韓藥作誌(Korean J. Medicinal Crop Sci.) 11(3) : 236 - 245(2003)

# 인삼 추출물의 Angiotensin Converting Enzyme 저해 효과와 항산화 활성

이승은*† · 성낙술* · 방진기* · 강승원* · 이성우* · 정태영**

*작물시험장, **부산대학교

# Inhibitory Effect against Angiotensin Converting Enzyme and Antioxidant Activity of *Panax ginseng* C. A. Meyer Extracts

Seung Eun Lee*†, Nak Sul Seong*, Jin Ki Bang*, Seung Won Kang*, Sung Woo Lee*, and Tae Yung Chung

*National Crop Experiment Station, RDA, Suwon 441-857, Korea.

**Department of Food Science and Nutrition, Pusan National University, Pusan 609-735, Korea.

**ABSTRACT** : The study was performed for elucidating angiotensin converting enzyme (ACE) inhibitory activity and comparing antioxidative activity of *Panax ginseng* extracts prepared at different conditions. Total phenolic content, inhibitory activity on ACE and antioxidative effects were tested on 10 ethanolic extracts and correlation coefficient between total phenolic content and physiological activity was calculated. Yield and total phenolic content of 50% ethanolic extract prepared at 85℃ exhibited the highest value as 42.52% and 0.82%, respectively. Among the fractions obtained from 50% ethanolic extract prepared at room temperature, water fraction showed the highest value in yield as 72.08% and ethyl acetate fraction did in total phenolic content as 6.59%. In the test on ACE inhibitory activity, 50% ethanolic extract obtained at room temperature indicated the strongest effect of 93.8% which was higher than 85.2% of commercialized ACE inhibitor and solvent fractions showed potent inhibitory activity in order of hexane fraction, diethyl ether fraction, ethyl acetate fraction, butanol fraction and water fraction at concentration of 4000 ㎍/㎖. 50% Ethanolic extract prepared at 85℃ had the most potent inhibition effect on human LDL oxidation as 78.2% at 200 ㎍/㎖ and the other extracts also did above 60%. Diethyl ether fraction and ethyl acetate fraction showed strong inhibition activity (34.38%~78.13%) on LDL oxidation at concentration of 10~200 ㎍/㎖. From the statistical analysis via SAS program, correlation coefficient between total phenolic content and ACE inhibitory effect was 0.6353 at $P<0.05$. Conclusively, this report showed that the most efficient extraction condition for elevating inhibitory activity on ACE and LDL oxidation, phenolic content and yield from *Panax ginseng* was 50% ethanol extraction at room temperature or high temperature condition. And *Panax ginseng* would be used for preventing hypertension or atheroscrelosis for man via inhibitory action on ACE and LDL oxidation.

***Key words*** : *Panax ginseng*, angiotensin converting enzyme, ACE inhibitory activity, low density lipoprotein, LDL oxidation, total phenolic content, antioxidant

## 서 언

인삼 (*Panax ginseng* CA Meyer)은 두릅나무과 (Araliaceae)에 속하는 다년생 반음지성 숙근초로서 우리나라를 비롯하여 중국, 아시아 극동지역에 분포하고 있다. 보신재로서 인삼의 사용은 중국 후한의 현제 건안 연도

† Corresponding author : (Phone) +82-31-290-6718 (E-mail) tahitie@hanmail.net; tahitie@rda.go.kr
Received July 21, 2003 / Accepted July 31, 2003

(서기 196-200년) 장중경의 상한론에서 그 기록을 찾아볼 수 있을 정도로 오랜 세월 동안 인류의 건강에 기여해 왔으며 大補元氣, 安神 등의 효능이 알려져 있어 (康 등, 1991) 그 효능을 보다 과학적으로 설명하고자 많은 연구가 지속적으로 이루어져 왔다. 최근에는 인삼 추출물의 항산화 (Zhang *et al.*, 1996), 항염증 (Oliveira *et al.*, 2001), 면역기능증진 (See *et al.*, 1997), 항궤양 (Kiyohara *et al.*, 1994), 항종양 (Lee *et al.*, 1999), 항곰팡이 및 항바이러스 (Ng & Wang, 2001), 신경보호 (Liao *et al.*, 2002), 암예방 (Xiaoguang *et al.*, 1998), 불안완화 (Bhattacharya & Mitra, 1991), 혈당저하 (Ng & Yeung, 1985) 등의 생리활성이 보고되었으며 인삼 성분으로 saponin 외에도 페놀성 화합물(Wee *et al.*, 1989), 단백질 (Yoon *et al.*, 2002), 다당류 (Shin *et al.*, 1997) 등과 이들 성분의 배양 (Han & Zhong, 2003) 등의 연구가 이루어져 있다. 한편 노령화 인구의 증가와 더불어 건강 및 장수에 대한 관심의 증가로 국내외적으로 건강보조식품 및 의약품 시장의 규모가 날로 증가함에 따라 천연물을 소재로 한 건강식품의 개발도 과거 어느 때보다 활발하며 인삼을 소재로 한 제품 개발도 중요한 위치를 점하고 있다. 이러한 시대적 요구에 부응하기 위해 저자들은 여러 약용식물자원의 생리활성 연구를 수행하여 그 결과를 일부 발표 (Lee *et al.*, 2002)한 바 있으며 특히, Angiotensin Ⅰ-converting enzyme (ACE) 저해활성과 저밀도지단백질 (low density lipoprotein, LDL) 산화 저해 등을 포함한 항산화 활성 탐색 연구를 계속하고 있다. Angiotensin Ⅰ-converting enzyme (ACE)은 불활성형인 angiotensin Ⅰ의 C 말단 His-Leu을 절단하여 angiotensin Ⅱ를 생성시킬 뿐만 아니라 혈압을 감소시키는 bradykinin을 불활성화시키는 효소 (Noh & Song, 2001)이므로 이 효소의 작용을 저해하므로써 고혈압의 치료가 가능할 것으로 판단된다. 지금까지의 ACE 저해제 탐색 연구에 대두 발효 및 가수분해물 (Shin *et al.*, 1995; Cho *et al.*, 2000), 식물 (Cho *et al.*, 1993), 미생물 (Cha & Park, 2001; Moon *et al.*, 1995) 등을 비롯한 많은 자원이 이용되었으며 in vitro 실험에 이어 동물체내에서의 활성(Yu *et al.*, 1996; Hong *et al.*, 1998)도 검정되고 있다. 한편, 혈액 중의 산화된 저밀도지단백질 (low density lipoprotein, LDL)은 동맥경화의 발병에 관련되는 것으로 보고(Vinson *et al.*, 1995)되고 있는 바, 산화된 LDL은 두 가지 기전인 superoxide radical과 lipoxygenase에 의해 만들어지며 비타민 E의 함량 감소와 불포화 지방산의 산화, phospholipase $A_2$의 작용에 의한 phosphatidylcholine 감소, 불포화 지방산의 과산화물에 의한 apo B100의 lysine 잔기의 변형 등의 유발에 의한 정상적인 LDL receptor와의 친화성 감소, 대식세포로의 유입, foam cell 형성 등의 과정을 통해 동맥경화로 진전되는 것으로 알려져 있으며 (Fruchart & Luc, 1992; Jialal & Scaccini, 1994) 비타민 E 같은 항산화 물질은 LDL의 산화를 저해 (Esterbauer *et al.*, 1991)하는 것으로 알려져 있다. 본 연구에서는 지금까지 알려지지 않았던 추출조건별 인삼의 ACE 저해활성을 중심으로 항산화 활성, 총 페놀 함량 및 이들간의 상관계수 분석결과를 보고하고자 한다.

