

심비디움 뿌리 및 줄기 추출물의 생리 활성

김혜란¹ · 박규남¹ · 정보경¹ · 신유수² · 장경수^{1,†}

¹부산가톨릭대학교 보건과학대학 임상병리학과, ²농촌진흥청 국립원예특작과학원 인삼특작부
(2016년 10월 29일 접수; 2016년 12월 9일 수정; 2016년 12월 29일 채택)

Physiological Activities using Root and Stem Extracts of Cymbidium

Hye-Ran Kim¹ · Gyu-Nam Park¹ · Bo-Kyoung Jung¹ · Yu-Su Shin² · Kyung-Soo Chang^{1,†}

¹Department of Clinical Laboratory Science, College of Health Sciences,
Catholic University of Pusan, Busan 46252, Korea,

²Department of Herbal Crop Research, National Institute of Horticultural and
Herbal Science, RDA, Jeonbuk 55365, Korea.

(Received October 29, 2016; Revised December 9, 2016; Accepted December 29, 2016)

요약 : 심비디움은 난초과(orchidaceae)에 속하는 다년생 초(perennial herb)로 약용 식물로 알려져 있으나 이에 대한 과학적 자료가 부족한 실정이다. 본 연구의 목적은 심비디움의 뿌리, 줄기로부터 추출하여 생리 활성을 비교 분석하고자 한다. 심비디움 추출물의 항균 효과는 균 종별 특이성을 규명하기 위해 실험 균주는 그람 양성균 대표로 *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*)와 *Staphylococcus saprophyticus* (*S. saprophyticus*), 그람 음성균 대표로 *Proteus vulgaris* (*P. vulgaris*)와 *Klebsiella pneumonia* (*K. pneumonia*)를 사용하였다. 항산화 효과는 DPPH 라디칼 소거능 및 총 페놀 함량 시험을 수행하였다. 또한 간세포에 대한 세포독성 및 콜레스테롤 흡착능 시험을 수행하였다. 심비디움 추출물을 농도 별로 처리하여 균 성장 억제를 확인해본 결과, 심비디움 뿌리 에탄올 추출물에서 *S. aureus*에 대한 항균효과를 확인하였으며, 심비디움 줄기 에탄올 추출물 및 1시간 음파처리를 한 심비디움 줄기 에탄올 추출물에서 높은 항산화 효과를 확인하였다. 간세포에 대한 세포 독성은 50 µg/mL 이상의 농도로 확인하였으며, 콜레스테롤 흡착능은 20% 미만으로 미비한 결과를 확인하였다. 본 연구를 통해 심비디움 추출물의 항균 및 항산화 효과를 확인하였으며, 천연 항균 및 항산화 소재로 가능성이 높을 것으로 사료된다.

주제어 : 심비디움, 항균 효과, 항산화 효과, 콜레스테롤 흡착능

Abstract : Cymbidium is one of perennial herbs belonging to the Orchidaceae and is known as a medicinal plant. However, its scientific data are insufficient. The purpose of this study is to extract from root and stem of Cymbidium, to investigate the biological effects of them. Cymbidium antibacterial effects of the extracts were performed by antibacterial test against *Staphylococcus*

†Corresponding author
(E-mail: kschang@cup.ac.kr)

aureus (*S. aureus*), *Staphylococcus saprophyticus* (*S. saprophyticus*), *Proteus vulgaris* (*P. vulgaris*) and *Klebsiella pneumonia* (*K. pneumonia*). Antioxidant effects of the extracts were carried out by DPPH radical scavenging. Total phenolic contents were also determined. Moreover, Cell viability of extracts against MTT assay was cell viability against HepG2 cell and also measures Cholesterol adsorptivity of extracts. In this study, the extracts inhibited the growth of bacteria. Particularly Cymbidium root extracts by only ethanol extraction showed highest antimicrobial effect against *S. aureus*. The Cymbidium stem extracts by both ethanol extraction and sonication for 1 hour had higher antioxidant activities as well as total phenolic contents. Cell cytotoxicity showed higher than 50 $\mu\text{g}/\text{mL}$. Cholesterol adsorptivity showed lower than 20%. These results suggest that the Cymbidium might be a source of anti-bacterials and anti-oxidants.

