

한국산 천연 Naringin의 항균작용 및 안전성에 관한 연구

韓星淳·兪一瀟

忠北大學校 藥學大學

Studies on Antimicrobial Activities and Safety of Natural Naringin in Korea

Seong Sun Han and Il Jun You

College of Pharmacy, Chungbuk National University,
Cheongju 360-763, Korea

ABSTRACT: To investigate the antimicrobial activities and safety of natural naringin, it was isolated with methanol from peels of *Citri fructus*. Its hydrolysate, naringenin was obtained by hydrolysis of naringin. In the antimicrobial activities of two components against eleven species of bacteria and eleven species of Fungi were examined by serial dilution method. Its result appeared to the minimal inhibitory concentration(MIC) and the antimicrobial activities of naringin and naringenin were compared. Naringenin showed considerably high order of activities against bacteria. There were no effect against Fungi (MIC>100 $\mu\text{g/ml}$). In the safety tests of naringin, examined for 50% lethal dose, Blood clinical chemical tests and organ tissue tests. The results showed that 50% lethal does in mice was 1,650 mg/kg. The experiments of administration in rats showed that there were no changes in blood clinical chemical future and organ tissue as control.

KEYWORDS: Naringin, Minimal inhibitory concentration(MIC), 50% lethal dose(LD₅₀), Antimicrobial activities.

Naringin은 flavanone 구조에 고미성의 neoheperidose당이 결합된 고미배당체로 *Citrus* 속 미숙 과피에 많이 함유되어 있고(Harbone, 1973), 그의 식물로는 *Adiantum* spp. *Clymenia polyandra*, *Fortunella japonica*, *F. margarita*가 있다(Harbone et al., 1982).

현재 시판되고 있는 감귤의 종류는 *Citrus unshiu*가 주종을 이루고 그밖에 *Citrus natsudaidai*, *Citrus junos*, *Citrus grandis*와 수입품종인 *Citrus sinensis* 등이 있다.

한방에서는 *Citrus aurantium*의 과피를 橙皮, *Citrus natsudaidai*의 과피를 夏皮, *Citrus nobilis*의 과피를 陳皮, *Citrus unshiu*를 橘皮, 陳皮, *Poncirus trifoliata* 과피를 枳實, 그의 橙子皮, 枳殼 등이라 하여 건위, 거담, 조습, 理氣 등에 사용한다(Yook, 1981). Naringin의 생리활성은 혈압강화작용(Fukuda, 1932), 항염증작용, 지방산화저지작

용, 모세혈관 강화작용 등이 보고되었다(Lamber, 1980; Andre, 1980).

Citrus 속 식물의 flavonoid 성분에 관한 연구는 본속식물 53종, 4개종간 잡종, 1개속간 잡종에 대하여 flavonoid 성분을 검토한 보고가 있으며(Nishiura et al., 1969), 제주시 및 서귀포시 일대에서 재배되고 있는 감귤속 17종, 2변종, 5품종과 재래 감귤종 학명이 밝혀진 枳殼, 小柚子, 紅橘 및 洞庭橘에 관한 flavonoid 성분 pattern을 GLC로 비교 검색하였다(Kim et al., 1979; Ko et al., 1982). 또한 천연물에서 얻은 naringin 성분에 관한 연구는 *Citrus grandis* 과피에서(Poore, 1934; Shizuo, 1949), *Citrus aurantium*의 꽃에서(Shizuo, 1952), *Citrus medica* var. *sarcodactylus*의 과피에서(Takao, 1959), *Citrus natsudaidai*의 주스에서(Masanobu et al., 1964) 그리고 우리나라 재래 감귤인 병귤 *Citrus platymama*의 과피에서

(Kim *et al.*, 1979) 분리하여 보고하였다.

Flavonoid의 항균작용에 관한 연구는 *Cnidocolus urens*의 과피에서 분리한 flavone 성분의 정균작용(Evans silva *et al.*, 1958), *Orthosiphon stamineus*의 잎에서 분리한 lipophil flavones의 항세균 및 항진균작용(Schneider *et al.*, 1973), rhamnetin의 항균작용(Uri *et al.*, 1951), 천연자원에서 분리한 rutin, quercetin, quercitrin의 항균작용(Han *et al.*, 1984), kaempferol의 항진균작용(Han *et al.*, 1985), hesperidin 및 그 유도체의 항세균작용(Han *et al.*, 1986) 등이 보고되었다.

