

쉽싸리 부위별 물추출물의 항산화 활성

송윤진[#], 장준복, 유지현^{*}

중부대학교 한방제약과학과

Antioxidant Activities of Water Extracts from Different Parts of *Lycopus lucidus* Turcz. ex Benth.

Youn-Jin Song[#], Jun-Pok Chang, Ji-Hyun Yoo^{*}

Department of Herbal pharmaceutical Science, Joongbu University Geumsan 312-702, Korea

ABSTRACT

Objectives : This study was performed to investigate the antioxidant activity of water extracts from *Lycopus lucidus* Turcz. ex Benth. leaves, stems and roots at the 100 $\mu\text{g}/\text{ml}$ concentration.

Methods : The different part of *Lycopus lucidus* Turcz. ex Benth. extract was prepared using water. The antioxidant activities of polyphenol contents, total flavonoid contents, DPPH(1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) free-radical scavenging activity, SOD like activity, hydroxyl radical, ABTS(2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid), Fe^{2+} chelating, and nitrite scavenging activity.

Results : The total polyphenol and total flavonoid content of leaves were the highest at 221.85 $\mu\text{g}/\text{mg}$ and 794.13 $\mu\text{g}/\text{mg}$, respectively. Electron donating ability was the 79.68% in the water extract from leaves. The ABTS radical scavenging activity of the hot extracts, leaves \gg roots $>$ stems was higher in the order. It was shown the highest at 94.53% in the water extract from leaves, which showed a value equal to 94.7% of ascorbic acid. The hydroxyl radical scavenging activity was the highest at 8.07% in the water extract from leaves. SOD like activity and Fe^{2+} chelating activity were leaves of 12.3% and 27%, respectively, which were much higher than those of any other parts. The nitrite scavenging ability of extracts was increased at pH 2,5, and those was the highest in leaves of 83.03%. Its were more than twice the 41.61% of BHT.

Conclusion : The results suggest that *Lycopus lucidus* Turcz. ex Benth. can be used as nutraceutical foods and natural antioxidant.

Key words : Antioxidant, *Lycopus lucidus* Turcz. ex Benth., Water Extract, Different part

I. 서 론

쉽싸리(*Lycopus lucidus* Turcz. ex Benth.)는 꿀풀과(Labiatae) 쉽싸리속(*Lycopus*)에 속하는 다년생 초본으로 습기가 있는 전국에 걸쳐 물가에 분포 하고 있으며 높이가 약 70 cm로, 뿌리줄기는 짧고 풀 전체에 털이 난다¹⁾.

본초학에서는 꿀풀과(Labiatae) 쉽싸리(*L. lucidus* Turcz. ex Benth.)의 꽃이 피기전의 지상부를 택란이라고 하며, 이

명으로 지과아묘, 호란, 소택란, 호포라고도 하며²⁾, 《신농본초경》³⁾에 최초로 수재된 약재이다. 《향약집성방》⁴⁾에서는 쉽싸리의 뿌리를 지순이라 하고 쉽싸리의 효능으로는 활혈거어하는 효능이 있어 혈맥어체로 인한 경폐, 통경, 월경부조, 산후복통, 질타상통, 흉협통, 옹종의 치료에 사용하며, 행수소종하는 효능이 있어 소변불리, 수종의 치료에 사용한다²⁾.

현재 쉽싸리의 지상부로부터 페놀화합물로서의 rosmarinic acid, rosmarinate, ethyl rosmarinate,와 flavonoids,

*Corresponding author : Ji-Hyun Yoo, Department of Herbal pharmaceutical Science, Joongbu University Geumsan 312-702.
· Tel : +82-41-750-6962 · E-mail : jhyoo@joongbu.ac.kr

#First author : Youn-Jin Song, Department of Herbal pharmaceutical Science, Joongbu University Geumsan 312-702.
· Tel : +82-41-750-6394 · E-mail : zopop315@naver.com

· Received : 10 October 2016 · Revised : 27 October 2016 · Accepted : 16 November 2016

luteolin, luteolin-7-O-D-glucuronide methyl ester을 분리하고 이들 성분의 항산화 작용을 보고⁵⁾한 바 있다. 또한 쉽사리 추출물의 항염증 효과^{6,7)}가 보고되어 있으며, 알리지 모델을 사용하여 mast cell에 의한 태란 열수추출물의 항알리지 효과⁸⁾를 분석한 연구결과가 보고되어 있다.

본 연구에서는 우리 주변에서 흔하게 볼 수 있는 쉽사리의 잎과 줄기, 뿌리를 채취하여 항산화 활성을 평가하여 향후, 천연자원을 이용한 기능성 식품소재로 개발하는 기초 자료로 활용하고자 한다.

II. 재료 및 방법

1. 재료

본 실험에 사용한 쉽사리는 경상남도 김해시 명법동에서 채배하는 것을 2014년 10월에 채취하여 잎, 줄기, 뿌리 등으로 구분하고 각 부위별로 물로 세척하여 동결 건조한 다음 분쇄하여 시료로 중부대학교 한방제약과과에서 검정한 후 시료로 사용하였다.

2. 방법

1) 추출물 제조

건조 분쇄한 쉽사리 20 g을 삼각플라스크에 넣은 후 증류수를 각각 10배 비율로 혼합하여 실온에서 12시간 교반 후 필터(Advantec, 90 mm)를 사용하여 감압, 여과한 다음 Whatman No.2(Whatman International Ltd., England) 여과지로 여과한 액을 $45 \pm 1^\circ\text{C}$ 수욕 상에서 감압농축한 후 동결건조하였다. 동결 건조 후 뿌리는 7.68 g(수율 38.4%), 줄기 3.45 g(수율 17.25%), 잎 2.15 g(수율 10.74%)의 분말을 얻었다. 시료는 $4 \pm 1^\circ\text{C}$ 에서 냉장 보관하여 실험에 사용하였다.