Keywords : *Cymbidium*, *Antibacterial effects*, *Antioxidant effects*, *Cholesterol adsorptivity*

1. 서론

현대인들은 도시의 대기오염 물질인 오존 및 방사선 등의 다양한 환경 오염 물질에 노출이 되어 있으며, 이러한 환경 오염물질은 인간의 건강에 유해한 독성을 만들어 낸다[1]. 이러한 독성은 생체 내 과도한 활성 산소종(reactive oxygen species, ROS)을 생산하여 생체분자의 구조 및 기능 변경으로 인한 방어 체계이상으로 산화적 스트레스를 유발한다[2]. 그리하여 산화적 스트레스는 신경 퇴행성 질환, 만성 염증성 질환 및 다양한 질병을 발생 시킨다[3]. 이러한 각종 질병의 증가로 산화적 스트레스에 의한 활성 산소종을 억제하는 생리 활성을 가지는 물질 탐색에 대한 연구가 활발히 이루어지고 있다. 천연 약용 식물은 고대부터 다양한 질병을 치료하기 위해 사용되어 왔으며, 현재까지도 여전히 세계 인구의 대다수에 의해 사용되고 있고 질병의 예방 및 전통적인 치료 방법으로 상당한 역할을 수행하며 질병의 위험을 감소시켰다[4]. 또한 천연 물질은 많은 약물의 원천이 되고 있으며, 지금까지 수천 가지의 생리 활성을 가지는 식물성 화학 물질이 발견되었다[5].

난초과(Orchidaceae)는 다양한 종류의 꽃 식물 중 하나로 25,000종 이상의 수많은 종을 포함하고 있다[6]. 난초과는 다섯 종류의 과로 세분화되는데, 그 중 에피덴드리아과(Epidendroideae)는 덴드로비움(*Dendrobium*), 자란(*Bletilla*), 심비디움(*Cymbidium*), 천마(*Gastrodia*), 반다(*Vanda*)와

같은 속을 포함하고 있다[7]. 다년생 초의 심비디움속은 푸른 나뭇잎, 아치형의 작은 가지, 밀랍꽃을 가지고 있으며, 넓은 지리적 분포를 특징으로 열대 및 아열대 아시아, 파푸아의 남쪽, 뉴기니와 북부 호주에 분포하며 독특한 생태학적 다양성을 가진다[8,9]. 심비디움속은 70개 이상의 자연 종과 수백 개의 인공 잡종을 포함하고 있으며 풍부한 종류로 화훼무역에 크게 기여하고 있다[10].

또한 난초과는 관상용의 원예 식물일 뿐만 아니라 의학적 가치가 높다고 알려져 있다. 난초과에 속하는 덴드로비움속의 항산화 효과[11-13], 자란속의 항산화, 미백 및 항암 효과[14], 천마속의 신경보호작용 효과[15]등 많은 연구가 되어 있다. 심비디움속 중에 알로이폴리움(*Cymbidium aloifolium*)의 뿌리는 마비 및 골절 뼈 결합 치료, 잇은 종기, 만성질환, 현기증, 화상 치료 등의 민간요법에 사용되며 약리 활성을 가지고 있다고 보고되어 있지만[16], 심비디움 뿌리 및 줄기를 이용한 생리 활성 비교에 대한 과학적 데이터가 미흡한 실정이다.

따라서, 본 연구에서는 심비디움 뿌리와 줄기를 두 가지 추출 방법에 의해 추출하여 항균 시험을 통한 항균 효과, 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl(DPPH) 라디칼 소거능과 총 페놀 함량을 통한 항산화 효과, 간암세포를 이용한 세포독성 및 콜레스테롤 흡착능을 통해 심비디움 뿌리 및 줄기 추출물의 생리 활성 기능에 대한 효능을 검증하고자 한다.

2. 실험

2.1. 추출물 제조

추출물을 얻기 위하여 심비디움 뿌리와 줄기 분말 70g을 각각 취해 4배의 정제수를 가한 후 1시간 음파 처리(Hwashin Tech, Daegu, Korea) 하였으며 24시간 이후 추출하였다. 또한 동일한 분말 량으로 70% 에탄올 용매를 가한 후 24시간 이후 추출하였다. 추출액을 모아 여과지로 여과시켜 얻은 여액을 감압 농축(Heidolph, Schwabach, Germany)하여 각각의 용매를 제거시킨 후 동결 건조하여 사용하였다. 얻어진 추출물은 70% 에탄올을 이용하여 10 mg/mL 농도로 용해하여 사용하였다.

