

# Antioxidant Activity of Solvent Fractions from *Distylium racemosum* in Jeju

Hye-Ran Kim<sup>1</sup>, Gyu-Nam Park<sup>1</sup>, Bo-Kyoung Jung<sup>1</sup>, Weon-Jong Yoon<sup>2</sup>, Yong-Hwan Jung<sup>2</sup>, and Kyung-Soo Chang<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Department of Clinical Laboratory Science, Catholic University of Pusan, Busan 46252, Korea

<sup>2</sup>Jeju Biodiversity Research Institute, Jeju Technopark, Jeju 63208, Korea

## 제주 자생 조록나무 분획물의 항산화 효과

김혜란<sup>1</sup>, 박규남<sup>1</sup>, 정보경<sup>1</sup>, 윤원종<sup>2</sup>, 정용환<sup>2</sup>, 장경수<sup>1</sup>

<sup>1</sup>부산가톨릭대학교 임상병리학과, <sup>2</sup>제주테크노파크 생물종다양성연구소

Anti-oxidant activity of 600 medicinal plants from Jeju was analyzed. Extracts from the leaves of *Distylium racemosum* have the highest anti-oxidant activity. *D. racemosum* is an oriental medicinal plant belonging to the Hamamelidaceae and grows in the wild in Jeju. This study was conducted to evaluate the antioxidant and cell viability of different fractions (n-hexane, methylene chloride, ethyl acetate, buthanol, DW) from *D. racemosum*. Anti-oxidant activity was measured using 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) radical scavenging activity test and total phenolic content. Cell viability was determined by 3-[4, 5-dimethylthiazol-2-yl]-2, 5-diphenyltetrazolium bromide (MTT) cell viability assay on HepG2 and A549 cells. Among various extracts, the ethyl acetate fraction showed the highest DPPH radical scavenging activity, reaching approximately 93% at 0.5 mg/mL, higher than that of quercetin used as a positive control. Ethyl acetate fractions showed the highest total phenolic content at 505 mg GAE/g. The phenolic content of each extract showed association with DPPH radical scavenging activity. The ethyl acetate extracts were resistant against hydrogen peroxide (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) treatment in the MTT cell viability assay and showed a higher cell protective effect than other fraction extracts. These results suggest that the ethyl acetate fraction might be a source of anti-oxidants of *D. racemosum*.

**Keywords:** Antioxidant activity, Jeju natural extracts, *Distylium racemosum*

Corresponding author: Kyung-Soo Chang  
Department of Clinical Laboratory Science,  
Catholic University of Pusan, 57 Oryundae-ro,  
Geumjeong-gu, Busan 46252, Korea  
Tel: 82-51-510-0565  
Fax: 82-51-510-0568  
E-mail: kschang@cup.ac.kr

This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

Received: February 23, 2016  
Revised: March 1, 2016  
Accepted: March 7, 2016

Copyright © 2016 The Korean Society for Clinical Laboratory Science. All rights reserved.

## 서론

세포 내에는 superoxide anion (O<sub>2</sub><sup>-</sup>), hydroxyl radical (·OH), hydrogen peroxide (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>)와 같은 활성 산소종(reactive oxygen species, ROS)이 존재하는데 정상적인 신진대사 또는 외인성 요인으로 인해 생성되며, 과도한 활성 산소종은 쉽게 지질 과산화물의 축적에 이르는 막 지질의 과산화를 유발한다[1]. 우리 몸은 활성 산소종으로부터 보호하기 위한 방어체계가 있는데 이러한 지표로는

Superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT), glutathione peroxidase (GPx)와 같은 항산화 효소와 glutathione과 같은 작은 분자와 비타민 C, E가 있다고 알려져 있다[2]. 그러나 과도한 활성 산소종과 낮은 항산화 방어 시스템은 산화적 스트레스를 계속 유발하여, 이는 생체 분자의 구조적, 기능적 변형을 일으키는 화학적 변화로 연결된다[3]. 그리하여 산화적 스트레스는 만성 염증성 질환, 죽상 동맥 경화증, 암, 당뇨병, 간염, 신경 변성, 조기 노화 등과 같은 다양한 질병 및 알츠하이머, 파킨슨병, 허혈성 질환과 같은 신경 퇴

행성 질환 일으킨다[4,5]. 따라서 이와 같이 산화적 스트레스에 의한 각종 질병의 증가로 활성산소를 소거하거나 과산화물질 생성을 억제하는 항산화 물질에 대한 연구가 활발히 진행되고 있다.

butylated hydroxyanisole (BHA), butylated hydroxytoluene (BHT), propylgallate (PG), tert-butylhydroxytoluene와 같은 합성 항산화제가 있지만, 간 손상 및 발암물질을 갖는 것으로 밝혀지면서 항바이러스, 항돌연변이, 항염증, 항암효과 및 간보호 효과의 기능을 가지는 천연물질로부터 항산화 물질 규명에 대한 연구가 활발히 이루어지고 있다[6]. 천연물질은 현재 임상에서 적용되는 많은 약물의 원천이 되고 있으며, 지금까지 식물성 식품, 곡물, 견과류, 콩류, 야채, 과일 등에서 수천 가지의 생물학적 활성을 가지는 식물성 화학물질이 발견 되었다[7].

