

가시오갈피 열매 추출물의 항돌연변이원성 및 세포독성 효과

전윤영 · 최승필 · 이효진 · 문선영 · 이득식* · 함승시
강원대학교 바이오산업공학부, *동해대학교 의식산업학과

Antimutagenic and Cytotoxicity Effects of Extracts of *Eleutherococcus senticosus* Maxim fruits

Yoon-Young Jun, Cheng-Bi Cui, Hyo-Jin Lee, Sun-Young Moon, Deuk-Sik Lee* and Seung-Shi Ham
School of Biotechnology and Bioengineering, Kangwon National University, Chunchon 200-701, Korea
*Department of Foodservice Industry, Dong Hae University, Dong Hae 240-150, Korea

Abstract

This study was carried out to investigate the antimutagenic and cytotoxic effects of *Eleutherococcus senticosus* Maxim fruits ethanol extract on *Salmonella typhimurium* TA98, TA100 and cancer cell lines using Ames test and SRB assay, respectively. They were extracted with ethanol and then fractionated with hexane, chloroform, ethyl acetate, butanol and water to get active fractions. In the Ames test, most of the extracts had strong antimutagenic effects against the mutagenesis induced by MNNG, 4NQO, B(α)P and Trp-P-1. The ethanol extract (200 μ g/plate) of *Eleutherococcus senticosus* fruits showed 87.2% inhibitory effect on the mutagenesis induced by MNNG against TA100. And also, The suppression ratio against B(α)P and Trp-P-1 in the TA100 showed 96.1% and 95.5%, respectively. In the cytotoxic effects against human cancer cell lines (A549, AGS, MCF-7, Hep3B), the value of inhibition were mostly above 60% for each fraction (1 mg/mL). Hexane fraction (1 mg/mL) against showed the strongest cytotoxic effects of 92.7% compared to those of other fraction and butano fraction against Hep3B was relatively high growth inhibitory effect of 82%.

Key words : *Eleutherococcus senticosus* Maxim fruits, antimutagenic effects, Ames test, cytotoxicity effects, SRB assay

서 론

광범위한 역학적 조사에 의하면 발암의 대부분은 환경인자에 기인하는 것으로 나타나 있다. 그 중에서도 식품이 차지하는 비율이 높아, Doll과 Peto(1)의 조사에 의하면 전체 발암인자의 35%가 음식물이라고 지적하고 있다. 한편, 녹황색야채의 섭취가 각종 암에 있어 그 위험을 감소시키는 사실도 밝혀졌다(2). 이와 같이 음식물은 발암과 깊은 관련을 맺고 있을 뿐만 아니라 그 억제에 있어서도 중요한 역할을 하고 있다(3). 현재 발암의 예방적 시야로부터 특히 식품성분에 의한 promotion의 억제가 주목받고 있으며, 또한 식용 또는 약용식물의 항발암 promotion효과의 평가나 활성물질에 대한 연구가 이루어지고 있다.

가시오갈피 (*Eleutherococcus senticosus* Maxim)는 인삼과 같은 두릅나무과 (*Aralia ceae*)에 속하는 다년생관목으로서 우리

나라를 비롯한 동양에서 고대로부터 그 뿌리, 줄기, 잎, 열매를 귀중한 한약재의 하나로 사용하여 왔다. 동의보감에 따르면 “가시오갈피는 허리와 척추의 통증에 좋고 근골을 단단하게 하며 장복하면 몸이 가벼워져 장수하고 풍을 치료하며 허를 보한다.”라고 기록되어있다(4). 성분에 관한 연구는 1966년 Ovodov 등이 근피 추출물에서 eleutheroside A~G를 분리하여 보고한 이후로 lignan, coumarin, diterpene, triterpenoid, 페놀 화합물 등 다양한 성분이 근피, 잎 혹은 열매에 함유되어 있음이 보고되었다(5). 일명 “시베리아인삼”이라고도 불리는 가시오갈피는 자양강장, 강정, 진경등의 약효뿐만아니라 인삼에 버금가는 신진대사 활성작용 (adaptogenic activity)이 있다고 알려져있다(6). 특히 열매는 뿌리나 줄기의 유효성분인 eleutheroside E와 B, sterol, chiisanoside 등의 존재가 확인되었을 뿐만아니라 anthocyanin, flavonoid, 기타 다양한 1차 대사산물을 풍부하게 함유하고 있기 때문에 대체약물 내지는 건강보조식품으로서의 개발가능성이 높다고 하겠다(7). 또한 eleutheroside E에 대한 생체 효능 실험 보고에 의하면 항암작용(8), T세포 증가(9), 정력증대, 학습력 향상, 위궤양 억제(10) 등이 밝혀졌고, Chiisanoside는 혈당저하(11), 항암효과(12)등의 효능이 확인되어 가시오갈피 열매의 중요성에 대한 인식이

