

까마중내 (*Solanum nigrum* L.) 항산화방어계의 항산화력 및 물질의 동정

임종국 · 정규영 · 정형진*

안동대학교 생명자원과학부

Evaluation of the Antioxidant Potential and Identification of Active Principles of *Solanum nigrum* L. on Antioxidant Defense Systems

Jong Kuk Lim, Gyu Young Chung and Hyung Jin Jeong*

School of Bioresources, Andong National University, Andong 760-749, Korea

Abstract

Enzymes and non-enzymatic antioxidants are involved in defense of oxygen free radical intermediates in all aerobic eukaryotic cells. The non-enzymatic antioxidants and antioxidant enzyme from the extracts of *Solanum nigrum* L. known to be anticancer medicinal plant were examined in other to utilize the discovery in natural products as cancer chemopreventive agents.

The DPPH (1,1-diphenyl-2-picryl-hydrazyl) free radical scavenging activity on plant position of *Solanum nigrum* L. was the highest in root, with stem, whole plant, seed, leaf and flower, at higher activities respectively.

In extraction methods, the DPPH free radical scavenging activity by circulating extraction with 80% MeOH showed higher than that by shaking extraction with 80% MeOH.

The DPPH activity of L6 fraction by LH-20 column chromatography showed about 6.7 times higher than that of ethyl acetate fraction. These were identified as phenolic compounds such as 2,6-methano-3-benzazocin-11-ol, 2[1H]-pyridinethione and 2-hydroxy-5-methyl -benzaldehyde.

Peroxidase (POD) and superoxide dismutase (SOD) activities of stem and root were higher than that of other plant positions and those of plant positions according to growing stage were the highest in 60 days after seeding.

The numbers of isozyme pattern of POD and SOD showed 10 bands and 5 bands, respectively, especially, 8 bands of POD and 2 bands of SOD showed a difference according to plant positions.

Key words – DPPH, *Solanum nigrum* L, SOD, POD

서 론

인류의 기원이래 암과 같은 만성적 질병이 꾸준히 증가

하고 있어 인간수명의 연장은 불가능한 것처럼 보여지고 있다[1]. 1956년 인간의 노화는 free radical에 의해서 결정 되어진다고 주장한 이래[11], 노화에 대한 free radical의 이론에 대한 상당한 증거가 축적되어지고 있다[4,23]. 노화는 세포의 손상 및 산화된 단백질의 축적이라고도 하며, 이러한 현상은 산화된 단백질을 분해시키는 효소인 protea-

*To whom all correspondence should be addressed

Tel : 054-820-5464, Fax :

E-mail : jhj@andong.ac.kr

some 능력의 감소에 있다고 한다[19]. 또한 노화 원인중의 하나로 산소에서 유래되는 superoxide anion radical, hydroxyl radical, singlet oxygen 및 hydrogen peroxide 등과 같은 free radical의 역할이 대두되어 이들의 제거에 대한 관심이 높아지고 있다[8]. 최근 전자전달 회로 과정에서 발생하는 ·OH radical (hydroxyl radical)은 신호전달과 면역 체계 등의 정상적인 생명현상에 꼭 필요한 산물이다. 그러나 이러한 free radical은 내부 혹은 외부로부터 심각한 물리, 화학적인 스트레스 자극에 의해 과다한 생성을 초래하며, 세포막 지방의 산화, 단백질의 산화 및 변성, DNA 변성 등의 유발로 인해 세포의 정상적인 기능이 억제되어 결국 세포는 사멸한다[2,28].

자기방어의 대표적인 것으로는 superoxide dismutase (SOD), catalase, 및 glutathione peroxidase 등의 효소와 tocopherol, ascorbic acid, riboflavin, uric acid, selenium 등의 항산화 영양소 또는 항산화력을 갖는 혈청단백질인 ceruloplasmin, transferrin, ferritin, lactoferrin, metallothionein 등이 초기 방어기작으로 알려져 있다[30].

오래전부터 butylated hydroxyanisole (BHA), butylated hydroxytoluene (BHT) 등과 같은 항산화력이 뛰어난 합성 항산화제가 개발되어 이용되어 왔다. 하지만 이들은 열안정성이 떨어지고 발암의 위험성이 제기되면서[6] 보다 안정한 천연 항산화제의 개발이 요구되고 있다. 가장 널리 쓰이는 tocopherol류는 천연 항산화제로서 안전하기는 하나 단독으로는 산화 연쇄반응 저지 능력이 낮고[18], 고가인 단점이 있다.

