



Original Article / 원저

황기의 연근 별 성분과 생리 활성에 미치는 영향

이장천¹, 성대동², 하우람¹, 이부균^{1*}

¹부산대학교 한의학전문대학원, ²고려대학교 세종캠퍼스 신소재화학과

Components of Astragali Radix at Various Ages and Their Effects of Physiological Activity

Jang-Cheon Lee¹, Dae Dong Sung², Ha, Uram¹, Boo-Kyun Lee^{1*}

¹School of Korean Medicine, Pusan National University,

²Department of Advanced Materials Chemistry, Sejong Campus,
Korea University

ABSTRACT

Objectives : Astragali Radix is known as a perennial plant, and it is estimated that there may be differences in the contents and their components depending on the ages. The components of astragali radix may activate differently.

Methods : The astragali radix components cultivated in Jecheon(one year), Korea, Shanxi province(7 years), China, Inner Mongolia(5 years) and Inner Mongolia (8 years) were extracted with pure ethyl alcohol and identified the component molecules. The extracted components of astragali radix were measured the activity of Telomerase for confirmation of their Telomere lengths.

Results : The cell activity has been shown the greatest contribution in astragali radix of Inner Mongolia(8 years). Although there is the difference in cell activity between the two products of the 5 and 7 years, the difference between the values was small and the 7 years product was slightly higher than 5 years product.

Conclusions : Total Astragaloside contents were highest in the product of Inner Mongolia(8 years), followed by the 7 year product of Shanxi province. Especially, astragaloside and cycloastragenol (TA-65) among the astragali radix components have shown to be increased Telomerase activity in the DNA metabolism of the cells, and the efficacy depends on the ages of growth.

Key words : Astragali Radix, Telomerase, Telomere lengths.

I. 서론

황기는 콩과 다년생 식물로 한국, 중국, 일본 등에서 식용, 약용으로 다용해 왔다. 황기는 콩과 식물로 황기(*Astragalus membranaceus* Bunge)와 몽골황기(*A. membranaceus* Bunge var. *mongholicus* Hsiao)를 기원으로 한다¹⁾.

황기의 주산지는 한국과 중국의 북쪽과 북동쪽 및 북서지역과 내몽고 지역이다. 한의학에서는 보중익기(補中益氣), 익위고표(益衛固表), 이수소종(利水消腫), 탁독생기(托毒生肌)한다. 또 만성피로, 식욕상실, 빈혈, 상처회복, 발열, 알레르기, 자궁출혈, 자궁탈 질 환에 사용되고 삼계탕에서 인삼 대신 황기를 넣어 보양식으로 사용되기도 한다²⁻³⁾.

최근에는 황기 추출물이 항산화, 항염, 항암, 항노화 효과가 있다는 연구들⁴⁻⁶⁾이 발표되고 있으며 인체 세포에 있는 텔로미어 활성을 증진시켜 인체 면역력을 획기적으로 증강시켜 항암, 항노화 효과를 극대화시켜 주는 기능이 있다는 것이 알려졌다⁷⁾. 황기는 면역력이 극도로 저하된 후천성 면역 결핍성 환자와 자외선에 의한 피부 세포 궤사와 상처 및 질병으로부터 피부 보호효과에도 탁월한 효과가 있음이 알려져 있다⁸⁻⁹⁾. 황기 뿌리 추출물에 있는 폴리사카라이드(polysaccharide)는 대식세포를 활성화시켜 면역력을 증강시켜주는 효과가 있다¹⁰⁾. 황기의 이러한 효과들이 인체 세포내 DNA에 있는 텔로미어와 아주 밀접한 관계가 있음이 밝혀지고 있다¹¹⁻¹²⁾.

