

매실추출물의 항산화력 탐색

심재한* · 박명우 · 김미라 · 임계택¹ · 박승택²

전남대학교 농업과학기술연구소, 응용생물공학부

¹전남대학교 생물공학연구소 생활성물질부

²원광대학교 의과대학 해부학교실

(2002년 1월 22일 접수, 2002년 4월 2일 수리)

매실(*Prunus mune* Sieb. et Zucc.)의 품종간, 그리고 수확기에 따라 매실추출물의 항산화력을 알아보기 위하여 본 실험을 수행하였다. 먼저 항산화력은 1,1-diphenyl-2-picryl hydrazyl(DPPH), thiocyanate, glutathione-S-transferase와 같은 화학적 방법과 생물학적 방법으로 mouse의 spinal cord culture system에 superoxide anion을 발생시켜 측정했다. 일반적으로 매실 에탄올 추출물은 항산화력을 갖고 있었으며 DPPH, thiocyanate방법에 있어서 butylated hydroxy toluene(BHT)과 비교하였을 때 옥영이 다른 품종보다 97.5%로 제일 높았으나 품종간에 유의성은 없었다. Glutathione-S-transferase방법으로 butylated hydroxy toluene(BHT)와 매실추출물의 항산화력을 비교해본결과 70% 이상의 강한 항산화력을 보여주었다. 생쥐의 척수신경세포 배양시 세포생존율은 옥영, 남고, 고전매추출물을 40 mg 처리했을 때 각각 89, 79 그리고 62%였고, 6 mM의 glutathione을 처리했을때는 90%였다.

Key words: 매실, 과산화수소, 항산화제, 생쥐 척수신경세포배양법

서 론

노화의 원인중의 하나인 산소에서 유리되는 여러 활성산소가 세포기능에 미치는 영향은 매우 크고 superoxide anion radical, hydroxy radical, singlet oxygen 및 H₂O₂ 등의 활성산소에 의한 산화가 노화의 원인과 질병 등의 원인이 되는데 요즘 많은 학자들에 의해 이들의 제거 및 활성을 약하게 하는데 관심이 모아지고 있다. 이들은 건강한 조직에서의 백혈구 등이 이를 이용하여 외부에서 침입한 각종 비자기 물질들을 비특이적으로 제거하는 필수적인 물질이기도 하지만 주로 불포화 지방산이 풍부한 생체막에서 자유라디칼반응에 관여함으로써 지질 과산화를 일으키는 것으로 알려져 있다¹⁾. 따라서 산화방지를 위해 생명체에 활성을 줄 수 있는 phenol계, amine계, flavonoid계 등의 합성항산화제를 개발해 왔지만 이들의 유해성과 안전성 문제가 거론되면서 논란의 대상이 되고 있다.²⁾ 예를 들면, phenol계의 합성 항산화제(butylated hydroxy anisole(BHA), BHT 등)가 과산화 방지를 위해 사용되었는데 이들은 단용 또는 혼용으로 일정수준 이상 섭취시 심각한 여러 질병을 유발시킬 수 있는 것으로 알려져 있고³⁾ 이취가 있고 고온에 불안정하며, 기형발생인자 및 발암물질이 될 수도 있다. 특히 합성항산화제의 과용은 간, 위장점막, 폐, 신장, 순환계등에 심각한 독성작용을 일으키는 것으로도 알려져 있다⁴⁾. 합성 항산화제에 대한 이러한 유해성이 거론되면서 규격이 엄격해지고, 안전성 등에 의문이 제기되면서 안전성이 확보된 천연 항산화물질을 찾

고자 하는 노력이 다방면에서 활발히 이루어지고 있다^{5,6)}.

모든 고등식물에는 tocopherols, flavonoids, phosphatides와 같은 여러 가지 천연항산화물질이 존재하는데⁷⁾, 이 중 매실은 옛부터 간혈, 간장, 强肝작용을 갖고 있는^{8,9)} 유용한 한방요약 및 식품으로 이용되어오고 있는 남부지방의 특산물로 우리나라에서 재배되는 매실생산량 중 63% 이상이 전남지방에서 수확되고 있다. 또한 매실의 풍부한 유기산과 rutin 같은 성분등으로 인해 항균활성과 피로회복, 식용증진과 해독등의 효과가 있어¹⁰⁾ 민간약으로의 이용성이 높음에 따라 매실체내에 존재하는 천연 기능성물질을 추출하여 전남지방에서 재배되고 있는 매실 품종간의 차이를 화학적인 방법과 생물학적인 방법으로 비교하고, 수확시기별로 매실의 항산화 효과가 있는지와 또한 그 역가를 측정하여 비교했다.