2.2. 항균 효과 시험

심비디움 추출물의 항균 효과 시험은 Jo 등의 방법[17]에 의하여 측정하였다. 그람 양성균 대표로 *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923), *Staphylococcus saprophyticus* 와 그람 음성균 대표로 *Proteus vulgaris* (ATCC 13315), *Klebsiella pneumonia* (ATCC 13883)를 사용하였으며 Blood agar plate (BAP)에 자란 균 집락을 Mueller-Hinton broth (Difco, Detroit, USA)에 24시간 배양하여 사용하였다. MH broth에 배양한 균액을 600 nm에서 흡광도를 측정하여 0.5×10^5 cfu/mL까지 맞추어 MH broth에 희석하였다. 96 well plate에 심비디움 추출물을 1000 μ g/mL 농도로 MH broth에 희석하여 100 μ L 씩 분주하고 희석한 균액을 동량 분주하여 37°C 배양기에 24시간 배양하였다. 그리고 600 nm에서 Biotrak II Plate reader (Amersham Life Science, Buckinghamshire, UK)를 이용하여 흡광도를 측정하였다. 이때 음성 대조군은 MH broth로 사용하였다.

2.3. DPPH 라디칼 소거능 시험

심비디움 추출물을 용매에 0.1, 0.5, 1, 5 mg/mL로 희석하여 96 well plate에 10 μ L씩 분주하고 200 μ M DPPH (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA)를 190 μ L를 가하여 혼합하였다. 이후에 37°C에서 30분 동안 반응시키고, 550 nm에서 Biotrak II Plate reader (Amersham Life Science, Buckinghamshire, UK)를 이용하여 흡광도를 측정하였다. 이때 양성 대조군으로 Quercetin (Sigma-Aldrich, St. Louis,

MO, USA)을 사용하였다.

2.4. 총 페놀 함량 시험

총 페놀 함량은 Folin-Denis 방법을 사용하였다. 0.1% 심비디움 추출물 (50 μ L), DW (1.65 mL), 100 μ L Folin-Denis 시약 (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA)을 혼합하고 5분 후 1 N Na₂CO₃ 200 μ L 를 추가한 후, 2시간 동안 실온에서 반응시켰다. 그리고 750 nm에서 Spectronic Genesys 5 (Milton Roy Company, New York, USA)를 이용하여 흡광도를 측정하였다. 표준물질로 gallic acid를 이용하여 얻은 표준 곡선으로부터 총 페놀 함량을 gallic acid equivalents per gram extracts (mg GAE/g)로 나타내었다.

2.5. 간세포를 이용한 세포독성시험

본 실험에서는 human liver carcinoma cell line인 HepG2 세포를 한국세포주은행 (KCLB, Seoul, Korea)에서 분양 받아 사용하였다. 세포 배양용 배지로는 Dulbecco's Modified Eagle's Medium (Hyclone, Logan, UT, USA)를 사용하였으며, 0.1mM non-essential amino acids (Gibco, Rockville, MD, USA), 10% fetal bovine serum (Hyclone, Logan, UT, USA)과 항생제인 penicillin-streptomycin (Gibco, Rockville, MD, USA)을 혼합하여 37°C, 5% CO₂배양기에서 배양하였다. 세포 농도를 1×10^5 개/mL로 하여 96 well plate에 100 μ L 분주하고 37°C, 5% CO₂조건에서 24시간 배양하였다. 심비디움 추출물을 해당 세포에 2, 10, 50, 250, 500 μ g/mL 농도 별로 100 μ L 분주 후 37°C, 5% CO₂조건에서 72시간 배양하였다. 5 mg/mL 농도인 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide (MTT) 용액 (Ambresco, Ohio, USA)을 준비하여 20 μ L 분주하여 5분 혼합하고, 37°C, 5% CO₂에 2시간 배양 후, 배지를 제거하고 dimethyl sulfoxide (Ambresco, Ohio, USA)를 200 μ L 분주한 뒤 Biotrak II Plate reader (Amersham Life Science, Buckinghamshire, UK)를 이용하여 560nm에서 흡광도를 측정하였다.

