

주요 생태계 교란 외래식물의 생리활성 비교 평가 및 유효성분

김소진¹, 김민건¹, 부경환², 김창숙^{2*}

¹제주대학교 생명공학부, 대학원생, ²교수

Comparative Evaluation of Biological Activities and Active Compounds of Some Invasive Alien Plants

So Jin Kim¹, Min Gun Kim¹, Kyung-Hwan Boo² and Chang Sook Kim^{2*}

¹Graduate Student and ²Professor, Faculty of Biotechnology, Jeju National University, Jeju 63243, Korea

Abstract - To evaluate functional biomaterials of 5 invasive alien plants, total polyphenol and flavonoid contents, antioxidant activity, anti-inflammatory activity, and antibacterial effect were measured. The total polyphenol and flavonoid contents of the extracts were in the order of *Rumex acetosella* L. > *Hypochaeris radicata* L. ≥ *Lactuca scariola* L. > *Humulus japonicus* Siebold & Zucc. ≥ *Solanum viarum* Dunal. The DPPH and ABTS radical scavenging activities of the extract were the highest in *R. acetosella* and correlated well with the total polyphenol contents. In RAW 264.7 cells stimulated with lipopolysaccharide (LPS), nitric oxide (NO) and prostaglandin E₂ (PGE₂) production inhibitory effect of the extracts (100 μg SE/mL) were 20~60% and 10~70%, respectively, showing the highest inhibitory effect in *R. acetocella*. The extracts of *R. acetosella*, *H. japonicus* and *S. viarum* showed antibacterial activity against food poisoning-causing microorganisms such as *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Vibrio parahaemolyticus* and *Vibrio vulnificus*. Furthermore, the *H. japonicus* extract was found to have effective antibacterial activity against oral microorganisms such as *Enterococcus faecalis*, *Lactocaseibacillus casei*, *Rothia dentocariosa*, *Staphylococcus epidermidis* and *Streptococcus mutans*, and its major active ingredients were predicted to be pentadecylic acid, palmitic acid and clionasterol. These results suggest that alien plants have potential as biomaterials with antioxidant, anti-inflammation and antibacterial effects.

Key words – Alien plant, Antibacterial effect, Anti-inflammation, Antioxidant

서 언

생태계 교란 생물종은 외국에서 유입된 생물종 중에 기존 자생생물의 서식 환경에 위해를 주는 동·식물을 말한다. 생물다양성 보전 및 이용에 관한 법률에 따라 생태계 교란 생물종은 ‘유입주의 생물 및 외래생물 중 생태계의 균형을 교란하거나 교란할 우려가 있는 생물’로 정의하고 있다(KLIC, 2021). 한국에서는 환경부 고시에 따라 총 30종의 생물이 생태계 교란 종으로 지정되어 있으며, 그중 식물은 돼지풀(*Ambrosia artemisiifolia* L.), 서양금혼초(*Hypochaeris radicata* L.), 환삼덩굴(*Humulus japonicus* Siebold & Zucc.) 등 총 16종이 있다(KLIC, 2021).

생태계 교란 외래식물들은 도로, 하천, 밭 등에 주로 서식하

면서 빠른 번식력과 타 식물의 성장을 억제하는 타감작용(allopathy)을 하여 식물의 다양성을 저해시킨다(Lee *et al.*, 2021; Kang *et al.*, 2022; Kim *et al.*, 2022). 또한, 돼지풀과 환삼덩굴 등은 다량의 꽃가루를 발생시켜 사람들에게 알레르기를 일으키는 등의 피해도 야기시키고 있다(Choi *et al.*, 2010a; 2020). 이에 국내 생물다양성을 저해시키고 알레르기를 유발하는 등 사람들에게 피해를 주는 외래식물에 대한 생태특성 및 관리방안에 대한 연구가 지속적으로 늘어나고 있다(Kim *et al.*, 2013; 2020). 더불어 생태계 교란 식물의 이용성을 증가시키는 자원화 방안에 대한 연구도 다양하게 이루어지고 있다(Sim *et al.*, 2022). 예컨대, 환삼덩굴의 한약재 및 식품으로서의 연구(Hur *et al.*, 2003; Ryu, 2017) 등이 이루어졌고, 서양금혼초에 대해서는 항암 활성(Bohlmann and Bohlmann, 1980) 뿐만 아니라 미백 및 항균 활성(Lee *et al.*, 2005; Maruta *et al.*, 1995)에 대

*교신저자: E-mail cskim1225@jejunu.ac.kr
Tel. +82-64-754-3344

한 연구도 이루어지는 등 생태계 교란 식물의 이용성을 증가시키기 위한 연구들이 지속적으로 추진되고 있다.

한편, 환경부 지정 생태계 교란 외래식물 16종 중 돼지풀, 서양금혼초, 환삼덩굴을 비롯하여 가시박(*Sicyos angulatus* L.), 도깨비가지(*Solanum carolinense* L.), 미국쭈부쟁이(*Aster pilosus* Willd.), 물참새피(*Paspalum distichum* L.), 서양등골나물(*Eupatorium rugosum* Houtt.), 애기수영(*Rumex acetosella* L.), 양미역취(*Solidago altissima* L.), 털물참새피(*Paspalum distichum* L. var. *indutum* Shinners) 등 11종은 제주지역에 유입된 것으로 알려져 있고, 최근에는 가시상추(*Lactuca scariola* L.)와 왕도깨비가지(*Solanum viarum* Dunal) 서식지도 폭넓게 확산되고 있다. 특히, 도깨비가지와 유사한 왕도깨비가지는 2000년에 서귀포시 안덕면 일대 초지에서 처음 발견되었으며, 국내에서는 제주지역에만 분포하고 있다(Kim *et al.*, 2011). 이와 같은 외래식물들은 주택가, 도로변, 공한지를 비롯해 중간간초지 등에서 서식할 뿐만 아니라 꽃자왈 지역으로도 대량 확산되고 있어서 제주 고유의 자연 생태계에 악영향을 미치고 있다(Yang and Kim, 2002). 이렇듯, 제주지역에서도 생태계 교란 외래식물의 유입으로 제주 생물종다양성 보전에 큰 위협이 초래되고 있어 외래식물의 관리방안 마련이 시급한 실정인데, 이를 위해서는 관리대상 외래식물의 이화학적 특성 및 생리활성 분석 등을 통한 자원화 가능성 검토 연구가 우선 선행되어야 할 것이다.

본 연구는 제주지역에서 대량 발생하고 있는 생태계 교란 외래식물의 이용성을 증가시키기 위한 일환으로서 우선 외래식물의 활용에 필요한 정보 제공을 위하여 외래식물 5종(가시상추, 서양금혼초, 애기수영, 왕도깨비가지, 환삼덩굴)을 대상으로 총 페놀 및 플라보노이드 함량, 항산화, 항염증 및 항균 활성 측정과 더불어 용매 분획물의 항균 활성 및 유효성분을 조사하여 기능성 바이오소재로서의 활용 가능성을 확인하고자 하였다.