한국의 최남단 섬인 제주도에는 7800여 종 이상의 다양한 식물이 분포하고 있으며, 약용 식물로써 널리 사용되어 지고 있다[8]. 선행연구로 600여 종의 제주 천연물질을 이용하여 항산화 효능 시험을 해본 결과 조록나무(*Distylium racemosum*) 잎에서 가장 높은 효능을 확인 하였다. 조록나무는 조록나무과(Hamamelidaceae)에 속하는 상록 나무로써, 아시아에 분포하며 약 18종으로 구성되어 있다[9]. 조록나무 가지에서 분리한 화합물질을 이용한 Tyrosinase 억제능, Elastase 억제능, DHHP 라디칼 소거능을 통한 항산화효과 [10], 조록나무 잎에서 분리한 화합물질을 이용한 ribonuclease H 활성 억제 등에 대한 연구가 되어있다[11]. 본 연구에서는 극성이 다른 유기용매를 이용하여 추출한 조록나무 잎 분획물질의 DPPH 라디칼 소거능 및 총 페놀 함량을 통해 물질 자체의 항산화 효능을 확인하고, 간세포 및 폐세포에 추출물을 처리한 후, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>에 의한 산화적 스트레스로부터 세포보호효과를 확인하여 천연 물질을 이용한 천연항산화제 개발을 위한 기초자료로 활용하고자 본 실험을 수행하였다.

## 재료 및 방법

### 1. 추출물 제조

제주도에 자생하고 있는 조록나무 잎을 2006년 3월경에 채집하였고, 채집된 시료는 증류수로 3회 수세한 뒤 물기를 제거 하고 2주간 음건한 후 마쇄기로 분쇄하여 추출용 시료로 사용하였다. 조록나무 잎 추출물의 분획물 제조는 분획용 헥산, 메틸렌 클로라이드, 에틸 아세테이트, 그리고 부탄올을 사용하여 용매의 극성을 이용한 순차적 추출법을 사용하였다. 분말 건조된 시료에 80% 에탄올로 2회 반복 추출한 후 여과하여 얻어진 추출액을 감압 농축하여 동결 건조기로 완전히 건조시켰다. 건조된 에탄올 추출물에 10배량의 증류수와 동량의 헥산을 첨가하여 분획한 후 감압 농축하여 헥산

분획물을 얻었다. 동일한 방법으로 메틸렌 클로라이드, 에틸 아세테이트, 부탄올 그리고 물 층을 분획하여 각각의 순차 분획물을 얻었으며, 모든 과정은 2회 반복 실시하였다. 분획물은 80% 에탄올을 이용하여 10 mg/mL 농도로 용해하여 사용하였고, 양성 대조군으로 Quercetin (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA)을 사용하였다.

### 2. DPPH 라디칼 소거능

조록나무 분획물은 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH)의 환원력을 이용하여 전자 공여능을 측정하였다[12]. 각각의 용매에 0.1, 0.5, 1, 5 mg/mL로 희석한 조록나무 분획물을 준비하여 96 well plate에 10 µL씩 분주하고 200 µM DPPH (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA)를 190 µL를 가한 후, 37°C에서 30분 동안 반응시킨다. 그리고 550 nm에서 Biotrak II Plate reader (Amersham Life Science, Buckinghamshire, UK)를 이용하여 흡광도를 측정하였다.

### 3. 총 페놀 함량

총 페놀 함량은 Folin-Denis 방법을 사용하였다. 0.1% 추출물질 (50 µL), DW (1.65 mL), 100 µL Folin-Denis 시약을 혼합하여 5분 후 1 N Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 200 µL 를 추가하여 2시간 동안 실온에서 반응시켰다. 그리고 Spectronic Genesys 5 (Milton Roy Company, New York, USA)를 이용하여 750 nm에서 흡광도를 측정하였다. 표준물질로 gallic acid를 사용하여 얻은 표준곡선으로부터 총 페놀 함량을 gallic acid equivalents per gram extracts sample (mg GAE/g)로 나타내었다.

