

## 산양산삼약침의 추출법 별 성분 및 항산화 활성 비교

이대연<sup>1</sup>, 최병선<sup>1</sup>, 이인희<sup>1</sup>, 김재현<sup>1</sup>, 권필승<sup>2</sup>  
<sup>1</sup>포레스트요양병원, <sup>2</sup>원광보건대학교 임상병리학과

### Comparison of Index Compounds Content and Antioxidative Activity of Wild Ginseng Pharmacopuncture by Extraction Methods

Dae-yeon Lee<sup>1</sup>, Byoung-sun Choi<sup>1</sup>, In-hee Lee<sup>1</sup>, Jae-hyun Kim<sup>1</sup>, Pil-seung Gwon<sup>2</sup>  
<sup>1</sup>Forest Hospital, <sup>2</sup>Dept. of Clinical Laboratory Science, Wonkwang Health Science University

#### ABSTRACT

**Objectives:** Wild ginseng pharmacopuncture is widely used in oriental medicine. However, there is no standard method for efficiently extracting the active ingredient. In this study, in order to determine an efficient extraction method, wild ginseng was extracted by the distillation and 70% ethanol reflux methods, respectively. In comparing each extract, the index compounds were analyzed, and antioxidant activity was measured.

**Methods:** The index compounds, ginsenoside Rg1 and ginsenoside Rb1, were detected using high performance liquid chromatography (HPLC). Antioxidative activities of total phenolic compounds, DPPH ( $\alpha$ ,  $\alpha$ -diphenyl- $\beta$ -picrylhydrazyl), ABTS (2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonic acid)) and FRAP (ferric reducing antioxidant power) were measured to compare their bioactivities. Since saponin is known to be hemolytic, the hemolytic activity of each extract was compared.

**Results:** The index compounds were analyzed. Nothing was detected in the wild ginseng distilled extracts (WGDE). In the wild ginseng 70% ethanol reflux extracts (WGEE), ginsenoside Rg1 was 3.66 mg/g, and ginsenoside Rb1 was 16.70 mg/g. WGEE showed higher levels than WGDE in all antioxidative activities. In the hemolytic test, the extracts showed almost no toxicity, but WGEE showed lower toxicity than WGDE.

**Conclusions:** In this study, it was concluded that WGEE is more advantageous than WGDE in the detection of index compounds and bioactivity. However, additional studies of additional extraction methods and other bioactivity tests are needed.

**Key words:** wild ginseng pharmacopuncture, distilled extraction, reflux extraction, ginsenoside, antioxidative activity

## 1. 서 론

산삼(*Panax ginseng* C. A. Meyer)은 오갈피과(Araliaceae)에 속하는 인삼이 야생상태에서 자연 발아하여 성장한 삼을 말한다<sup>1,2</sup>. 전통적으로 삼은

대표적인 강장제로 여겨졌으며 강장, 강심, 건위보정, 진정약으로 사용하고 신진대사 기능 조절<sup>3</sup>, 성기능 증강<sup>4</sup>, stress에 대한 저항 증가<sup>5,6</sup>, 항체 생산의 촉진<sup>7,8</sup> 등의 효능이 있음이 보고되고 있다. 자연에서 자생한 산삼은 인삼보다 우수하다고 알려져 있지만<sup>6</sup> 희소성으로 인하여 고가이기 때문에 인삼의 종자를 산림 중에 파종하여 키운 산양삼이 많이 사용되고 있으며 이는 약침제형으로 사용되기도 한다. 산양산삼약침에 대한 연구로는 안전성 확보를 위한 독성 실험<sup>9</sup>, 유효성의 검증을 위한 in vitro

· 투고일: 2018.04.10, 심사일: 2018.06.26, 게재확정일: 2018.06.28  
· 교신저자: 권필승 전북 익산시 익산대로 514  
원광보건대학교 임상병리학과  
TEL: 063-840-1212 FAX: 063-840-1219  
E-mail: pskwon@wu.ac.kr

및 in vivo 항암효능<sup>10-13</sup> 등에 대한 보고가 있다. 산삼의 효능을 나타내는 약리활성 물질 중 가장 잘 알려진 것은 사포닌 중 ginsenoside이다. Ginsenoside 중 Rb<sub>1</sub>은 항산화 작용이 있으며<sup>14</sup>, Rb<sub>2</sub>는 암독소 호르몬에 대한 길항 작용 및 중앙혈관 신생 억제 작용이 있고<sup>15</sup>, Rd는 신 기능부전의 치료효과<sup>16</sup>가 있다. 비록 소량이지만, 항암 및 항전이 작용을 가지고 있는 비극성 사포닌인 ginsenoside Rg<sub>3</sub>와 ginsenoside Rh<sub>2</sub>도 보고되어 있다<sup>17-19</sup>. 또한 Ginsenoside Rb<sub>1</sub>, Rg<sub>1</sub>이 경우는 유효성분이자 인삼을 대표하는 지표성분으로 대한약전에 등재되어 있다. 이러한 사포닌들은 단독으로의 효능보다 복합적으로 사용되었을 때에 생리활성이 더 우수하다는 연구도 있다<sup>20,21</sup>. 사포닌 이외에도 polysaccharide와 phenol계 화합물, alkaloid 성분 등이 함유되어 있으며 이들 도 생리활성을 보이는 것으로 알려져 있다<sup>22</sup>. 노화 및 만병의 근원으로 알려져 있는 free radical은 1950년대 R. Gerschman과 D. Harman에 의하여 증명되기 시작하였다<sup>23</sup>. Free radical은 인체내의 정상적인 대사과정에서 형성되고 세포와 조직에 독성을 일으켜 질병을 유발하는 것으로 알려져 있다<sup>24</sup>. 항산화 물질에 대한 항산화 관련한 삼에 대한 연구로는 인삼을 복용하였을 때 항산화능이 증가되고<sup>25</sup> 부위에 따라 다양한 항산화능이 있음이 보고된 바 있다<sup>26</sup>. 또한 자연산 산삼, 산양산삼과 인삼의 항산화능을 비교한 연구도 있다<sup>27</sup>. 하지만 추출법의 차이에 대한 항산화능 비교를 한 연구를 미흡한 실정이다. 증류식 추출법은 물을 용매로 하여 열추출하고 증발되는 수증기를 포집하는 방식의 추출법으로 추출법의 특성상 분자량이 작고 휘발성이 높은 성분의 추출에 적합하다. 환류추출법은 다양한 용매를 이용하여 추출하고 추출액에 있는 잡질들을 정제하여 유효성분만을 남겨 동결건조하는 방식의 추출법으로 용매에 따라 원하는 성분을 추출하는 데에 적합하다. 약침은 보편적으로 증류식 추출법을 많이 사용하고 있지만 원료 약재의 유효성분의 화학적 특성에 따라 추출법을 선정하

