

추출법에 따른 당귀수산과 작약감초탕의 성분과 활성의 비교

이대연*† · 이호성* · 조주휘† · 이영우† · 김성진† · 강경래† · 권태욱† · 양승구† · 이인희*†
(*)더포레*, 포레스트한방병원†, 경희나로한방병원†

Comparison of Ingredients and Activities of *Danggwisoo-san* and *Jakyakgamcho-tang* by Extraction Method

Dae-Yeon Lee, K.M.D.*†, Ho-Sung Lee, K.M.D.*, Ju-Hwi Jo, B.A.†, Young-Woo Yi, B.A.†, Sung-Jin Kim, B.A.†, Kyungrae Kang, K.M.D.†, Tae-Wook Kwon, K.M.D.†, Seung Gu Yang, K.M.D.†, In-Hee Lee, Ph.D.*†
The Fore*, Forest Hospital†, Kyunghee Naro Hospital†

RECEIVED September 6, 2020
REVISED September 22, 2020
ACCEPTED September 24, 2020

CORRESPONDING TO
In-Hee Lee, The Fore, No. 702, 87,
Ogeum-ro, Songpa-gu, Seoul
05542, Korea

TEL (070) 5213-7114
FAX (02) 6929-3399
E-mail ih0915@hanmail.net

Copyright © 2020 The Society of
Korean Medicine Rehabilitation

Objectives *Danggwisoo-san* and *Jakyakgamcho-tang* are frequently prescribed for traffic accident patients in Korea. The aim of this study was to examine index compound analysis, antioxidant activity and amount of starch measurement by extraction method.

Methods *Danggwisoo-san* and *Jakyakgamcho-tang* were extracted with water and 70% ethanol. Antioxidant activity was measured by 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl, 2,2-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) and ferric reducing antioxidant power according to the standard protocol. The contents of the indicator components nodakenin, paeoniflorin, and glycyrrhizin were measured by high-performance liquid chromatography, respectively. All starches were hydrolyzed and then total D-glucose was measured and compared.

Results Antioxidant activity was excellent in 70% ethanol in all assays. The index component was jagged because its solubility was different depending on the extraction solvent. Starch content was significantly lower in 70% alcohol extract than water extract.

Conclusions The results of this study showed that physiological activities and components are different according to extraction conditions. Each herbal medicine has a suitable extraction solvent. Also, the difference in starch content is an object to be considered as it may affect digestion and absorption. (**J Korean Med Rehabil 2020;30(4):31-39**)

Key words Traffic accidents, Starch, Antioxidants, High pressure liquid chromatography

서론»»»»

교통사고에 의한 부상은 대부분이 경상자로 분류된다¹⁾. 교통사고에 의한 경상 환자들은 후유증의 치료로 한방적 처치를 선호하고 있어 사고 후 한방병원에서 치료받는 환자가 꾸준히 증가하고 있으며^{2,3)} 그에 따라 한방 의료의 역할이 증가되고 있다⁴⁾. 환자들의 증상으로

는 견비통, 요통, 두통, 현훈, 소화불량 등이 있으며 이는 전통처방 중 당귀수산, 작약감초탕 등이 적합하기에 다빈도로 사용되어 왔다⁵⁻⁷⁾.

당귀수산은 항혈전⁸⁾, 뇌허혈 개선⁹⁾, 골결합¹⁰⁾ 등의 효과가 보고되어 있으며 임상적으로도 교통사고 환자의 피부부저항 변이도 개선⁵⁾, 긴장형 두통 개선¹¹⁾, 간장 및 신장 기능이상 개선¹²⁾의 효능이 보고되어 있다. 작약감초

당은 항염증¹³⁾, 항당뇨 및 항혈전¹⁴⁾, 신경 보호 작용¹⁵⁾ 등이 보고되어 있으며 임상적으로 근육 피로 및 통증 개선 효과¹⁶⁾ 등이 보고되어 있다. 당귀수산과 작약감초탕은 이미 교통사고 환자들에게 널리 처방되고 있으나 이 처방들은 모두 전통적인 물에 의한 전탕 방식으로 처방되는 것이 보편적이다. 하지만 온도, 추출 시간, 추출 용매, 압력 등 추출 과정에서 있을 수 있는 다양한 요인들로 인해 활성성분의 생화학적 특성, 추출 수율 등에 영향을 주어 약의 유효성과 성분의 변화와 부작용 등을 초래할 수 있다¹⁷⁻²⁰⁾.

당귀수산은 전통적으로 주수상반 기법을 이용하기도 한다. 주수상반은 단순히 물이 아니라 약 10% 에탄올을 첨가하여 추출하는 것으로 한방적으로 주정을 첨가하여 활혈지통의 효능을 높일 뿐 아니라 비극성 성분들을 더 많이 추출하여 생리 활성도를 높이는 것이다. 작약감초탕은 물추출에 비하여 30% 주정추출이 유효성분들을 더 많이 추출하고 그에 따라 피로개선 효능이 더 증가된다는 보고도 있다²¹⁾. 이처럼 추출 용매에 따라 약효는 변화가 있을 수 있다.

대부분의 한약을 구성하는 원료 약재들은 동물보다 식물 유래가 많기 때문에 수성 추출물에는 일정량의 전분이 포함되어 있을 가능성이 높다. 다량의 전분이 인체에 항상 유익한 것은 아니다. 전분 과립은 비정질 매트릭스에 포함된 결정질 화학구조를 가지고 있기 때문에 전분의 결정화와 소화율은 반비례의 관계를 가지고 있어²²⁾ 과도한 전분은 팽만감, 소화불량 또는 위산 역류와 같은 약물 부작용을 유발할 수도 있다.

