

지역별 杜仲의 지표성분 및 항산화 활성 비교

유옥철^{1*#}, 최성률¹, 주환수¹, 한창¹, 문혜연², 정화진³, 정찬현³

1 : 자생한방병원 한방신경정신과, 2 : 자생한방병원 한방부인과, 3 : 자생의료재단 척추관절연구소

Comparison of Anti-oxidant Activity and Marker Compounds in Eucommiae Cortex Samples from Regional Groups

Ok Cheol Yu^{1*#}, Sung Ryul Choi¹, Hwan Soo Joo¹, Chang Han¹
Hye Yeon Moon², Hwa Jin Jung³, Chan Hun Jung³

1 : Department of Oriental Neuropsychiatry, Jaseng Korean Medicine Hospital

2 : Department of Oriental Obstetrics and Gynecology, Jaseng Korean Medicine Hospital

3 : Jaseng Spine and Joint Research Institute, Jaseng Medical Foundation

ABSTRACT

Objectives : It is necessary to manage herbal medicines based on effectiveness by comparing the efficacy of herbal medicines by region. In this study, we compared anti-oxidative activity and marker compounds of Eucommiae Cortex by regional groups.

Methods : Eucommiae Cortex grown and harvested in Gangjin, Sancheong, Yeongwol, Jangsu, and Jecheon were used. Eucommiae Cortex was extracted in distilled water at 100°C for 3 hours, and filtered. Extract samples were freeze-dried at -80°C. Comparison of anti-oxidant activity in Eucommiae Cortex samples from regional groups was measured in 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) free radical scavenging, 2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonic acid) (ABTS) free radical scavenging, and ferric reducing antioxidant power (FRAP) between regional groups of Eucommiae Cortex. In addition, high-performance liquid chromatography (HPLC) analysis was conducted to compare pinoresinol diglucoside concentration by regional groups.

Results : HPLC analysis found that pinoresinol diglucoside concentration, widely known as the marker compound of Eucommiae Cortex, was the highest in Gangwon Yeongwol. There was a significant difference in anti-oxidative activity of Eucommiae Cortex between regional groups as discovered in DPPH, ABTS and FRAP assays. DPPH free radical scavenging was the highest in Jeonbuk Jangsu, ABTS free radical scavenging was the highest in Jeonbuk Jangsu and Chungbuk Jecheon, FRAP was the highest in Jeonbuk Jangsu.

Conclusions : Although pinoresinol diglucoside concentration was high, anti-oxidative activity was not proportionately high. Pinoresinol diglucoside concentration was the highest in Gangwon Yeongwol. Anti-oxidative activity was the highest in Jeonbuk Jangsu.

Key words : Eucommiae Cortex, Herbal medicine, Pinoresinol diglucoside, Anti-oxidative

I. 서 론

한약재는 오랜 시간동안 다양한 질병에 사용되었고, 최근 다

양한 측면에서 과학적인 연구가 진행되고 있다.

그러나 기원과 산지에 따라 이들 한약재들의 효능 및 유효성
분은 차이를 보이기 때문에 유효성분을 통한 한약재 기준규격

*#Corresponding and First author : Ok Cheol Yu, Department of Oriental Neuropsychiatry, Jaseng Hospital of Korean Medicine, 536, Gangnam-daero, Gangnam-gu, Seoul, Korea.

· Tel : +82-2-3218-2117 · Fax : +82-2-3445-6644 · E-mail : ryuoc21@naver.com

· Received : 17 September 2018 · Revised : 23 October 2018 · Accepted : 25 November 2018

을 설정함으로써 유효성 확보가 요구된다. 또한 한약재의 한의학적 효능에 대한 과학적 규명 및 객관적 평가가 필요하며, 유효성분을 통한 한약재 기준규격 설정 및 지속적인 관리가 필요한 시점에서 한약재의 산지별 효능비교를 통해 유효성 기반의 한약재 관리가 필요하다¹⁾.

두충(杜仲)은 두충과(Eucommiaceae)에 속하는 낙엽교목인 두충나무(*Eucommia ulmoides* Oliv.)의 樹皮이다. 杜仲은 4~5월에 채취하고 粗皮를 제거한 다음 쌓아 놓아 內皮가 자갈색을 나타낼 때 건조한다²⁾.

杜仲은 대개 板商이고 두께는 3~7cm이다. 바깥 면은 회색 또는 어두운 회색이며 현저한 세포주름과 皮孔이 있고 지의류가 부착되어 있는 것도 있다. 안쪽 면은 평활하고 어두운 갈색을 띤다. 꺾으면 끈기 있는 가는 흰 수지의 실이 생긴다²⁾.

