

가든 세이지 (*Salvia officinalis* L.) 추출물의 생리활성 탐색

조영제* · 주인식 · 윤동혁 · 천성숙¹ · 안봉전² · 김정환³ · 김명욱⁴

경북대학교 식품공학과, ¹영남대학교 식품가공학과, ²대구의대학교 화장품약리학과,
³엔아이피 바이오텍, ⁴경북해양바이오 산업연구원

Biological Activity of Extracts from Garden Sage (*Salvia officinalis* L.)

Young-Je Cho*, In-Sik Ju, Dong-hyuck Yun, Sung-Sook Chun¹, Bong-Jeun An²,
Jeung-Hoan Kim³, and Myung-Uk Kim⁴

Department of Food Engineering, Kyungpook National University, Sangju 742-711, Korea
¹Department of Food Science & Technology, Yeungnam University, Gyeongsan 712-749, Korea
²Department of Cosmeceutical Science, Daegu Hanny University, Gyeongsan, 712-715, Korea
³NIP Biotech. Munkyeong 745-706, Korea
⁴Gyungbuk Institute for Marine Bio-Industry, Uljin 767-801, Korea

Received June 26, 2007; Accepted December 10, 2008

The extracts from *Salvia officinalis* were studied for antioxidative activities and inhibitory activities against angiotensin converting enzyme(ACE) and xanthine oxidase (XOase). Total phenolic compounds were found as 22.28, 26.3, 24.63, and 28.22 mg/g in the water, 60% ethanol, 60% methanol and 60% acetone extracts, respectively. The antioxidant activities of *Salvia officinalis* extracts were measured as 64.4±1.5% at 200 µg/ml on EDA, inhibition rate on ABTS of 96.9±0.2%, antioxidant protection factor of 2.30±0.16 PF and TBARS was 0.62±0.05 (×100 µM) in the control and 0.28±0.02 (×100 µM) in 60% ethanol extracts. Inhibitory activities was the ACE of 75.50% and XOase 100% in 60% ethanol extracts. The 60% ethanol extracts from *Salvia officinalis* exhibited antimicrobial activities against *Helicobacter pylori* such as 13 mm of clear zone and inhibition rate of 63.4% with 200 µg/ml of phenolics content. Rosemarinic acid was the most abundant phenolic compounds as analyzed by HPLC. The results suggest that the 60% ethanol extracts from *Salvia officinalis* L. will be useful as natural antioxidants and functional foods.

Key words: *Salvia officinalis*, angiotensin converting enzyme, xanthine oxidase, antimicrobial activity, antioxidant activity, *Helicobacter pylori*

서 론

최근 건강에 대한 관심이 높아지면서 식품의 약리 기능성 물질 탐색에 관한 연구가 활발히 진행되고 있으며 특정성분이나 천연물이 가지는 2차 대사산물인 생리활성물질에 대한 관심이 증대되고 있다. 생리활성물질은 매우 적은 양으로 현저한 활성을 나타내는 고부가가치의 물질로서 현재 수많은 종류가 유용하게 이용되고 있으며, 또한 새로운 물질들이 연구 개발되고 있다. 생리활성을 나타내는 물질 중 식품의 기능 강화를 위해 주로 활용되고 있는 것은 방향성 및 항산화활성 관련 물질과 식품의 부패와 변질을 유발하는 미생물에 대하여 항균활성을 나

타내는 물질 등이 있다.¹⁾ 특히 허브를 포함한 다양한 유용식물을 이용하여 전 세계적으로 식물자원에서 항암, 항알레르기, 항비만, 항산화 및 항균 등에 효과가 있는 기능성 물질을 다량 함유하는 자원을 선별하여 이들 유용한 물질들을 약으로, 식품첨가제로 또는 화장품의 원료로 개발하려는 연구가 다양한 각도에서 진행되고 있으며^{2,3)} 그와 함께 고령화 사회로 인한 노인과 관련된 만성 퇴행성 질환의 예방이 시급한 과제로 떠오르고 있다.⁴⁾ 지금까지 보고 된 대부분의 천연 항산화제 등의 생리활성 물질은 식물 유래로서 주로 폴리페놀 화합물인 것으로 알려져 있는데,⁵⁾ 이들 페놀성 화합물인 flavonoid, tannin, anthocyanin, carotenoid류, glutathione 등의 천연항산화제는 생체 내에서 노화를 억제시키거나, 동맥경화증, 염증, 퇴행성 질환 및 암을 예방하는데 아주 효과적인 것으로 보고되었다.^{3,6)}

가든세이지(*Salvia officinalis* L.)는 약용 살비야 또는 Common Sage라고도 하며 흔히 Salvia라는 이름으로도 불리며, 약용으로 잎을 삶아서 인후염 및 위장염에 사용한다. 방부, 향

*Corresponding author
Phone: 82-54-530-1265; Fax: 82-54-530-1269
E-mail: yjcho@knu.ac.kr

균, 항염 등⁷⁾ 살균, 소독작용이 있으며 염증의 소염제로도 이용하기도 하고, 중풍이나 심한 운동 뒤의 피로도 씻어준다. 또한 Lamiaceae family에 속하는 허브로 향신료로 많이 이용되었으나 세이지 추출물이 우수한 항산화력을 갖는다는 것이 보고되면서,⁸⁾ 가든세이지에 함유되어 있는 항산화 물질들을 밝혀내려는 연구들이 계속되고 있다. 이미 밝혀진 항산화 성분으로는 carnosic acid, rosmarinic acid와,⁹⁾ sagecoumarin, sagericin acid, caffeic acid, luteolin-7-O-glucoside, apigenin, hispidulin, carnosol, rosmanol과 같은 다양한 종류의 terpenes, flavonoids, phenolic acid 등이 있으나¹⁰⁾, 다양한 생리적 효능에 대한 연구가 아직 많이 이루어지지 않은 상태이다.