2.6. 콜레스테롤 흡착능 시험

콜레스테롤 흡착능은 효소법에 의한 키트 (Asan-Pharm, Seoul, Korea)를 사용하여 측정하

였다. 10 mg/mL 농도의 심비디움 추출물 100 μ L 와 에탄올에 녹인 33 μ g/mL의 콜레스테롤 (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA)을 첨가하여 20°C에서 20분동안 반응시킨다. 0.1 M hexadecyltrimethylammonium bromide (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA)를 50 μ L 를 분주한 후, 15,000 rpm으로 4°C에서 10분간 원심 분리한다. 상층액을 취하여 효소액과 37°C에서 5 분간 반응 시킨 후 500nm에서 Spectronic Genesys 5 (Milton Roy Company, New York, USA)를 이용하여 흡광도를 측정하였다.

3. 결과 및 고찰

3.1. 심비디움 추출물의 항균 효과

심비디움 추출물을 이용하여 세 번의 반복 시험을 통해 항균 효과를 분석해 본 결과, 최대 농도인 1000 μ g/mL 심비디움 뿌리, 줄기 추출물에서 대체적으로 항균 효과를 확인하였고 그 이하 농도에서는 항균 효과를 확인 할 수 없었다. 그 중 심비디움 뿌리 에탄올 추출물에서 그람 양성균인 *S.aureus*에 대한 항균효과가 59.4%로 가장 효과가 높게 확인되었다. 1시간 음파 처리한 심비디움 뿌리 에탄올 추출물은 27.2%, 심비디움 줄기 에탄올 추출물은 21.9%, 1시간 음파 처리한 심비디움 줄기 에탄올 추출물은 15.8%의 효과를 나타내며 낮은 효과를 확인하였다. 이 외의 균종인 *S. saprophyticus*, *P. vulgaris*, *K. pneumonia*에서도 심비디움 추출물의 미비한 항균 효과를 확인하였다. 또한 추출 방법에 따른 항균 효과의 차이는 확인 할 수 없었다(Table 1). 항균 효과 시험에서는 심비디움 뿌리 에탄올 추출물에서 *S.*

*aureus*에서 효과가 가장 높았으며 다른 균 종에서는 *S. aureus*에 대한 항균 효과만큼의 큰 효과는 확인 할 수 없었다. 심비디움 뿌리 에탄올 추출물이 *S.aureus*에 특이적인 것에 착안하여 항생제 내성에서 문제점이 많은 Methicillin resistant *staphylococcus aureus* (MRSA) 균주에도 비교 실험을 해볼 필요가 있다. 난초과의 자란속 줄기에서는 *S. aureus*, *S. epidermidis*, *Bacillus subtilis* 균 종에 12.5-25 μ g/mL에서 항균활성을 가지는 것으로 자란속과 비교하면 항균 활성이 낮음을 알 수 있다[18].

3.2. 심비디움 추출물의 DPPH 라디칼 소거능

심비디움 추출물의 물질자체의 항산화 효과를 알아보기 위해 DPPH 라디칼 소거능 시험을 실시하였다. 최고 농도인 5 mg/mL에서 심비디움 뿌리 에탄올 추출물에서는 46.1%, 1시간 음파 처리한 심비디움 뿌리 에탄올 추출물에서는 48.2%, 심비디움 줄기 에탄올 추출물에서는 51.2%, 1시간 음파 처리한 심비디움 줄기 에탄올 추출물에서는 51.5%의 항산화 효과를 확인 할 수 있었다. 양성 대조군으로 사용한 quercetin은 0.5, 1, 5 mg/mL 농도에서 80%이상의 높은 DPPH 라디칼 소거능을 나타내었다. 심비디움 추출물은 0.1, 0.5, 1, 5 mg/mL의 모든 농도에서 농도 의존적으로 항산화 효과를 나타내었지만, quercetin과 비교하여 낮은 효과를 나타내었다. 추출 방법에 따른 큰 차이는 없었고, 뿌리보다 줄기에서 약간 높은 항산화 효과를 확인 할 수 있었다(Fig.1). 난초과 텐드로비움속의 0.4 mg/mL 농도에서 약 90%의 DPPH 라디칼 소거능을 관찰되며, 심비디움 추출물에서 낮은 항산화 효과를 확인하였다 [11].

