

시판 갈근탕의 항산화능의 비교

김동렬 · 곽결순 · 정석문 · 이승철 · 하정욱[†]

경남대학교 생명과학부 식품생물공학전공

Comparison of the Antioxidative Abilities of Commercial Gal Geun Tang

Dong-Ryul Kim, Gael-Sun Kwak, Seok-Moon Jeong, Seung-Cheol Lee and Jung-Uk Ha[†]

Dept. of Food Science and Biotechnology, Kyungnam University, Masan 631-701, Korea

Abstract

Each 3 g of five different commercial Gal Geun Tang extractive granules was mixed with 97 mL of methanol or water for 1.5 hour at room temperature and filtered through a Whatman No. 1 filter paper, and the filtrate was used to determine antioxidant activity. Antioxidative abilities of each extracts were compared by measuring total phenol content (TPC), electron donating ability (EDA), inhibition of lipid peroxidation, and reducing power. Average TPC of methanol extracts from five samples was 0.14 mM within the range of 0.07~0.23 mM, while that of water extracts was 0.23 mM, higher than that of methanol extracts. Average EDA of the methanol extracts was 85.54%, higher than that of the 0.1% BHT (72.26%). Average EDA values of the water extracts were 69.7%. Average value of inhibition against lipid peroxidation of the methanol extracts was 26.95%, and the range of five samples was 17.02~37.36%. Inhibition against lipid peroxidation of the water extracts showed relatively low value, 18.62%. Reducing power of the methanol extracts was 0.77 unit, which was 73.1% of 0.1% BHT, and that of water extracts was 0.88 unit. These results indicate that commercial Gal Geun Tang shows high antioxidant ability, though there are some differences depending on extract solvent and manufacturing company.

Key words: Gal Geun Tang, antioxidant ability, total phenol content

서 론

갈근탕은 한방에서는 약 2천년 전부터 사용해 오고 있는 약제로서(1), 오늘날에도 처방과 용법이 거의 변함없이 사용되고 있다. 상한론(傷寒論)(2)에 의하면 “태양병으로 항배(목뿔부분)가 경직되면서 땀이 없고 오풍하는 것은 갈근탕으로 주로 치료할 수 있다”고 하였고, 금궤요략(金匱要略)(3)에서도 “태양병으로 땀이 나지 않음에도 불구하고 소변이 오히려 적고 기가 가슴에까지 뻗혀 올라 말을 할 수가 없고 강경을 일으키는 증상은 갈근탕으로 주로 치료 가능하다”고 서술되어 있다.

갈근탕은 갈근(12.0%), 마황(6.0%), 생강(6.0%), 대추(6.0%), 작약(4.0%), 계지(4.0%), 감초(4.0%) 등의 생약재료로 구성되어 있다(4). 주성분인 갈근(*Puerarie radix*)은 콩과에 속하는 낙엽성 다년생 덩굴식물로 산과 들에 널리 자생하고 있으며, 주로 한국, 중국, 대만, 일본 등지에 분포하고 있다. 갈근의 효과에 대해서 한방에서는 숙취, 감기, 해열, 진통약으로 쓰이며, 하혈, 구갈 및 두통을 다스리는 것으로 되어 있다.

또한 꽃과 뿌리를 함께 달여 마시면 술 중독을 비롯한 여러 가지 중독증상에 특효가 있다고 하였다(5,6). 갈근의 약리 성분으로서 flavonoid계 화합물인 daidzein과 gesterin, puerarol, kaldonein 등이 잘 알려져 있다(7-12). Flavonoid 화합물은 alcohol dehydrogenase와 mitochondrial dehydrogenase의 저해제로 알려져 있고(12,13), 배당체인 pueraria glycoside는 지질과산화를 억제하고(13) 항산화작용과 보간 작용이 있는 것으로도 알려져 있다(14,15).

