

## A Study on the Physioactivities of *Salicornia herbacea* L. Grown in Suncheon Bay on Cell Viability and Antioxidative Effect in Cultured C6 Glioma Cells

Young-Mi Seo<sup>1</sup>, Seung-Taeck Park<sup>2</sup>, Seung-Joo Jekal<sup>3</sup>, Shin-Moo Kim<sup>3</sup>, and Yo-Sup Rim<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Department of Nursing, Wonkwang Health Science University, Iksan 570-750, Korea

<sup>2</sup>Department of Anatomy, School of Medicine, Wonkwang University, Iksan 570-749, Korea

<sup>3</sup>Department of Clinical Laboratory Science, Wonkwang Health Science University, Iksan 570-750, Korea

<sup>4</sup>Department of Bioenvironment, Suncheon National University, Suncheon 540-742, Korea

To evaluate the physioactivity of *Salicornia herbacea* L. (SH), which are obtained from Suncheon bay as wild plants, an SH extract was prepared by freeze drying to obtain SH, and by cold drying to obtain SH. For the evaluation of their bioactivities, cell viability and antioxidative effect were measured. The XTT assay was adopted to measure cell viability after C6 glioma cells were treated with various concentrations of reactive oxygen species (ROS) and hydrogen peroxide (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) for 8 hours. The DPPH-radical scavenging activity was also measured for the antioxidative effect. In this study, the XTT<sub>50</sub> value of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> was determined at 30  $\mu$ M which was highly toxic based on the cytotoxic criteria by Borenfreund and Puerner. The protective effect of SH extract significantly increased cell viability compared with H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-treated group. Its antioxidative effect showed a significant DPPH-radical scavenging activity at concentrations of 1-100  $\mu$ g/mL, while SH extract showed highly a DPPH-radical scavenging activity at only 100  $\mu$ g/mL. From these results, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> was highly toxic in cultured C6 glioma cells, and SH extract was effective in the prevention of cell damage by its antioxidative effect.

**Key Words** : Hydrogen peroxide, Cell viability, DPPH-radical scavenging activity

### 서 론

각종 식물이나 약초로부터 추출된 천연물 중에는 탄닌(tannin)을 비롯한 카로틴(carotene), 이소프렌(isoprene), 테르펜(terpene) 등 다양한 물질들이 포함되어 있으며, 이들은 각종 암에 유효한 항암효과를 비롯하여 염증이나 세균에 대해 강력한 억제효과를 나타내는 항염이나 항균과 같은

다양한 생리활성을 가지고 있다고 보고되고 있다(Gates 등, 2007). 이들 추출물 중에는 화학구조식에 다른 물질과 결합력이 강한 수산기(-OH)를 한 개 또는 그 이상을 가지고 있으며, 추출물질에 따라 이 외에도 카르복실기(-COOH)도 가지고 있어 이온형성 및 화학적 결합과도 밀접한 관련을 가지고 있다(Leung 등, 2007; Lee 등, 2009). 특히, 대부분의 갈릭산(gallic acid)이나 시린산(syringic acid)과 같은 페놀화합물(phenolic compound)이나 pyrogallol, kaempferol 과 같은 플라보노이드류(flavonoids)는 위의 잔기를 한쪽, 또는 양쪽 모두 가지고 있어 항암을 비롯한 항염, 항산화와 같은 다양한 생리활성을 나타낸다고 알려져 있다(Krizkova 등, 2000; Leung 등, 2007). 천연추출물은 주로 식물성 성분이 대부분으로 이들은 기존의 화학제나 합성제와 같은 치료제 보다는 독성이 없거나 또는 있어도 매우 미미한 정도에 불과하기 때문에 각종 치료제로서의 신약개발에 있어서 관

Corresponding author: Rim, Yo-Sup. Department of Bioenvironment, Suncheon National University, Suncheon 540-742, Korea.  
Tel: 010-3646-5333 E-Mail: ysrim@suncheon.ac.kr

본 연구는 2010년도 순천시 청청지역사업단의 연구지원에 의하여 연구되었으며 이에 감사드립니다.

Received : 30 AUG 2011

Return for modification : 15 SEP 2011

Accepted : 23 SEP 2011

십의 대상이 되었다(Velioglu 등, 1998).

