

## 토우슬과 회우슬의 에탄올 추출물의 성분 및 생리활성 비교

이예슬, 김미선, 김덕진, 손호용\*  
안동대학교 식품영양학과

Received: July 9, 2013 / Revised: September 6, 2013 / Accepted: September 8, 2013

**A Comparison of the Components and Biological Activities of the Ethanol Extracts of *Achyranthes japonica* Nakai and *Achyranthes bidentata* Blume.** Lee, Ye-Seol, Mi-Sun Kim, Duck-Jin Kim, and Ho-Yong Sohn\*. Dept. of Food and Nutrition, Andong National University, Andong 760-749, Korea

In the course of a study for the development of functional foods utilizing Woosul (*Achyranthis radix*), the components and various biological activities of Korean Woosul (AJN: *Achyranthes japonica* Nakai) and Chinese Woosul (ABB: *Achyranthes bidentata* Blume) were compared. Woosul in Korea, including AJN and ABB, are regulated and part of the Korean Pharmacopoeia. From AJN and ABB, ethanol extracts and their subsequent organic solvent fractions were prepared and their *in-vitro* antimicrobial, antioxidant and anti-diabetes activities were evaluated. Although AJN and ABB have no clear distinction in terms of usage in Korea, our results suggest that AJN has higher quantities of lipid-soluble components and lower amounts of water-soluble sugars than does ABB. ABB also appears to possess greater amounts of flavonoid and polyphenol substances than AJN. Analyses of biological activities showed that the fractions of AJN were more active as antibacterial agents, and possessed more pronounced  $\alpha$ -glucosidase inhibitory activities than those of the ABB fractions. However, the antioxidant activities of the ABB fractions, as determined by DPPH anion-, ABTS cation-, nitrite-scavenging activity and reducing power, were higher than those of the AJN fractions. Our results suggest that the components and bioactivity of the extracts and subsequent fractions of AJN and ABB are different. Therefore, usage of either AJN or ABB should be carefully considered, as regards their individual properties, when the active fractions of Woosul are employed in the development of functional foods or novel plant-derived medicines.

**Keywords:** Bioactivity, *Achyranthes japonica* Nakai, *Achyranthes bidentata* Blume

### 서 론

우슬은 비름과(Amaranthaceae)에 속하는 다년생 식물로 한국, 중국, 일본 등에 분포하며, 민간에서는 쇠무릎이라 불릴 만큼 관절염에 효과가 있다고 알려져 있다[8, 12, 14, 20]. 한방에서의 우슬은 성미가 평하며, 쓴맛과 신맛을 가지고, 신장과 간장에 작용하여 어혈을 제거하며, 혈액순환을 촉진하고, 혈액을 생성하는 효능과 열을 떨어뜨리는 효능이 알려져 있다[16, 23]. 우슬의 주요 약리성분으로는 oleanolic acid, inocosterone, ecdysterone, beta-sitosterol, stigmaterol, feruloyl tyramine glycoside 등이 알려져 있으며[28], 최근에는 우슬의 지표물질 검정 및 효율적인 분석연구도 진행되고

있으나[29], 아직까지 국내에서는 우슬의 지표성분 함량이 설정되어 있지 않은 상태이다. 우슬에 대한 연구는, 과거 다량 증식을 위한 기내배양 연구[15]에서 우슬의 효율적인 이용을 위한 유용생리활성 탐색으로 전환되고 있으며, 현재 보고된 생리활성으로는 항산화 활성[5, 23], 항균[3, 6] 및 항말라리아 활성[31], 항염증 활성[2, 17], 중금속 제거 및 해독효과[7, 9], 관절염 완화 및 경조직 재생효과[8, 19], 파골세포 분화억제효과[4, 10], 허혈성 뇌손상에 대한 보호효과[22], 혈류개선 [27] 및 간 독성보호[13] 등이 알려져 있으며 최근에는 우슬 분말의 저장안전성 및 독성에 대한 연구[18]가 진행된 바 있다.

우슬은 기원식물이 국가마다 달라, 국내산 우슬의 경우 토우슬(*Achyranthes japonica* Nakai)을 사용하며, 중국에서는 회우슬(*Achyranthes bidentata* Blume), 천우슬(*Cyathula officinalis* Kuan) 및 마우슬(*Cyathula capitata* Moq)을 사용하고 있다[12, 14]. 그러나 현재 우리나라 대한약전에서는,

#### \*Corresponding author

Tel: +82-54-820-5491, Fax: +82-54-820-7804

E-mail: hysohn@andong.ac.kr

© 2013, The Korean Society for Microbiology and Biotechnology

국내 자생하는 토우슬과 중국원산의 회우슬의 2종을 우슬로 규정하고 있다[12]. 국내에서는 많은 연구가 토우슬에 집중되고 있으나, 중국을 포함한 전세계적으로는 회우슬에 대한 연구가 주로 이루어지고 있는 실정이다. 현재까지 토우슬과 회우슬의 비교연구는 주로 형태분류에 집중되어 있으며, 생리활성 비교연구로는 최근 토우슬과 회우슬의 메탄올 추출물의 DPPH(1,1-diphenyl-2-picryl hydrazyl) 음이온 소거활성과 간암세포 및 자궁경부암 세포에 대한 항암활성 검정이 보고되어 있을 뿐이다[30]. 따라서 본 연구에서는 우슬을 이용한 고부가가치 식품개발 연구의 일환으로, 우슬의 기원 식물별 성분과 생리활성의 차이를 확인하기 위해 국내산 토우슬과 중국산 회우슬의 ethanol 추출물 및 이의 순차적 유기용매 분획물을 조제하여 각각의 유용성분을 분석하고, 추출물의 *in-vitro* 항균활성, 항산화, 및 항당뇨 활성을 비교하여 보고하는 바이다.

## 재료 및 방법

### 실험재료

본 실험에 사용된 국내산 토우슬과 중국산 회우슬은 2012년 안동지역 대제한약에서 구입하여 사용하였다(Fig. 1). 국내산 토우슬은 2011년 경북 영천에서 가을에 수확, 건조한 제품이며, 중국산 회우슬은 2011년 중국 하남성에서 가을에 수확, 건조한 제품이었다. 각각의 우슬은 추출에 적합하도록 세절한 후 95% ethanol (Daejung Chemicals & Metals Co., Ltd. Korea)을 우슬 무게의 10배 되도록 가하여 상온에서 3회 추출하였다. 이후 추출액은 filter paper (Whatman No. 2)로 거른 후 감압 농축(Eyela Rotary evaporator N-1000, Tokyo Rikakikai Co., Ltd. Japan)하여 분말로 조제하였다. 유기용매 분획물 제조의 경우, 각각의 우슬 ethanol 추출물을 물에 현탁한 후 n-hexane, ethylacetate 및 butanol을 이용하여 순차적으로 분획하고 물 잔류물을 회수하였으며[1], 각각의 분획물들은 감압 건조하여 분말화 하였



Fig. 1. Photography of the dried roots of *Achyranthes japonica* Nakai (Korea, left) and *A. bidentata* Blume (China, right) used in this study.