따라서 본 연구에서는 가든세이지의 추출 조건별 phenol성분 용출량의 최적 조건과 그에 따른 생리활성을 규명하는 작업의 일환으로써 각각 다른 종류의 용매를 이용하여 추출하였고, 또한 생리활성 능을 살펴봄으로써 기능성식품 소재 개발을 하고자 하였다.

재료 및 방법

시료의 선정. 본 실험에 사용한 가든 세이지는 경북 구미시에 소재하는 Herb 농원에서 구입하여 5°C의 dry oven에서 건조 후 40 mesh로 분쇄하여 시료로 사용하였다.

추출조건. 시료 추출의 최적 조건을 알아보기 위해 추출용매를 달리하여 각각 물(열수) 추출물과 60%의 ethanol, methanol, acetone 등으로 추출하여 최적조건의 추출용매를 정하였으며, 추출용매로 ethanol을 0~100%의 농도로 추출하여 최적조건의 농도를 정하고, 30시간 동안 6시간 간격으로 phenol성 물질의 용출량을 측정하여 시간별 용출량의 변화를 측정하였다.

추출물의 제조. 시료 추출은 각 추출용매 100 ml에 가든 세이지 시료 1g을 가하여 24시간 동안 상온 진탕 추출하였으며, 추출액은 whatman No.1 filter paper로 여과한 후 필요에 따라 rotary vacuum evaporator(Eyela NE, Japan)에서 농축하여 시료로 사용하였다.

Phenol 화합물 정량. 총 페놀 화합물은 Folin-Denis 방법¹¹⁾으로 측정하였으며, 시료 1ml에 95% ethanol 1ml와 증류수 5ml를 첨가하고 1N Folin-ciocalteu reagent 0.5ml를 넣어 잘 섞어주고, 5분간 방치한 후, Na₂CO₃ 1ml를 가한 후, 흡광도 725 nm에서 1시간 이내에 측정하여 gallic acid를 이용한 표준 곡선으로부터 양을 환산하였다.

HPLC 분석. 가든 세이지 추출물에 sample phenolic 물질의 존재와 그 함량을 알아보기 위하여 시료를 0.2 µm filter로 2ml를 여과하고 그 중 5 µl를 주입하여 분석하였다. 분석 조건은, column은 Xterra(Waters, RP-18, 250×4.6 mm)를 30°C로 유지하였고, 검출기는 Waters 2487 UV detector를 사용하여 306 nm에서 측정하였다. 이동상은 acetonitrile과 formic acid(pH 3.0)이며 기온기 용리 조건은 5분 동안 acetonitrile 10%, 그 후 30분간 50%로 증가 시키고, 다시 5분간 10%로 감소시켜 총 45분간 용매를 이동 시켰다. 이때 흐름 속도는 0.5 ml/min이었다.

DPPH 라디칼 소거능 측정. DPPH radical에 대한 소거활성은 Blois의¹²⁾ 방법을 변형하여 측정하였다. 각 시료 1 ml에 60

µM DPPH 3 ml를 넣고 vortex한 후 15분 동안 방치한 다음 517 nm에서 흡광도를 측정하였다. DPPH 라디칼 소거능은 다음 식으로 나타내었다.

$$\text{DPPH 라디칼 소거능(\%)} = \frac{\text{대조구의 흡광도} - \text{반응구의 흡광도}}{\text{대조구의 흡광도}} \times 100$$

ABTS radical cation decolorization의 측정. ABTS[2,2-azinobis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid)] radical cation decolorization의 측정은 Pellegrin 등¹³⁾의 방법에 의해 측정하였다. 즉, 7 mM ABTS 5 ml와 140 mM K₂S₂O₈ 88 µl를 섞어 어두운 곳에 14~16시간 방치시킨 후, 이를 absolute ethanol과 약 1:88 비율로 섞어 734 nm에서 대조구의 흡광도 값이 0.7±0.002가 되도록 조절한 ABTS solution을 사용하였다. 시료용액 50 µl와 ABTS solution 1 ml를 혼합하여 30초간 진탕한 후 2.5분간 반응시키고 734 nm에서 흡광도를 측정하여 아래의 식에 의해 ABTS 라디칼 저해율을 계산하였다.

$$\text{ABTS radical 저해율(\%)} = \left(1 - \frac{\text{반응구의 흡광도}}{\text{대조구의 흡광도}} \right) \times 100$$