## 재료 및 방법

### 1. 실험재료 및 추출물 조제

2002년 가을 국내 인삼 재배 농가들로부터 분양받은 4년근 인삼을 정선, 세척, 음건, 마쇄하여 분말시료를 조제하였다.

### 2. 시약 및 기기

실험에 사용된 lung acetone powder, N-hippuryl-His-Leu tetrahydrate (Hip-His-Leu), 1,1-dipicrylphenylhydrazyl (DPPH), human low density lipoprotein (LDL), linoleic acid, $\alpha$-tocopherol, tannic acid, tetramethoxypropane (TMP), thiobarbituric acid (TBA), ACE inhibitor 등의 시약은 Sigma Co. (USA) 제품을 사용하였으며 기타 분석용 시약 및 용매는 특급을 사용하였다. 시료의 감압 농축에는 N-1000 evaporator (Eyela, Japan)를, 상온 조건에서의 시료추출 및 linoleic acid 산화저해 실험에는 DS-310R shaking incubator (다솔과학, 한국) 그리고 흡광도 측정에는 Cary 300 UV-visible spectrophotometer (Varian, Australia)를 사용하였다.

### 3. 조추출물 조제 및 수율 측정

Table 1에 나타낸 바와 같이 분말인삼 각 10 g을 10배량의 에탄올과 증류수 혼합용액 (에탄올 : 증류수 = 100:0, 80:20, 50:50, 30:70 & 0:100)을 가해 85℃에서 환류 추출하거나 shaking incubator를 이용하여 상온 조건에서 2시간씩 추출 · 여과하여 1차 여과액을 얻었으며 그 후 남은 잔사를 다시 동일한 조건에서 추출 · 여과하여 2차 여과액을 얻었고 이 두 여과액을 모아 250 ㎖로 정용하였다. 상기의 추출과정은 3회 반복하여 총 페놀 함량 분석실험에 이용하였다. 그리고 각각의 추출물 690 ㎖을 취해 수율을 구하는 데 사용하였으며 수율 (%)은 각 추출물의 가용성 고형물의 함량을 원료량에 대한 백분율로서 나타내었다.

**Table 1.** Conditions of solvent and temperature used for preparing crude *Panax ginseng* extracts.

| Extract No. | Conditions | |
|---|---|---|
| | Solvent (EtOH : $H_2O$) | Temperature |
| 1 | 100 : 0 | 85℃ |
| 2 | 80 : 20 | |
| 3 | 50 : 50 | |
| 4 | 30 : 70 | |
| 5 | 0 : 100 | |
| 6 | 100 : 0 | Room temp. |
| 7 | 80 : 20 | |
| 8 | 50 : 50 | |
| 9 | 30 : 70 | |
| 10 | 0 : 100 | |

### 4. 용매별 분획물의 조제 및 수율 측정

인삼 분말 373 g을 10배량의 50% 에탄올 (g/v)로 상온에서 2시간씩 진탕 여과한 후 얻어진 잔사를 다시 동일한 조건에서 반복 추출 여과하여 50% 에탄올 추출물을 얻었다. 이 조 추출물로 부터 통상적인 방법에 따라 핵산, 에텔, 에틸아세테이트, 부탄올 및 물 분획물을 얻었으며 50% 에탄올 조추출물과 각 용매별 분획물들은 50℃에서 감압 농축하고 용매를 완전히 제거하여 항량을 구하고 조 추출물 수득량에 대한 각 용매별 분획물들의 수득량을 백분율로 하여 수율 (%)을 산출하였다.

### 5. 총 페놀 함량 및 ACE 저해활성

추출조건별로 인삼 중 기능성 물질인 페놀성분의 함량 차이를 구명하기 위해 Kim *et al.* (1993)의 방법을 수정하여 총 페놀 함량을 정량하였으며 검량선 작성에는 tannic acid를 표준물질로 사용하였다. 각 인삼 에탄올 추출물의 항고혈압 활성을 비교 확인하기 위해 Cushman & Cheung (1973)의 방법에 준해 실험하였으며 그 저해 효과는 시판 ACE inhibitor인 peptide (Sigma A0773)와 비교하였다.

### 6. 항산화 활성

인삼의 항고콜레스테롤 효과를 확인, 비교하기 위해 인간 혈액 중 존재하는 저밀도지단백 (LDL)에 대한 산화저해 활성을 Yang *et al.* (1997)의 방법에 준해 실험하였으며 저해효과는 TMP로부터 조제된 malondialdehyde (MDA)에 대한 검량선에 근거하여 산출하였다. Linoleic acid의 과산화에 대한 저해 효과 검정은 Haraguchi *et al.* (1992)의 방법에 준해 실험하였으며 DPPH 라디칼 소거능을 확인을 위해서는 Lee *et al.* (2002)의 방법에 따라 $1.5\times10^{-4}$ M의 농도로 에탄올에 녹여 조제한 DPPH 반응액과 일정농도의 인삼 에탄올 추출물 30 ㎕를 첨가해 최종 부피가 3 ㎖가 되게 혼합하고 3분 후에 517 nm에서 흡광도를 측정하여 소거능을 저해율(%)로서 나타내었다. Linoleic acid 과산화 저해 및 DPPH 라디칼 소거효과의 비교를 위해 기존의 천연 항산화제인 $\alpha$-tocopherol을 대조물질로 사용하였다.

### 7. 총 페놀 함량 및 생리활성간의 상관관계 분석

총 페놀 함량과 몇 가지 생리활성간의 상관 정도의 분석을 위해 SAS (statistical analysis systems) program을 이용하였다.