Flavonoid의 안정성에 관한 연구는 rutin의 mouse에 대한 LD₅₀ 측정(Harrison, 1950), quercetin, quercitrin의 토끼에 대한 독성실험(Ambrose *et al.*, 1952), 또한 rat에 1% naringin을 함유한 사료를 200일간 경구투여했을 때 성장 및 장기중량(organ weight)에 영향이 없었으며(Wilson *et al.*, 1940), 개에 경구 또는 비경구 투여시 오줌으로 배설되어 독성이 될 수 있는 증상을 발견할 수 없었다는 보고가 있을 뿐이다(Garino, 1913).

이상의 연구보고를 종합하여 보면 천연에서 얻은 naringin과 생체내 대사물질로 얻을 수 있는 가수분해 물질인 naringenin(George *et al.*, 1939; Daniel *et al.*, 1953)은 독성이나 부작용이 없으며 항균성이 있으리라 사료되어 항균시험을 실시하고, 안전성을 검토하기 위하여 LD₅₀, 혈액임상화학적 검사, 장기조직의 병리조직학적 검사를 실시하여 그 결과를 얻었기에 보고하는 바이다.

材料 및 方法

실험재료

본 실험에 사용한 재료는 청주시내에서 시판되는 감귤의 과피를 채취하여 음건한 후, 세절하여 사용하였다.

시료의 분리

재료를 세절하여 메탄올로 추출하고 이 메탄올액 기스를 열침한 후 ethylacetate로 3회 추출하고 농축하여 다시 열탕에 녹여 냉장고에 방치하여 무색의 조절정을 얻었다. 이 결정물을 무수에탄올에 녹여 농축하여 hesperidin을 얻고 여액을 어취, 농축하여 isopropanol에 옮겨 naringin을 얻었다.

① Naringin의 가수분해; Naringin을 5% H₂SO₄로 가수분해하여 얻은 조 naringenin을 에탄올에

용해시키고 활성탄으로 탈색한 후 50% 에탄올로 재결정하였다(George *et al.*, 1939; Daniel *et al.*, 1953).

항균 시험

시험균주: 본 대학 미생물학교실에서 제대배양하여 보관중인 균주중 11종의 세균과 11종의 진균을 본 실험에 사용하였으며 그 종류는 Table I 및 Table II와 같다.

배지: 세균에서는 nutrient broth medium(pH 6.8~7.0)을 그 중 *Mycobacterium smegmatis*는 4% glycerine를 함유한 nutrient broth 또는 Dubos medium을 사용하였고 진균에는 Sabouroud dextrose broth(pH 5.4)를 사용하였다.

제대배양시는 *Aspergillus* spp.는 potato dextrose agar medium을 사용하였고 그밖의 진균은 Sabouroud dextrose agar medium을 사용하였다.

시료용액의 조제: 시료인 naringin과 naringenin을 향량이 될때까지 건조하여 세균시험에서는

Table I. Test strains of Bacteria.

<i>Bacillus cereus</i> ATCC 27348
<i>Bacillus subtilis</i> PCI 219
<i>Micrococcus luteus</i> ATCC 9341
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 12598
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923
<i>Mycobacterium smegmatis</i> ATCC 14468
<i>Escherichia coli</i> ATCC 31030
<i>Proteus mirabilis</i> ATCC 25933
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 10145
<i>Salmonella typhimurium</i> ATCC 14028
<i>Serratia marcescens</i> ATCC 27117

Table II. Test strains of Fungi.

<i>Aspergillus flavus</i> ATCC 15517
<i>Aspergillus fumigatus</i> ATCC 26933
<i>Aspergillus niger</i> ATCC 22343
<i>Aspergillus ochraceus</i> NHL 5294
<i>Aspergillus oryzae</i> ATCC 10231
<i>Aspergillus parasiticus</i> NHL 5243
<i>Candida albicans</i> ATCC 10231
<i>Candida pseudotropicalis</i> ATCC 28838
<i>Fonsecaea compacta</i>
<i>Penicillium chrysogenum</i> ATCC 10002
<i>Trichophyton mentagrophytes</i> ATCC 18479

dimethyl sulfoxide(DMSO)에 용해하고 배지는 nutrient broth을 사용하였으며 진균시험에서는 Sabouroud dextrose broth을 사용하여 최고농도가 1000 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 가 되도록 조제하였다.