이에 본 연구에서는 교통사고 환자에게 처방되는 약 중 임상 사용빈도가 높은 당귀수산과 작약감초탕을 물과 70% 주정으로 각각 추출하고 이들의 지표성분을 선정하여 성분 함량을 비교하였으며 약의 생리 활성 및 소화불량 등의 부작용을 확인하기 위하여 항산화 활성 및 전분량을 측정하여 유의한 결과를 얻었기에 보고하고자 한다.

재료 및 방법 >>>>

1. 당귀수산과 작약감초탕의 조제

당귀수산과 작약감초탕을 구성하는 모든 한약재는 한퓨어(주)(Pocheon, Korea)에서 구입하였으며 자체적으로 검증 후 사용하였다. 당귀수산을 조제하기 위하여 당귀, 작약, 오약, 향부자, 소목, 홍화, 도인, 육계, 감초 총 300 g 칭량하여 준비하였다. 용매는 70% 주정과 증류수를 각각 총량의 10배수로 하였고 3시간씩 환류 추출하였다. 추출 후 각 추출물들은 3 µm 필터 페이퍼를 이용하여 여과한 후 동결건조(Lyoph-Pride03; Ilshinbiobase Co., Dongducheon, Korea)하였다. 실험 직전까지 -20°C 냉동고에 보관하였다. 작약감초탕을 조제하기 위하여 작약과 감초를 총 300 g 칭량하여 준비하였고 이후 모든 조제 과정은 당귀수산과 동일하였다.

2. 지표성분의 분석

당귀수산과 작약감초탕의 지표성분 분석에 이용한 high-performance liquid chromatography는 LC-20A, CBM-20A, LC-20AT, SIL-20AC, CTO-20AC, DGU-20A5R, SPD-M20A, LC-PDA 모델(Shimadzu Co., Kyoto, Japan)을, 컬럼은 C18 ODS (25 cm * I.D 5.0 µm; Agilent Technologies, Inc., Charlotte, NC, USA)를 이용하였다.

1) 당귀수산의 지표성분 분석

구성 약재 중 당귀의 주성분인 nodakenin (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA)과 작약의 주성분인 paeoniflorin (Sigma-Aldrich), 감초의 주성분인 glycyrrhizin (Sigma-Aldrich)을 지표성분으로 선정하였고 분석법은 대한약전 11개정의 정량시험법을 응용하여 사용하였다. 70% 주정추출 동결건조분말과 물추출 동결건조분말을 각각 1.00 mg/mL 농도로 희석하였고 표준품은 nodakenin 0.5 mg/mL, paeoniflorin 0.025 mg/mL의 농도로 하였다. nodakenin 분석조건은 이동상을 acetonitrile (Honeywell International, Charlotte, NC, USA) (A)과 물(B)을 (A) 20% (3분) → (A) 30% (8분) → (A) 30% (18분) → (A) 50% (19분) → (A) 50% (40분)의 농도기울기적으로 제어하였다. 유속은 1 mL/min으로 유지하였으며 330 nm

에서 검출하였다. Paeoniflorin 분석조건은 이동상을 acetonitrile (A)과 물(B)을 (A) 10% (0분) → (A) 10% (15분) → (A) 20% (30분) → (A) 35% (45분) → (A) 48% (50분)의 농도기울기적으로 제어하였다. 유속은 1 mL/min으로 유지하였으며 230 nm에서 검출하였다. Nodakenin 분석조건은 이동상을 35% acetonitrile에 0.1% (A)와 물 (B)을 (A) 20% (3분) → (A) 30% (8분) → (A) 30% (18분) → (A) 50% (19분) → (A) 50% (40분)의 농도기울기적으로 제어하였다. 유속은 1 mL/min으로 유지하였으며 330 nm에서 검출하였다. Glycyrrhizin 분석조건은 이동상을 0.1% phosphate (Junsei Chemical Co., Tokyo, Japan)를 첨가한 35% acetonitrile로 기울기적 조건없이 분석하였다. 유속은 1 mL/min으로 유지하였으며 245 nm에서 검출하였다.

2) 작약감초탕의 지표성분 분석

작약의 주성분인 paeoniflorin과 감초의 주성분인 glycyrrhizin을 지표성분으로 선정하였다. 70% 주정추출 동결건조분말과 물추출 동결건조분말을 각각 1.00 mg/mL 농도로 희석하였고 표준품은 paeoniflorin 0.025 mg/mL, glycyrrhizin 0.2 mg/mL의 농도로 하였다. Paeoniflorin과 glycyrrhizin 분석 조건은 당귀수산과 동일하였다.

3. 항산화 활성 비교

1) 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH)

DPPH 측정은 Blois의 방법²³⁾을 응용하여 trolox의 농도에 해당하는 활성 정도로 측정하였다. 당귀수산과 작약감초탕 동결건조 분말 각각 1.00, 2.00 mg/mL과 표준곡선을 위하여 trolox를 125 µg/mL부터 2 fold dilution로 희석한 용액에 모두 동량의 0.50 mg/mL DPPH 용액을 섞고 30분간 37°C 암소에서 보관한 뒤 540 nm microplate reader (EPOCH2; BioTek Instruments, Inc., Winooski, VT, USA)로 측정하였다. Trolox의 값으로 표준곡선을 그린 후 기울기 값에 대입하여 정량하였다.

