

# 산사나무 추출물의 생리활성 평가<sup>1</sup>

민희정<sup>2</sup> · 김영균<sup>3</sup> · 배영수<sup>2,†</sup>

## Evaluation of Biological Activity on Hawthorn Tree (*Crataegus pinnatifida*) Extracts<sup>1</sup>

Hee-Jeong Min<sup>2</sup> · Young-Kyoon Kim<sup>3</sup> · Young-Soo Bae<sup>2,†</sup>

### 요약

산사나무 목질부 및 수피부를 70% acetone 수용액으로 추출하고 목질부는 *n*-hexane, chloroform (CHCl<sub>3</sub>), *n*-butanol (*n*-BuOH) 및 수용성 추출물로 분획하였으며, 수피부는 *n*-hexane, chloroform, ethylacetate (EtOAc) 및 수용성으로 분획한 후, 각 추출 분획에 대하여 항산화 및 항염활성 평가를 실시하였다. 항산화 활성은 목질부에서는 *n*-BuOH용성이, 수피부에서는 EtOAc용성이 가장 좋은 활성을 보였으며, 특히 수피부 EtOAc용성은 대조군으로 사용된 butylated hydroxytoluene (BHT) 및  $\alpha$ -tocopherol에 비하여 매우 우수한 항산화 활성을 나타냈다. 항염활성은 목질부 수용성을 제외한 모든 분획물들이 nitric oxide (NO) 생성을 억제하는 효과를 보이고 있었으며, 수피부 조추출물과 수용성 분획에서 가장 우수한 NO 생성 억제효과를 나타내었다. 이와 같은 결과를 토대로 볼 때, 산사나무 추출물은 항산화제 및 항염제로 이용될 수 있는 천연 바이오매스 자원으로써의 가능성을 나타내었다.

### ABSTRACT

The wood and bark of Hawthorn tree (*Crataegus pinnatifida* Bunge) were immersed with 70% aqueous acetone for 3 days. After filtering, the wood extracts were fractionated with *n*-hexane, chloroform (CHCl<sub>3</sub>), *n*-butanol (*n*-BuOH) and H<sub>2</sub>O, and the bark extracts were fractionated with *n*-hexane, CHCl<sub>3</sub>, ethylacetate (EtOAc) and H<sub>2</sub>O. Then anti-oxidative and anti-inflammatory activities were evaluated on each fraction. Antioxidative activity indicated high activity in the *n*-butanol soluble fraction of wood and in the EtOAc soluble fraction of bark. Especially, the EtOAc soluble fraction of bark showed much higher antioxidative value compared to the controls, butylated hydroxytoluene (BHT) and  $\alpha$ -tocopherol. In the anti-inflammatory activity, all of the tested fractions except the H<sub>2</sub>O soluble fraction of wood showed high inhibitory effect on nitric oxide (NO) production.

Based on the above results, the extracts of hawthorn tree may be applied for one of the natural biomass sources that can be used as an antioxidant and an anti-inflammatory substance.

<sup>1</sup> Date Received January 6, 2017, Date Accepted February 21, 2017

<sup>2</sup> 강원대학교 산림환경과학대학 산림바이오소재공학과. Department of Forest Biomaterials Engineering, College of Forest and Environmental Sciences, Kangwon National University, Chuncheon 24341, Republic of Korea

<sup>3</sup> 국민대학교 산림과학대학 임산생명공학과. Department of Forest Products & Biotechnology, Kookmin University, Seoul 02707, Republic of Korea

<sup>†</sup> 교신저자(Corresponding author): 배영수(E-mail: bae@kangwon.ac.kr)

**Keywords :** Hawthorn tree (*Crataegus pinnatifida* Bunge), wood, bark, biological activity, antioxidative activity, anti-inflammatory activity

## 1. 서 론

인체 내에서 면역반응을 담당하는 면역세포 중 하나인 대식세포는 염증매개물질을 분비하여 면역반응을 조절하고, 생체 내 방어기능을 조절하지만 염증유발을 통해 각종 만성염증질환 발병에 기여하고 있다(Wei 등, 2004). 알레르기 및 염증성 피부질환은 피부장벽을 붕괴시키며, 반응산소 중간물질(reactive oxygen species, ROS)과 반응질소 중간물질(reactive nitrogen species, RNS)을 생산한다. 이때 RNS는 라디칼을 비롯한 NO, ONOO<sup>-</sup> 등을 생산하여 독성을 유발하여 염증반응을 촉진하는 것으로 알려져 있다(Bickers와 Athar, 2006; Kim 등, 2008). 그러나 이러한 염증매개물질의 생성을 조절함으로써 염증질환을 완화시킬 수 있으므로, 대식세포 활성조절과 항염증 효과에 대한 연구는 많이 진행되고 있다.

