

털부처꽃 뿌리로부터 조제된 분획물의 생리활성

이승은^{*†} · 김금숙* · 한희선* · 이은숙* · 김영옥* · 이정훈* · 성낙술** · 이상원* · 김영철*

*농촌진흥청 국립원예특작과학원 인삼특작부, **(재)금산국제인삼약초연구소

Biological Activity of Organic Solvent Fractions from *Lythrum salicaria* L. (Root)

Seung Eun Lee^{*†}, Geum Soog Kim*, Hee Sun Han*, Eun Suk Lee*, Young Ok Kim*, Jeong Hoon Lee*, Nak Sul Seong**, Sang Won Lee* and Young Chul Kim*

*Department of Herbal Crop Research, NIHHS, RDA, Eumsung 369-873, Korea.

**International Ginseng & Herb Research Institute, Geumsan 312-800, Korea.

ABSTRACT : Root extract of *Lythrum salicaria* reported a hepato-protective effect on CCl₄-induced liver toxicity of rat was prepared into fractions such as *n*-hexane up layer (HA), *n*-hexane down layer (HB), diethyl ether (E), ethylacetate (EA), *n*-butanol (B) and water (W). Fractions prepared were tested their activities *in vitro* and *in vivo* condition. All of the fractions showed effective antioxidant activities on DPPH radical and CuSO₄-induced oxidation of human low density lipoprotein and E fraction showed the highest inhibitory effect (98.1% at 50 µg/ml) on linoleic acid autoxidation at 40 °C, which was more effective than α-tocopherol (82.4%). Five fractions (H = HA plus HB, E, EA, B, and W, 150 mg/kg/day) were fed into Sprague Dawley, male rats for 4 days, which were intoxicated with intra-peritoneal injection of carbon tetrachloride (1 ml/kg in corn oil) at the 4th day and were sacrificed in 24 hrs. Serum tumor necrosis factor-alpha (TNF-α), a proinflammatory cytokine, elevated with CCl₄-intoxication in negative control group (83 pg/ml) was significantly decreased in E fraction-supplemented group (18 pg/ml). Cu, Zn-superoxide dismutase (SOD) activity increased in negative control group (0.12 U/mg protein) was decreased in E fraction (0.07 U/mg protein). From the results, it is suggested that ether fraction from root extract of *L. salicaria* would be a potent antioxidant candidate for ameliorating liver injury induced by chemical intoxicant.

Key Words : *Lythrum salicaria*, Antioxidant Activity, DPPH, LDL

서 언

털부처꽃 (*Lythrum salicaria* L.)은 좀부처꽃, 참부처꽃 및 털두렁꽃으로도 불리는 다년생 식물 (Lee, 1996)로서 전초와 뿌리가 약리작용을 가지는데 전초에는 salicarin과 tannin이 함유되어 있고 꽃에는 vitexin, orientin, malvin, cyanidin-3-monogalactoside, 몰식자산, ellagic acid, chlorogenic acid 등이 함유되어 있다 (Jung and Shin, 1990).

이외에도 털부처꽃 지상부는 DPPH 및 linoleic acid에 대한 항산화효과를 가지며 실험동물에서 항염증 및 항통증 효과 (Tunalier et al., 2007)가 있으며, 과혈당 mice 및 정상 혈당 흰쥐에 대해 효과 (Lamela et al., 1986; Lamela et al., 1985)를 보인다고 하며, 항미생물 효과, 항미생물 화합물 및 antilisterial activity (Becker et al., 2005; Rauha et al., 2000; Altanlar et al., 2006)를 나타낸다고 한다. 또한, 최근에

는 식물부위가 높은 폐놀함량을 나타내고 종자도 높은 항산화효과를 나타낸다는 보고 (Humadi and Istudor, 2009; Borchardt et al., 2009)가 있었으며 본 연구팀에 의해 항산화 및 간섬유화 저해효과가 보고된 바 있다 (Lee et al., 2009a; Lee et al., 2009b).

최근 천연물대상의 항산화활성 탐색이 국내외에서 많이 이루어지고 있는 바, 이는 산화스트레스가 질환의 발병에 관여하며 그러므로 항산화물질은 이를 예방하거나 치료할 수 있는 가능성이 높은 후보물질이라는 데 있다 (Solin, 2001; Bruck et al., 2001; Vinson et al., 1995). 산화스트레스는 생체 안에서 에너지 생성에 사용되는 산소의 일부로부터 만들어진 활성산소에 기인하거나 자외선 혹은 약물에 기인하여 생기며 이를 제거하는 생체 내의 방어시스템과의 균형이 무너질 때 암을 비롯한 여러 질병의 발병과 노화로 진행된다 (Frei, 1994; Forbes et al., 2008).

