

연구노트

Physiological properties of *Leonurus sibiricus* water extracts with different extraction condition

Ji-Hyung Seo^{1*}, Yong-Jin Jeong²

¹Division of Food, Beverage and Culinary Arts, Yeungnam College of Science and Technology, Daegu 705-703, Korea

²Department of Food Science and Technology, Keimyung University, Daegu 704-701, Korea

추출조건에 따른 익모초 물추출물의 생리활성 비교

서지형^{1*} · 정용진²

¹영남이공대학교 식품조리계열, ²계명대학교 식품가공학과

Abstract

To stabilize the basal extraction conditions of *Leonuri* herbal products, three kinds of *Leonurus sibiricus* water extracts were prepared with different extraction conditions (boiling extraction (I), high thermal process & boiling extraction (II), and wet grinding & boiling extraction (III)), and their physiological properties were investigated. The extraction yields of the *L. sibiricus* water extracts were from 13.02 to 15.90%, with no significant difference among them. The polyphenol contents were significantly high in extracts (II) and (III) than in extract (I). The IC₅₀ for the electron-donating ability was the smallest in extracts (II), (III) and (I) in ascending order. The ABTS radical scavenging ability was significantly higher in extracts (II) and (III) than in extract (I). Also, the ACE inhibition ability for 5 mg/mL of each extract was high in extracts (II) and (III), but there was no significant difference among the three extracts in terms of their nitrite scavenging abilities. Extraction processes (II) and (III) were shown to be useful for preparing *Leonurus sibiricus* water extracts with healthful properties.

Key words : *Leonurus sibiricus*, extraction condition, antioxidant capacity, ACE inhibition ability

서 론

익모초는 꿀풀과에 속하는 두해살이 식물로 맵고 쓴맛을 나타내며 함유성분으로 비타민 A, linolenic acid, oleic acid, rutin, leonurin 등이 알려져 있다(1,2). 일상생활에서 익모초는 부인병의 민간약재로 오랫동안 이용되어 왔으며 혈압강하(3,4), 고지혈증 억제(1), 간기능 회복(5), 이뇨(6), 항암(7) 등의 효능이 보고된 바 있다. 현재까지 익모초에 관한 연구는 유효성분의 구명이나 약리적 효능을 중심으로 진행되어 왔으며, 최근 익모초를 이용한 기능성 화장품에 대한 연구(8)가 시도되기도 하였다. 사회적 노령화 및 영양불균형으로 인한 각종 생활습관병의 발병 위험 증가 등을 고려할 때 익모초는 기능성 식품소재로 유용하게 활용될 것으로 생각된다.

익모초를 비롯한 약용식물은 대개 채취 후 건조상태로 유통되며 분쇄 후 환류냉각추출, 고온고압추출, 마이크로웨이브 추출 등의 방법으로 유효성분을 추출하여 이용된다(9). 환류냉각추출은 고가의 장비없이 간편하게 추출할 수 있으나 추출 소요시간이 긴 단점이 있고 추출시료의 상태, 용매 종류 등에 영향을 받는다. 고온고압추출의 경우 파우치 형태의 액상 제품 제조에 널리 이용되어 왔으며 최근에는 추출물의 항산화활성 증가에 관한 보고(10)가 있어 여러 식소재(11,12)를 대상으로 연구되고 있다. 한편 습식분쇄는 시료의 미립화 시간이 짧고 분쇄입자 조절이 용이하여 식품 가공에서 다양한 활용이 기대(13,14)되는 가운데 추출공정에도 긍정적인 영향을 미칠 것으로 기대되고 있다. 즉 약용식물은 시료의 전처리 조건이나 추출방법에 따라 추출물 특성에 차이를 나타낼 수 있으므로 익모초 또한 산업적 활용을 위해서는 효율적인 추출조건을 선정하여 제품화 공정에 접목할 필요가 있다.

