물층은 대조구보다 낮은 값을 보이나 큰 차이는 없어 산화지연효과를 보이지는 않는 것으로 나타났다. Butanol 층의 산화억제 성분은 95%와 70%에서는 약하지만 50% 이하의 에탄올 추출과 물 추출에서 높은 저해효과를 보였다. 결과적으로 차조기 물추출과

에탄올 추출물은 linoleic acid의 자동산화를 억제시키는 것으로 나타났으며, 특히 70% 에탄올 추출이 추출물 중에서 가장 높은 저해 효과를 보이는 것으로 나타났다. 또 지질 산화 억제 효과를 나타내는 물질은 물 추출과 30, 50 및 70% 에탄올 추출의 경우 chloroform과 ethyl acetate 가용성분이었으며, 95% 에탄올 추출은 hexane과 ethyl acetate 가용성분인 것으로 나타났다.

SOD 유사활성. 체내에서 유해산소로부터의 공격을 방어하는 방법은 과산화산소의 생성을 근원적으로 억제하거나 이미 생성된 유해산소를 catalase(CAT), superoxide dimutase(SOD)와 glutathione peroxidase(GPX) 같은 효소에 의해 제거하는 것이다. SOD는 체내에서 암, 치매, 수전증 등 여러 질병의 원인이 되는 활성 산소를 제거하는 단백질로 1960년대 처음 발견된 이후 현재까지 구리, 아연 이온을 함유한 SOD, 철 이온 함유 SOD, 망간 이온 함유 SOD 등 3종류의 효소가 존재하는 것으로 알려져 있는 세포내 효소이다. 호흡에 의해 생성되는 superoxide를 과산화수소(H_2O_2)로 전환시키는 반응을 촉매 하는 산화 효소로 분자량이 30 KDa 이상으로 세포내로 쉽게 흡수되지 못하므로 SOD 활성을 갖는 저분자 물질이나 유사 물질에 대한 연구가 활발하다⁴⁰. Fig. 3은 차조기 추출물의 SOD 유사 활성 측정 결과를 나타낸 것으로, 물 추출물은 30.3%의 활성을, 30~95% 에탄올 추출물은 28~32% 정도의 SOD 유사 활성을 나타내었으며 특히, 70% 에탄올 추출물이 32.4%로 가장 활성이 높았다. 추출물의 분획에서는 chloroform과 ethyl acetate 분획물에서 11.5~38.8%의 활성을 나타내었는데 chloroform 분획은 11.3~15.1%의 활성을 보인 반면 ethyl acetate 분획이 30% 이상의 활성을 보여 가장 높았다. Chloroform 분획에서는 70% 에탄올에서 추출한 것이 15.1%로 다른 농도의 ethanol 추

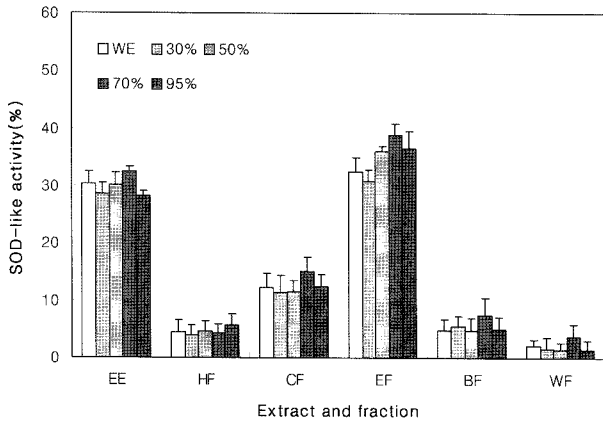


Fig. 3. SOD-like activities of water and ethanol extract and its fractions derived from *Perilla frutescens* var. *acuta kudo* leaf. Concentration of extract and fraction was 1,000 ppm. EE: ethanol and water extract, HF: hexane fraction, CF: chloroform fraction, EF: ethyl acetate fraction, BF: butanol fraction, WF: water fraction.

