

수종의 한약재 추출물의 항산화 활성 및 항진균 활성

김재영 · 이용섭* · 임용호¹

호서대학교 한방화장품과학과, ¹건국대학교 생명/분자정보학센터 생명공학과

Biological and Antifungal Activity of Herbal Plant Extracts against *Candida* Species. Kim, Jae-Young, Yong-Sub Yi*, and Yoong-Ho Lim¹. Department of Herbal Cosmetic Science, Hoseo University, Asan 336-795, Korea, ¹BMIC, Department of Bioscience and Biotechnology, Konkuk University, Seoul 143-701, Korea - Anticandidial activity of seven herbal extracts, Taraxacum Platycarpum, Houttuyniae Herba, Lonicerae Flos, Anemarrhena Rhizome, Forsythia Fruit, Paeoniae Ratix, and Coptidis Rhizoma, were determined against five different *Candida* sp. by agar diffusion assay. The concentration of total phenolic compounds of seven herbal extracts ranged from 0.6 to 2.5 µg/mg. The total antioxidant activities showed that Taraxacum Platycarpum and Houttuyniae Herba were 60 % in 80% ethanol extract and Lonicera Flower and Paeoniae Ratix were 70, 75%, respectively, in 100% ethanol extract. Coptidis Rhizoma extract showed antifungal activity against non-*Candida albicans*, *C. tropicalis* and *C. glabrata*. The MIC values of a compound separated in TLC from Coptidis Rhizoma extract were 24, and 48 µg/mL against *C. tropicalis* and *C. glabrata*. The above compound showed the same retention time with berberin in HPLC analysis.

Key words : Anticandidial activity, antioxidant, *Candida* species, Coptidis Rhizoma

서 론

경제성장과 함께 소득수준의 향상으로 천연물을 이용하여 필요한 물품을 만들려는 많은 시도가 있었으며, 특히 많은 약물이 개발되거나 개발중에 있다. 한약을 소재로 하여 천연물을 개발하려는 시도는 많은 생필품에 적용되고 있는데 특히, 천연물의 항균활성을 이용한 제품개발은 우리 생활주변에서 쉽게 볼 수 있다.

한의학에서 몸속에 열을 내려주는 한약재를 청열약(淸熱藥)이라 하며 여러 종류의 한약재가 있는데, 이들 중 황련(*Coptis chinense*, Coptidis Rhizoma), 어성초(*Houttuynia cordata*, Houttuyniae Herba), 지모(*Anemarrhena asphodeloides*, Anemarrhena Rhizome), 포공영(*Taraxacum platycarpum*, Taraxaci Herba), 작약(*Paeonia lactiflora*, Paeonia Radix), 연교(*Forsythia suspensa*, Forsythia Fructus), 금은화(*Lonicera japonica*, Lonicerae Flos) 등은 주로 항균특성을 가지고 있는 것으로 알려져 있다.

미나리아재비과(Ranunculaceae)의 여러해살이 초본식물인 황련은 중국이 원산지로서 한국, 중국, 일본 등지에서 재배되고 있다. 황련은 줄기와 단면이 짙은 황색인데, 한방에서는 11월경에 5-6년 된 황련, 일황련의 뿌리를 채취하여 햇볕에 말린 것을 황련이라 하며, 특이한 냄새를 가지고, 맛이 쓰

며, 성질은 차다[1]. 전통약용식물인 어성초는 삼백초과(Saururaceae)에 속하는 다년생 초본으로, 광범위한 분야에서 효능을 나타내고 있다. 민간에서는 수종, 매독, 방광염, 자궁염, 폐농, 피부염, 간염 등의 치료제로 사용되고 있다. 특히, 최근에 항균제나 항암제로의 효용에 관심의 대상이 되고 있다[11, 16, 24]. 지모는 백합(Liliaceae)과 다년생 초본으로 근경은 굵고 짧으며 옆으로 뻗고, 1 m 이상 자란다. 약리적인 특성으로 항균작용, 해열강하작용, 위궤양 등에 쓰이고 있다. 포공영은 국화(Compositae)과 식물로 북반구의 한대 및 온대에 넓게 분포하는 다년생 초본인 민들레의 전초이다. 이뇨, 위궤양 등의 약제로 쓰이고 있다[10]. 작약은 미나리아재비(Ranunculaceae)과 다년생 초본으로 주성분인 paeoniflorin은 중추억제작용, 혈관확장작용, 항염증작용 등을 나타내는 것으로 보고 되어 있다[12].

연교는 물푸레나무과(Oleaceae) 관목성 식물로서, 약재로 과실을 사용한다. 약효로는 해독, 감상선염, 이뇨약, 항염증제 등으로 사용하고 있다[17]. 금은화(Lonicerae Flos)는 인동과(Caprifoliaceae) 다년생 덩굴성 관목으로 tannin 성분이 급성장염 및 해독효과가 있으며[25], 생약으로 꽃봉오리를 사용하고 있다[2].

