

오적산의 다성분 동시분석과 항산화 효과

김성실 · 김정훈 · 김온순 · 김예지 · 신현규 · 서창섭*

한국한의학연구원 한약방제연구그룹

Simultaneous Analysis of the Chemical Compounds in Ojeok-san and Its Antioxidative Activity

Seong-Sil Kim, Jung-Hoon Kim, Ohn Soon Kim, Yeji Kim, Hyeun-Kyoo Shin, and Chang-Seob Seo*

Herbal Medicine Formulation Research Group, Korea Institute of Oriental Medicine,
1672 Yuseongdae-ro, Yuseong-gu, Daejeon 305-811, Korea

Abstract – Ojeok-san has been commonly used to treat low back pain disease. We performed the experiments on simultaneous analysis of 11 compounds and antioxidant effects of Ojeok-san. A HPLC method was established for simultaneous analysis of 11 compounds. The detection wavelengths were set at 230, 254, 280, 320, and 330 nm. The detected 11 compounds from Ojeok-san water extract showed good linearity($r^2 \geq 0.9997$). Limit of detection(LOD) and limit of quantification(LOQ) were 0.04-0.87 µg/mL and 0.13-2.63 µg/mL, respectively. The antioxidant effects of Ojeok-san water extract were investigated by DPPH and ABTS assays. Ojeok-san water extract significantly increased the DPPH and ABTS radical scavenging effects in a dose-dependent manner. The RC_{50} value of Ojeok-san on DPPH radical was 284.71 µg/mL and that of ABTS radical was 96.16 µg/mL.

Key words – Ojeok-san, HPLC, DPPH, ABTS, Simultaneous analysis, Antioxidant effect.

오적산(五積散)은 기(氣), 혈(血), 담(痰), 음(飲), 식(食)의 오적(五積)을 치료한다는 뜻으로 소화불량을 동반한 감기, 신경통, 요통 등에 쓰이는 처방이다.¹⁾

이 처방은 한방의료기관에서 사용되는 보험급여 56개의 처방 중 전체 처방 투약일수의 29.49%를 차지하고, 요양급여비용의 33.35%를 차지하는 다빈도 처방이다. 요통계 질환 처방에는 96%로 많이 사용되고 있고 그 외에 하지통 처방에도 쓰인다.²⁾

약리 효능으로는 항염증 및 소염진통작용,³⁾ 부인과 질환인 자궁근종의 세포 사멸,⁴⁾ 고지혈증 예방효과,⁵⁾ 부분적인 간손상 회복 효과 및 혈액점도 감소 효과⁶⁾ 등이 보고되었다. 또한 오적산은 인체의 유해한 금속농도에 대해서도 안전한 처방으로 확인되었다.⁷⁾

인간의 호흡과정에서 만들어진 활성산소종은 대부분 생체 내 메커니즘에 의해 제거가 되지만 정상적으로 활성산소종이 제거되지 않고 산화요소가 체내에서 활발하게 되면 세포가 산화에 의해 노화를 촉진하고 DNA를 산화적으로

변성시켜 각종질병을 야기한다. 이러한 세포 산화를 방어하기 위해 시중에 합성제제 항산화제가 시판되고 있지만 다량 섭취 시 부작용을 초래하는 것으로 보고되었다.⁸⁻¹³⁾ 그리하여 최근에는 천연의약품에서 항산화제를 탐색하는 추세이다.¹⁴⁾ 이러한 추세에 발 맞추어 오적산의 항산화 효과에 관한 연구를 진행하였다. 그리고 오적산의 구성약재에 대한 주성분 11종에 대해 광다이오드 어레이(photodiode array; PDA) 검출기가 결합된 고성능 액체크로마토그래피(high performance liquid chromatography; HPLC)를 이용하여 성분의 함량을 측정하였다.

