

창이자의 항산화 활성 및 항균효과

신선우, 이정호¹, 방극수^{2*}

원광대학교 한의학전문대학원 한약자원개발학과, ¹송호대학교 동의건강복지과, ²전북대학교 환경생명자원대학 한약자원학과

Antioxidant and Antimicrobial Activities of *Xanthium sibiricum*

Sun Woo Shin, Jeong Ho Lee¹ and Bang Keuk Soo^{2*}

Department of Herbal Resources, Professional Graduate School of Oriental Medicine,
Wonkwang University, Iksan 570-749, Korea

¹Department of Natural Health Management, Songho College, Hoengseong 225-801, Korea

²Department of Chinese Medicine Resource, Chonbuk National University, Iksan 570-752, Korea

Abstract - *Xanthium sibiricum* using extracts antioxidant activity and antimicrobial activity were analyzed and the following results were obtained. Antioxidant activity using DPPH as a VLC column fractionation experiments XS-5 (water fraction of *Xanthium sibiricum*) concentration in the 500 $\mu\text{g}/\text{ml}$ to 87.53 percent in the highest antioxidant activity was found, VLC fractionation in XS-3-2 (eluted with chloroform/methanol 7~10%) concentration of 500 $\mu\text{g}/\text{ml}$, showed the antioxidant activity of 78.72%. The antioxidant activity measured by PCL XS-1 (*n*-hexane fraction of *Xanthium sibiricum*) XS-5 (water fraction of *Xanthium sibiricum*) and 13.32 nmol open column XS-3-2 (eluted with chloroform/methanol 7~10%) showed antioxidant activity with 14.34 nmol. The antimicrobial activity against *Candida albicans* XS-2 (methlene chloride fraction of *Xanthium sibiricum*) is the concentration of 500 $\mu\text{g}/\text{disc}$ 1 mm of the clean zone was formed. XS-3 (ethanol fraction of *Xanthium sibiricum*) in the antioxidant activity using DPPH and PCL had higher antibacterial activity was low.

Key words - Antioxidant activity, *Xanthium sibiricum*, DPPH, Photochemiluminescence, *Candida albicans*

서 언

인체에 질병을 일으키는 여러 가지 원인 중 활성산소에 의하여 발생한 질병은 활성산소를 억제시켜 질병을 치료하거나 예방한다. 일반적으로 활성산소를 억제시키는 항산화제는 superoxide dismutase, catalase, glutathione reductase 등의 효소계열의 항산화제와 phenol성 화합물, flavone 유도체, ascorbic acid, carotenoids, glutathione 등의 천연 항산화제, butylated hydroxyanisole(BHA)와 butylated hydroxytoluene(BHT), PG(propyl gallate) 등의 합성 항산화제가 널리 알려져 있다(Shin et al., 2008). 합성항산화제인 BHA와 BHT는 항산화력은 강하지만 열에 대한 안정성이 낮고 병이원성과 독성이 있으며, 천연항산화제인 tocopherol은 식물성유지에 사용했을 때 항산화력이 감소되는 단점이 있다(Lee et al., 2007; Choi et al., 2008;

Park, 2008). 자연계에 존재하는 식물은 자외선과 자연 산화로부터 자신을 보호하기 위하여 polyphenol계의 항산화물을 함유하고 있으며, flavonoid류는 산화, 알러지, 암에 대한 활성이 있다(Wang et al., 1996; Van der Sluis et al., 1997; Kim et al., 2003). 천연식물은 인체에 부작용이 없어 천연식물을 이용한 항산화에 대한 연구가 활발하게 진행되고 있다(Kwon et al., 2008; Han et al., 2007; Song et al., 2007).

자연계에서 존재하는 진균류 중 *candida albicans*는 효모균 중 약 85~90%의 감염을 일으키고 인체에 면역력이 저하되면 기회성 감염으로 발생하기도 한다(Kim et al., 2007; Chun et al., 2004). *Candida albicans*는 정상조직 피부에 약 20%정도 존재하며, 여성은 질내벽을 감염시키는 경우가 대다수이며, 질염 중 약 20~25% 정도 발현한다(Kang et al., 2003).

