

약용식물의 Peroxynitrite와 Hydroxyl radical 소거 활성

민오진, 김민석, 곽병희, 류동영*

목포대학교 생명과학부 생약자원전공

Peroxynitrite and Hydroxyl Radical Scavenging Activity of Medicinal Plants

Oh Jin Min, Min Suk Kim, Byung Hee Kwak and Dong Young Rhyu*

Major in Medicinal Plant Resources, Division of Life Science, Mokpo National University, Muan 534-729, Korea

Abstract - The radical scavenging activities of 9 medicinal plants on peroxynitrite (ONOO⁻) and hydroxyl (·OH) radical were investigated using in vitro system. The water extracts of 9 medicinal plants showed the protective effect against ONOO⁻ and ·OH radical. In particular, *Akebia quinata*, *Aster scaber*, *Cudrania tricuspidata*, *Diospyros kaki*, *Eriobotrya japonica*, *Lycium chinense*, *Parthenocissus tricuspidata* and *Polygonum aviculare* exhibited ONOO⁻-scavenging activity by about 50% at the concentration of 10 μ g/ml. Although those ONOO⁻-scavenging activities were lower than that of penicillamine (94.08 \pm 3.04%) as a positive control, *Eriobotrya japonica* (89.87 \pm 4.57%) was the most potent scavenger of ONOO⁻ at the concentration of 10 μ g/ml. Also, *Diospyros kaki* and *Urtica angustifolia* showed the strong ·OH-scavenging activity than thiourea, positive control, at the concentration of 1mg/ml. Our results indicate that 9 medicinal plants may act as free radical scavengers and reduce damages caused by oxidative stress associated with ONOO⁻ and ·OH radical.

Key words - Medicinal plant, Peroxynitrite, Hydroxyl radical, Free radical scavenger, Oxidative stress

서 언

인간을 비롯한 대부분의 호기성 생물체는 산소를 이용한 정상적인 대사 과정에서 superoxide anion(·O₂⁻), hydrogen peroxide(H₂O₂), hydroxyl radical(·OH), alkoxy radical(RO·), alkoxy peroxy radical(ROO·)과 같은 활성 산소종(reactive oxygen species, ROS)이 부산물로 생성된다(Fridorich, 1978; Dreher and Junod, 1996). 이들 ROS는 자유 라디칼(free radical) 중에서 가장 많은 부분을 차지하며, 비공유전자(unpaired electron)를 갖고 있기 때문에 매우 불안정하고 반응성이 높아 생체내 세포와 조직의 구성성분을 쉽게 공격한다고 알려져 있다(Halliwell and Gutteridge, 1999). 그 중 ·OH radical은 일반적으로 짧은 반감기 때문에 반응성이 매우 높고 강력한 산화력을 갖고 있다(Halliwell and Aruoma, 1991). 또한 생체 내에서 염증 관련 질환에 관여하는 nitric oxide(NO·)와 ·O₂⁻가 반응하여 생성되는 peroxynitrite(ONOO⁻)는 활성질소종(reactive nitrogen species, RNS)으로

서 반응속도가 H₂O₂의 수 천배로 단시간 내에 급속하게 세포와 조직을 손상시키는 자유 라디칼로 알려져 있다(Rubbo *et al.*, 1997; Squadrito and Pryor, 1998). 이러한 ROS와 RNS는 세포내 여러 구성성분인 지질, 단백질, 핵산 그리고 DNA를 산화시켜 염증을 유발하고 여러 조직을 손상시키거나 암, 노화, 동맥경화증, 심혈관질환, 당뇨병, 류마티스 관절염 등과 같은 여러 질환에 관여하는 중요한 인자로 잘 알려져 있다(Beckman *et al.*, 1990; Griffiths and Luncie, 1996; Squadrito and Pryor, 1998; Patel *et al.*, 1999). 한편, 생체내에는 자유 라디칼에 대한 방어시스템으로 superoxide dismutase(SOD), catalase, glutathione peroxidase(GSH) 등의 항산화 효소가 있으며 식품이나 식물로부터 ascorbic acid, tocopherol, polyphenol 등과 같은 천연항산화 물질을 다양하게 섭취할 수 있다(Ames *et al.*, 1981; Namiki, 1990; Dalton *et al.*, 1993; Rice-Evans *et al.*, 1996). 그러나 앞에서 언급한 효소들의 이상 또는 결핍 및 자유 라디칼의 과도한 생성은 산화적 스트레스(oxidative stress)를 일으키는 주요한 요인이 된다. 이러한 문제를 해결하기 위해 자유 라디칼을 조절하거나 제거할 수 있는 페놀계 합성 항산화제인 butylated hydroxyanisol(BHA)와

