

한약재를 가미한 녹용추출물의 생리활성에 관한 연구

안봉전*, 이진태*, 김상찬**, 이임식***, 정종현***

Abstract

Studies on Biological Activity from Antler extract added Medical plants

Bong-Jeun An*, Jin-Tae Lee*, Sang-Chan Kim**, Im-Sik Lee***, Jong-Hun Chung***
Faculty of Life Resources & Engineering, Kyungsan University, Kyungsan, 712-240, Korea*
College of Oriental Medicine, Kyungsan University, Daegu, 706-060, Korea**
Maeil Co. Ltd., Shinsangri 847, Jinryang, Kyungsan 712-837, Korea***

This study was designed to investigate biological activity of antler extract added medical plants. The scavenging activity of DPPH radical was low scavenging activity at 0.01% concentration. But in the 0.05% and higher concentration, electron donating ability(EDA) is above 50% except Kongindangagam(48.5%) and significantly good above 70% in the 4 extracts.

Superoxide dismutase(SOD)-like activity was 44.3% and 45.1% extracts of Ohjajenjongwhangami and M(market sample).

Inhibition of xanthine oxidase were above 50% at 0.5% concentration except Boshingiwhangwhangami and from 62.4% to 84.9% in the 4 extracts. Inhibition rate of boshingiwhangwhangami was hasty increased from 33.5% to 77.5% at 1.0% concentration and others the higher concentration, the more increasing inhibition.

* 경산대학교 생명자원공학부

** 경산대학교 한의과대학

*** 매일유업(주)

Angiotension I-converting enzyme(ACE) inhibitory activities were high activity all of extracts. In the 0.5% concentration, ACE inhibition was above 80%. Especially 0.01% concentration of M was presented 81.8%.

The study which conducted to investigate the effect of feeding antler extract group for 50 days on sperm concentration, Ca contents of serum, kidney and femur in rats was higher than that saline group.

I. 서 론

녹용(Antler, *Cervi parvum cornu*)은 사슴과(Cervidae)에 속하는 사슴의 갓 자란 골질화되지 않은 어린 뿔을 채취 가공하여 말린 것으로, 우리나라를 비롯한 동북아 지역에서 널리 이용되고 있다. 녹용은 보익제의 하나로 사용되어온 한약재로서, 최근 녹용에 대한 실험적 연구에서 이들의 효능이 증명되고 있어 그 소비가 늘어가고 있는 추세이며, 1990부터 1997년까지 전세계 녹용 생산량의 80%가 국내로 수입되어 소비되고 있는 반면 국내 생산량은 국내 소비량의 20%정도이다¹⁾. 사슴뿔은 선단부터 종(縱)으로 tip, 상대(upper section), 중대(mid section), 하대(base)의 네 부분으로 나누었을 때 tip 및 상대는 녹용, 중대는 녹용각. 하대는 녹각의 범주에 속한다. 녹용은 횡(橫)적으로 벨벳층(velvet layer)과 스폰지층(spongy bone layer)으로 구성되어 있다. 벨벳층은 표피(epidermis)로 구성된 겹질을 지칭하고 스폰지층은 조골(造骨)세포(osteoblast)가 성장한 차연골(軟骨)조직(chondroclasia)을 의미하며, 이는 다시 골질화(骨質化)한 연골, 뼈조직, 및 박판 뼈조직

(lamellar bone)으로 구성된다²⁾. 녹용의 유효 성분과 생리적 효과에 대하여 명확하게 밝혀 지지는 않았지만, 사슴의 품종, 사슴의 발육 상태, 사육하는 지역, 채취 시기, 가공 방법, 부위 등에 따라 성분 및 효과에 차이가 있을 것으로 예상된다³⁾. 녹용의 맛은 달면서 짜고 성질은 온성(溫性)으로, 장양보신(壯陽補腎)한다. 녹용의 효능은 강장작용, 성장발육촉진작용, 조혈작용, 신경쇠약치료작용, 심부진증치료작용, 오장육부의 기능항진작용, 신체활력증강 및 심근운동개선 등의 효과와 피로회복, 신체저항력증진, 건뇌안신효과등이 동의보감(東醫寶鑑)⁴⁾ 및 중약대사전(中藥大辭典)⁵⁾에 기록되어 있다.

녹용의 성분에 관한 연구로 김 등⁶⁾은 대만산 꽃사슴(*Cervus nippon taiouanus*)의 녹용 벨벳층(velvet antler), 녹용 해면상 골조직(sponge bone), 녹각(old antler)의 hexose, pentose, hexosamine, uronic acid, sialic acid, estersulfate, hydroxyproline, 총 질소 함량, 무기물질의 정성 및 정량실험과 벨벳층과 녹용 해면상 골조직 및 녹용의 수성에타놀 제제인 Pantocrin의 지방산 조성에 대하여 보고 하였으며⁷⁾, 동물조직에 널리 분포되어있는 특수지방산의 일종인 prostaglandin류의 확인

대하여 보고한 바가 있다⁸⁾. 녹용에서 밝혀진 함유 성분으로는 각종 필수 아미노산⁹⁻¹⁰⁾과, 무기성분으로는 Ca, P, Mg 등의 미량원소가 보고되고 있으며¹¹⁻¹²⁾, SiO₂ 0.38%, Fe₂O₃ 0.35%, CaO 87.24%, MgO 1.58%, Cl₂ 0.82%, P₂O₅ 2.14%, S 0.88%정도 함유되어 있으며, 칼슘이 들어있는 양은 등급이 높아짐에 따라 많아지고 P, Mg의 양은 이와 반대로 차츰 적어진다고 한다¹³⁾.

녹용의 산지와 종류 및 부위에 따른 형태적 관찰, 회분량, 미량원소함량과 녹용의 특유성분인 ganglioside류의 분석 및 TLC pattern분석과 부위별 ganglioside 함량과 유리 아미노산 함량에 대한 연구보고가 있으며¹⁴⁻¹⁵⁾ 한 등¹⁶⁻¹⁷⁾은 녹용에탄올 추출물로부터 당지질을 분석하여 그 구조를 연구하였으며 당지질중 ganglioside를 용매 추출법에 의하여 분리한 후, HPTLC와 column chromatography를 이용하여 기존에 알려진 GM3외에 GM4와 소량의 GM1, GM2의 존재를 확인하였다. 사슴의 혈액 성분을 분석한 결과는 keratan sulfate¹⁸⁾ growth hormone, thyroxine, triiodotyroxine¹⁹⁾, 25-hydroxy vitamine D와 alkaline phosphate²⁰⁾, insulin-like growth factor 1²¹⁾, prolactin, LH, FSH, testosterone²²⁾이 존재한다는 것이 밝혀졌으며, 최 등²³⁾은 사육 엘크의 녹용혈과 체(體)녹혈에서 총 단백질과 알부민, alanine aminotransferase, aspartate aminotransferase, 혈액 뇨소 질소, 칼슘, 마그네슘, 인등의 혈정 화학치는 서로 비슷한 수준을 보인다고 하였다.

