

瓊玉膏의 성분 분석 및 추출물별 抗酸化 효능 비교

이소연#, 신유정, 박종혁, 김승모, 박치상*

대구의대학교 한의과대학 내과학교실

An Analysis of the *Gyungokgo*'s Ingredients and a Comparison Study on Anti-oxidation Effects According to the Kinds of Extract

So Yeon Lee[#], Yoo Jeong Shin, Jong Hyuk Park, Seung Mo Kim, Chi Sang Park^{*}

Dept. of Internal Medicine, College of Oriental Medicine, Daegu-Haany University

ABSTRACT

Objectives : To estimate the value of the *Gyungokgo* as therapeutic agent preventing against aging with an analysis of the ingredients and the bio-activating effects by enzymologic methods.

Methods : A quantitative analysis of general ingredients' of the *Gyungokgo*'s extract was done first. The effects on electronic donating ability, SOD-like activity, nitric oxide inhibition, xanthine oxidase inhibition, whitening effect have been investigated in the physiological activity measurement of function experiment.

Results : The contained hydrolyzed amino acid is Valine, Aspartic acid, Arginine, Isoleucine and the contained free amino acid is Arginine, Phenylalanine, Valine, Glycine. The derivative of free amino acid is Phosphoserine, Carnocine, γ -Aminoisobutyric acid. And the *Gyungokgo* contains 14 species of minerals, K>Na>Ca>Mg>Fe>Al>Mn. Then, to assure of the *Gyungokgo*'s anti-oxidation, these following subjects -polyphenol, electronic donating ability, SOD-like activity, nitric oxide inhibition, xanthine oxidase inhibition, tyrosinase inhibition- are analyzed and show high activity especially the most in chloroform extracts. (every ingredients written by the order of high amount)

Conclusions : The *Gyungokgo* contains many materials functioning as anti-oxidation, neurotransmitter, anti-fatigue and immune agent.

Key words : *Gyungokgo*, ingredients, anti-oxidation

緒 論

瓊玉膏는宋代 洪遵의 《洪氏經驗方》¹⁾에서 “養陰潤肺 治虛勞乾咳 咽燥咯血”이라고 언급된 이래 養

性延年하는 대표 처방으로 자주 활용되고 있다. 《東醫寶鑑》²⁾에는 瓊玉膏의 효능에 대하여 “填精, 補髓, 調眞養性, 返老, 還童하며, 百損을 補하고 百病을 제거하며, 萬神이 모두 足하고 五臟을 充溢하게 하여

* 교신저자 : 박치상, 대구시 수성구 상동 대구한의대학교 부속 대구한방병원 내과학교실

· Tel : 053-770-2105 · E-mail : 2nae2@hanmail.net

제1저자 : 이소연, 대구시 수성구 상동 대구한의대학교 부속 대구한방병원 내과학교실

· Tel : 016-539-9256 · E-mail : thdus337@hanmail.net

· 접수 : 2008년 5월 17일 · 수정 : 2008년 6월 19일 · 채택 : 2008년 6월 20일

白髮을 검게 하고, 落齒가 다시 나며 奔馬처럼 달리게 한다"라고 기재되어 있다.

이러한 문헌적 자료에 기초하여 瓊玉膏의 약리 활성에 대한 연구가 활발히 진행되고 있다. 현재까지 瓊玉膏에 대한 실험적 연구로 이 등³⁻⁴⁾의 瓊玉膏와 瓊玉膏加味方의 면역활성에 관한 연구와 瓊玉膏 및 瓊玉膏加味方이 폐암에 미치는 영향에 관한 연구 그리고 신 등⁵⁾의 산화적 손상으로 유발된 심근세포 고사에 瓊玉膏의 방어효과에 대한 연구 등이 있었다. 이러한 다양한 연구가 있었지만, 瓊玉膏의 성분 분석에 대한 연구는 아직 접하지 못하였다.

한편 현대 의학에서는 노화나 암 유발뿐만 아니라 성인병 및 각종 급만성 질환의 장애인자로서 생체 내에서 생기는 free radical에 많은 관심이 집중되고 있다⁶⁾. 이는 생체에 흡입되어진 산소의 일부가 superoxide, 과산화수소 및 hydroxyl radical 등과 같은 활성산소 free radical로 변환되어 지질의 과산화반응이 진행되고, 지질의 산화가 유발되면 세포막의 파괴, 세포의 노화, 세포의 괴사 등이 나타난다고 보는 것이다⁷⁾. 현재 이러한 이론적 배경으로 과산화지질의 생성을 억제하기 위한 항산화제 및 이들 활성산소를 제거시킬 수 있는 방법 등이 많이 연구되고 있다.

이에 저자는 養性延年의 효능이 있는 瓊玉膏의 성분을 분석하여 아미노산, 아미노산 유도체, 무기질 등에서 유용한 성분을 확인할 수 있었고, 이러한 성분을 토대로 항산화 작용을 규명하기 위하여 다양한 추출물을 통한 효소학적 측면의 생리활성 효과를 분석하여 유의성 있는 결과를 얻었기에 보고하는 바이다.

實 驗

1. 材料

1) 試料의 調製

실험에 사용된 약재는 대구한의대학교 부속대구한방병원에서 구입하여 정선한 것으로 사용하였고, 瓊玉膏(Gyungokgo)의 처방내용과 제조방법은 허준의 《東醫寶鑑》²⁾에 의거하였으며, 내용과 분량은 Table 1과 같다.

2) 試藥 및 機器

실험에 사용된 시약 중 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH), Pyrogallol, Xanthine, Xanthine oxidase, Mushroom tyrosinase, L-3,4-dihydroxyphenyl-alanine

Table 1. Composition of Gyungokgo

Herbs	Pharmacological Name	Dose(g)
生地黄	Rehmanniae Rhizoma	9,600
人參	Ginseng Radix	960
白茯苓	Hoelen Alba	1,920
蜂 蜜	Mel	6,000
Total amount		18,480

(L-DOPA), Griess reagent는 Sigma chemical Co(USA)에서, Sodium nitrite는 Junsei chemical Co(Japan)에서 구입하여 사용하였다.

실험에 사용된 기기는 Spectrophotometer(Hitachi U-2001, Japan), Amino acid analyzer(Pharmacia Chrom 20, Sweden), Inductively coupled plasma spectrometer (Throme, USA), Microwave digestion system (ETHOS-1600, Italy) 등 이었다.

2. 方法

1) 일반 성분의 분석

(1) 수분 정량

시료의 수분(moisture) 정량은 상압가열건조법에 따라 시료를 넣고 105°C dry oven에서 일정시간 가열하고 desiccator에서 방냉하는 방법⁸⁾으로 抗량을 구하여 측정하였다.

$$\text{수분}(\%) = \frac{W_1 - W_2}{W_1 - W_0} \times 100$$

W_0 : 抗량이 된 秤量瓶(칭량병)의 중량(g)

W_1 : 抗량이 된 秤量瓶과 시료의 중량(g)

W_2 : W_1 을 건조하여 抗량이 되었을 때의 중량(g)

(2) 조지방 정량

조지방(crude fat)의 함량은 Folch의 방법⁹⁾에 의해 시료 50g에 chloroform-methanol 혼합용액(1 : 1) 100mL를 가하여 상온에서 magnetic stirrer로 교반하면서 4시간 추출, 분액하여 맑은 용액을 취하여 100mL 용량 flask에 chloroform을 첨가하여 定容한 후 5mL를 취해서 수분측정기로 측정하였다.

(3) 조단백질 정량

조단백질(crude protein)의 함량은 식품공전에 따라 Kjeldahl법으로 측정하여 질소-단백질 환산계수를 곱하여 산출하였다.

$$\text{조단백질(\%)} = \frac{0.0014 \times (V_0 - V_1) \times F \times D \times N}{S} \times 100$$

V_0 : 공시험의 0.1N-NaOH 용액의 적정 소비량 (mL)

V_1 : 본시험의 0.1N-NaOH 용액의 적정 소비량 (mL)

F : 0.1N-NaOH 표준용액의 역가

D : 회석배수

N : 질소계수(6.25)

S : 시료의 채취량(g)

0.0014 : 0.1N-NaOH 1mL에 상당하는 N량(g)

(4) 조회분 정량

회분은 Association of Official Analytical Chemists (이하 AOAC)에 준하여 직접회화법¹⁰⁾으로 抗량을 알고 있는 도가니에 일정량의 시료를 취하여 550~600°C의 灰化爐에서 5~6시간 灰化하고 desiccator에서 일정 시간 방냉하여 抗량을 구하여 灰化 전후의 抗量差로써 조회분량을 산출하였다.

$$\text{조회분(\%)} = \frac{W_2 - W_0}{W_1 - W_0} \times 100$$

W_0 : 抗량으로 된 灰化 용기의 중량(g)

W_1 : 灰化 전 灰化 용기와 시료의 중량(g)

W_2 : 灰化 후 灰化 용기와 재의 중량(g)

2) 환원당 정량

환원당(reducing sugar) 함량은 시료 50g을 증류수 200mL를 가하여 마쇄한 후 원심분리(3,000rpm/10min)하여 상층액만 filter paper(Whatman No. 5)로 흡입 여과한 뒤 250mL로 定容하였다. 이것을 시료액으로 하여 Somogyi-Nelson방법¹¹⁾에 의해 A액(무수 Na_2HPO_4 25g, Rochell염 25g, Na_2HCO_3 20g, 무수 Na_2SO_4 를 증류수 1L에 용해한 액)과 B액($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 30g과 4방울의 진한 황산을 첨가한 증류수 200mL에 용해한 액)을 25 : 1로 혼합한 액을 0.5mL 첨가해서 20분간 가열, 냉각하였다. 그런 다음 C액(Ammonium molybdate $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ 25g을 진한 황산 21mL를 포함하는 증류수 450mL에 용해한 다음 sodium biselenate($\text{Na}_2\text{HAsO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$) 3g을 증류수 25mL에 용해시켜 500mL로 定容한 후 37°C에서 하루밤 방치한 액)을 0.5mL 첨가해서 실온에 방치 후 증류수 5mL를 혼합해서 520nm에서 흡광도를 측정하고, glucose 검량선에 의해 glucose의 함량을 산출하여 환원당 함량으로 나타내었다.

