

더위지기 생육 중 항산화 활성 변화

황 태 익[†]

전남대 농생대 응용식물학전공

Changes in Antioxidant Activity during Growth of *Artemisia iwayomogi*

Tay Eak Hwang[†]

Department of Plant Science, Jeonnam National University, Gwangju 500-757, Korea.

ABSTRACT : The aim of this study was to investigate the effect of plant growth at several different growing periods on antioxidant activities and zeatin and ABA contents of *Artemisia iwayomogi*. Measurements of antioxidant activities, lipid peroxidation inhibition, and superoxide radical scavenging activity were done using PMS, NBT and lipid auto-oxidation analysis, respectively. The results show that activities of antioxidants from *Artemisia iwayomogi* had much higher than BHT. DPPH free radical scavenging effect of *Artemisia* leaf extract was increased from $71.06 \pm 4.36\%$ in April to $90.06 \pm 4.41\%$ in October. Activities of superoxide radical scavenging and lipid peroxidation inhibition were $33.83 \pm 3.45\%$ and 45.60 ± 3.10 in April and then increased to $84.40 \pm 4.00\%$ and $75.86 \pm 3.50\%$ in October, respectively. An ELISA technique has been developed for the determination of zeatin and ABA in *Artemisia* leaves. By this method, the content changes of zeatin and ABA from *Artemisia* during the growth were investigated. The zeatin content in leaf was measured to be 186.86 ± 1.40 pmol/g dry weight in April, however, decreased to 117.93 ± 5.83 pmol in October. The ABA content in leaf increased from 19.00 ± 1.26 nmol in April to 68.20 ± 2.52 nmol in October. Relationship between antioxidant activities and plant hormone contents was indicated that antioxidant activity may depend on decreasing zeatin content or increasing ABA content.

Key Words : *Artemisia iwayomogi*, Antioxidant, Zeatin, Abscisic Acid

서 언

더위지기 (*Artemisiaiwayomogi*Kitamura)는 일명 부덕쑥, 애기바위쑥이라고도 불리며 국화과에 속하는 다년생의 목본식물이다. 더위지기는 우리나라를 비롯하여 일본의 북해도, 러시아의 사할린과 시베리아, 중국의 동북지역과 몽고 등 동북아시아 지역에 광범위하게 분포한다. 즐기와 잎사귀는 한인진(韓茵蔞)이라고해서 고려시대부터 약용으로 이용되어 왔으며 향약구급방(鄕藥救急方)에 기록되어 있다. 당시에는 더불로기로 표기되어 있는데 오늘날에는 더위지기로 되어있다. 동양 삼국 중에서 한인진을 인진으로 약용하고 있는 것은 우리나라뿐이고 일본, 중국, 대만에서는 사철쑥을 인진으로 하여 약용하고 있으며 우리는 더위지기도 쑥의 일종으로 분류하고 있다 (Park et al., 2005). 그래서 더위지기 연구는 우리나라에서 주로 이루어지고 있다. 더위지기는 肝疾患, 膽囊炎, 消化不良 등 치료에 사용되고 있으며 수요가 증가하고 채취가 어려워 현재는 강원도 전남북지역에서 재배가 확대되고 있는 실정이다. 그 기

능에 대한 다양한 연구가 보고되어 있는데, 성분으로는 정유, 방향족 oxycarbonic acid, esculetin 7-methylether, 배당체인 scopolin 등이 알려져 있다. 또한, 생리 활성 물질로서 esculetin 6-methylether (scopolutin) 등이 알려져 있다 (Kim et al., 1977; Yu et al., 2003). 더위지기 수용성 추출분획이 면역 흥선세포와 간세포 사멸을 억제(Hwang et al., 2005)하였으며, 쑥의 휘발성 물질이 항돌연변이 효과가 (Kim et al., 1992; Bae et al., 1992) 있고 알레르기과 염증을 억제하는 기능을 확인하였다는 보고 (Shin et al., 2006; Yamamoto et al., 1996)와 4염화탄소로 유도된 간 손상을 보호하며 면역세포의 생육을 증진시키는 효과 등이 보고되어있다 (Choi et al., 2005; Lee et al., 2004). 이러한 효과들에 관한 기전은 여러 가지가 있으나 그 가운데서도 항산화능을 주목 할 필요가 있다. 더위지기 알코올추출물은 자유기 소거능 (Song et al., 2001)이 있으며 특히 약용식물 138종의 메칠알코올 추출물에 대한 peroxynitrite 소거능을 조사한 결과 더위지기가 가장 높은 효과를 나타냈다는 보고 등 (Kim et al., 2004; Ryu