재료 및 방법

식물재료

실험에 이용한 재료는 제주특별자치도 제주시 및 서귀포시 일원에서 2022년 4월부터 8월 사이에 채집한 5종의 외래식물체 [가시상추: 제주시 영평동(2022년 8월 31일 채집), 서양금혼초: 남원읍 신례리(2022년 4월 19일 채집), 애기수영: 안덕면 동광리(2022년 5월 17일 채집), 왕도깨비가지: 대정읍 화순리(2002년 8월 5일 채집), 환삼덩굴: 대정읍 인성리(2022년 5월 14일 채집)]이며, 채집한 각 식물체의 전초를 음지에서 자연건조 시킨

후 마쇄기로 분쇄하여 미세 분말화 한 다음에 4℃에 보관하면서 추출용 시료로 사용하였다. 채집한 시료는 (사)제주자연생태해설사협회 고성돈 박사의 식물학적 동정을 거쳤으며, 각각의 식물체 표본은 제주대학교 생명자원과학대학 천연물화학연구실에 보관하고 있다(Table 1).

추출물 및 용매 분획물 제조

각각의 외래 식물체 분말시료(20 g)를 70% 에탄올을 이용하여 상온에서 24시간 동안 3회 침출한 후 감압농축(Laborata 4000, Heidolph, Schwabach, Germany)하고 동결건조(Hyper-COOL HC3055, Gyrozen, Gimpo, Korea)하여 에탄올 추출물에 대한 고형분(solid extract, SE)을 제조하였다. 용매 분획물은 상기 방법으로 에탄올 추출물을 제조하여 감압농축한 다음, 증류수로 400 mL가 되도록 하고, 동량의 n-hexane, ethyl acetate, butanol로 순차적으로 분획하여 제조하였다. 각각의 분획물(수용액 분획 포함)에 대한 고형분은 감압농축 및 동결건조 과정을 거쳐 제조하였으며, 제조된 고형분들은 -20℃에서 보관하면서 사용하였다.

항산화물질 및 항산화 활성 측정

항산화물질 및 항산화 활성 측정용 시료용액은 고형분을 dimethyl sulfoxide (DMSO)로 용해하여 10 mg SE/mL 농도의 저장용액을 제조한 후 일정 수준 희석하여 사용하였다.

총 폴리페놀 화합물의 함량 측정은 Folin and Denis (1912) 방법을 참고하였다. 시료용액 100 μ L를 증류수 400 μ L와 혼합한 다음, 1 N Folin-Ciocalteu 시약 200 μ L를 가하여 혼합한 후 암소에서 3분간 반응시켰다. 여기에 10% Na_2CO_3 용액 300 μ L를 가하여 혼합한 후 암소에서 30분간 반응시켰다. 반응액을 96 well-plate에 200 μ L씩 옮긴 후 microplate spectrophotometer (Thermo scientific, MA, USA)를 이용하여 750 nm에서 흡광도를 측정하였다. 표준검량선은 gallic acid를 사용하여 농도별 표준용액에 대한 흡광도로 작성하였으며, 총 폴리페놀 함량은 건조시료 g 당 mg gallic acid equivalent (mg GAE/g DW)로 표기하였다.

총 플라보노이드 함량은 Moreno *et al.* (2000)의 aluminum chloride 방법을 응용하여 측정하였다. 시료용액 40 μ L를 96 well-plate에 옮기고 증류수 140 μ L와 혼합한 후, 여기에 10% AlCl_3 용액 20 μ L를 가하여 암소에서 10분간 반응한 후 410 nm에서 흡광도를 측정하였다. 표준검량선은 quercetin을 사용하여 농도별 표준용액에 대한 흡광도로 작성하였으며, 총 플라보노이드 함량은 건조시료 g 당 mg quercetin equivalent (mg QE/g

Table 1. Collection information and voucher number for 5 foreign invasive plants

Scientific name	Collecting site	Collecting date	Voucher number	Storage place
<i>Humulus japonicus</i> Siebold & Zucc.	Inseong-ri Daejeong-eup	May 2022	2022-VN-026	Natural Product Chemistry Lab., College of Applied Life Sciences, Jeju National University
<i>Hypochaeris radicata</i> L.	Sinrye-ri Namwon-eup	April 2022	2022-VN-024	
<i>Lactuca serriola</i> L.	Yeongpyeong-dong Jeju city	August 2022	2022-VN-030	
<i>Rumex acetosella</i> L.	Donggwang-ri Andeok-myeon	May 2022	2022-VN-025	
<i>Solanum viarum</i> Dunal	Hwasun-ri Daejeong-eup	August 2022	2022-VN-031	

DW)로 표기하였다.

항산화 활성은 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) 라디칼 소거활성 법으로 Blois (1958)의 방법에 준하여 측정하였다. DPPH 라디칼 소거활성은 시료용액 40 μ L에 0.3 mM DPPH 용액 160 μ L를 가하여 혼합하고, 암소에서 30분간 반응시킨 다음 517 nm에서 흡광도를 측정하여 산출하였다. 2,2-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonate)(ABTS) 라디칼 소거활성 측정은 Re *et al.* (1999)의 방법에 따라 다음과 같이 측정하였다. 분석에 사용한 ABTS 용액은 7.4 mM ABTS 용액과 2.6 mM potassium persulfate 용액을 혼합하여 14시간 동안 암실에 방치하여 ABTS 양이온을 형성시킨 후 734 nm의 흡광도 값이 0.7 ± 0.001 범위가 되도록 조절하여 사용하였다. ABTS 라디칼 소거활성은 시료용액 10 μ L를 96 well-plate에 옮기고 ABTS 용액 190 μ L와 혼합한 후, 암실에서 30분간 반응시킨 다음, 734 nm에서 흡광도를 측정하여 산출하였다. 각 시료의 DPPH 및 ABTS 라디칼 소거활성은 아래 식에 의해 계산하여 백분율(%)로 나타내었다.

$$\text{DPPH 또는 ABTS 라디칼 소거활성(\%)} = [1 - (\text{시료의 흡광도} / \text{대조구의 흡광도})] \times 100$$

항염증 활성 측정

세포배양 및 세포독성 측정

Murine macrophage cell line인 RAW 264.7 세포(ATCC, Virginia, USA)는 10% fetal bovine serum (FBS; Gibco, NY, USA)을 포함한 Dulbecco's modified Eagle medium (DMEM) 배지(0.1% penicillin-streptomycin 함유)를 사용하여 37°C, 5% CO₂ 조건에서 배양하였다. 배지는 2일마다 교체하였으며, 세포가 80% 이상 증식하였을 때 계대배양 하였다. RAW 264.7 세포에 대한 추출물 시료의 세포독성 평가는 EZ-CYTOX cell viability assay kit (DAEIL LAB, Seoul, Korea)를 이용하여 제조사의 실험방법에 준하여 측정하였다. RAW 264.7 세포를 최

종농도 2.5×10^5 cells/mL가 되도록 48 well-plate에 분주한 후 37°C, 5% CO₂ 조건에서 18시간 배양한 다음, 시료(50~200 μ g SE/mL)와 lipopolysaccharide (LPS, 1 μ g/mL)를 동시에 처리하여 24시간 배양하였다. 배양이 끝난 후 세포 배양 배지를 EZ-CYTOX 시약이 5% 함유된 DMEM 배지로 교체하고, 30분 후 이의 흡광도를 450 nm에서 측정하였다.

NO 생성 억제 활성 측정

LPS로 자극된 RAW 264.7 세포에서 생성되는 nitric oxide (NO)의 양은 Griess 시약을 사용하여 세포배양액 중에 존재하는 NO₂⁻의 형태로 측정하였다(Yang *et al.*, 2019). RAW 264.7 세포를 10% FBS가 첨가된 DMEM 배지를 이용하여 2.5×10^5 cells/mL로 조절한 후 48 well-plate에 접종하고, 37°C, 5% CO₂ 조건에서 18시간 배양한 다음, 시료(50~100 μ g SE/mL)와 LPS (1 μ g/mL)를 동시에 처리하여 24시간 동안 배양하였다. 세포배양 상등액 100 μ L와 Griess 시약 100 μ L를 혼합하여 96 well-plate에서 10분 동안 암반응시킨 후 540 nm에서 흡광도를 측정하였다.

