

목련(*Magnolia denudata* Desr.) 꽃 추출물의 생리활성

노진우¹ · 황인국¹ · 정은미¹ · 김현영¹ · 장성준² · 정현상^{1*}

¹충북대학교 식품공학과
²태경농산(주)

Biological Activities of *Magnolia denudata* Desr. Flower Extracts

Jin Woo Nho¹, In Guk Hwang¹, Eun Mi Joung¹, Hyun Young Kim¹,
Seong Jun Chang², and Heon Sang Jeong^{1*}

¹Dept. of Food Science and Technology, Chungbuk National University, Chungbuk 361-763, Korea

²R&D Headquarters, Taekyung Nongsan Co. LTD., Seoul, Korea

Abstract

The antioxidant, antiproliferation, and nitrate synthesis inhibitory effects of *Magnolia denudata* extracts (ME) were evaluated. The ME was extracted with 70% (v/v) ethanol and fractionated with solvents of hexane, chloroform, ethyl acetate, n-butanol and aqueous. The ethyl acetate fraction contained the highest phenolic and flavonoid contents of 427.10 mg garlic acid eq/g and 356.05 mg catechin eq/g, respectively. The ethyl acetate fraction showed strong 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) radical scavenging activity with a 50% inhibition concentration (IC₅₀) of 0.20 mg/mL and total antioxidant activity was 0.90 mg AA eq/100 mg. From the results of cytotoxic effects of HCT116, NCL-H460, and HepG2 human cancer cells by MTT assay on the ME and its solvent fraction, chloroform fraction showed the highest cytotoxic effect (IC₅₀ value: 0.14, 0.37, and 0.41 mg/mL, respectively). Nitrate synthesis inhibitory effect of ME and its solvent fractions on nitric oxide synthase activity in LPS stimulated RAW 264.7 cells were decreased in dose-dependent manners, and IC₅₀ value of hexane and chloroform fractions were 0.39 and 0.49 mg/mL, respectively.

Key words: *Magnolia denudata*, polyphenol, antioxidant activity, antiproliferation, nitrate synthesis inhibitory effect

서 론

최근 우리나라를 비롯한 세계 각국의 생활수준의 향상으로 인해 육류의 소비량이 증가되면서 다양한 종류의 성인병이 증가되고 있으며 이러한 성인병 질환과 노화를 억제하기 위해 생체 방어, 질병의 방지 및 회복, 노화억제 등의 건강기능성을 갖춘 식품에 대한 관심이 급증하고 있다. 인간의 질병 및 노화는 대사과정 중 발생하는 활성산소종에 기인하며 이러한 활성산소종을 조절하거나 제거할 수 있는 물질로 알려진 항산화제의 개발연구가 활발히 진행되어 많은 항산화제의 개발연구가 보고되어져 있다(1-4). 여러 연구결과에 의하면 과채류 등과 같은 식물성 식품을 충분히 섭취하는 것이 노화 지연 및 심혈관질환, 동맥경화, 암, 당뇨 등과 같은 만성 질환의 예방과 치료에 도움이 되는 것으로 밝혀지고 있다(5-8). 이러한 식물성 식품에 존재하는 천연 항산화제들은 비타민 E, 비타민 C 등의 비타민(4)과 Se, Cu, Mn 등의 무기질, 플라보노이드류, 카로티노이드류, 폴리페놀물질이 대표적이다(9). 하지만 천연 항산화제들은 항산화력이 비교

적 낮고, 합성 항산화제(butylated hydroxyanisol(BHA), butylated hydroxytoluene(BHT))의 경우는 생체 효소, 지방의 변이 및 독성으로 인해 인체에 암을 유발할 수 있다는 보고(10,11)가 있어 보다 안전하고 활성이 강한 항산화제의 연구가 요구되고 있다. 따라서 최근 식물류에 들어있는 생리활성 성분에 대한 관심이 높아져 이들 생리활성 성분을 함유한 천연식품 소재들을 기능성식품 원료로 이용하고자 하는 시도가 많이 이루어지고 있다.

