

배양상황버섯의 저밀도지질단백질 (LDL) 산화에 미치는 영향

정은주 · 성재모* · 양기숙#

숙명여자대학교 약학대학, *강원대학교 농업생명과학대학

(Received February 17, 2004; Revised April 8, 2004)

Effect of the Cultivated Fruit body of *Phellinus linteus* on Low Density Lipoprotein Oxidation

Eun-Joo Jung, Jae-Mo Sung* and Ki-Sook Yang#

College of Pharmacy, Sookmyung Women's University, Seoul 140-742, Korea

*College of Agriculture and Life Sciences, Kangwon National University, Chuncheon 200-701, Korea

Abstract — *Phellinus linteus* (Hymenochaetaceae) has been used for the treatment of gastric cancer, noninsulin dependant diabetes, diarrhea, and menstrual irregularity. The antioxidative effect of cultivated fruit body of *Phellinus linteus* on low density lipoprotein oxidation was investigated. The MeOH and water extracts were examined by TBARS assay on human plasma LDL in vitro system. The MeOH ex. showed antioxidative activity, and then was fractionated into Precipitates, Water Insoluble fr., Water fr. and ether fr. The results showed that the lipophilic fractions, Water Insoluble fr. and Ether fr. of cultivated fruit body of *Phellinus linteus*, inhibited the oxidative modification of LDL.

Keywords □ *Phellinus linteus*, lowdensity lipoprotein oxidation, antioxidative, TBARS assay

상황(桑黃, 목질진흠버섯) *Phellinus linteus*(Berk. et Curt.) Teng은 담자균아문(Basidiomycotina), 민주름버섯목(Aphyllophorales), 소나무비늘버섯과(Hymenochaetaceae)에 속하며, 활엽수, 특히 뽕나무, 산벚나무 등에 기생하는 다년생의 버섯이며 민간에서는 소화기 계통의 암인 위암, 식도암, 십이지장암, 결장암, 직장암과 간암 및 하리(下痢) 등에 사용되고 있다.¹⁻³⁾

상황의 성분으로는 고분자 다당체,^{4,5)} 배양균사체로부터 succinic acid, *p*-hydroxyphenylacetic acid methyl ester, *p*-hydroxybenzaldehyde 등⁶⁾과 ergosta-7,24(28)-dien-3-ol, ergosta-7,22-dien-3-ol, 4-(3'4'-dihydroxy-phenyl)-3-butene-2-one 등⁷⁾이 보고되어 있으며, 자실체에 들어있는 성분으로는 agaricin, agaric acid, lactic acid, 포화지방산, 다종의 유기산류, galactose, glucose 등의 당류, sterol류, triterpene 등이 보고되어 있다.⁸⁾ 약리작용으로는 항암작용,^{9,10)} 면역증강작용,¹¹⁻¹³⁾ 급성독성¹⁴⁾ 등에 대한 연구가 있다.

최근 암 및 노화에 관련된 퇴행성 질환과 동맥경화증, 백내장,

치매, 당뇨병 등의 성인병이 사회적 문제가 되고 있으며, 활성산소와 과산화지질이 원인이 되어 생체의 장애를 일으키는 것으로 알려져 있다.¹⁵⁻¹⁷⁾ 저밀도지단백(low density lipoprotein, LDL)은 활성산소에 의해 쉽게 산화되어 산화 LDL을 생성하고 이것은 동맥경화의 유발인자로 작용하므로,^{18,19)} 합성 또는 천연 항산화제의 LDL산화에 대한 억제제로서의 역할과 그들의 동맥경화의 예방 및 치료효과에 대한 관심과 연구가 활발히 진행되고 있다. 현재 유통되고 있는 자연산 상황버섯은 기능성 식품으로 다량소비가 늘어나고 있으나 가격이 고가이며 품질이 일정하지 않아 사용에 어려움이 있다. 이에 대량생산이 가능한 배양상황버섯의 항산화작용을 측정하여 의약품 자원으로서의 개발 가능성을 평가하고자 하였다.

실험방법

실험재료

강원대학교 동충하초은행(Entomopathogenic Fungal Culture Collection EFCC Ph-1)에서 상황버섯(목질진흠버섯 *Phellinus linteus*(Berk. et Curt.) Teng)의 균주를 분양 받아 (주) 머쉬텍에서 현미배지로 배양한 자실체를 사용하였으며, 표본(SMP0304)은 숙명여자대학교 생약 표본실에 보관하였다.