창이자는 국화과에 속하는 1년생 초본식물인 도꼬마리 (*Xanthium sibiricum*)의 열매로 우리나라와 일본, 만주,

*교신저자(E-mail) : ksbang@chonbuk.ac.kr

중국, 대만, 필리핀 등의 아시아와 유럽, 북아메리카에서 분포되어 있다. 창이자의 약리작용은 종양, 두통, 치통, 사지 경련, 피부소양, 비염, 해열, 비염, 류마티스성 관절염, 진통, 궤양성 피부병, 습진, 신경통, 이질균, 황색 포도상구균 등에 효과가 있으며, xanthanol, isoxanthanol, tomentosin, xanthatin, xanthumanol, xanthumin, thiazinedione, xanthiozone, caffeic acid, β -sitosterol, xantostrumarin, isoxanthol, cholin, daucosterol, campesterol, tomentosterol 등의 성분이 함유되어 있다(Kim et al., 2003). 본 연구에서는 창이자 메탄올 추출물과 메탄올 추출물을 분획한 분획물을 이용하여 항산화 활성과 항균활성을 측정하여 창이자의 약리활성을 검토하였다.

재료 및 방법

실험재료

창이자는 대전시 동구 중동에 소재한 약재상에서 구입하여 외부형태를 검정한 후 실험에 사용하였다. 창이자 500 g을 분쇄시켜 메탄올(2.5 L)에 넣고 상온에서 일주일 동안 침지시켜 3회 반복 추출하여 얻은 추출물을 Whatman No. 2 여과지로 간암농축 시켜 24.64 g(4.93%)을 얻었다. 창이자 메탄올 추출물 20.0 g을 실리카겔(kieselgel 60, 230~400 mesh, Aldrich Co.,) 20 g으로 coating 시켰다. Coating

된 메탄올 추출물을 실리카겔 500 g 충진 된 glass column (90 × 600 mm)으로 *n*-hexane, methylene chloride, ethanol, acetonitrile, distilled water를 이용하여 VLC column chromatography법으로 1차 분획하여 XS-1, 7.54 g(37.7%), XS-2, 2.58 g(12.9%), XS-3, 2.66 g(13.3%), XS-4, 2.53 g(12.7%), XS-5, 3.97 g(19.9%)를 얻었다. VLC column 으로 분리한 XS-3(2.00 mg)을 실리카겔(200.0 g)이 충진된 glass column(40 × 700 mm)에 chloroform과 methanol을 이용하여 open column chromatography법으로 2차 분획하여 XS-3-1, 35.00 mg(1.75%), XS-3-2, 43.32 mg(47.17%), XS-3-3, 123.38 mg(6.1%), XS-3-4, 143.29 mg(7.16%), XS-3-5, 639.93 mg(32.00%), XS-3-6, 114.21 mg(5.71%)을 얻었다(Plate 1, Table 1). 창이자 추출 및 VLC column (Vaccum Liquid Chromatography)과 open column에 사용된 시약은 Dae Jung(Korea)사의 GR급 시약을 사용하였으며, TLC(Thin Layer Chromatography)는 silica gel plate(0.25 mm, polygram sil N-HR/UV254, E. Merck), silica gel (kieselgel 60, 230~400 mesh) Aldrich Co.,를 사용하였다.

항산화 측정

1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl(DPPH)와 ascobic acid는 Sigma Chemical Co.,(St. Louis, MO, USA), UV-Spectrophotometer(Analytik Jena SPECORD 200,

<i>Xanthium sibiricum</i>					
Solvent	n-hexane	methlene chloride	ethanol	acetonitrile	water
Code	XS-1	XS-2	XS-3	XS-4	XS-5
	<div style="border: 1px solid black; padding: 5px; margin-bottom: 10px;"> extracted with solvent evaporated in vaccum coated with silica gel chloromatographed(VLC column) on silica gel extracted with MeOH </div> <div style="border: 1px solid black; padding: 5px; margin-bottom: 10px;"> coated with silica gel chloromatographed(open column) on silica gel eluted with chloroform/methanol </div>				
Solvent	0~7%	7~10%	15~40%	40~80%	80~100%
Code	XS-3-1	XS-3-2	XS-3-3	XS-3-4	XS-3-5
	100%				
	XS-3-6				

Plate 1. Extraction and fractions of *Xanthium sibiricum*.