목련(*Magnolia denudata*)은 목련과(Magnoliaceae)에 속하는 낙엽관목으로서 제주도에 자생하고 주로 관상용으로 심고 있으며, 국외로는 주로 일본에 분포한다. 목련의 줄기는 곧게 서며, 잎은 토란상 타원형이며 가지는 굵고 많이 갈라진다. 꽃은 잎보다 먼저 개화하며, 꽃잎은 긴 타원형으로 백색이지만 기부는 연한 홍색이고 향기가 있다. 열매는 5~7 cm로 곧거나 구부러지고 종자는 타원형이며 외피가 적색이다. 한방에서는 꽃 피기 전의 꽃 봉우리를 신이(辛夷)라 하여 두통, 비색, 치통, 축농증에 쓰인다. 또한 약리작용으로 수렴작용, 모세혈관 확장작용, 항염증작용, 혈압감하작

*Corresponding author. E-mail: hsjeong@chungbuk.ac.kr
Phone: 82-43-261-2570, Fax: 82-43-271-4412

용, 진통, 진정작용, 피부진균과 포도상구균 억제작용이 보고되었다(12-15). 목련의 대표적인 성분으로 lignan과 sesquiterpenes, hydroperoxide, alkaloid가 있다. Lignan 성분으로 spinescin과 epieudesmin, sesquiterpenes 성분으로 9-oxonerolidol, hydrperoxide 성분으로 kobusimin A와 B, alkaloid 성분으로 salcifoline 등의 화합물이 분리되어 보고(15-17)되어 있으며, 특히 lignan은 항산화활성(18)과 항균활성(19)을 가지고, epieudesmin은 항종양, 항산화활성이 있다고 보고되어 있으며(20,21) 주로 목질부, 잎, 수피 및 꽃봉오리의 항산화활성 및 항균활성에 관한 연구가 주를 이루고 있으며 목련꽃에 관한 연구는 미비한 실정이다. 따라서 본 연구에서는 목련 꽃에 대한 항산화, 항암 효과와 생리활성을 탐색하여 기능성식품의 소재로의 사용가능성을 확보하기 위한 기초 자료로 활용하고자 하였다.

재료 및 방법

재료

본 실험에 사용한 목련꽃은 2009년 4월 충북대학교 교내에서 채취하여 동결건조 후 분쇄하여 -20°C 에 보관하면서 실험에 사용하였다.

추출물 제조 및 용매 분획

목련꽃 건조 분말 50 g에 70% 에탄올 500 mL을 가하여 초음파 추출장치(frequency 40 HZ, power 300 W, SD-350H, Seong Dong, Seoul, Korea)를 이용하여 1시간씩 3회 반복 초음파 추출한 다음 추출액을 감압여과 한 후 회전진공농축기(EYELA N-1000, Tokyo Rikakikai Co., Tokyo, Japan)를 이용하여 40°C 에서 용매를 완전히 제거한 후 동결건조기(Modulyod-115, Thermo Electron Co., Waltham, MA, USA)로 동결건조 하였으며, 동결건조물 5 g을 물(증류수) 200 mL로 재용해하여 헥산(300 mL \times 3), 클로로포름(300 mL \times 3), 에틸아세테이트(300 mL \times 3)와 부탄올(300 mL \times 3)을 순차적으로 가하여 용매 분획물을 얻었고 최종 남은 용액을 물 분획물이라 칭하였으며, 이 분획물들은 감압농축한 후 동결건조 하여 -20°C 에 보관하면서 실험에 사용하였다.

총 폴리페놀 함량 측정

목련꽃 추출물의 총 폴리페놀함량은 Dewanto 등(22)의 방법에 따라 Folin-Ciocalteu reagent가 추출물의 폴리페놀성 화합물에 의해 환원된 결과 몰리브덴 청색으로 발색하는 것을 원리로 분석하였다. 각 추출물 100 μL 에 2% Na_2CO_3 용액 2 mL를 가한 후 3분간 방치하여 50% Folin-Ciocalteu reagent 100 μL 를 가하였다. 2% Na_2CO_3 용액을 가한 30분 후 반응액의 흡광도 값을 spectrophotometer(UV-1650, Shimadzu, Kyoto, Japan)를 이용하여 750 nm에서 측정하였다. 표준물질로 garlic acid(Sigma Chemical Co., St. Louis,

MO, USA)를 사용하였다. 검량선을 작성한 후 총 폴리페놀 함량은 시료 g 또는 mg 중의 mg garlic acid로 나타내었다.

총 플라보노이드 함량 측정

목련꽃 추출물의 총 플라보노이드 함량은 Zia 등(23)의 방법을 변형하여 측정하였다. 추출물 250 μL 에 증류수 1 mL과 5% NaNO_2 75 μL 를 가한 다음, 5분 후 10% $\text{AlCl}_3\cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 150 μL 를 가하여 6분 방치하고 1 N NaOH 500 μL 를 가하였다. 11분 후, 반응액의 흡광도 값을 510 nm에서 측정하였다. 표준물질로 (+)-catechin hydrate(Sigma Chemical Co.)를 사용하였다. 검량선을 작성한 후 시료의 총 플라보노이드 함량은 g중의 mg (+)-catechin hydrate로 나타내었다.

