

## 독활의 항혈소판 및 항산화 효과

양선아 · 임남경<sup>1</sup> · 지광환<sup>2</sup> · 이인선\*

계명대학교 전통미생물자원개발 및 산업화연구(TMR) 센터, <sup>1</sup>계명대학교 식품가공학전공, <sup>2</sup>금오공과대학교 자연과학부 응용화학전공

Received January 22, 2008 / Accepted March 17, 2008

**Effects of *Aralia continentalis* Kitagawa on Antiplatelet and Antioxidative Activities.** Seun-Ah Yang, Nam-Kyung Im<sup>1</sup>, Kwang-Hwan Jhee<sup>2</sup> and In-Seon Lee\*. *The Center for Traditional Microorganism Resources (TMR), Keimyung University, Daegu 704-701, Korea, <sup>1</sup>Department of Food Science and Technology, Keimyung University, Daegu 704-701, Korea, <sup>2</sup>Department of Applied Chemistry, Kumoh National Institute of Technology, Gumi 730-701, Korea* - The dried roots of *Aralia continentalis* Kitagawa is known to have the potential for anti-inflammation and anti-rheumatic, but their effects on thrombosis are not clear. In this study, we evaluated the anti-platelet and antioxidative activities of *A. continentalis* Kitagawa. Methanol extract and its various fractions of *A. continentalis* Kitagawa inhibited ADP-induced platelet aggregation, and EtOAc fraction showed strongest inhibition in a concentration-dependent manner with a IC<sub>50</sub> value of 217.7 µg/ml. Moreover, the EtOAc fraction contained 77.7% of 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) and 43.1% of 2,2'-azinobis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) (ABTS) radical-scavenging activity at 0.1 mg/ml. In addition, the methanol and EtOAc fraction dose-dependently inhibited thrombin-stimulated platelet adhesion to collagen or fibrinogen. Collectively, these results suggest that the polyphenol-rich EtOAc fraction from *A. continentalis* Kitagawa can reduce platelet hyperactivation by scavenging free radicals. Thus, the EtOAc fraction of *A. continentalis* Kitagawa is a potential source for inhibition of platelet-dependent thrombosis.

**Key words :** *Aralia continentalis* Kitagawa, platelet aggregation, platelet adhesion, antioxidant

### 서 론

혈액 순환 질환의 일종인 심혈관 질환은 현대인에서 가장 흔한 질환 중 하나로, 과도한 지혈 작용 등으로 인한 혈전질환이다[1]. 이러한 혈전은 동맥, 정맥, 모세혈관 또는 심장 등 순환기계 어느 곳에서도 발생할 수 있으며 대표적인 심혈관계 질환인 동맥경화증은 심근경색이나 뇌경색을 일으키는 매우 위험한 질환이다. 혈전의 초기단계는 상처부위의 과도한 지혈작용과 혈관 내피세포의 손상 등의 원인에 의해 혈소판이 점착, 활성화, 응집되면서 시작되며, 혈액응고계를 활성화시키면서 급속히 촉진된다[2,3]. 정상적 혈관 내피세포는 nitric oxide (NO)와 prostacyclin (PGI<sub>2</sub>)과 같은 억제인자를 방출하여 혈관벽을 보호함으로써 혈소판의 부착과 활성화를 억제하는 작용을 하지만 내피세포가 손상되면 혈관내피 세포 아래쪽에 위치하고 있는 collagen이 노출되어 von Willebrand factor들이 먼저 collagen에 붙고 혈소판이 GP Ib/IX라는 수용체를 이용하여 그 위에 달라붙는다. 이 과정에서 혈소판은 활성화되고 혈소판내의 granule로부터 ADP와 thromboxane A2 (TxA2) 등이 분비되어 혈소판은 더욱 활성화되며, 활성화된 혈소판의 막에 존재하는 GP IIb/IIIa 수용체와 fibrinogen이 결합하여 혈소판 응고가 촉진된다. 현재

혈전질환의 예방과 치료에는 항혈소판제, 항응고제, 형성된 혈전을 치료하기 위한 혈전용해제 등이 사용되고 있으나, 대표적인 항혈소판제인 아스피린은 효과는 뛰어나지만 위장관 출혈과 소화성궤양 등의 부작용을 일으키며[4], 그 외의 항응고제나 고지혈증 치료제로 쓰이는 약물들은 가격이 너무 고가인 문제가 있다. 따라서 혈전형성의 예방을 위하여 혈소판의 활성화 및 응고의 억제, 혈전의 용해 활성을 가진 천연물 성분에 대한 연구가 활발히 진행되고 있다.

