

## 계혈등의 항산화 활성

차배천\* · 이은희 · 노미애

상지대학교 생명자원과학대학 바이오산업공학과

## Antioxidant Activity of *Spatholobus suberectus* Dunn

Bae Cheon Cha\*, Eun Hee Lee, and Mi Ae Noh

Department of Bio-Industry and Technology, Sangji University, Wonju 220-702, Korea

**Abstract** – Reactive oxygen species (ROS) are continuously produced at a high rate as a by-product obtained in the aerobic metabolism. A major portion of living organisms has defense system as superoxide dismutase or catalase against damage produced by ROS. Several lines of evidence provided that ROS appears to cause to develop aging and various diseases. *Spatholobus suberectus* Dunn has been known as a Korean folk medicine for promoting blood circulation and relieving blood stasis as anemia. In this study, we have investigated the antioxidant activities of *Spatholobus suberectus* Dunn in order to find the antioxidant substances from natural products. For various antioxidant experiment, the major antioxidant component was isolated from EtOAc extract of *Spatholobus suberectus* Dunn. This compound was identified as (-)-epicatechin by chemical and physical analysis.

**Key words** – *Spatholobus suberectus* Dunn, reactive oxygen species (ROS), antioxidant, (-)-epicatechin

계혈등은 중국의 복건, 광동, 광서, 운남 등지에 분포하는 콩과(Leguminosae)에 속하는 밀화두의 둉굴줄기로 채취한 후 절단하여 건조하거나, 물에 담가 짜서 절단한 후 햅볕에 건조하여 사용되는 생약으로서 민간에서는 혈액순환 개선, 월경불순, 빈혈, 중풍, 류마티즘 관절염 등의 치료제로 사용되어져 왔다.<sup>1)</sup> 계혈등에 대한 현대 과학적 연구에서는 류마티즘 관절염에 대한 보고가 많이 이루어져 있으며,<sup>2,4)</sup> 또한 항염증 효과<sup>5)</sup>, 지질대사 조절<sup>6)</sup> 및 면역조절작용<sup>7)</sup>에 대한 연구도 이루어져 있다. 계혈등의 함유 성분에 대해서는 체계적인 연구는 수행된 바 없지만 genistein 등의 flavonoids 계성분과<sup>8)</sup> sterol류들이 보고되어져 있다.<sup>9)</sup>

산소는 지구상에서 존재하는 풍부한 원소로 건조 대기중 약 21%를 차지하고 있으며 인간을 포함한 모든 호기성 생물체는 산소를 이용하여 에너지 대사를 진행한다. 인간은 하루 2500 l 이상의 산소를 전자 수용체로 하는 에너지 획득을 위해 완전히 분해하고 그 중 2%는 안정한 형태인 삼중항 산소( $^3\text{O}_2$ )로부터 체내 효소계, 환원대사, 물리적 또는 환경적 요인 등에 의해 환원되면서 반응성이 매우 큰 일중 항산소( $^1\text{O}_2$ )나 superoxide( $\text{O}_2^-$ ), hydroxy radical( $\cdot\text{OH}$ )과 같

은 짹짓지 않은 상태의 free radical과 과산화수소수( $\text{H}_2\text{O}_2$ )와 같은 활성산소종(reactive oxygen species, ROS)으로 전환된다.<sup>10)</sup> 이들 활성산소는 단백질, DNA, 효소 및 T세포와 같은 면역계통의 인자를 손상시켜 질환을 일으키며,<sup>11)</sup> 특히 문제가 되는 것은 활성산소종이 세포 생체막의 구성성분인 불포화지방산을 공격하여 과산화반응을 일으켜 체내과산화지질을 축적함으로 인해 생체기능이 저하되고 동시에 노화 및 류마티스성 관절염, 심장병, 파킨스씨병, 순환기장애, 긴장질환, 암 등과 같은 성인병 질환을 유발하는 것으로 알려져 있다.<sup>12,13)</sup>

