

차전초 에탄올 추출물의 항산화 효능

김유진^{1#}, 김소영¹, 정미진¹, 이은탁², 추성태², 윤석나³, 김미려^{1*}

1 : 대구한의대학교 한의과대학 본초약리학교실, 2 : 농업회사법인 (주)이비채
3 : 대구한의대학교 대학원 보건학과

Antioxidant effect of ethanol extract from Plantaginis Herba

Yoo-Jin Kim^{1#}, So Young Kim¹, Mi Jin Jeong¹, Un-Tak Lee², Sung-Tae Choo²
Seok Na Youn³, Mi Ryeo Kim^{1*}

1 : Department of Herbal Pharmacology, Daegu Hanny University, Daegu, Korea

2 : Ebiche co., Ltd, Yeongheon, Gyeonbuk, Korea

3 : Department of Public Health, Graduate School, Daegu Haany University, Daegu, Korea

ABSTRACT

Objectives : Butylated hydroxytoluene (BHT) and butylated hydroxyanisole (BHA) were well known as anti-oxidant, but they were limited to use because of toxicity. So, many studies are being done to develop natural anti-oxidant. Total phenolic and flavonoid contents along with total antioxidant capacity of the ethanolic extract of Plantaginis Herba (PH) were evaluated to explore the reliable and potential sources of novel natural antioxidants.

Methods : Total polyphenol contents and total flavonoid contents in PH ethanol extract were determined by colorimetric method. And DPPH(1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl), ABTS(2'-azino-bis (3-ethylbenzothiazoline-6-Sulfonic acid)) free radical scavenging capacity and reducing power inhibition activities of PH ethanol extract were measured at 100, 500, 1000, 5000 $\mu\text{g/ml}$ concentrations by spectrometric assay.

Results : The total polyphenol contents and total flavonoid contents of the extract were 161.99 mg/g, 144.05 mg/g, respectively. Also, DPPH, ABTS free radical scavenging capacity and reducing power of PH ethanol extract in treated concentrations (100, 500, 1000, 5000 $\mu\text{g/ml}$) increased dose dependently. In particular, DPPH free radical scavenging capacity of PH ethanol extract from 500 $\mu\text{g/ml}$ was significantly increased compared to positive control (BHA). ABTS free radical scavenging capacity of PH ethanol extract from 1000 $\mu\text{g/ml}$ was significantly higher than BHA. Also, reducing power showed that PH ethanol extract from 500 $\mu\text{g/ml}$ was significantly increased compared to BHA.

Conclusions : These results suggest that PH ethanol extract has effects to scavenge free radicals, thus PH has potential and applicable benefits for development of materials and products to have anti-oxidation functions.

Key words : Anti-oxidant, Plantaginis Herba, free radical scavenging capacity, total polyphenols, total flavonoids

I. 서 론

차전초(Plantaginis Herba)는 차전초과(Plantaginaceae)에 속하는 여러해살이풀이며 전국의 산야지, 습기가 있는 텃밭이나 풀밭 및 건물주변 등에 자생하는 귀화식물이다. 한국,

일본, 중국 등에 분포하며 전 세계에 3속 300종이 분포하고 있으며 '생명력이 길기다'하여 질경이라고도 불린다. 원줄기는 없으며 높이가 10cm 내외이고 뿌리에서 많은 잎이 뭉쳐져 나와 타원 또는 달걀모양의 잎을 가지며 원줄기는 없으며 가장 자리에 물결 모양의 톱니를 가진다. 6월에서 8월까지 백색 꽃이

*Corresponding author : Mi Ryeo Kim, Department of Pharmacology, College of Korean Medicine, Daegu Haany University.

· Tel : +82-53-770-2241 · Fax : +82-53-770-2241 · E-mail : mrkim@dhu.ac.kr

#First author : Yoo-Jin Kim, Department of Pharmacology, College of Korean Medicine, Daegu Haany University.

· Tel : +82-53-770-2241 · Fax : +82-53-770-2241 · E-mail : puppy3128@naver.com

· Received : 11 April 2018 · Revised : 9 May 2018 · Accepted : 25 May 2018

피며, 10월에는 6~8개의 흑색종자 열매를 맺는다. 예로부터 거담 및 항균 작용이 있는 차전초를 민간요법으로 많이 사용해왔으며 한방에서는 차전초의 잎을 차전, 종자를 차전자로 불리는 약재로 쓴다. 차전자는 이수삼습약에 해당하여 이노작용 및 지사작용 등의 효능이 있으며 어지럼증과 두통에 간 기능을 활성화하여 완화시키고, 폐열로 인한 해수 치료에도 쓰인다^{1,2)}. 차전초는 항염증³⁾, 항비만⁴⁾, 항산화 활성^{5,6)}이 보고되었으며, acteoside, flavonoid⁷⁾, plantamajoside^{6,8)}, phenylethanoids⁹⁾, tannin, platagin¹⁰⁾, aucubin, ursolic acid 등의 성분을 포함하고 있다.

