뽕잎 추출물의 항산화 효과와 항산화 성분 분리 및 동정에 관한 연구

전 예 숙 · [†]김 미 원
청운대학교 식품영양학과

The Antioxidative Effects and Isolation and Characterization of the Extracts from *Morus alba* L.

Ye-Sook Jeon and [†]Mi-Won Kim

Dept. of Food and Nutrition, Chungwoon University, Hongseong 350-701, Korea

Abstract

This study identified the formula of the antioxidant substance separated from the ethyl acetate and the butanol extract and tested the antioxidant properties with the electron donating ability(EDA). Each phase with the fractionated methanol extract from mulberry leaf was screened in advance for the antioxidant substance with EDA. As the result, activity appeared in the ethyl acetate and butanol phase and the antioxidant component was separated. As the consequence, 2 components from the ethyl acetate phase and 1 from the butanol phase were separated, among which the structures of the components from ethyl acetate were determined by wogonin and linarin, whereas the structure of the component from the butanol phase was determined by pectolinarin. In the screening of antioxidant activity by the scavenging effect of the DPPH radical, the wogonin and linarin components from ethyl acetate phase showed more powerful antioxidant property than the component from butanol. The results from this study indicate that the chemical compound separated from the ethyl acetate extract has more powerful antioxidant property than the one separated from the butanol extract. The components separated from the ethyl acetate extract were wogonin and linarin, which are flavonoids, whereas the component from butanol was pectolinarin. Therefore, this study suggested that the feasibility of mulberry leaf as a functional food additive and its value as a natural antioxidant is very high.

Key words: mulberry leaf, antioxidant, DPPH radical, wogonin, linarin, pectolinarin

서 론

뽕나무는 열대지방부터 온대지역에 걸쳐 널리 분포하는 뽕나무과(Moraceae), 뽕나무속(*Morus*)에 속하는 식물이다(Jeong 등 2002). 뽕잎은 본초강목(本草綱目)과 동의보감에 소갈증, 뇌졸중 등에 효과가 있다고 기록되어 있으며, 최근 보고에 의하면 당뇨병을 예방하며 치료될 수 있다고 알려져 있다(Kim 등 2001). 또한 신농본초경(神農本草經)에는 뽕잎과 함께 뽕나무 버섯과 뽕나무 뿌리 껍질인 상근백피(桑根白皮)가 약제로 좋다고 소개되어 있다. 최근에는 술독을 제거하는 아스파

라긴산과 알라닌, 뇌 속의 피를 잘 돌게 하고 콜레스테롤을 제거하며, 노인성 치매를 예방해 주는 세린과 타이로신이 상당량 들어있다고 알려져 있다. 또한 뽕잎에는 각종 미네랄도 많이 들어있어 칼슘은 양배추의 60배, 철분은 무의 160배, 섬유질은 무말랭이나 고구마만큼 많아 마른 뽕잎 무게의 반 이상이 섬유질이다(Lee 등 2002).

근래 잠상산물을 이용한 생물 신소재 개발에 대한 연구가 활발히 진행됨에 따라, 주로 누에사육용 뽕잎 생산에만 이용되던 뽕나무가 뽕잎과 뿌리의 생약재료로서의 이용, 오디의 과실와 및 잼과 과실주의 재료로 이용되는 등 가공 분야로가

[†] Corresponding author: Mi-Won Kim, Dept. of Food and Nutrition, Chungwoon University, Hongseong 350-701, Korea. Tel: +82-41-630-3361, Fax: +82-41-634-8740, E-mail: mwkim007@yahoo.co.kr

지 확대되고 있다(Kim 등 2006). 특히 뽕잎은 차로도 이용되고 있는데, 차는 덤음차와 발효차로 구분하며, 덤음 방법이나 발효방법에 따라 품질의 차이가 있다. 뽕잎은 덤음차로 제조되고 있으나, 발효차에 관한 연구도 진행되었다(Park 등 2008).