3) 수용성 단백질 정량

수용성 단백질(soluble protein) 함량은 시료 50g에 증류수 200mL를 가하여 마쇄한 후 원심분리(3,000 rpm 10min)하여 상층액만 filter paper(Whatman No. 5)로 흡입 여과한 뒤 250mL로 定容하였다. 이것을 시료액으로 하여 Lowry 등의 방법¹²⁾에 의해 0.2mL에 A액(0.1N NaOH 용액에 녹인 2% Na_2CO_3 용액)과 B액(1% potassium sodium tartarate 용액에 녹인 0.5% CuSO_4 용액)을 50 : 1로 섞은 혼합용액 1mL를 가하여 실온에서 10분간 반응시켰다. 그런 다음 folin reagent 0.1mL를 가해 실온에서 다시 30분간 반응시킨 후 750nm에서 흡광도를 측정하고, 혈청 알부민으로 검량선을 작성하여 검량선에 의해 단백질의 함량을 산출한 후 단백질 함량으로 나타내었다.

4) 구성 아미노산 및 유리 아미노산 정량

구성 아미노산은 Yun 등의 방법¹³⁾에 의해 가수분해관에 시료 50mg과 6N HCl 용액 10mL를 주입하여 탈기, 밀봉한 뒤 105°C에서 24시간 동안 가수분해하고 여과, 농축하여 citrate buffer로 재용해한 후 아미노산 자동분석기를 사용하여 분석하였다. 유리 아미노산은 일정량의 시료를 증류수를 가하여 유리 아미노산을 추출한 것을 분석용 시료로 사용하여 분석용 column(Lithium High Resolution Peek)이 부착된 아미노산 자동분석기를 사용하여 분석하였다. 이때 buffer system은 lithium citrate system이었고, 분석 조건은 Table 2와 같다.

Table 2. Analytical Conditions of Amino Acids Autoanalyzer for Free Amino Acids Analysis

Items	Conditions
Column	Lithium High Resolution Peek
Flow rate	20mL/hr, ninhydrin 25mL/hr
Buffer change	pH 2.8~3.5
Column temp.	35~80°C
Reaction temp.	135°C
Analyzing time	180min
Injection vol.	20μL

5) 무기질 정량

무기질(mineral) 함량은 습식 분해법을 이용하여 시료 0.5g에 65%의 HNO_3 6mL와 30% H_2O_2 1mL를 teflon bottle에 담은 후 이를 전처리 시험용액으로 사용하였다. 전처리 방법으로는 microwave digestion

system을 이용하여 최고 600W로 총 20분간 산분해를 실시하였다. 전처리 과정을 거친 시료용액을 0.45 μm filter로 여과하여 분석시료로 사용하였다. 무기질 정량은 Inductively coupled plasma spectrometer를 사용하여 분석하였으며, 분석조건은 Table 3과 같다. 모든 시약과 증류수는 무기질 분석용을 사용하였다.

Table 3. Analytical Conditions of Inductively Coupled Plasma Spectrometer for Minerals Analysis

Items	Conditions	Element	Wave length(nm)
		Li	670.784
		Na	589.592
		Mg	279.553
		Al	394.401
Sample flush time	30 sec	K	766.491
Flush pump rate	2.03 ml/min	Ca	393.366
Analysis pump rate	2.03 ml/min	Cr	283.553
Pump relaxation time	5 sec	Mn	257.610
Pump tubing type	Tygon-Orange	Fe	259.940
RF power	1150 W	Co	228.616
Nebulizer flow	20.1 PSI	Ni	221.647
		Cu	224.700
		Zn	213.856
		Ge	209.426
		Se	196.090

6) 한약재 추출물의 제조

(1) 물 추출물

물 추출물(water extract)은 수직으로 환류냉각관을 부착시킨 둥근 플라스크에 시료 40g당 10배에 해당하는 증류수를 넣고 80°C의 수욕상에서 3시간 동안 추출한 후 추출액을 filter paper(Whatman No. 5)로 여과하였다. 남은 잔사를 위와 같은 방법으로 2회 더 추출하여 모은 각 추출액을 감압농축하여, 동결건조기(freeze dryer)로 동결건조하여 시료로 사용하였다.

(2) 에탄올 추출물

에탄올 추출물(ethanol extract)은 수직으로 환류냉각관을 부착시킨 둥근 플라스크에 시료 40g당 10배에 해당하는 70% ethanol를 넣고 70°C의 수욕상에서 3시간 동안 추출한 후 추출액을 filter paper (Whatman No. 5)로 여과하였다. 남은 잔사를 위와 같은 방법으로 2회 더 추출하여 모은 각 추출액을 감압농축하여, 동결건조기(freeze dryer)로 동결건조하여 시료로 사용하였다.

(3) 클로로포름 추출물

클로로포름 추출물(chloroform extract)은 수직으로 환류냉각관을 부착시킨 둥근 플라스크에 시료 40g당 10배에 해당하는 70% chloroform을 넣고 70°C의 수욕상에서 3시간 동안 추출한 후 추출액을

filter paper(Whatman No. 5)로 여과하였다. 남은 잔사를 위와 같은 방법으로 2회 더 추출하여 모은 각 추출액을 감압농축하여, 동결건조기(freeze dryer)로 동결건조하여 시료로 사용하였다.

7) 추출물의 polyphenol 정량

Polyphenol 화합물의 함량은 Folin-Denis법¹⁴⁾으로 측정하였다. 즉 추출물을 10mg/mL 농도로 증류수에 녹인 다음 0.2mL를 시험관에 취하고 증류수를 가하여 2mL로 만든 후, 여기에 0.2mL Folin-ciocalteu's phenol reagent를 첨가하여 잘 혼합한 후 3분간 실온에 방치하였다. 정확히 3분 후 Na_2CO_3 포화용액 0.4 mL를 가하여 혼합하고 증류수를 첨가하여 4mL로 만든 후 실온에서 1시간 방치하여 上澄液을 725nm에서 흡광도를 측정하였다. 이때 총 polyphenol 화합물은 tannic acid를 이용하여 작성한 표준곡선으로부터 함량을 구하였다. 표준곡선은 tannic acid를 10 mg/mL의 농도로 증류수에 녹이고, 최종농도가 18.75, 37.5, 75, 150 및 300 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 용액이 되도록 취하여 위와 같은 방법으로 725nm에서 흡광도를 측정하여 작성하였다.

