

꾸지뽕나무 잎, 열매, 줄기 및 뿌리의 분획물 과 플라보노이드 화합물이 흰쥐의 과산화지질 함량에 미치는 영향

박종철 · 최재수* · 최종원**

순천대학교 한약자원학과, *부산수산대학교 식품영양학과, **경성대학교 약학대학

Effects of the Fractions from the Leaves, Fruits, Stems and Roots of *Cudrania tricuspidata* and Flavonoids on Lipid Peroxidation

Jong Cheol Park, *Jae Sue Choi and **Jong Won Choi

Department of Oriental Medicine Resources, Suncheon National University, Suncheon 540-742,
*Department of Nutrition and Food Science, National Fisheries University of Pusan, Pusan 608-737
and **College of Pharmacy, Kyongsung University, Pusan 608-736, Republic of Korea

Abstract—We studied the effects of the methanolic extracts and fractions from leaves, fruits, stems and roots of *Curadrانيا tricuspidata* on the formation of lipid peroxide. The methanol extracts of leaves, fructus and stem of this plants decreased the formation of lipid peroxide in the isolated rat liver. The ethyl acetate fraction of leaves and *n*-butanol fraction of stems reduced the lipid peroxide formation. It showed that arthocarpesin, one of the constituents isolated from this plant, lowered the formation of lipic peroxide by 13%, 21%, 22% and 25% at the concentration of 10^{-8} , 10^{-6} , 10^{-4} and 10^{-2} mg/ml, respectively.

Keywords—*Curadrانيا tricuspidata* · lipid peroxide · arthocarpesin

꾸지뽕나무(*Curadrانيا tricuspidata* Bureau)는 뽕나무과에 속하는 낙엽성 소교목으로 우리나라의 전남북, 경남북, 충남지방에 분포한다. 가지에는 가시가 있으며, 小枝에 털이 있고 잎은 3개로 갈라지는 것과 가장자리가 밋밋하고 난형인 것이 있다. 잎의 표면에 잔털이 있고 뒷면에 섬모가 있으며 꽃은 二家花로서 5-6월에 피며 황색이고 지름 1cm 정도로서 짧고 연한 털이 밀모한 대가 있다.¹⁾ 이 식물의 부위별 재료는 모두 약용으로 사용된다. 즉 잎 부분은 습진, 유행성 이하선염, 폐결핵, 만성 요통, 타박상, 급성관절염 등의 치료에 사용하며, 줄기는 주로 부인들의 崩中, 血結의 치료에, cork피를 벗겨낸 수피와 근피 부분은 요통, 유정, 객혈, 구혈, 타박상을 치료하는데 약용되고 열매는 청열, 양혈의 효능

이 있는 것으로 알려져 있다.^{2,3)} 또한 중국에서는²⁾ 잎을 악성종양에 사용하며 우리나라 민간에서도⁵⁾ 이 식물을 다려서 마시면 간암 치료에 효과적인 것으로 알려져 있다. 이 식물은 flavonoid 등의 화학성분과⁶⁻¹³⁾ 활성등이 연구되어져 있다.¹⁴⁾ 저자들은 꾸지뽕나무의 지속적인 연구중 이들 성분에 대한 약리작용에 관한 연구의 일환으로 꾸지뽕나무가 악성종양 및 간암의 치료등에 사용된다는 점등을 고려하여 이들 질환의 중요한 발생원인으로 지목되고 있는 과산화지질의 생성에 어떠한 영향을 주는가를 관찰할 목적으로 꾸지뽕나무의 각 부위별로 추출물 및 분획물 그리고 분리된 성분들에 대한 과산화물의 생성에 미치는 영향을 조사하였던 바 유의성 있는 결과를 얻었기에 보고하고자 한다.

실험 방법

실험재료 - 실험에 사용한 꾸지뽕나무 (*Cudrania tricuspidata* Bureau)의 잎, 열매, 줄기, 뿌리는 1994년 10월 9일 전남 순천시 매곡동에서 채집하였으며, 건조 세절하여 사용하였다. 이의 표본은 순천대 한약자원학과 표본실에 보관중이다.

