

최            종  
연구보고서

GA 0693-08013

인삼과 생약재의 고온환경에 대한  
방어효능 평가 및 기능성 식품 개발

The effect of korean ginseng and medicinal herbs on  
protective activity against heat environment and  
development of functional food products.

연구기관  
한국식품연구원

농 립 수 산 식 품 부

## 제 출 문

농림수산식품부 장관 귀하

본 보고서를 “인삼과 생약재의 고온환경에 대한 방어효능 평가 및 기능성 식품 개발”과제의 최종보고서로 제출합니다.

2008년 4월 24일

주관 연구 기관 : 한국식품연구원

총괄연구책임자 : 홍 회 도

세부연구책임자 : 김 영 찬

연 구 원 : 이 영 철

김 경 탁

노 정 해

최 상 윤

성 기 승

최 민 희

협동 연구 기관 : 포천중문의과대학

협동연구책임자 : 이 부 용

위탁 연구 기관 : 알앤엘생명과학(주)

위탁연구책임자 : 최 대 우

# 요 약 문

## I. 제 목

인삼과 생약재의 고온환경에 대한 방어효능 평가 및 기능성 식품 개발

## II. 연구개발의 목적 및 필요성

최근 2005년 Nature지의 지역적인 기후변화가 인간의 건강에 미치는 영향이란 논문에서 지난 30년간 기후변화가 약 150,000명을 숨기게 했고 인간에게 빈번히 발생하는 질병이 급격한 기후변화와 관련이 있음이 보고된 바 있다. 특히 지구 온난화에 따른 열 스트레스(Heat stress), 기상이변, 해수면 상승, 경작지 또는 용수의 부족, 전염병의 증가 등은 인류의 건강에 큰 영향을 미치고 있으며 특히 우리나라가 속한 온대지역이 더 큰 영향을 받을 것으로 보고되고 있다. 이와 같이 최근 기후변화와 인간의 건강에 대한 관심이 늘어나고 있으며 향후 급속한 지구 온난화와 더불어 이러한 경향은 더 크질 것으로 예상된다. 그러나 실제 이러한 지구온난화나 혹서, 열파로부터 인류의 건강을 지키기 위한 노력은 주로 이산화탄소 방출량 규제, 산림보호 등 환경적인 측면을 위주로 이루어져 오고 있으며 우리 생활과 밀접한 관계가 있는 일상적인 식품의 섭취를 통한 신체 항상성 유지에 대한 관심이나 연구는 아직 전세계적으로 그리 많지 않다.

전통적으로 우리나라의 경우 여름철 무더위로부터 신체를 보호하기 위한 다양한 보양식품들이 알려져 있으며 그 중에서도 가장 대표적인 것이 삼계탕이다. 삼계탕의 주요 소재중의 하나는 우리나라를 대표하는 생약재 중에 하나인 고려인삼이며 또한 인삼이외의 전통식품으로는 더위를 먹었을 때, 더위로 인한 원기저하, 식욕부진을 개선하기 위하여 다양한 탕류제품이 응용되었음이 알려져 있다.

따라서 본 연구에서는 실제 여름철의 주기적이고 지속적인 무더위에 대한 인체의 영향을 과학적으로 구명하고 이를 방어할 수 있는 인삼 등 전통 생약재의 효능을 체중증가량 변화, 식이섭취량 변화, 주요 장기변화 및 산화적 스트레

스 등의 생리학적 측면과 관련 유전자의 발현 양의 변화라는 분자생물학적 측면에서 구명하고 이러한 연구결과를 토대로 고온환경 (지속적이고 주기적인 무더위)에 대한 방어용 식품소재 및 기능성 식품을 개발해 보고자 하였다. 이러한 제품의 개발 및 효능 구명은 향후 급격한 기후변화, 폭서, 폭한 등으로부터 인간의 건강을 유지하는데 기여할 수 있을 것이라 판단된다.

### Ⅲ. 연구개발의 내용 및 범위

전통적으로 폭서(酷暑)기용 보양식품 소재로 활용되어온 고려인삼과 생약재의 고온환경에 대한 생체 방어효능을 동물실험을 통해 과학적으로 구명하고 이를 이용한 기능성 소재 및 식품을 개발하여 우리나라 전통 식품소재 및 생약재의 과학적 우수성을 구명하고 국민의 건강 증진에 기여하고자 아래와 같은 연구내용을 수행하였다.

#### 1. 시료의 선정 및 추출물 조제

하절기용 보양식, 전통 탕류 등이 기재되어 있는 고전문헌 및 삼계탕 등 전통음식 소재를 근거로 하여 고려인삼과 황기 등 생약재 5~6종을 선정하고 열수에서 2 반복 추출한 후 여과(농축)하여 추출물을 조제한 후 효능평가 및 제품에 활용하였다.

#### 2. 고온환경에 대한 방어효능 평가

인삼을 포함하여 생약재들의 고온환경에 대한 효능평가를 위해 흰쥐를 이용한 총 6주간의 동물 실험을 수행하였다. 고온환경 부가를 위하여 체온과 유사하거나 약간 높은 35~38℃에서 매일 5시간씩 실험 후기 2주간 고온환경에 노출시켰다. 이때 사용한 시료 투여방법으로는 시료 농축물을 생수에 현탁한 후 경구투여하거나 사료 제조시 첨가하여 사료형태로 투여하는 방법, 음수대신 시료를 음수에 일정량 희석하여 투여하는 방법 등을 사용하였다. 고온환경에 대한 방어효능을 평가하기 위하여 사용한 생리적 지표로는 평균체중 증가량, 평균 식이섭취량, 간의 지질과산화 등을 중점적으로 비교 검토하였으며 이 밖에도

장기의 중량 변화, 혈액성분 변화 등을 검토하였다.

### 3. 인삼과 생약재의 고온환경에 대한 방어효능 평가

국내의 대표적인 생약재 중에 하나인 인삼 제품(수삼, 홍삼)과 감초 등 식품으로 사용가능한 주요 생약재 4 종 정도, 전통 탕류제품 1종을 선정하여 추출물을 조제하고 고온환경에 대한 방어효능평가한 후 최종적으로 2~3종의 후보 소재를 선발하였다.

### 4. 인삼 함유 생약재 조성물의 고온환경에 대한 방어효능

고온환경에 대한 방어효능을 나타낸 인삼 등 후보 생약재 2종의 배합비를 결정하고 함께 추출하여 인삼 함유 생약재 조성물을 조제하였으며 이에 대한 고온환경에 대한 신체 방어효능을 평가하였다.

### 5. 최종 개발 시제품의 효능평가

주기적인 고온환경 부가에 대한 방어효능을 나타낸 인삼함유 생약재 조성물을 사용하여 음료 시제품을 개발하였으며 개발 시제품의 투여방법을 사료와 음수형태로 달리 투여하고 효능을 평가하였다.

### 6. 유전자 발현조사를 통한 인삼 및 생약재의 고온환경 방어 효능연구

정상온도에서 사육된 흰쥐와 고온환경에 오랜 기간 주기적으로 노출된 흰쥐의 유전자 발현변화에 대한 비교 연구를 통하여 고려인삼과 생약재들의 고온환경 방어 효능과 그 기작을 분자생물학적으로 보다 명확하게 구명해 보고자 하였다. 이를 위하여 일반 식이를 투여하면서 흰쥐를 고온환경 조건과 정상온도 조건에서 일정시간 각각 노출시킨 뒤 고온환경에 의한 분자생물학적인 biomarker, 즉 항상성과 heat-shock에 관련된 주요 유전자인 HSP27, HSP70, HSP90, IFIT1, IFIT2, Ptdsr의 발현정도를 비교 검토 하였으며 고온환경 조건에서 사육된 흰쥐에 일반 식이 또는 일반 식이와 시료 추출물을 함께 투여한

후 정상온도에서 일반 식이를 투여한 상온대조군과 HSP27, HSP70, HSP90, IFIT1, IFIT2, Ptdsr 유전자의 발현차이를 검토하여 고려인삼과 생약재의 고온 환경 방어 효능을 조사하였다.

#### 7. 고온환경에 대한 생체 방어용 기능성 식품 개발

고온환경에 대한 방어효능을 가진 인삼 함유 생약재 조성물을 이용하여 적정 유용성분 첨가량 결정, 관능적 품질개선 연구 등을 검토하여 일반 음료 제품을 개발하였으며 아울러 휴대가 용의하고 쉽게 섭취 가능한 과립형태의 제품을 개발하였다.

### IV. 연구결과 및 활용에 대한 건의

#### 1. 인삼과 생약재들의 고온환경에 대한 방어효능 평가

수삼이나 홍삼 같은 국내산 고려인삼 제품 및 감초 등 몇가지 생약재 추출물들, 생맥산 등 전통제품을 대상 시료로 선정하고 이들 시료의 투여가 주기적으로 고온환경에 노출된 흰쥐에 미치는 영향을 살펴보았다. 고온환경은 선행연구를 통해 매일 35~38℃에서 5시간씩 14일간 7일간 부가하였으며 고온환경 부가에 따른 흰쥐의 체중, 식이섭취량, 혈액성분, 장기중량 및 간의 지질과산화에 미치는 영향을 살펴보았다. 본 연구의 모든 동물실험을 통해 주기적인 고온환경 부가는 상온대조군에 대비하여 주간 평균 체중증가률을 30~80% 수준까지, 식이섭취량을 10~30% 수준까지 감소시켰으며 음수량은 60~100% 수준까지 증가시켰다. 또한 주요 장기중에 하나인 간의 지질과산화를 5~50% 수준까지 증가시켰다. 또한 혈액성분중에서는 백혈구수를 일부 증가시키거나 전체 체중 대비 간 중량비를 감소시키고, 신장과 비장의 중량비를 다소 증가시키는 결과를 나타내었으나 이러한 결과는 모든 동물실험에서 일치되게 나타나거나 유의적인 차이를 보이지는 못하였다.

이러한 고온환경 부가에 의한 생리적인 변화에 대해 인삼추출물을 투여한 경우 체중증가률 감소 및 식이섭취량 감소, 간의 지질과산화 정도가 일정수준

억제되는 효과가 있었으며 전반적으로는 홍삼의 효과가 다소 뛰어난 것으로 판단되었다. 생약재 중에서는 가시오가피와 감초 추출물의 고온환경 방어에 대한 효능이 오미자나 황기 등에 비해 뛰어났으며 특히 감초추출물은 간의 지질과산화물을 억제하는 효과가, 가시오가피 추출물은 체중증가를 감소, 식이섭취량 감소 및 간의 지질과산화를 억제하는 효과가 비교적 뛰어난 것으로 판단되었다. 전통 탕류 제품인 생맥산의 경우 간의 지질과산화를 억제시키는 효과 이외에는 고온환경에 대한 방어효능이 나타나지 않았다.

## 2. 인삼 함유생약재 조성물의 고온환경에 대한 방어효능평가

인삼(홍삼)을 주성분으로 하고 여기에 감초 및 가시오가피를 일정량 배합하여 함께 추출하여 인삼 함유 생약재 조성물을 조제하였다. 본 연구에서 제조한 생약재 조성물을 장기적으로 투여한 흰쥐의 경우 일반식이만 섭취한 고온대조군에 비해 약 12% 정도의 체중증가를 감소를 방어하는 효과가 있었으며 식이섭취량 감소 역시 10% 정도 개선시키는 효과가 있었다. 또한 일부 동물 실험에서 관찰되었던 간의 중량비 감소도 개선하는 효과를 나타내어 정상쥐와 거의 유사한 간 중량비를 나타내었으며 고온환경 부가에 따른 간의 지질과산화도 거의 억제하는 것으로 나타났다. 본 연구에서 개발한 인삼함유 생약재 조성물의 경우 향후 기능성 식품소재나 사료 등 다양한 용도로 활용 가능할 것이라 판단되었다.

## 3. 개발 시제품의 고온환경에 대한 방어효능평가

고온환경에 대한 방어효능을 나타낸 인삼 함유 생약재 조성물의 관능적 품질을 개선하고 일부 기능성 소재를 첨가하여 음료 시제품을 개발하였으며 음료 시제품의 고온환경에 대한 방어효능을 사료형태와 음수형태 등으로 투여방법을 달리하여 평가해 보았다. 체중 증가를 감소 효능에 있어서는 음수형태가, 식이섭취량감소는 사료형태가 약간 우수한 효능을 나타내었으나 큰 차이는 아니었고 간 중량비 감소 및 간의 지질과산화 증가에 대해서는 두 형태 모두 유사한 효능을 나타내었다. 이상의 결과로 미루어 볼 때 본 연구에서 개발한 인삼함유

생약재 조성물을 이용하여 본 연구에서 개발한 시제품의 경우 섭취하는 형태에 상관없이 일정기간 꾸준히 섭취시에 무더위와 같은 고온환경에 대해 신체를 보호하는 효능을 나타낼 것이라 기대되었다.

#### 4. 유전자 발현조사를 통한 인삼 및 생약재의 고온환경 방어효능 평가

본 실험에서는 기존의 논문조사와 예비시험을 통해서 고온환경에 대하여 영향을 받는 인자로 선정된 HSP27, HSP70, HSP90, IFIT1, IFIT2, Ptdsr 유전자는, 실험결과 역시 고온환경에 의해 영향을 받는 주요 biomarker로 확인되었다. 선정된 유전자의 발현 여부를 확인하기 위하여 RT-PCR을 실행한 결과 고온환경 노출시 정상온도 보다 모든 유전자의 발현량이 증가되어 heat response가 작동된 것을 확인 할 수 있었으며, 고온환경에 노출되었지만 일반식이만을 투여한 처리구보다 '인삼과 가시오가피의 고온환경 방어효과 시험, 인삼함유 생약재 조성물의 고온환경 방어효과 시험, 조성물의 투여방법에 따른 고온환경 방어효과 시험' 모두에서 유전자의 발현량이 고온환경 대조구보다 감소하여 고온환경 방어효과가 있다는 것을 관찰 할 수 있었다. 정확한 유전자의 발현량을 정량하기 위하여, Real-Time PCR을 실행하였다.

가시오가피 등 생약재의 인삼의 고온환경 방어효과 시험에서 HSP27 유전자의 발현변화는 인삼과 가시오가피 추출물 처리구 모두에서 고온환경 방어 효과가 나타났으며, HSP70 유전자의 발현변화에서는 가시오가피 투여군에서, HSP90 유전자의 발현변화에서는 인삼 추출물 투여군에서 가장 좋은 고온환경에 대한 방어효과가 나타났다. 또한, IFIT2 유전자의 발현변화에서 가시오가피, 인삼 투여군 모두에서 고온환경 방어효과가 있었으며, Ptdsr 유전자의 발현변화에서는 가시오가피 투여군에서 고온환경 방어 효과가 가장 뛰어났다.

인삼함유 생약재 조성물의 고온환경 방어 효과 실험에서는 Heat shock protein (HSP) family의 유전자의 발현 변화는 COM1과 COM2 처리구 모두에서 고온환경 방어효과가 나타났다. IFIT1, 2 유전자 발현변화에서도 두 처리군 모두에서 고온환경 방어효과가 관찰되었다.



개발된 음료 시제품의 고온환경 방어효과를 투여방법별로 살펴본 시험에서 HSP27, HSP70, HSP90 유전자의 발현변화를 살펴본 결과 사료형태로 투여한 군과 음수형태로 투여한 군 모두에서 고온환경 방어효과가 뛰어났다고 판단되지만, IFIT1, IFIT2, Ptdsr 유전자의 발현변화로 판단할 때 사료형태로 투여한 군에서 보다 효과적이었다. 즉, 투여형태는 음수형태보다 사료형태로 투여한 것이 고온환경 방어효과에 더 뛰어나다고 사료된다.

본 연구를 통하여 인삼 및 생약재가 어떠한 기작을 통하여 고온환경에 방어효과를 나타내는지는 모두 명확하게 알 수는 없었지만, 선정된 몇몇 유전자의 기능을 통하여 어느 정도의 개략적인 분자생물학적 기작구명에 대한 가능성을 제시하였다고 사료된다. 몇 차례의 시험을 통하여 예로부터 더위를 이기는 식품으로 섭취해온 인삼, 가시오가피, 인삼 조성물들이 실제 고온환경에 대한 방어효능이 있음을 확인 할 수 있었다.

## 5. 인삼함유 생약재 조성물을 이용한 기능성 식품개발

인삼(홍삼), 가시오가피 및 감초를 각각 500g, 500g, 50g을 열수 추출하여 고형물 함량이 40%수준인 인삼함유 생약재 조성물 350~300 g을 조제하였다. 본 인삼 함유 생약재 조성물은 산성다당체 10.1~11.7%, 조사포닌 7.0~7.9%, 사포닌 성분중에서 대표적인 진세노사이드인 Rb<sub>1</sub>과 Rg<sub>1</sub>이 각각 0.3, 0.2% 수준 함유되어 있었으며 감초의 지표성분인 글리시리진 역시 0.03~0.07% 정도 함유되어 있었다. 또한 인삼과 감초, 가시오가피 등으로부터 유래한 것으로 추정되는 페놀화합물 역시 2.2~2.5% 정도 함유되어 있었다.

인삼 함유 생약재 조성물을 이용하여 쉽게 음용 가능한 제품을 개발하기 위해 적정 인삼 함유 생약재 조성물의 첨가량을 결정하고 다양한 과실 농축액 및 비타민 C, 타우린 등의 기능성 소재를 첨가하여 음료제품을 개발하였으며 본 음료제품의 경우 비교적 우수한 관능적 품질 특성을 나타내었다. 또한 음료제품의 배합비를 고려하여 휴대가 용의하고 그대로 섭취 가능한 분말과립제품도 개발하였다.



고온환경에 대한 방어효능을 가진  
인삼함유 생약재 조성물을 이용한 개발제품

## Summary

### 1. Protective effects of Korean ginseng and some medicinal herbs against chronic heat stress in rat

Korean ginseng products like fresh ginseng and red ginseng, some medicinal herbs including *Glycyrrhizae* Radix and finally traditional decoction like *Saengmaksin* were selected target material to investigate the protective effects in rat exposed to chronic heat environment. It was optimum condition for heat environment that the male rats of 4~5 weeks olds were daily exposed to 35~38°C for 5 hrs during 2 week. For evaluation on these selected material, the changes of average growth rate, diet and water uptake, organ weights, blood compositions and lipid peroxidation in liver were investigated during or after heat stress in rat. In the rat exposed to chronic heat environment, decrease of average growth rate per week by approx. 30~80%, diet uptake decrease by approx. 10~30% and water uptake increase by approx. 60~100% were observed and serious lipid peroxidations in livers were induced by 5~50%, compared with normal rat. The changes of liver weights and white blood cells counts were also found but these changes are not consistent. The uptake of Korean ginseng extracts in the long term were relatively effective to protect physiological changes observed in rat exposed to chronic heat environment and especially red ginseng extract relatively more effective than fresh ginseng extracts. In the other targeted medicinal herbs, *Glycyrrhizae* Radix (*Glycyrrhiza uralensis*) and *Acanthopanax senticosus* had protective effects against

heat stress. *Glycyrrhizae* Radix was especially contributed to protect lipid peroxidation and *Acanthopanax senticosus* revealed protective activity in all of major physiological changes like decrease of average growth rate, diet uptake decrease, serious lipid peroxidations of livers by chronic heat environment. *Saengmaksan* seemed to be not effective except protective effect on lipid peroxidation in liver.

## **2. Protective effects of medicinal herbs composite containing Korean ginseng against chronic heat stress in rat**

Medicinal herbs composites were prepared using Korean ginseng, *Glycyrrhizae* Radix and *Acanthopanax senticosus*. These composite protected decrease of average growth rate by 12%, diet uptake decrease by 10% compared with rat exposed to chronic heat environment. The low liver weights (percentage weight against body weight) observed occasionally in rat exposed to chronic heat environment was also protected with uptaking of these composites during all experiment times. The lipid peroxidation by heat environment was almost completely protected with uptaking of these composite. The present results imply that medicinal herbs composite developed in this research may be useful to produce various functional food or other products with protective activity against chronic heat stress.