따라서 각종 생약이나 식용식물의 추출물 등에서 보다 안정하고, 항산화력이 강한 천연 항산화제의 개발 필요성이 대두되고 있다.

까마중(*Solanum nigrum* L.)은 龍葵, 苦菜, 天茄子 등으로 불리우며, 약 1m 내외로 길가 또는 들판에서 자라는 가지과(Solanaceae)의 일년생 초본으로 전초에는 solanine, solamargine 등 여러 가지 alkaloid와 vitamin A와 C가 들어 있다. 약리 작용으로는 전초에서는 갖가지 암, 상처, 치질, 종기, 습진, 가래, 설사, 신장결석, 두통, 관절염, 통풍 등에 효과가 있고, 열매에는 진해, 거담작용이 있다[29].

본 연구에서는 항암 약초로 알려진 까마중을 부위별로 비효소 및 효소적 항산화제의 활성을 조사하고, 그 물질을 동정하여 새로운 천연 항산화제로의 사용 가능성을 검토하기 위한 기초자료를 얻고자 하였다.

재료 및 방법

재료

까마중(*Solanum nigrum* L.)의 비효소적 항산화 방어계를 조사하기 위하여 경북 안동시 송천동에서 자생한 것을 2000년 8월에 채취하여 각 부위별로 세척 후 음건 세절하여 사용하였고, 항산화 효소계는 부위별 생체시료를 -28℃에 냉동 보관하여 사용하였다.

비효소적 항산화 방어계

추출

비효소적 항산화 방어계의 추출은 음건 세절한 시료 1kg을 80% methanol에 3일간 침지하여 여과한 추출물과, 80% methanol에 6시간 환류 추출한 후 여과한 methanol추출물을 각각 농축하여 Fig. 1과 같은 방법으로 분획하였다.

까마중의 항산화 활성물질의 분리는 80% methanol로 환류 추출한 ethyl acetate 분획을 silicagel (110 g) column

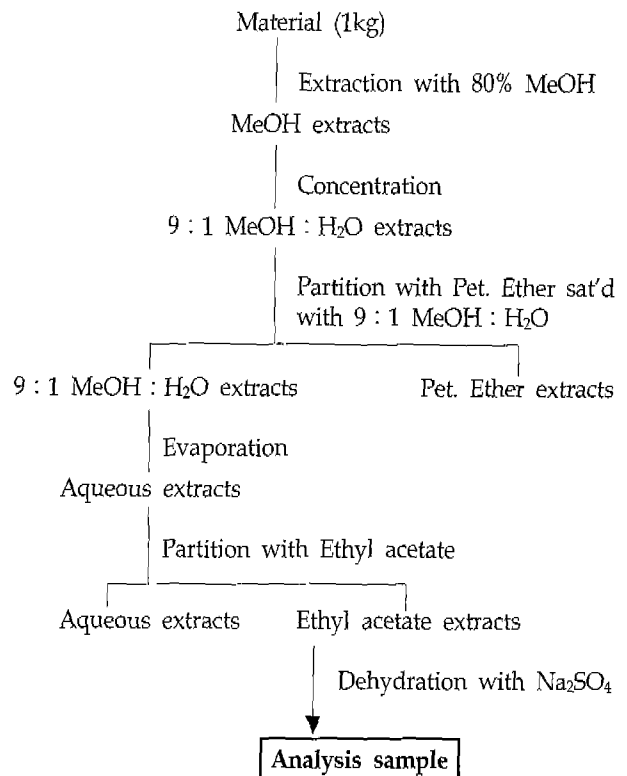


Fig. 1. Solvent fractionation of MeOH extracts on DPPH free radical scavenging activity in *Solanum nigrum*.

chromatography (chloroform → chloroform : methanol = 7 : 1 → ethyl acetate → methanol)를 실시하여 50 ml씩 분취하였다. 각 분취액을 TLC (thin layer chromatography, chloroform : methanol = 7 : 1)로 확인하여 유사한 분획끼리 합하고 농축하여 6개의 분획물을 얻었고, 이 분획들의 DPPH free radical 소거활성을 측정하였다. 이 중 활성이 가장 높았던 분획을 Sephadex LH-20 column chromatography에 의하여 7개의 소분획으로 분리한 후 DPPH free radical 소거활성을 측정하였다.