균액의 조제: 세균중 *Serratia marcescens*는 26°C에서, *Bacillus cereus*, *Micrococcus luteus*는 30°C에서, 그밖의 세균은 37°C에서 18시간 액내배양하여 UV-spectronic 21으로 540 nm에서 $T(\%) \cong 30$ 이 되도록 희석한 후 1 ml을 100배 희석하여 균수를 조정하였고 진균중 *candida albicans*는 28°C에서 2시간 배양한 Sabouroud dextrose agar 배지의 사면상의 집락에 Sabouroud dextrose broth를 가하여 현탁액으로 하여 균수는 $T(\%) \cong 95$ 로 조정하였으며 그밖의 모든 진균은 27°C에서 10시간 배양하여 사면상에 포자가 형성된 균에 0.05% tween 80을 함유하는 Sabouroud dextrose broth를 가하여 백금니로 긁거나 흔들여 주어 포자나 균사의 균일한 현탁액을 만들고 $T(\%) \cong 90$ 이 되도록 균수를 조정하였다 (Gary *et al.*, 1979).

실험조작: Serial 희석법(Han *et al.*, 1971)에 따라 실시하였으며 세균인 경우 시료용액에 균액 50 μl 씩을 접종하여 각 세균의 최적온도에서 18시간 배양하였다. 진균에서는 세균인 경우와 같은 방법으로 희석하고 균액을 접종하여 27°C에서 40~50%의 상대습도를 유지하면서 2주간 배양하면서 24시간마다 균의 발육여부를 관찰하여 판정하였으며 판정이 곤란할 때는 1주간 더 계속 배양하여 최소발육억제농도(MIC)를 결정하였다. 더욱 정확한 MIC를 구하기 위하여 결정된 MIC를 더 세분하여 재실험을 실시하였으며, DMSO는 균의 발육억제에 전혀 영향이 없는 농도에서 대조시험을 병행하였다.

안정성 시험

실험동물: ICR계 mouse 및 sprague dawley계 rat를 6주령의 숫컷을 사용하였으며 polycarbonate cage에 5마리씩 수용하였다. 사육실은 23.8 \pm 1.9°C, 습도 72.3 \pm 7.2%를 유지하였으며 pellet화한 사료(제일사료주) 및 수도물을 무제한 공급하였으며 9시간 點燈 15시간 消燈 조건에서 사육 실험하였다. 부검할 동물은 8시간 전부터 사료공급을 중단하였다.

시료용액의 조제 및 투여: 시료인 naringin을 LD₅₀용은 propylene glycol에 최고 20%(w/v)의 농도로 조제하여 사용하였으며 혈액임상화학적 검사 및 병리조직학적 검사는 50 mg/kg와 100 mg/kg가 되도록 조제하여 사용하였고 propylene glycol의

대조실험을 하였다.

실험항목

1) LD₅₀의 측정

Mouse(ICR)를 대조군을 포함하여 5군으로 나누고(1군 10마리) 1회용 주사기로 복강내 주사하여 투여후 7일간 매일 사망여부 및 특이한 임상학적 징후를 관찰하였다. 용량은 Table V에서와 같이 투여하였다. 통계학적 처리는 Litchfield and Wilcoxon method(Litchfield *et al.*, 1949)를 이용하였다.

2) 혈액임상화학적 검사

Rat(Sprague Dawley)를 대조군을 포함하여 7군으로 하여(1군 5마리) 시료용액을 복강내 주사하여 투여 24시간후에 urethane(1 g/kg)으로 마취하여 심장에서 채혈하였다. 이 혈액을 원심분리(3,000 rpm 5분간)하여 혈청을 분리하여 total protein creatinine, GPT, phosphorus, calcium, blood urea nitrogen(BUN), GOT, alkaline phosphatase 및 albumin의 양을 Gilford 3500 Autoanalyzer를 사용하여 측정하였다. 임상화학적 대조군과의 비교는 student's t-test를 사용하여 유의성을 검정하였다 (Hayes, 1982).

