

오가피, 구기자, 오미자, 토사자, 복분자 및 차전자를 첨가한 한방 약술의 항산화 효과

오성천[†]

[†]대원대학교 제약품질관리과
(2016년 12월 8일 접수; 2016년 12월 14일 수정; 2016년 12월 23일 채택)

Antioxidant Effects of Herbal Wine containing *Acanthopanax sessiliflorus*, *Lycium chinense*, *Schizandra chinensis*, *Cuscutae semen*, *Rubus coreanum* and *Plantaginis semen*

Sung-Cheon Oh[†]

[†]Dept. of Pharmaceutical Quality Control, Daewon University College, Jecheon 27135, Korea
(Received December 8, 2016; Revised December 14, 2016; Accepted December 23, 2016)

요약 : 본 연구는 추출물 농도에 따른 생리활성물질의 용출량을 측정하기 위해 전자공여능과 총 폴리페놀 함량을 측정된 결과이다. 전자공여능은 추출물의 첨가 농도가 15%인 경우는 21.81%로 나타났고, 35% 농도에서 40.45%로 가장 높았다. 한약재의 첨가 농도가 증가함에 따라 전자공여능은 유의적으로 증가하였다($p < 0.05$). 가장 높은 35% 첨가 농도에서의 40.45% 공여능은 이보다 더 낮았으므로 전자공여능은 미약한 것으로 생각된다. 총 폴리페놀함량은 한방약술 15%에서는 $113.89 \pm 1.79 \mu\text{g GAE/ml}$ 로 나타났고, 한방약술 35%에서는 $274.24 \pm 0.71 \mu\text{g GAE/ml}$ 로 나타나서 첨가물의 농도 증가에 따라 총 폴리페놀의 함량도 유의적으로 증가하였다($p < 0.05$). 추출물 농도가 30%에서 총 폴리페놀 함량의 증가 폭이 $61.75 \mu\text{g GAE/ml}$ 로 가장 높았다.

주제어 : 항산화, 한방약술, 전자공여능, 총 폴리페놀, 한약재

Abstract : In this study, the electron donating ability(EDA) and total polyphenol content of herbal wine were examined. The herbal wine was obtained from extract concentration to evaluate its functional properties. The herbal wine were screened for their potential antioxidant activities using test such as electron donating ability(EDA) and total polyphenol content.

The electron donating ability(EDA) were 21.81 ± 0.56 in herbal wine 15% and 40.45 ± 1.60 in herbal wine 35%. As the extract concentration was increased the electron donating ability(EDA) were significantly increased($p < 0.05$). The total polyphenol contents were measures $113.89 \pm 1.79 \mu\text{g}$

[†]Corresponding author
(E-mail: osc5000@mail.daewon.ac.kr)

GAE/ml in herbal wine 15%, 274.24±0.71 µg GAE/ml in herbal wine 35%. As the extract concentration was increased the total polyphenol contents were significantly increased ($p < 0.05$). Also, the total polyphenol contents were measures 61.75 µg GAE/ml in herbal wine, the higher.

Keywords : antioxidant, herbal wine, electron donating ability(EDA), total polyphenol, herbal medicine

1. 서론

생활수준의 향상과 식생활의 서구화에 따른 영양의 과잉섭취, 운동부족 및 과도한 스트레스로 인하여 만성질환이 발생하며 그로 인해 개인의 삶 전체에 양적, 질적 저하를 초래하고 사회적 및 경제적으로 많은 부담을 수반하고 있다[1]. 특히 인체 내의 대사과정에서 발생한 활성산소에 의한 산화적 스트레스는 여러 가지 질병과 노화를 유발하는 것으로 알려져 있다[2]. 활성 산소종은 몸속에서 세포, 단백질, 지질, 핵산 등을 공격하여 산화적 스트레스를 주므로 각종 심혈관계 질환, 암 및 노화 등을 촉진한다고 한다[3].

