Vol. 31(2):213-218
DOI: 10.4217/OPR.2009.31.2.213

Ocean and Polar Research

June 2009

Note

북극 스발바드 군도 콩스피요르드에서 채집한 해조류 추출물의 항산화 활성

이정임[1] · 김유아[1] · 공창숙[2] · 예성수[3] · 한태준[4] · 강성호[5] · 김지희[5] · 서영완[1*]

[1]한국해양대학교 해양환경 · 생명과학부
(606-791) 부산광역시 영도구 동삼동 1
[2]부경대학교 해양바이오세스연구단
(608-737) 부산광역시 남구 대연3동 599-1
[3]인제대학교 의과대학 생화학교실
(614-735) 부산광역시 진구 개금동 633-165
[4]인천대학교 생물학과
(402-749) 인천광역시 남구 도화동 177
[5]한국해양연구원 부설 극지연구소
(406-840) 인천광역시 연수구 송도동 7-50 송도테크노파크

Antioxidant Activity of Seaweed Extracts from Kongsfjorden, an Inlet in the Arctic's Svalbard Archipelago

Jung Im Lee[1], You Ah Kim[1], Chang-Suk Kong[2], Sung Su Yea[3], Taejun Han[4], Sung-Ho Kang[5], Jee Hee Kim[5], and Youngwan Seo[1*]

[1]Division of Marine Environment & Bioscience
Korea Maritime University, Busan 606-791, Korea
[2]Marine Bioprocess Research Center
Pukyong National University, Busan 608-737, Korea
[3]Department of Biochemistry, College of Medicine
Inje University, Busan 614-735, Korea
[4]Department of Biology
University of Incheon, Incheon 402-749, Korea
[5]Korea Polar Research Institute, KORDI
Incheon 406-840, Korea

Abstract : We examined the intracellular antioxidative effects of 20 Arctic seaweed extracts in Raw 264.7 cells. Each seaweed species was subjected to extraction using acetone/dichloromethane and methanol, respectively, after which the extracts were combined and used as the test sample. The antioxidant ability of all 20 seaweeds extracts was evaluated using four different activity tests, including the degree of occurrence of intracellular reactive oxygen species (ROS), $ONOO^-$, and lipid peroxidation in Raw 264.7 cells, as well as the extent of oxidative damage of genomic DNA purified from Raw 264.7 cells. Crude extracts from *Monostroma obscurum*, *Alaria esculnta*, *Laminaria digitata*, *Desmarestia aculeata*, *Chorda filum*, *Ptilota seriata*, *Phycidrys rubens*, *Devaleraea ramentacea* and *Palmaria palmata* exhibited significant scavenging effects on the generation of intracellular ROS. Among them, *Monostroma obscurum* and *Phycidrys rubens* significantly inhibited membrane lipid peroxidation and DNA oxidation. Moreover, *Phycidrys rubens* exhibited scavenging effects on peroxynitrite generated from SIN-1.

Key words : Arctic seaweeds, antioxidant, reactive oxygen species (ROS), lipid peroxidation, DNA damage

