

# 단양쑥부쟁이에 함유된 Caffeoylquinic Acid의 HPLC 분석과 Peroxynitrite 소거효과

임상철<sup>1\*</sup>, 박희준<sup>2</sup>

<sup>1</sup>상지대학교 친환경식물학부, <sup>2</sup>상지대학교 제약공학과

## HPLC Analysis on the Caffeoylquinic Acids of *Aster altaicus* var. *uchiyamae* Kitamura and Peroxynitrite-scavenging Effect

Sang-Cheol Lim<sup>1\*</sup> and Hee-Juhn Park<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Division of Environment-Friendly Botanical Resources, Sangji University, Wonju 26339, Korea  
<sup>2</sup>Department of Pharmaceutical Engineering, Sangji University, Wonju 26339, Korea

**Abstract** - Five caffeoylquinic acids of *Aster altaicus* var. *uchiyamae* Kitamura (Compositae) leaves were identified using standard compounds by HPLC and determined as follows: 3,4-di-*O*-caffeoylquinic acid ( $4.92 \pm 0.06$  mg/g dried weight), 3,5-di-*O*-caffeoylquinic acid ( $3.95 \pm 0.13$  mg/g), 4,5-di-*O*-caffeoylquinic acid ( $1.39 \pm 0.10$  mg/g), 5-*O*-caffeoylquinic acid (chlorogenic acid,  $8.05 \pm 0.21$  mg/g), 3-*O*-caffeoylquinic acid ( $4.97 \pm 0.18$  mg/g). The total content of five caffeoylquinic acids were calculated as  $26.73 \pm 0.26$  mg/g dried weight while the percentage of the five compounds in the MeOH extract was calculated as  $25.22 \pm 0.25\%$ . The IC<sub>50</sub> value of the MeOH extract scavenging peroxynitrite (ONOO<sup>-</sup>) was shown as  $5.16 \pm 0.15$  μg/ml.

**Key words** - *Aster altaicus*, Compositae, Caffeoylquinic acid, Peroxynitrite, HPLC

## 서 언

쑥부쟁이라는 이름이 부여된 식물들은 쑥부쟁이속(*Kalimeris calass*), 갯쑥부쟁이속(*Heteropappus Less*), 개미취속(*Aster L.*) 등으로 분류되나 이들은 모두 *Aster*속에 속한다. 쑥부쟁이는 진해, 거담, 해독, 기관지염, 이노 등에 효과가 있다고 하였으며(Hotta *et al.*, 1989; Song *et al.*, 1974) 어린 순은 채취 후 건조하여 나물로 이용한다.

단양쑥부쟁이(*Aster altaicus* var. *uchiyamae* Kitamura)는 우리나라 중부지방에 자생하며 특히 충청북도 단양의 남한강 유역에서 처음 발견되었다. 단양쑥부쟁이는 일명 솔잎국화라고도 불리는 국화과 2년생 초본식물로 초년도에는 줄기높이는 15 cm 정도, 잎은 총생하며, 2년차에는 30-70 cm 정도로 자란다. 경엽은 호생하며 선형 또는 피침형으로 길이 3.5-5.5 cm, 너비

1-3 mm이며 끝은 뾰족하고 가장자리는 밋밋하며 털이 약간 있으며 엽병은 없다. 8-9월에 자주색 꽃이 피고 화경에 선상의 잎이 많이 달린다. 총포는 반구형이며 길이 8-10 mm, 포편은 2열로 배열되며 뒷면에 털이 약간 있다. 11월에 열매가 성숙하며 수과는 편평한 도란형으로 털이 밀생하며 관모는 길이 4 mm 정도로 붉은 빛이 돈다(Lee, 1996).

