In vitro 검출시스템을 이용한 한약재 추출물로부터의 에스트로겐 활성의 검증

이상현*

신라대학교 생명공학과, 마린 바이오 산업화 지원센터

Verification of Estrogenic Activities in Ethanol Extracts of Oriental Herbal Medicines using *In vitro* Detection System

Sang Hyeon Lee*

Department of Bioscience and Biotechnology, Silla University, Marine Biotechnology Center for Bio-Functional Material Industries

In order to evaluate the direct effect of estrogenic compounds in oriental herbal medicines, the estrogenic activity was measured using an *in vitro* detection system. For this system, human breast cancer cell line MCF7 was transfected using an estrogen responsive CAT reporter plasmid. Estrogenic activities of Platycodi radix, Astragali radix and Glycyrrhizae radix were evaluated using this system. Estrogenic activity of a 500 μg/ml ethanol extract of Platycodi radix was as same as that of a 10^{-8} M standard solution (17β-estradiol) and activity of a 50 μg/ml ethanol extract was between those of a 10^{-8} M and a 10^{-9} M standard solutions. In addition, estrogenic activity of a 5 μg/ml ethanol extract of Platycodi radix was as same as that of a 10^{-10} M standard solution. The same activity patterns were observed in the system which was treated by Astragali radix or Glycyrrhizae radix extracts. The most effective activity was observed in a system which was treated by Platycodi radix extract, but the least activity was observed by Glycyrrhizae radix extract. In this result, it was confirmed that Platycodi radix, Astragali radix and Glycyrrhizae radix extracts possess estrogenic compounds.

Key words : estrogen, estrogenic activity, *in vitro* detection system, oriental herbal medicine, Platycodi radix, Astragali radix, Glycyrrhizae radix

서 론

자연계에 존재하고 있는 천연물이나 식품에는 약효를 나타내는 성분들이 많이 있으며, 천연물 성분들을 각 분획별로 생리활성 물질을 규명하는 연구가 세계적으로 활발히 진행되고 있다. 육상식물에서 많이 보고되고 있는 파이토에스트로겐(phytoestrogen)은 성호르몬인 에스트로겐과 유사한 구조 및 기능을 가지고 있으며 배당체(glycoside) 형태로 발견된다[1,2]. 파이토에스트로겐은 폐경기 이후의 여성에게 에스트로겐 대체 작용을 할 수 있는 것으로 밝혀져 질병예방 차원에서 많은 연구가 수행되고 있다[2-4]. 파이토에스트로겐은 *in vitro* 실험에서 에스트로겐과 유사한 작용을 함으로써 여성의 에스트로겐 결핍으로 유발되는 골다공증 예방, 폐경기 증상의 완화하고[5], 유방암, 전립선암, 심장질환 등의 예방에 중요한 역할을 하며[4], 알츠하이머 질환을 예방하는데 도움을 줄 수 있다는 연구결과가 발표된 바 있다[6]. 일반적으로 생물체내로 유입된 에스트로겐 유사물질은 에스트로겐을 모방하여 세포 내에 있는 에스트로겐 수용체(estrogen receptor: ER)와 결합하여 DNA의 특정 염기서열인 estrogen responsive element (ERE)를 인식하여 결합한다. 이러한 DNA 상의 반응인자와 단백질의 결합은 그 반응인자에 의해 조절되는 유전자의 전사를 증대시켜 결국 특정 단백질의 발현을 유도하여 에스트로겐 유사물질에 의한 세포반응을 유도하는 것으로 알려져 있다[7,8]. 식물에 포함되어 있는 에스트로겐 유사물질을 검출할 수 있는 방법은 크게 4가지로 나눌 수 있는데[1], 수용체 결합 측정법[2], 세포 형태 측정법[3], 리포터 유전자 측정법[4], 세

* 교신저자 : 이상현, 부산시 사상구 괘법동 산 1-1 번지, 신라대학교 생명공학과
· E-mail : slee@silla.ac.kr · Tel : 051-999-5624
· 접수 : 2003/04/25 · 수정 : 2003/06/04 · 채택 : 2003/07/25

