

돌외 에탄올 추출물 엑스의 만성 스트레스-유도 불안작용에 대한 개선작용

최현숙 · 신건성 · 최순옥 · 김승환¹ · 황방연 · 이종길 · 이명구*
충북대학교 약학대학, ¹경희대학교 체육대학

Ameliorating Effects of Herbal Ethanol Extract from *Gynostemma pentaphyllum* on Chronic Stress-Induced Anxiety in Mice

Hyun Sook Choi, Kun Seong Shin, Soon Ok Choi, Seung Hwan Kim¹,
Bang Yeon Hwang, Chong Kil Lee and Myung Koo Lee*

College of Pharmacy, Chungbuk National University, 410, Sungbong-ro, Heungduk-gu, Cheongju 361-763, Korea

¹College of Physical Education, Kyunghee University, 1, Seochun-dong, Kiheung-gu, Youngin 446-701, Korea

Abstract – The effects of herbal ethanol extract from *Gynostemma pentaphyllum* (GP extract) on chronic stress-induced anxiety in mice were investigated. The animals were treated with GP extracts (50 and 100 mg/kg/day, p.o.) for 21 days before exposure to electric footshock (EF; duration and interval 10 sec for 3 min, 2 mA) for chronic stress once a day. The ambulatory locomotor activity was reduced by chronic EF stress and it was recovered by 12.9-15.1% in GP extract-treated groups. The grip strength was also significantly decreased by chronic EF stress, however, the EF-stressed groups treated with GP extract increased grip strength from 13.9% to 56.8% compared to EF-stressed groups. In addition, the serum levels of corticosterone were significantly elevated by chronic EF stress to 197% of the control levels, which was reduced to 73.1% by treatment with GP extract (100 mg/kg). In contrast, the brain levels of dopamine and serotonin were reduced to 67.6% and 63.1% by chronic EF stress, which was recovered to 90% of the control levels by treatment with GP extract. These results indicate that GP extract shows the ameliorating effects on chronic EF stress-induced anxiety in mice and it can be developed as the promising anti-anxiety agent.

Key words – *Gynostemma pentaphyllum*, Chronic stress-induced anxiety, Ambulatory locomotor activity, Grip strength, Corticosterone, Dopamine, Serotonin

돌외(*Gynostemma pentaphyllum* Makino, *Gynostemmae* Herba, Cucurbitaceae 덩굴차; GP)는 다년생 식물이며, 주성분으로는 사포닌(saponins) 계열 화합물인 gypenosides, 방향성분인 phyllostachylin과 flavonoids, carotene 등을 함유하고 있다.¹⁻³⁾ GP의 엑스(ethanol 또는 수침 엑기스) 및 gypenosides는 다양한 생리활성이 연구되었으며, 주요 생리활성으로는 항산화작용 및 혈관내피세포 보호 작용,^{4,5)} 심혈관 기능개선 작용,⁶⁾ 콜레스테롤 저하작용,⁷⁾ 면역기능 조절 작용,⁸⁾ 암세포 성장저해 작용,⁹⁾ 항당뇨 작용,¹⁰⁾ 간 기능 보호 작용,¹¹⁾ 항염증 작용^{11,12)} 등이 보고되고 있다.

인체는 다양한 만성 스트레스(stress)에 대응하여 반응하며,

시상하부(CRH)-뇌하수체 전엽(ACTH)-부신피질계 호르몬인 glucocorticoids(corticosterone)와 교감신경-부신수질계 호르몬인 catecholamines(dopamine, norepinephrine, epinephrine)을 분비하여 스트레스에 대한 방어반응을 나타낸다.^{13,14)} 초기의 스트레스에 의한 흥분상태에서는 근 긴장도의 증가, 혈압상승 등이 일어나지만, 만성적인 반복 스트레스는 중추신경계에 작용하여 불안증상을 나타내고, 심화되면 두통, 편두통, 피로감, 인지기능 및 면역기능의 저하, 우울증과 같은 신경증상, 지구력 저하 등이 일어난다.¹⁵⁾

동물모델에 대한 만성 스트레스는 불안, 신경증 등을 동반하여 운동량(ambulatory locomotor) 및 악력(grip strength)의 저하, 체중 및 지구력(endurance)의 감소 등이 나타난다.¹⁶⁻¹⁸⁾ 또한 동물 모델에서는 급성 및 만성 스트레스에 의하여 혈중의 corticosterone 함량이 증가한다.^{16,19)} 그러나 뇌중의

