

염생식물로부터 Peroxynitrite와 DPPH 라디칼 소거 활성 검색

¹이희정 · 김유아 · 안종웅 · ²이범종 · ³문성기 · † 서영완

¹한국해양대학교 해양과학기술연구소, 한국해양대학교 해양과학부,

²인제대학교 화학과, ³경성대학교 생물학과

(접수 : 2003. 12. 1., 개재승인 : 2004. 2. 23.)

Screening of Peroxynitrite and DPPH Radical Scavenging Activities from Salt Marsh Plants

Hee-Jung Lee¹, You Ah Kim, Jong Woong Ahn, Burm-Jong Lee², Sung Gi Moon³, and Youngwan Seo[†]

¹Research Institute of Marine Science and Technology (RIMST), Korea Maritime University, Busan 606-791, Korea
Division of Ocean Science, Korea Maritime University, Busan 606-791, Korea

²Department of Chemistry, Inje University, Gimhae 621-749, Korea

³Department of Biology, Kyungsung University, Busan 608-736, Korea

(Received : 2003. 12. 1., Accepted : 2004. 2. 23.)

A peroxynitrite is formed when superoxide and nitric oxide exist at near eqimolar ratio in biological systems. Although not a free radical by chemical nature, peroxynitrite is a powerful oxidant having a wide array of tissue damaging effects ranging from lipid oxidation and inactivation of enzymes and ion channels through protein oxidation and nitration to inhibition of mitochondrial respiration. During our search for new antioxidantizing components from natural resources, twenty salt marsh plants were screened for their ONOO⁻ and DPPH radical scavenging activities. Among them, methanol extract of *Rosa rugosa*, *Ixeris tamagawaensis*, *Erigeron annus*, *Tetragonia tetragonoides*, *Imperata cylindrica*, and *Suaeda japonica* inhibited more than 85% of peroxynitrite produced by 3-morpholinylsodnonimine (SIN-1) at a concentration of 5 µg/ml. In addition, *Rosa rugosa*, *Artemisia capillaris*, *Erigeron annus* and *Ixeris tamagawaensis* showed significant scavenging effect against DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl radical).

Key Words : Salt marsh plants, peroxynitrite, DPPH, radical scavenging activity

서 론

신체의 노화나 성인병과 관련된 각종 질환들은 생체내 산화적인 스트레스에 의해 생성된 유리 라디칼에 의해서 일어나게 된다. 유리 라디칼은 한 개 이상의 짹짓지 않은 전자를 갖는 모든 분자 또는 분자 단편을 말하는 것이며, 생체내의 정상적인 대사반응에서 생성되어진다. 산소는 사람을 포함한 호기성 생물에 있어서 필수불가결한 요소이다. 생체내 산소가 유입되어 세포내에서 이용될 때 superoxide anion, hydrogen peroxide, hydroxyl radical, singlet oxygen 그리고 지질과산화에 의한 유리 라디칼의 일종인 alkoxyl radical (RO[·]),

alkyl peroxy radical (ROO[·])과 같은 활성 산소종 (ROS)이 부산물로 생성된다(1, 2). 또한, peroxynitrite (ONOO⁻)와 같은 nitric oxide (NO)와 superoxide anion (O_2^-)이 반응하여 생성되는 활성 질소종 (RNS)을 생성하기도 한다. 그 외에 담배연기, 공기오염, 여러 유기 용매나 약물, 살충제의 대사 및 자외선 조사 등의 외적인 요인에 의해서도 생성될 수 있다. 이렇게 생성된 유리 래디칼은 세포막 내의 불포화 지방산, nucleotides, sulphydryl 결합과 반응함으로써 세포의 생화학적인 특성 변화를 포함한 조직의 손상을 초래하게 된다. 이들 ROS와 RNS는 세포내 여러 구성 성분인 지질, 단백질, 핵산 그리고 DNA를 산화시켜 염증을 유발하고 세포사를 일으키며, 많은 퇴행성 질환인 암과 노화, 동맥경화, 류마티스 관절염 그리고 알레르기에 관련되는 것으로 여겨진다(3-6). *In vitro*에서 가장 강력한 ONOO⁻ 소거제로서는 D(-)penicillamine과 ebselein이 있고, 그 외, 과일, 와인, 차, 녹황색 채소의 성분으로서 효과적인 항산화제로 알려져 있는 ascorbic acid, γ

† Corresponding Author : Division of Ocean Science, Korea Maritime University, Busan 606-791, Korea

Tel : +82-51-410-4328, FAX : +82-51-404-3538

E-mail : ywseo@hhu.ac.kr

-tocopherol, flavonoids, polyhydroxyphenols이 있다(7).