동정

항산화물질의 동정은 GC/MS (Hewlett Packard 6890/5973)를 사용하였고, column은 Ultra-2 (Crosslinked 5% PH ME Siloxane), oven 조건은 60℃에서 시작하여 분당 2.5℃씩 230℃까지 승온하였다. 운반기체는 He 가스를 사용하였으며, 유속은 0.8 ml/min로 분석하였다. Fig. 2는 까마중을 80% methanol로 6시간 환류 추출 후 Fig. 1과 같이 분획하여 ethyl acetate분획을 농축하여 GC/MS로 분석한 크로마토그램이다.

DPPH free radical 소거활성 측정

Cuvette 내에 농도별 시료와 300 μM DPPH (1,1-diphenyl-2-picryl-hydrazyl) 용액을(흡광도가 1.0이 되도록 용액을 희석) 넣고 37℃에서 30분간 반응 후 515 nm에서 대조구와의 흡광도 차이를 측정하였다. 시료처리에 의한 억제율은 DMSO (dimethylsulfoxide)가 처리된 대조구와 비교하여 계산하였고, IC₅₀ (Inhibitor Concentration 50%)

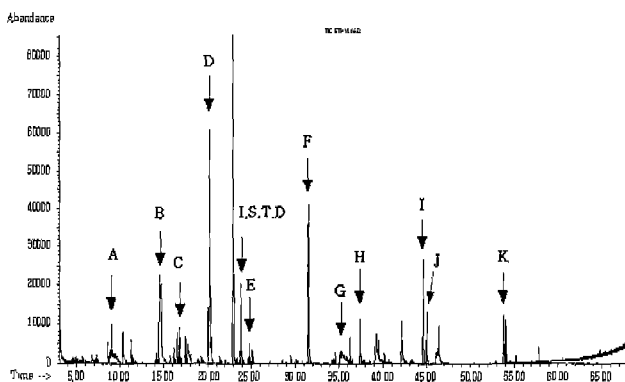


Fig. 2. Gas chromatogram of the extracts of the *Solanum nigrum* by circulating extraction with 80% MeOH for 6 hrs.

*Compounds refer to Table 2.

값은 50% DPPH free radical을 제어시키는 시료농도를 계산하였다.

효소적 항산화방어계

POD (Peroxidase) 활성

POD활성을 측정하기 위한 조효소액의 조제는 식물체 부위 및 시기별로 생체중 각각 1 g을 0.05 M 인산 완충액 (pH 7.8) 5 ml과 함께 마쇄한 후, 4℃에서 14,000 rpm으로 20분간 원심분리 하여 얻었다. POD 활성은 pyrogallol (Sigma, Cot# P-0381)을 기질로 사용하고 0.1 ml 조효소액에 2.9 ml assay buffer를 첨가하여 420 nm에서 20초간 상온에서 흡광도 변화를 조사하였다.

SOD(Superoxide dismutase) 활성

SOD 활성은 xanthine oxidase와 cytochrome C를 이용한 McCord와 Fridovich[16]의 방법에 따라 측정하였다. 조효소액은 1 g을 0.05 M 인산 완충액(pH 7.8) 5 ml과 함께 마쇄한 후 4℃에서 14,000 rpm으로 20분간 원심분리 하여 얻어진 상등액을 사용하였다. 활성 측정은 Xanthine / xanthine oxidase system을 superoxide radicals (O₂·)의 공급원으로 이용하여 superoxide radical에 의한 환원속도를 550 nm에서 150초간 흡광도 변화를 측정하였다. SOD의 1 unit은 25℃에서 반응을 시작하여 150초간 550 nm에서 흡광도 변화를 조사하여, xanthine oxidase 활성이 50% 억제되는 것으로 정의하였다.

POD, SOD의 동위효소 패턴

POD, SOD의 동위효소 패턴은 Beauchamp와 Fridovich [3]의 방법에 준하여 수행하였다. POD의 동위효소 패턴은 12% acrylamide gel을 사용하여 15 mV에서 15분, 25 mV에서 45분간 단백질을 전기영동 하였고, 발색반응은 benzidine solution과 3% hydrogen peroxide를 1 : 1로 혼합해서 사용하였다. SOD의 동위효소 패턴은 13% acrylamide gel에서 215 V로 40분간 전기영동 하였고, gel의 염색은 negative 염색용액으로 30분간 암 상태에서 발색반응을 보였다. 단백질 정량은 Bradford[5] 방법에 준하여 실시하였다.