*교신저자(E-mail): myklee@chungbuk.ac.kr
(Tel): +82-43-276-2754

dopamine 및 serotonin 함량은 급성 스트레스에 의한 흥분 시에는 증가하지만, 만성 스트레스에 의한 불안, 우울증상 등을 동반하는 경우 감소한다.^{20,21)}

최근 GP 엑스는 전기자극-부가 만성 스트레스 동물모델에서 스트레스에 의한 체중감소 및 악력저하에 대한 개선작용이 있으며, 또한 스트레스-유도 면역력 기능저하에 대한 개선작용이 있음을 보고하고 있다.^{18,22)} 이러한 GP 엑스의 항스트레스 효능 중에서 악력저하의 개선작용은 항불안 효능과 관련이 있다. 따라서 본 연구에서는 GP 엑스를 제조하고 스트레스(전기자극법)-부가 실험동물(mice)에 경구 투여한 다음, 운동량 변화, 혈중 corticosterone 함량, 뇌중의 dopamine 및 serotonin 함량 등을 측정하여, GP 엑스가 만성 스트레스에 의하여 유도되는 불안증상의 개선효능에 대하여 검토하였다.

재료 및 방법

실험재료 - GP는 원광식품(경남 거창군 남상면 둔동리)에서 구입하여 품종을 확인하였다(표품 보관: 충북대학교 약학대학 생약학교실). GP의 잎(leaves, 10 kg) 부위를 채취하여 음건한 후 세절한 다음 ethanol(80%)로 추출하고 증발 농축하여 시료로 사용하였다(GP 엑스, 950 g). 실험동물은 mice(ICR male, 체중 25-30 g)를 사용하였으며, 주야 주기 12 시간, 온도 23±2°C의 조건하에서 사육하였다. Dopamine, isoproterenol, serotonin, acetonitrile, 5-hydroxyindole acetic acid(HIAA) 등의 시약은 Sigma(St Louis, MO, 미국)로부터 구입하였으며, 그 밖의 시약은 특급 및 HPLC용 등급을 사용하였다. Corticosterone kit는 USCN Life Sci(E0540m, Wuhan, 중국)로부터 구입하였다.

스트레스 부가실험 - 실험동물 mice에 스트레스 부가는 전기쇼크 장치(Shock generator, Seil Electric Co. 대전)를 이용한 전기자극법(electric footshock)으로 시행하였다.¹⁸⁾ GP 엑스(50 및 100 mg/kg, 1일 1회 경구투여)는 스트레스 부가 전 2-3 시간에 투여하고 스트레스를 부가하였다(1일 1회 13:00-14:00, 10 초 간격 3 분간 2 mA; 부가기간 21 일).

운동량 측정 - Mice에 대한 운동량(ambulatory locomotor) 측정은 전반부(약물투여 1-15일 기간)에는 GP 엑스 투여 2-3 시간 후 스트레스를 부가하고, 스트레스 부가 2 시간 후 당일에 실시하였으며, 후반부(약물투여 16-21일 기간)에는 스트레스 부가 20-22 시간 후(익일 GP 엑스 투여 2-3 시간 후, 당일 스트레스 부가 전)에 실시하였다. 운동량은 원형 케이지(직경 20 cm, 높이 18 cm)를 이용한 tilting-type ambulometer(AMB-10, O'Hara, Tokyo, 일본)를 사용하여, 적응시간 10분 후 30분 동안 측정하였다.

체중변화 및 악력 측정 - 스트레스 부가 후 mice에 대한 체중 및 악력의 변화는 실험 시작 후 1, 14, 21 일째에 GP

엑스 투여 1-2 시간 후 당일 스트레스 부가 전에 측정하였으며, 체중에 대한 증감 변화율로 나타내었다. 악력은 Digital Force Gauges(FGN-2B, Shimpo, Kyoto, 일본)를 이용하여 측정하였다.¹⁸⁾

혈액 및 뇌조직 시료 - Corticosterone 함량분석을 위한 혈액시료는 최종 스트레스 부가(21일째) 후 익일에 채취하고 원심분리하여(4°C, 20분, 12,000 x g) 시료(serum)를 얻었으며, dopamine 및 serotonin 함량 측정을 위한 뇌조직은 혈액시료 채취한 후 단두하여 뇌조직을 적출하였다.

Corticosterone 함량 측정 - 혈액(serum) 중의 corticosterone의 함량은 분석 kit(E0540m)를 이용하여 측정하였다.

