

추출용매 비에 따른 백부자(*Aconiti koreani Rhizoma*) 추출물의 항균효과 및 항산화효과

윤소정 · 김정환 · 이경환 · 권호정 · 천성숙¹ · 조영제*

상주대학교 식품공학과, ¹영남대학교 식품가공학과

Antimicrobial Effects and Antioxidative Activity of Baek-bu-ja (*Aconiti koreani Rhizoma*) by Extraction Solvent Ratio

So-Jung Yoon, Jeung-Hoan Kim, Kyoung-Hwan Lee, Hyo-Jung Kwon, Sung-Sook Chun¹ and Young-Je Cho*

Department of Food Engineering Sangju National University, Sangju 742-711, Korea

¹Department of Food Science & Technology Yeungnam University Gyeonsen, 712-749, Korea

Received March 22, 2005; Accepted September 9, 2005

For the purpose of developing natural antioxidant, the antioxidative activity and antimicrobial of phenolics isolated from Baek-bu-ja (*Aconiti koreani Rhizoma*) were determined. Optimum extracting condition for phenolics were water extracts. HPLC analysis showed that the four major phenolic metabolites were rosemarinic, protocatechuic, caffeic and chlorogenic acids. The water extracts of *Baekbuja* did not have antimicrobial activity against *H. pylori*; however, the ethanol extracts revealed higher antimicrobial activity. Electron donation ability on DPPH of *Baekbuja* ethanol extract was 20% higher than other ethanol extracts. The 2,2'-azinobis-3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid radical decolorization (ABTS) and antioxidant protection factor (PF) were determined with extracts from *Aconiti koreani Rhizoma*. 94% inhibition and 1.14 PF were shown on ABTS and antioxidant protection factor with 60% ethanol extracts. Also, TBARS (thiobarbituric acid reactive substances) showed 0.19 μ M in the control and 0.07 μ M in the 80% ethanol extracts. The result suggests that *Baekbuja* extract may be useful as potential sources of anti *Helicobacter pylori*, antioxidant.

Key words: *Baekbuja*, *Aconiti koreani Rhizoma*, *Helicobacter pylori*, antioxidant

서 론

백부자는 우리나라 전국 동북 지방에 분포하는 2년생 초본인 미나리아재비과의 여러해살이풀 노랑돌쩌귀풀(*Aconitum koreanum* R. RAYMOND)의 덩이줄기이다.¹⁾ 중국에서는 천남성과의 관백부(*Typhonium giganteum* ENGL.)를 쓰며, 풍담이 쌓여 일어나는 안면신경 마비, 경련 발작, 중풍, 파상풍, 편두통 등의 증상에 사용된다.²⁾

노랑돌쩌귀 뿌리를 건조한 백부자의 성분으로는 β -sitosterol ($C_{29}H_{50}O$), inositol($C_6H_{12}O_6$), β -sitosterol-d-glucoside와 hypaconitine A($C_{24}H_{31}O_6N$), B($C_{22}H_{29}O_5N$), C($C_{22}H_{33}O_2N$), D($C_{24}H_{35}O_3N$), E($C_{29}H_{43}O_7N$) 6종의 alkaloid를 포함하여 맹독성을 나타내나,³⁾ 검화 또는 가열 가수분해 등에 의하여 deacetylation, debenzoylation,

oxidation 등의 반응이 일어나 독성이 낮은 benzoylaconine계, aconine계, pyroaconine계 등으로 변화됨이 보고된바 있다.⁴⁾ 그러므로 *Aconitum*속 식물의 근경은 자연건조하여 그대로 약용으로 사용하기 보다는 장시간 염수에 침적하거나, 가열처리하는 등의 수침 과정을 거쳐 독성을 감소시킨 후 사용한다.