녹용의 효능에 대한 연구로써 Wang 등²⁴⁾

은 녹용추출물을 동물에 투여시 간 및 신장에서 단백질합성의 증가와 생화학적으로 녹용 추출물이 노화방지효과와 녹용의 가수분해물이 가토의 고콜레스테롤 혈증을 현저히 개선시키고, 기(既)고콜레스테롤 혈증도 개선하는 경향이 있으며 각 장기의 콜레스테롤 함량도 낮았다는 보고를 하였으며²⁵⁾, 그 외 녹용의 물 추출액은 흰쥐 등의 성장을 촉진시키고²⁶⁻²⁸⁾, 간세포 간기능을 촉진하고²⁹⁻³³⁾, 조혈작용이 있다는 연구가 있으며³⁴⁻³⁵⁾, 신 등³⁶⁾은 녹용의 독성실험으로 마우스와 랫드에 녹용분말을 투여시 급성 및 아급성 독성이 극히 미약하며, 강력한 진통작용과 immobilization stress에 대한 항피로효과와 미약한 면역활성증가 작용 및 진정작용을 관찰하였다. 녹용의 효율을 높이고 새로운 약리효과를 기대하기 위하여 김 등³⁷⁾은 녹용 분해 미생물을 분리하여 녹용과 발효녹용을 생쥐에 투여하여 장내유산균과 장내 미생물기인성 효소활성에 미치는 효과와 면역증강 효과를 관찰하여 발효녹용의 약효평가를 시도하였다. 김 등³⁸⁾은 노화 촉진 생쥐에서 녹용이 조혈작용 기전을 규명하기 위하여 적혈구와 혈장내 erythropoietin 및 총 철이온 양과의 상관관계를 조사하였으며, 심 등³⁹⁾과 김⁴⁰⁾은 녹용이 난소적출로 유발된 흰쥐의 골다공증 치료효과와 골밀도 및 혈청중 여성 hormone 함량변화에 미치는 영향을 조사하였으며, S.D.흰쥐와 SHR흰쥐에서 정상쥐와 자발성고혈압흰쥐에 뉴질랜드산 녹용이 혈압에 미치는 영향을 관찰하였다⁴¹⁾. Huang 등⁴²⁾은 녹용이 심혈관계의 심방수축, 백서의 운동억제성

골다공증 개선효과⁴³⁾ 및 급성 염증을 유발시킨 흰쥐 혈액 중에서 급성기 반응 단백질의 농도변화에 대해 연구보고하였다⁴⁴⁾.

이상과 같이 폭넓게 녹용의 약효성분 및 효능에 대하여 어느 정도 과학적이고 실험적인 연구성과는 있으나 아직까지 미흡한 실정이다. 또한 녹용에 대한 연구로, 수용성 및 유기용매를 이용한 녹용 단일추출물의 연구가 중심적일 뿐이며, 추출물을 이용한 효소학적 생리기능 실험 및 녹용에 한약재를 가하여 추출한 추출물에 대한 연구는 부족한 편이다. 따라서 본 연구는 옛 문헌의 처방전에 기초하여 녹용에 기타 한약재를 가하여 추출한 추출물을 이용하여 효소학적인 생리기능 실험을 통하여 그 효능을 검토하였다.

II. 실험재료 및 방법

1. 실험재료

1) 한약재료

본 실험에 사용한 녹용과 녹육은 매일유업(주) 김천사슴목장에서 직접 구입하였으며, 기타 한약재는 1999년 9월 대구 약령시장에서 구입하여 사용하였다.

2) 시 료

<百一>卷18의 처방으로 장년(壯年)의 품부(稟賦)허약을 치료하는 공진단(拱辰丹), <攝

生衆妙方>卷11의 처방으로 남성의 정수(精髓)를 보(補)하며 신기(腎氣)를 소리(疏利)하여 남성불임을 치료하는 오자연종환(五子衍宗丸), <活幼心書>卷6의 처방으로 소아의 품부(稟賦)부족, 신기(腎氣)허약, 골수고갈(骨髓枯竭)로 인한 신문불합(顛門不闔), 어둔(語鈍), 보행(步行)곤란, 치아가 더디게 나는 증상 등을 치료하는 보신지황환(補身地黃丸)에 각각 녹육과 녹용등의 약재를 가하여 Konggindangagam, Ohjayenjongwhangami, Boshinjiwhangwhangami로 하였으며, 시판중인 M회사의 일반적인 녹용 중탕 제품도 같이 시료로 사용하였다. 각 추출물의 배합비는 Table 1, 2, 3과 같다.

2. 검액제조방법

각각의 처방전에 따른 배합비율에 따라 한약재를 100g에 정제수 1000ml 가하여 100℃에서 3시간 동안 추출한 후 여과하여 여액과 한약재를 분리하였다. 여과한 여액은 원심분리(10000g, 30 min)하여 상층액과 침전물을 분리하였으며 상등액은 100ml까지 감압농축하여 추출 원액시료로 사용하였고 일부는 동결건조하여 시료로 사용하였다.(Fig. 1)

Table 1. Prescription of Konggindangam

약재명	생약명	중량(g)
녹용	<i>Cervi parvum cornu</i>	8
사슴고기	<i>Deer meat</i>	8
당귀	<i>Angelicae gigantis Radix</i>	8
산수유	<i>Corni Fructus</i>	8
인삼	<i>Ginseng Radix</i>	8
숙지황	<i>Rehmanniae Radix Preparat</i>	8

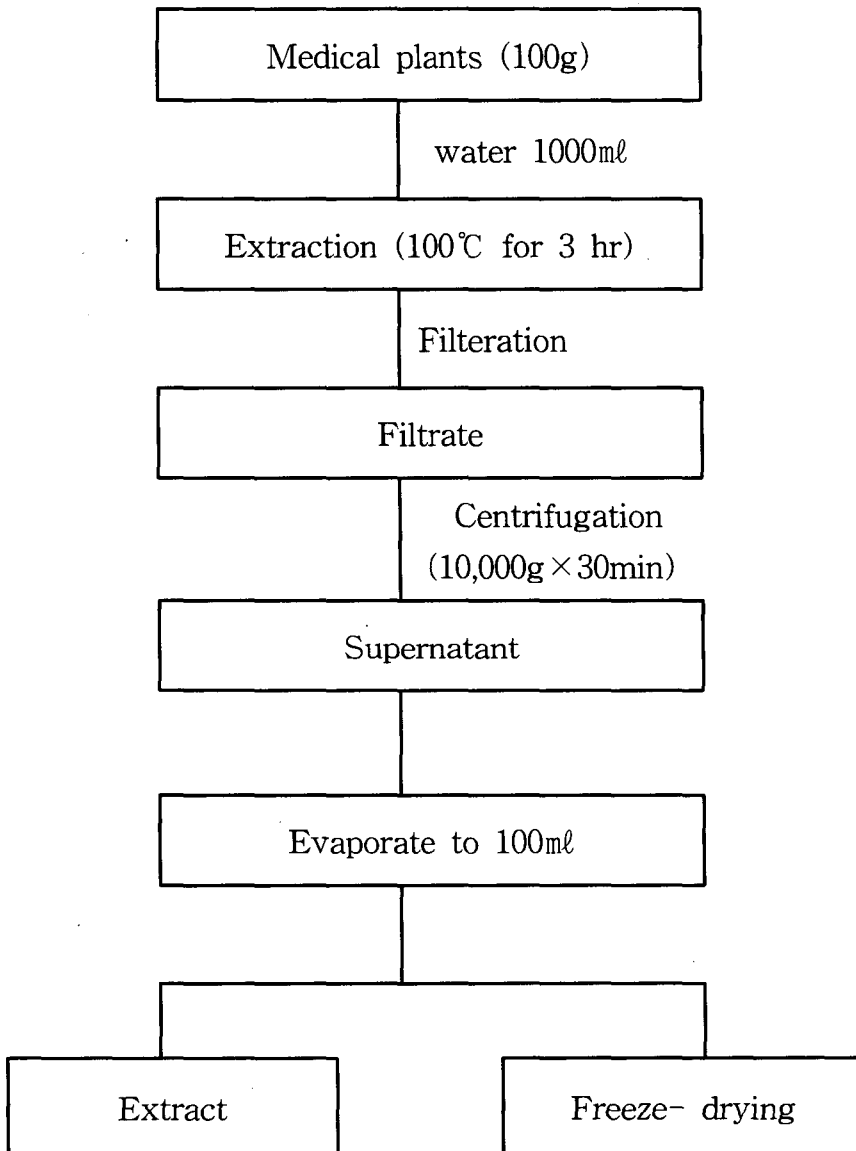
Table 2. Prescription of Ohjayenjongwhangami

약재명	생약명	중량(g)
녹용	<i>Cervi parvum cornu</i>	4
녹육	<i>Deer meat</i>	4
구기자	<i>Lycii Radix</i>	9
토사자	<i>Cuscuta Semen</i>	7
복분자	<i>Rubi Radix</i>	5
차전자	<i>Plantaginis Semen</i>	3
오미자	<i>Schizandrae Radix</i>	1
파극천	<i>Morindea officinalis Radix</i>	4
육종용	<i>Cistanches herba</i>	4
음양곽	<i>Epirnedii herba</i>	4

Table 3. Prescription of Boshinjiwhangwhangami

약재명	생약명	중량(g)
녹용	<i>Cervi parvum cornu</i>	3
녹육	<i>Deer meat</i>	3
산수유	<i>Corni Fructus</i>	5
숙지황	<i>Rehmanniae Fructus Preparat</i>	7
산약	<i>Dioscoreae Rhizoma</i>	4
목단피	<i>Moutan Cortex</i>	3
복령	<i>Poria</i>	4
택사	<i>Alisrnatis Rhizoma</i>	3
우슬	<i>Achyranthes bidentata Fructus</i>	3
오가피	<i>Acanthopanax Cortex</i>	3
두충	<i>Eucommiae Cortex</i>	3

Fig. 1 A procedure for extraction from medical plants.



