

속단의 유리기소거활성 및 저밀도지방단백질 산화에 미치는 영향

박혜선 · 양기숙*

숙명여자대학교 약학대학

(Received January 3, 2006; Revised February 9, 2006)

Effects of *Dipsacus asper* on Free Radical Scavenging and Lowdensity Lipoprotein Oxidation

Hae-Sun Park and Ki-Sook Yang*

College of Pharmacy, Sookmyung Women's University, Seoul 140-742, Korea

Abstract — The roots of *Dipsacus asper* are used in traditional Chinese medicine as an analgesic, enhancement of liver activity, an anti-inflammatory agent and the treatment of fractures. In order to investigate the antioxidative activity, *Dipsaci Radix* was extracted with MeOH and fractionated with CHCl₃, EtOAc, BuOH and water. MeOH ex. and its solvent fractions were determined on the free radical scavenging activity by DPPH method and antioxidative activity on low density lipoprotein oxidation. The EtOAc and BuOH fractions showed antioxidative activities and from their fractions, two compounds were isolated and identified as hederagenin 3-O- α -L-arabino pyranoside (compound 1) and O- α -L-arabinopyranosyl hederagenin 28-O- β -D-glucopyranosyl (1 \rightarrow 6)- β -D-glucopyranosyl ester (compound 2). Saponin glycoside, compound I showed anti-oxidative activity.

Keywords □ *Dipsacus asper*, antioxidative activity, hederagenin 3-O- α -L-arabinopyranoside

속단(*Dipsaci Radix*)은 산토끼과(*Dipsacaceae*)에 속하는 천속단(*Dipsacus asper* Wall)의 뿌리를 건조한 것으로 강장(強壯), 진통(鎮痛), 소염(消炎)약으로 이용되고 있다.^{1,2)} 성분으로는 triterpene glycoside, iridoid glycoside³⁻⁵⁾ 등이 보고되었고 생리활성으로는 항염작용,⁶⁾ 항보체작용,⁷⁾ 진통작용^{8,9)} 및 세포독성¹⁰⁾ 등이 보고되어 있다. 노화 및 노화에 관련된 퇴행성 질환과 성인병은 그 원인이 활성산소에 기인된 것으로 알려져 있으며^{11,12)} 활성산소는 특히 세포 생체막의 인지질 중 불포화 지방산을 공격하여 과산화지질을 생성하고 축적함으로 인체기능을 저하시키는 것으로 알려져 있다.¹³⁾ 또한 동맥경화 저해인자로 알려진 저밀도지방단백질(lowdensity lipoprotein, LDL)은 활성산소에 의해 쉽게 산화되어 산화 LDL을 생성하고 이것은 동맥경화의 유발인자로 작용하므로,¹⁴⁾ LDL산화에 대한 억제제로서의 연구를 통하여 질병과 노화기전의 규명과 각종질환의 치료제로 천연항산화

제의 개발이 필요하다. 이에 본 실험에서는 속단의 항산화효과를 밝히고자 속단의 MeOH 추출물과 그 용매분획들의 산화억제 작용 및 LDL 산화에 대한 억제효과를 측정하고 그 활성성분을 규명하고자 하였다.

실험 방법

실험재료

본 실험에 재료로 사용한 속단은 서울 경동시장의 진흥건재 약업사에서 구입하였고 표본은 숙명여자대학교 생약표본실에 보관하였다.

추출 및 분리

세절한 속단의 뿌리 400 g을 MeOH로 4시간씩 3회 수욕상에서 추출하여 MeOH 추출물 100 g을 얻었다. 이 MeOH 추출물을 증류수에 현탁하고 CHCl₃을 가하여 분획한 후, 이를 감압농축하여 CHCl₃ 분획 9.6 g을 얻고, 수층을 다시 같은 방법으로 EtOAc 및 BuOH로 순차적으로 분획하여 EtOAc 분획 60 g과

*본 논문에 관한 문의는 저자에게로
(전화) 02-710-9578 (팩스) 02-715-9498
(E-mail) ksyang@sookmyung.ac.kr

BuOH 분획 272 g을 얻었다.