국내 식품 산업에 있어서 생약자원의 이용은 민간 전통요법에서 비롯되었기 때문에 민간에서 전해오던 생약재를 산업화하기 위한 기초 연구 및 제품화 연구가 활발히 진행되어 돌연변이 억제⁵⁾, 항산화⁶⁾ 등 다양한 생리 활성물질이 함유되어 있음이 구명되었다. 인체의 노화와 질병을 유발하는 free radical은 인체 내에서 정상적인 대사과정 중 생물학적 반응으로 형성되며 세포와 조직에 해로운 독성을 일으켜 질병을 유발하는 것으로 알려져 있다.⁷⁾ 이러한 활성산소를 억제하는 항산화 저해제로서 BHT, BHA 등의 합성항산화제와 천연항산화제인 phenolic compound, ascorbic acid, tocopherol, carotenoid, flavonoid, maillard reaction product, amino acid, peptide 및 단백질 등이 있으며, 이런 성분들은 대부분 과일이나 야채와 같은 식물성 원

*Corresponding author

Phone: +82-54-530-5265; Fax: +82-54-530-5269

E-mail: yjcho@sangju.ac.kr

료에 다량으로 함유되어 있는 것으로 확인되었다.⁸⁾ 천연항산화제는 비교적 항산화력이 낮고 합성항산화제는 생체효소, 지방의 변이원성 및 독성으로 인체에 암을 유발한다는 보고가 있어⁹⁾ 보다 안전하고 활성이 강한 천연항산화제의 개발이 요구되고 있다. 만성 위십이지장 질병과 밀접한 관련이 있는 것으로 알려진 *Helicobacter pylori*는 1983년 Warren과 Marshall¹⁰⁾이 환자의 위 유문부로부터 분리하여 보고한 이후 많은 연구가 이루어졌다. *H. pylori*의 정확한 오염경로나 전염원에 대하여서는 아직까지 정확히 증명된 바는 없지만 경구적 방법에 의하여 전달 감염되는 것으로 추정하고 있다. 우리나라 성인의 약 80% 정도가 이 균에 감염되어있으나 임상증상을 나타내지 않고 있으므로 발병촉진인자의 영향으로 만성적인 위십이지장 궤양을 유발하는¹¹⁾ *H. pylori* 자체에 대한 연구와 근본적인 예방이나 치료를 위한 새로운 방법에 대한 연구가 시도 될 필요가 있다. 따라서 본 연구에서는 in vitro assay systems을 사용하여 백부자의 항산화 효과와 *Helicobacter pylori*에 대한 항균효과를 측정하여 기능성 식품소재로 이용할 수 있는지 알아보고자 하였다.

재료 및 방법

재료. 본 실험에 사용한 백부자(*Aconiti koreani Rhizoma*)는 2004년 6월에 대구 약령시장 및 한의원에서 약재로 사용되는 것을 구입하여 실온의 그늘에서 건조시킨 것을 분말화하여 보관하면서 실험에 사용하였다.

추출물의 제조. 열수추출은 백부자 1g을 증류수 200 ml를 가한 후 100 ml가 될 때까지 가열, 농축하여 사용하였고, 에탄올 추출은 백부자 1g에 각각 20, 40, 60, 80, 100% ethanol을 가하여 25°C에서 24시간 동안 교반 추출한 후 10,000 rpm에서 15분 동안 원심분리한 다음 각각의 상등액을 Whatman No. 1 여과지로 여과한 여액을 시료로 사용하였다.

시약 및 실험장치. Butylatedhydroxytoluene(BHT), yeast extract, beef extract, pyruvic acid, β -carotene, H₂O₂, linoleic acid, tween 40, α, α -diphenyl- β -picrylhydrazyl(DPPH), gallic acid 등은 Sigma사(USA)의 특급시약을 사용하였으며, formic acid, folin-ciocalteu 시약, trichloroacetic acid, Na₂CO₃, HCl 등은 일제 특급시약을 사용하였다. 시료의 폐놀 분리에 사용한 분광광도계는 UV/Vis Spectrophotometer(Jasco, Japan)를 사용하였으며, HPLC는 Waters 2690 separations Module과 2487 UV detector를 사용하였고, 이동상으로 사용한 acetonitile은 J.T.Baker 사의 HPLC급을 사용하였다.

Total polyphenol의 측정. 총 polyphenol 함량은 Folin-Denis 방법¹²⁾으로 측정하였으며, 백부자 추출액 1 ml에 95% ethanol 1 ml와 증류수 5 ml, 1 N Folin-ciocalteu reagent 0.5 ml를 가하고 5분간 정치시킨 후 5% Na₂CO₃ 용액 1 ml를 가하였다. 이 혼합액을 1시간 동안 정치한 다음 분광광도계를 사용하여 725 nm에서 흡광도를 측정하였다. 총 polyphenol 함량은 gallic acid(Sigma Co.)를 이용하여 작성한 표준곡선으로부터 환산하였다.