이에 본 연구는 3가지 조건으로(열수추출, 고온고압-열

*Corresponding author. E-mail : seojh@ync.ac.kr
Phone : 82-53-650-9346, Fax : 82-53-625-6247

수추출, 습식분쇄-열수추출) 익모초 물추출물을 제조하고 이들의 생리적 특성을 비교하여 익모초 가공을 위한 기초 자료를 얻고자 하였다.

재료 및 방법

재 료

익모초는 2011년 경상북도 영천에서 생산된 제품을 구입하여 40℃ 이하에서 열풍건조하여 밀봉하고 포장한 후 냉동 보관하며 사용하였고, 익모초 건조물의 수분함량은 4.67 % 내외였다.

익모초 물추출물의 제조

건조한 익모초를 80 mesh로 분쇄하여 그 건조분말 50 g에 10배의 물을 첨가하고 90℃에서 5시간 동안 교반하며 열수 추출한 뒤, filter paper(Watman No. 1)로 잔류물을 제거한 다음 동결건조하여 추출물(I)을 제조하였다. 추출물(II)은 익모초 건조분말 100 g에 10배의 물을 첨가하고 고압멸균기로 121℃에서 20분간 열처리한 뒤 90℃에서 2시간 교반, 추출한 후 잔류물을 제거하고 동결건조하여 준비하였다. 추출물(III)은 익모초 건조물 200 g에 5배의 물을 넣고 homogenizer로 10,000 rpm에서 15분 동안 균질화시킨 후 습식분쇄기(LSI, NetzSCH, Selb Bavaria, Germany)로 bead size 0.4 mm, rotor speed 3,000 rpm의 조건으로 30분간 분쇄한 후 동량의 물을 첨가하고 90℃에서 2시간동안 교반 추출 후 여과한 다음 동결건조하여 제조하였다(14). 각 추출물은 냉동보관하며 분석시료로 이용하였고 익모초 건조물에 대한 중량 %로 수율을 산출하였다.

총 폴리페놀 함량 측정

총 폴리페놀 함량은 Folin-Denis법을 변형한 방법(15)에 따라 익모초 추출물 0.2 mL에 10 % 탄산나트륨 용액 2.0 mL를 첨가하고 상온에서 2분간 반응시킨 후 50 % Folin-Denis 시약을 0.2 mL 첨가하여 균일하게 혼합한 다음 상온에서 30분간 반응시켜 UV spectrophotometer(UV 1601, Shimadzu, Kyoto, Japan)로 750 nm에서 흡광도를 측정하였다. 총 폴리페놀 함량은 gallic acid를 이용하여 작성한 표준 곡선으로 함량을 구하여 익모초 g당 함량으로 나타내었다.

전자공여능에 의한 항산화활성(IC₅₀) 측정

전자공여능(electron donating ability, EDA)은 Kilani 등(16)의 방법을 변형하여 측정하였다. 즉 익모초 추출물 0.2 mL에 0.2 mM 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl(DPPH) 0.8 mL를 첨가하고 잘 섞은 후 30분 동안 반응시킨 다음 525 nm에서 흡광도를 측정하였다. 전자공여능은 시료 첨가구와 비첨가구의 흡광도 차이를 백분율(%)로 구하였으며 추출물

의 EDA(%)값을 50% 감소시키는 IC₅₀을 구하였다.

ABTS 라디칼 소거활성 측정

Re 등(17)의 방법에 따라 먼저 7 mM ABTS[2,2'-azino-bis(3-thylbenzothiazoline-6-sulfonate)]에 2.45 mM potassium persulfate를 첨가하고 암소에서 12시간 반응시켜 라디칼을 발생시킨 후 pH 7.0 PBS 용액으로 734 nm에서 흡광도가 0.7이 되게 희석하였다. 익모초 추출물 10 µL에 희석한 ABTS 용액 1 mL를 첨가한 후 30℃에서 4분간 반응시켜 734 nm에서 흡광도의 감소량을 측정하였고, L-ascorbic acid를 표준물질로 이용하였고 추출물 g당 ascorbic acid equivalent antioxidant capacity(mg AAeq/g)로 표시하였다.