뽕잎의 항산화 효과에 관한 연구로는 뽕잎차의 항산화 특성에 관한 연구(Park 등 2008; Kim 등 2007), 뽕잎과 오디의 항산화능 분석(Kim HB 2005), 용매에 따른 뽕잎과 오디의 생리활성 효과(Ju 등 2009), 뽕잎 추출물의 *Helicobacter pylori*에 대한 항균활성과 항산화 효과(Cho 등 2007) 등이 있다. 이외에도 뽕잎 추출물을 0.1~0.5% 농도로 linoleic acid에 첨가하였을 때 항산화성에 관한 연구, 꾸지뽕나무의 폴리페놀화합물 함량에 관한 연구(Cha 등 1999), 뽕잎의 혈당 강하 효과에 관한 연구(Lee 등 1998; Kang 등 2006) 등이 있다. 최근에는 뽕잎이 기능성 식품, 화장품, 의약품의 신소재로서 가능성을 인정받고 있다. 천연 식품 소재에 함유된 항산화 활성물질을 포함한 기능성 물질을 규명함으로써 보다 부가가치가 높은 식품 소재 및 식품으로 제공할 수 있을 것으로 사료된다.

따라서 본 연구에서는 여러 가지 약리 효과와 풍부한 아미노산 등을 포함한 뽕잎을 용매별로 추출하여 각 추출물들의 항산화성을 측정하고, 항산화 효과를 나타내는 성분을 분리 동정하여 새로운 천연 항산화제로서의 가능성을 제시하고자 하였다.

재료 및 방법

1. 실험재료

1) 뽕잎(*Morus alba* L.)

본 실험에 사용한 추출용 시료 뽕잎은 수원 잠사곤충연구소에서 농약이 살포되지 않은 뽕잎을 직접 채취하여 사용하였다.

뽕잎은 먼저 증류수로 2~3회 수세한 후 물기를 제거하고, 직사광선의 조사를 받지 않는 연구실 내에서 건조시키고, 또 건조된 뽕잎을 분쇄기(IKA All basic, IKA Korea Co., Ltd., Korea)에서 미세하게 분쇄하여 80 mesh의 체를 이용하여 추출용 시료로 하였다. 뽕잎가루는 polyethylene bag을 이용하여 냉장보관하면서 시료로 사용하였다.

2) 뽕잎의 각종 용매 추출물의 조제

뽕잎 분말 시료에 약 10배의 메탄올(MeOH)을 가하여 shaker(KMC-1205SL, Vision scientific Co., Ltd., Korea)로 5시간씩 3회 추출하고, 이 여과액을 rotary vacuum evaporator(Buchi rotovapor R114 water bath B-480, Corvallis, Oregon, USA)에서 감압 농축하여 메탄올 조추출물을 얻었다. 이 메탄올 조추출물은 Fig.

Fig. 1. Scheme of extraction and solvent fractionation of MeOH extract from mulberry leaves.

1에서 보는 바와 같이 20배의 증류수에 녹인 후 2,000 ml 분획여두에 넣은 다음 동량의 hexan을 넣어 잘 혼합시키고 물층과 hexan층으로 분리하였으며, 이 과정을 3회 반복하였다. 물층에 다시 클로로포름을 넣어 물층과 클로로포름층으로 분리하였으며 3회 반복하였다. 나머지 에틸아세테이트, 부탄올층도 위와 같은 방법(Woo WS 1997)으로 하여 각각의 추출물을 얻었다.

2. 시약

추출 및 분획용 시약은 1급 용매를 사용하였고, TLC와 Column용 시약 등은 특급시약을 사용하였다.

Column chromatography용 silicagel은 Kieselgel 60(Art. 7734 and 9385, Merck, Darmstadt, Germany)으로 70~230 and 230~400 mesh를 사용하였고, molecular sieve column chromatography용 packing material은 Sephadex LH-20(Pharmacia)을 사용하였다.

TLC(Thin layer chromatography)용 plate는 Kieselgel 60F₂₅₄ precoated plate(Art. 7552, Merck)를 사용하였으며, low pressure liquid chromatography(LPLC)용 column은 Lobar-A Lichroprep Si 60(Merck)column을 사용하였다. 발색시약으로는 10% H₂SO₄ (in EtOH)와 anisaldehyde를 사용하였으며 UV로 254, 365 nm detection을 병용하였다(Toshiko 등 1994).

3. 실험 방법

1) 항산화성 물질의 분리 동정

뽕나무 잎의 메탄올 추출물을 분획한 각 용매층을 미리 DPPH 법으로 항산화 물질을 screening한 결과, 에틸아세테이트층과 부탄올층에서 활성을 보여준 항산화 성분을 분리 동정하였다.

