

生酸棗仁과 炒酸棗仁의 추출방법에 따른 효능비교연구

이은경¹ · 홍학기² · 정명수^{1,3*}

1: 원광대학교 한의과대학, 2: 원광대학교 한의학전문대학원, 3: 원광대학교 한국전통의학연구소

Study on the Comparison of Effects by Extraction Methods of Roast and Raw Semen Zizyphi Spinosae

Eun Kyoung Lee¹, Hak Gi Hong², Myong Soo Chong^{1,3*}

1: College of Oriental Medicine, 2: Professional Graduate School of Oriental Medicine, 3: Research Center of Korean Traditional Korean Medicine, Wonkwang University

To observe the difference and change of the efficacy and ingredient appearing according to whether semen zizyphi spinosae has been roasted and its extraction method, locomotor activity, anticonvulsant activity, sleeping effect of each hot water and UMPM low temperature extracts of roast and raw semen zizyphi spinosae were measured through animal tests. Roast semen zizyphi spinosae showed superior pharmacological efficacy than raw semen zizyphi spinosae. Also, hot water extraction method showed superior pharmacological efficacy than low temperature extraction method(UMPM) that uses ultrasonic waves and microwaves. In short, it was shown that herbal medicine's extraction method needs to maximize medicinal effects by trying optimum extraction methods according to efficacy by considering characteristics of each herbal medicine. Together, there's also the need for in-depth studies on water-soluble ingredients of semen zizyphi spinosae that may be extracted through full hot water extraction method.

Key words : roast semen zizyphi spinosae, raw semen zizyphi spinosae, hot water extract, low temperature extract

서 론

韓藥은 전통적으로 湯劑, 散劑, 丸劑, 浸劑, 酒劑, 膏劑, 炭劑 등의 제형으로 복용하고 있는데 일반적으로는 煎湯法에 의한 湯劑로 복용하는 방법을 택하고 있다. 그러나 이러한 煎湯에 의한 熱水抽出法은 추출효율이 낮고, 이로 인한 에너지 소비가 많으며 열로 인한 많은 유용성분의 파괴, 단백질의 변이, 성분의 손실, 가용성분 위주의 추출, 열에 대한 불안정성 등의 단점을 드러내고 있다¹⁾.

이에 최근에는 초음파의 세포파쇄기능을 이용한 추출방법²⁾, 마이크로파 에너지의 물분자 운동 활성화를 이용한 추출방법³⁾ 등 열수추출방법을 대체하는 추출방법이 개발되어 이용되고 있다.

酸棗仁(Semen Zizyphi Spinosae)은 갈매나무과에 속하는 뽕대추나무(Zizyphus spinosa Hu.) 과실의 종자로서 養心安神藥類에 속하는데 性은 平하고 味는 甘酸하며 無毒하고 心脾肝膽經으로

로 귀경한다. 甘平한 性味는 養心安神 작용이 있고, 酸平한 性味는 益陰斂汗작용이 있는데 補肝膽, 寧心安神, 斂汗의 效能을 가지고 있어 虛煩不眠, 心悸多夢, 健忘, 盜汗, 津傷口乾의 症狀에 多用하는 藥물로서⁴⁾ 尙經, 神效藥으로 頻用하고 왔다.

최근 酸棗仁의 이러한 진정효능에 주목하여 酸棗仁의 성분 분석에 많은 연구가 이루어져 왔으며⁸⁻¹¹⁾, 酸棗仁에는 여러 종류의 지방유, 단백질, saponin flavonoid glycosides, vitamin C, 고미질, 점액질, 유기산 등이 함유되어 있다고 보고되어 있다. Triterpenoids에는 betulin, betulinic acid, jujuboside, jujubogenin 등이 함유되어 있고, flavonoid glycosides에는 zivulgarin, spinosin, swertisin이 함유되어 있으며, 그 외에 또 sterol, 비타민 등을 함유하고 있다고 보고되고 있다¹²⁾. 특히 酸棗仁의 alkaloid가 그 유효성분이며, 그 중에서 酸棗仁의 aporphine alkaloid는 수면작용이, cyclopeptide alkaloid는 신경피로회복작용이 있음이 알려지고 있다^{8,9)}.

酸棗仁은 한의학에서 일반적으로 炒하는 炮製과정을 거쳐 사용되고 있는 바 이에 대한 연구로 酸棗仁의 cyclopeptide alkaloid 중에서 가장 함량이 높고 진정작용이 강하다고 알려진

* 교신저자 : 정명수, 익산시 신용동 원광대학교 한의과대학 예방의학교실

· E-mail : neurokid@wku.ac.kr, · Tel : 063-850-6912

· 접수 : 2009/10/08 · 수정 : 2009/11/01 · 채택 : 2009/11/25

Sanjoinine-A를 가열처리한 결과 Sanjoinine-A의 side chain epimer인 Sanjoinine-Ah1이 생성되고 이는 Sanjoinine-A보다 더욱 강한 진정효과를 갖는다고 하였다¹¹⁾. 또한 동물실험으로 生酸棗仁和 炒酸棗仁의 추출액을 mouse에 투여한 결과 炒酸棗仁이 生酸棗仁보다 진정작용이 강하게 나타났다고 하였으며, 炒酸棗仁이 生酸棗仁보다 구속 stress 흰 쥐의 뇌 catecholamine 함량 억제에 보다 큰 효과가 나타남¹⁴⁾을 발표하여 酸棗仁을 炒하여 사용하는 한의서의 내용을 뒷받침하였다.

본 연구에서는 生酸棗仁和 炒酸棗仁을 기존의 방식으로 煎湯한 熱水抽出物과 초음파와 마이크로파를 이용하여 低溫에서 추출한 抽出物으로써 酸棗仁의 효능인 진정작용, 수면유도작용, 항경련작용 등을 비교하여 약효성분 추출에 대한 효율적인 추출방법을 살펴보았다.

재료 및 방법

1. 재료

실험에 사용한 酸棗仁(Semen Zizyphi Spinosae)은 중국에서 생산된 것으로 서릉상사(서울시 동대문구 소재)에서 수입하여 (주)금강제약(경남 마산 소재)에서 구입하여 정선한 후 사용하였다.