## 결과 및 고찰

### 1. 추출물, 분획물의 수율 및 총 페놀 함량

인삼 조건별 추출물과 분획물의 수율 및 총 페놀 함량에 대한 실험 결과를 Table 2와 3에 나타내었다. Table 2에 나타낸 것처럼 10가지 에탄올 추출물에 대한 수율 및 총 페놀 함량은 상온보다 가온하였을 때 대체적으로 그 수치가 높았고 에탄올 첨가비율이 50%이었을 때 가온 및 상온에서 42.24% 및 38.38%의 수율을, 0.62% 및 0.82%의 총 페놀 함량을 나타내었다. 이상의 결과와 같은 경향을 나타낸 것은 인삼의 고형물 및 페놀화합물이 가열에 의해 쉽게 추출되었으며 불용성 폴리페놀화합물이 고분자 화합

**Table 2.** Yield and total phenolic content of ethanolic extracts prepared from *Panax ginseng*.

| Extracts No. | Yield (%)† | Total Phenol (%)‡ |
|---|---|---|
| 1 | 10.36 | 0.16±0.00 |
| 2 | 33.37 | 0.72±0.02 |
| 3 | 42.25 | 0.82±0.04 |
| 4 | 31.29 | 0.57±0.08 |
| 5 | 22.83 | 0.29±0.07 |
| 6 | 2.27 | 0.02±0.00 |
| 7 | 24.75 | 0.42±0.02 |
| 8 | 38.38 | 0.62±0.00 |
| 9 | 39.35 | 0.52±0.01 |
| 10 | 31.74 | 0.43±0.01 |

† The value was exhibited as percentage of soluble solid content obtained from 690 ㎖ of each ethanolic extract to 100g of *Panax ginseng* powder.

‡ The value showed as content of tannic acid on 100 g of *Panax ginseng* powder.

물로부터 유리되어 유리형 폴리페놀화합물로 분해되었을 가능성을 시사한다 (Cha *et al.*, 1999). 인삼 중 페놀화합물은 6.7%이상의 차류 (Kim *et al.*, 1999)나 5.76%의 감잎이나 밤 속껍질보다는 낮았으나 0.83%의 들깨와 비슷하였고 0.12%의 살구씨 (Lee & Lee, 1994a)에 비해서는 높은 수준이었다. 상온 50% 에탄올 추출물로부터 조제된 각 용매별 분획물의 수율과 총 페놀 함량을 Table 3에 나타내었다. 각 분획물의 수율은 물 분획 (72.08%) > 부탄올 분획 (13.47%)> 핵산 분획 (0.92%) > 에텔 분획 (0.56%) > 에틸아세테이트 분획 (0.49%)의 순으로 높았고 총 페놀함량은 에틸아세테이트 분획 (6.59%)> 에텔 분획 (3.54%) > 핵산 분획 (2.74%) > 부탄올 분획 (0.69%) > 물 분획 (0.48%)의 순으로 높게 나타났다. 보고에 의하면 페놀화합물은 항돌연변이 및 항균성 등의 활성을 가지는 것으로 알려져 있어 (Lee & Lee, 1994b) 페놀함량이 높은 조추출물 및 분획물들은 인삼의 생리활성에 기여하는 바가 클 것으로 판단된다.

**Table 3.** Yield and total phenolic content of solvent fractions prepared from 50% ethanolic extracts at roon temperature of *Panax ginseng*.

| Fractions | Yield (%)† | Total Phenol (%)* |
|---|---|---|
| Hexane | 0.92 | 2.74±0.19 |
| Diethylether | 0.56 | 3.54±0.14 |
| Ethylacetate | 0.49 | 6.59±0.28 |
| Butanol | 13.47 | 0.69±0.11 |
| Water | 72.08 | 0.48±0.02 |

† The value was percentage of solid contents of each solvent fractions to 149.48 g of 50% ethanolic extract which was obtained from 373 g of *Panax ginseng* powder at room temperature.

* The value showed as content of tannic acid on 100 g of each solvent fraction.

## 2. ACE 저해 활성

인삼 에탄올성 조 추출물들의 ACE 저해활성 실험의 결과를 Fig. 1에 나타내었으며 모든 농도에서 상온 조건의 추출물들이 가온 조건의 추출물들보다 우수한 결과를 나타내었다. 4000 ㎍/㎖ 농도에서 상온 50% 에탄올 추출물이 93.8%로 가장 높은 활성을 나타내었고 다음이 상온 30% 에탄올 (86.5%)으로 높게 나타났으며 이 값은 peptide 형태의 시판 ACE inhibitor보다 월등하게 우수한 것이었다. 상온 50% 에탄올 추출물로부터 용매별 분획물을 획득하여 각 분획물의 ACE 저해 활성을 실험하여 Fig. 2에 나타내었는 바, 모든 분획물들은 농도에 비례하여 활성이 높아졌으며 4000 ㎍/㎖의 농도에서 핵산 분획 (201%) > 에텔 분획 (105%) > 에틸아세테이트 분획 (67%) > 부탄올 분획 (46%) > 물 분획 (19%)의 순으로 그 활성이 높게 나타나 추후 우수한 활성을 나타낸 분획물에 대한 물질분리 구명 연구가 필요하다고 생각되었다. 한편, Stavro *et al.* (2002)은 인삼 중 ginsenoside $RG_3$가 인체 내에서 혈압저하 효과를 발휘하는 것으로 보고하였으나 그 작용기전에 대한 보고는 아직 이루어지지 않아 ACE 저해와의 관련성 여부는 더 연구되어야 할 것으로 생각된다.

## 3. 인간 저밀도지단백 (LDL) 산화저해 활성

인삼 조추출물 10가지의 사람 LDL 산화에 대한 저해 활성을 실험한 결과 Fig. 3에 나타낸 것과 같이 200 ㎍/㎖의 농도, 85℃에서 얻어진 추출물들이 상온 추출물보다 좀 더 우수한 항산화능을 나타냄을 확인할 수 있었고 이 추출물들 중 85℃ 50% 에탄올 추출물이 78.2%로 가장 높은 저해활성을 보였으며 그 다음으로 85℃ 30% 에탄올 추출물이 76.9%로 높게 나타났는 바 이는 천연 항산화제인 $\alpha$-tocopherol의 74.4%보다도 우수한 결과였다. 한편, 이미 보고된 80℃에서 60% 에탄올로 추출된 홍미삼의 LDL 산화저해능이 200 ppm에서 25.2%였던 점과 동일 반응계

**Table 4.** Correlation coefficients between several physiological activities including inhibition activities on ACE at 4000 ㎍/㎖, LDL oxidation at 200 ㎍/㎖, linoleic acid peroxidation at 50 ㎍/㎖ and scavenging activity on DPPH radical at 50 ㎍/㎖ and total phenolic content of *Panax ginseng* extracts.

| | Total phenol | ACE activity | LDL oxidation | Linoleic acid peroxidation | DPPH |
|---|---|---|---|---|---|
| Total phenol | - | 0.6563* | 0.5588 | -0.0751 | 0.1255 |
| ACE activity | 0.6563* | - | -0.0002 | -0.2293 | -0.2019 |
| LDL oxidation | 0.5588 | -0.0002 | - | 0.2989 | 0.4317 |
| Linoleic acid peroxidation | -0.0751 | -0.2293 | 0.2989 | - | 0.7591* |
| DPPH | 0.1255 | -0.2019 | 0.4317 | 0.7591* | - |

* The value was significant at P>0.05 level.

