

楳木皮의 항산화 효능 연구

김인수^{#1}, 성낙술², 이영종^{*1}

1: 경원대학교 한의과대학 본초학교실, 2: 작물과학원 인삼약초연구소

A Study on the Anti-oxidative Effects of the Araliae Elatae Cortex

In-Soo Kim^{#1}, Nak-Sul Seong², Young-Jong Lee^{*1}

1: Dept. of Herbology, College of Oriental Medicine, Kyungwon University
Seongnam 461-701, Korea
2: National Crop Experiment Station, RDA, Suwon 441-100, Korea

ABSTRACT

Objectives : The trunk-bark and the root of *A. elata* were compared with each other in terms of their anti-oxidative activities.

Methods : Using the trunk-bark and the root of *A. elata*, their anti-oxidative activities were examined through the in vitro and in vivo experiments.

Results : The trunk-bark of *A. elata* *in vitro* had weaker anti-oxidative activities than its root. However, the trunk-bark of *A. elata* *in vivo* had stronger anti-oxidative activities than the root in the rats which was oxidatively stressed by alcohol.

Conclusion : These results suggested that the trunk-bark of *A. elata* was also useful as a medicine.

Key Words : *Aralia elata* Seemann, Araliae Elatae Cortex, anti-oxidative activities.

* 교신저자 : 이영종. 경기도 성남시 수정구 복정동 산 65, 경원대학교 한의과대학 본초학교실.

· Tel: 031-750-5415 · E-mail : garak@kyungwon.ac.kr

제1저자 : 김인수, 경원대학교 한의과대학 본초학교실

· 접수 : 2007년 11월 12일 · 수정 : 2007년 12월 11일 · 채택 : 2007년 12월 21일

서 론

楳木皮는 우리나라와 중국의 공정서에는 수재되지 않았지만, 日本藥局方外 生藥規格¹⁾에는 “タラ根皮 (Araliae Cortex)”라는 이름으로 수재되어 “두릅나무(Araliaceae)에 속하는 두릅나무 Aralia elata Seemann의 根皮”로 규정되어 있으며, 北韓藥典²⁾에는 같은 식물의 줄기나 뿌리의 껍질을 벗겨 겉껍질을 벗긴 다음 햇볕에 말려 사용한다고 하였다.

楳木皮는 本經拾遺³⁾에 “楳木 白皮 氣味辛平 有小毒。主治水癰。煮汁服一盞，當下水。如病已困，取根搗碎，坐之取氣，水自下。又能爛人牙齒，齒有蟲者，取片許內孔中，當自爛落。生江南山谷。高丈餘，直上無枝，莖上有刺。山人切取頭茹食，謂之吻頭。”라고 처음 수재된 이후, 임상에서 祛風濕, 利小便, 敷瘀血, 消腫毒의 효능이 있어 風濕性 관절염, 腎炎水腫, 肝硬化 腹水, 급만성 肝炎, 胃痛, 淋濁, 血崩, 跌打損傷, 瘰瘍, 瘰腫 등의 질환에 뿌리 또는 줄기 껍질이 사용되고, 어린 잎순은 식용으로 사용되고 있다⁴⁾.

두릅나무의 성분에 대해서는 Jiang 등⁵⁾이 뿌리에 있는 10여종의 araloside에 대하여 보고한 아래, 사포닌에 대한 연구가 지속적으로 이루어져 elatosides, oleanolic acid saponins, congmuyenosides, cerebroside 등과 새로운 사포닌 성분들이 지속적으로 보고되고, 휘발성 향기성분에 대해서도 보고된 바 있다. 두릅나무의 효능에 대해서는 항균효능 및 간독성 완화, 항산화 및 고지혈증에 대한 효과, 항암효과, 당뇨에 대한 효과 등이 보고되었다.

이에 저자는 楳木皮의 樹皮와 根皮의 항산화 효능을 비교하기 위하여, 樹皮와 根皮 전탕액의 항산화효능을 검사하여 유의한 결과를 얻었기에 보고하는 바이다.

실 험

1. 재료

1) 약재

두릅나무(Aralia elata Seemann)는 2005년 3월, 경동시장에서 국산을 樹皮와 根皮로 구분하여 구입한 후 경원대학교 본초학교실에서 감정하여 사용하였다.

2) 동물

in vivo 실험용 동물로는 Sprague/Dawley 계의 수컷 흰쥐를 2 주일 이상 사육장 환경에 적응시킨 후 사용하였다. 사육장은 인공조명설비에 의하여 조명시간을 오전 7:00부터 오후 7:00까지 12시간으로 조절하며, 실내온도는 22±1°C, 습도는 60% 내외로 유지하였고, 급수는 일반 상수도를 사용하였고 사료와 급수는 제한하지 않았다. 정상사료를 食餌하면서 사육한 후에 체중이 250±10g인 개체를 실험에 사용하였다.

3) 시약

Dimethyl sulfoxide(DMSO), 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl(DPPH), glutathione(GSH), linoleic acid, methyl pyrazole, diphosphopyridine nucleotide(NAD⁺), nitro blue tetrazolium chloride monohydrate(NBT), sodium nitrite, sodium azide, sodium pyrophosphate, dithiobis, trypan blue, pyrophosphate, ferrous-chloride, magnesium chloride, phosphoric acid, phenazine methosulfate(PMS), rotenone, semicarbazide-HCl 등은 SIGMA 제품, ammonium thiocyanate, acetaldehyde, formaldehyde, formamide, glutamine, hydrogen peroxide, silymarin group, tannic acid, trichloroacetic acid, ammonium thiocyanate 등은 Aldrich 제품, RPMI-1640(Rosewell Park Memorial Institute-1640), Dulbecco's modified eagle medium(DMEM), bovine calf serum(BCS), trypsin-EDTA 등은 JBI(Join Bio-Innovation, Korea) 제품, penicillin-streptomycin은 Cambrex 제품, ethanol은 J.T.Baker 제품, xanthine oxidase는 Calbio 제품, isofurane은 중외제약 제품을 사용하였다.

2. 방법

1) 검액의 조제

in vivo 실험에는 전탕액을, 그리고 in vitro 실험에는 전탕 액스 분말을 사용하였다. 약제를 냉각기가 부착된 둥근 플라스크에 넣은 후, 10-15 배량의 증류수를 첨가한 다음, 플라스크 탕액이 끓는 시점으로부터 2시간 동안 전탕하였다. 전탕이 끝난 용액을 4 겹의 거어즈로 여과한 후 여과액을 비이커에 옮겨 넣고 가열하여 농축하였고, 농축된 전탕액을 적당량으로 분주하여 냉동 보관하면서 실험에 사용하였다. 조제된 楳木皮 樹皮 전탕액 및 根皮 전탕액의 농도는 1.25g drug/ml 이었다.

in vitro 실험을 위한 시료는 준비된 전탕액을 동결건조기로 완전 건조한 분말을 사용하였다. 樹皮 전탕액으로부터 얻은 분말의 수율($100 \times$ 최종분말의 중량 / 전탕에 사용된 약재의 중량)은 8.2%이었으며, 根皮 전탕액으로부터 얻은 분말의 수율은 5.4%였다.