이강노 교수 등은 국화과 식물의 참취(Kwon *et al.*, 2000), 울릉미역취(Choi *et al.*, 2004), *Lactuca indica* (Kim *et al.*, 2007; Kim *et al.*, 2008) 등의 식물에서 terpenoid 성분 이외에도 caffeoylquinic acid 성분을 분리한 바 있다. Caffeoylquinic acid 중 5-*O*-caffeoylquinic acid (chlorogenic acid)가 가장 잘 알려져 있고 모체 quinic acid에 치환기의 결합에 따라 다양한 종류의 화합물이 가능하다. 치환기로는 caffeic acid가 가장 흔하고 가끔 *p*-coumaric acid, ferulic acid 등도 가능하며, 모체로는 quinic acid가 대부분이나 드물게 *epi*-quinic acid, *muco*-quinic acid가 가능하다. 한편 가장 흔한 치환기인 caffeic acid

\*교신저자: sclim@sangji.ac.kr  
Tel. +82-33-730-0562

의 결합 수에 따라 monocaffeoylquinic acid, dicaffeoylquinic acid, tricaffeoylquinic acid 등이 가능하지만 전자의 두 화합물 군이 가장 많다. 이러한 caffeoylquinic acid의 생리활성으로 항산화활성, 항염활성, 항미생물활성, 당대사관련 효소 억제작용, 혈관긴장 억제작용, 간세포 보호작용, 혈소판응집 억제작용 등 매우 많은 생리활성이 알려져 있다(Zhao *et al.*, 2006).

한편, peroxynitrite (ONOO<sup>-</sup>)는 생체에서 생성될 수 있는 강력한 독성물질로서 염증 매개 인자인 nitric oxide (NO)와 superoxide anion radical (•O<sub>2</sub><sup>-</sup>)의 반응에 의해 생성된다고 알려져 있다(Radi *et al.*, 1991). 이 과정에 의해 생성된 peroxynitrite는 단백질과 지질의 과산화를 유도하고 세포독성을 일으킬 뿐 아니라 급속한 신경손상을 일으키는 것으로도 알려져 있다(Haenen *et al.*, 1997). 현재까지 peroxynitrite는 고콜레스테롤증, 동맥경화증, 비만, 당뇨병 등 대사성 질환이나 순환기성 질환 유발효과를 가지는 것으로 알려져 있다(Korda *et al.*, 2008; Pacher *et al.*, 2005; Drel *et al.*, 2007). Lei and Kang (2014)은 짙신나물의 알코올 추출물로부터 높은 항산화 효과를 확인하여 천연항산화제와 건강식품보조제로서의 가치가 있다고 하였다. Park (2010)은 취나물에서 분리한 caffeoylquinic acid는 peroxynitrite 소거효과가 있다고 보고한바 있다. 본 연구에서는 단양쑥부쟁이 추출물의 caffeoylquinic acid류 화합물을 HPLC로 정성정량하고 peroxynitrite 소거효과를 확인하고자 하였다.

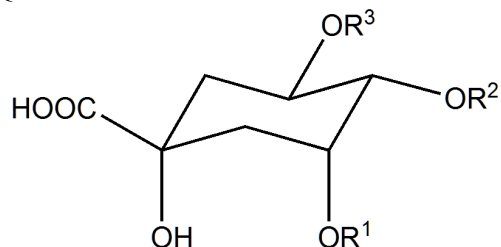
## 재료 및 방법

### 기기 및 시약

HPLC 기기는 Prostar 210 solvent delivery module, Prostar 325 UV-Vis detector 및 20 µl sample loop (Rheodyne, Rohnert Park, CA, USA)를 포함하는 Varian HPLC system을 사용하였다. 분리는 Hamilton (Reno, Nevada, USA)에서 구입한 Shiseido (Chuoku, Tokyo, Japan) Capcell Pak C18 column (5 µl, 250 mm × 4.6 mm I.D.)와 injection syringe를 이용하여 수행하였다. HPLC 분석에 사용된 모든 용매는 J.T. Baker (Phillipsburg, NJ, USA)로부터 구입한 HPLC급 용매였다.

