

어젠다코드	3-13-46		구 분	완결	
기술분야코드	V1	기술유형코드	H03	작목구분코드	IC-03-1801
과제종류	기관고유		세세부사업		
연구과제 및 세부과제			수행기간	소속	과제책임자
강원인삼 유효성분 차별화 연구			'13~'14	농식품연구소	김희연
1) 유효 성분 분석 및 탐색			'13~'14	농식품연구소	김희연
2) 기능성 탐색 및 효능 비교			'13~'14	"	임상현
책임용어	강원인삼, 유효성분, 기능성				

ABSTRACT

This study was conducted to analyze the active ingredient and evaluate the activity in Gangwon ginseng 6 years. Ginseng of 4 and 6 years were compared with the non-active ingredients and the saponins. Total saponins showed no significant differences. The content of red ginseng acidic polysaccharide (RGAP) was higher than 4 to 6 year. Arginyl- fructosyl-glucose (AFG) content was not detected in 4 year dried ginseng, AFG content was increased as the year of the roots is increased. In order to enhance immune activities of RGAP. Balb/c mice were feed daily for two weeks at RGAP 4 years and 6 years. The level of IL-6 and TNF- α production was detected by the ELISA assay when using the cytokine kit. Serum IL-6 levels of treatment 2 were decreased compared to the treatment 1 and control group. Serum TNF- α levels of treatment 2 were decreased compared to the treatment 1 and control group. No significant differences of splenocytes growth and body weight growth rate. The results of this study may suggest that RGAP 6 years 0.1% were to increases the immune function by regulating cytokine production capacity for activated macrophages compared to the RGAP 4 years 0.1%.

1. 연구목표

인삼은 현재 국내외적으로 재배, 효능 평가, 유용성분의 분리, 생리활성 검정 등 약 3,500여건 정도의 연구결과가 보고되어 있다. 주요 성분으로는 대표적인 기능성 유효 성분인 사포닌을 비롯하여 페놀화합물, 폴리아세틸렌, 알카로이드, 정유성분, 단백질과 펩타이드, 유리당과 지방산 성분 등이 알려져 있으며, 최근 들어 다당류의 면역활성, 항종양활성, 혈당강하효능 등이 있는 것으로 알려져 있다. 고려인삼의 연근별 성분 및 효능비교는 시행되고 있었으나, 성분면에서는 사포닌으로 국한되어 있고, 효능면은 항산화, 세포 독성 등으로 주로 in vitro 상에서 연구되고 있으며, 생리활성 검정도 다양하게 연구되고 있지 않는 실정이다. 인삼사포닌(진세노사이드)은 인삼의 지표성분으로 현재 사용되고 있으나, 인삼의 효능은 사포닌계과 비사

포닌계 화합물의 복합작용으로 나타나므로 인삼의 연근별 성분 및 효능비교는 단순 사포닌 비교 외 비사포닌계 화합물 성분 비교와 다양한 생리활성(항산화, 항암, 항당뇨, 면역활성 등)검정 등 다각도의 품질평가 기준이 필요하다.

본 연구는 강원 인삼 6년근의 품질 우수성 입증을 위하여 유효성분 및 효능을 분석하고자 수행되었다.

2. 재료 및 방법

<제1세부과제 : 유효 성분 분석 및 탐색>

(시험 1) 사포닌류 분석

가. 조사포닌

분말시료 2g에 80% 메탄올 100 mL를 첨가하고 환류냉각 장치를 이용하여 80°C에서 2회 반복하여 추출한 다음 추출물을 감압 농축하여 최종적으로 20 mL 증류수에 녹여 사용하였다. 물에 녹인 시료를 분획여두에 옮기고 에틸에테르 20 mL을 이용하여 농축물의 지질성분 등을 제거한 후 수포화 부탄올 20 mL를 이용하여 3회 반복하여 추출하였다. 추출된 수포화 부탄올 층을 분획여두에 옮기고 15 mL 증류수로 2회 세척하였다. 이후 부탄올층을 감압농축한 후 농축물의 무게를 칭량하여 조사포닌 함량을 측정하였다.

나. 총사포닌

조사포닌에서 얻어진 사포닌 추출물 100 μ L에 8% 바닐린용액 0.3 mL를 첨가한 후 냉수조에서 75% 황산용액 4 mL를 첨가하였다. 이후 60°C에 10분 가온하여 발색시키고 545 nm에서 흡광도를 측정하여 표준곡선으로부터 총사포닌 함량을 구하였다. 표준곡선은 ginsenoside Re을 0.2~1.0 mg/mL 농도로 순차적으로 조제한 후 시료용액과 동일한 방법으로 반응시킨 후 흡광도를 측정하여 작성하였다.

(시험 2) 비사포닌류 분석

가. 산성다당체 분획조제

시료 3g에 30 mL 물을 가하고 환류냉각 장치를 이용하여 80°C에서 3시간 추출한 다음 추출액을 100 mL로 정용한 후 4°C, 10,000 \times g에서 20분간 원심분리한 후 상정액을 얻었다. 상정액을 0.45 μ m 막필터로 여과한 여액을 산성다당체 측정용 시료로 사용하였다.

나. 산성다당체 총함량 측정

추출된 산성다당체 1 mL에 증류수를 가하여 50배 희석하고 이중 0.5 mL를 취하여 sodium borate 2.5 mL를 가하고 vortexing 한 후에 90°C에서 10분 가열한다. 실온이 되도록 식힌 뒤 카바졸/에탄올 시약 0.1 mL를 가하고 90°C에서 15분 가열한 뒤 UV/Visible

spectrophotometer를 이용하여 530 nm 파장에서의 흡광도를 측정하였다. 표준품으로 D-Glucuronic acid를 증류수로 0, 5, 10, 20, 40 ug/mL 농도가 되도록 조제하여 정량곡선을 작성하며, 이를 이용하여 각 추출물의 산성다당체 함량을 환산하였다.

