

## 한국산 양하(꽃봉오리와 지하경)의 인지 기능 개선 효과

조교희<sup>1</sup> · 오명숙<sup>2</sup> · 김효근<sup>2</sup> · 이선희<sup>3</sup> · 정건섭<sup>4</sup> · 김애정<sup>1</sup>

<sup>1</sup>경기대학교 대체의학대학원, <sup>2</sup>경희대학교 나노의약생명과학과  
<sup>3</sup>신한대학교 식품영양학과, <sup>4</sup>연세대학교 생명과학기술학부

### Effects of Korean *Zingiber mioga* R. (Flower Buds and Rhizome) Extract on Memory

Kyo-Hee Cho<sup>1</sup>, Myung-Sook Oh<sup>2</sup>, Hyo-Geun Kim<sup>2</sup>, Sun-Hee Lee<sup>3</sup>,  
Kun-Sub Chung<sup>4</sup>, and Ae-Jung Kim<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Department of Alternative Medicine, Kyonggi University

<sup>2</sup>Department of Life and Nanopharmaceutical Science, Kyung Hee University

<sup>3</sup>Department of Food and Nutrition, Shinhan University

<sup>4</sup>Division of Biological Science and Technology, Yonsei University

**ABSTRACT** This study investigated the biological activities and effects of Korean *Zingiber mioga* R. (flower buds and rhizome) on memory. The general composition, minerals, anti-oxidative activities, and AChE inhibitory effects were analyzed, and NORT (Novel object recognition test) and Y-Maze test *in vivo* were performed. The general contents (moisture, crude fat, crude protein, and crude ash; wet basis) of ZB (flower buds) were 91.96%, 0.15%, 1.99%, and 11.90%, respectively. The general contents (moisture, crude fat, crude protein, and crude ash; wet basis) of ZR (rhizome) were 75.21%, 0.53%, 2.20%, and 9.50%, respectively. The macro mineral contents (Ca, P, Na, and K) of ZB were 31.70 mg%, 15.20 mg%, 8.20 mg%, and 258.60 mg%, respectively. Inhibitory effects (IC<sub>50</sub> value) of DPPH and ABTS radicals were higher with ZBD (flower buds water extract) than with ZBE (flower buds EtOH extract), ZRD (rhizome water extract) or ZRE (rhizome EtOH extract). AChE inhibitory effect of ZBD was higher and that of ZRD. NORT and Y-Maze test were performed with scopolamine-induced mice treated with ZBD and ZBE. In NORT, effects of ZBD and ZBE were similar to that of donepezil. In the Y-maze test, performances of ZBD and ZBE-treated mice were similar to that of the normal group. These results suggest that Korean *Zingiber mioga* R. has potential to be developed into a new functional food for cognition enhancement in the global food market.

**Key words:** *Zinger mioga* R., flower buds, rhizome, antioxidative activities, memory

## 서론

2012년도 보건복지부 통계 자료(1)에 따르면 전 세계적으로 심각한 저출산, 의학기술의 발달 그리고 생활수준의 향상으로 인하여 60세 이상의 인구가 급속도로 증가되고 있다. 노인 인구가 증가됨에 따라 노인성 질환에 대한 관심도 높아지고 있는 실정이다(2). 특히 노인성 질환 중 최근 크게 문제가 대두되고 있는 질환인 치매(dementia)는 학습 능력 및 기억력, 감각 및 공간지각 능력이 점점 떨어지는 후천성 만성 퇴행성 질환으로 65세 치매환자 중 50~60%가 알츠하이머형 치매(Alzheimer's disease: AD)로 보고되어 있다(3,4). AD에 의한 기억력 감퇴 및 인지 기능 저하는 정상적인 개인생활은 물론 사회생활에까지 큰 문제를 야기

하며, 많은 사회적 비용 증가를 유발한다. 이러한 이유로 기억력 감퇴와 인지 기능 저하 개선과 예방에 대한 연구의 중요성이 대두되어 현재 활발히 진행되고 있다(2). AD는 아직까지 발병의 원인이 뚜렷이 규명되지 않았으나 선행 연구를 통하여 산화적 스트레스, 콜린성 신경의 손상, 아밀로이드 침착, 염증성 인자, 흥분성 신경독성, 스테로이드 호르몬의 결핍 등이 나타나는 것으로 보고되어 있다(5).

노인성 질환 예방 및 치료에 대한 관심이 높아짐에 따라 활성산소종(reactive oxygen species, ROS)의 생성을 억제시키기 위한 천연물질에 대한 관심이 증가되고 있다(5). 또한 콜린성 신경 손상에 의한 acetylcholine(ACh)의 부족은 acetylcholinesterase(AChE)의 활성 증가로 인하여 심화되는 것으로 신경손상의 많은 요인 중 가장 크게 관여하는 것으로 알려져 있다(6,7). 따라서 ACh 전구체, AChE inhibitors, cholinergic agonist를 사용하여 콜린성 작용을 활성화시키는 것에 대한 연구가 활발히 진행 중이며, AD에 사용되는 대표적인 약물로는 aminoacridine 구조의 화합물

Received 11 July 2014; Accepted 21 August 2014

Corresponding author: Ae-Jung Kim, The Graduate School of Alternative Medicine, Kyonggi University, Seoul 120-837, Korea  
E-mail: aj5249@naver.com, Phone: +82-2-390-5044

인 tacrine, piperidine 구조의 donepezil 등이 있지만 가역적인 간 독성 등 여러 가지 화학적 부작용으로 인해 사용이 용이하지 못한 실정이다(8,9). 이에 부작용이 비교적 적은 천연물을 중심으로 치매 치료제가 될 만한 약물들을 검색할 필요성이 대두되고 있다(10).

