

Rue(*Ruta graveolens* L.) 추출물의 *Helicobacter pylori*에 대한 항균활성과 생리활성효과

조영제^{1*} · 천성숙² · 김정환¹ · 윤소정¹

¹상주대학교 식품공학과

²영남대학교 식품가공학과

Inhibition against *Helicobacter pylori* and Biological Activities by Rue (*Ruta graveolens* L.) Extracts

Young-Je Cho^{1*}, Sung-Sook Chun², Jeung-Hoan Kim¹ and So-Jung Yoon¹

¹Dept. of Food Engineering, Sangju National University, Sangju 742-711, Korea

²Dept. of Food Science & Technology, Yeungnam University, Gyeongsan 712-749, Korea

Abstract

Water and ethanol extracts from Rue were prepared, and their growth inhibiting activity against *Helicobacter pylori* and other biological activities were examined. Total phenolic compounds in the water and ethanol extracts were present at the concentration of 16.39 mg/g, and 17.07 mg/g, respectively. At the concentration of 200 µg/mL of phenolic compounds concentration, water extract produced 12 mm inhibition zone while ethanol extract produced 13 mm. The ABTS [2,2'-azinobis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid)] radical decolorization and antioxidant protection factor (PF) were determined for extracts from Rue. Water extracts showed 96% inhibition rate on ABTS, but ethanol extracts showed higher PF (1.2) than water extracts (0.8). Water extracts had higher electron donation ability on DPPH than ethanol extracts. But ethanol extracts had higher ACE (angiotensin converting enzyme) and xanthine oxidase inhibitory activities than water extracts. Rosemarinic acid and quercetin were the most abundant phenolic compounds as analyzed by HPLC.

Key words: biological activity, angiotensin converting enzyme, antioxidant, xanthine oxidase, *Ruta graveolens* L., *Helicobacter pylori*

서 론

최근 들어 식품성분이 가지는 각종 생체 조절기능을 해명함으로써 식품의 기능성을 새롭게 인식하려는 연구들이 활발히 진행되고 있다. 생체 내에서 에너지 생산을 위한 산화과정 중에 상당량의 활성산소들이 생성된다. 이들 활성산소는 생체 내 제거기작에 의해 대부분 소멸이 되지만 순간적으로 활성산소가 다량으로 발생되거나 만성적으로 활성산소가 발생되어 항산화방어계와의 균형이 깨지면 각종 질환의 원인이 된다. 즉 류마티스성 관절염, 세균성이나 바이러스성 감염, 심장병, 파킨슨씨병, 알츠하이머, 암, 세포 노화 등이 활성산소에 의해 유발된다고 알려져 있다(1). 활성산소의 독성을 억제하기 위한 항산화성 물질로는 아스코르빈산, 토코페롤, 카로티노이드, 플라보노이드, 아미노산, 펩티드, 단백질, 인지질 등의 천연 항산화제와 butylated hydroxy anisol (BHA) 및 butylated hydroxy toluene(BHT) 등 합성 항산화제가 있다. 천연 항산화제들은 항산화력이 비교적 낮고 합성

항산화제의 경우는 생체 효소 및 지방의 변이원성 및 독성으로 인체에 암을 유발할 수 있다는 보고가 있어(2) 보다 안전하고 효력이 강한 항산화제의 연구가 요구되고 있고 현재 산화반응을 억제하는 항산화 물질에 대한 연구가 활발하게 진행되고 있다. 만성 위염이나 십이지장염과 밀접한 관련이 있는 것으로 알려진 *Helicobacter pylori*는 1983년 Warren과 Marshall이 환자의 위 유문부로부터 분리하여 보고한 이후 많은 연구가 이루어졌다. *Helicobacter pylori*는 위점막 상피 세포간 접합부에서 서식하면서 만성적인 위궤양을 유발하는 Gram 음성 간균이며 위점막에서만 곡형 또는 S자형의 간균으로 관찰되며 크기는 0.4~1.25 µm 정도로 보고되었다. 30~37°C의 미호기적 환경에서 잘 자라며, 25°C 또는 45°C에서는 자라지 않고 혐기적 환경에서도 자라지 않고 최적 pH는 7.0~7.5이며, 이 범위를 벗어난 산성이나 알칼리 조건에서 발육하지 않는다고 보고되었다(3). 우리나라 성인의 약 80% 정도가 이 균에 감염되었으나 임상증상을 나타내지 않고 있다가 어떠한 발병 촉진인자의 영향으로 만성적인

