

## 추출조건에 따른 시호건근 추출액 중의 Saikosaponin함량 및 cAMP Phosphodiesterase 저해활성

박인선 · 강은미 · 박영현\* · 김남수†

한국식품개발연구원

\*순천향대학교 식품영양학과

## Saikosaponin Contents and cAMP Phosphodiesterase Inhibitory Activities in Bupleuri Radix Extracts According to Extraction Conditions

In-Seon Park, Eun-Mi Kang, Young-Hyun Park\* and Namsoo Kim†

Korea Food Research Institute, Songnam 463-420, Korea

\*Dept. of Food Science and Nutrition, Soonchunhyang University, Asan 336-745, Korea

### Abstract

Two major oleananesaponins in Bupleuri radix, saikosaponin *a* and *d*, were extracted at various solvent compositions and leaching temperatures. Solvent composition was varied at 0 to 100%(v/v) of ethanol-water and methanol-water, whereas leaching temperature was adjusted to the range of 25~45°C. The most effective extractant and leaching temperature were 70% ethanol and 45°C, respectively. However, no major differences in saikosaponin content and cAMP phosphodiesterase inhibition were found at various leaching times. The cAMP phosphodiesterase inhibitions were also the highest when 70% ethanol was used as the extractant.

**Key words:** saikosaponins, cyclicAMP phosphodiesterase, Bupleuri radix, extraction conditions

### 서 론

시호(*Bupleurum falcatum*)는 주로 한국, 일본, 중국 등지에서 자생하고 있는 미나리과에 속하는 다년생 초본 식물로서 그 뿌리에 약리성분인 시호사포닌(saikosaponins)을 함유하고 있다. 한국산 시호에는 성인병 예방과 치료나 해열, 진통, 소염, 정장 등에 유효한 고부가가치의 생리활성 성분인 시호사포닌이 다량 함유되어 있으므로 기능성 식품 소재로서 사용가능성이 매우 높다(1). 시호사포닌은 포도당, 과당 및 rhamnose가 결합되어 있는 배당체 형태인 oleanane계의 화합물이며(2-8), 이 중 특히 saikosaponin *a*, *d*의 생리활성이 매우 높은 것으로 보고되고 있다(1-3). 이와 같이 중요한 생약자원인 시호에 대하여 유효성분의 추출 및 정제, 생리활성 평가와 관련된 연구결과가 부족하여 기능성 식품 원료로서 고부가가치화 하는데 많은 어려움이 있는 실정이다. 현재 국내에서 시호의 유효성분에 대한 생산 및 이용기술에 관한 연구는 시호사포닌의 혈소판 활성화작용에 관한 Park 등의 보고(9), 시호사포닌에 대한 HPLC 분석법에 관한 연구(10) 및 시호사포닌을 이용한 기능성 식품 제조연구(1) 이외에는

거의 관찰되고 있지 않으나 외국의 경우를 보면 역상의 HPLC column 종류와 용매조성을 달리한 분석법 연구와 이를 활용한 시료 중의 시호사포닌 함량 측정(4,11), 순차 추출용매와 silica gel column chromatography에 의한 추출 및 정제(5,6), 시호사포닌의 생리활성 및 용해특성에 대한 연구(2,3,7,8)가 체계적으로 이루어지고 있다.

본 연구는 시호사포닌 분석법에 관한 연구(10)와 심혈관계 관련 생리활성의 생체외(*in vitro*) 분석법의 하나로 사용되는 cAMP phosphodiesterase 저해활성 측정법 연구(1)를 바탕으로 하여 시호건근(Bupleuri radix)으로부터 시호사포닌을 추출하기 위한 최적조건을 설정하기 위하여 추출용매와 침출온도와 같은 추출조건별 시호건근 추출액 중의 시호사포닌함량 및 cAMP phosphodiesterase 저해활성을 측정하였기에 결과로서 보고하고자 한다.

### 재료 및 방법

#### 시료

경북 영천산 시호의 뿌리를 절취한 후 수세·정선하고 열풍건조기내에서 50°C의 온도로 하루밤 건조시켜 시호

† To whom all correspondence should be addressed

건근을 제조하였으며 이를 dry mixer(삼성전자)로 분말화하여 실험에 사용하였다.

