

## 물개구리밥(*Azolla imbricata*)을 이용한 주요 활성성분의 분리 및 화장품 소재 개발 연구

송민현<sup>†</sup> · 배준태 · 이근수 · 장영학\* · 표형배

한불화장품(주) 기술연구소, \*중국 북경대학 약리학 실험실  
(2010년 3월 10일 접수, 2010년 3월 17일 수정, 2010년 3월 24일 채택)

### A Study on the *Azolla imbricata* using as a Cosmetic Active Ingredient

Minhyeon Song<sup>†</sup>, Jun Tae Bae, Geun Su Lee, Yong He Zhang\*, and Hyeong Bae Pyo

R&D Center Hanbul Cosmetics Co. Ltd, 72-7, Yongsung-ri, Sansung-myun, Umsung-kun, Chungbuk 369-834, Korea  
\*Department of Pharmacology, Peking University, School of Basic Medical Science, 38 Xueyuan Road, Beijing 100083, China  
(Received March 10, 2010; Revised March 17, 2010; Accepted March 24, 2010)

**요약:** *Azolla*는 Azollaceae 속에 속하는 수생 양치류이며, 물속에서 질소고정 박테리아인 *Anabaena azollae*와 공생관계의 식물로써, 현재까지는 질소 함량이 다량 함유되어 쌀 생산량에 크게 기여하는 식물인 것으로 알려져 있다. 이러한 이유로 인해서 중국이나 베트남 북부에서는 수생 식물의 유기 비료 뿐만 아니라 물속 정화기능까지 갖고 있는 것으로 인식되어 농업 및 수산 분야에서 연구가 활발히 진행되고 있는 실정이다. 그러나 이전 연구에서는 *Azolla* 속의 페놀성 화합물에 대한 연구가 미비하다. 이번 연구에서는 수생식물인 *Azolla imbricata*의 추출 및 분획을 통하여 *Azolla imbricata* fraction (AIF) 물질을 얻어 내었으며, DPPH 법을 통한 항산화능 측정과 lipoxygenase 저해 활성 능력 측정을 통해서 *Azolla imbricata*의 새로운 능력을 부여하고자 하였다. 이 물질의 항산화 능력과 lipoxygenase 저해 활성능을 나타내는 물질을 분석하였으며, MMP-1 시험에서는 피부 탄력과 보호기능을 위한 콜라겐의 활성 저해율이 75 % 이상인 것으로 나타났다. LC-MASS와 FT-IR, 원소분석(Element analysis)을 통하여 구조 분석을 하여 *Azolla imbricata*가 함유하고 있는 페놀성 화합물의 구조를 알아내었다. 이러한 분석을 통해서 화장품 원료로 잘 사용되지 않았던 수생식물의 사용성을 증대시키고, 천연 화장품 개발로의 응용이 가능할 것으로 기대된다.

**Abstract:** The water fern *Azolla* belongs to the Azollaceae and forms a symbiotic association with a N<sub>2</sub>-fixing cyanobacterium, referred to as *Anabaena azollae*, and this association has currently been demonstrated to have potential as a nitrogen source for rice production. Because of that, *Azolla* fern has been used not only as organic manure in southern China and northern Vietnam for a long time but also as food for animate creatures in the underwater and decontaminant in the water. However, the phenolic compounds and active materials of *Azolla* have not been examined in detail in the past studies. In the present study, anti-oxidant ability test and experiment to find a particular active material of *Azolla imbricata* and *Azolla imbricata* fraction (AIF) were performed. In anti-oxidant test such as DPPH test and lipoxygenase inhibition test, the value of test represented high activities compared with authentic sample - green tea and NDGA (nordihydroguaiaretic acid). In MMP-1 test, related to collagen protection and elasticity of skin, its inhibitory effect was measured over 75 %, and the phenolic compounds of AIF related with this activity were confirmed luteolin derivatives by using FT-IR spectroscopy, element analyzer (EA) and Liquid chromatography-MASS spectroscopy.

**Keywords:** *Azolla imbricata*, phenolic compound, lipoxygenase, anti-oxidant, cosmetic ingredient

<sup>†</sup> 주 저자 (e-mail: 207110631@hanbul.co.kr)

## 1. 서 론

*Azolla* 속은 논이나 작은 연못 혹은 강 등의 물 위에 떠서 자라는 작은 수생 양치류이며, 아시아 남부 열대 및 아열대 지방이 원산지인 상록 다년생초이다(Figure 1).