이러한 생약재는 생리활성을 나타내는 성분을 다량 함유하고 있는데, 그중 항균활성을 나타내는 alkaloid, terpenoid, phenol 및 정유 성분을 함유하고 있다.

따라서 본 연구는 생약재 성분을 추출하고 각각의 추출물에서 항균특성을 조사하여 천연 항진균 성분을 분리하고자 실험을 실시하였다.

*Corresponding author

Tel: 82-41-540-5979, Fax: 82-41-541-5979

E-mail: yongsub@hoseo.edu

재료 및 방법

시약 및 균주

배지로는 YM Broth(Difco, USA)를 이용하고 진균억제제로 amphotericin B(Sigma, USA)를 사용하였다. 폴리페놀 및 항산화조사를 위하여 Folin ciocalteu(Wako, Japan), α , α -diphenyl- β -picrylhydrazyl(DPPH, Sigma, USA), Na_2CO_3 (Sigma, USA), quercetin(Sigma, USA), catechin(sigma, USA)의 시약을 이용하여 microplate spectrophotometer (BENCHMARK PLUS, BIO-RAD, USA)에서 측정하였다. 항진균활성 조사는 분양받은 *Candida albicans*(ATCC 10231), *C. tropicalis*(ATCC 750), *C. glabrata* (ATCC 2001), *C. parapsilesis*(ATCC 22019), *C. utilis*(ATCC 22023) 등을 이용하여 조사하였다. 유기시약은 butanol (Junsei, Japan), acetic acid(J.T Baker, USA), MeOH(J.T Baker, USA), TLC Silica gel 60 F254(merck, USA), berberin (Sigma, USA)을 사용하였다.

시료제조

실험에 이용된 황련, 어성초, 지모, 포공영, 작약, 연교, 금인화 등은 한약재 판매소에서 당년에 생산된 재품을 구입하여 충분히 건조하고 50 mesh로 분쇄하여 추출용 시료로 사용하였다. 시료의 추출은 건조된 시료 20 g을 분쇄하여 ethanol 200 mL를 가하고 24시간 상온에서 교반 추출하였다. 추출액은 30분간 3000 rpm에서 원심분리하여 상등액을 회수하고 필요에 따라 rotary vacuum evaporator(EYELA, Japan)에서 농축하고 사용전 까지 -20°C 냉동실에 보관하여 실험에 사용하였다.

총 폴리페놀 함량분석

총 페놀 화합물은 Folin-Denis 방법으로 측정하였다[6]. 시료 1 mL에 95% ethanol 1 mL와 증류수 5 mL을 첨가하고, 1N Folin-ciocalteu reagent 0.5 mL를 넣어 섞어준 다음, 5분간 방치한 후, 5% Na_2CO_3 1 mL를 가한 후, 흡광도 725 nm에서 측정하였다. 정량은 gallic acid으로 작성한 표준곡선을 이용하여 함량을 계산하였다.

항산화분석

추출물의 전자공여능(EDA; electron donating abilities) 측정은 Blois의 방법을 따라 측정 하였다[3]. 각 시료는 일정한 농도로 dilution하고 시료용액 2.0 mL에 0.2 mM의 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl(DPPH) 0.5 mL를 넣고 교반한 후 실온에서 30분간 방치한 다음 517 nm에서 흡광도를 측정하였다. 전자공여의 효과는 첨가구와 무첨가구의 흡광도 감소율로 나타내었다.

$$\text{DPPH 라디칼 소거능(\%)} = \frac{\text{Control Absorbance} - \text{Sample Absorbance}}{\text{Control Absorbance}} \times 100$$

Candida 속 균에 대한 추출물의 항균활성

Candida albicans, *C. tropicalis*, *C. glabrata*, *C. parapsilesis*, *C. utilis* 이상 5종류의 *Candida* 종에 대한 항균활성 검색은 다음과 같이 실시하였다. 각각의 균을 최적배지인 YM agar 배지에 20 μL 씩 분주하여 멸균 유리병으로 도말한 다음 추출물을 각각의 농도에 맞추어 배지에 흡수시키고 대조구로는 amphotericin B를 사용하였다. 추출물이 흡수된 처리구는 30°C 에서 3일간 배양하였으며 24시간 단위로 clear zone을 확인하여 저해활성을 계산 하였다.