Antioxidant Protection Factor(PF) 측정. PF는 Andarwulan과 Shetty¹⁴⁾의 방법으로 측정하였다. 10 mg의 β-carotene을 50 ml의 chloroform에 녹인 용액 1 ml를 evaporator 수기에 넣고 40°C water bath에서 chloroform을 증류시킨 후 20 µl linoleic acid, 184 µl Tween 40과 50 ml H₂O₂를 가하여 emulsion을 만들고, 5 ml의 emulsion용액에 시료용액 100 µl를 혼합하여 vortex로 잘 섞어준 뒤 50°C에서 30분간 반응시켜 냉각시킨 다음, 470 nm에서 흡광도를 측정하여 다음의 식으로 PF값을 계산하였다.

$$\text{PF} = \frac{\text{반응구의 흡광도}}{\text{대조구의 흡광도}}$$

Thiobarbituric acid reactive substances(TBARS) 측정. TBARS는 Burge와 Aust¹⁵⁾의 방법에 따라 측정하였다. 1% linoleic acid와 1% Tween 40으로 emulsion을 만들고 emulsion 0.8 ml와 시료 0.2 ml를 섞은 후 50°C water bath에서 10시간 반응시켰다. 반응 후 반응액 1 ml에 TBA reagent 2 ml를 가하고 15분간 증탕한 다음 10분간 냉각시킨 후 15분간 1,000 rpm으로 원심분리 하였다. 원심분리 한 액을 실온에서 10분간 방치 한 후 상정액을 취해 532 nm에서 흡광도를 측정하였으며, TBARS 값은 (흡광도 수치×0.0154)로 1 ml 반응혼합물에 대해서 생성된 1,1,3,3 tetraethoxypropane(TEP)의 µM로 표시하였다.

Xanthine oxidase 저해 활성 측정. Xanthine oxidase 활성저해 측정법은 Stirpe와 Corte¹⁶⁾의 방법에 준하여 측정하였다. 0.1 M potassium phosphate buffer(pH 7.5)에 xanthine 2 mM을 녹인 기질액 3 ml에 효소액 0.1 ml와 추출용액 0.3 ml를 넣고 대조구에는 추출용액 대신 증류수를 0.3 ml 첨가하여 37°C에서 30분간 반응시키고 20% trichloroacetic acid(TCA) 1 ml를 가하여 반응을 종료시킨 다음 3,500 rpm에서 15분간 원심분리하여 단백질을 제거한 후, 반응액 중에 생성된 uric acid를 292 nm에

서 흡광도를 측정하여 구한 뒤, 표준곡선에서 양을 환산하여 다음 식으로 저해율을 계산하였다.

$$\text{저해율}(\%) = \left(1 - \frac{\text{반응구의 uric acid 생성량}}{\text{대조구의 uric acid 생성량}} \right) \times 100$$

Angiotensin converting Enzyme(ACE) 저해 활성 측정.

ACE저해 활성 측정¹⁷⁾은 0.3 M NaCl을 함유하는 0.1 M potassium phosphate buffer(pH 8.3)에 2.5 mM hippuryl-histidyl-leucine을 녹인 기질액 0.15 ml에 ACE(0.125 U/ml) 0.1 ml와 시료액 0.1 ml를 가하고, 대조구에는 시료액 대신 증류수 0.1 ml를 첨가하여 37°C에서 30분간 반응시켰다. 1 N-HCl 0.35 ml를 가하여 반응을 종료시킨 뒤, ethyl acetate 3 ml를 가하고 ethyl acetate층만을 취하여 evaporating한 뒤 그 잔사에 증류수 2 ml를 가하여 효소에 의해 기질로부터 분리되어 추출된 hippuric acid를 녹여 280 nm에서 흡광도를 측정하여 구한 뒤 표준곡선에서 양을 환산하여 아래의 식에 의해 저해율(%)을 계산하였다.

$$\text{저해율}(\%) = \left(1 - \frac{\text{반응구의 hippuric acid 생성량}}{\text{대조구의 hippuric acid 생성량}} \right) \times 100$$

Pancreatin α-amylase 저해 활성 측정. Pancreatin α-amylase 저해 활성 측정은 agar diffusion method¹⁸⁾를 이용하여 측정하였다. Plate는 1%의 agar와 1%의 soluble starch를 증류수에 녹여 끓인 후, 121°C로 15분간 멸균하고 15 ml씩 petri dish에 붓고 굳혀서 plate를 제작하였다. 시료액 0.8 μl와 효소액 0.2 μl(1000 U/ml)를 섞어 plate위에 놓인 disc paper 위에 각각 분주하고 대조구에는 시료액 대신 증류수를 넣어 37°C에서 3일간 배양한 후 I₂/KI(5 mM I₂ in 3% KI) 5 ml를 가하여 15분간 발색시킨 후 다음의 식으로 저해율을 계산하였다.

$$\text{저해율}(\%) = \left(\frac{\text{대조구의 면적} - \text{반응구의 면적}}{\text{대조구의 면적}} \right) \times 100$$