Fig. 2와 3에서 보는 바와 같이 에틸아세테이트와 부탄올 분획을 silica gel column chromatography 및 sephadex LH-20을 사용한 molecular sieve column chromatography와 RP16 resins을 사용한 ion exchange chromatography 등을 반복 실시하여 화합물들을 분리하였다.

에틸아세테이트 분획 3.4 g을 $\text{CHCl}_3:\text{MeOH}=(9:1\sim 8:2)$ 비율의 gradient solvent system으로 Fig. 2와 같은 순서로 silica gel column chromatography를 실시하여 4개의 subfraction으로 분획하였다. 부탄올 분획 2.6 g은 Fig. 3과 같은 순서로 Sephadex LH-20(only MeOH)에서 용출시켜 분자량 크기순으로 4개의 subfraction으로 분획하였다.

(1) EtOAc 분획으로부터의 Morus EtOAc-1(MO-EA-1)의 분리

Fraction 2, 3, 4분획은 비슷한 TLC chromatogram 양상을 나타내어 합하여 Sephadex LH-20(only MeOH)에서 용출하고 2개의 subfraction을 얻었으며, 이중 subfr. 2을 먼저 Sephadex LH-20(only MeOH)에서 용출시키고, $\text{CHCl}_3:\text{MeOH}=(4:1)$ 비율로 silica gel column chromatography를 실시하여, 약간의 불순물이 함유되어 있는 것을 MeOH로 -4°C 에서 재결정하였다 (Markham KR 1982).

(2) EtOAc 분획으로부터의 Morus EtOAc-2(MO-EA-2)의 분리

Fraction 2, 3, 4분획이 비슷한 TLC chromatogram 양상을 나타내어 합하여, Sephadex LH-20(only MeOH)에서 용출하여 2개의 subfraction을 얻었으며, 이중 subfr. 1을 $\text{CHCl}_3:\text{MeOH}=(9:1)$ 비율로 silica gel column chromatography를 실시하고, 다시 $\text{MeOH}:\text{Water}=(1:1)$ 비율로 RP18 column chromatography를 실시하여 MO-EA 2를 분리하였다.

(3) BuOH 분획으로부터의 MO-BU-1의 분리

Fraction 1을 $\text{MeOH}:\text{Water}=(1:1\sim 3:2)$ 비율로 RP18 column chromatography를 실시하였다.

2) DPPH에 의한 항산화 활성 검색

DPPH assay는 Dietz 등(2005)의 실험방법을 참고하였다. 각 분획 및 단일 성분 3 mg을 취해 메탄올로 25 ml로 정용한 후 각각의 농도를 480 $\mu\text{g}/4\text{ ml}$, 320 $\mu\text{g}/4\text{ ml}$, 160 $\mu\text{g}/4\text{ ml}$, 80 $\mu\text{g}/4\text{ ml}$, 40 $\mu\text{g}/4\text{ ml}$, 20 $\mu\text{g}/4\text{ ml}$, 10 $\mu\text{g}/4\text{ ml}$ 로 희석한 용액 4 ml와 메탄올로서 $1.5\times 10^{-4}\text{ M}/\text{ml}$ 농도가 되게 한 DPPH(1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) 용액 1 ml씩을 vortex로 균일하게 혼합한 다음 실온에서 30분간 방치한 후 520 nm에서 optical density(O.D.)를 측정하였다. 항산화 효과는 DPPH를 기준으로 100에 대한

Fig. 2. Scheme of procedure of subfraction from EtOAc fraction of mulberry leaves.

Fig. 3. Scheme of procedure of subfraction from BuOH fraction of mulberry leaves.

50% 흡광도 감소를 나타내는 검체의 농도(EC₅₀)로 표시하였다(Chang & Noh 2000).

