

격강구의 연소과정에서 생성된 격강구진의 항산화 효과

서상록¹ · 양승범¹ · 김재효^{1,2,3} · 안성훈^{1,2} · 손인철^{1,2,3}

¹원광대학교 한의과대학 경혈학교실, ²원광대학교 전통의학연구소, ³원광대학교 마음인문학연구소

Antioxidant Effects of the Moxi with Ginger Tar Produced by Moxibustion with Ginger Combustion

Sang-Rok Seo¹, Seung-Bum Yang^{1,2}, Jae-Hyo Kim^{1,2,3}, Seong-Hun Ahn^{1,2}, In-Chul Sohn^{1,2,3}

¹Dept. Of Meridian & Acupoint, College of Oriental Medicine, Won-Kwang University

²Research Center of Korean Traditional Medicine, Won-Kwang University

³Institute of the Mind Humanities, Won-Kwang University

Abstract

Objectives : This study estimated antioxidant effects of the moxi with ginger tar (MGT) ; chemical combustion products produced by moxibustion with ginger during combustion.

Methods : To do this aim, we investigated total polyphenol and flavonoid contents, SOD (superoxide dismutase) scavenging activity, ABTS (2,2-azino-bis-3-erthylbenzo-thiazoline-6- sulfonic acid) & DPPH(2,2-Diphenyl-1-picryl-hydrazyl) radical's scavenging ability of MGT.

Results : Total polyphenol contents of MGT was 7.8 ± 0.09 mg/g in 10 mg/ml, SOD activity was $42.51 \pm 3.39\%$ in 200 ug/ml, DPPH radical scavenging effect of MGT was $83.24 \pm 0.01\%$ in 200 ug/ml and ABTS radical scavenging effect was $41.88 \pm 0.16\%$ in 200 ug/ml.

Conclusions : In this study, the effects of moxi with ginger could be induced by not only heating stimulus on acupoints but also chemical stimulus produced during combustion of moxibustion, MGF. The advanced study about biological mechanism through meridian system, skin aging, and inflammation on MGT will be required.

Key words : moxi with ginger slice, MGT, antioxidant effects

1. 서 론

隔薑灸(Moxibustion with ginger)는 韓醫學에서 치료수단 중 하나인 灸法의 일종으로 生薑을 3-5 mm 두께로 잘라서 鍼으로 몇 개의 空穴을 만들어 그 위에 艾炷 곧 뜸봉을 올려놓고 뜸을 뜨는 방법으로 胃痛, 설사, 關節炎痛 등의 '虛寒証'에 적용되

는 방법이다¹⁾.

艾灸療法은 施灸方法에 따라 直接灸와 間接灸로 나뉘어지고, 직접구는 化膿의 有無에 따라 化膿灸와 非化膿灸로 분류되어지며, 간접구는 薑, 蒜, 鹽, 附子, 蒼朮, 葱白 등 隔物의 종류에 따라 隔薑灸, 隔蒜灸, 隔鹽灸, 附子灸法 등으로 나뉘어져²⁾ 임상에서 각기 독특한 성질을 가지고 다양한 원인의 질병치료 목적에 사용되어져 왔다.

灸津(Moxi tar)은 艾灸 연소 시 발생하는 艾絨의 燃燒生成物로서 艾灸療法의 치료기전 및 효능을 설명하는데 중요한 인자로 적용되고 있다. 灸津

· 교신저자 : 손인철, 344-2 Shinyong-dong, Iksan, Jeonbuk, Korea
Dept. of Meridian & Acupoint, college of Oriental Medicine, Wonkwang University
Tel. 82-63-850-6448, Fax. 82-63-857-6458
E-mail: ichsohn@wku.ac.kr

· 투고 : 2011/11/07 심사 : 2011/11/25 채택 : 2011/12/15

의 治療효과에 대하여 西谷郁子は 疣贅治驗의 症例를 보고하여³⁾ 灸津의 피부 자극에 의한 艾炷療法의 治療효과를 증명하였고 施灸를 했을 때 皮膚의 과산화지질을 저하하는 작용은 애구의 溫熱作用이 아닌 燃燒生成物, 즉 구진에 의한 것임⁴⁾을 주장하였다. 또한 안⁵⁾과 안⁶⁾ 등은 灸津(Moxi tar)이 NO억제와 iNOS생성을 억제한다고 보고하여 艾灸療法의 항염 효과에 대한 기전을 설명하였고, 鍼灸와 艾灸의 흰쥐(Wistar) 실험을 통해 급성, 아급성, 만성 염증에 대한 SOD 활성도의 비교를 통해 애구의 항염작용과 면역작용에 대한 효능이 있음을 보고하였다⁷⁾. 또한 H₂O₂로 유도된 세포상해작용을 막는 灸津의 보호 작용을 알아보기 위해 항산화 활성도를 측정하여 항산화 활성이 증가하였음을 보고하였다⁸⁾.

항산화 작용은 호흡과정에 필연적으로 발생하는 superoxide, nitric oxide, nitrogen dioxide, hydroxyl, peroxy nitrite 등과 같은 활성 산소종(reactive oxygen species, ROS)들⁹⁾이 유발하는 암, 동맥경화, 후천성 면역결핍증, 심장질환, 당뇨병, 신경계 질환, 염증, 류마티스 뿐만 아니라 노화 등의 산화작용을 억제하는 작용¹⁰⁾을 말하며, 최근에 비교적 독성이 적고 안전성 및 관능상의 문제가 되지 않는 천연항산화제 개발을 위한 연구가 활발히 진행되고 있다¹¹⁾.

이에 저자는 상기 연구결과를 토대로 임상에서 흔히 사용되고 있는 隔薑灸法에서도 灸津이 발생함을 관찰하여 이를 隔薑灸津(Moxi with ginger tar, MGT)라 명명하고 隔薑灸津(MGT)량 취득을 위한 生薑片의 정량화를 위한 연구를 진행하였고 약리적 효과를 알아보기 위하여 항산화 작용의 주요 기능 성분인 총 플라보노이드 함량, 총 페놀 함량, SOD activity, ABTS radical scavenger activity, DPPH radical scavenger activity 측정을 통해 관찰하고 유의한 결과를 얻었기에 보고하는 바이다.

II. 재료 및 방법

1. 재료

1) 실험에 사용된 艾葉은 봉래구관사 쑥짐기용 쑥(BongRai MOXA. Co.,LTD)을 사용하였고, 艾炷는 圓光大學校 韓醫學科 經穴學教室에서 임신한 평균중량1.87g, 평균직경 22.8mm, 평균높이10.4mm의 햇님 신기구 쑥봉(HAITNIM Moxa Bosung. co.)을 사용하였다.