텔로미어는 인간 염색체 5번째 끝에 있는 TTAGGG DNA 염기서열이다¹³⁾. 인체 세포 텔로미어는 인간의 수명과 밀접한 관계가 있으며 길이는 약 5 ~ 20 kb 범위에 걸쳐 있고 그 길이가 일정하지 않다¹⁴⁾. 각 텔로미어는 각각의 DNA가 복제될 때 200 개가 소멸된다. 텔로미어 길이가 짧아지면 염색체가 노화되어 세포 생존력을 감소시킨다¹⁵⁾. 텔로미어가 짧아지는 현상은 DNA 복제가 반복되면서 반복된 뉴클레오티드(nucleotide)배열이 소멸되기 때문이다. 소멸이 멈추면 텔로머라제 효소에 의해 역전사 된다¹⁶⁾. 텔로머라제는 리보뉴클레오 단백질로 DNA 끝을 늘여 텔로미

어 길이를 연장시켜 주며 텔로미어 길이는 인체가 노화되는 과정에서 길이가 짧아진다. 텔로미어 DNA 복합체(sheltrine)는 염색체 끝을 보호한다¹⁷⁾. 최근에는 텔로머라제의 활성과 텔로미어의 길이를 측정하여 인삼의 연령을 분석하는 연구¹⁸⁾도 발표되었다.

황기의 연근 별 함량을 연구한 결과는 보고된 바 있지만 대부분 국내산 황기의 많은 성분 중 일부인 배당체와 isoflavonoids에 대해서만 비교¹⁹⁾하였고 세포 생리활성에 미치는 구체적 메카니즘을 보이는 텔로미어의 상대적 활성화를 비교한 논문은 없다.

본 연구에서는 한국 제천, 중국 산서성, 내몽고 등에서 유통되는 황기의 성분을 체계적인 화학분석을 수행하고, 황기의 생리활성 효과를 알아보기 위해 텔로미어의 상대적 활성화를 측정하여 비교하였다.

II. 재료 및 방법

1. 시료

황기는 산지 별로 한국 제천산, 중국 산서성산 7년근, 내몽고산 5년근, 내몽고산 8년근을 (주) 광명당 제약과 동광한방물에서 건조 절단된 상태로 구입하여 사용하였다. 각 산지 별 황기시료는 수돗물로 3번 세척하고 다시 증류수로 세척한 후 drying oven에서 한 시간 건조한 것을 초미립자 분쇄기로 분쇄하였다. 분쇄한 황기 시료에 100% ethyl alcohol로 Soxhlet 장치에서 추출하였다. 100% ethyl alcohol은 Sigma-Aldrich제를 구입하여 2차 증류하여 전기전도도 값이 3.0 $\mu\text{mho/cm}$ 이하인 것을 사용하였다. HPLC에 사용한 용매 ethylacetate는 Sigma-Aldrich제 reagent 급 HPLC용을 구입 사용하였다. 증류수는 3차 증류한 후 전기전도도 값이 4 $\mu\text{mho/cm}$ 이하인 것을 사용하였다.

2. 황기 성분분석 방법

황기 성분 분리에 사용한 HPLC는 ThermoFisher계 UltiMate™ 3000 RSLCnano System에서 수행하였다. 황기 성분의 분자 확인에 사용한 ¹H-NMR과 ¹³C-NMR 스펙트럼은 Bruker Fourier 300HD를 사

*Corresponding author : Boo-Kyun Lee, School of Korean Medicine, Pusan National University, 49, Busandaehak-ro, Mulgeum-eup, Yongsan-si, Gyeongsangnam-do, 50612, Republic of Korea.

Tel : +82-51-510-8460, Fax : +82-51-510-8460, E-mail : samzon58@pusan.ac.kr

• Received : November 7, 2018 / Revised : November 19, 2018 / Accepted : November 30, 2018

용하여 얻었고, 분자량은 Shimadzu, LCMS-9030과 ThermoFisher제 Q Exactive™ HF Hybrid Quadrupole-Orbitrap™ Mass Spectrometer를 사용하였다. 황기 성분 분자 확인에 사용한 FT-IR과 UV/vis 분광광도계는 PerkinElmer제 Spectrum Two™ L160000T와 Shimadzu제 UV-2700 UV/vis spectrophotometer를 사용하였다. 성분 함량은 Mass Spectrometer에서 구한 peak크기로 확인하였다.

Cycloastragenol (TA-65) (Scheme 1) 시료는 Sigma-Aldrich로부터 구입하였다. Cycloastragenol (TA-65)는 순도 98% 이상으로 HPLC와 NMR로 확인하였다.