Table 1. Extraction and fraction yield of *Xanthium sibiricum*

Extraction and Fraction		Solvent	Yield (%)	Code
VLC column	Extraction	Methanol	24.64 g (4.93%)	
		n-Hexane	7.54 g (37.7%)	XS-1
		Methylene chloride	2.58 g (12.9%)	XS-2
		Ethanol	2.66 g (13.3%)	XS-3
		Acetonitrile	2.53 g (12.7%)	XS-4
		Water	3.97 g (19.9%)	XS-5
Fraction		0-7%	35.00 mg (1.75%)	XS-3-1
		7-10%	43.32 mg (47.17%)	XS-3-2
Open column	Chloroform / Methanol	15-40%	123.38 mg (6.17%)	XS-3-3
		40-80%	143.29 mg (7.16%)	XS-3-4
		80-100%	639.93 mg (32.0%)	XS-3-5
		100%	114.21 mg (5.71%)	XS-3-6

Germany)을 사용하였으며, Brand-Williams(Williams *et al.*, 2005)의 방법을 변형하여 자유 라디칼인 DPPH에 대한 전자공여효과로 나타나는 시료의 환원력을 측정하였다. 유리시험관에 메탄올과 증류수를 이용하여 1 mg/ml의 농도로 조제한 후 희석하여 사용하였다. 측정시료의 농도는 0.5~100 µg/ml와 0.3 mM DPPH 용액을 첨가하여 30분 동안 반응시켜, UV-spectrophotometer를 이용하여 517 nm에서 흡광도를 측정하였다. 전자공여능은 시료를 첨가하지 않은 대조군의 흡광도를 50% 감소시키는데 필요한 시료의 양을 IC₅₀(50% inhibition concentration)으로 나타내었다(Lee *et al.*, 2011; Kim *et al.*, 2008).

DPPH radical scavenging activity(%)

$$= [1 - (\frac{A_{control}}{A_{sample}})] \times 100$$

A_{sample}은 시료와 반응한 30분 후의 흡광도이며, A_{control}은 대조군의 흡광도이다. 창이자의 항산화 활성을 ascorbic acid와 비교하였다(Qin *et al.*, 2006).

Photochemiluminescence(PCL) 측정

Popov and Lewin(Popov and Lewin, 1999)의 방법으로 항산화분석기를 이용하여 항산화 활성을 측정하였다. Photochem(Alytik Jena AG, Jena Germany)와 PCL

분석은 지용성 kit(antioxidative capacity of the lipid soluble compounds), ACL(Alytik Jena AG, Jena Germany)를 사용하였다. 항산화 활성 측정 방법은 Regent 1(buffer solution), Regent 2(methanol), 500 µl Regent 3(phosphoenstizer)과 10 µl 시료를 혼합하여 측정하였다. 항산화력은 log phase의 평균값에 의해서 분석하였으며, calibration curve를 만들기 위한 표준물질은 trolox(nmol/g)를 사용하였다.

