

## 함초(나문재 및 통통마디) 추출물의 항산화 작용에 관한 연구(I)

전 소 미 · 김 소 이 · 안 정 엽\* · 박 수 남<sup>†</sup>

서울산업대학교 자연생명과학대학 정밀화학학과, \*(주)생그린  
(2007년 6월 28일 접수, 2007년 7월 18일 채택)

### Antioxidative Properties of Extract/Fractions of *Suaeda asparagoides* and *Salicornia herbacea* Extracts (I)

So Mi Jeon, So I Kim, Jeung Youb Ahn\*, and Soo Nam Park<sup>†</sup>

Department of Fine Chemistry, College of Nature & Life Science, Seoul National University of Technology, 172, Gongneung  
2-dong, Nowon-gu, Seoul 139-743, Korea

\*Saeng Green Cosmetics Co., Ltd

(Received June 28, 2007; Accepted July 18, 2007)

**요약:** 본 연구에서는 함초 추출물(나문재 및 통통마디)의 항산화능을 조사하였다. 나문재 추출물의 free radical (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl, DPPH) 소거활성(FSC<sub>50</sub>)은 100 % ethanol 추출물(329.33 µg/mL) < 50 % ethanol 추출물(40.73) < ethylacetate 분획(13.87) < ethylacetate 분획에서 당을 제거시킨 aglycone 분획(7.80) 순으로 증가하였다. 통통마디의 경우, free radical 소거활성은 ethylacetate 분획 및 aglycone 분획이 각각 23.21 및 28.50 µg/mL이었다. Luminol-의존성 화학발광법을 이용한 Fe<sup>3+</sup>-EDTA/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 계에서 생성된 활성산소종(reactive oxygen species, ROS)에 대한 나문재 추출물의 총항산화능은 50 % ethanol 추출물(OSC<sub>50</sub>, 0.99 µg/mL) < ethylacetate 분획(0.05) < aglycone 분획(0.03)순으로, aglycone 분획에서 가장 큰 활성을 나타내었다. 통통마디의 경우, ethylacetate 분획 및 당을 제거시킨 aglycone 분획의 ROS 소거활성은 각각 0.10 및 0.20 µg/mL이었다. 나문재 및 통통마디 추출물에 대하여 rose-bengal로 증감된 사람 적혈구의 광용혈에 대한 억제 효과를 측정하였다. 100 % ethanol 나문재 추출물의 경우 농도 의존적(1 ~ 100 µg/mL)으로 광용혈을 억제하였다. 특히 ethylacetate 분획에서 당을 제거시킨 aglycone 분획은 50 µg/mL 농도에서 τ<sub>50</sub>이 310 min으로 매우 큰 세포보호 효과를 나타내었다. 통통마디의 경우는 ethylacetate 분획에서 비교적 큰 세포보호 활성을 나타내었다. 이상의 결과들은 나문재 추출물이 <sup>1</sup>O<sub>2</sub> 혹은 다른 ROS를 소광시키거나 소거함으로써 그리고 ROS에 대하여 세포막을 보호함으로써 생체계, 특히 태양 자외선에 노출된 피부에서 항산화제로서 작용할 수 있음을 가리킨다.

**Abstract:** In this study, the antioxidative effects of *Suaeda asparagoides* and *Salicornia herbacea* extracts were investigated. The free radical (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl, DPPH) scavenging activity (FSC<sub>50</sub>) of extract/fractions of *Suaeda asparagoides* was in the order: 100 % ethanol extract (329.33 µg/mL) < 50 % ethanol extract (40.73) < ethylacetate fraction (13.87) < deglycosylated aglycone fraction (7.80). In case of *Salicornia herbacea*, the free radical scavenging activities of ethylacetate fraction and aglycone fraction were 13.87 and 7.80 µg/mL, respectively. Reactive oxygen species (ROS) scavenging activities (OSC<sub>50</sub>) of *Suaeda asparagoides* and *Salicornia herbacea* extracts on ROS generated in Fe<sup>3+</sup>-EDTA/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> system were investigated using the luminol-dependent chemiluminescence assay. The order of ROS scavenging activity of *Suaeda asparagoides* extracts was 50 % ethanol extract (OSC<sub>50</sub>, 0.99 µg/mL) < ethylacetate fraction (0.05) < aglycone fraction (0.03). Aglycone fraction showed the most prominent scavenging activity. In case of *Salicornia herbacea*, the ROS scavenging activities of ethylacetate fraction and aglycone fraction were 0.10 and 0.20 µg/mL, respectively. The protective effects of extract/fractions of *Suaeda asparagoides* and *Salicornia herbacea* on the rose-bengal sensitized photohemolysis of human erythrocytes were investigated. The ethanol extract (100 %) of *Suaeda asparagoides* diminished photohemolysis in a concentration dependent manner (1 ~ 100 µg/mL). Particularly deglycosylated aglycone fraction exhibited the most prominent cellular protective effect (τ<sub>50</sub>, 310 min at 50 µg/mL). In case of *Salicornia herbacea*, ethylacetate fraction exhibited more potent protective effect. These results indicate that extract/fractions of *Suaeda asparagoides* can function as antioxidants in biological systems, particularly skin exposed to UV radiation by scavenging <sup>1</sup>O<sub>2</sub> and other ROS, and protect cellular membranes against ROS.