*교신저자(E-mail) : rhyudy@mkpu.ac.kr

butylated hydroxytoluene(BHT) 등이 항산화력이 뛰어난 합성 항산화제가 개발되어 이용되었으나 최근 들어 합성 항산화제의 발암성과 독성이 문제시 되어 천연물로부터 보다 강력한 항산화력과 안전성을 지닌 새로운 항산화제를 개발하기 위한 연구가 활발하게 진행되어지고 있다(Bramen, 1975; Hatano, 1995; Lee *et al.*, 1998; Monsen, 2000; Moure *et al.*, 2001). 따라서 본 실험에서는 예로부터 식용 또는 약용으로 이용되어 안전성이 확인된 9종의 약용식물을 대상으로 반응성이 매우 크고 강력한 산화력을 갖는 ONOO⁻과 ·OH radical의 소거활성 효과를 평가하여 유용한 천연 항산화제로서의 개발 가능성을 조사하였다.

재료 및 방법

실험재료

본 실험에 사용한 약용식물은 순천 화생당과 시장으로부터 구입하거나 직접 채취하여 전문가의 감정을 거친 후 실험재료로 사용하였다.

추출물의 조제

약용식물 50g을 증류수와 함께 추출용기에 넣고 60분간 가열하여 추출여과한 후, 45℃ 이하의 수욕상에서 감압 농축한 다음에 동결건조 하여 분말시료를 얻어서 실험에 사용하였다.

시약

3-Morpholinopyrrolidine(SIN-1), dihydrorhodamine 123(DHR 123), penicillamine 등은 Sigma사(St. Louis, MO, USA)의 제품을 구입하여 사용하였다. 5,5-Dimethyl-1-pyrroline-N-oxide(DMPO), thiourea diethylenetriaminepenta acetic acid(DTPA) 등은 Wako사(Osaka, Japan)의 제품을 이용하였으며, 기타 용매는 덕산과학의 제품을 사용하였다.

ONOO⁻ 소거능

ONOO⁻ 소거효과는 DHR 123이 산화되면서 방출하는 형광을 측정함으로써 평가하였다(Kooy *et al.*, 1994). 96 Well-plate에 각 well당 10μl씩 약용식물의 물 추출물을 넣고 90mM sodium chlorid와 5mM potassium chlorid를 함유한 50mM phosphate buffer(pH 7.4)에 5mM DTPA와 5mM DHR 123를 첨가하여 조제한 반응액을 각 well당 180μl씩 첨가한다. 그 후에 200μM SIN-1을 첨가하여 차광상태로 실온에서 10분간 방치시킨 다음에 fluorescence spectrophotometer(DEKAN SPECTRFlour Plus)를 이용하여 형광도(Ex: 485, Em: 535 nm)를 측정하였다. ONOO⁻ 소거효과는 대조군에 비해 감소 정

도로 표시하였으며, 양성 대조물로는 penicillamine을 이용하였다.