2) 총 폴리페놀 함량 분석

총 폴리페놀 함량은 Folin-Denis법⁹⁾을 응용하여, 시료 추출물 최종농도에 따라 용해시키고 0.1N Folin-Ciocalteu 500 μl 를 첨가하여 5분간 정치한 다음 1 M Na_2CO_3 용액 500 μl 를 가하였다. 이 혼합액을 실온에서 1시간 동안 정치한 후 UV/VIS spectrophotometer(Shimadzu, Japan)를 사용하여 765 nm에서 흡광도를 측정하였다. 총 폴리페놀 함량은 garlic acid를 이용하여 검량곡선을 작성하여 garlic acid에 대한 당량으로 환산하였다.

3) 총 플라보노이드 함량 분석

총 플라보노이드 함량은 Zhishen 등¹⁰⁾이 개발한 분광분석법을 이용하여 측정하였다. 증류수 300 μl 이 들어있는 시험관에 시료 300 μl 를 가하고 5분이 경과한 다음 5% NaNO_2 30 μl 와 10% AlCl_3 30 μl 를 차례로 가하였다. 대조군은 시료 대신 증류수 300 μl 를 가하였다. 5분 동안 반응한 후 1 M NaOH 200 μl 를 가하고 증류수를 추가로 가하여 1 ml로 맞춘 다음 510 nm에서 흡광도를 측정하였으며, quercetin을 이

용하여 작성한 표준곡선으로부터 함량을 구하였다.

4) DPPH 라디칼 소거능 활성

각 추출물을 Blois¹¹⁾의 방법에 의한 수소전자공여능에 의해 항산화 활성을 측정하였다. EtOH에 용해한 100 μM 의 DPPH 용액 900 μl 와 여러 농도의 추출물을 100 μl 를 혼합하여 잘 교반 한 후 혼합 시료를 암소에서 30분간 반응시킨 후 517 nm에서 흡광도를 측정하였다. 수소전자공여능은 각 실험을 3회 반복하여 평균을 낸 다음 대조구에 대한 흡광도의 감소 정도를 다음 식에 의하여 계산하였다.

$$\text{전자공여능}(\%) = \{1 - (\text{추출물 첨가구의 흡광도} / \text{추출물 무첨가구의 흡광도})\} \times 100$$

5) ABTS 라디칼 소거 활성

ABTS 라디칼을 이용한 항산화력 측정은 Re 등¹²⁾의 방법을 변형하여 측정하였다. 7 mM의 2,2-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) diammonium salt와 2.4 mM potassium persulfate 용액을 혼합하여 4시간 동안 방치하여 ABTS^+ 를 형성시킨 후 이 용액을 734 nm에서 흡광 값이 0.7~0.8이 되도록 몰흡광계수($\epsilon = 3.6 \times 10^4 \text{M}^{-1} \text{cm}^{-1}$)를 이용하여 에탄올로 희석하였다. 희석된 ABTS 용액 225 μl 에 시료 25 μl 에 가한 후, Multimicroplate reader-SpectraMax M5 (Molecular Devices, USA)를 사용하여 734 nm에서 흡광도를 측정하였다. 대조구로는 ascorbic acid를 시료와 동일한 100 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 의 농도로 사용하였고, 분획물의 소거 활성은 다음 식으로 %를 구하였다.

$$\text{소거활성}(\%) = \{1 - (\text{추출물 첨가구의 흡광도} / \text{추출물 무첨가구의 흡광도})\} \times 100$$

6) Hydroxyl 라디칼 소거 활성

각 추출물의 hydroxyl 라디칼 소거능은 Smirnoff and Cumbes¹³⁾방법에 따라 FeSO_4 와 H_2O_2 의 Fenton 반응에 의해 생성된 Hydroxyl 라디칼에 의해 가수분해 되는 정도를 통해 측정되었다. 1.5 mM FeSO_4 와 6 mM H_2O_2 (3.5 : 5)의 37°C 에서 Fenton 반응에 의해 생성된 hydroxyl 라디칼 760 μl 와 농도별 시료 40 μl 를 혼합한 후 37°C 에서 약 30분간 반응시켰다. 반응 후 200 mM sodium salicylate 200 μl 를 첨가한 후 UV/Visible spectrophotometer(Shimadzu, Japan)을 이용하여 562 nm에서 흡광도를 측정하였다. 양성대조구는 합성 항산화제인 ascorbic acid를 시료와 동일한 100 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 의 농도로 실험하여 추출물이 가지는 소거능과 비교 하였고 다음 식으로 소거능(%)을 구하였다.

$$\text{소거활성}(\%) = \{1 - (\text{추출물 첨가구의 흡광도} / \text{추출물 무첨가구의 흡광도})\} \times 100$$

7) 아질산염 소거작용 측정

아질산염 소거능은 Kato 등¹⁴⁾의 방법에 따라 다음과 같이

측정하였다. 1 mM의 NaNO₂ 용액 1 ml에 시료 추출물을 첨가하고, 여기에 0.1 N HCl(pH 1.2)과 0.1 M citrate buffer를 사용하여 반응용액의 pH를 각각 2.5와 4.2로 조정 한 후 반응용액의 부피를 10 ml로 한 다음 37°C에서 1시간 동안 반응시켜 얻은 반응액을 1 ml씩 취하고 여기에 2% acetic acid 5 ml를 첨가한 후, Griess 시약 0.5 ml를 가하여 혼합시켜 실온에서 15분간 방치시킨 후 UV/Visible spectrophotometer (Shimadzu, Japan)를 사용하여 520 nm에서 흡광도를 측정하여 아래와 같이 아질산염 소거능을 구하였다. 대조구는 Griess시약 대신 증류수 0.4 ml를 가하여 상기와 동일한 방법으로 측정하여 추출물을 첨가 한 경우와 첨가하지 않은 경우의 아질산염 소거율을 다음과 같은 공식을 적용하여 백분율(%)로 나타내고, BHT 처리군은 시료와 동일한 100 µg/ml의 농도로 실험하여 비교하였다.

$$\text{소거활성}(\%) = \{1 - (\text{추출물 첨가구의 흡광도} / \text{추출물 무첨가구의 흡광도})\} \times 100$$