#본 논문에 관한 문의는 저자에게로
(전화) 02-710-9578 (팩스) 02-715-9498
(E-mail) ksyang@sdic.sookmyung.ac.kr

추출 및 분획

상황버섯 자실체를 음건한 후 조말로 하여 3 kg을 취하여, 열 MeOH 30L로 추출한 후 60°C 이하에서 1/5로 감압 농축하였다. 농축된 액을 방치하여 미황색의 난용성 침전(Precipitates) 24.9 g을 얻었으며, 이것을 여과한 여액을 위와 같은 방법으로 완전 농축하여 MeOH ex. 260 g을 얻었다. 그 후 MeOH ex.를 열수에 녹여 물 가용분획(Water Soluble fr.) 190 g과 물 불용분획(Water Insoluble fr.) 60 g으로 나누었다. 물 가용분획은 다시 ether로 분배하여 물 분획(Water fr.) 128 g과 ether 분획(Ether fr.) 12 g을 얻었다. 또한 상황버섯 자실체 100 g에 증류수 약 2 l를 가하여 90~100°C의 수욕상에서 4시간씩 3회 추출 후, 여과한 여액을 감압 농축하여 물 추출물(Water ex.) 11.9 g을 얻었다.

DPPH 라디칼 소거활성 검색²⁰⁾

시료 메탄올용액(100 µl)에 0.1 mM DPPH(1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl) 용액(99.5% methanol에 용해) 1.9 ml을 가한 후 진탕기로 10초간 진탕한 후 37°C에서 30분 동안 배양 시켰다. Spectrophotometer를 이용하여 515 nm에서 흡광도를 측정하였으며 비교약물로 ascorbic acid를 사용하였다.

저밀도지단백 산화에 미치는 작용

사람 저밀도 지질단백(LDL)의 분리는 신선한 human plasma에 aprotinine 0.002%, EDTA, NaN3를 각각 0.05%씩 가해 천천히 혼화한 후 KBr를 가해 density를 조정(d=1.006→1.025)하여 1차 초원심분리(40,000 rpm, 4°C, 16 hr)하였다. 이때 분리된 VLDL을 제거하고 LDL이 포함된 분획을 취한 후 KBr를 가하여 밀도를 조정(d=1.026→1.055)한 후 2차 초원심분리(40,000 rpm, 4°C, 24 hr)하여 LDL을 분리하였다.²¹⁾ 분리한 LDL은 pH 7.4의 phosphate buffered saline(PBS)으로 4°C에서 48시간 동안 투석시킨 후 사용하였다. LDL 중 단백질 정량은 bovine serum albumin을 표준품으로 하는 Lowry's method²²⁾에 의해 결정하였고, LDL의 순수도는 SDS-polyacrylamide gel electrophoresis(SDS-PAGE)로써 확인하였다.

LDL의 산화 - LDL(400 µg protein/ml), 1 mM CuSO₄ 16 µl, 농도별로 조제한 각 시료(MeOH 추출물과 각 분획) 100 µl에 PBS(pH 7.4)를 섞어 전체 부피가 1 ml이 되도록 하였다. 혼화하여 37°C 수욕상에서 4시간 동안 진탕 배양하여 산화시킨 후 1 mM EDTA 20 µl를 첨가하여 산화를 중지시켰다.

Thiobarbituric acid reactive substance(TBARS) 측정 - 상기의 산화된 LDL 용액에 25% trichloroacetic acid 1 ml을 넣어 단백질을 침전시킨 후 그 상등액에 1% thiobarbituric acid 1 ml을 첨가하여 95°C에서 3~10분간 발색시킨 후 냉각시켰다. 2,500 rpm, 20분간 원심 분리한 후, 그 상등액을 취하여 532 nm에서 spectrophotometer를 이용하여 생성된 MDA의 양을 측정

하였다. MDA 표준시료로는 10 nM 1,1,3,3-tetraethoxypropane 용액을 용시 조제하여 사용하였으며, 각 시료의 LDL 지질과산화 억제효과를 비교검토하기 위해서 Cu²⁺에 의해 유도되는 과산화지질의 생성을 50% 억제하는데 필요한 시료의 농도(IC₅₀)를 측정하였다.