최근 고령화 시대가 되어 노인 인구가 빠르게 증가하고 있으며, 건강에 대한 우려가 증가하면서 건강기능식품에 관한 현대인들의 관심과 소비가 지속적으로 증가되고 있다^{11,12)}. 그러나 환경오염, 환경 호르몬, 음주, 흡연 등의 원인으로 산화적 스트레스가 증가하고¹³⁾ 세포 증식 능력이 감소¹⁴⁾, 세포의 DNA 재생능력 감소¹⁵⁾ 등으로 인해 노화가 가속화되고 있다. 노화를 일으키는 원인 중 활성산소종(reactive oxygen species, ROS)은 생체 내에서 생성되어 축적되면서 세포손상을 일으킨다^{16,17)}. 활성 산소종은 세균에 대해 생체 방어 작용의 역할도 있지만 체내에서 전자 운반 과정 중 불완전하게 환원되거나 시스템의 작동 오류 등에 의해 산화를 일으켜 노화 및 질병을 초래한다¹⁸⁾. 활성 산소종으로 발생한 노화는 성인병과 여러 질병을 일으키는 원인이 된다는 보고도 있다¹⁹⁾. 따라서 활성 산소종으로부터 발생한 노화를 방지하기 위해 항산화제에 대한 연구들이 활발히 진행되고 있다²⁰⁾. 대표적으로 많이 쓰이는 항산화제인 butylated hydroxytoluene (BHT), butylated hydroxyanisole (BHA)는 가격이 저렴하고 효과가 우수하지만 생체 효소 및 독성으로 안정성에 대한 논란이 있어 현재는 사용량이 규제되고 있다²¹⁻²³⁾. 또한 천연 항산화제인 플라보노이드, 탄닌 등이 개발되었지만, 항산화력이 비교적 낮아 안전하고 항산화 효능이 뛰어난 천연 항산화제에 대한 연구가 활발히 이루어지고 있다²⁴⁾.

따라서 본 연구에는 에탄올로 추출한 천연물인 차전초의 항산화 효능을 평가하여 천연 항산화제의 소재로서의 사용 가능성을 확인하고자 하였다.

II. 재료 및 방법

1. 시료 추출

차전초(Plantaginis Herba)는 대구한의대학교 본초학교실에서 감별 받았으며, 영천산인 차전초를 증류수로 깨끗하게 세척한 후 이물질을 제거하였다. 세척한 차전초 600 g과 95% ethanol 5 L를 넣고 상온에서 72시간 동안 추출한 후 동결 건조하였고, 건조물 추출 수율은 8.83%였다. 차전초는 전초를 사용하였으며 추출 시료는 농업회사법인 (주)이비채(Yeongcheon, Korea)에서 제공받았다.

2. 총 폴리페놀 함량 측정

Phosphomolydic acid가 페놀성 물질과 반응하여 청색으로 발색되는 Folin-Denis법²⁵⁾을 이용하여 측정하였다. 증류수에

희석한 500 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 농도의 차전초 에탄올 추출물 0.5 ml와 Folin & Ciocalteu's phenol reagent (Sigma) 0.5 ml를 잘 혼합한 뒤 상온에서 3분간 반응시켰다. 3분 후 10% Na_2CO_3 (sodium carbonate, Junsei) 0.5 ml를 첨가하여 충분히 혼합시킨 뒤 상온에서 1시간 반응시켰다. UV/VIS Spectrophotometer (Lambda35, Perkin Elmer)로 760 nm에서 흡광도를 측정하였으며 측정된 흡광도의 값은 tannic acid (Sigma)를 표준물질로 한 표준검정곡선을 작성하여 총 폴리페놀 함량을 계산하였다.

3. 총 플라보노이드 함량 측정

증류수에 희석하여 만든 500 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 차전초 에탄올 추출물을 0.1 N NaOH (Generay Biotech) 0.2 ml와 diethylene glycol (Junsei) 2 ml를 혼합하여 상온에서 1시간 동안 반응시켰다. 1시간 후 420 nm에서 흡광도를 측정하였으며 표준검정곡선은 rutin hydrate (Sigma)을 표준물질로 하였다. Jia Z²⁶⁾의 방법에 따라 총 플라보노이드 함량을 측정하였다.

4. DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) free radical 소거능 측정

양성대조군은 앞서 항산화 실험의 농도를 토대로 하여^{27,28)} butylated hydroxyanisole (BHA, Sigma)를 100 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 의 농도로 하여 사용하였으며 Blois 방법²⁹⁾을 이용하였다. 차전초 에탄올 추출물을 농도별로 희석하여 각각 1 ml와 에탄올에 희석한 0.4 mM DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl, Sigma) 0.05 ml를 vortex mixer (G-560, Scientific industries)로 혼합하였다. 상온에서 30분간 차광하여 반응시킨 반응액을 517 nm에서 흡광도를 측정하였다.

5. ABTS radical 소거능 측정

양성 대조군은 BHA를 사용하였으며 Ven den berg³⁰⁾ 등의 방법을 이용하여 2'-azino-bis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid; ABTS+)의 색을 띤 양이온 라디칼이 감소하는 것을 측정하였다. 100 ml 증류수에 희석한 2.45 mM potassium persulfate (Sigma)에 7 mM ABTS (2,2'-azino-bis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) diammonium salt, Sigma)와 혼합하였다. 상온에서 차광한 후 16시간 방치시켜 ABTS+를 생성시켰다. ABTS+가 0.7 \pm 0.05의 값을 나타내도록 에탄올에 희석하여 734 nm에서 흡광도를 측정하였다. 에탄올에 희석하여 만든 ABTS 시약 1 ml와 차전초 에탄올 추출물 농도별 0.05 ml를 혼합하였다. 30 $^{\circ}\text{C}$ 에서 20분 반응시킨 후 734 nm에서 흡광도를 측정하였다.

6. Reducing power (환원력) 측정

차전초 에탄올 추출물을 100, 500, 1000, 5000 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 의 농도로 증류수에 희석한 후 각각 0.1 ml를 분주하였다. 차전초 에탄올 추출물에 0.2 M 인산 완충액 (phosphoric acid, Duksan, pH 6.8) 0.25 ml와 1% potassium ferricyanide ($\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$,

Duksan) 0.25 ml를 혼합하여, 항온수조(WB-11, Daihan scientific) 50℃에서 20분간 반응시켰다. 반응액에 10% TCA (trichloroacetic acid, Duksan)를 0.25 ml 첨가하였다. 원심 분리를 3000 rpm에서 10분간하여 상층액을 취하였다. 발색 반응을 유도시키기 위해 ferric chloride (FeCl₃)를 0.1% 농도로 하여 0.05ml를 넣은 후 700 nm에서 흡광도를 측정하였다.

7. 통계처리

실험결과 통계 처리는 SPSS 11.5 (SPSS Inc., USA)를 사용하여 분석하였다. one-way-ANOVA를 실시하여, 분석결과에 대한 p < 0.05 수준에서 Duncan 사후 검정을 통하여 각 군간의 평균값에 대한 유의성을 나타내었다.

III. 결 과

1. 총 폴리페놀 및 총 플라보노이드 함량

PH 에탄올 추출물의 항산화 활성을 평가하기 위해 항산화 관련 작용이 보고되어 있는 총 폴리페놀과 총 플라보노이드 함량을 측정하였다. 추출물에 함유된 총 폴리페놀 및 플라보노이드는 건조 시료의 g당 tannic acid와 rutin의 mg으로 나타내었을 때 각각 161.99 mg/g, 144.05 mg/g 이었다(Table 1).

Table 1. The total polyphenol and total flavonoid contents of ethanol extract from Plantaginis Herba (PH).

	Total polyphenols (mg/TAEg) ¹⁾	Total flavonoids (mg/RUEg) ²⁾
PH 500 μ g/ml	161.99 \pm 1.94	144.05 \pm 2.22

The data were expressed as the mean \pm SD. (n=3).
1)Tannic acid equivalents. 2) Rutin equivalents.

2. DPPH free radical 소거활성

차전초 에탄올 추출물의 항산화 활성을 평가하기 위해 DPPH 라디칼 소거능을 측정하였다. 추출물을 농도별로 측정된 결과, 차전초 에탄올 추출물이 농도 의존적으로 유의하게 증가하였다. 각 농도별로 54.25%, 93.41%, 94.69%, 97.12%를 나타내었으며 양성 대조군인 BHA는 90.47%로 나타났다. 따라서 차전초 에탄올 추출물의 500 μ g/ml, 1000 μ g/ml, 5000 μ g/ml에서 양성 대조군보다 더 높은 소거활성을 보였으며 차전초 에탄올 추출물은 지방질 산화 억제 및 인체 내의 활성 라디칼에 의한 노화를 억제시키는 능력인 DPPH 라디칼 소거 활성을 나타내었다 (Figure 1).

