

제주도 자생식물 메탄올 추출액의 항산화 및 항균효능 검색

문영건 · †허문수

제주대학교 해양과학대학 해양과학부

(접수 : 2006. 12. 5., 게재승인 : 2007. 4. 19.)

Screening of Antioxidative and Antibacterial Activity from Methanol Extracts of Indigenous Plants, Jeju-Island

Young-Gun Moon and Moon-Soo Heo†

Faculty of Marine Science, Cheju National University, Jeju 690-756, Korea

(Received : 2006. 12. 5., Accepted : 2007. 4. 19.)

In this study, we investigated the biological activity of antioxidant and antibacterial activity of Indigenous Plants, Jeju-Island., which, using methanol were extracted. The reducing activity on the 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) radical and $O_2^{\cdot -}$ and $\cdot OH$ radical scavenging potential, in search for antioxidation activities of Indigenous Plants, were sequentially screened. Among the ten plant parts, *Prunella vulgaris* var. *aleutica* Fernald. flower had the highest antioxidative activity. 80% Methanol extracts of ten indigenous plants were screened for antibacterial activity 13 fish pathogenic bacteria by agar diffusion method. Among the various 80% Methanol extracts, the *Prunella vulgaris* var. *aleutica* Fernald, *Gleichenia japonica* Spreng, *Microlepia marginata* (panzer) Christ., *Perilla frutescens* var. *japonica* Hara. showed relatively strong antibacterial activities in the order.

Key Words : Antioxidant, antibacterial activity, indigenous plants, methanol extracts

서론

최근 천연물을 대상으로 한 연구가 활발히 수행되면서 천연물에 함유되어 있는 2차 대사산물이 생리활성물질로서 주요 관심사가 되고 있으며 특히, 항산화성 물질에 대한 연구가 활발히 진행되고 있다. 지구상에서 건조 대기의 21%를 차지하고 있는 산소는 호기성 생물에게 없어서는 안 되는 에너지 획득 요소이다. 이렇듯 생물에 있어 생명 유지에 절대적으로 필요한 요소이지만 식품 또는 동물의 세포 등과 같은 여러 유기물질에 대해 산화 반응을 유발시켜 많은 부작용을 일으키는 양면성을 가지고 있다(1). 즉, 안정한 분자 상태인 기저삼중항산소 (3O_2)가 체내 환원 대사, 화학약품, 공해물질 등 각종 물리적, 화학적, 환경적 요인에 의해 superoxide anion radical ($O_2^{\cdot -}$), 과산화수소 (H_2O_2), hydroxyl radical ($OH\cdot$) 및 지질 peroxide (ROOH)나 여기서 생성되는 free radical (ROO \cdot , ROS) 등과 같은 반응성이 매우 큰 활성산소로 전환되면 free radical로 인한

oxidative stress가 생체 내에 가해져서 노화나 암등의 여러 가지 질병의 원인이 된다(2, 3). 또한 정상적인 세포에서도 대사과정 중에 어느 정도의 활성산소는 생성되고 있으며 생체 내에서는 이들에 대한 방어기구로서 SOD (superoxide dismutase), catalase, peroxidase 등의 항산화 효소 및 tocopherol, glutathione, polyphenol, 요산, Se 등의 항산화 물질이 존재하고 있어 스스로를 보호하고 있다(4). 이렇듯 생체내방어기구가 존재하고 있으나 이러한 방어기구에 이상이 발생되거나 생체방어계의 용량을 초과하는 물리적, 화학적 요인들이 생길 경우 산화적 스트레스가 생기게 된다. 이러한 문제를 해결하기 위해 오래전부터 폐놀계 합성 항산화제로 BHA (Butylated Hydroxy Anisole), BHT (Butylated Hydroxy Toluene) 등과 같은 항산화능력이 우수한 합성 항산화제가 개발되어 이용되어 왔으나, 이들을 실험동물에 고농도로 투여할 경우에는 간 비대증이 유발되거나 발암성을 나타내는 것으로 알려져 있다. 특히 BHT는 여러 연구 결과를 통하여 실험동물의 간에서 microsomal enzyme activity를 증가시킨다는 것이 알려지면서, 이들 폐놀계 합성항산화제의 안전성에 대하여 논란이 제기되어 현재에는 그 사용량이 법적으로 규제되어 있다(5-7). 따라서 인체에 무해하고 항산화력이 우수한 천연 항산화제에 관한 연구가 오래전부터 진행되어 왔으며, 지금까지 보고된 대부분

† Corresponding Author : Faculty of Applied Marine Science, Cheju National University, Jeju 690-756, Korea

Tel : +82-64-754-3473, Fax : +82-64-756-3493

E-mail : msheo@cheju.ac.kr

의 천연 항산화제는 식물 유래이다. 대부분의 식물들의 항산화능 물질들은 phenolic 및 flavonoid 계통의 화합물로 알려져 있으며, 특히 식물계 내에는 대부분 phenolic 화합물로 보고되어져 있다(8). 지구상 현화식물 250,000종중에 약 20% 정도가 각 지역의 민속약용식물로서 연구되어지고 있다(9). 우리나라의 경우 약 4,500여종의 고등식물이 존재하고 있다고 추정되고 있으며(10), 제주도는 그 중 1870여종의 자생식물이 있다.

본 연구에서는 우리나라 식품의약품안전청에 식품원료로 사용 가능한 식물로 분류되어 있는 식물을 포함, 주변에서 흔히 자생하는 야생 잡초류의 식물에서 항산화 효과 및 어류질병 미생물에 대한 항균효과를 메탄올 추출액으로 그 특성을 조사하였다.