근래들어 생약제제에 대한 관심이 크게 높아지고 있는 추세와 더불어 갈근탕이 보다 간편하게 이용될 수 있도록 추출액을 조제하여 과립제, 산제, 환제 또는 액제 형태 등의 다양한 제품들이 여러 제약회사에 의해 일반약품으로 생산되어 약국이나 한의원 등 의료기관에 공급되고 있으나, 제조회사별로 제품의 약효능에 대한 비교나 제품형태별 비교가 거의 되어 있지 않다. 본 연구에서는 국내에서 시판중인 대표적인 갈근탕의 과립제를 대상으로 지질의 과산화작용 억제기능, 페놀화합물의 함량, 전자공여능, 항산화작용, 환원력 등을 비교분석하여 그 결과를 보고하고자 한다.

[†]Corresponding author. E-mail: juha@kyungnam.ac.kr
Phone: 82-55-249-2686, Fax: 82-55-249-2995

재료 및 방법

갈근탕

본 실험에 사용된 갈근탕 엑스과립(extractive granule)은 식품의약품안전청(KFDA) 규격기준에 의한 생약제제 중 일반의약품(분류번호 114번)으로서, 우수약품 제조관리기준(KGMP) 시설을 완전히 갖춘 대표적인 제약회사 중 5개 회사를 선별하여 이들 회사의 500 g용 규격 제품을 마산과 창원 일원의 약국에서 구입하였으며, 유통기한 이내의 것을 사용하였다. 각 회사의 갈근탕에 대한 1회 용량(1포) 중 포함된 재료는 Table 1에 표시된 바와 같이 모두 동일하였다.

분석시약

본 실험에 사용된 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl(DPPH), butylated hydroxytoluene(BHT), 2-thiobarbituric acid(TBA), tannic acid, linoleic acid 등은 Sigma Chemical Co.(St. Louis, MO, USA)에서 구입하였으며, sodium ascorbate, sodium carbonate, Folin-Ciocalteu phenol 시약, maleic acid, Tween-20, hydrochloric acid, trichloroacetic acid, iron(II) chloride, iron(III) chloride, potassium ferricyanide, potassium dihydrogen phosphate, sodium hydrogen phosphate 등의 분석용 시약은 특급 이상을 구입하여 사용하였다.

용매 추출에 의한 시료액 조제

갈근탕 엑스과립 3 g을 물과 메탄올 97 mL를 각각 추출용매로 하여 상온에서 1시간 30분 동안 추출한 다음 Whatman No. 1 거름종이로 1차 거른 후, 다시 Whatman nylon membrane 거름종이(0.2 µm)로 거른 액을 각각 물 추출물 시료액과 메탄올 추출물 시료액으로 하였다. 대조구는 메탄올 추출물에 대해서는 0.1% BHT 용액에 의하였고, 물 추출물에 대해서는 0.1% 아스코르브산 용액으로 실시하여 실험항목별로 비교 분석하였다.

총 페놀 함량의 측정

총 페놀 함량(total phenol content)은 Slinkard와 Singleton(16)의 방법을 약간 변형하여 측정하였다. 즉, 시료액 1 mL에 2% Na₂CO₃ 용액 1 mL를 가하여 3분간 방치한 다음 50%

Folin-Ciocalteu 시약 0.2 mL를 가하여 상온에서 30분간 발색시킨 후 13,500×g에서 5분간 원심분리하여 상정액을 취하여 750 nm에서의 흡광도를 측정하였다. 시료액 중의 총 페놀 함량은 표준물질인 tannic acid에 의해 작성된 표준곡선을 이용하여 나타내었다.

전자공여능의 측정

전자공여능(EDA, electron donating ability)은 Blois(17) 및 Chen과 Ho(18)의 방법에 준하여 DPPH 라디칼을 이용하여 측정하였다. 시료액 0.2 mL에 0.041 mM의 DPPH 용액 1.0 mL를 가한 후 10초 동안 진탕 혼합하고 10분간 반응시킨 다음 525 nm에서 흡광도를 측정하였다. 전자공여능은 다음 식에 의해 계산하여 백분율로 나타내었다.