2) 2,2-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) (ABTS)

ABTS free radical 소거능은 Arnao 등²⁴⁾의 방법을 이용하였다. 7.4 mM ABTS와 2.6 mM potassium persulfate

를 동량 혼합한 후 암상태의 실온에서 12시간 이상 반응시켜 ABTS⁺를 형성시켰다. 750 nm Micro plate reader로 측정하여 값이 0.7±0.02가 되도록 희석하였다. 희석된 시약 190 µL에 검액 10 µL를 첨가하고 차광에서 2시간 반응시켰다. 750 nm Micro plate reader로 흡광도를 측정하였다. 표준물질은 trolox로 선정하였으며 7.81, 15.63, 31.25, 62.5, 125, 250, 500 µg/mL의 농도로 희석하여 각각의 흡광도를 측정하고 표준곡선을 그렸다.

3) Ferric reducing antioxidant power (FRAP)

FRAP 활성은 Benzie와 Strain의 방법²⁵⁾을 변형한 방법에 따라 측정하였다. Acetate buffer와 40 mM HCl로 조제한 10 mM TPTZ, 20 mM FeCl₃ · 6H₂O 용액을 준비하여 10 : 1 : 1 비율로 혼합한 후 사용하였다. 시약 190 µL와 샘플 10 µL를 vortex로 혼합한 후 차광실온에서 30분간 반응시켰다. 593 nm Micro plate reader를 이용하여 측정하였다. 표준물질은 trolox를 3.9, 7.81, 15.63, 31.25, 62.5, 125, 250 µg/mL의 농도하였고, 흡광도를 측정하여 표준곡선을 그렸다.

4. 총 전분량의 측정

각 시료의 전분 함량은 megazyme kit (K-TSTA, Chicago, IL, USA)를 사용하여 측정하였다^{26,27)}. 추출 용매별 당귀수산과 작약감초탕 추출물 2 mL에 95% 에탄올 8 mL를 첨가하고 실온에서 30분 동안 방치한 후 3,000 rpm에서 원심 분리하였다. 상층액을 제거하고 펠렛을 1 mL의 증류수에 재현탁시키고 1 mM acetate buffer 3.9 mL와 66 unit amyloglucosidase 0.1 mL를 첨가한 후 50°C에서 30분 동안 배양하였다. Glucose oxidase, peroxidase, p-hydrobenzoic acid sodium azide 완충액에 용해된 4-amino antipyrine을 검액에 첨가하여 검출하였다. 540 nm 흡광도에서 판독하였으며 다양한 농도(10, 50, 100, 500 및 1,000 µg/mL)에서 D-glucose의 여러 샘플을 통해 표준곡선을 얻었고, 곡선을 기반으로 추출 용매별 당귀수산과 작약감초탕 샘플의 전분 함량을 정량화하였다.

5. 통계

본 연구의 모든 결과는 같은 조건으로 3회 반복 실험

을 통해 평균±표준편차로 결과값을 내었다. IBM SPSS Statistics 22.0 프로그램(IBM Corp., Armonk, NY, USA)을 사용하였고, 통계기법은 analysis of variance paired t-test법으로 구하였다.

결과»»»»

1. 추출 용매별 지표성분의 함량분석 비교

당귀수산 구성 약재 중 당귀의 지표성분인 nodakenin은 동일한 시간대에서 retention time을 나타냈으며 70% 주정추출과 물추출에서 각각 2.9730±0.0221, 3.9314±0.0924 µg/g의 함량으로 물추출에서 약 24.38% 높은 함량을 보였다(Fig. 1A). 작약의 지표성분인 paeoniflorin은 각각 6.5551±0.0321, 6.5529±0.0122 µg/g으로 비슷한 함량을 보였다(Fig. 1B). 감초의 지표성분인 glycyrrhizin은 각각 3.7392±0.0551, 2.7381±0.0337 µg/g의 함량을 보였다(Fig. 1C). 작약감초탕의 구성약재인 작약의 지표성분 paeoniflorin은 70% 주정추출과 물추출에서 각각 55.3317±0.2667, 44.0265±0.1552 µg/g가 검출되어 70% 주정추출이 약 20.43% 높은 함량을 보였다(Fig. 2A). 감초의 지표성분인 glycyrrhizin은 68.6560±0.1555, 61.5602±0.0855 µg/g이 검출되었다(Fig. 2B).

2. 추출 용매별 항산화 활성 비교

70% 주정추출과 물추출의 생리 활성을 비교하기 위하여 DPPH, ABTS, FRAP를 이용한 항산화 활성을 측정하였다. 농도의존적인 확인을 위하여 0.50, 1.00 mg/g 두 가지 농도에서 확인하였으며 모든 측정은 trolox 대비 활성을 비교하기 위하여 trolox를 대조군으로 농도별로 희석 후 측정된 값을 이용한 표준곡선에 대비하였다.

