

초임계유체를 이용한 가시오가피로부터 Acanthoside-D의 추출

송명석 · 이윤우* · 김재덕* · 노경호†

인하대학교 화학공학과 초정밀생물분리기술센터

402-751 인천시 남구 용현동 53

*한국과학기술연구원 국가지정 초임계유체연구실

136-791 서울시 성북구 하월곡동 39-1

(2002년 9월 2일 접수, 2003년 1월 8일 채택)

Extraction of Acanthoside-D in *Acanthopanax Senticosus* by Supercritical Fluid

Myong-Seok Song, Yoon-Woo Lee*, Jae-Duck Kim* and Kyung Ho Row†

Center for Advanced Bioseparation Technology and Department of Chemical Engineering, Inha University,

53, Yonghyeon-dong, Nam-gu, Incheon 402-751, Korea

*National Research Lab. for Supercritical Fluid, Korea Institute of Science and Technology,

39-1, Hawolgok-dong, Seongbuk-gu, Seoul 136-791, Korea

(Received 2 September 2002; accepted 8 January 2003)

요 약

가시오가피에서 유용성분인 Acanthoside-D를 분리하기 위해서 초임계 이산화탄소와 첨가제로서 물을 사용하여 추출하고 역상 고성능 액체 크로마토그래피(RP-HPLC)를 사용하여 분석하였다. 초임계 이산화탄소의 압력과 온도, 물의 양에 따른 Acanthoside-D의 수율을 Lichrospher 100RP-18(15 μ m)의 고정상과 일정용매 조성의 분석조건에서 실험적으로 고찰하였다. 가시오가피에서 Acanthoside-D의 추출은 첨가제를 포함하지 않은 경우에서는 압력이 높을수록 더 높은 수율을 얻었다. 초임계 추출에서의 잔류물에 포함된 Acanthoside-D의 수율은 추출물의 수율 보다 높게 나타났다. 용매추출과 open tubular chromatography(OTC)에 의해서 초임계 추출물을 정제하고 RP-HPLC에 의해서 분리할 수 있었다.

Abstract – Acanthoside-D from *Acanthopanax Senticosus* was extracted using carbon dioxide at supercritical state and the additive of water, and analyzed by reversed-phase high performance liquid chromatography (RP-HPLC). The chromatographic column was packed with Lichrospher 100RP-18 (15 μ m) and the analysis was performed on the isocratic condition. The yield of Acanthoside-D in supercritical carbon dioxide with pressures, temperatures, and amounts of additive was investigated. In the experimental run without water additives, the yield of Acanthoside-D was increased with higher pressures. But the residual phase of supercritical extraction contained the larger amount of Acanthoside-D at the water additives than no additives. The sample was purified by solvent extraction and open tubular chromatography, and further isolated by RP-HPLC.

Key words: *Acanthopanax Senticosus*, Acanthoside-D, Supercritical Fluid Extraction, Additives, Residual Phase

1. 서 론

기상과 액상이 구분이 되지 않는 초임계 상이 존재한다는 것은 19세기 초에 처음으로 인식되었고, 19세기말에는 초임계 유체가 고체에 대한 용해력을 갖고 있다는 사실이 증명되었지만 여러 가지의 실험적 어려움 때문에 집중적인 연구가 진행되지 못하였다. 그 후 1950년대 후에는 압축된 기체를 분리 공정에서 보조물질로 이용하는 특허 등 여러 제안이 있었으나 실제적인 응용을 하지 못하다가 1960년대에 초임계 유체를 이용한 추출방법이 발표된 후 본격적인 연구와 응용 예가 소개되었다[1, 2].

초임계 유체는 액체 유기 용매와 마찬가지로 저 휘발성 물질을 비교적 낮은 온도에서 용해하는 능력을 갖고 있지만 액체 용매보다 우수한

전달 물성을 갖고 있어, 용질을 함유하고 있는 물질 속으로 더 잘 스며들며, 추출물을 함유한 유체가 흐를 때에는 압력강하가 작다. 초임계 유체 추출에서는 임계온도가 낮은 기체를 용매로 사용하기 때문에 열에 불안정한 물질을 손상 없이 추출할 수 있으며, 초임계 유체 추출에 사용되는 기체는 대부분 농축된 상태에서 친 지방성을 나타내므로 극성 물질이나 고분자 물질을 잘 용해하지 않아 선택성이 좋으며, 적절한 압력과 온도의 선택으로 추출단계와 분리단계를 최적화 할 수도 있고, 첨가제를 사용하여 용해도와 선택도를 증가시킬 수 있다[3]. 초임계 유체의 침투성과 운반성과 같은 특성은 기체와 같이 거동하고, 용해력은 액체 용매와 유사하여 고체 시료로부터 추출할 경우에 매우 효과적이다. 또한 온도와 압력의 변화에 의한 용해력의 변화가 커서 추출 용매와 추출물의 분리가 용이하다. 이산화탄소는 초임계 상태에서의 용매로서 우수한 특성을 가지고 있을 뿐 아니라 독성이 없고, 가격이 저렴하고 운

†To whom correspondence should be addressed.
E-mail: rowkho@inha.ac.kr

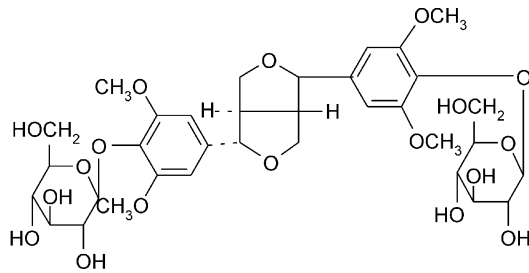


Fig. 1. Chemical structure of Acanthoside-D.