순천만은 세계적으로 유명한 습지대의 하나로 알려져 있을 뿐만 아니라, 또한 습지에서 자생하고 있는 갈대나 함초와 같은 각종 식물들은 그 속에 포함되어 있는 성분의 조성 및 함량이 높기 때문에 이들의 생리활성도 매우 뛰어난 것으로 알려져 있다(Kang 등, 2005). 특히, 순천만에 자생하고 있는 염생식물 중 함초(*Salicornia herbacea* L.)는 염전 부근에 서식하고 있는 일년생 초본식물로서 주로 염분을 비롯한 다양한 미네랄을 함유하고 있다(Lee 등, 2001). 함초는 일명 통통마디라고도 불리우며 그 밖에도 삼지초 또는 염지초, 신초 등 다양한 이름으로 명명되고 있다(최, 2008). 함초는 오래 전부터 중국의 주나라 때에 하늘에 제사를 지내는 데 중요한 신초로 사용되었으며 또한 일본에서는 1921년에 함초를 천연기념물로 제정하기도 하였다. 이러한 이유의 하나로서 함초는 바닷물에 녹아 있는 요오드를 비롯한 칼슘, 마그네슘과 같은 인체에 필수적인 다양한 미네랄을 흡수하여 정제할 수 있는 기능을 가지고 있기 때문이다(최, 2008). 따라서 함초추출물은 항암작용을 비롯한 항염 또는 항산화와 같은 다양한 생리활성을 나타낸다고 알려져 있으며 그 밖에 당뇨에 대한 효소활성 및 비장기능의 보호에 대하여 보고된 바 있다(Gersberg 등, 2001; Woo 등, 2009). 특히, 항산화는 산화적 손상(oxidative stress)에 의하여 유도되는 세포의 지질과산화(lipid peroxidation)를 방어하며(Witting, 1980; Yamamoto 등, 1983), 세포의 칼슘통로와 밀접한 관련을 가지고 있는 N-methyl-D-aspartate (NMDA) 수용체(receptor)를 과활성 시킴으로서 세포를 퇴화 내지는 고사시킨다고 알려져 있다(Park 등, 1996). 함초는 다양한 생리활성을 가지고 있으나 특히, 항산화에 대한 연구는 소수에 불과하며, 배양세포를 재료로 한 연구는 매우 드물다(최, 2008; Lee 등, 2008). 최근에 배양세포를 이용하여 각종 병변에 대한 질환모델을 제작하거나 또는 이를 이용한 병변의 작용기전 및 신약제의 효능과 같은 다양한 분석도구에 유용하게 적용되고 있다(Michikawa 등, 1994). 특히, 배양세포는 세포 증식이 빨라 실험재료를 쉽게 확보할 수가 있으며 또한 동일한 실험을 수회 반복할 수 있어 재현성이 뛰어나다는 장점이 있다(Mosmann, 1983; Ha 등, 2007).

본 연구는 함초(*Salicornia herbacea* L.)의 생리활성을 산

화적 손상 측면에서 조사하기 위하여 배양된 C6 Glioma 세포를 재료로 활성산소(reactive oxygen species, ROS)의 일종인 hydrogen peroxide( $H_2O_2$ )를 처리한 후 이에 대한 함초추출물의 영향을 세포생존율에 의하여 조사하였으며, 또한 함초추출물의 항산화능을 전자공여능(DPPH-radical scavenging activity)에 의하여 조사하였다.

## 재료 및 방법

### 1. 세포주

본 실험에 사용한 세포는 American Type Culture Collection (ATCC, USA)에서 분양 받은 C6 glioma 세포를 사용하였다.

### 2. 약제 제조

본 실험에 사용한 hydrogen peroxide( $H_2O_2$ )와 메탄올, dimethylsulfoxide (DMSO), pyrogallol, 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH), trypsin, phosphate buffered saline (PBS)은 Sigma 사(St Louis, MO, USA)에서 구입하였으며,  $H_2O_2$ 의 제조를 위하여서는 혈청이 들어 있지 않은 minimum essential medium (MEM, Gibco Co., USA)에 각각 저장액을 만들어 냉암소에 보관한 다음 실험 당일에 필요한 농도로 희석하여 사용하였다. XTT (2,3-bis-[2-methoxy-4-nitro-5-sulfophenyl]-2H-tetrazolium-5-carboxanilide, disodium salt(Sigma Co., USA)는 PBS로 50  $\mu$ g/mL의 저장액을 만들어 냉암소에 보관한 후 실험 당일 필요량을 직접 배양액에 첨가하여 사용하였다.