#### 시호건근의 이화학적 특성 분석

수분(건조감량)은 105°C의 dry oven에서 1~2시간 건조하고 desiccator내에서 30분간 방냉한 칭량병의 항량을 구한 후 시료 3 g을 2반복 칭량하여 105°C에서 5시간 건조한 후 무게를 측정하고, 그 후 1시간씩 건조하면서 항량이 되었을 때까지 측정하여 구하였다. 회분함량은 도가니를 500~550°C 회화로에서 1~2시간 강열하고 30분간 방냉한 다음 항량이 될 때까지 측정을 반복한 후 시료 2 g을 2반복 칭량하여 앞의 도가니에 넣어 처음에는 약하게 가열하고 천천히 온도를 올려 500~550°C에서 5~6시간 강열하여 탄화물이 남지 않을 때까지 회화하였다. 방냉한 다음 그 무게를 정밀하게 달고 다시 잔류물을 회화하여 방냉한 후 무게를 정밀하게 다는 과정을 항량이 될 때까지 반복하여 회분함량을 구하였다. 또한, 산불용성 회분함량은 회분측정을 행한 도가니에 2.5 M HCl 25 mL를 가하여 비등점으로부터 5분간 끓이고 이를 Whatman #40 여지(ashless)로 여과한 후 열탕으로 잘 씻어 불용물을 취하였다. 이를 여지와 함께 105°C dry oven에서 1시간 예비건조한 후 500~550°C 회화로에서 8시간 강열하고 desiccator내에서 방냉한 후 항량이 될 때까지 회화 및 무게를 다는 조작을 반복하여 측정하였다. 회분 중에 존재하는 각각의 무기질함량은 ICP(JY 38 plus, ICP, Jobin Yvon Instrument S.A., France)에 의하여 분석하였다.

#### 시호건근의 용매추출

시호사포닌의 추출조건을 최적화하기 위하여 추출용매를 에탄올-물과 메탄올-물로 하였으며, 이 때 에탄올과 메탄올의 비율을 0, 10, 30, 50, 70, 90, 100%로 변화시켰다. 또한, 침출온도를 25, 35, 45°C로 바꾸었고 침출시간도 1, 3, 5, 7, 17, 24시간으로 변화시키면서 다음과 같이 실험하였다. 시호건근의 분말 2 g을 정밀하게 달아 삼각플라스크에 넣고 여기에 각각의 추출용매 70 mL를 첨가한 후 일정한 온도의 항온수조에서 30분 간격으로 1~2분간 교반하며 일정시간 침출하였다. 삼각플라스크를 항온수조에서 꺼내 실온에서 17시간 방치한 후 Whatman #1 여지로 여과하였다. 삼각플라스크와 여지상 잔류물을 동일한 조성의 추출용매로 씻어 주어 여액이 100 mL가 되도록 조정하고 이를 절반씩으로 나누어 엑스 및 시호사포닌함량 측정에 사용하였다.

#### 엑스 및 시호사포닌함량 측정

앞서의 여액 50 mL를 물 증탕에서 증발·건조하고 105°C dry oven에서 4시간 건조시킨 후 desiccator내에서 30분간 방냉하고 무게를 측정하여 시료중량에 대한 백분

율로 엑스함량을 표시하였다. 시료 중의 saikosaponin *a*, *d*는 Borwin chromatography software(Rev. 1.2150, Jasco, Japan)를 이용한 HPLC 분석법(10)에 의하여 다음과 같이 측정하였다. Jasco사의 HPLC(model PV-980)와 Inertsil ODS-3 column(4.6 mm i.d.×250 mm, GL Sciences, Japan)을 사용하였고, 분석 중 column의 온도는 35°C로 유지하였다. UV detector(model UV-975, Jasco)를 사용하여 203 nm에서 흡광도를 측정하였으며 시호사포닌 표준품으로는 Wako사(Japan)의 생약검정용 saikosaponin *a*(M.W. 780.99), *d*(M.W. 780.99)를 사용하였다. 앞서의 시호추출액 50 mL를 농축·건조한 후의 잔류물을 5 mL의 메탄올에 용해시키고 이 중 1 mL를 취한 후 0.45 μm syringe filter membrane(Gelman Co., USA)으로 여과한 것을 분석용 시료로 하였으며 시호사포닌 표준품 및 시료의 주입량은 각각 10 μL로 하였다. 용리액(eluent)의 유속은 1.0 mL/min로 하고 용리액으로 acetonitrile-물의 혼합용매를 40:60(v/v)의 비율로 한 것을 처음 2분동안 흘려준 후 50:50(v/v) 비율까지 10분동안 acetonitrile의 비율을 올려주면서 gradient elution을 행하였고, 이 후 40분간 이 비율을 유지시키면서 용리를 행하였다.