HPLC에 의한 phenol 성분 함량분석. 백부자의 열수와 ethanol 추출물에 대하여 표준물질로 생리활성 효과가 높다고 알려진 protocatecuic acid, caffeic acid, chlorogenic acid,

Table 1. HPLC eluent Condition (v/v,%) for Separating phenols

Time (min)	Acetonitile	Formic acid (pH 3.0)
0	10	90
5	10	90
35	50	50
40	10	90
45	10	90

coumaric acid, rosmarinic acid 총 5종을 methanol에 용해시켜 사용하였고, 추출액은 0.2 μ m filter로 2 ml를 여과한 후 그중 5 μ l를 분취하여 HPLC로 분석하였다. HPLC 분석용 column은 Xterra (RP-18, 250 \times 4.6 mm)를 외부온도 30°C로 유지하여 사용하였고, 이동상인 acetonitile과 formic acid(pH 3.0)의 조성은 Table 1과 같은 조건을 사용하였다. 유속은 1.5 ml/min로 하였고, 검출기는 Waters 2487 UV detector를 사용하여 306 nm에서 측정하였다.

***Helicobacter pylori* 배양.** 실험에 사용한 균주는 위, 십이지장궤양 원인균인 *H. pylori*로서 표준균주인 ATCC 43504를 사용하였다. *H. pylori*의 배양에는 최적배지(special peptone 0.5 g, agar 0.75 g, NaCl 0.25 g, yeast extract 0.25 g, beef extract 0.2 g 및 pyruvic acid 0.025 g)를 사용하고 미호기성 조건을 유지시켜주기 위해서 10% CO₂ incubator를 이용하였으며, incubator의 습도는 항상 95% 이상으로 유지하였고, agar plate 상에서 배양은 37°C로 48~72시간 동안 실시하였다.

추출물의 *Helicobacter pylori* 항균활성 검색. 실험구는 *H. pylori* 최적배지 plate에 *H. pylori*균 배양액 100 μ l를 분주하여 멸균 유리봉으로 도달한 다음, 멸균된 disc paper(Φ 8 mm)를 올리고 0.45 μ m membrane filter로 제균한 각 추출물 100 μ l를 흡수시키고, 대조구로는 멸균수를 흡수시킨 후 37°C의 미호기성 조건에서 24시간 동안 incubation한 다음, disc 주위의 clear zone 생성 유무를 확인하였다.

전자공여능(DPPH) 측정. DPPH(α, α -diphenyl- β -picrylhydrazyl) radical 소거활성은 Blois의 방법¹³⁾에 준하여 변형하여 측정하였다. 각 추출물 1 ml에 60 μ M DPPH 3 ml를 넣고 vortex한 후 15분 동안 암소에 방치한 다음 517 nm에서 흡광도를 측정하여 다음 식에 의하여 나타내었다.

$$\text{DPPH radical 전자공여능(\%)} = \left(\frac{\text{Control O.D.} - \text{Sample O.D.}}{\text{Control O.D.}} \right) \times 100$$

ABTS radical cation decolorization 측정. ABTS의 측정은 Pellegrini 등의 방법¹⁴⁾에 의하여 측정하였다. 7 mM ABTS 5 ml와 140 mM K₂S₂O₈ 88 μ l를 섞은 용액 1 ml와 ethanol 88 ml를 혼합한 ABTS용액 1 ml와 시료용액 50 μ l를 혼합하여 30 초간 진탕한 후 2.5분간 incubation하고 734 nm에서 흡광도를 측정하였다. ABTS radical cation decolorization 효과는 다음 식에 의하여 나타내었다.

$$\text{ABTS radical 저해율(\%)} = (1 - \text{Sample O.D.}) \times 100$$

Beta-carotene을 이용한 antioxidant protection factor(PF)

