

튤립(*Liriodendron tulipifera*) 나무가지 메탄올 추출물의 항산화와 항암활성 효과

허명록, 왕 란¹, 왕명현^{1*}

하남과학기술학원, ¹강원대학교 의생명과학대학

The Antioxidant and Anticancer Effects of MeOH Extract of *Liriodendron tulipifera*

Ming-Lu Xu, Lan Wang¹ and Myeong-Hyeon Wang^{1*}

Henan Institute of Science and Technology, Xinxiang 453-003, PR. China

¹Department of Medical Biotechnology, College of Biomedical Science, Kangwon National University, Chuncheon 200-701, Korea

Abstract - In order to screen the functional constituents from nature resource, we studied the bioactivities of methanol extract of the *Liriodendron tulipifera* branch(MLT). The total phenolic and flavonoid contents, DPPH radical scavenging capacity, reducing power, Fe²⁺ chelating ability, inhibition of lipid peroxidation and cell toxicity of MLT were investigated in this study. We found that the total phenolic and flavonoid content of MLT is 75.34 mg gallic acid/g and 20.15 mg quercetin/g respectively. MLT exhibited the antioxidant activity on DPPH radical with a EC₅₀ value of 289.68 µg/mL, the absorbance is 0.388 at 100 µg/mL in reducing power assay, MLT prevented 38.56% lipid peroxidation at 200 µg/mL. Furthermore, MLT exhibits the potent anti-proliferative activity which inhibited 56.94%, 35.73% growth of HT-29 and Hela cell at 200 µg/mL respectively. It showed that the antioxidant activities of MLT were correlated with its total phenolic and flavonoid contents. However further study need to be exploring in the future.

Key words - *Liriodendron tulipifera*, Antioxidant, Anticancer, Anti-lipid peroxidation

서 언

활성 산소종(reactive oxygen species, ROS)에는 superoxide anion, hydroxyl radical, hydrogen peroxide, singlet oxygen 등이 있으며, 단백질, 효소의 불활성화, 지질과산화, DNA변성 등을 초래하여 세포의 기능장애를 유발하고, 암을 비롯하여 심장질환, 뇌혈관질환, 동맥경화, 고혈압, 당뇨병, 파킨슨 질병, 노년 치매, 세포노화등 수많은 질병을 일으키는 것으로 보고되고 있다(Rhim and Choi, 2010). 항산화제는 이러한 ROS를 제거시킴으로써 생체내 산화성 스트레스로 인하여 생성되는 산화 물질들을 방어하는 작용을 한다. 현재 BHA(butylated hydroxyanisole) 및 BHT(butylatedhydroxytoluene)와 같은 합성 항산화제는

우수한 효과와 경제성 때문에 많이 사용되고 있지만 그 독성으로 인해 인체에 암을 유발 할 수 있는 안정성 문제로 천연 항산화제 개발이 필요한 상황이다(Kim and Kang, 2010). 때문에 식물류에 들어 있는 항산화 활성과 기타 생리활성 성분에 대한 연구가 많아지고 또한 이러한 천연물 소재를 개발하려는 노력과 연구가 활발히 이루어지고 있다.

튤립나무(*Liriodendron tulipifera* L.)는 목련과(Magnoliaceae)에 속하는 활엽수로 백합나무라고도 한다. 생장이 빠르고 미국 동부와 동아세아에서 자라는데 나무를 pulp로 도 사용한다(merkle and sommer, 1991; Kim, 1995). SO₂ 처럼 환경오염물질을 제거하기 위하여 많이 재배하고 있으며, 중국에서는 수피를 약용으로 하는데 거품습효과가 있다고 한다. 미국 본토인들은 튤립나무 껍질을 강장제, 흥분제, 해열제로 더욱이 말라리아로 인한 간헐열에도 사용하