다. 각각의 시료들은 DMSO에 적당한 농도로 녹여, *in-vitro* 항균활성, 항산화 및 항당뇨 활성 평가에 사용하였다. 기타 사용한 시약은 시약급 이상으로 Sigma Co. (USA)의 제품을 구입하여 사용하였다. 실험에 사용한 우슬은 안동대학교 식품영양학과에서 보관하고 있다(voucher specimen 2012-WS1, 2012-WS2).

### 우슬의 항균 활성

조제된 우슬의 ethanol 추출물 및 이의 분획물의 항균 활성은 기존의 보고된 방법과 동일하게 평가하였다[11]. 항세균 활성평가를 위한 그람 양성세균으로는 *Staphylococcus aureus* KCTC 1916, *Listeria monocytogenes* KACC 10550, *Bacillus subtilis* KCTC 1924를 사용하였으며, 그람 음성세균으로 *Escherichia coli* KCTC 1682, *Proteus vulgaris* KCTC 2433, *Salmonella typhimurium* KCTC 1926, 항진균 활성 평가를 위해서는 *Candida albicans* KCTC 1940 및 *Saccharomyces cerevisiae* IF0 0233를 사용하였다. 항세균 활성 평가의 경우, Nutrient broth (Difco Co., USA)에 각각의 세균을 접종하여 37°C에서 24시간 동안 배양한 후, 각 균주를 O.D.<sub>600</sub> 0.1로 조정하여 Nutrient agar (Difco Co., USA) 배지를 포함하는 멸균 petri dish (90 × 15 mm, Green Cross Co., Ltd. Korea)에 100 μl 도말하고, 각각의 시료 5 μl를 멸균 disc-paper (지름 6.5 mm, Whatman No.2)에 가하여, 37°C에서 24시간 동안 배양하였으며, 진균 경우에는 Sabouraud dextrose (Difco Co. USA)를 이용하여 동일한 방법으로 30°C에서 24시간 동안 배양 후, 생육저지환의 크기를 측정하여 항균활성을 평가하였다[11]. 대조구로는 항세균제인 ampicillin과 항진균제인 miconazole (Sigma Co., USA)을 각각 1 μg/disc 농도로 사용하였으며, 생육저지환의 크기는 육안으로 생육이 나타나지 않는 부분의 지름을 mm 단위로 측정하였고, 3회 이상 평가 후 대표 결과로 나타내었다.

### 우슬의 항산화 활성

우슬 추출물 및 이의 분획물의 항산화 활성은 DPPH (1,1-diphenyl-2-picryl hydrazyl) anion scavenging activity [DSA], ABTS [2,2-azobis(3-ethylbenzothiazoline-6- sulfonate)] cation scavenging activity [ASA], nitrite scavenging activity [NSA] 및 환원력 측정으로 평가하였다[26]. 먼저 DSA 측정의 경우, 다양한 농도로 희석한 시료 20 μl에 99.5% ethanol에 용해시킨  $2 \times 10^{-4}$  M DPPH 용액 380 μl를 넣고 혼합하여 37°C에서 30분 동안 반응시킨 후, 516 nm에서 microplate reader (Asys Hitech, Expert96, Asys Co., Austria)를 사용하여 흡광도를 측정하였다. DSA(%)는 시료 첨가구와 비첨가구의 백분율로 표시하였다[25]. ASA 측정의 경우, 7 mM

ABTS (Sigma Co., USA) 5 ml와 140 mM potassium persulfate 88 ml를 섞은 후 상온에서 16시간 빛을 차단하여 ABTS 양이온을 형성시켰으며, 이후 이 용액을 414 nm에서 흡광도 값이 1.5가 되도록 ethanol로 희석하였다. 조제된 희석용액 190 µl와 시료 10 µl를 혼합한 후 상온에서 6분간 반응시킨 후 734 nm에서 흡광도를 측정하고 다음의 식에 의해 ASA(%)를 결정하였다[11].

$$\text{ASA} (\%) = [(C - S)/C] \times 100$$

C: DMSO 첨가시 흡광도, S: 시료 첨가시 흡광도.

한편 NSA 측정의 경우, 아질산염 용액(1 mM)에 시료용액을 가하고 여기에 0.1 N HCl을 가해 pH 1.2로 조정 한 후, 37°C에서 1시간 반응시킨 후 Griess reagent (Sigma Co., USA)를 가하고 혼합하였다. 이후 15분간 실온에서 방치 후 520 nm에서 흡광도를 측정하여 잔존 nitrite 양을 측정하였다. NSA(%)는 다음의 식에 의해 계산하였다[11].

$$\text{NSA} (\%) = [1 - (A - C)/B] \times 100$$

A: 1 mM nitrite 용액에 시료를 첨가하여 1시간 반응시킨 후의 흡광도, B: 1 mM nitrite 용액의 흡광도, C: 우슬 시료의 흡광도.

환원력 평가의 경우 Oyaizu 등의 방법을 변형하여 측정하였다[1]. Ethanol에 용해한 시료 2.5 ml에 0.2 M sodium phosphate buffer (pH 6.6) 2.5 ml와 10% potassium ferricyanide 2.5 ml를 첨가하고 50°C에서 20분간 반응시킨 후, 10% trichloroacetic acid 2.5 ml를 첨가하여 반응을 종료하고 4,000 rpm에서 10분간 원심분리하여 상등액을 회수하였다. 회수한 상등액은 증류수로 2배 희석한 후, 신선하게 조제된 0.1% ferric chloride 용액과 5:1 (v/v) 비율로 혼합하고 700 nm에서 흡광도를 측정하여 평가하였다. 상기의 항산화 실험에서 대조구로는 vitamin C (Sigma Co., USA)를 사용하였으며, 용매 대조구로는 DMSO를 사용하였다. 각각의 활성 평가는 각각 3회 반복한 실험의 평균과 편차로 표시하였다.