결과 및 고찰

까마중의 각 부위와 전 식물체의 ethyl acetate 추출물 및 환류 추출물에 따른 DPPH free radical 소거활성을 조

사한 결과(Table 1), DPPH free radical 소거활성은 뿌리, 줄기, 전부위, 열매 그리고 잎 순으로 높게 나타났으며, 꽃에서는 활성이 없었다. 전 식물체 추출방법간의 DPPH free radical 소거활성은 식물체 전 부위를 80% methanol에 3일간 침지하여 추출한 것보다 80℃에서 6시간 환류 추출한 것이 높은 활성을 나타내었다. DPPH free radical 소거활성법은 항산화제가 안정한 free radical DPPH와 반응하고 그것은 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazine로 변환되는 정도를 조사하는 것으로[7,24], 이러한 방법은 많은 식물추출물들의 항산화 활성을 탐색하는데 이용되어진다. 본 실험의 IC₅₀ (μg/ml) 값은 Lee[15]가 본 실험과 동일한 방법으로 700여종의 식물 추출물 중 102종이 200 μg/ml 이하의 활성을 나타내었다는 보고를 미루어 보면, 까마중의 전 식물체 및 부위별 추출물의 IC₅₀값은 62~145 μg/ml의 범위로 DPPH free radical 소거활성이 높은 것으로 평가되었다.

전 식물체의 환류 추출한 ethyl acetate 추출물 분획을 정제하기 위하여 silicagel column chromatography를 사용한 결과, DPPH free radical 소거활성이 38.7 μg/ml인 높은 항산화 분획을 얻었다. 이분획을 Sephadex LH-20 column를 사용하여 정제 한 결과(Fig. 3), 7개의 소분획을 얻었다. 그 중 4, 5, 6, 7번은 ethyl acetate 분획 추출물보다 각각 2.5배, 3.2배, 6.8배 그리고 3.1배의 높은 활성을 보였다.

전 식물체를 80% methanol로 3일간 침지한 추출과 80% methanol로 6시간 환류 추출한 것을 Fig. 1과 같이 분획하여, 주요 항산화 물질들을 비교 조사 해 본 결과(Table 2), 조사된 물질들은 대부분 phenolic 화합물이었다. 침지한 추

Table 1. DPPH free radical scavenging activity of extracts on plant positions and extraction methods in *Solanum nigrum*

Positions and extraction methods	IC ₅₀ (μg/ml)
Leaf	187.62
Stem	119.58
Root	62.65
Seed	148.4
Flower	N.D
Whole plant ¹⁾	145.77
Whole plant by circulating ²⁾	83.87

N.D. : Not detected.

¹⁾Shaking extraction with 80% MeOH for 3 days.

²⁾Circulating extraction with 80% MeOH for 6 hrs.

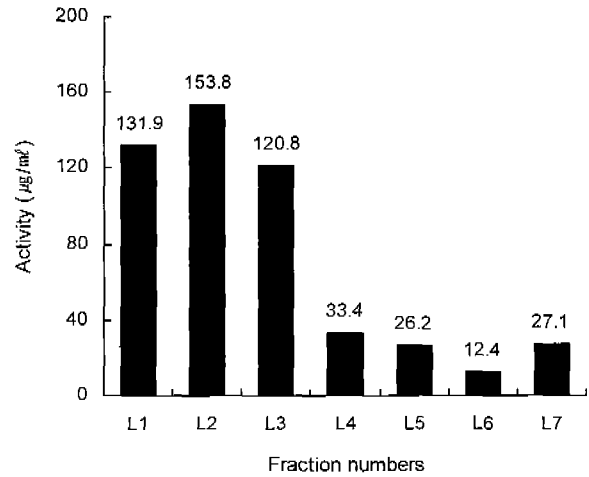


Fig. 3. DPPH free radical scavenging activity on different fraction in whole plant by LH-20 column chromatography.

출물에 비하여 환류 추출에 의한 추출물은 GC/MS에 의하여 조사된 화합물의 함량이 높았으며, 특히 2[1H]-pyridinethione, 2-hydroxy-5-methylbenzaldehyde, 2-phenoxyanilin 및 4-[3-hydroxy- 1-propenyl] -2- methophenol 등의 phenolic 화합물이 높았다. 이와 같은 경향은 침지 추출물보다 환류 추출 방법에서 DPPH free radical 소거활성이 높았던(Table. 2)결과와 밀접한 관련이 있는 것으로 사료된다.