전기영동 이동도의 측정

LDL에 각 분획 시료를 100 µg/ml씩 가한 후 CuSO₄를 가하여 산화시킨 후 speedvac concentrator에서 1시간 농축시키고 sample buffer(1M tris base 0.26 ml, glycerol 1 ml, 1% bromphenol blue 0.5 ml)에 증류수를 가하여 10 ml이 되도록 조제)와 3:1로 혼화하였다. 0.7% agarose gel에 20 µl 정도를 점적하고 점적하였다. TBE 완충액(pH 7.4)을 전개액으로 사용하여 20 mA의 전류로 agarose gel 전기영동을 시행한 후에 Coomassie brilliant blue 염색시액으로 30분간 염색한 후 4°C에서 탈염을 실시하였다. 시료를 가하지 않고 산화시킨 LDL의 이동도(cm)에 대한 상대 이동도를 구하였다.²³⁾

통계학적 분석

모든 실험결과는 평균±표준오차로 나타내었으며 자료분석은 Student's t-test를 이용하여 유의성을 검정하였다.

실험결과 및 고찰

유리기 소거활성

인간을 포함한 모든 호기성 생물체는 산소를 이용하여 에너지 대사를 진행하며 그 과정에서 부산물로 발생하는 활성산소의 상해에 대하여 생체는 자기방어기구(scavenger system)를 구비하고 있지만 조직의 방어능을 초월한 활성산소의 생성은 최근 성인병이라 불리워지는 관절염, 순환기장애 뿐만 아니라 암 등과 같은 여러 질환의 원인이 되고 있다. 흔히 유해산소라 불리워지는 활성산소는 가장 안정한 형태의 산소인 triplet oxygen(³O₂)이 산화, 환원과정에서 환원을 받아 생성되는 singlet oxygen (¹O₂), superoxide anion(O₂⁻), hydrogen peroxide(H₂O₂)과 hydroxyl radical(·OH) 과 같은 유리기로서, 이들이 단백질, DNA, 효소 및 T-Cell과 같은 면역계의 인자를 손상시켜 각종 질환을 일으키며, 특히 문제가 되는 것은 활성산소가 세포 생체막의 구성성분인 다가 불포화지방산을 공격하여 지질과산화 반응을 일으켜 체내 과산화지질을 축적하고, 이로 인해 생체기능이 저하됨으로써 노화 및 성인병 질환을 유발하는 것으로 알려져 있다.^{24,25)}

시료 각 분획의 항산화능을 DPPH에 대한 전자공여능(electron donating ability, EDA%)으로 측정하였고 각 분획의 억제효과는 대조군에 비하여 DPPH free radical을 50% 억제하는데 요구되

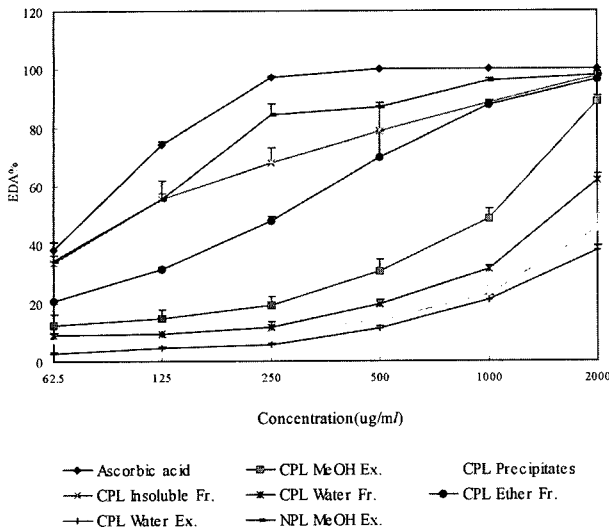


Fig. 1 - The radical scavenging effects of *Phellinus linteus*. CPL : Cultivated fruit body of *Phellinus linteus*, NPL : Natural fruit body of *Phellinus linteus*.

