韓藥作誌(Korean J. Medicinal Crop Sci.) 19(6) : 435 – 440 (2011)

지치의 생육시기 및 재배지역별 시코닌계 색소 함량 및 항산화 활성

김금숙† · 박춘근 · 이경희 · 최재훈 · 이승은 · 노형준 · 이정훈 · 김승유
농촌진흥청 국립원예특작과학원 인삼특작부

Investigation of Shikonin Pigments and Antioxidant activity of the Roots from *Lithospermum erythrorhizon* according to the Different Growth Stages and Areas of Cultivation

Geum Soog Kim†, Chun Geun Park, Kyeong Hee Lee, Jehun Choi, Seung Eun Lee, Hyung Jun Noh, Jeong Hoon Lee, and Seung Yu Kim

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

ABSTRACT : This study was conducted to evaluate the quality variation of Lithospermum radix on the pigment contents and antioxidant activities according to different growth stages and areas of cultivation. Acetylshikonin contents showed the tendency to decrease gradually from the middle of July (0.28%) to the end of August (0.05%) and then the content was increased again to the end of October (0.25%). Shikonin content was detected as small amount of about 0.009% during the period. The weight of plants was increased from the end of September to the end of October and showed the highest value as 19.8 g on October 25. ROS scavenging activity was the highest in the early of October as IC_{50} value of 0.11 μg/mL. Lithospermum radix of September showed lower ROS scavenging activities than those of other growth stages as IC_{50} value of 1.02 and 0.49 μg/mL on September 9 and September 27, respectively. Among 17 areas cultivated Lithospermum radix, 10 areas (59%) showed 0.05-0.10% of acetylshikonin contents and 3 areas (18%) were measured to contain 0.16-0.26% of acetylshikonin.

Key Words **:** Acetylshikonin, Antioxidant Activity, *Lithospermum erythrorhizon,* ROS Scavenging Activity

서 언

지치 (*Lithospermum erythrorhizon* Sieb. et Zucc.)는 지치과의 다년생 초본 식물로서 우리나라의 제천, 진도 등에 주로 재배되고 있으며, 지치 뿌리는 예로부터 우리나라, 중국과 일본에서 한약재와 식용색소로 이용되어왔다. 한방에서 혈액순환 촉진, 해열, 해독 작용에 주로 이용하거나 토혈, 혈뇨, 변비, 화상, 습진, 요로 감염 등을 치료하는데 사용하여왔다 (Ahn *et al.*, 2009; Lee *et al.*, 1998). 주요성분으로는 acetylshikonin, shikonin, alkannan, isobutyryl-shikonin, β,β-dimethy-acrylshikonin, β-hydroxy isovaloryl shikonin, teracryl shikonin 등의 다양한 shikonin 유도체들이 함유되어 있는 것으로 알려져 있고 (Han *et al.*, 2008; Hisamichi and Yoshizaki, 1982) 그 외에도 다양한 성분들이 보고되었다 (Park *et al.*, 2009a, 2009b). Acetylshikonin 등을 포함한 shikonin 유도체 성분에 대해서는 항산화 활성 (Han *et al.*, 2008; Sekine *et al.*, 1998; Weng *et al.*, 2000)를 비롯하여, 항염증 활성 (Staniforth *et al.*, 2004; Tanaka *et al.*, 1986), 혈전응집 억제활성 (Chang *et al.*, 1993), 항미생물 효과 (Tabata *et al.*, 1982), 항암효과 (Lee *et al.*, 2008) 등의 다양한 활성이 보고되었다. 또 본 연구자들은 선행연구에서 지치에서 분리한 acetylshikonin의 LDL 산화 저해활성과 FPTase 저해활성에 대해 보고하기도 하였으며 (Kim *et al.*, 2009), 최근 지치가 항인플루엔자 A 바이러스 효과가 있음도 보고된 바 있다 (Tian *et al.,* 2011).