포배양주에서의 내재성 에스트로겐 반응성 유전자의 조절 분석법이 그것이다[7]. 이 중 리포터 유전자 측정법은 에스트로겐의 작용에 의한 리포터 유전자의 활성화 정도를 비교하는 방법으로, 많은 양의 시료를 처리할 수 있고 비전통적인 에스트로겐의 작용도 검출할 수 있는 장점을 가지고 있다. 이 연구에 사용하고자 하는 방법도 리포터 유전자 측정법으로, 리포터 유전자로 검출감도가 높은 것으로 판단된 CAT 유전자를 사용하여 검출을 용이하게 하였다.

이 연구에서는 일상생활에서 약용 외에 식용으로도 널리 사용되는 길경(Platycodi radix), 황기(Astragali radix), 감초(Glycyrrhizae radix) 등을 대상으로 에스트로겐 유사활성을 탐색하여 에스트로겐 대체물질로의 가능성 여부를 탐색하기 위한 연구를 수행하였다. 길경은 초롱꽃과에 속하는 다년초로서[8], 한방에서는 간, 인후, 성음, 진핵 및 거담 등의 호흡기계 질환 등에 적용 처방되고 있으며[9,10], 길경 사포닌(saponin)이라 불리는 사포닌 성분을 함유하고 있는 것으로 알려져 있다[11-13]. 황기는 콩과에 속하는 다년초로서 향약집성방이란 책에 의하면 뼈, 근육을 튼튼하게 하고 기운이 혈액을 보강하여 체력이 떨어져 몸이 여위는 것과 뽀드락지가 많이 나는 것과 치질, 설사, 땀을 흘리는 병에 효과가 있는 것으로 알려져 있다. 황기 중에 포함되어 있는 사포닌 성분으로는 astragalosideo에 관한 상세한 분석이 행해져 있다[14,15]. 감초는 다년생 초본으로 간장 기능을 회복시켜주며, 약물중독, 간염, 두드러기, 피부염, 습진에 유효한 glycyrrhizin을 주성분으로 하고 있다[16]. 감초의 성분 중에는 사포닌으로서 glycyrrhizin, licorice-saponin류, flavonoid류로 liquritin, isoliquritin, licoridin, glabrene, 2-methyl-7-hydrozylsoflavone 등이 분리 보고되었다. Glycyrrhizin은 일종의 사포닌 배당체로서 분해되면 glucuronic acid를 생성하여 상기의 약효를 나타내는 것으로 알려져 있다[17].

이 연구에서는 약용 및 식용으로 이용되는 약용식물을 대상으로 에스트로겐 반응성 리포터 시스템을 이용하여 에스트로겐 활성을 측정하였다.

재료 및 방법

1. 한약재로부터 추출물의 제조

길경(Platycodi radix), 황기(Astragali radix), 감초(Glycyrrhizae radix)를 세척하여 음건한 후, 건조시료 100g에 95% ethanol 500 ml를 첨가하여 65℃에서 3시간 동안 추출하였다. 추출액은 여과지(GFC 20mm)로 여과하고, 여액을 진공 농축한 후, 동결건조하여 추출물을 얻었다. 추출물 0.5 g을 99% ethanol에 용해시킨 후 필터 (0.45 μm)를 통과시켜 멸균하여 사용하였다.

2. 플라스미드의 구축

Xenopus vitellogenin A2 estrogen responsive elements (ERE)가 두 번 반복된 ERE119[18]와 전사활성을 나타내는데 ERE 영역을 요구하는 promoter로 알려진 adenovirus-2 major later promoter (Ad2MLP)[19]의 cloning을 위해 합성된 oligonucleotide들의 sequence를 Table 1에 나타내었다. Ad2MLP에 해당하는 oligonucleotide 두 가닥을 annealing하여 이중가닥 DNA로 만든 후, 이를 먼저 pCAT-Basic (Promega, USA)의 CAT 유전자 상류인 *Pst*I과 *Xba*I 부위에 삽입하여 pCAT-Ad2MLP를 구축하였다. ERE119에 해당하는 oligonucleotide 두 가닥을 annealing하여 이중가닥 DNA로 만든 후, 이를 pCAT-Ad2MLP의 Ad2MLP promoter 상류인 *Hin*dIII와 *Pst*I 부위에 삽입하여 pCAT-ERE119-Ad2ML을 구축하였다.