*Corresponding author. E-mail : ywseo@hhu.ac.kr

1. 서 론

인체는 필요한 에너지 생산을 위하여 호흡대사과정 중 활성산소종(reactive oxygen species, ROS)이나 활성질소종(reactive nitrogen species, RNS) 같은 산화촉진물질(prooxidant)을 발생시킨다. 생성된 산화촉진물질은 일부 인체 면역기능에 작용하여 인체를 보호하는 역할을 한다. 하지만, 산화촉진물질이 과량 생성되면 체내에서 유해물질로서 작용하게 된다(Dawson and Snyder 1994). 인체는 산화촉진물질이 유해물질로 작용할 때, 이를 제거하기 위한 방어 시스템으로 superoxide dismutase(SOD), catalase, peroxidase 등과 같은 항산화 효소가 작용하게 되며, 또한, ascorbic acid, tocopherol, carotenoid 등과 같은 항산화 물질을 음식을 통하여 섭취함으로써 산화촉진물질을 제거하는 방어기작을 가진다. 따라서 산화촉진물질(prooxidant)과 산화억제물질(antioxidant)이 체내에서 균형을 이루고 있게 된다. 하지만, 여러 요인들로 인하여 이들이 불균형해지면 산화적 스트레스를 유발하여 각종 질병을 일으키게 된다(Halliwell 1996). 이러한 산화촉진물질은 자유라디칼(free radical) 형태로서, 불안정하고 반응성이 높아 세포 조직과 쉽게 반응하여 막지질 과산화를 일으켜 지질과산화물을 생성하게 된다. 이러한 지질 과산화물의 축적은 동맥경화, 고혈압, 당뇨병, 백내장 등 생활습관병과 퇴행성 질환으로 나타나게 되며, 이 외에도 단백질, DNA 손상 등을 통해 돌연변이를 일으켜 각종 암을 발생시킨다(Halliwell 1996; Diplock et al. 1998; Ichiniose 2003). 이러한 이유로, 인체 내 활성산소종과 활성질소종을 제거하고, 생체 방어시스템을 지속시키는 항산화 물질을 찾기 위한 연구가 많은 생물종을 대상으로 이루어져 왔으며, 그 결과, tocopherol, gossypol, sesamol, oryzanol, polyphenol, phenolic acid, flavonoids 등과 같은 항산화 물질이 분리되었다(Frankel et al. 1993; Rice-Evans et al. 1996; Giese 1996; Azuma et al. 1999; Rein et al. 2000). 이러한 연구가 주로 육상생물을 대상으로 이루어져왔으나, 최근 해양생물자원의 중요성에 대한 인식이 높아짐에 따라 해양생물을 통한 새로운 생리활성물질을 개발하고자 하는 연구는 활발히 진행되고 있다.

북극의 해수는 빙하의 녹음으로 인한 염분의 변화가 심하고, 극한의 환경으로 수온이 낮아 일반 해수보다 더 많은 양의 산소를 포함하고 있으므로, 그 속에 서식하는 해조류는 이런 독특한 환경에 적응하기 위한 강한 생리활성물질을 가지고 있을 것으로 예상된다. 이미 북극 지역의 패류가 지중해 지역의 패류보다 더 높은 항산화 능력을 가지고 있다는 연구 결과가 발표된 바 있으며, 극지에 서식하는 미세조류의 추출물도 항산화 활성을 가지고 있음을 확인한 연구 결과도 있다(Regoli et al. 2000; Ha et al. 2006). 앞선 연구에서 20종의 북극 해조류를 대상으로 *in vitro* 상에서 peroxynitrite scavenging 효과를 측정하였다(Seo et al. 2007). 따라서 본 연구에서는 20종의 북극 해조류를 대상으로 세포 수준에서 ROS level, lipid oxidation level, DNA oxidation level, SIN-1 유도에 의한 peroxynitirite level을 측정하여 항산화 활성을 검토하고자 한다.

2. 재료 및 방법

시료의 추출 및 제조

본 실험에 사용된 20종의 해조류는 2005년 6월 노르웨이 스발바드군도 스피츠베르겐섬 콩스피요르드에서 잠수에 의하여 채집하여 동결건조 후 −25°C에서 냉동 보관하였다.

냉동 보관된 20종의 북극 해조류는 해빙하여 잘게 자른 후, acetone과 dichloromethane(1:1)의 혼합 용매를 사용하여 24시간 동안 추출한 후 여과하였다. 이 과정을 2번 반복하였으며, 얻어진 추출액을 40°C 수욕 상에서 rotary vacuum evaporator(EYELA JAPAN, N-N series)로 농축하여 acetone/dichloromethane 조추출물을 얻었다. 남은 잔사에는 동량의 methanol을 부어 위와 동일한 과정을 통해 methanol 추출물을 얻었다. 얻어진 조추출물은 실험에 사용하기 전에 혼합하였으며 dimethylsulfoxide(DMSO)로 희석하여 실험에 사용하였다.