한국 뿐 아니라 주요 선진국들이 2025년경에 65세 이상 인구가 전체인구의 20% 이상을 차지하는 초고령화 시대에 진입할 것으로 예측되고 있어 노화를 비롯한 각종 성인병의 예방에 더욱 많은 관심이 집중되고 있다. 특히, 노화와 관련된 인체의 여러 질병의 발병을 증가시키는 주요 요인의 하나로 superoxide ($\cdot O_2^-$), hydroxyradical ($\cdot OH^-$), hydrogenperoxide (H_2O_2)등의 활성 산소 (Reactive Oxygen Species, ROS)에 의한 산화적 스트레스가 알려져 있다 (Biesalski, 2002; Yu, 1996). 또한, 여러 가지 환경적 요인에 의해 과도하게 생성된

†Corresponding author: (Phone) +82-43-871-5582 (E-mail) kimgs@rda.go.kr
Received 2011 October 20 / 1st Revised 2011 November 28 / 2nd Revised 2011 Novmber 29 / Accepted 2011 December 1

nitric oxide (·NO), peroxynitrite ($ONOO^-$)와 같은 활성질소 (Reactive Nitrogen Species, RNS) 역시, 세포사멸과 DNA 합성 억제 및 파괴작용 (Lee *et al.,* 2007; Zhang *et al.*, 1994)을 하고, 조직을 손상시키는 것으로 알려져 있다 (Beckman *et al.*, 1990). 따라서 천연물로부터 과잉으로 생성된 활성산소종의 제거와 생체 내 항산화 시스템의 증진 효과를 찾으려는 연구에 관심이 높아지고 있다.

본 연구에서는 항산화 효과가 보고된 지치가 재배되는 환경 및 시기에 따라 주요 성분과 항산화 효과에서 차이가 있을 수 있을 것으로 예측되어 생육시기별 주요 색소성분의 함량과 항산화능을 조사하였다. 또한 재배지역별 지치의 색소성분 함량을 분석하여 국내 주산지에서 생산되는 지치의 품질을 성분 측면에서 평가하기 위한 기초자료를 확보하고자 하였다.

재료 및 방법

1. 식물시료

지치뿌리의 생육시기별 시료는 2010년 제천의 한 재배농가로부터 시기별로 식물을 채취한 후 뿌리 생육을 조사하고 성분과 효능평가를 위해 세척하여 동결건조 한 다음 분쇄하여 사용하였다. 재배지역별 지치뿌리의 성분분석을 위한 시료는 제천, 진도 등의 총 17개 농가에서 1년 근을 수확기에 수집하여 45℃의 건조기에서 열풍건조한 후 분쇄하여 추출용 식물시료로 사용하였다. 한편, 식물시료 채취시기의 기상을 참조하기 위해 제천 기상관측소에서 측정한 2001-2010년의 월별 평균기온과 총강수량을 조사하여 인용하였다 (Fig. 1).

2. 시약 및 기기

지치 색소성분은 acetylshikonin 표준품 (Nacalai tesque, Inc., Japan)과 shikonin 표준품 (ChromaDex®, Inc., USA)을 사용하였다. Acetonitrile은 HPLC급 용매 (J. T Baker®, Nederland)를 사용하였고 그 외 지치시료의 추출에는 GR급 용매를 사용하였다. 지치의 색소성분의 정량 분석에는 Agilent 1100 series HPLC system (Agilent Technolgies, USA)이 사용되었다. 지치의 항산화능 측정을 위해 H_2DCFDA (2,7-dichlorodihydrofluoresceindiacetate)는 Molecular Probes (Eugene, USA)에서 구입하였으며, 양성대조군으로 사용된 trolox (6-hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchroman-2-carboxylic acid), ROS를 생성하는 물질인 SIN-1 (3-morpholinosydnonimine) 및 esterase 효소는 Sigma Chemical Co. (USA)에서 구입하여 사용하였다. 그 외 기타 시약은 Sigma Chemical Co. (USA)나 Junsei Chemical Co. (Japan)의 일급 또는 특급 시약을 사용하였다. 항산화능 측정을 위한 장비로는 Synergy™ HT multi-mode microplate reader (BioTek, USA)를 사용하였다.

3. 색소성분 함량분석

지치의 추출조건은 Hwang 등 (2000)의 방법을 변형하여 분쇄된 지치뿌리 시료 50 ㎎을 취하고 hexane 1 mL 가한 후 15분 동안 초음파 추출하였다. 추출액은 4000 rpm에서 10분 동안 원심분리 한 후 상등액을 취하여 다시 원심분리농축기 (EZ-2 Plus, GeneVac® Ltd., UK)에서 감압농축하였다. 농축물은 MeOH 1 mL로 녹여서 회수한 다음 0.45 ㎛ membrane filter로 여과한 후 HPLC 분석 시료액으로 사용하였다. HPLC 컬럼은 Waters사의 Nova-Pak C18 (3.9 × 150 ㎜, 4 ㎛)을 사용하여 25℃에서 분석하였고, 이동상은 17분 동안 55%에서 80% acetonitrile로 기울기 용리를 하고, 이어서 4분 동안 100% acetonitrile로 흘려주었다. 이때 유속은 0.8 mL/min으로 하고 UV/Vis 검출기의 520 ㎚ 파장에서 흡광도를 측정하였다.

