



Physiological activities of leaf extract of *Lonicera morrowii* A.Gray, a plant native to Ulleungdo

Eun-Ho Lee¹ · Hye-Jin Park¹ · Eun-Jin Hong^{1,2} · Sultanov Akhmadjon¹ ·
Byung-Oh Kim¹ · Hee-Young Jung³ · In-Kyu Kang⁴ · Young-Je Cho¹

울릉도 자생식물인 섬괴불나무(*Lonicera morrowii* A.Gray) 잎 추출물의 생리활성

이은호¹ · 박혜진¹ · 홍은진^{1,2} · 스타노브 아크마존¹ · 김병오¹ ·
정희영³ · 강인규⁴ · 조영제¹

Received: 15 October 2020 / Accepted: 18 November 2020 / Published Online: 31 December 2020
© The Korean Society for Applied Biological Chemistry 2020

Abstract This study was performed to investigate total phenolic contents, anti-oxidant, biological disease-related enzyme inhibitory, and anti-microbial effects of extracts of *Lonicera morrowii* leaves prepared with water and 40% ethanol. Anti-oxidative activities of the extracts increased in a dose-dependent manner and were very high even at low phenolic concentration. At phenolic concentrations ranging between 50 and 200 µg/mL, the water and ethanol extracts inhibited 39.34-76.35 and 47.53-99.83% of xanthine oxidase activity, 30.21-79.06, and 59.40-87.14% of angiotensin converting enzyme activity, and 59.81-80.35 and 36.06-63.58% of α-glucosidase activity, respectively. All inhibitory effect were increased in a dose-dependent manner. In the paper disc agar

diffusion assay against seven microbes, *L. morrowii* extracts had anti-bacteria activities against *Helicobacter pylori*, *Propionibacterium acne* but no effect against other bacteria. These results indicate that the extracts from *L. morrowii* leaves have the possibility to be developed as a physiologically functional source for prevention of adult diseases.

Keywords Anti-microbial · Anti-oxidant · Biological activity · Extracts · *Lonicera morrowii* A.Gray · Phenolic compounds

Young-Je Cho (✉)
E-mail: yjcho@knu.ac.kr

¹School of Food science & Biotechnology, Kyungpook National University, 80 University Street, Bukgu, Daegu 41566, Republic of Korea

²Marine Bio-industry Development Center, 7 Hoenggye-gil, Ilgwang-myeon, Gijang-gun, Busan 46048, Republic of Korea

³School of Applied Biosciences, Kyungpook National University, 80 University Street, Bukgu, Daegu 41566, Republic of Korea

⁴Department of Horticultural Science, Kyungpook National University, 80 University Street, Bukgu, Daegu 41566, Republic of Korea

This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0/>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

서 론

식생활 습관이 빠르게 서구화됨에 따라 만성 질환이나 성인병 환자가 급격히 증가하고, 고령화 사회로 변하면서 삶의 질에 대한 인식이 건강과 행복한 삶을 추구하는 트렌드의 소비 형태로 변하면서 건강기능식품에 관심을 가지게 되며 더욱 고급화되어 효능을 중요시하는 기능성 제품의 수요가 크게 증가하고 있다 [1]. 노화와 질병을 예방하고 치료하기 위한 목적으로 초기에 사용된 BHA, BHT와 같은 합성 항산화제들이 사용되고 있으나 인체에 독성을 나타내거나 흡수도가 낮은 한계를 나타내어 [2], 이를 극복하기 위하여 최근 각종 약용식물, 과일 및 채소와 같은 천연물 유래의 기능성 물질을 개발하여 이용되고 있다. 그 중 생물이 생을 영위함에 있어서 생체 기능을 증진시키거나 혹은 억제시키는 물질인 생리활성물질은 생체 내에서 기능조절에 관여하는 물질의 결핍이나 과도한 분비에 의해 비정상적인 병태를 보일 때 이를 바로 잡아 주는 역할을 한다. 최근에는 효

능이 검증된 약용식물자원 유래의 생리활성이 우수한 기능성 물질에 대한 많은 연구가 이루어지고 있으며, 여러 우수한 성분 및 소재들이 개발되고 있다[3-4]. 생리활성 물질의 대부분은 페놀성 화합물로 구성되어 있으며, 항균, 항알러지, 암, 당뇨, 심혈관계 질환, 신경변성 질환 등 그 외에 다양한 질병을 예방하는데 유익한 역할을 하며 천연 생리활성 자원으로서 중요한 인자가 된다[5].

섬피불나무(*Lonicera morrowii* A.Gray)는 인동과(*Caprifoliaceae*) 인동속에 속하는 낙엽활엽 관목으로 울릉도와 독도의 바닷가 양지에 분포하는 한국특산식물로 이명으로는 도생인동, 죽도표단목, 섬맹강이, 섬피불이라고 명명하고 있다. 꽃은 5-6월에 피고 백색에서 황색으로 변하며 꽃줄기에는 털이 있다. 잎은 넓은 난형, 도란형 또는 타원형으로 주로 약용으로 쓰이며, 열매는 장과로 등글며 7-8월에 붉게 익는다[6]. 인동과 식물에 분포하는 화학성분으로는 주로 iridoids와 flavonoids, lignans 등이 알려져 있으며, 민간에서 꽃과 잎, 줄기를 열내림약, 독풀이약, 오줌내기약, 쟁혈약으로 풍강의 초기 열날 때, 종창과 종독, 여러 가지 창독, 꿀은 질병 및 암 치료에도 사용되고 있다[6]. 현재 섬피불나무의 연구로서는 Lee [6]의 섬피불나무의 화학성분에 관한 연구, Kim [7]의 외부형태형질과 염색체 DNA를 기초한 섬피불나무의 분자생물지리에 대한 연구와 Jeong 등[8]의 섬피불나무의 종내변이 및 분자생물학적 지리연구를 통한 유연관계를 밝히는 연구를 실시하여 보고 되어져 있으나 기능성 식품으로써의 그 기능과 효능에 대한 연구는 거의 없는 실정으로 보다 많은 연구가 필요하다고 판단되어진다.