LH-20 column chromatography로 항산화 물질을 정제한 후 항산화 활성이 가장 높았던(Fig. 3) L6추출물을 분석한 결과(Table 3), 3가지의 단일 물질을 동정하였다. 분획물의 항산화 활성이 column 분획 전인 Ethyl acetate 분획에 비하여 6.5배 높았던 것을 고려한다면, 동정된 2,6-methano-3-benzazocin-11-ol, 2[1H]-pyridinethione 및 2-hydroxy -5-methylbenzaldehyde의 물질들이 주요 항산화 물질이라고 사료된다.

동정된 phenolic 화합물은 과일이나 채소가 분해될 때 그리고 녹차, 홍차 및 wine에서 보통 발견되는 화합물로서 항균, 항알레르기 예방에 효과가 있는 것으로 보고되어 있으며[18,27], 특히 퇴행성질환의 발병빈도를 저하시키고 [9,12], 실험적 증거에 의하여 인간의 건강증진을 위하여 천연 생리화학적 항산화 물질로서 중요한 역할을 하는 것으로 보고되어 있다[10,21,22,26].

까마중의 부위별 항산화 효소 활성을 조사한 결과(Fig. 4,

Table 2. Comparison of the antioxidative compounds on extracts according to extraction method

(Compound peak area / I.S.T.D peak area)

Peak No.	Compounds	shaking ¹⁾	circulating ²⁾
A	5- 3-phenyl-isoxazolol	N.D	0.350
B	2,6-Methano-3-benzazocin-11-ol	4.077	1.825
C	4H-pyran-4-one	N.D	0.389
D	2[1H]-Pyridinethione	0.326	3.348
E	2-methyl-5-[1-methylethyl]-phenol	0.353	0.254
F	2-Hydroxy-5-methylbenzaldehyde	N.D	2.441
G	benzenamine	N.D	0.129
H	2,3,5,6-tetrafluoranisole	N.D	0.618
I	2-phenoxyanilin	0.137	1.460
J	4-[3-hydroxy-1-propenyl]-2-metho-phenol	0.131	0.690
K	2H-1-benzopyran-2-one	0.966	0.720

N.D. : Not detected.

¹⁾Shaking extracion with 80% MeOH for 3 days.

²⁾Circulating extraction with 80% MeOH for 6 hrs.

Table 3. The antioxidative compounds in whole plant
(Compound peak area / I.S.T.D peak area)

Peak No.	Compounds	L6
B	2,6-Methano-3-benzazocin-11-ol	0.499
D	2[1H]-Pyridinethione	1.265
F	2-Hydroxy-5-methylbenzaldehyde	2.399

5) POD 활성은 줄기와 뿌리에서 가장 높았으며 꽃, 잎 그리고 열매 순으로 높게 나타났다. 줄기는 뿌리와 비슷한

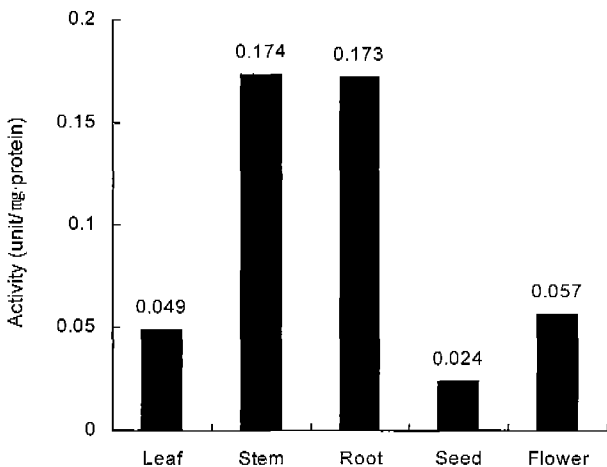


Fig. 4. Peroxidase activity of plant positions in *Solanum nigrum*.