한의학적 관점에서 杜仲은 味가 甘微辛하고 性이 溫하여 肝腎의 二經을 補益하는 要藥으로 補肝腎, 强筋骨, 安胎의 작용을 한다²⁾.

최근의 연구에 따르면 항고혈압³⁾, 혈관기능 개선⁴⁾, 신경계보호⁵⁾, 항염증⁶⁾, 면역력 증가⁷⁾, 뼈 성장 촉진⁸⁾ 및 파골세포분화억제⁹⁾, 근 위축 억제¹⁰⁾ 효능을 갖는다.

특히, hydrogen peroxide에 의한 혈관내피의 산화적 손상에 대하여 杜仲은 혈관독성을 방어하는데 매우 효과적이라는 연구 결과가 있다¹¹⁾.

杜仲은 중국의 四川, 陝西, 湖北, 河南, 貴州, 雲南 등지가 주산지이나²⁾ 국내에서 杜仲의 생산량이 충분하고 약효 또한 우수하여 수입에 의존하지 않는 한약재이다. 두충나무는 국내에서 특정지역을 따지지 않고 모두 잘 자라기 때문에 전국적으로 생산되고 있다. 하지만 지역적으로 토질과 기후에 따라 생산량 및 약효에 차이를 보일 수 있기 때문에 본 연구에서는 杜仲의 대표적인 산지들인 전남 강진, 경남 산청, 강원 영월, 전북 장수, 충북 제천에서의 杜仲을 지역별 지표성분의 차이 및 항산화 생리활성의 차이를 비교하고자 하였다.

II. 재료 및 방법

1. 실험재료

본 실험에서 사용한 杜仲은 그린명품제약(남양주, 한국)에서 자체적으로 감별위원회를 거쳐 검증된 것을 제공받아 사용하였으며 전남 강진, 경남 산청, 강원 영월, 전북 장수, 충북 제천에서 재배하고 수확한 杜仲을 산지별 생산증명서를 통하여 산지를 검증하였다.

2. 기기 및 시약

지표물질의 정량분석 실험에 사용된 HPLC는 Shimadzu Co. (Kyoto, Japan)의 LC-20AD, SIL-20AC, CBM-20A, SPD-20A, CTO-20AC를 사용하였으며, HPLC 용매인 Acetonitrile (ACN)과 증류수는 J.T.Baker Co. (Phillipsburg, USA)의 제품을 사용하였다. 杜仲의 지표물질인 pinosresinol diglucoside의 순도는 98.00% 였으며 Sigma-Aldrich Co.

(Saint Louis, USA)에서 구입하여 사용하였다. 항산화 활성 측정을 위한 folin-Ciocalteu reagent, gallic acid, quercetin, 2,2'-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH), 2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) diammonium salt (ABTS), potassium persulfate, 2,4,6-tripyridyl s triazine (TPTZ), 6-hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchromane-2-carboxylic acid (Trolox), iron (III) chloride hexahydrate (FeCl₃·6H₂O), sodium acetate trihydrate, ascorbic acid는 Sigma-Aldrich (Saint Louis, USA)제품을 사용하였다.

3. 杜仲의 추출

각 지역별 杜仲 200 g을 2 L의 증류수로 열수 추출기(미성 과학기기, 한국)를 사용하여 100℃에서 3시간 동안 추출한 후 pore size 1 μm 필터로 여과하였다. 여과된 용액은 여과 후 감압 농축하여 15 brix로 보정하고 동결건조를 위하여 -80℃의 deep freezer (일신바이오베이스, 한국)로 동결 건조하였으며, 실험에 사용 시까지 냉동보관 하였다.

4. 지표성분 함량분석

杜仲의 지표물질인 pinosresinol diglucoside는 대한약전의 두충정량법에 의거하여 분석하였다. TC-C18 4.6×250 mm, 5 μm (Agilent, USA) 컬럼을 사용하였고, 컬럼 온도는 35℃, 검출기는 UV 230 nm, 이동상으로는 0.1% formic acid의 물 (A) 과 ACN (B)을 사용하여 gradient profile로 최초 5% B로 시작하여 8~15 min까지 20% B, 30~35 min까지 5% B로 하였고 유속은 1 ml/min을 사용하였다.