PGE₂ 생성 억제 활성 측정

상기 NO 생성 억제 활성 측정과 동일한 방법으로 RAW 264.7 세포에 시료를 처리하였으며, 세포에서 생성되는 prostaglandin E₂ (PGE₂) 함량은 ELISA kit (R&D Systems Inc., Minneapolis, MN, USA)를 이용하여 정량하였다. 이때 standard에 대한 표준 검량선의 r² 값은 0.99 이상이었다(Yang *et al.*, 2019).

항균 활성 측정

미생물 배양

외래식물 추출물 대상 항균 활성 시험에 이용한 미생물은 식중독 유발 미생물 및 구강 충치 유발 미생물로서 Table 2와 같으며, 농촌진흥청 씨앗은행(KACC)과 한국생명공학연구원 생물자원센터(KCTC)에서 각각 분양받아 사용하였다. 각각의 균주는 Luria-Bertani (LB), Tryptic soy broth (TSB), Lactobacilli

Table 2. List of microbial strains used for antibacterial activity test

	Strain	No.	Media
Food poisoning bacteria	<i>Bacillus subtilis</i>	KACC 10854	Luria-Bertani
	<i>Escherichia coli</i>	KACC 14818	Luria-Bertani
	<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	KACC 15069	Trypticase soy broth
	<i>Vibrio vulnificus</i>	KACC 15317	Luria-Bertani
Oral microorganism	<i>Enterococcus faecalis</i>	KACC 13807	Lactobacilli MRS broth
	<i>Lactocaseibacillus casei</i>	KACC 12413	Lactobacilli MRS broth
	<i>Rothiadentocariosa</i>	KCTC 3204	Trypticase soy broth
	<i>Streptococcus mutans</i>	KACC 16833	Luria-Bertani
	<i>Streptococcus sobrinus</i>	KCTC 5809	Trypticase soy broth
	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	KACC 13234	Luria-Bertani

MRS broth 등의 균주 배양용 배지를 이용하여 37°C, 120 rpm의 진탕배양 조건에서 3회 계대 배양 후 실험에 사용하였다.

항균 활성 측정

각각의 미생물에 대한 외래식물 추출물의 항균 활성 측정은 디스크 확산법(paper disc agar diffusion)을 이용하였다(Bauer *et al.*, 1966). 각 배지에서 배양한 균액을 멸균 식염수(0.85% NaCl)로 희석하여 균체를 1×10^6 cfu/mL 농도로 일정하게 희석하였다. 이 균체 200 μ L를 평판배지 위에 골고루 도말하였으며, 각각의 시료용액(100 mg SE/mL)을 10 mm paper disc (Advantec, CA, USA)에 50 μ L씩 흡수 건조시킨 후 평판 배지 도면 위에 올려놓은 다음, 37°C배양기에서 18시간 배양한 후 디스크 주변에 생성된 억제 환(inhibition zone)의 직경(mm)을 측정하였다.

유효성분 분석

항균활성 분석의 유효성분은 gas chromatography-mass spectrometer (GC-MS)를 이용하여 분석하였다. GC-MS 분석은 Shimadzu 사의 QP-2010 plus (Japan)을 사용하여 수행하였다. 컬럼은 HP-5MS (30 m length, 0.25 μ m diameter, 0.25 μ m thickness)를 사용하였으며, 오븐온도는 150°C/2분-(2°C/분)-210°C/2분-(5°C/분)-300°C/8분으로 승온하면서 분석하였다. Carrier gas는 헬륨을 사용하였으며, total flow는 1 mL/min로 하였다. Injector의 온도는 230°C, interface 온도는 250°C, ion source 온도는 230°C로 설정하였다. GC-MS 분석을 통하여 검출된 피크의 화합물 동정은 Willey 9 library database를 이용하여 수행하였고, library와 유사도가 80% 이상인 화합물만 동정하였다.

통계분석

모든 실험은 3~5회 반복하여 평균±표준편차(mean±SD)로 나타냈으며, 각 실험군 간의 유의성은 통계분석용 소프트웨어 SPSS Statistics 20(IBM, NY, USA)을 이용하여 일원분산분석(one-way ANOVA) 및 최소유의차검증(LSD)을 통해 $p < 0.05$, $p < 0.01$, $p < 0.001$ 수준에서 분석하였다.

결과 및 고찰

총 폴리페놀 및 플라보노이드 함량

식물체의 2차 대사물질인 페놀성 화합물은 약 8,000 여개의 유도체를 갖고 있으며 phenolic acids, flavonoids, catechin, resveratrol 등이 대표적으로 알려져 있다(Katsube *et al.*, 2004; Pandey and Rizvi, 2009). 이 방향족 화합물들은 항암, 항고혈압, 충치 예방 등의 생리적 활성뿐만 아니라 강력한 항산화 효과를 보이는 것으로 알려져 있다. 식물체에 존재하는 플라보노이드는 flavones, flavonols, flavonols, catechins, anthocyanidins 등이 대표적인 화합물인데, 이 또한 항산화, 항암, 항염증, 심장질환 예방 등의 생리활성을 나타내는 것으로 알려져 있다(Hertog *et al.*, 1992). 이에 외래식물 5종을 대상으로 항산화 관련 물질의 함량을 조사하고, 나아가 항산화 활성과의 상관성을 확인하고자 하였다.

외래식물 추출물에 함유된 총 폴리페놀 함량은 gallic acid, 총 플라보노이드 함량은 quercetin을 표준물질로 설정하여 측정하였다(Table 3). 외래식물 5종의 70% 에탄올 추출물의 총 폴리페놀 함량은 5.39~38.64 mg GAE/g DW 범위였으며, 총 플라보노이드 함량은 1.27~8.19 mg QE/g DW 범위로 나타났다. 특

Table 3. Total polyphenol and flavonoid contents of ethanol extracts from alien plants

Plants	Total polyphenol (mg GAE/g DW) ^z	Total flavonoid (mg QE/g DW) ^y
<i>Humulus japonicus</i>	8.29±0.15 ^x	1.63±0.09
<i>Hypochaeris radicata</i>	17.28±1.16	3.03±0.14
<i>Lactuca scariola</i>	15.03±1.13	3.47±0.11
<i>Rumex acetosella</i>	38.64±0.29	8.19±0.37
<i>Solanum viarum</i>	5.39±0.11	1.27±0.04

^zmg GAE/g DW: mg gallic acid equivalent per 1 g dried sample.

^ymg QE/g DW: mg quercetin equivalent per 1 g dried sample.

^xData are expressed as mean±SD for three tests.