항균물질 분리 및 분석

위의 추출물중 항균효과를 나타내는 추출물로부터 항균물질을 분리하기 위하여 TLC를 이용하여 1차 분리하였으며, 용매의 분리조건은 butanol:DW:acetic acid(7:2:1)이다. TLC에서 분리한 물질은 새부분으로 나누어 다시 항균활성 처리를 실시하여 확인하였다. 항균활성효과를 나타내는 부분의 물질은 다시 2차 분리하여 3개의 spots로 분리하여 항균활성을 조사하였다. 확인된 spots는 MeOH에 녹여 HPLC 분석을 실시하였다. HPLC기기는 Varian(USA), column은 varian C18 reversed-phase, flow rate은 1 mL/min, buffer는 mobile phase A:acetonitrile, B:0.2% KH_2PO_4 를 이용하여 A buffer 25%, B buffer 75%에서 A 55%, B 45% 30분간으로 linear gradient하여 분석하였다.

통계처리

실험결과의 통계처리는 SPSS 12.0(SPSS Inc, IL, USA)을 사용하여 검증하였다.

결과 및 고찰

Ethanol추출물의 phenol성 물질의 함량

식물추출물에 존재하는 phenol성 물질은 생체고분자물질과 결합하여 항산화 효과를 나타내는 등 생리활성기능을 가지고 있다[5, 19]. 한방에서 사용되는 약재에 ethanol을 이용하여 phenol성분을 추출하고, 추출물의 phenol 함량을 측정하였다. 효과적인 phenol성분의 추출을 위하여 ethanol의 농도를 단계별로 증가하여 추출하였는데 그 결과 Fig. 1과 같은 결과를 얻었다. Ethanol 농도에 따른 phenol성 물질의 용출량은 시료마다 다른 양상을 보이고 있는데, 40% ethanol 농도에서 가장 높은 용출량은 어성초, 지모, 금은화 등이며, 60% ethanol에서 가장 높은 용출량은 포공영, 작약 등이었다. 황련은 80% ethanol 농도에서는 낮은 용출량을 보이나 다른 농도에서는 비슷한 용출량을 보이고 있고, 연교는 80%