Table 1. Inhibition of bacteria growth by Cymbidium extracts

Extracts	Strain			
	<i>S. aureus</i>	<i>S. saprophyticus</i>	<i>P. vulgaris</i>	<i>K. pneumoniae</i>
CE I	59.4±3.8	12.9±0.8	16.8±7.9	20.4±0.6
CE II	27.2±0.0	31.5±3.4	18.6±1.2	35.0±0.8
CE III	21.9±4.9	22.7±4.7	18.8±5.8	34.6±1.5
CE IV	15.8±1.8	35.2±1.6	12.1±2.1	28.4±4.2

Abbreviation: CE I, Cymbidium root extracts by only ethanol extraction; CE II, Cymbidium root extracts by both ethanol extraction and sonication for 1 hour; CE III, Cymbidium stem extracts by only ethanol extraction; CE IV, Cymbidium stem extracts by both ethanol extraction and sonication for 1 hour.

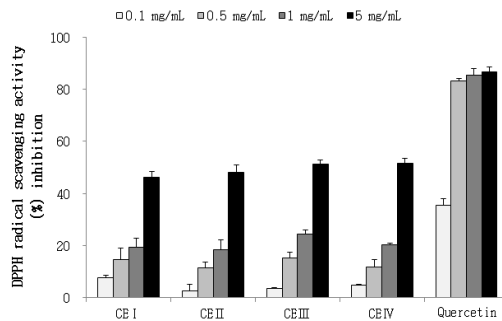


Fig. 1. DPPH radical scavenging activity of Cymbidium extracts and nature materials.

Abbreviation: 'See Table 1.'

3.3. 심비디움 추출물의 총 페놀 함량

심비디움 추출물의 총 페놀 함량을 알아보기 위해 총 페놀 함량 시험을 실시하였다. 세 번의 반복 시험을 통해 함량을 분석해 본 결과, 심비디움 뿌리 에탄올 추출물은 24.8 mg GAE/g, 1시간 음파처리를 한 심비디움 뿌리 에탄올 추출물은 26.1 mg GAE/g, 심비디움 줄기 에탄올 추출물은 31.2 mg GAE/g, 1시간 음파처리를 한 심비디움 줄기 에탄올 추출물은 34.1 mg GAE/g를 확인 할 수 있었다. 추출 방법에 따른 차이는 거의 없었으며, 뿌리보다 줄기에서 약간 높은 총 페놀 함량을 확인 할 수 있었다(Table 2). 심비디움의 총 페놀 함량은 1시간 음파처리를 한 심비디움 줄기 추출물에서 가장 많은 페놀 함량을 확인하며 DPPH 라디칼 소거능과 상관성 있는 결과를 확인 하였다. 추가적으로 심비디움의 항산화 성분을 효과적으로 이용하기 위해 활성성분을 분리하여 분리된 소재를 이용해서 더 높은 항산화 활성을 기대해 볼 수 있을 것이라 사료된다.

Table 2. Total phenolic contents of Cymbidium extracts

Extracts	Total phenolic contents (mg GAE/g)
CE I	24.8±0.4
CE II	26.1±1.2
CE III	31.2±0.0
CE IV	34.1±1.8

Abbreviation: 'See Table 1.'

3.4. 심비디움 추출물의 세포독성효과

심비디움 추출물의 간세포에 대한 세포독성을 관찰하기 위해 심비디움 추출물을 2, 10, 50, 250, 500 µg/mL 농도 별로 처리하여 72시간 후에 확인하였다. 대조군의 생존율을 100%로 보았을 때, 심비디움 추출물은 500 µg/mL 농도에서 대조군과 비교하여 심비디움 뿌리 에탄올 추출물에서는 65.6%, 1시간 음파 처리한 심비디움 뿌리 에탄올 추출물에서는 71.1%, 심비디움 줄기 에탄올 추출물에서는 61.7%, 1시간 음파 처리한 심비디움 줄기 에탄올 추출물에서는 76.1%의 세포생존율을 나타내었다. 또한 심비디움 추출물은 10 µg/mL 이하 농도에서 간세포에 대한 세포독성을 나타내지 않으며 세포사멸이 일어나지 않았다. 추출 방법에 따른 간세포에 대한 세포독성 차이는 확인 할 수 없었다(Fig. 2).