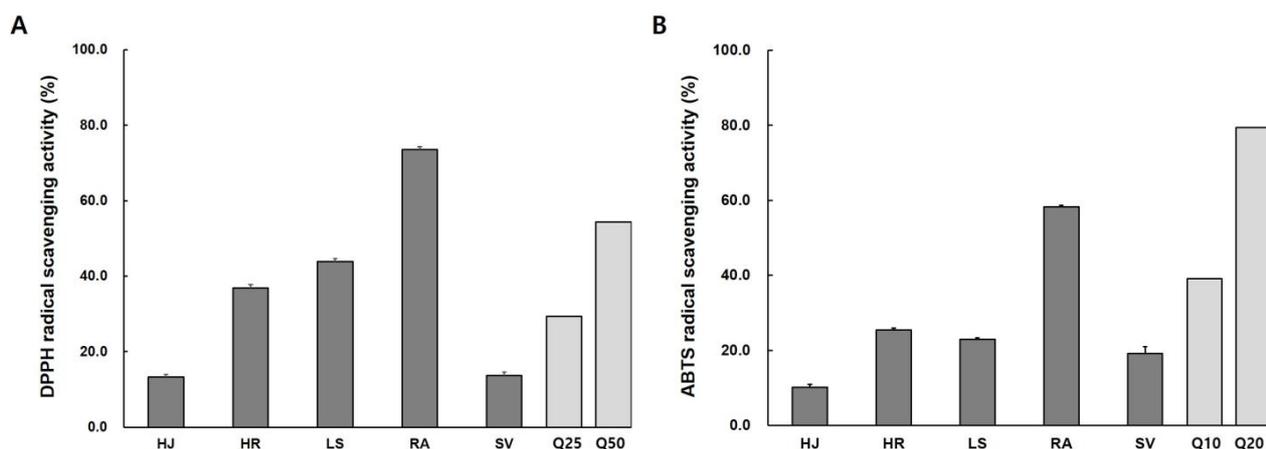


Fig. 1. Antioxidant activity of invasive alien plant extracts by DPPH and ABTS radical scavenging assay. DPPH and ABTS radical scavenging activities were assayed at concentration 500 μ g SE/mL and 100 μ g SE/mL of plant extracts, respectively. Quercetin was used as positive control (Q10: 10 μ g/mL, Q20: 20 μ g/mL, Q25: 25 μ g/mL and Q50: 50 μ g/mL). Data were expressed as mean±SD for three tests. HJ: *Humulus japonicus*, HR: *Hypochaeris radicata*, LS: *Lactuca scariola*, RA: *Rumex acetosella*, SV: *Solanum viarum*.

히, 5종의 외래식물 중 애기수영 추출물의 총 폴리페놀 및 플라보노이드 함량은 각각 38.64 mg GAE/g DW, 8.19 mg QE/g DW로서 가장 높았으며, 왕도깨비가지 보다 약 7배 이상 높게 나타났다. 한편, Ko et al. (2017)에 의하면 서양금혼초 부위별 추출물의 총 폴리페놀 함량은 꽃, 잎, 뿌리, 줄기에서 각각 50.82, 22.12, 24.27 및 30.54 mg GAE/g DW로서 본 연구의 17.28 mg GAE/g DW 보다 높은 함량을 나타냈는데, 이는 시료의 채집 장소 및 시기 등에 기인된 것으로 사료된다.

항산화 활성

외래식물 5종의 70% 에탄올 추출물에 대한 항산화 활성을 DPPH 및 ABTS 라디칼 소거능으로 각각 측정하였다(Fig. 1). 외래식물 추출물 농도 500 μ g SE/mL에 대한 DPPH 라디칼 소거능

은 애기수영 > 가시상추 > 서양금혼초 > 왕도깨비가지 \geq 환삼덩굴 순서로 나타났으며, 애기수영의 항산화 활성은 약 75%로 환삼덩굴에 비해 약 5배 높게 나타났다. ABTS 라디칼 소거능은 추출물 농도 100 μ g SE/mL에서 측정하였는데, DPPH 라디칼 소거활성과 유사하게 애기수영이 가장 높았고 환삼덩굴이 가장 낮았다. Fig. 1에 나타난 바와 같이 추출물 농도가 100 μ g SE/mL에서 측정된 ABTS 라디칼 소거능이 500 μ g SE/mL 농도에서 측정된 DPPH 소거능과 비슷한 결과를 보였는데, 이는 ABTS 라디칼은 극성물질 및 비극성물질 모두와 반응하며 ABTS와 잘 반응하는 물질이 DPPH와는 전혀 반응하지 않을 수도 있다는 보고 (Re et al., 1999)와 부합하는 결과라고 여겨진다. Table 3와 Fig. 1의 결과는 총 폴리페놀 및 플라보노이드 함량이 높을수록 DPPH 및 ABTS 라디칼 소거능이 높다는 것을 보여주는데, 이

결과는 DPPH 및 ABTS 라디칼 소거능은 폴리페놀 함량과 비례적인 상관관계를 보인다는 보고(Anagnostopoulou *et al.*, 2006)와 일치하는 결과였을 뿐 아니라 이 화합물의 전자공여능이 항산화 활성의 지표라는 사실과도 일치하는 결과였다(Kang *et al.*, 1996). 결과적으로 식물체의 폴리페놀 함량 및 항산화 활성을 고려할 경우, 애기수영이 가장 효과적인 바이오소재로 이용될 수 있을 것이라 사료되었다.

항염증 활성

세포독성

외래식물 추출물의 RAW 264.7 세포에 대한 세포독성은 EZ-CYTOX kit로 확인하였다(Fig. 2A). RAW 264.7 세포에 식물체 추출물을 각각 50, 100, 200 $\mu\text{g SE/mL}$ 농도로 처리하여 세포

생존율을 측정한 결과, 대부분의 처리구에서 세포 생존율이 95% 이상을 보여 세포독성은 거의 없는 것으로 확인되었으나, 왕도깨비가지 추출물을 200 $\mu\text{g SE/mL}$ 농도로 처리한 경우, 세포 생존율이 57.0%로 세포 독성을 보이는 것으로 확인되었다. 따라서 외래식물 추출물의 염증 억제 활성은 100 $\mu\text{g SE/mL}$ 농도 수준에서 측정하였다.

NO 및 PGE₂ 생성 억제 효과

RAW 264.7 세포와 같은 대식세포는 LPS와 같은 외부자극에 의하여 염증반응이 일어날 때는 여러 가지의 염증 매개물질(NO, PGE₂, pro-inflammatory cytokines)들이 생성된다(Lazarov *et al.*, 2000). 이에 외래식물 추출물이 세포 내에서 NO 생성에 미치는 영향을 LPS로 자극한 RAW 264.7 세포를 대상으로 조사

