

서로 다른 품종 3종 知母의 항산화 효과

백광현^{#1}, 조수진^{#2}, 조현주¹, 홍광해¹, 김형우¹, 조수인^{*1}

1: 동신대학교 한의과대학, 2: 고려대학교 의과대학

Effects of Anemarrhenae Rhizoma on anti-oxidative activities

Gwang-Hyun Beak^{#1}, Su-Jin Cho^{#2}, Hyun-Ju Cho¹, Gwang-Hae Hong¹,
Hyung-Woo Kim¹, Su-In Cho^{*1}

1: College of Oriental medicine, Dongshin University, 2: College of medicine, Korea University

#: Equally contributed to this work

ABSTRACT

Objective : This study was carried out to investigate diagnostic difference and anti-oxidative effect of 3 different Anemarrhenae Rhizoma (AR) extracts.

Methods : Microscopic examination was used to distinguish histological differences. And eliminative ability of several kinds of free radicals was also measured.

Results : In microscopic examination, we can distinguished three different lineage of AR with different structure of vascular bundles and secretory structures. The extract of AR show profitable abilities of elimination of DPPH free radical, ABTS free radical and hydrogen peroxide.

Conclusion : So, it can be concluded that AR extract has an anti-oxidative effects. Especially indeciduous lineage was most effective to remove free radicals.

Key words : Anemarrhenae Rhizoma; anti-oxidative effect; Herbal medicine;

*교신저자 : 조수인, 전남 나주시 대호동 동신대학교 한의과대학 본초학교실 520-714

· Tel : 061) 330-3513 · FAX : 061-330-3519 · E-mail : sicho@dsu.ac.kr

#제 1저자 : 백광현, 조수진, 전남 나주시 대호동 동신대학교 한의과대학 본초학교실 520-714

· Tel : 061-330-2972 · FAX : 061-330-3519 · E-mail : kronos7@hanmail.net

· 접수 : 2007년 7월 31일 · 수정 : 2007년 9월 20일 · 채택 : 2007년 9월 21일

서 론

知母 (*Anemarrhenae Rhizoma*)는 나리과 (百合科: Liliaceae)에 속하는 지모 (*Anemarrhena asphodeloides* BUNGE)의 根莖이다. 이약은 淸熱除煩, 滋陰降火의 효능이 있어, 肺胃實熱, 高熱煩渴, 肺熱, 肺燥, 咳嗽, 陰虛潮熱, 津傷口渴, 消渴등의 병증에 오래전부터 사용되어져 왔다¹⁾.

知母의 품종 개량을 위한 연구가 활발히 진행되고 있는데, 한 등²⁾은 “지삼”이라는 이름의 다수확 품종을 보고 하였고, 또한 한 등³⁾에 의하여 피복비닐 종류에 따른 수확량과 뿌리에서의 조사포닌 함량이 보고되었다. 知母의 효능 및 藥理와 관련된 논문으로 진정 작용으로 인한 수면 연장⁴⁾, 이노⁵⁾, 항암활성성분⁶⁾, 진통 및 소염성분⁷⁾ 등에 대한 연구가 있었으나 知母의 다양한 활성에 관한 연구 성과의 발표는 아직 미미한 실정이다.

산화적 스트레스 (Oxidative stress)와 활성 산소 (Reactive Oxygen Species)는 인체에서 발생하는 거의 모든 병의 발생과 진행에 관여한다. 특히 피부 세포의 노화, 유전적 변형에는 가장 중요한 병리적 요소로 알려져 있다⁸⁾. 재료로 사용된 知母는 전라남도 강진 지역에서 육종을 목표로 재배된 3종의 知母를 채취하여 약용 부위인 뿌리의 조직이 자기 다른 특성을 가지는지 확인하기 위해 광학 현미경을 이용하여 관찰하였고, 임상에서 보다 적극적으로 사용될 수 있는지 살피기 위해 항산화 활성을 측정하여 보았다.

본 실험에는 知母의 표준 품종인 모삼, 재배 기간을 연장시키기 위해 육종 중인 상록종, 약용 부위인 근경의 수량과 크기를 증식시킬 목적으로 육종 중인 다수확종의 3종이 사용되었다. 측정된 항목으로는 항산화 활성 확인을 위해서 수종의 radical 소거 활성 및 linoleic acid에 대한 항산화 효과 등을 관찰하여 유의한 결과가 도출되어 보고하는 바이다.