이에 활성산소를 저하시켜서 건강에 도움을 줄 수 있는 한약재가 첨가된 한방 약술을 개발이 필요하다. 오가피(*Acanthopanax sessiliflorus*)는 맛이 맵고 쓰며, 성질이 따뜻하고 주로 뿌리와 줄기의 약재로 사용하고 강장, 신경통, 식욕부진 고혈압의 치료와 예방에 사용하였다[4]. 구기자(*Lycium chinense*)는 달고 성질이 차며, 간과 신장에 작용하여 시력을 개선하고 몸이 허약하여 생기는 병을 다스리는 것으로 알려져 있다[5]. 오미자(*Schizandra chinensis*)는 약용 및 식용식물체로 식품, 기호음료, 한방, 의약 면에서 널리 통용되고 있으며[6], 진정, 진해, 해열 등의 효과가 있는 것으로 알려져 왔다[7]. 토사자(*Cuscutae semen*)에는 hyperoxide, quercetin, kaempferol 이 함유되어 있으며[8], 토사자 추출물 중 다당체는 림프구의 증식과 항체생성을 촉진시키는 효과가 있다[9]. 복분자(*Rubus coreanum*)의 약리작용은 복분자 추출물이 혈중에서 LH, FSH 및 estrogen의 함량은 저하시키지만 흉선에서 분비되는 LHRH 및 혈중 testosterone 함량을 증가시킨다고 보고되었다[10]. 차전자(*Plantaginis semen*)는 질경이과에 속하며 차전자 물 추출물이 비만한 쥐에게 지질대사에 관련된 효소활성에 기인하여 효과가 있다고 보고되었다[11]. 이러한 생약재

를 이용한 항 염증[12], 항산화[13] 및 해독작용[14] 등이 연구되어 왔다.

본 연구는 한약재의 활용도를 높이기 위한 연구로 한방약술을 제조하여 추출물의 농도에 따른 생리활성물질의 용출량을 측정하기 위해 전자공여능과 총 폴리페놀 함량을 측정하였다.

2. 실험

2.1. 재료, 시약 및 기구

본 연구에 사용된 한방약술은 백미를 재도정하여 세척 및 증자, 제국, 사입 및 발효공정으로 제조하였으며 증류 후 한약재를 첨가하여 20일간 추출한 것을 원액으로 사용하였으며 제성, 정제 및 여과 과정을 거쳐 사용하였다. 알콜농도는 15%, 20%, 25%, 30%, 35%의 5가지로 하여 실험하였다.

Folin-Ciocalteu법에 사용된 Folin & Ciocalteu's phenol reagent와 항산화성 측정에 사용된 2,2-diphenyl-1-(2,4,6-trinitrophenyl)hydrazyl(DPPH)은 Sigma Chemical Co. (St. Louis, USA) 제품을 사용하였다. 추출 용매로 사용된 methanol, methylene chloride, ethyl acetate 등은 Daejung (Incheon, Korea) 제품을 사용하였다.

Vortex Mixer는 Thermolyne (Iowa, USA)사의 Type 37600 Mixer를 이용하였다. 폴리페놀 함량 측정과 항산화성 측정은 Hitachi사 (Tokyo, Japan) U-2000 UV/VIS Spectrophotometer를 이용한 분광광도법으로 하였다.

2.2. 실험방법

2.2.1 한방약술의 추출 및 분리

한방약술을 알콜 농도별로 정지하여 추출하였고, 추출액은 여과 후 감압상태에서 농축한 다음

전자공여능과 총 폴리페놀함량 측정하였다.

2.2.2 전자공여능 측정

DPPH(2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl)의 free radical에 대한 시료의 항산화 활성은 Kim 등 [15]의 방법을 응용하여 측정하였다. 95% 에탄올에 용해시킨 0.4 mM DPPH 용액 0.8 ml에 시료 0.2 ml를 첨가하여 혼합 후 어두운 곳에서 4 분 동안 방치한 다음 UV spectrophotometer (Hitachi사(U-2000 UV/VIS Spectrophotometer, Hitachi, Tokyo, Japan)를 사용하여 517 nm에서 흡광도를 측정하였고, 전자공여능(EDA%)은 다음 식에 의하여 구하였다.

$$\text{Electron donating ability(\%)} = [1 - (\text{A experiment} / \text{A blank})] \times 100$$

A experiment : Absorbance of sample
A blank : Absorbance of control

2.2.3 총 폴리페놀 함량 측정

총 폴리페놀 함량은 Singleton 등[16]의 Folin-Ciocalteu 법에 따라 측정하였다. 70% methanol로 추출하여 농축한 용액을 50배로 희석하고, methylene chloride(MC)로 추출하여 농축한 용액은 11배, ethyl acetate(EA)로 추출하여 농축한 용액은 5배, 그리고 methanol(MeOH)로 추출하여 농축한 용액은 10배로 희석하여 실험에 사용하였다. 희석액 400 μl를 취하여 증류수 3.0 ml와 혼합한 후에 Folin-Ciocalteu reagent 200

μl를 넣었고, 이 용액에 포화 Na₂CO₃ 용액 400 μl를 넣고 강하게 저어준 다음 1시간 정치시켰다, 총 폴리페놀 함량은 UV spectrophotometer (U-2000 UV/Vis Spectrophotometer, Hitachi, Tokyo, Japan)를 사용하여 725 nm에서 흡광도로 측정하였다. 총 폴리페놀 함량의 산출은 표준 물질로 gallic acid를 사용하여 표준 검량선을 구하였고, 검량선으로부터 총 폴리페놀 함량을 gallic acid equivalents(GAE μg/ml extract)로 환산하였다.