### 우슬의 항당뇨 활성

항당뇨 활성은 *in-vitro*  $\alpha$ -amylase 저해 활성과  $\alpha$ -glucosidase 저해 활성을 평가하여 나타내었다. 먼저  $\alpha$ -amylase 저해 활성은 Lim 등[21]의 방법을 수정하여 사용하였으며, 우슬 시료 2.5 µl와 50 mM phosphate buffer (pH 6.8)로 희석한  $\alpha$ -amylase (0.25 U/ml) 25 µl를 혼합하여 37°C에서 10분간 preincubation 한 후, 0.5% soluble starch (Samchun Chemicals Co., Korea) 25 µl를 가하여 37°C에서 10분간 반응하였다. 이후 100°C에서 5분간 가열하여 반응을 정지시켰으며, 반응

액에 150 µl의 DNS (3,5-dinitrosalicylic acid, Sigma Co., USA) 용액을 가하여 100°C에서 5분간 가열하여 발색한 후 상온에서 방냉하였다. 발색액은 96 well microplate reader (Tecan Co., USA)를 이용하여 540 nm에서 흡광도를 측정하였으며, 각각의 실험은 3회 반복한 후 평균값을 구하여 다음의 식으로 저해율을 계산하였다.

$$\text{저해율} (\%) = [1 - (\text{시료 첨가구 효소활성} / \text{대조구 첨가구 효소활성})] \times 100$$

$\alpha$ -glucosidase 저해활성은 pNPG (p-nitrophenol glucoside; Sigma Co., USA)를 이용하여 평가하였으며[21], 우슬 시료 2.5 µl와 50 mM sodium acetate buffer (pH 5.6)로 희석한  $\alpha$ -glucosidase (0.25 U/ml) 25 µl를 혼합하여 37°C에서 10분간 preincubation 하고 1 mM pNPG 용액 25 µl를 가하여 60°C에서 10분간 반응하였다. 이후 1M NaOH 25 µl를 가하여 반응을 정지시키고, 405 nm에서 흡광도를 측정하여 저해율을 계산하였다.

### 기타 분석

우슬의 수분함량은 적외선 수분측정기(HG53 Halogen Moisture Analyzer, Mettler-Toledo International Inc., Zurich, Switzerland)로 측정하였으며, 추출물의 pH 측정은 320 pH meter (Mettler Toledo InLabR 413, UK)로 측정하였다. 색차측정은 색차계(Chromatometer CR-300, Minota, Japan)를 이용하여 백색도(L value, lightness), 적색도(a value, redness) 및 황색도(b value, yellowness) 값을 3회 반복 측정하여 색차(E)를 계산하였다. 표준 백색판은 L 값이 92.39, a 값이 -0.08, b 값이 1.39이었으며, 색차(E)는 다음의 식을 이용하여 계산하였다.

$$\Delta E = \sqrt{(\Delta L)^2 + (\Delta a)^2 + (\Delta b)^2}$$

한편 추출물의 총 flavonoid의 함량 측정은 기존의 보고한 방법[25]에 따라 측정하였으며, 각각의 시료를 18시간 메탄올 교반 추출하고 여과한 추출검액 400 µl에 90% diethylene glycol 4 ml를 첨가하고 다시 1 N NaOH 40 µl를 넣고 37°C에서 1시간 반응 후 420 nm에서 흡광도를 측정하였다. 표준시약으로는 rutin을 사용하였다. 총 polyphenol 함량은 추출검액 400 µl에 50 µl의 folin-ciocalteu, 100 µl의 Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 포화용액을 넣고 실온에서 1시간 방치한 후 725 nm에서 흡광도를 측정하였다[24]. 표준시약으로는 tannic acid를 사용하였다. 총당 정량의 경우에는 phenol-sulfuric acid 법을, 환원당 정량의 경우에는 DNS 변법을 이용하였다[26]. 각각의 분석결과는 3회 반복한 실험의 평균과 편차로 나타내었다.

## 통계분석

실험 결과는 SPSS 20.0 버전을 사용하여 mean  $\pm$  SD로 나타내었으며, 각 군간의 차이는 ANOVA로 분석하였으며, Duncan 다중비교 검증법으로 통계적 유의성 검정을 조사하였다. 유의수준은  $p < 0.05$ 로 하였다.

## 결과 및 고찰

### 토우슬과 회우슬의 관능적 특성 및 성분 비교

국내산 토우슬은 가늘고 긴 원주형의 뿌리를 가지며, 황갈색을 띠며, 상대적으로 전분립이 적어 단단하고 부서지기 쉬운 형태로, 냄새는 거의 없으며, 씹을 때 단맛이 느껴졌다. 반면 중국산 회우슬은 굵고 곧게 뻗은 긴 원주형의 뿌리를 가지며, 담갈색을 띠며, 부서져서 쉽게 부서지며, 냄새가 있으며, 씹을 때 단맛, 쓴맛, 떫은 맛이 함께 느껴졌다(Fig. 1). 한편 토우슬 및 회우슬의 수분함량은 각각 9.13% 및

10.89%로 차이가 나타났으나, 에탄올 추출 효율은 5.0-5.1%로 차이가 나타나지 않았다. 추출물의 pH와 색차 분석결과 역시 유의성이 인정되지 않았다(Table 1). 토우슬과 회우슬의 에탄올 추출물의 분획효율 및 성분 분석 결과는 Table 2에 나타내었다. 토우슬의 경우 *n*-hexane과 ethylacetate 분획의 총량이 8.5%에 달하며, 분획물 중 butanol 분획물과 물 잔류물이 각각 42.4% 및 47.3%로 나타났다. 회우슬의 경우에는 *n*-hexane과 ethylacetate 분획의 총량이 3.6%이며, 분획물 중 butanol 분획물과 물 잔류물이 각각 32.0% 및 64.2%로 나타났다. 또한 에탄올 추출물의 총당 및 환원당 함량은 회우슬 추출물이 토우슬보다 1.26-1.44배 높은 함량을 나타내었다. 이러한 결과는 비록 토우슬과 회우슬의 에탄올 추출물 효율은 유사하나, 토우슬 추출물이 회우슬 추출물보다 지용성 물질을 많이 포함하며, 회우슬의 경우 상대적으로 수용성 당류를 많이 포함하고 있음을 의미한다. 한편 총플라보노이드 함량 분석결과, 토우슬에서는 *n*-hexane 분획에서

**Table 1.** Comparison of water content, extraction yield, pH and color differences between *Achyranthes japonica* Nakai (Korea) and *A. bidentata* Blume (China).

| Samples          | Water content (%) | Extraction yield (%) | pH              | Color differences |                |                |                |
|------------------|-------------------|----------------------|-----------------|-------------------|----------------|----------------|----------------|
|                  |                   |                      |                 | <i>L</i>          | <i>a</i>       | <i>b</i>       | $\Delta E$     |
| AJN <sup>a</sup> | 9.13 $\pm$ 0.09*  | 5.0 $\pm$ 0.12       | 5.15 $\pm$ 0.08 | 49.0 $\pm$ 0.1    | -5.5 $\pm$ 0.1 | -1.8 $\pm$ 0.2 | 42.9 $\pm$ 0.5 |
| ABB <sup>b</sup> | 10.89 $\pm$ 0.04* | 5.1 $\pm$ 0.05*      | 5.04 $\pm$ 0.10 | 48.4 $\pm$ 0.5    | -5.3 $\pm$ 0.1 | -2.3 $\pm$ 0.5 | 43.5 $\pm$ 0.5 |

<sup>a</sup>AJN: *Achyranthes japonica* Nakai.

