

## 화살나무 추출물의 항산화 활성 및 생물학적 특성

서경수 · 임종국 · 박재호 · 김충현 · 정규영 · 정형진\*

안동대학교 자연과학대학 생명자원과학부

### Antioxidant Activity and Biological Properties in Extracts of *Euonymus alatus* (Thnub.) Sieb.

Kyeng-Su Seo, Jong-Kuk Lim, Jae-Ho Park, Chung-Hyun Kim, Gyu Young Chung and Hyung Jin Jeong\*

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

#### Abstract

Antioxidant activity and biological properties in the MeOH extracts from different plant parts of *Euonymus alatus* (THNUB.) were measured by DPPH free radical scavenging ability and inhibition ability against xanthine/xanthine oxidase and proliferation in HL-60 cells. DPPH free radical scavenging activities in extracts of plant parts were high such as leaf, wing, root, seed and stem, respectively. The EtOAc fractions of plant parts were purified through LH-20 column chromatography and identified by GC/MS. LH-4 fraction and LH-5 fraction of leaf, stem and root showed stronger activities than other fractions in the inhibitor activity of DPPH and xanthine/ xanthine oxidase. IC<sub>50</sub> values of LH-4 fraction eluted from stem extracts showed such as 2.38 and 5.32 in DPPH and xanthine/ xanthine oxidase assay. Polyphenolic compounds were identified in purified LH-20 fractions showed highest IC<sub>50</sub> value in DPPH and xanthine/ xanthine oxidase assay. The activity of POD according to sampling time was high in root harvested in May and leaf harvested in September, respectively. The activity of SOD showed only in the extracts of stem in plant parts. SOD and POD in leaf were similar in the patterns of isozyme to those of stem. The purified extracts from *Euonymus alatus* (THNUB.) exerted inhibition ability of proliferation in HL-60 cells.

**Key words** – DPPH, xanthine oxidase, *Euonymus alatus* (Thnub.) Sieb., SOD, POD, HL-60 cell

#### 서 론

한약재로 이용되는 화살나무는 참빗나무 혹은 훗잎나무라고도 하며 노박덩굴과에 속하는 낙엽관목이다. 민간에서는 식도암, 위암, 염증, 피부병, 대하, 어혈 등의 치료에 효과가 있다고 하여 널리 사용되어져 왔다. 잎에는 epifri-

edelanol, friedelin[34], quercetin 등의 성분을 함유하며, 열매에는 oleic, linoleic, linolenic, caproic 및 benzoic 등의 지방산이 들어있다.

모든 호기적 진핵세포에서 산소분자의 환원은 O<sub>2</sub><sup>-</sup>, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, ·OH 등 독성이 높은 산소라디칼을 형성한다 [1,15,26]. 생물들은 이런 독성으로부터 자신을 보호하기 위한 방어계를 가지며[15,24], 특히 superoxide dismutase (SOD), catalase(CAT), glutathione peroxidase(GPX) 등 세포 항산화 방어계의 주요 항산화효소와 ascorbic acid, α-

\*To whom all correspondence should be addressed  
Tel : 054-820-5464, Fax : 054-823-1627  
E-mail : jhj@andong.ac.kr

tocopherol,  $\beta$ -carotene 등의 비효소적 항산화제는 산소 자유라디칼의 형성을 억제하는 작용을 한다. 인체의 노화는 활성 산소에 의하여 결정되어진다는 보고 이래[18], 노화에 대한 활성 산소의 역할에 대한 많은 연구가 이루어져 있다 [5,30]. 환경스트레스는 식물체내에서 존재하는 산소를 활성산소종으로 전환시켜 생체내의 대사과정의 장애를 유발함으로써 생산성의 감소를 초래한다[1,26]. 이때 SOD와 POD는 식물이 활성산소종으로부터 자신을 보호하는데 중요한자로 작용하는 것으로 알려져 있다[2].

오래전부터 BHA(Beta-Hydroxy Acid), BHT(Butylated Hydroxy Toluene)등과 같은 항산력이 우수한 합성 항산화제가 개발되어 이용되어 왔지만 일정 수준이상 섭취하게 되면 안정성과 유해성 문제가 대두되고 있다. 최근에는 각종 생약이나 식용식물의 추출물들로부터 보다 안정하고 항산화력이 강한 천연 항산화제를 개발하기 위한 연구가 활발하게 이루어지고 있다. 천연에서 얻을 수 있는 대부분의 항산화 물질들은 phenolic 및 flavonoid 계통의 화합물로 알려져 있고, 특히 식물계내에는 대부분 phenolic 화합물로 보고되어져 있다[12].

