

## 수 종 잠상산물의 Nicotinamide 및 GABA 함량

방혜선 · 손해룡\* · 이완주

잠사곤충연구소, \*경북대학교 농과대학

## Contents of Nicotinamide and GABA in Several Sericultural Products

Hae Sun Bang, Hae Ryong Shon\* and Won Chu Lee

National Sericulture and Entomology Research Institute, RDA, Suwon 441-100, Korea

\*College of Agriculture, Kyungpook National University, Taegu 702-701, Korea

### ABSTRACT

Nicotinamide and GABA( $\gamma$ -aminobutyric acid) contents in sericultural products, *Mori Folium*, *Mori Fructus*, *Mori Cortex Radicis*, silkworm podwer, *Bombycis Excrementum* and *Bombycis Corpus* were analyzed by HPLC. Nicotinamide content was higher in silkworm derived-products than in mulberry derived-products. Nicotinamide contained *Bombycis Excrementum* was the highest by 0.31 mg/g DW among the sericultural products. GABA content showed the highest by 1.68 mg/g DW in *Mori Cortex Radicis* among the sericultural products.

Key words : Nicotinamide, GABA, Mulberry, Silkworm

### 서 론

잠상산물의 생약제로의 이용은 後漢時代인 BC 250년경 張仲景이 편찬한 神農本草經의 中品에 상백피나 뽕잎을 사용하였음이 기록되었고, 우리 나라에서는 한방에서 약제로 사용되어 온 것이 本草綱目(1596), 東醫寶鑑(1613)등에 기록되었으며, 현재는 뽕잎, 상백피, 잠분 등 잠상산물의 생리적 활성을 입증하는 연구가 여러 분야에서 진행되고 있다.

잠상산물 중 뽕잎에 존재하는 여러 성분은 고혈압, 당뇨 및 콜레스테롤 저하, 발암 억제, 체지방 축적 억제 등 성인병에 효능이 있고(神奈川縣 科學技術政策推進委員會, 1992, 1994, 1995), 상백피는 이노작용·혈압강하(고와 이, 1982), 항균작용(박 등, 1990), 항종양, 혈압강하작용(고와 신, 1977)이 있음이 보고되었고, 백강잠은(백강잠균 *Beauveria bassina* Bals에 자연 감염된 *Bombyx mori* L.의 死體) 해열, 去痰작용과 안면 신경마비 치료에 사용되는 필수적인 한약 재료로써의 효과가 인정되고 있다(지와 이, 1988; 강 등 1993).

Nicotinamide (Vitamin B<sub>3</sub>)는 수용성 vitamin의 한

종류로서 체내에서는 NAD, NADP의 구성 성분으로 존재하며(Goldsmith, 1985; Nishizuka & Hayashi, 1963), Streptozotocin에 의한 당우발 전 고혈당을 억제한다는 보고(Charles & Anthony, 1988; Wright *et al.*, 1988; Susan *et. al.* 1988)가 있다. 최(1991)는 nicotinamide첨가에 의해 총콜레스테롤, triglyceride, VLDL, LDL-cholesterol량은 감소되나, HDL-cholesterol량은 증가되고, 혈중 lipase 및 trypsin의 활성은 회복된다고 보고하였다.

GABA는 비단백성 아미노산 일종으로 L-glutamic acid의  $\alpha$ -탄소에 결합되어 있는 -COOH가 glutamic acid decarboxylase의 촉매작용에 의해 탈탄산되어 생합성된다(町井, 1990). GABA는 식물체에 널리 분포되어 있고, 식물체의 대부분의 조직에서 발견되었다(Tompson, 1952; Fowden, 1981; Hunt, 1981). 또, GABA의 인체중에서의 역할은 중추신경계의 억제성 신경전달물질로 작용하고, 혈압 상승억제(Omori *et al.*, 1987), 식욕과 포만감에 영향하여 체중 감소등의 보고(Jean, 1981)가 있으며, 사람 이외의 고등동물, 무척추동물 및 곤충 등에서도 신경전달 물질로 작용

하는 것으로 알려졌다(Navayan & Nair, 1990).