세포 배양

마우스 대식세포 Raw 264.7은 한국 세포주 은행(Korean cell Line Bank, KCLB)으로부터 분양받아 100 units/ml의 penicillin-streptomycin과 10%의 fetal bovine serum(FBS, Hyclone, Utah, USA)이 함유된 DMEM (Hyclone, Utah, USA)을 사용하여 37°C, 5% CO_2 incubator(Forma Scientific, Japan)에서 배양하였다. 세포 배양은 2일 간격으로 배지를 교환하였으며, 6-7일 간격으로 계대 배양하여 실험에 사용하였다.

세포 생존율 측정

해조류의 세포 독성 실험은 MTT assay를 이용하여 측정하였다. 살아있는 세포의 mitochondrial dehydogenase 효소작용에 의해 노란색의 수용성 물질인 MTT [3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide]가 환원되어 형성된 보라색의 formazan crystal이 침전되는 정도를 흡광도로 측정함으로서, 세포의 생존 및 사멸정도를 결정할 수 있다(Hansen et al. 1989). 배양된 세포는 2×10^4 cells/well가 되도록 96 well plate에 분주하여 37°C, 5% CO_2 배양기에서 1시간 배양 후, 배지를 제거하고 새

로운 배지에 일정농도의 시료를 첨가하여 37°C, 5% CO_2 배양기에서 24시간 배양하였다. 24시간 배양 후, 1 mg/m*l* MTT가 포함된 배지를 첨가하여 동일한 배양 조건에서 4시간 동안 배양하였다. 이때 생성된 formazan crystal을 DMSO에 녹여서 multidetection microplate fluorescence spectrophotometer synergy HT(Bio-Tek instruments, USA)를 이용하여 540 nm에서 흡광도를 측정하여 생존율(%)을 구하였다.

$$\text{Cell viability (\%)} = \frac{\text{시료처리구의 흡광도}}{\text{대조구의 흡광도}} \times 100$$

세포내 활성 산소종(reactive oxygen species) 측정

세포내 자유라디칼 생성정도는 DCF-DA assay(Okimoto et al. 2000)로 측정하였다. 마우스 대식세포 Raw 264.7은 96 well plate에 5×10^4 cells/well로 분주하여 24시간 동안 37°C, 5% CO_2 배양기에서 배양한 후, Hank's balanced salt solution(HBSS)으로 희석한 20 μM DCF-DA (fluorescence probe, 2',7'-dichlorodihydrofluorescein diacetate)를 첨가하여 20분간 배양하였다. DCF-DA처리 후 일정한 농도의 시료를 첨가하고 1시간 동안 배양하였다. PBS로 3회 씻은 후, 2시간 동안 500 μM H_2O_2를 처리하여 세포내 자유라디칼 생성정도는 multidetection microplate fluorescence spectrophotometer synergy HT(Bio-Tek instruments, USA)를 이용하여 ex. 485 nm, em. 530 nm에서 DCF fluorescence intensity를 측정하였다.

TBARS법을 이용한 lipid peroxidation 측정

Lipid peroxidation의 생성정도는 thiobarbituric acid-reactive substances(TBARS) 방법으로 측정하였다(Heath and Packer 1968). 200 μL의 PBS-suspended Raw 264.7 세포를 일정한 농도의 시료로 각각 처리한 후 37°C, 5% CO_2 배양기에서 10분간 배양하였다. 세포내 산화를 유도하기 위하여 2 mM H_2O_2와 0.1 M $FeSO_4$로 처리한 후 37°C에서 10분간 반응시켰다. 반응 후, trichloroacetic acid(TCA, 10% w/v)를 처리하여 산화를 중지시키고, 동량의 TBA(1% w/v)를 첨가하여 90°C에서 30분 동안 반응시켰다. 실온에서 냉각시킨 혼합액을 원심분리 후 상등액의 흡광도를 528 nm에서 측정하였다.