Free radical과 활성산소종은 지질, 단백질, 핵산 등을 손상시키고, 산화스트레스를 유발하여 노화와 많은 성인병 질환을 야기함으로써 인간의 건강에 해로운 것으로 알려져 있으며, 항산화 물질은 전자공여를 통하여 자유 라디칼을 소거하는 작용을 한다(Aviram, 2000; Nono와 Parola, 2008). 이러한 활성산소종을 조절하는 항산화제에는 BHA (butylated hydroxyanisole), BHT (butylated hydroxytoluene) 그리고 Trolox-C 등이 있으며, 종종 의약품 및 식품 분야 등에서 사용되고 있다. 그러나 합성항산화제에 안정성에 대한 우려로 인하여 최근 식물 및 수목 추출물로부터 합성항산화제를 대체할 수 있는 새로운 천연항산화제에 대한 연구가 또한 활발히 진행되고 있다(Williams 등, 1999; Kim 등, 1995; Lim 등, 1996).

근래에 부작용이 적으며 안전성이 높은 천연 바이오매스를 이용한 생약제제의 연구가 많은 분야에서 집중적으로 수행되고 있으며 특히 목재의 화학적 성분 중 추출성분을 이용한 천연물 의약품 연구가 활발하게 이루어지고 있다(Kim 등, 1995; Lim 등,

1996).

이러한 목재자원 중 산사나무(*Crataegus pinnatifida* Bunge)는 장미과(Rosaceae)에 속하는 낙엽 소교목으로 우리나라, 중국 및 일본 전역에 자생하고 있다. 키는 5~10 m, 잎은 어긋나며, 열매는 붉은 색에 흰색 반점이 있다. 아가위라고도 불리우며, 예로부터 소화기 질환, 고혈압 및 비만 등의 치료 및 완화에 효과가 있는 것으로 알려져 있으며(Hong 등, 2002), 한국산사는 중국산사보다 그 열매가 크고 개량종 산사열매는 가장 큰 열매를 맺는다. 본 실험에서는 개량종 산사나무를 사용하였다.

산사나무 잎, 과육 및 씨 추출물은 많은 연구가 수행되어 우수한 항산화 활성을 가지는 것으로 보고되고 있으며, 항산화 활성성분으로는 rutin, hyperoside, quercetin 및 vitexin 등이 보고되었다(Kang 등, 2005; Kim 등, 2014; Duan 등, 2014). 그러나 산사나무의 목질부 및 수피의 생리활성에 대한 연구는 매우 부족한 실정이었다.

따라서 본 실험에서는 산사나무의 잎과 열매에 비해 연구가 미미한 목질부 및 수피부 추출물에 대한 항산화 및 항염활성 등의 생리활성 평가를 통해 추출성분 이용을 위한 기초자료를 마련하고 이를 토대로 산사나무 추출성분의 기능적 응용을 위한 자료를 얻고자 하였다.

## 2. 재료 및 방법

### 2.1. 공시재료

본 실험에서 사용한 산사나무는 2015년 강원도 산림개발연구원으로부터 분양받아 수피 및 목질부로 분리하고 약 2주간 실험실에서 기건 시킨 후 분쇄하여 분말로 제조한 후 추출용 시료로 사용하였다. 산사나무 목질부 7.13 kg 및 수피부 3.19 kg을 각각 상온에서 3일 동안 70% 아세톤 수용액에 침지하여

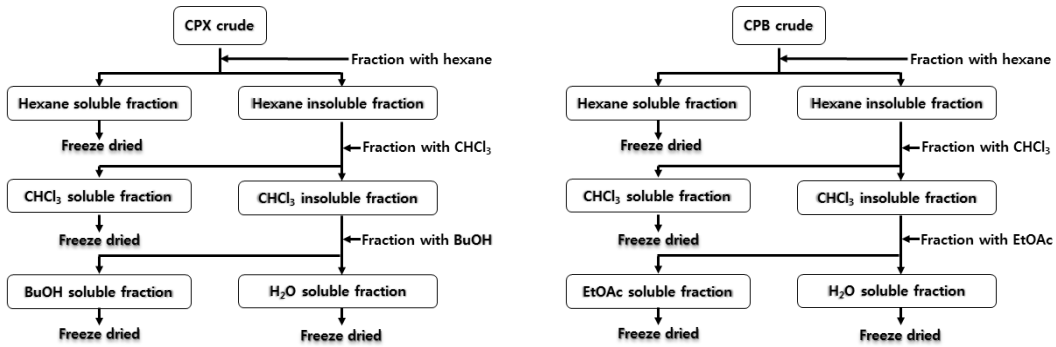


Fig. 1. Fractionation scheme of hawthorn wood.

추출하는 작업을 3회 반복하였다. 이후 추출액은 40℃에서 감압농축기로 농축하여 조추출물을 얻었다.

## 2.2. 시험재료의 조제

### 2.2.1. 산사나무 목질부 분획

산사나무 목질부 조추출물 일부를 Fig. 1과 같이 분획할때기 상에서 *n*-hexane, chloroform (CHCl<sub>3</sub>), *n*-butyl alcohol (BuOH) 및 수용성 순으로 극성에 따라 순차적으로 분획하였다. 각각의 분획물은 농축과 동결건조 하여 분말상태로 조제하였다(crude: 1.0295 g, *n*-hexane용성 분획물: 0.4196 g, CHCl<sub>3</sub>용성 분획물: 0.9191 g, BuOH용성 분획물: 0.2023 g 및 Water용성 분획물: 1.2803 g).