#### cAMP phosphodiesterase 저해활성 측정

추출조건을 달리한 각각의 시호추출물에 대하여 흥분성 세포심근의 수축 및 혈압강화작용의 생체의 정량법으로 널리 사용되는 cAMP phosphodiesterase 저해작용을 측정하였다. 0.015 unit/mL cAMP phosphodiesterase (from bovine heart, Sigma Co., USA), 0.7 unit/mL 5'-nucleotidase(from snake venom, Sigma Co.)와 2 mM MgCl<sub>2</sub>를 Tris-HCl 완충용액(40 mM, pH 7.4) 890 μL에 넣어 5분간 37°C에서 유지하였다. 이 후 각각 다른 추출조건에서 얻어진 시호추출물 10 μL를 넣고, 5분 후에 2 mM cAMP 100 μL를 넣어 20분간 반응시켰다. 이 후 5% trichloroacetic acid 100 μL를 가하여 반응을 정지시킨 후 생성되는 인산을 Martin-Doty법(12)에 따라 720 nm에서의 흡광도로 측정하였다. cAMP phosphodiesterase 활성에 대한 저해율은 다음 식에 의하여 구하였으며, 이 때, 미리 5분간 열탕한 cAMP phosphodiesterase 용액을 사용하여 측정된 값을 바탕값으로 하였다(13).

$$\text{Inhibition} = \frac{C-S}{C-BG} \times 100\%$$

C: 대조구의 흡광도

BG: 바탕값

S: 시호추출물 사용구의 흡광도

#### 결과 및 고찰

##### 시호건근의 이화학적 특성

시호건근의 이화학적 특성에 관한 분석결과는 Table

1에서 보는 바와 같다. 시호건근의 분말은 엷은 갈색을 띠었으며 수분함량은 3.2~8.1%, 회분함량은 4.2~5.0% 수준이었고 회분 중 약 20%가 산불용성이었다. 무기질함량의 분석 결과, 칼륨함량이 8,267~11,206 ppm으로 가장 높았고 인함량도 3,200 ppm 이상이였다. 또한, 칼슘 및 마그네슘도 1,415 ppm 이상으로 비교적 높게 나타났다.

#### 추출조건에 따른 엑스함량

추출용매로 에탄올 및 메탄올과 물의 혼합액을 사용하고 이의 조성비율과 침출온도를 변화시키며 추출된 엑스함량을 측정하였다(Table 2). 에탄올-물 추출의 경우, 침출온도가 25°C인 경우 에탄올 0%, 메탄올 0%일 때의 엑스함량은 각각 8.4, 8.9%였고, 추출용매중 에탄올의 비율이 높아감에 따라 엑스함량은 점차로 증가하여 70% 에탄올 추출의 경우 10.8%, 90% 에탄올 추출시는 다소 감소한 값인 10.4%였다. 메탄올-물 추출의 경우에는, 10% 메

탄올 추출시 엑스함량이 10.8%로 가장 높았고 메탄올의 비율이 30~90%인 경우 엑스함량은 약간씩 감소하여 10.1~10.7% 범위에 있었다.

침출온도가 35, 45°C인 경우에는 침출온도를 25°C로 하였을 때와 마찬가지로 70% 에탄올을 사용하였을 때 엑스함량이 각각 11.4와 11.5%로 가장 높았다. 메탄올을 사용한 경우에는 35°C에서 50%로 추출하였을 때와 45°C에서 10%로 추출하였을 때 엑스함량이 가장 높은 것으로 나타났다. 이상과 같이 에탄올-물, 메탄올-물 추출용매로 이용한 경우, 엑스함량은 70% 에탄올을 이용하였을 때 가장 높게 나타났는데 이는 시호사포닌 뿐만 아니라 시호건근 중에 존재하는 다양한 용해특성의 화합물들이 이 용매조성에서 최대 추출됨을 의미한다.

