

## 음양곽의 항산화활성

이종원<sup>†</sup> · 도재호 · 이성계

한국인삼연구초연구원

### Antioxidant Activity of the Aerial Part of *Epimedium koreanum* NAKAI

Jong-Won Lee<sup>†</sup>, Jae-Ho Do and Sung-Kye Lee

Korea Ginseng and Tobacco Research Institute, Taejon 305-345, Korea

#### Abstract

The purpose of this study was to investigate the extraction method of phenolic compounds and antioxidant activities of the aerial part of *Epimedium koreanum* NAKAI (EKN). The antioxidant activities of EKN were tested with by hydrogen donating ability, inhibition of lipid peroxidation, and inhibition of LDL oxidation. The most suitable conditions for the extraction of phenolic compounds from EKN were to use 60% ethanol by 3 times, and the yield of extract (dry basis) was 22%. In the extraction efficiency of phenolic compounds, 60% ethanol as extracting solvent was superior to water. Sixty% ethanol extract of EKN was found to have an ability of hydrogen donating to DPPH. MDA determination showed the 95% inhibitory effect against linoleic acid oxidation by the addition of 700 ppm EKN extract. Also, about 70% of LDL oxidation was inhibited by the addition of 500 ppm.

**Key words:** phenolic compounds, antioxidant, *Epimedium koreanum* NAKAI

#### 서 론

음양곽(*Epimedium koreanum* NAKAI)은 우리나라의 심산지역, 산지계곡 및 소림의 그늘에 자생한다. 다년생 초목이며 높이가 30 cm 안팎이고 한 포기에서 여러 대가 같이 나와 곧게 자라며, 근경은 옆으로 뻗고 잔뿌리가 많이 달리며 꾸불꾸불하고 원줄기 밑은 비늘 같은 잎이 둘러싸인다. 근생엽은 잎자루가 길고 원줄기에서 1~2개의 잎이 어긋나게 붙으며 3개씩 3회 갈라지기 때문에 삼지구엽초라 한다(1). 용도로는 관상용, 약용으로 쓰이고 관상초 및 한방과 민간에서 잎과 줄기 및 전초, 강장, 이뇨, 창종, 생목, 장근골, 건망증, 음위 및 강정 등에 약재로 쓴다. 또한 말초혈관을 확장시켜 지속성이 뚜렷한 혈압강화작용을 나타내며 혈당강화작용과 항이노작용이 있다(2).

식품분야에서는 항산화제라면 유지의 산화억제 혹은 지연이라는 제한된 의미로 사용되고 있으나 근래에는 산화억제 혹은 지연기능이 생체 내에서도 발현될 수 있음이 알려지면서 여러 가지 생리적 장애를 억제하는데 관여하는 것으로 보고 있다(3,4). 이런 측면에서 몇 가지 항산화제는 영양학적 측면과 함께 건강증진이란 개념에서 관심의 대상이 되고 있는데, 특히 천연 항산화제들이 이들 범주에 들고 있다. 생체 내에서는 에너지 공급을 위하여 끊임

없이 산화 작용이 일어나는데 이 과정 중 상당량의 free radical이 생성되면서 생체 내 제거기작에 의하여 대부분이 소멸되지만 생성과 소멸의 균형이 깨어질 때 생체 내에서는 각종 질환이 일어난다. 즉, 류마티스성 관절염, 세균성 혹은 바이러스성 감염, 심장병, 파킨슨씨병, Alzheimer's disease, 암 그리고 다른 질병도 유발된다고 알려지고 있으며, 이들 질병의 발생을 항산화성 비타민(비타민 C, 비타민 E, beta-carotene)이 감소시킨다고 한다(5).