*교신저자(E-mail) : mhwang@kangwon.ac.kr

였다(Rafinesque and Atkinson 1828). 미국내전기간 동맹군 외과 의사들은 quinine 대용품으로 툴립나무를 사용하였으며(Hasegawa, 2007), 2차 세계대전 기간에도 미국 정부는 quinine 대용품으로 툴립나무껍질 추출물을 말라리아 치료에 사용하였다(Spencer *et al.*, 1947). 툴립나무 껍질의 화학성분으로 sesquiterpene lactones(Doskotch and El-Ferally, 1969, 1970; Doskotch *et al.*, 1976, 1977, 1975; Muhammad and Hufford, 1989)과 aporphine alkaloids(Buchanan and Dickey, 1960; Cohenetal., 1961; Taylor, 1961; Chen *et al.*, 1976, 1976; Chen and Chang 1978)를 분리하였다고 보고되었다. 툴립나무 껍질에서 분리한 8개의 aporphine alkaloids와 sesquiterpene lactones들이 antiplasmodial에도 높은 효과를 나타내며 또 CHO (Chinese Hamster Ovarian) cell line에서는 화합물 liriodenine, peroxyferolide와 lipiferolide가 높은 활성이 있다고 보고되었다(Graziosea *et al.*, 2010). 그러나 지금까지 툴립나무가지의 항산화에 관한 연구보도가 없는 것으로 사료되어 본 연구에서는 툴립나무 가지의 메탄을 추출물의 항산화활성과 세포독성을 측정함으로써 툴립나무의 향후 보건품과 의약품으로서의 가능성을 보기로 하였다.

재료 및 방법

실험재료 및 추출방법

본 실험에 사용한 툴립나무 가지는 강원도 춘천에서 채집한 것으로 음건된 1 kg을 이용하여 MeOH 3 L로 60°C에서 24시간씩 세 번 추출하고 추출액을 합하고 감압 농축하여 MeOH추출물 28.0 g을 얻었다. 상기 추출물을 본 실험의 시료로 사용하였다.

총 폐놀성 화합물 함량

총 폐놀성 함량은 폐놀성 물질이 phosphomolybdic acid 와 반응하여 청색으로 발색되는 것을 이용한 Folin-Denis 방법에 따라 분석하였다(Birt *et al.*, 2001; Lin and Tang 2007). 즉, 1 mg/mL로 조제한 추출물 1 mL에 Folin-Denis 시액 2 mL을 잘 넣고, 35%의 탄산나트륨(Na₂CO₃)용액을 2 mL을 넣은 다음 잘 혼합하여 실온에서 30분 간 반응 후, 분광도계(ELx800, Biotec, USA)를 이용하여 750 nm에서 흡광도를 측정하였다. 측정된 흡광도는 표준시약으로 gallic acid를 사용하여 표준곡선을 작성하고, 총 폐놀성 화합물

의 함량은 mg gallic acid equivalent로 계산하였다.

$$\text{Absorbance} = 0.0069 \text{ mg gallic acid} - 0.042(R^2=0.9982)$$

총 플라보노이드 화합물 함량

총 플라보노이드 함량은 Davis(Chang *et al.*, 2002) 변법을 이용하였다. 1.0 mg/mL로 조제한 추출물 1 mL에 diethylene glycol 10 mL 및 1 N NaOH 1 mL을 가하고 잘 혼합한 후 30°C에서 1시간 반응시킨 후 420 nm에서 흡광도를 측정하였다. 이때 검량곡선은 quercetin(Sigma Co., USA)을 이용하여 작성하였으며 총 플라보이드 함량은 아래의 식에 의해 계산하였다.

$$\text{Absorbance} = 0.0061 \text{ mg quercetin} - 0.0281(R^2=0.9997)$$

DPPH radical 소거활성

DPPH radical 소거 실험은 광범위하게 쓰이는 간단하고 편리한 항산화 검색법으로, 특히 phenol과 aromatic amine 화합물의 항산화능 측정에 많이 사용된다(Blois, 1958). 시료를 10, 50, 100, 500, 1000 μg/mL의 농도로 준비한 추출물 1 mL에 0.2 mM DPPH용액 1 mL을 잘 혼합하여 25분간 실온에서 방치하고 multiplate spectrophotometer(ELx800TM, Biotek, USA)를 사용하여 515 nm에서 흡광도를 측정(Eom *et al.*, 2007)하고 아래식으로 계산하여 EC₅₀값으로 나타내었다.

$$\text{Scavenging effect(\%)} = [1 - (A_{\text{sample}} - A_{\text{blank}}) / A_{\text{control}}] \times 100\%$$

L-Ascorbic acid와 BHA를 positive 대조군으로 사용하였다. EC₅₀(μg/mL)는 DPPH 라디칼 소거활성이 50% 나타내는 추출물의 농도를 나타내는 것이다.