2) 산화반응 억제효과 측정

(1) DPPH 소거능

DPPH 라디칼 소거능은 Lee 등⁶⁾의 방법에 따라 실시하였다. $1.5 \times 10-4M$ 의 농도로 에탄올에 녹여 조제한 DPPH 반응액과 일정농도의 시료를 $30\text{ }\mu\text{l}$ 를 첨가해 최종 부피가 3 ml 가 되게 혼합하고 3분 후에 517 nm 에서 흡광도를 측정하여 소거능(%)을 산출하였다.

(2) Superoxide anion radical 소거능

Superoxide anion radical 소거능은 Nishikimi 등⁷⁾의 방법에 따라 실시하였다. 시료 $500\text{ }\mu\text{l}$, $0.1M$ Tris-HCl 완충액(pH 8.5) $100\text{ }\mu\text{l}$, $100\mu\text{M}$ PMS $200\text{ }\mu\text{l}$, $500\mu\text{M}$ NBT $200\text{ }\mu\text{l}$ 및 $500\mu\text{M}$ NADH $400\text{ }\mu\text{l}$ 를 가해 560 nm 에서 흡광도를 측정하고 시료를 함유하지 않은 용매에 대한 소거율(%)로 결과를 나타내었다.

(3) Linoleic acid 과산화저해

Linoleic acid 과산화저해율은 Hashimoto 등⁸⁾의 방법에 따라 실시하였다. 25 mg/ml 농도의 시료용액 $30\text{ }\mu\text{l}$, linoleic acid $400\text{ }\mu\text{l}$, phosphate buffer $800\text{ }\mu\text{l}$, 증류수 $770\text{ }\mu\text{l}$ 를 가해 반응 혼합물을 만들어 40°C 에서 자동산화를 유발하였다. 이 반응액 0.1 ml 을 24시간 후 취해 0.1 ml 의 30% NH4SCN 및 75% 에탄올 2.7 ml 와 혼합한 액에 2.45 mg/ml 농도의 ferrous chloride 0.1 ml 을 가해 혼합하고 3분 후 500 nm 에서 흡광도를 측정하여 용매를 사용한 대조군의 흡광도에 대한 저해율(%)로서 항산화 효과를 나타내었다.

(4) 총페놀 함량

페놀 함량은 Kim 등⁹⁾의 방법에 따라 실시하였다. 시료액 $100\text{ }\mu\text{l}$ 과 2% Na2CO3 2 ml 및 50% Folin-Ciatalteau 시약 $100\text{ }\mu\text{l}$ 를 혼합하고 30분 후 흡광도를 750 nm 에서 측정한 후 얻어진 흡광도를 tannic acid를 표준물질로 사용한 검량선에 균거하여 산출하였다.

3) 산화 동물모델에서의 항산화 효과 측정

(1) 산화적 스트레스 유발 및 약재투여

Sprague-Dawley계 수컷 흰쥐를 2주일간 예비 사육한 후, 에탄올 단독투여군인 대조군(control), 강력한 항산화제인 silymarin (1 g/kg body weight/day)

투여군, 그리고 검액투여군 등으로 실험군을 나누어, 모든 실험군에 2주일 동안 매일 마리당 30% 에탄올 3.0 ml 을 경구투여하여 산화적 스트레스를 유발하였다(Table 1).

Table 1. Experimental Design for *in vivo* Test for 2 Weeks

Groups	Ethanol	Administrations
Control Silymarin Experimental group	Yes	Saline
	Yes	Silymarin (1 g/kg body weight/day)
	Yes	Ext. (2.5 g/kg body weight/day)

산화적 스트레스 유발과 동시에 실험군에는 楠木樹皮 전탕액(1.25 g drug/ml)과 根皮 전탕액(1.25 g drug/ml)을 2주일 동안 매일 1회에 걸쳐 $17:00-18:00$ 시에 개체당 0.5 ml (= 0.625 g/day)씩 경구투여 하였다. 成人의 경우에 楠木皮 하루 투여량이 30 g 임을 고려할 때, 이를 체중 250 g 의 흰쥐에게 투여하는 량으로 환산하면 0.125 g/day 이므로, 본 연구에서 투여한 약재의 양은 약 5 배량에 상당하였다. 대조군에는 전탕액 대신에 생리식염수(0.85% NaCl)를, 실리마린(silymarin) 투여군에는 실리마린(silymarin; 1 g/kg body weight/day)을 투여하였다.

(2) 간장 적출 및 효소액 조제

간장은 0.9% 의 식염수로 관류한 후 적출하여 세척하고 여과지로 수분을 제거한 다음 -70°C 의 냉동고에 보관하면서 사용하였으며, 조직 균질액 및 효소액 준비과정은 Fig. 1과 같다. 간장 1 g 에 10.0 ml 의 $0.1M$ phosphate buffer를 가한 다음 냉동상태에서 마쇄하였다. 마쇄한 용액을 $600\times g$ 로 15분간 원심분리하였으며, 상등액 1.0 ml 을 취하여 GSH(glutathione) 함량측정에 사용하였다. 나머지 9.0 ml 을 $8,000\times g$ 로 10분동안 재원심분리하여 얻은 침전물에 1.0 ml 의 50 mM PBS(phosphate buffered saline, pH 7.0)을 가하여 catalase 및 acetaldehyde dehydrogenase(ALDH) 활성측정에 사용하였다. 상등액은 $105,000\times g$ 에서 1시간동안 초원심분리한 다음 그 상등액을 superoxide dismutase (SOD), GSH-peroxidase 및 alcohol dehydrogenase(ADH) 측정용 시료로 사용하였다(Fig. 1).

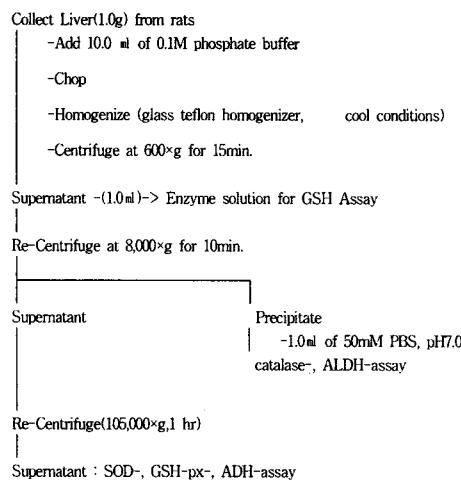


Fig. 1. Preparation of tissue homogenate and enzyme solution from rat liver.

(3) GSH 함량 측정

GSH의 함량은 Ellman 등10)의 방법에 따라 간(liver)조직의 분쇄액을 준비하여 측정하였다. 균질화한 액을 20분간 원심분리(1,000×g, 40C)하여 상층액을 취하였다. 마쇄하여 얻은 homogenate액에 0.1% picric acid를 첨가한 다음, 3,000 rpm에서 15분간 원심분리하였다. 그 상층액을 취하여 0.2 mM NADPH, 0.6 mM DTNB, 5 mM EDTA 및 glutathione reductase가 포함된 0.1 M pot, phosphate buffer(pH 7.5)를 첨가하여 412 nm에서 30초 간격으로 3분간 흡광치변화를 측정하였다.