최근에 성인병 질환과 노화의 원인이 활성산소종에 기인된 것이라는 학설이 인정됨에 따라 산소로부터 유래된 활성산소종을 조절하거나 제거할 수 있는 물질로 알려진 항산화제의 개발 연구가 활발히 진행되어 많은 항산화제의 개발 연구가 보고되어져 있다.<sup>14-16)</sup> 그러나 이들 항산화제 중 tocopherol은 항산화 효과가 비교적 낮은 편이고, BHA와 BHT 등의 합성 항산화제는 항산화력이 뛰어나 상업용 식품 및 의약품 등에 가장 많이 이용되고 있는 폐讷계 항산화제이나 이들은 변이원성 및 독성<sup>17,18)</sup>이 지적되고 있다. 따라서 전통적으로 부작용이 적고 안전성이 인정되고 있는 천연물질이나 약용식물로부터 합성 항산화제를 대체할 수 있

\*교신저자(E-mail) : bccha@sangji.ac.kr  
(FAX) : 033-730-0503

는 새로운 천연 항산화제의 개발 연구도 활발히 진행되어 족 왔다.<sup>19-22)</sup>

본 연구는 기준에 연구 개발되어진 천연 항산화제보다 안전하고 우수한 활성을 나타내는 항산화제를 천연물로부터 개발하기 위한 연구의 일환으로 계혈등에 대하여 free radical 소거효과는 DPPH법을, 지질 과산화 억제효과는 Ferric-Thiocyanate 법 및 Rancimat법을 이용하여 항산화 효과를 검토하였고, 활성 주성분을 규명하였으므로 이를 보고하고자 한다.

## 재료 및 방법

**실험 재료** – 본 실험에 사용한 계혈등은 강원도 원주시 소재 약업사에서 구입하여 음건하고 세척하여 실험 재료로 사용하였으며, 표본은 상지대학교 바이오산업공학과 응용천연물표본실에 보관중이다.

**시약 및 기기** – 성분 분리를 위한 순상 column chromatography용 silica gel은 Kiesel gel 60(70 – 230 mesh, ASTM, Merck)을 사용하였고, 성분 확인용 TLC plate는 Kiesel gel 60F<sub>254</sub> (ART.5715, Merck)를 사용하였다. 추출 및 분획용 용매는 모두 특급 시약을 사용하였다. Free radical 소거효과 측정용 시약인 DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl)는 Aldrich사 제품을 구입하여 사용하였으며 지질과산화 억제효과 측정용 시약인 ammonium thiocyanate, Tween 20, HCl 및 EtOH 등은 모두 특급시약을 사용하였고, 식용유지(soybean, corn, palm, lard)는 첨가제가 첨가되지 않은 식용유지를 사용하여 측정하였다. 표준품인 tocopherol 및 BHA (butylated hydroxyanisole)는 Sigma사 제품을 구입하여 사용하였고, 기타 용매는 1급 시약을 사용하여 실험하였다. 흡광도는 Milton-Roy spectronic Genesys-5 UV spectrophotometer를 사용하여 측정하였고, FT-NMR은 Varian Mercury 300 MHz를 사용하였고, 용점은 Mettler FP-5 용점측정기를 사용하였고 보정은 하지 않았다. 산화 안정도 측정기기로서는 Rancimat 679 METROHM을 사용하여 측정하였다.

**추출 및 분리** – 음건한 계혈등 400 g을 MeOH 500 ml를 가하여 수육상에서 5시간씩 3회 환류 추출하여 여과 후 농축하여 계혈등 MeOH ext.(34 g)를 얻었다. 얻어진 MeOH ext.의 일부(15 g)를 중류수에 혼탁시켜 *n*-hexane, EtOAc 및 *n*-BuOH 순으로 분획 후 농축하여 각 분획물 *n*-hexane ext. (0.8 g), EtOAc ext.(2.0 g), *n*-BuOH ext.(3.8 g) 및 H<sub>2</sub>O ext. (4.5 g)를 각각 얻었다. 분획물 중 가장 우수한 항산화 효과를 나타낸 EtOAc ext.를 *n*-hexane → EtOAc로 단계적으로 극성을 높인 전개용매를 이용하여 silica gel column chromatography를 실시하여 6개의 소분획인 fraction 1(19 mg), fraction 2(41 mg), fraction 3(49 mg), fraction 4(116 mg), fraction 5(97 mg) 및 fraction 6(1155 mg)으로 나누었다. 항산화 효

과를 나타낸 fraction 6으로부터 활성 주성분을 규명하기 위해 계속하여 *n*-hexane → Acetone으로 단계적으로 극성을 높인 전개용매를 이용하여 silica gel column chromatography로 정제하여 fraction 6으로부터 화합물 1을 얻었다.