따라서 본 연구는 천연자원으로부터 안전하고 우수한 항산화물질을 탐색해 보고자, 화살나무의 부위별, 생육시기별로 효소 및 비효소적 항산화 방어계를 조사하고, 동물 암세포를 이용하여 정제된 추출물로부터 항암 활성을 조사하였다.

## 재료 및 방법

### 식물재료

비효소적 항산화 방어계를 조사하기 위하여 사용한 화살나무(*Euonymus alatus* (Thunb. Sieb.)는 경북 안동시 송천동 안동대학교 뒷산에서 자생한 것을 2002년 5월 및 9월에 채취하여 각 부위별로 세척후 세절하여 60℃에서 열풍 건조하여 사용하였고, 항산화 효소계 측정을 위하여서는 부위별 생체시료를 냉동 보관하여 사용하였다.

### 방법

#### 1) 추출 및 분리

시료 2.0 kg에 80% methanol 2,000 ml을 가하여 7일간 침지 시킨 후, 여과 농축한 추출물을 450 ml로 농축 한 다

음 50 ml 증류수를 첨가하고 이를 pet. ether로 분획하였다. 분획된 수용층을 농축하여 이를 ethyl acetate로 분획한 다음 유기용매층을 sodium sulfate anhydrous로 탈수시켜 결정화하였다.

#### 2) 활성물질의 정제

화살나무의 활성물질의 분리는 80% methanol로 추출한 ethyl acetate 분획을 부위별로 silica gel column chromatography를 실시하였다.

앞은 silica gel(250 g) column chromatography를 chloroform → chloroform : ethyl acetate (1 : 4) → ethyl acetate → methanol 순으로, 줄기는 chloroform → chloroform : ethyl acetate (1 : 5) → ethyl acetate → methanol 순으로, 그리고 뿌리는 chloroform → chloroform : methanol (5 : 1) → ethyl acetate → methanol 순으로 실시하여 50 ml씩 분취하였다.

각 분취액을 TLC(Tin Layer Chromatography)로 확인한 후 유사한 분취끼리 합하여 농축하여 앞에서는 5개의 분획물 (LSF-1~LSF-5)을, 줄기에서는 6개의 분획물(SSF-1~SSF-6)을, 뿌리에서는 5개의 분획물(RSF-1~RSF-5)을 얻었다. 각 분획들에 대하여 DPPH free radical 소거활성을 측정 한 후 활성이 가장 좋은 분획들을 sephadex LH-20 column chromatography를 실시하여 유사한 분취끼리 합한 결과, 앞은 LSF-5에서 5개의 분획물을 얻었고, 줄기에서 SSF-4에서 6개의 분획물을, 그리고 뿌리에서는 RSF-5에서 6개의 분획물을 얻었다.

이와 같은 방법으로 각 단계별로 DPPH free radical 소거 및 xanthine oxidase 억제활성을 측정하여 항산화 활성 물질을 분리하는데 기준으로 사용하였다.

#### 3) DPPH free radical scavenging 활성

Cuvette내에 농도별 test sample과 300  $\mu$ M DPPH (1,1-diphenyl-2-picryl-hydrazyl) 용액을(흡광도가 1.0이 되도록 용액을 희석) 넣고 37℃에서 30분간 반응 후 515 nm에서 대조구와 시료구와의 흡광도 차이를 측정하였다.

시료처리에 의한 억제율은 DMSO가 처리된 대조구와 비교하여 계산하였고 IC<sub>50</sub>값은 50% DPPH free radicals을 제어시키는 시료농도로 계산하였다.

#### 4) Xanthine/xanthine oxidase 억제 활성

Xanthine/xanthine oxidase 억제 활성 측정은 이 등[23]

의 실험 방법에 의하였으나, 본 실험과정에서 xanthine oxidase 용액은 0.2 unit를 사용하여 측정하였다. Uric acid 생성 함량은 2  $\mu\text{l}$  xanthine oxidase 용액(0.2 unit)이 포함된 100  $\mu\text{M}$  xanthine용액(988  $\mu\text{l}$ )과 10  $\mu\text{l}$  DMSO를 실온에서 3분간 반응 시킨 후, 295 nm에서 uric acid 생성함량을 조사하였다.

5) HL-60 세포에 의해 발생된 TPA-induced free radical 형성 억제

Human leukemia HL-60 cell은 급성전골수성백혈병 세포로서, 5% CO<sub>2</sub>, 37°C incubator 조건과 10% fetal calf serum과 1% penicillin-streptomycin이 포함된 RPMI 1649 medium으로 100 mm diameter culture dishes에서 2~3일간 배양 후 사용하였으며, 각 시료 농도별로 세포에 처리 후, 4일간 12시간 간격으로 2~5 $\mu\text{m}$  크기의 세포수를 cell counter(TOYO SAKKI CA7A)로 측정하였다.