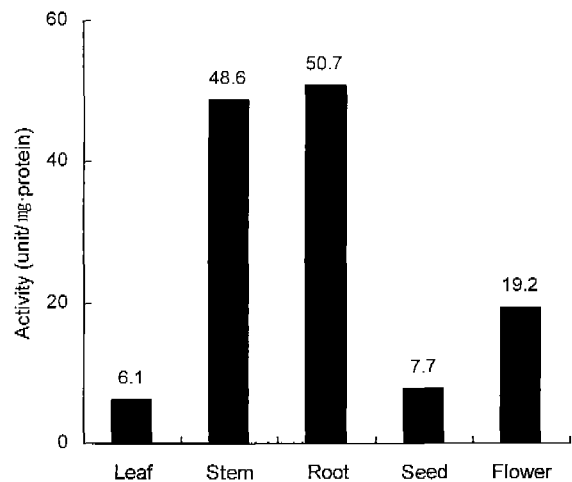


Fig. 5. Superoxide dismutase activity of plant positions in *Solanum nigrum*.

활성을 나타내었고, 꽃과 잎 그리고 열매에 비하여 3.1배, 3.7배, 그리고 7.3배 각각 높았다. SOD 활성은 뿌리와 줄기에서 높은 활성을 보였으며, 꽃, 열매, 그리고 잎 순으로 높았다. 본 실험에서 SOD 활성이 높았던 식물체의 뿌리와 줄기에서 비효소적 항산화 방어제인 DPPH free radical 소거활성도 높았다. ascorbic acid 및 catechin, curcumin, lecithin, glutathion과 같은 항산화 물질들이 SOD 유사활성을 나타내며 flavonoid 중에서 quercetin, myricetin, rutin 등도 superoxide anion radical을 저해하는 것으로 알려져

있다[13,14,20,25].

까마중의 생육시기별 POD 및 SOD 활성을 조사한 결과 (Fig. 6, 7), 줄기와 뿌리에서의 POD 및 SOD 활성은 파종 후 60일에서 공히 가장 높게 나타났고 엽중의 POD 및 SOD 활성은 생육시기별로 일정한 경향을 나타내지 않았다. 따라서 줄기와 뿌리의 POD 및 SOD 활성은 식물체 영양생장기 동안에는 증가하였으나, 개화 후기(파종 후 80일) 부터 감소하는 것으로 사료된다.

까마중의 부위별 POD 및 SOD 동위효소 패턴을 조사한 결과(Fig. 8), POD 동위효소 패턴은 뿌리, 줄기, 잎, 꽃, 열

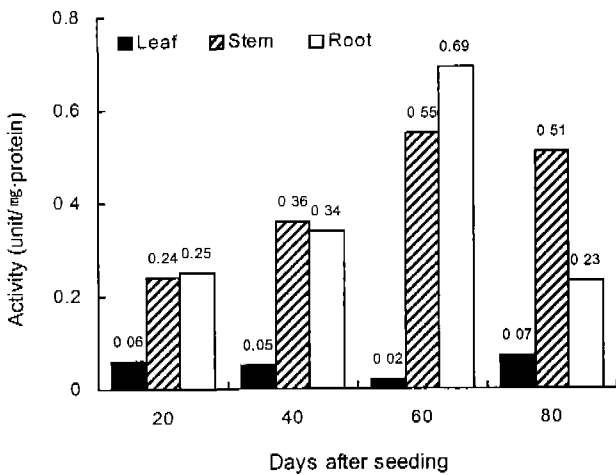


Fig. 6. POD activity of plant positions according to days after seeding in *Solanum nigrum*.

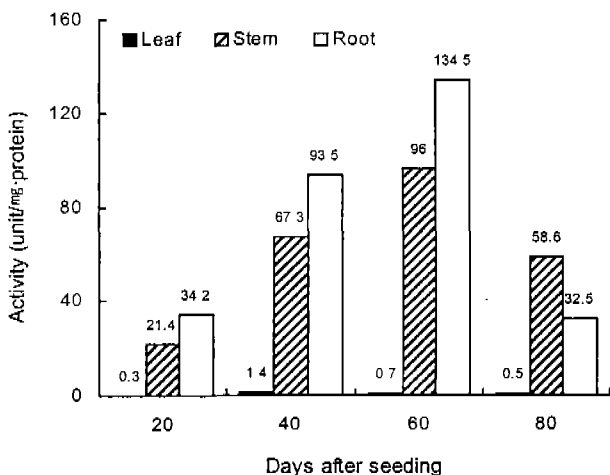


Fig. 7. SOD activity of plant positions according to days after seeding in *Solanum nigrum*.