측정. Beta-carotene은 Andarwulan과 Shetty의 방법¹⁵⁾으로 측정하였다. 10 mg β-carotene/50 ml의 chloroform 용액 1 ml에 20 μl linoleic acid, 184 μl Tween 40과 50 ml H₂O₂를 가하여 emulsion을 만들고, emulsion액 5 ml에 각 추출물 100 μl를 혼합하여 진탕한 뒤 50°C에서 30분간 방치한 후 식혀주고, 470 nm에서 흡광도를 측정하여 다음과 같은 식으로 계산하여 PF 값을 측정하였다.

$$PF = \frac{\text{Sample O.D.}}{\text{Control O.D.}}$$

Thiobarbituric acid reactive substances(TBARS) 측정. TBARS는 Buege와 Aust의 방법¹⁶⁾에 따라 측정하였다. 1% linoleic acid와 1% Tween 40으로 emulsion을 만들어 emulsion 0.8 ml와 각 추출물 0.2 ml를 진탕한 후 50°C water bath에서 10시간 반응시킨 후 반응액 1 ml에 TBA/TCA 시약 2 ml를 가하고 15분간 boiling한 다음 10분간 냉각시킨 후 15분간 1000 rpm으로 원심분리 하여 상등액을 532 nm에서 흡광도를 측정하였으며, TBARS값은 1 ml 반응혼합물에 대해서 생성된 1,1,3,3-tetraethoxy propane(TEP)의 ×100 μg으로 표시하였다.

통계 분석. 측정값은 반복실험을 통하여 SPSS(Statistical Package for the Social Science) 통계 package로 분산분석 및 Duncan 다중범위검정법(Duncan's multiple range test)을 사용하여 유의성을 검증하였다.

결과 및 고찰

추출물의 농도가 백부자의 phenol성 물질 추출에 미치는 영향. 추출용매의 농도를 달리하여 백부자로부터 phenol성 물질을 추출한 결과 Fig. 1에서와 같이 열수추출물에서 8.45±0.27 mg/g으로 추출량이 가장 높았으며, 에탄올 농도가 20%에서 60%로 높아질수록 조금씩 phenol양이 증가하였으나, 100%에서는 0.31±0.17 mg/g으로 낮은 추출량을 보였다. 이는 cereal grain의 phenol성 물질이 60% 에탄올추출물에서 추출수율이 가장 높다는 Zeilinski와 Kozłowska¹⁷⁾ 결과와 부분적으로 일치하였으나, 추출방법에 따라 차이가 있는 것으로 사료된다.

추출물의 Phenol 성분 분석. 백부자의 추출용매에 따른 페놀성 성분을 분석한 결과 Table 2와 같이 백부자 추출물의 페놀성

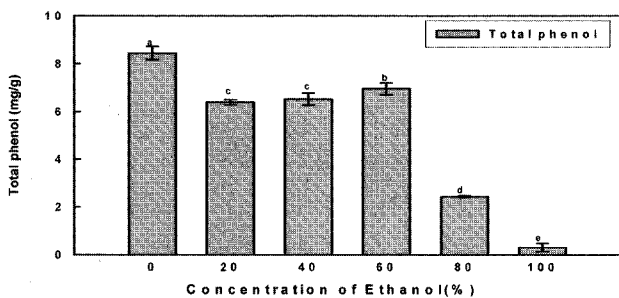


Fig. 1. Content of total phenol in ethanol extracts from *Aconiti koreanii Rhizoma*. a-e: Mean values (n=6) with the different letters in a row are significantly different by Duncan's multiple range test (p < 0.05).

Table 2. Contents of phenolic compounds in *Aconiti koreanii Rhizoma*

Phenol	Content (mg/g)	
	Water extracts	60% Ethanol extracts
Protocatechuic acid	0.82±0.06	0.93±0.05
Caffeic acid	0.07±0.06	0.04±0.09
Chlorogenic acid	0.37±0.11	0.14±0.26
Courmeric acid	*ND	ND
Rosemarinic acid	0.21±0.10	0.25±0.40
Quercetin	ND	ND

*ND: Not detect.

*This experiment repeated 6 times.

Table 3. Antibacterial inhibition activity on *Helicobacter pylori* by extracts from *Aconiti koreanii Rhizoma*

	Diameter of clear zone (mm)				
	Phenol content (μg/ml)				
	0	50	100	150	200
Water extracts	*ND	ND	ND	ND	ND
60% Ethanol extracts	ND	10	11	13	13

*ND: Not detect.

*This experiment repeated 6 times.