## **3. Protective effects of developed beverage products using medicinal herbs composite against chronic heat stress in rat**

In the result on protective effects of developed beverage products with different two uptake methods – diet containing developed beverage products and water type with diluted that products, the protective effect on growth rate decrease was more effective in diluted beverage uptake method and diet

uptake decrease was more effectively protected in diet-type uptake method. But these difference were not so clear. The clear protecting effects on lipid peroxidation in liver by heat environment were shown in all tested. In conclusion, developed products using medicinal herbs composite were expected to protect body against chronic heat environment.

#### **4. Effect of ginseng and medicinal herbs on gene expression in rat liver after *In vivo* heat stress**

Heat stress is accompanied high body temperatures in the setting of physical exertion, typically involving exhaustion or collapse, which is accompanied by evidence of tissue and organ damage. The effects of heat stress on cellular function have been reviewed in detail elsewhere. Briefly, they include 1) inhibition of DNA synthesis, transcription, RNA processing, and translation 2) inhibition of progression through the cell cycle 3) denaturation and misaggregation of proteins 4) increased degradation of proteins through both proteasomal and lysosomal pathways 5) disruption of cytoskeletal components 6) alterations in metabolism that lead to a net reduction in cellular ATP and 7) changed in membrane permeability that lead to an increase in intracellular  $Na^+$ ,  $H^+$ , and  $Ca^{2+}$ .

Ginseng has been used for over 2000 yr in oriental countries to enhance stamina and immune function, where it has been suggested to have pharmacological activities in the cardiovascular, endocrine, immune, and central nervous systems. The ginsenoside  $Rg_1$  infusion maintained constant histamine level against elevation of environmental temperature and ginsenoside  $Rb_1$  inhibited  $Ca^{2+}$  accumulation in the liver.

Heat stress can trigger a cellular stress response characterized by induction to against heat environment, heat shock proteins (HSPs), which are presumed to play a role in limiting tissue damage. IFIT1 and IFIT2,

which are bound to the translation initiation factor eIF3, inhibit translation of cellular stress response. And clearance (by phagocytosis of phosphatidylserine receptor (Ptdsr)) of heat stress induced-apoptotic cells (ACs) protects surrounding tissues from intracellular factors and reduces the likelihood of tissue damage. To investigate protection effects of ginseng and medicinal herbs on heat-stressed rat, expression level of HSP27, HSP70, HSP90, IFIT1, IFIT2 and Ptdsr mRNAs of rat liver examined by the reverse transcription polymerase chain reaction (RT-PCR) and real-time RT-PCR to confirm quantitatively. Compared to unstressed control, the expression levels of HSP27, HSP70, HSP90, IFIT1, IFIT2 and Ptdsr were increased in the heat stressed rats. But the expression levels of HSPs, IFIT1, IFIT2, Ptdsr of groups, which were administrated with ginseng and medicinal herbs on heat stress, were decreased more than those of group which was only stressed by heat. Oral administration of ginseng and medicinal herbs suppressed expression of genes which over-expressed against heat stress in rat liver.

Although the precise mechanism underlying the protective effect of ginseng and medicinal herbs is unknown, our data suggest that ginseng and medicinal herbs may have protective effect against heat stress. Also, our results showed that *Acanthopanax senticosus*, fresh ginseng, Korean ginseng and some medicinal herbs composite have protective effect on heat stress. Especially, the mixture of *Acanthopanax senticosus* and *Glycyrrhiza uralensis* with Korean ginsengs showed synergistic effect. In conclusion, ginseng and medicinal herbs were effective on protecting rat against heat stress.

## **5. Development of functional food products using Korean ginseng and medicinal herbs composite**

Medicinal herb composite with protective activity were prepared with hot water extraction of 2~3 times, filtering and concentration. The

composite of 350~300 g, approximately 40% of solid contents were produced from Korean red ginseng of 500g, *Acanthopanax senticosus* of 500 g and *Glycyrrhizae Radix* of 50 g. This composites contained about 10.1~11.7% of acidic polysaccharide, crude saponin of 7.0~7.9%, 0.3% of ginsenosdie Rb<sub>1</sub>, 0.2% of Rg<sub>1</sub>, glycyrrhizin of 0.03~0.07% and also 2.2~2.5% phenolic compounds known as antioxidants.

Two food products like beverage and granule-type were developed through fortification of some biological active compounds like vitamin C, taurin, et.al. and improvement of sensory properties by determination on optimum contents of medicinal herbs composite and other food additives.



## Contents

Summary .....	11
Contents .....	16
Chap. 1. Outline on research project .....	19
1. Objective .....	19
2. Significance .....	19
3. Scope .....	23
Chap. 2. Present state .....	25
Chap. 3. Scopes and results of project .....	28
1. Protective effects of Korean ginseng and medicinal herbs against chronic heat environment .....	28
1) Introduction .....	28
2) Material and methods .....	29
3) Results and discussion .....	37
4) Reference .....	74
2. Effect of Ginseng and medicinal herbs on gene expression in rat liver after <i>In vivo</i> heat stress .....	77
1) Introduction .....	77
2) Material and methods .....	82
3) Results and discussion .....	88
4) Summary .....	108
5) Reference .....	109
3. Development of functional food products using medicinal herbs composite .....	111
1) Preparation of medicinal herbs composite .....	111
2) Development of beverage product .....	112
3) Development of granule type product .....	114
Chap. 4. Attainment and contribution .....	116
Chap. 5. Proposal for application .....	119



# 목 차

요약문 .....	3
Summary .....	11
Contents .....	16
목 차 .....	17
제 1 장 연구개발의 개요 .....	19
제 1 절 연구개발의 목적 .....	19
제 2 절 연구개발의 필요성 .....	19
제 3 절 연구개발의 범위 .....	23
제 2 장 국내외 기술개발 현황 .....	25
제 3 장 연구개발 수행의 내용 및 결과 .....	28
제 1 절 인삼과 생약재의 고온환경에 대한 방어효능 .....	28
1. 서론 .....	28
2. 재료 및 방법 .....	29
가. 재료 .....	29
나. 방법 .....	30
3. 결과 및 고찰 .....	37
가. 시료의 선정 및 추출물 조제.....	37
나. 인삼 및 감초 추출물의 고온환경에 대한 방어효능 평가 .....	39
다. 몇가지 생약재 추출물의 고온환경에 대한 방어효능 평가 ....	46
라. 전통 탕류의 고온환경에 대한 방어효능 평가 .....	51
마. 인삼 함유 생약재 조성물의 고온환경에 대한 방어효능 평가 .	56
바. 인삼 함유 생약재 조성물을 이용한 개발시제품의 투여방법별 효능평가 .....	69
4. 참고문헌 .....	74
제 2 절 유전자 발현조사를 통한 인삼 및 생약재의 고온환경 방어 효능연구 .....	77
1. 서론 .....	77
2. 재료 및 방법 .....	82
가. 시약 .....	82

나. 시료의 선정 및 동물시험 처리구 .....	82
다. 시험동물의 조직으로부터 RNA의 추출 .....	85
라. Total RNA로부터 cDNA의 합성 및 RT-PCR .....	86
마. Real-Time PCR을 통한 주요 유전자 발현 정량 .....	86
바. 통계분석 .....	87
3. 결과 및 고찰 .....	88
가. 인삼과 가시오가피의 고온환경 방어효과 .....	88
나. 인삼함유 생약재조성물의 고온환경 방어효과 .....	96
다. 조성물의 투여방법에 따른 고온환경에 대한 방어효과 .....	101
4. 요약 .....	108
5. 참고문헌 .....	109
제 3 절 고온환경에 대한 생체 방어용 기능성 식품 개발 .....	111
1. 인삼 함유 생약재 조성물의 조제 .....	111
2. 음료제품 개발 .....	112
3. 분말 과립제품 개발 .....	114
제 4 장 목표의 달성도 및 관련분야에의 기여도 .....	116
제 5 장 연구개발 결과의 활용 계획 .....	119

## 제 1 장 연구개발과제의 개요

### 제 1 절 연구개발의 목적

전통적으로 혹서(酷暑)기용 건강식품 소재로 활용되어온 고려인삼과 생약재의 고온환경에 대한 신체 방어 효능 및 그 기전을 과학적으로 구명하고 이를 이용한 기능성 소재 및 식품을 개발함으로써 우리나라 전통식품 및 생약재의 과학적 우수성을 구명하고 국민의 건강 증진에 기여하고자 하였다.

### 제 2 절 연구개발의 필요성

o 최근 2005년 Nature지의 지역적인 기후변화가 인간의 건강에 미치는 영향이란 review 논문에서 지난 30년간 기후변화가 약 150,000명을 숨기게 했고 인간에게 빈번히 발생하는 질병이 급격한 기후변화와 관련이 있음을 언급한 바 있으며 이러한 경우 대부분은 심장질환이나 호흡기 질환에 큰 영향을 미치는 것으로 보고하였다. 또한 이러한 기후와 건강과의 관계를 고려해 볼 때 향후 지구 온난화가 지속됨에 따라 사망률의 증가와 특정 지역의 질병발생률 증가가 있을 것이라 언급한 바 있다.

o 특히 온실가스 축적이나 산업화에 따라 지구 온난화는 전세계적으로 큰 이슈가 되고 있으며 지구 온난화로 인한 열 스트레스, 기상이변, 해수면 상승, 경작지 또는 용수의 부족, 전염병의 증가 등은 인류의 건강에 큰 영향을 미치고 있으며 특히 우리나라가 속한 온대지역이 더 큰 영향을 받을 것으로 보고되고 있다.

o 혹서(heat waves, 열파)로 불리는 현상도 역시 지구온난화에 의한 것으로 비정상적이고 불쾌한 느낌을 주는 덥고 습한 날씨가 지속되는 기간을 말하며

미국의 NOAA/NWS(National Weather Service)는 혹서기간 중에 사망자수가 증가함을 주목하고 이러한 혹서에 대해 대국민 경보를 효율적으로 제시하는 체계 개발을 추진하고 있으며 최근까지 연구결과를 근거로 열파지수(Heat index : HI)를 개발하였다.

- 우리나라 기상청에서도 체감온도, 불쾌지수 등 국민들에게 잘 알려진 생활 기상 정보와 함께 열파지수를 매년 4월 1일부터 9월 30일까지 제공하고 있으나 아직까지는 이에 대한 인식은 그리 높지 않은 것으로 판단된다.

- 일반적으로 급격한 고온에 노출되면 인체는 땀의 분비, 피부와 직장온도 변화, 심장 박동수 변화 등을 통해 고온순화(Acclimatization)라는 과정을 거쳐 신체기능의 정상을 되찾게 된다. 그러나 이러한 고온이 지속적이고 반복적으로 진행된다면 순화의 한계점에 이르게 되고 신체 조절 기능이 교란되면서 각종 질병을 유발하거나 심지어 사망에 이르게 한다.

- 이러한 고온에 대한 고온순화 실패에 따른 인체의 영향은 우선 중추신경계에 뇌부종이나 출혈 및 소뇌의 손상을 유발할 수 있고 심혈관계에 허탈(Collapse)를 유발하거나 혈액이나 신장에 이상을 일으키기도 한다. 이러한 다양한 원인으로 혹서기에는 사망자수가 평균기온 전후에 비해 크게 늘어나게 됨이 보고되어 있다. 1994년 서울에서 발생한 사상 유래 없는 무더위 기간 중 교통사고를 제외한 총 사망수가 크게 증가한 바 있고 원인을 분석해 본 결과, 심혈관 질환의 증가가 크게 늘어났음이 보고된 바 있다. 특히 심혈관계 질환을 많이 앓고 있는 노약자에서 사망자수가 크게 늘어남이 보고된 바 있다.

- 이상과 같은 현상으로 인해 최근 기후와 인간의 건강에 대한 관심이 늘어나고 있으며 향후 급속한 지구 온난화와 더불어 이러한 경향은 더 크질 것으로 예상된다. 그러나 실제 이러한 지구온난화나 혹서, 열파로부터 인류의 건강을 지키기 위한 노력은 주로 이산화탄소 방출량 규제, 산림보호 등 환경적인 측면을 위주로 이루어져 오고 있으며 우리 생활과 밀접한 관계가 있는 식품의 섭취를 통한 신체 항상성 유지에 대한 관심이나 연구는 아직 전세계적으로 그리 많지 않다.

- 전통적으로 우리나라의 경우 여름철 보양식품이 많은 관심을 끌고 있으

며 그 중에서도 가장 대표적인 것이 삼계탕이며 삼계탕의 주요 소재중의 하나가 고려인삼이다.

○ 우리나라의 대표적인 상품 중의 하나인 고려인삼의 경우 다양한 생리활성 성분과 그 효능이 알려지면서 국내외적으로 많은 관심과 연구의 대상이 되어왔다. 1990년대 초에는 고려인삼의 세계적 명성에 힘입어 주요 수출 농산물중의 하나였으나 최근 들어 화기삼 등 외국삼과의 효능차별화, 가격경쟁 등에서 고려인삼의 경쟁력이 크게 감소되고 있으며 특히 최근 고려인삼과 화기삼과의 효능논쟁에서 고려인삼을 복용하면 체온이 올라간다는 속설이 중국 등 동남아시아 지역에서 정설처럼 정착되면서 화기삼이 시장을 거의 잠식하는 상황에 있으며 특히 지난해 사스가 만연하면서 이러한 현상은 더 심화되고 있는 실정이다

○ 그러나 실제 고려인삼의 경우 다양한 효능 중에서도 가장 대표적인 것이 외부 환경에 대한 신체 항상성 유지 효능이다. 따라서 고려인삼의 복용과 체온과는 큰 상관관계가 없다는 기존의 일부 연구결과와 더불어 고온에 노출시 체온을 낮추어주고 반대로 저온에 노출시에는 체온을 상승시켜주며, 주기적인 고온 또는 저온노출 등 외부환경 변화에 따라 혼란된 체내 내분비계, 면역계를 빠른 시간내에 정상화시켜주는 고려인삼의 신체 항상성 효과를 과학적으로 검증한 연구결과는 앞서 언급한 기후변화(고온)에 대한 방어용 기능성 식품으로서의 개발가능성을 보여줌으로서 국내 인삼의 위상을 높일 뿐만 아니라 향후 기후변화로 인한 인류 건강을 지키는 중요한 소재로서의 활용가능성을 보여주는 것이라 판단된다.

○ 일반적으로 고온장애에 노출된 실험동물의 경우 식이 섭취량이 줄고, 체중이 감소하며 음수량이 증가하고 활동량이 줄어드는 것으로 보고된 바 있으며 인삼성분 중 ginsenoside Rg1이 이러한 고온장애에 대한 방어효과가 있음이 일본 연구자들에 의해서 보고된 바 있다. 또한 국내에서도 인삼 알코올 추출물이 추위에 노출된 흰쥐의 여러 가지 생리적 변화를 억제시켜 주는 것으로 보고된 바 있다.

○ 인삼이외의 전통식품으로는 다양한 탕류 제품을 들 수 있으며 더위를 먹

었을 때, 더위로 인한 원기저하, 식욕부진을 개선하기 위하여 이향산, 육화탕, 여곽탕, 생맥산, 청서익기탕, 삼귀익원탕, 보중익기탕 등이 복용되어져 왔다. 이러한 탕류 제품의 경우에도 앞서 이미 언급한 인삼이 중요한 소재로 활용되고 있으며 그 밖에도 진피, 감초, 생강, 적복령, 곽향, 소엽, 백지, 대복피, 백복령, 후박, 백출, 반하, 길경, 오미자, 황기, 당귀, 맥문동, 시호 등 다양한 생약재가 사용되고 있다. 이와 같은 전통 탕류제품이 나타내는 효능의 경우 복합처방에 의한 것일 수 있으며 식품으로 사용 가능한 감초 등 일부 생약재의 경우 고온환경과 같은 기후변화 높은 신체 방어효능을 나타내거나 인삼과 함께 사용시 인삼의 효능을 상승시켜주는 효과를 나타낼 수 있을 것으로 판단되지만 이에 대한 연구는 거의 전무하다. 따라서 인삼뿐만 아니라 이러한 생약재의 고온환경에 대한 생체 방어효능을 과학적으로 평가해 보는 또한 의미 있는 일로 생각된다.

○ 인삼과 같은 생약재의 생체방어효능에 대한 연구는 최근까지 주로 체중, 식이섭취량 같은 생리적인 특성에 대해 이루어져왔다. 또한 일부에서 진행된 인삼의 체온 항상성 유지에 대한 결과들마저도 단지 현상학적인 수준에서 연구되어진 결과들만 있을 뿐 체내에서 체온을 담당하는 단백질들의 발현과 유전자들의 발현 등을 연구한 분자생물학적인 연구 결과들은 거의 전무한 실정이다. 최근 고온환경 방어용 소재 개발에 대한 몇 가지 기초적인 선행연구들을 살펴보면, Sonna 등의 보고에서 고온환경에서의 human heat-shock과 관련된 유전자들의 발현 및 주요 유전자들의 발현정도를 비교한 연구, Bolder 등의 보고에서 lipopolysaccharide의 투여가 고온 stress에 노출된 흰쥐의 간에서 추출한 주요 mRNA의 변화에 대한 연구가 이루어진바 있다. 최근의 연구동향에서와 같이 식품에 대한 기능성 평가 연구들은 현상학적인 관찰에서 벗어나 분자생물학적인 연구들을 접목한 원인 구명 차원에서의 연구들이 진행되고 있다. 고려인삼과 생약재들의 고온환경에 대한 방어효과를 주요 관련 유전자들의 발현정도 조사를 통한 분자생물학적인 메카니즘으로 구명하려면 고온환경 조건에서 고려인삼과 생약재를 투여한 처리군과 투여하지 않은 대조군들의 체온조절 및 heat-shock과 관련된 유전자 발현정도를 연구하는 transcriptomics적인 연구들

이 필요한 실정이다. 따라서 본 연구에서는 고려인삼과 생약재를 이용한 고온환경 방어용 소재 및 기능성식품을 개발하고자 고온환경에서 오랜기간 노출된 흰쥐와 정상온도에서 사육된 흰쥐의 혈액과 간을 채취한 후 체온조절과 heat-shock 관련 유전자들의 발현정도를 조사한 후, 고려인삼과 생약재를 이용한 고온환경 방어용 소재들의 투여가 고온환경에서 stress 받은 흰쥐의 유전자 조절에 미치는 영향에 대한 연구를 진행하여 현상학적으로만 밝혀진 고려인삼과 생약재들의 고온방어 효능을 분자생물학적으로 보다 명확하게 밝혀내는 것도 중요한 연구라 판단된다.

o 이상의 내용을 종합해 볼 때 향후 급격히 진행될 지구온난화, 빈번한 홍수 등으로부터 신체를 방어할 수 있는 다양한 기능성 식품 소재의 발굴과 이를 이용한 가공식품 개발은 매우 중요한 일로 판단되어지며 이러한 효능을 나타내는 기전을 연구하는 것 역시 개발된 제품의 상품화를 위해 필요한 일이라 판단되어진다.

o 따라서 본 연구에서는 고온환경이 생체에 미치는 영향을 생리학적 측면과 분자생물학적 측면에서 구명하고 고려인삼과 전통 식품소재로 이용되어온 몇가지 생약재의 고온환경에 대한 방어효능을 과학적으로 평가해 보고자 한다. 이는 우리나라 대표상품인 인삼의 우수성을 크게 높이는 계기가 될 수 있으며 전통식품의 우수성을 높이는데 기여할 수 있을 것이라 판단된다. 또한 이러한 연구결과를 토대로 고온환경에 대한 방어용 식품소재 및 기능성 식품을 개발하고 상품화를 추진함으로써 초기단계이며 일부분 일지라도 급격한 기후변화, 홍수, 혹한 등으로부터 건강을 유지하는데 기여할 수 있을 것이라 판단된다.