8) 추출물의 항산화성 측정

(1) 전자공여능 측정

한약재 추출물의 전자공여능은 Blois의 방법¹⁵⁾에 준하여 각 시료의 1,1-diphenyl-2-picryl hydrazyl(이하 DPPH)에 대한 전자공여 효과로써 시료의 환원력을 측정하였다. 즉 각 추출물을 농도별로 제조한 시료 1 mL에 0.4 mM DPPH 용액 0.5 mL를 가하고, 10초간 vortex mixing 후 37°C에서 30분간 반응시킨 다음 이 반응액을 분광광도계를 사용하여 517 nm에서 흡광도를 측정하였다.

$$\text{DPPH radical inhibition(\%)} = 100 - [(A-B)/C \times 100]$$

A : 시료 첨가군의 흡광도

B : Blank의 흡광도

C : 시료 무첨가군의 흡광도

(2) SOD(Superoxide dismutase) 유사활성 측정

SOD 유사활성 측정은 Marklund의 방법¹⁶⁾에 따라 각 시료 0.2mL에 pH 8.5로 보정된 tris-HCl buffer (50 mM tris[hydroxymethyl] amino-methane + 10mM EDTA) 3mL와 7.2mM pyrogallol 0.2mL를 가하고 25°C에서 10분간 방치 후 1N HCl 1mL로 반응을 정지시킨 후 420nm에서 흡광도를 측정하여 나타내었다. 이때 각 시료 추출물의 농도는 0.1, 0.3, 0.5, 1.0

mg/mL이었다.

$$\text{SOD like activity} = [1 - (S - B/C)] \times 100$$

- S : Sample의 흡광도
- B : Blank의 흡광도
- C : Control의 흡광도

(3) 아질산염 분해작용 측정

아질산염 분해작용은 김 등의 방법¹⁷⁾에 따라 다음과 같이 측정하였다. 즉 1mM의 NaNO₂ 용액 1mL에 1000ppm 농도의 시료를 첨가하고 여기에 0.1 N HCl (pH 1.2)와 0.1 M 구연산 완충용액을 사용하여 반응용액의 pH를 각각 1.2, 3.0, 6.0으로 조정 한 후 반응용액의 부피를 10mL로 하였다. 그리고 37℃에서 1시간 동안 반응시켜 얻은 반응용액을 1mL씩 취하고 여기에 초산용액 5mL를 첨가한 다음 Griess시약 0.5 mL를 가하여 혼합시켜 실온에서 15분간 방치시킨 후 흡수 분광광도계를 사용하여 520 nm에서 흡광도를 측정하여 잔존하는 아질산염의 백분율(%)로 나타내었다. 공시험은 Griess시약 대신 증류수 0.4 mL를 가하여 같은 방법으로 행하였다. pH 1.2에서 각 추출물의 농도에 따른 아질산염 분해작용은 1mM의 NaNO₂ 용액 1mL에 각 농도(0.1, 0.3, 0.5, 1.0 mg/mL)의 瓊玉膏 추출물을 첨가하고, 여기에 0.1 N HCl(pH 1.2)을 사용하여 반응용액의 pH를 1.2로 조정 한 후 반응용액의 부피를 10 mL로 하여 측정하였다.

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

- NSA : 아질산염 소거능
- A : 1mM NaNO₂ 용액에 시료를 첨가하여 1시간 반응시킨 후의 흡광도
- B : 1mM NaNO₂ 용액의 흡광도
- C : 시료추출물의 흡광도

(4) Xanthine oxidase 저해활성 측정

Xanthine oxidase 저해활성 측정은 Stirpe와 Corte의 방법¹⁸⁾에 따라 다음과 같이 측정하였다. 즉 시료용액 0.1mL와 pH7.5의 0.1M potassium phosphate buffer 0.6mL에 2mM xanthine을 녹인 기질액 0.2mL를 첨가하고 0.2unit/mL xanthine oxidase 0.1mL를 가하여 37℃에서 5분간 반응시킨 후 1N HCl 1mL를 가하여 반응을 종료시킨 다음, 반응액 중에 생성된 uric acid를 흡광도 292nm에서 측정하였다. Xanthine oxidase 저해활성은 시료용액의 첨가군과 무첨가군의 흡광도 감소율로 나타내었다.

$$\text{Xanthine oxidase inhibition(\%)} = \left(1 - \frac{\text{반응군의 uric acid 생성량}}{\text{대조군의 uric acid 생성량}}\right) \times 100$$

(5) Tyrosinase 저해활성 측정

Tyrosinase 저해활성 측정은 Yagi 등의 방법¹⁹⁾에 따라 아래와 같이 측정하였다. 즉 시험관에 pH 6.8의 1/15M sodium phosphate buffer 0.5mL에 10mM L-DOPA을 녹인 기질액 0.2mL 및 시료용액 0.1mL를 넣은 혼합액에 110Unit/mL mushroom tyrosinase 0.2mL를 첨가하여 25℃에서 2분간 반응시켜 반응액 중에 생성된 DOPA chrome을 475nm에서 측정하였다. Tyrosinase 저해활성은 시료용액의 첨가군과 무첨가군의 흡광도 감소율로 나타내었다.

$$\text{Xanthine oxidase inhibition(\%)} = \left(1 - \frac{\text{반응군의 DOPA chrome 생성량}}{\text{대조군의 DOPA chrome 생성량}}\right) \times 100$$

성績

1. 일반성분 및 주요성분의 함량

1) 수분, 탄수화물, 조지방, 조단백질 및 조회분 함량

瓊玉膏의 일반성분을 분석한 결과, 수분 함량은 50.64%, 탄수화물은 45.95%, 조지방과 조단백질 함량은 각각 0.51%, 2.38%, 조회분 함량은 0.52%로 나타났다(Table 4).

Table 4. General Components and Contents of *Gyungokgo*

Components	Gyungokgo (%)
Moisture	50.64
Carbohydrate	45.95
Crude lipid	0.51
Crude protein	2.38
Crude ash	0.52

2) 환원당 및 수용성 단백질 함량

瓊玉膏의 환원당 및 수용성 단백질 함량을 분석한 결과, 환원당은 2.86g/100g로 나타났고, 수용성 단백질은 170.10mg/100g으로 나타났다(Table 5).

Table 5. Reducing Sugar and Soluble Protein Contents of *Gyungokgo*

Sample	Gyungokgo
Reducing sugar(g/100g)	2.86
Soluble protein(mg/100g)	170.10

3) 구성 아미노산 및 유리 아미노산 함량

瓊玉膏의 구성 아미노산의 종류 및 함량을 분석한 결과, 총 함량이 81.85mg/100g-dry basis이었으며, 그 중 필수아미노산 총 함량은 35.05mg/100g, 비필수아미노산 총 함량은 46.80mg/100g으로 나타났다. 필수아미노산 중 Valine의 함량이 15.34mg/100g으로 가장 높게 나타났고, 그 다음으로 Isoleucine, Leucine 순으로 높은 함량을 나타내었으며, 비필수아미노산 중에서는 Aspartic acid의 함량이 15.31mg/100g으로 가장 높은 함량을 보였고, 그 다음으로 Arginine, Alanine, Tyrosine 순으로 높은 함량을 나타내었다(Table 6).

Table 6. Contents of Hydrolyzed Amino Acids and Free Amino Acids in the Gyungokgo

Amino acids		hydrolyzed amino acids (mg/100g-dry basis)	free amino acids (mg/100 g-fr.wt)
Essential amino acid	Threonine	1.30	0.12
	Valine	15.34	5.01
	Methionine	tr	0.35
	Isoleucine	12.18	1.20
	Leucine	3.17	1.83
	Phenylalanine	3.06	11.47
	Lysine	tr	1.76
Total essential amino acid		35.05	21.74
Non-essential amino acid	Aspartic acid	15.31	tr
	Serine	0.85	tr
	Glutamic acid	1.50	0.04
	Glycine	2.10	3.87
	Alanine	5.46	0.02
	Cystine	tr	tr
	Tyrosine	4.85	1.09
	Histidine	tr	1.17
	Arginine	12.53	15.52
Proline	4.20	tr	
Total non-essential amino acid		46.80	21.71
Total amino acids		81.85	43.45

tr : trace

또한 瓊玉膏의 유리 아미노산의 종류 및 함량을 분석한 결과, 총 함량이 43.45mg/100g-fr.wt로 나타났고, 그 중 필수아미노산의 함량이 21.74mg/100g, 비필수아미노산의 함량이 21.71mg/100g이었다. 필수아미노산 중에서는 Phenylalanine이 11.47mg/100g으로 가장 높은 함량을 나타내었고, 비필수아미노산 중에서는 Arginine의 함량이 15.52mg/100g으로 가장 높게 나타났다(Table 6).

4) 유리 아미노산 유도체 함량

瓊玉膏의 유리 아미노산 유도체의 종류 및 함량을 분

석한 결과, 유리 아미노산 유도체의 총 함량은 96.21mg/100g-fr.wt를 나타내었고, 그 중 Phosphoserine의 함량이 49.21mg/100g으로 가장 높게 나타났다. 그 다음으로 Carnosine, γ -Aminoisobutyric acid 순으로 높은 함량을 나타내었다(Table 7).

Table 7. Contents of Amino Acid Derivatives in the Gyungokgo (mg/100 g-fr.wt)

Amino acid derivatives	Gyungokgo
Phosphoserine	49.21
Taurine	tr
Phosphoethanolamine	tr
Sarcosine	tr
α -Aminoadipic acid	tr
Citrulline	tr
Cystathionine	5.65
β -alanine	0.87
γ -Aminoisobutyric acid	9.57
Ornithine	0.18
Carnosine	25.00
Hydroxyproline	5.73
Total	96.21

tr : trace

5) 무기질 함량

瓊玉膏의 무기질 함량을 분석한 결과, 총 14종의 무기질이 검출되었으며, 전체 무기질 함량은 303.17mg/100g으로 나타났다. 그 중 K의 함량이 195.47mg/100g으로 가장 높게 나타났고, 다음으로 Na 49.47mg/100g, Ca 25.38mg/100g, Mg 18.64mg/100g 순으로 높은 함량을 나타내었다(Table 8).