2) 실험에 사용된 生薑은 국내산으로 圓光大學校 韓醫學科 經穴學教室에서 임신한 生薑을 구입하여 사용하였다.

3) 항산화 실험을 위하여 naringin, Aluminum Chloride, sodium carbonate, gallic acid, Folin-Ciocalteu's phenol reagent, potassium persulfate, 1,1-diphenyl- 2-picrylhydrazyl(DPPH), 2,2'-azino-bis-3-thylbenzothiazoline-6-sulphonic acid(ABTS), 2,2'-Azobis(2-methylpropion-amidine) dihydrochloride, Trolox, pyrogallol, ascorbic acid, sodium nitrite, citrate buffer, acetic acid, naphthylamine, Tris-base, dimethyl sulfoxide(DMSO) 등은 Sigma(St. Louis, MO, USA)에서 구입하였고, sulfanilic acid는 1급 시약(Kanto chemical, Japan)을 사용하였다.

2. 연구방법

1) 生薑片의 제작 및 孔穴의 성형

生薑片은 본 實驗에 사용된 艾炷의 밑변 직경이 22.8 mm이므로 艾炷가 生薑片 위에 놓일 때, 안전하게 장착될 수 있는 충분한 직경인 28-35 mm로 가공하여 實驗에 사용하였고, 또한 生薑片의 定量化를 위해 Table 1과 같이 2, 4, 6, 8, 10 mm의 두께를 갖는 生薑片을 제작하여 實驗에 사용하였다.

隔薑灸 施灸時 발생하는 隔薑灸津(MGT)의 생성량에 영향을 미칠 수 있는 生薑片의 孔穴 수는 위 표(Table 2)와 같이 艾炷가 놓이는 生薑片의

중심에 각각 0, 5, 10, 15, 20개의 孔穴을 뚫어 實驗에 사용하였고, 孔穴의 크기는 직경 1 mm로 punching 하여 孔穴이 유지됨을 확인한 후 사용하였다.

Table 1. Ginger slice's thickness

구분	두께 (mm)
T1	2
T2	4
T3	6
T4	8
T5	10

Table 2. The number of ginger slice's hole

구분	孔穴갯수(개)
R1	0
R2	5
R3	10
R4	15
R5	20

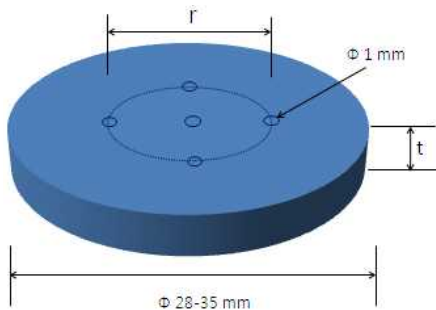


Fig. 1. The forming and shape of ginger slice.

Fig. 1는 본 實驗에서 사용한 生薑片의 形狀을 보여주는 그림이다. t는 生薑片의 두께로 生薑片의 두께에 따라 隔薑灸 施灸時, 발생되는 隔薑灸津(MGF)의 생성량에 영향을 미칠 수 있다고 가정하여, 위 표(Table 1)와 같이 2, 4, 6, 8, 10mm의 두께를 갖는 生薑片을 제작하여 實驗에 사용하였으며, r은 生薑片 孔穴의 수로 이 또한 隔薑灸 施灸時, 발생되는 隔薑灸津(MGF)의 생성량에 영향을 미칠 수 있다고 가정하였다. 위 표(Table 2)와 같이 艾炷가 놓이는 生薑片의 중심에 각각 0, 5, 10,

15, 20개의 孔穴을 대칭모양으로 만들어 實驗에 사용하였다. 孔穴의 크기는 직경 1 mm의 punching을 사용하였다.

2) 격강구진 ethanol 추출물 획득 방법

隔薑灸에서 生薑片 위에 艾炷를 올려 5회 燃燒시켜 발생되는 화학적 燃燒生成物(MGF)을 Cell Scraper로 모아서 100 ml Ethyl Alcohol(ETOH 95.0 Vol%)과 함께 비이커에 넣고 혼합 후 상온에서 3일간 정차 후 150 mm Filter paper((주) ADVANTEC)를 이용하여 2회 여과하였다. 추출물은 회전식증발농축기(EYELA, Japan)로 농축하여 냉암소(LG 냉동고)에 48시간 보관 후, 72시간의 동결건조기(ilShin Lab Co., Ltd PVTFD10K(A)) 건조 후의 시료는 분석 전까지 냉암소에 보관하였다. 시료의 추출 수율은 추출전 시료의 중량에 대한 각 추출물의 동결건조 후 중량 백분율로 나타내었다.

3) 총 폴리페놀 함량 측정 방법

추출물의 총 폴리페놀 함량은 Folin-Denis법¹²⁾으로 Folin-ciocalteu reagent가 추출물의 폴리페놀 화합물에 의해 환원된 결과 몰리브덴 청색으로 발색하는 것을 원리로 측정하였다. 농도별 추출물 시료를 10 mg/ml 농도로 증류수에 녹인 다음 0.2 mL를 시험관에 취하고 증류수를 가하여 2 mL로 만든 후, 여기에 0.2 ml Folin-Ciocalteu's phenol reagent를 첨가하여 잘 혼합 후 3분간 실온에 방치하였다. 3분 후 Na₂CO₃ 포화용액 0.4 ml를 가하여 혼합하고 증류수를 첨가하여 4 mL로 만든 후 실온에서 1시간 방치하여 상징액을 750 nm에서 흡광도를 측정하였다.

총 페놀 함량을 정량 분석하기 위해 표준물질인 gallic acid(SIGMN - ALDRICH. Co., G7384)를 10 mg/ml의 농도로 증류수에 녹이고, 250, 125, 62.5, 31.25, 및 15.6 mg/ml 용액이 되도록 일정한

농도별로 조제하고 시료와 동일한 방법으로 실험하여 검량곡선을 작성하고 시료의 총 페놀함량을 측정하였다.

4) 총 플라보노이드 함량 측정 방법

총 플라보노이드 함량은 diethylene glycol 비색법으로 측정하였다(NFRI, 1990). 0.25 ml 시료에 75 μ l NaNO₂(5%, W/V)와 0.15 ml AlCl₃(10%, W/V), 0.5 ml 1M NaOH를 혼합하고 2.5 ml 증류수를 첨가한 다음 5 분 동안 37°C에서 반응시킨 후 415 nm에서 spectrometer로 흡광도를 측정하였다. 플라보노이드 함량곡선은 표준 물질인 gallic acid (SIGMN-ALDRICH.Co.,G7384)을 정량하여 작성한 표준 곡선을 작성하고 시료의 총 페놀 함량을 측정하였다.