#### 시호사포닌의 추출조건 최적화

시호사포닌의 추출조건을 결정하기 위하여 침출시간은 5시간으로 고정하고, 추출용매의 종류 및 조성비율과 침출온도를 변화시키면서 saikosaponin *a*와 *d*의 함량을 측정하였다. Fig. 1과 2에는 침출온도에 따른 saikosaponin *a*와 *d*의 함량변화가 표시되어 있다. 침출온도가 25°C일 때 추출용매를 물로 하면 시호추출액 중에는 saikosaponin *a*와 *d*가 거의 존재하지 않았다. 그러나, 추출용매 중의 에탄올 및 메탄올의 조성비율이 높아짐에 따라 시호사포닌함량도 계속 증가하여 saikosaponin *a*는 70% 에탄올과 90% 메탄올 추출시 각각 344.4, 521.4 mg/100 g 시료로 최대치에 이르렀다. 추출용매 중의 알코올의 조성비율이 이보다 높은 경우 saikosaponin *a*는 다소 감소하였지만, 에탄올 및 메탄올 100% 추출시에도 각각 230.0 및 279.3 mg/100 g 시료로 비교적 높은 값을 보여 주었으며, 이는 동일조건에서 엑스함량이 급격히 감소하는 현상(Table 2)과 좋은 대조를 이루었다. 그리하여, 25°C에서 엑스 및 시호사포닌함량이 최대가 되는 추출용매는 70% 에탄올이었고, 메탄올 추출의 경우에는 70~90% 메탄올을 사용하는 것이 바람직하였다. 침출온도가 35°C인 경우 25°C에서와 마찬가지로 70% 에탄올을 사용하였을 때 시호사포닌함량이 최대치에 이르렀으며 이 때 엑스함량도 11.4%로 최대치를 나타내었다. 침출온도가 45°C인 경우에도 70% 에탄올로 추출하였을 때 25와 35°C로 추출한 경우와 동일하게 saikosaponin *a* 함량이 450.2 mg/100 g 시료로 가장 높게 나타났다. Saikosaponin *d*의 함량도 침출온도에 관계없이 70% 에탄올일 때 가장 높았으며, 메탄올-물 추출의 경우 25, 35, 45°C의 침출온도에서 메탄올 조성이 각각 70, 100, 100%일 때 시호사포닌이 가장 많이 추출되었다. 시호사포닌을 식품에 적용하기 위해서는 추출용매로서 메탄올보다는 에탄올을 사용하는 것이 바람직하다. 또한, Fig. 1, 2의 결과로부터 물과 에탄올 단일용매를 사용하여 추출하기보다는 에탄올과 물의 혼합용매

Table 1. Physicochemical properties of the raw sample and Bupleuri radix

Content	Raw sample	Bupleuri radix
Moisture (%)	8.1	3.2
Ash (%), total	5.0	4.2
Ash (%), acid-insoluble	1.0	0.8
Minerals (ppm)		
Potassium	11,206	8,267
Sodium	506	514
Calcium	2,148	2,148
Magnesium	1,528	1,415
Iron	993	996
Phosphorus	3,214	3,267
Manganese	133	117
Zinc	80	59
Copper	12	11

All measurements were done in duplicate.

Table 2. Effects of solvent composition and leaching temperature on the solid contents in the Bupleuri radix extracts

Extraction solvent	Alcohol fraction (%)	Solid content (%)		
		Leaching temperature (°C)		
		25	35	45
Ethanol-water	0	8.4	10.4	10.6
	10	8.9	11.0	10.8
	30	9.1	11.1	11.2
	50	9.7	11.1	11.4
	70	10.8	11.4	11.5
	90	10.4	10.4	10.0
	100	3.7	10.2	6.1
Methanol-water	0	8.9	7.7	9.9
	10	10.8	11.1	10.8
	30	10.7	11.5	10.7
	50	10.7	11.7	10.7
	70	10.6	10.5	10.6
	90	10.1	9.8	10.1
	100	9.5	6.0	9.5