항균활성 측정

Candida albicans 17485 KCTC균주는 한국 세포주 은행에서 분양을 받아 사용하였으며, agar powder는 Samchum chemical Co.,(Korea), PDB(potato dextrose broth)는 Becton Dickinson Co.,(USA), paper disc는 Advantec (Japan)를 사용하였다. Plate \odot 10⁷ CFU/ml 농도로 *candida albicans* 균주를 분주시킨 후, 시료가 점적된 filter paper disk(6.25 mm)를 이용하여 항균활성을 측정하였다. 시료의 농도는 500 µg/20 µl, 250 µg/20 µl, 100 µg/20 µl, 50 µg/20 µl로 점적 시켰으며, 점적된 filter paper disk는 실온에서 24시간 동안 용매를 휘발시켰다. *Candida albicans*가 접종된 고체배지에 시료가 점적된 filter paper disk를 올려놓은 후, 30°C에서 48시간 배양시켜 filter paper disk 주위에 선명지대(clear zone)의 생성 유무와 선명지대의 크기(mm)로 항균력을 측정하였다(Lee *et al.*, 2009).

통계분석

실험결과는 평균값과 표준편차(mean \pm SD)로 표시하였고, 각 실험군 간의 통계학적 분석은 SPSS 12.0(SPSS Inc, Chicago IL, USA)을 사용하였다. 각 군 간의 측정치 비교는 one-way analysis of variance를 시행하였으며, 유의성은 신뢰구간 $p < 0.05$ 에서 의미를 부여하였다(Song *et al.*, 2008).

결과 및 고찰

DPPH radical-scavenging 활성측정

창이자 메탄올 추출물과 분획물의 DPPH 전자공여능을 측정하기 대조시약인 ascorbic acid($IC_{50} = 82.32 \pm 5.62 \mu\text{g}/\text{ml}$)와 비교하였다. 창이자 메탄올 추출물의 처리농도가 증가함에 따라 항산화 활성이 증가하였으며, IC_{50} 은 $521.21 \pm 7.15 \mu\text{g}/\text{ml}$ 로 나타났다. VLC column으로 1차 분획한 XS-3의 IC_{50} 은 $158.59 \pm 8.34 \mu\text{g}/\text{ml}$ 으로 가장 강한 활성이 나타났으며, XS-4는 $249.04 \pm 5.3 \mu\text{g}/\text{ml}$, XS-5는 $255.49 \pm 7.3 \mu\text{g}/\text{ml}$, XS-1는 $836.81 \pm 8.2 \mu\text{g}/\text{ml}$, XS-2는 $949.86 \pm 9.4 \mu\text{g}/\text{ml}$ 순으로 항산화 활성이 나타났다. 가장 우수한 항산화 활성이 나타난 XS-3을 chloroform과 methanol을 이용하여 open column으로 분리하였다. Open column으로 분리한 분획물의 XS-3-2에서 $207.36 \pm 8.4 \mu\text{g}/\text{ml}$ 에 가장 우수한 항산화 활성이 나타났으며, XS-3-3

에서 $248.79 \pm 7.25 \mu\text{g}/\text{ml}$, XS-3-1에서 $262.63 \pm 5.34 \mu\text{g}/\text{ml}$, XS-3-4에서 $326.12 \pm 7.45 \mu\text{g}/\text{ml}$ 순으로 항산화 활성이 나타났다. VLC column으로 분획물 XS-2와 XS-4 분획물($p < 0.05$)에서 통계적 유의성이 나타났다. 항산화 대조 시약으로 사용한 ascorbic acid 보다 낮은 항산화력이 나타났지만 창이자 추출물은 항산화 활성이 있는 것으로 판단된다.