4. 지치시료의 항산화 활성 평가

원심분리튜브에 5 g 지치분말과 40 mL의 헥산을 넣고 30분간 초음파 추출한 다음 진공회전농축기에서 농축하였다. 잔류물은 DMSO로 녹여 일정농도가 되도록 조절하고 항산화 실험용으로 사용하였다. ROS 소거능은 Lebel 등의 DCFDA 방법으로 측정하였다 (Lebel *et al.*, 1992). 본 실험에서는 99.9%의 에탄올에 용해한 12.5 mM H_2DCFDA와 3차 증류수에 용해한 600 U/mL esterase를 stock solution으로 저장하였으며, 실험 시 125 μM H_2DCFDA와 6 U/mL esterase를 혼

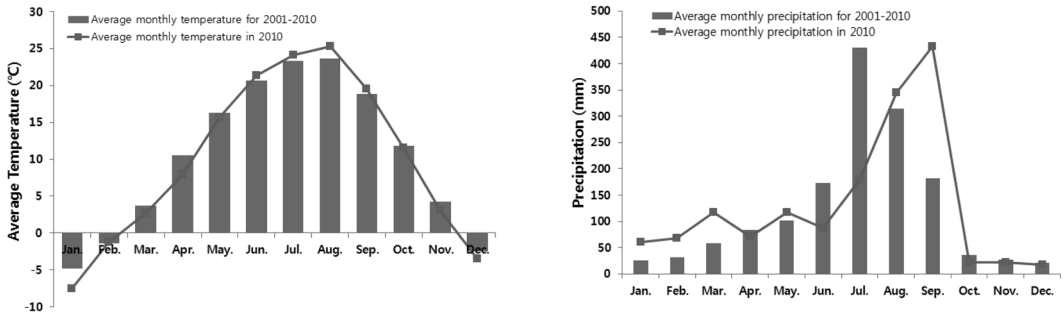

Fig. 1. Average temperatures and precipitation during 2001-2010 in Jecheon area.

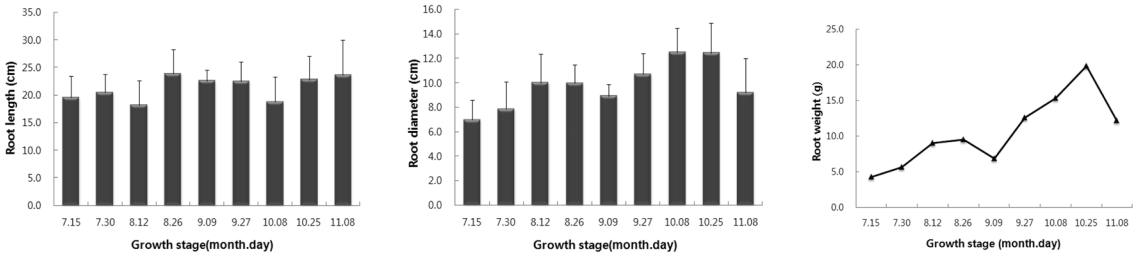

Fig. 2. Variation of root length, diameter, and weight of the roots from *L. erythrorhizon* according to the growth stages.

합하여 조제된 DCFH 용액을 22℃에서 20분간 배양한 후 사용하였다. DCFH 용액 190 μL에 SIN-1 50 μM을 추가하여 ROS를 생성시킨 후, 측정시료 10 μL 추가하여 생성되는 ROS를 처리 시료가 저해하는 정도를 485 ㎚/530 ㎚ (여기파장/방출파장)에서 fluorescence microplate reader로 형광 측정하여 50% 저해값 (IC_{50})으로 나타내었다.