3. 생리활성기능실험

1) 전자공여능 측정

추출물의 전자공여 작용(Electron donating abilities, EDA)은 Blois⁴⁵⁾의 방법을 변형하여 측정하였다. 각 시료 1.0ml에 2×10^{-4} M의 α, α -diphenyl- β -picryl-hydrazyl(DPPH) 1.0ml를 넣고 교반한 후 30분간 방치한 다음 517nm에서 흡광도를 측정하였다. 전자공여 효과는 시료첨가구와 첨가하지 않은 경우의 흡광도감소율로 나타내었다.

$$\text{전자 공여능(\%)} = \left(1 - \frac{\text{시료첨가구의 흡광도}}{\text{무첨가구의 흡광도}}\right) \times 100$$

2) SOD - 유사활성 측정

Superoxide dismutase 유사활성능은 Marklund⁴⁶⁾의 방법에 따라 각 시료액 0.2ml에 tris-HCl의 완충용액(50mM tris+ 10mM EDTA, pH 8.5) 3.0ml와 7.2mM pyrogallol 0.2ml를 가하여 25°C에서 10분간 반응시킨 후 1.0N HCl 0.1ml를 가하여 반응을 정지시킨 후 반응액 중 산화된 pyrogallol의 양을 420nm에서 측정하였다. SOD-유사활성능은 시료 첨가구와 첨가하지 않은 경우의 흡광도 감소율로 나타내었다.

$$\text{SOD-유사활성능(\%)} = \left(1 - \frac{\text{시료첨가구의 흡광도}}{\text{무첨가구의 흡광도}}\right) \times 100$$

3) Xanthine Oxidase 저해효과

Xoase 활성저해 측정은 Stirpe와 Corte의 방법⁴⁷⁾에 준하여 측정한다. 즉, 반응구는 0.1M potassium phosphate buffer (pH 7.5)에 xanthine 2mM을 녹인 기질액 1ml에 효소액 0.1ml(40mU/ml)와 시료용액 0.1ml를 가하고 대조구에는 시료 대신 증류수를 0.1ml를 첨가하여 37°C에서 5분간 반응시키고 1N

HCl 1 ml를 가하여 반응을 종료시킨 다음 반응액 중에 생성된 uric acid를 흡광도 292nm에서 측정하여 다음 식으로 저해율을 구하였다.

$$\text{저해율(\%)} = \left(1 - \frac{\text{반응구의 uric acid}}{\text{대조구의 uric acid}}\right) \times 100$$

4) Tyrosinase 저해효과

Tyrosinase 활성저해 측정 방법은 tyrosinase의 작용 결과 생성되는 DOPA chrome을 비색법에 의해 측정하는 Yagi 등⁴⁸⁾의 방법에 준하여 실시하였다. Mushroom tyrosinase(110 unit/ml) 0.1ml, 기질로서 5mM L-DOPA 0.2 ml, 0.175 M phosphate buffer(pH 6.8) 0.2 ml의 혼합액에 추출용액 0.5 ml를 첨가하여 35°C, 2분간 반응시켜 반응액 중에 생성된 DOPA chrome을 475 nm에서 측정하여 다음 식으로 저해율을 구하였다.

$$\text{Inhibition effect(\%)} = \left(1 - \frac{S_{\text{Abs}} - B_{\text{Abs}}}{C_{\text{Abs}}}\right) \times 100$$

S_{Abs} : Absorbance at 475nm determined with test sample

B_{Abs} : Absorbance at 475nm determined with buffer instead of enzyme

C_{Abs} : Absorbance at 475nm determined with buffer instead of test sample

5) Angiotensin converting enzyme (ACE) 저해효과

ACE 저해효과 측정은 Cushman 등⁴⁹⁾의 방법에 의하여 측정하였다. 즉, 반응구는 0.3 M NaCl을 함유하는 0.1 M potassium phosphate buffer(pH 8.3)에 기질(Hippuryl-L-histidyl-L-leucine : HHL) 2.5 ml, ACE 0.1 ml와 탄닌용액 0.1 ml를 혼합했으며, 대조구는 tannin대신 증류수 0.1 ml를

첨가하여 37℃에서 30분간 반응시키고 1N HCl 0.35 ml 첨가로 반응을 중지시킨 뒤 3 ml의 ethylacetate를 첨가했다. Ethylacetate층 으로부터 용매를 증류시킨 잔사에 2 ml의 증류수를 첨가하여 추출된 hippuric acid를 흡광도 280 nm에서 측정하였다.

$$\text{저해율(\%)} = \left(1 - \frac{\text{반응구의 hippuric acid 생성량}}{\text{반응구의 hippuric acid 생성량}}\right) \times 100$$

4. 랫드를 이용한 정액성상 및 칼슘대사에 관한 실험

1) 실험 동물의 사육 및 식이

본 연구는 6주의 숫컷 흰쥐 (Sprague-Dawley rats, male)와 12주의 암컷 흰쥐 (Sprague-Dawley rats, female)를 구입하여 8개월 사육하여 임의로 두 군으로 나누어 한군에는 녹용추출물을 랫드의 몸무게 1 ml/100g이 되게 09시와 15시에 경구 투여하였으며 대조군에는 동량의 증류수를 투여하면서 50일간 사육하였다. 실험동물의 식이와 물은 제한없이 공급하였으며, 물은 1차 증류수를 사용하였다.

2) 시료의 수집

(1) 정액 채취

랫드로부터 고환을 적출한 후 지방을 제거한 후 생체무게를 측정하였으며 정소상체미부를 적출하여 배양액내에서 세절하여 정자를 회수하여 37℃ 항온기에 보관하였다.

(2) 혈액

실험동물을 시료 채취 전 하룻밤 절식 시킨후, ethyl ether로 마취한 후 경동맥혈을 통하여 혈액을 채취하였으며, 채취한 혈액은 4℃ 냉장고에서 하룻밤 동안 방치한 후, 원심분리(3,000 rpm, 20min)하여 혈청을 얻었으며

분석 전까지 냉동 보관하였다.

(3) 간, 신장 및 뼈(femur)조직

혈액 채취 후 즉시 간, 신장 및 대퇴골을 각각 적출하였다. 간과 신장조직은 부착되어 있는 지방과 근육을 제거한 후 생리 식염수 (0.85% NaCl 용액)로 세척하여 혈액을 제거한 다음 여과지로 물기를 닦고 건조 무게를 측정하였으며, 뼈조직은 부착된 근육, 지방, 인대 등을 전부 제거한 후 건조무게를 측정하였다.

3) 시료분석

(1) 정자농도

정자 농도는 정소상체미부로부터 회수한 정액을 Haemocytometer를 이용하여 측정하였다.