재료 및 방법

실험재료 – 본 연구에 사용된 五積散의 구성 약재인 창출(蒼朮, Atractylodis Rhizoma), 마황(麻黃, Ephedrae Herba), 진피(陳皮, Citri Unshii Pericarpium), 후박(厚朴, Magnoliae Cortex), 길경(桔梗, Platycodi Radix), 지각(枳殼, Aurantii Fructus Immaturus), 당귀(當歸, Angelicae Gigantis Radix), 건강(乾薑, Zingiberis Rhizoma), 작약(芍藥, Paeoniae

*교신저자(E-mail): csseo0914@kiom.re.kr
(Tel): +82-42-868-9361

Radix), 복령(茯苓, Hoelen), 백지(白芷, Angelicae Dahuricae Radix), 천궁(川芎, Cnidii Rhizoma), 반하(半夏, Pinelliae Tuber), 계피(桂皮, Cinnamom Bark), 감초(甘草, Glycyrrhizae Radix et Rhizoma), 생강(生薑, Zingiberis Rhizoma Crudus) 및 총백(葱白, Allii Radix)은 주) 옴니허브(Yeongcheon, Korea) 및 주) HMAX(Jecheon, Korea)에서 구입하였다. 각각의 구성 약재 표본(2008-KE04-1~2008-KE04-17)은 한국한의학연구원 한약방제연구그룹에 보관하였다.

시약 – 표준품인 naringin, cinnamaldehyde, liquiritin, glycyrrhizin, albiflorin, paeoniflorin, ferulic acid 및 6-gingerol(이상 순도 ≥ 98%) 등은 Wako Pure Chemical Industries Ltd.(Osaka, Japan)에서 구입하였다. Hesperidin 및 neohesperidin(이상 순도 ≥ 98%)은 Biopurify Phytochemicals Ltd.(Chengdu, China)에서 구입하였다. Nodakenin(순도 ≥ 98%)은 NPC Biotech(Geumsan, Korea)에서 구입하여 표준품으로 사용하였다. 이들 지표물질의 구조는 Fig. 1과 같다. HPLC 등급의 water와 acetonitrile은 J.T. Baker(Phillipsburg, NJ, USA)로부터 구입하였다. Acetic acid는 Junsei(Kyoto, Japan)에서 구입하여 분석을 진행하였다.

표준액 및 검액제조 – 본 연구에 사용된 11종의 표준품은 모두 1,000 µg/mL의 농도로 methanol에 녹여 4°C에서 보관하였으며 사용 전에 흐석하여 사용하였다. 蒼朮, 麻黃, 陳皮, 厚朴, 桔梗, 枳殼, 當歸, 乾薑, 茴薑, 茯苓, 白芷, 川芎, 半夏, 桂皮, 甘草, 生薑 및 葱白을 Table I의 비율로 배합(약 20.0 kg; 56.25 g×355.6)하여 초고속 진공 저온 농축 추출기

(Cosmos 660, Incheon, Korea)를 이용하여 추출하였다. 물의 양은 약재 양의 10배수를 첨가하여 100°C에서 2시간 전탕하였다. 전탕액을 동결 건조하여 4.2 kg의 추출물을 얻었다(수율 21.0%). 동결 건조된 추출물 200 mg을 정확히 칭량하여 중류수를 넣어 20 mL로 맞춘 후 0.2 µm membrane filter(Woongki Science, Seoul, Korea)로 여과하여 검액으로 사용하였다.

HPLC 분석조건 – 오적산을 분석하기 위해 pump(LC-20AT), on-line degasser(DGU-20A3), column oven(CTO-20A), autosampler(SIL-20AC) 및 PDA detector(SPD-M20A) 등으로 구성되어 있는 HPLC LC-20A 시스템(Shimadzu Co., Kyoto, Japan)을 사용하였고, 분석 data 처리에는 LCsolution software(Version 1.24)를 이용하였다. 칼럼은 Phenomenex사의 Gemini C18(5 µm, 4.6×250 mm, Torrance, CA, USA)을 사용하였고, 칼럼온도는 40°C로 유지하였다. Albiflorin과 paeoniflorin은 230 nm, glycyrrhizin은 254 nm, liquiritin, naringin, hesperidin, neohesperidin, cinnamaldehyde 및 6-gingerol은 280 nm, ferulic acid는 320 nm 및 nodakenin은 330 nm에서 최대 흡수 파장을 나타내어 230, 254, 280, 320 및 330 nm에서 동시분석을 실시하였다. 유속은 분당 1.0 mL, 시료주입량은 10 µL로 설정하였다. 이동상으로는 1.0% acetic acid를 각각 첨가한 water와 acetonitrile을 사용하였으며 기울기 용매조건은 Table II와 같다.

