



## 오수유의 메탄올 추출 농도에 따른 항산화와 AGS세포에 대한 독성 효과

양지영<sup>1</sup> · 변휘용<sup>2,3</sup> · 김진우<sup>2</sup> · 김사현<sup>4</sup> · 이평재<sup>5,\*</sup>

<sup>1</sup>연세대학교 보건과학대학 임상병리학과, <sup>2</sup>세명대학교 한방바이오융합과학부  
<sup>3</sup>도아대학교 화한의약종합연구소 천연물화학부, <sup>4</sup>세명대학교 임상병리학과, <sup>5</sup>세명대학교 바이오제약산업학부

### Effect of Methanol Extract Concentration on the Anti-oxidative Activity and Toxicity of Evodiae Fructus to AGS Cells

Ji Yeong Yang<sup>1</sup>, Hwiyoung Byeon<sup>2,3</sup>, Jin Woo Kim<sup>2</sup>, Sa Hyun Kim<sup>4</sup>, Pyeongjae Lee<sup>5,\*</sup>

<sup>1</sup>Department of Biomedical Laboratory Science, College of Health Sciences, Yonsei University

<sup>2</sup>School of Oriental Medicine and Bio Convergence Sciences, Semyung University

<sup>3</sup>Institute of Natural Medicine, University of Toyama

<sup>4</sup>Department of Clinical Laboratory Science, Semyung University

<sup>5</sup>School of Industrial Bio-pharmaceutical Science, Semyung University

### Abstract

Evodiae Fructus is the dried unripe fruit of *Evodia rutaecarpa*, and has traditionally been used for treating stomachache and diarrhea. Evodiamine and rutaecarpine, the major biologically active compounds of Evodiae Fructus, are reported to have anti-oxidative and anti-inflammatory effects, as well as inhibit proliferation and metastasis of various cancer cells. The current study investigates the anti-oxidative and anti-cancer effects of the Evodiae Fructus extract, considering varying concentrations of methanol extraction (40, 80, and 95%). High contents of total phenolic compounds were determined in the order of extracts 80, 95, and 40%. Evaluating contents of the 95, 80, and 40% extracts revealed 36.77, 7.29, and 1.86 µg/mg evodiamine, respectively, and 53.02, 17.16, and 3.79 µg/mg rutaecarpine, respectively, with the highest content of both compounds obtained in the 95% extract. DPPH radical scavenging activity was observed to be inversely proportional to the contents of total phenolic compounds, with decreasing SC<sub>50</sub> values obtained in the order 80, 95, and 40% extract. The 95 and 80% extracts exerted toxicity to AGS gastric cancer cells, but the 40% extract was non-toxic. Evodiamine is a known anti-cancer agent, and could be responsible for the observed toxicity. Cleavage of PARP, and Caspase-3, -7, -8 and -9 was observed in the 95% extract-treated AGS cells, indicating that cell toxicity exerted by the 95% extract could be attributed to apoptosis.

Key Words : *Evodia rutaecarpa*, evodiamine, rutaecarpine, anti-oxidative effect, gastric cancer cell

## 1. 서 론

오수유(*Evodiae Fructus*)는 운향과에 속하는 오수유(*Evodia rutaecarpa*)의 미성숙 열매를 건조한 것으로 속이 차고 배가 아프며 구토가 있을 때 사용하던 약재이다. 오수유의 주요 성분으로는 evodiamine과 rutaecarpine를 포함하는 indolequinazoline alkaloids와 evocarpine을 포함하는 quinolone alkaloids 등이 알려져 있다(Zhang et al. 2013). 오수유 추출물 및 성분들에 대해 항산화, 항염증, 항암 등 다양한 약리적 활성이 보고되고 있다. 항염증과 관련하여 오수유 추출물은 macrophage와 microglia의 활성을 억제하였고 염증 인자에 의한 혈관내피

세포의 부착 인자의 발현을 줄인다(Choi et al. 2006, Ko et al. 2007, Yun et al. 2008). 항산화 효능과 관련하여 PC12 세포에 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>로 산화 스트레스를 주었을 때 evodiamine이 보호 효과를 보였으며(Zhang et al. 2018) rutaecarpine은 tert-butyl hydroperoxide (t-BHP)로 생성된 reactive oxygen species (ROS)에 의한 HepG2 세포의 세포사를 항산화 관련 효소 발현을 증가시켜 막는다는 보고가 있다(Jin et al. 2017). 또한, 오수유의 80% 에탄올 추출물은 10-400 µg/mL 농도 범위에서 농도 의존적으로 DPPH radical 소거 효과가 있다(Ryu 2014). 항암효능과 관련하여서는 오수유의 evodiamine이 유방암, 대장암, 폐암 세포주에서 apoptosis를 일으키며(Liao et