(4) Glutathione peroxidase(GSH-px) 활성 측정

GSH-px 활성은 Flohe11)의 방법에 따라 측정하였다. 1×10-3M sodium azide와 1 mM EDTA를 함유하는 0.1 M potassium phosphate buffer (pH 7.0) 500 μL, 효소액 100 μL, glutathione reductase (2.768 U/mL) 100 μL, 1×10-2M glutathione 100 μL을 혼합, 37°C에서 10분 동안 예비 배양한 후 이 반응액에 0.1% NaHCO3에 녹인 1.5×10-3M NADPH 100 μL를 가해 1분간 그리고 1.5×10-3 M H2O2 100 μL를 가한 후 다시 1분간 340nm에서 흡광도를 측정하였다. 결과는 흡광도와 NADPH의 molecular extinction coefficient ($E=6.22 \times 10^6 \text{ cm}^{-1}$)로부터 효소액과 blank의 1분간의 NADPH 농도의 변화 ($\Delta[\text{NADPH}]/\text{min.}$)를 산출하고 이 효소액의 수치에서 blank의 수치와 GSH-px와 관련없는 인자에 의해 나타나는 $\Delta[\text{NADPH}]/\text{min.}$ 를 빼준 값을 다음의 식에 대입하여 GSH-px의 활성 ($U_k/\text{mg protein}$)을 산출하였다.

$$U_k = 0.868(\Delta[\text{NADPH}]/[\text{GSH}_0]) \times t \times (V_i/V_s)$$

V_i/V_s : 희석배수,

V_i : incubation volume,

V_s : initial sample volume,

GSH_0 : glutathione의 초기 농도

(5) Superoxide dismutase (SOD) 활성 측정

SOD 활성은 Pttichis 등12)의 방법에 따라 측정하였다. 15mM sodium xanthine(in 0.1M NaOH) 1.0 mL 와 10mM hydroxylamine hydrochloride 0.1 mL, 원심분리한 조직상등액 10μL 그리고 1/15M phosphate buffer(pH7.8) 1.49 mL를 혼합한 후 37°C에서 10분간 예열하였다. 여기에 xanthine oxidase (0.1U/mL) 200 μL를 가하고 다시 37°C에서 20분간 배양후, 0.05% sulfanilamide 0.1 mL, 0.02% N-(1-naphthyl)ethylenediamine 0.1 mL를 가한 후 실온에서 20분간 방치한 후 595 nm에서의 흡광치변화를 측정하였다. 이와 함께 표준 SOD를 사용하여 동일한 과정을 행하여 표준 검량선을 얻었으며, 시료의 단백질함량을 반영하여 활성(unit/mg protein)을 나타내었다.

(6) Catalase 활성 측정

Catalase 활성은 Abei13)의 방법에 따라 측정하였다. 0.1 mL의 원심분리한 상등액, 기질인 10.5 mM H2O2 그리고 50mM potassium phosphate buffer (pH 7.0)를 혼합하여 3mL이 되게 한 후 25°C에서 30초 동안 반응시켰으며, 이 반응액을 240nm에서 H2O2의 흡광도 변화로 효소 활성을 측정하였고, 효소활성 ($k/\text{mg protein}$)은 1분간 1μM H2O2를 분해시키는 데 요구되는 효소량으로 나타내었다.

(7) Alcohol dehydrogenase(ADH) 활성 측정

Tottmar 등14)의 방법에 따라 측정하였다 0.2 M ethanol 0.1 mL, 0.5 M semicarbazide 0.02 mL, 0.1 M NAD (in 0.01M HCl) 0.02 mL 및 0.1 M Tris buffer (pH 8.5) 2.0 mL를 혼합한 다음, 30°C로 온도를 조정하였다. 이 혼합액에 미리 준비된 효소액 0.1 mL를 가하여 파장 340nm에서 1 분간의 흡광도변화를 측정하였으며, 생성된 NADH의 양을 활성으로 환산하였으며, 계산식은 다음과 같았다.

$$\begin{aligned}
 & (\Delta A_{340}/\text{min}) \times (\text{reaction vol}) \times \\
 & \text{units/} \quad (\text{dilution factor}) \\
 & \text{mL} = \frac{\text{(sample vol)} \times 6.22}{\text{(sample vol)} \times 6.22}
 \end{aligned}$$

$$\text{protein} = \frac{\text{Activity (units/ml)}}{\text{mg protein / ml of sample}}$$

(Note) 6.22 : millimolar extinction coefficient of NAD⁺ at 340nm

(8) Acetaldehyde dehydrogenase(ALDH) 활성측정

ALDH활성은 Tottmar 등¹⁴⁾의 방법에 따라 측정하였다. 75mM phosphate buffer(pH8.8) 0.4ml에 증류수 70μl, 12 mM NAD 70μl, 12 mM magnesium chloride 70μl, 2.4 mM 4-methyl pyrazole 70μl, 8 mM rotenone(in MeOH) 2 μl를 혼합한 다음, 준비된 효소용액 0.1 ml을 첨가하였으며, 5mM acetaldehyde 0.1ml을 가하여 반응을 시작하였다. 반응은 30°C에서 시행하였고, 340nm에서 1분간 흡광도 측정하여 생성된 NADH의 량을 활성으로 환산하였으며, 계산식은 다음과 같았다.

$$\text{ml} = \frac{\text{units/mg}}{\text{sample vol}} \times (\Delta A_{340}/\text{min}) \times (\text{reaction vol}) \times \frac{(\text{dilution factor})}{6.22}$$

(Note) 6.22 : millimolar extinction coefficient of NAD⁺ at 340nm

(9) 단백질 함량 정량

단백질함량은 Bradford¹⁵⁾의 방법에 따라 실시하였고, 검량표준곡선 작성을 위한 표준단백질로는 BSA(bovine serum albumin)를 사용하였다.

5) 통계처리

in vivo 실험으로부터 얻은 결과들의 실험군별 상호비교를 위한 평균치는 평균 ± 표준오차(Mean±S.E.)로써 산출하였다. 실험군 간의 유의성 검증은 student's t-test 분석방법을 이용하여 결정하였으며 p-value가 0.05 미만인 경우에 그 유의성을 인정하였다.

in vitro 실험으로부터 얻은 결과들의 평균치는 평균±표준편차(Mean±SD)로써 산출하였다.

성 적

1. 산화반응에 대한 영향

1) DPPH 소거능

樟木皮 樹皮 및 根皮의 전탕액을 냉동건조하여 준비한 시료의 DPPH 소거능을 측정하였으며, 이 때 항산화제인 butylated hydroxy toluene(BHT)의 DPPH 소거활성을 함께 측정하여 상호 비교하였다. 62.5, 125, 250, 500, 1,000 μg/ml의 시료를 사용하였을 때, 樹皮 전탕 액스 분말의 DPPH 소거능은 각각 30.4%, 49.5%, 65.0%, 78.1% 및 81.5%이었다. 시료의 양이 증가함에 따라 DPPH 소거능 또한 증가하였으나, 시료 양이 500 μg/ml 이상인 경우에는 소거활성의 증가율이 둔화되었다. 根皮 전탕 액스 분말의 DPPH 소거능은 각각 8.7%, 18.4, 29.6%, 54.8% 및 85.8%로, 시료의 양이 증가함과 정비례하여 DPPH 소거능 또한 증가하였다. 전반적으로 樹皮 전탕 액스 분말의 DPPH 소거활성이 根皮의 경우보다 더 강한 활성을 보였다. BHT의 DPPH 소거활성은 62.5, 125, 250, 500, 1,000 μg/ml의 농도에서 69.5%, 78.2%, 86.3%, 94.3% 및 96.5%로 역시 BHT농도가 증가함에 따라 소거활성이 증가하였다. 농도 125 μg/ml을 기준으로 비교하였을 때, 樹皮는 BHT의 약 60%, 根皮는 BHT의 약 25%의 DPPH 소거활성을 보였다(Fig. 2).