직선성, 범위, 검출한계 및 정량한계 – 동시분석법을 검증하기 위해 직선성, 범위, 검출한계 및 정량한계를 측정하

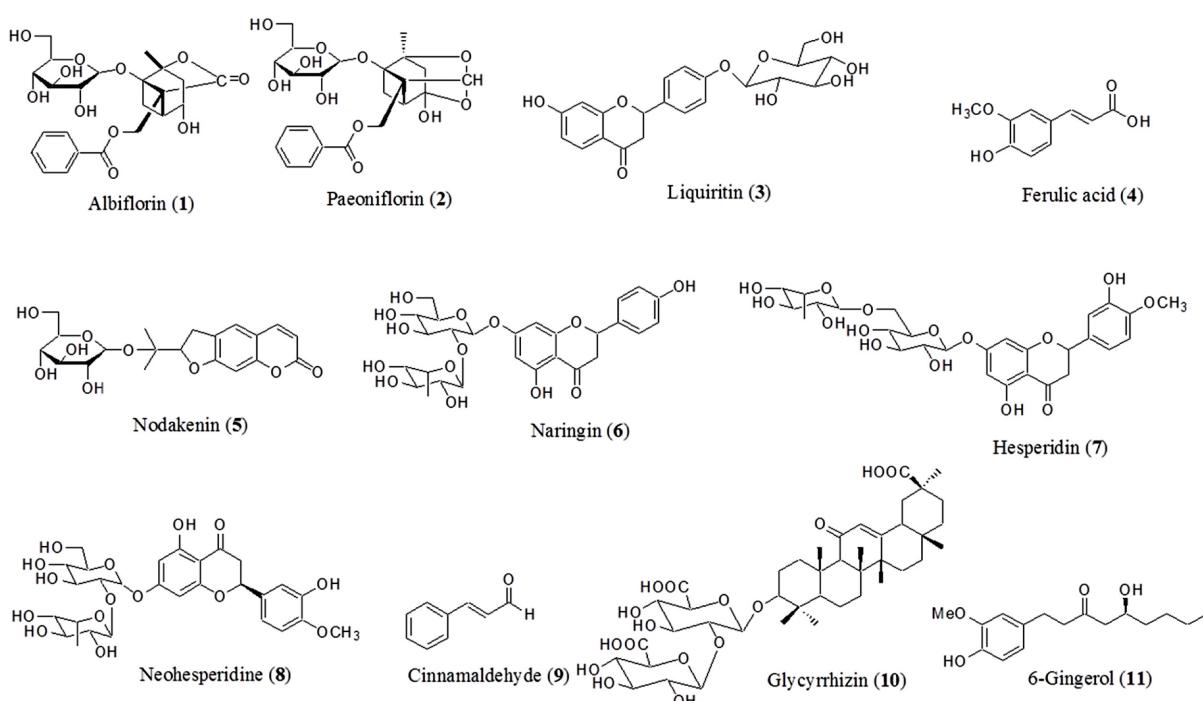


Fig. 1. Structures of 11 chemical compounds in *Ojeok-san*.

Table I. Configuration of *Ojeok-san*

Herbal medicine	Weight(g)	Supplier	Source
Attractylodis Rhizoma	7.5	HMAX	China
Ephedrae Herba	3.7	HMAX	China
Citri Unshii Pericarpium	3.7	Omniherb	Jeju, Korea
Magnoliae Cortex	3.0	HMAX	China
Platycodi Radix	3.0	Omniherb	Yeongcheon, Korea
Aurantii Fructus Immaturus	3.0	HMAX	China
Angelicae Gigantis Radix	3.0	Omniherb	Pyeongchang, Korea
Zingiberis Rhizoma	3.0	Omniherb	Yeongcheon, Korea
Paeoniae Radix	3.0	Omniherb	Hwasun, Korea
Hoelen	3.0	Omniherb	Yeongcheon, Korea
Angelicae Dahuicae Radix	2.6	Omniherb	Yeongcheon, Korea
Cnidii Rhizoma	2.6	Omniherb	Yeongcheon, Korea
Pinelliae Tuber	2.6	HMAX	China
Cinnamom Bark	2.6	Omniherb	Vietnam
Glycyrrhizae Radix et Rhizoma	2.2	HMAX	China
Zingiberis Rhizoma Crudus	3.7	Omniherb	Yeongcheon, Korea
Allii Radix	3.7	Omniherb	Hanam, Korea

Table II. Solvent gradient for analysis of HPLC-PDA

Time(min)	Solvent A(%) ^a	Solvent B(%) ^b
0	85	15
20	75	25
40	45	55
45	0	100
50	0	100
55	85	15
70	85	15

^a1.0%(v/v) acetic acid in water.^b1.0%(v/v) acetic acid in acetonitrile.