독활(*Aralia continentalis* Kitagawa)은 두릅나무과 (Araliaceae)에 속하는 다년생 초본 식물로 일명 땅두릅, 풀두릅이라고도 하며, 한약명으로 독활이라 한다. 약용부위는 뿌리로 정유 1-2%, 스테아린산 0.07%, 수지, 살리실산과 디테르펜산 I, II, 미량요소로서 구리, 망간, 니켈 등이 들어 있으며, 근육통, 허반신마비, 두통, 중풍의 반신불수 등에 많이 쓰이며, 한국을 비롯한 일본, 중국 등 동아시아 산지에 넓게 분포한다[5]. 독활의 줄기와 잎은 민간에서 열내림약, 기침약, 염증약 등으로 이용되며 각종 풍을 다스리고 신경쇠약, 성기능 저하, 신장병, 당뇨병 등에 쓰기도 하며, 뿌리의 알코올 추출액은 중추신경 계통에 대한 흥분작용이 있고 혈압강하 작용이 알려져 있다. 이 식물의 어린잎으로부터는 6가지의 플라보노이드 성분과 항산화 활성이 보고되었으며[6,7], 독활의 생리활성에 관해서는 항염증작용[8], continentalic acid와 stagmasterol [9]의 항균작용[10], cyclooxygenase 활성 억제 [11]에 관하여 보고되었다. 하지만 혈소판의 활성억제에 의

\*Corresponding author

Tel : +82-53-580-6449, Fax : +82-53-580-6447

E-mail : inseon@kmu.ac.kr

한 항혈전의 효능 및 기전에 관한 체계적인 연구는 전무한 실정이다.

따라서 본 실험에서는, 천연물질로서 한방에서 많이 이용되고 있는 독활의 항산화능이 항혈전 활성에 미치는 영향을 체계적으로 검토하고 그 기전을 연구하기 위하여, 먼저 전반적인 항혈소판 및 항산화 효과를 *in vitro*에서 검토하였다.

## 재료 및 방법

### 실험 재료

본 실험에 사용한 독활(*A. continentalis* Kitagawa)은 대구광역시 약령시장에서 원산지는 중국인 건조된 것을 구입하여 사용하였다.

### 추출 및 분획

건조된 독활 1 kg을 10배(w/v)의 80% 메탄올로 3회 추출, 여과(Whatman NO.3, England)하고 vacuum evaporator (R-3000, Buchi, Switzerland)로 농축한 후 동결 건조하여 메탄올 추출물(161.7 g)로 사용하였다. 이 추출물을 물에 현탁시킨 후 *n*-hexane, CHCl<sub>3</sub>, EtOAc 및 BuOH로 순차적으로 3회 반복 추출하였다. 각 분획들을 감압 농축한 후 동결 건조하여 hexane 분획(4.3 g), CHCl<sub>3</sub> 분획(2.4 g), EtOAc 분획(2.6 g), BuOH 분획(15.6 g) 및 남은 H<sub>2</sub>O 층(82.5 g)을 얻었다.

### 실험동물

본 실험에 사용된 Sprague-Dewley rat은 (주)오리엔트바이오에서 분양 받아 1주 이상 실험실 환경에 적응시킨 후 스트레스를 최소화하고, 몸무게 250~300 g의 male을 실험에 사용하였다.