Dopamine 함량 측정 - 뇌 조직에 trichloroacetic acid(0.3 M, 300-500 µl) 및 isoproterenol(300 pmol)을 가하여 균질화시킨 후 원심 분리하였다. 상등액은 Toyopak(IC-SP S, Na⁺ form, 수지량 0.5 ml)을 사용하여 전처리하고 용출액에 DPE 시약을 가하여 형광유도체화 반응을 시킨 다음, HPLC 법으로 dopamine 함량을 정량하였다.²³⁾

Serotonin 함량 측정 - 뇌 조직에 trichloroacetic acid(0.3 M, 300-500 µl) 및 HIAA(300 pmol)를 가하여 균질화시킨 다음 원심분리 하였다(12,000 x g). 상등액은 여과한 다음 (Millex-GV, 0.22 µm), HPLC-형광검출기(λmax: Ex 285 nm, Em 340 nm)를 이용하여 serotonin 함량을 정량하였다.²⁴⁾

결과정리 - 실험결과는 means±S.E.M.으로 표시하였으며 유의성 검정은 Tukey 법에 의한 ANOVA 법에 의하여 계산하였다.

결과 및 고찰

GP는 박과속 식물로서 주요 함유성분은 사포닌 계열 화합물(glycosides)을 함유하고 있다. 최근 GP 엑스는 만성 전기부가-스트레스에 의한 체중감소, 악력감소 및 면역기능 저하에 대한 개선작용이 있음을 보고하였다.^{18,22)} 생체는 각종 스트레스에 대응하여 glucocorticoids 및 catecholamines 등을 유리하여 방어반응을 나타내지만, 만성적 반복적인 스트레스는 불안, 초조, 의욕상실과 우울증 등을 나타내어 운동량, 악력, 지구력, 면역기능 등의 저하반응을 나타낸다.^{13-16,19-21)} 따라서 본 연구는 GP 엑스의 전처치가 만성 스트레스(전기자극)에 의하여 나타나는 불안 증상에 대한 개선효능을 검토하였다(Fig. 1).

GP 엑스는 건조한 잎 부위(10 kg)를 ethanol(80%)로 추출하고 감압 농축하여 제조하였다(950 g). GP 엑스는 투여 용량 6-760 mg/kg(rats, 24 주간, 경구투여) 범위에서 독성반응(체중감소 및 장기변화, 간 기능 등)을 나타내지 않았으며,²⁵⁾ 스트레스 부가의 개선작용(50 mg/kg, 3 주간, 경구투여) 및 뇌세포 손상의 방어작용(30-100 mg/kg, 4 주간, 경구투여)에서도 독성반응은 나타내지 않았다.^{18,22)} 이 결과를

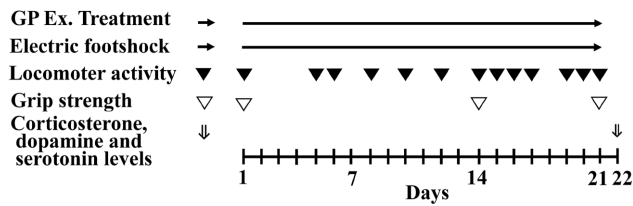


Fig. 1. Experimental design. Animals were pretreated with herbal extract of *Gynostemma pentaphyllum* (GP Ex; 50 and 100 mg/kg, once a day, p.o.) or vehicle (0.9% saline, p.o.) for 21 days and then subjected to daily session of electric footshock stress at 13:00-14:00 once a day for 21 days (duration and interval of 10 sec for 3 min, 2 mA). The control groups of animals remained in their home cages throughout the experiments. The GP extract-treated and control groups were similarly subjected to the pharmacological treatments and behavioral testing according to the indicated schedules.

응용하여 본 연구에서는 GP 엑스(50 및 100 mg/kg/day) 투여용량을 설정하였고 GP 엑스의 21 일간의 투여는 mice에 대하여 독성 작용을 나타내지 않았다.