$$EDA(\%) = 1 - \frac{S}{B} \times 100$$

S: 시료액의 흡광도, B: 바탕시험의 흡광도

과산화물 생성 억제의 측정

0.1 M maleic acid 완충용액(pH 6.0) 8 mL에 Tween-20 0.5 mL와 fish oil 0.5 mL를 가하여 교반해 주면서 0.1 N HCl 용액으로 pH 6.5으로 조정하고 증류수로 100 mL로 정용하여 emulsion을 만들었다. TCA/TBA 시약은 15.0%(w/v) TCA 수용액, 0.375%(w/v) TBA 수용액 및 0.25 N HCl 용액을 혼합하여 조제하였다. Buege와 Aust의 방법(19)에 따라 증류수 0.3 mL와 emulsion 0.5 mL, 산화촉진제(50 ppm FeCl₂) 0.1 mL, 시료액 0.1 mL를 신속하게 혼합하여 반응액 1.0 mL를 제조하였다. 반응액 1.0 mL를 37°C의 항온수조에서 1시간 동안 반응시키고, 7.2% BHT 50 µL를 반응액에 첨가하여 산화반응을 정지시켰다. 여기에 TCA/TBA 시약 2.0 mL를 가하여 끓는 물에서 15분 동안 가열한 후 찬물로 냉각하고 13,500×g에서 5분간 원심분리한 다음 532 nm에서 상정액의 흡광도를 측정하였다. 지질에 대한 과산화도 평가는 활성산소에 의해 유발되는 지질의 과산화를 대조군과 비교함으로써 시료 추출물이 억제하는 비율을 저해율(%)로 나타내었다.

환원력의 측정

환원력은 Oyaizu(20)의 방법에 따라 측정하였는데, 시료액 1 mL에 200 mL phosphate 완충용액(pH 6.6) 1 mL와 1% 페리시안화칼륨 1 mL를 가해 충분히 혼합한 다음 50°C에서 20분 동안 반응시킨 후에 10% TCA 용액 1 mL를 첨가하고 13,500×g에서 5분간 원심분리하고, 이 상정액 1 mL에 증류수 1 mL과 염화철(III) 용액 0.1 mL를 가해 혼합한 다음 700 nm에서 흡광도를 측정하여 환원력으로 나타내었다.

통계처리

갈근탕으로부터 조제된 물과 메탄올 추출물의 항산화능의 측정은 시료별로 3회씩 측정하였으며, 모든 실험결과 이들 측정값에 대한 평균값과 표준편차로 나타내어 비교하였다.

Table 1. Commercial formula of Gal Geun Tang

Ingredients	Content (g)
<i>Puerariae radix</i>	2.67
<i>Ephedrae herba</i>	1.33 ¹⁾
<i>Zyziphi fructus</i>	1.33
<i>Cinnamoni ramulus</i>	1.00
<i>Paeoniae radix</i>	1.00 ²⁾
<i>Glycyrrhizae radix</i>	0.67 ³⁾
<i>Zingiberis rhizima</i>	0.33
Dried extract	1.21~1.82

¹⁾Equivalent to 8.0 mg of ephedrine.

²⁾Equivalent to 20.0 mg of paeonifloric acid.

³⁾Equivalent to 13.4 mg of glycyrrhizic acid.

결과 및 고찰

총 페놀 화합물의 함량

폴리페놀 화합물은 식물계에 널리 분포되어 있는 2차 대사 산물의 하나로서 flavonoid류, catechin류, tannin류 등으로 크게 구분된다. 이들 화합물은 항산화 작용(21,22), 항혈전 작용(23), 고지혈증 억제작용(24,25) 및 지방간 억제작용(26) 등의 활성을 가진다고 보고되어 있다. 특히, 식품 중에 존재하는 페놀계 물질들은 일반적으로 수소공여능이 있어 항산화 작용을 나타내는 물질이 많고, nitrosoamine의 생성을 억제하는 것으로 알려져 있다. 갈근에도 daidzin, puerarin, puerarin-7-xyloside 등의 flavonoid류 페놀 화합물이 존재한다고 보고되고 있다(7-12). 갈근에 존재하는 페놀 성분들은 식물계에 널리 분포되어 있는 황색색소 성분으로 superoxide anion(27,28), hydroxy radical 및 peroxy radical(29,30)의 생성억제를 통해 지질의 과산화를 억제하는 기능이 알려져 있으며(31,32) 특히 daidzin, puerarin 등의 페놀 화합물들은 혈장 저밀도 지단백질(LDL)에 대한 탁월한 항산화 능력이 보고되었다(33,34). 체내에 흡수된 flavonoid는 폴리페놀기가 절단되어 활성형의 배당체로 전환되어 생리활성을 나타낸다.

