

녹용 물추출액이 흰쥐 혈액중의 급성기 반응 단백질에 미치는 영향

한용남* · 김경옥 · 황금희

서울대학교 천연물과학연구소

Effect of the Water Extract of Pilose Antler of *Cervus nippon* var. *mantchuricus* on Acute-Phase Proteins in Rat Blood

Yong Nam HAN*, Kyeong Ok KIM and Keum Hee HWANG

Natural Products Research Institute, Seoul National University, Seoul 110-460, Korea

(Received February 4, 1994; accepted March 19, 1994)

Abstract—The water extract of pilose antler of *Cervus nippon* var. *mantchuricus* (WEC) was investigated in respect of its effect on ceruloplasmin and α_1 -cysteine protease inhibitor (CPI), which are acute-phase proteins showing increased synthesis following inflammatory stimulus in rat. Ceruloplasmin and CPI were spectrophotometrically determined by the oxidase activity and the inhibitory activity on papain, respectively, and their changes in the concentrations in plasma or serum were examined after oral administration of 0.04% WEC to rats during 7 days following inflammation by subcutaneous injection of turpentine oil or lipopolysaccharide (LPS). WEC suppressed the maximum increases in ceruloplasmin and CPI on the 4th day after injection of turpentine oil, but the suppression in ceruloplasmin was more potent than that in CPI. On inflammation by LPS the suppression of the maximum increase in ceruloplasmin by WEC was found on the 2nd day, but the result was less significant from that obtained by the treatment with turpentine oil. Administration of WEC for at least 4 days was required to suppress the maximum increase in ceruloplasmin due to inflammation by turpentine oil. When WEC was administered to rats after injection of turpentine oil, a high dosage (0.36% of WEC) was requisite for the suppression on the maximum increase in ceruloplasmin.

녹용(*Cervus nippon* Temminck var. *mantchuricus* Swinhoe의 뿔; 생약명, *Cervi parvum cornu*)은 한방에서 신경조절약화, 신체발육부진, 허약체질 등에 사용되는 강장제로 분류된다(중약대사전). 녹용의 약리 작용에 관해서는 강심작용, 강장작용, 창상치유작용(중약대사전), 진통작용, 항피로작용, 진정작용(Shin 등, 1989) 등이 보고되어 있으나 유효성분 내지는 특이성분이 규명되어 있지 않다. 녹용의 성분으로는 collagen(Kim 등, 1973, 1975), acid mucopolysaccharide(Kim 등, 1976a)와 같은 고분자물질과 중성지질(Kim 등, 1977b), 당지질 인지질, ganglioside, proteolipid(Kim 등, 1977)과 같은 지질성분이 알려졌으며 estrone, estradiol과 같은 여성홀몬(중

약대사전), 7-keto cholesterol, 7 α -hydroxycholesterol, 7 β -hydroxycholesterol, p-hydroxybenzaldehyde, nicotinic acid 등과 creatinine, urea, uracil, uridine, hypoxanthine과 같은 핵산 대사물이(Hattori 등, 1989) 보고되었으나, 이와 같은 성분들은 동물조직에서 흔히 존재하는 것으로서 녹용의 특이성분이라 부르기 어렵다. Monoamine oxidase B의 저해제로 알려진 hypoxanthine(Hattori 등, 1989)은 녹용보다 명태(황태)에 더 많이 함유되어 있음이 최근에 보고되었다(Han 등, 1994).

녹용의 유효성분을 분리하기 위해서는 재현성이 높고 간편하게 이용할 수 있는 생물활성 검색법의 수립이 우선되어야 한다. 녹용의 알려진 약리작용 중에서 녹용을 상용량으로 투여하여 나타나는 작용은 강장작용과 창상치유작용이므로 이러한 작용이 진정한 녹용의 효능으로

* To whom correspondence should be addressed.