2. 시료제조

본 실험에 사용된 추출물의 추출방법은 Fig. 1과 같다. 즉, 酸棗仁 열수추출물(Roast Semen Zizyphi Spinosae hot-water extract; ROH, Raw Semen Zizyphi Spinosae hot-water extract; RAH)은 15배의 물을 가하여 환류냉각기를 이용하여 100℃에서 3시간 가열, 추출하였으며, 酸棗仁 UMPM 추출물(Roast Semen Zizyphi Spinosae UMPM extract; ROU, Raw Semen Zizyphi Spinosae UMPM extract; RAU)은 UMPM 추출기(MEDIPS, UMEX, Korea)를 이용하여 15배의 물을 가하여 65℃에서 3시간 동안 ultrasonic waves, microwaves로 저온추출한 후 여과하였다. 실험에 사용된 추출물은 추출한 다음 감압 농축하여 동결건조 후 사용하였다.

3. 실험방법

1) 자발운동의 측정

무게 20~22 g 내외의 수컷 ICR 생쥐를 대상으로 한 그룹 당 10-15마리를 사용하였으며, 실험은 ambulometer(AMB-10, O'HARA, Japan)를 이용하였다. 실험측정 1시간 전에 준비된 시료를 각각 25, 50, 100 mg/kg의 농도로 10 g당 0.1 mL의 용량으로 경구투여하였다. 시료는 모두 수용성으로서 별다른 비극성 용매를 첨가하지 않아도 잘 녹았으므로 saline을 용매로 하여 용량을 조절하였다. 대조군은 saline을 실험측정 1시간 후에 경구투여하였으며, 시료투여 1시간 후에 생쥐를 activity cage에 넣고 1시간 동안 자발운동량(count)을 측정하였다.

2) 항경련효과

무게 20~25 g 내외의 성숙한 수컷 ICR 생쥐를 대상으로 한

군당 10~15마리를 사용하였으며, 실험 동물은 실험 전 30분 동안 실험할 장소에서 새로운 환경에 적응시킨 후 각각 표시를 하고 체중을 측정하였다.

Pentylentetrazole(PTZ) 투여 1시간 전에 준비된 시료를 각각 25, 50, 100 mg/kg의 농도로 10 g당 0.1 mL의 용량으로 경구투여하였다. 시료는 모두 수용성으로서 별다른 비극성 용매를 첨가하지 않아도 잘 녹았으므로 saline을 용매로 하여 용량을 조절하였다. 양성 대조군으로 diazepam (2 mg/kg, i.p.)을 사용하였으며 PTZ 투여 30분 전에 처리하고 대조군은 PTZ투여 1시간 전에 saline을 경구투여하였다.

PTZ(70 mg/kg, i.p.)를 투여한 후 30분 동안 발작 점수(seizure score), 경련 개시시간(latency to convulsion), 사망 수를 관찰하였다. 발작은 0(no response), 1(backward motion, small bouncing), 2(head bobbing, Running & Circling), 3(forelimb clonus), 4(forelimb clonus and hindlimb clonus), 5(rearing, jumping, falling), 6(death)의 7단계로 정확히 측정 판별하였다. 경련 개시시간은 경련 시작시간을 초 단위로 측정하였으며, 30분이 지난 후 살아남은 생쥐의 무게를 측정하여 체중감소를 %단위로 측정하였다.

3) 수면 측정

무게 20~25 g 내외의 성숙한 수컷 ICR 생쥐를 대상으로 한 군당 10~15마리를 사용하였으며, 실험동물은 실험 전 3~4일간 항온 (19~25℃), 항습 (40~70%) 조건에서 적절한 식이와 음수조건, 스트레스가 없는 환경에서 안정화 시켰다. 실험 당일 전날, 사료를 제거하고 케이지에 금식판을 깔아 금식(fasting)을 24시간 동안 실행한 후 실험 당일 실험 시작 2~3시간 전(fasting 후 21~22시간) 개체의 표시를 하고 각각의 체중을 측정하였다. 시료의 투여 순서를 체중 따라서(각 군별로 체중의 편차가 크게 나지않게) 임의로 정하였으며, 시료는 Pentobarbital 투여 30분 전에 준비된 시료를 각각 25, 50, 100 mg/kg의 농도로 10 g당 0.1 mL의 용량으로 경구투여하였다. 시료는 모두 수용성으로서 별다른 비극성 용매를 첨가하지 않아도 잘 녹았으므로 saline을 용매로 하여 용량을 조절하였다. 시료 처치 후 30분이 지나면 pentobarbital (42 mg/kg)을 복강주사하여 수면유도를 시켰으며, 투여즉시 시간을 기록하며 생쥐가 수면을 시작한 시간(움직임을 멈춘 생쥐를 평평한 곳에서 배를 위를 보도록 뒤집어 놓아 15초 동안 다시 몸을 뒤집어 정상체위로 돌아가지 않았을 때 수면을 한다고 판정), 생쥐가 수면에서 각성한 시간(뒤집혀진 생쥐가 몸을 비틀어 일어나거나 눈에 떨만한 행동을 보일때 각성한 것으로 판정)을 기록하여 수면개시시간(수면 시작시간 - 투여시간)과 수면시간(각성 시간 - 수면 시작시간)으로 계산하여 결과를 정리하였다.

4. 통계분석

결과는 평균±표준오차로 나타내었다. 데이터는 multiple range test에 따른 ANOVA 분석법을 통해 분석하였다. 살아남은 쥐 숫자의 분석은 Chi-squared test를 통해 분석하였다. 또한 대조군과 비교는 Dunnett's-test로 유의성을 검정하였다.