**Keywords:** *Suaeda asparagoides*, *Salicornia herbacea*, antioxidant, photohemolysis, reactive oxygen species, cosmetics

<sup>†</sup> 주 저자 (e-mail: snpark@snut.ac.kr)

## 1. 서 론

피부는 항상 산소와 접촉하고 있고 태양 자외선에 노출됨으로써 활성산소종(reactive oxygen species, ROS)으로 유도된 광산화적 손상을 계속 받게 된다. 활성산소종이란 반응성이 매우 큰  $^1O_2$  및  $\cdot OH$ 를 비롯하여  $O_2^{\cdot -}$ ,  $H_2O_2$ ,  $ROO\cdot$ ,  $RO\cdot$ ,  $ROOH$  및  $HOCl$  등을 포함한다. 이들은 고에너지 복사선, 광증감반응 및 몇 가지 효소반응을 포함하는 다양한 과정을 거쳐서 세포 및 조직 중에서 생성될 수 있다. 이들 활성산소종 중에서  $^1O_2$  및  $\cdot OH$ 은 피부 광손상에 있어서 중요한 역할을 하는 것으로 알려져 있다. 이들은 피부 항산화제 파괴, 지질 과산화반응의 개시, 단백질의 산화, DNA 산화, 결합조직 성분인 콜라겐, 히아루론산 등의 사슬절단 및 비정상적인 교차결합에 의한 주름생성, 멜라닌 생성 과정 등에 참여하는 등 피부 노화를 가속시킨다[1-7].

사람 피부세포에 있어서 지질, 단백질 및 DNA 등 생체 구성 성분의 산화 손상뿐만 아니라 UVA (320 ~ 380 nm) 의존성 세포사멸이나 유전자 활성화에도 활성산소종이 포함되는 것으로 기술되고 있다. 콜라겐은 피부 진피층의 매트릭스를 이루는 성분 중 가장 많은 성분이기 때문에 콜라겐의 생합성과 분해의 조절은 피부노화 과정 중에서 핵심이 되고 있다. 사람 피부 섬유아세포에서  $^1O_2$ 을 비롯한 ROS가 MMPs (matrix metalloproteinases)의 발현을 유발시키며, UVA로 유도된 MMP-1 (collagenase)의 합성을  $^1O_2$ 이 매개할 수 있다는 보고도 있다 [8-12]. 이는 광노화를 방어하고 자외선으로부터 보호제를 개발하는데 있어서  $^1O_2$ 을 비롯한 ROS의 중요한 역할을 시사하는 것이다.  $^1O_2$ 을 비롯한 ROS가 광노화에 포함되기 때문에 항산화제에 의한 자외선 노출 후 ROS의 감소[13-16]는 광노화를 예방하고 최소화시키기 위한 촉망되는 전략임은 분명하다.

함초는 1년생 초본으로서 갯벌이나 해변, 해안사구, 내륙의 염지, 폐염전 등에 서식하는 염생식물(halophyte)을 칭한다. 이러한 염생식물에는 갈대, 칠면초, 나문재, 갯잔디, 통통마디 등이 있다. 이 중 나문재(*Suaeda asparagoides*)는 단백질, 지방 등의 필수 영양소와 무기질, 인, 칼슘, 철, 나트륨 등의 미량원소 그리고 비타민 A, B1, B2, C 등 많은 영양소를 골고루 함유하고 있어 건강식품이나 민간약초로도 사용되어 왔다[17]. 한편, 잎과 줄기가 통통하고 마디가 있는 특징 때문에 이름이 붙여진 통통마디(*Salicornia herbacea*)는 그 메탄올 추출물이 동물 실험에서 혈중 콜레스테롤 및 혈중 지질을 감소시켰다는 보고가 있고, 최근에 quercetin 및 isorhamnetin 배당체를 분리하여 이들의 free radical 소거활성을 측정된 보고가 있다[18-20]. 그러나 명아주과(chenopodiaceae)에 속하는

대표적인 염생식물인 나문재에 대해서는 성분 연구나 항산화 활성, 세포보호 작용 및 약리작용 등에 대한 연구 결과가 거의 없다.

따라서, 본 연구에서는 함초인 나문재 및 통통마디의 활성 분획을 추출하여 피부노화에 있어서 주도적인 역할을 하는  $^1O_2$ 으로 유도된 세포손상에 대한 보호작용, 총항산화능 및 free radical 소거 활성에 대하여 알아보았다. 이와 함께 몇 가지 다른 항산화제들의 항산화능을 대조군으로 하여 나문재와 통통마디의 항산화능을 비교 평가하고 활성산소에 의한 피부노화를 방지하는데 효과가 있는 기능성 화장품소재를 개발하고자 하였다.

## 2. 재료 및 실험

### 2.1. 기기 및 시약

UV-visible spectrophotometer는 Varian (Australia)사의 Cary 50, 적혈구 광용혈에 사용한 Spectronic 20D는 Milton Roy Co. (USA) 제품, 화학발광기는 Berthold (Germany)사의 6-channel LB9505 LT를, pH meter는 Istek (Korea) 사를 사용하였다.

(+)- $\alpha$ -Tocopherol (1,000 IU vitamin E/g), L-ascorbic acid, EDTA, luminol, heparin, 증감제로 사용된 rosebengal, free radical 소거활성에 사용한 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl radical (DPPH)는 Sigma Chemical Co. (USA)에서 구입하여 사용하였다. 기타  $FeCl_3 \cdot 6H_2O$ 는 Junsei Chemical Co. (Japan) 제품을,  $H_2O_2$ 는 Dae Jung Chemical & Metals (Korea)사 제품을 사용하였다.

완충용액제조에 사용된  $Na_2HPO_4 \cdot 12H_2O$ ,  $NaH_2PO_4 \cdot 2H_2O$ , NaCl, 그리고 ethanol (EtOH), methanol (MeOH), ethylacetate (EtOAC) 등 각종 용매는 시판 특급 시약을 사용하였다.

실험에 사용한 함초는 2006년 2월 (주)생그린에서 채취, 건조시킨 것을 공급받았다.

### 2.2. 함초의 플라보노이드 분획 추출

2006년 2월 생그린에서 제공해준 건조 함초 500 g을 잘게 자른 후 100 % ethanol (또는 50 % ethanol) 5 L를 이용하여 일주일 동안 침적시킨 후 여과하였다. 이 여액을 감압 건조하여 파우더를 얻고 이를 실험에 사용하였다. 또한 50 % ethanol 추출물은 감압 농축한 후 물과 hexane을 이용하여 비극성 성분을 제거하고 이후 ethylacetate 분획을 감압·농축하여 파우더를 얻었다.