시판 갈근탕의 메탄올 추출물과 물 추출물의 총 페놀 물질을 정량한 결과를 Fig. 1에 나타내었다. 5개 회사의 시판 갈근탕의 메탄올 추출물의 경우 평균 0.14 mM의 총 페놀 함량을 보였으나, 회사에 따라 0.07 mM에서 0.23 mM의 범위를 보였다. 물 추출물의 총 페놀 함량은 5개 제품의 평균값이 0.23 mM로서 메탄올 추출물에 비해 상당히 높은 함량을 보였다. 이는 시판 갈근탕이 고온의 물로 재료의 약효 성분을 추출하여 제조한 것이므로 수용성이 높은 것으로 생각된다. 제품별로는 0.12 mM에서 0.28 mM로 메탄올 추출물에 비해 비교적 고른 분포를 보였다.

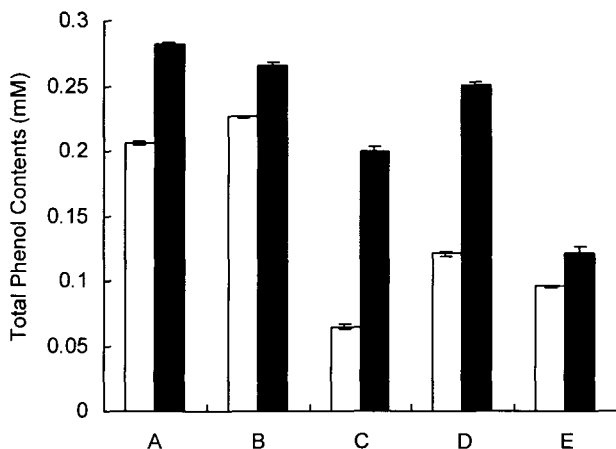


Fig. 1. Total phenol content of methanol extracts and water extracts from 5 different commercial Gal Geun Tang granules.

Each bar is the mean of three different replicates with the standard deviation. □, methanol extracts; ■, water extracts.

전자공여능

DPPH는 분자내에 안정한 라디칼을 함유하지만, 항산화 활성이 있는 물질과 만나면 라디칼이 소거되며 이 때의 DPPH의 거동은 ·OH과 유사하다. 이런 DPPH 라디칼을 이용하여 일정량의 시료 용액과의 반응에 의하여 DPPH 라디칼이 감소하는 정도를 분광광도계로 측정하여 시료의 항산화 활성을 측정하는 방법으로 이용할 수 있다(35).

지방의 산화억제와 항노화, 항산화 작용과 관련된 전자공여능을 시판 갈근탕의 메탄올 추출물과 물 추출물 시료에 대하여 측정하였다(Fig. 2). 메탄올 추출물의 평균 전자공여능은 85.54%로서, 대조구인 0.1% BHA의 72.26%에 비해 높은 수치를 나타내었다. 총 페놀 함량은 대조구에 비해 낮지만(Fig. 1) 전자공여능은 높다는 것은 페놀 화합물 이외의 항산화 물질이 존재하거나, 페놀 화합물 간의 상승 효과를 생각할 수 있다. 한편, 시료 간 전자공여능의 편차는 최저 83.61%, 최고 88.84%로 총 페놀 함량의 편차보다는 적게 측정되었다. 물 추출물의 전자공여능은 대조구(0.1% 아스코르브산)에 비하여(92.70%) 갈근탕의 평균값은 69.70%으로 상대적으로 낮게 나타났다. 또한, 물 추출물의 전자공여능은 메탄올 추출물보다 편차가 심하여 최저 58.8%로부터 80.32%로 측정되었다.