*Azolla*는 포자낭의 숫자에 따라 1과 1속(2아속) 7종으로 크게 구분되나, 형태나 특성에 따라 세계적으로 약 66종이 분포하는 것으로 알려져 있다(Table 1).

질소 고정 박테리아와의 공생으로 공기 혹은 수중의 질소를 흡수하여 *Azolla* 내에 아미노산류의 질소 함량이 높다. 또한 *Azolla*는 남조류인 *Anabaena azollae*와 공생 관계를 이루며, 남조류는 *Azolla*에게 질소 공급을, *Azolla*는 *Anabaena azollae*에게 생육장소를 제공하여 최적 조건에서는 하루에 2 ~ 4 kg의 질소를 고정하는 것으로 알려져 있다[1].

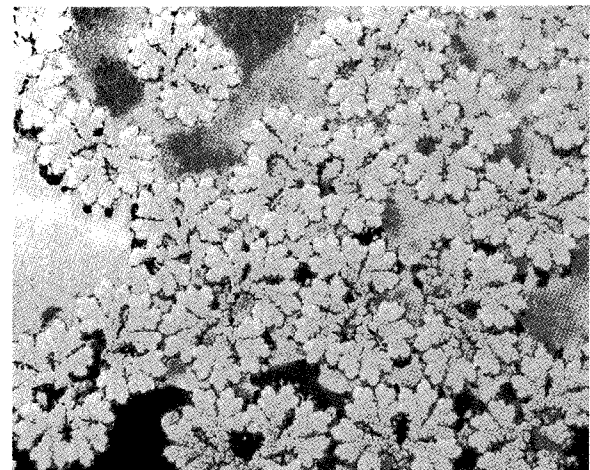
이러한 *Azolla*는 수 세기 동안 중국 남중부 및 베트남 북부 지역의 벼 재배 지역에서 유기성 비료 및 자원으로 활용되어 왔으며, 벼 재배에 있어서 병충해 방지 및 무기물의 증가로 인한 면역력의 증대에도 영향을 준다. 또한 *Azolla*가 생육하는 환경 내에서 중금속의 biofilter 역할을 하기 때문에 수질 개선에도 영향을 주는 것으로 연구되었다[2].

이와 같은 *Azolla*의 생육 환경에 대한 연구와 아미노산에 대한 연구는 많이 진행되었으나, *Azolla* spp. 물질 자체에 대한 연구는 소수에 불과하다. *Azolla pinnata* 추출물의 경우, tyrosinase 저해 활성을 나타내는 연구 보고가 있으며 *Azolla japonica*의 경우 desoxy-anthocyanin 류의 페놀성 화합물이 있는 것으로 연구된 바가 있다[3-5]. 본 연구에서는 물개구리밥(*Azolla imbricata*) 추출물을 이용하여 항산화 활성 평가와 피부 면역 관여에 대한 평가, 기능성 물질의 활성화 측정 및 활성 물질에 대한 구조 분석을 통하여 화장품 원료로서의 적합성 여부를 확인해보고 향후 제형 적용의 가능성에 대해서 알아보고자 한다.

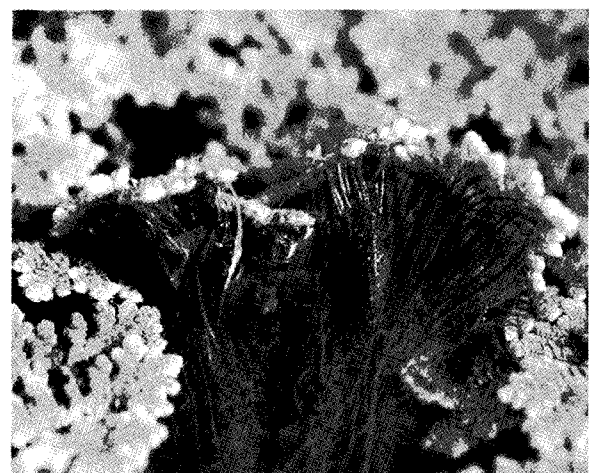
## 2. 재료 및 방법

### 2.1. 실험 재료 및 기기

본 연구에 이용된 물개구리밥은 북경대학교 의과대학 약리학과 실험실에서 생육 조건을 맞추어준 배지에서 육중한 품종을 분양받아 직사광이 없는 그늘에서 72 h 동안 말린 뒤 마쇄하여 이용하였다. 실험에 사용한 시약은 DPPH (1,1-diphenyl-2-picryl-hydrazyl), BSA (bovin



(a)



(b)

Figure 1. Typical shape of *Azolla imbricata*.

serum albumin), PBS (phosphate buffered saline solution), linoleic acid, lipoxydase(preparation type V, from soybean), NDGA (nordihydroguaiaretic acid)는 Sigma 사 제품을, HPLC 분석에 이용한 methanol, acetonitrile은 Merck사의 제품을, 추출에 사용된 용매는 덕산화학 제품을 사용하였으며, 녹차추출물은 바이오랜드에서 공급하는 green tea extract를 이용하였다. 분석에 사용된 기기는 microplate reader (Bio-tec, USA), HPLC system (Waters, USA), evaporator (EYELA, Japan), FT-IR spectrometer 5300 (JASCO, USA)를 사용하였다.