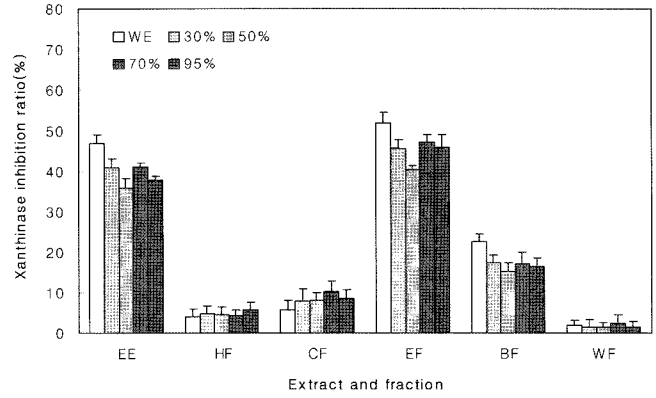


Fig. 4. Xanthine oxidase inhibitory activity of water and ethanol extract and its fraction derived from *Perilla frutescens* var. *acuta kudo* leaf. Concentration of extract and fraction was 1,000 ppm. EE: ethanol and water extract, HF: hexane fraction, CF: chloroform fraction, EF: ethyl acetate fraction, BF: butanol fraction, WF: water fraction.

출이나 물추출보다 다소 많이 추출된 것으로 보인다. Ethyl acetate 분획은 추출용매 모두에서 30% 이상의 활성을 나타내었는데 50, 70 및 95% 에탄올 추출에서 각각 35.9, 38.8, 36.6%로 나타나 70% 에탄올 추출의 분획물이 활성이 가장 높았으며, 30% 에탄올 추출이 가장 활성이 낮았다. Hexane, butanol 및 물 분획에서는 SOD 유사 활성이 10% 미만으로 매우 낮아서 활성 물질이 hexane이나 butanol 가용성분은 아닌 것으로 판단된다. 차조기의 SOD 유사활성은 물추출물과 에탄올 추출물이 1,000 ppm 농도에서 30% 정도의 활성을 나타내며 활성 물질은 chloroform과 ethyl acetate 가용 성분인 것으로 보이며, 70% 에탄올에 가장 효과적으로 추출되는 것으로 나타났다. SOD 유사 활성이 가장 높은 70% 에탄올 추출물의 ethyl acetate 분획의 농도를 125~2,000 ppm까지 높여 SOD값의 변화를 관찰한 결과는 Table 2에 나타내었다. 분획물의 농도가 증가함에 따라 활성도 증가하였으나, 1,000 ppm 이상의 농도에서는 활성이 크게 증가하지 않았다. ethyl acetate 분획물은 1,000 ppm 농도에서 38.8%, 2,000 ppm에서는 59.2로 활성이 크게 증가하는 경향을 나타내었다.

Xanthine oxidase 저해활성. Xanthine oxidase는 purine 대사에 관여하는 효소로서 대사산물인 xanthine 또는 hypoxanthine으로부터 urea를 형성하며, 결정의 urate가 혈장 내에서 증가되면 골절에 축적되거나 신장에 침착하여 고통스러운 통풍과 신장질

환을 일으킨다. 이때 xanthine oxidase는 산소 분자를 수소 수용체로 이용하므로 이를 저해하게 되면 free radical의 생성이 억제되어 항산화, 항노화 등의 효과를 기대할 수 있다. 차조기 에탄올 추출물의 xanthine oxidase 활성 저해율은 Fig. 4에서와 같이 30% 에탄올 추출물이 41%, 50% 에탄올 추출물이 36%, 70% 에탄올 추출물이 41.2% 및 95% 에탄올 추출물이 37.9%로 나타나 에탄올 농도와는 유의적인 관계를 보이지는 않았으며, 70% 에탄올 추출물이 가장 높은 저해 활성을 보였다. 물 추출물에서는 46.9%로 추출물 중 가장 높은 활성을 보였다. 이들 각각의 분획물의 효소 활성 저해능은 hexane, chloroform 및 물분획은 10% 미만의 낮은 활성을 보인 반면 butanol 분획물에서 24.6~15.4%, ethyl acetate 분획물이 47.1~36.8%로 다른 분획보다 높은 활성을 가지는 것으로 ethyl acetate 분획물에서는 50% 에탄올 추출물의 저해능이 가장 낮고 30, 70 및 95% 에탄올 추출물의 저해활성은 45.7~47.1%로 비슷하였으며, 물 추출물의 활성이 52%로 가장 높았다. 저해활성이 가장 높은 것으로 나타난 물 추출물과 ethyl acetate 분획과 butanol 분획물의 농도를 달리하여 xanthine oxidase 저해 활성을 측정된 결과는 Table 3에 나타내었다. 분획물의 농도 증가에 따라 저해율도 증가하는 경향을 보였으며 ethyl acetate 분획은 1,000 ppm 이상의 농도에서는 50% 이상의 활성을 보였다. 차조기의 xanthine 산화 효소의 활성을 저해하는 물질은 물을 이용하여