결과 및 고찰

1. 뽕잎 중 항산화 물질의 분리 동정 및 구조 확인

1) MO-EA-1 ; Wogonin

MO-EA-1은 황색의 무정형 고체물질로 에틸아세테이트 4.2 g 중 50 mg이었으며, 측정 조건은 다음과 같았다. 융점은 198~201℃이고, Mg/HCl, Zn/HCl test와 FeCl₃ solution에 양성반응을 나타내었으며, 249 nm, 278 nm, 320 nm의 UV 흡수 spectrum과 비교하여 shift reagent에 의한 UV 흡수 spectrum이 sodium methoxide(CH₃ONa)에 의하여는 band I의 흡수 peak가 장파장으로 이동하였고, AlCl₃과 AlCl₃+HCl에 의하여는 band I, II의 흡수 peak가 장파장으로 이동하였으며, NaOAc와 NaOAc + H₃BO₃에 의하여는 band I, II의 흡수 peak가 장파장으로 이동한 것으로 나타나, 이 화합물을 flavone계 화합물로 추정하였다(Goudard 등 1978; Nagaki 등 1971).

이 화합물의 ¹H-NMR spectrum data에서 보는 것과 같이 δ 3.95에서 methoxy peak가 관찰되었으며, δ 6.81과 6.31에 나타나는 두 개의 singlet peak는 A ring의 proton으로, δ 6.81은 H-3으로, δ 6.31은 H-6으로 추정할 수 있었으며, δ 8.06와 7.60에 나타나는 multiplet peak는 ortho, meta coupling을 하는 B ring의 proton으로, δ 8.06은 H-2'와 H-6'로, δ 7.18은 H-3', H-4'와 H-5'로 추정할 수 있었다. 또한 positive FAB-mass spectrum에서 [M]⁺의 peak가 m/z 284로 확인되었다. 이상의 결과, 뽕잎의 성분은 wogonin, wogonoside 등 여러 성분이 존재하는데, 기존 문헌 data(Takido 등 1975; Goudard 등 1978)와 비교하여 본 결과, MO-EA-1의 성분은 5,7-dihydroxy-8-methoxy-2-phenyl-4H-one 즉 wogonin인 것으로 그 구조가 확인되었으며, 구조식은 Fig. 4~6과 같다.

2) MO-EA-2 ; Linarin

MO-EA-2는 미황색의 무정형 고체물질로 에틸아세테이트 추출물 4.2 g 중 18 mg을 얻었다. 측정조건은 다음과 같았다.

융점은 273~275℃이고, Mg/HCl, Zn/HCl test와 FeCl₃ solution에 대하여 양성반응을 나타내었으며, 286 nm, 326 nm의 UV 흡수 spectrum과 비교한 shift reagent에 의한 UV 흡수 spectrum은 NaOMe에 의하여 band I의 흡수 peak가 장파장으로 이동하였고, AlCl₃와 AlCl₃+HCl에 의하여는 band I, II의 흡수 peak가 장파장으로 이동하는 것으로 나타나, 이 화합물을 flavone계 화합물로 추정하였다(Karen 등 1991).

이 화합물의 ¹H-NMR spectrum data에 의하면 δ 3.93에서

Fig. 4. Mass spectrum of MO-EA-1.

Fig. 5. Proton NMR spectrum of MO-EA-1.

Fig. 6. Structure of wogonin.

methoxy peak가 관찰되었으며, δ 5.24와 δ 4.82에서 2 M의 당에 의한 anomeric proton peak가 나타나는데, 이중 δ 5.24는 coupling constant가 J=7.5Hz인 doublet peak로 당이 β 결합을 하고 있음을 추정할 수 있었다. 그리고 δ 1.27에서는 coupling

Fig. 7. Mass spectrum of MO-EA-2

Fig. 8. Proton NMR spectrum of MO-EA-2.

Fig. 9. Carbon NMR spectrum of MO-EA-2.

MO-EA-2

Fig. 10. Structure of linarin.

constant가 $J=6.0\text{Hz}$ 인 rhamnosyl CH_3 peak가 관찰되었다. 또한 $\delta 6.90$ 과 6.63 에 나타나는 coupling constant가 $J=2.0\text{Hz}$ 인 2개의 doublet peak는 meta coupling을 하는 A ring의 proton으로, $\delta 6.90$ 은 H-8로, $\delta 6.63$ 은 H-6으로 추정할 수 있었으며, $\delta 8.10$ 과 7.22 에 나타나는 coupling constant가 각각 $J=9.0$, 8.5Hz 인 2개의 doublet peak는 ortho coupling을 하는 B ring의 proton으로, $\delta 8.10$ 은 H-2'와 H-6'로, $\delta 7.22$ 은 H-3'와 H-5'로 추정할 수 있었다. 그리고 $\delta 6.91$ 에서 나타나는 coupling constant가 $J=6.0\text{Hz}$ 인 doublet peak는 C ring의 H-3로 추정할 수 있었다. 또한 positive FAB-mass spectrum에서 $[\text{M}+\text{CH}]^+$ 의 peak가 m/z 605로 확인되었다.