전온도가 낮아 기존 기술로는 분리가 쉽지 않았던 이성질체, 열 변성 혼합물의 분리, 고분자물질의 정제, 천연식물로부터 의약, 향료와 같은 유효성분의 분리 등 응용범위가 확대되고 있다[4, 5].

최근 산업의 발달에 따른 대기 및 수질오염으로 인해 각종 난치성 질병들이 늘어나고 생활수준의 향상과 기호의 다양화가 이루어짐으로서 건강에 대한 관심이 증대되고 있기 때문에 이러한 각종 불치병들을 치료하기 위한 연구가 광범위하게 진행되고 있다[6]. 오가피(*Acanthopanax Cortex*)는 오가피나무과(*Araliaceae*)에 속하는 오가피나무(*Acanthopanax sessiliflorum* Seeman) 및 그 속 식물의 뿌리, 줄기 및 가지의 껍질을 말한다[7]. 시베리아 인삼이라 불리는 오가피 속 식물은 자양강장, 요통, 신경통, 중풍 등의 약효뿐만 아니라 신진대사 활성작용이 있다고 알려져 있다. 오가피나무는 오가피(*Acanthopanax sessiliflorum* Seemann), 가시오가피(*Acanthopanax Senticosus*), 털오가피(*Acanthopanax Rufinerve*), 지리산오가피(*Acanthopanax Chiisanensis*), 서울오가피(*Acanthopanax Seoulense*)가 있다. 그 중에 가시오가피의 유효성분으로는 sesamin, savinin을 비롯하여 lignan 배당체인 Acanthoside-A, B, C, D와 Chiisanoside, polyacetylene, β -sitosterol, stigmasterol, campesterol, 비타민, 미네랄 등이 풍부하여 좋은 약재로 주목받고 있다. 가시오가피의 잎과 줄기에서 추출된 오갈피 배당체(Acanthoside-A, B, C, D)는 기초대사(수분대사, 지방대사, 당질대사)의 생체기능을 보전하고 광범위하게 작용하는 성질이 있다. 오가피 배당체 중 효능이 뛰어나 국내외에서 많은 연구가 진행되고 있는 물질인 Acanthoside-D의 구조식을 Fig. 1에 나타내었다. 목적물질인 오가피 배당체 Acanthoside-D의 화학적 구조식은 $C_{34}H_{46}O_{18}$, m.p.는 242°C이고, (+)-syringaresinol di-O- β -D-glucoside, Eleutheroside-E 및 Acanthoside-D로 지칭되고 있다[8-10].

Acanthoside-D의 주요효능으로 T세포 증가 작용, 콜레스테롤 수치 저하, 전립선 활성, 정력 증대와 학습능력 향상, 간 기능 개선, 위궤양 억제, 생체활력지수와 면역기능 증진, 백혈병억제 작용 및 항암 작용 등에 효능이 있는 것으로 알려져 있다[4-6]. 이러한 효능 때문에 여러 측면을 연구한 결과 식품, 의약품, 화장품 등의 첨가제로 사용하며, 건강식품, 과립차 및 음료로 이용되고 있고, 오가피의 성분 분석과 효능에 관한 연구는 계속해서 진행되어 오고 있다[11].

국외에서는 인삼과 가시오가피의 추출물에서 유효성분과 약효를 비교하여 가시오가피의 유효성분이 인삼보다 생체활력지수와 세포 활성이 크게 증대되는 것을 확인하였다[12]. 국내에서는 인삼과 가시오가피의 유효성분인 ginsenosides와 eleuthosides를 비교, 분석하여 간 기능 개선에 대한 연구를 하였다[10]. 한편 가시오가피의 원산지인 국내에서는 유효성분의 분석 및 효능에 대한 연구가 활발히 진행되면서 많은 관심을 모으고 있다[13-16].

인하대 고순도분리 연구실에서는 에탄올 용매 추출을 이용한 가시오가피로부터 Acanthoside-D를 정제한 연구에 이어서[16], 본 연구에서는 항암제로서 효용가치가 뛰어난 Acanthoside-D를 분리하기 위해서 초임계 유체 추출기술을 적용하였다. 첨가제로 물을 사용한 경우 Acanthoside-D의 최적 초임계 추출조건을 확립하는 것이 연구의 목적이다.