8) Fe²⁺ 킬레이팅 활성

Iron-chelating 활성은 Hus의 방법¹⁵⁾에 의해 측정 되었다. 2 mM FeCl₂ 60 µl, 농도별 시료 40 µl와 증류수 700 µl를 혼합한 후 상온에서 약 10분간 반응 한 후 5 mM ferrozine을 첨가하여 Fe²⁺-ferrozine complex를 유도하기 위해 상온에서 약 5분간 반응 시켰다. 반응 후 UV/Visible spectrophotometer (Shimadzu, Japan)을 이용하여 562 nm에서 흡광도를 측정 하였다. Positive control로 iron chelating제인 deferoxamine은 시료와 동일한 100 µg/ml의 농도로 동일한 방법으로 실험하여 추출물이 가지는 chelating능과 비교 하였고 다음 식으로 킬레이팅 활성(%)을 구하였다.

$$\text{Chelating능}(\%) = \{1 - (\text{추출물 첨가구의 흡광도} / \text{추출물 무첨가구의 흡광도})\} \times 100$$

9) SOD 유사활성 측정

SOD 유사활성 측정은 Marklund와 Marklund¹⁶⁾의 방법에 따라 과산화수소(H₂O₂)로 전환시키는 반응을 촉매하는 pyrogallol의 생성량을 측정하여 SOD 유사활성으로 나타내었다. 즉 일정농도의 시료 50 µl에 pH 8.5로 보정한 tris HCl buffer [50 mM tris (hydroxymethyl) amino-methane + 10 mM EDTA] 50 µl와 7.2mM pyrogallol 50 µl를 가하고 25°C에서 60분간 방치 후, 1N HCl 50 µl를 가하여 반응을 정지시켰다. 반응액 중 산화된 pyrogallol의 양은 420 nm에서 흡광도를 측정하였다. SOD 유사활성은 다음의 공식과 같이 시료용액의 첨가구와 무첨가구 사이의 흡광도의 차이를 백분율(%)로 나타냈다.

$$\text{SOD 유사활성}(\%) = \{1 - (\text{추출물 첨가구의 흡광도} / \text{추출물 무첨가구의 흡광도})\} \times 100$$

3. 통계처리

모든 실험의 분석결과는 각각의 군별로 평균과 표준편차 (mean ± S.D)로 나타냈으며 실험군 간의 유의성은 window 용 SPSS 프로그램(Statistical package for social science, SPSS Inc., Chicago, IL, USA)을 이용하였다. 반복측정에 의한 ANOVA Test로 검증한 후 Turkey's multiple range test를 통하여 p<0.05 수준에서 평균치를 비교하였다.

III. 결 과

1. 총 폴리페놀 및 플라보노이드 함량

쉽사리의 부위별 물 추출물의 총 폴리페놀 함량을 분석한 결과 뿌리에는 17.60±0.64 µg/mg, 줄기에는 18.45±0.14 µg/mg, 잎에는 221.85±0.41 µg/mg으로 나타나 뿌리나 줄기보다 잎에서 아주 높은 함량을 나타냈다(Table 1). 총 플라보노이드 함량은 뿌리에는 69.00±0.60 µg/mg, 줄기에는 53.66±0.01 µg/mg, 잎에는 794.13±3.63 µg/mg으로 나타나 뿌리나 줄기보다 잎에서 아주 높은 함량을 나타냈다. 총 폴리페놀과 플라보노이드 결과에서 모두 뿌리나 줄기보다 잎에서 아주 높은 함량을 확인하였다(Table 1).

Table 1. Total polyphenol and flavonoid content of water extracts from *L. lucidus*

Plant part concn. 100 µg/ml	Total phenol contents (µg/ml)	Total flavonoid contents (µg/ml)
Leaves	221.85±0.41 ^a	794.13±3.63 ^a
Stems	18.45±0.14 ^b	53.66±0.01 ^c
Roots	17.60±0.64 ^b	69.00±0.60 ^b

The values are expressed as means±standard deviation of triplicate tests. Means with difference letter within a row are significantly different at p<0.05 as determined by Turkey's multiple range test

2. DPPH 와 ABTS 라디칼 소거활성

쉽사리의 부위별 추출물의 DPPH 라디칼 소거활성을 측정한 결과 잎, 줄기 및 뿌리가 각각 79.68±0.38%, 11.84±0.42%, 14.22±0.42%로 잎에서 가장 높게 나타났으며, 잎의 물추출물은 100 µg/ml의 매우 낮은 농도에서도 대조구인 ascorbic acid(86.7%)와 유사한 활성을 나타내었다. 또한 쉽사리 부위별 ABTS 라디칼 소거활성에서는 잎(94.53%) > 뿌리(28.90%) > 줄기(22.24%)순으로 소거활성이 높았으며, DPPH 소거활성 결과와 유사하게 잎 추출물에서 가장 높은 활성을 나타내었으며, 대조구로 사용한 천연 항산화제인 ascorbic acid(94.70%)와 같은 정도의 높은 ABTS 라디칼 소거활성을 나타내었다(Table 2).

3. Hydroxyl 라디칼 소거 활성

Hydroxyl 라디칼 소거활성을 측정한 결과, 대조구로 사용한 ascorbic acid (59.63%)를 나타냈고, 쉽사리 부위별 추출물의 경우 잎(8.07%) > 뿌리(4.56%) > 줄기(3.52%) 순으로

잎에서 뿌리와 줄기보다 2배 이상의 매우 높은 hydroxyl 라디칼 소거능을 나타내었다(Table 3).