물질은 protocatechuic acid, caffeic acid, chlorogenic acid, rosemarinic acid로 확인되었다. 백부자에 함유되어 있는 페놀 화합물은 열수추출물에서 protocatechuic acid와 chlorogenic acid가 0.82±0.06 mg/g과 0.37±0.11 mg/g의 함량을 나타내었고, 추출 수율이 가장 좋은 60% 에탄올추출물에서는 protocatechuic acid와 rosemarinic acid가 0.93±0.05 mg/g과 0.25±0.40 mg/g으로 가장 높은 함량을 나타내었다. 백부자의 HPLC 분석결과 생리활성 효과가 높은 rosemarinic acid, protocatechuic acid, chlorogenic acid의 함량이 많은 것으로 보아¹⁸⁾ 생리활성 효과가 우수한 것으로 사료되며, 60% 에탄올추출물의 rosemarinic acid로 인해 식품이나 화장품 등의 변질을 막는 천연 방부제의 역할을 기대할 수 있을 것으로 생각된다.

백부자 추출물의 H. pylori에 대한 항균효과. H. pylori 평판 최적배지 plate에 H. pylori 균 100 μl를 도말하고, 백부자 추출물을 처리하여 disc 주위의 clear zone 크기를 측정된 결과 Table 3에서와 같이 열수추출물의 경우 clear zone이 관찰되지 않았으며, 추출수율이 가장 좋은 60% 에탄올추출물의 경우 50 μg/ml, 100 μg/ml, 150 μg/ml, 200 μg/ml의 농도일때, 10, 11, 13, 13 mm clear zone이 관찰되어 H. pylori에 대하여 60% 에탄올추출물만이 비교적 높은 항균활성을 갖는 것으로 확인되었다.

전자공여능 측정. Hertong 등¹⁹⁾은 전자공여능이 시료의 flavonoids 및 phenolic성 물질 등에 대한 항산화 작용의 지표라 하였으며, 이러한 물질들이 free radical을 환원시키거나 상쇄시키는 능력이 크면 높은 항산화 활성 및 활성 산소를 비롯한 다른 라디칼에 대한 소거 활성을 기대할 수 있으며 인체 내에서 free radical에 의한 노화를 억제하는 척도로도 이용할 수 있다고 하였다.²⁰⁾ 백부자 추출액의 전자공여능을 측정된 결과 Fig. 2와 같이 열수추출물 보다 에탄올추출물의 전자공여능이

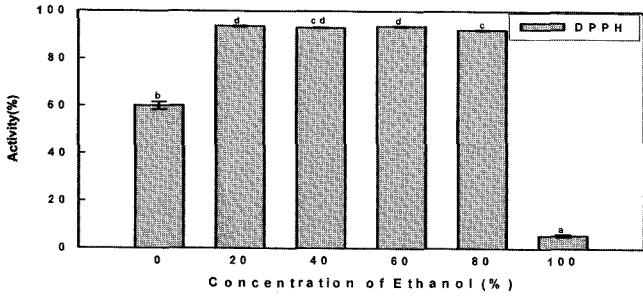


Fig. 2. Antioxidant effect of ethanol extracts from *Aconiti koreani Rhizoma* by DPPH radical. a-d: Mean values (n=6) with the different letters in a row are significantly different by Duncan's multiple range test ($p < 0.05$).

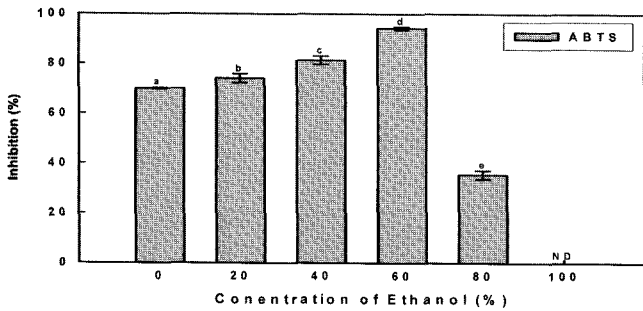


Fig. 3. Effect of ethanol extracts on ABTS radical cation decolorization. a-e: Mean values (n=6) with the different letters in a row are significantly different by Duncan's multiple range test ($p < 0.05$). ND: Not detect.