2. 실험

2-1. 시약

실험에 사용한 시료는 한국에서 자생되는 오가피속 식물 중 가시오가피(2001년 채취)를 한국가시오가피재배협회에서 구입하였다. 이동상은 메탄올, 아세토나이트릴(Duksan Co.)과 2차 증류한 증류수를 감압 펌프(Division of Millipore, Waters)와 필터(FH-0.5 μ m)를 이용하여 감압 여과한 후 사용하였다. Acanthoside-D의 표준시료의 제조는 가시오가피재배협회에서 구입한 시료를 에탄올 추출하여 HPLC로 분리한 후, 인하대학병원의 의과학연구소의 동결건조장치(LYPH·LOCK 12, LABCONCO Co.)를 사용하여 1,000 ppm의 표준시료를 만들었다.

2-2. 초임계 추출

시료추출에 사용되는 초임계 추출장치는 Fig. 2에 나타내었다. 초임계 추출을 하기 위해서 이산화탄소를 임계온도와 압력 이상으로 가압·가열을 해야 한다. 가압용 액체펌프(Duty MASTER@A.C. Motor, Reliance Electric Co.)를 사용하였다. 장치에서 펌프로 주입되는 이산화탄소는 고압가스를 사용하였기 때문에 이산화탄소를 액화시켜야 한다. 이산화탄소가 펌프로 주입되기 전에 액화를 위해서 냉각 순환장치(RBC-11. JEIO Tech.)를 이용하여 액상의 이산화탄소를 액체펌프로 가압하였다. 고압의 이산화탄소는 가시오가피의 초임계 추출을 위해 추출기(50×500 mm)로 들어가고 이산화탄소의 가열을 위해 가열장치(No. D-64060, 대풍)를 사용하였다. 이산화탄소는 추출기 내에서 초임계 상태가 되며 초임계 상태의 이산화탄소는 시료에서 추출된 물질을 포함하여 추출기를 나간다. 이산화탄소의 유량과 유압의 조절은 추출기에 연결되어 있는 조절 밸브(1000psi, TESOM Co.)를 이용하여 일정한 압력을 유지하였다. 초임계 이산화탄소는 분리기에서 감압이 되어 추출물을 떨어뜨리고, 이산화탄소의 기체 상태로만 배출된다. 배출되는 이산화탄소의 유량측정은 가스유량계(대한가스기기)를 이용하여 측정하였다.

2-3. Acanthoside-D의 분석

추출된 시료는 농축을 하기 위해서 회전식 증발기(LABO-THERM SW 200, Resona Technics Co.)를 사용하였고, 시료의 분석에 사용된 HPLC는 영린기기의 M930 Solvent Delivery Pump, 486검지기(M 7,200 Absorbance Detector, 영린기기), Reodyne injection valve(20 μ l sample loop)로 구성되어 있다. 데이터 저장 시스템은 Autochrowin(version 1.42, 영린기기)을 PC에 설치하여 사용하였다. 본 실험에서 분석용 HPLC에서는 크기가 15 μ m인 Lichrospher 100RP-18(Merck Co.)을 스테인레스 컬럼(3.9×300 mm)에 충전하여 사용하였다.

2-4. 실험방법

가시오가피로부터 고순도의 Acanthoside-D를 얻기 위하여 Fig. 3에서 초임계의 방법에 의하여 추출, 분별증류, 필터링, HPLC를 통한 분석을 하였다. 가시오가피 줄기 분말 120 g을 취하여 추출기에 넣고, 액체펌프, 가열장치를 사용하여 가압·가열시킨 초임계 이산화탄소를 이용하여 시료의 초임계 추출물을 얻었다. 초임계 추출시간은 6시간이었고, 사용된 이산화탄소의 유량은 1.2 m³/hr이었다. 초임계 추출의 온도는 50°C이고, 압력은 200, 250, 300 bar로 변화시켰고, 첨가제로 물을 0, 0.5, 1.0, 1.5, 3 ml/g의 비율로 추출기내의 가시오가피에 첨가하였다. 초임계 추출물을 에탄올 용액 100 ml에 녹인 후 여과하고 감압 농축시킨 이후에 물 50 ml에 녹여 불순물을 제거하기 위해 헥산 50 ml로 분배하였다. 분배 공정 후 물층을 취하여 다시 감압 농축 에탄올과 1:1의 비율로 혼합하여 0.2 μ m 나이트론 필터(Alltech Co.)를 이용하여 다시 여과하였다. 이 추출액을 HPLC를 사용하여 일정용매 조성법의 최적 분석조건인 이동상 조성 물/아세토나이트릴/메탄올=80/14/6 vol%, 유속은 1 ml/min, 주