*Corresponding author. E-mail: yjcho@sangju.ac.kr
Phone: 82-54-530-5265, Fax: 82-54-530-5269

위십이지장 궤양을 유발한다는 보고(4) 등을 감안하여 볼 때 *Helicobacter pylori* 자체에 대한 연구와 병행하여 *Helicobacter pylori*에 대한 근본적인 예방이나 치료를 위한 새로운 방법이 시도될 필요가 있다. 최근에는 식물류에 들어 있는 생리활성 성분에 대한 관심이 높아져 이들 생리활성 성분을 함유한 천연식물 소재들을 천연 항산화제와 항진균제의 원료로 이용하려는 시도가 많이 이루어지고 있다. 식품에 존재하는 생리활성 물질의 대부분은 페놀성 화합물이고 이들 페놀성 화합물들은 일반적으로 수용성이며 플라보노이드류가 주를 이루고 단순한 페놀류, 페놀산, 페닐 프로파노이드류, 페놀성 퀴논류들을 포함하는 것으로 항세균, 항알레르기, 항산화, 항종양, 항암, 충치방지, 심장질환 및 당뇨병 예방 등의 효과가 있는 것으로 보고되고 있다(5). Rue(*Ruta graveolens*)는 藥草이라고 하며 포기 전체에서 코를 감싸고 싶을 정도로 기묘한 향이 난다. 학명의 *Ruta graveolens*는 그리스어의 reuo 즉, “자유롭게 한다” 또는 “해방한다” rue-sthai “구한다” 등의 말로서 약효가 뛰어난 유명한 약초인데서 비롯한다. 현대 의학에서는 Rue에서 루틴(rutin)이라는 물질을 추출하여 제 2차 세계대전 중에는 고혈압의 치료제로 썼으며, 히스테리 같은 신경질환, 복통, 기침, 류마티스 등에 달여서 먹었다. 그러나 다량은 유해하므로 함부로 남용하는 것은 금물이다. 반면, Rue를 꼴다발로 묶어서 문 위에 걸어 놓으면 파리를 막을 수 있고 책갈피에 넣으면 종이 쓸지 않는다. 그리고 이나 벼룩을 없애는 데도 쓰인 중요한 방충제이며 Rue의 뿌리는 적색염료로 쓰인다. 쓴맛이 나고 철과 미네랄이 풍부한 Rue의 나뭇잎은 간혹 음식, grappa, 여러 종류의 술에 사향의 독특한 맛을 내기 위해서 사용된다. 자극성이 있는 나뭇잎은 병세를 호전시키며 혈관을 강화시키는 데 쓰인다. 이것의 진정작용은 고혈압, 간질, 복통에 효과가 있고, leaf wash는 충혈된 눈에 효과가 있다. 나뭇잎을 건조시켜서 강력한 살충제로 활용하며 상처를 치료하는 살균제로 쓰이기도 한다(6). 최근 우리나라는 국민소득의 증가와 함께 의학 및 생명과학의 발달로 인하여 평균수명이 증가하고 있는 추세이나 식습관의 변화와 환경조건의 악화로 성인병의 발병율이 높아지고 있다. 또한 스트레스에 시달리는 현대인들은 자연지향 또는 건강지향에 관심이 높아져 가고 있으며, 특히 성인병에 대한 관심이 날로 증가하고 있다. 따라서 영양, 건강이나 식품의 품질을 증진시킬 수 있는 항산화성과 항진균성이 높고, 기능성을 겸비한 허브의 수요가 확대될 수밖에 없는 시점에 이르렀고 허브를 이용한 식품의 개발이 이루어지고 있다. 현재까지도 성인병의 치료에는 한계가 있으므로 항산화 효과와 항진균 효과가 풍부한 식품을 일상적으로 섭취함으로써 이들 식품구성성분의 생체조절기능에 대한 효과를 병행하는 방법 등이 다양하게 검토되고 있는 실정이다.