Helicobacter pylori 항균활성 측정. 실험에 사용한 균주는 위, 십이지장 궤양 원인균인 *H. pylori*로서 표준균주인 ATCC 43504를 사용하였다. 균의 배양에는 최적배지(special peptone 0.5 g, agar 0.75 g, NaCl 0.25 g, yeast extract 0.25 g, beef extract 0.2 g 및 pyruvic acid 0.025 g)를 사용하였으며 미호기성 조건을 유지시켜주기 위해서 10% CO₂ incubator에서 습도는 95% 이상으로 유지하며 배양하였으며, agar plate상에서 배양은 37°C로 48~72시간 동안 실시하였다. 또한 항균 활성 측정은 *H. pylori* 최적배지 plate에 균분산액 100 μl를 분주하여 멸균 유리 봉으로 도말한 다음, 멸균된 disc paper(φ 8 mm)를 울리고 0.45 μm membrane filter로 제균한 각 추출물을 vacuum evaporator로 농축한 후 멸균수로 희석하여 phenol 함량이 50~200 μg/100 μl가 되도록 조절한 후 각 추출물 100 μl를 disc paper에 흡수시키고, 대조구로는 멸균수를 흡수시킨 후 37°C의 미 호기성 조건에서 48시간 동안 incubation한 다음, disc 주위의 clear zone 생성 유무를 확인하였다.¹⁹⁾

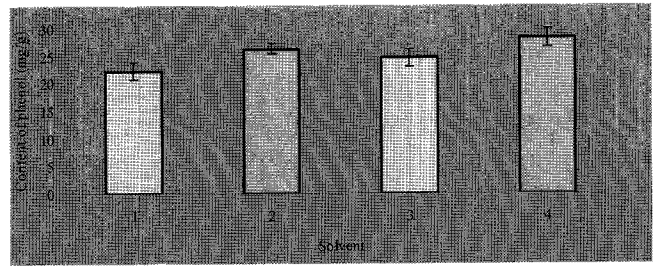


Fig. 1. Effect of different solvents on extraction of phenol from *Salvia officinalis* L. 1: water extracts. 2: 60% ethanol extracts. 3: 60% methanol extracts. 4: 60% acetone extracts. Each value represents the mean±SD (n=3).

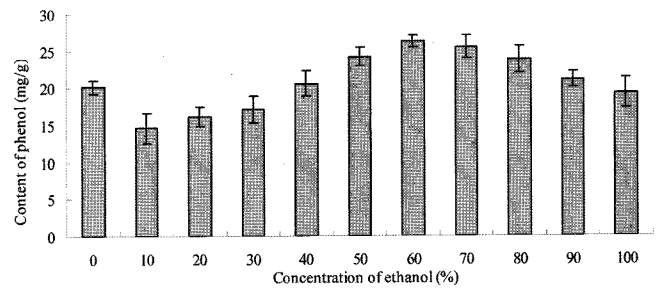


Fig. 2. Effect of ethanol concentration on extraction of phenol from *Salvia officinalis* L. Each value represents the mean±SD (n=3).

결과 및 고찰

가든 세이지 추출물의 추출조건 및 페놀화합물 함량. 페놀성 화합물은 다양한 구조와 분자량을 가지며, phenolic hydroxyl기를 가지기 때문에 단백질 및 기타 거대 분자들과 결합하는 성질을 가지며, 항산화효과 등의 생리활성기능을 가지는 것으로 알려져 있어,²⁰⁾ 추출물에 함유된 페놀성 화합물의 함량을 조사하였다. 먼저 시료 추출의 최적 조건을 알아보기로 추출용매를 달리하여 가든 세이지 추출물의 phenol 함량을 비교한 결과, Fig. 1과 같이 물(열수)추출물에서 22.28 mg/g, 60% ethanol, 60% methanol, 60% acetone 추출물에서 각각 26.3, 24.63, 28.22 mg/g으로 나타나 물보다 유기용매로 추출한 실험구에서 높은 phenol 함량을 나타내었다. 그리고 추출물을 식품에 적용하고자 신체에 유해하지 않으며 phenol성 물질의 용해도가 높은 ethanol을 다양한 농도(0~100%까지, 11단계)로 제조하고 이를 추출용매로 하여 추출한 결과 Fig. 2와 같이 총 phenol 함량이 60% ethanol 농도에서 26.3 mg/g으로 가장 높게 나타났으며, 물(열수)추출물에서도 20.2 mg/g으로 나타나 10~30% ethanol 추출물보다 높은 phenol 함량을 볼 수 있었다. 물 추출물 제조 시 열수추출한 결과 높은 온도(100°C)에 의해 용출된 phenol 성분의 함량이 ethanol 용매를 10~30% 섞은 용매에서의 phenol 용출 함량보다 높게 나타난 이유라 사료된다. 최적 추출시간을 정하기 위하여 60% ethanol을 이용하여 30시간 동안 6시간 간격으로 phenol성 물질의 용출량을 측정하였다. 그 결과 Fig. 3과 같이 6시간에서 24시간까지 용출량이 서서히 증

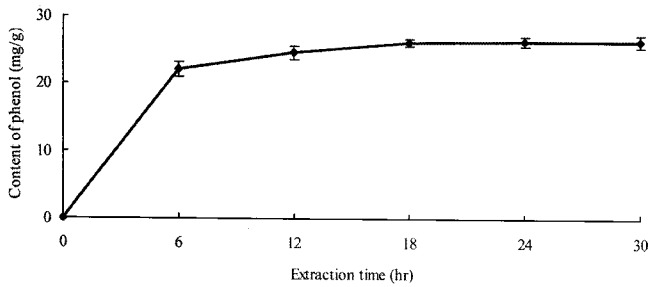


Fig. 3. Effect of extraction time on content of phenol from *Salvia officinalis* L. Each value represents the mean±SD (n=3).