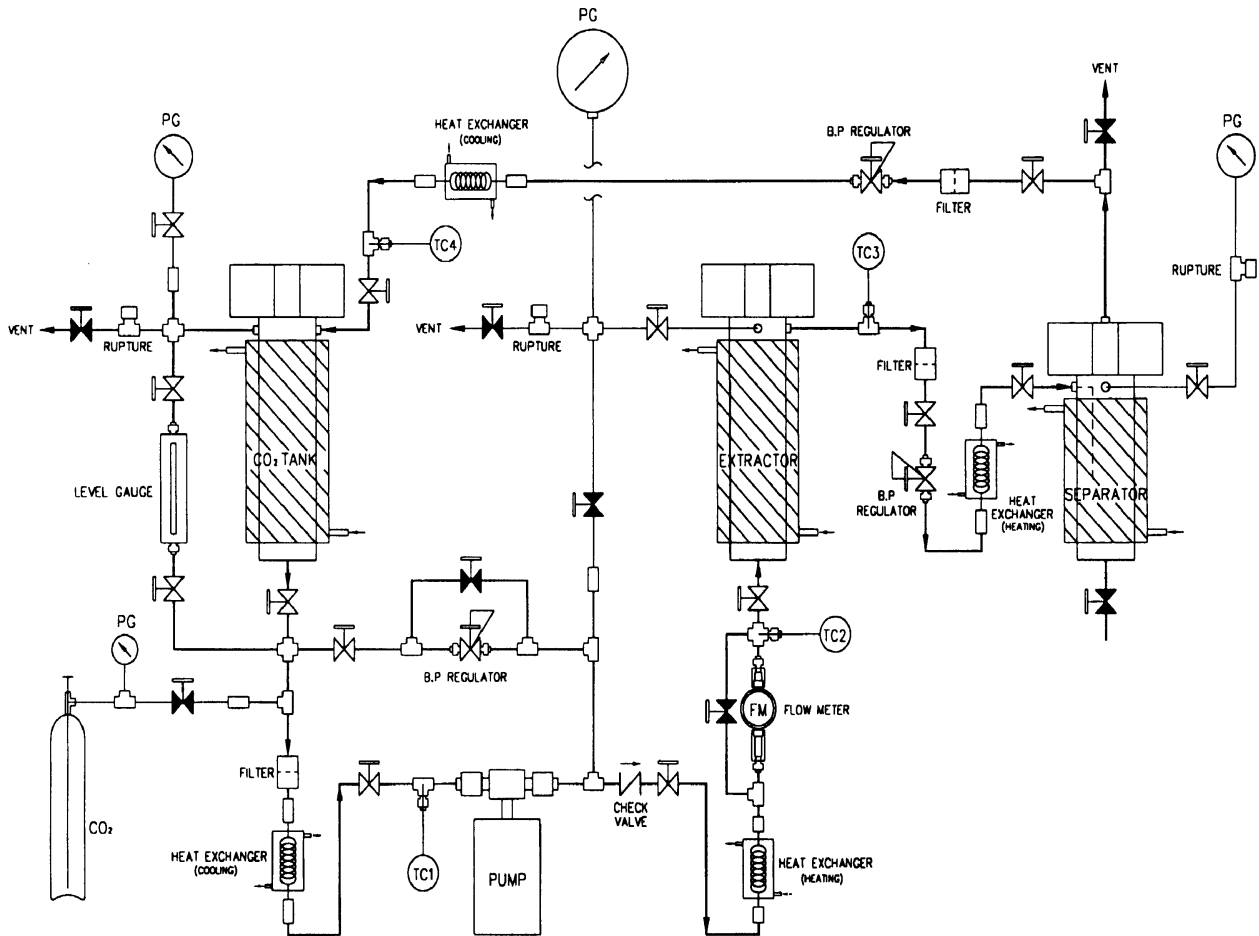


Fig. 2. Schematic diagram of SFE system used in this study.

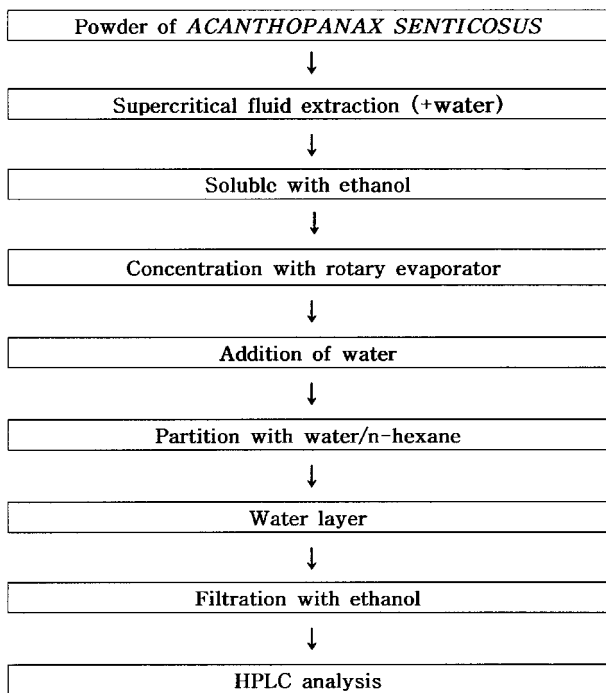


Fig. 3. Extraction and purification procedure from *Acanthopanax senticosus*.

입부피는 20 μ l이었다. UV 검지기의 파장은 210 nm이며 실온에서 분석하여 최적 초임계 추출조건을 구하였다[16, 17]. 또한, 초임계 추출에서 첨가제로 사용하는 물의 양이 1.0 ml/g 이상일 때는 물이 초임계 이산화탄소에 의해서 추출기외부로 배출되지 않고, 추출기내에 물이 잔류하였다. 추출기에 잔류하는 물을 감압 농축, 분별증류와 필터링하여 초임계 추출물의 분석방법과 같은 방법으로 분석하였다.