**화합물 1** – Light yellow powder (EtOH); m.p : 234 – 236°C; UV  $\lambda_{\text{max}}$  : 234, 281 (MeOH); IR (KBr)cm<sup>-1</sup> : 3450 (OH), 1467 (aromatic C=C); <sup>1</sup>H-NMR (Acetone-d<sub>6</sub>) δ : 2.54 (2H, m, H-4), 4.05 (1H, t-like, J=3 Hz, H-3), 4.75 (1H, br. s, H-2), 5.73 (1H, d, J=2.2 Hz, H-6), 5.92 (1H, d, J=2.2 Hz, H-8), 6.67 (2H, br. s, H-5',6'), 6.91 (1H, br. s, H-2'); <sup>13</sup>C-NMR (Acetone-d<sub>6</sub>) δ : 157.0 (C-9), 156.9 (C-5), 156.5 (C-7), 144.7 (C-3'), 144.6 (C-4'), 131.6 (C-1'), 118.7 (C-6'), 114.8 (C-5'), 114.6 (C-2'), 99.1 (C-10), 95.5 (C-6), 95.0 (C-8), 78.8 (C-2), 66.3 (C-3), 28.3 (C-4); EI-MS m/z 290 [M]<sup>+</sup>

**계혈등 분획물 및 항산화 활성 주성분의 DPPH 라디칼 소거작용의 측정** – Uchiyama 등<sup>23)</sup>의 방법을 약간 변형시킨 Yoshikawa 등<sup>24)</sup>의 방법에 의해 다음과 같이 측정하였다. 0.1 M의 초산 완충액(pH 5.5, 2.0 ml)에 시료의 EtOH 용액(2.0 ml) 및  $2 \times 10^{-4}$  M DPPH EtOH 용액(1.0 ml)을 가하여 전량을 5 ml로 하고 실온에 방치한 후, 30분 후 517 nm에서의 흡광도 감소를 측정하였다. 시료 무첨가의 control의 흡광도를 1/2로 감소시키는데 필요한 시료의 양( $\mu$ g)을 tocopherol 및 BHA와 같은 기준의 항산화제를 대조군으로 하여 시험하였다.

**계혈등 분획물 및 항산화 활성 주성분의 Ferric-Thiocyanate법에 의한 지질 과산화 억제활성 측정** – Ferric-Thiocyanate법은 Inatani 등<sup>25)</sup>의 방법에 따라 다음과 같이 측정하였다. 시료의 EtOH 용액(2.0 ml), linoleic acid EtOH 용액[linoleic acid(2.51 g)의 EtOH(100 ml)용액](2.0 ml), 0.05 M 인산완충액(pH 7.0, 4.0 ml), 중류수(1.9 ml) 및 10% Tween 20(0.1 ml)을 20 ml의 시험관에 시료의 최종농도가 0.005%가 되도록 전량을 10 ml로 하여 40°C의 암소에 방치하였다. 이 시료 0.1 ml에 75% EtOH(9.7 ml) 및 30% ammonium thiocyanate(0.1 ml)를 가하여 혼합하였다. 이 혼합액에  $2 \times 10^{-2}$  M 염화제일철의 3.5% 염산용액(0.1 ml)을 가하고, 정확히 3분 후에 500 nm에서 흡광도를 측정하였다.

**계혈등 분획물 및 항산화 활성 주성분의 Rancimat법에 의한 지질 과산화 억제 활성 측정** – Rancimat법은 Chen 등<sup>26)</sup>과 Lim 등<sup>27)</sup>의 방법에 따라 다음과 같이 측정하였다. 시료와 유지 혼합물 2.5 g, 중류수 70 ml, flow rate 20 L/hr, 반응온도 120°C로 하여 산화 안정성을 비교하였다. Antioxidant index(AI)는 각 시료를 첨가한 실험군의 유도기간을 무첨가군의 유도기간으로 나눈 값으로 구하였다. 이때 시료의 첨가량은 각각 200, 400 및 600 ppm로 하여 3회 반복 측정하여 얻은 값의 평균치로 표시하였다.