[†]Corresponding author: (Phone) +82-43-871-5586 (E-mail) lse1003@korea.kr

Received 2010 August 29 / 1st Revised 2010 October 2 / 2nd Revised 2010 October 6 / Accepted 2010 October 11

위에서 살펴본 것처럼 텔부처꽃이 다양한 활성을 가지는 것으로 보고되고 있어, 향후 기능성 소재로의 실용화를 위한 기초 자료를 얻고자 텔부처꽃 뿌리로부터 극성이 다른 분획물들을 조제한 후 *in vitro* 항산화계 및 사염화탄소에 의해 급성독성을 유발한 흰쥐에서 나타내는 활성을 관찰하였다.

재료 및 방법

1. 실험재료 및 추출물 조제

실험에 사용된 텔부처꽃 뿌리는 경기도 수원시 소재 농촌진흥청 약용작물시험포장에서 증식한 것을 2004년 9월에 채취하여 작물과학원 소속 식물분류전문가에게 동정을 받은 후 사용하였다. 건조시킨 텔부처꽃 뿌리 3 kg을 분말로 만든 후 74 °C에서 메탄올로 추출하여 조추출물 (286.3 g)을 얻었다. 조추출물의 대부분 (274.9 g)은 중류수에 녹인 후 separatory funnel에 담아 다음과 같이 분획물을 제조하였다. 먼저 n-헥산 (약 500 mL)을 수차례 진탕한 후 정치하여 상등액을 n-헥산 A액으로 하였으며 n-헥산총과 물총 사이의 층을 n-헥산 B층으로 하였다 (이러한 분획과정은 각 용매별로 3회 이상씩 반복하였다). n-헥산 B층을 분리한 후 남은 물총을 에텔로서 진탕하고 정치하는 과정을 수회 반복한 후 상등액을 에텔총 (E)으로 분리하였고 이때 얻어진 물총은 에틸아세테이트로 진탕과 정치를 반복하여 상층액을 에틸아세테이트총 (EA)으로 하였다. 에틸아세테이트 분획을 얻고 남은 물총을 n-부탄올을 가해 진탕, 정치하는 과정을 수차례 반복한 후 상등액을 n-부탄올 층 (B)으로 하였으며 남은 아래층은 물총 (W)으로 하였다. 이렇게 얻어진 각 용매 분획물은 감압농축장치를 이용해 용매를 제거하였고 -20 °C 이하의 냉동고에 보관하면서 활성실험에 사용하였다.

2. 시약 및 기기

추출물 및 분획물 조제에 사용된 용매는 1급 시약이었으며, 분석에 사용된 2,2-dipicryl-1-phenylhydrazyl (DPPH), low density lipoprotein (LDL), linoleic acid, sodium isocitrate, isocitrate dehydrogenase, semicarbazide hydrochloride 및 tannic acid는 Sigma Co. (USA) 제품을, ammonium thiocyanate, thiobarbituric acid (TBA), Folin-Ciocalteau reagent, MgCl₂ 등의 시약은 특급을 사용하였다. 추출물 농축에는 rotary evaporator (Eyela JP-SD1000, Japan)를 사용하였고, 각 실험에서 흡광도 측정은 spectrophotometer (Varian Cary300, Australia)를 사용하였다.

3. *In vitro* assay

텔부처꽃 뿌리 분획물의 DPPH 라디칼에 대한 소거활성 분석은 Blois (1958)의 원리에 준해 다음과 같이 수행하였다. 시

료 0.03 mL을 2×10^{-4} M DPPH 용액 2.97 mL과 반응시킨 후 517 nm에서 흡광도를 측정하였다. 결과는 시료를 첨가하지 않은 대조군의 흡광도와 비교하여 백분율로 소거활성을 나타내었다.

Human low density lipoprotein (LDL) 산화에 대한 저해활성을 Miller 등 (1996)의 방법에 준해 분석하였다. 각 분획물을 dimethyl sulfoxide (DMSO)에 녹여 20 μ L를 취하고 100 μ g의 protein을 함유하는 LDL 25 μ L, 10 mM phosphate-buffered saline (PBS) 115 μ L를 혼합한 후 0.25 mM CuSO₄ 40 μ L를 가해 37 °C에서 3시간 동안 반응시키고 냉각한 후 20% TCA 1 mL를 가해 반응을 중단시켰다. 이 반응액을 혼합한 후 0.05 N NaOH에 녹인 0.67% TBA 1 mL를 가해 혼합하여 95 °C에서 15 분간 가열하고 냉각한 후 3,000 rpm에서 15분간 원심분리하였고, 분리된 상등액 1 mL를 semi-micro cuvette에 분주하여 540 nm에서 생성된 malondialdehyde (MDA)의 흡광도를 측정하였으며, 대조에 대한 저해율로서 결과를 나타내었다.