시약 및 기기 - column chromatography용 silica gel은 Kiesel gel 60(70-230 mesh, Merck Art. 7734), Kiesel gel 60(Merk Art. 7729)이었다. Thin Layer Chromatography용 precoated plates는 Kiesel gel 60 F254(Merk Art. 5735)를 사용하였다. 용매는 특급 및 1급 시약을 사용하였다. 성분 분석용 기기로는 Shimadzu IR-400 spectrophotometer, Bomen MB-100 FT-IR spectrophotometer, Varian FT-80A spectrometer, Bruker AM-200 spectrometer를 이용하였다.

화합물의 분리 - 꾸지뽕나무잎(1.4 kg) 및 줄기(1.8 Kg)을 세절 한 후, 환류 냉각장치를 이용하여 methanol을 가하여 3회 추출한후 용매를 감압하에서 제거하여 methanol엑스를 얻었다. 10% methanol을 가하여 현탁시킨 후, chloroform을 가하여 chloroform 분획을 얻고 수층은 다시 ethyl acetate로 추출 하여 ethyl acetate 분획을 얻었다. 수층은 계속하여 *n*-butanol로 분획하여 *n*-butanol 분획을 얻었다. 이중 ethyl acetate 분획을 silica gel과 혼합하여 분말로 한 후 이를 silica gel column에 가하였다. 즉 잎 부분은 CHCl_3 -MeOH-7% HAc(5-1-1, 하층), CHCl_3 -MeOH-7% HAc(25-8-5, 하층)의 용매로 용출하여 kaempferol(1) 및 kaempferol 7-O- β -D-glucoside(2), 줄기로부터는 CHCl_3 -MeOH (gradient)용매를 사용하여 norarthocarpetin(3), arthocarpesin(4)를 순수하게 분리한후 NMR spectrum을 측정하여 표준품과 대조하여 사용하였다.

동물 및 처치 - 동물은 체중 $150 \pm 10\text{g}$ 의 외견상 건강한 Sprague-Dawley 종의 웅성 흰쥐를 한국실험동물개발로 부터 분양받아 일정한 사료 및 조건(온도: $20 \pm 2^\circ\text{C}$, 습도: 50%, 명암: 12

시간 light/dark cycle) 하에서 충분히 적응시켰으며, 실험전 24시간 동안 물만 주고 절식시켰다.

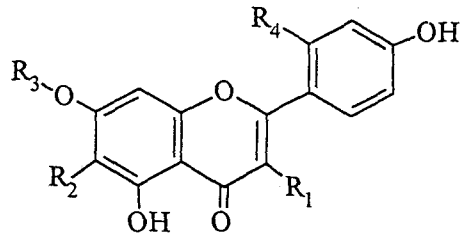
조직중 과산화지질의 함량 측정 - 실험동물을 CO_2 gas로 가볍게 마취시킨 후 복부 정중선을 따라 절개하여 복부대동맥에서 채혈하여 실험사시킨 후 간을 병냉의 생리식염수로 관류시켜 조직내 혈액을 제거하고 적출하여 여지로 혈액 및 기타 이물을 제거하고 평량한 후 Ohkawa 등의 방법¹⁵⁾에 준하여 간 조직 1g당 9배량의 생리식염수를 가해 마쇄하고 이 마쇄액에 8.1% sodium dodecyl sulfate 0.2ml, 20% acetate buffer(pH 3.5)와 발색의 목적으로 0.8% thiobarbituric acid 및 시료를 가한 후 95°C 에서 1시간 동안 반응시킨 후 실온에서 냉각시켜 *n*-BuOH:pyridine(15:1)을 첨가하여 15분간 원심분리한 후 홍색의 *n*-BuOH-pyridine층을 취하여 파장 532nm에서 그 흡광도를 측정한다. 다음 표준 곡선에서 그 함량을 간 조직 1g당 malondialdehyde n mole수로 표시하였다.

단백질 함량 및 통계처리 - 단백질의 함량은 Lowry 등의 방법¹⁶⁾에 준하여 bovine serum albumin을 표준품으로 하여 측정하였다. 실험결과와 통계처리는 Duncan's new multiple range test를 이용하였다.

실험결과 및 고찰

꾸지뽕나무 잎 및 줄기의 ethyl acetate fraction으로부터 column chromatography를 통해 잎에서는 kaempferol(1) 및 kaempferol 7-O- β -D-glucoside(2), 목부에서는 norarthocarpetin(3), arthocarpesin(4)을 분리하여 NMR spectrum을 측정하여 표준품^{12,13)}과 대조하여 동정하였다.