Genomic DNA 추출 및 Genomic DNA의 산화 생성물 측정

Raw 264.7 세포로부터의 genomic DNA의 추출은 AccuPrep® Genomic DNA Extraction kit(USA Bioneer, Inc.)를 이용하여 순차적인 방법에 따라 추출하였다. 추출되어진 genomic DNA의 산화정도는 Milne 등(Milne et al. 1993)의 방법을 이용하여 측정하였다. 어떤 일정농도의 시료, genomic DNA, $FeSO_4$ 및 H_2O_2를 물에 녹여 100 μL의 혼합물을 만들고 각각의 최종농도가 genomic DNA, $FeSO_4$ 및 H_2O_2의 최종농도가 50 μg/m*l*, 200 μM, 그리고 0.1 mM이 되도록 준비하였다. 이 혼합물을 30 분간 실온에서 반응시키고 10 mM의 EDTA를 첨가하여 반응을 중지시켰으며 반응물은 1% agarose gel을 이용하여 100 V에서 30분 동안 전기영동하였다. 전기영동한 gel은 1 mg/m*l* ethidium bromide로 염색하고 AlphaEase gel image analysis software(Alpha Innotech, San Leandro, CA, USA)를 이용하여 UV로 관찰하였다.

세포내 SIN-1 유도 $ONOO^-$ 측정

Kooy et al.(1994)의 방법으로 세포내 SIN-1 유도 peroxynitrite level을 측정하였다. 마우스 대식세포 Raw 264.7을 96 well plate에 5×10^4 cells/well로 분주하여 37°C, 5% CO_2 배양기에서 24시간 동안 배양하였다. PBS로 희석한 20 μM SIN-1로 처리한 후, 일정한 농도의 시료를 첨가하고 6시간 동안 배양하였다. PBS로 3회 씻은 후, 20 μM DHR 123(dihydrohodamine 123) 처리하고 2시간 후, ex. 485 nm, em. 530 nm에서 $ONOO^-$의 변화를 multidetection microplate fluorescence spectrophotometer synergy HT(Bio-Tek instruments, USA)로 측정하였다.

통계처리

대조군과 각 시료로부터 얻은 실험 결과들의 유의성을 검정하기 위하여 분산분석(ANOVA)을 행한 후 $p < 0.05$ 수준에서 Duncan's multiple range test를 실시하였으며, 그 결과는 평균(Mean)±표준오차(Standard error of mean, SEM)로 표시하였다. 모든 통계 분석은 Statistic Analysis System v9.1(SAS Institute Inc., NC, USA) 통계프로그램을 이용하여 처리하였다.

3. 결과 및 고찰

북극해조류 추출물의 세포독성

20종의 북극해조류는 acetone/CH_2Cl_2 (1:1)의 혼합용매와 methanol을 사용하여 각각의 추출물을 얻었으며(Table 1), 이들 추출물을 혼합하여 실험에 사용하였다. 북극해조류의 항산화 검색을 위해 마우스 대식세포 Raw 264.7에 대한 세포 독성을 측정하였다(Table 2). 마우스 대식세포 Raw 264.7의 세포 성장에 시료가 영향을 주지 않는 범위는 MTT assay를 이용하여 생존율로서 나타내었다. 그 결과, 20종의 북극 해조류는 50 μg/m*l* 농도에서, 시료를 처리하지 않은 대조군과 비교하여 유의적인 차이를 보이지 않았으므로, 세포 성장에 영향을 주지 않는 것으로 사료되어, 이 농도에서 세포내 항산화 활성을 검토하였다.