환원력의 측정

즉 각각의 농도별로 조제한 시료 0.1 mL에 0.2 M 인산 완충액(pH 6.8) 0.25 mL과 1% potassium ferricyanide [K₃F₃(CN)₆] 0.25 mL을 넣은 다음, 50°C에서 20분간 반응시킨다. 반응 후 0.25 mL의 10% trichloroacetic acid 를 첨가하고 1000 rpm 10분간의 원심분리를 통하여 얻어진 상층 액에 0.1%의 FeCl₃ 0.05 mL을 넣어서 발색반응을 유도시킨 다음, multiplate spectrophotometer(ELx800

TM, BioTek, USA)를 사용하여 750 nm에서 흡광도를 측정하였다(Goh *et al.*, 2009).

Ferrous ion chelating 효과

각 시료의 50배 추출물 1 mL, 80% 에탄올 0.8 mL, 2 mM FeCl₂·4H₂O(iron(II) chloride tetrahydrate; 220299, Sigma, USA) 용액 0.1 mL, 5 mM ferrozine [3-(2-Pyridy)-5,6-diphenyl-1,2,4-triazine-4',4"-disulfonic acid; P5338, Sigma, USA] 용액 0.1 mL를 순서대로 첨가하여 혼합한 다음 실온에서 10분간 반응시켜 562 nm에서 흡광도를 측정하였다(Yen *et al.*, 2002). Chelating 효과는 아래의 수식에 따라 산출하였다. 각 시료의 chelating 효과를 비교하기 위하여 0.05 mg/mL 농도의 EDTA(ethylenediaminetetraacetic acid; E5134, Sigma, USA)를 양성대조군으로 사용하였다.

$$\text{Chelating activity}(\%) = (1 - A/B) \times 100$$

A: 시료 첨가군의 흡광도, B: 용매 첨가군의 흡광도

지질과산화 억제활성

지질과산화 억제 활성은 thiobarbituric acid reactive species(TBARS)방법에 따라 실험하였다(Banerjee *et al.*, 2005). Egg yolks(SIGMA) (10% v/v) 200 μL와 sample 40 μL를 혼합하고 FeSO₄(0.07 M)를 20 μL가한 후 37°C incubator에서 30 min간 반응시켰다. 다음 600 μL 20% acetic acid(pH 3.5), 600 μL 0.8% TBA와 20 μL 20% TCA 가하여 잘 혼탁한 후 95°C 수욕에서 60분간 반응하였다. 냉각 후 2 mL부탄올을 가하고 5000 rpm으로 10 min 원심분리한 후 532 nm에서 상층 액의 흡광도를 측정하여 툴립나무가지 메탄올 추출물의 지질과산화 억제 활성을 아래 식으로 계산하였다.

$$\text{지질과산화 억제율}(\%) = [1 - (E - E_b)/(C - C_b)] \times 100\%$$

E는 샘플의 흡광도, E_b는 sample blank의 흡광도, C는 oxidised control(distilled water)의 흡광도, C_b는 control blank의 흡광도이다.

암세포 생존 억제활성 분석

툴립나무 가지 MeOH 추출물의 각 용매분획의 암세포

및 정상세포의 증식 억제효과는 Green *et al.*(1984)등의 방법에 따라 MTT assay를 이용하여 시행하였다. 세포배양을 위해 10% FBS(Gibco)와 100 U/mL의 penicillin, 100 μg/mL의 streptomycin을 포함하는 RPMI-1640(Gibco, MD, USA)배지와 DMEM(Gibco, MD, USA)배지를 각각 사용하였으며, 세포는 CO₂ 배양기(37°C, 5% CO₂, MCO-15AC, SANYO, Osaka, Japan)에서 배양하였다. 96 well plate에 1.0×10⁶ cells/well로 HT-29와 hela 세포를 분주하고 24시간 동안 배양한 후 10, 50, 100, 200 μg/mL 농도의 시료를 각각 첨가하여 48시간 동안 배양하였다. 배양 후, 20 μL의 MTT solution을 첨가한 후 CO₂ 배양기(37°C 5% CO₂)에서 4시간 반응시킨 후, 550 nm에서 흡광도(ELx800 Absorbance Microplate Reader, Bioteck, USA)의 변화를 측정하여 대조군에 대한 세포 생존율을 백분율로 표시하였다.