간주될 수 있으나 이러한 작용들을 생물활성 검색법으로 활용하기에는 재현성과 간편성이 있다는 면에서 어려운 점이 있다. 녹용의 강장작용과 창상치유작용이 생체의 질소평형(nitrogen balance)이 음의 방향으로 진행되었을 때 이를 정상수준으로 복귀시키는 생물활성에 기인할 것이라는 가정하에서 실험적으로 생체내 질소평형을 음의 방향으로 전환시킬 수 있는 급성기 반응(acute-phase response) (Kushner, 1988)을 이용하여 질소평형의 변화를 초래시킨 다음 이러한 변화를 녹용이 정상적으로 회복시킬 수 있는 생물활성이 있는지 연구하였다.

급성기 반응은 염증유발물질, 화상, 골절, 수술 등에 의해 유도되어 음의 질소평형을 야기시킨다. 그 중에서도 간에서 생합성되는 혈장단백질은 혈중 농도가 극적으로 변화하므로 급성기 반응물질(acute-phase reactants, APR)이라 부른다. 혈장 중에서 농도가 감소하는 것으로는 albumin, apolipoprotein A-I, inter α -trypsin inhibitor, α_2 -HS-glycoprotein, transferrin 등이 있으며 이들을 negative APR이라 부르며, positive APR로는 C-reactive protein, serum amyloid A, α_1 -acid glycoprotein, α_1 -antitrypsin, haptoglobin, fibrinogen, ceruloplasmin 등이 알려져 있다. 본 연구에서는 흰쥐의 급성기 반응 단백질 중에서 positive APR인 ceruloplasmin, α_1 -cysteine protease inhibitor(=T-kininogen)가 비색 정량법으로 간편하게 측정될 수 있음에 착안하여 이 단백질을 지표로 삼아 녹용 물추출액의 영향을 연구하였으므로 그 결과를 보고하고자 한다.

실험방법

실험재료 및 시약

중국산 녹용을 시중에서 구입하여 피부털을 제거한 다음 대패로 박편을 만들고 이를 분쇄하여 분말로 만든 후 실험재료로 사용하였다. Turpentine oil(송진을 증류하여 얻은 기름)은 시중에서 구입하였고, bromocresol green(BCG), p -phenylenediamine, o -dianisidine, 총 globulin 측정용 시약(Kit No. 560), bovine serum albumin, papain(suspension), benzoyl-D,L-arginine-4-nitroanilide HCl, lipopolysaccharide(LPS, *E. coli*: 0127: B8)는 모두 Sigma Chem. Co. (St. Louis, USA)로부터 구입하여 사용하였다.

녹용 물추출액의 조제 및 투여

녹용분말 0.4 g에 증류수 1L를 가하여 70~80°C 수육상에서 때때로 흔들어 주면서 6시간 가열한 다음 실온으로 식히고 여과한 다음 여액을 0.04%의 녹용 물추출액(WEC)으로 사용하였다. 동일한 방법으로 0.12% 및 0.36%의 WEC를 조제하였다. Sprague-Dawley계 흰쥐 5~8마리를 1군으로 하고 WEC를 급수대신에 자유롭게 마시도록 하였다. 흰쥐가 하루에 마시는 WEC의 양은 흰쥐 체중 1kg당 175±25 ml 이었다.

염증유도

Turpentine oil은 흰쥐 체중 100 g 당 0.1 ml를, LPS는 1 mg/ml saline에 녹인 용액 0.1 ml(0.1 mg LPS)를 각각 흰쥐의 등에 피하주사 하였다. 이때 3부위에 나누어 주사하였다.

Albumin(A) 및 globulin(G)의 정량

혈장은 3.8% sodium citrate 1 vol.을 플라스틱 주사기에 미리 넣고 흰쥐의 심장으로부터 채혈하여 10 vol.으로 한 후 플라스틱 시험관에 옮긴 후 3,000 rpm에서 원심분리한 다음 상등액을 사용하였다. Albumin(A)의 농도는 BCG법에 의해, total globulin(G)는 Sigma사의 Kit를 사용하여 측정하였다.

Ceruloplasmin의 정량

Ceruloplasmin이 갖는 oxidase활성에 의해 정량하였고 기질로서는 p -phenylenediamine 또는 o -dianisidine을 사용하였다(Arnand, 1988).