Table 1. List of collected Arctic seaweeds

No.	Species	No.	Species
	Green algae		Brown algae
1	*Spongomopha arcta*	11	*Laminaria sp. 1*
2	*Monostroma obscurum*	12	*Laminaria sp. 2*
	Brown algae	13	*Laminaria hyperborea*
3	*Alaria esculnta*		Red algae
4	*Laminaria digitata*	14	*Ptilota seriata*
5	*Laminaria saccharina*	15	*Polysiphonia stricta*
6	*Desmarestia aculeata*	16	*Phycidrys rubens*
7	*Laminaria solidungula*	17	*Devaleraea ramentacea*
8	*Chorda filum*	18	*Odonthalia dentata*
9	*Fucus distichus ssp edentatus*	19	*Callophllis cristata*
10	*Chordaria flagelliformis*	20	*Palmaria palmata*

ROS 소거능

북극해조류의 세포내 자유라디칼 소거 효과는 형광염료인 DCF-DA를 이용하여 측정하였다(Table 2). DCF-DA는 세포내 esterase 효소에 의해 DCFH로 환원되고, 이는 세포내 생성된 자유라디칼(free radical)과 반응하여 형광물질인 DCF로 산화됨으로서, 발생되는 형광 정도를 측정하여 시료의 자유라디칼 소거 활성을 확인할 수 있다. 세포내 자유라디칼의 생성은 H_2O_2를 이용하여 유도하였으며, 시료와 H_2O_2 모두 첨가하지 않은 것을 blank, 시료를 첨가하지 않고 H_2O_2만을 첨가한 것을 control로 하여, 활성산소종 소거능은 백분율(% of control)로 나타내었다. 시료번호 **2**, **3**, **6**, **8**, **16**, **18**, **20**에서 control과 비교 시 유의적인 차이를 나타냈으며, 그 중 시료번호 **20**인 *P. palmata*이 가장 높은 자유라디칼 소거능을 나타내었다. 그 뒤로 *M. obscurum*(**2**) > *D. aculeate*(**6**) > *C. filum*(**8**) > *A. esculnta*(**3**) > *O. dentate*(**18**) > *P. rubens*(**16**) 순으로 자유라디칼 소거활성을 보였다.

지질과산화 정도

세포내 lipid peroxidation의 정도는 TBARS법을 이용하여 측정하였다(Table 2). 유지의 산화로 생성된 malonedialdehyde는 두 분자의 TBA(thiobarbituric acid)와 반응하여 적자색의 복합체를 형성한다. 538 nm에서 산화

Table 2. Effects of the Arctic seaweed extracts on the viability of Raw 264.7 cells, intracellular ROS level induced by hydrogen peroxide, membrane lipid peroxidation and peroxynitrite from decomposition of SIN-1 (% of control)