Photochemiluminescence(PCL)에 의한 항산화측정

PCL(Photochemiluminescence)를 이용한 항산화 활성 측정은 radical을 발생시키기 위하여 높은 온도가 필요하지 않으며, 측정이 용이하고 실험결과가 비교적 정확하고, 짧은 시간에 nanomolar 범위까지 측정할 수 있는 장점을 가지고 있다. PCL를 이용한 ACL측정은 $10 \mu\text{g}$ 에 들어있는 항산화 활성 농도를 nmol농도로 나타나는 방법으로 적은 시료의 값으로 효과적으로 항산화 활성 농도를 측정하는 방법이다. 자용성 성분의 활성의 측정은 trolox equivalents로 표현되며, 항산화 활성을 측정하기 위하여 trolox를 이용하여 검량을 실시한 후($r = 0.9926$) 측정하였다. 창이자 메탄올 추출물의 $10 \mu\text{g}$ 에 함유되어 있는 항산화 활성은 11.73 nmol 로 나타났다. VLC column으로 분획한 XS-1에서 $13.32 \pm 1.05 \text{ nmol}$, XS-5에서 $11.45 \pm 1.04 \text{ nmol}$, XS-4에서 $8.87 \pm 0.52 \text{ nmol}$, XS-3에서 $7.42 \pm 0.83 \text{ nmol}$, XS-2에서 $4.74 \pm 0.30 \text{ nmol}$ 의 순으로 항산화 활성이 나타났다. Open column으로 2차 분리한 XS-3-2에서 $14.34 \pm$

Table 2. DPPH radical scavenging activities of *Xanthium sibiricum*

Extract and Fraction		IC_{50} ($\mu\text{g}/\text{ml}$)
Extract	Methanol	521.21 ± 7.15
	XS-1	836.81 ± 8.20
	XS-2	$949.86 \pm 9.43^*$
	XS-3	158.59 ± 8.34
	XS-4	$249.04 \pm 5.39^*$
	XS-5	255.49 ± 7.39
Fraction 1 (VLC column)	XS-3-1	262.63 ± 5.34
	XS-3-2	207.36 ± 8.49
	XS-3-3	248.79 ± 7.25
	XS-3-4	326.12 ± 7.45
	XS-3-5	426.63 ± 9.45
	XS-3-6	457.43 ± 7.50
Standard	Ascorbic acid	82.32 ± 5.65

IC_{50} : concentration of each samples for inhibition 50% of radical. Values are mean \pm SD ($n = 3$) with out relative activity. *Different superscript letters in the same line show significant differences at $*p < 0.05$ by one-way ANOVA.

1.06 nmol, XS-3-6에서 12.57 ± 1.28 nmol, XS-3-1에서 9.94 ± 0.64 nmol, XS-3-3에서 8.86 ± 0.58 nmol 순으로 항산화 활성이 나타났으며, XS-3-2에서는 가장 낮은 활성을 보인 XS-3-5의 4.13 ± 0.35 nmol 보다 약 3 배의 항산화 활성이 나타났다(Table 3).

항균활성 측정

창이자 메탄올 추출물과 column chromatography로 분리한 분획물을 이용하여 *candida albicans*에 대한 항균

Table 3. Antioxidant activity of *Xanthium sibiricum* by Photochemiluminescence method

Extract and Fraction		ACL (nmol of trolox/ml)
Extract	Methanol extract	11.73 ± 1.22
Fraction 1 (VLC column)	XS-1	13.32 ± 1.05
	XS-2	4.74 ± 0.30
	XS-3	7.42 ± 0.83
	XS-4	8.87 ± 0.52
	XS-5	11.45 ± 1.04
Fraction 2 (Open column)	XS-3-1	9.94 ± 0.64
	XS-3-2	14.34 ± 1.06
	XS-3-3	8.86 ± 0.58
	XS-3-4	6.28 ± 0.37
	XS-3-5	4.13 ± 0.35
	XS-3-6	12.57 ± 1.28

ACL: Antioxidant activity of liquid soluble substance.

활성을 측정하였다. 시료의 처리농도는 0, 50, 100, 250, 500 µg/disc로 측정하였다. 메탄올 추출물의 처리농도가 500 µg/disc에서 0.3 mm의 clean zone이 나타났다. VLC로 분리한 XS-2와 XS-5의 500 µg/disc에서 각각 1mm와 0.5 mm의 clean zone이 형성되었다. Open column으로 분리한 분획물의 XS-3-2의 500 µg/disc에서 1mm, 250 µg/disc에서 0.5 mm, 100 µg/disc에서 0.3 mm, XS-3-3의 500 µg/disc에서 1 mm, 250 µg/disc에서 0.5 mm, 100 µg/disc와 50 µg/disc에서 0.3 mm의 항균활성이 나타났다(Table 4). DPPH법에서 측정된 항산화력은 XS-3, XS-3-2이 가장 높게 나타났으며, PCL로 측정된 항산화력은 XS-1, XS-3-2에서 가장 높은 항산화력이 나타났지만 *candida albicans*의 항균활성의 경우 XS-2, XS-3-3에서 가장 높은 항균력이 측정된 결과는 항균활성과 항산화 활성간의 효과에 대한 상관관계는 없는 것으로 판단된다(Table 4).

