

황기의 지질과산화 억제작용

김은정 · 양기숙[#]

숙명여자대학교 약학대학

(Received November 11, 2004; Revised December 15, 2004)

Antilipidperoxidative activity of *Astragalus membranaceus*

Eun-Jung Kim and Ki-Sook Yang[#]

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

Abstract — The root of *Astragalus membranaceus* (Leguminosae) has been used in traditional chinese prescriptions for strengthening the superficial resistance, promoting pus discharge and tissue regeneration, diuretic and alleviating edema. Lipid peroxidation has been suggested as a major cause of atherosclerosis, cancer, liver disease, and the aging process. In order to investigate the anti-lipid peroxidation activity, Astragali Radix was extracted with 80% MeOH and fractionated with hexane, CH₂Cl₂, EtOAc, BuOH and Water. The antilipid peroxidation activities of them were determined by human erythrocyte ghost and CCl₄-induced lipid peroxidation. CH₂Cl₂ and EtOAc fractions, especially, isoflavonoids, 7,2'-dihydroxy-3',4'-dimethoxyisoflavan-7-O-β-D-glucoside and calyco sin-7-O-β-D-glucoside from EtOAc fraction showed anti-lipid peroxidation activities.

Keywords □ *Astragalus membranaceus*, human erythrocyte ghost, anti-lipid peroxidation activities

황기(黃芪, Astragali Radix)는 콩과(Leguminosae)에 속하는 황기(*Astragalus membranaceus* Fisch.)의 주피를 벗긴 뿌리를 건조한 것이다.¹⁾ 민간에서 익기고표(益氣補表), 이수소종(利水消腫), 자한(自汗), 도한(盜汗)을 치료하며 밀자(蜜炙)한 것은 보중익기(補中益氣)의 효능이 알려져 있다.^{2,3)} 성분으로는 주로 saponin,⁴⁻⁶⁾ isoflavan⁷⁻⁹⁾류에 대하여 연구가 이루어져 있다. 생리활성으로 김 등^{10,11)}의 일차 배양 흰쥐 간세포를 이용하여 황기의 MeOH 추출물 및 물 분획이 CCl₄로 유도된 세포독성에서 GPT 활성억제 작용, 백 등¹²⁾의 황기의 80% EtOH 추출물의 물분획으로부터 분리한 7,3'-dihydroxy-4'-methoxyisoflavone-7-O-β-D-glucoside가 일차배양한 간세포에서 CCl₄ 처리에 의한 GPT유리 억제작용, 김 등¹³⁾의 CCl₄ 유발 간장해에 대해 국산황기의 MeOH 추출물과 중국산과의 비교, Toyoda 등¹⁴⁾의 황기에서 분리된 isoflavone 류가 ROS에 의하여 유도된 지질과산화 억제작용 등이 보고되어 있으며 김 등^{15,16)}은 황기의 분획 및 성분의 저밀도지질단백질

(LDL)산화에 미치는 영향 및 COX-2 억제작용에 대하여 보고한 바 있다. 이상의 연구는 일차배양간세포를 이용하는 등의 시험관내 실험 또는 MeOH 추출물에 대한 생체내 실험이다. 본 연구에서는 산화적 스트레스로부터 생체막을 보호할 수 있는 천연 자원의 지질과산화 억제제를 개발하고자 황기의 메탄올 추출물 및 각 용매분획물에 대하여 적혈구막을 이용한 항산화작용과 사염화탄소를 투여하는 *in vitro* 및 *in vivo* 실험을 행하고 활성성분을 분리하여 지질과산화에 미치는 영향을 평가하였다.

실험 방법

실험재료

본 실험에 사용한 재료식물인 황기(*Astragalus membranaceus*)는 강원도 정선에서 재배한 5~6년생의 뿌리를 경동시장에서 구입하여 사용하였다. 확증표본은 숙명여자대학교 표본실에 보관하였다.

실험동물

웅성 Sprague -Dawley계 흰쥐를 일주일 이상 동일조건하에서

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

사용하여 동물실 환경에 적응시켰으며, 동물실 온도는 $20 \pm 2^\circ\text{C}$, 습도는 $50 \pm 10\%$ 로 유지하였고, 실험기간 동안 고형 사료와 상수를 충분히 공급하였다.

분획물의 조제

황기(3 kg)를 세절한 후 조말로 하여 80% MeOH로 수욕상에서 환류하여 4시간씩 3회 가온 추출 후 여과하고 여액을 감압 농축하여 MeOH 추출물을 얻었다(수득율: 11.1%). 이 MeOH 추출물에 증류수를 가하고 상법에 따라 추출하여 hexane(5.5%), methylene chloride(5.7%), ethyl acetate(2.8%), butanol(40.0%), water(46.0%) 분획을 얻었다.

성분의 분리

상기의 80% MeOH 추출물 및 각 분획층에 대해 항산화 활성을 검토하여 CH_2Cl_2 및 EtOAc 분획에서 활성을 확인하고 column chromatography를 수행하여 활성물질의 분리를 시도하였다. 황기의 80% MeOH 추출물에서 얻은 CH_2Cl_2 분획 중 17 g을 silicagel column chromatography(n-hexane \rightarrow acetone 100:1 \rightarrow 0:1)를 실시하여 13개의 소분획을 얻었고, 이중 4번째, 7번째와 10번째 분획에서 화합물 I(250 mg), 화합물 II(35 mg), 화합물 III(40 mg)을 분리하였고, 또한 EtOAc 분획 중 8 g을 silicagel column chromatography($\text{CHCl}_3 \rightarrow$ MeOH 20:1 \rightarrow 0:1)를 실시하여 16개의 소분획을 얻었으며, 그 중 8, 10번째 분획에서 화합물 IV(9 mg), 화합물 V(16 mg)를 분리하였다.

화합물 I – Colorless plate(CHCl_3 -MeOH) mp $139\sim 142^\circ\text{C}$; IR, $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ 3421(OH), 1057 (OH), 959(C=C) cm^{-1} ; $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3) δ ppm, 0.67(3H, s, CH_3 -18), 0.82(3H, d, $J=6.82$ Hz, H-21), 0.83(3H, d, $J=6.84$ Hz, H-27), 1.00 (3H, s, CH_3 -19), 3.51(1H, m, H-3), 5.34(1H, br d, $J=5.1$ Hz, H-6); $^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, CDCl_3) δ 11.8(t, C-18), 12.0(t, C-29), 18.8(t, C-21), 19.0(t, C-27), 19.4(t, C-19), 19.8(t, C-26), 21.1(d, C-11), 23.0(d, C-28), 24.3(d, C-15), 26.1(d, C-23), 28.2(d, C-16), 29.2(s, C-25), 31.6(d, C-2), 31.9(d, C-7), 31.9(s, C-8), 33.9(d, C-22), 36.1(s, C-20), 36.5(q, C-10), 37.2 (d, C-1), 39.8 (d, C-12), 42.3(d, C-4), 42.3(q, C-13), 45.8(s, C-24), 50.1(s, C-9), 56.0(s, C-17), 56.7(s, C-14), 71.8(d, C-3), 121.7(s, C-6), 140.7(q, C-5); MS(m/z) : 414[M] $^+$, 399, 381, 329, 303, 273, 255, 231, 213

화합물 II – Colorless(CHCl_3 -MeOH) mp $168\sim 169^\circ\text{C}$; IR $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ 3420(OH), 1755(ester), 1467, 1389(CH_3), 1081, 1020 (glycosidic C-O), 721 ($[\text{CH}_2]_n$) cm^{-1} ; $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3) δ 0.67(3H, s, CH_3 -18), 0.84 (3H, t, H-29), 1.00(3H, s, CH_3 -19), 1.26($[\text{CH}_2]_n$), 4.00(1H, m, Glc H-5), 4.08(1H, m H-3), 4.37(1H, d, $J=7.6$ Hz, Glc H-1), 4.26(1H, br d, $J=11.8$ Hz,