### 4. 세포 배양

본 실험에 사용한 세포주는 human liver carcinoma cell line인 HepG2 세포와 human lung carcinoma cell line인 A549 세포는 한국세포주은행(KCLB, Seoul, Korea)에서 분양 받아 사용하였다. 세포 배양용 배지로는 Dulbecco's Modified Eagle's Medium (Hyclone, Logan, UT, USA)를 이용하였으며, 0.1 mM non-essential amino acids (GIBCO, Rockville, MD, USA), 10% fetal bovine serum (Hyclone, Logan, UT, USA)과 항생제인 penicillin-streptomycin (GIBCO, Rockville, MD, USA)을 첨가하여 37°C, 5% CO<sub>2</sub> 배양기에서 배양하였다.

### 5. 간세포와 폐세포를 이용한 세포독성효과

추출물의 세포독성효과를 측정하기 위해 HepG2 와 A549 세포는 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide (MTT) assay로 실험하였다[13]. 세포 농도를 1 × 10<sup>5</sup>개/mL로 조정

하여 96 well에 100 µL 분주 후 37°C, 5% CO<sub>2</sub> 조건에서 24시간 배양하였다. 각각의 물질을 해당 세포에 25, 50, 100, 200 µg/mL 농도 별로 100 µL 분주 후 5분 동안 혼합하고 37°C, 5% CO<sub>2</sub> 조건에서 48시간 배양하였다. 5 mg/mL 농도인 MTT용액(Ambresco, Ohio, USA)을 준비하여 20 µL 분주하여 5분 혼합하고, 37°C, 5% CO<sub>2</sub>에 2시간 배양 후, 배지를 최대한 제거하고 dimethyl sulfoxide (Ambresco, Ohio, USA)를 200 µL 씩 분주한 뒤 Biotrak II Plate reader (Amersham Life Science, Buckinghamshire, UK)를 이용하여 560 nm에서 흡광도를 측정하였다.

6. H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 처리에 따른 간세포와 폐세포에서의 세포보호효과

H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 처리에 따른 추출물의 세포보호효과를 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide (MTT) assay를 변형하여 확인하였다[13]. HepG2와 A549 세포를 배양 후, 세포 농도를 1 × 10<sup>5</sup> 개/mL로 조정하여 96 well에 100 µL 씩 분주 후 37°C, 5% CO<sub>2</sub> 조건에서 24시간 배양하였다. 추출물을 해당 세포에 25, 50, 100, 200 µg/mL 농도 별로 100 µL 분주 후 5분 혼합하고 37°C, 5% CO<sub>2</sub> 조건에서 24시간 배양하였다. 100 mM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>를 준비하여 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 처리군에는 20 µL 분주 후 24시간 배양하였다. 5 mg/mL 농도인 MTT용액(Ambresco, USA)을 준비하여 20 µL 분주하여 5분 동안 혼합하고, 37°C, 5% CO<sub>2</sub>에 2시간 배양하였다. 배지를 최대한 제거하고 dimethyl sulfoxide (Ambresco, USA)를 200 µL 분주한 뒤 Biotrak II Plate reader (Amersham Life Science, Buckinghamshire, UK)를 이용하여 560 nm에서 흡광도를 측정하였다.

결 과

1. DPPH 라디칼 소거능

조록 나무 분획물질의 DPPH 라디칼 소거능을 농도별로 측정된 결과, 모든 분획물질에서 농도 의존적으로 항산화 효과를 나타내었다(Fig. 1). 헥산 분획물질은 0.1, 0.5, 1, 5 mg/mL에서 1.24, 2.69, 8.38, 41.00%의 DPPH 라디칼 소거능을 나타내었으며, 메틸렌 클로라이드 분획물질은 농도 별로 3.72, 25.73, 29.74, 77.99%의 DPPH 라디칼 소거능을 나타내었으며, 에틸 아세테이트 분획물질은 농도 별로 52.26, 93.80, 94.62, 94.87%의 DPPH 라디칼 소거능을 나타내었으며, 부탄올 분획물질은 농도 별로 26.67, 49.10, 63.33, 89.91%의 DPPH 라디칼 소거능을 나타내었으며, 마지막으로 물 추출물은 농도 별로 5.09, 21.37, 33.72, 55.73%의 DPPH 라디칼 소거능을 나타내었다. 대조군으로 사용한 quercetin보다 에틸 아세테이트 분획물질에서 더 높은 항산화 효과를 확인하였다.