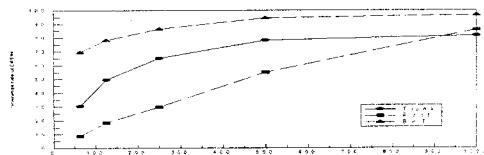


Fig. 2. DPPH-scavenging activities of the Araliae Elatae Cortex.

DPPH: 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl

Trunk: Extract powder prepared from the Araliae Elatae Trunci Cortex

Root: Extract powder prepared from the Araliae Elatae Radicis Cortex

BHT: Butylated hydroxy toluene

2) Superoxide anion radical 소거능

樟皮 및 根皮 전탕액을 냉동건조한 시료의 superoxide anion radical 소거능(scavenging activity)을 측정하였다. 시료 100, 300, 500, 700 μg/ml (=mg/kg)의 농도를 첨가하였을 때, 樹皮 전탕 액스 분말의 superoxide anion radical 소거능은 각각 0.0%,

20.3%, 32.5% 및 41.4%였으며, 300 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 이상에서 첨가된 경우에는 시료의 양에 비례하여 소거능이 증가하였다. 根皮 전탕 액스 분말 100, 300, 500, 700 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 의 시료를 사용하였을 때 superoxide anion radical 소거능이 각각 170.0%, 42.6%, 52.5% 및 56.8%로, 역시 시료의 양이 증가함에 따라 소거능 또한 증가하였다. 樹皮 추출분말과 根皮 추출분말을 비교하였을 때, 300 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 이 첨가된 경우에는 根皮 추출분말이 樹皮 추출분말에 비하여 약 2 배의 superoxide anion radical 소거활성을 보였다(Fig. 3).

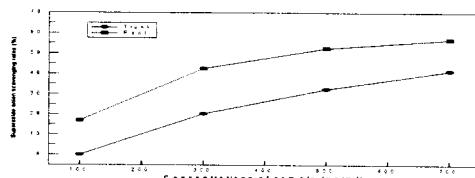


Fig. 3. Superoxide anion radical scavenging effects of the *Araliae Elatae Cortex*.

Trunk: Extract powder prepared from the *Araliae Elatae Trunci Cortex*

Root: Extract powder prepared from the *Araliae Elatae Radicis Cortex*

3) Linoleic acid 과산화 저해 효과

불포화 유리지방산의 일종인 linoleic acid에 대한 樹皮 추출물 및 根皮 추출물의 산화억제 활성(oxidation inhibition)을 측정하였으며, 이 과정에서 항산화제로 널리 활용되고 있는 BHT(butylated hydroxy toluene)와 vitamin C(ascorbic acid; AA)의 산화억제 활성을 아울러 검사하여 비교하였다. 樹皮 추출물, 根皮 추출물 및 BHT의 산화억제 활성은 초기에 각각 2.4%, 3.2% 및 2.7%로 유사하였고, 40시간째에는 91.5, 90.2, 92.0%, 86시간째에는 95.2, 93.5, 97.3% 등 전반적으로 거의 유사하였다. 비타민 C의 경우에는 초기산화억제효율이 45.4%로 상대적으로 월등하게 강하였다. 항산화제로 널리 활용되고 있는 ascorbic acid의 초기 산화억제율은 45.4%로 다른 세 경우보다 훨씬 높은 억제효율을 보였으나, 40시간 이후에는 산화억제율이 저하되었다(Fig. 4).

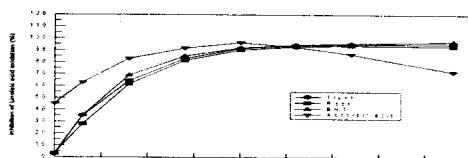


Fig. 4. Inhibition effects of the *Araliae Elatae Cortex* on the

linoleic acid oxidation in liver.

Trunk: Extract powder prepared from the *Araliae Elatae Trunci Cortex*

Root: Extract powder prepared from the *Araliae Elatae Radicis Cortex*

BHT: Butylated hydroxy toluene

AA: Ascorbic acid

4) 페놀성 성분의 함량

楳木皮 樹皮 전탕액 및 根皮 전탕액으로부터 얻은 분말에 포함되어 있는 페놀성 물질의 함량을 조사하였다. 페놀성 성분의 함량측정을 위하여 작성된 tannic acid의 표준곡선은 Fig. 5와 같았다.

樹皮 전탕 액스 분말에는 페놀성 성분이 86.32 $\mu\text{g}/\text{mg}$, 그리고 樹皮 전탕 액스 분말에는 42.51 $\mu\text{g}/\text{mg}$ 의 페놀성 성분이 함유되어 있어, 根皮보다 樹皮에 약 2 배의 페놀성 성분의 함유되어 있었다(Table 2).

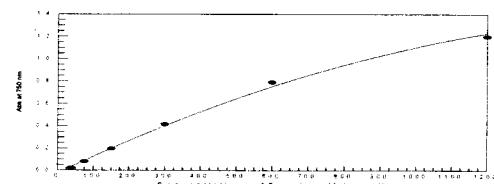


Fig. 5. Standard curve of tannic acid for the determination of phenolic compounds.

Table 2. The Contents of Phenolic Compounds in the *Araliae Elatae Cortex*

Samples	Contents of phenolic compounds in water extract powders(Mean±SD; n=4)	
	Stem	Root
Stem	86.32 ± 0.01 ($\mu\text{g}/\text{mg}$ of sample)	42.51 ± 0.02 ($\mu\text{g}/\text{mg}$ of sample)
Root		

Stem: Extract powder prepared from the *Araliae Elatae Trunci Cortex*

Root: Extract powder prepared from the *Araliae Elatae Radicis Cortex*

2. 흰쥐 간에서의 항산화 효능

1) GSH 함량

흰쥐에 에탄올을 투여하여 산화적 스트레스를 유발하고, 楂木皮 樹皮 전탕액과, 根皮 전탕액 그리고 항산화제인 실리마린(silymarin) 투여군을 에탄올만 투여하여 스트레스만 유발한 대조군과 비교하였다.

대조군의 GSH 함량은 $6.0 \pm 0.6 \mu\text{g/g}$ tissue였으며, 실리마린 투여군은 $14.1 \pm 1.0 \mu\text{g/g}$ tissue로 대조군의 235%에 달하는 높은 수준이었다. 樹皮 전탕액 투여군의 GSH 함량은 $12.4 \pm 1.2 \mu\text{g/g}$ tissue로 대조군의 206%로 현저하게 상승되었다($p < 0.01$). 이에 비하여 根皮 전탕액 투여군의 GSH 함량은 $6.6 \pm 1.0 \mu\text{g/g}$ tissue로 대조군과 유의한 차이를 보이지 않았다 (Fig. 6).

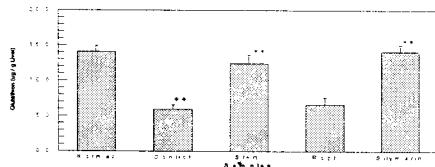


Fig. 6. Effect of the decoction(2.5g drug/kg body weight/day) prepared from Araliae Elatae Cortex on the glutathione contents after chronic ethanol intake during 14 days in rat liver.