염생식물 (halophyte)은 토양의 염분농도가 높아 일반 육상식물이 생육할 수 없는 지역에 생육하며, 바닷가와 내륙에서는 염분이 있는 호숫가와 암염(岩鹽)이 있는 지대에서 자라는 식물을 말한다. 생육하고 있는 지대의 수분 정도에 따라서 건염생 식물(乾鹽生植物)과 습염생 식물로 구분하지만, 모두 세포 안에 많은 소금기가 들어 있어 삼투압이 높기 때문에 토양 용액의 침투가 높을 때도 물을 빨아들일 수 있는 특색이 있다. 염생식물은 일반적으로 염분지역에 생육하는 식물을 말하며 통통마디 (*Salicornia herbacea*), 갯질경 (*Limonium tetragonum*), 통보리사초 (*Carex kobomugi*), 나문재 (*Suaeda asparagoides*), 칠면초 (*Suaeda japonica*), 해홍나물 (*Suaeda maritima*) 등이 이에 속한다(8). 해양에는 심해 열수 대를 비롯하여 여러 특수 환경이 존재한다. 그 중에서도 염생 습지는 해수와 담수가 끊임없이 교차하여 염분의 농도가 계속해서 변한다는 의미에서 또 하나의 극한 환경이라고 할 수 있다. 따라서 이런 극한 환경에 서식하는 염생식물은 다른 생물들과 다른 생물학적 이용 가능성이 높은 2차 대사산물이 풍부할 것으로 기대된다. 그러나 아직까지 이러한 염생식물에 대한 생리활성이나 화학성분 연구가 거의 없다. 따라서 본 연구에서는 20종의 염생식물을 대상으로 peroxynitrite 와 DPPH radical의 소거활성을 측정하여 항산화효과를 검색하였다.

재료 및 방법

실험에 사용된 시약

Penicillamine (DL-2-amino-3-mercaptopropanoic acid)과 dihydrorhodamine 123 (DHR 123), DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl radical)는 Sigma사 (St Louis, MO, USA)에서 구입하였다. 그리고 authentic ONOO⁻는 Cayman (Ann Arbor, MI, USA)에서 구입하였다. 그 외 다른 모든 시약은 Sigma사 (St Louis, MO, USA)나 Junsei사 (Tokyo, Japan)의 일급 또는 특급 시약을 사용하였다.

실험 재료 및 시료 추출물의 조제

본 실험에서 사용한 20종의 염생식물은 경기도 대부도, 경상북도 포항, 경상남도 거제도에서 2002년 8~9월에 채집하였다. 모든 원료는 그늘에서 저온 (37°C) 건조하였고, 추출에 적합하도록 세척한 후 추출관에 넣고 CH₂Cl₂와 MeOH로 연차적으로 각각 추출하였다. 각각의 시료 50 g에 CH₂Cl₂ (시약용 1급)을 가하여 침지하였다. 24시간 방치한 후에 여과하고 잔사에 다시 CH₂Cl₂를 가하여 24시간 후 여과하였다. 그리고 남은 잔사에 MeOH (시약용 1급)을 가하여 24시간 침지한 후 여과하는 과정을 2회 반복 실행하였다. 얻은 각각의 CH₂Cl₂ 추출여액과 MeOH 추출여액을 40°C 수욕상에서 진공 회전 농축기 (Eyela, Japan)로 농축한 후 건조하여 냉장 보관하면서 시료로 사용하였다. 그리고 DPPH 자유 라디칼의 활성 실험은 시료를 100% ethanol에 용해시켜 사용하였고, peroxynitrite 소거 활성 실험은 10% ethanol에 녹여 사용하였다.