5) Superoxide dismutase(SOD) 유사활성 측정 방법

유사활성 측정추출물의 SOD 유사활성은 Marklund의 방법¹³⁾에 따라 활성 산소종을 과산화수소(H₂O₂)로 전환시키는 반응을 촉매하는 pyrogallol의 생성량을 측정하여 SOD 유사활성으로 나타내었다.

SOD 유사활성 반응에서 pyrogallol은 물에 존재하는 superoxide radical에 의해 자동 산화가 일어나 갈색물질을 형성하여 이를 분광광도계로 분석하고, superoxide 포착활성이 있는 물질이 존재 시 pyrogallol의 산화속도가 낮아지는 원리를 이용하여 superoxide 포착활성을 간접적으로 측정할 수 있다. 농도별 추출물 0.2 ml에 pH 8.5로 보정한 Tris-HCl buffer(50 mM tris amino-methane과 10mM EDTA) 2.6 ml과 7.2 mM pyrogallol 0.2 ml을 첨가하여 25°C에서 20 분간 반응 시킨 후 1N HCl을 0.1 ml 가하여 반응을 정지시켰다. 반응액 중 산화된 pyrogallol의 양은 420 nm에서 흡광도를 측정하였다.

SOD 유사활성 측정은 다음과 같은 식으로 계산하였다.

SOD-like activity (%) =

$$\{1 - (\text{시료 처리구 흡광도} / \text{무처리구 흡광도})\} \times 100$$

6) DPPH radical 소거능 측정 방법

DPPH assay는 Dietz 등¹⁴⁾의 실험법을 따랐다. 농도별 추출물과 0.2 mM DPPH 시약을 실온 암 상태에서 30 분간 반응시킨 뒤 spectrophotometer를 사용하여 517 nm에서 흡광도를 측정하여 DPPH의 환원에 의한 흡광도 감소를 조사하였다. 무처리구와 처리구의 값을 비교하여 free radical 소거 활성을 결정하였다. 이때 기존의 항산화제인 ascorbic acid를 대조구로 사용하였다.

DPPH radical 소거능은 다음과 같이 구하였다.

DPPH scavenging ability (%) =

$$\{1 - (\text{시료 처리구 흡광도} / \text{무처리구 흡광도})\} \times 100$$

7) ABTS 소거능 측정 방법

ABTS 을 이용한 항산화능의 측정은 potassium persulfate와의 반응에 의해 생성되는 ABTS free radical이 샘플 내의 항산화 물질에 의해 제거되어 radical 특유의 색인 청록색이 탈색되는 것을 이용한 방법으로 Van den Berg 등의 방법¹⁵⁾을 변형하여 측정하였다.

7 mM 2,2-azino-bis(3-ethylbenzthiazoline-6-sulfonic acid)(ABTS)와 2.45 mM potassium persulfate를 최종농도로 혼합하여 실온인 암소에서 24 시간 동안 방치하여 ABTS을 형성시킨 후 732 nm에서 흡광도 값이 0.9(±0.1)이 되게 증류수로 희석하였다. 희석된 ABTS radical 용액 950 μ l에 농도별 추출물 50 μ l를 가하여 혼합 후 흡광도의 변화를 위해 10 분 후에 측정하였으며 표준물질로서 Trolox를 동량 첨가하였다.

ABTS scavenging ability (%) =

$$\{1 - (\text{시료 처리구 흡광도} / \text{무처리구 흡광도})\} \times 100$$

3. 통계처리

격강구진 생성(5회 합산값)을 제외한 모든 실험은 3 회 반복 실시하였고, 모든 data는 평균 ± 표준편차(Mean ± SD)의 형식으로 편차를 표시하였으며, 각 실험 결과의 분석과 t-Test는 origin 6 통계프로그램을 이용하였고, p값이 0.05 이하인 경우에 유의성 있다고 분석하였다.

III. 결 과

1. 격강구진(MGT)의 생성량 측정결과

隔薑灸津(MGT)의 생성량은 生薑片의 두께(2, 4, 6, 8, 10 mm)와 직경 1 mm 孔穴의 횟수(5, 10, 15, 20)에 따라 비교 측정하였다.

生薑片의 두께 2 mm시, 孔穴 횟수 5, 10, 15, 20회에 따라 MGT의 생성량은 각각 0.032, 0.093, 0.112, 0.014 mg으로 관찰되었다. 生薑片의 두께 4 mm시, 孔穴 횟수 5, 10, 15, 20회에 따라 MGT의 생성량은 각각 0.098, 0.128, 0.133, 0.151 mg으로 관찰되었다. 生薑片의 두께 6 mm시, 孔穴 횟수 5, 10, 15, 20회에 따라 MGT의 생성량은 각각 0.064, 0.113, 0.126, 0.141 mg으로 관찰되었다. 8 mm시, 孔穴 횟수 5, 10, 15, 20회에 따라 MGT의 생성량은 각각 0.038, 0.045, 0.061, 0.084 mg으로 관찰되었다. 生薑片의 두께 10 mm시, 孔穴 횟수 5, 10, 15, 20회에 따라 MGT의 생성량은 각각 0.022, 0.028, 0.042, 0.049 mg으로 관찰되었다(Fig. 2).

상기 실험의 결과 MGT의 생성량은 生薑片의 두께와 孔穴 수에 따라 차이가 있음을 알 수 있었다. 두께 4mm와 孔穴의 수가 20개 일 때 MGF량은 0.151 g으로 가장 많이 생성되었다. 孔穴의 수가 많을수록 MGF량이 많이 생성되었으며, 두께가 너무 얇으면 탄화가 되고, 너무 두꺼우면 섬유질인 生薑片의 孔穴이 쉽게 막혀서 MGT의 생성량이 적어짐을 알 수 있었다.

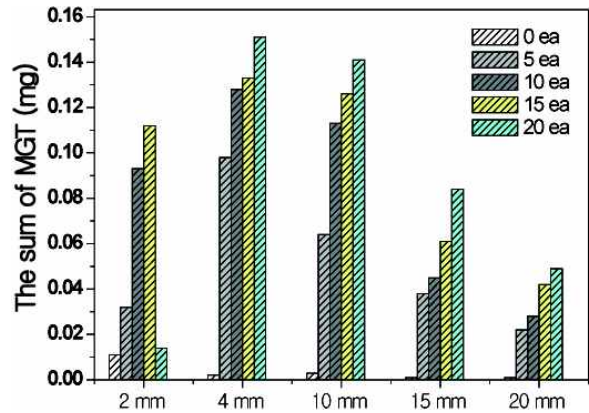


Fig. 2. Comparison amount of MGT according to ginger slice's thickness and number of holes.