따라서 본 연구는 새로운 기능성 식품 개발을 위한 생리활성 자원의 발굴을 목적으로 자원의 효율적인 이용을 위해 인동과 식물인 섬피불나무 잎 추출물의 항산화 활성, xanthine oxidase (XOase), angiotensin converting enzyme (ACE), α -glucosidase 억제효과 및 항균 활성을 검정하여 기능성 식품소재로의 활용 가능성과 신규 기능성 작물을 자원화 하기 위한 기초 자료를 제공하고자 하였다.

재료 및 방법

실험재료 및 추출물 제조

섬피불나무의 잎은 울릉도에서 자생하는 것을 채취하여 원기재문과 참고문헌[9-12]을 이용하여 동정하였으며, 잎을 제외한 이물질 제거 후, 45 °C dry oven에서 건조하였다. 건조한 시료는 분쇄기를 이용하여 40 mesh로 분쇄하여 사용하였다. 열수 추출물의 제조는 시료 1 g에 증류수 200 mL를 넣고 가열하여 액이 100 mL이 되었을 때 냉각하였으며, 용매 추출에서는 1 g의 시료에 10-100% 에탄올 용액, 메탄올, 아세톤, 부탄올을 각각 100 mL씩 가하여 homogenizer로 20,000 rpm에서 1분간 균질화하였다. 추출물 모두 12시간 이상 교반 추출하고 추출액은 whatman No. 1 filter paper로 여과한 후 섬피불나무 잎 추출물의 total phenolic contents (TPC)를 측정하였으며, TPC를 조절하기 위해 rotary vacuum evaporator (Eyela NE, Tokyo, Japan)로 농축하여 항산화, 생리활성 효소 억제 효과, 항균효과 측정에 사용하였다.

TPC 측정

추출물에 함유된 TPC를 측정하기 위해 Folin과 Denis [13]의 방법에 준하여 섬피불나무 잎 추출물 1 mL, 동량의 95% 에탄올 1 mL와 5 mL의 증류수를 첨가한 후 2 N 농도의 Folin-ciocalteu reagent를 1 N 농도로 희석하여 0.5 mL를 첨가하였다. 발색시약인 Na_2CO_3 1 mL를 섞어주고 암실에서 1시간 이내로 반응시켰다. TPC는 725 nm의 흡광도를 측정하여 gallic acid를 이용한 표준곡선으로 계산하였다.

1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) radical 소거능과 anti-oxidant protection factor (PF) 측정

Blois의 방법[14]에 준하여 라디칼의 생성 여부에 따라 보라색으로 변하는 라디칼 변화 활성 중 DPPH radical 소거능을 측정하였다. 섬피불나무 잎 추출물 1 mL에 60 μM DPPH 3 mL를 첨가하고 mixing 한 후 실온에서 15분 동안 시약 반응을 시켰다. 측정은 흡광도를 사용하여 517 nm의 파장에서 측정하였으며, 추출물의 흡광도와 대조군의 흡광도 차이를 이용하여 계산하였다. Jo와 Cho의 방법[3]에 준하여 β -carotene의 산화 억제력에 따라 지용성 항산화 활성을 나타내는 PF는 evaporator용 수기에 β -carotene과 chloroform을 각각 1 mg당 5 mL 비율로 제조하여 1 mL를 넣고 40-50 °C water bath를 통해 용액을 증류시킨 다음, 각각의 linoleic acid와 tween 40을 20, 184 μL 씩 분주하여 β -carotene을 재용해한다. Emulsion 용액을 제조하기 위해 50 mL의 H_2O_2 를 넣어주고, 섬피불나무 잎 추출물 100 μL 와 emulsion 5 mL를 혼합하여 vortex한 후 50 °C의 water bath에서 30분간 반응시켜 470 nm의 파장에서 흡광도를 측정하였다.

XOase 저해 효과 측정

Stirpe와 Della-Corte의 방법[15]에 준하여 XOase 저해효과를 측정하였다. 샘플군은 0.1 M potassium phosphate buffer (pH 7.5)에 녹인 기질액 2 mM xanthine 3 mL를 넣고 XOase (0.05 U/0.1 mL) 0.1 mL와 섬피불나무 잎 추출물 0.3 mL를 넣었다. 대조군은 추출물 대신 증류수를 0.3 mL 첨가하여 37 °C에서 5분간 시약 반응을 시킨 후 종료시약인 20% trichloroacetic acid를 1 mL 가한 후 원심분리하여 단백질을 제거하고 흡광도 292 nm에서 측정하여 생성된 uric acid량을 표준곡선을 통해 계산하였다.

ACE 저해 효과 측정

Cushman과 Cheung의 방법[16]에 준하여 ACE 저해 효과를 측정하였다. 샘플군은 0.1 M potassium phosphate buffer (pH 8.3)에 0.3 M NaCl를 첨가하여 제조한 용액에 2.5 mM hippuryl-L-histidyl-L-leucine (HHL, Sigma-Aldrich Co, Louis, MO, USA)를 녹인 기질용액 0.15 mL와 ACE (0.25 unit/mL, Sigma-Aldrich Co.) 0.1 mL, 섬피불나무 잎 추출물 0.1 mL를 혼합하였으며, 대조군은 추출물 대신 증류수 0.1 mL를 첨가하여 37 °C에서 30분간 시약 반응시킨 후 1 N HCl 0.25 mL를 첨가하여 시약 반응을 정지시킨 뒤 3 mL의 ethyl acetate를 첨가하였다. Ethyl acetate 층으로부터 용매를 증류시킨 잔사에 2 mL의 증류수를 첨가하여 추출된 hippuric acid를 흡광도 280 nm에서 측정하여 표준곡선을 통해 계산하였다.