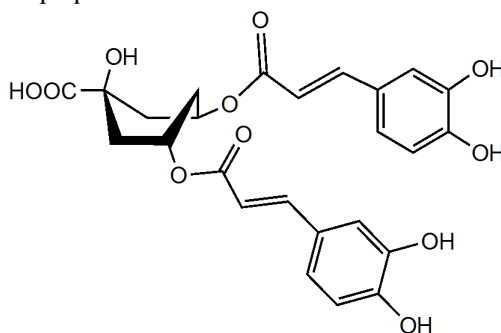
HPLC 분석을 위해 표준품으로 사용된 7종의 caffeoylquinic acid는 성균관대학교 약대 이강노 교수에게서 공급받아 사용하였으며, 이 화합물들은 모두 *Lactuca indica*에서 분리한 것으로서(Kim *et al.*, 2007; Kim *et al.*, 2008) 그 분광학적 데이터는 본 보고에서는 생략한다. 표준 화합물은 다음과 같이 괄호 안의

### (A) Quinic acid derivatives



- 3,4-DQ : R<sup>1</sup> = R<sup>2</sup> = caffeoyl (3,4-di-*O*-caffeoylquinic acid)
- 3,5-DQ : R<sup>1</sup> = R<sup>3</sup> = caffeoyl (3,5-di-*O*-caffeoylquinic acid)
- 4,5-DQ : R<sup>2</sup> = R<sup>3</sup> = caffeoyl (4,5-di-*O*-caffeoylquinic acid)
- 5-CQ : R<sup>3</sup> = caffeoyl (5-*O*-caffeoylquinic acid)
- 3-CQ : R<sup>1</sup> = caffeoyl (3-*O*-caffeoylquinic acid)
- 3-*p*CQ : R<sup>1</sup> = *p*-coumaroyl (3-*p*-*O*-coumaroyl)

### (B) An epi-quinic acid derivative



- 3,5-DeQ : 3,5-Di-*O*-dicaffeoyl-*epi*-quinic acid

Fig. 1. Structure of seven standard compounds used for HPLC analysis.

약어를 사용하기로 한다. 3,4-di-*O*-caffeoylquinic acid (3,4-DQ), 3,5-Di-*O*-dicaffeoyl-*epi*-quinic acid (3,5-DeQ), 3,5-di-*O*-caffeoylquinic acid (3,5-DQ), 4,5-di-*O*-caffeoylquinic acid (4,5-DQ), 5-*O*-caffeoylquinic acid (5-CQ), 3-*O*-caffeoylquinic acid (3-CQ), 3-*p*-*O*-coumaroyl-caffeoylquinic acids (3-*p*CQ). 또한 7종 화합물의 구조는 Fig. 1에 나타내었다. Peroxynitrite 소거효과 실험에 사용된 dihydrorhodamine 123 (DHR 123)과 peroxynitrite는 각각 Molecular Probes (Eugene, OR, USA) and Cayman Chemical Co. (Ann Arbor, MI, USA)로부터 구입하여 사용하였다.

### 식물재료

단양군농업기술센터로부터 1년생 유묘를 획득하여 비닐하우스에서 재배한 후 전초를 8월 중 채취하고 그늘에서 건조한 다음 분말로 하여 사용하였다. 식물체는 본 연구진이 동정하였

으며, 표본은 상지대학교 친환경식물학부 임상철 교수가 보관하고 있다.

**추출**

500 ml 용기의 삼각 플라스크에 식물 재료 20 g과 400 ml의 메탄올 40°C에서 6시간 sonication하였다. 그 추출액을 여과하고 60°C에서 진공건조기(N-1, EYELA, Japan)를 이용하여 감압하에 농축하였다. 추출물을 12시간 동결건조기(FDU-2200, EYELA, Japan)에서 건조하여 고체상의 추출물을 얻었다. HPLC 분석을 위하여 추출물을 80% 메탄올에 녹인 다음 0.50 μm syringe filter를 이용하여 여과한 후 분석기에 injection하였다.

