

In vitro system에서 오미자 메탄올 추출물의 항산화 및 신경세포 보호효과

김지혜 · 정창호 · 최귀남 · 광지현 · 최성길 · 허호진*
경상대학교 대학원 응용생명과학부 및 농업생명과학연구원

Antioxidant and Neuronal Cell Protective Effects of Methanol Extract from *Schizandra chinensis* using an in vitro System

Ji Hye Kim, Chang-Ho Jeong, Gwi Nam Choi, Ji Hyun Kwak, Sung-Gil Choi, and Ho Jin Heo*

Division of Agriculture and Life Sciences and Institute of Agriculture and Life Science, Gyeongsang National University

Abstract In this study, the antioxidant and neuronal cell protective effects of methanol extract from *Schizandra chinensis* were evaluated. The proximate composition and total phenolics content of the extract were as follows: 64.88% nitrogen free extract, 10.56% crude fiber, 10.22% moisture, 8.33% crude protein, 5.05% ash, 0.96% crude fat, and 83.04 mg/g of total phenolics. In assays the methanol extract of *Schizandra chinensis* presented ferric reducing/antioxidant power (FRAP) and 2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) (ABTS) radical scavenging activity in a dose-dependent manner. In a cell viability assay using 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyl-tetrazoliumbromide (MTT), the methanol extract showed protective effect against H₂O₂-induced neurotoxicity, and lactate dehydrogenase (LDH) release into medium was also inhibited by various concentrations of extracts (68-80%). Cell viability after treatment of the methanol extract was higher than that shown for vitamin C (100 μM) using a neutral red uptake (NRU) assay. Therefore, these data suggest that the methanol extract of *Schizandra chinensis* may be useful for neurodegenerative diseases including Alzheimer's disease.

Key words: antioxidant activity, neuronal cell protective effect, *Schizandra chinensis*

서 론

현대 사회의 눈부신 발달과 더불어 생체조직의 노화를 비롯한 퇴행성 신경질환이 사회적인 문제로까지 크게 대두되고 있다. 특히 이러한 질환의 주된 원인이 활성산소(free radical, oxygen radical)에 기인한다는 것이 인정됨(1,2)에 따라 활성산소를 조절할 수 있는 천연 항산화제에 대한 연구와 개발이 활발히 진행되고 있다(3,4). Superoxide anion radical, hydroxy radical, singlet oxygen 및 H₂O₂ 등과 같은 활성산소들은 산화력이 매우 강하기 때문에 인체 내에서 제거되지 못하면 산화적 스트레스를 유발하게 되며(5), 이러한 산화적 스트레스는 지질과산화물을 유도하고 단백질, 세포막 및 DNA 등을 손상시켜 암을 비롯한 다양한 성인병을 유발하는 것으로 알려져 있다(6). 퇴행성 신경질환의 대부분을 차지하는 노인성 치매(Alzheimer's disease; AD)는 기억과 인지 에 손실을 주는 특징을 가지고 있으며, AD환자의 뇌에서 free radical과 같은 산화적 스트레스로 인한 뇌신경세포들의 기능장애가 AD와 같은 퇴행성 신경질환의 원인으로 알려져 있다(7). 퇴행성 신경 질환의 대표적인 치료방법으로는 항산화제 처리, 세포 이식 및 외과적 수술 등 다양한 치료법이 제시되고 있지만, 대부

분의 치료법이 여러 가지 위험요소, 부작용 및 손상 기전의 복잡성 등으로 인하여 신경세포의 손상 보호에 적합한 치료제는 아직까지 개발되지 못하고 있는 실정이다. 따라서 안전성이 입증된 다양한 식품과 천연자원에서 보다 안전하고 신경세포 보호 효과가 뛰어난 치료 및 예방 효과를 나타낼 수 있는 화합물들의 개발이 절실히 요구되고 있다(8).

