J. Fd Hyg. Safety 13(4), 394 - 399(1998)

결명자추출물과 노르-루브로푸사린의 산화적 스트레스억제효과 및 항염색체손상 효과

김수희 · 최재수* · 허문영†

*강원대학교 약학과, *부경대학교 식품생명과학과*

Antioxidative Activity and Anticlastogenicity of *Cassia tora* L. seeds Extract and its Major Component, Nor-rubrofusarin-6-β-D-glucoside

Soo Hee Kim, Jae Sue Choi* and Moon Young Heo†

College of Pharmacy, Kangwon National University, Chunchon 200-701, Korea

**Department of Food and Life Science, Pukyong National University, Pusan 608-737, Korea*

ABSTRACT — The antioxidative, radical scavenging and cyto-protective effects of *Cassia tora* L. seeds and it major component, nor-rubrofusarin-6-β-D-glucoside (nor-rubrofusarin), were studied to evaluate their inhibitory activity against hydrogen peroxide-induced oxidative stress. 70% ethanol extract of *Cassia tora* L. seeds and nor-rubrofusarin also were tested for the evaluation of anticlastogenicity against mitomycin C-induced micronucleated reticulocytes in mouse peripheral blood. The extract of *Cassia tora* seeds and nor-rubrofusarin showed an antioxidative effect on the lipid peroxidation of ethyl linoleate with Fenton's reagent and free radical scavenging effect to DPPH radical generation, respectively. They showed a protective effect against H_2O_2-induced cytotoxicity in CHL cells. The extract of *Cassia tora* L. seeds and nor-rubrofusarin showed a strong anticlastogenicity against mitomycin C-induced micronuclei formation. Results from our study indicate that the extract of *Cassia tora* L. seeds and nor-rubrofusarin are capable of protecting the lipid peroxidation, free radical generation and cytotoxicity induced by reactive oxygen species. They also have an anticlastogenicity toward DNA crosslinking agent like mitomycin C.

Key words □ *Cassia tora* L. seeds, Nor-rubrofusarin-6-β-D-glucoside, Hydrogen peroxide, Anticlastogenicity, Free radical scavenging effect, Antioxidative effect

결명자는 결명자(*Cassia tora* L. seeds, Leguminosae)의 종자로서 한방에서 건위, 정장, 이뇨 및 완화제로 쓰이고 옛부터 '淸肝明目'이라하여 결명자를 달여 마시면 간에 좋고 나아가 눈을 밝게 한다고 알려져왔다.[1] 그동안 결명자에서는 anthraquinones로서 chrysophanol, aurantio-obtusin, chryso-obtusin 등과 naphthopyrone glycosides로서 nor-rubrofusarin glucoside, rubrofusarin gentibioside등이 분리동정된 바 있다.[2-4] 일부 보고에 의하면 radical scavenging activity,[3] antimutagenicity[4] 등이 밝혀져 있지만 현재까지 결명자 중의 어떠한 성분이 활성이 있는지 확실히 규명되어 있지 않다.

결명자추출물 중의 naphthopyrone성분은 특히 프리라디칼소거작용과 항돌연변이원성이 큰 물질이다.[3] 따라서 본 연구에서는 이 성분들이 다량 함유된 결명자추출물과 주요 성분인 nor-rubrofusarin-6-β-D-glucoside를 대상으로 하여 *in vitro*에서의 antioxidant effect와 free radical 소거작용을 비교연구하는 한편, 활성산소종에 의한 세포독성에 미치는 영향을 연구하여 산화적 스트레스에 대한 chemopreventive effect를 입증하려고 시도하였다. 또한 *in vivo*에서 마우스 소핵시험을 이용하여 항염색체손상성을 검토하여 이에 보고하는 바이다.

실험방법

시약 및 재료

Hydrogen peroxide, morin(3,4,5,2'4'-penta hydrohyflavone),

† Author to whom correspondence should be addressed.