2. 총 페놀 함량

DPPH 라디칼 소거능이 총 페놀 함량과 연관성이 있는지 알아보기 위해 추출물의 총 페놀 함량을 측정하였다. 조록나무 분획물질의 총 페놀 함량은 gallic acid를 기준물질로 측정하였으며, 헥산 분획물질은 53 mg GAE/g, 메틸렌 클로라이드 분획물질은 87 mg GAE/g, 에틸 아세테이트 분획물질은 505 mg GAE/g, 부탄올 분획물질은 216 mg GAE/g, 물 추출물은 76 mg GAE/g의 총 페놀함량을 확인하였다(Table 1). 본 실험 결과 DPPH 라디칼 소거능이 추출물질의 총 페놀 함량과 연관성이 있음이 확인되었다.

3. 간세포를 이용한 세포독성효과

간세포에서 조록나무 분획물질의 농도별 세포독성효과를 측정하기 위해 HepG2세포를 이용하여 조록나무 분획물질을 농도 별로 처리하여 48시간 동안 세포독성을 측정하였다. 간세포에서 헥산 분획물질은 50 µg/mL이하 농도에서는 세포독성을 나타내지 않았으며, 메틸렌 클로라이드 분획물질은 모든 농도에서 세포독성을 확

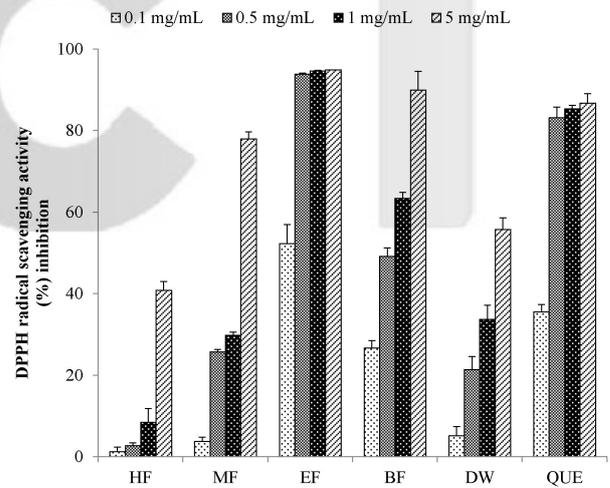


Fig. 1. DPPH radical scavenging activity of solvent fractions from *Distylium racemosum* and quercetin. Abbreviation: HF, hexane fraction; MF, methylene chloride fraction; EF, ethyl acetate fraction; BF, buthanol fraction; DW, DW fraction; QUE, quercetin.

Table 1. Total phenolic content of solvent fractions from *Distylium racemosum*

| Extracts           | Total phenolic content (mg GAE/g extract) |
|--------------------|---|
| Hexane             | 53.33 ± 2.57                              |
| Methylene chloride | 86.93 ± 2.41                              |
| Ethyl acetate      | 505.07 ± 1.89                             |
| Buthanol           | 215.87 ± 2.66                             |
| DW                 | 75.60 ± 3.42                              |

인하였다. 에틸 아세테이트 분획물질은 200 µg/mL 이하 모든 농도에서 세포 독성을 나타내지 않았고, 부탄올 분획물질은 100 µg/mL 이하 농도에서 세포 독성을 나타내지 않았으며, 물 추출물은 200 µg/mL 이하 모든 농도에서 세포 독성을 나타내지 않았다. 대조군으로 사용한 quercetin은 200 µg/mL이하 모든 농도에서 세포 독성을 나타내지 않음을 확인하였다(Fig. 2).

**4. 폐세포를 이용한 세포독성효과**

폐세포에서 조록나무 분획물질의 농도별 세포독성효과를 측정하기 위해 A549 세포를 이용하여 조록나무 분획물질을 농도 별로 처리하여 48시간 동안 세포독성을 측정하였다. 폐세포에서 핵산 분획물질은 25 µg/mL에서 세포독성을 나타내지 않았으며 메틸렌 클로라이드 분획물질은 25 µg/mL에서 세포독성을 나타내지 않았다. 에틸 아세테이트 분획물질은 100 µg/mL이하 농도에서 세포 독성을 나타내지 않았으며, 부탄올 분획물질은 50 µg/mL이하에서 세포 독성을 나타내지 않았다. 물 추출물은 50 µg/mL이하에서 세포 독성을 나타내지 않았으며, 대조군으로 사용한 quercetin은 200 µg/mL이하 모든 농도에서 세포 독성을 나타내지 않음을 확인 하였다(Fig. 3).