3) 병리조직학적 검사

혈액임상화학적 검사용 혈액을 취한 직후 장기를 육안으로 관찰한 후 검사장기를 5개 중요기관인 간, 신장, 비장, 고환 및 소장을 적출하여 10% 중성 formalin에 5일간 고정시켰으며 고정이 끝난 후 다시 각 장기를 두께 3 mm 정도로 세절하여 paraffin에 embedding시킨후 embedding된 각 장기를 rotary microtome으로 7 μm 두께로 절편을 만들어 hematoxylin-eosin 염색후 광학 현미경으로 관찰하였다.

結果 및 考察

항균시험

세균에 대한 항균시험결과는 Table III와 같다. 진균에 대한 항균시험결과는 모든 균주에 대하여 MIC가 1000 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 이상으로 나타내었다.

안전성 시험

1) LD₅₀의 측정

Table IV에서 보는 바와 같이 2570 mg/kg, 1977 mg/kg, 1521 mg/kg, 1170 mg/kg, 900 mg/kg로 조제한 시료로 계획, 수행하여 LD₅₀가 1650 mg/kg임을 산출하였고 1375~1980 mg/kg의 신뢰

Table III. Antibacterial activities of naringin and narigenin against bacteria.

Microbial class	Strains	MIC ($\mu\text{g} / \text{ml}$)	
		Naringin	Narigenin
Gram positive bacteria	<i>Bacillus cereus</i> ATCC 27348	1000 <	300
	<i>Bacillus subtilis</i> PCI 219	1000 <	125
	<i>Micrococcus luteus</i> ATCC 9341	800	200
	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 12598	1000 <	150
	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	1000 <	50
Acid-fast bacteria	<i>Mycobacterium smegmatis</i> ATCC 14468	300	200
Gram negative bacteria	<i>Escherichia coli</i> ATCC 31030	900	550
	<i>Proteus mirabilis</i> ATCC 25933	700	550
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 10145	600	500
	<i>Samonella typhimurium</i> ATCC 14028	800	600
	<i>Serratia marcescens</i> ATCC 27117	700	400

Table IV. 50% lethal dose of naringin.

Dose (mg / kg)	1	2	3	4	5	6	7	Mortality	LD ₅₀ (mg / kg) (Confidence limit)
2570	9	1	0	0	0	0	0	10 / 10	1,650
1977	6	0	0	0	0	0	0	6 / 10	(1375 - 1980)
1521	2	2	0	0	0	0	0	4 / 10	
1170	2	0	0	0	0	0	0	2 / 10	
900	0	0	0	0	0	0	0	0 / 10	

(P=0.05)

Table V. Blood clinical chemical examination of rats on administrated naringin.

Dose (mg/ kg)	Total Protein (g/dl)	Crea- tinine (mg/dl)	GOT (IU/l)	Phospho- rus (mg/dl)	Calcium (mg/dl)	BUN (mg/dl)	GPT (IU/l)	alkaline phosphatase (IU / l)	Albu- min (g/dl)
Control	5.27 ± 0.23	0.93 ± 0.05	74.8 ± 22.2	11.6 ± 0.9	10.2 ± 0.9	30.2 ± 8.6	15.6 ± 2.7	117.6 ± 12.2	2.92 ± 0.83
50	5.30 ± 0.20	0.89 ± 0.10	70.6 ± 26.2	11.9 ± 1.0	1111.0 ± 1.0	32.6 ± 8.2	18.5 ± 8.2	111.4 ± 16.2	2.93 ± 0.42
100	5.34 ± 0.31	0.92 ± 0.09	77.4 ± 25.6	12.2 ± 1.2	10.4 ± 0.6	30.5 ± 5.5	15.5 ± 7.3	104.6 ± 20.7	2.92 ± 0.52

Mean \pm S. D. n=5

한계를 나타내었다.

2) 혈액임상화학적 검사

Naringin을 50, 100 mg/kg을 투여하였을 때 total protein, creatinine, GOT, phosphorus, calcium, BUN, GPT, alkaline phosphatase, albumin량 등이 대조군에 비하여 통계학적 유의성이 발견되지 않았다(Table V).