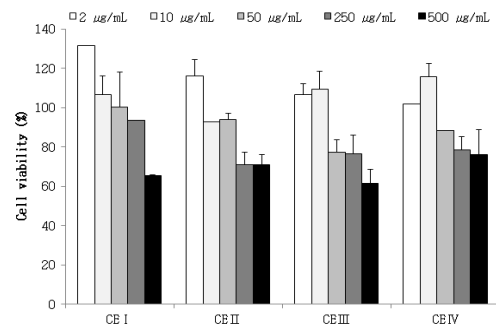


Fig. 2. Cell viability of Cymbidium extracts against HepG2 cells.

Abbreviation: 'See Table 1.'

3.5. 심비디움 추출물의 콜레스테롤 흡착능

심비디움 추출물의 물질자체의 콜레스테롤 흡착능을 알아보기 위해 콜레스테롤 흡착능 시험을 실시하였다. 심비디움 뿌리 에탄올 추출물에서는 5.0%, 1시간 음파 처리한 심비디움 뿌리 에탄올 추출물에서는 10.5%, 심비디움 줄기 에탄올 추출물에서는 15.0%, 1시간 음파 처리한 심비디움 줄기 에탄올 추출물에서는 3.7%의 효과를 확인 할 수 있었다. 추출 방법에 따른 차이는 없었고 양성 대조군으로 사용한 quercetin의 76.4%의 콜레스테롤 흡착능과 비교하여 미비한 콜레스테롤 흡착능을 확인하였다(Fig. 3). 콜레스테롤 합성 속도의 주요 조절 효소인 HMG-CoA reductase를 억제하는 약물로 알려진 Statin은 장기간 안전성

이 문제가 되어 화학 약품을 대체할 천연 물질에 대한 관심이 높다[19]. 현재까지 난초과에 대한 콜레스테롤 흡착능에 대한 연구는 이루어 지지 않고 있으며, 심비디움에서 낮은 항콜레스테롤 효과를 나타내어 천연 콜레스테롤 치료제로써 유효성을 가지지 못할 것으로 사료된다.

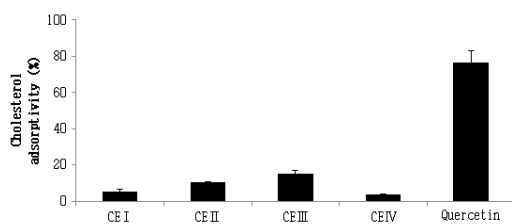


Fig. 3. Cholesterol adsorptivity of Cymbidium extracts and nature materials. Abbreviation: 'See Table 1.'

4. 결론

최근 많은 연구자들은 생리 활성 검증을 통해 인간의 건강에 도움을 주는 기능성 식품 개발에 관심을 가지고 있으며, 이로써 식물에 존재하는 천연 물질에 대한 관심도 성장하고 있다. 본 연구는 관상용으로만 여겨지던 난초과의 심비디움을 이용하여 생리학적 효능에 대해 살펴보았다. 결론적으로 이 연구를 통해 심비디움 추출물에서 항균 효과, DPPH 라디칼 소거능 및 항산화능을 입증하는 총 페놀 함량을 확인하였으며 고농도에서의 세포독성을 감안하여 활성 성분을 분리하여 분리된 소재를 이용해 더 높은 항균 및 항산화 활성을 기대해 볼 수 있을 것이라 사료된다. 그리하여 보다 안전하고 효과적인 천연 항균제 및 항산화제로서의 이용가치가 있는 것으로 보인다.

감사의 글

본 연구는 2016년도 Brain Busan 21 사업의 지원으로 수행되었다.

References

1. D. Bagchi, M. Bagchi, S. J. Stohs, D. K.

Das, S. D. Ray, C. A. Kuszynski, et al. Free radicals and grape seed proanthocyanidin extract: importance in human health and disease prevention. *Toxicology*. **148**, 187-197(2000).

2. D. Ivanova, R. Bakalova, D. Lazarova, V. Gadjeva, Z. Zhelev. The impact of reactive oxygen species on anticancer therapeutic strategies. *Adv Clin Exp Med*. **22**, 899-908(2013).

3. H. R. Kim, G. N. Park, B. K. Jung, W. J. Yoon, Y. H. Jung, K. S. Chang. Antioxidant activity of solvent fractions from *Distylium racemosum* in Jeju. *Korean J Clin Lab Sci*. **48**, 62-67(2016).