본 연구에서는 Rue(*Ruta graveolens*)로부터 생리활성 물질 탐색 연구의 일환으로 고혈압을 유발하는 angiotensin

converting enzyme, 관절염을 유발하는 xanthine oxidase의 저해물질을 분리하고 저해효과를 검토하여 기능성을 입증하고 항산화 효과와 항진균 효과를 살펴봄으로써 기능성 식품 소재로서 활용키 위한 기초 자료를 마련하고자 하였다.

재료 및 방법

시약 및 실험장치

Butylated hydroxytoluene(BHT), 2,2'-azinobis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid)(ABTS), yeast extract, beef extract, pyruvic acid, β -carotene, H_2O_2 , linoleic acid, tween 40, α, α -diphenyl- β -picrylhydrazyl(DPPH), xanthine oxidase, xanthine, angiotensin converting enzyme (ACE), hippuryl-L-histidyl-L-leucine(HHL), hippuric acid 등은 Sigma사(USA)의 특급시약을 사용하였으며, 시료의 페놀 분리에 사용한 HPLC는 Agilent 1100 series와 VWD 1100 detector를 사용하였고 이동상으로는 메탄올은 J.T. Baker사의 HPLC급을 phosphoric acid, Folin-ciocalteu 시약, trichloro-acetic acid, Na_2CO_3 , HCl 등은 일제 특급시약을 사용하였다.

시료의 선정

Rue(*Ruta graveolens* L.)는 Herb 농장에서 재배되고 있는 것을 일단 채취하여 열풍건조기를 이용하여 50°C에서 건조시켜 분말화하여 물과 에탄올로 추출하여 사용하였다.

시료 추출물의 제조

Rue 잎의 물 추출물은 증류수 150 mL에 Rue 건조잎 3 g을 넣고 액이 70 mL가 될 때까지 가열한 후 냉각하고 알콜 추출물은 60% ethanol 70 mL에 Rue 건조잎 3 g을 넣고 물과 알콜 추출물 모두 24시간 진탕 추출한 후 10,000 rpm에서 15분 동안 원심 분리하여 Whatman No. 1 여과지로 여과한 후 물 추출물은 여액을 그대로 시료로 사용하였으며 알콜 추출물은 rotary vacuum evaporator로 ethanol을 제거하여 시료로 사용하였다.

Phenol 화합물 정량

시료 1 mL를 95% ethanol 1 mL와 증류수 5 mL를 가한 액에 1 N-Folin ciocalteu reagent 0.5 mL를 넣어 잘 섞어 주고 5분간 방치한 후 흡광도 725 nm에서 1시간 이내에 측정하여 표준곡선으로 양을 환산하였다(7).

HPLC 분석

표준 용액은 protocatechuic acid, caffeic acid, chlorogenic acid, coumaric acid, rosmarinic acid, quercetin 총 6종을 메탄올에 용해시켜 사용하였고, 시료는 0.2 μ m filter로 2 mL 여과하고 5 μ L를 주입하여 분석 조건은 column은 Agilent Zorbax(SB-C18, 250 \times 4.6 mm)를 30°C로 유지하였고, 검출기는 VWD를 사용하여 306 nm에서 측정 하였다. 이동상은

Table 1. HPLC eluent condition (v/v, %) for separating phenols

Time (min)	MeOH	Phosphoric acid (pH 2.5)
0	60	40
8	60	40
15	100	0
18	0	100
25	0	100

메탄올과 phosphoric acid(pH 2.5)를 사용하였고 기울기 용리 조건은 Table 1에 나타내었다. 이때 흐름 속도는 1 mL/min이다.

사용균주 및 배양

실험에 사용한 균주는 위, 십이지장궤양 원인균인 *H. pylori*로서 표준균주인 ATCC 43504를 사용하였다. *H. pylori*의 배양에는 최적배지(special pepton 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 사용하였다.