는 농도(IC₅₀)로써 비교하였다. DPPH는 자신이 가지고 있는 홀수의 전자 때문에 518 nm에서 강한 흡수를 보이거나 phenolic 화합물과 같이 수소에 전자를 제공하여 주는 전자공여체와 반응을 하게 되면 전자나 hydrogen radical을 받아 phenoxy radical을 생성하게 된다. 따라서 흡수 band 도 사라지게되고 안전한 분자가 된다. 또한 공여된 전자는 비가역적으로 결합하며 그 수에 비례하여 흡광도가 감소하게 된다. 각 분획의 농도에 따른 전자공여능을 Fig. 1에 나타내었다.

모든 시료가 농도의존적으로 유리기 소거효과가 증가함을 알 수 있었다. 천연항산화제로 알려진 ascorbic acid는 250 µg/ml에서 97.10%의 전자공여능을 나타내었으며 배양상황버섯 insoluble fr.은 2000 µg/ml 농도에서 97.57% 전자공여능을 나타내었다. 천연상황버섯 MeOH ex.는 1000 µg/ml에서 96.10% 전자공여능을 나타내었고 배양상황버섯 insoluble fr.은 2000 µg/ml에서 97.57% 전자공여능을 나타내었다. 배양상황버섯의 MeOH 분획

Table I - Antioxidative activity of *Phellinus linteus*

Sample	IC ₅₀ (µg/ml)
Ascorbic acid	8.50
CPL MeOH ex.	101.20
Precipitates	227.27
Water Insoluble fr.	11.50
Water fr.	160.16
Ether fr.	43.36
CPL Water ex.	268.70
NPL MeOH ex.	13.07

IC₅₀ : Required sample concentration (µg/ml) for 50% reduction of 0.1 mM.

DPPH solution 1.9 ml, CPL : Cultivated fruit body of *Phellinus linteus*, NPL : Natural fruit body of *Phellinus linteus*.

중에서는 water insoluble fr.이 가장 우수한 전자공여능을 나타내었다.

각 시료의 IC₅₀ 농도를 Table I에 표시하였다. 배양상황버섯의 MeOH ex.의 Water insoluble fr.이 IC₅₀ 11.50 µg/ml로 ascorbic acid 8.50 µg/ml과 유사한 유리기 소거작용을 나타내었으며 Water ex. 보다는 MeOH ex.가 더 우수한 유리기소거활성을 나타내는 것으로 보아 활성은 수용성이 아닌 성분인 것으로 추정된다.

저밀도지단백 산화에 미치는 영향

활성산소와 과산화지질은 죽상동맥경화증(atherosclerosis), 암, 간장질환, 그리고 노화의 주된 원인으로 인식되어져 왔으며 특히 저밀도지단백의 산화적 변형은 죽상동맥경화증의 주된 과정으로 알려져 있다.^{26,27)}

지질 대사과정에서 정상적인 LDL입자는 endothelial border를 통해 이동되며 arterial subendothelial space로 들어간다. 그러나 LDL이 과도하게 존재하거나 어떤 다른 요인에 의해 LDL이 산화적 변형이 되면 혈장plasma에서 순환하기 보다는 subendothelium 안에서 변화하기 쉬운 상태로 전환된다. 이와 같은 LDL의 이상대사는 동맥경화와 깊은 관련이 있으며 특히 죽상동맥경화증으로 인한 심장질환의 발병에 중요한 위험인자로 작용하고 있다.^{28,29)}

이러한 결과들은 산화된 LDL이 죽상동맥경화증의 중요한 유발인자임을 말해주며 합성 또는 천연 항산화제의 LDL 산화 저해제로서의 역할과 그들의 죽상동맥경화증 예방과 치료효과에 대해 지대한 관심을 불러 일으켰으며, 은행잎,³⁰⁾ 차츰,³¹⁾ 황기³²⁾ 등 천연물의 지질과산화 억제 효과에 관한 연구가 활발히 진행되고 있다.