No.	Cell viability		DCF fluorescence intensity	Lipid peroxidation intensity	Peroxynitrite from decomposition of SIN-1 intensity
Conc.	100 μg/ml	50 μg/ml	50 μg/ml	50 μg/ml	50 μg/ml
Blank	-		29.73 ± 0.00*	15.56 ± 0.59*	-
Control	100.00 ± 0.32		100.00 ± 3.08	100.00 ± 2.72	100.00 ± 0.98
1	97.29 ± 1.03	101.34 ± 1.00	109.11 ± 4.06	77.97 ± 4.70	96.39 ± 1.14
2	108.79 ± 1.03*	97.63 ± 0.79	61.95 ± 1.18*	69.23 ± 3.54*	101.99 ± 0.68
3	88.40 ± 2.64*	101.95 ± 4.93	71.93 ± 5.35*	107.53 ± 4.12	91.96 ± 2.91
4	94.89 ± 0.11*	100.34 ± 0.46	89.89 ± 0.99	45.49 ± 3.16*	95.31 ± 2.37
5	101.81 ± 2.95	109.24 ± 5.38	105.09 ± 6.94	94.00 ± 6.98	96.68 ± 0.28
6	97.95 ± 0.97	100.63 ± 0.80	68.63 ± 3.37*	80.21 ± 11.08	95.59 ± 0.06*
7	92.57 ± 1.04*	100.36 ± 1.87	83.82 ± 5.48	87.72 ± 9.27	91.43 ± 2.37
8	95.61 ± 1.54	102.16 ± 3.18	71.11 ± 0.70*	97.61 ± 8.69	92.67 ± 0.12*
9	97.80 ± 0.61	104.64 ± 8.27	86.77 ± 0.80	79.45 ± 8.81	96.45 ± 2.03
10	105.01 ± 1.09*	100.86 ± 3.20	99.80 ± 0.30	88.96 ± 6.84	94.30 ± 1.54
11	95.80 ± 0.69*	99.57 ± 2.03	85.20 ± 1.90	80.07 ± 11.10	97.47 ± 0.72
12	90.84 ± 0.83*	95.76 ± 1.04	90.18 ± 5.30	87.29 ± 7.67	101.85 ± 2.37
13	96.04 ± 0.40*	101.45 ± 1.73	107.14 ± 5.89	61.83 ± 2.42*	103.02 ± 0.34
14	101.27 ± 0.72	100.19 ± 0.42	90.18 ± 4.34	36.47 ± 1.15*	91.93 ± 3.32
15	94.16 ± 1.58	98.23 ± 1.40	83.10 ± 4.15	86.53 ± 4.03	95.65 ± 2.36
16	94.68 ± 1.30	97.00 ± 2.72	81.44 ± 1.21*	72.87 ± 5.01*	84.20 ± 0.25*
17	99.76 ± 3.82	107.18 ± 3.29	75.32 ± 6.82	63.67 ± 4.42*	93.40 ± 2.04
18	101.15 ± 0.86	102.50 ± 0.90	79.11 ± 2.76*	109.48 ± 10.45	97.45 ± 1.62
19	100.29 ± 1.35	102.32 ± 2.12	98.50 ± 1.20	102.90 ± 8.49	96.39 ± 1.14
20	86.20 ± 2.52*	97.61 ± 0.77	50.03 ± 3.14*	81.38 ± 8.44	98.89 ± 1.09

Means ± SEM, *Significantly different from control group ($p<0.05$).

생성물의 흡광도를 측정함으로써, lipid peroxidation의 정도를 측정할 수 있다. 세포내 산화는 2 mM H_2O_2와 0.1 M $FeSO_4$을 이용하여 유도하였으며, 시료를 첨가하지 않고 H_2O_2만 첨가한 control과 비교하여 산화 억제효과를 백분율(%)로 나타내었다. control과 비교 시, 시료 **2**, **4**, **13**, **14**, **16**, **17**에서 유의적인 차이가 나타났으며, 그 중 *P. seriata*(**14**)이 63.53%로 가장 높은 산화 억제효과를 보여주었으며, *L. digitata*(**4**) 또한 54.51%로서, 50% 이상의 비교적 높은 항산화 효과를 나타내었다. 유의적인 차이를 보인 나머지 시료의 항산화 활성은 *L. hyperborea*(**13**) > *D. ramentacea*(**17**) > *M. obscurum*(**2**) > *P. rubens*(**16**) 순으로 나타났다. 이중에 *M. obscurum*(**2**)와 *P. rubens*(**16**)은 ROS 소거에도 유의적인 효과를 보였다.

DNA 산화 억제능

극지 해조류 유래 조추출물의 DNA 산화에 미치는 영향은 Milne 등의 방법을 이용하여 측정하였으며 H_2O_2를 이용하여 hydroxyl radical을 유도하였다. H_2O_2 처리 30분 후 H_2O_2를 처리하지 않은 blank와 비교하여 관찰한 결과, *M. obscurum*(**2**), *A. esculnta*(**3**)이 가장 높은 활성을 나타내었으며, *D. ramentacea*(**17**)과 *P. rubens*(**16**) 또한 DNA 산화를 저해하는 것을 관찰하였다. DNA 산화는 지질막 과산화가 일어난 후 발생되는 것으로서, *M. obscurum*(**2**), *P. rubens*(**16**), *D. ramentacea*(**17**)에서 지질 과산화와 관련하여 활성을 가짐을 확인할 수 있었다. *M. obscurum*(**2**)과 *P. rubens*(**16**)는 ROS 및 lipid peroxidation 억제에도 유의한 효과를 보여 주었다(Fig. 1).