·OH radical 소거능

Fenton 반응에 의해 유리되는 ·OH radical은 spin-trap제인 DMPO와 빠르게 반응하여 DMPO-OH adduct를 생성하므로 이 물질을 electron spin resonance(ESR) spectrometer를 이용하여 측정하였다(한과 강, 2002). 10% DMPO(v/v), 0.2 mM FeSO₄ 및 1mM DTPA 용액을 순차적으로 1.5ml microtube에 넣은 후에 약용식물 물 추출물과 1mM H₂O₂ 용액을 순차적으로 첨가한다. 5분 후에 반응액 DMPO-OH adduct의 spin spectrum은 ESR spectrometer(JEOL FESX)를 이용하여 측정하였다. ESR spectrometer는 microwave power 1.02mW, modulation frequency 9.4397GHz, field modulation 339.458mT, sweep width 5.000mT, time constant 0.03sec의 조건에서 측정하였다. ·OH radical 소거 효과의 양성 대조물로는 thiourea를 이용하였다.

결과 및 고찰

ONOO⁻ 소거 활성효과

반응성이 매우 높은 강력한 산화제인 ONOO⁻는 다른 자유 라디칼 보다 비교적 안정한 분자로 단백질과 지질의 과산화를 유발하고 DNA의 산화와 세포독성을 일으키거나 알츠하이머병, 류마티스 관절염, 암, 동맥경화, 당뇨병 등과 같은 만성질환에 관여한다고 보고되어져 있다(Lin *et al.*, 1997; Virag *et al.*, 2003). 하지만 인체 내에는 ONOO⁻ 소거에 관여하는 효소계가 존재하지 않으므로 ONOO⁻의 소거활성을 갖는 물질의 탐색은 큰 의의가 있다(Choi *et al.*, 2002). 현재까지 알려진 ONOO⁻의 소거제로는 penicillamine과 같은 합성 산화제와 flavonoid, phenolic 화합물과 같은 천연물 유래 성분 등이 보고되어져 있다(Aruoma *et al.*, 1997; Fici *et al.*, 1997; Haenen *et al.*, 1997; Choi *et al.*, 2002).

Table 1은 9종 약용식물의 물 추출물에 대한 ONOO⁻ 소거 활성효과를 측정한 결과이다. 약용식물 추출물의 ONOO⁻ 소거 활성효과는 약용식물 물 추출물을 첨가하지 않은 대조군의 형광도 값과 비교하여 계산하였다. 약용식물 물 추출물 1μg/ml 농도에서 ONOO⁻ 소거 활성효과는 양성 대조물인 penicillamine 성분이 74.91%로 나타난 것에 비해 비파나무, 참취 및 구기자는 각각 68.41, 64.49 및 50.97%로 나타나 3종의 약용식물 물 추출물이 50% 이상의 ONOO⁻ 소거 활성효과를 나타냈다. 약용식물 2.5μg/ml 농도에서는 꾸지뽕나무, 구기자 및 마디풀을 제외한 모든 시료가 대조군에 비해 50% 이상의 ONOO⁻ 소거 활성

효과를 나타냈으나 양성 대조물인 penicillamine 보다는 ONOO⁻ 억제능이 낮게 나타났다. 약용식물 5 μ g/ml 농도에서는 비파나무 물 추출물이 84.82%로 penicillamine 84.22%와 비슷한 ONOO⁻ 소거 활성효과를 보였다. 약용식물 10 μ g/ml 농도에서는 penicillamine 94.08% 보다는 낮지만 비파나무 89.87, 참취 81.91, 마디풀 79.46, 담쟁이덩굴 77.73, 꾸지뽕나무 76.72% 순으로 ONOO⁻ 소거 활성효과를 나타냈다.