Ethylacetate 분획으로부터 aglycone 제조: ethylacetate 분획에서 얻은 파우더 일부는 산 가수분해 반응을 이용해서 당을 제거시킨 aglycone 파우더를 실험에 사용하였다. 실험 방법은 ethylacetate 가용분 일정량에  $H_2SO_4$  및

acetone 용액을 넣고, 4 h 동안 중탕 가열하면서 환류·냉각시킨다. 환류시킨 용액을 5 % KOH-MeOH 용액으로 중화 적정한다. 중화 적정 후 다시 ethylacetate 층을 분획하고 이를 감압·농축하여 실험에 사용하였다.

2.3. 함초 추출물의 항산화 효과 측정

2.3.1. DPPH법을 이용한 Free Radical 소거 활성

Free radical은 노화, 특히 피부노화의 원인 물질로 간주되고 있다. 함초 추출물에 대한 free radical 소거활성 측정에는 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH)를 이용하였다. 실험방법은 methanol에 용해시킨 0.2 mM DPPH 용액 1 mL에 ethanol 1 mL를 첨가하고 여러 농도의 추출물 1 mL를 첨가하여 섞은 다음 실온에서 10 min 동안 방치 후 spectrophotometer로 517 nm에서 흡광도를 측정하였다. 그 활성의 크기는 시료를 넣지 않은 경우를 대조군(control)으로 하고 시료를 넣은 것을 실험군(experiment)으로 하여 다음 식에 의해 DPPH의 활성 저해율을 나타내었다. 소거 활성은 DPPH의 농도가 50 % 감소되는데 필요한 시료의 농도(free radical scavenging activity, FSC<sub>50</sub>, µg/mL)로서 표기하였다.

$$\text{Inhibition (\%)} = \left\{ 1 - \left[ \frac{A_{\text{Experiment}} - A_{\text{Blank}}}{A_{\text{Control}}} \right] \right\} \times 100$$

2.3.2. Luminol 발광법을 이용한 Fe<sup>3+</sup>-EDTA/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 계에 있어서 활성산소 소거 활성(총항산화능)

철이나 구리 같은 전이금속은 반응성이 가장 큰 hydroxyl radical (·OH)을 생성시키는 촉매로 작용한다. 본 실험에서 사용한 Fe<sup>3+</sup>-EDTA/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 계는 각종 ROS (reactive oxygen species, O<sub>2</sub><sup>·-</sup>, ·OH 그리고 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>)를 생성시킨다. 따라서 이 계를 이용하면 ROS에 대한 총 항산화능을 측정할 수 있다. 이 총 항산화능에는 활성산소의 생성을 막아주는 킬레이트작용도 포함될 수 있다. Fe<sup>3+</sup>-EDTA/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>계에서 생성된 ROS의 검출은 luminol과 ROS 간의 반응을 통한 화학발광을 측정함으로써 알 수 있다.

화학발광 측정용 튜브에 증류수 1.78 mL를 넣고 다양한 농도의 추출물을 넣었다. 여기에 2.5 mM EDTA 40 µL 및 5 mM FeCl<sub>3</sub>·6H<sub>2</sub>O 10 µL를 가한 후 35 mM luminol 80 µL를 넣고 흔들어 섞어 주었다. 이어서 화학발광기의 cell holder에 튜브를 넣고 5 min 동안 항온시킨 후 150 mM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 40 µL를 넣고 화학발광을 25 min 동안 측정하였다. 대조군(control)은 시료용액 대신에 증류수를 넣고, 공시험(blank)은 시료군과 조건이 동일하나 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>와 FeCl<sub>3</sub>·6H<sub>2</sub>O를 첨가하지 않은 것으로 하였다. 화학발광기 6-channel LB9505 LT의 각 채널은 실험 전에 보정하

여 채널간의 차이가 거의 없도록 하였다. 화학발광으로 측정된 저해율을 다음 식과 같이 나타내었고, 활성산소 소거활성의 크기는 화학발광의 세기가 50 % 감소되는데 필요한 시료의 농도(reactive oxygen species scavenging activity, OSC<sub>50</sub>, µg/mL)로서 표기하였다.

$$\text{Inhibition (\%)} = \frac{(\text{Control의 cpm} - \text{Sample의 cpm})}{(\text{Control의 cpm} - \text{Blank의 cpm})} \times 100$$

2.4. Photohemolysis법을 이용한 세포보호 효과

사람 적혈구를 대상으로 활성산소에 의한 세포손상 및 파괴 실험은 활성산소에 의한 세포손상 모델로 적합한 점이 많다. 이 실험법을 이용하여 천연물을 대상으로 활성산소에 대한 세포보호 효과를 측정할 수 있다.

2.4.1. 적혈구 현탁액 제조

적혈구는 건강한 성인 남녀로부터 얻었다. 채혈 즉시 heparin이 첨가된 시험관에 넣은 후, 3,000 rpm으로 5 min 동안 원심분리하여 적혈구와 혈장을 분리하고, 분리한 적혈구는 0.9 % saline phosphate buffer로 세척하여 원심분리하고 흰색의 백혈구 층은 제거하였다. 3회 반복하여 세척, 분리한 적혈구는 4 °C의 냉장고에 보관하면서 사용하였고, 모든 실험은 채혈 후 12 h 이내에 행하였다. 광용혈 실험은 이미 확립된 방법에 따라 수행하였다. 실험에 사용된 적혈구 현탁액은 700 nm에서 O.D.가 0.6이었으며 이때 적혈구 수는 1.5 × 10<sup>7</sup> cells/mL이었다.