DPPH 라디칼 소거능에 의한 항산화활성(IC_{50}) 측정

목련꽃 추출물과 그 용매분획물의 전자공여능(Electron donating ability, EDA)은 Blois(24)의 방법을 변형하여 측정하였다. 즉, 시료 0.2 mL에 2×10^{-4} M DPPH(Sigma Chemical Co.) 용액(99% ethanol에 용해) 0.8 mL를 가한 후, vortex mixer로 10초간 진탕하고 30분 후에 spectrophotometer를 이용하여 525 nm에서 흡광도를 측정하였다. 흡광도를 측정할 때 셀에 분주되는 각 시료에 의한 흡광도의 차이는 용해한 용매만의 흡광도를 측정하여 보정해 주었고, 이때 전자공여능은 시료 첨가구와 비첨가구의 흡광도 차이를 백분율(%)로 구하였으며, 추출물의 EDA(%) 값을 50% 감소시키는 IC_{50} 값으로 표현하였다.

총 항산화력 측정

목련꽃 추출물과 그 용매분획물의 총 항산화력은 Roberta 등(25)과 Leong과 Shiui(26)의 방법을 변형하여 측정하였다. 2,2'-Azino-bis-(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) (ABTS, Sigma Chemical Co.) 7.4 mM과 potassium persulphate 2.6 mM을 하루 동안 암소에 방치하여 $\text{ABTS}^{\cdot+}$ 양이온을 형성시킨 후 이 용액을 735 nm에서 흡광도 값이 1.4~1.5가 되도록 물 흡광계수($\epsilon=3.6\times 10^4 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$)를 이용하여 증류수로 희석하였다. 희석된 $\text{ABTS}^{\cdot+}$ 용액 1 mL에 추출액 50 μL 를 가하여 흡광도의 변화를 정확히 60분 후에 측정하였으며, 표준물질로서 L-ascorbic acid(Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA)를 동량 첨가하였고, 총 항산화력은 AEAC(L-ascorbic acid equivalent antioxidant capacity, mg AA eq/g)로 표현하였다.

MTT assay에 의한 항암 활성 측정

본 실험에서 사용한 암세포는 HCT116(colorectal carcinoma: KCLB 10247), NCIH460(lung large cell carcinoma: KCLB 30177)과 HepG2(liver hepatoblastoma KCLB 88065)이었으며, 한국세포주은행(KCLB, Seoul, Korea)에서 분양받아 사용하였다. 각각의 세포는 10% fetal bovine serum(FBS)와 100 U/mL penicillin G, 50 $\mu\text{g}/\text{mL}$ streptomycin

cin을 첨가한 RPMI-1640(Gibco Co., NY, USA)과 DMEM (Gibco Co.) medium을 사용하여 5% CO₂, 37°C 배양기에서 배양하였으며, 세포 밀도가 높아지면 5분간 trypsin-EDTA를 처리하여 계대배양을 실시하였다. 암세포 성장억제 효과를 측정하기 위해 Ishiyama 등(27)의 방법에 따라 MTT assay로 실험하였다. 즉, 1×10^5 cell/well 농도로 96 well plate에 100 μ L씩 분주한 후 37°C, 5% CO₂ 배양기에서 24시간 배양 후, 전 배양에 사용된 배지를 제거하고 배지에 일정 농도로 희석된 추출물을 100 μ L를 첨가하여 다시 24시간 배양하였다. 배양 완료 후 2 mg/mL 농도의 MTT시약을 well당 10 μ L씩 분주한 다음 37°C, 5% CO₂ 배양기에서 4시간 후 MTT시약이 포함된 배지를 제거하고 dimethyl sulfoxide(DMSO) 100 μ L를 가한 후 상온에서 발색시키고, ELISA microplate reader(ELx808, Bio-tek[®] Inc., Highland Park, USA)를 이용, 540 nm에서 흡광도를 측정하였다.

$$\% \text{ of control} = \frac{\text{시료처리구의 흡광도}}{\text{control 흡광도}} \times 100$$

Nitric oxide radical 소거활성 측정

목련꽃 추출물과 그 용매분획물의 nitric oxide radical 소거활성을 측정하기 위해 Griess Detection kit(iNtRON Biotechnology, Seongnam, Korea)을 사용하였다. RAW 264.7 cell을 96 well plate에 5×10^3 cells/well로 분주하였고, NO 유도제로는 LPS 1 μ g/mL을 사용하였다. 목련 추출물의 처리 농도는 25, 50, 100 mg/mL로 24시간 동안 배양하였고, NO 생성은 Griess Detection kit를 사용하여 측정하였다. 약물 처리된 96 well에서 세포에 영향을 주지 않도록 주의하면서 상등액 50 mL을 새로운 96 well로 옮긴 후, N1 buffer(substrate solution)(sulfanilamide in the reaction buffer) 50 mL를 넣고 상온에서 10분간 반응시킨 후 N2 buffer(coloring solution, naphthylendiamine in the stabilizer buffer) 50 mL를 넣고 상온에서 10분간 반응시켰다. 흡광도는 ELISA microplate reader로 550 nm에서 측정하였으며, 표준 곡선을 얻기 위하여 nitrate standard를 1.56, 3.12, 6.25, 12.5, 25, 50, 100 mM로 제조하여 표준곡선을 만들어 nitrate 농도를 계산하였다.