재료 및 방법

재료. 실험에 사용된 매실은 전남 해남 난지과수시험장과 전남 승주농협에서 1997년 5-6월에 걸쳐 8품종을 구입하여 물로 세척한 후 분쇄한 매실을 에탄올과 같은 비율(1:1, w/v)로 수일 침지시켜 추출하고 Whatman No. 6여과지를 사용하여 여과하였다. 이 여액을 감압 농축시켜 매실의 추출물 시료로 사용하였다.

시약. Xanthine, xanthineoxidase(XO), 1-chloro-2,4-dinitrobenzene(CDNB), linoleic acid, DPPH, glutathione, hypoxanthine, BHT, α-ascorbic acid 등은 Sigma사(St. Louis, MO, USA)에서 구입하였고, 그 밖의 일반적인 시약은 특급을 사용하였다.

매실추출물의 항산화력 측정. 해남 난지시험장에서 구입한

*연락처

Phone: 82-62-530-2135; Fax: 82-62-530-2139

E-mail: jhshim@chonnam.ac.kr

만개후 70일인 8품종(고전매, 남고, 옥영, 앵숙, 화향실, 소매, 백가하, 고성)과 승주농협에서 구입한 만개후 90일인 매실 2품종(남고, 옥영)을 에탄올로 추출한 후, 극성이 다른 3가지 유기용매(methanol, ethylacetate, hexane)로 분획하고 항산화 활성이 높은 분획을 찾기 위해 DPPH를 이용하여 검색하였으며 추출물을 분리, 정제하기 위해 methanol과 chloroform 혼합용매로 silicagel column(4×50 cm) chromatography를 실시하였다. 고전매, 남고, 옥영, 앵숙, 화향실, 소매, 백가하, 고성 이상 8품종의 전자 공여작용을 측정하고 이 중 전자 공여작용이 비교적 큰 고성, 남고, 옥영, 고전매를 만개후 70일과 90일로 나누어 측정하고 해남 난지시험장과 승주농협에서 구입한 것으로 비교 측정하였다. 전자 공여작용(electron donating abilities, EDA)의 측정은 각 시료 0.1 ml에 4×10^{-4} M DPPH용액(99.9% ethanol에 용해) 1.9 ml를 가한 후 vortex mixer로 10 초간 진탕하여 5~10분 후 분광광도계를 사용하여 525 nm에서 흡광도를 측정하였다.

Thiocyanate방법에 의한 항산화력 측정. Thiocyanate에 의한 항산화력은 Takao 등¹¹⁾의 방법을 사용하였고, 매실 추출물과 합성 항산화제인 BHT와의 비교를 통해 thiocyanate 방법으로 다음과 같이 측정하였다. 각 시료용액에 linoleic acid를 가하고, 0.2 M phosphate buffer(pH 7.5), 그리고 증류수를 가하여, 37°C 암조건에서 반응 시켰다. 각 시료용액에 75% EtOH, NH_4SCN , ferrous chloride reagent를 가하고 3분 후 500 nm에서 흡광도를 측정하여 항산화력을 조사하였다.

Xanthine oxidase와 Hydroxyl radical의 소거력 측정. Beyer와 Fridovich¹²⁾의 방법에 따라 xanthine 0.5 ml 및 50 mM phosphate buffer(pH 7.5) 0.3 ml를 혼합하여 분획의 농도를 달리해 가하고, buffer용액에 50배 희석한 XO를 첨가하여 293 nm에서 3분간 흡광도 증가를 측정하였다. 또한 hydroxyl radical의 측정은 Beyer와 Okezie¹³⁾의 방법에 따라 532 nm에서 측정하였다.