양하(*Zingiber mioga* Rosc.)는 생강과(Zingiberaceae)에 속하는 동아시아가 원산지인 다년생 초본으로 일본에서는 널리 재배되고 있다. 우리나라에서는 주로 남해안과 제주도 일대에서 소량 재배되고 있는데, 잎과 줄기가 생강과 거의 유사한 형태로 여름과 초가을에 담황색의 꽃이 피며, 식용으로 이용되어 온 꽃봉오리는 난형이다(11,12). 양하의 지하경에는 zingerene, zingirone, shogaol,  $\beta$ -phellandren 등의 성분이 함유되어 있어 방향, 진통, 건위, 거담 등의 효능이 있고, 안구충혈과 결막염 등에 약용으로 사용되어 왔다(12). 식용으로 시판되고 있는 꽃봉오리(flower buds)는 개화전의 뇌가 3~12개 정도 존재하는데 초여름이 되면 근경으로부터 윤기 나는 홍색의 꽃봉오리가 자라난다(13). 그동안 꽃봉오리의 특유의 향과 매운맛 때문에 향신료나 피클의 재료로 쓰여 왔는데, 양하 꽃봉오리의 특유의 매운맛은 mioganal 성분 때문이다(14). 원산지가 동아시아인 양하에 대한 연구는 우리나라, 일본, 중국에서 이루어지고 있으며 특히 일본에서 활발하게 연구되고 있다(15). 양하 꽃봉오리에서 분리한 galanals A3와 galanals A4 성분이 암 전이를 일으키는 human lymphoma jurkat cell에서 potent cytotoxic 활성이 있으며 염증반응에 영향을 주는 5-lipoxygenase 활성과 혈전 생성을 저해했다는 연구보고도 있다(14). 국내에서는 양하의 꽃봉오리와 지하경이 식용과 약용 등의 용도로 사용되고 있음에도 불구하고 일본과 비교하여 연구가 매우 미흡한 실정이다. 국내 연구들을 분석해 보면 양하의 향기성분과 항산화 활성(16), 여수지역 자생 양하의 영양성분 분석(17), 양하 꽃봉오리, 양하 근경이 고지혈증 유발 흰쥐의 지질성분에 미친 영향(18), 양하를 이용한 식품치료식(양하묵) 제조 및 평가(19), 양하 근경에서 항균성 물질 분리 동정(20) 등이어서 좀 더 체계적으로 연구할 필요성이 있다.

따라서 본 연구에서는 한국에서 자생하는 양하를 부위별(꽃봉오리와 지하경)로 일반성분, 다량 무기질, 항산화 비타민, 항산화 활성 및 AChE 저해 활성을 비교하고자 하였고, scopolamine 유발 인지 저하 동물모델을 이용하여 인지 기능 개선 효과를 양하 부위별로 평가하여 우리나라 고유의 천연 식물자원인 양하를 활용하는 기초자료로 제공하고자 하였다.

## 재료 및 방법

### 재료

본 실험에 사용한 양하 시료(꽃봉오리: ZB, 지하경: ZR)는 제주시 애월읍 중산간 부근 자생지에서 2013년 8월 31일과 9월 1일 양일간 채취한 것을 사용하였다. 양하 꽃봉오

리와 지하경은 각각 물로 세척한 다음 3일간 40°C에서 열풍 건조(Hot Air Dryer OF-12, Jeio Tech, Daejeon, Korea)한 후 분쇄하여 실험에 사용하였다.

### 시료 추출물의 제조

실험에 사용된 시료 추출물 제조를 위해 용매로 물과 70% 에탄올을 사용하였다. 두 가지 추출물 모두 열풍건조 시료를 각각 50 g당 30배에 해당되는 용매 1,500 mL를 가하여 추출하였다. 열수 추출은 100°C에서 2시간, 70% 에탄올 추출은 실온에서 24시간 동안 교반기를 이용해 추출하였다. 각각의 추출물은 여과(Whatman No.2, Whatman, Maidstone, UK)하여 농축기(Rotary Evaporator N-1000, EYELA, Tokyo, Japan)로 40°C 온도에서 용매를 증발시켜 동결건조기(Freeze Dryer FDU-2100, Sunil Eyela Co., Gyeonggi, Korea)로 건조 분말화 시켜 냉장보관 하면서 사용하였다.

### 일반성분 및 무기질 측정

양하 꽃봉오리와 지하경의 일반 영양성분은 AOAC법에 준하여 수분은 105°C 상압 가열법, 조지방은 Soxhlet extraction method, 회분 함량은 550°C 회화법으로 분석하였으며(21,22), 탄수화물 함량은 추출물 100 g 중에서 수분, 단백질, 지질, 조섬유소, 회분 함량을 감한 값으로 환산하였다. 단백질 함량은 질소 분석기(Vario Max C/N, Elementar Co., Hanau, Germany)로 분석하였다. 다량무기질 함량 측정은 전처리 과정으로 습식분해 후 발광분광도계(Inductively Coupled Plasma: Lactam 8440 Plasmalac, Longjumeau Cedex, Paris, France)를 이용하여 측정하였다.

### 항산화 비타민 함량 측정

양하의 꽃봉오리와 지하경의 비타민 A, C, E의 함량은 각각 AOAC법으로 측정하였다(21,22). 시료를 전처리 후 HPLC(Water 510, Waters, Miami, FL, USA)로 분석하였다. 비타민 C 함량을 측정하기 위해 시료 15 g을 10% metaphosphoric acid 25 mL로 균질화 시킨 후 이 용액을 10% metaphosphoric acid로 최종 부피가 50 mL가 되도록 맞추어 고속 원심분리기(Combi-514R, Hanil, Gyeonggi, Korea)에서 9,000 rpm, 30분간 원심분리 하여 상등액을 취하여 시험용액으로 사용하였다. 이를 HPLC(Water 510, Waters)로 함량 측정하였다.

### 총 페놀성 화합물 함량

총 페놀 함량은 Arnous 등(23)의 방법을 수정하여 측정하였다. 추출물 500  $\mu$ L를 취하고 2 N Folin-Ciocalteu 시약 50  $\mu$ L를 가하여 실온에서 3분간 방치한 후, 20%  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  용액 500  $\mu$ L를 가하여 이 혼합액을 25°C에서 1시간 동안 방치하였다. 이 혼합물에서 100  $\mu$ L를 취하여 spectrophotometer(Tecan Infinite M200 Pro, GreenMate Bio,

Seoul, Korea)를 사용하여 725 nm에서 흡광도를 측정하였다. 측정된 흡광도는 tannic acid를 이용하여 표준곡선을 작성하여 총 폴리페놀 함량을 계산하였다. 이때 총 폴리페놀 함량은 mg/g 단위로 표현하였다.