2. 총 폴리페놀과 총 플라보노이드 함량 측정 결과

隔薑灸津(MGT) 에탄올 추출물의 총 폴리페놀의 함량은 농도(1 mg/ml, 5 mg/ml, 10 mg/ml)에 따라 측정 하였다. MGT 에탄올 추출물에 함유된 총 폴리페놀 함량은 농도 1 mg/ml에서 4.37 ± 0.17 mg/g, 5 mg/ml에서 12.33 ± 0.11 mg/g ($p < 0.001$), 10 mg/ml에서 17.85 ± 0.11 mg/g ($p < 0.001$)의 총 폴리페놀 함량이 관찰 되었다(Table 3).

플라보노이드는 넓은 의미에서 anthoxanthin류, tannin류, anthocyanin류 등으로 분류되며 MGT 에탄올 추출물의 총 플라보노이드 함량은 농도(1 mg/ml, 5 mg/ml, 10 mg/ml)에 따라 측정 하였다.

MGT 추출물에 함유된 총 플라보노이드 함량은 농도 1 mg/ml에서 1.88 ± 0.01 mg/g, 5 mg/ml에서 5.02 ± 0.0 5mg/g ($p < 0.001$), 10 mg/ml에서 7.8 ± 0.09 mg/g ($p < 0.001$)의 총 플라보노이드 함량이 관찰 되었다(Table 3).

Table 3. Total polyphenol & flavonoid contents of Moxi with ginger tar ethanol extracts

MGF (mg/ml)	Total Polyphenol Contents (mg/g)	Total flavonoid Contents (mg/g)
1	4.37±0.17	1.88±0.01
5	12.33±0.11***	5.02±0.05+++
10	17.85±0.11***	7.80±0.09+++

The values represent the Mean±SD for triplicate experiments. *** ; P<0.001 vs total polyphenol content values of MGF(1 mg/ml). t-test. +++ ; P<0.001 vs total polyphenol content values of MGT(1 mg/ml). t-test.

3. Superoxide (SOD) 유사 활성 측정 결과

MGT 에탄올 추출물의 SOD 유사 활성 측정을 농도 50 ug/ml에서 100 ug/ml에서 200 ug/ml에서 분석한 결과, 50 ug/ml에서 37.41±1.06%, 100 ug/ml에서 35.37±2.41%, 200 ug/ml에서 42.51±3.39(p<0.05)%로 관찰되었다(Fig. 3).

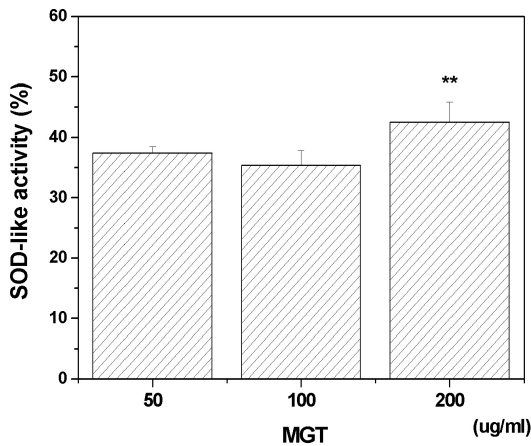


Fig. 3. The SOD-like activity of Moxi with ginger tar ethanol extracts.

The values represent the Mean±SD for triplicate experiments. ** ; P<0.05 vs SOD-like activity values of MGT(50 ug/ml). t-test.

4. DPPH radical 소거능 측정 결과

DPPH radical 소거능 측정 효과를 알아보기 위하여 MGT 에탄올 추출물을 12.5, 25, 50, 100, 200

ug/ml에서 농도별로 분석한 결과, 12.5 ug/ml에서 16.33±0.03%, 25 ug/ml에서 28.27±0.03%(p<0.001), 50 ug/ml에서 51.20±0.02%(p<0.001), 100 ug/ml에서 84.60±0.01%(p<0.001), 200 ug/ml에서 83.24±0.01%(p<0.001)로 관찰되었다(Fig. 4).

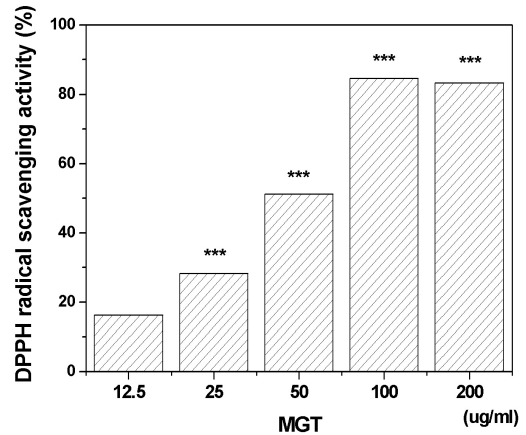


Fig. 4. The DPPH radical scavenging activity of ethanol extracts.

The values represent the Mean±SD for triplicate experiments. *** ; P<0.001 vs DPPH radical scavenging activity values of MGT (50 ug/ml), t-test.

5. ABTS radical 소거능 측정 결과

ABTS radical 소거능 측정 효과를 알아보기 위하여 MGT 에탄올 추출물을 12.5, 25, 50, 100, 200 ug/ml에서 농도별로 분석한 결과, 12.5 ug/ml에서 8.30±0.25%, 25 ug/ml에서 11.52±0.16%(p<0.001), 50 ug/ml에서 15.95±0.27%(p<0.001), 100 ug/ml에서 25.43±0.60%(p<0.001), 200 ug/ml에서는 41.88±0.16%(p<0.001)로 관찰되었다(Fig. 5).

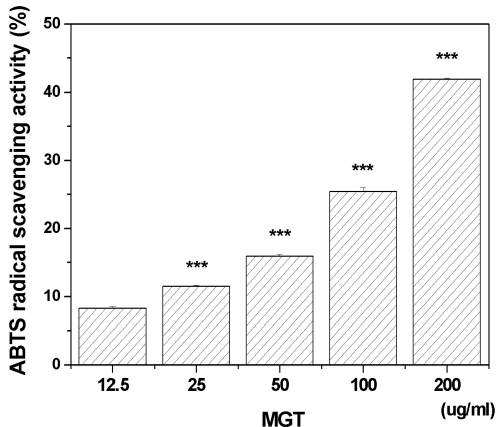


Fig. 5. The ABTS radical scavenging activity of Moxi with ginger tar ethanol extracts.

The values represent the Mean±SD for triplicate experiments. *** ; P<0.001 vs ABTS radical scavenging activity values of MGT (50 ug/ml), t-test.