오미자(*Schizandra chinensis*)는 목련과(Magnoliaceae)에 속하는 식물로 6-7월에 꽃이 피고, 열매는 9-10월에 성숙하여 심홍색을 띠며(9), 한국, 일본, 만주, 중국 등 동북아시아가 주산지인 것으로 알려져 있는 낙엽덩굴성나무이다(10). 예로부터 오미자 열매는 자양, 강장, 지사, 진해제, 구갈증과 주독을 푸는 해독제로도 각광받았으며, 동의보감에서는 폐와 신을 보호하고 허로(虛勞), 구갈(嘔渴), 번열(煩熱), 해소(解消) 치료에 사용하였다(11). 주요 성분으로는 diphenylcyclohexene계의 lignan으로서 그 함유량이 18.1-19.2% 정도에 달하고, schizandrin, deoxyschizandrin, γ-schizandrin, schizandrol, pseudo-γ-schizandrin, schizandrin C, schizandrol B(gomisin A), gomisin B, gomisin C, gomisin D 뿐만 아니라(12), citric acid, citral, β-sitosterol, 비타민 C, E 및 정유성분 등도 함유되어 있다(13). 지금까지 오미자에 대한 연구로는 중추신경계의 반사기능인 항진작용을 비롯해서 혈당 강하작용, 손상된 간기능의 복구효과, 항균, 항궤양, 항암, 항종양, nitric oxide 생성 억제 및 lignan화합물 분리 등의 많은 연구들이 있으나(11) 오미자 추출물의 산화적 스트레스에 대한 신경세포 보호효과와 같은 퇴행성 뇌신경질환에 관한 연구는 미비한 실정이다. 따라서 본 연구에서는 산화적 스트레스로부터 유도되는 신경세포의 사멸을 보호할 수 있는 생리활성물질을 탐색하기 위한 목적으로 오미자 메탄올 추출물을 이용하여 H₂O₂와 같은 산화적 스트레스 의해 손상된 PC12 신경

*Corresponding author: Ho Jin Heo, Division of Agriculture and Life Sciences, Institute of Agriculture and Life Science, Gyeongsang National University, Jinju, Gyeongnam 660-701, Korea
TEL: 82-55-751-5476
FAX: 82-55-753-4630
E-mail: hjher@gnu.ac.kr
Received July 1, 2009; revised October 12, 2009;
accepted October 12, 2009

세포에 대한 보호효과를 조사하고자 하였다.

재료 및 방법

실험재료 및 추출액의 제조

본 실험에 사용된 오미자는 진주 소재 전문 약재판매처에서 구입하여 냉장보관(4°C)하면서 실험에 사용하였다. 신경세포 보호 효과 실험에 사용된 시약으로 hydrogen peroxide(H₂O₂) solution, 3-[4,5-dimethylthiazol-2-yl]-2,5-diphenyl tetrazolium bromide (MTT) assay kit, lactate dehydrogenase(LDH) release assay kit 및 neutral red assay kit는 Sigma Chemical Co.(St. Louis, MO, USA)제품을 구입하였다. 세포주 배양을 위해 필요한 RPMI 1640 medium과 fetal bovine serum은 Gibco BRL Co.(Grand Island, NY, USA)에서 구입하였으며, penicillin, streptomycin, sodium bicarbonate와 HEPES 및 나머지 시약은 Sigma Co.(St. Louis, MO, USA)제품을 구입하여 사용하였고, 그 외 사용된 용매 및 시약은 모두 일급 이상의 등급을 사용하였다. 오미자 메탄올 추출물은 오미자 10 g에 80% 메탄올 100 mL를 첨가하여 70°C에서 2시간 동안 추출 후 No. 2 여과지(Whatman Inc., Kent, UK)로 여과하였다. 그 후 진공농축기(N-N series, EYELA Co., Tokyo, Japan)로 농축하고 동결건조(ISHIN Lab Co., Ltd., Yangju, Korea)하여 사용하였고, 동결 건조된 추출물은 -20°C 냉동고에서 보관하면서 본 실험에 사용하였다.

세포 및 배양방법

본 실험에서 사용한 PC12 세포(KCLB 21721, Korean Cell Line Bank, Seoul, Korea)는 신경세포의 특성을 나타내는 세포로 쥐의 pheochromocytoma로부터 유도된 것을 사용하였다. PC12세포를 25 mM HEPES, 25 mM sodium bicarbonate, 10% fetal bovine serum(Gibco), 50 units/mL penicillin 및 100 µg/mL streptomycin이 포함된 RPMI 1640배지에 접종하여 37°C, 5% CO₂ 조건의 배양기에서 배양하였다.