Glc H-6), 4.46(1H, dd, $J=4.8$, 12.1, Glc H-6), 5.08(1H, d, $J=7.6$ Hz, Glc H-1), 5.36(1H, br s, H-6); $^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, CDCl_3) δ 11.8(t, C-18), 12.0(t, C-29), 14.1(t, CH_3), 18.8(t, C-26), 19.0(t, C-21), 19.4(t, C-19), 19.8(t, C-27), 21.1 (d, C-11), 23.1(t, C-28), 24.3(d, C-15), 26.1(d, C-23), 28.3(d, C-16), 29.2 (s, C-25), 31.8(d, C-2), 31.9(s, C-8), 32.0(d, C-7), 34.0(d, C-22), 36.2(s, C-20), 36.7(q, C-10), 37.3(d, C-1), 39.8 (d, C-12), 39.9(d, C-4), 42.3(q, C-13), 45.8(s, C-24), 50.2(s, C-9), 56.1 (s, C-17), 56.8(s, C-14), 63.2(s, glc-6), 70.1(s, glc-4), 73.5(s, glc-5), 73.9(s, glc-2), 76.7(s, glc-3), 79.6(d, C-3), 101.2(s, glc-1), 122.2(s, C-6), 140.3(q, C-5), 174.7(C=O)

화합물 III – Colorless powder(CHCl_3 -MeOH) mp $264\sim 265^\circ\text{C}$; IR $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ 3421(OH), 1637(C=C), 1075, 1024(glycosidic C-O), 800(CH=C) cm^{-1} ; $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$) δ 0.67 (3H, s, CH_3 -18), 0.95(3H, s, CH_3 -19), 5.07(1H, d, $J=7.7$ Hz, Glc H-1), 5.37(1H, br s, H-6); $^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, $\text{C}_5\text{D}_5\text{N}$) δ 12.0(t, C-18), 12.2(t, C-29), 19.1(t, C-21), 19.3(t, C-19), 19.5(t, C-27), 20.0(t, C-26), 21.4(d, C-11), 23.4(t, C-28), 24.6 (d, C-15), 26.7(d, C-23), 28.6(d, C-16), 29.5(s, C-25), 30.3(d, C-2), 32.1(s, C-8), 32.2(d, C-7), 34.4(d, C-22), 36.4(s, C-20), 37.0(q, C-10), 37.6(d, C-1), 39.4(d, C-4), 40.0(d, C-12), 42.5 (q, C-13), 46.1(s, C-24), 50.4(s, C-9), 56.3(s, C-17), 56.9(s, C-14), 62.9(s, glc-6), 71.7(s, glc-4), 75.4(s, glc-2), 78.1(s, glc-3), 78.1(s, glc-5), 78.7(d, C-3), 102.6(s, glc-1), 122.0(s, C-6), 141.0(q, C-5)

화합물 IV – Colorless needles(CHCl_3 -MeOH) mp $145\sim 147^\circ\text{C}$; $[\alpha]_{\text{D}}^{23.5} = -52.4^\circ$ (c, 0.14 in EtOH); IR $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ 3405(OH), 1093, 1024(glycosidic C-O) cm^{-1} ; UV λ_{max} (MeOH) : 232, 280 nm; $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, MeOH- d_4) δ 2.77(1H, br dd, $J=3.9$, 14.7 Hz, H-4), 2.89(1H, dd, $J=10.7$, 15.8 Hz, H-4), 3.35(1H, m, H-3), 3.70(3H, s, 3'- OCH_3), 3.71(3H, s, 4'- OCH_3), 4.16(1H, ddd, $J=1.9$, 3.3, 10.1 Hz, H-2), 4.75(1H, d, $J=7.3$ Hz, Glc-1), 6.36(1H, d, H-5'), 6.45(1H, d, $J=2.4$ Hz, H-8), 6.52(1H, dd, $J=2.5$, 8.4, H-6), 6.68(1H, d, $J=8.7$ Hz, H-6') 6.88(1H, d, $J=8.4$ Hz, H-5); $^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, MeOH- d_4) δ 31.3(d, C-4), 55.3(t, OCH_3), 61.0(t, OCH_3), 62.5(d, glc-6"), 71.0(d, C-2), 71.4(s, glc-4"), 75.0(s, glc-2"), 78.1(s, glc-5"), 79.4(s, glc-3"), 102.5(s, glc-1"), 104.5(q, C-8), 105.7(s, C-5'), 110.3(s, C-6), 117.9(q, C-10), 122.3(q, C-1'), 122.8(s, C-6'), 131.2(s, C-5), 133.5(s, C-3), 137.6(q, C-3') 149.6(q, C-2'), 153.2(q, C-4'), 158.4(q, C-7), 159.3(q, C-9)

화합물 V – Colorless powder(CHCl_3 -MeOH) mp $221\sim 222^\circ\text{C}$; IR $\nu_{\text{max}}^{\text{KBr}}$ 3405(OH), 1622(conjugated C), 1592(C=C), 1086, 1024(glycosidic C-O) cm^{-1} ; UV λ_{max} (MeOH) : 262, 288(sh)

nm; Positive FAB-Mass(m/z) : 447 $[M+H]^+$, 285; 1H -NMR (600 MHz, C_5D_5N) δ 3.75(3H, s, OCH_3), 5.80(1H, d, $J=7.4$ Hz, Glc-1), 7.03(1H, d, $J=8.8$ Hz, H-5'), 7.26(1H, br d, $J=8.8$ Hz, H-6), 7.29(1H, d, $J=8.3$ Hz, H-6'), 7.41(1H, br s, H-8), 7.76(1H, br s, H-2'), 8.14(1H, s, H-2), 8.34(1H, d, $J=8.8$ Hz, H-5); ^{13}C -NMR(150 MHz, C_5D_5N) δ 55.9(t, OCH_3), 62.4(d, glc-6"), 71.2(s, glc-4"), 74.8(s, glc-2"), 78.5(s, glc-3"), 79.4(s, glc-5"), 101.8(s, glc-1"), 104.2(q, C-8), 112.4(s, C-5'), 116.0(s, C-6), 117.8(s, C-2'), 119.8(q, C-10), 120.4(s, C-6'), 125.0(q, C-3), 126.0(q, C-1'), 127.8(s, C-5), 148.1(q, C-3'), 148.8(q, C-4'), 153.1(s, C-2), 157.8(q, C-9) 162.3(q, C-7), 175.6(q, C-4)

시험관내 지질과산화 억제작용

MeOH 추출물과 각 분획의 시험관내 지질과산화 억제작용은 human erythrocyte ghost membrane을 이용한 실험과 흰쥐의 간조직을 이용하여 Fe^{++}/H_2O_2 system을 이용한 실험으로 평가하였다. 시험관내 실험에서 유의성 있는 지질과산화 억제작용을 나타낸 분획에 대하여 생체내 실험으로 흰쥐에 CCl_4 를 투여하여 간독성을 일으키고 활성분획을 투여하여 지질과산화에 미치는 영향을 측정하였다. 또한 혈청 중의 GOT, GPT, AIP, total-cholesterol 및 triglyceride(TG)의 농도를 측정하여 간 및 지질대사에 미치는 영향을 검토하였다.