**5. 간세포에서 산화적 스트레스에 따른 항산화효과**

간세포에서 조록나무 분획물질의 산화적 스트레스에 대한 항산화 효과를 측정하기 위해, HepG2세포에 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>를 처리하여 산화적 스트레스를 유발한 후 조록나무 분획물질의 세포 보호효과를 측정 하였다. 핵산, 메틸렌 클로라이드 분획물질은 모든 농도에서 세포 보호효과를 확인 할 수 없었지만, 에틸 아세테이트 분획물질은 50, 100, 200 µg/mL에서 25.96, 36.32, 41.23%의 세포생존율을 나타

내며 추출물을 처리하지 않은 군과 비교하여 약 10%, 21%, 26%의 세포보호효과를 확인 하였다. 부탄올 분획물질은 25, 50 µg/mL 에서는 세포보호효과가 없었지만, 100, 200 µg/mL에서 22.72, 23.42%의 세포생존율을 나타내며 미비한 세포보호효과를 확인하였다. 물 추출물 25, 50, 100 µg/mL에서 세포보호효과가 없었고 200 µg/mL에서 19.39%의 세포생존율로 미비한 세포보호효과를 확인하였다. 대조군으로 사용한 quercetin은 50, 100, 200 µg/mL에서 31.32, 58.95, 93.86%의 높은 생존율을 나타내며, 추출물을 처리하지 않은 군과 비교하여 50, 100, 200 µg/mL에서 약 16, 42, 78%의 세포보호효과를 확인하였다. 에틸 아세테이트, 부탄올 분획물질 및 물 추출물에서 세포보호효과를 농도의존적으로 확인하였으며, 에틸 아세테이트 분획물질은 대조군으로 사용한 quercetin 보다는 약하지만 분획 물질 중 가장 높은 세포보호효과를 나타내었다(Fig. 4).

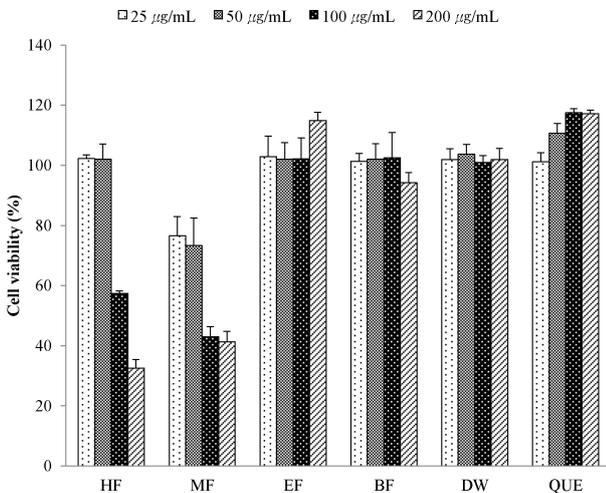


Fig. 2. Cell viability on HepG2. Abbreviation: 'See Fig. 1.'

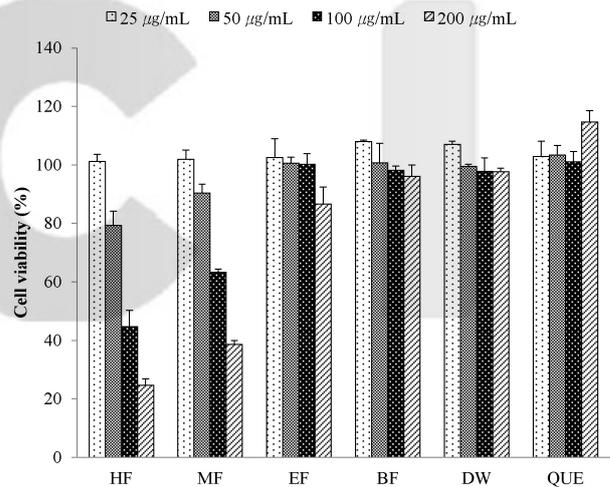


Fig. 3. Cell viability on A549. Abbreviation: 'See Fig. 1.'

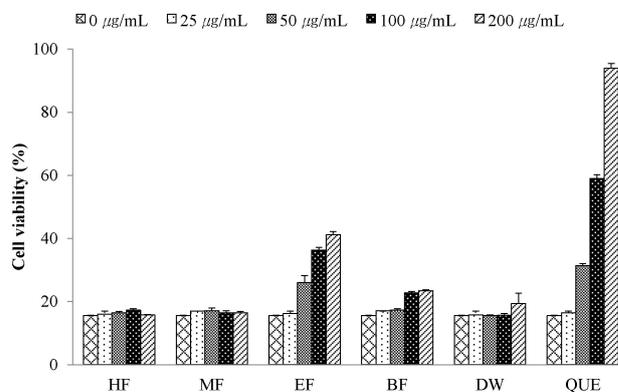


Fig. 4. H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-induced oxidative damage in HepG2. Abbreviation: 'See Fig. 1.'