2.2.4 통계처리

모든 실험결과는 Statistical Package for the Social Science Program(SPSS, version 21)을 이용한 분산분석(one-way ANOVA)을 하였고, 실험군 간의 유의성은 Duncan multiple range test로 p<0.05 수준에서 실시하였으며, 모든 실험 3회 반복해서 실행한 평균±표준편차로 분석하였다.

3. 결과 및 고찰

3.1 전자공여능 측정

첨가된 한약재 추출물의 농도에 따른 한방약술의 electron donating ability(EDA)는 Table 1과 같이 첨가된 추출물이 15%인 경우에는 21.81%, 추출물의 농도가 20%인 경우는 27.19%로 나타났고, 35% 농도에서 40.45%로 가장 높은 결과

Table 1. Electron donating ability(EDA) of herbal wine depending on concentration of herb extracts

Sample names	Electron donating ability(EDA) ¹⁾	
		Δ
herbal wine 15%	21.81 ± 0.56 ^a	0
herbal wine 20%	27.10 ± 1.17 ^b	5.29
herbal wine 25%	31.59 ± 1.60 ^c	4.49
herbal wine 30%	36.03 ± 0.88 ^d	4.44
herbal wine 35%	40.45 ± 1.60 ^e	4.42
F value	53.47* (0.000)	

1) Electron donating ability(EDA) content was %

2) Each value is mean ± SD of triplicate determination (n=3)

* Means with different letters(a ~ e) within a column are significantly different at p<0.05

를 나타냈다. 첨가된 한약재의 농도 증가에 따른 전자공여능은 유의적으로 증가하였다($p < 0.05$). Kang 등[17]은 썩 잎을 열수와 70% acetone으로 추출한 추출액의 전자공여능은 각각 47.1%와 45.8%였는데 낮은 전자공여능이라고 하였다. 가장 높은 농도인 35% 추출물 첨가에서의 40.45% 전자공여능은 이보다 더 낮았으므로 전자공여능은 미약한 것으로 보인다.

3.2. 총 폴리페놀 함량

첨가된 한약재 추출물의 농도에 따른 총 폴리페놀의 함량은 Table 2와 같이 총 폴리페놀 함량은 한방약술 15%에서는 $113.89 \pm 1.79 \mu\text{g GAE/ml}$ 로 나타났고, 한방약술 35%에서는 $274.24 \pm 0.71 \mu\text{g GAE/ml}$ 로 나타나서 첨가물의 농도가 증가에 따라 총 폴리페놀의 함량도 유의적으로 증가하였다($p < 0.05$). 추출물 농도 30%에서 총 폴리페놀 함량의 증가 폭이 $61.75 \mu\text{g GAE/ml}$ 로 가장 높게 나타났다.

4. 결론

본 연구에서는 한약재의 활용도를 높이기 위한 연구로 추출물의 농도에 따른 생리활성물질의 용출량을 측정하기 위해 전자공여능과 총 폴리페놀 함량을 측정한 결과는 다음과 같다. 전자공여능은 첨가된 추출물이 15%인 경우에는 21.81%로 나타났고, 첨가된 추출물의 농도가 35%에서 가장

높은 40.45%를 나타냈다. 첨가된 한약재의 농도가 증가함에 따른 전자공여능은 유의적으로 증가함을 보였다($p < 0.05$). 가장 농도가 높은 35% 추출물 첨가에서의 40.45% 공여능은 이보다 더 낮게 나타났으므로 전자공여능은 미약한 것으로 사료된다. 총 폴리페놀함량은 한방약술 15%에서는 $113.89 \pm 1.79 \mu\text{g GAE/ml}$ 로 나타났고, 한방약술 35%에서는 $274.24 \pm 0.71 \mu\text{g GAE/ml}$ 로 나타나서 첨가물의 농도가 증가함에 따라서 총 폴리페놀의 함량도 유의적으로 증가함을 보였다($p < 0.05$). 추출물의 농도가 30%에서 총 폴리페놀 함량의 증가 폭이 $61.75 \mu\text{g GAE/ml}$ 로 가장 높게 나타났다.