α_1 -Cysteine protease inhibitor(CPI)의 정량

CPI의 역기는 papain에 대한 저해작용으로 평가하였다 (Greenbaum과 Okamoto, 1988). Papain의 효소활성은 benzoyl-D,L-arginine-4-nitroanilide를 기질로 하여 amidase activity로 보았다(Arnon, 1970).

억제율의 계산

Turpentine oil로 피하주사한 후 zero 일을 기준으로 하여 2일에 증가된 단백질의 농도가 녹용추출물(WEC)에 의해 4일째에 단백질의 농도가 감소하였을 때 억제율을 계산하였다.

통계처리

Student's t-test를 이용하여 통계처리하였고, 각 데이터는 평균 ± 표준편차로 나타내었다.

실험결과 및 고찰

염증유발물질이 급성기 반응 단백질의 혈중 농도에 미치는 영향

급성기 반응물질(APR) 중에서 혈장중의 농도가 가장 높은 albumin(A)은 negative APR에 속하지만 globulin (G)은 negative APR에 속하는 것과 positive APR에 속하는 것이 있다. 염증유발 전후에 G와 A의 농도 또는 G대 A의 비율(G/A)에 있어서 현저한 변화가 발견된다면 이를 생물활성 검색법으로 활용하고자 하였다. Table I에는 turpentine oil로 급성 염증을 유발시킨 후 G 및 A의 농도, G/A비율을 측정한 것이다. 염증유발 후 1일부터 G의 농도는 증가하기 시작하여 2일에 최고치에 도달하고($p<0.001$), 3일부터 감소하기 시작하여 4일에 정상치로 돌아왔으며 A의 농도는 염증유발 후 1, 2일에 현저히 감소하여($p<0.001$) 최저치를 나타내고 3일부터 증가하여 4일에는 정상치에 가까워졌다. 혈장 단백질의 농도(G+A)는 염증유발 후 1일에 최저치를 나타낸 다음 ($P<0.001$), 2일부터 증가하기 시작하여 4일에는 거의

Table I. Changes in the concentrations of globulin (G) and albumin (A) in rat plasma following inflammation by turpentine oil

Day after inflammation ^a	G (g/dl)	A (g/dl)	G+A (g/dl)	G/A
0	3.17±0.05 ^b	3.15±0.11	6.32±0.12	1.01
1	3.24±0.10	2.46±0.09*	5.70±0.18*	1.32
2	3.42±0.07*	2.46±0.05*	5.88±0.08*	1.39
3	3.26±0.12	2.67±0.07*	5.93±0.16**	1.22
4	3.14±0.13	3.05±0.11	6.19±0.19	1.03

^aRats (300~340 g) were given 0.1 ml of turpentine oil per 100 g body weight subcutaneously (N=6).

^bEach value represents the mean± S.D. Significantly different from the control group; *p<0.001, **p<0.005.

Table II. Changes in the concentration of ceruloplasmin and α_1 -cysteine protease inhibitor (CPI) following inflammation by turpentine oil

Day after inflammation ^a	Ceruloplasmin ^b (mg/dl) N=8	CPI ^c (U/dl) N=6
0	19.4±1.9 ^d	20.3±12.0
1	31.1±4.7 (60)*	ND
2	41.4±1.8 (113)*	189.0±23.9 (831)*
3	41.4±3.1 (113)*	ND
4	41.6±4.2 (116)*	130.6±3.46 (543)*+e
5	31.5±2.9 (62)*	ND

^aRats (240~320 g) were given 0.1 ml of turpentine oil per 100 g body weight subcutaneously.

^bDetermined its oxidase activity in serum using ρ -phenylenediamine as a substrate.

^cDetermined its inhibitory activity in plasma on papain, which was measured using benzoyl-D,L-arginine-4-nitroanilide as a substrate.

^dEach value represents the mean± S.D. The values in parenthesis are the increase percent for the control group. Significantly different from the control group, *p<0.001.

^eSignificantly different from the 2nd day's value, 'p<0.02.

