

원지와 영여자로부터 분리한 8종 화합물의 항균효과

진휘승* · 손락호* · 이용화* · 함아름** · 마웅천** · 김원기*** · 남궁우****,*****,#

*정산생명공학연구소, **서울대학교천연물과학연구소, ***고려대학교의과대학
(Received September 9, 2009; Revised December 8, 2009; Accepted December 8, 2009)

Antimicrobial Activities of Eight Compounds Purified from the Roots of *Polygala tenuifolia* Willdenow and the Aerial Bulbils of *Dioscorea batatas* Decene

Hwi Seung Chin*, Rak Ho Son*, Yong-Hwa Lee*, Ahrom Ham**, Woongchon Mar**,
Won-Ki Kim*** and Kung-Woo Nam****,*****,#

*R&D Center, Jung San Bio Technology, Kyunggi-Do 445-964, Korea

**Natural Products Research Institute, College of Pharmacy, Seoul National University, Seoul 151-742, Korea

***Department of Neuroscience, College of Medicine, Korea University, Seoul 136-701, Korea

Abstract — The chemical structures of eight compounds purified from two plants (*Polygala tenuifolia* Willdenow and *Dioscorea batatas* Decene) were determined and their anti-microbial activity against three microbial strains (*Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, and *Candida albicans*) was tested. The three micro organisms were cultured in 96-well plates or Petri dishes without (control) or with the eight compounds added at concentrations of 100 to 0.01 μM (wt/vol). The growth of the microorganisms in the medium was examined after a 24-h incubation. The inhibitory effect of each compound on the growth of the microorganisms was calculated from the optical density measured at 595 nm, turbidity, and size of the inhibition zone around the treated paper disc. The minimum inhibitory concentration (MIC) of compounds 4 to 7 against *S. aureus* was 0.08, 0.05, 1.3 and 0.02 μM , respectively, and 0.09, 0.1, 0.2 and 100 μM against *C. albicans*. The IC_{50} (50% inhibition) values of compounds 5 and 6 were 3.1 and 6.4 μM against *S. aureus*, respectively, and 10 and 2.4 μM against *C. albicans*. Therefore, compounds 4 to 6 were the most potent anti-microbial agents among the eight compounds tested.

Keywords □ *Polygala tenuifolia*, *Dioscorea batatas*, antimicrobial

최근 보존제와 식품첨가물에 사용되는 인공합성 물질 중 일부가 안정성에 문제가 야기되면서 이들에 대한 사용 규제가 점점 더 강화되는 추세이다. 또한 웰빙에 대한 붐과 함께 건강과 안전에 대한 소비자의 욕구가 증가함에 따라 보존제들도 점차 화학 합성물질 보다는 부작용이 적은 천연물을 이용한 보존제의 개발이 더욱 중요시되고 있다.¹⁾ 이러한 천연물 유래의 보존제를 개발하기 위한 방법은 식품의 부패와 변질을 유발하는 미생물을 활용하여 항균 활성을 가지는 물질을 찾아내는 방법이다.²⁾ 이러한 항균 물질을 개발하려는 연구들은 식품, 의약 및 생물공학 산업 분야에서 오래 전부터 연구가 진행되어 오고 있으며, 한편으로, 이러한 항균물질을 찾아내기 위한 소스(Source)로는 자연으로부터

터 얻어지는 물질 중에서 제한은 없으나 흔히 많은 관심을 가지는 소재 중의 하나가 우리의 주변이나 산야에서 자라는 자생식물이다. 원지(*Polygala tenuifolia* Willdenow)는 원지과(Polygalaceae)에 속한 다년생 초본으로서 뿌리를 채취하여 목심부위를 제거하고 건조한 것이다.³⁾ 원지의 주요 성분으로는 saponin류와 xanthone O-glycosides, xanthenes 등이 보고되었으며,⁴⁻⁸⁾ 주요 효능으로는 안신작용,⁹⁾ 이뇨효과 및 중추 억제작용,¹⁰⁾ potential antipsychotic efficacy,¹¹⁾ anti-inflammatory activity¹²⁾와 cholesterol lowering 효과¹³⁾ 등이 보고되었다. 한편, 마과(Dioscoreaceae)에 속하는 마(*Dioscorea batatas* Dence)의 뿌리는 산약이라고 부르며, 잎겨드랑이에 달리는 주어를 영여자라고 한다. 최근 마(*D. batatas*)에 관한 성분 연구로는 휴면작용을 유도하는 Batatasin I, II, III와 식이섬유의 일종으로 콜레스테롤 저하 효과를 보이는 glucomannan 및 phytic acid, amino acid 성분이 알려져 있으며, 다른 종류의 마(*D. japonica*)에는 mucin, globulin, allantoin,