Table 2. SOD-like activities of 70% ethanol and ethyl acetate fraction derived from *Perilla frutescens* var. *acuta kudo* leaf

Concentration (ppm)	SOD-like activities of 70% EtOH (%)	
	Extract	EtOAC fraction
125	3.2	8.4
250	5.6	18.9
500	12.4	30.5
1,000	32.4	38.8
2,000	39.2	59.2
EC ₅₀	>2,000	1,549.0

Table 3. Xanthine oxidase inhibition activities of water extract and its ethyl acetate fraction derived from *Perilla frutescens* var. *acuta kudo* leaf

Concentration (ppm)	Xanthine oxidase inhibitor activities of water extract (%)		
	Extract	EtOAC fraction	BuOH fraction
125	5.2	18.4	5.9
250	10.5	21.5	10.2
500	32.5	39.7	13.5
1,000	46.9	53.0	22.6
2,000	49.4	62.3	28.4

추출하는 것이 가장 빠르게 추출할 수 있는 것으로 보이며, 저해 활성 물질은 ethyl acetate와 butanol 가용성분인 것으로 사료된다.

초 록

본 연구에서는 차조기의 30, 50, 70, 95% 에탄올 및 물추출물과 분획물의 전자 공여능, 지질산화 억제능, SOD 유사활성 및 xanthin oxidase 저해 활성을 측정하였다. 추출물의 전자 공여능은 18~30% 정도로 낮았으나, 분획물에서는 95%과 70% 에탄올 추출물의 chloroform 분획이 50% 수준의 활성을 보였고, ethyl acetate 분획에서는 모든 추출용매에서 75% 이상의 활성을 보였다. 특히, 70% 에탄올 추출물의 ethyl acetate 분획물이 93.4%로 가장 높은 활성을 보였으며 RC_{50} 에 요구되는 농도는 200.5 ppm이었다. 저장 온도 40°C에서 linoleic acid의 자동산화율 가장 효과적으로 억제하는 것으로 나타난 추출물은 70% 에탄올 이었다. 분획물의 경우, 95% 에탄올추출물은 hexane과 ethyl acetate 가용성분이 그 외 에탄올 추출과 물추출은 chloroform과 ethyl acetate 가용성분이 가장 높은 억제효과를 나타내었다. SOD 유사활성은 에탄올 추출물이 28~32%, 물추출물이 30.3% 이었으며, 70% 에탄올 추출물이 32.4%로 가장 높았다. 분획물에서는 70% 에탄올 추출물의 ethyl acetate 가용분이 38.8%로 활성이 가장 높았으며 IC_{50} 에 요구되는 농도는 1549.0 ppm이었다. Xanthine oxidase 저해 활성은 에탄올추출물이 36~41.2%이었으며, 물추출물이 46.9%로 추출물중 가장 높았다. 분획물에서는 물추출의 ethyl acetate 가용분이 1,000 ppm 농도에서 52%의 활성을 보여 가장 높았다.