Glutathione-S-transferase(GSH-T)의 활성 측정. 0.25 M phosphate buffer(pH 6.5)와 2% triton X-100, 그리고 sample의 농도를 달리하여 microsomes(10 mg/ml)을 첨가하고 잘 섞은 액을 가용화 MS로 하였다. GSH-T활성 측정은 Habig 등의 방법¹⁴⁾에 따라 0.25 M phosphate buffer(pH 6.5), 증류수, 가용화 MS, 20 mM CDNB용액을 시험관(10 ml)에 넣고 340 nm에서 1분간 변화된 흡광도를 측정하였다.

Mouse의 neuron cell에 대한 생존율 측정. Mouse(Balb C)의 척수신경세포를 절취하여 phosphate buffered saline(PBS)으로 씻고 myeline을 잘게 세절하고 0.25% trypsin과 2 mg/ml DNase를 첨가하여 37°C 배양기에서 15분간 배양하였다. 그후 trypsin용액을 제거하고 PBS를 가하여 상정액을 없애고 10% fetal bovine serum(FBS)를 minimum essential media(MEM)에 첨가하여 원심분리 했다. Single cell로 된 MEM, 5% CO_2 를 37°C에서 적어도 1주정도 배양한 후 매실의 품종별 추출물의 일정 농도와 시간으로 배양액에 첨가하여 배양하였다. 배양 후 살아있는 세포 배지액에 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide(MTT)를 첨가하여 3시간 정도 배양한 후 배양액을 버리고 일정량의 isopropanol을 첨가한 후

microelisa reader로 570 nm 파장에서 측정하였다.

결과 및 고찰

매실 추출물의 항산화력 측정. 분쇄한 8가지 매실(옥영, 남고, 고전매, 화향실, 앵숙, 소매, 백가하, 고성)의 에탄올 추출물을 극성이 다른 용매 즉 hexane, ethylacetate, methanol로 3회 분획을 실시하였다. DPPH에 의한 항산화력 측정은 발색 정도로 항산화력의 유무를 육안으로 확인하였다. 추출 용매에 따른 발색의 변화에서 매실 품종간의 차이는 없었으나 methanol 추출물에서 항산화력이 높게 나타남을 확인하였는데 이러한 결과는 극성정도에 기인한 것으로 매실에서의 기능성물질은 극성이 높은 용매에 의해 추출됨을 알 수 있었다. 항산화력이 높은 methanol 추출물을 silica gel column chromatography를 실시하여 methanol과 chloroform을 이용하여 용리한 결과 methanol 30% 분획에서 비교적 높은 항산화력을 확인할 수 있었고 이 분획을 특별한 설명이 없는 한 본 실험의 시료로 사용하였다. 전자 공여작용은 활성라디칼에 전자를 공여하여 지방질 산화를 억제시키는 척도로 사용되고 있을뿐만 아니라 인체내에서 활성라디칼에 의한 노화를 억제하는 작용의 척도로도 이용되고 있다. 매실의 품종, 지역별 전자공여작용은 고성>고전매>남고>앵숙>옥영>소매>백가하>화향실의 순으로 나타났는데 고성, 고전매, 남고, 앵숙, 옥영이 비교적 비슷한 수준의 전자공여작용을 보였다. 이 중 2품종을 선발한 만개 90일에서는 옥영이 남고보다 큰 전자공여작용을 보였다. 또한 시기(만개)에서는 90일이 70일보다 크게 나타났다.

Thiocyanate에 의한 항산화력 측정. Thiocyanate 방법에 의한 항산화력 측정은 인공 항산화제인 BHT(100%)와 비교를 실시한 결과, 옥영(97.5%), 고전매(94.1%), 남고(89.1%)의 순으로 나타났다. 이 결과는 DPPH에 의한 측정과 비교하여 화학적인 분석인 thiocyanate 방법에 의한 항산화 측정결과와 아주 흡사하게 나타났다. 이것은 phenol계 항산화제에 있어서 DPPH와 thiocyanate방법에 민감하다는 보고와 일치하다는 결과를 보여주는 것이다.