인체의 free radical은 생체내에서 유해한 활성산소종 (reactive oxygen species, ROS)을 생성시키며, DNA 분절과 단백질의 불활성화 및 세포 생체막의 불포화지방산을 공격하여 과산화 반응을 일으켜 생체기능을 저하시키며, 산화시켜서 노화를 유발하고 류마티스성 관절염, 당뇨병, 심장병, 동맥경화, 암 등과 같은 질환을 일으키게 된다. 활성산소종은 피부의 항산화제 파괴, 지질 과산화 반응의 개시, 단백질의 산화, DNA의 산화, 콜라겐, 히아루론산 등의 사슬을 절단하고 비정상적인 교차결합을 생성하여 주름생성, 멜라닌 저해 등을 일으켜 피부의 노화를 촉진시킨다. 따라서

Table 4. Antimicrobial activity of *Xanthium sibiricum* methanol extract on *Candida albicans*

Extract and Fraction		Concentration (µg/disc)				
Extract	Methanol extract	0	500	250	100	50
Fraction 1 (VLC column)	XS-1	-	+	-	-	-
	XS-2	-	+++	+	-	-
	XS-3	-	-	-	-	-
	XS-4	-	-	-	-	-
	XS-5	-	++	-	-	-
Fraction 2 (Open column)	XS-3-1	-	-	-	-	-
	XS-3-2	-	+++	++	+	-
	XS-3-3	-	+++	++	+	+
	XS-3-4	-	-	-	-	-
	XS-3-5	-	-	-	-	-
	XS-3-6	-	-	-	-	-

- : no inhibition zone, + : < 0.3 mm, ++ : < 0.5 mm, +++ : < 1 mm in diameter.

생체내 항산화 방어시스템을 활성화시키거나 활성산소를 조절할 수 있다면 생체의 노화를 억제할 수 있을 것이다. 현재 사용되고 있는 합성 항산화제는 BHA, BHT 등과 천연 항산화제인 tocopherol 등은 경제성과 안정성, 활성효과가 우수하여 많이 사용되고 있으나 다량섭취하게 하면 간, 신장, 순환계 등에 악영향을 일으키게 된다(Kwon *et al.*, 2008).

한약재 중 갈근, 갈화, 참취잎, 쑥갓잎, 머위잎 등이 항산화 활성이 있는 것으로 보고 되어 있다(Cho *et al.*, 2001). DPPH를 이용한 항산화 측정은 폐놀의 함량에 비례하여 항산화력을 측정한 흡광도이고 PCL(Photochemiluminescence)은 10 µg에 들어있는 항산화력을 trolox와 비교하여 측정한 값으로 DPPH 항산화력 결과와 PCL 실험 결과가 일치하지 않을 수도 있는데 이러한 결과는 DPPH측정과 PCL측정 항산화력을 측정하는 물질이 다르기 때문으로 판단된다.

정상 인체에 존재하는 *candida albicans*는 인체에 존재하는 면역체계와 균에 대한 방어작용에 의하여 균의 증식과 활동이 억제되지만 인체의 면역력과 균에 대한 증식 억제력이 저하되면 균이 증식하여 질병을 유발하게 된다. 여성 질염 중 *candida albicans*는 임신, 당뇨, 항암치료, 스테로이드, 항생제 등의 복용으로 인하여 발생하는 것으로 추정된다. 한약재를 이용한 *candida albicans*에 대한 항균 활성은 산초나무, 굴나무, 황련 등이 보고되었다(Kim *et al.*, 1997; Kim *et al.*, 2006). Nishibe 등의 연구결과에서 자몽 종자를 이용한 *candida albicans*에 대한 항균활성은 40 µl/disk의 농도에서 9.0 mm clean zone 형성되었다고 보고된 것과 같이 본 실험에서 측정된 항균활성 측정 결과와 유사성이 있는 것으로 판단되지만 창이자 추출물의 항균활성은 자몽 종자보다 낮은 것으로 나타났다(Nishibe *et al.*, 1982; Lee *et al.*, 2004).