통계처리

모든 실험은 3반복으로 진행하였으며, 통계 프로그램은 SPSS 11.5에서 one-way ANOVA 중 Duncan's multiple range test를 사용하여 p<0.05에서 유의성을 조사하였다.

결과 및 고찰

총 폐놀성 및 플라보노이드 화합물 함량

식물계에 널리 분포되어 있는 폐놀성 화합물은 2차 대사산물의 하나로 다양한 구조와 분자량을 가진다. 이들은 phenolic hydroxyl기를 가지므로 단백질 및 거대분자들과 쉽게 결합하여, 항암 및 항산화 활성과 같은 다양한 생리활성을 나타낸다(Choi *et al.*, 2005; Lee and Lee, 1994). 따라서 본 실험에 서는 툴립나무 가지의 항산화 및 항암활성을 알아보고자 툴립나무 가지의 메탄올 추출물의 총 폐놀성 화합물과 플라보노이드 화합물의 함량을 측정한 후 그 결과를 Table 1에 나타내었다. 툴립나무 가지의 메탄올 추출물의 총 폐놀성 화합물의 함량은 75.34 mg gallic acid/g extract로 나타났으며, 총 플라보노이드 함량은 20.15 mg quercetin/g extract로 다소 낮게 나타났다.

DPPH radical 소거활성

Kang 등(1995)은 전자공여능이 phenolic acid와 flavonoids 및 기타 phenol성 물질에 대한 항산화의 지표

Table 1. Total phenolics, flavonoid content and DPPH radical scavenging ability(EC_{50}) of methanol extract of *Liriodendron tulipifera*

Extracts	Total phenolics (mg gallic acid/g extract)	Total flavonoids (mg quercetin/g extract)	DPPH EC_{50} ($\mu\text{g/mL}$)
LTM	75.34 ± 0.45	20.15 ± 0.71	289.68 ± 2.04
L-Ascorbic acid			12.81 ± 0.95
BHA			15.57 ± 0.63

Note: The results are presented as the mean \pm SD. Different values indicate significance at $p < 0.05$ value.

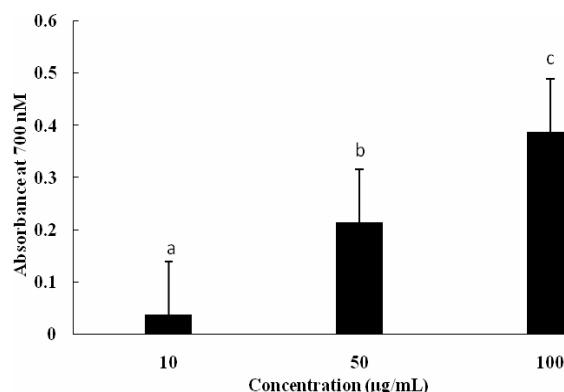


Fig. 1. Reducing power of methanol extract of *Liriodendron tulipifera*.

라 하였으며 환원력이 큰 물질 일수록 전자공여능이 높다고 하였다. 특히 DPPH 라디칼 소거법은 항산화 물질의 전자 공여능으로 인해 방향족 화합물 및 방향족 아민류에 의해 환원되어 자색이 탈색에 의해 나타내는 정도를 지표로 하여 항산화능을 측정하는 방법이다(Choi *et al.*, 2003). 환경, 화학약품, 광등에 의해 생성된 활성산소종(reactive oxygen species, ROS)으로 유발되는 산화적 스트레스는 체내에서 노화, 암, 심혈관질환을 비롯한 그 외의 병리적 문제를 야기하므로 이러한 free radical의 생성을 차단하거나 제거하기 위한 물질들을 식물체내에서 찾고자 많은 연구가 진행되고 있다. 툴립나무가지의 MeOH 추출물의 부동한 농도에서 DPPH free radical 소거 활성을 측정한 결과 툴립나무가지의 MeOH 추출물의 소거 활성은 $EC_{50} 289.68 \pm 2.04 \mu\text{g/mL}$ 로 나타났으며(Table 1), 대조군으로 현대 항산화제로 많이 사용되고 있는 Ascorbic acid와 BHA는 $12.81 \pm 0.95 \mu\text{g/mL}$, $15.57 \pm 0.63 \mu\text{g/mL}$ 으로 나타났다. 이러한 결과는 툴립나무가지의 MeOH 추출물이 DPPH 라디칼 소거 능력이 뛰어나지 않은 것으로 판단되며, 이는 툴립나무가지에 총 폐놀성 화합물과 총 플라보노

