大韓本草學會誌 제31권 제4호(2016년 7월)
Kor. J. Herbol. 2016 ; 31(4) : 43-51

ISSN 1229-1765(Print), ISSN 2288-7199(Online)
http://dx.doi.org/10.6116/kjh.2016.31.4.43.

경옥고의 원방과 가미방 익수영진고加꽃송이버섯이 항산화, 면역력 활성 및 기호도에 미치는 영향

나창수[1#], 신욱[1], 이유미[1], 문양선[2,3], 노희경[4], 서승호[1], 손홍석[1*]

1 : 동신대학교 한의과대학, 2 : 동신대학교 대학원 대체요법과, 3 : (유)나우리, 4 : 동신대학교 식품영양학과

Effect of Original Kyungokgo & Iksuyongjingo plus *Sparassis crispa* on Antioxidant, Immunity Improvement and Sensory Evaluation

Chang-Su Na[1#] , Wook Shin[1], Yu-Mi Lee[1], Yang-Seon Moon[2,3], Hee-kyung Noh[4], Seong-Ho Seo[1], Hong-Seok Son[1*]

1 : School of Korean Medicine, Dongshin University, Naju, Jeonnam 58245, Republic of Korea
2 : Dept. of Alternative Therapy, Graduate School of Dongshin University, Naju, Jeonnam 58245, Republic of Korea
3 : Nawoori (Ltd), Naju, Jeonnam 58245, Republic of Korea
4 : Dept. of Food & Nutrition, Dongshin University, Naju, Jeonnam 58245, Republic of Korea

ABSTRACT

Objectives : This study was conducted with objectives of comparatively investigating effects of original Kyungokgo and Iksuyongjingo plus *Sparassis crispa* which is gamibang of Kyungokgo on antioxidant improvement, immunity improvement, and sensory evaluation.

Methods : Total phenol and DPPH scavenging activity were measured to determine antioxidant improvement of original Kyungokgo and Iksuyongjingo plus *Sparassis crispa*. While, blood and serum study were conducted and effect on the cytokines were observed from the immunosuppressed rat induced by methotrexate (MTX). Control group was administered with a drinking water, Kyungokgo group was administered with a original Kyungokgo 200 mg/kg, and Iksuyongjingo plus *Sparassis crispa* group was administered with a Iksuyongjingo plus *Sparassis crispa* 200 mg/kg for 20 days. Further, intensity and preference evaluation were performed as sensory evaluation.

Results : It was observed that Iksuyongjingo plus *Sparassis crispa* significantly increased total phenol and DPPH scavenging activity, proving that these can improve antioxidant activities. In the immunosuppressed rat, Iksuyongjingo plus *Sparassis crispa* significantly decreased IL-2 level, significantly increased Il-10 level, and significantly increased neutrophils, RBC, HGB, and HCT levels, indicating that it is effective in increasing immunity. Further, Iksuyongjingo plus *Sparassis crispa* significantly improved intensity and preference in the sensory evaluation.

Conclusions : From the above results, it is concluded that Iksuyongjingo plus *Sparassis crispa* which is gamibang of Kyungokgo can act effectively on improving antioxidant activity and immunity, and can attribute convenient intake by improving diet preference.

Key words : Original Kyungokgo, Iksuyongjingo plus *Sparassis crispa*, antioxidant, immunity improvement, sensory evaluation

*Corresponding author : Hong-Seok Son, School of Korean Medicine, Dongshin University, Naju, Jeonnam 58245, Republic of Korea
· Tel : +82-61-330-3522 · E-mail : suk5679@hanmail.net
#First author : Chang-Su Na, School of Korean Medicine, Dongshin University, Naju, Jeonnam 58245, Republic of Korea
· Tel : +82-61-330-3513 · E-mail : nakugi@hanmail.net
· Received : 11 June 2016 · Revised : 3 July 2016 · Accepted : 18 July 2016

Ⅰ. 서 론

瓊玉膏와 益壽永眞膏는 補虛의 대표적인 膏형태 제제이다. 경옥고는 『洪氏集驗方』에서 최초로 기록된 처방으로 인삼, 백복령, 생지황, 봉밀 4가지 약물로 구성된 처방으로 『동의보감』 신형편에 "塡精補髓, 調眞養性, 返老還童, 補百損, 除百病, 萬神俱足, 五藏盈溢"의 효과가 있다고 하였고, 또한 천문동, 맥문동, 지골피를 배합하여 益壽永眞膏라고 소개되어 있다[1]. 익수영진고는 경옥고에 補陰시킬 수 있는 재료가 추가되어 있어서 益氣養陰의 효과를 증강한 제제이다[2].

경옥고 가미방에 대한 연구 보고로는 정 등[3]은 경옥고에 육종용, 파극천, 구척, 녹용을 가미한 제제가 성장을 증가시키는 효과가 있음을 보고하였고, 김 등[4]은 경옥고에 단산, 산사, 결명자, 맥아를 가미한 제제가 고지혈증을 억제시키는 효과가 있음을 보고하였고, 도 등[5]은 경옥고에 하수오를 가미한 제제가 발모를 촉진시키는 효과가 관찰되었음을 보고한 바 있다.

한편, 익수영진고에 대한 보고로는 박[6]이 익수영진고 재료의 70% 에탄올 추출물이 활성산소에 대한 항산화 작용과 뇌신경세포손상 보호효과가 있음을 보고하였고, 최 등[7]은 경옥고에 천문동, 맥문동, 지골피를 가미한 제제, 즉 익수영진고 효모발효물이 피부노화를 억제시킬 수 있음을 보고한 바 있으며, 이들 연구의 재료는 동일하지만 추출물은 전통적인 고형태와는 다르게 사용였다.

또한, 경옥고에 면역력에 효과적인 재료들을 첨가한 연구들도 이루어지고 있는데, 이 등[8]은 경옥고에 표고버섯, 동충하초를 가미한 제제가 면역력을 증강시키는 효과가 관찰되었음을 보고한 바 있다.

꽃송이버섯(*Sparassis crispa*)은 민주름버섯목(*Aphyllophorales*), 꽃송이버섯과(*Sparassidaceae*), 꽃송이버섯속(*Sparassis*)에 속하는 버섯으로 우리나라를 비롯하여 중국, 유럽, 북미에 분포하고 있으며, 침엽수 나무 주위에 발생하여 뿌리에 기생하는 것으로 알려져 있다[9]. 꽃송이버섯은 β -1,3-D-glucan과 함께 다양한 폴리페놀 화합물도 많이 함유하고 있어 면역활성 및 항암효과[10-12]와 함께 항균[13], 항염증[14], 항산화[15]에 유효한 효과를 나타내는 것으로 알려져 있다.

이에 본 연구에서는 면역력 향상 효과가 있는 것으로 알려진 꽃송이버섯을 益氣養陰할 수 있는 익수영진고에 배합할 경우 면역력 증강효과가 있을 것으로 추론되어, DPPH 항산화 활성과 MTX(methotrexate) 유발 면역기능저하 유발 실험을 시행하였고, 아울러 관능 평가를 시행한 바, 다음과 같은 지견을 얻었기에 보고하는 바이다.