### 제 3 절 연구개발의 범위

전통적으로 여름철 건강식품에 널리 이용되어온 우리나라 대표 생약재인 고려인삼과 고전문헌 및 전통식품 소재를 참조하여 황기, 감초 등 몇가지 생약재를 선정한 후 열수추출물을 조제하여 동물실험을 통해 고온환경에 대한 신체 방어효능을 평가한다. 이를 위하여 우선 적정 고온환경 부가조건 및 실험 방법

을 확립하고 동물모델을 이용하여 주기적인 고온환경이 신체에 미치는 영향을 체중 증가량, 식이섭취량, 주요 장기 및 혈액성분 변화 등의 생리적인 특성 변화를 검토함과 아울러 발열성 면역물질인 interleukin 1B, 각종 스트레스 방어물질인 HSP (Heat shock protein) family, Ptdsr (phosphatidylserine receptor), IFI (interferone inducible) 등과 같은 10여종의 체온조절 및 heat shock 관련 유전자의 발현정도를 검토하여 고온환경에 의한 분자생물학적 변화 지표를 설정한다. 효능이 입증된 2~3종의 생약재 시료를 선정하고 이들 조성물을 이용한 소재 및 음료 시제품을 제조한다. 이들 인삼 함유 생약재 조성들과 이를 이용하여 개발된 음료 등 가공제품의 상품화를 위해 주요성분 분석, 관능적, 식품학적 특성 개선을 위한 적정 공정을 확립하고 최종 제조공정을 확립한다. 본 연구에서 개발된 고온환경 방어용 인삼 함유 생약재 조성물 소재 또는 최종 개발된 가공제품을 대상으로 동물모델에서의 효능을 평가하고 아울러 그 작용 기전을 분자생물학적 특성 변화를 검토하여 구명한다. 효능이 입증된 최종 개발 제품에 대해 산업재산권을 출원하고 기술이전 하여 상품화를 추진한다.



## 제 2 장 국내외 기술개발 현황

스트레스가 다양한 질병의 주요 원인이 될 수 있다는 사실은 이미 국내외적으로 잘 알려져 있는 사실이다. 따라서 이러한 스트레스에 의한 신체 손상 및 방어에 대한 연구는 많이 진행되어져 왔다. 최근 2000년 이후에도 국외 저널 등에는 이러한 스트레스가 특정 장기나, 호흡기, 신경계, 항산화 시스템 등에 미치는 영향에 관한 연구내용이 많이 소개되고 있으나 특이한 점은 국내는 주로 구속 스트레스에 관한 연구가 많은 반면 외국의 경우 cold 스트레스와 같은 환경요인과 관련 있는 스트레스에 대한 연구가 많이 보고되고 있다는 점이다. 그러나 아직까지는 어떠한 천연물 소재 또는 물질이 이러한 cold 스트레스에 대해 나타내는 방어효능에 연구는 그리 많지 않고 주로 저온이 미치는 영향을 구명하는 수준에 머물러 있다. 이와 같이 환경요인에 대한 영향에 관한 연구보고 들은 앞서 2005년 최신 nature지에 기후변화가 건강에 미치는 영향에 대한 경고성 review 논문이 발표되고 미국 기상청에서 heat index를 제정하여 공표한 것과 무관하지 않다고 생각된다. 따라서 최근 사람들의 주변 환경 변화가 인체에 미치는 영향에 대한 인식이 높아지는 추세와 함께 향후 기존의 각종 스트레스 연구와 더불어 자연재해, 또는 급격한 지구 환경 변화에 의한 신체손상 및 이를 방어할 수 있는 소재 또는 기전에 대한 연구가 많이 진행될 것으로 추정된다.

외부환경의 변화 즉, 추위와 고온 등 온도변화도 일종의 스트레스로 볼 수 있으며 이러한 스트레스가 신경계 또는 조절계에 미치는 영향 및 질병과의 연관성에 관한 연구는 오래전부터 진행되어져 왔다. 그러나 연구에 사용된 스트레스원의 경우 대부분 구속이나 강제수영 등 실제 인간이 접하기 어려운 종류의 정형화된 스트레스를 사용하고 스트레스에 의한 영향도 장기, 호르몬 수준, 혈액, 체중, 식이량 등 전반적인 사항을 살펴본 것은 아니고 대부분이 일정 부분만을 검토하는데 거치고 있다. 또한 이러한 스트레스를 억제하는 갈근탕, 비타민 C, 우루소테옥시콜린산 등 다양한 소재에 대한 연구도 앞서 이미 언급한 바

와 같이 구속 등의 일반화된 스트레스원을 사용하여 실험하고 있다. 그러나 2003년 Susmita Kaushik 등이 발표한 내용에서와 같이 실제 스트레스원에 따른 피해 장기 및 증상이 다양하게 나타나는 점으로 미루어 볼 때 앞서와 같이 일반화된 스트레스원에 의한 결과는 사람에게 바로 적용하기에 다소 어려움이 있을 것으로 판단된다. 향후 실제 사람들이 직접 접할 수 있는 소음이나 기후 변화에 대한 추가적인 연구가 필요할 것으로 판단된다.

본 연구사업과 관련된 것으로 판단되는 해외연구사례를 정리해 보면 아래 표와 같으며 주기적인 추위 스트레스가 쥐 조직의 항산화 방어시스템에 미치는 영향, 추위에 노출된 어린 흰쥐의 열과 호흡조절에 관한 연구, 쥐모델에서 추위에 의해 유발된 산화적 damage에 관한 연구 등 국외에서는 추위가 동물모델에서 생체에 미치는 영향에 관한 연구를 구명한 연구결과가 보고되고 있다 그 내용을 간단히 살펴보면 흑한 또는 흑서와 같이 급격한 기후변화도 일종의 스트레스원으로 작용될 가능성이 높으며 이러한 스트레스는 거식증 또는 급격한 체중 감소를 유발시킬 수 있는 것으로 보고되어 있다. Taché 등의 연구결과에서도 흰쥐를 대상으로 매일 6시간씩 42일간 추위에 노출시켰을 때 초기 28일간은 대조군과 유사한 체중 증가량을 나타내었으나 이후 약 13%의 유의적인 체중 증가량 감소가 나타남을 보고한 바 있다. 또한 어린 쥐의 경우 출생후 약 한달간 저온상태에 노출시켰을 때 정상 쥐에 비해 초기 2주간은 체중 증가율이 약간 감소하다가 1달 후에는 유의적인 수준에서의 체중감소가 있음이 보고된 바 있다. 앞서 이미 언급한 바와 같이 추위 등 주위 기후변화가 생체 항산화 시스템에 미치는 영향에 관한 연구로서는 주기적인 저온 처리시 뇌, 심장, 신장, 간 및 소장 등의 쥐 조직에서 MDA 함량이 유의적으로 증가하였다는 Kaushik 등이 연구한 결과가 보고된 바 있다. 또한 각 주요 장기별 항산화 물질과 효소들의 활성 변화를 살펴본 결과에서도 뇌와 소장에서는 xanthane oxidase의 활성이 증가되고, 모든 조직에서 총 SOD활성은 저하되며 catalase의 경우 신장에서는 유의적으로 증가하고 심장, 간, 소장에서는 감소함이 보고되었고 Glutathione peroxidase의 경우 뇌와 소장에서만 활성이 증가되고 glutathione reductase의 경우 심장, 간, 소장에서 활성이 급격히 낮아짐을 보고되었다. Venditti 등도 추

위노출은 쥐 간의 산화적 스트레스를 용의하게 하고 간의 산화적 손상을 유도하는 것으로 보고하였다.

이상의 연구결과들은 주로 추위와 같은 외부환경 변화가 생체에 어떤 영향을 미치는지 구명하는 데 집중되어 있으나 더 나아가 어떤 성분이나 소재를 활용해서 이러한 생체 변화를 방어해 줄 것인가에 대한 연구는 거의 전무한 상황이다. 따라서 본 연구사업에서 국내 대표 생약재인 인삼 및 몇가지 생약재, 이들을 이용한 생약재 조성물이 무더위에 노출된 생체에 어떤 영향을 미치는지 구명해 보는 것은 의미있는 연구로 판단되어진다.

연구수행 기관	연구개발의 내용	연구개발성과의 활용현황
Nagashaki Univ. Japan	heat stress가 세포의 gap junctional intercellular communication에 미치는 영향	Carcinogenesis(논문발표)
Postgraduate Institute of Medical Education and Research(India)	주기적인 추위 스트레스가 쥐 조직의 항산화 방어시스템에 미치는 영향	Clinica Chimica Acta
Univ. of Naples, Italy	추위 스트레스가 쥐간 미코콘드리아의 과산화수소 생성에 미치는 영향	Carcinogenesis(논문발표)
McGill Univ., Canada	추위에 노출된 어린 흰쥐의 열과 호흡조절에 관한 연구	Comparative Biochem. and Physiol.
Inonu Univ. Turkey	흰쥐 모델에서 추위에 대한 항상성반응에 adrenomedullin이 미치는 영향	Pathophysiology
Univ. de Leida, Spain	쥐모델에서 추위에 의해 유발된 산화적 damage에 관한 연구	International J. of Biochem. and Cell Biol.
Medical center Nijmegen, Netherlands	추위에 의한 쥐 renal arteries의 vascular 반응성에 미치는 영향	Cryobiology
Institute Biological Research, Yugoslavia	추위에 의한 쥐 renal arteries의 vascular 반응성에 미치는 영향	J. of Thermal Biology
US Army Research Institute of Environmental Medicine, USA	추위에 대한 nifedipine의 영향에 관한 연구	J. of Thermal Biology

## 제 3 장 연구개발 수행 내용 및 결과

### 제 1 절. 인삼과 생약재의 고온환경에 대한 방어효능 평가

#### 1. 서론

급격한 기후변화 등 급격한 기후 변화는 다양한 형태로 사람들의 건강에 영향을 미칠 수 있으며 이러한 경향은 더 커질 것으로 예상되고 있다. 최근 국내에서도 여름철 폭염이 빈번히 발생하고 있으며 이러한 폭염의 기간도 점점 더 증가하는 추세이다. 그러나 지구온난화로 인한 기후변화로 빈번히 발생하는 폭염(혹서), 열파에 의한 피해를 최소화하기 위한 노력은 주로 이산화탄소 방출량 규제, 산림보호 등 환경적인 측면에서 이야기되고 있으며 우리 생활과 밀접한 관계가 있는 식품의 섭취를 통한 신체 항상성 유지에 대한 관심이나 연구는 아직 많지 않다.

전통적으로 우리나라의 경우 이러한 폭염으로부터 신체를 방어하기 위해 다양한 여름철 보양식품을 섭취하여 왔으며 그 중에서도 가장 대표적인 것이 삼계탕이다, 삼계탕에서 닭고기와 함께 중요한 소재로 사용되어 온 고려인삼의 경우 우리나라를 대표하는 생약재로서 다양한 생리활성 성분과 그 효능이 알려지면서 국내외적으로 많은 관심과 연구의 대상이 되어왔다. 인삼의 대표적인 생리활성으로는 외부 환경에 대한 신체 항상성 유지 효능이 있다. 고려인삼의 복용과 체온과는 큰 상관관계가 없다는 기존의 일부 연구결과와 더불어 주기적인 고온 또는 저온 노출 등 급격한 외부환경 변화에 의해 혼란된 체내 내분비계, 면역계를 빠른 시간내에 정상화시켜주는 고려인삼의 신체 항상성 효과를 과학적으로 검증한 연구결과는 앞서 언급한 기후변화에 대한 방어용 기능성 식품으로서의 개발가능성을 보여주는 것으로 국내 고려인삼의 위상을 높일 뿐만 아니라 향후 급격한 기후 변화로 야기되는 폭염, 혹한 등에 대해 인한 인류의 건강

을 지키는 중요한 소재로서 활용가능성을 보여주는 것이라 판단되었다.

따라서 본 연구에서는 인삼과 더불어 앞서 언급한 전통식품에 사용되어 온 몇가지 생약재의 고온환경에 대한 신체 방어 효능을 평가하고 궁극적으로는 주기적이고 지속적인 고온환경에 대한 신체 방어효능을 나타내는 인삼 함유 생약재 조성물을 개발해 보고자 하였다.

## 2. 재료 및 방법

### 가. 재료

백삼(금산농협 2006년산, 1등급 30지), 홍삼(농협고려인삼 2006년산, 6년근, 소편) 등의 인삼 시료 및 가시오가피(국내산, 2007년산), 감초(중국산, 2006년산) 등의 생약재 시료는 시중에서 구입하여 사용하였다. 또한 가공식품 제조를 위한 사과농축액(고형물 함량 68%, 제이씨월드, 한국), 석류농축액(고형물 함량 65%, 영은산업, 한국), 고과당((주) 신동방 CP, 한국), 올리고당((주)CJ, 백설프 락토올리고당, 75°Bx, 한국), 구연산(대흥약품, 한국), 비타민 C(대흥약품, 한국), 함유 결정 포도당((주) 대상, 한국) 등은 시중에서 구입하여 사용하였다.

실험동물의 경우 5주령된 수컷 흰쥐(SLC, SD계)를 (주)중앙실험동물로부터 구입한 후 1주일간의 적응기간을 거친 뒤 실험에 사용하였으며 AIN-76 기본식이제조를 위한 주요 조성물들은 (주)중앙실험동물(한국)에서 구입하여 사용하였다.

인삼의 주요사포닌 사포닌 Rb<sub>1</sub>과 Rg<sub>1</sub> 표준품의 경우 Wako Pure Chem. 사(Osaka, Japan)의 제품, 감초의 주요활성성분인 Glycyrrhizin 및 Glycyrrhizin 대사산물의 정량분석을 위한 표준물질인 Glycyrrhizin은 Wako Pure Chem. (Osaka, Japan)사의 제품을 사용하였다. 그 밖에 일반 성분 분석 및 HPLC, TLC 분석용 시약은 HPLC 급 또는 GR, EP 급의 시약을 사용하였다.

## 나. 방법

### (1) 인삼 함유 생약재 조성물의 조제

가시오가피 50~1000g (500g), 감초 5~100g (50g), 홍삼 또는 백삼 5~1000g (500g)을 중탕기에 넣고 시료량의 20배 이상의 물을 가수한 후 열탕으로 3시간씩 2~3회 추출하였다. 추출액은 여과포를 이용하여 1차 조여과한 후 (감압)농축기를 이용하여 80℃에서 고형물 함량 30~65%가 되도록 농축하여 인삼 함유 생약재 조성물을 제조하였다.

### (2) 주요 활성 성분분석

#### (가) 산성다당체

시료 2 g에 증류수 100 ml를 첨가하고 환류냉각장치를 이용하여 가열 추출한 다음 여과지(Whatman No 2)상에서 여과하고 100 ml로 하였다. 인삼 추출물을 0.45  $\mu\text{m}$  막필터로 여과한 후 산성다당체 분석을 위해 20 ml를 취하고 냉에탄올 80 ml를 첨가하여 다당체 성분을 침전시킨 후 4℃에서 10,000 g로 20분간 원심분리하여 침전물을 얻었다. 이후 침전물을 일정량의 증류수로 현탁시킨 후 산성다당체 함량 분석을 위한 시료로 사용하였다. 산성다당체 함량은  $\beta$ -D-galacturonic acid를 표준물질로 하여 carbazole-sulfuric acid 방법으로 정량하였다.

#### (나) 총페놀 화합물

시료 2 g에 80% MeOH 50 ml를 가한 후 분쇄하고 열탕중에서 환류냉각장치를 부착시켜 가용성성분들을 추출하였다. 추출물은 여과지(Whatman No 2)상에서 여과한 후 감압 농축시키고 증류수 30 ml로 녹인 후 0.45  $\mu\text{m}$  막필터로 여과하여 총 페놀화합물 함량 분석을 위한 시료로 사용하였다. 총 페놀화합물 함량은 Folin-ciocalteu법에 따라 측정하였으며 이때 표준물질은 chlorogenic acid를 사용하였다.

#### (다) 조사포닌 함량 분석

시료 5 g을 정확하게 칭량하여 추출수기에 옮긴 다음 50 ml 수포화부탄올을 첨가하고 80℃에서 3시간 동안 3회 반복추출한 후 여과지(Whatman No 2) 상에서 여과하였다. 여액은 250 ml 분액여두에 옮기고 50 ml 증류수를 가한 후 세척하였다. 이후 부탄올 층을 항량을 측정된 농축수기에 옮겨 감압농축한 후 50 ml 에테르를 가하고 36℃에서 30분간 추출하여 지질 성분 등을 제거하고 남은 잔사를 105℃에서 30분간 건조한 후 얻어진 건고물의 중량을 측정하여 조사포닌 함량으로 하였다.

#### (라) 진세노사이드 조성 분석

앞서 조사포닌 함량 측정시 얻어진 건고물을 5 ml HPLC 용 메탄올로 녹여낸 후 0.45  $\mu\text{m}$  막필터로 여과하여 HPLC를 이용하여 사포닌 조성을 분석하였다. 이때 컬럼은  $\mu$ -Bondapak C18 컬럼(10  $\mu\text{m}$ , 3.9×300 cm, Waters)을 이용하였다. 검출기는 UV detector (203nm)를 사용하였으며 이동상은 물(A)과 acetonitrile(B)의 gradient system을 사용하였다. 용출조건은 A를 기준으로 80%(0분), 80%(10분), 68%(40분), 57%(50분), 20%(65분), 0%(70분)이었다. 이동상의 유속은 분당 1.0 ml이었으며 시료주입량은 20  $\mu\text{l}$ , 분석 온도는 상온이었다.

#### (마) 감초 Glycyrrhizin 분석

인삼 함유 생약재 조성물 또는 감초 추출물 시료를 일정량 취해 농축한 다음 농축물에 MeOH 을 적량 가하여 10분 동안 초음파 추출한 0.45  $\mu\text{m}$  filter를 이용하여 여과한 후 HPLC 분석을 실시하였으며 분석 조건은 아래 Table 1-1 과 같다.

Table 1-1. HPLC condition for glycyrrhizin analysis by HPLC

Column: Reverse-phase column ( $\mu$ -Bondapak C18, 300×39 mm)  
 Detector: UV 254 nm  
 Solvent: A; 2% Acetic acid, B; Acetonitrile  
 Run time: 65 min  
 Injection Volume: 20  $\mu$ l  
 Flow rate: 1.0 ml/min

Gradient table	
Time	A / B
0	80 / 20
5	80 / 20
50	20 / 80
55	80 / 20
65	80 / 20

### (3) 동물실험

#### (가) 실험식이

본 연구에서 사용된 기본 식이는 AIN-76 Rodent Purified Diet로서 아래 Table 1-2와 같은 조성으로 직접 제조하여 사용하였다. 인삼함유 생약재 조성물 투여군을 위한 식이는 기본식이와 동일한 조성을 사용하였으며 사료 조제시 사용되는 생수에 사료 1 Kg 당 약 인삼 함유 생약재 조성물 약 2.5 g을 첨가한 후 효능평가용 식이를 조제하였다.



Table 1-2. AIN-76 Rodent Purified Diet

Ingredients	Content(%)
Casein(feed grade CP 85%)	20.00
Corn starch	39.75
Dextrinized corn starch	13.20
Sucrose	10.00
Soybean oil	7.00
Cellulose(fiber)	5.00
Mineral mixture <sup>1)</sup>	3.50
Vitamin mixture <sup>2)</sup>	1.00
L-Cystine	0.30
Choline bitartrate	0.25

<sup>1)</sup> Contained per kg mixture ; CaHPO<sub>4</sub> 500 g, NaCl 74 g, K<sub>3</sub>C<sub>6</sub>O<sub>7</sub>·H<sub>2</sub>O 220 g, K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 52 g, MgO 24 g, 48% Mn 3.5 g, 17% Fe 6.0 g, 70% Zn 1.6 g, 53% Cu 0.3 g, KIO<sub>3</sub> 0.01 g, CrK(SO<sub>4</sub>)<sub>2</sub>·12H<sub>2</sub>O 0.55 g and sucrose.