Table 1. Oligonucleotides for plasmid construction.

Ad2MLP	
Sense	5'-GCTATAAAAGGGGGTGGGGGCGCGTTCGTCCTCAC *Pst*I TCTCTTCCGCATCGCTCTCTGCGAGGGCCAGCT-3' *Xba*I
Antisense	5'-CTAGAGCTGGCCCTCGCAGACAGCGATCCGGAAG *Xba*I AGAGTGAGGACGAACGCGCCCCCACCCCCTTTTAT AGCTGCA-3' *Pst*I
ERE119	
Sense	5'-AGCTTCGAGATCAGGTCACAGTGACCTGACTCGAC *Hin*dIII ATCAGGTCACAGTGACCTGACTCTGCA-3' *Pst*I
Antisense	5-GAGTCAGGTCACTGTGACCTGATCTCGAGTCAGGT *Pst*I CACTGTGACCTGATCTCGA-3' *Hin*dIII

3. 세포배양 및 Transient Expression Assay

MCF7 세포주는 American Type Culture Collection (ATCC, USA)에서 획득하였다. MCF7 세포주는 10%의 Fetal Bovine Serum (FBS, Bio whittaker, USA)을 포함하는 Dulbecco's Modified Eagle's Medium (DMEM, Bio whittaker, USA) 배지를 이용하여 37℃, 5% CO_2 incubator에서 배양하였다.

MCF7 cell은 DMEM 배지에 subculture하여 48시간 후에 transfection하였다. 배양된 cell은 phosphate buffered saline로 2번 세척 후, FBS를 포함하지 않는 DMEM 2 ml에 배양하였다. Transfection에 사용한 pCAT-ERE119-Ad2MLP 플라스미드는 Plasmid Maxi Kit (Qiagen, Inc., USA)를 사용하여 분리하였다. FBS를 포함하지 않는 DMEM 250 μl에 pCAT-ERE119-Ad2MLP DNA 5 μl를 넣은 후 PLUS reagent (Life Technologies, USA)를 5 μl 첨가하여 조심스럽게 혼합한 뒤 실온에서 15분간 방치하여 Plus reagent와 DNA 혼합액 (용액 I)을 만들었다. 그리고, Lipofectamine reagent (Life Technologies, USA) 5 μl에 FBS를 포함하지 않는 DMEM 250 μl를 넣어 혼합한 용액 (용액 II)를 제조한 후, 용액 I과 II를 혼합하여 실온에서 방치하였다. 15분 후, 준비된 MCF7 cell에 첨가하여 3시간 배양한 뒤 20%의 dextran-coated charcoal stripped FBS[19]를 포함하는 DMEM 2.5 μl를 첨가하였다.

Transfection이 완료된 1 시간 후, 시료들을 각각 5μℓ 씩 처리하였다. 각 시료의 추출물은 최종농도 500, 50, 5 μg/ml 농도로

사용하였고, 표준물질로 이용된 17β-estradiol (RBI, USA)은 최종농도 10^{-7}, 10^{-8}, 10^{-9}, 10^{-10} M로 사용하였다. 그 후, 48시간 동안 배양한 다음 세포를 회수하였고, -20℃에서 5분, 37℃에서 5분 동안 4회 반복하여 cell을 lysis한 후, 14,000 xg에서 5분 동안 원심분리하여 상등액 200 μl를 취하여 chloramphenicol acetyltransferase (CAT) 활성을 측정하였다. CAT 활성은 CAT-ELISA Kit (Boehringer Mannheim, USA)를 이용하여 Manual에 따라 수행하였다. CAT 활성 결과는 BCA Protein Assay Reagent kit (Pierce, Rockford, IL)를 이용해 측정한 각 추출물의 단백질함량으로 표준화시켰다.