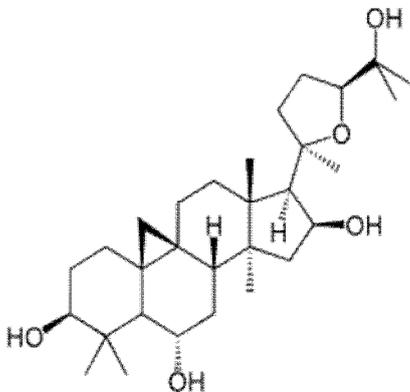


Fig. 1 Cycloastragenol (TA-65) (Scheme 1)

Cycloastragenol (TA-65)는 DMSO에 녹여 1 x 10 mM 농도가 되게 하여 stock solution을 만들었다.

Cycloastragenol (TA-65)처리는 두 개의 별도로 독립된 Mouse embryonic fibroblast (MEF) 배양법 (MEF cultures)²⁰⁾으로 수행하였다. 각 산지 별, 연근 별 황기 추출물을 37°C, 5 % CO₂ 무균 상태에서 영국 Gibco, Paisely제 Dulbecco's Eagle용액 (Dulbecco's modified Eagle's medium)에서 10% 소태아혈청 (fetal bovine serum : FBS)과 함께 6일간 배양하였다. 순수한 cycloastragenol (TA65)에 1.0 ~ 10 M 농도가 유지되도록 매 1일 혹은 2일 간격으로 용액을 떨어뜨리면서 세포는 마지막 2일과 5일 동안 계대 배양하였다. 세포는 0.1% DMSO로 처리하며 조절하였다.

3. 세포배양 (Cell Culture)

세포배양액은 Sigma-Aldrich 제 N-(2-hydroxyethyl) piperazine-N'-(2-ethanesulfonic acid, pH 7.0~7.6 : HEPES) 완충용액에 10% Fetal bovine serum (FBS), 25 mM 포도당 용액, 0.35 % Sodium bicarbonate, 2.5 mM L-Glutamine, 100 µg/mL Streptomycin, 100 U/mL Penicillin-streptomycin을 함께 넣어 제조하였다. 세포배양액에 MEF세포를 넣고 황기추출물을 Ham's F-12 + 10% FBS 용액에서 24시간 배양한 후 37°C에서 5분간 트립신화하고, Bio-Rad사 TC automated cell counter로 세포 수를 확인한 후, 700 rpm에서 3분간 원심 분리하고 얼음위에서 냉각시킨 2x PBS 로 세척하여 다시 2000 rpm으로 3분간 원심분리 하였다. 이것을 RIPA 완충용액 (150 mM NaCl, 50 mM Tris-HCl pH 7.4, 1 % Triton X-100, 1 % sodium deoxycholic acid, 0.1 % SDS)에 세포 1 x 10⁶개당 50 µL 비율로 분산시켜 얼음위에서 각 20 초 간 vortex 단계로 5분간 순환시켜 단백질을 분해하였다. 시료를 95°C에서 5분간 단백질 변성시키고 BCA 사 protein assay kit로 단백질 농도를 측정하였다.

4. 텔로머라제 활성 (Telomerase activity)

텔로머라제 활성은 스위스 Roche제 TeloTAGGG Telomerase PCR ELISA kit로 측정하였다. 텔로머라제 활성은 Telomeric Repeat Amplification Protocol (TRAP) 반응과정과 Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA) 두 단계로 구성된 장치에서 수행하였다. 황기의 연근 별, 산지 별 시료용액에 항체 비오틴 함유용액 (3'-end, biotinylated synthetic P1-TS Primer)을 연속 첨가하였다. 활성화된 P1-TS와 P2를 이용하여 polymerase chain reaction (PCR)으로 증폭시켰다. 텔로머라제 PCR ELISA 제1단계-단일 반응에서 증폭된 두 반응물을 합치고 증폭된 반응물을 변성시킨 다음 digoxigenin (DIG) 표지 텔로미어 반복-검출액의 혼성완충용액을 비오틴-표지액으로 사용하여 streptavidin-표지판으로 고정시켰다. 고정된 PCR 반응물은 anti-digoxigenin (anti-DIG) 항체에서 peroxydase로 측정하였다.