는 것이 필요하다. 본 연구에서는 산양산삼을 이용하여 일반적으로 많이 사용되는 증류식 추출법을 사용한 약침(Wild Ginseng Distilled Extracts(WGDE))과 70% 에탄올을 이용하여 환류추출하고 정제한 산양산삼약침(Wild Ginseng 70% Ethanol Extract(WGEE))의 성분 및 항산화 활성을 비교하고 적혈구 용혈성을 비교하여 약침의 적절한 추출법을 모색하고자 하였다.

## II. 재료와 방법

### 1. 기기 및 시약

산양산삼은 천방농산(충청남도, 한국)에서 재배된 10~12년근을 구입하였다. 추출에 사용된 주정은 (주)대정화학(시흥, 한국)에서 생산한 1급 시약을 사용하였다(Lot No. 140613). 감압농축기는 EYELA사(TOKYO, Japan)의 N2110 모델을 사용하였고, 동결건조기는 일신바이오베이스사(경기도, 한국)의 DF8503 모델을 사용하였다. 분석에 사용된 HPLC는 Agilent사(USA)의 1260 Infinity II LC system이었으며 이동상 제조에 사용된 water, acetonitrile(ACN), Methanol(MeOH)은 HPLC grade(J. T. Baker, phillipsburg, NJ, USA)를 사용하였다. 항산화 실험 및 용혈성실험을 위하여 사용된 microplate reader는 Biotek사(Winooski, USA)의 Epoch2였다. Folin-Ciocalteu reagent, gallic acid, quercetin, 2,2'-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH), 2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline 6 sulfonic acid) diammonium salt(ABTS), potassium persulfate, 2,4,6-tripyridyl s triazine(TPTZ), (±)-6-hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchromane-2 carboxylic acid(Trolox), iron(III) chloride hexahydrate(FeCl<sub>3</sub> · 6H<sub>2</sub>O), sodium acetate trihydrate, ascorbic acid는 Sigma-Aldrich(St. Louis, USA)에서 구입하였고 Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, diethyleneglycol, acetic acid는 Junsei(Tokyo, Japan), NaOH는 삼전(평택, 한국), HCl는 SK 케미컬(서울, 한국)에서 각각 구입하였다.

## 2. 산양산삼의 추출

WGDE의 추출은 증류추출기를 이용하였다. 100 g의 건조된 산양산삼에 1 L의 증류수를 넣고 3시간 환류추출로 전탕하였다. 전탕 후 환류추출기에 냉각수 공급을 중단한 후 증발되는 수증기를 포집액화하여 검액으로 사용하였다. 실험 전까지 냉장 상태로 보관하였다. WGEE는 100 g의 건조된 산양산삼에 1 L의 70% 주정을 넣고 3시간 환류추출하였다. 추출액을 여과한 후 여액을 감압농축하고 80%, 90% 주정을 이용하여 알코올 수침하여 정제하였다. 여과 후 동결건조하고 실험전까지 분말상태로 냉동보관 하였다.

## 3. 지표성분 분석

산양산삼의 지표성분 분석은 대한약전 의약품 각조 제 2부의 인삼 항목에 따라 분석법을 설정하였다. C<sub>18</sub>(4.6×250 mm, 5 μm, Agilent) 컬럼을 사용하였고 검출기는 UV 203 nm이며 유속은 1 mL/min였다. 기기 주입 볼륨은 모두 10 μL로 하였다. 그 외의 분석조건은 Ginsenoside Rg<sub>1</sub>과 Rb<sub>1</sub>이 차이가 있었다. Ginsenoside Rg<sub>1</sub>(Sigma-Aldrich Co., Saint Louis, USA) 분석은 컬럼온도 30 °C, 이동상은 25% ACN을 사용하였고 표준품의 순도는 97.5%였다. Ginsenoside Rb<sub>1</sub>(Sigma-Aldrich Co., Saint Louis, USA)은 컬럼온도 40 °C, 이동상은 30% ACN을 사용하였고 표준품의 순도는 100.0%였다. WGDE는 추출 후 원액을 그대로 사용하였으며, WGEE는 0.1006 g/mL의 농도로 기기분석 하였다. 분석 후 각 성분의 함량은 다음과 같은 공식으로 계산하였다.