Linoleic acid의 자동산화에 대한 텔부처꽃 뿌리 용매별 분획물의 저해활성분석은 Takao 등의 방법 (1994)에 준해 실험하였다. 반응액은 99.9%의 에탄올에 녹인 2.51% linoleic acid 0.4 mL, 0.04M phosphate buffer (pH 7.0) 0.8 mL, 중류수 0.77 mL 그리고 시료 0.03 mL로 조성하였으며 뚜껑을 한 후 40 °C의 암소에서 반응시키면서 일정시간 후 0.1 mL을 취해 75% ethanol 2.7 mL, 30% ammonium thiocyanate 0.1 mL, 3.5% HCl에 녹인 0.02 M ferrous chloride 0.1 mL와 혼합한 후 500 nm에서 흡광도를 측정하여 산화양상을 관찰하였다. 결과는 반응액에 대해 용매만 첨가한 대조군의 흡광도에서 시료 첨가군의 흡광도를 뺀 값을 대조군의 흡광도로 나눈 값을 백분율로 하여 산출하였다.

Total phenol 함량은 Lee 등 (2004)의 방법에 따라 일정농도의 선발된 식물 추출물 100 μ L, 2% Na₂CO₃ 2 mL를 혼합하고 2분 후 50% Folin-Ciocalteau 시약 100 μ L를 첨가하여 30분간 상온에서 반응시킨 후 750 nm에서 흡광도를 측정하고 tannic acid를 표준물질로 한 검량선 ($y = 0.0184x + 0.1431$, $R^2 = 0.9926$)에 대해 결과를 산출하였다.

4. *In vivo* assay

텔부처꽃 뿌리의 각 분획물을 일주일간 실험환경에 적응시킨 흰쥐 (Sprague Dawley, male, 각 실험군별로 6마리씩)에 150 mg/kg/day의 용량으로 4일간 경구투여 (1회/일)하고 4일째에 사염화탄소 (1 mL/kg)를 2 mL의 corn oil에 녹여 1회 복강주사하여 독성을 유발하였다. 사염화탄소 주사 24시간 후 에텔 마취 하에 흰쥐를 희생하여 채혈 및 간장 적출을 하였으며 적출된 간장은 중량을 기록하였다. 채취된 혈액은 혈청을 분리한 후 TNF- α 함량 분석에 사용하였고, 간장은 몇 차례의 원심분리를 통해 microsome 분획을 얻어 liver microsomal

ethanol-oxidizing system (MEOS) 활성을, cytosol 분획을 얻어 Cu, Zn-superoxide dismutase (SOD) 활성과 glutathione-S-transferse (GST) 활성을, mitochondria 분획을 얻어 Mn-SOD 활성분석에 사용하였다.

Tumor necrosis factor-alpha (TNF- α) 함량은 ELISA kit (Endogen ER3TNFA5)를 사용하여 측정하였으며, MEOS 활성을 Liber와 DeCarli의 방법 (1970)으로 아래와 같이 실험하였다.

Microsome (5 mg protein/ml) 1 ml를 0.3 mM NADP⁺, 8 mM sodium isocitrate, 5 mM MgCl₂가 녹은 0.1 M potassium phosphate buffer (pH 7.4) 1.5 ml 그리고 2 mg/ml의 isocitrate dehydrogenase 0.2 ml를 screw cap이 있는 50 ml plastic erlenmeyer flask에 담고 여기에 15 mM semicarbazide hydrochloride 0.6 ml를 함유하는 tube를 넣어 37°C에서 20분간 예비배양한 후 500 mM의 에탄올 0.3 ml를 가해 뚜껑을 하고 shaking water bath에서 0 및 10분간 혼합하였다. 그 후 70% trichloroacetic acid 0.5 ml을 center tube 바깥에 가해 반응을 중단하고 상온에서 overnight diffusion한 후 center tube에 있는 내용물을 수거하여 semicarbazide에 결합된 acetaldehyde의 농도를 224 nm에서 광학적으로 결정하였다. 결과는 기지량의 acetaldehyde로 얻어진 standard curve를 얻어 산출한 후 1분간 1 mg microsome protein에 의해 생성되는 acetaldehyde를 nmol로 표시하였다.

GST 활성은 Habig 등 (1974)의 방법에 따라 liver cytosol 분획 100 μ l를 0.1 M potassium phosphate buffer (pH 6.5) 1,400 μ l, 0.04 M 환원형 glutathione 75 μ l와 함께 25°C에서 5분간 예비배양한 후 0.12 M 2,4-dinitrochlorobenzene (DNCB) 25 μ l를 가해 다시 25°C에서 2분간 반응시킨 후 20% TCA 300 μ l 가해 반응 종결하고 1,500 \times g에서 10분간 원심분리하였다. 얻어진 상등액의 흡광도를 340 nm에서 흡광도 측정하였으며 효소활성은 1분간 1 mg의 단백질이 반응하여 생성된 nM conjugated DNCB로 나타내었다.