Ⅱ. 재료 및 방법

1. 실험 재료

1) 동물

체중 약 170~180 g의 Sprague Dawley계의 백서(Samtako, Korea)를 항온항습 환경의 사육장(실내온도 24~26 ℃, 습도 40~60%)내에서 고형사료(Pellet, GMO, 한국)와 물을 충분히 공급하면서 1주일 이상 실험실 환경에 적응시킨 후 실험에 사용하였으며, 실험기간 동안에도 물과 고형사료를 자유롭게 섭취하도록 하였다. 동물실험윤리위원회 승인(No.2016-01-01)을 얻어 본 연구를 시행하였다.

2) 배합재료

꽃송이버섯(*Sparassis crispa*)은 (영)백아산꽃송이버섯(Hwasun, Korea)에서 구입하여 사용하였다. 인삼(*Ginseng radix*), 백복령(*Poria cocos*), 천문동(*Asparagi radix*), 맥문동(*Liriopis tuber*), 구기자(*Lycii fructus*), 생지황(*Rehmanniae radix*)은 한약재유통센터(Hwasun, Korea)와 옴니허브(Daegu, Korea)에서 국내산을 구입하여 사용하였다. 瓊玉膏 원방(Original Kyungokgo, 이하 경옥고) 재료의 함량은 인삼 900 g, 백복령 1800 g, 생지황 9600 g, 봉밀 6000 g을 사용하였다. 꽃송이버섯을 함유한 경옥고의 가미방인 益壽永眞膏, 즉 익수영진고加꽃송이버섯(Iksuyongjingo plus *Sparassis crispa*, 별칭 '꽃송이홍삼수옥고') 재료의 함량은 경옥고 재료에 꽃송이버섯 900 g, 천문동 150 g, 맥문동 150 g, 구기자 300 g을 가미하였으며, 단 인삼 대신 홍삼(*Red Ginseng Radix*, 정천고려홍삼, Korea) 6년근을 사용하였다.

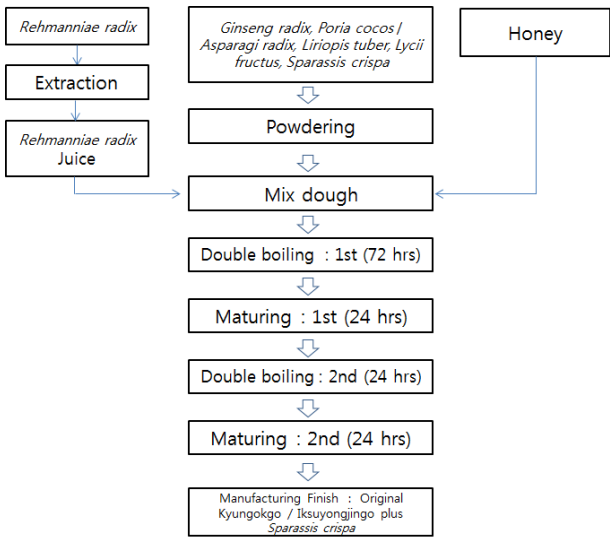
3) 제조방법

생지황(금산, 한국)을 구입하여 세척기(동방, 한국)에서 흙 등의 잔사와 부유물을 깨끗이 씻어낸다. 세척된 생지황을 분쇄기(동방, 한국)에 넣어 생지황을 마쇄한다. 마쇄된 생지황을 착즙기(동방, 한국)에 넣어 생지황 즙액을 얻었다. 경옥고와 익수영진고加꽃송이버섯의 제조방법은 동의보감의 방법을 준용하였다. 각 고형재료는 미세분말화 하였고, 이를 생지황 즙액, 꿀을 함께 균일하게 혼합 반죽하였다. 이를 옹기에 넣었고 물이 채워진 중탕기에 옹기를 넣었다. 3일 동안 온도측정기(KP3001, Ziraffe, China)로 온도를 측정하여 100±2℃로 유지하면서 1차 중탕을 시행하였고, 이때 중탕기에 채워진 물은 옹기가 80% 이상 잠길 수 있게 유지되도록 보충하였다. 1차 중탕이 끝난 후 1일 동안 실온에 방치하면서 1차 숙성 과정을 진행하였다. 다시 1일 동안 1차 중탕과 같은 조건으로 2차 중탕을 시행하였고, 이후 1일 동안 1차 숙성과 같은 조건으로 2차 숙성 과정을 진행하였다. 이러한 일련의 과정을 거쳐서 고형태의 경옥고 및 익수영진고加꽃송이버섯을 제조하였다(Scheme 1).

2. Total phenol 함량 및 DPPH radical 소거능 실험

Total phenol 함량은 Folin-Denis 법[16]을 변형하여 측정하였다. 동결건조한 버섯 추출물 0.5 mL에 증류수 4.5 mL와 Folin-Ciocalteu's phenol reagent 0.5 mL를 넣고 5분간 반응 시킨 뒤 7% Na_2CO_3 5 mL와 증류수 4 mL를 첨가하였다. 그 후 상온에서 90분간 반응시킨 뒤 UV spectrophotometer (UV-1601, Shimadzu, Kyoto, Japan)를 이용하여 750 nm의 파장에서 흡광도를 측정하였다. 표준곡선은 gallic acid를 이용하여 작성하였다. DPPH radical scavenging activity 측정은 Blois 법[17]에 따라 시액 0.4 mL에 0.4 mM 1,1-diphenyl-2-picryl-hydrazyl (DPPH) 용액 1.6 mL를

가하여 10분간 방치한 다음 525 nm에서 흡광도를 측정하였으며 계산식, electron donating ability(%) = 100−[(O.D of sample/ O.D of control) × 100]에 의하여 활성도를 산출하였다.



Scheme 1. Manufacturing Process of Original Kyungokgo and Iksuyongjingo plus *Sparassis crispa*.

3. MTX 유발 면역능 실험

1) 면역저하 유발

면역저하 유발은 Methotrexate(Sigma, USA) 2 mg/Kg을 4일간 4회 구강 투여하였으며, 유발시기는 전체 실험기간 20일 중에 8일째부터 11일째에 시행하였다.

2) 군 분리

실험동물은 아무런 처치를 하지 않은 정상군(Normal), Methotrexate(MTX) 면역저하 유발 후 음용수를 구강투여한 대조군(Control), MTX 면역저하 유발 후 경옥고 200 mg/Kg 구강투여군(Kyungokgo), MTX 면역저하 유발 후 익수영진고加꽃송이버섯 200 mg/Kg 구강투여군(Iksuyongjingo plus Sparassis crispa)으로 분리하였다.

3) 경옥고 및 익수영진고加꽃송이버섯 추출액 투여

경옥고 및 익수영진고加꽃송이버섯은 고형태의 추출물을 음용수에 희석하여 액상의 형태로 1일 1회씩 20일간 Zondae로 구강투여하였다.