생체막 구성성분인 인지질의 불포화 지방산은 활성산소종과 같은 free radical에 의한 과산화 반응이 개시되며 또한 연쇄적으로 진행된다.¹⁷⁻¹⁹⁾ 그러므로 free radical에 의한 지질의 과산화 반응은 세포막의 투과성을 향진시킬뿐만 아니라 전 반적인 세포독성을 초래하여 노화현상 및 이에 따른 여러가지 병리현상을 유도하는 것으로 알려



	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄
1	OH	H	H	H
2	OH	H	Glucose	H
3	H	H	H	OH
4	H		H	OH

저 있다.^{20,21)} 이에 관한 연구를 위해 수종의 약용식물 활성검색에서 꾸지뽕나무가 작용이 있음을 발견하고 이 식물의 잎, 줄기, 열매, 뿌리의 부위별 추출물 및 분획물에 대한 불포화지방산의 과산화 반응에 미치는 영향을 관찰하였다. 부위 중 잎, 줄기, 열매의 메타놀 추출물을 시험관내

에 10⁻³, 10⁻², 10⁻¹, 1 mg/ml를 첨가하였을 때 용량의존적으로 지질과산화의 생성이 억제되었다. 잎의 MeOH추출물을 용매분획한 EtOAc 분획물은 MeOH과 같은 농도에서 대조군에 비해 10%, 13%, 29% 및 34%로 점차적으로 용량을 증가시키에 따라 억제되었으며, 줄기에서는 *n*-BuOH분획이 10⁻³, 10⁻², 10⁻¹, 1 mg/ml농도에서 28%, 40%, 46% 및 50%, 열매의 분획물중 EtOAc분획의 각각의 첨가 농도에서는 17%, 27%, 36% 및 47% 각각 억제하였다. 한편 뿌리의 MeOH 추출물에서는 별다른 영향을 관찰할 수 없으나, *n*-BuOH 분획물의 10⁻³ 및 10⁻² mg/ml 첨가에서는 지질과산화의 생성 저지능이 없었으나, 첨가 농도를 증가(10⁻¹ 및 1 mg/ml)하므로써 각각 대조군에 비해 40% 및 48%의 억제효과를 관찰하였다. (Table 1, 2, 3 및 4) 이들 추출물중의 활성 물질을 연구하기 위해 잎 및 목부에서 column chromatography를 통해 분리한 kaempferol(1) 및 kaempferol-7-O-β-D-glucoside(2), norarthro-

Table 1. Effects of fractions from the leaves of *Cudrania tricuspidata* on the hepatic lipid peroxide content in normal rats

Samples (mg/ml)		Malondialdehyde (n moles/g of tissue)	% of control
Control	0	17.5 ± 0.98 ^{a,b,c}	100
MeOH ext.	10 ⁻³	17.0 ± 0.8 ^{b,c,d}	97
	10 ⁻²	16.6 ± 0.81 ^{c,d,e}	95
	10 ⁻¹	15.6 ± 0.82 ^{d,e,f}	89
	1	14.6 ± 0.75 ^f	83
CHCl ₃ fr.	10 ⁻³	18.5 ± 0.82 ^{a,b}	106
	10 ⁻²	18.7 ± 1.65 ^a	107
	10 ⁻¹	18.3 ± 1.85 ^{a,b}	105
	1	18.0 ± 0.74 ^{a,b,c}	103
EtOAc fr.	10 ⁻³	15.8 ± 0.45 ^{d,e,f}	90
	10 ⁻²	15.2 ± 0.52 ^{e,f}	87
	10 ⁻¹	12.5 ± 0.7 ^g	71
	1	11.6 ± 0.91 ^g	66
BuOH fr.	10 ⁻³	17.7 ± 0.91 ^{a,b,c}	101
	10 ⁻²	18.3 ± 0.81 ^{a,b}	105
	10 ⁻¹	17.8 ± 0.79 ^{a,b,c}	102
	1	17.8 ± 1.45 ^{a,b,c}	102