또한, Cu,Zn-SOD는 Oh 등 (1992)과 Flohé와 Ötting의 방법 (1984)에 준해 얻어진 total SOD의 활성에서 별도로 분석한 Mn-SOD 활성을 배제하여 얻었고 단위는 unit/mg protein으로 나타내었다.

5. 통계분석

이러한 실험결과는 SAS (statistical analysis systems) program

을 이용하여 $p < 0.05$ 의 수준에서 one way ANOVA test 및 Duncan's multiple range test로 유의성이 검정하였다.

결과 및 고찰

1. In vitro 활성

털부처꽃 뿌리 분획물의 DPPH 라디칼에 대한 소거효과를 확인한 결과, 10 μ g/ml의 농도에서 HA 분획을 제외한 분획물이 모두 60% 이상의 효과를 보였고, 2 μ g/ml의 농도에서는 EA 분획이 26% 이상의 높은 활성을 나타내었다. Human LDL의 산화에 대한 저해활성을 실험한 결과는 1 μ g/ml의 농도에서 비교하였을 때 HA 분획을 제외한 모든 분획에서 35% 이상의 저해효과를 나타내었다 (Fig. 1).

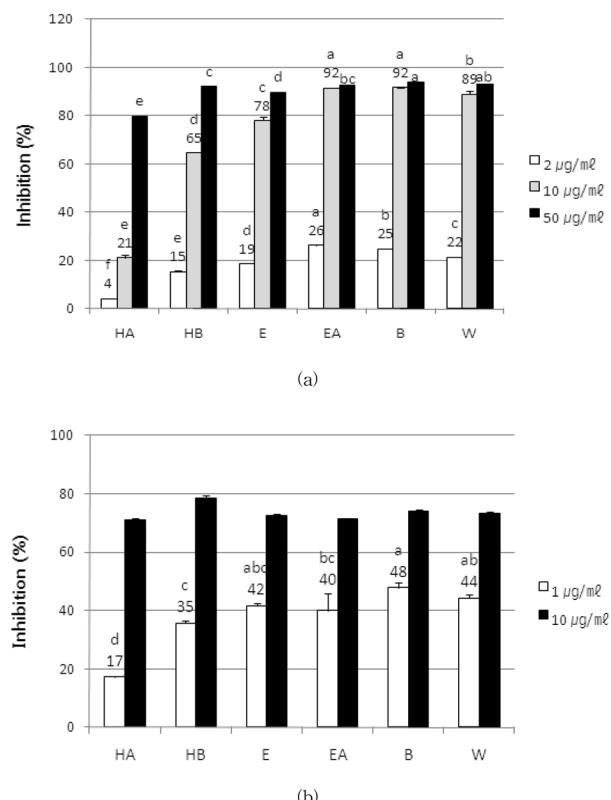


Fig. 1. Antioxidant activity of six fractions prepared from *L. salicaria* root extract on DPPH radical (a) and CuSO₄-induced LDL oxidation (b). ^{a-f} Values with different letters are significantly different at $P < 0.05$, which are testified with one way ANOVA test and Duncan's multiple range test.

Table 1. Yields and total phenol content of six fractions from *L. salicaria* root extract.

	HA	HB	E	EA	B	W
Yield (%)	6.2	6.7	0.5	2.4	14.5	56.3
Total phenol (%)*	7.3 \pm 1.0 ^e	30.6 \pm 0.2 ^d	42.7 \pm 5.7 ^{bc}	57.5 \pm 0.9 ^a	43.4 \pm 0.9 ^b	37.8 \pm 3.8 ^{c**}

*total phenol value in 100 g of fraction was showed as tannic acid equivalent. **A values with different letters are significantly different at $P < 0.05$, which are testified with one way ANOVA test and Duncan's multiple range test.