Table 2. DPPH and ABTS radical scavenging activities of water extracts from *L. lucidus*

Plant part concn. 100 $\mu\text{g}/\text{ml}$	Scavenging activity of DPPH radical (%)	Scavenging activity of ABTS radical (%)
Leaves	79.68 \pm 0.38 ^b	94.41 \pm 0.22 ^a
Stems	11.84 \pm 0.42 ^d	11.01 \pm 0.85 ^c
Roots	14.22 \pm 0.44 ^c	17.68 \pm 0.50 ^b
Ascorbic acid	86.67 \pm 0.13 ^a	94.70 \pm 0.07 ^a

The values are expressed as means \pm standard deviation of triplicate tests. Means with difference letter within a row are significantly different at $p < 0.05$ as determined by Turkey's multiple range test

Table 3. Hydroxyl radical scavenging activity of water extracts from *L. lucidus*

Plant part concn. 100 $\mu\text{g}/\text{ml}$	Scavenging activity of hydroxyl radical (%)
Leaves	8.07 \pm 0.73 ^b
Stems	3.52 \pm 0.77 ^c
Roots	4.56 \pm 0.63 ^c
Ascorbic acid	59.63 \pm 0.50 ^a

The values are expressed as means \pm standard deviation of triplicate tests. Means with difference letter within a row are significantly different at $p < 0.05$ as determined by Turkey's multiple range test

4. 아질산염 소거 활성

쉽사리 부위별 아질산염 소거 활성 결과 pH 2.5에서 쉽사리 잎(83.03%), 줄기(3.48%) 및 뿌리(4.79%)로 잎 > 뿌리 > 줄기 순으로 아질산염 소거 활성을 나타냈으며, 잎 추출물에서는 합성항산화제인 BHT(41.61%) 보다 2배 이상의 높은 아질산염 소거능을 나타냈다. 또한 pH 4.2의 경우 쉽사리 잎(41.42%), 뿌리(3.97%), 줄기(3.52%)순으로 잎에서 가장 높게 나타났으며, 대조구인 BHT(32.86%) 보다 높게 나타났다(Table 4).

Table 4. Nitrite scavenging ability of water extracts from *L. lucidus*

Plant part concn. 100 $\mu\text{g}/\text{ml}$	Nitrite scavenging ability(%)	
	pH 2.5	pH 4.2
Leaves	83.03 \pm 0.26a	41.42 \pm 1.13b
Stems	3.48 \pm 0.54d	3.52 \pm 0.13e
Roots	4.79 \pm 0.84d	3.97 \pm 0.72e
BHT	41.61 \pm 1.87b	32.86 \pm 0.79c

The values are expressed as means \pm standard deviation of triplicate tests. Means with difference letter within a row are significantly different at $p < 0.05$ as determined by Turkey's multiple range test

5. Fe²⁺ 킬레이팅 활성

쉽사리의 부위별 추출물의 Fe²⁺ 킬레이팅 활성 결과 잎

(27.0%), 줄기(18.29%) 뿌리(18.73%)으로 잎 > 뿌리 > 줄기 순으로 잎에서 가장 높은 활성을 나타내었으나, 대조구인 deferoxamine(79.64%) 보다 다소 낮은 Fe²⁺ 킬레이팅 활성을 나타내었다(Table 5).

Table 5. Fe²⁺ chelating activity of water extracts from *L. lucidus*

Plant part concn. 100 $\mu\text{g}/\text{ml}$	Fe ²⁺ chelating activity(%)
Leaves	27.00 \pm 0.55 ^b
Stems	18.29 \pm 1.01 ^c
Roots	18.73 \pm 0.47 ^c
Deferoxamine	79.64 \pm 0.71 ^a

The values are expressed as means \pm standard deviation of triplicate tests. Means with difference letter within a row are significantly different at $p < 0.05$ as determined by Turkey's multiple range test

6. SOD 유사활성

쉽사리 부위별 SOD 유사활성 측정 결과 잎(12.3%), 줄기(5.7%), 및 뿌리(7.7%)으로 잎 > 뿌리 > 줄기 순으로 나타났으며, 잎에서 가장 높은 활성을 나타냈다(Table 6).

Table 3. Hydroxyl radical scavenging activity of water extracts from *L. lucidus*

Plant part concn. 100 $\mu\text{g}/\text{ml}$	Superoxide dismutase like activity(%)
Leaves	12.30 \pm 0.40 ^b
Stems	5.70 \pm 0.40 ^b
Roots	7.70 \pm 0.50 ^c
Ascorbic acid	23.50 \pm 0.60 ^a

The values are expressed as means \pm standard deviation of triplicate tests. Means with difference letter within a row are significantly different at $p < 0.05$ as determined by Turkey's multiple range test

IV. 고찰

천연 약용식물은 일부 성분들이 체내에서 유해 활성산소를 감소시키는 생리활성을 가지고 있는 것으로 보고되고 있으며¹⁷⁾, 체내 활성산소 생성 속도가 제거 속도보다 커지면 생체조직을 공격하여 정상 세포를 손상시키며, 피부노화, 동맥경화, 고지혈증, 신경 손상성 질환, 백내장, 당뇨 등 다양한 질병이 유발되므로 항산화제에 대한 관심이 집중되고 있다¹⁸⁾. 따라서 산화적 손상을 줄일 수 있는 항산화제의 강화는 체내 free radical과 지질 과산화물의 증가로 인해 발생하는 다양한 합병증 발생 예방 및 치료에 매우 중요하다¹⁹⁾. 이로부터 인체에 안전하고 질병을 예방할 수 있는 생리활성을 가진 물질을 탐색하려는 연구가 활발히 이루어지고 있다¹⁷⁾.

천연 항산화제로서의 기능이 잘 알려진 식물체에는 2차대사산물의 하나인 페놀성 물질이 있으며, 이 물질은 콜레스테롤저하작용, 항암 및 항산화 작용 등 다양한 항산화생리활성

기능을 가지고 있다²⁰⁾. 폴리페놀은 식물의 대표적인 2차 대사 산물로 식물체에 널리 분포되어 있으며, phenolic hydroxyl 그룹 때문에 단백질, 효소 단백질 또는 기타 거대분자와 결합하는 성질을 가지고 있어 항산화 작용, 항균, 항 알레르기 및 항암효과에 관여하는 것으로 알려져 있다²¹⁾. 쉽사리 물 추출물의 총 폴리페놀 함량을 나타낸 결과(Table 1)의 경우 잎 > 줄기 > 뿌리 순으로 나타나 뿌리나 줄기보다 잎에서 약 10배 이상의 아주 높은 함량을 나타냈다. 쉽사리는 잎, 줄기, 뿌리 등 부위별에 따라 폴리페놀 함량이 현저한 다른 것을 알 수 있었다. 국내 시판 다류의 폴리페놀 함량은 홍차, 인삼차, 녹차, 한차의 경우 각각 101.51 $\mu\text{g}/\text{mg}$, 28.30 $\mu\text{g}/\text{mg}$, 94.90 $\mu\text{g}/\text{mg}$, 95.81 $\mu\text{g}/\text{mg}$ 이라는 보고²²⁾와 벌나무 물 추출물의 171.93 \pm 2.20 $\mu\text{g}/\text{mg}$ 함유되어 있다고 보고²³⁾한 것과 비교하면 쉽사리 잎(235.39 $\mu\text{g}/\text{mg}$)의 경우는 매우 높은 폴리페놀 함량을 나타내고 있어 항산화 기능성소재로서의 이용 가능성이 높다고 판단된다.

