

민속식물의 항균활성 및 산화적 스트레스 개선 효과

최정란¹ · 이동구² · 구자정³ · 이상용³ · 김현지³ · 박광우³ · 조은주^{1*} · 이상현^{2*}
¹부산대학교 식품영양학과, ²중앙대학교 식물시스템과학과, ³국립수목원 자원보존과

Antimicrobial Activities and Free Radical Scavenging Effect of Korean Folk Plants

Jung Ran Choi¹, Dong Gu Lee², Jajung Ku³, Sang Yong Lee³, Hyun Ji Kim³,
Kwang-Woo Park³, Eun Ju Cho^{1*}, and Sanghyun Lee^{2*}

¹Department of Food Science and Nutrition, Pusan National University, Busan 609-735, Korea

²Department of Integrative Plant Science, Chung-Ang University, Anseong 456-756, Korea

³Department of Forest Resource Conservation, Korea National Arboretum, Pocheon 487-821, Korea

Abstract – We investigated the antioxidative and antimicrobial activities of the methanol extracts from Korean folk plants (MKs) in Chungcheong Province. Among 30 MKs, 16 plants at 100 µg/ml showed over 90% scavenging activity of 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) and 30 plants exerted the hydroxyl radical scavenging effect over 55%. Fourteen plants at the concentration 50 µg/30 µl showed strong microbial inhibition activity against *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*, with clear zone greater than 11 mm in disc assays. Furthermore, the protective effect against anti-inflammatory system using RAW 264.7 macrophage cell was also studied. The treatment of LPS & INF-γ to RAW 264.7 cell induced nitric oxide (NO), however inhibit the formation of NO less than 50% of 5 plants. The present result indicates that the 30 species of MKs exerts protective effect of oxidative stress, antimicrobial activities and anti-inflammatory. In particular, *Rhus javanica* and *Cornus controversa* showed stronger effect on not only radical scavenging activity and inhibits growth of *S. aureus* but also highest protective effects from inflammation.

Key words – Antimicrobial activity, DPPH, Hydroxyl radical, NO, RAW 264.7 macrophage cell

ROS(Reactive oxygen species)와 free radical은 조직의 손상에 매우 중요한 역할을 한다.¹⁾ ROS는 물질대사의 부산물로 산소가 전자를 얻어 환원되어 생성되는 superoxid(O₂), hydroxyl radical(·OH)가 있으며 hydrogen peroxide(H₂O₂)와 siglet oxygen(¹O₂)등이 있다.²⁾ 그 중 O₂와 nitric oxide(NO)가 반응을 일으키면 peroxyntiric anion(ONOO⁻)이 생성되며 이는 단백질, 지질, DNA손상을 초래하며 세포손상을 유도하여 질병을 유발시킨다.³⁾ 이들의 반응은 free radical이 원인이 되는 노화, 심장질환, 염증, 뇌졸중, 당뇨병, 암과 같은 대사성 혹은 퇴행성 질환을 발생시킬 수 있다.^{4,5)} 따라서 생물학적 시스템에서는 항산화 활성을 통해 free radical을 불활성화시키거나 제거하고 ROS를 통한 세포손상을 억제한다.⁶⁾ 항산화제로는 tocopherol류, butylated hydroxytoluene (BHT), butylated hydroxyanisole(BHA), propyl gallate,

tertiarybutyl hydroxyl quinine, ascorbic acid 등이 있다. 하지만 BHT와 BHA같은 합성시킨 항산화제의 경우 항산화 효과는 매우 뛰어나지만 체내 에너지 생산 및 세포대사를 방해하고 발암성과 독성을 가지고 있어 문제점이 제기되고 있다.^{7,8)} 이에 반해 천연자원으로 얻은 천연 항산화제는 독성과 부작용이 거의 없고 항산화 효과가 뛰어나므로 안정성과 우수성을 가지는 천연 항산화제에 대한 연구 및 개발이 활발히 진행되고 있다.

미생물에 대한 항균 개발은 보건 위생에 관련된 미생물, 작물 유해 미생물 등을 중심으로 연구되어왔기 때문에 이렇게 개발된 항균제는 대부분 화학 합성품을 사용하고 있어 체내에 축적될 경우 만성독성, 발암성, 돌연변이 유발 등의 우려가 있어 이와 같은 인공합성 항균제의 문제를 극복하기 위해 천연 항균 물질 개발에 많은 관심이 집중되고 있다.⁹⁾ 식중독 유발세균의 가장 대표적인 병원균으로 *Escherichia coli*(*E. coli*)와 *Staphylococcus aureus*(*S. aureus*)

*교신저자(E-mail): slee@cau.ac.kr, ejcho@pusan.ac.kr
(Tel): +82-31-670-4688, +82-51-510-2837