### 3. 함초추출

함초(*Salicornia herbacea* L.) 추출은 전남 순천시 순천만에 자생하고 있는 함초를 채취하여 동정 확인 후 냉동건조 또는 냉풍건조에 의하여 보관하였다. 함초 추출은 각각 60.5 g을 3배 가량의 메탄올을 가하여 24시간 동안 4회 반복하여 추출 생각하였다. 추출이 완료된 후 여과된 액을 모아 진공농축기에서 감압 농축시킨 후 각각 냉동건조함초(freeze-dried *Salicornia herbacea* L., FSH)는 6.9 g, 냉풍건

조함초(cold-dried *Salicornia herbacea* L., CSH)는 5.7 g의 시료를 얻었다.

#### 4. 세포 배양

본 실험에 사용한 C6 glioma 세포의 배양은 Kim 등(2006)의 방법에 의하여 배양용기에 부착된 세포를 0.025% trypsin을 사용하여 배양용기로 부터 세포를 분리하였다. 분리된 세포는 10% fetal bovine serum (FBS, Gibco Co., USA)이 함유된 MEM 배양액에 넣은 후  $1 \times 10^5$ 이 되도록 세포수를 계산한 다음 배양용기에 심었다. 배양용기에 심어진 세포들은 72시간 동안 36°C, 5% CO<sub>2</sub>로 조절된 항온기 내에서 배양 후 실험에 사용하였다.

#### 5. H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>의 처리

배양 중인 C6 glioma 세포에 5 μM에서 50 μM까지의 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 농도를 각각 8시간 동안 처리한 다음 이의 영향을 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>를 처리하지 않은 대조군과 세포생존율을 비교하여 조사하였다.

#### 6. 함초추출물의 처리

H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>에 대한 함초추출물의 영향을 조사하기 위하여 배양된 C6 glioma 세포에 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>를 처리하기 2시간 전에 냉동건조 함초추출물이 각각 50 μg/mL와 100 μg/mL로 포함된 배양액에서 배양한 다음 이의 영향을 세포생존율에 의하여 대조군과 비교 조사하였다.

#### 7. 세포생존율(cell viability) 측정

세포생존율 측정은 Mosmann (1983)의 방법에 따라 행하였다. 즉, 배양 중인 C6 glioma 세포에 여러 농도의 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>나 함초추출물을 각각 배양 세포에 처리한 다음, 실험 전날 제조한 XTT, 50 μg/mL를 well당 100 μL씩 넣은 후 4시간 동안 배양하였다. 배양완료 후 DMSO로 처리한 다음 ELISA reader를 이용하여 450 nm에서 흡광도를 측정하였다.

#### 8. 전자공여능(DPPH-radical scavenging activity) 측정

전자공여능의 측정은 Blois (1958)의 방법에 따라 행하였다. 즉, 함초추출물을 메탄올에 농도별로 조제한 시료용액에 0.3 mM DPPH 메탄올용액 100 μL를 첨가하여 실온에서 30

분간 처리하였다. 처리가 완료된 후 ELISA reader를 이용하여 517 nm에서 흡광도를 측정하였다. 전자공여능은 시료를 첨가하지 않은 대조군의 흡광도를 50% 감소시키는 데에 필요한 시료의 양을 RC<sub>50</sub> (50% reduction concentration)으로 하여 나타냈으며, 이의 양성대조군으로는 butylated hydroxytoluene (BHT)을 사용하였다. 또한, 시료첨가군과 시료무첨가군간의 차이를 시료무첨가군에 의한 백분율로 나타냈다.

#### 9. 통계처리

실험 자료에 대한 유의성 검정은 Student's t-test로 하였으며 p-value가 0.05 미만의 경우를 유의한 것으로 하였다.

### 결 과

#### 1. 세포생존율 XTT<sub>90</sub> 측정

H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>에 대한 세포생존율을 조사하기 위하여 5 μM, 25 μM, 35 μM 농도의 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>를 각각 배양세포에 처리한 결과 5 μM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>의 처리에서는 대조군인 100% (0.30±0.01)에 비하여 90.0% (0.27±0.03)로 나타났으며, 25 μM의 처리에서는 60.0% (0.18±0.02)로 나타났다. 또한, 35 μM의 처리에서는 세포생존율이 56.7% (0.17±0.05)로 나타나 이는 대조군에 비하여 유의한 감소를 보였다(p<0.01). 이와 같은 처리과정 중 XTT<sub>90</sub>값은 5 μM의 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 처리에서 나타났다 (Table 1).