[†]Corresponding author: (Phone) +82-62-530-2056 (E-mail) tewhang@jnu.ac.kr
Received June 24, 2009 / Revised August 12, 2009 / Accepted August 18, 2009

et al., 2003; Kim et al., 1977)이 있다. 따라서 더위지기 생육중 이러한 기능성물질 즉 항산화물질 함량이 가장 높을 때 수확하는 것이 실용적으로 가치가 있을 것이다. 약용작물은 유효성분 함량이 수량만큼이나 중요하기 때문에 활성성분이 최대일 때 수확하는 것이 유리하다. 일반적인 작물의 경우 성장이 완료되고 종실이 충실하게 되었을 때 수확한다. 그러나 더위지기과 같이 전초를 수확 할 경우, 지상부 고사 이전 최대 수량을 얻을 수 있을 때 거둬들인다. 이는 지역적 환경에 따라서 유효성분의 변화가 심하게 나타날 수밖에 없다. 즉 생육상태와 유효성분 함량과의 관계를 확인 할 수 있는 방법이 필요하다. 식물의 생육 상태나 조건을 가장 잘 나타내는 것이 식물 내생호르몬이라고 한다. 식물 호르몬은 생육과정에서 필요에 따라 분비되며 생리적 조건에 따라서 함량이 변화한다는 것은 주지의 사실이다. 그래서 더위지기 생육과정에서 식물성장 호르몬인 zeatin과 성장억제 호르몬인 abscisic acid (ABA)의 함량을 추적하여 이 두 호르몬 함량의 변동에 따라서 항산화 활성의 변화정도를 조사하여 그 결과를 보고 하고자 한다.

재료 및 방법

1. 식물시료

더위지기는 전남 화순군 북면에서 재배하고 있는 것을 분양 받아 전남대 농생대 부속 농장에서 재배하였다. 더위지기 재배는 시료채취 전년 가을에 포기 나누기를 하여 퇴비와 석회를 충분히 시용한 밭에 이식 재배 (줄간격 60 cm × 45 cm)하였다. 시료는 채취 즉시 냉동시켰으며 동결건조 후 분말화하여 실험에 사용하였다.

2. 추출

더위지기 분말 100 g에 2000 ml 에칠알코올을 가하여 85°C에서 4시간 추출을 3회 반복하고 이를 합하여 회전 진공 농축한 다음 100 ml 알코올에 녹여 10,000 rpm으로 20분간 원심침전시켜 불용분을 제거하고 상청액을 검액으로 사용하였다. 또한 식물 호르몬 분석을 위해서는 잎 분말 20 g에 메칠알코올 20배를 가하여 48시간 추출 농축하였다.

3. 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl 자유기 소거능

수소 공여능의 정도는 Robak et al., (1988)의 방법을 약간 변경하여 측정하였다. 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) 3 mg을 에칠알코올 20 ml에 용해시킨 후, DPPH 용액을 만들었으며, 50% ethanol을 대조군으로 하여 DPPH 용액 흡광도를 1.0으로 조절 하였다. DPPH 용액 2.5 ml와 80% methanol에 용해한 1% 시료용액 0.25 ml을 혼합하여 1분간 반응시킨 후 517 nm에서 흡광도를 측정하여 항산화 활성을 분석하였다. 항산화 활성은 다음과 같이 산출하였다.

$$\text{Inhibition (\%)} = [(A_{\text{control}} - A_{\text{sample}}) / A_{\text{control}}] \times 100$$

4. Superoxide 자유기 소거능

더위지기 시료의 superoxide 자유기에 대한 소거활성은 Nishimiki et al., (1972)의 방법에 의해 다음과 같이 실험하였다. 추출물을 최종 반응농도가 10에서 100 µg/ml이 되도록 조제한 후 각각 0.5 ml 씩 취해 0.1 M Tris-HCl 완충용액 (pH 8.5) 0.1 ml, 100 µM phenazine methosulphate (PMS) 0.2 ml와 함께 560 nm에서 흡광도를 측정 하고, 계속하여 500 µM nitroblue tetrazolium (NBT) 0.2 ml 및 500 µM nicotinamide adenine dinucleotide(NADH) 0.4 ml를 가한 후 560 nm에서 변화된 흡광도를 측정 계산하였다. 또한 대조구로서 시료 대신 용매를 사용하여 동일한 과정으로 실험하여 Superoxide 소거능 (%)을 다음과 같이 산출하였다.

$$\text{Inhibition (\%)} = [(A_{\text{control}} - A_{\text{sample}}) / A_{\text{control}}] \times 100$$

5. 지질과산화 억제능

지질과산화 억제능의 측정은 Ohkawa et al., (1979)의 방법에 따라서 수행하였다. 반응용액은 생쥐 간을 균질화한 추출물 (10%) 0.5 ml에 시료 0.5 ml를 가하고 여기에 FeSO₄ (0.7 mM) 0.5 ml를 가하여 상온에서 30분간 반응시켰다. 이 반응액에 1.5 ml 20% acetic acid (pH 3.5)와 1.5 ml 0.8% thiobarbituric acid (in 1.1% SDS)를 가하여 세계 흔들어주고 100°C에서 1시간 유지시킨 다음 방랭 시키고 5 ml n-butanol과 pyridine 혼합액 (15:1, v/v)을 가하여 3000 rpm에서 10분간 원심후 상청액을 532 nm에서 흡광도를 측정하였다. 과산화 형성은 시료 추출물의 처리와 BHT 처리를 무처리와 비교하여 분석하였다. 억제능은 다음과 같이 산출하였다.