MTT, mitomycin C, *dl*-α-tocopherol, BHT 등 시약들은 Sigma사(St. Louis, MO, USA)에서 구입하였다. FBS 등 세포배양에 필요한 시약들은 GIBCO사(Grand Island, NY, USA)에서 구입하여 사용하였다.

실험동물

본 실험에서 사용한 ICR mice는 (주) 한국실험동물에서 공급받아 강원대 약대 동물사육실내에 있는 양압의 무균동물챔버에서 23±1°C 및 상대습도 55±7%의 조건으로 7~10일 적응시킨 후 사용했다. 사료는 삼양유지의 마우스용 pellet사료를 주며, 물은 자유롭게 먹게하고, 12 h/12 h(L/D) cycle의 조건에서 실험하였다.

노르-루브로푸사린 배당체의 분리

결명자를 분말화한 후 70% 메탄올로 수욕상에서 환류냉각 부착하여 가열하면서 3일간 추출하고 여과후 여액을 감압건조하였다. 건조된 엑기스 50 g을 소량의 메탄올에 녹인 후 용매로서 에틸아세테이트와 메탄올을 사용하여 반복하여 실리카겔크로마토그라피하여 순수한 nor-rubrofusarin-6-β-D-glucopyranoside(M.W.420.37, mp 256~257°C, 이하 nor-rubrofusarin, 또는 노르-루브로푸사린으로 칭함)과 rubrofusarin-6-β-D-gentibioside(M.W.596.54, mp 252.5~254°C, 이하 rubrofusarin, 또는 루브로푸사린으로 칭함)을 각각 약 50 mg씩을 얻었다. 이 물질의 구조는 기 발표된 데이터와 비교하여 동정하였으며 구조는 Fig. 1과 같다.[2]

노르-루브로푸사린 배당체의 정량

결명자를 분말로 한 후 70% 에탄올용액으로 3일간 추출하고 이를 여과하고 감압농축하였다. 검체 100 mg을 메탄올 50 m*l*에 녹이고 이를 여과하여 HPLC용 검액으로 하였다. 이때 컬럼은 ODS(4 mm × 25 cm, Shimazu제), 이동상은 methanol:water:acetic acid=40:60:0.5(v/v), 검출기는 UV 254 nm, 유량은 0.8 m*l*/m*l*로 실시하였다. 이때 노르-루브로푸사린과 루브로푸사린은 각각 약 26분과 28분의 유지시간을 나타내었으며 Fig. 2에 결명자 70% 에탄올추출물의 크로마토그람을 나타내었다.

항산화효과

검체들의 지질과산화 억제효과를 측정하기 위하여 Fenton's reagent를 사용하여 관찰하였다. 증류수에 2% sodium dodecyl sulfate, 0.79 mM potassium chloride, 0.25 mM Trizma(pH 7.4), 1 μM $FeCl_2$, 0.025 mM H_2O_2가 되도록 증류수에 첨가하여 반응액을 만들고 이 용액 4.89 m*l*에 10 μ*l* ethyl linoleate를 첨가한 후 미리 만들어 보관한 검체의 stock solution을 소정의 농도로 0.1 m*l*씩 분주하였다. 이 모든 양이 각 sample당 5 m*l*가 되도록 하였다. 만들어진 sample은 vortex mixer로 즉시 혼합하고 lipid peroxidation system에 빛을 차단시키기 위해 aluminum foil로 감싸서 16시간 동안 55°C에서 incubation시켰다. 그 다음 각각의 sample에 50 μ*l* 4% BHT ethanol solution을 분주하여 산화를 정지시킨 다음 항산화 정도를 TBA법으로 측정하였다.[5,6]

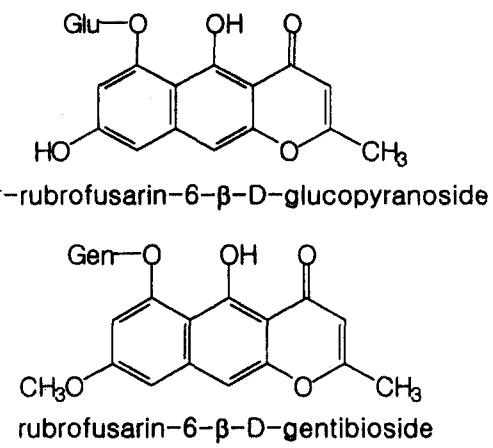

Fig. 1. Chemical structures of nor-rubrofusarin-β-D-glucopyranoside and rubrofusarin-6-β-D-gentibioside.