를 들 수 있다. *E. coli*는 1982년 미국에서 인체에서 식중독을 일으키는 병원균으로 확인되었으며,¹⁰⁾ 1990년 일본의 유치원에서 식중독 환자가 발생하여 사망한 기록이 있다. *E. coli*는 독소 verocytotoxin 을 분비하며 이 독소는 장점막을 통해 흡수된 후 수용체와 결합하게 되면 세포의 손상과 파괴가 일어나 유아나 면역력이 낮은 사람에게는 치명적일 수 있다.¹¹⁾ 따라서 세계적인 건강의 관심사이며 육류, 육가공품, 우유, 요구르트, 요거트 물, 야채샐러드, 과일, 과일주스 등 다양한 식품에서 찾을 수 있다.^{12,13)} *S. aureus*는 화농성 염증을 일으키는 주요 원인균으로 식중독을 유발할 뿐만 아니라 식품 중에 장내독소를 생성하고 용혈성을 가지며 coagula를 생성하는 종으로 농양이나 창상감염 등의 피부감염, 관절염, 폐렴, 패혈증, 독소쇼크증후군 등을 일으켜 병원성이 높은 유해세균으로 알려져 있다.^{14,15)}

민속식물은 식품, 질병치료, 건강을 증진시키기 위한 천연자원식물로 많이 알려져 있으며 약 20,000종의 식물은 세계적으로 약으로써 사용되고 있으며,¹⁶⁾ 질병치료를 위한 식물의 사용은 우리나라에서는 문화와 전통의 한 부분으로 오늘날에는 대부분 건강을 유지하기 위한 목적으로 이용되고 있다.¹⁷⁾ 우리나라에 자생하는 식물 3,200여종 중 850종이 식용가능 한 것으로 보고되었으나¹⁸⁾ 현재 100여종의 식물이 알려져 있고 그 안에서는 생리활성기능을 나타내는 alkaloid, tannin, saponin, flavonoid, polyphenol 등이 함유되어 있다.¹⁹⁾ 식물성분의 생리적 기능으로는 항종양활성, 항암, 항산화성, 콜레스테롤 감소, 정장작용 등이 있으며²⁰⁾ 특히 약용식물의 항산화성은 polyphenol을 다량함유하고 있기 때문이라 생각되어지고 있다.²¹⁾ 자생 식물이 실제로 사용되는 것은 극히 일부뿐이며 현재까지 연구된 분야로는 화학/분석 관련된 연구가 가장 많으며 약리, 생리에 관한 연구가 그 다음으로 많았다.²²⁾ 하지만 생리활성이 강한 약용식물에 비하여 이들의 성분과 생리활성물질에 대한 연구가 미흡한 실정이다. 또한 자생민속식물의 ROS에 의한 산화적 스트레스에 대한 보호효과 및 항염증효과와 항균효과에 대한 연구는 거의 행해져 있지 않은 실정이다. 최근 노화, 암, 만성 질환, 성인병 등의 예방과 치료에 안정성이 입증된 천연자원식물이 기대를 모으고 있으며 여러 천연소재를 확보하여 이들의 기능성에 대한 연구가 활발히 진행되고 있다.

따라서 본 연구에서는 우리나라 자생 민속식물 30종의 기능성을 알아보기 위해 항산화 효과와 식중독 유발세균인 *E. coli* 및 *S. aureus*에 대한 항균 효과에 대해 알아보고 마우스 대식세포인 RAW 264.7 cell을 이용하여 염증 예방효과에 대하여 검토하였다.

재료 및 방법

실험재료 및 추출물 - 본 실험에서 사용된 시료는 충청도

지역소재에서 자생하는 한국민속식물 30종을 국립수목원 식물자원연구센터에서 제공 받았다(Table I). 추출물 조제는 시료 100 g을 methanol로 3회 반복 환류추출하여 filter paper로 여과한 후, 감압농축하여 사용하였다.

기기 및 시약 - 감압농축기는 EYELA(Tokyo, Japan) 사 제품을, methanol은 삼전(SamChun Pure Chemical Co., Pyeongtaek, Republic of Korea) 사 제품을 사용하였다. Radical 소거능을 측정하기 위하여 사용한 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl(DPPH)와 2-deoxyribose는 Sigma(Sigma Chemical Co., U.S.A)사 제품을 사용하였고, H₂O₂는 Junsei(Junsei Chemical Co., Japan)사 사용하였다. 항균실험을 위해 사용한 *S. aureus*와 *E. coli*는 한국미생물보존센터(KCCM, Korea)에서 분양 받아 사용하였고, Tryptic Soy Agar(TSA) 한천배지는 BD(BD Difco, U.S.A)사 제품을, disc paper는 Advantec(Toyo Roshi Kaisha, Ltd., Tokyo, Japan)사 제품을 사용하였다. 또한 RAW 264.7 cell은 한국세포주은행(KCLB, Seoul, Korea)에서 분양 받았으며 배양을 위한 100 units/ml의 penicillin streptomycin과 10% fetal bovine serum(FBS), Dulbecco's modified eagle medium (DEME) 배지는 Welgene(Daegu, Korea)에서 구입하여 사용하였다. 산화적 스트레스를 유발시키기 위한 lipopolysaccharide(LPS)는 Sigma(Sigma Chemical Co., U.S.A)사 제품을, interferon-gamma(INF- γ)는 Pepro Tech(New jersey, U.S.A)사 제품을 사용하였다. NO 생성 억제율을 측정하기 위해 사용한 griess reagent, 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,3-diphenyl tetrazolium bromide(MTT)와 dimethyl sulfoxide (DMSO)는 Sigma(Sigma Chemical Co., U.S.A)사 제품을 사용하였다.