화합물의 분리

EtOAc 분획 6.0 g을 실리카겔 칼럼에 흡착시킨 후 MeOH-H₂O(10:1)의 용매로 용출시켜 화합물 1을 얻었다. 또한 BuOH 분획의 소분획 No. 3을 EtOAc-MeOH-H₂O(100:16.5:13.5)의 용매로 용출시켜 화합물 2를 얻었다.

화합물 1 - 백색 침상결정, mp 237~239°C, IR : ν_{\max} (KBr) cm^{-1} 3398(O-H), 1639(acid), 1649(C=C), 1100~1000(glycosidic C-O) cm^{-1} , Negative FAB-Mass m/z [M-H]⁻ 603, ¹H-NMR (pyridine-*d*₅, 300 MHz), δ 0.92, 0.94, 0.95, 1.00, 1.03, 1.26 (3H each, s, CH₃), 4.99(1H, d, *J*=7.2 Hz, anomeric H), 5.52 (1H, brs, H-12), ¹³C-NMR(pyridine-*d*₅, 75 MHz) δ 13.6(C-24), 16.1(C-25), 17.4(C-26), 18.1(C-6), 23.6(C-16), 23.7(C-30), 23.8(C11), 26.1(C2), 26.2(C-27), 28.3(C-15), 30.9(C-20), 81.8(C-3), 32.9(C-7), 33.2(C-22), 33.2(C-29), 34.2(C-21), 36.9(C-10), 38.7(C-1), 39.7(C-8), 41.9(C-18), 42.1(C-14), 43.5(C-4), 46.6(C-19), 46.6(C-17), 47.6(C-5), 48.1(C-9), 64.4(C-23), 67.0(Ara C-5), 69.7(Ara C-4), 73.1(Ara C-2), 74.7(Ara C-3), 106.7(Ara C-1), 122.6(C-12), 144.8(C-13), 180.2(C-28).

화합물 2 - 백색 침상결정, mp 234~235°C, IR : ν_{\max} (KBr) cm^{-1} 3350(OH), 1725(ester), 1642(C=C), 1100~1000(glycosidic C-O) cm^{-1} Negative FAB-Mass m/z [M-H]⁻ 927, ¹H-NMR (pyridine-*d*₅, 300 MHz), δ 0.86, 0.87, 0.93, 0.98, 1.13, 1.17 (3H each, s, CH₃), 4.98(1H, d, *J*=7.2 Hz, anomeric H), 5.04 (1H, d, *J*=7.9 Hz, anomeric H), 5.41(1H, brs, H-12), 6.26 (1H, d, *J*=8.0 Hz, anomeric H), ¹³C-NMR(pyridine-*d*₅, 75 MHz), δ 13.6(C-24), 16.2(C-25), 17.6(C-26), 17.6(C-6), 23.4(C-16), 23.7(C-30), 23.9(C11), 26.0(C2), 26.0(C-27), 28.3(C-15), 30.7(C-20), 81.9(C-3), 32.8(C-7), 32.5(C-22), 33.1(C-29), 33.9(C-21), 36.9(C-10), 38.8(C-1), 39.9(C-8), 41.7(C-18), 42.1(C-14), 43.5(C-4), 46.2(C-19), 47.0(C-17), 47.6(C-5), 48.2(C-9), 62.6(Glc C-6), 64.5(C-23), 66.9(Ara C-5), 69.4(28-O-Glc-6), 69.6(Ara C-4), 71.0 (28-O-Glc C-4), 71.5(Glc C-4), 73.1(Ara C-2), 73.9(28-O-Glc C-2), 74.7 (Ara C-3), 75.2(Glc C-2), 78.4(Glc C-3), 78.4(Glc C-5), 78.7(28-O-Glc C-3), 95.7(28-O-Glc C-1), 106.7(Ara C-1), 106.7(Glc C-1), 122.9 (C-12), 144.1(C-13), 176.5(C-28), 177.9(28-O-Glc C-5).