<sup>b</sup>ABB: *Achyranthes bidentata* Blume. Data are presented as the mean  $\pm$  SD of three determinations.

\* $p < 0.05$  compared with AJN.

**Table 2.** Comparison of the contents of total flavonoid, total polyphenol, total sugar and reducing sugar in different extracts and fractions between *Achyranthes japonica* Nakai (Korea) and *A. bidentata* Blume (China).

| Samples          | Extract/<br>Fraction    | Fraction yield (%) | Content (mg/g-extract) |                  |                   |                   |
|------------------|-------------------------|--------------------|------------------------|------------------|-------------------|-------------------|
|                  |                         |                    | Total flavonoid        | Total polyphenol | Total sugar       | Reducing sugar    |
| AJN <sup>a</sup> | Ethanol ex <sup>c</sup> | -                  | 0.11 $\pm$ 0.10        | 3.53 $\pm$ 0.09  | 384.17 $\pm$ 0.48 | 342.44 $\pm$ 3.37 |
|                  | Hexane fr <sup>d</sup>  | 2.3                | 2.61 $\pm$ 0.52*       | 4.60 $\pm$ 0.25  | 40.94 $\pm$ 0.75  | 29.44 $\pm$ 0.48  |
|                  | Ethylacetate fr         | 6.2                | 0.72 $\pm$ 0.22        | 4.66 $\pm$ 0.13  | 330.81 $\pm$ 0.48 | 276.82 $\pm$ 2.88 |
|                  | Butanol fr              | 42.4               | 0.04 $\pm$ 0.14*       | 3.67 $\pm$ 0.08  | 363.43 $\pm$ 1.27 | 328.67 $\pm$ 3.13 |
|                  | Water residue           | 47.3               | 0.06 $\pm$ 0.03        | 2.38 $\pm$ 0.05  | 371.17 $\pm$ 1.43 | 334.96 $\pm$ 2.40 |
| ABB <sup>b</sup> | Ethanol ex              | -                  | 1.71 $\pm$ 0.07        | 6.79 $\pm$ 0.12  | 553.08 $\pm$ 3.10 | 430.04 $\pm$ 3.85 |
|                  | Hexane fr               | 0.8                | 3.39 $\pm$ 0.09*       | 7.22 $\pm$ 0.06  | 25.72 $\pm$ 0.21  | 20.70 $\pm$ 0.48  |
|                  | Ethylacetate fr         | 2.8                | 19.05 $\pm$ 0.42       | 8.32 $\pm$ 0.06  | 80.27 $\pm$ 0.63  | 38.06 $\pm$ 0.24  |
|                  | Butanol fr              | 32.0               | 0.58 $\pm$ 0.24*       | 7.22 $\pm$ 0.20  | 500.82 $\pm$ 1.41 | 439.23 $\pm$ 4.33 |
|                  | Water residue           | 64.2               | 0.71 $\pm$ 0.00        | 4.91 $\pm$ 0.02  | 544.30 $\pm$ 2.54 | 126.23 $\pm$ 6.50 |

<sup>a</sup>AJN: *Achyranthes japonica* Nakai.

<sup>b</sup>ABB: *Achyranthes bidentata* Blume.

<sup>c</sup>ex: extract.

<sup>d</sup>fr: fraction. Data are presented as the mean  $\pm$  SD of three determinations.

\* $p > 0.05$  compared with counterpart of AJN or ABB.

가장 높은 함량(2.61 mg/g)을 나타내었으나, 회우슬에서는 ethylacetate 분획에서 가장 높은 함량(19.05 mg/g)을 나타내어 성분상의 차이가 나타났다. 특히 회우슬이 ethylacetate 분획은 토우슬의 ethylacetate 분획에 비해 당 함량이 25% 정도로 매우 낮은 특징을 나타내었다. 총 폴리페놀 함량 분석 결과, 토우슬에서는 모든 분획물에서 2.38-4.66 mg/g의 분포를, 회우슬의 분획물에서는 4.91-8.32 mg/g의 분포를 나타내어, 토우슬 및 회우슬 모두 다양한 종류의 폴리페놀류들을 함유하고 있으며, 회우슬이 토우슬보다 상대적으로 많은 총 플라보노이드 및 총 폴리페놀 함량을 나타냄을 확인하였다.

### 토우슬과 회우슬의 항균활성 비교

토우슬 및 회우슬의 에탄올 추출물 및 이의 순차적 유기용매 분획물의 항균활성 평가 결과는 Table 3에 나타내었다. 먼저 대조구로 사용된 ampicillin과 miconazole은 다양한 병원성 세균, 식중독 세균 및 진균에 우수한 항균활성을 나타내었다. 각각의 우슬 에탄올 추출물은 사용된 세균 및 진균

에 대해 항균 활성이 거의 인정되지 않았으며, 분획물에서 가장 많은 양을 차지하는 물 잔류물의 경우 항균활성이 나타나지 않았다. 반면 분획물 중 각각의 *n*-hexane 및 ethylacetate 분획에서는 대장균을 제외한 세균에서 양호한 항세균 활성이 나타났다. 따라서 토우슬 및 회우슬은 지용성 항세균 활성물질을 포함하고 있음을 알 수 있으며, 토우슬 추출물이 회우슬 추출물보다 *n*-hexane 및 ethylacetate 분획의 지용성 분획 함량이 2.4배 많음을 고려할 때, 토우슬이 회우슬보다 항균 활성이 우수하리라 판단된다. 한편 토우슬의 경우 butanol 분획에서 회우슬과는 달리, *Bacillus subtilis*와 *Salmonella typhimurium*에 대해 약한 항균활성이 나타났다.