**Table 1.** The effect of hydrogen peroxide on cell viability in cultured C6 glioma cells

Treatment	XTT assay (450 nm)	
	Mean±SD	(% of control)
Concentration of H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> (μM)		
Control	0.30±0.01	100
5	0.27±0.03	90.0
25	0.18±0.02	60.0
35	0.17±0.05	56.7*
XTT <sub>90</sub>	0.27±0.03	90.0

C6 glioma cells were treated with 5, 25 and 35 μM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> for 8 hours. The data indicate the mean±SD for triplicate experiments. Significantly different from the control. \*p<0.01

### 2. 세포생존율 XTT<sub>50</sub> 측정

H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>의 XTT<sub>50</sub> 값을 측정하기 위하여 20 μM, 30 μM, 50 μM 농도의 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>를 각각 배양세포에 처리한 결과 20 μM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>의 처리에서는 대조군인 100% (0.28±0.03)에 비하여 85.7% (0.24±0.01)로 나타났으며, 30 μM의 처리에서는 50.0% (0.14±0.09)로 나타나 대조군에 비하여 유의한 감소를 나타냈다(p<0.01). 또한, 50 μM의 처리에서는 세포생존율이 17.9% (0.05±0.006)로 나타나 대조군에 비하여 유의한 감소를 보였다(p<0.001). 이러한 처리과정 중 XTT<sub>50</sub> 값은 30 μM의 처리에서 나타났다(Table 2).

**Table 2.** The effect of hydrogen peroxide on cell viability in cultured C6 glioma cells

Treatment	XTT assay (450 nm)	
Concentration of H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> (μM)	Mean±S.D	(% of control)
Control	0.28±0.03	100
20	0.24±0.01	85.7
30	0.14±0.09	50.0*
50	0.05±0.006	17.9 <sup>†</sup>
XTT <sub>50</sub>	0.14±0.09	50.0*

C6 glioma cells were treated with 20, 30 and 50 μM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> for 8 hours. The data indicate the mean±SD for triplicate experiments. Significantly different from the control. \*p<0.01, <sup>†</sup>p<0.001

### 3. H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>에 대한 냉동건조함초(FSH) 추출물의 영향

H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>에 대한 FSH 추출물의 영향을 알아보기 위하여 FSH 추출물이 각각 50 μg/mL와 100 μg/mL의 농도로 각각 포함된 배양액에서 세포를 전 처리한 결과 XTT<sub>50</sub> 농도의 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>만의 처리에서는 세포생존율이 대조군인 100% (0.16±0.08)에 비하여 31.3% (0.05±0.004)로 나타난데 비하여 50 μg/mL FSH 추출물의 처리에서는 37.5% (0.06±0.005)로 나타났다. 또한, 100 μg/mL와의 처리에서는 56.3% (0.09±0.007)로 나타나 이는 XTT<sub>50</sub> 농도의 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>만의 처리에 비하여 유의한 세포생존율의 증가를 나타냈다(p<0.05) (Table 3).

**Table 3.** The effect of freeze dried *Salicornia herbacea* L. (FSH) extract on cultured C6 glioma cells damaged by hydrogen peroxide

Concentration	XTT assay(450 nm)	
	FSH extract (μg/mL)	Mean±SD (% of control)
Control		0.16±0.08 100
XTT <sub>50</sub> (H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> )		0.05±0.004 31.3
50		0.06±0.005 37.5
100		0.09±0.007 56.3*

C6 glioma cells were pretreated with 50 μg/mL and 60 μg/mL FSH extract for 2 hours. The data indicate the mean±SD for triplicate experiments. Significantly different from the positive control (XTT<sub>50</sub> H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>). \*p<0.05

### 4. 냉동건조함초(FSH) 추출물의 전자공여능(DPPH-radical scavenging activity) 측정

FSH 추출물의 전자공여능을 측정하기 위하여 25-100 μg/mL의 시료를 분석한 결과 25 μg/mL 농도에서는 전자공여능이 대조군에 비하여 67.9% (p<0.01)로 나타났으며, 50 μg/mL와 100 μg/mL의 농도에서는 각각 83.4%와 92.8%로 나타나 이는 모두 대조군에 비하여 유의한 증가를 나타냈다(p<0.001). 특히, 100 μg/mL의 농도의 FSH 추출물에서는 양성대조군인 BHT의 전자공여능과 거의 유사한 값을 나타냈다(Table 4).