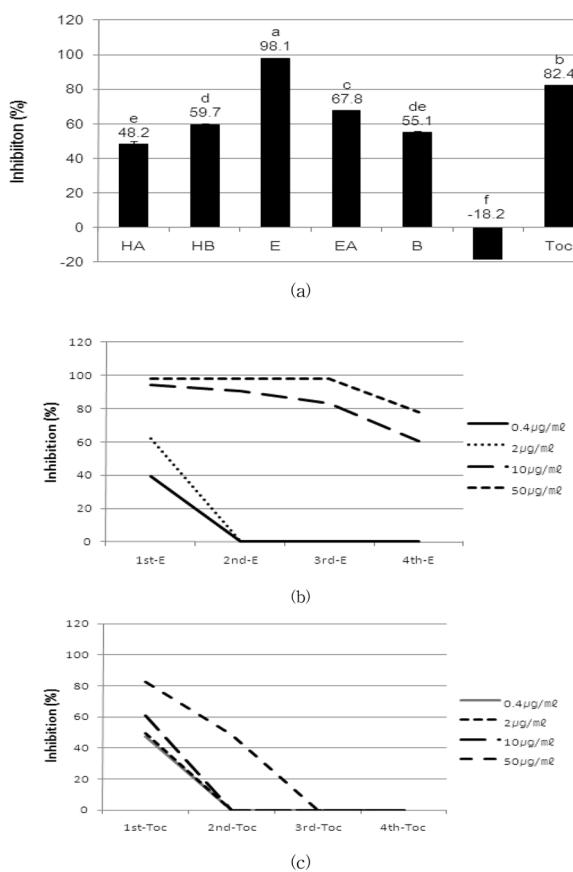


Fig. 2. Inhibition activity of six fractions (a), ether fraction (b) from *L. salicaria* and α -tocopherol (c) on linoleic acid auto-oxidation. A values with different letters are significantly different at $P < 0.05$, which are testified with one way ANOVA test and Duncan's multiple range test.

Linoleic acid 자동산화에 대한 저해효과를 실험한 결과 Fig. 2 (a)에 나타내었듯이 $50 \mu\text{g}/\text{ml}$ 의 농도에서 에텔 분획이 98% 이상의 효과를 보여 다른 분획뿐만 아니라 천연항산화제인 α -tocopherol (82%)보다도 우수한 수치였고, 이러한 에텔 분획의 우수한 지방산산화저해효과는 경시적인 실험에서도 확인되었

다 (Fig. 2b).

털부처꽃 뿌리 분획물의 수율과 총페놀 함량을 Table 1에 나타내었다. 각 분획물 중 물 분획 (W) 56.3%로 가장 많았고 다음이 부탄올 분획 (B)> 헥산B 분획 (HB)> 헥산A 분획 (HA)> 에틸아세테이트 분획 (EA)> 에텔 분획 (E)의 순으로 높았다. 총페놀 함량은 EA 분획이 57.5%로 가장 높았고, B 분획 > E 분획 > W 분획 > HB 분획 > HA 분획의 순으로 함량이 높았다.

이와 같이 털부처꽃 뿌리 분획물이 실험된 *in vitro* 반응계에서 효과를 나타낸 것은 Yoshida 등 (1989)나 Lee 등 (2004)의 보고처럼 각 분획물에 함유된 폐놀성분의 영향도 있을 것으로 추정된다.

2. *In vivo* 활성

털부처꽃 뿌리 분획물을 4일간 흰쥐에 투여하고 1회 사염화탄소로 간독성을 유발한 실험결과 각 실험군들간의 체중변화는 유의적이지 않았으며, 체중에 대한 상대간장중량도 사염화탄소가 주사된 실험군들간에는 차이가 없었다 (Table 2). TNF- α 의 혈청 중 함량은 사염화탄소 주사로 증가하였으나 털부처꽃 뿌리 분획물의 투여로 감소하였으며 그 중에서도 에텔 분획은 양성대조물질인 실리마린보다도 효과적으로 감소시켰다 (Fig. 3).

털부처꽃 뿌리 분획물이 사염화탄소로 간독성을 유발한 흰쥐에서 항산화효소인 superoxide dismutase (SOD)활성을 미치는 효과를 확인한 결과, 사염화탄소의 주사로 증가한 Cu,Zn-SOD의 활성을 털부처꽃 뿌리 분획물이 유의적으로 감소시키는 것을 확인하였고 Mn-SOD 활성은 사염화탄소 투여로 유의한 증가가 없었으며 분획물의 투여로 감소하였다 (Fig. 4). 또한, 무독화 효소인 glutathione-S-transferase (GST) 활성은 사염화탄소 투여로 다소 증가하였으나 털부처꽃 뿌리 분획물의 투여로 감소하였으며, MEOS 활성도 사염화탄소 투여로 다소 증가하였으나 털부처꽃 뿌리 분획물의 투여로 감소하는 경향을 나타내었다 (Fig. 5).

Table 2. Effect of six fractions prepared from *L. salicaria* root extract on body weight and relative liver weight.