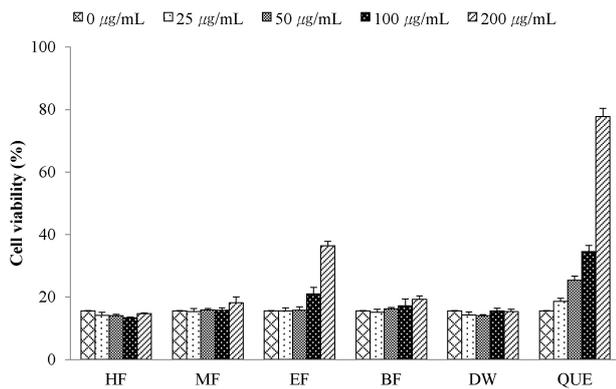


Fig. 5.  $H_2O_2$ -induced oxidative damage in A549. Abbreviation: 'See Fig. 1.'

## 6. 폐세포에서 산화적 스트레스에 따른 항산화효과

폐세포에서 조록나무 분획물질의 산화적 스트레스에 대한 항산화효과를 측정하기 위해, A549세포에  $H_2O_2$ 를 처리하여 산화적 스트레스를 유발한 후 조록나무 분획물질의 세포 보호효과를 측정하였다. 헥산, 메틸렌 클로라이드 분획물질은 모든 농도에서 세포 보호효과를 확인 할 수 없었고, 에틸 아세테이트 분획물질은 100, 200  $\mu\text{g/mL}$ 에서 21.01, 36.36%의 세포생존율을 나타내며 추출물을 처리하지 않은 군과 비교하여 약 7, 22%의 세포보호효과를 확인하였다. 부탄올 분획물질은 200  $\mu\text{g/mL}$ 에서 19.21%의 세포생존율을 나타내며 미비한 세포보호효과를 확인하였다. 물 추출물은 모든 농도에서 세포보호효과가 없었다. 대조군으로 사용한 quercetin은 25, 50, 100, 200  $\mu\text{g/mL}$ 농도에서 18.6, 25.34, 34.57, 77.69%의 세포 생존율을 나타내었으며, 추출물을 처리하지 않은 군과 비교하여 약 4, 11, 20, 63%의 세포보호효과를 확인하였다. 에틸 아세테이트 분획 물질에서 세포보호효과를 농도의존적으로 확인하였으며, 에틸 아세테이트 분획물질은 대조군으로 사용한 quercetin 보다는 약하지만 분획 물질 중 가장 높은 세포보호효과를 나타내었다(Fig. 5).

## 고 찰

최근 천연 추출물을 이용한 항산화 물질 개발에 대한 연구는 매우 활발히 진행되고 있으며, 만성질환 및 암을 예방하고 건강유지를 하기 위해 천연 추출물의 활성성분이 포함된 기능성 식품의 수요가 증가하고 있는 추세이다. 천연 추출물에 포함된 항산화 물질은 자유 라디칼로 유도된 산화적 스트레스에 보호할 뿐만 아니라 합성 항산화제의 부작용을 극복 할 수 있다. 그러므로 천연 식물은 산화를 억제하는 중요한 원천이라고 할 수 있다. 많은 페놀 화합물은 항산화제 역할을 할 수 있는데, 그 중 quercetin은 식물, 음식, 음

료에서 찾을 수 있는 플라보노이드 화합물로서 항산화 효과뿐만 아니라 면역 자극, 종양세포에서 유사분열 주기의 변화, 유전자 발현의 변형, 혈관 신생 활성 등의 효과가 연구가 되어왔다[14-16].

제주조릿대(*Sasa quelpaertensis*)의 항염증 효과[17], 참갈고리풀(*Bonnemaisonia hamifera*)의 항산화효과[18] 등 제주에서 자생하는 천연물질을 이용한 연구가 활발히 이루어지는 가운데, 본 연구에서는 600여 종의 제주 천연 추출물을 이용하여 항산화 효과를 스크린 한 결과 조록나무 추출물에서 가장 우수한 항산화 효과를 확인하여 조록나무 분획물질을 이용하여 항산화 효과 및 간세포와 폐세포의 세포보호효과를 확인하였다. 조록나무 분획물질 중에 에틸 아세테이트 분획물질에서 대조군으로 사용한 quercetin 보다 높은 DPPH 라디칼 소거능 및 총 페놀 함량을 확인하였다. 사철쭉(*Artemisia capillaris*) 분획물질 중에 에틸 아세테이트 분획물질에서 가장 높은 항산화 효능을 나타내며[19], 조록나무 분획물질의 항산화 효능과 비슷한 양상을 확인하였다.