4) 혈액 및 혈청학적 검사

채혈에 의하여 얻어진 혈액 중 약 100 μl를 EDTA−bottle에 넣은 후 곧바로 Multi species Hematology Analyser(950, Hemavet, USA)에 주입하여 Leukocytes, Erythrocytes를 측정하였다. 나머지 혈액은 고속원심분리기(Centricon T−42K, Italy)에서 3,500 rpm으로 20분간 시행하여 혈청을 분리하였으며, 혈청 분석으로는 AST, ALT를 Dri−chem 4000i (Fujifilm corp, Japan)으로 측정하였다.

5) Interleukin−2 (IL−2)측정

Serum IL−2 측정은 Rat IL−2(R&D Systems, USA)를 사용하여 측정하였다. Microplate의 각 Well에 Assy Diluent RD1−21 50 ul을 넣고 Rat IL−2 standard, control, serum 50 ul를 첨가하고 plate cover로 tapping한 후에 1분간 mixing하고 실온에 2시간 방치하였다. Washing solution 400 ul로 5회 washing 후 Rat IL−2 conjugate 100 ul를 첨가하고 plate cover를 덮고 실온에 2시간 방치하였다. Washing solution 400 ul로 5회 washing 후 Substrate solution 100 ul를 첨가하고 plate cover를 덮고 실온(dark 상태) 30분간 방치하였다. Stop solution 100 ul를 plate에 넣고 발색반응을 중지시킨 후 microplate reader(Bio−Rad, USA)로 450 ㎚에서 OD(Optical density)를 측정하였다.

6) Interleukin−10 (IL−10) 측정

Serum IL−1β 측정은 Rat IL−10(R&D Systems, USA)를 사용하여 측정하였다. Microplate 의 각 Well에 Assy Diluent RD1−21 50 ul을 넣고 Rat IL−10 standard, control, serum 50 ul를 첨가하고 plate cover로 tapping한 후에 1분간 mixing하고 실온에 2시간 방치하였다. Washing solution 400 ul로 5회 washing 후 Rat IL−10 conjugate 100 ul를 첨가하고 plate cover를 덮고 실온에 2시간 방치하였다. Washing solution 400 ul로 5회 washing 후 Substrate solution 100 ul를 첨가하고 plate cover를 덮고 실온(dark 상태) 30분간 방치하였다. Stop solution 100 ul를 plate에 넣고 발색반응을 중지시킨 후 microplate reader(Bio−Rad, USA)로 450 ㎚에서 OD(Optical density)를 측정하였다.

4. 기호도 평가 실험

1) 대상

시료의 관능평가는 식품영양학을 전공하고 있는 학생 10명을 차이식별검사를 통해 선발하였다.

2) 재료

평가용 시료는 평가당일 실온에 보관하였다가 1회 섭취량에 상응하는 양이 되도록 10 g을 티스푼에 제공하였으며, 시료의 색, 단향, 한약재향, 이취, 입안에서의 부드러움, 단맛, 신맛, 쓴맛, 떫은맛, 이미, 후미, 전체적인 선호도를 조사하였다.

3) 평가

강도와 선호도를 평가하기 위해 양쪽 1.25 cm 지점과 가운데 7.5 cm 지점에 정박점이 있는 15 cm 선척도 평가표를 만들어 제공하였다. 0 cm에서 15 cm로 갈수록 강도 및 선호도가 커지는 것으로 하였으며, 각 특성에 해당하는 강도 및 선호도를 해당 위치에 표시하도록 하였다.

5. 통계처리

실험 성적은 평균값과 표준오차(mean±S.E.)로 표시하였으며, Window용 SPSS (version 21, SPSS)를 이용하여, 비

모수적 방법 중 Mann-Whitney U test를 시행하여 실험군간의 통계적 유의성을 관찰하였다. 시료간의 평균 차이는 차이에 대해 t-test 검정을 하였다. 전체 실험의 통계적인 유의성은 신뢰구간 $p<0.05$에서 의미를 부여하였다.

Ⅲ. 결 과

1. 항산화 활성에 미치는 영향

1) 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) radical 소거능

瓊玉膏와 益壽永眞膏加꽃송이버섯의 DPPH radical 소거능에 미치는 영향을 농도별로 관찰한 결과(Fig. 1), 경옥고군은 250 ppm인 경우 13.1±1.9 %, 500 ppm인 경우 28.2±3.0%, 1000 ppm인 경우 60.2±1.8%를 나타내었고, 익수영진고加꽃송이버섯군은 250 ppm인 경우 9.9±2.6%, 500 ppm인 경우 28.7±2.7%, 1000 ppm인 경우 76.0±2.3%를 나타내었고, 1000 ppm에서 경옥고군에 비하여 익수영진고加꽃송이버섯군의 DPPH radical 소거능은 유의한 증가를 나타내었다.

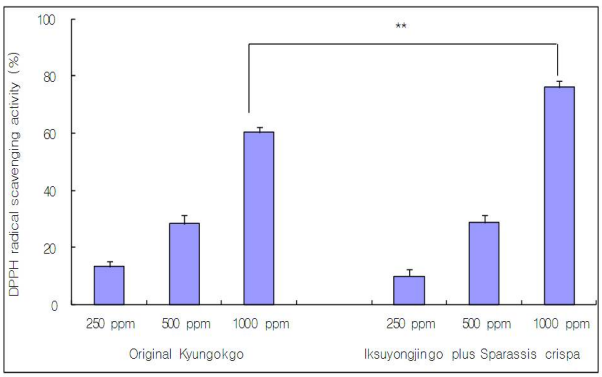


Fig. 1. Effect of original Kyungokgo and Iksuyongjingo plus *Sparassis crispa* on the DPPH radical scavenging activity.
** P<0.01 compared with Kyungokgo and Iksuyongjingo plus *Sparassis crispa*.

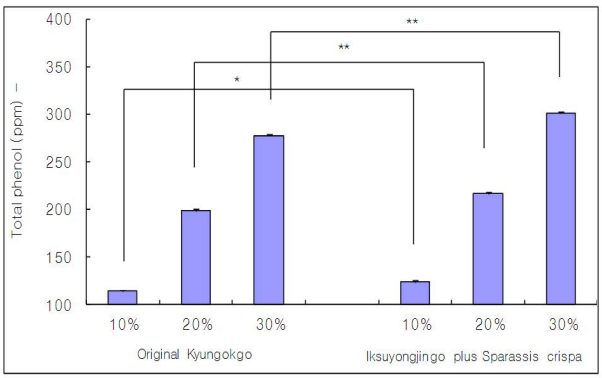


Fig. 2. Total phenol content of original Kyungokgo and Iksuyongjingo plus *Sparassis crispa*.
* P<0.05, ** P<0.01 compared with Kyungokgo and Iksuyongjingo plus *Sparassis crispa*.

2) Total phenol 함량

경옥고와 익수영진고加꽃송이버섯의 total phenol 함량을 농도별로 관찰한 결과(Fig. 2), 경옥고군은 10%인 경우 113.6±1.4 ppm, 20%인 경우 198.4±2.4 ppm, 30%인 경우 277±2.0 ppm를 나타내었고, 익수영진고加꽃송이버섯군은 10%인 경우 123.4±2.3 ppm, 20%인 경우 216.2±2.3 ppm, 30%인 경우 301.1±2.0 ppm을 나타내었고, 각 농도별로 경옥고에 비하여 익수영진고加꽃송이버섯의 total phenol 함량이 유의한 증가를 나타내었다.