(2) 혈액, 간, 신장 및 뼈(femur)조직의 ash 및 칼슘 함량

혈청은 TCA(trichloroacetic acid)용액으로 단백질을 제거한 후 1% LaCl₃·7H₂O 용액으로 희석하여 원자흡광광도계(Atomic absorption spectrophotometer : Hitachi Z-6000)를 이용하여 422.7nm에서 측정하였다. 간, 신장, 뼈는 105±10℃ 건조기에서 12시간 예비 건조시킨 후, 550~600℃의 회화로에서 24시간 동안 완전히 회화시킨 다음 30분간 방냉후 ash 무게를 측정하였다. Ash에 6N HCl을 가하여 용해한 후 1% LaCl₃·7H₂O 용액으로 희석하여 혈청과 같은 방법으로 칼슘함량을 측정하였다.

Ⅲ. 결과 및 고찰

1. 생리활성효과

1) 항산화(전자공여능)효과

수소 공여능 측정에 사용된 DPPH는 안정한 자유 라디칼로서 그것의 비공유전자로 인해 517nm 부근에서 최대 흡수치를 나타내며 전자 또는 수소를 받으면 517nm 부근에서 흡광도가 감소하며 각 추출물에서 이러한 라디칼을 환원시키거나 상쇄시키는 능력이 크면 높은 항산화 활성 및 활성 산소를 비롯한 다른 라디칼에 대한 소거 활성을 기대할 수 있으며 인체내에서 활성 라디칼에 의한 노화를 억제하는 척도로도 이용할 수 있다⁵⁰⁾.

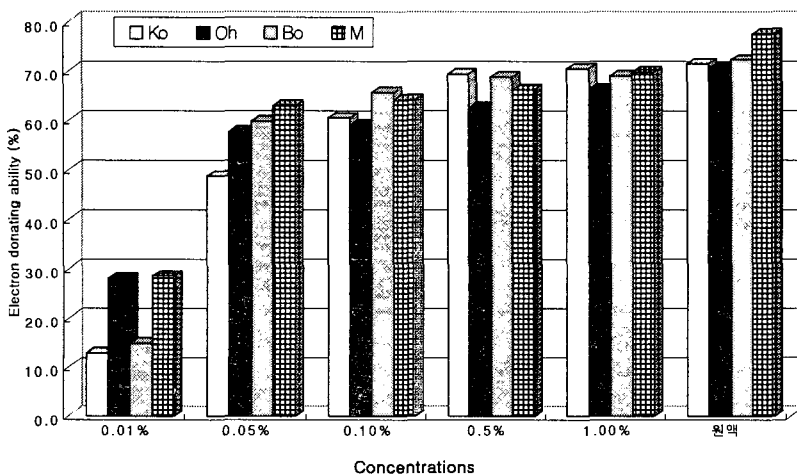
각 추출물의 농도별 전자공여 작용을 살펴본 결과는 Table 4. 과 Fig. 2 와 같다. 추출물의 농도가 증가할수록 전자공여능은 증가하는 경향을 나타내었으며 각 시료별로

0.01% 농도에서는 12.9%에서 28.5%로 비교적 낮은 전자공여능을 보였으나 0.05% 이상에서는 48.7%에서 77.6% 높은 전자공여능을 나타내었다. 강 등⁵¹⁾의 솔잎과 쑥의 열수추출물 및 에탄올 추출물의 전자공여능과 비교하여 솔잎의 추출물의 80.9, 82.6%보다는 낮은 효과를 보였으나 쑥 추출물의 47.1, 45.8%보다는 높은 전자공여능을 보였다. 대추잎의 경우 Ethyl acetate 분획의 85.0%를 제외한 다른 분획보다는 높은 효과를 보였으며⁵²⁾ 김 등⁵⁰⁾은 한약재추출물의 전자공여능을 관찰한 결과 목단(牧丹), 황금(黃芩), 산수유(山茱萸), 작약(芍藥)에서 86.6, 85.7, 81.0, 80.4%의 전자공여능 효과가 있다고 하였다.

Table 4. Electron donating abilities of different concentrations from extracts

Samples	Electron donating ability (%)					원액
	0.01%	0.05%	0.1%	0.5%	1.0%	
Kongindangagam	12.9	48.7	60.5	69.4	70.5	71.5
Ohjayenjongwhangami	28.0	57.6	59.1	64.8	66.9	70.8
Boshingiwhangami	14.8	59.9	66.4	68.6	69.1	72.3
M(market sample)	28.5	62.9	64.2	66.2	74.5	77.6

Fig. 2. Electron donating abilities of different concentrations from extracts.



2) SOD - 유사활성 측정

Superoxide dismutase (SOD)는 생체내에서 superoxide radical을 산소로 산화시켜주는 천연 항산화제로 단백질 또는 효소의 일종으로 활성 산소종을 안정한 물질로 전환시켜 산소상해로부터 생체를 보호하는 기능으로 알려져있다⁵³⁻⁵⁴. 그러나 SOD는 열에 약하여 70℃ 이상의 온도에서 쉽게 불활성화되며 pH 10 이상에서는 매우 불안정하다⁵⁵⁻⁵⁷. 따라서 SOD의 이러한 단점을 보완하면서 작용기작은 다르지만 체내에서 역할이 유사한 SOD 유사활성 물질에 대한 연구가 이루어지고 있다.

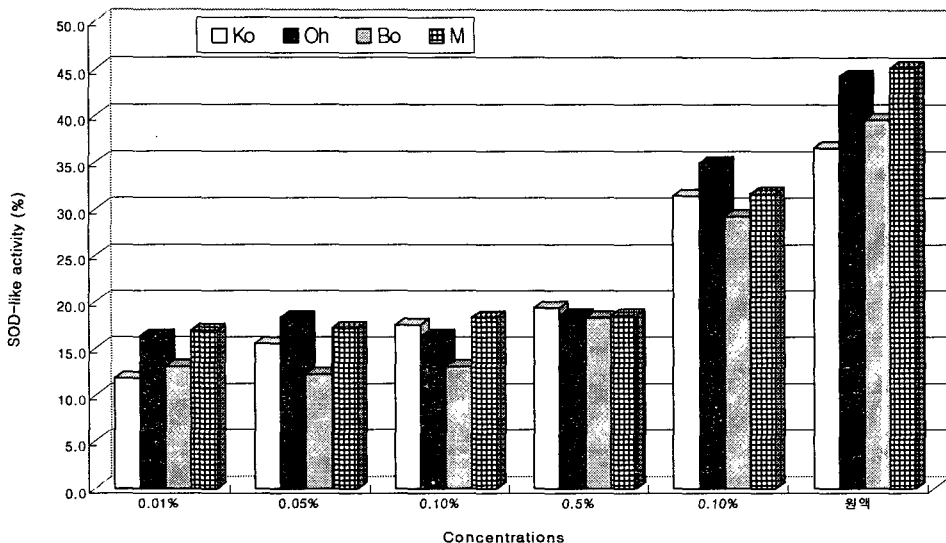
각 추출물의 농도별 SOD-유사활성은 Table 5. 과 Fig. 3과 같다.

0.5%의 농도에서는 4개의 시료 모두 SOD-유사활성은 20%이하로 각 추출물간에 큰 활성의 차이는 없었으나 1.0%에서는 보신태황가미외에 30%이상의 활성을 나타내었으며 추출물 원액에서는 시판중인 제품이 45.1%로 가장 높은 활성을 나타내었으며 그 다음 오자연종환가미가 44.3%의 활성을 나타내었다. 이는 홍 등⁵⁸의 과실, 과채류의 착즙 및 농축품과 비교하여 브로콜리의 41.7%와 비슷한 활성을 나타내었고 딸기 착즙액, 당근 착즙액의 30%와 기타 케일 농축액, 키위착즙액, 무 착즙액등의 과채류에 비해 비교적 높은 SOD-유사활성을 나타내었다.

Table 5. SOD-like activities of different concentrations from extracts

Samples	SOD-like activity (%)					원액
	0.01%	0.05%	0.1%	0.5%	1.0%	
Kongindangagam	11.8	15.6	15.6	19.4	31.4	36.6
Ohjayenjongwhangami	16.4	18.3	16.4	18.6	35.0	44.3
Boshingiwhangwhangami	13.1	12.3	13.1	18.3	29.2	39.6
M(matket sample)	16.9	17.2	18.3	18.5	31.7	45.1

Fig. 3. SOD-like activity of different concentrations from extracts.