우수하였으며, 20% 에탄올추출물이 $93.69 \pm 0.19\%$ 로 가장 높은 값을 나타내었으나, 60% 에탄올추출물에서도 $93.64 \pm 0.18\%$ 의 높은 전자공여능을 나타내었다. 그러나 열수추출물은 $60.10 \pm 1.63\%$ 로 낮은 전자공여능을 나타냄을 알 수 있었다.

ABTS radical cation decolorization 측정. 물질의 친수성 및 lipophilic 물질의 항산화력을 측정하기 위해 ABTS radical cation decolorization을 측정한 결과 Fig. 3과 같이 60% 에탄올추출물의 inhibition이 $94.25 \pm 0.68\%$ 로 가장 높게 나타났고, 열수추출물은 $69.98 \pm 0.22\%$ 의 저해율을 나타냈으나 100% 에탄올추출물에서는 저해가 나타나지 않았다. 따라서 60% 에탄올추출물이 친수성 및 lipophilic 물질에 대한 항산화력이 우수한 것으로 판단되었다.

Antioxidant Protection Factor(PF) 측정. PF의 측정을 위하여 β -carotene을 첨가한 linoleic acid emulsion을 사용하여 백부자 추출물의 항산화력을 측정한 결과 Fig. 4에서와 같이 60% 에탄올추출물이 PF 1.14 \pm 0.05 정도의 antioxidant protection factor를 나타내 지용성 물질에 대한 항산화력이 비교적 높은 것으로 확인되었다. Duval과 Shetty²¹⁾는 완두에 함유되어있는 phenolic 물질의 PF가 1.1~1.3 정도였다고 보고하였으며, 본 실험의 백부자의 PF 1.14와 유사한 PF를 나타내었다.

TBARS 측정. 백부자 추출물의 thiobarbituric acid reactive substance를 측정한 결과 Fig. 5에 나타난 바와 같이 80% 에탄올추출물이 $0.04 \pm 0.03 \mu\text{M}$, 60% 에탄올추출물이 $0.06 \pm 0.8 \mu\text{M}$, 열수추출물 역시 $0.10 \pm 0.02 \mu\text{M}$ 로 대조구 $0.19 \pm 0.05 \mu\text{M}$ 에 비하여 비교적 낮은 TBARS값을 나타내어 산화촉진인자를

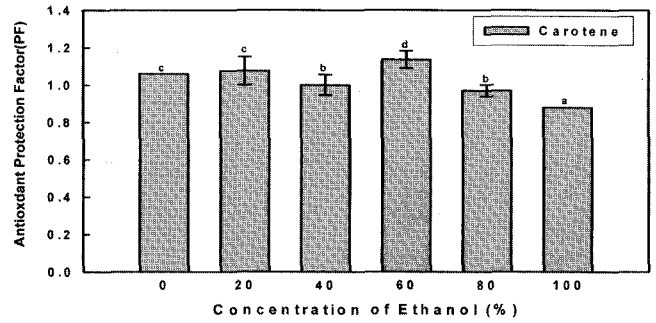


Fig. 4. Effect of ethanol extracts from *Aconiti koreani Rhizoma* on antioxidant protection factor. a-d: Mean values (n=6) with the different letters in a row are significantly different by Duncan's multiple range test ($p < 0.05$).

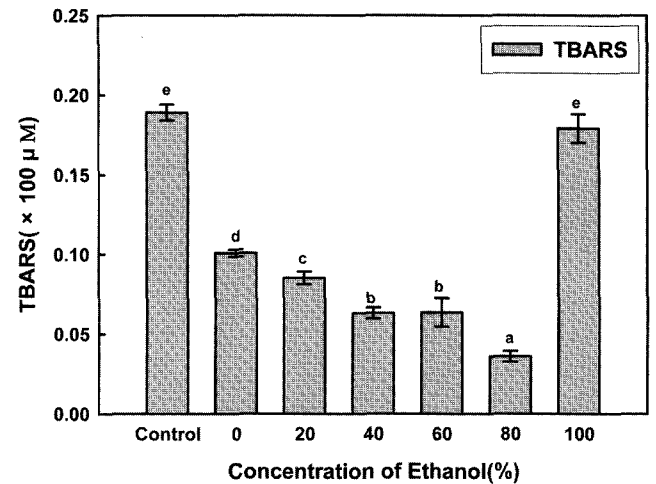


Fig. 5. Effect of ethanol extracts from *Aconiti koreani Rhizoma* on TBARS of antioxidation. a-c: Mean values (n=6) with the different letters in a row are significantly different by Duncan's multiple range test ($p < 0.05$).