^{13}C -NMR spectrum data와 TLC를 이용한 산가수분해 실험에 의해서 배당체에 결합된 당질은 glucose와 rhamnose임을 확인하였다. 이상의 결과를 기존 문헌 data(Lee 등 1994; Do 등 1991)에 비교하여 본 결과, MO-EA-2의 성분은 배당체인 acacetin-7-O- β -rutinoside 즉 linarin인 것으로 그 구조를 확인하였다.

3) MO-BU-1 ; Pectolinarin

MO-BU-1은 미황색의 무정형 고체물질로 부탄올 추출물 2.6 g 중 18 mg이었으며, 이들의 측정 조건은 다음과 같았다. 융점은 $250\sim 253^\circ\text{C}$ 이고, Mg/HCl , Zn/HCl test와 FeCl_3 solution에 대하여 양성반응을 나타내었으며, 275 nm, 326 nm의 UV 흡수 spectrum과 비교한 shift reagent에 의한 UV 흡수 spectrum은 NaOMe에 의한 예는 band I의 흡수 peak가 장파장으로 이동하였고, AlCl_3 과 AlCl_3+HCl 에 의하여는 band I, II의 흡수 peak가 장파장으로 이동하였으며, NaOAc와 NaOAc + H_3BO_3 에 의하여는 band I, II의 흡수 peak가 장파장으로 이동한 것으로 나타나, 이 화합물을 flavone계 화합물로 추정하였다(Markham 1982).

이 화합물의 ^1H -NMR spectrum data에 의하면 $\delta 3.93$ 과 3.91 에서 두 개의 methoxy peak가 관찰되었으며, $\delta 5.17$ 와 $\delta 4.49$ 에서 2 M의 당에 의한 anomeric proton peak가 나타났는데, 이중 $\delta 5.17$ 은 coupling constant가 $J=7.5\text{Hz}$ 인 doublet peak로 당이 β 결합을 하고 있음을 추정할 수 있었다. 그리고 $\delta 1.16$ 에서는 coupling constant가 $J=6.0\text{Hz}$ 인 rhamnosyl CH_3 peak가 관찰되었고, $\delta 6.98$ 과 6.79 에 나타나는 두 개의 singlet peak는 A ring의 proton으로, $\delta 6.98$ 은 H-8로, $\delta 6.79$ 은 H-3으로 추정할 수 있었으며, $\delta 8.05$ 와 7.18 에 나타나는 coupling constant가 $J=9.0\text{Hz}$ 인 2개의 doublet peak는 ortho coupling을 하는 B ring의 proton으로, $\delta 8.05$ 은 H-2'와 H-6'로, $\delta 7.18$ 은 H-3'와 H-5'로 추정할 수 있었다.

또한 Positive FAB-Mass spectrum에서 $[\text{M}-\text{O}_2]^+$ 의 peak가 m/z 606으로 확인되었고, TLC를 이용한 산가수분해 실험 결과, 배당체에 결합된 당질은 glucose와 rhamnose임을 확인하였다. 이상의 결과를 기존 문헌 data(Ishida 등 1987)와 비교

Fig. 11. Mass spectrum of MO-BU-1.

Fig. 12. Proton NMR spectrum of MO-BU-1.

MO-BU-1

Fig. 13. Structures of pectolinarin.

하여 MO-BU-1은 배당체인 pectolinarigenin-7-O- β -rutinoside 즉 pectolinarin인 것으로 그 구조를 확인하였다.