· OH radical 소거 활성효과

자유 라디칼 중에서도 가장 강한 독성을 나타내는 것으로 알려진 ·OH radical은 반응성이 매우 크고 반응속도가 빠르며 지

질의 산화 및 DNA에 손상을 주고 돌연변이를 유발함으로써 다양한 질환에 관여하는 것으로 알려져 있다(Halliwell and Aruoma, 1991). 본 연구의 ·OH radical 소거 활성효과는 Fenton 반응으로 생성된 ·OH radical을 spin trap제인 DMPO와 반응시킨 후에 ESR spectrometer를 이용하여 측정 한 다음에 spectrum의 signal peak/Mn peak를 비교하여 평가하였다(Rosen and Rauckman, 1981). 그 결과, 약용식물 물 추출물을 첨가하지 않은 대조군의 signal peak/Mn peak이 2.22로 나타났으며, 약용식물 물 추출물 1mg/ml 농도에서 가는잎썩기풀이 1.04로 양성 대조물로 사용된 thiourea 1.16 보다 더 높은 ·OH radical 소거 활성효과를 나타냈다(Fig. 1, Table

Table 1. ONOO⁻-scavenging activities of medicinal plants

Scientific name (Korean name, used part)	Concentration (μ g/ml)			
	1	2.5	5	10
*Penicillamine	74.91 \pm 6.63	86.56 \pm 3.60	84.22 \pm 6.02	94.08 \pm 3.04
<i>Urtica angustifolia</i> (가는잎썩기풀, 전초)	40.72 \pm 6.91	54.83 \pm 6.91	61.51 \pm 7.76	37.50 \pm 4.29
<i>Diospyros kaki</i> (감잎, 잎)	46.32 \pm 9.82	57.31 \pm 6.17	54.78 \pm 4.49	57.56 \pm 9.57
<i>Lycium chinense</i> (구기자, 열매)	50.97 \pm 10.38	48.34 \pm 8.25	54.40 \pm 7.21	61.50 \pm 15.69
<i>Cudrania tricuspidata</i> (꾸지뽕나무, 줄기)	39.89 \pm 3.86	46.87 \pm 8.41	79.35 \pm 6.84	76.72 \pm 4.10
<i>Parthenocissus tricuspidata</i> (담쟁이덩굴, 줄기와 잎)	32.41 \pm 6.80	54.59 \pm 4.88	65.56 \pm 4.70	77.73 \pm 4.82
<i>Polygonum aviculare</i> (마디풀, 전초)	45.97 \pm 7.75	40.09 \pm 7.59	66.16 \pm 3.51	79.46 \pm 3.73
<i>Eriobotrya japonica</i> (비파나무, 잎)	68.41 \pm 6.90	59.05 \pm 7.55	84.82 \pm 6.59	89.87 \pm 4.57
<i>Akebia quinata</i> (으름덩굴, 잎)	40.88 \pm 7.97	62.30 \pm 4.89	64.02 \pm 7.60	64.24 \pm 1.27
<i>Aster scaber</i> (참취, 꽃)	64.49 \pm 4.87	73.38 \pm 3.62	75.80 \pm 9.30	81.91 \pm 10.15

*Penicillamine is positive control.

Table 2. ·OH-scavenging activities of medicinal plants (1mg/ml) on signal peak of DMPO-OH at 5minutes

Scientific name (Korean name)	Signal peak/Mn peak
*Control	2.22
**Thiourea	1.16
<i>Urtica angustifolia</i> (가는잎썩기풀)	1.04
<i>Diospyros kaki</i> (감잎)	1.16
<i>Lycium chinense</i> (구기자)	1.81
<i>Cudrania tricuspidata</i> (꾸지뽕나무)	1.77
<i>Parthenocissus tricuspidata</i> (담쟁이덩굴)	1.49
<i>Polygonum aviculare</i> (마디풀)	1.86
<i>Eriobotrya japonica</i> (비파나무)	1.54
<i>Akebia quinata</i> (으름덩굴)	1.97
<i>Aster scaber</i> (참취)	1.72

*Control is not addition of sample.