*H. pylori*의 배양은 미호기성 조건을 유지시켜 주기 위해서 10% CO₂ incubator를 이용하였으며, incubator의 습도는 항상 95% 이상으로 유지하였으며, agar plate상에서 배양은 37°C로 48~72시간 동안 실시하였다.

추출물의 항균활성 검색

*H. pylori*에 대한 추출물의 항균활성 검색은 다음의 2가지 방법으로 실시하였다.

액체배양법으로 *H. pylori* 최적 액체 배지(50 mL당 special peptone 0.5 g, NaCl 0.25 g, yeast extract 0.25 g, beef extract 0.2 g 및 pyruvic acid 0.025 g) 5 mL에 *H. pylori* 100 µL를 분주하고 각 추출물을 0.45 µm membrane filter로 제균하여 0.5 mL씩 주입하고 대조구에는 멸균수를 사용하였다. 37°C의 미호기성 조건에서 48~72시간 동안 배양한 후 분광광도계를 이용하여 570 nm에서 흡광도를 측정하였으며, 표준곡선을 이용하여 균수를 구한 후 저해율(%) = {1 - (반응구의 균수/대조구의 균수) × 100}의 식으로 계산하였다. disc paper 방법(8)으로 *H. pylori* 평판 최적배지(최적 액체 배지에 0.75 g agar 첨가)에 *H. pylori* 균 100 µL를 분주하여 멸균 유리봉으로 도말한 다음, 멸균된 disc paper(Φ 8 mm)를 올리고 0.45 µm membrane filter로 제균한 추출물 100 µL를 흡수시키고, 대조구로는 멸균수를 사용하였다. 37°C의 미호기성 조건에서 24시간 동안 배양한 다음, disc 주위의 저해환 생성 유무를 확인하여 지름을 측정하였다.

항고혈압 효과 검증

Angiotensin converting enzyme 저해효과 측정은 Cushman과 Ondetti(9)의 방법으로 행하였다. 즉, 반응구는 0.3 M NaCl을 함유하는 0.1 M potassium phosphate buffer(pH 8.3)에 기질인 hippuryl-L-histidyl-L-leucine(HHL, Sigma, USA) 2.5 mM을 녹인 액 0.15 mL, ACE(0.25 unit/mL, Sig-

ma, USA) 0.1 mL와 각 추출시료 용액 0.1 mL를 혼합하였으며, 대조구는 추출시료 대신 증류수 0.1 mL를 첨가하여 37°C에서 30분간 반응시키고, 1 N HCl 0.25 mL 첨가로 반응을 중지시킨 뒤 3 mL의 ethyl acetate를 첨가하였다. Ethyl acetate 층으로부터 용매를 증류시킨 잔사에 2 mL의 증류수를 첨가하여 추출된 hippuric acid를 spectrophotometer를 사용하여 흡광도 280 nm에서 측정한 후 저해율(%) = {1 - (반응구의 hippuric acid의 생성량/대조구의 hippuric acid의 생성량) × 100}의 식으로 저해율을 구하였다.

항관절염 효과 검증

Xanthine oxidase 활성저해 측정법은 Stirpe와 Corte(10)의 방법에 준하여 측정하였다. 즉, 반응구는 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 원심분리하여 단백질을 제거한 후 반응액 중에 생성된 uric acid를 흡광도 292 nm에서 측정하여 저해율(%) = {1 - (반응구의 uric acid의 생성량/대조구의 uric acid의 생성량) × 100}의 식으로 저해율을 구하였다.

