

산 · 학 · 연 논문

버섯균사체로 발효시킨 복령과 후박의 항산화 및 항암효과

손 미 예<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>경상대학교 식품영양학과, <sup>2</sup>한국전통발효식품연구소

Antioxidant and Anticancer Activities of *Poria cocos* and *Machilus thunbergii* Fermented with Mycelial Mushrooms

Mi-Yae Shon<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Dept. of Food and Nutrition, Gyeongsang National University, Jinju 660-701, Korea

<sup>2</sup>Korea Fermented Food Research Institute, Jinju 660-988, Korea

서 론

복령(*Poria cocos* Fr. Wolf)은 버섯류에 속하며 단단한 균핵의 내부 색깔에 따라 육질이 견고한 백복령과 연하고 부드러운 적복령으로 구분되는데, 맛은 달콤하고 향과 독이 없다(1). 그 분포지역은 경기도나 강원도에 주로 많이 자생하는데, 국내 자연산의 수요 증가로 농가 고소득 작목으로서 각광을 받고 있다(2). 옛날부터 복령은 만성위염 완화, 이뇨작용, 혈당강하, 정신안정 및 심장수축작용 등에 탁월한 효능이 있어 한방에서 많이 사용되어 온 생약 중의 하나이다(3,4). 주요 약리성분으로는 복령당이라 불리는 항암성 pachyman과 β-glucan, triterpene 등이 있다(1,5). 그리고 우리나라의 후박나무(*Machilus thunbergii*)는 녹나무과에 속하며, 그 수피를 후박(厚朴)이라고 하는데, 완도, 진도, 홍도를 비롯한 주로 남부지역에 자생 또는 재배되고 있다. 후박의 약효로는 복통, 천해, 흉복부 팽만의 치료제나 정장, 이뇨, 건위, 소담 등으로 알려져 있으며(6,7), 그 유효성분으로는 quercetin, afzelin 및 rutin의 flavonoid(6)와 magnolol, honokinol, ovovatol과 같은 lignan계 화합물 및 sesquiterpene 등이 보고되어 있다(8). 특히 이들 유효성분들은 대체로 생산지역과 토질, 나무의 수명과 높이, 채집부위, 잎의 모양, 가루의 색도, 줄기껍질의 두께에 따라 차이가 나타나는 것으로 보고되어 있다(8,9).

현재까지 복령에 관한 연구로는 재배(1) 및 건조특성(10), 이화학적 성분분석(2,4,11,12), 항암성(4,5,13,14), 항균성(2,4,5,15), 항산화성(1,3,4), 아질산염소거(3), 혈당조절(16,17), 혈중 지질성상(18), 면역활성(19,20) 등이 있으며, 후박에 관한 연구로는 약리성분(6,8,21), 생약의 품질평가(22), 항염(23) · 항균성(24-26), NO합성과 TNF-α 발현억

제 효과(27), 항암(23,28), 소화기계 개선(29), 급성독성과 진통(30), 항알레르기 효과(31), 항혈소판 및 항혈전(32), 혈압강하(33) 등의 다양한 효능이 있음이 보고되었다.

본 연구에서는 새로운 고소득 한약재로 예상되는 한국산 복령과 후박의 이용성 확대를 위하여 각각 추출물의 ABTS와 DPPH라디칼의 소거능, 환원력의 항산화능 효과 및 인체암 세포주(Hela, HepG2, HT-29, MCF-7)의 항암활성에 대하여 조사하였다.

재료 및 방법

재료 및 공시균주

버섯균사체 배양에 의한 발효한약의 제조를 위해 시판 중인 한국산 복령(*Poria cocos*)과 후박(*Machilus thunbergii*)을 한약 재료 판매점에서 구입하여 사용하였다. 복령과 후박의 발효를 위한 버섯 균사체 발효균주로는 팽이버섯(*Flammulina velutipes*), 큰 느타리버섯(*Pleurotus eryngii*), 동충하초(*Paecilomyces japonica*)를 경남농업기술원으로부터 분양받아 사용하였다.

균주배양 및 발효한약 제조

복령과 후박을 분쇄시켜 수분을 70%(w/v)로 조절한 후, 500 mL 삼각플라스크에 50 g씩 충전하여 121°C, 50분간 멸균하여 실온까지 냉각하였다. PDA(potato dextrose agar) 평판배지에서 7~15일간 배양시킨 각각의 버섯균사체를 직경 5 mm의 cork borer를 이용하여 일정하게 균사체를 절취하여 접종한 다음, 25~27°C에서 25~30일간 배양하였다. 버섯균사체로 발효가 종료된 복령과 후박은 동결건조한 후 실험용 시료로 사용하였다.

### ABTS 라디칼 소거활성 측정

버섯균사체로 발효시킨 복령 및 후박 추출물의 ABTS [2,2'-azinobis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonate)] 라디칼 소거 활성을 BHA 및 vitamin C와 비교하여 측정하였다(34). ABTS 라디칼을 7 mM ABTS와 2.45 mM K<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>8</sub>를 암소에서 12시간 반응시켜 발생시켰으며, pH 7.0 PBS 용액으로 734 nm에서 흡광도가 0.7이 되게 희석하였다. 96-well plate 당 10 µL의 시료를 넣고 희석된 ABTS 용액 190 µL를 가하여 7분간 반응시킨 다음 734 nm에서 흡광도를 측정하였다. 시료에 의하여 라디칼이 소거되는 만큼의 흡광도가 감소되는 정도를 측정하였다.