\*Corresponding author: Pyeongjae Lee, School of Industrial Bio-pharmaceutical Science, Semyung University, 65 Semyung-ro, Jecheon-si, Chungcheongbuk-do, 27136, Korea Tel: +82-43-649-1411 Fax: +82-43-649-1729 E-mail: pjlee1@semyung.ac.kr

al. 2005, Chien et al. 2014, Lin et al. 2016) 위암 세포주에서도 autophagy와 apoptosis를 일으킨다는 보고가 있다 (Rasul et al. 2012, Yang et al. 2014). Rutaecarpine의 경우 castration 저항 전립선암세포의 증식을 *in vitro*와 *in vivo* 실험에서 억제하였다(Liao et al. 2020). 70% 에탄올 추출물은 benign prostatic hyperplasia-1 세포에서 caspase에 의존한 apoptosis를 일으킨다(Park et al. 2018). 위와 같이 오수유는 항염증, 항산화, 항암 등 유용한 생리활성을 갖는 약재로 이용가치가 매우 높다고 할 수 있다. 따라서 추출방법 차이에 의한 활성 물질 추출 정도와 생리활성 변화에 관한 연구 필요성이 있다. 본 논문에서는 오수유를 대상으로 상대적으로 추출력이 우수한 메탄올의 농도를 다르게 하여(40, 80, 95%) 추출한 후 각 추출물의 총페놀성물질과 주요 생리활성 물질인 evodiamine, rutaecarpine의 함량을 비교하였다. 또한, DPPH radical 소거 효과를 통한 항산화 효능과 위암 세포주인 AGS에 대한 독성효과를 관찰한 결과 농도를 달리한 추출물에서 다른 효능의 정도를 보여 보고하고자 한다.

## II. 연구 내용 및 방법

### 1. 실험재료

오수유는 (주)내몸에당(Korea)에서 구입하였고 오수유를 100g씩 칭량하여 각각 40, 80, 95% 메탄올 400 mL을 용매로 하여 60°C에서 90분간 sonication하였다. 여과지로 여과하였고 위 작업을 3회 반복하였다. 추출액을 감압농축기로 농축한 후 동결건조하여 시료를 얻었다. 시료는 -80°C에 보관하여 사용하였다.

### 2. 총페놀성물질 함량 측정

총페놀성물질 함량은 Folin & Ciocalteu's phenol reagent를 사용하였고 보고된 방법을 다소 수정하여 측정하였다(Lee et al. 2011). 메탄올에 녹인 500 µg/mL의 검색시료 100 µL와 Folin & Ciocalteu's phenol reagent 50 µL를 혼합하여 5분간 반응시켰다. 20% (w/v) sodium carbonate 300 µL를 혼합하여 15분 후에 증류수 1 mL를 첨가하였다. 8,000 rpm에서 30초 동안 원심 분리하여 그 상층액을 모아 725 nm에서 흡광도를 측정하였다. 총페놀성물질 함량은 tannic acid를 이용하여 작성한 표준검량선으로 계산하였다.

### 3. Evodiamine과 rutaecarpine 함량 측정

오수유 메탄올 농도별 추출물의 evodiamine과 rutaecarpine 함량을 high performance liquid chromatography (HPLC) 방법으로 측정하였다. 각 시료를 메탄올에 1 mg/mL로 녹인 후 여과하여 HPLC 검체로 사용하였다. HPLC 조건은 <Table 1>과 같다. Evodiamine과 rutaecarpine의 표준검량선을 이용하여 정량하였다.

<Table 1> HPLC condition for evodiamine and rutaecarpine quantification analysis in Evodie Fructus extract

Column	Eclipse-plus C-18 (5 µm, 4.6×250 mm)		
Mobile phase	(A) Distilled water		
	(B) Acetonitrile		
Gradient condition	min	A%	B%
	0~20	50	50
	20~35	20	80
	35~45	20	80
	45~60	10	90
	60~65	50	50
	65~80	50	50
Injection volume	10 µL		
Flow rate	1 mL/min		
Column temp.	Room temperature		
Wave length (nm)	225 nm for evodiamine		
	210 nm for rutaecarpine		