2.4.2. 함초 추출물의 광용혈 억제 효과

적혈구 현탁액 3.5 mL를 파이렉스 시험관 (No. 9820)에 넣은 후, 시료용액을 첨가하였다. 추출물을 농도별로 각각 50 µL씩 첨가하였다. 암소에서 30 min 동안 pre-incubation 시킨 후, 광증감제 rose-bengal (12 µM) 0.5 mL를 가하고 파라필름(Whatman laboratory sealing film, UK)으로 입구를 막은 후 15 min 동안 광조사 하였다.

광용혈에 필요한 광조사는 내부를 검게 칠한 50 cm × 20 cm × 25 cm 크기의 상자 안에 20 W 형광등을 장치하고, 형광등으로부터 5 cm 거리에 적혈구 현탁액이 담긴 파이렉스 시험관을 형광등과 평행이 되도록 배열한 후 15 min 동안 광조사 하였다. 광조사가 끝난 후 암반응(post-incubation) 시간에 따른 적혈구의 파괴정도를 15 min 간격으로 700 nm에서 투광도(transmittance, %)로부터 구하였다. 이 과정에서 적혈구 현탁액의 투광도의 증가는 적혈구의 용혈정도에 비례한다. 모든 실험은 20 °C 항온실에서 행하였다. 함초 추출물의 광용혈에 미치는 효과는 post-incubation 시간과 용혈정도로 구성된 그래프로부터 적혈구의 50 %가 용혈되는 시간인 τ<sub>50</sub>을 구하여

비교하였다.

대조군(control)은  $\tau_{50}$ 이 32 min으로 오차범위  $\pm 1$  min 이내로 모든 경우의 실험에서 재현성이 양호하게 나타났다. Rose-bengal을 첨가하고 광조사를 안 했을 경우와 rose-bengal을 첨가하지 않고 광조사만 했을 경우는 모두 암반응 120 min까지는 용혈이 거의 일어나지 않았다. 모든 실험은 4회 반복하여 평균하였다.

## 2.5. 통계처리

모든 실험은 3회 반복하였고 통계분석은 5 % 유의수준에서 Student's *t*-test를 행하였다.

## 3. 결과 및 고찰

### 3.1. 함초 추출물의 수득율

#### 3.1.1. 나문재(*Suaeda asparagoides*) 추출물과 통통마디(*Salicornia herbacea*) 추출물

건조한 나문재 500 g을 잘게 잘라 100 % ethanol (또는 50 % ethanol) 5 L에 일주일 동안 침적시킨 후 여과·감압하여 파우더를 얻었다. 이 때 수득율은 1.4 % (50 % ethanol의 경우는 7.4 %)이었다. Ethylacetate 분획은 50 % ethanol로 추출한 것을 1차 hexane으로 비극성 물질을 제거한 뒤 ethylacetate 분획을 추출하여 감압·농축하였고 수득율이 약 1 %인 파우더 5 g을 얻었다. 한편 통통마디 추출물도 위와 같은 방법으로 수행하여 ethylacetate 분획의 수득율은 0.12 %를 나타내었다. Ethylacetate 분획은 플라보노이드를 많이 함유하고 있다. 본 연구에서는 100 % ethanol 추출물, 50 % ethanol 추출물, ethylacetate 분획을 실험에 사용하였다. 또한 ethylacetate 분획을 산 가수분해시켜서 당을 제거한 aglycone도 실험에 사용하였다.

### 3.2. 함초 추출물의 항산화 활성

#### 3.2.1. DPPH법을 이용한 free radical 소거활성

생체막에 있어 활성산소 또는 지질 라디칼에 의해 개시된 지질과산화 반응은 자동산화 과정을 경유한 연쇄반응이다. (+)- $\alpha$ -Tocopherol 등의 항산화제는 연쇄반응에서 지질 과산화라디칼에 수소 주개로 작용하여 연쇄반응을 종결시킨다. 이때 수소주개로 작용하는 항산화제의 능력은 안정한 free radical인 DPPH와의 반응을 통하여 알아 볼 수 있다.

나문재(*Suaeda asparagoides*) 추출물과 통통마디(*Salicornia herbacea*) 추출물 그리고 비교물질인 L-ascorbic acid, (+)- $\alpha$ -tocopherol, quercetin 및 rutin의 free radical

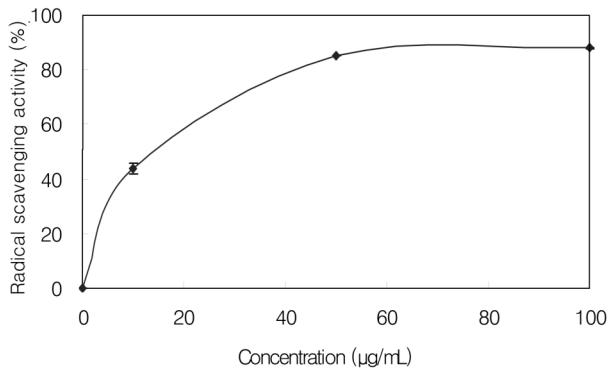
**Table 1.** Free Radical Scavenging Activities of *Suaeda asparagoides* Extracts, *Salicornia herbacea* Extracts, and References

Compounds	Scavenging activity (FSC <sub>50</sub> , $\mu$ g/mL)
<i>Suaeda asparagoides</i> extract (100 % EtOH)	329.33 ( $\pm$ 14.58)
<i>Suaeda asparagoides</i> extract (50 % EtOH)	40.73 ( $\pm$ 0.21)
<i>Suaeda asparagoides</i> extract (EtOAc fraction)	13.87 ( $\pm$ 1.37)
Deglycosylated <i>Suaeda asparagoides</i> extract (EtOAc fraction)	7.80 ( $\pm$ 2.40)
<i>Salicornia herbacea</i> extract (50 % EtOH)	1300.03 ( $\pm$ 15.72)
<i>Salicornia herbacea</i> extract (EtOAc fraction)	23.21 ( $\pm$ 1.02)
Deglycosylated <i>Salicornia herbacea</i> extract (EtOAc fraction)	28.50 ( $\pm$ 3.24)
L-ascorbic acid	3.79 ( $\pm$ 0.83)
(+)- $\alpha$ -Tocopherol	8.98 ( $\pm$ 2.93)
Quercetin	3.43 ( $\pm$ 0.15)
Rutin	5.03 ( $\pm$ 0.23)