### 토우슬과 회우슬의 항산화능 비교

먼저 토우슬 및 회우슬의 에탄올 추출물 및 분획물들의 항산화 활성을 DSA 및 ASA로 평가한 결과(Table 4), 회우슬 추출물 및 분획물이 토우슬 추출물 및 분획물보다 우수함을 알 수 있었으며, 토우슬 및 회우슬의 에탄올 추출물 및 *n*-

**Table 3. Comparison of the antimicrobial activity of the different extracts and fractions between *Achyranthes japonica* Nakai (Korea) and *A. bidentata* Blume (China).**

| Samples               | Antimicrobial activity (Clear zone: mm, 500 µg/disc) |                 |                 |                        |                 |                 |                 |                 |    |
|-----------------------|--|-----------------|-----------------|------------------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|----|
|                       | Gram positive bacteria                               |                 |                 | Gram negative bacteria |                 |                 | Fungi           |                 |    |
|                       | LM <sup>e</sup>                                      | SA <sup>f</sup> | BS <sup>g</sup> | EC <sup>h</sup>        | ST <sup>i</sup> | PV <sup>j</sup> | CA <sup>k</sup> | SC <sup>l</sup> |    |
| AJN <sup>a</sup>      | Ethanol ex <sup>c</sup>                              | NA <sup>m</sup> | NA              | NA                     | NA              | 7               | NA              | NA              | NA |
|                       | Hexane fr <sup>d</sup>                               | 9               | 10              | 10                     | NA              | 9               | 8               | NA              | NA |
|                       | Ethylacetate fr                                      | 7               | NA              | 7                      | NA              | 7               | 7               | NA              | NA |
|                       | Butanol fr   | NA              | NA              | 7                      | NA              | 7               | NA              | NA              | NA |
|                       | Water residue  | NA              | NA              | NA                     | NA              | NA              | NA              | NA              | NA |
| ABB <sup>b</sup>      | Ethanol ex   | NA              | NA              | 7                      | NA              | NA              | NA              | NA              | NA |
|                       | Hexane fr  | 11              | 8               | 10                     | NA              | 10              | 9               | NA              | NA |
|                       | Ethylacetate fr                                      | 8               | 8               | 9                      | NA              | 8               | 8               | NA              | NA |
|                       | Butanol fr   | NA              | NA              | NA                     | NA              | NA              | NA              | NA              | NA |
|                       | Water residue  | NA              | NA              | NA                     | NA              | NA              | NA              | NA              | NA |
| Ampicillin/Miconazole |  | 25              | 22              | 30                     | 11              | 17              | 30              | 13              | 18 |

The concentration of ampicillin or miconazole used was 1.0 µg/disc, respectively.

<sup>a</sup>AJN: *Achyranthes japonica* Nakai.

<sup>b</sup>ABB: *Achyranthes bidentata* Blume.

<sup>c</sup>ex: extract.

<sup>d</sup>fr: fraction.

<sup>e</sup>LM: *Listeria monocytogenes*.

<sup>f</sup>SA: *Staphylococcus aureus*.

<sup>g</sup>BS: *Bacillus subtilis*.

<sup>h</sup>EC: *Escherichia coli*.

<sup>i</sup>ST: *Salmonella typhimurium*.

<sup>j</sup>PV: *Proteus vulgaris*.

<sup>k</sup>CA: *Candida albicans*.

<sup>l</sup>SC: *Saccharomyces cerevisiae*.

<sup>m</sup>NA: No activity.

Table 4. Comparison of the antioxidant activity of the different extracts and fractions between *Achyranthes japonica* Nakai (Korea) and *A. bidentata* Blume (China).

| Samples<br>(mg/ml) | Antioxidant activity (%)    |                             |                            |                         |                 |                 |
|--------------------|-----------------------------|-----------------------------|----------------------------|-------------------------|-----------------|-----------------|
|                    | DPPH<br>scavenging activity | ABTS<br>scavenging activity | Reducing power<br>(700 nm) |                         |                 |                 |
| AJN <sup>a</sup>   | Ethanol ex <sup>c</sup>     | 0.5                         | 10.0 ± 2.4 <sup>*</sup>    | 29.8 ± 0.8              | 0.0870 ± 0.0007 |                 |
|                    |                             | 1.0                         | 17.6 ± 0.9 <sup>*</sup>    | 38.3 ± 0.1              | 0.3050 ± 0.0014 |                 |
|                    | Hexane fr <sup>d</sup>      | 0.5                         | 11.4 ± 2.2 <sup>*</sup>    | 23.1 ± 0.0              | 0.1415 ± 0.0099 |                 |
|                    |                             | 1.0                         | 22.3 ± 0.9 <sup>*</sup>    | 42.9 ± 0.5              | 0.1845 ± 0.0035 |                 |
|                    | Ethylacetate fr             | 0.5                         | 28.1 ± 1.2                 | 60.1 ± 0.0              | 0.1595 ± 0.0071 |                 |
|                    |                             | 1.0                         | 52.3 ± 0.5                 | 70.7 ± 0.8              | 0.3490 ± 0.0113 |                 |
|                    | Butanol fr                  | 0.5                         | 10.6 ± 2.4                 | 25.5 ± 1.0              | 0.0820 ± 0.0007 |                 |
|                    |                             | 1.0                         | 13.5 ± 1.0                 | 33.8 ± 0.0              | 0.2350 ± 0.0042 |                 |
|                    | Water residue               | 0.5                         | 3.0 ± 1.3                  | 7.5 ± 0.4               | 0.0565 ± 0.0000 |                 |
|                    |                             | 1.0                         | 10.0 ± 0.5                 | 15.6 ± 0.3              | 0.2445 ± 0.0049 |                 |
|                    | ABB <sup>b</sup>            | Ethanol ex                  | 0.5                        | 10.6 ± 0.3 <sup>*</sup> | 26.2 ± 0.6      | 0.1075 ± 0.0057 |
|                    |                             |                             | 1.0                        | 19.1 ± 0.5 <sup>*</sup> | 44.9 ± 1.2      | 0.4105 ± 0.0035 |
| Hexane fr          |                             | 0.5                         | 11.7 ± 0.7 <sup>*</sup>    | 28.6 ± 0.6              | 0.0550 ± 0.0007 |                 |
|                    |                             | 1.0                         | 22.5 ± 1.2 <sup>*</sup>    | 54.2 ± 0.1              | 0.1235 ± 0.0049 |                 |
| Ethylacetate fr    |                             | 0.5                         | 64.2 ± 0.6                 | 73.9 ± 0.3              | 0.4565 ± 0.0071 |                 |
|                    |                             | 1.0                         | 78.1 ± 0.1                 | 81.9 ± 1.6              | 0.7960 ± 0.0071 |                 |
| Butanol fr         |                             | 0.5                         | 6.3 ± 0.6                  | 20.6 ± 0.9              | 0.1365 ± 0.0113 |                 |
|                    |                             | 1.0                         | 16.7 ± 2.3                 | 37.9 ± 1.2              | 0.3990 ± 0.0042 |                 |
| Water residue      |                             | 0.5                         | 5.7 ± 0.3                  | 4.5 ± 0.0               | 0.1105 ± 0.0071 |                 |
|                    |                             | 1.0                         | 9.5 ± 0.7                  | 13.1 ± 0.0              | 0.4130 ± 0.0071 |                 |
| Vitamin C          |                             | 0.01                        | 35.3 ± 0.9                 | 88.2 ± 5.8              | 0.3812 ± 0.0433 |                 |