재료 및 방법

실험재료

본 실험의 공시 재료로 사용된 식물은 Table 1과 같이 제주도 서부지역과 동부지역의 목초지 및 농지 주변 길가에서 흔히 자라는 식물을 위주로 2005년 8월부터 10월에 채집 하였으며, 식물분류는 한국식물도감(11)과 한국의 자원식물 I (12) 그리고 제주식물도감 인터넷 사이트 (<http://www.nfc.co.kr>)를 참고하였다.

Table 1. List of plants used for antioxidative and antibacterial activity test

Scientific name	Korean name	Family	Part used by
<i>Microlepia marginata (panzer) Christ.</i>	돌잔고사리	Dennstaedtiaceae	Leaf
<i>Gleichenia japonica Spreng</i>	풀고사리	Gleicheniaceae	Leaf
<i>Arisaema ringens (Thunb.) Schott</i>	큰천남성	Araceae	Root
<i>Prunella vulgaris var. aleutica Fernald</i>	두메꿀풀	Labiatae	Flower Leaf
<i>Boehmeria pannosa Nakai et Satake</i>	왕모시풀	Urticaceae	Leaf Fruit
<i>Polygonum aviculare L.</i>	마디풀	Polygonaceae	Leaf + Stem
<i>Perilla frutescens var. japonica Hara.</i>	들깨	Labiatae	Leaf Fruit

시료조제

생체로 채집된 식물은 물을 이용하여 흡과 같은 이물질은 제거한 후 바람이 통하는 음지에서 4일 이상 건조하여 수분을 충분히 제거하였다. 음건된 식물체는 각 부위별로 자른 다음 mixer를 이용하여 미세하게 마쇄하여 실험에 사용하였다.

80% 메탄올 400 ml 당 40 g의 식물시료를 혼합하여 상온에서 24시간 동안 정치시킨 후 Whatman No. 2 여과지를 사용하여 1차 여과과정을 거친 후 pore size 0.45 μ m syringe용 멸균 필터를 사용하여 무균적으로 식물 80% 메탄올 추출액을 조제하였다. 조제된 시료는 4°C 냉장 보관하면서 실험에 사용하였다.

항균실험균주

본 실험에 사용된 균주는 어류 질병 미생물로서 한국유전자은행인 KCTC (Korean Collection For Type Culture)에서 그람음성균 12종과 그람양성균 1종을 분양받아(Table 2) 실험에 사용하였다. 균 생육배지로는 Table 2에 명시되어 있는 배지를 사용하여 전 배양하였다.

Table 2. List of strains, media and optimum temperature used for antibacterial activity

	Strains	Media	Optimum temp.(°C)
Gram (+)	<i>Staphylococcus aureus</i> KCTC 1916	BHIA	37
	<i>Vibrio fluvialis</i> KCTC 2473	MA	30
	<i>Vibrio anguillarum</i> KCTC 2711	MA	25
	<i>Vibrio cholerae</i> KCTC 2715	MA	25
	<i>Vibrio harvey</i> KCTC 2717	MA	25
	<i>Vibrio salmonicida</i> KCTC 2726	Trypticase Soy Agar with 1% NaCl	30
Gram (-)	<i>Vibrio tubiashii</i> KCTC 2728	MA	25
	<i>Vibrio furnissii</i> KCTC 2731	MA	37
	<i>Vibrio pelagius</i> KCTC 2732	MA	37
	<i>Vibrio mimicus</i> KCTC 2737	Nutrient Agar	37
	<i>Vibrio rotiferianus</i> KCTC 12125	MA	25
	<i>Vibrio parahaemolyticus</i> KCTC 2471	MA	30
	<i>Edwardsiella tarda</i> KCTC 12267	Nutrient Agar	25

KCTC : Korean Collection For Type Culture

항균활성 측정

어류 질병 미생물에 대한 자생식물 80% 메탄올 추출액의 항균활성 측정은 Murry 등의 방법(13)을 응용하여 측정하였다. 전 배양되어진 공시균을 Muller Hinton broth (Difco, USA)에 12시간 정도 배양하여 배양액의 탁도를 MacFarland turbidity No. 0.5가 되도록 조절한 후 멸균된 면봉을 사용하여 Muller Hinton agar (Difco, USA)에 회전하면서 배지 전면에 균액을 골고루 도말하였다. 항균력을 측정하기 위하여 시료액을 10%로 희석하여 건조 후 멸균된 paper disc (직경 6 mm, Advantec, Japan)에 50 μ l씩 적하하여 풍건한 후 MHA plate에 얹어서 각 배양 온도에 맞춰 24시간 배양하여 clear zone을 caliper로 측정하였다. Caliper로 측정된 clear zone은 paper disc의 직경도 포함하였다.

DPPH radical 소거활성 측정

전자공여능은 4.0×10^{-4} M DPPH(1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) 용액 2 ml와 자생식물 80% 메탄올 추출액을 농도별로 희석한 액을 1 ml씩 혼합한 후, spectrophotometer (Hanson OPRON-3000, Korea)로 518 nm에서 흡광도를 측정하였다(14). 대조구로는 합성 항산화제인 BHA (butylated hydroxytoluene)를 0.05% (w/v)의 농도로 제조한 후 제조된 DPPH용액 2 ml와 대조구역 1 ml를 혼합한 것과 자생식물 80% 메탄올 추출액을 시험구와 같은 농도로 희석액을 제조한 후 제조된 DPPH용액 2 ml와 대조구역 1 ml씩을 혼합한 후 30분간 상온에서 반응시킨 후 흡광도를 측정하였다.