### 항산화 활성

DPPH법에 의한 free radical 소거 활성은 Brand-Williams 등(24)의 방법을 변형하여 다음과 같이 측정하였다. 96 well micro plate에 추출물의 최종 농도가 62.5, 125, 250 및 500 µg/mL가 되게끔 증류수에 희석한 각각의 100 µL의 추출물에 0.1 mM DPPH ethanol 용액 100 µL를 첨가한 후, 30분간 실온에 방치하여 517 nm에서 흡광도를 측정하였다. 이때 농도별 전자공여능은 백분율로 표현하였고, IC<sub>50</sub>(half maximal inhibitory concentration) 저해 농도는 µg/mL 단위로 표시하였다. 또한 ABTS법에 의한 free radical 소거 활성은 Jeong 등(25)의 방법을 변형하여 다음과 같이 측정하였다. 7.4 mM ABTS 용액에 2.6 mM potassium phosphate를 첨가한 다음 24시간 냉동보관 후, 1배 PBS buffer 용액을 15배 희석하여 732 nm에서 흡광도를 0.700±0.03(mean±SD)으로 맞추어 ABTS reagent로 사용하였다. 제조한 ABTS reagent 950 µL와 최종 농도가 12.5, 25, 50, 100 및 250 µg/mL가 되게끔 증류수에 희석한 각각의 추출물을 50 µL씩 투여하여 실온에서 5분간 반응시킨 후, 732 nm에서 흡광도를 측정하였다. 이때 농도별 전자공여능은 백분율로 표현하였고, IC<sub>50</sub> 저해 농도는 µg/mL 단위로 표현하였다. Free radical 소거 활성은 다음의 수식을 이용하여 계산하였다.

$$\text{Free radical 소거 활성(\%)} = \left(1 - \frac{\text{반응구의 흡광도}}{\text{대조구의 흡광도}}\right) \times 100$$

### Acetylcholinesterase 저해 활성

AChE 저해 활성은 ACh iodide를 기질로 사용하여 Ellman 등(26)의 방법을 변형하여 측정하였다. AChE 효소원은 전기뱀장어로부터 추출 정제된 효소를 사용하였다. 100 µL의 AChE assay buffer(0.1 M Tris-HCl, pH8.2), 10 µL의 0.50 U/mL AChE(dissolved in assay buffer containing 10% glycerol) 및 10 µL의 시료를 가한 후 shaking 하면서 상온에서 10분 동안 incubation 하였다. 10 µL의 10 mM 5,5'-dithiobis(2-nitrobenzoic acid)(DTNB)와 5 µL의 100 mM acetylthiocholine을 가하여 2분 동안 반응시킨 후 96 well microplate에 넣고 412 nm에서 흡광도를 측정하였다. 이때 효소 대신 같은 양의 assay buffer를 가한 것을 control로 하였다. AChE inhibitor에 의한 저해 활성은 다음의 수식을 이용하여 계산하였다.

$$\text{AChE 저해 활성(\%)} = \left(1 - \frac{\text{반응구의 흡광도}}{\text{대조구의 흡광도}}\right) \times 100$$

### 실험동물 및 약물투여

실험동물은 ICR mice 수컷(6주령) 60마리를 대한바이오(DBL, Gyeonggi, Korea)로부터 구입하여 각 군당 12마리씩 나누어 실험에 사용하였다. 동물은 한 케이지 당 12마리씩 수용하여 사육하였으며, 사육환경은 온도 21~25°C, 습도 50~60%가 되도록 유지하였고, 12시간 명암주기(07:00 점등, 19:00 소등)로 조절되는 환경에서 사육하였다. 실험 기간 동안 사료는 실험동물용 고형사료를 공급하였고, 음수는 증류수를 사용하여 자유롭게 섭취할 수 있도록 하였다. 실험 전 주위 환경에 적응하도록 1주일 사육 후 실험을 진행하였다. 실험 1시간 전에 200 mg/kg의 양하 추출물과 2 mg/kg의 donepezil를 각각 saline에 녹여 경구로 투여하였으며, normal군에는 동량의 saline을 경구로 투여하였다. 무스카리닉(muscarinic) 수용체의 길항제인 scopolamine (8)은 1.0 mg/kg의 용량으로 saline에 녹여 실험 시작 30분 전에 복강 투여하여 기억 손상을 유발하였다. 동물실험에 관련된 모든 과정은 실험동물보호법(NIH Publication No. 83-23, revised 1985)과 경희대학교 동물 사용 및 관리 가이드라인 원칙에 준하여 수행하였다(protocol#: KHP-2013-10-3).

### 물체인식 실험(novel object recognition test: NORT)

주의 집중력 평가를 위하여 물체인식 실험인 novel object recognition test(NORT)를 수행하였다. 실험 첫날 mice를 45×45×50 cm의 상자에 넣고 5분간 상자 속 환경에 적응시킨다. 5분 후 상자에 두 개의 물체를 놓고 각각의 물체에 대한 반응시간을 3분 동안 기록하였다. 세 번째 날 두 개의 물체 중 한 개의 물체를 새로운 물체로 바꾼 후 새로운 물체에 대한 반응시간을 3분 동안 기록하였다. 주의 집중력 평가를 위한 계산은 다음의 수식을 이용하여 계산하였다.

$$\text{인지 인덱스(\%)} = \frac{\text{신기물체 탐색시간}}{[\text{신기물체 탐색시간} + \text{이전물체 탐색시간}]} \times 100$$

### Y-미로실험(Y-maze test)

공간 인지력 평가를 위하여 Y-maze test를 수행하였다. 길이 20 cm, 넓이 5 cm, 높이 10 cm의 Y자 모양의 사방이 막힌 미로에서 세 개의 길을 각각 A, B, C로 정한 후 가운데에 mice를 넣고 2분 동안 미로 속 환경에 적응시키고, 8분 동안 관찰하여 꼬리까지 완전히 들어간 횟수를 기록하였다. 세 개의 다른 가지에 차례로 들어간 경우 1점씩 부여하였고, 연속으로 들어가지 않으면 점수를 부여하지 않았다. 변경 행동력(alternation behavior)은 3가지 모두에 차례로 들어가는 것으로 정의되며, 공간인지력 평가를 위한 계산은 다음의 수식을 이용하여 계산하였다.

$$\text{자발적 변경 행동률(\%)} = \frac{\text{총 변경 횟수}}{\text{총 출입 횟수} - 2} \times 100$$

## 통계처리

본 연구의 동물실험을 제외한 모든 자료는 3회 반복 측정 한 값을 이용하여 mean±SD로 나타내었고, 동물실험은 mean±SEM으로 나타내었으며 유의성 검증은 SPSS(Statistical Package for Social Sciences, SPSS Inc., Chicago, IL, USA, Ver. 12.0)를 실시하였으며, 시료 간의 유의성은 Student's t-test와 ANOVA를 실시한 후 Duncan's multiple range test로 각 시료의 평균차이에 대한 사후 검정을 유의수준 5%에서 실시하였다.

## 결과 및 고찰

### 일반성분 및 무기질 함량

양하 꽃봉오리(ZB)와 지하경(ZR)의 일반성분과 무기질 함량을 분석하여 Table 1에 제시하였다. 수분 함량은 ZB가 91.96%로 가장 높게 나타났고, 조단백질 함량은 ZR이 2.20로 가장 높게 나타났으며, 조지방 함량은 차이가 없었다. 탄수화물은 ZR에서 12.56%로 가장 높았으며, 조회분 함량은 ZB가 11.9%로 가장 높게 나타났다(Table 1).