#본 논문에 관한 문의는 저자에게로
(전화) 02-920-6096 (팩스) 02-953-6095
(E-mail) kwnam1@snu.ac.kr

saponin, choline, glycoprotein, glycosamine, chlorogenic acid 등이 알려졌다.^{14,15)} 그러나 이들 두 식물(종)의 성분들에 대한 항균활성 연구는 부분적으로 연구가 되었으나 대부분이 보고되지 않은 상태이다.

본 연구에서는 2가지 식물인 원지에서 얻어진 3종의 compound와 영여자로부터 얻어진 5종의 compound를 대상으로 *Staphylococcus aureus*(Gram⁺), *Pseudomonas aeruginosa*(Gram⁻)와 *Candida albicans*(진균)에 대한 항균-평가를 통하여 식품보존제의 가능성에 대하여 연구하였다.

실험방법

실험재료

본 실험에 사용된 원지는 2007년 7월 경동시장에서 대량으로 구입하여 수세 후 음건, 분쇄하여 사용하였으며, 영여지는 2006년 10월 충남 예산에서 품종을 확인 후 채집하여 음건 및 세절 후 사용하였다. 증거시료는 정산생명공학연구소의 시료 보관소에[증거번호: 원지(A00345/JS); 영여자(M00001/JS)] 보관 하였다.

원지의 추출 및 물질의 분리

구입 한 원지 중 5 kg을 수세하여 MeOH 용매 20 l씩 3회 냉침 추출하여 얻어진 추출액을 농축하여 메탄올 추출물 1.38 kg을 얻었다. 메탄올 추출물은 증류수를 이용하여 현탁시키고 *n*-

Hexane, chloroform, ethyl acetate의 순서로 순차 분획하여 chloroform 분획물을 감압 농축하여 56 g을 얻어 물질분리에 이용하였다.

Chloroform 분획 5 g을 chloroform : methanol=1 : 0에서 메탄올 단독까지 gradient용매로 silica-gel(Kiesel gel 60(70~230 and 230~400 mesh, ASTM Art. 7734 and 9385, Merck) column chromatography(C.C)를 실시하여 7개의 분획(OC1-OC7)으로 나누었으며, 그 중 OC3(930 mg)과 OC5(542 mg)를 각각 분리 하였다. OC3은 MeOH-methylene chloride(1 : 1) 용매를 이용, Sephadex LH-20(packing물질: Sephadex LH-20(Amersham Biosciences) C.C를 실시하고, 재침전하여 compound 1(20 mg)을 분리 하였다(Fig. 1). 분획물 OC5는 MeOH-methylene chloride(1 : 1)을 유출용매로 하는 Sephadex LH-20 C.C를 실시하여 5개의 분획물(OC51-OC55)을 분리 하였고, 40% MeOH에서 100% MeOH을 유출 용매로 하여 단계적으로 RP Lobar-A C.C를 실시하여 최종 화합물 compound 2(18 mg)와 compound 3(27 mg)을 분리 하였다(Fig. 1). 분리된 화합물은 LC-MS(Agilent 1100LC/MSD trap classic)와 NMR을 이용하여 구조를 동정하였다. Compound 1은 흰색의 무정형 분말로 LC/ESI/MS(m/z): 317[M+H]⁺으로 C₁₇H₁₆O₆인 1,2,3,7-tetramethoxy-xanthone으로 예측하고 Kim 등,¹⁶⁾ Ito 등¹⁷⁾의 문헌과의 비교를 통해 구조를 확정하였으며, compound 2는 흰색의 무정형 분말로 LC/ESI/MS(m/z): 347[M+H]⁺으로 C₁₈H₁₈O₇인 1,2,3,6,7-pentamethoxy-