Xanthine oxidase와 hydroxyl radical의 소거력 측정. 산화적인 대사에서 xanthine/XO 반응계에서 측정되는 superoxide anion radical에 대한 소거효과는 어떤 물질에 의해 반응계 자체가 억제될 경우, 즉 XO의 활성이 저해되는 경우 그 물질의 실제 라디칼 소거효과보다 높은 활성으로 나타나게 된다. BHT와 매실추출물의 농도를 달리해 산화 효소인 XO의 저해활성 효과를 측정한 결과 relative activity가 동일농도에서 BHT가 100% 저해 했을때와 비교하여 옥영(29.1%), 남고(29.5%), 고전매(31.8%)는 거의 비슷한 수준의 활성을 나타낸 반면, BHT에 비해서는 1/3정도 수준의 저해효과만이 나타났다. 이러한 결과를 볼 때 옥영, 남고, 고전매의 추출물들이 갖는 매우 높은 라디칼 소거능과 XO의 낮은 억제 효과는 순수하게 정제된 상태가 아니므로 XO를 억제하는 물질과 라디칼소거능을 가진 물질들이 동일물질이라고 생각할 수 없으며 Hatano 등¹⁵⁾은 효소의 저해활성과 라디칼 소거능간의 상관관계는 찾을 수 없었지만 XO를 강하게 저해하는 탄닌 및 관련 물질들이 라디칼 소거능

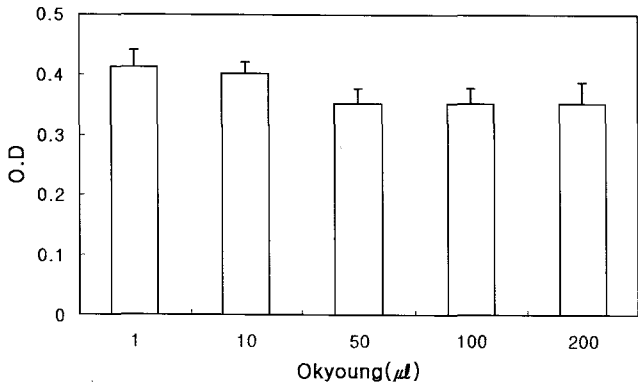


Fig. 1. The deoxyribose assay for detecting hydroxyl radicals was followed as modified Okezie I. Aruoma methods. The results indicate the mean ± SEM (n = 3).

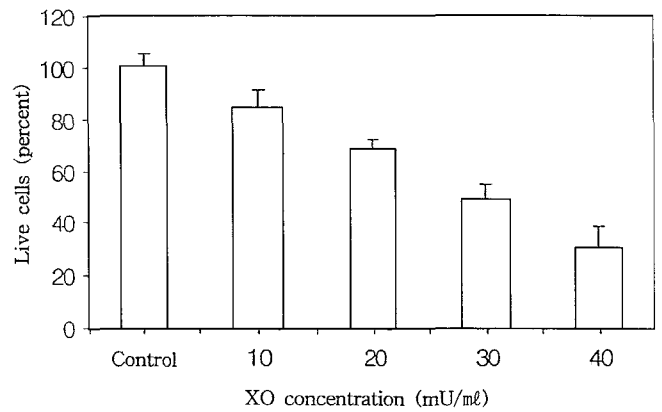


Fig. 3. Dose-response relationship of xanthine oxidase (XO) concentrations on in cultured mouse dorsal root ganglion (DRG) neurons. Cultured cells were exposed to 10, 20, 30 and 40 mU/ml xanthine oxidase (XO) for 3 hours. Cytotoxicity was measured by MTT assay in DRG neuron cultures. The results indicate the mean ± SEM (n = 6).

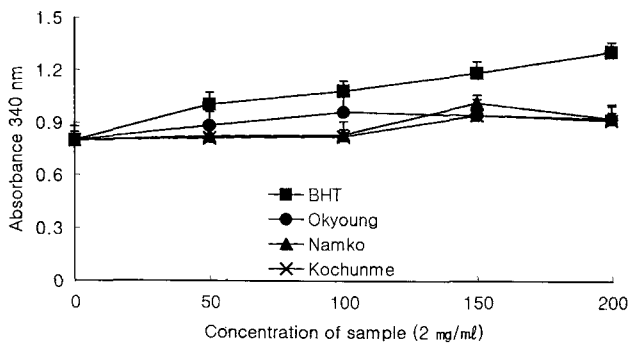


Fig. 2. The activity of Glutathione-S-transferase in liver microsome with BHT, Okyoung, Namgo, Kochunme. The results indicate the mean ± SEM (n = 3).