통계분석

통계분석은 SPSS Ver 12.0 package program을 이용하여 각 측정 군의 평균과 표준편차를 산출하고 Duncan's multiple range test를 이용하여 유의성을 검정하였다.

결과 및 고찰

총 폴리페놀 및 플라보노이드 함량 분석

목련꽃 에탄올 추출물의 총 폴리페놀과 플라보노이드 함량을 측정한 결과는 Table 1에서 보는 바와 같이 각각 186.14

Table 1. Total polyphenol and flavonoid content of *Magnolia denudata* ethanol extract and its solvent fractions

	Total phenolic content (mg GA eq/g)	Total flavonoid content (mg catechin eq/g)
Ethanol extract	186.14 \pm 1.98	56.93 \pm 1.10
Hexane fraction	93.32 \pm 0.17	51.88 \pm 0.19
Chloroform fraction	100.95 \pm 1.53	66.31 \pm 0.18
Ethyl acetate fraction	427.10 \pm 1.14	356.05 \pm 0.76
Buthanol fraction	303.54 \pm 0.17	252.52 \pm 0.21
Water fraction	108.13 \pm 0.09	71.79 \pm 0.14

및 56.93 mg/g의 함량을 나타내었으며, 용매분획물에 대해서는 에틸아세테이트>클로로포름>부탄올>물 분획물 순으로 높았으며, 에틸아세테이트 분획물에서 각각 427.10과 356.05 mg/g으로 가장 높게 나타났다. 이러한 총 폴리페놀 함량은 진달래꽃 에탄올 추출물의 30.6 mg/g(28)과 민들레 지상부 메탄올 추출물의 48.16 mg/g(29)보다 많은 양이며, 약용식물인 음양곽의 81.2 mg/g(30)보다 높은 함량이었다.

목련꽃 추출물과 용매분획물의 라디칼 소거능

DPPH 자유 라디칼을 이용하여 목련꽃 에탄올 추출물과 용매분획물의 전자공여능(EDA %)에 대한 IC₅₀값을 측정한 결과는 Table 2와 같다. 에탄올 추출물의 IC₅₀값은 0.232 mg/mL이었으며, 용매분획물의 경우 에틸아세테이트 분획물이 0.197 mg/mL로 가장 낮은 IC₅₀값을 나타내었다. 헥산, 클로로포름, 부탄올 및 물 분획물에서는 각각 0.985, 1.114, 0.241 및 0.694 mg/mL로 나타났으며, 에탄올 추출물에 비해 에틸아세테이트 분획물에서만 우수한 DPPH 라디칼 소거능을 나타내었고 부탄올 분획물은 에탄올 추출물과 유사한 라디칼 소거능을 나타내었다. 천연항산화제인 α -tocopherol (0.061 mg/mL)과 합성항산화제인 BHA(0.043 mg/mL)보다는 낮았으며, 민들레의 지상부 메탄올 추출물(29), 약용식물 소재인 산수유, 오갈피, 삼지구엽초(31)보다 높은 항산화활성을 나타내었다. 목련꽃 추출물과 용매분획물의 ABTS \cdot 라디칼 소거능으로 표현된 총항산화력(AEAC)은 Table 2에서 보는 바와 같이 추출물의 AEAC 값은 0.41 mg AA eq/100 mg이었으며, 용매분획물의 경우 에틸아세테이트 분획물이 0.90 mg AA eq/100 mg으로 가장 높은 항산화력을

Table 2. DPPH radical scavenging activity (IC₅₀) and total antioxidant activity (AEAC) of *Magnolia denudata* ethanol extract and its solvent fractions

	DPPH radical scavenging activity IC ₅₀ (mg/mL)	AEAC (mg AA eq/g)
Ethanol extract	0.230 \pm 0.002	0.407 \pm 0.004
Hexane fraction	0.523 \pm 0.003	0.215 \pm 0.013
Chloroform fraction	0.519 \pm 0.002	0.262 \pm 0.022
Ethyl acetate fraction	0.197 \pm 0.001	0.897 \pm 0.007
Buthanol fraction	0.221 \pm 0.001	0.568 \pm 0.013
Water fraction	0.638 \pm 0.004	0.124 \pm 0.011
BHA	0.043 \pm 0.001	—
α -Tocopherol	0.061 \pm 0.001	—