Group	Body weight (g)		Relative liver weight (%)
	Initial	Final	
Normal	267.5 ± 7.6	270.8 ± 7.6	$3.20 \pm 0.25^{\text{b}*}$
CCL ₄	264.3 ± 9.8	262.8 ± 13.8	$4.36 \pm 0.56^{\text{a}}$
Sil+CCL ₄	264.2 ± 5.4	263.5 ± 6.5	$4.51 \pm 0.41^{\text{a}}$
H+CCL ₄	262.5 ± 6.1	263.8 ± 8.4	$4.37 \pm 0.38^{\text{a}}$
E+CCL ₄	260.5 ± 5.0	260.0 ± 7.9	$4.25 \pm 0.54^{\text{a}}$
EA+CCL ₄	259.5 ± 5.6	259.5 ± 7.5	$4.09 \pm 0.46^{\text{a}}$
B+CCL ₄	260.0 ± 8.2	254.2 ± 7.4	$4.29 \pm 0.22^{\text{a}}$
W+CCL ₄	264.2 ± 5.6	262.0 ± 7.2	$4.22 \pm 0.43^{\text{a}}$

*Values with different letters are significantly different at $P < 0.05$, which are testified with one way ANOVA test and Duncan's multiple range test.

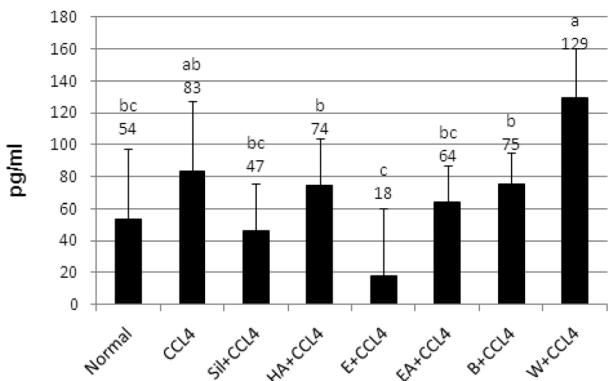
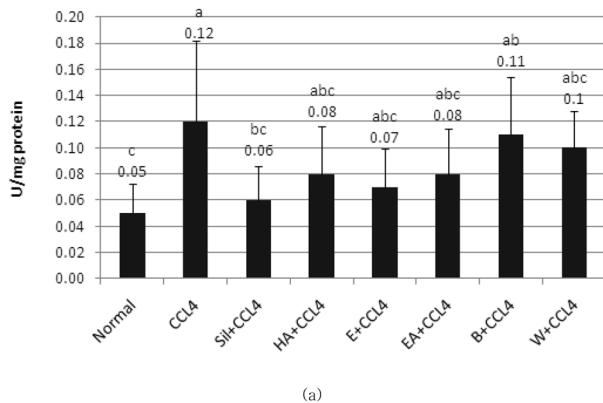


Fig. 3. Effect of six fractions prepared from *L. salicaria* root extract on TNF- α content in CCL₄-intoxicated rat serum. Values with different letters are significantly different at $P < 0.05$, which are testified with one way ANOVA test and Duncan's multiple range test.



(a)

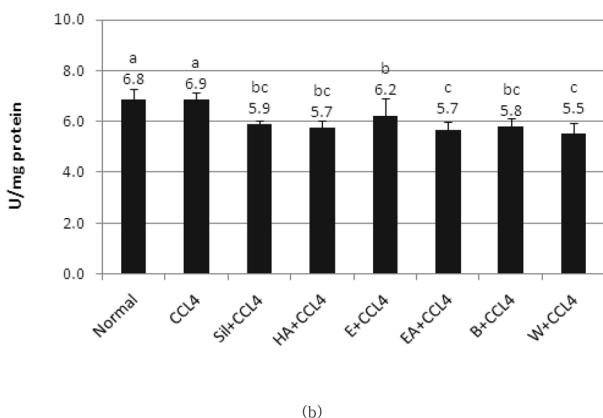
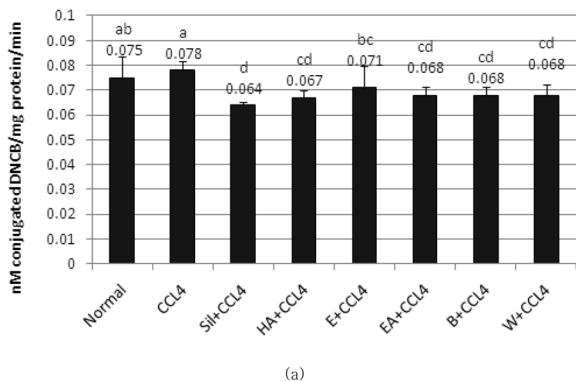
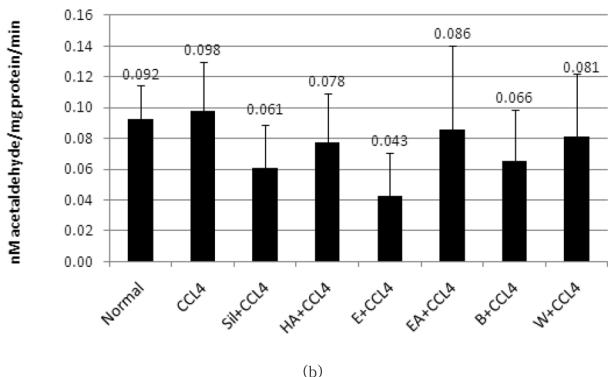


Fig. 4. Effect of six fractions from *L. salicaria* root extract on Cu, Zn-SOD (a) and Mn-SOD activity (b) in CCL₄-intoxicated rat liver. Values with different letters are significantly different at $P < 0.05$, which are testified with one way ANOVA test and Duncan's multiple range test.