LDL 산화적 변형은 지질과산화물의 증가에 의해 평가될 수 있으며 TBARS assay를 실시하여 지질과산화를 50% 억제하는 데 필요한 시료농도(IC₅₀)를 측정된 결과, 자연산 상황(IC₅₀ 2.49 µg/ml)이 배양상황버섯 자실체(IC₅₀ 4.39 µg/ml)의 활성에 비해 우수하였다. 배양상황버섯 자실체의 MeOH ex.의 활성(IC₅₀ 4.39 µg/ml)이 Water ex. 활성(IC₅₀ 31.62 µg/ml)보다 강하였으며, 배양상황버섯 자실체의 MeOH ex. 분획 중에서는 Water Insoluble fr.(IC₅₀ 3.15 µg/ml)에서 강력한 억제효과를 보였고, Ether fr.(IC₅₀ 6.67 µg/ml)에서도 상당한 억제효과를 보였다. 자연산 상황의 MeOH ex.와 배양상황버섯 자실체의 MeOH ex. 분획 중 Water Insoluble fr.은 양성대조약물로 사용한 ascorbic acid (IC₅₀ 3.71 µg/ml)보다 강한 항산화능을 보였고, 배양상황버섯 자실체의 MeOH ex.와 Ether fr.은 ascorbic acid와 유사한 항산화능을 보였다(Table II). 이는 상황의 열수 추출물인 고분자 다당체가 항암 활성 및 면역증강 효과를 나타내 보이는 것에 비해,^{4,10,12,13)} 배양상황버섯 자실체의 지용성 분획은 과산화지질 억제효과를 나타내었다.

Table II – Effects of *Phellinus linteus* on Cu²⁺-induced LDL lipid peroxidation

Sample	IC ₅₀ (µg/ml)
Ascorbic acid	3.71
CPL MeOH ex.	4.39
Precipitates	36.46
Water Insoluble fr.	3.15
Water fr.	46.88
Ether fr.	6.67
CPL Water ex.	31.62
NPL MeOH ex.	2.49

IC₅₀ : Required sample concentration (µg/ml) for 50% inhibition of Cu²⁺-induced LDL (mg protein) lipid peroxidation, CPL : Cultivated fruit body of *Phellinus linteus*, NPL : Natural fruit body of *Phellinus linteus*.

Electrophoretic mobility에 미치는 영향

LDL에 CuSO₄를 가하여 4시간 동안 산화시킨 후 agarose gel 상에서 mobility를 관찰한 결과 그 mobility가 증가하였다. 그것은 산화에 의해 LDL의 surface negative charge가 증가되었음을 의미하며 이는 LDL 중 apoprotein B의 lysine잔기의 derivatization에 기인한다고 할 수 있다.³³⁾ LDL에 자연산 상황의 MeOH ex와 배양상황버섯 자실체의 Water ex와 MeOH ex 및 MeOH ex의 각 분획을 100 µg/ml씩 가한 후 CuSO₄를 가하여 산화시킨 후 agarose gel electrophoresis를 행하여 mobility를 측정하였으며, 시료를 가하지 않고 산화시킨 LDL의 mobility와 비교한 결과는 다음과 같다(Table III).

배양상황버섯의 MeOH ex보다는 천연상황버섯의 MeOH ex가 약 2배 정도의 항산화능을 나타내었으며 Water ex와 MeOH ex의 상대이동도는 별 차이가 없었다. 그러나 산화 LDL에 대한 상대이동도가 ascorbic acid가 40.6%를 나타내는것에 비하여 배양상황버섯의 Insoluble fr.은 39.4%를 나타내어 강한 항산화작용을 나타내었으며 거의 정상 LDL 수준으로 회복시킴을 알 수 있었다. 같은에서 분리된 flavonoid인 daidzin과 puerarin³⁴⁾도 유의성있는 이동거리억제작용을 나타내어 LDL 산화억제작용을 나타내는 것으로 알려져 있다.

Table III – Effect of *Phellinus linteus* on electrophoretic mobility changes by Cu²⁺-induced LDL oxidation

Sample	Electrophoretic mobility (cm)	REM (%)
LDL	4.77±1.10	0
Ox-LDL	6.90±0.36	100
Ascorbic acid	5.57±0.06**	40.6
CPL MeOH ex.	6.30±0.62	71.9
Precipitates	6.37±0.61	75.0
Insoluble fr.	4.97±0.85*	39.4
Water fr.	6.30±0.75	71.9
Ether fr.	5.67±0.15**	42.2
CPL Water ex.	6.67±0.47	89.1
NPL MeOH ex.	5.50±1.25	34.4

*REM (relative electrophoretic mobility) regared as sample added oxidized LDL migration compared with unoxidized LDL mobility, CPL : Cultivated fruit body of *Phellinus linteus*, NPL : Natural fruit body of *Phellinus linteus*, Each value represents the mean±S.D. (n=3), Significantly different from negative control : * p<0.02, ** p<0.01.