Table 8. Mineral Contents of Gyungokgo

Minerals	Gyungokgo(mg/100g)
Li(Lithium)	0.01
Na(Sodium)	49.47
Mg(Magnesium)	18.64
Al(Aluminium)	3.96
K(Potassium)	195.47
Ca(Calcium)	25.38
Cr(Chromium)	0.41
Mn(Manganese)	0.46
Fe(iron)	8.81
Co(Cobalt)	0.01
Ni(Nickel)	0.17
Cu(Copper)	0.08
Zn(Zinc)	0.30
Se(Selenium)	tr
Total	303.17

tr : trace

2. 추출물의 항산화성

1) Polyphenol 함량

瓊玉膏에서 3가지 추출물 즉 물 추출물, 70% 에탄올, 그리고 70% 클로로포름 추출물의 polyphenol 함량을 분석한 결과, 클로로포름 추출물에서 15.00g/100g으로 가장 높게 나타났다. 다음으로 에탄올 추출물에서 11.52g/100g, 물 추출물에서 10.73g/100g 순으로 나타났다(Table 9).

Table 9. Polyphenol Contents of the Extract from *Gyungokgo* (g/100g)

Sample	Polyphenol	
<i>Gyungokgo</i>	Water extract	10.73
	Ethanol extract	11.52
	Chloroform extract	15.00

2) 전자공여능

瓊玉膏의 추출용매별, 농도별에 따른 DPPH에 대한 전자공여능을 측정한 결과, 전체적으로 33.16~95.42%의 높은 전자공여능을 나타내었고, 그 중에서 클로로포름 추출물이 추출용매에 따라서는 가장 우수한 결과를 나타내었다. 추출용매별로 전자공여능이 가장 높게 나타난 농도는 모두 1,000ppm으로 농도가 증가할수록 비례적으로 전자공여능이 높아지는 경향을 나타내었다(Fig. 1).

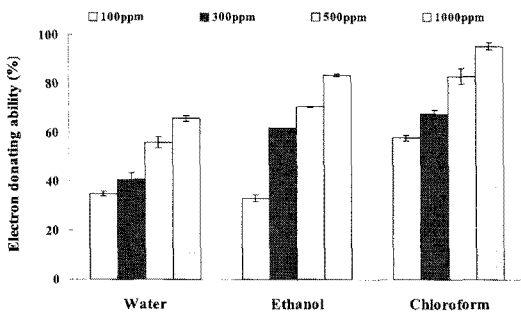


Fig. 1. Electron donating ability of the *Gyungokgo* extract with different solvents

The *Gyungokgo* extract with different solvents have high electron donating ability, especially the highest in chloroform 1000 ppm.

3) SOD 유사활성

산화 방지는 물론 노화 억제와도 밀접한 관계가 있는 것으로 알려져 있는 SOD 유사활성 측정을 위

해 산화효소인 pyrogallol과 瓊玉膏를 반응시켜 측정한 결과, 전체적으로 SOD 유사활성이 22.56~55.08%로 나타났다. 추출용매별로는 클로로포름 추출물이 가장 좋은 활성을 나타내었으며, 농도에 따라서는 300ppm에서 모든 추출용매에서 가장 높은 SOD 유사활성을 나타내어 물 추출물이 44.43%, 에탄올 추출물이 44.17% 그리고 클로로포름 추출물이 가장 높은 55.08%의 활성을 나타내었다(Fig. 2).

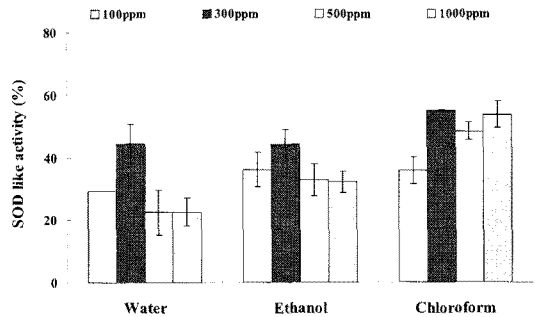


Fig. 2. Superoxide dismutase liked activity of the *Gyungokgo* extract with different solvents

In chloroform 300 ppm, it showed the highest superoxide dismutase liked activity, 55.08%.

4) 아질산염 소거능

瓊玉膏 추출물의 아질산염 소거능을 알아본 결과, pH 1.2에서 추출용매별 큰 차이는 없었으나 클로로포름 추출물이 가장 높은 소거능을 나타내었으며, 농도와 비례하는 소거능을 나타내어 전체적으로 13.76~68.62%의 아질산염 소거능을 나타내었다(Fig. 3).

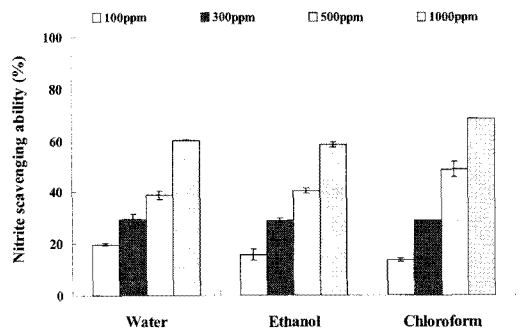


Fig. 3. Nitrite scavenging ability of the *Gyungokgo* extract with different solvents at pH 1.2

At pH 1.2 according the different solvents, it showed no significant different. However chloroform extract showed the highest scavenging ability on its concentration.

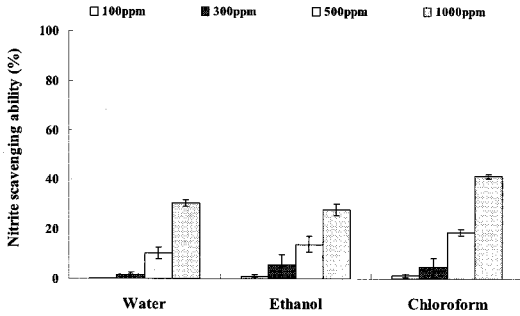


Fig. 4. Nitrite scavenging ability of the *Gyungokgo* extract with different solvents at pH 3.0

At pH 3.0 the best scavenging ability is shown in chloroform. All extracts showed increasing scavenging ability depends on its concentration.

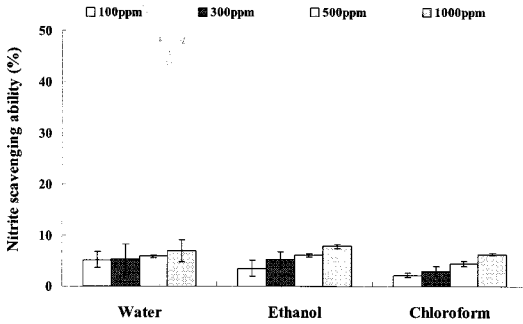


Fig. 5. Nitrite scavenging ability of the *Gyungokgo* extract with different solvents at pH 6.0

At pH 6.0, it showed no significant result.

pH 3.0에서 瓊玉膏의 추출 용매별 및 농도별 아질산염 소거능을 알아 본 결과, pH 1.2에서의 마찬가지로 클로로포름 추출물에서 가장 좋은 소거능을 보여 1,000ppm에서 41.39%로 가장 높게 나타났으며, 모든 추출물에서 농도가 증가할수록 높아지는 소거능을 나타내었다(Fig. 4).

pH 6.0에서의 아질산염 소거능은 瓊玉膏의 각 용매별 추출물에서 그다지 높은 활성을 나타내지 않았다(Fig. 5).

전체적으로 농도가 증가할수록 pH가 낮아질수록 높은 아질산염 소거능을 나타내었고, 특히 瓊玉膏의 클로로포름 추출물에서 높은 소거능이 나타나는 것을 알 수 있었다.

5) Xanthine oxidase 저해활성

瓊玉膏의 xanthine oxidase 저해활성을 확인한 결과, 에탄올 추출물 1,000ppm에서 가장 높은 13.26%

의 저해활성을 확인할 수 있었으나, 전체적으로 낮게 나타났었다(Fig. 6).

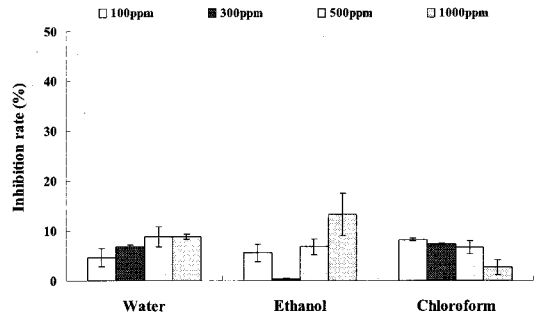


Fig. 6. Inhibition rate of the *Gyungokgo* extract with different solvents on xanthine oxidase

In ethanol 1,000ppm, it showed the highest inhibition ratio(13.26%).

6) Tyrosinase 저해활성

瓊玉膏의 추출 용매와 농도별로 tyrosinase 저해활성을 측정 한 결과, 전체적으로 8.77~47.99%로 나타났으며, 에탄올 및 클로로포름 추출물에서 높은 tyrosinase 저해활성을 나타내었다(Fig. 7).