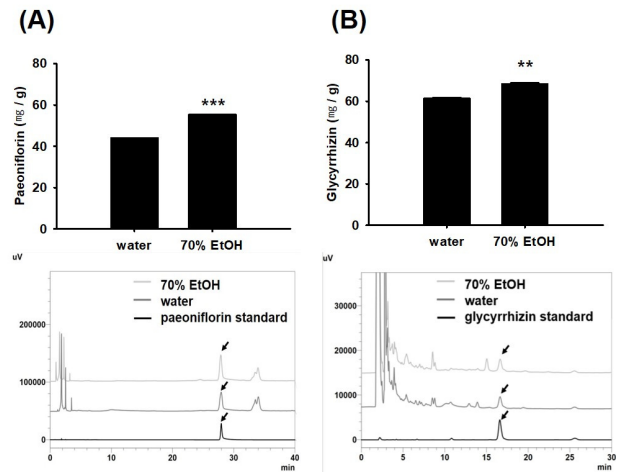


Fig. 2. Analysis of marker compounds of *Jakyakgamcho-tang* by HPLC chromatogram. HPLC chromatogram of paeoniflorin (A), glycyrrhizin (B) and *Jakyakgamcho-tang* by extracts. HPLC: high-performance liquid chromatography, EtOH: ethyl alcohol. Statistically significant value indicated difference (*p<0.05, **p<0.01, ***p<0.001).

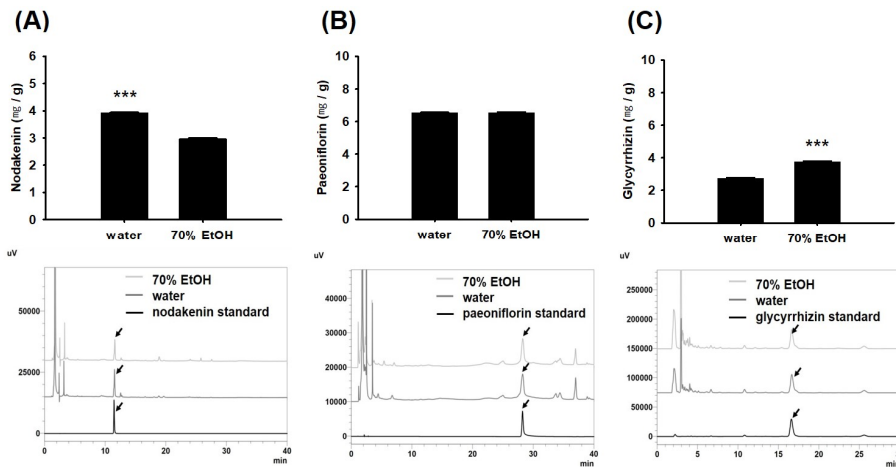


Fig. 1. Analysis of marker compounds of *Danggwisoo-san* by HPLC chromatogram. HPLC chromatogram of nodakenin (A), paeoniflorin (B), glycyrrhizin (C) and *Danggwisoo-san* by extracts. HPLC: high-performance liquid chromatography, EtOH: ethyl alcohol. Statistically significant value indicated difference (*p<0.05, **p<0.01, ***p<0.001).

1) 당귀수산의 활성 비교

DPPH는 0.50 mg/g에서 물추출물과 70% 주정추출물이 각각 18.6162 ± 0.8610 , 26.4908 ± 1.6482 mg/g, 1.00 mg/g에서 각각 42.8058 ± 0.09016 , 60.2829 ± 0.3381 mg/g였다 (Fig. 3A). ABTS에서는 0.50 mg/g에서 물추출물과 70% 주정추출물이 각각 25.3852 ± 1.6826 , 35.1630 ± 1.1404 mg/g, 1.00 mg/g에서 각각 52.8667 ± 2.1886 , 75.0148 ± 2.3762 mg/g였다 (Fig. 3B). FRAP는 0.50 mg/g에서 물추출물과 70% 주정추출물이 각각 25.6458 ± 0.7864 , 34.9167 ± 0.6505 mg/g, 1.00 mg/g에서 각각 59.0833 ± 0.1804 , 80.0208 ± 0.9021 mg/g로 모든 항산화 활성시험은 농도의존적인 활성을 보였으며 70% 주정추출물이 더 높은 활성을 보였다 (Fig. 3C).

2) 작약감초탕의 활성 비교

DPPH는 0.50 mg/g에서 물추출물과 70% 주정추출물

이 각각 6.7508 ± 0.0701 , 56.1086 ± 0.2068 mg/g, 1.00 mg/g에서 각각 44.6407 ± 0.9724 , 103.0199 ± 0.1401 mg/g였다 (Fig. 4A). ABTS에서는 0.50 mg/g에서 물추출물과 70% 주정추출물이 각각 40.8667 ± 1.2373 , 79.0889 ± 0.6667 mg/g, 1.00 mg/g에서 각각 80.4222 ± 0.4444 , 123.4593 ± 0.3395 mg/g였다 (Fig. 4B). FRAP는 0.50 mg/g에서 물추출물과 70% 주정추출물이 각각 28.4583 ± 0.4774 , 64.2917 ± 0.4774 mg/g, 1.00 mg/g에서 각각 68.2500 ± 1.1267 , 140.8542 ± 1.1831 mg/g로 모든 항산화 활성시험은 농도의존적인 활성을 보였으며 70% 주정추출물이 통계적으로 더 높은 활성을 보였다 ($p < 0.0001$, Fig. 4C).