5. 항산화 활성 측정

1) DPPH assay

각 지역별 杜仲의 동결건조 분말을 1 mg/ml의 농도로 물에 녹인 용액과 0.5 mg/ml DPPH 용액을 동량으로 섞은 후 37℃에서 30 분간 반응 시켰다. ELISA reader를 이용하여 540 nm에서 흡광도를 측정하여 그 정도를 비교하였다. 기준이 되는 대조약은 ascorbic acid를 사용하였으며 50, 10, 5, 1, 0.5 ppm의 농도로 표준곡선을 그린 후 기울기와 절편값에 대입하여 수치화 하였다¹²⁾.

2) ABTS assay

7.4 mM ABTS와 2.6 mM potassium persulfate를 동량 혼합하여 실온인 암소에서 24 시간 동안 방치하여 ABTS 형성시킨 후 750 nm에서 흡광도 값이 1.1 ± 0.02가 되도록 methanol로 희석하여 사용하였다. 희석된 용액 190 μl에 sample 10 μl를 가하여 2시간 동안 암상태에서 방치한 후 750 nm 흡광도를 측정하였다. 결과 값은 시료를 첨가하지 않은 대조군과 비교하여 라디칼의 제거활성 (%)으로 나타냈으며 양성대조군인 표준물질로는 Trolox를 사용하였다¹³⁾.

3) FRAP assay

300 mM acetate buffer (pH3.6)과 40 mM HCl로 용해시킨 10 mM TPTZ 및 20 mM FeCl₃ · 6H₂O용액을 준비한다. 위 3개 용액을 사용 직전에 25 ml acetate buffer, 2.5 ml TPTZ solution, 2.5 ml FeCl₃ · 6H₂O으로 섞고(10 : 1 : 1 비율) 37 °C에서 사용 직전까지 보관한다. FRAP 용액 190 μl에 sample 10 μl을 넣고 30분 동안 암상태에서 방치한 후 570 nm에서 흡광도를 측정한다. 표준물질로는 Trolox을 사용하며 Trolox equivalents (TE)/g로 값을 계산한다(14, 15).

6. 통계분석

모든 실험 결과는 3번 이상 수행하였으며, 통계분석은 각 실험의 평균과 표준편차를 계산하였고, SPSS (Statistical Package for the Social science, Ver. 12.0) program을 이용하여 ANOVA test를 실시한 후, Duncan 다중검정법 (duncan's multiple range test)를 이용하여 각 실험의 유의성을 검증하였다. 분석 시 p값이 0.05보다 작을 때 유의한 것으로 평가하였다.

Ⅲ. 결 과

1. 지표성분 함량분석

각 지역별 杜仲들을 열수로 추출하고 동결건조하여 얻은 분말들의 지표물질의 함유량을 확인하기 위하여 杜仲의 지표성분인 pinoresinol diglucoside를 HPLC로 분석하였다. 각각의 함량은 표준품을 농도별로 분석하여 표준곡선을 그린 후 샘플의 측정값을 표준곡선에 대입하여 함량으로 정량하였다. 표준곡선의 R²값은 1로 매우 정확한 직선을 형성하였다(Fig. 1A).

이때의 기울기와 편차에 대입하여 계산한 결과, 각 지역별 杜仲 물추출물의 pinoresinol diglucoside의 함량은 동결건조 분말 1 g에 강원 영월, 충북 제천, 전북 장수, 경남 산청, 전남 강진에 각각 30.06, 29.14, 26.87, 25.59, 21.31 mg의 함량으로 강원도 영월의 杜仲이 가장 높은 함량을 보였으며, 전남 강진의 杜仲이 가장 낮은 함량을 보였다(Fig. 1B, C).