Normal: Not administrated with ethanol or drug

Control: Administrated with ethanol(3.0ml of 30% ethanol)

Stem: Administrated with decoction of A. Elatae Trunci Cortex

Root: Administrated with decoction of A. Elatae Radicis Cortex

Silymarin: Administrated with silymarin(1g/kg body weight/day)

*: compared to normal group, **: compared to control group

(++, **: $p < 0.01$)

2) GSH-px 활성

에탄올을 경구투여한 대조군의 GSH-px 활성은 $3.3 \pm 0.1 \text{U/mg protein}$ 이었으며, 이는 에탄올을 투여하지 않은 정상군(4.4 ± 0.2)에 비하여 현저하게 저하되었다($p < 0.01$). 항산화제인 실리마린 투여군의 활성은 $4.2 \pm 0.1 \text{U/mg protein}$ 으로 대조군의 127 %에 달하였으며, 대조군과 비교하였을 때 GSH-px 활성이 현저하게 상승되었다($p < 0.01$). 에탄올 투여와 더불어 樹皮 전탕액을 병행투여한 군의 GSH-px 활성은 $4.3 \pm 0.3 \text{U/mg protein}$ 으로 대조군에 비하여 현저하게 상승되었다($p < 0.01$). 根皮 전탕액을 투여한 군의 GSH-px 활성은 $3.5 \pm 0.2 \text{U/mg protein}$ 으로 대조군의 활성과 비교하였을 때 유의한 차이를 보이지 않았다 (Fig. 7).

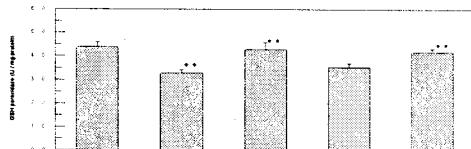


Fig. 7. Effect of the decoction(2.5g drug/kg body weight/day) prepared from Araliae Elatae Cortex on the GSH-peroxidase

contents after chronic ethanol intake during 14 days in rat liver.

Normal: Not administrated with ethanol or drug

Control: Administrated with ethanol(3.0ml of 30% ethanol)

Stem: Administrated with decoction of Araliae Elatae Trunci Cortex (2.5g drug/kg body weight/day)

Root: Administrated with decoction of Araliae Elatae Radicis Cortex (2.5g drug/kg body weight/day)

Silymarin: Administrated with silymarin(1g/kg body weight/day)

*: compared to normal group, **: compared to control group

(++, **: $p < 0.01$)

3) Soluble SOD 활성

Superoxide dismutase (SOD)의 활성에 따른 흡광치의 변화를 측정하여 작성한 SOD 표준곡선(Fig. 8)을 기준으로 간장 추출용액의 SOD 활성을 측정하는 한편, 추출용액의 단백질량을 검사하였으며, 이를 근거로 하여 soluble superoxide dismutase(Cu · Zn-SOD; 이하 SOD) 활성을 환산하였다.

에탄올 및 약재가 투여되지 않은 정상군의 SOD 활성은 $0.44 \pm 0.02 \text{U/mg protein}$ 이었고, 에탄올이 경구 투여된 대조군의 활성은 $0.70 \pm 0.06 \text{U/mg protein}$ 으로 정상군에 비하여 현저하게 상승되었다($p < 0.01$). 에탄올 투여와 함께 樹皮 전탕액이 투여된 경우에는 SOD 활성이 0.38 ± 0.03 , 根皮 전탕액이 함께 투여된 경우에는 SOD활성이 $0.41 \pm 0.04 \text{U/mg protein}$ 이었으며, 대조군과 비교하였을 때, 樹皮 전탕액 투여군과 根皮 전탕액 투여군 모두 SOD 활성이 현저하게 저하되었으며($p < 0.01$), 두 투여군의 SOD활성은 거의 유사하였다. 한편, 에탄올과 함께 silymarin이 투여된 군의 SOD 활성은 $0.62 \pm 0.05 \text{U/mg protein}$ 의 활성을 보였고, 이는 대조군의 83.3%로 다소 저하되었지만 유의한 수준은 아니었다(Fig. 9).

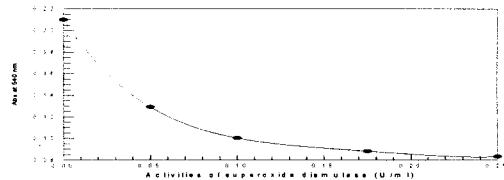


Fig. 8. Standard curve of Superoxide dismutase.

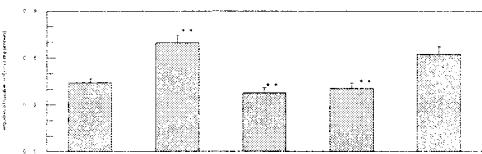


Fig. 9. Effect of the decoction(2.5g drug/kg body weight/day)

prepared from *Araliae Elatae Cortex* on the soluble superoxide dismutase (SOD) contents after chronic ethanol intake during 14 days in rat liver.

Normal: Not administrated with ethanol or drug

Control: Administrated with ethanol(3.0ml of 30% ethanol)

Stem: Administrated with decoction of *Araliae Elatae Trunci Cortex*

Root: Administrated with decoction of *Araliae Elatae Radicis Cortex*

Silymarin: Administrated with silymarin(1g/kg body weight/day)

*: compared to normal group, **: compared to control group

(++, **: p<0.01)

4) Catalase 활성

과산화수소(H_2O_2)를 분해시키는 정도를 검사하여 catalase 활성을 측정하였으며, 이를 위하여 작성한 과산화수소의 표준곡선은 Fig. 10과 같았다. 에탄올을 투여하지 않은 정상군의 catalase 활성은 148.5kU/mg protein이었고, 에탄올을 투여하여 산화적 스트레스를 유발한 대조군의 catalase 활성은 121.0U/mg protein으로 정상군에 비하여 현저하게 저하되었다($p<0.01$). 에탄올 투여와 더불어 樹皮 전탕액을 투여한 군의 catalase 활성은 136.4, 根皮 전탕액 투여군의 활성은 137.2, 그리고 항산화제인 silymarin(1g/kg body weight/day)을 투여한 군의 catalase 활성은 147.2kU/mg protein의 활성을 보였다. 樹皮 전탕액 투여군과 根皮 전탕액 투여군의 catalase 활성은 거의 유사하였으며, 대조군과 비교하였을 때 두 경우 모두 유의하게 상승하였다($p<0.05$) (Fig. 11).

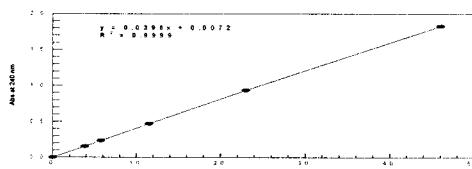


Fig. 10. Standard curve of catalase.

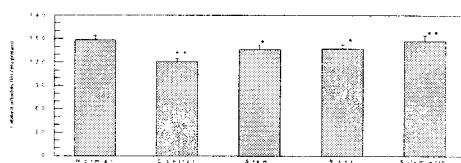


Fig. 11. Effect of the decoction(2.5g drug/kg body weight/day) prepared from *Araliae Elatae Cortex* on the catalase contents after chronic ethanol intake during 14 days in rat liver.

chronic ethanol intake during 14 days in rat liver.