3) Xanthine Oxidase 저해효과

Xanthine oxidase는 purine대사에 관여하는 효소로서 xanthine 또는 hypoxanthine으로부터 요산을 생성에 관여한다. 요산이 혈액에 증가하면 낮은 용해성으로 인하여 혈액이나 골절에 축적되어 통풍을 유발하거나 신장에 침착하여 신장질환을 일으키기도 한다⁵⁹⁾. 이 효소의 활성을 저해할 목적으로 천연물을 대상으로 많은 연구가 진행되고 있다.

본 실험에서 각 추출물의 농도별 xanthine oxidase의 저해효과를 관찰한 결과는 Table 6, Fig. 4 와 같다.

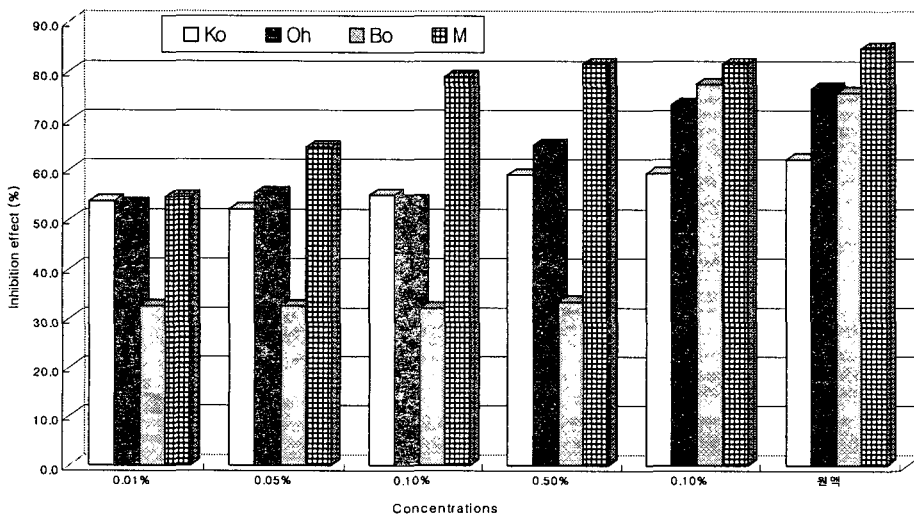
보신지황환가미를 제외한 3개의 시료 0.01%에서 50%이상의 저해율을 보였으며 농

도가 증가할수록 저해율도 증가하는 하였다. 보신지황환가미의 경우 0.5%의 농도까지는 30%내외의 저해율을 보이다가 1.0%의 농도에서 급격히 증가하여 77.5%의 저해율을 보였으며 추출물원액의 경우 1.0%의 농도와 저해율의 차이를 보이지 않았다. 김 등⁶⁰⁾의 해조류 추출물의 xanthine oxidase 저해율과 비교하여 감태, 곰피의 76.1, 63.9%와 비슷한 저해율을 나타내었으며 여 등⁶¹⁾은 차(茶)의 조 catechin 획분에서 증제차의 경우 93.2%, 볶음차의 경우 89.2%, 오롱차의 경우 88.8%, 홍차의 경우 78.7%의 xanthine oxidase의 저해능을 보인다고 하였다.

Table 6. Inhibition rate of xanthine oxidase by different concentrations from extracts

Samples	Inhibition rate (%)					원액
	0.01%	0.05%	0.1%	0.5%	1.0%	
Kongindangagam	53.7	52.3	55.0	59.2	59.6	62.4
Ohjajenjongwhangami	53.2	55.5	53.7	65.1	73.4	76.6
Boshingiwhangwhangami	32.6	32.6	32.1	33.5	77.5	75.7
M(market sample)	54.6	64.7	78.9	80.7	81.7	84.9

Fig. 4. Inhibition of Oxase activity of different concentrations from extracts



4) Tyrosinase 저해효과

Tyrosinase(monophenol, dihydroxy-L-phenylalanin : oxygen oxidoreductase, EC 1.14.18.1)는 구리를 함유한 효소로 melanin 합성에 관여하며 동물에서 melanin은 피부병과 악성 melanomas와 관계있으며⁶²⁾ 체내에서 melanin 합성은 L-tyrosine에서 L-3,4-dihydroxyphenylalanin(DOPA)을 생성시키고 다시 L-dopaquinone으로 전이시키는 연속된 효소적 산화가 진행된 후 중합반응에 의해 이루어진다⁶³⁾.

Mushroom tyrosinase 효소를 사용하여 한방 추출물의 농도별 tyrosinase 효소 활성 저해능을 측정한 결과는 Table 7, Fig. 5 와 같다.

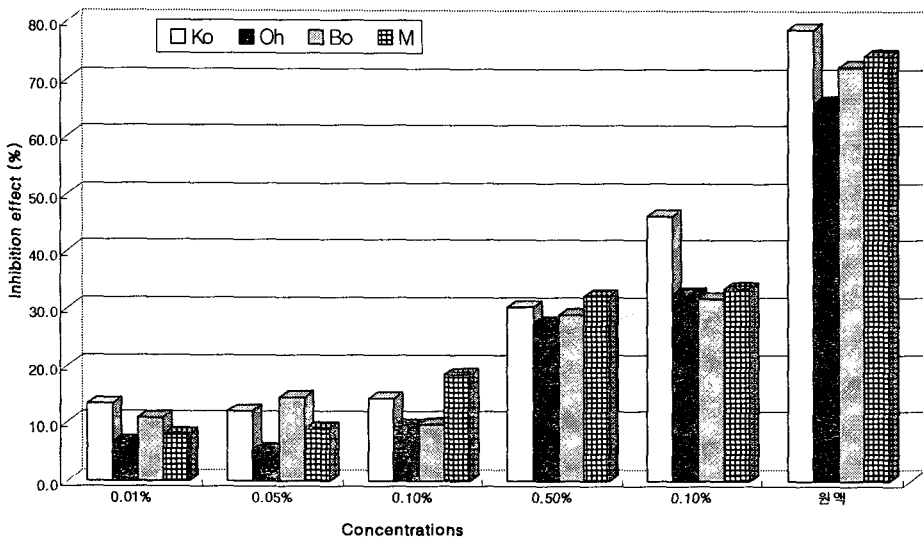
0.5%의 농도에서 공진단가감과 시판제품에

서 30%정도의 효소저해를 나타내었으며 1.0% 농도에서는 30%이상의 효소활성을 저해하였으며 공진단가감은 55%의 저해능을 나타내었다. 추출물의 원액에서는 공진단가감이 82.9%의 가장 높은 저해율을 나타내었으며, 시중제품은 74.3%의 높은 저해율을 나타내었다. 정 등⁶⁴⁾의 약용식물류의 tyrosinase의 저해능 탐색에서 오매(烏梅)와 계피(桂皮)는 81%의 저해율, 기타 약용식물에서는 5~63%의 저해능이 있다고 보고하였다. 이와 비교하여 공진단가감은 높은 저해능을 나타내었으며, 다른 추출물도 이와 비슷한 저해능이 관찰되어 각 추출물의 향미만 조절한다면 한방 미백식품으로의 개발에도 문제가 없을 것으로 생각된다.

Table 7. Inhibition effect of extracts on the melanin synthesis by tyrosinase

Samples	Inhibition effect (%)					원액
	0.01%	0.05%	0.1%	0.5%	1.0%	
Kongindangagam	13.3	12.1	14.3	30.2	55.0	82.9
Ohjayenjongwhangami	6.7	5.5	9.5	27.4	32.6	66.0
Boshingiwhangwhangami	11.0	14.5	9.8	29.1	31.9	72.4
M(market sample)	8.1	9.1	18.6	32.1	33.6	74.3

Fig. 5. Inhibition effect of extracts on the melanin synthesis by tyrosinase.