SIN-1 유도 $ONOO^-$의 소거능

세포내 SIN-1에서 유도된 $ONOO^-$의 소거 활성은 Kooy et al.(1994)의 방법에 의해 측정하였다(Table 2). 비형광성의 DHR 123은 세포내 $ONOO^-$와 반응하여 형광성 물질인 rhodamine 123으로 바뀌게 되므로 그 생성 정도를 측정함으로서 북극 해조류의 $ONOO^-$ 소거 활성을 검토하였다. $ONOO^-$ 소거능은 시료를 첨가하지 않은 control과 비교하여 백분율(%)로 나타내었다. 그 결과, 대조군과 비교할 때 *P. rubens*(**16**)만이 유의적인 차이를 보여 주었으며, 이는 ROS 소거 및 lipid peroxidation과 DNA oxidation에서도 억제 효과를 나타낼 뿐만 아니라 활성질소종(RNS)에도 소거 효과를 나타내는 것이 확인되었다.

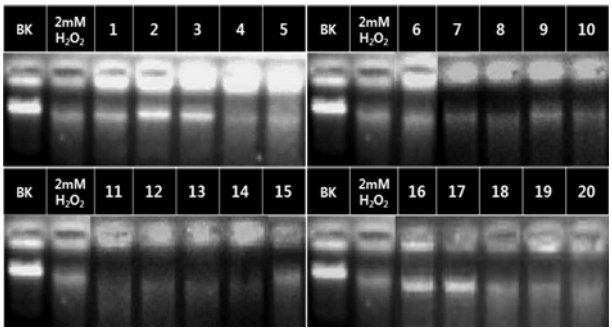

Fig. 1. DNA oxidative protection by Arctic seaweeds. Total genomic DNA was extracted from Raw 264.7 cells and reacted with predetermined concentrations of samples, 200 μM $FeSO_4$ and 0.1 mM H_2O_2. After 30 min of incubation aliquot of reaction mixture was electrophorased on a 1% agarose gel, and DNA was stained with ethidium bromide and visualized by UV light.

본 연구에서는 북극에서 채집한 20종의 해조류를 대상으로 세포내 항산화 활성을 검토한 결과, *M. obscurum*(**2**)와 *P. rubens*(**16**)이 가장 좋은 효과를 나타내었다. *M. obscurum*(**2**)은 H_2O_2로 유도된 자유라디칼 소거효과를 나타내었을 뿐만 아니라, DNA oxidation에서도 H_2O_2를 처리하지 않은 blank에 비교될 만큼 높은 산화 억제효과를 나타냈으며, lipid peroxidation에도 유의한 억제 효과를 나타내었다. *P. rubens*(**16**) 또한 자유라디칼 소거활성, DNA oxidation 및 lipid peroxidation 억제능을 나타내었으며 특히 peroxynitrite에 대해서는 시료 중에 가장 높은 소거 활성을 나타내었다. 그러므로 위 두 해조류는 추출물 수준에서 높은 항산화 활성을 가지므로 순차적인 분리를 통해 높은 활성을 가지는 이차대사산물을 얻을 수 있을 것으로 사료된다. 이 외에도 *D. aculeata*(**6**)과 *C. filum*(**8**)은 자유라디칼과 peroxinitrite에서 소거활성을 나타내었으며, *A. esculnta*(**3**)의 경우, 자유라디칼과 lipid oxidation에서 그리고 *D. ramentacea*(**17**)은 lipid oxidation과 DNA oxidation에서 산화억제활성이 뚜렷이 나타났다. 그리고 *P. palmata*(**20**)과 *P. seriata*(**14**), *L. digitata*(**4**)은 각각 자유라디칼 소거 및 lipid peroxidation 억제실험에서 50%이상의 소거효과를 나타내었다. 이 결과가 추출물 수준에서 행한 항산화 실험에서 얻어진 것을 감안할 때, 추출물의 순차적인 분리 정제를 통해 높은 항산화 활성을 가지는 이차대사산물의 분리 가능성이 매우 높다고 할 수 있다.

