

## 조구등(釣鉤藤) 성분의 항경련효과 III. Ursolic Acid와 Hyperin이 *In Vitro* 뇌 신경전달 관련물질에 미치는 효과

김동영, 최종원\*, 박종철<sup>1</sup>, 이정규  
경성대학교 약학대학, <sup>1</sup>순천대학교 한약자원학과

## Anticonvulsant Effect of Uncariae Ramulus et Uncus. III. Effects of Ursolic Acid and Hyperin on Neurotransmitters related Components in Brain Tissue *In Vitro*

Dong Young Kim, Jong Won Choi, Jong Cheol Park<sup>1</sup> and Chung Kyu Lee  
*College of Pharmacy, Kyungshung University, Pusan 608-736, Korea and*  
*<sup>1</sup>Department of Oriental Medicine Resources, Suncheon National University,*  
*Suncheon 540-742, Korea*

**Abstract** - The ethyl acetate fraction of Uncariae Ramulus et Uncus, which showed anticonvulsant effects against pentylenetetrazole (PTZ) treated mice, were subjected to column chromatography to isolate ursolic acid and hyperin from active eluate. Hyperin decreased the elevated activities of GABA-T and xanthine oxidase and lipid peroxide level dose-dependently in PTZ treated mice brain tissue *in vitro*, but no effect on superoxide dismutase activity. The effects on such enzyme and component seemed to be related with biosynthesis or metabolism of neurotransmitters.

**Key words** - Uncariae Ramulus et Uncus; hyperin; ursolic acid; anticonvulsant; neurotransmitter metabolism.

한방 및 민간에서 전간의 치료 목적으로 널리 사용되고 있는 조구등(Uncaria Ramulus et Uncus)의 효과를 관찰하여 전기충격, 스트리크닌 및 펜틸렌테트라졸(PTZ)에 의한 전간발작 및 사망률에 미치는 영향<sup>1)</sup>과 MeOH ex. 추출물과 이로부터 얻은 분획을 대상으로 뇌조직 중의 아미노산의 함량과 이들 아미노산의 생합성과 대사에 관여하는 효소활성의 변동 및 경련시 야기되는 뇌중 활성산소의 생성 및 제거에 미치는 효과<sup>2)</sup>를 비교 관찰하여 보고한 바 있다. 본 연구에서는 조구등이 전간발작 현상 및 뇌신

경 전달물질에 미치는 효과의 기전과 유효성분을 확인하고자 에틸 아세테이트 분획으로부터 ursolic acid와 hyperin을 분리하고 이들을 대상으로 PTZ 경련이 유발된 실험동물로부터 뇌조직을 취하여 조구등 성분이 신경전달 관련 물질의 동태에 미치는 영향을 *in vitro* 실험을 통하여 검토하였다.

### 재료 및 방법

**식물재료 및 분획** - 전보<sup>1,2)</sup>에서 보고한 바와 같이 시중 건재상에서 구입, 확인한 중국산 조구등(*U. rynchophylla*) 4.8 kg로 부터 메탄올 총추출물

\*교신저자 : Fax 051-628-6540

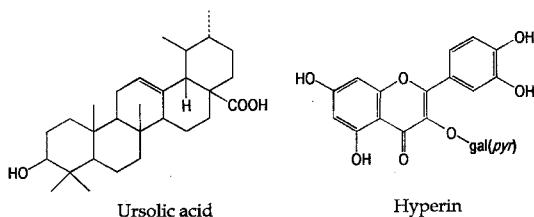
(MeOH ex.)을 얻고 이것을 물에 현탁한 후 용매의 극성차이를 이용한 분배조작을 거쳐 각각 디클로로메탄 분획(DCM fr.), 에틸 아세테이트 분획(EtOAc fr.), 중간층(Interphase), *n*-부탄올 분획(BuOH fr.) 및 물 분획(Water fr.)을 얻었다.

**성분의 분리** - 전보<sup>2)</sup>의 실험결과 *in vivo* 실험에서 MeOH ex. 및 EtOAc fr.의 전처리가 PTZ에 의해 유도되는 경련에 대하여 억제효과가 있음이 확인되었으므로 EtOAc fr.을 silica gel 및 Sephadex column chromatography를 실시하여 화합물 1과 2를 분리하였다.