결 과

1. 에스트로겐 반응성 리포터 플라스미드의 구축

시료에 포함된 에스트로겐에 의한 전사활성은 *Xenopus vitellogenin* A2 ERE가 두 번 반복된 ERE119[18]와 전사활성을 나타내는데 ERE 영역을 요구하는 promoter로 알려진 adenovirus-2 major later promoter (Ad2MLP)[19]가 연속적으로 삽입된 CAT 리포터 플라스미드인 pCAT-ERE119-Ad2MLP를 사용하여 실시하였다. Ad2MLP의 이중가닥 DNA를 pCAT-Basic (Promega, USA)의 CAT 유전자 상류에 삽입하여 pCAT-Ad2MLP를 구축하였고, ERE119의 이중가닥 DNA를 pCAT-Ad2MLP의 Ad2MLP 상류에 삽입하여 에스트로겐 반응성 리포터 플라스미드인 pCAT-ERE119-Ad2ML을 구축하였다 (Fig. 1).

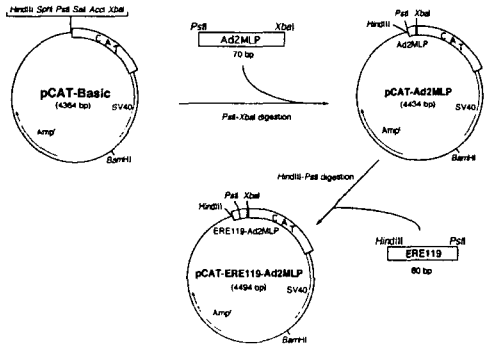

Fig. 1. Construction of estrogen responsive reporter plasmid. An Ad2MLP fragment was inserted in *Pst*I-*Xba*I sites of pCAT-Basic yielding pCAT-Ad2MLP. And then an ERE119 fragment was inserted in *Hin*dIII-*Pst*I sites of pCAT-Ad2MLP yielding pCAT-ERE119-Ad2MLP. CAT: chloramphenicol acetyltransferase gene, Ampr: β-lactamase coding region, SV40: simian virus 40 small T antigen region.

Table 2. Ethanol extraction of oriental herbal medicines

Sample	Sample weight (g)	Extract weight (g)	yield (%)
Platycodi radix	100	3.6	3.6
Astragali radix	100	3.7	3.7
Glycyrrhizae radix	100	19.3	19.3

2. 에스트로겐 유사물질의 추출

황기, 길경, 감초의 건조시료 100 g을 에탄올로 추출하고, 농축한 후 동결건조하여 에탄올 추출물을 얻었다 (Table 2). 이들의 수율은 약 4%~20%로 길경 추출물에서 가장 낮은 수율을 나타냈고 감초 추출물에서 가장 높은 수율을 나타냈다 (Table 2).