### Washed platelet의 조제

Rat를 ethyl ether로 마취하고, 항응고제 0.15 M sodium citrate를 혈액과 1:9(v/v)의 비율이 되도록 함유한 주사기로 복대동맥으로부터 채혈하였다. Platelet rich plasma (PRP)는 200×g에서 10분간 원심분리하여 상등액의 PRP를 얻었고, 계속하여 800×g에서 15분간 원심분리하고, 침전된 혈소판을 washing buffer (137 mM NaCl, 2.9 mM KCl, 1 mM MgCl<sub>2</sub>, 5 mM glucose, 12 mM NaHCO<sub>3</sub>, 0.34 mM Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, 1 mM EDTA, 20 mM HEPES, 0.25% BSA, pH 7.4)로 2회 세척한 후 washing buffer (137 mM NaCl, 2.9 mM KCl, 1 mM MgCl<sub>2</sub>, 5 mM glucose, 12 mM NaHCO<sub>3</sub>, 0.34 mM Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, 20 mM HEPES, 0.25% BSA, pH 7.4)에 suspension 시켜서 washed platelet로 하였다[12]. 혈소판 응집 억제능에 사용하는 washed platelet는 cell counter (Hema-vet HV950FS, Drew scientific, USA)를 이용하여 혈소판 수를 측정하고 buffer로 희석하여 혈소판이 3×10<sup>8</sup> platelet/ml이 되도록 조정하였다.

혈소판은 저온에서 응집되므로 이상의 실험은 상온에서 실행하였다.

### 혈소판응집 억제능 측정

Rat의 혈소판 응집 억제능은 Aggregometer (Chrono-Log Co., Ltd., Havertown, PA, USA)를 이용한 탁도 측정법으로 측정하였다[13]. Washed platelet를 37°C에서 3분간 incubation 시킨 후 농도별로 시료를 처리하고 2분 후 혈소판 응집을 유도하는 물질 ADP (6 μM)으로 응집을 유도하였으며, 10분간 측정 후 억제정도를 계산하였다. 억제정도(%)는 시료를 처리하지 않은 것을 control로 하여, 아래와 같은 방법으로 구하였다.

$$\text{Inhibition} = \frac{A-B}{A} \times 100$$

A: control의 aggregation %

B: sample 처리시의 aggregation %

### 총 폴리페놀 함량 측정

총 폴리페놀 함량은 널리 사용되고 있는 Folin-denis [14]법을 응용한 방법[15]에 따라 측정하였다. 먼저 시료 1 mg을 증류수 1 ml에 녹이고, 10배 100배 희석한 희석액 2 ml에 2배로 희석한 Folin 시약 2 ml를 첨가하고 3분간 반응시킨 후 Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>를 서서히 가하였다. 이를 실온에서 1시간 반응한 후 spectrophotometer를 사용하여 700 nm에서 흡광도를 측정하였다. 총 폴리페놀 함량은 tannic acid를 이용하여 작성한 표준곡선으로 함량을 구하였다.

### DPPH free radical-scavenging 활성 측정

시료의 free radical 소거 활성은 stable radical인 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH)에 대한 환원력을 측정한 것으로, 메탄올에 각 시료를 녹여 농도별로 희석한 희석액 0.8 ml와 메탄올에 녹인 0.15 mM DPPH (Sigma Chemical Co. Chicago, IL, USA) 용액 0.2 ml를 가하여 실온에 30분 방치한 후 517 nm에서 흡광도를 측정하였다[16]. 각 시료 추출물의 유리라디칼 소거활성은 시료를 첨가하지 않은 대조구의 흡광도를 1/2로 환원시키는데 필요한 시료의 농도인 RC<sub>50</sub> 값으로 나타내었다. 이때 상대활성의 비교를 위하여 대조군으로 25 mg/ml butylated hydroxyanisole (BHA)를 사용하였으며 모든 실험은 3회 반복 측정하였다.

### ABTS free radical-scavenging 활성 측정

ABTS radical을 이용한 항산화력 측정은 ABTS cation decolourisation assay 방법[17]에 의하여 실시하였다. 14 mM ABTS (2,2'-azino-bis (3-ethylbenzthiazoline-6-sulfonic acid) 용액과 4.95 mM 과황산칼륨을 1:1로 섞고 실온 어두운 곳에서 24시간 보관하여 ABTS radical을 만들고, ABTS rad-

ical은 732 nm에서 흡광도 값이 0.7±0.02가 되도록 PBS (phosphate buffer saline, pH 7.4)로 희석하여 사용하였다. 희석된 용액 990 µl와 10 µl의 ABTS radical 을 섞고 1분 후 732 nm에서 흡광도를 측정하여 RC<sub>50</sub> 값으로 나타내었으며, trolox (10 mM)를 대조군으로 사용하였다.