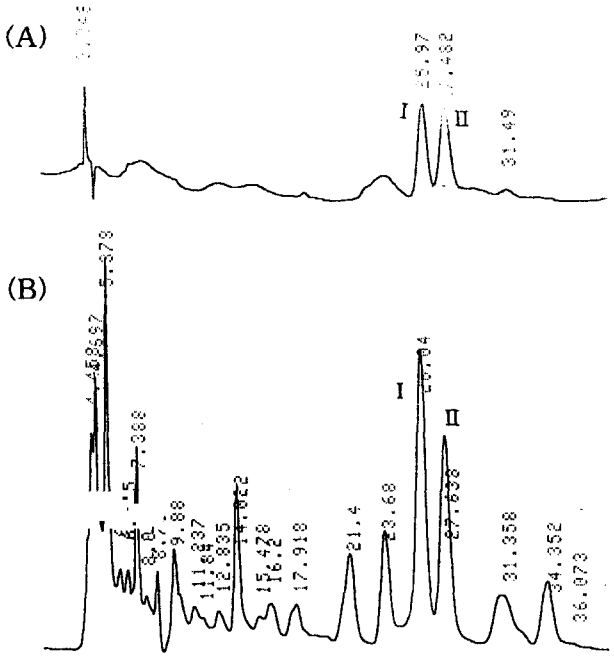

Fig. 2. HPLC chromatogram of nor-rubrofusarin-β-D-glucopyranoside and rubrofusarin-6-β-D-gentibioside standards (A) and 70% ethanol extract of *Cassia tora* L. seeds (B).

프리라디칼소거작용

DPPH(1,1-Diphenyl-2-picryl hydrazil)는 분자내 radical을 함유하고 있는데 이것이 다른 free radical들과 결합하여 안정한 complex를 만든다. 이때의 DPPH 거동은 hydroxyl radical과 유사하여 프리라디칼소거실험에 활용하였다.[7] 본 실험에서는 60 μM의 DPPH 2 ml에 sample의 소정농도용액 2 ml를 가하고 5분간 섞고 30분간 방치후 520 nm에서 측정하였다.

세포독성보호작용

CHL cell에 있어서의 H_2O_2의 세포독성에 대한 검체들의 효과를 MTT법[8]에 따라 microplate reader(Molecular Device, Spectra MAX 340)으로 측정하였다. 이때 CHL cell은 well당 25,000개로 하고 배지 80 μl중에서 24시간 배양후 H_2O_2 10 μl 및 검체 10 μl를 가하고 CO_2 incubator에서 20시간 더 배양하였다. 다음 MTT 시약 15 μl를 가하고 4시간 배양 후 DMSO를 200 μl를 가하고 녹인 후 570 nm에서 흡광도를 측정하였다.

마우스 소핵시험

In vivo micronucleus시험을 ICR mice(♂, 25~30 g)를 사용하여 실시하였으며 실험군당 마우스는 5마리로 하였다. 양성대조물질로서는 mitomycin C를 사용하였다. 마우스의 말초혈액중 reticulocyte를 이용하는 소핵실험을 실시하였다. 시험의 개요는 mitomycin C를 투여하고 48시간 후 꼬리정맥에서 말초혈액을 채취하여 이를 acridine orange가 coating 되어있는 슬라이드 상에 떨어뜨리고 커버슬라이드를 덮은 다음 형광현미경으로 망상적혈구(reticulocytes, RETs)중 소핵을 가진 망상적혈구(micronucleated reticulocytes, MNRETs)의 빈도를 관찰하였으며 이때 마우스 한마리당 1,000개의 RETs를 관찰하였다.[9]

