

예루살렘세이지 (*Phlomis frutcosa* L.) 추출물의 *Helicobacter pylori*에 대한 항균활성과 항산화활성

김정환 · 윤소정 · 조영제*

상주대학교 식품공학과

Antimicrobial Activity against *Helicobacter pylori* and Antioxidant Activity of Yerusalem sage (*Phlomis frutcosa* L.)

Jeung-Hoan Kim, So-Jeung Yoon and Young-Je Cho*

Department of Food Engineering Sangju National University, Sangju 742-711, Korea

Received March 28, 2005; Accepted May 16, 2005

The concentration of total phenolic compounds of the water and ethanol extracts of Yerusalem sage were 9.4 mg/g and 11.1 mg/g respectively. The total antioxidant activities of water and ethanol extracts of Yerusalem sage were 96.8% and 91.4% in ABTS assay and 97.6% and 87.2% in DPPH assay, PF of the water and ethanolic extracts were 1.1 and 1.6, respectively. TBARS were $0.9 \times 10^{-3} \mu\text{M}$ and $0.3 \times 10^{-3} \mu\text{M}$, respectively. Antimicrobial effect against *H. pylori* of the ethanol extract was 9~15 mm of clear zone diameter at 50 $\mu\text{g/ml}$ ~200 $\mu\text{g/ml}$ of phenolic compound. Phenolic profiles in Yerusalem sage chlorogenic acid was the highest both in water and ethanol extracts in HPLC analyses.

Key words: Yerusalem sage, antioxidant, *Helicobacter pylori*, Yerusalem sage (*Phlomis frutcosa* L.)

서 론

최근 산업 사회의 발달로 경제적인 여유와 문화적인 혜택을 누리고 있으나 이로 인한 환경오염과 같은 여러 부작용이 나타났고¹⁾ 의학기술의 발달로 65세 이상의 노인이 총인구의 7.9%를 차지하는 노령화 사회로 진입함에 따라 현대인들의 건강에 대한 관심이 고조되어 건강 유지나 생체리듬을 조절하는 효능이 있는 기능성 식품에 중점적인 관심을 두게 되었다.²⁾ 또한 고령화 사회로 인해 노인과 관련된 암, 당뇨, 순환기계 질환 등의 만성퇴행성 질환의 예방이 시급한 과제로 떠오르고 있다.³⁾ 한편 만성위염, 위궤양, 소화성궤양, 위암 등의 발생과 밀접하게 관련되는 것으로 알려진 *Helicobacter pylori*의 미국이나 호주의 감염 상황은 20대에 약 20%, 50대 및 그 이상에서도 50%이하인데 반해 우리나라 정상인의 *H. pylori* 감염율은 44.8%이며 만 19세 이상의 성인에서는 57.8%, 19세 미만의 소아에서는 15.3%를 나타내고 있다.⁴⁾ 이를 감안하여 볼 때 *H. pylori* 자체에 대한 연구와 병행하여 *H. pylori*에 대한 근본적인 예방이나 치료를 위한 선도물질을 개발할 필요가 있다. 최근에는 Rauws 등⁵⁾이 bismuth제제와 amoxidillin, metronidazole의

3가지 항균제를 동시에 투여하는 것을 발표하였고, 국내에서는 박 등⁶⁾이 amoxicillin, tripotassium dicitrate bismuthate, metronidazole을 이용한 병용투여를 통해 50% 내외의 치료효과를 얻은 것으로 보고하였다. 그러나 이러한 항균제 치료는 이에 사용되는 항생제에 대한 내성이 나타나고, 재발가능성이 내제한다는 면에서 지속적인 연구가 필요하다.