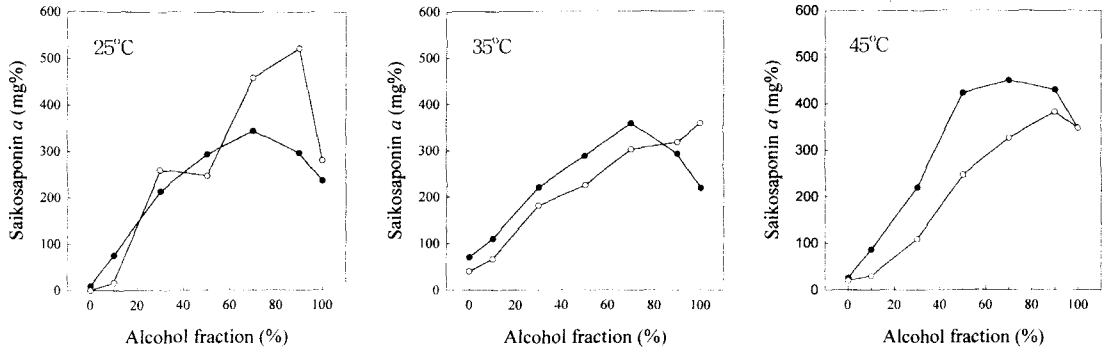


Fig. 1. Effects of solvent composition and leaching temperature on saikosaponin a contents in the Bupleuri radix extracts. ●: ethanol, ○: methanol.

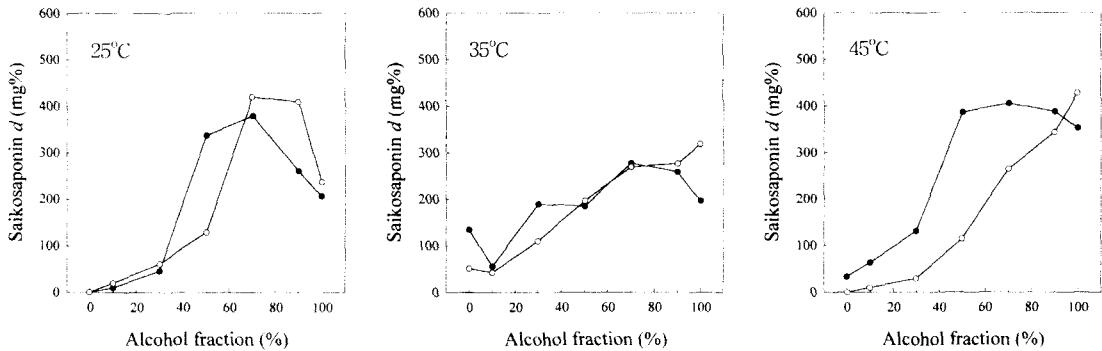


Fig. 2. Effects of solvent composition and leaching temperature on saikosaponin d contents in the Bupleuri radix extracts. ●: ethanol, ○: methanol.

를 사용하여 추출하는 것이 효과적이었으며, 특히 70% 에탄올을 추출용매로 사용함이 가장 적절하였다.

침출시간이 시호건근 추출액 중의 엑스 및 시호사포닌 함량에 미치는 영향을 살펴보기 위하여 70% 에탄올, 45°C 조건에서 침출시간을 1, 3, 5, 7, 17, 24시간으로 각각 달리하면서 시호건근의 추출을 행하였다. Fig. 3에서 보

는 것처럼 침출시간이 3시간인 경우 saikosaponin a, d의 함량은 다소 감소하나 침출시간이 5시간 이상인 경우에는 엑스 및 시호사포닌함량에 별다른 변화가 없었다.

추출조건별 cAMP phosphodiesterase 저해활성

홍분성 세포심근 및 혈관평활근은 세포막 수용기( $\beta$ -adrenergic receptor)에 여러가지 ligand가 결합하면 세포막 내의 adenylate cyclase를 활성화시켜 ATP로부터 cAMP가 형성되는데 이 cAMP는 세포내 전달물질로 작용하여 인산화반응을 활성화시킨다(1). 카페인의 강심작용은 심근의 cAMP 분해효소인 cAMP phosphodiesterase의 작용을 억제하여 cAMP의 분해를 차단하며 그 결과로  $Ca^{2+}$ 의 유입이 증가되어 수축력이 항진되어진다. 반면에 papaverine의 혈압강하작용은 혈관평활근 cAMP phosphodiesterase의 억제작용으로 세포내 cAMP가 증가되어 평활근 이완작용이 나타난다(1). 먼저 70% 에탄올, 45°C의 침출온도 조건에서 cAMP phosphodiesterase 저해활성은 침출시간에 따라 비교적 큰 차이를 보이지 않으므로 5시간 정도로 추출하는 것이 무난할 것으로 사료된다 (Table 3). 침출시간을 5시간으로 하였을 때, 추출용매의 조성 및 침출온도에 따른 cAMP phosphodiesterase 저해활성은 25°C에서 추출한 경우 0.8~44.3%, 35°C의 경우에