사 사

본 연구는 2007년도 정부(교육과학기술부)의 재원으로 한국과학재단의 지원(NO. R01-2007-000-20669-0)을 받아 수행되었으며 이에 감사드립니다.

참고문헌

Azuma K, Nakayama M, Koshika M, Lpoushi K, Yamaguchi Y, Kohata K, Yamaguchi Y, Ito H, Higashio H (1999) Phenolic antioxidants from the leaves of

Corchorus olitorius L. J Agric Food Chem **47**:3963-3966

Dawson TM, Snyder SH (1994) Gases as biological messenger: nitric oxide and carbon monoxide in the brain. J Neurosci **14**:5147-5159

Diplock AT, Charleus JL, Crozier-willi G, Kok FJ, Rice-Evans C, Roberfroid, M., Stahl, W., Vina-Ribes, J. (1998) Functional food science and defence against reactive oxidative species. Brit J Nutr **80**:S77-S112

Frankel EN, Waterhous AI, Kinsella JE (1993) Inhibition of human LDL oxidation by reveratrol. Lancet **341**:1103-1104

Giese J (1996) Antioxidants tolls for preventing lipid foods and their on food quality. Food Chem **57**:51-55

Ha TY, Kang SH, Kwon TY, Ahn JY, Kim SR, Kim DS (2006) Antioxidant activity and contents of bioactive components in Polar Microalgae. Ocean and Polar Res. **28**:37-43

Halliwell B (1996) Antioxidants in human health and disease. Annu Rev Nutr **16**:33-50

Hansen MB, Nielsen SE, Berg K (1989) Re-examination and further development of a precise and rapid dye method for measuring cell growth/cell kill. J Immunol Meth **119**:203-210

Heath RL, Packer L (1968) Photoperoxidation in isolated chloroplasts. I Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. Arch Biochem Biophys **125**:189-198

Ichiniose M (2003) Inflammatory mechanisms in bronchial asthma and COPD. Tohuku J Exper Med **200**:1-6

Kooy NW, Royall JA, Ischiropoulos H, Beckman JS (1994) Peroxynitrite-mediated oxidation of dihydrorhodamine 123. Free Radic Biol Med **16**:149-156

Milne L, Nicotera P, Orrenius S, Burkitt M (1993) Effects of glutathione and chelating agents on copper-mediated DNA oxidation: pro-oxidant and antioxidant propertise of glutathione. Arch Biochem Biophys **304**:102-109

Okimoto Y, Watanabe A, Niki E, Yamashita T, Noguchi N (2000) A novel fluorescent probe diphenyl-1-pyrenylphosphine to follow lipid peroxidation in cell membranes. FEBS Lett **474**:137-140

Regoli F, Nigro M, Bompadre S, Winston G (2000) Total oxidant scavenging capacity (TOSC) of microsomal and cytosolic fractions from Antarctic, Arctic and Mediterranean scallops : differentiation between three potent oxidants. Aquat Toxicol **49**:13-25

Rice-Evans CA, Miller HJ, Oaganga G (1996) Structure antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids. Free Radical Biol Med **20**:933-956

Rein D, Paglieroni TG, Wun T, Oearson DA, Schmitz HH, Gosselin R, Keen CL (2000) Cocoa inhibits platelet activation and function. Am J Clin Nutr **72**:30-35

Seo Y, Lee HJ, Kim YA, Lee JI, Kim JH, Chung H, Kang SH (2007) *In vitro* Peroxynitrite Scavenging Activity of Arctic Seaweed Extracts. Ocean and Polar Res **29**:187-191

Received Mar. 25, 2009
Revised Apr. 30, 2009
Accepted Jun. 2, 2009