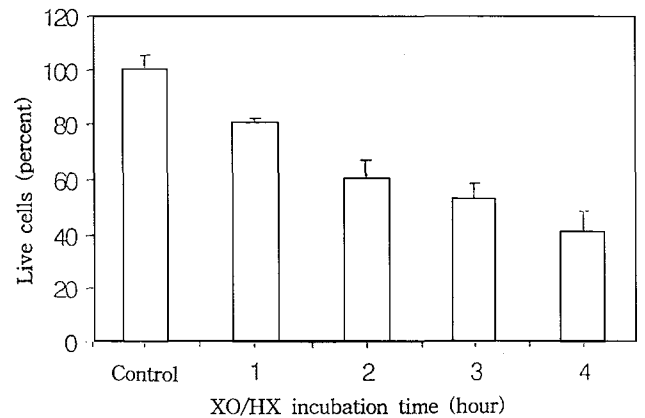


Fig. 4. Time-response relationship of xanthine oxidase (XO) and hypoxanthine (HX) on cultured mouse dorsal root ganglion (DRG) neurons. Cytotoxicity was measured by MTT assay in cultured mouse DRG neurons. Cultured cells were exposed to 30 mU/ml xanthine oxidase (XO) and 0.1 mM hypoxanthine (HX) for 3 hours. The results indicate the mean ± SEM (n = 6).

을 공유한다고 한 바 있다. 한편, 매실(옥영)의 hydroxyl radical의 저해측정은 ascorbic acid와 비교했을때는 높은 hydroxyl radical의 저해능이 나타났는데 이는 XO와 hydroxyl radical 저해측정을 비교해 봤을 때 매실의 저해활성의 대부분이 radical의 소거활성에 의해서 나타남을 알수 있었다(Fig. 1).

Glutathione-S-transferase(GSH-T)의 활성도 측정. Xenobiotics의 생체내 전달메카니즘에 따른 해독작용에 관여하는 GSH-T는 매우 다양한 친전자성 기질인 CDNB가 기질로 이용되며, 또한 소수성 치환체(hydrophobic substituents)를 함유한 이 전달효소는 소수성 물질 -bilirubin, steroid- 들의 기질들과 결합하여 용해화(solubilization), 해독 그리고 분해대사를 수행한다. Mouse의 간에서 분리한 microsome에 옥영, 남고, 고전매의 양을 달리한 투여에서 Fig. 2에서 보여주는 것과 같이 BHT보다는 활성이 적지만 상당한 활성이 옥영, 남고, 고전매에서 나타났다. 또한 시료의 농도증가에 따른 활성증가에서 모든 시료가 완만한 증가의 활성을 나타냈고, BHT와 비교하여 relative activity가 옥영 72.4%, 남고 77.6%, 고전매 71.2%로 나타났다. 이러한 결과를 봤을 때 매실 추출물이 세포내 환원에 관여하는 효소인 GSH-T의 전자방출을 감소시켜 매실추출물의 농도증가에 따라 GSH-T의 활성이 증가하는 것으로 생각된다.

Mouse의 neuron cell에 대한 생존율 측정. 배양된 mouse의 신경척수세포에서 XO의 농도에 따른 투여-반응관계에서 배

양액에 3시간 동안 XO를 노출시킨 후 농도증가에 따른 세포의 숫적 생존율을 MTT assay에 의하여 측정된 결과 10 mU/ml의 처리에서는 대조군(100%)에 비하여 생존율이 84%로 나타났으며 20과 30 mU/ml에서는 각각 68%와 48%로 나타났다. 또한 40 mU/ml에서는 30%로 나타났다(Fig. 3). 이 결과로 XO의 농도가 증가함에 따라 비례적으로 세포생존율의 저해를 관찰할 수 있었는데 mouse의 신경척수세포에 내재하는 xanthine(분자상의 산소를 수소(전자)수용체로 이용)을 기질로 하여 산화하는 반응을 촉매 함으로써 나타난 결과로 추측된다. 30 mU/ml XO와 0.1 mM HX의 신경척수세포에서의 작용을 배양시간 증가에 따라 조사했는데 1시간 배양에서 약 80% 생존율이 나타났고 2시간 배양에서 60%의 생존율, 그리고 3시간과 4시간 배양에서는 52%, 40%로 각각 낮은 세포생존율을 보였다(Fig. 4). 이러한 결과로 XO와 HX 농도가 일정할 때에는 배양시간이 증가함에 따라 세포수의 생존율이 현저하게 감소함을 알 수