최근 잠상물질들은 고지혈증 억제작용과 혈당강화에 대한 활성이 실험(神奈川県科學技術政策推進委員會, 1992, 1994, 1995)을 통해 증명되고 있다. 잠상산물이 당뇨병 환자나 성인병 질환의 치료목적으로 사용되는 시점에서, Nicotinamide와 GABA 등의 약리적 효과를 나타내는 물질들이 잠상산물에는 어느 정도로 함유되어 있는지를 파악함으로써 이용도가 낮은 잠상산물들의 활용을 높이기 위해 이 연구를 수행하였다.

## 재료 및 방법

### 1. 재료

뽕잎은 9월 2일 잠사곤충연구소 품종 보존 포장에서 생육중의 6년생 뽕나무 YK-209(*Morus alba* L.)의 상위엽을 채취하여 음건하였으며 (A: Mori Folium), 오디는 6월 5일 국상 20호의 것을 채취한 후 음건하여 냉동보존하였다(B: Mori Fructus). 잠분(C: Bombycis Excrementum)과 누에(D: silkworm powder)는 백옥잠 품종으로 누에는 5령 3일째의 것을 냉동 건조후 마쇄하여 냉동보존하였다. 백강잠(E: Bombycis Corpus)은 채취 후 냉동건조하여 마쇄한 후 냉동 보존하였으며, 상백피(F: Mori Cortex Radicis)는 열풍순환건조기에 건조한 것을 잘게 절단하여 사용하였다.

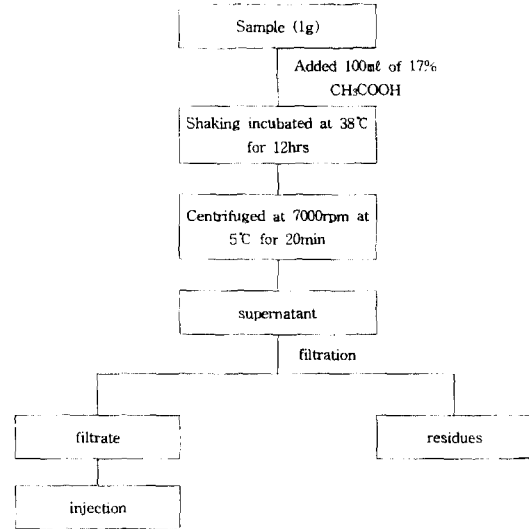
### 2. 분석기기 및 시약

HPLC는 TSP(CA, USA)의 분석용 liquid chromatography로 column은 Symmetry™ C<sub>18</sub>(3.9×150 mm)와 Lithium Cation exchange(3×150 mm), UV/VIS detector, Spectrasystem gradient pump, SP 4600 integrator, Rheodyne injection valve(20 μl)를 사용하였다. 분석에 사용한 모든 시약은 HPLC-용을 사용하였으며, 분석전 용매를 membrane filter(0.45 μm)로 여과하였다. 표준물질로서는 Nicotinamide (Sigma, USA) 특급시약 50 mg을 2차 증류수 50 ml에 용해한 것을 저장액으로 하여 사용하였고, 시료의 Nicotinamide 정량은 표준 Nicotinamide액의 면적과 시료의 면적비로 계산하였다. 또, GABA 분석을 위한 표준시약은 Pickering Lab(CA, U.S.A)으로부터 구입하여 사용하였으며, GABA 정량은 Nicotinamide 정량법과 동일하다.