다량 무기질을 분석한 결과, ZB와 ZR 모두 칼륨 함량이 ZB가 258.60±1.17 mg%, ZR이 656.00±1.58 mg%로 가장 많이 함유되어 있었다. Jo 등(27)의 연구의 한국 재래종 생강과 본 연구의 양하 지하경의 무기질 함량을 비교해 보면, 양하 지하경의 Ca, K, Na 함량은 재래종 생강에 비해 월등히 높은 것으로 나타났다.

### 항산화 비타민 함량

Scopolamine으로 치매를 유도한 mice에서 과산화지질과 신경전달물질과의 상관관계를 보면, 간의 과산화지질 수치가 높을수록 뇌에서의 acetylcholinesterase 활성이 낮은 경향을 보였으며 치매환자가 비타민 E와 비타민 C를 섭취하면 산화적 스트레스에 의한 뇌 조직의 손상을 감소시킬 뿐만

아니라 신경전달물질계까지 좋은 영향을 끼쳐 치매를 예방하는 데 효과가 있을 것으로 보인다고 보고되어 있다(28,29).

ZB와 ZR의 비타민 A, C, E의 분석 결과는 Table 1에 제시된 바와 같다. ZB와 ZR 모두 비타민 A는 분석되지 않았으나, 비타민 E 함량은 ZB가 0.30±0.07 mg, ZR은 0.50±0.02 mg으로 측정되었다. 비타민 C의 경우는 ZB에서는 분석되지 않았으나 ZR에서는 0.70±0.08 mg이 분석되었다(Table 1).

### 총 페놀성 화합물 함량 분석

식물성 식품 속에 함유되어있는 여러 생리활성 물질 중 페놀성 화합물은 phenolic hydroxyl 그룹에 의한 우수한 항산화력 및 여러 가지 생리활성을 가지는 것으로 보고되어 있다(29,30).

양하 꽃봉오리와 지하경의 열수와 에탄올 추출물의 총 페놀성 화합물 함량을 분석한 결과는 Table 2에 제시된 바와 같다. 양성 대조군인 황금(*Scutellaria baicalensis* Georgi hot water extraction: SBGD) 추출물(354.13±14.52 mg/g)이 가장 높은 함량을 나타냈고, 지하경 열수 추출물(rhizome water extraction: ZRD)이 55.75±0.43 mg/g, 지하경 70% 에탄올 추출물(rhizome 70% EtOH extraction: ZRE)이 50.93±0.06 mg/g, 꽃봉오리 열수 추출물(flower buds water extraction: ZBD)이 78.66±0.24 mg/g, 꽃봉오리 70% 에탄올 추출물(flower buds 70% EtOH extraction: ZBE)이 66.65±0.33 mg/g으로 나타났다. 꽃봉오리의 경우 70% 에탄올 추출물에 비해 열수 추출물의 총 페놀성 화합물 함량이 다소 높게 나타났다. 이는 양하 꽃봉오리를 열수 추출했을 때 꽃봉오리 부위에서 페놀성 화합물이 많이 추출된 결과로 보인다. 따라서 꽃봉오리를 열수 추출하면 각종 가공식품 및 건강 기능성 식품의 재료로 개발하기 위한 좋은 소재가 될 것으로 사료된다.

**Table 1.** General compositions, mineral and vitamin (A, C, E)<sup>1)</sup> contents of *Zingiber mioga* R., *Zingiber officinale*, and *Curcuma longa* L.

Samples <sup>1)</sup>	General compositions (%)				
	Moisture	Crude protein	Crude fat	Carbohydrate	Crude ash
ZB	91.96±0.15 <sup>2)</sup>	1.99±0.16 <sup>*</sup>	0.15±0.02 <sup>**</sup>	10.16±0.38 <sup>*</sup>	11.90±1.01 <sup>*</sup>
ZR	75.21±0.32	2.20±0.28	0.53±0.18	12.56±0.40	9.50±0.30
Mineral contents (mg/100 g, dry basis)					
	Calcium (Ca)	Potassium (K)	Sodium (Na)	Phosphorus (P)	
ZB	31.70±4.41 <sup>**</sup>	258.60±1.17 <sup>***</sup>	8.20±0.57 <sup>**</sup>	15.20±0.74 <sup>***</sup>	
ZR	62.30±0.46	656.00±1.58	19.10±0.52	70.10±1.54	
Vitamin (A, C, E) <sup>3)</sup> contents					
	Vit. A (IU)	Vit. C (mg)		Vit. E (mg)	
ZB	— <sup>NS</sup>	—		0.30±0.07 <sup>NS</sup>	
ZR	—	0.70±0.08 <sup>***</sup>		0.50±0.20	

<sup>1)</sup>ZB: flower bud of *Zingiber mioga* R., ZR: rhizome of *Zingiber mioga* R.

<sup>2)</sup>Values are means±SD of triplicate determinations.

<sup>3)</sup>Antioxidative vitamins.

Student's t-test significant at <sup>\*</sup>P<0.05, <sup>\*\*</sup>P<0.01, and <sup>\*\*\*</sup>P<0.001. NS: not significant.

**Table 2.** Total polyphenol contents, DPPH and ABTS IC<sub>50</sub> Value of *Zingiber mioga* R. extracts with different extraction methods

Measurement	SBGD <sup>1)</sup>	ZRD	ZRE	ZBD	ZBE
Polyphenols (mg/g)	354.13±14.52 <sup>a2)3)</sup>	55.75±0.43 <sup>cd</sup>	50.93±0.06 <sup>d</sup>	78.66±0.24 <sup>b</sup>	66.65±0.33 <sup>c</sup>
DPPH IC <sub>50</sub> <sup>4)</sup> (µg/mL)	46.92±1.17 <sup>c</sup>	206.38±14.89 <sup>a</sup>	132.56±50.64 <sup>b</sup>	57.32±2.71 <sup>c</sup>	57.79±2.71 <sup>c</sup>
ABTS IC <sub>50</sub> (µg/mL)	37.39±0.29 <sup>d</sup>	214.57±6.92 <sup>a</sup>	210.91±11.03 <sup>a</sup>	103.86±0.18 <sup>c</sup>	151.79±1.23 <sup>b</sup>

<sup>1)</sup>SBGD: *Scutellaria baicalensis* G. water extraction, ZRD: rhizome water extraction, ZRE: rhizome 70% EtOH extraction, ZBD: flower buds water extraction, ZBE: flower buds 70% EtOH extraction.