Corresponding author : Seung-Shi Ham, School of Biotechnology and Bioengineering, Kangwon National University, Hyoja 2-dong, Chunchon, Kangwon-do 200-701, Korea
E-mail : hamss@kangwon.ac.kr

더욱 고조되고 있다. 가시오갈피의 근피, 수피, 잎에 대해서는 많은 연구가 이루어졌으나 열매에 대한 생리활성 효과에 대한 연구는 거의 없는 상태이다. 이에 본 실험에서는 가시오갈피 열매 추출물의 생리적 기능에 대한 활성을 탐색하기 위하여 먼저 *Salmonella typhimurium* TA98과 TA100을 이용한 Ames test(13)로서 항돌연변이원성을 검토하였고, SRB assay를 이용해 각종 암세포에 대한 세포독성효과를 규명하였다.

재료 및 방법

재료

가시오갈피 (*E. Senticosus Maxim*) 열매는 한국 가시오갈피 재배협회에서 구입하여 음건하여 분말화한 후 -20℃ 냉동실에 보관하면서 실험에 사용하였다.

시료의 추출 및 분획

분말상태인 가시오갈피 열매를 시료중량의 10배인 70% 에탄올을 첨가하여 8시간씩 80℃에서 3회 추출한 후, 여과하여 감압농축기를 사용하여 추출용매를 제거한 후 동결건조하였다. 70% 에탄올로 추출하여 얻은 농축물을 용매의 극성에 따라 분별분리를 행하여 헥산, 클로로포름, 에틸 아세테이트, 부탄올 및 물층으로 극성의 차이에 의해 다섯가지 분획으로 조제한후 감압농축하여 동결건조한 후 실험에 사용하였다.

시약

직접 돌연변이원인 4-nitroquinoline-1-oxide (4NQO), N-methyl-N'-nitro-N-nitroso-guanidine (MNNG)은 미국 Sigma 회사로부터 구입하였고, 간접돌연변이원인 benzo(a)pyrene (B(a)P)과 3-amino-1,4-dimethyl-5H-pyrido-(4,3-b)indol (Trp-P-1)은 일본 和光純藥 특급시약을 구입하였다. 세포배양에 필요한 배지로 RPMI 1640과 Dulbecco's Modified Eagle Medium (DMEM) 및 Hepes buffer, Fetal bovine serum (FBS), Tripsin-EDTA는 Gibco 사 (U.S.A.)로부터 각각 구입하였다.

세포주 및 배양

실험에 이용된 세포주는 인간 암세포로 폐암세포 A549 (Lung carcinoma, Human), 유방암세포 MCF-7 (Breast adenocarcinoma, Human), 위암세포 AGS (stomach adenocarcinoma, Human), 간암세포 Hep3B (Human hepatocellular carcinoma)가 이용되었고, 정상세포로는 293 (human embryonic kidney)을 Korea Cell Line Bank (KCLB)로부터 구입하여 배양하면서 실험에 사용하였다. A549, MCF-7, AGS 세포주는 RPMI Medium 1640 복합배지를, Hep3B, 293 세포주는 DMEM (Dulbecco's Modified Eagle Medium)배지를 이용하여 10% fetal bovine serum을 첨

가하여 37℃, 5% CO₂에 적응시켜 각각 배양하였다.

돌연변이원성 실험

가시오갈피 열매 추출물과 분획물에 대한 돌연변이원성 실험은 *S. typhimurium*의 변이주인 TA98과 TA100을 이용하여 Ames test를 개량한 preincubation법(13)으로 실시하였으며, 대사 활성물질로서 S9 mix를 첨가하였다.

가시오갈피 열매 추출물과 분획물들을 미리 건열 멸균시킨 glass cap tube에 농도별로 각각 50 μl씩을 가하고 여기에 TA-culture배지 (Difco nutrient broth 0.8g + NaCl 0.5g + 증류수 100 mL)에서 하룻밤 배양시킨 *S. typhimurium* 균액 100 μl씩을 가한 다음 0.2 M sodium phosphate buffer (pH 7.4)로 전체량이 700 μl가 되도록 하였다. 이것을 37℃에서 20분간 진탕배양 한 다음 histidine/biotin이 첨가된 top agar (45℃)를 2 mL씩 가하여 잘 혼합한 후에 미리 조제해 놓은 minimal glucose agar plate상에 도말하고 평판 고화시켜 37℃ 배양기에서 48시간 배양하여 생긴 복귀돌연변이 (his⁺ revertant colony)수를 측정하여 추출물의 돌연변이원성의 유무를 판정하였다.