일반성분 및 총 페놀화합물 분석

오미자의 일반성분은 AOAC 방법으로 측정하였고(14), 추출물에 함유되어 있는 총 페놀화합물 함량을 측정하기 위하여 Folin-Ciocalteu's 방법을 이용하였다(15).

항산화력 측정

FRAP 실험에 사용된 시약은 300 mM sodium acetate buffer (pH 3.6)와 2,4,6-tri(2-pyridyl)-1,3,5-triazine(TPTZ) reagent, 그리고 20 mM FeCl₃이며, TPTZ reagent는 10 mM의 TPTZ를 40 mM HCl에 용해시켰다. 농도별 오미자 메탄올 추출물 50 µL와 pre-warmed working FRAP reagent 1.5 mL를 혼합하여 15분간 37°C에서 incubation시키고 593 nm에서 흡광도를 측정하였다(16).

ABTS radical 소거활성 측정은 시료용액 20 µL와 ABTS solution 980 µL를 혼합하여 30초간 진탕한 후 2.5분간 반응시키고, 734 nm에서 흡광도를 측정하여 radical 소거활성을 계산하였다(17).

세포 생존율 측정

H₂O₂에 의해 유도된 PC12 세포에 대한 보호효과는 MTT reduction assay로 측정하였다(18). 오미자 메탄올 추출물을 PC12 cell에 처리하여 48시간동안 pre-incubation한 후, 200 µM H₂O₂를 각각 3시간동안 처리하였다. 이 상태의 PC12 cell에 MTT stock solution을 처리하여 37°C에서 3시간 incubation한 후, MTT solubilization solution 150 µL를 첨가하여 반응을 종결시켰다. 마지막으로 흡광도는 microplate reader(680, Bio-rad, Tokyo, Japan)에서 570 nm와 690 nm에서 측정하였다. Positive control은 vitamin C(100 µM)를 사용하였고, cell viability는 control group에 대한 % concentration으로 나타났다.

세포막 손상 억제효과

오미자 메탄올 추출물을 48시간동안 pre-incubation한 후, 200 µM H₂O₂를 처리하여 3시간 배양한 후, 5분간 원심분리(250×g)하여 100 µL의 상등액을 새로운 well로 옮긴 후 LDH assay kit (Sigma Chemical Co.)로 세포막 손상효과를 측정하였다(18). Neutral red uptake assay는 neutral red assay kit(Sigma Chemical Co.)를 사용하여 측정하였다.

통계처리

모든 실험은 3회 반복 실시하여 mean±SD로 나타내었으며, 각 평균값에 대한 검증은 SAS[®] version 6.12(SAS Institute, Cary, NC, USA)를 이용하여 평균과 표준오차, Newman-Keul's multiple range tests로 평균값들에 대해 유의성을 검정하였다.

결과 및 고찰

오미자의 일반성분 및 총 페놀화합물 함량

오미자의 일반성분을 분석한 결과는 Table 1에서 보는 바와 같이 가용성 무질소물 64.88%, 조섬유 10.56%, 수분 10.22%, 조단백질 8.33%, 회분 5.05% 및 조지방 0.96%로 나타났다. Kim 등(19)은 오미자의 일반성분을 분석한 결과 수분이 57.5%로 가장 많았고, 조지방(18.8%), 탄수화물(12.6%) 및 조단백질(11.1%) 순으로 높게 나타났으며, 회분과 조섬유는 5% 미만의 함량으로 보고하여 본 실험의 결과는 다소 차이를 보였다. 이러한 차이는 수분함량, 채취시기 및 장소와 같은 환경적인 요인으로부터 기인한 것으로 생각된다. 오미자 메탄올 추출물의 총 페놀화합물 함량을 측정할 결과 83.04 mg/g의 총 페놀화합물의 함량을 나타냈다. 페놀성 화합물은 천연물에 많이 함유되어 있는 성분으로 이들의 주요 생리적 역할은 자유 radical을 소거하는 것이라는 연구가 많이 보고되고 있으며, 또한 이러한 페놀성 화합물인 플라보노이드나 페놀산 및 안토시아닌 등의 총량인 총 페놀화합물은 DPPH radical 소거활성과 같은 항산화 활성에 매우 중요한 인자로 작용을 한다(20).