최근 세포에 산화적 스트레스를 유발하여 세포보호효과를 통해 추출물의 항산화 효과를 증명하는 연구가 많이 이루어 지고 있다.  $H_2O_2$ 의 처리에 따른 함초(*Salicornia herbacea* L.) 추출물의 세포 보호효과[20], *tert*-butyl hydroperoxide (*t*-BHP)의 처리에 따른 치콘(*Cichorium endivia* L.) 추출물[21] 및 잣나무(*Pinus koraiensis*) 추출물의 세포보호효과 등의 결과가 알려져 있다[22]. 그 외에도 사염화탄소로 유발한 간염유증에서 커큐민의 보호효과[23] 등 매우 다양하게 세포보호효과에 대한 연구가 진행되고 있다. 조록나무 잎과 잔가지에서 분리된 페놀 화합물을 이용한 연구 결과가 있으며, 본 연구에서 살펴본  $H_2O_2$ 를 이용한 산화적 스트레스를 유발시킨 HepG2와 A549 세포에서 에틸 아세테이트 분획 물질의 세포 보호 효과 또한 페놀 화합물의 효과라 예상된다. 간세포와 폐세포의 세포 간의 보호효과에 대한 약간의 차이를 나타냈으며, 대조군으로 사용한 quercetin보다는 낮은 세포보호효과를 보였다. 이러한 결과는 조록 나무 에틸 아세테이트 분획 물질 자체의 항산화 효과는 높지만, 간세포와 폐세포에서의 항산화 효과가 크게 작용하지 않는 것으로 보이며, 다른 세포에서의 항산화 효과와  $H_2O_2$  이외의 다른 산화적 스트레스에 대한 연구도 추가적으로 필요한 것으로 사료된다. 조록 나무 분획 물질 중 DPPH 라디칼 소거능 및 총 페놀 함량이 가장 높았던 에틸 아세테이트 분획 물질은 간세포에 대한 독성이 없음을 확인되었고,  $H_2O_2$ 로 유도된 산화적 스트레스에 의한 세포 보호효과를 확인하여 천연 항산화 소재의 가능성이 높을 것으로 사료된다.

## 요 약

600여 종의 제주 천연 추출물을 이용하여 항산화 효과를 스크린

한 결과, 조록나무 잎 추출물이 가장 높은 항산화 효과를 나타내었다. 조록나무는 조록나무과에 속하는 상록 나무로써 제주 천연자원이다. 본 연구에서는 극성이 다른 유기용매(헥산, 메틸렌 클로라이드, 에틸 아세테이트, 부탄올, 물)로 순차적으로 분획 한 조록나무 물질 5가지를 이용하여 항산화 효과 및 간세포와 폐세포를 이용하여 세포 보호능을 확인하였다. 에틸 아세테이트 분획물질은 0.5 mg/mL에서 약93%로 가장 우수한 DPPH 라디칼 소거능을 보이며 양성 대조군으로 사용한 quercetin 보다 높은 효능을 보였다. 총 페놀 함량을 확인 한 결과, 에틸 아세테이트 분획물질은 505 mg GAE/g로 가장 높은 총 페놀 함량을 보였으며, 모든 추출물에서 DPPH 라디칼 소거능과 연관성 있는 결과를 보였다. 또한 에틸 아세테이트 분획물질은 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>에 대한 산화적 스트레스로부터 다른 분획 물질보다 높은 세포보호효과를 나타내었다. 본 연구를 통해 조록나무의 에틸 아세테이트 분획물질의 높은 항산화 효과를 확인하였으며, 천연 항산화 소재의 가능성이 높을 것으로 사료된다.