Ha 등(36)은 갈근의 메탄올 추출물이 물 추출물에 비하여 약 3배 정도의 전자공여능이 있다고 보고하였다. Do 등(37)에 의하면 전통 기호음료 성분의 전자공여 작용은 오갈피, 모과, 생강 등은 37.6~79.6%로 나타나 시료별로 다양하였다. 시료에 대한 추출 방법 및 추출 용매는 전자공여능에 많은 영향을 줄 수 있다.

지질 과산화 저해율

지질의 과산화에 대한 갈근탕 추출물의 저해율을 Fig. 3에 나타내었다. 대조구(0.1% BHT)에 비하여(74.35%) 메탄올

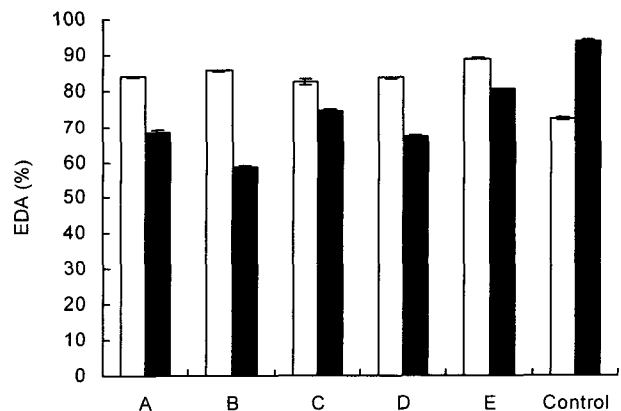


Fig. 2. Electron donating ability (EDA) of methanol extracts and water extracts from 5 different commercial Gal Geun Tang granules.

Each bar is the mean of three different replicates with the standard deviation. □, methanol extracts; ■, water extracts. In Control group, □ is EDA of 0.1% BHT in methanol solution, and ■ is that of 0.1% ascorbic acid solution in water.

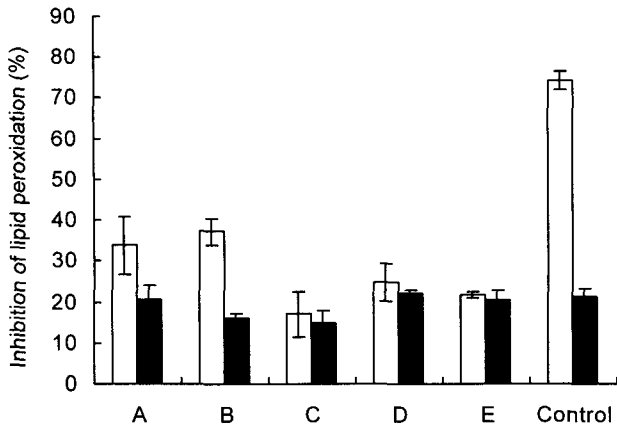


Fig. 3. Inhibition of lipid peroxidation of methanol extracts and water extracts from 5 different commercial Gal Geun Tang granules.

Each bar is the mean of three different replicates with the standard deviation. □, methanol extracts; ■, water extracts. In Control group, □ is that of measured with 0.1% BHT in methanol solution, and ■ is with 0.1% ascorbic acid solution in water.

추출물의 평균 저해율은 26.95%로 매우 낮게 측정되었다. 특히 시료 C는 17.02% 수준으로 매우 낮은 추세를 나타내었다. 다른 시료들도 시료 E와 시료 D의 21.76% 및 24.7% 등으로 상당히 낮은 저해율을 나타내었으며, 시료 A와 시료 B가 대조구에 비해 절반 정도의 과산화 저해율을 나타내었다. 한편, 물 추출물에 의한 지질과산화 저해율을 보면, 대조구(0.1% 아스코르브산)의 21.54% 자체가 매우 낮은 수준의 저해율을 보였으며, 5개사의 평균값이 18.62%로 대조구와는 큰 차이를 나타내지는 않았다. 시료 중 특히 시료 C와 시료 B가 15.06% 및 16.19%로 비교적 낮은 저해율을 나타내었는데, 특히 시료 C는 총페놀 함량 면에서도 비슷한 경향임을 알 수 있으나, 나머지 시료들은 대조구와 거의 비슷한 경향임을 알 수 있었다.