최근에는 식물류에 들어 있는 생리활성 성분에 대한 관심이 높아져 이들을 천연 항산화제와 항진균제의 원료로 이용하려는 시도가 많이 이루어지고 있다. 식물에 존재하는 생리활성 물질의 대부분은 페놀성 화합물이고 이들 페놀성 화합물들은 일반적으로 수용성이며 플라보노이드류가 주를 이루고 단순한 페놀류, 페놀산, 페닐 프로파노이드류, 페놀성 퀴논류들을 포함하는 것으로 항세균, 항알레르기, 항산화, 항종양, 항암, 충치방지, 심장질환 및 당뇨병 예방 등의 효과가 있는 것으로 보고되고 있다.⁷⁻⁹⁾ 따라서 영양, 건강이나 식품의 품질을 증진시킬 수 있는 항산화성과 항진균성이 높고, 기능성을 겸비한 허브의 수요가 확대될 수 밖에 없는 시점에 이르렀고 허브를 이용한 식품의 개발이 이루어지고 있다. 현재까지도 성인병의 치료에는 한계가 있으므로 항산화 효과와 항진균 효과가 풍부한 식품을 일상적으로 섭취함으로써 이들 식품구성성분의 생체조절기능에 대한 효과를 병행하는 방법 등이 다양하게 검토되고 있는 실정이다. 본 연구에서는 Yerusalem sage로부터 생리활성 물질 탐색 연구의 일환으로 항산화효과와 *H. pylori*에 대한 항진 효과를

*Corresponding author

Phone: +82-54-530-5265; Fax: +82-54-530-5269

E-mail: yjcho@sangju.ac.kr

살펴봄으로써 기능성식품 소재로서 활용키 위한 기초 자료를 마련하고자 하였다.

재료 및 방법

시약 및 실험장치. Butylated hydroxytoluene(BHT), yeast extract, beef extract, pyruvic acid, β -carotene, H_2O_2 , linoleic acid, tween 40, α, α -diphenyl- β -picrylhydrazyl(DPPH), porcine pancreas- α -amylase 등은 Sigma사(USA)의 특급시약을 사용하였으며, 시료의 페놀 분리에 사용한 HPLC는 Waters 2690 separations Module과 2487 UV detector를 사용하였고 이동상으로서 acetonitile은 J.T.Baker사의 HPLC급을, formic acid, Folin-Ciocalteu시약, trichloroacetic acid(TCA), Na_2CO_3 , HCl 등은 일제 특급시약을 사용하였다.

시료의 선정. Yerusalem sage는 herb 농장에서 재배되고 있는 것을 2004년 5월에 일만 채취하여 열풍건조기를 이용하여 50°C에서 건조시켜 분말화하여 물과 에탄올로 추출하여 사용하였다.

추출물의 조제. Yerusalem sage 잎의 물 추출물은 증류수 200 ml에 Yerusalem sage 건조잎 1g을 넣고 액이 100 ml가 될 때까지 가열한 후 냉각하고 알콜추출액은 60% ethanol 100 ml에 Yerusalem sage 건조잎 1g을 넣고 물과 알코올 추출물 모두 24시간 진탕 추출한 후 10,000 rpm에서 15분 동안 원심분리하여 Whatman No. 1 여과지로 여과한 후 필요에 따라 rotary vacuum evaporator에서 농축하여 시료로 사용하였다.

Phenol 화합물 정량.¹⁰⁾ 시료 1 ml에 95% ethanol 1 ml와 증류수 5 ml를 첨가하고 1 N Folin-ciocalteu reagent 0.5 ml를 넣어 잘 섞어주고, 5분간 방치한 후, Na_2CO_3 1 ml를 가하고, 흡광도 725 nm에서 1시간 이내에 측정하였으며 gallic acid를 이용한 검량곡선으로부터 총 phenol 화합물의 양을 환산하였다.

HPLC 분석. Yerusalem sage 추출물에 항산화 및 항균물질의 존재와 그 함량을 알아 보기 위하여 protocatecic acid, caffeic acid, chlorogenic acid, coumaric acid, rosemarinic acid 총 5종을 선택하여 메탄올에 용해시켜 표준용액으로 사용하였고 시료는 0.2 μ m filter로 2 ml를 여과하고 그 중 5 μ l를 주입하여 분석하였다. 분석 조건은 column은 Xterra(Waters, RP-18, 250 \times 4.6 mm)를 30°C로 유지하였고, 검출기는 Waters 2487 UV detector를 사용하여 306 nm에서 측정하였다. 이동상은 acetonitile과 formic acid(pH 3.0)이며 기온기 용리 조건은 5분동안 acetonitile 10% 그후 30분간 50%로 증가시키고 다시 5분간 10%로 감소시켜 총 45분간 용매를 이동시켰다. 이때 흐름 속도는 0.5 ml/min이었다.