Table 1. Phenol profiles of *Salvia officinalis* L. extracts

phenol	Content (mg/g)
Protocatechuic acid	ND
Caffeic acid	2.0±0.2
Chlorogenic acid	2.5±0.5
Courmeric acid	0.3±0.8
Rosemarinic acid	21.3±1.3

*Each value represents the mean±SD (n=3).

*ND: Not detected.

가하다가 24시간 이후에는 용출량의 변화가 거의 나타나지 않았다. 따라서 용출최적조건은 60% ethanol로 24시간 교반 추출 하였을 때가 최적 조건이었다. Clark 등²¹⁾은 식물체에 함유된 페놀성 물질이 항균활성을 나타낸다고 보고하였는데 60% ethanol을 추출용매로 하여 24시간 교반시킨 추출물에서 비교적 높은 페놀성 물질의 함량이 나타나 천연 항균제 및 생리활성 물질로의 기능을 추측할 수 있었다.

HPLC 분석. Shetty²²⁾ 및 Chun¹⁹⁾등은 simple phenol성 물질 중 protocatechuic acid, caffeic acid, chlorogenic acid, coumaric acid, rosmarinic acid 등이 항산화 및 항균활성이 높다고 보고 하였으며, 본 실험에서도 가든세이지(*Salvia officinalis* L.) 추출물 중에서 이러한 simple phenol 물질의 존재유무를 알아보기 위해 HPLC 상에서 표준물질의 chromatogram과 retention time을 비교하여 정량분석을 한 결과 Table 1과 같이 rosmarinic acid가 21.3±1.3 mg/g으로 검출되었다. Zheng 등²³⁾은 sage 신선물의 rosmarinic acid가 다른 항산화 물질보다 많이 함유되어 있다고 보고 하였으며, Cuvelier 등²⁴⁾도 rosmarinic acid, caffeic acid dimer 등이 항산화 활성을 갖는다고 보고하였는데, 가든 세이지에서 rosmarinic acid가 21.3 mg/g의 함량을 나타내어 비교적 높은 항산화 활성을 나타낼 것이라 추측 되었다.

가든 세이지 추출물의 항산화 효과. 항산화활성 중 DPPH 라디칼 소거능은 안정한 유리기로 cysteine, glutathione과 같은 함

유황 아미노산과 ascorbic acid, aromatic amine 등에 의해 환원되어 탈색되므로 항산화 물질의 항산화능 측정에 편리한 방법이다. 이러한 물질들이 free radical을 환원시키거나 상쇄시키는 능력이 크면 높은 항산화 활성 및 활성 산소를 비롯한 다른 라디칼에 대한 소거 활성을 기대할 수 있으며 인체 내에서 free radical에 의한 노화를 억제하는 척도로도 이용할 수 있다.²⁵⁾ 따라서 가든 세이지 추출물의 DPPH 라디칼 소거능을 알아본 결과, Table 2와 같이 60% ethanol 추출물(200 µg/ml)에서 64.4%의 DPPH 라디칼 소거능을 나타내었다. 가든 세이지의 친수성 및 lipophilic 물질의 항산화력을 측정하기 위해 ABTS radical cation decolorization을 측정한 결과, Table 2와 같이 60% ethanol 추출물(200 µg/ml)에서 96.9%로 높은 저해율을 나타내어 항산화력이 매우 우수함을 알 수 있었다. 지용성물질에 대한 항산화력을 측정하기 위하여 β-carotene을 첨가한 linoleic acid emulsion을 이용하여 가든 세이지 추출물의 지용성 물질에 대한 항산화력으로 antioxidant protection factor(PF)를 측정한 결과, Table 2와 같이 60% ethanol 추출물(200 µg/ml)에서 2.30 PF로 높은 항산화력을 나타내었다. PF의 경우 일반적으로 1.2 PF를 기준으로 그 이상의 경우 항산화력이 높다고 판단할 수 있는데, 이 결과로 보아 가든 세이지 60% ethanol 추출물의 지용성물질에 대한 항산화력은 우수하다고 판단할 수 있었다. 또한 가든 세이지 추출물에 의한 지질과산화 억제 효과를 측정하는 지표로서 TBARS 생성의 감소 정도를 측정한 결과 Table 2와 같이 60% ethanol 추출물(200 µg/ml)에서 0.28×10² µM을 나타내어 대조구의 0.62×10² µM에 비해 낮은 TBARS값을 나타내어 항산화 효과가 우수한 것으로 나타났다. 따라서 Kim 등²⁶⁾은 총 polyphenol의 양과 추출물의 항산화활성과의 관련성을 비교한 결과, 대부분의 polyphenol의 함량이 높을수록 항산화활성이 높아서 함량의 상관관계를 나타내었다고 한 것을 토대로 총 페놀함량이 높은 가든 세이지 60% ethanol 추출물이 높은 항산화 효과를 나타내는 것으로 판단되었다.