### 2.2.2. 산사나무 수피부 분획

산사나무 수피부 조추출물을 Fig. 1과 같이 분획할때기 상에서 *n*-hexane, chloroform, ethylacetate (EtOAc) 및 수용성 순으로 극성에 따라 순차적으로 분획하였다. 각각의 분획물은 농축과 동결건조를 통하여 분말상태로 조제하였다(crude: 0.1620 g, *n*-hexane용성 분획물: 0.0416 g, CHCl<sub>3</sub>용성 분획물: 0.1207 g, EtOAc용성 분획물: 0.4455 g 및 Water용성 분획물: 0.2810 g).

## 2.3. 항산화 활성 시험(DPPH Radical 소거능)

DPPH radical 소거효과는 Blois (1958)의 방법을

변형하여 측정하였다. 96 well microplate에 시료를 희석하여 100 μl씩 넣은 후 0.2 mM DPPH 용액을 100 μl 넣고 실온에서 30분간 반응 시킨 후 microplate reader로 517 nm에서 흡광도를 측정하였다. 무첨가 대조군은 시료대신 에탄올을 가하여 같은 방법으로 측정하였으며 시료의 색을 보정하기 위하여 0.2 mM DPPH 용액 대신 에탄올을 넣어 실험하였으며 저해율은 아래와 같은 식을 이용하여 구하였다.

$$\text{저해율(\%)} = \left(1 - \frac{\text{시료의 흡광도}}{\text{무첨가대조구의 흡광도}}\right) \times 100$$

## 2.4. 항염활성 시험

### 2.4.1. 세포배양

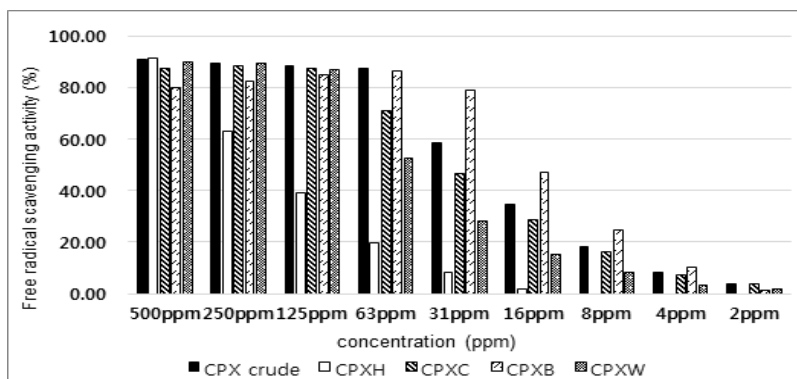
Murine macrophage RAW 264.7세포는 American Type Culture Collection (Manassa, VA, USA)에서 분양받아 사용하였으며, 10% FBS와 항생제(100 μg/ml Lstreptomycin과 100 U/ml penicillin)가 함유된 DMEM 배지를 이용하여 37℃, 5% CO<sub>2</sub> 조건에서 배양하였다. 세포배양배지는 세포가 80% 이상 자란 시점에서 2~3일마다 교환하였다.

### 2.4.2. MTT assay에 의한 세포독성 검정

RAW 264.7세포를 1×10<sup>6</sup> cells/ml로 6 well plate에 분주하고 추출물을 농도별로 처리한 후 배양하였다. 24시간 후 1 mg/ml 농도의 MTT 용액을 처리한 뒤 2시간 동안 추가 배양시켰다. 배양 후 상등액을

**Table 1.** IC<sub>50</sub> values of the antioxidant activities on the fractions of hawthorn wood

Sample	IC <sub>50</sub> (μg/ml)	
Wood	crude	26.95
	<i>n</i> -hexane soluble fraction	259.5
	CHCl <sub>3</sub> soluble fraction	33.84
	<i>n</i> -BuOH soluble fraction	31.54
	H <sub>2</sub> O soluble fraction	68.63
Positive control	BHT	14
	$\alpha$ -tocopherol	12



**Fig. 2.** DPPH free radical scavenging activities on the fractions of hawthorn wood.

CPX: *Crataegus pinnatifida* xylem; CPXH: *n*-hexane soluble fraction; CPXC: CHCl<sub>3</sub> soluble fraction; CPXB: *n*-BuOH soluble fraction; CPXW: H<sub>2</sub>O soluble fraction

제거하고 형성된 MTT formazan을 isopropanol 1 ml를 첨가하여 세포를 용해시킨 후 microplate reader를 이용하여 540 nm에서 흡광도를 측정하였다.

### 2.4.3. Nitric oxide 측정

RAW 264.7세포에 추출물을 전처리 하고 LPS를 처리하여 18시간 배양하였다. 세포 배양액을 취해 Griess reaction system (Promegam Madison, WI, USA)을 이용하여 540 nm에서 흡광도를 측정하여 nitrite를 계산하였다.