오미자 메탄올 추출물의 항산화력

FRAP assay는 비교적 최근에 개발된 총 항산화능 측정법으로 낮은 pH에서 환원제에 의해 ferric tripyridyltriazine(Fe³⁺-TPTZ) 복

Table 1. Proximate compositions and total phenolics of *Schizandra chinensis*

Unit: %

	Moisture	Crude protein	Crude fat	Nitrogen free extracts	Fiber	Ash	Total phenolics (mg/g)
<i>Schizandra chinensis</i>	10.22±0.08	8.33±0.33	0.96±0.07	64.88±0.21	10.56±1.39	5.05±0.08	83.04±2.73

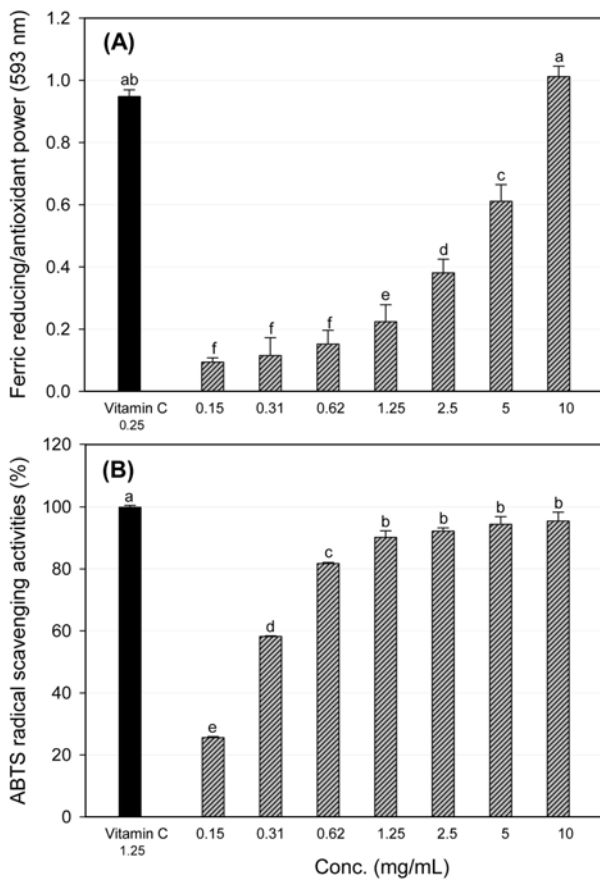


Fig. 1. The ferric reducing/antioxidant power (A) and ABTS⁺ radical scavenging activities (B) of 80% methanol extracts from *Schizandra chinensis*. Different superscripts indicate significant difference among groups at $p < 0.05$.

합체가 ferrous tripyridyltriazine(Fe^{2+} -TPTZ)으로 환원되는 원리를 이용한 것으로 대부분의 항산화제가 환원력을 가지고 있다는 점에 착안하여 고안되어진 방법이다(16). 오미자 메탄올 추출물을 이용하여 FRAP assay에 의한 항산화 활성을 측정된 결과는 Fig. 1(A)와 같다. 추출물의 농도가 증가함에 따라 활성이 증가하는 농도의존적인 경향을 보였으며, 농도 10 mg/mL에서는 vitamin C 0.25 mg/mL의 흡광도인 0.94과 유사한 1.01의 높은 흡광도를 보였다. 오미자 메탄올 추출물을 이용하여 ABTS radical 소거활성을 측정된 결과는 Fig. 1. (B)와 같다. 추출물의 농도가 증가함에 따라 ABTS radical 소거활성이 증가하는 경향을 보였으며, 농도 10 mg/mL에서는 95.42%의 활성을 보였다. 오미자 메탄올 추출물의 항산화력 측정결과 농도 의존적으로 항산화 능력이 증가하는 경향을 보여주었고, 특히 10 mg/mL의 농도에서는 vitamin C 1.25 mg/mL와 유사한 활성을 나타내었으나 vitamin C와 비교하여 항산화 활성은 8배 정도 낮았다.