**Thiourea is positive control.

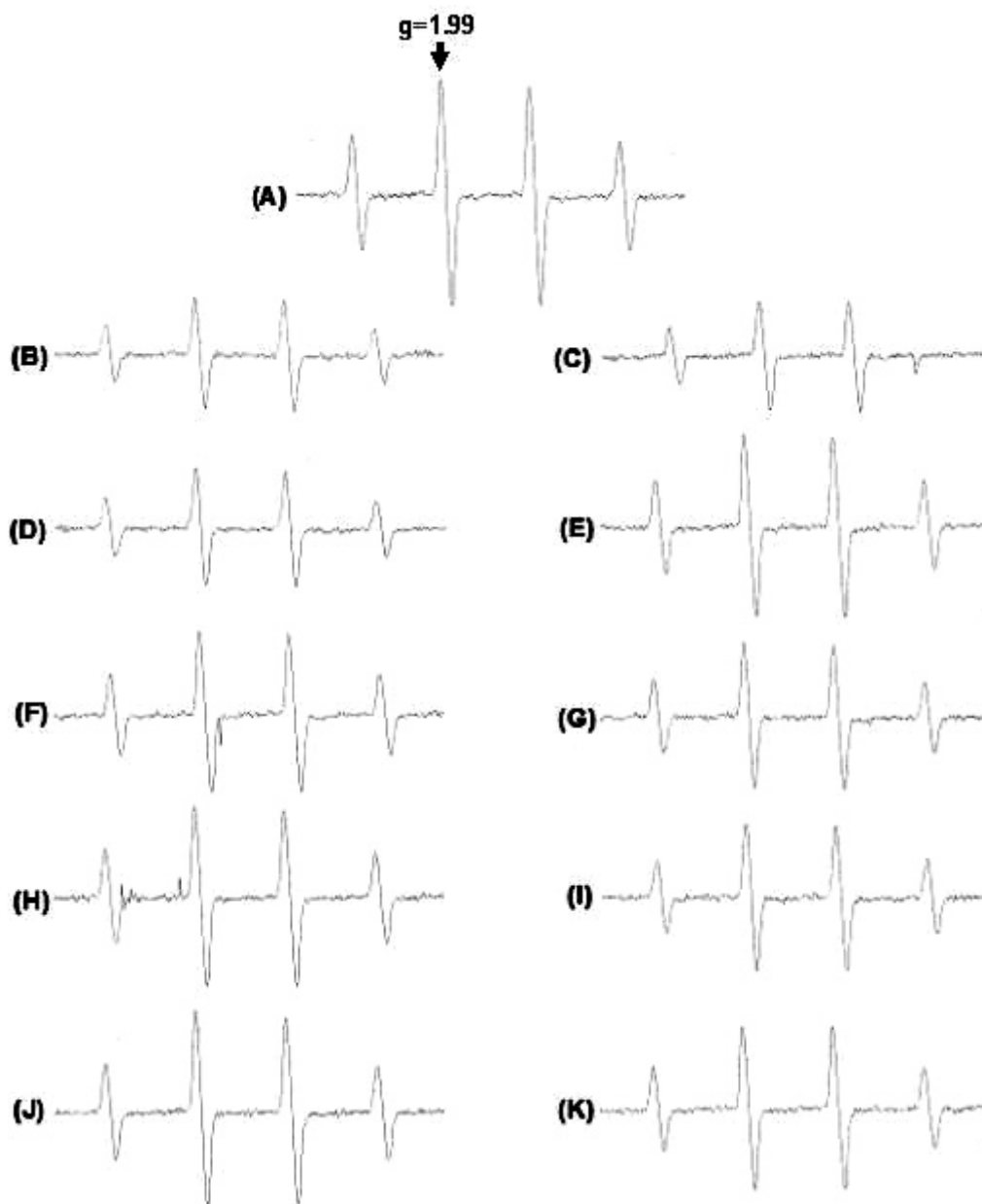


Fig. 1. \cdot OH-scavenging activities of medicinal plants on the height of DMPO-OH signal peak. A, Control; B, Thiourea (Positive control); C, *Urtica angustifolia*; D, *Diospyros kaki*; E, *Lycium chinense*; F, *Cudrania tricuspidata*; G, *Parthenocissus tricuspidata*; H, *Polygonum aviculare*; I, *Eriobotrya japonica*; J, *Akebia quinata*; K, *Aster scaber*.