텔로머라제 활성은 황기의 연근 별, 산지 별 시료용액이 텔로머라제-양성 (positive)이 되었을 때 나타나는 형광의 각 최대 흡수 스펙트럼 파장 λ =

447 nm과 $\lambda = 689 \text{ nm}$ 사이에서 흡수율 차이로 측정하였다. Table-2에 측정 세포 수의 대수 값 (log)에 대한 TRAP-ELISA 정량 값의 대수 값 비율을 나타내었다.

III. 결과

1. 연근별 황기 성분 측정

각 연근 별, 산지 별 황기에 포함된 각 성분을 분리 추출한 다음, $^1\text{H-NMR}$, $^{13}\text{C-NMR}$ 과 FT-IR, UV/vis 분광광도계 및 Mass Spectrometer로 분자 구조를 확인하고 성분 함량을 측정하여 Table 1에 나타내었다.

Table 1. Comparison of Chemical Components of Astragali Radix on the Number of Years and Cultivated Area

Cultivated Area	Contents (content : $\mu\text{g} \times 10^{-3}/\text{g}$: ppt)*			
	Jecheon (1 year)	Shanxi (7 years)	Inner Mongolia (5 years)	Inner Mongolia (8 years)
Components leucine	15	28	19	27
Isoleucine	92	62	37	48
valine	19	21	5	33
threonin	48	74	29	47
alanine	22	43	38	46
arginine	85	27	19	29
proline	29	28	33	27
glutamine	39	46	28	16
GABA	21	27	22	23
aspartic acid	16	18	17	19
glycine	32	29	27	41
phenylalanine	87	102	93	97
adenosine	27	36	29	32
tyrosine	103	89	72	93
acetic acid	43	9	8	24
succinic acid	19	42	28	63
xylose	15	29	18	29
glucose	4	18	11	9
mannose	183	26	22	67
galactose	2	9	4	11
sucrose	1	36	8	28
raffinose	21	14	19	42
uridine	391	8	12	89
fumaric acid	273	5	9	37
adenine	318	16	17	75
formic acid	89	30	54	64
trigonelline	167	18	27	128
adenosine	28	29	14	98



choline	482	7	18	87
betaine	376	28	11	76
astragaloside I	15	47	20	178
astragaloside II	36	69	58	208
astragaloside III	89	175	107	321
astragaloside IV	32	19	46	286
astragaloside VII	25	92	48	315
astrajanoside	9	28	10	189
calycosine	4	17	9	38
calycosin-7-O-D- glucoside 28	8	19	10	37
1,2-dihydroxy-3,4- dimethoxyisoflavan-7- O-β-D-glucoside	0	3	1	28
Formononetin	0	6	3	25
9,10-dimethoxyptero- carpan-3-O-β-D- glucoside	12	11	9	46
fucose	4	104	38	22
arabinose	9	28	11	7
rhamnose	22	17	18	48
glucuronic acid	162	34	45	47
galacturonic acid	91	17	19	65
8,3'-dihydroxy-7,4'- Dimethoxyisoflavone	19	31	29	37
odoratin-7-O-D- glucopyranose	8	72	58	73
7,3'-dihydroxy-8,4'- Dimethoxyisoflavone	23	154	104	54
calicosin-7-O-β-D- glucopyranoside	29	412	398	47
brachyoside A	43	56	55	37
brachyoside B	34	19	17	53
brachioside C	19	35	33	65
cyclocanthoside E	7	42	19	35
cycloastragenol (TA-65)	28	28	20	375
cyclocephanoside I	19	23	27	278
cyclocephaloside II	17	18	16	186
trojanoside A	2	16	15	2
trojanoside H	3	29	18	3

*F values = 4.984, LSD values = 1.832, p values < 0.03

2. 텔로머라제 활성 측정

황기의 각 연근 별 추출물에 대한 세포의 텔로머라제 활성을 측정하여 Table-2에 나타내었다. 텔로머라제 활성은 Telomeric Repeat Amplification Protocol (TRAP) 반응과정과 Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA) 두 단계로 구성된 장치에서 수행하였다.