결과 및 고찰

7월 중순부터 11월 초까지 15일 간격으로 생육시기별 뿌리 생육을 조사하였다 (Fig. 2). 뿌리길이는 18.1~23.8 ㎝ 범위 (평균 21.4 ㎝)에서 시기별 큰 차이를 보이지 않은 반면, 근경과 근중에서는 서로 유사한 경향으로 시기별 차이를 보였다. 즉, 9월 초에 근경과 근중이 약간 감소하는 경향을 보이기는 했지만 7월부터 10월 말까지 지속적으로 근경과 근중이 증가하였다. 특히, 10월 말에는 근경과 근중이 각각 12.4 ㎝, 19.8 g으로서 최고치를 나타내었다. 반면, 11월 초에는 근경과 근중이 각각 9.2 ㎝, 12.2 g으로 다시 감소하는 경향을 나타내었다. 한편, 9월 초에 근경과 근중이 감소하는 경향을 나타내었는데, 지치 재배지역인 제천의 기상상황을 살펴보면 (Fig. 1), 2010년 9월부터 평균기온이 18.8℃ 이하로 떨어지고, 강수량은 2001년부터 10년 동안의 월별 평균 강수량을 비교했을 때, 2010년 9월에 특히 높은 강수량을 나타내었다. 2001년부터 2010년까지 지난 10년 동안은 주로 7월과 8월에 각각 평균 430, 314 ㎜의 총 강수량을 보이고 9월에 평균 181 ㎜로 감소하였는데 반해 2010년에는 8월, 9월 (평균 433 ㎜)까지 높은 총강우량을 나타내었다. 지치는 습해에 특히 약한 작물로 알려져 있는데, 이러한 기상적인 요인에 의해 지치 뿌리의 생육이 9월 초까지 불량하다가 9월 말부터 다소 회복되는 현상을 보이는 것으로 추론할 수 있었다.

한편, 지치의 생육시기별 주요성분을 함량을 분석하기 위해 지치의 주요 생리활성 물질로 알려져 있고 대표적인 지치의 색소성분인 (Han *et al.*, 2008; Lee *et al.*, 2008) shikonin과 acetylshikonin를 지표성분으로 하여 표준정량곡선을 작성하였으며, 상관계수는 각각 0.999, 0.998이었다 (Table 1). 이들

Table 1. Calibration plots and sensitivity of two standards for the determination of shikonin and acetylshionin of the roots from *L. erythrorhizon*.

Standards	Calibration plots	Correlation coefficient
Shikonin	y = 22.1338x – 52.2201	0.999
Acetylshikonin	y = 17.9307x – 77.4850	0.998

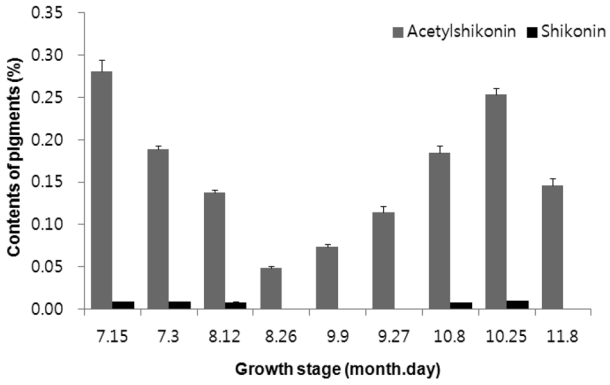

Fig. 3. The contents of acetylshikonin and shikonin in the roots from *L. erythrorhizon* according to the different growth stages. All values are means ± SD (n = 3).

두 성분의 정량분석 결과는 Fig. 3에 나타내었으며 주요 성분인 acetylshikonin이 0.05~0.28%의 함량을 나타내었다. Shikonin의 함량은 0.009% 내외로 미량 함유되어 있었으며 생육시기별 뚜렷한 경향을 보이지는 않았고, 8월 말에서 9월 말까지는 검출되지 않았다. Acetylshikonin은 7월 중순에 함량이 0.28%로서 가장 높았으며 이후에 점차 감소하여 8월 말 0.05%까지 떨어지다가 9월부터 점차 증가하여 10월 말에 0.25%까지 지속적으로 증가하였다. Acetylshikonin 함량의 시기별 경향도 강우량과 같은 기상환경과 밀접한 관계가 있을 것으로 판단되었다. 장마철을 맞아 8, 9월 높은 강우량을 보이는 시기에는 뿌리 생육도 불량하면서 색소 생성에도 영향을 미쳐 함량이 높지 않았으며, 장마이후 기상환경이 좋아지면서 점차 색소생성이 양호해지고 주로 10월에 함량이 높게 분석되