6) Antioxidant 동정

항산화물질의 동정을 위하여 GC/MS (Hewlett Packard 6890/5973, USA)을 이용하였으며, column은 Ultra-2 (Cross-linked 5% PH ME Siloxane, USA), oven 조건은 60°C에서 시작하여 분당 2.5°C씩 250°C까지 승온하였다. 운반체는 He 가스를 사용하였으며, 유속은 0.8 ml/min로 분석하였다.

7) 조효소액의 추출

식물체를 1 g씩 5 ml 0.05 M 인산 완충액 (pH 7.8)과 함께 얼음 위에서 마쇄한 후, 4°C에서 14,000 rpm으로 20분간 원심 분리하여 얻어진 상등액을 조효소액으로 사용하였다.

8) POD 활성측정

POD활성은 pyrogallol (Sigma, Co# P-0381)을 기질로 사용하고, 100  $\mu\text{l}$  조효소액에 2.9 ml assay buffer를 첨가하여 420 nm에서 20초간 상온에서 흡광도 변화를 측정하였다.

9) SOD 활성측정

SOD 활성은 McCord와 Fridovich[24]의 방법에 따라 xanthine/xanthine oxidase system을 superoxide radicals (O<sub>2</sub><sup>•-</sup>)의 공급원으로 이용하여 superoxide radicals에 의한 cytochrome c의 환원속도를 550 nm에서의 흡광도 변화를 측정하였다. SOD활성 1 unit는 25°C에서 반응을 시작하여

150초간 550 nm에서 흡광도 변화를 조사하여 xanthine oxidase 활성이 50% 억제되는 것으로 정의하였다.

10) POD 및 SOD의 isozyme pattern

POD 및 SOD의 isozyme pattern은 Beauchamp와 Fridovich[4]의 방법에 준해서 수행하였다. POD의 경우는 12% acrylamide gel을 사용하여 단백질을 15 mV에서 15분, 25 mV에서 45분간 전기영동한 후, POD 단백질의 발색반응은 benzidine solution과 3% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>를 1 : 1로 혼합해서 사용하였다. SOD의 경우는 13% acrylamide gel에서 215 V에서 40분간 전기영동한 후 gel의 염색은 negative staining solution에서 30분간 암상태로 shaking시켜 발색반응을 보았으며, 단백질 정량은 Bradford[7] 방법에 준해서 실시하였다.

결과 및 고찰

비효소적 항산화활성 assay

화살나무 각 부위별 ethyl acetate 추출물의 DPPH free radical scavenging 활성, xanthine/xanthine oxidase 및 HL-60 cell 억제활성을 조사한 결과, 부위간의 DPPH free radical scavenging 활성은 잎, 날개, 뿌리, 종자, 전식물체 그리고 줄기 순으로 높게 나타났다(Table 1). 특히, 잎과 날개는 각각 6.38과 6.98  $\mu\text{g}/\text{ml}$ 로 줄기에 비해 매우 높은 항산화 활성을 나타내었다. Xanthine oxidase 억제활성은 종자와 전식물체에서 가장 높았으며, 날개, 뿌리, 종자, 줄기 순으로 나타났다.

Table 1. The antioxidative activities extracted from different plant parts in *Euonymus alatus*

| Plant parts | DPPH <sup>a</sup> | Xanthine/xanthine oxidase <sup>b</sup> |
|-------------|-------------------|--|
| Whole plant | 18.73             | 10.37                                  |
| Leaf        | 6.38              | 9.71                                   |
| Stem        | 23.07             | 33.40                                  |
| Root        | 14.46             | 18.32                                  |
| Seed        | 18.08             | 26.25                                  |
| Wing        | 6.98              | 17.31                                  |

<sup>a</sup>DPPH: DPPH free radical scavenging activity(IC<sub>50</sub> :  $\mu\text{g}/\text{ml}$ )

<sup>b</sup>Xanthine/xanthine oxidase: inhibition of xanthine/xanthine oxidase activity(IC<sub>50</sub> :  $\mu\text{g}/\text{ml}$ )

DPPH free radical scavenging 법은 항산화제가 안정한 free radical DPPH와 재반응하고, 다시 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazine[13,31]로 변환되는 정도를 조사하는 방법으로 많은 식물 추출물들의 항산화 활성을 bioassay-guided fractionation시에 이용되어진다[23]. Lee[23]가 700종의 식물 추출물로부터 항산화 활성을 조사했을 시 IC<sub>50</sub> 값이 200 µg/ml 이하에서 80% 이상 억제하는 것을 활성이 있는 것으로 구분하여 그 중 102종이 항산화 활성이 높았다는 보고로 미루어 보면, 화살나무 전 식물체 및 부위별 추출물의 IC<sub>50</sub> 값은 18.73 µg/ml 이하 범위로 DPPH free radical scavenging activity는 매우 높은 것으로 평가되었다. 이들의 생리적 관련성은 추후 검토가 요구되어진다.