<sup>a</sup>AJN: *Achyranthes japonica* Nakai.<sup>b</sup>ABB: *Achyranthes bidentata* Blume.<sup>c</sup>ex: extract.<sup>d</sup>fr: fraction. Data are presented as the mean ± SD of three determinations.<sup>\*</sup>*p* > 0.05 compared with counterpart of AJN or ABB.

hexane 분획물의 DSA 활성의 경우에는 유의적이지 않았다 (*p* > 0.05). 최근 토우슬과 회우슬의 메탄올 추출물의 DSA 평가결과, 회우슬의 IC<sub>50</sub>가 0.75 mg/ml, 토우슬의 IC<sub>50</sub>가 1.19 mg/ml로 보고되어 회우슬이 토우슬보다 우수한 DSA를 나타낸다고 보고[30]되었으나, 두 추출물의 DSA 활성이 전체적으로 미약하므로 큰 차이는 나타나지 않는 것으로 이해된다. 한편 각각의 우슬 분획물 중 ethylacetate 분획에서 가장 강력한 항산화 활성이 보였고, DSA의 경우 0.5 mg/ml 농도에서 vitamin C (0.01 mg/ml)만큼 강력한 활성을 나타내었으며, 특히 회우슬이 우수한 활성을 나타내었다. 반면, ASA의 경우 각각의 ethylacetate 분획은 1.0 mg/ml 농도에서 vitamin C (0.01 mg/ml)에 필적하는 활성을 나타내어 우슬의 ethylacetate 분획물은 상대적으로 양이온보다는 음이온

에 대한 소거능이 우수함을 알 수 있었다. 한편 환원력의 경우, 회우슬이 토우슬보다 전체적으로 강력한 활성을 나타내었으며, 특히 *n*-hexane 분획물을 제외한 다른 분획물에서는 1.7-2.3배 우수한 활성을 나타내었다. 따라서 항산화능의 경우, 토우슬보다 회우슬이 ASA 및 환원력이 더욱 우수함을 확인하였다.

우슬 추출물 및 이의 분획물의 NSA 평가는 Table 5에 나타내었다. 토우슬과 회우슬의 에탄올 추출물에서는 NSA의 유의적인 차이가 나타나지 않았으나, 분획물에서는 전체적으로 회우슬이 토우슬보다 NSA 활성 증가가 나타났다고 (*p* < 0.05). 2종 우슬의 분획물 중 강력한 NSA 활성은 *n*-hexane 및 ethylacetate 분획에서 나타났으며, 이들의 경우 0.1 mg/ml 농도에서 vitamin C (0.01 mg/ml) 보다 우수한

**Table 5. Comparison of the nitrite scavenging activity of the different extracts and fractions between *Achyranthes japonica* Nakai (Korea) and *A. bidentata* Blume (China).**

| Samples (mg/ml)  |                         | Nitrite scavenging activity (%) |             |             |
|------------------|-------------------------|---------------------------------|-------------|-------------|
| AJN <sup>a</sup> | Ethanol ex <sup>c</sup> | 0.1                             | 17.5 ± 1.5* |             |
|                  |                         | 0.2                             | 22.4 ± 0.3* |             |
|                  | Hexane fr <sup>d</sup>  | 0.1                             | 38.3 ± 2.4  |             |
|                  |                         | 0.2                             | 44.1 ± 2.2  |             |
|                  | Ethylacetate fr         | 0.1                             | 39.0 ± 2.5  |             |
|                  |                         | 0.2                             | 45.6 ± 0.7  |             |
|                  | Butanol fr              | 0.1                             | 28.8 ± 2.1  |             |
|                  |                         | 0.2                             | 36.3 ± 2.8  |             |
|                  | Water residue           | 0.1                             | 10.6 ± 1.4  |             |
|                  |                         | 0.2                             | 17.3 ± 1.0  |             |
|                  | ABB <sup>b</sup>        | Ethanol ex                      | 0.1         | 17.8 ± 0.1* |
|                  |                         |                                 | 0.2         | 22.2 ± 1.2* |
| Hexane fr        |                         | 0.1                             | 46.3 ± 0.8  |             |
|                  |                         | 0.2                             | 52.7 ± 1.3  |             |
| Ethylacetate fr  |                         | 0.1                             | 48.8 ± 0.2  |             |
|                  |                         | 0.2                             | 52.8 ± 1.4  |             |
| Butanol fr       |                         | 0.1                             | 23.9 ± 2.4  |             |
|                  |                         | 0.2                             | 29.0 ± 1.8  |             |
| Water residue    |                         | 0.1                             | 14.5 ± 1.2  |             |
|                  |                         | 0.2                             | 21.5 ± 1.4  |             |
| Vitamin C        |                         | 0.01                            | 38.23 ± 1.6 |             |

<sup>a</sup>AJN: *Achyranthes japonica* Nakai.

<sup>b</sup>ABB: *Achyranthes bidentata* Blume.

<sup>c</sup>ex: extract.

<sup>d</sup>fr: fraction. Data are presented as the mean ± SD of three determinations.

\**p* > 0.05 compared with counterpart of AJN or ABB.

활성을 나타내었다.

#### 토우슬과 회우슬의 항당뇨 활성 비교

토우슬 및 회우슬의 에탄올 추출물 및 분획물들의 항당뇨 활성을 측정된 결과는 Table 6에 나타내었다. 먼저 임상에서 사용되고 있는 acarbose는 0.1 mg/ml의 저농도에서도  $\alpha$ -amylase 및  $\alpha$ -glucosidase 활성을 49.4% 및 5.2% 저해하여 우수한 항당뇨 활성을 확인하였다. 토우슬 및 회우슬의 에탄올 추출물에서  $\alpha$ -amylase 및  $\alpha$ -glucosidase 저해활성은 거의 유사하였으나, 분획물에서는 차이를 나타내었다. 각각의 분획물들은 모두 양호한  $\alpha$ -amylase 저해를 나타내었으며, 특히 토우슬에서는 *n*-hexane 분획에서, 회우슬에서는 *n*-hexane 분획 및 ethylacetate 분획에서 우수한 활성을 나타