플라보노이드는 식물에 의해 합성된 페놀성 화합물로 노란색, 담황색 및 적자색을 띠는 색소 화합물로서 식물 중에는 대부분 당과 결합된 배당체(glycoside) 형태로 존재한다. 이들은 활성 산소종을 효과적으로 제거하여 심장질환, 항암 및 항염 등의 다양한 생리기능을 가지는 것으로 알려져 있다²⁴⁾. 플라보노이드는 주로 flavonols, anthocyanidins, flavones, catechins 및 flavonones 등으로 구성되어 있으며, 그 구조에 따라 특정 flavonoid는 항산화, 항암, 항염증, 항노화 등 다양한 생리적 기능을 가지고 있는 것으로 보고되고 있다^{25, 26)} 쉽사리 물 추출물의 플라보노이드 함량을 나타낸 결과(Table 1), 잎(794.13 $\mu\text{g}/\text{mg}$) > 뿌리(69.00 $\mu\text{g}/\text{mg}$) > 줄기(53.66 $\mu\text{g}/\text{mg}$) 순으로 뿌리나 줄기보다 잎에서 약 10배 이상의 아주 높은 함량을 나타냈다. 국내 시판 다류의 플라보노이드 함량은 홍차, 인삼차, 녹차, 한차의 경우 각각 16.75 $\mu\text{g}/\text{mg}$, 3.29 $\mu\text{g}/\text{mg}$, 6.72 $\mu\text{g}/\text{mg}$, 6.06 $\mu\text{g}/\text{mg}$ 이라는 보고²²⁾와 비교하면 쉽사리 잎의 물 추출물은 794.13 \pm 3.63 $\mu\text{g}/\text{mg}$ 으로서 매우 높은 플라보노이드 함량을 나타내고 있다.

전자공여능 측정에 사용된 1-1-diphenyl-2-picryl-hydrazyl(DPPH)는 짙은 자색을 띠는 비교적 안정한 free radical로서 cystein, glutathion과 같은 함 유황아미노산과 ascorbic acid, butylated hydroxyanisole(BHA) 등에 의해 환원되어 탈색되므로 다양한 천연 소재로부터 항산화 물질을 검색하는데 많이 이용되고 있다²⁷⁾. 쉽사리 부위별 물 추출물을 100 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 농도에서 전자공여능을 측정한 결과 잎 > 뿌리 > 줄기 순으로 뿌리나 줄기보다 잎에서 약 5.6배 이상 가장 높게 나타났으며, 잎(79.68%)의 물 추출물의 경우에는 100 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 의 매우 낮은 농도에서도 대조구인 ascorbic acid (86.07%)에 유사한 정도의 높은 전자공여능을 나타냈다. 이 결과는 총 폴리페놀 함량이 높을수록 DPPH 라디칼 소거활성도 높다는 Choi 등²⁸⁾의 보고와 일치하는 결과를 나타냈으며, 전통차 추출물(1,000 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 농도)의 DPPH라디칼 소거능은 장미차, 감국차, 솔잎차, 뽕잎차, 감잎차 및 녹차 추출물에 대한 전자공여능이 각각 96.8%, 35.8%, 71.3%, 28.9%, 28.8% 및 95.3%인 보고²⁹⁾와 비교하면 쉽사리 잎 추출물의 낮은 농도에서 전자공여능은 매우 높음을 알 수 있다.

ABTS radical cation 소거능은 ABTS diammonium salt

와 potassium persulfate와의 반응에 의해 생성된 ABTS free radical이 추출물 내의 항산화 물질에 의해 제거되어 radical 특유의 색인 청록색에서 연한 녹색으로 탈색되는 것을 측정하는 방법이다³⁰⁾. 쉽사리 부위별 ABTS 라디칼 소거능은 잎(94.53%) > 뿌리(28.90%) > 줄기(22.24%) 순으로 잎 추출물은 대조군으로 사용한 천연 항산화제인 scorbic acid의 94.70 \pm 0.07%와 같은 정도의 높은 라디칼 소거능을 나타냈다(Table 2). Ha 등³¹⁾은 남해 약썩 부위별 60% 에탄올 추출물의 ABTS 라디칼 소거활성을 측정한 결과 농도 의존적으로 소거활성이 증가하여 1,000 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 농도에서 잎이 89.04%로 가장 높은 활성을 보였고 뿌리 68.93%, 줄기 48.51% 순으로 나타났고 총 페놀성 화합물 함량이 높은 시료에서 라디칼 소거능이 높았다는 보고와 비교하면 부위별 소거능과 총 페놀성 함량과의 관계도 같은 경향을 나타냈으며 농도에 따른 결과는 쉽사리가 100 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 낮은 농도에서도 높은 ABTS 라디칼 소거활성을 나타냄을 알 수 있었다.