신경세포 보호효과

AD와 Parkinson's disease(PD)와 같은 신경계 질환은 산화적 스트레스에 의한 신경세포의 사멸에 의해 발생되며, 천연 항산화제인 flavonoids, polyphenols 등은 산화적 스트레스로부터 신경세포 보호효과가 뛰어난 것으로 보고되고 있다(21). 오미자 메탄올 추출물의 H_2O_2 에 의해 유도된 산화적 스트레스 상태에서 PC12 신경세포에 대한 보호 효과를 측정된 결과는 Fig. 2와 같다. Cell

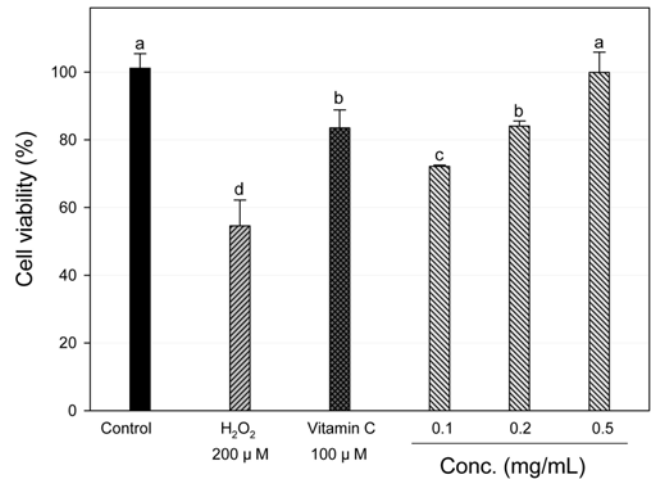


Fig. 2. Protective effect of 80% methanol extracts from *Schizandra chinensis* against H_2O_2 -induced cell death in PC12 cell system. PC12 cells were pretreated for 48 h with various concentrations. The cells were then treated with 200 μ M H_2O_2 for 3 h. Levels of cell viability were measured using the MTT assay as described under materials and methods. Vitamin C (100 μ M) was applied as positive control. Results shown are means \pm SD (n=3). Significant difference ($p < 0.05$) was observed on the H_2O_2 -induced apoptosis.

viability는 H_2O_2 를 처리한 처리구에서는 control group 100% 대비 54%의 생존율을 나타냈고 H_2O_2 와 vitamin C를 동시에 처리한 처리구에서는 83%의 생존율로 약 29%정도의 신경세포 보호효과를 보였다. 오미자 메탄올 추출물을 처리한 시료에서는 0.2 mg/mL 이상의 농도에서 vitamin C 100 μ M과 유사한 보호효과를 보였으며, 특히 0.5 mg/mL의 농도에서는 vitamin C보다 높은 신경세포 보호효과를 보였다. 항산화 활성을 측정된 결과와 비교하였을 때 농도의존적인 신경세포보호효과를 보여 유사한 경향을 보였으며, 이는 Table 1에서 나타낸 오미자의 메탄올 추출물에 함유되어 있는 phenolics 등으로부터 기인한 것으로 생각된다. 오미자의 lignan 성분은 중추신경억제, 진해 등의 약효를 나타내는 화합물로 다양한 생리활성을 가지는 것으로 보고하여(22), 본 실험의 결과로 미루어 보아 오미자에 함유되어 있는 신경세포 보호효과를 나타내는 특정 화합물을 찾기 위한 추가적인 연구가 필요하다고 생각된다.

세포막 손상 보호효과

신경세포의 경우 상대적으로 많은 lipid 성분을 함유하고 있고 이는 산화적인 스트레스에 매우 취약하기 때문에 이러한 구조적 특성을 이용하여 상기의 신경세포 보호효과와 신경세포막 손상과의 관계를 알아보려 다음의 연구를 진행하였다. H_2O_2 로 유도된 신경세포막 손상에 대한 오미자 메탄올 추출물의 보호효과를 확인하기 위하여 신경세포 중에 함유되어 있는 세포질 성분의 LDH 방출량을 측정된 결과는 Fig. 3과 같다. Control group의 방출량은 28% 정도인데 반해 H_2O_2 처리한 구에서는 67%의 방출량을 보여 H_2O_2 로 인해 LDH 방출량이 39%정도 증가하였다. Vitamin C 100 μ M 처리군은 36%의 LDH 방출량을 보였고, 오미자 메탄올 추출물 0.1, 0.2 및 0.5 mg/g의 농도로 처리했을 때는 각각 36%, 32% 및 23%의 LDH 방출량을 나타내어 농도 의존적으로 감소하는 경향을 볼 수 있었다. 오미자 메탄올 추출물은 모든 농도에서 vitamin C 100 μ M의 농도보다 낮은 방출량을 보였는데, 이는 오미자 메탄올 추출물에는 H_2O_2 에 의해 유발된 신경