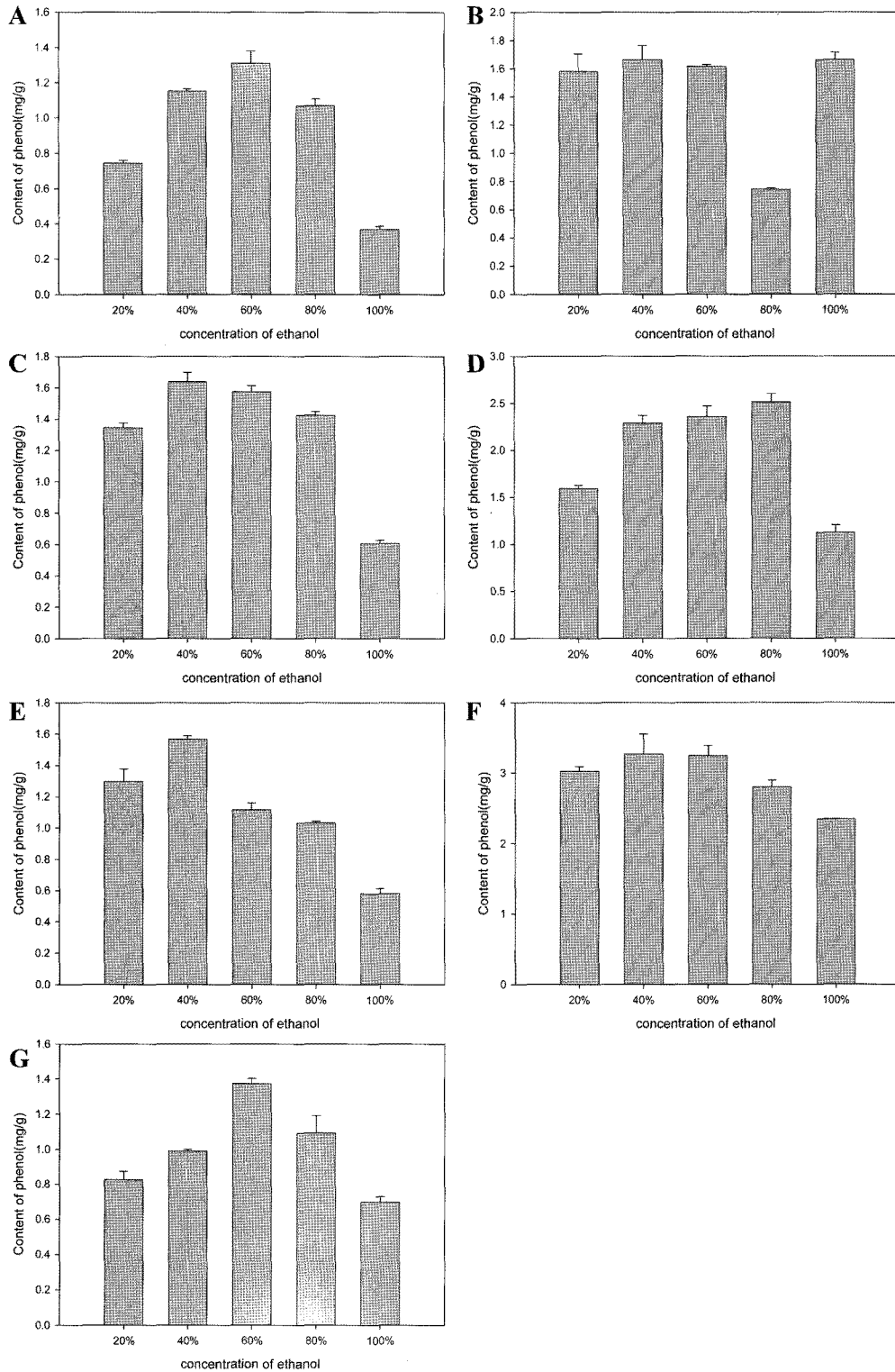


Fig 1. Effect of ethanol concentration on phenol extraction from traditional herb medicine. A: *Taraxacum platycarpum*, Taraxaci Herba, B: *Coptis chinense*, Coptidis Rhizoma, C: *Houttuynia cordata*, Houttuyniae Herba, D: *Forsythia suspensa*, Forsythia Fructus, E: *Anemarrhena asphodeloides*, Anemarrhena Rhizome, F: *Lonicera japonica*, Lonicerae Flos, G: *Paeonia lactiflora*, Paeonia Radix.

ethanol에서 높은 용출량을 보이고 있다. 황련을 제외하면 위의 모든 시료는 80% ethanol 농도 이후 낮은 용출량을 보이고 있다. 이것은 시료의 phenol성분 종류가 다르기 때문에

추출시 다른 ethanol 농도의 이용이 필요하다고 할 수 있다. 식물추출물의 phenol성분은 polyphenolic antioxidants로 flavonoid성분으로 flavonol, flavan-3-ol, anthocyanin 등과