적 요

창이자 추출물을 이용하여 항산화활성 및 항균활성을 측정한 결과 다음과 같은 결론을 얻었다. DPPH를 이용한 항산화 활성 실험결과 VLC column로 분획한 XS-5에서 처리 농도 500 µg/ml에서의 87.53%로 가장 우수한 항산화 활성이 나타났으며, VLC로 분획한 XS-3-2의 처리농도 500 µg /ml에서 78.72%의 항산화 활성이 나타났다. PCL법으로 측정한 항산화 활성은 XS-1에서 13.32 nmol과 open column XS-3-2에서 14.34 nmol으로 항산화력을 나타났다. *Candida*

*albicans*에 대한 항균활성은 XS-2의 처리농도가 500 µg /disc에서는 1 mm의 clean zone이 형성되었다. XS-3에서 DPPH와 PCL를 이용한 항산화 활성은 높았지만 항균활성은 낮게 나타났다. 창이자 추출물은 항산화 활성과 항균 활성은 상호 상관관계가 없는 것으로 판단된다.

인용문헌

- Cho, S.Y., Y.B. Han and K.H. Shin. 2001. Screening for antioxidant activity of edible plant. J. Korean Soc. Food Sci. Nutr. 30:133-137 (in Korean).
- Choi, N.Y., J.W. Lee and H.S. Shin. 2008. Antioxidant activity and nitrite scavenging ability of olive leaf (*Olea europaea* L.) fractions. Korean J. Food. Sci. Technol, 40:257-264 (in Korean).
- Chun, S.C., S.Y. Jee and S.K. Lee. 2004. The antimicrobial activity of *Naesohwangryuntang* and its composition oriental medicines. Korean J. Herbology 19:51-60 (in Korean).
- Han, J.H., J.H. Kim, S.G. Kim, S.H. Jung, D.H. Kim, G.E. Kim and W.K. Whang. 2007. Anti-oxidative compounds from the aerial parts of *Atractylodes macrocephala* koidzumi, Yakhak Hoeji. 51:88-95 (in Korean).
- Kang, D.G., C. Yun and H.S. Lee. 2003. Screening and comparison of antioxidant activity of solvent extracts of herbal medicines used in Korea J. Ethnopharmacol. 87: 231-236
- Kim, E.S., J.M. Lee, C.H. Lee, J.H. Cho, J.B. Jang and K.S. Lee. 2007. Antimicrobial effects of herbs for removing dampness and promoting urination against vaginal microbe. J. Oriental Gynecology 20:001-015 (in Korean).
- Kim, H.S., T.S. Yu, I.S. Lee, Y.W. Kim and S.H. Yeo. 2003. Screening of the antimicrobial and antitumor activity of *Xanthium strumarium* L. extract. Korean J. Biotechnol. Bioeng. 18:55-61 (in Korean).
- Kim, K.D., J.H. Min, J.E. Jo and M.K. Na. 2006. Studies on the antimicrobial effect of herbal extracts. J. Korean Soc. Cosmet. 23:75-83 (in Korean).
- Kim, S.I and Y.S. Han. 1997. Isolation and identification of antimicrobial compound from sancho (*Zanthoxylum Schinifolium*). Korean J. Soc. Food Sci. 13:56-63 (in Korean).
- Kim, Y.J., I.S. Jung, H.J. Song, E.Y Choi, I.S. Choi and Y.J. Choi. 2008. Study of deep ground sea-like water on anti-oxidant activity and the immune response in RAW264.7 macrophages. J. Life. Sci. 329-335 (in Korean).