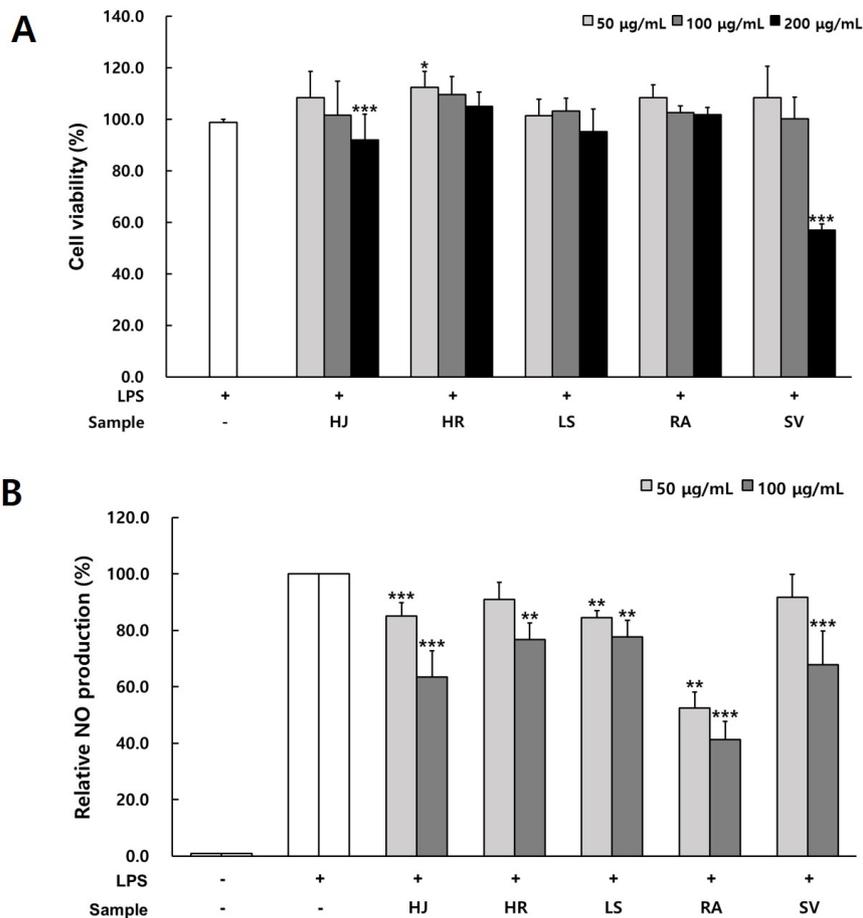


Fig. 2. Inhibitory effects of 70% ethanolic extracts from invasive alien plant on nitric oxide (NO) production and cytotoxicity in LPS-stimulated RAW 264.7 cells. (A) Cell viability was determined using the EZ-CYTOX assay kit. (B) The production of NO was assayed in the culture medium of cells treated with LPS (1 $\mu\text{g/mL}$) for 24h in the presence of 70% ethanol extracts. Values are the mean \pm SD of triplicate experiments. HJ: *Humulus japonicus*, HR: *Hypochaeris radicata*, LS: *Lactuca scariola*, RA: *Rumex acetosella*, SV: *Solanum viarum*. * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ and *** $p < 0.001$ versus LPS treatment.

하였다(Fig. 2B). RAW 264.7 세포에서 생성되는 NO 양을 Griess 시약을 이용하여 세포 배양액 중에 존재하는 NO₂⁻ 형태를 측정된 결과, 각각의 외래식물 추출물(100 μg SE/mL)은 LPS 단독 처리군에 비하여 NO 생성을 약 20~60% 억제하는 것으로 확인되었다. NO 생성 억제 효과는 애기수영 > 환삼덩굴 > 왕도깨비가지 > 서양금혼초 ≥ 가시수추 순서로 나타났다.

염증세포에서 염증반응이 일어날 경우에는 NO, PGE₂, tumor necrosis factor-α (TNF-α) 및 interleukin-6 (IL-6) 등과 같은 염증 매개 물질을 분비하며, 더불어 inducible nitric oxide synthase (iNOS)와 cyclooxygenase-2 (COX-2)의 발현을 유도함으로써 NO 및 PGE₂를 생성시킨다. 특히, COX-2 유래 PGE₂는 Th2 세포의 활성을 유도하여 염증성 cytokines을 다량 생성시키는 원인이 된다(Storck *et al.*, 1994). 따라서 외래식물 추출물(100 μg SE/mL)을 처리하여 염증성 인자인 PGE₂ 생성에 미치는 영향을 ELISA kit를 이용하여 측정하여 보았다. 그 결과, NO 생성 억제 효과와 같이 각각의 식물 추출물은 PGE₂ 생성을 약 10~70% 억제시켰으며, 그중에서도 애기수영이 약 72%로 가장 높은 억제 효과를 보였다(Fig. 3). 이 결과는 애기수영 추출물에 의한 염증 억제가 NF-κB의 신호전달과정을 통해 이루어진다는 보고(Yang *et al.*, 2018)와 부합하였다. 전체적으로 5종

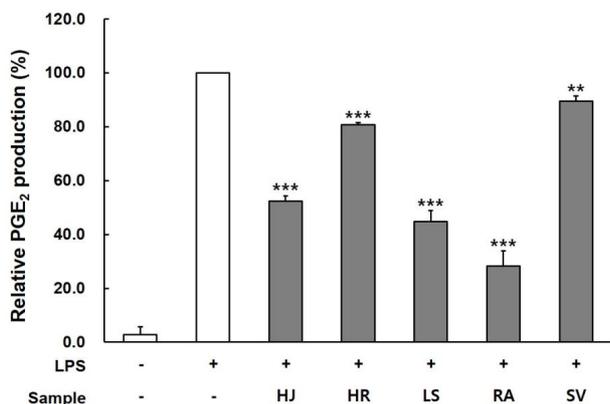


Fig. 3. Inhibitory effects of 70% ethanolic extracts from invasive alien plant on PGE₂ production in LPS-stimulated RAW 264.7 cells. Cells (2.5 x 10⁵ cells/mL) were stimulated by LPS (1 μg/mL) for 24h in the presence of 70% ethanol extracts. Supernatants were collected, and the PGE₂ concentration in the supernatants was determined by ELISA kit. Values are the mean±SD of triplicate experiments. HJ: *Humulus japonicus*, HR: *Hypochaeris radicata*, LS: *Lactuca scariola*, RA: *Rumex acetosella*, SV: *Solanum viarum*. **p < 0.01 and ***p < 0.001 versus LPS treatment.

의 외래식물 에탄올 추출물은 LPS로 자극한 RAW 264.7 세포에서 NO 및 PGE₂ 생성을 효과적으로 억제시켰으며, 특히, 애기수영 및 환삼덩굴이 3종의 타 식물 추출물보다 항염증 활성이 높게 나타났다. 이에 애기수영 및 환삼덩굴 추출물은 천연 항염증제로서 기능성 사료첨가제, 향장품 소재 등의 바이오소재로 이용 가능성이 높은 것으로 사료되었다.

항균 활성 및 유효성분

최근 건강에 대한 관심이 급증하면서 식품산업에서도 합성 보존제보다 안전성이 우수한 천연 식품 보존제 개발 연구가 급증하고 있다. 천연 항균물질을 개발하고자 허브를 비롯하여 감초, 선인장, 신갈나무, 쑥, 초피, 녹차 등과 같은 다양한 식물체를 대상으로 항균 활성 검정에 관한 연구들이 진행되었다(Choi *et al.*, 2010b; Kim *et al.*, 2006; Lee *et al.*, 2004). 예컨대, 조릿대 추출물인 경우에는 *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas fluorescens*, *Salmonella Enteritidis*, *Staphylococcus aureus*, *Vibrio parahaemolyticus* 등의 식중독 및 부패세균에 대해 우수한 항균 효과를 갖는다고 보고하고 있다(Park and Lim, 2010).

한편, 사람의 입안에는 600종 이상의 다양한 세균들이 서식하고 있으며, 그 수는 타액 1 mL당 혹은 치면 세균막 1 mg당 10⁸~10⁹ 정도로서 충치, 치아우식증 등의 치주질환에 직간접적으로 작용하는 것으로 알려져 있다(Rosan and Lamont, 2000). 따라서, 충치나 치주질환을 예방할 수 있는 방법으로는 유해 구강 미생물을 제거하거나 불활성화 시키는 것인데, 이런 측면에서 구강 미생물의 증식을 억제시키는 기능성 구강 제품들이 다양하게 개발되고 있다. 특히, 최근에는 구강 병원균에 대해 선택적으로 항균력이 우수한 천연 구강청결 소재에 대한 연구가 활발히 이루어지고 있다. 생약 추출물인 당귀, 으름덩굴, 황연 등의 항균 효과를 이용하여 치약 개발에 적용되었고, 오미자 추출물의 항균 효과와 구취 억제 효과, 편백나무 정유의 항균 및 소취 효과 등의 연구를 통해 천연자원을 이용한 구강 청결제 개발 가능성을 지속적으로 제시하고 있다(Hwang *et al.*, 2014; Lee and Kim, 2019; Yang *et al.*, 2016).