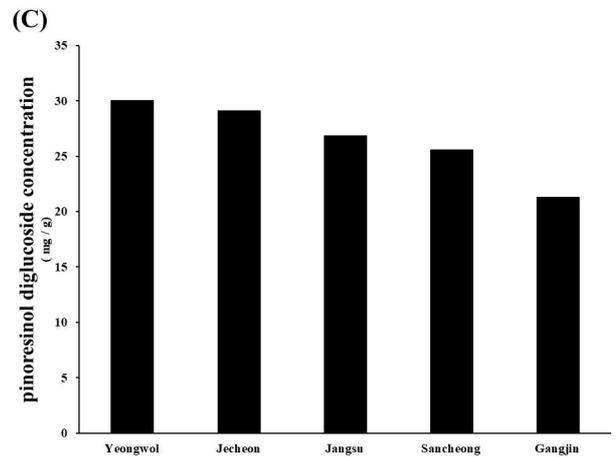
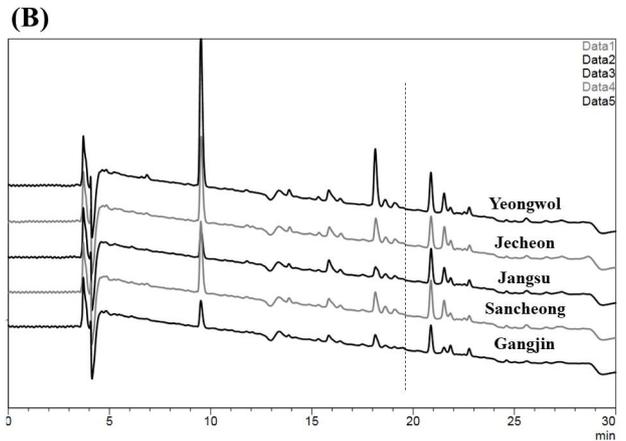
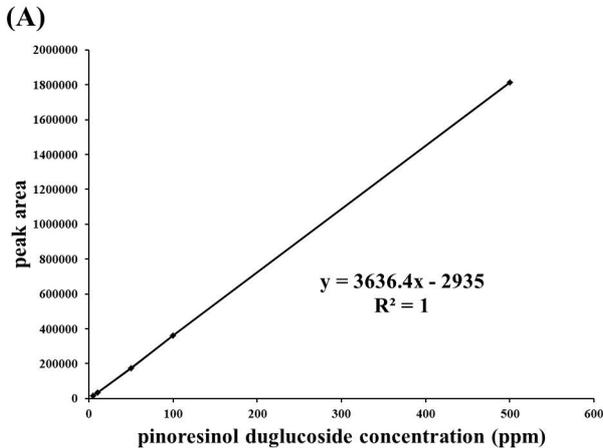


Fig. 1. HPLC analysis of pinoresinol diglucoside concentration in Eucommiae Cortex samples from regional groups. (A) Standard curve of pinoresinol diglucoside. (B) Chromatogram of Eucommiae Cortex samples from regional groups. (C) Pinoresinol diglucoside concentration in Eucommiae Cortex samples from regional groups

2. 항산화 활성 측정

지역별 杜仲을 물로 추출하였을 때 추출물들의 생리활성을 비교하기 위하여 항산화 활성을 측정 비교하였다. DPPH 라디칼, ABTS 라디칼의 소거능을 이용하였으며, Fe³⁺을 Fe²⁺으로 환원시키는 능력을 확인 할 수 있는 FRAP assay를 진행하였다.

1) DPPH assay

DPPH의 라디칼 소거능은 이미 높은 항산화 활성을 보이는 물질로 알려진 ascorbic acid를 기준으로 측정하였다(Fig. 2A). 표준곡선의 R² 값은 1로 직선을 형성하였다. 강원 영월, 충북 제천, 전북 장수, 경남 산청, 전남 강진 별로 각각 ascorbic acid에 등량값으로 표시하였을 때 16.9, 23.0, 25.5, 17.1, 16.5 mg의 수치를 보여 전북 장수의 杜仲이 가장 높은 DPPH 라디칼 소거능이 있다는 것을 확인하였다(p<0.001) (Fig. 2B).

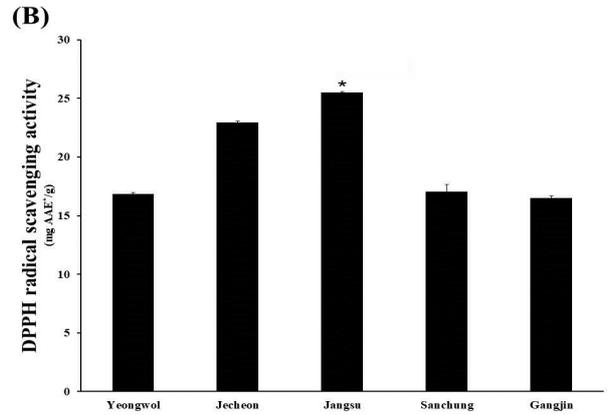
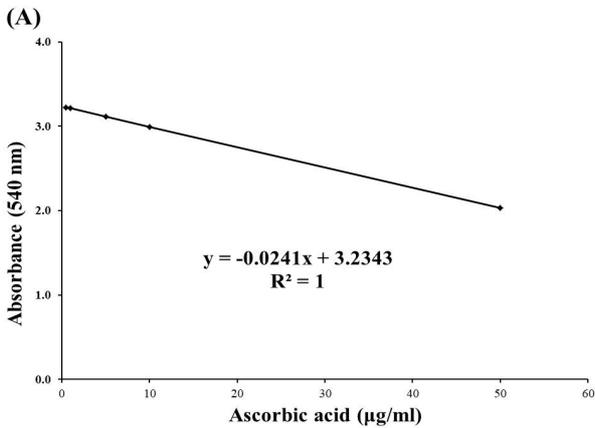