항산화능 측정

DPPH (α, α -diphenyl- β -picrylhydrazyl) radical에 대한 소거활성은 Blois(11)의 방법을 변형하여 측정하였다. 각 시료 0.5 mL에 60 µM DPPH 3 mL를 넣고 vortex한 후 15분 동안 방치한 다음 517 nm에서 흡광도를 측정하여 (시료 첨가구 흡광도 - 대조구의 흡광도 / 대조구의 흡광도) × 100으로 나타내었다. ABTS radical cation decolorization의 측정은 Pellegrin 등(12)의 방법에 의해 측정하였다. 즉, 7 mM ABTS [2,2'-azinobis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid)] 5 mL와 140 mM K₂S₂O₈ 88 µL를 섞은 용액 1 mL와 ethanol 88 mL를 혼합한 ABTS용액 1 mL와 시료용액 50 µL를 혼합하여 30초간 진탕한 후 2.5분간 incubation하고 734 nm에서 흡광도를 측정하였다. ABTS radical cation decolorization 효과는 percentage inhibition(%)으로 나타내었다. Antioxidant Protection Factor(PF)는 Andarwulan과 Shetty의 방법(13)으로 측정하였다. 10 mg의 β -carotene/50 mL chloroform 용액 1 mL를 evaporator용 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 emulsion에 시료용액 100 µL를 혼합하여 vortex로 잘 섞어준 뒤 50°C에서 30분간 반응시켜 냉각시킨 다음 식힌 다음, 470 nm에서 흡광도를 측정하였다. PF = 반응구의 흡광도/대조구의 흡광도로 나타내었다. Thiobarbituric acid reactive substances(TBARS)는 Buege와 Aust의 방법(14)에 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/TCA 시약 2 mL를 가하고 15분간 boiling한 다음 10분간 냉각시킨 후 15분간 1,000 rpm으로 원심분리하여 실온에서 10분간 방치후 상정액을 532 nm에서 흡광도를 측정하였으며, TBARS값은 1 mL 반응혼합물에 대해서 생성된 1,1,3,3-tetra-ethoxypropane(TEP)의 μg 으로 표시하였다.

결과 및 고찰

Phenol 화합물 정량

식품 내의 지질이나 체내의 생체막에 존재하는 지질은 활성산소의 존재 하에 유리기와 연쇄반응을 일으켜 산화되어 식품의 품질변화 및 생체 노화의 원인이 된다. 이러한 산화반응을 방지하기 위하여 유리 소거제를 이용하여 연쇄반응의 전과단계에서 과산화기와 탈수소 반응을 통해 수소원자를 공유함으로써 라디칼이 비교적 안정한 형태를 형성하게 되는데, 이러한 유리소거제를 항산화제라고 하며, 페놀성 화합물이 널리 이용되고 있다(15). 본 실험에서 사용한 Rue의 총 페놀함량은 Table 2와 같이 물과 60% 에탄올 추출물에서 각각 16.39 mg/g, 17.07 mg/g로 나타났다. Choi 등(16)이 홍차, 녹차 등에 함유되어 있는 총 페놀 함량이 10.15 mg/g, 9.49 mg/g, 7.70 mg/g라고 보고한 것에 비해 본 실험에서 사용한 Rue 추출물의 총 페놀함량이 상대적으로 높아 천연 항균제 및 생리활성 물질로서의 이용 가능성을 예측할 수 있었다.

HPLC 분석

HPLC를 이용하여 생리 활성에 관여하는 6종의 페놀 protocatechuic acid, caffeic acid, chlorogenic acid, coumaric acid, rosmarinic acid, quercetin을 선택하여 시료중의 이러한 페놀 존재 유무 확인을 위해 표준물질과 retention time을 비교하여 정량 분석한 결과 Table 3과 같이 protocatechuic acid는 검출되지 않았으며 알콜 추출물에서 방부 작용에 효과가 있는 rosmarinic acid 함량이 높은 것으로 나타나 식품

Table 2. Phenolic compounds contents of water and ethanol extracts from Rue

	Phenol content (mg/g)
Water extract	16.39±0.11
60% ethanol extract	17.07±0.18

Table 3. Major phenolic compounds from Rue

Phenolic compounds	Content (mg/g)	
	Water extracts	Ethanol extracts
Protocatechuic acid	- ¹⁾	-
Caffeic acid	0.47±0.16	0.21±0.01
Chlorogenic acid	2.35±0.14	1.04±0.13
Coumaric acid	0.32±0.04	0.97±0.14
Rosmarinic acid	1.08±0.04	6.43±0.79
Quercetin	0.51±0.01	3.57±0.16

¹⁾Not detected.

이나 화장품 등의 변질을 막는 천연 방부제의 역할을 기대할 수 있으며 flavonoid 물질인 quercetin 함량도 높은 것으로 나타나 혈압강화 작용에 효과가 있을 것으로 생각된다.