환경스트레스는 식물체내에서 존재하는 산소를 활성산소종으로 전환시켜 생체내의 대사과정의 장애를 유발함으로써 생산성의 감소를 초래한다[1,26]. 이러한 활성산소종을 측정하기 위한 방법으로 xanthine oxidase 억제활성을 조사하였다. Xanthine oxidase 억제활성은 uric acid 생성의 측정에 의하여 연구되어졌고[10,11,21], 본 연구에서도 동일하게 uric acid의 양에 의하여 조사하는 방법을 강구하였다. Xanthine oxidase 활성을 억제시키는 caffeic acid, chlorogenic acid, ferulic acid와 같은 페놀화합물들은 쥐의 피부의 종양형성을 억제시키는 것으로 보고되고 있다[21]. 따라서 본 실험에서의 종자와 뿌리의 추출물에서 xanthine oxidase 생성을 억제활성이 높게 나타나는 것으로 미루어 보면, 화살나무의 뿌리와 종자 내에는 강력한 항산화제와 종양축진을 억제시키는 물질이 존재하는 것으로 생각된다.

식물부위별 ethyl acetate 추출물을 LH-20 column chromatography에 의하여 정제 후 DPPH 및 xanthine oxidase 억제활성을 조사해 본 결과, 컬럼 통과 후 50% 저해 활성(IC<sub>50</sub>)은 잎과 줄기추출물에서는 LH-4 분획이, 뿌리추출물에서는 LH-5 분획이 가장 높았다(Table 2). 특히 줄기추출물에 의한 LH-4 분획물은 µg/ml (IC<sub>50</sub>) 값이 2.38로서 매우 높았으며, 특히 잎과 뿌리에서 활성이 높게 나타났던 분획들은 회수율도 높아, 항산제의 이용성 면에서도 매우 좋을 것으로 생각된다.

LH-20 column chromatography에 의하여 정제된 분획 중에서 식물체 부위별로 DPPH 활성 및 xanthine oxidase 억제활성이 가장 높았던 분획물을 GC/MS에 의하여 물질을 동정해 본 결과, 동정된 항산화물은 대부분이 페놀성 화합물이었다(Table 3). 식물체 부위간에는 잎에서 4-vinylphenol, bezenaminine, benzaldehyde, benzoic acid가, 줄기에 4-vinyl-2-methoxy-phenol이, 뿌리에 phenanthrene의 함량이 높았다. 동정된 benzoic acid는 free radical scavenging 활성을 나타내며 친연으로부터 얻을 수 있는 항산화 물질이다. Szent Gyorgyi등[6]은 비타민 C와 flavonoid와의 상호 작용에 대한 설명 중에서 폴리페놀은 다른 항산화제와 상호작용을 하여 궁극적으로는 인간의 건강과 질병에 관여한다고 보고했다.

소나무 껍질 추출물내에는 procyanidins B1, B3, B7, caffeic acid, ferulic, p-hydrobenzoic acid 등의 폴리페놀이 함유되어 있고, 이들의 성분들은 비타민 C 결핍, 상처치료, 피부 파괴 등의 치유효과가 있는 것으로 알려져 있으며,

Table 2. The antioxidative activities of extracts fractioned by LH-20 column chromatography

