

쇠뜨기 (*Equisetum arvense*) 추출물의 항산화 활성 분석 및 α -glucosidase 저해활성

박 가 · 김영선 · 한 웅 · 심태흠¹ · 사재훈¹ · 왕명현*

강원대학교 생명공학부, ¹강원도 보건환경연구원 식의약품분석과

Studies for Component Analysis, Antioxidative Activity and α -glucosidase Inhibitory Activity from *Equisetum arvense*

Jia-Gua, Ying-Shan Jin, Woong Han, Tae-Heum Shim¹, Jae-Hoon Sa¹ and Myeong-Hyeon Wang*

Division of Biotechnology, Kangwon National University, Chuncheon 200-701, Korea

¹Gangwon Research Institute of Health and Environment, Chuncheon 200-822, Korea

Received January 27, 2006; Accepted March 3, 2006

This study was carried out to investigate the chemical components, and antioxidative and anti- α -glucosidase activities of *Equisetum arvense* extracts. In *Equisetum arvense* extracts were composed of 53.20% of crude fiber, 20.42% of crude ash, 15.32% of crude protein and 2.21% of crude fat. Potassium was the most predominant mineral and followed by phosphorus, calcium, magnesium, and sodium. The contents of the unsaturated fatty acids, such as linolenic acid, linoleic acid, and palmitic acid, were higher than those of saturated fatty acids. Seventy percent ethanol extract exhibited antioxidative activity with IC₅₀ of 168.1 μ g/ml. The Seventy percent methanol extract showed higher α -glucosidase inhibitory activity than other solvent extracts.

Key words: antioxidative activity, chemical components, *Equisetum arvense* extracts, anti- α -glucosidase activity

서 론

쇠뜨기(*Equisetum arvense*)는 양치식물로 이루어진 속새과(Equisetaceae)에 속하는 다년생 초본 식물로서 전 세계적으로 30여종이 북반구의 온대지방을 중심으로 널리 분포하고 있는데,¹⁾ 우리나라에 자생하는 쇠뜨기는 7종으로 알려져 있으며²⁾ 논이나 밭둑 길가 어디서든 흔하게 발견되는 잡초로 키는 20~40 cm 정도 자란다. 땅위줄기의 두 종류 중 하나는 포자를 만드는 생식줄기이며, 다른 하나는 포자를 형성하지 않는 영양줄기이다. 영양줄기를 가을에 캐서 그늘에 말린 것을 문형(問荊)이라고 하며, 이노제나 지혈제로 쓴다. 이와 비슷하지만 영양줄기가 없고 생식줄기에 규산질이 축적되어 나무처럼 아주 단단한 속새(*E. hyemale*)는 키가 30~60 cm로 여러 줄기가 무리지어 자라는데 줄기 말린 것을 목적(木賊)이라고 하여 장출혈(腸出血) 치료에 사용한다.³⁾ 한약재 속새과 식물들은 약리성분을 많이 포함하고 있어서 항저혈당,^{4,5)} 이노 작용,⁶⁻¹⁰⁾ 간 보호 기능¹¹⁾이 있다. 쇠뜨기는 유럽, 아시아, 아메리카에서는 피부 항염제로 사용되고 터키나 미국에서는 항균제로도 사용한다.¹²⁻¹⁴⁾

이외에도 쇠뜨기 추출물이 제2형 인슐린 비의존성 당뇨 환자의 혈당을 조절하는 활성도 있는 것으로 밝혀졌다.¹⁵⁾

현재 국내외적으로 천연물로부터 기능성 성분의 소재를 발굴하기 위하여 연구가 활발히 진행되고 있으나, 쇠뜨기의 생리활성 물질로서의 연구는 아직까지 미진하여 본 연구를 통하여 고부가가치의 기능성 의약품 개발에 기여하고자 한다. 따라서 본 연구에서는 풍부한 전통 약용식물로서뿐만 아니라 신물질 개발에 쇠뜨기의 이용도를 높이기 위하여 그의 영양성분을 분석하고, 생리활성 기능의 탐색으로 각종 추출물을 이용하여 항산화 활성과 ACE 저해활성 및 α -glucosidase 저해활성 효과에 대하여 연구하였다.