Hydroxyl 라디칼은 라디칼 중에서 가장 반응성이 높고, 인접한 생체 분자에 심각한 손상을 야기하며, Fenton 반응에 의해 O_2^- 와 H_2O_2 로부터 생성되고, 활성질소종인 ONOO⁻의 분해에 의해 생성되기도 한다³²⁾. 가장 강력한 활성산소로 알려진 Hydroxyl radical의 생성량은 반응성 산화대사물에 의해 deoxyribose가 파괴되어 aldehyde가 생성되어 DNA 손상에 의한 돌연변이, 암 등의 발생과도 밀접한 관계가 있다. 따라서 hydroxyl 라디칼을 소거하는 효과는 항산화제로서 그 의의가 크다고 할 수 있다³³⁾. Hydroxyl 라디칼 소거능은 100 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 농도에서 대조구로 사용한 Ascorbic acid는 59.63 \pm 0.50%를 나타냈고, 쉽사리 부위별 추출물의 경우 잎 > 뿌리 > 줄기 순으로 뿌리와 줄기보다 잎에서 약 2배 이상 hydroxyl 라디칼 소거능을 나타냈다. Kim 등³⁴⁾은 약용식물 물 추출물의 1,000 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 농도에서 Hydroxyl 라디칼 소거능은 칩 16.8 \pm 2.3%, 감초 13.3 \pm 3.4%, 당귀 15.8 \pm 1.9%, 참마 9.6 \pm 3.4%, 속단 39.9 \pm 9.1%, 오미자 33.5 \pm 3.2%, 둥굴레 5.4 \pm 2.2% 임을 보고와 비교하면 쉽사리는 참마와 둥굴레의 농도보다 10배 낮은 농도와 유사한 항산화 활성을 확인할 수 있었다.

아질산염은 우리가 흔히 섭취하는 생선이나 육류 등에 발색, 풍미증진, 항균작용 및 산패 방지를 위해 첨가제로 많이 이용되고 있지만, 이러한 아질산염을 섭취했을 경우 동물이나 인체의 위 내에서 아민류와 반응하여 발암성 물질로 알려진 nitrosamine을 생성하게 되며³⁵⁾, 또한 아질산염은 체내에서 신체기능의 조절에 관여하고 염증질환을 유도하기도 한다³⁶⁾. 질산염이 많이 함유된 식품을 다량 섭취하면 아질산염과 제 2급 및 제 3급 아민의 nitroso화 반응이 위장내의 낮은 산성조건에서 쉽게 일어나서 발암물질인 nitrosamine을 생성한다. Caffeic acid, ferulic acid 등의 phenolic acids와 catechol 등의 phenol류 그리고 ascorbic acid와 erythorbic acid와 같은 환원물질이 아질산염과 반응하게 되면 nitrosamine의 생성을 저해할 수 있다³⁷⁾. 쉽사리 부위별 아질산염 소거능은 pH 2.5 및 pH 4.2에서 쉽사리 잎 > 뿌리 > 줄기 순으로 잎에서 가장 높게 나타났으며, 또한 잎의 물추출물은 pH 2.5 및 pH 4.2에서 합성항산화제인 BHT 보다 높게 나타났다. 특히 잎(83.03%) 추출물은 BHT(41.61%)의 보다 2배 이상 높은

아질산염 소거능을 나타냈다. 이 결과로 보아 십싸리 잎의 물 추출물은 pH 2.5에서 아질산염 소거능이 높아 nitrosamine 생성 저해에 효과가 있을 것으로 판단된다. Yamada 등³⁸⁾은 polyphenol과 flavonoid 화합물은 종류에 따라 차이는 있으나 함량이 높을수록 아질산염을 효과적으로 분해하여 nitrosamine의 생성을 억제한다는 보고하여 본 연구와 일치하였으며, 십싸리 잎의 뛰어난 아질산염 소거능으로 nitrosamine의 생성이 억제되어 이를 재료로 한 다양한 연구를 통해 기능성 소재로서 이용과 다각적 활용이 가능하다고 판단된다.

Ferrozine은 Fe^{2+} 와 복합체를 형성하여 보라색을 나타내는데, 이때 시료중의 chelating 효과를 가진 물질이 Fe^{2+} 이온을 제거하여 Fe^{2+} -ferrozine 복합체의 형성을 방해하여 발색을 저해시킨다. 따라서 보라색의 감소 정도를 흡광도로 측정하여 금속 봉쇄력을 나타낸다³⁹⁾. 십싸리 부위별 추출물의 경우 잎, 줄기 뿌리 열수추출물의 Fe^{2+} chelating 능은 각각 잎 > 뿌리 > 줄기 순으로 잎에서 가장 높게 나타났으며(Fig. 2.), 이것은 잎에 존재하는 수용성 페놀성 물질이 금속봉쇄 효과를 가지는 것으로 사료된다. 녹차 추출물의 금속이온(Fe^{2+})에 대한 chelating 효과는 열수 추출물(45.93%)이 에탄올 추출물(6.27%) 보다 금속이온에 대한 chelating 효과가 유의적으로 높다는 보고⁴⁰⁾와 비교하면 본 실험결과도 같은 경향을 나타냈다. Fe^{2+} chelating 효과는 다른 항산화 활성보다 다소 낮은 활성을 나타내었지만 Fe^{2+} chelating 효과는 금속을 제거하는 것이고, 다른 항산화 능력은 유리 라디칼을 제거하는 것으로 작용기작이 다르기 때문으로 판단되며⁴¹⁾, 총 폴리페놀 및 총 플라보노이드 등의 항산화 물질과는 상관성이 다소 낮은 것으로 판단된다. Fe^{2+} , Cu^{2+} 등의 금속이온은 생체 내 지질과산화물이나 과산화수소 생성을 촉진하므로 이들에 대한 chelator는 Fe^{2+} 와 hydrogen peroxide로부터 hydroxyl radical 생성을 감소시키므로 chelating 활성이 높을수록 지방 산화반응의 촉매작용을 감소시킬 수 있다⁴²⁾. Superoxide radical 유사활성은 알칼리 상태에서 pyrogallol의 자동산화에 의한 발색을 이용한 측정방법으로 pyrogallol은 수용액에서 자동산화가 빠르게 일어나는데 여기에는 superoxide가 관여한다고 알려져 있다⁴³⁾.

SOD는 다른 종류의 항산화제보다 우수한 효과를 나타내기 때문에 의약제제로서 많은 관심을 일으키고 있으며, 현재 항염증제나 피부노화방지를 위한 미용제제로 화장품 등에 많이 이용이 되고 있다⁴⁴⁾. 십싸리 부위별 SOD 유사활성 측정 결과에서도 마찬가지로 잎(12.3%) > 뿌리(7.7%) > 줄기(5.7%) 순으로 나타났으며, 잎에서 가장 높은 활성을 나타냈다. 십자화과 식물에 속하는 브로콜리, 케일, 무착즙액의 SOD활성이 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 의 농도에서 41.7%, 26.7%, 24.1%의 활성 보고⁴⁵⁾ 보다는 낮지만 Lim 등⁴⁶⁾은 한국산 약용식물 중 박하 15%, 오가피 13.5%, 작약 6.27%를 나타냈다는 보고와 비교하면 십싸리 잎 추출물은 박하 오가피와 유사한 값을 나타냈다.