정상치에 가까워졌으며, G/A는 염증유발 후 2일에 최고치를 나타내었다. 이 결과를 요약하면 turpentine oil로 염증을 유발시킨 후 2일에 G는 극대로 증가하고 A는 극소로 감소하여 G/A가 최대치인 1.39에 도달하였으나 G/A의 대조군의 값이 1.01에 비해 그다지 큰 차이가 아니므로 G/A를 척도로 하는 생물활성 검색법은 활용하기 어렵다고 판단하였다. 왜냐하면 염증유발 후 G의 농도증가가 현저하지 못하였기 때문이다.

흰쥐의 positive APR에 속하는 ceruloplasmin과 α_1 -cysteine protease inhibitor(CPI)의 혈중농도를 turpentine oil로 염증을 유발시킨 전후에 측정하여 Table II에 나타내었다. Ceruloplasmin의 혈중 농도는 염증유발 후 1일에 60%의 증가를 보이기 시작하여 2, 3, 4일에 각각 113, 113, 116% 증가하여 일정한 수준에 도달하고 5일

Table III. Changes in the concentration of ceruloplasmin in rat plasma following inflammation by lipopolysaccharide

Day after inflammation ^a	Ceruloplasmin ^b (U/dl)	Increase ^c (%)
0	14.2±1.4	—
2	28.6±3.9	101*
4	19.0±2.0	34**
6	15.6±2.2	10

^aRats (210~230 g) were given 0.1 mg of lipopolysaccharide per 100 g body weight subcutaneously (N=6).

^bDetermined its oxidase activity using *o*-dianisidine as the substrate.

^cIncrease (%) for the value in the zero day's group; significantly different from the group, *p<0.001, **p<0.005.

째로부터 감소하였다. CPI는 turpentine oil에 의한 염증유발 후 2일에 831%의 높은 증가를 나타내었고 4일에 543%의 증가에 그쳐 4일째부터 감소하기 시작하였다. 이 두 가지 APR은 모두 turpentine oil에 의한 염증유발 후 2일에 증가하고 4일까지 ceruloplasmin은 그대로 지속되다가 5일부터 감소하는데 반하여 CPI는 4일째부터 감소하기 시작하였다. Ishibashi 등(1988)은 흰쥐에 turpentine oil로 염증을 유발시킨 다음 α_2 -macroglobulin 혈중 농도의 변화를 면역분석법으로 측정하였는데 2일과 4일사이에 최고치를 나타내다가 5일째에 감소하는 결과를 보고하였으며 그 결과는 본 연구에서 ceruloplasmin에서 얻은 profile과 매우 흡사하였다(저자들도 α_2 -macroglobulin을 비색정량법으로 측정하여 보았으나 이 방법의 감도가 매우 낮아 이 단백질의 농도 변화를 관찰할 수 없었다.).

Ceruloplasmin의 혈중 농도변화 profile이 다른 염증유발물질에 의해서도 얻어지는가를 알기 위해 lipopolysaccharide(LPS)를 사용하여 보았다. Table III에 나타낸 바와 같이 LPS로 염증을 유발 시킨 후 2일에 ceruloplasmin은 101% 증가하였으나 4일에는 34%의 증가에 그치고 6일에는 거의 정상치에 도달하였다. 이와 같은 결과로부터 APR은 염증유발물질의 종류에 따라 농도변화 profile이 다르게 나타남을 알 수 있었고, 또한 2일 또는 2~4일 사이에 APR의 증가는 모두 통계적으로 유의성이 높았기 때문에 다음과 같이 녹용의 효과를 측정하여 보았다.

녹용 물추출액이 급성기 반응 단백질에 미치는 영향

녹용은 한방에서 물에 단시간 끓여서 복용케 하므로 본 연구에서도 녹용을 물로 추출하였고 추출온도는 70~80°C로 낮추고 추출시간을 6시간으로 하였다. 녹용의 상용량이 0.3 g에서 0.9 g 사이 이므로, 흰쥐에 대한 1일 투여량을 약 0.1 g으로 정하고 흰쥐의 1일 물 섭취량이 1 kg당 150~200 ml임을 감안하여 0.04% 녹용 추출액(WEC)을 조제한 다음 7일간 자유롭게 마시도록 한 흰쥐에 turpentine oil과 LPS로 염증을 유발시킨 후 APR를