추출물의 항균활성

Disc paper법으로 *H. pylori* 평판 최적배지에서 측정된 결과 Table 4에서와 같이 물 추출군에서는 페놀함량을 각각 150 $\mu\text{g/mL}$ 와 200 $\mu\text{g/mL}$ 첨가했을 때 10 mm, 12 mm의 clear zone을 형성하였으며, 알콜 추출물에서는 페놀 첨가량이 50~200 $\mu\text{g/mL}$ 로 증가함에 따라 9 mm, 10 mm, 11 mm, 13 mm의 clear zone이 형성되어 *H. pylori*에 대한 억제효과가 있는 것으로 나타났으며, 항균활성 검정은 *H. pylori* 최적액체 배지에서 측정된 결과, Table 5에서와 같이 물 추출물에서 역시 페놀 150 $\mu\text{g/mL}$ 와 200 $\mu\text{g/mL}$ 첨가했을 때 저해 활성을 찾아 볼 수 있었고, 알콜 추출물에서 또한 페놀 첨가량 별로 8.57%, 8.57%, 16.13%, 26.49%로 열수 추출보다 알콜 추출물에서 더 높은 저해 활성을 나타내었다. 이것은 물과 알콜 즉 용매의 극성이 각각 다르기 때문에 추출되는 페놀의 종류의 차이에 따른 것으로 사료되어진다.

항 고혈압 효과 검정

고혈압은 콩팥에 혈류장애가 생기면 신장에서 renin이라는 효소가 생성되어 angiotensinogen에 작용하여 angiotensin I을 생성하며, 이는 다시 ACE에 의해 angiotensin II로 전환된다. Angiotensin II는 직접 혈관 수축을 일으키고 aldosterone의 분비를 향상시켜 나트륨 이온과 수분저류를 초래하여 체액증가를 일으켜 혈압을 상승시키는데 이를 예방 또는 치료하는 방법으로 ACE 저해제가 사용되나 화학 합성품으로 만들어져 많은 부작용이 발생하는 것으로 알려져 있다(17). 이런 문제를 해결하기 위해 천연 식물 중 Rue를 선정하여 물과 에탄올 추출물의 ACE저해 효과를 확인한 결과, Table 6과 같이 ACE 저해율이 물 추출물은 57.04%, 알코올

Table 4. Inhibition of *Helicobacter pylori* by Rue extracts

Solvent	Diameter of clear zone (mm)				
	Phenol content ($\mu\text{g/mL}$)				
	0	50	100	150	200
Water extracts	- ¹⁾	-	-	10	12
Ethanol extracts	-	9	10	11	13

¹⁾No inhibition.

Table 5. Inhibition activity on *Helicobacter pylori* by extract from Rue

Solvent	Growth inhibition (%)				
	Phenol content ($\mu\text{g/mL}$)				
	0	50	100	150	200
Water extracts	- ¹⁾	-	-	8.36	10.26
Ethanol extracts	-	8.57	8.57	16.13	26.49

¹⁾No inhibition activity.

Table 6. Inhibition of angiotensin converting enzyme by extracts from Rue

	Inhibition on angiotensin converting enzyme	
	Hippuric acid ($\mu\text{g/mL}$)	Inhibition activity (%)
Control	9.40	
Water extract	4.04	57.04
Ethanol extract	2.45	73.89

Table 7. Inhibition of xanthine oxidase by extracts from Rue

	Inhibition on xanthin oxidase	
	Uric acid ($\mu\text{g/mL}$)	Inhibition activity (%)
Control	32.22	
Water extract	17.54	45.56
Ethanol extract	0	100.00

추출물은 73.89%로 나타나 물 추출물보다 알코올 추출물이 ACE에 대해 더 높은 저해 활성을 나타내 고혈압 예방에 도움이 될 것으로 예상된다.