동맥경화의 원인인 혈관 내벽에 쌓인 지방층(fatty streak)이 산화되면 독성이 강한 유리기인 유리 지방산, aldehyde, ketone 등이 생성되어 혈관 내벽을 손상시키고, 지방층 중에서도 저밀도 단백질(low density lipoprotein, 이하 LDL이라고 함)이 산화되어 산화 LDL(oxidized low density lipoprotein, 이하 oxidized LDL이라고 함)의 생성원인이 된다고 보고하고 있다(6-9). LDL은 원래 LDL수용체에 의하여 규칙적으로 대사되지만, oxidized LDL은 단핵세포와 macrophage에 의하여 동맥혈관에 쉽게 이행되며 혈관 내에서 cholesterol 및 cholesterol ester로 축적되어 foam cells를 형성하여 동맥경화를 일으킨다(10-13). 결국 동맥경화의 원인을 예방하기 위해서는 항산화제에 의해 LDL의 산화를 방지해야 한다. 이와 같이 동맥경화를 일으키는 oxidized LDL의 생성을 억제하는 천연

<sup>†</sup>To whom all correspondence should be addressed

연 항산화제로는  $\alpha$ -tocopherol,  $\beta$ -carotene,  $\alpha$ -carotene, lycopene, cryptoxanthin, retinoide 및 ubiquinol 등이 있다. 이들은 대부분의 식물에 존재하는데 polyphenol, flavonoid 및 그 유도체가 강한 항산화 작용이 있는 것으로 알려져 있다(14,15). 따라서 본 연구에서는 음양곽의 기능성 연구 일환으로 페놀성 화합물과 항산화활성 중 DPPH에 의한 수소공여능, linoleic acid의 산화방지활성 및 LDL에 의한 항산화활성 중심으로 연구한 결과를 밝혀 기능성 식품소재 제조에 필요한 기초자료를 얻고자 하였다.

## 재료 및 방법

### 재료

$\alpha$ -Tocopherol, caffeic acid, 1,1,3,3-tetraethoxypropane (TEP), 2-hydroxypyrimidine, linoleic acid, polyethylene glycol 및 sodium dodecyl sulfate(SDS) 등은 Sigma 사(USA)제품을 구입하여 사용하였고, LDL 분리용 신선혈장(human fresh plasma)은 적십자혈액원의 협조로 연구용으로 구입하여 사용하였다.

### 추출방법

음양곽에 15배의 60% ethanol을 가하여 80°C에서 1시간씩 3~5회까지 추출한 후 추출횟수에 따른 페놀성 화합물 및 수율을 조사하였고, 추출용매에 따른 페놀성 화합물을 조사하기 위해서는 각각 15배의 물, 60% ethanol 및 60% ethanol 추출하고 농축하여 물로 재환원하여 페놀성 화합물 함량을 조사하는데 사용하였다.

### 페놀성 화합물 정량

음양곽을 대상으로 하여 페놀성 화합물을 비색정량하고자 Folin-Denis법을 일부 변경하여 사용하였다(16). 음양곽 약 0.5 g에 추출용매를 25 mL를 가하여 80°C에서 1시간 추출한 뒤 여과하고 5배 희석하여 분석 시료로 사용하였다. 시료 1 mL와 folin 시약 1 mL를 혼합하여 실온에서 3분간 정치한 뒤 10%  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  용액 1 mL를 가하여 혼합하여 실온에서 1시간 정치한 후 700 nm에서 흡광도를 조사하였다.

### DPPH에 의한 수소공여능

항산화능은 DPPH에 대한 수소공여능(hydrogen donating ability, EDA)을 517 nm에서 측정하였다(17). 즉, 음양곽의 60% ethanol 추출물을 냉동 건조한 후 0.003% 수용액 1 mL DPPH 용액(DPPH 12 mg을 100 mL ethanol에 완전히 용해시킨 후 100 mL 증류수를 가한 액) 4.0 mL 가하여 10초 동안 진탕한 후 517 nm에서 10분간 흡광도의 변화를 측정하였다.