전자 공여능 (Electron donating ability, EDA (%))은 자생식물 80% 메탄올 추출액과 control의 흡광도 감소율로 나타내었다.

$$\text{EDA (\%)} = (1 - \text{자생식물 80\% 메탄올 추출액 흡광도} / \text{control의 흡광도}) \times 100$$

SOD (Superoxide Dismutase) 유사활성 측정

Superoxide dismutase 유사활성능은 알칼리 상태에서 pyrogallol의 자동산화에 의한 발색을 이용한 Eugene(15)와 Marklud(16)의 방법에 따라 측정하였다. 본 실험에서 사용된 시료는 자생식물 80% 메탄올 추출액을 농도별로 희석하여 실험하였다. 50 mM phosphate buffer 2.61 ml, 3 mM pyrogallol 90 µl를 첨가하여 20초 간격으로 3분간 측정하여, standard를 측정하였으며, 그 후의 시료는 50 mM phosphate buffer (pH 8.24) 2.61 ml와 시료 50 µl, 3 mM pyrogallol 90 µl를 첨가하여 325 nm에서 20초 간격으로 3분간 측정하였으며 Superoxide dismutase 유사활성능 값은 다음과 같은 식에 의해서 나타내었다.

$$\text{Superoxide dismutase scavenging activity (\%)} = (a-b)/a \times 100$$

a = standard의 반응전과 반응후의 흡광도 차이

b = sample의 반응전과 반응후의 흡광도 차이

Hydroxyl radical 소거활성 측정

농도별로 희석된 추출액의 hydroxyl radical (OH·) 소거활성능을 조사하기 위해 2-deoxyribose oxidation method 방법(17)을 변형하여 측정하였다.

시험관에 10 mM FeSO₄/EDTA 용액 0.2 ml, 10 mM 2-deoxyribose 0.2 ml, 농축액 0.2 ml와 0.1 mM phosphate buffer (pH 7.4) 1ml, 10 mM H₂O₂ 0.2 ml를 가하고 37°C에서 4시간 동안 반응시킨 후, 2.8% TCA (trichloroacetic acid) 용액 1 ml를 가하여 반응을 중지시켰다. 그 후, 1.0% TBA (thiobarbituric acid) 용액 1 ml를 가하여 100°C에서 10분간 가열시킨 후 급속히 냉각시켜 532 nm에서 흡광도를 측정하였으며 시료에 대한 기준시료는 DPPH액을 가지고 측정하였다. OH 소거활성은 HSA (hydroxyl radical scavenging ability)로 표기하였으며 다음과 같은 식으로 계산하였다.

$$\text{HSA (\%)} = [1 - (\text{absorbance of sample at 532 nm}) / (\text{absorbance of control at 532 nm})] \times 100$$

결과 및 고찰

항균활성 측정

제주도 서부지역과 동부지역의 목초지 및 농지 주변 길가에서 흔히 자라는 식물을 위주로 7종을 채취하여 부위별로 80% 메탄올로 추출한 추출액을 가지고 어류 병원성 미생물인 그람 양성균 1종과 그람 음성균 12종(Table 2)에 대하여 항균활성을 측정 하였다(Table 3).

실험에 이용된 13종의 균에 대하여 가장 좋은 항균활성을 나타내고 있는 식물은 두메꿀풀로서 꽃과 잎 추출물에서 가장 강한 활성을 나타냈다. 다음으로 풀고사리 잎과 돌잔고사리 잎, 들깨 잎, 열매 순으로 나타났다.

Table 3. Inhibition of fish pathogenic bacterial growth by 80% methanol extracts of indigenous plants, Jeju Island

Scientific name (Family)	Korean name	Part used by	Diameter of inhibition zone (mm)						
			1	2	3	4	5	6	7
<i>Microlepia marginata</i> (panzer) Christ. (Dennstaedtiaceae)	돌잔고사리	Leaf	16	15	13.5	16	14	15	17
<i>Gleichenia japonica</i> Spreng (Gleicheniaceae)	풀고사리	Leaf	18	16.5	15	15	13.5	16	18
<i>Arisaema ringens</i> (Thunb.) Schott (Araceae)	큰천남성	Root	10	7	-	-	-	-	9
<i>Prunella vulgaris</i> var. <i>aleutica</i> Fernald (Labiatae)	두메꿀풀	Flower	18	17	18	20	21	20	22
		Leaf	16	16	17	18	17	18.5	18
<i>Boehmeria pinnosa</i> Nakai et Satake (Urticaceae)	왕모시풀	Leaf	7	-	-	-	9	8	10
		Fruit	-	-	-	-	-	-	9.5
<i>Polygonum aviculare</i> L. (Polygonaceae)	마디풀	Leaf + Stem	9.5	8	10	9	9	10	10.5
<i>Perilla frutescens</i> var. <i>japonica</i> Hara (Labiatae)	들깨	Leaf	11.5	12	14	16.5	15	16	13.5
		Fruit	10	10.5	13	15.5	14	13.5	10.5

Scientific name (Family)	Korean name	Part used by	Diameter of inhibition zone (mm)					
			8	9	10	11	12	13
<i>Microlepia marginata</i> (panzer) Christ. (Dennstaedtiaceae)	돌잔고사리	Leaf	17.5	19	18.5	17.5	16	15
<i>Gleichenia japonica</i> Spreng (Gleicheniaceae)	풀고사리	Leaf	18	17	17.5	17	18.5	16
<i>Arisaema ringens</i> (Thunb.) Schott (Araceae)	큰천남성	Root	10	9	9.5	8	9	7
<i>Prunella vulgaris</i> var. <i>aleutica</i> Fernald (Labiatae)	두메꿀풀	Flower	22	22.5	21.5	22.5	22	17.5
		Leaf	19.5	22.5	20.5	20	17.5	17.5
<i>Boehmeria pinnosa</i> Nakai et Satake (Urticaceae)	왕모시풀	Leaf	9.5	11	9.5	10	9.5	8
		Fruit	8	8.5	9	10	9.5	-
<i>Polygonum aviculare</i> L. (Polygonaceae)	마디풀	Leaf + Stem	12	9.5	11	12	9.5	11
<i>Perilla frutescens</i> var. <i>japonica</i> Hara (Labiatae)	들깨	Leaf	16.5	13	16.5	15	13	14.5
		Fruit	17.5	12.5	16.5	14.5	11	13.5