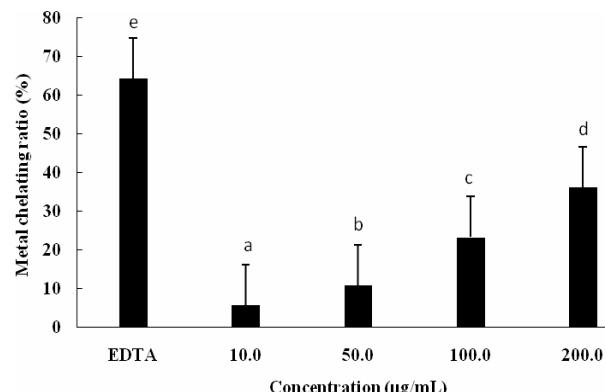


Fig. 2. Ferrous ion chelating effects of methanol extract of *Liriodendron tulipifera*.

이드 함량과 밀접한 관계가 있음을 제시한다.

환원력 측정

환원력은 시료에 존재하는 reductones가 제공하는 수소 원자가 활성산소 사슬을 분해함으로써 항산화 활성을 나타내는 것으로 항산화 활성과 직접적으로 연관되어 있는 것으로 알려져 있다(Gordon, 1990). 툴립나무의 보건품 또는 의약품으로의 연구 가치를 측정하는 가장 기초적인 단계로서, 본 실험에서는 툴립나무가지의 메탄을 추출물의 환원력을 측정하였다(Lee *et al.*, 2004). Fig. 1에서 나타나는 바와 같이 툴립나무가지 메탄을 추출물의 환원력은 10, 50, 100 $\mu\text{g/mL}$ 의 농도에서 0.037, 0.214와 0.388의 흡광도를 보여 농도 의존적으로 환원력을 보임을 확인 할 수 있었다. 그러나 동일 농도에서 항산화제로 널리 쓰이는 BHA(0.093, 0.753, 1.326)보다 약한 환원력을 나타냄을 알 수 있었다.

Fe^{2+} chelating 효과

툴립나무 가지의 메탄을 추출물의 Fe^{2+} chelating 효과

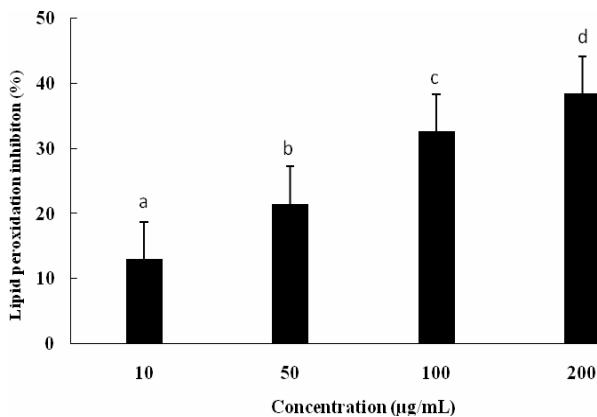


Fig. 3. Protective activity of methanol extract of *Liriodendron tulipifera* against lipid peroxidation.

는 10, 50, 100, 200 $\mu\text{g/mL}$ 농도에서 각각 5.83, 10.89, 23.35, 36.33%로 (Fig. 2), 농도 의존적으로 증가함을 나타내었으나, 항산화제인 EDTA의 64.35%보다는 현저히 낮은 chelating 효과를 보였다.