5) ACE 저해효과

ACE는 혈압강화작용을 가지는 bradykinin을 분해하여 불활성화시키고, 또한 angiotensin I을 생리적 혈압상승 물질인 angiotensin II로 전환시켜 고혈압의 원인인 효소로 알려져 있으며 ACE 저해제는 angiotensin I을 angiotensin II(ANG II)로 활성형 호르몬으로 바꾸는 효소에 작용하여 ANG II 및 aldosterone의 생산을 감소시키고, 혈관확장제인 bradykinin을 증가시키고 신장혈관을 확장시켜 sodium의 배설을 촉진함으로써 혈압을 강화 시킨다⁶⁵⁻⁶⁶⁾.

본 실험의 각 추출물의 농도별 ACE 저해작

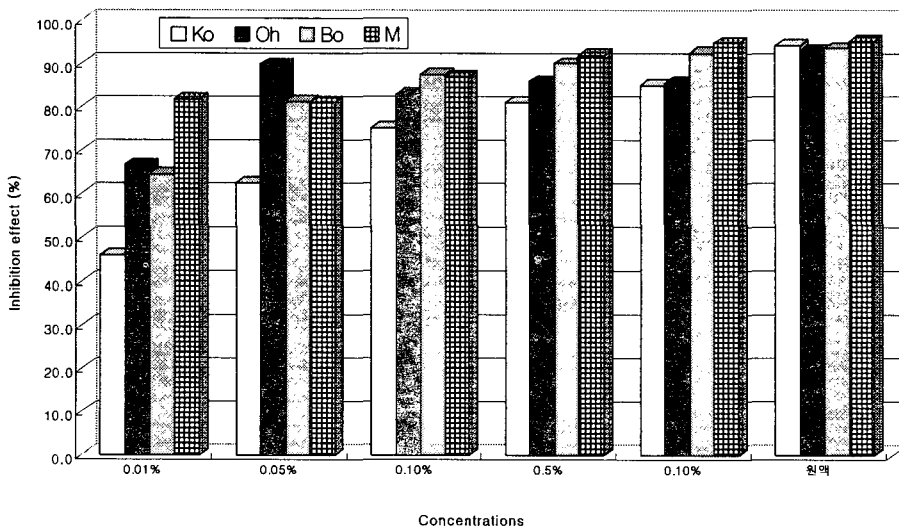
용을 관찰한 결과는 Table 8과 Fig. 6과 같다.

시료 모두 0.01%의 농도에서 50%의 높은 저해능을 나타내었으며 원액에서는 90%이상의 ACE저해능을 보였다.따라서 ACE 저해제들은 혈압강화 작용을 가지고 또한 고혈압 치료의 가능성을 시사한다. 식품에서 ACE 저해 물질의 탐색은 혈압상승억제기능을 가진 식품소재의 개발이라는 측면에 중요한 그 의의가 있으며 ACE저해물질은 가열조리에 안정하며 체내에서의 흡수가 용이하며, 저해능은 혈압강화제에 비해 낮으나 항시 섭취하는 식품중에 존재한다는 보편성과 안정성면에서 그 유용성을 기대할 수 있다.⁶⁷⁻⁶⁹⁾

Table 8. Angiotensin Converting Enzyme inhibitory effect of different concentrations

Samples	Inhibition effect (%)					
	0.01%	0.05%	0.1%	0.5%	1.0%	원액
Kongindangagam	46.1	62.5	75.2	81.0	85.1	94.2
Ohjayenjongwhangami	66.6	89.8	83.0	85.8	85.4	92.9
Boshingiwhangwhangami	64.4	81.2	87.5	90.1	92.4	93.6
M(market sample)	81.8	81.0	86.9	92.0	94.8	97.1

Fig. 6. Angiotensin Converting Enzyme inhibitory effect of different concentrations.



2. 정액성상 및 칼슘 대사

1) 정소의 무게 및 정액농도

녹용추출물을 50일간 투여한 군과 동일 기간 동안 증류수를 투여한 군간의 정소를 채취하여 정자의 농도를 측정한 결과는 Table 9와 같다.

두 군간의 정자의 농도에서는 약 4천만과 5천만으로 큰 차이는 없었으며 정소의 무게는 왼쪽과 오른쪽에서 74mg과 70.9mg으로 큰

차이를 나타내지는 못하였다. 이는 녹용추출물 대신 증류수를 투여한 군에서 고품사료를 자유 급식함으로써 녹용추출물 투여한 군과 영양학적 면에서 큰 차이를 나타내지 않은 결과로 생각된다. 차후 실험시 녹용추출물 투여전 각 군에 환경오염성 중금속인 카드뮴을 (Cd)을 0에서 250ppm 투여하여 정액의 농도를 감소시킨 후 녹용추출물을 투여하여 정액의 농도의 회복정도를 관찰하고자 한다.

Table 9. Sperm concentration of rats administered with antler extraction for 50 days

	Control		Antler	
	Left	Right	Left	Right
Testis weight (g)	1.6934	1.7045	1.7674	1.7754
Sperm concentration	4000만/ml	4000만/ml	5000만/ml	5000만/ml

Table 10. The concentration of Ca in serum

	Serum Ca(mg/100ml)
Control	11.88±0.51
Antler	12.48±0.55

Table 11. The concentration of Ca in liver, kidney and femur

Type	Wet weight (g)	Ash (mg)	Ash/w (%)	Ca (ug/g)	
Liver	Control	8.27±0.36	119.34±5.40	1.44±0.04	26.40±0.85
	Antler	8.44±0.34	119.52±7.23	1.42±0.06	28.28±1.46
Kidney	Control	1.97±0.16	28.22±2.44	1.48±0.08	0.72±0.30
	Antler	1.95±0.17	33.12±6.57	1.70±0.30	0.75±0.43
Femur	Control	1.63±0.04	892.33±25.54	54.62±0.46	257.77±15.40 (mg/g)
	Antler	1.66±0.05	903.03±35.02	54.44±1.13	278.46±10.26 (mg/g)

2) 혈청중의 칼슘함량

일정 기간 동안 녹용추출물을 투여하여 사육한 랫드의 혈청의 칼슘함량은 Table 10과 같다. 녹용 추출물 투여군과 대조군 모두 11.88, 12.48.mg/100ml로 정상수준을 유지하였다.

녹용추출물을 투여한 군이 대조군 보다 혈청에서 높은 수치의 칼슘의 함량을 관찰하였으며 이는 칼슘 보충 식품으로서의 효과를 기대할 수 있다.

3) 간, 신장, 뼈조직의 ash무게 및 칼슘함량

간, 신장, 대퇴골의 칼슘함량은 Table 11에 제시하였다.

녹용추출물 투여군과 대조군 사이에 각 조직 및 대퇴골의 무게에서는 큰 차이를 나타내지는 않았으나 각 조직별로 간을 제외한 신장 및 대퇴골의 칼슘함량은 녹용추출물 투여군이 대조군보다 높은 수준을 나타내는바 골다공증 개선 및 칼슘보충제로서의 효과를 기대할 수 있다.

소비국가로서 매년 꾸준히 증가하는 추세이며 녹용에 관한 연구도 활발히 진행되고 있는 중이다. 본 연구는 녹용에 한약재를 가미하여 추출한 추출물에 대하여 그 생리활성에 관찰하였다.

전자공여능(DPPH)을 관찰한 결과 0.01%의 농도에서는 4개의 시료 모두 12.9에서 28.5%로 낮은 공여능을 보였으나 0.05%부터 그 이상의 농도에서는 공진단가감의 48.5%를 제외하고는 모두 50%이상의 전자공여능을 보였으며, 원액에서는 70% 이상의 높은 전자공여능을 보였다.

Superoxide radical을 산소로 산화시켜주는 SOD 유사활성은 추출물 원액에서 오자연종 환가미가 44.3%의 활성과 시중제품이 45.1%로 가장 높은 활성을 보였다.

혈액이나 뼈에 요산의 증가를 통한 신장질환과 통풍유발에 관여하는 Xanthine oxidase 효소 저해를 본 결과는 보신티황환가미를 제외한 시료에서 0.5%이하의 농도에서 50%이상의 저해능을 나타내었으며 추출원액에서는 4종류의 시료에서 62.4%에서 84.9%의 저해율을 보였다. 보신티황환가미의 시료는 1.0%의 농도에서 저해율이 33.5%에서 77.5%로 급격히 증가하였으며 다른 시료는 농도가 증가할수록 저해율이 서서히 증가하였으며 시중제품이 전체적으로 가장 높은 저해율을 보였다.