α-Glucosidase 저해효과 측정

Tibbot과 Skadsen의 방법[17]에 준하여 α-glucosidase 저해효과를 측정하였다. 50 mM sodium succinate buffer (pH 4.2)에 p-nitrophenol-α-D-glucopyranoside를 용해시켜 1 mg/mL 농도로 기질을 제조하였으며, 기질용액 1 mL와 효소액 0.1 mL를 혼합하여 샘플군은 섬피불나무 잎 추출물 0.1 mL, 대조군은 증류수 0.1 mL를 각각 넣고 37 °C에서 30분간 반응시킨 후 발색시약인 1 N NaOH 0.1 mL를 첨가하였다. 효소반응에 의해 생성된 p-nitrophenol은 표준곡선을 통해 계산하였다.

항균 활성 측정

실험에 사용한 균주는 피부상재균으로 세균각막염과 안검결막염 등의 원인균인 *Staphylococcus epidermidis*의 표준균주 ATCC 12228, *Staphylococcus aureus*의 표준균주 ATCC 12600, 여드름 원인균 *Propionibacterium acne*의 표준균주 ATCC 11828, 위, 십이지장궤양의 원인균인 *Helicobacter pylori*의 표준균주 ATCC 43504, 병원성 대장균인 *Escherichia coli*의 표준균주 ATCC 9637, 충치원인균인 *Streptococcus mutans*의 표준균주 ATCC 700610, 구강 내 세균인 *Candida albicans*의 표준균주 ATCC 18804를 사용하였다. *S. mutans*와 *C. albicans*의 배양을 위한 액체배지로는 brain heart infusion 및 YM broth를 각각 사용하였으며, *E. coli* 및 *S. epidermidis*의 액체배지로는 nutrient broth를 사용하였고, *S. aureus*의 액체배지로는 tryptic soy broth를 사용하였다. 고체배지는 상기 액체배지에 agar를 첨가하여 본 실험에 사용하였다. 미호기성 균은 조건을 유지시켜 주기 위해서 10% CO₂ incubator에 배양하였으며, incubator의 습도는 항상 95% 이상으로 유지하였다. Agar plate상에서 배양은 37 °C에 48-72시간 동안 배양하였으며, *S. epidermidis*, *S. aureus*, 및 *E. coli* 배양에는 nutrient medium을 사용하였으며, agar plate상으로 37 °C의 BOD incubator에서 24-48시간 동안 배양하였다[18,19]. Disc method에 의한 항균활성 검색은 최적 배지 agar plate에 준비한 균 배양액 100 μL를 분주하여 멸균 유리봉으로 도말하고 멸균된 지름 8 mm 크기의 disc paper를 올려놓고 0.45 μm membrane filter로 제공한 섬피불나무 잎 추출물 100 μL에 TPC 농도를 50, 100, 150 및 200 μg로 분주하였다. 대조구로는 멸균수 100 μL를 흡수시켜 24시간 동안 배양하여, disc 주위의 clear zone 생성 유무와 직경을 측정함으로써 항균활성을 계산하였다[20].

통계처리

모든 실험결과는 평균 ± 표준편차(mean ± standard deviation)로 표현하였다. 통계 분석은 최소 6개의 기술 복제물에 대한 실험을 위해 SPSS 25 (Statistical Package for Social Science, Chicago, IL, USA)의 Duncan's multiple range test one way ANOVA를 사용하여 수행되었다. p < 0.05는 통계적으로 유의하다고 간주되었다.

결과 및 고찰

용매 종류와 농도에 따른 TPC

식물계에 널리 분포되어 있는 phenolic compounds는 식물에 고

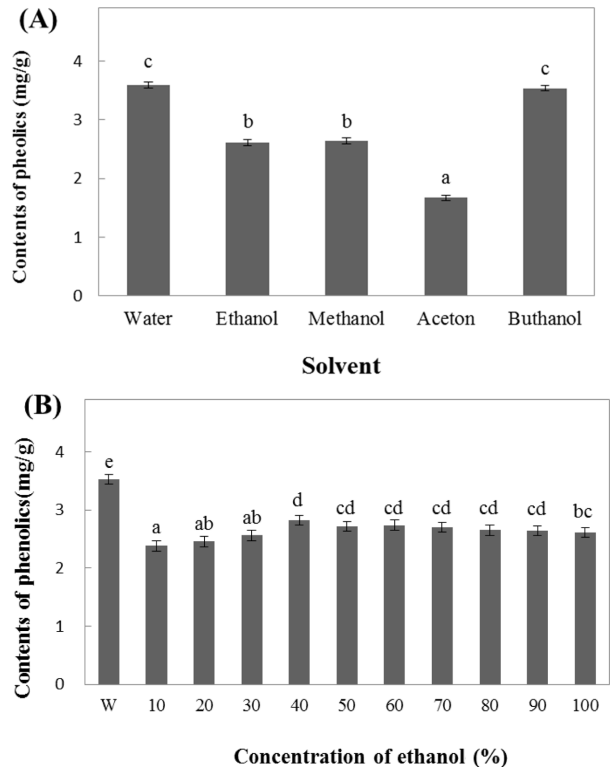


Fig. 1 The contents of different solvent (A), ethanol concentration (B) on extraction of phenolics from *L. morrowii* leaf. Mean ± standard deviation (n = 6). Means with different letters (a-e) above the bars are significantly different at p < 0.05 by a Duncan's multiple range test