2. MTX 면역저하에 미치는 영향

1) Cytokine IL-2, IL-10 함량

본 연구에서 MTX 유발 면역저하 실험체에 대한 경옥고와 익수영진고加꽃송이버섯이 IL-2 변화에 미치는 영향을 관찰한 결과(Fig. 3), 정상군은 21.8±2.08 pg/ml인 것에 비하여 대조군은 30.8±0.82 pg/ml로 유의한 증가를 보였고, 대조군에 비하여 경옥고군은 29.8±2.51 pg/ml, 익수영진고加꽃송이버섯군은 26.0±0.46 pg/ml으로 나타났으며, 익수영진고加꽃송이버섯군은 유의한 감소를 나타내었다.

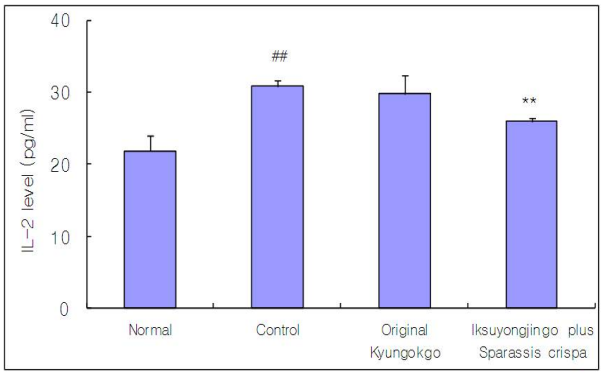


Fig. 3. Effect of original Kyungokgo and Iksuyongjingo plus *Sparassis crispa* administration on the IL-2 contents in Methotrexate-induced immunosuppressed rats.
Original Kyungokgo, Original Kyungokgo prescription 200 mg/kg ; Iksuyongjingo plus *Sparassis crispa*, Iksuyongjingo plus *Sparassis crispa* prescription 200 mg/kg; ## P<0.01 compared with normal ; ** P<0.01 compared with control.

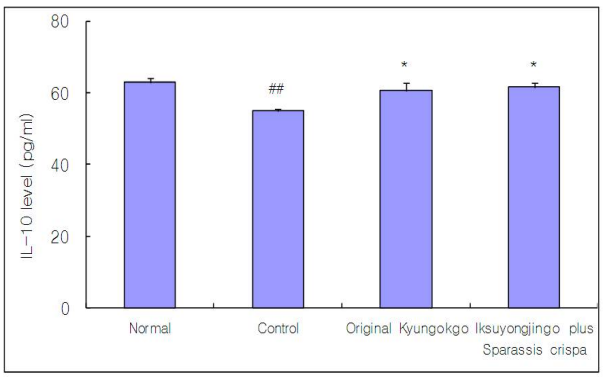


Fig. 4. Effect of original Kyungokgo and Iksuyongjingo plus *Sparassis crispa* administration on the IL-10 contents in Methotrexate-induced immunosuppressed rats.
Original Kyungokgo, Original Kyungokgo prescription 200 mg/kg ; Iksuyongjingo plus *Sparassis crispa*, Iksuyongjingo plus *Sparassis crispa* prescription 200 mg/kg; ## P<0.01 compared with normal ; * P<0.01, ** P<0.01 compared with control.

본 연구에서 경옥고와 익수영진고加꽃송이버섯이 IL-10 변화에 미치는 영향을 관찰한 결과(Fig. 4), 정상군은 62.8±1.22 pg/ml인 것에 비하여 대조군은 54.9±0.75 pg/ml로 유의한 감소를 나타내었고, 대조군에 비하여 경옥고군은 60.5±2.10 pg/ml, 익수영진고加꽃송이버섯군은 61.6±1.20 pg/ml으로 경옥고군과 익수영진고加꽃송이버섯군은 유의한 증가를 나타내었다.

2) Aminotransferase level

경옥고와 익수영진고加꽃송이버섯이 aspartate aminotransferase (AST) 변화에 미치는 영향을 관찰한 결과, 정상군은 64.8±4.4 U/l, 대조군은 85.2±7.0 U/l, 경옥고군은 68.4±1.8 U/l, 익수영진고加꽃송이버섯군은 73.3±5.5 U/l를 나타내었고, 모두 유의한 차이가 없었다. 경옥고와 익수영진고加꽃송이버섯이 alanine aminotransferase (ALT) 변화에 미치는 영향을 관찰한 결과, 정상군은 30.0±2.4 U/l, 대조군은 32.0±4.5 U/l, 경옥고군은 30.6±6.0 U/l, 익수영진고加꽃송이버섯군은 31.5±1.9 U/l를 나타내었고, 모두 유의한 차이가 없었다(Table 1).

Table 1. Changes on the serum AST and ALT contents after administration of original Kyungokgo and Iksuyongjingo plus *Sparassis crispa* in Methotrexate-induced immunosuppressed rats

Group	AST(U/l)	ALT(U/l)
Normal	64.8±4.4	30.0±2.4
Control	85.2±7.0	32.0±4.5
Original Kyungokgo	68.4±1.8	30.6±6.0
Iksuyongjingo plus *Sparassis crispa*	73.3±5.5	31.5±1.9

Values are expressed Mean±SE ; Original Kyungokgo, Original Kyungokgo prescription 200 mg/kg ; Iksuyongjingo plus *Sparassis crispa*, Iksuyongjingo plus *Sparassis crispa* prescription 200 mg/kg.

3) Leukocytes level

경옥고와 익수영진고加꽃송이버섯이 Leukocytes에 미치는 영향을 관찰한 결과(Table 2), WBC의 경우, 정상군은 5.31±0.36 K/uL인 것에 비하여 대조군은 3.06±0.56 K/uL로 유의한 감소를 보였고, 대조군에 비하여 경옥고군은 3.41±0.41 K/uL, 익수영진고加꽃송이버섯군은 3.80±0.26 K/uL로 익수영진고加꽃송이버섯군은 유의한 차이는 나타나지 않았으나 증가의 경향을 보였다. Neutrophils의 경우, 정상군은 0.59±0.09 K/uL인 것에 비하여 대조군은 0.21±0.06 K/uL로 유의한 감소를 보였고, 대조군에 비하여 경옥고군은 0.44±0.05 K/uL, 익수영진고加꽃송이버섯군은 0.60±0.05 K/uL로 모두 유의한 증가를 나타내었다. Lymphocytes와 Monocytes의 경우, 정상군과 대조군 및 실험군 모두 유의한 차이를 나타내지 않았다. Lymphocytes의 경우 정상군은 4.75±0.32 K/uL인 것에 비하여 대조군은 2.75±0.46 K/uL로 유의한 감소를 보였고, 대조군에 비하여 경옥고군은 2.81±0.35 K/uL, 익수영진고加꽃송이버섯군은 3.06±0.23 K/uL로 유의한 차이는 나타나지 않았다.