1. KCTC 2473 *Vibrio fluviai*, 2. KCTC 2711 *Vibrio abguillarum*, 3. KCTC 2715 *Vibrio choleare*, 4. KCTC 2717 *Vibrio harvey*, 5. KCTC 2726 *Vibriosalmonicida*, 6. KCTC 2728 *Vibrio tubiashi*, 7. KCTC 2731 *Vibrio furnissii*, 8. KCTC 2732 *Vibrio pelagius*, 9. KCTC 2737 *Vibrio mimicus*, 10. KCTC 12125 *Vibrio rotiferianus*, 11. KCTC 2471 *Vibrio parahaemolyticus*, 12. KCTC 12267 *Edwardsiella tarda*, 13. KCTC 1916 *Staphylococcus aureus*

DPPH radical 소거활성

채집된 자생식물 80% 메탄올 추출물의 항산화능을 DHHP에 대한 전자공여능 (electron donating ability, EDA (%))으로 측정하였다. 일반적으로 특정 물질에 대한 항산화 활성을 측정하는 방법에는 여러 가지가 있으나 그 중에서도 DPPH radical 소거 활성법은 비교적 간단하면서 여러 개의 샘플을 동시에 측정할 수 있는 방법으로 흔히 이용되고 있다. DPPH는 자신이 가지고 있는 홀수의 전자 때문에 518 nm에서 강한 흡수 band를 보이나 phenolic 화합물과 같이 수소에 전자를 제공해주는 전자공여체와 반응을 하게 되면 전자나 hydrogen radical을 받아 phenoxy radical을 생성하게 된다. 따라서 흡수 band도 사라지게 되고 안정한 분자가 된다. 또한 공여된 전자는 비가역적으로 결합하며 그 수에 비례하여 진보라색의 DPPH의 색깔은 점점 옅어지게 되고 흡광도도 감소하게 된다. Fig. 1은 자생식물 80% 메탄올 추출물의 농도 변화에 따른 전자공여능 (EDA)을 나타낸 결과이다. 활성은 추출물 농도 2.0% (20 mg/ml) 농도에서 마디풀 (*Polygonum aviculare* L.; 잎 + 줄기 72%), 큰천남성 (*Arisaema ringens* (Thunb.) Schott: 뿌

리 32%), 왕모시풀 (*Boehmeria pinnosa* Nakai et Satake: 잎 70%, 열매 47%)를 제외한 들깨 (*Perilla frutescens* var. *japonica* Hara.: 잎 88%, 열매 85%), 두메꿀풀 (*Prunella vulgaris* var. *aleutica* Fernald.: 꽃 89%, 잎 91%), 들잔고사리 (*Microlepis marginata* (panzer) Christ.: 잎, 89%), 풀고사리 (*Gleichenia japonica* Spreng: 잎 89%)에서 기존에 합성 항산화제인 BHT (79%)와 BHA (90%)보다 높거나 유사한 활성을 나타내고 있다.