| Fraction NO. | Leaf               |                   |  | Stem               |                   |  | Root               |                   |  |
|--------------|--------------------|-------------------|--|--------------------|-------------------|--|--------------------|-------------------|--|
|              | Recovery amount(g) | DPPH <sup>a</sup> | Xanthine/xanthine oxidase <sup>b</sup> | Recovery amount(g) | DPPH <sup>a</sup> | Xanthine/xanthine oxidase <sup>b</sup> | Recovery amount(g) | DPPH <sup>a</sup> | Xanthine/xanthine oxidase <sup>b</sup> |
| LH-1         | 0.0553             | -                 | 175.62                                 | 0.3235             | 73.61             | 211.37                                 | 0.2                | 31.39             | 62.33                                  |
| LH-2         | 0.021              | 18.26             | 35.22                                  | 0.3403             | 11.79             | 33.97                                  | 0.049              | 31.52             | 70.51                                  |
| LH-3         | 0.1595             | 17.59             | 9.44                                   | 0.2224             | 14.35             | 25.30                                  | 0.056              | 28.28             | 57.95                                  |
| LH-4         | 0.2580             | 4.21              | 5.97                                   | 0.0302             | 2.38              | 5.32                                   | 0.089              | 22.70             | 58.12                                  |
| LH-5         | -                  | 5.89              | 7.63                                   | 0.0227             | 5.83              | 12.97                                  | 0.129              | 5.48              | 15.58                                  |
| LH-6         | -                  | -                 | -                                      | 0.0695             | 5.62              | 10.6                                   | 0.142              | 5.14              | 17.48                                  |

<sup>a</sup>DPPH: DPPH free radical scavenging activity(IC<sub>50</sub> : µg/ml)

<sup>b</sup>Xanthine/xanthine oxidase: inhibition of xanthine/xanthine oxidase activity((IC<sub>50</sub> : µg/ml)

Table 3. The antioxidant compounds of extracts purified by LH-20 column chromatography and showed highest DPPH activity in *Euonymus alatus* (Compound peak area/I.S.T.D peak area)

| Compounds                | Leaf           | Stem   | Root  |
|--------------------------|----------------|--------|-------|
| 4-vinylphenol            | 1.037          | 0.259  | t     |
| 4-vinyl-2-methoxy-phenol | t <sup>a</sup> | 14.519 | 0.295 |
| Bezenaminine             | 0.700          | t      | 0.252 |
| Benzaldehyde             | 6.440          | 4.026  | 4.753 |
| Benzoic acid             | 0.437          | 0.307  | 0.386 |
| Phenanthrene             | 0.264          | 0.169  | 0.363 |

<sup>a</sup>t : trace

이들은 free radical을 감소시키는 것으로 알려져 있다[9].

페놀성 화합물은 과일이나 채소가 분해될 때 그리고 녹차, 홍차 및 wine 등에서 주로 발견되는 화합물로서 항세균, 항알레르기에 효과가 있는 것으로 보고되어 있으며 [25,33], 특히, 퇴행성 질병의 발병빈도를 저하시키고[17, 19], 실험적 증거에 의하여 인간의 건강증진을 위하여 천연 항산화물질로서 중요한 역할을 하는 것으로 보고되어 있다 [19,28,29,32]. 따라서 본 결과에서 얻어진 benzoic acid 등과 같은 페놀성 화합물들은 화살나무의 높은 항산화력과 밀접한 관련이 있어 extracellular와 intracellular 활성산소종에 대한 주요 방어계로 작용할 것으로 생각된다.

효소적 항산화활성

생육시기별 화살나무의 조추출물이 효소적 항산화제인 SOD와 POD 활성에 미치는 영향을 조사 해 본 결과, 시료 채취 시간의 POD활성은 5월은 뿌리에서, 9월은 잎에서 각각 높았고, SOD 활성은 5월과 9월 채취 시료 공히 줄기에서만 나타났다(Table 4). 특히 화살나무 callus 조추출물

의 SOD 활성은 5월에 채취한 줄기 조추출물보다 매우 높게 나타났으나, 9월에 채취한 조추출물보다는 낮았다.

효소계는 세포계에서 free radical을 제거 혹은 무독화시킬 수 있다. SOD와 POD와 같은 항산화 효소는 세포의 항산화 방어계의 주요 효소이다. SOD와 같은 효소들 중에서 한 효소의 불균형 과다 생성은 동물세포에서의 활성산소종이 공격을 받기 쉽다[8]. SOD계의 분포가 매우 명확히 알려져 있으며, 특히 산소를 소비하는 모든 생물체에서 발견되었으며[14], 인체에서 5번째로 많은 단백질로 알려져 있다. 대부분의 생물체에서의 높은 산소농도는 SOD 생성을 증가시키는 것으로 보고되고 있다[20].

식물체의 부위별 동위효소 패턴을 조사 해 본 결과, POD 동위효소 패턴은 잎과 줄기는 비슷하였으나, 뿌리에서는 다양한 밴드의 패턴을 나타내었다(Fig. 1). SOD 동위효소 패턴은 POD와 같은 경향을 나타내었다. 특히 POD 동위효소 패턴은 밴드의 갯수가 잎과 줄기에서 4개와 5개로 각각 나타났으나 뿌리에서는 11개로 상대적으로 많았다. SOD 동위효소 밴드의 갯수는 잎과 줄기는 3개였으나 뿌리에서는 10개가 나타났다.