DPPH 자유 라디칼에 대한 전자 공여능 측정(9)

DPPH 시약 2 mg을 정확히 청량하여 EtOH 15 ml에 녹인 용액 1.2 ml에 다시 EtOH 3 ml과 DMSO 0.5 ml을 혼합한다. 그리고 시료 (f.c. 100 µg/ml) 50 µl와 제조한 DPPH-용액을 혼합하여 10분간 상온에서 반응시킨 후 518 nm에서 흡광도를 측정한다. 시료를 첨가하지 않은 대조군과 비교하여 유리 라디칼 소거 활성을 백분율로 나타내었으며, 대조군의 UV-Vis 흡광도는 0.94~0.97이 되도록 조정하였다. 그리고 3회 반복 실험하여 얻은 결과를 평균한 값으로 나타내었다.

$$\text{EDA} = \frac{\text{대조군 흡광도} - \text{실험군 흡광도}}{\text{대조군의 흡광도}} \times 100\%$$

Peroxynitrite (ONOO⁻) 소거 활성 측정(10)

ONOO⁻소거 활성은 dihydrorhodamine123 (DHR123)의 산화되는 정도를 측정함으로써 검색하였다. DHR 123 (5 mM)은 dimethylformamide로 녹여서 stock 용액은 질소로 purge하여 -80°C에 보관하고, DHR123 (f.c. 5 µM) 용액의 희석은 암실의 얼음 위에서, 사용하기 전에 조제하였다. Buffer는 90 mM sodium chloride, 50 mM sodium phosphate (pH 7.4)와 5 mM potassium chloride, DTPA (diethylenetriaminepenta acetic acid) 100 µM (f.c.)을 혼합하여 조제하여 사용하기 전에 냉장 보관하였다. 이 buffer 용액에 DHR123 용액을 혼합한 뒤 시료와 peroxynitrite를 첨가하고 실온에서 5분간 방치하였다. 그리고는 multi-detection microplate fluorescene spectrophotometer Synergy HT (Bio-Tek instruments, USA)로 측정하였다. Authentic peroxynitrite 대신에 SIN-1을 첨가할 경우는 실온에서 1시간 동안 방치한 후 측정하였다. SIN-1에 의한 DHR123의 산화는 점진적으로 일어나는 반면에 authentic peroxynitrite는 아주 급속히 산화를 시키기 때문이다. Excitation 파장은 485 nm, emission 파장은 530 nm로 하였으며 실온에서 측정하였다. 그리고 ONOO⁻ (f.c. 10 µM)의 바탕용액은 0.3 N NaOH를 사용하였고, 실험은 triplicate로 행하였으며, 평균한 값으로 소거율을 계산하였다.

$$\text{Peroxynitrite (ONOO⁻) 소거 효과 (\%)} = (1 - \frac{A_{\text{sample}} - A_{\text{sample blank}}}{A_{\text{control}} - A_{\text{control blank}}}) \times 100$$

결과 및 고찰

염생식물 추출물의 DPPH 자유 라디칼에 대한 전자 공여능

1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) 라디칼을 이용한 항산화능 측정법은 주로 phenolic 구조와 aromatic amine 화합물에서 많이 사용되는 방법이다. DPPH alcohol용액은 518 nm에서 강한 UV 흡수가 있으며, 실온에서 1시간 정도는 매우 안정한 유리 라디칼이다. 전자공여체로부터 전자나 hydrogen radical을 받아 phenoxy radical을 생성하게 됨으로써 518 nm에서 나타났던 DPPH의 특이적인 흡수 band가 사라지게 된다. 가시적인 DPPH의 보라색은 안정해진 분자의

물수에 비례하여 노란색으로 변하게 된다. 이러한 DPPH는 dioxane이나 CCl_4 와 같은 비극성 용매 내에서는 2차, 3차 산화 반응이 일어나기도 하나 alcohol 용액 내에서는 비교적 안정하다. 왜냐하면 DPPH의 질소 원자와 alcohol 간에 수소 결합이 형성되기 때문이다(11).