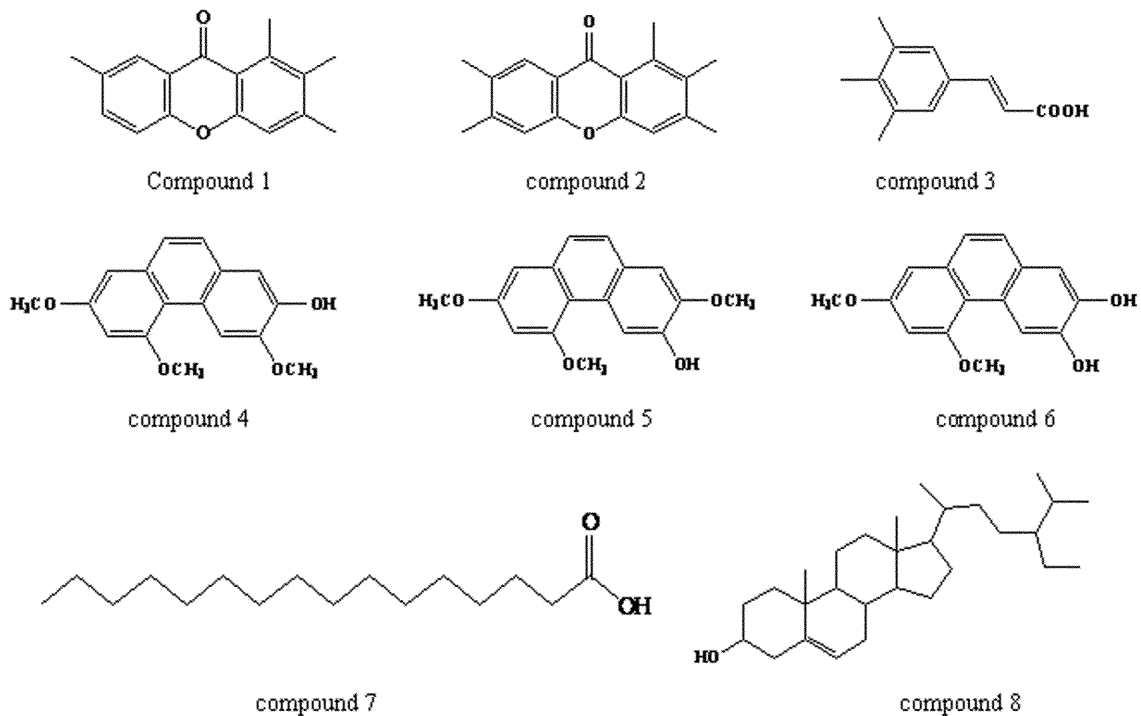


Fig. 1 – Structures of the eight compounds.

xanthone으로 예측하고 Ito 등¹⁷⁾과의 문헌비교를 통해 구조를 확정하였다. Compound 3은 무색의 무정형 분말로 LC/ESI/MS(m/z): 239[M+H]⁺으로 C₁₂H₁₄O₅인 3,4,5-trimethoxycinnamic acid으로 예측하고 Ito 등¹⁷⁾ 문헌과의 비교를 통해 구조를 확정하였다(Fig. 1).