암세포를 이용한 생물학적 검정

- HL-60 세포의 증식에 대한 추출물의 증식억제효과

LH-4 분획물의 림프암 유발세포의 일종인 HL-60 세포에 대한 세포증식 억제효과를 측정하기 위해 3일 동안 37°C, 5% CO<sub>2</sub> 조건에서 배양한 세포를 사용하여 Kang 등 [22]의 실험방법에 따라 시료를 농도별로 처리한 후 96시간의 억제율을 비교해 본 결과, HL-60 세포에 대한 부위별 추출물의 억제활성은 공히 추출물의 농도가 높은 500 ppm에서 활성이 높았으며, 부위별 추출물에서는 IC<sub>50</sub>값이 높은 줄기 추출물에서 억제활성이 가장 높았다(Fig. 2,3,4). 잎

Table 4. Activity of POD and SOD on season in *Euonymus alatus*

| Positions | Spring(May)                                |                               | Fall(September)               |                               |
|-----------|--|-------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|
|           | POD(IC <sub>50</sub> : µg/ml) <sup>a</sup> | SOD(IC <sub>50</sub> : µg/ml) | POD(IC <sub>50</sub> : µg/ml) | SOD(IC <sub>50</sub> : µg/ml) |
| Leaf      | 0.35                                       | -                             | 0.85                          | -                             |
| Stem      | 0.22                                       | 49.25                         | 0.816                         | 129.5                         |
| Root      | 0.85                                       | -                             | 0.367                         | -                             |
| Callus    | 0.29                                       | 96.0                          |                               |                               |

<sup>a</sup>(IC<sub>50</sub> : µg/ml): Values denote the concentration of sample which is required to scavenge 50% DPPH free radicals.

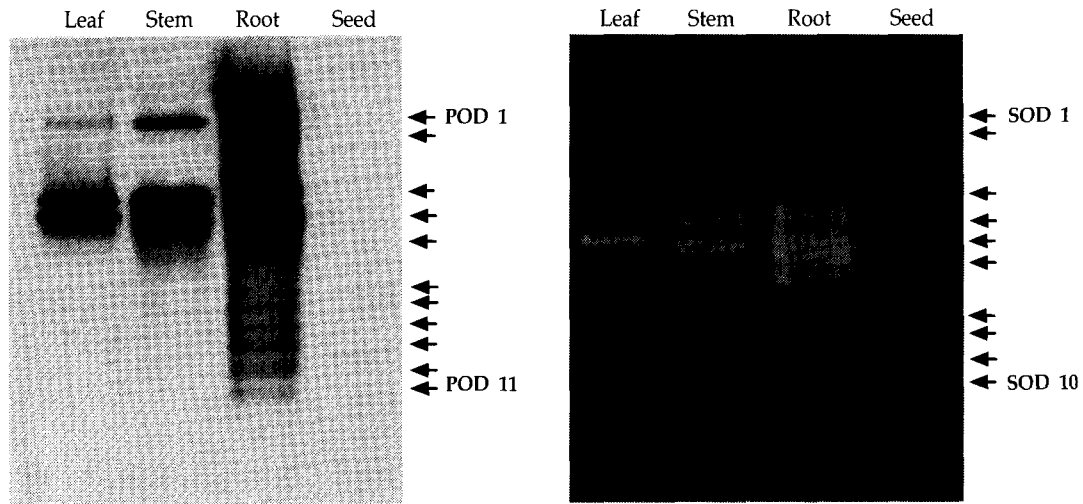


Fig. 1. Isozyme patterns of POD and SOD on the plant parts in *Euonymus alatus*

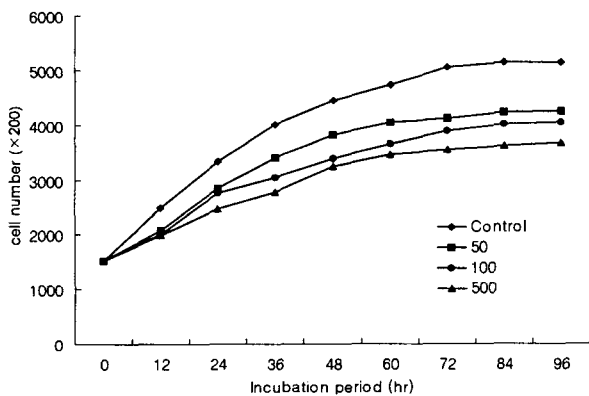


Fig. 2. Inhibitory effect on proliferation of HL-60 cells with different concentrations of LH-5 fraction eluted from leaf extracts.