4. A. Manayi, M. Khanavi, S. Saeidnia, E. Azizi, M. R. Mahmoodpour, F. Vafi, et al. Biological activity and microscopic characterization of *Lythrum salicaria* L. *Daru*. **21**, 61(2013).

5. J. W. Lampe. Health effects of vegetables and fruit: assessing mechanisms of action in human experimental studies. *Am J Clin Nutr*. **70**, S475-490(1999).

6. M. H. Hsieh, Z. J. Pan, P. H. Lai, H. C. Lu, H. H. Yeh, C. C. Hsu, et al. Virus-induced gene silencing unravels multiple transcription factors involved in floral growth and development in *Phalaenopsis* orchids. *J Exp Bot*. **64**, 3869-3884(2013).

7. C. Simmler, C. Antheaume, A. Lobstein. Antioxidant biomarkers from *Vanda coerulea* stems reduce irradiated HaCaT PGE-2 production as a result of COX-2 inhibition. *PLoS One*. **5**, e13713(2010).

8. S. K. Sharma, S. Kumaria, P. Tandon, R. R. Satyawada. Comparative karyomorphological study of some Indian *Cymbidium Swartz*, 1799 (Cymbidieae, Orchidaceae). *Comp Cytogenet*. **6**, 453-465(2012).

9. H. Motomura, M. A. Selosse, F. Martos, A. Kagawa, T. Yukawa. Mycoheterotrophy evolved from mixotrophic ancestors: evidence in *Cymbidium* (Orchidaceae). *Ann Bot*. **106**, 573-581(2010).

10. P. Mohanty, S. Paul, M. C. Das, S. Kumaria, P. Tandon. A simple and efficient protocol for the mass propagation of *Cymbidium mastersii*: an ornamental orchid of Northeast India. *AoB Plants*, **2012**, pls023(2012).
11. S. F. Lo, S. M. Nalawade, V. Mulabagal, S. Matthew, C. L. Chen, C. L. Kuo, et al. In vitro propagation by asymbiotic seed germination and 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) radical scavenging activity studies of tissue culture raised plants of three medicinally important species of dendrobium. *Biol Pharm Bull*, **27**, 731-735(2004).
12. A. Luo, Y. Fan. In vitro antioxidant of a water-soluble polysaccharide from *Dendrobium fimbriatum* Hook. var. *oculatum* Hook. *Int J Mol Sci*, **12**, 4068-4079(2011).
13. A. Luo, Z. Ge, Y. Fan, A. Luo, Z. Chun, X. He. In vitro and in vivo antioxidant activity of a water-soluble polysaccharide from *Dendrobium denneanum*. *Molecules*, **16**, 1579-1592(2011).
14. F. Jiang, W. Li, Y. Huang, Y. Chen, B. Jin, N. Chen, et al. Antioxidant, antityrosinase and antitumor activity comparison: the potential utilization of fibrous root part of *Bletilla striata* (Thunb.) Reichb.f. *PLoS One*, **8**, e58004(2013).
15. I. S. Kim, D. K. Choi, H. J. Jung. Neuroprotective effects of vanillyl alcohol in *Gastrodia elata* Blume through suppression of oxidative stress and anti-apoptotic activity in toxin-induced dopaminergic MN9D cells. *Molecules*, **16**, 5349-5361(2011).
16. M. A. Howlader, M. Alam, KhT. Ahmed, F. Khatun, A. S. Apu. Antinociceptive and anti-inflammatory activity of the ethanolic extract of *Cymbidium aloifolium* (L.). *Pak J Biol Sci*, **14**, 909-911(2011).
17. H. J. Jo, Y. S. Shin, G. N. Park, K. S. Chang. Inhibition of hepatitis C virus (HCV) genotype 2a RNA replication by extracts of medicinal herbs with anticholesterol effects. *Journal of Medicinal Plants Research*, **7**, 1089-1099(2013).
18. X. Yang, C. Tang, P. Zhao, G. Shu, Z. Mei. Antimicrobial constituents from the tubers of *Bletilla ochracea*. *Planta Med*, **78**, 606-610(2012).
19. J. Liu, J. Zhang, Y. Shi, S. Grimsgaard, T. Alraek, V. Fønnebø V. Chinese red yeast rice (*Monascus purpureus*) for primary hyperlipidemia: a meta-analysis of randomized controlled trials. *Chin Med*, **1**, 4(2006).