유한 색을 부여하고, 짙은맛과 쓴 맛의 주체로 식물성 식품의 고유한 맛에도 관여한다. 또한 항산화 작용과 같은 기능성을 가지는 것으로 알려져 관련 연구가 여러 분야에서 이루어지고 있다[21]. 일반적으로 식물성 추출물은 추출 부위, 방법, 조건 및 추출 용매 등에 따라 유용물질의 함량이 달라질 수 있으며, 항산화 활성, 지질대사 등 이화학적 특성에도 변화를 준다. Phenolic compounds는 식물의 줄기, 잎, 뿌리, 과일, 꽃과 씨앗 등의 다양한 부위에 함유되어 있어 식물의 종류와 부위에 따라 페놀성 화합물의 성분과 함량이 차이가 있다[22,23]. 따라서 본 연구에서는 식품산업에 사용 가능한 용매인 물과 에탄올을 사용하여 섬피불나무 잎을 추출하였고, 추출용매의 극성에 따른 TPC를 확인하기 위해 에탄올 농도별로 TPC를 확인하였다. 또한 추출용매로 선정한 물과 에탄올의 추출 수율을 비교하기 위해 메탄올, 아세톤, 부탄올을 사용하여 TPC를 비교하였다. 용매별 추출물의 TPC를 확인한 결과 Fig. 1A에서와 같이 열수, 에탄올, 메탄올, 아세톤 및 부탄올 추출물에서 각각 3.59, 2.61, 2.64, 1.67 및 3.54 mg/g의 TPC를 나타내어 열수 추출물에서 가장 높은 TPC를 나타내었으며, 에탄올 추출물은 아세톤 추출물보다는 높은 TPC를 나타내었으며, 메탄올, 부탄올 추출물과 비교하였을 때 낮은 TPC를 나타내었지만, Fig. 1B에서와 같이 에탄올 농도별 추출물의 TPC를 측정된 결과, 40% 에탄올 추출물에서 2.82 mg/g의 TPC를 나타내어 다른 추출 용매의 TPC와 비교하였을 때 상대적으로 낮지 않은 TPC를 나타내었다. 따

Table 1 Anti-oxidant activity of DPPH, Anti-oxidant protection factor on water and 40% ethanol extract from *L. morrowii* leaf

Anti-oxidant assay	Samples	Anti-oxidant activity (%)			
		TPC (mg/mL)			
		50	100	150	200
DPPH	Water extract	85.11±0.51 ^a	86.62±0.46 ^b	86.93±0.44 ^b	89.04±1.03 ^c
	Ethanol extract	89.26±0.14 ^a	89.45±0.60 ^b	89.90±0.21 ^c	91.20±0.92 ^c
	BHT	69.26±1.22 ^a	83.43±0.97 ^b	85.63±0.34 ^c	85.70±0.71 ^d
PF	Water extract	1.91±0.03 ^a	2.15±0.06 ^b	2.23±0.05 ^{bc}	2.29±0.08 ^c
	Ethanol extract	1.48±0.02 ^a	1.58±0.01 ^b	1.60±0.03 ^b	1.71±0.04 ^c
	BHT	0.84±0.03 ^a	0.9±0.05 ^b	0.97±0.03 ^c	1.00±0.02 ^c

Mean±standard deviation (n=6). Means with different letters (a-d) above the bars are significantly different at $p < 0.05$ by a Duncan's multiple range test

라서 열수와 40% ethanol 추출물을 이용하여 섬피불나무 잎 추출물의 DPPH radical 소거능과 PF를 측정하였다.

섬피불나무 잎 추출물의 DPPH radical 소거능과 PF 측정 결과

섬피불나무 잎 추출물의 DPPH radical 소거능과 PF 측정 결과 Table 1에서와 같이 열수와 ethanol 추출물 모두 농도가 증가함에 따라 DPPH radical 소거능이 유의하게 증가하였으며, 측정 농도 중 50 µg/mL의 낮은 TPC에서 열수와 ethanol 추출물에서 각각 85.11, 84.95%로 나타내어 positive control로 사용한 BHT 보다 높은 소거능을 나타내었다. Ko와 Yang[24]이 보고한 청미래 덩굴 잎의 열수 추출물이 1,000, 2,000 및 3,000 µg/mL 농도에서 각각 33.60, 54.40 및 73.30%의 소거능을 나타내었으며, ethanol 추출물의 경우 250, 500 및 1,000 µg/mL의 농도에서 50.90, 83.50 및 92.30%의 소거능을 나타내었다는 보고와 비교하였을 때 섬피불나무 잎 추출물 또한 우수한 효과를 나타내는 것으로 판단되었다.

β-Carotene은 lipoprotein과 같은 지방친화성 구조의 내부에 존재하면서 지질 산화과정에서 생성되는 peroxy radical과 반응하여 생성되는 불활성물질인 형질하고 이로 인해 free radical이 연쇄반응을 중단시켜 singlet oxygen을 효과적으로 억제하는 것으로 알려져 있다[25]. PF의 경우 일반적으로 1.2 PF를 기준으로 그 이상의 경우 지용성 물질에 대한 항산화력이 높다고 판단할 수 있는데[26], 섬피불나무 잎의 50 µg/mL TPC에서 열수와 ethanol 추출물에서 각각 1.91, 1.48 PF를 나타내었다. Positive control로 사용한 BHT에서는 50-200 µg/mL 농도에서 섬피불나무 잎보다 낮은 효과를 나타내었으며, Jo [27]가 보고한 잣나무 잎 추출물이 200 µg/mL의 TPC에서 열수와 ethanol 추출물이 각각 1.15, 1.42 PF로 보고하여 섬피불나무 잎 추출물은 잣나무 잎 추출물보다 낮은 농도에서도 더 높은 효과를 나타내었다. 위의 결과에 따라 TPC를 달리하여 제조한 샘플에서 농도가 증가함에 따라 항산화 활성이 증가하는 경향을 보인다고 보고한 Kim 등[23]의 연구와 유사한 경향을 나타내었다.