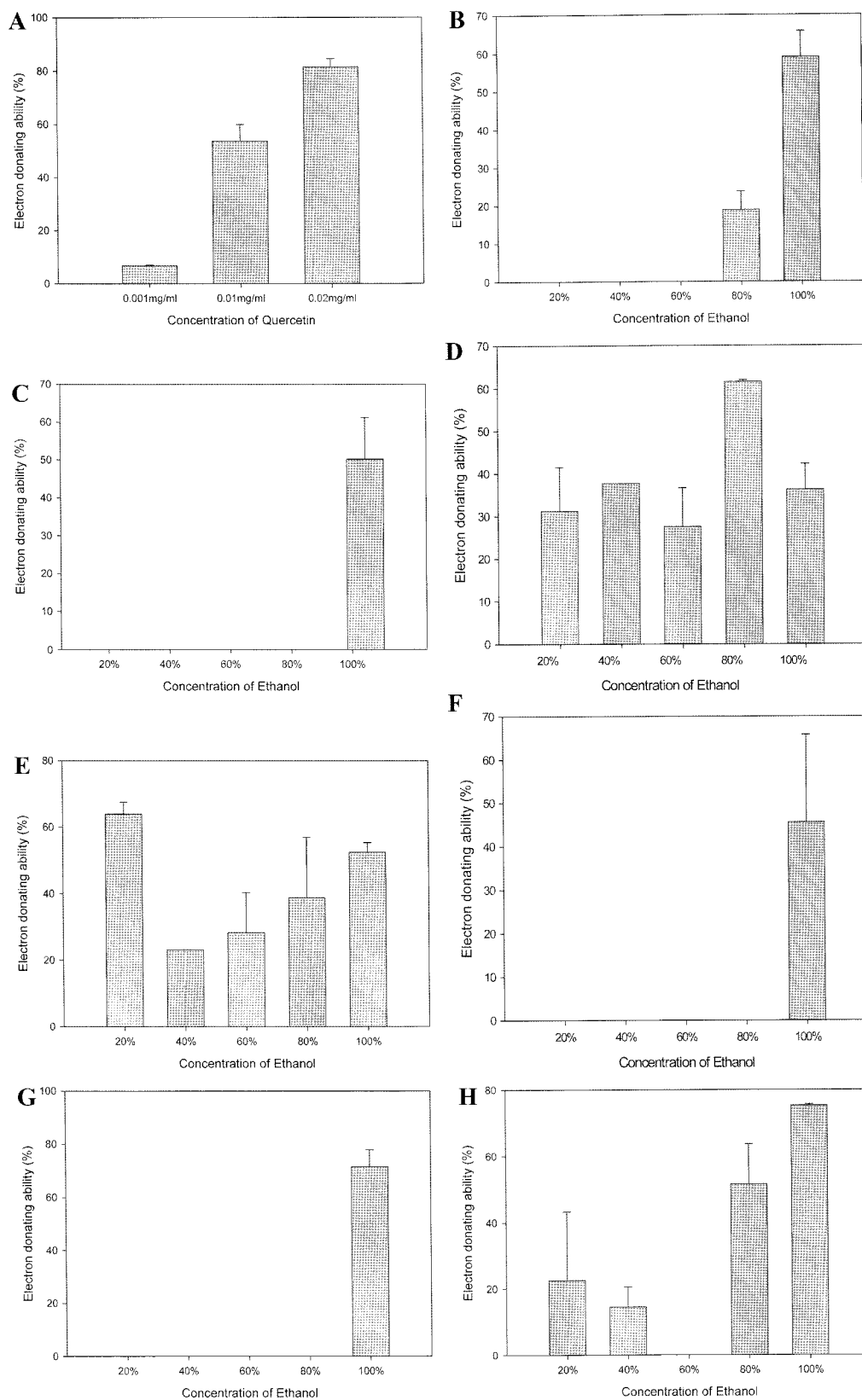


Fig 2. Antioxidant effect of ethanol extracts from traditional herb medicine by DPPH radical. A: quercetin as control, B: *Taraxacum platycarpum*, Taraxaci Herba, C: *Coptis chinense*, Coptidis Rhizoma, D: *Houttuynia cordata*, Houttuyniae Herba, E: *Forsythia suspensa*, Forsythia Fructus, F: *Anemarrhena asphodeloides*, Anemarrhena Rhizome, G: *Lonicera japonica*, Lonicerae Flos, H: *Paeonia lactiflora*, Paeonia Radix.

non-flavonoid compounds로 phenolic acids, phenolic alcohols, stilbene, hydroxycinnamic acid 등 식물마다 다양한 형태와 종류가 존재하고 있다[7, 9, 13, 21].

Ethanol 추출물의 항산화 효과

전자공여능은 항산화작용의 지표로 사용되고 있으며, 특히 phenol류 등 식물추출물의 항산화능을 측정하는 방법으로 사용하고 있다. DPPH법은 polyhydroxy 방향족, 방향족 아민류 등 시료에 의한 환원반응을 측정하므로써 전자공여능의 차이를 측정할 수 있다[4]. Fig. 2는 ethanol 농도별 추출물을 이용하여 전자공여능을 측정한 결과이다. 전자공여능은 ethanol 농도별 추출물에 따라 다르게 나타나고 있는데, 어성초, 연교, 작약은 모든 ethanol 농도별 추출물에서 전자공여능을 나타내고 있다. 포공영은 80% ethanol 추출물 이상에서 전자공여능을 보이며, 황련, 지모, 금은화는 100%의 ethanol 추출물에서 전자공여능을 보이고 있다. 황련, 지모, 금은화의 경우 100% ethanol 추출물에만 전자공여능을 보이는 것은 100% ethanol 추출물에서 강한 항산화물질이 추출된 것으로 생각된다. Fig. 2에서의 ethanol 농도에 따른 추출물의 전자공여능 차이는 Fig. 1에서 나타난 ethanol 농도에 따른 phenol 용출량의 차이에 기한한 것으로 생각된다.

식물 추출물의 항균활성

식물 추출물을 *Candida* 속(genus) 5종(species)과 항균활성을 측정하여 Table 1과 같이 나타냈다. *C. albicans*는 황련 추출물 200 µg/mL 농도로 주입하였을 때 3 mm의 저해환을 나타내었으며, *C. tropicalis*는 포공영 추출물을 200 µg/mL 농도로 주입시 2 mm, 어성초 추출물을 200 µg/mL 농도로 주입시 2 mm, 작약 추출물을 200 µg/mL 주입시 3 mm 저해환을 나타내었다. 황련 추출물은 50, 100, 150, 200 µg/mL 농도로 주입시 2, 3, 6, 9 mm의 저해환을 나타내었다. 연교, 지모, 금은화 추출물은 *C. glabrata*, *C. parapsilesis*, *C. utilis* 3개 종에 대한 항균활성을 나타내지 않았다.