### 2.2. 추출 및 분리 분석

추출 시 용매로는 70 % 에탄올을 이용하여 10 wt% 농도로 실온에서 6 h 동안 총 2회 추출하여 그 여액을 받

**Table 1.** Synopsis of Classification of *Azolla* spp.

FAMILY	Azollaceae		
GENUS	<i>Azolla</i>		
Subgenera	<i>Azolla</i>	Tetrasporocarpia	
Sections	<i>Szolla</i>	Rhizosperma	
SPECIES	<i>A. caroliniana</i>	<i>A. pinata</i>	<i>A. nilotica</i>
	<i>A. filiculoides</i>		
	<i>A. mexicana</i>		
	<i>A. microphylla</i>		
	<i>A. rubra</i>		
	<i>A. imbricata</i>		
	<i>A. japonica</i>		
Subspecies	<i>A. pinnata</i> subsp. <i>Africana</i>		
	<i>A. pinnata</i> subsp. <i>asiatica</i>		
	<i>A. pinnata</i> subsp. <i>pinnata</i>		

아냈다. 그 후, 에탄올을 감압 증류 장치(rotary evaporator)를 이용하여 제거한 다음 물 층은 동결 건조한 뒤에 실험에 사용하였다.

추출물의 동결 건조물은 다시 70 % 에탄올에 녹인 뒤, ultrasonicator에서 10 min 동안 분해한다. 이후 PTFE (0.5  $\mu$ m pore size) 필터를 이용하여 filtration한 뒤, HPLC로 분석하였으며, 그 중 활성이 가장 높다고 생각되는 물질을 분획(*Azolla imbricata* fraction (AIF))하여 실험에 이용하였다.

### 2.3. DPPH Radical 소거능 측정

항산화 활성은 DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl, Aldrich, USA)를 이용하여 시료의 라디칼 소거효과(radical scavenging effect)를 측정하는 Blois법[12]을 활용하였다. 0.1 mM DPPH methanol 용액에 동일량의 물개구리밥 추출물을 가하여 vortex mixer로 잘 혼합한 후 실온에서 10 min 동안 반응시킨다. 이후 spectrophotometer를 이용하여 565 nm에서 흡광도를 측정하였다.

### 2.4. MMP-1(Collagenase) 효소 활성저해 실험

섬유아세포를  $1.5 \times 10^5$  cells/mL의 농도로 35 mm dish에 배양, 약 80 %의 confluency에 도달할 때까지 배양한다. UV조사 전에 배양배지를 제거한 후 PBS로 세척하여 배지내 serum을 제거한 후 PBS 상태에서 6.3 J/cm<sup>2</sup> UVA (UVA F15T8BLB, Sankyo Denki, Japan)를 조사하였다. UVA 조사 후 배양배지는 FBS를 첨가하지 않은 DMEM/F12 (3:1) 배지에 물개구리밥 추출물 및 분획물을 투여하여 24 h 동안 배양하였다.

섬유아세포에 UVA를 조사 후 시료를 처리하여 24 h 동안 배양한 배지를 96 well plate에 분주하여 4 °C에서 overnight하여 coating하였다. PBS-T (phosphate buffered saline + 0.05 % Tween 20)로 3회 세척하고 3 % BSA (bovine serum albumin)/PBS로 37 °C, 2 h 동안 blocking한 후 monoclonal anti-MMP-1 (mouse)을 1 : 1000으로 blocking solution (3% BSA)에 희석하여 150  $\mu$ L씩 분주하고 37 °C, 2 h 반응시켰다. Anti-mouse IgG alkaline phosphatase conjugate를 1 : 1000으로 blocking solution에 희석하여 150  $\mu$ L씩 분주하고 37 °C, 90 min 동안 반응시킨 후 PBS-T로 세척한 다음 diethanolamine buffer에 1 mg/mL pNPP (p-nitrophenyl phosphate)를 포함한 기질용액 150  $\mu$ L를 넣어 실온에서 30 min 동안 반응시켰다. 3 N NaOH 50  $\mu$ L를 첨가하여 반응을 완전히 중지시킨 후 microplate reader을 사용하여 405 nm에서 흡광도를 측정하였다.