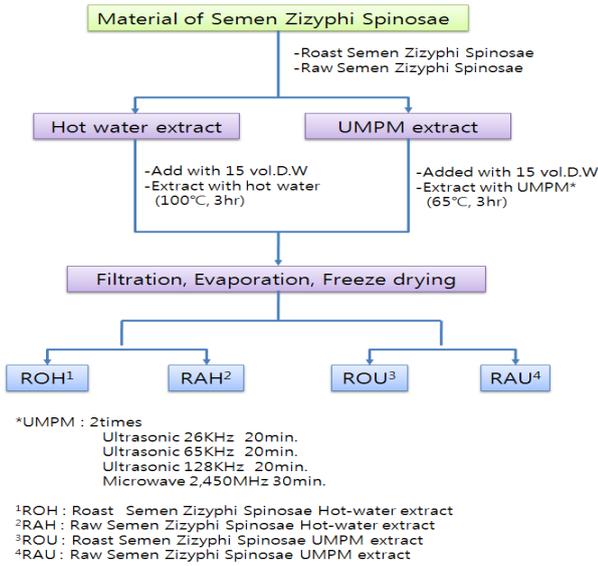


Fig. 1. Extraction method of ROH, RAH, ROU, and RAU.

결 과

1. 자발운동에 대한 효과

4가지의 酸棗仁 시료로 ambulator을 이용한 자발운동 (locomotor activity) 실험결과 炒酸棗仁의 열수추출물 투여군 (ROH)은 saline을 투여한 대조군에 비하여 자발운동량이 감소하였으며 酸棗仁 100 mg/kg의 고용량 투여군에서는 유의성 있는 감소를 보였다. 炒酸棗仁의 UMPM 추출물 투여군(ROU)은 대조군과 비교하여 유의성있는 자발운동량의 변화가 나타나지 않았다. 生酸棗仁의 열수추출물 투여군(RAH)은 酸棗仁 25 mg/kg, 50 mg/kg, 100 mg/kg 투여군 모두에서 대조군과 비교해 자발운동량의 유의성 있는 감소를 보였다. 生酸棗仁의 UMPM 추출물 투여군(RAU)은 대조군과 비교하여 유의성 있는 변화가 나타나지 않았다(Fig. 2).

2. 항경련효과

4종류의 酸棗仁으로 Pentylenetetrazole(PTZ) 70 mg/kg에 의해 유도된 경련에 대해 항경련효과가 있는지에 대한 실험으로 음성대조군으로 Diazepam 2 mg/kg을 사용하였고 생존수 (number of survival), 경련 값 (seizure score), 경련 개시시간 (latency to convulsion), 체중감소(weight loss)의 4가지 항목을 측정하였다. 炒酸棗仁의 열수추출물 투여군(ROH)은 saline과 PTZ 70 mg/kg을 투여한 대조군에 비하여 생존수는 증가하였고, 경련 값, 체중감소는 유의성 있는 감소를 보였고, 경련개시 시간은 유의성있게 증가하였다. 특히 酸棗仁 100 mg/kg의 고용량 투여군에서의 항경련 효과가 증가하였다(Table 1). 炒酸棗仁의 UMPM 추출물 투여군(ROU)은 모든 항목에서 대조군에 비해 유의성있는 변화가 나타나지 않았다(Table 2). 生酸棗仁의 열수추출물 투여군(RAH)은 모든 酸棗仁 투여군에서 경련개시 시간을 유의성있게 증가시키고, 체중감소를 유의성있게 감소시켰다. 그리고 酸棗仁 100 mg/kg 투여군에서 경련 값을 유의성 있

게 감소시켰다(Table 3). 生酸棗仁의 UMPM 추출물 투여군 (RAU)은 25 mg/kg과 100 mg/kg투여군에서 체중 감소의 유의성 있는 감소를 보였고, 100 mg/kg 투여군에서 경련개시시간을 유의성있게 증가시켰다(Table 4). 음성대조군인 diazepam 2 mg/kg 투여군은 모든 실험에서 모든 항목에 대하여 유의성 있는 변화를 보였다.

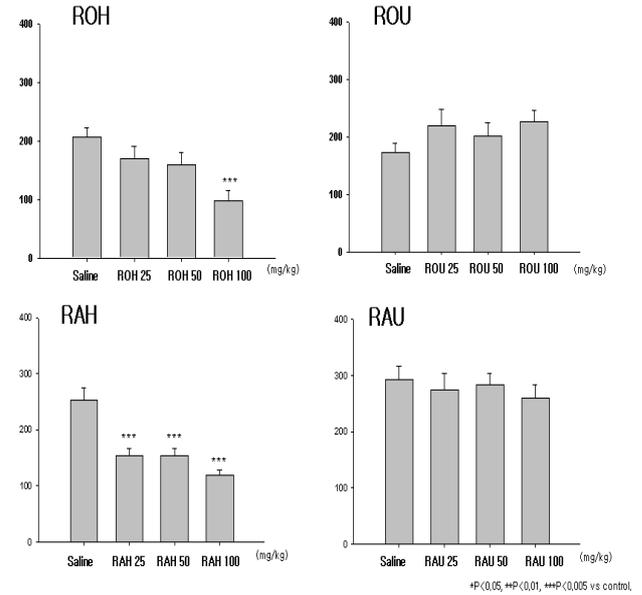


Fig. 2. Locomotor activity of roast and raw Semen Zizyphi Spinosae Hot-water and UMPM extract.

Table 1. Effects of ROH on PTZ induced convulsion activity

Dose(mg/kg)		Number of Survival(%)	Seizure Score(Mean)	Latency to Convulsion(s)	Weight Loss(%)	
PTZ	Diazepam					
70	-	7/10(70%)	5.3±0.21	112.44±17.43	4.33±0.59	
70	2	10/10(100%)	0.6±0.16***	1800±0***	0.92±0.52***	
70	-	25	9/10(90%)	375.38±111.7*	2.11±0.63*	
70	-	50	8/10(80%)	4.9±0.28	292.38±83.97*	2.04±0.72*
70	-	100	10/10(100%)	4.2±0.36*	887.8±250.26**	1.5±0.45***

*P<0.05, **P<0.01, ***P<0.005 vs. PTZ (70 mg/kg, i.p.) control.