이와 같이 사염화탄소 투여군에서 증가한 효소활성이 털부처꽃 뿌리 분획물 투여군들에서 감소한 것은 사염화탄소 유래



(a)



(b)

Fig. 5. Effect of six fractions from *L. salicaria* root extract on GST (a) and MEOS activity (b) in CCL₄-intoxicated rat liver. Values with different letters are significantly different at $P < 0.05$, which are testified with one way ANOVA test and Duncan's multiple range test.

의 trichloromethyl radical (CCL₃ 또는 CCL₃OO⁻) 등 (Jeong et al., 2002)을 털부처꽃 뿌리 분획물에 함유된 항산화물질이 효과적으로 제거하여 (Wang et al., 2008)에 라디칼에 의해 유도되는 항산화효소활성의 증가 (Csonka et al., 2000)를 완화시킨 것으로 사료된다.

이상의 결과에서 살펴본 것처럼 털부처꽃 뿌리 분획물은 여러 가지 *in vitro* 항산화반응계 및 *in vivo* 실험에서 효과적인 항산화작용을 발휘하는 것으로 확인되었고 특히, 에텔 분획과 에틸아세테이트 분획은 그 효과가 뛰어났으므로 이들 분획에 대한 주요 활성성분 및 항산화작용 기전 연구 등의 심도 깊은 연구 수행으로 산화스트레스가 관련된 여러 질환 발병 (Vinson et al., 1995)의 예방 및 치료용 소재로의 개발 가능성이 높다고 사료된다. 한편, 서언에서 이미 언급하였듯이 Tunalier (2007) 등은 털부처꽃 지상부가 DPPH 및 linoleic acid에 대한 항산화효과 및 실험동물에서 항염증 및 항통증 효과가 있다고 보고하였으나 본 연구와는 사용된 식물부위가 다르므로 비교하는데 한계가 있다고 사료된다.

감사의 글

본 연구는 농촌진흥청 국책기술개발연구사업 (과제번호 : PJ000166)의 연구비 지원과 농촌진흥청 바이오그린21사업 (과제번호 : PJ007083)의 시료 제공으로 수행된 결과이며 이에 깊은 감사를 드립니다.