Table IV. Effect of administration of the water extract of cervi parvum cornu (WEC) before inflammation by turpentine oil on changes in the concentrations of ceruloplasmin and CPI

Day after inflammation ^a	Ceruloplasmin (mg/dl) ^b		CPI (U/dl)	
	control	WEC ^a	control	WEC ^a
0	24.6± 2.1 ^c	24.9± 1.3	25.2± 14.9	24.7± 9.7
2	50.4± 2.3 (105%)	52.5± 2.2 (111%)	225.9± 6.5 (796%)	227.7± 8.4 (822 %)
4	49.9± 1.3 (103%)	37.5± 4.2* (51%)	194.5± 12.8*** (672%)	171.8± 31.5** (596%)

^aWEC (0.04%) was prepared by extracting the powder of cervi parvum cornu (400 mg) with water (1 L) at 70~80°C for 6 hr. Rats (240~340 g) were given 0.1 ml of turpentine oil per 100 g body weight subcutaneously (N=5), after WEC was freely provided to rats for 7 days.

^bp-Phenylenediamine was used as the substrate.

^cEach value represents the mean± S.D. Significantly different from the 2nd day's groups; *p<0.001, **p<0.01, ***p<0.05. The values in parenthesis are the increase per cent for each zero time's group.

측정하여 각각 Table IV와 V에 나타내었다.

Turpentine oil로 염증을 유발한 실험에서(Table IV) ceruloplasmin의 농도는 물을 공급한 대조군에서 염증 유발 후 2일, 4일에 각각 105, 103%의 증가를 보여 Table II에서의 결과와 같은 양상으로 2일째와 4일째 실험군 사이에 농도변화가 거의 없지만 WEC투여군에서는 염증유발 후 2일과 4일에 각각 111%, 51% 증가하여 2일과 4일의 실험군 사이에서 ceruloplasmin 농도변화율이 54.3%에 달하였다(p<0.001). 이 결과는 WEC가 염증유발 후 4일째에 ceruloplasmin의 증가를 억제함을 보여주며 그 억제율이 54.3%임을 뜻한다. 한편 CPI의 농도는 대조군에서 염증유발 후 2일, 4일에 각각 796%, 672% 증가 하여 2일과 4일의 실험군 사이에서 CPI 농도 변화율이 15.6%였고(p<0.05), WEC투여군에서는 염증유발 후 2일, 4일에 각각 822%, 596% 증가하여 2일과 4일의 실험군 사이에서 CPI의 농도변화율이 27.5%이므로(p<0.01) 녹용에 의한 CPI 억제율은 11.9%(27.5~15.6)에 지나지 않았다.

이 결과는 turpentine oil로 염증을 유발시킬 때 CPI를 지표로 할 때 보다 ceruloplasmin을 지표로 할 때 WEC의 효과가 더 잘 나타남을 뜻한다. 이와 같은 ceruloplasmin을 지표로 한 녹용의 급성기 반응 억제작용이 LPS로 염증을 유발시킬 때에도 나타나는가를 실험하여 그 결과를 Table V에 정리하였다. LPS로 염증을 유발시킨 후 2일, 4일에 대조군의 ceruloplasmin 농도는 각각 103%, 27% 증가하고 WEC투여군의 것은 각각 53%, 14% 증가하였으므로 WEC의 효과가 염증유발 후 2일에 현저히 나타났고(p<0.05), 이 때의 억제율은 2일째의 대조군에 대해 48.0%였다. 이상의 결과로부터 ceruloplasmin을 지표로 하였을 때 WEC가 turpentine oil에 의한 급성기 반응은 LPS 경우보다 더 억제하였고 또한 통계적으로 유의성이 매우 높았음을 알게되었다. 지금까지의 실험에서는 녹용의 투여기간을 7일로 고정한 것이므로 다음 실험에서는 녹용의 투여기간을 변화시켜 보았다.