3. ABTS radical 소거능 측정

ABTS는 항산화 활성을 탐색하기에 안정한 자유라디칼의 특징을 가지므로, 차전초 에탄올 추출물의 항산화능을 알아보기 위해 측정하였다. 100 μ g/ml, 500 μ g/ml, 1000 μ g/ml, 5000

μ g/ml의 농도로 차전초 에탄올 추출물을 측정된 결과, ABTS 소거활성이 농도 의존적으로 유의하게 증가하였으며 각 농도별 8.20%, 31.02%, 56.79%, 92.59%를 나타내었다. 양성 대조군인 BHA는 50.58%로 나타났으며, 차전초 에탄올 추출물의 고농도인 1000 μ g/ml와 5000 μ g/ml에서 양성 대조군보다 더 높은 소거활성을 보였다 (Figure 2).

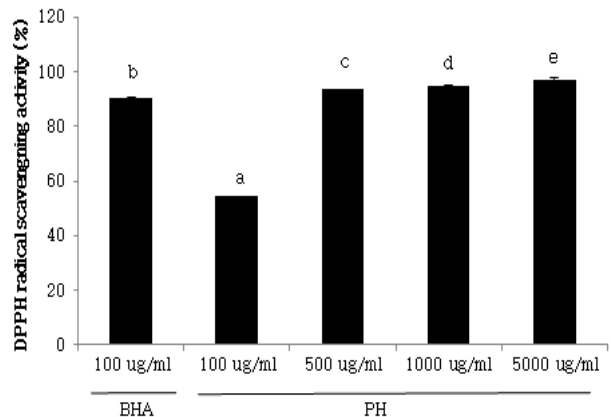


Figure 1. DPPH free radical scavenging activities of ethanol extract from Plantaginis Herba (PH). The data were expressed as the mean \pm SD (n=3). abcdeMeans not sharing a common letter are significantly different among the BHA group at p<0.05.

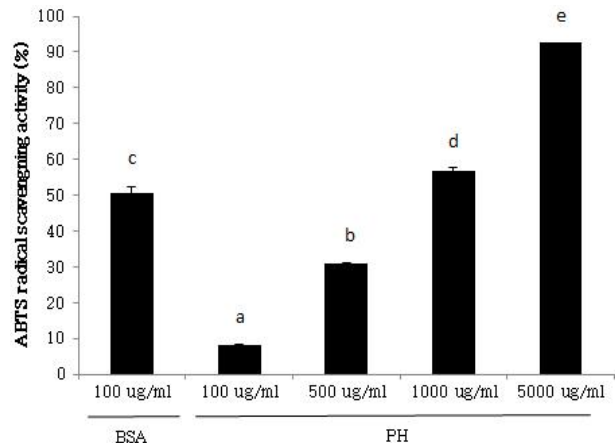


Figure 2. ABTS radical scavenging activities of ethanol extract from Plantaginis Herba (PH). The data were expressed as the mean \pm SD (n=3). abcdeMeans not sharing a common letter are significantly different among the BHA group at p<0.05.

4. Reducing power (환원력) 측정

환원력은 항산화제로서 사용될 수 있는 시료를 측정하기에 가장 대표적인 지표로 산화된 물질을 환원시키는 능력을 측정하는 방법이다. 차전초 에탄올 추출물의 환원력을 각 농도에서 측정된 결과, 각각 18.05%, 47.34%, 62.52%, 84.50%를 나타내었으며 농도 의존적으로 유의한 증가를 보였다. 한편 양성 대조군인 BHA 처리 후에는 45.23%를 나타내었으며, 차전초 에탄올 추출물의 500 μ g/ml의 농도에서부터는 양성 대조군에 비해 유의하게 증가하였다(Figure 3).

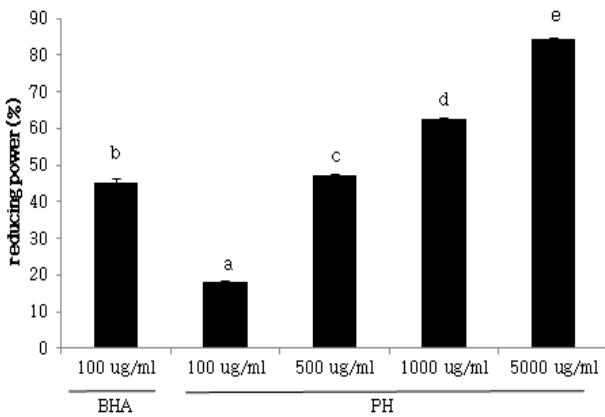


Figure 3. Reducing power of ethanol extract from Plantaginis Herba (PH).

The data were expressed as the mean \pm SD (n=3). ^{abcde}Means not sharing a common letter are significantly different among the BHA group at $p < 0.05$.