$$\text{Inhibition (\%)} = [(A_{\text{control}} - A_{\text{sample}}) / A_{\text{control}}] \times 100$$

6. 단일클론항체 (monoclonal antibodies, mAb)

Zeatin과 ABA 함량의 분석은 면역측정법에 의해서 정량분석 하였다. zeatin과 ABA는 hapten이기 때문에 bovine serum albumin (BSA)에 결합시켜 거대 분자화시켜 항원으로 조제하였으며 zeatin은 결합기가 없기 때문에 zeatin riboside를 이용하였다 (Badenoch-Joes 1984; Weiler 1980). 이때 단백질을 결합시킨 방법과 동일하게 alkaline phosphatase (AP)를 결합시켰다. hapten과 효소 결합체는 항원조제의 1/10 용량으로 하였다. 항원은 생쥐 (Balb/c)에 200 µl를 Freund's complete adjuvant와 함께 접종하고 50 µl씩 3회에 걸쳐 추가접종을 실시하여 면역을 시켰다. 면역된 생쥐의 비장으로부터 B-세포와 사전에 배양된 골수 암세포 (SP2/0-Ag14)를 polyethyleneglycol을 이용하여 융합시켜 hybridoma를 만들고 특이 항체를 분비하는 세포주를 작성하였다 (Köhler and Milstein, 1975). 이 세포주는 세포 배양기법에 따라서 대량으로 배양하면서 배지

중에 분비된 항체를 분리, 농축하거나 hybridoma 세포 5×10^7 개 정도를 3일전에 pristane이 주사된 생쥐의 복강에 주입하여 복수 암을 유발시키고 주사 7일후 복수를 채취하여 대량의 항체를 얻었다. capture antibody로 사용하기 위한 다 세포군항체는 위의 mAb를 면양에 주사 접종 후 채혈하여 항 혈청을 얻고 이로부터 순수 항체를 protein-A 컬럼을 이용하여 분리 정제하여 사용하였다.

7. 효소면역측정법 (ELISA)

96 well plate에 200 μ l capture antibody (1 μ g/ml sodium bicarbonate buffer pH 9.6)를 가하여 14시간 결합시켰다. 여기에 zeatin-mAb 또는 ABA-mAb (2 μ g/ml tris buffered saline pH 7.4)를 3시간 동안 결합반응 시켰다. mAb를 완전히 흡입 제거한 뒤에 0.1% BSA를 가하여 30분간 4°C에 방치하여 plate의 공백 부분을 메웠다. BSA를 완전히 제거한 후에 50 mM Tris 완충액(pH 7.4) 50 μ l 와 시료 100 μ l 를 가하여 1시간 반응후 zeatin-AP 또는 ABA-AP를 가하여 다시 1시간 반응시켰다. 그리고 0.05% Tween-20 함유 50 mM Tris 완충액으로 3회 세척한 뒤 AP의 기질 p-nitrophenyl phosphate 50 μ l (1 mg/ml), 을 가하여 37°C에서 30분간 발색시킨 다음 5 N KOH 50 μ l 를 가하여 효소 활성을 종결시키고 ELISA reader로 흡광도를 측정하였다. (Engvall and Perlmann, 1971). 효소면역측정에 사용되는 시료의 전처리에는 알코올추출 물을 Thin layer chromatography (TLC)로 전개 한 다음 분획을 절취 하고 알코올로 재추출하여 사용하였다. Zeatin을 분석하기 위해서 n-butanol : Acetic Acid : water (12 : 3 : 5, v/v, 로 ABA 측정하기 위해 chloroform : toluene : Acetic Acid (50 : 100 : 5, v/v) 용매로 하여 Kieselgel (Merck, 0.5 mm, 60 PF254)판을 사용하여 전개시킨 뒤 분획을 메칠알코올로 추출 하고 건조후 소량의 에칠알코올에 녹이고 50 mM Tris 완충액 으로 농도를 조절하여 면역측정에 사용하였다.

8. 실험통계 처리

실험 디자인은 완전임의 배치법으로 설정하였고 처리당 3반 복씩 시료를 채취하여 통계처리 하였다. 데이터 분석은 SAS (package version 9.1)프로그램을 이용하여 ANOVA처리하였고 평균 간의 비교는 Duncan의 다중검정법으로 분석하였다.

결과 및 고찰

더위지기는 시험포장에서 4월부터 10월까지 매월 15일 시료를 채취하여 분석에 이용하였다. 더위지기는 강원지방에서 야생종을 5월말 경부터 시작하여 7월까지 채취를 한다. 제주 지역에서는 7월에서 8월사이에 수확하며 전남지역에서는 10 월경 한차례 수확한다. 특히 이지역의 더위지기는 3월초 새순

이 나오고 5월 중하순부터 선단부위에 총산화서의 화기 형성을 관찰 할 수 있으며 6월 중순에 개화하여 7월초에 개화 최 성기에 이른다. 따라서 더위지기의 생육중 항산화능이 가장 높 은 시기가 어느 때인지를 알아보기 위하여 4월부터 매월 15 일에 시료를 채취하여 항산화 활성을 분석하였다.