<sup>2)</sup> Contained per kg mixture ; Thiamin-HCl 600 mg, Riboflavin 600 mg, Pyridoxine-HCl 700 mg, Nicotinic acid 3 g, Vit. A 400,000 IU(RetinyI acetate), Vit E(dL- $\alpha$ -Tocopheryl acetate) 5,000 IU, Vit. D<sub>3</sub> 2.5 mg, Vit. K 5.0 mg and sucrose

#### (나) 실험동물 및 실험 설계

생후 6주령된 S.D.계 흰쥐(195.1±10.2)를 공시하여 난피법으로 군당 10마리씩 배치하였으며 실험기간 중 온도는 20℃, 조명주기는 12시간, 물과 식이는 자유급이(ad libitum)하였다.

실험을 위한 처리군 크게 상온대조군(CR), 고온대조군(CH), 실험군로 나누어 수행하였다. 상온대조군의 경우 기본식이를 전 실험기간동안 투여하였으며 상온에서 사육하였다. 고온대조군의 경우 식이는 상온대조군과 동일하게 기본

식이를 전 시험기간 동안 투여하였으며 초기 4주는 상온에서 사육한 후 이후 2주간 매일 주기적으로 고온환경을 부가하였다. 반면 실험군의 경우 전 시험기간동안 시료가 함유된 기본식이를 투여하거나, 기본 식이와 함께 시료 추출물을 경구 또는 음수형태로 투여하였으며 고온대조군과 마찬가지로 초기 4주는 상온에서 사육한 후 이후 2주간 매일 주기적으로 고온환경을 부가하였다. 전체적인 실험설계는 Table 1-3과 같다.

**Table 1-3. Experimental design using rat**

Group (n=8~10)	1~4 Weeks	5~6 Weeks (Heat environment*)
CR (상온대조군)	Room temp. AIN 76A diet	Room temp. AIN 76A diet
CH (고온대조군)	Room temp. AIN 76A diet	Heat environment. AIN 76A diet
Sample 1 (시료투여군)	Room temp. AIN 76A diet + Sample 1	Heat environment. AIN 76A diet + Sample 1
Sample 2 (시료투여군)	Room temp. AIN 76A diet + Sample 2	Heat environment. AIN 76A diet + Sample 2
Sample 3 (시료투여군)	Room temp. AIN 76A diet + Sample 3	Heat environment. AIN 76A diet + Sample 3

고온 환경 부가를 위한 장치는 온도조절이 가능한 chamber에 공기 순환장치를 부착한 형태로 주)대한실험동물에서 자체 제작하여 사용하였으며 Fig. 1-1과 같다. 고온 환경 부가는 전체 실험기간인 6주중에서 5주부터 36~38℃(20%RH)에서 매일 5시간씩 14일간으로 부가하였다. 고온환경 부가기간중 실험동물에 노출된 외부 온도의 변화를 기록한 그림은 Fig. 1-2와 같다. 기기적인 한계로 정확한 온도 조절은 힘들었지만 대체로 체온과 유사하거나 약 1~2℃ 높은 고온환경이 주기적으로 부가되었음을 확인하였으며 총 모든 동물 실험에서

유사한 경향을 나타내었다.



Fig. 1-1. Instrument for heat environment.



Fig. 1-2. Temperature changes during heat environment expose.

(다) 체중증가량 측정

실험동물의 체중은 매주 1회 측정하였으며 측정 하루 전 12시간정도 절식 시킨 후 체중을 측정하였다.

#### (라) 식이 섭취량 및 음수량

실험동물이 식이 섭취량 및 음수량은 매주 1회 측정하였으며 측정 하루 전 12시간 절식시킨 후 식이섭취량과 음수량을 측정하였다.

#### (마) 장기무게

실험동물인 흰쥐를 희생시킨 후 복부를 개복하고 간, 비장 및 신장 (뇌, 폐, 고환) 등을 적출하였으며 장기주위의 지방조직을 제거한 후 무게를 측정한 후 체중에 대한 장기 무게 비율을 계산하여 나타내었다.

#### (바) 간 중의 MDA 함량

간의 지질과산화물 살피보기 위하여 간 조직 중의 malondialdehyde 양을 thiobarbituric acid reactants substances(TBARS) 방법을 이용하여 다음과 같이 측정하였다.

간 조직 1 g을 정확하게 취한 후 0.01M sodium phosphate buffer(pH 7.0)을 9 ml 첨가한 후 균질기를 이용하여 분쇄하였다. 간 균질액 3 ml를 정확히 취한 후 1% phosphoric acid 3 ml와 0.6% TBA 용액 1 ml를 첨가한 후 95℃에서 1시간동안 반응시켜 발색시켰다. 반응액에 butanol 4 ml를 첨가하여 교반하고 2000 xg에서 15분간 원심분리한 후 butanol 층을 취하여 535nm에서 흡광도를 측정하였다. Malondialdehyde 표준용액을 이용하여 작성한 표준곡선을 이용하여 시료액 중의 malondialdehyde 함량을 구하였다.

#### (4) 통계분석

동물실험으로 얻어진 결과들은 SAS (Statistical Analysis System 1996) 8.0 프로그램을 이용하여 고온환경 대조군과 시료투여군 간의 통계적 유의성을 t-test로 검증하였다.

### 3. 결과 및 고찰

#### 가. 시료의 선정 및 추출물 조제

##### (1) 시료의 선정

본 연구 사업에서는 우선 고려인삼을 주요 시료로 선정하였으며 삼계탕의 주원료로 사용되는 저년근(4년근) 수삼과 대표적인 인삼제품인 홍삼을 시료로 선정하여 사용하였다. 아울러 일부 삼계탕 원료로 사용되는 생약재 소재 및 더위를 먹었을 때나 더위로 인한 원기저하, 식욕부진 등에 전통적으로 이용되어 온 전통 탕류들 - 이향산, 육화탕, 여곽탕, 생맥산, 청서익기탕, 삼귀의원탕, 보중익기탕 - 을 검토하여 사용 빈도가 높고 식품소재로 활용가능한 생약재 4~5종을 추가로 선정하여 실험에 사용하였다. 참고적으로 여름철 보양식으로 주요 사용되어 오던 전통 탕류제품 및 주요 생약재 소재들은 아래 Table 1-4와 같다.

Table 1-4. 여름철 보양용 전통 탕류제품 및 사용된 천연물 소재

전통탕류	주요 생약재
이향산	향부자, 향류, 소엽, 진피, 창출, 후박, 백편두, 감초, 생강 등
육화탕	향수, 후박, 적복령, 곽향, 백편두, 목과, 축사, 반하, 향인, 인삼, 감초
여곽탕	곽향, 소엽, 백지, 대복피, 백복령, 후박, 백출, 진피, 반하, 길경, 감초 등
생맥산	맥문동, 인삼, 오미자
삼귀의원탕	당귀, 백작약, 숙지향, 백복령, 맥문동, 진피, 황백, 인삼, 감초, 오미자 등
보중익기탕	황기, 인삼, 백출, 감초, 당귀신, 진피, 승마, 시호

## (2) 추출물 조제

동물실험을 위한 시료로 인삼 등 생약재 열수 추출물을 사용하였다. 인삼 등 생약재 시료들의 알려진 섭취량 등을 고려하여 적량의 시료를 취한 후 20배 중량의 열수로 2회 반복 추출하고 여과, 농축한 후 일정량의 생수에 현탁하거나, 사료 제조시 첨가 또는 음수에 희석하여 동물실험용 시료용액으로 하였다. 다만 백삼과 홍삼농축액의 경우 별도의 추출공정을 거치지 않고 희석하여 사용하였다. 본 실험에서 선정된 시료의 어떤 성분이 고온환경에 대한 방어효능을 나타내는지에 대한 구명은 본 연구개발의 범위가 아니지만 이들 시료중의 기존 활성성분 함량을 간단히 살펴보고자 하였다. 본 연구에 사용된 각 시료의 열수 추출시의 수율 및 각 시료의 주요 생리활성 함량을 분석한 결과는 Table 1-5와 같다.

열수로 추출된 고형물양을 측정하여 나타낸 건물 수율의 경우 인삼분말들은 51.3~56.7%로 높게 수율을 나타내었으며 백삼 에탄올 추출박의 경우 15.3%의 고형물 수율을 나타내었다. 반면 생약재들의 경우 가시오가피가 가장 낮은 6.3%, 오미자가 가장 높은 34.2%의 수율을 나타내었다.

버섯이나 인삼 등에서 많이 연구되었으며 면역활성, 항종양활성, 항게양작용 등 최근 다양한 생리활성에 대한 연구가 진행되고 있는 산상다당체의 경우 홍삼농축액 9.24%를 비롯하여 인삼류에서 2.91~7.58%로 높게 나타났으며 백삼 주정 추출박에서도 5.79%로 비교적 높은 함량을 나타내었다. 반면 가시오가피를 비롯한 생약재들의 경우에는 0.48~1.90%의 함량을 나타내었다. 항산화활성, 항암활성 등의 생리활성이 보고되고 있으며 대부분의 생약재에서 주요 활성 성분으로 인식되고 있는 페놀화합물의 경우 인삼 농축액류가 비교적 높은 함량을 나타내었고 감초가 2.46%의 총페놀 화합물량을 나타내었다. 그 밖의 시료에서는 1% 미만의 함량을 나타내었다. 반면 인삼의 주요활성 성분인 조사포닌의 경우 인삼시료에서 3.58~5.58%, 인삼 농축액의 경우 7.00%정도의 함량을 나타내었으며 백삼 주정 추출박에서는 0.15%로 미미한 함량을 나타내었다. 감초의 주요 지표성분으로 알려져 있는 글리시리진의 경우 0.485%의 함량을 나타내었다.

Table 1-5. Biocative components contents of ginseng and medicinal herbs

(%)

Sample	Yield	A.P. <sup>1)</sup>	Total phenolics	Crude saponins <sup>2)</sup>	Glycyrrhizin <sup>3)</sup>
<i>Acanthopanax senticosus</i>	7.7	0.48±0.02	0.58±0.01	-	-
Glycyrrhizae Radix	31.2	1.78±0.00	2.46±0.07	-	0.485
White Ginseng Conc.	62.5	3.52±0.19	4.61±0.04	7.00	-
Red ginseng Conc.	65.3	9.24±0.32	4.49±0.04	7.00	-
Schixandrae Fructus	34.2	1.27±0.05	0.74±0.00	-	-
Astragali Radix	16.4	1.90±0.05	0.43±0.00	-	-
White ginseng pwder	40.8	2.91±0.37	0.64±0.01	4.22	-
Fresh ginseng powder	56.7	6.31±0.29	0.93±0.02	3.54	-
Red ginseng pwder	51.3	7.58±0.38	0.92±0.07	5.58	-
White ginseng residues	15.3	5.79±0.40	0.62±0.00	0.15	-

<sup>1)</sup> Acidic polysaccharides

<sup>2)</sup> Typical active components of Korean ginseng

<sup>3)</sup> Typical active components of Glycyrrhizae Radix

#### 나. 인삼 및 감초추출물의 고온환경에 대한 방어효능 평가

우선 1차적으로 수삼과 홍삼등의 인삼과 대표적인 생약재중에 하나인 감초의 효능을 평가해 보았다.

실험동물로는 생후 5주령된 S.D.계 흰쥐를 공시하여 난괴법으로 군당 8~10마리씩 상온(CR), 고온대조군(CH) 및 수삼(FG), 홍삼(RG)투여군 및 감초(GR) 투여군으로 배치하고 앞서 이미 언급한 실험방법에 따라 고온환경에 대한 생체 방어효능을 평가해 보았다.

이를 위하여 수삼(안성, 4.5년근)과 홍삼(강화, 5년근)을 각각 60 g을 취하고 2회 반복 추출한 후 원심분리하여 상정액을 얻었으며 이를 감압농축한 후 생수

를 이용하여 600 ml로 정용하여 인삼 투여군에게 매일 1ml씩 경구투여 하였다. 감초의 경우에는 30 g을 취하고 인삼과 동일한 방법으로 추출, 여과, 농축, 정용하여 동물실험용 시료로 사용하였다.

우선 체중 증가률에 미치는 영향을 살펴보았으며 그 결과는 Table 1-6과 같다. 초기 고온환경 부가전 4주 동안의 체중 증가률은 35.2~36.9%의 주간 평균 체중 증가률을 나타내었다. 이러한 개체간의 차이는 시료의 특성에 기인한 것으로 판단되었으며 유의적인 차이는 아닌 것으로 판단하였다. 고온환경 부가 후 주당 평균 체중 증가률을 살펴본 결과에서는 상온대조군의 경우 8.6%의 평균 체중 증가률을 나타내었으나 고온대조군의 경우 2.6로 약 70% 수준정도 감소함을 알 수 있었다. 반면 수삼과 홍삼 추출물을 투여한 군에서는 2.9%와 3.3%의 체중 증가률을 나타내어 고온대조군에 비해 약 11.5~26.9% 높은 체중 증가률을 나타내었으나 개체간의 차이는 다소 높은 것으로 판단되었다. 반면 감초추출물 처리군의 경우 고온환경 부가에 의한 평균 체중 증가률 감소를 억제하는 효과가 나타났지만 인삼처리군에 비해서는 다소 낮은 효과를 나타내었다.



Table 1-6. effects of heat environment and ginseng, glycyrrhizae Radix extracts on growth rate in rat

Group <sup>1)</sup> (n=10)	1st phase (4 wks)		2nd phase (2 wks)	
	Initial wt. (g)	Ave. body weight(%) <sup>2)</sup>	Initial wt. (g)	Ave. body weight(%) <sup>1)</sup>
CR	174.9± 7.4	36.5± 2.4	316.0±15.6	8.6± 0.3
CH	171.0± 7.4	36.0± 1.5	300.5±14.8	2.6± 1.6
FG	176.2± 8.8	36.9± 3.2	314.4±19.3	2.9± 1.8
RG	172.2± 10.1	35.2± 3.8	303.1±26.2	3.3± 1.1
GR	176.9± 7.1	35.7± 3.6	312.8±20.9	2.6± 0.7

<sup>1)</sup> CR : Room temperature control, CH : Heat environment control, FD : Fresh ginseng ext., RG : Red ginseng ext., GR : Glycyrrhizae Radix.

<sup>2)</sup> Average growth rate per week

고온환경 부가전후 및 인삼과 감초 추출물 투여시의 식이섭취량 및 음수량 변화를 살펴본 결과는 Table 1-7와 같다.

고온환경전 평균 식이섭취량과 음수량은 26.0~27.5 g/day, 33.4~34.5 ml/day로 개체간의 차이를 고려해 볼 때 군당 큰 차이를 나타내지 않았다. 반면 고온환경 부가후에 고온대조군(CH)의 식이섭취량은 상온대조군에 23.1 g/day에 비해 크게 감소하여 16.4 g/day의 식이섭취량을 나타내었으며 음수량은 2배 정도 증가하는 경향을 나타내었다. 반면 수삼과 홍삼추출물 및 감초 추출물을 투여한 군의 경우 17.2~18.3 g/day의 식이섭취량을 나타내어 고온환경 부가에 따른 식이섭취량 감소를 다소 억제시키는 경향을 확인할 수 있었으며 이는 앞서 체중증가를 감소 억제 효과와 관련 있을 것이라 판단되었다. 반면 음수량에는 고온처리군과 유사한 경향을 나타내어 큰 영향을 미치지 못하는 것으로 판단되었지만 육안으로 관찰시 고온환경에 노출된 군들의 경우 더위를 식이기 위해 물을 몸에 묻히는 경향이 자주 발견되어 정확한 음수량 변화를 측정하기에 다소 어려움이 있었다.

Table 1-7. Effects of heat environment and ginseng, glycyrrhizae Radix extracts on diet and water uptake in rat

Group <sup>1)</sup> (n=10)	1st phase (4 wks)		2nd phase (2 wks)	
	Diet (g/day)	Water(ml/day)	Diet (g/day)	Water(ml/day)
CR	27.4±2.6	34.1±2.1	23.1±0.9	36.5±1.4
CH	26.0±2.1	34.5±3.1	16.4±1.8	58.1±0.0
FG	27.0±2.7	33.8±3.1	17.2±1.9	57.9±0.6
RG	26.0±2.2	34.1±2.8	18.3±3.7	58.8±1.8
GR	27.5±2.1	33.4±2.8	17.7±1.3	59.6±1.8

<sup>1)</sup> CR : Room temperature control, CH : Heat environment control, FD : Fresh ginseng ext., RG : Red ginseng ext., GR : Glycyrrhizae Radix.

고온환경 부가에 따른 혈액성분 변화와 인삼 및 감초추출물 투여에 따른 효과를 살펴보기 위하여 실험종료일에 혈액을 채취하고 적혈구(RBC) 수, 백혈구(WBC) 수, 혈색소(hemoglobin) 양 및 hematocrit 함량을 살펴본 결과는 Table 1-8과 같다.

고온환경 부가에 따라 백혈구수는 6.3 K/ $\mu$ l에서 6.7 K/ $\mu$ l로 약간 증가하는 경향을 나타내었으며 적혈구수는 8.7 K/ $\mu$ l에서 9.3 K/ $\mu$ l로, hemoglobin 수는 15.8 g/dl에서 16.8 g/dl로, hematocrit 함량은 43.6%에서 45.9%로 다소 증가하였다. 이전의 선행연구에서는 고온환경 부가에 따라 특히 백혈구수가 다소 증가하는 결과를 얻은바 있었으나 전체적으로는 뚜렷한 유의성을 찾기가 다소 어려웠다. 인삼과 감초 추출물을 투여한 경우를 살펴보면 3개의 시료투여군 모두에서 고온환경 부가에 따른 혈액성분 변화를 억제하고 정상군(상온대조군)과 유사한 혈액성분 조성을 나타내어 본 연구에서 시험한 인삼 및 감초 추출물이 고온환경과 같은 외부 환경변화에 따른 혈액성분 변화를 일정수준 억제해 주는 것

으로 판단되었다.