## 4. 항산화 활성

WGDE는 증류로 얻은 산물을 원액, 2회석, 4회석하여 사용하였으며, WGEE는 8, 4, 2 mg/mL로 증류수에 녹여 사용하였다.

### 1) 총 페놀화합물 측정

WGDE와 WGEE에 함유되어 있는 총 페놀 함량은 비색법<sup>28</sup>에 따라 측정하였다. 각 농도별 추출

물을 50 μL을 취해 2% Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>용액 1 mL과 혼합한 뒤 50% folin-cioalteau's phenol reagent 50 μL를 추가하고 암소에서 1시간 동안 반응시킨 후 micro plate reader로 750 nm에서 흡광도를 측정하였다. Gallic acid를 표준물질로 측정하여 표준곡선을 작성하였고, 건조 시료 중량 당 mg gallic acid equivalent로 나타내었다.

### 2) DPPH free radical scavenging

라디칼 소거활성은 안정한 라디칼 DPPH를 사용하는 방법으로 측정하였다<sup>29</sup>. 각 농도별 추출물 100 μL와 에탄올에 용해시킨 DPPH 500 μg/mL 100 μL을 혼합한 뒤 37 °C에서 30분간 암소에서 반응시킨 후, ELISA reader를 이용하여 540 nm에서 흡광도를 측정하였다. Trolox를 표준물질로 표준곡선을 작성하였고, 건조 시료 중량 당 mg trolox equivalent로 나타내었다.

### 3) ABTS free radical scavenging

ABTS 라디칼 소거능을 이용한 시료의 항산화측정은 Arnao 등의 방법<sup>30</sup>을 일부 변경하여 측정하였다. 7.4 mM ABTS와 2.6 mM potassium persulfate를 동량으로 혼합하여 실온인 암소에서 24시간 방치하여 ABTS를 형성시킨 후 750 nm에서 흡광도 값이 1.0±0.1가 되도록 메탄올로 희석한 후 사용하였다. 희석된 용액 190 μL에 각 추출물 10 μL를 가하여 1시간 동안 암소에서 방치하고 750 nm에서 흡광도를 측정하였다. Trolox를 표준물질로 이용하여 표준곡선을 작성하였고, 건조 시료 중량 당 mg trolox equivalent로 나타내었다.

### 4) FRAP(Ferric Reducing Antioxidant Power) 활성

Fe<sup>3+</sup>을 Fe<sup>2+</sup>로 환원시키는 능력을 측정하는 FRAP 기법은 Bemzie<sup>31</sup>, Kim<sup>32</sup> 등의 방법을 일부 변형하여 측정하였다. 300 mM acetate buffer(pH 3.6), 40 mM HCl로 용해시킨 10 mM TPTZ 및 20 mM FeCl<sub>3</sub>·6H<sub>2</sub>O용액을 사용 직전에 각각 10:1:1 비율로 섞고 37 °C에서 보관한다. FRAP 용액 190 μL에 각 추출물 10 μL을 넣고 30분 동안 암소에서

방치한 후 570 nm에서 흡광도를 측정한다. Trolox를 표준물질로 이용하여 표준곡선을 작성하였고, 건조 시료 중량 당 mg trolox equivalent로 나타내었다.

### 5. 용혈성 시험

용혈성 시험은 이 등의 방법<sup>33</sup>을 응용하여 사용하였다. 0.25 mL의 혈액에 등장액을 첨가하여 총 4 mL이 되게 하였다. 3,000 rpm에서 15분간 원심분리하고 측정하고자 하는 시료 및 대조액을 동량 첨가한 후 30분간 방치하였다. 각각의 흡광도를 414 nm microplate reader로 측정하고 대조군과 비교하여 용혈된 적혈구의 양을 측정 계산하였다. WGDE는 증류원액, 10, 10<sup>2</sup>, 10<sup>3</sup>, 10<sup>4</sup>배 희석한 것을 용액으로 하였고 WGEE는 8, 0.8, 0.08, 0.008, 0.008 mg/mL의 농도로 희석하여 검액으로 하였으며 Trion X-100은 0.1%의 농도로 사용하였다. 용혈성의 정도는 아래의 식과 같이 계산하였다.

$$(\%) \text{ 용혈성 (Hemolysis)} = [(S-D)/(T-D)] \times 100$$

S : 시료첨가구 흡광도

D : DMSO첨가구 흡광도

T : Triton X-100 첨가구 흡광도

### 6. 통계

실험결과는 3회 반복 측정된 후 평균±표준편차로 나타냈으며, 통계적인 평가는 independent t-test로 검정하였다. p값이 0.05보다 작을 때 유의한 것으로 평가하였다.

## III. 결 과

### 1. 산양산삼의 추출

WGDE는 100 g의 산양산삼을 1 L의 증류수로 추출하여 가능한 모든 용액을 증류액으로 하였으

며 증류수를 가하여 총 1 L로 하였다. WGEE는 100 g의 산양산삼을 70% 주정으로 추출하였고 여과 후 80%, 90% 주정 처리하여 정제한 후 총 8.03 g의 동결건조 분말을 얻었다(Table 1). WGEE의 최종 추출 수율은 8.03%였다. 정확한 비교를 위하여 활성실험 및 용혈성실험을 진행할 때에는 WGDE는 추출원액을 기준으로 하였으며, WGEE는 추출물을 WGDE와 동일한 농도인 8.03 g을 1 L의 증류수에 녹인 액을 기준으로 희석하여 사용하였다.