1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl(DPPH) 소거능 측정 - 각 농도별 시료 100 μ l와 60 μ M DPPH 100 μ l를 96 well plate에 주입하여 혼합한 후 실온에서 30분 방치시킨 후, 540 nm에서 흡광도를 측정하였다. 시료를 첨가하지 않은 대조군과 비교하여 유리 라디칼 소거효과를 백분율(%)로 나타내었다.²³⁾

·OH소거능 측정 - Fenton reaction에 따라 10 mM FeSO₄·7H₂O-EDTA에 10 mM의 2-deoxyribose solution과 농도별 시료용액을 혼합한 다음, 10 mM H₂O₂를 첨가하여 37°C에서 4시간동안 배양하였다. 이 혼합액에 2.8% trichloroacetic acid(TCA)와 1.0% thiobarbituric acid(TBA) solution을 각각 첨가하여 20분간 끓여 식힌 후 490 nm에서 흡광도를 측정하였다.²⁴⁾

***S. aureus*와 *E. coli*의 배양** - 실험에 사용한 그람 양성균 *S. aureus*와 그람 음성균 *E. coli*는 한국미생물보존센터(KCCM, Korea)에서 분양 받아 사용하였고, 성장 배지로는 TSA한천배지(Trypticase Soy Agar)(BD, USA)를 이용하였으며, 이 배지의 조성은 pancreatic digest of casein 15 g, papaic digest of soybean 5 g, sodium chloride 5 g, agar 15

Table I. Radical scavenging activity of the methanol extracts from Korean folk plants (MKs)

Sample	Used parts	Radical scavenging activity (%)	
		DPPH	·OH
<i>Portulaca oleracea</i> L.	Whole plant	54.15±1.01	63.79±0.21
<i>Clerodendrum trichotomum</i> Thunb.	Fruit	63.95±0.17	63.30±0.20
<i>Pinus thunbergii</i> Parl.	Shoot	52.67±0.66	67.29±0.14
<i>Pinus thunbergii</i> Parl.	Unripe fruit	77.89±0.58	64.54±0.19
<i>Rhus javanica</i> L.	Leaf	96.74±0.51	70.50±0.16
<i>Rhus javanica</i> L.	Branch	96.15±0.33	64.81±0.34
<i>Leomurus japonicus</i> Houtt.	Leaf	82.76±0.48	65.56±0.08
<i>Persicaria longiseta</i> (Bruijn) Kitag.	Stem & Leaf	92.59±0.26	63.87±0.10
<i>Ampelopsis brevipedunculata</i> (Maxim.) Trautv.	Stem & Leaf	96.15±0.44	65.18±0.24
<i>Aralia elata</i> (Miq.) Seem.	Leaf	78.21±0.53	64.54±0.18
<i>Aralia elata</i> (Miq.) Seem.	Branch	92.40±0.24	62.32±0.31
<i>Hovenia ulcis</i> Thunb.	Leaf	75.10±0.38	66.88±0.15
<i>Hovenia dulcis</i> Thunb.	Fruit	90.69±0.22	63.00±0.26
<i>Diospyros lotus</i> L.	Leaf & Branch	93.84±0.15	61.72±0.88
<i>Artemisia capillaris</i> Thunb.	Leaf & Stem	91.87±0.41	63.04±0.35
<i>Lactuca indica</i> f. <i>indivisa</i> (Makino) Hara	Leaf & Stem	85.49±0.00	64.13±0.49
<i>Euonymus alatus</i> Thunb.	Leaf & Branch	70.10±0.39	62.70±0.22
<i>Styrax obassia</i> Siebold & Zucc.	Leaf	91.65±0.17	63.78±0.13
<i>Styrax obassia</i> Siebold & Zucc.	Branch	92.60±0.13	63.72±0.43
<i>Styrax obassia</i> Siebold & Zucc.	Fruit	39.77±0.42	59.98±0.48
<i>Callicarpa japonica</i> Thunb.	Leaf	92.43±0.23	60.29±0.27
<i>Callicarpa japonica</i> Thunb.	Branch	92.57±0.20	59.72±0.35
<i>Cornus controversa</i> Hemsl. ex Prain	Leaf	96.28±0.83	60.15±0.39
<i>Cornus controversa</i> Hemsl. ex Prain	Branch	94.32±0.15	60.96±0.48
<i>Melilotus suaveolens</i> Ledeb.	Leaf & Stem	45.14±0.53	60.06±0.49
<i>Lotus corniculatus</i> var. <i>japonica</i> Regel	Leaf & Stem	24.78±0.50	62.02±0.44
<i>Broussonetia kazinoki</i> Siebold	Leaf & Branch	82.99±0.59	60.17±1.65
<i>Elaeagnus umbellata</i> Thunb.	Leaf & Branch	91.64±0.14	58.29±1.39
<i>Taxus cuspidata</i> Siebold & Zucc.	Leaf & Branch	90.00±0.17	57.84±1.11
<i>Acer pseudosieboldianum</i> (Pax) Kom.	Leaf & Branch	84.03±0.41	61.15±0.95

g 으로 구성되어 있다. 성장을 위해 온도는 37°C를 유지하였다.