Fig. 2. Comparison of anti-oxidative activity by DPPH free radical scavenging in Eucommiae Cortex samples from regional groups. (A) Standard curve of Ascorbic acid, (B) DPPH free radical scavenging of Eucommiae Cortex water extracts. *p<0.001 indicating statistically significant difference.

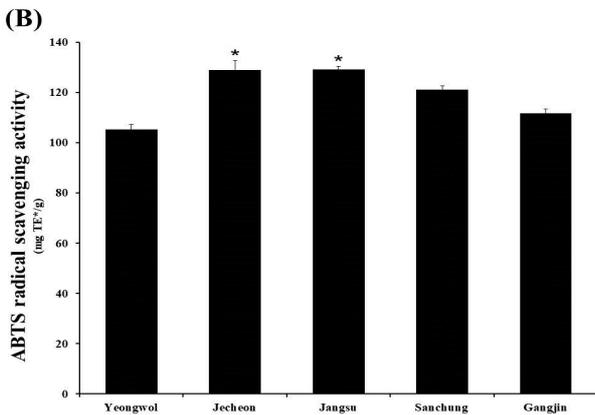


Fig. 3. Comparison of anti-oxidative activity by ABTS free radical scavenging in Eucommiae Cortex samples from regional groups. (A) Standard curve of Trolox, (B) ABTS free radical scavenging of Eucommiae Cortex water extracts. *p<0.001 indicating statistically significant difference.

2) ABTS assay

ABTS의 라디칼 소거능은 Trolox를 기준으로 측정하였다 (Fig. 3A). 표준곡선의 R² 값은 0.9924로 직선을 형성하였다. 강원 영월, 충북 제천, 전북 장수, 경남 산청, 전남 강진 별로 각각 Trolox에 등량값으로 표시하였을 때 105.2, 128.9, 129.1, 121.1, 111.8 mg의 수치를 보여 전북 장수와 충북 제천의 杜仲이 높은 ABTS 라디칼 소거능이 있다는 것이 확인되었다(p<0.001) (Fig. 3B).

3) FRAP assay

Fe 이온의 환원력을 비교한 FRAP는 Trolox를 기준으로 측정하였다(Fig. 4A). 표준곡선의 R² 값은 0.9998로 직선을 형성하였다. 강원 영월, 충북 제천, 전북 장수, 경남 산청, 전남 강진 별로 각각 Trolox에 등량값으로 표시하였을 때 54.0, 67.4, 71.6, 60.6, 55.3 mg의 수치를 보여 전북 장수의 杜仲이 가장 높은 환원력을 보인다는 것이 확인되었다(P<0.001) (Fig. 4B).

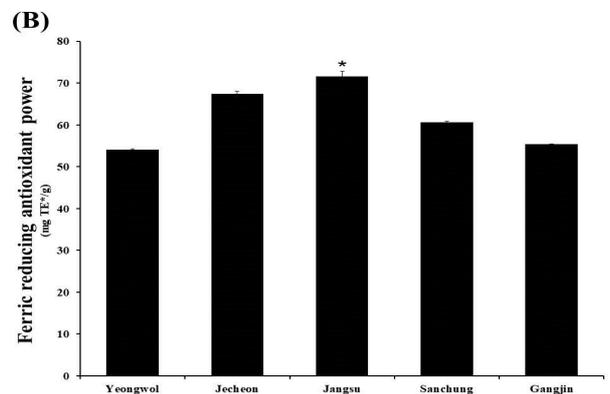
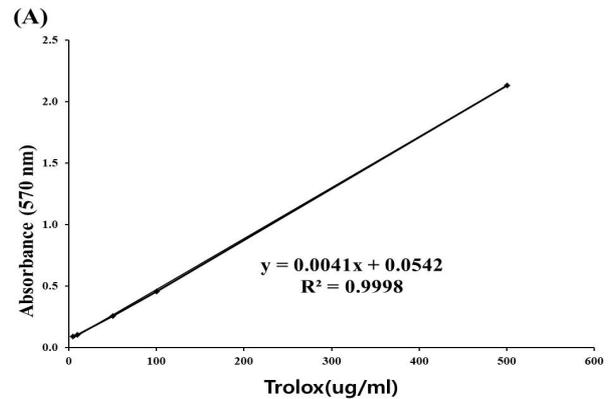
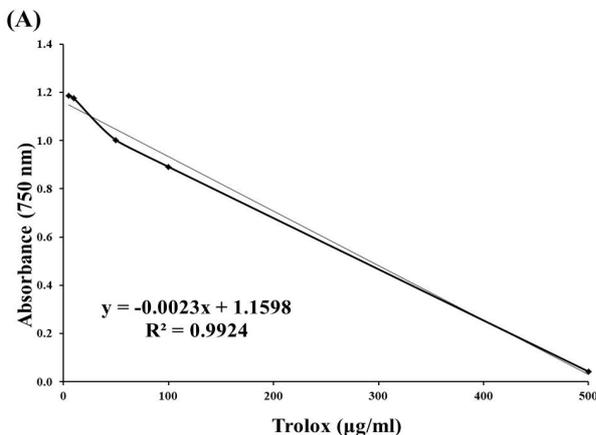