ABTS 라디칼소거활성(%)=(1-7분 후 측정된 시료의 흡광도 변화)×100/대조구의 흡광도

### DPPH 라디칼 소거활성 측정

전자공여작용은 버섯균사체로 발효시킨 복령 및 후박 추출물의 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl(DPPH)에 대한 전자공여 효과를 측정하였다(35). 즉 96-well 플레이트에 에탄올에 녹인 1.5×10<sup>-4</sup> M DPPH 용액 90 µL와 시료 10 µL를 첨가한 후 10분 간 반응을 시킨 다음 microplate reader로 517 nm에서 흡광도를 측정하였다. 농도에 따른 DPPH 라디칼 소거 활성을 아래의 식에 따라 계산하였으며, DPPH 용액 대신 에탄올을 첨가한 시료의 흡광도를 blank로 하였으며, 에탄올을 넣은 것을 대조구로 하였다.

DPPH 라디칼 소거활성(%)=(1-10분 후 측정된 시료의 흡광도 변화)×100/대조구의 흡광도

### Reducing power 측정

버섯균사체로 발효시킨 복령 및 후박 추출물에 대한 환원력의 측정은 시험관에 다양한 농도의 양과 추출물에 sodium phosphate buffer 2.5 mL와 potassium ferricyanide 2.5 mL를 혼합하여 50°C에서 20분 동안 반응시킨 후 trichloroacetic acid 2.5 mL를 첨가하고, 10분 동안 5,000 rpm으로 원심분리를 시켰다. 상정액 5 mL에 0.1% ferric chloride 1 mL를 가한 후, spectrophotometer(CE2021, CECIL, England) 700 nm에서 흡광도를 측정하였으며, 대조구로 비타민 C를 표준 환원제로 사용하여 측정하였다(36).

### 암세포 성장억제 효과 측정

실험에 사용한 암세포는 인체의 자궁경부암 HeLa cell, 간암 HepG2 cell, 대장암 HT-29 cell과 유방암 MCF-7 cell을 사용하였으며, 각각 5% FBS(fetal bovine serum, Hyclone, USA) 및 항생제 혼합액을 첨가한 DMEM (Dulbecco's modified Eagle's medium, GIBCO, NY, USA) 배양액을 사용하였다. 암세포에 대한 암세포 성장억제 효과를 측정하기 위해 MTT[3-(4,5-dimethylthiazol-

2-yl)-2,5-diphenyl tetrazolium bromide] assay를 실시하였다(37). 암세포를 96 well plate에 1×10<sup>5</sup> cells/well이 되게 300 µL씩 분주하여 24시간 후 시료를 일정한 농도로 제조하여 10 µL 첨가한 후 37°C, 5% CO<sub>2</sub> 배양기에서 72시간 배양하였다. 여기에 PBS(phosphate-buffered saline)에 5 mg/mL의 농도로 제조한 MTT용액 20 µL를 첨가하고 동일한 배양 조건에서 4시간을 배양하였다. 배양액을 제거하고 각 well당 DMSO(dimethyl sulfoxide) 300 µL를 가하여 ELISA reader(Molecular Devices, SpectraMAX 340pc, USA)로 517 nm에서 흡광도를 측정하여 inhibition rate (%)를 구하였다.

## 결과 및 고찰

### ABTS 라디칼 소거활성

복령과 후박을 버섯균사체로 발효시킨 각각의 발효한약 추출액의 ABTS 라디칼 소거활성은 Fig. 1과 같다. 각 시료 추출물의 농도가 20~100 µg/assay로 증가할수록 ABTS 라디칼 소거능은 대체로 비례적으로 증가하였다. 그리고 함성산화제 BHA와 비타민 C는 50 µg/assay에서 각각 17.38%, 8.01% 소거활성을 나타내었으며(data 미제시), 이에 비하여 버섯균사체 팽이, 큰 느타리(새송이) 및 동충하초 균사체로 배양시킨 발효복령과 발효후박 시료는 각각 3.92~8.01%, 16.83~80.43% 범위로서 시료 처리에 따른 소

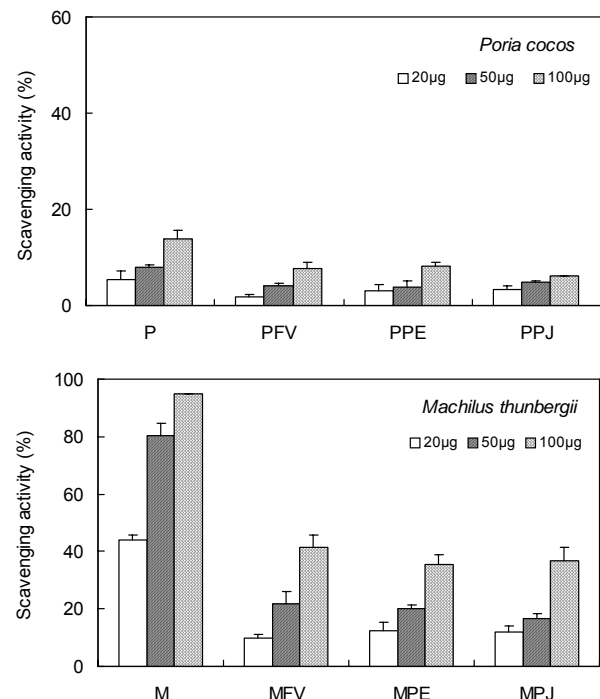


Fig. 1. ABTS radical scavenging activity of methanol extracts from *Poria cocos* and *Machilus thunbergii* of oriental herb medicine.