용을 나타내었으며 거의 정상 LDL 수준으로 회복시킴을 알 수 있었다. 같은에서 분리된 flavonoid인 daidzin과 puerarin³⁴⁾도 유의성있는 이동거리억제작용을 나타내어 LDL 산화억제작용을 나타내는 것으로 알려져 있다.

결 론

배양한 상황버섯 자실체의 유리기 소거작용 및 관상동맥경화 등의 유발인자로 알려진 저밀도 지단백산화에 미치는 작용을 측정하였다. 유리기소거작용은 Water Insoluble fr.에서 천연상황 MeOH ex와 유사한 항산화작용을 나타내었다. 각 분획의 TBARS 법에 의한 지질과산화 억제작용은 MeOH ex 및 Water Insoluble fr.과 Ether fr.에서 우수한 효과를 나타내었고, 특히 Water Insoluble fr.(IC₅₀ 3.15 µg/ml)은 양성대조약물로 사용한 ascorbic acid(IC₅₀ 3.71 µg/ml)보다 더 우수한 억제효과를 보였다. 이상의 결과로 배양 상황버섯자실체의 유리기소거작용 및 저밀도 지단백 산화억제작용을 확인하였으며, 이러한 작용은 지용성 분획에 기인하고 있음을 알 수 있다.

감사의 말씀

본 논문은 2003년도 농림기술개발사업의 지원에 의하여 이루어졌으며 이에 감사드립니다.

참고문헌

- 1) 박완희, 이호득 : 한국약용버섯도감, 교학사, 서울 p. 504 (1999).
- 2) Ying, J., Mao, X., Ma, Q., Zong, Y. and Wen, H. : Icones of medicinal fungi from China, Science Press. Beijing. China. 182 (1987).
- 3) Tsuneo, N : The encyclopedia of Wakan-Yaku (II), Hoikuusa, Japan 244 (1995).
- 4) 정경수, 김신숙, 김희수, 한만우, 김병각 : *Phellinus linteus* 균사 배양물로 부터 분리한 단백질단체 Kp의 항암활성. 약학회지 **38**, 158 (1994).
- 5) Lee, J. H., Cho, S. M., Song, K. S., Hong, N. D. and Yoo, I. D. : Characterization of carbohydrate-peptide linkage of acidic heteroglycopeptide with immuno-stimulating activity from mycelium of *Phellinus linteus*. Chem. Pharm. Bull. **44**, 1093 (1996).
- 6) Song, K. S., Cho, S. M., Ko, K. S., Han, M. W. and Yoo, I. D. : Secondary metabolites from the mycelial culture broth of *Phellinus linteus*. Kor J. Agric. Chem. & Biotechnol. **37**, 100 (1994).
- 7) 김창수 : 목질진흙버섯(*Phellinus linteus*)의 성분분석. 충북대학교