Key words: *Perilla frutescens* var. *acuta kudo*, electron donating activity, SOD-like activity, xanthine oxidase

참고문헌

- Albertazzi, P. and Steel, S. A. (2002) Clifford E & Bottazzi M. Attitudes towards and use of dietary supplementation in a sample of postmenopausal women. *Climacteric* **5**, 374-382.
- Kedziora, J., and Bartosz, G. (1988) Down's syndrome: a pathway involving the lack of blance of reactive oxygen species. *Free Radic. Biol. Med.* **4**, 317-330.
- Cross, E. E., Halliwell, B., Borish, E. T., Pryor, W. A., Ames, B. N., Saul, R. L. and McCord, J. M. (1987) Oxygen radicals and human disease. *Ann. Intren. Med.* **107**, 536-545.
- Sozmen, E. Y., Tanyakin, T., Onat, T., Kufay, F. and Erlacin, S. (1994) Ethanol-induced oxidative stress and membrane injury in rat erythrocytes. *European J. of Clinical Chem. and Clinical Biochem.* **32**, 741-744.
- Frei, B. Natural antioxidants in uman and disease. Academic Press. 25-55 p.
- Mavelli, I., Ciriolo, M. R., Ratilio, G., De S. P., Castorino, M. and Stabile A. (1982) Superoxide dimutase, glutathion peroxidase and catalase in oxidative hemolysis. A study of Fanconi's anaemia erythrocytes. *Biochem. Biophys. Res. Comm.* **106**, 286-290.
- Blois, M. S., (1958) Antioxidant determination by use of a stable free radical. *Nature* **26**, 1199-1200
- Sen, C. K. (1995) Oxidants and antioxidants in exercise. *Appl. Physiol.* **79**, 675-692.
- Fridorich, I. (1978) The biological activity of oxygen radicals. *Science* **201**, 875-881.
- Imlay, I. A. and Linn, S. (1986) DNA damage and oxygen radical toxicity. *Science* **240**, 1302-1309.
- Branen, A. L. (1991) Toxicological and biochemistry of butylated hydroxyanisole and butylated hydroxytoluene. *J. Am. Oil Chem. Soc.* **52**, 59-63.
- Barlow, S. M. (1990) Toxicological aspects of antioxidants used as food additives. In Food Antioxidant. Hudson BJJ, ed. Elsevier, Amsterdam. 253-307 p.
- Elliott, J. G. (1999) Application of antioxidant vitamins in foods and beverages. *Food Tech.* **53**, 46-48.
- Yamamoto, k. and Niki, E. (1988) Prooxidant effect of α -tocopherol. *Biochem. Biophys. Acta* **958**, 19-23.
- Nam, S. H. and Kang, M. Y. (2000) Screening of antioxidative activity of hot-water extracts from medicinal plants. *J. Korean Soc. Agric. Chem. Biotechnol.* **43**, 141-147,
- Kim, S. M., Cho, Y.S. and Sung, S. K. (2001) The antioxidant ability and nitrite scavenging ability of plant extracts. *Korean J. Food Sci. Technol.* **33**, 626-632.
- Yang, S. A., Im, N. K. and Lee, I. S. (2007) Effects of methanolic extract from *Salvia miltiorrhiza* Bunge on *in vitro* antithrombotic and antioxidative activities. *Korean J. Food Sci. Technol.* **39**, 83-87.
- Yoon, G. A. (2006) Effect of garlic supplement and exercise on plasma lipid and antioxidant enzyme system in rats. *Korean Food Nutr. Soci.* **39**, 3-10.
- Han, S. H., Woo, N. Y., Lee, S. D. and Kang, M. H. (2006) Antioxidative and antibacterial activities of endemic plants extracts in Korea. *Korean J. Medicinal Crop Sci.* **14**, 49-55.
- Kim, H. Y., Park, Y. K., Kim, T. S. and Kang, M. H. (2006) The effect of green vegetable drink supplementation on cellular DNA damage and antioxidant status of Korean smokers. *Korean Food Nutr. Soci.* **39**, 18-27
- Kim, M. H., Lee, M. H., Lee, N. H., Kwon, D. J. and Choi, U. K. (2007) Antimicrobial activity of aqueous ethanol extracts of *Perilla frutescens* var. *acuta* leaf. *J. of the Kor. Soc. of Food Culture.* **22**, 182-189
- Yoon, Y. S., Lee, S. H., Baek, N. I., Kim, H. Y. and Park, C. H.. (2004) Innibition of Cell Growth and Urease Activity of *Helicobacter pylori* by Medicinal plant Extracts. *Korean J. Biotechnol. Bioeng.* **19**, 187-191.
- Lee, E. S. and Seo B. I. (2005) Growth inhibiton of perilla frutescens var. acuta extract. *Kor. J. Herbology.* **20**, 83-89.
- Okuyama, H. (1992) Minium requirements of n-3 and n-6 essential fatty acids for the function of central nervous system and for the prevention of chronic disease. *Proceedings of the Society for Experimental Biology & Medicine* 174-176.
- Nakayama, M., Ju, J. J. R., Sugano, M., Hirose, N., Ueki, T., Doi, F. and Eynard, A. R. (1993) Effect of dietary fat and cholesterol on dimethylbenz. (a)-anthracene-induced mam-mary tumorigenesis in Sprague-Dawley rats. *Anticancer Res.* **13**,