### 2.5. Lipoxxygenase 효소 활성저해 실험

아토피 피부염 유발을 억제시키는 원료의 효능 측정법으로써, lipoxxygenase 효소는 체내에서 과량 분비될 경우, 체내 존재하는 불포화 지방산인 arachidonic acid 혹은 linoleic acid와 반응하여 leukotrien을 다량 생성하게 되는데 이 물질이 아토피 피부염 환자의 각화를 진행시키며, 피부 내의 염증이 증가하게 된다. lipoxxygenase 실험은 반응 완충 용액 0.2 M Tris-HCl (pH 8.6) 3 mL에 먼저 효소(lipoxxygenase, 10,000 unit/mL) 60  $\mu$ L를 첨가한 뒤, 5 min 동안 안정화시킨다. 이후, 기질을 3 mM이 되도록 에탄올에 용해시킨 후 100  $\mu$ L을 첨가하였으며, 샘플 또한 같은 양인 100  $\mu$ L를 첨가하여 5 min 동안 반응한 후 spectrophotometer를 이용하여 234 nm에서 흡광도를 측정하였다. 대조군으로 에탄올을 기질과 동량 첨가한 뒤 vortex mixer로 잘 혼합하고 흡광도 값을 측정하였으며, 시료 자체의 흡광도 값도 측정하여 효소 활성 계산 시 보정하였다. Lipoxxygenase 저해 표준 물질로 nordihydroguaiaretic acid (NDGA)를 50  $\mu$ g/mL, 100  $\mu$ g/mL의 농도로 사용하였다.

### 2.6. 활성 물질의 구조 동정

AIF의 작용기 분석을 위해서 FT-IR spectrometer 5300 (JASCO)를 이용하였으며, spectrum data는 500 ~ 4,000 cm<sup>-1</sup> 범위에서 3회 scanning 하여 평균값을 나타내었다.

Liquid chromatography-MASS에 의한 분자량 측정

(ABI, API-3000)과 element analysis에 의한 원소(C, H, O, N) 함량 측정(EA1110)은 충북대학교 공동 실험실습관에 물개구리밥의 분획물(AIF) 샘플을 의뢰하여 그 결과를 얻었다.

2.7. 자료분석 및 통계처리

모든 실험은 3회 반복하였고 통계분석은 5 % 유의수준에서 student's *t*-test를 행하였다.

3. 실험 결과 및 고찰

3.1. 추출물의 HPLC 분석 및 분획 확인

항산화 활성 능력과 MMP-1 발현 저해 효과를 가지는 물개구리밥 추출물의 활성 물질을 정확히 알아보기 위해서 HPLC 분석을 실시하였다. 분석 조건은 메탄올 35 %와 물 65 %의 비율에서 시작하여 35 min에 메탄올 100 %가 되도록 용매를 조성하였고, 분석 시간은 40 min, 전개량은 0.8 mL/min으로 하여 gradient 조건으로 측정하였다.

물개구리밥의 추출물에는 크게 다섯 개의 피크가 나타나며, retention time 21 min에서 22 min 사이에 물질(C)이 가장 강하게 뜨며, 이 물질이 항산화 활성과 MMP-1 저해 활성에 영향을 주는 물질로 보였다. 그래서 그 피크대의 물질을 분획하여 따로 받아내었다. 물개구리밥 추출 분획물(AIF)을 수회 분획하여 받아내어 메탄올은 감압 증류하여 모두 제거하고 남은 수분은 동결건조기를 통하여 모두 제거하였다. 남은 물질은 연갈색의 파우더 형태인 것을 확인하였다.

AIF가 단일 물질인가를 확인하기 위하여 먼저 동일한 조건으로 다시 측정을 해 보았으며, 그 피크가 단일 물질임을 재확인 하였다. 그리고 단일 피크가 나타나는 시점의 용매 조성을 확인한 뒤, isocratic 조건으로 다시 한 번 측정하여 단일 물질의 피크가 나오는 것으로 확인되었다 (Figure 2).