**화합물 1의 분광학적 특성** - Mp. 290°C, IR $\nu_{\max}^{\text{KBr}}$  cm<sup>-1</sup> 3420, 3400(OH), 2935, 1700(COOH), 1640, 1475, 1305, 1165. Mass(E.I., 70 eV), *m/z* (relative intensity): 456(1.4), 300(2.3), 248(100), 207(35.5), 203(22.3), 133(35.5), 69(23.3) 55(32). <sup>1</sup>H-NMR(DMSO-*d*<sub>6</sub>, 200 MHz): 5.49(1H, *s*, C=C), 3.44(1H, *t*, 3-H), 2.62(1H, *d*, 18-H). <sup>13</sup>C-NMR(DMSO-*d*<sub>6</sub>, 50.3 MHz): 180.0(C-28), 139.3(C-13), 125.7(C-12), 78.2(C-3), 55.9(C-18), 53.6(C-5), 48.1(C-17), 42.5(C-14), 40.0(C-8), 39.5(C-22), 39.4(C-1), 39.1(C-10), 37.5(C-20), 37.3(C-19), 33.6(C-7), 30.0(C-7), 28.8(C-23), 28.7(C-15), 28.1(C-15), 24.9(C-30), 23.9(C-27), 23.7(C-11), 21.4(C-2), 18.8(C-16), 18.7(C-29), 17.8(C-24), 17.5(C-25), 16.6(C-6), 15.7(C-26).

**화합물 2의 분광학적 특성** - Mp. 222~224°C. IR $\nu_{\max}^{\text{KBr}}$  cm<sup>-1</sup> 3550(OH), 1650(C=O), 1605, 1495(C=C), 1185, 1095(C-O). UV  $\lambda_{\max}$ (MeOH) nm: 268, 358; +NaOMe, 275, 326, 410; +AlCl<sub>3</sub> 276, 436; +AlCl<sub>3</sub>/HCl, 270, 392; +NaOAc, 269, 306, 376; +NaOAc/H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub>, 267, 386. <sup>1</sup>H-NMR(DMSO-*d*<sub>6</sub>, 400 MHz)  $\delta$ : 5.37(1H, *d*, *J*=8.0 Hz, anomeric H), 6.20(1H, *d*, *J*=2.0 Hz, H-6), 6.42(1H, *d*, *J*=2.0 Hz, H-8), 6.82(1H, *d*, *J*=8.8 Hz, H-5'), 7.54(1H, *d*, *J*=2.0 Hz, H-6'), 7.66(1H, *d*, *J*=8.6 & 2.0 Hz, H-6'), 12.57(1H, *s*, C<sub>5</sub>-OH). <sup>13</sup>C-NMR(DMSO-*d*<sub>6</sub>, 100 MHz)  $\delta$ : 177.6(C-4), 164.5(C-7), 161.3(C-5), 156.4(C-2), 156.3(C-9), 148.6(C-4'), 144.9(C-3'), 133.5(C-3), 122.0(C-1'), 121.1(C-6'), 116.1(C-2'), 115.3

(C-5'), 103.9(C-10), 101.9(C-1'), 98.8(C-6), 93.6(C-8), 75.9(C-5''), 73.3(C-3''), 71.3(C-2''), 68.0(C-4''), 60.2(C-6'').



**실험동물** - 한국실험동물개발원에서 구입한 동물을 본대학 동물사에서 일정한 조건(온도: 20±2°C, 습도: 40~60%, 명암: 12시간 light/dark cycle) 하에서 2주간 적응시킨 체중 20±5 g 내외의 ICR계 웅성 생쥐를 사용하였다. 각 실험에서는 3마리의 동물로 부터 따로 뇌조직을 취하여 효소원을 얻었다.