IV. 고찰

현대화 사회에서 생활수준이 향상되고 현대인들의 수명이 연장되면서 건강에 대한 관심이 늘고 천연물에 대한 물질과 제품이나 건강기능성 식품에 대한 소비가 증가하였다³¹⁾. 그러나 유전적 요인이나 환경적 원인으로 인해 세포의 노화, 세포증식능력 감소 등의 노화가 진행되고 있다. 인체의 세포노화는 세포가 산화되는 것을 의미한다. 인체의 호흡에서 발생하는 superoxide anion radical, hydroxyl radical 등의 활성 산소종이 지질 과산화를 유발하며 세포의 DNA, 세포막 단백질을 손상시켜 세포의 산화가 나타나는 것으로 알려져 있다³²⁻³⁴⁾. 이에 따라, 인체에 안전하고 항산화력이 높은 물질을 개발하기 위해 식물을 대상으로 천연물 유래의 활성 물질에 대한 연구가 진행되고 있으며, 식품이나 약품으로의 활용가능성에 대한 탐색이 활발히 진행되고 있다³⁵⁻³⁷⁾.

차전초는 전국에 분포하는 다년생 식물로 질경이의 전초를 말한다. 차전초의 구성 성분은 flavonoid, phenylethanoids, plantamajoside, acetoside 등의 성분이 함유되어 있다³⁸⁾. 이전의 연구에서 차전초의 우수한 gallic acid 함유량으로 항산화 효능을 검증한 바 있다³⁹⁾. 또한 박 등⁴⁰⁾의 실험에서 차전초의 독성 유무를 판단하기 위해 동물 및 인체의 독성시험을 한 결과 독성이 관찰되지 않았다고 보고되었다. 따라서 차전초가 가진 성분은 주로 세포 산화에 기여하는 활성산소의 억제효과가 있으며 인체에 안전한 천연 항산화제로의 활용 가능성이 있다고 사료되어, 본 연구에서는 차전초의 에탄올 추출물 항산화 효과를 연구하였다. 항산화 효과를 확인하기 위해서 총 폴리페놀 함량과 총 플라보노이드 함량, DPPH free radical 소거능, ABTS radical 소거활성, 환원력을 평가하였다.

페놀성 화합물은 유리기 수용체로 유지 산패로부터 생성된 유리기들이 안정화되도록 하여 산화를 억제시키는 phenolic hydroxyl기를 가지는 방향성 화합물을 총칭하는 것이다⁴¹⁾. 단백질과 거대분자에 쉽게 결합하여 다양한 구조와 분자량을 가지며 금속이온들을 비활성화 시킨다^{42,43)}. 식물체에 널리 분포되어 있으며 세포벽 다당류, 리그닌 등과 에스테르 결합을 하고 있거나, 중합체로 존재하여 항산화 및 항균 등의 다양한

생리 활성을 나타낸다^{39,44-46)}. 플라보노이드는 페놀성 화합물에 속하는 종류 중의 하나로 식물에 다량 존재한다. 이전의 연구에서 폴리페놀과 플라보노이드의 분획을 통해 항산화 작용, 항암 등의 다양한 효과가 평가되었다⁴⁷⁾. 따라서 본 실험에서 차전초 에탄올 추출물의 총 폴리페놀, 총 플라보노이드 함량을 측정하였을 때 복령 에탄올 추출물의 페놀과 플라보노이드의 우수함을 나타낸 김 등²⁷⁾의 연구에서 각각 52.07 mg/TAEg, 17.29 mg/RUEg로 나타낸 것을 보아 차전초 에탄올 추출물이 높은 함량을 가지는 것으로 생각된다.

DPPH free radical 소거능은 페놀성 화합물, 방향족 아민류, 아스코르빈산 등에 의해 환원력을 가진 proton ion을 받아 불안정한 유리기에 안정화를 유도하는 방법으로 유효하고 불안정한 유리기를 안정화 시킨다. 간단하고 짧은 시간 내에 항산화 효과를 측정할 수 있어 많이 이용되며 높은 값일수록 우수한 것으로 판단한다⁴⁸⁻⁵¹⁾. 본 실험에서 차전초 에탄올 추출물은 500 $\mu\text{g/ml}$ 의 농도에서부터 양성대조군인 BHA보다 농도의존적으로 유의하게 증가함을 나타냈다.

ABTS radical 소거능은 항산화제의 유무를 확인하는 방법으로 페놀성 물질의 함량이 높을수록 소거활성이 증가된다. ABTS가 존재할 때 hydrogen peroxide와 metmyoglobin의 활성을 빠르게 항산화 반응을 일으켜 myoglobin radical을 감소시키는 기전이다⁵²⁾. 차전초 추출물에서 ABTS 활성이 농도의존적으로 유의하게 증가함을 보였으며 1000 $\mu\text{g/ml}$, 5000 $\mu\text{g/ml}$ 의 농도에서는 양성대조군인 BHA보다 높은 활성을 보였다.