DPPH 라디칼에 대한 전자공여능을 측정한 결과 해당화 (*Rosa rugosa*), 사철쑥 (*Artemisia capillaris*), 개망초 (*Erigeron annus*), 냇侮바귀 (*Ixeris tamagawaensis*), 범행초 (*Tetragonia tetragonoides*)의 MeOH 추출물이 100 $\mu\text{g}/\text{ml}$ (f.c.) 농도에서 각각 87.51%, 88.67%, 78.49%, 69.99%, 58.66%의 소거율을 나타내었다(Table 1). 그러나 CH_2Cl_2 추출물은 100 $\mu\text{g}/\text{ml}$ (f.c.) 농도에서 사철쑥 (54.67%)의 시료를 제외하고는 거의 효과가 없는 것으로 나타났다. 따라서 염생식물에 의한 DPPH 라디칼의 소거 효과가 비교적 극성이 큰 화합물이 많이 포함되어 있는 MeOH 추출물에 의한 것임을 알 수 있었다. 또한 DPPH 구조에 전자를 하나 공여하고서도 비편재화된 안정한 구조를 유지할 수 있는 phenol성 구조의 화합물들에 의해 라디칼 소거가 일어날 것이라 생각된다. 해당화 (87.51%)와 개망초 (78.49%)의 MeOH 추출물은 대조군으로 사용한 L-ascorbic acid (96.33%)나 α -tocopherol (92.13%)보다는 약했지만 강력한 DPPH 소거 효과를 나타내었다. 그러나 CH_2Cl_2 추출물에서는 각각 7.97%, 29.59%로서 매우 약한 DPPH 라디칼 소거 활성을 나타내었다. 그러나 사철쑥의 CH_2Cl_2 추출물은 MeOH 추출물 (88.67%)보다는 다소 약한 활성이기는 하지만, 54.67%의 DPPH 라디칼의 소거 활성이 있음이 확인되었다. 그리고 범행초는 MeOH 추출물과 CH_2Cl_2 추출물에서 각각 58.66%와 39.87%의 비교적 양호한 DPPH 라디칼 소거 활성이 있었다.

Table 1. DPPH radical scavenging effect of salt marsh plants extracts (100 $\mu\text{g}/\text{ml}$)

Plants	MeOH ext.	CH_2Cl_2 ext.
<i>Messerschmidia sibirica</i>	14.27	10.39
<i>Lathyrus japonicus Willdenow</i>	6.30	12.49
<i>Carex scabrifolia</i>	10.39	12.49
<i>Rosa rugosa</i>	87.51	7.97
<i>Lactuca indica Linne</i>	6.72	7.24
<i>Limonium tetragonum</i>	16.79	16.16
<i>Erigeron annus</i>	78.49	29.59
<i>Suaeda asparagooides</i>	7.56	5.14
<i>Suaeda japonica</i>	7.24	7.35
<i>Ixeris tamagawaensis</i>	69.99	9.76
<i>Imperata cylindrica</i>	23.29	15.63
<i>Persicaria lapathifolia</i>	7.14	5.46
<i>Calystegia soldanella</i>	9.02	11.54
<i>Glehnia littoralis</i>	33.68	8.71
<i>Tetragonia tetragonoides</i>	58.66	39.87
<i>Aster spathulifolius</i>	9.02	6.09
<i>Salicornia herbacea</i>	18.39	18.26
<i>Artemisia capillaris</i>	88.67	54.67
<i>Salsola komarovii</i>	6.72	8.39
<i>Suaeda maritima</i>	14.57	
α -tocopherol	92.13	
L-ascorbic acid	96.33	

염생식물 추출물의 peroxy nitrite (ONOO)의 소거 활성능

산화적인 소상을 초래하는 대표적인 활성 산소 종을 들자면 hydroxy radical, superoxide anion 그리고 hydrogen peroxide가 있다. 그리고 nitric oxide (NO^\cdot)는 대식세포, 호중구 등에서 생성되며, nitric oxide synthase (NOS)에 의해 L-arginine을 기질로 하여 합성되는 반응성이 크고 반감기가 아주 짧은 활성 산소이다. Nitric oxide는 세포막을 쉽게 확산하여 다른 활성 산소들과 반응할 수 있는데, 특히 superoxide anion과 쉽게 반응하여 강력한 산화제인 peroxy nitrite (ONOO)를 생성한다(12). Peroxy nitrite는 단백질과 펩타이드의 methionine 잔기, thiols, thioether의 산화 및 지질 파산화를 유도하여 세포독성을 야기할 뿐 아니라 생리적 pH에서 proton화 되거나 분해되거나 전에 세포막의 산화 또는 세포막을 통과한 후 매우 빠르게 반응하므로 반응속도는 H_2O_2 에 비해 수 천배에 이르는 것으로 알려져 있어 짧은 시간 내에 급속한 손상을 유발하는 등 만성 질환과 관련되는 것으로 보고되고 있다(13, 14).