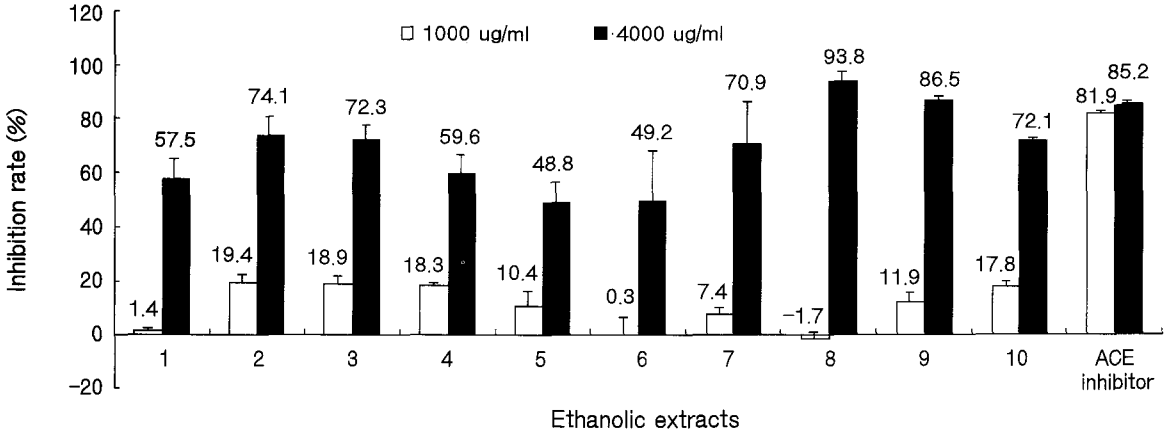


**Fig. 1.** Inhibition effect on ACE activity by 10 ethanolic extracts of *Panax ginseng*.

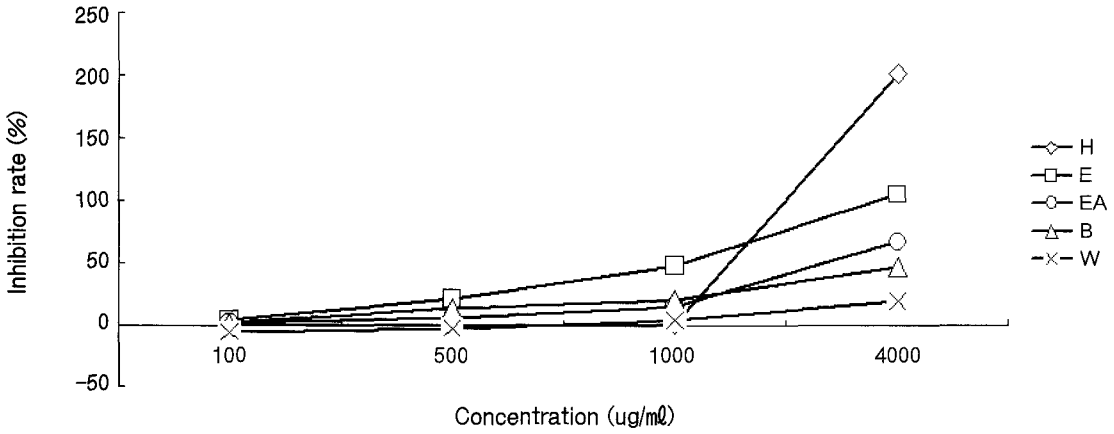


**Fig. 2.** Inhibition effect on ACE activity by hexane (H), diethylether (E), ethylacetate (EA), n-butanol (B) and water fractions (W) prepared from 50% ethanolic extracts at room temp. of *Panax ginseng*.

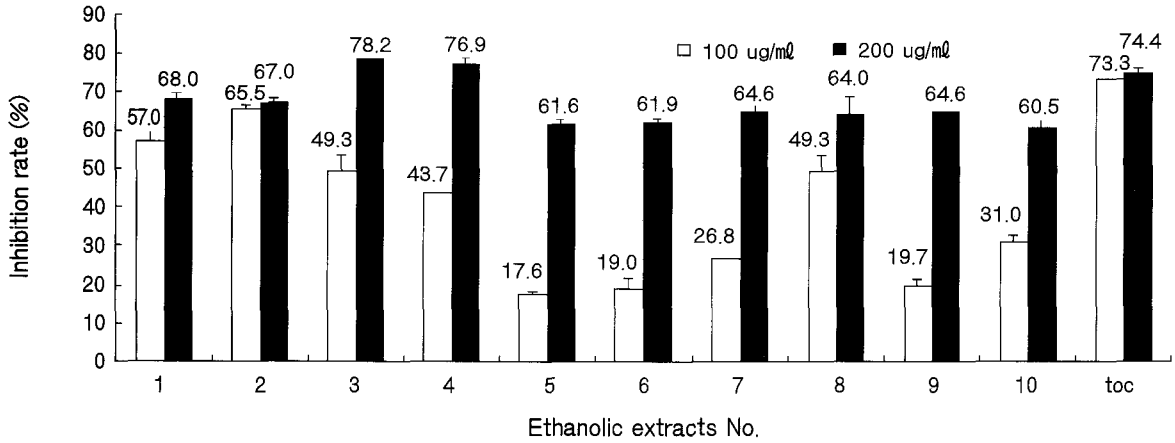


**Fig. 3.** Inhibition effect of 10 ethanolic extracts from *Panax ginseng* on human LDL oxidation which showed by final concentration of 100 and 200 μg/mℓ of ethanolic extacts in reaction mixture (toc ; α-tocopherol as control).