3. 결과 및 고찰

3-1. Acanthoside-D의 표준시료의 제조

가시오가피에서 Acanthoside-D의 순수한 표준시료를 얻기 위하여 이전에 발표된 방법을 적용하였다[16]. 에탄올을 사용하여 Acanthoside-D를 추출하였고 천연물인 가시오가피는 많은 불순물들이 포함되어 있기 때문에 용매추출을 하여 정제하도록 헥산과 물을 첨가하는 분배단계(partition step)를 사용하였다. 비극성의 성분은 주로 헥산으로 이동하고 Acanthoside-D를 포함한 극성의 성분들은 물로 이동하게 된다. 물을 감압 농축을 한 후 μ -Bondapak C₁₈ 컬럼(Waters, 3.9 \times 300 mm)을 사용하여 Acanthoside-D의 최적분석조건인 주입량 20 μ l, 유속 1.0 ml/min, 물/아세트 나이트릴/메탄올=80/14/6 vol%에서 분취하고 동결건조를 하여 표준시료를 얻었다[15]. Fig. 4에서는 위 조건에서 Acanthoside-D의 분석한 결과이다. 분취에 의하여 얻어진 Acanthoside-D의 표준시료는 농도 1,000 ppm으로 만들었다. 주입부피에 따른 피크의 면적은 Fig. 5에 나타내었고, 회귀분석에 의하여 구한 검량선은 다음과 같다.

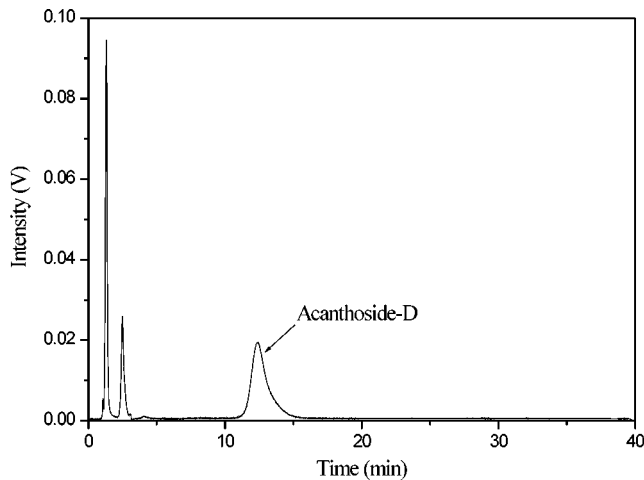


Fig. 4. Chromatogram of Acanthoside-D standard(20 μ l inj. vol., 1.0 mg/ml, water/acetonitrile/methanol=80/14/6 vol%).

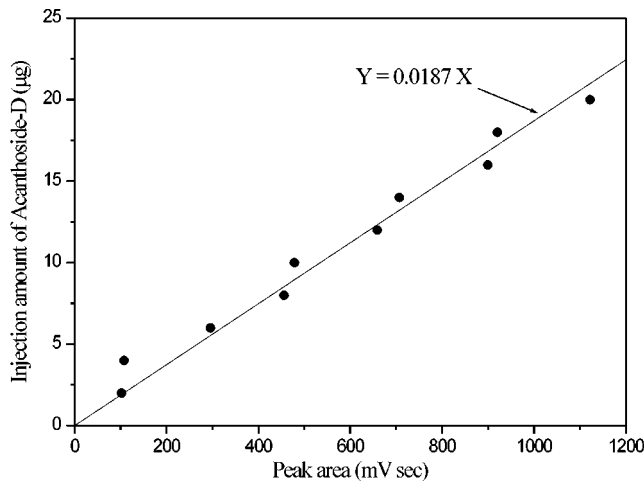


Fig. 5. Measurement of peak area with different injection volume.

$$Y = 0.0187 X \quad (1)$$

식 (1)에서 X와 Y는 각각 크로마토그램에서 피크면적과 표준용액의 주입부피에 따른 Acanthoside-D의 양을 나타낸다. 상관도(r^2)는 다음 식에 의해서 계산하였다.

$$r^2 = 1 - \frac{\sum (y_i - y_{est})^2}{\sum (y_i - \langle y_i \rangle)^2}, \quad \langle y_i \rangle = \frac{\sum y_i}{N} \quad (2)$$

식 (1)의 r^2 는 0.9741로서 실험 데이터는 비교적 실험식에 잘 일치하였다.