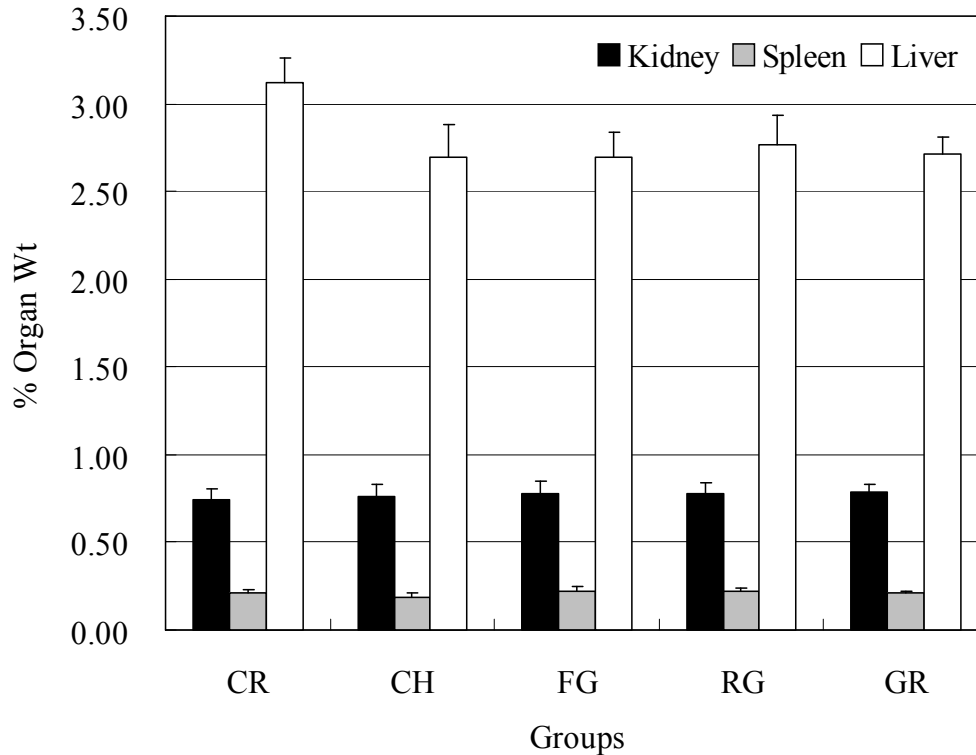
Table 1-8. Effects of heat environment and ginseng, glycyrrhizae Radix extracts on blood components in rat

Group <sup>1)</sup>	WBC K/ $\mu$ l	RBC K/ $\mu$ l	Homoglobin g/dl	Hematocrit %
CR	6.3 $\pm$ 1.0	8.7 $\pm$ 0.3	15.8 $\pm$ 0.5	43.6 $\pm$ 1.1
CH	6.7 $\pm$ 0.9	9.3 $\pm$ 0.4	16.8 $\pm$ 0.6	45.9 $\pm$ 1.6
FD	6.2 $\pm$ 0.6	8.9 $\pm$ 0.4	16.1 $\pm$ 0.8	44.2 $\pm$ 2.3
RG	6.1 $\pm$ 0.7	9.0 $\pm$ 0.5	15.8 $\pm$ 0.5	43.4 $\pm$ 1.6
GR	5.8 $\pm$ 0.7	9.1 $\pm$ 0.4	15.9 $\pm$ 0.5	43.8 $\pm$ 1.4

<sup>1)</sup> CR : Room temperature control, CH : Heat environment control, FD : Fresh ginseng ext., RG : Red ginseng ext., GR : Glycyrrhizae Radix.

고온환경 부가에 따른 주요 장기의 중량 변화를 전체 중중 대비 중량비로 살펴본 결과 및 인삼 및 감초 추출물 투여 효과를 살펴본 결과는 Fig. 1-3과 같다.

상온대조군에 비해 고온환경을 부가한 군의 경우 간과 비장의 중량은 다소 감소하고 신장은 약간 비대해지는 경향을 나타내었다. 그러나 신장과 비장의 경우 중량이 매우 작고 개체간의 차이를 고려할 때 정확한 차이를 구명하기 다소 어려움이 있었지만 간의 경우에는 상온대조군이 3.12%인데 비해 고온대조군은 2.70%로 상온대조군 대비 15%이상의 중량 감소를 나타내었다. 수삼 및 홍삼등 인삼추출물 투여군과 감초추출물 투여군의 경우 비장의 중량 감소를 다소 억제시키는 경향은 있었지만 간의 경우 이번 실험에서는 2.70~2.77%로 큰 고온대조군과 큰 차이를 나타내지 못하였다.

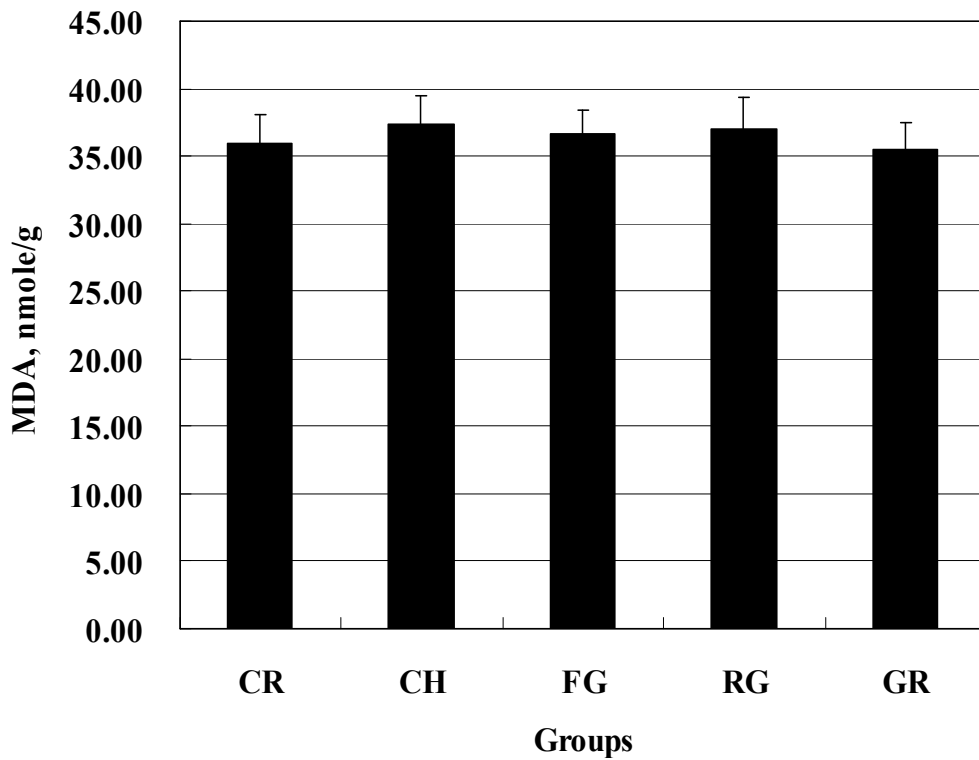


**Fig. 1-3. Effects of heat environment and ginseng, glycyrrhizae Radix extracts on blood components in rat.** Organ weights(%) = (organ weight/body weight) × 100. CR : Room temperature control, CH : Heat environment control, FD : Fresh ginseng ext., RG : Red ginseng ext., GR : Glycyrrhizae Radix.

고온환경 부가가 주요 장기중의 하나인 간의 지질과산화에 미치는 영향과 인삼과 감초추출물 투여가 미치는 영향을 살펴보기 위하여 MDA 함량을 측정 한 결과는 Fig. 1-4와 같다.

그 결과 고온환경을 2주간 부가한 고온대조군(CH)의 경우 간중의 MDA 함량이 36.0 nmole/g으로 상온대조군의 37.4 nmole/g에 비해 약 4% 정도 증가한 것으로 나타났다. 반면 수삼이나 홍삼을 투여한 군에서는 36.7~37.1 nmole/g의 MDA 함량을 나타내어 고온환경 부가군보다 낮고 상온대조군보다 약간 높은 간 중의 MDA함량을 나타내었다. 감초추출물 투여군의 경우에는 35.4 nmole/g

의 MDA 함량을 나타내어 가장 낮은 지질과산화 값을 나타내었다. 이러한 결과는 인삼 추출물이나 감초 추출물이 고온환경 부가에 따른 간의 산화적 스트레스를 일부 방어함을 나타내는 결과로 판단되었으며 전반적으로 고온대조군의 지질과산화 정도가 낮아 두렷한 경향을 파악하기에 다소 어려움이 있었다.



**Fig. 1-4. Effects of heat environment and ginseng, glycyrrhizae Radix extracts on lipid peroxidation of liver in rat.** CR : Room temperature control, CH : Heat environment control, FD : Fresh ginseng ext., RG : Red ginseng ext., GR : Glycyrrhizae Radix.

#### 다. 몇가지 생약재 추출물의 고온환경에 대한 방어효능평가

고온환경 부가에 따른 체중 증가를 감소, 식이섭취량감소, 혈액성분, 주요 장기변화, 및 간의 지질과산화 증가에 대한 몇가지 생약재 3종(황기, 오미자, 가시오가피 등 생약재 추출물의 방어효능을 앞서 인삼 및 감초 추출물의 효능평가와 동일한 방법으로 1차 실험과 동일한 방법으로 살펴보았다. 이들 생약재의 경우 대개 여름철 보양식 원료로 사용되거나 고전 문헌 등에서 더위를 극복하거나 여름철 갈증을 해소시켜주는 것으로 알려진 소재들이었다.

실험동물로는 생후 5주령된 S.D.계 흰쥐를 공시하여 난괴법으로 군당 10마리씩 상온 대조군(CR), 고온대조군(CH) 및 황기(HS), 오미자(OM), 및 가시오가피(GS) 투여군배치하여 앞서 이미 언급한 실험방법에 따라 고온환경에 대한 생체 방어효능을 평가해 보았다.

황기 100g, 오미자 및 가시오가피를 62.5g 각각 취하고 열수로 2회 반복 추출한 후 원심분리하여 상정액을 취하였으며 이를 감압 농축한 후 1000 ml 생수로 정용하여 동물실험용 시료로 사용하였으며 전 동물실험 기간인 6주 동안 매일 1 ml씩 경구투여 하였다.

우선 처리군별 주당 평균체중 증가를 검토해 본 결과는 Table 1-9와 같다. 고온환경 부가전인 4주 동안의 경우 상온대조군(CR)은 평균 43.1% 이었으며 고온대조군(CH)은 45.2%로 큰 차이가 없었다. 생약재 투여군들의 경우에도 40.6~42.7%로 상온이나 고온대조군에 비해 다소 낮은 체중 증가를 나타내었다. 이후 상온대조군을 제외하고 매일 5시간씩 2주동안 고온환경을 부가한 2기 실험 기간중에는 상온대조군이 11.7%의 평균체중 증가를 나타낸 반면 고온대조군의 경우 4.7%로 인삼이나 감초 추출물의 효능평가지와 유사하게 약 60% 정도의 체중 증가를 감소를 나타내었다. 생약재 추출물 투여군의 경우 황기와 오미자 추출물 투여군에서는 고온대조군보다 낮거나 유사한 4.4~4.9%의 체중 증가를 나타내어 고온환경에 의한 체중 증가를 감소를 방어하는 효능이 거의 없는 것으로 판단된 반면 가시오가피 투여군의 경우 5.8%의 평균 체중 증가를 나타내어 상온대조군에 비해 약 50% 정도 체중 증가가 감소하였으나 고온대조군에 비해서는 10% 이상 고온환경에 의한 체중 증가를 감소에 대한 방

어효능을 나타낸 것으로 판단되었다.

Table 1-9. Effects of heat environment and some medicinal herbs extracts on growth rate in rat

Group <sup>1)</sup> (n=10)	1st phase (4 wks)		2nd phase (2 wks)	
	Initial wt. (g)	Ave. body weight(%) <sup>2)</sup>	Initial wt. (g)	Ave. body weight(%) <sup>1)</sup>
CR	142.9± 6.8	43.1± 4.0	268.7±16.8	11.7± 0.3
CH	152.3± 5.9	45.2± 4.3	289.3±17.2	4.7± 1.4
HG	147.8± 6.7	40.9± 3.8	272.4±20.8	4.9± 1.7
OM	142.0± 8.2	40.6± 3.5	265.2±14.7	4.4± 0.5
GS	148.1±14.8	42.7± 5.9	281.6±30.3	5.8± 1.3

<sup>1)</sup> CR : Room temperature control, CH : Heat environment control, HG : Astrgali Radix ext., OM : Schixanfrae fructus ext., GS : *Ascnthopanax senticosus*

<sup>2)</sup> Average growth rate per week

고온환경 부가 전후의 식이섭취량을 살펴본 결과는 Table 1-10과 같다. 식이섭취량의 경우 고온환경 부가전 4주 동안은 전체적으로 23.1~25.5 g/day의 평균 사료 섭취량을 나타내었으며 앞서와 마찬가지로 생약재 추출물 투여군의 경우 오히려 다소 낮은 평균 식이섭취량을 나타내었다. 반면 고온환경을 부가한 2주간 평균 식이섭취량의 경우 상온대조군이 19.0 g/day의 평균 사료섭취량을 보인 반면 고온대조군의 경우 16.3 g/day로 약 15%정도 감소하였다. 생약재 투여군의 경우 오미자 추출물 투여군의 경우 16.6 g/day의 평균 식이 섭취량을 보여 고온대조군과 큰 차이를 나타내지 않은 반면 생약재 황기(HG)와 가시오가피(GS) 추출물을 투여한 군들의 경우 17.0, 17.5 g/day의 평균 사료 섭취량을 나타내 고온대조군에 비해 다소 증가한 경향을 나타내었다. 음수량의 경우 앞서 실험과 마찬가지로 고온환경 부가시에 약 2배 정도 증가하는 경향을 나타내었으며 생약재 추출물을 투여한 군들 역시 고온대조군과 유사한 음수량을 나

타내었다.

Table 1-10. Effects of heat environment and ginseng, glycyrrhizae Radix extracts on diet uptake in rat

Group <sup>1)</sup> (n=10)	1st phase (4 wks)	2nd phase (2 wks)
CR	24.4±2.8	19.0±2.6
CH	25.5±2.6	16.3±1.1
HG	23.6±1.6	17.0±1.9
OM	23.1±1.6	16.6±2.3
GS	24.1±3.3	17.5±2.1

<sup>1)</sup> CR : Room temperature control, CH : Heat environment control, HG : Astrgali Radix ext., OM : Schixanfrae fructus ext., GS : *Ascnthopanax senticosus*

고온환경 부가에 따른 주요 장기중 특히 간의 중량비 변화를 살펴본 결과 앞서 결과와 달리 상온대조군의 간 중량비가 2.85%인데 비해 고온대조군 역시 2.89%로 큰 차이를 나타내지 않았다. 이러한 차이는 동물실험의 특성상 개체 간의 차이로 판단되었다. 생약재 투여군의 경우 황기와 오미자의 경우 고온환경 부가시에 보여지는 간의 중량비 감소경향을 나타내어 2.75~2.77%의 간 중량비를 나타낸 반면 앞서 체중 증가를 및 식이섭취량 감소를 억제하는 효과를 일부 나타낸 가시오가피 추출물 투여군의 경우 2.87%로 상온대조군과 거의 유사한 값을 나타내었다.



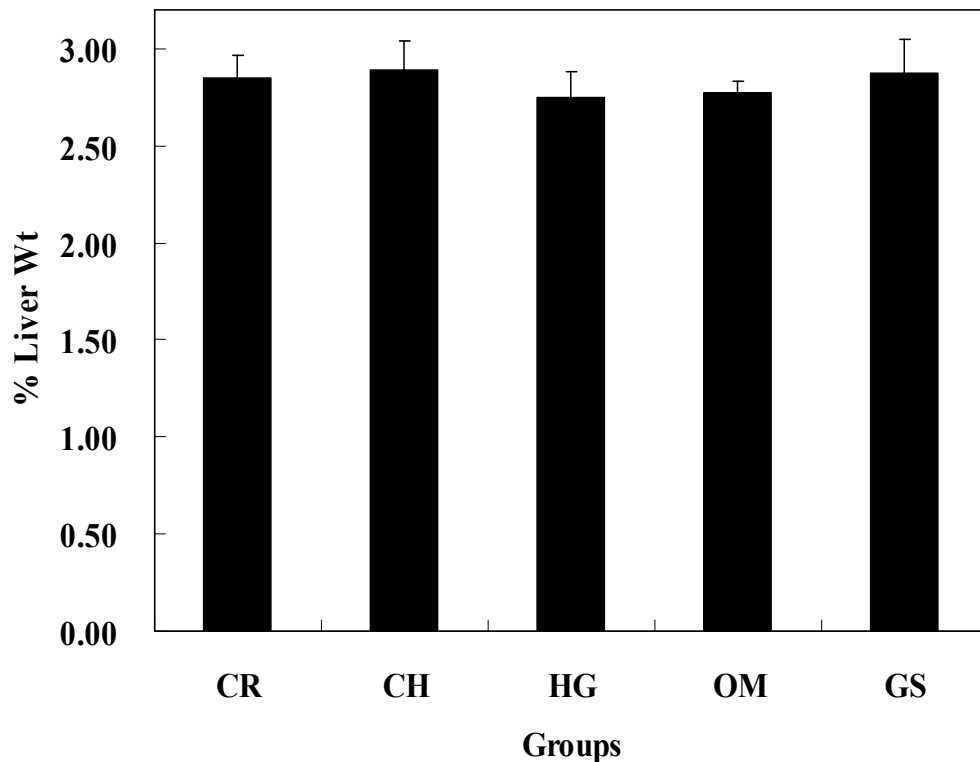
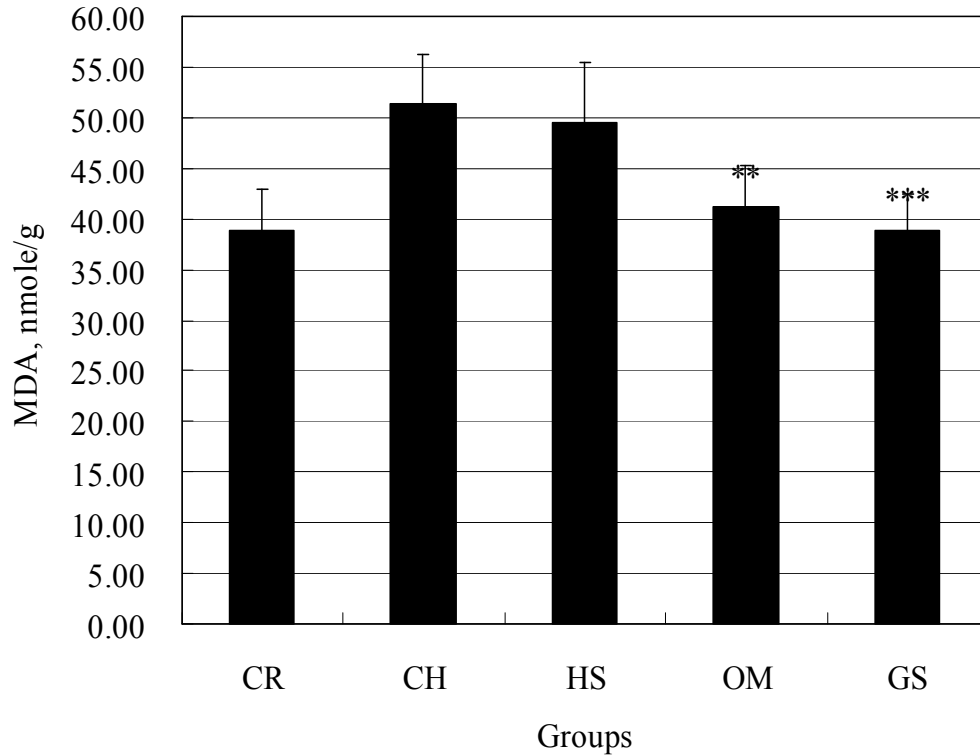


Fig. 1-5. Effects of heat environment and some medicinal herbs extracts on organ weights in rat. Organ weights(%) = (organ weight/body weight)×100. CR : Room temperature control, CH : Heat environment control, HG : Astrgali Radix ext., OM : Schixanfrae fructus ext., GS : *Ascnthopanax senticosus*

고온환경 부가에 따른 혈액성분 변화를 살펴본 결과에서는 초기 인삼 및 감초 효능평가지와 달리 백혈구수에 있어 고온환경에 부가에 따른 증가경향을 없었으며 오히려 다소 높은 백혈구수를 나타내었다. 반면 적혈구수와 혈색소 양에 있어서는 거의 유사하였다. 반면 오미자나 가시오가피 추출물 투여군의 경우 백혈구수 가 대조군들에 비해 낮은 값을 나타내었으며 적혈구수와 혈색소 양에 있어서는 큰 영향을 미치지 못하였다. 이러한 결과로 미루어 볼 때 혈액성분의 경우 개체간의 차이가 너무 커서 정확한 고온환경 부가에 따른 영향을 파악하기에 다소 어려움이 있으며 이후 추가적인 실험이 계속되겠지만 이를 고온

환경 부가에 따른 방어효능을 평가하는 지표로 사용하기에 다소 문제가 있는 것으로 판단되었다.