**시약 및 기기** - 시약은 특급 내지 일급 시약으로 실험목적에 적합한 것을 사용하였으며 기기는 membrane filter(Gelman, 47 mm, 0.2 μm; Micro-filtration systems, 13 mm, 0.2 μm), filter holder(Milipore, 47 mm; Gelman, 13 mm), UV-spectrophotometer(Shimadzu, UV-240), refrigerated centrifuge(Beckman, J2-21), ultracentrifuge(Hitachi, 65-P7), HPLC column(Water, RP-C18, 4.0 mm I.D. 10 μm), HPLC pump(Varian 5000), HPLC controller(Varian ODS 401), fluorescence detector(Varian), cold lab. chamber(Korean manhattan, KMC-8512) 등을 이용하였으며, column chromatography용 silica gel은 Kiesel gel 60(70~230 mesh, Merck, No. 7734)과 Sephadex LH-20(Pharmacia)를, thin layer chromatography는 precoated Kieselgel 60F<sub>254</sub>(Merck, No. 5735)를 사용하였다. 용점은 Perkin-Elmer Electrothermal Digital MP apparatus를 사용하였고, IR spectrum은 Hitachi 270-50을 사용하여 KBr disk법으로, Mass spectrum은 Hitachi M80-B spectrometer, UV spectrum은 Shimadzu Mps-50L spectrophotometer, NMR spectrum은 Bruker AM 200 spectrometer로 측정하였다.

**효소원의 조제** - 전보<sup>2)</sup>에서 보고한 바와 같이 PTZ를 처리한 생쥐의 뇌조직을 적출하여 균질액을

만든 다음 35,000×g, 30분간 원심분리한 상정액을  $\gamma$ -aminobutyric acid aminotransferase (GABA-T) 측정용으로, 10,000×g 상정액을 다시 105,000×g에서 1시간 동안 초원심분리하여 얻은 상정액(cytosol 분획)을 xanthine oxidase 활성 측정용 효소원으로 하고 지질과산화물 측정시에는 생리식염수를 가하여 10% 균질액으로 만들었다.

**In vitro 뇌조직중 GABA-T 측정** - 0.15 M potassium phosphate buffer(pH 6.8), 60 mM 2-oxooglutaric acid 100  $\mu$ l, 4 M  $\gamma$ -aminobutyric acid(GABA) 및 0.12 mM NADP 10  $\mu$ l 혼합액에 각 농도의 조구등 시료액을 가한 다음 효소액 100  $\mu$ l를 가하여 37°C에서 30분간 반응시키고 Bergmeyer<sup>3)</sup>의 방법에 따라 처리하여 생성되는 NADPH를 340 nm에서 측정하여 효소 활성을 산정하였다.

**In vitro 뇌조직중 지질과산화물 측정** - 8.1% SDS(sodium dodecylsulfide) 0.2 ml, 20% acetate buffer(pH 3.5) 1.5 ml 및 0.8% thiobarbituric acid 1.5 ml 혼합액에 각 농도의 조구등 시료액을 가한 다음 효소액 0.7 ml를 가한 총 4.0 ml의 반응액을 37°C에서 3시간 반응시키고 Ohkawa 등<sup>4)</sup>의 방법에 준하여 처리하고 미리 작성한 표준검량선에 의하여 간 조직 1g당 malondialdehyde의 양(nmole)로 표시하였다.

**In vitro xanthine oxidase 활성 측정** - 0.127 M potassium phosphate buffer(pH 7.5) 2.7 ml, 60  $\mu$ M xanthine sodium 0.4 ml 및 20% trichloroacetic acid 0.4 ml 혼합액에 각 농도의 조구등 시료액을 가한 다음 효소액 0.4 ml를 가한 총 4.0 ml의 반응액을 37°C에서 5분간 반응시키고 Stirpe과 Della<sup>5)</sup>의 방법에 준하여 생성된 uric acid를 파장 292 nm에서 흡광도를 측정하고 표준검량선에 의하여 효소활성도를 1분당 1 mg protein이 생성하는 uric acid의 양(nmole)으로 나타내었다.

**In vitro superoxide dismutase 활성 측정** - 0.2 M potassium phosphate buffer(pH 8.6) 0.9 ml 및 alkaline dimethyl sulfoxide solution (95% DMSO) 0.5 ml 혼합액에 각 농도의 조구등 시료액을 가한 다음 효소액 0.2 ml를 가한 총 1.7 ml의 반응액을 37°C에서 30분간 반응시키고

Marklund와 Marklund<sup>6)</sup>의 방법에 준하여 파장 550 nm에서 감소되는 cytochrome C의 흡광도를 측정하였다. 활성은 alkaline DMSO-mediated cytochrome C reduction을 50% 억제하는 enzyme량을 1 unit로 산정하여 표시하였다.

**단백질 정량 및 통계처리** - 단백질의 함량은 Lowry 등의 방법<sup>7)</sup>에 준하여 bovine serum albumin (Sigma, Fr. No IV)을 표준품으로 하여 측정하였다. 본 실험에서 얻어진 결과는 평균치±표준편차로 표시하였고, 통계적 유의성은 student's *t*-test를 이용하였다.