아질산염 소거능 측정

Gray와 Dugan(18)의 방법에 준하여 1 mM NaNO₂ 용액 1 mL에 각 익모초 추출물을 1 mL 가하고 0.1 N 구연산 완충액으로 반응용액의 pH를 1.2로 조정하여 다음 총량을 5 mL로 하여 37℃에서 1시간동안 반응시켰다. 반응액을 1 mL 취하여 2 % acetic acid 용액 5 mL와 Griess 시약(30 % acetic acid에 1 % sulfanilic acid와 1 % naphthylamine을 1:1로 혼합함) 0.4 mL을 넣고 잘 혼합하여 실온에서 15분간 반응시킨 후 UV spectrophotometer(UV 1601, Shimadzu, Kyoto, Japan)를 이용하여 520 nm에서 흡광도를 측정하였고 아질산염 소거능은 {1-(시료 첨가구의 흡광도/시료 무첨가구의 흡광도)}×100으로 나타내었다.

Angiotensin converting enzyme(ACE)저해 활성능 측정

Cushman 등(19)의 방법을 변형하여 측정하였으며, 먼저 반응구는 sodium borate buffer(pH 8.3)에 용해한 12.5 mM hippyl-L-histidyl-L-leucine(Hip-His-Leu, Sigma Co.) 기질용액 50 µL에 익모초 추출물을 50 µL씩 첨가한 후 37℃에서 10분간 전배양하였다. 각 반응액에 rabbit lung acetone powder(A6778, Sigma Co., NY, USA)에서 추출한 ACE 조효소액 50 µL를 첨가하여 37℃에서 30분간 반응시킨 후 1N HCl 100 µL 첨가로 반응을 정지시키고, ethylacetate 1.5 mL를 첨가하여 혼합한 다음 상등액 1 mL를 취하였다. 분리한 상등액은 용매를 증류시키고 증류수 1mL를 첨가하여 228 nm에서 흡광도로 hippuric acid 양을 측정하였다. 이때 대조구는 추출물 대신 borate buffer를 사용하였으며, 저해율(%)은 {1-(반응구의 hippuric acid 생성량/대조구의 hippuric acid 생성량)}×100으로 나타내었다.

통계처리

모든 실험은 3회 반복하여 평균값과 표준편차로 나타내었으며, 유의성 검증은 SPSS software package(version 12)를 이용하여 p < 0.05 수준으로 Duncan's multiple range test로 검증하였다.

결과 및 고찰

수율 및 총 폴리페놀 함량

Table 1은 3가지의 추출조건(열수추출(I), 고온고압-열수추출(II), 습식분쇄 후 열수추출(III))으로 제조한 익모초 물추출물의 수율과 총 폴리페놀 함량을 비교 분석한 결과이다. 각 추출조건에 대한 수율은 추출물(II)에서 조금 높은 경향이었으나 추출조건간 유의적인 차이는 없었다. 또한 수율에 대해 Kim 등(1)은 2시간의 열탕추출시 7.3%의 수율을 보고하였으나 Lee(20)는 3시간 열수 추출물의 수율을 17.64 %로 보고한 바 있다. 총 폴리페놀 함량은 추출물(I)보다 추출물(II)과 (III)에서 1.50 ~ 1.67배 유의적으로 높았다. 폴리페놀은 용매를 비롯한 추출조건에 영향을 받을 수 있으며 Markowski 등(21)에 따르면 익모초 추출물의 폴리페놀 함량은 메탄올 추출조건에서 150.1 mg/g, 부틸알콜 추출조건에서 256.8 mg/g이었다. 본 연구에서는 용매 추출시의 비용, 추출물의 안전성 및 활용도 등을 고려하여 유기 용매 대신 물추출을 선택하였다.