- Kwon, J.W., E.J. Lee, Y.C. Kim, H.S. Lee and T.O. Kwon. 2008. Screening of antioxidant activity from medicinal plant extracts. *Korean J. Pharmacogn.* 39:155-163 (in Korean).
- Lee, B.B., Y.M. Ha, S.H. Shin, K.M. Jea, S.R. Kim, J.S. Choi and I.S. Choi. 2009. Antimicrobial activity of test dentifrice product containing grapefruit seed extract and processed sulfur solution against oral pathogens. *J. Life. Sci.* 19:956-962 (in Korean).
- Lee, C.H., S.L. Shin, N.R. Kim and J.K. Hwang. 2011. Comparison of antioxidant effects of different Korean pear species. *Korean J. Plant Res.* 24: 253-259.
- Lee, Y.M., D.G. Kang, M.G. Kim, D.H. Choi and H.S. Lee. 2004. Isolation of antioxidants from the seeds of *Xanthium Strumarium*. *Korean J. Oriental Physiology & Pathology* 18:792-796 (in Korean).
- Lee, Y.M., H.D. Shin and J.J. Lee. 2007. Antioxidative effect of chaenomelis fructus ethanol extract. *Korean J. Food. Preserv.* 14:177-182 (in Korean).
- Nishibe, S., K. Okabe, H. Tsukamoto, A. Sakunshima, S. Hisada, H. Baba and T. Akisada. 1982. Studies on the chinese crude drug "Forsythiae Fructus" the structure and antibacterial activity of suspensaside isolated from *Forsythiasuspense*. *Chem. Pharm. Bull.* 39:4548-4553.
- Park, B.J. 2008. Isolation of main component and antioxidant activities on the stem and root of rosa rugosa. *Korean J. Plant Res.* 21:402-407 (in Korean).
- Popov, I. and G. Lewin. 1999. Antioxidative homeostasis characterization by means of chemiluminescent technique. *Methods Enzymol.* 300:437-456.
- Qin, L., T. Han, H. Li, Q. Zhang and H. Zheng. 2006. A new thiazinedione from *Xanthium strumarium*. *Fitoterapia* 77: 45-6.
- Shin, Y.S., J.E. Lee, I.K. Yeon, H.W. Do, J.D. Cheung, C.K. Kang, S.Y. Choi, S.J. Youn, J.G. Cho and D.J. Kwoen. 2008. Antioxidant and antimicrobial effect with water and ethanol of oriental melon (*Cucumismelo* L.vrmakuwaMakino). *J. Korean Soc. Appl. Biol. Chem.* 51:194-199 (in Korean).
- Song, H.S., H.J. Moon, B.E. Park, B.S. Choi and D.J. Lee. 2007. Antioxidant activity and whitening activity of bamboo extracts. *Yakhak Hoeji.* 51:500-507 (in Korean).
- Song, J.W., K.J. Min and C.G. Cha. 2008. Antioxidative and antitumor activity of extracts from *Saussurea lappa*. *J. Env. Heth. Sci.* 34:55-61 (in Korean).
- Van der Sluis, A., M. Dekker and W.M.F. Jongen. 1997. Flavonoid as bioactive components in apple products. *Cancer Lett.* 114:107-108.
- Wang, H., G. Gao and R.L. Prior. 1996. Total antioxidant capacity of fruits. *J. Agric. Food Chem.* 44: 701-705.
- Williams, B.W., B.S. Moon, Y.M. Park, N.H. Yoo, I. J. Ryoo, N.T. Chinh, I.D. Yoo and J.P. Kim. 2005. Structures and antioxidant activity of diketopiperazines isolated from the mushroom *Sarcodon aspratus*. *Korean Soc. Appl. Biol. Chem.* 48:93-97.

(Received 23 July 2010 ; Revised 23 November 2010 ; Accepted 4 June 2012)