텔로머라제 활성은 황기의 산지 별 시료용액이 텔로머라제-양성 (positive)이 되었을 때 나타나는 형광의 각 최대 흡수 스펙트럼 파장 $\lambda = 447 \text{ nm}$ 과,

$\lambda = 689 \text{ nm}$ 사이에서 흡수율 차이로 측정하였다. Table-2에 측정 세포 수의 대수 값 (log)에 대한 TRAP-ELISA 정량 값 대수 값 비율을 나타내었다. 각 산지 별 황기 추출물을 TRAP 반응시키면서 각 세포 수가 2배 증식되는 시간에서 측정된 텔로미어 활성 값을 각각 PD-8, PD-10, PD-15, PD-20에서 나타내었다. 이 때 표준은 cycloastragenol (TA-65)을 기준 (100 %)으로 하였다.

Table-2. Comparison of Mean Activity* of Telomerase based on TA-65 Standard

Telomerase Activity (%)	Jecheon (1 year)	Shanxi (7years)	Inner Mongolia (5years)	Inner Mongolia (8years)
PD**-20	155	175	169	398
PD**-15	143	152	150	326
PD**-10	108	128	116	223
PD**-8	100	100	100	100

*F values = 8.106, LSD values = 2.746, p values < 0.01

**PD means population doublings of cells the addition time of telomerase activator, cycloastragenol (TA-65) at 8, 10, 15 and 20hr.

IV. 고찰

Table-1에서 보는 바와 같이 단백질 분해물질인 아미노산 (leucine, isoleucine, valine, threonine, alanine, arginine, proline, glutamine) 성분과 함량은 한국 제천과 중국 산서성 7년근, 내몽고산 5년근 및 내몽고산 8년근에서 거의 비슷하다. 다만 중국 산서성 7년근에서 threonine이 74 ppt로 약간 많이 검출되었다.

단당류 (xylose, glucose, galactose, sucrose) 함량은 모든 산지의 황기에서 거의 비슷하였다. 그러나 mannose는 한국 제천산 황기에 $183 \mu\text{g} \times 10^{-3}/\text{g}$ 포함되어 있어 다른 황기보다 함량이 많다. 일반적으로 식물 뿌리에서 다른 당류에 비해 mannose 함량이 늘어나는 경우는 토양의 열악한 영양 환경에서 자라는 식물의 뿌리에서 나타나는데 암모니움 대사에 저항하여 성장이 방해될 때 나타난다²⁰⁾. Mannose는 인체 내 요로 감염 예방효과가 있다²¹⁾. 한국 제천산 황기가 인체 내 요로 감염 예방에 효과가 다른 황기보다 클 것으로 추정된다.

Astragaloside I, II, III, IV와 VII은 산지 별로 4~6배 정도 크게 차이가 났다. Astragaloside는 분자 내에 있는 다환고리 hydroxyl기에 의해 생리활성이 촉진됨이 알려져 있다²²⁾. Astragaloside IV는 뇌국소성 빈혈과 심혈관 질환 치료 및 신장 기능 강화 효과가 입증되고 있다²³⁾. Astragaloside 함량은 내몽고산 8년근이 가장 많고 다음으로 산서산 7년근이 많게 나타났다. 특히 황기 성분 중 Astragaloside와 cycloastragenol (TA-65)는 세포의 DNA대사에서 인산화 과정을 촉진시키는 효과가 큰 것으로 알려져 있다²⁴⁾.