고온환경 부가에 따른 간의 지질과산화 정도를 비교해 본 결과는 Fig. 1-6 과 같다. 앞서 연구와 마찬가지로 고온환경을 지속적이고 주기적으로 부가시에 주요 장기인 간의 지질과산화가 많이 진행된 것으로 나타나 상온대조군의 경우 간 중의 MDA 함량이 35.8 nmole/g인 반면 고온대조군은 51.3 nmole/g으로 크게 증가하였다. 반면 생약재추출물을 투여한 군들의 경우 황기추출물 투여군은 49.5 nmole/g, 오미자 추출물 투여군은 41.2 nmole/g, 가시오가피 추출물 투여군의 경우 38.9 nmole/g의 MDA 함량을 나타내었다. 이상의 결과로 미루어 볼 때 오미자와 가시오가피 투여군의 경우 고온환경 부가로 인한 간의 지질과산화를 억제하는 효과가 있는 것으로 판단되었으며 특히 가시오가피 추출물의 효과가 뛰어난 것으로 판단되었다.



**Fig. 1-6. Effects of heat environment and some medicinal herbs extracts on lipid peroxidation of liver in rat.** CR : Room temperature control, CH : Heat environment control, HG : Astrgali Radix ext., OM : Schixanfrae fructus ext., GS : *Ascnthopanax senticosus*. \*\* P<0.05 vs CH group, \*\*\* P<0.01 vs CH group

#### 라. 전통 탕류의 고온환경에 대한 방어효능 평가

여름철 주로 많이 음용해 오던 전통 탕류중에서 구성 생약재 수가 작고 주로 식품원료로 사용가능한 생약재 소재로 구성된 생맥산을 선정하여 고온환경 부가에 따른 방어효능을 평가해 보았다. 생맥산의 경우 맥문동, 인삼, 오미자가 주요 생약재로 사용되며 이들을 함께 달인 후 마시면 갈증을 해소하는 데 도움이 된다고 알려져 있다. 또한 신방약합편(정도명 편집, 가림, 1996)에 의하면 더운 여름날 원기가 부족한 모든 증세를 다스리고 여름철 음료수 대용으로 정기를 보하여 지치지 않게 한다고 하였으며 여름에 더위를 먹었을 때, 위장이 약해

졌을 때, 심장이 약해졌을 때, 당뇨병, 식욕부진 등에 사용하는 것으로 알려져 있다. 또한 여기에 황기, 감초 함께 더하거나 황백을 함께 사용하면 힘이 생기고, 향수와 백편두를 더하면 더욱 좋고 성호탕과 합방에도 좋다고 기술되어 있다.

따라서 본 연구에서는 맥문동 18 g, 인삼 9 g, 오미자 9 g을 을 함께 열수 추출한 후 여과, 감압 농축하고 생수 600 ml로 정용하여 동물실험용 시료로 사용하였다. 실험동물로는 생후 5주령된 S.D.계 흰쥐를 공시하여 난괴법으로 군당 10마리씩 상온 대조군(CR), 고온대조군(CH) 및 생맥산 투여군(SMS)로 배치하여 앞서 이미 언급한 실험방법에 따라 고온환경에 대한 생체 방어효능을 평가해 보았다.

우선 체중증가률에 미치는 영향을 살펴본 결과에서는(Table 1-11) 상온대조군의 주당 평균체중 증가률은 상온대조군의 9.8%에 비해 고온대조군의 경우 4.2%로 약 57.1%정도 감소하였다. 생맥산 추출물을 투여한 실험군에서도 역시 3.5%의 주간 평균 체중 증가률을 나타내어 고온환경에 의한 체중 증가를 감소를 크게 개선시키지 못하는 것으로 나타났다.

Table 1-11. Effects of heat environment and traditional decoction (*Saengmaksan*) on growth rate in rat

Group <sup>1)</sup> (n=10)	1st phase (4 wks)		2nd phase (2 wks)	
	Initial wt. (g)	Ave. body weight(%) <sup>2)</sup>	Initial wt. (g)	Ave. body weight(%) <sup>1)</sup>
CR	160.6± 8.3	36.8± 2.7	282.8±19.3	9.8± 0.6
CH	157.6± 7.4	37.5± 2.7	283.8±12.0	4.2± 0.8
SMS	157.1±13.0	35.8± 3.5	278.1±23.7	3.5± 0.7

<sup>1)</sup> CR : Room temperature control, CH : Heat environment control, SMS: Traditional decoction (*Saengmaksan*) composed with Liriopsis Tuber, Korean ginseng and Schixanfrae fructus

<sup>2)</sup> Average growth rate per week

식이섭취량과 음수량에 미치는 영향을 살펴본 결과는 Table 1-12와 같다. 식이섭취량의 경우 고온환경 부가전에서는 3개의 실험군 모두 23.9~24.1 g/days로 유사한 값을 나타내었다. 고온환경 부가시 상온대조군의 경우 21.7 g/days의 평균 식이섭취량을 보인 반면 고온대조군의 경우 17.4 g/days로 약 19.8%의 식이섭취량 감소를 나타내었다. 전통탕류인 생맥산을 투여한 군의 경우에는 15.5 g/days의 평균 식이섭취량을 나타내어 오히려 고온대조군보다도 다소 낮은 값을 나타내었다. 평균 음수량의 경우에도 고온환경 부가시에 50.9 ml/days로 상온대조군의 40.0 ml/day에 비해 다소 높은 값을 나타내었으며 생맥산 투여시에도 고온대조군과 유사한 51.6 ml/day의 음수량을 나타내었다. 이상의 결과에서 생맥산의 경우 앞서 살펴본 바와 같이 고온환경 부가에 의한 체중 증가를 감소를 거의 방어하지 못할 뿐만 아니라 식이섭취량 감소를 방어하는 효능도 거의 나타나지 않았다. 또한 생맥산의 경우 여름철 갈증을 해소시켜 주는 탕류로 알려져 있으나 본 연구에서는 이에 대한 효능도 구명하지 못하였다.

Table 1-12. Effects of heat environment and ginseng, glycyrrhizae Radix extracts on diet and water uptake in rat

Group <sup>1)</sup> (n=10)	1st phase (4 wks)		2nd phase (2 wks)	
	Diet (g/day)	Water(ml/day)	Diet (g/day)	Water(ml/day)
CR	23.9±0.7	33.3±2.4	21.7±0.8	40.0±2.3
CH	24.0±0.9	33.0±2.4	17.4±0.4	50.9±4.0
SMS	24.1±2.4	32.3±2.5	15.5±1.3	51.6±5.7

<sup>1)</sup> CR : Room temperature control, CH : Heat environment control, SMS: Traditional decoction (*Saengmaksan*) composed with Liriopsis Tuber, Korean ginseng and Schixanfrae fructus

그 밖에 고온환경부가에 따른 혈액성분 변화나 장기중량 변화에 있어서도 생맥산의 경우 뚜렷한 효능을 판단하기 어려웠다. 다만 주요 장기중의 하나인 간의 지질과산화 정도를 살펴본 결과에서는(Fig. 1-7) 상온대조군의 48.6 nmole/g에 비해 고온대조군은 54.0 nmole/g으로 약 11% 정도 높은 MDA 함량을 나타내었으나 생맥산의 경우 50.4 nmole/g의 MDA 함량을 나타내어 약간의 고온환경에 의한 간의 지질과산화를 방어하는 것으로 나타났다. 이를 앞서 결과와 함께 검토해 볼 때 생맥산의 고온환경 부가에 대한 항산화 활성은 주요 성분인 인삼 및 오미자 등의 항산화 활성에 기인한 것이 아닌가 판단되었다.

이상의 결과로 미루어볼 때 일부 결과의 경우 실험동물 개체 및 실험차수 간의 차이로 비록 통계학적으로 유의한 결과를 얻지는 못하였으나 고온환경에 의해 유발되는 체중 증가를 감소, 식이 섭취량 감소 및 간의 지질과산화로 인한 MDA함량 증가 등에 대한 방어효능에 있어 홍삼, 감초, 가시오가피가 비교적 효과적인 효능을 나타낸다고 판단하였다. 반면 오미자 황기 또는 전통 탕류인 생맥산의 경우 일부 시험항목에서 약간의 효능을 나타내었으나 큰 영향을 미치지 못하는 것으로 판단하였다. 따라서 이후 연구에서는 전통생약재이면서 다양

한 성분 및 효능으로 전 세계적으로 잘 알려져 있는 홍삼을 주원료로 하고 감초와 가시오가피를 권장 섭취량이나 관능적인 특성을 고려하여 일정량 배합한 후 인삼함유 생약재 조성물을 조제하였으며 조성물과 조성물을 이용하여 조제한 가공제품의 효능을 평가해 보고자 하였다.

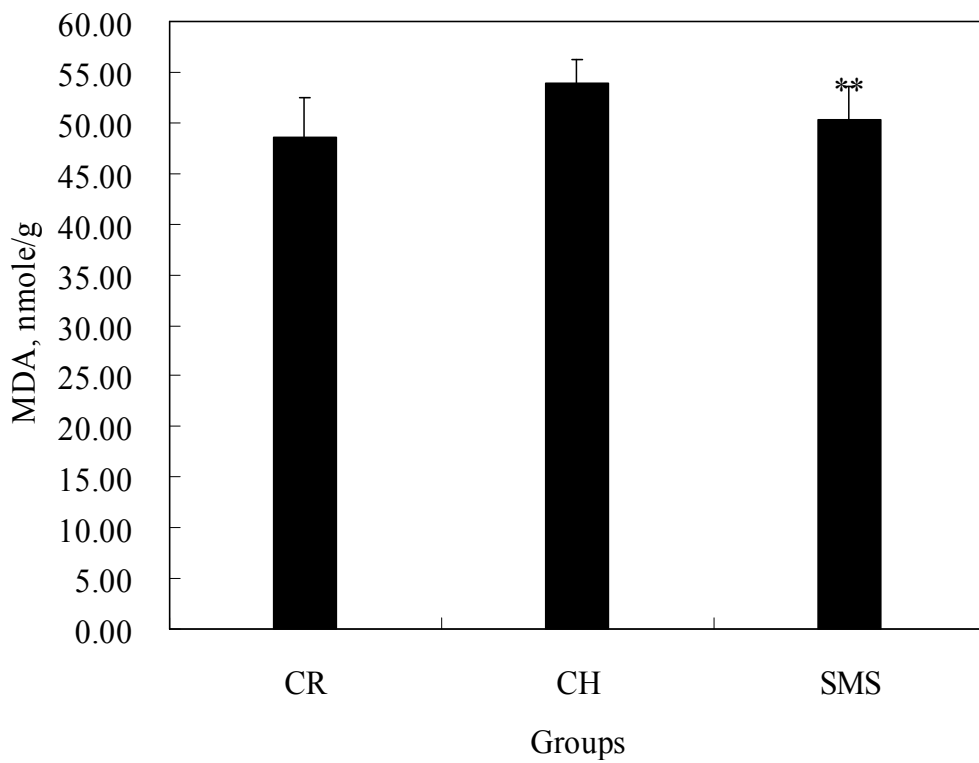


Fig. 1-7. Effects of heat environment and traditional decoction (*Saengmaksan*) on lipid peroxidation of liver in rat. \*\*  $P < 0.05$  vs CH group.

#### 마. 인삼함유 생약재 조성물의 고온환경에 대한 방어효능 평가

앞서 인삼과 생약재의 고온환경에 대한 방어효능 평가 결과를 근거로 하여 인삼 함유 생약재 조성물을 조제하고 고온환경에 대한 방어효능을 평가해 보고자 하였다. 이를 위하여 가시오가피 30 g, 감초 15 g을 추출한 다음 생약재 추출액과 홍삼농축액 6 g을 함께 일정액의 생수에 현탁하여 약 15 Kg의 기본사료 (AIN-76) 제조시에 첨가하여 실험동물에 투여하였다. 즉 사료 1 g 당 원시료 기준으로 가시오가피, 감초가 각각 2 mg, 1 mg 함유되고 홍삼농축액 기준 0.4 mg (홍삼분말 기준 약 0.8mg) 이 함유된 사료를 제조하였다.

실험동물로는 생후 5주령된 S.D.계 흰쥐를 공시하여 난괴법으로 군당 10마리씩 상온 대조군(CR), 고온대조군(CH) 및 인삼함유 생약재 조성물 (COM) 함유식이 투여군으로 배치하여 앞서 이미 언급한 실험방법에 따라 고온환경에 대한 생체 방어효능을 평가해 보았다.

고온환경 부가전후의 대조군과 실험군의 전체적인 체중 증가를 살펴본 결과는 아래 Fig. 1-8과 같다. 고온환경 부가전인 4주까지는 고온대조군이 다소 높은 체중 증가를 나타내었으나 3 처리군 모두 거의 유사한 체중 증가를 나타내었다. 그러나 이후 고온환경을 부가한 2주 동안에는 고온 대조군 및 인삼함유 생약재 조성물 투여군 모두 상온대조군과 다소 큰 체중 증가를 차이를 나타내었다. 상온대조군의 경우 이전과 거의 유사한 체중 증가 경향을 나타낸 반면 고온대조군의 경우 5주에는 거의 정체된 체중 증가를, 6주에는 오히려 감소한 체중 증가를 나타내었다. 인삼 함유 생약재 조성물을 투여한 군의 경우 상온대조군 같은 체중 증가 증가 경향은 아니었지만 약간의 체중 증가를 계속해서 나타내는 경향이였다.



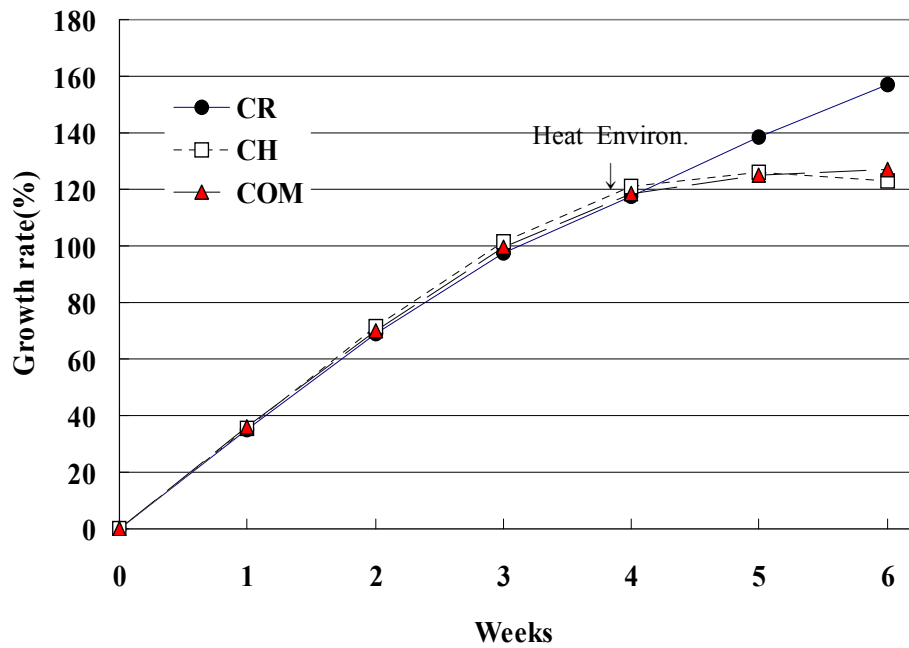


Fig. 1-8. Effects of medicinal herbs composite (COM) on growth rate.

인삼 함유 생약재 조성물의 고온환경 부가에 대한 체중 증가를 감소 억제 효과를 보다 정확히 살펴보기 위하여 고온환경 부가전 4주간의 주당 평균 체중 증가율과 이후 고온환경을 부가한 후 2주간의 주당 평균 체중 증가율을 비교하여 살펴본 결과는 Fig. 1-9와 같다.

주기적으로 고온환경에 노출된 고온대조군의 고온환경 부가전 평균체중 증가율은 30.2%로 상온대조군의 29.4%와 거의 차이가 없었으며 생약재 조성물 투여군 역시 29.6%로 큰 차이를 보이지 않았다. 이후 2주간의 주당 평균 체중 증가율의 경우 고온대조군이 8.7%인데 비해 고온대조군은 1.2%로 상온대조군에 비해 약 86% 정도 낮은 평균 체중 증가율을 나타내었다. 반면 인삼 함유 생약재 조성물을 투여한 군의 경우 2.2%로 상온대조군보다는 낮지만 고온대조군에 비해 약 12%의 체중 증가를 감소를 방어하는 효능을 나타내었다. 이러한 결과는 본 연구에서 조제한 인삼 함유 생약재 조성물의 경우 정상쥐와는 다소 차이가 있으나 주기적인 고온환경 부가에 따른 체중감소를 일부 방어해 줌을 나타

내는 결과로 판단되었다.

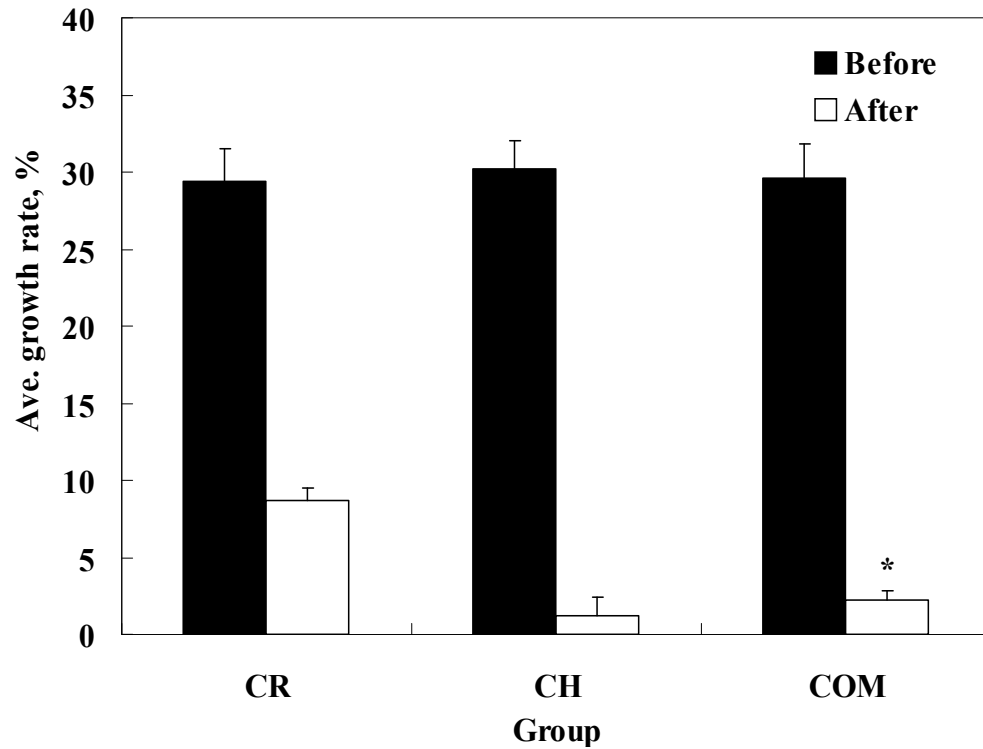


Fig. 1-9. Effects of heat environment and medicinal herb composite (COM) on growth rate in rat. \* P < 0.10 vs CH group

고온환경 부가에 따른 평균 식이섭취량 및 음수량 변화를 살펴본 결과는 Fig. 1-10 및 Fig. 1-11과 같다.

우선 식이섭취량의 변화를 살펴보면, 상온대조군의 경우 고온환경 부가전, 후에 각각 27.3 g/day와 23.7 g/day 이었으며 고온환경 부가군의 경우에는 각각 28.1 g/day와 15.0 g/day로 본 연구에서는 고온환경 부가시 약 36.7 %의 식이섭취량 감소를 나타내었다. 반면 인삼 함유 생약재 조성물을 섭취한 경우에는 고온환경 부가전에는 28.7 g/day로 대조군과 거의 유사하였으나 고온환경 부가시에는 약 17.6 g/day의 식이섭취량을 나타내었다. 이러한 결과는 고온경부가시에 상온대조군에 비해 약 25.7%의 식이섭취량 감소를 나타낸 것으로 고온대조

군에 비해서는 체중 증가율과 유사하게 11% 정도 식이섭취량의 감소를 억제한 것으로 나타났다.