2). 또한 감잎 물 추출물의 signal peak/Mn peak이 1.16으로 나타나 thiourea와 동일한 \cdot OH radical 소거 활성효과를 나타냈다. 이 밖에 담쟁이덩굴, 비파나무, 참취, 꾸지뽕나무, 구기자, 마디풀 및 으름덩굴 순으로 signal peak/Mn peak이 각각 1.49, 1.54, 1.72, 1.77, 1.81, 1.86 및 1.97로 나타나 양성대조물인 thiourea 보다는 낮지만 9종의 모든 약용식물 물 추출물에서 대조군에 비하여 높은 \cdot OH radical 소거 활성효과를 나타냈다.

본 실험에 사용된 9종의 약용식물 중에서 가시오yce기풀을 제

외한 감잎(DPPH radical 소거능), 꾸지뽕나무(DPPH, superoxide 및 hydroxyl radical 소거능), 구기자과 담쟁이덩굴(DPPH와 superoxide radical 소거능), 마디풀(지질과산화 억제효과, superoxide radical 소거능, hydroxyl radical에 의한 DNA 손상 억제효과), 비파나무(지질과산화 억제효과와 SOD 활성 증강효과), 으름덩굴(nitric oxide 생성 억제효과), 참취(catalase와 GSH 활성 증강효과)의 항산화 효과 및 항산화 성분에 관한 연구결과는 보고된 바 있다(Han *et al.*, 2002; Soh

et al., 2003; Jung et al., 2004; Katsube et al., 2004; Saleem et al., 2004; Hsu, 2006; Huang et al., 2006; Kim et al., 2006; Lee et al., 2006). 그러나 생체내에서 강한 산화 능력을 지닌 ONOO⁻와 ·OH radical 소거 활성효과에 관한 연구결과는 거의 보고된 바가 없었다. 그러므로 9종 약용식물의 ONOO⁻와 ·OH radical 소거 활성효과는 천연자원들로부터 안전성과 유용성을 겸비한 천연 항산화제 소재 개발을 위한 중요한 기초 자료로 활용될 수 있을 것으로 사료된다.

적 요

약용식물 9종의 물 추출물에 대한 항산화 효과를 탐색하기 위해 *in vitro* 조건에서 강력한 산화력과 독성을 갖는 ONOO⁻와 ·OH radical의 소거효과를 측정하였다. 그 결과, 감잎, 구기자, 꾸지뽕나무, 담쟁이덩굴, 마디풀, 비파나무, 으름덩굴, 참취 추출물은 10µg/ml 농도에서 50% 이상의 ONOO⁻ 소거효과를 나타냈다. 이러한 ONOO⁻ 소거효과는 양성 대조물인 penicillamine (94.08±3.04)에 비해 낮았지만 비파나무 물 추출물(89.87±4.57)이 다른 시료에 비해 가장 강력한 ONOO⁻ 소거효과를 나타냈다. 또한, 가는잎썩기풀과 감잎 물 추출물은 1mg/ml 농도에서 양성대조물인 thiourea 보다 효과적인 ·OH radical 억제효과를 나타냈다. 결론적으로 9종의 약용식물은 ONOO⁻와 ·OH radical과 연관된 산화적 스트레스에 의한 세포와 조직의 손상을 억제시킬 수 있는 천연 항산화제로 밝혀졌다.

인용문헌

Ames, B.N., R. Cathcart, E. Schwiers and P. Hochstein. 1981. Uric acid provides an antioxidant defense in humans against oxidant-and radical-caused aging and cancer: a hypothesis. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 78: 6858-6862.