실 험

1. 재료

1) 약재

본 실험에서 사용한 知母는 전라남도 강진군 병영면 성남리 및 지로리에서 知母의 육종을 위해 재배되고 있던 모삼, 상록종 및 다수확종 등 3품종을

각각 채취하여 잔뿌리를 제거한 다음 건조하였다.

2) 시약

실험에 사용된 α - α -Diphenyl- β -picrylhydrazyl (DPPH)·MTT 등의 시약은 Sigma 제품 (Sigma Chemical Co., USA)을 사용하였다.

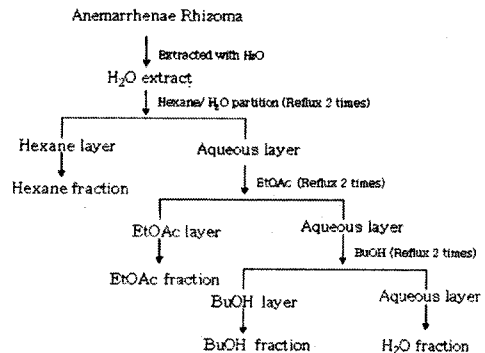
2. 방 법

1) 광학현미경적 방법

知母의 뿌리 소편을 2.5% glutaraldehyde으로 전고정을 한 다음 완충액 (0.1M phosphate buffer, pH 7.2)으로 3회에 걸쳐 수세하였고, 다시 0.5% potassium hexacyanoferrate (III)가 포함된 2% OsO₄로 2차 고정한 다음 동일한 완충액으로 수세 하였다. 통상적인 방법으로 알코올을 농도 상승순으로 탈수한 후 paraffin에 포매하였다. 포매된 시료는 rotary microtome 으로 7-10 μ m 의 연속절편을 제작하여 crystal violet으로 염색하여 광학현미경 (Olympus BX51)으로 관찰하였다.

2) 시료의 추출

각각의 건조된 知母 뿌리 100 g 씩을 1차 증류수 1500 ml를 첨가하여 전기약탕기 (DWP-99000T, 한국)로 120분 전탕한 후 Whatman paper No. 1로 여과한 여과액을 건조기 (비전과학, 한국)에서 건조하여 추출물을 얻었다. 이를 다시 증류수에 현탁시킨 다음 핵산, 에틸아세테이트 및 부탄올 등의 용매로 분획하여 농축한 후 동결 건조하여 냉장 보관하면서 시료로 사용하였다 (Scheme 1).



Scheme 1. Procedure of various solvent fractions from *Anemarrhenae Rhizoma*.

3) DPPH radical 소거 활성

DPPH radical에 대한 각 시료의 환원력을 측정하기 위해 99% 메탄올에 각 시료를 녹여 농도별로 희석한 희석액 800 μ l와 메탄올에 녹인 0.15 mM DPPH 용액 200 μ l를 가하여 실온에 30분 방치한 후 517 nm에서 흡광도를 측정하였다. 각 시료 추출물의 유리라디칼 소거 활성은 시료를 첨가하지 않은 대조구의 흡광도를 1/2로 환원시키는데 필요한 시료의 농도인 RC50 값으로 나타내었다. 이때 활성비교를 위하여 butylated hydroxyanisole (BHA)과 ascorbic acid를 사용하였으며 시료농도의 1/10이 되도록 첨가하여 같은 방법으로 항산화 효과를 측정하였다.

4) ABTS radical 소거 활성

ABTS radical을 이용한 항산화력 측정은 ABTS+ cation decolorization assay 방법¹⁸⁾에 의하여 시행하였다. 7 mM ABTS와 2.45 mM potassium persulfate를 최종농도로 혼합하여 실온인 어두운 곳에서 24시간 동안 방치하여 ABTS⁺을 형성시킨 후 732 nm에서 흡광도 값이 0.70 (± 0.02)이 되게 phosphate buffer saline (PBS, pH 7.4)로 희석하였다. 희석된 용액 990 μ l에 시료 10 μ l를 가하여 정확히 1분 동안 방치한 후 흡광도를 측정하였다.