DPPH를 이용한 유리기소거작용

시료의 항산화효과를 측정하기 위하여 DPPH용액을 이용해서 전자공여능(electron donating ability, EDA %)에 의한 환원력으로 항산화능을 측정하였다.¹⁵⁾ 각 시료를 농도별로 조제한 후 각

시료 100 μ 에 0.1 mM DPPH 용액(absolute MeOH에 용해) 1.9 ml를 가한다. 진탕기로 10초간 진탕한 후 37°C에서 30분 동안 배양시킨 후 분광 광도계를 이용하여 515 nm에서 흡광도를 측정하였다.

저밀도지방단백질 산화 억제 작용

LDL의 분리 - 건강한 23~25세 남성의 혈장에 aprotinine 0.002%, EDTA, NaN₃를 0.05%씩 섞어 잘 혼합한 후 KBr (d=1.006~1.025)를 가해 밀도를 조정하여 1차 초원심분리한다 (40,000 rpm, 4°C, 16 hr). 이때 분리된 VLDL을 제거하고 LDL이 포함된 분획을 취한 후 KBr(d=1.026~1.055)을 가하여 2차 초원심분리(40,000 rpm, 4°C, 24 hr)하여 LDL을 분리하였다.¹⁶⁾ 분리한 LDL을 pH 7.4의 phosphate-buffered saline(PBS)으로 48 시간 동안 4°C에서 투석하였다. LDL 중 단백질농도는 Lowry's method¹⁷⁾에 의해 결정하였다.

LDL의 산화 - LDL(400 μ g protein)과 1 mM CuSO₄ 16 μ 에 전체 부피가 1 ml이 되도록 PBS buffer(pH 7.4)를 섞어 37°C의 진탕교반기에서 4시간 배양하여 산화시킨 후 1 mM EDTA 20 μ 를 첨가하여 산화를 중지시켰다.¹⁸⁾

Thiobarbituric acid reactive substance(TBARS)의 측정 - 산화시킨 LDL 용액에 25% trichloroacetic acid 1 ml을 넣어 단백질을 침전시킨 후 그 상등액에 1% thiobarbituric acid 1 ml을 첨가하여 95°C에서 3~10분간 발색시킨 후 냉각 시켰다. 2,500 rpm에서 20분간 원심분리한 후 그 상등액을 취하여 532 nm에서 spectrophotometer를 이용하여 생성된 MDA의 양을 측정하였다.¹⁹⁾ MDA 표준시료로는 10 nM 1,1,3,3-tetraethoxy propane 용액을 사용하였으며 각 시료의 LDL 지질과산화 억제효과를 비교 검토하기 위해서 과산화지질 생성을 50% 억제하는데 필요한 시료의 농도(IC₅₀)를 구하였다.

결과 및 고찰

유리기 소거활성

속단의 MeOH 추출물 및 그의 용매분획에 대하여 유리기 소거활성을 측정한 결과는 Table I과 같다. 비극성인 CHCl₃ 및 극

Table I - The radical scavenging effect of *Dipsacus asper*

Group	IC ₅₀ (mg/ml) ^a
MeOH ex.	2.81
CHCl ₃ fr	5.45
EtOAc fr.	0.06
BuOH fr.	3.43
Water fr.	5.23
Ascorbic acid	0.06

^aDPPH radical scavenging activity was expressed as the the 50% inhibitory concentration.

Table II – The radical scavenging effects of compounds from *Dipsacus asper*

Group	IC ₅₀ (uM/ml) ^a
Compound 1	0.24
Compound 2	12.60
Ascorbic acid	0.33

^aDPPH radical scavenging activity was expressed as the 50% inhibitory concentration.