영여자의 용매 추출 및 항균활성 물질의 분리

구입 한 영여자 78 kg을 에탄올에 3회 냉침 후, 감압농축하여 에탄올 추출물 2 kg(수율: 2.6%)을 얻었다. 이 추출물을 증류수에 현탁하여 *n*-Hexane, Chloroform, Ethyl acetate, Butanol의 순서로 순차 분획하여 그 중 *n*-Hexane분획 338 g을 얻었으며, 핵산 분획물을 *n*-Hexane : Ethyl acetate=10 : 1에서 Ethyl acetate 단독까지 gradient 용매로, silica-gel C.C를 실시하여 13개의 부-분획으로 나누었다. 이 중 5~8번 분획물에서 Rf 0.2, 10% H₂SO₄에서 노란색으로 발색된 후 적자색으로 변하며 UV-254 nm에서 보라색을 띠는 물질을 대상으로 Sephadex LH-20 C.C(용매 : methylene chloride/MeOH=1 : 1)로 정제하여 Ethyl acetate/MeOH 혼합용매에서 백색 침상의 결정 compound 4 (20 mg), compound 5(61 mg)를 얻었다(Fig. 1). Silica-gel C.C의 7, 8번 분획물에서 Sephadex LH-20 C.C의 6번 분획물 8.7 g을 대상으로 Sephadex LH-20 C.C(용매 : methylene chloride/MeOH=1 : 1)을 실시하여 7개의 부-분획으로 나눈 후 6번 분획을 대상으로 MeOH 재결정하여 백색침상의 무정형 결정인 compound 6(약 1.8 g)을 얻었다(Fig. 1). Silica-gel C.C의 1번 분획물 184 g 중 1 g을 Ethyl acetate/MeOH 혼합용매를 이용한 재결정을 통해 compound 7(약 40 mg)을 얻었다(Fig. 1). 또한 Silica-gel C.C의 3번 분획물 중 1 g을 Ethyl acetate/MeOH 혼합용매를 이용한 재결정을 통해 compound 8(약 200 mg)을 얻었다(Fig. 1).

획득된 화합물들은 NMR과 LC-Mass를 이용하여 구조를 동정하였다. 백색 침상결정형의 compound 4는 LC/ESI/MS(m/z): 307[M+23]⁺으로 NMR data를 통하여 Coxon 등¹⁸⁾과 Hashimoto 등¹⁹⁾의 문헌과 비교를 통해 구조식이 C₁₇H₁₆O₄인 7-hydroxy-2,4,6-trimethoxyphenanthrene으로 확인하였다(Fig. 1). 백색 침상결정의 compound 5는 LC/ESI/MS(m/z): 307[M+23]⁺으로 C₁₇H₁₆O₄인 6-hydroxy-2, 4,7-trimethoxyphenanthrene(Batatasin D)으로 예측하고 Coxon 등¹⁸⁾과 Takasugi 등²⁰⁾의 문헌을 비교하여 구조를 확정하였다(Fig. 1). Compound 6은 백색침상의 결정형으로 LC/ESI/MS(m/z): 293[M+23]⁺으로 C₁₆H₁₄O₄인 6,7-dihydroxy-2,4-dimethoxyphenanthrene으로 예측하고 Coxon 등¹⁸⁾과 Takasugi 등²⁰⁾의 문헌을 비교하여 구조를 확정하였다(Fig. 1). Compound 7은 EI-MS spectrum 및 NMR spectrum 자료로부터 분자식 C₁₆H₃₂O₂로 M/Z 256(M⁺) palmitic acid로 추정하였고 Nguyen 등²¹⁾과 Kim 등²²⁾의 문헌을 토대로 palmitic acid로

Table I – List of strains used in the experiments

Organisms	Strains	Culture conditions
Gram-positive	<i>Staphylococcus aureus</i> KCTC 1916	TSB, 37°C
Gram-negative	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> KCTC 2513	PDB, 37°C
Fungus	<i>Candida albicans</i> KCTC 2965	NB, 28°C

확정하였다(Fig. 1). Compound 8은 백색 침상결정으로 EI-MS spectrum 및 NMR spectrum 자료로부터 분자식 C₂₉H₅₀O이고 M/Z 414(M⁺)인 β -sitosterol로 추정 후 Nguyen 등²¹⁾과 Kim 등²²⁾의 문헌 비교로 β -sitosterol로 확인 동정하였다(Fig. 1).

사용 균주 및 배지

실험에 사용된 균주인 *S. aureus*, *P. aeruginosa*와 *C. albicans*는 한국유전자은행 (KCTC)에서 분양을 받아 실험에 사용하였다 (Table I). 균주는 사면배지에 배양되어 있는 균주의 단일 집단을 1 백금이를 취한 후, *S. aureus*와 *P. aeruginosa*는 37°C, *C. albicans*는 28°C에서 24시간 액체 배양하여 활성화시켜 사용하였다. 균의 생육 배지는 Nutrient Broth(NB)와 Potato Dextrose Broth(PDB)는 Difco사의 제품을 사용하였고, Tryptic Soy Broth (TSB)와 Agar powder는 Merck사의 제품을 사용하였다.