항균물질의 분리 및 HPLC 검정

항균활성을 강하게 나타낸 황련 추출물을 이용하여 항균 물질을 분리하였다. 황련 추출물은 TLC를 이용하여 1차로 분리하였으며, TLC plate를 3등분하여 분리된 추출물은 MeOH로 녹여 회수하였다. 회수된 추출물은 항균활성을 측정하여 항균성분이 포함된 TLC plate부분을 확인하였다. 항균활성이 확인된 TLC plate의 성분을 다시 TLC에 전개하여 3개의 spots을 확인하였다. 3개의 spots으로부터 분리된 3개의 compounds는 항균활성이 측정되었으며, 3개의 compounds중 한 개의 compound에서 항균활성을 확인하였다 (Table 2). 항균활성이 확인된 물질은 HPLC 분석을 통하여 berberin의 retention time과 일치하는 것으로 나타났다(Fig 3).

Table 1. Agar diffusion assay of extracts of traditional herb medicine against different *Candida* species.

species	extracts	Clear zone (mm)				
		Content of extract (µg/mL)				
		10	50	100	150	200
<i>Candida albicans</i>	TH	-	-	-	-	-
	HH	-	-	-	-	-
	LF	-	-	-	-	-
	AR	-	-	-	-	-
	FF	-	-	-	-	-
	PR	-	-	-	-	-
	CR	-	-	-	-	3
<i>Candida tropicalis</i>	TH	-	-	-	-	2
	HH	-	-	-	-	2
	LF	-	-	-	-	-
	AR	-	-	-	-	-
	FF	-	-	-	-	-
	PR	-	-	-	-	3
	CR	-	2	3	6	9
<i>Candida glabrata</i>	TH	-	-	-	-	-
	HH	-	-	-	-	-
	LF	-	-	-	-	-
	AR	-	-	-	-	-
	FF	-	-	-	-	-
	PR	-	-	-	-	-
	CR	-	3	4	4	5
<i>Candida parapsilesis</i>	TH	-	-	-	-	-
	HH	-	-	-	-	-
	LF	-	-	-	-	-
	AR	-	-	-	-	-
	FF	-	-	-	-	-
	PR	-	-	-	-	-
	CR	-	-	-	-	-
<i>Candida utilis</i>	TH	-	-	-	-	-
	HH	-	-	-	-	-
	LF	-	-	-	-	-
	AR	-	-	-	-	-
	FF	-	-	-	-	-
	PR	-	-	-	-	-
	CR	-	-	-	-	-

TH, Taraxaci Herba; HH, Houttuyniae Herba; LF, Lonicerae Flos; AR, Anemarrhena Rhizome; FF, Forsythia Fructus; PR, Paeonia Radix; CR, Coptidis Rhizoma.

-, no detected.

여러해살이 초본식물인 황련은 한국, 일본, 중국 등지에서 약재로 사용되는 식물로 성분으로는 isoquinoline계의 alkaloid인 berberin, jateorrhizine, palmatine, coptisine, magnoflorine, epiberberin, berberrubine, worenine, 및 ferulic acid 등이 함유되어 있으며, 그 중 주성분은 berberin으로 보고하고 있다. Berberin은 용혈성연쇄구균, 흉막염균, 폐렴쌍

Table 2. Minimum inhibitory concentration (MIC) of Coptidis Rhizoma compound isolated from TLC.

species	CR ¹⁾ compound (µg/mL)	Berberin (µg/mL)	Amphotericin B (µg/mL)
<i>Candida albicans</i>	-	-	0.2
<i>Candida tropicalis</i>	24	30	0.4
<i>Candida glabrata</i>	48	50	0.4
<i>Candida parapsilesis</i>	-	-	0.4
<i>Candida utilis</i>	-	-	0.4

-, no detected.

¹⁾ Coptidis Rhizoma.

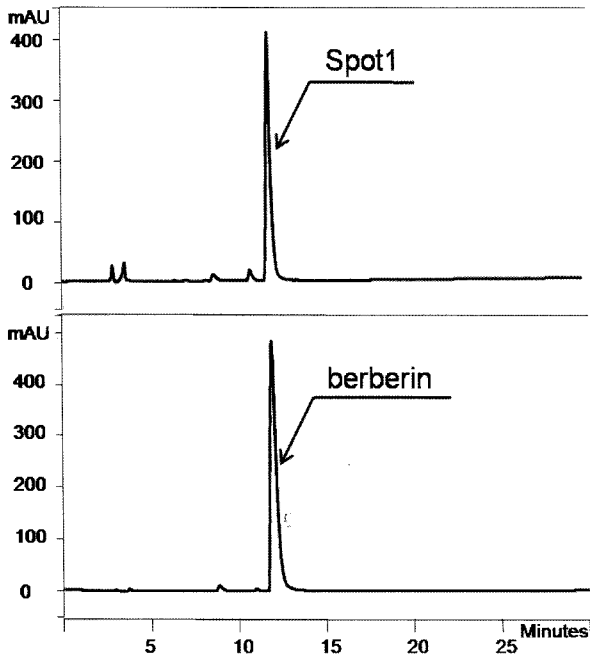


Fig 3. HPLC chromatogram of Coptidis Rhizoma compound separated on TLC plate and berberin chloride.