였다. 검량선 측정을 위해 albiflorin 0.6-10.0 µg/mL, paeoniflorin 2.5-40.0 µg/mL, liquiritin 2.5-40.0 µg/mL, ferulic acid 0.6-10.0 µg/mL, nodakenin 1.3-20.0 µg/mL, naringin 6.3-100.0 µg/mL, hesperidin 6.31-100.0 µg/mL, neohesperidin 6.3-100.0 µg/mL, cinnamaldehyde 0.7-10.5 µg/mL, glycyrrhizin 3.1-50.0 µg/mL 및 6-gingerol 0.4-3.0 µg/mL의 농도의 범위에 대해서 검량선을 작성하였다. 작성된 검량선을 바탕으로 상관계수(correlation coefficient, r^2)를 이용하여 직선성을 확인하였다. 분석 성분의 검출 가능한 농도와 정량을 확인하기 위해 시행한 검출한계와 검출한계는 신호(signal; S) 대비 잡음(noise; N) 비로 3과 10을 기준으로 계산하였다.

ABTS 라디칼 소거능 측정 – 3-Ethyl-benzothiazoline-6-sulfonic acid(ABTS, Sigma-Aldrich. St Louis, MO, USA) 라디칼을 이용한 항산화능 측정은 ABTS cation decolorization

assay 방법을 96 well plate에 맞게 수정하여 실시하였다.¹⁵⁾ 7 mM ABTS와 2.45 mM potassium perulfate를 최종 농도로 혼합하여 실온인 암소에서 24시간 동안 방치하여 ABTS⁺를 형성 시킨 후 743 nm에서 0.7의 흡광도 값을 갖도록 phosphate buffer saline(PBS, pH 7.4)로 희석하였다. 96 well plate에 ABTS⁺용액과 오적산 추출물을 혼합하여 실온에서 5분간 반응시킨 후, microplate reader(Benchmark Plus, Bio-Rad. USA)를 사용하여 734 nm에서 흡광도를 측정하였다. 시료의 항산화능은 시료를 녹인 용매인 PBS를 대조군으로 하여 대조군에 대한 라디칼 소거능을 백분율로 나타내었다. 활성 비교를 위하여 vitamin C를 사용하였다.

$$\text{ABTS radical scavenging activity} = (1 - \frac{A_{\text{sample}}}{A_{\text{control}}}) \times 100$$

DPPH 라디칼 소거능 측정 – 1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH, Sigma-Aldrich) 라디칼을 이용한 항산화능 측정은 96 well plate를 이용하여 실시하였다.¹⁶⁾ 96 well plate에 0.15 mM의 DPPH 용액과 오적산 추출물을 혼합하여 실온에서 30분간 반응시킨 후, 517 nm에서 흡광도를 측정하였다. 시료의 항산화능은 시료를 녹인 용매인 DMSO를 대조군으로 하여 대조군에 대한 라디칼 소거능을 백분율로 나타내었다. 활성 비교를 위하여 vitamin C를 사용하였다.

$$\text{DPPH radical scavenging activity} = (1 - \frac{A_{\text{sample}}}{A_{\text{control}}}) \times 100$$