Table 1. The extraction yield and total polyphenol content of *Leonurus sibiricus* extracts from different extraction conditions

<i>Leonurus sibiricus</i> extracts ¹⁾	Extraction yield (% dried herb)	Total polyphenol (mg/g)
I	13.02 ± 2.92	61.46 ± 12.63 ^{b2)}
II	15.90 ± 2.33	102.52 ± 24.20 ^a
III	14.72 ± 3.75	92.35 ± 18.48 ^a

Values are mean ± SD (n=3).

¹⁾ I: *L. sibiricus* extract prepared from boiling at 90 °C for 5 hours.

II: *L. sibiricus* extract prepared from boiling at 90 °C for 2 hour after thermal processing (121 °C, 20min).

III: *L. sibiricus* extract prepared from boiling at 90 °C for 2 hours after wet-grinding.

²⁾ Different letters in superscripts within the same column are significantly different at 0.05 by Duncan's multiple range test.

항산화활성

Table 2는 전자공여능에 대한 IC₅₀과 ABTS 라디칼 소거 활성을 측정한 결과이다. 각 익모초 추출물의 IC₅₀은 추출물(II)에서 1007.65 ug/mL로 가장 낮았고, 그 뒤로 추출물(III) < 추출물(I) 순으로 유의적인 차이를 나타내었다. ABTS 라디칼 소거활성은 추출물(II)와 (III)에서 각각 33.46 mg AAeq/g, 31.28 mg AAeq/g으로 추출물(I)보다 유의적으로 높았으며, 이는 앞서 폴리페놀에 대한 결과와 유사한 경향이였다. 항산화능 분석에는 전자공여능이 폭넓게 이용되고 있으나 rutin과 같은 flavonoid 성분에 대한 항산화능 측정에는 ABTS 라디칼 소거능 분석이 효과적인 것으로 보고(22)된 바 있어 두가지 방법으로 항산화 활성을 분석하였다. 식물체에 함유된 폴리페놀 성분은 항산화능을 비롯한 여러 유익한 생리활성과 밀접한 상관관계가 있으며, 익모초의 경우 quercetin 계열의 flavonoid 성분이 항산화능에

주된 영향을 미치는 것으로 보고(2)되고 있다. 본 연구에서 추출물(II)는 Woo 등(10), Choi 등(12)의 고온처리에 따른 항산화능 증가에 대한 보고와 일치하였으며, 추출물(III)은 추출 전에 습식분쇄처리로 익모초 입자가 미세화 됨으로서 항산화능을 가진 유효성분이 효율적으로 추출됨에 기인한 것으로 추측된다.

Table 2. Antioxidant activity of *L. sibiricus* extracts from different extraction conditions

<i>Leonurus sibiricus</i> extracts ¹⁾	Electron donating ability (IC ₅₀ , ug/mL)	ABTS radical scavenging activity (mg AAeq/g)
I	1623.13 ± 185.61 ^{a2)}	23.53 ± 1.20 ^b
II	1007.65 ± 129.27 ^c	33.46 ± 3.75 ^a
III	1279.80 ± 92.43 ^b	31.28 ± 2.67 ^a

Values are mean ± SD (n=3).

¹⁾ I: *L. sibiricus* extract prepared from boiling at 90 °C for 5 hours.

II: *L. sibiricus* extract prepared from boiling at 90 °C for 2 hour after thermal processing (121 °C, 20 min).

III: *L. sibiricus* extract prepared from boiling at 90 °C for 2 hours after wet-grinding.

²⁾ Different letters in superscripts within the same column are significantly different at 0.05 by Duncan's multiple range test.

아질산염 소거능

Fig. 1은 각 익모초 추출물의 아질산염 소거능을 조사한 결과이다. 아질산염은 위장과 같은 산성조건에서 발암물질인 nitrosamine을 형성할 수 있음으로(23) 아질산염 소거활성은 천연물질을 대상으로 한 연구에서 관심이 높다. 본 연구에서 대조구(ascorbic acid 50 mg/mL)의 아질산염 소거능 81.20%와 비교할 때 익모초 물추출물의 아질산염 소거능은 22.39 ~ 38.71%로 전반적으로 낮았다. 또한 아질산염 소거능은 추출물의 농도에 따라 소폭 증가하였으나 추출조건간에 유의적인 차이가 없었다.