한편, 유전독성억제실험을 위해서는 양성대조물질인 mitomycin C(1 mg/kg, i.p.)와 검체(0, 0.1, 1, 10 mg/kg)을 경구투여한 후 처음 투여 48시간 후 말초혈액을 채취하여 소핵시험을 실시하였다. 한편, 결명자추출물 500 mg/kg 또는 nor-rubrofusarin 100 mg/kg을 경구투여하여 그 자체의 소핵유발효과를 검정하였다.

통계처리

실험을 통하여 얻어지는 data들은 Student's t-test를 사용하여 유의성 검정을 행하였다.

실험결과

결명자추출물의 제조

결명자의 추출에 미치는 인자들의 영향을 알기 위하여 결명자분말(60 g)을 검체로 하여 에탄올수용액 600 ml로 에탄올의 농도를 달리하면서 추출하였다. 이때 에탄올 0% (수용액 100%)일 때는 1일 동안 끓였으며 30%, 70%, 100% 일때는 20°C에서 3일간 추출하였다. 추출액을 여과하고 감압농축하여 결명자추출물을 얻었다. Table 1에서 나타낸 것처럼 에탄올의 농도가 높아질수록 결명자추출물의 최종수율(%)는 낮아졌다. 한편, 결명자추출물 중 노르-루브로푸사린은 수용액 100%로 추출하였을 때는 미량 검출되었으나 70% 에탄올 및 100% 에탄올에서 함량이 높아졌다.

항산화효과

Table 2에 결명자추출물 및 노르-루브로푸사린의 항산화작용을 나타내었다. 표에서 볼 수 있듯이 결명자추출물은 추출용매의 에탄올함량이 높을수록 1 mg/ml와 0.01 mg/ml에서의 활성이 크게 나타났다. 70% 에탄올추출물의 경우는

Table 1. The effect of ethanol concentrations on the amount of extract of *Cassia tora* L. seeds and content of rubrofusarin glycosides

Ethanol (v/v %)	Extract (%)*	Content (%)*	
		nor-rubrofusarin	rubrofusarin
0	10.7	Not Detected	Not Detected
30	10.1	0.01	0.02
70	7.1	2.14	2.31
100	4.3	2.82	3.81

*Mean of two experiments.

Table 2. Antioxidative effect of Cassia tora extract and nor-rubrofusarin

Group	Treatment	[a]OD_{535} mean±S.D.	% Inhibition
Positive		0.310±0.100	
BHT	0.01 mg/ml	0.034±0.004**	89.0
	1 mg/ml	0.012±0.003**	96.1
Cassia tora L. seeds extracts			
water	0.01 mg/ml	0.275±0.066	11.3
	1 mg/ml	0.259±0.051	16.5
30% ethanol	0.01 mg/ml	0.259±0.017	16.5
	1 mg/ml	0.144±0.025*	53.5
70% ethanol	0.01 mg/ml	0.086±0.013*	72.3
	1 mg/ml	0.032±0.005**	89.7
nor-rubrofusarin			
10^{-6} M (0.0042 mg/ml)		0.294±0.006	5.2
10^{-5} M (0.042 mg/ml)		0.272±0.004	12.3
10^{-4} M (0.42 mg/ml)		0.268±0.025	13.5

[a]Mean of three experiments.
Significantly different from positive control(Student's t-test), *p<0.05, **p<0.01.

대조물질로 사용한 BHT보다는 낮았지만 매우 높은 항산화 활성을 나타내었다. 그러나 노르-루브로푸사린은 10^{-6} M~10^{-4} M 사이에서 비교적 약한 항산화활성을 나타내었으며 유의성은 없었다.