Table 2. Effects of ROU on PTZ induced convulsion activity

Dose(mg/kg)		Number of Survival(%)	Seizure Score(Mean)	Latency to Convulsion(s)	Weight Loss(%)	
PTZ	Diazepam					
70	-	9/10(90%)	4.7±0.17	105±15.36	0.7±0.35	
70	2	10/10(100%)	0.5±0.17***	1800±0***	0.7±0.29	
70	-	25	9/10(90%)	4.8±0.15	91.3±14.92	3.0±0.42
70	-	50	10/10(100%)	4.8±0.13	95.7±13.38	4.6±0.47
70	-	100	9/10(90%)	4.8±0.15	160.9±30.09	3.1±0.38

*P<0.05, **P<0.01, ***P<0.005 vs. PTZ (70 mg/kg, i.p.) control.

Table 3. Effects of RAH on PTZ induced convulsion activity

Dose(mg/kg)		Number of Survival(%)	Seizure Score(Mean)	Latency to Convulsion(s)	Weight Loss(%)	
PTZ	Diazepam					
70	-	7/10(70%)	5.3±0.15	60.3±4.11	4.0±0.52	
70	2	10/10(100%)	0.8±0.36***	1800±0***	0.1±0.12***	
70	-	25	10/10(100%)	5.0±0	105±9.82***	1.7±0.54**
70	-	50	9/10(90%)	4.8±0.15	128.9±11.08***	0.6±0.26***
70	-	100	10/10(100%)	0.9±0.35***	1800±0***	2.3±0.54*

*P<0.05, **P<0.01, ***P<0.005 vs. PTZ (70 mg/kg, i.p.) control.

Table 4. Effects of RAU on PTZ induced convulsion activity

PTZ Dose(mg/kg)	Diazepam	RAU	Number of Survival(%)	Seizure Score(Mean)	Latency to Convulsion(s)	Weight Loss(%)
70	-	-	10/11(90.9%)	5.0±0.0	46.5±3.5	2.8±0.39
70	2	-	11/11(100%)	0.5±0.17***	1800±0***	0.0±0.04***
70	-	25	10/10(100%)	5.0±0.0	58.0±5.78	0.5±0.42***
70	-	50	10/11(90.9%)	5.0±0.0	82.0±12.54	2.0±0.53
70	-	100	11/11(100%)	4.7±0.14	106.7±12.91***	1.2±0.35**

*P<0.05, **P<0.01, ***P<0.005 vs. PTZ (70 mg/kg, i.p.) control.

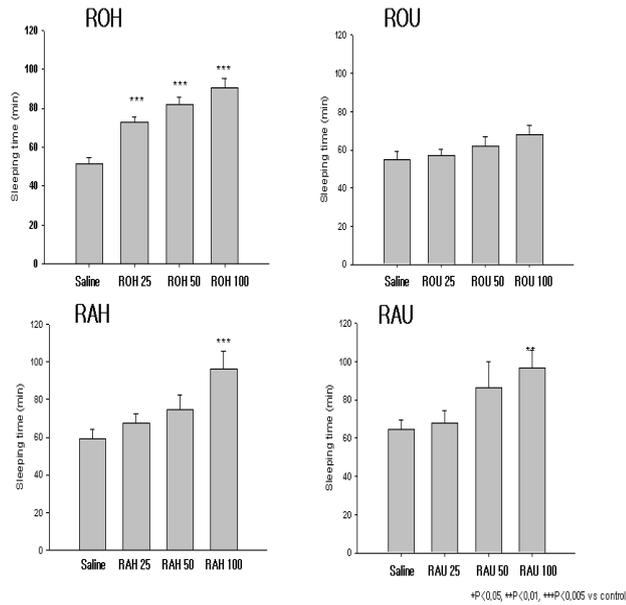


Fig. 3. Sleeping time of roast and raw Semen Zizyphi Spinosae Hot-water and UMPM extract.

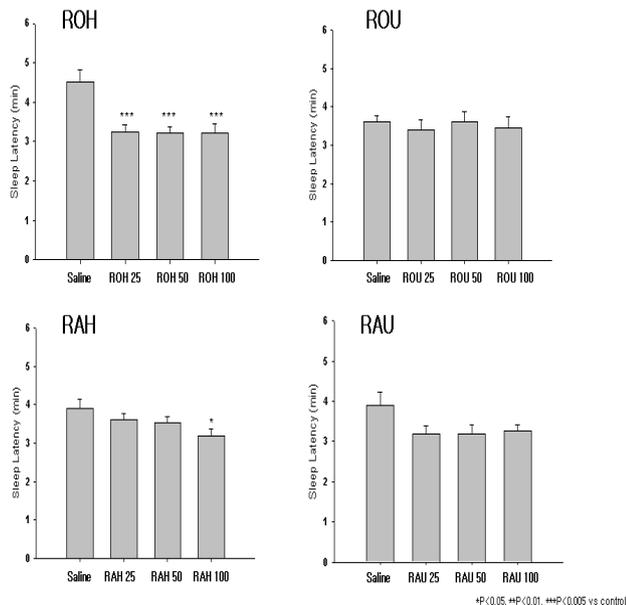


Fig. 4. Sleeping latency of roast and raw Semen Zizyphi Spinosae Hot-water and UMPM extract

3. 수면연장효과

4종류의 酸棗仁 시료를 이용하여 Pentobarbital 42 mg/kg으

로 유도된 수면에 대한 酸棗仁의 영향을 알아보기 위한 실험으로 수면시간(sleeping time)과 수면유도시간(sleeping latency)의 두 항목을 측정하였다. 수면시간은 炒酸棗仁의 열수추출물의 모든 투여군(ROH)에서 유의성 있게 증가하였고, 生酸棗仁의 열수추출물 투여군(RAH)과 UMPM 추출물 투여군(RAU)의 100 mg/kg의 고용량 투여군에서 유의성 있게 증가하였다. 炒酸棗仁의 UMPM 추출물 투여군(ROU)은 유의성 있는 변화를 보이지 않았다(Fig. 3). 수면유도시간은 炒酸棗仁의 열수추출물의 모든 투여군(ROH)에서 유의성 있게 감소하였고, 生酸棗仁의 열수추출물 투여군(RAH)의 100 mg/kg투여군에서 유의성 있는 감소를 보였고, 炒酸棗仁과 生酸棗仁의 UMPM 추출물 투여군(ROU, RAU)에서는 유의성 있는 변화를 보이지 않았다(Fig. 4).