## 3. 결과 및 고찰

산사나무 목질부 및 수피부를 상온에서 3일 동안 70% acetone 수용액으로 침지하고 3회 반복하여 추

출하였다. 이를 극성에 따라 목질부는 *n*-hexane, chloroform, *n*-BuOH 및 수용성 순으로 분획하였으며, 수피부는 *n*-hexane, chloroform, EtOAc 및 수용성 순으로 분획하였다. 목질부와 수피부의 각 분획물들에 대한 항산화 및 항염활성 평가를 실시하였다.

### 3.1. 항산화 시험

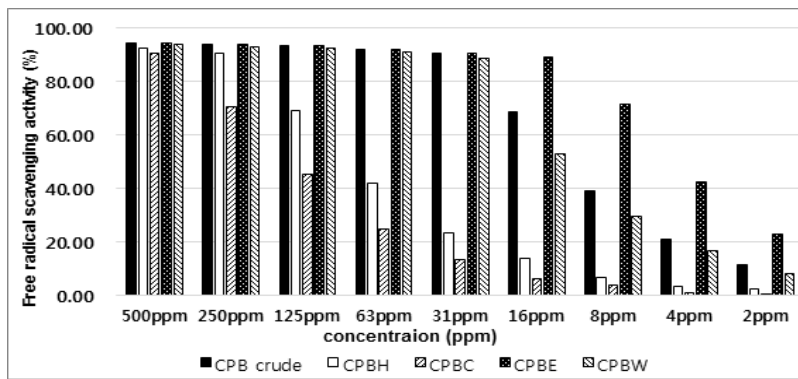
산사나무 목질부 및 수피부의 각 분획물에 대하여 DPPH 라디칼 소거능으로 항산화 활성을 평가하였다.

#### 3.1.1. 산사나무 목질부의 항산화 활성

목질부 분획물에 대한 항산화 활성 결과는 Fig. 2에서 보는 바와 같이 분획물 모두 농도 의존적인 활성을 보이고 있었으며, 125 ppm에서는 *n*-hexane

**Table 2.** IC<sub>50</sub> values of the antioxidant activities on the fractions of hawthorn bark

Sample	IC <sub>50</sub> (μg/ml)	
Bark	crude	11.18
	<i>n</i> -hexane soluble fraction	89.58
	CHCl <sub>3</sub> soluble fraction	266.5
	EtOAc soluble fraction	5.17
	H <sub>2</sub> O soluble fraction	15.08
Positive control	BHT	14
	α-tocopherol	12



**Fig. 3.** DPPH free radical scavenging activities on the fractions of hawthorn bark.

CPB : *Crataegus pinnatifida* bark ; CPBH : *n*-hexane soluble fraction ; CPBC : CHCl<sub>3</sub> soluble fraction ; CPBE : EtOAc soluble fraction ; CPBW : H<sub>2</sub>O soluble fraction

용성을 제외한 다른 분획물 모두 80% 이상의 자유라디칼 소거능을 보였다. *n*-BuOH용성은 31 ppm까지 80%에 가까운 활성을 보였다. 또한 Table 1에서 보여주는 분획물들의 IC<sub>50</sub> 값은 crude, *n*-hexane, chloroform, *n*-BuOH 및 수용성으로 각각 26.95, 259.5, 33.84, 31.54 및 68.63을 나타내었다. *n*-BuOH 용성의 높은 항산화 활성은 박 등(2012)에서 보고한 산사나무 열매 분획물에 대한 결과와 유사하였지만, 이는 IC<sub>50</sub> 값 14와 12를 나타내는 기준물질인 BHT와 α-tocopherol에는 미치지 못하는 값을 나타내었다.

### 3.1.2. 산사나무 수피부의 항산화 활성

Fig. 3에서 나타나는 수피부 분획물의 항산화 활성 결과 분획물 모두 농도 의존적인 활성을 보이고 있으며, *n*-hexane과 CHCl<sub>3</sub>를 제외한 분획물들은 31

ppm 농도에서 90%에 가까운 자유라디칼 소거능을 보인다. EtOAc용성은 16 ppm의 낮은 농도에서 90%의 높은 활성을 나타낸다. IC<sub>50</sub> 값을 나타내는 Table 2에서 보는 것처럼 crude, *n*-hexane, chloroform, EtOAc 및 수용성은 각각 11.18, 89.58, 266.5, 5.17 및 15.08을 보인다. 분획물 중 가장 높은 활성을 나타내는 EtOAc용성 분획물은 기준물질인 BHT와 α-tocopherol과 비교하여 더 우수한 활성을 보였으며, 이는 박 등(2012)의 산사나무 열매 분획물에 대한 항산화 실험 결과와 유사하였다.

이상의 실험을 통하여 산사나무 수피부의 EtOAc 용성은 상업용 항산화제에 비해 매우 높은 활성을 지니고 있어 이를 천연 항산화제 개발의 기초자료로 이용될 수 있을 것으로 사료된다.

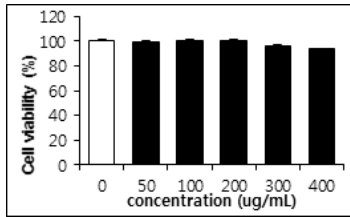


Fig. 4. Effects of CPX on the viability of RAW 264.7 cells.