Table 1과 같이 더위지기 추출물의 DPPH자유기 소거능을 분석하였다. 합성 항산화제인 butylated hydroxy toluene (BHT)과 비교 분석하였다. 원래 DPPH는 안정된 관능기를 가지고 517 nm 파장을 흡수하는 자주빛깔이다. 그러나 항산화물 에 의해서 수소가 전이되면 자유기가 소거되고 황색으로 변하면서 흡광도가 감소하게 된다. DPPH를 100%로 했을 때 BHT는 65.76 \pm 2.33%를 감소시켰고 이에 반해서 더위지기는 4 월에 채취한 시료는 71.06 \pm 4.36%로서 BHT보다 약간 높았으나 9월에는 94.46 \pm 2.68%까지 높아졌다가 수확하는 10월에는 약간 감소의 경향을 나타내었다. 10월 중순에는 더위지기가 더 이상 성장을 멈추는 시기이다. 더위지기는 화기형성이 관찰되는 5월 이후에 항산화 활성이 높게 나타나는 것을 알 수 있었다.

Superoxide 자유기 소거능은 PMS-NADH를 이용하여 NBT 환원에 의해서 활성산소 자유기 (superoxide radical)가 생성되고 이에 따라 formazan이 형성되는 것을 560 nm 에서 측정하였다. 즉 더위지기 추출물에 의해서 흡광도가 감소하는 것은 활성산소 자유기 형성을 직접 억제하는 것으로 볼 수 있기 때문에 이것을 항산화능이라 할 수 있다. 연구결과 활성산소 자유기는 BHT가 27.70 \pm 2.02%를 억제 시켰는데 더위지기 잎 추출물은 4월에 33.83 \pm 3.45%로 나타났고 10월에는 84.40 \pm 4.00%로 매우 높게 나타났다.

지질과산화 억제에 의한 항산화능은 생쥐 간으로부터 얻은 지질을 Fe⁺⁺와 ascorbate에 의해서 생성된 과산화물 malondialdehyde 를 정량하는 방법으로 분석하였다. 비교 표준으로 사용한

Table 1. Radical scavenging effects and lipid peroxidation inhibition of *Artemisia iwayomogi* extracts.

Antioxidation Date	DPPH radical scavenging activity (%)	Superoxide radical scavenging activity (%)	Lipid peroxidation inhibition (%)
BHT	65.76 \pm 2.33 ^d	27.70 \pm 2.02 ^d	57.60 \pm 2.00 ^{*cd}
Apr. 15	71.06 \pm 4.36 ^{cd}	33.83 \pm 3.45 ^d	45.60 \pm 3.10 ^e
May 15	72.93 \pm 4.56 ^c	43.23 \pm 2.70 ^c	46.60 \pm 3.73 ^e
Jun. 15	84.00 \pm 3.17 ^b	44.50 \pm 3.45 ^c	54.10 \pm 3.24 ^d
Jul. 15	85.93 \pm 3.29 ^b	66.60 \pm 4.20 ^b	61.80 \pm 3.26 ^c
Aug. 15	86.56 \pm 3.06 ^b	79.86 \pm 5.86 ^a	68.76 \pm 3.32 ^b
Sep. 15	94.46 \pm 2.68 ^a	85.73 \pm 3.32 ^a	70.50 \pm 3.73 ^{ab}
Oct. 15	90.06 \pm 4.41 ^{ab}	84.40 \pm 4.00 ^a	75.86 \pm 3.50 ^a

*Each value is SD (n = 3). Within the column, means sharing the same letter are not significantly different by Duncan's multiple range test at p \leq 0.05.

더위지기 항산화 활성의 변동

BHT는 $57.60 \pm 2.00\%$ 를 나타냈다. 4월에서 5월까지 채취한 시료는 BHT보다 항산화능이 낮게 나타났다. 그러나 6월에는 비슷하였으며 그 이후에는 더 높게 나타났는데 10월에는 $75.86 \pm 3.50\%$ 로서 비교치 보다 훨씬 높게 나타났다. 이와 같은 더위지기의 항산화 활성에 대한 비슷한 연구보고가 (Song *et al.*, 2001; Kim *et al.*, 1977)있으며 최근에는 nitricoxide (NO)의 생성억제에 대한 항산화 연구도 활발하다 (Ahn *et al.*, 2003; Ryu *et al.*, 2003; Kim *et al.*, 2004). 이들의 공통된 견해는 더위지기의 항산화능이 높다는 것이다. 특히 더위지기의 항돌연변이 효과도 scoploetin의 지질 과산화억제 즉 항산화 효과에 의해 가능했다고 한다 (Bae *et al.*, 1992). 이러한 더위지기 항산화능이 전술한바와 같이 암세포 성장 억제에서 피부 알레르기까지 효능을 갖게 하는 것으로 생각된다.