3.2. DPPH Radical 소거능 측정 결과

물개구리밥의 항산화 활성 효과를 보기 위해 DPPH radical 소거능을 측정해 보았다. Figure 3을 볼 때, 전반적으로 물개구리밥의 추출물과 AIF 물질이 높은 라디칼 소거 능력을 갖고 있는 것으로 측정되었다. 더욱이 standard 물질인 녹차 추출물과 동일 농도인 2.5 mg/mL에서 비교해 보았을 경우에도 녹차 추출물보다 더욱 뛰어난 항산화 능력을 갖고 있는 것으로 나타났다. 이와 같

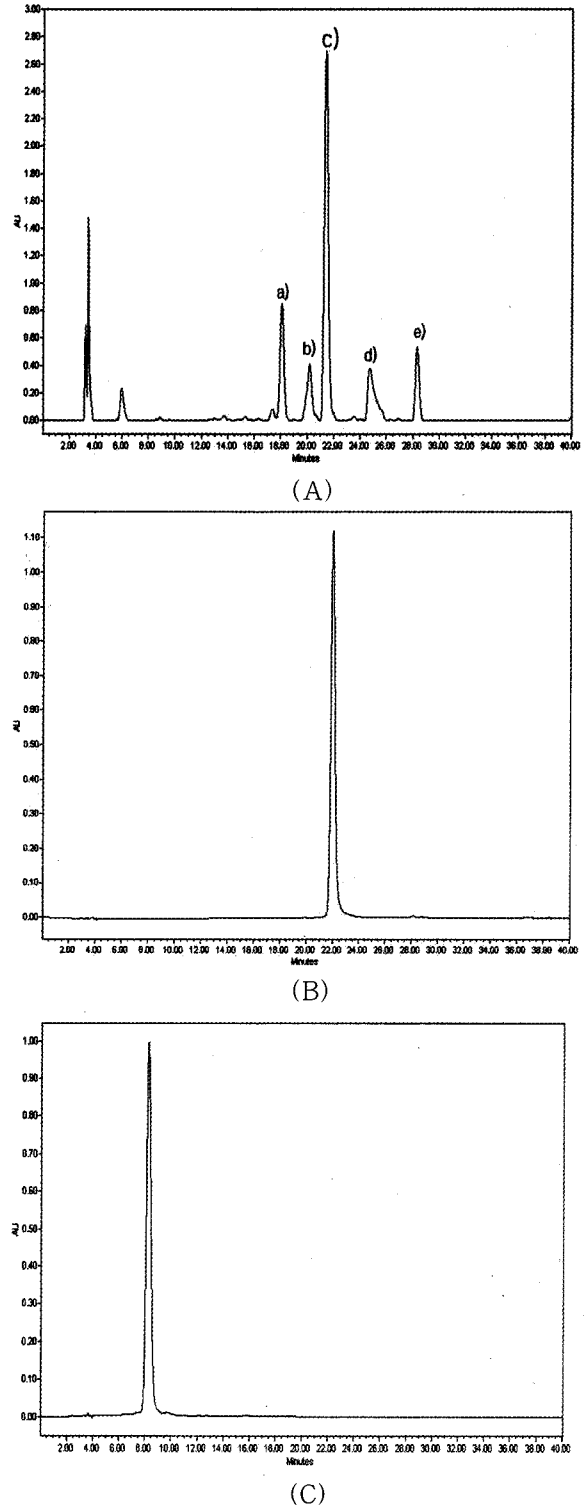


Figure 2. HPLC spectrum of *Azolla imbricata*: (A) *Azolla imbricata* extract injection (gradient condition), (B) Gradient condition of fraction c part, (C) Isocratic condition of fraction c part (MeOH : Water = 6 : 4).

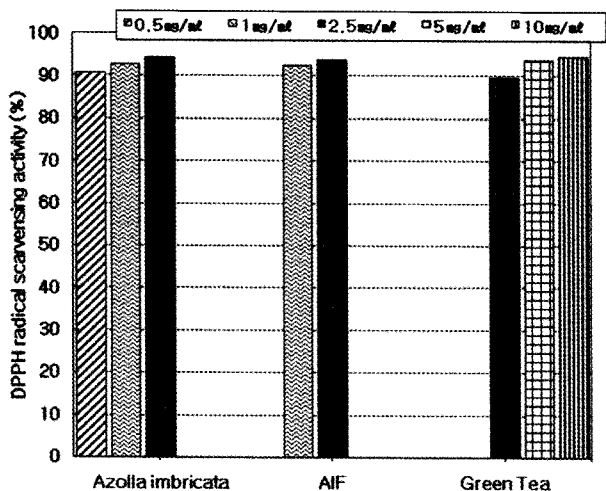


Figure 3. Anti-oxidant effect of *Azolla imbricata*.

은 실험 결과는 물개구리밥 추출물에도 자유전자를 치환할 수 있는 항산화력이 높은 물질이 존재한다는 것을 알 수 있다.