나타내었고 그 다음으로 부탄올, 물, hexan, 클로로포름 순이었으며, 각각 0.57, 0.26, 0.21 및 0.12 mg AA eq/100 mg 값을 나타내었으며, DPPH 자유 라디칼을 이용한 항산화 활성과 같은 경향을 보였다. 목련꽃 에탄올 추출물의 용매분획물 가운데 에탄올 추출물보다 높은 항산화 활성을 보인 분획물은 에틸아세테이트 분획물이었으며, 이는 항산화 활성을 보이는 것으로 알려진 폴리페놀과 플라보노이드 성분이 에틸아세테이트 분획물로 많이 이행되었기 때문이라 생각되며 (31,32, Table 1) 어떠한 성분인지에 대한 추가 연구가 필요하리라 판단된다.

목련꽃 추출물과 용매분획물의 항암 활성

목련꽃 추출물과 용매분획물에 대한 인체유래 대장암세포(HCT116)의 증식억제율을 측정한 결과는 Fig. 1과 같다. 목련꽃 추출물과 용매분획물 가운데 에틸아세테이트 분획물을 제외하고는 모두 농도 의존적으로 대장암세포 증식억제효과를 나타내었다. 500 μ g/mL의 농도에서 에탄올 추출물의 대장암세포 증식억제율은 39.20%이었지만 hexan, 클로로포름, 에틸아세테이트 및 부탄올 용매분획물의 암세포 증식억제효과는 각각 79.15, 72.06, 73.12 및 70.90%로 높게 나타났다. 62.5 μ g/mL의 농도에서는 hexan, 클로로포름 및 부탄올 분획물의 경우 33.60, 31.39 및 10.50%의 증식억제효과를 보였으나, 에틸아세테이트와 물 분획물은 증식억제효과

를 보이지 않았다. 우수한 대장암 증식억제효과를 나타낸 hexan과 클로로포름, 부탄올 분획물의 IC₅₀값은 각각 0.21, 0.14 및 0.28 mg/mL로 나타났다. 선학초 메탄올 추출물의 hexan과 클로로포름 분획물의 경우 0.48과 0.82 mg/mL의 농도에서 50%의 대장암 증식억제활성을 보고하였는데(33) 이는 목련꽃 추출물의 hexan, 클로로포름 및 부탄올 분획물보다 낮은 활성이었다. 폐암세포(NCI-H460) 증식억제효과를 나타낸 Fig. 2를 보면 hexan, 부탄올 및 물 분획물은 농도 의존적으로 증식억제효과를 나타내었다. hexan과 클로로포름 분획물의 경우 500 μ g/mL 농도에서 각각 74.67 및 54.57%의 증식억제효과를 보였으며, 31.5 μ g/mL 농도에서는 각각 30.06 및 21.34%의 증식억제효과를 나타내었다. 에탄올 추출물의 경우 농도 의존적으로 폐암세포 증식억제효과를 보이지는 않았으나 500, 125, 62.5 및 31.5 μ g/mL의 농도에서 24.27~28.76% 범위의 폐암세포 증식억제효과를 보였으며 우수한 폐암 증식억제효과를 나타낸 hexan과 클로로포름 분획물의 IC₅₀값은 각각 0.18 및 0.41 mg/mL로 나타났다. 대장암세포 증식억제활성을 보였던 에틸아세테이트와 부탄올 분획물은 500 μ g/mL에서도 폐암세포 증식억제효과를 보이지 않는 것으로 나타났다. 간암세포(HepG2)의 암세포 증식억제효과를 측정한 결과 에탄올 추출물, hexan, 클로로포름, 부탄올 및 물 분획물은 농도 의존적으로 증식억제효과를 나타내었다. 대장암과 폐암세포에서 항암활성을 보이지 않았던 물

Fig. 1. Antiproliferation effects of *Magnolia denudata* ethanol extract (ME) and its solvent fractions on human colon cancer cell (HCT116). Different letters on the bars of same items indicate a significant difference ($p < 0.05$).

Fig. 2. Antiproliferation effects of *Magnolia denudata* ethanol extract (ME) and its solvent fractions on human lung cancer cell (NCI-H460). Different letters on the bars of same items indicate a significant difference ($p < 0.05$).

Fig. 3. Antiproliferation effects of *Magnolia denudata* ethanol extract (ME) and its solvent fractions on human liver cancer cell (HepG2). Different letters on the bars of same items indicate a significant difference ($p < 0.05$).