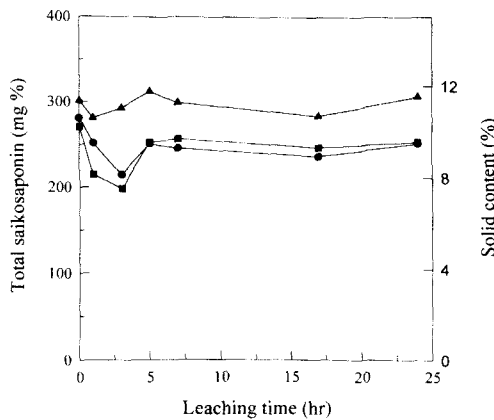


Fig. 3. Effects of 70% ethanol leaching time on the extracted saikosaponins and solid contents at 45°C. ●: saikosaponin a, ■: saikosaponin d, ▲: solid content.

**Table 3. Effects of leaching time on the cAMP phosphodiesterase inhibitions**

Leaching time (hr)	A 720 <sup>1)</sup>	Inhibition (%)
0	0.362±0.021	19.4±4.6
1	0.507±0.050	3.4±2.3
3	0.448±0.020	14.8±3.2
5	0.444±0.030	15.5±6.7
7	0.470±0.025	10.6±4.8
17	0.426±0.032	24.8±5.7
24	0.459±0.005	19.1±0.9

<sup>1)</sup>Absorbance values of the background and control were omitted because they varied according to the experimental conditions.

**Table 4. Effects of solvent composition and leaching temperature on the cAMP phosphodiesterase inhibitions**

Temp. (°C)	Extraction solvent	Alcohol fraction (%)	A 720 <sup>1)</sup>	Inhibition (%)
25	EtOH-water	0	0.585±0.027	N.D. <sup>2)</sup>
		10	0.637±0.009	N.D.
		30	0.639±0.022	N.D.
		50	0.482±0.032	14.0±5.6
		70	0.432±0.030	22.2±4.4
		90	0.312±0.014	44.3±2.5
	MeOH-water	100	0.387±0.056	19.7±11.7
		0	0.424±0.025	12.0±5.4
		10	0.477±0.017	0.8±3.6
		30	0.444±0.013	7.8±2.7
		50	0.369±0.003	N.D.
		70	0.393±0.022	N.D.
		90	0.417±0.029	N.D.
		100	0.405±0.032	N.D.
35	EtOH-water	0	0.375±0.032	N.D.
		10	0.359±0.021	1.9±5.9
		30	0.235±0.021	33.2±5.7
		50	0.227±0.004	35.3±1.2
		70	0.298±0.003	16.1±0.8
		90	0.197±0.017	43.4±4.6
	MeOH-water	100	0.584±0.027	9.2±4.4
		0	0.659±0.051	N.D.
		10	0.626±0.028	2.7±4.6
		30	0.638±0.011	0.4±1.8
		50	0.423±0.015	0.1±3.5
		70	0.515±0.036	N.D.
		90	0.562±0.052	N.D.
		100	0.379±0.011	10.4±2.5
45	EtOH-water	0	0.380±0.006	14.8±1.5
		10	0.456±0.011	N.D.
		30	0.341±0.017	24.2±4.0
		50	0.232±0.006	50.4±1.4
		70	0.340±0.014	15.2±3.6
		90	0.304±0.000	24.4±0.0
	MeOH-water	100	0.210±0.008	48.5±2.0
		0	0.384±0.025	4.2±6.3
		10	0.301±0.008	0.2±2.7
		30	0.282±0.008	6.7±2.7
		50	0.308±0.005	N.D.
		70	0.224±0.002	26.3±0.7
		90	0.277±0.016	25.4±4.7
		100	0.209±0.006	44.7±1.9

<sup>1)</sup>Absorbance values of the background and control were omitted because they varied according to the experimental conditions.

<sup>2)</sup>Not detected.

는 0.1~43.4%, 45°C에서 추출한 경우는 0.2~50.4%이었다. 한편, 추출용매로 메탄올을 사용한 경우보다 에탄올을 사용한 경우 cAMP phosphodiesterase 저해활성이 높은 것으로 나타났다(Table 4).