**혈소판 부착 억제능 측정**

활성화된 혈소판의 피브리노겐 또는 콜라겐에의 부착은 Tsuzynski 방법[18]에 따라 측정하였다. 세척하여 얻은 혈소판은 농도별 시료와(10, 25, 50, 100, 200 µg/ml) 함께 또는 혈소판 만(대조군)을 100 µl씩 각각의 well에서 37°C에서 10분간 보관한 후 50 µl 트롬빈(0.2 U/ml)으로 혈소판을 활성화 시켰다. 96-well plate는 콜라겐(40 µg/ml in 0.05% CH<sub>3</sub>COOH)이나 피브리노겐(2 mg/ml in PBS, pH 7.5)으로 상온에서 2-3시간 코팅한 후 PBS로 3회 세척, 1% BSA를 포함한 PBS와 1시간 보관, 3회 세척을 반복하였다. 이에 따라 96-well plate 바닥에 부착하지 않은 혈소판은 세척 과정에서 제거되고, 부착된 혈소판은 200 µl의 bicinchoninic acid working solution (Sigma)에 현탁시켜서 37°C에서 1시간 반응 후 562 nm에서 흡광도를 Spectramax 340 microplate reader (Molecular Device, Sunnyvale, CA, USA)로 측정하였다.

**통계**

모든 실험은 3-5회 반복 시행되었으며, 결과는 평균±SEM 또는 SD로 나타냈으며, 두 그룹 사이의 유의차는 unpaired Student's t-test에 의하여 p<0.05 수준에서 검정하였다.

**결과 및 고찰**

**혈소판응집 억제 활성**

먼저 독활의 메탄올 추출물의 혈소판 응집억제효과 검색 결과 우수한 항혈소판 작용을 나타내었으므로 이 추출물을 통상적인 방법으로 분획하여 각 분획에 대한 활성을 검색하였다. 혈소판의 응고 촉진제로 사용된 ADP (6 µM)에 의해서 혈소판의 응고가 유도되었으며, 혈소판을 독활의 메탄올 추출물 또는 그 분획들과 2분간 전처리한 후 ADP로 응고를 유도하면 헥산과 클로로포름분획을 제외한 시료에 의해 응고가 억제되는 것을 관찰하였다(Table 1). 메탄올 추출물, EtOAc, BuOH, H<sub>2</sub>O 분획의 농도 100 µg/ml에서 대조군에 비하여 각각 41.6%, 46.0%, 38.9%, 18.0%의 저해효과를 나타내었다. 이와 같이 독활의 EtOAc 분획에서 가장 높은 혈소판 응집 억제 효과를 나타내어 강한 항혈소판 활성 성분이 함유되어 있는 것으로 사료되며 부탄올 분획에서도 높은 활성을 확인하였다.

**총 polyphenol 함량**

식물의 폴리페놀 및 플라보노이드와 항혈전 효과와의 연

Table 1. Effect of methanol extract and solvent fractions from *A. continentalis* Kitagawa on rat washed platelet aggregation induced by ADP

Samples <sup>1)</sup>	Aggregation (%) <sup>2)</sup>	Inhibition (%) <sup>3)</sup>
Control	100	0
Methanol extract	58.4±5.8	41.6
Hexane fraction	ND <sup>4)</sup>	-
Chloroform fraction	ND	-
Ethyl acetate fraction	54.0±5.5	46.0
Butanol fraction	61.1±1.8	38.9
Water fraction	82.0±3.9	18.0

- 1) Sample concentration (100 µg/ml)
- 2) Aggregation is presented as mean±SD (n=3).
- 3) Inhibition (%)=[(A-B)/(A)]×100, where A is the percent aggregation in the control and B is the percent aggregation in the sample.
- 4) ND, not detected