3. 길경 추출시료의 에스트로겐 유사효과의 검증

에스트로겐 반응성 리포터 플라스미드가 도입된 인체 유방암 세포주 MCF7에 한약재인 길경 추출시료를 최종농도 500 μg/ml, 50 μg/ml, 5 μg/ml이 되도록 에탄올로 희석하여 세포주에 처리하였고, 표준물질로서 17β-estradiol을 최종농도 10^{-8}, 10^{-9}, 10^{-10} M이 되도록 처리하였다. Fig. 2는 에탄올만을 처리한 세포의 CAT 활성을 1로 하였을 때의 여러 농도의 길경 추출시료를 처리한 세포 혹은 표준물질인 17β-estradiol을 처리한 세포의 CAT 활성을 비교한 결과이다. 길경 추출물의 CAT 활성은 500 μg/ml의 농도에서 표준물질인 17β-estradiol의 농도 10^{-8} M에서의 활성과 같은 정도의 에스트로겐 활성 효과를 나타내었고 50 μg/ml의 농도에서는 17β-estradiol의 농도 10^{-8} M에서의 활성과 10^{-9} M에서의 활성 사이의 에스트로겐 활성 효과를 나타내었다. 또한 5 μg/ml의 농도에서는 17β-estradiol의 농도 10^{-10} M에서의 활성과 비슷한 정도의 에스트로겐 활성 효과를 나타내었다 (Fig. 2). 즉, 500 μg/ml 농도의 길경 추출시료는 에탄올을 처리한 대조군에 비해 약 3.2 배 정도의 활성을 나타내었다 (Fig. 2). 50 μg/ml 농도의 길경 추출시료는 에탄올을 처리한 대조군에 비해 약 2.9 배 정도의 활성을 나타내었고, 5 μg/ml 농도의 길경 추출물은 약 1.9 배 정도의 활성을 나타내었다 (Fig. 2). 이 결과로 길경 추출시료에는 표준물질과 비슷한 효과의 에스트로겐 활성을 나타내는 에스트로겐 유사물질이 포함되어 있음이 확인되었다.

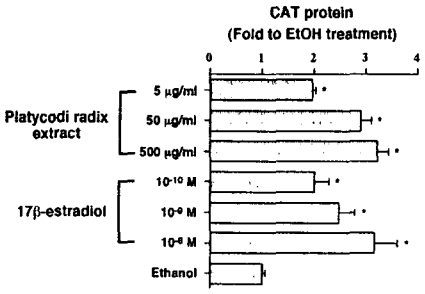

Fig. 2. Estrogenic activity of Platycodi radix extract. MCF7 cells were transfected with pCAT-ERE119-Ad2MLP using Lipofectamine. Transfected cells were then treated with Platycodi radix extract, 17β-estradiol or ethanol as indicated concentrations. CAT activity was measured using the CAT-ELISA kit and normalized to protein concentration of cell lysates. Means ± SEM for three plates are shown as fold compared with ethanol treatment. *ANOVA $p < 0.0001$ compared with ethanol treatment. This experiment was repeated at least twice yielding reproducible results.

4. 황기 추출시료의 에스트로겐 유사효과의 검증

황기 추출시료의 경우도 길경 추출시료와 비슷한 양상의 활성경향을 나타냈지만 그 활성의 정도는 길경 추출시료에 비해 전반적으로 낮았다. 황기 추출시료도 길경 추출시료의 경우와 같

은 조건으로 처리하였다. Fig. 3은 에탄올만을 처리한 세포의 CAT 활성을 1로 하였을 때의 여러 농도의 황기 추출시료를 처리한 세포 혹은 표준물질인 17β-estradiol을 처리한 세포의 CAT 활성을 비교한 결과이다. 황기 추출물의 CAT 활성은 500 μg/ml의 농도에서 표준물질인 17β-estradiol의 농도 10^{-8} M에서의 활성과 10^{-8} M에서의 활성 사이의 에스트로겐 활성 효과를 나타내었고 50 μg/ml의 농도에서는 17β-estradiol의 농도 10^{-9} M에서의 활성과 10^{-10} M에서의 활성 사이의 에스트로겐 활성 효과를 나타내었다. 또한 5 μg/ml의 농도에서는 17β-estradiol의 농도 10^{-10} M에서의 활성과 비슷한 정도의 에스트로겐 활성 효과를 나타내었다 (Fig. 3). 즉, 500 μg/ml 농도의 황기 추출시료는 에탄올을 처리한 대조군에 비해 약 2.8 배 정도의 활성을 나타내었다 (Fig. 3). 50 μg/ml 농도의 황기 추출시료는 에탄올을 처리한 대조군에 비해 약 2.3 배 정도의 활성을 나타내었고, 5 μg/ml 농도의 황기 추출물은 약 1.9 배 정도의 활성을 나타내었다 (Fig. 3). 이 결과로 황기 추출물에도 표준물질과 비슷한 효과의 에스트로겐 활성을 나타내는 에스트로겐 유사물질이 포함되어 있음이 확인되었다.