다. 산성다당체 분리

분말시료를 열수(95~100°C)로 3시간씩 4회 반복하여 추출하고 이를 한외여과기를 이용하여 분자량 10KD 이상과 이하로 나누었다. 이 중 분자량 10KD 이상의 고분자량 화합물에 95%의 에탄올을 5배 가하여 4°C에서 24시간 방치한 후 열풍건조하여 황갈색의 산성다당체를 대량분리한다. 분리된 산성다당체를 10 mM Tris-Hcl buffer(pH 8.0) 약 70 mL에 용해한 후 여과(3 µm)하여 컬럼에 로딩하였다. 컬럼은 DEAE-Sepharose CL-6B 수지를 50 mL 충전하고, bed volume(100 mL)의 5배인 500 mL의 10 mM Tris-Hcl buffer로 washing한 후 0.5M NaCl이 함유된 동일한 buffer로 용출한 후 2~3일 동안 증류수로 투석하여 염을 제거한 후 동결건조하여 사용하였다.

<제2세부과제 : 기능성 탐색 및 효능 비교>

(시험 1) 기능성 검정 (*in vitro*)

가. 항암활성 검정

293 cell, HT-29 cell, DU-145 cell을 한국 세포주 은행으로부터 분양받아 배양 하면서 실험에 사용한다. 배양된 세포는 96 well plate에 1×10⁴ cells/mL가 되도록 100 µL씩 분주하여 37°C CO₂ Incubator에서 48시간 배양하였다. 배지를 제거한 후, serum free 배지 90 µL를 넣고 각 농도별로 조제한 시료를 10 µL씩 분주하고, 37°C CO₂ Incubator에서 24시간 배양하였다. 여기에 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl) -2,5-diphenyltetrazoliumbromide(MTT)용액 20 µL를 첨가하여 동일한 배양조건에서 4시간 동안 incubation하였다. 이때 생성된 formazan결정을 DMSO에 녹여서 ELISA reader로 570 nm에서 흡광도를 측정하였다.

생존율(%)=(1-시료 처리군의 흡광도/대조군의 흡광도) × 100

나. Nitric oxide(NO) 생성량 측정

Raw264.7 세포주로부터 생성되는 NO의 양은 세포 배양액 중에 존재하는 nitrite 농도를 Griess Reagent assay(Green et al., 1982)를 이용하여 측정하였다. Raw 264.7 세포를 96-well plate에 1×10⁵ cell/well이 되도록 분주하여 37°C, 5% CO₂ incubator에서 24시간 동안 배양 후 농도별 시료를 세포배양 well에 처리하였다. 시료처리 1시간 후 10 µg/ml 농도의 LPS를 처리하여 염증반응을 유도시키고 37°C, 5% CO₂ incubator에서 24시간 동안 배양하였다. 배양 후 상등액 100 µL에 2-naphthylamine이 포함된Griess solution(Fluka Chemie AG, Buchs, Switzerland) 100 µL를 첨가하여 상온에서 10분간 반응시킨 다음 ELISA reader(UVM-340, ASYS, Engendorf, Austria)를 사용하여 570 nm에서 흡광도를 측정하였다. Sodium nitrite의 농도별 표준곡선을 작성하여 배양액 내에 생성된 NO의 농도를 측정하였다.

다. TNF- α Immunoassay

Quantikine® mouse TNF- α systems kit(R&D system, USA)를 이용하여 측정한다. 상기 NO 소거활성 측정 시 배양된 대조구, sample의 상등액 50 μ L를 96 well plate에 각각 분주한 다음 kit에 포함된 mouse TNF- α conjugate 100 μ L를 첨가하고 25°C 상온에서 2 시간 동안 교반한다. 그 후 각 well에 substrate solution을 넣고 30분 동안 교반 후 stop solution 100 μ L를 첨가한 후 450 nm, 540 nm에서 ELISA reader(ASYS UVM-340)로 흡광도를 측정하고, 상기 흡광도를 이용하여 TNF- α 농도를 도출한다.

라. DPPH radical 소거능

DPPH radical에 대한 소거활성은 Blois(1958)의 방법에 따라 수행하였다. 시료 0.2 ml에 0.2 mM DPPH(1,1-diphenyl-2-picryl-hydrazyl)용액 0.8 ml를 첨가하여 혼합한 뒤 상온에서 30분간 반응시킨 후 ELISA reader(UVM-340, ASYS, Engendorf, Austria)를 사용하여 517 nm에서 흡광도를 측정하였다. DPPH 소거능은 시료 용액 첨가구와 무첨가구 사이의 흡광도차이를 백분율로 나타내었으며 양성대조군으로는 항산화제로 알려진 ascorbic acid(Sigma®, St. Louis, MO, USA)를 사용하였다.

$$\text{DPPH radical scavenging activity(\%)} =$$

마. ABTS radical 소거활성

ABTS radical에 대한 소거활성은 Re et al. (1999)의 방법에 따라 7.4 mM ABTS (2,2-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) 용액과 2.6 mM potassium persulfate를 혼합하여 실온.암소에서 15시간 방치하여 radical을 형성시킨 다음 실험 직전에 ABTS 용액의 흡광도가 734 nm에서 0.70 ± 0.03 이 되도록 에탄올로 희석하였다. 시료 20 μ L에 희석된 ABTS 용액 300 μ L를 첨가하여 혼합하고 20분간 실온 방치한 다음 ELISA reader(UVM-340, ASYS, Engendorf, Austria)를 사용하여 734 nm에서 흡광도를 측정하였다. ABTS radical 소거능은 시료 용액 첨가구와 무첨가구 사이의 흡광도차이를 백분율로 나타내었으며 양성대조군으로는 항산화제로 알려진 ascorbic acid(Sigma®, St. Louis, MO, USA)를 사용하였다.

$$\text{ABTS radical scavenging activity(\%)} = \left(1 - \frac{\text{시료 첨가구의 흡광도}}{\text{무첨가구의 흡광도}}\right) \times 100$$

바. SOD(superoxide dismutase) 유사활성

각각의 추출물 시료 0.2 mL과 Tris-HCl(pH 8.5) 3 mL 및 7.2 mM pyrogallol(Sigma) 0.2 mL을 첨가하여 실온에서 10분 동안 반응 후 1 N HCl 1 mL을 가하여 반응을 정지시키고, UV/VIS spectrophotometer로 420 nm에서 흡광도를 측정한다. SOD 유사활성은 시료 용액의 첨가구와 무첨가구 사이의 흡광도의 차이를 백분율로 나타내었다.