관성을 알아보기 위하여 독활 추출물과 분획층의 총 폴리페놀 함량을 측정하였으며, 이 추출물의 직접적인 항산화 효과를 알아보기 위하여 DPPH 및 ABTS의 radical 감소를 측정함으로써 시료의 free radical-scavenging 활성을 조사하였다. Table 2에 나타난 것과 같이 추출물의 총 폴리페놀은 27.0±2.0 mg/g이었으며, EtOAc 분획에서 290.4±3.3 mg/g으로 추출물보다 10배 이상의 폴리페놀 함량이 측정되어 이 분획 층이 폴리페놀류를 풍부하게 함유하고 있는 것을 알 수 있다. 국내 시판 차류의 폴리페놀 함량을 측정한 결과를 살펴보면 인삼차와 녹차의 폴리페놀 함량은 각각 28.3과 94.9 mg/g으로 보고되었다[19]. 이 결과와 비교해 볼 때 독활의 EtOAc 분획은 높은 함량의 폴리페놀을 함유하고 있는 것을 알 수 있다. 식물의 폴리페놀 또는 플라보노이드가 항혈전능에 미치는 영향에 관한 연구는 많지 않으나, cyclooxygenase-2 활성의 억제[20], 혈소판내의 cAMP농도의 감소, TxA<sub>2</sub>의 억제 및 PGI<sub>2</sub>의 증가[21,22] 등의 arachidonate cascade의 초기 과정을 조절하는 것으로 나타났다.

Table 2. Total content of polyphenols in the *A. continentalis* Kitagawa extract and fractions

Samples	Total polyphenols (mg/g) <sup>1)</sup>
Methanol extract	27.0±2.0
Hexane fraction	26.4±1.2
Chloroform fraction	49.8±3.4
Ethyl acetate fraction	290.4±3.3
Butanol fraction	112.1±15.0
Water fraction	13.9±0.8

- 1) Milligrams of total polyphenol content/g of plants based on tannic acid as standard.
- 2) Each value is mean±SD (n≥3).

**DPPH 및 ABTS radical 소거능**

시료의 free radical-scavenging 활성 측정은 stable radical 인 DPPH를 소거하는 항산화물질의 활성을 측정하는 것으로 DPPH는 수소공여체와 반응할 때 상응하는 hydrazine으로 환원된다[23]. 독활의 매탄올 추출물과 분획 층을 100 µg/ml 의 농도에서 DPPH radical-scavenging 효과를 비교한 결과, 추출물과 EtOAc 분획의 RC<sub>50</sub>값은 각각 59.1±20.5과 45.4±32.4 µg/ml로 다른 분획 층들에 비교해서 높은 라디칼 소거 능이 있었다(Table 3). 이것은 대조구로 사용된 BHA 보다는 효과가 적었으나, 조추출물과 분획물로서는 비교적 높은 항산화 효과가 있는 것으로 나타났다. 또한 ABTS 라디칼 소거 능은 전체적으로 DPPH 라디칼에 대한 효과에 비교하면 낮았으며 추출물의 경우 RC<sub>50</sub>값이 968.0±46.5 µg/ml였으나, EtOAc 분획에서 213.6±12.2 µg/ml로 소거능이 4배 이상 높아 폴리페놀이 풍부한 층에서 항산화능이 뛰어난 것을 확인할 수 있었다(Table 4).

이와 같이 항산화 효과를 나타내는 독활의 경우, 생리활성을 나타내는 폴리페놀화합물의 연구를 수행하여 주요 폴리페놀의 항혈전 및 항혈소판 효과에 미치는 영향을 알아보고, 그 기전을 알아볼 필요가 있다.

**에틸아세테이트 분획층의 혈소판 응집 및 부착 억제 효과**

이상과 같이 EtOAc 분획물의 항혈소판과 항산화 효과가 가장 높게 나타났으므로 EtOAc 분획물의 혈소판 활성화에 대한 억제능을 응집과 부착에 대하여 효과로 알아보았다. 혈소판의 부착은 혈소판 활성화 과정의 초기과정으로 콜라겐이나 피브리노겐과 같은 단백질에 의해서 이루어진다.