Human erythrocyte ghost membrane을 이용한 지질과산화 억제작용의 측정 - 신선한 사람의 혈액 50 ml에 10 mM phosphate/152 mM NaCl buffer(pH 7.4) 150 ml를 가하여 혼합한 후 1,500 g에서 20분간 원심분리하여 상정액을 제거한다(3회 반복). 얻어진 erythrocyte에 10 mM phosphate buffer(pH 7.4) 100 ml를 가하여 혼합한 후 20,000 g에서 40분간 원심분리하여 상정액을 제거하여 ghost를 얻었다(3~4회 반복).¹⁷⁾ 단백질 정량은 bovine serum albumin을 표준품으로 하여 Bradford protein assay¹⁸⁾를 이용하여 측정하였고, ghost의 함량은 단백질량 환산치로 구하였다.

위의 방법으로 얻은 erythrocyte ghost membrane을 2.5 mg protein/ml로 조제한 후 24 mM t-butylhydroperoxide와 농도별로 조제한 시료를 가하여 1 ml이 되게 한 후 37°C에서 30분간 배양한 후 병냉한다. 이 용액에 TBA 시액 1.5 ml과 50 mM BHT 10 μ l를 가해 100°C에서 10분간 가열한 후 병냉하고 3,500 rpm으로 4°C에서 15분간 원심분리 하였다. 상정액을 535 nm에서 spectrophotometer를 이용하여 흡광도를 측정하고 억제율을 구한 후 IC_{50} 를 계산하였다.

흰쥐 간 균질액을 이용한 지질과산화 억제작용의 측정 - 약물 투여가 끝난 흰쥐를 ether로 가볍게 마취시키고 해부하여 간 문맥을 통하여 얼음으로 냉각한 0.15 M KCl 용액을 관류시켜 간

내의 혈액을 제거하고 간을 적출하였다. 간의 무게를 측정하고 얼음으로 냉각한 0.15 M KCl 용액으로 세척한 후 신속히 간 조직 1g을 취하여 얼음으로 냉각한 0.15 M KCl 용액을 가하여 10 ml이 되도록 하여 세절한 후 약 5분간 얼음욕에서 균질화하여 사용하였다. 간 균질액 중의 단백질의 농도는 bovine serum albumin을 표준시료로 하여 Bradford protein assay¹⁸⁾에 의해 결정하였다. 대조군은 간 균질액(3 mg protein)에 H_2O 100 μ l, 10 mM $FeSO_4$ 100 μ l, 60 mM H_2O_2 50 μ l, 시료군(용매분획물 및 화합물)은 농도별로 조제한 각 시료 100 μ l 및 0.01 M 인산 완충액을 가하여 전체 부피가 1 ml이 되도록 한 후 균질기로 혼합하고 37°C에서 20분간 진탕배양 하였다.¹⁹⁾ 배양액에 TBA 액 2.0 ml를 각각 가하고 95°C에서 30분간 가열하여 발색시켰다. 3000 rpm에서 15분간 원심분리한상등액을 pasteurpipette으로 취하여 spectrophotometer로 535 nm에서 흡광도를 측정하였다.

생체내 지질과산화 억제작용

Normalcontrol군은 saline을, negative control군, positive-control군과 시료투여군은 CCl_4 와 olive oil을 1:1 용액으로조제하여 2 ml/kg을 피하주사하고, 1시간 후 normalcontrol군과 negative control군은 0.05% Na-CMC 용액 1 ml/kg을, positive-control군은 silymarin 100 ml/kg을 경구 투여하고 시료 투여군은 각 시료를 200 ml/kg, 400 ml/kg, 800 ml/kg씩 3일간 투여하였다. 제 4일에는 시료만을 경구투여하고 마지막 투여 후 24시간 동안 상수만을 공급하였다. 이때 saline 투여군을 A군, CCl_4 투여군을 B(2 ml/kg)군으로 하였다. 지질의 조제, 단백질 정량 및 지질과산화 억제작용의 측정은 시험관내에서의 실험에서와 동일하게 조작하였다.

혈청중 GOT, GPT, AIP, totalcholesterol, triglyceride(TG)의 농도 측정 - Normal control군, negative control군, positive control군 및 시료투여군에서 혈청을 분리한 후 Blood autochemistry analyser(Cobas-Mira, Roche Co., Germany)를 이용하여 GOT(glutamic oxalo acetic transaminase), GPT(glutamic pyruvic transaminase), AIP(alkaline phosphatase), total cholesterol 및 TG(triglyceride)의 농도를 측정하였다.

간장 및 비장의 무게 측정 - Normal control군, positive control군, negative control군 및 시료투여군의 간장 및 비장의 중량을 측정하여 체중에 대한 백분율을 구하였다.

통계학적 처리

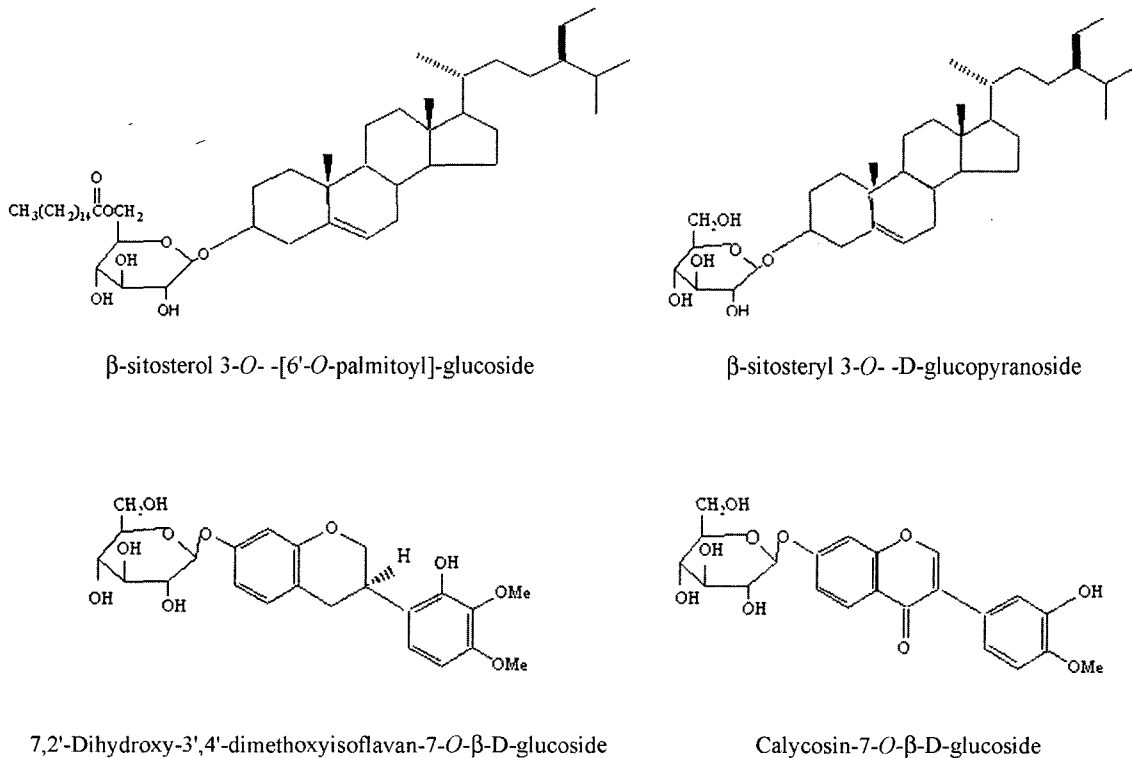
모든 실험결과는 평균치와 실험오차로 나타내었고 각 군간의 비교는 Student's t-test를 사용하였으며 대조군과 비교하여 $p < 0.05$ 일 때를 통계학적 유의성이 있다고 판단하였다.