Normal: Not administrated with ethanol or drug

Control: Administrated with ethanol(3.0ml of 30% ethanol)

Stem: Administrated with decoction of *Araliae Elatae Trunci Cortex*

Root: Administrated with decoction of *Araliae Elatae Radicis Cortex*

Silymarin: Administrated with silymarin(1g/kg body weight/day)

*: compared to normal group, **: compared to control group

(++, **: p<0.01 ; +*: p<0.05)

5) ADH 활성

에탄올을 투여하여 산화적 스트레스를 유발시킨 환경 간장의 ADH 활성을 검사한 결과, 에탄올을 투여하지 않은 정상군의 ADH 활성은 1.85mU/mg protein이었고, 에탄올이 투여된 대조군의 ADH 활성은 2.38mU/mg protein으로 정상군에 비하여 유의하게 상승하였다($p<0.05$). 에탄올 투여와 더불어 樹皮 전탕액을 투여한 군의 ADH 활성은 3.48mU/mg protein으로 대조군에 비하여 현저하게 상승되었다($p<0.01$). 根皮 전탕액 투여군의 ADH 활성은 3.00mU/mg protein으로 대조군에 비하여 유의하게 상승되었으나($p<0.05$) 樹皮 전탕액 투여군보다는 그 상승폭이 작았다. 그리고 실리마린 투여군의 활성은 2.89mU/mg protein으로, 根皮 전탕액 투여군과 활성이 유사하였으며 樹皮 전탕액 투여군에 비해서는 상승폭이 작았다 (Fig. 12).

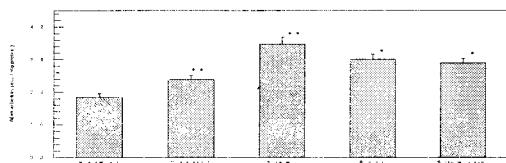


Fig. 12. Effect of the decoction(2.5g drug/kg body weight/day) prepared from *Araliae Elatae Cortex* on the alcohol dehydrogenase (ADH) contents after chronic ethanol intake during 14 days in rat liver.

Normal: Not administrated with ethanol or drug

Control: Administrated with ethanol(3.0ml of 30% ethanol)

Stem: Administrated with decoction of *Araliae Elatae Trunci Cortex*

Root: Administrated with decoction of *Araliae Elatae Radicis Cortex*

Silymarin: Administrated with silymarin(1g/kg body weight/day)

*: compared to normal group, **: compared to control group

(**: p<0.01 ; +*: p<0.05)

6) ALDH 활성

에탄올을 투여하여 산화적 스트레스를 유발시킨 흰쥐 간장의 ALDH 활성을 검사한 결과, 에탄올을 투여하지 않은 정상군의 ALDH 활성은 4.49 mU/mg protein이었고, 에탄올이 투여된 대조군의 ALDH 활성은 5.00mU/mg protein으로 정상군과 거의 동일한 활성을 보였다. 에탄올과 함께 시료가 투여된 樹皮 전탕액 투여군, 根皮 전탕액 투여군 및 실리마린 투여군의 ALDH 활성은 각각 6.30, 11.16, 11.52mU/mg protein으로 세 경우 모두 대조군에 비하여 현저하게 상승하였다($p<0.01$). 樹皮 전탕액 투여군과 根皮 전탕액 투여군의 ALDH가 둘 다 현저하게 증가하였으나, 樹皮 전탕액 투여군은 대조군에 비하여 126.6%의 ALDH 활성을 보인데 비하여, 根皮 전탕액 투여군은 대조군에 비하여 223.3%의 ALDH 활성을 보여 그 상승폭이 樹皮 전탕액 투여군의 약 5 배에 달하였다(Fig. 13)

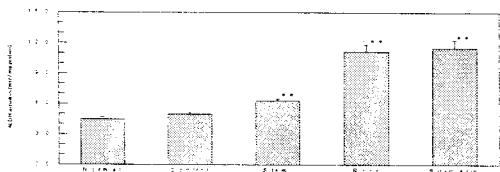


Fig. 13. Effect of the decoction(2.5g drug/kg body weight/day) prepared from *Araliae Elatae Cortex* on the acetaldehyde dehydrogenase (ALDH) contents after chronic ethanol intake during 14 days in rat liver.

Normal: Not administrated with ethanol or drug

Control: Administrated with ethanol(3.0ml of 30% ethanol)

Stem: Administrated with decoction of *Araliae Elatae Trunci Cortex*

Root: Administrated with decoction of *Araliae Elatae Radicis Cortex*

Silymarin: Administrated with silymarin(1g/kg body weight/day)

: compared to control group (: $p<0.01$)

고찰

두릅나무과(Araliaceae)에 속하는 두릅나무 *Aralia elata* Seem 는 落葉灌木으로 높이 3-4m이고 원줄기는 그리 갈라지지 않으며 굳센 가시가 많다^[16]. 어린순은 木頭菜 또는 吻頭菜라 하여 예부터 식용으로 하여 왔고^[3], 한의학에서는 楠木皮라 하여 뿌리 또는 줄기 껍질을 약용으로 하여 왔다^[3].

楳木皮는 우리나라와 중국의 공정서에는 수재되

지 않았지만, 일본약국방외 생약규격^[1]에는 두릅나무과(Araliaceae)에 속하는 두릅나무 *Aralia elata* Seemann 의 根皮라고 되어 있으며, 북한약전^[2]에는 같은 식물의 줄기나 뿌리 껍질을 벗겨 겉껍질을 벗겨 버린 다음 햅볕에 말려 사용한다고 하였다. 그러나 중국에서는 두릅나무의 根皮나 樹皮를 刺老鴉 또는 遼東楳木이라 하고, 같은 속 식물인 *Aralia chinensis* L.의 뿌리를 楠木根, 樹皮를 楠木白皮, 어린 잎을 楠木葉이라고 하여 기원을 달리 하고 있다^[4,17].

楳木皮는 本經拾遺^[3]에 “楳木 白皮. 氣味辛平 有小毒. 主治水癰. 煮汁服一盞, 當下水. 如病已困, 取根搗碎, 坐之取氣, 水自下. 又能爛人牙齒, 齒有蟲者, 取片許內孔中, 當自爛落. 生江南山谷. 高丈餘, 直上無枝, 莖上有刺. 山人切取頭茹食, 謂之吻頭.”라고 처음 수재되었는데, 이때부터 樹皮(白皮), 根 및 어린 잎(吻頭)이 함께 사용되었음을 알 수 있다. 다만 大觀本草^[18]에서는 약물명을 楠根이라하여 白皮의 약용부위가 樹皮가 아닌 根皮라고 하였다.

楳木皮는 임상에서 祛風濕, 利小便, 敷瘀血, 消腫毒의 효능이 있어 風濕性 관절염, 腎炎水腫, 肝硬化腹水, 급만성 肝炎, 胃痛, 淋濁, 血崩, 跌打損傷, 瘰癧, 瘰腫 등의 질환에 뿌리 또는 줄기 껍질이 사용되고^[4], 민간에서는 뿌리 껍질과 줄기 껍질을 健胃, 이뇨 및 抗糖尿病 약으로 사용하고 있다^[19].