### 3.3. MMP-1(Collagenase) 활성저해 실험 결과

섬유아세포에 UVA를 조사하였을 경우에는 Figure 4에서 보는 바와 같이 collagenase 효소 발현성이 100% 발현되는 것을 확인할 수 있다. 그러나 물개구리밥 추출물을 처리하였을 경우에는 농도가 높아짐에 따라 효소의 발현성이 점점 줄어들어 100 ug/mL 처리하였을 때, 75%까지 효소 발현성이 줄어들어, 물개구리밥 추출물을 처리하지 않은 군과는 4배의 저해 활성을 띄는 것으로 확인되었다. 이는 물개구리밥 추출물이 피부 주름의 개선과 탄력 유지에 큰 영향을 줄 수 있다는 것을 알 수 있다. AIF의 경우에도 추출물의 결과와 다르지 않게 측정되었으며 저해 활성이 추출물과 동일 농도로 처리하였을 때, 저해율이 물개구리밥 추출물보다 더 높은 것을 확인할 수 있었다.

### 3.4. Lipoxygenase 효소 활성저해 실험 결과

Figure 5에서 보는 바와 같이 물개구리밥 추출물에서는 표준 저해 물질인 NDGA 100 µg/mL로 처리하였을 경우 효소 활성 저해율이 90.8 %임을 확인하였다. 이에 비해 물개구리밥 추출물과 AIF 물질의 경우에 표준물질인 NDGA와 동일 농도로 처리하였을 때, 효소 활성 저해율이 각각 82 %와 61 %의 lipoxygenase 저해 효과를 가진 것으로 나타났다. 이는 물개구리밥 추출물이 lipoxygenase 효소의 활성 억제에 효과가 있는 것으로 나타났

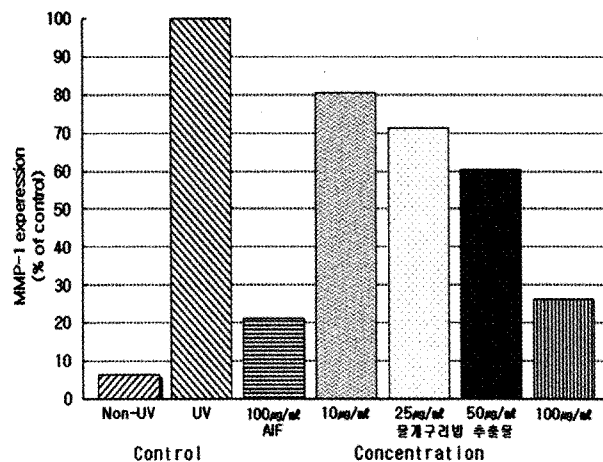


Figure 4. MMP-1(collagenase) inhibition effect of *Azolla imbricata*.

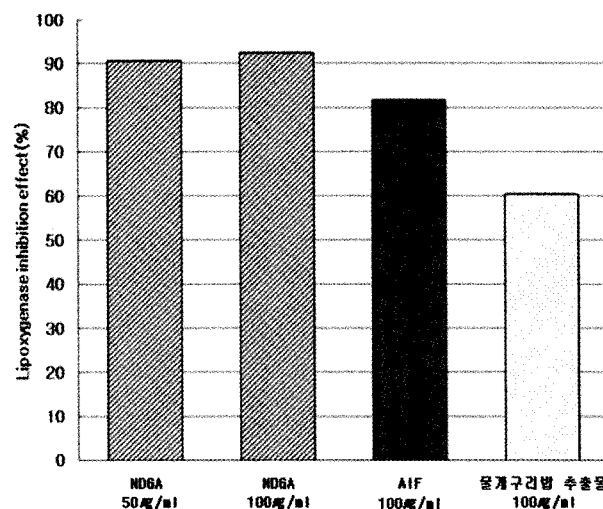


Figure 5. Lipoxygenase inhibition effect of *Azolla imbricata*.

으며, 또한 이번 실험을 통하여 물개구리밥의 추출물의 효과는 바로 AIF 물질이 그 효과의 주된 요인이라는 것을 확인할 수 있었다.