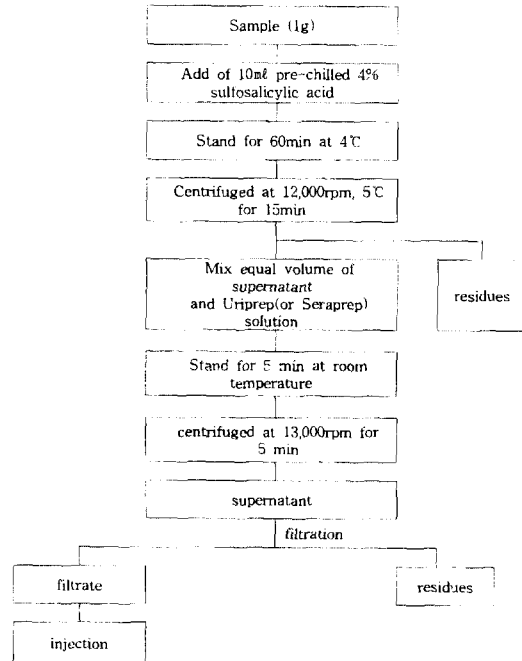
### 3. Nicotinamide 및 GABA의 추출

시료 1g을 취하여 분쇄기에 넣고 마쇄시킨 후 17% CH<sub>3</sub>COOH 100 ml를 가하여 38°C 항온기에서

12시간 동안 진탕시킨 다음 균질화하여 5°C에서 20분간 원심분리(7,000 rpm)한 후 상등액을 취하여 Syringe filter(0.45 μm)로 여과시켜 Nicotinamide 분석용 시료로 사용하였다.



Scheme 1. The extraction of nicotinamide in sericultural products



Scheme 2. The extraction of GABA in sericultural products

**Table 1.** The operating conditions for nicotinamide and GABA analysis by HPLC

	Rutin	GABA
Column	Symmetry C <sub>18</sub> (3.9×150 mm)	Cation exchange (3×150 mm)
Detector	UV/VIS, 254 nm	UV/VIS, 570 nm
Mobile phase	AcCN: 0.1M KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> (pH=2.1)+1.2 mM PIC B <sub>8</sub> =1:9	Lithium citrate buffer, gradient elution
Flow rate	1.0 ml	0.3 ml/min
Chart speed	2 cm/min	0.25 cm/min
Run time	40 min	140 min
Reagent		Ninhydrin post-column derivatization

GABA 분석용 시료용액은 시료 1g을 마쇄시킨후 제단백을 위해 10 ml의 4% sulfosalicylic acid-용액을 가하여 균질화 시켜 4°C에서 60분동안 방치한 다음 12,000 rpm으로 원심분리하여 단백질을 침전시켰다. 원심분리하여 얻은 상등액과 동량의 Uriprep(동물성 시료는 Seraprep을 사용)을 혼합하여 실온에서 5분간 방치시킨 후 다시 원심분리(13,000 rpm, 4°C)하였다. 원심분리하여 얻은 상등액을 Syringe filter(0.45 µm)로 여과하여 GABA 분석용 시료용액으로 사용하였다

**4. 분석조건**

Nicotinamide와 GABA 분석을 위한 분석조건은 표 1과 같다.

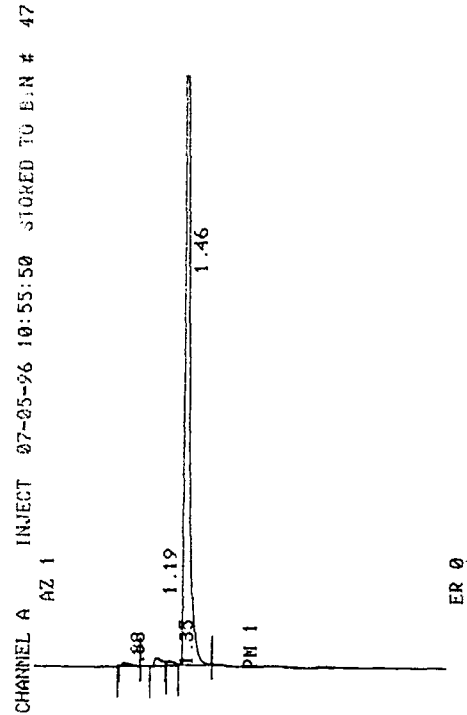
**결과 및 고찰**

잠상산물 중의 Nicotinamide 함량을 측정해 본 결과, 건물 g당 뽕잎 0.080 mg, 오디 0.006 mg, 잠분 0.310 mg, 누에 0.184 mg, 백강잠 0.180 mg, 상백피 0.036 mg이었다.