## 결과 및 고찰

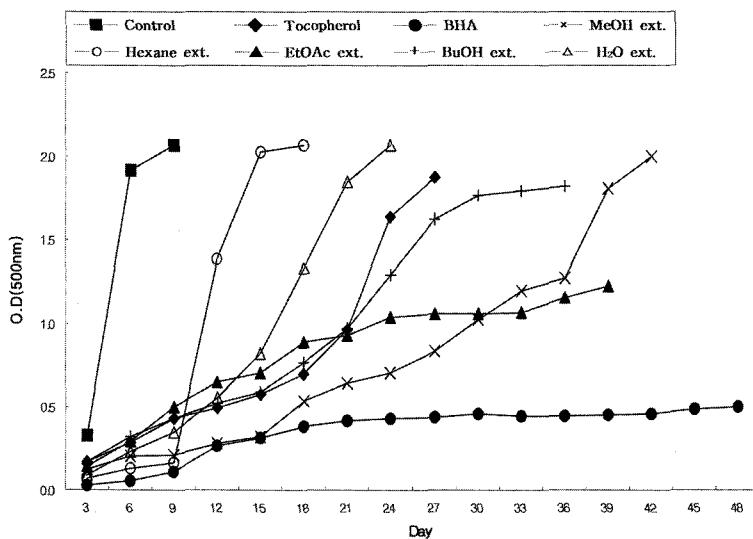
기존에 널리 알려진 천연 항산화제인  $\alpha$ -tocopherol과 합성 항산화제인 BHA를 대조군으로 하여 계혈등 분획물에

**Table I.** Radical scavenging effect of the extracts from *S. suberectus* Dunn on DPPH method

| Samples                   | 50% reduction ( $\mu\text{g}^{\text{a}}$ ) |
|---------------------------|--|
| $\alpha$ -Tocopherol      | 22   |
| BHA                       | 15   |
| MeOH ext.                 | 18   |
| <i>n</i> -Hexane ext.     | 87   |
| EtOAc ext.                | 15   |
| <i>n</i> -BuOH ext.       | 15   |
| $\text{H}_2\text{O}$ ext. | 25   |

<sup>a</sup>Amount required for 50% reduction of DPPH ( $2 \times 10^{-7}$  ml, 0.079 mg) solution.

대하여 DPPH법에 의한 free radical 소거 작용시험을 실시한 결과, Table I에 나타낸 바와 같이 계혈등의 EtOAc 분획물과 BuOH 분획물에서 강력한 free radical 소거효과를 나타내었다. 계속하여 보다 상세한 항산화 효과 시험을 위해 불포화지방산인 linoleic acid를 이용하여 불포화지방산의 고산화 정도를 장기보관에 따른 억제율로 항산화 활성을 측정하는 Ferric-Thiocyanate법에 의한 지질 과산화 억제 시험 결과 Fig. 1에 나타낸 것과 같이 Control 군이 9일, 천연 항산화제  $\alpha$ -tocopherol을 첨가한 군은 27일만에 거의 과산화가 일어남에 비하여 합성 항산화제인 BHA를 첨가한 군은 48일만에 과산화가 일어났으며, 계혈등의 *n*-hexane과  $\text{H}_2\text{O}$  분획물을 첨가한 군은 18일 이상, 계혈등의 MeOH, EtOAc 및 BuOH 분획물을 첨가한 군에서는 36일 이상에서 과산화가 일어났다. 이들 중 계혈등의 EtOAc 분획물은 42일 이상을 유지함으로서 천연 항산화제인  $\alpha$ -tocopherol 보다는 1.5 배 우수하고, 합성 항산화제인 BHA와는 거의 유사한 우수한 지질 과산화 억제 효과를 보였다. Rancimat법에 의한 지



**Fig. 1.** Lipid peroxidation inhibitory effect of the extracts from *S. suberectus* Dunn on Ferric-Thiocyanate method.

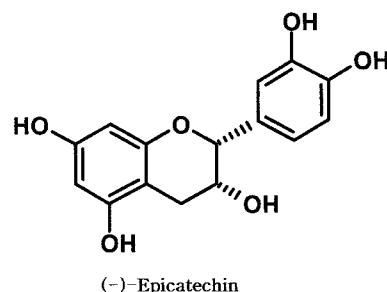
**Table II.** Lipid peroxidation inhibitory effect of the extracts from *S. suberectus* Dunn on Rancimat method<sup>1)</sup>