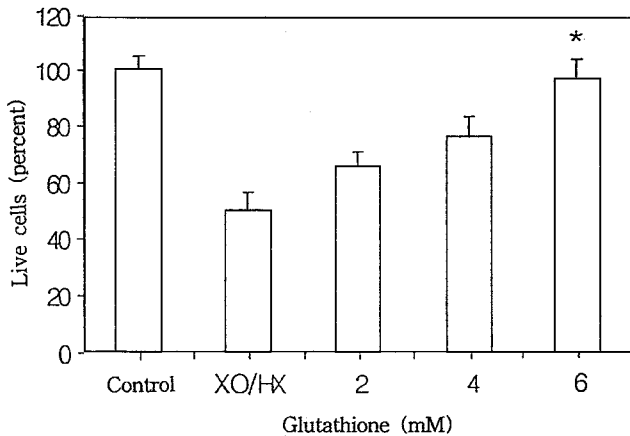


Fig. 5. Dose-response relationship of glutathione for its neurotrophic effect on oxidant-induced neurotoxicity by MTT assay. Cultured mouse dorsal root ganglion (DRG) neurons were preincubated with glutathione for 2 hour before exposure to 30 mU/ml xanthine oxidase (XO) and 0.1 mM hypoxanthine (HX) for 3 hours. Cultured cells were exposed to 2, 4 and 6 mM glutathione for 2 hours, respectively. The results indicate the mean \pm SEM (n = 6).

있는데 XO가 HX를 기질로 하여 산화반응을 촉진시킴으로써 유리 라디칼 생성증대 및 세포생존을 감소를 유발하는 것으로 생각되었고, XO의 농도와 배양시간이 세포수의 생존율에 관여하는 중요한 인자로 작용함을 알 수 있었다. Fig. 5는 항산화 물질인 glutathione이 신경세포의 생육에 미치는 영향을 조사한 것이다. Glutathione 투여가 6 mM일 때 거의 90% 이상의 생존율이 나타났음을 알 수 있었다. 이러한 결과는 항산화물질인 glutathione이 XO, HX의 효과를 감소시켜 세포생존율을 증가시킴을 보여주었다. Mouse의 척수신경세포에 매실추출물(옥영, 남고, 고전매)의 양을 달리한 첨가와 항산화 물질인 6 mM glutathione과의 비교를 실시하였는데 배양된 mouse의 척수신경세포에 2시간동안 매실추출물을 preincubation 시키고 30 mU/ml XO와 0.1 mM HX를 3시간동안 노출시켰을 때 30%의 세포의 숫적 생존율이 나타났고 배양된 세포에 옥영, 남고, 고전매 추출물을 40 mg 처리했을 때 각각 89%, 79%, 62%의 생존율이 나타났다. 이러한 결과는 $P \leq 0.05$ 수준에서 유의성을 보여주었다. 이러한 세포생존율은 매실추출물의 처리가 신경세포에 손상을 주는 active oxygen을 저해한다는 것을 시사해주고 있고, XO/HX는 mouse의 척수신경세포의 생존율을 저해하는데 매실추출물이 효과적으로 작용하는 것이 확인되었다(Fig. 6). 또한, 매실추출물 첨가량의 증가에 따라 점차적으로 hydroxyl radical에 의한 mouse 척수신경세포의 손상이 보호되어 살아있는 세포수가 증가하는 것을 보여주었다. 따라서 이는 매실추출물이 신경세포에 있어서 radical의 damage에 의해 야기되는 여러 질병의 예방에 유용하게 사용될 수 있는 가능성을 제시해 준다. 위와 같은 결과들을 봤을 때 여러 요인에 의해 발생하는 산소 자유기가 과산화반응(peroxidation)의 시슬을 활성화시켜 그 결과 효소나 신경세포에 손상을 주어 효소의 억제나 세포의 생존력을 감소시키고, 본 연구에서처럼 매실추출물이 방어에 효과적으로 작용하여 합성항산화제 못지않은 활성을 보였으며, 매실추출물이 조추출물이고 합성항산화제의 유해성 문제를 감안