재료 및 방법

실험재료. 본 연구에 사용된 쇠뜨기는 강원도 춘천시 근교에서 9~10월에 채집한 쇠뜨기를 음건시켜 잘게 세절하여 시료로 사용하였다.

추출물의 조제 및 추출수율 측정. 쇠뜨기를 음건 세절한 분말을 약 100 g 정도로 추출용기에 넣고, 각각 에탄올, 메탄올, 클로로포름, 물, 70% 에탄올, 70% 메탄올 등을 시료중량 20 배에 해당하는 2l의 용매로 48시간 교반 추출을 2회 반복 하였다. 추출하여 얻어진 용액을 ADVANTEC NO. 2 filter

*Corresponding author

Phone: 82-33-250-6486; Fax: 82-33-241-6480

E-mail: mhwang@kangwon.ac.kr

paper를 이용하여 여과하여 vacuum rotary evaporator로 감압 농축하여 추출물을 얻었으며, 추출수율(%)을 계산하였다.

일반성분 분석. 일반성분은 AOAC 방법¹⁶⁾에 따라 분석하였다. 즉, 수분은 105°C 상압건조법, 조지방 함량은 Soxhlet 추출법으로 Gerhardt사(Germany)의 Soxtherm을 이용하였고, 조단백질은 단백질 자동 분석 장치(2300 Kjeltec Analyzer Unit, Foss Tecator사, Sweden)를 이용하여, 질소계수 6.25를 곱하여 조단백질 함량(%)으로 표시하였다. 조회분은 550°C에서 백색에서 회백색의 회분이 얻어질 때까지 회화하여 정량하였다. 탄수화물은 100에서 수분, 조지방, 조단백질, 조회분 함량을 뺀 값으로 나타내었다.

무기질 분석. 무기질 시료의 전처리하는 쇠뜨기를 황산-질산 분해법으로 분해한 후, 일정용액으로 하여 Atomic Absorption Spectrophotometer(AanalytikjenaAG NOVA330, Germany)로 분석하였다.¹⁷⁾ Calcium은 인의 간섭을 피하기 위하여 AAS의 방법에 따라 KCl을 첨가하여 nitro oxide-acetylene gas를 사용하였다. 인은 몰리브덴 청 비색법으로 UV/VIS Spectrophotometer DU800(Beckman Coulter, USA)을 이용하여 분석하였다.

지방산 분석. 쇠뜨기 시료를 Bligh-Dyer 및 Folch 등 방법인 chloroform : methanol(2 : 1, v/v)용액으로 지방질을 추출 정제한 후, 검화하여 Metcalfe 등의 방법에 따라 14% boron trifluoride로 methylation한 후, gas liquid chromatography(GLC)(Agilent 6890N Gas chromatograph)로 분석하였다.¹⁸⁻²¹⁾ 즉, 총 지방질 약 25 mg을 취하여 0.5 N NaOH methanol용액 1.5 ml를 가하여 100°C에서 5분간 검화시킨 후, 14% BF₃-MeOH 용액 2.0 ml를 가해 100°C에서 30분간 가온하여 지방산 methylester로 한 후, isooctane 1.0 ml와 포화 NaCl 용액 5.0 ml를 가해 추출하여 isooctane층을 취하여 Na₂SO₄(anhydrous)로 탈수 후, GLC 분석시료로 하였다. 분석시 검출기는 FID, 칼럼은 ZB-Wax(30 m × 0.25 mm id × 0.25 μm df) capillary column을 사용하였다.