항 관절염 효과 검증

Xanthine oxidase는 생체내 퓨린 대사에 관여하는 효소로 xanthine 혹은 hypoxanthine으로부터 urate를 형성하여 혈장내 urate가 증가되면 골절에 축적되어 심한 통증을 유발하는 통풍을 일으킨다(18). 따라서 XOase에 대한 Rue 추출물의 저해 활성을 살펴본 결과 Table 7과 같이 물 추출물은 45.56%, 알코올추출물은 100.00%의 높은 저해 효과를 나타내었다. 이러한 결과로 볼 때 Rue 추출물에 함유된 phenolic 물질은 gout의 예방과 치료에 효과가 있음을 예측할 수 있었다.

항산화 활성

Tarladigis 등(19)은 지방의 산화는 시간의 경과, 지방산의 조성, 산소의 활성, 항산화제 등 여러 영향인자에 의해 영향을 받는다고 보고하였다. 따라서 추출물의 상대적인 항산화력의 측정에는 potassium persulfate와의 반응에 의해 생성된 ABTS free radical이 추출물의 항산화력 물질에 의해 제거되어 radical 특유의 색인 청록색이 탈색되는 것을 이용한 방법을 사용하였고, PF의 측정을 위하여 β -carotene을 첨가한 linoleic acid emulsion을 사용하여 Rue 추출물의 항산화력을 측정하였다. 그리고 아스코르빈산, 토코페롤, polyhydroxy 방향족 화합물, 방향족 아민류에 의하여 환원되어 짙은 자색이 탈색되는 것을 이용하여 전자공여능을 측정하였으며, TBARS는 지방의 산화에 의해 생기는 malonaldehyde의 양을 측정하여 추출물의 항산화력을 확인한 결과, Table 8과 같이 전자공여능은 열수추출물과 알코올추출물이 89.38%, 86.90%였으며 ABTS⁺는 열수추출물이 96.61%, 알코올추출물이 93.00%로 높은 항산화력을 나타냈으며 PF는 0.83, 1.20의 비교적 낮은 값을 나타내었고 지방산패정도를 나타내는 TBARS는 대조구의 62.0 μM 에 비해 열수추출물 첨가가 14.1 μM , 알코올추출물 첨가가 13.9 μM 로 나타나 물과

Table 8. Antioxidant activities of extracts from Rue

Antioxidant activity	Solvent		
	Control	Water extracts	Ethanol extracts
DPPH	-	89.38 \pm 1.24	86.9 \pm 1.40
ABTS ⁺	-	96.61 \pm 0.17	93.0 \pm 0.11
Protection factor (PF)	-	0.83 \pm 0.06	1.20 \pm 0.03
TBARS ($\times 100 \mu\text{M}$)	0.62 \pm 0.05	0.141 \pm 0.01	0.139 \pm 0.02

알코올 추출물간의 지방 산화력의 차이는 뚜렷하지 않은 것으로 나타났다.

요 약

Rue잎을 물과 에탄올로 추출하여 항균활성과 생리활성 효과를 탐색하였다. 그 결과 각 추출물의 총페놀 함량은 물 추출물에서 16.39 mg/g 알코올 추출물에서 17.07 mg/g로 나타났다. *Helicobacter pylori*에 대한 disc 방법에서 200 $\mu\text{g/mL}$ 의 폴리페놀 첨가 시 물과 알코올 추출물은 각각 12 mm, 13 mm의 직경을 나타내어 항균활성이 있음을 알 수 있었으며, 2-fold dilution 방법으로 항균활성 검증 결과 물 추출물보다 알코올 추출물에서 더 높은 항균활성을 나타내었다. 물과 알코올 각 추출물의 ABTS radical decolorization과 antioxidant protection factor(PF)를 살펴 본 결과 ABTS는 물 추출물이 약 96%로 높은 저해율을 나타내었으며 PF는 알코올 추출물에서 1.2로 물 추출물 0.8보다 높게 나타났다. DPPH에 대한 전자공여능은 물 추출물이 89.38로 알코올 추출물 86.90%보다 높게 나타났으며 활성 산소종 지방산화를 일으키는데 주요한 역할을 하는 hydroxyl radical에 대한 각 추출물의 영향은 알코올 추출물이 binding 능력이 탁월하여 물 추출물에 비해 낮은 TBARS 값을 나타내었다. Angiotensin converting enzyme와 xanthine oxidase 저해 활성은 알코올 추출물이 물 추출물보다 더 높게 나타났고, HPLC에 의한 페놀 분석 결과 rosmarinic acid의 함량이 알코올 추출물에서 가장 많았으며 다음으로 quercetin 함량이 높게 나타났다.