성인 water 분획이 가장 활성이 낮았으며 EtOAc 분획은 비교물질로 사용한 ascorbic acid와 같은 정도의 우수한 유리기 소거활성을 나타내었다. EtOAc 분획을 컬럼크로마토그래피를 실시하여 분리한 화합물 1(hederagenin 3-O- α -L-arabinopyranoside)의 유리기 소거활성은 두개의 당이 결합된 화합물 2에 비하여 우수한 항산화 활성을 나타내었으며 비교물질로 사용한 ascorbic acid보다 더 우수한 항산화 활성을 나타내었다(Table II). 이러한 결과는 saponin 성분도 속단의 dicaffeoylquinic acid 성분이 신경계의 산화적손상을 보호하는 작용이 있다는 김 등²⁰⁾의 보고와 같이 항산화 활성을 나타냄을 알 수 있었다.

저밀도지방단백질 산화에 미치는 영향

MeOH 추출물 및 그의 용매분획의 TBARS 분석을 실시하여 지질과산화물 50% 억제하는데 필요한 시료량(IC₅₀)을 측정한 결과는 Table III과 같다. 저밀도지방단백질 산화에 대한 억제 활성은 EtOAc 분획이 가장 우수하였으며 비교물질로 사용한 ascorbic acid보다 더 우수한 저밀도지방단백질 산화 억제작용을 나타내었다. EtOAc 분획에서 분리한 화합물 1에서도 역시 ascorbic acid보다 우수한 활성을 나타내어 화합물 1은 유리기 소거활성과 함께 저밀도지방단백질의 산화 억제작용이 우수함을 알 수 있었다(Table IV). 저밀도지방단백질의 산화적인 변형은 동맥경화의 주된 요인으로 알려져 있다.²¹⁾ 산화된 LDL은 높은 세포내 화학적 독성을 지님으로서 혈관 내피세포와 평활근세포의 국소적인 손상을 일으켜 동맥경화의 병변으로 작용하기도 한다.^{22,23)} LDL 산화억제제로서 selenium, α -tocopherol, β -carotene, ascorbic

Table III – Antioxidative effect of *Dipsacus asper* on the oxidation of LDL in the presence of Cupric sulfate

Group	IC ₅₀ (ug/ml)
CHCl ₃ fr	550.4
EtOAc fr.	5.6
BuOH fr.	150.3
Water fr.	250.0
Ascorbic acid	6.7

LDL (400 ug protein/ml) was incubated at 37°C in the presence of samples. Oxidation was initiated by the addition of CuSO₄. The liperoxide contents are expressed as IC₅₀ required sample amount (μ g/ml) for 50% inhibition of Cu²⁺-induced LDL lipid peroxidation.

Table IV – Effects of compounds from *Dipsacus asper* on Cu²⁺-induced LDL lipid peroxidation

Group	IC ₅₀ (uM/ml) ^a
Compound 1	0.01
Compound 2	0.55
Ascorbic acid	0.03

LDL was incubated at 37°C in the presence of samples. Oxidation was initiated by the addition of CuSO₄. The liperoxide content are determined by TBARS and expressed as IC₅₀ required sample amount (μ M/ml) for 50% inhibition of Cu²⁺-induced LDL lipid peroxidation.

acid, probucol 등을 대상으로한 다양한 연구가 행해졌으며²⁴⁾ LDL 산화적인 변형은 지질 과산화의 증가(TBARS activity의 증가)와 표면 음전하의 증가(electrophoretic mobility의 증가)에 의해 평가될 수 있다고 보고되었다.²⁵⁾ 또한 단백질의 산화적 변형은 Alzheimer's disease와 같은 뇌질환을 야기시킬 수 있으며²⁶⁾ Zhang *et al.*²⁷⁾은 속단의 추출물이 aluminium의 노출에 의해 유도되는 β -amyloid protein의 과다노출에 효과를 나타내어 치매 질환의 치료에 이용가능성이 있음을 보고하였다.