구성당 분석. 구성당은 Blakeney 등의 방법²²⁾으로 정량하였다. 즉, 쇠뜨기 시료 10 mg을 teflon lined screw cap tube에 취하여 72%(w/w) H₂SO₄ 125 μl를 넣어 잘 혼합한 다음, 실온에서 45분간 방치하였다. 그 혼합액에 증류수 1.35 ml를 가하여 100°C에서 3시간 가수분해한 후, 320 μl의 15 M NH₄OH로 중화하여 1 ml의 2% NaBH₄ DMSO용액을 첨가하여 40°C에서 90분간 반응시켰다. 반응액에 18 M glacial acetic acid 100 μl를 가하고 1-methylimidazole 200 μl와 acetic anhydride 2.0 ml를 넣어 실온에서 10분간 방치하였다. 이 반응액에 증류수 5.0 ml를 가하여 과잉의 acetic anhydride를 분해 후, dichloromethane 1.0 ml를 넣어 혼합 후, 분리된 하층을 GLC를 이용하여 분석하였다.

DPPH 자유라디칼(free radical) 소거법에 의한 항산화 효과. 70% 에탄올, 70% 메탄올, 메탄올, 물 추출물은 물을 이용하여 적당한 농도로 희석하였고, 클로로포름과 에탄올 추출물을 100% DMSO로 녹인 후 다시 각각 100배와 10배 희석하여 준비하였다. 준비된 검체를 0.2 mM DPPH(2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) 1 ml씩을 균일하게 혼합한 다음, 실온에서 30분간 방치한 후, 514 nm에서 흡광도를 측정하였다.²³⁾ 항산화 효과는 대조군에 대한 50% 흡광도의 감소를 나타내는 검체의 농도(IC₅₀)로 표시하

였고, 각 시료를 3회 반복 실시하여 평균하였다.

α-Glucosidase 저해활성 측정. 각각 추출물을 1 mg/ml의 농도로 희석 후 0.3 U/ml의 α-glucosidase 효소액 50 μl, 0.1 M PBS buffer(pH 7.0)에 넣고 혼합하여 37°C에서 15분간 반응시킨 후 3 mM pNPG(Sigma, Mo, USA)를 가하여 37°C에서 10분간 반응시켰다. 0.1 M Na₂CO₃를 가하여 반응을 정지시킨 후 405 nm에서 흡광도를 측정하여 저해율을 계산하였다. 쇠뜨기 용매별 추출물에 대한 양성 대조군으로 acarbose를 사용하였다. α-Glucosidase에 대한 저해 kinetics는 서로 다른 농도의 추출물에 다양한 농도의 pNPG를 기질로 하여 α-glucosidase의 저해 활성을 측정 하였다. 이렇게 측정한 저해 활성은 Lineweaver-Burk plot을 이용하여 분석 하였다.

ACE 저해활성 측정. Angiotensin converting enzyme 저해효과 측정은 Cushman의 방법²⁴⁾에 준하여 5 mg/ml 농도의 용매별 추출물 시료 25 μl, 기질인 Hip-His-Leu 50 μl, lung acetone powder로부터 조제된 ACE용액 50 μl를 37°C에서 30분간 반응시킨 후 2.5 N HCl 50 μl로 반응을 정지 시켰다. 이 반응액에 1 ml의 ethylacetate를 첨가한 후 5분간 vortexing하고 12,000 rpm에서 2분 동안 원심 분리하여 얻어진 상등액을 0.5 ml 취해 100°C에서 한 시간 동안 두어 용매를 완전히 제거 시킨 후 0.4 M NaCl 1 ml로 녹인 후 228 nm에서 흡광도를 측정 하였다. 대조군은 시료대신 증류수를 사용하였고 시료에 대한 공시료는 1 N HCl을 미리 혼합하였으며 아래의 식에 따라 저해율을 산출하였다.