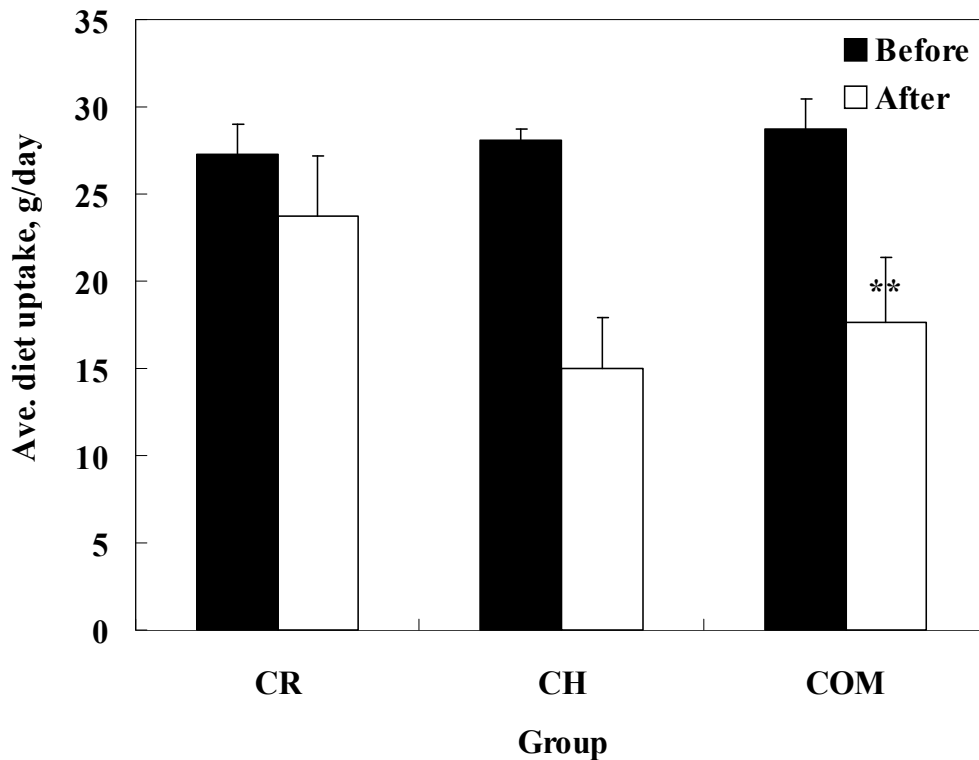


Fig. 1-10. Effects of heat environment and medicinal herb composite (COM) on average diet uptake in rat. \*\*  $P < 0.05$  vs CH group

음수량의 경우, 상온대조군의 경우 고온환경 부가전, 후에 각각 34.8 ml/day와 26.9 ml/day이었으며 고온대조군에서는 고온환경 부가전후에 36.9 ml/day와 52.5 ml/day이었다. 즉 고온환경 부가전에는 음수량에 큰 차이를 보이지 않으나 고온환경 부가시에 약 95.2%의 음수량 증가를 나타내었다. 반면 인삼 함유 생약재 조성물을 섭취한 경우에는 고온환경 부가전에는 31.9 ml/day로 대조군과 거의 유사하였으나 고온환경 부가시에는 약 45.0 ml/day로 음수량이 증가하는 경향을 나타내었다. 이러한 결과는 고온경부가시에 상온대조군에 비해 약 67.2%의 음수량 증가를 나타낸 것이므로 고온대조군에 비해 45% 정

도 음수량 증가를 억제한 결과이었다.

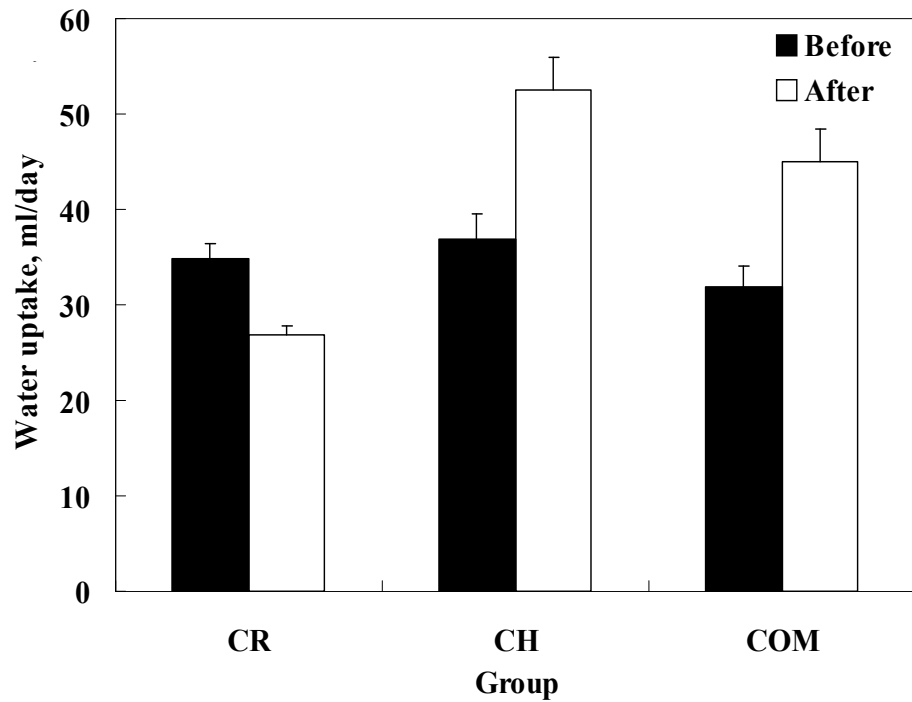


Fig. 1-11. Effects of heat environment and medicinal herb composite (COM) on average water uptake in rat.

고온환경 부가에 따른 간, 비장, 신장 등의 주요 장기 변화를 전체 체중에 대한 중량비의 변화로 측정하여 살펴본 결과는 아래 Fig. 1-12과 같다.

전체적으로 주기적인 고온환경 부가에 따라 간의 중량비는 2.78%에서 2.67%로, 비장은 0.2%에서 0.17%로 줄어드는 경향이었고 신장은 오히려 0.68%에서 0.72%로 증가하는 약간 경향이였다. 반면 본 연구에서 개발한 인삼함유 생약재 조성물 투여군의 경우 비장에는 큰 영향을 미치지 못하였으나 간은 2.79%, 신장은 0.70%로 간 중량비의 경우 상온대조군과 거의 유사하였으며 신장 중량비는 고온환경에 따른 중량 감소를 일정부분 감소시켜주는 효과를 나타내었다.

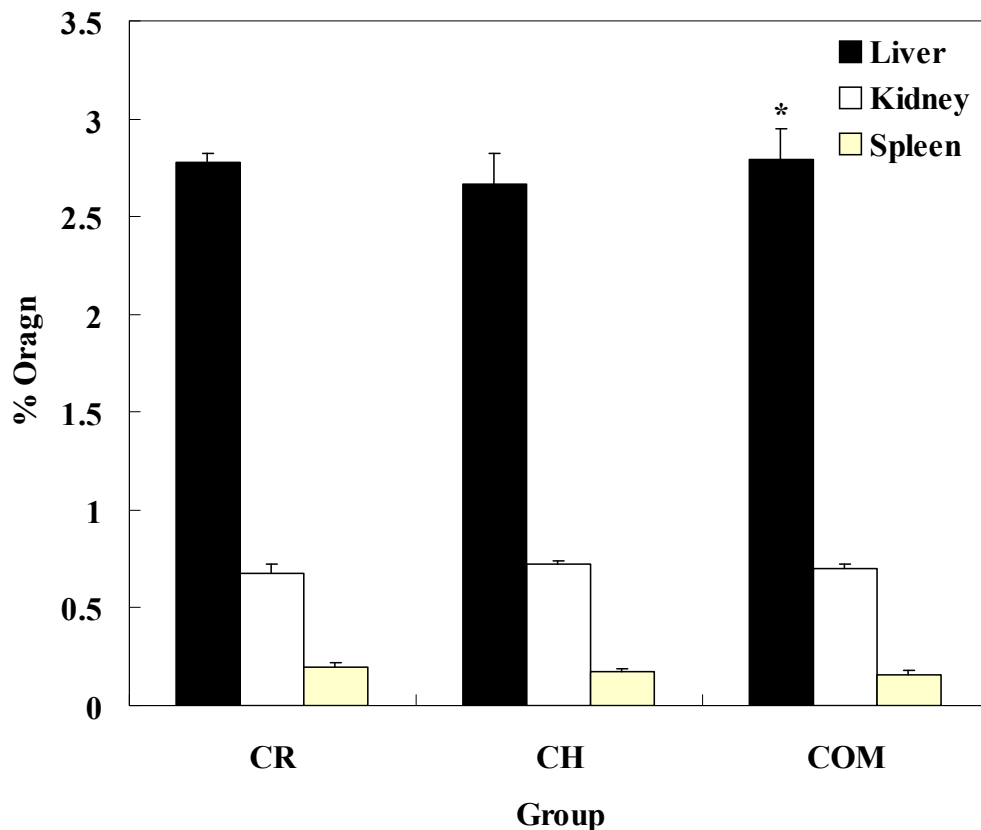


Fig. 1-12. Effects of heat environment and medicinal herb composite (COM) on organ weights in rat. \*\* P < 0.10 vs CH group.

간의 중량 감소를 억제하는 효과와 함께 고온환경 부가에 따른 주요 간의 산화적 스트레스 즉 지질 과산화를 억제시키는 효과를 간 중의 MDA 함량 변화로 살펴본 결과는 Fig. 1-13과 같다.

주기적으로 고온환경에 노출된 흰쥐의 경우 간의 MDA 함량이 28.3 nmole/g으로 상온대조군의 22.4 nmole/g에 비해 26% 정도 높은 MDA 함량을 나타내어 주기적인 고온환경 부가에 의해 간의 지질과산화가 진행되었음을 다시 한번 확인할 수 있었다. 반면 인삼 함유 생약재 조성물을 투여한 실험군의 경우 20.6 nmole/g으로 고온환경 부가에 의한 간의 지질 과산화가 거의 억제되었을 뿐 만 아니라 인삼 및 기타 함유된 생약재 성분의 항산화 효과로 상온대조군 보다도 오히려 낮은 지질과산화 정도를 나타내었다.

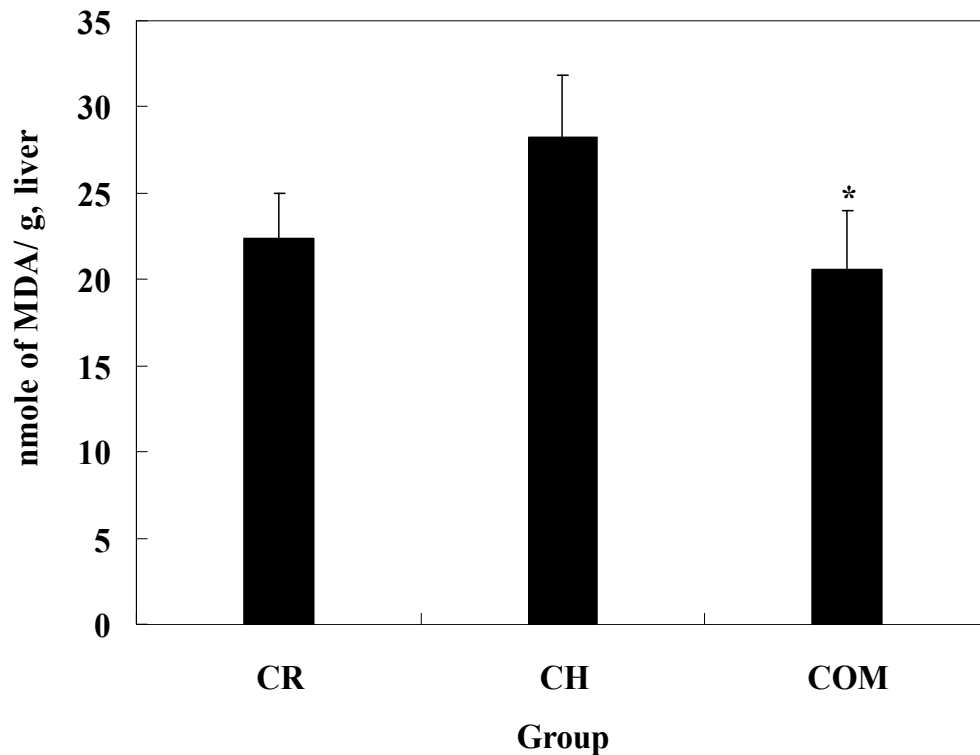


Fig. 1-13. Effects of heat environment and medicinal herb composite (COM) on lipid peroxidation of liver in rat.

인삼 함유 생약재 조성물을 이용한 고온환경 방어효능 평가실험에서 고온 환경에 의한 백혈구수, 적혈구수 및 혈색소 등의 함량 변화는 거의 없었으며 생약재 조성물 투여군의 경우에도 이와 유사한 결과를 나타내었다.

인삼의 경우 시장가격이 비교적 높은 편이므로 고기능성 식품소재로 주로 사용되고 있다. 따라서 본 연구에서는 인삼 대신 인삼을 추출하고 남은 인삼박을 대신 사용하여 인삼박 함유 생약재 조성물(COM2) 조제해 보았으며 이에 대한 고온환경에 대한 방어효능을 검토해 보았다.

앞서 이용한 홍삼 대신 인삼박 60 g, 가시오가피 30 g, 감초 15 g을 취한 후 열수로 3회 반복 추출한 후 원심분리하여 상정액을 취하였으며 이를 감압

농축한 후 600 ml 생수로 정용하여 동물실험용 시료로 사용하였으며 동물실험 기간인 6주 동안 매일 1 ml씩 경구투여하였다. 실험동물로는 생후 5주령된 S.D.계 흰쥐를 공시하여 난피법으로 군당 10마리씩 상온 대조군(CR), 고온대조군(CH) 및 인삼박 함유 생약재 조성물 (COM2) 투여군을 나누어 배치하고 앞서 이미 언급한 실험방법에 따라 고온환경에 대한 생체 방어효능을 평가해 보았다.

고온환경 부가전후의 대조군과 실험군의 전체적인 체중 증가를 살펴본 결과는 아래 Fig. 1-14와 같다.

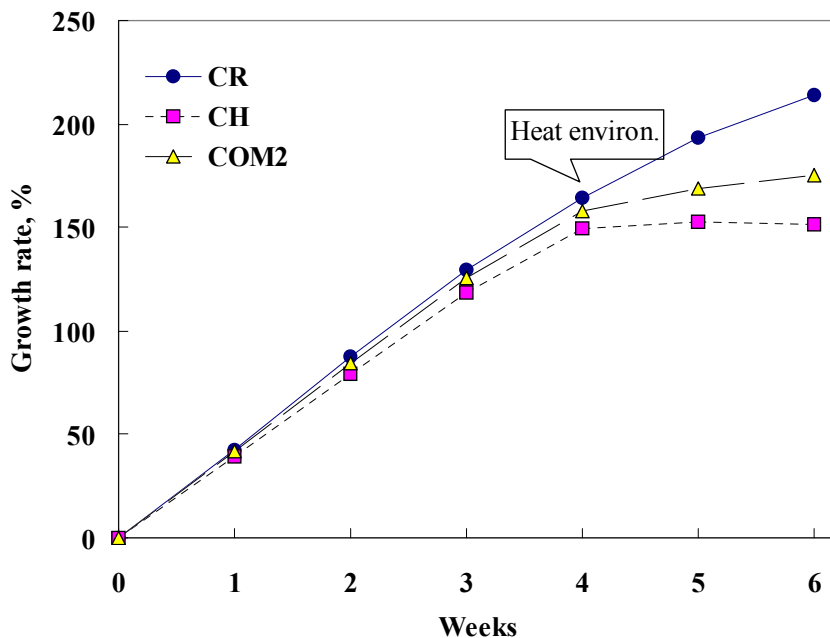


Fig. 1-14. Effects of medicinal herbs composite 2 (COM2) on growth rate.

고온환경 부가전인 4주까지는 상온대조군, 인삼박 함유 생약재 조성물 (COM2) 투여군, 고온대조군군의 체중 증가를 나타내었으나 그 차이가 크지 않고 체중 증가를 증가추세도 거의 유사하였다. 그러나 이후 고온환경을 부가한

2주 동안에는 고온 대조군의 경우 상온대조군과 다소 큰 체중 증가를 차이를 나타내어 상온대조군의 경우 이전과 거의 유사한 체중 증가 경향을 나타낸 반면 고온대조군의 경우 5주에는 거의 정체된 체중 증가를, 6주에는 오히려 약간 감소한 체중 증가를 나타내었다. 반면 인삼박 함유 생약재 조성물 투여군의 경우 고온환경 부가시 체중 증가를 감소경향을 나타내기는 하지만 상온대조군과 고온대조군의 중간 정도 증가를 나타내어 고온환경에 의한 체중 증가를 감소를 일정수준 방어하는 효능이 있음을 알 수 있었다.

이러한 고온환경 부가에 대한 체중증가를 감소에 대한 방어효능을 보다 정확히 살펴보기 위하여 고온환경 부가전 4주간의 주당 평균 체중 증가률과 이후 고온환경을 부가한 2주간의 고주당 평균 체중 증가률을 비교하여 살펴본 결과는 Fig. 1-15와 같다.

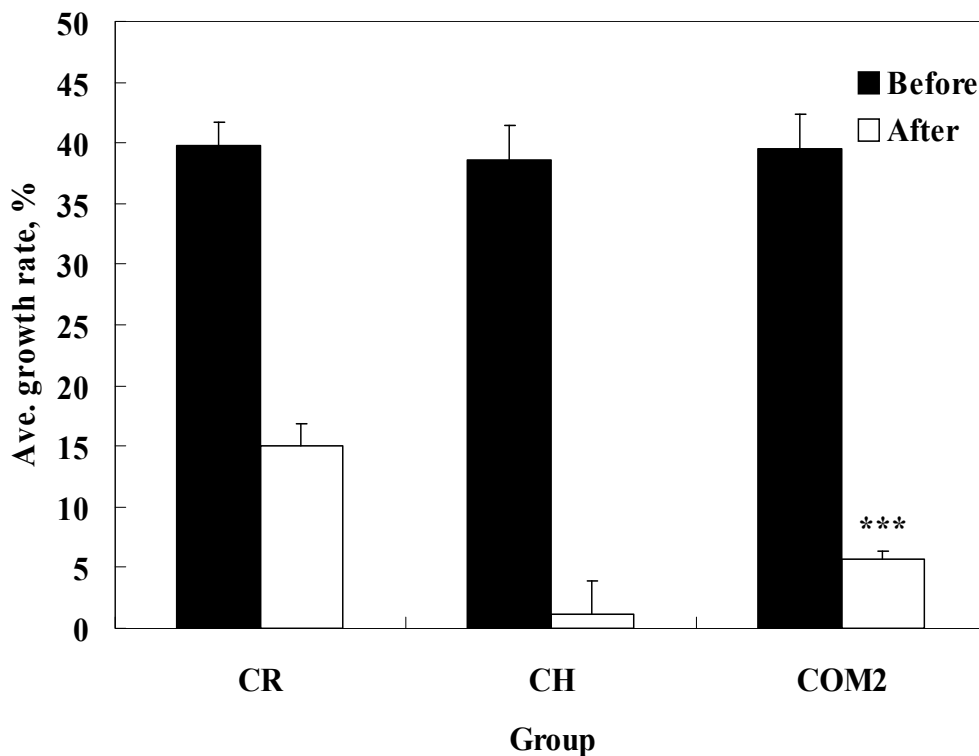


Fig. 1-15. Effects of heat environment and medicinal herb composite 2 (COM 2) on growth rate in rat. \*\*\* P < 0.01 vs CH group



주기적으로 고온환경에 노출된 고온대조군의 고온환경 부가전 평균체중 증가율은 38.6%로 상온대조군의 39.8%와 거의 차이가 없었으며 인삼박을 함유한 생약재 조성물(COM2) 투여군 역시 39.6%로 큰 차이를 보이지 않았다. 앞서 체중 증가를 추세를 살펴본 결과와 마찬가지로 고온환경 부가이후 2주간 주당 평균 체중증가율의 경우 고온대조군이 15.0%인데 비해 고온대조군은 1.2%로 상온대조군에 비해 매우 낮은 평균 체중증가율을 나타내었다. 반면 인삼박 함유 생약재 조성물(COM2)을 투여한 경우에는 5.7%로 상온대조군보다는 낮지만 고온대조군에 비해 30%의 체중 증가를 감소를 방어하는 효능을 나타내었다. 이러한 결과는 본 연구에서 조제한 인삼박 함유 생약재 조성물의 경우 인삼박이 식품원료로 사용할 수 없는 소재이기 때문에 기능성 식품 원료로는 사용이 불가하지만 하절기 사료 첨가제 등 다양한 하절기용 제품 개발을 위한 소재로 활용 가능할 것으로 판단되었다.