## 결과 및 고찰

**화합물 1 및 2** - 상기의 결과에서 조구등의 MeOH ex. 및 EtOAc fr.의 전처리로 PTZ에 의한 경련 유발을 억제하는 작용이 있음을 확인하고 이로 부터 활성 물질을 확인하기 위하여 silica gel 및 Sephadex LH-20 column chromatography를 이용하여 성분을 분리하여 2종의 화합물을 얻었다. 화합물 1의 IR spectrum에서 OH기와 COOH기로 추정되는 흡수 피크가 관측되고 질량스펙트럼에서 분자이온 피크인 456과 retro-Diels Alder fragmentation에 의한 *m/z* 248, 203, 207에서 peak가 확인되어, 화합물 1은 분자량 456인 12-unsaturated ursane 계열의 triterpenoid임을 추정할 수 있다. <sup>1</sup>H-NMR 스펙트럼에서 5.49에서 12 위치의 methine 수소, 3.44에서 3번 위치의 oxymethine 수소, 0.88~1.26에서 7개의 메틸기의 수소를 확인하였다. <sup>13</sup>C-NMR spectrum에서 1개의 carbonyl carbon과 12, 13 위치의 olefinic carbon을 확인하였다. 따라서 이 화합물의 화학구조는 문헌치<sup>8)</sup>와의 대조에 의해 ursolic acid로 결정하였다.

화합물 2는 IR spectrum에서 OH, C=O 그리고 aromatic double bond의 흡수대는 flavonoid의 일반적 성상과 일치하며, 1095 cm<sup>-1</sup>의 C-O 흡수대는 이 화합물이 flavonoid 배당체임을 암시하고 있다. UV spectrum은 MeOH 용매에서 flavonoid 모핵의 B-ring에 기인한 band I이 358 nm에서 나타남으로써 C-3이 치환된 것으로 추정되었으며, shift reagent에 의한 변화로 NaOAc를 첨가하였을 때 band II가 13 nm 장파장 이동함으로써 C-7

위치에 free hydroxyl기의 존재를 관측할 수 있었다.  $AlCl_3$  첨가 후 산을 가하였을 때  $AlCl_3$  용매에서와 비교에서 Band I이 4 nm 단파장 이동함으로써 B-ring의 ortho dihydroxyl기의 존재를 추정할 수 있다.<sup>9)</sup>

$^1H$ -NMR spectrum에서 *meta*-coupling하고 있는 두 aromatic proton의 signal( $\delta$ 6.20(1H, d,  $J=2.0$  Hz), 6.42(1H, d,  $J=2.0$  Hz))과 benzene 핵의 3개의 aromatic proton signal( $\delta$ 5.37(1H, d,  $J=8.8$  Hz), 7.54(1H, d,  $J=2.0$  Hz), 7.66(2H, d,  $J=8.6$  및 2.0 Hz)) 및 1 mole의 당에 기인하는 anomeric proton signal( $\delta$ 5.37(1H, d,  $J=8.0$  Hz)) 이 보인다. 당부분을 제외하고는  $^{13}C$ -NMR spectrum에서 quercetin의 골격과 유사하며 당은 D-galactose 유래의 signal( $\delta$ 101.9(C-1'), 75.9(C-5'), 73.3(C-3'), 71.3(C-2'), 68.0(C-6'') 및 60.2(C-6''))이 관측되었다. 이상의 data에 근거하여 화합물 2는 quercetin galactoside로 추정되었다. 당부와 aglycone의 결합부위를 추정하기 위해 UV 스펙트럼 상에서 shift reagent에 의한 변화를 보면 MeOH 용매에서 band I의 위치가 358 nm로 C-3 위치에 치환된 화합물로 추정되며, 이러한 사실은 quercetin의  $^{13}C$ -NMR data 값과 비교할 경우 C-3이 저자장 shift함으로써 당부는 C-3 위치에 결합하고 있음을 알 수 있다. 따라서 화합물 2의 화학구조는 문헌치<sup>10)</sup>와의 비교에 의해 hyperin(quercetin-3-O- $\beta$ -D-galactopyranoside)으로 결정하였다.