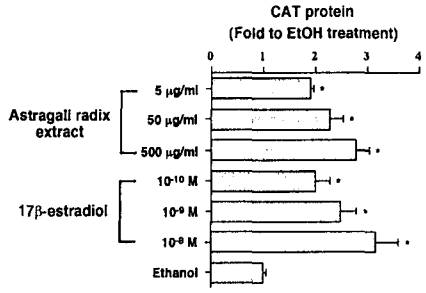

Fig. 3. Estrogenic activity of Astragali radix extract. MCF7 cells were transfected with pCAT-ERE119-Ad2MLP using Lipofectamine. Transfected cells were then treated with Astragali radix extract, 17β-estradiol or ethanol as indicated concentrations. CAT activity was measured using the CAT-ELISA kit and normalized to protein concentration of cell lysates. Means ± SEM for three plates are shown as fold compared with ethanol treatment. *ANOVA $p < 0.0001$ compared with ethanol treatment. This experiment was repeated at least twice yielding reproducible results.

5. 감초 추출시료의 에스트로겐 유사효과의 검증

감초 추출시료의 경우도 길경 및 황기 추출시료들과 비슷한 양상의 활성경향을 나타냈지만 그 활성의 정도는 길경 및 황기 추출시료들에 비해 전반적으로 낮았다. 감초 추출시료도 길경 추출시료의 경우와 같은 조건으로 처리하였다. Fig. 4는 에탄올만을 처리한 세포의 CAT 활성을 1로 하였을 때의 여러 농도의 감초 추출시료를 처리한 세포 혹은 표준물질인 17β-estradiol을 처리한 세포의 CAT 활성을 비교한 결과이다. 감초 추출물의 CAT 활성은 500 μg/ml의 농도에서 표준물질인 17β-estradiol의 농도 10^{-8} M에서의 활성과 10^{-8} M에서의 활성 사이의 에스트로겐 활성 효과를 나타내었고 50 μg/ml의 농도에서는 17β-estradiol의 농도 10^{-10} M에서의 활성과 비슷한 정도의 에스트로겐 활성 효과를 나타냈다. 한편, 5 μg/ml의 농도에서는 유의한 에스트로겐 활성 효과를 나타내지 못했다 (Fig. 4). 즉, 500 μg/ml 농도의 감초 추출시료는 에탄올을 처리한 대조군에 비해 약 2.9 배 정도의 활성을 나타내었다 (Fig. 4). 50 μg/ml 농도의 감초 추출시료는 에탄올을 처리한 대조군에 비해 약 1.9 배 정도의 활성을 나타내었고, 5 μg/ml 농도의 감초 추출물은 에탄올을 처리한 대조군과 같은 정도의 활성을 나타냈다 (Fig. 4). 이 결과로 감초 추출물에는 500 μg/ml와 50 μg/ml의 높은 농도에서만 표준물질과 비슷한 효과의 에스트로겐 활성을 나타내는 에스트로겐 유사물질이 포함되어 있음이 확인되었다.

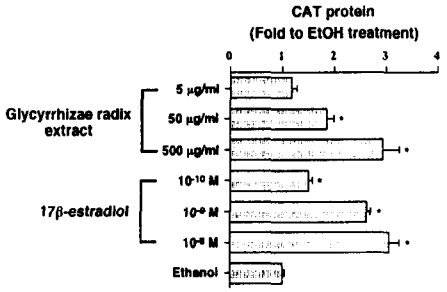

Fig. 4. Estrogenic activity of Glycyrrhizae radix extract. MCF7 cells were transfected with pCAT-ERE119-Ad2MLP using Lipofectamine. Transfected cells were then treated with Glycyrrhizae radix extract, 17β-estradiol or ethanol as indicated concentrations. CAT activity was measured using the CAT-ELISA kit and normalized to protein concentration of cell lysates. Means ± SEM for three plates are shown as fold compared with ethanol treatment. *ANOVA $p < 0.0001$ compared with ethanol treatment. This experiment was repeated at least twice yielding reproducible results.