3. 수율과 전분함량

당귀수산은 최초 약재 대비 추출물의 수율이 물추출은 11.464 ± 0.5224 , 70% 주정추출은 $10.2870 \pm 0.4469\%$ 였다

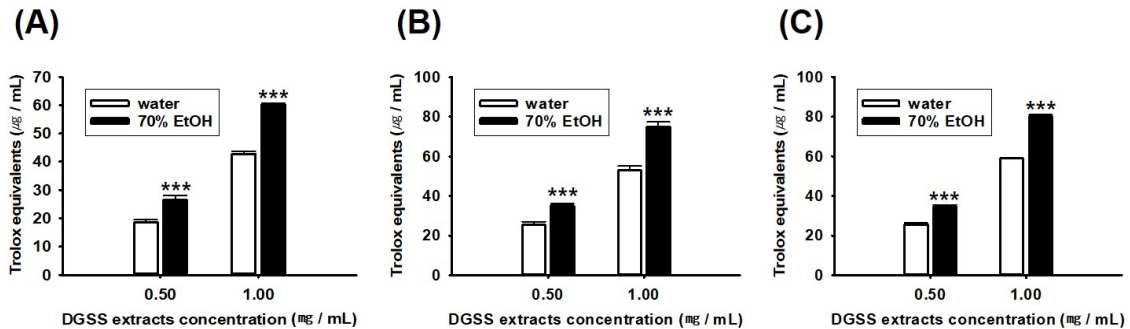


Fig. 3. Antioxidative activities of *Danggwisoo-san* by solvent extraction. (A) DPPH, (B) ABTS free radical scavenging, (C) ferric reducing antioxidant power. DPPH: 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl, ABTS: 2,2-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid), DGSS: *Danggwisoo-san*, EtOH: ethyl alcohol. Statistically significant value indicated difference (* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$).

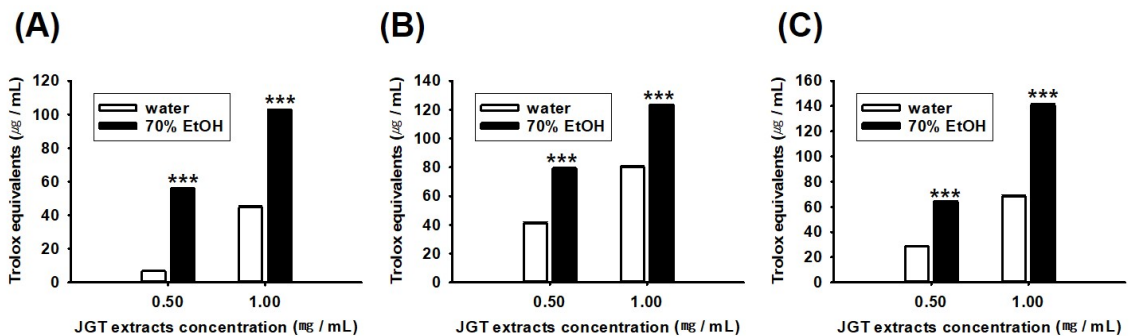


Fig. 4. Antioxidative activities of *Jakyakgamcho-tang* by solvent extraction. (A) DPPH, (B) ABTS free radical scavenging, (C) ferric reducing antioxidant power. DPPH: 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl, ABTS: 2,2-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid), JGT: *Jakyakgamcho-tang*, EtOH: ethyl alcohol. Statistically significant value indicated difference (* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$).

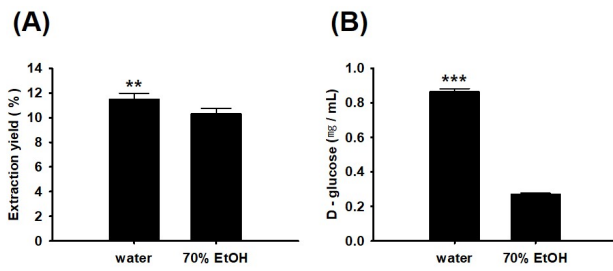


Fig. 5. Difference in yeild and total starch of *Danggywisoo-san* by solvent extraction. (A) Yeild by solvent extraction, (B) total starch by solvent extraction. EtOH: ethyl alcohol. Statistically significant value indicated difference (* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$).

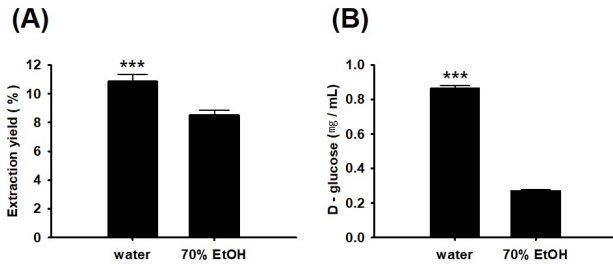


Fig. 6. Difference in yeild and total starch of *Jakyakgamcho-tang* by solvent extraction. (A) Yeild by solvent extraction, (B) total starch by solvent extraction. EtOH: ethyl alcohol. Statistically significant value indicated difference (* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$).

(Fig. 5A). 반면 총 전분은 0.8634 ± 0.0194 , 0.2691 ± 0.0807 mg/g 이었다(Fig. 5B). 작약감초탕은 수율이 물추출은 10.8570 ± 0.4987 , 70% 주정추출은 $8.5200 \pm 0.3115\%$ 였다(Fig. 6A). 총 전분은 0.9464 ± 0.0199 , 0.0772 ± 0.04476 mg/g이었다(Fig. 6B). 수율 대비하여 총 전분의 양은 70% 주정이 현저히 낮은 값을 보였다($p < 0.0001$).