Table 2. ONOO[·] scavenging activity of salt marsh plants extracts (5 $\mu\text{g}/\text{ml}$)

Plants	Authentic ONOO [·] (%)	
	MeOH ext.	CH_2Cl_2 ext.
<i>Messerschmidia sibirica</i>	47.90	51.68
<i>Lathyrus japonicus Willdenow</i>	52.15	49.92
<i>Carex scabrifolia</i>	44.11	37.10
<i>Rosa rugosa</i>	97.03	57.95
<i>Lactuca indica Linne</i>	32.03	42.32
<i>Limonium tetragonum</i>	31.90	49.43
<i>Erigeron annus</i>	76.25	19.20
<i>Suaeda asparagooides</i>	53.38	41.99
<i>Suaeda japonica</i>	73.23	45.57
<i>Ixeris tamagawaensis</i>	87.28	47.16
<i>Imperata cylindrica</i>	75.67	59.80
<i>Persicaria lapathifolia</i>	32.80	57.62
<i>Calystegia soldanella</i>	37.40	58.22
<i>Glehnia littoralis</i>	52.07	54.16
<i>Tetragonia tetragonoides</i>	74.87	70.47
<i>Aster spathulifolius</i>	53.17	29.75
<i>Salicornia herbacea</i>	51.66	
<i>Artemisia capillaris</i>	36.51	
<i>Salsola komarovii</i>	14.38	
<i>Suaeda maritima</i>	4.62	
Penicillamine	90.36	
L-ascorbic acid	98.07	

20종 염생식물의 유기용매 추출물에 대해 peroxy nitrite의 소거활성을 측정하기 위해 시판되고 있는 peroxy nitrite의 표준품을 첨가한 결과 6종의 식물이 peroxy nitrite 소거 활성이 뛰어난 것을 확인하였다(Table 2). 해당화 (*Rosa rugosa*), 개망초 (*Erigeron annus*), 칠면초 (*Suaeda japonica*), 냇侮바귀 (*Ixeris tamagawaensis*), 띠 (*Imperata cylindrica*), 범행초 (*Tetragonia tetragonoides*)의 MeOH 추출물과 CH_2Cl_2 추출물에서 각각 peroxy nitrite의 소거효과가 관찰되었다. 그 중에서 해당화가 가장 우수한 것으로 나타났는데, MeOH 추출물에서 97.03%, CH_2Cl_2 추출물에서 57.95%의 peroxy nitrite의 소거효과가 있었다. 이것은 대조군으로 사용된 penicillamine보다

뛰어난 효과였으며, L-ascorbic acid와 거의 대등한 효과였다. 해당화의 DPPH 라디칼 소거 효과는 주로 MeOH 추출물에 의한 것으로 나타났지만, peroxynitrite의 소거 활성은 MeOH 추출물과 함께 CH₂Cl₂에서 잘 추출되어지는 비극성 화합물에 의해서도 일어남을 알 수 있다. 그리고 냇씀바귀와 띠의 경우도 해당화와 비슷한 양상을 보였다. 즉, 냇씀바귀는 MeOH 추출물 87.28%, CH₂Cl₂ 추출물은 47.16%였고, 띠의 MeOH 추출물은 75.67%, CH₂Cl₂ 추출물은 59.80%의 peroxynitrite 소거 활성이 있었다. 또한 범행초의 MeOH 추출물은 74.87%, CH₂Cl₂ 추출물은 70.47%의 소거효과가 나타남으로써 실험한 염생 식물 중에서 CH₂Cl₂ 추출물의 효과가 가장 우수하였다. 따라서 범행초는 CH₂Cl₂ 추출물과 MeOH 추출물의 peroxynitrite의 소거 활성이 비슷한 것으로 나타났다. 그리고 칠면초는 DPPH 래디칼에 대한 전자 공여능은 거의 없었지만, peroxynitrite 소거 활성은 MeOH 추출물에서 73.23%로서 비교적 우수한 것으로 나타났다. 개망초는 DPPH 래디칼 소거 활성과 마찬가지로 CH₂Cl₂ 추출물에서는 거의 효과가 관찰되지 않은데 비해 MeOH 추출물에서 강력한 peroxynitrite 효과가 있음을 알 수 있었다.