$$\text{저해율(\%)} = [(C - C_b) - (S - S_b)] / (C - C_b) \times 100$$

C: Control의 흡광도 C_b: Control 공시료의 흡광도

S: 시료의 흡광도 S_b: Sample 공시료의 흡광도

결과 및 고찰

일반성분 함량. 쇠뜨기(*Equisetum arvense*)의 일반성분을 분석한 결과 탄수화물이 53.20%로 함량이 가장 높았다(Table 1). 그 밖에 조회분, 조단백질, 수분, 조지방 순으로 나타났으며, 각각 20.42, 15.32, 8.85, 2.21%였다. 쇠뜨기의 무기성분은 Table 1과 같이, 7가지 종류가 검출되었다. K, Ca 등 2종류가 기타 원소에 비해 다량 함유되어 있었다. 이중 가장 많이 검출된 것은 K로 3,768.12 mg/100 g으로 가장 많았으며, Ca은 1,130.44 mg/100 g으로 나타났다. P, Mg, Na는 180~110 mg/100 g이며, 가장 적은 양을 보인 것은 Zn으로 2.19 mg/100 g으로 나타났다.

지방산 조성 및 구성당 함량. 쇠뜨기의 지방산 함량을 GLC로 분석한 결과는 Table 2A과 같다. 지방산 중 가장 많이 포함하고 있는 것은 linolenic acid(C_{18:3})인데 42.83%로 나타났으며 다음으로는 linoleic acid(C_{18:2})가 23.60%, palmitic acid(C_{16:0})가 19.00% 순으로 나타났다. 또한 총 지방산 중 포화지방산이 25.57%로 나타났고 불포화 지방산이 포화지방산에 비해 3배 정도 많이 함유하고 있는 것으로 나타났다. 쇠뜨기에 함유되어 있는 구성당 함량을 GLC로 분석한 결과는 Table 2B와 같다. 구성당은 총 2종이 분리 동정되었으며, 그 중 glucose가 13,351.88 mg/100 g으로 나타났고, mannose는 1,616.31 mg/

Table 1. General chemical and mineral contents in *E. arvense*

Composition	Extracts of <i>E. arvense</i>
Proximate compositions (%)	
Moisture	8.85
Crude ash	20.42
Crude protein	15.32
Crude fat	2.21
Carbohydrate	53.20
Mineral (mg/100g)	
Ca	1130.44
K	3768.12
Na	111.67
Mg	180.59
Zn	2.19
Fe	55.37
P	146.01

100 g으로 분리 되었다.

추출수율. 쇠뜨기를 음건 세질 후 100 g을 각각 물, 에탄올, 70%에탄올, 메탄올, 70%메탄올, 클로로포름의 용매 2 l로 상온에서 48시간 추출한 후, 여과하여 감압농축 후 추출 수율을 구한 결과는 Table 3과 같다. 수율은 물 추출물에서 19.8%로 가장 높았으며 70% ethanol 추출물이 18.0, 70% methanol 추출물이 15.0%로 나타났으며, 다음으로는 methanol, ethanol 순으로 나타났으며, 비극성용매인 chloroform은 4.5%의 비교적 낮은 추출 수율을 보였다. 이러한 경향은 쇠뜨기가 많은 양의 당성분에 의한 것으로 사료 된다.

쇠뜨기 추출물의 항산화 효과. 쇠뜨기의 활성산소를 소거할 수 있는 화합물 또는 과산화물 생성억제 물질로 이용하고자 DPPH로 전자공여능을 분석한 결과는 Fig. 1과 같다. 70% ethanol 추출물의 항산화 활성(IC₅₀)이 168.1 µg/ml로 가장 높게 나타났고, 다음으로 70% methanol 추출물이 187.8 µg/ml로 나타났으며, chloroform 추출물이 194.2 µg/ml, methanol, 물, ethanol 추출물 순으로 나타났다. 추출용매 별로 살펴보면 70% 에탄올, 70% 메탄올을 이용한 추출물에서 높은 항산화 효과를 보였다.