3-2. Acanthoside-D의 초임계 추출에 의한 분석

초임계 유체 추출을 이용하여 가시오가피로부터 Acanthoside-D를 추출하였다. 천연물에서의 추출에 적합한 초임계 이산화탄소는 대부분 비극성물질에 대해서 큰 용해력을 갖고 선택도가 좋지만 극성물질을 추출하려면 조건이 까다로운 경우가 많다. 이런 경우에는 초임계 유체의 휘발도와 추출하려는 물질의 휘발도의 중간정도의 휘발도를 갖는 첨가제를 사용한다. 첨가제로는 보통 용매로 사용하는 물, 알코올, 헥산, 아세톤 등이 많이 사용된다[18]. 첨가제를 사용하면 용해도가 커지고 그 결과로 순수 초임계 유체만을 사용할 때 보다 추출압력이 낮아지므로, 온도만 변화시켜서 추출물과 용매를 분리할 수 있다. 그러나 첨가제를 사

Table 1. Yield of Acanthoside-D

# of sample	Experimental conditions	Yield(%)
1	Water 0.0 ml/g, 50 °C, 200 bar	0.0001
2	Water 0.0 ml/g, 50 °C, 250 bar	0.0001
3	Water 0.0 ml/g, 50 °C, 300 bar	0.0002
4	Water 0.5 ml/g, 50 °C, 300 bar	0.0020
5	Water 1.0 ml/g, 50 °C, 300 bar	0.0103
6	Water 1.5 ml/g, 50 °C, 300 bar	0.0093
7	Water 3.0 ml/g, 50 °C, 300 bar	0.0034
8	Residual phase, water 3.0 ml/g, 50 °C, 300 bar	0.1687

*weight of *Acanthopanax senticosus* in the extractor: 120 g

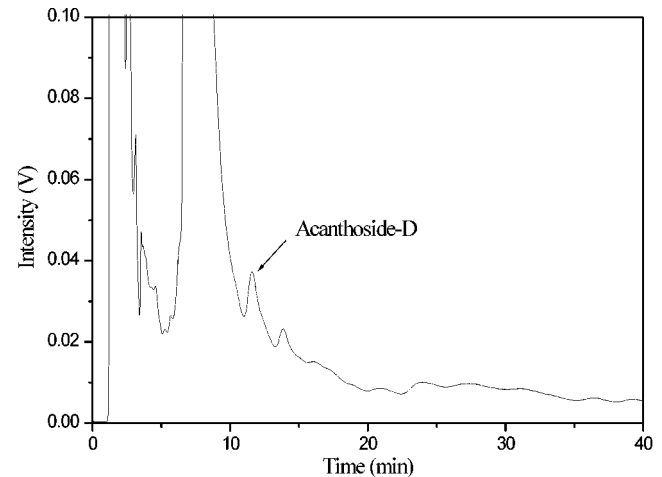


Fig. 6. Supercritical fluid extraction with *Acanthopanax senticosus*(50 °C, 300 bar, 20 μ l injection volume, 1.0 ml/min flow rate, 8.2 mg/ml, water/acetonitrile/methanol=80/14/6 vol%).

용하는 경우 상평형관계는 복잡해지고 기존의 추출 때와 같이 용매의 잔류 문제가 생긴다. 가시오가피에서 초임계 추출은 (1) 건조한 상태와 (2) 물을 포함하는 상태(0, 0.5, 1.0, 1.5, 3 ml/g)로 각기 실험을 하였다. 가시오가피 120 g을 추출기 내에 충전하여 초임계 이산화탄소를 이용하여 추출하였다. 추출물의 분석을 위해 시료를 실험방법에서 언급한대로 초임계 추출물을 에탄올로 용해하고 헥산과 물을 사용하여 분배단계를 지난후에 RP-HPLC로 분석하였다. 각각의 초임계 조건에서 추출한 초임계 추출물을 비교하여 분석하였다. 추출 수율은 각각 Table 1에서 나타내었다. 추출 수율은 다음과 같이 정의하였다.

$$\text{수율(\%)} = \frac{\text{추출된 Acanthoside-D의 양}}{\text{원료에 포함된 가시오가피의 양}} \times 100 \quad (3)$$

분석은 일정용매조성법으로 40분 이내에 한 번의 분석을 완료할 수 있었다. Fig. 6은 첨가제를 사용하지 않은 순수한 초임계 이산화탄소를 이용하여 추출한 시료를 일정용매 조성으로 분석한 결과이다. 분석결과는 Acanthoside-D의 체류시간은 13.82분이었고, 농도가 1,000 ppm인 표준시료와 비교해보면 농도는 163.3 ppm이었다. Table 1에서 첨가제로 사용되는 물의 함량이 1.0 ml/g일 때에 가시오가피로부터 Acanthoside-D의 수율이 가장 좋았다. 이 때의 분석결과는 Fig. 7에 나타내었다. 첨가제로서 물을 1.0 ml/g를 사용하여 추출한 시료에서는 Acanthoside-D의 체류시간은 13.92분이었고, 추출물의 농도는 824.5 ppm이었다. 물의 함량이 0.5, 1.0, 1.5, 3 ml/g의 4가지의 실험을 한 결과 낮은 물의 함량인 경우에는 추출기 내에 잔류물이 거의 없었지만, 물의 함량이 1.0 ml/g 이상에서는 초임계 추출 후 추출기 물이 잔류하는 것을 알 수 있었다. 이 잔류하는 물에는 다량의 가시오가피의 추출물이 존재하였다. 추출기