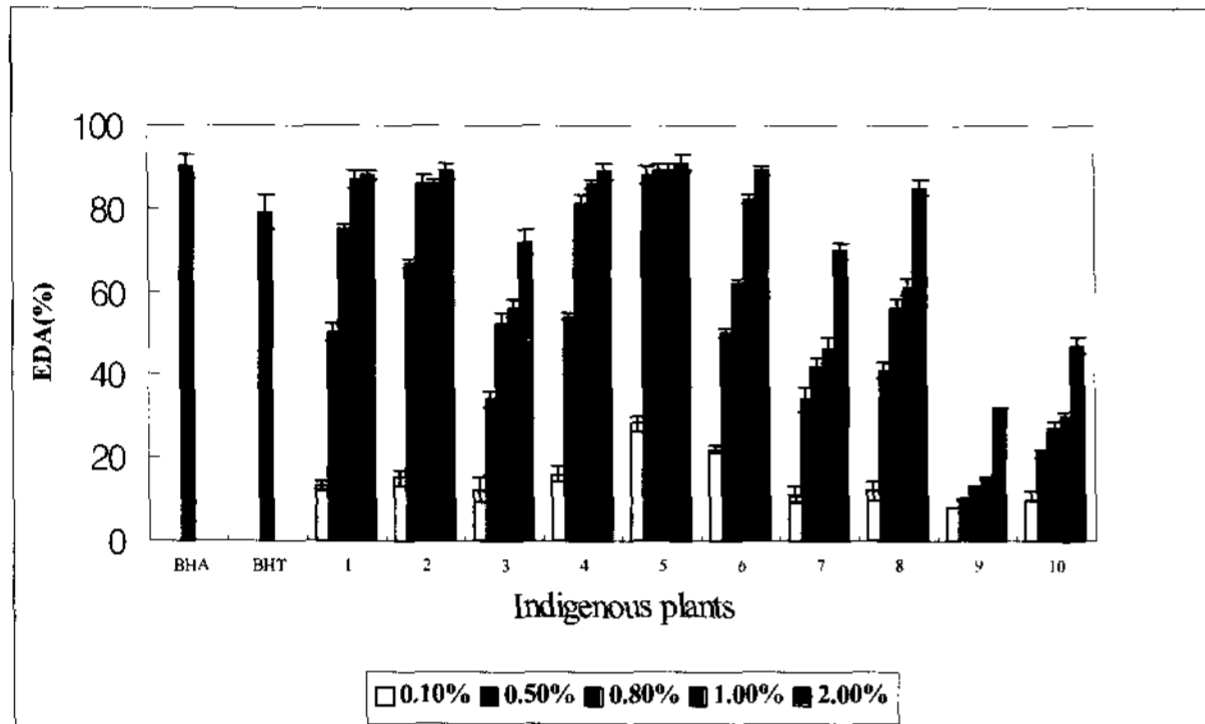


Figure 1. Radical scavenging activity of the 80% methanol extracts obtained Indigenous plants. The antioxidative activity was tested by DPPH method.

- BHA : Butylated hydroxyanisole, BHT: Butylated hydroxytoluene
 1; *Perilla frutescens* var. *japonica* Hara. (Leaf), 들깨 잎
 2; *Microlepis marginata* (panzer) Christ. (Leaf), 들잔고사리 잎
 3; *Polygonum aviculare* L. (Leaf + Stem), 마디풀 줄기 + 잎
 4; *Prunella vulgaris* var. *aleutica* Fernald (Flower), 두메꿀풀 꽃
 5; *Prunella vulgaris* var. *aleutica* Fernald (Leaf), 두메꿀풀 잎
 6; *Gleichenia japonica* Spreng (Leaf), 풀고사리 잎
 7; *Boehmeria pinnosa* Nakai et Satake (Leaf), 왕 모시풀 잎
 8; *Perilla frutescens* var. *japonica* Hara. (Fruit), 들깨 열매
 9; *Arisaema ringens* (Thunb.) Schott (Root), 큰 천남성 뿌리
 10; *Boehmeria pinnosa* Nakai et Satake (Fruit), 왕모시풀 열매

SOD (Superoxide Dismutase) 유사활성

SOD (Superoxide dismutase)는 산패로 인하여 형성된 세포에 해로운 환원산소종을 과산화수소로 전환시키는 반응 ($2O_2^- + 2H^+ \rightarrow H_2O_2 + O_2$)을 촉매하고, catalase는 SOD에 의해 생성된 H_2O_2 를 무해한 물분자와 산소 분자로 전환시키는 역할을 하는 효소이다. 생체 내 활성 산소종은 산소에서 유래된 것들로 안정한 분자 상태인 triplet oxygen이 자외선, 대사과정, 화학반응을 통하여 생성된다(18). 이러한 활성 산소 종류에는 자유 라디칼 형태인 superoxide anion radical (O_2^-), hydroxyl radical ($OH \cdot$), peroxy radical ($HO_2 \cdot$)들과 singlet oxygen (1O_2), 오존 (O_3), 과산화수소 (H_2O_2) 등과 같은 라디칼 형태가 아닌 것으로 나뉜다(19). 이러한 활성 산소에 의한 지질과산화 결과 생성되는 지질과산화물을 비롯하여 여러 체내 과산화물도 세포에 대한 산화적 파괴로 인한 각종 장애를 야기하며(20), 활성 산소가 정상적으로 제거되지 않았을 때에는 잔존하고 있는 자유라디칼에 의해 산화적 스트레스를 받게 됨으로써 다른 질병의 원인이 되기도 한다.

본 실험에서는 생체내의 항산화 방어기구 중 효소적 방어체계의 하나로서 superoxide radical을 환원시켜서 산소

독으로부터 생체를 보호하는 superoxide radical 소거활성을 pyrogallol 자동산화로 생성되는 superoxide anion radical 소거 여부로 확인하였다. 기존 합성 항산화제인 BHT와 BHA를 대조구로 사용하여 자생식물 80% 메탄올 추출물의 농도별 superoxide anion radical 소거 활성을 측정 한 결과는 Fig. 2에 나타내었다. Fig.에서도 나타내었듯이 기존 합성항산화제의 SOD 소거활성은 각각 63% (BHA), 51% (BHT)로 나타났다. 2.0% 농도의 자생식물 열수추출물에서는 큰 천남성 (*Arisaema ringens* (Thunb.) Schott: 뿌리, 31%)에서 가장 낮은 활성을 보였으며 다음으로 마디풀 (*Polygonum aviculare* L.: 잎 + 줄기 35%), 왕모시풀 (*Boehmeria pinnosa* Nakai et Satake: 잎 40%, 열매 42%), 풀고사리 (*Gleichenia japonica* Spreng: 잎 42%), 들깨 (*Perilla frutescens* var. *japonica* Hara.: 잎 44%, 열매 44%), 들잔고사리 (*Microlepis marginata*(panzer) Christ.: 잎 45%, 두메꿀풀 (*Prunella vulgaris* var. *aleutica* Fernald.: 꽃 65%, 잎 67%) 순으로 나타났다. 특히 두메꿀풀의 꽃과 잎 추출물을 BHT, BHA와 활성을 비교하였을 때 BHT보다는 훨씬 높은 소거활성을 나타냈고 BHA와 비교하여도 높은 활성을 나타냈다.