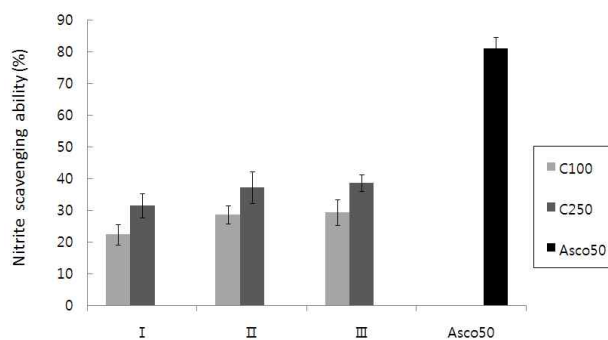


Fig. 1. Changes in nitrite scavenging abilities of *Leonurus sibiricus* extracts C100 : 100 mg/mL of each extract, C250 : 250 mg/mL of each extract, Asco 50 : 50 mg/mL of ascorbic acid.

I: *L. sibiricus* extract prepared from boiling at 90 °C for 5 hours.

II: *L. sibiricus* extract prepared from boiling at 90 °C for 2 hour after thermal processing (121 °C, 20min).

III: *L. sibiricus* extract prepared from boiling at 90 °C for 2 hours after wet-grinding.

Angiotensin converting enzyme(ACE) 저해 활성

Table 3은 각 익모초 추출물의 농도에 따른 ACE 저해 활성에 대해 조사한 결과이다. 대조구로 항고혈압제인 captopril(100 ug/ mL)을 사용하였고 이때 87.72%의 ACE 저해 활성을 나타내었다. 익모초 물추출물의 경우 각 추출 조건에서 추출물의 농도가 높아짐에 따라 ACE 저해활성은 증가하는 유형이었으며, 특히 5 mg/ mL의 추출물 농도에서 추출물(I)보다 추출물(II)와 추출물(III)의 ACE 저해활성이 유의적으로 높게 나타나 추출조건에 따른 영향이 있는 것으로 생각된다. ACE는 체내에서 angiotensin I을 angiotensin II로 전환함으로써 혈관수축 및 혈압상승에 관여하는 알도스테론 호르몬 분비를 촉진시켜 고혈압의 발생 위험을 증가시킨다(24). Park 등(4)은 SHR (spontaneously hypertensive rat)을 대상으로 한 연구에서 익모초 추출물을 2주간 경구투여시 유의적인 혈압강하를 보고하였으며, Choi 등(3)도 익모초의 ACE 저해활성이 복분자를 비롯한 11종의 식물보다는 낮지만 곶배, 오갈피, 길경 등과 함께 ACE 저해활성이 비교적 높은 그룹으로 분류한 바 있다. 또한 Jung 등(25)은 익모초 물추출물이 뇌혈관질환의 병세완화에 유익할 것으로 보고하기도 하였다. 본 연구에서 익모초 물추출물은 Lee 등(26)이 보고한 헛개나무 물추출물(4 mg/ mL)의 ACE 저해활성 75.8% 보다는 낮지만, 양파분해 추출액(27) 및 약용 식물 발효액(28) 등의 ACE 저해활성이 각각 44%, 66%로 보고된 점을 감안할 때 제품화 측면에서 유용할 것으로 생각된다.

이상의 결과로 볼 때 익모초 물추출물 제조시 고온고압 처리 혹은 습식분쇄를 동반한 추출조건은 추출물의 항산화능과 ACE 저해활성에 긍정적인 영향을 주는 것으로 나타나 가공공정에 적용시 품질 향상에 기여할 것으로 기대되며, 부가적인 연구가 요망된다.