GP 엑스가 만성 스트레스에 의한 운동량(ambulatory activity) 감소작용에 미치는 영향을 검토하였다. 대조군(GP 엑스 미투여군+스트레스 미부가)은 운동량이 증가하기 시작하여 21일차에는 1-5일차에 비하여 113% 증가하였다(Fig. 2). 스트레스 부가군은 운동량 측정시기에 따라 2가지 양상으로 나타났다. 전반부(1-15일, 스트레스 부가후 당일 운동량 측정)에서는 운동량이 대조군에 비하여 현저히 증가하였으며, 15-16일차에서는 대조군보다는 증가하였으나 전일에 비하여 감소경향을 나타내었다(Fig. 2). 그러나 후반부(16-21일, 스트레스 부가후 익일 스트레스 부가 전에 운동량 측정)에서는 17일차부터 감소하여 18-21일차에는 대조군에 비하여 현저히 감소하였다(18% 감소)(Fig. 2). 이 결과는 전반부에서는 스트레스 부가에 의한 흥분과 방어작용으로 운동량이 증가하였으며, 전반부 15-16일 이후 후반부에서는 반복적인 만성 스트레스 부가에 의하여 불안과 같은 증상에 의하여 운동량이 감소한 것으로 사료된다. 그러나 GP 엑스 투여군(GP 엑스 50 및 100 mg/kg/day 투여+스트레스 부가)은 전반부에서는 대조군에 비하여 운동량이 증가하였으나 스트레스 부가군 보다는 감소하였고, 후반부에서는 스트레스 부가군에 비하여 운동량이 현저히 증가하였다(12.9-15.1%). GP 엑스의 효능은 100 mg/kg 투여군이 50 mg/kg 투여군보다 증가경향을 나타내었으나 유의적이지 않았다. 동물모델에서 만성 스트레스 부가는 불안, 우울 등과 같은 신경증상을 나타내며, 이는 운동량 감소작용으로 나타나고 있음이 보고되고 있다.^{17,18)} 따라서 GP 엑스는 만성 스트레스 부가에 의한 불안 증상에 대한 개선 효능이 있음을 나타내고 있다.

다음으로 만성 스트레스가 악력에 미치는 영향을 검토하

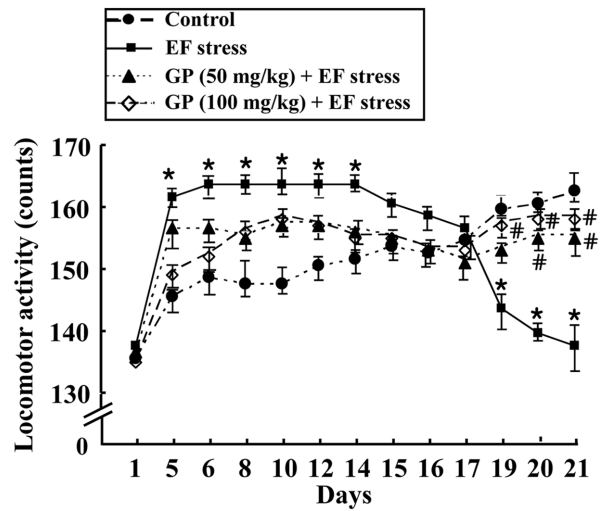


Fig. 2. Effects of GP extract on locomotor activity after or before exposure to electric footshock (EF) stress for the experimental periods in mice. Mice (ICR, male, 25-30 g, n=10-12) were pretreated with GP extract (50 and 100 mg/kg/day, p.o.) or vehicle (0.9% saline, p.o.) for 21 days. Ambulatory locomotor activity was measured for 30 min as described in the experimental methods. The results were expressed as means \pm SEM (n=10-12). *p<0.05 compared to control levels, #p<0.05 compared to the levels of EF stress groups (ANOVA followed by Tukey's test).

였다. 대조군(GP 엑스 미투여+스트레스 미부가)은 체중에 대한 악력이 증가하였다(단위 g/g weight, n=10-12)[14일차, +0.15(\pm 0.07); 21일차, +0.18(\pm 0.11)]. 스트레스 부가군(GP 엑스 미투여+스트레스 부가)은 14일차 및 21일차에서 대조군에 비하여 악력이 현저히 감소하였으며[14일차, -2.51(\pm 0.19); 21일차, -2.78(\pm 0.21), p<0.05], GP 엑스 투여군(50 및 100 mg/kg/day+스트레스 부가)은 대조군에 비하여 악력은 감소하였으나[50 mg/kg 투여군-14일차, -2.28(\pm 0.20); 21일차, -2.32(\pm 0.18); 100 mg/kg 투여군-14일차, -1.93(\pm 0.14); 21일차, -1.66(\pm 0.15), p<0.05], 스트레스 부가군에 비하여 악력이 증가하였다. 이는 GP 엑스(50 mg/kg/day, 1-21일간의 경시적 변화)를 사용한 결과와 동일한 경향을 나타내었다.¹⁸⁾ 스트레스 부가에 의한 악력은 근이완, 불안 및 우울 증상에서 감소한다.^{17,18)} 따라서 mice는 만성 전기자극-부가 스트레스에 의하여 14일차 전후에서부터 불안 증상 등을 나타내고 이로 인하여 운동량(Fig. 2) 및 악력이 감소되며, 반복적인 GP 엑스의 투여는 이러한 운동량 및 악력 감소에 대한 개선효능(항불안 효능)을 나타내고 있는 것으로 사료된다.