결과 및 고찰

분석조건의 확립 – 오적산의 구성 약재 중 진피와 지각의

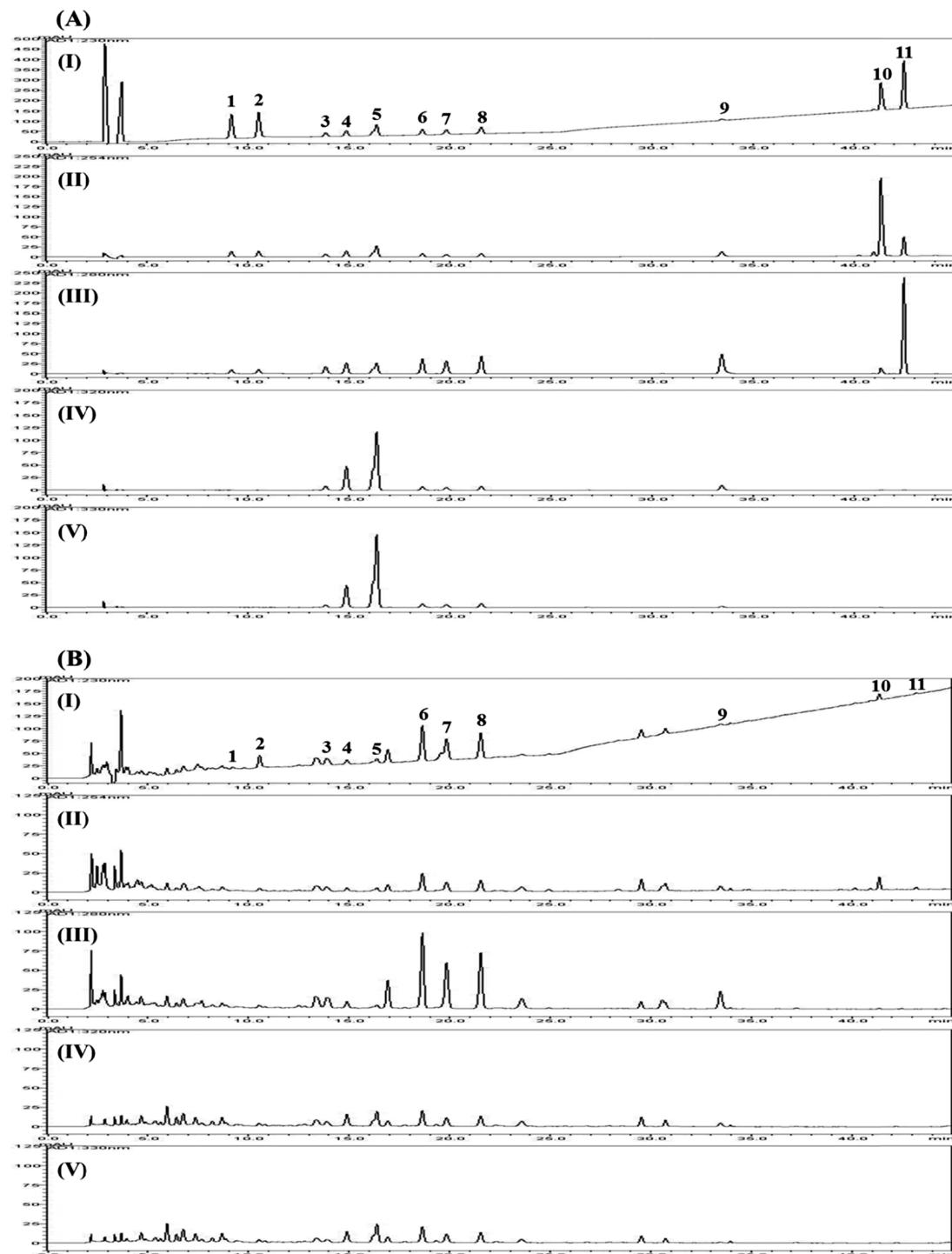


Fig. 2. HPLC chromatograms of standard solution(A) and *Ojeok-san* water extract(B) at 230 nm(I), 254 nm(II), 280 nm(III), 320 nm(IV), and 330 nm(V). Albiflorin(1), paeoniflorin(2), liquiritin(3), ferulic acid(4), nodakenin(5), naringin(6), hesperidin(7), neohesperidin(8), cinnamaldehyde(9), glycyrrhizin(10), and 6-gingerol(11).