IV. 고 찰

隔薑灸는 明·楊繼洲 《鍼灸大成》 "灸法用生薑切片如錢厚，搭于舌上穴中，然後灸之". 후에 明·張景岳의 《類經圖翼》에서 痔疾治療 중 "單用生薑切薄片，放痔痛處，用艾炷于薑上灸三壯，黃水即出，自消散矣" 또한 清代吳尚先의 《理瀉駢文》와 李學川의 《針灸逢源》 등의 문헌¹⁶⁾에서 그 유래를 찾아볼 수 있다.

隔薑灸의 溫熱刺激에 대한 研究^{17,18)} 施灸 시 사용되는 艾炷와 生薑片의 研究는 이루어 졌으나, 隔薑灸의 燃燒 시 발생하는 化學적 燃燒生成物인 MGT에 대한 研究는 아직 미흡한 상태이다. 본 研究는 임상에서 隔薑灸의 다양한 치료방법 제시를 위해 MGT을 이용한 항산화 작용에 관한 研究를 하였다.

艾灸療法은 艾葉(Folium Artemisiae Lavandulaefoliae) 즉, 菊花科(Compositae)에 속한 多年生 草本인 菖艾絨(Artemisiae lavandulaefolia DC.) 및 황해艾絨(Artemisia argyi. Lev et Vant)과 野艾(A. vulgaris L.)의 잎을 曬乾하여, 艾絨을 만들고 병증에 상응한 부위에 艾絨을 부착하여 연소시킴으로써 얻어지는 온열자극과 燃燒과정에서 발생하는 물질에 의한 化學적 자극으로 병을 치료¹⁹⁾하는 刺激療法을

칭한다.

艾灸療法의 適應證에 대하여 《靈樞》官能에서는 "大寒在外，留而補之入于中者，從合瀉之，鍼所不爲，灸之所宜……陰陽皆虛，火自當之"라 하여 艾灸가 寒證, 虛證에 주로 효과가 있는 것으로 記述하였다. 《素問》²⁰⁾異法方宜論에는 "艾者 從北"라고 記載되어 艾灸療法의 起源을 설명하고 있으며, 艾灸의 效能에 대하여 李²¹⁾는 "虛者灸之 使火氣以助元陽，實者灸之 使實邪隨火氣而發散，寒者灸之 使其氣復溫，熱者灸之 引鬱熱之氣外發 火就燥之義"라 提示하였다.

이런 艾灸療法은 艾灸하는 방법에 따라 直接灸와 間接灸로 나누어지며 《春秋左氏傳》의 "在育之上，膏之下，攻之不可，達之不及"이라 기술한 것과 漢代 《傷寒論》의 "用火灸之"，"不可灸"，"不可以火攻之" 등²²⁾의 기술한 것은 모두 直接灸를 말한 것이다. 晉, 唐代에 이르러 艾灸와 藥物을 결합시킨 間接灸法이 나타나는데 《千金方》隔蒜灸, 豆豉灸, 黃蠟灸, 隔鹽灸, 黃土灸 등의 기재²³⁾가 있으며, 후에 隔薑灸, 硫黃灸, 溫臍灸 등의 방법이 기재되었다.

최근에 研究된 艾灸療法의 效用을 증명하려는 趨勢는 크게 물리적 研究와 化學적 研究로 나누어진다. 물리적 研究는 艾灸 자체의 열량 변화에 대한 研究와 발생한 溫熱刺激이 생체에 미치는 영향의 研究로 진행되었다.

먼저 灸法 자체의 열량 변화에 대한 실험 研究 결과로는 임 등²⁴⁾이 灸法의 물리적 특성에 관한 研究로 艾絨 연소시의 열 분해온도와 열에너지 함량 및 열의 안전성을 측정하였고, 박 등^{25,26)}의 艾絨의 밀도 및 형태별 연소 특성, 艾灸의 구간별 燃燒 시간, 재료에 따른 뜸의 燃燒 특성, 補瀉法에 따른 艾灸 및 間接灸의 燃燒 특성을 보고 하였고, 최 등²⁷⁾은 艾灸의 燃燒 구간별 열량비에 대한 研究를 보고하였고 특히 김 등²⁸⁾은 艾灸의 표준화를 위한 온도 측정을 研究하여 보고하였다.

化學적 연구는 艾葉의 化學적 성분 및 효능에

대한 연구와 燃燒生成物인 灸津의 약리작용과 생체에 미치는 영향으로 분류할 수 있다.

艾葉을 燃燒시킴으로써 生成되는 二次物質, 즉 燃燒生成物에 대한 연구는 加熱에 따른 艾葉의 성분 및 活性變化, 燃燒生成物에 대한 臨床的 效能 糾明을 가능케 하였다. 최근 艾葉에서 다양한 성분과 효능에 대하여 연구되어 phellandrene, couprol, cadinene, cineol, repinen4-ol, β -caryophyllene, linalool, artemisia acohol, camphor, bornol 등과 艾葉의 燃燒成分物에서 tricosanol, hentriacontane, arachinalkol, thujone, n-nonacosanne, n-hentriacontane, $C_{37}H_{76}$, tanine 및 그 이성체, catechol, 포화지방족탄화수소 등의 성분²⁹⁾이 확인되었다.

灸津에 의한 化學的 刺戟이 약리작용에 대한 연구로는 西谷郁子³⁾가 艾絨의 燃燒生成物만을 이용해 疣贅治驗의 症例를 보고하였고 施灸를 했을 때 施灸皮膚의 과산화지질을 저하하는 작용은 艾灸의 溫熱作用이 아니라 燃燒生成物에 의한 것임을 증명하였다. 또한 안 등⁵⁾은 艾絨의 燃燒生成物을 灸津이라 칭하고 면역세포에서 LPS 자극으로 유도되어지는 iNOS의 증가 억제효과를 보고하였고, 안 등⁶⁾은 灸津이 뇌신경세포에서 LPS 자극으로 유도되어지는 NO 생성을 억제한다고 보고하였다. 또한 김 등³⁰⁾은 일과성 전뇌 허혈 손상에 있어 백회에 대한 灸津藥鍼液의 자극이 BDNF(brain derived neurotrophic factor) 단백질 발현을 유의하게 증가시킨다고 보고하였다.