항균 활성평가

항균 활성의 평가는 paper disc(8 mm size, Advantec)를 이용한 disc diffusion assay로 측정하였다. 해당 평판배지에 균주를 streaking하여 배양한 후 배양된 각 균주를 백금이로 취해 10 ml 배지에 접종, 24시간 배양하여 활성화 시켰다. ELISA reader (Model 550, Bio-Rad)를 이용하여 595 nm에서 흡광도가 0.08~0.1(McFarland standard 0.5)이 되도록 하여 1.5×10⁸ cfu/ml의 균을 실험에 사용하였다. 항균시험용 평판배지는 1.5% 한천배지를 121°C에서 15분간 멸균하고 60°C 정도로 냉각하여 멸균된 petri-dish에 약 20 ml씩 분주하여 제작하였다. 굳은 배지는 멸균된 glass spreader로 균을 고르게 spreading 한 후 paper disc를 올려놓았다. 측정하고자하는 시료를 10 mM/disc가 되도록 0.5% DMSO에 용해시킨 후 20 μ l를 주입하여 incubator(DX7, Hanyoung)에서 48시간 배양 후 paper disc 주위의 inhibition zone의 직경을 측정하였다. 대조군으로는 그람 양성균과 음성균에 대하여 ampicillin과 진균류에 대하여 Euxyl K400을 사용하였다.

최소 억제농도(Minimal Inhibitory Concentration: MIC) 측정

MIC 평가는 96 well plate를 이용한 broth dilution test를 일부 변형하여 수행하였다. 각각의 균주를 활성화 시킨 후, ELISA reader(Model 550, Bio-Rad)를 이용하여 595 nm에서 흡광도가

0.08~0.1(McFarland standard 0.5)이 되게 하여 균수를 3×10^7 cfu/well/0.2 ml이 되도록 배양 배지를 분주하였다. 시료는 각각 최종 농도 100, 10, 1, 0.1, 0.01 μM 이 되도록 하였다. Incubator에서 24시간 배양한 후 595 nm에서 흡광도를 측정하여 최소 억제농도(MIC)를 결정하였다.

생육 저해율 측정

미생물의 생육 저해율 측정은 최소억제농도와 동일한 방법으로 실험하였다. 시료의 효능은 control의 흡광도를 100%로 보고 50%의 억제농도 (IC₅₀)를 결정하였다.

유의성 측정 및 통계처리

실험은 duplicate로 3회 이상 반복실험으로 재현성을 검증하였으며 유의성검사를 위하여 분산분석(ANOVA) 및 T-test를 이용하였다.

실험결과 및 고찰

화합물의 항균 활성 효과

본 연구에는 사용한 시료는 자생식물 및 한약재 2,300종을 대상으로 1차 항균활성 평가를 실시하였고, 그 결과에서 항균 활성을 나타낸 원지와 영여자를 선별하였다. 선별된 2가지 식물인 원지와 영여자를 대상으로 각각 3종과 5종의 compound를 분리하였다. 이들 식물에서 분리한 8종의 compound를 이용하여 disc diffusion assay를 통한 항균력 측정 결과를 Table II에 나타내었다. 10 mM/disc 농도로 원지에서 분리한 3가지 화합물에 대한 항균 활성을 측정한 결과, 3가지 화합물 모두 *P. aeruginosa* (Gram⁻)에 대하여 항균 활성을 보였고, *C. albicans*(진균)에 대해서는 compound 1과 2에서 항균 활성을 보였으나, 그람 양성균

Table II – Evaluation of the antimicrobial activities of the compounds against two bacteria and a fungus

Compound	Diameter of the growth inhibition zone		
	Gram-positive	Gram-negative	Fungus
	<i>S. aureus</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>C. albicans</i>
1	-	+	++
2	-	+	+
3	-	+	-
4	+++	+	++
5	++	+	++
6	+++	++	++++
7	++	+	+
8	-	+	-
Ampicillin	+++	++	-
Euxyl K400	-	-	+

Size of the growth inhibition clear zone: -, not detected; +, less than 1.5 mm; ++, 1.5~4.5 mm; +++, 4.5~10 mm; +++, >10 mm. Concentration: 10 mM.