### 3.5. 활성물질의 구조 동정 결과

AIF 물질의 용매를 모두 제거하고 동결 건조한 뒤에 연갈색의 파우더 형태의 샘플을 FT-IR spectroscopy로 측정된 결과 wavelength 3,400 ~ 3,200 cm<sup>-1</sup> 대에서 broad한 피크를 보이는 것으로 보아서 hydroxyl group을 포함하는 물질이 구조 내에 포함되어 있는 것을 알 수 있었으며, 1,750 ~ 1,700 cm<sup>-1</sup> 대에서 stretch 형태의 피크에서는 carbonyl group의 탄소와 산소의 π 결합 형태의

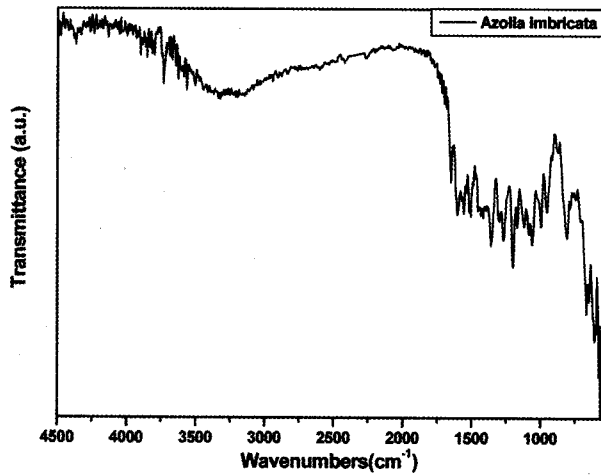


Figure 6. FT-IR spectroscopy of AIF.

Table 2. Element Analysis Data of AIF

		Element		
		Nitrogen	Carbon	Hydrogen
blank	Blank	0.000	0.000	0.000
std	STD	10.360	71.090	6.710
std	STD	10.360	71.090	6.710
std	STD	10.360	71.090	6.710
sample	AIF	0.000	56.253	4.490
sample	AIF	0.000	56.257	4.494

이중결합이 존재한다는 것을 알 수 있다. 또한 1,700 ~ 1,500  $\text{cm}^{-1}$  대에서는 탄소와 탄소간의  $\pi$  결합 형태의 이중결합이 존재한다는 것을 확인하였다(Figure 6).

분획한 물개구리밥의 원소 분석 실험에서 standard 물질은 acetanilide ( $\text{C}_8\text{H}_9\text{NO}$ )을 사용하여 3회 측정하여 평균값을 냈으며, 분석 시료의 경우 1 mg으로 3회 측정하여 그 평균값으로 계산하였다. Table 2에서 보는 바와 같이 standard 물질은 데이터의 분자량 %와 분자식이 완전히 일치하는 것을 확인할 수 있으며, 이를 토대로 AIF 물질의 원소 함량을 %로 나타내었다(Table 2).

LC-MASS spectrum을 이용하여 분획한 샘플의 분자량을 추정할 수 있는데, LC 기기는 Agilent 1100 series를 이용하였으며, detector는 API 3000을 이용하여 측정하였다. MASS 조건으로는 negative 상태에서 스캔 범위는 120 ~ 800 amu로 잡은 뒤 총 3회 측정하여 그 평균값으로 나타내었으며, RT value는 5.57 min이며, 이때의 분자량은 447.2 m/z로 측정되었다(Figure 7).

AIF 물질의 구조를 알아보기 위해서 FT-IR과 element analysis, 그리고 LC-MASS를 통해서 물개구리밥

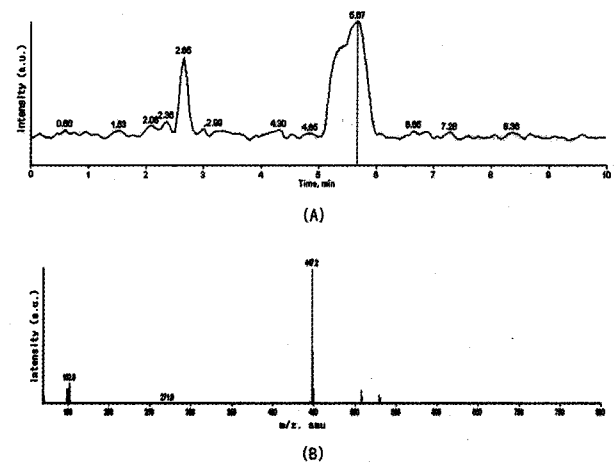
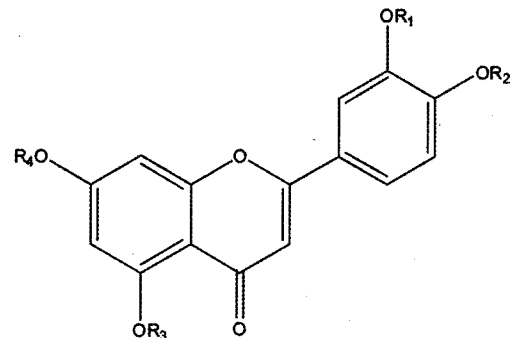


Figure 7. LC-MASS spectrum of AIF; (A) Liquid chromatography spectrum of AIF, (B) Estimation of AIF mass.