Xanthine oxidase(XOase) 저해활성. XOase는 생체 내 purine 대사에 관여하는 효소로 xanthine 혹은 hypoxanthine으로부터 urate를 형성하여 혈장 내 urate가 증가되면 낮은 용해성으로 인하여 골격에 축적되어 심한 통증을 유발하는 통풍(gout)을 일으킨다. 그리하여 XOase에 대한 추출물의 저해 활성을 살펴본 결과, Table 3에서와 같이 가든 세이지 60% ethanol 추출물(200 µg/ml)은 100%의 저해효과를 나타내었다. 이러한 결과는 Stirpe 와 Della Corte¹⁶⁾의 XOase 저해실험에서 폴리페놀류가 저해효과가 높다는 연구보고서와 같이 가든 세이지의 페놀함량이 매우 높아 gout(통풍)의 예방 또는 생약 치료제로 개발 및 이용이 가능할 것으로 사료된다.

Table 2. Antioxidant activities of 60% ethanol extracts from *Salvia officinalis* L.

Antioxidant	DPPH (%)		ABTS ⁺ (%)		Antioxidant proection factor (PF)		TBARS (×10 ² µM)	
	Phenol content (µg/µl)							
	100	200	100	200	100	200	100	200
Control	-	-	-	-	-	-	0.32±0.02	0.62±0.05
60% Ethanol extracts	34.2±1.2	64.4±1.5	50.3±0.4	96.9±0.2	1.17±0.9	2.30±1.6	0.24±0.05	0.28±0.02

*Each value represent the mean±SD (n=3).

Table 3. Effect of inhibition on xanthine oxidase by 60% ethanol extracts from *Salvia officinalis* L.

Sample	Uric acid ($\mu\text{g/ml}$)		Inhibition activity (%)	
	Phenol content ($\mu\text{g}/\mu\text{l}$)			
	100	200	100	200
Control	17.1 \pm 0.14	32.2 \pm 0.32	0	0
<i>Salvia officinalis</i> L.	8.89 \pm 0.26	0	52	100

*Each value represents the mean \pm SD (n=3).

Table 4. Effect of inhibition on angiotensin converting enzyme by 60% ethanol extracts from *Salvia officinalis* L.

Sample	Hippuric acid ($\mu\text{g/ml}$)		Inhibition activity (%)	
	Phenol content ($\mu\text{g}/\mu\text{l}$)			
	100	200	100	200
Control	9.4 \pm 0.01	9.4 \pm 0.01	0	0
<i>Salvia officinalis</i> L.	3.9 \pm 0.12	2.3 \pm 0.06	41.5	75.5

*Each value represents the mean \pm SD (n=3).

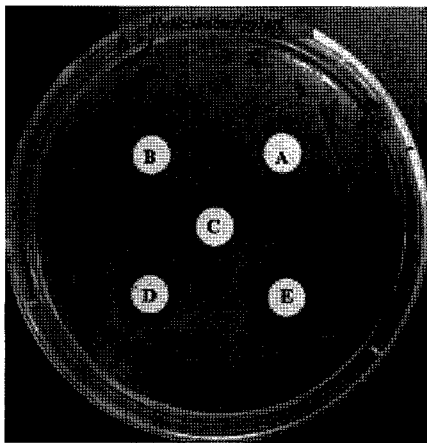


Fig. 4. Antioxidant activity of *Salvia officinalis* L. 60% ethanol extracts against *Helicobacter pylori* by disc method. A: 50 $\mu\text{g/ml}$ of phenol content. B: 100 $\mu\text{g/ml}$ of phenol content. C: Control. D: 150 $\mu\text{g/ml}$ of phenol content. E: 200 $\mu\text{g/ml}$ of phenol content.

Angiotensin converting enzyme(ACE) 저해활성. ACE는 renin에 의하여 생성된 decapeptide인 angiotensin I로부터 C-말단의 de-peptide를 가수분해시킴으로써 혈관수축 작용을 갖는 octapeptide인 angiotensin II를 합성하는 마지막 단계에 관여하는 효소이다. angiotensin II는 A-II 수용체와 결합하여 동맥과 소동맥을 수축시키고 부신피질을 흥분시켜 알도스테론의 유리를 촉진시켜 결과적으로 혈압의 증가를 가져온다. 따라서 ACE 저해물질은 ACE의 활성을 억제함으로써 고혈압을 직접적으로 억제 할 수 있으며,^{27,29)} ACE 억제제들이 고혈압 치료제로서의 개발 가능성이 제시된 후 식물에서 분리한 ACE 저해활성을 가진 phenol성 물질 및 peptide류 들을 검색하는 연구가 다양하게 이루어지고 있다.^{30,31)} 가든 세이지의 ACE저해 활성을 측정 한 결과, Table 4에서와 같이 대조구가 9.4 $\mu\text{g/ml}$ 의 hippuric acid를 생성한 것에 대하여 60% ethanol 추출물(200 $\mu\text{g/ml}$)에서 2.3 $\mu\text{g/ml}$ 의 hippuric acid를 생성하여 75.5%의 저해율을 나

타내었다. 팔의 ethanol 추출물에서 51.8%의 저해율을 보였으며³²⁾ 복분자의 ethanol 추출물에서 78.0%의 저해율을 나타내는 것³³⁾과 비교해 보다 더 높거나 비슷한 저해효과를 볼 수 있었다. 이는 가든 세이지의 총 페놀 함량 중 ACE 저해활성이 있는 페놀성 물질이 많을 것으로 판단되었으며, 높은 저해율을 나타내는 것으로 보아 고혈압 예방에 활용할 수 있는 좋은 기능성 소재라 판단되었다.