항돌연변이원성 실험

항돌연변이원성 실험에 사용된 발암물질은 4NQO, MNNG, B(a)P 및 Trp-P-1을 사용하였다. 건열멸균시킨 glass cap tube에 가시오갈피 열매 추출물 및 분획물들을 각각의 농도별로 50 μl씩 첨가하고 변이원 물질을 각각 50 μl씩 첨가한 다음 대사활성물질이 필요한 경우에는 S9 mix를 250 μl를 각각 첨가하였다. 여기에 하룻밤 배양시킨 *S. typhimurium* 균액을 100 μl씩 주입한 후에 0.2 M sodium phosphate buffer를 가하여 최종부피가 700 μl가 되도록 하였다. 이것을 37℃에서 20분간 진탕 배양한 다음 상기의 돌연변이원성 실험과 같은 방법으로 실험하여 생성된 복귀돌연변이 colony수를 측정하여 항돌연변이원성 유무를 판정하였다. 각 시료와 변이원 물질의 농도는 예비실험을 통하여 결정하였으며 항돌연변이 활성은 변이원물질의 활성에 대한 시료의 억제율 (Inhibition, %)로 나타내었으며 다음 식으로 산출하였다.

$$\text{Inhibition rate (\%)} = [(M-S_1) / (M-S_0)] \times 100$$

M : 돌연변이 물질만 존재한 경우의 복귀 돌연변이 수

S₀ : 자연 복귀 돌연변이 수

S₁ : 시료를 첨가하였을 때의 복귀 돌연변이 수

세포독성 실험

SRB (sulforhodamine B) assay(14)는 세포 단백질 염색을 이용하여 세포 증식이나 독성을 측정하는 방법으로 암세포를 96 well plate에 well당 5×10⁴ cells/mL가 되도록 seeding하고 24시간 배양후 세포가 plate에 부착되면 0.2 M 이하의 DMSO로 녹인 시료 추출물과 분획물을 0.25, 0.5, 0.75, 1.0 mg/mL

농도로 100 μl 를 첨가한 후 37°C 5% CO₂ incubator에서 배양하였다. 이 때 대조군에는 시료 대신에 DMSO를 첨가하였다. 배양 48시간 후에 배지를 제거한 후 PBS로 한번 씻은 후 냉장보관한 10% (w/v) trichloroacetic acid (TCA)를 100 μl 씩 첨가하여 4°C에서 냉장 방치하였다. 1시간 후 TCA를 제거하고 증류수로 다섯 번 행군 후 실온에서 건조시킨 후 0.4% sulforhodamine B 100 μl 를 첨가하여 30분동안 염색시켰다. 다음 1% (v/v) acetic acid로 네 번 정도 행구어 다시 실온에서 건조시킨 후 10 mM Tris buffer (pH 10.5) 100 μl 를 첨가 후 540 nm에서 microplate reader로 흡광도를 측정하였다.

결과 및 고찰

돌연변이 및 항돌연변이 효과

S. typhimurium TA98과 TA100을 이용한 Ames test를 행한 결과 음성대조군의 복귀 돌연변이 집락수는 TA98이 17.5 ± 1.5, TA100은 169 ± 8.0이었다. 에탄올 추출물을 50, 100, 150, 200 $\mu\text{g}/\text{plate}$ 의 여러 농도를 첨가하여 시험한 결과, 집락수가 음성대조군에 비하여 농도 변화에 따른 집락수의 큰 변화를 나타내지 않으므로 가시오갈피 에탄올 추출물 자체로는 돌연변이원성을 나타내지 않은 것으로 판단되었다.

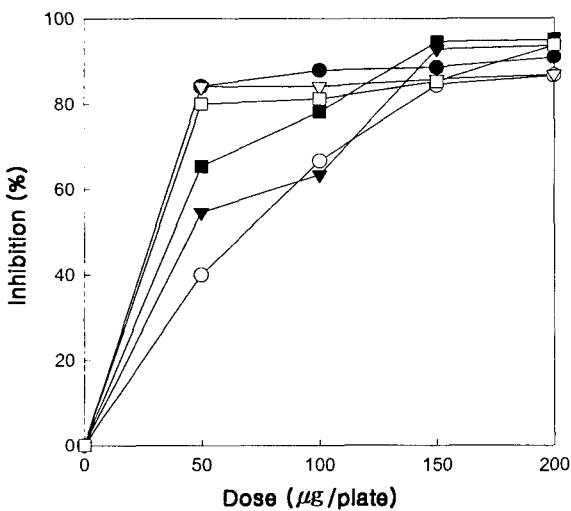


Fig. 1. Inhibitory effects of each fraction of *Eleutherococcus senticosus* 70% ethanol extract on the mutagenicity by MNNG (0.4 $\mu\text{g}/\text{plate}$) in *Salmonella typhimurium* TA 100.

●—Ethanol extract, ○—Hexane fr., ▼—Chloroform fr.,
 ▽—Ethyl acetate fr., ■—Butanol fr., □—Aqueous fr.