Figure 8. The structure of AIF (A glycoside of luteolin -  $\text{R}_3$  or  $\text{R}_4$  = Glucose).

의 분획물의 구조는 페놀기와 하이드록시기, 그리고 카보닐 기를 갖고 있으며, LC-MASS를 통하여 분자량이 447.2 g/mol임을 확인하였다. 원소 분석 결과와 예상 구조의 실험식인  $\text{C}_{21}\text{H}_{20}\text{O}_{11}$  함량과도 일치하는 것을 확인할 수 있었으며, AIF 물질은 luteolin의 유도체로 단당인 glucose 배당체의 물질인 것으로 사료되며 그 예상 구조를 나타내었다(Figure 8).

#### 4. 결 론

중국 및 동남아시아 열대 지방에 자생하고 있는 물개구리밥 추출물의 화장료로서의 가능성을 알아보고자 진행한 실험이었으며, 그 활성성분을 알아내는데 그 목적이 있었다. 물개구리밥 추출물은 뛰어난 라디칼 소거기능과 항산화력을 갖고 있는 물질이며, 더욱이 주름과 탄력에 관여하는 효소의 활성 저해에도 큰 영향력이 있음

을 알 수 있었다.

이와 같은 물질의 구조 동정을 통해서 활성에 관여하는 물질이 어떤 구조체인지 규명하는 데 성공하였으며, 앞으로도 화장품 원료의 성분을 규명하고 이해하는 데 큰 도움이 될 수 있을 것이다.

### 감사의 글

본 연구는 지식경제부 지역산업기술개발사업의 지원에 의하여 이루어진 것입니다(과제 고유 번호 : 70004326).

### 참 고 문 헌

1. S. G. He, D. Joyce, and M. Z. Wang. Characterization of polyamine oxidase from the aquatic nitrogen-fixing fern *Azolla imbricata*, *Plant Science*, **169**, 185 (2005).
2. K. W. Nam and D. H. Yoon, Usage of *Azolla* spp. as a biofertilizer on the environmental-friendly agriculture, *Korean Journal of Plant Resources*, **21**, 230 (2008).
3. N. Ishikura, 3-Desoxyanthocyanin and other phenolics in the water fern *Azolla*, *Bot. Mag. Tokyo*, **95**, 303 (1982).
4. J. Maity and B. C. Patra, Isolation and characterization of trypsin inhibitor from the water fern, *Azolla pinnata* R. Br., *Journal of Food Biochemistry*, **27**, 281 (2003).
5. L. P. Dai, Z. T. Xiong, and Y. Huang, and M. J. Li, Cadmium induced changes in pigments total phenolic and phenylalanine ammonia lyase activity in fronds of *Azolla imbricata*, *Environmental Toxicology*, **21**, 505 (2006).
6. S. M. Aragon, J. M. Benedi, and A. M. Villar, Effects of the antioxidant (6,7- dihydroxycumarin) esculetin on the glutathione system and lipid peroxidation in mice, *Gerontology*, **44**, 21 (1998).
7. M. F. Cohen, T. Meziane, and M. Tsuchiya, and H. Yamasaki, Feeding deterrence of *Azolla* in relation to deoxyanthocynin, *Aquatic Botany*, **74**, 181 (2002).
8. Y. Lu and L. Y. Foo, Polyphenolics of *Salvia* - a review, *Phytochemistry*, **59**, 117 (2002).
9. Y. Z. Cai, M. Sun, and J. Xing, Q. Luo, and H. Corke, Structure- radical scavenging activity relationships of phenolic compounds from traditional Chinese medicinal plants, *Life Sciences*, **78**, 2872 (2006).
10. S. T. Prigge, J. C. Boyington, and B. J. Gaffney, and L. M. Amzel, Structure Conservation in Lipoxigenases: Structural Analysis of Soybean Lipoxigenase-1 and Modeling of Human Lipoxigenases, *Proteins : Structure, Function, and Genetics*, **24**, 275 (1996).
11. Y. J. Kong, T. S. Kang, M. K. Lee, B. K. Park, and D. H. Oh, Antimicrobial and Antioxidative Activities of Solvent Fractions of *Quercus mongolica* Leaf, *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.*, **30**, 338 (2001).
12. M. S. Blois, Antioxidant determinations by the use of a stable free radical, *Nature*, **181**, 1199 (1958).