한국 제천산 황기에서 acetic acid가 $43 \mu\text{g} \times 10^{-3}/\text{g}$ 로 다른 황기에 비해 가장 많이 검출되었다. 내몽고산 5년근과 산서산 7년근 보다 약 5배 가량 많고, 내몽고산 8년근 보다 약 2배 많다. 이는 한국 제천산 황기가 산서산이나 내몽고산보다 더 열악한 토양환경 조건에서 생산됨을 뜻한다. Acetic acid는 콩과 식물들이 극심한 가뭄으로 토양에 수분이 부족할 경우 콩과 식물 뿌리에 존재하는 Arabidopsis histone deacetylase 효소에 의해 스트레스를 이기기 위해 생성되는 부산물로 알려져 있다²⁵⁻²⁶⁾. Acetic acid는 그



농도가 극소량일 때 인체 내에서 활성이 크지 않지만 그 농도가 커지면 인체 세포에 위험을 준다²⁷⁾. 다른 연근 별 황기에 비하여 한국 제천산 황기에 acetic acid가 많이 함유되었지만 인체 생리활성에 크게 영향을 미치지 않은 수준임을 알 수 있다.

한국 제천산 황기에 uridine이 $391 \mu\text{g} \times 10^{-3}/\text{g}$ 로 많이 포함되어 있고, fumaric acid는 $273 \mu\text{g} \times 10^{-3}/\text{g}$, adenine은 $318 \mu\text{g} \times 10^{-3}/\text{g}$ 그리고 trigoneline은 $167 \mu\text{g} \times 10^{-3}/\text{g}$, choline은 $482 \mu\text{g} \times 10^{-3}/\text{g}$ 으로 많이 포함되어 있다. 이들 화합물은 인체 뇌 대사과정에서 중요한 피리미딘 대사를 활성화시켜 뇌 중추 신경 활성화 신호분자로 작용한다²⁸⁾. 한국 제천산 황기가 인체 내 뇌대사에 좋은 효과를 나타낼 수 있을 것으로 추정된다. Trigoneline은 식물 뿌리에 존재하는 알칼로이드로 당뇨 조절 기능이 있다²⁹⁾. Trigoneline 함량으로 판단하면 한국 제천산 황기가 다른 연근 별 황기와 비교할 때, 당뇨조절 효과가 더 크게 나타낼 것으로 추정된다. 한국 제천산 황기에 betaine이 $376 \mu\text{g} \times 10^{-3}/\text{g}$ 으로 많이 포함되어 있다. 인체 내에서 신경전달 물질인 세로토닌과 도파민은 메틸화 반응에 의해 일어난다. 이 때 betaine은 메틸화 반응을 촉진시키는 공동인자로 작용한다³⁰⁾. Betaine 함량이 많은 한국 제천산 황기가 다른 황기에 비해 신경전달 물질 생성에 더 많은 도움을 줄 수 있을 것으로 추정된다.

Table-2에서 보는 바와 같이 내몽고산 8년근 황기 추출물은 산서산 7년근과 내몽고산 5년근 및 한국 제천산 보다 약 1.74배 에서 2.6배 가량 많은 값을 보였다. 특히 PD-20에서는 내몽고산 8년근 황기가 한국 제천산 황기보다 약 2.6배나 크게 나타났고 산서산 황기 7년근 보다 약 2.3배 차이가 났다. 그러나 산서산 7년근과 내몽고산 5년근에서 차이는 크게 나타나지 않았고 7년근이 텔로머라제 활성 효과가 약간 크게 나타났다. 내몽고산 8년근과 산서산 7년근의 생장연수는 1년 차이임에 비해 텔로머라제 활성을 비교해 보면 큰 차이가 나는데, 이것은 생장연수보다 산지 환경과 토양에 의한 영향이 크게 미친 것으로 추정된다.

황기의 성분 중 산지 별 차이와 토양 등 환경에 따른 영향에 관해서는 추후 구체적인 연구가 이루어져야 할 것으로 사료된다.

V. 결론

각 산지 별, 연근 별 황기의 정밀 화학분석을 수행하고 텔로머라제 활성을 측정 한 결과,

한국 제천산, 중국 산서산 7년근, 내몽고산 5년근 및 내몽고산 8년근 황기 중, 8년근 내몽고산 황기가 텔로머라제 활성에 크게 기여함을 보였다.

중국 산서산 7년근과 내몽고산 5년근 황기의 연근 별 텔로머라제 활성 효과의 차이는 미미하였고, 다만 산서산 7년근이 내몽고산 5년근 보다 약간 효과가 크게 나타남을 알 수 있었다.