Table 2. Changes on the blood WBC, Neutrophils and Lymphocytes contents after administration of original Kyungokgo and Iksuyongjingo plus *Sparassis crispa* in Methotrexate-induced immunosuppressed rats

Group	WBC (K/uL)	Neutrophils (K/uL)	Lymphocytes (K/uL)
Normal	5.31±0.36	0.59±0.09	4.75±0.32
Control	3.06±0.56#	0.21±0.06#	2.75±0.46#
Original Kyungokgo	3.41±0.41	0.44±0.05*	2.81±0.35
Iksuyongjingo plus *Sparassis crispa*	3.80±0.26	0.60±0.05**	3.06±0.23

Values are expressed Mean±SE ; Original Kyungokgo, Original Kyungokgo prescription 200 mg/kg ; Iksuyongjingo plus *Sparassis crispa*, Iksuyongjingo plus *Sparassis crispa* prescription 200 mg/kg ; # P<0.05 compared with normal ; * P<0.05, ** P<0.01 compared with control.

4) Erythrocytes level

경옥고와 익수영진고加꽃송이버섯이 Erythrocytes level 변화에 미치는 영향을 관찰한 결과(Table 3), RBC의 경우, 정상군은 6.80±0.25 K/uL인 것에 비하여 대조군은 05.11±0.24 K/uL로 유의한 감소를 보였고, 대조군에 비하여 경옥고군은 6.04±0.22 K/uL, 익수영진고加꽃송이버섯군은 6.29±0.06 K/uL로 모두 유의한 증가를 나타내었다. HGB의 경우, 정상군은 12.6±0.20 g/dL인 것에 비하여 대조군은 09.9±0.49 g/dL로 유의한 감소를 보였고, 대조군에 비하여 경옥고군은 12.4±0.26 g/dL, 익수영진고加꽃송이버섯군은 12.5±0.16 g/dL로 모두 유의한 증가를 나타내었다. HCT의 경우, 정상군은 50.4±1.70%인 것에 비하여 대조군은 31.7±1.52%로 유의한 감소를 보였고, 대조군에 비하여 경옥고군은 39.5±1.38%, 익수영진고加꽃송이버섯군은 40.2±0.46%로 모두 유의한 증가를 나타내었다.

Table 3. Changes on the blood RBC, HGB and HCT contents after administration of original Kyungokgo and Iksuyongjingo plus *Sparassis crispa* in Methotrexate-induced immunosuppressed rats

Group	RBC (K/uL)	HGB (g/dL)	HCT (%)
Normal	6.80±0.25	12.6±0.20	50.4±1.70
Control	5.11±0.24##	9.9±0.49##	31.7±1.52##
Original Kyungokgo	6.04±0.22*	12.4±0.26**	39.5±1.38*
Iksuyongjingo plus Sparassis crispa	6.29±0.06**	12.5±0.16**	40.2±0.46**

Values are expressed Mean±SE; Original Kyungokgo, Original Kyungokgo prescription 200 mg/kg; Iksuyongjingo plus *Sparassis crispa*, Iksuyongjingo plus *Sparassis crispa* prescription 200 mg/kg ; ## P<0.01 compared with normal; * P<0.05, ** P<0.01 compared with control.

3. 관능 평가

시료의 관능강도 평가는 색, 향, 맛, 입안에서의 느낌, 후미의 영역으로 시행하였다(Table 4, Fig. 5). 경옥고에 비해 익수영진고加꽃송이버섯에서 한약재향, 떫은 맛, 후미(삼킨 후 입안에 남아있는 맛의 강도)와 같은 부정적 관능의 특성에서 강도가 낮았고, 입안에서의 부드러움, 단맛과 같은 긍정적 관능적 특성의 강도는 높았는데, 그 차이가 유의적이었다.

시료의 선호도를 평가하였을 때(Table 5, Fig. 6), 입안에서의 부드러움, 신맛, 떫은맛, 후미에서 경옥고에 비해 익수영진고加꽃송이버섯의 선호도가 유의적으로 높았다. 전체적인 선호도 역시 익수영진고加꽃송이버섯이 경옥고에 비해 유의적으로 높았다.

Table 4. Sensory evaluation of the original Kyungokgo and Iksuyongjingo plus *Sparassis crispa's* intensity

Parameters	Original Kyungokgo	Iksuyongjingo plus Sparassis crispa	P-value
Color	10.6±0.7	10.2±1.3	
Flavor	7.0±1.8	7.0±1.8	
Herbal medicine	10.6±1.7	6.8±2.6	***[1)]
Off-flavor	7.5±3.4	6.6±3.3	
Softness	8.1±2.0	10.8±1.2	**
Sweet	8.1±0.8	9.5±1.7	*
Sour	4.3±2.6	6.4±2.6	
Bitter	6.4±2.9	5.8±3.0	
Astringent	5.9±2.6	3.3±0.9	**
Off-taste	4.0±1.6	4.5±2.6	
After taste	8.3±1.6	4.4±1.7	***

[1)] *: p<0.05, **:p<0.01, ***: p<0.001 by t-test

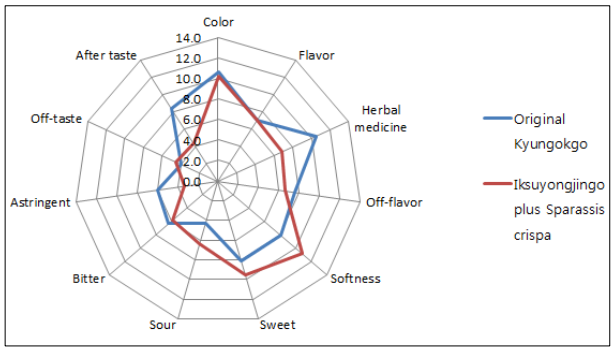


Fig. 5. Sensory profile of the original Kyungokgo and Iksuyongjingo plus *Sparassis crispa's* intensity by the quantitative descriptive analysis (QDA).

Table 5. Sensory evaluation of the original Kyungokgo and Iksuyongjingo plus *Sparassis crispa's* preference

Parameters	Original Kyungokgo	Iksuyongjingo plus Sparassis crispa	P-value
Color	10.4±1.3	10.6±1.5	
Flavor	7.3±2.6	7.9±2.1	
Herbal medicine	5.9±2.5	5.6±2.5	
Off-flavor	4.7±1.8	5.3±2.2	
Softness	8.5±1.5	10.8±1.2	***[1)]
Sweet	9.0±1.8	9.8±1.4	***
Sour	6.4±2.2	8.9±1.9	
Bitter	6.7±2.0	7.4±2.4	
Astringent	4.9±2.6	8.6±2.4	**
Off-taste	4.5±2.6	7.7±3.4	
After taste	6.5±2.1	9.2±1.7	***
Overall quality	8.4±1.1	10.5±1.2	***

1) *: p<0.05, **:p<0.01, ***: p<0.001 by t-test

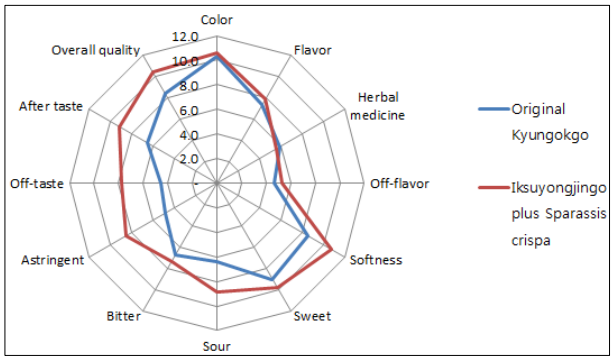


Fig. 6. Sensory profile of the original Kyungokgo and Iksuyongjingo plus *Sparassis crispa's* preference by the quantitative descriptive analysis (QDA).