**HPLC 분석**

분석 시료와 표준 화합물을 80% 메탄올에 녹이고 0.50 μm filter를 이용하여 여과한 후 injection하였다. UV 검출기는 246 nm 고정 파장을 이용하였다. 이동상 용매는 0.05% 인산 용액(A

용액)과 메탄올(B 용액)을 사용하였다. 용리는 용리구배의 원리로 다음과 같은 조건에서 수행하였다(0-10 min, 60% A : 40% B; 10-20 min, 50% A : 50% B; 20-30 min, 40% A : 60% B; 30-35 min, 60% A : 40% B). 흐름 속도는 1.00 ml/min이었다. 50, 100, 200 μg/ml 농도에서 피크 면적을 얻었으며 이를 이용하여 회귀방정식을 얻고 이 식의 R<sup>2</sup>치를 계산할 수 있었으므로 이를 Fig. 2에 나타내었다. 7종 화합물의 회귀방정식의 R<sup>2</sup> 값이 모두 0.990 이상임을 확인하였다. 각 분석 시료의 크로마토그램으로부터 피크 면적을 얻은 다음 각 화합물의 함유량을 계산하여 평균±표준편차로 Table 2에 나타내었다.

**Peroxynitrite 소거효과 실험**

Peroxynitrite (ONOO<sup>-</sup>) 소거효과 활성은 변형된 Kooy의 방법을 사용하여 측정하였다. 이 방법은 peroxynitrite의 존재 하에 비형광성의 DHR 123으로부터 급속히 생성되는 강한 형광성의 rhodamine 123을 모니터링하는 것이다(Kooy *et al.*, 1994).