항균활성 측정 - 항균활성은 disc diffusion assay로 *S. aureus*와 *E. coli*에 대한 항균활성을 측정하였다. TSA 배지에 계대배양 된 각 균주를 100 µl씩 분주하여 멸균 유리봉을 이용하여 도말 한 다음, 멸균된 disc paper(8 mm, Advantec Japan)을 올리고 50 µg/30 µl 농도의 시료 30 µl를 disc paper에 흡수 시킨 후, 37°C에서 24시간 배양한 다음, 디스크 주위의 생육 저해환(clear zone)을 측정하였다.²⁵⁾

세포배양 - 마우스 대식세포인 RAW 264.7 세포는 한국 세포주은행(KCLB, Seoul, Korea)에서 분양받아 사용 하였

다. RAW 264.7 세포는 100 units/ml의 penicillin streptomycin (Welgene, Korea)과 10% fetal bovine serum(Welgene, Korea)이 첨가된 Dulbecco's modified eagle medium 배지 (Welgene, Korea)를 사용하여 37°C, 5% CO₂ incubator에서 배양하였다. 배양된 세포는 2~3일에 한번 refeeding하면서 배양하여 세포분화가 최대에 도달하였을 때 phosphate buffered saline으로 세척한 후 scraper를 이용하여 세포를 분리한 후 원심분리하여 세포를 집전시킨 다음 세포에 배지를 넣고 세포가 골고루 분산되도록 잘 혼합하여 계대배양 하며 사용하였다.

Cell Viability 측정 - 세포가 confluence 상태가 되면 5×

10^4 cells/ml로 seeding하여 세포를 부착시킨 후 LPS($1 \mu\text{g/ml}$)와 INF- γ (10 ng/ml)를 첨가하여 배양한 뒤 샘플을 처리하여 24시간 후 5 mg/ml 의 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,3-diphenyl tetra-zolium bromide(MTT) solution을 각 well에 주입하여 37°C 에서 4시간 재배양 한 후 생성된 formazan을 dimethyl sulfoxide에 녹여 540 nm 에서 흡광도를 측정하였다.²⁶⁾

NO 생성 억제 측정 - 생성되는 NO 양의 측정은 griess reagent반응법을 이용하여 측정하였다. RAW 264.7세포를 5×10^4 cells/ml로 seeding하여 세포를 부착시킨 후 LPS($1 \mu\text{g/ml}$)과 INF- γ (10 ng/ml)를 첨가하여 배양한 뒤 샘플을 처리

하여 24시간 후 상층액을 모아 griess reagent를 첨가하여 실온에서 15분간 배양 한 후 540 nm 에서 흡광도를 측정하였다.²⁷⁾

통계 분석 - 각 실험 결과는 평균 \pm 표준편차로 나타내었다.

결과 및 고찰

DPPH 소거능 측정 - DPPH free radical 소거능 측정법은 항산화 능력을 짧은 시간 안에 측정 할 수 있어 보편적으로 사용되는 방법으로 안정하지 않은 보라색의 DPPH free

Table II. Antimicrobial activity against *S.aureus* and *E. coli* of MKs

Sample	Used parts	Disk clear zone (mm)	
		<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i>
<i>Portulaca oleracea</i> L.	Whole plant	8	11
<i>Clerodendrum trichotomum</i> Thunb.	Fruit	11	11
<i>Pinus thunbergii</i> Parl.	Shoot	11	11
<i>Pinus thunbergii</i> Parl.	Unripe fruit	11	17
<i>Rhus javanica</i> L.	Leaf	12	8
<i>Rhus javanica</i> L.	Branch	9	11
<i>Leonurus japonicus</i> Houtt.	Leaf	10	10
<i>Persicaria longiseta</i> (Bruijn) Kitag.	Stem & Leaf	11	11
<i>Ampelopsis brevipedunculata</i> (Maxim.) Trautv.	Stem & Leaf	10	11
<i>Aralia elata</i> (Miq.) Seem.	Leaf	11	12
<i>Aralia elata</i> (Miq.) Seem.	Branch	11	12
<i>Hovenia ulcis</i> Thunb.	Leaf	8	11
<i>Hovenia dulcis</i> Thunb.	Fruit	11	12
<i>Diospyros lotus</i> L.	Leaf & Branch	11	15
<i>Artemisia capillaris</i> Thunb.	Leaf & Stem	12	13
<i>Lactuca indica</i> f. <i>indivisa</i> (Makino) Hara	Leaf & Stem	11	11
<i>Euonymus alatus</i> Thunb.	Leaf & Branch	11	12
<i>Styrax obassia</i> Siebold & Zucc.	Leaf	12	12
<i>Styrax obassia</i> Siebold & Zucc.	Branch	8	8
<i>Styrax obassia</i> Siebold & Zucc.	Fruit	8	11
<i>Callicarpa japonica</i> Thunb.	Leaf	12	11
<i>Callicarpa japonica</i> Thunb.	Branch	8	15
<i>Cornus controversa</i> Hemsl. ex Prain	Leaf	13	8
<i>Cornus controversa</i> Hemsl. ex Prain	Branch	12	8
<i>Melilotus suaveolens</i> Ledeb.	Leaf & Stem	12	11
<i>Lotus corniculatus</i> var. <i>japonica</i> Regel	Leaf & Stem	11	12
<i>Broussonetia kazinoki</i> Siebold	Leaf & Branch	8	12
<i>Elaeagnus umbellata</i> Thunb.	Leaf & Branch	8	8
<i>Taxus cuspidata</i> Siebold & Zucc.	Leaf & Branch	8	8
<i>Acer pseudosieboldianum</i> (Pax) Kom.	Leaf & Branch	8	8