Aruoma, O.I., M. Whiteman, T.G. England and B. Halliwell. 1997. Antioxidant action of ergothioneine: assessment of its ability to scavenge peroxynitrite. *Bioche. Biophys. Res. Commun.* 231: 389-391.

Beckman, J.S., T.W. Beckman, J. Chen, P.A. Marshall and B.A. Freeman. 1990. Apparent hydroxyl radical production by peroxynitrite: implications for endothelial injury from nitric oxide and superoxid. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 87: 1620-1624.

Bramen, A.L. 1975. Toxicology and biochemistry of butylated hydroxyanisole and butylated hydroxytoluene. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 52: 59-63.

Choi, J.S., H.Y. Chung, S.S. Kang, M.J. Jung, J.W. Kim, J.K. No and

H.A. Jung. 2002. The structure-activity relationship of flavonoids as scavengers of peroxynitrite. *Phytother. Res.* 16: 232-235.

Dalton, D.A., L. Langeberg and N.C. Trenemen. 1993. Correlations between the ascorbate-glutathione pathway and effectiveness in legume root nodules. *Physiol. Plants* 87: 365-370.

Dreher, D. and F. Junod. 1996. Role of oxygen free radicals in cancer development. *Eur. J. Cancer* 32A: 30-38.

Fici, G.J., J.S. Althaus and P.F. VonVoigtlander. 1997. Effects of lazaroids and a peroxynitrite scavenger in a cell model of peroxynitrite toxicity. *Free Radic. Biol. Med.* 22: 223-228.

Fridorich, L. 1978. The biology of oxygen radicals. *Science* 201: 875-880.

Griffiths, H.R. and J. Lunce. 1996. The C1q binding activity of IgG is modified *in vitro* by reactive oxygen species: implications for rheumatoid arthritis. *FEBS Lett.* 388: 161-164.

Haenen, G.R., J.B. Paquay, R.E. Korthouwer and A. Bast. 1997. Peroxynitrite scavenging by flavonoids. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 236: 591-593.

Halliwell, B and O.I. Aruoma. 1991. DNA damage by oxygen-derived species. Its mechanism and measurement in mammalian systems. *FEBS Lett.* 281: 9-19.

Halliwell, B. and J.M.C. Gutteridge. 1999. *Free radicals in biology and medicine*. Third ed., Oxford University Press, New York.

Han, S.H., H.H. Lee, I.S. Lee, Y.H. Moon and E.R. Woo. 2002. A new phenolic amide from *Lycium chinense* Miller. *Arch. Pharm. Res.* 25: 433-437.

Han, S.K. and J.-W. King. 2002. Qualitative analysis of free radicals generated in AOPs by electron paramagnetic resonance (EPR). *J. of KSEE.* 24: 1153-1161.

Hatano, T. 1995. Constituents of natural medicines with scavenging effects on active oxygen species-tannins and related polyphenols. *Natural Medicines.* 49: 357-363.

Hsu, C.Y. 2006. Antioxidant activity of extract from *Polygonum aviculare* L. *Biol. Res.* 39: 281-288.

Huang, Y., J. Li, Q. Cao, S.C. Yu, X.W. Lv, Y. Jin, L. Zhang, Y.H. Zou and J.F. Ge. 2006. Anti-oxidative effect of triterpene acids of *Eriobotrya japonica* (Thunb.) Lindl. leaf in chronic bronchitis rats. *Life Sci.* 78: 2749-2757.

Jung, H.J., C.O. Lee, K.T. Lee, J. Choi and H.J. Park. 2004. Structure-activity relationship of oleanane disaccharides isolated from *Akebia quinata* versus cytotoxicity against cancer cells and NO inhibition. *Bio. Pharm. Bull.* 27: 744-777.