<sup>2)</sup>Values are means±SD of triplicate determinations.

<sup>3)</sup>Different superscript letters (a-d) within a row indicate significant differences (*P*<0.05).

<sup>4)</sup>The half maximal inhibitory concentration.

**양하의 부위 및 용매별 radical scavenging 활성**

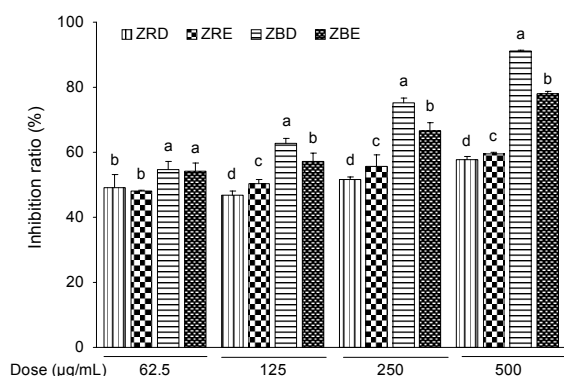
이미 많은 선행연구(3,31)에서 치매환자들의 뇌는 free radical 손상으로 인한 산화적 스트레스와 관련이 깊고 이러한 산화적 신경 손상으로 인해 알츠하이머성 치매를 비롯한 여러 가지 신경퇴행성 장애가 발생한다고 보고되어 있다.

양하 꽃봉오리와 지하경의 열수와 에탄올 추출물의 농도를 달리하여(62.5, 125, 250 및 500 µg/mL) DPPH radical scavenging 활성을 측정한 결과는 Fig. 1에 제시된 바와 같다. 모든 추출물에서 농도 의존적으로 DPPH radical scavenging 활성이 증가하는 것으로 나타났다. 그 가운데 가장 유의적으로 높은 활성을 나타낸 것은 양하 꽃봉오리 열수 추출물로 나타났다.

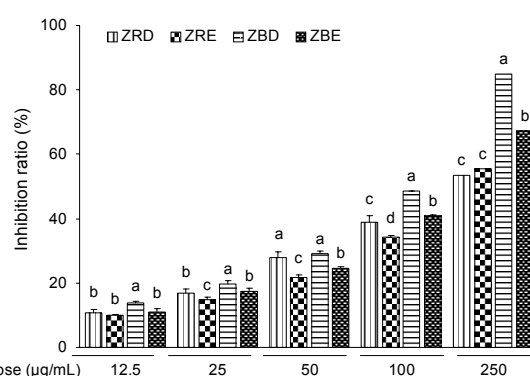
양하 꽃봉오리와 지하경의 DPPH radical scavenging 활성을 IC<sub>50</sub> 값으로 측정한 결과는 Table 2에 제시된 바와 같다. 양성대조군인 SBGD(46.92±1.17 µg/mL)와 비교 시 지하경 열수 추출물인 ZRD(206.38±14.89 µg/mL), 지하경 에탄올 추출물인 ZRE(132.56±50.64 µg/mL)에 비해 꽃봉오리 열수 추출물인 ZBD(57.32±2.71 µg/mL), 꽃봉오리 에탄올 추출물인 ZBE(57.79±2.71 µg/mL)의 DPPH 소거 활성이 더 우수하게 나타났다. 특히 ZBD의 경우 양성대조군인 SBGD와 비교해 보아도 유의적인 차이가 없을 정도로

DPPH radical scavenging 활성이 우수하게 나타났다. Bae 등(32)의 연구에서 생강의 용매별 추출물의 DPPH radical scavenging 활성의 IC<sub>50</sub> 값이 52.7~152.7 µg/mL로 측정된 것과 비교해 볼 때 ZBE가 유사한 DPPH radical scavenging 활성의 결과를 나타내었다. 특히 생강 물 추출물의 IC<sub>50</sub> 값이 250 µg/mL 이상의 결과치와 비교해 볼 때 양하 꽃봉오리 ZBD는 57.32±2.71 µg/mL로써 매우 우수한 항산화 활성을 나타냈다. 이렇게 양하 꽃봉오리 열수 물 추출물에서 우수한 항산화 활성을 보인 것은 수용성 항산화 물질이 양하 꽃봉오리에 다량 함유되어 있는 것으로 판단된다(32).

ABTS radical scavenging 활성을 농도별(12.5, 25, 50, 100, 250 µg/mL)로 측정한 결과는 Fig. 2에 제시된 바와 같다. 모든 추출물에서 농도 의존적으로 ABTS radical scavenging 활성이 증가하는 것으로 나타났다. 양하 꽃봉오리와 지하경의 ABTS radical scavenging 활성을 IC<sub>50</sub> 값으로 측정한 결과는 Table 2와 같다. 양성대조군인 SBGD(37.39±0.29 µg/mL)와 비교 시 ZRD(214.57±6.92 µg/mL), ZRE(210.91±11.03 µg/mL), ZBD(103.86±0.18 µg/mL), ZBE(151.79±1.23 µg/mL)로 모두 양성대조군에 비해 낮은 활성을 보였다. 그러나 꽃봉오리 열수 추출물이 다른 샘플에 비해서는 다소 좋은 활성을 나타내었다. Bae와



**Fig. 1.** DPPH radical scavenging assay of dose-dependent (62.5, 125, 250, 500 µg/mL) *Zingiber mioga* R. extract (%). ZRD, rhizome water extract of *Zingiber mioga* R.; ZRE, rhizome 70% EtOH extract of *Zingiber mioga* R.; ZBD, flower buds of *Zingiber mioga* R. water extract; ZBE, flower buds of *Zingiber mioga* R. 70% EtOH extract. Bars with different letters among samples are significantly different at the *P*<0.05 by Duncan's multiple range test, means±SD (n=3).

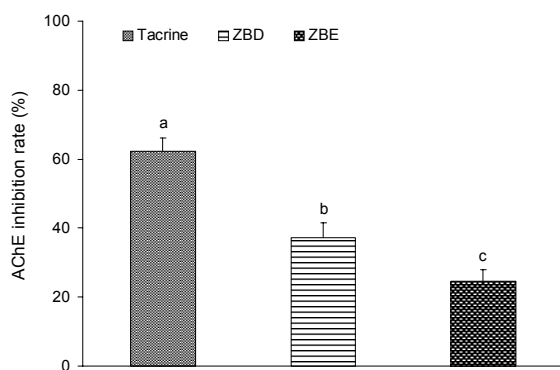


**Fig. 2.** ABTS radical scavenging assay of dose-dependent (12.5, 25, 50, 100, 250 µg/mL) *Zingiber mioga* R. extract (%). ZRD, rhizome water extract of *Zingiber mioga* R.; ZRE, rhizome 70% EtOH extract of *Zingiber mioga* R.; ZBD, flower buds of *Zingiber mioga* R. water extract; ZBE, Flower buds of *Zingiber mioga* R. 70% EtOH extract. Bars with different letters among samples are significantly different at the *P*<0.05 by Duncan's multiple range test, means±SD (n=3).