더위지기 생육단계에 따른 항산화물의 변동 여부의 판단은 생육단계를 여러 가지 외적 관찰을 통해서 가능하지만, 식물 성장의 기본 지표로 사용 할 수 있는 식물 호르몬의 분석을 통하여 조사해 볼 수도 있다. 즉 식물 성장을 촉진하는 물질과 억제하는 물질 가운데 대표적인 cytokin in 중에서 zeatin과 ABA의 함량 변동을 관찰하면 식물의 상태를 판단 할 수가 있다 (Latham, 1978; Milborrow, 1978). 식물호르몬은 그 함량이 ng 이하로 극미량 존재하기 때문에 정량분석이 어렵다. 본 연구에서는 이 두가지 호르몬에 대한 단일크론항체를 생산하여 정량분석에 이용하였다. 면역측정은 항체의 특이성을 이용하기 때문에 추출 후 정제 없이 많은 시료를 단시간에 분석 할 수 있다는 장점이 있다. Zeatin에 대한 항체를 분비하는 여러 개의 세포주를 생산하여 가장 높은 역가를 나타내는 한 개의 세포주를 배양하여 단일크론항체를 생산하였다. 이 항체를 $0.05 \mu\text{g}/\text{well}$ 로 하고zeatin-AP의 농도는 1:2000으로 하여 405 nm에서 흡광도 0.9를 기준으로 분석하였다. 이 항체를 이용하여 zeatin에 대한 표준곡선을 작성 하였는데 측정 한계는 1.5 pmol이었으며 측정범위는 250 pmol까지 었다. 또한 항체 특이성 조사를 위해서 유사물질과 교차반응을 수행하였다. 항원으로 사용한 trans-zeatin riboside를 100%로 했을 때 trans-zeatin은 75.6%, cis-zeatin에는 18% 결합반응을 보였으며 6-furfuryladosine, adenine, cytidine, isopentyladosine riboside, 6-benzylaminopurine, guanosine에는 0.01% 이하로 거의 반응하지 않아서 매우 특이성이 높음을 알 수 있었다. ABA에 대한 단일크론항체의 표준곡선에서 측정한계는 0.5 pmol이며 측정범위는 140 pmol이었다. 항체의 특이성 조사를 위한 교차반응에서 \pm ABA를 100%로 했을 때 +ABA는 86.5%, ABA mixed isomer는 28.3% 그리고 ABA methyl ester는 118.3%였으며 ABA 유사물질인 phaseic acid는 0.82%, xanthoxin과 dihydrophaseic acid에는 거의 반응을 나타내지 않았다. 따라서 이 단일크론항체도 특이성이 높다는 것을 확인하였으며 이 항체를 ELISA 분석에 사용하였으며 더위지기 시료는 건물중

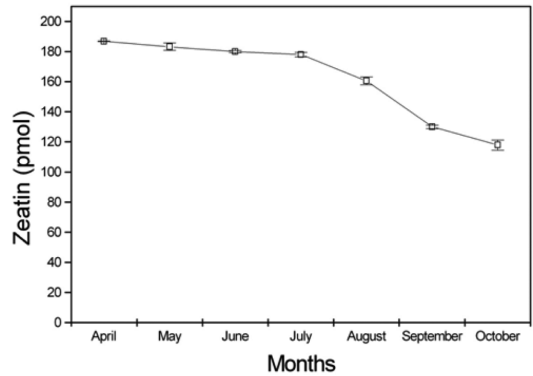


Fig. 1. Changes in zeatin level during the growth of *Artemisia iaiwayomogi*. The vertical bars indicate \pm SD of the mean (n = 3).

g⁻¹ 당 함량으로 계산하였다.

식물 내생 cytokinin 가운데 대표적인 purine 유도체인 zeatin은 세포분열과 신장에 관계되는 것으로 알려져 있으며 개화를 촉진하고 노화 직전에 급격하게 함량이 줄어드는 것으로 알려져 있다 (Sitton *et al.*, 1967).

4월 15일 처음 채취한 더위지기 잎에는 zeatin 함량이 186.86 ± 1.40 pmol이었다. 개화가 시작되는 6월에는 178.03 ± 2.61 pmol로 함량이 가장 높게 나타났다. 개화최성기가 지나는 8월은 160.56 ± 4.46 pmol로 감소되기 시작하여 9월에는 더 많이 감소하고 10월에는 117.93 ± 5.83 pmol까지 감소하였다. 그러나 최소한 100 pmol 이상의 함량을 가지고 있는 것으로 나타났다. 이는 최근 기상이 10월까지 고온을 나타내고 있기 때문에 식물체가 성숙한 상태를 유지하고 있으며 이때까지 육안으로 노화증상을 관찰할 수 없기 때문인 것으로 판단된다.

더위지기 잎에서 ABA 함량은 4월 15일 채취 잎에서 19.00 ± 1.26 nmol이었다. 개화가 시작되는 6월에 25.76 ± 3.03 nmol로 약간 증가하였으며 개화 최성기가 끝나는 8월에는 35.66 ± 4.90 nmol로 두 배의 함량으로 증가했으며 10월에는

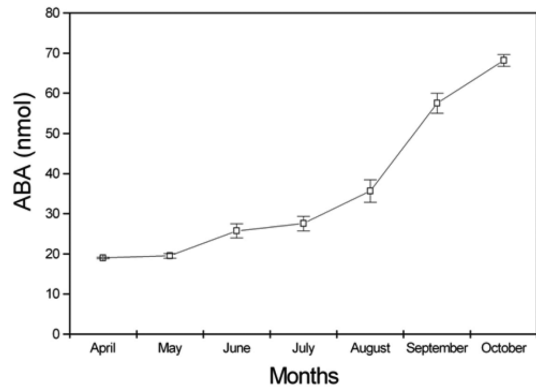


Fig. 2. Changes in ABA level during growth of *Artemisia iwayomogi*. The vertical bars indicate \pm SD of the mean (n = 3).