Table V. Effect of the administration of the water extract of cervi parvum cornu (WEC) before inflammation by lipopolysaccharide on changes in the ceruloplasmin concentration in rat plasma

Day after inflammation ^a	Ceruloplasmin (U/dl) ^b		p value ^c (C/W)
	control	WEC	
0	13.6± 1.9	14.4± 2.9	—
2	27.6± 4.0 (103%)	22.1± 4.4 (53%)	<0.05
4	17.3± 2.8 (27%)	16.4± 3.3 (14%)	—
6	15.4± 2.0 (13%)	13.4± 0.9 (-7%)	—

^aRats (240~280 g) were given 0.1 mg of lipopolysaccharide per 100 g body weight subcutaneously (N=8), after WEC (0.04%) was freely provided to rats for 7 days.

^bo-Dianisidine was used as the substrate.

^cp value between control and WEC groups.

녹용 물추출액의 투여기간이 셀룰로플라스민에 미치는 영향

흰쥐에 WEC를 1, 2, 4, 7일간 각각 투여한 다음 turpentine oil로 염증을 유발시킨 후 2일과 4일에 혈장내 ceruloplasmin의 농도를 측정하여 WEC의 억제율을 측정해 본 결과를 Table VI에 나타내었다. WEC의 투여기간 1, 2, 4, 7일 일때 억제율이 각각 7.0, 22.6, 37.2, 53.3%로서 투여기간에 따라 억제율이 비례관계로 나타났으나 통계적으로 유의성이 있는것은 4일과 7일 뿐이었다. 이 결과로부터 WEC를 적어도 4일간 이상 투여하여야만 WEC의 효과가 나타남을 알게 되었다. 지금까지의 실험에서는 turpentine oil로 염증을 유발하기 이전에 WEC를 투여하였으며 이 때의 WEC농도는 0.04%로 고정하였다. 다음의 실험에서는 turpentine oil을 주사한 후부터 WEC를 투여하고 WEC의 농도를 0.04%, 0.12%, 0.36%로 변화시켰다. WEC의 투여기간은 4일로 고정하였다.

Table VI. Effect of duration of WEC administration before inflammation by turpentine oil on changes in the ceruloplasmin concentration in rat plasma

Duration ^a (day)	Day after inflammation ^a	Ceruloplasmin (U/dl) ^b
0	0	21.7± 1.5
	2	36.4± 1.7
	4	36.2± 2.6
1	0	21.0± 2.4
	2	36.7± 2.7
	4	35.6± 3.1 (7.0%) ^c
2	0	20.2± 1.7
	2	36.4± 1.3
	4	32.9± 2.0 (22.6%)
4	0	20.7± 2.6
	2	36.3± 3.3
	4	30.5± 2.5** (37.2%)
7	0	21.4± 1.9
	2	37.5± 2.2
	4	28.9± 1.6* (53.3%)

^aRats (280~320 g) were given 0.1 ml of turpentine oil per 100 g body weight subcutaneously (N=5), after WEC (0.04%) was freely provided to rats during 1, 2, 4 and 7 days.

^bo-Dianisidine was used as the substrate.

^cInhibition per cent. Significantly different from the 2nd day's group; *p<0.001, **p<0.05.

Table VII. Effect of the WEC administration after inflammation by turpentine oil on changes in the ceruloplasmin concentration in rat plasma

Administration of WEC	Injection of turpentine oil ^a	Ceruloplasmin (U/dl) ^b	Inhibition (%)
0 (Blank)	Non	20.5± 2.4	
0 (Control)	Did	36.8± 1.5	
0.04% (WEC)	Did	34.6± 3.6	14 ^c
0.12% (WEC)	Did	32.1± 2.7	29**
0.36% (WEC)	Did	30.3± 2.4	40*

^aRats (240~320 g) were given 0.1 ml of turpentine oil per 100 g body weight subcutaneously (N=6), and then various contractions of WEC were freely provided to rats for 4 days.

^bo-Dianisidine was used as the substrate.

^cSignificantly different from the control group; *p<0.005, **p<0.01.