이 식물의 약리작용에 대해서는 Park 등^[20]은 이 식물의 4-hydroxycinnamic acid가 항미생물 활성이 있음을 밝혔고, Saito 등^[21]은 잎에서 단리된 사포닌 및 oleanoic acid와 hederagenin의 합성 bisdesmosides를 사염화탄소로 유도된 간손상에 대한 세포보호 효과 비교한 결과 aglycone의 O-3位에만 당이 결합된 monodesmosides는 간보호 효과를 나타내지 않았으나, O-3位와 O-28位에 당이 결합된 bisdesmosides는 당의 종류에 관계없이 강력한 효과를 나타낸다고 보고하였고, Du 등^[22]은 사포닌이 랜트의 알코올 성 간질환에 있어서 보호효과가 있음을 밝혔다. 또한, 서 등^[23]은 부탄을 추출물의 지질 과산화에 미치는 영향을, Chung 등^[24]은 에탄올 분획의 랜트에 있어서 항산화작용의 촉진 및 혈장지질의 저하 작용을, Wang 등^[25]은 근피의 트리테르펜 성분의 stimulus-induced superoxide에 관한 영향을 각각 보고하였으며, Tomatsu 등^[26]은 이 식물의 세포독성 단백질인 aralin은 새로운 type II ribosome-inactivating protein이며, 캘러스배양으로 생산되고, human cancer cell에서 apoptosis를 유발시킨다고 보고하였으며, Chung 등^[27]은 이 식물의 물액스가 in vitro 및 in

vivo에 있어서 cataractogenesis를 억제한다고 보고하였다.

한편, 이 등²⁸⁾은 근피 추출물의 혈당강하 작용을, 김 등²⁹⁾은 근피의 혈당강하 성분을, 권 등³⁰⁾은 Streptozotocin으로誘發된 흰쥐의 糖尿病에 미치는影響을 각각 보고하였고, Yoshikawa 등³¹⁾은 근피로부터 oleanolic acid의 배당체인 elatoside E를 단리하고 이 성분이 혈당감소작용이 있음을 밝혔고, Song 등³²⁾은 이 식물의 사포닌의 경구투여에 의하여 정상 및 당뇨성 랫트와 토끼의 glycemia가 감소된다고 보고하였다. 이 외에도 Sim 등³³⁾은 근피의 사포닌이 caco-2 cell monolayers 및 rats에 있어서 장내흡수 촉진작용이 있음을, Lee 등³⁴⁾은 근피로부터 단리된 araloside A가 랫트에 있어서 위병변 및 위궤양 형성에 대한 강력한 억제작용이 있음을 각각 보고하였다.

이러한 두릅나무의 약리 작용은 樹皮, 根皮 및 어린 잎순 등에서 이루어졌는데, 檀木皮는 시중에서 樹皮와 根皮가 함께 유통되고 있으므로 樹皮와 根皮의 효과를 비교 분석할 필요가 있다고 생각된다. 이에 본 연구에서는 두릅나무의 樹皮와 根皮의 항산화효능에 대한 영향을 비교하였다.

樹皮와 根皮의 항산화 효능을 검사한 결과, 樹皮는 根皮보다 더 강한 DPPH소거활성 활성을 보였으나, superoxide anion radical 소거활성은 根皮가 樹皮보다 강하였고, linoleic acid 과산화억제 활성은 거의 유사하였다. 樹皮에는 根皮에 비하여 약 2 배량의 폐놀성 성분의 함유되어 있는 점을 고려할 때, in vitro에서의 항산화활성은 根皮가 樹皮보다 강하다고 사료되었다.

알콜성 스트레스를 유발한 흰쥐 肝에서의 항산화 활성을 검사한 결과, 樹皮 및 根皮 투여군 둘 다 대조군에 비해 SOD(superoxide dismutase)활성이 저하되었으며, 과산화수소(H₂O₂)를 분해시키는 catalase 활성은 상승하였다. ADH(alcohol dehydrogenase) 활성은 두 경우 모두 상승되었으나 樹皮 투여군의 상승폭이 더 컸으며, ALDH(acetaldehyde dehydrogenase) 활성은 두 경우 모두 상승하였으나 根皮 투여군의 상승폭이 樹皮 투여군의 약 5 배에 달하였다. 이에 비하여, GSH(glutathione) 함량 및 GSH-peroxidase 활성은 樹皮 투여군의 경우에는 상승하였으나 根皮 투여군은 유의한 변화가 없었다. 이와 같이 樹皮 투여군의 경우에는 SOD, catalase, ADH, ALDH 및 GSH-peroxidase 활성 등 전반적으로 산화적 스트레스를 완화시키는 유의한 변화를 보였으나, 根皮

투여군의 경우에는 다른 항목에서는 樹皮와 같은 변화를 보였으나 GSH 함량 및 GSH-peroxidase 활성에는 유의한 영향이 없었다. 이처럼 in vitro에서의 항산화 활성은 根皮가 樹皮보다 강하였으나, in vivo에서 樹皮가 根皮보다 더 광범위한 항산화효과를 보인 점으로 보아, 樹皮에는 根皮보다 더 다양한 항산화 성분 또는 그와 연관된 성분이 함유되어 있음을 시사하였다.

한편, 樹皮 및 根皮 투여군 모두 알콜을 분해시키는 효소인 ADH 및 알콜 분해시 발생되어 숙취를 유발하는 acetaldehyde를 분해시키는 ALDH 활성이 유의하게 상승하였음은 檀木皮의 祛風除濕 및 活血止痛 하는 효과와 연관된다고 사료되고, 본 실험에서 산화적 스트레스를 유발하기 위하여 에탄올을 경구투여한 점을 고려할 때, 檀木皮가 숙취 해소에 활용될 수 있음을 시사하였다. ADH 활성은 樹皮 투여군에서 더 강하였고, ALDH 활성은 根皮 투여군에서 훨씬 더 강한 점으로 미루어보아 숙취 해소를 위한 경우에는 樹皮와 根皮를 함께 사용하는 것이 좋다고 생각된다.

이와 같은 실험결과로 보아, in vitro에서의 항산화 활성은 根皮가 樹皮보다 강하나, in vivo에서는 樹皮가 根皮보다 더 광범위한 항산화 효과를 보여주어, 樹皮와 根皮 모두 항산화제로 개발이 가능하며, 숙취해소를 위한 경우에 樹皮와 根皮를 함께 사용하는 것이 좋을 것으로 사료된다.

결 론

檀木皮의 樹皮와 根皮의 항산화 효능에 대한 영향을 비교하고자, 檀木皮 樹皮와 根皮를 시료로 사용하여, 항산화 효능을 in vitro 및 in vivo 실험으로 검사하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. in vitro 항산화 활성은 다음과 같았다.

- 1) DPPH 소거활성은 樹皮가 根皮보다 강하였다.
- 2) Superoxide anion radical 소거활성은 樹皮가 根皮보다 약하였다.
- 3) Linoleic acid 산화억제 활성은 유사하였다.
- 4) 폐놀성 성분 함유량은 樹皮가 根皮의 약 2 배량이었다.

2. 흰쥐 肝에서의 항산화 활성 변화는 다음과 같다.

- 1) 樹皮, 根皮 투여군 모두 SOD 활성은 저하시켰고, catalase 활성, ADH 활성 및 ALDH 활성은 상승하는 변화를 보였다.
- 2) 樹皮 투여군의 GSH 함량과 GSH-peroxidase 활성은 상승하였으나, 根皮 투여군은 유의한 변화가 없었다.
- 3) ADH 활성 상승폭은 樹皮 투여군이 根皮 투여군보다 더 컸다.
- 4) ALDH 활성 상승폭은 根皮 투여군이 樹皮 투여군의 약 5 배였다.