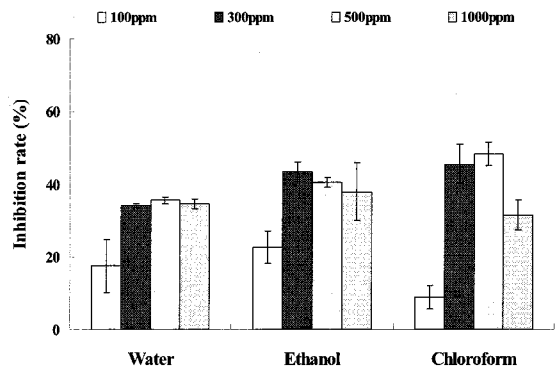


Fig. 7. Inhibition rate of the *Gyungokgo* extract with different solvents on tyrosinase

Mostly it showed high inhibition ration in ethanol and chloroform extracts, but no proportion according concentration.

考 察

최근 들어 생활 수준이 향상되고 인간의 수명이 증가함에 따라 노화 및 노화에 관련된 각종 퇴행성 신경 질환과 심혈관계 등의 질병에 관심이 커지고 있으며, 그 원인이 활성산소에 기인된 것이라는 산소

유해설이 점차 인정받고 있다²⁰⁾.

활성산소는 미토콘드리아내의 전자전달계 및 백혈구 세포의 활성화 등 정상적인 세포기능을 유지하는데 중요한 역할을 담당하는 세포내 신호전달 물질로 작용한다²¹⁾. 이러한 활성산소는 체내 효소계, 환원대사, 물리적 또는 환경적 요인 등에 의해 끊임없이 생성되고 있는 일중항산소(1O_2)나 superoxide, hydroxyl radical과 같은 짝짓지 않은 상태의 free radical과 과산화수소수(H_2O_2) 등으로서 이들은 분자 구조적으로 매우 불안정하기 때문에 고분자의 세포 성분들을 공격하기 쉽게 되어 산화적 스트레스의 환경이 조성된다⁹⁻¹⁰⁾. 즉 이들 활성산소는 단백질, DNA 등에 작용하여 세포 생체막의 구성 성분인 불포화지방산을 공격하여 과산화반응을 일으켜 세포막의 파괴, 세포의 노화와 괴사 등을 진행시켜서, 노화 촉진, 스트레스성 호르몬이나 면역물질의 활성화 감소, 각종 암 등을 유발한다는 보고가 있으며, 질병의 90%가 활성산소에 의해 발생한다고 한다^{6, 8)}.

이와 같이 활성산소는 정상적인 대사과정 중에 생성되어, 생체 구성성분들과 반응하여 산화적 손상을 일으켜 노화를 비롯한 각종 질병을 초래하게 된다. 이 활성산소설에 의하면 연령 증가에 따라 저하되는 활성산소에 대한 방어능력(항산화능)을 증가시켜 준다면 노화를 지연시키고, 각종 질환을 예방하는데 기여할 것이다²²⁾.

한의학에서는 노화를 生, 長, 壯, 老, 死하는 인류생명의 자연법칙으로 인식하였고, 노화의 원인을 나이가 증가함에 따라서 장기간에 걸친 陰陽, 臟腑, 氣血, 經絡, 情志의 변화로 인한 생명의 쇠퇴현상으로 파악하였다²³⁾. 이는 腎臟虧虛, 脾胃虛衰, 心臟虛衰, 肝臟衰憑, 精氣衰竭 및 陰陽失調와 관계되며²⁴⁾, 《靈樞·千年篇》²⁵⁾에는 “五十歲 肝氣始衰, 肝葉始薄, 膽汁始減, 目視不明. 六十歲 心氣始衰 故憂悲, 血氣懈惰, 故好臥. 七十歲 脾氣虛 皮膚枯. 八十歲 肺氣衰 魄離 故言善誤. 九十歲 腎氣焦 四臟經脈空虛. 百歲 五臟皆虛 腎氣皆去 形骸獨居而終矣”라 하여 나이가 들어감에 따라 五臟의 衰弱에 의하여 나타나는 노화현상에 대하여 기술하고 있다. 또한 《素問·上古天真論》²⁶⁾에서는 “天壽過度 氣脈相通而腎氣有餘也”라 하였고, 《醫學正傳》²⁷⁾에서는 “腎元盛則壽延 腎元衰則壽夭”라고 하여 壽命維持에 腎氣가 중요한 역할을 하고 있음을 기술하고 있다²⁸⁾. 노화를 지연하며 수명을 연장하기 위한 여러 방법들로는 養生, 導引, 延年益壽 藥物 등이 제시되고 있으며, 치료의 관점은 補腎益元, 補脾腎, 調心補腎, 補氣虛, 補益化痰, 補益扶

正 등으로 보고 있다²⁹⁾.

瓊玉膏는 延年益壽 藥物 중의 하나로 《東醫寶鑑》²⁾과 《方藥合編》³⁰⁾에 처방과 제법이 수재된 補血強壯劑로서, 人蔘, 生地黃, 白茯苓, 蜂蜜로 구성된 처방이다. 그 효능은 填精補髓, 調真養性, 返老還童하며, 補百損, 除百病하는 작용이 있는 것으로 알려져 있다²⁾. 人蔘은 大補元氣, 補脾益氣, 寧心益智, 生津하는 효능이 있으며, 生地黃은 清熱涼血, 滋陰生血하는 효능이 있다. 白茯苓은 健脾補中, 利水滲濕, 寧心安神하는 효능이 있으며, 蜂蜜는 補中潤燥, 滋養緩和시키는 효능이 있다³¹⁾.

본 방의 구성 약물들에 대한 연구 보고를 살펴보면, 人蔘의 주요 약효성분으로 배당체 성분인 30여 종 이상의 ginsenosides를 비롯하여 비사포닌계의 생리활성물질로 polyacetylenes, phenolic compounds, acidic polysaccharides, peptides, alkaloids, amino acids 유도체 등이 발견되었고, 기타 성분으로 volatile oil, sugar, starch, pectins, minerals 등이 함유되어 있다고 보고되고 있다³²⁾. 人蔘의 효능에 관한 연구로는 혈당조절 효과, 항암효과, 항스트레스 및 항피로 효과, 항산화 활성 및 면역 활성 효과, 총 콜레스테롤과 LDL 콜레스테롤 및 중성지방의 함량 감소, 혈소판 점착능의 저하와 HDL 콜레스테롤의 증가 효과에 대한 보고가 있다³³⁾. 地黃의 성분으로는 iridoid로서 rehmaglucin A, B, C 및 D, iridoid 배당체로서 catalpol, aucubin, leonuride, melittoside, rehmannioside A, B, C 및 D 등, riffinose, manninotriose 등 당류, lysine, histidine 등 아미노산과 β -sitosterol과 stigmasterol 등이 알려져 있다³¹⁾. 地黃의 약리작용에 대한 연구로는 혈당강하 효과, 혈압상승, 강심, 이노 작용, 면역조절 작용, 진균에 대한 항균 작용 등이 있음이 보고되었다³⁴⁾. 茯苓의 성분은 복령다당체(pachyman)가 가장 많으며, 이 외 미량성분으로 pachymic acid, tumulosic acid, dehydrotumulosic acid, ergosterol, eburicoic acid, dehydroeburicoic acid, trametenolic acid 등이 보고되고 있다³¹⁾. 茯苓의 약리작용에 대한 연구로는 혈당강하 작용, 항종양 활성, 항구토, 항염증, 항피부암 등의 효과가 있는 것으로 보고되었다³⁵⁾. 蜂蜜의 성분은 fructose와 glucose가 약 70%이고, 소량의 sucrose, maltose, dextrin, gum과 질소화합물, organic acid, essential oils, yeast, enzymes, 무기염 등이 있고, 약리작용으로는 항균 활성에 대한 연구가 많이 보고되고 있다³¹⁾. 이로써 瓊玉膏를 구성하는 4가지 약제의 약리적 작용은 혈당강하 작용, 항암 및 항산화 작용, 면역활성 작용, 항균 작용이 공통적으로 있음을 알

수 있었다.

瓊玉膏에 대한 실험적 연구로 이 등³⁻⁴⁾은 대식세포에서의 nitric oxide 생성능과 TNF- α 의 생성능을 측정하여 瓊玉膏가 면역활성에 효과가 있다고 보고하였고, 또한 3LL 암세포를 이식한 마우스에서 항암 효과가 있다고 보고하였다. 그리고 신 등⁵⁾은 H₂O₂의 산화적 손상으로 유도된 심근세포의 죽음에 대하여 瓊玉膏가 DNA 분절 및 세포고사성 단백질의 발현 조절을 통하여 H₂O₂에 의한 직접적인 산화적 손상을 방어하는 기작이 있음을 보고하였고, 황 등³⁶⁾은 瓊玉膏가 혈당강하, 혈청 중의 총 cholesterol 및 총 triglyceride치의 감소, 혈압강하, 지구력 및 체중감소에 용량 의존적으로 효과가 있는 것으로 보고하였다.