고찰

당귀수산과 작약감초탕은 교통사고 환자들에게 다빈도로 사용되는 처방으로 추출방법에 따라 여러 가지 차이가 있을 수 있다. 본 연구에서는 추출 용매에 따라 약재의 활성도와 유효성분이 얼마나 차이가 있는지, 또 소화불량 등을 유발할 수 있는 전분이 얼마나 차이가 있는지를 확인하는 것에 목적이 있었다.

물추출과 70% 주정추출을 비교하였을 때, 당귀수산

의 경우 당귀의 지표성분인 *nodakenin*은 물추출이 유의적으로 높게 검출되었고, 감초의 지표성분인 *glycyrrhizin*은 70% 주정추출이 더 높게 검출되었다(Fig. 1). 작약감초탕에서는 작약의 지표성분인 *paconiflorin*과 감초의 지표성분인 *glycyrrhizin*이 모두 70% 주정에서 더 높게 검출되었다(Fig. 2). 이렇게 지표성분별로 용매마다 검출 양에 차이가 있는 것은 특정 용매가 지표성분을 더 많이 추출하는 것이 아니라 성분별로 용해도의 차이가 있기 때문이다. 갈근탕을 물과 70% 주정으로 추출하였을 때 대부분의 지표성분들은 70% 주정에서 더 높게 검출되지만, *daidzin*은 물추출에서 더 높게 검출된다는 보고가 있다²⁸⁾. 이 또한 본 연구에서의 지표성분이 용매에 따라 더 많이 나오거나 적게 측정되는 것과 같은 이유일 것이다.

약재의 생리 활성도를 비교하기 위하여 DPPH, ABTS, FRAP의 항산화 활성을 *trolox*로 표준곡선을 그리고 그에 기울기 값에 대비하여 비교 측정하였다. DPPH는 편리하고 비용이 저렴하기에 다양한 천연소재에서 활성을 검색하는 데에 보편적으로 사용된다. ABTS는 DPPH와 동일하게 라디칼 소거능에 의한 측정을 하지만 자유라디칼이 생성된 용액을 넣어 측정한다는 점에서 차이가 있고, 소수성과 친수성 모두 측정이 된다는 장점을 가지고 있다^{29,30)}. FRAP는 Fe^{3+} 를 Fe^{2+} 로 환원시키는 능력을 확인하는 것으로 철이온에서의 환원력으로 항산화력을 확인하는 측정 방법이다. 이러한 기법으로 측정한 결과 모든 항산화 활성 기법에서 당귀수산과 작약감초탕은 70% 주정추출이 현저히 높은 활성을 보였다. 당귀수산과 작약감초탕 모두 감초와 작약이 함유되어 있다. 감초의 경우 물추출보다 70% 주정추출에서 항염증 효능이 높게 나타낸다고 하였고³¹⁾ 작약의 경우 항산화 활성이 물추출보다 주정추출에서 우수하다³²⁾고 하였다. 본 연구에서도 동일하게 70% 주정추출이 현저히 우수한 것을 확인할 수 있었다(Figs. 3, 4). 비록 지표성분의 함량과 생리 활성도가 비례하진 않았지만, 지표성분은 품질관리를 위한 검출에 목적이 있으며 모든 검출된 값은 검출한계 및 정량한계에 적합하여 지표성분으로는 합당하였다.

이전 연구에서 자연적으로 발생하는 전분이 다량으로 인체에 유입되면 느린 소화 흡수를 유발하여 많은 사람들이 팽만감, 소화불량, 역류성 식도염 같은 부작용을

유발할 수 있다고 시사하였다³³⁾. 이에 본 연구에서는 용매별로 추출되는 전분의 양을 측정하기 위하여 용액 내에 있는 모든 전분을 amyloglucosidase로 가수분해하여 D-glucose로 만들고 총 D-glucose의 함량을 측정하는 방법으로 시행하였다^{34,35)}. 그 결과 당귀수산과 작약감초탕 모두 추출 수율에 비하여 전분의 양은 큰 차이를 보였다(Figs. 5, 6). 이는 물로 추출하거나 장시간 고온으로 끓였을 때 전분이 다량으로 검출된다는 이전 보고와 동일하게 물추출에서 더 많은 전분이 추출된 것으로 생각된다³⁶⁾.

본 연구에서 사용된 항산화 활성은 단지 추출된 약재의 생리 활성도를 확인하기 위한 측정일 뿐 실질적인 적응증을 확인하는 실험은 아니다. 이에 추가적인 활성 실험 및 임상적 연구가 필요할 것으로 보인다. 하지만, 활성산소는 폐, 심장질환, 콩팥, 간, 혈액, 피부, 눈 등 다양한 부위에서의 질환을 나타내는 물질이기에 항산화 기능이 있다는 것은 생리 활성이 높다는 것의 근거가 될 수 있다³⁷⁻³⁹⁾.

한약은 천연물에서 활성물질을 추출하여 약으로 사용하는 것이다. 한약재마다 약효 및 성상의 차이가 있는 것은 당연하지만 그 한약재를 어떻게 추출하여 복용하는지도 매우 중요한 문제이다. 특정 생리 활성과 더불어 다양한 추출법 등에 대한 연구가 지속되고 그에 따라 약의 유효성, 안전성, 안정성을 점점 더 보완해 나가는 것은 한약의 과학화에 한발 더 가까이 가는 방법일 것이다.

결론»»»»

본 연구는 당귀수산과 작약감초탕에서 용매에 따라 지표성분, 항산화 활성, 총 전분량이 얼마나 차이가 나는지 확인하는 것에 목적을 두었다.