(시험 2) 기능성 검정 (*in vivo*)

가. 경구투여 후 마우스 비장변화에 미치는 효과

실험동물은 생후 5~6주령의 웅성 BALB/c를 오리엔트바이오에서 구입하여 1주일간 적응을 거친 후 실험에 사용한다. 마우스는 사육조에 5~10마리씩 넣어 온도 $23\pm 3^{\circ}\text{C}$, 습도 55~70%에서 사육하였으며 물과 사료는 자유 급식 형태로 유지하였다. 실험은 강원도농업기술원 동물 실험윤리위원회의 규정에 따라 실시한다. 비장세포 mitogen 활성 측정은 BALB/c mouse에서 비장을 적출하여 마쇄 및 여과를 거쳐 비장세포를 획득한 후, 0.2% 식염수를 이용 적혈구를 제거하고, RPMI 1640-FBS 배지(with 7% FBS, Gibco BRL Co., Grand Island, NY, USA)로 2~3회 세척하여 세포수를 5×10^6 cell/mL가 되도록 조정한다. 이때 얻어진 세포 부유액은 96 well plate에 180 μL 씩 분주하고 배지로 연속 희석된 시료용액 20 μL 를 첨가하여 37°C , 5% CO_2 incubator에서 72시간 배양한 후, 각 well당 20 μL 의 CCK-8 kit 용액을 첨가하여 37°C , 5% CO_2 incubator에서 3시간 배양하고 microplate reader를 이용, 450 nm에서 흡광도를 측정하여 활성을 비교한다.

나. 아세트아미노펜에 의해 유발된 급만성 간손상에 대한 건삼의 간보호효과

(1) 실험동물의 사육

실험동물은 6주령 Sprague-Dawley계 수컷 흰쥐 (180-200g)를 오리엔트바이오로부터 공급받아 1주일 동안 동물실험실 환경에 적응시킨 후 실험에 사용하며, 사육실 환경은 온도 $20-23^{\circ}\text{C}$, 습도 60%, 12시간 light/dark cycle을 유지하고, 사료와 음료는 자유롭게 섭취하도록 하였다.

(2) 실험동물의 처치

각 실험군은 10마리로 배정하였으며, 아무런 처리를 하지 않은 군을 정상군으로 하고, 급성 간손상을 유발시킬 목적으로 APAP (1.2g/kg, p.o.)만을 투여한 군을 대조군으로 하고, 각각의 농도로 제조된 4, 6년근의 건삼 추출물을 정상사료와 혼합제조한 사료급이군으로 나누어 실시하였다.

(3) 혈액생화학적 검사

혈액은 실험동물의 복대정맥으로부터 3 ml 이상을 채취한 후 $3000\times g$, 4°C 에서 10 분간 원심분리하여 혈청을 얻었다. 혈청중 ALT, AST, LDH는 Analysis kits와 자동혈청분석기 (BT1000, Biotechnical Instrument, Rome, Italy)를 이용하여 분석하였다.

(4) 조직학적 평가

간 실질조직의 일부를 채취하여 10% 중성포르말린에 고정시킨 다음 일반적인 방법으로 탈수 및 파라핀 포매를 실시하고, 3~4 μm 의 절편을 제작하여 Hematoxylin-eosin 염색을 실시한 후 광학현미경 (Nikon, Japan) 하에서 관찰하였다. 간 실질 중 변성부위의 비율 (%/mm² of hepatic parenchyma) 및 변성 간세포의 수 (N/1000 hepatocytes)를 자동영상 분석장치 (DMI-300 Image Processing; DMI, Korea)를 이용하여 각각 평가하였다.

(5) 간 조직 중의 MDA 함량 측정

간 조직 0.5 g에 4.5 ml의 1.15% KCl을 넣고 균질화하여 균질화액 500 μ l에 1% phosphoric acid 3 ml과 0.6% thiobarbituric acid 1 ml을 넣은 후 95°C에서 45분간 끓여 차갑게 식힌 후 4 ml의 n-butanol을 넣은 후 3000 \times g에서 20분간 원심분리하였다. 원심분리 후 상층액을 취하여 535 nm에서 흡광도를 측정하였다. MDA Standard curve는 1,1,3,3-tetraethoxypropane (malondialdehyde, MDA)을 사용하여 535nm 흡광도를 측정하였다.

(6) GSH 함량 측정

적출한 간 조직 0.1 g을 0.9% NaCl에 세척하여 간 조직의 물기가 없도록 하고, 1 ml의 5% MPA buffer를 넣고 glass homogenizer로 마쇄하여 균질화킨 후 15000 \times g에서 20분간 원심분리한다. 원심분리하여 나온 상층액을 10000 \times g에서 10분간 한번 더 원심분리하여 상층액을 취하고, 상층액 300 μ l와 GSH determination kit에 있는 시약인 solution R3 600 μ l, solution R1 50 μ l, solution R2 50 μ l를 차례로 혼합하며 vortex를 한 후 25°C의 어두운 곳에서 10분 동안 반응을 시킨 후 405nm 흡광도를 측정하였다.