GP 엑스가 만성 스트레스에 의한 glucocorticoids(corticosterone)의 함량변화에 미치는 영향을 검토하였다. 혈액중의 corticosterone 함량은 대조군에 비하여 유의적으로 증가하였으며(197% 증가, p<0.05), GP 엑스 투여군(50 및 100 mg/kg/day 투여+스트레스 부가)은 스트레스 부가에 의한

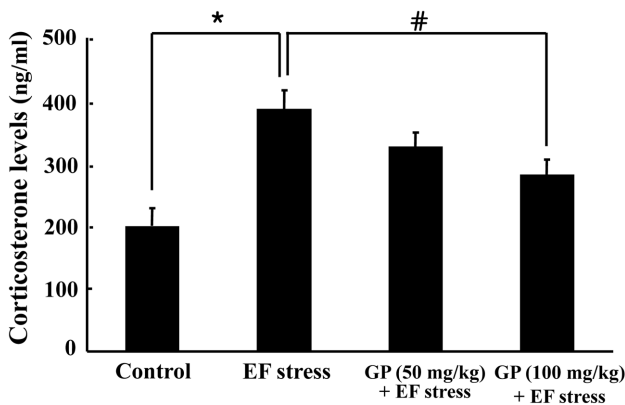


Fig. 3. Effects of GP extract on corticosterone levels in serum. Mice (ICR, male, 25-30 g) were pretreated with GP extract (50 and 100 mg/kg/day, p.o.) or vehicle (0.9% saline, p.o.) for 21 days. The results were expressed as means \pm SEM (n=10-12). *p<0.05 compared to control levels, #p<0.05 compared to the levels of EF stress groups (ANOVA followed by Tukey's test).

corticosterone 증가를 감소시켰으나 대조군 수준으로는 감소하지 않았다(100 mg/kg 투여군, 73.1% 감소작용, p<0.05) (Fig. 3). 동물모델에서 혈액중의 corticosterone은 일주기에 영향을 받지만, 급성 및 만성 스트레스는 혈액중의 corticosterone의 함량(급성 스트레스>만성 스트레스)을 증가시키며 이것은 스트레스로부터 생체를 보호하기 위한 것이다.^{16,19)} 급성에 비하여 만성 스트레스에 의한 glucocorticoids의 감소는 스트레스에 대응하여 저장된 glucocorticoids의 과사용과 ACTH를 매개로한 보상기전의 지연에 의한 것으로 여겨진다.²⁶⁾ 그러나 지속적인 glucocorticoids의 증가는 면역기능 저하 등의 생체방어력을 감소시킨다.^{27,28)} 따라서 GP 엑스는 corticosterone에 의한 유해반응에 대한 방어효능이 있음을 나타내고 있다.

뇌중의 dopamine 함량은 만성 스트레스 부가에 의하여 증가하며(스트레스 부가 2-3 시간 후 당일에 시료 채취), GP 엑스(50 mg/kg/day)는 만성 스트레스 부가에 의하여 증가된 뇌중의 dopamine 함량에 대한 감소작용이 있음을 보고하고 있다.¹⁸⁾ 이 연구결과와 비교하기 위하여, 본 연구에서는 최종 스트레스를 부가한 다음 익일(스트레스 부가 20-22 시간 후)에 뇌중의 dopamine 및 serotonin의 함량을 측정하였다. Dopamine 함량은 만성 스트레스 부가군은 대조군(스트레스 미부가)에 비하여 감소하였으며(67.6% 감소, p<0.05), GP 엑스 투여군(50 및 100 mg/kg+스트레스 부가)은 dopamine 함량이 대조군 수준으로 증가하였다(123% 및 143% 증가, p<0.05)(Fig. 4). 또한 만성 스트레스 부가에 의하여 감소된 serotonin의 함량(63.1% 감소)은 GP 엑스 투여군(50 및 100 mg/kg+스트레스 부가)에 의하여 증가하였다(138% 및 148% 증가, p<0.05)(Fig. 5). 뇌중의 dopamine 및 serotonin의 함량은 급성 및 만성 스트레스에 의하여 증가하여 방어작용