radical이 수소공여자인 항산화제로부터 수소이온을 받아 안정화되어 노란색으로 전환된다.²⁸⁾ 30종의 민속식물 MeOH 추출물 100 µg/ml 농도 처리시 16종의 민속식물이 90% 이상의 DPPH소거능을 보였으며(Table I), 그 중에서 층층나무(잎)과 붉나무(잎) 추출물은 각각 96.28%와 96.74%로 가장 우수한 DPPH radical 소거능을 보였다.

·OH소거능 측정 - ·OH는 ROS 중에서 가장 반응성이 크고 반감기가 짧으며 인접한 생체분자에 심각한 손상을 일으켜 암, 노화, 동맥경화를 일으키는 원인이 된다.²⁹⁾ ·OH 소

거능 측정결과 민속식물 추출물 100 µg/ml 농도 처리시 30종의 모든 민속식물 추출물에서 55% 이상의 높은 소거능을 보였으며(Table I), 곰솔(새순), 붉나무(잎), 익모초, 개머루의 경우 65% 이상의 소거능을 나타내었다. 특히 붉나무(잎)는 70.50%로 ·OH에 대한 소거효과가 가장 우수한 것을 알 수 있었다.

붉나무는 율마과에 속하며 우리나라와 일본, 중국의 산야에서 자라는 낙엽소교목으로 한약재로서 설사에 효능이 있는 것으로 알려져 있다. 붉나무(잎)에 대한 연구로 잎의

Table III. Effect of MKs on viability and NO scavenging activity of Raw 264.7 cells treated with LPS & IFN-γ

Sample	Used parts	Cell viability (%)	NO scavenging activity (%)
<i>Portulaca oleracea</i> L.	Whole plant	94.43±0.68	64.21±0.21
<i>Clerodendrum trichotomum</i> Thunb.	Fruit	97.18±0.29	92.60±0.39
<i>Pinus thunbergii</i> Parl.	Shoot	87.34±0.53	51.62±0.35
<i>Pinus thunbergii</i> Parl.	Unripe fruit	96.03±0.31	51.62±0.21
<i>Rhus javanica</i> L.	Leaf	99.57±0.42	41.64±0.21
<i>Rhus javanica</i> L.	Branch	56.43±0.15	22.28±0.23
<i>Leonurus japonicus</i> Houtt.	Leaf	55.89±0.51	25.21±0.13
<i>Persicaria longiseta</i> (Bruijn) Kitagawa.	Stem & Leaf	97.93±0.13	49.07±0.21
<i>Ampelopsis brevipedunculata</i> (Maxim.) Trautv.	Stem & Leaf	102.07±0.26	73.68±0.53
<i>Aralia elata</i> (Miq.) Seem.	Leaf	97.30±0.10	82.36±0.30
<i>Aralia elata</i> (Miq.) Seem.	Branch	96.70±0.24	66.99±0.45
<i>Hovenia ulcis</i> Thunb.	Leaf	100.01±0.25	75.73±0.35
<i>Hovenia dulcis</i> Thunb.	Fruit	100.69±0.42	102.74±0.35
<i>Diospyros lotus</i> L.	Leaf & Branch	101.13±0.27	68.62±0.31
<i>Artemisia capillaris</i> Thunb.	Leaf & Stem	98.43±0.45	45.91±0.30
<i>Lactuca indica</i> f. <i>indivisa</i> (Makino) Hara	Leaf & Stem	82.93±0.60	71.36±0.26
<i>Euonymus alatus</i> Thunb.	Leaf & Branch	82.89±0.51	69.13±0.38
<i>Styrax obassia</i> Siebold & Zucc.	Leaf	97.53±0.16	55.71±0.23
<i>Styrax obassia</i> Siebold & Zucc.	Branch	59.98±0.08	58.77±0.42
<i>Styrax obassia</i> Siebold & Zucc.	Fruit	100.47±0.30	70.57±0.43
<i>Callicarpa japonica</i> Thunb.	Leaf	100.51±0.13	83.70±0.61
<i>Callicarpa japonica</i> Thunb.	Branch	99.00±0.61	57.10±0.37
<i>Cornus controversa</i> Hemsl. ex Prain	Leaf	80.34±0.29	27.07±0.26
<i>Cornus controversa</i> Hemsl. ex Prain	Branch	86.04±0.39	21.73±0.13
<i>Melilotus suaveolens</i> Ledeb.	Leaf & Stem	101.48±0.26	92.43±1.04
<i>Lotus corniculatus</i> var. <i>japonica</i> Regel	Leaf & Stem	96.80±0.24	54.92±0.42
<i>Broussonetia kazinoki</i> Siebold	Leaf & Branch	8.73±0.25	18.74±0.12
<i>Elaeagnus umbellata</i> Thunb.	Leaf & Branch	100.31±0.30	83.10±0.98
<i>Taxus cuspidata</i> Siebold & Zucc.	Leaf & Branch	35.28±1.97	24.48±0.42
<i>Acer pseudosieboldianum</i> (Pax) Kom.	Leaf & Branch	56.87±0.27	33.10±0.13
Control		101.76±0.09	100.00±0.55
Normal		100.00±0.11	19.82±0.39