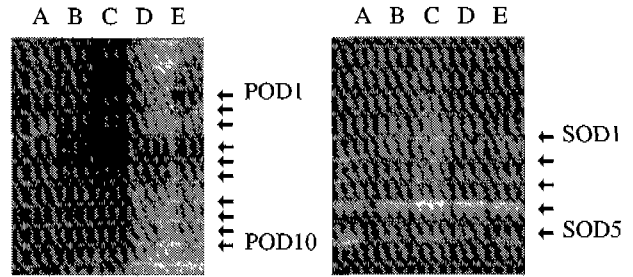


Fig. 8. Isozyme patterns of POD and SOD on the plant positions of *Solanum nigrum*.

A : Leaf B : Stem C : Root D : Seed E : Flower

매에서 각각 10개, 6개, 5개 4개 그리고 2개의 동위효소 패턴이 나타났다. 이들 band를 전기이동도에 따라서 POD 1에서 POD 10으로 명명하였다. 활성이 좋은 줄기와 뿌리에서는 POD 5, POD 8, POD 9, POD 10이 강하게 나타났다.

SOD 동위효소 패턴은 전체적으로 5개에서 3개의 band가 검출되었다. 이들 band들을 전기이동도에 따라 SOD 1에서 SOD 5로 명명하였다. SOD 동위효소 패턴은 앞에서 5개, 줄기와 열매에서 각각 4개, 뿌리와 꽃에서 각각 3개가 나타났다. 그 중 SOD 활성이 가장 높았던 뿌리는 2개의 band만 검출되었으며, 특히 SOD 4에서 강하게 나타났다. 따라서 SOD 활성과 SOD 동위효소 band의 수와는 관련이 없었고, 어느 특정한 band (SOD 4)에 의하여 그것의 활성을 나타낼 것으로 사료된다.

요 약

까마중의 부위별 DPPH free radical 소거활성은 뿌리에서 가장 높았고, 줄기, 전부위, 열매, 잎 그리고 꽃 순으로 높았다. 추출방법간의 DPPH free radical 소거활성은 80% methanol에 침지하여 추출한 것보다는 80°C에서 80% methanol에 환류 추출한 것이 높았다.

Sephadex LH-20 column chromatography에 의하여 분획된 L6의 DPPH free radical 소거활성은 ethyl acetate 분획 추출물보다 6.7배 높았다. 분획물내의 주요 물질은 2, 6-methano- 3-benzazocin -11-ol, 2[1h]-pyridinethione 및 2-hydroxy-5- methylbenzaldehyde로 phenolic 화합물이었다. 줄기와 뿌리의 POD 및 SOD 활성은 타 부위에 비하여 높은 활성을 나타내었고, 생육시기간에는 파종 후 60일에

서 활성이 가장 높았다. POD의 동위효소 패턴은 뿌리에서 10개의 band로 가장 많았고 그 중 8개의 band가 식물체의 부위별로 차이가 있었으며, SOD의 동위효소 패턴은 잎에서 5개의 band로 가장 많았고 그 중 2개의 band가 식물체의 부위별로 차이가 있었다.

감사의 글

본 연구는 2000년 한국학술진흥재단의 연구비(KRF-2000-013-GA0035)에 의하여 연구되었음.