3.5배가 증가한 68.20 ± 2.52 nmol 이었다. ABA는 대표적인 식물억제 호르몬으로써 세포분열과 신장을 억제하고 휴면에 관여하는 것으로 알려져 있다 (Milborrow, 1978).

위와 같은 zeatin과 ABA는 성장과 발달과정에 따라서 함량이 변동됨을 알 수가 있었다. 따라서 zeatin과 ABA의 분석은 식물체의 성장정도를 판단 할 수 있는 지표가 될 수 있음을 확인하였다.

Zeatin과 항산화 활성과의 관계를 Fig. 3과 같이 비교하였다.

진술한바와 같이 4월에서 10월까지 더위지기 내생 zeatin은 식물의 성장에 따라 감소하는 것으로 나타났다. Fig. 3에 표시한 것과 같이 DPPH 자유기 소거능, superoxide 자유기 소거능 및 지질과산화 억제능은 zeatin 함량이 낮을 때 높게 나타났다. 특히 zeatin함량이 135 pmol 이상으로 함량이 높아지면 항산화 활성은 감소되며 135 pmol 이하로 낮아지면 오히려 항산화 활성이 높아지는 것으로 확인되었다.

식물 억제호르몬 ABA는 식물체가 성숙하고 노화하는 과정

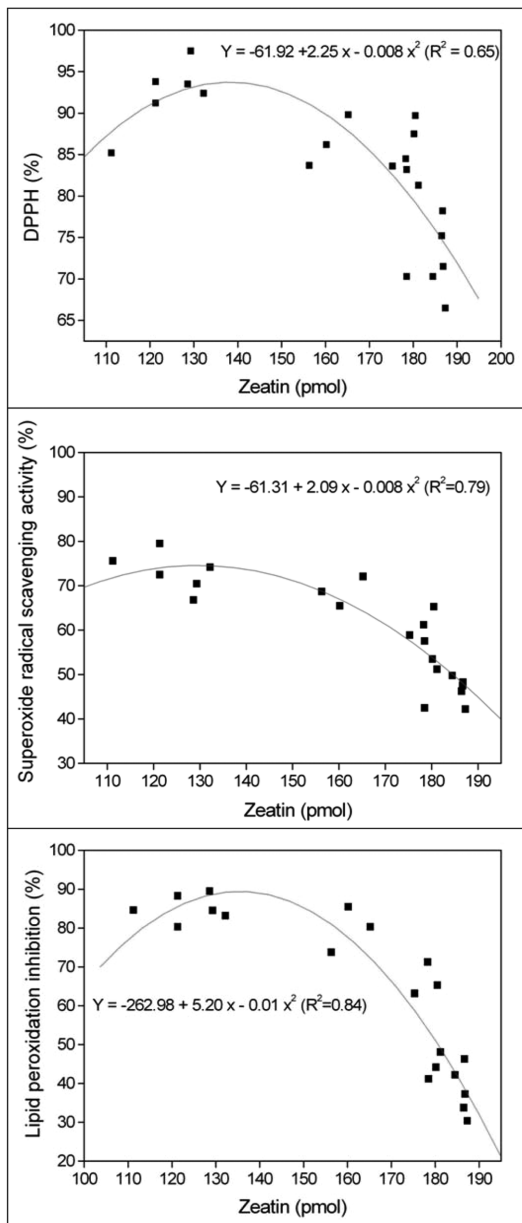


Fig. 3. Relationship of zeatin content and antioxidants activities of *Artemisia iwayomogi*.