화합물 1의 구조 – 화합물 1은 Liebermann-Buchard test에 양성이고, IR spectrum에서 3398 cm⁻¹에서 O-H, 1693 cm⁻¹에서 acid, 1649 cm⁻¹에서 C=C 및 1000~1100 cm⁻¹에서 glycoside C-O 등에 의한 흡수를 볼 수 있다. 이 화합물은 산기수분해하여 aglycone으로서 hederagenin을 얻었으며, 구성당은 L-arabinose임을 그 표준과의 비교로써 확인하였다. FAB-MS spectrum에서는 m/z 627에서 [M-H]의 molecular ion peak가 나타나므로 화합물 1은 hederagenin에 1 mole의 arabinose가 결합되어 있음을 알 수 있다. ¹H-NMR spectrum에서는 δ 0.92-1.25에서 6개의 tertiary methyl singlet signal이 나타나고, δ 5.52에서 olefinic proton의 signal이 broad한 singlet으로 나타났다. 그리고, 1개의 anomeric proton signal이 δ 4.99에서 doublet(J=7.2 Hz)으로 나타나는 점으로 보아 구성당인 arabinose는 hederagenin에 결합하고 있음을 알 수 있다.²⁸⁾ ¹³C-NMR spectrum에서는 δ 106.6에서 1개의 anomeric carbon에 의한 peak가 나타나며, terminal arabinopyranose의 signal을 확인하였다.²⁹⁾ 또한, 이 화합물의 aglycone 부분을 hederagenin의 ¹³C-NMR chemical shift와 비교해 보면, C-3의 chemical shift가 δ 81.8으로 8.48 ppm downfield shift하고 C-2와 C-4의 chemical shift가 각각 -1.5 ppm, +0.6 ppm shift되며, C-23의 chemical shift가 δ 64.4로서 3.6 ppm upfield shift되었으며, C-28의 chemical shift가 δ 180.2에 나타난 점으로, arabinose는 hederagenin의 28번에 결합하지 않고 3번에 ether 결합하고 있음을 알 수 있다. 위의 결과로부터 화합물 1의 화학적 구조는 hederagenin 3-O- α -L-arabinopyranoside임을 확인하였으며, 이 화합물은 *Akebia quinata*로부터 분리된 akebia saponin PA³⁰⁾ 및 *Fatsia japonica*로부터 분리된 fatsiaside

B₁^{3D}과 동일한 화합물이다.

화합물 2의 구조 - 화합물 2는 Liebermann-Burchard test에 양성이며, IR spectrum에서 3350 cm⁻¹에서 O-H, 1725 cm⁻¹에서 ester, 1642 cm⁻¹에서 C=C 및 1100~1000 cm⁻¹에서 glycosidic C-O 등에 의한 흡수를 볼 수 있다. 이 화합물은 산 가수분해하여 hederagenin과 L-arabinose 및 D-glucose를 확인하였으며, FAB-MS spectrum에서는 [M-H]⁻의 molecular ion peak가 m/z 927에서 그리고 glucose 2 mol과 arabinose 1 mol이 각각 탈락된 fragment ion peak가 m/z 756, 603 및 471에서 나타나 aglycone의 분자량이 m/z 471이고, 여기에 arabinose 1 mol, glucose 2 mol이 결합되어 있음을 알 수 있었다. ¹H-NMR spectrum에서는 tertiary methyl proton에 기인하는 angular methyl signal이 δ 0.86, 0.87, 0.93, 0.98, 1.13, 1.17 ppm에서 singlet으로 관찰되고 있고, olefinic double bond에 기인하는 proton이 δ 5.41에서 관찰되고 있다. 또한 3개의 당에 기인하는 anomeric proton을 δ 4.98, 5.04 및 6.26 ppm에서 doublet으로