**Table 4.** The DPPH-radical scavenging activity of freeze dried *Salicornia herbacea* L.(FSH) determined at a wavelength of 517 nm

Concentration of FSH extract (μg/mL)	DPPH-radical scavenging activity (517 nm)
	% of control
Control	0
100 μM BHT	98.2±9.7 <sup>†</sup>
25	67.9±7.5*
50	83.4±6.3 <sup>†</sup>
100	92.8±8.4*

BHT (butylated hydroxytoluene) was used as positive control. The data indicate the mean±SD for triplicate experiments. Significantly different from the control. \*p<0.01, <sup>†</sup>p<0.001

**5. 냉풍건조함초(CSH) 추출물의 전자공여능(DPPH-radical scavenging activity) 측정**

CSH 추출물의 전자공여능을 측정하기 위하여 25-100 µg/mL의 시료를 분석한 결과 25 µg/mL 농도에서는 전자공여능이 대조군에 비하여 1.8%로 나타났으며, 25 µg/mL에서는 3.9%로 나타났다. 또한 100 µg/mL의 농도에서는 9.7%로 나타나 이는 대조군에 비하여 유의한 증가를 보였다( $p < 0.05$ ). 특히, 100 µg/mL의 농도에서는 양성대조군인 BHT의 전자공여능 값의 약 1/10값을 나타냈다(Table 5).

**Table 5.** The DPPH-radical scavenging activity of cold dried *Salicornia herbacea* L. (CSH) determined at a wavelength of 517 nm

Concentration of CSH extract (µg/mL)	DPPH-radical scavenging activity (517 nm)
	% of control
Control	0
100 µM BHT	98.2±9.7 <sup>†</sup>
25	1.8±0.06
50	3.9±0.2
100	9.0±0.7*

BHT (butylated hydroxytoluene) was used as positive control. The data indicate the mean±SD for triplicate experiments. Significantly different from the control. \* $p < 0.05$ , <sup>†</sup> $p > 0.001$

**고 찰**

함초(*Salicornia herbacea* L., SH)는 명아주과(*Chenopodiaceae*)에 속하는 일년생 초본식물로서 8-9월에 개화하여 9-10월에 결실을 맺는 식물이다(최, 2008). 함초는 주근깨를 비롯한 기미, 여드름과 같은 피부질환에도 효과적이며 또한 고혈압이나 관절염 및 축농증과 같은 염증성질환에도 유효한 치료효과를 나타낸다고 알려져 있다(최, 2008). 그 밖에도 함초는 항균이나 항암, 항산화와 같은 다양한 생리활성을 나타낸다고 제시된 바 있다. 따라서 본 연구에서는 순천만에 자생하고 있는 함초 추출물의 생리활성을 항산화 측면에서 조사하기 위하여 활성산소의 일종인 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>를 배양

C6 glioma 세포에 처리한 후 함초 추출물의 영향을 조사하였다. 이를 위하여 먼저, 배양 C6 glioma 세포에 대한 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>의 세포독성을 세포생존율에 의하여 조사하였다. 그 결과 5-50 µM농도의 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>가 각각 포함된 배양액에서 C6 glioma 세포를 8시간 동안 처리한 결과 처리농도에 의존적으로 세포생존율을 감소시켰으며, 특히, 30-50 µM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>의 처리에서 대조군에 비하여 유의한 세포생존율의 감소를 나타냈다( $p < 0.001$ ). 이 과정에서 XTT<sub>90</sub>과 XTT<sub>50</sub>값은 각각 5 µM과 30 µM의 농도에서 나타났다. Borenfreund와 Puerner (1984)는 모든 화학제의 세포독성을 XTT<sub>50</sub>이나 MTT<sub>50</sub> 값이 100 µM 이하이면 고독성(highly-toxic)으로, 100-1,000 µM이면 중간독성으로, 1,000-2,000 µM이면 저독성으로, 2,000 µM 이상이면 무독성으로 각각 판정하였다. 따라서 본 연구에서는 XTT<sub>50</sub> 값이 30 µM에서 나타남으로서 고독성인 것으로 나타났다. 이와 같은 결과는 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>가 배양 C6 glioma 세포에 강한 독성효과를 가지고 있음을 말해주고 있으며 이는 Ha 등(2007)이 배양 인체피부 흑색종 세포에 대한 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>의 세포독성을 보고한 연구결과와 일치하였다. 본 실험에서와 같이 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>가 세포독성을 나타낸 것은 아마도 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>가 세포내 DNA나 RNA와 같은 핵산물질의 합성억제나 또는 단백질합성계에 영향을 미침으로서 세포손상을 나타냈을 가능성을 배제할 수는 없지만(Loft 등, 1994; Tsou 등, 1999), 그 보다는 이의 산화적 손상(oxidative stress)에 의하여 세포내 superoxide dismutase (SOD)나 catalase와 같은 항산화효소의 활성을 억제하였거나 또는 세포내로 들어간 ROS가 항산화효소에 의하여 미처 처리되지 못하고 세포손상을 유발하였을 가능성이 클 것으로 생각된다(Ju 등, 2006; 최, 2008).