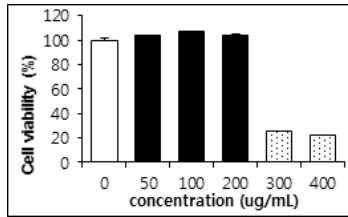


Fig. 5. Effects of CPXH on the viability of RAW 264.7 cells.

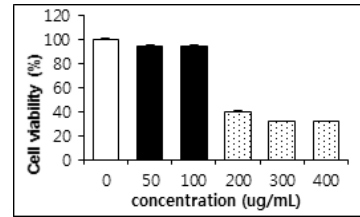


Fig. 6. Effects of CPXC on the viability of RAW 264.7 cells.

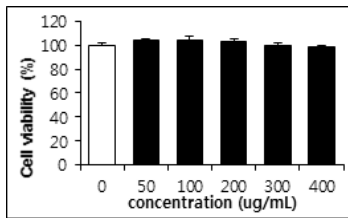


Fig. 7. Effects of CPXB on the viability of RAW 264.7 cells.

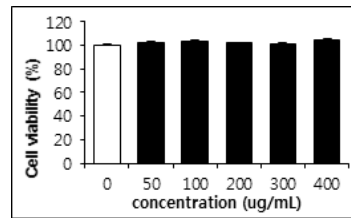


Fig. 8. Effects of CPXW on the viability of RAW 264.7 cells.

### 3.2. 항염시험

#### 3.2.1. MTT assay에 의한 세포독성 검정

RAW 264.7 세포에 대한 산사나무 목질부 및 수피부 분획물의 세포독성을 측정하기 위하여 MTT assay를 적용하였으며, 화합물의 농도를 0, 50, 100, 200, 300 및 400  $\mu\text{g/ml}$ 로 조정하여 측정하였다.

##### 3.2.1.1. 산사나무 목질부 세포독성 검정

목질부 분획물에 대한 세포독성 결과는 아래의 그래프로 나타내었다. 조추출물은 200  $\mu\text{g/ml}$  농도에서 100%에 가까운 세포생존율을 보였으며, 400  $\mu\text{g/ml}$ 에서 90%의 세포생존율을 나타냈다(Fig. 4). 반면 *n*-hexane 용성은 200  $\mu\text{g/ml}$  농도에서는 100%에 가까운 세포생존율을 나타냈지만, 그 이후 농도에서는 세포독성을 보였다(Fig. 5). Chloroform 용성은 100  $\mu\text{g/ml}$ 에서 90% 이상의 세포생존율을 나타냈지만, 그 이후 농도에서는 세포생존율이 떨어지는 것을 보였으며, *n*-BuOH 용성 및 수용성은 400  $\mu\text{g/ml}$  농도까지 100%의 세포생존율을 보였다(Fig. 6, 7 및 8).

따라서 이후 실험은 RAW 264.7 세포에 대하여 세포독성이 나타나지 않는 농도범위로서 조추출물,

*n*-BuOH 용성 및 수용성은 400  $\mu\text{g/ml}$  농도 내에서 진행하였으며, *n*-hexane 용성은 200  $\mu\text{g/ml}$ ,  $\text{CHCl}_3$  용성은 100  $\mu\text{g/ml}$  농도 내에서 실험을 진행하였다.

##### 3.2.1.2. 산사나무 수피부 세포독성 검정

수피부 분획물에 대한 세포독성 결과 조추출물은 400  $\mu\text{g/ml}$  농도까지 100%의 세포생존율을 보였다(Fig. 9). *n*-hexane 용성 및 chloroform 용성은 50  $\mu\text{g/ml}$ 에서 100%의 세포생존율을 나타냈지만, 100  $\mu\text{g/ml}$  농도부터 세포생존율이 낮아지며, 이후 농도에서는 세포독성을 보였다(Fig. 10 및 11). EtOAc 용성은 400  $\mu\text{g/ml}$ 까지 100%의 세포생존율을 보였으며, 수용성의 경우 200  $\mu\text{g/ml}$ 와 400  $\mu\text{g/ml}$  농도에서 각각 100%와 80% 이상의 세포생존율을 나타냈다(Fig. 12 및 13).

따라서 이후 실험은 RAW 264.7 세포에 대하여 세포독성이 나타나지 않는 농도범위로서 조추출물, EtOAc 용성 및 수용성은 400  $\mu\text{g/ml}$  농도 내에서 진행하였으며, *n*-hexane 용성은 100  $\mu\text{g/ml}$ ,  $\text{CHCl}_3$  용성은 50  $\mu\text{g/ml}$  농도 내에서 실험을 진행하였다.

산사나무 추출물의 생리활성 평가

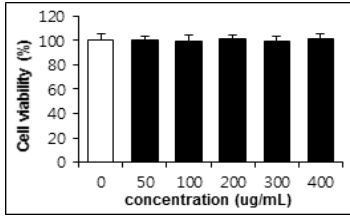


Fig. 9. Effects of CPB on the viability of RAW 264.7 cells.