섬피불나무 잎 추출물의 XOase, ACE, α-glucosidase 저해효과

섬피불나무 잎 추출물의 생리활성 효과에 관여하는 효소인 XOase, ACE, α-glucosidase 저해효과를 측정한 결과는 Fig. 2에서와 같다. XOase는 생체 내 purine 대사에 관여하는 효소로 xanthine 또는 hypoxanthine으로부터 uric acid를 형성하고 그 양이 증가하여 관절에 축적되면서 염증을 일으켜 심한 통증을

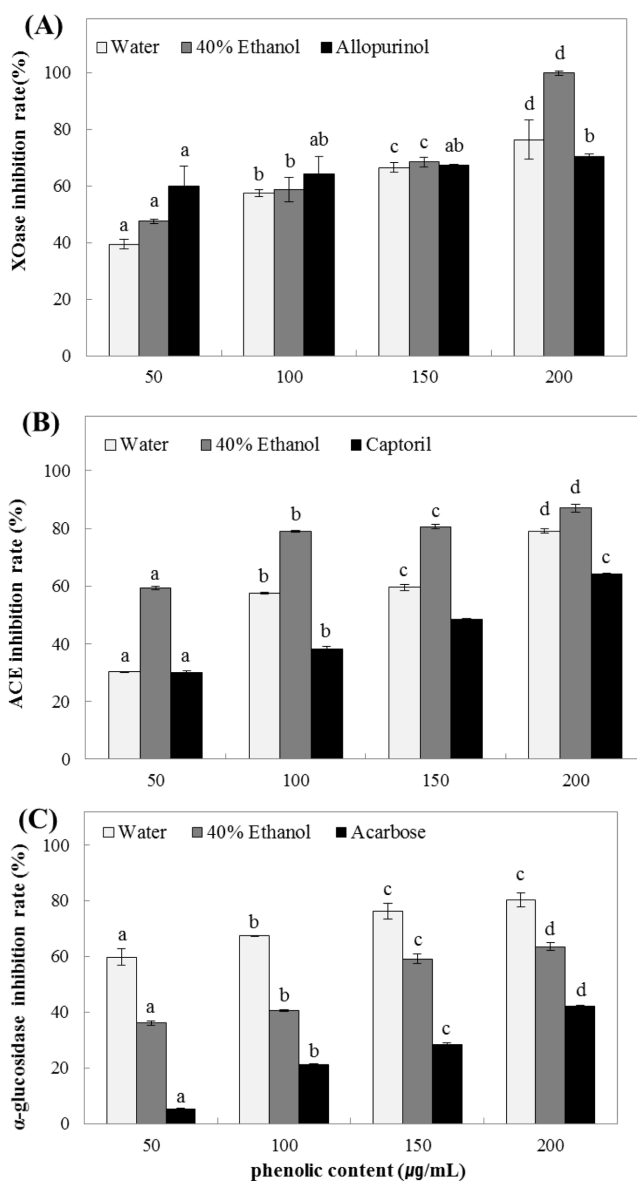


Fig. 2 Effect of XOase (A), ACE (B), α-glucosidase (C) inhibition on water, 40% ethanol extracts from *L. morrowii* leaf. Mean ± standard deviation (n=6). Means with different letters (a-d) above the bars are significantly different at $p < 0.05$ by Duncan's multiple range test

Table 2 Anti-microbial activity of *L. morrowii* leaf extracts

		Clear zone (mm)									
		TPC (mg/100 mL)									
		Water extracts					40% EtOH extracts				
		0 ¹⁾	50 ²⁾	100 ³⁾	150 ⁴⁾	200 ⁵⁾	0 ¹⁾	50 ²⁾	100 ³⁾	150 ⁴⁾	200 ⁵⁾
Skin	<i>S. epidermidis</i>	- ⁶⁾	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	<i>S. aureus</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	<i>P. acne</i>	-	-	13	14	18.5	-	-	-	9	10
	<i>C. albicans</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Stomach	<i>H. pylori</i>	-	-	-	-	11.5	-	-	-	-	-
Intestine	<i>E. coli</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Dental caries	<i>S. mutans</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

¹⁾: 0 µg/100 µL of TPC, ²⁾: 50 µg/100 µL of TPC, ³⁾: 100 µg/100 µL of TPC, ⁴⁾: 150 µg/100 µL of TPC, ⁵⁾: 200 µg/100 µL of TPC, ⁶⁾: Not detected

유발하는 통풍을 일으키는 것에 관여하는 효소로 알려져 있다 [28]. 섬피불나무 잎 추출물의 XOase 저해효과를 측정된 결과 Fig. 2A에서와 같이 섬피불나무 잎의 열수와 ethanol 추출물 모두 농도 의존적으로 저해효과가 증가하였으며, 50-150 µg/mL TPC에서는 positive control로 사용한 allopurinol과 유사한 효과를 나타내었으나 200 µg/mL TPC에서는 76.35, 99.83 및 70.37%로 allopurinol보다 높은 저해효과를 나타내었다. Seo와 Kim이 보고[29]한 쇠무릎 잎의 열수와 ethanol 추출물은 100 µg/mL 농도에서 각각 약 40, 20%의 저해효과를 나타냈으며, Kwon 등 [5]이 보고한 비단풀의 물과 ethanol 추출물은 100 µg/mL 농도에서 각각 37.63, 59.18%의 저해효과를 나타내어 섬피불나무 잎이 동일한 농도에서 보다 높은 XOase 저해효과를 나타내어 기능성 원료로 활용가능성을 확인하였다.