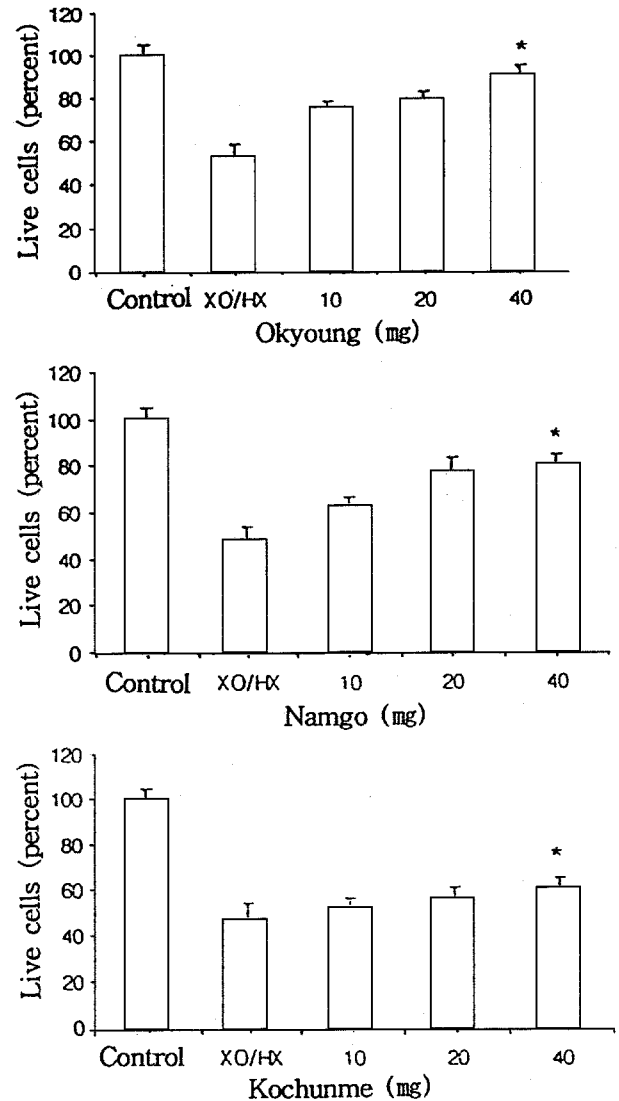


Fig. 6. Dose-response relationship of fructus mune extract for its neuroprotective effect on oxidant-mediated neurotoxicity by MTT assay. Cultured mouse dorsal root ganglion (DRG) neurons were preincubated with fructus mune extract (Okyoung, Namgo, Kochunme) for 2 hour before exposed to 30 mU/ml xanthine oxidase (XO) and 0.1 mM hypoxanthine (HX) for 3 hours. Cultured cells were treated with 10, 20 and 40 mg fructus mune extract for 2 hours, respectively, and its effect was compared with that of 6 mM glutathione (GSH). The results indicate the mean \pm SEM (n = 6). * $p \leq 0.05$

할 때 또한 매실추출물이 천연에서 추출한 물질이란 점에서 앞으로 활성물질의 종류를 분류검토하고 이의 이용성에 대하여 연구하는데 있어서 그 의의가 크다고 볼 수 있을 것이다.

참고문헌

- Ames, B. N., Shigenaga, M. K. and Hagen, T. M. (1993) Oxidants, antioxidants, and the degenerative disease of aging. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **90**, 7915-7922.
- Lim, K. T. and Shim, J. H. (1997) Antioxidative effects of ethanol extracts from *Rhus Verniaiflua* Stokes (RVS) on mouse whole brain cells. *J. Food Sci. Technol.* **29**, 1248-1254.