α-Glucosidase 저해활성 및 ACE 저해활성 측정. 당뇨병은 암 및 순환기 질환과 더불어 3대 질병의 하나로 지목되고 있다. α-Glucosidase는 소장외 brush-border membrane에 존재하는 소화효소이다. 이들은 이당류나 다당류는 탄수화물이 소화 흡수되기 위한 상태인 단당류로 가수분해하는 역할을 한다. α-

Table 3. Extraction yields of *E. arvense* extract according to different solvents

Solvents	Extraction yield (%weight/weight)
H ₂ O	19.8
EtOH	10.7
70% EtOH	18.0
MeOH	12.3
70% MeOH	15.0
CHCl ₃	4.5

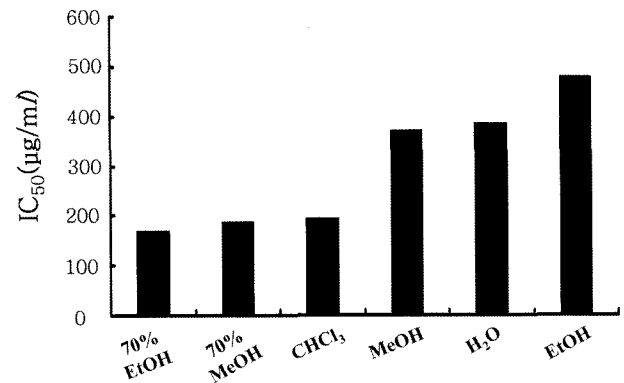


Fig. 1. Antioxidant activity of extracts obtained from *E. arvense* by DPPH radical scavenging method. IC₅₀ values represent amount required for 50% reduction of DPPH (0.04 mM) after 30 min.

Glucosidase 저해제는 탄수화물 식이 후 혈당상승을 억제 할 수 있다. 그리하여 쇠뜨기 추출물을 1 mg/ml의 농도로 사용하여 α-glucosidase에 대한 저해활성을 검토한 결과를 Table 4에 나타내었다. 효모기원의 α-glucosidase에 대한 저해 활성의 경우 70% methanol 추출물에서 82.05%의 높은 저해 활성을 보였다. 용매별로는 70% ethanol 추출물에서 48.28%, ethanol 추출물에서 15.14%, methanol 추출물에서는 14.61%를 보인 반면 물과 chloroform 추출물에서는 α-glucosidase저해를 나타내지 않았다. 쇠뜨기 추출물이 제2형 인슐린 비의존성 당뇨 환자의 혈당을 조절한다는 *in vivo* 실험 결과를 나타낸 것이 쇠뜨기의 항당뇨 효과¹⁵⁾를 더 한층 증명해 주고 있다.

ACE의 강력한 저해제인 Captopril이 개발되었고 이후 Enalapril, Benazepril 등 수종의 ACE 저해제가 상품화되어 고혈압 치료제로서 이용되고 있다.²⁵⁾ 식품관련 분야에서의 ACE

Table 2. Contents of fatty acid and monosaccharide composition in *E. arvense*

(A)									
Fatty acid (%)									
C16:0	C16:1	C18:0	C18:1	C18:2	C18:3(α)	C20:0	C22:0	Saturated	Unsaturated
19.00%	0.40%	2.47%	7.60%	23.60%	42.83%	0.64%	1.25%	25.57%	74.43%

(B)	
Monosacchrides (mg/100g)	
Mannose	Glucose
1,616.31	13,351.88

Table 4. ACE and α -glucosidase inhibitory activities of solvent fractions from *E. arvense*

Extract	EtOH	70% EtOH	MeOH	70% MeOH	Water	CHCl ₃	Acarbose
α -glucosidase Inhibitory Rate (%)	15.14	48.28	14.61	82.05	/	/	99.0
ACE Inhibitory Rate (%)	0.47	9.06	2.03	7.58	8.13	15.84	

저해제로서는 단백질 가수분해물, 돼지혈장에서 분리된 peptide 등으로, 주로 C말단에 proline을 가지는 peptide, 감귤류 및 과실류의 flavonoid 배당체류 등을 들 수 있다. 쇠뜨기 추출물의 고혈압에 대한 효능을 알아 보기 위하여 ACE저해 활성을 측정 한 결과는 Table 4에 나타내었다. 표에서 보는 바와 같이 chloroform 추출물에서 15.84%의 비교적 낮은 저해율을 나타내 어 ACE 저해제로서의 효능은 거의 없는 것으로 사료된다.