거활성에 차이가 크게 나타내었다. 복령은 원료에 비하여 버섯균사체 발효처리에서 그 소거활성이 대체로 40~50% 정도로 낮게 나타났는데, 100 µg/assay에서 큰 느타리로 발효시킨 복령이 8.18%로서 높았지만 원료 13.79%에 비해서는 낮은 소거능을 나타내었다. 후박의 소거활성은 원료 추출물의 경우는 그 농도(20, 50, 100 µg/assay)에 따라 44.16, 80.43, 94.81%로 아주 높게 나타났지만, 버섯균사체의 발효 추출물은 각 농도별로 상당히 낮은 9.87~12.19%, 16.83~21.59%, 35.43~41.29%를 나타내었다. 이는 발효과정을 통하여 증진되는 효과보다는 제조과정 중에 침지 및 증자공정에서 복령 및 후박에 포함되어 있는 각종 항산화성 물질이 일부 누출되거나 살균공정을 통하여 파괴 혹은 산화되므로 인하여 그 ABTS 라디칼 소거능이 감소되는 경향을 나타낸 것으로 판단된다.

DPPH 라디칼 소거활성

전자공여능 측정은 DPPH(1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) 라디칼 소거법으로 측정하며, DPPH는 비교적 안정한 라디칼을 갖는 물질로 항산화 활성이 있는 물질과 반응하면 라디칼이 소거되어 탈색되는 점을 이용하여 항산화 활성을 검정하는데 널리 사용되고 있다. 복령과 후박을 버섯균사체로 발효시킨 각각의 발효한약 추출액의 DPPH 라디칼 소거활성은 Fig. 2와 같다. 복령의 DPPH 소거능은 ABTS 라디칼 소거능에 비하여 각 시료 추출물

의 농도 증가에 따른 비례적으로 증가하였으며, 그 소거활성이 ABTS 라디칼 소거능보다 비교적 높게 나타났다. 각 농도별 후박은 원료 추출물 21.16~24.68%에서 복령의 원료 추출물 45.46~49.63%에 비하여 약 2배 이상 높은 수치를 나타내었으며, 발효후박에서 동충하초와 큰 느타리버섯 발효물은 팽이버섯 균사체 발효에 비하여 약 6% 이상의 증가된 소거활성을 나타내었다.

대조구로 사용한 합성항산화제 BHA와 비타민 C는 20, 50, 100 µg/assay에서 각각 35.5~57.4%, 36.84~39.64% 범위의 소거활성으로 서로 비슷하였으며(data 미제시), 이에 비하여 버섯균사체 팽이, 큰 느타리 및 동충하초로 배양시킨 발효복령과 발효후박 시료는 시험 농도별의 활성에서 각각 18.23~20.04%, 20.36~28.96% 범위로서 시료 처리에 따른 소거활성에 차이가 ABTS보다는 비교적 작게 나타났다. 특히 원료후박의 추출물의 소거능은 3가지 발효후박의 추출물에 비하여 ABTS와 마찬가지로 차이가 많이 나타났다. 이상에서 복령과 후박의 버섯균사체 종류별과 발효 추출액 농도별에 따른 발효복령과 발효후박의 DPPH 소거능은 큰 차이가 나타나지 않았다.

Kang 등(38)은 시료 중의 환원력이 높은 phenolic acid, flavonoid 및 기타 phenol성 화합물들에 의하여 전자공여능이 높게 나타난다고 보고하였으며, DPPH radical 소거능이 높으면 자유라디칼을 환원시키거나 상쇄시키는 능력이 높아 항산화활성 및 활성산소와 같은 자유라디칼의 소거작용 증진으로 인체내 노화를 억제하는 효과가 있을 것으로 알려져 있다(39,40). 전자공여능이 클수록 강한 항산화력을 나타내므로, 항산화 효과는 전자공여능과 밀접한 관계가 있다고 보고하였다. Free radical은 epinephrine의 산화, 미토콘드리아, 식세포 또는 세포질 중 xanthin oxidase나 glutathione reductase 등의 flavo enzyme에 의한 정상적인 대사 과정과 같은 여러 가지 생물학적 반응에 의해 형성되며 전자공여작용은 이러한 산화성 생물활성 자유 라디칼에 전자를 공여하여 산화를 억제하는 척도가 된다고 한다(41). 또한 전자공여능은 지질과산화의 연쇄반응에 관여하는 산화성 활성을 갖는 자유 라디칼에 전자를 공여하여 산화를 억제시키며, 식물 중에 존재하는 대부분의 생리활성 물질은 일반적으로 산화성 자유 라디칼과 반응하기 때문에 항산화제로서 작용한다고 한다(42).