Kim(32)의 연구에서 보여준 생강의 용매별 추출물의 ABTS radical scavenging 활성 분석에서도 에탄올 추출물에 비하여 물 층에서 우수하게 평가되어 본 연구 결과와 일치하였다. Radical scavenging 활성 결과를 종합해보면 양하 추출물의 radical 소거 활성은 농도 의존적으로 항산화 활성이 증가하는 경향을 보였고, 특히 꽃봉오리 열수추출물에서 뛰어난 항산화 능력을 나타냈는데, 이는 양하 꽃봉오리에 함유되어 있는 페놀화합물과 색소성분 등이 radical 소거 활성의 주요 물질로 작용했을 것으로 판단된다(29-32).

### 양하 꽃봉오리의 용매에 따른 AChE 저해 활성

기억력 증가는 뇌의 콜린성 신경계와 밀접한 관계가 있다고 선행연구(33-36)를 통하여 이미 여러 번 입증되었다. 특히 알츠하이머 환자에게서 나타나는 기억력 손상 및 학습능력 감퇴는 활성산소 및 콜린성 신경손상에 의한 것이라는 가설이 여러 연구를 통해 입증된 바 있다(3,7,30,31,33-36). 콜린가설은 인지 기능 장애 환자의 뇌 조직 내 ACh를 증가시킬 수 있는 물질이 인지 기능 개선에 효과가 있을 수 있음을 나타낸다. ACh의 감소에는 AChE라는 효소가 관여하고 있음이 선행연구에서 입증되었다(7,33-36). 이를 토대로 하여 항산화 활성이 우수하게 나온 양하 꽃봉오리의 열수와 에탄올 추출물로 AChE 활성 저해 효과를 양성대조군인 tacrine(62.2±3.95%)과 비교해본 결과는 Fig. 3에 제시되어 있다. ZBD가 37.16±4.38%, ZBE가 24.7±3.21%로 에탄올 추출물에 비해 열수 추출물의 AChE 저해 활성이 우수하게 나타났다(Fig. 3). 이는 양하 꽃봉오리에 함유되어 있는 특정 수용성 성분이 물에 쉽게 용출되어져 나와 AChE의 활성을 더 효과적으로 저해했을 것으로 추정된다. 비타민 C와 E의 함량은 꽃봉오리에 비해 지하경에서 높게 나타났다. 항산화 활성 및 AChE 저해 활성이 꽃봉오리 열수 추출물에서 가장 높게 나온 것은 폴리페놀 함량이 꽃봉오리 열수 추출물에서 유의적으로 높았기 때문이다. 즉 꽃봉오리의 높



**Fig. 3.** Acetylcholinesterase (AChE) assay of *Zingiber mioga* R. extract. ZBD, flower buds of *Zingiber mioga* R. water extract; ZBE, flower buds of *Zingiber mioga* R. 70% EtOH extract; Tacrin, positive control. Bars with different letters are significantly different at the  $P < 0.05$  by Duncan's multiple range test, means ± SD (n=3).

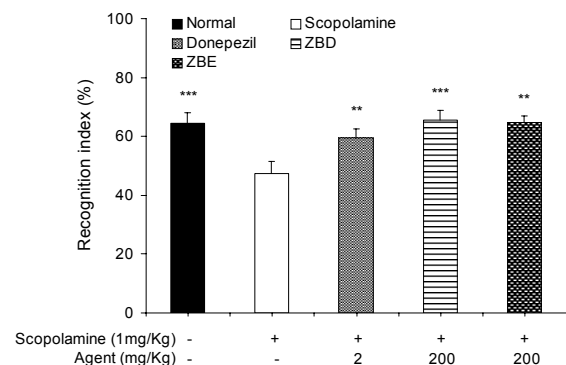
은 폴리페놀 성분에 기인한 것으로 판단된다(30).

### 양하 꽃봉오리의 scopolamine으로 유도된 인지 저하 개선 효능

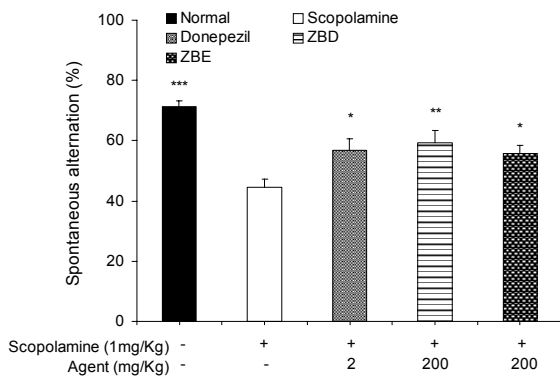
양하 꽃봉오리의 용매에 따른 아세틸콜린 분해 효소에 대한 활성 억제 효능을 *in vitro*에서 확인해본 결과 우수한 효능을 나타내어 scopolamine으로 기억 손상을 유발한 mice에서 NORT 및 Y-maze test를 이용하여 *in vivo*에서 기억력 개선 효능을 검토하고자 하였다. 인지 기능 저하 실험 모델로서 많이 사용되는 콜린성 기능 저하 유도물질인 scopolamine은 체내 ACh 수용체에 대하여 항무스카린성 효과를 내는 약물로 AChE의 활성을 증가시키므로 인하여 ACh의 분해를 촉진시켜 인지 기능을 저하시키는 것으로 알려졌다(7).

ZBD와 ZBE 추출물의 인지 기능 개선 효과를 평가하기 위해 scopolamine으로 기억 손상을 유발한 mice에서 NORT를 이용한 행동시험을 수행한 결과는 Fig. 4에 제시된 바와 같다. Scopolamine 처리군에서 정상군에 비해 인지 기능이 현저하게 저하되었고 donepezil을 투여한 양성대조군(59.61±9.98%)은 scopolamine 처리군(47.50±14.14%)과 비교 시 유의적으로 인지 기능이 좋은 것으로 나타났다. ZBD 처리군(65.43±11.85%)과 ZBE(64.77±7.15%) 처리군들 모두에서 정상군(normal group: 64.57±12.20%)과 유사한 수준의 인지 기능을 보여주었다(Fig. 4).