인체 면역력을 높여주는 Astragaloside I, II, III, IV와 VII는 내몽고산 8년근 황기에 가장 많이 포함되어 있었고 함량 차이도 4~6배 정도 크게 차이가 났다. 세포의 DNA대사에서 텔로머라제 활성을 촉진시켜 세포의 수명을 늘려준다고 알려져 있는 astragaloside와 cycloastragenol (TA-65)는 내몽고산 8년근에서 10배도 넘게 차이가 났다.

이 논문은 부산대학교 기본연구지원사업(2년)에 의하여 연구되었음.

References

1. Ministry of Food and Drug Safety. Korean Pharmacopeia, Monographs, Part II. 2018:131-132.
2. Sung Hee Min, Ok Jin Park. Quality Characteristics of Yanggaeng Prepared with Different Amounts of Astragalus membranaceus Powder. J East Asian Soc Dietary Life. 2008;18(1):9-13.
3. Chan-Sung Park, Dong-Han Kim, Mi-Lim Kim. Biological Activities of Extracts from Cornifrutus, Astragalus membranaceus and Glycyrrhiza uralensis., Kor. J. Herbology. 2008;23(1):93-101.
4. Yu Yin, Seong-Il Heo, Mee Jung Jung, and Myeong-Hyeon Wang. Antioxidant and Antidiabetic Effects of Various Sections of Astragalus membranaceus. Kor. J. Pharmacognosy. 2009;40(1):1-5.
5. Auyeung K. K., Han Q. B., Ko J. K. Astragalus membranaceus; A Review of Its Protection

- Against Inflammation and Gastrointestinal Cancer. *American Journal of Chinese Medicine*. 2016;44(1):1~22.
6. Liu, P., Zhao, H., Luo, Y. Anti-aging Implications of Astragalus Membranaceus (Huangqi): A Well-known Chinese Tonic. *Aging and Disease*. 2017;8(6):868~886.
 7. Brenda, Molgora, Riley Bateman, Hector F. Valenzuela. Functional Assessment of Pharmacological Telomerase Activators in Human T Cells. *Cells*. 2013;2(1):57~66.
 8. Qin, Q., Niu, J., Wang, Z., Xu, W., Qiao, Z., Gu, Y. Astragalus Membranaceus Extract Activates Immune Response in Macrophages via Heparanase. *Molecules*. 2012;17(6):7232~7240.
 9. Shahzad M. , Shabbir A., Wojcikowski K., Wohlmuth H., Gobe GC. The Antioxidant Effects of Radix Astragali (Astragalus membranaceus and Related Species) in Protecting Tissues from Injury and Disease. *Curr Drug Targets*. 2016;17(12):1331-40.
 10. Bao-Mei Shao, Wen Xu, Hui Dai, Pengfei Tu, Zhongjun Li, Xiao-Ming Gao. A study on the immune receptors for polysaccharides from the roots of Astragalus membranaceus, a Chinese medicinal herb. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. 2004;320:1103~1111.
 11. Sen, P., Shah, P. P., Nativio, R., Berger, S. L. Epigenetic Mechanisms of Longevity and Aging. *Cell*. 2016;166:822~839.
 12. Lu, Y., Biancotto, A., Cheung F., Remmers, E., Shah, N., McCoy, J. P. Systematic Analysis of Cell-to-Cell Expression Variation of T Lymphocytes in a Human Cohort Identifies Aging and Genetic Associations. *Immunity*. 2016;45(5):1162~1175.
 13. Moyzis, R. K., Buckingham, J. M., Cram, L. S., Dani, M., Deaven, L. L. Jones, M. D., Wu, J. R. A Highly Conserved Repetitive DNA Sequence, (TTAGGG)_n, Present at the Telomeres of Human Chromosomes. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 1998;(85):6622~6626.
 14. Alison, J., Montpetit, Areej, A., Alhareeri, B. S., Colleen, K., Jackson-Cook. Telomere Length: A Review of Methods for Measurement. *Nurs Res*. 2014;63(4):289~299.
 15. Goodell, M. A., Rando, T. A. Stem Cells and Healthy Aging. *Science*. 2015;350(6265):1199~1204.
 16. Wang, Y., Hekimi, S. Mitochondrial Dysfunction and Longevity in Animals:Untangling knot. *Science*. 2015;350(6265):1204~1207.
 17. Finkel, T. The Metabolic Regulation of Aging. *National Medicine*. 2015;21(12):1416~1423.
 18. Liang J., Jiang C., Peng H., Shi Q., Guo X., Yuan Y., Huang L. Analysis of the age of Panax ginseng based on telomere length and telomerase activity. *Sci Rep*. 2015;5:7985.
 19. Kyung-ran Im, Mi-Jin Kim, Teak-Kyu Jung, and Kyung-Sup Yoon. Analysis of Isoflavonoid Contents in Astragalus membranaceus Bunge Cultivated in Different Areas and at Various Ages. *KSBB*. 2010;25:271~276.
 20. Lian-Qun Qui, Wi S. Lai, Deborah J. Stumpo, Perry J. Blackshear. Mouse Embryonic Fibroblast Cell Culture and Stimulation. *Bio-Protocol*. 2017; 6 (13): e1859.
 21. Hiroyuki Tanaka, Takanori Maruta, Shigeru Shigeoka. Identification and Characterization of Arabidopsis AtNUDX9 as a GDP-d-mannose Phosphohydrolase: Its Involvement in Root Growth Inhibition in Response to Ammonium. *Journal of Experimental Botany*. 2015; 66(19): 5797~5808.
 22. Vandana Sharma, Mie Ichikawa, Hudson H. Freeze. Mannose Metabolism: More than Meets The Eye. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. 2014;453(2): 220~228.
 23. Lisa, Y. Young, Wing See Lam, Maurice, K. C. Ho, Yueqing Hu, Fanny C. F. Ip, Haihong Pang, Allison, C. Chin, Calvin, B, Harley, Nancy, Y, Ip, Yung, H. Wong. Astragaloside IV and Cycloastragenol Stimulate the Phosphorylation