가든 세이지 추출물의 *Helicobacter pylori* 항균활성. Disc method에 의하여 가든 세이지 추출물들의 *H. pylori*에 대한 항균활성을 측정 한 결과, Fig. 4와 같이 200 $\mu\text{g/ml}$ 농도의 60% ethanol 추출물에서 13 \pm 1.6 mm의 clear zone이 나타나 가든 세이지 추출물은 위장 내에서 위궤양을 일으키는 원인 균인 *H. pylori*균의 억제효과가 비교적 우수한 것으로 판단되었다. Diker와 Hascelik³⁴⁾는 차 추출물로부터 15 mm 내외의 clear zone을 얻은 것으로 보고하였으며, Sage³⁵⁾의 60% ethanol 추출물에서 약 12 mm 내외의 clear zone을 얻은 것으로 보고한 것과 비교하여 볼 때, 본 연구에 사용된 가든 세이지도 *H. pylori*에 대한 항균제로서 산업화에 활용이 가능하다고 사료되었다.

초 록

가든 세이지 추출물의 추출 최적 조건을 알아보고자 각각 추출 용매별, 농도별, 시간별로 비교하였다. 가든 세이지는 60% ethanol에서 24시간 추출하는 것이 최적 추출조건으로 가장 효율적이라 판단되었다. 한편 생리활성 효과는 추출물의 phenol 농도를 200 $\mu\text{g/ml}$ 로 조절하여 실험하였다. DPPH에 대한 전자공여능은 60% ethanol 추출물에서 64.4%로 나타났으며, ABTS radical decolorization은 60% ethanol 추출물에서 96.9%, antioxidant protection factor는 60% ethanol 추출물에서 2.30 PF로 나타났으며, PF와 같이 지용성 물질의 항산화력을 나타내는 TBARS값은 control의 $0.62 \times 10^2 \mu\text{M}$ 에 비해 60% ethanol 추출물에서 $0.28 \times 10^2 \mu\text{M}$ 의 낮은 TBARS값을 나타내어 항산화 효과가 우수한 것으로 나타났다. Xanthine oxidase 활성억제 효과는 100%의 저해율을 나타냈고, ACE 활성억제 효과는 75.5%의 저해율을 나타내었으며, *Helicobacter pylori*균에 대한 항균활성도 200 $\mu\text{g/ml}$ 농도의 액체배지에서 63.4%의 저해율을 나타내어 생리활성효과도 우수한 것으로 나타났다.

Key words: *Salvia officinalis*, angiotensin converting enzyme, xanthine oxidase, antimicrobial activity, antioxidant activity, *Helicobacter pylori*

감사의 글

이 논문은 경북대학교 2007년도 학술연구지원금에 의해 연구되었으며, 이에 감사드립니다.