환원력

환원력은 항산화력과 밀접한 관계에 있으며, 일반적으로 reductone의 존재와 연관이 있다(38). 시판 갈근탕의 메탄올 추출물과 물 추출물 시료에 대하여 환원력을 측정하였다 (Fig. 4). Methanol 추출물의 환원력을 대조구와 비교해 보면 대조구의 환원력이 1.05 단위를 나타낸 데 비해 5개로부터의 시료들의 평균 환원력이 0.77로 대체로 73.1% 수준을 나타내었으며, 특히 시료 C는 나머지 시료들에 비해 현저하게 저조한 환원력을 나타내었음을 알 수 있다. 이 시료를 제외한 나머지 시료들은 거의 80% 이상의 환원력을 보인 점에서 비교적 우수하다는 평가를 내릴 수 있다고 생각된다. 물추출물의 환원력은 Fig. 4에 나타난 것과 같은데, 대조구(0.1% 아스코르브산)의 1.17 단위에 비교해 볼 때 5개사의 시료들이 나타내는 평균값은 0.88 단위로 약 75% 수준에 달하였다. 5개사 시료 중 특히 시료 E는 0.74 단위로 비교적 낮은 환원력을 보인 데 비해 나머지 4개 사의 시료들은 거의 0.90 단위 수준에서 비슷한 경향을 나타내었다.

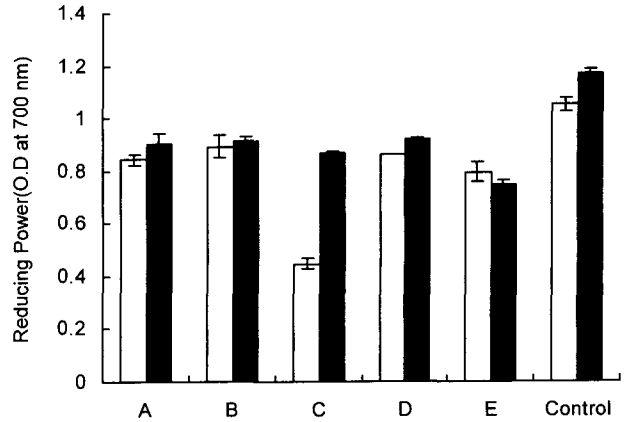


Fig. 4. Reducing power of methanol extracts and water extracts from 5 different commercial Gal Geun Tang granules.

Data show the mean ± SD of three independent measurements. Vertical bars represent standard deviation (n=3). □, methanol extracts; ■, water extracts. In Control group, □ is reducing power of 0.1% BHT in methanol solution, and ■ is that of 0.1% ascorbic acid solution in water.

요 약

5개 회사의 시판 갈근탕 엑스과립 3 g에 물과 메탄올 97 mL를 각각 추출용매로 하여 추출물을 조제한 다음 항산화능을 비교 조사하였다. 탄닌산을 기준으로 하여 측정된 총페놀 함량은 메탄올 추출물의 경우 평균 0.14 mM이었고, 제조회사에 따라 0.07 mM에서 0.23 mM의 범위를 보였다. 물 추출물의 총페놀 함량은 5개 제품의 평균값이 0.23 mM로서 메탄올 추출물에 비해 상당히 높았고, 0.12 mM에서 0.28 mM의 분포를 나타내었다. DPPH에 대한 전자공여능은 메탄올 추출물의 평균값이 85.54%로 대조구인 0.1% BHA의 72.26%보다 높은 수준을 보였고, 물 추출물의 평균값은 69.7%로서 대조구인 0.1% 아스코르브산의 92.7%에 비해 낮게 측정되었다. TBARS 측정에 의한 지질 과산화 저해율은 메탄올 추출물의 평균 저해율은 26.95%이었고, 전체적으로 17.02~37.36%의 범위를 보였다. 한편 물 추출물의 지질 과산화 저해율은 평균 18.62%로 메탄올 추출물에 비해 낮게 측정되었다. 또한, 메탄올 추출물의 환원력 평균값은 0.77 단위로 대조구의 환원력 1.05 단위의 73.1% 수준이었고, 물 추출물은 평균 0.88 단위이었다. 따라서, 시판 갈근탕 엑스과립은 제조 회사와 추출용매에 따라 항산화능의 차이가 나타남을 알 수 있었다.