한편, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>에 대한 FSH 추출물의 영향을 조사하기 위하여 50 µg/mL와 100 µg/mL의 FSH추출물을 XTT<sub>50</sub>농도의 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>를 처리하기 2시간 전에 처리한 결과 모두 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>만의 처리에 비하여 세포생존율을 증가시켰으며, 특히 100 µg/mL의 농도에서는 유의한 증가를 나타냈다( $p < 0.05$ ). 본 연구 결과는 FSH 추출물이 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>의 산화적 손상을 방어함으로써 세포생존율을 증가한 결과로 생각되며, 이는 또한 FSH 추출물이 항산화작용이 있다는 것을 제시하고 있다. 따라서 본 연구에서는 SH 추출물에 대한 항산화효과를 알아보기 위하여 FSH 추출물과 CSH 추출물의 전자공여능(DPPH-radical

scavenging activity)을 조사하였다. 그 결과 FSH 추출물은 25–100  $\mu\text{g/mL}$ 의 처리 모두에서 대조군에 비하여 유의한 증가를 나타냈다( $p < 0.001$ ). 특히, 100  $\mu\text{g/mL}$ 의 농도에서는 활성이 92.8% ( $p < 0.001$ )로 나타나 이는 양성대조군으로 사용한 BHT의 전자공여능 98.2% ( $p < 0.001$ )에 거의 비슷한 값을 나타냈다. 한편, CSH 추출물의 전자공여능 조사에 있어서, CSH 추출물 25–50  $\mu\text{g/mL}$  처리농도에서는 대조군에 비하여 다소 증가하는 경향을 보였으나 특히, 100  $\mu\text{g/mL}$  농도 처리에서는 유의한 증가를 나타냈다( $p < 0.05$ ). 이와 같은 결과는 FSH 추출물이나 CSH 추출물이 모두 자유기 제거능을 나타냄으로서 항산화 효과를 가지고 있음을 말해 주고 있다. 그러나 식물의 천연물성분에 대한 항산화측면에서의 생리활성에 대한 기전규명을 위하여서는 산화적 손상과 관련이 깊은 세포내 신호전달계나 수용체와 연관하여 생리 또는 약리와 같은 분야에서 종합적으로 연구가 이루어져야 할 것으로 생각된다.