에탄올 추출물과 각각의 용매 분획물에 대한 항돌연변이 실험을 한 결과, 강력한 발암물질로써 직접 변이원으로 사용된 MNNG (0.4 $\mu\text{g}/\text{plate}$)의 경우 *S. typhimurium* TA100 균주에

서 시료농도 200 $\mu\text{g}/\text{plate}$ 첨가시 클로로포름을 제외한 모든 분획물들에서 90%이상의 높은 억제효과가 나타났으며 특히 부탄올 분획물이 94.9%로 가장 높은 억제효과를 나타내었다 (Fig. 1). 한편, 4NQO (0.15 $\mu\text{g}/\text{plate}$)의 경우 *S. typhimurium* TA98과 TA100 균주 실험결과에서 TA98 균주에서 시료농도 200 $\mu\text{g}/\text{plate}$ 첨가시 물 분획물의 경우 83.3%였고, TA 100 균주에서는 에틸아세테이트 분획물이 84.4%의 억제효과를 보였다 (Fig. 2).

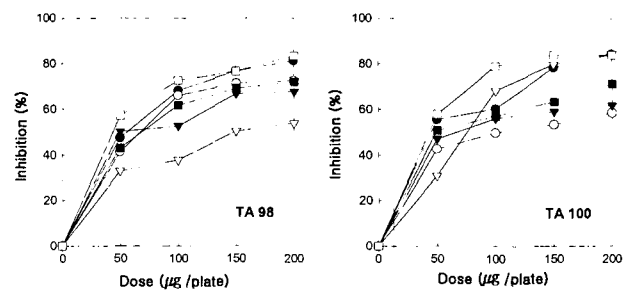


Fig. 2. Inhibitory effects of each fraction of *Eleutherococcus senticosus* 70% ethanol extract on the mutagenicity by 4NQO(0.15 $\mu\text{g}/\text{plate}$) in *Salmonella typhimurium* TA 98 and TA 100.

●—Ethanol extract, ○—Hexane fr., ▼—Chloroform fr.,
 ▽—Ethyl acetate fr., ■—Butanol fr., □—Aqueous fr.

Microsomal enzyme의 대사활성에 의해서만 돌연변이원성을 나타내는 간접변이원으로서 실제로 식품을 통해 흡수될 수 있는 polycyclic aromatic hydrocarbon인 B(α)P과 아미노산 계열분해물인 Trp-P-1을 사용하여 실험을 수행하였다.

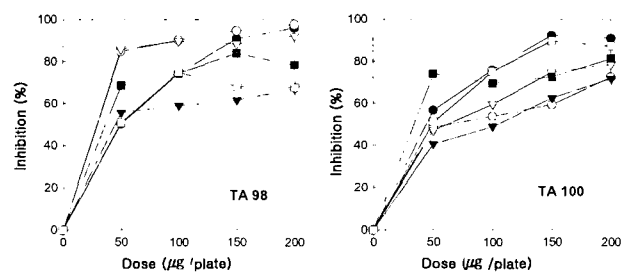


Fig. 3. Inhibitory effects of each fraction of *Eleutherococcus senticosus* 70% ethanol extract on the mutagenicity by B (α)P (10 $\mu\text{g}/\text{plate}$) in *Salmonella typhimurium* TA 98 and TA 100.

●—Ethanol extract, ○—Hexane fr., ▼—Chloroform fr.,
 ▽—Ethyl acetate fr., ■—Butanol fr., □—Aqueous fr.

B(α)P (10 $\mu\text{g}/\text{plate}$)에서는 TA98 균주의 경우, 200 $\mu\text{g}/\text{plate}$ 의 시료농도에서 에탄올 추출물이 96.0%로 가장 높은 억제효과를 나타내었으며 hexan, 클로로포름, 에틸아세테이트, 부탄올, 물 분획물에서 각각 97.5%, 67.0%, 92.1%, 78.3% 및 67.5%의 억제효과를 나타내었다. TA100 균주에서는 200 $\mu\text{g}/\text{plate}$ 의 시료농도

에서 에탄올 추출물과 부탄올, 물 분획물이 각각 90.8%, 81.2% 그리고 87.2%로 높은 억제효과를 나타내었다 (Fig. 3).

또한 Trp-P-1 (0.15 µg/plate)을 사용한 Fig. 4에서는 *S. typhimurium* TA98 균주에서 시료농도 200 µg/plate에서 에틸아세테이트 분획물이 88.3%로 비교적 높은 억제효과를 나타내었고, TA100 균주의 경우 200 µg/plate 농도에서 에탄올 추출물과 물 분획물이 각각 95.5%와 90%로 높은 억제율을 나타내었으며 농도 증가에 따라 억제효과도 증가함을 알 수 있었다.

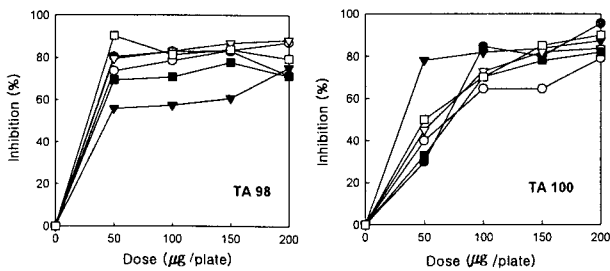


Fig. 4. Inhibitory effects of each fraction of *Eleutherococcus senticosus* 70% ethanol extract on the mutagenicity by Trp-P-1 (0.5 µg/plate) in *Salmonella typhimurium* TA 98 and TA 100.