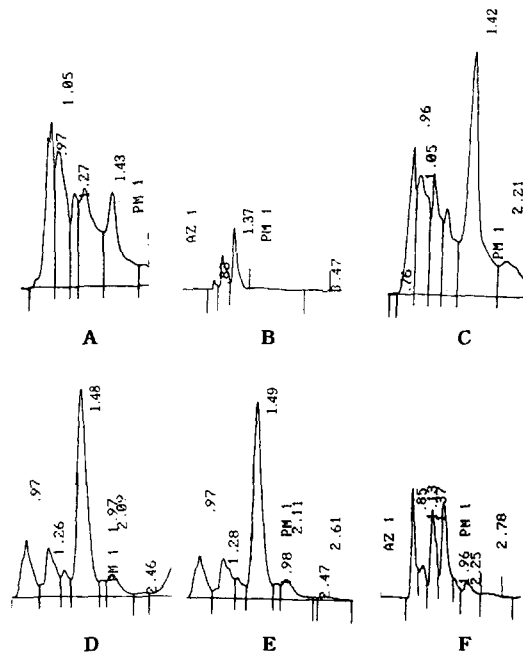
즉, Nicotinamide 함량은 잠분 > 누에 > 백강잠 > 뽕잎 > 상백피 > 오디 순이었으며, 뽕잎보다 누에 관련 산물인 잠분이나, 누에가루 및 백강잠에 많이 들어 있었다.

이러한 결과로부터 잠분이 함유한 Nicotinamide의 양은 뽕잎을 기준으로 비교하면 3.8배, 누에가루 2.2배, 백강잠 2.2배 수준이었다.

국상20호의 오디에 들어 있는 Nicotinamide의 양은 0.004 mg/g DW로 高의 분석결과(1996)와 비교하면 1.4배 정도 많은 양이나 절대량이 적으므로 큰 차로 인정하기는 어렵다.



**Fig. 1.** Chromatogram of nicotinamide standards.



**Fig. 2.** Chromatogram of nicotinamide in sericultural products.

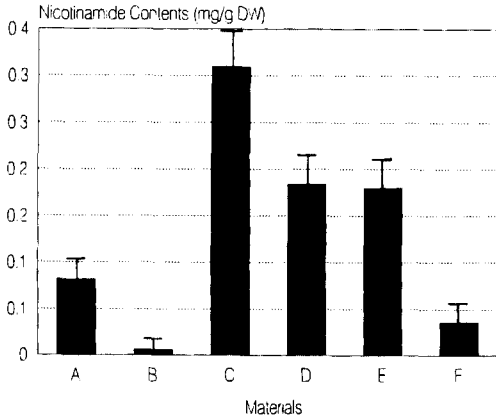


Fig. 3. Nicotinamide contents in sericultural products. A: Mori Folium, B: Mori Fructus, C: Bombycis Excrementum D: Silkworm powder, E: Bombycis Corpus, F: Mori Cortex Radicis \*All values are mean  $\pm$ SD (n=3)

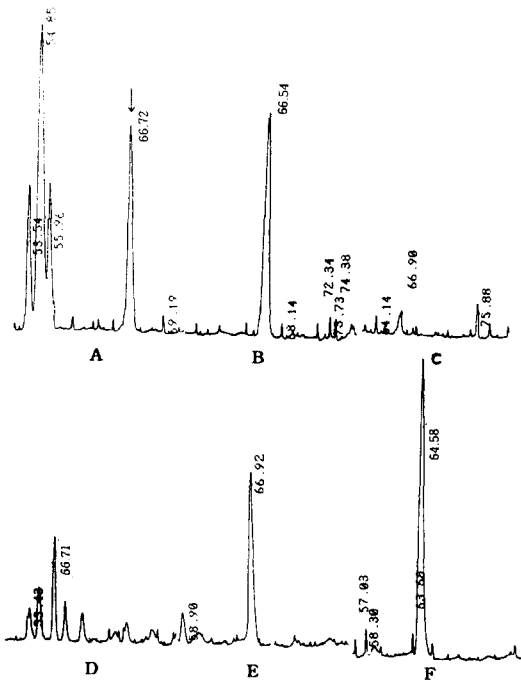


Fig. 4. Chromatogram of GABA in sericultural products.