The assay procedure was described in the experimental methods. Values are mean ± S.D. for four separated experiments. Values followed by the same letter are not significantly different(p<0.05)

Table 2. Effects of fractions from the fruits of *Cudrania tricuspidata* on the hepatic lipid peroxide content in normal rats

Samples (mg/ml)		malondialdehyde (nmoles/g of tissue)	% of control
Control	0	17.5 ± 0.98 ^{a,b}	100
MeOH ext.	10 ⁻³	16.1 ± 0.32 ^{b,c}	92
	10 ⁻²	14.8 ± 0.32 ^{c,d}	85
	10 ⁻¹	13.9 ± 0.67 ^{d,e,f}	79
	1	12.9 ± 0.26 ^{e,f}	74
CHCl ₃ fr.	10 ⁻³	19.4 ± 0.74 ^{g,h}	111
	10 ⁻²	18.8 ± 1.0 ^{g,h,i}	107
	10 ⁻¹	19.6 ± 0.61 ^g	112
	1	19.2 ± 1.62 ^{g,h}	110
EtOAc fr.	10 ⁻³	14.5 ± 1.21 ^{d,e}	83
	10 ⁻²	12.7 ± 1.11 ^{f,g}	73
	10 ⁻¹	11.2 ± 0.91 ^g	64
	1	9.2 ± 0.91 ^h	53
BuOH fr.	10 ⁻³	18.1 ± 1.53 ^{g,h,i}	103
	10 ⁻²	17.8 ± 0.9 ^{h,i}	102
	10 ⁻¹	18.5 ± 1.2 ^{g,h,i}	106
	1	18.3 ± 0.82 ^{g,h,i}	105

The assay procedure was described in the experimental methods. Values are mean ± S.D. for four separated experiments. Values followed by the same letter are not significantly different (p < 0.05)

Table 3. Effects of fractions from the stems of *Cudrania tricuspidata* on the hepatic lipid peroxide content in normal rats

Samples (mg/ml)		malondialdehyde (nmoles/g of tissue)	% of control
Control	0	17.5 ± 0.95 ^a	100
MeOH ext.	10 ⁻³	15.7 ± 0.87 ^b	90
	10 ⁻²	14.2 ± 0.83 ^c	81
	10 ⁻¹	12.9 ± 0.75 ^{c,d}	74
	1	10.6 ± 0.5 ^e	60
CHCl ₃ fr.	10 ⁻³	19.4 ± 0.62 ^f	111
	10 ⁻²	19.6 ± 0.36 ^f	112
	10 ⁻¹	19.2 ± 0.67 ^f	110
	1	19.1 ± 1.33 ^f	109
EtOAc fr.	10 ⁻³	19.1 ± 0.32 ^f	109
	10 ⁻²	19.1 ± 1.33 ^f	109
	10 ⁻¹	19.2 ± 0.35 ^f	110
	1	19.1 ± 1.28 ^f	109
BuOH fr.	10 ⁻³	12.6 ± 0.72 ^d	72
	10 ⁻²	10.5 ± 0.79 ^e	60
	10 ⁻¹	9.4 ± 0.68 ^{e,g}	54
	1	8.7 ± 0.68 ^g	50

The assay procedure was described in the experimental methods. Values are mean ± S.D. for four separated experiments. Values followed by the same letter are not significantly different (p < 0.05)

Table 4. Effects of fractions from the roots of *Cudrania tricuspidata* on the hepatic lipid peroxidation

Samples (mg/ml)		malondialdehyde (nmoles/g of tissue)	% of control
Control	0	17.5 ± 0.98 ^{a,b,c}	100
MeOH ext.	10 ⁻³	17.1 ± 1.51 ^{a,b,c}	98
	10 ⁻²	18.2 ± 0.45 ^{a,b}	104
	10 ⁻¹	18.2 ± 1.0 ^a	104
	1	18.8 ± 1.47 ^a	107
CHCl ₃ fr.	10 ⁻³	17.5 ± 0.98 ^{a,b,c}	100
	10 ⁻²	18.1 ± 1.55 ^{a,b}	103
	10 ⁻¹	18.2 ± 0.61 ^{a,b,c}	104
	1	17.8 ± 1.6 ^a	102
EtOAc fr.	10 ⁻³	16.3 ± 1.0 ^c	93
	10 ⁻²	16.8 ± 0.45 ^{b,c}	96
	10 ⁻¹	17.5 ± 1.02 ^{a,b,c}	100
	1	16.6 ± 0.83 ^{b,c}	95
BuOH fr.	10 ⁻³	17.6 ± 1.28 ^{a,b,c}	101
	10 ⁻²	16.7 ± 0.5 ^{b,c}	95
	10 ⁻¹	10.5 ± 0.93 ^d	60
	1	9.1 ± 0.4 ^d	52