소거활성(FSC<sub>50</sub>) 측정 결과는 Table 1 및 Figure 1과 같다. 나문재 추출물은 100 % ethanol 추출물인 경우 FSC<sub>50</sub>가 329.33  $\mu$ g/mL, 50 % ethanol 추출물은 40.73  $\mu$ g/mL, ethylacetate 분획은 13.87  $\mu$ g/mL, aglycone 분획은 7.80  $\mu$ g/mL을 나타냈다.

Aglycone 분획의 free radical 소거활성은 비교물질로 사용한 수용성 항산화제인 (+)- $\alpha$ -tocopherol (FSC<sub>50</sub>, 8.98  $\mu$ g/mL) 보다도 큰 것으로 나타났다. 본 연구에서 화장품 원료로 사용하고자 하는 ethylacetate 분획 역시 큰 활성(FSC<sub>50</sub>, 13.87  $\mu$ g/mL)을 보여주고 있다. 그 외에 비교 물질로 사용한 수용성의 L-ascorbic acid는 free radical 소거활성은 3.79  $\mu$ g/mL, 플라보노이드 비교물질로 사용되는 quercetin은 3.43  $\mu$ g/mL, 그의 배당체인 rutin은 5.03  $\mu$ g/mL로 나타났다.

한편 통통마디 추출물인 경우는 50 % ethanol 추출물인 경우 1,300  $\mu$ g/mL로 소거활성이 나문재에 비해서 작게 나타났으며, ethylacetate 분획과 그것의 당 제거 물질인 aglycone 분획의 소거활성은 23.21 ~ 28.50  $\mu$ g/mL으로 큰 차이가 없었다.



**Figure 1.** Free radical scavenging activity of *Suaeda asparagoides* extracts (EtOAc fraction).

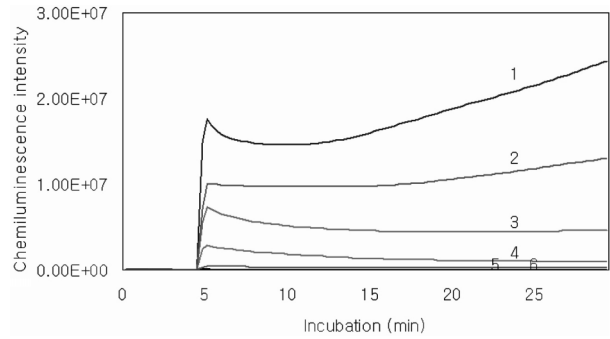
**Table 2.** Reactive Oxygen Species Scavenging Activities of *Suaeda asparagoides* Extracts, *Salicornia herbacea* Extracts, and References

Compounds	Scavenging activity
	(OSC <sub>50</sub> , µg/mL)
<i>Suaeda asparagoides</i> extract (100 % EtOH)	6.50 (± 2.12)
<i>Suaeda asparagoides</i> extract (50 % EtOH)	0.99 (± 0.14)
<i>Suaeda asparagoides</i> extract (EtOAc fraction)	0.05 (± 0.00)
Deglycosylated <i>Suaeda asparagoides</i> extract (EtOAc fraction)	0.03 (± 0.01)
<i>Salicornia herbacea</i> extract (50 % EtOH)	2.00 (± 0.42)
<i>Salicornia herbacea</i> extract (EtOAc fraction)	0.10 (± 0.13)
Deglycosylated <i>Salicornia herbacea</i> extract (EtOAc fraction)	0.20 (± 0.06)
L-ascorbic acid	1.50 (± 0.85)
Quercetin	0.05 (± 0.02)
Rutin	0.13 (± 0.12)

3.2.2. Luminol 발광법을 이용한 Fe<sup>3+</sup>-EDTA/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 계에 있어서 활성산소 소거 활성

Luminol은 ROS에 의해 산화되어 들뜬 상태의 아미노프탈산이 된 후 발광(420 ~ 450 nm)을 하는 것으로 알려져 있다. Luminol 발광법을 이용한 Fe<sup>3+</sup>-EDTA/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 계에서 생성된 ROS 소거 활성은 0.01, 0.1, 1, 10 및 100 µg/mL에서 농도 의존적으로 화학발광을 감소시킴을 Table 2, Figure 2에서 알 수 있다.

활성산소 소거활성(총항산화능, OSC<sub>50</sub>)은 나문재 100



**Figure 2.** Reactive oxygen species scavenging activity of deglycosylated *Suaeda asparagoides* extracts (EtOAc fraction) in Fe<sup>3+</sup>-EDTA/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> system by luminol-dependent chemiluminescence assay. [FeCl<sub>3</sub> · 6H<sub>2</sub>O] = 25 µM, [EDTA] = 50 µM, [H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>] = 3 mM, [luminol] = 1.4 mM, concentrations of extract of deglycosylated *Suaeda asparagoides* (EtOAc fraction); 1: control, 2: 0.1 µg/mL, 3: 1 µg/mL, 4: 10 µg/mL, 5: 100 µg/mL, 6: blank.