인 *S. aureus*에서는 항균 효능이 나타나지 않았다. 안 등²³⁾의 생약추출물들을 이용한 항균활성 보고에 의하면 원지추출물을 포함하고 있으나 원지의 성분에 대한 항균활성 연구는 수행하지 못하였으므로 본 연구에서 수행한 원지의 화합물에 대한 활성 측정은 더욱 의미가 있다. 본 연구의 실험결과 xanthone의 경우에 7번에만 형성된 methyl group(-CH₃)이 6번과 7번 모두에 형성된 methyl기 보다는 *C. albicans*(진균)에 대해서 더 강한 항균 활성을 나타내었다. 영여자에서 분리한 triterpene계 compound 8의 경우 *P. aeruginosa*(Gram⁻)에 대해서만 항균활성을 나타내었으며, phenanthrene 구조의 compound 4, 5, 6, 7은 3가지 균에 모두에 대하여 항균활성을 나타내었다. 또한 phenanthrene 구조는 6번과 7번 탄소의 hydroxyl group(-OH)이 항균 활성에 큰 영향을 주었으며 특히 compound 6는 대조군으로 사용한 ampicillin과 Euxyl K400과 비교하여 대등 또는 그 이상의 항균활성을 가지는 것으로 나타났다.

최소억제농도

S. aureus(Gram⁺)에 대한 compound 4, 5, 6, 7의 MIC는 각각 0.03, 0.05, 1.3, 0.02 μM 로 나타났다. 또한 *P. aeruginosa* (Gram⁻)에 대해서는 8종의 compound 모두의 MIC가 0.01 μM 보다 낮은 농도에서 측정되었다. 또한 *C. albicans*(진균)에 대한 compound 1, 2, 4, 5, 6, 7의 활성은 각각 0.05, 1, 0.09, 0.1, 0.2, 100 μM 로 나타났다. 본 실험에서 96-well 및 disc diffusion assay를 3번 이상의 반복 실험한 결과를 바탕으로 8종의 compound에 대한 최소억제농도 (MIC)를 산출하여 Table III에 나타내었다.

생육 저해율 측정

S. aureus(Gram⁺)에 대한 IC₅₀(50% 저해농도)은 compound 4, 5, 6에서 각각 1.3, 3.1 및 6.4 μM 로 측정이 되었고, compound 7은 100 μM 이상으로 나타났다. *P. aeruginosa*(Gram⁻)에 대한 IC₅₀은 compound 6에서만 49.3 μM 로 측정되었고, *C. albicans*

Table III – Minimum inhibitory concentration (MIC) of the compounds against two bacteria and a fungus

Compound	MIC (μM)		
	Gram-positive	Gram-negative	Fungus
	<i>S. aureus</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>C. albicans</i>
1	-	<0.01	0.05±0.004
2	-	<0.01	1.0±0.06
3	-	<0.01	-
4	0.08±0.003	<0.01	0.09±0.008
5	0.05±0.006	<0.01	0.1±0.02
6	1.3±0.06	<0.01	0.2±0.03
7	0.02±0.002	<0.01	100
8	-	<0.01	-

Table IV – The 50% inhibitory concentrations (IC₅₀) of the compounds against two different bacteria and a fungus

Compound	IC ₅₀ (μM)		
	Gram-positive	Gram-negative	Fungus
	<i>S. aureus</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>C. albicans</i>
1	-	>100	>100
2	-	>100	>100
3	-	>100	-
4	1.6±0.12	>100	>100
5	1.7±0.14	>100	10±0.54
6	6.4±0.30	49.3±3.70	2.4±0.40
7	>100	>100	>100
8	-	>100	-
Ampicillin	0.011±0.002	>100	-
Euxyl K400	-	-	>100

(진균)에 대한 IC₅₀은 compound 5와 6에서 각각 10과 2.4 μM로 측정되었다. 이러한 50% 생육저해율(IC₅₀)에 대한 결과를 Table IV에 나타내었다.