누에 관련 산물인 잠분, 누에가루, 백강잠에서 Nicotinamide의 양이 높은 것은 Nicotinamide가 생체내에서 해당작용이나 지방체 합성에 보조효소로 작용하기 때문에 체성분중 지방성분이 많은 누에체내에서 지방체합성에 관여하는 효소인 Nicotinamide가 대사과정을 거치면서 많이 합성된 것에 기인한다고 생

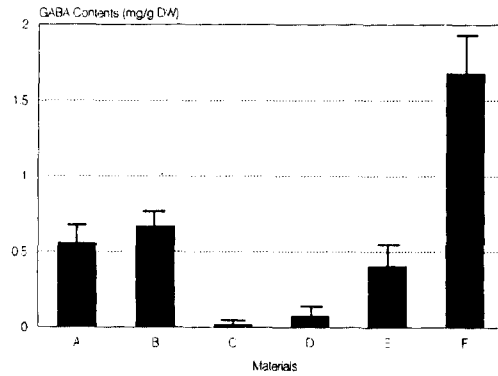


Fig. 5. GABA contents in Sericultural products. A: Mori Folium, B: Mori Fructus, C: Bombycis Excrementum D: Silkworm powder, E: Bombycis Corpus, F: Mori Cortex Radicis \*All values are mean  $\pm$ SD (n=3)

각되어진다.

GABA함량은 건물 g당 뽕잎 0.56 mg, 오디 0.67 mg, 잠분 0.02 mg, 누에가루 0.08 mg, 백강잠 0.41 mg 및 상백피 1.68 mg이었다.

즉, 잠상산물 중의 GABA함량은 상백피 >오디 >뽕잎 >백강잠 >누에 >잠분 순이었으며, Nicotinamide량과는 달리 잠상산물중에서 상백피에 가장 많이 함유되어 있었다.

또, 그림 5에서 보는 바와 같이 상백피의 GABA량은 뽕잎 GABA 양의 약 3배를 능가하는 것이었고, 차잎의 GABA량이 뽕잎의 1/10정도이었다는 보고(町井, 1990)와 비교해 보면 상백피의 GABA 양은 차잎의 30배에 해당하는 양이 들어 있는 것으로 볼 수 있다.

상백피와 뽕잎이 실험적으로 당뇨병을 유발시킨 생쥐의 혈당을 저하시킨다는 보고(Fujun *et. al.* 1995)를 감안하면, 시판되고 있는 뽕잎차에 상백피를 첨가시킨다면 기능성 식품으로써의 가치는 훨씬 높아지리라 생각된다.

누에 및 뽕나무와 관련된 산물들에는 생리활성을 가지는 것으로 알려져 있는 Nicotinamide, GABA 등이 다량 함유되어 있고, 각 산물마다 그 함량은 상당한 차이가 있는 것으로 나타났다.

잠분에는 Nicotinamide 함량이 많이 들어 있으므로 고지혈 억제제로, 상백피에는 GABA 함량이 현저하게 많이 들어 있으므로 혈압 강하제로서의 개발 가능성이 있다고 생각된다.

본 연구는 잠상산물의 다양한 방면의 이용에 앞서 잠상산물이 가지는 그 물질의 함량 수준을 비교·분석하였으므로 기초 자료나 응용에 유용하게 사용되어 질 수 있을 것이라 생각된다.

## 적 요

HPLC를 이용하여 뽕잎, 오디, 잠분, 누에가루, 백강잠 및 상백피에서 Nicotinamide, GABA( $\gamma$ -aminobutyric acid) 함량을 분석한 결과 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. Nicotinamide는 잠분에서 0.31 mg/g DW으로 가장 높은 함량을 보였고, 그 다음은 누에, 백강잠, 뽕잎, 상백피, 오디 순으로 함량이 적었으며, 누에관련 산물에서 비교적 많은 양을 함유하고 있었다.