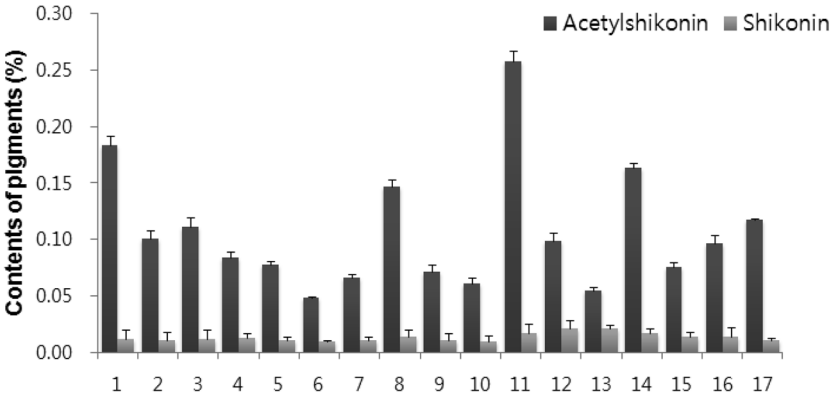

Fig. 4. The contents of acetylshikonin and shikonin in the roots from *L. erythrorhizon* according to the different producing area. All values are means ± SD (n = 3). No. 1-10 : Jecheon, No. 11 : Danyang, No. 12-16 : Jindo, No. 17 : Jeongseon.

었다. 11월부터는 기온이 크게 하락하고 평균 생육이 나빠지면서 식물체의 평균 색소함량도 감소하는 경향이었다. 제천지역을 포함한 지치 재배농가에서는 대부분 10월부터 12월 사이에 지치 뿌리 생육상태를 보고 수확하는 경우가 일반적인데, 지치의 생육과 주요성분함량을 고려하면 가을 수확시 지치 주요성분인 acetylshikonin 함량이 높고, 뿌리 생육도 양호한 10월 말에 수확하는 것이 유리할 것으로 판단되었다. 일반적으로 지치의 품질은 외관상 색소발현 정도로 얼마나 양호한지를 보고 판단하는 경향이다. 그러나 보다 과학적인 지표가 되는 색소성분 함량에 대한 자료로서 지치의 품질을 판단하는 것이 중요하다고 할 수 있다.

제천과 진도 등 총 17개 재배농가로부터 지치를 수집하여 주요성분 함량을 분석함으로써 지역별 지치의 성분적인 품질 변이 정도를 평가하고자 하였다. 지치 시료는 제천지역 10곳, 진도 5곳, 단양 1곳, 정선 1곳으로 총 17개 재배농가에서 수집하였다. 지치 수집 시기는 농가에서 2010년 수확한 시기로서 11월초에서 12월말까지 이루어졌다. 재배농가별 지치시료의 분석 결과 (Fig. 4), acetylshikonin 함량은 0.05~0.26% 범위였으며, 함량의 분포는 대상농가의 59%의 지치가 0.05~0.10% 정도의 함량을 나타내었고, 약 23%가 0.11~0.15%의 함량, 약 18% 정도가 0.16~0.26%의 고함량을 나타내었다. 재배농가별 지치의 shikonin 함량은 평균 0.009~0.021% 범위에서 평균 0.013%를 나타내었다. 이러한 결과로 보아, 재배지역별 acetylshikonin 함량의 변이는 비교적 높은 것으로 나타났다. 생육시기별 지치의 성분 분석에서 기상조건 등 환경적 요인이 색소생성에 미치는 영향이 큰 것으로 미루어보아, 재배지역별 토양, 강우량 등 재배환경의 차이가 색소발현에도 큰 영향을 주는 것으로 해석되었다.

생육시기별 지치 시료의 항산화 활성을 조사하기 위해, Lebel 등 (1992)의 DCFDA 방법으로 ROS 함량을 측정하였다. 그 원리는 발색시약인 H_2DCFDA가 esterase 효소에 의해

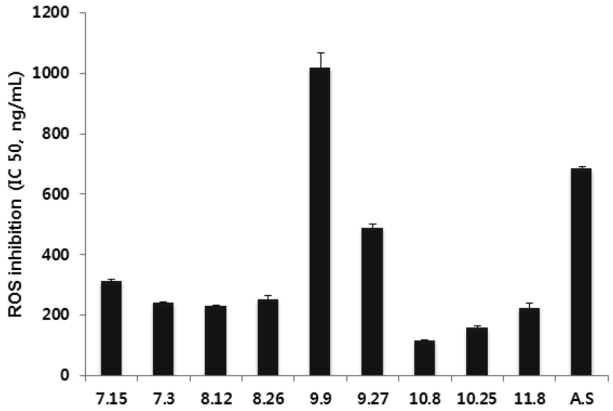

Fig. 5. ROS inhibitory activities of the hexane extracts from *L. erythrorhizon* according to the different growing stages. A.S: acetylshikonin; IC_{50} value of trolox positive control): 7.83 ± 0.54 ㎍/mL. All values are means ± SD (n = 5).