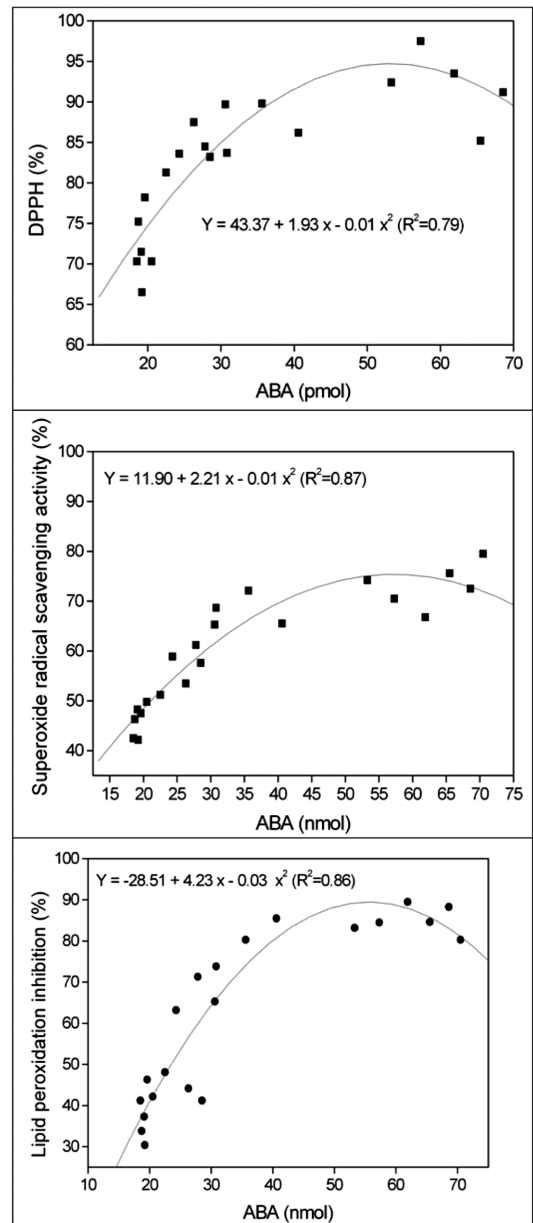


Fig. 4. Relationship of ABA content and antioxidants activities of *Artemisia iwayomogi*.

을 통하여 함량이 증가하는 것은 주지의 사실이다. 더위지기에서 ABA의 함량 변동도 같은 양상을 나타냈다. ABA 함량과 DPPH 라디칼 소거능, superoxide 라디칼 소거능, 지질과산화 억제능과의 관계를 Fig. 4로 나타내었다. ABA의 함량이 증가함에 따라서 항산화 활성도 비례적으로 증가하는 것으로 나타났다. 개화기인 6월과 7월 이후 ABA의 함량과 항산화 활성이 동반 증가하는 것을 알 수가 있었다. 식물의 내생호르몬은 식물체의 노화와 관련되어 노화정도에 따라 zeatin함량은 감소하고 ABA 생성은 증가 한다는 것이 일반적인 이론이다 (He *et al.*, 2005). 식물체의 대표적인 노화증상은 DNA와 핵산 합성 감소, 클로로필의 분해와 이에 따른 광합성 능력의 감소 (Smart, 1994; Buchanan-Wollaston, 1997; Chandlee, 2001) 등인데 이러한 기전 때문에 산화효소 등 산화물의 증가는 식물체의 방어기전과 관계가 있는 것으로 알려져 있다 (Philosoph-Hadas *et al.*, 1994). 그래서 식물을 재배하면서 외부에서 식물성장 호르몬을 처리하면 정유성분 함량이 증가하고 페놀성 항산화물의 생성이 증가 된다는 보고 (Paula *et al.*, 2003; Santos-Gomes *et al.*, 2003)도 이러한 기전과 관계가 있다고 볼 수 있다. 이와 같이 식물 호르몬은 생장 상태에 따라서 함량이 변동되며 동시에 식물체의 2차 대사 작용에 의한 산화와 항산화도 함께 변화 한다는 사실을 알 수가 있었다. 본 연구의 결과도 이와같은 식물체의 일반적인 생리작용에 의한 것이라 할 수 있다.

위와 같은 연구 결과는 더위지기가 6월 개화기 이후 항산화 활성이 높기 때문에 이 시기를 고려하여 수확하는 것이 항산화 활성이 높은 고품질 약용식물을 얻는데 유리할 수 있다는 사실을 제시한 것으로서 이는 재배 적으로 이용할 수 있는 기초 자료로 충분하다 하겠다.

감사의 글

본 논문은 전남대학교 연구비 지원에 의해서 수행되었음.