Ⅳ. 고 찰

瓊玉膏는 補虛損의 효능이 있는 대표적인 한의약 제제로서 여러 약재들을 가미하여 사용하고 있는데, 『의학입문』에서는 경옥고에 천문동을 가미하여 '瓊液膏'라고 하였고, 『景岳全書』에서는 경옥고에 호박과 침향을 가미하여 특별한 효과를 나타내었다고 하였으며, 『東醫寶鑑』에서는 明朝 永樂帝 당시 경옥고에 천문동, 맥문동, 지골피를 가미하여 황제에게 진상하였더니 황제가 '益壽永眞膏'라고 이름을 하사하였다고 하였듯이 경옥고에 몇가지 약재를 가미하여 경옥고 가미방을 사용하였을 알 수 있다[1,2]. 경옥고에 천문동, 맥문동, 지골피를 가미한 익수영진고는 陰液의 부족을 보충할 수 있는 益氣養陰의 효과를 강화한 것이라고 볼 수 있다[2].

경옥고 가미방에 관한 연구들이 이루어지고 있는데, 이 등은 경옥고에 표고버섯과 동충하초를 가미하여 면역력 활성에 효과적임을 보고한 바 있다[8].

면역계는 감염시 감염의 인지 및 체액성, 세포성 반응을 통하여 감염물질을 제거하는 역할을 담당하며, 면역계가 제 기능을 못할 때 감염성 질환이 발생할 뿐만 아니라 암 억제기능도 떨어지게 된다. 한편 과도한 면역세포들의 활성화는 알러지와 류마티스성 관절염, 루푸스, 건선 등과 같은 자가면역질환의 원인으로 작용한다. 따라서 면역반응 활성화와 억제력 간의 균형을 유지하는 '면역항상성(immune homeostasis)' 회복이 면역관련 질환들을 극복하는 데 가장 중요한 요소이다. 면역 억제 반응에는 다양한 종류의 면역억제세포(immune suppressor cell)들이 존재하며, 특히 척추동물의 면역계에는 조절 T 세포(Regulatory T cell, Treg)라고 불리는 T세포의 아형이 자가면역질환의 억제 및 면역항상성 유지에 필수적인 것으로 알려져 있다[18].

한편, 꽃송이버섯은 β -1,3-D-glucan 함량이 버섯류 중에서 가장 높은 함량을 가지고 있고 다양한 폴리페놀 화합물도 많이 함유하고 있는 특징이 있어서 면역활성 및 항암효과[10-12], 항산화[15]에 우수한 효과를 발휘하는 것으로 알려져 있다.

이에 본 연구에서는 면역력 활성 강화에 특별한 효과가 있는 것으로 알려진 꽃송이버섯을 익수영진고에 배합할 경우 면역력 활성에 증강 효과를 발휘할 수 있을 것으로 기대되어, DPPH 항산화 활성과 methotrexate 유발 면역기능저하 유발 실험을 시행하였다.

경옥고와 익수영진고加꽃송이버섯의 DPPH radical 소거능에 미치는 영향을 관찰한 결과(Fig. 1), 경옥고군에 비하여 익수영진고加꽃송이버섯군의 DPPH radical 소거능은 유의하게 증가함을 관찰할 수 있었다. 항산화제들은 활성산소에 전자를 주어 환원시키고 자신은 radical 형태에서도 안전한 구조를 유지할 수 있어야 하며, 활성산소에 전자를 줄 수 있는 능력이 클수록 항산화능이 크다고 할 수 있고 항산화능이 클수록 활성산소의 제거 능력이 크다고 할 수 있다[19]. 본 연구에서 기존 경옥고의 DPPH radical 소거능에 비해 기존 경옥고에 천문동, 맥문동, 구기자 및 꽃송이버섯이 추가된 익수영진고加꽃송이버섯의 DPPH radical 소거능이 약 15% 이상 높게 나타나서 익수영진고加꽃송이버섯이 항산화 활성을 높이는데 더 유리한 것으로 나타났다. 꽃송이버섯이 항산화활성을 증강시킨다는 보고[20,21]를 한 바 있으며, 본 연구에서 꽃송이버섯이 함유된 익수영진고加꽃송이버섯이 유의하게 높은 소거능을 보인 것으로 보아 꽃송이버섯의 배합에 의한 상승 작용으로 사료된다.

경옥고와 익수영진고加꽃송이버섯의 total phenol 함량을 농도별로 관찰에서(Fig. 2), 경옥고와 익수영진고加꽃송이버섯의 total phenol은 농도가 증가함에 따라 비례적으로 증가하는 경향을 보였고, 경옥고에 비하여 익수영진고加꽃송이버섯의 total phenol은 농도 10%에서 약 10 ppm, 20%에서 약 18 ppm, 30%에서 약 24 ppm의 증가를 나타내었다. 페놀성 물질은 식물계에 널리 분포하는 2차 대사산물로서 수산기를 가지는 방향성화합물을 총칭하는 것으로, Hydrooxycinamic acid를 비롯한 대부분의 페놀 화합물은 세포벽 다당류 리그닌 등과 ester 결합되어 있거나 중합체로 존재하며, 수산기를 통한 수소공여와 페놀 고리 구조의 공명 안정화에 의해 항산화 능력을 나타낸다[22,23]. 본 연구에서 경옥고의 재료와 익수영진고加꽃송이버섯의 total phenol 함량의 증가는 재료 차이에 따라 발현된 것으로 볼 수 있으며, 또한 항산화활성은 total phenol 함량에 따라 증가한다는 것을 볼 때, 본 연구의 결과는 이에 부합되는 것으로 사료된다.

Interlukin(IL-2)는 interferon-γ (IFN-γ), tumor necrosis factor-α (TNF-α) 등과 함께 전구염증성 (proinflammatory) 사이토카인으로 분류되어 면역작용 지표로 알려져 있다[24]. IL-2, TNF-α , IFN-γ 등이 대표적인 전구염증성 사이토카인들로 조직손상 시 손상이 커지는 것을 막기 위해 분비되는 초기 반응 물질로서 숙주의 방어를 위해 중요한 매개체 역할을 하지 못하면, 이들이 과량 분비되어 IL-10 등과 같은 항염증성 사이토카인들과 균형을 이루지 못하게 되어 면역기능에 악영향을 미치는 것으로 알려져있다[25]. 본 연구에서 MTX 유발 면역저하시 IL-2 수준을 관찰한 결과(Fig. 3), 대조군에 비하여 익수영진고加꽃송이버섯군은 대조군에 비하여 유의한 감소를 나타낸 반면, 경옥고군은 유의한 차이를 나타내지 않았다. 이와같은 IL-2 사이토카인 결과는 외부 항원자극시 익수영진고加꽃송이버섯이 기존의 원방 경옥고보다 면역증진 효과를 증강시켜줄 수 있음을 보여주는 결과로 사료된다.