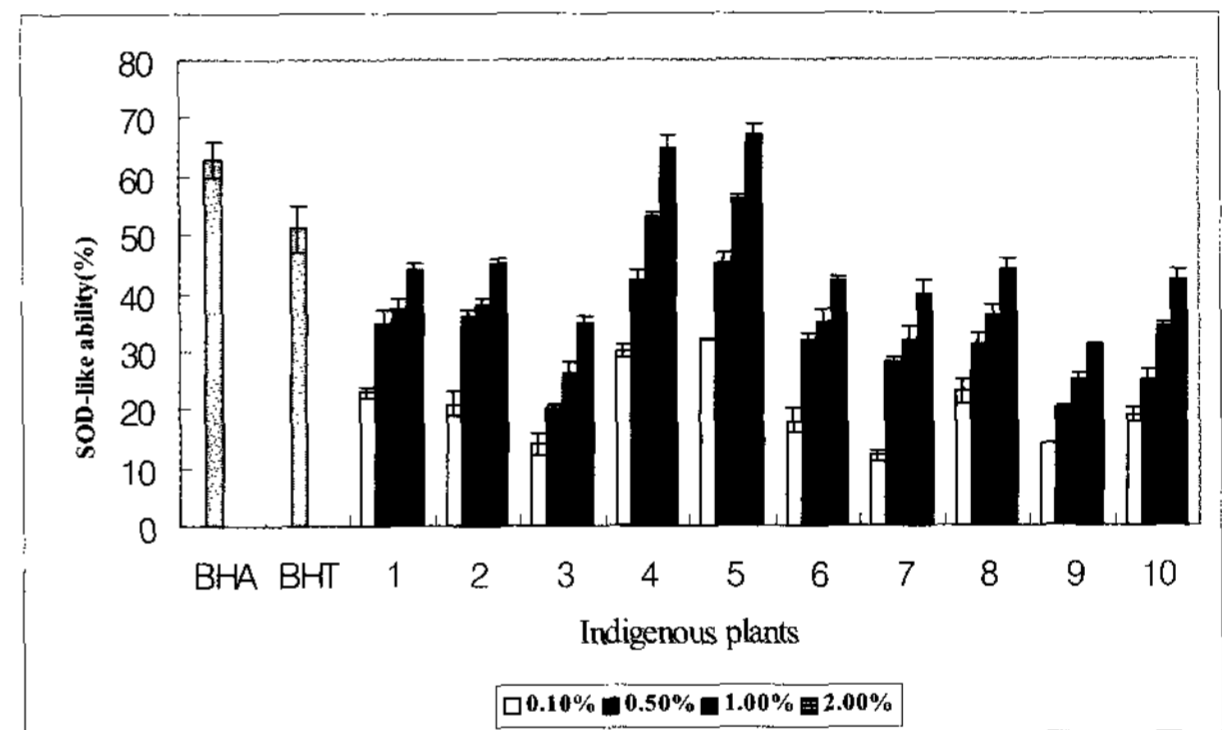


Figure 2. SOD-like ability of the 80% methanol extracts obtained Indigenous plants.

- BHA : Butylated hydroxyanisole, BHT: Butylated hydroxytoluene
 1; *Perilla frutescens* var. *japonica* Hara. (Leaf), 들깨 잎
 2; *Microlepis marginata* (panzer) Christ. (Leaf), 들잔고사리 잎
 3; *Polygonum aviculare* L. (Leaf + Stem), 마디풀 줄기 + 잎
 4; *Prunella vulgaris* var. *aleutica* Fernald (Flower), 두메꿀풀 꽃
 5; *Prunella vulgaris* var. *aleutica* Fernald (Leaf), 두메꿀풀 잎
 6; *Gleichenia japonica* Spreng (Leaf), 풀고사리 잎
 7; *Boehmeria pinnosa* Nakai et Satake (Leaf), 왕 모시풀 잎
 8; *Perilla frutescens* var. *japonica* Hara. (Fruit), 들깨 열매
 9; *Arisaema ringens* (Thunb.) Schott (Root), 큰 천남성 뿌리
 10; *Boehmeria pinnosa* Nakai et Satake (Fruit), 왕모시풀 열매

Hydroxyl radical 소거활성

Free radical이란 제일 바깥쪽 전자각에 짝지어지지 않은 전자 (unpaired electron)를 포함하는 화학종으로 대체로 강한 반응성을 나타낸다. 이들은 탐식작용, prostaglandin 합성과 같은 생리적 과정에서 뿐만 아니라 많은 효소촉매반응의 중간물질로서 중요한 역할을 하고 있다. 그러나 강한 반응성 때문에 인접한 세포성분들을 무차별 공격하여 손상을 일으킬 수 있다. Free radical 중에 생체 내에서 가장 빈번히 출현하고 따라서 중요하게 취급되는 것이 산소

radical이다. 주요 산소 radical로는 superoxide (O_2^-), hydroxyl ($OH\cdot$), perhydroxyl ($HO_2\cdot$), alkoxy ($RO\cdot$), peroxy ($ROO\cdot$) radical 등이 있다. 그 외 radical은 아니지만 반응성이 강한 산소종으로 과산화수소 (H_2O_2)와 singlet oxygen이 있다. Singlet oxygen은 분자산소와는 달리 외각의 전자 2개의 spin방향이 서로 반대로 되어 있어 불안정하다. 이상에서 열거한 여러 형태의 산소를 가리켜 흔히 reactive oxygen species (ROS, 활성산소)라 부르는데 그 중에서도 hydroxyl radical과 singlet oxygen이 수용액 중에서 가장 강한 반응성을 나타내어 지질산화를 개시하고 DNA에 손상을 주거나 돌연변이를 유발하는 물질로 알려져 있고, 생체의 대사과정에서 생성되는 지질의 과산화물이나 과산화수소 (H_2O_2)가 Fe^{2+} 나 Cu^{2+} 이온의 존재 하에서 생산되며 가장 독성이 강한 free radical이므로 이 라디칼을 소거하는 정도를 측정 하였다(17, 21).