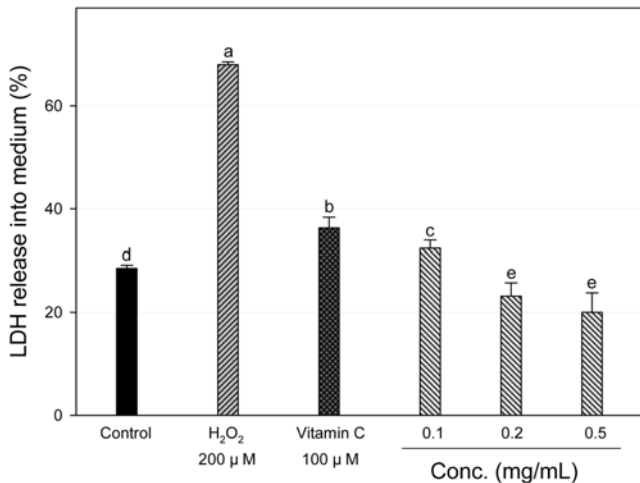


Fig. 3. Inhibition effect of LDH release of 80% methanol extracts from *Schizandra chinensis* on H₂O₂-induced membrane damage in PC12 cells. See the sample descriptions in Fig 2.

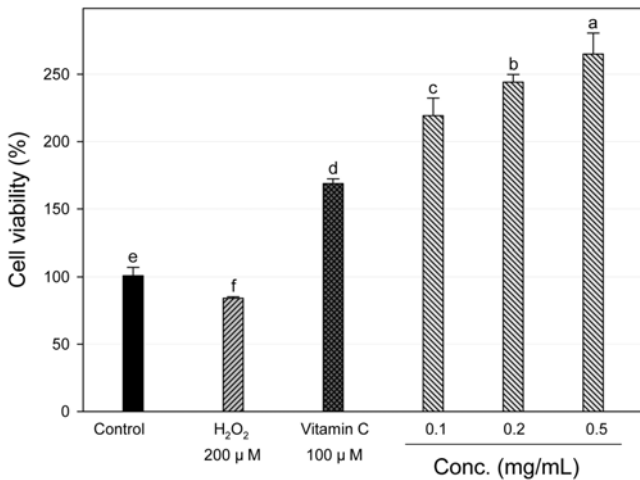


Fig. 4. Protective effect of 80% methanol extracts from *Schizandra chinensis* against H₂O₂-induced cell death by neutral red assay. See the sample descriptions in Fig 2.

세포손상 보호효과를 보이는 활성물질이 다량 함유되어 있을 것으로 생각된다. 따라서 이와 같은 활성 물질의 분리 및 동정하는 연구가 뒤따라야 할 것이다.

Neutral red uptake법은 미국이나 유럽의 국제 독성 평가기관에서 사용되고 있는 세포독성 평가방법으로 세포독성물질에 가장 sensitive하게 작용한다고 평가받고 있다. Neutral red uptake법은 독성물질을 처리한 후 neutral red를 이용하여 세포의 생존 여부를 검정하여 평가하는 하나의 cellular chemosensitivity assay법으로 독성물질이나 외부 이물질이 세포막이나 lysosomal 막의 유동성의 변이를 초래하면 그 세포는 neutral red와 결합하거나 uptake가 일어나지 않게 되는 원리를 이용하는 것이다(23). 산화적 스트레스에 의해 유도된 PC12 신경세포주에 오미자 메탄올 추출물을 처리하여 neutral red uptake 방법으로 세포독성을 평가한 결과는 Fig. 4와 같다. Control group의 생존율이 100%일 때 H₂O₂ 처리구에서는 84%의 생존율을 나타내었고 오미자 메탄올 추출물을 0.1-0.5 mg/mL 농도로 처리하였을 때 각각 219%, 244% 및 265%의 세포 생존율을 나타내어 vitamin C 100 μM의 농도와 비