고찰

韓藥은 주로 물을 溶劑로 하여 煎湯한 液劑로 복용하고 있는데, 필요에 따라서는 술이나 醋와 같은 溶劑를 첨가하여 煎湯하는 경우가 있다. 이는 단순히 술 또는 醋와 같은 液性을 酸性으로 변화시켜, 溶劑의 효능을 기대하는 것이기 보다는 이들 첨가된 溶劑에 의해 용출하는 성분의 변화가 있을 것으로 기대하고 있는 것으로 추론할 수 있다. 즉, alkaloid, 배당체의 비당체, 유기산, 정유 등의 추출을 용이하게 하고, 액성을 산으로 하면 유리 alkaloid 등을 효과적으로 추출할 수 있는 것으로 알려져 있다¹⁵⁾.

그러나 이러한 煎湯 방법으로는 추출은 낮은 추출효율과 이로 인한 에너지 소비가 많으며 열로 인한 많은 유용성분의 파괴, 단백질의 변이, 성분의 손실, 가용성분 위주의 추출, 열에 대하여 불안정한 것 등의 단점을 드러내고 있다¹⁾. 또한 에탄올 등의 용매추출 또한 과도한 용매 사용 및 화학적인 약성 변화 등의 문제가 있는 것으로 판단된다¹⁶⁾.

이에 초음파를 이용한 추출방법, 마이크로파를 이용한 추출방법 등 고온의 전탕법을 대체할 다양한 추출방법이 개발되고 있다. 특히 초음파는 침투력이 우수하여 공업과 의학, 세척분야에서 일찍부터 널리 활용되고 있으며, 동력적 활용방법인 초음파추출은 액체 내에 가하여준 강력한 초음파로 인해 소밀과파가 되어 압축력(정압)과 팽창력(부압)이 반복적으로 일어나므로써 추출의 효과를 가져오게 된다고 알려져 있다. 초음파 에너지를 이용한 추출은 초음파 진동에 의한 공동현상(Cavitation)에 의해 매우 큰 에너지와 또한 높은 국부온도로 인한 주위 반응물 입자들의 운동에너지를 크게 하여 반응에 필요한 충분한 에너지를 얻게 된다. 그리고 초음파 에너지의 충격효과는 높은 압력을 유도하여 혼합효율을 높이고 초음파 조사시간이 증가함에 따라 추출량은 증가하고 일반적인 용매추출에 비해 매우 짧은 시간에 추출이 완료되는 것이 초음파의 공동효과에 의한 높은 압력으로 세포 내부조직이 파괴되어 지방질의 이동거리가 짧아지고 확산이 용이하게 일어나기 때문이라는 결과를 연구 보고한 바 있다^{17,18)}. 또한 이러한 초음파의 특징을 이용하여 낮은 추출온도를 유지함으로써 추출시료의 열에 의한 손상을 억제할 수 있는 것은 물론 원하는 추출수율을 유지할 수 있다고 보고 되었다

19). 초음파를 이용한 추출연구로는 麻黃과 覆盆子の 면역활성 증진효과²⁰⁾, 가시오갈피, 麻黃, 覆盆子 및 인진쑥의 항암활성 증진¹⁾, 녹조류인 *Haematococcus pluvialis*로부터의 astaxanthin 추출²¹⁾ 등의 연구가 보고되고 있어 초음파 추출이 기존의 열수 추출과 용매추출에 비하여 유용성분의 수율과 추출시간의 단축 등 효과를 밝히고 있다.

마이크로파는 주파수가 300MHz~300GHz인 전자기파를 말하며, 물체에 조사되면 성분의 쌍극자 모멘트를 유도하여 급속한 유전자열을 발생시키는 특성을 가져 식품의 조리, 해동, 건조, 데치기, 살균 등의 여러 분야에 이용된다²²⁾. 지금까지 여러 종류의 유용식물자원에 대한 마이크로파 추출연구로는 인삼²³⁾, 당귀²⁴⁾, 섬백리향²⁵⁾, 쥐깨풀²⁶⁾ 등에 대한 보고가 있으며, 그 결과 현행 열수 및 용매 추출법에 비해 추출시간 및 추출 용매의 사용량을 크게 줄일 수 있는 것으로 밝혀지고 있다.

이에 본 연구에서는 酸棗仁을 전래의 추출방법인 열수추출법과 초음파와 마이크로파를 이용한 저온추출방법을 이용하여 추출한 추출물의 효능을 살펴봄으로써 한약재의 적절한 추출방법을 탐색하고자 하였다.

酸棗仁(*Semen Zizyphi Spinosae*)은 갈매나무과에 속하는 뽕대추나무 열매의 씨로서 우리나라를 비롯한 동남아시아에 광범위하게 분포하고 있으며, 養心安神藥類에 속하여 養心安神, 益陰斂汗, 益肝, 堅筋骨하는 효능을 가지고 있어 虛煩不眠, 心悸多夢, 健忘, 盜汗, 津傷口乾, 四肢痠疼, 濕痺, 筋骨風 등을 主治하는 약물로서^{4,7)}, 《神農本草經》에는 “酸棗仁은 性味가 酸平하고 心腹寒熱 邪結氣聚 四肢痠痛濕痺를 주치하며, 久服하면 五臟을 편안하게 하여 輕身延年한다”고 하였고 無毒하여 久服하여도 인체를 상하지 않는다고 하여 上品의 약물에 기재되어 있으며, 현재에도 酸棗仁은 지속적인 효과와 습관성, 의존성 등과 같은 부작용의 우려없이 사용되고 있다^{8,9,27)}.