Table 3. ONOO⁻ scavenging activity of salt marsh plants extracts (5 µg/ml)

Plants	ONOO ⁻ from decomposition of SIN-1 (%)	
	MeOH ext.	CH ₂ Cl ₂ ext.
<i>Messerschmidia sibirica</i>	73.40	73.64
<i>Lathyrus japonicus Willdenow</i>	74.20	58.13
<i>Carex scabriifolia</i>	70.21	75.00
<i>Rosa rugosa</i>	98.48	32.43
<i>Lactuca indica Linne</i>	57.75	53.17
<i>Limonium tetragonum</i>	63.66	78.60
<i>Erigeron annus</i>	60.41	52.57
<i>Suaeda asparagoides</i>	63.50	49.83
<i>Suaeda japonica</i>	40.18	47.60
<i>Ixeris tamagawaensis</i>	87.70	55.99
<i>Imperata cylindrica</i>	85.62	68.32
<i>Persicaria lapathifolia</i>	77.40	61.04
<i>Calystegia soldanella</i>	77.96	65.84
<i>Glehnia littoralis</i>	94.65	87.59
<i>Tetragonia tetragonoides</i>	16.93	79.79
<i>Aster spathulifolius</i>	80.83	71.32
<i>Salicornia herbacea</i>	85.82	
<i>Artemisia capillaris</i>	56.11	
<i>Salsola komarovii</i>	14.69	
<i>Suaeda maritima</i>	16.73	
Penicillamine	88.16	
L-ascorbic acid	93.51	

또한, nitric oxide (NO)와 superoxide anion (-O₂⁻)을 동시에 생성시키는 것으로 알려져 있는 SIN-1을 첨가하여 염생 식물의 peroxynitrite에 대한 소거 활성을 측정하였다(Table 3). Table 2의 결과와 비교했을 때 전반적으로 소거 활성이 더 뛰어난 것을 알 수 있었다. 그 중에서도 해당화 (*Rosa rugosa*), 갯방풍 (*Glehnia littoralis*), 냇씀바귀 (*Ixeris tamagawaensis*), 함초 (*Salicornia herbacea*), 띠 (*Imperata cylindrica*), 해국 (*Aster spathulifolius*)의 MeOH 추출물은 각각 98.48%, 94.65%, 87.70%, 85.82%, 85.62%, 80.83%로써

penicillamine (88.16%)과 L-ascorbic acid (93.51%)의 효과와 비슷한 정도였다. 그리고 함초나 해국 그리고 갯방풍은 authentic ONOO⁻보다는 SIN-1에 대해 선택적인 효과가 있는 것을 확인할 수 있었다. SIN-1에 대한 peroxynitrite 소거 효과는 2가지의 메카니즘을 추측할 수 있다. 즉, nitric oxide (NO)와 superoxide anion (-O₂⁻)가 결합하여 생성된 peroxynitrite를 저해하는 경우와 이미 생성된 peroxynitrite를 소거하는 경로가 있다.

요약

본 연구에서는 항산화 활성을 갖는 유용한 선도 물질을 찾기 위한 일환으로 20종의 염생식물의 추출물에 대해 peroxynitrite와 DPPH 래디칼 소거 활성을 측정하였다. 그 결과 해당화 (*Rosa rugosa*), 개망초 (*Erigeron annus*), 냇씀바귀 (*Ixeris tamagawaensis*), 띠 (*Imperata cylindrica*), 범행초 (*Tetragonia tetragonoides*), 사철쑥 (*Artemisia capillaris*)의 MeOH 추출물에서 우수한 DPPH 래디칼 소거 효과가 확인되었다. 또한, 해당화(*Rosa rugosa*), 개망초 (*Erigeron annus*), 칠면초 (*Suaeda japonica*), 냇씀바귀 (*Ixeris tamagawaensis*), 띠 (*Imperata cylindrica*), 갯방풍 (*Glehnia littoralis*), 함초 (*Salicornia herbacea*), 해국 (*Aster spathulifolius*), 범행초 (*Tetragonia tetragonoides*)의 MeOH 추출물과 CH₂Cl₂ 추출물에서 각각 peroxynitrite의 소거효과가 관찰되었다.