EtOAc 분획물의 혈소판 응집에 대한 억제효과를 ADP (6 µM)로 응고를 유도하여 테스트한 결과, 사용한 농도 범위에서 모두 농도 의존적으로 응고에 억제효과 있었으며(Fig. 1), 이에 대한 IC<sub>50</sub> 값은 217.7 µg/ml로 나타났다. 또한 혈소판이

Table 3. Effect of methanol extract and various fractions from *A. continentalis* Kitagawa on DPPH radical-scavenging activity

	DPPH	
	Scavenging (%)	RC <sub>50</sub> (mg/ml)
Methanol extract	66.0±2.0	59.1±20.5
Hexane fraction	12.8±0.5	345.5±51.2
Chloroform fraction	41.6±3.0	185.5±55.5
Ethyl acetate fraction	77.7±0.5	45.4±32.4
Butanol fraction	66.5±7.3	126.1±87.4
Water fraction	28.4±5.6	641.0±21.7
BHA	82.3±5.4	6.4±5.8

- 1) Sample concentration: 100 µg/ml
- 2) RC<sub>50</sub>: Concentration required for 50% reduction of DPPH (150 µM) radicals at 30 min after starting the reaction.
- 3) Each value is mean±SD (n=3).

Table 4. Effect of methanol extract and various fractions from *A. continentalis* Kitagawa on ABTS radical-scavenging activity

	ABTS	
	Scavenging (%)	RC <sub>50</sub> (mg/ml)
Methanol extract	7.9±0.2	968.0±46.5
Hexane fraction	2.0±0.6	3511.1±642.7
Chloroform fraction	9.4±0.7	867.5±37.1
Ethyl acetate fraction	43.1±2.5	213.6±12.2
Butanol fraction	18.9±0.9	593.8±253.8
Water fraction	3.0±0.2	1933.2±224.7
Trolox	15.3±11.2	25.3±1.0

- 1) Sample concentration: 100 µg/ml
- 2) RC<sub>50</sub>: Concentration required for 50% reduction of ABTS (30 mM) radicals at 30 min after starting the reaction.
- 3) Each value is mean±SD (n=3).

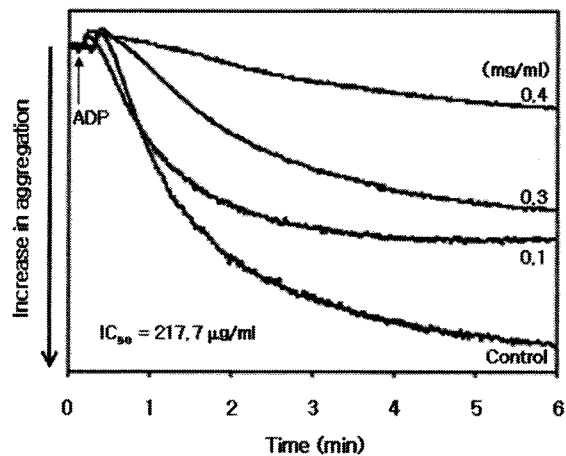


Fig. 1. Effect of the EtOAc fraction on rat platelet aggregation induced by ADP. Washed rat platelets were incubated with sample or DMSO (0.2%) at 37°C for 2 min and then stimulated with ADP (6 µM). The extent of aggregation was measured after 5 min. The IC<sub>50</sub> value calculated at 5 min from these experiments (n=3-5) are given.

피브리노겐과 콜라겐에 부착하는 것에 대한 억제효과를 트롬빈(0.2 U/ml)으로 혈소판을 활성화하여 조사한 결과, EtOAc 분획물이 농도의존적으로 증가하는 경향을 나타내었으며 시료농도 100 µg/ml과 200 µg/ml에서 유의적으로 증가하는 것으로 나타났다(Fig. 2).

이상의 결과로부터 혈전형성의 초기 단계인 혈소판 활성화에 대한 독활의 억제효과는 독활에 존재하는 폴리페놀류의 자유 라디칼 소거능을 통하여 조절되는 것으로 사료되며, 이러한 독활의 활성성분과 혈소판 기능을 조절하는 기전에 대한 연구는 이 결과들을 바탕으로 현재 진행 중에 있다.