프리라디칼소거작용

Table 3에서 나타낸 것처럼 결명자추출물은 30% 에탄올 추출물보다 70% 에탄올추출물이 프리라디칼소거활성이 컸으며 처리농도 1 mg/ml에서 모두 유의성 있는 활성이 나타났다. 한편, 노르-루브로푸사린은 10^{-5} M~10^{-3} M 사이에서 용량의존적으로 프리라디칼소거작용을 나타내었으며 대조물질로 사용한 morin 보다는 활성이 훨씬 낮았지만 10^{-4} M과 10^{-5} M에서는 유의성있는 활성을 나타내었다.

세포독성보호효과(cyto-protective effect)

Table 4에 나타낸 것처럼 10^{-3} M H_2O_2 유도 세포독성에 대하여 결명자 70% 에탄올추출물은 5~100 μg/ml의 처리농도에서 무처리군에 비하여 세포생존율의 증가를 나타내었다. 결명자추출물의 경우 처리농도 25 ug/ml 이상에서는 다소 세포생존율이 저하되었으나 양성대조군보다는 높았다. 한편 노르-루브로푸사린도 같은 처리농도에서 용량의존적으로 세포생존율의 증가를 나타내었다. 그러나 이들의 세포생존율 증가는 *dl*-α-tocopherol보다는 다소 낮은 편이었다.

소핵생성억제효과

결명자 70% 에탄올추출물 및 노르-루브로푸사린의 항염

Table 3. Free radical scavenging effect of the extract of *Cassia tora* L. seeds and nor-rubrofusarin

Group	Treatment	[a]OD_{520} mean±S.D.	% Inhibition
Positive		0.449±0.011	
BHT	0.01 mg/ml	0.165±0.001**	63.3
	1 mg/ml	0.013±0.000**	97.1
Cassia tora L. seeds extracts			
water	0.01 mg/ml	0.432±0.004	3.8
	1 mg/ml	0.338±0.006**	24.7
30% ethanol	0.01 mg/ml	0.429±0.001	4.5
	1 mg/ml	0.383±0.004*	14.7
70% ethanol	0.01 mg/ml	0.415±0.002	7.6
	1 mg/ml	0.363±0.005*	19.1
nor-rubrofusarin			
10^{-5} M (0.0042 mg/ml)		0.417±0.041	7.1
10^{-4} M (0.042 mg/ml)		0.375±0.021*	16.5
10^{-3} M (0.42 mg/ml)		0.320±0.018**	28.7

[a]Mean of three experiments.
Significantly different from positive control(Student's t-test), *p<0.05, **p<0.01.

Table 4. Cyto-protective effect of the extract of *Cassia tora* L. seed and nor-rubrofusarin glucoside in CHL cells

Treatment1 (μg/ml)	Cell viability (%)[2] Mean±S.D.
Solvent control (2.5% DMSO)	100.0±0.0
Cassia tora L. seeds extract	
0	37.0±2.6
5	47.9±2.7*
1	57.2±12.4
25	47.0±15.6
50	45.6±2.2
100	39.0±8.2
nor-rubrofusarin	
0	30.6±6.4
5	40.7±1.5
10	36.7±0.9
25	36.9±6.3
50	39.9±6.3
100	43.6±15.7
dl-α-tocopherol	
0	30.9±6.0
5	43.3±4.1
10	44.9±1.2
25	48.1±2.6
50	58.3±2.4*
100	54.4±13.5

[1]CHL cells were treated with 10^{-3} M H_2O_2 and sample simultaneously.
[2]n=3, Significantly different from the positive control (10^{-3} M H_2O_2) group (Student's t-test).
*P<0.05, **P<0.01.