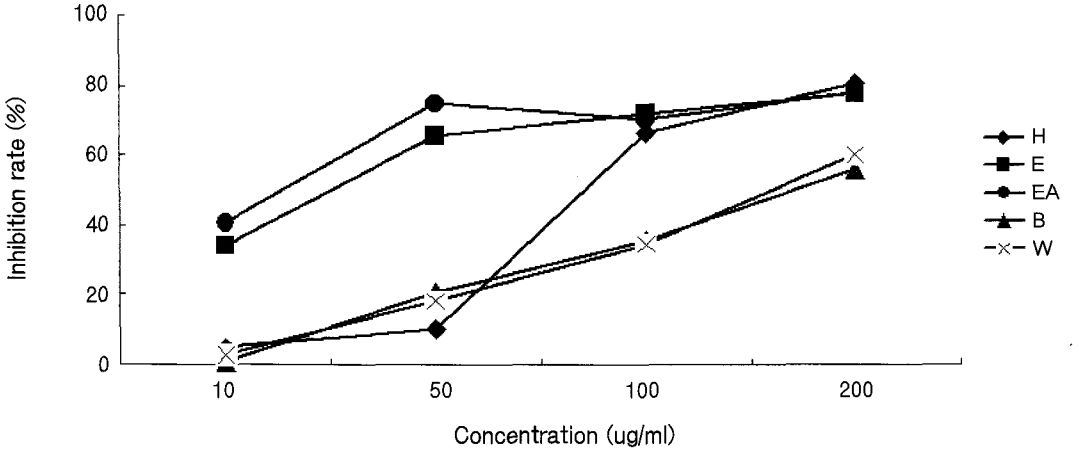


**Fig. 4.** Inhibition effects on LDL oxidation of hexane (H), diethylether (E), ethylacetate (EA), n-butanol (B) and water fractions (W) prepared from 50% ethanolic extracts at room temperature of *Panax ginseng*.

에서 α-tocopherol의 산화저해능이 21.2%였던 점 (Lee *et al.*, 1997)을 비교할 때 본 연구와 반응계가 다른 점을 감안하더라도 홍삼보다 본 연구에서 사용된 한국산 백삼이 홍삼보다 우수한 것으로 판단되었다. 한편, 상온 50% 에탄올 추출물로부터 조제된 용매별 분획물에 대한 LDL 산화 저해능은 Fig. 4에 나타낸 것처럼 에텔 분획, 에틸아세테이트 분획이 10~200 ㎍/㎖의 농도에서 34.38%~78.13로 매우 우수하였고 핵산 분획물은 100 ㎍/㎖이상의 농도에서 우수한 효과를 나타내었으며 부탄올 분획과물 분획도 농도에 비례하여 효과가 증가하였으나 다른 분획물들에 비해 비교적 낮은 활성을 나타내었다. LDL의 산화는 동맥경화의 발병에 관련 (Vinson *et al.*, 1995)되므로 이러한 측면에서 우수한 LDL 저해능을 나타낸 조추출물 및 에텔 분획, 에틸아세테이트 분획의 다각적인 이용연구가 필요하다고 판단된다.

### (4) Linoleic acid 산화 저해효과

인삼 에탄올 추출물들의 linoleic acid 자동산화에 대한 저해효과를 Fig. 5에 나타내었다. 추출물의 반응액 중 농도가 10 ㎍/㎖일 때의 흡광도의 변화 양상 (a)을 살펴보면 반응 48시간까지는 모든 조건의 추출물이 무첨가군보다는 낮은 흡광도를 보여 어느 정도의 linoleic acid 산화를 저해하였으나 반응 96시간째에는 모든 추출물이 무첨가군과 동일하게 높은 흡광도를 나타내 비교물질로 사용된 α-tocopherol보다는 매우 낮은 효과를 나타냄을 확인하였다. 한편, 각 추출물의 linoleic acid 산화저해 정도를 비교하기 위해 반응액 중 농도가 50 ㎍/㎖의 조건에서 반응 2일째의 저해율을 (b)에 나타내었는 데 상온 80% 에탄올 추출물 (69.1%) > 가온 80% 에탄올 추출물 (62.9%) > 가온 100% 에탄올 추출물 (60.8%)의 순으로 저해효과가 높았으며 대체적으로 상온보다는 가온 조건에서 그 효과가 좋았다. 이러한 결과는 고온에서 당과 아미노산으로부터 maillard형 갈변반응에 의해 생성되는 물질이 항산화 효과 (Lee *et al.*, 1975 ; Kim *et al.*, 1981)를 나타내는 것과 같이 가온의 조건에서 인삼에 함유된 성분들간의 상호반응에 의해 생성된 항산화력이 우수한 화합물이 추출되었기 때문으로 추정된다. 지질과산화는 생체 내에서 라디칼의 공격에 의해 유발되며 유리 라디칼, hydroperoxides, carbonyl compounds 등의 단백질과 DNA에 손상을 유발할 수 있는 물질들을 생성 (Koh *et al.*, 1999)하므로 인삼은 생체를 과산화로 인한 손상으로부터 보호할 수 있을 것으로 판단된다.

### (5) DPPH 소거능

인삼 조건별 추출물의 DPPH 라디칼 소거능을 확인한 결과를 Fig. 6에 나타내었다. 실험결과 10가지 에탄올 추출물은 50 ㎍/㎖ 및 100 ㎍/㎖농도에서 천연 항산화제인 α-tocopherol과 비교할 때 대체적으로 낮은 결과였다. 이러한 결과는 Lee *et al.* (2001)이 보고한 홍미삼 에탄올 추출물이 6 ㎍/㎖의 농도에서 10분간 반응으로 흡광도에 큰 감소가 나타나지 않은 점과 일치되는 결과였으며 홍삼 물 추출물이 DPPH 라디칼을 완전히 소거시키는 데 2 ㎎/㎖이 사용되었다는 Kim *et al.* (2002)의 보고를 참조할 때 인삼은 백삼 혹은 홍삼의 형태에 관계없이 DPPH 라디칼에 대해서는 소거능이 크지 않은 것으로 판단되었다.