결과 및 고찰

성분의 구조

화합물 I은 백색 판상 결정으로 IR spectrum에서 3421 cm^{-1} 에서 OH, 1057 cm^{-1} 에서 OH, 959 cm^{-1} 에서 trans double bond로 추정되는 흡수 band가 나타나는 것으로 sterol로 추정됐고, EI-ms에서 m/z : $414[\text{M}]^+$, $399[\text{M}-\text{CH}_3]^+$, $381[\text{M}-\text{CH}_3-\text{H}_2\text{O}]^+$, $329[\text{M}-85]^+$, $303[\text{M}-111]^+$, $273[\text{M}-\text{side chain}]^+$, $255[273-\text{H}_2\text{O}]^+$, $231[\text{M}-\text{side chain-ring D}]^+$, $213[231-\text{H}_2\text{O}]^+$ 의 peak를 확인할 수 있었으므로 β -sitosterol임을 추정할 수 있었다. $^1\text{H-NMR}$ spectrum에서 δ 0.67 ppm과 1.00 ppm에서 CH_3 -18과 CH_3 -19의 singlet signal들이 각각 관찰되었으며, 3.51 ppm에서 H-3의 1H에 해당하는 multiplet signal이 나타났고, 5.34 ppm에서 H-6의 olefinic proton이 $J=5.1\text{ Hz}$ 의 broad한 doublet으로 나타나는 것으로 이를 확정할 수 있었다. $^{13}\text{C-NMR}$ 결과와 문헌^{20,21}과의 종합적인 비교와 표준품의 TLC를 통해, 화합물 I은 β -sitosterol로 확인하였다. 화합물 II는 백색의 무정형 물질로 IR spectrum에서 3420 cm^{-1} 에서 OH, 1738 cm^{-1} 에서 ester, 1467 및 1380 cm^{-1} 에서 CH_3 , 1081 및 1020 cm^{-1} 에서 glycosidic C-O band, 그리고, 721 cm^{-1} 부근에서 long chain(CH_2)_n의 존재를 나타내는 흡수 band가 관찰되었으므로, acylated sterol glycoside로 추정되었다. $^1\text{H-NMR}$ spectrum에서 CH_3 -18 및 CH_3 -19의 proton이

각각 0.67과 1.00 ppm에서 나타나는 것으로 보아 sterol은 β -sitosterol임을 추정할 수 있었다. 당의 anomeric proton이 δ 4.37 ppm에서 $J=7.6\text{ Hz}$ 의 doublet으로 나타났으므로, 당은 β 결합하고 있음을 알 수 있었다. 이외에도 1.26 ppm에서 (CH_2)_n에 기인한 signal이 강하게 나타나며, 당의 methylene proton이 각각 4.26(1H, br d, $J=11.8\text{ Hz}$)과 4.46 ppm(1H, dd, $J=4.8, 12.1\text{ Hz}$)에서 나타나는 것으로 보아 acyl기는 당의 C-6 OH에 ester결합하고 있음을 추정할 수 있었다. $^{13}\text{C-NMR}$ spectrum을 보면 당에 기인한 signal들이 64.6, 71.5, 75.0, 75.4, 77.4 및 102.6 ppm에서 나타나는 것으로 보아 당은 glucose이며, acyl group은 glucose의 C-6에 결합하고 있음을 확인할 수 있었다. 이와같은 사실은 이 화합물의 HMBC spectrum으로 확인할 수 있었다. 이 화합물을 알칼리 분해시켜 β -sitosteryl glucoside를 확인하였고, 지방산을 methylation시켜 GC/MS를 실시하여 분석한 결과 C_{16} 의 포화지방산인 palmitic acid(63.0%)가 주성분이며, 이 외에도 C_{18} 포화지방산인 stearic acid(15.2%), C_{18} 불포화지방산인 linoleic acid(16.3%) 및 oleic acid(5.5%)가 함유되어 있음을 확인하였다. 따라서 화합물 II의 화학구조는 β -sitosterol 3-O- β -[6'-O-palmitoyl]-glucoside로 확정하였다. 화합물 III은 백색의 무정형 분말로써 IR spectrum에서 3421 cm^{-1} 에서 OH, 1637, 800 cm^{-1} 에서 trisubstituted C=C, 1075, 1024 cm^{-1} 에서 glycosidic C-O로 추정되는 흡수 band가 나타나는 것으로 sterol glycoside



Scheme I – Structure of compounds.

로 추정되었다. $^1\text{H-NMR}$ spectrum에서 18- CH_3 및 19- CH_3 의 chemical shift값이 0.67 ppm과 0.95 ppm에서 나타나며, glucose의 δ 5.07 ppm에서 7.7 Hz의 doublet으로 나타나고 있었다. $^{13}\text{C-NMR}$ spectrum에서 62.9, 71.74, 78.14, 78.53 및 102.6 ppm에서 당의 carbon peak가 나타나는 것으로 보아 이 물질은 β -sitosterol-3-O- β -D-glucopyranoside로 추정되었으며, 이는 $^{13}\text{C-NMR}$, DEPT의 결과와 문헌^{22,23}과의 비교로 확인하였다. 화합물 IV는 백색의 침상 결정으로 IR spectrum에서 3398 cm^{-1} 에서 OH, 1093, 1028 cm^{-1} 에서 glycosidic C-O로 추정되는 흡수 band가 나타났다. $^1\text{H-NMR}$ spectrum에서 δ 3.70과 3.71 ppm에서 2개의 $-\text{OCH}_3$ 기에 기인하는 singlet signal들이 나타나며, 6.36과 6.68 ppm에서 ortho coupling하고 있는 2개의 proton이 doublet ($J=8.7$ Hz)으로 나타나고 있다. 또한 1,2,4-trisubstituted benzene에 기인하는 signal들이 6.45(d, $J=2.4$ Hz), 6.52(dd, $J=2.5, 8.4$ Hz), 및 6.88(d, $J=8.4$ Hz)에서 나타난다. 이외에도 4.16(1H, ddd, $J=1.9, 3.3, 10.1$ Hz)과 3.91 ppm(1H, t, $J=10.1$ Hz)에서 oxygenated CH_2 에 기인하는 proton들과, 3.35 ppm에서 1H에 해당하는 multiplet, 및 2.89 ppm(1H, dd, $J=10.7, 15.8$ Hz)과 2.77 ppm(1H, br dd, $J=3.9, 14.7$ Hz)에서 나타나는 benzylic CH_2 에 기인하는 signal들이 특징적으로 나타나는 것으로 이 화합물은 isoflavan계 화합물임을 추정하였고, 이와같은 추정은 이 화합물의 $^{13}\text{C-NMR}$ spectrum에서 C-2, 3 및 C-4가 각각 71.0, 33.5 및 31.3 ppm에서 나타나고 있는 것으로 확정할 수 있었다. 이 이외에도 78.1, 78.0, 75.0, 71.4 및 62.5 ppm에서 당에 기인하는 signal들이 나타나는 것으로 보아 glucose가 존재함을 확인하였다. 또한, glucose의 anomeric H가 4.75 ppm에서 $J=7.3$ Hz의 doublet으로 나타나는 것으로 보아 β 결합하고 있으며, 이 proton은 HMBC spectrum에서 C-7(δ 158.4)과 cross peak를 나타내는 것으로 보아 C-7의 OH에 결합된 것으로 결정할 수 있다. 따라서 이 화합물은 7,2'-dihydroxy -3',4'-dimethoxy-isoflavan-7-O- β -D-glucoside로 결정할 수 있었으며, 이 화합물의 HMBC spectrum의 해석으로 이를 확정하였다. 이 화합물의 선광도 값이 $[\alpha]^{23.5}_D = -52.4(c=0.14, \text{EtOH})$ 이므로, 이 화합물의 C-3 configuration은 R임을 알았고, 이 화합물은 (3R)-7,2'-dihydroxy-3',4'-dimethoxyisoflavan-7-O- β -D-glucoside임을 확정하였다.²⁴⁻²⁶ 화합물 V는 백색의 무정형 분말로 IR spectrum에서 3405 cm^{-1} 에서 OH, 1623 cm^{-1} 에서 conjugated carbonyl이, 1592 cm^{-1} 에서 aromatic C=C로 추정되는 band가 확인되었고, 1086, 1036 cm^{-1} 에서 glycosidic C-O로 추정되는 흡수 band가 나타났으며, UV 흡수는 MeOH 용액 중에서 288(sh) nm, 262 nm에서 극대흡수가 나타나는 것으로 보아 isoflavone glycoside로 추정되었다. 이 화합물의 Positive FAB-MS에서 $[M+1]^+$ peak가 m/z 447에서 나타나고, 이로부터 hexose가 탈리되어 aglycon 부위를 나타내는 fragment ion peak가 m/z 285에서 나타나는 것으로 보아 이