2. 뽕잎 추출물의 항산화 효과

뽕잎의 각 용매별 추출물의 항산화 효과를 DPPH radical 소거효과에 의한 항산화 활성을 검색한 결과는 Table 1과 같았다. 전자공여능 측정에 사용된 DPPH는 안정한 자유라디칼로

Table 1. Antioxidative effects of flavonoid compound from *Morus alba* L. extracts by 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) method

Samples	EC ₅₀ ¹⁾ (μ g/ml)
MeOH extract	231.5 $\pm$ 0.12
Hexane fraction	480.0 $\pm$ 0.15
Chloroform fraction	480.0 $\pm$ 0.15
Ethylacetate fraction	63.9 $\pm$ 0.01
Butanol fraction	98.7 $\pm$ 0.02
MO-EA-1	12.5 $\pm$ 0.02
MO-EA-2	38.5 $\pm$ 0.01
MO-BU-1	73.3 $\pm$ 0.02
L-ascobic acid	9.6 $\pm$ 0.01

¹⁾ The values indicate 50% decrease of DPPH radical and are the means of triplicate data.

서 그것의 비공유전자로 인해 517 nm 부근에서 흡광도가 감소하며, 각 추출물에서 이러한 라디칼을 환원시키거나 상쇄시키는 능력이 크면 높은 항산화 활성 및 활성산소를 비롯한 다른 라디칼에 대하여 소거 활성을 기대할 수 있다(Kim 등 2010). 측정 결과, MO-BU-1 층의 성분보다 MO-EA-1, MO-EA-2 층의 두 가지 성분이 강력한 항산화 작용을 나타내었다. 뽕잎으로부터 분리된 3종의 플라보노이드 성분은 항산화 활성이 있는 것으로 나타났다.

요약 및 결론

본 연구에서는 에틸아세테이트와 부탄올 추출물에서 항산화 물질을 분리하여 구조식을 밝혔으며, 전자공여능으로 항산화 활성을 검증하였다. 뽕잎의 메탄올 추출물을 분획한 각 용매층을 미리 전자공여능으로 항산화 물질을 screening한 결과, 에틸아세테이트층과 부탄올층에서 활성이 나타나 항산화 성분을 분리하였다. 그 결과, 에틸아세테이트층에서 두 가지, 부탄올층에서 1가지의 성분을 분리하였는데, 에틸아세테이트층 중의 성분은 wogonin과 linarin으로 구조를 결정하였으며, 부탄올층의 성분은 pectolinarin으로 그 구조를 결정하였다.

DPPH radical 소거 효과에 의한 항산화 활성 검색에서 부탄올층의 성분보다 에틸아세테이트층의 wogonin과 linarin 두 가지 성분이 강력한 항산화 작용을 나타내었다.

본 실험의 결과를 종합하여 볼 때 추출물 중 에틸아세테이트 추출물에서 분리해낸 화합물이 부탄올 추출물에서 분리해낸 성분보다 강력한 항산화성을 나타내었다. 에틸아세테이트 추출물 중에서 분리해낸 성분은 flavonoid인 wogonin과 linarin이었고, 부탄올층의 성분은 pectolinarin이었다.

따라서 뽕잎의 기능성 식품첨가물로써의 가능성과 천연

항산화제로서의 가치가 매우 높게 나타났다.