2. GABA는 상백피에서 1.68 mg/g DW으로 가장 높은 함량을 보였고, 그 다음은 오디, 뽕잎, 백강잠, 누에 순으로 함량이 적었으며, 가장 낮은 함량을 보인 것은 잠분으로 0.02 mg/g DW 이었다.

## 인용문헌

Charles, A. and Anthony, S. G. (1988) Effect of streptozotocin on the glutathion S-transferase of mouse liver cytosol. *Biochem. Pharmacol.* **4**(6): 811

Choi Jong-Won (1991) The effects of nicotinamide on the serum lipid composition in streptozotocin-induced diabetic rats. *J. Korean Soc. Food Nutr.* **20**(4): 306~311

Fowden, L (1981) Nonprotein amino acids. The Biochemistry of plant. Vol. 7. Secondary Plant Products. Academic Press, N.Y. pp. 215~247

Fujun Chen, Noboru Nakashima, Ikuko Kimura and Masayasu Kimura (1995) Hypoglycemic activity and mechanisms of extracts from mulberry leaves and cortex mori radix in streptozotocin-induced diabetic mice. *Yakugaku zasshi.* **115**(6): 476~482

지형준 · 이상인 (1988) 대한약전 외 한약(생약)규격집 주해서. 한국메디칼 인텍스사. 서울

Goldsmith, G. A. (1985) Niacin-tryptophan relationship in man and niacin requirement, *Am. J. Clin. Nutr.* **6**: 479

Hunt, S. (1981) Nonprotein amino acids. The Biochemistry of plant. Vol. 5. Secondary Plant Products. Academic Press, N.Y. PP. 215-247

Jean K. Tews (1981) Dietary GABA decreases body weight of genetically obese mice. *Life Science.* **29**: 2535~2542

神奈川縣 科學技術政策推進委員會 (1992) 第1號 機能性食品にする共同研究事業報告書

神奈川縣 科學技術政策推進委員會 (1994) 平成5年度 神奈川縣試驗研究機關共同研究産學公地域總合研究共同研究發表會. 機能性食品にする共同研究篇

神奈川縣 科學技術政策推進委員會 (1995) 平成6年度 神奈川縣試驗研究機關共同研究産學公地域總合研究共同研究發表會. 機能性食品にする共同研究篇

강경진 · 진병득 · 채옥희 · 이무삼 (1993) 상백피가 흰쥐 복강 비만 세포의 히스타민 유리와 Calcium Uptake에 미치는 영향. *대한면역학회지.* **15**: 91~99

고광출 (1996) 96오디 생산 · 이용기술 교육. 농업특정과제1차년도 보고서.

고석태 · 이은화 (1982) 상백피가 개의 신장기능에 미치는 영향. *약학회지.* **26**(4): 197~208

고석태 · 신흥수 (1977) 상백피 수생액기스의 혈압강하 작용에 관한 연구. *약학회지.* **21**: 17~26

Navayan, V.S and P.M. Nair (1990) Metabolism, enzymology and possible roles of 4-aminobutyrate in higher plants. *Phytochemistry* **29**(2): 367~375

Nishizuka, Y. and Hayashi, O. (1963) Studies on the biosynthesis of nicotinamide adenine dinucleotide. *J. Biol. Chem.* **238**: 3369

Omori, M, T. Yano, J. Okamoto, T. Tsushida, T. Murai and M. Higuchi (1987) Effect of anaerobically treated tea(Gabaron tea) on blood pressure of spontaneously hypertensive rats. *Nippon Nigeikagaku Kaishi.* **61**(11): 1449~1451

박원재 · 이형재 · 양승각 (1990) 상백피의 Sanggenone C에 의한 Streptococcus mutants의 생육 및 균부착 저해효과. *약학회지.* **34**: 434~438

Susan, P. L., Carolyn, R. H., Pam, M. F., Nancy, J. P. and Glenn, L. W. (1988) Mechanism of nicotinamide and thymidine protection from alloxan and streptozotocin toxicity. *Diabetes.* **37**: 1015

Tompson, J. F., J. K. Pollard and J. C. Steward (1952) Investigation of nitrogen compounds and nitrogen metabolism in plants. III.  $\gamma$ -aminobutyric acid in plants, with special reference to the potato tuber and a new procedure for isolating amino acids other than  $\alpha$ -amino acids. *Plant Physiol.* **27**: 401~414

Wright, J. R., Mendola, J. and Lacy, P. E. (1988) Effect of niacin/nicotinamide deficiency on the diabetogenic effect of streptozotocin. *Experimentia.* **44**: 38