### (6) 총페놀 함량 및 생리활성들간의 상관관계 분석

페놀함량과 실험된 몇 가지 활성간의 상관성을 확인하기 위해 통계프로그램 분석을 실시한 결과 인삼 중 총 페놀함량은 ACE 저해활성과 0.6563의 상관계수를 가졌고 그 값

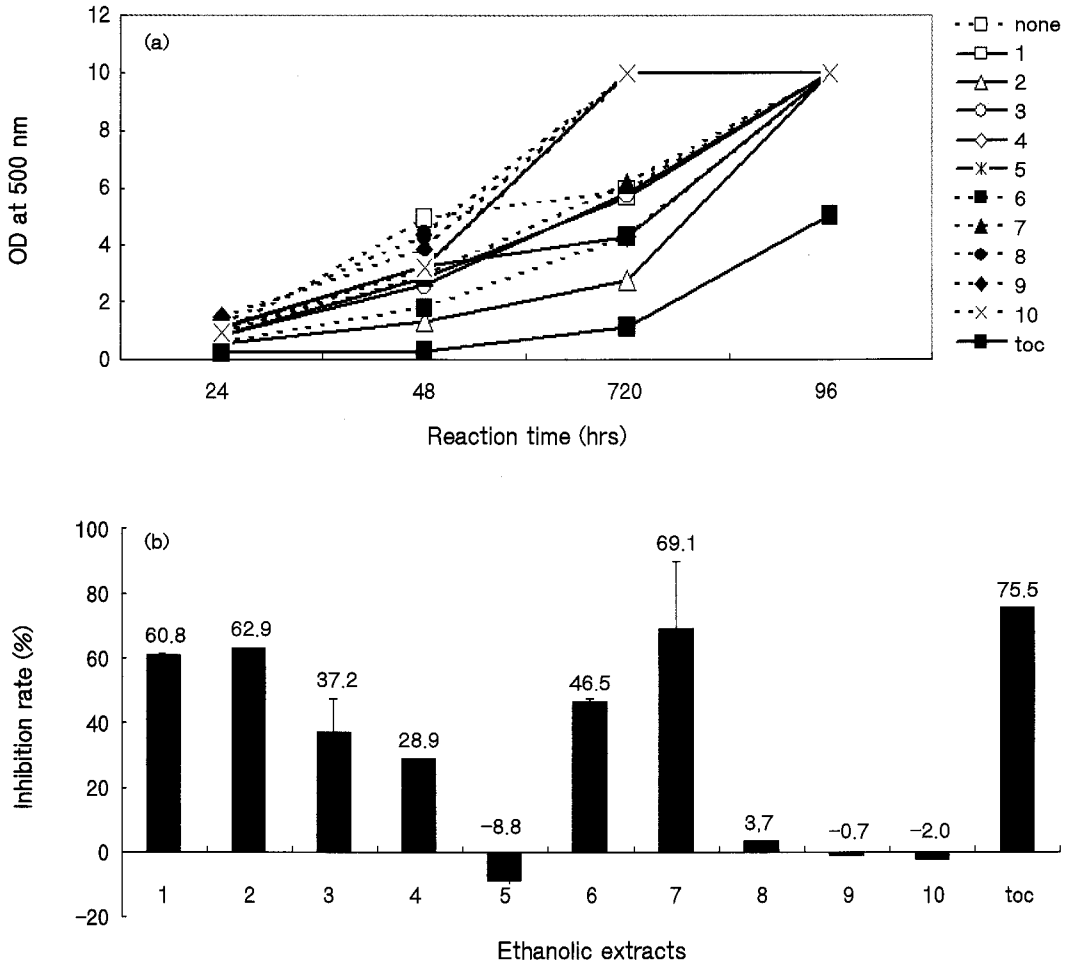


**Fig. 5.** Inhibition effects on linoleic acid oxidation : (a) change pattern of optical density for 96 hrs at 500 nm by hydroperoxides produced from oxidation of linoleic acid in 10 μg/mℓ ethanolic extracts and (b) inhibition rate of 50 μg/mℓ of *Panax ginseng* at 48 hrs of reaction time (none ; 0 μg/mℓ of *Panax ginseng* extracts in reaction mixture, toc ; α-tocopherol).

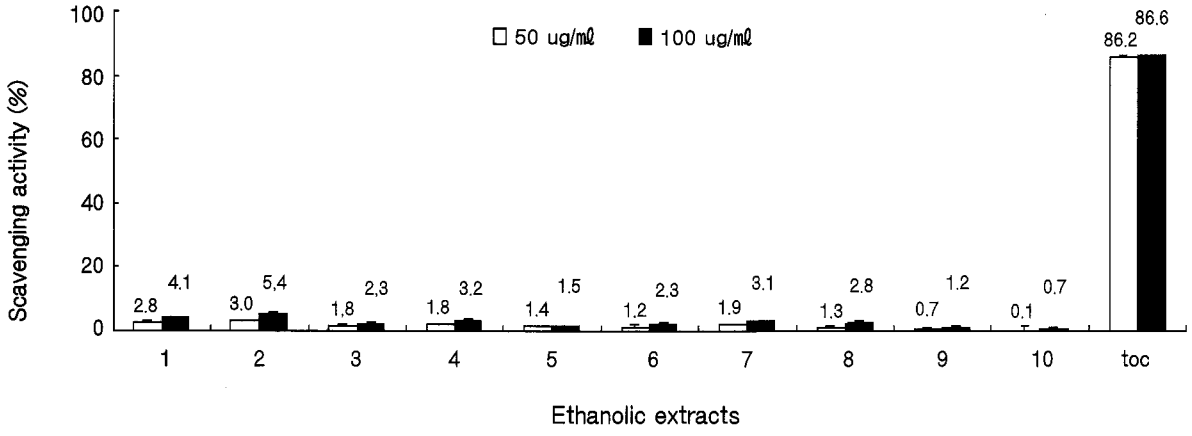


**Fig. 6.** Scavenging activity on DPPH radical of 10 ethanolic extracts obtained from *Panax ginseng* which showed by final concentration of 50 and 100 μg/mℓ of ethanolic extacts (toc ; α-tocopherol as control).

은 유의적인 것으로 확인되었며 다른 활성과는 유의적인 상관성을 나타내지 않았다. 한편, 생리활성들간의 상관성 분석에서 linoleic acid 과산화 저해능과 DPPH 라디칼 소거능 사이에 0.7591의 상관계수를 나타내었고 그 값은 유의적이었다. 이러한 상관분석의 결과로부터 인삼 중에 함유된 페놀화합물은 인삼의 항고혈압 효과에 크게 기여할 것으로 판단되며 이는 차나무에서 분리된 tannin 화합물이 ACE 저해활성을 나타낸다는 보고 (An & Lee, 1999)와 일치되는 결과이다. 한편, tannin 등 polyphenols은 DPPH 라디칼 소거능이 있는 것으로 알려져 있으나 본 연구의 결과처럼 페놀 함량과 DPPH 라디칼 소거능의 상관성이 낮은 것은 인삼 중에 함유된 페놀화합물이 DPPH 라디칼의 중심에 접근하기 어려운 구조적 특성을 가진 때문 (Yoshida *et al.*, 1989)으로 사료되었다.