**시험관 내에서 뇌 GABA-T 활성에 미치는 영향**  
- *In vivo* 실험에서 나타난 조구등 항경련 효과의 기전과 활성 성분을 추구하고자 *in vitro* 실험을 수행하였다. Fig. 1에 나타난 바와 같이 PTZ 처리군에서의 GABA-T의 활성은 NADPH 농도로 2.06 nmole인데 반하여 조구등 성분을 시험관 내에 농도별로 첨가하였을 때 용량의존적으로 억제되었음을 알 수 있다. 그러나 ursolic acid의 첨가군에서는 1 mg/ml 정도에서야 약 10%의 억제효과를 나타내었다. 이러한 결과는 전보<sup>2)</sup>의 결과와 종합하여 볼 때 조구등 성분의 항경련 효과는 뇌중 GABA의 감소 및 glutamic acid의 함량증가 현상과 관련이 있는 것으로 보인다.

**시험관 내에서 뇌 지질과산화물 함량에 미치는 영향**

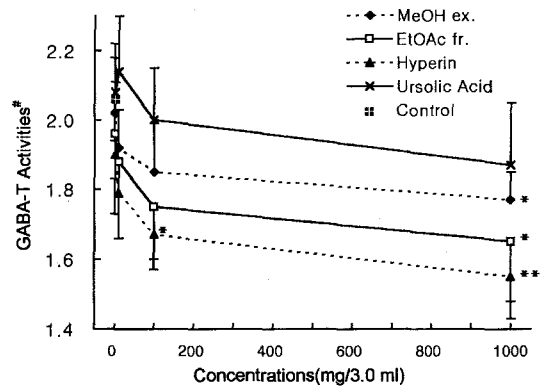
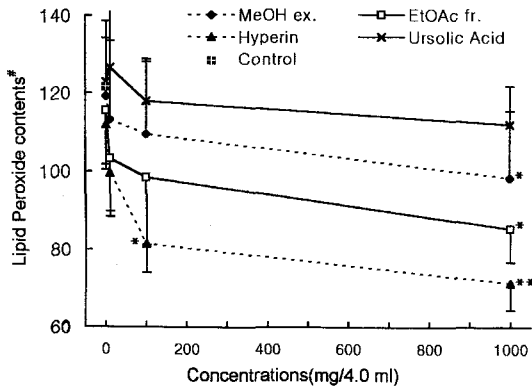


Fig. 1. Effect of pretreatment of *Uncariae Ramulus et Uncus* components on *in vitro* brain GABA-T activity in pentylenetetrazole-treated mice.

The reaction mixture (3.0 ml of 0.15 M potassium phosphate buffer, pH 6.8) containing 100  $\mu$ l of 60 mM 2-oxoglutaric acid, 10  $\mu$ l of 4 M GABA, 10  $\mu$ l of 0.12 mM NADP, 0.1 ml of various concentrations of *Uncariae* sample and 100  $\mu$ l of enzyme preparation was incubated at 37°C for 30 mins. Then assay was carried out according to Bergmeyer.<sup>3)</sup> Values represent mean  $\pm$  S.D. (n=3) and were significantly different from control as \*P < 0.05 and \*\*P < 0.01 by student's *t*-test. \*NADPH nmole/mg protein.

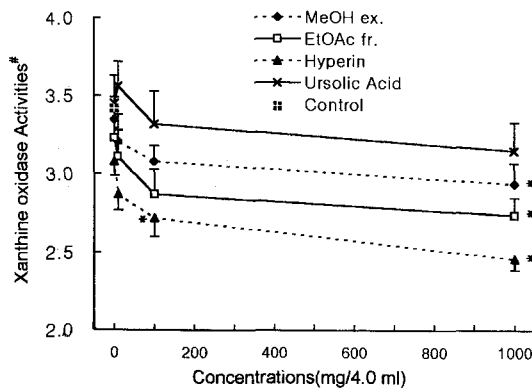
- PTZ로 경련을 유발시킨 생쥐의 뇌조직 중 지질과산화의 함량에 미치는 조구등 성분의 영향을 시험관 내에서 관찰한 실험 결과는 Fig. 2에 나타난 바와 같다. PTZ 처리군에서의 지질과산화의 함량이 52.7 nmole인데 비하여 조구등 시료를 농도별로 첨가하였을 때의 양은 정도의 차이는 있으나 용량의존적으로 억제되었다. 그러나 ursolic acid의 첨가군에서는 농도가 증가하여도 정상군과 별다른 영향이 없었다. 뇌중 지질과산화 함량의 조절은 뇌중에서 free radical의 생성에 관여하는 cytosol 효소계에 의한 것으로 추정되며 이러한 작용은 조구등의 성분중 hyperin에 의하여 나타나는 직접적인 작용으로 생각되며, 이상의 결과를 종합해 볼 때 항경련 작용은 뇌중에 존재하는 아미노산 이외에 지질과산화의 생성계에 의하여서도 크게 영향을 받을 것으로 생각된다.