Table 1. Yield of Wild Ginseng Extracts

Extraction methods	Raw material (g)	Final product (L, g)	Yield (%)
Distillation extraction method	100	1 L	100
70% EtOH reflux extraction		8.03 g	8.03

### 2. 지표성분의 분석

대한약전 상 지표성분인 ginsenoside Rg<sub>1</sub>과 Rb<sub>1</sub>을 HPLC-UV를 이용하여 분석하였다. WGDE는 각각의 지표성분이 전혀 검출되지 않았으며, WGEE는 ginsenoside Rg<sub>1</sub>은 3.66 mg/g, ginsenoside Rb<sub>1</sub>은 16.70 mg/g이 검출되었다(Fig. 1). 각 성분의 머무름 시간(RT)은 31.05분, 37.34분이었다.

### 3. 항산화 활성

#### 1) 총 페놀화합물

WGDE와 WGEE의 총 페놀화합물의 함량을 gallic acid에 비례하여 측정한 결과, WGDE는 원액, 2희석, 4희석에서 각각 16.38±0.39, 16.19±0.26, 12.95±0.23 µg/mL이었으며 WGEE는 8.0, 4.0, 2.0 mg/mL에서 각각 119.31±1.94, 110.95±4.29, 70.22±1.56 µg/mL의 값을 보였다. 추출법 별 동일한 용량에서 WGEE가 유의적으로 높은 함량을 보였다(Fig. 2).

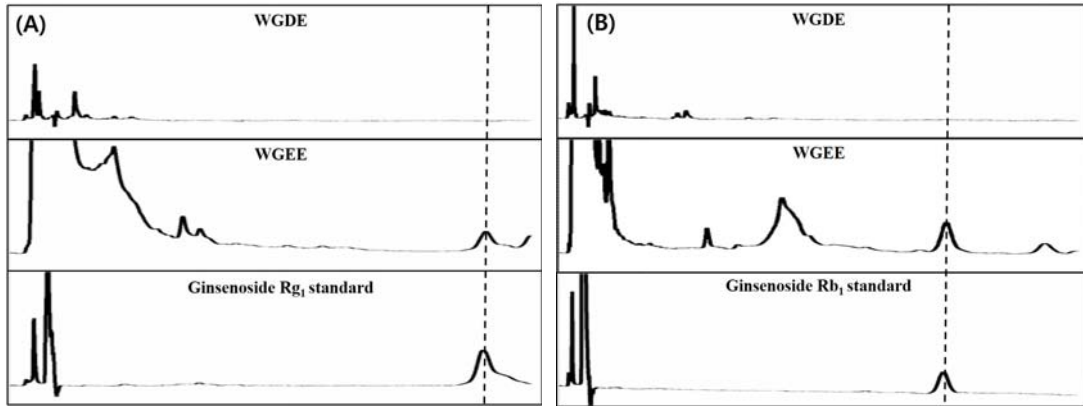


Fig. 1. HPLC chromatogram on ginsenoside, the index compound, WGDE and WGEE.

(A) chromatogram of ginsenoside Rg<sub>1</sub>, (B) chromatogram of ginsenoside Rb<sub>1</sub>

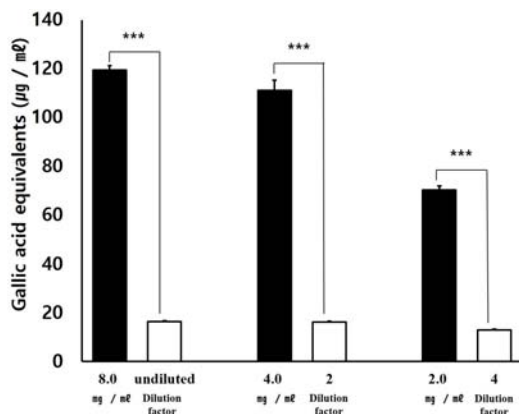


Fig. 2. Extraction method changes in total Phenolic compounds of Wild Ginseng extracts.

Data are expressed as mean±SD of triplicate experiments.

WGDE : Wild Ginseng distilled extracts, WGEE : Wild Ginseng 70% Ethanol extracts, mg gallic acid equivalent per g dry weight

\*p<0.05, \*\*p<0.01 and \*\*\*p<0.001 indicating statistically significant difference

## 2) DPPH free radical scavenging

WGDE와 WGEE의 DPPH를 이용한 전자공여능의 정도를 trolox에 비례하여 측정하였다. WGDE

는 원액, 2회석, 4회석에서 각각  $13.94 \pm 0.83$ ,  $6.02 \pm 0.81$ ,  $4.94 \pm 0.64$  µg/mL이었으며 WGEE는 8.0, 4.0, 2.0 mg/mL에서 각각  $35.39 \pm 2.44$ ,  $27.88 \pm 1.75$ ,  $15.32 \pm 1.08$  µg/mL의 값을 보였다. 추출법 별 동일한 용량에서 WGEE가 유의적으로 높은 함량을 보였다(Fig. 3(A)).

## 3) ABTS free radical scavenging

WGDE와 WGEE의 ABTS를 이용한 전자공여능의 정도를 trolox에 비례하여 측정하였다. WGDE는 원액, 2회석, 4회석 중 2회석액에서만  $0.01 \pm 5.40$  µg/mL의 활성을 보였으며, WGEE는 8.0, 4.0, 2.0 mg/mL에서 각각  $171.05 \pm 6.46$ ,  $90.75 \pm 8.47$ ,  $66.28 \pm 11.41$  µg/mL의 값을 보였다. 추출법 별 동일한 용량에서 WGEE가 유의적으로 높은 함량을 보였다(Fig. 3(B)).