이러한 瓊玉膏에 대한 효능 연구와 개별 구성 약물의 성분과 약리 작용에 대한 다양한 연구가 있었지만, 瓊玉膏 복합 약물의 성분 분석에 대한 연구는 아직 접하지 못하였다. 이에 저자는 瓊玉膏의 성분을 평가하기 위하여 수분, 탄수화물, 조지방, 조단백질, 조회분 등의 일반성분의 함량과 환원당, 수용성 단백질, 아미노산 그리고 무기질 등의 영양성분 함량을 분석하였다. 또한 항산화성을 규명하기 위하여 물, 에탄올 그리고 클로로포름을 용매로 瓊玉膏의 수용성 및 중성 그리고 지용성 성분을 추출하여 polyphenol 함량, 전자공여능, SOD 유사활성, 아질산염 소거능, xanthine oxidase 저해 활성 그리고 tyrosinase 저해 활성을 분석하였다.

먼저 瓊玉膏의 일반성분을 분석한 결과, 수분 함량은 50.64%, 탄수화물은 45.95%, 조지방과 조단백질 함량은 각각 0.51%, 2.38%, 조회분 함량은 0.52%로 수분 함량이 가장 높게 나타났다. 그리고 瓊玉膏의 환원당 및 수용성 단백질 함량은 각각 2.86g/100g과 170.10mg/100g으로 나타났고, 구성 아미노산과 유리 아미노산의 총 함량은 각각 81.85mg/100g-dry basis와 43.45mg/100g-fr.wt로 나타났다. 구성 아미노산에서는 Valine의 함량이 15.34mg/100g으로 가장 높게 나타났고, 다음으로 Aspartic acid, Arginine, Isoleucine 순으로 높은 함량을 나타내었다. 또한 유리 아미노산에서는 Arginine이 15.52mg/100g으로 가장 높은 함량을 나타내었고, 다음으로 Phenylalanine, Valine, Glycine 순으로 높은 함량을 나타내었다. Valine은 정신의 활력, 운동 후 근육의 회복, 새로운 조직의 성장과 상처를 치료하는 작용이 있다³⁷⁾. Arginine은 성장 호르몬의 분비 촉진, 혈압조절 작용, 암세포 증식 억제 작용, 면역 반응 향상 등이 있으며, 특히 유지에 첨가시 항산화 활성이 증가될 뿐만 아니라

softening과 유효성이 증가하여 항산화성도 우수한 것으로 알려진 아미노산으로³⁸⁾ 瓊玉膏의 항산화 작용에 효능을 나타낼 것으로 생각된다. 그리고 Aspartic acid는 몸의 피로를 방지하고, 면역 글로블린과 항체를 생산하여 면역계를 보호하고, 과량의 암모니아와 혈류의 독소를 제거하여 간과 중추신경계의 손상을 방지하는 작용이 있다³⁹⁾. 이러한 아미노산의 작용으로 瓊玉膏가 면역 활성화에 효과가 있었다는 이³⁾의 연구 결과를 뒷받침할 수 있을 것으로 생각된다. Phenylalanine은 뇌와 신경세포의 신경전달 물질인 norepinephrine을 생산하여 활동적인 사고와 기억력과 학습력을 향상시키는 작용과 식욕 감퇴의 작용이 있으며⁴⁰⁾, isoleucine은 혈당과 에너지를 유지 및 조절하는 작용이 있다⁴¹⁾. 이러한 아미노산의 작용으로 瓊玉膏가 혈당강하, 체중감소에 효과가 있었다는 황³⁶⁾의 연구 결과를 뒷받침할 수 있을 것으로 생각된다.

瓊玉膏의 유리 아미노산 유도체의 총 함량은 96.21mg/100g-fr.wt로 나타났고, 그 중 phosphoserine의 함량이 49.21mg/100g으로 가장 높게 나타났고, 그 다음으로 carnosine, γ -Aminoisobutyric acid 순으로 높은 함량을 나타내었다. 이 중 carnosine는 뇌허혈에서 활성산소종을 감소시키고, 항산화 활성의 작용이 있으므로⁴²⁾, 瓊玉膏에서의 항산화 작용을 기대할 수 있을 것으로 생각된다.

그리고 瓊玉膏의 무기질 함량을 분석한 결과, 총 14종의 무기질이 검출되었으며, 전체 무기질 함량은 303.17mg/100g으로 나타났다. 그 중 K의 함량이 195.47mg/100g으로 가장 높게 나타났고, 다음으로 Na 49.47mg/100g, Ca 25.38mg/100g, Mg 18.64mg/100g 순으로 높은 함량을 나타내었다. 그러나 이들 무기질의 1일 권장량이 K 4.7g, Na 1.5g, Ca 700~800mg, Mg 280~350mg인 것과 비교하면 Mg의 함량이 상대적으로 높게 나타난 것을 알 수 있었다. Mg은 골격과 치아의 구성성분으로 여러 효소의 보조인자나 활성제로 작용하고 에너지 대사에 관여한다⁴³⁾. 항산화성을 기대할 수 있는 무기질은 Fe, Mn, Zn, Se, Cu 등으로 이들은 하루 필요량이 매우 소량(100mg 이하)이며, 체내에 존재하는 전체 무기질 중에서 1%이하로 존재하는 미량무기질에 속한다⁴³⁾. 瓊玉膏에서는 Fe 8.81mg/100g, Mn 0.46mg/100g, Zn 0.30mg/100g, Cu 0.08mg/100g으로 나타났다. 이들 무기질의 1일 권장량은 Fe 10~14mg, Mn 3.0~3.5mg, Zn 8~9mg, Cu 800~900 μ g으로⁴³⁾ Fe의 함량이 상대적으로 높게 나타남을 알 수 있었다. Fe은 H₂O₂를 제거하는 catalase의 구성 성분으로 작용하여

체내에서 항산화 작용을 나타내고, 결합조직을 보전하고 면역계를 유지시키며 여러 신경 전달 물질을 생산, 조절하고 산화제에 의한 손상으로부터 보호작용을 하는 두 구성 성분인 콜라겐과 엘라스틴 생성에 중요한 역할을 한다⁴⁴⁾.

다음으로 瓊玉膏의 항산화성을 확인하기 위하여 먼저 瓊玉膏에서 3가지 추출물 즉 물 추출물, 70% 에탄올, 그리고 70% 클로로포름 추출물의 polyphenol 함량을 분석한 결과, 각각 10.73g/100g, 11.52g/100g, 15.00g/100g으로 나타났다. Phenol성 물질은 단백질 및 기타 거대 분자들과 결합하는 성질이 있어 항산화, 항미생물 활성 효과 등의 생리활성 기능을 가지는데⁴⁵⁾, 瓊玉膏에서는 클로로포름 추출물에서 polyphenol 함량이 가장 높게 나타남을 알 수 있었다.

瓊玉膏의 추출 용매별, 농도별에 따른 DPPH에 대한 전자공여능을 측정된 결과, 전체적으로 33.16~95.42%의 높은 전자공여능을 나타내었고, 그 중 클로로포름 추출물에서 가장 우수한 결과를 나타내었다. 추출 용매별로 모두 농도가 증가할수록 비례적으로 전자공여능이 높아지는 경향을 나타내어, 1,000 ppm에서 물 추출물이 65.88%, 에탄올 추출물이 83.46%, 클로로포름 추출물이 95.42%로 가장 높게 나타났다. 이것은 Jung 등⁴⁶⁾의 연구결과에서 1,000 ppm일 때 박하 87.7%, 비파엽 84.9%, 초과 82.9%보다 높은 효과를 나타냄을 알 수 있었다. 전자공여능 측정에 사용된 DPPH는 ascorbic acid, 토코페롤, 방향족 화합물, 방향족 아민류에 의하여 환원되어 짙은 자색이 탈색됨으로써 전자공여능의 측정이 가능하다⁴⁷⁾. 따라서 이러한 radical을 환원시키거나 상쇄시키는 능력이 크면 높은 항산화 활성 및 활성 산소를 비롯한 다른 radical에 대한 소거 작용을 기대할 수 있으며, 瓊玉膏의 각 추출물에서 전체적으로 높은 전자공여능이 나타났으나, 특히 클로로포름 추출물 1,000ppm에서 가장 높게 나타남을 알 수 있었다.