### 4. DPPH radical scavenging 측정

메탄올에 녹인 시료 100 µL에 메탄올에 250 µM 농도로 녹인 DPPH 100 µL를 혼합하였다. 빛을 차단한 상태에서 10분간 방치한 후 515 nm에서 흡광도를 측정하였다. 대조군으로 시료 대신 메탄올을 넣어 주었으며 양성대조군으로 ascorbic acid (75 µg/mL)를 사용하였다. DPPH 소거율은 다음과 같이 구하였다.

$$\text{소거율(\%)} = \left( \frac{A_{\text{control}} - A_{\text{sample}}}{A_{\text{control}}} \right) \times 100$$

A<sub>control</sub>: 대조군의 515 nm에서 흡광도

A<sub>sample</sub>: 실험군의 515 nm에서 흡광도

### 5. 세포배양 및 생존율 측정

위암세포주인 AGS는 10% fetal bovine serum (FBS, BRL Life Technologies, NY, USA)와 1% penicillin-streptomycin (BRL Life Technologies)가 포함된 Dulbecco's Modified Eagle Medium (DMEM, BRL Life Technologies) 배지에서 37°C, 5% CO<sub>2</sub>조건에서 배양하였다. AGS 세포를 1×10<sup>4</sup>/well 농도로 96 well plate에 seeding 하여 24시간 동안 안정화 시켰다. Serum-free media에 희석한 각 추출물 농도에 맞춰 처리하고 24시간 동안 배양하였다. 이후 EZ-Cytox kit (Daeil Lab Service, Seoul, Korea)를 사용하여 생존율을 측정하였다. Water soluble tetrazolium salt (WST) 용액 10 µL를 넣고 2시간 동안 배양기에서 배양한 후 450 nm에서 흡광도를 측정하였으며 대조군에 대한 흡광도와 비교하여 %로 생존율을 표시하였다.

6. Western blotting

AGS 세포를 4×10<sup>5</sup>/well 농도로 6 well plate에 seeding 하여 24시간 동안 안정화시켰다. 세포에 serum-free media에 희석한 추출물을 농도에 맞춰 처리하고 24시간 배양하였다. 세포를 4°C에서 단백질을 분해효소 억제제를 함유한 RIPA lysis buffer (Millipore, MA, USA)로 분해한 다음 14,000 rpm에서 10분간 원심분리하여 상층액을 거두었다. 동량의 단백질을 SDS-polyacrylamide gel 전기영동을 통해 분리한 후 nitrocellulose 막으로 이동시켰다. 5% skim milk로 blocking 한 후 4°C에서 1차 항체로 18시간 배양하고 2차 항체로 1시간 배양하였다. ECL (Thermo Fisher Scientific, MA, USA) 시약으로 막 위의 단백질을 확인하였다.

7. 통계분석

측정값은 독립적으로 이루어진 3회의 실험에서 얻은 값을 mean±SD로 나타내었다. 시료들 간의 통계분석은 Prism 6 (GraphPad Software Inc., San Diego, USA)을 이용하여 일원 분산분석과 Tukey's honestly significant difference test로 이뤄졌다(p<0.05).

III. 결과 및 고찰

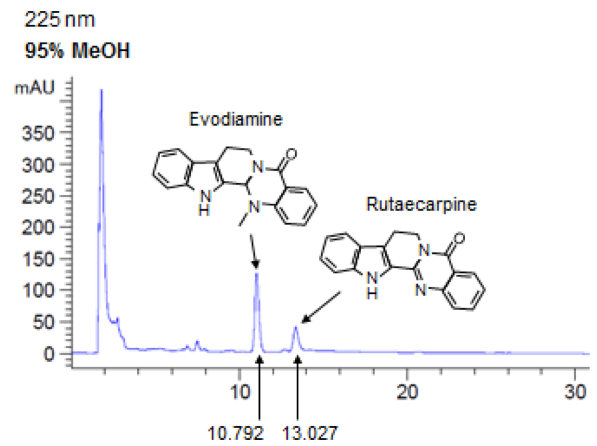
1. 오수유 메탄올 추출물의 evodiamine과 rutaecarpine의 함량