인체 내 ACE는 renin에 의해 생성된 decapeptide인 angiotensin I로부터 C-말단의 dipeptide (His-Leu)를 가수분해 시켜 혈관 수축작용을 나타내는 angiotensin II를 생성하여 고혈압의 원인이 되고 있다. ACE 저해제는 angiotensin I을 angiotensin II로 바꾸는 효소에 작용하여 angiotensin II 및 aldosterone의 생산을 감소시키고, 혈관확장제인 bradykinin을 증가시키고 신장 혈관을 확장시켜 sodium의 배설을 촉진시켜 혈압을 낮추어 줄 수 있으며 이로 인해 심혈관 질환 및 뇌혈관질환 등을 치료하는데 사용될 수 있다[30,31]. 섬피불나무 잎의 ACE 저해효과를 측정된 결과 Fig. 2B에서와 같이 열수와 ethanol 추출물 모두 농도 의존적으로 저해효과가 유의적으로 증가하는 경향을 보였으며, 200 µg/mL TPC에서 각각 79.06, 87.14%로 매우 높은 저해효과를 나타내었다. Lee 등[32]은 꾸지뽕나무의 줄기, 잎, 열매를 25 mL/g으로 열수와 ethanol 추출 했을 때 저해효과가 34.41-85.14%로 나타내었다고 보고하였으며, Cho 등[33]은 복분자 열수와 에탄올 추출물 모두 78.00%의 저해효과를 나타내었다고 보고하였다. ACE 저해인자로 인식되어지는 성분으로써 peptide와 그 유도체들 그리고 catechin, polyphenol 성분들이라는 보고 [34]를 바탕으로 섬피불나무 잎은 ACE 저해효과가 매우 우수하다고 판단되었다.

최근 당뇨병이나 비만 등의 치료를 위해 탄수화물의 소화를 지연시키거나 억제시킴으로써 소장에서의 흡수를 억제하고자 하는 연구들이 활발히 이루어지고 있다. α-Glucosidase에 대한 저해력은 포도당의 흡수를 억제시켜, 식후 혈당상승을 감소시킨다.

그 중 대표적인 acarbose는 이당류의 분해효소를 가역적으로 억제하고 탄수화물의 흡수를 지연시켜, 식후 혈당을 감소시킴으로써 인슐린 비의존성 당뇨병의 개선에 효과적이다[35]. 위와 같이 기능성을 가진 소재를 탐색하기 위해 α-glucosidase 저해효과를 측정된 결과 Fig. 2C에서와 같이 섬피불나무 잎의 열수와 ethanol 추출물은 농도 의존적으로 저해효과가 증가하는 경향을 나타냈으며, 200 µg/mL TPC에서 각각 80.35, 63.58%의 저해효과를 나타내었다. Choi와 Jung [36]은 모링가 잎 5,000 µg/mL 농도에서 열수와 ethanol 추출물은 각각 45.19, 88.14%의 저해효과를 나타내었다고 보고한 것과 비교하였을 때, 섬피불나무 잎 추출물의 α-glucosidase 저해효과는 매우 우수하다고 사료된다.

섬피불나무 잎 추출물의 항균 활성

섬피불나무 잎 추출물을 paper disc agar diffusion assay로 항균 활성을 측정된 결과는 Table 2와 같다. 모낭 내에 상주하는 혐기성 세균인 *P. acne*는 지방분해효소와 화학주성인자를 분비하여 자유지방산을 만들며 백혈구를 모낭주위에 모이게 하여 모낭 벽에 자극을 주어 파괴하여 모낭 내용물이 진피내로 유출되고 염증반응이 일어난다[37]. 이러한 여드름 원인 균인 *P. acne*에 대한 항균효과를 측정 결과, 섬피불나무 잎 열수 추출물의 100, 150 및 200 µg/100 µL 농도에서 각각 13, 14 및 18.5 mm의 생육저해환을 나타내었으며, 40% ethanol 추출물은 150, 200 µg/100 µL 농도에서 각각 9, 10 mm의 생육저해환을 나타내었다. Jang 등 [38]은 니아울리 잎 2500 µg/disc 농도에서 열수와 50% ethanol 추출물의 항균활성 측정 결과 두 추출물 모두 *p. acne*에 대해 10.0 mm의 생육저해효과를 보인다고 보고했으며, Jeong[39]은 노희의 25,000 µg/mL 농도에서 11.4 mm의 생육저해효과를 보였으며, 50% ethanol 추출물의 경우 5,000 µg/mL, 25,000 µg/mL 농도에서 각각 8, 14 mm의 생육저해효과를 나타내었다는 보고와 비교하였을 때 섬피불나무 잎의 열수 추출물이 낮은 농도에서 더 우수한 저해력을 나타내었으며, ethanol 추출물의 경우 열수 추출물보다 낮은 생육저해효과를 보였다. *H. pylori* 균은 최초로 만성 위염 환자의 위점막 생검 조직에서 배양되었고 이후 급성 및 만성 위염, 소화불량, 흡수장애증, 저산증, 위궤양, 십이지장 궤양, 위암 등 각종 소화기 질환의 주요 원인인자로 국내 정상 성인의 약 60-75% 정도 감염률을 보이며 서구의 여러 나라에 비해 매우 높은 보급율을