Fig. 4. Comparison of anti-oxidative activity by ferric reducing anti-oxidative activity in Eucommiae Cortex samples from regional groups. (A) Standard curve of Trolox, (B) ferric reducing anti-oxidative activity of Eucommiae Cortex water extracts. *p<0.001 indicating statistically significant difference.

IV. 고 찰

한약은 수천 년에 걸쳐서 사용되어 왔고¹⁶⁾, 의학적 효과를 통해 현재에도 전 세계에서 사용되고 있다¹⁷⁾. 최근에는 효과가 다시금 주목받으면서 수요가 증가하고¹⁾ 이에 따라 한약의 효능 및 안정성과 관련된 연구들이 요구되고 있다¹⁸⁾.

본 연구에서는 지역별 杜仲의 성분을 비교하기 위하여 杜仲의 지표물질인 pinoresinol diglucoside를 비교 분석하고, 생리활성의 모니터링을 위하여 항산화 활성 중 DPPH, ABTS, FRAP를 통하여 라디칼 소거능을 비교하였다.

우리나라의 각 산지에서 생산되는 杜仲은 지표성분과 항산화 활성에서 유의적인 차이를 보였다.

일반적으로 어느 한 성분을 특정 한약재의 지표성분으로 선정할 때는 활성을 보이는 물질인지, 해당 한약재를 대표할 수 있는 성분인지를 확인한다. 杜仲의 경우 수많은 유효물질들을 함유하고 있지만, 이중 pinoresinol diglucoside는 이미 대한약전 10개성에서 지표성분으로 선정되어 있으며 유효물질로서 검증되어 있는 물질이기에 해당물질을 이용하여 지역별 杜仲의 지표성분 정량검사를 진행하였다.

인체 내의 free radical은 지질, 단백질 등과 결합 후 노화를 유발하는 물질이며, 특히 DPPH는 짙은 자색을 띠는 radical을 갖는 물질 중 비교적 안정한 화합물이라고 할 수 있다. DPPH radical 소거활성은 ascorbic acid, butylated hydroxyanisole 등에 의해 환원되어 자색의 탈색 정도를 측정하는 방법이다. 활성 라디칼에 전자를 공여하여 지방질 산화를 억제시키는 지표로 사용되며 또한 인체 내에서 활성 라디칼에 의한 노화를 억제하는 작용의 지표로도 이용되고 있다¹⁹⁻²¹⁾.

항산화 활성실험 중 DPPH는 편리하고 비용이 저렴한 실험법이기에 항산화 물질을 다양한 천연소재로부터 검색하는데 자주 이용된다. ABTS 측정법은 DPPH와 같은 라디칼 소거능에 의한 측정이라는 점에서는 동일하지만, 화학반응을 통해 자유라디칼이 유발된 용액에 시료를 넣어 항산화를 측정한다는 점에서 차이가 있으며 단시간에 측정할 수 있고 소수성과 친수성 모두에 적용이 가능하다^{22, 23)}.