메탄올 농도별 추출물에 함유된 총페놀성물질 함량을 Folin & Ciocalteu's phenol reagent를 이용하여 측정하였다. 40% 추출물은 216.77 mg TAE (tannic acid equivalent)/g, 80%는 328.21 mg TAE/g, 95%는 281.67 mg TAE/g으로 80% 메탄올 추출물에서 총페놀성물질 함량이 가장 높았다<Table 2>. HPLC chromatogram에서 evodiamine은 10-11분 사이의, rutaecarpine은 약 13분의 머무름 시간을 보였으며<Figure 1> 이는 evodiamine과 rutaecarpine을 추출물에 co-injection하여 동일 시간대에 피크의 겹침으로 확인하였다. Evodiamine의 경우 40, 80, 95% 추출물에서 각각 1.86, 7.29, 36.77 µg/mg 함량을 보여 95% 추출물에서 evodiamine 함량이 가장 높았으며 추출 메탄올 농도가 높을수록 evodiamine의 함량이 높았다<Table 2>. 95% 추출물에서 evodiamine의 함량은 80% 추출물과 비교했을 때 약 5배, 40%에 비해서는 약 20배 높았다. Rutaecarpine의 경우 40, 80, 95% 추출물에서 각각 3.78, 17.16, 53.02 µg/mg의 함량을 보였다. Evodiamine과 같이 95% 추출물에서 가장 높은 rutaecarpine 함량을 보였으며 농도가 높을수록 rutaecarpine의 함량이 높았다<Table 2>. 95% 추출물의 rutaecarpine 함량은 80% 추출물보다 약 3배, 40% 추출물에 대해서는 약 14배 높았다. Cai et al. (2014)은 열수 추출물과 70% 메탄올 및 에탄올 추출물에서 evodiamine의 함량을 비교했을 때 알코올 추출물이 열수 추출물보다 약 22배 이상 evodiamine 함량을 보였으며 메탄올

<Table 2> Content of total phenolic compounds, evodiamine and rutaecarpine in 40, 80 and 95% MeOH extract

MeOH Con. (V/V)	40%	80%	95%
TPC (mg tannic acid equivalents/g)	216.77±2.73	328.21±5.39	281.67±3.54
Evodiamine (µg/mg) (RSD)	1.8616±0.0172 (0.9239)	7.2933±0.0704 (0.9653)	36.7671±0.5703 (1.5511)
Rutaecarpine (µg/mg) (RSD)	3.7867±0.1007 (2.6593)	17.1633±0.3099 (1.8055)	53.0200±2.5895 (4.884)

TPC: total polyphenolic compounds, RSD: relative standard deviation Values represent mean±SD of three independent measurements.

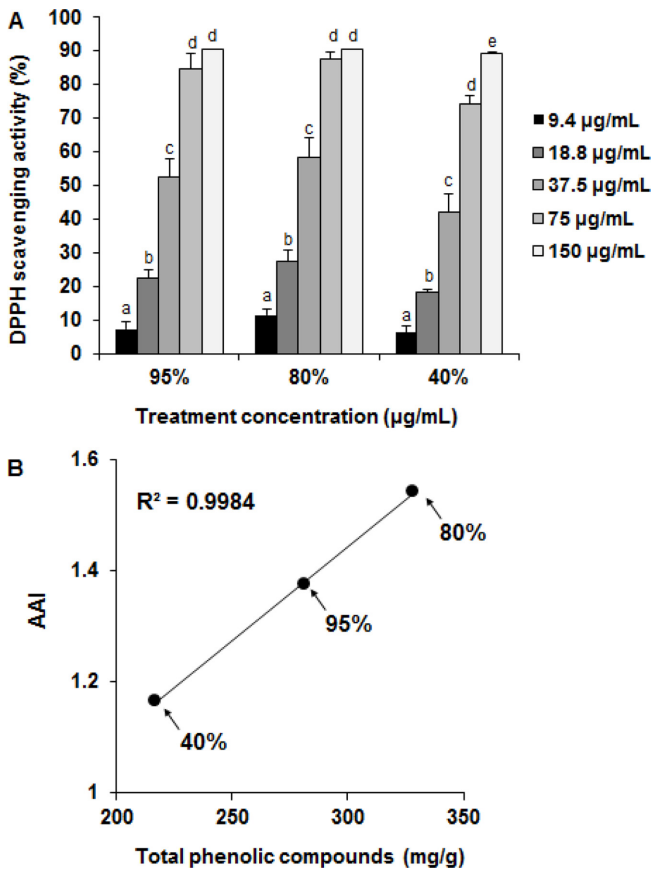


<Figure 1> HPLC chromatogram (225 nm) of 95% MeOH extract of *E. rutaecarpa*

과 에탄올 추출물 사이에서는 차이가 없다고 하였다. Bezek et al. (2016)은 96%의 에탄올 추출물에서 evodiamine과 rutaecarpine의 함량을 각각 3.64, 5.30%로 보고하였다. 본 실험에서 95% 메탄올 추출물의 경우에는 evodiamine과 rutaecarpine이 각각 3.67, 5.30% 함량을 보여 비슷한 결과를 나타내었다. 오수유의 지배지역 및 추출방법에 따라 각 물질의 함유 정도는 다를 수 있으나 메탄올과 에탄올의 추출능은 비슷한 것으로 보이며 유기용매의 농도를 높여야 evodiamine과 rutaecarpine의 추출이 보다 더 잘 이뤄진다는 것을 알 수 있다.