## 적 요

한국산 백삼으로부터 온도 및 에탄올 함유 비율을 달리하여 조제된 추출물들에 대한 angiotensin converting enzyme (ACE) 저해활성을 검정하고 항산화 활성을 비교하기 위해 본 연구를 수행하였으며 그 결과는 다음과 같다.

1. 10가지 조건에서 얻어진 추출물의 인삼분말에 대한 수율과 총 페놀함량은 85℃에서 50% 에탄올로 추출했을 때 42.25% 및 0.82%로 가장 높았으며 대체적으로 가온조건이 상온조건보다 높았다. 상온 50% 에탄올 추출물로부터 조제된 분획물의 수율은 물 분획이 72.08%로 가장 높았고, 총 페놀함량은 에틸아세테이트 분획이 6.59%로 가장 높았다.

2. 10가지 추출물의 ACE 저해활성을 실험한 결과 4000 ㎍/㎖의 농도에서 상온 50% 에탄올 추출물이 93.8%로 가장 우수한 효과를 보였으며 이 값은 시판 ACE inhibitor의 85.2%보다도 월등하게 높은 수치였으며 분획물은 핵산 (201%) > 에텔 (105%) > 에틸아세테이트 (67%) > 부탄올 (46%) > 물 분획 (19%)의 순으로 효과가 높았다.

3. 사람 LDL에 대한 산화저해효과 실험에서는 85℃에서 얻어진 50% 에탄올 추출물이 200 ㎍/㎖의 농도에서 78.2%로 가장 효과적으로 항산화력을 보였으며 모든 추출물들이 60%이상의 높은 산화저해효과를 나타내었다. 분획물에 대한 LDL 산화저해효과 검정 실험에서는 에텔 분획물 및 에틸아세테이트 분획물이 10~200 ㎍/㎖의 농도에서 34.38%~78.13%로 높은 활성을 보였다.

4. 각 에탄올 추출물의 linoleic acid 과산화저해 및 DPPH 라디칼 소거효과는 그다지 높지 않았으며 비교 실험된 시판 천연 항산화제인 α-tocopherol보다 매우 낮았다.

5. 상관분석의 결과 총 페놀함량과 ACE 저해활성은 $P<0.05$의 수준에서 0.6353의 유의적인 상관성을 나타내었다.

이상의 실험결과로부터 인삼이 ACE 저해 및 LDL 산화 저해작용을 효과적으로 나타내고 총 페놀함량이 많이 추출될 수 있으며 수율을 높일 수 있는 가장 적합한 조건은 상온 혹은 가온의 50% 에탄올 추출조건이었으며 인삼은 이러한 활성에 의해 항고혈압 및 동맥경화예방의 효과를 발휘할 수 있을 것으로 기대되었다.

## LITERATURE CITED

**An BJ, Lee JT** (1999) Isolation and characterization of angiotensin converting enzyme inhibitors from *Camellia sienensis* L. and their chemical structure determination. Food Sci. Biotechnol. 8 : 285-289.

**Bhattacharya SK, Mitra SK** (1991) Anxiolytic activity of *Panax ginseng* roots ; an experimental study. J. Ethnopharmacology 34 : 87-92.

**Cha JY, Kim HJ, Chung CH, Cho YS** (1999) Antioxidative activities and contents of polyphenolic compounds of *Cudrania tricuspidata*. J. Korean Soc. Food Sci. Nutr. 28 : 1310-1315.

**Cha MH, Park JR** (2001) Isolation and characterization of the strain producing angiotensin converting enzyme inhibitor from soy sauce. J. Korean Soc. Food Sci. Nutr. 30 : 594-599

**Cho YJ, An BJ, Choi C** (1993) Isolation and enzyme inhibition of tannins from Korean green tea. Korean Biochem. J. 26 : 216-223.

**Cho YJ, Cha WS, Bok SK, Kim MU, Chun SS, Choi UK, Kim SH, Park KS** (2000) Production and separation of angiotensin converting enzyme inhibitor during *Natto* fermentation. J. Korean Soc. Food Sci. Nutr. 29 : 737-742.

**Cushman DW, Cheung HS** (1973) Inhibition of homogenous angiotensin-converting enzyme of rabbit lung by synthetic venom peptides of *Bothrops jararaka*. Biochim. Biophys. Acta. 293 : 453.

**Esterbauer H, Martina DR, Stiegl G, Waeg G** (1991) Role of vitamin E preventing the oxidation of low-density lipoprotein. Am. J. Clin. Nutr. 53 : 314S-321S.

**Fruchart JC, Luc G** (1992) Lipoprotein oxidation In "Lipid-soluble antioxidants : biochemistry and clinical applications". Ong ASH and Packer L (eds) Birkhäser Verlag, Basel/ Switzerland, 553-563.

**Han J, Zhong JJ** (2003) Effects of oxygen pertial pressure on cell growth and ginsenoside and polysaccharide production in high density cell cultures of *Panax notoginseng*. Enzyme and Microbial Technology 32 : 498-503.

**Haraguchi H, Hashimoto K, Yagi A** (1992) Antioxidative substances in leaves of *Polygonum hydropiper*. J. Agric. Food Chem. 40 : 1349-1351.

**Hong SP, Kim MH, Oh EW, Han CK, Kim YH** (1998) ACE inhibitory and antihypertensive effect of chitosan

oligosaccharides in SHR. Korean J. Food Sci. Technol. 30 : 1476-1479.

**Jialal I, Scaccini C** (1994) Laboratory assessment of lipoprotein oxidation In "Laboratory measurement of lipids, lipoproteins and apolipoproteins", Rifai N and Warnick GR (eds), AACC press, Washington DC, 307-309.

**Kim NM, Sung HS, Kim WJ** (1993) Effect of solvents and some extraction conditions on antioxidant activity in cinnamon extracts. Korean J. Food Sci. Technol. 25 : 204-209.

**Kim M, Kim MC, Park JS, Park EJ, Lee JO** (1999) Determination of antioxidants contents in various plants used as tea materials. Korean J. Food Sci. Technol. 31 : 273-279.

**Kim SD, Do JH, Oh HI** (1981) Antioxidant activity of *Panax ginseng* browning products. J. Korean Agric. Chem. Soc. 24 : 161-166.

**Kim YK, Guo Q, Packer L** (2002) Free radical scavenging activity of red ginseng aqueous extracts. Toxicology 172 : 149-156.