따라서 본 실험 연구의 결과를 토대로 십싸리 잎의 물 추출물을 이용하여 항산화 효과가 우수한 식물 중에 대해 단일 물질에 대한 분리 작업과 함께 항산화 및 관련 분야에 대한 추가적인 연구가 필요할 것으로 사료되며, 새로운 천연물 유래 생리 활성 물질로서 효과적이면서 안전한 기능성 식품 소재로의 활용 또한 가능할 것으로 기대된다.

V. 결 론

십싸리(*Lycopus lucidus* Turcz. ex Benth.) 잎과 줄기 및 뿌리의 물 추출물에서 천연항산화제로서의 효과탐색을 위해 다음과 같은 항산화 활성 결과를 나타내었다

1. 십싸리 추출물의 총 폴리페놀 및 플라보노이드 함량은 부위별로 잎 > 뿌리 > 줄기 순으로 잎에서 가장 높은 함량을 함유하고 있었다.
2. 각 부위별 항산화 효과(DPPH, ABTS, Fe^{2+} chelating, hydroxyl radical, SOD)에서는 잎 > 뿌리 > 줄기 순으로 잎에서 가장 높은 항산화 활성을 나타내었다.
3. 아질산염 소거활성에서는 각 부위별 잎 > 뿌리 > 줄기 순으로 잎에서 가장 높았으며, pH 4.2 보다 pH 2.5에서 높은 활성을 나타내었으며, 대표적인 항산화제인 BHT (41.61%) 보다 잎에서 2배 이상 높은 소거능을 나타내었다.

결론적으로 십싸리의 부위별 물 추출물의 항산화 활성 효과는 줄기 및 뿌리보다 잎에서 가장 큰 항산화능으로 향후 기능성 식품이나 항산화 소재로서 응용 가능성이 있을 것으로 사료된다.

참고문헌

1. Kim, MW. The antidiabetic of fractions of *Lycopus lucidus* Turcz. intrepotocin diabetic rats. Korean J. Sci. Food Chem. 2000 ; 16 : 644-648.
2. Herbology Editorial Committee of Korean Medicine School. Korean Herbology (Boncho-hak). Seoul : Younglimsa. 2012 : 1072.
3. Sun XYE. Sinnongbinchogyong II. Taipei : Mungwang Book Co., Ltd. 1982 : 16.
4. Shin JH, Shin YW. Illustrated book of Medicinal herbs from Hyang Yak Jip Seong Bang. Daegu : KMU Press. 2006 : 123, 147.
5. Woo ER, Piao MS. Antioxidative constituents from *Lycopus lucidus*. Arch. Pharmacol. Res. 2004 ; 27 : 173-176.
6. Lee YJ, Kang DG, Kim JS, Lee HS. *Lycopus lucidus* inhibits high glucose-induced vascular inflammation in human umbilical vein endothelial cells. Vascul Pharmacol. 2008 ; 48 : 38-46.
7. Yun YH, Han SH, Park EJ, Yim DS, Lee SY, Lee CK, Cho, KH, Kim KJ. Immunomodulatory activity of betulonic acid by producing proinflammatory cytokines and activation of macrophages. Arch Pharmacol Res. 2003 ; 26 : 1087-1095.
8. Shin TY, Kim SH, Suk KH, Ha JH, Kim IK, Lee