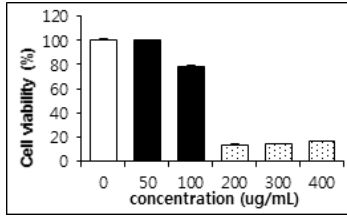


Fig. 10. Effects of CPBH on the viability of RAW 264.7 cells.

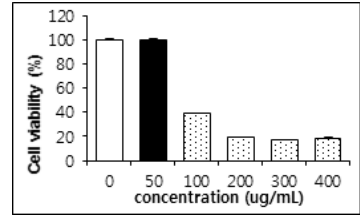


Fig. 11. Effects of CPBC on the viability of RAW 264.7 cells.

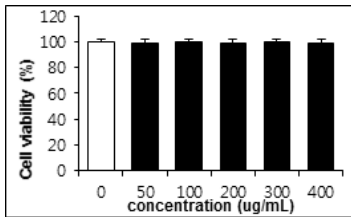


Fig. 12. Effects of CPBE on the viability of RAW 264.7 cells.

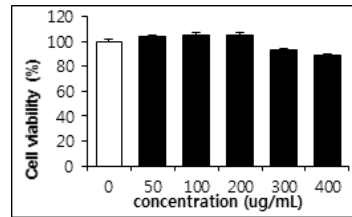


Fig. 13. Effects of CPBW on the viability of RAW 264.7 cells.

3.2.2. Nitric oxide 측정

LPS로 활성화된 RAW 264.7세포의 배양액으로부터 생성된 nitrite의 양을 Griess 시약을 사용하여 화합물의 농도를 달리하여 NO 저해 활성을 측정한 결과는 그래프로 나타내었다.

3.2.2.1. 산사나무 목질부 Nitric oxide 측정

목질부의 NO 측정 결과 조추출물은 200  $\mu\text{g/ml}$  농도에서 유의적 차이를 보이며 질산염이 감소하는 것을 나타냈다(Fig. 14). *n*-hexane용성은 100  $\mu\text{g/ml}$  농도부터 NO 생성을 억제하였으며, chloroform용성은 25  $\mu\text{g/ml}$  농도에서 유의적 차이를 나타냈다(Fig. 15 및 16). *n*-BuOH용성에서는 200  $\mu\text{g/ml}$  농도에서부터 질산염이 감소하였으며, 수용성의 경우 농도 차에 따른 변화가 크지 않는 것으로 NO 생성을 조금 억제함을 알 수 있었다(Fig. 17 및 18).

3.2.2.2. 산사나무 수피부 Nitric oxide 측정

수피부의 NO 측정결과 조추출물은 50  $\mu\text{g/ml}$  농도에서 유의적 차이를 보였으며, 200  $\mu\text{g/ml}$  농도에서는 질산염이 많이 감소되었다(Fig. 19). *n*-hexane용

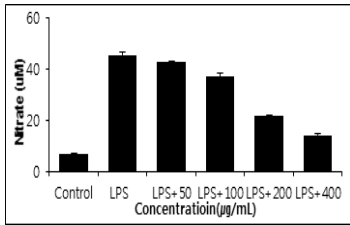
성의 경우 25  $\mu\text{g/ml}$ 에서는 별다른 차이를 보이지 않고, 그 이후 농도에서 NO를 억제하는 것을 나타냈다(Fig. 20). Chloroform은 30  $\mu\text{g/ml}$ 에서 유의적 차이를 보이며 NO 생성을 억제하는 것을 보였으며, EtOAc 용성에서는 200  $\mu\text{g/ml}$ 에서 NO 생성을 억제하는 것을 나타내었다(Fig. 21 및 22). 수용성은 농도가 높아짐에 따라 질산염이 감소함으로써, NO 생성을 억제하는 효과를 보였다(Fig. 23).

따라서 목질부 수용성을 제외한 분획물들 모두 NO 생성을 억제하는 효과를 보이고 있으며, 이는 Kao 등(2005)과 Jurikova 등(2012)에서 보고한 산사나무 열매의 항염활성 시험결과와 유사하였다. 이를 통해 산사나무 목질부 및 수피부 추출물을 이용한 천연 항염제 이용의 가능성이 큰 것으로 사료된다.

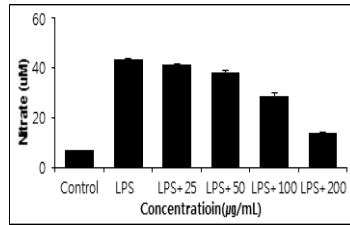
4. 결론

산사나무 목질부와 수피부를 70% acetone 수용액 추출하여 극성에 따라 분획한 후, 각 분획물들에 대한 항산화 및 항염 활성시험 평가를 실시하였다.

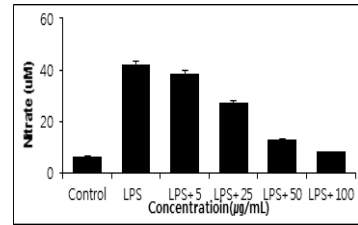
항산화 활성시험 결과 각각의 분획물 모두 농도



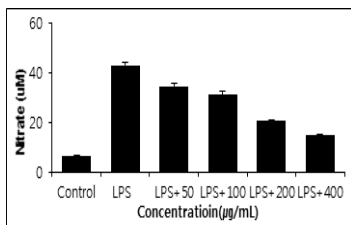
**Fig. 14.** Effects of CPX on NO production in LPS-stimulated of RAW 264.7 cells.