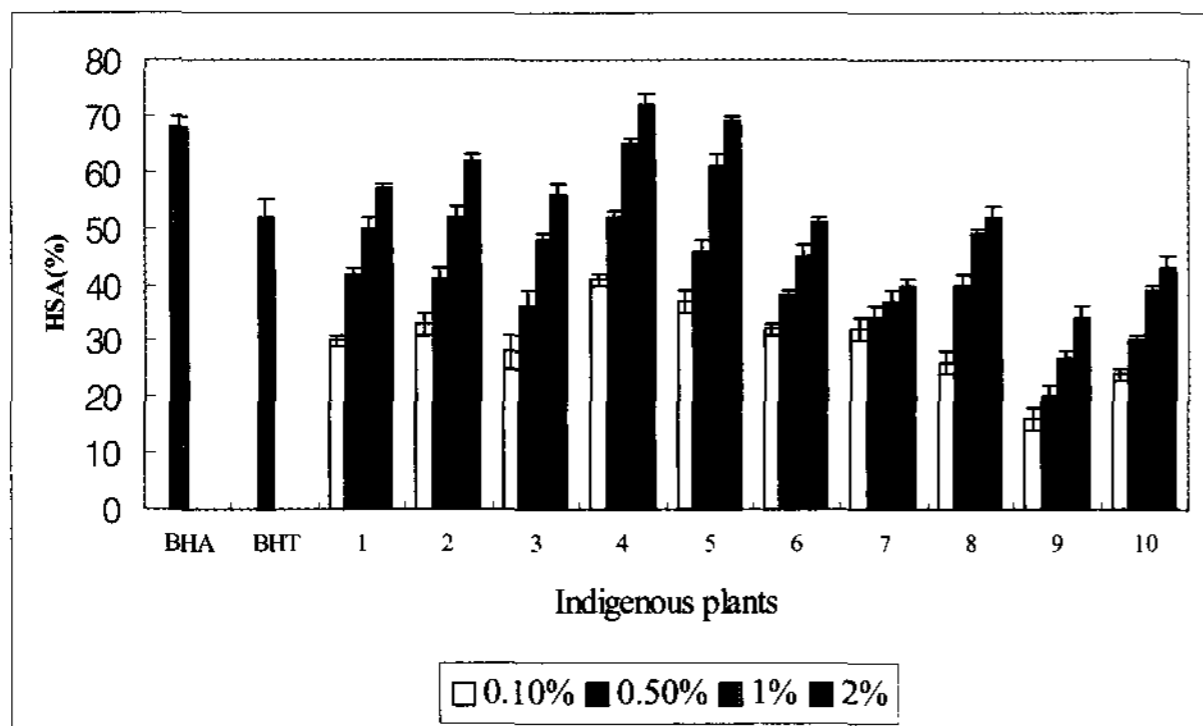


Figure 3. Hydroxyl radical scavenging activity of the 80% methanol extracts obtained Indigenous plants.

BHA : Butylated hydroxyanisole, BHT: Butylated hydroxytoluene

- 1; *Perilla frutescens* var. *japonica* Hara. (Leaf), 들깨 잎
- 2; *Microlepia marginata* (panzer) Christ. (Leaf), 돌잔고사리 잎
- 3; *Polygonum aviculare* L. (Leaf + Stem), 마디풀 줄기 + 잎
- 4; *Prunella vulgaris* var. *aleutica* Fernald (Flower), 두메꿀풀 꽃
- 5; *Prunella vulgaris* var. *aleutica* Fernald (Leaf), 두메꿀풀 잎
- 6; *Gleichenia japonica* Spreng (Leaf), 풀고사리 잎
- 7; *Boehmeria pannosa* Nakai et Satake (Leaf), 왕 모시풀 잎
- 8; *Perilla frutescens* var. *japonica* Hara. (Friut), 들깨 열매
- 9; *Arisaema ringens* (Thunb.) Schott (Root), 큰 천남성 뿌리
- 10; *Boehmeria pannosa* Nakai et Satake (Friut), 왕모시풀 열매

합성 항산화제인 BHT와 BHA를 대조구로 사용하여 자생식물 80% 메탄올 추출물의 농도별 hydroxyl radical scavenging activity (HSA) 측정한 결과는 Fig. 3에 나타내었다. 합성 항산화제인 BHA는 HSA가 68%이고 BHT는 52%로 측정이 되었다. 자생식물 80% 메탄올 추출물은 농도별로 활성이 점차 증가하는 결과를 나타냈다. 2.0% 농도의 자생식물 80% 메탄올 추출물에서는 큰천남성 (*Arisaema ringens* (Thunb.) Schott: 뿌리 34%)에서 가장 낮은 소거활성을 보였으며 다음으로 왕모시풀(*Boehmeria pannosa* Nakai et Satake: 잎 40%, 열매 43%), 풀고사리 (*Gleichenia japonica* Spreng: 잎 51%), 들깨 (*Perilla frutescens* var. *japonica* Hara.: 열매 52%, 잎 57%), 마디풀 (*Polygonum aviculare* L.: 잎 + 줄기 56%), 돌잔고사리 (*Microlepia marginata* (panzer) Christ.: 잎 62%), 두메꿀풀 (*Prunella*

vulgaris var. *aleutica* Fernald.: 잎 69%, 꽃 72%) 순으로 나타났다.