Reducing power 효과

복령과 후박을 3가지 버섯균사체로 발효시킨 각각의 발효한약 추출액을 20, 50, 100 µg/assay로 첨가하여 금속이온을 환원시키는 환원력(reducing power)을 흡광도 수치로 나타낸 결과는 Fig. 3과 같다. 그림에 나타낸 바와 같이 복령과 후박 추출물의 흡광도 수치는 그 자체가 시료의 환원력을 나타내며, 높은 흡광도 수치는 높은 환원력을 나타

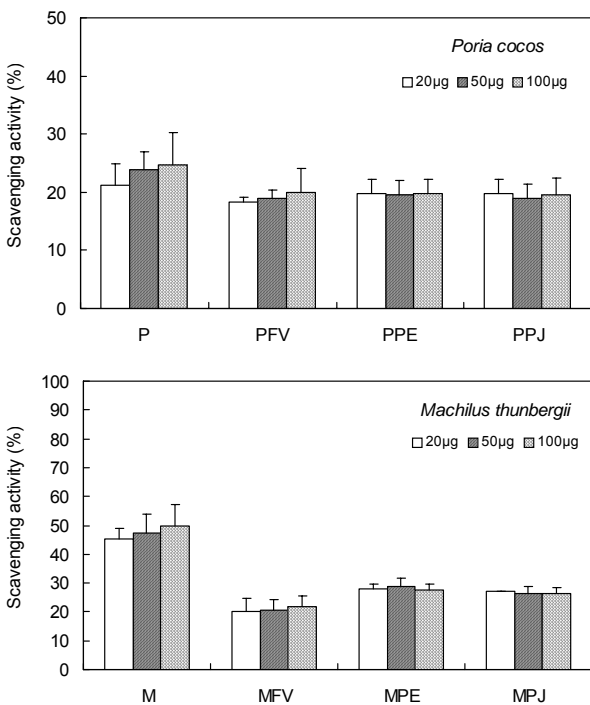


Fig. 2. DPPH radical scavenging activity of methanol extracts from *Poria cocos* and *Machilus thunbergii* of oriental herb medicine.

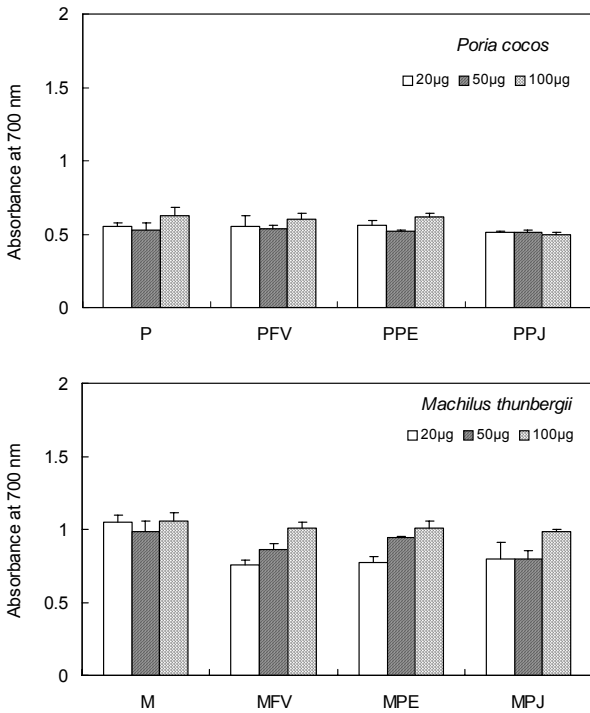


Fig. 3. Reducing power of methanol extracts from *Poria cocos* and *Machilus thunbergii* of oriental herb medicine.

내는데, 추출물의 농도 증가에 따른 환원력도 대체로 완만한 비율로 높아지는 경향을 나타내었다. 그리고 복령 시료 추출물의 농도별에 따른 환원력은 원료 복령(0.55~0.63)에 비하여 동충하초, 팽이버섯 및 큰 느타리 균사체로 발효시킨 시료(0.50~0.62)의 흡광도로 서로 비슷한 증가를 나타내었고, 후박 시료 추출물의 농도별에 따른 환원력은 원료 후박 추출물(0.98~1.06)이 3가지의 버섯 균사체 발효후박 추출물(0.76~1.01)에 비하여 약간 높았다.

한편 환원력 실험은 potassium ferricyanide reduction법을 사용한 추출물의 환원력을 평가하는 것으로서 reductone의 항산화 반응은 hydrogen atom을 제공함으로써 자유 라디칼 연쇄를 변환시키며, reductone은 또한 과산화의 일정한 전구물질과 반응하여 과산화의 형성을 방해한다. flavonol 물질은 이 안정된 생성물로 그들을 전환시키기 위해 free radical과 반응하거나 전자를 제공함으로써 reductone과 같은 유사한 형태에서 반응하고 자유 라디칼 연쇄 반응을 종료한다고 보고되어 있다(43).