Fig. 4. Nitrate synthesis inhibitory effect of *Magnolia denudata* ethanol extract (ME) and its solvent fractions on nitric oxide synthase activity in LPS stimulated RAW 264.7 cells. Different letters on the bars of same items indicate a significant difference ($p < 0.05$).

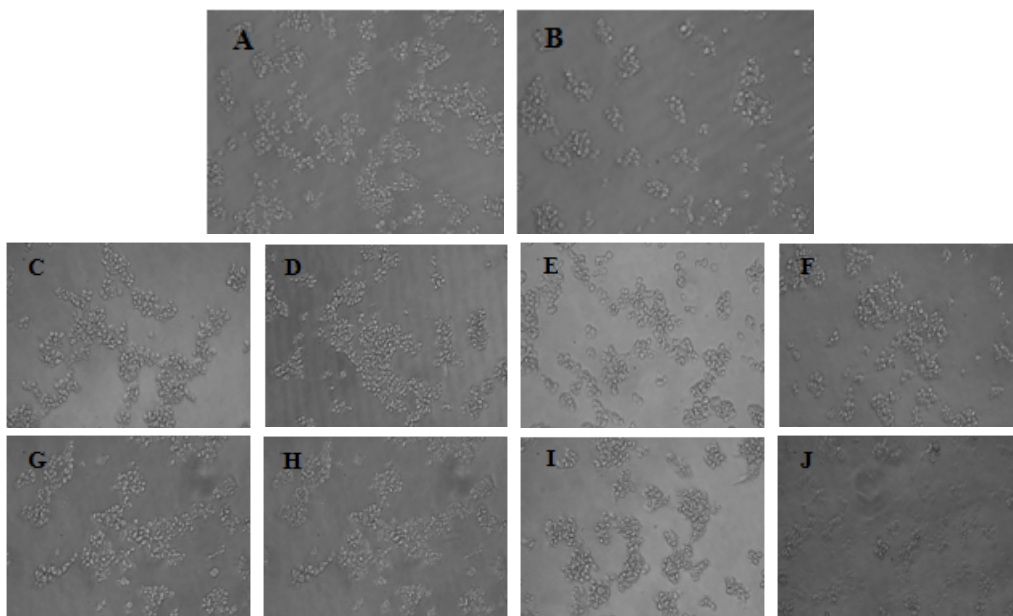


Fig. 5. Photomicrographs ($\times 200$) of the LPS treated with *Magnolia denudata* ethanol extract (ME) and its solvent fractions for 24 hr. A: control, B: LPS 1 $\mu\text{g}/\text{mL}$, C: LPS 1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ treated with hexane fraction 12.5 $\mu\text{g}/\text{mL}$, D: LPS 1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ treated with hexane fraction 25 $\mu\text{g}/\text{mL}$, E: LPS 1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ treated with hexane fraction 50 $\mu\text{g}/\text{mL}$, F: LPS 1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ treated with hexane fraction 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$, G: LPS 1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ treated with chloroform fraction 12.5 $\mu\text{g}/\text{mL}$, H: LPS 1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ treated with chloroform fraction 25 $\mu\text{g}/\text{mL}$, I: LPS 1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ treated with chloroform fraction 50 $\mu\text{g}/\text{mL}$, J: LPS 1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ treated with chloroform fraction 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$.

분획물(500 $\mu\text{g}/\text{mL}$)에서 간암세포 증식억제효과(78.56%)를 나타내었으며 우수한 간암 증식억제효과를 나타낸 클로로

포름과 물 분획물의 IC_{50} 값은 각각 0.37 및 0.25 mg/mL 로 나타났다. 그러나 대장암과 폐암세포 증식억제효과를 보인

핵산 분획물(500 µg/mL)의 경우 간암세포 증식억제효과는 낮게 나타났다(Fig. 3).

본 실험 결과로부터 목련꽃 추출물 및 용매분획물은 대장암, 폐암과 간암세포 증식억제효과가 우수한 것을 확인할 수 있었다. 많은 총 폴리페놀 함량과 우수한 항산화 활성을 나타낸 에틸아세테이트 분획물은 대장암세포에서만 증식억제효과를 보였으며, 폐암과 간암세포는 증식을 억제하지 못하는 것으로 나타났고, 핵산 분획물의 경우 대장암과 폐암세포에 대해 우수한 증식억제효과를 보였으나 간암세포는 증식을 억제하지 못하였다. 클로로포름 분획물의 경우 대장암, 폐암 및 간암세포 모두 우수한 증식억제효과를 나타내었으며, 향후 핵산과 클로로포름 분획물의 항암활성을 보이는 물질 규명을 통해 암세포를 억제시킬 수 있는 생리활성 물질의 개발 가능성이 있을 것으로 사료된다.