- 1) 당귀수산과 작약감초탕은 지표성분인 nodakenin, paeoniflorin, glycyrrhizin이 물추출, 70% 주정추출 모두 검출 및 정량한계가 충분하여 품질관리를 위한 지표성분으로 적합하였다.
- 2) 당귀수산과 작약감초탕은 DPPH, ABTS, FRAP의 기법을 이용한 항산화 활성에서는 70% 주정추출이 모두 우수하여 약재에 대한 생리 활성도가 높을 것

으로 생각한다.

- 3) 당귀수산과 작약감초탕은 총 전분이 수율 대비 70% 주정이 현저히 낮아 소화기계통의 부작용을 줄일 수 있을 것으로 생각한다.

본 연구에서는 물추출보다 70% 주정추출이 더 효율적인 것으로 나타났지만, 당귀수산과 작약감초탕외의 처방에서는 약재들마다 차이가 있을 수 있기 때문에 추가적인 연구가 필요할 것으로 생각한다.

References»»»»

1. Park SY, Lee YK, Kim JS, Lim SC, Lee BH, Jung TY, Ha LD, Han SW, Lee KM. Survey of oriental medical care for traffic accident patients with automobile insurance; 544 cases report. The Journal of Korean Acupuncture & Moxibustion Society. 2009;26(3):1-10.
2. Jo MS, Han JK, Kim YH. The clinical study on 121 traffic accident child patients. The Journal of Pediatrics of Korean Medicine. 2012;26(2):35-46.
3. Park DS, Pi CH, Lee JH, Kon JC, Baek DG, Song YS, Kwon YM. Survey of satisfaction with oriental medical care for traffic accident patients; 35 cases report. J Korean Med Rehabil. 2008;18(3):99-118.
4. Jo HG, Park AR, Kee TB, Kang DH, Choi JB, Sul JU. A clinical trial on the blood stasis and efficacy of Kyejibokryong-whan (Guizhifuling-wan) in the patients with motor vehicle accident. J Korean Med Rehabil. 2011;21(3):45-55.
5. Kim EG, Cha YY. A study on characteristics of skin resistance variability(SRV) in the traffic accident patients prescribed Danggisoo-san (Dangguixu-san). J Korean Med Rehabil. 2008;18(3):119-32.
6. Jeon TD, Lee HG, Hong SY, Heo DS, Yoon IJ, Oh MS. The effectiveness of the herb-medication based on abdominal diagnosis and Danggisoo-san (Dangguixu-san) herb-medication for the traffic accident patients. J Korean Med Rehabil. 2007;17(4):209-18.
7. Kim TH, Jeong SH, Yoon TK, Lee SJ, Shin SJ, Kwon OJ, Joo YG, Lee JCF, Park JY. A comparison of the effect of shinbaro pharmacopuncture and Jakyakgamcho decoction pharmacopuncture treatments in patients with low back pain caused by traffic accidents: a retrospective, case series observational study. The Acupuncture. 2015; 32(4):157-65.
8. Kim TS, Ahn KS. Effect of Dangkwisoo-san and Dodamtang on the intravascular coagulation induced by