●—Ethanol extract, ○—Hexane fr, ▼—Chloroform fr,
 ▽—Ethyl acetate fr, ■—Butanol fr, □—Aqueous fr.

암세포 성장억제효과

암 유발 초기단계에서 돌연변이가 매우 중요한 작용을 하고 대부분의 발암물질이 돌연변이원이라는 공통점은 항돌연변이원성을 가진 물질이 항암활성을 가질 수 있다는 것을 의미한다. 이에 가시오갈피 열매 추출물과 분획물들이 항돌연변이원성 효과를 나타내었으므로 인간 암세포에 대한 직접적인 효과를 규명하기 위하여 인간 폐암세포 A549, 유방암세포 MCF-7, 위암세포 AGS 그리고 간암세포 Hep3B를 이용하여 이들 암세포주에 대하여 SRB assay를 이용한 가시오갈피 열매 분획물들의 저해효과를 알아보았다. Fig. 5에서와 같이 A549 세포에 대한 분획물들의 억제효과를 검토한 결과 최고 농도인 1 mg/mL 첨가시 핵산, 클로로폼, 에틸아세테이트 그리고 부탄올, 물 분획물이 각각 60.7%, 56.0%, 51.4%, 67.5% 및 59.5% 억제효과를 나타내었으며, 특히 에탄올 추출물이 80.0%의 높은 억제효과를 나타내었다. AGS 세포의 경우 클로로폼과 물 분획물이 1 mg/mL의 농도에서 각각 65.4%와 60.1%의 억제효과를 보였으며, 핵산, 에틸아세테이트 그리고 부탄올 분획물과 에탄올 추출물이 시료농도 1 mg/mL에서 각각 73.9%, 70.2%, 71.9% 및 75.1%로 비교적 높은 억제효과를 보였다(Fig. 6). MCF-7 세포의 경우 핵산 분획물이 1 mg/mL의 시료농도에서 92.7%의 높은 억제효과를 보였으며, 에틸아세테이트, 물 분획물과 에탄올 추출물의 경우, 1 mg/mL의 농도에서 각각 80.0%, 79.5%, 79.6%의 비교적 높은 억제효과를 나타내었다 (Fig. 7).

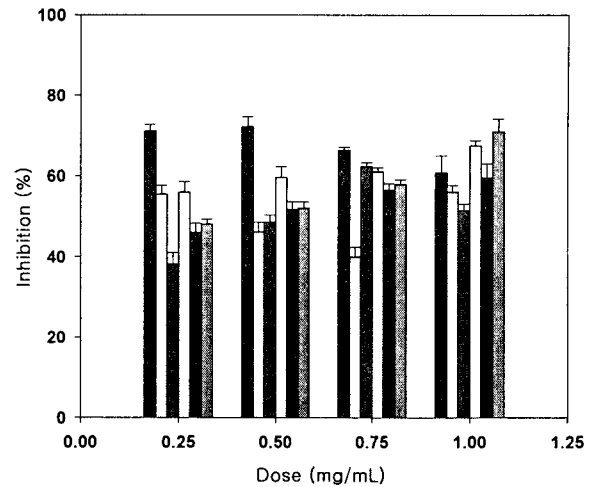


Fig. 5. Growth inhibitory effects of each fractions of *Eleutherococcus senticosus* 70% ethanol extract on human lung carcinoma(A549).

■ Hexane fr, □ Chloroform fr, ▨ Ethyl acetate fr,
 ▤ Butanol fr, ▧ Aqueous fr, ▩ Ethanol extract.

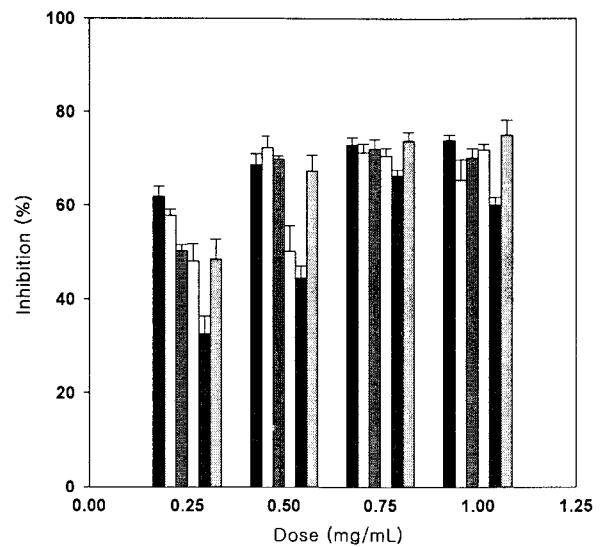


Fig. 6. Growth inhibitory effects of each fractions of *Eleutherococcus senticosus* 70% ethanol extract on human stomach carcinoma(AGS).