5) Hydrogen peroxide 소거 활성

Hydrogen peroxide radical에 소거 활성은 Muller의 방법¹⁹⁾에 따라 96 well micro plate에 PBS 100 μ l, 물에 녹인 시료 20 μ l을 넣고 1 mM H₂O₂를 가하여 5분 간 방치한 다음 1.25 mM ABTS 30 μ l와 PBS에 녹인 1 u/ml peroxidase 30 μ l를 첨가하여 37°C에서 10 분 간 반응시킨 후 405 nm에서 흡광도를 측정하였다.

6) Linoleic acid에 대한 항산화 효과

Linoleic acid의 과산화에 대한 저해 효과 검정은 Haraguchi 등의 방법²⁰⁾에 준해 다음과 같이 실험하였다. linoleic acid의 기질용액은 95%의 에탄올에 녹인 2.52% linoleic acid 4 ml, 50 mM sodium phosphate buffer (pH 7.0) 8 ml와 absolute alcohol 4 ml를 가하여 제조한 후 cap을 한 뒤 40°C에서 100 rpm으로 12일 간 incubation 하였다. 지질 과산화물을 유도하는 thiobarbituric acid (TBA) 수치의 측정을 위해 기질용액 1 ml에 20% trichloroacetic acid 2 ml와 0.8% TBA 시약 2 ml를 가한 후 혼합하여 9

5°C 수욕 상에서 20분 동안 반응시켰다. 이 반응액을 실온에서 냉각시키고 3,000 rpm에서 10분 동안 원심분리하여 상등액의 흡광도를 532 nm에서 측정하였다.

3. 통계 처리

본 연구의 통계처리는 SPSS 10.0 for windows program을 사용하여 실시하였으며, Student-Newman-Keuls multiple range test를 이용하여 평균값의 유의성을 5% 미만의 한계로 조사하였다.

결 과

1. 광학현미경 관찰 결과

知母 뿌리의 내부구조를 광학현미경으로 관찰한 결과, 시료 A에서는 유관속을 구성하는 체관부는 비교적 발달이 미약하였으며, 물관부는 잘 발달해 있었다. 유관속 주위에는 크기가 다양한 유세포들은 세포내 함유물을 갖고 있었다. 내분비구조인 분비관의 내강은 점액성 물질 또는 기타 분비물질로 차 있었으며, 이는 단층의 유조직성 분비관 상피세포에 의해 둘러싸여 있었다. 분비관 내강과 인접한 곳에서 일부 상피세포의 분해양상이 관찰되었다. 분비관 상피세포들은 분해되면서 분비관 내강이 확대되는 파생적 발달 단계를 확인할 수 있었다.

시료 B에서는 유관속을 구성하는 체관부와 물관부는 잘 발달해 있었으며 뚜렷하게 구분되었다. 유관속 주위에는 다양한 크기의 유세포들이 위치하였으며, 일부 유세포들은 세포내 함유물을 갖고 있었다. 분비구조는 관찰되지 않았다.

시료 C에서는 유관속은 체관부와 물관부가 잘 발달해 있었으며, 체관부 주변에서는 후벽조직이 발달하였다. 유조직을 구성하는 유세포들의 형태는 비교적 작고 형태가 다양하였다. 원형 및 타원형의 내강을 갖는 내분비구조는 2가지 형태로 관찰되었는데, 분비물을 함유하고 있으면서 염색성이 높게 나타나는 것과 이와 더불어 분비관 상피세포의 퇴화 및 용해를 인한 세포 잔유물이 내분비구조의 중앙에서 관찰되는 것이 있었다 (Fig. 1).

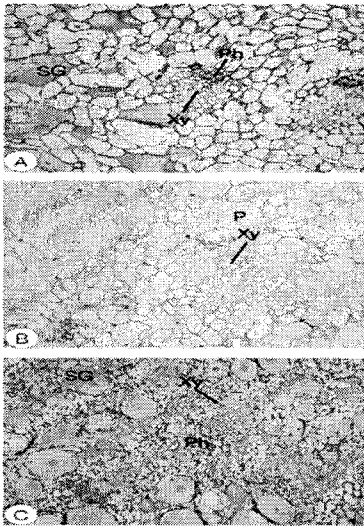


Fig. 1. Light micrographs of root from *Anemarrhenae Rhizoma*. A, picture of standard lineage; B, indeciduous lineage; C, high yield lineage. P, Parenchymal cells; Ph, Phloem; SG, Secretory gland; Xy, Xylem. Crystal violet stain. $\times 200$.