따라서, 본 연구에서는 일차적으로 생태계 교란 외래식물 추출물을 천연 식품 보존제 또는 구강 청결제로의 활용 가능성을 확인하고자 하였다. 이를 위해 5종의 외래식물 70% 에탄올 추출물 및 용매 분획물(Hexane, ethyl acetate, butanol, water)을 대상으로 식중독 및 구강 미생물에 대한 항균 효과를 paper disc diffusion 법으로 측정하였다. 그 결과, 환삼덩굴, 애기수영 및

왕도깨비가지의 70% 에탄올 추출물은 *B. subtilis*, *E. coli*, *V. parahaemolyticus* 및 *V. vulnificus* 4종 식중독균에 대해 강한 항균 활성을 보였으나 가시상추 추출물의 경우는 *B. subtilis* 1종에 대해서만 항균 효과를 나타내는 것으로 확인되었다(Table 4). 이를 토대로 보면, 환삼덩굴 및 애기수영 추출물은 식품 보존 등의 천연 항균 소재로써 활용 가능성이 높은 것으로 사료되었다. 또한, 각 추출물의 구강 충치 유발 미생물 5종(*E. faecalis*, *L. casei*, *R. dentocariosa*, *S. epidermidis*, *S. mutans*)에 대한 항균 효과를 측정 한 결과, 환삼덩굴 추출물은 4종(*E. faecalis*, *L. casei*, *S. epidermidis*, *S. mutans*)의 구강 미생물에 대해 강한 항균 활성을 보였고, 애기수영(*R. dentocariosa*, *S. epidermidis*, *S. mutans*) 및 왕도깨비가지(*L. casei*, *S. epidermidis*, *S. mutans*)는 각각 3종의 미생물에 대해 항균 효과가 나타났다

(Table 5). 치아우식을 유발하는 대표적인 세균인 *S. mutans*에 대한 항균 활성은 5종의 식물체 추출물 모두에서 나타났으나 치태와 치주질환의 원인과 연루되어 있고 심내막염을 일으키는 원인균으로도 알려진 *R. dentocariosa*에 대해서는 애기수영을 제외하고 4종의 식물 추출물에서는 항균 효과가 나타나지 않았다.

환삼덩굴 추출물의 용매 분획물을 대상으로 구강 미생물에 대한 항균활성을 확인한 결과, hexane 및 ethyl acetate 분획물에서는 항균 활성이 나타났으나 butanol 및 수용액 분획물에서는 항균 활성이 나타나지 않았다(Table 6). 이는 추출물에 함유된 페놀성 화합물 등의 비극성 물질이 항균 활성에 연관하는 것을 제시하고 있다. Kim *et al.* (2005)의 보고에 따르면, 다양한 페놀성 화합물 중에서 hydroxycinnamic acid group 보다는 hydroxybenzoic acid group의 항균 활성이 더 높아 페놀성 화합

Table 4. Antibacterial activities of invasive alien plant extracts against food poisoning bacteria

Sample	Clear zone (mm) ^z			
	<i>B. subtilis</i>	<i>E. coli</i>	<i>V. parahaemolyticus</i>	<i>V. vulnificus</i>
<i>Humulus japonicus</i>	14.52±0.37 ^w	13.24±0.83	15.11±0.19	14.28±0.17
<i>Hypochaeris radicata</i>	ND ^y	14.23±1.21	ND	ND
<i>Lactuca scariola</i>	11.80±1.20	ND	ND	ND
<i>Rumex acetosella</i>	14.57±0.09	13.12±0.07	15.03±0.38	12.66±0.59
<i>Solanum viarum</i>	15.30±0.73	11.79±0.35	13.40±0.32	13.16±0.40
Tetracycline ^x	17.61±0.78	17.79±0.36	15.50±0.31	17.78±0.37

^zEthanol extracts was absorbed into paper disk and the diameter (mm) of clear zone was measured.

^yND: not detected.

^xTetracycline was used as a reference for antimicrobial activity.

^wData are expressed as mean±SD for three tests.

Table 5. Antibacterial activities of invasive alien plant extracts against oral microorganism

Sample	Clear zone (mm) ^z				
	<i>E. faecalis</i>	<i>L. casei</i>	<i>R. dentocariosa</i>	<i>S. epidermidis</i>	<i>S. mutans</i>
<i>Humulus japonicus</i>	12.62±0.15 ^w	12.64±0.19	ND	14.87±0.26	14.21±0.18
<i>Hypochaeris radicata</i>	ND ^y	13.01±0.26	ND	ND	12.84±0.32
<i>Lactuca scariola</i>	ND	12.55±0.08	ND	ND	12.90±0.06
<i>Rumex acetosella</i>	ND	ND	13.15±0.36	13.85±0.35	13.43±0.38
<i>Solanum viarum</i>	ND	12.28±0.14	ND	13.16±0.34	13.28±0.08
Tetracycline ^x	25.61±0.51	20.46±1.06	16.25±0.19	16.36±0.24	20.21±0.69

^zEthanol extracts was absorbed into paper disk and the diameter (mm) of clear zone was measured.

^yND: not detected.

^xTetracycline was used as a reference for antimicrobial activity.

^wData are expressed as mean±SD for three tests.

Table 6. Antibacterial activities of organic solvent fractions obtained from 70% ethanolic extract of *Humulus japonicus*

Solvent fractions	Clear zone (mm) ^z				
	<i>E. faecalis</i>	<i>L. casei</i>	<i>R. dentocariosa</i>	<i>S. epidermidis</i>	<i>S. mutans</i>
Hexane	16.82±0.43 ^x	14.85±0.11	ND	11.40±1.23	13.15±0.23
Ethyl acetate	15.51±0.31	17.82±0.78	ND	13.25±0.34	ND
Butanol	ND ^y	ND	ND	ND	ND
Water	ND	ND	ND	ND	ND

^zFraction extracts was absorbed into paper disk and the diameter (mm) of clear zone was measured.

^yND: not detected.

^xData are expressed as mean±SD for three tests.

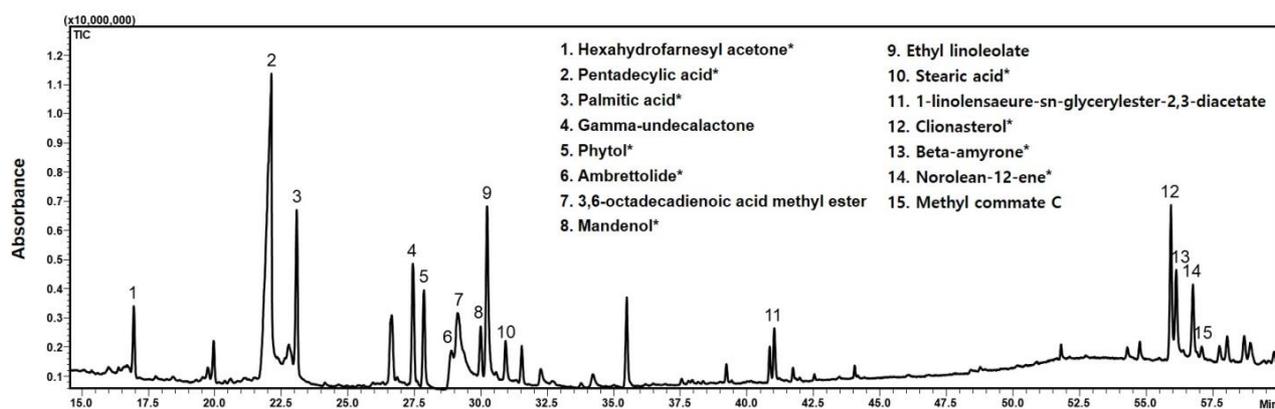


Fig. 4. Gas chromatography-mass spectrometer (GC-MS) chromatogram obtained from hexane fraction of *Humulus japonicus*.