화합물은 하나의 OCH_3 와 2개의 OH가 존재함을 알 수 있었다. 이 화합물의 $^1\text{H-NMR}$ spectrum을 보면 3.75 ppm에서 하나의 methoxy가 singlet으로 나타나며, 8.14 ppm에서 isoflavone 특유의 H-2 signal이 singlet으로 나타나고 있다.^{27,28} 이 외에도 $^1\text{H-}^1\text{H}$ cosy spectrum을 보면 7.29(1H, br d, $J=8.2$ Hz), 7.03(1H, d, $J=8.2$ Hz) 및 7.41(1H, br s)에서 나타나는 signal들이 H로 correlation 하고 있으므로, B환의 3',4'위치에 OH 또는 OCH_3 기가 치환되어있음을 추정할 수 있다. 또 8.34(1H, d, $J=8.8$ Hz), 7.26(1H, dr d, $J=8.8$ Hz) 및 7.76(1H, br s)에서 나타나는 signal들도 서로 correlation하고 있으므로, A환은 C-7 위치가 치환되어있음을 알 수 있었다.²⁸ 따라서 이 화합물의 aglycone은 이미 식물로부터 보고되어 있는 calycosin임을 추정할 수 있었다. $^{13}\text{C-NMR}$ spectrum에서 55.9 ppm에서 $-\text{OCH}_3$ 의 peak가 62.42, 71.21, 74.84, 78.50, 79.35 및 101.84 ppm 등에서 나타나는 signal들은 glucose의 각 탄소의 signal로 추정되었다. HMBC spectrum을 보면 δ 5.80에서 $J=7.4$ Hz의 doublet으로 나타나고 있는 glucose의 anomeric proton이 162.3 ppm에서 나타나고 있는 C-7과 correlation하고 있으므로 glucose가 calycosin의 C-7에 β 결합되어 있음을 알았다. 따라서 이 화합물은 calycosin -7-O- β -D-glucoside로 결정하였으며 문헌²⁹⁻³¹과 비교한 바, 화합물 V는 calycosin-7-O- β -D-glucoside임을 확정하였다.

Human erythrocyte ghost membrane에 미치는 영향

과산화 지질(Lipid peroxide)이란 지질과 산소가 결합하여 생성된 peroxide(-O-O-) 구조를 가진 각종 산화생성물을 말하며, 지질성분인 불포화 지방산에 산소가 결합되어 생성된 화합물을 총칭한다. 생체내에서 생성된 지질 과산화물에 대해서는 Glavind³²가 최초로 지질과산화물과 아테롬성 동맥경화증과의 관계를 보고한 이후부터 혈액 및 조직의 지질과산화물의 존재와 조직에 대한 장애성이 주목되게 되었고, 생체 내 지질과산화물이 각종 장기에 장애를 주어 질병의 원인이 됨을 밝혀냈다. 세포막의 주된 지질성분은 인지질이며, 이 인지질은 linoleic acid나 arachidonic acid 등과 같은 이중 결합이 많은 고도불포화 지방산을 함유하고 있고 또한 산소 분자는 물층에서 보다 지질층에서 잘 용해되며 생체막 주위에는 강력한 산화 촉매제인 철 복합물과 heme 단백질들이 존재하기 때문에 생체막은 지질과산화반응이 일어나기 쉽다.^{33,34} 이러한 지질 과산화의 대상으로는 적혈구 막이 빈번하게 활용되는데, 이는 여기에 불포화 지방산의 함량이 매우 높고 쉽게 얻을 수 있을 뿐 아니라, 철 화합물인 헤모글로빈이 들어 있고, 산소를 직접 운반하는 기구이므로 O^2 와 H_2O_2 가 많이 생성 되는 곳이기도 하다. 또한 catalase, SOD, free radical scavenger 등과 같은 방어장치가 발달되어 있는 곳이기도 하여, 이러한 적혈구막을 그대로 또는 그들의 ghost, resealed ghost를 지질과산화 실험의 방법으로 많이 사용한다.^{35,36} 이에 본 실험에

Table I – Effects of *Astragalus membranaceus* on human erythrocyte ghost membrane lipid peroxidation

| Group | IC ₅₀ (mg/ml) |
|-------------------------------------|--------------------------|
| Ascorbic acid | 0.06 |
| MeOH ex. | 1.50 |
| Hexane fr. | 1.48 |
| CH ₂ Cl ₂ fr. | 0.19 |
| EtOAc fr. | 0.09 |
| BuOH fr. | 0.68 |
| Water fr. | 2.01 |

IC₅₀ : Concentration samples required for 50% inhibition of control (100%) lipid peroxidation. Erythrocytes were isolated by centrifugation for 20 min at 1500G with 10 mM phosphate/152 mM NaCl buffer (PH 7.4) washed three times with buffer. Suspended in phosphate buffer (10 mM, PH 7.4) containing NaCl (152 mM) buffer for all subsequent experiments.

서는 human erythrocyte ghost membrane를 사용하여 황기의 MeOH 추출물 및 각 분획이 세포막의 지질 과산화반응에 미치는 영향을 검토하였다. Ghost에 시료를 가하지 않은 것을 대조군으로 하고, 이 대조군의 지질과산화정도를 100으로 하였을 때, 시료를 가한 경우의 지질과산화 억제율을 측정하였다. 그리고 대조군의 지질과산화를 50% 억제하는데 필요한 양(IC₅₀)을 측정 한 결과는 Table I과 같다. Ascorbate는 resealed human erythrocyte ghosts에서 지질세포막의 산화적 손상에 대하여 보호작용을 한다는 보고가 있다.^{37,38)} EtOAc 분획은 IC₅₀ 0.09 mg/ml로 양성대조약물인 ascorbic acid IC₅₀ 0.06(mg/ml)로 비슷한 정도의 약효를 나타내었으며, 다음으로는 CH₂Cl₂ 분획이 IC₅₀ 0.19 mg/ml로 활성을 보였다. 물 분획은 IC₅₀ 2.01 mg/ml로 낮은 활성을 나타내었다.