2. DPPH radical 소거 활성

知母 추출물과 BHA, ascorbic acid의 DPPH 소거 활성을 농도별로 측정하여 비교한 결과 합성 항산화제인 BHA와 ascorbic acid는 비교적 높은 항산화능을 보였으나 知母 추출물은 모두 낮은 활성을 보였으며 추출물 사이에 유의한 차이는 나타나지 않았다 (Fig. 2).

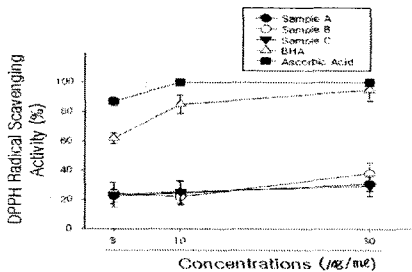


Fig. 2. DPPH free radical scavenging activity of BHA, ascorbic acid and various concentrations of *Anemarrhenae Rhizoma* extract (Sample). Extracts were incubated with DPPH solution at 37°C for 30 min. Activities were determined by measurement of absorbance at 517 nm. Each value was expressed as mean \pm SE (n \geq 3).

3. ABTS free radical 소거 활성

ABTS⁺ 소거 활성을 BHA, ascorbic acid와 비교 측정한 결과 ascorbic acid의 경우 농도가 증가함에 따라 높은 항산화 활성을 보였다. 知母 추출물의 경우 농도의 증가에 따라 약간 활성이 상승하는 경향이 있었으나 그 정도는 미약하였으며 추출물 중 시료 B에서 여타의 추출물과 유의한 차이가 있게 활성이 상승하였고 그 수치는 ascorbic acid에 대해서는 25.5%, BHA에 대해서는 38.7%에 해당하는 활성을 보였다 (Fig. 3).

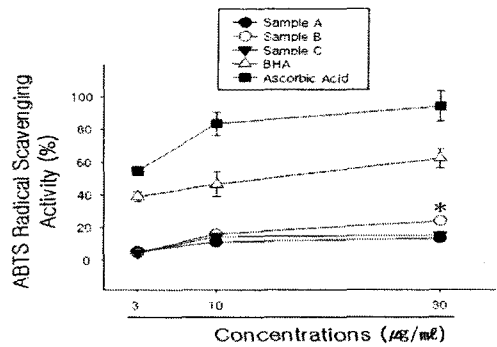


Fig. 3. ABTS free radical scavenging activity of BHA, ascorbic acid and various concentrations of *Anemarrhenae Rhizoma* extract (Sample). Activities were determined by measurement of absorbance at 732 nm. Each value was expressed as mean \pm SE (n \geq 3). *, Statistically different (p<0.05) when compared with other Samples.

4. Hydrogen peroxide 소거 활성

Ascorbic acid는 농도의 증가에 따라 강한 항산화 활성을 보였으나 상대적으로 BHA는 활성이 낮게 나타났다. 知母 추출물의 경우 역시 낮은 활성을 보였으며 이 중 시료 C의 경우 여타의 추출물에 비해 통계적으로 유의하게 활성이 낮게 나타났다 (Fig. 4).

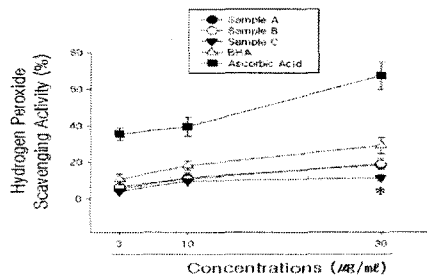


Fig. 4. Hydrogen peroxide scavenging activity of

BHA, ascorbic acid and various concentrations of Anemarrhenae Rhizoma extract (Sample). Activities were determined by measurement of absorbance at 405 nm. Each value was expressed as mean±SE (n≥3). *, Statistically different (p<0.05) when compared with other Samples.

5. Linoleic acid에 대한 항산화 효과

지질 과산화물을 유도하는 물질인 TBA의 수치를 측정하여보았는데, 대조군으로 사용한 BHA 및 ascorbic acid의 경우 모든 농도에서 낮은 항산화 활성을 보였을 뿐만 아니라 知母 추출물과도 유사한 정도로 그 활성이 낮게 나타났다. 知母 추출물 사이에도 활성의 차이를 보이지 않았다 (Fig. 5).