% ethanol 추출물의 활성은 6.50 µg/mL, 50 % ethanol 추출물 0.99 µg/mL, ethylacetate 분획 0.05 µg/mL, aglycone 추출물은 0.03 µg/mL로 나타났다. 이로부터 ethylacetate 추출물 및 aglycone의 활성산소 소거활성이 매우 큼을 알 수 있다. Ethylacetate 분획 추출물의 활성산소 소거활성은 비교물질로 사용한 quercetin (0.05 µg/mL)과 같은 정도를 나타내었고, aglycone 추출물은 보다 더 큰 활성을 나타내고 있다. 한편 통통마디 추출물인 경우 50 % 추출물에서 2.00 µg/mL의 활성산소 소거활성을, ethylacetate 분획 추출물은 0.10 µg/mL, aglycone 분획은 0.20 µg/mL를 나타내어 통통마디 추출물에서도 비교적 큰 활성산소 소거활성을 보여주고 있다. 비교물질로 사용한 수용성 항산화제인 L-ascorbic acid는 1.50 µg/mL이고, quercetin의 배당체인 rutin은 0.13 µg/mL으로 나타났다. 지용성 항산화제인 (+)-α-tocopherol은 이 실험의 용매로 사용되는 증류수에 용해되지 않기 때문에 활성산소 소거율은 측정할 수 없었다.

3.3. <sup>1</sup>O<sub>2</sub>으로 유도된 사람 적혈구의 파괴에 대한 세포 보호 효과

활성산소에 대한 추출물의 세포보호 효과는 rose-bengal 존재 하에서 사람 적혈구 현탁액에 15 min 광조사 후 <sup>1</sup>O<sub>2</sub> 등의 활성산소종으로 유도된 적혈구의 용혈정도를 암반응 시간에 따라 측정함으로 구하였다. 대조군의 경우 적혈구 세포가 50 % 용혈되는데 걸리는 시간(τ<sub>50</sub>)은 약 32 min으로 나타났다. Rose-bengal 없이 광조사만 한 경우나 광조사 없이 rose-bengal만 현탁액에 넣은 경우는 암반응 120 min까지 용혈현상을 거의 볼 수 없었다. 나문

**Table 3.** Effects of *Suaeda asparagoides* Extracts, *Salicornia herbacea* Extracts, and References Compounds on the Rose-bengal Sensitized Photohemolysis of Human Erythrocytes

Compounds	$\tau_{50}$ (half time of hemolysis <sup>a)</sup> )			
	Concentration ( $\mu\text{g/mL}$ )			
	1	10	50	100
<i>Suaeda asparagoides</i> extract (100 % EtOH)	34.43 ( $\pm$ 2.18)	46.08 ( $\pm$ 2.38)	57.50 ( $\pm$ 5.07)	68.83 ( $\pm$ 2.84)
<i>Suaeda asparagoides</i> extract (50 % EtOH)	252.88 ( $\pm$ 20.31)	171.83 ( $\pm$ 15.80)	60.67 ( $\pm$ 7.08)	36.83 ( $\pm$ 6.79)
<i>Suaeda asparagoides</i> extract (EtOAc fraction)	37.33 ( $\pm$ 1.01)	44.42 ( $\pm$ 2.16)	40.33 ( $\pm$ 1.26)	37.17 ( $\pm$ 3.01)
Deglycosylated <i>Suaeda asparagoides</i> extract (EtOAc fraction)	45.50 ( $\pm$ 3.50)	106.67 ( $\pm$ 8.62)	310.33 ( $\pm$ 5.77)	252.50 ( $\pm$ 20.46)
<i>Salicornia herbacea</i> extract (50 % EtOH)	28.65 ( $\pm$ 3.12)	32.21 ( $\pm$ 1.96)	-	56.71 ( $\pm$ 3.01)
<i>Salicornia herbacea</i> extract (EtOAc fraction)	33.09 ( $\pm$ 2.21)	47.10 ( $\pm$ 4.16)	-	128.08 ( $\pm$ 5.62)
Deglycosylated <i>Salicornia herbacea</i> extract (EtOAc fraction)	25.89 ( $\pm$ 1.28)	68.15 ( $\pm$ 3.54)	-	128.60 ( $\pm$ 6.87)
Rutin (with 50 % EtOH)	35.20 ( $\pm$ 1.40)	40.50 ( $\pm$ 10.44)	-	
Quercetin (with 100 % EtOH)	51 ( $\pm$ 3.03)	147 ( $\pm$ 15.01)	-	
(+)- $\alpha$ -Tocopherol (with 100 % EtOH)	-	38.00 ( $\pm$ 1.80)	74.33 ( $\pm$ 6.35)	

<sup>a)</sup>Control,  $\tau_{50} = 32.02 \pm 0.60$  min

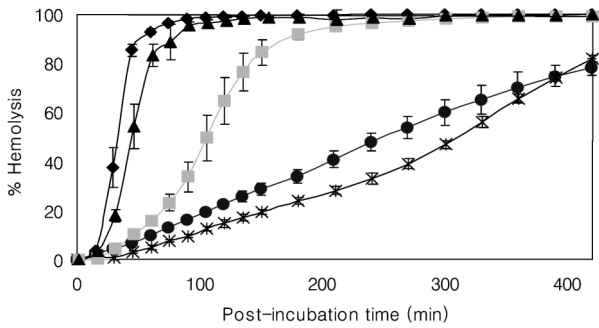
제 및 통통마디 추출물의 용혈 억제 효과를 측정된 결과가 Table 3 및 Figure 3에 나와 있다.