본 연구는 隔薑灸 施灸時 발생하는 MGT를 가지고 항산화 實驗을 하는데 목적이 있으므로 먼저 隔薑灸 施灸時 사용되는 生薑片의 定量化를 정하는 實驗을 修行하였다. 큰 生薑을 슬라이스를 이용하여 두께 2, 4, 6, 8, 10mm의 生薑片을 제작하고, 제작된 生薑片에 직경 1mm의 孔穴을 0, 5, 10, 15, 20개로 뚫고, 1회에 각 25개씩 孔穴별 4회씩의 실험 결과로 生薑片의 두께 4mm와 孔穴의 수가 20개 일 때 MGT량은 0.151g으로 가장 많이 생성됨이 관찰되었다(Fig. 2). 孔穴의 수가 많을수록

MGT량이 많이 생성되었으며, 두께가 너무 얇으면 용이하게 탄화가 되고, 너무 두꺼우면 섬유질인 生薑片의 孔穴이 쉽게 막혀서 MGT의 생성량이 적어짐을 알 수 있었다. 이 결과로 두께와 孔穴 수를 결정하고, 후에 1회 50개의 隔薑灸를 총 20회에 걸쳐 燃燒시킨 후 생성된 MGT 1.631g을 에탄올 추출 후 동결 건조하여 실험 재료로 사용하였다.

생물체는 외부로부터 지속적인 자극과 에너지 생성을 위한 산화과정에서 상당량의 free radical과 활성산소(reactive oxygen species, ROS)를 생성하여 산화물질이 축적된다. 이에 대한 방어기전으로 산화억제물질을 생성하여 대부분 소멸되거나 환경오염, 스트레스, 불규칙적인 식습관, 약물, 유전적 요인 등에 의해 항산화 방어계와의 균형이 깨어지면 free radical과 활성산소와 같은 산화물질이 세포막 파괴, DNA 변성, 세포노화 등을 초래하며, 이들에 의한 산화적 스트레스는 암을 비롯한 뇌질환 동맥경화, 관절염, 자가면역질환 등 각종 생리적 장애와 노화³¹⁾와 관련된 여러 질환의 원인이 된다.

항산화제는 일반적으로 천연 항산화제와 합성 항산화제로 구분된다. ascorbic acid, carotenoid, tocopherol 등의 천연항산화제는 인체에는 안전하나 단독으로는 탁월한 효과를 나타내지 못하므로 거의 사용되지 않고 있다. BHA(Buthylated hydroxyanisol), BHT(Buthylated hydroxytoluene), PG(propyl gallate), 등의 합성 항산화제는 우수한 항산화력과 저렴한 가격으로 경제성이 높아 널리 사용되고 있으나 과량 섭취 시 간, 위장점막, 폐, 신장, 순환계의 독성화 및 발암 가능성³²⁾ 등의 심각한 부작용을 나타낼 수 있는 것으로 보고되어 합성 항산화제의 사용량이 법적으로 엄격하게 규제되고 있다.

본 연구에서는 MGT의 항산화효과와 隔薑灸의 隔物인 生薑자체의 항산화 효과, 灸法에 사용되고 있는 艾絨 자체의 항산화 효과를 각각 조사하여 비교하고자 하였다.

페놀성 화합물은 식물계에 널리 분포되어 있는 2차 대사산물의 하나로 다양한 분자량을 가진다.

이들은 phenol hydroxyl을 가지기 때문에 단백질 및 거대분자들과 결합하는 성질을 가지며, 항산화 효과 및 항균활성 등의 다양한 생리활성을 나타낸다. 일반적으로 항산화 활성을 나타내는 것은 페놀성 화합물이 작용³³⁾하는 것으로 알려져 있으며 항산화 활성이 증가함에 따라 총 페놀성 함량도 증가한다고 알려져 있다.

에탄올 추출물 시료에서 총 폴리페놀의 함량을 MGT의 농도 1 mg/ml, 5 mg/ml, 10 mg/ml에서 측정된 결과, 각각 1.88±0.01 mg/g, 5.02±0.05 mg/g, 7.8±0.09 mg/g 의 총 폴리페놀 함량이 관찰되었다 (Table 3).

플라보노이드는 넓은 의미에서 anthoxanthin류, tannin류, anthocyanin류 등으로 분류되며 본 研究結果에서 살펴본 바와 같이 각각의 농도 1 mg/ml, 5 mg/ml, 10 mg/ml의 MGT 에탄올 추출물의 총 플라보노이드 함량은 농도별 1.88±0.01 mg/g, 5.02±0.05 mg/g, 7.8±0.09 mg/g 의 총 플라보노이드 함량이 관찰(Table 4)되었다.

SOD는 superoxide(O²⁻)를 정상 상태의 산소로 환원시킴으로써 superoxide가 관여하는 각종 질병이나 노화를 억제할 수 있는 효소이며, phytochemical은 SOD와 유사한 역할을 하는 저분자 물질로 superoxide의 반응성을 억제하고 superoxide로부터 생체를 보호하는 것으로 보고되고 있고, 이를 제거함으로써 산화적 장애를 방어하고 노화억제의 효과³⁵⁾를 기대할 수 있을 것으로 보고되고 있다.

본 研究에서는 상기 추출물에 대하여 50 ug/ml, 100 ug/ml, 200 ug/ml에서 SOD 유사활성도를 측정 관찰 비교하였다. MGT 에탄올 추출물의 SOD 유사 활성도(Fig. 3)는 37.41±1.06%, 100 ug/ml에서 35.37±2.41%. 200 ug/ml에서 42.51±3.39%로 관찰되었다.

Radical은 불안정하여 세포 구성 성분들과 쉽게 반응하여 비선형적이고 비가역적인 손상을 일으킨다. 보라 빛을 나타내는 DPPH 라디칼은 비교적 안정한 화합물로 항산화제와의 반응에 의해 라디

칼이 소거되어 노란색으로 탈색³⁶⁾되는 점을 이용하여 항산화 활성을 검정하는데 사용 된다.

DPPH radical 소거능 측정 효과를 알아보기 위하여 추출물 각각 12.5, 25, 50, 100, 200 ug/ml에서 농도별 비교 분석 하였다. MGT 추출물의 DPPH radical 소거능(Fig. 4)은 12.5 ug/ml에서 16.33±0.03%, 25 ug/ml에서 28.27±0.03%, 50 ug/ml에서 51.20±0.02%, 100 ug/ml에서 84.60±0.01%, 200 ug/ml에서 83.24±0.01%로 관찰되었다.