deacetylation 되면서 DCFH로 전환되고 이 DCFH는 과량의 ROS와 반응하여 DCF를 생성하여 발색하게 되는데 이 형광을 485 ㎚/530 ㎚ (여기파장/방출파장)에서 측정하여 처리한 물질의 ROS 소거능을 평가하는 것이다. 생육시기별 지치 추출물의 ROS 소거능을 분석한 결과 (Fig. 5), 지치는 양성대조물질로 사용한 trolox (IC_{50}: 7.83 ± 0.54 ㎍/mL) 보다 전 시기에 걸쳐 ROS 소거능이 우수한 것으로 나타났다. 특히, 10월 초 지치시료가 ROS 50% 저해농도인 IC_{50}값이 0.11 ㎍/mL로서 가장 우수한 항산화능을 나타내었다. 그 다음으로는 10월 말 지치 시료가 IC_{50}값이 0.16 ㎍/mL로서 항산화능이 우수하였으며 9월 초와 9월 말에는 IC_{50}값이 각각 1.02, 0.49 ㎍/mL로서 항산화능이 가장 약하게 나타났다. 이러한 결과는 9월에 생육상태이 불량해지고 주요 색소성분인 acetylshikonin이 적게 검출되는 현상과 관련이 있을 것으로 판단되었다. 지치의 색소성분이 항산화 활성의 주요 활성 성분으로 작용하기 때문에

(Han *et al.*, 2008) 색소성분 함량이 적은 시기에 항산화능도 약간 감소하는 것으로 해석되었다. 지치는 acetylshikonin과 shikonin 이외에도 isobutyryl-shikonin, β,β-dimethy-acrylshikonin 등 다양한 항산화 shikonin 유도체들이 함유되어 있는 것으로 알려져 있다 (Han *et al.*, 2008; Hisamichi and Yoshizaki, 1982). Ordoudi 등 (2011)의 alkannin/shikonin 유도체의 구조-활성산소 소거능 상관관계에 관한 연구결과에 의하면, C-1'에 위치한 side chain의 –OH기가 alkannin/shikonin의 소거능의 주요기능을 담당하고 따라서 shikonin이 deoxyshikonin보다 더 항산화 효과가 좋은 것이라고 보고 하였다. 또한, acetyl-, isovaleryl-, β,β-dimethylacryl-shikonin의 항산화 활성을 위해서는 그 수산기의 esterification이 매우 중요하다고 하였다. 본 연구결과에서, acetylshikonin 단일성분의 ROS 소거능 (IC_{50}, 0.68 μg/mL)이 오히려 지치 혼합 추출물 분획보다 항산화능이 떨어지는 것은 항산화능이 우수한 shikonin 계열의 여러 유도체 화합물들이 함께 작용함으로써 ROS를 소거하고 항산화 활성을 더 많이 증진시키는 시너지 효과를 나타내거나 또는 혼합 추출물 상태가 지치 항산화 물질들의 안정성에 더 긍정적으로 작용하기 때문인 것으로 판단되었다.

인체에서 ascorbic acid, α-tocopherol 등 항산화 물질과 superoxide dismutase (SOD)를 비롯한 catalase, glutathione peroxidase 등과 같은 항산화 효소가 세포손상을 방어하도록 항산화 시스템이 구축되어 있다. 이러한 항산화 시스템에 문제가 생겨 세포 내 활성산소 (ROS) 농도가 높아지면 이들은 double bond를 가진 lipid를 공격하여 지질과산화를 유발하기도 하며, 핵 내로 들어가 DNA를 손상시키거나 단백질을 손상시킴으로써 세포막 구조의 변화와 변이를 초래해 종국에는 necrosis에 의한 신경세포 괴사 및 endonuclease 작용에 의한 apoptosis를 일으켜 세포를 사멸시킨다. 활성산소종의 높은 반응성으로 인해 단백질, 세포막지질 등이 산화, 변성되면서 노화와 관련된 인체의 여러 질병들이 발생될 수 있는 것으로 보고되고 있다 (Biesalski, 2002; Yu, 1996). 세포 내 활성산소 (ROS)를 소거하고 항산화 효과를 기대할 수 있는 천연물질로는 비타민 C, E 등을 비롯해 플라보노이드 성분들이 일반적으로 많이 알려져 있으며, 녹황색 채소, 과일, 견과류, 녹차 등도 항산화 식품으로 많이 알려져 있다. 약초에서도 복분자 추출물은 항산화 활성이 높아 (Jeong *et al.*, 2009; Lee and Do, 2000) 건강기능식품의 기능성 원료로도 인정되어 있다. Kang 등 (2003)은 100종의 한국 약용식물 추출물에 대해 ROS 소거능을 검색하여 참당귀, 결명자, 배암차즈기, 죽자초 등이 항산화 효능이 높음을 보고한 바 있으며 그 외에도 항산화 효과를 나타내는 약초로서 울금 (Oh *et al.*, 2010a), 도라지 (Jang *et al.*, 2011), 천궁 (Oh *et al.*, 2010b)등이 보고되기도 하였다. 특히, 참당귀, 도라지 및 지치는 특히 식품공전에 수록된 식품의 원료로서 안전성이 높은 항산화 식품 원료라고 할 수 있기 때문에 향후 건강기능식품의 기능성 원료로서 개발가치가 높다고 하겠다.