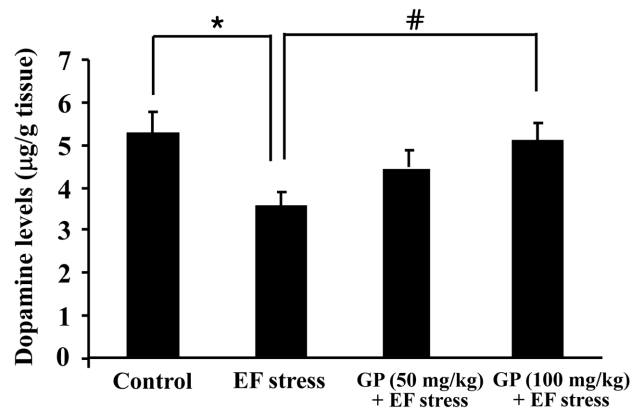


Fig. 4. Effects of GP extract on dopamine levels in brain. Mice (ICR, male, 25-30 g) were pretreated with GP extract (50 and 100 mg/kg/day, p.o.) or vehicle (0.9% saline, p.o.) for 21 days. The results were expressed as means \pm SEM (n=10-12). *p<0.05 compared to control levels, #p<0.05 compared to the levels of EF stress groups (ANOVA followed by Tukey's test).

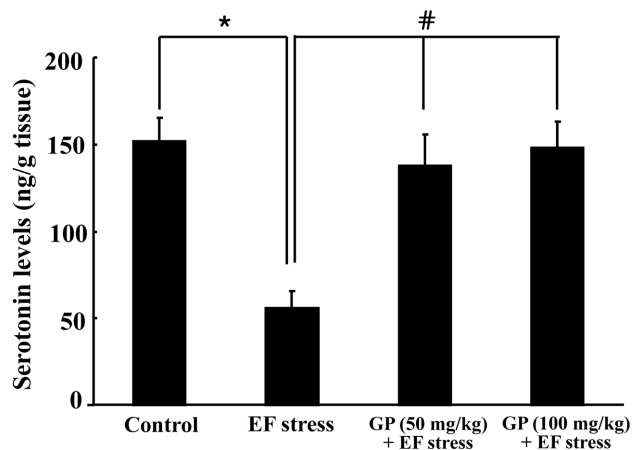


Fig. 5. Effects of GP extract on serotonin levels in brain. Mice (ICR, male, 25-30 g) were pretreated with GP extract (50 and 100 mg/kg/day, p.o.) or vehicle (0.9% saline, p.o.) for 21 days. For further comments, see Fig. 4.

을 나타내기 위한 흥분반응(심박수, 혈압 등의 상승 및 정신적 흥분상태)을 나타낸다.^{20,21)} 그러나 최종 스트레스 부가 후에 일정시간이 경과하면 반복적 만성 스트레스에 의한 불안, 우울증상 등의 신경증상이 나타나며, 이 상태에서는 뇌중의 dopamine 및 serotonin의 함량은 감소한다.¹⁹⁾ GP 엑스 투여에 의한 dopamine 및 serotonin의 함량의 증가작용은 만성 스트레스에 의한 불안 및 우울과 같은 증상의 개선작용이 있음을 나타내고 있으며, 이러한 안정작용이 운동량 및 악력의 증강효능으로 나타난 것으로 사료된다.

GP 엑스는 심혈관 내피세포 보호작용과 관련한 항산화작용,^{4,5)} 지구력 개선효능,¹⁸⁾ 면역기능 조절작용,⁸⁾ dexamethasone-유도 면역기능 저하에 대한 예방효능 및 개선작용,²²⁾ 암세

포 이식 동물모델에서의 항암면역반응의 증가작용,²²⁾ 6-hydroxydopamine-유도 파킨슨병 동물모델에서의 dopamine 신경세포 보호작용(항산화스트레스 효능)²⁹⁾ 등이 보고되고 있으며, 면역기능 저하에 대한 개선작용 및 뇌중에서의 항산화스트레스 효능이 불안증상의 개선 효능에 관여할 것으로 사료된다.

본 연구에서 GP 엑스는 만성 스트레스에 의한 운동량 및 약력 감소에 대한 개선작용, 혈액중의 corticosterone의 증가에 대한 감소효능, 뇌중의 dopamine 및 serotonin 함량 감소에 대한 증가효능을 나타내어, 스트레스-유도 불안 증상에 대한 항불안 효능을 나타내고 있음을 밝혔다. GP 엑스는 독성 작용이 매우 미약하며 반복투여에 의하여 독성반응을 나타내지 않는 것으로 보고되고 있다.²⁶⁾ 따라서 GP 엑스는 반복투여가 가능하며 만성 스트레스에 의한 정신적 신체적인 기능개선 효능에 유효할 것으로 사료된다.