성분으로는 생리활성 물질인 ellagic acid, gallic acid, shilimic acid, quercitrin, muricitrin, galloianin 등의 성분이 함유되어 있으며,³⁰⁾ 항균활성에 우수한 효과가 있다는 것이 보고되어 있다.³¹⁾

항균활성 측정 - *E. coli*는 오염지표균인 동시에 부패세균이며,³²⁾ *S. aureus*는 화농성 염증을 일으키는 원인균인 포도상구균 속 중 병원성인 가장 강하며 화농성 질환뿐만 아니라 식중독 발생의 원인이 되기도 한다.¹⁶⁾ Disc 확산법을 통해 대표적인 그람 음성균 *E. coli*와 그람 양성균 *S. aureus*에 대한 항균효과를 알아보기 위하여 민속식물 추출물 50 µg/30 µl 농도로 처리하여 생육저해환의 크기를 측정하였다(Table II). 14종의 민속식물 추출물에서 *E. coli*, *S. aureus* 모두에서 11 mm 이상의 생육저해환을 보였으며, *E. coli*에 대하여 8종을 제외한 22종의 추출물이 11 mm 이상의 생육저해환을 나타내었다. 특히 곰솔(미숙열매)은 17 mm의 가장 큰 생육저해환을 보여 *E. coli*에 대한 강한 항균활성을 보였다. *S. aureus*에 대한 항균효과에서는 17종의 추출물이 11-13 mm의 생육저해환을 보였으며 그 중 층층나무(잎)은 13 mm의 가장 큰 생육저해환을 보여 *S. aureus*에서 항균활성이 우수한 것으로 나타났다.

염증반응 억제효과 - 생체조직의 염증반응은 세균감염이나 체내 대사산물과 같은 자극의 방어기전으로³³⁾ 체내에서 발생한 산화적 스트레스는 apoptosis나 퇴행성 질환을 일으키는 특정 유전자 발현을 증가시켜 염증반응을 촉진시킨다.³⁴⁾ 대식세포(macrophage)는 외부자극으로부터 항상성을 유지하는 것으로 알려져 있으며, 염증 반응 시에는 NO와 cytokine을 생산하여 생체방어에 중요한 역할을 하는 세포이다.^{35,36)} 내독소로 알려져 있는 lipopolysaccharide(LPS)는 대식세포에서 tumor necrosis factor-alpha, interleukin-6, interleukin-1β와 같은 proinflammatory cytokine의 증가를 촉진시켜 염증매개물질인 NO와 prostaglandin 등을 분비한다.³⁷⁾ RAW264.7 세포에 LPS와 IFN-γ를 처리한 후 100 µg/ml 농도의 민속식물을 처리하여 세포 생존률과 NO 생성률을 살펴보았다. LPS와 IFN-γ를 세포에 처리하게 되면 세포 생존률에는 영향을 미치지 않지만 세포 내독소로 인해 NO 생성이 유발된다. 그러나 붉나무(가지), 익모초, 쪽동백나무(가지), 닥나무, 주목, 당단풍나무는 세포 생존률이 60% 이하로 세포 독성이 있는 것으로 사료되어 NO생성이 제대로 이루어지지 않은 것으로 보인다. 그 외 24가지 민속식물 중 10가지에서 50-70%의 NO생성 억제효과를 나타내었고, 붉나무(잎), 개여뀌, 사철쭉, 층층나무(잎), 층층나무(가지) 5가지 시료에서는 50% 이하의 NO 생성률을 보였다. 특히, 층층나무(잎)과 층층나무(가지) 시료는 각각 27.07%와 21.73%로 Normal군과 거의 같은 NO 생성률(19.82%)을 보여 NO생성 억제능이 뛰어난 것으로 생각된다.