(7) 간장 조직의 지질 과산화물 함량 측정

간장 조직 내 지질과산화물의 함량은 Uchiyama와 Mihara[31] 방법에 따라 측정한다. 간조직 1 g에 1.5% KCl 용액을 가하여 tissue grinder로 마쇄하여 10% 균질액을 만들었다. 이를 0.5 ml 취하여 1% phosphoric acid 3 ml와 0.6% TBA 1 ml를 넣어 잘 혼합하고 95°C 항온수조에서 45분간 가열하였다. 가열 즉시 빙수 중에서 냉각시킨 후 4 ml의 butanol을 가하여 발색물질을 추출한 다음 3,000 rpm에서 10분간 원심분리하고 butanol 층의 흡광도 (OD532)를 측정한다. 간장 중의 지질과산화물 함량은 TEP를 표준용액으로 사용한 표준 검량선으로부터 산출하였다.

(8) 간장 조직 중의 글리코젠 함량 측정

간조직 0.2 g을 취해 30% KOH 1 ml를 첨가한 후 100°C의 수욕상에서 20분간 가열한 다음 빙수 중에서 냉각하였다. 여기에 95% ethanol 1.25 ml를 혼합하여 100°C 수욕상에서 5분간 가열한 후 빙수 중에서 냉각한 다음 원심분리하여 상층액을 제거하였다. 침전물에 증류수를 가해 전체 부피를 10 ml로 만든 다음 이 중 1 ml를 취한다. 여기에 0.2% anthrone 용액을 2 ml 첨가하고 100°C의 수욕상에서 10분간 가열한 다음 냉각해 620 nm에서 흡광도 값을 측정하여 산출하였다.

3. 결과 및 고찰

<제1세부과제 : 유효 성분 분석 및 탐색>

가. 사포닌류 분석

강원도 4년근, 6년근 각 12농가에서 시료를 수집하고, 특성을 조사하였다.

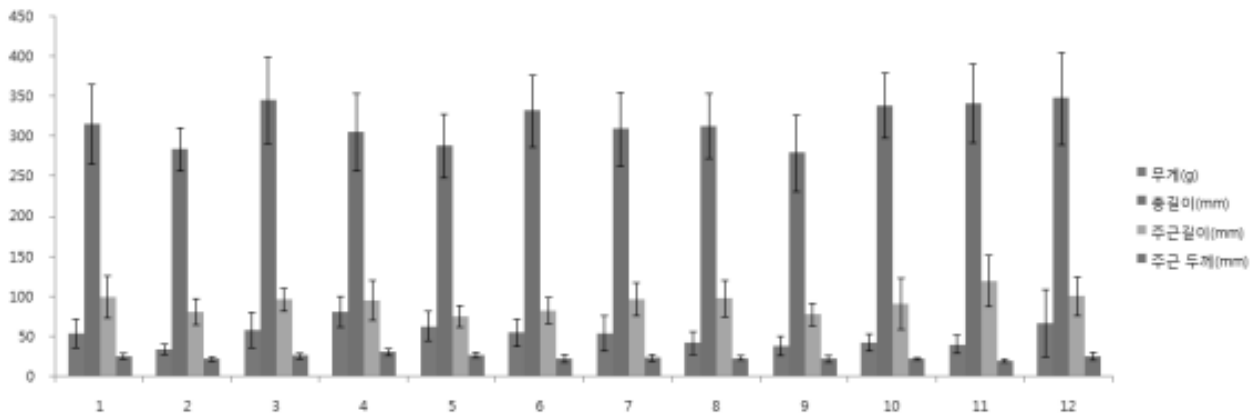
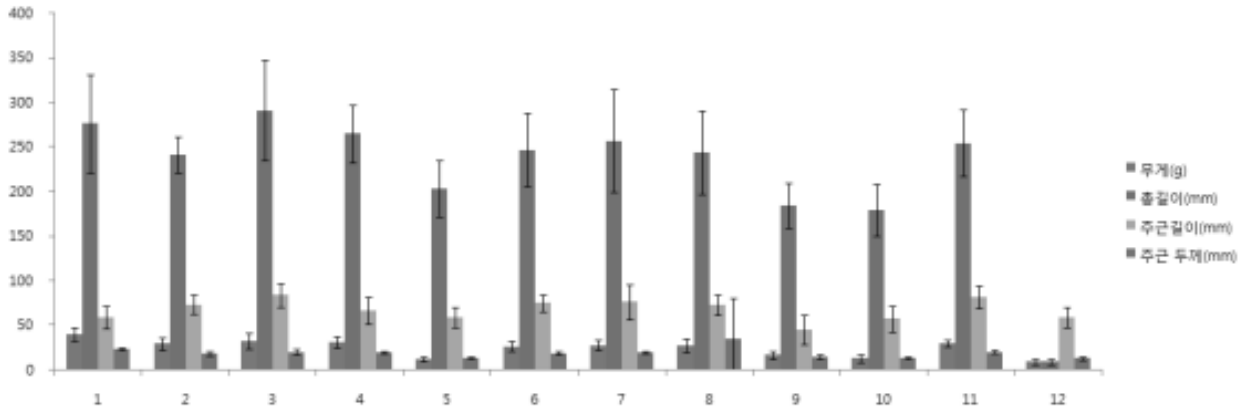


그림 1. 강원 4년근(위), 6년근(아래) 수삼 조사



그림 2. 강원 4년근(좌), 6년근(우) 사진

강원 4, 6년근 건삼의 조사포닌과 총사포닌 함량을 분석한 결과, 4년근 평균 조사포닌은 10.0%, 총사포닌은 3.6%로 6년근 보다 높았다.