한편, IL-10은 help T-2 cell(Th2) 세포에서 생산된 사이토카인으로 Th1(IL-1β , IL-6, TNF-α)의 사이토카인 생산을 억제적으로 조절하여 여러 염증성 사이토카인 생성의 균형을 조절하고, 세포의 활성화를 억제시켜 대식세포의 항원기능을 억제하는 기능을 한다[26]. 본 연구에서 MTX 유발 면역저하시 IL-10 수준을 관찰한 결과(Fig. 3), 대조군에 비하여 경옥고군과 익수영진고加꽃송이버섯군 모두 유의한 증가를 나타내었다. 이와 같은 IL-10 사이토카인 결과로 보아 항원의 자극시 경옥고와 익수영진고加꽃송이버섯은 모두 전구염증성 (proinflammatory) 사이토카인의 증가에 대한 항상성 유지 기능이 발휘된 것으로 나타났으며, 경옥고 원방과 경옥고 가미방인 익수영진고加꽃송이버섯은 동일하게 발현되는 것으로 사료된다.

AST는 간, 심장, 골격, 혈구 내에 주로 존재하며 80 %가 세포 내의 미토콘드리아에 존재하고, 급만성 간염, 지방간, 폐색성 황달, 원발성 담즙성 간병변 등에서 증가하며, ALT는 주로 간에 분포하고 AST에 비해 간에 특이적으로 발현되어 간장애 평가 등에 이용되고 있다[27,28]. 본 연구에서 경옥고와 익수영진고加꽃송이버섯 모두 20일간 투여하였을 때 AST, ALT 반응에서 어떠한 이상 변화를 나타내지 않은 것으로 나타났으며(Table 1), 이것으로 보아 위해성 반응을 나타내지 않아서 안전한 것으로 사료된다.

혈액학적 변화에 미치는 영향을 관찰한 결과(Table 2, 3), neutrophils의 함량에서 경옥고군과 익수영진고加꽃송이버섯군이 대조군에 비하여 유의하게 높은 함량을 보였으며, RBC, HGB, HCT의 경우에서도 경옥고군과 익수영진고加꽃송이버섯군이 대조군에 비하여 유의하게 높은 함량을 나타내었다. Harada 등[29]의 연구에서 꽃송이버섯에 다량 함유되어 있는 1,3-β -glucan은 조혈 작용을 강화시킬 수 있다고 한 바, 이의 결과와 부합되는 것으로 사료된다.

시료의 관능강도 평가는 색, 향, 맛, 입안에서의 느낌, 후미의 영역으로 시행하였다(Table 4, Fig. 5). 경옥고에 비해 익수영진고加꽃송이버섯에서 한약재향, 떫은 맛, 후미(삼킨 후 입안에 남아있는 맛의 강도)와 같은 부정적 관능의 특성에서 강도가 낮았고, 입안에서의 부드러움, 단맛과 같은 긍정적 관능적 특성의 강도는 높았는데, 그 차이가 유의적이었다. 익수영진고加꽃송이버섯의 관능적 강도를 경옥고와 비교하였을 때 부정적 요인의 강도는 비교적 낮았고, 긍정적 요인 일부의 관능강도가 상승함을 나타내었다.

시료의 선호도를 평가하였을 때(Table 5, Fig. 6), 입안에서의 부드러움, 신맛, 떫은맛, 후미에서 경옥고에 비해 익수영진고加꽃송이버섯의 선호도가 유의적으로 높았다. 전체적인 선호도 역시 익수영진고加꽃송이버섯이 경옥고에 비해 유의적으로 높았다. 익수영진고加꽃송이버섯의 선호도가 경옥고에 비해 다섯 가지의 평가 항목에서 유의적으로 높은 결과를 나타낸 것으로 보아 익수영진고加꽃송이버섯의 관능적 특성은 경옥고에 비해 개선된 것으로 사료된다.

고[30]는 경옥고에 양갱 배합을 통해 기호도에서 복용의 불편성과 한약 특유의 맛을 개선할 수 있었다고 보고하고 있는데, 본 연구에서도 경옥고에 천문동, 맥문동, 구기자와 꽃송이버섯의 배합 비율과, 그리고 제조과정의 조건에 의하여 맛과 향을 개선시켜 일반적인 식품과 같은 정도의 맛을 구현함으로써 복용의 편리성을 크게 향상시킨 것으로 사료된다.

Ⅴ. 결 론

본 연구에서는 瓊玉膏와 경옥고에 천문동, 맥문동, 구기자를 가미한 가미방인 益壽永眞膏에 추가적으로 꽃송이버섯을 배합하여 제조된 익수영진고加꽃송이버섯의 유효성을 평가하기 위하여 항산화 활성과 MTX 유발 면역기능저하에 미치는 영향을 관찰하였고, 아울러 관능평가를 시행한 바, 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 경옥고와 익수영진고加꽃송이버섯이 DPPH radical 소거능에 미치는 영향을 관찰한 결과, 경옥고에 비하여 익수영진고加꽃송이버섯의 DPPH radical 소거능은 유의한 증가를 나타내었으며, total phenol 함량을 관찰한 결과, 경옥고군에 비하여 익수영진고加꽃송이버섯군의 total phenol 함량이 유의한 증가를 나타내었다.

2. 경옥고와 익수영진고加꽃송이버섯이 IL-2 변화에 미치는 영향을 관찰한 결과, 대조군에 비하여 익수영진고加꽃송이버섯군은 유의한 감소를 나타내었으며, IL-10 변화에 미치는 영향을 관찰한 결과, 대조군에 비하여 경옥고군과 익수영진고加꽃송이버섯군은 유의한 증가를 나타내었다.

3. 경옥고와 익수영진고加꽃송이버섯이 Leukocytes에 미치는 영향을 관찰한 결과, Neutrophils의 경우 대조군에 비하여 경옥고군과 익수영진고加꽃송이버섯군은 모두 유의한 증가를 나타내었으며, Erythrocytes에 미치는 영향을 관찰한 결과, RBC, HGB, HCT의 경우 대조군에 비하여 경옥고군과 익수영진고加꽃송이버섯군은 모두 유의한 증가를 나타내었다.

4. 시료의 관능강도를 평가하였을 때, 경옥고군에 비해 익수영진고加꽃송이버섯군이 한약재향, 떫은 맛, 후미와 같은 부정적 관능의 특성에서 강도가 유의하게 낮았고, 입안에서의 부드러움, 단맛과 같은 긍정적 관능 특성의 강도가 유의하게 높은 수준을 보였으며, 또한 시료의 관능 선호도를 평가하였을 때, 경옥고군에 비해 익수영진고加꽃송이버섯군이 입안에서의 부드러움, 신맛, 떫은맛, 후미에서 유의하게 높았으며, 전체적인 선호도에서도 유의하게 높은 수준을 나타내었다.