사용균주 및 배양 실험에 사용한 균주는 위십이지장궤양 원인균인 *H. pylori*로서 표준균주인 ATCC 43504를 사용하였다. *H. pylori*의 배양에는 최적배지(special pepton 0.5 g, agar 0.75 g, NaCl 0.25 g, yeast extract 0.25 g, beef extract 0.2 g 및 pyruvic acid 0.025 g)를 사용하였다. *H. pylori*의 배양은 미호기성 조건을 유지시켜주기 위해서 10% CO_2 incubator를 이용하였으며, incubator의 습도는 항상 95% 이상으로 유지하였으며, agar plate상에서 배양은 37°C로 48~72시간 동안 실시하였다.

추출물의 항균활성 검색 Disc 방법¹¹⁾에 의하여 *H. pylori* 평판 최적배지(50 mg당 special peptone 0.5 g, agar 0.75 g, NaCl 0.25 g, yeast extract 0.25 g, beef extract 0.2 g 및 pyruvic acid 0.025 g) plate에 *H. pylori*균 100 μ l를 분주하여 멸균 유리봉으로 도말한 다음, 멸균된 disc paper(ϕ 8 mm)를 올리고 0.45 μ m membrane filter로 제균한 추출물 100 μ l를 흡수시키고, 대조구로는 멸균수를 흡수시킨 후 37°C의 미호기성 조건에서 48시간 동안 incubation한 다음, disc 주위의 저해환 생성 유무를 확인하여 그 직경을 측정하였다.

ABTS radical cation decolorization의 측정. ABTS[2,2'-azinobis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid)] radical cation decolorization의 측정은 Pellegrin 등¹²⁾의 방법에 의해 측정하였다. 즉, 7 mM ABTS 5 ml와 140 mM $K_2S_2O_8$ 88 μ l를 섞은 용액 1 ml와 ethanol 88 ml를 혼합한 ABTS용액 1 ml와 시료용액 50 μ l를 혼합하여 30초간 진탕한 후 2.5분간 incubation하고 734 nm에서 흡광도를 측정하여 저해율은 $[1 - (\text{반응구의 흡광도} / \text{대조구의 흡광도})] \times 100$ 으로 나타냈다.

전자공여능 측정. DPPH radical에 대한 소거활성은 Blois의¹³⁾ 방법을 변형하여 측정하였다. 각 시료 0.5 ml에 60 μ M DPPH 3 ml를 넣고 vortex한 후 15분 동안 방치한 다음 517 nm에서 흡광도를 측정하였다. 전자공여능은 $[(\text{시료 첨가구 흡광도} - \text{대조구의 흡광도}) / \text{대조구의 흡광도}] \times 100$ 으로 나타내었다.

Antioxidant Protection Factor(PF) 측정. PF는 Andarwulan과 Shetty의¹⁴⁾ 방법으로 측정하였다. 10 mg의 β -carotene/50 ml chloroform 용액 1 ml를 evaporator용 수기에 넣고 40°C water bath에서 chloroform을 증류시킨 후 20 μ l linoleic acid, 184 μ l Tween 40과 50 ml H_2O_2 를 가하여 emulsion을 만들고, 5 ml의 emulsion에 시료용액 100 μ l를 혼합하여 vortex로 잘 섞어준 뒤 50°C에서 30분간 반응시켜 냉각시킨 다음, 470 nm에서 흡광도를 측정하여 PF값은 (반응구의 흡광도/대조구의 흡광도)로 나타내었다.