교하였을 때, 오미자 메탄올 추출물이 모든 농도에서 높은 생존율을 나타내었다. 이상의 LDH release assay와 neutral red uptake assay 실험 결과를 종합하여 볼 때, 오미자 메탄올 추출물은 H₂O₂와 같은 산화적 스트레스에 의해 유도된 PC12 신경세포의 손상을 효과적으로 보호하는 것으로 나타났다. Heo 등(7)은 바나나, 오렌지 및 사과 추출물의 신경세포 보호효과에 대해 조사한 결과, ABTS⁺ radical 소거 활성이 높게 나타난 사과에서 높은 신경세포 보호효과를 보여 항산화 활성과 신경세포 손상 보호효과는 밀접한 상관관계를 가지고 있는 것으로 보고하였다(24,25). 오미자 추출물에서도 사과와 같이 페놀성 화합물들이 많이 함유되어 있고, 높은 항산화 활성을 보여, 이와 같은 신경세포 보호효과를 나타낸 것으로 생각된다. 따라서 오미자 추출물은 알츠하이머성 신경질환과 같은 퇴행성 뇌신경질환의 예방 및 치료제로서의 활용 가능성이 높다고 판단된다.

요 약

오미자 메탄올 추출물의 항산화 특성 및 H₂O₂로 유도된 신경세포 독성에 대한 보호효과를 조사하였다. ABTS radical 소거 및 FRAP방법을 이용하여 오미자 메탄올 추출물의 항산화 활성을 측정하고 추출물의 농도가 증가함에 따라 항산화 활성이 증가하는 농도의존적인 경향을 보였다. H₂O₂로 유도된 PC12 신경세포에 대한 보호효과를 측정하고 모든 시료에서 72-99% 정도의 신경세포 보호효과를 보였고, LDH release assay 결과 0.5 mg/mL 농도에서 47% 정도의 LDH 방출량 저해효과를 나타냈으며, neutral red uptake assay 결과 모든 농도에서 vitamin C에 비해 높은 생존율을 보였다. 본 연구 결과를 종합해 볼 때, 오미자 메탄올 추출물의 항산화력과 산화적 스트레스로부터 신경세포의 뛰어난 보호효과는 알츠하이머성 신경질환의 예방 및 치료제로서의 활용 가능성이 높다고 판단된다.

감사의 글

본 연구는 2007년 농림수산식품부 농림기술개발사업과 2008년 정부(교육과학기술부)의 재원으로 한국학술진흥재단의 지원을 받아 수행된 연구(KRF-2008-521-F00074) 결과로 이에 감사드립니다.

문 헌

1. Yoon MY, Kim JY, Hwang JH, Cha MR, Lee MR, Jo KJ, Park HR. Protective effect of methanolic extracts from *Dendrobium nobile* Lindl. on H₂O₂-induced neurotoxicity in PC12 cells. J. Korean Soc. Appl. Biol. Chem. 50: 63-67 (2007)
2. Sagara Y, Dargusch R, Chambers D, Davis J, Schubert D, Mater P. Cellular mechanisms of resistance to chronic oxidative stress. Free Radical Bio. Med. 24: 1375-1389 (1998)
3. Lee YS. Antioxidative and physiological activity of extracts of *Angelica dahurica* leaves. Korean J. Food Preserv. 14: 78-86 (2007)
4. Kim DJ, Seong KS, Kim DW, Ko SR, Chang CC. Antioxidative effects of red ginseng saponins on paraquat-induced oxidative stress. J. Ginseng Res. 28: 5-10 (2004)
5. Ames BN. Dietary carcinogens and anticarcinogens. Oxygen radicals and degenerative diseases. Science 221: 1256-1264 (1983)
6. Ames BN, Shigenaga MK, Hagen TM. Oxidant, antioxidants, and the degenerative disease of aging. P. Natl. Acad. Sci. USA 90: 7915-7922 (1993)
7. Heo HJ, Choi SJ, Choi SG, Shin DH, Lee JM, Lee CY. Effects of banana, orange, and apple on oxidative stress-induced neurotoxicity in PC12 Cells. J. Food Sci. 73: 28-32 (2008)