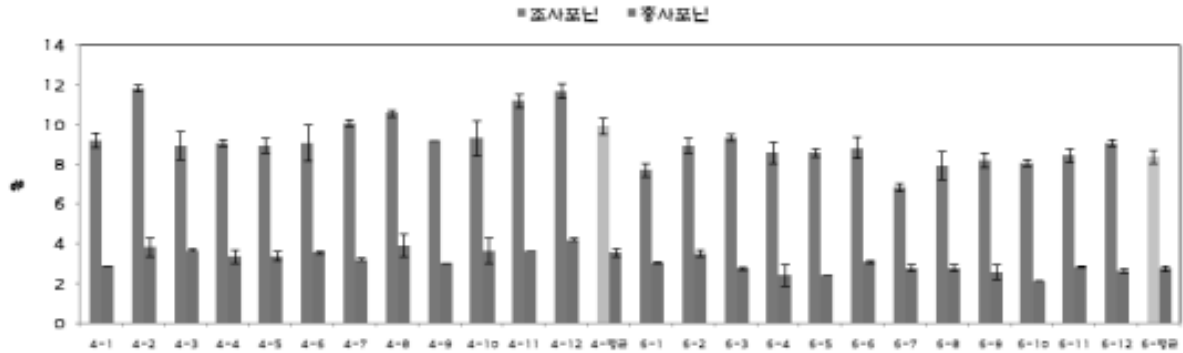


그림 3. 강원 4, 6년근 건삼의 조사포닌, 총사포닌 함량

- 6년근 건삼 : (4년근 대비) Rg1, Re, Rf, Rb1 ↑
- 6년근 홍삼 : (4년근 대비) Rg1, Rf, Rh1, Rb1, Rg3s ↑

표 1. 인삼(건삼)의 ginsenoside 함량 분석

가공 형태	년생	mg/g										
		Rg1	Re	Rf	Rh1	Rg2s	Rb1	Rc	Rb2	Rd	Rg3s	Rg3r
건삼	4	2.71	4.54	0.81	0.00	0.39	5.06	2.77	1.88	0.55	0.00	0.00
	6	3.26	4.68	1.03	0.00	0.34	5.94	2.47	1.70	0.32	0.00	0.00
홍삼	4	2.64	3.13	0.75	0.20	0.47	6.09	2.50	2.09	0.83	0.17	0.11
	6	2.99	2.38	0.78	0.22	0.37	6.90	2.43	1.95	0.50	0.20	0.11

나. 비사포닌류 분석

건삼, 홍삼 분말의 70% 에탄올 추출물과 홍삼 분말의 산성다당체 조분획물을 대상으로 총 산성다당체 함량 비교. 홍삼 6년근 산성다당체 조분획물의 함량이 홍삼 4년근 산성다당체 조분획물보다 2.6% 높았다.

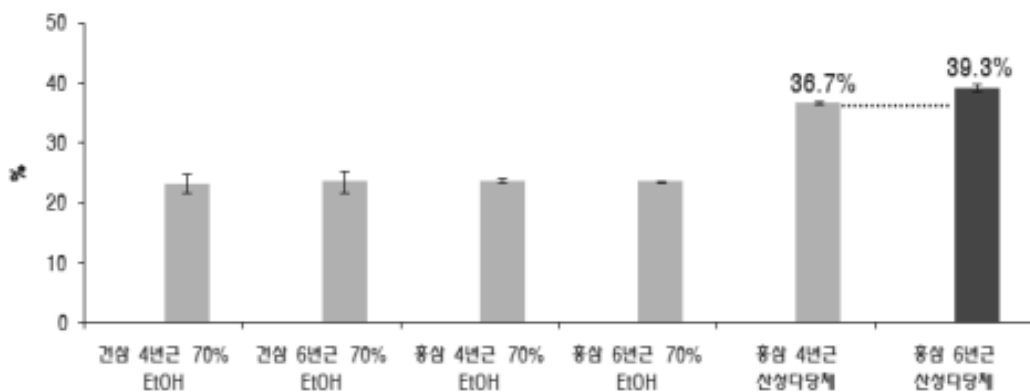


그림 4. 추출물별 총산성다당체 함량 비교

4년근과 6년근 건삼, 홍삼 분말의 Arginyl-fructosyl-glucose(AFG) 함량 분석한 결과, 4년근 건삼에서는 검출되지 않았으며, 6년근에서는 4.19 mg/L, 홍삼 4년근은 17.72, 6년근은 27.62 mg/ml로 년근이 높을수록 함량이 높게 검출되었다.