참고문헌

- 우원식. 1997. 천연물화학 연구법. pp.1-60. 서울대학교출판부
- Cha NY, Kim HJ, Chung CH, Cho YS. 1999. Antioxidative activities and contents of polyphenolic compound of *Cudrania tricuspidata*. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 28:1310-1315
- Chang HJ, Noh KL. 2000. Screening of electron donating ability antibacterial and nitrites scavenging effect of some herbal extracts. *Korean J Food Cookery Sci* 16:372-377
- Cho YJ, Ju IS, Kim BO, Kim JH, Lee BG. 2007. The anti-microbial activity against *Helicobacter pylori* and antioxidant effect from the extracts of mulberry leaves. *J Korean Soc Appl Biol Chem* 50:334-343
- Dietz BM, Kang YH, Liu G, Eggler AL, Yao P, Chadwick LR, Pauli GF, Farnsworth NR, Mesecar AD, Bolton JL. 2005. Xanthohumol isolated from *Humulus lupulus* inhibits menadione-induced DNA damage through induction of quinone reductase. *Chemical Research in Toxicology* 18:1296-1305
- Do JC, Chai JY, Son JK. 1991. Studied on the constituents of *Lycopus lucidus*(II). *Kor J Pharmacogn* 22:166-170
- Goudard M, Bonvin JF, Lebreton P, Chopin J. 1978. Differentiation des dihydroxy-5,7 methoxy-6 ou 8 flavones, flavonols et methyl-3 flavonols par spectrometrie de masse. *Phytochemistry* 17:145-146
- Inagaki I, Hisada S, Shima K. 1971. Studies on the constituents of anodendron affine durce. I. Isolation of wogonin, dam-bonitol, sucrose and some other components from stems. *Yakugaku Zasshi* 91:1133-1136
- Ishida H, Umino T, Tsuji K, Kosuge T. 1987. Studies on anti-hemorrhagic substances in herbs classified as hemostatics in chinese medicine. VII. On the antihemorrhagic principle in *Cirsium japonicum* DC. *Chem Pharm Bull* 35:861-864
- Jeong CH, Joo OS, Shim KH. 2002. Chemical components and physiological activities of young mulberry stem. *J. Korea Food Preserv* 9:228-233
- Ju MJ, Kwon JH, Kim HK. 2009. Physiological activities of mulberry leaf and fruit extracts with different extraction conditions. *Korean J Food Preserv* 16:442-448
- K. R. Markham. 1982. Techniques of Flavonoid Identification. Academic Press, pp.1-45. London
- Kang PD, KimJW, Sohn BH, Kim KY, JungIY, Kim MJ, Ryu KS. 2006. Accumulating pattern of a-glucosidase inhibitor various silkworm varities. *J Seric. Sci* 48:25-27
- Karen J, Pamela J. 1991. Extraction and identification of anti-oxidants in oats. *JAOCs* 86:365-370
- Kim HB, Kang CK, Sung GB, Kang SW, Lee JR. 2007. Anti-oxidative capacity of mulberry leaf and its tea. *Korean J Seric Sci* 49:18-23
- Kim HB, Koh SH, Seok YS. 2006. Anti-oxidative effect of 'Cheongilppong' with mulberry leaves according to different collection areas and some kinds of mulberry branches. *Korean J Seric Sci* 48:41-45
- Kim HB, Lee YW, Lee WJ, Moon JY. 2001. Physiological effects and sensory characteristics of mulberry fruit wine with chongilppong. *Korean J Seric Sci* 43:16-20
- Kim HB. 2005. Antioxidant capacity analysis of water-soluble substances according to maturity stages in yield-type mulberry leaves and fruits collected from Kang-Won province. *Korean J Seric Sci* 47:93-98
- Kim SS, Jeong MH, Seo YC, Kim JS, Kim NS, Woon WB, Ahn JH, Hwang B, Park DS, Park SJ, Lee HY. 2010. Comparison of antioxidant activities by high pressure extraction of *Codonopsis lanceolata* from different production areas. *Korean J Medicinal Crop Sci* 18:248-254
- Lee HB, Kwak JH, Zee OP, Yoo SJ. 1994. Flavonoids from *Circum rhinoceros*. *Arch Pharm Res* 17:273-277
- Lee HS, Chung KS, Kim SY, Ryu KS, Lee WC. 1998. Effect of several sericultural products on blood glucose lowering for Alloxan-induced hyperglycemic mice. *Korean J Seric Sci* 40:38-42
- Lee JM, Kim JA, Lee MJ. 2002. Sensory and physicochemical attributes of boogags using mulberry leaf. *Korean J Dietary Culture* 17:103-110
- Marlham. 1982. Techniques of Flavonoid Identification. Academic Press. London
- Park BH, Back KY, Lee SI, Kim SD. 2008. Quality and anti-oxidative characteristics of *Cudrania tricuspidata* leaves tea. *Korean J Food Preserv* 15:461-468
- Takido M, Aimi M, Takahashi S, Yamanouchi S, Torii H, Dohi S. 1975. Studies on the constituents in the water extracts of crude drugs. I. On the roots of *Scutellaria baicalensis* georgi(Wogon)1. *Yakugaku Zasshi* 95:108-113
- Toshiko S, Ikuyo T, Noriko H, Taketoshi K. 1994. Thermal stability of chlorophyll in green leaves. *調理科學* 27:126-131

접 수 : 2011년 2월 9일
 최종수정 : 2011년 3월 27일
 채 택 : 2011년 3월 28일