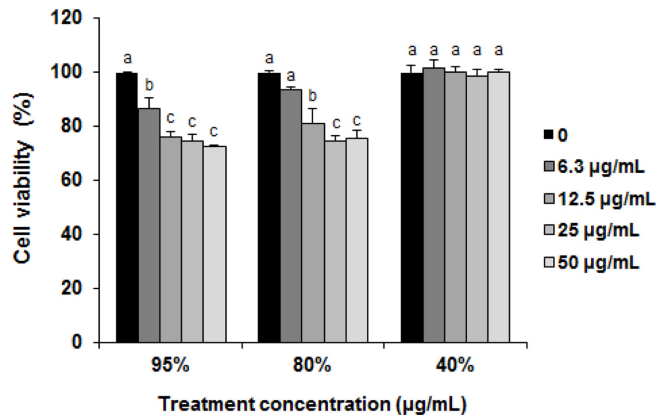
2. DPPH 소거 효과

메탄올 농도별 추출물을 150 µg/mL에서 1/2씩 농도를 희석하여 5개 농도 구간(9.375, 18.75, 37.5, 75, 150 µg/mL)에서 DPPH 소거능을 구한 후 50% scavenging activity (SC<sub>50</sub>)을 계산하였다. 양성대조군으로 사용한 L-ascorbic acid (150 µM)의 소거율은 82.07%였다. 모든 메탄올 추출물 시료에서 농도 의존적으로 DPPH 소거 효능을 보였으며<Figure 2A> 40,



<Figure 2> Radical scavenging activity of *E. rutaecarpa*. A: DPPH scavenging activity of 40, 80 and 95% methanol extract. Means with different letters indicate the statistical difference ( $p < 0.05$ ). B: Relationship between total phenolic compounds and antioxidant activity index (AAI: the ration of DPPH concentration to  $SC_{50}$ )

80, 95% 시료에서 각각의  $SC_{50}$ 은 42.34, 31.95, 35.81 µg/mL로 계산되었다. Ryu (2014)는 80% 오수유 에탄올 추출물이 10-400 µg/mL 범위에서 DPPH 소거능이 14.31, 26.08, 53.0, 81.62, 90.03, 91.02%였다고 보고하였다. 본 실험에서 80% 메탄올 추출물은 9.375, 18.75, 37.5, 75, 150 µg/mL 농도에서 DPPH 소거율이 각각 11.34, 27.43, 58.3, 87.71, 90.37%로서 비슷한 경향성을 보였다. 물질의 DPPH radical의 소거능과 항산화 효능은 물질의 hydroxyl 구조와 관련이 있으며 polyphenolic 물질은 다수의 hydroxyl 구조가 있다(Li et al. 2014). 본 실험에서 메탄올 추출 농도에 따라 추출되는 총페놀성물질 함량에 차이가 있었기 때문에<Table 2> 총페놀성물질량과 DPPH radical 소거능의 차이점에 일정한 관계가 있는지 확인하였다. 정확한 DPPH 소거능 계산을 위해 Scherer & Godoy (2009)이 제시한 방법을 적용하여 사용한 최종 DPPH 농도를  $SC_{50}$ 으로 나눈 Antioxidant activity index (AAI)값을 구하였다. 40, 80, 95%에서 AAI값은 각각 1.16, 1.54, 1.38을 나타내었다. 이 AAI값과 총폴리페놀성 성분 함량의 상관관계가  $r^2$ 이 0.9984인 비례 관계에 있음을 확인하였다<Figure