시험관내에서 간조직의 지질과산화에 미치는 영향

Fe⁺⁺/H₂O₂ system을 이용하여 지질과산화를 유발시킨 간 조직에 각 분획 및 화합물을 농도별로 가하고 생성된 MDA의 농도를 측정 한 결과는 Table II와 같다. CH₂Cl₂ 분획 및 EtOAc 분

Table II – Effects of *Astragalus membranaceus* on lipid peroxidation of rat liver homogenate *in vitro*

| Group | MDA (nmol/mg protein) | | | IC ₅₀ (mg/ml) |
|-------------------------------------|-----------------------|-------------|---------------|--------------------------|
| | 0.625 | 1.250 | 2.500 (mg/ml) | |
| Normal | | 4.59±0.70 | | |
| Control | | 18.43±0.12 | | |
| PC. | | 8.32±0.84** | | |
| Hexane fr. | 14.20±2.48 | 13.40±0.86 | 12.46±2.79 | 3.47 |
| CH ₂ Cl ₂ fr. | 9.03±0.81* | 5.46±0.52** | 5.36±0.23** | 1.91 |
| EtOAc fr. | 10.67±0.45* | 7.90±1.20* | 5.12±0.26** | 0.24 |
| BuOH fr. | 14.17±1.72 | 13.80±0.24 | 11.06±1.43* | 2.28 |
| Water fr. | 16.39±0.60 | 13.21±1.50 | 12.20±2.73 | 2.65 |

PC. (Positive control) : 200 µg/ml of silymarin. Each value represents the mean±S.E. of 5 rats. Significantly different from CCl₄-intoxicated group : **p*<0.01, ***p*<0.001.

Table III – Anti-lipid peroxidative effects of compound I–V of *Astragalus membranaceus* on the liverhomogenate

| Group ^{b)} | Concentration (µM) | Inhibitory ratio (%) ^{a)} |
|---------------------|--------------------|------------------------------------|
| Compound I | 0.6 | 11.7 |
| | 1.2 | 24.1 |
| | 2.4 | 34.9 |
| Compound II | 0.3 | 10.1 |
| | 0.6 | 21.6 |
| | 1.2 | 44.0 |
| Compound III | 0.3 | 29.9 |
| | 0.6 | 34.0 |
| | 1.2 | 42.2 |
| Compound IV | 0.5 | 91.9 |
| | 1.0 | 96.6 |
| | 2.0 | 98.3 |
| Compound V | 0.5 | 92.2 |
| | 1.0 | 96.7 |
| | 2.0 | 98.9 |

^{a)}% inhibition of MDA levels in rat liver homogenate.

^{b)}Compound I : β-sitosterol, Compound II : β-sitosterol 3-O-β-[6'-O-palmitoyl]-glucoside, Compound III : β-sitosterol 3-O-β-D-glucopyranoside, Compound IV : 7,2'-Dihydroxy-3',4'-dimethoxy isoflavan-7-O-β-D-glucoside, Compound V : Calycosin-7-O-β-D-glucoside.

획은 모든 용량에서 유의성 있는 억제작용을 나타내었으며 BuOH 분획은 고용량(2,500 mg/kg)에서 유의적인 억제작용을 나타내었으며 EtOAc 분획은 고용량에서 양성대조약물인 silymarin과 비슷한 약효를 나타내었으며 IC₅₀ 0.24 mg/ml로 활성이 가장 높게 나타났다. 황기의 CH₂Cl₂ 및 EtOAc 분획에서 분리된 화합물의 지질과산화억제작용은 Table III과 같다. Steroid 성분인 화합물 I-III 보다는 flavonoid 성분인 화합물 IV와 화합물 V가 우수한 지질과산화 억제작용을 나타내었다. 이러한 결과는 Toyoda¹⁴⁾ 등이 superoxide anion generation에 의해 유도된 lecithin peroxidation을 isoflavone류인 calycosin과 formononetin이 억제한다는 보고와도 일치하였다. 즉 isoflavonoid인 화합물 IV(7,2'-Dihydroxy-3',4'-dimethoxyisoflavan-7-O-β-D-glucoside)와 화합물 V(Calycosin-7-O-β-D-glucoside)는 90% 이상의 높은 지질과산화 억제율을 나타내었다.

생체내에서 간조직의 지질과산화에 미치는 영향

Fadhel 등³⁹⁾은 CCl₄를 투여하여 독성을 일으킨 후 black tea(the fermented leaves of *Camellia sinensis*, Theaceae) 추출물을 투여하여 지질과산화에 미치는 영향을 측정 한 결과 간장과 고환의 지질과산화에 유의성 있는 억제작용을 나타내었음을 보고하였다. 황기 MeOH 추출물의 CH₂Cl₂, EtOAc 및 BuOH 분획을 각각 200, 400, 800 mg/kg/day의 농도로 경구투여한 후 간을 적출하고 지질과산화에 미치는 영향을 관찰한 결과는 Table IV와 같다. 황기의 CH₂Cl₂ 및 EtOAc 분획은 CCl₄ 유도 간 독성으로 인한 간 균질액의 지질과산화에 대해 농도 의존적으로 유

Table IV – Effects of *Astragalus membranaceus* on carbon tetrachloride-induced hepatic lipid peroxidation

| Group | MDA (nmol/mg protein) | | | IC ₅₀ (mg/ml) |
|-------------------------------------|-----------------------|-------------|-------------|-----------------------------|
| | I | III | III | |
| Normal | | 4.02±0.38 | | |
| N.C. | | 13.27±1.02 | | |
| P.C. | | 6.86±0.20* | | |
| CH ₂ Cl ₂ fr. | 7.92±0.21* | 6.04±0.19** | 4.46±0.47** | 0.16 |
| EtoAc fr. | 7.46±0.47** | 5.95±0.45** | 4.31±0.18** | 0.12 |
| BuOH fr. | 9.52±0.50 | 9.20±0.45 | 8.48±0.44 | 0.71 |

Normal group was injected 2 ml/kg of saline, s.c for 3 days. The samples were administered into p.o. afters.c CCl₄-olive oil (2 mg/kg/day for 3 days). N.C. (Negative control) : 2 ml/kg/day of CCl₄-olive oil for 3 days. P.C. (Positive control) : 100 mg/kg/day of silymarin, p.o. I : 200 mg/kg/day, p.o. II : 400 mg/kg/day, p.o. III : 800 mg/kg/day, p.o. Each value represents the mean ± S.E. of 5 rats. Significantly different from CCl₄-intoxicated group : **p* < 0.01, ***p* < 0.001.

의성 있는 억제효과를 보였으며, EtOAc 분획 및 CH₂Cl₂ 분획의 800 mg/kg/day 투여군에서는 Normal군과 비슷한 수준으로 지질 과산화를 억제하였다.