일산화질소(NO) 생성 억제활성

RAW264.7 세포에서 리포폴리사카라이드(LPS)로 유도된 일산화질소 생성에 대한 목련 꽃 추출물과 용매분획물의 저해효과는 Fig. 4와 같다. 리포폴리사카라이드와 목련추출물을 24시간 동안 동시 처리했을 때 배양액에서의 리포폴리사카라이드 유도 질산염의 생성을 억제하는 것으로 나타났다. 특히, 클로로포름과 핵산 분획물에서는 리포폴리사카라이드 유도 일산화질소 생성이 농도 의존적으로 감소하였으며, 50% 억제 농도는 49.5와 39.5 µg/mL이었다. 또한, 에탄올 추출물 및 용매분획물을 처리한 후 세포모양을 관찰한 결과 핵산 분획물은 100 µg/mL 처리 시 세포독성을 보였으나, 50 µg/mL의 농도에서는 세포독성 없이 일산화질소 생성을 억제하는 것으로 나타났다(Fig. 5). 그 외에 다른 용매분획물은 고농도 처리 시에도 염증세포에 대한 세포독성을 보이지 않았으며, 그중 클로로포름 분획물이 세포에 대한 독성 없이 염증세포에서 리포폴리사카라이드 유도 일산화질소의 생성을 효과적으로 억제함을 알 수 있었다.

요 약

목련 꽃 에탄올 추출물과 용매분획물에 대한 항산화활성, 항암활성 및 항염증활성을 살펴본 결과는 다음과 같다. 목련꽃 추출물의 총 폴리페놀과 플라보노이드 함량은 216.14 및 86.93 mg/g이었고, DPPH법에 의한 항산화활성의 IC₅₀값은 0.232 mg/mL이었으며, 용매분획물 중 에틸아세테이트 분획물이 우수한 항산화활성을 보였다(IC₅₀: 0.197 mg/mL, AEAC: 0.90 mg AA eq/100 mg). 또한 에탄올 추출물 및 용매분획물은 대장암, 폐암 그리고 간암세포에 대하여 선택적으로 낮은 농도에서 증식억제효과를 보였으며, 클로로포름 분획물은 리포폴리사카라이드 유도 일산화질소 생성 저해효과를 보였다(IC₅₀: 49.5 µg/mL).

문 헌

1. Lee WC, Kim AJ, Kim SY. 2003. The study on the functional materials and effects of mulberry leaf. *Food Sci Ind* 36: 2-14.
2. Cerutti PA. 1994. Oxy-radicals and cancer. *Lancet* 344: 862-863.
3. Corl MM. 1974. Antioxidant activity of tocopherol and ascorbylpalmitate and their mode of action. *Jaocs* 51: 321-325.
4. Coleman MD, Fernandes S, Khanderia LA. 2003. A preliminary evaluation of a novel method to monitor a triple antioxidant combination (vitamin E, C and α-lipoic acid) in diabetic volunteers using *in vitro* methaemoglobin formation. *Environ Toxicol Pharmacol* 14: 69-75.
5. Temple NJ. 2000. Antioxidants and disease: more question than and answers. *Nutr Res* 20: 449-459.
6. Ames BN, Shigenaga MK, Hagwn TM. 1993. Oxidants, antioxidants, and the degenerative disease of aging. *Prox Natl Acad Sci* 90: 7915-7922.
7. Block G. 1993. Vitamin C, cancer and aging. *Age* 16: 55-58.
8. Michels KB, Giovannucci E, Joshipura KJ, Rosner BA, Stampfer MJ, Fuchs CS, Colditz GA, Willett WC. 2000. Prospective study of fruit and vegetable consumption and incidence of colon and rectal. *J Natl Cancer Inst* 92: 1740-1752.
9. Namiki MO. 1990. Antioxidants and antimutagens in food. *Crit Rev Food Sci* 29: 273-300.
10. Williams GM, Wang CX, Iatropoulos MJ. 1990. Toxicity studies of butylated hydroxyanisole and butylated hydroxytoluene. II. Chronic feeding studies. *Food Chem Toxicol* 28: 799-806.
11. Branan AL. 1975. Toxicological and biochemistry of butylated hydroxyanisole and butylated hydroxytoluene. *J Am Oil Chem Soc* 52: 59-63.
12. Kim YK, Ko YN, Kim YM, Yang HO. 2001. Evaluation of cell cytotoxicity on the extractives of magnoliaceae. *J Kor For En* 20: 1-8.
13. Namba T, Tsunozuka M, Hattori M. 1982. Dental caries prevention by traditional Chinese medicine. *Planta Med* 44: 100-106.
14. Noshita T, Kiyota H, Kidachi Y, Ryoyama K, Funayama S, Hanada K, Murayama T. 2009. New cytotoxic phenolic derivatives from matured fruits of *Magnolia denudata*. *Biosci Biotechnol Biochem* 73: 726-728.
15. Kwon BM, Jung HJ, Lim JH, Kim YS, Kim MK, Kim YK, Bok SH, Bae KH, Lee IR. 1999. Acyl-CoA:cholesterol acyltransferase inhibitory activity of lignans isolated from *Schizandra*, *Machilus* and *Magnolia* species. *Planta Med* 65: 74-76.
16. Brieskorn CH, Huber H. 1976. Vier neue lignane aus *aptosimum spinescens* (Thunbg). *Tetrahedron Lett* 17: 2221-2224.
17. Iida T, Nakano M, Ito K. 1982. Hydroperoxy sesquiterpene and lignan constituents of *Magnolia kobus*. *Phytochemistry* 21: 673-675.
18. Kim YG. 1997. Studies on the antioxidant activities of the extractives from magnolia (*Magnolia kobus* D.C. var. *borealis* Sarg.). *J Inst Agric Res Utili* 31: 81-89.
19. Kim YG. 1999. Studies on the antimicrobial activities of the extractives from magnolia (*Magnolia kobus* D.C. var. *borealis* Sarg.). *Mokchae Konghak* 27: 105-114.
20. Pettit GR, Meng Y, Gearing RP, Herald DL, Pettit RK, Doubek DL, Chapuis JC, Tackett LP. 2004. Antineoplastic agents. 522. *Hernandia peltata* (Malaysia) and *Hernandia*