ZBD와 ZBE 처리군의 인지 기능 개선 효과를 알아보기 위해 scopolamine으로 기억 손상을 유발한 mice에서 Y-maze 시험을 수행한 결과는 Fig. 5에 제시된 바와 같다. NORT와 마찬가지로 scopolamine 처리군(44.47±10.03%)에서는 정상군에 비하여 인지 기능이 현저히 저하되었고 donepezil을 투여한 양성대조군(56.80±13.17%)은 scopolamine 처리군과 비교 시 유의적으로 높은 인지 기능을 나타내었다. ZBD와 ZBE 처리군 모두 양성대조군(56.80±



**Fig. 4.** Novel object recognition test of *Zingiber mioga* R. extract (200 mg/kg, p.o.). ZBD, flower buds of *Zingiber mioga* R. water extract; ZBE, flower buds of *Zingiber mioga* R. 70% EtOH extract; Scopolamine, drug for scopolamine-induced amnesia mice (1.0 mg/kg, i.p.); Donepezil, positive control (2 mg/kg, p.o.). Mean ± SEM (n=12). \*\* $P < 0.01$ , \*\*\* $P < 0.001$  in compared with the scopolamine-treated group.



**Fig. 5.** Y-MAZE test of *Zingiber mioga* R. extract (200 mg/kg, p.o.). ZBD, flower buds of *Zingiber mioga* R. water extract; ZBE, flower buds of *Zingiber mioga* R. 70% EtOH extract; Scopolamine, drug for scopolamine-induced amnesia mice (1.0 mg/kg, i.p.); Donepezil, positive control (2 mg/kg, p.o.). Mean±SEM (n=12). \* $P<0.05$ , \*\* $P<0.01$ , \*\*\* $P<0.001$  in compared with the scopolamine-treated group.

13.17%)과 유사한 수준(ZBD: 59.26±13.86%, ZBE: 55.76±9.44%)의 인지 기능을 나타냈다(Fig. 5).

이와 같은 결과로 보아 양하 꽃봉오리 추출물 200 mg/kg의 경구 투여에 의해 scopolamine으로 유도된 기억력 감퇴 동물모델에서 기억력 및 인지 기능 개선에 도움이 되었을 것으로 판단된다. 향후 양하의 기억력 개선 효능 평가를 위하여 다양한 활성 성분 및 작용기전에 대한 연구가 활발히 이루어져야 할 필요성이 있다고 사료된다.

## 요 약

본 연구에서는 한국에서 자생하는 양하를 부위(꽃봉오리와 지하경)별로 일반성분, 다량 무기질 함량, 항산화 활성, AChE 저해 활성 및 인지 기능 동물실험을 측정하여 우리나라 고유의 천연 식물자원의 우수성을 규명하고자 하였다. 양하의 꽃봉오리와 지하경의 일반성분을 분석하여 비교해본 결과 양하 꽃봉오리의 수분 함량이 가장 높게 나타났다. 조단백질 함량은 꽃봉오리, 지하경 순으로 높게 나타났다. 조지방 함량은 차이가 거의 없었고 탄수화물은 지하경에서 가장 높게 나타났다. 꽃봉오리와 지하경의 무기질 함량에서는 지하경이 Ca(62.30±0.46 mg%), K(656±1.58 mg%), Na(19.10±0.52 mg%), P(70.10±1.54 mg%)으로 더 높게 나타났다. 항산화 비타민 A, C, E를 분석해 봤을 때 비타민 A는 분석되지 않았으며, 비타민 E의 함량은 지하경이 0.50±0.02 mg으로 분석되었다. 비타민 C의 경우, 꽃봉오리에서는 분석되지 않았으나 지하경에서는 0.70±0.08 mg이 분석되었다. 양하의 꽃봉오리 열수 추출물, 꽃봉오리 70% 에탄올 추출물과 지하경 열수 추출물, 지하경 70% 에탄올 추출물의 total polyphenol contents를 측정한 결과, 꽃봉오리 추출물이 지하경보다, 열수 추출물이 에탄올 추출물보다 총 페놀성 화합물 함량이 우수하게 나타났다. 농도를 달리하여

(62.5, 125, 250 및 500 µg/mL) DPPH radical scavenging 활성을 측정한 결과 모든 추출물에서 농도 의존적으로 DPPH radical scavenging 활성이 증가하였고, 가장 좋은 활성을 나타낸 것은 꽃봉오리 열수 추출물로 나타났다. ABTS radical scavenging 역시 모든 추출물에서 농도에 의존적으로 증가하는 경향을 나타내었고, 꽃봉오리 열수 추출물에서 가장 우수하게 측정되었다. 양하 꽃봉오리의 열수 추출물과 에탄올 추출물로 아세틸콜린에스터라아제 저해 활성을 특정한 결과, 양성대조군인 tacrine과 비교 시 양하의 꽃봉오리 열수 추출물이 꽃봉오리 에탄올 추출물에 비해 아세틸콜린에스터라아제 저해 활성이 높게 나타났다. 인지 기능 개선 효과를 평가하기 위해 scopolamine으로 기억 손상을 유발한 mice에서 물체인식 실험(NORT)과 Y-미로실험(Y-maze)을 이용한 행동시험을 수행한 결과, NORT에서 양하 꽃봉오리의 열수 추출물과 에탄올 추출물이 거의 유사하게 정상군과 비슷한 정도의 높은 효능을 나타내었고, Y-maze test에서도 양하 꽃봉오리의 열수 추출물과 에탄올 추출물 모두에서 항치매 약물인 donepezil과 유사한 효능을 보였다. 이상의 결과를 종합하여 볼 때 양하 추출물 특히 꽃봉오리 부위를 열수 추출했을 때 항산화 활성, 아세틸콜린에스터라아제 저해 활성, 인지 기능 및 학습능력 증진에 효과적으로 작용하여 천연 치매 예방물질 소재로서 이용가치가 높아 앞으로 양하에 대한 지속적인 연구가 필요할 것으로 생각되었다.

## 감사의 글

본 연구는 IPET 고부가가치식품기술개발사업의 지원으로 수행된 연구임(112105-02-2-HD040).