Thiobarbituric acid reactive substances(TBARS)측정. TBARS는 Burge와 Aust의 방법¹⁵⁾에 따라 측정하였다. 1% linoleic acid와 1% Tween 40으로 emulsion을 만들고 emulsion 0.8 ml와 시료 0.2 ml를 섞은 후 50°C water bath에서 10시간 반응시켰다. 반응 후 반응액 1 ml에 TBA/TCA 시약 2 ml를 가하고 15분간 boiling한 다음 10분간 냉각시킨 후 15분간 1000 rpm으로 원심분리하여 실온에서 10분간 방치후 상정액을 532 nm에서 흡광도를 측정하였으며, TBARS값은 (흡광도 수치 \times 0.0154)로 1 ml 반응혼합물에 대해서 생성된 1,1,3,3-tetraethoxy propane(TEP)의 μ M으로 표시하였다.

결과 및 고찰

Yerusalem sage(*Phlomis frutcosa* L.) 추출물 중 페놀성 화합물의 함량측정. 페놀성 화합물은 식물체에 널리 분포되어 있는 2차 대사산물의 하나로서 다양한 구조와 분자량을 가지며, 이들은 phenolic hydroxyl기를 가지고 있기 때문에 단백질 등의 거대분자들과 결합하는 성질을 가지며, 항산화, 항미생물 활성 효과 등의 생리활성 기능도 가진다.¹⁶⁾ Yerusalem sage의 페놀성

Table 1. Phenol profiles of Yerusalem sage

Phenol	Retention time (min)	Content (mg/g)	
		Water extracts	Ethanol extracts
Protocatecuic acid	7.195	2.4±0.1 ⁺	0.9±0.1
Caffeic acid	13.893	0.9±0.1	0.3±0.2
Chlorogenic acid	12.110	4.5±0.2	4.1±0.5
Coumaric acid	18.047	0.5±0.1	0.2±0.1
Rosemarinic acid	21.175	1.6±0.1	0.9±0.1

*This experiment repeated 6 times.

⁺Mean±SDTable 2. Inhibition of *Helicobacter pylori* by Yerusalem sage extracts

Solvent	Diameter of clear zone (mm)				
	Phenol content (µg/ml)				
	Control ¹⁾	50 ²⁾	100 ³⁾	150 ⁴⁾	200 ⁵⁾
Water extracts	ND ⁶⁾	ND	ND	ND	ND
Ethanol extracts	ND	9±0.1 ⁺	10±0.3	12±0.1	15±0.2

*This experiment repeated 6 times.

⁺Mean±SD¹⁾0 µg/ml of phenol content ²⁾50 µg/ml of phenol content ³⁾100 µg/ml of phenol content ⁴⁾150 µg/ml of phenol content ⁵⁾200 µg/ml of phenol content⁶⁾Not detector

Table 3. Antioxidant activity of water and ethanol extracts from Yerusalem sage

	Antioxidant activity		
	Control	Water extract	Ethanol extract
DPPH	-	97.6±1.2 ⁺	87.2±3.5
ABTS ⁺	-	96.8±0.1	91.4±0.6
Protection factor (PF)	-	1.1±0.1	1.6±0.1
TBARS (×10 ⁻³ µM)	1.1±0.1	0.9±0.1	0.3±0.1

*This experiment repeated 6 times.

⁺Mean±SD

화합물의 함량은 물 추출물 중에는 9.4 mg/g, 에탄올 추출물 중에는 11.1 mg/g의 페놀 함량을 나타내었다. 김 등¹⁷⁾은 녹차(10.9 mg/g), 상항버섯(17.9 mg/g), 인지(6.7 mg/g)의 페놀성 화합물 함량에 따라 항균활성이 차이가 있다고 보고하였으며 Yerusalem sage 역시 이들과 비슷한 총 phenol 함량을 나타내었으므로 항균활성과 항산화등 생리활성 효과 등을 기대 할 수 있었다.