**항암활성**

복령과 후박을 버섯균사체로 발효시킨 각각의 발효한약 추출액을 50, 100, 200 µg/assay 농도로 인체의 자궁경부암 HeLa cell, 간암 HepG2 cell, 대장암 HT-29 cell과 유방암 MCF-7 cell에 첨가하여 세포증식억제를 측정된 결과는 Fig. 4~7과 같다. 그림에 나타난 바와 같이 시험한 모든

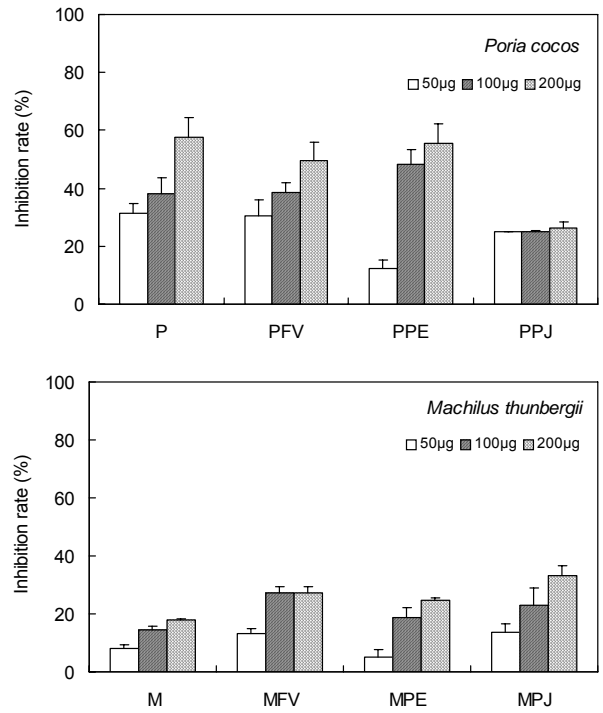


Fig. 4. Inhibitory effects of methanol extracts of *Poria cocos* and *Machilus thunbergii* of oriental herb medicine on HeLa cell growth.

암 세포주는 첨가되는 추출물 농도가 50~200 µg/assay로 높아짐에 따라서, 항암활성은 농도 의존적으로 비례적 증가를 나타내었다.

자궁경부암 HeLa 세포(Fig. 4)는 각 추출물 농도별 원료복령은 31.46~57.79%로 3가지 버섯 균사체 발효 복령 추출물보다 다소 높은 저해활성(팽이버섯 30.49~49.76%, 큰 느타리 12.10~55.42%, 동충하초 25.07~26.38%)을 나타내었다. 그리고 발효후박의 추출물은 발효복령에 비하여 상대적으로 저해활성이 약간 낮았는데, 동충하초 13.79~33.06%, 팽이버섯 13.17~27.44%, 큰 느타리 4.99~24.49% 순이었고, 원료후박의 추출물 8.03~18.01%에 비하여 높은 저해활성을 나타내었으며, 그 중에서 동충하초의 발효물이 가장 높은 저해활성을 나타내었다.

간암 HepG2 세포(Fig. 5)는 발효복령의 추출물은 그 저해활성이 팽이버섯 25.50~53.55%, 큰 느타리버섯 27.01~51.99%, 동충하초 26.65~39.81%로서 원료복령 11.70~29.89%에 비하여 높은 저해활성을 나타내었다. 그리고 200 µg/assay 농도에서는 팽이버섯 균사체 발효복령의 추출물이 가장 높았는데, 원료복령과 동충하초 및 큰 느타리에 비하여 각각 1.79, 1.35, 1.03배 높은 저해활성을 나타내었다. 그리고 큰 느타리를 제외한 발효후박의 추출물은 각 농도별로 팽이버섯과 동충하초 균사체를 배양한 발효복령에서 각각 11.39~53.92%, 10.71~50.21%였으며, 원료복령

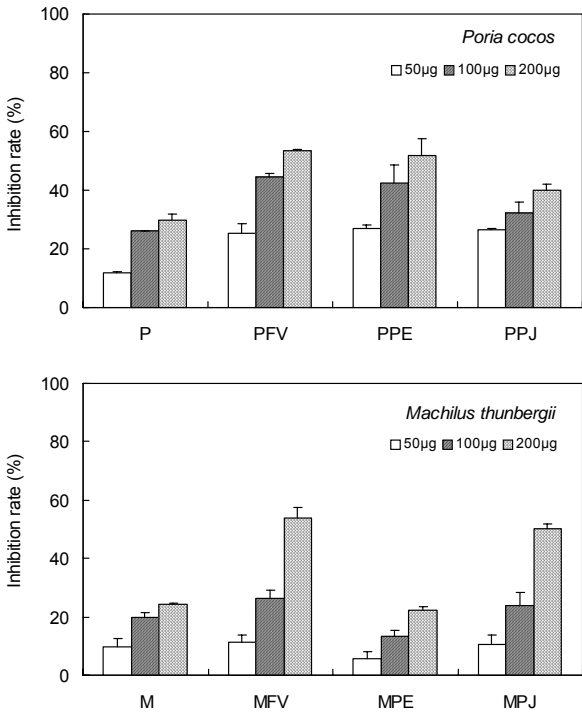


Fig. 5. Inhibitory effects of methanol extracts of *Poria cocos* and *Machilus thunbergii* of oriental herb medicine on HepG2 cell growth.

9.72~24.45%에 비하여 200 µg/assay 농도에서는 각각 2.21배, 2.05배 높은 저해활성을 나타내었다.

대장암 HT-29 세포(Fig. 6)는 복령의 원료 추출물에서 각 농도별로 63.22~78.86%를 나타내어 발효복령의 추출물에 비하여 높았으며, 그 발효한약은 200 µg/assay 농도에서 큰 느타리버섯 균사체로 복령발효시킨 경우(58.66%)와 팽이버섯 균사체 발효시킨 것(57.97%)이 높은 저해활성을 나타내는 경향이였다. 후박도 복령과 유사하게 원료 추출물(44.90~62.13%)이 다른 3가지 버섯균사체의 발효후박 추출물(21.09~46.63%)에 비하여 약 10% 정도 높게 나타났다.