산화 방지는 물론 노화 억제와도 밀접한 관계가 있는 것으로 알려져 있는 SOD 유사활성 측정을 위해 산화효소인 pyrogallol과 瓊玉膏를 반응시켜 측정된 결과, 각 추출물에서 전체적으로 SOD 유사활성이 22.56~55.08%로 나타났다. 추출 용매별로는 클로로포름 추출물이 가장 좋은 활성을 나타내었으며, 농도에 따라서는 300ppm에서 모든 추출 용매에서 가장 높은 SOD 유사활성을 나타내어 물 추출물이 44.43%, 에탄올 추출물이 44.17% 그리고 클로로포름 추출물이 가장 높은 55.08%의 활성을 나타내었다. 이것은 An 등⁴⁸⁾의 연구에서 산사자나무 열매의 에탄올

및 열수 추출물의 SOD 유사활성이 19.6%와 24.5%로 나타난 것보다 높게 나타남을 알 수 있었다. SOD는 항산화 효소로서 세포에 해로운 환원 산소종을 과산화수소로 전환 시키는 반응($2O_2 + 2H \rightarrow H_2O_2 + O_2$)을 촉매하는 효소이며, SOD에 의해 생성된 H₂O₂는 peroxidase나 catalase에 의하여 무해한 물분자와 산소분자로 전환시켜 산소 상해로부터 생체를 보호하는 기능으로 알려져 있다⁴⁹⁾. 이러한 SOD는 30KDa 이상의 분자량을 가진 단백질 물질로 체내에 쉽게 흡수되지 못하고 체외로 배출되며, 열과 pH에 불안정하다⁵⁰⁾. 이에 SOD와 유사한 활성을 가지면서 SOD의 단점을 보완할 수 있는 SOD 유사활성 물질에 대한 연구가 활발하며, 瓊玉膏의 추출 용매별로는 클로로포름 추출물 300ppm에서 55.09%로 가장 높은 활성을 나타냄을 알 수 있었다.

Nitrosamine은 체내에서 diazoalkane(C_nH_{2n}N₂)으로 변화하여 핵산이나 단백질 또는 세포내의 성분을 alkyl화함으로써 암을 유발한다고 하며, 또한 아질산염은 그 자신이 독성을 갖고 있기 때문에 일정한 농도 이상 계속 섭취시 혈액 중의 헤모글로빈을 산화시켜 메트헤모글로빈증(methemoglobinemia)을 유발한다⁵¹⁾. 따라서 瓊玉膏 추출물에서 아질산염 소거능을 알아본 결과, pH 1.2에서 추출용매별 큰 차이는 없었으나 클로로포름 추출물이 가장 높은 소거능을 나타내었으며, 농도와 비례하는 소거능을 나타내어 전체적으로 13.76~68.62%의 아질산염 소거능을 나타내었다. pH 3.0에서도 클로로포름 추출물에서 가장 좋은 소거능을 보여 1,000ppm에서 41.39%로 가장 높게 나타났으며, 모든 추출물에서 농도가 증가할수록 높아지는 소거능을 나타내었다. 그러나 pH 6.0에서는 瓊玉膏의 각 용매별 추출물에서 그다지 높은 활성을 나타내지 않았다. 전체적으로 농도가 증가할수록 pH가 낮아질수록 높은 아질산염 소거능을 나타내었고, 특히 瓊玉膏의 클로로포름 추출물에서 높은 소거능이 나타나는 것을 알 수 있었다.

Xanthine oxidase는 xanthine을 기질로 하여 uric acid를 생성하는 과정에서 superoxide radical을 생성하는 효소이다⁵²⁾. 생체내 유리기 생성계의 하나인 xanthine oxidase는 purine, pyrimidine, pteridine, aldehyde류 및 heterocyclic compound 등의 대사에 관여하는 비특이적 효소로서 생체 내에서는 주로 purine체의 대사 산물인 hypoxanthine을 xanthine으로, xanthine을 다시 산화시켜 uric acid를 생성하는 반응의 촉매로 작용한다⁵³⁾. 따라서 瓊玉膏에서 xanthine oxidase 저해활성을 확인한 결과, 에탄올 추출물 1,000ppm에서 가장

높은 13.26%의 저해활성을 확인할 수 있었으나, 전체적으로 낮게 나타났다.

피부가 자외선에 노출되면 tyrosinase의 작용으로 melanosome에서 멜라닌이 합성되어 피부 노화가 촉진되며, 이때 free radical이 생성되어 노화 및 피부 암을 촉진시키게 된다⁵⁴. 따라서 tyrosinase 활성 억제제는 피부 내에서의 melanin polymer 합성을 효과적으로 저해할 수 있으므로 피부 미백제의 개발에 있어서 tyrosinase 활성 억제 실험은 유용한 평가법으로 인정된다. 瓊玉膏의 추출 용매와 농도별로 tyrosinase 저해활성을 측정된 결과, 전체적으로 8.77~47.99%로 나타났으며, 농도별 비례관계는 없었다. 대체로 에탄올 및 클로로포름 추출물에서 높게 나타났으며, 특히 클로로포름 추출물 500ppm에서 47.99%로 가장 높게 나타났다. 瓊玉膏는 이러한 tyrosinase의 활성 억제에 관여하여 피부 노화로 인한 증상에 효과가 있을 것으로 생각된다.

상기 실험 결과들을 통하여 瓊玉膏의 성분을 분석한 결과 아미노산 중 항산화 작용이 있는 Arginine, 몸의 피로를 방지하는 Valine과 Aspartic acid, 혈당 조절 작용이 있는 Phenylalanine과 Isoleusine이 많이 함유되어 있음을 알 수 있었다. 또한 무기질에서 항산화성이 있는 Fe의 함량이 상대적으로 높게 나타남을 알 수 있었다. 그리고 효소학적 측면의 생리활성을 분석한 결과 瓊玉膏의 물, 에탄올, 클로로포름 각 추출물에서 항산화성이 확인되어 노화 및 퇴행성 질환에 효능이 있는 것이 실험적으로 입증되었다.

結 論

瓊玉膏의 효능을 평가하기 위하여 성분 및 효소학적 측면의 생리활성 효과를 분석하여 얻은 실험결과를 다음과 같다.

1. 瓊玉膏의 구성 아미노산의 함량은 Valine이 가장 높게 나타났고, 유리 아미노산의 함량은 Arginine이 가장 높게 나타났다.

2. 瓊玉膏의 유리 아미노산 유도체의 함량은 Phosphoserine이 가장 높게 나타났고, 다음으로 Carnocine, γ -Aminoisobutyric acid 순으로 높게 나타났다.

3. 瓊玉膏의 무기질의 함량을 분석한 결과, 총 14종의 무기질이 검출되었으며, 그 중에서 $K > Na > Ca > Mg > Fe > Al > Mn$ 순으로 높게 나타났다.

4. 瓊玉膏의 추출 용매별 polyphenol 함량을 분석한 결과, 클로로포름 추출물에서 가장 높게 나타났고, 그 다음으로 에탄올 추출물, 물 추출물 순으로 높게 나타났다.

5. 瓊玉膏의 추출 용매별, 농도별 DPPH에 대한 전자공여능을 측정된 결과, 클로로포름 추출물, 에탄올 추출물, 물 추출물 순으로 높게 나타났다.

6. 瓊玉膏의 추출 용매별, 농도별 SOD 유사활성을 측정된 결과, 클로로포름 추출물에서 가장 높게 나타났고, 에탄올 추출물과 물 추출물은 비슷한 정도로 나타났다.

7. 瓊玉膏의 추출 용매별, 농도별 아질산염 소거능을 분석한 결과, 전체적으로 농도가 증가할수록 pH가 낮아질수록 높게 나타났으며, 특히 클로로포름 추출물에서 높은 소거능이 나타났다.

8. 瓊玉膏의 추출 용매별, 농도별 xanthine oxidase 저해활성을 확인한 결과, 전체적으로 낮게 나타났다.

9. 瓊玉膏의 추출 용매별, 농도별 tyrosinase 저해활성을 측정된 결과, 에탄올 및 클로로포름 추출물에서 높은 저해활성을 나타내었다.

이상의 결과를 종합해 보면 瓊玉膏의 성분에는 항산화 작용이 있는 아미노산과 무기질이 함유되어 있으며, 다양한 추출물에서 항산화성이 있음을 알 수 있었다. 따라서 瓊玉膏 추출물은 노화 및 퇴행성 질환에 임상 응용이 가능할 것으로 생각된다.

參考文獻

1. 李經緯. 中醫大辭典. 北京 : 人民衛生出版社. 2004 : 1669.
2. 許俊. 東醫寶鑑. 서울 : 남산당. 1981 : 11.
3. 이은숙, 서부일, 이준우, 배진승. 瓊玉膏와 瓊玉膏 가미방의 면역활성에 관한 연구. 대한본초학회지. 2002 ; 17(2) : 95-100.
4. 이은숙, 서부일, 이준우, 배진승. 瓊玉膏 및 瓊玉膏 가미방이 폐암에 미치는 영향. 대한본초학회지. 2002 ; 17(2) : 101-9.
5. 신선호, 양경석. 산화적 손상으로 유발된 심근세포 고사에 대한 瓊玉膏의 방어효과. 대한한의학회지. 2004 ; 25(3) : 149-59.
6. Kim HJ, Bae JT, Lee JW, Hwangbo MH, Im HG and Lee IS Antioxidant activity and inhibitive

effects on human leukemia cells of edible mushrooms extracts. Korean J Food Preserv. 2005 ; 12 : 80-5.