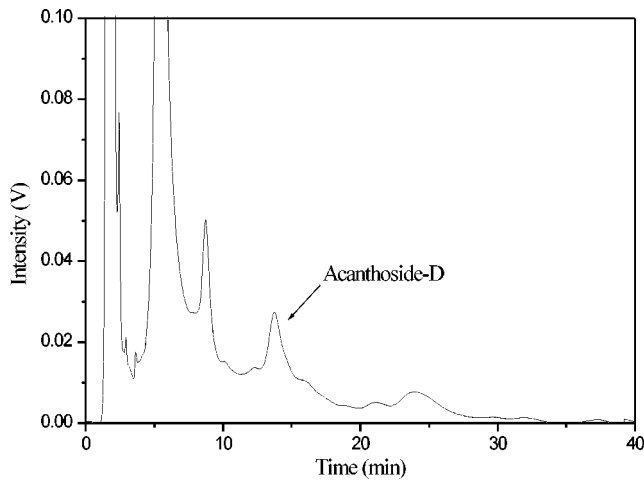


Fig. 7. Supercritical fluid extraction with *Acanthopanax senticosus* (water content 1.0 ml/g, 50 °C, 300 bar, 20 μ l injection volume, 1.0 mg/min flow rate, 7.4 mg/ml, water/acetonitrile/methanol=80/14/6 vol%).

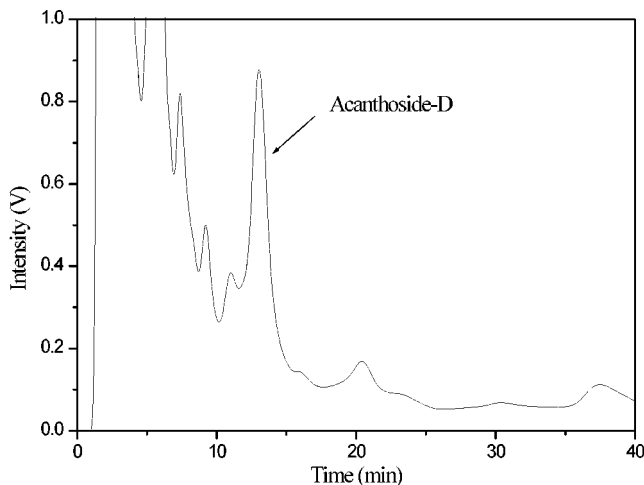


Fig. 8. Residual phase with *Acanthopanax senticosus* (water content 1.0 ml/g, 50 °C, 300 bar, 20 μ l injection volume, 1.0 ml/min flow rate, water/acetonitrile/methanol=80/14/6 vol%).

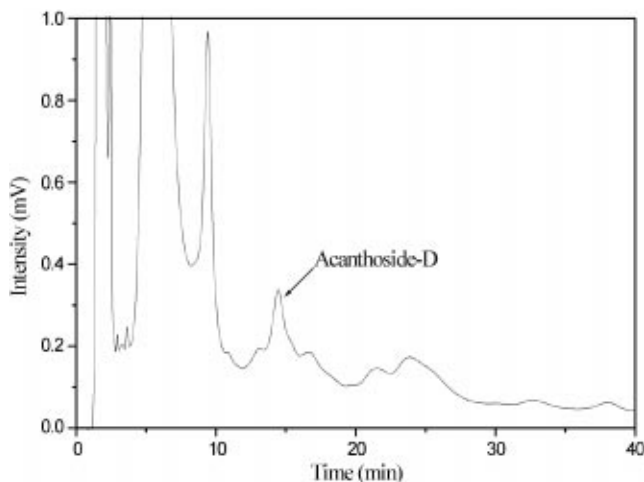


Fig. 9. Supercritical fluid extraction with *Acanthopanax senticosus* (water content 3.0 ml/g, 50 °C, 300 bar, 20 μ l injection volume, 1.0 ml/min flow rate, water/acetonitrile/methanol=80/14/6 vol%).

에 잔류하는 물을 분석하였다. 그 결과는 Fig. 8에 표시하였다. 물의 함량이 3.0 ml/g를 사용하였을 경우 채취시간은 13.32 분이고 Acanthoside-D의 농도는 67466.9 ppm이었고, 수율은 0.168668%이었다. Acanthoside-D는 초임계 추출물보다 추출기 내에 잔류하는 물에 더 많은 양이 존재하였다. 본 연구를 통해 가시오가피에서 Acanthoside-D의 초임계 추출에서는 기존의 초임계 이산화탄소를 이용한 추출에서는 수율이 낮았지만, 물을 사용하여 추출 수율을 높였고, 다시 추출기 내에 잔류하는 물에서 가장 높은 수율을 갖게 되는 것을 알게 되었다. 연구 결과에 의하면 초임계 추출물 중에 포함된 Acanthoside-D의 극성에 의하여 물에 용해되어서 초임계 이산화탄소와 함께 추출기 밖으로 나가지 않고 잔류하게 된다[19, 20]. 즉 물의 극성에 의해서 Acanthoside-D는 물에 농축이 되었다. 가시오가피의 초임계 추출물 중에서 비극성의 물질은 초임계 이산화탄소에 의해서 이동하게 되고 Acanthoside-D와 같이 극성을 가지는 물질은 물에 잔류하게 된다. 가시오가피의 초임계 추출에서 Acanthoside-D의 극성물질은 첨가제로 사용한 극성의 물에 의하여 농축되어 추출기에 잔류하게 되었다. 초임계 추출기 외부로 배출된 초임계 이산화탄소에는 다량의 비극성 물질이 함유된 것을 Fig. 9에 나타나 있다.