## 4) FRAP(Ferric Reducing Antioxidant Power) 활성

WGDE와 WGEE의 철이온에 대한 환원력의 정도를 trolox에 비례하여 측정하였다. WGDE는 원액, 2회석, 4회석에서는 활성을 전혀 보이지 않았으며 WGEE는 8.0, 4.0, 2.0 mg/mL에서 각각  $99.13 \pm 3.41$ ,  $43.38 \pm 3.84$ ,  $28.90 \pm 0.65$  µg/mL의 값을 보였다(Fig. 3(C)).

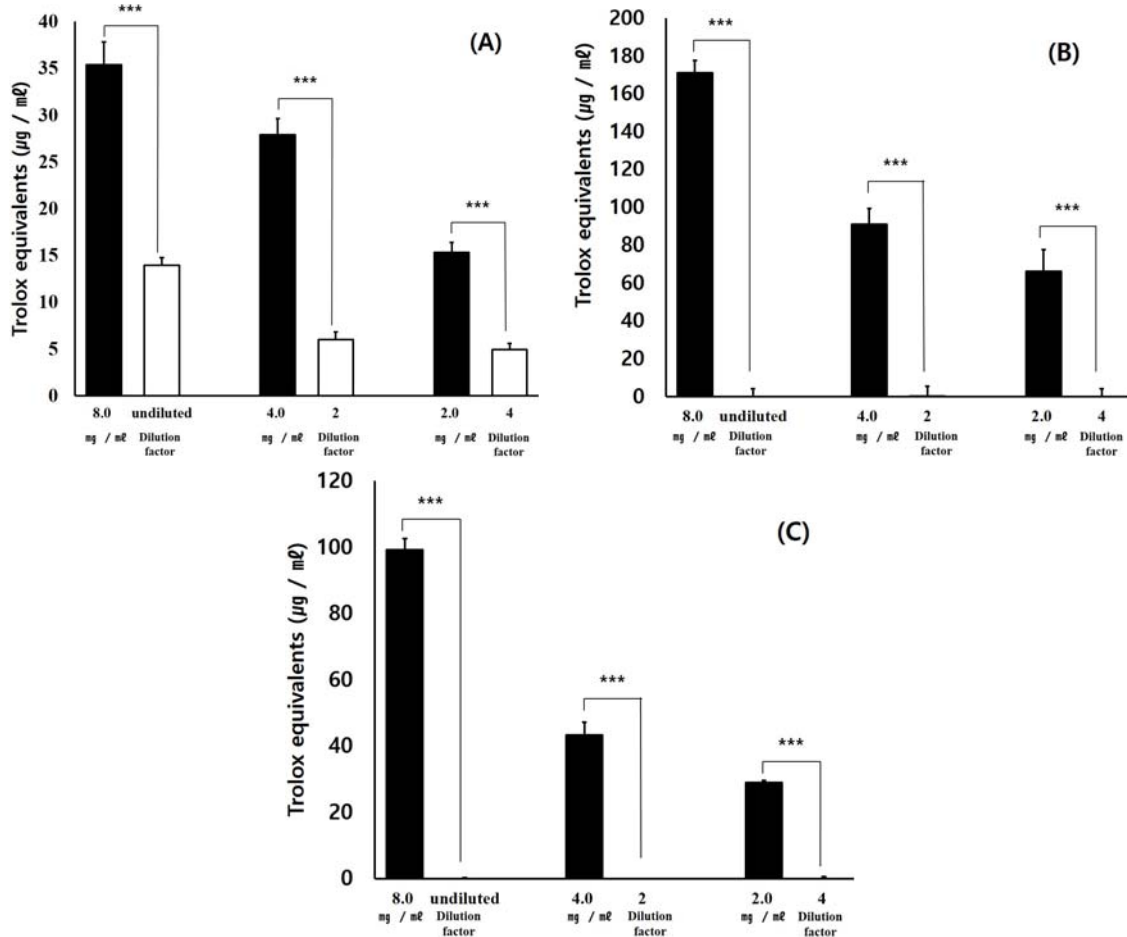


Fig. 3. Extraction method changes in (A) DPPH free radical scavenging, (B) ABTS free radical scavenging, (C) ferric reducing anti-oxidative activity of Wild Ginseng extracts.

Data are expressed as mean±SD of triplicate experiments. WGDE : Wild Ginseng distilled extracts, WGEE : Wild Ginseng 70% Ethanol extracts, mg trolox equivalent per g dry weight

\*p<0.05, \*\*p<0.01 and \*\*\*p<0.001 indicating statistically significant difference.

#### 4. 용혈성 시험

WGDE와 WGEE의 농도별 적혈구의 용혈성을 비교하기 위하여 먼저 Triton X-100로 100% 용혈 시키는 최소의 농도를 설정하고 그 농도의 흡광도 값과 시료를 처리하였을 때의 흡광도 값을 비교하여 표현하였다. WGDE는 원액, 10배 희석, 10<sup>2</sup>배 희석, 10<sup>3</sup>배 희석, 10<sup>4</sup>배 희석액에서 각각 3.09±0.37, 2.72±0.27, 2.67±0.22, 2.60±0.27, 2.45±0.15%였으며,

WGEE는 8, 0.8, 0.08, 0.008, 0.0008 mg/mL 농도에서 각각 1.56±0.17, 1.30±0.11, 1.25±0.27, 1.10±0.13, 1.03±0.15%의 용혈성을 보였다. WGDE와 WGEE는 높은 용혈성을 보이지 않았으나, WGDE가 더 낮은 용혈정도를 보였다(Fig. 4).