3) 병리조직학적 검사

시료용액 100 mg/kg을 투여한 후 간, 신장, 비장, 고환 및 소장을 적출하여 표본을 만들어 관찰한 바 시료 투여군에 한하여 보여지는 이상현상은 볼 수 없었고 대조군과 비교하여 특이적인 독성을 관찰할 수 없었다.

① 간: 소엽 중심성으로 간 세포가 잘 정돈되어 있으며 지방변성도 관찰되지 않았다. Portal triad의 문맥이나 담관도 정상적인 형태를 나타내고 있다 (Fig. 1, 2).

② 신장: 피질의 사구체나 뇨세관에 염증성 증상이 관찰되지 않았고 수질에도 아무 이상이 발견되지 않았다. 또한 focal glomerulonephritis와 유사한 사구체 확장현상도 관찰되지 않았다(Fig. 3, 4).

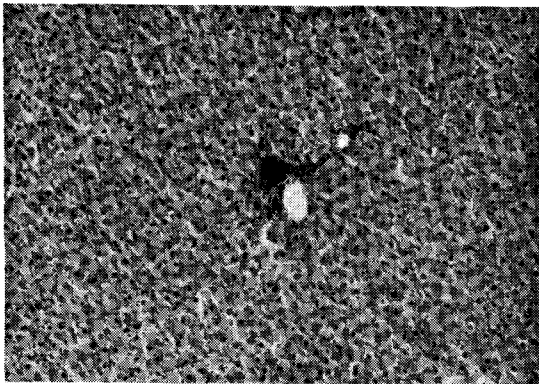


Fig.1. Microphotograph of liver in rats administered control (100×).

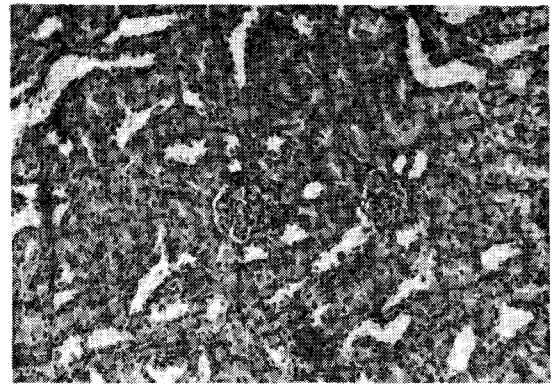


Fig.4. Microphotograph of kidney in rats administered naringin(100 mg/kg)(100×).

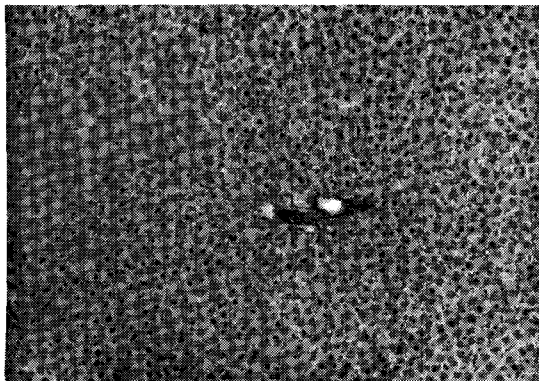


Fig.2. Microphotograph of liver in rats administered naringin (100 mg/kg)(100×).



Fig.5. Microphotograph of spleen in rats administered control(100×).

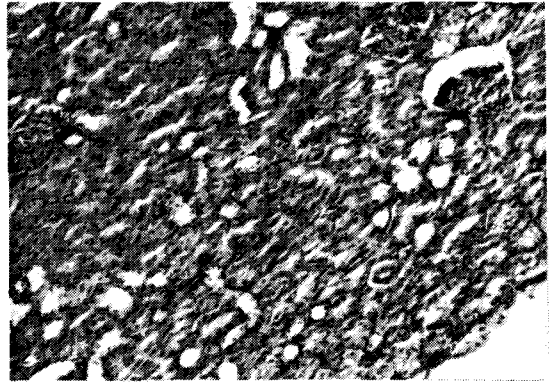


Fig.3. Microphotograph of kidney in rats administered control(100×).

③ 비장 : 백비수나 적비수 (red pulp)의 발달이 정상이며 기타 형태학적 변화가 관찰되지 않았다(Fig. 5, 6).

④ 고환 : 조직의 파괴를 관찰할 수 없었다(Fig.