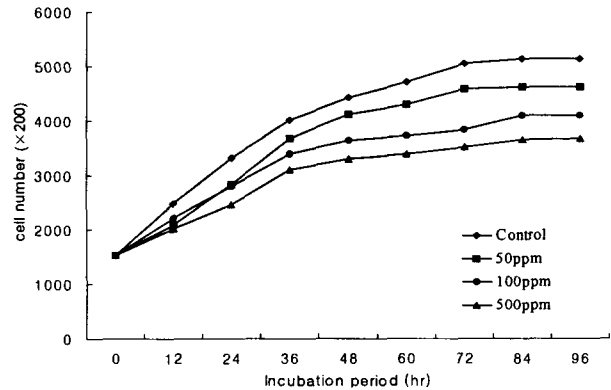


Fig. 4. Inhibitory effect on proliferation of HL-60 cells with different concentrations of fraction LH-5 eluted from root extracts.

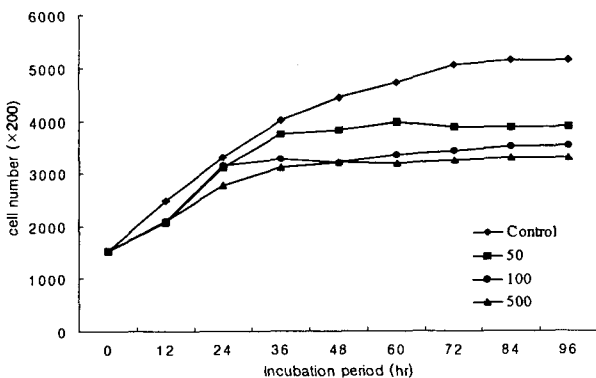


Fig. 3. Inhibitory effect on proliferation of HL-60 cells with different concentrations of LH-5 fraction eluted from stem extracts.

에서 정제된 LH-5는 대조구와 비교하여 농도별로 각각 17.5, 21.1, 28.5(%)의 억제활성을 나타내었으며, 줄기에서 정제된 LH-5는 23.89, 31.41, 23.89(%)의 억제활성을, 뿌리에서 정제된 LH-6은 9.9, 20.1, 28.3(%)의 억제 활성을 나타내었다. Kang 등[22]은 HL-60 세포에 대한 천연 플라보노이드인 quercetin의 HL-60 세포 증식억제효과에서 40 ppm의 4일째 증식억제율이 대조구에 비해 23.8%까지 억제한다고 보고했으며, Ryu 등[27]은 매우 강력한 항산화 활성과  $\alpha$ -tocopherol에 대해 뛰어난 상승효과를 가진 참깨 종자내의 isoflavonoid 성분인 세사미놀[16]의 항종양 활성에서 400 ppm의 농도에서 1일 후의 세포수가 대조구에 비해 높은 감소율을 나타내었다고 보고했다.

## 요 약

화살나무의 부위별 추출물로부터 항산화 활성 및 HL-60 세포를 이용한 생물학적 특성을 조사 해 본 결과는 다음과 같았다. 화살나무 추출물의 부위별 DPPH free radical scavenging 활성은 잎, 날개, 뿌리, 종자, 줄기순으로, xanthine oxidase 억제 활성은 잎, 뿌리, 날개, 종자, 줄기순으로 높았다. LH-20 column chromatography를 통한 정제 후의 DPPH 및 xanthine oxidase 억제활성은 잎과 줄기 추출물에서는 LH-4 분획이, 뿌리 추출물에서는 LH-5 분획이 가장 높은 활성을 나타내었다. 특히, 줄기 추출물에서 LH-4 분획물의 DPPH 및 xanthine oxidase 억제능은 각각 2.38  $\mu\text{g}/\text{ml}$ , 5.32  $\mu\text{g}/\text{ml}$ 로 높은 활성을 나타내었다. 정제된 추출물들의 주된 화합물은 polyphenolic 화합물로 동정되었다. 생육시기간에 부위별 POD 활성은 5월의 뿌리 및 9월의 잎 조추출물에서 가장 높았고, SOD 활성은 5월과 9월의 줄기에서만 나타났다. POD 동위효소 패턴은 잎과 줄기기간에는 비슷하였으나, 뿌리에서는 다양하게 나타났다. SOD 동위효소 패턴은 POD와 비슷한 경향을 나타내었다. HL-60 세포의 증식에 대한 화살나무의 정제된 추출물은 대조구에 비해 높은 억제능을 나타내었다.