*Asterisks indicate compounds reported to exhibit antibacterial activity.

물의 작용기에 따라서 항균 활성이 달라지는 것으로 확인되었다. 이에, 환삼덩굴 추출물의 항균 활성을 초래하는 유효성분을 확인하기 위하여 항균 효과가 가장 높게 나타난 hexane 및 ethyl acetate 분획물을 대상으로 GC-MS 분석을 수행하였다. GC-MS 크로마토그래피의 모든 피크를 Shimadzu의 GC mass spectral database (Wiley 9)와 비교하여 80% 이상 유사성을 보이는 물질을 확인하였을 때, hexane 분획물에서는 pentadecylic acid, ethyl linoleolate, palmitic acid 등을 포함하여 약 15종의 화합물이 주성분으로 확인되었다(Fig. 4). Ethyl acetate 분획물에서도 hexane 분획물과 유사한 화합물들이 주성분으로 나타났다(data not shown). Hexane 및 ethyl acetate 층에서 주성분으로 확인된 15종의 화합물 중에는 항균 활성을 나타내는 것으로 보고된 화합물이 10종이 있었고, 그중에서 pentadecylic acid, palmitic acid, clionasterol이 함량이 높은 것으로 예측되어 환삼덩굴 에탄올 조추출물이 갖는 항균 효과는 이 화합물들과 연관성이 높을 것으로 여겨진다.

이상의 결과를 토대로 보면, 애기수영 및 환삼덩굴 추출물은 항산화, 항염증 및 항균제 후보 소재로서 항산화 및 항염증 개선제, 식품 보존제, 구강 청결제 등의 기능성 바이오소재로 활용 가능성이 높은 것으로 사료되었다.

적 요

본 연구는 제주지역에서 대량 발생하고 있는 생태계 교란 외래식물을 기능성 바이오소재로서의 이용 가능성을 확인하기 위한 연구의 일환으로서, 5종 외래식물체의 70% 에탄올 추출물을 대상으로 항산화, 항염증 및 항균 효과와 유효성분을 조사하였다. 외래식물의 총 폴리페놀 및 플라보노이드 함량은 애기수영 > 서양금혼초 ≥ 가시상추 > 환삼덩굴 ≥ 왕도깨비가지 순서로 나타났다. 외래식물의 DPPH 및 ABTS 라디칼 소거능 역시 애기수영에서 가장 높았으며, 항산화 효과는 식물 추출물의 총 폴리페놀 및 플라보노이드 함량과 연관된 것으로 확인되었다. LPS

로 자극시킨 RAW 264,7 세포에서 외래식물체 에탄올 추출물 (100 µg SE/mL)의 NO 및 PGE₂ 생성 억제 효과는 각각 약 20~60%와 10~70%로 나타났고, 애기수영 및 환삼덩굴이 다른 3종에 비해 우수한 것으로 나타났다. 4종의 식중독 유발 미생물 및 5종의 구강 미생물을 대상으로 식물 추출물의 항균 효과를 조사한 결과, 환삼덩굴, 애기수영 및 왕도깨비가지의 에탄올 추출물은 *B. subtilis*, *E. coli*, *V. parahaemolyticus* 및 *V. vulnificus* 4종 식중독균 모두에 대해 강한 항균 활성을 보였다. 구강 충치 유발 미생물인 *E. faecalis*, *L. casei*, *R. dentocariosa*, *S. epidermidis*, *S. mutans*에 대한 항균 효과는 환삼덩굴 추출물이 효과적이었으며, 항균 활성에 관여하는 주 유효성분은 pentacyclic acid, palmitic acid, clionasterol 등인 것으로 예측되었다. 이상의 결과는 생태계 교란 외래식물, 특히 애기수영 및 환삼덩굴의 기능성을 갖는 유효성분 분리 및 이용화 연구에 중요한 기초자료가 될 것이며, 항산화, 항염증 및 항균제 개발을 위한 바이오소재 발굴 등에도 중요한 정보를 제공할 수 있을 것으로 사료된다.

사 사

본 연구는 2022년도 환경부지정 제주녹색환경지원센터(과제번호 3-70-76-13-4)의 연구비 지원에 의해 이루어진 것으로 감사드립니다.

Conflicts of Interest

The authors declare that they have no conflict of interest.

References

- Anagnostopoulou, M.A., P. Kefalas, V.P. Papageorgiou, A.N. Assimopoulou and D. Boskou. 2006. Radical scavenging activity of various extracts and fractions of sweet orange peel (*Citrus sinensis*). Food Chem. 94(1):19-25.
- Bauer, A.W., M.M. Kibby, J.C. Sherris and M. Turck. 1966. Anti-biotic susceptibility testing by a standardized single disk method. Am. J. Clin. Pathol. 45(4):493-496.
- Blois, M.S. 1958. Antioxidant determination by the use of a stable free radical. Nature 181:1199-1200.
- Bohlmann, F. and R. Bohlmann. 1980. Three guaianolides from *Hypochoeris radicata*. Phytochemistry 19:2045-2046.
- Choi, B.S., D.Y. Song, C.G. Kim, B.H. Song, S.H. Woo and C.W. Lee. 2010a. Allelopathic effects of common ragweed (*Ambrosia artemisiifolia* var. *elation*) on the germination and seedling growth of crops and weeds. Kor. J. Weed Sci. 30(1): 34-42 (in Korean).
- Choi, I.Y., Y.J. Song and W.H. Lee. 2010b. DPPH radical scavenging effect and antimicrobial activities of some herbal extracts. Kor. J. Hort. Sci. Technol. 28:871-876 (in Korean).
- Choi, Y.J., J.H. Jeong, J.H. Jeong, K.R. Kim, Y.S. Lee and J.W. Oh. 2020. Revision of threshold levels for evoking pollinosis to oak, pine, Japanese hop, and ragweed in the metropolitan area Seoul, Korea. Allergy Asthma Respir Dis. 8(4):199-205.
- Folin, O. and W. Denis. 1912. On phosphotungstic-phosphomolybdic compounds as color reagents. J. Biol. Chem. 12: 239-249.
- Hertog, M.G.L., P.C.H. Hollman and D.P. Venema. 1992. Optimization of a quantitative HPLC determination of potentially anticarcinogenic flavonoids in vegetables and fruits. J. Agric. Food Chem. 40(9):1591-1598.
- Hur, J.Y., C.H. Jeong and K.H. Shim. 2003. Chemical components of *Humulus japonicus* leaves and stalks. J. Agriculture & Life Sciences 37(1):1-7.
- Hwang, H.J., J.S. Yu, H.Y. Lee, D.J. Kwon, W. Han, S.I. Heo and S.Y. Kim. 2014. Evaluation on deodorization effect and anti-oral microbial activity of essential oil from *Pinus koraiensis*. Korean J. Plant Res. 27:1-10 (in Korean).
- Kang, S.E., K.B. Park, Y.J. Jang, G.S. Lee and C.D. Son. 2022. *Richardia brasiliensis* Gomes (Rubiaceae), a new invasive alien plant in Korea. Korean J. Plant Res. 35(2):242-247 (in Korean).
- Kang, Y.H., Y.K. Park and G.D. Lee. 1996. The nitrite scavenging and electron donating ability of phenolic compounds. Korean J. Food Sci. Technol. 28(2):232-239 (in Korean).
- Katsube, T., H. Tabata, Y. Ohta, Y. Yamasaki, E. Anuurad, K. Shiwaku. 2004. Screening for antioxidant activity in edible plant products: Comparison of low-density lipoprotein oxidation assay, DPPH radical scavenging assay, and Foilin-Ciocalteu assay. J. Agric. Food Chem. 52:2391-2396.
- Kim, H.H., K. Mizuno, D.B. Kim, H.S. Lee and W.S. Kong. 2020. Distribution of invasive alien plants on the islands of the Korean Peninsula based on flora data. Korean J. Environ. Biol. 38(3):392-403 (in Korean).
- Kim, S.J., I.B. Park, S.G. Kang, D.O. Chung and S.T. Jung. 2005. Anticarcinogenic activity and glucosyltransferase inhibition of phenolic compounds. Korean J. Food Culture 20: 603-607 (in Korean).