### Linoleic acid의 산화반응 및 산화방지활성 측정

Tris-HCl buffer(pH 7.4, 30 mM)와 SDS(0.2%)가 첨가된 linoleic acid(1%) 수용액에 음양곽 추출물을 0~1,500 ppm 농도로 가하고, 400  $\mu\text{M}$   $\text{H}_2\text{O}_2$ 를 첨가 30분전에 미리 혼합한 후 최종 반응물의 용량을 5 mL로 하여 37°C에서 16시간 동안 진탕하며 산화반응시켰다. 16시간 후 1.2 mg BHT를 가하여 산화반응을 종결시켰다(18). 산화된 시료 중에 생성된 MDA(malondialdehyde)의 양은 Osawa와 Shibamoto의 방법(20)을 일부 변경하여 다음과 같이 HPLC(Waters, USA)로 분석 측정하였다. 즉, 산화된 시료 1 mL에 0.8 mL urea(6 M)와 0.2 mL HCl(1.2 N)을 가하여 100°C에서 1시간 동안 가열한 후, 이 반응액을 C18-SPE column(J.T Baker, USA)에 통과시키고, 증류수로 세척하여 최종적으로 2 mL로 정용하였다. 20  $\mu\text{L}$ 를 취하여 RP-HPLC를 이용하여 2-hydroxypyrimidine으로서 MDA를 정량 분석하였다. 이때 HPLC의 조건은 C18 column( $\mu$ Bondapak 18, 0.39  $\times$  30 cm, 10  $\mu\text{m}$ )과 UV detector(309 nm)를 사용하였으며, mobile phase로 증류수(1 mL/min)를 사용하였다.

### LDL의 분리

Terpstra 등의 방법에 따라 신선혈장을 사용하여 LDL을 다음과 같이 분리하였다(18,20). 즉, 1차로 10°C에서 30분간 원심분리(26,000  $\times$  g)하여 잔여혈구와 chylomicron을 제거하였다. 2차로는 KBr을 첨가하여 밀도를 조정한 후 초고속원심분리기(Beckman, USA)로 10°C에서 24시간 원심분리(360,000  $\times$  g,  $d=1.210$ )하여 lipoprotein을 분리하고 이를 density gradient 초고속원심분리(110,000  $\times$  g,  $d=1.250, 1.225, 1.100, 1.000$ )로 10°C에서 24시간 실시하여 최종 LDL을 분리하였다. 분리된 LDL은 phosphate gradient 용액(pH 7.0)을 사용하여 4°C에서 3시간 동안 투석하였고, 여기에서 얻어진 LDL은 polyethylene glycol을 사용하여 1 mg protein/mL 이상의 농도로 조정하여 산화실험에 쓰일 때까지 -70°C에서 보관하였다.

### LDL의 산화반응 및 항산화활성 측정

Linoleic acid의 경우와 같은 방법으로 LDL(1 mg protein/mL) 반응액의 용량을 2.5 mL로 한 후 37°C에서 5시간 진탕하며 산화반응시켰다. 생성된 MDA의 양은 Yagi(21) 방법에 따라 fluorometer(Perkin Elmer, England)로 Ex. 515 nm, Em. 553 nm에서 측정하였다. Conjugated diene의 측정은 LDL (0.25mg protein/mL) 반응액에 음양곽을 0~100ppm 농도로 가하고, 40  $\mu\text{M}$   $\text{FeCl}_2$ 와 20  $\mu\text{M}$   $\text{H}_2\text{O}_2$ 를 가하여 37°C에서 1시간 진탕하며 반응시킨 후 234 nm에서의 흡광도가 0.2~0.8 사이에 오도록 희석하여 측정 비교하였다(22).

결과 및 고찰

추출횟수별 페놀성 화합물 함량 조사

음양곽에 60% ethanol을 첨가하여 추출횟수별 페놀성 화합물 함량을 조사한 결과는 Table 1과 같다. 음양곽의 페놀성 화합물 함량은 각 회수별 추출시 1회 3.75%, 2회 0.75%, 3회 0.32%, 4회 0.14% 및 5회 0.05%로 조사되었으며, 3회까지 추출했을 때 96%가 추출되었기 때문에 추출 횟수는 3회가 적당한 것으로 판단된다. 총 페놀성 화합물의 양은 caffeic acid 로서 5회 추출시 5.01%로 조사되었다.

60% ethanol 추출물의 수율 조사

음양곽의 60% ethanol 추출물의 수율을 조사하기 위하여 음양곽에 15배를 용매를 가하여 80°C에서 1시간씩 3회까지 추출하여 60°C 이하에서 농축하여 수율을 조사한 결과는 Table 2와 같다. 음양곽은 3회까지 추출했을 때 수율은 1회 9.37%, 2회 3.28, 3회 1.49%로 총 14% 정도였고, 추출물의 수율(dry basis기준)은 약 22%로 조사되었다.