References

1. I. S. Choi, K. Y. Kim, J. E. Yim and Y. S. Kim, Calorie restriction and obesity under the regulation of SIRT1. *Korean J. Obes.* 20, 170-176 (2011).
2. J. R. Jang, S. Y. Hwang and S. Y. Lim, Inhibitory effect of extracts of *Platycodon grandiflorum* on oxidation and nitric oxide production. *Korean J. Food Preserv.* 18, 65-71 (2011).
3. J. Y. Mok, H. J. Kang, J. K. Cho, I. H. Jeon, H. S. Kim, J. M. Park, S. I. Jeong, J. S. Shin and S. I. Jang, Antioxidative

Table 2. The total polyphenol contents in herbal wine depending on concentration of herb extracts

Sample names	Total polyphenols($\mu\text{g/ml}$) ¹⁾	
		Δ
herbal wine 15%	113.89 ± 1.79^a	0
herbal wine 20%	148.36 ± 1.96^b	34.47
herbal wine 25%	171.84 ± 1.96^c	23.48
herbal wine 30%	233.59 ± 0.36^d	61.75
herbal wine 35%	274.24 ± 0.71^e	40.65
F value	4209.98^* (0.000)	

1) Total polyphenol content was expressed as $\mu\text{g/ml}$ gallic acid equivalents(GAE)

2) Each value is mean \pm SD of triplicate determination (n=3)

* Means with different letters(a~e) within a column are significantly different at $p < 0.05$ herbal wine 30%

- and antiinflammatory effects of extracts from different organs of *Cirsium Japonicum* var. *ussuriense*. *Kor J. Herbology* 26, 39–47 (2011).
4. Y. M. Wang, C. X. Chen, M. Ji and K. H. Lin, A study of pharmacological actions of flos *Acanthopanaxis senticosi*. *J. Tradit Chin Med.* 6, 297–300 (1986).
 5. J. D. Mellor, Fundamentals of freeze drying, Academic press, London, England. 244–250 (1978).
 6. H. Y. Hsu, Y. P. Chen, S. J. Shen, C. S. Hsu, C. C. Chen and H. C. Chang, Oriental material Medica. Oriental healing Art Institute. California USA. 624 (1986).
 7. M. Zhu, K. F. Lin, R. Y. Yeung and R. C. Li, Evaluation of the protective effects of *Schizandra chinensis* on phase I drug metabolism using a CCl₄ intoxication model. *J. Ethnopharmacol.* 67, 61–68 (1999).
 8. H. Wang, Continuity and changes of breeds of fupenzi. *Zhongguo Zhong Yao Za Zhi*, 22, 392 (1997).
 9. X. Bao, Z. Wang, X Li, Structural features of an immunostimulating and antioxidant acidic polysaccharide from the seeds of *Cuscuta chinensis*, *Planta Med.*, 68(3). 2373 (2002).
 10. K. Chen, J. Fang, X. Kuang and Q. Mo, Effect of the fruit of *Rubus chingii* Hu on hypothalamus–pituitary–sex gland in rat. *Zhongguo Zhong Yao Za Zhi*, 21, 560 (1996).
 11. H. J. Lee, M. J. Chung, D. J. Kim and M. Choe, Effects of *Oenanthe javanica*, *Coicis lachryma-jobi* L. var. and *Plantaginis asiatica* L. Water extracts on activities of key enzymes on lipid metabolism. *J. Korean Soc Food Sci Nutr.* 38(11), 1516–1521 (2009).
 12. S. I. Choi, Y. M. Lee and T. R. Heo, Screening of hyaluronidase inhibitory and free radical scavenging activity in vitro of traditional herbal medicine extract. *Korean J. Biotechnol. Bioeng.*, 18, 282–288 (2003).
 13. H. K. Kim, Y. E. Kim, J. R. Do, Y. C. Lee and B. Y. Lee, Antioxidative activity and physiological activity of some Korean medical plants. *Korean J. Food Sci. Technol.*, 27, 80–85 (1995).
 14. K. M. Kim, J. K. Hwang, K. M. H. S. and J. H. Song, Detoxicating effects of oriental herbs extract mixtures on nicotine and dioxin. *Korean J. Food Sci. Technol.*, 35, 980–987 (2003).
 15. J. H. Kim, J. H. Park, S. D. Park, J. H. Seong and K. D. Hoon, Preparation and antioxidant activity of health drink with extract powerers from safflower seed. *Korea J Food Sci.* 34, 617–624 (2002).
 16. V. L. Singleton, R. Orthofer, R. M. Lamuela-Raventos, Method Enzymology. Academic Press, 152–177 (1999).
 17. M. J. Kang, S. R. Shin and K. S. Kim, Antioxidative and free radical scavenging activity of water extract from dandelion. *Korean J Food Preser.* 9, 253–259 (2002).