ABTS 항산화 측정법은, DPPH와 같은 radical 소거법에 의한 항산화능 측정법이라는 점에서는 같지만 화학반응을 통해 free radical이 유발된 용액에 시료를 넣어 항산화를 측정한다는 점에서 다르다. 또한 free radical을 유발하여 용액을 준비할 때 시간이 소모되지만 항산화 측정 실험에서는 빠른 결과를 볼 수 있는 장점이 있다. DPPH는 pH, 빛 그리고 온도에 영향을 받는 반면에 ABTS는 pH의 변화에 민감하게 작용하지 않는³⁷⁾ 장점이 있다. ABTS법은 다른 간접적인 방법 중에서 가장 많이 사용되는 방법이다. 이 방법은 Miller³⁸⁾등에 의해서 1993년에 처음으로 고안된 것으로 시료의 생리활성을 측정하기 위해 사용되었지만 이후 식품과 천연 수용성 페놀성 물질을 시험하기 위해 널리 응용되었다. 이 방법은 페놀성 화합물을 함유한 시료의 첨가로 인해 2,2'-azinobis(3-ethyl-benzothiaziline-6-sulfonate, ABTS)가 산화되어 라디칼 양이온(radical cation)인 ABTS^{•+}가 생성되고 이것의 분해를 측정하여 항산화 활성을 계산하는 방법이다. ABTS는 600-750nm의 범위에서 강한 흡수를 보여주며 이로 인해 분광 분석으로 쉽게 측정할 수 있다. 페놀성 화합물이 없을 경우 ABTS는 비교적 안정하지만, 페놀성 화합물과 같은 수소공여체(H-donor)와는 강렬하게 반응하여 무색의 ABTS로 변환된다. 따라서 항산화 활성은 페놀성 화합물을 함유한 시료와 반응하여 소비된 ABTS의 양을 측정한다.

ABTS radical 소거능 측정효과를 알아보기 위하여

여 에탄올 추출물 시료를 12.5, 25, 50, 100, 200 ug/ml에서 농도별 분석한 결과, MGT 에탄올 추출물의 ABTS radical 소거능(Fig. 5)은 각각의 농도에서 $8.30 \pm 0.25\%$, $11.52 \pm 0.16\%$, $15.95 \pm 0.27\%$, $25.43 \pm 0.60\%$, $41.88 \pm 0.16\%$ 로 관찰되었다.

항산화제는 일반적으로 천연 항산화제와 합성 항산화제로 구분된다. ascorbic acid, carotenoid, tocopherol 등의 천연항산화제는 인체에는 안전하나 단독으로는 탁월한 효과를 나타내지 못하므로 거의 사용되지 않고 있다.

BHA(Buthylated hydroxyanisole), BHT(Buthylated hydroxytoluene), PG(propyl gallate), 등의 합성 항산화제는 우수한 항산화력과 저렴한 가격으로 경제성이 높아 널리 사용되고 있으나 과량 섭취 시간, 위장장애, 폐, 신장, 순환계의 독성화 및 발암 가능성 등의 심각한 부작용을 나타낼 수 있는 것으로 보고되어 합성 항산화제의 사용량이 법적으로 엄격하게 규제되고 있다³⁹⁾.

최근 한의학계에서 활성산소를 효과적으로 소거해 줄 수 있는 항산화 물질의 탐색에 대한 연구가 활발히 진행되고는 있지만 대부분이 천연약재에 대한 항산화 실험이 주류를 이루고 있다.

본 연구는 灸津의 항산화 효과에 대한 선행 연구결과를 토대로 한의학의 여러 치료방법의 하나인 격강구의 연소 시 생성되는 화학적 연소생성물인 격강구진의 항산화 효과에 대해 살펴보았다고 격강구진의 항산화 효과가 있음을 알 수 있었다. 본 연구결과는 격강구의 의미를 단순히 온도를 조절하는 온열효과에 의하여 치료작용이 발생하고 있다는 관점보다는 격강구진이라는 화학적 인자에 의한 치료 기전을 설명할 수 있다는 것에 의의가 있다. 실험을 진행하기에 앞서 단순구진보다 격강구진의 높은 항산화력을 기대하였지만은 실험결과, 격강구진의 항산화력과 단순구진의 항산화력에는 유의성 있는 차이가 관찰되지 않았다. 그러나, 본 연구가 더욱 진행되어 정성분석이 가능하다면, 임상가의 단순구진과 격강구진의 치료효과 차이를

실험적으로 구별할 수 있지 않을까 예측해 본다. 또한 의문점은 격강구진의 생성량은 극히 작는데 치료효과가 확실히 다르다는 임상가의 주장이 과연 옳은가이다.

한의학에서는 많은 임상 사례와 경험 축적이 존재한다. 그러나 그 많은 임상 사례나 경험을 증명하는 사례는 극히 드물며 시도 또한 많지 않다. 실제 임상에서의 결과가 이론적인 연구가 서로 일치하는 실험적 근거는 한의학의 많은 부분을 발전시킬 수 있다고 생각되며 미비하지만 본 연구와 같은 시도가 계속 이어지기를 희망한다.

IV. 결 론

隔薑灸의 燃燒시 발생하는 화학적 燃燒生成物인 隔薑灸津(MGT)의 항산화 효과를 규명하기 위한 실험을 통하여 韓醫學의 治療方法 중 하나인 隔薑灸法이 艾炷의 燃燒 시 발생하는 溫熱作用에 의한 治療作用이 있을 뿐만 아니라, 연소할 시 생성되는 隔薑灸津(Moxi with ginger tar. MGT)에서 약리작용이 있음을 알 수 있었다. 특히 DPPH 라디칼 소거능과 ABTS 라디칼 소거능은 같은 농도에서 가장 높은 활성도를 보이고 있어 비교적 낮은 총 폴리페놀 함량과 총 플라보노이드 함량을 보이고 있음에도 불구하고 약리적 치료 작용 효율이 매우 높을 수 있음을 시사하고 있으며 앞으로 이에 대한 정성분석학적 연구가 진행되어 단순구진과 격강구진과의 차이점을 밝혀야 할 것으로 사료되었다.

참고문헌

1. 손인철. 알기쉬운 뜸치료법. 서울 : 의성당. 2009 : 47-8.
2. 우현수, 이운호, 김창환. 灸法에 대한 文獻的 考察 및 最新 研究 動向. 대한침구학회지. 2002 ; 19(4) : 1-15.