| Samples                   | Soybean oil (ppm) |       |       | Corn oil (ppm) |       |       | Lard oil (ppm) |       |       | Palm oil (ppm) |       |       |
|---------------------------|-------------------|-------|-------|----------------|-------|-------|----------------|-------|-------|----------------|-------|-------|
|                           | 200               | 400   | 600   | 200            | 400   | 600   | 200            | 400   | 600   | 200            | 400   | 600   |
| $\alpha$ -Tocopherol      | 0.975             | 0.983 | 1.013 | 0.930          | 0.998 | 0.981 | 1.215          | 1.368 | 1.414 | 0.943          | 0.987 | 0.917 |
| BHA                       | 1.011             | 1.091 | 1.111 | 1.028          | 1.137 | 1.013 | 1.847          | 2.204 | 2.333 | 1.107          | 1.233 | 1.214 |
| MeOH ext.                 | 1.069             | 1.000 | 1.005 | 0.969          | 0.946 | 0.918 | 0.990          | 1.083 | 1.184 | 1.036          | 1.022 | 1.022 |
| <i>n</i> -Hexane ext.     | 1.053             | 0.995 | 0.971 | 0.907          | 1.033 | 1.018 | 1.073          | 0.953 | 1.234 | 1.085          | 1.054 | 1.100 |
| EtOAc ext.                | 1.176             | 1.071 | 1.336 | 1.039          | 1.040 | 1.068 | 1.334          | 1.677 | 1.795 | 1.476          | 1.490 | 1.563 |
| BuOH ext.                 | 0.982             | 0.985 | 1.102 | 0.945          | 0.971 | 1.055 | 1.256          | 1.228 | 1.171 | 1.296          | 1.311 | 1.436 |
| $\text{H}_2\text{O}$ ext. | 1.019             | 0.985 | 0.958 | 0.968          | 0.974 | 0.937 | 0.946          | 1.018 | 0.960 | 1.054          | 1.158 | 1.970 |

<sup>1)</sup>Antioxidative index (AI, induction time of oil containing of each extract/induction time of test oil).

질 산파 억제실험 결과 또한 Table II에 나타낸 것과 같이 계혈등의 EtOAc 분획물이 4종의 식용유지(soybean, corn, lard, palm oil)에서  $\alpha$ -tocopherol 보다는 우수하고 BHA 보다는 약간 우수한 지질 산파 억제 효과를 보였다.

이상의 항산화 실험 결과, 우수한 효과를 나타낸 EtOAc 분획물에 대하여 활성 주성분을 분리하기 위하여 소분획하여 얻어진 6종의 소분획물에 대해서 DPPH법에 의한 free radical 소거 작용을 실시한 결과, Table III에 나타낸 것과 같아  $\alpha$ -fraction 6의 소분획물이  $\alpha$ -tocopherol 보다는 우수하고 BHA와 유사한 효과를 나타내었다. 우수한 효과를 나타낸 fraction 6 소분획물을 재차 silica gel column chromatography에 의해 분리·정제하여 fraction 6으로부터 화합물 1을 얻었다. 얻어진 화합물 1은 미황색 분말로  $\text{FeCl}_3$  시험에서 녹색을, 아리스알데하يد-황산시액에서 오렌지색을 나타내어 flavan계 물질로 추정되었고, IR에서 수산기가 확인되고 UV에서 벤젠환의 존재를 확인할 수 있었으며, 또한 TLC 및 HPLC 분석에서 표준품과 비교 분석한 결과 (-)-epicatechin임을 추정할 수 있었다. 최종적으로 화합물 1의  $^1\text{H}$  및  $^{13}\text{C}$ -



(-)-Epicatechin

**Fig. 2.** Structure of compound 1 isolated from EtOAc ext. of *S. suberectus* Dunn.

**Table IV.** Radical scavenging effect of (-)-epicatechin isolated from *S. suberectus* Dunn on DPPH method

| Samples              | 50% reduction ( $\mu\text{g}$ ) <sup>a</sup> |
|----------------------|--|
| $\alpha$ -Tocopherol | 22   |
| BHA                  | 15   |
| (-)-Epicatechin      | 17   |

<sup>a</sup>Amount required for 50% reduction of DPPH ( $2 \times 10^{-7}$  ml, 0.079 mg) solution.