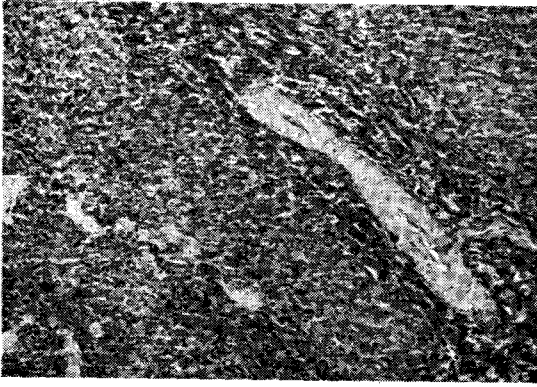


Fig.6. Microphotograph of spleen in rats administered naringin(100 mg/kg)(100×).

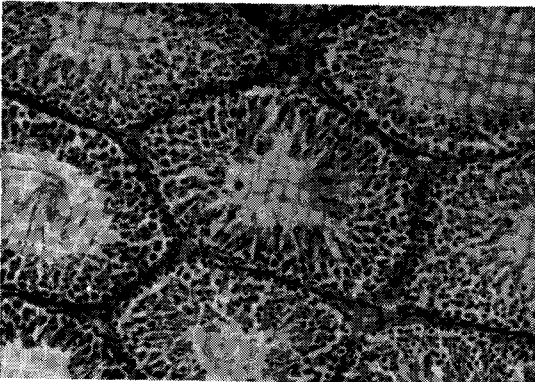


Fig.7. Microphotograph of testis in rats administered control(100×).

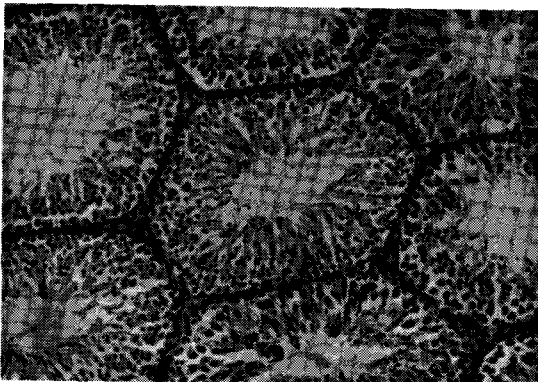


Fig.8. Microphotograph of testis in rats administered naringin(100 mg/kg)(100×).

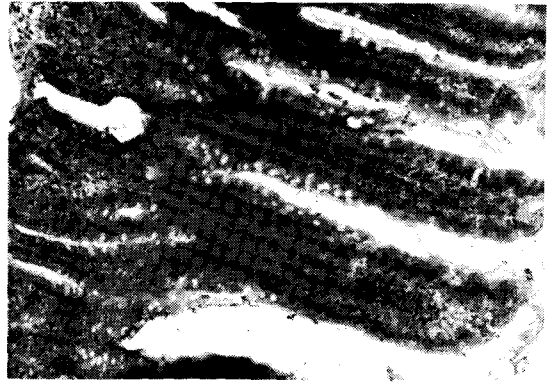


Fig.9. Microphotograph of small intestine in rats administered control(100×).

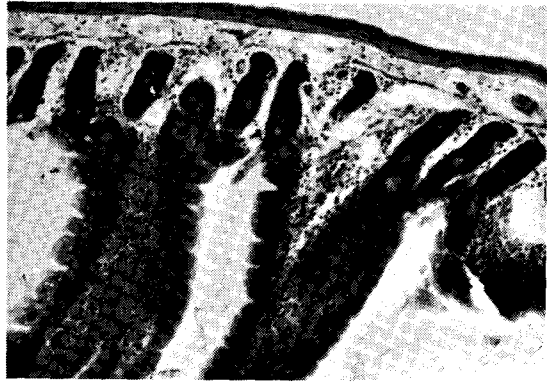


Fig.10. Microphotograph of small intestine in rats administered naringin(100 mg/kg)(100×).

7, 8).

⑤ 소장 : 상피세포의 형태가 정상이며 어떤 neutrophil infiltration의 염증도 출현되지 않았다(Fig. 9, 10).

시판 감귤의 과피에서 천연 naringin을 분리하고 가수분해하여 비당체인 naringenin을 얻었다.