사 사

본 연구는 지식경제부-한국산업기술평가원 지원 지역혁신센터사업(RIC) '생물건강산업개발연구센터'의 연구비(2009-2010)로 수행되었음.

인용문헌

1. Yoshikawa, K., Mitake, M., Takemoto, T. and Arihara, S. (1987) Studies on the constituents of Curcubitaceae plants. XVII. On the saponins constituents of *Gynostemma pentaphyllum* Makino (12). *Yakugaku. Zasshi* **107**: 355-360.
2. Kuwahara, M., Kawanishi, F., Komiya, T. and Oshio, H. (1989) Dammarane saponins from *Gynostemma pentaphyllum* Makino and isolation of malonylginsenosides-Rb₁, -Rd, and malonylgypenoside V. *Chem. Pharm. Bull.* **37**: 135-139.
3. Blumert, M. L. and Liu, J. (2003) Jiaogulan, China immortality herb, 12-20, Torchlight Publishing, Inc., Badger, CA, USA.
4. Wang, Z. J. and Luo, D. H. (2007) Antioxidant activities of different fractions of polysaccharide purified from *Gynostemma pentaphyllum* Makino. *Carbohydr. Polym.* **68**: 54-58.
5. Huang, T. H., Tran, V. H., Roufogalis, B. D. and Li, Y. (2007) Gypenoside XLIX, a naturally occurring PPAR- α activator, inhibits cytokine-induced vascular cell adhesion molecule-1 expression and activity in human endothelial cells. *Eur. J. Pharmacol.* **565**: 158-165.
6. Circo, C., De Pasquale, R. and Occhiuto, F. (2005) Cardiovascular effects of the aqueous extract of *Gynostemma pentaphyllum* Makino. *Phytomedicine* **12**: 638-643.
7. Megallia, S., Aktanb, Fugen., Daviesc, N. M. and Roufogalis, B. D. (2005) Phytopreventative anti-hyperlipidemic effects of *Gynostemma pentaphyllum* in rats. *J. Pharm. Pharmacol. Sci.* **8**: 507-515.
8. Huang, W. C., Kuo, M. L., Li, M. L., Yang, R. C., Liou, C. J. and Shen, J. J. (2007) The extract of *Gynostemma pentaphyllum* enhanced the production of antibodies and cytokines in mice. *Yakugaku Zasshi* **127**: 889-896.
9. Hou, J., Liu, S., MA, Z., Lang, X., Wang, J., Wang, J. and Liang, Z. (1991) Effects of *Gynostemma pentaphyllum* Makino on the immunological functions of cancer patients. *J. Trad. Chin. Med.* **11**: 47-52.
10. Norberg, A., Hoa, N. K., Liepinsh, E., Van Phan D., Thuan, N. D., Jörnval, H., Sillard, R. and Ostenson, C. G. (2004) A novel insulin-releasing substance, phanoside, from the plant *Gynostemma pentaphyllum*. *J. Biol. Chem.* **279**: 41361-41367.
11. Lin, J. M., Lin, C. C., Chiu, H. F., Yang, J. J. and Lee, S. G. (1993) Evaluation of the anti-inflammatory and liver-protective effects of *Anoectochilus formosanus*, *Ganoderma lucidum* and *Gynostemma pentaphyllum* in rats. *Am. J. Chin. Med.* **21**: 59-69.
12. Rujjanawate, C., Kanjanapothi, D. and Amornlerdpison, D. (2004) The anti-gastric ulcer effect of *Gynostemma pentaphyllum* Makino. *Phytomedicine* **11**: 431-435.
13. Ulrich-Lai, P. M. and Engeland, W. C. (2005) Sympatho-adrenal activity and hypothalamic-pituitary-adrenal axis regulation. In Steckler, T., Kalin, N. H., Reul, J. M. H. M. (ed.). Handbook of stress and the brain, Part I, 419-436, Elsevier.
14. Gonzalo, A., Carrasco, L. D. and Van, D. K. (2003) Neuroendocrine pharmacology of stress. *Eur. J. Pharmacol.* **463**: 235-272.
15. Kovacs, K. J., Mikios, I. H. and Bali, B. (2005) Psychological and physical stressors. In Steckler, T., Kalin, N. H., Reul, J. M. H. M. (ed.). Handbook of stress and the brain, Part I, 775-792, Elsevier.
16. Retana-Marques, S., Bonilla-Jaime, H., Vazquez-Palacios, G., Dominguez-Salazar, E., Martinez-Garcia, R. and Velazquez-Moctezuma, J. (2003) Body weight gain and diurnal differences of corticosterone changes in response to acute and chronic stress in rats. *Psychoneuroendocrinol.* **28**: 207-227.
17. Silva, M. I., de Aquino Neto, M. R., Teixeira Neto, P. F., Moura, B. A., do Amaral, J. F. and de Sousa, D. P. (2007) Central nervous system of acute administration of isopulegol in mice. *Pharmacol. Biochem. Behav.* **88**: 141-147.
18. Choi, H. S., Lim, S. A., Park, M. S., Hwang, B. Y., Lee, C. K., Kim, S. H., Lim, S. C. and Lee, M. K. (2008) Ameliorating effects of the ethanol extracts from *Gynostemma pentaphyllum* on electric footshock stress. *Kor. J. Pharmacogn.* **39**: 341-346.
19. Sheikh, N., Ahmad, A., Siripurapu, K. B., Kuchibhotla, V. K., Singh, S. and Palit, G. (2007) Effects of *Bacopa monniera* on stress induced changes in plasma corticosterone and brain monoamines in rats. *J. Ethnopharmacol.* **111**: 671-676.
20. Niesenbaum, L. K. and Abercrombie, E. D. (1993) Presyn-