요 약

쇠뜨기 추출물을 이용하여 당뇨병에 대한 기능성 의약품 개발 목적으로 쇠뜨기 가루의 화학성분, 항산화 활성을 조사하였다. 일반성분은 탄수화물이 53.20%로 탄수화물의 함량이 가장 높았다. 그 밖에 조회분, 조단백질, 수분, 조지방 순으로 나타났으며, 각각 20.42%, 15.32, 8.85%, 2.21%로 나타났다. 쇠뜨기 가루에 가장 많은 무기성분으로는 K, Ca 등 2종류가 기타 원소에 비해 다량 함유되어 있었다. 이중 가장 많이 검출된 것은 K로 3768.12 mg/100 g으로 가장 많았으며, Ca은 1,130.44 mg/100 g로 나타났다. P, Mg, Na는 180~110 mg/100 g이며, 가장 적은 양을 보인 것은 Zn이 2.19 mg/100 g로 나타났다. 구성당은 총 2종이 분리 동정되었으며, 그 중 glucose가 13,351.88 mg/100 g, mannose는 1,616.31 mg/100 g으로 나타났다. 지방산 중 가장 많이 포함하고 있는 것은 linolenic acid(C_{18:3})가 42.83%로 나타났으며 linoleic acid(C_{18:2}) 23.60%, palmitic acid(C_{16:0}) 19.00% 순으로 나타났다. 또한 총 지방산 중 포화지방산이 25.57%로 불포화 지방산이 포화지방산에 비해 3 배정도 많이 함유하고 있는 것으로 드러났다. DPPH 라디칼 소거법에 의한 쇠뜨기 추출물들의 항산화 활성은 70% ethanol 추출물의 항산화 활성(IC₅₀)이 168.1 μ g/ml로 가장 높게 나타났고, 다음으로 70% methanol 추출물이 187.8 μ g/ml로 나타났으며, chloroform 추출물이 194.2 μ g/ml, methanol, 물, ethanol추출물 순으로 나타났다. α -Glucosidase 측정값은 70% methanol 추출물에서 82.05%의 높은 저해 활성을 보였다.