혈청 인자에 미치는 영향

황기의 EtOAc, CH₂Cl₂ 및 BuOH 분획을 농도별로 경구 투여 한 실험동물의 혈청으로부터 GOT, GPT, AIP, total cholesterol(T-cholesterol), triglyceride(TG)의 함량을 측정 한 결과는 Table V 와 같다. CH₂Cl₂ 및 EtOAc 분획 투여군은 CCl₄ 투여로 증가한 간 기능 지표 효소인 s-GOT, s-GPT, AIP는 농도의존적으로 감소 함을 보였으며 400 mg/kg/day 투여군에서는 양성대조물질로 사 용한 silymarin과 대등한 정도의 약효를 나타내었으며, 800 mg/kg/day 투여군에서는 silymarin보다 우수한 효과를 나타내었다. 혈청지질의 주요성분은 cholesterol, triglyceride, phospholipid

Table V – Effects of *Astragalus membranaceus* on s-GOT, s-GPT and AIP activities

| Group | s-GOT (IU/l) | s-GPT (IU/l) | AIP (IU/l) | T-Chole sterol (mg/dl) | TG (mg/dl) | |
|-------------------------------------|--------------|--------------|------------|------------------------|------------|------------|
| Normal | 179.0±1.4 | 27.0±0.8 | 142.0±2.8 | 48.0±0.8 | 16.7±0.5 | |
| N.C. | 450.6±9.0 | 98.5±2.3 | 264.5±13.8 | 73.0±1.8 | 62.2±1.7 | |
| P.C. | 270.2±17.7** | 62.2±1.7** | 198.5±2.4* | 62.2±3.4* | 45.7±2.6* | |
| CH ₂ Cl ₂ fr. | I | 386.6±22.8 | 80.0±7.0 | 227.3±11.7 | 65.3±1.5* | 40.3±1.5* |
| | II | 260.0±4.0** | 64.0±3.6** | 202.6±1.5** | 58.3±2.3** | 32.6±0.6** |
| | III | 231.6±1.5** | 53.6±1.5** | 188.0±3.6** | 51.6±1.2** | 26.3±0.6** |
| EtOAc fr. | I | 376.3±32.1 | 76.6±5.7* | 239.6±3.5 | 62.3±0.6* | 35.3±1.2** |
| | II | 250.3±15.6** | 57.0±4.0** | 199.0±4.6** | 57.6±1.5* | 31.3±0.6** |
| | III | 200.3±6.0** | 49.6±2.1** | 161.0±4.0** | 52.3±1.5** | 26.6±2.5** |
| BuOH fr. | I | 407.6±13.2 | 83.3±9.5 | 240.3±9.0 | 70.3±2.3 | 24.6±1.2** |
| | II | 385.0±19.2 | 80.0±7.2 | 227.0±10.8 | 68.3±2.5 | 22.0±1.7** |
| | III | 256.3±3.2** | 53.0±3.6** | 189.3±2.5** | 61.0±1.0** | 18.6±0.6** |

Normal group was injected 2 ml/kg of saline, s.c. for 3 days. The samples were administered into p.o. afters.c CCl₄-olive oil (2 mg/kg/day) for 3 days. N.C. (Negative control) : 2 ml/kg/day of CCl₄-olive oil for 3 days. P.C. (Positive control) : 100 mg/kg/day of silymarin, p.o. I : 200 mg/kg/day, p.o. II : 400 mg/kg/day, p.o. III : 800 mg/kg/day, p.o. Each value represents the mean ± S.E. of 5 rats. Significantly different from N.C. : **p* < 0.01, ***p* < 0.001.

Table VI – Effects of *Astragalus membranaceus* on liver and spleen weights

| Group | Liver/Body weight (%) | Spleen/Body weight (%) | |
|-------------------------------------|-----------------------|------------------------|-------------|
| Normal | 3.53±0.07 | 0.28±0.01 | |
| N.C. | 4.85±0.03 | 0.41±0.01 | |
| P.C. | 4.20±0.11* | 0.33±0.01** | |
| CH ₂ Cl ₂ fr. | I | 4.77±0.04 | 0.35±0.01** |
| | II | 4.59±0.06 | 0.32±0.01** |
| | III | 4.37±0.01** | 0.30±0.01** |
| EtOAc fr. | I | 4.80±0.02 | 0.36±0.01** |
| | II | 4.67±0.01 | 0.34±0.01** |
| | III | 4.35±0.02** | 0.30±0.01** |
| BuOH fr. | I | 4.56±0.15 | 0.35±0.01** |
| | II | 4.66±0.09 | 0.32±0.01** |
| | III | 4.13±0.12** | 0.30±0.01** |

Normal group was injected 2 ml/kg of saline, s.c. for 3 days. The samples were administered into p.o. afters.c CCl₄-olive oil (2 mg/kg/day) for 3 days. N.C. (Negative control) : 2 ml/kg/day of CCl₄-olive oil for 3 days. P.C. (Positive control) : 100 mg/kg/day of silymarin, p.o. I : 200 mg/kg/day, p.o. II : 400 mg/kg/day, p.o. III : 800 mg/kg/day, p.o. Each value represents the mean ± S.E. of 5 rats. Significantly different from N.C. : **p* < 0.01, ***p* < 0.001.

및 free fatty acid(FFA)이며 FFA는 albumin과 결합하고 기타 지 질은 lipoprotein으로 존재하며 정상농도의 변화는 지질대사이상 의 규명에 중요한 역할을 하는 것으로 알려져 있다. 혈청 중 T-cholesterol 함량도 CH₂Cl₂ 및 EtOAc 분획 투여군에서 농도의 존적으로 감소하였으며 TG는 모든 분획에서 유의성있는 억제작 용을 나타내어 지질대사를 개선시킴을 알 수 있었다.

간장 및 비장 중량에 미치는 영향

황기의 EtOAc, CH₂Cl₂ 및 BuOH 분획이 간장과 비장에 미치 는 영향을 보기 위해 간과 비장의 질량을 체중에 대한 백분율로 측정 한 결과는 Table VI와 같다. 간장의 중량은 각 분획의 고농 도인 800 mg/kg/day 투여군에서 유의성 있는 감소를 보였으며,

비장의 중량도 모든 분획에서 유의성있는 억제작용을 나타내었다.

결 론

각종 질병의 원인이 되고 있는 활성산소에 대한 천연물로부터의 항산화제의 개발을 목적으로 황기에 대하여 그 활성을 검토하였다. 황기의 MeOH ex.와 hexane, CH₂Cl₂, EtOAc, BuOH, water 분획의 human erythrocyte ghost membrane을 이용한 지질의 과산화 억제 효과와 시험관내 및 생체내에서의 지질과산화 및 혈청에 미치는 영향을 측정된 결과는 다음과 같다.

Human erythrocyte membrane ghost에 의한 지질과산화 억제작용은 EtOAc 분획에서 양성대조약물인 ascorbic acid와 비슷한 억제작용을 나타내었으며, 다음으로는 CH₂Cl₂ 분획이 우수한 활성을 나타내었다. 간 지질에 미치는 영향은 EtOAc 및 CH₂Cl₂ 분획의 400 mg/kg/day 투여군에서 간 기능 지표효소인 s-GOT, s-GPT, AIP 농도에 대해서 silymarin과 대등한 정도의 활성을 나타냈으며, 800 mg/kg/day의 농도에서는 더 우수한 효과를 나타내었다. 또한 혈청 중 cholesterol, TG의 함량도 유의성 있게 감소시켰다. 간장 중량은 800mg/kg/day 투여군에서 유의성 있게 감소하였으며, 비장의 중량은 모든 시료 투여군에서 농도 의존적으로 유의성 있게 감소하였다. 이상으로 황기의 EtOAc 분획이 가장 지질과산화 억제작용이 우수하였으며 이 활성분획으로부터 분리된 isoflavonoid 성분인 화합물 IV(7,2'-Dihydroxy-3',4'-dimethoxyisoflavan-7-O-β-D-glucoside)와 화합물 V(Calycosin-7-O-β-D-glucoside)는 우수한 지질과산화 억제작용을 나타냄을 확인하였다.

감사의 말씀

본 연구는 숙명여자대학교 2004년도 교내특별연구비 지원에 의해 수행되었으며 이에 감사드립니다.