- MG, Jun CD, Kim SY, Lim JP, Eun JS, Shin HY, Kim HM. Anti-allergic effects of *Lycopus lucidus* on mast cell-mediated allergy model. *Toxicol Appl. Pharmacol.* 2005 ; 209 : 255-262.
9. Folin O, Denis W. A colorimetric method for determination of phenols(phenol derivatives) in urine. *J. Biol. Chem.* 1915 ; 22:305-308.
 10. Zhishen J, Mengcheng T, Jianming W. The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. *Food Chem.* 1999 ; 64 : 555-559.
 11. Blois MS. Antioxidant determination by the use of a stable free radical. *Nature.* 1958 ; 181 : 1199.
 12. Re R, Pellegrini N, Proteggente A, Pannala A, Yang M, Rice-Evans C. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radic Biol Med.* 1999 ; 26 : 1231-1237.
 13. Smirnoff N, Cumbes QJ. Hydroxyl radical scavenging activity of compatible solutes. *Phytochemistry.* 1989 ; 28 : 1057-1060
 14. Kato H, Lee IE, Chuyen NV, Kim SB, Hayase F. Inhibition of nitrosamine formation by nondialyzable melanoidines. *Agric. Biol. Chem.* 1987 ; 51: 1333-1338.
 15. Hus B, Coupur IM, Ng K. Antioxidant activity of hot water extract from the fruit of the *Doum palm, Hyphaene thebaica*. *Food Chem.* 2006 ; 98 : 317-328.
 16. Marklund S, Marklund G. Involvement of superoxide anion radical in the oxidation of pyrogallol and a convenient assay for superoxide dismutase. *Eur. J. Biochem.* 1974 ; 47: 468-474.
 17. Cho YJ, Ju IS, Chun SS, An BJ, Kim JH, Kim MW, Kwon OJ. Screening of biological activities of extracts from *Rhododendron mucronulatum* Turcz. flowers. *J Korean Soc Food Sci Nutr.* 2008 ; 37 : 276-281.
 18. Thannickal VJ, Fanburg BL. Reactive oxygen species in cell signaling. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol.* 2000 ; 279 : 1005-1029.
 19. Ahn BS, Kim JW, Kim HT, Lee SD, Lee KW. Antioxidant effects of *Hovenia dulcis* in the streptozotocin-induced diabetic rats. *J Veterinary Clinics.* 2010 ; 27 : 366-373.
 20. Kim HJ, Jun BS, Choi ML, Cho YS. Antioxidative activities by water-soluble extracts of *morus alba* and *cudrania tricuspidata*. *J Korean Soc Agric Chem Biotechnol.* 2000 ; 43 : 148-152.
 21. Rice-Evans CA, Miller NJ, Bolwell PG, Bramley PM, Pridham JB. The relative antioxidant activities of plant-derived polyphenolic flavonoids. *Free Radic Res.* 1995 ; 22 : 375-383.
 22. Choi YM, Kim MH, Sin JJ, Park MJ, Lee JS. The antioxidant activities of the some commercial tea. *J. Korean Soc. food Sci. Nutr.* 2003 ; 32 : 723-727.
 23. Choi JH, Lee SH, Park YH, Lee SG, Jung YT, Lee IS, Park JH, Kim HJ. Antioxidant and alcohol degradation activities of extracts from *Acer tegmentosum* Maxim. *J Korean Soc Food Sci Nutr.* 2013 ; 42 : 378-383.
 24. Williams RJ, Spender JP, Rice Evans C. Flavonoids: antioxidants or signaling molecules. *Free Radic Biol Med.* 2004 ; 36 : 838-849.
 25. Hertog MGL, Hollman PCH, Venema DP. Optimization of a quantitative HPLC determination of potentially anti-carcinogenic flavonoids in vegetables and fruits. *J Agric Food Chem.* 1992 ; 40 : 1591-1598.
 26. Rice-Evans CA, Miller NJ, Bolwell PG, Bramley PM, Pridham JB. The relative antioxidant activities of plant-derived polyphenolic flavonoids. *Free Radic Res.* 1995 ; 22 : 375-383.
 27. Kim, MJ, Kim IJ, Nam SY, Lee CH, Yun T, Song BH. Effects of drying methods on content of active components, antioxidant activity and color values of *Saururus chinensis* Bail. *Korean J. Medicinal Crop. Sci.* 2006 ; 14 : 8-13.
 28. Choi SY, Lim SH, Kim JS, Ha TY, Kim SR, Kang KS, Hwang IK. Evaluation of the estrogenic and antioxidant activity of some edible and medical plants. *Korean J. Food Sci. Technol.* 2005 ; 37 : 549-556.
 29. Son JY, Kim TO. Antioxidative and physiological activities of traditional korean teas. *Korean J. Food Cookery Sci.* 2011 ; 27 : 567-575.
 30. Yu MH, Im HG, Lee HJ, Ji YJ, Lee IS. Components and their antioxidative activities of methanol extracts from sarcocarp and seed of *Zizyphus jujuba* var. *inermis* Rehder. *Korean J Food Sci Technol* 2006 ; 38 : 128-134.
 31. Ha GJ, Jeong CH, Jeong HR, Heo HJ, Shon GM, Rho CW, Kim NK. Antioxidant activities from the different parts of *Artemisia argyi* H, using an in vitro system. *J. Agriculture & Life Sci.* 2011 ; 45 : 109-117.
 32. Drews G, Krippeit-Drews P, Dfer M. Oxidative stress and beta-cell dysfunction. *Pflugers Archiv.* 2010 ; 460 : 703-718.
 33. Casado JA, Merino J, Cid J, Subira ML, Sanchez Ibarrola A. Oxidizing agents and free radicals in biomedicine. *Reu Med Univ Nauarra.* 1996 ; 40 : 31-40.
 34. Kim EY, Baik IH, Kim JH, Kim SR, Rhyu MR. Screening of the antioxidant activity of some medicinal plants. *Korean J. Food Sci. Technol.*

- 2004 ; 36 : 333-338.
35. Lim JA, Yun BW, Beak SH. Antioxidative activity and nitrite scavenging ability of methanol extract from *Salvia plebeia* R. Br. Korean J. Medicinal Crop Sci. 2007 ; 15 : 183-188.
 36. Lee SH, Hong IJ, Park HG, Jew SS, Kim KT. 2003. Functional characteristics from the barley leaves and its antioxidant mixture. J. Korean Soc. Agric. Chem. Biotechnol. 2003 ; 46 : 333-337.
 37. Gray JI, Dugan JLR. Inhibition of N-nitrosamine formation in model food system. J Food Sci. 1975 ; 40 : 981-985.
 38. Yamada T, Yamamoto M, Tanimura A. Studies on the formation of nitrosamines; The effects of some polyphenols on nitrosation of diethylamine. J Food Hyg Soc Jpn. 1978 ; 19 : 224-227.
 39. Gulcin I, Berashvili D, Gepdiremen A. Antiradical and antioxidant activity of total anthocyanins from *Perilla pankinensis* decne. J. Ethnopharmacol. 2004 ; 101 : 287-293.
 40. Chang MS, Park MJ, Jeong MC, Kim DM, Kim GH. Antioxidative activities and antibrowning effects of green tea extracts and propolis. Korean J. Food Cookery Sci. 2012 ; 28 : 567-575.
 41. Graf E, Eaton JW. Antioxidant functions of phytic acid. Free Radical Biol Med. 1990 ; 8 ; 61-69.
 42. Su L, JJ Yin, D Charles, K Zhou, J Moore, Yu L. Total phenolic contents, chelating capacities, and radical scavenging properties of black peppercorn, nutmeg, rosehip, cinnamon and oregano leaf. Food Chem. 2007 ; 100 : 990-997.
 43. Eugene F, Roth J, Harriet SG. The pyrogallol assay for superoxide dismutase: absence of a glutathione artifact. Anal Biochem. 1983 ; 137 : 50-53.
 44. Lee SY, Kim JH, Park JM, Lee IC, Lee JY. Antioxidant activity and inhibition activity against α -amylase and α -glucosidase of *Smilax China* L. Korean J Food Preserv. 2014 ; 21 : 254-263.
 45. Hong HD, Kang NK, Kim SS. Superoxide dismutase like activity of apple juice mixed with some fruits and vegetables. Korean J. Food Sci Technol. 1998 ; 30 : 1484-1487.
 46. Lim JD, Yu CY, Kim MJ, Yun SJ, Lee SJ, Kim NY, Chung IM. Comparison of SOD Activity and Phenolic Compound Contents in Various Korean Medicinal Plants. Korean J Medicinal Crop Sci. 2004 ; 12 : 191-202.