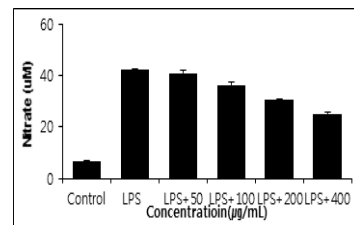
**Fig. 15.** Effects of CPXH on NO production in LPS-stimulated of RAW 264.7 cells.



**Fig. 16.** Effects of CPXC on NO production in LPS-stimulated of RAW 264.7 cells.



**Fig. 17.** Effects of CPXB on NO production in LPS-stimulated of RAW 264.7 cells.



**Fig. 18.** Effects of CPXW on NO production in LPS-stimulated of RAW 264.7 cells.

의존적인 활성을 보였다. 목질부의 경우 *n*-BuOH용성 분획물이 IC<sub>50</sub> 값 31.54로 가장 높은 활성을 보였으나 이는 IC<sub>50</sub> 값 14와 12를 나타내는 기준물질인 BHT와  $\alpha$ -tocopherol에는 미치지 못하였다. 수피부는 EtOAc용성 분획물이 IC<sub>50</sub>값 5.17로 가장 우수한 활성을 보였으며, 이는 기준물질인 BHT와  $\alpha$ -tocopherol 보다 더 높은 활성을 나타내었다.

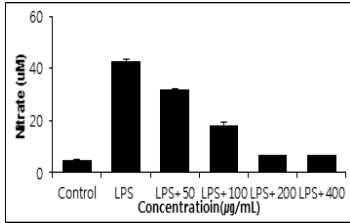
세포독성 측정은 MTT assay법을 이용하였으며, RAW 264.7세포에 대한 분획물의 농도를 달리하여 측정하였다. 목질부 분획물의 세포독성 결과 조추출물, *n*-BuOH용성 및 수용성은 400 µg/ml 농도에서, *n*-hexane용성과 chloroform용성은 각각 200과 100 µg/ml 농도에서 90% 이상의 세포생존율을 보였다. 수피부 분획물은 조추출물과 EtOAc용성은 400 µg/ml 농도에서 100%의 생존율을 나타냈으며, 수용성의 경우 400 µg/ml 농도에서 80% 이상의 생존율을 보였다. *n*-hexane용성 및 chloroform용성은 50 µg/ml에서 100%의 세포생존율을 나타냈다.

Nitric oxide 측정 결과 목질부의 경우 조추출물은

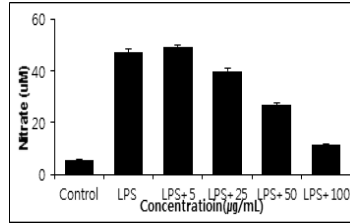
200 µg/ml 농도에서 유의적 차이를 보이며 질산염이 감소하였고, *n*-hexane용성은 100 µg/ml 농도에서부터 NO 생성을 억제하였다. CHCl<sub>3</sub>용성은 25 µg/ml 농도에서 유의적 차이를 보이고, *n*-BuOH용성에서는 200 µg/ml 농도에서부터 질산염이 감소하였지만, 수용성의 경우 농도 차에 따른 변화를 보이지 않았다. 수피부의 조추출물과 *n*-hexane용성은 각각 200 µg/ml과 50 µg/ml에서 질산염이 많이 감소되었으며, chloroform용성은 30 µg/ml에서 유의적 차이를 보이며 NO생성을 억제하는 것을 보였다. EtOAc용성에서는 200 µg/ml에서 NO 생성을 억제하였으며, 수용성은 농도가 높아짐에 따라 질산염이 감소함으로써, NO 생성을 가장 많이 억제하는 효과를 보였다. 따라서 목질부는 수용성을 제외한 모든 분획물들이 NO 생성을 억제하는 효과를 보이고 있으며, 수피부의 경우 조추출물과 수피부 수용성 분획물이 가장 많은 NO 생성을 억제하였다.

위의 결과를 통하여 산사나무 목질부 및 수피부 추출물은 합성 항산화제 및 항염제를 대체할 수 있

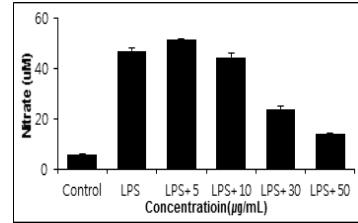




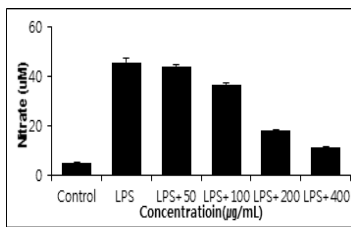
**Fig. 19.** Effects of CPB on NO production in LPS-stimulated of RAW 264.7cells.