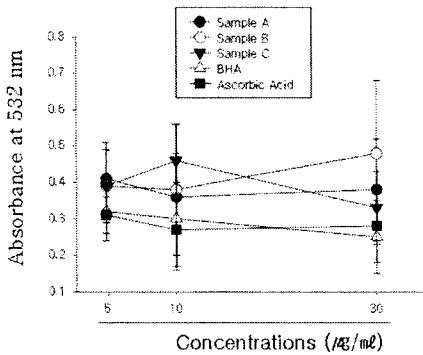


Fig. 5. TBA values in linoleic acid emulsion treated with BHA, ascorbic acid and various concentrations of Anemarrhenae Rhizoma extract (Sample). Activities were determined by measurement of absorbance at 532 nm. Each value was expressed as mean±standard deviation(n≥3).

6. 분획별 DPPH 라디칼 소거 활성

知母 추출물로부터 다시 헥산, 에틸아세테이트, 부탄올 및 수용성 분획을 얻어 각기 30 µg/ml 농도에서의 DPPH 라디칼 소거 활성을 측정하였다. 그 결과 부탄올 분획에서 가장 높은 활성이 나타났으며 이어서 에틸아세테이트, 헥산 및 수용성 분획의 순으로 활성을 보였다. 수용성 분획에서는 거의 활성이 없는 것으로 보이며, BHA 및 ascorbic acid에서는 역시 높은 항산화 활성을 나타냈다 (Fig. 6).

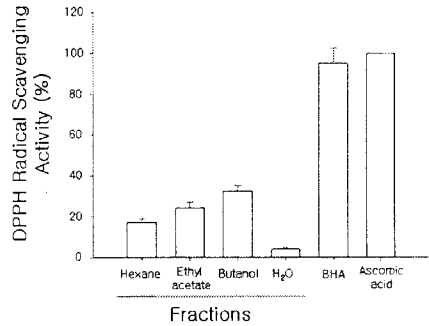


Fig. 6. DPPH free radical scavenging activity of various fractions of Anemarrhenae Rhizoma extract (Sample) at 30 µg/ml concentration. Extracts were incubated with DPPH solution at 37°C for 30 min. Activities were determined by measurement of absorbance at 517 nm. Each value was expressed as mean±SE (n≥3).

고찰

知母는 清熱除煩, 滋陰降火의 효능이 있어, 肺胃實熱, 高熱煩渴, 肺熱, 肺燥, 咳嗽, 陰虛潮熱, 津傷口渴, 消渴등의 병증에 오래전부터 사용되어져 왔다¹⁾. 知母의 약리 활성에 관한 기존의 연구 결과들을 살펴보면, 일부 식품 부패성 및 병원성 미생물에 대한 항균 활성⁹⁾, 흰쥐의 혈청 serotonin, melatonin 농도 및 행동양태에 미치는 영향¹⁰⁾, streptozotocin으로 유발된 당뇨 흰쥐의 혈당 강하 작용¹¹⁾ 및 collagen 유발 관절염에 대한 진통·소염 효과⁷⁾ 등에 대한 연구 정도에 그치고 있다.

외국 학술지의 경우에도 知母로부터 분리된 timo saponin 종류들이 인체 중성구의 자극 등으로 인한 활성 산소의 발생과 혈액의 응고 등에 효과적으로 작용하였다는 결과¹²⁾와 역시 知母로부터 분리된 sarsasapogenin이 실험 동물에서의 기억력 저하를 효과적으로 조절하였음을 보고¹³⁾하는 등 知母에 관한 활발한 연구는 진행되고 있지 않았다.

知母는 현재 국내에서는 경상북도 의성과 전라남도 강진 등지에서만 재배되고 있고 이도 수입산과의 가격 경쟁에서 밀려 언제 재배지가 더 줄어들지 모르는 상황이다. 그러는 가운데 최근 知母의 여러 계통을 대상으로 생육특성, 근경의 수량, 유효성분 등에 관한 항목을 조사하여 우량 품종을 육성하여 농가에 보급하고자 하는 의도에서 일부 연구 결과가 발표²⁾되었는데 그 내용을 살펴보면 한 계통에서 감

부기병에 저항성이 강하며 정상적으로도 결실이 되고, 지표 성분으로 알려진 근경의 timosaponin A-III의 함량이 기존 표준 품종보다 9% 높으며 수확량이 있어서도 표준 품종에 비해 13% 증가하였음을 보고하였다.