**Table 6. Comparison of the *in-vitro* anti-diabetes activity of the different extracts and fractions between *Achyranthes japonica* Nakai (Korea) and *A. bidentata* Blume (China).**

| Samples (mg/ml)  |                         | <i>In-vitro</i> anti-diabetes activity (%) |                                     |             |             |
|------------------|-------------------------|--|-------------------------------------|-------------|-------------|
|                  |                         | Inhibition of $\alpha$ -amylase            | Inhibition of $\alpha$ -glucosidase |             |             |
| AJN <sup>a</sup> | Ethanol ex <sup>c</sup> | 0.5  | 17.0 ± 0.1                          | 6.5 ± 1.2*  |             |
|                  |                         | 1.0  | 21.0 ± 0.9                          | 10.9 ± 2.6* |             |
|                  | Hexane fr <sup>d</sup>  | 0.5  | 23.3 ± 1.9                          | 7.3 ± 2.1*  |             |
|                  |                         | 1.0  | 25.5 ± 0.1                          | 12.8 ± 0.7  |             |
|                  | Ethylacetate fr         | 0.5  | 9.2 ± 0.8                           | 9.3 ± 2.1   |             |
|                  |                         | 1.0  | 13.7 ± 1.4                          | 12.8 ± 1.6  |             |
|                  | Butanol fr              | 0.5  | 11.7 ± 2.7*                         | 9.4 ± 0.4   |             |
|                  |                         | 1.0  | 19.0 ± 0.5                          | 11.6 ± 0.6  |             |
|                  | Water residue           | 0.5  | 10.2 ± 1.2                          | 7.7 ± 1.5   |             |
|                  |                         | 1.0  | 18.3 ± 0.8                          | 9.2 ± 1.1   |             |
|                  | ABB <sup>b</sup>        | Ethanol ex                                 | 0.5                                 | 21.0 ± 0.2  | 7.4 ± 1.1*  |
|                  |                         |  | 1.0                                 | 22.9 ± 1.1  | 10.8 ± 0.8* |
| Hexane fr        |                         | 0.5  | 30.6 ± 2.1                          | 5.8 ± 1.3*  |             |
|                  |                         | 1.0  | 34.3 ± 3.1                          | 7.5 ± 2.0   |             |
| Ethylacetate fr  |                         | 0.5  | 26.4 ± 0.4                          | -0.7 ± 1.6  |             |
|                  |                         | 1.0  | 27.0 ± 1.4                          | 5.6 ± 2.6   |             |
| Butanol fr       |                         | 0.5  | 9.2 ± 1.5*                          | -3.0 ± 0.8  |             |
|                  |                         | 1.0  | 11.7 ± 1.0                          | 3.8 ± 2.1   |             |
| Water residue    |                         | 0.5  | 14.9 ± 2.4                          | 0.2 ± 0.2   |             |
|                  |                         | 1.0  | 19.7 ± 0.8                          | 2.7 ± 0.8   |             |
| Acarbose         |                         | 0.1  | 49.4 ± 0.6                          | 55.2 ± 0.4  |             |

<sup>a</sup>AJN: *Achyranthes japonica* Nakai.

<sup>b</sup>ABB: *Achyranthes bidentata* Blume.

<sup>c</sup>ex: extract.

<sup>d</sup>fr: fraction. Data are presented as the mean ± SD of three determinations.

\**p* > 0.05 compared with counterpart of AJN or ABB.

내었다. 반면  $\alpha$ -glucosidase 저해활성의 경우, 토우슬과 회우슬의 에탄올 추출물 및 *n*-hexane 분획물은 차이가 없었으며, 1.0 mg/ml 농도에서 토우슬의 경우 모든 분획물에서 9-12.8%의 저해가 나타난 반면, 회우슬은 2.7-7.5%의 낮은 저해활성을 나타내었다. 따라서 *in-vitro* 항당뇨 활성의  $\alpha$ -glucosidase 저해활성의 경우 회우슬의 분획물보다 토우슬의 분획물이 다소 우수한 것으로 확인되었다. 상기의 결과를 종합할 때, 국내에서 동일 약재로 사용되고 있는 토우슬과 회우슬은 추출물의 경우 성분 및 효능에서 매우 유사하나, 분획물의 경우 성분 및 활성의 차이가 나타남을 확인하였으며, 특히 우슬 추출물의 분획물을 이용한 기능성식품 및 천

연물 신약 개발시에는 국내산 토우슬과 중국산 회우슬을 구분하여 사용하여야 할 것으로 판단된다. 본 연구결과는 우슬을 이용한 고부가가치 식품 개발 기본자료로 활용될 것이다.

## 요 약

본 연구에서는 우슬을 이용한 고부가가치 식품개발 연구의 일환으로, 우슬의 기원식물별 성분과 생리활성의 차이를 확인하기 위해 국내산 토우슬과 중국산 회우슬의 ethanol 추출물 및 이의 순차적 유기용매 분획물을 조제하여 각각의 유용성분을 분석하고, 이들의 *in-vitro* 항균활성, 항산화 및 항당뇨 활성을 비교하였다. 국내 대한약전에서 토우슬 및 회우슬 2종 모두를 우슬로 규정하고 있으며, 구분없이 사용되고 있는 실정이나, 분석 결과 토우슬은 회우슬물보다 지용성 물질을 많이 포함하며, 회우슬의 경우 상대적으로 수용성 당류를 많이 포함하고 있었다. 또한 토우슬 및 회우슬 모두 다양한 종류의 폴리페놀들을 함유하고 있으나, 회우슬이 토우슬보다 상대적으로 많은 총플라보노이드 및 총폴리페놀 함량을 나타내었다. 항균활성 및  $\alpha$ -glucosidase 활성 평가 결과 토우슬의 분획물이 회우슬의 분획물보다 활성이 우수하였으며, 항산화능(DPPH 음이온 소거능, ABTS 양이온 소거능, nitrite 소거능 및 환원력)의 경우 토우슬보다 회우슬이 더욱 우수함을 확인하였다. 본 연구결과는, 국내에서 동일 약재로 사용되고 있는 토우슬과 회우슬은 추출물의 경우 성분 및 효능에서 매우 유사하나, 분획물의 경우 성분 및 활성의 차이가 나타남을 의미하며, 특히 우슬 추출물의 분획물을 이용한 기능성식품 및 천연물 신약 개발시에는 국내산 토우슬과 중국산 회우슬을 구분하여 사용하여야 함을 제시하고 있다.