■ Hexane fr, □ Chloroform fr, ▨ Ethyl acetate fr,
 ▤ Butanol fr, ▧ Aqueous fr, ▩ Ethanol extract.

Hep3B 세포의 경우 부탄올 분획물이 1 mg/mL의 농도에서 82.0%로 가장 높은 억제율을 나타내었고 핵산, 클로로폼, 물 추출물이 1 mg/mL의 농도에서 각각 73.9%, 65.4%, 66.3%의 비교적 높은 억제효과를 나타내었다 (Fig. 8).

Fig. 9는 인간 정상 신세포 293에 대한 각 시료의 농도에 따른 세포독성효과를 나타낸 것으로, 암세포에 시료 첨가시 대부분의 경우 80% 전후의 억제율을 보이는데 반해 293 정상세포에 대해서는 50% 이하의 낮은 생육억제율을 보였다.

기는 암세포에 대한 높은 억제효과에 비해 정상세포에 대해서는 비교적 낮은 독성효과를 나타냄을 알 수 있었다.

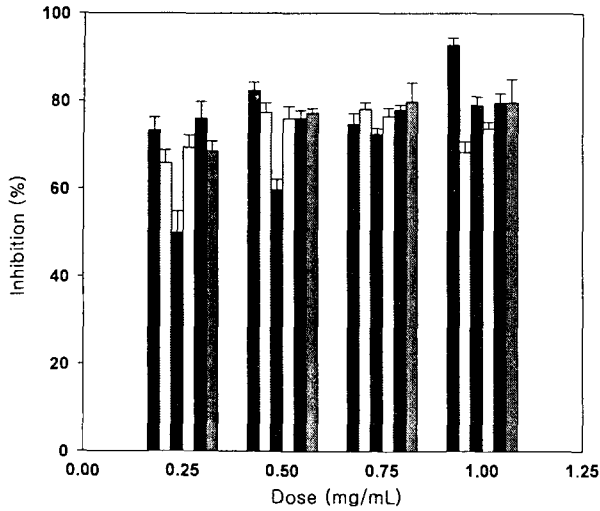


Fig. 7. Growth inhibitory effects of each fractions of *Eleutherococcus senticosus* 70% ethanol extract on human breast adenocarcinoma(MCF-7).

Hexane fr., Chloroform fr., Ethyl acetate fr., Butanol fr., Aqueous fr., Ethanol extract.

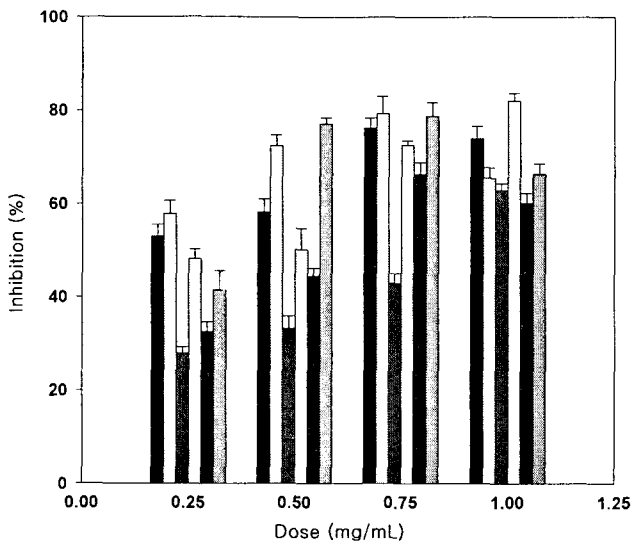


Fig. 8. Growth inhibitory effects of each fractions of *Eleutherococcus senticosus* 70% ethanol extract on human hepatocellular carcinoma(Hep3B).

Hexane fr., Chloroform fr., Ethyl acetate fr., Butanol fr., Aqueous fr., Ethanol extract.

본 실험에서 가시오갈피 열매 추출물이 각종 암세포에 대해 높은 활성을 나타낸 것과 유사하게 Kim등(15)은 가시오갈피 근피 에탄올 추출물이 폐암, 유방암, 간암 세포에 대하여 높은 세포독성효과를 나타낸다고 보고하였다. 이와 같이 에

로부터 국내외에서 약용으로 많이 사용되어진 가시오갈피 열매 추출물과 분획물이 발암물질에 대한 돌연변이 생성을 낮추고 각종 암세포에 대한 세포독성효과를 나타내었는데 추후 생체내 실험을 통하여 더욱 그 효과를 구명하고 여러 가지 성분들에 대한 분석 및 상관관계에 대한 검색이 이루어져야 할 것으로 사료된다.