본 연구에서는 전라남도 강진군에서 知母를 재배하는 농가로부터 기존 표준 품종 이외에 현재 육종 중인 2종 등 모두 3품종을 채취하여 항암 활성을 확인하고자 하였으며 이에 앞서 약용 부위인 근경의 현미경 감별을 통해 차이점 유무를 확인하고자 하였다. 또한 채취된 知母의 종류에 따라 항산화 활성에도 차이가 나타나는지 측정하여 보았다.

각 시료들 간의 현미경 관찰에서의 특징적인 차이점은 시료 A의 경우 기타 시료에 비해 체관부 발달이 비교적 미약하였으며, 분비관 상피세포들은 분해되면서 분비관 내강이 확대되는 파생적 발달 단계가 확인되었다. 이에 비해 시료 B에서는 유관속을 구성하는 유관속 주위에는 다양한 크기의 유세포들이 위치하였으며, 일부 유세포들은 세포내 함유물을 갖고 있었고, 분비구조는 관찰되지 않았다. 시료 C에서는 체관부 주변에서 후벽조직이 발달하였으며, 분비물을 함유하고 있으면서 염색성이 높게 나타나는 것과 이와 더불어 분비관 상피세포의 퇴화 및 용해를 인한 세포 잔유물이 내분비구조의 중앙에서 관찰되는 등 시료들 간에 구조적 차이점이 발견되었다 (Fig. 1).

활성 산소는 인체 내에서 지질 또는 단백질 등과 결합하여 노화를 일으키기 쉬운데 페놀성 화합물의 경우 자유라디칼을 환원시키거나 상쇄시키는 능력이 강해 인체 내에서 자유라디칼에 의한 노화를 억제하는 척도로 이용할 수 있다. 또한 여러 활성 산소에 의해 직접적으로 생체에 악영향을 줄 수 있을 뿐만 아니라 지질 등의 산화를 유발하여 간접적으로 단백질과 DNA의 손상을 일으키며 노화와 암 등을 발생시키기도 한다¹⁴⁻¹⁷⁾. 따라서 본 연구에서는 DPPH, ABTS, hydrogen peroxide 및 linoleic acid 등을 이용하여 知母 추출물의 활성산소 소거 활성을 확인하여 보았다.

시료의 항산화 활성을 측정된 결과 DPPH radical에 대해서는 모든 시료에서 낮은 활성을 보였으며 추출물 사이에 유의한 차이는 없었다 (Fig. 2). 이에 비해 ABTS+ 소거 활성에서는 시료 B에서 여타의 추출물과 유의한 차이가 있게 활성이 상승하였다 (Fig. 3). Hydrogen peroxide 소거 활성에서는 시료 전반적으로 낮은 활성을 보였으며 특히 시료 C의

경우 여타의 추출물에 비해 통계적으로 유의하게 활성이 낮게 나타났다 (Fig. 4). Linoleic acid에 대한 항산화 효과는 거의 없는 것으로 보인다 (Fig. 5).

또한 知母의 물 추출물로부터 핵산, 에틸아세테이트, 부탄올 및 수용성 분획을 얻어 DPPH 라디칼 소거 활성을 측정된 결과 부탄올 분획에서 가장 높은 활성이 나타났으며 이어서 에틸아세테이트, 핵산 및 수용성 분획의 순으로 활성을 보였다 (Fig. 6).

결론

이상에서와 같이 예전부터 淸熱瀉火藥으로 다용되어왔던 知母는 항산화 효과를 가지고 있으며, 특히 상록종으로 육종되고 있는 시료에서 다른 시료에 비해 강한 항산화 활성을 나타냈다. 3 품종 知母가 가진 효능의 우열을 항산화 활성으로 단순 비교 할 수는 없지만, 서로 다른 3 품종 간의 특성비교에는 유용하리라 생각되며, 추후, 다양한 효능에 대한 비교 연구를 지속적으로 계속하여야 할 것으로 생각된다. 아울러, 지모의 품종 다양 및 각종 생육 및 재배 조건에 따른 여러 가지 활성을 검증하여 궁극적으로 우수한 품종의 지모를 개발하는데 대한 밀도 있는 연구가 진행되어야 할 것이다.