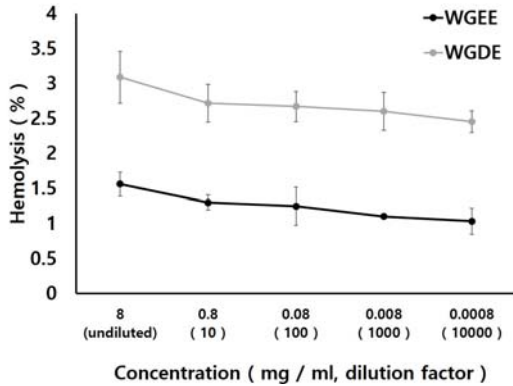


Fig. 4. Comparison of hemolysis of red blood cell between WGDE and WGEE.

WGDE : Wild Ginseng distilled extracts, WGEE : Wild Ginseng 70% Ethanol extracts.

#### IV. 고찰 및 결론

최근에는 불완전한 암치료보다 암 예방 효과와 관련된 새로운 약물연구 및 제형개발에 많은 노력을 기울이고 있다. 특히 천연물은 비교적 부작용이 적기 때문에 암치료제로서 부각되고 있다<sup>34</sup>. 산양산삼 약침은 면역기능을 조절하고<sup>35</sup> 임상적으로도 종양에 대한 효능이 보고되고 있어 많이 사용되고 있다<sup>36</sup>. 또한 지방세포의 분화억제에도 영향이 있다고 보고<sup>37</sup>되어 있어 암환자 및 체중감량을 위한 처방으로 한방업계에서 빈번하게 사용되고 있다. 산양산삼약침은 추출법에 따라 성분에 큰 차이를 보이기 때문에 그에 대한 활성에서도 차이가 있을 수밖에 없다. 대한약전에는 산삼은 등재되어 있지 않지만, 인삼은 등재되어 있고, 그의 지표성분은 ginsenoside Rg<sub>1</sub>과 ginsenoside Rb<sub>1</sub>로 되어 있다. 이에 HPLC로 분석해본 결과 환류추출에서 ginsenoside Rg<sub>1</sub>은 3.66 mg/g, ginsenoside Rb<sub>1</sub>은 16.70 mg/g이 함유되어 있었으며 증류추출에서는 전혀 검출되지 않았다(Fig. 1). 이는 백 등의 보고<sup>38</sup>와 동일한 결과이며 이론적으로 사포닌인 ginsenoside는 화학적으로 배당체이기 때문에 증류추출법으로는 추출되지 않은 것으로 예상된다. 다만 산삼의 향기가 나는

것으로 보아 파나센(Panacene) 등의 성분들이 함유되어 있을 것으로 추측 할 수 있었다. 항산화 활성을 비교하기 위하여 total phenolic compounds, DPPH, ABTS, FRAP를 비교 측정하였다. 플라보노이드나 페놀화합물 등의 함량에 비례하여 전자공여능 등의 항산화 활성이 향상된다는 연구에 따르면 페놀성 물질은 항산화 작용 효과검증의 지표라고 할 수 있다<sup>39</sup>. 페놀화합물에 존재하는 phenolic hydroxyl(OH)기는 단백질에 결합하는 성질이 있어 항암, 항산화, 항균 효과 등의 생리작용을 가지는 것으로 알려져 있다<sup>40,41</sup>. 일반적으로 총 페놀화합물의 함량이 증가할수록 항산화 등의 생리작용이 증가되는 것으로 보고되어 있다<sup>42,43</sup> 항산화 활성 실험 중 DPPH는 편리하고 비용이 저렴한 실험법이기에 항산화 물질을 다양한 천연소재로부터 검색하는데 자주 이용된다. ABTS 측정법은 DPPH와 같은 라디칼 소거능에 의한 측정이라는 점에서는 동일하지만, 화학반응을 통해 자유라디칼이 유발된 용액에 시료를 넣어 항산화를 측정한다는 점에서 차이가 있으며 단시간에 측정할 수 있고 소수성과 친수성 모두에 적용이 가능하다<sup>44,45</sup>. FRAP는 Fe<sup>3+</sup>를 Fe<sup>2+</sup>로 환원시키는 능력을 확인 할 수 있는 방법이다. 본 연구에서 진행한 모든 항산화활성 검증방법의 실험 농도를 설정할 때 증류추출한 액상의 경우 분말화하는 단계에서 성분이 손실될 수 있기 때문에 부득이하게 액상상태로 희석하여 사용하였으며 환류추출한 경우는 분말화하여 최종산물을 증류액과 동일한 양의 용매에 녹여 사용하였다. 최초 사용한 산양산삼의 무게를 기준으로 최종산물을 동일한 농도로 하여 사용하였다. 본 연구에 사용한 모든 항산화 활성 기법에서 70% 에탄올 환류 추출한 시료가 유의적으로 높게 나타났다. Total phenolic compounds와 DPPH에서는 증류추출한 시료에서도 미량 활성이 존재하였으나 그 외의 활성실험에서는 활성이 나타나지 않았다(Fig. 2, 3). 적혈구는 세포의 용적 변화와 용혈성 실험에 널리 이용되며<sup>33</sup> 정상적으로는 hemoglobin 분자가 적