보이고 있다[40]. 따라서 위궤양과 십이지장 궤양 원인 균인 *H. pylori*에 대한 항균 효과를 측정할 결과 오직 열수 추출물 200 µg/100 µL 농도에서 11.5 mm의 생육저해환을 나타내었다. Lee 등[41]이 보고한 약용식물 열수 추출물의 *H. pylori*에 대한 항균 활성과 비교해 보았을 때 소목, 황련, 소엽 추출물이 각각 13.00, 8.00 및 13.00 mm의 생육저해효과를 보였고, Park과 Kim [42]이 보고한 한약재 추출물인 황금, 감초, 어성초, 차조, 구기자가 각각 *H. pylori* 균에 대한 clear zone이 19.00, 16.03, 13.45, 13.00 및 12.01 mm로 이 결과와 비교했을 때 섬피불나무 잎 열수 추출물이 낮은 농도에서 한약재 추출물과 유사한 결과를 나타내어 *H. Pylori*에 대한 저해력이 높은 것으로 판단되었다. 그 외의 미생물에서는 생육저해효과가 나타나지 않았으며, 추출물 간의 저해효과 차이는 추출 시 사용한 용매, 용매의 농도, 및 온도에 따라 추출된 phenolic compounds의 profile 차이에 의한 것으로 예측되어 추가적인 후속연구가 필요하다고 판단되었다[43]. 이상의 결과로 섬피불나무 잎은 위, 십이지장 균과 여드름의 원인 균에 대한 우수한 항균 활성을 나타내어 기능성 소재로서 개발 가능성을 확인하였다.

초 록

본 연구에서는 섬피불나무 잎으로부터 phenolic 화합물의 생리 활성 탐색을 통하여 기능성 소재로 활용 가능성을 살펴보았다. 인체에 무해한 용매인 열수와 ethanol로 추출했을 때 열수는 3.53 mg/g, 40% ethanol은 2.82 mg/g의 TPC를 나타내었으며, 추출물을 이용하여 항산화 활성, xanthine oxidase (XOase), angiotensin converting enzyme (ACE), α-glucosidase 억제효과 및 항균 활성을 검정하였다. 그 결과 섬피불나무 잎의 열수와 ethanol 추출물 50-200 µg/mL TPC에서 농도의존적으로 DPPH 유리라디칼 소거활성 및 PF가 증가하는 경향을 보였고, 50 µg/mL의 저농도에서도 모두 매우 높은 활성을 나타내었다. XOase 저해효과에서는 200 µg/mL TPC에서 열수와 ethanol 추출물이 각각 76.35, 99.83%의 높은 저해효과 나타났으며, ACE 저해효과 또한 200 µg/mL TPC에서 열수와 ethanol 추출물 각각 79.06, 87.14%의 저해효과를 확인하였다. α-Glucosidase 저해효과를 측정할 결과 200 µg/mL TPC에서 열수와 ethanol 추출물 각각 80.45, 63.58%의 저해효과를 보였다. 생육저해환으로 항균 활성을 측정 결과 열수 추출물 200 µg/100 µL TPC에서 *H. pylori*, *P. acne*균에 대해 각각 11.5, 18.5 mm의 clear zone을 형성 하였고, ethanol 추출물 200 µg/100 µL 농도에서는 *P. acne*균에 대해 10 mm의 clear zone을 형성하였다. 따라서 본 연구를 통하여 섬피불나무 잎 추출물의 항산화 활성, xanthine oxidase (XOase), angiotensin converting enzyme (ACE), α-glucosidase 억제효과 및 항균 활성이 있다고 판단되었다.

Keywords 기능성 성분 · 섬피불나무 · 생리활성 · 추출물 · 페놀 화합물

References

- Hong JH (2013) Physiological activities of leaf and twig extracts from *Lindera obtusiloba* blume. Korean J Food Cookery Sci 29: 573–580
- Jo BS, Cho YJ (2012) Biological activity of extracts from *acanthopanax sessiliflorum* fruit. Korean J food Preserv 19: 586–593
- Lee HS, Kim SH (2010) Safety evaluation of black garlic extract for development of cosmeceutical ingredients: Skin irritation and sensitization studies. J Korean Soc Food Sci Nutr 39: 1213–1219
- Joo SY (2013) Antioxidant activities of medicinal plant extracts. J Korean Soc food Sci Nutr 42: 512–519
- Kwon YR, Lee HR, Hwang SH, Kwon OJ, Youn KS (2016) Antioxidant activities and physiological properties of *euphorbia humifusa* extracts prepared using different solvents. Korean J food preserv 23: 252–258
- Lee JS (1999) A study on the phytochemical constituents of *Lonicera insularis* nakai. Dissertation, Sang-myung university
- Kim MS (2010) Phylogeography of *Lonicera insularis* Nakai (caprifoliaceae) based on morphological characters and chloroplast DNA sequences. Dissertation, Kyungpook national university
- Jeong KS, Kim MS, Lee W, Pak JH (2014) Intraspecific variation and geographic study of *Lonicera insularis* (Caprifoliaceae) based on chloroplast DNA sequences. Korean J PI Taxon 44: 202–207
- Nakai T (1927) Trees and shrubs indigenous in Japan Proper. Tokyo 1: 628–687
- Nakai T (1938) A new classification of the genus *Lonicera* in the Japanese Empire together with the diagnoses of new species and new varieties. The Journal of Japanese Botany 14: 359–375
- Lee TB (1979) Illustrated flora of Korea. Hyangmunsa, Seoul
- Ohwi J (1984) Flora of Japan. National Science Museum. Tokyo
- Folin O, Denis W (1912) On phosphotungstic-phosphomolybdic compounds as color reagents. J Biol Chem 12: 239–243
- Blios MS (1958) Antioxidant determination by the use of a stable free radical. Nature 181: 1199–1200
- Stirpe F, Della-Corte E (1969) The regulation of rat liver xanthine oxidase. J Biol Chem 244: 3855–3863
- Cushman DW, Cheung HS (1971) Spectrophotometric assay and properties of the angiotensin-converting enzyme of rabbit lung. Biochemical pharmacol 20: 1637–1648
- Tibbot BK, Skadsen RW (1996) Molecular cloning and characterization of a gibberellin inducible, putative alpha-glucosidase gene from barley. plant Mol Biol 30: 229–241
- Kim KB, Jo BS, Lee JY, Park KT, An BJ, Lee SH, Cho YJ (2012) Beauty food activities of isolated phenolic compounds from *Ulmus pumila*. J Appl Biol Chem 55: 207–215
- An BJ, Park TS, Lee JY, Hyun SJ, Park GH, Cho YJ, Kim SG (2007) Anti-microbial effect of irradiated green tea polyphenol addition into cosmetic composition. J Korean Soc Appl Biol Chem 50: 210–216
- Ju IS, Cho YU (2009) Purification and identification of phenol compounds with inhibitory activity on *Helicobacter pylori* from *phododendron mucronulatum* Flos. extracts. Kor J Life Sci 19: 1125–1131
- Cho JW, An TH, Lee SY, Park KW (2012) Determination of total content of phenolic compounds in chinese matrimony vine^{Os} accessions. Korean J Crop Sci 57: 409–417
- Koh JH, Hwang MO, Moon JS, Hwang SY, Son JY (2005) Antioxidative and antimicrobial activities of pomegranate seed extracts. Korean J Food Cook Sci 21: 171–179
- Kim SM, Cho YS, Sung SK (2001) The antioxidant ability and nitrite scavenging ability of plant extracts. Korean J Food Sci Technol 33: 626–