The assay procedure was described in the experimental methods. Values are mean ± S.D. for four separated experiments. Values followed by the same letter are not significantly different ($p < 0.05$)

carpetin(3), arthocarpesin(4)의 활성을 관찰하였다. 즉 4종 flavonoid를 10⁻⁸, 10⁻⁶, 10⁻⁴, 10⁻² mg/ml 농도로서 각각 시험관내에 첨가하였을 때 arthocarpesin의 첨가에서 대조군에 비해 13%, 21%, 22%, 25% 용량의존적으로 지질과산화의 함량이 억제되었다. (Table 5)

과산화지질의 생성은 병태 생리학적 현상이나 조직 손상의 정도를 나타내는 지표로 활용되고 있는 점²²⁾을 고려할 때 꾸지뽕나무 추출물의 작용으로 이 식물에는 과산화 지질의 생성을 억제하는 항산화 작용에 기인된 활성성분이 사료되며 구체적인 활성 화합물의 분리는 현재 진행중이다. Flavonoid들은 식물, 과일, 채소 등에서 생합성되는 페놀성화합물로서 포유동물세포계에 여러가지 약리작용을 가지는 것으로 알려져 있다^{23,24)}. 그중에서도 rat liver mitochondria와 microsome에서의 flavonoid항산화작용은 막의 지질과산화를 방지하는 oxygen-free radical scavenging effect에 의하는 것으로 알려져 있으며²⁵⁾ 그외 흰쥐의 간 microsome과 mitochon-

dria에서 CCl₄와 NADPH-의존성 지질과산화 억제²⁶⁻²⁸⁾, 사람 적혈구의 지질과산화억제²⁹⁾ 등이 또한 알려져 있다. 세포막 인지질이 불포화지방산의 과산화로 인하여 산화적 손상을 받게 되면 세포손상을 가져오게 된다.³⁰⁾ 이들에 대한 생체 세포들의 가장 신속한 방어기구중에는 glutathione과 glutathione peroxidase로서 이들 과산화물들을 제거하며 생체내에서 간조직의 glutathione의 농도가 감소하면 지질과산화가 증가한다고 한다^{31,32)}. Phenobarbital과 같은 약물은 glutathione농도를 고갈시키므로서 지질과산화가 증가되며 이들은 rutin, (+)-catechin, quercetin, naringenin, naringin과 같은 flavonoid에 의해서 억제된다고 알려져 있다³³⁾. 그러나 arthocarpesin과 같은 꾸지뽕나무의 flavonoid성분에 대한 지질과산화 억제효과는 이번이 처음이다.

결 론

꾸지뽕나무 잎, 열매, 줄기, 뿌리의 부위별 추

Table 5. Effects of flavonoids from *Cudrania tricuspidata* on the hepatic lipid peroxidation