혈구 막을 통화할 수 없으나 혈구막의 투과성을 증가시키는 용질이 존재하는 경우 용혈성이 일어난다<sup>46</sup>. 식물 사포닌은 세포막의 구성성분의 하나인 지질을 제거함으로써 막투과성의 증가 내지는 막의 파괴를 유발하여 용혈을 일으키는 것으로 알려져 있다<sup>47</sup>. Ginsenoside 역시 사포닌이기에 용혈작용을 일으킬 수 있으며 이는 피하 및 정맥에 직접적으로 투여되었을 때 문제가 될 수 있기 때문에 용혈성을 비교해보았다. WGEE가 WGDE보다 비교적 낮은 용혈정도를 보였으나, 두 가지 모두 용혈독성은 미비하였다(Fig. 4). 이는 산양산삼의 사포닌은 막지질에 대한 친화성이 약하다는 것을 의미한다<sup>33</sup>. 본 연구는 한방산업에서 많이 사용되는 산양산삼약침의 유효성을 높이고 지표물질의 표준화의 기초가 되는 것에 목적을 두었다. 본 연구결과에서는 증류추출법보다는 환류추출법이 산양산삼의 유효성분들을 더 많이 추출할 수 있고 생리활성이 더 높아져 효율적이라는 결론을 얻었다. 하지만, 본 연구에서 사용한 추출법외에도 수많은 추출법들이 있어 이들에 대한 추가적인 연구가 필요하며 산삼이 다양한 효능을 보이는 약재이기 때문에 다양한 생리활성을 비교할 필요도 있다. 추가적으로 지표물질 등에 대한 연구를 통해 매번 조제시마다 일정한 함량을 보일 수 있도록 표준화된 조제법을 개발하고 그에 대한 철저한 품질관리도 필요하다.

### 참고문헌

- Nielsen S, Jensen MD. Obesity and cardiovascular disease is body structure a factor. *Curr Opin Lipidol* 1997;8(4):200-4.
- Lee KU, Lee HK, Koh CS, Min HK. Artificial induction of intravascular lipolysis by lipid-heparin infusion leads to insulin resistance in man. *Diabetologia* 1988;31(5):285-90.
- Ha TY, Lee JH. Bacteriological and Immunological Studies on Panax ginseng. *The Korean journal of immunology* 1979;1(1):45-52.
- Yamada M. Studies on Panax ginseng. *Folia Pharmacologica Japonica* 1955;51(4):390-9.
- Brekhman II. Panax ginseng. Leningrad: Gosudaarst Isdat et Med Lit: 1957, p. 1.
- Choi JH. The Mystery of Ginseng. Seoul: Gyumunsa: 1984, p. 13-4.
- Nam GY. New Korean Ginseng. Seoul: Cheonilinswaesa: 1996, p. 56.
- Takagi K. Proceedings International Ginseng Symposium, The Central Research Institute, Office of Monopoly. Seoul: Korea: 1974, p. 119.
- Kwon K, Cho AL, Lee SG. The Study on Acute and Subacute Toxicity and Anti-Cancer Effects of cultivated wild ginseng Herbal acupuncture. *Journal of pharmacopuncture* 2003;6(2):7-27.
- Cho HC, Lee SG, Kwon KR. An Experimental Study on Apoptosis of cultivated Wild Ginseng Distilled Herbal Acupuncture by Concentration Level. *Journal of Pharmacopuncture* 2004;7(2):5-17.
- Chu CS, Lee SG, Kwon KR. An Experimental Study on Apoptosis of Cultivated Wild Ginseng Distilled Herbal Acupuncture by controlled pH and Electrolyte. *J Acupunct Res* 2004;21(6):1-17.
- Kwon KR, Park CW, Ra MS, Cho CK. Clinical observation of multiple metastatic cancer patient with hepatocellular carcinoma treated with cultivated wild ginseng herbal acupuncture therapy. *Journal of Korean Acupuncture & Mox Society* 2005;22(2):211-7.
- Kwon KR, Yoon HC, Kim HH. Anti-cancer Effects of Cultivated Wild Ginseng Herbal Acupuncture in C57BL/6 Mice Injected with B16/F10 Cells and Reproductive Toxicity by Doxorubicin. *J Acupunct Res* 2006;23(1):105-20.