Table 5. The suppressive effect of *Cassia tora* L. seeds extract and nor-rubrofusarin against MMC-induced micronuclei in mouse peripheral blood

Treatment (mg/kg)[a] MMC (i.p.)+sample (p.o.)		MNRET/1,000 RET mean±S.D.	Suppression[b] (%)
Negative control		0.6±0.4	
MMC + Cassia tora L. 70% ethanol ext.			
1	0	30.2±1.8	
1	1	25.0±9.7**	17.2
1	10	13.2±4.8**	56.2
1	500	7.8±1.7**	74.0
0	500	1.4±0.2	
MMC + nor-rubrofusarin			
1	0	29.0±3.0	
1	0.01	19.6±2.1	28.3
1	0.1	5.6±0.7*	80.6
0	100	0.8±0.3	

[a]Sample (p.o.) was administrated with MMC (i.p.) simultaneously. Peripheral blood was collected 48 hrs after MMC treatment.
[b]n=5

색체손상효과를 표5에 나타내었다. 결명자추출물은 mitomycin C에 대하여 1 mg/kg(17.2%), 10 mg/kg(56.2%) 및 500 mg/kg(74.0%)에서 용량의존적인 유의성 있는 억제활성이 나타났다. 또한, 노르-루브로푸사린은 0.01 mg/kg(28.3 %) 및 0.1 mg/kg(80.6%)의 낮은 투여용량에서도 mitomycin C에 대한 소핵생성을 억제시켜 항염색체손상효과를 나타내었다. 한편, 결명자추출물과 노르-루브로푸사린은 각각 500 mg/kg과 100 mg/kg에서도 그 자체로서는 염색체손상성을 나타내지 않았다.

고 찰

결명자의 주요성분인 노르-루브로푸사린의 함량이 높은 추출물을 얻기 위하여 결명자분말을 0~100%의 에탄올수용액으로 추출하여 고농도의 노르-루브로푸사린을 함유하는 결명자추출물을 제조하였다. 실험결과 에탄올함량을 늘려 추출하였을 때 노르-루브로푸사린의 함량이 높아졌으나 추출물의 수율(%)은 떨어졌다. 70% 에탄올추출물의 경우 엑스함량 7.1%로서 비교적 다량의 추출물이 얻어졌으며 노르-루브로푸사린의 함량도 2.14%로서 높은 편이었다. 한편, 루브로푸사린의 함량도 2.31%로서 노르-루브로푸사린의 함량과 유사하였다.

본 연구에서는 결명자추출물과 추출물중 함유된 활성성분 중 노르-루브로푸사린의 항산화활성, 프리라디칼소거작용 및 항염색체손상효과를 확인하였다. 항산화작용에 있어서 결명자추출물들의 활성이 매우 높았으며 70% 에탄올추출물이 30% 에탄올추출물보다 활성이 높았다. 노르-루브로푸사린의 경우에는 비교적 낮은 처리농도(0.0042~0.42 mg/ml)임에도 활성이 나타났다. 프리라디칼소거작용에 있어서는 70%와 30% 에탄올에서 별 차이가 나타나지 않았으며 노르-루브로푸사린의 경우에 비교적 낮은 처리농도임에도 활성이 나타났다. 따라서 결명자추출물은 항산화작용이 강했으며 프리라디칼소거작용은 약한 반면에 노르-루브로푸사린은 항산화작용이 비교적 약했으나 프리라디칼소거작용은 강한 편이었다.

또한, H_2O_2 유도 세포독성에 대해서도 70% 결명자추출물과 노르-루브로푸사린은 처리농도에 따라 대부분 세포생존율의 증가를 나타내었다. DNA crosslinking agent 인 mitomycin C 유도 소핵생성에도 결명자 70% 에탄올추출물과 노르-루브로푸사린이 매우 높은 억제활성을 나타내고 있었으며 이들 자체의 소핵유발능은 없는 것으로 나타났다. 향후 이들물질의 항염색체손상효과를 면밀히 검토할 필요가 있다고 판단된다. 따라서 결명자추출물과 노르-루브로푸사린은 항산화활성과 프리라디칼소거작용을 가지고 있으며 hydroxyl radical($OH^{\cdot}$) 유도 세포독성에 대해서도 억제적으로 작용하여 세포의 산화적 손상을 억제하여 산화적 스트레스에 의한 노화와 암에 대한 예방제로서의 응용가능성이 높은 물질로 보인다.