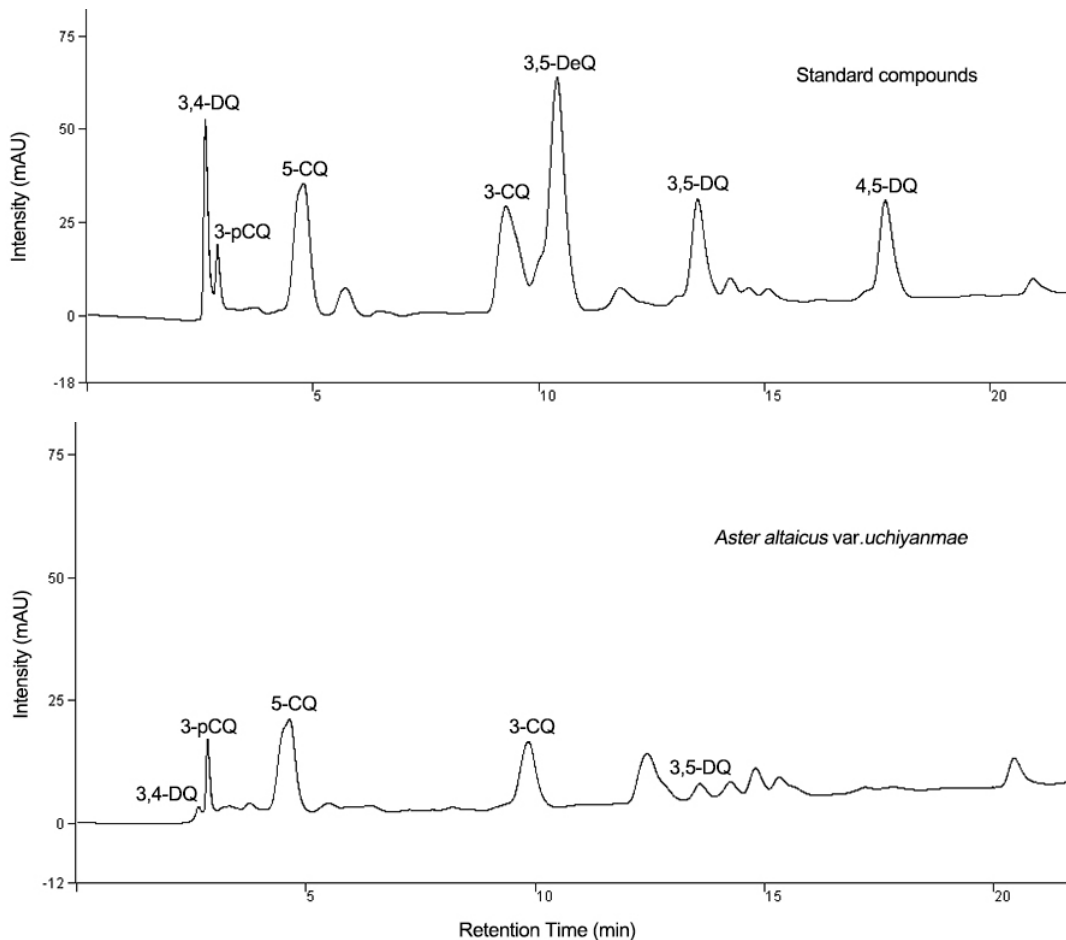


Fig. 2. HPLC chromatogram of seven standard compounds and the MeOH extract of *A. altaicus* var. *uchiyanmae*.

간략히 기술하면 다음과 같다. Rhodamine buffer (pH 7.4)는 50 mM sodium phosphate dibasic, 50 mM sodium phosphate monobasic, 90 mM sodium chloride, 5 mM potassium chloride, and 100 μM DTPA로 구성되어 있다. 마지막 DHR 123 용액 농도는 5μM이다. 이 검색법에서 완충액은 사용 전에 조제하였으며 병상에 보관하고 사용하였다. 식물 추출물은 10% DMSO (f.c. 5 μg/ml)에 녹여 사용하였다. 0.3N NaOH 용액에 10 μM peroxyntirite의 추가 여하에 따른 처리 후 최종의 형광 강도를 측정하였다. 산화된 DHR 123의 형광강도는 microplate fluorescence reader FL 500 (Bio-Tek Instruments Inc. Winooski, VT, USA)을 이용하여 각각 480 nm와 530 nm의 excitation과 emission에서 측정하였다. Peroxynitrite 소거활성은 DHR 123 산화의 검출을 통하여 최종 형광강도 값에서 background fluorescence 값을 빼서 산출하였다. L-Penicillamine은 양성 대조약물로 사용하였다. 이 활성실험의 데이터를 평균±표준오차로 나타내었다.

### 결과 및 고찰

HPLC chromatogram에서 표준품으로 사용된 6종 화합물 (Fig. 1)의 retention time과 그 회귀방정식을 Table 1에 나타내

었다. 회귀방정식의 R<sup>2</sup> 값이 모두 0.990이상으로 나타나 정량 조건에 합당하였다. HPLC chromatogram에서 3,5-di-O-caffeoyl-epi-quinic acid와 3-O-p-coumaroylquinic acid는 나타나지 않고 나머지 5종 화합물의 존재를 확인할 수 있었다. 가장 많이 함유된 화합물은 5-O-caffeoylquinic acid로서 그 함량이 8.50 ± 0.21 mg/g의 값을 보였고 가장 낮은 함량을 보인 화합물은 4,5-di-O-caffeoylquinic acid로서 그 함량이 1.39 ± 0.10 mg/g의 값을 보였다. 이들 caffeoylquinic acid의 식물재료 중 총함량 백분율은 약 2.67%에 달하는 것으로 계산되었으며 추출물 중 총함량 백분율은 약 25.22%에 달하는 것으로 나타났다.

또 peroxyntirite-scavenging activity assay의 결과는 Fig. 3에 나타내었으며, 농도의존적으로 peroxyntirite scavenging effect가 현저함을 확인할 수 있었다. 단양쑥부쟁이 추출물의 IC<sub>50</sub> 값은 5.16 ± 0.15 μg/ml로 나타났고, 양성대조군으로 사용된 L-penicillamine의 값은 0.89 ± 0.22 μg/ml였다. 0.625, 1.250, 2.500, 5.000, 10.00 μg/ml의 농도에서 각각 억제율 5.98 ± 0.47, 29.00 ± 1.81, 36.38 ± 1.99, 59.67 ± 1.70, 76.11 ± 0.30%의 억제율을 보였다.