3. Branen, A. L. (1975) Toxicology and biochemistry of butylated hydroxy anisole and butylated hydroxytoluene. *J. Am. Oil Chem. Soc.* **52**, 59-63.
4. Choe, S. Y. and Yang, K. H. (1982) Toxicological studies of antioxidants butylated hydroxytoluene (BHT) and butylated hydroxyanisole (BHA). *Korean J. Food Sci. Technol.* **14**, 283.
5. Addis, P. B. and Hassel, C. A. (1992) In *Food Safety Assessment: Safety issues with antioxidants in foods*. American Chemical Society, Washington D.C. pp. 347-376.
6. Chan, K. M., Decker, E. A. and Means, W. J. (1993) Extraction and activity of Carnosine, a naturally occurring antioxidant in beef muscle. *J. Food Sci.* **58**, 1-4.
7. Kim, B. J. and Kim, J. H. (1997) Biological screening of 100 plant extracts for cosmetic use (II): anti-oxidative activity and free radical scavenging activity. *Int. J. Cosmet. Sci.* **19**, 299-307.
8. Sheo, H. J., Lee, M. Y. and Chung, D. L. (1990) Effect of *Prunus mune* extract on gastric secretion in rats and carbon tetrachloride induced liver damage of rabbits. *J. Korean Soc. Food Nutr.* **19**, 21-26.
9. Dogasaki, C., Murakami, H., Nisjijima, M., Yamamoto, K. and Miyazaki, T. (1992) Antimutagenic activities of *Prunus mune* Sieb. et Zucc. *Yakugaku Zasshi* **112**, 577-584.
10. Han, J. T., Lee, S. Y., Kim, K. N. and Baek, N. I. (2001) Rutin, antioxidant compound isolated from the fruit of *Prunus mune*. *J. Korean Soc. Agric. Chem. Biotechnol.* **44**, 35-37.
11. Takao, T., Kitatani, F., Watanabe, N., Yagi, A. and Sakata, K. (1994) A simple screening method for antioxidants and isolation of several antioxidant and isolation of several antioxidants produced by marine bacteria from fish and shellfish. *Biosci. Biotech. Biochem.* **58**, 1780-1783.
12. Beyer, W. F., Imlay, I. and Fridovich, I. (1991) Superoxide dismutases. *Prog. Nuc. Res. and Mol. Biol.* **40**, 221-253.
13. Barry, H. and Okezie, I. A. (1993) In *DNA and free radicals*. Ellis Horwood. p. 1
14. Habig, W. H., Pabest, M. J. and Jakoby, W. B. (1974) Glutathione-S-transferase; The first enzymatic step in mercapturic acid formation. *J. Biol. Chem.* **249**, 7130-7139.
15. Hatano, T., Yasuhara, T., Fukuda, T., Noro, T. and Okuda, T. (1989) Phenolic constituents of licorice. II. Structures of licopyranocoumarin, licoaryl coumarin and glisoflavone, and inhibitory effects of licorice phenolics on xanthine oxidase. *Chem. Pharm. Bull.* **37**, 3005-3009.

Screening of Antioxidant in Fructus Mune (*Prunus mune* Sieb. et Zucc.) Extract

Jae-Han Shim*, Myung-Woo Park, Mi-Ra Kim, Kye-Taek Lim¹ and Seung-Taeck Park² (*Institute of Ag. Sci. and Tech., Division of Applied Bioscience and Biotechnology, Chonnam National University, Kwangju 500-757, Korea;* ¹*Division of Biodefensive Substances, Institute of Biotechnology, Chonnam National University, Kwangju 500-757, Korea;* ²*School of Medicine, Wonkwang University, Iksan, Chonbuk 570-749, Korea*)

Abstract: Antioxidative activities of ethanol extracts of fruits from three cultivars of *Prunus mune* with different harvest times were determined. Extracts of *P. mune* cultivar *Okyoung* showed the strongest activity at 97.5% (compared to BHT) using DPPH or thiocyanate method, although no statistically significant differences were observed among the cultivars. Antioxidative activities of the extracts measured with glutathione-S-transferase method was over 70% of that of BHT. Survival rates of cells in mouse spinal cord culture challenged by superoxide anion were 89, 79, and 62% at 40 mg/ml of *Okyoung*, *Namgo*, and *Kochunme* extracts, respectively, whereas 90% at 6 mM glutathion.

Key words: *Prunus mune* Sieb. et Zucc., superoxide anion, antioxidant, mouse spinal cord culture system

*Corresponding author