항산화 활성에 관련된 중요한 인자인 환원력은 시료 중에 항산화제와 같은 환원력을 가진 성분이 존재하면 ferric tripyridyltriazine (Fe^{3+}) 복합체를 ferrous tripyridyltriazine (Fe^{2+}) 상태로 환원시키고 이때 나타나는 흡광도를 측정하여 항산화 활성을 평가하는 방법이다. 흡광도 수치가 높을수록 높은 환원력을 의미하며, 라디칼의 소거활성을 측정하는 DPPH, ABTS 실험방법과는 다른 방식의 항산화 측정법이다²⁴⁻²⁶⁾.

본 연구에서 지역별 杜仲의 비교 결과 pinoresinol diglucoside의 함량이 높다고 해서 항산화 활성이 비례적으로 높지는 않았다. 이는 杜仲의 생리활성이 단순하게 pinoresinol diglucoside의 함량 차이만은 아니라는 것을 의미한다. 지금까지 밝혀진 杜仲내의 수많은 생리활성물질의 차이와 각 성분들의 상호보완적인 차이에 의하여 항산화 활성에서 차이가 보이는 것으로 생각된다.

추가적인 생리활성물질들의 탐색 및 비교와 기타 생리활성실험을 통하여 비교하여야 할 것이다.

V. 결 론

본 연구에서는 지역별 杜仲의 성분을 비교하기 위하여 杜仲의 지표물질인 pinoresinol diglucoside를 비교 분석하고, 생리활성의 모니터링을 위하여 항산화 활성 중 DPPH, ABTS, FRAP를 통하여 라디칼 소거능을 비교한 결과, pinoresinol diglucoside의 함량은 강원 영월의 杜仲이 가장 높았으며 항산화는 전북 장수의 杜仲이 가장 높은 활성을 보였다. 하지만 영월의 杜仲이 모든 생리활성물질에서 높은 함량을 가지고 있다고 할 수는 없으며 전북 장수의 杜仲이 모든 효능면에서 가장 높다고 할 수는 없다.

이러한 지역별 杜仲의 지표성분 및 항산화 활성의 비교 결과를 통하여 유효성에 기반한 杜仲의 효과적이고 합리적 활용이 가능할 것으로 생각된다.

References

1. Kim JW, Study on the Isolation and Efficacy of Bioactive Components from Oriental herbal Medicines, Seoul : Korea Food and Drug Administration, 2011 : 188.
2. Textbook Compilation Committee of college of Korean Medicine, Herbology, 2nd rev. ed, Seoul : Younglim-Sa, 2011 : 603.
3. Luo LF, Wu WH, Zhou YJ, Yan J, Yang GP, Ouyang DS, Antihypertensive effect of *Eucommia ulmoides* Oliv. extracts in spontaneously hypertensive rats, J Ethnopharmacol, 2010 : 129(2) : 238-43.
4. Hosoo S, Koyama M, Kato M, Hirata T, Yamaguchi Y, Yamasaki H, Wada A, Wada K, Nishibe S, Nakamura K, The Restorative Effects of *Eucommia ulmoides* Oliver Leaf Extract on Vascular Function in Spontaneously Hypertensive Rats, Molecules, 2015 : 20(12) : 21971-81.
5. Kwon SH, Lee HK, Kim JA, Hong SI, Kim SY, Jo TH, Park YI, Lee CK, Kim YB, Lee SY, Neuroprotective effects of *Eucommia ulmoides* Oliv. Bark on amyloid beta 25-35-induced learning and memory impairments in mice, Neurosci Lett, 2011 : 487(1) : 123-7.
6. Kim MC, Kim DS, Kim SJ, Park J, Kim HL, Kim SY, Ahn KS, Jang HJ, Lee SG, Lee KM, *Eucommia* cortex inhibits TNF- α and IL-6 through the suppression of caspase-1 in lipopolysaccharide-stimulated mouse peritoneal macrophages, Am J Chinese Med, 2012 : 40(01) : 135-49.
7. Kim JY, Cha YY, Effects of *Eucommia Ulmoides* Folium on Antioxidation, Gene Expression and Cytokines of 3T3-L1 Cell Line, J Oriental Rehab Med, 2007 : 17(2) : 85-100.