추출용매에 따른 페놀성 화합물량 조사

음양곽이 함유하고 있는 페놀성 화합물 양을 조사하기 위하여 물추출 시험구, 60% ethanol로 추출한 시험구, 60% ethanol로 추출하고 농축한 뒤 다시 물로 용해한 시험구(60% ethanol-evap.)의 페놀성 화합물 양을 700 nm에서 흡광도를 비교한 결과는 Table 3과 같다. 물추출구는 1.25(100%), 60% ethanol 추출구는 1.83(146%), 60% ethanol-evap.구는 1.67(133%)으로 나타났다. 60% ethanol 추출구가 물추출구보다 높게 나타났으며 60% ethanol-evap.구는 60% ethanol 추출구보다 적게 추출되었다. 이

Table 1. Changes in amount of phenolic compound from the aerial part of *E. koreanum* NAKAI on number of extraction with 60% ethanol as extracting solvent

Number of extraction (No)	Amount (%) (as caffeic acid)	Relative amount
1	3.75	74.9
2	0.75	15.0
3	0.32	6.4
4	0.14	2.8
5	0.05	1.0
Total	5.01	100.0

Table 2. The yield of extract from the aerial part of *E. koreanum* NAKAI by 60% ethanol

Extract yield (% dry basis)				Extract yield of extract contained 35% dry basis (%)
1	2	3	Total	
9.37	3.23	1.49	14.09	21.68

Table 3. Extraction efficiency of phenolic compound by various extracting solvents

Solvents	Phenolic compound (700 nm)	Relative extraction efficiency (%)
Water	1.25	100
60% EtOH	1.83	146
60% EtOH-evap	1.67	133

것은 실제 식품 또는 의약품으로 음양곽이 함유된 제품을 제조할 경우에는 추출, 농축한 뒤 다시 정제수로 적당한 농도로 희석하여 사용해야 되기 때문에 큰 문제가 되지 않는다고 판단된다.

항산화 활성 조사

DPPH에 의한 수소공여 활성

항산화물질의 가장 특징적인 역할이 oxidative free radical 반응을 이용하여 환원성 물질의 분석 시약인 DPPH 방법에 따라 시간 경과에 따른 음양곽의 60% ethanol 추출물의 수소공여능을 조사한 결과는 Fig. 1과 같다. 반응 초기에 약하게 항산화 활성을 나타냈으며, 시간이 경과함에 따라 항산화 활성은 완만하게 증가하였다. 이러한 결과는 음양곽에 함유되어 있는 페놀성 화합물 및 flavonoids 류가 항산화 활성을 나타내는 물질로 추정된다(23).

Linoleic acid 산화에 대한 산화방지효과

Linoleic acid를 기질로 하여 FeCl<sub>2</sub>(400 μM)와 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>(200 μM)를 가하여 생성되는 active oxygen인 hydroxyl radical에 의한 산화과정을 유도하였다. 60% ethanol로 추출하여 동결 건조한 음양곽 추출물을 농도별(200 ppm ~1,500 ppm)로 첨가하고 37°C에서 16시간동안 반응시킨 후 HPLC 방법으로 생성된 MDA의 양을 무첨가군과 비교하여 측정된 결과는 Fig. 2와 같으며, 이때의 산화저해율은 [(무첨가군의 MDA 생성량-첨가군의 MDA 생성량)/무첨가군의 MDA 생성량]×100으로 계산하였다. 산화 저해율은 200 ppm 농도에서 약 80%, 500 ppm에서

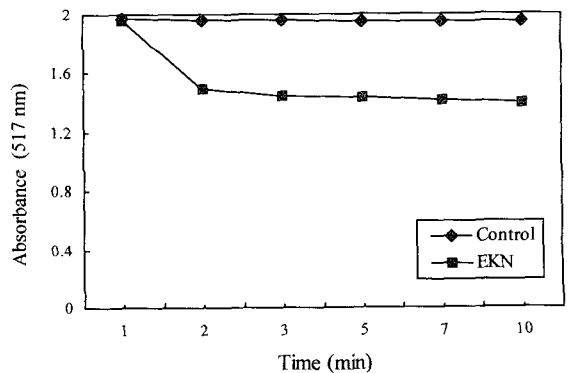


Fig. 1. Change of absorbance by the hydrogen donating ability the aerial part of *Epimedium koreanum* NAKAI.