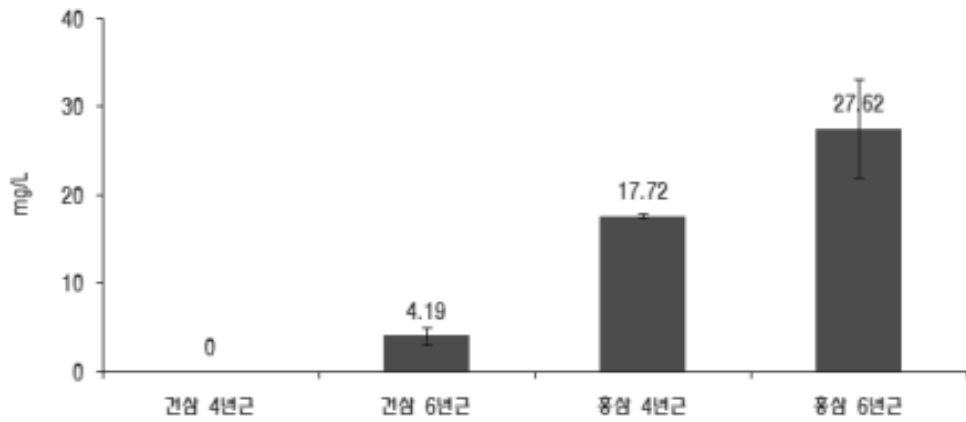


그림 5. 건삼과 홍삼 분말의 AFG 함량 비교

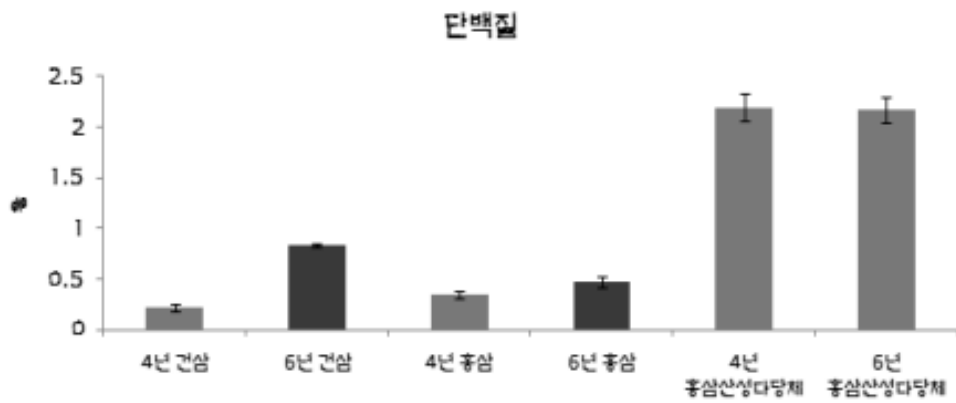


그림 6. 강원인삼의 년근, 처리별 단백질 함량 비교

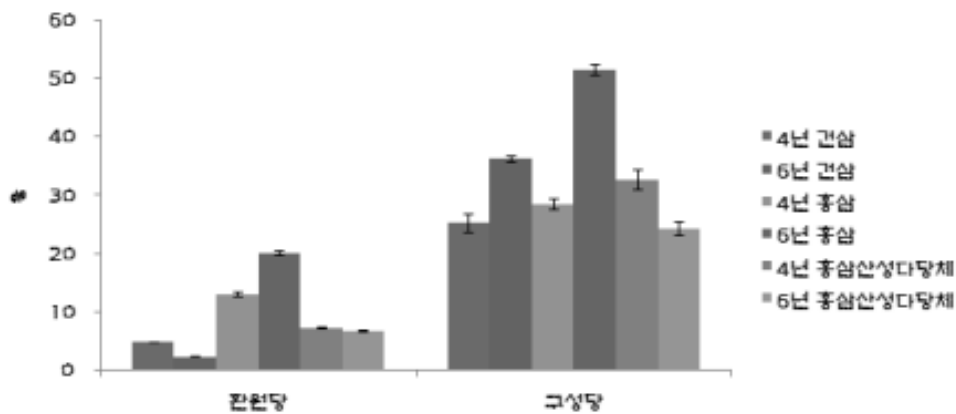


그림 7. 강원인삼의 년근, 처리별 환원당과 구성당 함량 비교

<제2세부과제 : 기능성 탐색 및 효능 비교>

가. 건삼과 홍삼의 항암효과

홍삼 4년근, 6년근 추출물은 0.1 mg/ml의 농도에서 세포생존율에 영향을 미치지 않는 것으로 나타났으며 NO 생성 저해능은 0.1 mg/ml 농도에서 홍삼 4년근 추출물이 6년근보다 효과가 높은 것으로 나타났다. 인체 유래 암세포주에 대한 항암활성 검정 결과, 자궁경부암세포주에서는 년근별 활성의 차이가 없었으나, 대장암세포주와 전립선암세포주에서는 6년근 홍삼 추출물에서 각각 14% 활성이 높음을 확인하였다. 건삼과 홍삼 에탄올 추출물 처리시 4년근보다 6년근의 대장암과 전립선 세포주에 대한 활성이 증가하였다.

표 2. 인삼(건삼)의 항암효과

가공형태	년생	추출용매 ¹⁾	Cell cytotoxicity(%)		
			HL3T1 ²⁾	HT-29	DU-145
건삼	4	에탄올 1mg/ml	17.8±7.5	23.2±4.3	13.6±1.5
	6	에탄올 1mg/ml	30.0±1.8	36.3±5.2	20.7±4.2
홍삼	4	에탄올 1mg/ml	25.4±3.3	23.0±5.4	16.1±2.4
	6	에탄올 1mg/ml	27.4±3.9	37.5±5.7	30.1±7.3
홍삼 산성 다당체	4	1mg/ml	36.9±3.6	37.0±5.3	43.7±5.3
	6	1mg/ml	31.2±3.4	36.5±2.1	45.2±4.8

1) 추출농도 : 10mg/ml

2) HL3T1(자궁경부암), HT-29(대장암), DU-145(전립선암)

나. 홍삼의 다당체의 간독성 보호효과

혈청분석 결과, AST의 함량은 대조군이 339.1U/L, 4년근과 6년근 홍삼다당체 0.1%, 0.5%는 91.4U/L~237.8U/L의 범위로 측정되었으며, 대조군에 비해 모든 실험군에서 AST의 함량이 감소됨을 알 수 있었다. ALT의 함량은 대조군이 75.0U/L, 4년근과 6년근 홍삼다당체 0.1%, 0.5%는 63.0U/L~42.2U/L의 범위로 대조군에 비해 모든 실험군에서 ALT의 함량이 감소됨을 알 수 있었다.