주성분인 naringin, hesperidin 및 neohesperidin, 당귀의 주성분인 nodakenin, 건강과 생강의 주성분인 6-gingerol, 작약의 주성분인 albiflorin과 paeoniflorin, 천궁의 주성분인

ferulic acid, 계피의 주성분인 cinnamaldehyde 및 감초의 주성분인 liquiritin과 glycyrrhizin 등 11종의 성분을 선정하여 분석을 시행한 결과 45분 이내에 모든 성분들을 분리하였

Table III. Linear range, correlation coefficient, LOD, and LOQ of the compounds

Compound	Detection wavelengths (nm)	Linear range ($\mu\text{g/mL}$)	Regression equation	Correlation coefficient(r^2)	LOD ($\mu\text{g/mL}$)	LOQ ($\mu\text{g/mL}$)
Albiflorin(1)	230	0.6-10.0	$y = 9971.1x - 232.3$	0.9999	0.18	0.53
Paeoniflorin(2)	230	2.5-40.0	$y = 10411.0x - 2125.2$	1.0000	0.26	0.79
Liquiritin(3)	280	2.5-40.0	$y = 17612.0x - 1013.3$	1.0000	0.10	0.30
Ferulic acid(4)	320	0.6-10.0	$y = 47695.0x - 1622.8$	1.0000	0.05	0.16
Nodakenin(5)	330	1.3-20.0	$y = 32561.0x - 321.4$	1.0000	0.04	0.13
Naringin(6)	280	6.3-100.0	$y = 17229.0x - 2216.6$	1.0000	0.17	0.52
Hesperidin(7)	280	6.3-100.0	$y = 17516.0x - 6098.7$	1.0000	0.87	2.63
Neohesperidin(8)	280	6.3-100.0	$y = 20957.0x - 2334.8$	1.0000	0.18	0.56
Cinnamaldehyde(9)	280	0.7-10.5	$y = 117712.0x - 934.6$	1.0000	0.04	0.14
Glycyrrhizin(10)	254	3.1-50.0	$y = 7679.7x - 242.7$	1.0000	0.13	0.40
6-Gingerol(11)	280	0.4-3.0	$y = 5938.5x - 104.0$	0.9997	0.08	0.25

다. 이들의 분리능과 꼬리꼴립현상을 줄이고자 각각의 이동상에 1.0% acetic acid를 첨가하여 기울기 용리 조건으로 최적의 분석조건을 확립하였다. 확립된 조건에 따라 분석한 결과 albiflorin^o 9.1분, paeoniflorin^o 10.4분, liquiritin^o 13.7분, ferulic acid 14.7분, nodakenin^o 16.2분, naringin^o 18.4분, hesperidin^o 19.7분, neohesperidin^o 21.4분, cinnamaldehyde^o 33.4분, glycyrrhizin^o 41.2분 및 6-gingerol은 42.3분에서 각각 검출되었다(Fig. 2). 각 성분들의 피크는 최대 UV 흡수 파장과 피크의 머무름 시간으로 비교하였다.

분석방법의 직선성, 검출한계 및 정량한계 – 검출이 확인된 11종 성분의 함량을 분석하기 위해 검량선을 통해 직선성을 확인한 결과, 상관계수(r^2) 값이 0.9997 이상으로 양호한 직선성을 보였다. 검출한계는 0.04-0.87 $\mu\text{g/mL}$, 정량한계는 0.13-2.63 $\mu\text{g/mL}$ 로 나타났다(Table III).

성분의 함량 – 확립된 분석법에 의해 오적산 물 추출물을 분석하였다. 그 결과, albiflorin은 0.30 mg/g, paeoniflorin은 2.14 mg/g, liquiritin은 1.53 mg/g, ferulic acid는 0.40 mg/g, nodakenin은 1.00 mg/g, naringin은 6.29 mg/g, hesperidin은 4.52 mg/g, neohesperidin은 4.10 mg/g, cinnamaldehyde은 0.25 mg/g, glycyrrhizin은 1.85 mg/g, 6-gingerol은 0.15 mg/g으로 나타났고 상대 표준편차는 모두 2.8% 이내로 나타났다(Table IV). 검출된 성분 중 진피와 지각의 주요 성분인 naringin과 hesperidin이 다른 성분에 비해 비교적 높은 함량을 나타냈다.