유방암 MCF-7 세포(Fig. 7)는 발효복령의 추출물에서 그 저해활성이 팽이버섯 58.35~72.87%, 큰 느타리버섯 61.04~67.66%, 동충하초 39.74~66.40% 범위로서, 원료복령 50.32~69.24%에 비하여 팽이버섯은 높은 저해활성을 나타내었지만, 그 외 버섯균사체 발효복령은 약간 낮은 경향을 나타내었다. 또한 발효후박의 추출물도 팽이버섯 균사체 배양 추출물을 제외하고는 큰 느타리 32.17~63.72%와 동충하초 균사체 배양물 40.37~62.93%로서 원료 후박 추출물 39.91~52.84%에 비하여 200 µg/assay 농도에서 각각 1.21배, 1.19배 높은 저해활성의 증진효과를 나타내었다.

이상에서 복령과 후박 추출물에 대한 항암활성 효과는 대체로 대장암> 유방암> 자궁경부암> 간암 세포주 순으로 나타났으며, 복령이 후박 한약재보다 대체로 시험대상

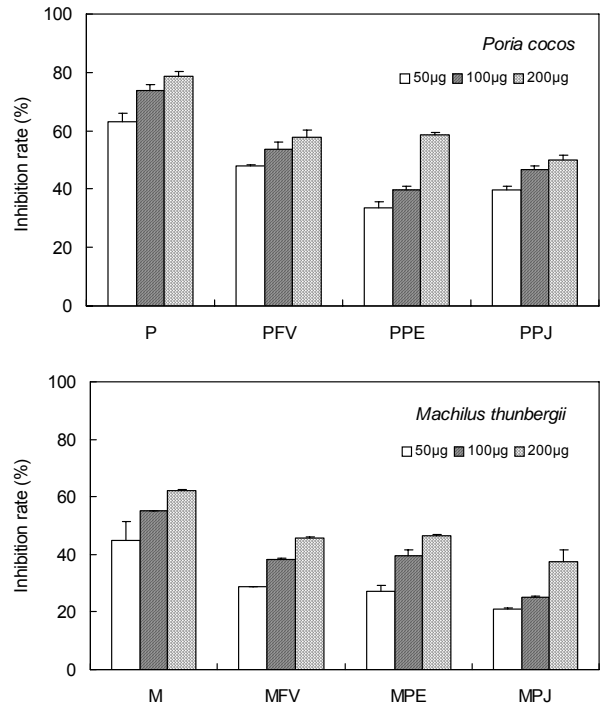


Fig. 6. Inhibitory effects of methanol extracts of *Poria cocos* and *Machilus thunbergii* oriental herb medicine on HT-29 cell growth.

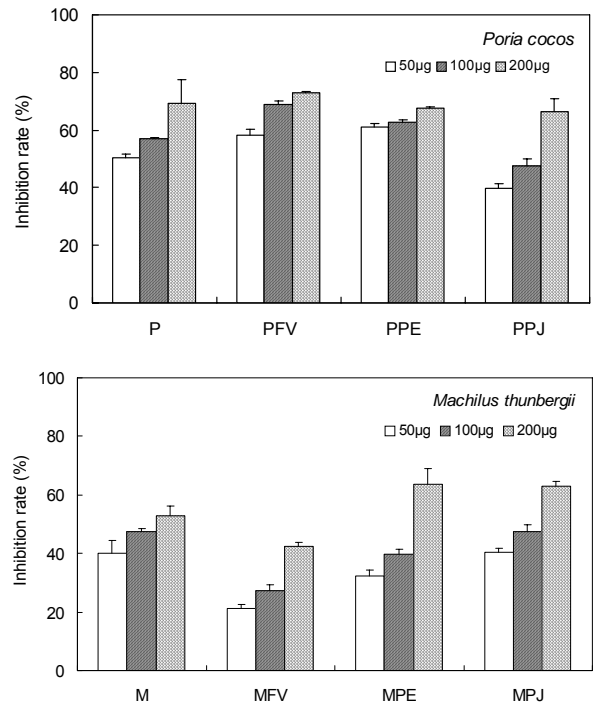


Fig. 7. Inhibitory effects of methanol extracts of *Poria cocos* and *Machilus thunbergii* of oriental herb medicine on MCF-7 cell growth.

인체 암세포주에 대한 항암활성이 다소 높게 나타났다. 또한 버섯균사체의 발효과정을 통하여 인체암 세포주의 저해

활성 증진은 간암세포에서 가장 뚜렷하게 나타났다.

## 요 약

한국산 복령과 후박의 이용성 확대를 위하여 각각 추출물의 ABTS와 DPPH라디칼의 소거능, 환원력의 항산화능 효과 및 인체암 세포주의 항암활성에 대하여 조사하였다. 복령과 후박을 버섯균사체로 발효시킨 한약 추출액의 항산화활성(ABTS와 DPPH 라디칼소거, 환원력)은 시료 추출물의 농도가 증가할수록 비례적으로 증가하였으며, DPPH 라디칼 소거활성은 ABTS보다 비교적 높게 나타났고, 원료후박 추출물(21.16~24.68%)은 원료복령 추출물(45.46~49.63%)에 비하여 약 2배 이상 높았다. 복령 시료 추출물의 농도별에 따른 환원력은 원료 복령(0.55~0.63)에 비하여 동충하초, 팽이버섯 및 큰 느타리 균사체로 발효시킨 시료(0.50~0.62)의 흡광도로 서로 비슷한 증가를 나타내었고, 후박 시료 추출물의 농도별에 따른 환원력은 원료 후박 추출물(0.98~1.06)이 3가지의 버섯 균사체 발효후박 추출물(0.76~1.01)에 비하여 약간 높았다.