Naringenin은 생체내 대사에서 rat에 복강내 투여 시 담즙중 배설량이 89.7%이고 뇨중 배설량은 0%이며, 경구투여시는 담즙중 배설량이 11.4%이고, 뇨중 배설량은 2.3%로 naringin 그 자체로는 배설되지 않으며 (Haekett *et al.*, 1979) naringenin 또는 glucuronide의 상태로 배설된다는 보고가 있다 (Albert *et al.*, 1958). 이런 사실은 생체내 투여시 naringin 자체로 생리활성을 나타내는 것이 아니라 naringenin으로 작용한다고 사료되므로 항균력시험에서는 naringenin도 실시하였다.

항균시험에서 항세균시험결과는 naringin은 gram

양성균에 대하여 *Micrococcus luteus* (MIC, 800 ng/ml)을 제외하고는 모두 1000 µg/ml 이상의 MIC를 나타내었으나 gram 음성균에서는 비교적 강한 항균력을 나타냈으며 최근 감염원인균으로 주목되는 *Pseudomonas*는 가장 적은 MIC를 나타내었고 항산성균인 *Mycobacterium smegmatis*에서는 더 적은 MIC를 나타내었다. 또한 naringenin은 naringin보다 전반적으로 강한 항균력을 나타냈으며 gram 양성균과 gram 음성균과의 비교에서는 naringin과는 반대로 gram 양성균에서 우수한 항균력을 나타내었으며 특히 *Staphylococcus aureus*는 50 µg/ml의 MIC로 매우 우수한 항균력을 나타내었다 (Table III). 항진균시험에서는 naringin 및 naringenin이 모든 시험균주에 대하여 1000 µg/ml 이상의 MIC를 나타내었다.

안전성 시험은 먼저 LD₅₀에서 보면 복강내 주사하여 1650 mg/kg을 산출하였고 1375~1980 mg/kg의 신뢰한계를 나타내었다.

혈액임상화학적 검사에서 시료를 100 mg/kg까지 투여하여 정상군과 비교해도 아무런 이상을 발견할 수 없었다 (Table V). 즉 GOT, GTP 및 alkaline phosphate 검사치에서 보는 바와 같이 투여군과 대조군의 t-test에 의한 검정에서 전혀 유의성이 없었으며 이는 시험용량에서 간에 전혀 독성을 나타내지 않았음을 알 수 있었다. 또 creatinine, phosphorus 등의 검사치가 정상인 것으로 보아 신장의 배설능력에 영향이 없음을 시사하였으며 total protein, albumin, calcium 등의 양에도 영향이 없었음에 미루어 protein의 흡수나 대사능력도 시험용량에서 정상임을 보여주었다. 병리조직학적 검사에서의 현미경 관찰에서도 혈액임상화학적 검사와 마찬가지로 투여군과 대조군이 동일하였으며 투여군에 한하여 아무런 조직학적 병변이 나타나지 않았다.

이상의 고찰에서 naringin과 naringenin은 세균에 대하여 독성이나 부작용이 없는 항생물질로 개발할 가능성이 있다고 사료된다.

摘 要

시판 감귤의 과피에서 naringin을 분리하고 가수분해하여 얻은 naringenin의 항균시험을 실시한 바 세균에서 naringin은 gram 양성균보다 gram 음성균이 비교적 강한 항균력을 나타내었으나 narin-

genin은 그 반대 현상을 나타내었다. 또 naringin과 naringenin의 항균력을 비교하면 전체적으로 naringenin이 매우 강한 항균작용이 있다.

안전성 시험에서 LD₅₀은 1650 mg/kg이고 혈액임상화학적 검사에서 대조군과 비교하여 아무런 이상을 발견할 수 없었으며 병리조직학적 검사에서의 현미경 관찰에서도 대조군과 같았으며 투여군에 대해 조직학적 병변이 나타나지 않았으므로 안전성이 있다고 사료된다.

※ 본 논문은 1987년도 문교부 학술연구조성비에 의하여 연구된 것임.