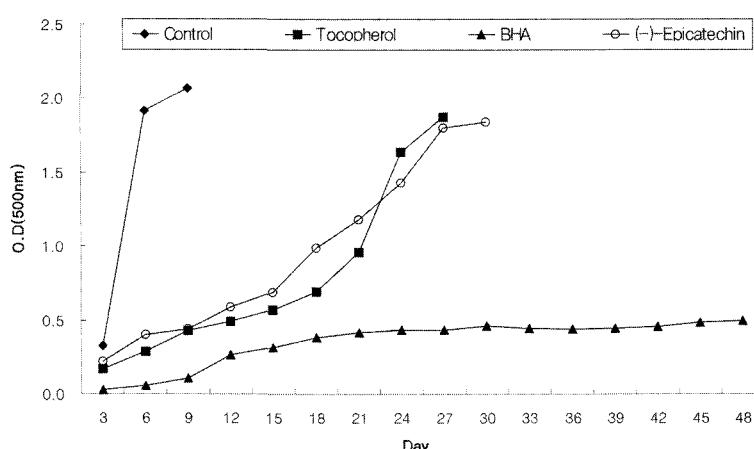
**Table III.** Radical scavenging effect of prepared fractions from EtOAc ext. of *S. suberectus* Dunn on DPPH method

| Samples              | 50% reduction ( $\mu\text{g}$ ) <sup>a</sup> |
|----------------------|--|
| $\alpha$ -Tocopherol | 22   |
| BHA                  | 15   |
| Fraction 1           | 74   |
| Fraction 2           | 90   |
| Fraction 3           | 60   |
| Fraction 4           | 55   |
| Fraction 5           | 46   |
| Fraction 6           | 18   |

<sup>a</sup>Amount required for 50% reduction of DPPH ( $2 \times 10^{-7}$  ml, 0.079 mg) solution.

NMR 등의 기기 분석치를 표준품 및 문헌치<sup>28-30)</sup>의 spectral data와 비교 분석한 결과 화합물 1의 구조는 Fig. 2에 나타낸 것과 같이 (-)-epicatechin으로 동정하였다.

계혈등의 항산화 활성 주성분으로 단리한 (-)-epicatechin에 대해서도 분획물과 같은 항산화 실험을 실시한 결과, DPPH법을 이용한 free radical 소거효과는 Table IV에 나타낸 바와 같이  $\alpha$ -tocopherol 보다는 우수하고 BHA와는 유사한 효과를 나타내었고, Ferric-Thiocyanate법에 의한 지질 과산화 억제 시험에서는 Fig. 3에 나타낸 것과 같이 (-)-epicatechin이 BHA 보다는 약하고  $\alpha$ -tocopherol과는 유사한 효과를 나타내었다. 그러나 Rancimat법에 의한 지질 산파 억제 실험을 실시한 결과에서는 Table V에 나타낸 것과 같이 (-)-



**Fig. 3.** Lipid peroxidation inhibitory effect of (-)-epicatechin isolated from *S. suberectus* Dunn on Ferric-Thiocyanate method.

**Table V.** Lipid peroxidation inhibitory effect of (-)-epicatechin isolated from *S. suberectus* Dunn on Rancimat method<sup>1)</sup>

| Samples          | Soybean oil (ppm) |       |       | Corn oil (ppm) |       |       | Lard oil (ppm) |       |       | Palm oil (ppm) |       |       |
|------------------|-------------------|-------|-------|----------------|-------|-------|----------------|-------|-------|----------------|-------|-------|
|                  | 200               | 400   | 600   | 200            | 400   | 600   | 200            | 400   | 600   | 200            | 400   | 600   |
| α-Tocopherol     | 0.975             | 0.983 | 1.013 | 0.930          | 0.998 | 0.981 | 1.215          | 1.368 | 1.414 | 0.943          | 0.987 | 0.917 |
| BHA              | 1.011             | 1.091 | 1.111 | 1.028          | 1.137 | 1.013 | 1.847          | 2.204 | 2.333 | 1.107          | 1.233 | 1.214 |
| (-) -Epicatechin | 1.513             | 1.459 | 1.280 | 1.244          | 1.226 | 1.362 | 3.194          | 4.229 | 5.636 | 1.242          | 1.208 | 2.022 |

<sup>1)</sup>Antioxidative index (AI, induction time of oil containing of each extract/induction time of test oil).

epicatechin<sup>o</sup>] 4종의 식용유지에서 대조군인 α-tocopherol과 BHA 보다는 훨씬 우수한 지질 산폐 억제 효과를 보였다.