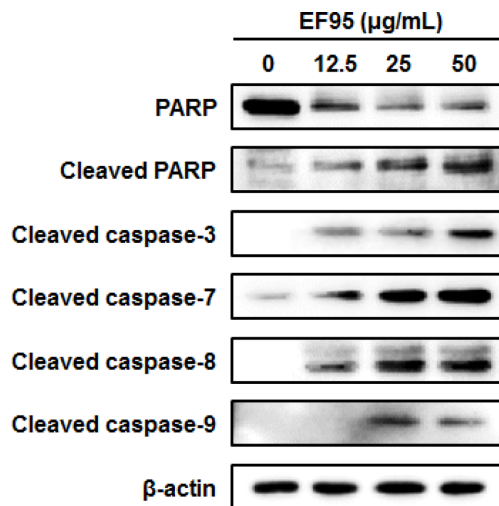


<Figure 3> Cell viability of AGS cells treated with 40, 80 and 95% MeOH extract. Data are presented as mean±SD of three independent experiments. Means with different letters indicate the statistical difference ( $p < 0.05$ )

2B>. 이는 대표적 생리활성물질로 알려진 evodiamine과 rutaecarpine 보다 총페놀성물질 함량이 보다 더 radical소거에 이바지한다는 것을 나타낸다고 생각한다.

### 3. 위암 세포주 AGS에 대한 독성효과

오수유의 에탄올 추출물과 주요 alkaloid 성분인 evodiamine이 다양한 cancer cell type에서 항암효과가 있음이 보고되었다(Liao et al. 2005, Chien et al. 2014, Lin et al. 2016). 오수유가 주로 소화기계통에 사용된 약재이고 또한 evodiamine의 위암 세포주에 대한 독성 또한 보고된 바 있어(Rasul et al. 2012, Yang et al. 2014) 메탄올 농도별 추출물이 위암세포주인 AGS 세포에 독성이 있는지를 실험하였다. HPLC 분석을 통해 evodiamine 함량이 가장 높은 95% 추출물이 가장 높은 독성을 보일 것으로 예상하였다. 상대적으로 저농도인 6.25와 12.5 µg/mL에서 95% 추출물이 대조군 대비 각각 86.48, 76.19%의 생존율을 보여 다른 추출과 비교했을 때 다소 높은 독성이 있었다. 그러나 50 µg/mL에서 80와 95% 추출물은 각각 75.34, 72.50%의 생존율을 보여 뚜렷한 차이는 없었다. 40% 추출물의 경우 실험한 모든 농도 구간에서 독성이 확인되지 않았다<Figure 3>. 기존 보고 내용과 본 실험 결과를 종합해 보면 일정 evodiamine 함량이 있어야 AGS에 대한 독성이 나타나지만, 농도 의존적인 건 아닐 수도 있음을 의미한다. 그러나 본 실험은 추출물을 가지고 실험한 것으로 주요 항암 성분으로 알려진 evodiamine 외의 다른 성분이 길항적으로 작용할 수도 있고 다른 성분이 독성에 관여했을 여지도 있다. Evodiamine과 rutaecarpine을 포함한 다른 단일성분이 독성에 어떤 영향을 미치는지에 관한 연구가 필요하다고 생각한다. 다만 40% 메탄올 추출물이 AGS 세포에 독성을 보이지 않아 유기용매의 농도를 높인 추출물에 함유된 물질들이 AGS 세포에 독성을 보인다는 점은 확실해 보인다.



<Figure 4> The effect of 95% MeOH extract on cleavage of apoptosis-related protein in AGS cells. Indicated dose of EF95 (0, 12.5, 25 and 50 µg/mL) for 24 hours were treated in AGS cells. The cell lysates were subjected to Western blotting to evaluate the protein levels of PARP, cleaved PARP and caspase-3, -7, -8 and -9.  $\beta$ -actin was used as an internal control. (EF95: 95% MeOH extract)

95% 추출물에 의한 AGS 세포 죽음이 apoptosis인지 알아보기 위해 apoptosis와 관련 있는 단백질의 변화를 Western blotting으로 확인하였다. Apoptosis를 일으키는 신호전달은 크게 두 과정으로 나누어진다. 미토콘드리아 막전위의 이상과 함께 세포질로 분비된 cytochrome c가 Apaf-1, ATP와 함께 apoptosome을 형성한 후 연쇄적으로 caspase-9, -3, -7을 절단하고 caspase-3는 DNA를 보정하는 poly(ADP-ribose) polymerase (PARP)를 절단하여 apoptosis를 증가시키는 intrinsic pathway와 세포막의 수용체를 통한 caspase-8 절단이 caspase-3, -7 절단으로 연결되는 extrinsic pathway가 있다(Elmore 2007). 95% 메탄올 추출물은 apoptosis를 확인할 수 있는 PARP 절단을 농도 의존적으로 증가시켰다. 또한 caspase-3, -7, -8 절단 모두 증가하였으나 caspase-9의 경우 25 µg/mL 처리농도에서 50 µg/mL보다 절단이 좀 더 강하게 일어났다. 95% 추출물에 포함된 성분 중 intrinsic pathway를 저해하는 물질이 있을 가능성이 있으며 이 부분 또한 추후 연구 대상이나 추출물에 의한 세포 죽음이 apoptosis일 가능성은 매우 크다고 생각한다.