HPLC 분석. Shetty¹⁸⁾, Vattem과 Shetty¹⁹⁾ 및 Chun²⁰⁾ 등은 simple phenol성 물질중 rosmarinic acid, protocatecuic acid, caffeic acid, chlorogenic acid, coumaric acid 등이 항산화 및 항균활성이 높다고 보고하였으며, 본 실험에서도 Yerusalem sage 추출물 중에서 이러한 simple phenol의 존재유무를 알아보기 위해 HPLC상에서 표준물질의 chromatogram과 retention time을 비교하여 정량 분석을 한 결과 Table 1과 같이 물 추출물에서 protocatecuic acid는 2.4 mg/g, chlorogenic acid 4.5 mg/g, caffeic acid 0.9 mg/g, coumaric acid 0.5 mg/g, rosmarinic acid 1.6 mg/g 검출되었으며 알콜 추출물에서는 chlorogenic acid 가 4.1 mg/g로 물 추출물의 함량과 비슷하였으나 나머지 phenol 성 화합물은 물 추출물에 비해 다소 낮은 함량을 나타내었다. Zheng 등²¹⁾은 sage 신선물 100 g 당 rosmarinic acid가 117.8 mg으로 다른 항산화 물질보다 많이 함유되어 있다고 하였으며,

Cuvelier 등²²⁾도 rosmarinic acid, caffeic acid dimer 등이 항산화 활성을 갖는다고 보고하였다.

추출물의 disc 방법에 의한 *Helicobacter pylori*에 대한 항균 효과. 최적배지에서 생육시킨 *H. pylori*에 대하여 추출물의 clear zone 크기를 측정 한 결과 Table 2에서와 같이 물 추출물에서는 저해환이 생기지 않고 알콜 추출물에서는 50 µg/ml 첨가구부터 200 µg/ml 첨가구에서 저해환의 직경이 각각 9 mm, 10 mm, 12 mm, 15 mm로 형성이 되었다. 이 결과로 극성이 다른 물과 알콜 추출물간에 추출되어 나오는 phenol성 화합물 종류의 차이에 의한 것으로 사료된다. Tabak 등²³⁾의 보고에 의하면 백리향으로부터 *H. pylori*의 증식억제를 실험한 결과 phenol성 화합물을 3,500 ppm, 4,500 ppm 농도로 첨가하였을 때 항균활성을 확인하였다고 보고하였다.

Yerusalem sage 추출물의 항산화 효과. 추출물의 상대적인 항산화력의 측정에는 potassium persulfate와의 반응에 의해 생성된 ABTS free radical이 추출물의 항산화력 물질에 의해 제거되어 radical 특유의 색인 청록색이 탈색되는 것을 이용한 방법²⁰⁾을 사용하였고, PF의 측정을 위하여 β-carotene을 첨가한 linoleic acid emulsion을 사용하여 Yerusalem sage 추출물의 항산화력을 측정하였다. 그리고 아스코르빈산, 토코페롤,

polyhydroxy 방향족 화합물, 방향족 아민류에 의하여 환원되어 짙은 자색이 탈색되는 것을 이용하여 전자공여능을 측정하였으며 지방산패 정도를 측정하는 TBARS는 지방의 산화에 의해 생기는 malonaldehyd와 TBA가 반응하여 생성되는 복합체의 양을 나타내는데, 시간의 경과, 지방산의 조성, 산소의 활성, 항산화제 등에 의해 영향을 받는다는 Tarladigis 등²¹⁾의 보고가 있다. 추출물의 항산화력을 확인한 결과 Table 3과 같이 전자공여능은 물 추출물과 알콜 추출물이 97.6%, 87.2%였으며 ABTS는 물 추출물은 96.8% 알콜 추출물이 91.4%로 높은 항산화력을 나타냈고, PF는 1.1, 1.6으로 역시 비교적 높은 값을 나타내었으며 지방산패 정도를 나타내는 TBARS는 대조구 $1.1 \times 10^{-3} \mu\text{M}$ 에 비해 물 추출물 첨가구 $0.9 \times 10^{-3} \mu\text{M}$, 알콜추출물 첨가구 $0.3 \times 10^{-3} \mu\text{M}$ 로 나타나 추출물이 지방의 산화를 저해하는 효과가 우수한 것으로 판단되었다.