최근 酸棗仁 효능에 대한 연구는 다양하게 이루어져왔는데 황²⁸⁾은 stress를 유발시킨 생쥐에 酸棗仁 전탕액을 투여하여 뇌내 serotonin 함량의 증가를, 홍 등²⁹⁾은 酸棗仁湯, 酸棗甘麥湯 등의 처방이 serotonin, melatonin의 형성에 효과적으로 작용하고 있음을, 최 등³⁰⁾은 뇌내 serotonin의 함량증가를, 조¹⁴⁾는 뇌내 catecholamine 함량 증가에 영향을 주었음을 보고하였다. 또한 김³¹⁾은 NMDA에 의해 유도된 경련과 세포손상에 酸棗仁의 alkaloid인 Sanjoinine A가 항경련효과와 함께 세포손상 보호효과가 있다고 하였으며, 최³²⁾는 酸棗仁이 수면연장에 효과가 있음을 실험적으로 연구하여 보고하고 있다. 이러한 연구보고는 酸棗仁이 심혈관계와 중추신경계에 작용하여 진통 및 진정, 소염작용이 있음을 보여주고 있다³³⁾.

일반적으로 生酸棗仁은 각성작용이, 炒酸棗仁은 진정 및 수면작용이 있는 것으로 알려져 있는데³⁴⁾, 최근에 있어 生酸棗仁과 炒酸棗仁 모두가 양호한 진정최면작용이 있는 것으로 보고되고 있어^{5,7)} 이에 대한 비교 연구 및 보다 많은 문헌적 임상적 고증이 필요할 것으로 생각된다.

이에 본 연구에서는 生酸棗仁과 炒酸棗仁을 열수추출과 저온추출법을 이용하여 유효성분을 추출함으로써 酸棗仁의 수치여

부와 추출방법에 따른 효능과 성분의 차이를 살펴보고자 하였다.

生酸棗仁과 炒酸棗仁을 100℃ 끓는 물로 추출(Hot-water extract)한 열수추출법과 生酸棗仁과 炒酸棗仁을 초음파와 microwave를 이용하여 추출(UMPM extract)한 저온추출법으로 각각 추출한 추출물의 약리학적 작용을 비교 검토하였다.

4종의 酸棗仁 시료로 ambulometer를 이용한 자발운동(locomotor activity) 실험결과 炒酸棗仁 열수추출물(ROH) 투여군은 saline을 투여한 대조군에 비하여 자발운동량이 감소하였으며 酸棗仁 100 mg/kg의 고용량 투여군에서는 유의성 있는 감소를 보였고 炒酸棗仁의 UPM 추출물(ROU) 투여군은 대조군과 비교하여 유의성 있는 자발운동량의 변화가 나타나지 않았다.

生酸棗仁 열수추출물(RAH) 투여군은 酸棗仁 25 mg/kg, 50 mg/kg, 100 mg/kg 투여군 모두에서 대조군과 비교해 자발운동량의 유의성 있는 감소를 보였으나 生酸棗仁의 UPM 추출물(RAU) 투여군은 대조군과 비교하여 유의성 있는 변화가 나타나지 않았다.

결론적으로 열수추출물의 경우에는 수치 여부와 상관없이 자발운동량의 유의성 있는 감소가 보였으나, UPM 저온 추출물의 경우에는 수치 여부와 상관없이 자발운동량의 유의성 있는 변화가 나타나지 않았다. 실험결과로 미루어보아 酸棗仁의 자발운동량에 대한 영향은 수치 여부와는 큰 차이가 없고 추출방법에 따라 차이를 보였다.

4종의 酸棗仁으로 Pentylentetrazole(PTZ) 70 mg/kg에 의해 유도된 경련에 대해 항경련효과가 있는지에 대한 실험으로 음성대조군으로 Diazepam 2 mg/kg을 사용하였고 생존 수(number of survival), 경련 값(seizure score), 경련 개시시간(latency to convulsion), 체중감소(weight loss)의 4가지 항목을 측정하였다. PTZ는 중뇌, 연수 및 척수에 작용하여 대량을 투여하면 불안흥분, 운동항진, 반사흥분의 항진 등이 오고, 간질양 경련을 발생하는데³⁵⁾, CL-의 전도에 영향을 미치는 GABA의 농도를 감소시킴으로써 GABA의 작용을 저해하여 경련을 유발하는 것으로 알려져 있으나 아직 자세한 기전은 명확하지 않다고 보고되고 있다^{36,37)}.

ROH 투여군은 saline과 PTZ 70 mg/kg을 투여한 대조군에 비하여 생존수는 증가하였고, 경련 값, 체중감소는 유의성 있는 감소를 보였고, 경련 개시시간은 유의성 있게 증가하였다. 특히 酸棗仁 100 mg/kg의 고용량 투여군에서의 항경련 효과가 증가하였으나 ROU 투여군은 모든 항목에서 대조군에 비해 유의성 있는 변화가 나타나지 않았다.

RAH 투여군은 모든 酸棗仁 투여군에서 경련 개시시간을 유의성 있게 증가시키고, 체중감소를 유의성 있게 감소시켰다. 그리고 酸棗仁 100 mg/kg 투여군에서 경련 값을 유의성 있게 감소시켰으며, RAU 투여군은 25 mg/kg과 100 mg/kg투여군에서 체중감소의 유의성 있는 감소를 보였고, 100 mg/kg 투여군에서 경련 개시시간을 유의성 있게 증가시켰다.

음성대조군인 diazepam 2 mg/kg 투여군은 모든 실험에서 모든 항목에 대하여 유의성 있는 변화를 보였다.

김³¹⁾은 PTZ로 유발된 경련에서 酸棗仁 메탄올 추출물이 항

경련 효과를 나타냈다고 하였으며, 특히 추출물의 농도가 높을수록 개체생존율 증가, 발작횟수 감소, 경련시작시간 지연, 몸무게 감소 완화 등의 효과가 나타난다고 보고하고 있는데 본 연구에서는 열수추출물 투여군이 대부분의 항목에서 유의성 있는 변화를 보였고, ROU 투여군은 모든 항목에서 유의성 있는 변화를 보이지 않았고, RAU 투여군은 몇 개의 항목에서 유의성 있는 변화를 보였다.

실험결과로 미루어보아 酸棗仁의 항경련효과는 수치 여부보다는 추출방법에 따라 차이가 크며 열수 추출물에서의 항경련 효과가 좋다고 볼 수 있다.