### 참고문헌

- Blois MS. Antioxidant determination by the use of a stable free radical. *Nature*. 1958, 26:1199–1200.
- Borenfreund E, Puerner JA. A simple quantitative procedure using monolayer culture for cytotoxicity assay (HTD/NR-90). *J Tiss Cult Meth*. 1984, 9:7–9.
- Gates MA, Tworoger SS, Hecht JL, De Vivo I, Rosner B, Hankinson SE. A prospective study of dietary flavonoid intake and incidence of epithelial ovarian cancer. *Int J cancer*. 2007, 21(10):2225–2232.
- Gersberg RM, Elkins BV, Yon SR, Goldman CR. Role of aquatic plants in waste water treatment by artificial wetlands. *Water Res*. 1986, 20:363–368.
- Ha DH, Choi YS, Yoo SM. Effect of Vanillic Acid on the Cell Viability and Melanogenesis in Cultured Human Skin Melanoma Cells Damaged by ROS-Induced Cytotoxicity. *Kor J Biomed Labor Sci*. 2007, 13(4):349–354.
- Ju JC, Shin JH, Lee SJ, Cho HS, Sung NJ. Antioxidant activity of hot water extracts from medicinal plants. *J Kor Soc Food Sci Nutr*. 2006, 35:7–14.
- Kang SM, Oh KH, Kang HY. Physiological Characterization of BTEX Dacteria Microbacterium sp. EMB-1 and Rhodococcus sp. EBM-2 Isolated from Reed rhizosphere of suncheon Bay. *Kor J Microbiol Biotechnol*. 2005, 33(3):169–177.
- Kim KB, Yoo KH, Park HY, Jeog JM. Anti-oxidative activities of commercial edible plant extracts distributed in Korea. *J Kor Soc Appl Biol Chem*. 2006, 49:328–333.
- Krizkova L, Nagy M, Polonyi J, Dobias J, Belicova A, Grancai D, Krajcovic J. Phenolic acids inhibit chloroplast mutagenesis in *Euglena gracilis*. *Mutat Res*. 2000, 469(1):107–114.
- Lavid N, Schwartz A, Yarden O, Tel-Or E. The involvement of polyphenols and peroxidase activities in heavy-metal accumulation by epidermal glands of the waterlily (*Nymphaeaceae*). *Planta*. 2001, 212:323–331.
- Lee MS, Hong SK, Lee DH, Kim CK, Bae KS. Bacterial diversity in the mud flat of Suncheon bay, Chunnam province by 16S rRNA gene analysis. *Kor J Microbiol*. 2001, 37:137–144.
- Lee SH, Hwang IG, Nho ZW, Chang YD, Lee CH, Woo KS, Jeong HS. Quality characteristics and antioxidant activity of *Chrysanthemum indicum*, *L.*, *Chrysanthemum boreale* *M* and *Chrysanthemum zawadskii* *K*. powdered teas. *J Kor Soc Food Sci Nutr*. 2009, 38:824–831.
- Lee SE, Sung JS, Jang IB, Kim GS, Ahn GH, Han HS, Kim JE, Kim YO, Park CB, Cha SW, Ahn YS, Park HK, Bang JK, Seong NS. Investigation on antioxidant activity in plant resources. *J Med Crop Sci*. 2008, 16:356–370.
- Leung HW, Lin CJ, Hour MJ, Yang WH, Wang MY, Lee HZ. Kaempferol induces apoptosis in human lung non-small carcinoma cells accompanied by an induction of antioxidant enzymes. *Food Chem Toxicol*. 2007, 45(10): 2005–2013.
- Loft S, Astrup A, Buemann B, Poulsen HE. Oxidative DNA damage correlates with oxygen consumption in humans. *FASEB J*. 1994, 8:534–537.
- Michikawa M, Lim KT, McLarnon JG, Kim S: Oxygen radical induced neurotoxicity in spinal cord neuron cultures. *J Neurosci Res*. 1994, 37:62–70.
- Mosmann T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival : Application to proliferation and cytotoxic assays. *J Immunol Methods*. 1983, 65:55–63.
- Park ST, Lim KT, Chung YT, Kim SU. Methylmercury-induced neurotoxicity in cerebral neuron culture is blocked by anti-oxidants and NMDA receptor antagonists. *Neurotoxicol*. 1996, 17:37–46.
- Tsou TC, Lai HJ, Yang JL. Effects of mannitol or catalase on the generation of reactive oxygen species leading to DNA damage by chromium(VI) reduction with ascorbate. *Chem Res Toxicol*. 1999, 12(10):1002–1009.
- Velioglu YS, Mazza G, Cao L, Oomah BD. Antioxidant activity and total phenolics in selected fruits, vegetables, and grain products. *J Agric Food Chem*. 1998, 46:4113–4117.
- Woo JH, Shim SL, Chang YD, Lee CH. Screening for Antioxidant Effects of Part Extracts Obtained from Sixteen Composi-

- tae Species, *Flower Res J*. 2009, 17(4):271–278.
22. Yamamoto M, Scima T, Uozumi T, Yamada K, Kawasaki T. A possible role of lipid peroxidation in cellular damages caused by cerebral ischemia and protective effect of alpatocopherol administration. *Stroke*. 1983, 14:977–982.
23. Yoon MY, Lee BB, Kim JY, Kim YS, Park EJ, Lee SC, Park HR. Antioxidant activity and neuroprotective effect of *Psoralea corylifolia* Linne extracts. *Kor J Pharmacogn*. 2007, 38:84–89.
24. 최진규. 약이 되는 우리풀·꽃·나무. 2008, p60–76, 한문화 멀티미디어, 서울.
25. 최양수. 약이 되는 산야초 108 가지. 2008, p150–152, 하남출판사, 서울.