본 실험 결과를 종합해 보면 유기용매의 농도를 높여 오수유를 추출할 경우 evodiamine과 rutaecarpine의 추출은 증가하지만, 총페놀성물질 함량은 80% 메탄올 추출물에서 가장 높았다. DPPH radical 소거 효과는 80% 추출물에서 가장 높았고, 80과 95% 추출물 모두 AGS 세포에 대해 독성이 있었다. 95% 추출물을 처리했을 때 apoptosis 관련 단백질의 절단을 확인할 수 있어 apoptosis가 세포 죽음에 한 형태임을 알 수 있었다.

## IV. 요약 및 결론

오수유는 *Evodia rutaecarpa*의 덜 익은 열매를 말린 것으로 오랫동안 위통과 설사에 사용됐다. 오수유의 주요한 생리 활성물질인 Evodiamine과 rutaecarpine은 항산화와 항염증 효과는 물론 다양한 암세포의 증식과 전이 능력을 억제하는 것이 보고되었다. 본 연구에서는 메탄올 추출 농도(40, 80, 95%)에 따른 오수유 추출물의 항산화와 항암효과를 조사하였다. 총페놀성물질은 80, 95, 40% 추출물 순서로 높은 함량을 나타냈다. 95, 80, 40% 추출물에서 evodiamine의 경우 각각 36.77, 7.29, 1.86 µg/mg의 함량을 rutaecarpine의 경우 각각 53.02, 17.16, 3.79 µg/mg의 함량을 보여 95% 추출물에서 evodiamine과 rutaecarpine의 함량이 가장 높았다. DPPH radical 소거 효과에서 80, 95, 40% 추출물 순서로 SC<sub>50</sub>이 낮았는데 이는 총페놀성물질의 함량과 반비례 관계가 있었다. 95와 80% 추출물은 위암 세포인 AGS에 대해 독성이 있었으나 40% 추출물은 독성을 보이지 않았다. 이는 항암효과를 보인다고 알려진 evodiamine의 함량 차이 일 수 있다. 95% 추출물이 apoptosis 신호전달과 관련된 caspase와 PARP 단백질을 절단하여 오수유 추출물에 의한 세포 죽음이 apoptosis와 관련 있는 것으로 생각된다.

### 저자정보

양지영(연세대학교 보건과학대학 임상병리학과, 박사, 0000-0001-7141-8242)

변희용(세명대학교 한방바이오융합과학부, 학부 졸업, 도야마대학교 화합의약융합연구소 천연물화학부, 석사 대학원생, 0000-0002-3131-7313)

김진우(세명대학교 한방바이오융합과학부, 학부 졸업, 0000-0002-7245-6619)

김사현(세명대학교 임상병리학과, 교수, 0000-0003-3910-4838)

이평재(세명대학교 바이오제약산업학부, 교수, 0000-0001-8688-2806)

### Conflict of Interest

No potential conflict of interest relevant to this article was reported.

### References

- Bezdek K, Kurincic M, Knauder E, Klancnik A, Raspor P, Bucar F, Mozina SS. 2016. Attenuation of adhesion, biofilm formation and quorum sensing of *Campylobacter jejuni* by *Euodia ruticarpa*. *Phytother Res.*, 30:1527-1532
- Cai QY, Li WR, Wei JJ, Mi SQ, Wang NS. 2014.