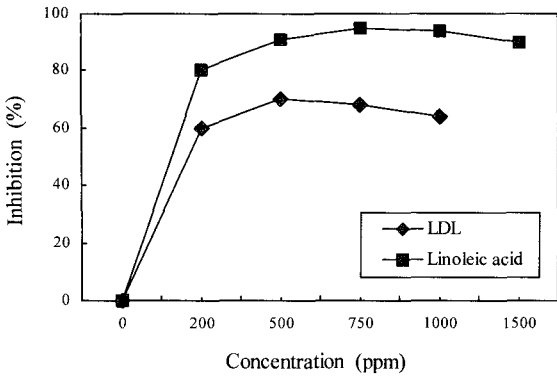


Fig. 2. Inhibition of the aerial part of *Epimedium koreanum* NAKAI on lipid peroxidation and LDL oxidation.

91%, 700 ppm에서 95%, 1,000 ppm에서 94%, 1,500 ppm에서 90%로 나타났다. Lee와 Park(24)이 연구한 홍미삼의 linoleic acid에 대한 산화방지효과 결과에서는 1,000 ppm 첨가시 71.8%, 1,500 ppm 첨가시 73.2%로 나타나, 음양곽 추출물이 같은 농도에서 각각 22% 및 18%이상으로 높게 나타났다. Kim 등(25)에 의하면 음양곽 메탄올 추출물의 유지의 자외선에 의한 광산화에 미치는 영향을 조사한 결과, 자외선을 조사하기 시작함과 동시에 급격히 산화를 촉진한 것으로 보고하였는데 이것은 생성된 active oxygen중에 singlet oxygen에 의한 것이라고 보고하였다. 페놀성 화합물은 지방산화의 원인물질인 hydroperoxide기, 지질 및 산화생성물과 반응하여 산화를 억제시킨다고 생각되며, 또한 페놀성 화합물이 radical생성 촉진 물질인 철 및 구리이온과 쉽게 결합하여 macrophage나 free cells 상태에서 유리기의 형성을 줄이기 때문일 수도 있다고 제시하였다.

LDL에 대한 산화방지효과

유해 활성산소류에 의한 LDL의 산화는 LDL 내에 함유되어 있는 고도불포화 지방질의 산화에 의한 것으로 동맥경화의 원인이 되고 있는 것으로 보고되고 있어서 LDL의 산화가 인체에 미치는 중대한 의미를 갖는다. 생물학적 산화방지제로서의  $\alpha$ -tocopherol은 이와 같은 LDL 산화과정 중에 산화방지효과가 있음이 보고되고 있다. LDL (0.25 mg protein/mL)을 기질로 하여 상기의 방법으로 산화방지 효과에 대한 결과는 Fig. 2에 나타내었다. 시료 농도 200 ppm에서 60%, 500 ppm에서 70%, 700 ppm에서 68%, 1,000 ppm에서 64%로 나타났다. 그 결과 500 ppm 농도로 첨가시 산화저해율은 약 70%로 가장 우수한 것으로 나타났으며, 그 이상의 첨가 구에서는 산화방지 효과는 완만하게 감소되는 것으로 나타났다. Lee와 Park(24)이 연구한 홍미삼 추출물의 LDL에 대한 산화방지효과 실험 결과를 보면 200 ppm 첨가시 25%로 가장 높은 산화방지효과가 있었으며, 음양곽의 추출물은 같은 농도에서 홍미삼 추출물보다 약 35% 정도 더 높은 산화방지효과가