최근까지 결명자추출물의 생물활성에 대한 연구는 간장보호효과,[10] 항고혈압작용,[11-13] 항진균작용[14] 등이 알려지고 있다. 특히, 노르-루브로푸사린을 비롯한 naphthopyrone glycoside들이 강한 프리라디칼소거능을 가지고 있으며[3] Ames test에서 aflatoxin B_1 유도 돌연변이에 대한 억제효과가 있음이 밝혀진 바있으며[4] 노르-루브로푸사린이 아질산염소거능이 ascorbic acid 보다 훨씬 크다는 것이 보고된 바있다.[5] 이같은 여러 연구에서 볼 때 결명자추출물과 노르-루브로푸사린은 항산화작용과 hydroxyl radical등을 소거함으로서 산화적 스트레스에 대한 보호작용을 하고 있다고 판단된다.

생체에서 생성된 $OH^{\cdot}$ hydroxyl radical 같은 reactive oxygen species(ROS)들은 반응성이 대단히 높다. 한편, 생체내의 superoxide dismutase(SOD)가 superoxide를 hydrogen peroxide로 변화시키고, catalase는 hydrogen peroxide를 제거한다. 한편 glutathione transferase와 glutathione peroxidase들은 친전자성 이물을 포합하여 해독하며 SOD에 의해 생성된 peroxides를 제거한다. 그러나 생체내에서 완화한 oxidative stress가 일어나면 세포들은 이러한 항산화기전을 가동하여 반응하지만 심한 oxidative stress는 세포상해를 일으키며 necrosis와 apoptosis로 발전된다.[16]

따라서, ROS에 의한 oxidative DNA damage는 암(cancer)과 노화(aging)와 관련이 깊다. 이들은 point mutation이나 deletion을 포함하는 돌연변이를 nuclear DNA에서 일으키며 mitochodrial DNA에서의 oxidative damage는 노화세포에서의 에너지결핍을 일으켜 나이에 따라 돌연변이의 축적이 일어난다. 따라서 DNA 수복의 결핍은 세포사를 일으키고 이것은 인접세포들에 있어서 carcinogenesis로의 촉진적 자극을 일으키게 한다.[17]

이와 같은 결과들을 종합해볼 때 결명자추출물과 주요 함유성분인 노르-루브로푸사린은 항산화활성과 프리라디칼소거작용을 가지고 있으며, H_2O_2 유도 세포독성에 대해서도 억제적으로 작용하여 cyto-protective effect를 나타내었다. 또한 DNA crosslinking agent인 mitomycin C 유도 소핵생성에도 결명자 70% 에탄올추출물과 노르-루브로푸사린이 매우 높은 억제활성을 나타내고 있다. 따라서 결명자추출물과 노르-루브로푸사린은 산소프리라디칼들에 의한 산화적 손상 및 DNA 손상 등에 억제적으로 작용하는 기전을 활용하여 항산화성 스트레스를 통한 항노화, 암예방제로서의 응용가능성이 높은 물질로 판단되었다.

국문요약

결명자의 주요성분인 노르-루브로푸사린의 함량이 높은 추출물을 얻기 위하여 결명자분말을 0~100%의 에탄올수용액으로 추출하여 고농도의 노르-루브로푸사린을 함유하는 결명자추출물을 제조하였다. 결명자추출물과 주요 함유성분인 노르-루브로푸사린은 항산화활성과 프리라디칼소거작용을 나타내었으며, H_2O_2 유도 세포독성에 대해서도 억제적으로 작용하여 cyto-protective effect를 나타내었다. 또한 DNA crosslinking agent 인 mitomycin C 유도 소핵생성에도 결명자 70% 에탄올추출물과 노르-루브로푸사린이 매우 높은 억제활성을 나타내었다. 따라서 결명자추출물과 노르-루브로푸사린은 산소라디칼들에 의한 산화적 손상 및 DNA 손상 등에 억제적으로 작용하는 기전을 활용하여 항산화성 스트레스를 통한 항노화, 암예방제로서의 응용가능성이 높은 물질로 판단되었다.