감사의 글

본 연구는 국립수목원의 국내·외 유용식물자원 탐사 및 자원확보 연구용역사업의 연구비 지원으로 수행되었으며, 이에 감사드립니다.

참고문헌

1. 신민교. 임상본초학. 서울:영림사. 2000:367-368.
2. 한승호, 강영식, 신철우, 최병준, 이봉춘, 조동호, 오세현, 최성호. 전통식량 및 약용작물에서 품질 고급화와 기능성 천연물의 발굴 이용 ; 약용작물 : 고품질 다수성 지모 신품종 「지삼」. 한국약용작물학회지, 2006;14(1s):618-619.
3. 한승호, 최병준, 신철우, 정승근, 박상일. 피복비닐 종류에 따른 지모의 근경수량 및 조사포닌 함량. 한국약용작물학회지. 2003;11(3):224-231.
4. 설수용. 知母의 鎮靜睡眠效果 및 腸管平滑筋에 미치는 영향. 서울:경희대 대학원 석사학위논문. 1984.
5. 지일충. 知母의 利尿效果에 관한 연구. 서울:경

희대 대학원 석사학위논문. 1984.

6. 이승호. 知母의 抗癌活性成分에 관한 연구. 경남:영남대 대학원 석사학위논문. 1995.

7. 정근기. 知母의 collagen 유발 관절염에 대한 연구. 서울:경희대 대학원 석사학위논문. 2006.

8. Sander CS, Chang H, Salzman S, Muller CS, Ekanayake Mudiyanse -lage S, Elsner P&Thiele JJ. Photoaging is associated with protein oxidation in human skin in vivo. *J Invest Dermatol.* 2002;618-625.

9. 안대진, 광이성, 김미주, 이종철, 신창식, 정기택. 일부 식품 부패성 및 병원성 미생물에 대해 항균활성을 나타내는 생약자원의 검색. 2000. 한국약용작물학회지. 8(2):109-116.

10. 이한철, 이동규, 김동일, 이태균. 감초, 정향, 知母 및 황백이 백서의 혈청 Serotonin, Melatonin 농도 및 행동양태에 미치는 영향. 대한한방부인과학회지. 2000;13(2):136-148.

11. 최혜윤, 정태영, 서부일, 김종대, 박동일. Streptozotocin으로 유발된 당뇨백서에서 수종의 한약재가 혈당강하에 미치는 영향. 대한본초학회지. 2003;18(2):121-127.

12. Noriyoshi K, Jianying Z, Zhiyun M, Suixu Xu, Kazunori S, Yoshinori D and Hiroyuki K. Effect of timosaponin E1 and E2 on superoxide generation induced by various stimuli in human neutrophils and on platelet aggregation in human blood. *Clinica Chimica Acta.* 2000;295(1-2):129-140

13. Yaer Hu, Zongqin Xia, Qixiang Sun, Antonia Orsi and Daryl Rees. A new approach to the pharmacological regulation of memory: Sarsasapogenin improves memory by elevating the low muscarinic acetylcholine receptor density in brains of memory-deficit rat models. *Brain Research.* 2005;1060(1-2):26-39.

14. Miller NJ, Rice-Evans C, Davies MJ, Gopinathan V and Milner A. A novel method for measuring antioxidant capacity and its application to monitoring the antioxidant status in premature neonates. *Clin. Sci.* 1993;84:407-412.

15. Lee SE, Seong NS, Bang JK, Park CG, Sung JS and Song J. Antioxidatives activities of Korean medicinal plants. *Korean J. Medicinal Crop Sci.* 2003;11:127-134.

16. Rice-Evans CA, Miller NJ, Paganga G.

Structure-antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids. *Free Rad. Biol. Med.* 1996;20:933-956.

17. An BJ, Lee JT, Lee SA, Kwak JH, Park JM, Lee JY and Son JH. Antioxidant effects and application as natural ingredients of Korean *sanguisorbae officinalis* L. *J. Korean Soc. Appl. Biol. Chem.* 2004;47:244-250.