14. Jeong CS, Hyun JE, Kim YS. Anti-oxidative Effective of Ginoside Rb<sub>1</sub> on the HCl · Ethanol-Induced Gastric Tissue in Rats. *Natural product sciences* 2002;33(3):252-6.
15. Choi KJ. The constituent of material ginseng and management of quality. *Korean J Ginseng Sci* 1991;15(3):247-56.
16. Choi SS, Lee JK, Han KJ, Lee HK, Lee J, Suh HW. Effects of ginsenoside Rd on nitric oxide system induced by lipopolysaccharide plus TNF- $\alpha$  in C6 rat glioma cells. *Arch Pharm Res* 2003;26(5):375-82.
17. Wang W, Zhao Y, Rayburn ER, Hill DL, Wang H, Zhang R. In vitro anti-cancer activity and structure-activity relationships of natural products isolated from fruits of Panax ginseng. *Cancer Chemoth Pharmacol* 2007;59(5):589-601.
18. Ni JS. Inhibitory Effect of 20(S)- ginsenoside Rg<sub>3</sub> on Growth and Metastasis of Lewis Pulmonary Carcinoma. *Zhonggliu Fangzhi Yanjiu* 2006;33(5):311-3.
19. Popovich DG, Kitts DD. Ginsenosides 20(S)- protopanaxadiol and Rh<sub>2</sub> reduce cell proliferation and increase sub-G<sub>1</sub> cells in two cultured intestinal cell lines, Int-407 and Caco-2. *Can J Physiol Pharmacol* 2004;82(3):183-90.
20. Morita T. Chemical studies on Panax genus plants grown in Asia. *Hiroshima univ Doctoral Thesis* 1986:6-7.
21. Attele AS, Wu JA and Yuan CS. Ginseng pharmacology: multiple constituents and mutiple actions. *Biochem Pharmacol* 1999;58(11):1685-93.
22. Park JD. Recent Studies on the Chemical Constituents of Korean Ginseng. *Journal of Ginseng Research* 1996;20(4):389-415.
23. Valko M, Leibfritz D, Moncol J, Cronin MT, Mazur M, Telser J. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *Int J Biochem Cell Biol* 2007;39(1):44-84.
24. Carol D, Roland G. New perspectives on the biochemistry of superoxide anion and the efficiency of superoxide dismutase. *J Biol Chem* 1990;39(3):399-405.
25. Kim SH, Chang MJ, Lee SG, Chang WS, Choi HH, Sung JH. The effect of ginseng administration on malondialdehyde and total antioxidant status of the blood in human. *Korean journal of physical education* 2003;42(3):661-8.
26. Lee SE, Lee SW, Bang JK, Yu YJ, Seong NS. Antioxidant Activities of Leaf, Stem and Root of Panax ginseng C. A. Meyer. *Korean Journal of Medicinal Crop Science* 2004;12(3):237-42.
27. Jang HY, Park HS, Kwon KR, Rhim TJ. A study on the comparison of antioxidant effects among wild ginseng, cultivated wild ginseng, and cultivated ginseng extracts *Journal of pharmacopuncture* 2008;11(3):67-78.
28. Do HJ, Lee JH, Ha IH, Chung HJ, Lee JW, Kim MJ, et al. Comparison of Index Compound Content and Anti-inflammatory Activity of Eucommiae Cortex by Various Drying Methods. *Journal of Oriental Rehabilitation Medicine* 2017;27(1):19-25.
29. Cho CY, Lee IH, Lee JW, Kim EJ, Lee JH, Kim MJ. The Effects of High Temperature High Pressure Steam Sterilization on Woohwangchungsimwon. *Journal of Oriental Rehabilitation Medicine* 2015;25(1):45-52.
30. Arnao MB, Cano A, Acosta M. The hydrophilic and lipophilic contribution to total antioxidant activity. *Food Chem* 2001;73(2):239-44.
31. Benzie IF, Strain J. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "antioxidant

- power”: the FRAP assay. *Anal Biochem* 1996; 239(1):70-6.
32. Kim SM, Kim DY, Park HR, Seo JH, Yeom BM, Jin YJ, et al. Screening the Antioxidant Components and Antioxidant Activity of Extracts Derived from Five Varieties of Edible Spring Flowers *Korean J SCI Technol* 2014;46(1):13-8.
  33. Lee SW, Lee JS, Lee SK, Ok CK, Kim YH. Effect of Ginseng Saponin, Gypsophila Saponin, and Detergents on Volume Changes and Fragility of Red Blood Cells. *Archives of Pharmacol Research* 1989;33(1):15-9.
  34. Harris P, Finlay IG, Cook A, Thomas KJ, Hook K. Complementary and alternative medicine use by patients with cancer in Wales: a cross sectional survey. *Complement Ther Med* 2003; 11(4):249-53.
  35. Kim YJ, Lee JM, Lee E. Immunomodulatory activity of cultivated wild ginseng pharmacopuncture. *Korean Journal of Acupuncture* 1989;33(1):15-9.
  36. Kim Koo, Choi YS, Joo JC, Moon G. A Case Report for Lung Cancer Patient Showing Remission Treated with Cultivated Wild Ginseng Pharmacopuncture. *Journal of pharmacopuncture* 2011;14(4):33-7.
  37. Kim BW, Kwon KR. The Effect of Cultivated Wild Ginseng Extract on Preadipocyte Proliferation *Journal of pharmacopuncture* 2007;10(3):1-12.
  38. Baek SH, Lee IH, Kim MJ, Kim EJ, Ha IH, Lee JH, et al. Component Analysis and Toxicity Study of Combined Cultivated Wild Ginseng Pharmacopuncture. *The Journal of Korean Oriental Internal Medicine* 2015;36(2):189-99.
  39. Kang YH, Park YK, Lee GD. The Nitrite Scavenging and Electron Donating Ability of Phenolic Compounds. *Korean journal of food science and technology* 1996;28(2):232-9.
  40. Halliwell B, Aeschbach R, Loliger J, Aruoma OI. The characterization of antioxidants. *Food Chem Toxicol* 1995;33(7):601-17.
  41. Droge W. Free radicals in the physiological control of cell function. *Physiol Rev* 2001;82(1):47-95.
  42. Imai J, Ide N, Nagae S, Moriguchi T, Matsuura H, Itakura Y. Antioxidant and radical scavenging effects of aged garlic extract and its constituents. *Plant Med* 1994;60(5):417-20.
  43. Rice-Evans CA, Miller NJ, Paganga G. Antioxidant properties of phenolic compounds. *Trends Plant Sci* 1997;2(4):152-9.
  44. Lee SO, Lee HJ, Yu MH, Im HG, Lee IS. Total Polyphenol Contents and Antioxidant Activities of Methanol Extracts from Vegetables produced in Ullung Island. *Korean J Food Sci Technol* 2005;37(2):233-40.
  45. Ku KM, Kim HS, Kim BS, Kang YH. Antioxidant activities and antioxidant constituents of pepper leaves from various cultivars and correlation between antioxidant activities and antioxidant constituents. *J Appl Biol Chem* 2009;52(2):70-6.
  46. Fettiplace R, Haydon DA. water permeability of lipid membranes. *Physiol Rev* 1980;60(2): 510-50.
  47. Gloxhuber C. Anionic surfactants: Biochemistry, toxicology, dermatology. New York and Basel: Marcel Dekker Inc: 1981, p. 41.