고혈압의 원인인 angiotension converting enzyme 의 저해효과는 시료별로 대체적으로 높게 나타났다. 0.5%의 농도에서 4종류의 시료 모두 80%이상의 저해율을 나타내었으며 시중제품의 경우 0.01%에서 81.8%의 저해율을 보였으며 농도가 증가함에 따라 저해율은 증가 하였다.

랫드를 이용하여 일정 기간 동안 녹용추출물 투여군과 동량의 증류수를 투여한 군간의

IV. 결 론

현재 우리나라에서 소비되는 건조녹용은 약 20만kg으로 국산녹용은 45,000kg으로 전체 소비량의 약 22%를 차지하고 있다. 국내 양륙은 1998년 기준 사슴사육 농가수는 9,800호이며 사슴 수는 180,000두, 녹용생산량은 36,502kg으로 경제규모는 약 1,000억원대의 시장규모로 세계 4위의 양륙국가이며 녹용수입은 90년대 이후 국민소득의 증가로 100,000~150,000kg으로 급증하여 현재 세계 녹용생산량의 80%를 수입하는 세계 최대의 녹용

정액의 농도와 혈청, 간, 신장 및 대퇴골에 대한 칼슘함량은 측정된 결과 정액의 농도에 서는 녹용을 투여한 군이 대조군보다 다소 높은 수준의 농도를 나타내었으며 각 조직에 서의 칼슘의 농도도 다소 높은 수준을 나타 내었다.

V. 감사의 글

이 논문은 1999년 9월-2000년 8월 (주)매일 유업과 산·학협약에 의한 연구지원에 의해 수행하였습니다. 이에 감사드립니다.

VI. 참고문헌

1. Bang, S. K.: The current situation of Korean velvet antler industry. In the proceedings of the seminar for solving the current problems in Korean velvet. The Korean association of deer. Antler industry. (1997)
2. Sunwoo, H. H., Nakano, T., Hudson, R. J. and Sim, J. S.: Chemical composition of antlers from wapiti. (*Cervus elaphus*), *J. Agric. Food chem.* 43, 2846-2849 (1995)
3. Won, D. H.: The review of the specifications and the compositions of velvets, pp. 13-39. In: The proceedings of the international symposium on *cervi parvum cornu*. Seoul. Korea. (1994)
4. 許浚, 東醫寶鑑, 南山堂, p.698(1981)
5. 江蘇新醫學院 編, 中藥大辭典, 4, 上海科學

技術出版社, 2786 (1995)

6. Kim, Y. E., Lee, S. K., Yoon, U. C. and Kim, J. S.: Biochemical studies on antler(I): A comparative study on chemical components of antler, old antler, shark backbone cartilage and whale nasal cartilage. *Korean biochem. J.* 8(2), 89-107 (1975)
7. Kim, Y. E., Lee, S. K., Lee, M. H. and Shin, S. U.: Biochemical studies on antler(III): A study of free and ester fatty acids of antler velvet layer and pantocrin. *Korean biochem. J.* 9(4), 215-236 (1976)
8. Kim, Y. E., Lee, S. K. and Lee, M. H.: Biochemical studies on antler(IV): Detection of prostaglandins of antler velvet layer. *Korean biochem. J.* 10(1), 1-12 (1977)
9. Yong, J. I. and Baek, N. H.: Studies on deer horn (I): Free amino acids of deer horn water extract. *Journal of the Pharmaceutical Society of Korea* 5(1), 1-2 (1960)
10. Kim, Y. E., Lee, S. K. and Yoon, U. C.: Studies on the components and biological functions of animal hard Tissue. A study of a scleroprotein extracted from deer horn. *Korean biochem.* 6(1), 13-25 (1973)
11. Yong, J. I.: Studies on deer horn ; Study on contents of trace elements in deer horn.: *J. Korean pharm. Sci.* 5, 3-5 (1960)
12. 范玉林: 鹿茸中的微量元素, 中藥通報(中國藥學會), 5, 44-46 (1986)

13. 최태섭 저 ; 안덕균 해설: 한국의 보약, p224-225, 열린책들, (1998)
14. Hong, N. D., Won, D. H., Kim, N. J., Chang, S. Y., Youn, W. G. and Kim, H. S.: Studies on the analysis of constituents of deer horn(I): Assay of trace elements and TLC pattern analysis of gangliosides. *Kor. J. Pharmacogn.* 22(3), 171-182 (1991)
15. Hong, N. D., Won, D. H., Kim, N. J., Chang, S. Y., Youn, W. G. and Kim, H. S.: Studies on the analysis of constituents of deer horn(II): Analysis of gangliosides and free amino acids. *Kor. J. Pharmacogn.* 24(1), 38-46 (1993)
16. Han, N. Y. and Jhon, G. J.: Purification and analysis of gangliosides from deer antler. *Korean biochem. J.* 27(5), 459-465 (1994)
17. Han, N. Y. and Jhon, G. J.: Purification and analysis of carbohydrate-containing component from Korean antler. *Korean biochem. J.* 25(5), 444-451 (1992)
18. Dinsmore, C. E., Goss, R. J., Lenz, M. E. and Thonar, J. M.: *Calcif. Tissue Int.* 39, 244-247 (1986)
19. Ryg, M., and Langvatin, R.: *Can. J. Zool.* 60, 2577-2581 (1982)
20. Eiben, B., Scharla, S. T., Fischer, K. and Schmidt, G. H.: *Acta Endocrinol.* 107, 141-144 (1984)
21. Suttie, J. M., Gluckman, P. D., Butler, J. H., Fennessy, P. F., Corson, I. D. and Laas, F. J.: *Endocrinology.* 116, 546-548 (1985)
22. Bubenik, G. A., Schams, D. and Coenen, G. *Comp. Biochem. Physiol.* 87A, 551-559 (1987)
23. Choi, S. H., Kang, S. S., Choi, H. S. and Cho, S. K.: Biological contents of velvet antler and femoral venous blood in farmed elk(*Cervus canadensis*) *Korean J. Vet Clin Med.* 15(2), 251-254 (1998)
24. Wang, B., Zhao, X., Oi, S., Yang, X., Kaneko, S., Hattori, M., Namba, T. and Nomura, Y.: *Chem. Pharm. Bull.* 36, 2593 (1988)
25. Park, J. S. and Kim, J. B.: Effects of hydrolysed antler on plasma and organ's cholesterol in rabbits. *J. Korean Pharm. Sci.* 5(3), 36-42 (1975)
26. Haw, K., Choi, S.Y., Lee, H.B., Chung, K.C. and Ko, D.I.: Studies on antler(II): Effect of antler on growth of the experimental rats. *Journal of the Pharmaceutical society of Korea,* 10(5), 10-15(1960)
27. 배대식: 동물발육에 미치는 녹용의 효과에 관한 연구(제2보); 녹용의 투여가 병아리의 장기발육과 세포막에 미치는 영향, 충북대학논문집, 10, 209-216 (1972)
28. 배대식: 동물발육에 미치는 녹용의 효과에 관한 연구(제3보); 녹용의 투여가 응계의 조정능력에 미치는 영향, 충북대학논문집, 15, 103-109 (1977)
29. 서주철: 인삼 및 녹용 추출액이 저산소증, 빈혈 및 CCL4 손상 백쥐 간 조직의 수종 대사기능에 미치는 영향에 관한 연구, 중합의학 8(12), 111-128 (1962)
30. Yong, J. I.: Studies on deer horn; The effect of deer horn on the liver and