- 식사 학위논문 (1997).
- 8) 三橋 博 : 原色牧野和漢藥草大圖鑑, 北隆館 700 (1988).
 - 9) Ikegawa, T., Nakanishi, M., Uehara, N., Chihara, G. and Fukuoka, F. : Antitumor action of some Basidiomycetes, especially *Phellinus linteus*. *Gann* **59**, 155 (1968).
 - 10) Chung, K. S., Kim, S. S., Kim, H. S., Kim, K. Y., Han, M. W. and Kim, K. H. : Effect of Kp, an antitumor protein-polysaccharide from mycelial culture of *Phellinus linteus* on the humoral immune response of tumor-bearing ICR mice to sheep red blood cell. *Arch. Pharm. Res.* **16**, 336 (1993).
 - 11) Oh, G. T., Han, S. B., Kim, H. M., Han, M. W. and Yoo, I. D. : Immuno-stimulating activity of *Phellinus linteus* extracts to B-lymphocyte. *Arch. Pharm. Res.* **15**, 379 (1992).
 - 12) Song, K. S., Cho, S. M., Lee, J. H., Kim, H. M., Han, S. B., Ko, K. S. and Yoo, I. D. : B-lymphocyte-stimulating polysaccharide from mushroom *Phellinus linteus*. *Chem. Pharm. Bull.* **43**, 2105 (1995).
 - 13) Song, C. H., Ra, K. S. Yang, B. K. and Jeon, Y. J. : Immuno-stimulating activity of *Phellinus linteus*. *Kor. J. Mycol.* **26**, 86 (1998).
 - 14) 한용석, 박순영, 최병기, 정세영 : 재배 상황버섯 추출물의 경구 투여 급성 독성 연구. *응용약물학회지* **9**, 46 (2001).
 - 15) Park, Y. J., Yang, K. S., Kim, T. H. and Kim, T. W. : Effect of glucose and nonenzymatic glycation on LDL oxidation. *Kor. J. Lipidology* **5**, 249 (1995).
 - 16) Fukujawa, K. and Takaishi, Y. : Antioxidants. *J. Act. Oxyg. Free Rad.* **1**, 55 (1990).
 - 17) 皆川信子 : 活性酸素が關與する代表的疾患. *フアルマシア* **29**, 1029 (1993)
 - 18) Ginter, E. : A new concept of atherogenesis : the role of oxygen radicals. *Vnitř. Lek.* **38**, 1096 (1992).
 - 19) Aviram, M. : Review of human studies on oxidative damage and antioxidant protection related to cardiovascular diseases. *Free Radic. Res.* **33**, 85 (2000).
 - 20) Inkeda, T. and Fukuzuma, K. : Tocopherol as antioxidants I oxidation of methyl linolate. *J. Japan oil Chem. Soc.* **26**, 343 (1977).
 - 21) Converse, C. A. and Skinner, E. R. : Lipoprotein analysis, A Practical approach, Oxford University, New York, 113 (1992).
 - 22) Lowry, O. H., Rosebrough, N. J., Farr, A. L. and Randall, R. J. : Protein measurement with the folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.* **193**, 265 (1951).
 - 23) Choi, J. H., Park, Y. J., Son, H. S., Yang, K. S. and Kim T. W. : Functional properties of modified low density lipoprotein and degradation of modified LDL by human monocyte macrophages. *J. Kor. Soc. Food Nutr.* **24**, 362 (1995).
 - 24) 정해영 : Free radical에 의한 노화 및 발암기전. *한국노화학회지* **2**, 1 (1992).
 - 25) Halliwell, B. : Drug antioxidant effects, A basis for drug selection. *Drugs* **42**, 569 (1991).
 - 26) Aviram, M. : Review of human studies on oxidative damage and antioxidant protection related to cardiovascular diseases. *Free Radic. Res.* **33**, 85 (2000).
 - 27) Iede, N., Nelson, A. B. and Lau, B. H. : Aged garlic extract and its constituents inhibit Cu^{2+} -induced oxidative modification of low density lipoprotein. *Planta Medica* **63**, 263 (1997).
 - 28) Chen, G. C., Hardman, D. A., Hamilton, R. L., Mendel, C. M., Schilling, J. W., Zhu, S., Lau, K., Wong, J. S. and Kane, J. P. : Distribution of lipid binding regions in human apolipoprotein B-100. *J. Biochem.* **28**, 2477 (1989).
 - 29) Choi, J. H., Son, H. S. and Kim, T. W. : Fatty acid composition and functional properties of low density lipoprotein and oxidized LDL from human plasma. *J. Kor. Soc. Food Nutr.* **23**, 402 (1994).
 - 30) Yan, L. J., Droy-Lefaix, M. T. and Packer, L. : *Ginkgo biloba* extract (EGb 761) protects human low density lipoproteins against oxidative modification mediated by copper. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **212**, 360 (1995).
 - 31) Kim, J. H. and Yang, K. S. : Antilipid peroxidative effect of *Houttuynia cordata* **45**, 494 (2001).
 - 32) Kim, E. J. and Yang, K. S. : Effect of Astragali Radix on low density lipoprotein Oxidation **45**, 529 (2001).
 - 33) Steinbrecher, U. P. : Oxidation of human low density lipoprotein results in derivatization of lysine residues of apolipoprotein B by lipid peroxide decomposition products. *J. Biol. Chem.* **262**, 3603 (1987).
 - 34) 박종옥, 김경순, 지영애, 류병호 : 갈근에서 분리한 daidzin 및 puerarin의 사람 low density lipoprotein에 대한 항산화효과. *한국식품영양과학회지* **26**, 25 (1997).