그 중에서도 해당화 MeOH 추출물의 DPPH 래디칼 소거효과는 100 µg/ml (f.c.) 농도에서 87.51%로 나타났고, peroxynitrite 소거효과는 5 µg/ml 농도에서 표품의 ONOO⁻를 첨가했을 때 97.03%와 SIN-1을 첨가했을 때 98.48%로서 가장 강력한 항산화활성을 가지는 것으로 나타났다. 해당화의 peroxynitrite의 효과는 대조군으로 사용된 penicillamine보다도 우수하며, L-ascorbic acid와 비슷한 효과였다.

감사

이 논문은 한국학술진흥재단의 중점연구소 지원 (KRF-2002-005-C00008)에 의하여 이루어졌습니다.

REFERENCES

- Fridorich, L. (1978), The biology of oxygen radials, *Science* **201**, 875-881.
- Dreher, D. and F. Junod (1996), Role of oxygen free radicals in cancer development, *Eur. J. cancer* **32A**, 3038.
- Virág, L., E. Szabo, P. Gergely, and C. Szabo (2003), Peroxynitrite-induced cytotoxicity: mechanism and opportunities for intervention, *Toxicol. Lett.* **140-141**, 113-124.
- Balavoine, G. G. A. and Y. V. Geletii (1999), Peroxynitrite scavenging by different antioxidants. part 1: convenient assay, *Nitric Oxide: Biology and Chemistry* **3**, 40-54.
- Patel, R. P., J. McAndrew, H. Sellak, C. R. White, H. Jo, B. A. Freeman, and V. M. Darley-Usmar (1999), Biological aspects of reactive nitrogen species, *Biochim. Biophys. Acta* **1411**, 385-400.
- Hogg, N. and B. Kalyanaraman (1999), Nitric oxide and lipid peroxidation, *Biochim. Biophys. Acta* **1411**, 378-384.

7. Choi, H. R., J. S. Choi, Y. N. Han, S. J. Bae, and H. Y. Chung (2002), Peroxynitrite scavenging activity of Herb Extracts, *Phytotherapy Res.* **16**, 364-367.
8. Min, B. M. (1998), Vegetation on the west coast of Korea, *Ocean Research Special* **20**, 167-178.
9. Blois, M. S. (1958), Antioxidant determinations by the use of a stable free radical, *Nature* **26**, 1199-1200.
10. Kooy, N. W., J. A. Royall, H. Ischiropoulos, and J. S. Beckman (1994), Peroxynitrite-mediated oxidation of dihydrorhodamine 123, *Free Radical Biology Medicine* **16**, 149-156.
11. Ancerewicz, J., E. Migliavacca, P. A. Carrupt, B. Testa, F. Bree, R. Zini, J. P. Tillement, S. Labidalle, D. Guyot, A. M. Chauvet-Monges, A. Crevat, and A. L. Ridant (1998), Structure-property relationships of trimetazidine derivatives and model compounds as potential antioxidants, *Free Radical Biology Medicine* **25**, 113-120.
12. Moncada, S., R. M. J. Palmer, and E. A. Higgs (1991), Nitric oxide, physiology, pathophysiology and pharmacology, *Pharmacol. Rev.* **43**, 109-114.
13. Haenen, G. R. M., J. B. G. Paquay, R. E. M. Korthouwer, and A. Bast (1997), Peroxynitrite scavenging by flavonoids, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **236**, 591-593.
14. Lin, K. T., J. Y. Xue, F. F. Sun, and P. Y. K. Wong (1997), Reactive oxygen species participate in peroxynitrite induced apoptosis in HL-60 cells, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **230**, 115-119.