문 헌

- 1) 생약학교재편찬위원회 : 생약학, 동명사, 서울, p. 471 (2004).
- 2) Tsuneo, N. : The encyclopedia of Wakan-Yaku, Hoikusha, Osaka, p. 144 (1993).
- 3) Zhu, Y. P. : Chinese Materia Medica, Harwood academic publishers, Amsterdam, p. 560 (1998)
- 4) Hirotoni, M., Zhou, Y., Rui, H. and Furuya, T. : Cycloartane triterpene glycosides from the hairy root cultures of *Astragalus mongholicus*. *Phytochem.* **37**, 1403 (1994).
- 5) Zhou, Y., Hirotoni, M., Rui, H. and Furuya, T. : Two triglycosidic triterpene astragalosides from the hairy root cultures of *Astragalus mongholicus*. *Phytochem.* **38**, 1407 (1995).
- 6) Zhu, Y. Z., Lu, S. H., Okada, Y., Takata, M. and Okuyama, T. : Two new cycloartane-type glucosides, mongholicoside I and II, From the aerial part of *Astragalus membranaceus* Bunge. *Chem. Pharm. Bull.* **40**, 2230 (1992).
- 7) El-Sebakhy, N. A., Assad, A. M., Abdallah, R. M., Toaima, S. M., Abdel-Kader, M. S. and Stermite, F. R. : Antimicrobial isoflavans from *Astragalus* species. *Phytochem.* **36**, 1387 (1994).
- 8) Anetai, M., Kanetoshi, A., Shibata, T., Iida, O. and Hatakeyama, Y. : Chemical evaluation of *Astragali radix* prepared from *Astragalus mongholicus* Bunge cultivated in Hokaido. *Natural Medicines* **50**, 163 (1996).
- 9) Anetai, M., Katsura, E., Katoh, Y. and Yamagishi, T. : Chemical evaluation of *Astragali radix*. *Natural Medicines* **48**, 244 (1994).
- 10) 김영숙, 박기현 : 수종의 전통약제가 일차배양 흰쥐 간세포에서 CCl₄ 유발 세포독성에 미치는 영향. *생약학회지* **25**, 388 (1994).
- 11) 김영숙, 경중수, 박기현 : 일차배양 흰쥐 간세포에서 사염화탄소 유발 세포독성에 대한 수종 용매분획의 억제효과 검색과 *in vivo* 간보호 작용평가. *약학회지* **40**, 52 (1996).
- 12) 백남인, 김영숙, 경중수, 박기현 : 황기의 간기능 보호 성분. *생약학회지* **27**, 111 (1996).
- 13) 김미려 : Carbon tetrachloride로 유발한 흰쥐의 간 손상에 미치는 황기의 효과. *경산대 동서의학* **19**, 7 (1994).
- 14) Toda, S. and Shirataki Y. : Inhibitory effects of isoflavones in roots of *Astragalus membranaceus* Bunge (*Astragali Radix*) on lipid peroxidation by reactive oxygen species. *Phytother. Res.* **12**, 59 (1998).
- 15) 김은정, 양기숙 : 황기의 저밀도지질단백질(LDL) 산화에 미치는 영향. *약학회지* **45**, 529 (2001).
- 16) 김은정, 오오진, 이상국, 양기숙 : 황기의 COX-2 활성 억제 효과. *생약학회지* **32**, 311 (2001).
- 17) Osawa, T., Ide, J. D. and Namiki, M. : Inhibition of lipid peroxidation by ellagic acid. *J. Agric. Food Chem.* **35**, 808 (1987).
- 18) Bradford, M. M. : A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal. Biochem.* **72**, 248 (1976).
- 19) Buege, J. A. and Aust, S. D. : Microsomal lipid peroxidation. methods. *Enzymol.* **52**, 302 (1978).
- 20) 김진숙, 김연태, 김정숙 : 황기(*Astragalus membranaceus* Bunge) 뿌리의 성분 연구(I). *생약학회지* **27**(4), 336 (1996).
- 21) 강삼식, 김주선, 강윤정, 한혜경 : 음양곽의 성분에 관한 연구(II). *생약학회지* **21**(1), 56 (1990).
- 22) Kim, S. W., Chung, K. C., Son, K. H. and Kang, S. S. : Steroidal Saponins from the Rhizomes of *Smilax china*. *Kor. J. Pharmacogn.* **20**(2), 76 (1989).

- 23) Chang, I. M., Yun, H. S. and Kazuo, Y. : Revision of ^{13}C -NMR Assignment of β -sitosterol and β -sitosteryl-3-O- β -D-glucopyranoside isolated from *Plantago asiatic* Seed. *Kor. J. Pharmacogn.* **12**(1), 12 (1981).
- 24) He, Z. Q. and Findly, J. A. : Constituents of *Astragalus membranaceus*. *J. Nat. Product.* **54**(3), 810 (1996).
- 25) Katsura, E. and Yamagishi, T. : Quantitative determination of isoflavonoids in *Astragali Radix* by high performance liquid chromatography, 道衛研所報 **37**, 48 (1987).
- 26) Hatano, T., Takagi, M., Ito, H. and Yoshida, T. : Acylated flavonoid glycosides and accompanying phenolics from Licorice. *Phytochemistry* **47**(2), 289 (1998).
- 27) 김진숙, 김정숙 : 황기(*Astragalus membranaceus* Bunge)뿌리의 성분 연구(II). 생약학회지 **28**(2), 75 (1997).
- 28) Harbone, J. B., Mabry, T. J. and Mabry, H. : The Flavonoids. Academic Press, New York, p. 61 (1975).
- 29) 백남인, 김영숙, 경종수, 박기현 : 황기의 간기능 보호 성분. 생약학회지 **27**(2), 111 (1996).
- 30) Yamaki, M., Kashihara, M. and Takagi, S. : Flavone Glucosides from Seeds of *Astragalus complanatus* (Sha Yuan Zi). *Shoyakugaku Zasshi* **45**(3), 261 (1991).
- 31) Song, C. Q., Zheng, Z. R., Liu, L. and Hu Z. B. : Isoflavones from *Astragalus membranaceus*. *Acta. Bot. Sin.* **39**(8), 764 (1997).
- 32) Glavind, J., Hartman, S., Clemmesen, J., Jessen, K. E. and Dam, H. : Studies on the role of lipoperoxides in human pathology. II. The presence of peroxidized lipids in the atherosclerotic aorta. *Acta Pathol. Microb. Scand.* **30**, 1 (1952).
- 33) Trush, M. A., Mimnaugh, E. G. and Gram, T. E. : Activation of pharmacologic agents to radical intermediates. Implications for the role of free radicals in drug action and toxicity. *Biochem. Pharmacol.* **31**, 3335 (1982).
- 34) Enyedi, A., Sarkadi, B., Nyers, A. and Gardos, G. : Effects of divalent metal ions on the calcium pump and membrane phospholipase in human red cells. *Biochimica et Biophysica Acta.* **690**, 41 (1982).
- 35) Clemens, M. R. and Waller, H. D. : Lipid peroxidation in erythrocytes. *Chemistry and Physics of Lipids* **45**, 251 (1987).
- 36) Girotti, A. W. and Thomas, J. P. : Damaging effects of oxygen radicals on resealed erythrocyte ghost. *J. Biol. Chem.* **259**, 1098 (1987).
- 37) James M. M., Zhi, C. Q. and Jason, D. M. : Interaction of Ascorbate and α -tocopherol in resealed human erythrocyte ghosts. *J. Biol. Chem. Org.* **271**, 10577 (1996).
- 38) James, M. M. : Is ascorbic acid an antioxidant for the plasma membrane? *FASEB J.* **13**, 995 (1999).
- 39) Fadhel, Z. A. and Amran, S. : Effects of black tea extract on carbon tetrachloride-induced lipid peroxidation in liver, kidneys and tests of rats. *Phytother. Res.* **16**, S28 (2002).