참고문헌

- Mabberly, D. J. (1990) In *The Plant-book. Reprinted with Corrections*. Cambridge University Press, Cambridge.
- Park, H. K., Lim, Y. S., Jin, H. O. and Shin, H. C. (2003) Taxonomy of genus *Equisetum* L. (Equisetaceae) in Korea. *Kor. J. Plant Tax.* **33**, 17-46.
- Yan, Z. K. and Li, W. L. (1997) In *China changbai mountain medicinal plant colour atlas(M)*. People's Medical Publishing House, Bei Jing.
- Andrade-Cetto, A. (1999) Ethnopharmacological study of *Equisetum myriochaetum* Schlechtendal and Cham and *Cecropia obtusifolia*. Bertol. Doctoral thesis. Science School, National University of Mexico.
- Andrade-Cetto, A., Wiedenfeld, H., Revilla M. C. and Sergio, I. A. (2000) Hypoglycemic effect of *Equisetum myriochaetum* aerial parts on streptozotocin diabetic rats. *J. Ethnopharmacol.* **72**, 129-133.
- Perez Gutiérrez, R. M., Yescas G. and Walkowski, A. (1985) Diuretic activity of Mexican *Equisetum*. *J. Ethnopharmacol.* **14**, 269-272.
- Parada, M. (1990) Evaluacion de la actividad diuretica de *Equisetum bogotense* (hierba de la plata) en voluntarios sanos. Tesis de grado de Químico-Farmacéutico. Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas, Universidad de Chile.
- Schmeda-Hirschmann, G., Loyola, J. I., Sierra, J., Retamal R. and Rodríguez, J. (1992) Hypotensive effect and enzyme inhibition activity of mapuche medicinal plants extracts. *Phytother. Res.* **6**, 184-188.
- Argueta, V. A. (1994) Atlas of the traditional Mexican medicinal plants, vol. I. National Indigenous Institute, México.
- Lemus, I., Garcia, R., Erazo, S., Pena, R., Parada, M. and Fuenzalida, M. (1996) Diuretic activity of an *Equisetum bogotense* tea (Platero herb): evaluation in healthy volunteers. *J. Ethnopharmacol.* **54**, 55-58.
- Hyuncheol, O. H., Kim, D. H., Cho, J. H. and Kim, Y. C. (2004) Hepato-protective and free radical scavenging activities of phenolics petrosins and flavonoids isolated from *Equisetum arvense*. *J. Ethnopharmacol.* **95**, 421-424.
- Ody, P. and Kindersley, D. (1993) *In the complete medicinal herbal*. DK Publishing, New York.
- Hoffman, D. (1990) In *The new holistic herbal*. Element, Shaftesbury.
- Mineo, S., Takayasu, M., Kaori, H., Yoshiro, T., Taisuke, S. and Masaaki, M. (1993) Studies on bathing agent: anti-inflammatory effect of bathing agent which used for skin disease. *Shoyakugaku Zasshi* **47**, 1-4.
- Revilla, M. C., Andrade-Cetto, A., Islas, S. and Wiedenfeld, H. (2002) Hypoglycemic effect of *Equisetum myriochaetum* aerial parts on type 2 diabetic patients. *J. Ethnopharmacol.* **81**, 117-120.
- A.O.A.C. (1980) Official methods of analysis, 4th ed. Association of official analytical chemist, Washington D. C. pp. 129-133.
- Korea Food & Drug Administration. (2002) In *Food Code a separate volume*. pp. 301-304.
- Bligh, E. G. and Dyer, W. J. (1959) A rapid methods of total lipid extraction and purification. *Can. J. Biochem. Physiol.* **37**, 911-917.
- Folch, J., Lee, M. and Sloane Stanley, G. H. (1957) A simple methods for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *J. Biol. Chem.* **226**, 497-509.
- Metcalfe, L. D. and Schmitz, A. A. (1961) The rapid

- preparation of fatty acid esters for gas chromatographic analysis. *Anal. Chem.* **33**, 363-364.
21. Shim, T. H., Han, K. S., Lee, T. J., Cheong, E. H. and Lee, H. K. (1994) Composition of lipid and amino acid in *Semisulcospira gottschei* tissues. *J. Food Hyg. Saf.* **9**, 81-87.
22. Blakeney, A. B., Harris, P. J., Henry, R. J. and Stone, B. A. (1983) A simple and rapid preparation of auditor acetates for monosaccharide analysis. *Carbohydrate Research.* **113**, 291-299.
23. Sa, J. H., Shin, I. C., Jeong, K. J., Shim, T. H., Oh, H. S., Park, S. K., Cheung, E. H., Kim, S. N., Kim, G. K., Choi, D. S., Kwon, Y. S. and Kim, C. M. (2002) Catechin content and antioxidative effect from *Rosa davurica* Pall. *Kor. J. Pharmacogn.* **33**, 177-181.
24. Cushman, D. W., Pluscec, J., Williams, N. J., Weaver, E. R., Sabo, E. F., Kocy, O., Cheung, H. S. and Ondetti, M. A. (1973) Inhibition of angiotensin-converting enzyme by analogs of peptides from *Bothrops jararaca* venom. *Experientia.* **29**, 1032-1035.
25. Engel, S. L., Schaeffer, T. R., Gold, B. I. and Rubin, B. (1972) Inhibition of pressure effects of agiotensin I and augmentation of depressor effects of bradykinin by synthetic peptides. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* **140**, 240-245.