요 약

제주도 자생식물의 80% 메탄올 추출물 10종의 항균 효과 및 항산화 효과를 검색하였다. 실험 대상 식물은 생체 채집하여 음건한 후 세절하여 80% 메탄올로 추출하여 추출된 시료를 10% 농도로 희석한 후 어류 질병미생물에 대한 항균실험을 하였고 80% 메탄올 추출물에 대한 항산화 실험은 각각의 시료를 0.1%, 0.5%, 0.8%, 1.0%, 2.0%로 희석하여 각 식물의 항산화 효과를 측정하였다. 항균 실험은 어류 질병미생물로 분류된 그람 음성균 12종과 그람 양성균 1종에 대하여 디스크 확산법으로 측정하였는데 그 결과 두메꿀풀 꽃과 잎 추출물에서 가장 강한 항균 효과를 나타내었고 다음으로 풀고사리 잎과 돌잔고사리 잎, 들깨 잎, 들깨 열매 순으로 나타났으며 큰천남성 뿌리나 왕모시풀 잎, 열매에서는 눈에 띄는 항균 효과를 나타내지는 않았다. 그리고 항산화 효과를 측정하기 위해 DPPH radical 소거능과 SOD 유사활성, Hydroxyl radical 소거 활성을 실험하였다. 각 식물의 80% 메탄올 추출물을 농도별로 희석하여 측정한 결과 농도가 높아질수록 항산화 효과가 증가하는 것을 확인 할 수가 있었으며 2.0% 농도에서 두메꿀풀 잎과 열매 그리고 들깨 잎과 열매, 돌잔고사리 잎은 합성 항산화제인 BHT, BHA와 활성을 비교하여 보았을 때 BHT, BHA보다 높거나 유사한 항산화 효과를 나타내었다.

감 사

이 논문은 2006년 해양한국발전프로그램 (KSGP) 연구개발사업에 의해 수행되었으며, 이에 감사드립니다.

REFERENCES

1. Lee, B. H., B. W. Choi, J. H. Chun, and B. S. Yu (1996), Extraction of water soluble antioxidants from seaweeds, *J. Korean Ind. & Eng. Chemistry* 7(6), 1066-1077.
2. Talalay, P. and A. M. Benson (1982), Elvation of quinone reductase activity by anticarcinogenic antioxidants, *Advances in Enzyme Regulation* 20, 287-300.
3. Fridovich, I. (1983), Superoxide radical: An endogenous toxicant, *Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol.* 23, 239-257.
4. Dalton, D. A., L. Langeberg, and N. C. Treneman (1993), Correlations between the ascorbate-glutathione pathway and effectiveness in legume root nodules, *Physiol. Plants* 87, 365-370.
5. Brannen, A. L. (1975), Toxicology and biochemistry of butylated hydroxy toluene and butylated hydroxy anisole, *J. Am. Oil Chem. Soc.* 52, 59-63.
6. Ito, N., S. Fukushima, and A. Hasebawa (1983), Cacrinogenicity of BHA in F344 rats, *J. Natl. Cancer Inst.* 70, 343.
7. Chan, K. M., E. A. Decker, and W. J. Means (1993), Extraction and activity of carnosine, a naturally occurring antioxidant in beef

- muscle, *J. Food. Sci.* **58**, 1-4.
8. Choe, S. Y. and K. H. Yang (1982), Toxicological studies of antioxidants butylated hydroxytoluene (BHT) and butylated hydroxyanisole (BHA) (in Korean), *Korean J. Food Sci, Technol.* **14**, 283-288.
 9. Yashodhararan Kumarasamy, Philip John Cox, Marcel Jaspars, Lutfun Nahar and SatyajitDey Sarker (2002), Screening seeds of Scottish plants for antibacterial activity, *J. Ethnopharmacology* **83**, 73-77.
 10. Lee, Y. C., Oh, S. W., and H. D. Hong (2002), Antimicrobial characteristics of edible medicinal herbs extracts, *Korean J. Food Sci. Technol.* **34**, 700-709.
 11. Young-No Lee (2002), *Flora of Korea*, 4th ed. Kyo-Hak Publishing Co. Ltd., Seoul, Korea.
 12. Kim, T. J. (1996), Korean Resources Plants I, 11-21, Seoul National University Press, Korea.
 13. Murray P. R., Baron E. J., Pfaller M. A., Tenover F. C., and Tenover F. C. (1999), *Manual of Clinical Microbiology*, 7th. ed. ASM, Washington, DC.
 14. Blois, M. S. (1958), Antioxidant determination by the use of a stable free radical, *Nature* **26**, 1199-1200.
 15. Eugene E., Roth. Jr., and Harriet S. Gilbert (1983), The pyrogallol assay for superoxide dismutase: absence in glutathione artifact, *Anal. Biochem.* **137**, 50-53.
 16. Marklund, S. and G. Marklund (1974), Involvement of the superoxide anion radical in the autoxidation of pyrogallol and a convenient assay for superoxide dismutase, *Eur. J. Biochem.* **47**, 469-474.
 17. Kawagan, S. (1996), Protocol for control of body functional material in food, 8-15, *Kakuen press center*, Japan.
 18. Trush, M. A., Mimnaugh, E. G., and T. E. Gram (1982), Activation of pharmacologic agents to radical intermediates. Implications for the role of free radicals in drug action and toxicity, *Biochem. Pharmacol.* **31**, 3335-3346.
 19. Aruoma, O. I. (1994), Nutrition and health aspects of free radicals and antioxidants, *Food Chem. Toxicol.* **32**, 671-683.
 20. Miquel, J., Quintanilha, A. T., and H. Weber (1989), In *Handbook of free radicals and antioxidants in biomedicine*, CRC press, I p223.
 21. KoguKuchi, N. (1999), *Protocol for free radical experimant*, pp40-45, suiyoonsa, Japan.