결론적으로, 붉나무(잎)과 층층나무(잎, 가지)의 경우 항산

화 효과와 *E. coli*, *S. aureus*에 대한 항균효과가 뛰어나며 염증 억제효과에서도 우수한 결과를 보였다. 붉나무는 옻나무과에 속하며 우리나라와 일본, 중국의 산야에서 자라는 낙엽소교목으로 한약재로서 설사에 효능이 있는 것으로 알려져 있다. 붉나무(잎)에 대한 연구로 잎의 성분으로는 생리활성 물질인 ellagic acid, gallic acid, shilimic acid, quercitrin, muricitrin, galloianin 등의 성분이 함유되어 있으며,³⁰⁾ 항균활성에 우수한 효과가 있다는 것이 보고되어 있다.⁵⁾ 층층나무 또한 활성 화합물로 gallic acid, quercetin, quercitrin, hyperoside 등의 phenol 성분이 있는 것이 확인되었다.³⁸⁾ 따라서 여러 가지 우수한 생리활성 물질을 가지고 있는 붉나무(잎)와 층층나무(잎, 가지)는 천연 항산화제 물질의 개발에 기여할 것으로 생각된다.

사 사

본 연구는 2012년도 국립수목원의 충청도지역 민속식물 유용성 탐색(KNA1-2-13, 11-5) 과제의 지원을 받아 수행한 것임.

인용문헌

- Kehrer, J. P. (1993) Free radicals as mediators of tissue injury and disease. *Crit. Rev. Toxicol.* **23**: 34-39.
- Wiseman, H and Halliwell, B. (1996) Damage to DNA by reactive oxygen and nitrogen species: Role in inflammatory disease and progression to cancer. *Biochem. J.* **313**: 17-29.
- Szabo, C. and Ohshima, H. (1997) DNA Damage induced by peroxynitrite: Subsequent biological effects. *Nitric Oxide* **1**: 373-385.
- Cheng, H. Y., Lin, T. C., Yu, K. H., Yang, C. M. and Lin, C. C. (2003) Antioxidant and free radical scavenging activities of *Terminalia chebula*. *Biol. Pharm. Bull.* **26**: 1331-1335.
- Salter, T. F. (1984) Free-radical mechanisms in tissue injury. *Biochem. J.* **222**: 1-15.
- Ames, B. N., Shigenaga, M. K. and Hagen, T. M. (1993) Oxidants, antioxidants, and the degenerative diseases of aging. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A* **90**: 7915-7922.
- Heo, S. I. and Wang, M. H. (2008) Antioxidant activity and cytotoxicity effect of extracts from *Taraxacum mongolium*. *Kor. J. Pharmacogn.* **39**: 255-259.
- Lee, Y. M., Lee, J. J. and Lee, M. Y. (2008) Antioxidative effect of *Pimpinella brachycarpa* ethanol extract. *J. Life Sci.* **18**: 247-273.
- Shin, D. H. (1990) Overview of natural, antimicrobial plant extract on food spoilage microorganism. *J. Kor. Ind.* **23**: 68-77.
- Fernandes, C. F., Flick, G. J., Cohen, J. and Thomas, T. B. (1998) Role of oranic acids during processing to improve