4. 결 론

초임계 이산화탄소에 의한 가시오가피로부터 유용성분인 Acanthoside-D의 추출은 등온조건에서 압력이 증가할수록 추출 효율이 증가하였다. 첨가제로서 극성의 물을 사용하여 순수한 초임계 이산화탄소만 사용하는 것보다 추출 수율이 향상되었고 물을 첨가제로 1.0 ml/g로 사용하였을 경우가 초임계 추출에서 가장 높은 수율을 나타내었다. 그러나 추출기에 남아있는 잔류물에 의한 Acanthoside-D의 높은 추출 수율은 많은 물의 양을 첨가하여 잔류하는 물에 Acanthoside-D를 농축하게 하는 공정을 제안하게 되었다.

감 사

본 연구는 인하대학교와 초정밀생물분리기술센터의 연구비 지원에 의해서 수행되었으며, 이에 감사드립니다.

참고문헌

- McDaniel, L. H., Ashraf-Khorassni, M. and Taylor, L. T., "Supercritical Fluid Extraction of Wood Pulp with Analysis by Capillary Gas Chromatography-Mass Spectrometry," *The Journal of Supercritical Fluid*, **19**(3), 275-286(2001).
- Yak, H. K., Mincher, B. J., Chiu, K. H. and Wai, C. M., "Supercritical Fluid Extraction/radiolysis of PCBs from Contaminated Soil," *Journal of Hazardous Materials*, **69**(2), 209-216(1999).
- Lucien, F. P. and Foster, N. R., "Solubilities of Solid Mixtures in Supercritical Carbon Dioxide," *The Journal of Supercritical Fluid*, **17**(2) 111-134(2000).
- Lee, C. H., Lee, Y. W., Kim, J. D. and Row, K. H., "Separation of Perillyl Alcohol in Korean Orange Peel by Supercritical CO₂ and Preparative High-Performance Liquid Chromatography," *Korean J. Chem. Eng.*, **18**(3), 352-356(2001).
- The Korea Pharmacopoeia, 6th ed., 1027(1992).
- Zhao, W. M., Qin, G. W., Xu, R. S., Li, X. Y., Liu, J. S., Wang, Y. and Freg M., "Constituents from the Roots of *Acanthopanax Setchuensis*," *Fitoterapia*, **70**, 529-531(1999).
- Chang, S. Y., Yook, C. S. and Nohara, T., "Lupane-Triterpene Gly-

- cosides from Leaves of *Acanthopanax Koreanum*," *Phytochemistry*, **50**, 1369-1374(1999).
8. Hahn, D. R., Kim, C. J. and Kim, J. H., "A Study on Chemical Constituents from the Roots of *Acanthopanax Setchuenensis*," *Yakhak Hoeji*, **29**(6), 357-361(1985).
 9. Lee, K. J., Kang, J. H. and Row, K. H., "Extraction and Purification of Acanthoside-D from *Acanthopanax Chilsanensis*," *Korean J. Biotechnol. Bioeng.*, **16**(1), 71-75(2001).
 10. Wagner, H., Heur, Y. H., Obermeier, A., Tillel, G. and Bladt, S., "Die DC-and HPLC-Analyse der Eleutherococcus Dorge," *Plant media*, **44**, 193-198(1982).
 11. Hahn, D. R., Kasai, R., Kim, J. H., Taniyasu, S. and Tanaka, O., "A New Glycosyl Ester of a 3. 4-Secoterpene from Korean Medical Plant *Acanthopanax Chilsanensis*(Araliaceae)," *Chem. Pharm. Bull.*, **32**(3), 1244-1247(1984).
 12. Yook, C. S., Kim, I. H., Hahn, D. R., Nohara, T. and Chang, S. Y., "A Lupane-Triterpene Glycoside from Leaves of Two *Acanthopanax*," *Phytochemistry*, **49**(3), 839-843(1998).
 13. Lee, K. J., Kim, M. H. and Row, K. H., "Extraction and Purification of Chiisanoside and Acanthoside-D in *Acanthopanax Chilsanensis*: Determination of Analytical Condition(I)," *Theories and Applications of Chem. Eng.*, **6**(2), 3281-3284(2000).
 14. Subramanian, M. and Hanson, F. V., "Supercritical Fluid Extraction of Bitumens from Utah Oil Sands," *Fuel Processing Tech.*, **55**, 35-53 (1998).
 15. Hawthorne, S. B., Grabanski, C. B., Martin, E. and Miller, D. J., "Comparisons of Soxhlet Extraction, Pressurized Liquid Extraction, Supercritical Fluid Extraction and Subcritical Water Extraction for Environmental Solids: Recovery, Selectivity and Effects on Sample Matrix," *J. of Chromatography A.*, **892**, 421-433(2000).