참고문헌

1. Tabance, N., Kirimer, N., Demirci, B., Demirci, F. and Baser,

- K. H. C. (2001) Composition and antimicrobial activity of the essential oils of *Micromeria cristata* subsp. Phrygia and enantiomeric distribution of borneol. *J. Agric. Food Chem.* **49**, 4300-4303.
2. Kim, H. J., Ahn, M. S., Kim, G. H. and Kang, M. H. (2006) Antioxidant and antimicrobial activity of *Pleurotus eryngii* extracts prepared from different aerial part. *Korean J. Food Sci. Technol.* **38**, 779-804.
3. Ali, K. A., Abdelhak, M., George, B. and Panagiotis, K. (2005) Tea and herbal infusions: Their antioxidant activity and phenolic propolis. *Food Chem.* **89**, 27-36.
4. Jung, S. W. and Kim, M. K. (2003) Effect of dried powders of chamomile, sage and green tea on antioxidative capacity in 15-month-old rats. *Kor. Nut. Soc.* **34**, 699-710.
5. Huang, M. T., Ho, C. T. and Lee, C. (1992) Phenolic Compounds in Food and their Effects on Health (II), Antioxidants and Cancer Prevention. *ACS Symp. Series 507, American Chemical Society, Washington, DC, USA.* pp. 54-71.
6. Elzaawely, A. A., Xuan, T. D. and Tawata, S. (2005) Antioxidant and antibacterial activities of *Rumex japonicus* Houtt. aerial parts. *Biol. Pharm. Bull.* **28**, 2225-2230.
7. Doosan World Encyclopedia. **14**, 480.
8. Farag, R. S., Badei, A. Z. M. A., Hawedi, F. M. and Elbaroty, G. S. A. (1989) Antioxidant activity of some spice essential oils on linoleic acid oxidation on aqueous media. *J. Am. Oil Chem. Soc.* **66**, 792.
9. Cuvelier, M. E., Richard, H. and Berset, C. (1996) Antioxidative activity and phenolic composition of pilot-plant and commercial extracts of sage and rosemary. *J. Am. Oil Chem. Soc.* **73**, 645-652.
10. Areias, F., Valentao, P., Andrade, P. B., Ferreres, F. and Seabra, R. M. (2000) Flavonoids and Phenolic Acids of Sage: Influence of some Agricultural Factors. *Agric. Food Chem.* **48**, 6081-6084.
11. Kim, K. S., Shim, S. H., Jeon, G. H. and Cheong, C. S. (1998) Antidiabetic activity of constituents of *Lycii fructus*. *J. Appl. Pharmacol.* **6**, 378-382.
12. Blois, M. S. (1958) Antioxidant determination by the use of stable free radical. *Nature*, **26**, 1198-1199.
13. Pellegrin, N., Re, R., Yang, M. and Rice-Evans, C. (1998) Screening of dietary carotenoids and carotenoid-rich fruit extracts for antioxidant activities applying 2,2'-azinobis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) radical cation decolorization assay. *Method Enzymol.* **299**, 379-389.
14. Andarwulan, N. and Shetty, K. (1999) Phenolic content in differentiated tissue cultures of untransformed and agrobacteriumtransformed roots of anise (*Pimpinella anisum* L.). *J. Agric. Food Chem.* **47**, 1776-1780.
15. Buege, J. A. and Aust, S. D. (1978) Microsomal lipid peroxidation. *Method Enzymol.* **105**, 302-310.
16. Stürpe, F., Della Corte, E. (1969) The regulation of rat liver xanthine oxidase. *J. Biol. Chem.* **244**, 3855-3863.
17. Cushman, D. W. and Ondetti, M. A. (1980) Inhibitors of angiotensin converting enzyme for treatment of hypertension. *Biochem. Pharmacol.* **29**, 1871-1877.
18. Cavidson, P. H. and Parish, M. E. (1989) Methods of testing the efficacy of food antimicrobials. *Food Technol.* **43**, 148-150.
19. Chun, S. S., Vatterm, D. A., Lin, Y. T. and Shetty, K. (2005) Phenolic antioxidants from clonal oregano (*Origanum vulgare*) with antimicrobial activity against *Helicobacter pylori*. *Process Biochemistry* **40**, 809-816.
20. Kuhnau, J. (1976) The flavonoids a class of semiessential food components; their role in human nutrition. *World Rev. Nutr. Diet.* **24**, 117-200.
21. Clark, A. M. and El-Feraly F. S. (1981) Antimicrobial activity of phenolic constituents of *Magnolia grandiflora* L. *J. Pharm. Sci.* **70**, 951-952.
22. Shetty, K. (2001) Biosynthesis and medical application of Rosemarinic acid. *J. Herbs Spices Med. Plant* **8**, 161-181.
23. Zheng, W. and Wang, S. Y. (2001) Antioxidant activity and phenolic compound in selected Herbs. *J. Agric. Food Chem.* **49**, 5165-5170.
24. Cuvelier, M. E., Richahard, H. and Berset, C. (1998) Antioxidative activity of phenolic composition of pilot plant and commercial extracts of sage and rosemary. *J. Am. Oil Chem. Soc.* **73**, 645-652.
25. Torel, J., Gillard, J. and Gillard, P. (1986) Antioxidant activity of flavonoids and reactivity with peroxy radical. *Phytochemistry* **25**, 383-385.
26. Kim, E. Y., Baik, I. H., Kim, J. H., Kim, S. R. and Rhyu M. R. (2004) Screening of the antioxidant activity of some medicinal plants. *Kor. J. Food Sci. Tech.* **36**, 333-338.
27. Ma, S. J. (2000) Inhibitory effect of onion seasoning on angiotensin converting enzyme. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* **29**, 395-400.
28. Vermeirssena, V., Campb, J. V. and Verstraetea, W. (2002) Optimization and validation of an angiotensin converting enzyme inhibition assay for the screening of bioactive peptides. *J. Biochem. Biophys. Methods* **51**, 75-87.
29. Erdos, E. G. and Skidgel, R. A. (1987) The angiotensin I converting enzyme. *Lab. Invest.* **56**, 345-348.
30. Ariyoshi, Y. (1993) Angiotensin converting enzyme inhibitors derived from food proteins. *Trends Food Sci. Technol.* **4**, 139-144.
31. Petrillo, E. W. and Ondetti, M. A. (1982) Angiotensin converting enzyme inhibitors: Medicinal chemistry and biological actions. *Med. Chem. Biol. Act. Med. Res. Rev.* **2**, 1-6.
32. Kwon, Y. S., Lee, H. G., Shin, H. K. and Yang, C. B. (2000) Purification and identification of angiotensin converting enzyme inhibitory peptide from small red bean protein hydrolyzate. *Food Sci. Biotechnol.* **9**, 292-296.
33. Cho, Y. S., Chun, S. S., Kwon, H. J., Kim, J. H., Yoon, S. J. and Lee, K. H. (2005) Comparison of physiological activities between hot-water and ethanol extracts of bokbunja (*Rubus coreanum* F.). *J. Kor. Soc. Food Sci. Nutr.* **34**, 790-796.
34. Paek, N. S. and Kim, Y. M. (1998) α -Glucosidase inhibition by culture broth of *Streptomyces* sp. NS-15. *Kor. J. Food Nutr.* **11**, 640-646.
35. Diker, K. S. and Hascelik, G. (1994) The bactericidal activity of tea against *Helicobacter pylori*. *Lett. Appl. Microbiol.* **19**, 299-300.