Dicafeoylquinic acid류의 약리학적 연구결과를 고찰하면 이들 화합물이 단백질의 tyrosine 잔기의 nitration에 대한 현저

Table 1. Calibration curve equation of the seven caffeoylquinic acid used for HPLC analysis

| No | Caffeoylquinic acid | Retention time (min) | Regretion Equation        | R <sup>2</sup>         |
|----|---------------------|----------------------|---------------------------|------------------------|
| 1  | 3,4-DQ              | 2.7                  | $y^z = 66.847x^y - 526.8$ | R <sup>2</sup> = 0.997 |
| 2  | 3,5-DeQ             | 9.6                  | $y = 383.09x - 364.7$     | R <sup>2</sup> = 0.991 |
| 3  | 3,5-DQ              | 12.9                 | $y = 113.68x - 796.4$     | R <sup>2</sup> = 0.998 |
| 4  | 4,5-DQ              | 17.1                 | $y = 141.71x - 162.1$     | R <sup>2</sup> = 0.996 |
| 5  | 5-CQ                | 4.5                  | $y = 241.02x - 6122$      | R <sup>2</sup> = 0.992 |
| 6  | 3-CQ                | 8.9                  | $y = 304.05x - 2505.4$    | R <sup>2</sup> = 0.999 |
| 7  | 3-pCQ               | 2.9                  | $y = 23.022x - 112.3$     | R <sup>2</sup> = 0.999 |

<sup>z</sup>y: (area, mV), <sup>y</sup>x: (concentration, μg/ml<sup>-1</sup>).

Table 2. Content of caffeoylquinic acids in the Compositae plants used for *A. altaicus* var. *uchiyamae*

| Compound | Caffeoylquinic acid (mg/g) | Compound          | Caffeoylquinic acid (mg/g) |
|----------|----------------------------|-------------------|----------------------------|
| 3,4-DQ   | 4.92 ± 0.06 <sup>z</sup>   | 3-CQ              | 4.97 ± 0.18                |
| 3,5-DeQ  | ND <sup>y</sup>            | 3-pCQ             | 2.53 ± 0.09                |
| 3,5-DQ   | 3.95 ± 0.13                | Sum               | 26.73 ± 0.26               |
| 4,5-DQ   | 1.39 ± 0.10                | % of dried weight | 2.673 ± 0.026              |
| 5-CQ     | 8.50 ± 0.21                | % of extract      | 25.22 ± 0.25               |

<sup>z</sup>Values represent mean ± S.D. based on triplicate experiments, <sup>y</sup>ND: not detected.

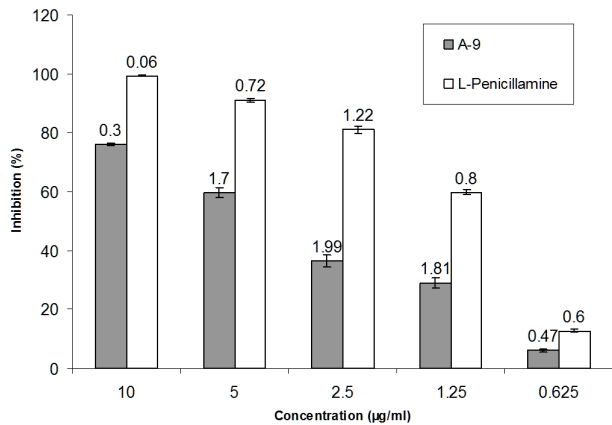


Fig. 3. Peroxynitrite-scavenging effect of *A. altaicus* var. *uchiyamae*.

ONOO<sup>-</sup> scavenging activity was measured by monitoring the oxidation of DHR 123 as described in materials and methods. Data are mean ± SEM of triplicate experiments. \*used as a positive control.