참고문헌

1. Namba, T.: Colored Illustrations of Wakan-Yaku, Hoikusha Publishing Co. Ltd., Vol. 1, pp.226 (1980).
2. Kimura, Y., Takido, M. and Takahashi, S.: Studies on the constituents of the seeds of Cassia obtusofolia Linne. N. The structure of new glucoside, cassiaside (nor-rubrofusarin-6-β-D-glucoside), *Yakugaku Zasshi*, **86**, 1087-1089 (1966).
3. Choi, J.S., Lee, H.J. and Kang, S.S.: Alaternin, cassiaside and rubrofusarin-gentibioside, radical scavenging principles from the seeds of Cassia tora on 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) radical, *Arch. Pharm. Res.*, **17**, 462-466 (1994).
4. Choi, J.S., Lee, H.J, Ha J.O., Park, K.O. and Kang, S.S.: Antimutagenic effects of anthraquinones and naphthopyrone glycosides from Cassia tora, *Planta Med.*, **63**, 11-14 (1997).
5. Kitta, K., Hagiwara, Y. and Shibamoto, T.: Antioxidative activity of an isoflavonoid, 2"-o-glycosylisovitexin isolated from green barlet leaves, *J. Agric. Food Chem.*, **40**, 1843 (1992).
6. Ohtka, H., Ohishi, N. and Yaki, K.: Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction, *Anal. Biochem.*, **95**, 351 (1979).
7. Fugita, Y., Uera, I., Morimoto, Y., Nakajima, M., Hatano, C. and Okuda, T.: Studies on inhibition mechanism of auto-oxidation by tannins and flavonoids, *Yakugaku Zasshi*, **108**, 129 (1988).
8. Cole, S.P.C.: Rapid chemosensitivity testing of human lung tumor cells using the MTT assay, *Cancer Chemother. Pharmacol.*, **17**, 259 (1986).
9. Hayashi, M., Morita, T., Kodama, Y., Sofuni, T. and Ishidate, Jr., M.: The micronucleus assay with peripheral blood reticulocytes using acridine orange-coated slides, *Mutation. Res.*, **278**, 209-213 (1990).
10. Wong, S.M., Wong, M.M., Seligmann, O. and Wagner, H.: New antihepatotoxic naphthopyrone glycosides from the seeds of *Cassia tora*, *Planta Med.*, **55**, 276-280 (1989).
11. Chan, S.H. Koo, A. and Li, K.M.: The involvement of medullary reticular formation in the hypotensive effect of extracts from seeds of Cassia tora, *Am. J. Chin. Med.*, **4**, 383-389 (1976).
12. Koo, A., Chan, W.S. and Li, K.M.: A possible reflex mechanism of hypotensive action of extract from *Cassia tora* seeds, *Am. J. Chin. Med.*, **4**, 249-255 (1976).
13. Koo, A., Wang, J.C. and Li, K.M.: Extraction of hypotensive principles from seeds of *Cassia tora*, *Am. J. Chin. Med.*, **4**, 245-248 (1976).
14. Acharya, T. K. and Chatterjee, I. B.: Isolation of chrysophanic acid-9-anthrone, the major antifungal principle of *Cassia tora, Lioydia*, **38**, 218-220 (1975).
15. 박영범, 이태기, 김외경, 도정룡, 여생규, 박영호, 김선봉: 결명자추출물의 아질산염 소거인자의 특성, 한국식품위생학회 학술대회발표논문초록집, pp.73 (1995).
16. Chance, B.. Siers, H. and Boveris, A.: Hydroperoxide metabolism in mammalian organs, *Phys. Rev.*, **59**, 527 (1979).
17. Ames, B.N.: Endogeneous DNA damage as related to cancer and aging, *Mutation Res.*, **214**, 41 (1989).