- of Extracellular Signal-Regulated Protein Kinase in Multiple Cell Types. *Biological and Pharmacological Activity*. 2012;78(2):112~121.
24. Sultana Rasheed, Khurram Bashir, Jong-Myong Kim, Marina Ando, Maho Tanaka, Motoaki Seki. The Modulation of Acetic Acid Pathway Genes in Arabidopsis Improves Survival Under Drought Stress. *Scientific Reports*. 2018;8:7831~7846.
25. Sisir Ghosh, Pallab Ghosh, Maiti, T. K. Production and Metabolism of Indole Acetic Acid (IAA) by Root Nodule Bacteria (Rhizobium): A Review. *Journal of Pure and Applied Microbiology*. 2011;5(2):523~540.
26. National Toxicology Program U. S. Department of Health and Human Service. Toxicity Effects. CAS Registry Number: 64-19-7 Acetic Acid. 2009. https://tools.niehs.nih.gov/cebs3/ntpviews/index.cfm?action=testarticle.toxicity&cas_number=64-19-7. (accessed at Nov.30,2018)
27. Arpád Dobolyi, Gábor Juhász, Zsolt Kovács, Julianna Kardos. Uridine Function in the Central Nervous System. *Current Topics in Medicinal Chemistry*. 2011;11:1058~1067.
28. Joanna Folwarczna, Aleksandra Janas, Martin Gajdos. Effects of Trigonelline, An Alkaloid Present in Coffee on Diabetes-Induced Disorder in the Rat Skeletal System. *Nutrients*. 2016;8:133~145.
29. Miglio, F., Rovati, L. C., Santoro, A., Setnikar, I. Efficacy and Safety of Oral Betaine Glucuronate in non-Alcoholic Steatohepatitis. A Double-Blind, Randomized, Paralled-Group Placebo-Controlled Prospective Clinical Study. *Arzneimittelforschung*. 2000;50(8):722~727.
30. Li, L., Hou, X., Xu, R., Liu, C., Tu, M. Research Review on the Pharmacological Effects of Astragaloside IV. *Fundamental Clinic Pharmacology*. 2017;31(1):17~36.