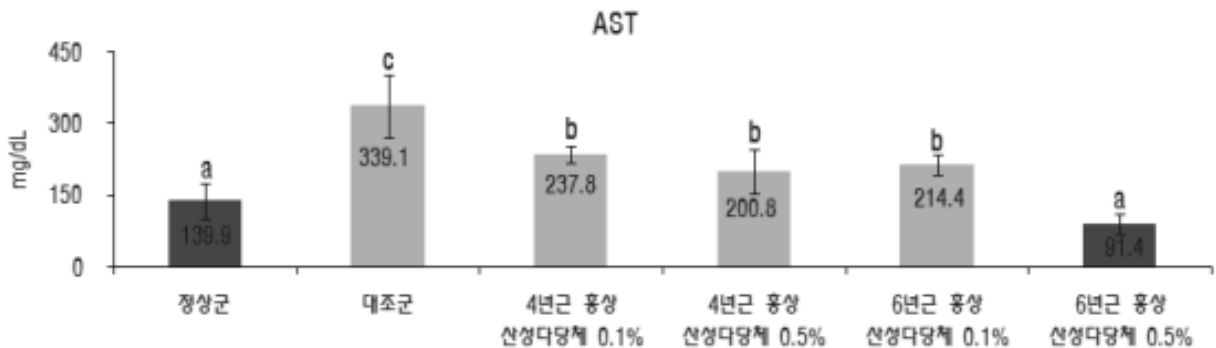


그림 8. 추출물 식이별 혈청내 AST 함량 변화

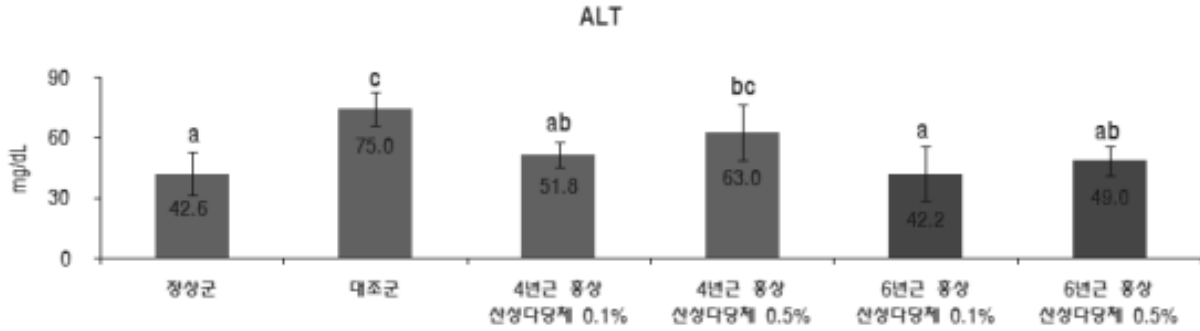


그림 9. 추출물 식이별 혈청내 ALT 함량 변화

다. 홍삼 산성다당체 경구 투여 후 면역활성 증진효과 검정

Balb/c 마우스 대상으로 홍삼산성다당체 4년근과 6년근이 0.1%, 0.5% 혼합된 사료를 2주간 자유급식 후, LPS로 염증을 유발 한 후 면역활성 증진효과를 검정하였다. 혈청에서 IL-6와 TNF- α 의 혈중 농도가 대조군보다 유의적으로 낮은 분비량을 보였는데, TNF- α 의 농도는 4년근보다 6년근 홍삼 산성다당체 투여군이 유의적으로 더 낮은 분비량을 보였다.

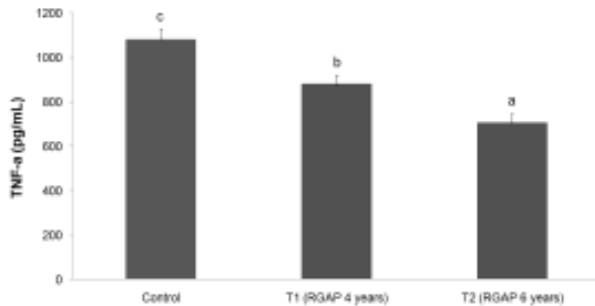


그림 10. 추출물 식이별 혈청내 TNF- α 함량 변화

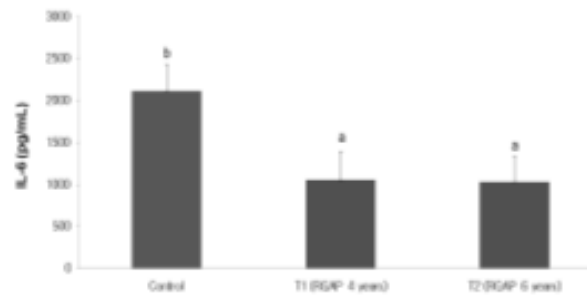


그림 11. 추출물 식이별 혈청내 IL-6 함량 변화

4. 적 요

<제1세부과제 : 유효 성분 분석 및 탐색>

- 가. 4년근과 6년근 강원인삼을 수집하여 유효성분인 사포닌류와 비사포닌류를 비교하였다. 총사포닌류는 년근별 큰 차이가 없었으며, 성분별로 년근별 함량 차이가 나타났다.
- 나. 건삼, 홍삼 분말의 70% 에탄올 추출물과 홍삼 분말의 산성다당체 조분획물을 대상으로 총산성다당체 함량 비교한 결과, 홍삼 6년근 산성다당체 조분획물의 함량이 홍삼 4년근 산성다당체 조분획물보다 2.6% 높았다. Arginyl-fructosyl-glucose(AFG) 함량 분석한 결과, 4년근 건삼에서는 검출되지 않았으며, 년근이 높을수록 함량이 높게 검출되었다.

<제2세부과제 : 기능성 탐색 및 효능 비교>

- 가. 4년근과 6년근 인삼의 항암, 항염활성을 기내에서 검정한 결과, NO 생성 저해능은 0.1 mg/ml 농도에서 홍삼 4년근 추출물이 6년근보다 효과가 높은 것으로 나타났다. 항암 활성 검정 결과, 자궁경부암세포주에서는 년근별 활성의 차이가 없었으나, 대장암세포주와 전립선암세포주에서는 6년근 홍삼 추출물에서 각각 14% 활성이 높음을 확인하였다. 건삼과 홍삼 에탄올 추출물 처리시 4년근보다 6년근의 대장암과 전립선 세포주에 대한 활성이 증가하였다.
- 나. 4년근과 6년근 홍삼 산성다당체의 면역증진효과와 간독성보호효과를 동물실험을 통해 검정하였다. 홍삼 산성다당체를 농도별로 2주간 식이 후 염증 유발하여, 면역지표인자의 혈중 농도를 분석한 결과, IL-6의 함량은 4년근과 6년근의 함량이 같은 수준이었으나, 는 유의적으로 6년근이 더 낮은 수준으로 검출되었다. 급성간독성보호효과 혈청분석결과, 혈중지표인자인 AST, ALT의 함량이 4년근보다 6년근의 수준이 유의적으로 낮게나와 급성간독성보호효과가 더 높음을 확인하였다.