감사의 글

본 연구는 한국산업기술재단에서 지원하는 2003년도 지역전략산업 석박사 연구인력 양성사업인 “한약재 및 herb로부터 *Helicobacter pylori*에 대한 항균성 물질 및 항당뇨 물질의 정제 및 사업화(과제번호 KOTEF-19)”과제로부터 얻어진 결과의 일부이며, 연구비 지원에 감사드립니다.

문 헌

1. Aruoma OI. 1998. Free radical. Oxidative stress and antioxidants in human health and disease. *J Am Oil Chem Soc* 75: 199-212.
2. Kyrtopoulos SA. 1989. N-nitroso compound formation in

- human gastric juice. *Cancer Surveys* 8: 423-442.
3. Rhee KH, Cho MJ, Kim JB, Choi SK, Kim YC. 1988. Bacteriological characteristics of *Campylobacter pylori*. *J Kor Soc Microbiol* 23: 17-26.
 4. Baik SC, King JB, Cho M, Kim YC, Park CK, Ryou HH, Choi HJ, Rhee KH. 1990. Prevalence of *H. pylori* infection among normal Korean adults. *J Kor Soc Microbiol* 25: 455-462.
 5. Ho CT. 1992. Phenolic compounds in food. In *Phenolic compounds in food and their effects on health II*. Huang MT, Ho CT, Lee CY, eds. Maple Press, New York. p 2-7.
 6. Ahn YS, Shin DH, Baek NI. 2000. Isolation and identification of active antimicrobial substance against *Listeria monocytogenes* from *Ruta graveolens* L. *Kor J Food Sci Technol* 32: 1379-1388.
 7. Dural B, Shetty K. 2001. The stimulation of phenolics and antioxidant activity in pea (*Pisum sativum*) elicited by genetically transformed andise root extract. *J Food Biochem* 25: 361-377.
 8. Cavidson PH, Parish ME. 1989. Methods of testing the efficacy of food antimicrobials. *Food Technol* 43: 148-150.
 9. Cushman DW, Ondetti MA. 1980. Inhibitors of angiotensin converting enzyme for treatment of hypertension. *Biochem Pharm* 29: 1871-1877.
 10. Stürpe F, Corte ED. 1969. The regulation of rat liver xanthine oxidase. *J Biol Chem* 244: 3855-3863.
 11. Blois MS. 1958. Antioxidant determination by the use of stable free radical. *Nature* 26: 1198-1199.
 12. Pellegrin N, Roberta R, Min Y, Catherine RE. 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 in Enzymol* 299: 379-389.
 13. Andarwulan N, Shetty K. 1999. Phenolic content in differentiated tissue cultures of untransformed and Agrobacterium-transformed roots of anise (*Pimpinella anisum* L.). *J Agric Food Chem* 47: 1776-1780.
 14. Buege JA, Aust SD. 1978. Microsomal lipid peroxidation. *Method in Enzymol* 105: 302-310.
 15. Choi HS. 1994. Peroxide and nutrition of lipids. *J Kor Soc Technol* 28: 867-878.
 16. Choi YC, Kim MG, Shin JJ, Park JM, Lee JS. 2003. The antioxidant activities of the some commercial teas. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 32: 723-727.
 17. Lee DH, Kim JH, Kim NM, Park JS, Lee JS. 2002. Manufacture and physiological functionality of Korean traditional liquorny using *Paecilomyces japonica*. *Kor J Mycol* 30: 141-146.
 18. Yagi K. 1987. Lipid peroxides and human disease. *Chem Phys Lipids* 45: 337-340.
 19. Tarladigis BG, Watts BM, Younathan MT, Dugan LR. 1998. A distillation method for the quantitative determination of malomaldehyde in rancid food. *J Am Oil Chem* 37: 44-49.

(2004년 12월 31일 접수; 2005년 3월 21일 채택)