지질과산화 억제 활성

Egg yolk의 지질은 Fe^{2+} 에 의해 산화 되며 TBARS의 흡광도 반응 액의 흡광도가 595 nm에서 증가한다. 지질과산화 억제는 blank mixture와 materials-treated mixture의 흡광도비로 계산한다. 툴립나무가지의 메탄올 추출물의 지질과산화 능력은 10, 50, 100, 200 $\mu\text{g/mL}$ 농도 의존적이며, 200 $\mu\text{g/mL}$ 농도에서 비교적 높은 억제율 38.56%를 나타내었다(Fig. 3).

툴립나무가지 추출물의 MTT assay를 통한 항암 효과

Fig. 4과 같이 툴립나무가지 메탄올 추출물의 농도를 10, 50, 100, 200 $\mu\text{g/mL}$ 로 조절하였으며 정상세포와 암세포에 성장에 대한 억제 효과를 검토하였다. 툴립나무가지 메탄올 추출물이 암세포 성장에 대한 억제 효과에서 농도 의존적으로 증가함을 알 수 있었으며, 대조군 5-FU이 25 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 의 농도에서 46.35%의 세포 성장 억제율을 나타내었으며, LTM 추출물이 100, 200 $\mu\text{g/mL}$ 에서 결장암 세포인 HT-29 cell line에서는 43.86%와 56.94%의 억제율을 나타내었고 자궁경부암 Hela cell line에서는 26.22% 35.723%의 생존 억제율을 나타내었다. 추출물이 HEK293(정상 신장 세포) 세포에 대한 독성을 나타내는지를 검토하였을 때

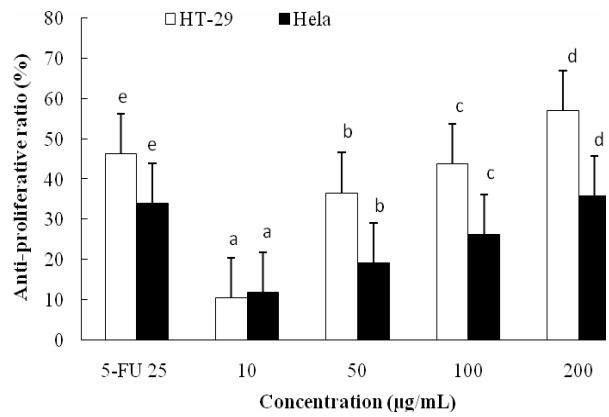


Fig. 4. The in vitro inhibition ratio of HT-29 and Hela cells by methanol extract of *Liriodendron tulipifera*. 5-FU (25 $\mu\text{g/mL}$) as positive control. Date were presented as mean \pm SEM (n=3).

정상 신장세포는 세포생존율 98%이상으로 나타났으며, 이는 LTM추출물이 정상 신장세포에 대해 세포독성을 갖지 않는다는 것을 나타낸다. 이과 같은 결과는 LTM 추출물이 결장암 세포 HT-29와 자궁경부암 세포 Hela cell line에서 일정한 세포독성이 있음을 나타낸다.

적 요

본 연구는 새로운 기능성 소재를 탐색하기 위하여 툴립나무 가지의 메탄올 추출물을 조제하여 생리활성 물질 함량, DPPH, 환원능력, Fe^{2+} chelating 효과와 지질과산화 억제 활성 그리고 세포독성을 측정하였다. 총 폐놀성 화합물과 플라보노이드 함량은 75.34 mg gallic acid/g과 20.15 mg quercetin/g이고; DPPH 라디칼 소거 활성에서 EC_{50} 은 $289.68 \pm 2.04 \mu\text{g/mL}$; 환원력 측정에서 100 $\mu\text{g/mL}$ 농도에서 흡광도는 0.388이었으며, Fe^{2+} chelating 효과에서는 200 $\mu\text{g/mL}$ 농도에서 36.33%로 나타내었고, 지질과산화 억제 효능에서는 200 $\mu\text{g/mL}$ 의 농도에서 비교적 높은 38.56%의 억제율을 나타내었으며, 암세포 종식 억제 효과에서는 HT-29와 Hela cell line에서 툴립나무가지 메탄올 추출물이 200 $\mu\text{g/mL}$ 의 농도에서 56.94%와 35.73%의 세포생장 억제율을 나타내었다. 따라서 본 연구 결과들을 종합해 볼 때 항산화능력은 총 폐놀성분과 밀접한 관계가 있는 것으로 사료되며, 툴립나무 가지에 대한 기타 생리활성 연구가 더 필요할 것으로 사료된다.