- endotoxin in rat. *Korean Journal of Oriental Physiology & Pathology*. 1988;3(1):91-8.
9. Kim JH, Park SH, Kim YW, Ha JM, Bae SS, Lee GS, Cho SI, Choi BT, Shin HK. The traditional herbal medicine, Dangkwisoo-san, prevents cerebral ischemic injury through nitric oxide-dependent mechanisms. *Evidence-based Complementary and Alternative Medicine*. 2011; 2011:718302.
 10. Ahn HL, Shin MS, Kim SJ, Choi JB. Effects of neutral Eohyeol (Yuxue) herbal acupuncture and Dangkiso-san (Dangguixu-san) on fracture healing in the early stage in rats. *J Korean Med Rehabil*. 2007;17(1):1-16.
 11. Yun YJ, Kim KL, Jin MH, Kang YG, Nam WJ, Park DI. A case report of tension type headache patient with Dangkiso-san and acupuncture. *The Korean Journal of Oriental Medical Prescription*. 2013;21(1):206-12.
 12. Ryu HC, Kim JH, Park JB, Shin HS. A case study of Danggwisusan on severe contusion with functional disorder of liver and kidney. *The Journal of Internal Korean Medicine*. 2004;25(2):361-7.
 13. Kim BW. Anti-inflammatory effect of Jakyakgamcho-tang. *The Journal of Internal Korean Medicine*. 2010;31(2): 177-83.
 14. Kim JH, Kim CS, Kim YS, Lee IS, Kim JS. Jakyakgamcho-tang and its major component, paeonia-lactiflora, exhibit potent anti-glycation properties. *Journal of Exercise Nutrition and Biochemistry*. 2016;20(4): 60-4.
 15. Kang TH, Baek HY, Kim YC. Protective effect of Jakyak-gamcho-tang extract and its constituents against t-BHP-induced oxidative damage in HT22 cells. *The American Journal of Chinese Medicine*. 2005;33(2): 181-9.
 16. Ha S, Lee HK, Seo DI. Effects of Peony-Licorice mixture supplementation on blood glucose and lactate levels. *The Korea Journal of Herbology*. 2012;27(5): 93-7.
 17. Kim JH, Lee N, Shin HK, Seo CS. Investigation of difference of Gwakhyangjeonggi-san decoctions produced by different pressure levels and various extraction times. *Herbal Formula Science*. 2014;22(2):15-24.
 18. Kim JH, Seo CS, Jeon WY, Shin HK. The compositional differences of Sipjeondaabo-tang (Siquandabu-tang) decoctions extracted by different extraction method and extraction time. *The Journal of Oriental Obstetrics & Gynecology*. 2012;25(2):108-19.
 19. Boi VN, Cuong DX, Khanh VPT. Effects of extraction conditions over the phlorotannin content and antioxidant activity of extract from brown algae *Sargassum serratum* (Nguyen Huu Dai 2004). *Free Radicals and Antioxidants*. 2017;7(1):115-22.
 20. Ahmed D, Ejaz N, Saeed R, Dar P. Cooking effect on anti-oxidative and alpha-amylase inhibitory potential of aqueous extract of lagenaria siceraria fruit and its nutritional properties. *Free Radicals and Antioxidants*. 2016;6(1):44-50.
 21. Sung YY, Yuk HJ, Kim DS. Comparison of ingredient quantities and anti-fatigue effects of Jakyakgamcho-tang according to extraction solvent. *The Korea Journal of Herbology*. 2020;35(2):31-8.
 22. Jiang Z, Zhou Y, Lu F, Han Z, Wang T. Effects of different levels of supplementary alphaamylase on digestive enzyme activities and pancreatic amylase mRNA expression of young broilers. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*. 2008;21(1):97-102.
 23. Blois MS. Antioxidants determination by the use of a stable free radical. *Nature*. 1958;181:1199-200.
 24. Arnao MB, Cano A, Acosta M. The hydrophilic and lipophilic contribution to total antioxidant activity. *Journal of Food Chemistry*. 2001;73(2):239-44.
 25. Benzie IFF, Strain JJ. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "antioxidant power": the FRAP assay. *Analytical Biochemistry*. 1996;239(1):70-6.
 26. Laurens LM, Dempster TA, Jones HD, Wolfrum EJ, Van Wychen S, McAllister JS, Rencenberger M, Parchert KJ, Gloe LM. Algal biomass constituent analysis: Method uncertainties and investigation of the under lying measuring chemistries. *Analytical Chemistry*. 2012;84:1879-87.
 27. Megazyme. Total starch assay procedure (amyloglucosidase/alpha-amylase method) [Internet] 2017 [cited 2020 August 3]. Available from: https://secure.megazyme.com/files/Booklet/K-TSTA_DATA.pdf.
 28. Kim YJ, Kim OS, Seo CS, Lim HS, Yoo SR, Jeon WY, Jin SE, Shin IS, Kim JH, Shin NR, Kim SS, Lee MY, Jeong SJ, Ha HK, Shin HK. Study on comparison of ingredient quantities and biological activities of Galgeun-tang according to extraction solvent. *Journal of Physiology & Pathology in Korean Medicine*. 2012; 26(6):908-14.
 29. Lee SO, Lee HJ, Yu MH, Im HG. Total polyphenol contents and antioxidant activities of methanol extracts from vegetables produced in ullung island. *Korean Journal of Food Science and Technology*. 2005;37(2): 233-40.
 30. 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. *Journal of Applied Biological Chemistry*. 2009;52(2):70-6.
 31. Yoon TS, Cheon MS, Kim SJ, Lee AY, Moon BC, Chun JM, Choo BK, Kim HK. Evaluation of solvent extraction on the anti-inflammatory efficacy of *Glycyrrhiza uralensis*.

- Korean Journal of Medical Crop Science. 2010;18(1): 28-33.
32. Shin JH, Kang JR, Kang MJ, Shin JH. Physiological activity of five kinds of medicinal plant extracts with various solvents and their composites. *Journal of Life Science*. 2018;28(3):320-30.
 33. Bjorck I, Liljeberg H, Ostman E. Low glycaemic-index foods. *British Journal of Nutrition*. 2000;83(S1):149-55.
 34. McCleary BV, Gibson TS, Mugford DC. Measurements of total starch in cereal products by amyloglucosidase α -amylase method. Collaborative study. *Journal of AOAC International*. 1997;80(3):571-9.
 35. Robertson JA, I'Anson KJ, Treimo J, Faulds CB, Brocklehurst TF, Eijssink VG, Waldron KW. Profiling brewers' spent grain for composition and microbial ecology at the site of production. *LWT - Food Science and Technology*. 2010;43(6):890-6.
 36. Lee IH, Chung HJ, Shin JS, Ha IH, Kim MR, Koh W, Lee JH. Influence of boiling duration of GCSB-5 on index compound content and antioxidative and anti-inflammatory activity. *Pharmacognosy Magazine*. 2017; 13(51):418-24.
 37. Kehrer JP, Klotz LO. Free radicals as mediators of tissue injury and disease. *Critical Reviews in Toxicology*. 1993; 23(1):21-48.
 38. Lee JS, Lee MK, Kim YK, Kim KE, Hyun KY. Attenuant effects of *Hovenia dulcis* extract on inflammatory orifacial pain in rats. *The Korean Journal of Academia-Industrial Cooperation Society*. 2014;15(8):5088-94.
 39. Choi KB, Nam KW, Kim GY, Sim KC, Kim EJ. Effect of swimming exercise and *achyranthe radix* extracts on inflammatory and pain responses in rheumatoid arthritis rats. *Journal of Physiology & Pathology in Korean Medicine*. 2009;23(1):113-20.