격강구의 연소과정에서 생성된 격강구진의 항산화 효과

3. 西谷郁子(李紅捷譯). 灸及艾的燃燒生成物局部塗敷治愈疣贅2例報告. 國外醫學(中醫中藥分冊) 1988 ; 10(6) : 49.
4. 西谷郁子, 植田伸夫. 艾의燃燒生成物に含まれる抗酸化作用物質 について. 全日本灸學會雜誌. 1988 ; 38(1) : 29.
5. 안성훈, 구성태, 도진우, 김종성, 김광수, 양범식 외. 구진(Moxi tar)이 먼역세포에서 iNSO합성에 미치는 영향. 대한결락경혈학회지. 2000 ; 17(1) : 33-46.
6. 안영남, 안성훈, 양기중, 김풍식, 김광수, 김종성 외. 구진(Moxi tar)이 뇌신경세포에서 Nitric Oxide 생성에 미치는 영향. 대한경혈학회지. 2000 ; 17(2) : 25-44.
7. 唐照亮, 章夏清, 宋小鷗, 侯正明, 陳全珠, 袁靜. 艾灸對實驗性炎症大鼠血清SOD 活性和MDA 含量的影響. 安徽中醫學院學報 1998 ; 17(5) : 45-7.
8. 안성훈, 안영남, 백대봉, 송문영, 김경식, 손인철. 구진의 H₂O₂로 유발된 뇌신경세포 상해에 대한 보호기전 연구. 경락경혈학회지. 2005 ; 22(2) : 43-56.
9. Ahotupa M, Saxelin M, Korpela R. Antioxidative properties of Lactobacillus GG. Nutr Today. 1996 ; 31(Suppl.) : 51S-52S.
10. Valko M, Leibfriz D, Moncol J, Cronin MT, Mazur M, Teler J. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. Int J Biochem Cell Biol. 2007 ; 39 : 44-8.
11. 서근영, 이성원, 박성주, 김성철, 손인철, 황성연, 안성훈. 염산 가수분해 추출법으로 조제된 자하거 약침액의 생리활성 효과. 대한약침학회지. 2010 ; 13(2) : 5-12.
12. Folin O, W. Dennis. On phosphotungstic-phosphomolybdic compounds as color reagents, *J. Biol. Chem.* 1912 ; 12(2) : 239-49.
13. Marklund S, Marklund G. Involvement of superoxide anion radical in the oxidation of pyrogallol and a convenient assay for superoxide dismutase. Eur. J. Biochem. 1974 ; 47(3) : 469-74.
14. Dietz BM, Kang YH, Liu G, Eggler AL, Yao P, Chadwick LR, Pauli GF, Farnsworth NR, Mesecar AD, van Breemen RB, and Bolton JL. Xanthohumol isolated from Humulus lupulus inhibits menadione-induced DNA damage through induction of quinone reductase. Chem Res Toxicol. 2005 ; 18 : 1296-305.
15. Van den Berg R, Haenen GR. Van den Berg H, Bast A. Applicability of an improved Trolox equivalent anti-oxidant capacity(TEAC) assay for evaluation of anti-oxidant capacity measurements of mixture. Food Chem. 1999 ; 66 : 511-7.
16. Zhu DPQ : The Role of Moxibustion in Traditional Chinese Acupuncture. American Journal of Acupuncture. 1984 ; 12(2) : 125-32.
17. 조명래, 이재동, 박동석 외. 藥物 種類에 따른 間接灸의 燃燒特性에 關한 研究. 대한침구학회지. 1999 ; 16(4) : 345-63.
18. 김용석, 隔薑灸의 燃燒特性에 關한 研究. 慶熙大學校 大醫院. 학위논문. 1997.
19. 全國韓醫科大學 本草學共同教材編集委員會 編著. 本草學. 서울 : 永林社. 2004 : 447-8.
20. 張馬合註. 黃帝內經素問. 서울 : 成輔社. 1975 : 44, 84, 87.
21. 李梴. 國譯編註醫學入門. 崇文社(重刊). 1974 : 885.
22. 彈玉堂. 傷寒論鍼灸配穴選注. 서울 : 일중사. 1992 : 100-2.
23. 卞赫. 반복적 隔薑灸 技術이 深部 열전달에 미치는 영향. 東國大學校 大醫院. 학위논문. 2011.
24. 임성택, 김경호, 김갑성. 애구의 물리적 특성에 관한 연구. 대한침구학회지. 1994 ; 11(1) :

- 327-36.
25. 박영배, 강성길, 허웅. 애구의 연소 특성에 관한 실험적 연구 : 애주의 밀도를 중심으로. 경희대학교 한의과대학 논문집. 1994 ; 17(1) : 191-9.
 26. 박영배, 강성길, 김창환, 고희균, 오환섭, 허웅. 재료에 따른 뜸의 연소특성에 관한 연구. 대한한의학회지. 1996 ; 17(1) : 222-33.
 27. 최용태, 이운호, 박동석, 안병철, 최도영, 이재동, 남상수, 강기원. 애구의 연소 구간별 열량비에 대한 연구. 대한침구학회지. 1998 ; 15(2) : 173-81.
 28. 김윤홍, 이승호, 여수정, 최일환, 김영근, 임사비나. 구법의 표준화를 위한 온도 측정 연구. 대한침구학회지. 2008 ; 25(2) : 129-37.
 29. 千永實, 金昌煥, 姜成吉, 高炯均, 朴英培, 金容奭. 艾絨의 標準化 作業에 대한 研究動向. 대한침구학회지. 1997 ; 14(1) : 55-69.
 30. 김재효, 이관형, 안영남, 김용득, 김경식, 손인철. 애엽 및 구진 약침이 일과성 전뇌 허혈 손상에 미치는 효과. 대한경락경혈학회지. 2003 ; 20(3) : 61-80.
 31. Bauer G. Reactive oxygen and nitrogen species: Efficient, selective signals during intercellular induction of apoptosis. *Anticancer Res.* 2000 ; 20 : 4115-39.
 32. Branen AL. Toxicological and biochemistry of butylated hydroxyanisole and butylated hydroxytoluene. *J Am Oil Chem Soc.* 1975 ; 52 : 59-65.
 33. Madsen HL, Nielsen BR, Bertelsen G, Skibsted LH. Screen of antioxidative activity of spices. *Food Chem.* 1996 ; 57 : 331-77.
 34. Kim HJ, Jun BS, Kim SK, Cha JY, Cho YS. polyphenolic compound content and antioxidative activities by extract from seed, sprout and flower of safflower. *J. Korean Soc. Food Sic. Nutr.* 2000 ; 29 : 1127-32.
 35. Kuramoto T. Development and application of food materials from extract such as SOD. *Up-to data Food Process.* 1992 ; 27 : 22-3.
 36. Bondent V, Brand-Williams W, Bereset C. Kinetics and mechanism of antioxidant activity using the DPPH free radical methods. *Lebensm Wiss Technol.* 1997 ; 30 : 609-15.
 37. Yoo KM, Kim DO, Lee CY. Evaluation of different methods of antioxidant measurement. *Food Sci Biotechnol.* 2007 ; 16 : 177-82.
 38. NJ. Miller, C Rice-Evans, MJ. Davies, V. Copinaththan and A. Milner. A novel method for measuring anti-oxidant capacity and its application to monitoring the antioxidant status in premature neonants. *Clicical Science.* 1993 ; 26 : 265-77.
 39. Branen AL. Toxicological and biochemistry of butylated hydroxyanisole and butylated hydroxytoluene. *J Am Oil Chem Soc.* 1975 ; 52 : 59-65.