인용문헌

- Banerjee, A., N. Dasgupta and B. De. 2005. *In vitro* study of antioxidant activity of *Syzygium cumini* fruit. *Food Chem.* 90:727-733.
- Birt, B.F., S. Hendrich and W.Q. Wang. 2001. Dietary agents in cancer prevention: flavonoids and isoflavoids. *Pharmacol. Ther.* 90:157-177.
- Blois, M.S. 1958. Antioxidant determination by the use of a stable free radical. *Nature* 181:1199-1200.
- Buchanan, M.A. and E.E. Dickey. 1960. Liriodenine, a nitrogen-containing pigment of yellow poplar heartwood (*Liriodendron tulipifera* L.). *J. Org. Chem.* 25:1389-1391.
- Chang, C.C., M.H. Yang, H.M. Wen and J.C. Chern. 2002. Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colorimetric methods. *J. of Food and Drug Analysis* 10:178-182.
- Chen, C.L., H.M. Chang and E.B. Cowling. 1976. Aporphine alkaloids and lignans in heartwood of *Liriodendron tulipifera*. *Phytochemistry* 15:547-550.
- Chen, C.L., H.M. Chang, E.B. Cowling, C.Y. Huang Hsu, R.P. Gates. 1976. Aporphine alkaloids and lignans formed in response to injury of sapwood in *Liriodendron tulipifera*. *Phytochemistry* 15:1161-1167.
- Chen, C.L. and H.M. Chang. 1978. Lignans and aporphine alkaloids in bark of *Liriodendron tulipifera*. *Phytochemistry* 17:779-782.
- Choi, C.H., E.S. Song, J.S. Kim and M.H. Kang. 2003. Antioxidative activities of *Castanea crenata* Flos. methanol extracts. *Kor. J. Food Sci. Technol.* 35:1216-1220 (in Korean).
- Choi, S.Y., S.H. Lin, T.Y. Ha, S.R. Kim, K.S. Kang and I.K. Hwang. 2005. Evaluation of the estrogenic and antioxidant activity of some edible and medicinal plant. *Kor. J. Food Sci. Technol.* 37:549-556.
- Cohen, J., W. Von Langenthal and W. Taylor. 1961. Notes-the alkaloids of *Liriodendron tulipifera* L. The structure and synthesis of the unnamed yellow alkaloid and the isolation of D-glaucine. *J. Org. Chem.* 26:4143-4144.
- Doskotch, R.W. and F.S. El-Feraly. 1969. Antitumor agents. II. Tulipinolide, a new ger-macranolide sesquiterpene, and constunolide. Two cytotoxic substances from *Liriodendron tulipifera* L. *J. Pharm. Sci.* 58:877-880.
- Doskotch, R.W. and F.S. El-Feraly. 1970. The structure of tulipinolide and epitulipino-lide. Cytotoxic sesquiterpenes from *Liriodendron tulipifera* L. *J. Org. Chem.* 35:1928-1936.
- Doskotch, R.W., F.S. El-Feraly, E.H. Fairchild and C.-T. Huang. 1976. Peroxyferolide: a cytotoxic germacranolide hydroperoxide from *Liriodendron tulipifera*. *J. Chem. Soc. Chem. Comm.* 402-403.
- Doskotch, R.W., F.S. El-Feraly, E.H. Fairchild and C.-T. Huang. 1977. Isolation and characterization of peroxyferolide, a hydroperoxy sesquiterpene lactone from *Liriodendron tulipifera*. *J. Org. Chem.* 42:3614-3618.
- Doskotch, R.W., S.L. Keely, C.D. Hufford, F.S. El-Feraly. 1975. New sesquiterpene lactones from *Liriodendron tulipifera*. *Phytochemistry* 14:769-773.
- Eom, S.H., H.J. Park, C.W. Jin, S.M. Park, M.J. Kim, C.Y. Yu and D.H. Cho. 2007. Changes of antioxidant activity in *Juglans mandshurica* Maxim. leaves by far infrared ray irradiation. *Kor. J. Med. Crop Sci.* 15:266-270 (in Korean).
- Goh, E.J., E.S. Seong, J.G. Lee, J.K. Na, J.D. Lim, M.J. Kim, N.Y. Kim, G.H. Lee, J.S. Seo, D.S. Cheoi, I.M. Chung and C.Y. Yu. 2009. Antioxidant activities according to peeling and cultivated years of *Astragalus membranaceus* Roots. *Kor. J. Med. Crop Sci.* 17:233-237 (in Korean).
- Gordon, M.F. 1990. The mechanism of antioxidant action *in vitro*. In *Food antioxidants*. Hudson BJF, ed. Elsevier Applied Science, London, UK. p 1-18.
- Graziose, R., T. Rathinasabapathy, C. Lategan, A. Poulev, P.J. Smith, M. Grace, M.A. Lila and I. Raskin. 2010. Antiplasmodial activity of aporphine alkaloids and sesquiterpene lactones from *Liriodendron tulipifera* L. *J. of Ethnopharmacology* (in press).
- Green, L.M., J.L. Reade and C.F. Ware. 1984. Rapid colometric assay for cell viability: Application to the quantitation of cytotoxic and growth inhibitory lymphokines. *J. of Immunological Methods* 70:257-268.
- Hasegawa, G.R. 2007. Quinine substitutes in the confederate army. *Military Medicine* 172:650-655.
- Kang Y.H., Y.K. Park, S.R. Oh and K.D. Moon. 1995. Studies on the physiological functionality of ine needle and mugwort extracts. *Kor. J. Food Sci. Technol.* 27: 978-984 (in Korean).
- Kim, H.S. and Y.H. Kang. 2010. Antioxidant activity of ethanol extracts of non-edible parts (stalk, stem · leaf, seed) from oriental Melon. *Kor. J. Plant Res.* 23(5): 451-457 (in Korean).
- Kim, T.W. 1995. The woody plants of Korea in color, Kyō-Hak publishing Co. Ltd. Seoul. p. 101.