이상의 결과에서 樹木皮의 항산화 활성은 根皮와 樹皮 모두 인정되었으며, 특히 *in vitro*에서는 根皮가 樹皮보다 강하였으나, *in vivo*에서는 樹皮가 根皮보다 더 광범위한 항산화 효과가 있음을 알 수 있었다.

참고문헌

1. 厚生省藥務局審查第二科 監修. 日本藥局方外生藥規格. 東京:藥事日報社. 1989:54.
2. 조선민주주의 인민공화국 보건부 약전위원회. 조선민주주의 인민공화국 약전 제5판. 평양:의학과학출판사. 1996:146.
3. 李時珍. 本草綱目. 北京:人民衛生出版社. 1982:2140.
4. 江蘇新醫學院 編. 中藥大辭典. 上海: 上海科學技術出版社. 1977:2439,2440.
5. Jiang YT, Xu SX, Gu XH, Ren L, Chen YJ, Yao XS, Miao ZC. Studies on the chemical constituents from Aralia elata. Yao Xue Xue Bao. 1992;27(7):528-32.
6. Lee SE, NS Seong, CG Park, and JS Seong. Screening for antioxidative activity of oriental medicinal plant materials. Korean J. Medicinal Crop Sci. 2002;10:171-176.
7. Nishikimi N, NA Rao, and K Yagi. The occurrence of superoxide anion in the reaction of reduced phenazine methosulfate and molecular oxygenin Biochem. Biophys. Res. Commun. 1972;46:849.
8. H K Hashimoto, and A Yagi. Antioxidative substances in leaves of Polygonum hydropiper. J. Agric. Food Chem. 1992;40:1349-1351.
9. Kim NM, HS Sung, and WJ Kim. Effect of solvents and some extraction conditions on antioxidant activity in cinnamon extracts. Korean J. Food Sci. Technol. 1993;25:204-209.
10. Ellaman GL. Tissue sulfhydryl group. Arch. Biochem. Biophys. 1950;82:79.
11. Miguel J, A T Quintanilha, H Weber (eds.). Flohe', L. Determination of glutathione peroxidase. In Handbook of Free Radicals and Antioxidants in Biomedicine, Vol. III. CRC Press. 1989:283-284.
12. Pticchis, K, LL Louca and V Glover. Quantitation of soluble Superoxide dismutase in rat, based on the inhibition of ritrite formation from hydroxylammonium chloride. Anal. Biochem. 1994;221:428-31.
13. Abei H. Catalase in vitro, In "Methods in enzymology(vol. 5)". L. Packer(ed). Academic Press. 1984:121-126.
14. Tottmar SOC, Pettersson H, Kiessling KH. The subcellular distribution and properties of aldehyde dehydrogenase in rat liver. Biochem.J. 1973;135,577-586.
15. Bradford MM. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein dye binding. Anal. Biochem. 1976;72:248-254.
16. 이창복. 대한식물도감. 서울:향문화사. 1982:575.
17. 國家中醫藥管理局《中華本草》編委會. 中華本草. 上海:上海科學技術出版社. 1999:5:779-781.
18. 唐慎微, 常志均, 點校. 大觀本草. 合肥:安徽科學技術出版社. 2003:535.
19. 三橋博. 原色牧野和漢藥草大圖鑑. 東京:北隆館. 1988:338.
20. 박근형, 고병섭, 마승진, 국주희. 두릅에서 항미생물활성을 갖는 4-hydroxycinnamic acid 의 분리 및 동정. 韓國農化學會誌. 1996;39(4): 265-267.
21. Saito S, Ebashi J, Sumita S, Furumoto T, Nagamura Y, Nishida K, Isiguro I. Comparison of cytoprotective effects of saponins isolated from leaves of Aralia elata Seem. (Araliaceae) with synthesized bisdesmosides of oleanolic acid and hederagenin on carbon tetrachloride-induced hepatic injury. Chem Pharm Bull(Tokyo). 1993;41(8):1395-401.
22. Du S, Chi B, Protective effects of saponins derived from Aralia elata (Miq) Seem. on alcoholic

- liver disease in rats. *J. Jilin University of Medicine Edition*. 2005;31(1):64-67.
23. 서보권, 정연봉, 김용구, 신옥진, 이종철. 두릅나무 부단을 추출물이 지질 과산화에 미치는 영향. *藥學會誌*. 1993;37(3):270-277.
24. Chung CK, Jung ME. Ethanol fraction of *Aralia elata* Seemann enhances antioxidant activity and lowers serum lipids in rats when administered with benzo(a)pyrene. *Biol Pharm Bull*. 2003;26(10):1502-4.
25. Wang Z, Song S, Lu H, Chen G, Xu S, Sagara Y, Kitaoka N, Manabe M, Kodama H. Effect of three triterpenoid compounds isolated from root bark of *Aralia elata* on stimulus-induced superoxide generation and tyrosyl phosphorylation and translocation of p47(phox) and p67(phox) to cell membrane in human neutrophil. *Clin Chim Acta*. 2003;336(1-2):65-72.
26. Tomatsu M, Ohnishi-Kameyama M, Shibamoto N. Aralin, a new cytotoxic protein from *Aralia elata*, inducing apoptosis in human cancer cells. *Cancer Lett*. 2003;199(1):19-25.
27. Chung YS, Choi YH, Lee SJ, Choi SA, Lee JH, Kim H, Hong EK. Water extract of *Aralia elata* prevents cataractogenesis in vitro and in vivo. *J. Ethnopharmacol*. 2005;101(1-3):49-54.
28. 이은방, 신국현, 김운자, 김옥경, 이명환. 두릅나무근피 추출물의 혈당강하 작용. *생약학회지*. 1991;22(1):63-64.
29. 김옥경, 이은방, 강삼식. 두릅나무 근피의 혈당강하 성분에 관한 연구(2). *생약학회지*. 1993;24(3):219-222.
30. 權哲漢, 金連燮, 金先熙. 두릅나무가 Streptozotocin으로 誘發된 흰쥐의 糖尿病에 미치는 影響. *동서의학*. 1993;18(4):7-20.
31. Yoshikawa M, Matsuda H, Harada E, Murakami T, Wariishi N, Yamahara J, Murakami N. Elatoside E, a new hypoglycemic principle from the root cortex of *Aralia elata* Seem.: structure-related hypoglycemic activity of oleanolic acid glycosides. *Chem Pharm Bull (Tokyo)*. 1994;42(6):1354-6.
32. Song S, Xu S, Cao Y, Hypoglycemic effect of saponins from *Aralia elata* (Miq.) Seem. *Research & Information of Traditional Chinese Medicine*. 2005;7(5):7-9.
33. Sim JS, Zhao HL, Li daW, Cho SY, Jeong CS, Lee EB, Kim YS. Effects of saponins from the root bark of *Aralia elata* on the transport of chondroitin sulfate in Caco-2 cell monolayers and rats. *Biol. Pharm. Bull.* 2005;28(6):1043-8.
34. Lee EB, Kim OJ, Kang SS, Jeong C. Araloside A, an antiulcer constituent from the root bark of *Aralia elata*. *Biol. Pharm. Bull.* 2005;28(3):523-6.