- 6791-6798.
26. Han, D. S., Kim, Y. I., Choi, K. E., Kwang, J. S. and Baek, S. H. (1998) Development of anticancer agents from Korean medicinal plants. Part 7. Cytotoxic activity of the chloroform soluble fraction of *Perilla frutescens* against human oral epitheloid carcinoma cells. *Environmental Mutagens & Carcinogens*. **18**, 37-42.
27. Sugaya, A., Tsuda, T. and Obuchi, T. (1981) Pharmacological studies of perillae hera I. neuropharmacological action of water extract and perillaldehyde, *Yakugaku Zasshi*. **101**, 642-648.
28. Kameoka, H. and Nishikawa, K. (1976) The composition of the essential oil from *Perilla frutescens* L. Brit. var. *acuta* Thunb. *Kudo* and *Perilla frutescens* L. Brit. var. *acuta thunb. kudo* f. *discolor* Makino. *Nippon Nogeikaku Kaishi*. **50**, 345-349.
29. Okuda, T., Hatano, Y., Agata, I. and Nishibe, S. (1986) The components of tannic plants in Japan. *Yakugaku Zasshi*. **106**, 1108-1111.
30. Honda, G., Koezuka, Y., Kamisako, W. and Tabata, M. (1986) Isolation of sedative principles from *perilla frutescens*. *Chem. Pharm. Bull.* **34**, 1672-1677.
31. Fujita, T., Nakayama, M. and Perilloside, A. (1993) A monoterpene glucoside from *perilla frutesens*. *Phytochem.* **34**, 1545-1548.
32. Fujita, T. and Nakayama, M. (1992) Monoterpene glucoside and other constituents from *perilla frutescens*. *Phytochem.* **31**, 3265-3267.
33. Aritomi, M., Kamura, T. and Kawasaki, T. (1985) Cyanogenic glycosides in leaves of *Perilla frutescens* var. *acuta*. *Phytochem.* **24**, 2438-2439.
34. Yoshida, K., Kameda, K. and Kondo, T. (1993) Diglucanoflavones from purple leaves of *Perilla acimoides*. *Phytochem.* **33**, 917-919.
35. Tada, M., Matsumoto, R., Yamaguchi, H. and Chiba, K.. (1996) Novel antioxidants isolated from *Perilla frutescens* Britton var. *crispa* (Tunb), *Biosci. Biotech.* **60**, 1093-1095.
36. Bios M. S. (1958) Antioxidant determination by the use a stable free radical. *Nature* **26**, 1199-1200.
37. Mitsuda H, Yasumoto K, Iwami K. (1966) Antioxidative action of indol X compounds during the antioxidation of linoleic acid. *Eiyo to shokuro.* **19**, 210-214.
38. Marklund, S. and Marklund, G. (1974) Involvement of superoxide anion radical in the oxidatin of pyrogallol and convenient assay for superoxide dismutase. *Eur. J. Biochem.* **47**, 468-474.
39. Stripe, F. and Della, C. 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**, 3855-3863.
40. Cho, M. J., Park, M. J. and Lee, H. S. (2007) Nitrite scavenging ability and SOD-like activity of sterol glucoside from *Chrysanthemum coronarium* L. var. *spatiosum*. *Korean J. Food Sci. Technol.* **39**, 77-82.