각각 J=7.2, 7.9, 8.0 Hz로 확인할 수 있었다. 특히, δ 6.26 ppm의 signal이 downfield shift하고 있는 것은 aglycon의 28-C에 당이 ester화 되어있는 것을 암시하는 것으로 본 화합물이 monodesmoside가 아닌 bisdesmoside 형태인 saponin임을 추정할 수 있었다. ¹³C-NMR 역시 angular methyl carbon의 signal이 δ 13.60, 13.60, 16.22, 16.22, 17.57, 17.57 ppm에서, 그리고 olefinic double bond에 기인하는 signal이 δ 144.14 및 122.90 ppm에서 관측되며, 특히 28-COOH에 기인하는 signal이 δ 176.5 ppm 그리고 3-carbon의 signal이 δ 81.9 ppm으로 각각 upfield, downfield shift 하고있어 ¹H-NMR의 bisdesmoside 형태의 saponin임을 뒷받침해주고 있다. 또한 anomer carbon signal이 δ 103.70, 106.71, 160.70 ppm에서 관측되며 95.65 ppm의 경우는 downfield shift 되어 나타나 28-carbon에 당이 ester화됨을 알 수 있었다. 이상의 실험결과 및 문헌과의 비교로 화합물 2를 bisdesmoside형태의 saponin인 O-δ-L-arabino pyranosyl hederagenin 28-O-β-D-glucopyranosyl(1→6)-β-D-glucopyranosyl ester로 확인하였으며, 이 화합물은 Higuchi *et al.*³²⁾이 *Akebia quinata*로부터 분리한 akebia saponin D와 동일한 화합물이다 (Fig. 1).

결론

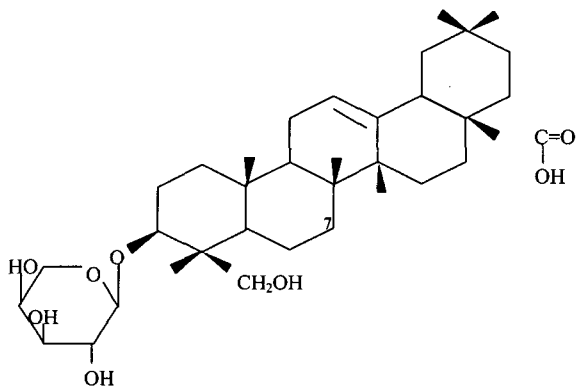
속단의 MeOH 추출물과 그의 CHCl₃, EtOAc, BuOH, water 분획에 대하여 DPPH를 이용한 유리기 소거작용과, 저밀도지방단백질의 산화 억제작용 및 활성 분획에서 분리한 성분들의 항산화 효과를 측정하였다. 각 용매분획 중 EtOAc 분획이 유리기 소거작용 및 저밀도지방단백질의 산화억제작용이 가장 우수하였으며 비교물질로 사용한 ascorbic acid와 비슷한 활성을 나타내었다. EtOAc 분획으로부터 saponin 배당체인 화합물 1(hederagenin 3-O-α-L-arabino pyranoside)을 분리하였으며 이 성분은 비교물질인 ascorbic acid 보다 우수한 항산화 활성을 나타내어 항산화 작용을 나타내는 활성성분으로 사료된다.

감사의 말씀

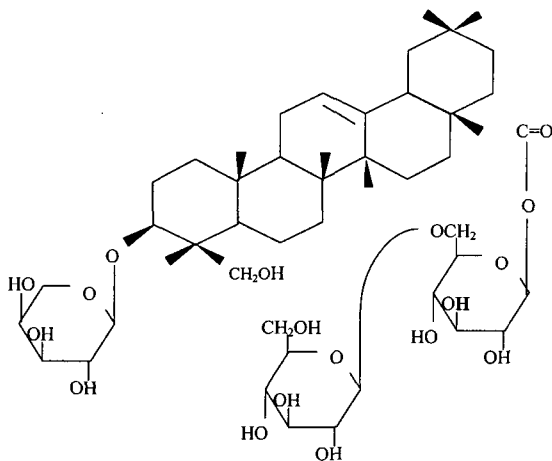
이 논문은 2004년도 숙명여자대학교 교비연구비의 지원에 의하여 이루어졌으며 이에 감사드립니다.