한 억제제임과 NF-κB 전사활성 억제에 기인한 NO 생성 억제제가 보고되어 있다(Olmos *et al.*, 2008). Jeong *et al.*, (2008) 은 국화과 산채류의 peroxynitrite-scavenging effect와 플라본 화합물의 동정을 한 바 있다. 또, 참취(*Aster scaber*)에서 분리한 caffeoylquinic acid 화합물들의 신경보호효과가 보고되어 있다(Hur *et al.*, 2001). 참취에서 (-)-3,5-dicaffeoyl-muco-quinic acid, (-)-3,5-dicaffeoylquinic acid, (-)-4,5-dicaffeoylquinic acid, (-)-5-caffeoylquinic acid가 분리되었고 그 항바이러스 활성이 알려져 있다.

고렙틴혈증(hyperleptinemia)은 혈관내피의 NO/ONOO<sup>-</sup> 불균형을 촉발하고, 이것은 동맥경화와 당뇨병 등 혈관질환에서 관찰되는 내피 질환의 특징이다(Korda *et al.*, 2008). Hsu *et al.* (2006) 은 chlorogenic acid가 3T3-L1 preadipocyte 증식을 억제하는 IC<sub>50</sub>가 72.3 µM이라 하였으며, 이러한 효과 때문에 항비만효과를 예견하였다. 특히 3,5-DQ는 단백질 tyrosine 잔기의 nitration을 억제하고 NF-κB 전사활성 억제에 기인한 NO 생성 감소를 초래한다고 하였다. 단양쑥부쟁이는 심혈관질환, 당뇨병, 동맥경화, 비만 등에 유효한 식물자원으로 이용될 수 있을 것으로 예상된다.

## 적 요

단양쑥부쟁이의 caffeoylquinic acid 성분을 HPLC로 분석하였다. 그 결과 3,4-DQ, 3,5-DQ, 4,5-DQ, 5-CQ, 3-CQ 5종 화합물이 검출되었다. 이 식물의 caffeoylquinic acid 총 함량은

26.73 ± 0.26 mg/g으로 건물중의 2.673 ± 0.026%, MeOH 추출물 중 함량은 25.22 ± 0.25%에 달하였다. 그리고 peroxynitrite를 소거하는 IC<sub>50</sub> 값은 5.16 ± 0.15 µg/ml로 나타났고, 양성대조군으로 사용된 L-penicillamine의 값은 0.89 ± 0.22 µg/ml였다. 그러므로, 단양쑥부쟁이는 caffeoylquinic acid 함량에 따르는 peroxynitrite 소거효과에 기인하여 비만, 당뇨, 심혈관질환, 동맥경화 등에 유효할 것으로 예상된다.

## 사 사

본 연구는 상지대학교 교내학술연구지원사업(2014학년도)으로 수행되었으며, peroxynitrite 소거효과 실험에 도움을 주신 부경대학교 식품생명공학부 최재수 교수님께도 감사드립니다.

## References

- Choi, S.Z., S.U. Choi and K.R. Lee. 2004. Phytochemical constituents of the Aerial parts from *Solidago virga-aurea* var. *gigantea* Miq. Arch. Pharm. Res. 27:164-168.
- Drel, V.R., P. Patcher, I. Varenjuk, I. Pavlov, V.V. Lyzogulbov, J.T. Grovez and I.G. Obrosova. 2007. A peroxynitrite decomposition catalyst counteracts sensory neuropathy in streptozotocin-diabetic mice. Eup. J. Pharmacol. 569:48-58.
- Haenen, G.R., J.B. Paquay, R.E. Korthouwer and A. Bast. 1997. Peroxynitrite scavenging by flavonoids. Biochem. Biophys. Res. Commun. 236:591-593.
- Hotta, M., K. Ogata, A. Nitta, K. Hosokawa, M. Yanagi and K. Yamazaki. 1989. Useful Plants of the World. Heibonsha, Tokyo, Japan. pp. 125-127 (in Japanese).
- Hsu, C.L., S.L. Huang and G.C. Yen. 2006. Inhibitory effect of phenolic acids on the proliferation of 3T3-L1 preadipocytes in relation to their antioxidant activity. Agric. Food Chem. 54(12):4191-4197.
- Hur, J.Y., Y. Soh, B.H. Kim, K. Kang, N.W. Sohn, H.C. Kim, H.C. Kwon, K.R. Lee and S.Y. Kim. 2001. Neuroprotective and neurotrophic effects of quinic acids from *Aster scaber* in PC12 cells. Biol. Pharm. Bull. 24(8):921-924.
- Jeong, D.M., H.A. Jung and J.S. Choi. 2008. Comparative antioxidant activity and HPLC profiles of some selected Korean thistles. Arch. Pharm. Res. 31(1):28-33.
- Kim, K.H., K.H. Lee, S.U. Choi, Y.H. Kim and K.R. Lee. 2008. Terpene and phenolic constituents of *Lactuca indica* L. Arch. Pharm. Res. 31(8):983-988.