자궁경부암세포(HeLa)와 대장암세포(HT-29)는 원료 복령과 후박의 추출물이 각각의 발효한약에 비하여 저해활성이 높았다. 간암세포(HepG2)는 200 µg/assay 농도에서 팽이버섯 균사체 발효복령의 추출물이 가장 높았는데, 원료복령과 동충하초 및 큰 느타리에 비하여 각각 1.79, 1.35, 1.03배 높은 저해활성을 나타내었다. 그리고 팽이버섯과 동충하초 균사체를 배양한 발효후박에서 각각 11.39~53.92%, 10.71~50.21% 범위였으며, 원료후박에 비하여 200 µg/assay 농도에서 각각 2.21배, 2.05배 높은 저해활성을 나타내었다. 유방암세포(MCF-7)는 발효복령 추출물의 저해활성이 팽이버섯 균사체(58.35~72.87%)에서 가장 높았으며, 큰 느타리버섯(61.04~67.66%)과 동충하초(39.74~66.40%) 및 원료복령(50.32~69.24%)은 서로 비슷하였다.

## 감사의 글

본 연구는 2006년 산청군 약초 신활력 사업비 지원에 의해 수행된 연구결과의 일부로 이에 감사드립니다.

## 참고문헌

- Kang AS, Kang TS, Shon HR, Seo SM, Kang MS, Kim GP, Lee JS. 1999. Studies on improvement of artificial cultivation and antioxidative activity of *Poria cocos*. *Kor J Mycol* 27: 378-382.
- Cho DB, Ma SJ, Choi CS, Lee SJ, Choi OB. 1997. Fatty acid composition and antimicrobial activity of *Poria cocos*. *J Kwangju Health College* 22: 255-263.
- Kim DG, Son DH, Choi UK, Cho YS, Kim SM. 2002. The antioxidant ability and nitrite scavenging ability of *Poria cocos*. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 31: 1097-1101.
- Kwon MS, Chung SK, Choi JU, Song KS, Kang WW. 1998. Quality and functional characteristics of cultivated Hoelen (*Poria cocos* Wolf) under the picking date. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 27: 1034-1040.
- Kwon MS, Chung SK, Choi JU, Song KS, Lee IS. 1999. Antimicrobial and antitumor activity of triterpenoids fraction from *Poria cocos* Wolf. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 28: 1029-1033.
- Kim SH, Park JC. 1993. Analysis of flavonoid components from *Machilus thunbergii* leaves. *J Plant Biol* 36: 297-300.
- Bae K. 1999. *The Medicinal Plants of Korea*. KyoHak Publishing Co., Seoul, Korea. p 114.
- Park SH, Yun UJ, Shin JH, Kwon BM, Bae KH. 2006. The comparison of morphological and constituents of the leaves of *Magnolia officinalis*, *M. biloba* and *M. obovata*. *Kor J Pharmacogn* 37: 278-286.
- Si J, Pan X, Tong Z, Zeng Y. 1998. Study on the relationship between provenance, leaf type and quality in *Magnolia officinalis*. *J Chinese Medicinal Materials* 21: 541-543.
- Jee JH, Lee HD, Chung SK, Choi JU. 1999. Changes in color value and chemical components of Hoelen by various drying methods. *Korean J Food Sci Technol* 31: 575-580.
- Choi OB, Cho DB, Kim DP. 1996. The components of cultivated *Poria cocos*. *Korean J Food Nutr* 9: 438-440.
- Hoang L, Kwon SH, Kim KA, Hur JM, Kang YH, Song KS. 2005. Chemical standardization of *Poria cocos*. *Kor J Pharmacogn* 36: 177-185.
- Lim UK, Ham JC. 1996. Isolation of the antitumor components from culture mycelia of *Poria cocos* (Schw.) Wolf. *Agri Res Seoul Nat Univ* 21: 77-85.
- Lee BI, Hong IP, Kim DW, Lee MW. 1990. Effects of *Poria cocos* and *Panax ginseng* extracts on hemogram of sarcoma-180 mouse. *Kor J Mycol* 18: 218-224.
- Lee KS, Lee MW, Lee JY. 1982. Studies on the antibacterial activity of *Poria cocos*. *Kor J Mycol* 10: 27-31.
- Shon YJ, Lee YJ. 2003. The effects of *Sinomenii caulis* and Hoelen on the levels of blood glucose in rats. *Korean J Herbology* 8: 65-71.
- Park JH, Kim BK, Park MK, Cho SY, Lee JS, Han HK, Jeong CS, Jung KH. 1997. Anti-diabetic activity of herbal drugs. *Kor J Pharmacogn* 28: 72-74.
- Yun HJ, Cha HM, Kim SW, Shin WC, Kim HG, Choe SY. 2006. Effects of the extract of Hoelen on serum lipid profiles in mice. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 35: 1005-1009.
- Lee SD, Cho SM, Park JS, Han SB, Jeon YJ, Kim HM, Kim GP. 1999. Chemical composition and biological activities of immunostimulants purified from alkali extract of *Poria cocos* Sclerotium. *Kor J Mycol* 27: 293-298.