구균, 콜레라균, 탄저병균 및 황색포도상구균에 대한 강한 억제효과를 나타내고 있으며, 그 외에도 항염증, 지혈, 혈압 강하작용, 항암작용 등이 있다[8, 14, 18, 22].

황련 추출물은 여성의 칸디다증(Candidiasis)을 일으키는 *C. albicans* 병원균의 성장을 억제하며, 특히 non-*Candida albicans* 미생물에 속하는 *C. glabrata*, *C. krusei*, *C. tropicalis*도 억제하는 것으로 보고하고 있다[15, 23]. 식물 추출물을 이용한 칸디다증 병원균의 억제는 항진균제 개발의 새로운 도전이 되고 있는데, non-*C. albicans* 경우 항진균제로 사용되는 fluconazole이나 amphotericin B에 저항성이 있는 것으로 보고되어 질염치료에 심각한 저해요인이 되거나 질 병치료에 실패로 이어지고 있다[20, 26]. 본 연구에서는 항진균력이 있는 것으로 보이는 한약재 원료를 이용하여 항진균성분을 조사 하였으며, 이들 중 황련 추출물이 *C. albicans*와 non-*C. albicans* 의 일부병원균에도 항진균 효과를 나타내고

있음을 확인하였다. 또한 황련 추출물의 성분들중 하나로 알려진 berberin이 칸디다증 병원균에 항진균 효과를 나타내는 성분임을 확인하였다.

요 약

본 연구에서는 여성의 질염을 일으키는 칸디다증 병원균에 대한 항진균 성분을 한약재에서 조사하였다. 한약재에 ethanol을 이용하여 phenol성분을 추출하고, 추출물의 phenol 함량을 측정하였다. Ethanol 농도에 따른 phenol성 물질의 용출량은 시료마다 다른 양상을 보이고 있는데, 40% ethanol 농도에서 가장 높은 용출량은 어성초, 지모, 금은화 등이며, 60% ethanol에서 가장 높은 용출량은 포공영, 작약 등이다. 황련은 80% ethanol 농도에서는 낮은 용출량을 보이나 다른 농도에서는 비슷한 용출량을 보이고 있고, 연교는 80% ethanol에서 높은 용출량을 보였다. 전자공여능은 ethanol 농도별 추출물에 따라 다르게 나타나고 있는데, 포공영은 80% ethanol 추출물 이상에서 전자공여능을 보이며, 황련, 지모, 금은화는 100%의 ethanol 추출물에서 전자공여능을 보였다. 한약재 추출물의 항진균성은 *C. albicans*는 황련 추출물 200 µg/mL 농도로 주입하였을 때 3 mm의 저해환을 나타내었으며, *C. tropicalis*는 포공영 추출물을 200 µg/mL 농도로 주입시 2 mm, 어성초 추출물을 200 µg/mL 농도로 주입시 2 mm, 작약 추출물을 200 µg/mL 주입시 3 mm 저해환을 나타내었다. 황련 추출물은 50, 100, 150, 200 µg/mL 농도로 주입시 2, 3, 6, 9 mm의 저해환을 나타내었다. 추출물을 이용한 *C. glabrata*, *C. parapsilesis*, *C. utilis* 3개 종에 대한 항진균성은 나타나지 않았다. 황련 추출물에서 항진균성분은 TLC와 HPLC 분석을 통하여 berberin인 것으로 나타났다.

감사의 글

본 연구는 2006년도 호서대학교 기초연구소지원 (20060090)에 의하여 이루어진 논문입니다.

REFERENCES

1. An, B. J., J. T. Kee, C. E. Lee, J. H. Kim, J. H. Son, J. H. Kwak, J. Y. Lee, T. S. Park, H. J. Bae, M. J. Jang, and C. H. Jo. 2005. A study on physiological activities of Coptidis Rhizoma and application for cosmetics ingredients. *Kor. J. Herbology* **20**: 83-92.
2. Bae, J. H., M. S. Kim, and E. H. Kang. 2005. Antimicrobial effect of Lonicerae Flos extracts on food-borne pathogens. *Korean J. Food Sci. Technol.* **37**: 642-647.
3. Blois, M. S. 1958. Antioxidant determination by the use of a stable free radical. *Nature* **26**: 1199-1200.
4. Brand-Williams, W., M. E. Cuvelier, and C. Berset. 1995.

- Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *Food Science and Technology* **28**: 25-30.
5. Bravo, L. 1998. Polyphenols: Chemistry, dietary sources, metabolism, and nutritional significance. *Nutrition Reviews* **56**: 317.
 6. Dural, B. and K. Shetty. 2001. The stimulation of phenolics and antioxidant activity in pea (*Pisum sativum*) elicited by genetically transformed Anise root extract. *J. food Biochem.* **25**: 361-377.
 7. Hakkinen, S. H. and A. R. Torronen. 2000. Content of flavonols and selected phenolic acids in strawberries and *Vaccinium* species: Influence of cultivar, cultivation site and technique. *Food Research International* **33**: 517-924.
 8. Hattori, T, K. Furuta, T. Nagao, T. Nagamatsu, T. Ito, and Y. Suzuki. 1992. Studies on the antinephritic effect of plant components (4): Reduction of protein excretion by berberine and Coptisine in rats with original-type anti-GMB nephritis. *Jpn. J. Pharmacol.* **59**: 156-169.
 9. Hollman, P. C. H., M. G. L. Hertog, and K. B. Katan. 1996. Analysis and health effects of flavonoids. *Food Chemistry* **57**: 43-96.
 10. Hong, S. H. and S. S. Roh. 2005. Effects of herbal extracts on the inflammatory reactions which use the makeup preparations. *Korean J. Oriental Physiology and Pathology.* **19**: 1419-1426.
 11. Kim, K. Y., D. O. Chung, and H. J. Chung. 1997. Chemical composition and antimicrobial activities of *Houttuynia cordata* THUNB. *Korean J. Food Sci. Technol.* **29**: 400-406.
 12. Kitagawa, I, O. M. Sankawa, M. Tomoda, and I. Nishioka. 1982. Pharmacology. Tokyo, Japan, 2nd Ed., pp. 234-236.
 13. Kong, J. M., L. S. Chia, N. K. Goh, T. F. Chia, and R. Brouillard. 2003. Analysis and biological activities of anthocyanins. *Phytochemistry* **64**: 923-933.
 14. Kuo, C. L., C. W. Chi, and T. Y. Liu. 2004. The anti-inflammatory potential of berberine in vitro and in vivo. *Cancer Lett.* **203**: 127-137.
 15. Larsen, B. and G. R. Motif. 2001. Understanding the bacterial flora of the female genital tract. *Clin. Infect Dis.* **32**: 69-77.
 16. Lee, J. H., S. I. Jeong, I. S. You, and S. K. Kim. 2001. The inhibitory effects of the methanol extracts of *Houttuynia cordata* THUNB against cadmium induced cytotoxicity (V). *Kor. J. Pharmacogn* **32**: 61-67.
 17. Lee, J. S., B. S. Min, and K. W. Bae. 1996. Effects of *Forsythiae fructus* on L1210 and HL-60 cells. *Yakhak Hoeji* **40**: 462-467.
 18. Liu, B., W. Li, Y. Chang, Y. Dong, and L. Ni. 2006. Extraction of berberine from rhizome of *Coptis chinensis* Franch using supercritical fluid extraction. *J Pharm Biomed Anal.* **41**: 1056-1060.
 19. Monagas, M., B. Bartolome, and C. Gomez-Cordoves. 2005. Updated knowledge about the presence of phenolic compounds in wine. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* **45**: 85-118.
 20. Reichart, P. A., L. P. Samaranayake, Y. H. Samaranayake, M. Grote, E. Pow, and B. Cheung. 2002. High oral prevalence of *Candida krusei* in leprosy patients in northern Thailand. *J. Clin. Microbiol.* **40**: 4479-4485.
 21. Robbins, R. J. 2003. Phenolic acids in foods: An overview of analytical methodology. *J. Agric. Food Chem.* **51**: 2866-887.
 22. Ruan, W., M. Lai, and J. Zhou. 2006. Anticancer effects of Chinese herbal medicine, science or myth? *J. Zhejiang Univ Sci B.* **7**: 1006-1014.
 23. Seneviratne, C. J., R. W. K. Wong, and L. P. Samaranayake. 2007. Potent anti-microbial activity of traditional chinese medicine herbs against *Candida* species. *Mycoses* **51**: 30-34.
 24. Song, J. H., M. J. Kim, H. D. Kwon, and I. H. Park. 2003. Antimicrobial activity of fractional extracts from *Houttuynia cordata* root. *J. Korean Sco. Food Sci. Nutri.* **32**: 1053-1058.
 25. World health organization. 1997. Lead environmental health criteria 3. Geneva, WHO. p. 160.
 26. Zhanel, G. G., J. A. Karlowsky, S. A. Zelenitsky, M. A. Turik, and D. J. Hoban. 1998. Susceptibilities of *Candida* species isolated from the lower gastrointestinal tracts of high-risk patients to the new semisynthetic echinocandin LY303366 and other antifungal agents. *Antimicrob. Agents Chemother.* **42**: 2446-2448.

(Received Feb. 15, 2009/Accepted March 5, 2009)