결 론

원료로부터 3종의 화합물과, 영여자로부터 5종의 화합물을 분리하여 구조를 규명하였다. 총 8종의 화합물을 이용하여 *S. aureus* (Gram⁺), *P. aeruginosa* (Gram⁻) 및 *C. albicans* (진균)을 대상으로 disc diffusion assay와 broth dilution test를 통한 최소억제농도 (MIC)와 50% 생육저해율(IC₅₀)을 측정하여 항균 활성을 평가하였다. 특정농도(10 mM/disc)에 대한 disc diffusion assay 결과 compound 4, 5, 6 과 7은 실험에 사용된 3가지 균에 대하여 모두 항균 활성이 나타났으며, 특히 phenanthrene 구조를 가지는 compound 6은 대조군으로 사용한 ampicillin과 Euxyl K400 이상의 항균 활성이 나타났으며 구조적인 연관성으로는 6번과 7번 탄소에 결합한 hydroxyl group(-OH)의 존재에 따라 항균활성이 높아짐을 알 수 있었다. MIC 측정 결과 *P. aeruginosa* (Gram⁻)에 대해서는 8가지 compound 모두 0.01 μM 이하에서 나타났으며 *S. aureus* (Gram⁺)는 compound 4, 5, 6, 7이 각각 0.08, 0.05, 1.3, 0.02 μM의 결과를 보였다. 그리고 *C. albicans* (진균)에 대해서는 compound 1, 2, 4, 5, 6, 7이 각각 0.05, 1, 0.09, 0.1, 0.2, 100 μM인 것으로 측정되었다. 또한 IC₅₀에 대한 평가결과 *S. aureus* (Gram⁺)에 대하여 compound 4, 5, 6이 각각 1.6, 3.1, 6.4 μM로 나타났으며 *P. aeruginosa* (Gram⁻)에 대한 IC₅₀은 compound 6이 49.3 μM로 측정되었다. *C. albicans* (진균)에 대한 IC₅₀은 compound 5와 6에서 각각 10.0과 2.4 μM로 측정되었다. 이상의 8가지 화합물에 대한 항균효과를 종합해 볼 때 compound 6이 3가지 균에 모두에 대하여 항균활성이 대조군과 비교하여 우수하게 나타나므로 보존제로서의 가치가 가장 높게 나타났다.

또한 차후 compound 6의 효능에 대한 기전연구가 병행된다면 항균활성에 대한 작용기전을 연구하는 분야에 진일보를 기대할 수 있는 화합물로 판단된다.

감사의 말씀

본 연구는 2009년도 정산생명공학연구소 R&D 지원비에 의하여 연구되었으며 이에 감사드립니다.