항산화능 측정 – 오적산의 항산화 활성을 평가하고자 추출물을 농도별로 조제한 후 ABTS와 DPPH 라디칼 소거활성을 측정하였다. ABTS 라디칼의 소거활성을 비교한 결과 추출물의 농도가 증가함에 따라 ABTS 라디칼 소거활성이 증가하는 경향을 보였다. 오적산 추출물 25, 50, 100 및 200 $\mu\text{g/mL}$ 농도에서 각각 21.3, 35.4, 59.3 및 87.6%의 라

Table IV. Contents of 11 major compounds in *Ojeok-san*

Compound	Content(mg/g)		
	Mean	SD	RSD(%)
Albiflorin(1)	0.30	0.00	1.27
Paeoniflorin(2)	2.14	0.01	0.47
Liquiritin(3)	1.53	0.04	2.76
Ferulic acid(4)	0.40	0.00	0.50
Nodakenin(5)	1.00	0.00	0.41
Naringin(6)	6.29	0.05	0.77
Hesperidin(7)	4.52	0.10	2.25
Neohesperidin(8)	4.10	0.06	1.57
Cinnamaldehyde(9)	0.25	0.00	0.24
Glycyrrhizin(10)	1.85	0.00	0.16
6-Gingerol(11)	0.15	0.00	2.53

디칼 소거활성을 나타냈으며, 시료를 첨가하지 않은 대조군의 흡광도를 1/2로 감소시키는데 필요한 시료의 양(RC_{50})은 96.16 $\mu\text{g/mL}$ 로 관찰되었다. 양성대조군인 vitamin C의 RC_{50} 값은 3.22 $\mu\text{g/mL}$ 로 관찰되었다(Table V). DPPH 라디칼의 소거활성 또한 ABTS 라디칼의 소거활성과 유사하게 농도의존적인 증가를 나타냈다. 추출물 50, 100, 200 및 400 $\mu\text{g/mL}$ 농도에서 각각 2.61, 15.42, 33.68 및 72.65%의 라디칼 소거활성을 나타냈으며, RC_{50} 는 284.71 $\mu\text{g/mL}$ 로 관찰되었다. 양성대조군인 vitamin C의 DPPH 라디칼에 대한 RC_{50} 값은 10.43 $\mu\text{g/mL}$ 로 관찰되었다(Table VI). 이러한 연구 결과는 김 등¹⁷⁾ 연구 결과인 사상 체질 처방(열다한소탕, 양격산화탕, 청심연자탕 및 태음조위탕)의 항산화 효능 결과와 비교해 볼 때, ABTS 라디칼의 RC_{50} 값이 각각 23.07 $\mu\text{g/mL}$, 37.74 $\mu\text{g/mL}$, 117.28 $\mu\text{g/mL}$, 204.84 $\mu\text{g/mL}$ 로 보고되

Table V. Scavenging effects of *Ojeok-san* on ABTS⁺

Sample	Concentration ($\mu\text{g/mL}$)	Scavenging effect (%)	$\text{RC}_{50}^{\text{a}}$ ($\mu\text{g/mL}$)
Ojeok-san	25	21.32±1.13	96.16±0.15
	50	35.36±0.23	
	100	59.28±0.32	
	200	87.57±0.14	
Vitamin C	1.25	21.15±0.19	3.22±0.06
	2.5	40.62±1.44	
	5	75.86±1.06	

^aConcentration required for 50% reduction of ABTS⁺ at 5 min reaction.

Table VI. Scavenging effects of *Ojeok-san* on DPPH

Sample	Concentration ($\mu\text{g/mL}$)	Scavenging effect (%)	$\text{RC}_{50}^{\text{a}}$ ($\mu\text{g/mL}$)
Ojeok-san	50	2.61±2.20	284.71±14.93
	100	15.42±0.62	
	200	33.68±1.92	
	400	72.65±4.02	
Vitamin C	5	24.27±1.40	10.43±0.23
	10	58.79±1.98	
	20	90.04±0.36	

^aConcentration required for 50% reduction of DPPH at 30 min reaction.

었다. 이는 본 연구의 대상인 오적산의 ABTS 라디칼의 RC_{50} 값인 $96.16 \mu\text{g/mL}$ 과 비교 할 때 오적산이 사상 처방인 태 음조위탕과 청심연자탕에 비해 높은 항산화능을 보유하고 있는 것으로 나타났다.