적혈구 세포가 50 % 파괴되는데 걸리는 시간( $\tau_{50}$ )은 세포보호활성이 클수록  $\tau_{50}$ 이 크게 나타난다. 나문재 추출물(100 % ethanol 추출물)의 세포보호 효과는 1 ~ 100  $\mu\text{g/mL}$ 의 농도범위에서 거의 농도 의존적( $\tau_{50}$ 이 각각 34.43, 46.08, 57.50, 68.83 min)으로 세포 파괴를 억제하였다. 한편, 50 % ethanol 추출물의 경우는 1  $\mu\text{g/mL}$ 의 농도에서 가장 큰 세포보호 효과(252.88 min)를 보여주었고 농도가 증가함에 따라 10  $\mu\text{g/mL}$ 에서 171.83 min, 50  $\mu\text{g/mL}$ 에서 60.67 min, 100  $\mu\text{g/mL}$ 에서 36.83 min으로 감소하는 경향을 나타내었다. 이는 아마도 추출용매에 따른 추출물의 세포막에 대한 교란작용(계면활성제로서의 작용)을 나타낼 수 있는 물질의 영향으로 생각된다. 하지만 50 % ethanol 추출물의 저 농도에서의 세포보호 효과는 매우 큼을 알 수 있다. 한편 ethylacetate 분획의 경우는 세포보호 효과가 미약한 것으로 나타났으나 aglycone 분획은 매우 크게 나타났다. aglycone 분획의 경우 1 ~ 50  $\mu\text{g/mL}$ 의 농도 범위에서 농도 의존적으로 세포보호 효과를 나타냈다. 만약 aglycone 분획을 화장품 등에 사용하

면 피부세포보호 활성에 크게 기여할 것으로 생각된다. 한편 통통마디는 50 % ethanol 추출물의 경우 농도 의존적으로 세포보호 효과를 나타냈으나 그 효과는 그다지 크지 않았다. 나문재 추출물에서와는 달리 ethylacetate 분획에서는 농도 의존적으로 비교적 큰 효과를 나타냈고, aglycone 분획에서도 비슷한 효과가 나타났다.

비교물질로 사용한 플라보노이드 배당체인 rutin은 10  $\mu\text{g/mL}$ 에서 40.50 min, quercetin은 동일농도에서 147 min, (+)- $\alpha$ -tocopherol은 38 min을 나타내었다. Quercetin이 quercetin 배당체인 rutin 보다도 세포보호 효과가 훨씬 큼을 보여주고 있다. 이는 rutin 보다도 quercetin이 세포막에의 접근과 세포막 내로의 침투가 더 용이함을 나타내며 이는 세포막에서 일어나는 활성산소에 의한 인지질의 산화와 세포막 파괴를 aglycone인 quercetin이 보다 더 효율적으로 억제함을 보여주고 있다. Rutin은 2개의 당(rutinoside)이 결합한 형태로 rutin 분자 주위에서 큰 물 껍질에 형성되어 세포막 내로의 접근에 상당한 어려움이 있어 세포보호 효과도 낮게 나타난 것으로 판단되어진다.

광용혈에 있어서 용혈 억제 기전과 용혈을 일으키는 주 활성산소종을 확인하기 위하여 지용성 항산화제로 비



**Figure 3.** Effects of extract of deglycosylation *Suaeda asparagoides* (EtOAc fraction) on the rose-bengal sensitized photohemolysis of human erythrocytes. Irradiation time; 15 min, pre-incubation time; 30 min, [rose-bengal] = 1.5 µM, concentrations of extract of deglycosylation *Suaeda asparagoides* (EtOAc fraction); ◆-◆: control, ▲-▲: 1 µg/mL, ■-■: 10 µg/mL, \*-\*: 50 µg/mL, ●-●: 100 µg/mL.

타민 E 성분인 (+)-α-tocopherol과 수용성 항산화제로서 비타민 C인 L-ascorbic acid의 광용혈에 미치는 영향도 조사하였다. (+)-α-Tocopherol은 10 µg/mL에서 τ<sub>50</sub> 값이 38 min, 50 µg/mL 일 때에는 74.33 min이고, L-ascorbic acid는 동일 농도에서 모두 대조군과 같은 32 min이었다. 이는 지용성 성분인 (+)-α-tocopherol이 수용성 성분인 L-ascorbic acid 보다 세포막 지질성분과 유사하여 (+)-α-tocopherol이 세포막에 침투가 용이해 세포의 용혈을 억제한 것으로 알 수 있다. 이상과 같이 나문재 ethylacetate 분획의 당이 제거된 추출물이 (+)-α-tocopherol 보다도 세포보호 효과가 월등함을 알 수 있었다.

#### 4. 결 론

1) 나문재 추출물의 수득율은 100 % ethanol 추출물인 경우 1.4 % (50 % 광용혈에 있어서 용혈 억제 기전과 용혈을 일으키는 ethanol 추출물, 7.4 %)이었고, ethylacetate 분획은 약 1 %였다. 통통마디 추출물인 경우는 ethylacetate 분획의 수득율이 0.12 %였다. 천연 추출물을 화장품 원료로 사용할 것인지를 결정할 경우 수득율은 매우 중요한 요소이다. 나문재 추출물은 통통마디 추출물에 비하여 수득율에서 뿐만 아니라 기능성화장품 개발에 필요한 항산화 활성 등의 효과, 그리고 화장품 원료로서 갖추어야 할 조건들을 두루 갖추고 있음을 알았다.

2) 나문재 추출물의 free radical 소거활성(FSC<sub>50</sub>)은 100 % ethanol 추출물인 경우 329.33 µg/mL, 50 % ethanol 추출물 40.73 µg/mL, ethylacetate 분획 13.87 µg/mL, ethylacetate 분획에서 당을 제거시킨 aglycone 분획 7.80

µg/mL로 나타났다. 통통마디 추출물인 경우는 50 % ethanol 추출물인 경우, 소거활성은 1,300 µg/mL, ethylacetate 분획과 그것의 aglycone 분획은 각각 23.21 및 28.50 µg/mL로 나타났다.

3) 활성산소 소거활성(총항산화능, OSC<sub>50</sub>)은 나문재 100 % ethanol 추출물이 6.50 µg/mL, 50 % ethanol 추출물 0.99 µg/mL, ethylacetate 분획 0.05 µg/mL, aglycone 분획은 0.03 µg/mL이었다. 이로부터 ethylacetate 추출물 및 aglycone 분획의 활성산소 소거활성이 매우 큰 값을 알 수 있었다. 통통마디는 50 % ethanol 추출물에서 OSC<sub>50</sub>가 2.00 µg/mL, ethylacetate 분획 0.10 µg/mL, aglycone 분획은 0.2 µg/mL이었다.