LITERATURE CITED

- Ahn H, Kim JY, Lee HJ, Kim YK and Ryu JH. (2003). Inhibitors of inducible nitric oxide synthase expression from *Artemisia iwayomogi*. Archives of Pharmacal Research. 26:301-305.
- Badenoch-Hones J, Letham DS, Parker CW and Rolfe BG. (1984). Quantitation of cytokinins in biological samples using antibodies against zeatin riboside. Journal of Plant Physiology. 75:1117-1125.
- Bae JM, Kim MS, Park HJ, Chung HY, Yaung HS, Park KY, Moon SH and Choi JS. (1992). Antimutagenic principle of *Artemisia iwayomogi* kit and its action mechanism. Journal of Korean Cancer Association. 24:352-358.
- Buchanan-Wollaston V. (1997). The molecular biology of leaf senescence. Journal of Experimental Botany. 48:181-199.
- Chandlee JM. (2001). Current molecular understanding of the genetically programmed process of leaf senescence. Physiologia Plantarum. 113:1399-3054.
- Choi WS, Kim CJ, Park BS, Lee SE, Takeoka GR, Kim DG, Jim DG, Lanpiao X and Kim JH. (2005). Inhibitory effect on proliferation of vascular smooth muscle cells and protective effect on CCl₄-induced hepatic damage of HEAI extract. Journal of Ethnopharmacology. 100:176-179.
- Engvall E and Perlmann P. (1971). Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). Quantitative assay of immunoglobulin G. Immunochemistry. Vol.8. Pergamon press, P. 871-874.
- He P, Osaki M, Takebe M, Shinano T and Wasaki J. (2005). Endogenous hormones and expression of senescence-related genes in different senescent types of maize. Journal of Experimental Botany. 56:1117-1128.
- Hwang JS, Ji HJ, Koo KA, Lee NH, HK Yeo, Cheong SW, Park JH, Oh GS, Yoon CS and Youn HJ. (2005). AIPI, a water-soluble fraction from *Artemisia iwayomogi*, suppresses thymocyte apoptosis in vitro and down-regulates the expression of fas gene. Biological & Pharmaceutical Bulletin. 28:921-924.
- Kim AR, Zou YN, Park TH, Shim KH, Kim MS, Kim ND, Kim JD, Bae SJ, Choi JS and Chung HY. (2004). Active components from *Artemisia iwayomogi* displaying ONOO⁻ scavenging activity. Phytotherapy Research. 18:1-7.
- Kim JO, kim YS, Lee JH, Kim MN, Rhee SH, Moon SH and Park KY. (1992). Antimutagenic effect of the major volatile compounds identified from mugwort (*Artemisia asiatica* Nakai) leaves. Journal of Korean Society of Food Science and Nutrition. 21:308-313.
- Kim SS, Lee CK, Kang SS, Jung HA and Choi JS. (1997). Chlorogenic acid, an antioxidant principle from the aerial parts of *Artemisia iwayomogi* that acts on 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl radical. Archives of Pharmacal Research. 20:148-154.
- Köhler G and Milstein C. (1975). Continuous cultures of fused cells secreting antibody of predefined specificity. Nature. 256:495-497.
- Lee MK, Choi GP, Ryu LH, Lee GY, Yu CY and Lee HY. (2004). Enhanced immune activity and cytotoxicity of *Artemisia capillaris* Thunb. extracts against human cell lines. Korean Journal of Medicinal Crop Science. 12:36-42.
- Letham DS. (1978). Phytohormones and related compound: A comprehensive treatise. Vol. 1. Elsevier, North-holland. p.205-263.
- Milborrow BV. (1978). Phytohormones and related compound: A comprehensive treatise. Vol. 1. Elsevier, North-holland. p.295-347.
- Nishimiki M, Rao NA, Appaji N and Yagi K. (1972). The occurrence of superoxide anion in the reaction of reduced phenazine methosulfate and molecular oxygen. Biochemical and Biophysical Research Communications. 46:849-854.
- Ohkawa H, Ohishi W and Yagi K. (1979). Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. Analytical Biochemistry. 95:351-358.
- Park SK, Chung BH, Kim HS and Cho YG. (2005). Classification of *Artemisia* spp. collections based on morphological characters and RAPD analysis. Korean Journal of Medicinal

- Crop Science. 13:278-286
- Paula C, Gomes S and Fernandes-Ferreira M.** (2003). Essential Oils produced by *in vitro* shoots of sage (*Salvia officinalis* L.). Journal of Agricultural and Food Chemistry. 51:2260 - 2266.
- Philosoph-Hadas S, Meir S, Akiri B and Kanner J.** (1994). Oxidative defense systems in leaves of three edible herb species in relation to their senescence rates. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 42:2376-2381.
- Robak J and Gryglewski RJ.** (1988). Flavonoids are scavengers of superoxide anions. Biochemical Pharmacology. 37:837-841.
- Ryu JH, Ahn H, Kimand JY and Kim YK.** (2003). Inhibitory activity of plant extracts on nitric oxide synthesis in LPS-activated macrophages. Phytotherapy Research. 17:485-489.
- Santos-Gomes PC, Seabra RM, Andrade PB and Fernandes-Ferreira M.** (2003). Determination of phenolic antioxidant compounds produced by calli and cell suspensions of sage (*Salvia officinalis* L.). Journal of Plant Physiology. 160:1025-1032.
- Shin TY, Park JS and Kim SH.** (2006). *Artemisia iwayomogi* inhibits immediate-type allergic reaction and inflammatory cytokine secretion. Immunopharmacology and Immunotoxicology. 28:421-430.
- Sitton D, Itai C and Kende H.** (1967). Decreased cytokinin production in the roots as a factor in shoot senescence. Planta. 73:296-300.
- Smart CM.** (1994). Gene expression during leaf senescence. New Phytologist. 126:419-448.
- Song YE, Rye JS, Chung JR, Kwak JS, Kim DH, Kim BS and Rim CW.** (2001). Study on the biological activity of *Artemisia iwayomogi*. Korean Journal of Medicinal Crop Science. 9:116-123.
- Weiler EW.** (1980). Radioimmunoassay for trans-zeatin and related cytokinins. Planta. 149:155-162.
- Yamamoto M, Ogawa K, Morita M, Fukuda K and Komatsu Y.** (1996). The herbal medicine Inchin-ko-to inhibits liver cell apoptosis induced by transforming growth factor β 1. Hepatology. 23:552-559.
- Yu HH, Kim YH, Kil BS, Kim KJ, Jeong SI and You YO.** (2003). Chemical composition and antibacterial activity of essential oil of *Artemisia iwayomogi*. Planta Medica. 69:1159-1162.