결 론

한방의료기관 다빈도 1위 처방인 오적산에 대해 11종 성분의 동시분석과 항산화 작용 확인을 위해 ABTS와 DPPH 라디칼 소거활성실험을 하였다. HPLC 분석을 통해 확인한 결과, 11종 성분 중 진피와 지각의 주요 성분인 naringin, hesperidin 및 neohesperidin이 다른 성분에 비해 비교적 많이 함유되어 있음을 확인하였다. 또한 오적산은 농도의존적인 항산화 작용이 있는 것으로 나타났다. 본 연구를 통해 오적산의 품질관리와 항산화 효과에 대한 기초자료로 활용될 것으로 사료된다.

사 사

본 연구는 한국한의학연구원에서 지원하는 ‘한약처방의 과학적 근거 기반 구축사업(K13030)’에 의해 수행되었으며 이에 감사 드린다.

인용문헌

- 박영순 (2002) 한방의 약리해설, 699. 아카데미서적, 서울.
 - Shin, K. M., Jang, M. G., Kim, E. J., Kim, S. W., Lee, J. D., Kim, K. S. and Lee, S. D. (2010) The use of Ojeok-san in low back pain patients: results of a telephone survey. *The Acupuncture* **27**: 77-78.
 - Moon, Y. H. and Park, Y. J. (1994) Studies on the anti-inflammatory and analgesic activities of Ohjuksan. *Kor. J. Pharmacogn.* **25**: 253-263.
 - Jeon, M. H., Baek, S. H., Shin, S. W. and Lee, Y. S. (2003) A study on the effect of Ojeok-san on annihilation of uterine myomal cell and cell apoptosis. *J. Korean Obstetrics Gynecol.* **16**: 45-55.
 - Kim, J. H., Soh, K. S., Jeong, C. G. and Kim, K. H. (2004) Effects of Ojuck-san on hyperlipidemia in rats. *Kor. J. Orient. Preventive Med. Soc.* **8**: 185-202.
 - Kim, J. W., Lee, K. S. and Song, B. K. (1988) A study on the effect on Ohjucksan in different types. *K. H. Univ. O. Med. J.* **11**: 55-75.
 - Min, D. K., Goh, S. K., Lee, S. D. and Wen, Y. (2002) Brain metal level in Ohjeoksan-treated rats. *Kor. J. Orient. Preventive Med. Soc.* **4**: 242-257.
 - Cho, Y. J., Ju, I. S., Kwon, O. J., Chun, S. S., An, B. J. and Kim, J. H. (2008) Biological and antimicrobial activity of *portulaca oleracea*. *J. Korean Soc. Appl. Biol. Chem.* **51**: 49-54.
 - Branen, A. L. (1975) Toxicology and biochemistry of butylated hydroxyanisole and butylated hydroxytoluene. *J. Am. Oil. Chem. Soc.* **52**: 59-63.
 - Choe, S. Y. and Yang, K. H. (1982) Toxicological studies of antioxidants, butylated hydroxytoluene (BHT) and butylated hydroxyanisole (BHA). *Korean J. Food Sci. Technol.* **12**: 283-288.
 - Rice-Evans, C., Miller, N. J. and Paganga, G. (1997) Antioxidant properties of phenolic compounds. *Trends Plant Sci.* **2**: 152-159.
 - Sies, H. (1986). Biochemistry of oxidative stress. *Angewandte Chemie.* **25**: 1058-1071.
 - Halliwell, B., Aeschbach, R., Loliger, J. and Aruoma, O. I. (1995) The characterization of antioxidants. *Food Chem. Toxicol.* **33**: 601-617.
 - Kwon, J. W., Lee, E. J., Kim, Y. C., Lee, H. S. and Kwon, T. O. (2008) Screening of antioxidant activity from medicinal plant extracts. *Korean J. Pharmacogn.* **39**: 155-163.
 - Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., and Rice-Evans, C. (1999) Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radic. Biol. Med.* **26**: 1231-1237.
 - Moreno, M. I., Isla, M. I., Sampietro, A. R. and Vattuone, M. A. (2000) Comparison of the free radical-scavenging activity of propolis from several regions of Argentina. *J. Ethnopharmacol.* **71**: 109-114.
 - Kim, O. S., Kim, Y. J. and Shin, H. K. (2012) Anti-atherosclerotic Effects of Herbal Formulas for Sasang Constitutional Medicine. *J. Sasang Constitut. Med.* **24**: 51-61.
- (2013. 11. 21 접수; 2013. 12. 12 심사; 2013. 12. 17 게재확정)