8. Yoon MY, Lee BB, Kim JY, Kim YS, Park EJ, Lee SC, Park HR. Antioxidant activity and neuroprotective effect of *Psoralea corylifolia* Linne Extracts. Korean J. Pharmacogn. 38: 84-89 (2007)
9. Jeong HS, Joo NM. Optimization of rheological properties for processing of *omija-pyun* by response surface methodology. Korean J. Food Cook. Sci. 19: 429-438 (2003)
10. Jeon TW, Park JH, Shin MG, Kim KH, Byun MW. Effects of gamma-irradiation on biological activities and color changes of extracts of *Schizandra fructus*. J. Korean Soc. Food Sci. Nutr. 32: 137-142 (2003)
11. Kwon J, Lee SJ, So JN, Oh CH. Effects of *Schizandra chinensis fructus* on the immunoregulatory action and apoptosis of L1210 cells. Korean J. Food Sci. Technol. 33: 384-388 (2001)
12. Ikeya Y, Kanatani H, Hakozaki M, Yaguchi H. Nitsuhashi insolation and structure determination of two new lignans, gomisin S, and gomisin T. Chem. Pharm. Bull. 36: 3974-3981 (1988)
13. Yang HC, Lee JM, Song KB. Anthocyanins in cultured *omija* and its stability. J. Korean Soc. Appl. Biol. Chem. 25: 35-43 (1982)
14. AOAC. Official Methods of Analysis of AOAC Intl. 13th ed. Method 920.39, 934.01, 942.05, 954.01, and 974.06, Association of Official Analytical Chemists, Washington, DC, USA (1990)
15. Kim DO, Jeong SW, Lee CY. Antioxidant capacity of phenolic phytochemical from various cultivars of plums. Food Chem. 81: 321-326 (2003)
16. Benzie IFF, Strain, JJ. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of 'antioxidant power': The FRAP assay. Anal. Biochem. 239: 70-76 (1996)
17. Fellegrin N, Ke R, Yang M, Rice-Evans C. Screening of dietary carotenoids and carotenoid-rich fruit extracts for antioxidant activities applying 2,2'-azinobis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) radical cation decolorization assay. Method Enzymol. 299: 379-389 (1998)
18. Heo HJ, Cho HY, Hong BS, Kim HK, Kim EK, Kim BK, Shin, DH. Protective effect of 4',5-dihydroxy-3',6,7-trimethoxyflavone from *Artemisia asiatica* against A β -induced oxidative stress in PC12 cells. Amyloid 8: 194-201 (2001)
19. Kim JS, Choi SY. Physicochemical properties and antioxidative activities of *Omija* (*Schizandra chinensis Baillon*). Korean J. Food Nutr. 21: 35-42 (2008)
20. Jeong CH, Choi SG, Heo HJ. Analysis of nutritional components and evaluation of functional activities of *Sara borealis* leaf tea. Korean J. Food Sci. Technol. 40: 586-592 (2008)
21. Zhao B. Natural antioxidants protect neurons in Alzheimer's disease and Parkinson's disease. Neurochem. Res. 34: 630-638 (2009)
22. Shon HJ, Bock JY, Bail SO, Kim YH. Determination of lignan compounds in fruits of *Schizandra chinensis baillon* by capillary-GC (FID). J. Korean Agric. Chem. Soc. 32: 350-356 (1989)
23. Jeong JH, Lim HB. The chemical composition and biological activities of volatile flavor components of *Elsholtzia splendens*. Anal. Sci. Technol. 18: 500-510 (2005)
24. Heo HJ, Kim DO, Choi SJ, Shin DH, Lee CY. Apple phenolics protect in vitro oxidative stress-induced neuronal cell death. J. Food Sci. 69: 357-360 (2004)
25. Heo HJ, Lee CY. Strawberry and its anthocyanins reduce oxidative stress-induced apoptosis in PC12 cells. J. Agr. Food Chem. 53: 1984-1989 (2005)