Table 3. Angiotensin converting enzyme(ACE) inhibitory effect of *L. sibiricus* extracts from different extraction conditions

<i>Leonurus sibiricus</i> extracts ¹⁾	ACE inhibition rate (%)	
	Extracts concentration 1 mg/ mL	Extracts concentration 5 mg/ mL
I	16.46±2.62	31.10 ±3.55 ^{b2)}
II	18.32±3.77	42.79 ±3.92 ^a
III	19.59±3.52	45.90 ±5.31 ^a

Values are mean ± SD (n=3).

Values are mean ± SD (n=3).

¹⁾ I: *L. sibiricus* extract prepared from boiling at 90°C for 5 hours.

II: *L. sibiricus* extract prepared from boiling at 90°C for 2 hour after thermal processing (121°C, 20 min.).

III: *L. sibiricus* extract prepared from boiling at 90°C for 2 hours after wet-grinding.

²⁾ Different letters in superscripts within the same column are significantly different at 0.05 by Duncan's multiple range test.

요 약

익모초 가공을 위한 기본 추출조건을 확립하기 위하여 3가지 조건으로 익모초 물추출물(열수추출물(I), 고온고압-열수추출물(II), 습식분쇄-열수추출물(III))을 제조하고 이들의 생리적 특성을 비교하였다. 각 추출조건에 대한 수율은 13.02~15.90%로 유의적인 차이가 없었고, 총 폴리페놀 함량은 추출물(II)와 (III)에서 유의적으로 높았다. 전자공여능에 대한 IC₅₀은 추출물(II)에서 가장 낮았고 그 뒤로 추출물(III) < 추출물(I)순으로 유의적인 차이를 나타내었으며, ABTS 라디칼 소거활성은 추출물(II)와 (III)에서 유의적으로 높았다. 아질산염 소거능은 추출조건간 유의적인 차이가 없었으며, ACE저해 활성은 고농도(5 mg/mL)의 추출물에 대해 추출물(I)보다 추출물(II)와 (III)에서 유의적으로 높았다.

감사의 글

본 연구는 2011학년도 영남이공대학교 연구조성비 지원에 의하여 수행되었으며, 이에 감사드립니다.

References

- Kim SJ, Han HS, Lee YJ (2010) Effects of *Leonuri herba* and *Leonuri semen* on hypercholesterolemia. *Kor J Herbology*, 25, 73-80
- Lee SW, Kim GE, Kim JY, Chung SH, Kim SG, Kim DH, Kim JH, Whang WK (2006) Compounds and anti-oxidative activities from the aerial parts of *Leonuri herba*. *Chung-Ang J Pharm Sci*, 20, 53-59
- Choi GP, Dhung BH, Lee DI, Lee HY, Lee JH, Kim JD (2002) Screening of inhibitory activities on angiotensin converting enzyme from medicinal plants. *Korean J Medicinal Crop Sci*, 10, 399-402
- Park KK, Ryu JW, Choi EK, Ro HS (2000) Anti-hypertensive effects of *Pini folium* and *Leonuri herba* extract on spontaneously hypertensive rat (SHR). *J Applied Pharmacology*, 8, 27-31
- Ghee SS, Kil GJ, Lee YJ (2001) Effects of *Chiranthami Flos* and *Leonuri herba* on the liver damaged with carbon tetrachloride treatment in rats. *Kor J Herbology*, 16, 79-89
- Shin SH (1984) Studies on active principles of *Leonurus sibiricus*. *Kor J Pharmacogn*, 15, 104-107
- Nagasawa H, Inatomi H, Suzuki M, Mori T (1992) Further study on the effects of motherwort (*Leonurus*