- nymphaeifolia* (Republic of Maldives). *J Nat Prod* 67: 214-220.
21. Cavin A, Potterat O, Wolfender JL, Hostettmann K, Dyatmyko W. 1998. Use of on-flow LC/1H NMR for the study of an antioxidant fraction from *Orophea enneandra* and isolation of a polyacetylene, lignans, and a tocopherol derivative. *J Nat Prod* 61: 1497-1501.
 22. Dewanto V, Xianzhong W, Liu RH. 2002. Processed sweet corn has higher antioxidant activity. *J Agric Food Chem* 50: 4959-4964.
 23. Zia Z, Tang M, Wo J. 1999. The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. *Food Chem* 64: 555-559.
 24. Blois MS. 1958. Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature* 181: 1199-1203.
 25. Roberta T, Nicoletta P, Anna P, Ananth P, Min Y, Catherine RE. 1999. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radic Biol Med* 26: 1231-1237.
 26. Leong LP, Shiui G. 2002. An investigation of antioxidant capacity of fruits Singapore markets. *Food Chem* 76: 69-75.
 27. Ishiyama M, Tominaga H, Shiga M, Sasamoto K, Ohkura Y, Ueno K. 1996. A combined assay of cell viability and *in vitro* cytotoxicity with a highly water-soluble tetrazolium salt, neutral red and crystal violet. *Biol Pharm Bull* 19: 1518-1520.
 28. Cho YJ, Ju IS, Chun SS, An BJ, Kim JH, Kim MU, Kwon OJ. 2008. Screening of biological activities of extracts from *Rhododendron mucronulatum* Turcz. flowers. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 37: 276-281.
 29. Heo SI, Wang MH. 2008. Antioxidant activity and cytotoxicity effect of extracts from *Taraxacum mongolicum* H. *Kor J Pharmacogn* 39: 255-259.
 30. Kim EY, Baik IH, Kim JH, Kim SR, Rhyu MR. 2004. Screening of the antioxidant activity of some medicinal plants. *Korean J Food Sci Technol* 36: 333-338.
 31. Kim SJ, Lee HJ, Park KH, Rhee CO, Lim IJ, Chung HJ, Moon JH. 2008. Isolation and identification of low molecular phenolic antioxidants from ethylacetate layer of Korean black raspberry wine. *Korean J Food Sci Technol* 40: 129-134.
 32. Park BJ, Michio O. 2008. Antioxidant activities and tyrosinase inhibitory effects of guava (*Psidium guajava* L.) leaf. *Korean J Plant Res* 21: 408-412.
 33. Min KJ, Song JW, Cha CG. 2008. The antioxidative and antitumor activity of extracts of *Agrimonia pilosa*. *J Fd Hyg Safety* 23: 149-156.

(2009년 8월 13일 접수; 2009년 10월 12일 채택)