나타났다. 한편 Park 등(26)이 보고한 녹차 열수추출물이 LDL에 대한 산화 활성에 의하면 LDL은  $CuSO_4$  존재 하에서 macrophage와 배양했을 때 산화가 빠르게 일어났고, 50 및 100  $\mu g/mL$  농도의 녹차 추출물을 첨가했을 때에는 거의 완전히 산화를 억제하였다. 아직까지 이러한 메카니즘은 잘 알려져 있지 않으나 Steinbrecher 등(27)에 의하면 세포 내에서 LDL의 고도 불포화 지방산이 세포로부터 방출되는 자유기에 의해서 과산화물이 형성된다고 추정하고 있다. 그리고 Sparrow와 Olszewski(28) 및 Rankin 등(29)에 의하면 LDL의 산화는 세포내의 lipoxygenas의 활성에 의하여 일어나며 페놀성 화합물이 lipoxygenas의 활성을 억제한다고 하였다. 따라서 본 연구에 사용된 음양곽 60% ethanol 추출물에 함유되어 있는 페놀성 화합물은 다양한 항산화 활성 시스템에서 활성이 있는 것으로 조사되었으며, 이들 물질들을 기능성 신소재로서 활용 가치가 높을 것으로 판단되며, 차후 음양곽에 함유되어 있는 페놀성 화합물의 물질들을 분리 및 정제 연구를 진행하고자 한다.

요 약

본 연구의 목적은 음양곽의 기능성 연구의 일환으로 페놀성 화합물의 추출방법과 DPPH에 의한 수소공여능, linoleic acid의 산화방지활성 및 LDL에 의한 항산화활성 등을 중심으로 연구한 결과이다. 음양곽에 60% ethanol를 첨가하여 추출회수별 페놀성 화합물을 조사한 결과 3회까지 추출했을 때 약 96%가 추출되었기 때문에 추출 횟수는 3회가 적당한 것으로 판단되었다. 60% ethanol 추출물의 수율은 3회까지 추출했을 때 약 22%이었다. 추출 용매에 따른 페놀성 화합물의 추출 효율은 물 추출구를 100%로 했을 때, 60% ethanol 추출구는 140%, 그리고 60% ethanol용액으로 추출한 뒤 농축하여 물로 부피를 재조정된 구는 133%로 조사되었다. 항산화활성 조사에서 DPPH에 의한 수소공여활성은 반응초기에 높게 나타났으며 반응시간이 경과함에 따라 완만하게 증가하였다. Linoleic acid 산화에 대한 산화방지 효과는 700 ppm 농도에서 약 95% 산화저해율을 나타냈으며, LDL에 대한 산화방지 효과는 500 ppm 농도에서 산화저해율이 약 70%로 나타났다.

문 헌

1. Kim, T.J.: *Korean resources plants*. Seoul University republished, p.282 (1996)
2. 정진섭, 신민규: *도해 향약(생약) 대사전*. p.461 (1992)
3. Gies, J.: Antioxidants tools for preventing lipid oxidation. *Food Tech.*, 50, 73-76 (1996)
4. Ministry of health and welfare: *Food ingredient codex* (1996)
5. Frankel, E.N.: *Antioxidants in lipid foods and their impact*