지치는 다양한 생리활성을 바탕으로 최근 건강기능식품 기능성 소재로서 새롭게 부각되고 있는데, 2009년에 지치추출분말은 "피부보습에 도움을 줄 수 있음"으로 식품의약품안전청으로부터 건강기능식품의 '개별인정형 기능성 원료'로서도 인정을 받은 바 있다. 그러나, 지치 항산화 지표물질에 대해 생육시기별 성분함량을 정량하고 생육시기별 지치의 ROS 소거능에 대해 평가한 결과와 더불어 재배지역별 지표성분의 변이를 조사한 이러한 결과들은 향후 지치를 건강기능식품의 기능성 원료로 개발할 때 적절한 수확시기에 대한 정보를 제공하고 지치를 산업화하기위한 기초자료로 활용가치가 높을 것으로 기대되어진다. 다만, 지치의 기능성 원료화를 위해서는 생육시기별 지치에 대한 항산화능에 대한 보다 상세한 기전연구나 기타 항염증 효능 등 지치의 다른 주요 활성에 대한 평가는 계속되어야 할 것이다.

감사의 글

본 논문은 농촌진흥청 원예특작시험사업 (PJ006948)의 지원에 의해 수행된 연구결과의 일부로서 이에 감사드립니다.

LITERATURE CITED

Ahn YH, Jin YH, Choe CY, Lee MK and Lee S. (2009). Ecological characteristics of *Lithospermum erythrorhizon* population in habitats. Korean Journal of Pharmacognosy. 40:289-297.

Beckman JS, Beckman TW, Chen J, Marshall PA and Freeman BA. (1990). Apparent hydroxyl radical production by peroxynitrite: implications for endothelial injury from nitric oxide and superoxide. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America. 87:1620-1624.

Biesalski HK. (2002). Free radical theory of aging. Current Opinion in Clinical Nutrition and Metabolic Care. 5:5-10.

Chang YS, Kuo SC, Weng SH, Jan SC, Ko FN and Teng CM. (1993). Inhibition of platelet aggregation by shikonin derivatives isolated from *Arnebia euchromoma*. Planta Medica. 59:401-404.

Han J, Weng X and Bi K. (2008). Antioxidants from a Chinese medicinal herb-*Lithospermum erythrorhizon*. Food Chemistry. 106:2-10.

Hisamichi SJ and Yoshizaki F. (1982). Structures of new minor pigments and isolation of two isomers of shikonin derivatives from *Lithospermum erythrorhizon* Sieb. et Zucc. Shoyakugaku Zasshi, 36:1541-1559.

Hwang SY, Hwang BY, Kang SS, Kim CM, Park JH, Bae KH, Son KH, Lee SH, Chang SY, Kan SJ, Ro JS and Lee KS. (2000). Isolation and quantitative analysis of acetylshikonin from Lithospermi Radix. Korean Journal of Pharmacognosy. 31:295-299.

Jang JR, Hwan SY and Lim SY. (2011). Inhibitory effect of extracts of *Platycodon grandiflorum* (the ballon flower) on oxidation and nitric oxide production. Korean Journal of Food Preservation. 18:65-71.

Jeong HS, Han JG, Ha JH, Kim Y, Oh SH, Kim SS, Jeong MH, Choi GP, Park UY and Lee HY. (2009). Antioxidant activities and skin-whitening effects of nano-encapsuled water extract from *Rubus coreanus* Miquel. Korean Journal of Medicinal Crop Science. 17:83-89.

Kang HS, Chung HY, Son KH, Kang SS and Choi JS. (2003). Scavenging effect of Korean medicinal plants on the peroxynitrite and total ROS. Natural Product Sciences. 9:73-79.

Kim GS, Jeong TS, Kwon BM, Kim YO, Cha SW, Song KS and Baek NI. (2009). Inhibitory effect of acetylshikonin from *Lithospermum erythrorhizon* on LDL oxidation and FPTase activity. Journal of Applied Biological Chemistry. 52:221-225.