binding하는 능력이 높음을 알 수 있었다. 그러나 100% 에탄올추출물에서는 $0.18 \pm 0.08 \mu\text{M}$ 의 대조구 보다 높은 TBAR값을 나타내어 지용성 물질에 대한 항산화력이 다른 용매의 추출물보다 낮음을 알 수 있었다. 이러한 결과로 볼 때 김 등²²⁾이 유기용매에 의한 대두추출물의 항산화 실험에서 전반적으로 열수추출물에 비해 유기용매 추출물의 항산화 효과가 우수하였다는 결과와 부분적으로 일치하였다.

초 록

백부자(*Aconiti koreani Rhizoma*)를 이용한 항암효과와 노화억제를 위한 기능성 식품 소재로 개발하기 위하여 항균 및 항산화효과를 조사하였다. 백부자 추출물의 phenolic 물질의 추출수율은 열수추출물이 $8.45 \pm 0.27 \text{ mg/g}$ 이었으며, 에탄올추출물은 20, 40, 60, 80, 100% 농도별로 각각 $6.40 \pm 0.10 \text{ mg/g}$, $6.53 \pm 0.26 \text{ mg/g}$, $6.96 \pm 0.25 \text{ mg/g}$, $2.44 \pm 0.04 \text{ mg/g}$, $0.31 \pm 0.17 \text{ mg/g}$ 로 열수추출물의 phenol 함량이 다소 높게 나타났다. 항산화 효과가 높다고 알려진 phenol 성분의 함량을 HPLC 분석 결과 항산화 효과가 높은 protocatechuic acid, chlorogenic acid,

rosmarinic acid의 함량이 높게 나타났다. *H. pylori*에 대한 항균효과는 에탄올추출물에서만 관찰되었다. ABTS radical decolorization과 antioxidant protection factor(PF)를 살펴 본 결과 ABTS는 60% 에탄올추출물에서 $94.25 \pm 0.68\%$ 로 가장 높은 저해율을 나타내었고, PF 역시 60% 에탄올추출물에서 1.14 ± 0.05 로 비교적 높은 protection factor을 나타내었다. DPPH에 대한 전자공여능은 20% 에탄올추출물에서 $93.69 \pm 0.19\%$ 의 가장 높은 활성을 나타내었으나, 40%, 60%, 80%간의 유의적인 차이는 없었고, 열수추출물에서는 $60.10 \pm 1.63\%$ 의 낮은 활성을 나타내었다. 활성산소 중 지방산화를 일으키는데 중요한 역할을 하는 hydroxyl radical에 대한 각 추출물들의 영향은 80% 에탄올추출물이 다른 농도의 추출물들에 비하여 낮은 TBARS 값을 나타내었다. 이상의 결과로 볼 때 백부자로부터 추출한 페놀성 물질은 60%의 ethanol로 추출한 추출물이 천연항산화 물질로 활용이 가능한 기능성 식품의 소재로의 개발이 가능할 것으로 사료된다.

Key words: 백부자, 항균효과, 항산화 효과

감사의 글

본 연구는 한국산업기술재단에서 지원하는 2003년도 지역전략산업 석박사 연구인력 양성사업인 “한약재 및 herb로부터 *Helicobacter pylori*에 대항하는 항균성 물질 및 항당뇨 물질의 정제 및 사업화(과제번호 KOTEF-19)” 과제로부터 얻어진 결과의 일부이며, 연구비 지원에 감사드립니다.