參考文獻

- Albert. N. Booth, Francis T. Jones, Floyo, D., Dorothy J. Robbins, and Bevely Kupfever (1958): *J. Biol. Chem.*, **233**: 280-282.
- Ambrose, A.M., Robbins, D.J. and Floyd Doeds (1952): *J. Am. Pharm. Assoc.* **41**: 119-122.
- Andre, C., Fauran, F. and Thibault, A. (1980): *U.S.* **4**, 211, 722(cl. 424-180; A 61k31/70), 08 Jul.
- Daniel W. Fox, Wn. L. Savage and Simon H. Wender (1953): *J. Am. Chem. Soc.*, **75**: 2504-5.
- Evans, Silva O. Gonclves de Lima and Marisa Machado de Albuguerou (1958): *Rev. Inst. Antibiotic*, Univ. Recife, **1**: 125-129.
- Fukuda, T. (1932): *Arch. expt'l. Pathol. Pharmacol.*, **164**: 685.
- Garino, M.Z. (1913): *Physiol. Chem.*, **88**: 1.
- Gary S. Moore and Douglas M. Jaciow (1979): *Mycology for the Clinical Laboratory* Reston Publishing Co, Inc., Teston, Virginia, 262-266.
- George, N.P. Harry, W., von Loesecke (1939): *J. Am. Chem. Soc.*, **61**: 175-176.
- Hackett, A.M. and Griffiths, L.A.. (1979): *Biochem. Soc. Trans.*, **7**(4): 645-6.
- Han, S.S., Kim, B.K., Han, D.S., Jeong, B.S. and Lee, J.K. (1971): *Experimental Microbiology* Chung Ang Univ. Press. 83-84.
- Han, S.S., Kim, S.Y. and You, I.J. (1986): *Chungbuk J. Pharm. Sci.* **1**: 42-48.
- Han, S.S., Lee, C.K. and Kim, Y.S. (1984): *Research review of Chungbuk Natl. Univ.* **28**: 443-448.
- Han, S.S., Lee, C.K. and You, I.J. (1985): *Research review of Chungbuk Natl. Univ.* **30**: 341-344.

- Harbone, J.B. (1973): *Phytochemical Methods*. Chapman and Hall, London, 221-226.
- Harbone, J.B. and Mebry, T.J. (1982): *The Flavonoids: Advances in Research* Chapman and Hall, London, 354-355.
- Harrison *et al.* (1950): *J. Am. Pharm. Assoc.* **39**: 557.
- Kim, C.M., Huh, I.O. and Han, D.S. (1979): *Kor. J. Pharmacog.*, **10**(2): 85-87.
- Kim, C.M., Kim, K.S., Kim, M.H. and Huh, I.O. (1979): *Kor. J. Pharmacog.*, **19**(1): 13-16.
- Ko, W.J. and Kim, C.M. (1982): *Kor. J. Pharmacog.*, **13**(3): 93-105.
- Lamber, I., Nikolor, N., D. Krushk Zhelyazkov and Manolov, P. (1980): *Farmatsiya*, **30**(3): 33-8.
- Litchfield, J.J. and Wicloxon, F. (1949): *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **96**: 99115.
- Masanobu, K., Takaaki, M., Yasumori, B. and Kubo, S. (1964): *Nippon Shokuhin Kogyo Gakai-shi*, **11**(10): 149-23.
- Nishiura, M., Kamiya, S., Esaki, S. and Ito, F. (1969): *Agar. Biol. Chem.*, **3**, 31109, *ibid*(1971): **35**: 1683-1691.
- Poore, H.D. (1934): *Ind. Eng. Chem.*, **26**: 637-9.
- Schneider, G. and Tan, H.S.(1973): *Deut. Apoth. Ztg.*, **113**: 201-202.
- Shizuo, H., Massami, S. and Kanao, M. (1949): *Acta. Phytochem.*(Japan), **15**: 199-200.
- Shizuo, H., Massami, S. and Kanao, M. (1952): *Kagaku, Science*, **22**: 37-8.
- Takao, M. (1959): *Yakugaku Zasshi*, **79**: 540-1.
- Uri, G. Csoban and Viragh, E. (1951): *Acta. Physio. Acad. Sci. Hung.* **2**: 223-228.
- Wilson, R.H. and Floyed, D.(1940): *Food Research* **5**: 89-92.
- Yook, C.S. (1981): *Medicinal Plants of Korea* Jinmeong, Seoul, 15.

Accepted for Publication 29 February