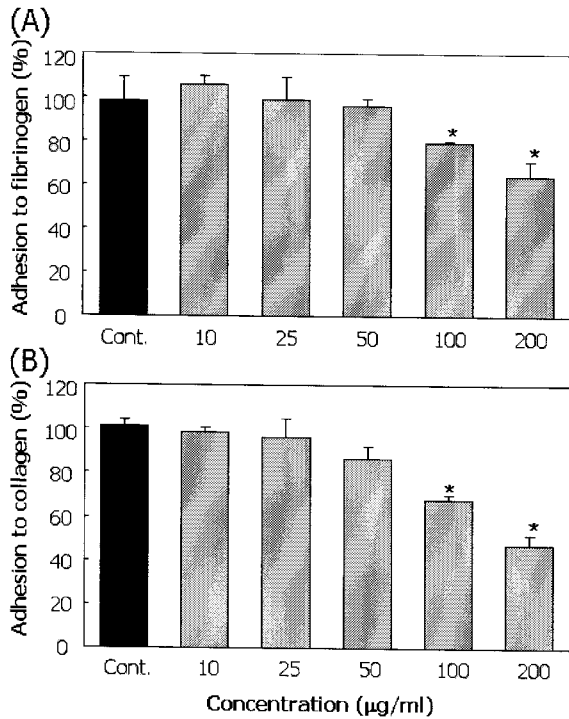


Fig. 2. Effects of the methanol extract and EtOAc fraction on platelet adhesion to fibrinogen (A) or collagen (B). Washed rat platelets were incubated with sample or DMSO (control; 1%) for 10 min at 37°C. After incubation, platelets were activated by thrombin (0.2 U/ml), and the level of adhesion was measured (n=3). \*P<0.05

요 약

독활 메탄올 추출물과 그 분획의 항혈전 및 항산화 효과를 확인하기 위하여 ADP를 이용하여 혈소판 응집억제효과를 탐색하고 DPPH 및 ABTS-radical 소거능을 측정하여 항산화능을 측정하였다. 그 결과 독활, 특히 EtOAc 분획은 ADP에 의해 유도된 혈소판응집과 트롬빈에 의한 혈소판 부착에 대하여 농도 의존적으로 저해효과를 나타내었으며, 높은 폴리페놀 함량과 가장 높은 라디칼 소거능을 통하여 독활의 항산화 효과를 확인하였다. 이상의 결과로 독활 EtOAc 분획의 높은 DPPH 및 ABTS radical 소거능이 항혈소판 효과에 영향을 미치는 것으로 사료된다.

감사의 글

본 연구는 산업자원부 지정 계명대학교 전통미생물자원개발 및 산업화연구센터의 지원으로 수행되었음에 감사드립니다.

References

1. Lefevre, M., P. M. Kris-Etherton, G. Zhao and R. P. Tracy.

2004. Dietary fatty acids, hemostasis, and cardiovascular disease risk. *J. Am. Diet. Assoc.* **104**, 410-419.

2. Mustard, J. F. and M. A. Packham. 1970. Factors influencing platelet function: adhesion, release and aggregation. *Pharmacol. Rev.* **22**, 97-187.

3. Longenecker, G. L., I. A. Swift, R. J. Bowen, B. J. Beyers and A. K. Shah. 1985. Kinetics of ibuprofen effect on platelet and endothelial prostanoid release. *Clin. Pharmacol. Ther.* **37**, 343-348.

4. Miwa, K., H. Kambara and C. Kawai. 1983. Effect of aspirin in large doses on attacks of variant angina. *Am. Heart J.* **105**, 351-355.

5. Perry, L. M. and J. Metzger. 1980. *Medicinal plants of East and Southeast Asia: attributed properties and uses.* pp. 620, MIT Press, Cambridge, MA.

6. Kim, J. S., S. S. Kang, M. W. Lee and O. K. Kim. 1995. Isolation of flavonoids from the leaves of *Aralia continentalis*. *Kor. J. Pharmacogn.* **26**, 239-243.