고 찰

자연계에 존재하고 있는 천연물이나 식품 중에는 약효를 나타내는 성분들이 많이 있다. 최근 이 분야에 대한 관심이 고조되면서 천연물 성분들의 각 분획별 생리활성 물질을 규명하는 연구가 세계적으로 활발히 진행되고 있다. 오늘날 건강에 대한 관심이 높아져 국민의 식생활 패턴이 질병 예방 차원으로 나아가기 때문에 이와 같은 천연물들을 이용한 생리 활성 유효성분을 탐색하여 질병의 예방약 및 치료약으로 사용하는 등의 인체의 기능을 조절하는 기능성 식품에 대한 연구가 활발히 진행되고 있는 추세이다. 음식에 포함되어 있는 생리활성물질 중 최근 많은 관심의 대상이 되고 있는 식물성 에스트로겐은 폐경기 여성들의 갱년기 장애 극복에 도움이 된다 하여 많은 기대의 대상이 되고 있다. 일반적으로 식물에 존재하는 에스트로겐 유사활성을 가진 물질을 파이토에스트로겐이라 부르며, 파이토에스트로겐이 폐경기 이후의 여성에 있어서 에스트로겐 대체작용을 할 수 있다는 가능성에 대한 연구결과가 계속 보고되고 있다[2-4]. 이 연구에서는 특히, 한방에서 많이 사용되고 있는 한약재 중에 포함되어 있을 것으로 기대되는 파이토에스트로겐에 초점을 맞추어 연구를 행하였으며, 갱년기 장애로 인해 에스트로겐이 감소되는 폐경기 여성들을 위한 치료제로서의 그 소재를 개발하기 위한 기초자료를 제공한다. 특히 식품소재로도 사용되고 있어 우리가 흔히 접할 수 있는 한

약재들을 이용하여 에스트로겐 대체효과를 가지는 치료제를 위한 소재를 개발함으로서 여성들의 호르몬 제재의 인위적인 복용에 대한 거부감을 줄일 수 있을 것으로 기대된다.

이 연구에서는 에스트로겐 수용체를 발현하는 것으로 알려진 인체 유방암 세포주 MCF7에 에스트로겐에 반응성을 나타내도록 고안된 CAT 리포터 플라스미드인 pCAT-ERE119-Ad2MLP를 도입한 in vitro 검출시스템 (Fig. 1)을 사용하여 길경, 황기, 감초 등의 한약재 추출물에 대한 에스트로겐 활성을 측정하였다 (Fig. 2-4). 그 결과, 길경 추출물에서 가장 높은 에스트로겐 활성을 나타내었고 (Fig. 2), 황기 추출물, 감초 추출물 순으로 그 활성이 낮아졌다 (Fig. 3, 4). 특히, 감초 추출물의 경우, 5 μg/ml의 낮은 농도에서는 에탄올을 처리한 대조군에 비해 유의한 차이를 보이지 않았다 (Fig. 4). 이러한 결과들을 종합해 보면 사포닌을 함유하고 있는 여러 한약재들이 효과적인 에스트로겐 유사효과를 나타낸다는 사실을 확인할 수 있었다[11-17].

결 론

이 연구의 목표는 폐경기 이후 여성에게 에스트로겐 대체작용을 할 수 있는 물질을 신속하고도 정확하게 탐색해내는데 있다. 이 연구 결과로 길경, 황기, 감초 등의 일반적으로 사용되어지고 있는 한약재들에 에스트로겐 활성을 효과적으로 나타내는 생리활성성분이 포함되어 있다는 사실을 확인할 수 있었다. 이러한 결과로 이들 한약재가 가지고 있는 에스트로겐 유사물질을 에스트로겐 대체물질로 이용 가능하다는 사실을 보였으며, 이는 이러한 한약재들을 이용하여 폐경기 이후의 여성에 있어서 에스트로겐 대체작용을 할 수 있는 약재를 개발할 수 있는 가능성을 보여주는 결과로 사료된다. 또한 효과적이고 계량적인 에스트로겐 반응성 리포터 시스템의 개발에 의한 에스트로겐 유사물질의 탐색연구의 활성화에도 크게 기여할 것으로 기대된다.