초 록

Yerusalem sage를 물과 에탄올로 추출하여 생리 가능성을 알아보았다. 추출물의 총 페놀 함량은 물 추출물이 9.4 mg/g, 알콜 추출물이 11.1 mg/g로 나타났고 추출물의 항산화 효과는 DPPH가 물 추출물과 알콜을 추출물 각각 97.6%, 87.2%로 나타났고, antioxidant protection factor는 각각 1.1, 1.6으로 알콜 추출물이 물 추출물보다 높게 나타났다. ABTS는 물 추출물과 알콜을 추출물에서 각각 96.8%, 91.4%로 높게 나타났으며 TBARS 값은 $0.9 \times 10^{-3} \mu\text{M}$, $0.3 \times 10^{-3} \mu\text{M}$ 로 대조구 $1.1 \times 10^{-3} \mu\text{M}$ 에 비해 malonaldehyde와 thiobarbituric acid가 반응하여 생성되는 복합체 TBARS값이 낮아 추출물이 지방 산화에 영향을 주는 것을 알 수 있었다. *Helicobacter pylori*균의 항균활성 측정을 위하여 알콜 추출물의 phenolic compound 함량을 50 μg 에서 200 μg 까지 50 μg 씩 disc paper에 증가시켜 첨가한 결과 저해환의 직경이 첨가량이 증가할수록 9 mm, 10 mm, 12 mm, 15 mm로 크게 나타났다. HPLC로 항산화 및 항균력을 가진 페놀산의 존재유무를 분석한 결과 물과 알콜 추출물에서 chlorogenic acid함량이 가장 많은 것으로 나타났다. 이 결과로 Yerusalem sage는 인공 합성 항산화제가 가지는 단점을 보완할 수 있는 천연 항산화제 및 위 십이지장 계통의 질환을 예방하는 기능을 겸비한 기능성 물질로 개발이 기대되었다.

Key words: 예루살렘세이지(*Phlomis frutcosa* L.), *Helicobacter pylori*, 항산화활성

감사의 글

본 연구는 한국산업기술재단에서 지원하는 2003년도 지역전락산업 석박사 연구인력 양성사업인 “한약재 및 herb로 부터 *Helicobacter pylori*에 대한 항균성 물질 및 항당뇨 물질의 정제 및 사업화(과제번호 KOTEF-19)”과제로부터 얻어진 결과의 일부이며, 연구비 지원에 감사드립니다.