## 요 약

시호건근으로부터 시호사포닌을 추출하는 최적조건을 설정하고자 추출용매의 종류 및 용매조성, 침출온도 및 시간을 각각 변화시키면서 실험하였다. 그 결과, 물과 알콜 단일용매를 사용하는 것보다 알콜과 물의 혼합용매를 사용하는 것이 바람직하였으며 특히 70% 에탄올을 사용한 경우의 시호사포닌에 대한 추출효과가 가장 양호하였고 침출온도로는 45°C가 적절하였다. 침출시간은 시호사포닌함량에 거의 영향을 미치지 않는 것으로 나타나 시호 유효성분에 대한 침출시간으로 5시간을 선정하였다. 또한, 시호추출물에 대하여 홍분성 세포심근의 수축 및 혈압강화작용의 생체외 정량법의 하나인 cAMP phosphodiesterase 저해활성을 측정된 결과도 70% 에탄올을 추출용매로 사용한 경우 저해활성이 가장 높은 것으로 나타났다.

## 감사의 글

이 논문은 농림부에서 시행한 농림특정연구사업의 연구결과입니다.

## 문 헌

- Kim, N., Park, I.S., Kim, D.K., Kang, E.M. and Park, Y.H. : In Development of Utilization Technology for *Bupleurum falcatum*, a Korean Medicinal Herb (GA0126-9906). Korea Food Research Institute (1999)
- Abe, H., Konishi, H. and Komiyama, H. : Effects of saikosaponins on biological membrane. *Planta Med.*, **42**, 356-363 (1981)
- Ise, M., Amagaya, S. and Ogihara, Y. : Effects of saikosaponin metabolites on the hemolysis of red blood cells and their adsorbability on the cell membrane. *Chem. Pharm. Bull.*, **37**, 3306-3310 (1989)
- Kimata, H., Hiyama, C., Yahara, S., Tamaka, S., Ishikawa, O. and Aiura, M. : Application of high performance liquid chromatography to the analysis of crude drugs : Separatory determination of saponins of *Bupleuri radix*. *Chem. Pharm. Bull.*, **27**, 1836-1841 (1979)
- Nose, M., Amagaya, S., Takeda, T. and Ogihara, Y. : New derivatives of saikosaponin c. *Chem. Pharm. Bull.*, **37**, 1293-1296 (1989)
- Ishi, H., Seo, S., Tori, K., Tozjo, T. and Yoshimura, Y. : The structures of saikosaponin-e and acetylsaikosaponins. minor components isolated from *Bupleurum falcatum* L., determined by C-13 NMR spectroscopy. *Tetrahedron Lett.*, **14**, 1227-1230 (1977)
- Zhou, X.H., Kasai, R., Yoshikawa, M., Kitagawa, I. and

- Tanaka, O. : Solubilization of saponins of *Bupleuri radix* with ginseng saponins. Effects of malonyl-ginsenoside on water solubility of saikosaponin-*b*. *Chem. Pharm. Bull.*, **39**, 1250-1252 (1991)
8. Sasaki, Y., Mizutani, K., Kasai, R. and Tanaka, O. : Solubilizing properties of glycyrrhizin and its derivatives. Solubilization of saikosaponin-*a*, the saponin of *Bupleuri radix*. *Chem. Pharm. Bull.*, **36**, 3491-3495 (1988)
9. Park, Y.H., Song, M.J. and Kim, N. : Studies on platelet activation of saikosaponin isolated from *Bupleuri radix*. *J. Food Hyg. Safety*, **13**, 355-359 (1998)
10. Park, I.S., Kang, E.M. and Kim, N. : High performance liquid chromatographic analysis of saponin compounds in *Bupleurum falcatum*. *J. Chromatogr. Sci.*, in press (2000)
11. Kanazawa, H., Nagata, Y., Matsushima, Y., Tomada, M. and Takai, N. : Simultaneous determination of ginsenosides and saikosaponins by high-performance liquid chromatography. *J. Chromatogr.*, **507**, 327-332 (1990)
12. Martin, A.E. and Doty, D.M. : Determination of inorganic phosphate. Modification of the iso-butyl alcohol procedure. *Anal. Chem.*, **21**, 965-967 (1949)
13. Takahashi, Y., Mimaki, Y., Kameyama, A., Kuroda, M., Sashida, Y., Nikaido, T., Koike, K. and Ohmoto, T. : Three new cholestane bisdesmosides from *Nolida recurvata* stems and their inhibitory activity on cyclicAMP phosphodiesterase and Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-ATPase. *Chem. Pharm. Bull.*, **43**, 1180-1185 (1995)

(2000년 1월 15일 접수)