**Kiyohara H, Hirano M, Wen XG, Matsumoto T, Sun XB, Yamada H** (1994) Characterisation of an anti-ulcer pectic polysaccharide from leaves of *Panax ginseng* C. A. Meyer. Carbohydrate Research 263 : 89-101.

**Koh YH, Yoon SJ, Park JW** (1999) Inactivation of copper,zinc superoxide dismutase by the lipid peroxidation products malondialdehyde and 4-hydroxynonenal. J. Biochem. Molecular Biol. 32 : 440-444.

**Lee J, Lee SR** (1994a) Analysis of phenolic substances contents in Korean plant foods. Korean J. Food Sci. Techol. 26 : 310-316.

**Lee J, Lee SR** (1994b) Some physiological activity of phenolic substances in plant foods. Korean J. Food Sci. Techol. 26 : 317-323.

**Lee JW, Do JH** (2001) Antioxidative activity of ethanol extraction from the Korean red tail ginseng. Korean J. Food Sci. Technol. 33 : 497-500.

**Lee HO, Lee JW, Lee SK, Do JH, Sung HS** (1997) Antioxidant effect of Korean red ginseng extract on aqueous linoleic acid and LDL. Agric. Chem. Biotechnol. 40 : 283-288.

**Lee SE, Seong NS, Park CG, Seong JS** (2002) Screening for antioxidative activity of oriental medicinal plant materials. Korean J. Medicinal Crop Sci. 10 : 171-176.

**Lee SJ, Sung JH, Lee SJ, Moon CK, Lee BH** (1999) Antitumor activity of a novel ginseng saponin metabolite in human pulmonary adenocarcinoma cells resistant to cisplatin. Cancer Letters 144 : 39-43.

**Lee SS, Rhee C, Kim DH** (1975) Comparison of the antioxidant activity of absolute ethanol extracts and 90% ethanol extracts obtained at successive stages of a Maillard-type browning reaction mixture. Korean J. Food Sci. Technol. 7 : 37-42.

**Liao B, Newmark H, Zhou R** (2001) Neuroprotective effects of ginseng total saponin and ginsenosides Rb1 and Rg1 on spinal cord neurons in vitro. Experimental Neurology 173 : 224-234.

**Moon SH, Ha SC, Lee DS, Kim JG, Hong SD** (1995) Identification and culture condition of an actinomycetes strain producing an angiotensin converting enzyme inhibitor. Kor. J. Appl. Microbiol. Biotechnol. 23(4), 439-445 .

**Ng TB, Yeung HW** (1985) Hypoglycemic constituents of *Panax ginseng*. General Pharmacology 16 : 549-552.

**Ng TB, Wang H** (2001) Panaxagin, a new protein from Chinese ginseng possesses anti-fungal, anti-viral, translation-inhibiting and ribonuclease activities. Life Sciences 68 : 739-749.

**Noh H, Song KB** (2001) Isolation of an angiotensin converting enzyme inhibitor from *Oenanthe javanica*. Agric. Chem. Biotechnol. 44(2) : 98-99.

**Oliveira ACC, Perez AC, Merino G, Prieto JG, Alvarez AI** (2001) Protective effects of *Panax ginseng* on muscle injury and inflammation after eccentric exercise. Comparative Biochemistry and Physiology Part C 130 : 369-377.

**See DM, Broumand N, Sahl L, Tills JG** (1997) In vitro effects of echinacea and ginseng on natural killer and antibody-dependent cell cytotoxicity in healthy subjects and chronic fatigue syndrome patients. Immunopharmacology 35 : 229-235.

**Shin ZI, Ahn CW, Nam HS, Lee HJ, Lee HJ, Moon TH** (1995) Fractionation of angiotensin converting enzyme (ACE) inhibitory peptides from soybean paste. Korean J. Food Sci. Technol. 27 : 230-234.

**Shin KS, Kiyohara H, Matsumoto T, Yamada H** (1997) Rhamnogalacturonan II from the leaves of *Panax ginseng* C.A. Meyer as a macrophage Fc receptor expression-enhancing polysaccharide. Carbohydrate Research 300 : 239-249.

**Stavro PM, Hana AK, Vuksan V** (2002) The effect of Korean red ginseng extracts with escalating levels of ginsenoside $RG_3$ on blood pressure in individuals with high normal blood pressure or hypertension. The Americal Journal of Hypertension 15 : 34A.

**Vinson JA, Dabbagh YA, Sery MM, Jang J** (1995) Plant flavonoids, especially tea flavonols, are powerful antioxidants using an in vitro oxidation model for heart disease. J. Agric. Food Chem. 43 : 2800-2802.

**Wee JJ, Park JD, Kim MW, Lee HJ** (1989) Identification of phenolic antioxidant components isolated from *Panax ginseng*. J. Korean Agric. Chem. Soc. 32 : 50-56.

**Xiaoguang C, Hongyan L, Xiaohong L, Zhaodi F, Yan Li, Lihua T, Rui H** (1998) Cancer chemopreventive and therapeutic activities of red ginseng. J. Ethnopharmacology 60 : 71-78.

**Yang KS, Sim JM** (1997) Effect of *Arctii fructus* on low density lipoprotein oxidation. Kor. J. Pharmacogn. 28 : 275-279.

**Yoon JY, Ha BH, Woo JS, Lim YH, Kim KH** (2002) Purification and characterization of a 28-kDa major protein from ginseng root. Comparative Biochemistry and Physiology Part B 132 : 551-557.

**Yoshida T, Mori K, Hatano T, Okumura T, Uehara I, Komagoe K, Fujita Y, Okuda T** (1989) Studies on inhibition mechanism of autoxidation by tannins and flavonoids. V. Radical-scavenging effects of tannins and related polyphenols on 1,1-

diphenyl-2-picrylhydrazyl radical. Chem. Pharm. Bull. 37 : 1919-1921.

**Yu R, Park SA, Chung DK, Nam HS, Shin ZI** (1996) Effect of soybean hydrolysate on hypertention in spontaneously hypertensive rats. J. Korean Soc. Food Sci. Nutr. 25 : 1031-1036.

**Zhang D, Yasuda T, Yu Y, Zheng P, Kawabata T, Ma Y, Okada S** (1996) Ginseng extracts scavenges hydroxyl radical and protects unsaturated fatty acids from decomposition caused by iron-medicated lipid peroxidation. Free Radical Biology & Medicine 20 : 145-150.

**康秉秀, 高雲彩, 金先熙, 盧昇鉉, 宋昊埈, 辛民敎, 安德均, 李尙仁, 李暎鍾, 李糠熙 朱榮丞** (1991) 本草學, 永林社, 531-533.