**시험관 내에서 뇌 xanthine oxidase 및 superoxide dismutase 활성에 미치는 영향**  
- PTZ로 경련을 유발시킨 생쥐의 뇌조직 중 xanthine oxidase 및 superoxide dismutase의 활성에 미치는 조구등 성분의 영향을 시험관 내에서 관찰한 실험 결과는 Fig. 3 및 4에 나타난 바와 같다. PTZ 처리군에



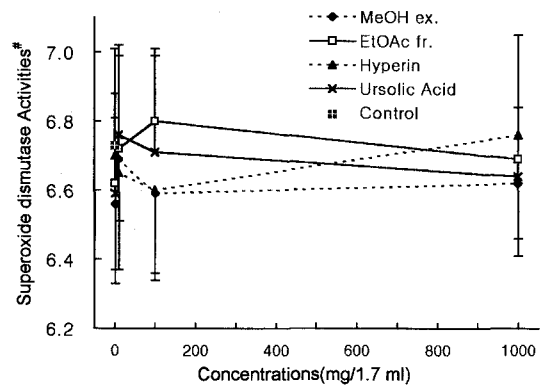
**Fig. 2.** Effect of pretreatment of *Uncariae Ramulus et Uncus* components on *in vitro* brain lipid peroxide content in *in vitro* pentylenetetrazole-treated mice.

The reaction mixture (4 ml) containing 0.2 ml of 8.1% sodium dodecylsulphate, 1.5 ml of 20% acetate buffer (pH 3.5), 1.5 ml of 0.8% thiobarbituric acid, 0.1 ml of various concentrations *Uncariae* sample and 0.7 ml of enzyme preparation was incubated at 37°C for three hrs. Then assay was carried out according to Ohkawa et al.<sup>4)</sup> Values represent mean±S.D. (n=3) and were significantly different from control as \*P<0.05 and \*\*P<0.01 by student's *t*-test. #malondialdehyde nmole/g of tissue.



**Fig. 3.** Effect of pretreatment of *Uncariae Ramulus et Uncus* components on *in vitro* brain xanthine oxidase activity in pentylenetetrazole-treated mice.

\*The reaction mixture (4.0 ml) containing 2.7 ml of 0.127 M potassium phosphate buffer (pH 7.5), 0.4 ml of 60 μM xanthine sodium, 0.4 ml of 20% trichloroacetic acid, 0.1 ml of various concentrations of *Uncariae* sample and 0.4 ml of enzyme preparation was incubated at 73°C for five mins. Then assay was carried out according to Stirpe and Della.<sup>5)</sup> Values represent mean±S.D.(n=3) and were significantly different from control as \*P<0.05 and \*\*P<0.01 by student's *t*-test. <sup>7</sup>uric acid nmole/mg protein/min.



**Fig. 4.** Effect of pretreatment of *Uncariae Ramulus et Uncus* components on *in vitro* brain superoxide dismutase activity in pentylenetetrazole-treated mice.

\*The reaction mixture (1.7 ml) containing 0.9 ml of 0.2 M potassium phosphate buffer (pH 8.6) 0.5 ml of alkaline dimethyl sulfoxide solution (95% DMSO), 0.1 ml of various concentrations of *Uncariae* sample and 0.2 ml of enzyme preparation was incubated at 37°C for 30 mins. Then assay was carried out according to Marklund and Marklund.<sup>6)</sup> Values represent mean±S.D. (n=3) and were not significantly different from control by student's *t*-test. <sup>4</sup>Units/mg protein, where one unit of superoxide dismutase activity was defined as inhibition of oxidation of pyrogallol by cytochrome c by 50%.