참고문헌

- 1) Beuchat, L. R. and Golden, D. A. : Antimicrobial occurring naturally in foods. *Food Technol.* **43**, 134 (1989).
- 2) Tabanca, N., Kirimer, N., Demirci, B., Demirci, F and Baser, K. H. : Composition and antimicrobial activity of the essential oils of *Micromeria cristata* subsp. *Phrygia* and the enantiomeric distribution of borneol. *J. Agric. Food Chem.* **49**, 4330 (2001).
- 3) 김창민, 신민교, 안덕균, 이경순 : 중약대사전, 도서출판 정담, 서울 p. 4265 (1998).
- 4) Kim, J. S., Lee, Y. S., Lee, J. H. and Kim, J. S. : A study on the constituents from the roots of *Polygala tenuifolia*. *Kor. J. Pharmacogn.* **30**, 168 (1999).
- 5) Park, M. K., Park, J. H., Kim, B. Y., Kim, J. M., Liem, K. J. and Han, B. H. : Analysis of alkaloids in *Polygala tenuifolia* by HPLC. *Analytical Science & Technology* **6**, 255 (1993).
- 6) Jiang, Y. and Tu, P. F. : Xanthone O-glycosides from *Polygala tenuifolia*. *Phytochemistry* **60**, 813 (2002).
- 7) Ikeya, Y., Sugama, K., Okada, M. and Mitsushashi, H. : Two xanthenes from *Polygala tenuifolia*. *Phytochemistry* **30**, 2061 (1991).
- 8) Fujita, T., Liu, D. Y., Ueda, S. and Takeda, Y. : Xanthenes from *Polygala tenuifolia*. *Phytochemistry* **31**, 3997 (1992).
- 9) Lee, T. H. : The research on the pharmacological concept of sedative effect of *Polygalae Radix*. *J. of Herbology* **12**, 1 (1997).
- 10) Park, D. K. and Lee, W. H. : Effects of the Saponin of *Polygalae Radix* on the renal function and CNS-Depression. *Kor. J. Pharmacog.* **14**, 178 (1983).
- 11) Chung, I. W., Moore, N. A., Oh, W. K., O'Neill, M. F., Ahn, J. S., Park, J. B., Kang, U.G. and Kim, Y. S. : Behavioural pharmacology of polygalasaponins indicates potential antipsychotic efficacy. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior.* **71**, 191 (2002).
- 12) Hwang, S. Y., Kang, H. W. and Lyu, Y. S. : Studies on inhibitory effect of inflammatory cytokines secretion from brain astrocytes by *polygala tenuifolia*. *J. of Oriental Neuropsychiatry* **10**, 95 (1999).
- 13) Woo, W. S. and Lee, K. Y. : Effects of total saponin and oil fraction of *polygala tenuifolia* on serum cholesterol level in rabbits. *Kor. J. Pharmacog.* **6**, 8 (1962).

- 14) Lee, M. H. and Jang, Y. J. : Pharmacognosical studies of marketing *Dioscoreae rhizoma*. 이화학연구 **23**, p.17 (1984).
- 15) Arvill, A. and Bodin, L. : Effect of short-term ingestion of konjac glucomannan on serum cholesterol in healthy men. *Am. J. Clin. Nutr.* **61**, 585 (1995).
- 16) Kim, J. S., Park, J. S., Kim, K. and Doh, S. : A study on the constituents from the Roots of *Polygala tenuifolia*. *Kor. J. Pharmacogn.* **30**, 417 (1999).
- 17) Ito, H., Taniguchi, H., Kita, T., Matsuki, Y., Tachikawa, E. and Fujita, T. : Xanthones and a cinnamic acid derivatives from *Polygala tenuifolia*. *Phytochemistry* **16**, 1614 (1977).
- 18) Coxon, D. T., Ogundana, S. K. and Dennis, C. : Antifungal phenanthrenes in yam tubers. *Phytochemistry* **21**, 1389 (1982).
- 19) Hashimoto, T., Hasegawa, K., Yamaguchi, H., Saito, M. and Ishimoto, S. : Structure and Synthesis of batatasins, dormancy-inducing substances of yam bulbils. *Phytochemistry* **13**, 2849 (1974).
- 20) Takasugi, M., Kawashima, S., Monde, K., Katsui, N., Masamune, T. and Shirata, A. : Antifungal compounds from *Dioscorea batatas* inoculated with *Pseudomonas cichorii*. *Phytochemistry* **26**, 371 (1987).
- 21) Nguyen, A. T., Malonne, H., Duez, P., Fastre, R. V., Vanhaelen, M. and Fontaine, J. : Cytotoxic constituents from *Plumbago zeylanica*. *Fitoterapia*. **75**, 500 (2004).
- 22) Kim, J. S., Choi, Y. H., Seo, J. H., Lee, J. W., Kim, Y. S., Ryu, S. Y., Kang, J. S., Kim, Y. K. and Kim, S. H. : Chemical constituents from the root of *Brassica campestris* ssp rapa. *Kor. J. Pharmacogn.* **35**, 259 (2004).
- 23) Ahn, D. J., Kwak, Y. S., Kim, M. J., Lee, J. C., Shin, C. S. and Jeong, K. T. : Screening of herbal plant extracts showing antimicrobial activity against some food spoilage and pathogenic microorganisms. *Korean J. Medicinal Crop. Sci.* **8**, 109 (2000).