Samples (mg/ml)		malondialdehyde (nmoles/g of tissue)	% of control
Control	0	17.5 ± 0.98 ^{a,b,c}	100
kaempferol(1)	10 ⁻¹⁰	18.5 ± 0.51 ^{a,b,d,e}	106
	10 ⁻⁸	19.2 ± 1.45 ^{a,d,e}	110
	10 ⁻⁶	19.7 ± 1.75 ^d	113
	10 ⁻⁴	18.9 ± 1.43 ^{d,e}	108
	10 ⁻²	17.7 ± 0.8 ^{a,b,c,e}	101
kaempferol 7-β-D-glucoside(2)	10 ⁻¹⁰	18.2 ± 0.25 ^{a,b,c,d,e}	104
	10 ⁻⁸	18.1 ± 1.01 ^{a,b,c,d,e}	103
	10 ⁻⁶	18.2 ± 0.68 ^{a,b,c,d,e}	104
	10 ⁻⁴	17.8 ± 0.6 ^{a,b,c,e}	102
	10 ⁻²	16.9 ± 1.76 ^{b,c,f}	97
norartocarpetin(3)	10 ⁻¹⁰	18.5 ± 0.7 ^{a,b,d,e}	106
	10 ⁻⁸	16.5 ± 0.68 ^{c,f}	94
	10 ⁻⁶	18.1 ± 0.6 ^{a,b,c,d,e}	103
	10 ⁻⁴	17.1 ± 0.91 ^{b,c}	98
	10 ⁻²	18.7 ± 0.81 ^{a,b,d,e}	107
arthocarpesin(4)	10 ⁻¹⁰	17.8 ± 0.85 ^{a,b,c,e}	102
	10 ⁻⁸	15.3 ± 1.13 ^{f,g}	87
	10 ⁻⁶	13.9 ± 0.3 ^{g,h}	79
	10 ⁻⁴	13.6 ± 0.81 ^{g,h}	78
	10 ⁻²	13.2 ± 0.5 ^h	75

The assay procedure was described in the experimental methods. Values are mean ± S.D. for four separated experiments. Values followed by the same letter are not significantly different ($p < 0.05$)

출물 및 분획물에 대한 불포화지방산의 과산화 반응에 미치는 영향을 관찰하였다. 부위중 잎, 열매, 줄기의 메탄올 추출물 시험관내에 10⁻³, 10⁻², 10⁻¹, 1 mg/ml를 첨가하였을 때 용량의존적으로 지질과산화의 생성이 억제되었다. 잎의 EtOAc 분획물은 MeOH과 같은 농도에서 대조군에 비해 10%, 13%, 29% 및 34%, 줄기에서는 n-BuOH분획이 28%, 40%, 46% 및 50%, 열매의 분획물중 EtOAc분획이 17%, 27%, 36% 및 47% 각각 억제하였다. 한편 뿌리의 MeOH 추출물에서는 n-BuOH 분획물의 10⁻¹ 및 1 mg/ml 첨가에서 40% 및 48%의 억제효과를 관찰하였다. 목부에서 분리한 arthocarpesin을 10⁻⁸, 10⁻⁶, 10⁻⁴, 10⁻² mg/ml 농도로 첨가하였을 때 13%, 21%, 22% 및 25% 지질과산화의 함량이 억제되었다.

감사의 말씀 - 이 연구는 1995년도 교육부 학술연구조성비 (지역개발연구) 지원에 의한 결과의 일부이며 이에 감사드립니다.

〈1995년 10월 19일 접수〉

참 고 문 헌

1. 이창복, 대한식물도감, 향문사 p.280 (1985).
2. 강소신의학원, 중약대사전, 소학관 p.3717 (1985).
3. 김재길, 원색천연약물대사전(상), 남산당 p.244 (1984).
4. Lee, S.J., Korean Folk Medicine, Seoul Nat'l Univ. p.90 (1966).
5. 문화방송, 민간요법대전, 금박출판사 p.305 (1987).