Katsube, T., H. Tabata, Y. Ohta, Y. Yamasaki, E. Anuurad, K. Shiwaku

- and Y. Yamane. 2004. Screening for antioxidant activity in edible plant products: comparison of low-density lipoprotein oxidation assay, DPPH radical scavenging assay, and Folin-Ciocalteu assay. *J. Agric. Food Chem.* 52: 2391-2396.
- Kim, S.Y., S.M. Jeong, S.J. Kim, K.I. Jeon, E. Park, H.R. Park and S.C. Lee. 2006. Effect of heat treatment on the antioxidative and antigenotoxic activity of extracts from persimmon (*Diospyros kaki* L.) peel. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 70: 999-1002.
- Kooy, N.W., J.A. Royall, H. Ischiropoulos and J.S. Beckman. 1994. Peroxynitrite-mediated oxidation of dihydrorhodamine 123. *Free Radic. Biol. Med.* 16: 149-156.
- Lee, B.W., J.H. Lee, S.W. Gal, Y.H. Moon and K.H. Park. 2006. Selective ABTS radical-scavenging activity of prenylated flavonoids from *Cudrania tricuspidata*. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 70: 427-432.
- Lee, K.S., Z.H. Mbwambo, H.S. Chung, L. Luyengi, E.J.C. Gamez, R.G. Mehta, D. Kinghorn and J.M. Pezzuto. 1998. Evaluation of the antioxidant potential of natural products. *Combinatorial Chemistry & High Throughput Screening* 1: 35-46.
- Lin, K.T., J.Y. Xue, F.F. Sun and P.Y. Wong. 1997. Reactive oxygen species participate in peroxynitrite-induced apoptosis in HL-60 cells. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 230: 115-119.
- Monsen, E.R. 2000. Dietary reference intakes for the antioxidant nutrients : vitamin C, vitamin E, selenium, and carotenoids. *J. AM. Diet. Assoc.* 100: 637-640.
- Moure, A., J.M. Cruz, C. Franco, H. Dominguez, M.J. Nunez and J.C. Parajo. 2001. Natural antioxidant from residual sources. *Food Chem.* 72: 145-171.
- Namiki, M. 1990. Antioxidants/antimutagens in food. Department of Brewing and Fermentation. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 29: 273-300.
- Patel, R.P., J. McAndrew, H. Sellak, C.R. White, H. Jo, B.A. Freeman and V.M. Darley-Usmar. 1999. Biological aspects of reactive nitrogen species. *Biochim. Biophys. Acta.* 1411: 385-400.
- Rice-Evans, C.A., N.J. Miller and G. Paganga. 1996. Structure-antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids. *Free Radic. Biol. Med.* 20: 933-956.
- Rosen, G.M. and E.J. Rauckman. 1981. Spin trapping of free radicals during hepatic microsomal lipid peroxidation. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 78: 7346-7349.
- Rubbo, H., V. Darley-Usmar and B.A. Freeman. 1996. Nitric oxide regulation of tissue free radical injury. *Chem. Res. Toxicol.* 9: 809-820.
- Saleem, M., H.J. Kim, C. Jin and Y.S. Lee. 2004. Antioxidant caffeic acid derivatives from leaves of *Parthenocissus tricuspidata*. *Arch. Pharm. Res.* 27: 300-304.
- Soh, Y., J.A. Kim, N.W. Sohn, K.R. Lee and S.Y. Kim. 2003. Protective effects of quinic acid derivatives on tetrahydropapaveroline-induced cell death in C6 glioma cells. *Biol. Pharm. Bull.* 26: 803-807.
- Squadrito, G.L. and W.A. Pryor. 1998. Oxidative chemistry of nitric oxide: the roles of superoxide, peroxynitrite, and carbon dioxide. *Free Radic. Biol. Med.* 25: 392-403.
- Virag, L., E. Szabo and P.C. Szabo. 2003. Peroxynitrite induced cytotoxicity: mechanism and opportunities for intervention. *Toxicol. Lett.* 140-141: 113-124.

(접수일 2008. 1. 22; 수락일 2008. 5. 23)