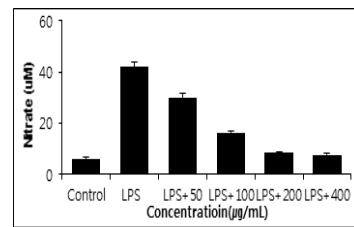
**Fig. 20.** Effects of CPBH on NO production in LPS-stimulated of RAW 264.7cells.



**Fig. 21.** Effects of CPBC on NO production in LPS-stimulated of RAW 264.7cells.



**Fig. 22.** Effects of CPBE on NO production in LPS-stimulated of RAW 264.7cells.



**Fig. 23.** Effects of CPBW on NO production in LPS-stimulated of RAW 264.7cells.

는 천연자원으로써의 가능성이 있음을 확인하였다.

## 사 사

본 연구는 2016년도 산림청 산림과학기술개발사업(과제번호: S211316L010110)의 지원과 강원대학교의 일부지원(NO. 520150259)에 의하여 이루어진 것입니다.

## REFERENCES

Aviram, M. 2000. Review of human studies on oxidative damage and antioxidant protection related to cardiovascular diseases. *Free Radical Research* 33(suppl.): 85-97.

Bickers, D.R., Athar, M. 2006. Oxidative stress in the pathogenesis of skin disease. *Journal of Investigative Dermatohy* 126: 2565-2575.

Blois, M.S. 1958. Antioxidant determination by the use of a stable free radical. *Nature* 181:

1199-1200.

Duan, Y., Kim, M.A., Seong, J.H., Lee, Y.G., Kim, D.S., Chung, H.S., Kim, H.S. 2014. Impacts of various solvent extracts from Wild Haw (*Crataegus pinnatifida* Bunge) pulpy on the anti-oxidative activites. *Journal of the East Asian Society of Dietary Life* 24(3): 392-399.

Hong, S.S., Hwang, J.S., Lee, S.A., Han, X.H., Hwang, J.S., Lee, K.S. 2002. Inhibitors of monoamine oxidase activity from the fruits of *Crataegus pinnatifida* Bunge. *Korean Journal of Pharmacognosy* 33(4): 285-290.

Jurikova, T., Sochor, J., Rop, O., Mlcek, J., Balla, S., Szekeres, L., Adam, V., Kizek, R. 2012. Polyphenolic profile and biological activity of chinese hawthorn(*Crataegus pinnatifida* Bunge) fruits. *Molecules* 17: 14490-14509.

Kang, I.H., Cha, J.H., Lee, S.W., Kim, H.J., Kwon, S.H., Ham, I.H., Hwang, B.S., Whang, W.K. 2005. Isolation of anti-oxidant from domestic

- Crataegus pinnatifida* Bunge leaves. Korean Journal of Pharmacognosy 36(2): 121-128.
- Kao, E.S., Wang, C.J., Lin, W.L., Yin, Y.F., Wang, C.P., Tseng, T.H. 2005. Anti-inflammatory potential of flavonoid contents from dried fruit of *Crataegus pinnatifida* in vitro and in vivo. Journal of Agricultural Food Chemistry 53(2): 430-436.
- Kim, H.K., Kim, Y.E., Do, J.R., Lee, Y.C. and Lee, B.Y. 1995. Antioxidatives activity and physiological activity of some Korean Medicinal Plants, Korean Journal of Food Science and Technology 27(1): 213-217.
- Kim, H.S., Duan, Y., Kim, M.A., Jang, S.H. 2014. Contents of antioxidative components from pulp and seed in Wild Haw (*Crataegus pinnatifida* Bunge). Journal of Environmental Science International 23(11): 1791-1799.
- Kim, Y., Lee, Y.S., Hahn, J.H., Choe, J., Kwon, H.J., Ro, J.Y., Jeoung, D. 2008. Hyaluronic acid targets CD44 and inhibits FcepsilonRI signaling involving PKCdelta, Rac1, ROS, and MAPK to exert anti-allergic effect. Molecular Immunology 45(9): 2537-2547.
- Lim, D.K., Choi, U., Shin, D.H. 1996. Antioxidant activity of ethanol from Korean Medicinal Plants. Korean Journal of Food Science and Technology 28(1): 83-89.
- Novo, E., Parola, M. 2008. Redox mechanisms in hepatic chronic wound healing and fibrogenesis. Fibrogenesis Tissue Repair 1: 1-58.
- Park, S.J., Shin, E.H., Lee, J.H. 2012. Biological activities of solvent fractions from methanolic extract of *Crataegi fructus*. The Korean Journal of Food and Nutrition 25(4): 897-902.
- Wei, W., Li, X.Y., Zhang, H.Q., Wu, S.G. 2004. Antiinflammatory and immunopharmacology. 1<sup>st</sup> ed. Beijing : Renminweishengchubanshe: 10-17.
- Williams, G.M., Iatropoulos, M.J., Whysner, J. 1999. Safety assessment of butylated hydroxyanisole and butylated hydroxytoluene as antioxidant food additives. Food and chemical Toxicology 37: 1027-1038.