서의 xanthine oxidase 활성은 52.7 nmole인데 비하여 조구등 성분을 농도별로 첨가한 군에서는 정도의 차이는 있으나 용량의존적으로 억제되었고, GABA-T 및 지질과산화물 시험에서와 마찬가지로 ursolic acid의 첨가군에서는 정상군과 다른 영향을 관찰할 수 없었다. 한편, 뇌중 superoxide dismutase 활성은 조구등의 모든 성분이 영향을 미치지 않았다. 이러한 결과는 약 20%의 억제현상을 보인 전보<sup>2)</sup>의 *in vivo* 실험 결과와는 상이하여 그 원인을 구명할 필요가 있는 것으로 판단된다.

## 결론

항경련 작용을 가지며 뇌 신경전달 관련 물질의 생합성 등에 유효한 조구등 EtOAc fr.을 silica gel 및 Sephadex LH-20 column chromatography를 이용하여 성분 분리 과정에서 2 종의 활성 물질을 분리하여 IR, UV, <sup>1</sup>H- 및 <sup>13</sup>C-NMR 등의

spectrum과 Mass spectrum 확인하였던 바 ursolic acid와 hyperin(queracetin-3-O-β-D-galactopyranoside)으로 확인되었다. 유효 분획과 분리된 성분을 대상으로 시험관 내에서 GABA-T, xanthine oxidase 및 지질과산화의 함량에 미치는 일련의 실험을 수행한 결과 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. EtOAc fr. 및 hyperin은 용량의존적인 활성을 보였으나 ursolic acid는 별다른 영향을 나타내지 않았다.

2. 모든 분획과 분리 성분이 superoxide dismutase의 활성에는 영향을 미치지 않았다.

이상의 결과를 종합하여 볼 때 PTZ의 유도에 의한 경련동물에서 나타나는 조구등 성분의 항경련 효과는 뇌중 GABA의 감소 및 glutamic acid의 함량 증가 현상과 아울러 뇌중 지질과산화 함량의 조절에 있어서 free radical의 생성에 관여하는 cytosol 효소계에 의한 것 같으며 이러한 작용은 조구등의 성분 중 hyperin에 의하여 나타나는 직접적인 작용으로 판단된다.

### 인용문헌

- Kim, D. Y., Choi, J. W., Kim, H. Y., Park, M. S. and Lee, C. K. (1996) Anticonvulsant effects of Uncariae Ramulus et Uncus. I. Anticonvulsant effect of ethyl acetate fraction, *Kor. J. Pharmacogn.* 27: 53-57.
- Kim, D. Y., Choi, J. W., Park, J. C. and Lee, C. K. (1998) Anticonvulsant Effect of Uncariae Ramulus et Uncus. II. Effects of methanol extract and ethyl acetate fraction on neurotransmitters related components in brain. *Kor. J. Pharmacogn.* 29: 179-186.
- Bergmeyer, H. U. (1983) Method of enzymatic analysis, 3 eds., Vol. 2, 1690-1693, Academic Press, New York.
- Ohkawa, H., Ohishi, N. and Yaki, K. (1979) Assay for lipid peroxides in animal tissue by thiobarbituric acid reaction. *Anal. Biochem.* 95: 351-358.
- Stirpe, F. and Della, C. E. (1969) The regulation of rat liver xanthine oxidase: *in vitro* conversion of the enzyme activity from dehydrogenase (Type D) to oxidase (Type O), *J. Biol. Chem.* 244: 3855-3863.
- Marklund, S. and Marklund, G. (1974) Involvement of the superoxide anion radical in the autooxidation of pyrogallol and a convenient assay for superoxide dismutase, *Eur. J. Biochem.* 47: 469-474.
- Lowry, O. H., Rodebrough, N. J. Farr, A. L. and Randall, R. J. (1951) Protein measurement with the folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.* 193: 265-275.
- Seo, S., Tomita, Y. and Tori, K. (1975) Carbon-13 NMR spectra of urs-12-enes and application to structural assignments of components of *Isodon japonicus* Hara tissue cultures, *Tet. Lett.*, 1975: 7-9.
- Mabry, T. J., Markham, K. R. and Thoma, M. B. (1970) The Systematic identification of flavonoids, 44-60. Springer, N. Y.
- Markham, K. R., Ternai, B., Stanley, B., Geiger, H. and Mabry, T. J. (1978) Carbon-13 NMR studies of flavonoids II. Naturally occurring flavonoid glycosides and their acylated derivatives, *Tetrahedron* 34: 1389-1390.

(1998년 6월 24일 접수)