감사의 글

본 연구는 2002학년도 경남대학교 학술논문게재연구비 지원으로 이루어졌으며, 이에 감사드립니다.

문 헌

1. Kwon CH. 1974. Effect of Gal Geun Tang upon stress re-

- sistance of rat. *Bull K H Pharma Sci* 2: 53-58.
2. Chai IS. 2000. *Sang Han Ron Yeok Jeong*. Gomoonsa, Seoul. p 329.
 3. Park HJ. 1978. *Kum Kue Yo Ryak*. Seowondang, Seoul. p 83.
 4. Park YK, Kwon CH. 1976. Studies on the effects of species *Puerariae* (Gal Gun Tang) on metabolic enzyme activity of pyrexic rat livers. *Bull K H Pharma Sci* 4: 5-10.
 5. Hur J. 1984. *Dong Ui Bo Gam*. Namsandang, Seoul. Vol 3, p 1190.
 6. Lee SJ. 1980. *Bon Cho Gang Mok*. Gomoonsa, Seoul. Vol 18, p 740.
 7. Kitagawa I, Fukuda Y, Taniyama T, Yoshikawa M. 1995. Chemical studies on crude drug processing. X. On the constituents of rehmanniae radix, comparison of the constituents of various rehmanniae radices originating in China, Korea, and Japan. *Yakugaku Zasshi* 115: 992-1003.
 8. Hayakawa J, Noda N, Yamada S, Uno K. 1984. Studies on physical and chemical quality evaluation of crude drug preparation I. Analysis of *Pueraria radix* and species *Puerarie*. *Yudagaku Zasshi* 104: 50-56.
 9. Liu S, Wang J, Liu C, Wen G, Liu Y. 1998. A study on processing of the root of *Pueraria lobata* (Willd.) ohwi by HPLC. *Zhongguo Zhong Yao Za Zhi* 23: 723-725, 763-764.
 10. Ohshima Y, Okuyama T, Takahashi K, Takizawa T, Shibata S. 1988. Isolation and high performance liquid chromatography (HPLC) of isoflavonoids from the *Pueraria* root. *Planta Med* 54: 250-254.
 11. Keung WM, Vallee BB. 1993. Biochemical studies of a new class of alcohol dehydrogenase inhibitors from *Puerariae radix*. *Alcohol Clin Exp Res* 17: 1254-1260.
 12. Keung WM, Vallee BB. 1993. Daidzin, a potent selective inhibitor of human mitochondrial aldehyde dehydrogenase. *Proc Natl Acad Sci USA* 90: 1247-1251.
 13. Sato T, Kawamoto A, Tamura A, Tatsumi Y, Fujii T. 1992. Mechanism of antioxidant action of pueraria glycoside (PG)-1 (an isoflavonoid) and mangiferin (a xanthonoid). *Chem Pharm Bull*, Tokyo Japan 40: 721-724.
 14. Keung WM, Vallee BL. 1998. Kudzu root, an ancient Chinese source of modern antidipsotropic agents. *Phytochemistry* 47: 499-506.
 15. Kurihara T, Kikuchi M. 1975. Studies on the constituents of flowers. V. On the components of flower of *Pueraria thunbergiana* benth. (2) Isolation of a new isoflavone glycoside. *Yakugaku Zasshi* 95: 1283-1285.
 16. Slinkard K, Singleton VL. 1977. Total phenol analyses, automation and comparison with manual methods. *Am J Enol Viticult* 28: 49-55.
 17. Blois MS. 1958. Antioxidant determination by the use of a stable free radical. *Nature* 181: 1199-1200.
 18. Chen JH, Ho CT. 1997. Antioxidant activities of caffeic acid and its related hydroxycinnamic acid compounds. *J Agric Food Chem* 45: 2374-2378.
 19. Buege JA, Aust SD. 1978. Microsomal lipid peroxidation. *Methods Enzymol* 52: 302-310.
 20. Oyaizu M. 1986. Studies on product of browning reaction prepared from glucose amine. *Jap J Nutr* 44: 307-315.
 21. Papadopoulos G, Boskou D. 1991. Antioxidant effect of natural phenols on olive oil. *J Am Oil Chem Soc* 68: 669-675.