환원력은 활성 산소종과 유리기에 전자를 공여하는 능력으로 철 이온인 Fe^{3+} 가 Fe^{2+} 로 환원되는 것을 측정하는 것이다. 항산화 효능을 나타내는 중요한 지표로 쓰이며 환원력이 높을수록 진한 녹색을 띄며 높은 흡광도를 나타낸다⁵³⁾. 본 연구에서는 차전초 에탄올 추출물의 환원력을 평가하였을 때 농도 의존적으로 유의하게 증가함을 보였으며 양성대조군인 BHA보다 높은 활성을 나타냈다.

이상의 결과로 보아, 차전초 에탄올 추출물은 우수한 항산화 활성을 나타냈으며, 항산화 활성을 나타내는 생리활성 물질이 관여하는 것으로 생각된다. 추후 항산화와 관련된 기전 연구 및 유효 성분에 대한 추가 연구가 필요할 것으로 판단되며, 차전초는 항산화에 대한 건강 기능 식품 및 의약 원료 등의 기능성 소재로 활용될 가능성이 있을 것으로 사료된다.

V. 결론

본 연구에서는 차전초 에탄올 추출물의 항산화 활성을 실험한 결과 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 차전초 에탄올 추출물의 총 폴리페놀 및 총 플라보노이드 함량이 높게 측정되었다.
2. 차전초 에탄올 추출물의 DPPH 및 ABTS radical 소거능을 측정한 결과 농도 의존적으로 유의하게 증가하였고 양성 대조군인 BHA보다 고농도에서 유의적인 증가를 나타냈다.

3. 차전초 에탄올 추출물의 환원력에서 농도 의존적으로 유의하게 증가하였으며 양성 대조군인 BHA보다 500 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 의 농도에서부터 유의하게 증가함을 나타냈다.

따라서, 위의 결과로 보아 차전초 에탄올 추출물의 항산화 효능이 우수하였으므로, 산화와 관련된 질환의 예방 및 치료를 위한 식품, 의약품 및 화장품 소재로서의 활용가능성이 기대된다.

감사의 글

본 연구는 연구개발 특구 진흥재단의 지원(No.17-224-002)과 한국연구재단의 지원(No.17-220-023)을 받아 수행되었습니다.