- Kim, S.J., J.Y. Shin, Y.M. Park, K.M. Chung, J.H. Lee and D.H. Kweon. 2006. Investigation of antimicrobial activity and stability of ethanol extracts of licorice root (*Glycyrrhiza glabra*). Korean J. Food Sci. Technol. 38:241-248 (in Korean).
- Kim, S.Y., E.J. Jang, E.J. Kim, J.H. Jeong, S.E. Kang, Y.H. Gil and C.D. Son. 2022. *Vulpia octoflora* (Walter) Rydb. (Poaceae), a new invasive alien plant in Korea. Korean J. Plant Res. 35(5):607-613 (in Korean).
- Kim, T.K., H.C. Kim, J.Y. Song, Y.S. Ha, J.H. Kang, S.B. Woo and C.K. Song. 2011. Herbicidal activity of aqueous extracts from *Solanum viarum* (Dunal). Korean J. Organic Agriculture 19:65-82 (in Korean).
- Kim, Y.H., J.H. Kil, S.M. Hwang and C.W. Lee. 2013. Spreading and distribution of *Lactuca scariola*, invasive alien plant, by habitat types in Korea. Weed Turf. Sci. 2(2):138-151 (in Korean).
- KLIC (Korean Law Information Center). 2021. Biodiversity conservation and utilization act. <http://www.law.go.kr> (Accessed May 4, 2021).
- Ko, H.M., T.K. Eom, S.K. Song, G.Y. Jo and J.S. Kim. 2017. Tyrosinase and α -glucosidase inhibitory activities and antioxidant effects of extracts from different parts of *Hypochoeris radicata*. Korean J. Medicinal Crop Sci. 25(3):139-145 (in Korean).
- Lazarov, S., M. Balutsov and E. Ianev. 2000. The role of bacterial endotoxins, receptors and cytokines in the pathogenesis of septic (endotoxin) shock. Vutr. Boles. 32:33-40.
- Lee, I.Y., S.H. Kim and S.H. Hong. 2021. Occurrence characteristic and management of invasive weeds, *Ambrosia artemisiifolia*, *Ambrosia trifida* and *Humulus japonicus*. Weed Turf. Sci. 10(3):227-242 (in Korean).
- Lee, K.S., M.G. Kim and K.Y. Lee. 2004. Antimicrobial effect of the extracts of cactus *chounmyouncho* (*Opuntia humifusa*) against food borne pathogens. J. Korean Soc. Food Sci. Nutr. 33:1268-1272 (in Korean).
- Lee, S.H. and M.J. Kim. 2019. Antimicrobial effect of natural plant extracts against periodontopathic bacteria. J. Korea Contents Association 19:242-255 (in Korean).
- Lee, S.J., H.J. Bu, J.A. Lee and D.S. Jung. 2005. Screening of plants in Jeju for whitening materials in cosmeceutical. J. Sco. Cosmet. Scientists Korea 31(1):115-119 (in Korean).
- Maruta, Y., Y. Fukushi, K. Ohkawa, Y. Nakanishi, S. Tahara and J. Mizutani. 1995. Antimicrobial stress compounds from *Hypochoeris radicata*. Phytochemistry 38:1169-1173.
- Moreno, M.I.N., M.I. Isla, A.R. Sampietro, W.A. Vattuone. 2000. Comparison of the free radical-scavenging activity of propolis from several regions of argentina. J. Ethnopharmacol. 71:109-114.
- Pandey, K.B. and S.I. Rizvi. 2009. Plant polyphenols as dietary antioxidants in human health and disease. Oxid. Med. Cell Longev. 2:270-278.
- Park, Y.O. and H.S. Lim. 2010. Antimicrobial activity of bamboo (*Sasa borealis*) leaves fraction extracts against food poisoning bacteria. J. Korean Soc. Food Sci. Nutr. 39:1745-1752 (in Korean).
- Re, R., N. Pellegrini, A. Proteggente, A. Pannala, M. Yang, C. Rice-Evans. 1999. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. Free Radic. Biol. Med. 26:1231-1237.
- Rosan, B. and R.J. Lamont. 2000. Dental plaque formation. Microbes Infect. 2:1599-1607.
- Ryu, Y.K. 2017. Effect of *Humulus japonicus* in models of Parkinson's disease. Department of Toxicology Evaluation, MS Thesis, Konyang Univ., Daejeon, Korea. p. 58.
- Sim, S., J.S. Kim, D.P. Jin, W. Lee, C.W. Hyun and J.H. Kim. 2022. New record for alien plant, *Urtica dioica* L. (Urticaceae) in Korea. Korean J. Plant Res. 35(1):100-108 (in Korean).
- Storck, M., M Schilling, K. Burkhardt, R. Prestel, D. Abendroth and C. Hammer. 1994. Production of proinflammatory cytokines and adhesion molecules in *ex-vivo* xenogenetic kidney perfusion. Transpl. Int. 7:647-649.
- Yang, E.J., H.H. Kwang, H.R. Choi, S.Y. Kim and C.C. Hyun. 2018. Anti-inflammatory activity of *rumex acetosella* extracts from Jeju island. KSBB Journal 33:155-160.
- Yang, K.M., S.M. Song, D. Lee, W.J. Yoon, C.H. Kim and C.S. Kim. 2019. Anti-inflammatory and anti-atopic effects of crude extracts and solvent fractions of *Phormium tenax* leaf. Korean J. Plant Res. 32:433-441 (in Korean).
- Yang, S.H., S.J. Park, R.U. Lee, J.W. Lee, J.H. Lee, J.H. Cha, S.J. Jeong. 2016. Antibacterial effects on oral microorganism and inhibitory effects of halitosis of Omija (*Schizandra chinensis baillon*) extract. J. Korean Oral Health Sci. 4:93-98 (in Korean).
- Yang, Y.H. and M.H. Kim. 2002. A study on the distribution and vegetation of *Hypochoeris radicata* community group in Jeju island. Korean J. Plant Res. 15:227-236 (in Korean).

(Received 15 March 2023 ; Revised 10 April 2023 ; Accepted 19 April 2023)