 22. Laughton MJ, Evans PJ, Moroney MA, Hault JRS, Halliwell B. 1981. Inhibition of mammalian 5-lipoxygenase and cyclooxygenase by flavonoids and phenolic dietary additives: relationship to antioxidant activity and to iron ion reducing ability. *Biochem Pharm* 42: 1673-1681.
 23. Basarkar PW, Nath N. 1981. Cholesterol lowering action of vitamin P-like compounds in rats. *Indian J Exp Biol* 19: 787-789.
 24. Matsumoto N, Okushio K, Hara Y. 1998. Effect of black tea polyphenols on plasma lipids in cholesterol fed rats. *J Nutr Sci Vitaminol* 44: 337-342.
 25. Yugarani T, Tan BKH, Teh M, Das NP. 1992. Effects polyphenolic natural products on the lipid profiles of rats fed high fat diets. *Lipids* 27: 181-186.
 26. Cha JY, Mameda Y, Furukawa J, Rhaman M, Anno N, Yanagita T. 1997. Preventive effect of hesperetin on orotic acid-induced fatty liver. *51th Ann Conference Jpn Soc Nutr Food Sci* Tokyo Japan. p 114.
 27. Hanasaki Y, Ogawa S, Fukui G. 1994. The correlation between active oxygens scavenging and antioxidative effects of flavonoids. *Free Radical Biol Med* 16: 845-850.
 28. Robak J, Gryglewski RJ. 1988. Flavonoids are scavengers of superoxide anions. *Biochem Pharmacol* 37: 837-841.
 29. Masataka Y, Keiko M. Interaction of iron with polyphenolic compounds, application to antioxidant characterization. *Anal Biochem* 257: 40-44.
 30. Gao Z, Huang K, Yang X, Xu H. 1999. Free radical scavenging and antioxidant activities of flavonoids extracted from the radix of *Scutellaria baicalensis* Georgi. *Biochim Biophys Acta* 16 1472: 643-650.
 31. Morel I, Lescoat G, Cogrel P, Sergent O, Padeloup N, Brissot P, Cillard J, Cillard P. 1993. Antioxidant and iron-chelating activities of the flavonoids catechin, quercetin and diosmetin on iron-loaded rat hepatocyte cultures. *Biochem Pharmacol* 45: 13-19.
 32. Das NP, Ratty AK. 1986. Effects of flavonoids on induced non-enzymic lipid peroxidation. In *Plant flavonoids in biology and medicine, Biochemical pharmacological and structure-activity relationships*. Alan R, ed. Liss, New York, USA. p 243.
 33. Frankel EN, Kanner J, German JB, Parks E, Kinsella JE. 1993. Inhibition of human low density lipoprotein by phenolic substances in red wine. *Cancer* 341: 454-457.
 34. Havsteen B. 1983. Flavonoids, a class of natural products of high pharmacological potency. *Biochem Pharmacol* 32: 1141-1148.
 35. Kang MH, Park CG, Cha MS, Seong NS, Chung HK, Lee JB. 2001. Component characteristics of each extract prepared by different extract methods from by-products of *Glycyrrhiza uralensis*. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 30: 138-142.
 36. Ha JU, Ryu YK, Park HJ. 2001. Nitrite scavenging ability and antioxidative activity of water extract and ethanol extract from *Cassia tora* L. and *Pueraria thunbergiana*. *Korean J Food Sci Ani Resour* 21: 1-9.
 37. Do JR, Kim SB, Park YH, Choi JS, Park YB, Choi JS, Kim DS. 1993. The nitro-scavenging effects by the component of *Cassiae torae* semen. *Korean J Food Sci Technol* 25: 526-529.
 38. Yoshino M, Murakami K. 1998. Interaction of iron with polyphenolic compounds, application to antioxidant characterization. *Anal Biochem* 257: 40-44.