## 결 론

인류의 노령화와 식생활 습관 및 생활 환경의 변화에 따라 노화나 암 등의 다양한 성인병들이 증가되고 있다. 이들 성인병들의 발생 원인이 활성산소에 의한 것임이 밝혀짐에 따라 활성산소를 제거 또는 약화시켜 다양한 성인병을 예방 치료할 수 있는 항산화 물질을 천연물이나 약용식물로부터 개발하기 위한 연구의 일환으로 민간에서 혈액순환과 관절염 등에 효과가 있는 것으로 알려진 계혈등에 대하여 항산화 효과 및 항산화 활성 주성분을 연구한 결과 다음과 같은 지견을 얻었다.

1. 계혈등의 용매별 분획물에 대하여 DPPH법, Ferric-Thiocyanate법 및 Rancimat법에 의해 항산화 활성을 측정한 결과, 계혈등의 EtOAc 분획물이 가장 우수한 항산화 효과를 나타내었다.

2. 항산화 활성 주성분을 규명하기 위하여 우수한 항산화 효과를 나타낸 계혈등의 EtOAc 분획물에 대하여 항산화 활성을 검토하면서 소분획을 실시한 결과 소분획물 6으로부터 화합물 1을 분리하였다.

3. 분리된 화합물 1의 기기 분석치를 표준품 및 문헌치와 spectral data를 비교 분석한 결과 (-)-epicatechin으로 동정하였다.

4. 단리된 (-)-epicatechin의 항산화 활성을 DPPH법, Ferric-Thiocyanate법 및 Rancimat법에 의해 실시한 결과 (-)-epicatechin은 대조군인 α-tocopherol보다는 우수하고, BHA 와는 유사 또는 우수한 항산화 효과를 보였다.

## 사 사

본 연구는 상지대학교 2003년 교내연구비에 의해 수행되었으며, 이에 감사드립니다.

## 인용문헌

1. Kim, J. G. and Cho, B. G. (1995) Traditional drugs of the

- east, 150-151. Young Lim Sa, Seoul.
- 2. Choi, J. S., Song, T. W. and Kim, D. H. (2003) A Study on the effect of *Spatholobus suberectus* Dunn on the inhibition of arthritis induced by collagen on the mouse. *Kor. J. Herbology*, **18**: 79-88.
- 3. Seo, H. G., Oh, Mi. S. and Kim, D. H. (2003) Immunity Responses of the *Spatholobus suberectus* Dunn to the Synovial Cells Isolated from Patients with Rheumatoid Arthritis. *Korean. J. Oriental Physiol. Pathol.* **17**: 780-786.
- 4. Shin, S. M., Park, J. H., Yoo, D. T. and Kim, D. H. (2003) Inhibitory effect of gamihwalhyeol-tang on inflammatory cytokine and NF-B, AP-1 activation in human synovial cells. *Korean. J. Oriental Physiol. Pathol.* **17**: 165-176.
- 5. Li, R. W., Lin, G. D., Myers, S. P. and Leach, D. N. (2003) Anti-inflammatory activity of Chinese medicinal vine plants. *Journal of Ethnopharmacol.* **85**: 61-67.
- 6. Wang, W., Wang, J., Zhao, D., Liu, H., Zhou, W. and Chen, K. (1991) Comparison of *Spatholobus suberectus* Dunn, *Euonymus alatus* (Thunb.) Sieb. and *Eupolyphaga sinensis* Walker on regulation of plasma lipid. *Zhongguo Zhong Yao Za Zhi*, **16**: 299-301.
- 7. Lam, T. L., Lam, M. L., Au, T. K., Ip, D. T. M., Ng, T. B., Fong, W. P. and Wan, D. C. C. (2000) A comparison of human immunodeficiency virus type-1 protease inhibition activities by the aqueous and methanol extracts of Chinese medicinal herbs. *Life Sci.* **67**: 2889-2896.
- 8. Yoon, J. S., Sung, S. H., Park, J. H. and Kim, Y. C. (2004) Flavonoids from *Spatholobus suberectus*. *Arch. Pharm. Res.* **27**: 589-592.
- 9. Fukuyama, Y., Nakano, Y., Geng, P. W., Rui, W., Sumitomo, J., Bao, J. X. and Nakagawa, K. (1988) *In vitro* fibrinolytic phytosterols isolated from the roots of *Spatholobus suberectus*. *Planta Med.* **54**: 34-36.
- 10. Papa, S. and Skulachev, V. P. (1997) Reactive oxygen species, mitochondria, apoptosis and aging. *Mol. Cell Biochem.* **174**: 305-319.
- 11. Fukuzawa, K. and Takaishi, Y. (1990) Antioxidants. *J. Act. Oxyg. Free Rad.* **1**: 55-70.
- 12. Halliwell, B. (1991) Drug antioxidant effects. *Drugs*, **42**: 569-605.
- 13. Cerutti, P. A. (1994) Oxy-radicals and cancer. *Lancet*, **344**: 862-863.
- 14. Corl, M. M. (1974) Antioxidant activity of tocopherol and