7. Kim, J. S., S. S. Kang, J. S. Choi, M. W. Lee and T. S. Lee. 1998. Antioxidant components from *Aralia continentalis*. *Kor. J. Pharmacogn.* **29**, 13-17.

8. Park, H. J., M. S. Hong, J. S. Lee, K. H. Leem, C. J. Kim, J. W. Kim and S. Lim. 2005. Effects of *Aralia continentalis* on hyperalgesia with peripheral inflammation. *Phytother. Res.* **19**, 511-513.

9. Han, W. S. 2005. Isolation of the antimicrobial compounds from *Aralia cordata* Thunb. extract. *Korean J. Medicinal Crop Sci.* **13**, 182-185.

10. Jeong S. I., W. S. Han, Y. H. Yun and K. J. Kim. 2006. Continentalic acid from *Aralia continentalis* shows activity against methicilin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Phytother. Res.* **20**, 511-514.

11. Dang, N. H., X. F. Zhang, M. S. Zheng, K. H. Son, H. W. Chang, H. P. Kim, K. H. Bae and S. S. Kang. 2005. Inhibitory constituents against cyclooxygenases from *Aralia cordata* Thunb. *Arch. Pharm. Res.* **28**, 28-33.

12. Durand, P, C. Bloy, F, Peltier-Pujol and D. Blache. 1996. *In-vitro* and *ex-vivo* inhibition of blood platelet aggregation by naftazone. *J. Pharm. Pharmacol.* **48**, 566-572.

13. Veiga, A. B., A. F. Pinto and J. A. Guimaraes. 2003. Fibrinogenolytic and procoagulant activities in the hemorrhagic syndrome caused by *Lonomia obliqua* caterpillars. *Thromb. Res.* **111**, 95-101.

14. Folin, O. and W. Denis. 1912. On phosphotungstic-phosphomolybdic compounds as color reagents. *J. Biol. Chem.* **12**, 239-249.

15. Yu, M. H., H. G. Im, H. J. Lee, Y. J. Ji and I. S. Lee. 2006. Components and their antioxidant activities of methanol extracts from sarcocarp and seed of *Zizyphus jujuba* var. *inermis* Rehder. *Korean J. Food Sci. Technol.* **38**, 128-134.

16. Blois, M. S. 1958. Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature* **181**, 1198-1200.

17. Re, R., N. Pellegrini, A. Proteggente, A. Pannala, M. Yang and C. Rice-Evans. 1999. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radic. Biol. Med.* **26**, 1231-1237.

18. Tusuzynski, G. P. and A. Murphy. 1990. Spectrophotometric quantitation of anchorage-dependent cell numbers using the bicinchoninic acid protein assay reagent. *Anal. Biochem.* **184**, 189-191.
19. Choi, Y. M., M. H. Kim, J. J. Shin, J. M. Park and J. S. Lee. 2003. The antioxidant activities of the some commercial teas. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* **32**, 723-727.
20. Fawzy, A. A., B. S. Vishwanath and R. C. Franson. 1988. Inhibition of human non-pancreatic phospholipases A2 by retinoids and flavonoids. *Mechanism of action. Agents Actions* **25**, 394-400.
21. Tzeng, S. H., W. C. Ko, F. N. Ko and C. M. Teng. 1991. Inhibition of platelet aggregation by some flavonoids. *Thromb. Res.* **64**, 91-100.
22. Lanza, F, A. Beretz, A. Stierle, G. Corre and J. P. Cazenave. 1987. Cyclic nucleotide phosphodiesterase inhibitors prevent aggregation of human platelets by raising cyclic AMP and reducing cytoplasmic free calcium mobilization. *Thromb. Res.* **45**, 477-484.
23. Ancerewicz, J., E. Migliavacca, P. A. Carrupt, B. Testa, F. Bree, R. Zini, J. P. Tillement, S. Labidalle, D. Guyot, A. M. Chauvet-Monges, A. Crevat and A. Le Ridant. 1998. Structure-property relationships of trimetazidine derivatives and model compounds as potential antioxidants. *Free Radic. Biol. Med.* **25**, 113-120.