- sibiricus* L) on preneoplastic and neoplastic mammary gland growth in multiparous GR/A mice. *Anticancer Res*, 12, 141-143
8. Jo YK (2011) The development of anti-wrinkle cosmeceutical ingredients from *Leonuri* herba extract. Ph D. Thesis, Joongang University, Korea, p 5-7
 9. Lee HJ, Do JR, Kwon JH, Kim HK (2011) Physiological properties of oak mistletoe (*Loranthus yadoriki*) extracts by microwave extraction condition. *Korn J Food Preserv*, 18, 72-78
 10. Woo KS, Kim KY, Lee HB, Jeong HS (2006) Antioxidative activity of heat treated licorice (*Glycyrrhiza uralensis* Fisch) extracts. *Korean J Food Sci Technol*, 38, 355-360
 11. Park JH. (2004) A new processed ginseng with fortified activity. *Food Ind Nutr*, 9, 23-27
 12. Choi Y, Lee SM, Chun J, Lee HB, Lee J (2006) Influence of heat treatment on the antioxidant activities and polyphenolic compounds of Shiitake (*Lentinus edodes*) mushroom. *Food Chem*, 99, 381-387
 13. Han MW, Youn KS (2009) Quality characteristics of spray drying miceoparticulated calcium after wet-grinding. *Korean J Food Sci Technol*, 41, 657-661
 14. Im GY, Jang SY, Jeong YJ (2010) Quality characteristics of *Panax ginseng* C. A. Meyer with steaming heat and wet grinding conditions. *J Korean Soc Food Sci Nutr*, 39, 1005-1010
 15. Singleton VL, Rossi JA (1965) Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdicphosphotungstic acid reagents. *Am J Enol Vitic*, 16, 144-158
 16. Kilani S, Ammar RB, Bouhlel I, Hayder N, Mahmoud A, Ghedira K, Chekir-Ghedira L (2005) Investigation of extracts from (Tunisian) *Cyperus rotundus* as antimutagens and radical scavengers. *Environ Toxicol Phar*, 20, 478-484
 17. 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 Biology Medicine*, 26, 1231-1237
 18. Gray JI, Dugan JLR (1975) Inhibition of N-nitrosamine formation in model food system. *J Food Sci*, 40, 981-985
 19. Cushman DW, Ondetti MA (1980) Inhibitors of angiotensin converting enzyme for treatment of hypertension. *Biochem Pharmacol*, 29, 1871-1877
 20. Lee YY (2008) Preventive effects of *Leonurus* Herb extracts on oxidative stress and atherosclerosis. Master Thesis, Dongguk University, Korea, p 3-4
 21. Markowski A, Tasarz P, Szypula E (2008) Antioxidant activity of herb extracts from five medicinal plants from lamiaceae, subfamily lamioideae. *J Medicinal Plants Research*, 2, 321-330
 22. Miller NJ, Rice-Evans C, Davies MS, Gopinathan V, Milner AA (1993) A novel method for measuring antioxidant capacity and its application to monitoring the antioxidant status in premature neonates. *Clinical Science*, 84, 407-412
 23. Issa AY, Volate SR, Wargovich MJ(2006) The role of phytochemicals in inhibition of cancer and inflammation new directions and perspectives. *J Food Compos Anal*, 19, 405-419
 24. Cushman DW, Cheung HS (1971) Spectrophotometric assay and properties of the angiotensin-converting enzyme of rabbit lung. *Biochem Pharmacol*, 20, 1637-1648
 25. Jung YB, Kim HH, Lee SD, Ahn DK, Shin HS, Baek TH, Choi HY (2003) Effect of water extract of leonuri herba on vasospasm in a rat femoral artery model. *Kor J Herbology*, 18, 169-178
 26. Lee SE, Bang JK, Seong NS (2004) Inhibitory activity on angiotensin converting enzyme and antioxicant activity of Hoveia dulcis Thunb cortex extract. *Korean J Medicinal Corp Sci*, 12, 79-84
 27. Ma SJ (2000) Inhibitory effect of onion seasoning on angiotensin converting enzyme. *J Korean Soc Food Sci Nutr*, 29, 395-400
 28. Cho EK, Gal SA, Choi YJ (2010) Antioxidative activity and angiotensin converting enzyme inhibitory activity of fermented medical plants (DeulBit) and its modulatory effects of nitric oxide production. *J Appl Biol Chem*, 53, 91-98