참고문헌

1. Kim, J. D., Chon, I. J. and Cho, H. K. (2004) The antioxidant and the antidiabetic effects of ethanol extract form biofunctional foods prescriptions. *Kor. J. Pharmacogn.* **35**, 98-103.
2. Population projections for korea 2000-2050, korean national statistical office, Republic of Korea (2001)
3. Jung, S. W. and Kim, M. K. (2003) Effect of dried powders of chamomile, sage and green tea on antioxidative capacity in 15-month-old rats. *The Korean Nut. Soc.* **34**, 699-710.
4. Cover, T. L. and Blaser, M. J. (1995) A bacterial cause of gastritis, peptic ulcer disease and gastric cancer. *ASM News* **61**, 21-26.
5. Rauws, E. A. J., Langenberg, W., Houthoff, G. H., Ianen, H. C. and Tytgat, G. H. J. (1988) Campylobacter pyloridis-associated chronic active antral gastritis a prospective study of its prevalence and the effects of antibacterial and antiulcera treatment. *Gastroenterol* **94**, 33-40.
6. Park, C. K., Choi, H. J., Youn, H. S., Lee, W. K., Cho, M. J., Kang, K. H., Baik, S. C. and Rhee, K. H. (1994) Chemotherapy of *Helicobacter pylori* infection (in Korean) *J. Kor. Soc. Microbiol.* **29**, 421-435.
7. Huang, M. T., Ho, C. T. and Lee, C. Y. (1992) Phenolic compounds in food. *In phenolic compounds in food and their effects on health II*. Maple Press, New York, pp. 2-7.
8. Azuma, K., Nakayama, M., Koshika, M., Ippoushi, K., Yamaguchi, Y., Kohata, K., Yamauchi, Y., Ito, H. and Higashio, H. (1999) Phenolic antioxidants from the leaves of *Corchorus olitorius* L. *J. Agric. Food Chem.* **47**, 3963-3966.
9. Ham, S. S., Hong, J. K. and Lee, J. H. (1997) Antimutagenic effects of juices from edible Korean wild herbs. *J. Food Sci. Nutr.* **2**, 155-161.
10. Duval, B. and Shetty, K. (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.
11. Higasi, G. S. (2000) Appraisalment of antioxidative activity from vegetables. *Jpn. J. Food Ind.* **57**, 56-64.
12. Pellegrin, N., Roberta, R. Min, Y. and Catherine, R. E. (1998) Screening of dietary carotenoids and carotenoid-rich fruit extracts for antioxidant activities applying 2,2'-azinobis(3-chylenebenzothiazoline-6-sulfonic acid) radical cation decolorization assay. *Method Enzymol.* **299**, 379-389.
13. Blois, M. S. (1958) Antioxidant determination by the use of stable free radical. *Nature* **26**, 1198-1199.
14. Andarwulan, N. and Shetty, K. (1999) Phenolic content in differentiated tissue cultures of untransformed and Agrobacterium-transformed roots of anise (*Pimpinella anisum* L.). *J. Agric. Food Chem.* **47**, 1776-1780.
15. Buege, J. A. and Aust, S. D. (1978) Microsomal lipid peroxidation. *Method Enzymol.* **105**, 302-310.
16. Kuhnau, J. (1976) The flavonoids a class of semiessential food components; their role in human nutrition. *World Rev. Nutr. Diet.* **24**, 117-120.
17. Moon, J. S., Kim, S. J., Park, Y. M., Hwang, I. S., and Kim,

- E. H. (2004) Antimicrobial effect of methanol extracts from some medicinal herbs and the content of phenolic compounds. *Kor. J. Food Pre.* **11**, 207-213.
18. Shetty, K. (2001) Biosynthesis and medical application of Rosemarinic acid. *J. Herbs, Spices Med. Plant* **8**, 161-181.
19. Vatter, D. A. and Shetty, K. (2002) Solid-state production of phenolic antioxidants from cranberry pomace by *Rhizopus oligosporus*. *Food Biotech.* **16**, 189-210.
20. Chun, S. S. Lin, Y. T., Vatter, D. A., Shetty, K. (2003) Phenolic antioxidants from oregano (*Oreganum vulgare*) with antimicrobial activity against *Helicobacter pylori*. IFT Annual meeting. Chicago, IL. USA
21. Zheng, W. and Wang, S. Y. (2001) Antioxidant activity and phenolic compound in selected Herbs. *J. Agric. Food Chem.* **49**, 5165-5170.
22. Cuvlier, M. E., Richard, H. and Berste, C. (1996) Antioxidative activity and phenolic composition of pilot-plant commercial extracts of sage and rosemary. *J. Am. Oil Chem. Soc.* **73**, 645-652.
23. Tabak, M., Armom, R., Potasman, I. and Neeman, I. (1996) In vitro inhibition of *Helicobacter pylori* by extracts of thyme. *J. Appl. Bacteriol.* **80**, 667-672
24. Lee, W. Y., Ahn, J. K., Park, Y. K., Park, S. Y. and Rhee, H. I. (2004) Inhibitory effects of proanthocyanidin extract from *Distylium racemosum* on α -amylase and α -glucosidase activities. *J. Kor. Pharmacogn.* **35**, 271-275.
25. Choi, Y. C., Kim, M. G., Shin, J. J., Park, J. M. and Lee, J. S. (2003) The antioxidant activities of the some commercial teas. *J. Kor. Soc. Food Sci. Nutr.* **32**, 723-727.