참 고 문 헌

- Ames, B. N., M. K. Shigenaga and T. M. Hagen. 1993. Oxidants, antioxidants and the degenerative diseases of aging. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **90**, 7915-7922.
- Barry, R. H. 1995. Superoxide and hydrogen peroxide in relation to mammalian cell proliferation. *Free Radical Biology & Medicine* **18**, 775-794.
- Beauchamp, C., I. Fridovich. 1971. Superoxide dismutase: Improved assays and an assay applicable to acrylamide gels. *Anal. Biochem.* **44**, 276-287.
- Beckman, K. B. and B. N. Ames. 1998. The free radical theory of aging matures. *Physiol. Rev.* **78**, 547-581.
- Bradford, M. M. 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein dye binding. *Anal. Biochem.* **72**, 248-254.
- Branen, A. L. 1975. Toxicological and biochemistry of butylated hydroxytoluene, butylated hydroxyanisole. *J. Am. Oil Chem. Soc.* **52**, 59-63.
- Cotelle, N., J.-L. Bernier, J.-P. Catteau, J. Pommery, J.-C. Wallet and E. M. Gaydou. 1996. Antioxidant properties of hydroxy-flavones. *Free Radic. Biol. Med.* **20**, 35-43.
- Fridovich, I. 1978. The biology of oxygen radicals. *Science* **201**, 875-884.
- Goldbohm, R. A., M. G. Hertog, H. A. Brant, G. Van Poppel and P. A. Van der Brandt. 1996. Consumption of black tea and cancer risk: a prospective cohort study. *J. Natl. Cancer Inst.* **88**, 93-100.
- Halliwell, B. 1996. Antioxidants in human health and disease. *Ann. Rev. Nutr.* **16**, 33-50.
- Harman, D. 1956. Aging: a theory based on free radical and radiation chemistry. *J. Gerontol.* **11**, 298-300.
- Hertog, M. G. 1996. Epidemiological evidence on potential health properties of flavonoids. *Proc. Nutr. Soc.* **55**, 385-397.
- Hussain, S., W. Slikker and S. F. Ali. 1996. Role of metallothionein and other antioxidants in scavenging superoxide radical and their possible role in neuroprotection. *Neurochem. Int.* **29(2)**, 145-152.
- Kim, S. J., D. S. Moon and J. S. Rhee. 1995. Measurement of superoxide dismutase-like activity of natural antioxidants. *Biosci. Biotech. Biochem.* **59(5)**, 822-826.
- Lee, S. K. 1997. Evaluation of cancer chemopreventive activity mediated by antioxidants and modulators of tumor promotion. Ph.D thesis of university of Illinois at Chicago. 52-54.
- McCord, J. M. and I. Fridovich. 1969. Superoxide dismutase. An enzymic function for erythrocyte protein (Hemocuprein). *J. Biol. Chem.* **244**, 6049-6055.
- Ohmori, Y., M. Ito, M. Kishi, H. Mizutani, T. Katada and H. Konishi. 1995. Antiallergic constituents from oolong tea stem. *Biol. Pharm. Bull.* **18**, 683-686.
- Omaye, S. T., K. A. Reddy and C. E. Cross. 1977. Effect of butylated hydroxytoluene and antioxidant on mouse lung metabolism. *J. Toxicol. Environ. Health* **3**, 829-836.
- Rivett, A. J. 1985. Purification of a liver alkaline protease which degrades oxidatively modified glutamine synthase. Characterization a high molecular weight cysteine proteinase. *J. Biol. Chem.* **260**, 12600-12606.
- Robak, J. and R. J. Grylewski. 1998. Flavonoids are scavengers of superoxide anions. *Biochem. Pharmacol.* **37(5)**, 837-841.
- Sadzuka, Y., A. Sugiyama, Y. Nozawa and S. Hirota. 1996. The effects of theanine, as a novel biochemical modulator, on the antitumor activity of adriamycin. *Cancer Lett.* **105**, 203-209.
- Serafini, M., A. Ghiselli and A. Ferro-Luzzi. 1996. In vivo antioxidant effect of green and black tea in man. *Eur. J. Clin. Nutr.* **50**, 28-32.
- Shigenaga, M., T. M. Hagen and B. N. Ames. 1994. Oxidative damage and mitochondrial decay in aging. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* **91**, 10771-10778.
- Smith, R. C., J. C. Reeves, R. C. Dage and R. A. Schmettler. 1987. Antioxidant properties of 2-imidazolones and 2-imidazolthiones. *Biochem. Pharmacol.* **36**, 1457-

- 1460.
25. Sreejayan, R. M. N. 1997. Nitric oxide scavenging by curcuminoids. *J. Pharm. Pharmacol.* **49(1)**, 105-107.
 26. Stoner, G. D. and H. Mykhtar. 1995. Polyphenols as cancer chemopreventive agents. *J. Cell. Bio. Chem.* **22**, 169-180.
 27. Vijaya, K., S. Ananthan and R. Nalini. 1995. Antibacterial effect of theaflavin, Polyphenon 60 (*Camellia Sinensis*) and *Euphorbia hirta* on *Shigella* spp. *J. Ethno pharmacol.* **49**, 115-118.
 28. Yuichiro, S., J. F. Henry and A. Sevanian. 1997. Oxidants as stimulators of signal transduction. *Free Radical Biology & Medicine* **22**, 269-285.
 29. 김창민, 신민교, 안덕균, 이경순 외. 1998. 중약대사전. 4101-4102., 정담출판사, 서울.
 30. 大柳善彦. 1989. "SOD의 活性酵素調節劑", 223-290, スカベソシゼ--と 抗酸化劑 日本 醫學館, 東京.

(Received April 20, 2001; Accepted October 17, 2001)