- on food quality. *Food Chemistry*, **57**, 51-56 (1996)
6. Ross, R. : The pathogenesis of atherosclerosis: perspective for the 1990's. *Nature*, **362**, 801-809 (1993)
  7. Esterbauer, H., Dieber-Rotheneder, M., Waeg, G. and Striegl, G. : Biochemical, structural and functional properties of oxidized low-density lipoprotein. *Chem. Res. Toxicol.*, **3**, 77-80 (1990)
  8. Chisolm, G.M. : Cytotoxicity of oxidized lipoproteins. *Curr. Opin. Lipidol.*, **2**, 311-315 (1991)
  9. Carpenter, K.L.H., Brabbs, C.E. and Mitchinson, M.J. : Oxygen radicals and a-therosclerosis. *Klin. Wochenschr.*, **69**, 1039-1041 (1991)
  10. Henriksen, T., Mahoney, E.M. and Steinberg, D. : Enhanced macrophage degradation of biologically modified low density lipoprotein. *Arteriosclerosis*, **3**, 149-153 (1983)
  11. Akinyanju, P. and Yudkin, J. : Effect of coffee and tea on serum lipids in the rats. *Nature*, **214**, 1025-1028 (1976)
  12. Esterbauer, H., Puhl, H., Dieber-Rotheneder, M., Waeg, G. and Rabl, H. : Effect of antioxidants on oxidative modification of LDL. *Ann. Med.*, **23**, 573-577 (1991)
  13. Garew, T.E., Schwenke, D.C. and Steinberg, D. : Anti-atherogenic effect of probucol unrelated to its hypocholesterolemic effect : Evidence that antioxidants in vivo can selectively inhibit low density lipoprotein degradation in macrophage-rich fatty streaks and slow the progression of atherosclerosis in the Watanabe Heritable hypercholesterolemic Watanabe rabbits. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **84**, 7725-7729 (1987)
  14. Mao, S.J.T. and Yates, M.T. : Antioxidant activity of probucol and vitamin E ( $\alpha$ -tocopherol) in plasma. *Arteriosclerosis*, **9**, 751-755 (1989)
  15. Esterbauer, H., Streigel, G., Puhl, H., Oberreither, S., Rotherneder, M., El-Saadani, M. and Urgens, G. : The role of vitamin E and carotenoids in preventing oxidation of low density lipoproteins. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* **570**, 254-258 (1989)
  16. Gutfinger, T. : Polyphenol in olive oil. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **58**, 966-968 (1958)
  17. Blois, M.L. : Antioxidant determination by the use of a stable free radical. *Nature*, **181**, 1199-1224 (1958)
  18. Minott, G. and Aust, S.D. : The requirement for iron (III) in the initiation of lipid peroxidation by iron (II) and hydrogen peroxide. *J. Biol. Chem.*, **262**, 1098-1102 (1987)
  19. Osawa, T. and Shibamoto, T. : Analysis of free malonaldehyde formed in lipid peroxidation system via a pyrimidine derivative. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **69**, 466-469 (1992)
  20. Terpstra, A.H.M. and Pels III, A.E. : Isolation of plasma lipoproteins by combinations of differential and density gradient ultracentrifugation. *Fresenius Anal. Chem.*, **330**, 149-154 (1988)
  21. Yagi, K. : Lipid peroxides, free radicals, and diseases. In *Active Oxygens, Lipid Peroxidase, and Antioxidants*. Yagi, K. (ed.), Japan Scientific Societies Press, Tokyo, p.39-56 (1993)
  22. AOAC : *Official Methods and Recommended Practices of the AOAC*. 4th ed., USA (1990)
  23. Sun, P., Ye, W., Zheng, G., Wang, Z., Chen, Y., Ogihara, Y.N. and Takeda, T. : A new flavonol glycoside, epimedin K, from *Epimedium koreanum*. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, **44**, 446-447 (1996)
  24. Lee, H.O. and Park, O.J. : Antioxidation effects of phenolic acids and ginseng extract in aqueous system. *Korean J. Food Sci. Technol.*, **30**, 434-438 (1998)
  25. Kim, S.Y., Kim, J.H. and Kim, S.K. : Isolation and characterization of antioxidant component in *Epimedium koreanum* NAKAI extract. *Korean J. Food Sci. Technol.*, **24**, 535-540 (1992)
  26. Park, C.O., Jin, S.H. and Ryu, B.H. : Antioxidant activity of green tea extracts toward human low density lipoprotein. *Korean J. Food Sci. Technol.*, **28**, 850-858 (1996)
  27. Steinbrecher, U.P., Parthasarathy, S., Leake, D.S. and Steinberg, D. : Modification of low density lipoprotein by endothelial cells involves lipid peroxidation and degradation of low density lipoprotein phospholipids. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **83**, 3883-3887 (1984)
  28. Sparrow, C.P. and Olszewski, J. : Cellular oxidative modification of low density lipoprotein does not require lipoxigenases. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **89**, 128 (1992)
  29. Rankin, S.M., Parthasarathy, S. and Steinberg, D. : Evidence for a dominant role of lipoxigenases in the oxidation of LDL by mouse peritoneal macrophage. *J. Lipid Res.*, **32**, 449-453 (1991)

(2000년 6월 23일 접수)