References

- Sung HK, Park MH, Jang KJ. Medicinal plants native to wild. 2nd de., Munyei press. Seoul, Korea, 2008 ; 86.
- Yang Q, Qi M, Tong R, Wang D, Ding L, Li Z, Yang L. *Plantago asiatica* L. seed extract improves lipid accumulation and hyperglycemia in high-fat diet-induced obese mice. *Int. J. Mol. Sci.* 2017 ; 18(7) : 1393.
- Türel I, Özbek H, Erten R, Öner AC, Cengiz N, Yilmaz O. Hepatoprotective and anti-inflammatory activities of *Plantago major* L. *Indian J. Pharmacol.* 2009 ; 41(3) : 120.
- Kim SY, Jeong MJ, Kim YJ, Lee UT, Choo ST, Kim HH, Kim MR. Effect of *Plantaginis asiaticae* Folium water extract on body fat loss in high fat-induced obese C57BL/6 mice. *Kor. J. Herbology.* 2018 ; 33(2) : 59-68.
- Yin JY, Nie SP, Zhou C, Wan Y, Xie MY. Chemical characteristics and antioxidant activities of polysaccharide purified from the seeds of *Plantago asiatica* L. *J. Sci. Food Agric.* 2010 ; 90(2) : 210-217.
- Choi SY, Jung SH, Lee HS, Park KW, Yun BS, Lee KW. Glycation inhibitory activity and the identification of an active compound in *Plantago asiatica* extract. *Phytother. Res.* 2008 ; 22(3) : 323-329.
- Nishibe S. The plant origins of herbal medicines and their quality evaluation. *J. Pharm. Soc. Jpn.* 2002 ; 122(6) : 363-380.
- Komoda Y, Chujo H, Ishihara S, Uchida M. HPLC quantitative analysis of plantaginins in *Shazenso* (*Plantago asiatica* L.) extracts and isolation of plantamajoside. *Iyo Kizai Kenkyujo hokoku, Reports of the institute for medical and dental engineering, Tokyo medical and dental university.* 1989 ; 23 : 81-85.
- Murai M, Tamayama Y, Nishibe S. Phenylethanoids in the herb of *Plantago lanceolata* and inhibitory effect on arachidonic acid-induced mouse ear edema. *Planta medica.* 1995 ; 61(05) : 479-480.
- Aritomi M. Homoplantaginins, a new flavonoid glycoside in leaves of *Plantago asiatica* Linnaeus. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin.* 1967 ; 15(4) : 432-434.
- Cha NH, Seo EJ, Sok SR. Factors influencing the successful aging of older Korean adults. *Contemporary Nurse.* 2012 ; 41 : 78-87.
- Albertazzi P, Steel SA, Clifford E, Bottazzi M. Attitudes towards and use of dietary supplementation in a sample of postmenopausal women. *Climacteric.* 2002 ; 5 : 374-382.
- Harold ES, Darrell EA, Evan IF, John AM. A review of the interaction among dietary antioxidants and reactive oxygen species. *J Nut Biochem.* 2007 ; 18 : 567-579.
- Smith JR, Pereira-Smith OM. Replicative senescence: implications for in vivo aging and tumor suppression. *Science.* 1996 ; 5 : 63-67.
- Allsopp RC, Vaziri H, Patterson C, Goldstein S, Younglai EV. Telomere length predicts replicative capacity of human fibroblasts. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1992 ; 89 : 10114-10118.
- Chung HY, Sung B, Jung KJ, Zou Y, Yu BP. The molecular inflammatory process in aging. *Antioxid. Redox Sign.* 2006 ; 8 : 572-581.
- Lee SH, Hong LJ, Park HG, Ju SS, Kim GT. Functional characteristics from the barley leaves and its antioxidant mixture. *J. Korean Soc. Agric. Chem. Biotechnol.* 2003 ; 46 : 333-337.
- Maxwell SJ. Prospects for the use of antioxidant therapies. *Drugs.* 1995 ; 49 : 345-361.
- Marnett L. Oxiradicals and DNA damage. *Carcinogenesis.* 2000 ; 21 : 361-370.
- Oh SJ. Aging of human body. Seoul : Tamkudang. 2005 : 204-205.
- Brannen AL. Toxicology and biochemistry of butylated hydroxy toluene and butylated hydroxy anisole. *J Am Oil Chem Soc.* 1975 ; 52 : 59-63.
- Ito N, Fukushima S, Hasebawa A. Carcinogenicity of BHA in F344 rats. *J Natl Cancer Inst.* 1983 ; 70 : 343-352.
- Chan KM, Decker EA, Means WJ. Extraction and activity of camosine a naturally occurring antioxidant in beef muscle. *J Food Sci.* 1993 ; 58 : 1-4.
- Masaki H, Sakaki S, Atsumi T, Sakurai H. Active oxygen scavenging activity of plants extracts. *Biol Pharm Bull.* 1995 ; 18(1) : 162-166.
- Velioglu YS, Mazza G, Gao L, Oomah BD. Antioxidant