5. 인용문헌

- Blois, M. S. 1958. Antioxidant determination by the use of a stable free radical. *Nature*. 181:1198-1201.
- Cho, M. H., Lee, D. J., You, S. G. 2012. Radical scavenging activity of ethanol extracts and solvent partitioned fractions from various red seaweeds. *Ocean and Polar Research*. 34:445-451.
- Coniff, R., Krol, A. 1997. Acarbose : a review of US clinical experience. *Clin Ther* 19:16-26.
- Green, L. C., Wagner, D. A., Glogowski, J., Skipper, P. L., Wishnok, J. S., Tannenbaum, S. R. 1982. Analysis of nitrate, nitrite and [¹⁵N]nitrate in biological fluids. *Anal Biochem*. 126:131-138.
- Jang, K. H., Park, H. W., Lee, D. J. 2011. Evaluation of antioxidant, anticancer and tyrosinase inhibition activities in Labiatae herb plants. *Korean J Intl Agri*. 23:81-88.
- Kim, H. H., Kwon, J. H., Park, K. H., Kim, M. H., Oh, M. H., Choi, K. I., Park, S. H., Jin, H. Y., Kim, S. S., Lee, M. W. 2012. Screening of antioxidative activities and antiinflammatory activities in local native plants. *Kor J Pharmacogn*. 43:85-93.
- Kim, Y. J., Kim, B. H., Lee, S. Y., Kim, M. S., Park, C. S., Rhee, M. S., Lee, K. H., Kim, D. S. 2006. Screening of medicinal plants for development of functional food ingredients with anti-obesity. *J Korean Soc Appl Biol Chem*. 49:221-226.

- Lee, B. H., Baik, D. S., Yun, S. U., Shin, J. M., Kim, J. H., Yun, S. Y., Kim, B. H., Kim, S. B., Shin, J. E., Song, I. H. 2007. Peripheral nitric oxide activity in patients with Liver cirrhosis. *Korean J Med.* 73:251-257.
- Lee, S. H., Suh, S. J., Lee, K. H., Yang, J. B., Choi, S. U., Park, S. S. 2013. Anti-inflammatory effect of peel extracts from citrus fruits. *J Fd Hyg Safety.* 28:342-348.
- Lee, S. J., Shin, J. H., Lee, H. J., Tak, H. M., Kang, M. J., Sung, N. J. 2013a. Antioxidant and anti-inflammatory activities of functional plant materials. *J Life Sci.* 23:859-878.
- Masferrer, J. L., Zweifel, B. S., Manning, P. T., Hauser, S. D., Leahy, K. M., Smith, W. G., Lsaxon, P. C., Seibert, K. 1994. Selective inhibition of inducible cyclooxygenase 2 in vivo is anti-inflammatory and nonulcerogenic. *Proc Natl Acad Sci.* 99:3228-3232.
- Ohshiro, T., Namatame, I., Lee, E. W., Kawagishi, H., Tomoda, H. 2006. Molecular target of decursins in the inhibition of lipid droplet accumulation in macrophages. *Biol Pharm Bull.* 29:981-984.
- Park, H. W., Jang, K. H., Hussain, M., Lee, D. J. 2012. Evaluation of 1,1-Diphenyl-2-Picrylhydrazyl radical scavenging effect, cytotoxicity and tyrosinase inhibition activities in 4 species of herb plants. *J Appl Biol Chem.* 54:201-205.
- Re, R., Pelligrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., Rice-Evans, C. (1999) Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Bio Med* 26:1231-1237.
- Ryu, J. H., Ahn, H., Kim, J. Y., Kim, Y. K. (2003) Inhibitory activity of plant extracts on nitric oxide synthesis in LPS-activated macrophages. *Phytother Res* 17:485-489.

6. 연구결과 활용

연도(연차)	활용구분	제 목
2014(2년)	학술발표	4년근과 6년근 홍삼 추출물의 항염 및 항암활성 비교
2014(2년)	학술발표	아세트아미노펜에 유도된 간독성 모델에서의 4년근과 6년근 홍삼 다당체 추출물의 간보호효과
2014(2년)	학술발표	Immuno-stimulating Activities of 4 years and 6 years Red ginseng Acidic Polysaccharide
2014(2년)	영농활용	4년근과 6년근의 성분 및 활성 비교
2014(2년)	논문게재	4년근과 6년근의 홍삼산성다당체의 이화학적 특성비교
2014(2년)	논문게재	아세트아미노펜에 유도된 간독성 모델에서의 4년근과 6년근 홍삼 다당체 추출물의 간보호효과

7. 연구원 편성

구분	소속	직급	성명	수행업무	참여년도	
					'13	'14
과제책임자	농식품연구소	농업연구사	김희연	과제 총괄	○	○
1세부책임자	농식품연구소	농업연구사	김희연	세부주관 수행	○	○
공동연구자	농식품연구소	농업연구관	허남기	과제 협의	○	○
	인삼약초연구소	농업연구사	이재형	분석지원	-	○
2세부책임자	농식품연구소	농업연구사	임상현	세부주관 수행	○	○
공동연구자	농식품연구소	농업연구사	권혜정	과제진행	○	-
	농식품연구소	농업연구사	김시창	과제진행	○	-
	농식품연구소	농업연구사	이광재	생리활성 검정	○	○