## References

- Ahn SM, Ryu HY, Kang DK, Jung IC, Sohn HY. 2009. Antimicrobial and antioxidant activity of the fruit of *Prunus avium* L. *Korean J. Microbiol. Biotechnol.* **36**: 195-200.
- Bang SY, Kim JH, Kim HY, Lee YJ, Park SY, Lee SJ, et al. 2012. *Achyranthes japonica* exhibits anti-inflammatory effect via NF- $\kappa$ B suppression and HO-1 induction in macrophages. *J. Ethnopharmacol.* **144**: 109-117.
- Cai H, Choi SI, Lee YM, Heo TR. 2002. Antimicrobial effects of herbal medicine extracts on *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* O157:H7. *Korean J. Biotechnol. Bioeng.* **17**: 537-542.
- Choi JY, Lee CH, Jang JB, Lee KS, Lee JM. 2012. Inhibitory effects of *Achyranthis radix* extract mixed with hydrogel on osteoclast differentiation. *The J. Oriental Obster. Gynecol.* **25**: 1-10.
- Jang GY, Kim HY, Lee SH, Kang Y, Hwang IG, Woo KS, et al. 2012. Effects of heat treatment and extraction method on anti-oxidant activity of several medicinal plants. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* **41**: 914-920.
- Jung SM, Choi SI, Park SM, Heo TR. 2007. Antimicrobial effects of *Achyranthes japonica* Nakai extract against *Clostridium difficile*. *Korean J. Food Sci. Technol.* **39**: 564-568.
- Kang HG, Hong JW, Han HJ, Hwang YY, Jeong JY, Lee KN. 2004. Effects of methanol extract of radix *Achyranthis bidentatae* on cadmium inhalation toxicity in rat. *Korean J. Oriental Physiol. Pathol.* **18**: 1784-1794.
- Kim CS, Park YK. 2010. The therapeutic effect of *Achyranthis radix* on the collagen-induced arthritis in mice. *Korean J. Herbolology* **22**: 155-167.
- Kim HK, Jeung J, Park SJ, Kang SH, Song YS, Lee KN. 2004. Effects of extract of radix *Achyranthis bidentatae* on cadmium inhalation toxicity in rats. *Korean J. Oriental Physiol. Pathol.* **18**: 274-283.
- Kim JH, Ki JY, Ann JY, Park HJ, Kim HJ, Kwak HB, et al. 2010. Inhibitory effects of *Achyranthis bidentatae* radix on osteoclast differentiation and bone resorption. *Korean J. Herbolology* **25**: 65-74.
- Kim JI, Jang HS, Kim JS, Sohn HY. 2009. Evaluation of antimicrobial, antithrombin, and antioxidant activity of *Dioscorea batatas* Decne. *Korean J. Microbiol. Biotechnol.* **37**: 133-139.
- Kim JM, Kang DH, Kim JH, Na SY, Ju YS. 2007. A study on external and internal morphology in 4 kinds of Uie-Suel radix. *Korean J. Herbolology* **22**: 71-79.
- Kim KA, Lee JS, Park HJ, Kim JW, Kim CJ, Shim IS, et al. 2003. The inhibitory effect of *Achyranthes bidentata* radix extracts on cytochrome P450-catalyzed reactions in human liver microsomes. *Korean J. Oriental Med.* **24**: 40-46.
- Kim KS, Kim H. 2011. Morphometrics and distribution of *Achyranthes bidentata* complex. *Korean J. Medicinal Crop Sci. Agr.* **28**: 86-87.
- Kim KS, Seung NS, Kim MW, Pyo BS, Baik H. 1997. Micro-propagation of *Achyranthes japonica* through axillary buds culture. *Korean J. Plant Tissue Culture* **24**: 357-360.
- Kim KS, Shin YW, Kim EI, Kim SM, Lee JE, Yoo DY. 2005. The experimental study on antithrombotic activities of wulsan. *The J. Oriental Obster. Gynecol.* **18**: 110-126.
- Kim MS, Jeong JS, Lee HY, Ju YS, Bae GS, Seo SW, et al. 2011. The anti-inflammatory effect of *Achyranthes japonica* on lipopolysaccharide-induced inflammatory activity in murine macrophages. *Korean J. Herbolology* **26**: 51-57.
- Kim SH, Choi EJ, Kim DH, Lee KY, Lee M, Baek SW, et al. 2008. Stability test of the extracts of *Cimicifugae rhizoma*, *Achyranthis radix*, *Artemisia capillaris* herba, mountain cotex radices and *Arecae semen* for toxicity study. *Korean J. Pharmacogn.* **39**: 241-245.
- Kim SJ, Park JB, Kwon YH, Park KK, Choung SY. 2002. The effect of *Achyranthis radix* extract on hard tissue regeneration. *The J. Appl. Pharmacol.* **10**: 253-257.
- Kim YO, Lee SW, Lee SE. 2009. Effect of *Achyranthes japonica* on carragenan-induced arthritis in rat model. *Korean J.*



- Medicinal Crop Sci.* **17**: 470-474.
21. Lim CS, Li CY, Kim YM, Lee WY, Rhee HI. 2005. The inhibitory effect of *Corus walteri* extract against  $\alpha$ -amylase. *J. Korean Soc. Appl. Biol. Chem.* **48**: 103-108.
  22. Oh TW, Park KH, Lee MY, Choi G, Park YK. 2012. Effects of the water extracts from *Achyranthes radix* on serum-deprivation-induced apoptosis in PC12 cells and transient cerebral middle artery occlusion-induced ischemic brains of rats. *Korean J. Herbology* **27**: 77-83.
  23. Park JS, Seong NS, Lee YJ. 2007. Comparative study on the anti-oxidative effects of *Achyranthes japonica* radix, *Achyranthes bidentata* radix, and *Cyathula radix*. *Korean J. Herbology* **22**: 155-167.
  24. Singleton VL, Orthofer, Lamuela-Raventos RRM. 1999. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. *Methods Enzymol.* **299**: 152-178.
  25. Sohn HY, Ryu HY, Jang YJ, Jang HS, Park YM, Kim SY. 2008. Evaluation of antimicrobial, antithrombin, and antioxidant activity of aerial part of *Saxifraga stolonifera*. *Korean J. Microbiol. Biotechnol.* **36**: 195-200.
  26. Valentina U, Fabcic J, Stampar F. 2007. Sugars, organic acids, phenolic composition and antioxidant activity of sweet cherry (*Prunus avium* L.). *Food Chem.* **107**: 185-192.
  27. Xie F, Li X, Sun K, Chu Y, Cao H, Chen N, et al. 2001. An experimental study on drugs for improving blood circulation and removing blood stasis in treating mild chronic hepatic damages. *J. Tradit. Chin. Med.* **21**: 225-231.
  28. Yang L, Jiang H, Wang QH, Yang BY, Kuang HX. 2012. A new feruloyl tyramine glycoside from the roots of *Achyranthes bidentata*. *Chin. J. Nat. Med.* **10**: 16-19.
  29. Zhao BT, Jeong SY, Moon DC, Son KH, Son JK, Woo MH. 2012. High performance liquid chromatography used for quality control of *Achyranthis radix*. *Arch. Pharm Res.* **35**: 1449-1455.
  30. Yoon HN, Yoon YK, Jang KH, Kim HW, Lee KS, Lee JS, et al. 2009. Antioxidant and anticancer activities by different parts in *Achyranthes japonica* and *Achyranthes bidentata*. *Korean J. Medicinal Crop Sci.* May, **7**: 385-386.
  31. Zhu X, Pan Y, Zheng L, Cui L, Cao Y. 2012. Polysaccharides from the Chinese medicinal herb *Achyranthes bidentata* enhance anti-malarial immunity during Plasmodium yoelii 17XL infection in mice. *Malar. J.* **11**: 49-56.