- Lee, J.H. and S.R. Lee. 1994. Analysis of phenolic substances content in Korean plants foods. Kor. J. Food Sci. Technol. 26:310-316 (in Korean).
- Lee, Y.R., M.Y. Kang, H.J. Koh, J.H. Chin and S.H. Nam. 2004. Screening of physiological functionality of germainated giant embryonic rices. J. Kor. Soc. Appl. Biolo. Chem. 47:216-221.
- Lin, J.Y., and C.Y. Tang. 2007. Determination of total phenolic and flavonoid contents in selected fruits and vegetables, as well as their stimulatory effects on mouse splenocyte proliferation. Food Chem. 101:140-147.
- Merkle, S.A. and H.E. Sommer. 1991. Yellow-poplar (*Liriodendron* spp.). In YPS Bajaj, ed, Biotechnology in agriculture and forestry, trees III, Vol.16, Springer-verlag, Berlin, p. 94-110.
- Muhammad, I. and C.D. Hufford. 1989. Phenylpropanoids, sesquiterpenes, and alkaloids from the seeds of *Liriodendron tulipifera*. J. Nat. Prod. 52:1177-1179.
- Rafinesque, C.S. and A. Atkinson. 1828. Medical Flora, or, Manual of the Medical Botany of the United States of North America. In: Rafinesque, C.S., Atkinson, Alexander (Eds.), Alexander, Philadelphia.
- Rhim, T.J. and M.Y. Choi. 2010. The antioxidative effects of *Ampelopsis brevipedunculata* extracts. Kor. J. Plant Res. 23(5):445-450 (in Korean).
- Spencer, C.F., F.R. Koniuszy, E.F. Rogers, J. Shavel, N.R. Easton, E.A. Kaczka, F.A. Kuehl, R.F. Phillips, A. Walti, K. Folkers, C. Malanga and A.O. Seeler. 1947. Survey of plants for antimalarial activity. Lloydia 10:145-174.
- Taylor, W.I. 1961. The structure and synthesis of liriodenine, a new type of isoquinoline alkaloid. Tetrahedron 14:42-45.
- Yen, G.C., P.D. Duhb, and H.L. Tsaia. 2002. Antioxidant and pro-oxidant properties of ascorbic acid and gallic acid. Food Chem. 79:307-313.

(접수일 2010.12.17; 수락일 2011.2.10)