참고문헌

- Im, R. J. (1998) In *Flora medica coreana: Part traditional medicine* (3rd ed.) Pyongyang, Seoul, pp. 171-172.
- Ann, D. G. (1998) In *Illustrated book of korean medicinal herbs*. Kyohak Publishing Co., LTD., Seoul, pp. 598-599.
- Yang, C. Y. (1995) In *Poisonous drug medical herb*, chinese public opinion crane publishing company, Beijing, pp.191-197.
- Park, S. Y., Chung, B. S., Lee, H. K., Lee, H. S., Ryu, J. H. (1989) Studies on the Preparation of Processed Aconiti Tubers. *Kor. J. Pharmacogn.* **20**, 25-31.
- Song, G. S., Ahn, B. Y., Lee, K. S., Maeng, L. K. and Choi, D. S. (1997) effect of hot water extracts from medicinal plants on the mutagenicity of indirect mutagens. *Korean J. Food Sci. Technol.* **29**, 1288-1294.
- Kim, H. K., Kim, Y. E., Do, J. R., Lee, Y. C. and Lee, B. Y. (1995) Antioxidative activity and physiological activity of some korean medicinal plants. *Korean J. Food Sci. Technol.* **27**, 80-85.
- Devy, C. and Gautier, R. (1990) New perspectives on the biochemistry of superoxide anion and the efficiency of superoxide dismutase. *Biochem. Pharmacol.* **39**, 399-405.
- Brieskom, C. H., Fuch, A., Bredenberg, J. B., McChensney, J. D., Wenkert, E. (1964) The structure of carnosol. *J. Org. Chem.* **29**, 2293-2297.
- Kim, H. K., Kim, Y. E., Do, J. R., Lee, Y. C., Lee, B. Y. (1995) Antioxidative activity and physiological activity of some Korean medicinal plants. *Korean J. Food Sci. Technol.* **27**, 80-85.
- Warren, J. R. and Marshall, B. J. (1983) Unidentified curved bacilli on gastric epithelium in active chronic gastritis. *Lancet* **1**, 1273-1275.
- Baik, S. C., Kim, J. B., Cho, M. J., Kim, Y. C., Park, C. K., Ryou, H. H., Choi, H. J. and Rhee, K. H. (1990) Prevalence of *H. pylori* infection among normal korean adults (in Korean). *J. Dorena SOC. Microbiol.* **25**, 455-462.
- Folin, O. and Denis, W. (1912) On phosphotungsticphosphomolybdis compounds as color reagents. *J. Biol. Chem.* **12**, 239-249.
- Blois, M. S. (1958) Antioxidant determination by the use of a stable free radical. *Nature* **26**, 1199-1200.
- Pellegrini, N., Roberta, R., Min, Y. and Catherine, R. E. (1998) Screening of dietary carotenoids and carotenoid-rich fruit extracts for antioxidant activities applying 2,2'-Azinibis (3-ethylenebenzothiazoline-6-sulfonic acid) radical cation decolorization assay. *Method Enzymol.* **299**, 379-389.
- Andarwulan, N., Fariaz, D., Wattimena, G. A. and Shetty, K. (1999) Antioxidant activity associated with lipid and phenolic mobilization during seed germination of *Pangium edule* Reinw. *J. Agric. Food Chem.* **47**, 3158-3163.
- Buege, J. A. and Aust, S. D. (1978) Microsomal lipid peroxidation. *Method. Enzymol.* **105**, 302-310.
- Zielinski, H. and Kolzolwska, H. (2000) Antioxidant activity and total phenolics in selected cereal grains and their different morphological fractions. *J. Agric. Food Chem.* **48**, 2008-2016.
- Shetty, K. (2001) Biosynthesis and medical applications of Rosmarinic acid. *J. Herbs spices & Medicinal Plants* **8**, 161-181.
- Hertong, M. C. L., Feskens, E. J. M., Hoffman, P. C. H., Katan, M. B. and Kromhout, D. (1993) Dietary antioxidant flavonoids and risk of coronary heart disease: the Zutphen Elderly Study. *Lancet* **342**, 1007-1011.
- Torel J., Gillard J. and Gillard P. (1996) Antioxidant activity of flavonoids and reactivity with peroxy radical. *Phytochem.* **25**, 383-385.
- Kang, Y. H., Park, Y. K., Oh, S. R. and Moon, K. D. (1995) Studies on the physiological functionality of pine needle and mugwort extracts. *Korean J. Food Sci. Technol.* **27**, 978-984.
- Kim, J. Y., Maeng, Y. S. and Lee, K. Y. (1995) Antioxidative effects of soybean extracts by using various solvents. *Korean J. Food Sci. Technol.* **27**, 635-639.