4) <sup>1</sup>O<sub>2</sub>으로 유도된 세포막 파괴에 대한 보호 효과에서 나문재의 100 % ethanol 추출물인 경우 1 ~ 100 µg/mL의 농도범위에서 농도 의존적으로 세포보호 효과를 나타내었고 ethylacetate 분획 중의 aglycone 분획의 경우는 50 µg/mL의 농도에서 매우 큰 세포보호 효과(τ<sub>50</sub>, 310 min)을 보여주었다. 한편 통통마디 추출물의 경우는 50 % ethanol 추출물의 경우 농도 의존적으로 세포보호 효과를 나타냈으나 그 효과는 그다지 크지 않았다. 그러나 ethylacetate 분획에서는 농도 의존적으로 비교적 큰 세포보호 활성을 나타냈다.

이상의 결과로 볼 때 나문재 추출물의 ethylacetate 분획이나 aglycone 분획 등은 활성산소에 의한 피부노화를 방지하는데 효과가 있는 기능성 화장품소재로서 응용 가능성이 있음을 알았다.

#### 감 사

본 연구 논문은 보건복지부 “2005년도 건강기능제품개발사업”에 의하여 수행된 연구결과와 일부이며(과제번호: A05-0453-A11101-06A2-00020B), 지원에 감사드립니다.

#### 참 고 문 헌

1. J. C. Fantone and P. A. Ward, Role of oxygen-derived free radicals and metabolites in leukocyte dependent inflammatory reaction, *Ann. J. Path.*, **107**, 397 (1982).
2. K. J. A. Davies, Protein damage and degradation by oxygen radical, *J. Biol. Chem.*, **262**, 9895 (1987).
3. C. S. Foote, Photosensitized oxidation and singlet oxygen: consequences in biological systems, ed. W. A. Pryor, **2**, 85, Academic press, New York (1976).
4. S. N. Park, Ph. D. Dissertation, Seoul National Univ., Seoul, Korea (1989).

5. S. N. Park, Skin aging and antioxidant, *J. Soc. Cosmet. Scientists Korea*, **23**, 75 (1997).
6. S. N. Park, Protective effect of isoflavone, genistein from soybean on singlet oxygen induced photo-hemolysis of human erythrocytes, *Korean J. Food Sci. Technol.*, **35**(3), 510 (2003).
7. S. N. Park, Antioxidative properties of baicalein, component from *Scutellaria baicalensis* Georgi and its application to cosmetics (I), *J. Korean Ind. Eng. Chem.*, **14**(5), 657 (2003).
8. K. Scharffetter-Kochanek, Photoaging of the connective tissue of skin: its prevention and therapy, antioxidants in disease mechanism and therapy, ed. H. Sies, **38**, 639 (1997).
9. R. M. Tyrrell and M. Pidoux, Singlet oxygen involvement in the inactivation of cultured human fibroblast by UVA and near visible radiations, *Photochem. Photobiol.*, **49**, 407 (1989).
10. G. F. Vile and R. M. Tyrrell, UVA radiation-induced oxidative damage to lipid and protein in *vitro* and in human skin fibroblasts is dependent on iron and singlet oxygen, *Free Radical Biology & Medicine*, **18**, 721 (1995).
11. K. Scharffetter-Kochanek, M. Wlaschek, K. Briviba, and H. Sies, Singlet oxygen induces collagenase expression in human skin fibroblasts, *FEBS Lett.*, **331**, 304 (1993).
12. M. Wlaschek, K. Briviba, G. P. Stricklin, H. Sies, and K. Scharffetter-Kochanek, Singlet oxygen may mediate the ultraviolet A induced synthesis of interstitial collagenase, *J. Invest. Dermatol.*, **104**, 194 (1995).
13. A. Oikarinen, J. Karvonen, J. Uitto, and M. Hannuksela, Connective tissue alterations in skin exposed to natural and therapeutic UV-radiation, *Photodermatology*, **2**, 15 (1985).
14. A. Oikarinen and M. Kallioinen, A biochemical and immunohistochemical study of collagen in sun-exposed and protected skin, *Photodermatology*, **6**, 24 (1989).
15. L. H. Kligman, UVA induced biochemical changes in hairless mouse skin collagen: a contrast to UVB effects, ed. F. Urbach, **209**, Valdemar, Overland Park (1992).
16. J. W. Choi, S. I. Kim, J. Y. Kim, H. J. Yang, K. H. Lee, and S. N. Park, Antioxidative and cellular protective effects of Jeju native plant extracts against reactive oxygen species (I), *J. Soc. Cosmet. Scientists Korea*, **32**(3), 181 (2006).
17. B. H. Lee, Y. H. Moon, B. C. Jeong, K. S. Kim, and S. N. Ryu, Growth characteristics and its potentiality of use of halophyte, *Suaeda asparagoides* MIQ, *Korean J. Intl. Agri.*, **14**(2), 87 (2002).
18. Y. C. Jo, J. H. Ahn, S. M. Chon, K. S. Bae, T. J. and D. S. Kang, Studies on pharmacological effects of glasswort (*Salicornia herbacea* L.), *Korean J. Med. Crop. Sci.*, **10**, 93 (2002).
19. J. G. Min, K. T. Kim, J. H. Kim, T. J. Kim, and J. H. Park, Physiological and functional properties of *Salicornia herbacea* leaf extracts, *Nutraceut. Food*, **7**, 261 (2002).
20. S. H. Park and K. S. Kim, Isolation and identification of antioxidant flavonoids from *Salicornia herbacea* L., *J. Korean Soc. Appl. Biol. Chem.*, **47**(1), 120 (2004).