## REFERENCES

1. Im CM. 2012. *Ministry of health and welfare statistical year book*. Ministry of Health and Welfare, Seoul, Korea. p 58.
2. Lee MH. 2007. A study of diet therapy program for prevention and rehabilitation for the age-related disease. *J Collection of Dissertations Busan Women's College* 28: 321-359.
3. Evans DA, Funkenstein HH, Albert MS, Scherr PA, Cook NR, Chown MJ, Hebert LE, Hennekens CH, Taylor JO. 1989. Prevalence of Alzheimer's disease in a community population of older persons. Higher than previously reported. *JAMA* 262: 2551-2556.
4. Nordberg A. 1996. Pharmacological treatment of cognitive dysfunction in dementia disorders. *Acta Neurol Scand Suppl* 168: 87-92.
5. Boje KM, Arora PK. 1992. Microglial-produced nitric oxide and reactive nitrogen oxides mediate neuronal cell death. *Brain Res* 587: 250-256.
6. Kuhl DE, Koeppe RA, Minoshima S, Snyder SE, Ficaro EP, Foster NL, Frey KA, Kilbourn MR. 1999. In vivo mapping of cerebral acetylcholinesterase activity in aging and Alzheimer's disease. *Neurology* 52: 691-699.
7. Davies P, Maloney AF. 1976. Selective loss of central cholinergic neurons in Alzheimer's disease. *Lancet* 2: 1403-

- 1410.
8. Kurz A. 1998. The therapeutic potential of tacrine. *J Neural Transm Suppl* 54: 295-299.
  9. Doody RS. 1999. Clinical profile of donepezil in the treatment of Alzheimer's disease. *Gerontology* 45(Suppl 1): 23-32.
  10. Bianchetti A, Ranieri P, Margiotta A, Trabucchi M. 2006. Pharmacological treatment of Alzheimer's disease. *Aging Clin Exp Res* 18: 158-162.
  11. Choi SK, Suh YN. 1993. Effects of basal media and growth regulators on plant regeneration and growth of plantlet. *Korean J Medicinal Crop Soc* 1: 38-42.
  12. Kim TS. 1998. *Natural plant of Korea*. Seoul National University Publishing Department, Seoul, Korea. p 203.
  13. Hiromo I, Mori H, Kato K, Hosaka S, Aiso S. 1982. Carcinogenicity examination of inflorescence of *Zingiber mioga* Roscoe. *Cancer Lett* 15: 203-208.
  14. Masako A, Yoshio O, Yasushi U, Yasujiro M, Yoshimasa N, Toshihiko O. 2006. A novel labdane-type trialdehyde from myoga (*Zingiber mioga* Roscoe) that potently inhibits human platelet aggregation and human 5-lipoxygenase. *Biosci Biotechnol Biochem* 70: 2494-2500.
  15. Miyoshi N, Nakamura Y, Ueda Y, Abe M, Ozawa Y, Uchida K, Osawa T. 2003. Dietary ginger constituents, galanals A and B, are potent apoptosis inducers in human T lymphoma Jurkat cells. *Cancer Lett* 199: 113-119.
  16. Lee JW, Chon SU, Han SK, Choi DG, Ryu J. 2007. Effects of antioxidant and flavor components of *Zingiber mioga* Rosc. *Korean J Medicinal Crop Sci* 15: 203-209.
  17. Jeong SJ, Im SI, Jung BM. 2005. Comparison of nutritional constituents of native Yangha (*Zingiber mioga*) in Yeosu and Cheju area. *Korean J Food Sci Technol* 37: 713-716.
  18. Kim HS. 2012. Preparation and evaluation of Yangha mook using the *Zingiber mioga* R. *MS Thesis*. University of Kyonggi, Seoul, Korea.
  19. Shin JH, Lee SJ, Sung NJ. 2002. Effects of *Zingiber mioga* root and *Zingiber officinale* on the lipid concentration in hyperlipidemic rats. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 31: 679-684.
  20. Jang KC, Kim SC, Song EY, Kim KH, Kwon HM, Kang SH, Park KH, Jung YH. 2003. Isolation and substances from the rhizome of *Zingiber mioga* Rosc. *J Korean Soc Agric Chem Biotechnol* 46: 246-250.
  21. AOAC. 1990. *Official methods of analysis of AOAC Intl*. 15th ed. Association of Official Analytical Chemists, Washington, DC, USA. p 870.
  22. AOAC. 1995. *Official methods of analysis*. 16th ed. Association of Official Analytical Chemists, Washington, DC, USA. p 30-31.
  23. Arnous A, Makris DP, Kefalas P. 2001. Effect of principal polyphenol components in relation to antioxidant characteristics of aged red wines. *J Agric Food Chem* 49: 5736-5742.
  24. Brand-Williams W, Cuvelier ME, Berset C. 1995. Use of a free-radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT -Food Sci Technol* 28: 25-30.
  25. Jeong JH, Jung H, Lee SR, Lee HJ, Hwang KT, Kim TY. 2010. Anti-oxidant, anti-proliferative and anti-inflammatory activities of the extracts from black berry fruits and wine. *Food Chem* 123: 338-344.
  26. Ellman GL, Courtney KD, Andres Jr V, Featherstone RM. 1961. A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. *Biochem Pharmacol* 7: 88-90.
  27. Jo MH, Ham IK, Lee GH, Lee JK, Lee GS, Park SK, Kim TI, Lee EM. 2011. Comparison of active ingredients between field grown and *in vitro* cultured rhizome of Korean native ginger (*Zingiber officinale* Roscoe). *Korean J Plant Res* 24: 404-412.
  28. Jeong IK. 1999. Effect of supplementation of vitamin E and vitamin C on neurotransmitters and TBARS level in rats with dementia induced by scopolamine treatment. *PhD Dissertation*. University of Chung-Ang, Seoul, Korea.
  29. Krinsky NI. 1989. Antioxidant functions of carotenoids. *Free Radic Bio Med* 7: 617-635.
  30. Rice-Evans C, Miller N, Paganga G. 1997. Antioxidant properties of phenolic compounds. *Trends Plant Sci* 2: 152-159.
  31. Markesbery WR, Camey JM. 1999. Oxidative alterations in Alzheimer's disease. *Brain Pathol* 9: 133-146.
  32. Bae JS, Kim TH. 2011. Pancreatic lipase inhibitory and antioxidant activities of *Zingiber officinale* extracts. *Korean J Food Preserv* 18: 390-396.
  33. Deutsch JA. 1971. The cholinergic synapse and the site of memory. *Science* 174: 788-794.
  34. Bartus RT, Dean RL 3rd, Beer B, Lippa AS. 1982. The cholinergic hypothesis of geriatric memory dysfunction. *Science* 217: 408-414.
  35. Whitehouse PJ, Price DL, Clark AW, Coyle JT, DeLong MR. 1981. Alzheimer's disease: evidence of selective loss of cholinergic neurons in the nucleus basalis. *Ann Neurol* 10: 122-126.
  36. Coyle JT, Price DL, DeLong MR. 1983. Alzheimer's disease: a disorder of cortical cholinergic innervation. *Science* 219: 1184-1190.