- activity and total phenolics in selected fruits, vegetables, and grain products. *J Agric Food Chem*. 1998 ; 46 (10) : 4113-4117.
26. Jia Z, Tang M, Wu J. The determination of flavonoid contents in mulberry and they scavenging effects on super-oxide radicals. *Food Chem*. 1999 ; 64: 555-559.
 27. Kim YJ, Park HJ, Lee JS, Do EJ, Sohn HR, Jeon SM, Yeum JH, Kim MR. Antioxidant effect of ethanol extract from *Poria cocos* depending on cultivation methods. *Kor. J. Herbol*. 2016 ; 31(5) : 107-114.
 28. Kim SY, Park HJ, Kim MR. Free radical scavenging effect of water extract from Bansi (*Diospyros kaki*), Cheongdo flat persimmon. *J.A.O.M.* 2016 ; 16(1) : 69-78.
 29. Blois MS. Antioxidant determination by the use of stable free radical. *Nature*. 1958 ; 191 : 2299-2200.
 30. Van den Berg R, Haenen GR, Van den Berg H, Bast A. Applicability of an improved trolox equivalent anti-oxidant capacity (TEAC) assay for evaluation of antioxidant capacity measurements of mixtures. *Food Chem*. 1999 ; 66 : 511-517.
 31. Albertazzi P, Steel SA, Clifford E, Bottazzi M. Attitudes towards and use of dietary supplementation in a sample of postmenopausal women. *Climacteric*. 2002 ; 5 : 374-382.
 32. Smith JR, Pereira-Smith OM. Replicative senescence: implications for in vivo aging and tumor suppression. *Science*. 1996; 5 : 63-67.
 33. Allsopp R C, Vaziri H, Patterson C, Goldstein S, Younglai EV. Telomere length predicts replicative capacity of human fibroblasts. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 1992 ; 89 : 10114-10118.
 34. Takahashi H, Kosaka M, Watanabe Y, Nakade K, Fukuyama Y. Synthesis and Neuroprotective activity of bergenin derivatives with antioxidant activity. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*. 2003 ; 11 : 1781-1788.
 35. Mitscher LA, Park YH, Clark D, Beal JL. Antimicrobial agents from higher plants, antimicrobial isoflavonoids and related substances from *Glycyrrhiza glabra* L. var. *typica*. *J Nat Prod*. 1980 ; 43 : 259-327.
 36. Jeong SJ, Lee JH, Song NH, Seong SN, Lee SE, Baeg NI. Natural products, organic chemistry: Screening for antioxidant activity of plant medicinal extracts. *J Kor Soc App Biol Chem*. 2004 ; 27 : 135-140.
 37. Kim SS, Kim JE, Hyun CG, Lee NH. *Neolitsea aciculata* essential oil inhibits drug-resistant skin pathogen growth and *Propionibacterium acnes*-induced inflammatory effects of human monocyte leukemia. *Natural Product Communications*. 2011 ; 6 : 1193-1198.
 38. Cui JZ. A Study on population structure of *Plantago asiatica* L. in East Asia. Pusan National University Master's degree. 2002.
 39. Lin KH, Yang YY, Yang CM, Huang MY, Lo HF, Liu KC, Lin HS, Chao PY. Antioxidant activity of herbaceous plant extracts protect against hydrogen peroxide-induced DNA damage in human lymphocytes. *BMC Res Notes*. 2013 ; 26(6) : 490.
 40. Park BG, Lee HS, Jung SH, Koo YC, Hong CO, Lee SJ, Lee KW. Single & 14-day repeated oral toxicity study and genotoxicological safety estimate of Plantamajoside isolated from *Plantago asiatica*. *J. Toxicol. Pub. Health*. 2007 ; 23(1) : 79-86.
 41. Lee SO, Lee HJ, Yu MH, Im HG, Lee IS. Total polyphenol contents and antioxidant activities of methanol extracts from vegetables produced in Ullung island. *Korean Journal of Food Science and Technology*. 2005 ; 37 : 233-240.
 42. Arora A, Nair G, Strasburg GM. Structure activity relationships for antioxidant activities of a series of flavonoids in a liposomal system. *Free Radic Biol Med*. 1998 ; 24 : 1355-1363.
 43. Rice-evans CA, Miller N, Paganga G. Antioxidant properties of phenolic compounds. *Trends Plant Sci*. 1997 ; 2(4) : 152-159.
 44. Yusof S, Ghazali HM, King GS. Naringin content in local citrus fruits. *Food Chem*. 1990 ; 37 : 113-121.
 45. Hermann K. Occurrence and content of hydroxycinnamic and hydroxyl-benzoic acid compounds in foods. *Crit Rev Food Sci Nutr*. 1989 ; 28 : 315-347.
 46. Tzeng TF, Liu WY, Liou SS, Hong TY, Liu IM. Antioxidant-Rich Extract from *Plantaginis Semen* Ameliorates Diabetic Retinal Injury in a Streptozotocin-Induced Diabetic Rat Model. *Nutrients*. 2016 ; 8(9) : 18.
 47. Liu YL, Tang LH, Liang ZQ, You BG, Yang SL: Growth inhibitory and apoptosis inducing by effects of total flavonoids from *Lysimachia clethroides* Duby in human chronic myeloid leukemia K562 cells. *J Ethnopharmacol*. 2010 ; 131 : 1-9.
 48. Que F, Mao L, Pan X. Antioxidant activities of five Chinese rice wines and the involvement of phenolic compounds. *Food Res Int*. 2006 ; 39(5) : 581-587.
 49. Canadanovic-Brunet JM, Djilas SM, Cetkovic GS, Tumbas VT. Free-radical scavenging activity of wormwood (*Artemisia absinthium* L.) extracts. *J. Sci. Food Agr*. 2005 ; 85 : 265-272.
 50. Lee JH, Park AR, Choi DW, Kim JD, Kim JC, Ahn JH, Lee HY, Choe M, Choi KP, Shin IC, Park HJ. Analysis of chemical compositions and electron-donating ability of 4 Korean wild sannamuls. *Korean*

- J. Medicinal Crop, 2011 ; 19 : 111-116.
51. Kim HK, Kwon YJ, Kim KH, Jeong YH. Changes of total polyphenol content and electron donating ability of *Aster glehni* extracts with different microwave-assisted extraction conditions. Korean J. Food Sci. Technol, 2000 ; 32 : 1022-1028.
 52. Meller NJ, Rice-Evans C, Davies MJ, Gopinathan V, Milner A. A novel method for measuring antioxidant capacity and its application to monitoring the antioxidant status in premature neonates. Clin Sci, 1993 ; 84 : 407-412.
 53. Diplock AT. Will the good fairies please prove to us that vitamin E lessens human degenerative disease? Free Rad, 1997 ; 27 : 511-532.