4종의 酸棗仁 시료를 이용하여 Pentobarbital 42 mg/kg으로 유도된 수면에 대한 酸棗仁의 영향을 알아보기 위한 실험으로 수면시간(sleeping time)과 수면유도시간(sleeping latency)의 두 항목을 측정하였다.

수면시간은 ROH의 모든 투여군에서 유의성 있게 증가하였고, RAH 투여군과 RAU 투여군의 100 mg/kg의 고용량 투여군에서 유의성 있게 증가하였으나 ROU 투여군은 유의성 있는 변화를 보이지 않았다.

수면유도시간은 ROH의 모든 투여군에서 유의성 있게 감소하였고, RAH 투여군의 100 mg/kg 투여군에서 유의성 있는 감소를 보였고, ROU와 RAU 투여군에서는 유의성 있는 변화를 보이지 않았다.

결론적으로 ROH의 모든 투여군은 수면시간과 수면유도시간 모두에서 큰 유의성 있는 변화를 보였고, RAH와 RAU 투여군은 100 mg/kg의 고용량에서만 유의성 있는 변화를 보였고, ROU투여군은 유의성 있는 변화가 없었다.

최³²⁾는 酸棗仁의 알칼로이드 분획 및 sanjoinine A가 pentobarbital이 투여된 생쥐에 있어서 수면효과를 증강시킨다고 하였는데 본 연구에서는 ROH의 경우 수면에 대한 긍정적 효과가 크게 나타나나, 나머지 추출물은 고용량에서만 효과가 나타나거나 유의성 있는 효과가 없었다고 볼 수 있다. 아울러 최³²⁾는 수면효과를 나타내는 기전에 GABAA 수용체 Cl 이온 채널 화합물이 관여한다고 하였는데 본 시료들이 어떠한 기전에 의하여 수면효과를 증강시키는지 심층적인 연구가 필요하다고 생각된다.

이상의 결과를 살펴보면, 生酸棗仁보다는 炒酸棗仁이 진정작용 등 약리학적 효능이 우수하였으며, 또한 열수추출방법이 초음파와 마이크로파를 이용한 저온추출방법(UMPM)보다 약리적으로 효능이 우수하였음을 확인할 수 있었다. 이는 약제의 특성을 고려하여 적절한 추출방법을 선택함으로써 유효성분 추출을 극대화하고 약효를 증진시킬 필요가 있다 사료되며, 또한 메탄올 등을 이용한 용매추출로써 얻을 수 있는 酸棗仁 alkaloid 외에도 물을 이용한 전탕법으로써 얻을 수 있는 酸棗仁의 다양한 수용성 성분에 대한 연구도 심층적으로 진행되어야 할 필요가 있다고 판단된다.

결 론

酸棗仁의 炮製 與否와 抽出方法에 따라 나타나는 효능과 성

분의 차이 및 변화를 확인하고자 生酸棗仁과 炒酸棗仁의 熱水抽出物 및 UMPM 低溫抽出物을 동물실험을 통해 각 추출물의 자발운동량, 항경련 효과, 수면효과 등을 측정하였고, 항산화 활성능을 측정하였으며 화학적 분석을 통해 유효성분을 분석한 결과 다음과 같은 결론을 얻었다.

열수추출의 경우 炮製여부와 상관없이 자발운동량의 유의성 있는 감소가 보였으나 UMPM 추출의 경우 炮製여부와 상관없이 유의성 있는 변화가 나타나지 않았다.

PTZ에 유도된 경련에 대한 항경련효과를 살펴본 결과 炒酸棗仁 열수추출물(ROH) 투여군과 生酸棗仁 열수추출(RAH) 투여군은 대부분의 항목에서 유의성 있는 변화를 보였고, 炒酸棗仁 UMPM 추출물(ROU) 투여군은 모든 항목에서 유의성 있는 변화를 보이지 않았으며, 生酸棗仁 UMPM 추출물(RAU) 투여군은 몇 개의 항목에서 유의성 있는 변화를 보였다.

Pentobarbital로 유도된 수면에 대한 영향을 살펴본 결과 ROH의 모든 투여군은 수면시간과 수면개시시간에서 모두 큰 유의성 있는 변화를 보였고 RAH와 RAU는 고용량에서만 유의성 있는 변화를 보였으며, ROU는 유의성 있는 변화가 없었다.

이상의 결과를 살펴보면, 生酸棗仁보다는 炒酸棗仁이 약리학적 효능이 우수하였으며, 유효성분도 다량 추출됨을 알 수 있었으며, 또한 열수추출방법이 초음파와 마이크로파를 이용한 저온추출방법(UMPM)보다 약리적으로 효능이 우수하였음을 확인할 수 있었다. 이로써 韓藥의 抽出法은 약재마다의 특성을 고려하여 효능에 따른 최적의 추출방법을 시도하여 약효를 극대화시킬 필요가 있다고 사료되며, 아울러 煎湯에 의한 熱水抽出法으로 추출이 가능한 酸棗仁의 水溶性 成分들에 대한 연구도 심층적으로 진행해야 할 필요가 있다고 판단된다.

참고문헌

1. 박진홍, 이현수, 문형철, 김대호, 성낙술, 정해곤, 방진기, 이현용. 초음파 병행추출을 이용한 가시오갈피, 마황, 복분자 및 인진쑥의 항암활성 증진. 약학회지 12(4):273-278, 2004.
2. 정현식, 윤광섭. 전처리 방법에 따른 영지버섯 추출액의 품질 특성 변화. 한국식품저장유통학회지 12(2):130-134, 2005.
3. 권중호, 김경은. 상압조건의 마이크로파 공정과 현행방법에 의한 인삼근 유효 성분의 추출효율 비교 연구. 한국식품영양과학회지 28(3):586-592, 1999.
4. 許浚. 東醫寶鑑. 여강출판사, 서울, pp 2798-2799, 1994.
5. 上海中醫學院. 中草藥學. 商務印書館, 香港, pp 323-324, 1983.
6. 신민교. 임상본초학. 영림사, 서울, 100, 114, 115, 643-644, 2000.
7. 임상배합본초편집부. 임상배합본초. 영림사, 서울, p 235, 1997.
8. 과학기술처(편). 酸棗仁 알칼로이드 정신신경안정제 (Development of sanjoin alkaloid as sedative). 과학기술처, 과학, 1994.
9. 과학기술처(편). 酸棗仁 알칼로이드 정신신경안정제 (Development of sanjoin alkaloid as sedative). 과학기술처,