참고문헌

- 1) 이상인, 안덕균, 신민교, 노승현, 이영중, 김선희 : 한약임상응용, 정보사, 서울 p. 346 (1986).
- 2) 진존인 : 도설 한방의약대사전 (중국약학대전), 동도문화사, 서울 p.376 (1984).
- 3) Kouno, I., Tsuboi, A., Nanri, M. and Kawano, M. : Arylated



Hederagenin 3-O-α-L-arabinopyranoside



(3-O-α-L-arabinyranosyl hederagenin -28-O-β-D-glucopyranosyl(1→6)-β-D-glucopyranosyl ester)

Fig. 1 - Chemical structures of compounds from isolated from *Dipsacus asper*.

- triterpene glycoside from the roots of *Dipsacus asper*. *Phytochem.* **29**, 338 (1990).
- 4) Jung, K. Y., Do, J. C. and Son, K. H. : Triterpene glycosides from the roots of *Dipsacus asper*. *J. Nat. Prod.* **56**, 1912 (1993).
 - 5) Tomita, H. and Mouri, Y. : An iridoid glucoside from *Dipsacus asperoides*. *Phytochem.* **42**, 239 (1996).
 - 6) Jung, K. Y. : Studies on the terpenoid constituents from the roots of *Dipsacus asper*. Ph.D. Thesis, Yeungnam University (1995).
 - 7) Oh, S. R., Jung, K. Y., Son, K. H., Park, S. H., Lee, I. S., Ahn, K. S. and Lee, H. K. : *In vitro* anticomplementary activity of hederagenin saponins isolated from root of *Dipsacus asper*. *Arch. Pharm. Res.* **22**, 317 (1999).
 - 8) Suh, H. W., Song, D. K., Son, K. H., Wie, M. B., Lee, K. H., Jung, K. Y., Do, J. C. and Kim, Y. H. : Antinociceptive mechanisms of *Dipsacus* saponin C administered intracerebroventricularly in the mouse. *Gen. Pharmac.* **27**, 1167 (1996).
 - 9) Suh, H. W., Song, D. K., Huh, S. O., Son, K. H. and Kim, Y. H. : Antinociceptive mechanisms of *Dipsacus* saponin C administered intrathecally in the mouse. *J. Ethnopharmacol.* **71**, 211 (2000).
 - 10) Hung, T. M., Jin, W. Y., Thuong, P. T., Song, K. S., Seong, Y. H. and Bae, K. H. : Cytotoxic saponins from the root of *Dipsacus asper* Wall. *Arch. Pharm. Res.* **28**, 1053 (2005).
 - 11) Halliwell, B. : Drug antioxidant effects, A basis for drug selection. *Drugs* **42**, 569 (1991).
 - 12) Fukujawa, K. and Takaishi, Y. : Antioxidants. *J. Act. Oxyg. Free Rad.* **1**, 55 (1990).
 - 13) 皆川信子 : 活性酸素が關與する代表的疾患. *フアルマシア* **29**, 1029 (1993).
 - 14) Luc, G. and Fruchart, J. C. : Oxidation of lipoproteins and atherosclerosis. *Am. J. Clin. Nutr.* **53**, 206 (1991).
 - 15) Inkeda, N. and Fukuzume, K. : Tocopherols as antioxidants in oxidation of methyl linolate. *J. Japan Oil Chem. Soc.* **26**, 343 (1977).
 - 16) Converse, C. A. and Skinner, E. R. : *Lipoprotein analysis, A practical approach*. Oxford University, New York p. 113 (1992).
 - 17) Lowry, O. H., Rosebrough, N. J., Farr, A. L. and Randall, R. J. : Protein measurement with the Folin-Phenol reagent. *J. Biol. Chem.* **193**, 265 (1951).
 - 18) Choi, J. H., Park, Y. J., Son, H. S., Yang, K. S. and Kim, T. W. : Functional properties of modified low density lipoprotein and degradation of modified LDL by human monocyte macrophage. *J. Kor. Soc. Food Nutr.* **24**, 362 (1995).