이상의 결과로 보아 경옥고 원방에 비하여 경옥고가미방인 익수영진고加꽃송이버섯은 항산화 활성과 면역작용 조절 효능이 활발히 발현되는 것으로 보아 노화방지 및 면역기능 향상의 소재로서 다양하게 활용될 수 있을 것으로 사료되며, 또한 관능평가의 선호도에서 높은 수준을 나타내어 복용의 편리성이 크게 향상된 것으로 사료된다.

참고문헌

1. Her J. Dongeuibogam. Seoul : Namsandang. 1989 : 78.
2. Kim MD. The literature study on the efficacy and manufacturing process of Gyeongoggo. J Oriental Medical Classics. 2011 ; 24(2) : 51-64.
3. Jung BK, Yun HJ, Lee YJ, Kang MS, Baek JH. The effect of KyungOkGogamibang on the growth of the rats. The Journal of Korean Oriental Pediatrics. 2009 ; 23(1) : 141-58.
4. Kim JB, Song HN. Effects of Kyeongok-go and its two added prescriptions on hyperlipidemic rats induced by high-fat Diet. Korean Journal of Oriental Physiology & Pathology. 2014 ; 28(4) : 371-8.
5. 5. Do EJ, Hwang MY, Kim SY, Lee JS, Yang DS, Yang CH, Kim MR. The effect of Gyungokgo-gamibang extract on hair growth and protein expression in mice. The Korea Journal of Herbology. 2011 ; 26(4) : 9-14.
6. Park JH. Protective effects of Iksuyongjingo against neurotoxicity induced by 6-hydroxydopamine in PC12 cells. Graduate School of Kyung-Hee University. 2009.
7. Choi JH, Kim HM, Song YS, Park SG, Kim JJ, Lee CK. Anti-aging effects saccharomyces fermented modified Kyungohkgo extract on skin. The Korea Journal of Herbology. 2007 ; 22(4) : 219-25.
8. Lee ES, Seo BI, Lee JW, Bae JS. The Immunological activities of Kyungohkgo and prescription of modified Kyungohkgo. The Korea Journal of Herbology. 2002 ; 17(2) : 95-100.
9. National Institute of Agricultural Science and Technology. Rural Development Administration. The mushrooms of Korea. 1st ed. Seoul : Dongbang Books. 2004.
10. Chan GC, Chan WK, Sze DM. The effects of β -glucan on human immune and cancer cells. J Hematol Oncol. 2009 ; 2 : 25.
11. Ohno N, Miura NN, Nakajima M, Yadomae T. Antitumor 1,3-β -glucan from cultured fruit body of *Sparassis crispa*. Biol Pharm Bull. 2000 ; 23 : 866-72.
12. Kim IK, Yun YC, Shin YC, Yoo J. Effect of *Sparassis crispa* extracts on immune cell activation and tumor growth inhibition. J Life Sci. 2013 ; 23 : 984-8.
13. Kim MS, Lee KT, Jeon SM, Ka KH. The quantities of methyl orsellinate and sparassol of *Sparassis latifolia* by host plants. Kor J Mycol. 2013 ; 41 : 236-42.
14. Choi WS, Shin PG, Yoo YB, Noh HJ, Kim GD. Anti-inflammatory effects of *Sparassis crispa* extracts. J Mushroom Sci Prod. 2013 ; 11 : 46-51.
15. Kim MY, Seguin P, Ahn JK, Kim JJ, Chun SC, Kim EH, Seo SH, Kang EY, Kim SL, Park YJ, et al. Phenolic compound concentration and antioxidant

activities of edible and medicinal mushrooms from Korea. J Agric Food Chem. 2008 ; 56 : 7265-70.
16. Folin O, Denis W. On phosphotungastic-phosphomolybdic compounds as color reagents. J boil Chem. 1912 ; 12 : 239-43.
17. Blois MS. Antioxidant determination by the use of a stable free radical. Nature. 1958 ; 26 : 1199-200.
18. Na HJ, Jung YS. Immune homeostasis by diversity of regulatory T cell. Molecular and Cellular Biology Newsletter. [serial online] 2015 May ; 5(2) : [7 screens]. Available from : URL : http : www.ksmcb.or.kr/file/webzine/2015_05_02.pdf
19. Yokozawa T, Chen CP, Dong E, Tanaka T, Nonaka G, Nishooka I. Study on the inhibitory effects of tannins and flavonoids against the 1,1-diphenyl-2picrylhydrazyl radical. Biochemical Pharmacology. 1998 ; 56 : 213-22.
20. Kim EJ, Yoo KH, Kim YS, Seok SJ, Kim JH. Biological Activities of Wild *Sparassis crispa* Extracts. Kor J Mycol. 2015; 43(1): 40-6.
21. Kim MY, Seguin P, Ahn JK, Kim JJ, Chun SC, Kim EH, Seo SH, Kang EY, Kim SL, Park YJ, et al. Phenolic compound concentration and antioxidant activities of edible and medicinal mushrooms from Korea. J Agric Food Chem. 2008 ; 56 : 7265-70.
22. Shahidi F, Wanasundara PK. Phenolic antioxidant. Crit Rev Food Sci Nutr. 1992 ; 32 : 67-103.
23. Herrman K. Occurrence and content of hydroxycinnamic and hydroxybenzoic acid compounds in foods. Crit Rev Food Sci Nutr. 1998 ; 28 : 315-47.
24. Brubdaker JO, Thompson CM, Morrison LA, Knipe DM Siber, Giber GR, Finberg RW. Th-associated immune responses to beta-galactosidase expressed by replication- defective herpes simplex virus. J Immunol. 1996 ; 157 : 1598-604.
25. Kim MH, Kim JH, Ahn HJ. Responses of pro-inflammatory and anti-Inflammatory cytokines with clonidine premedication in patients undergoing spinal surgery. Korean J Anesthesiology. 1998 ; 35 : 1080-8.
26. Fiorentino DF, Zlotnik A, Vieira P, Mosmann TR, Howard M, Moore KW, O'Garra A. IL-10 acts on the antigenpresenting cell to inhibit cytokine production by Th1 cells. J Immunol. 1991 ; 146 : 3444-51.
27. The Korean Society for Laboratory Medicine. Laboratory medicine. Seoul : Koryeo Medicine. 2001 : 87-8.
28. Yi KN, Kwon OH. Clinical pathology file. 3rd ed. Seoul : Eui-Hak Publishing and Printing Company. 2003 : 334-7,1060-91.
29. Harada T, Miura N, Adachi Y, Nakajima M, Yadomae T, Ohno N. Effect of SCG, 1,3-β -D-glucan from *Sparassis crispa* on the hematopoietic response in cyclophosphamide induced leukopenic mice. Biol Pharm Bull. 2002 ; 25 : 931-9.
30. Ko MG. Medicated diet study and development of the internal paste in Dongeuibogam. Graduate School of Myongji University. 2015.