- quality of channel catfish filets. *J. Food Prot.* **6**: 495-498.
11. Choi, H. K. (2001) A study on the antibacterial activity of garlic against *Escherichia coli* O157. *J. Practical Education* **14**: 159-167.
 12. Buchanan, R. L. and Doyle, M. P. (1997) Foodborne disease significance of *Escherichia coli* O157:H7 and other enterohemorrhagic *E. coli*. *Food Technol.* **51**: 69-76.
 13. Mead, P. S. and Griffin, P. M. (1998) *Escherichia coli* O157:H7. *Lancet* **352**: 1207-1212.
 14. Lerrer, B., Zinger-Yosovich, K. D., Avrahami, B. and Gilboa-Garber, N. (2007) Honey and royal jelly, like human milk, abrogate lectin-dependent infection-preceding *Pseudomonas aeruginosa* adhesion. *ISME J.* **1**: 149-55.
 15. Kang, M. W. and Kim, Y. R. (1993) Infection of Methicillin resistant *Staphylococcus aureus*. *J. Korean Soc. Chemother.* **11**: 17-26.
 16. Hamayun, M., Khan, S. A., Sohn, E. Y. and Lee, I. J. (2006) Folk medicinal knowledge and conservation status of some economically valued medicinal plants of District swat, Parkistan. *Lyonia* **11**: 101-113.
 17. Kim, J. C., Choi, G. J., Lee, S. W., Kim, J. S., Chung, K. Y. and Cho, K. Y. (2004) Screening extracts of *Achyranthes japonica* and *Rumex crispus* for activity against various plant pathogenic fungi and control of powdery mildew. *Pest. Manage. Sci.* **60**: 803-808.
 18. Ahn, S. Y., Kim, J. H., Choi, S. J. and Kim, Y. J. (2009) Current status and prospect of cultivation of wild vegetable crop. *Kor. J. Hort. Sci. Technol.* **27**: S36.
 19. Choi, B. B., Lee, H. J. and Bang, S. K. (2004) Studies on the amino acid, sugar analysis and antioxidative effect of extracts from *Artemisia sp.* *Korean J. Food Sci. Technol.* **17**: 86-91.
 20. Ham, S. S., Lee, S. S., Oh, D. H., Kim, S. H. and Hong, J. G. (1997) Development of beverages drinks using mountain edible herbs. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* **26**: 92-97.
 21. Lee, S. O., Lee, H. J., Yu, M. H., Im, H. G. and Lee, I. S. (2005) Total polyphenol contents and antioxidant activities of methanol extracts from vegetables produced in Ullung island. *Korean J. Food Sci. Technol.* **37**: 233-240.
 22. Nam, Y. and Baik, J. (2005) Status of research and possibility of development about endemic wild vegetables in Korea. *J. Kor. Soc. People Plants Environ.* **18**: 1-10.
 23. Hatano, T., Edamaysu, R., Hiramatsu, M., Mori, A., Fujita, Y., Yasuhara, T., Yoshida, T. and Okuda, T. (1989) Effect of the interaction of tannins with co-existing substances, VI. Effects of tannins and related polyphenols on superoxide anion radical and on 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl radical. *Chem. Pharm. Bull.* **37**: 2016-2021.
 24. Chung, S. K., Osawa, T. and Kawakishi, S. (1997) Hydroxy radical-scavenging effects of spices and scavengers from brown mustard (*Brassica nigra*). *Biosci. Biotech. Biochem.* **61**: 118-123.
 25. Davidson, P. M. and Parish, M. E. (1989) Methods for testing the efficacy of food antimicrobials. *Food Technol.* **43**: 148-155.
 26. Mosman, T. (1983) Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays. *J. Immunol. Met.* **65**: 55-63.
 27. Green, L. C., Wanger, D. A., Glogowski, J., Skipper, P. L., Wishnok, J. S. and Tannenbaum, S. R. (1982) Analysis of nitrate, nitrite, and [¹⁵N]nitrate in biological fluids. *Anal. Biochem.* **126**: 131-138.
 28. Hong, J., Wei, M. J., Leem, D. G., Park, K. S., Yoon, T. H., No, K. M. and Jeong, J. Y. (2010) Evaluation of antioxidants activity through the chemical assay. *J. Biomed. Res.* **11**: 1-8.
 29. Tsuda, T., Shiga, K., Ohshima, K., Kawakishi, S. and Osawa, T. (1996) Inhibition of lipid peroxidation and the active oxygen radical scavenging effect of anthocyanin pigment isolated from *Phaseolus vulgaris* L. *Biochem. Pharmacol.* **52**: 1033-1039.
 30. Jeong, C. H., Bae, Y. I., Shim, K. H. and Choi, J. S. (2004) Radical scavenging effect and antimicrobial activities of plantain (*Plantago asiatica* L.) extracts. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* **33**: 1601-1605.
 31. Kang-Rotondo, C. H., Major, S., Chiang, T. M., Myers, L. K. and Kang, E. S. (1996) Upregulation of nitric oxide synthase in cultured human keratinocytes after ultraviolet B and bradykinin. *Photodermatol. Photo-immunol. Photomed.* **12**: 57-65.
 32. Funk, C. D. (2001) Prostaglandins and leukotrienes: advances in eicosanoid biology. *Science* **294**: 1871-1875.
 33. Higuchi, M., Higashi, N., Taki, H. and Osawa, T. (1990) Cytolytic mechanism of activated macrophages. Tumor necrosis factor and L-arginine-dependent mechanisms act synergistically as the major cytolytic mechanisms of activated macrophage. *J. Immunol.* **144**: 1425-1431.
 34. Lee, Y. S., Kim, H. S., Kim, S. K. and Kim, S. D. (2000) IL-6 mRNA expression in mouse peritoneal macrophages and NIH3T3 fibroblasts in response to *Candida albicans*. *J. Micro. Biol. Biotechnol.* **10**: 8-15.
 35. Lee, S. J. and Lim, K. T. (2008) Phytology coprotein inhibits interleukin-1 β , and interleukin-6 via p38 mitogen activated protein kinase in lipopolysaccharide stimulated RAW 264.7 cells. *Naunyn. Schmied. Arch. Pharmacol.* **377**: 45-54.
 36. Oh, J. Y., Choi, U., Kim, Y. S. and Shin, D. H. (2003) Isolation and Identification of antioxidative components from bark of *Rhus javanica* Linne. *Korean J. Food Sci. Technol.* **35**: 726-732.
 37. Chang, H. S. and Choi, I. (2012) Antimicrobial activities of medicinal herb extracts. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* **41**: 261-269.
 38. Lee, D., Lee, S. H., Chung, S. R., Ro, J. and Lee, K. (1995) Phenolic components from the leaves of *Cornus controversa* H. *Kor. J. Pharmacogn.* **26**: 327-336.
- (2013. 5. 16 접수; 2013. 5. 29 심사; 2013. 6. 10 게재확정)