- aptic alterations associated with enhancement of evoked release and synthesis of norepinephrine in hippocampus of chronically cold stressed rats. *Brain Res.* **608**: 280-287.
21. Fujino, K., Yoshitake, T., Inoue, O., Ibi, N., Kehr, J., Ishida, J., Nohta, H. and Yamaguchi, M. (2002) Increased serotonin release in mice frontal cortex and hippocampus induced by acute physiological stressors. *Neurosci. Lett.* **320**: 91-95.
 22. Lim, S. A., Choi, H. S., Hwang, B. Y., Lee, M. K. and Lee, C. K. (2009) Augmentation of immune responses by oral administration of *Gynostemma pentaphyllum* ethanol extract. *Kor. J. Pharmacogn.* **40**: 35-40.
 23. Mitsui, A., Nohta, H. and Ohkura, Y. (1985) High-performance liquid chromatography of plasma catecholamines using 1,2-diphenylethylenediamine as precolumn fluorescence derivatization reagent. *J. Chromatogr.* **344**: 61-70.
 24. Yanagisa, M., Hasegawa, H. and Ichiyama, A. (1982) Assay of tryptophan hydroxylase and aromatic L-amino acid decarboxylase based on rapid separation of the reaction product by high-performance liquid chromatography. *J. Biochem.*, **92**: 449-456.
 25. Attawish, A., Chivapat, S., Phadungpat, S., Bansiddhi, J., Techadamrongsin, Y., Mitrijit, O., Chaorai, B. and Chavalit-tumrong, P. (2004) Chronic toxicity of *Gynostemma pentaphyllum*. *Fitoterapia* **75**: 539-551.
 26. Akana, S. F., Shinsako, J. and Dallman, M. F. (1983) Relationship among adrenal weight, corticosterone and stimulated adrenocorticotropin. *Endocrinol.* **113**: 2226-2239.
 27. Piemonti, L., Monti, P., Allavena, P., Sironi, M., Soldini, L., Leone, B. E., Socci, C. and Carlo, V. (1999) Glucocorticoids affect human dendritic cell differentiation and maturation. *J. Immunol.* **162**: 6473-6481.
 28. Tuckermann, J. P., Kleiman, A., Moriggl, R., Spanbroek, R., Neumann, A., Illing, A., Clausen, B. E., Stride, B., Förster, I., Habenicht, A. J., Reichardt, H. M., Tronche, F., Schmid, W. and Schütz, G. (2007) Macrophages and neutrophils are the targets for immune suppression by glucocorticoids in contact allergy. *J. Clin. Invest.* **117**: 1381-1390.
 29. Choi, H. S., Park, M. S., Kim, S. H., Hwang, B. Y., Lee, C. K. and Lee, M. K. (2010) Neuroprotective effects of herbal ethanol extracts from *Gynostemma pentaphyllum* in the 6-hydroxydopamine-lesioned rat model of Parkinson's disease. *Molecules* **15**: 2814-2824.
- (2010. 12. 3 접수; 2010. 12. 29 심사; 2010. 12. 29 게재확정)