- Antinociceptive activity of aqueous and alcohol extract of *Evodia rutaecarpa*. *Indian J Pharm Sci.*, 76:235-239
- Chien CC, Wu MS, Shen SC, Ko CH, Chen CH, Yang LL, Chen YC. 2014. Activation of JNK contributes to evodiamine-induced apoptosis and G2/M arrest in human colorectal carcinoma cells: a structure-activity study of evodiamine. *PLoS One*, 9:e99729
- Choi YH, Shin EM, Kim YS, Cai XF, Lee JJ, Kim HP. 2006. Anti-inflammatory principles from the fruits of *Evodia rutaecarpa* and their cellular action mechanisms. *Arch Pharm Res.*, 29:293-297
- Elmore S. 2007. Apoptosis: a review of programmed cell death. *Toxicol Pathol.*, 35:495-516
- Jin SW, Hwang YP, Choi CY, Kim HG, Kim SJ, Kim Y, Chung YC, Lee KJ, Jeong TC, Jeong HG. 2017. Protective effect of rutaecarpine against t-BHP-induced hepatotoxicity by upregulating antioxidant enzymes via the CaMKII-Akt and Nrf2/ARE pathways. *Food Chem Toxicol.*, 100:138-148
- Ko HC, Wang YH, Liou KT, Chen CM, Chen CH, Wang WY, Chang S, Hou YC, Chen KT, Chen CF, Shen YC. 2007. Anti-inflammatory effects and mechanisms of the ethanol extract of *Evodia rutaecarpa* and its bioactive components on neutrophils and microglial cells. *Eur J Pharmacol.*, 555:211-217
- Lee JW, Park JH, Kim JS, Choi EY, Han SN, Seong ES, Yu CY, Kwon YS, Kim MJ. 2011. Isolation of flavonol glycoside related to antioxidant activity from *Hippophae rhamnoides* leaves. *Korean J Medicinal Crop Sci.*, 19:251-256
- Li AN, Zhang YJ, Xu XR, Chen YM, Li HB. 2014. Resources and biological activities of natural polyphenols. *Nutrients*, 6:6020-6047
- Liao CH, Pan SL, Guh JH, Chang YL, Pai HC, Lin CH, Teng CM. 2005. Antitumor mechanism of evodiamine, a constituent from Chinese herb *Evodiae Fructus*, in human multiple-drug resistant breast cancer NCI/ADR-RES cells *in vitro* and *in vivo*. *Carcinogenesis*, 26:968-975
- Liao Y, Liu Y, Xia X, Shao Z, Huang C, He J, Jiang L, Tang D, Liu J, Huang H. 2020. Targeting GRP78-dependent AR-V7 protein degradation overcomes castration-resistance in prostate cancer therapy. *Theranostics*, 10:3366-3381
- Lin L, Ren LI, Wen L, Wang Y, Qi J. 2016. Effect of evodiamine on the proliferation and apoptosis of A549 human lung cancer cells. *Mol Med Rep.*, 14:2832-2838
- Park E, Lee MY, Seo CS, Jang JH, Kim YU, Shin HK. 2018. Ethanol extract of *Evodia rutaecarpa* attenuates cell growth through caspase-dependent apoptosis in benign prostatic hyperplasia-1 cells. *Nutrients*, 10:523
- Rasul A, Yu B, Zhong L, Khan M, Yang H, Ma T. 2012. Cytotoxic effect of evodiamine in SGC-7901 human gastric adenocarcinoma cells via simultaneous induction of apoptosis and autophagy. *Oncol Rep.*, 27:1481-1487
- Ryu MJ. 2014. Functional Activities of *Evodia officinalis* extract as cosmetic materials. *Kor J Aesthet Cosmetol.*, 12:797-804
- Scherer R, Godoy HT. 2009. Antioxidant activity index (AAI) by the 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl method. *Food Chem.*, 112:654-658
- Yang L, Liu X, Wu D, Zhang M, Ran G, Bi Y, Huang H. 2014. Growth inhibition and induction of apoptosis in SGC-7901 human gastric cancer cell by evodiamine. *Mol Med Rep.*, 9:1147-1152
- Yun HJ, Heo SK, Lee YT, Park WH, Park SD. 2008. Anti-inflammatory effect of *Evodia officinalis* D<sub>ODE</sub> in mouse macrophage and human vascular endothelial cells. *Kor J Herbology*, 23:29-38
- Zhang PT, Pan BY, Liao QF, Yao MC, Xu XJ, Wan JZ, Liu D, Xie ZY. 2013. Simultaneous quantification of limonin, two indolequinazoline alkaloids, and four quinolone alkaloids in *Evodia rutaecarpa* (Juss.) Benth HPLC-DAD Method. *J Anal Methods Chem.*, 2013:Article ID 827361
- Zhang YN, Yang YF, Yang XW. 2018. Blood-brain barrier permeability and neuroprotective effects of three main alkaloids from the fruits of *Euodia rutaecarpa* with MDCK-pHaMDR cell monolayer and PC12 cell line. *Biomed Pharmacother.*, 98:82-87

---

Received August 3, 2020; revised August 21, 2020; accepted August 26, 2020