- other organs of cholesterol administered rabbits. *Journal of the Pharmaceutical Society of Korea*. 8(1), 12-29 (1964)
31. Choi, D. Y., Shin, M. G., Lee, S. I., Lee, H. I. and Kim, W. H.: A study on the effect of cervi cornu against CCl₄-induced liver damage in rats. *K. H. Univ. O. Med. J.* 2, 43-51 (1979)
32. 하현: 녹용이 Benzo(a)pyrene에 의해 유도된 간장해에 미치는 영향, 효성카톨릭대학교대학원, (1994)
33. Jin, S. G., Shin, M. G., Lee, S. I., Lee, H. I. and Kim, W. H.: A study on the effect of cervi cornu in the phenylhydrazine HCl administered rats. *K. H. Univ. O. Med. J.* 2, 53-60 (1979)
34. Shin, M. G., Lee, S. I., Kim, W. H., An, B. G. and Lee, H. I.: Effect of deer horn on the iron bone marrow in experimentally induced anemic rat. *K. H. Univ. O. Med. J.* 2, 69-72 (1979)
35. Kim, K. W. and Park, S. W.: A study on the hemopoietic action of deer horn extract. *Korean biochem.* 15(2), 151-157 (1982)
36. Shin, K. H., Lee, E. B., Kim, J. H., Chung, M. S. and Cho S. I.: Pharmacological studies on powdered whole part of unossified antler. *Kor. J. Pharmacogn.* 20(3), 180-187 (1989)
37. Kim, D. H., Han, S. B., Park, J. S. and Han, M. J.: Fermentation of antler and its biological activity. *Kor. J. Pharmacogn.* 25(3), 233-237 (1994)
38. Kim, Y. T. and Kim, C. S.: A study of hematopoietic action of pilose antler in senescence accelerated mice. *Kor. J. Pharmacogn.* 27(4), 371-377 (1996)
39. Shim, S. D. and Ahn, D. K.: Effects of the cervi cornu on the aged ovariectomized rat model of postmenopausal osteoporosis. *Kor. J. Herbology.* 14(1), (1999)
40. Ahn, D. K., Kim, H. C. and Lee, B. N.: Effect of deer antler on the blood pressure and heart rate of SHR and S.D.Rats. *Kor. J. Herbology.* 14(1), (1999)
41. 양재하, 김미려 : 난소를 절제한 흰쥐의 대퇴골에 미치는 녹용 물 추출액의 영향, *동서의학*, 23(1), 21-30, (1998)
42. Huang, S.L., Kakiuchi, N., Hattori, M., Namba, T.: A new monitoring system of cultured myocardial cell motion; effect of pilose antler extract and cardioactive agents on sponaneous beating of myocardial cell sheet, *Chem. Pharm. Bull.*, 39(2), 384-387(1991)
43. 김근모: 녹용 및 가미지황탕가 녹용이 백서의 운동억제성 골다공증에 미치는 영향, 경산대학교 대학원, 1993
44. 한용남, 김경옥, 황금희: 녹용 물 추출액이 흰쥐 혈액 중의 급성기 반응 단백질에 미치는 영향, *응용약물학회지*, 2(1), 59-64(1994)
45. Blois, M.S.: Antioxidant determination by the use of a stable free radical. *Nature*, 26, 1198 (1958)
46. Marklund, S. and Marklund, G.: Involvement of the superoxide anion radical in the autoxidation of pyrogallol and a convenient assay for superoxide

- dismutase. *Eur. J. Biochem*, 47, 469-474 (1974)
47. Strip, F. and Corte, E.D.: The regulation of rat liver xanthine oxidase. *J. Biol. Chem.*, 244, 3855(1969)
48. Yagi, K.: Lipid peroxidase and human disesse. *Chem. Phys. Lipids.*, 45, 337(1987)
49. Cushman, D.W. and Ondetti, M.A.: Inhibitors of angiotensin converting enzyme for treatment of hypertension. *Biochem. Pharmacology*, 29, 1871-1877 (1980)
50. Kim, H.K., Kim, Y.E., Do, J.R., Lee, Y.C. and Lee. B.Y.: Antioxidative activity and physiological activity of some korean medical plants. *Korean J. Food Sci. Technol.*, 27, 80-85(1995)
51. Kang, Y.H., Park, Y.K., Oh, A.R. and Moon, K.D.: Studies on physiological functionality of pine needle and mugwort extract. *Korean J. Food Sci. Technol.*, (27), 978-984(1995)
52. Park, J.R., Kim, J.B. and Cha, M.h.:Physiological activity of zizyphus jujuba leaf extracts. *J. Korean Soc. food Sci. Nutr.* 28, 593-589(1999)
53. Pryor, W.A: Oxy-radicals and related species: their formation, lifetimes and reactions. *Annu. Rev. Physiol.*, 48, 657(1986)
54. Saul, R.I., Gee, P., and Ames, B.N.: Free radicals, DNA damage, and aging.) *In Morden Biological Theories of Aging*, Warner, H.R., Butler, R.N. Sprott, R.L and Schneider, E.L (Ed.), Raven Press, NY, USA, p.113(1987)
55. Korycka-Dahl, M., Richardson, T. and Hicks, C.L.: Superoxide dismutase activity in bovin milk serum. *J. Food. Prot.*, 42, 867-871 (1979)
56. Hicks, C.L., Bury, J. and Stofer, W.: Heat inactivation of superoxide dismutase in bovin milk. *J. Dairy Sci.*, 62, 529-532 (1979)
57. Walker, J.L, McLellan, K.M and Robinson, D.S: Heat stability of superoxide dismutase in cabbage. *Food chem.*, 23, 245-256 (1987)
58. Hong, H.D., Kang, N.K. and Kim, S.S.: Superoxide dismutase-like activity of apple juice mixed with some fruits and vegetables. *Korean J. Food Sci. Technol.*, 30(6), 1484-1487(1998)
59. Storch, J. and Ferber, E.: Deterhent-Amplifies chemiluminescence of lucigenin for determination of superoxide anion production by NADPH oxidase and xanthine oxidase. *Anal. Biochem.*, (169), 262(1988)
60. Kim, O.K., Lee, T.G., Park, Y.B., Park, D.C., Lee, Y.W., Yeo, S.G., Kim, I.S., Park, Y.H. and Kim, S.B.: Inhibition of xanthine oxidase by seaweed extracts. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.*, 25, 1069-1073(1996)
61. Yeo, S.G., Park, Y.B., Kim, I.S., Kim, S.B. and Park, Y.H.: Inhibition of xanthine oxidase by tea extracts from green tea, oolong tea and black tea. *J. Korean Soc. Food Nutr.*, 24(1), 154-159(1995)

62. Bell, A.A and Weeler, M.H.: Biosynthesis and function of fungal melanin. *Ann. Rev. Phytopathol.*, 24, 411-451(1986)
63. Pawelek, J.M. and Körner, A.M.: The biosynthesis of mammalian melanin. *Am. Sci.*, 70, 136 (1982)
64. Jung, S.W., Lee, N.K., Kim, S.J. and Han, D.S.: Screening of tyrosinase inhibitor from plants. *Korean J. Food Sci. Techol.*, 27(6), 891-896(1995)
65. 김재완, 황만석, 박의순, 유희순: ACE inhibitor가 각광받는 최식약제. *의학정보*, 1, 16(1990)
66. Yamazaki, T., Shiojima, I., Komuro, I., Nagai, R. and Yazaki, Y.: Involvement of the renin-angiotensin system in the development of left ventricular hypertrophy and dysfunction. *J. Hypertension*, 12, S23(1994)
67. Maruyama, S. and Suzuki, H.: A peptide inhibitor of angiotension I converting enzyme in the tryptic hydrolysate of casein. *Agric. Biol. Chem.*, 46, 1393(1982)
68. Shimizu, M.: Bioactivity peptides from bovine milk proteins./Paper presented at *Animal Sessions in 24th International Dairy Congress*. Melbourn Sept. 18-22, Australia(1994)
69. Yeum, D.M., Rho, S.B., Lee, T.G., Kim, S.B. and Park, Y.H.: Angiotension- I converting enzyme inhibitory activity of enzymatic hydrolysates of Food proteins. *J. Korean Soc. Food Nutr.*, 22(2), 226-233(1993)