염증유발 후 녹용 물추출액 투여가 셀룰로플라스민에 미치는 영향

Table VI에 나타낸 바와 같아 turpentine oil을 주사한 후 WEC를 4일간 투여하고 ceruloplasmin을 측정하여

이 단백질의 증가 억제율을 계산하였을 때 WEC의 농도가 0.04, 0.12, 0.34% 일때의 억제율은 각각 14, 29, 40%로 나타나 농도-활성 상관성이 있어 보였다. 그러나 WEC를 염증유발 전에 투여한 결과 보다는(Table V) WEC의 cerulo-plasmin 억제효과가 낮았다.

이상의 연구결과를 요약하면 염증유발물질로서는 LPS보다는 turpentine oil을 사용할 때, 급성기 반응 단백질 중에서는 cerulo-plasmin을 지표로 할 때, ceruloplasmin을 염증유발 전에 투여하는 실험조건하에서 WEC의 급성기 반응 억제작용이 잘 나타났다.

감사의 말씀

본 연구는 보건사회부에서 제공한 연구용액비로 수행되었으며 이에 감사드립니다.

참고문헌

- Arnaud, P., Gianazza, E. and Miribel, L. (1988). Ceruloplasmin. *Methods Enzym.* **163**, 441-452.
- Arnon, R. (1970). Papain. *Methods Enzym.* **19**, 226-244.
- Greenbaum, L. M. and Okamoto, H. (1988). T-kinin and T-kininogen. *Methods Enzym.* **163**, 272-281.
- Han, Y. N., Kim, K. O. and Hwang, K. H. (1994). Contents of nucleic acid metabolites in pilose antler of *Cervus nippon* var. *mantchuricus* and frozen and dried meat of *Theragra chalcogramma*. *Kor. J. Pharmacogn.* **25**, in press.
- Hattori, M., Yang, X. W., Kaneko, S., Nomura, Y. and Namba, T. (1989). Constituents of the pilose antler of *Cervus nippon* var. *mantchuricus*. *Shoyakugaku Zasshi* **43**, 173-176.
- Ishibashi, H., Hayashida, K. and Okubo, H. (1988). α_2 -Macroglobulin. *Methods Enzym.* **163**, 485-494.
- Kim, Y. E., Lee, S. K. and Yoon, U. C. (1973). Studies on the components and biological function of animal hard tissues. A study of a scleroprotein extracted from deerhorn. *Korean Biochem. J.* **6**, 13-26.
- Kim, Y. E., Lee, S. K., Yoon, U. C. and Kim, J. S. (1975). Biochemical studies on antler (*Cervus nippon taiouanus*) (I). A comparative study on chemical components of antler, old antler, shark backbone cartilage and whale nasal cartilage. *Korean Biochem. J.* **8**, 89-107.
- Kim, Y. E., Lee, S. K. and Yoo, H. J. (1976a). Biochemical studies on antler (*Cervus nippon taiouanus*) (II). A study on acid mucopolysaccharide of antler. *Korean Biochem. J.* **9**, 153-164.
- Kim, Y. E., Lee, S. K., Lee, M. H. and Shin, S. U. (1976b). Biochemical studies on antler (*Cervus nippon taiouanus*) (III). A study of free and ester fatty acids of antler velvet layer and pantocrin. *Korean Biochem. J.* **9**, 215-236.
- Kim, Y. E., Lee, S. K. and Lee, M. H. (1977a). Biochemical studies on antler (*Cervus nippon taiouanus*) (IV). Detection of prostaglandins of antler velvet layer. *Korean Biochem. J.* **10**, 1-12.
- Kim, Y. E., Lee, D. K. and Sin, S. U. (1977b). Biochemical stu-

- dies on antler (*Cervus nippon taiouanus*) (V). A study of glycolipids and phospholipids of antler velvet layer and pantocrin. *Korean Biochem. J.* **10**, 153-164.
- Kushner, I. (1988). The acute-phase response: an overview. *Methods Enzym.* **163**, 373-383.
- Shin, K. H., Lee, E. B., Kim, J. H., Chung, M. S. and Cho, S. I. (1989). Pharmacological studies on powdered whole part of unossified antler. *Kor. J. Pharmacogn.* **20**, 180-187.
- 중약대사전, Dictionary of Chinese Materia Medica. (1977). Jiangsu New Medical College (ed.). pp. 2232-2235. Shanghai Scientific and Technological Pub.