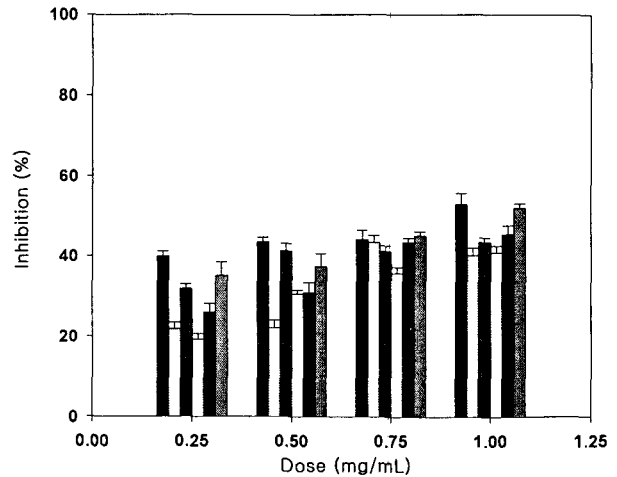


Fig. 9. Growth inhibitory effects of each fractions of *Eleutherococcus senticosus* 70% ethanol extract on human embryonic kidney(293)

Hexane fr., Chloroform fr., Ethyl acetate fr., Butanol fr., Aqueous fr., Ethanol extract.

요 약

가시오갈피 (*Eleutherococcus senticosus* Maxim) 열매의 에탄올 추출물 및 분획물의 항돌연변이원성 및 항암활성을 규명하였다. 항돌연변이원성 실험결과에서는 직접변이원인 MNNG, 4NQO 그리고 간접변이원인 B(α)P, Trp-P-1에 대해서 농도의존적인 돌연변이 억제활성을 나타내었다. MNNG (0.4 μg/plate)의 경우 *S. typhimurium* TA100 균주에서는 시료농도 200 μg/plate에서 클로로포름 분획물을 제외한 모든 분획물들에서 90%이상의 높은 억제효과를 나타내었다. 4NQO (0.15 μg/plate)에 대한 *S. typhimurium* TA98 균주의 경우 물 분획물의 경우 83.3%, TA100 균주에서는 에틸 아세테이트 분획물이 84.4%의 억제효과를 보였다. 간접변이원의 경우 B(α)P (10 μg/plate)에서는 에탄올 추출물과 핵산 분획물은 시료농도 200 μg/plate에서 각각 96.1%와 97.5%로 가장 높은 억제효과를 나타내었다. 그리고 Trp-P-1 (0.15 μg/plate)에서는 TA100 균주의 경우 200 μg/plate 농도에서 에탄올 추출물과 물 분획물이 각각 95.5%와 90%로 높은 억제율을 보여주었고, TA98 균주에 대해서는 에틸아세테이트 분획물이 88.3%로 비교적 높은 억제효과를 나타내었다. 인간의 암세포인 폐암세포 (A549), 위

암세포 (AGS), 간암세포 (Hep3B), 유방암세포(MCF-7) 에 대한 세포독성 억제 효과를 검토한 결과 모든 암세포에서 각 분획물들은 1mg/mL 농도에서 60% 이상의 비교적 높은 암세포 성장 효과를 나타내었다. 특히 MCF-7에서 높은 암세포 성장억제 효과를 나타내었는데 핵산 분획물 (1 mg/mL) 에서 92.7%의 높은 암세포 성장 억제 효과를 나타내었고 Hep3B에서는 부탄올 분획물 (1 mg/mL)에서 82%의 비교적 높은 성장 억제효과를 나타내었다.