참고문헌

1. Song, Y. S., Jin, C., Jung, K. J. and Park, E. H. Estrogenic effects of ethanol and ether extracts of propolis. J. Ethnopharmacol. 82, 89-95, 2002.
2. Strauss, L., Santti, R., Saarinen, N., Streng, T., Joshi, S. and Makela, S. Dietary phytoestrogens and their role in hormonally dependent disease. Toxicol. Lett. 102, 349-354, 1998.
3. Kurzer, M. S. and Xu, X. Dietary phytoestrogens. Ann. Rev. Nutr. 17, 353-281, 1997.
4. Lissin, L. W. and J. P. Cooke. Phytoestroens and cardiovascular health. J. Am. Col. Cardiol. 35, 1403-1410, 2000.
5. Albertazzi, P. and Purdie, D. W. The nature and utility of the phytoestrogens: A review of the evidence. Maturitas. 42, 173-185, 2002.
6. Simpkins, J. W., Green, P. S., Gridley, K. E., Singh, M., de Fiebre, N. C. and Rajakumar, G. Role of estrogen replacementtherapy in memory enhancement and the prevention of neuronal loss associated with Alzheimer's disease. Am. J. Med. 103, 19S-25S, 1997.
7. Diel, P., Smolnikar, K., and Michna, H. In vitro test systems for the evaluation of the estrogenic activity of natural products. Planta Med. 65, 197-203, 1999.
8. 이상인 본초학, p 329-330, 수서원, 1981.
9. 이창복 대한 식물도감, p 725, 향교사, 1980.
10. 홍문화 길경배합 한방처방의 통계적 연구. Kor.J. Pharmacog. 5, 61, 1974.
11. 배종만, 박무희, 최청 길경이 알레르기 저감화에 미치는 영향. 생명자원과 산업. 창간호, 14-19, 1996.
12. 정태영 도라지 뿌리의 sterol에 관한 연구. 제 1보 도라지 뿌리의 total fatty acid 및 total sterol의 조성에 대해서. 부산대학교 가정대학 연구보고. 10, 41, 1984.
13. Saeki, T, and Nikaido, T. Evaluations of saponin properties of HPLC analysis of Platycodon grandiflorum A.DC. Yakugaku Zasshi. 123, 431-441, 2003.
14. Ma, X. Q., Shi, Q., Duan, J. A., Dong, T. T. and Tsim, K. W. Chemical analysis of Radix Astragali (Huangqi) in China: a comparison with its adulterants and seasonal variations. J. Agric. Food Chem. 50, 4861-4866, 2002.
15. Li, W. and Fitzloff, J. F. Determination of astragaloside IV in Radix astragali (Astragalus membranaceus var. monghulicus) using high-performance liquid chromatography with evaporative light-scattering detection. J. Chromatogr. Sci. 39, 459-462, 2001.
16. 동의학연구소 편저 동약학개론. p. 339, 여강출판사, 1994.
17. 홍남두, 김남재 한약수치에 관한 연구(제5보). 생약학회지. 97, 196-206, 1996.
18. Ponglikitmongkol, M., White, J. H. and Chambon, P. Synergistic activation of transcription by the human estrogen receptor bound to tandem responsive elements. EMBO J. 9, 2221-2231, 1990.
19. Miyamoto, N. G., Moncollin, V., Egly, J. M., and Chambon, P. Specific interaction between a transcription factor and the upstream element of the adenovirus-2 major late promoter. EMBO J. 4, 3565-3570, 1985.