 - 19) Chiu, H. C., Jeng, J. R. and Shieh, S. M. : Increase of oxidizability of plasma low density lipoprotein from patients with coronary artery disease. *Biochim. Biophys. Acta* **12**, 200 (1994).
 - 20) Kim, S. S., Park, R. Y., Jeon, H. J., Kwon, Y. S. and Chun, W. : Neuroprotective effects of 3,5-dicaffeoylquinic acid on hydrogen peroxide-induced cell death in SH-SY5Y cells. *Phytother. Res.* **19**, 243 (2005).
 - 21) Ide, N., Nelson, A. B. and Lau, B. H. : Aged galic extract and its constituents inhibit Cu²⁺-induced oxidative modification of low density lipoprotein. *Planta Medica* **63**, 263 (1997).
 - 22) Palinski, W., Rosenfeld, M. E., Yla, H. S., Gurtner, G. C., Socher, S. S., Butler, S. W., Parthasarathy, S., Carew, T. E., Steinberg, D. and Witztum J. L. : Low density lipoprotein undergoes oxidative modification *in vivo*. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **86**, 1372 (1989).
 - 23) Hodis, H. N., Kramsch, D. M., Avogaro, P., Bittolo-Bon, G., Cazzolato, G., Hwang, J., Peterson, H. and Sevanian, A. : Biochemical and cytotoxic characteristics of an *in vivo* circulating oxidized low density lipoprotein (LDL). *J. Lipid Res.* **35**, 669 (1994).
 - 24) Yan, L. J., Droy-Lefaix, M. T. and Packer, L. : *Ginkgo biloba* extract (EGb 761) protects human low density lipoproteins against oxidative modification mediated by copper. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **212**, 360 (1995).
 - 25) Jialal, I., Norkus, E. P., Cristol, L. and Grundy, S. M. : β -Carotene inhibits the oxidative modification of low-density lipoprotein. *Biochem. Biophys. Acta* **1086**, 134 (1991).
 - 26) Korolainen, M. A., Goldsteins, G., Nyman, T. A., Alafuzoff, I., Koistinaho, J. and Pirttila, T. : Oxidative modification of proteins in the frontal cortex of Alzheimer's disease brain. *Neurobiol. Aging.* **27**, 42 (2005).
 - 27) Zhang, Z. J., Qian, Y. H., Hu, H. T., Yang, J. and Yang, G. D. : The herbal medicine *Dipsacus asper* Wall extract reduces the cognitive deficits and overexpression of beta-amyloid protein induced by aluminum exposure. *Life Sci.* **73**, 2443 (2003).
 - 28) Mahato, S. B., Ganguly, A. N. and Sahu, N. P. : Steroid saponins. *Phytochem.* **21**, 959 (1982).
 - 29) Seo, S., Tori, Y. and Yoshimura, Y. : Detection of the absolute configuration of a secondary hydroxyl group in a chiral secondary alcohol using glycosidation shifts in carbon-13 nuclear magnetic resonance spectroscopy. *J. Am. Chem. Soc.* **100**, 3331 (1978).
 - 30) Chandel, R. S. and Rastogi, R. P. : Triterpenoidal saponins: 1973~1978. *Phytochem.* **19**, 1889 (1980).
 - 31) Mahato, S. B., Sarkar, S. K. and Poddar, F. : Terpenoid saponins. *Phytochem.* **27**, 3037 (1988).
 - 32) Higuchi, R. and Kawaski, T. : Seed saponins of *Akebia quinata* Decne. II. Hederagenin 3,28-O-bisglycosides. *Chem. Pharm. Bull.* **20**, 2143 (1972).