참고문헌

- Doll, R. and Peto, R. (1981) The cause of cancer : Quantitative estimates of avoidable risks of cancer in the United States today. J. Natl. Cancer Inst., 66, 1191
- Colditz, G.A., Branch, L.G., Lipnick, R.J., Willett, W.C., Rosner, B., Posner, B.M. and Hennekens, C.H. (1985) Increased green and yellow vegetable intake and lowered cancer deaths in an elderly population. Am. J. Clin. Nutr., 41, 32
- 카와키시 순로 (1996) 생체기능조질물질연구법. 송현문화사, p 39-40
- 許浚 (1959) 東醫寶鑑. 東力書店, 740
- Ovodov, Y.S., G.M. Frolova, M.Y. Nefedova and G.B. Elyakov. (1966) The glycosides of *Eleutherococcus senticosus* Max. I. Isolation and some properties of eleutherosides B and E. Khim. prirodn soedin, 1, 3-7
- Brekhmann, I.I. and Dardymov, I.D. (1969) New substances of plant origin which increase nonspecific resistance. Ann. Rev. Pharmacol., 9, 419-430
- Ovodov, Y.S. and Shibaeva. V.I. (1969) Khim. Prirodn soedin, 5, 589
- Hacker, B. and Medon, P.J. (1984) Cytotoxic effects of *Eleutherococcus senticosus* aqueous extracts in combination with N-6-(delta 2-isopentenyl)-adenosine and 1-beta-D-arabinofuranosylcytosine against L1210 leukemia cells. J. Pharm. Sci., 73, 270-272
- Bohn, B., Nebe, C.T. and Blrr, C. (1987) Flow Cytometric Studies with *Eleutherococcus senticosus* Extract as an Immunomodulating Agent. Drug Res., 37, 1193-1196
- Fujikawa, T., Yamaguchi, A., Morita, I., Takeda, H. and Nishibe, S. (1996) Protective effects of *Acanthopanax senticosus* Harms from Hokkai do and its components on gastric ulcer in restrained cold water stressed rats. Biological Pharmacy Bulletin, 19, 1227-1230
- Kim, C.J, Hahn, D.R. (1980) The Biological Activity of a New Glycoside, Chiisanoside from *Acanthopanax chiisanensis* Nakai Leaves. Yakhak Hoeji, 24, 123-134
- Yook, C.S., Rho, Y.S., Sed, S.H., Leem, J.Y. and Han, S.H. (1996) Chemical components of *Acanthopanax divaricatus* and anticancer effect in leaves. Yakhak Hoeji, 40, 251-261
- Ames, B.N. and Maron, D.M. (1983) Revised methods for the *S. typhimurium* mutagenicity test. Mutation Res., 113, 173-215
- Martin, A. and Martin, C. (1997) Comparison of 5 microplate colorimetric assay for *in vitro* cytotoxicity testing and cell proliferation assays. Cytotechnology, 11, 49-52
- S.K. Kim, Y.G. Kim and J.S. Han. (2000) Comparison of biological activity according to extracting solvents of four *Acanthopanax* root bark. Korean J. Med. Crop Sci., 8, 21-28
- Brekhman I.I. (1980) *Eleutherococcus senticosus* a new medicinal herb of the Araliaceae family. Journal of Natural products., 49, 29-31
- Wagner, H., Y.H. Heur, A. Obermeier, Tittel, G. and Bladt, S. (1982) TLC and HPLC analysis of *Eleutherococcus* preparations. Planta Med., 44, 193-198
- Yook, C.S, D.H. Lee and Y.K. Seo. (1976) A new forma *Acanthopanax speies* (I). Kor. J. Pharmacog., 7, 179-190
- Hahn, D.R., Kim, C.J. and Kim, J.H. (1985) A study on chemical constituents of *Acanthopanax koreanum* Nakai and its pharmaco-biological activities. Yakhak Hoeji, 29, 357-361
- Kim, S.K., Kim, Y.G., Lee, M.K. and Han, J.S. (2000) Comparison of biological activity according to extracting solvents of four *Acanthopanax* root bark. Korean Journal of Medical Crop Science, 8, 21-28
- Lee, W.T. (1979) Distribution of *Acanthopanax* plants in Korea. Kor. J. Pharmacology, 10, 103-107
- Shen, M.L., Zhai, S.K., Chen, H.L., Luo, Y.D., Tu, G.R. and Ou, D.W. (1991) Immuno-pharmacological effects of polysaccharides from *Acanthopanax senticosus* on experimental animals. International Journal of Immunopharmacology, 13, 549-554
- Hikino H., Otake, T.M. and Kono, C. (1986) Isolation and hypoglycemic activity of eleutherans A.B.C.D.E.F and G: glycans of *Eleutherococcus senticosus* roots. J Natural Prod., 49, 293-297
- Asano, K, Takahashi, T and Miyashita, M (1986) Effect of *Eleutherococcus senticosus* extract on human physical working capacity. Planta Med., 37, 175-177
- Kupin, VI and Polevaia, E.B. (1986) Stimulation of the immunological reactivity of cancer patients by *eleutherococcus* extract. Vopr Onkol., 32, 21-26
- Yu, C.Y. Kim, S.H. Lim, J.D. Kim M.J. and Chung, I.M. (2003) Intraspecific relationship analysis by DNA markers

- and in vitro cytotoxic and antioxidant activity in *Eleutherococcus senticosus*. *Toxicology in Vitro*, 17, 229-236
27. Kim, S.K. Kim, Y.G. and Han, J.S. (2000) Comparison of biological activity according to extracting solvents of four *Acanthopanax* root bark. *Korean J. Med. Crop Sci.*, 8(1), 21-28
28. Fang, J.N. Proksch, A. and Wagner, H. (1985) Immunologically active polysaccharides of *acanthopanax senticosus*. *Phytochemistry*, 24, 2619-2622
29. Davydov, M. and Krikorian, A.D. (2000) *Eleutherococcus senticosus* (Rupr. & Maxim.) Maxim. (Araliaceae) as an adaptogen: a closer look. *Journal of Ethnopharmacology*, 72, 345-393

(접수 2003년 6월 15일, 채택 2003년 8월 20일)