8. Kim JY, Lee JI, Song MK, Lee DH, Song JB, Kim SY, Park JY, Choi HY, Kim HC. Effects of *Eucommia ulmoides* Extract on Longitudinal Bone Growth Rate in Adolescent Female Rats. *Phytotherapy Research*, 2015 : 29(1) : 148–53.
9. Jung YT, Choi YH, Song JH, Lee CH, Lee MS, Jang SJ, Cho HJ, Kwak HB, Oh JM. Effect of Water Extract of *Eucommiae cortex* In RANKL-induced Osteoclast Differentiation. *Korean Journal of Oriental Physiology & Pathology*, 2009 : 23(3) : 613–8.
10. Cho JH, Kim KS, Cha JD, Lee HS, Choi H, Jung HS, Sohn NW, Sohn YJ. Effect of *Eucommiae Cortex* on Hind Limb Muscle Atrophy of Sciatic Nerve Transected Rats. *Korean Journal of Oriental Physiology & Pathology*, 2008 : 22(6) : 1454–61.
11. Ha DH, Choi YS, Jeong SJ, Lee EM, Kim HS, Lee WB, Lee KC, Jeon BH, Ryu DG, Park ST. Effect of *Eucommiae Cortex* on Hydrogen Peroxide-Induced Vasculotoxicity in Vascular Endothelial Cells in Culture. *Korean Journal of Oriental Physiology & Pathology*, 2001 : 15(4) : 595–8.
12. Chang ST, Wu JH, Wang SY, Kang PL, Yang NS, Shyur LF. Antioxidant activity of extracts from *Acacia confusa* bark and heartwood. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2001 : 49(7) : 3420–4.
13. Arnao M B, Cano A, Acosta M. The hydrophilic and lipophilic contribution to total antioxidant activity. *Food Chemistry*, 2001 : 73(2) : 239–44.
14. Benzie IF, Strain J. The ferric reducing ability of plasma(FRAP) as a measure of “antioxidant power”: the FRAP assay. *Analytical Biochemistry*, 1996 : 239(1) : 70–6.
15. Benzie IF, Strain J. Ferric reducing/antioxidant power assay: direct measure of total antioxidant activity of biological fluids and modified version for simultaneous measurement of total antioxidant power and ascorbic acid concentration. *Methods in Enzymology*, 1999 : 299(1) : 15–27.
16. Shin HK. Study on the Direction of Policies to Manage and Develop Herbs and their Products. *J Korean Oriental Med*, 2000 : 21(2) : 14–24.
17. Shin CH, Noh BU. Research Guidelines for Evaluating the Safety and Efficacy of Herbal Medicines. Seoul : Daihak Seorim, 1997 : 5
18. Kim KH, Lee EK, Go HY, Chang SK, Ju SW, Jang BH, Shin YC, Ko SG. The Awareness and Satisfaction of Herbal Medicine Preparations of Korean Medicine Doctor. *Journal of Society of Preventive Korean Medicine*, 2017 : 21(2) : 15–22.
19. Kwon GJ, Choi DS, Wang MH. Biological Activities of Hot Water Extracts from *Euonymus alatus* Leaf. *Korean Journal of Food Science and Technology*, 2007 : 39(5) : 569–74.
20. Choi JH, Lee SH, Park YH, Lee SG, Jung YT, Lee IS, Park JH, Kim HJ. Antioxidant and Alcohol Degradation Activities of Extracts from *Acer tegmentosum Maxim.* *Korean Society of Food Science and Nutrition*, 2013 : 42(3) : 378–83.
21. Kang KM, No HK, Park CS, Youn KS, Hong JH, Lee SH. Antioxidative Activity of *Kalopanax pictus* Shoot Extracted Using Different Extraction Methods. *Korean Society of Food Science and Nutrition*, 2012 : 41(12) : 1686–92.
22. Lee SO, Lee HJ, Yu MH, Im HG, Lee IS. Total polyphenol contents and antioxidant activities of methanol extracts from vegetables produced in Ullung island. *Korean J. Food Sci. Technol.*, 2005 : 37(2) : 233–40.
23. Ku KM, Kim HS, Kim BS, Kang YH. Antioxidant activities and antioxidant constituents of pepper leaves from various cultivars and correlation between antioxidant activities and antioxidant constituents. *J. Appl. Biol. Chem.*, 2009 : 52(2) : 70–6.
24. Joo SY. Antioxidant Activities of Medicinal Plant Extracts. *Korean Society of Food Science and Nutrition*, 2013 : 42(4) : 512–9.
25. Ha HJ, Lee CB. Anti-oxidative and Anti-inflammatory Activities of Red Cabbage Extract. *Culinary Science and Hospitality Research*, 2014 : 20(2) : 16–26.
26. Lee MY, Yoo MS, Whang YJ, Jin YJ, Hong MH, Pyo YH. Vitamin C, Total Polyphenol, Flavonoid Contents and Antioxidant Capacity of Several Fruit Peels. *Korean Journal of Food Science and Technology*, 2012 : 44(5) : 540–4.