- 과천, 1995.
10. 김용철. 酸棗仁 알칼로이드의 정량 및 전합성. 서울대학교 대학원, 1994.
 11. 박정일. 酸棗仁의 진정성 Cyclopeptide alkaloid(franguloline) 및 그 열처리 변이물의 입체구조에 관한 연구. 서울대학교 대학원, 1986.
 12. 김호철. 한약약리학. 집문당, 서울, pp 376-378, 2008.
 13. 전중명. 酸棗仁 엑기스의 약물학적 고찰. 경희대학교 대학원, 1979.
 14. 조광훈. 酸棗仁 생용 및 초용과 귀비탕이 구속 Stress 흰 쥐의 뇌 Catecholamine 함량에 미치는 영향. 경산대학교 대학원, 1994.
 15. 천연물화학 교재연구위원회. 천연물화학, 영림사, 서울, pp 20-26, 1995.
 16. Yu, S.H., Chong, M.S., Kim, H.J., Lee, K.N. Studies on the extraction method and polysaccharide of *Tricholoma matsutake* using the supersonic wave and microwave. *Kor J Oriental Physio& Patho* 21: 1431-1436, 2007.
 17. Chung, K.W., Kim, Wi, Hong, I.K., Park, K.A. Ultrasonic energy effects on squalene extraction from amaranth seed. *Appl Chem* 4: 149-152, 2000.
 18. Kim, Wi, Chung, K.W., Lee, S.B., Hong, I.K., Park, K.A. Ultrasound energy effects on solvent extraction of amaranth seed oil. *J Kor Ind Eng Chem* 12: 307-311, 2001.
 19. Park, J.H., Lee, H.S., Mun, H.C., Kim, D.H., Seong, N.S., Jung, H.G., Bang, J.K., Lee, H.Y. Effect of ultrasonification process on enhancement of immuno-stimulatory activity of *Ephedra sinica* Strapf and *Rubus coreanus* Miq. *Kor J Biotechnol Bioeng* 19: 113-117, 2003.
 20. 김대호, 박진홍, 김정화, 김철희, 유진현, 권민철, 이현용. 저온추출 공정에 의한 마황과 복분자의 면역활성증진효과. *한약작지* 13(3):81-86, 2005.
 21. 김동호, 김현중, 정봉우. 초음파를 이용한 *Haematococcus pluvialis*로부터 항산화물질 추출. *공학연구*, 37: 79-86, 2006.
 22. Fellows, P. Food processing technology. CRC press, New York, pp 365-384, 2000.
 23. Kwon, J.H., Belanger, J.M.R., Pare, J.R.J. optimization of microwave-assisted extraction(MAP) for ginseng components by response surface methodology. *J Agric Food Chem* 51: 1807-1810, 2003.
 24. Lee, S.Y., Kang, M.J., Kwon, J.H., Shin, S.R., Lee, G.D., Kim, K.S. Monitoring of total phenolics, electron donating ability and nitrite scavenging ability in microwave-assisted extraction for *Angelica gigas* Nakai. *Food Sci Biotechnol* 12: 491-496, 2003.
 25. Kwon, Y.J., Noh, J.E., Lee, J.E., Lee, S.H., Choi, Y.H., Kwon, J.H. Prediction of optimal extraction conditions in microwave-assisted process for antioxidant-related components from *Thymus quinquecostatus*. *Korean J Food Preserv* 12: 344-349, 2005.
 26. Lee, E.J., Kwon, Y.J., Noh, J.E., Lee, J.E., Lee, S.H., Kim, J.K., Kim, K.S., Choi, Y.H., Kwon, J.H. Optimization of microwave-assisted process for extraction of effective components from *Mosla dianthera* M.. *Kor Soc of Food Preserv* 12(6):617-623, 2005.
 27. 新文豊出版公社. (新編) 中藥大辭典, 서울, 일중사, pp 2401-2403, 1992.
 28. 황영모. 酸棗仁이 Stress로 인한 생쥐의 뇌부위별 serotonin 함량 변화에 미치는 영향. 경원대학교 대학원, 2000.
 29. 홍영옥, 이태균, 문일수, 김동일. 이선탕, 감맥대조탕, 酸棗仁탕이 Serotonine, Melatonine의 변화와 백서의 행동양태에 미치는 영향에 관한 연구. *부인과학회지* 12(1):209-229, 1999.
 30. 최재홍, 이동원. 인삼, 酸棗仁, 숙지황이 생쥐 뇌의 serotonin 면역반응성세포에 미치는 영향. *대한한의학회지* 23(2):78-87, 2002.
 31. 김영훈. N-methyl-D-aspartate (NMDA)에 의해 유도된 경련과 세포손상에 대한 Sanjoinine A의 보호효과. 원광대학교 대학원, 2007.
 32. 최희석. 酸棗仁의 GABA 수용체를 통한 pentobarbital 유도 수면연장효과에 대한 실험적 연구. 원광대학교 한의학전문대학원, 2007.
 33. 안영수, 김경환, 조태순, 김원준, 홍사석. 酸棗仁의 중추신경 및 심혈관계에 대한 약리작용. *대한약리학회지* 18(1):17-22, 1982.
 34. 李梴. 醫學入門. 대성문화사, 서울, p 217, 1990.
 35. 송태원. 향기요법(분향)이 진정 및 항경련에 미치는 실험적 연구. *동의생리병리학회지* 16(3):567-571, 2002.
 36. Metcalf, B.W. Inhibitors of GABA metabolism. *Biochem Pharmacol* 28: 1705-1712, 1979.
 37. Holdiness, M.R. Chromatographic analysis of glutamic acid decarboxylase in biological samples. *J Chromatog* 1: 277, 1984.