Lebel CP, Ischiropoulos H and Bondy SC. (1992). Evaluation of the probe 2',7'-dichlorofluorescin as an indicator of reactive oxygen species formation and oxidative stress. Chemical Research in Toxicology. 5:227-231.

Lee BH, Baik DS, Yun SU, Shin JM, Kim JH, Yun SY, Kim BH, Kim SB, Shin JE and Song IH. (2007). Peripheral nitric oxide activity in patients with liver cirrhosis. The Korean Journal of Medicine. 73:251-257.

Lee HJ, Lee HJ, Magesh V, Nam DW, Lee EO, Ahn KS, Jung MH, Ahn KS, Kim DK, Kim JY and Kim SH. (2008) Shikonin, acetylshikonin, and isobutyroylshikonin inhibit VEGF-induced angiogenesis and suppress tumor growth in Lewis lung carcinoma-bearing mice. Yakugaku Zasshi. 128:1681-1688.

Lee JW and Do JH. (2000). Determination of total phenolic compounds from the fruit of *Rubus coreanum* and antioxidative activity. Journal of the Korean Society of Food Science and Nutrition. 29:943.

Lee KS, Ahn DK, Shin MK and Kim CM. (1998). The encyclopedia of oriental herbal medicine. Jungdam Pubishing Co. Seoul, Korea. p. 4657-4663.

Tiana L, Wang Z, Wu H, Wang S, Wang Y, Wang Y, Xu J, Wang L, Qi F, Fang M, Yu D and Fang X. (2011). Evaluation of the anti-neuraminidase activity of the traditional Chinese medicines and determination of the anti-influenza a virus effects of the neuraminidase inhibitory TCMs in vitro and in vivo. Journal of Ethnopharmacology. 137:534-542.

Oh HI, Park HB, Ju MS, Jung SY and Oh MS. (2010a). Comparative study of anti-oxidant and anti-inflammatory activities between Curcumae longae radix and Curcumae longae rhizoma. Korean Journal of Herbology. 25:83-91.

Oh YJ, Seo HR, YM Choi and DS Jung. (2010b). Evaluation of antioxidant activity of the extracts from the aerial parts of *Cnidium officinale* Makino. Korean Journal of Medicinal Crop Science. 18:373-378.

Ordoudi SA, Tsermentseli SK, Nenadis N, Assimopoulou AN, Tsimidou MZ and Papageorgiou VP. (2011). Structure-radical scavenging activity relationship of alkannin/shikonin derivatives. Food Chemistry. 124:171-176.

Park JY, Lee SL, Han S, Kim HM, Lee JM, Ahn YH, Lee SY and Lee SH. (2009a). Phytochemical constituents from the seeds of *Lithospermum erythrorhizon.* Natural Product Sciences. 15:181-184.

Park JY, Lee SL, Han S, Kim HM, Lee JM and Lee SH. (2009b). A paraben derivative from the seeds of *Lithospermum erythrorhizon.* Journal of Korean Society Applied Biological Chemistry. 52:643-645.

Sekine T, Masumizu T, Maitani Y and Nagai T. (1998). Evaluation of superoxide anion radical scavenging activity of shikonin by electron spin resonance. International Journal of Pharmaceutics. 174:133-139.

Staniforth V, Wang SY, Shyur LF and Yang NS. (2004). Shikonins, phytocompounds from *Lithospermum erythrorhizon*, inhibit the transcriptional activation of human TNF-α promoter *in vivo*. The Journal of Biological Chemistry. 279:5877-5885.

Tabata M, Tsukada M and Fukui H. (1982). Antimicrobial activity of quinone derivatives from *Echiumlycopsis* callus cultures. Planta Medica. 44:234-236.

Tanaka S, Tajima M, Tsukada M and Tabata M. (1986). A comparative study on anti-inflammatory activities of the enantiomers, shikonin and alkannin. Journal of Natural Products. 49:466-469.

Weng XC, Xiang GQ, Jiang AL, Liu YP, Wu LL, Dong XW and Duan S. (2000). Antioxidant properties of components extracted from puccoon (*Lithospermum erythrorhizon* Sieb. et Zucc.). Food Chemistry. 69:143-146.

Yu BP. (1996). Aging and oxidative stress: modulation by dietary restriction. Free Radical Biology & Medicine. 21:651-668.

Zhang J, Dawson VL, Dwaon TM and Snyder SH. (1994). Nitric oxide activation of poly(ADP-ribose) synthetase in neurotoxicity. Science. 263:687-689.