- ascorbylpalmitate and their mode of action. *JAACS*. **51**: 321-325.
15. Coleman, M. D., Fernandes, S. and Khanderia, L. A. (2003) A preliminary evaluation of a novel method to monitor a triple antioxidant combination (vitamin E, C and  $\alpha$ -lipoic acid) in diabetic volunteers using *in vitro* methaemoglobin formation. *Environ. Toxicol. Pharmacol.* **14**: 69-75.
16. Monsen, E. R. (2000) Dietary reference intakes for the antioxidant nutrients : vitamin C, vitamin E, selenium, and carotenoids. *J. Am. Diet. Assoc.* **100**: 637-640.
17. Ito, N., Fukushima, S., Hagiwara, A., Shibata, M. and Ogiso, T. (1983) Carcinogenicity of butylated hydroxyanisole on F 344 rats. *J. Natl. Cancer Inst.* **70**: 343-352.
18. Branen, A. L. (1975) Toxicological and biochemistry of butylated hydroxyanisole and butylated hydroxytoluene. *JAACS*. **52**: 59-63.
19. Yu, W., Zhao, Y. and Shu, B. (2004) The radical scavenging activities of radix puerariae isoflavonoids. *Food Chem.* **86**: 525-529.
20. Choi, S. I., Lee, Y. M. and Heo, T. R. (2003) Screening of hyaluronidase inhibitory and free radical scavenging activity *in vitro* of traditional herbal medicine extracts. *Korean. J. Biotechnol. Bioeng.* **18**: 282-288.
21. Fukumoto, L. R. and Mazza, G. (2000) Assessing antioxidant and peroxidant activities of phenolic compounds. *J. Agric. Food Chem.* **48**: 3597-3604.
22. Lim, D. K., Choi, U. and Shin, D. H. (1996) Antioxidative activity of ethanol extract from Korean medicinal plants. *Korean. J. Food Sci. Technol.* **28**: 83-89.
23. Uchiyama, M., Suzuki, Y. and Fukuzawa, K. (1968) Biochemical studies of physiological function of tocopheronolactone.1. *Yakugaku Zasshi*, **88**: 678-683.
24. Yoshikawa, M., Harada, E., Miki, A., Tsukamoto, K., Liang, S. Q., Yamahara, J. and Murakami, N. (1994) Antioxidant constituents from the fruit hulls of Mangosteen (*Garcinia mangostana* L.) originating in vietnam. *Yakugaku Zasshi*, **114**: 129-133.
25. Inatani, R., Nakatani, N. and Fuwa, H. (1983) Antioxidative effect of the constituents of rosemary(*Rosemaries officinalis* L.) and their derivatives. *Agric. Biol. Chem.* **47**: 521-528.
26. Chen, C. W. and Ho, C. T. (1995) Antioxidant properties of polyphenols extracted from green and black teas. *J. Food Lipids*, **2**: 35-46.
27. Lim, D. K., Choi, U. and Shin, D. H. (1996) Antioxidative of some solvent extract from *Caesalpinia sappan* L. *Korean J. Food Sci. Technol.* **28**: 77-82.
28. Natsume, M., Osakabe, N., Oyama, M., Sasaki, M., Baba, S., Nakamura, Y., Osawa, T. and Terao, J. (2003) Structure of (-)-epicatechin glucuronide identified from plasma and urine after oral ingestion of (-)-epicatechin : differences between human and rat. *Free Radical Biol. Med.* **34**: 840-849.
29. Berregi, I., Santos, J. I., Campo, G. and Miranda, J. I. (2003) Quantitative determination of (-)-epicatechin in cider apple juices by  $^1\text{H}$  NMR. *Talanta*, **61**: 139-145 .
30. Cren-Olive, C., Wieruszewski, J. M., Maes, E. and Rolando, C. (2002) Catechin and epicatechin deprotonation followed by  $^{13}\text{C}$  NMR. *Tetrahedron Lett.* **43**: 4545-4549.

(2005년 1월 25일 접수)