LITERATURE CITED

- Altanlar N, Citoglu GS and Yilmaz BS. (2006). Antilisterial activity of some plants used in folk medicine. *Pharmaceutical Biology*. 44:91-94.
- Becker H, Scher JM, Speakman JB and Zapp J. (2005). Bioactivity guided isolation of antimicrobial compounds from *Lythrum salicaria*. *Fitoterapia*. 7:580-584.
- Blois MS. (1958). Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature*. 26:1199-1200.
- Borchardt JR, Wyse DL, Sheaffer CC, Kauppi KL, Fulcher RG, Ehlike NJ, Biesboer DD and Bey RF. (2009). Antioxidant and antimicrobial activity of seed from plants of the Mississippi river basin. *Journal of Medicinal Plants Research*. 3:707-718.
- Bruck R, Shirin H, Aeed H, Matas Z, Hochman A, Pines M and Avni Y. (2001). Prevention of hepatic cirrhosis in rats by hydroxyl radical scavengers. *Journal of Hepatology*. 35:457-464.
- Csonka C, Pataki T, Kovacs P, Muller SL, Schroeter ML, Tosaki A and Blasig IE. (2000). Effects of oxidative stress on the expression of antioxidative defense enzymes in spontaneously hypertensive rat hearts. *Free Radical Biological Medicine*. 29:612-619.
- Flohe' L and Ötting F. (1984). Superoxide dismutase assays. In *Methods in Enzymology*, Vol. 105, Packer, L. (ed.), Academic Press, p. 93-105.
- Forbes JM, Coughlan MT and Cooper ME. (2008). Oxidative stress as a major culprit in kidney disease in diabetes. *Diabetes*. 57:1446-1454.
- Frei B. (1994). Natural antioxidants in human health and disease. Academic Press, Boston, Massachusetts, USA. p. 25-55.
- Habig WH, Pabst MJ and Jakoby WB. (1974). Glutathione-S-transferase:the first enzymatic step in mercapturic acid formation. *Journal of Biological Chemistry*. 249:7130-7139.
- Humadi SS and Istudor V. (2009). *Lythrum salicaria* (purple loosestrife) medicinal use, extraction and identification of its total phenolic compounds. *Farmacia*. 57:192-200.
- Jeong HG, You HJ, Park SJ, Moon AR, Chung YC, Kang SK and Chun HK. (2002). Hepatoprotective effects of 18 β -glycyrrhetic acid on carbon tetrachloride-induced liver injury: inhibition of cytochrome P450E1 expression. *Pharmacological Research*. 46:221-227.
- Jung BS and Shin MG. (1990). Hyangyak-Seangyak Great Encyclopedia. Young-Lim Publishing Co., Seoul. p. 730-731.
- Lamela M, Cadavid I, Gato A and Calleja JM. (1985). Effects of *Lythrum salicaria* in normoglycemic rats. *Journal of Ethnopharmacology*. 14:83-91.
- Lamela M, Cadavid I and Calleja JM. (1986). Effects of *Lythrum salicaria* extracts on hyperglycemic rats and mice. *Journal of Ethnopharmacology*. 15:153-160.
- Lee SE, Kim YS, Kim JE, Bang JK and Seong NS. (2004). Antioxidant activity of *Ulmus davidiana* var. *japonica* N. and *Hemipteleae davidii* P. *Korean Journal of Medicinal Crop Science*. 12:321-327.
- Lee SE, Park CG, Ahn YS, Son YD, Cha SW and Seong NS. (2009a). Antioxidative and hepatoprotective effects of *Lythrum salicaria*. *Korean Journal of Medicinal Crop Science*. 17:1-7.
- Lee SE, Ahn TJ, Kim GS, Kim YO, Han HS, Seo JS, Chung HY, Park CB, Cha SW, Park HK and Seong NS. (2009b). Antioxidant and anti-fibrotic properties of root extract of *Lythrum salicaria* L. in CCl₄-induced liver fibrosis rat model. *Korean Journal of Medicinal Crop Science*. 17:243-250.
- Lee WC. (1996). *Lineamenta florae Korea*. Academy Publishing Company, Seoul. p. 748.
- Liber CS and DeCarli LM. (1970). Hepatic microsomal ethanol-oxidizing system. *Journal of Biological Chemistry*. 245:2505-2512.
- Miller CP, Jirkovsky I, Hayhurst DA and Adelman SJ. (1996). *In vitro* antioxidant effects of estrogens with a hindered 3-OH function on the copper-induced oxidation of low density lipoprotein. *Steroids*. 61:305-308.
- Oh MH, Chung HY, Yong HS, Kim KW, Chung HY, Oura H and Yokozawa T. (1992). Effects of ginsenoside Rb₂ on the antioxidants in SAM-R/1 mice. *Korean Biochemical Journal*. 25:492-497.
- Rauha JP, Remes S, Heinonen M, Hopia A, Kahkonene M, Kujala T, Pihlaja K, Vuorela H and Vuorela P. (2000). Antimicrobial effects of finnish plant extracts containing flavonoids and other phenolic compounds. *International Journal of Food Microbiology*. 56:3-12.
- Solin ML, Ahola H, Haltia A, Ursini F, Montine T, Roveri A, Kerjaschki D and Holthöfer H. (2001). Lipid peroxidation in human proteinuric disease. *Kidney International*. 59:481-487.
- Takao TF, Kitatani N, Watanabe A and Yagi K. (1994). A simple screening method for antioxidants and isolation of several antioxidants produced by marine bacteria from fish and shell fish. *Bioscience Biotechnology and Biochemistry*. 58: 1780-1783.
- Tunalier Z, Kosar M, Küpeli E, Calis I and Baser KHC. (2007). Antioxidant, anti-inflammatory, antinociceptive activities and composition of *Lythrum salicaria* L. extracts. *Journal of Ethnopharmacology*. 110:539-547.
- Vinson JA, Dabbagh YA, Serry MM and Jang J. (1995). Plant flavonoids, especially tea flavonoids, are powerful antioxidants using an *in vitro* oxidation model for heart disease. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 43:2800-2802.
- Wang T, Sun NL, Zhang WD, Li HL, Lu GC, Yuan BJ, Jiang H, She JH and Zhang C. (2008). Protective effects of dehydrocarvadine on carbon tetrachloride-induced acute hepatotoxicity in rats. *Journal of Ethnopharmacology*. 117:300-308.
- Yoshida T, Mori K, Hatano T, Okumura T, Uehara I, Komagoe K, Fujita Y and Okuda T. (1989). Studies on inhibition mechanism of autoxidation by tannin and flavonoids. v. radical-scavenging effects of tannins and related polyphenols on 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl radical. *Chemical Pharmaceutical Bulletin*. 37:1919-1921.