**Acknowledgements:** This work was supported by grants from Brain Busan 21 program.

**Funding:** None

**Conflict of interest:** None

## References

- Singh N, Rajini PS. Free radical scavenging activity of an aqueous extract of potato peel. *Food Chemistry*. 2004;85:611-616.
- Bayati S, Yazdanparast R. Antioxidant and free radical scavenging potential of yakuchinone B derivatives in reduction of lipofuscin formation using H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-treated neuroblastoma cells. *Iran Biomed J*. 2011;15:134-142.
- Kumarappan CT, Thilagam E, Mandal SC. Antioxidant activity of polyphenolic extracts of *Ichnocarpus frutescens*. *Saudi J Biol Sci*. 2012;19:349-355.
- Debnath T, Park SR, Kim DH, Jo JE, Lim BO. Anti-oxidant and anti-inflammatory activities of *Inonotus obliquus* and germinated brown rice extracts. *Molecules*. 2013;18:9293-9304.
- Mahakunakorn P, Tohda M, Murakami Y, Matsumoto K, Watanabe H. Antioxidant and free radical-scavenging activity of Choto-san and its related constituents. *Biol Pharm Bull*. 2004;27:38-46.
- Chipiti T, Ibrahim MA, Koorbanally NA, Islam MS. In vitro antioxidant activities of leaf and root extracts of *Albizia antunesiana* harms. *Acta Pol Pharm*. 2013;70:1035-1043.
- Lampe JW. Health effects of vegetables and fruit: assessing mechanisms of action in human experimental studies. *Am J Clin Nutr*. 1999;70(3 Suppl):S475-490.
- Moon JY, Yim EY, Song G, Lee NH, Hyun CG. Screening of elastase and tyrosinase inhibitory activity from Jeju Island plants. *EurAsia J. BioSci*. 2010;4:41-53.
- Ko RK, Lee S, Hyun CG, Lee NH. New dibenzofurans from the branches of *Distylium racemosum* Sieb. et Zucc. *Bull. Korean Chem. Soc*. 2009;30:1376-1378.
- Ko RK, Kim GO, Hyun CG, Jung DS, Lee NH. Compounds with tyrosinase inhibition, elastase inhibition and DPPH radical scavenging activities from the branches of *Distylium racemosum* Sieb. et Zucc. *Phytother Res*. 2011;25:1451-1456.
- Kim JA, Yang SY, Wamiru A, McMahon JB, Le Grice SF, Beutler JA, et al. New monoterpene glycosides and phenolic compounds from *Distylium racemosum* and their inhibitory activity against ribonuclease H. *Bioorg Med Chem Lett*. 2011;21:2840-2844.
- Lee SM, Na MK, An RB, Min BS, Lee HK. Antioxidant activity of two phloroglucinol derivatives from *Dryopteris crassirhizoma*. *Biol Pharm Bull*. 2003;26:1354-1356.
- Jo HJ, Shin YS, Park GN, Chang KS. Analysis of anti-oxidant activity of medicinal plants according to the extracted parts. *Journal of Medicinal Plants Research*. 2013;7:1089-1099.
- Duthie G, Morrice P. Antioxidant capacity of flavonoids in hepatic microsomes is not reflected by antioxidant effects in vivo. *Oxid Med Cell Longev*. 2012;2012:165127.
- Jullian C, Moyano L, Yañez C, Olea-Azar C. Complexation of quercetin with three kinds of cyclodextrins: an antioxidant study. *Spectrochim Acta A Mol Biomol Spectrosc*. 2007;67:230-234.
- Ferrer P, Asensi M, Segarra R, Ortega A, Benlloch M, Obrador E, et al. Association between pterostilbene and quercetin inhibits metastatic activity of B16 melanoma. *Neoplasia*. 2005;7:37-47.
- Kim KM, Kim YS, Lim JY, Min SJ, Ko HC, Kim SJ, et al. Intestinal anti-inflammatory activity of *Sasa quepaertensis* leaf extract by suppressing lipopolysaccharide-stimulated inflammatory mediators in intestinal epithelial Caco-2 cells co-cultured with RAW 264.7 macrophage cells. *Nutr Res Pract*. 2015;9:3-10.
- Piao MJ, Hyun YJ, Cho SJ, Kang HK, Yoo ES, Koh YS, et al. An ethanol extract derived from *Bonnemaisonia hamifera* scavenges ultraviolet B (UVB) radiation-induced reactive oxygen species and attenuates UVB-induced cell damage in human keratinocytes. *Mar Drugs*. 2012;10:2826-2845.
- Hong JH, Lee IS. Effects of *Artemisia capillaris* ethyl acetate fraction on oxidative stress and antioxidant enzyme in high-fat diet induced obese mice. *Chem Biol Interact*. 2009;179:88-93.
- Seo YM, Park ST, Jekal SJ, Kim SM, Rim YS. A study on the physioactivities of *Salicornia herbacea* L. grown in Suncheon bay on cell viability and antioxidative effect in cultured C6 glioma Cells. *Korean J Clin Lab Sci*. 2011;43:98-104.
- Chen CJ, Deng AJ, Liu C, Shi R, Qin HL, Wang AP. Hepatoprotective activity of *Cichorium endivia* L. extract and its chemical constituents. *Molecules*. 2011;16:9049-9066.
- Won SB, Jung GY, Kim J, Chung YS, Hong EK, Kwon YH. Protective effect of *Pinus koraiensis* needle water extract against oxidative stress in HepG2 cells and obese mice. *J Med Food*. 2013;16:569-576.
- Jekal SJ, Min BW, Park H. Protective effects of Curcumin on CCl<sub>4</sub>-induced hepatic fibrosis with high fat diet in C57BL/6 mice. *Korean J Clin Lab Sci*. 2015;47:251-258.