## 참 고 문 헌

- Allen, R. D. 1995. Dissection of oxidative stress tolerance using transgenic plants. *Plant Physiol.* **107**, 1049-1054.
- Alscher, R. G and J. L. Hess. 1993. Antioxidants in higher plants. *CRC Press, Boca Raton.* 1-17.
- Barry, R. H. 1995. Superoxide and hydrogen peroxide in relation to mammalian cell proliferation. *Free Radical Biol. & Medi.* **18**, 775-794.
- Beauchamp, C and I. Freidovich. 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.
- Benthath, A., S. Ruzsnyak and A. Szent-Gyorgyi. 1936. Vitamin nature of flavones. *Nature* **138**, 798.
- 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.
- Cerutti, P. A., and B. F. Trump. 1991. Inflammation and oxidative stress in carcinogenesis. *Cancer cell* **3**, 1-7.
- Chandler, F. R., L. Freeman and S. N. Hooper. 1979. Herbal remedies of the maritime indians. *J. Ethnopharmacol.* **1**, 49-68.
- Chan, W. S., P. C. Wen and H. C. Chiang. 1995. Structure activity relationship of caffeic acid analogues on xanthine oxidase inhibition. *Anticancer Res.* **15**, 703-708.
- Chang, W. S., Y. H. Chang, F. J. Lu, and H. C. Chiang. 1994. Inhibitory effects of phenolics on xanthine oxidase. *Anticancer Res.* **14**, 501-506.
- Choe, S. Y. and K. H. Yang. 1982. Toxicological studies of antioxidants butylated hydroxytoluene (BHT) and buthylated hydroxyanisole(BHA)(in Korean). *Korean J. Food Sci, Technol.* **14**, 283-288.
- 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.
- Tally, F. P., H. R. Godin, N. V. Jacobus and S. L. Gorbach. 1977. *Infact. Immun.* **16**, 20.
- Fridovich, I. 1986. Biological effects of the superoxide radical. *Arch. Biochem. Biophys.* **247**, 1-11.
- Fukuta, Y., T. Osawa, M. Namiki and Ozaki T. 1985. Studies on antioxidative substances in sesame seed. *Agric. Biol. Chem.* **49**, 301-306.
- 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.
- Harman, D. 1956. Aging: A thory 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.
- Hassan, H. M. 1984. In Free Radicals in Molecular Biology, Aging, and Disease(Armstrong, D., R. S. Sohal, R. G. Cutler and T. F. Slater, eds.), *Raven Press, New York*, 77-84.
- Huang, M. T., R. C. Smart, C. Q. Wong and A. H. Conney. 1988. Inhibitory effect of curcumin, Chloro-

- genetic acid, caffeic acid and Ferulic acid on tumor promotion in mouse skin by 12-o-tetradecanoylphorbol 13-acetate. *Cancer Res.* **48**, 5941-5946.
22. Kang, T. B and N. C. Liang. 1997. Studies on the inhibitory effects of quercetin on the growth of HL-60 Leukemia cells. *Biochem. Pharmacol.* **54**, 1013-1018.
23. Lee, S. K. 1997. Evaluation of cancer chemopreventive activity mediated by antioxidants and modulators of tumor promotion. Phd thesis of university of illinois at Chicago. 52-54.
24. McCord, J. M. and I. Fridovich. 1969. Superoxide dismutase. An enzymic function for erythrocyte (Hemocuprein). *J. Biol. Chem.* **244**, 6049-6055.
25. 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.
26. Pitcher, L. H and B. A. Zilinskas, 1996. Over-expression of copper/zinc superoxide dismutase in the cytosol of transgenic tobacco confers partial resistance to ozone-induced foliar necrosis. *Plant Physiol.* **110**, 583-588.
27. Ryu, S. N and B. H. Lee. 1998. Antitumor activity of crude sesaminol in sesame seed. *Korean J. Crop. Sci.* **43**, 168-171.
28. 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.
29. Serafini, M., A. Ghiselli and A. Ferro-Luzz. 1996. In vivo antioxidant effect of green and black tea in man. *Eur. J. Clin. Nutr.* **50**, 28-32.
30. 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.
31. 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.
32. Stoner, G. D. and H. Mykhtar. 1995. Polyphenols as cancer chemopreventive agents. *J. Cell. Bio. Chem.* **22**, 169-180.
33. Vijaya, K., S. Ananthan and R. Nalini. 1995. Antibacterial effect of theaflavin, polyphenon 60(*Camellia Sinensis*) and euphorbia hirta on shigella spp. *J. Ethnopharmacol.* **49**, 115-118.

(Received November 17, 2002; Accepted February 18, 2003)