6. Nomura, T., Hano, Y. and Fujimoto, T.: Three New Isoprenylated Xanones, Cudrax anthone A, B and C, from the Root Barks of *Cudrania tricuspidata*. *Heterocycles*, **20**, 213 (1983).
7. Fujimoto, T., Hano, Y. Nomura, T.: Components of root bark of *Cudrania tricuspidata*, Structures of four new isoprenylated xanones, Cudraxanthones A, B, C and D, *Planta Medica*, 205 (1984).
8. Hano, Y., Matsumoto, Y., Sun, J. and Nomura, T.: Structures of four new isoprenylated xanones, *Planta Medica*, 56 (1990).
9. Fujimoto, T. and Nomura, T.: Structures of cudraflavone A and euchrestaflavanone C, *Heterocycles*, **22**, 997 (1984).
10. Fujimoto, T., Hano, Y., Nomura, T. and Uzawa, J.: Components of root barks of *Cudrania tricuspidata*, 2. Structures of two new isoprenylated flavones, Cudraflavones A and B, *Planta Medica*, 161 (1984).
11. Fujimoto, T. and Nomura, T.: Components of root bark of *Cudrania tricuspidata* 3. Isolation and structure studies on the flavonoids, *Planta Medica*, 190 (1985).
12. Young, H.S., Park, J.H., Park, H.J., and Choi, J.S.: Chemical study on the stem of *Cudrania tricuspidata*, *Arch. Pharm. Res.* **12**, 39(1989)
13. Park, J.C., Young, H.S. and Choi, J.S.: Constituents of *Cudrania tricuspidata* in Korea, *Yakbak Hoeji* **36**, 40 (1992).
14. Kim, S.H, Kim, N.J., Choi, J.S. and Park, J.C.: Determination of flavonoid by HPLC and biological activities from the leaves of *Cudrania tricuspidata*, *J. Korean Soc. Food Nutr.*, **22**, 68 (1993).
15. Ohkawa, H., Ohishi, N. and Yaki, K.: Assay for lipid peroxide in animal tissues by thiobarbituric acid reaction, *Anal. Biochem.* **95**, 351 (1979).
16. Lowry, O.H., Rodebrough, N.J., Farr, A.L. and Randall, R.J.: Protein measurement with folin phenol reagent, *J. Biol. Chem.* **193**, 265 (1951).
17. Fridovich, I.: The biology of oxygen radicals, *Science* **201**, 875 (1978).
18. Oyanagui, Y.: SOD and active oxygen modulators, Nihon Igakukan, Tokyo, p.17 (1989).
19. Corfrau, R.S., Kumar, V. and Robbins, S.L.: Robbins pathologic basis of disease, W.B. Saunders, Philadelphia p.1 (1989).
20. Osamu, I.: Lipid peroxidation and nutrition, *Jap. Soc. of Nut. and Food Sci.*, Tokyo p.143 (1986).
21. Johnson, J.E., Walford, R., Harma, D. and Miquel, J.: Free radicals, aging and degenerative disease, Alen R. Liss, N.Y. p.99 (1986).
22. Tappel, A.: Lipid peroxidation and fluorescent molecular damage to membranes, In pathology of cell membrane (Trump, B.F. and Arstila, A. eds.) Academic Press, N.Y. vol.1. p.145 (1975).
23. Harbone, J.B.: Nature, distribution, and function of plant flavonoids. In "Plant flavonoids in biology and medicine": Biochemical, Pharmacological and structure-activity relationships (Eds. Cody, V, Middleton E, and Harbone, J) Alan R. Liss, N.Y., pp.15-24 (1986).
24. Havsteen, B.: Flavonoids, A class of natural products of high pharmacologic potency, *Biochem, Pharmacol.* **32**, 1141-8 (1983).
25. Bindol, A., Carallin, L. and Silipandri, N.: Inhibitory action of silymarin of lipid peroxidation formation in rat liver mitochondria and microsomes, *Biochem. Pharmacol.* **26**, 2405 (1977).
26. Slater, T.F. and Eakins, N.N.: Interaction of In New trends in the therapy of liver disease (Ed. Bertelli, A.) S, Karger AG, Basel, pp.84-92 (1975).
27. Slater, T.F. and Scott, R.: The free radical scavenging action of (+)-cyanidanol-3 in relation to the toxicity of carbon tetrachloride. *Int. Congr. Symp. Ser-R Soc. Med.*, **47**, 33 (1981).
28. Bindol, A., Cavallini, L., and Silipandri, N.: Inhibitory action of silymarin of lipid peroxidation formation in rat liver mitochondria and microsomes. *Biochem, Pharmacol.* **26**, 2405 (1977).
29. Maridonneau-Parini, I., Braquet, P. and Garay, R.P.: Heterogenous effect of flavonoids on K⁺ loss radicals in human red cells, *Pharm. Res. Comm.* **18**, 61 (1986).
30. Plaa, G.L. and Witschi, H.: Chemicals, drugs and lipid peroxidation, *Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol.* **16**, 125 (1976).
31. Younes, M. and Siegers, C.P.: *Res. Commun. Chem. Pathol. Pharmacol.* **27**, 119 (1980).
32. Younes, M. and Siegers, C.P.: *Chem. Biol. Interact.* **34**, 257 (1981).
33. Younes, M. and Siegers, C.P.: Inhibitory action

of some flavonoids on enhanced spontaneous lipid peroxidation following glutathione

depletion, *Planta Medica* **43**, 240 (1981).