632

24. Ko MS, Yang JB (2011) Antioxidant and antimicrobial activities of *Smilax china* leaf extracts. Korean J food preserv 18: 764–772
25. Kim JH, Lee SY, Park JM, Park JH, Kwon OJ, Lee JY (2014) Antioxidant activity and inhibition activity against α -amylase and α -glucosidase of *Juniperus rigida* Sieb extracts. Korean J Food Preserv 21: 396–403
26. Kim KB, Jo BS, Park HJ, Park KT, An BJ, Ahn DH, Kim MU, Chae JW, Cho YJ (2012) Healthy functional food properties of phenolic compounds isolated from *Ulmus pumila*. Korean J Food Preserv 19: 909–918
27. Jo BS (2012) The screening of biological activity from *Pinus koraiensis Siebold et Zucc.* leaf and development to functionality product. Dissertation, Kyungppok national university
28. Lee YS, Joo EY, Kim NW (2006) Polyphenol contents and physiological activity of the *Lespedeza bicolor* extracts. Korean J Food Preserv 13: 616–622
29. Seo SJ, Kim NW (2014) Antioxidant activities of extracts from leaves and stems, of *Achyranthes japonica*. J Korean Soc Food Sci Nutr 43: 972–979
30. Lee KH, Kwon HJ, Chun SS, Kim JH, Cho YJ, Cha WS (2006) Biological activities of extracts from *Phellinus linteus*. J Korean Soc Appl Biol Chem 49: 298–303
31. Jeon CP, Lee JB, Choi CS, Kwon GS (2011) Biological activities of ethanol extracts from Monascus-fermented chinese yam. Journal of Life Science 21: 1142–1148
32. Lee HJ, Do JR, Kwon JH, Kim HK (2011) Physiological activities of extracts from different parts of *Cudrania tricuspidata*. J Korean Soc Food Sci Nutr 40: 942–948
33. Cho YJ, Chun SS, Kwon HJ, Kim JH, Yoon S, Lee KH (2005) Comparison of physiological activities between not-water and ethanol extracts of bokbunja (*Rubus coreanum* F.). J Korean Soc Food Sci Nutr 34: 790–796
34. Jin Q, Park JR, Kim JB, Cha MH (1999) Physiological activity of *Zizyphus Jujuba* leaf extracts. J Korean Soc Food Sci Nutr 28: 593–598
35. Park YH, Lim Sh, Ham HJ, Jeong HN, Lee KJ, Kim KH, Kim SM (2010) Comparison of biological activities of extracts from different parts of seabuckthorn (*Hippophae rhamnoides* L.) J Korean Soc Food Sci Nutr 39: 975–959
36. Choi YJ, Jung KI (2016) Anti-diabetic, alcohol-metabolizing, and Hepatoprotective activities of moringa (*Moringa oleifera* Lam.) leaf extracts. J Korean Soc Food Sci Nutr 45: 819–827
37. Choi SM, Kim MJ, Choi YH, Ahn HJ, Yun YP (1998) Screening of the antibacterial activity of natural products against *propionibacterium acnes*. Yakhak Hoeji 42: 89–94
38. Jang HN, Park SN (2014) Antimicrobial activity of Niaouli (*Melaleuca quinquenervia*) leaf extracts against skin flora. J Soc Cosmet Scientists Korea 40: 313–320
39. Jeong WY (2016) Anti-propionibacterium acnes and anti-inflammatory effect of *Aloe ferox* miller. Dissertation, Kyung Hee University
40. Lee HA, Kim OJ (2013) Study on the antimicrobial activities of erbal extracts against *Helicobacter pylori*. Korean J vet Res 53: 117–123
41. Lee JJ, Kim SH, Chang BS, Lee JB, Huh CS, Kim TJ, Beak YJ (1999) The antimicrobial activity of medicinal plants extracts against *Helicobacter pylori*. Korean J Food Sci Technol 31: 764–770
42. Park YS, Kim YH (2006) The effect of medicinal herb extract on antimicrobial activity against *Helicobacter pylori* and antioxidant activity. J east Aslan Soc Dietary Life 16: 199–206
43. Park UY, Chang DS, Cho HR (1992) Antimicrobial effect of Lithospermi radix (*Lithospermum erythrorhizon*) extract. J Korean Soc Food Nutr 21: 97–100