- Kim, K.H., Y.H. Kim and K.R. Lee. 2007. Isolation of quinic acid derivatives and flavonoids from the aerial parts of *Lactuca indica* L. and their hepatoprotective activity *in vitro*. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 17(24):6739- 6743.
- Kooy, N.W., J.A. Royall, H. Ischiropoulos and J.S. Beckman. 1994. Peroxynitrite-mediated oxidation of dihydrorhodamine 123. *Free Radic. Biol. Med.* 16(2):149-156.
- Korda, M., R. Kubant, S. Patton and T. Malinski. 2008. Leptin-induced endothelial dysfunction in obesity. *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* 295(4):1514-1521.
- Kwon, H.C., C.M. Jung, C.G. Shin, J.K. Lee, S.U. Choi, S.Y. Kim and K.R. Lee. 2000. A new caffeoyl quinic acid from *Aster scaber* and its inhibitory activity against human immunodeficiency virus-1 (HIV-1) integrase. *Chem. Pharm. Bull.* 48(11):1796-1798.
- Lee, W.C. 1996. Coloured Standard Illustrations of Korean Plants. Academy Publishing Co., Seoul, Korea. p. 350 (in Korean).
- Lei, C. and Y.H. Kang. 2014. Antioxidant activities of *Agrimonia pilosa* Ledeb: *In vitro* comparative activities of different fractions. *Korean J. Plant Res.* 27(6):642-649.
- Olmos, A., R.M. Giner, M.C. Recio, J.L. Rios, R. Gil-Benso and S. Manez. 2008. Interaction of dicaffeoylquinic derivatives with peroxynitrite and other reactive nitrogen species. *Arch. Biochem. Biophys.* 475:66-71.
- Park, H.J. 2010. Chemistry and pharmacological action of caffeoylquinic acid derivatives and pharmaceutical utilization of Chwinamul (Korean mountainous vegetable). *Arch. Pharm. Res.* 33(11):1703-1720.
- Pacher, P., I.G. Obrosova, J.G. Mabley and C. Szabo. 2005. Role of nitrosative stress and peroxynitrite in the pathogenesis of diabetic complications. Emerging new therapeutical strategies. *Curr. Med. Chem.* 12(3):267-275.
- Radi, R., J.S. Beckman, K.M. Bush and B.A. Freeman. 1991. Peroxynitrite oxidation of sulfhydryls. The cytotoxic potential of superoxide and nitric oxide. *J. Biol. Chem.* 266(7):4244-4250.
- Song, J.T., M.K. Park and Y.C. Jung. 1974. Hangeok Jawon Shikmul Dogam. Gookchekmunwhasa, Seoul, Korea. p. 742 (in Korean).
- Zhao, Y., J. Zhao, X.P. Li, C.X. Zhou, H.D. Sun, X.J. Hao and P.G. Xiao. 2006. Advances in caffeoylquinic acid research. *Zhonguo Zhongyao Zazhi* 31(11):869-874 (in Chinese).

(Received 10 September 2015 ; Revised 23 October 2015 ; Accepted 12 November 2015)