7. Cha BC, Lee EH and Noh MA. Antioxidant activity of Smilacis Chinae Radix. Korean J Pharmacogn. 2005 ; 36 : 195-200.

8. AOAC. Official Methods for Analysis : 14th ed. Washington DC : Association of Official Analytical Chemists. 1984

9. Stein J and Smith G. Extraction methods : In "Techniques in the Life Sciences" Elsevier North Holl and Sci. Pub Ltd Ireland. 1982 ; B4 : 1, B401 : 1.

10. AOAC. Official Methods for Analysis : 13th ed. Washington DC : Association of Official Analytical Chemists. 1980.

11. Nelson N. A photimetric adoption of the somogyi method for determination of glucose. J Biol Chem. 1944 ; 153 : 375.

12. Lowry OH, Roserbrough NJ, Farr AL and Randall RJ. Protein measurement with the folin phenol reagent. J Biol Chem. 1951 ; 193 : 263.

13. Yun SJ, Kim NY and Jang MS. Free sugars, amino acids, organic acids and minerals of the fruits of paper mulberry(Broussonetia kazinoki Siebold). J Korean Soc Food Nutr. 1994 ; 23(6) : 950-3. .

14. Swain T, Hillis WE and Ortega M. Phenolic constituents of Ptunus domestica. I, Quantitative analysis of phenolic constituents. J Sci Food Agric. 1959 ; 10 : 83-8.

15. Blois MS. Antioxidant determination by the use of a stable free radical. Nature. 1958 ; 181 : 1198-200.

16. Marklund S, Marklund G. Involvement of superoxide amino radical in the oxidation of pyrogallol and a convenient assay for superoxide dismutase. Eur J Biochem. 1975 ; 47 : 468-74.

17. Kim DS, Ahn BW, Yeum DM, Lee DH, Kim SB and Park YH. Degration of carcinogenic nitrosamine formation factor by natural food components. : Nitrite-scavenging effects of vegetable extracts. Bull. Korean Fish Soc. 1987 ; 20(5) : 463-8.

18. Stirpe F and Della Corte E. The regulation

of rat liver xanthine oxidase. Conversion in vitro of the enzyme activity from dehydrogenase(type D) to oxidase(type O). J Biol Chem. 1969 ; 244(14) : 3855-63.

19. Yagi A, Kanbara T and Morinoby N. The effect of tyrosinase inhibition for aloe. Planta Medica. 1986 ; 3981 : 517-9.

20. Lee SO, Lee HJ, Yu MH, Im HG and Lee IS. Total polyphenol contents and antioxidant activities of methanol extracts from vegetables produced in Ulung island. Korean J Food Sci Technol. 2005 ; 37 : 233-40.

21. Shin EM, Kim DH, Kwon YB and Kim YS. Anti-inflammatory and immunomodulatory effects of the botanical product AMP-365TM. Korean J Pharmacogn. 2006 ; 37 : 212-6.

22. 한복기. 노화과정에서 활성산소의 역할. 생명공학동향. 1998 ; 6(2) : 9-14.

23. 두호경. 동의신계학. 서울 : 동양의학연구원. 1993 : 1093-9, 1325-83.

24. 과학백과사전출판사. 자연치료건강학. 서울 : 일월서각. 1990 : 465.

25. 洪元植. 黃帝內經解釋(靈樞). 서울 : 高文社. 1986 : 233-5.

26. 洪元植. 精交 黃帝內經素問. 서울 : 東洋醫學研究院. 1981 : 11, 24.

27. 虞搏. 醫學正傳. 서울 : 成輔社. 1986 : 9.

28. 余月明. 自由基衰老學說, 腎虛與衰老及補腎抗衰老研究. 陝西中醫. 1993 ; 14(4) : 187-8.

29. 金恩基. 老化防止를 위한 한의학적 방법. 한방성인병학회지. 1996 ; 2(1) : 146.

30. 黃度淵. 證脈 方藥合編. 서울 : 남산당. 1982 : 191-2.

31. 김창민 완역. 중약대사전. 서울 : 정담출판사. 1998 : 168-76, 2319-26, 2365-9, 4477-98.

32. 남기열. 최신고려인삼(성분과 효능편). 서울 : 친일인쇄소. 1996 : 56.

33. Nam, Ki Yeul. Clinical applications and efficacy of Korean ginseng. Korean J Ginseng Res. 2002 ; 26(3) : 111-31.

34. Sakaki H, Nishimura H, Mrota T, Chin M, Mitsuhashi H, Kumatsu Y et al. Immunosuppressive principles of Rehmannia glutinosa var. hueichingensis. Planta Med. 1989 ; 55 : 458-62.

35. 손영중, 이영중. 淸風藤과 茯苓이 혈당량에 미

치는 영향. 대한본초학회지. 2003 ; 18(1) : 65-71.

36. 황완규, 오인세, 이숙희, 최수부, 김일혁. 瓊玉膏의 생리활성 II; 고혈당, 고혈압, 지구력 및 체중 감소에 미치는 영향. 생약학회지. 1994 ; 25(1) : 51-8.

37. Chang-Gu Hyun, Sang-Suk Kim, and Joo-Won Suh. Identification of essential amino acid residues in valine dehydrogenase from streptomyces albus. Bibliography the Journal of Microbiology. 2006 ; 44(1) : 50-3.

38. 조희숙. Tryptophan과 Arginine의 대두유에 대한 항산화 및 상승효과. 한국식생활문화학회지. 1999 ; 14(1) : 21-8.

39. Seikh Mafiz Alam, Seung Oh Jin, Mohammad Mainul Karim, Sang Hak Lee. Chemiluminescent Determination of Aspartic Acid Using Tris (2,2'-bipyridyl) Ruthenium(II)-Ce(IV) System. Applied Chemistry. 2007 ; 11(1) : 141-4.

40. Dong Hyo Chung, Sang Kook Shim, Young Chun Lee and Ho Kwon. Chung Microbiology · Fermentation · Biotechnology: Molecular Breeding of Phenylalanine Producing E. coli Containing Temperature-Controllable Vector. Agricultural chemistry and Biotechnology. 1995 ; 38(1) : 13-9.

41. 문기향. 식이요법 중 Isoleucine 결핍으로 인한 Acrodermatitis Enteropathica-like Syndrome이 동반된 단풍 당뇨병 1례. 대한소아과학회. 2001 ; 44(4) : 469-74.

42. Lee BJ, Kang KS, Nam SY, Park JH, Lee YS, Yun YW, Cho MH. Effects of carnosine and related compounds on monosaccharide autoxidation and H₂O₂ formation. Korean J Physiol Pharmacol. 1999 ; 3(3) : 251-61.

43. 최혜미. 영양학. 서울 : 교문사. 2006 : 295-306, 310-26, 338-60, 370-2.

44. 강경홍, 이주하. 영양성분으로 본 노화억제. 서울 : 형설출판사. 1993 : 195-207, 215-22, 238-53.

45. Kuhnau, J. The favonoids: a class of

semiessential food components: their role in human nutrition. World Rev Nutr Diet. 1976 ; 24 : 117-20.

46. Jung SJ, Lee JH, Song HN, Seong NS. Screening for antioxidant activity of plant medicinal extracts. J Korean Soc Appl Biol Chem. 2004 ; 47 : 135-60.

47. Aoshima H, Tsunoue H, Koda H and Kiso Y. Aging of whiskey increases 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl radical scavenging activity. J Agric Food Chem, 2004 ; 52(16) : 5240-4.

48. An BJ, Lee JT. Studies on biological activity from extract of crataegi fructus. Kor J Herbology. 2002 ; 17(2) : 29-38.

49. Pryor WA. Pxo-radicals and related species: their formation, lifetimes and reactions. Annu Rev. Physiol.. 1986 ; 48 : 657-67.

50. Kim SJ, Han DS, Moon KD, Rhee JS. Measurement of superoxide dismutase-like activity of natural antioxidants. Biosci Biotech Biochem. 1995 ; 59 : 822-6.

51. Bartsh H, Ohshima H and Pignatelli B. Inhibition of endogenous nitrosation: Mechanism and implications in human cancer prevention. Mut. Res. 1988 : 202, 307-24.

52. Ziegler DW, Hutchison HD and Kissing RE. Induction of xanthine oxidase by virus infections in newborn mice. Infect and immun. 1971 ; 3 : 237.

53. Duke EJ, Joyce P and Ryan JP. Characterization of alternative molecular forms of xanthine oxidase in the mouse. J Biochem. 1973 : 131, 187.

54. Yang, MJ, Kim MG, Ann HS, Ahn RM. Inhibitory effects of water-aceton extracts of chestnut inner shell, pine needle and hop on the melanin biosynthesis. Yakhak Hoeji. 1999 ; 43 : 494-501.