20. Lee KY, Kim HY, Jeon YJ, Chang IY. 2004. Nuclear translocation of NF- $\kappa$ B/Rel component by PCSC22 isolated from *Poria cocos* Sclerotium. *Korean J Anat* 37: 301-308.
21. Kim JS, Kim HJ, Ko JH. 2002. Studies on the processing of herbal medicines (III). HPLC analysis of magnolol and inhibitory effects on the formation of advanced glycation endproducts (AGEs) in vitro of unprocessed-and processed *Magnolia* Bark. *Kor J Pharmacogn* 33: 308-311.
22. Bae KH, Kim YH, Won DH, Lee JS, Kang JS. 1997. Quality evaluation on *Magnoliae* Cortex. *J Pharmaceutical Sciences* 13: 78-84.
23. Kim GJ, Song HS. 2007. Obovatol extracted from *Magnolia obovata* inhibits inflammation mediator generation and prostate carcinoma PC-3, LNCap cell growth through induction of apoptotic cell death via inactivation of NF- $\kappa$ B. *Korean Acupuncture Moxibustion* 24: 15-29.
24. Lee YS, Park HJ, You JS, Park HH, Kwon IB, Lee HY. 1998. Isolation of an anticariogenic compound from *Magnoliae* Bark. *Korean J Food Sci Technol* 30: 230-236.
25. Chung CP, Ku Y, Bae KH. 1995. Biological effect of *Magnolia* and *Ginkgo biloba* extract to the antimicrobial, antiinflammatory and cellular activity. *J Korean Academy Periodontology* 25: 478-486.
26. Kim TI, Choi EJ, Chung CP, Han SB, Ku Y. 2002. Antimicrobial effect of *Zea mays* L. and *Magnoliae* Cortex extract mixtures on periodontal pathogen and effect on human gingival fibroblast cellular activity. *J Korean Acad Periodont* 32: 249-255.
27. Son HJ, Lee HJ, Choi Y, Ryu JH. 2000. Inhibitors of nitric oxide synthesis and TNF- $\alpha$  expression from *Magnolia obovata* in activated macrophages. *Planta Med* 66: 467-471.
28. Konoshima T, Kozuka M, Tokuda H, Nishino H, Iwashima A, Haruna M, Ito K, Tanabe M. 1991. Studies on inhibitors of skin tumor promotion. IX. Neolignans from *Magnolia officinalis*. *J Nat Prod* 54: 816-822.
29. Lee BJ, Chung MH. 1994. Studies on the efficacy of *Machili* Cortex in the digestive system. *Kor J Pharmacogn* 25: 278-292.
30. Soung RO, Lee SR, Lee SI. 1986. Comparison of pharmacological effects of *Magnoliae officinalis*, *Magnolia* and *Machilus* Barks. *Kor J Pharmacogn* 17: 199-205.
31. Oh RS. 2001. Inhibitory effect of mast cell-mediated im-mEDIATE-type allergic reaction by *Magnolia officinalis*. *PhD Dissertation*. Wonkwang University, Iksan, Korea.
32. Pyo MK. 2002. Anti-platelet and anti-thrombotic effects of components isolated from *Magnolia obovata* and tetrahydroisoquinoline alkaloids. *PhD Dissertation*. Seoul National University, Seoul, Korea.
33. Cho BH, Kim IH, Lee SB, Cho KC, Lee JH. 1979. Pharmacological action of *Machilus thunbergii* Siebold Zuccarini. *Korean J Pharmacogn* 15: 45-56.
34. Re R, Pellegrini N, Proteggente A, Pannala A, Yang M, Rice-Evans C. 1999. Antioxidant activity applying improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Bio Med* 26: 1231-1237.
35. Blois MS. 1958. Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature* 26: 1199-1200.
36. Oyaizu M. 1986. Studies on products of browning reactions: antioxidative activities of products of browning reaction prepared from glucosamine. *Japanese J Nutr* 44: 307-315.
37. Hansen MB, Neilsen SE, Berg K. 1989. Reexamination and further development of a precise and rapid dye method for measuring cell growth/cell kill. *J Immunol Methods* 119: 203-210.
38. Kang YH, Park YK, Lee GD. 1996. The nitrite scavenging and electron donating ability of phenolic compounds. *Korean J Food Sci Technol* 28: 232-239.
39. Aoshima H, Tsunoue H, Koda H, Kiso Y. 2004. Aging of whisky increases 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl radical scavenging activity. *J Agric Food Chem* 52: 5240-5244.
40. Kim HK, Kim YE, Do JR, Lee YC, Lee BY. 1995. Antioxidative activity and physiological activity of some Korean medicinal plants. *Korean J Food Sci Technol* 27: 80-85.
41. Jim Q, Park JR, Kim JB, Cha MH. 1999. Physiological activity of *Zizyphus jujaba* leaf extracts. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 28: 593-599.
42. Park YK, Kim HM, Park MW, Kim SR, Choi IW. 1999. Physicochemical and functional properties of turnip. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 28: 333-341.
43. Wettasinghe M, Shahdi F. 1999. Antioxidant and free radical-scavenging properties of ethanolic extracts of defatted borage (*Borago officinalis* L.) seeds. *Food Chemistry* 67: 399-414.