고온환경 부가에 따른 평균 식이섭취량 변화를 살펴본 결과는 Fig. 1-16과 같다.

식이 섭취량의 변화를 살펴보면, 상온대조군의 경우 고온환경 부가전, 후에 각각 27.1 g/day와 23.1 g/day 이었으며 고온환경 부가군의 경우에는 각각 27.3 g/day와 14.5 g/day으로 고온환경 부가시 약 식이섭취량 감소를 확인할 수 있었다. 반면 인삼박 함유 생약재 조성물(COM2)을 섭취한 경우에는 고온환경 부가전에는 28.1 g/day로 상온 또는 고온대조군과 거의 유사한 식이섭취량을 나타내었으나 고온환경 부가시에는 약 17.3 g/day로 상온대조군 보다는 작고, 고온대조군보다는 다소 큰 식이섭취량을 나타내었다. 반면 음수량의 경우 고온환경 부가시의 평균 음수량 증가를 감소시키는 효과는 없었다.

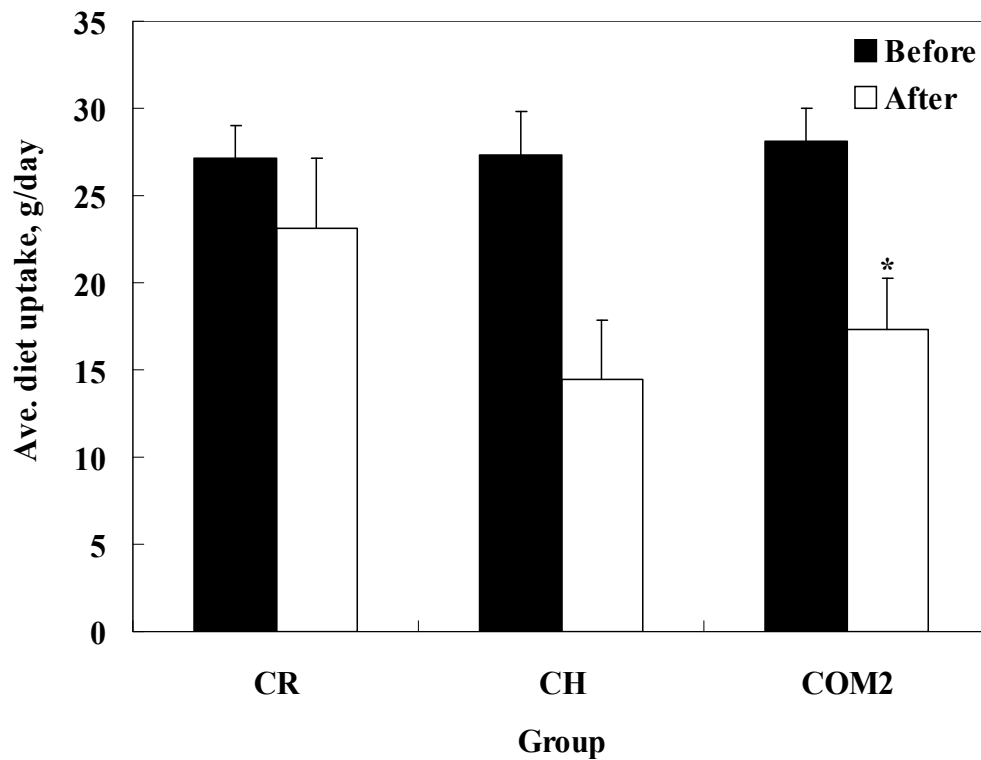


Fig. 1-16. Effects of heat environment and medicinal herb composite 2 (COM2) on average diet uptake in rat. \* P < 0.05 vs CH group.

고온환경 부가에 따른 간, 비장, 신장 등의 주요 장기 변화를 전체 체중에 대한 중량비의 변화로 측정하여 살펴본 결과는 아래 Fig. 1-17과 같다.

전체적으로 주기적인 고온환경 부가에 따라 간의 중량비는 2.86%에서 2.45%로, 비장은 0.21%에서 0.19%로 줄어드는 경향이었고 신장은 오히려 0.71%에서 0.75%로 증가하는 경향이였다. 반면 본 연구에서 제조한 인삼박 함유 생약제 조성물(COM2) 투여군의 경우 신장과 비장의 중량비 변화에는 큰 영향을 미치지 못하였으나 간 중량비의 경우 2.53%로 고온환경에 대한 간 중량비 감소를 약간은 방어해 주는 효능을 나타내었다.

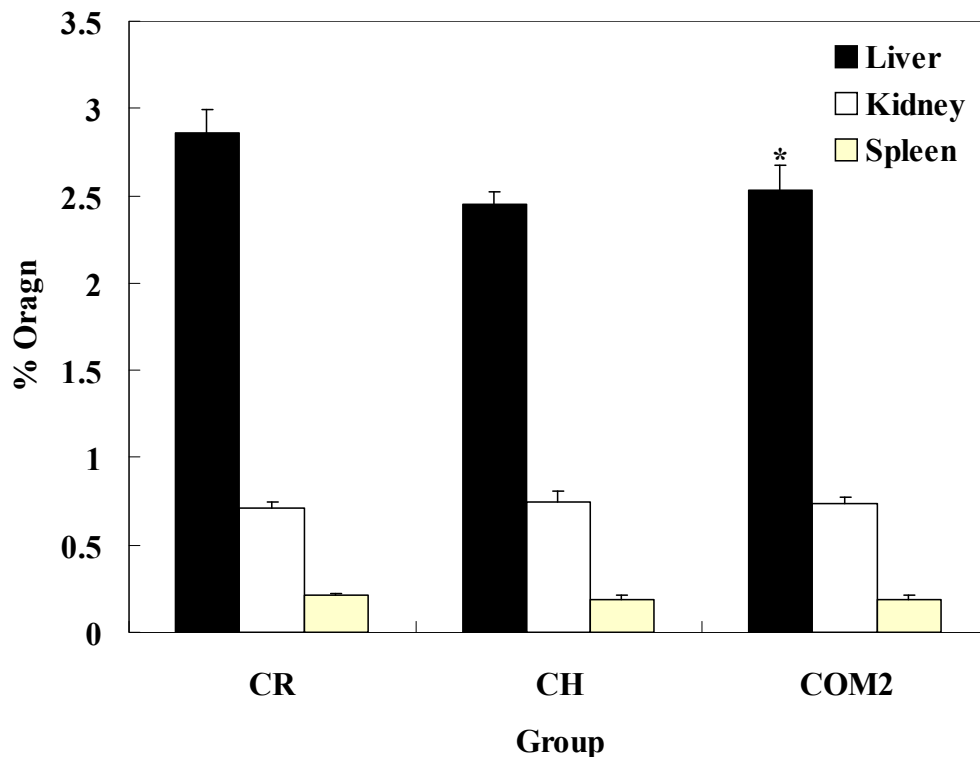


Fig. 1-17. Effects of heat environment and medicinal herb composite 2 (COM2) on organ weights in rat. \* P < 0.10 vs CH group

본 연구에서 일관되게 나타난 고온환경 부가에 따른 간의 산화적 스트레스 즉 지질 과산화 정도의 변화를 MDA 함량 변화로 살펴본 결과는 Fig. 1-18과 같다.

주기적으로 고온환경에 노출된 흰쥐의 경우 간의 MDA 함량이 57.0 nmole/g으로 상온대조군의 49.7 nmole/g에 비해 약 15% 정도 높은 MDA 함량을 나타내어 주기적인 고온환경 부가에 의해 간의 지질과산화가 진행되었음을 확인할 수 있었다. 반면 인삼박 함유 생약재 조성물(COM2)을 투여한 실험군의 경우 47.5 nmole/g으로 고온환경 부가에 의한 간의 지질 과산화가 거의 억제되었을 뿐 만 아니라 인삼 및 기타 함유된 생약재 조성물과 마찬가지로 감초, 가시오가피 등의 항산화 성분들로 인해 상온대조군 보다도 오히려 낮은 지질과산화 정도를 나타낸 것으로 판단되었다.

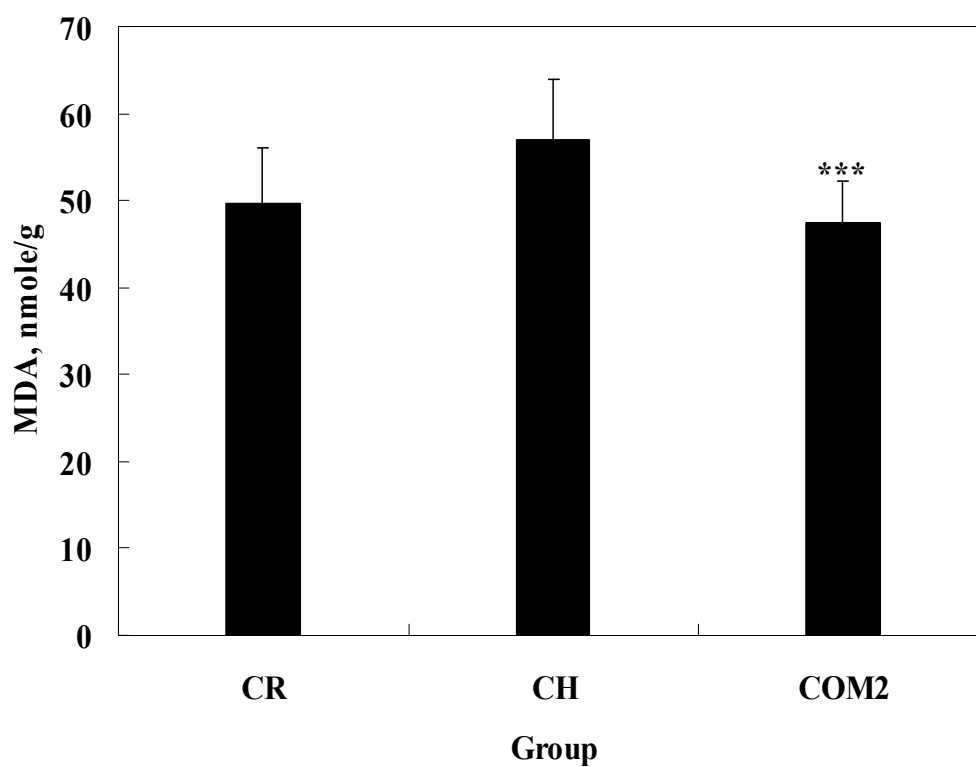


Fig. 1-18. Effects of heat environment and medicinal herb composite 2 (COM2) on lipid peroxidation of liver in rat. \*\*\*  $P < 0.01$  vs CH group

#### 바. 인삼함유 생약재 조성물을 이용한 개발제품의 투여방법별 효능 평가

이전의 모든 효능평가 실험의 결과와 제품개발을 위한 관능적 품질 평가 및 개선연구를 통해 본 연구에서 이루고자 하였던 최종 인삼 함유 생약재 조성물을 개발하고 이를 이용하여 음료 및 과립형태의 제품을 개발하였다(제 3 절 참조). 이번 연구에서는 최종적으로 개발된 제품의 효능을 평가해 보기 위하여 음료제품을 일정량 희석하여 사료제조에 이용하고 이를 사료형태로 투여하는 방법과 기본 식이와 함께 제공되는 음수 대신 음료제품을 희석하여 제공하면서 최종제품의 고온환경에 대한 생체방어효능을 평가해 보고자 하였다.

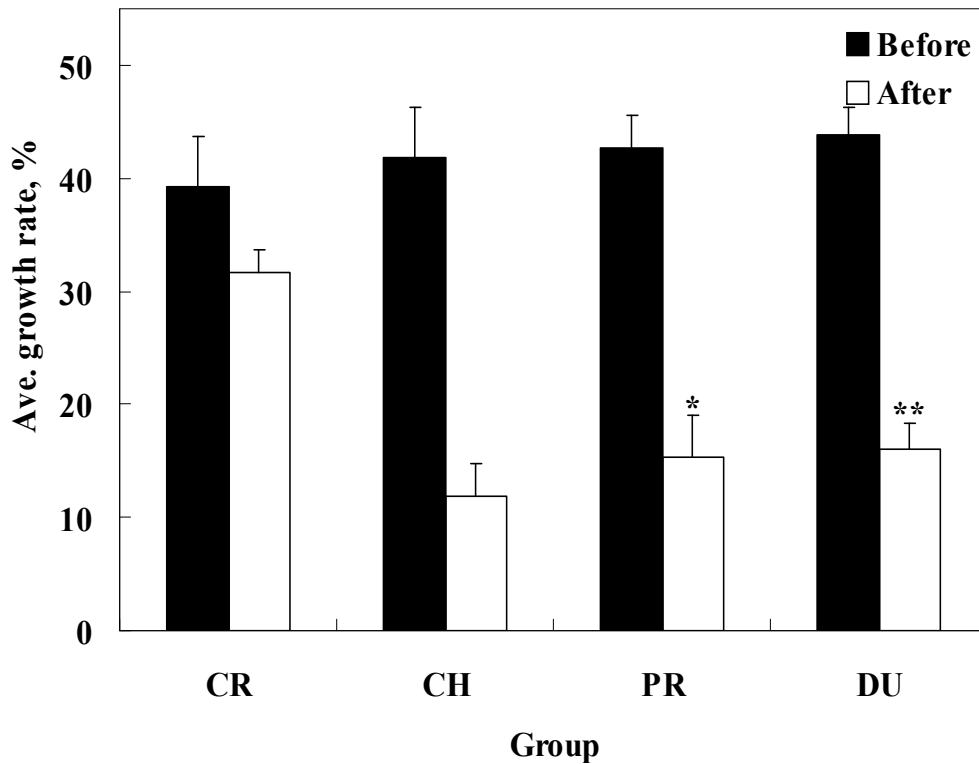
이를 위하여 최종 음료제품 1500 ml를 첨가하여 기본식이 15 Kg을 제조하였으며 이는 실험동물이 매일 25 g의 사료를 섭취한다고 가정했을 때 매일 흰쥐 한마리당 2.5 ml/day를 섭취하는 양이었다. 또한 최종 음료제품의 경우 흰쥐 들이 매일 25 ml의 음수를 섭취한다고 가정했을 때 사료 섭취시와 동일한 양의 음료제품을 섭취하는 양으로 투여하였다.

실험동물로는 생후 5주령된 S.D.계 흰쥐를 공시하여 난괴법으로 군당 8마리씩 상온 대조군(CR), 고온대조군(CH) 및 사료형태의 제품투여군(PR), 음료형태의 제품투여군(DU)으로 배치하여 앞서 이미 언급한 실험방법에 따라 고온환경에 대한 생체 방어효능을 평가해 보았다.

최종 개발제품의 고온환경 부가에 대한 체중 증가를 감소 억제효과를 보다 살펴보기 위하여 고온환경 부가전 4주간의 주당 평균 체중 증가율과 이후 고온환경을 부가한 2주간의 고주당 평균 체중 증가율을 비교하여 살펴본 결과는 Fig. 1-19와 같다.

주기적으로 고온환경에 노출된 고온대조군의 고온환경 부가전 평균체중 증가율은 41.8%로 상온대조군의 39.2% 보다 약간 높게 나타났으며 제품투여군의 경우 사료형태 투여군(PR)의 경우 42.7%, 음수형태는 44.8%로 다소 높은 주간 평균 성장률을 나타내었다. 이후 2주간의 고온환경부가기간중의 주당 평균 체중 증가율을 살펴본 결과에서는 고온대조군이 31.6%인데 비해 고온대조군은 11.9%로 상온대조군에 비해 약 62.3% 정도 낮은 평균 체중 증가율을 나타내었다. 반면 본 연구에서 제조한 음료제품을 투여한 군의 경우 사료형태 투여시에는

15.3%, 음수형태 투여시에는 16.0%의 주간 평균 체중 증가률을 나타내어 고온 환경에 부가에 따른 체중 증가를 감소를 방어해 주는 효과가 있음을 확인할 수 있었다.



**Fig. 1-19. Effects of heat environment and final beverage products containing medicinal herb composite on growth rate in rat.** CR : Room temperature control, CH : Heat environment control, PR : Taken with diet containing final beverage products, DU : Taken with final diluted beverage products substituted for water uptake. \* P<0.10 vs CH group, \*\* P<0.05 vs CH group.

고온환경 부가에 따른 평균 식이섭취량 및 음수량 변화를 살펴본 결과는 Table 1-13과 같다.

우선 식이섭취량의 변화를 살펴보면, 상온대조군의 경우 고온환경 부가전,

후에 각각 25.2 g/day와 21.9 g/day 의 식이섭취량을 나타내었으며 고온환경 부가군의 경우에는 각각 26.9 g/day와 16.9 g/day의 식이섭취량을 나타내어 고온환경 부가기간중의 결과로 볼 때 약 22.8%의 식이섭취량 감소를 나타내었다. 반면 인삼 함유 생약재 조성물을 함유한 음료제품 투여군의 경우 사료형태로 투여한 군(PR)은 고온환경 부가전에는 26.8 g/day로 대조군과 거의 유사하였으나 고온환경 부가 시에는 약 19.1 g/day의 식이섭취량을, 음료형태 투여군의 경우 고온환경 부가 전에 27.6 g/day, 부가 후에 17.5 g/day의 식이섭취량을 나타내었다. 음수량의 경우, 상온대조군의 경우 고온환경 부가전, 후에 각각 30.8 ml/day와 35.0 ml/day이었으며 고온대조군에서는 고온환경 부가전후에 31.9 ml/day와 48.3 ml/day이었다. 즉 고온환경 부가전에는 음수량에 큰 차이를 보이지 않으나 고온환경 부가시에 이전의 모든 연구결과와 마찬가지로 음수량이 크게 증가함을 알 수 있었다. 반면 인삼 함유 생약재 조성물을 이용하여 개발된 음료제품을 투여한 경우 섭취방법에 상관없이 47.5~49.4 ml/day의 음수량을 나타내어 식이섭취량과는 달리 음수량 증가를 억제하는 효과는 크지 않은 것으로 판단되었다.

이는 본 연구에서 개발한 음료제품의 경우 앞서 이미 살펴본 체중 증가를 감소 억제 효능과 더불어 고온환경 부가에 따른 식이섭취량 감소를 억제하는 효능을 가짐을 나타내는 결과로 판단되었다.

Table 1-13. Effects of heat environment and final beverage products containing medicinal herb composite on diet and water uptake in rat

Group <sup>1)</sup> (n=8)	1st phase (4 wks)		2nd phase (2 wks)	
	Diet (g/day)	Water(ml/day)	Diet (g/day)	Water(ml/day)
CR	25.2±2.9	30.8±1.9	21.9±2.9	35.0±4.5
CH	26.0±3.4	31.9±4.7	16.9±1.6	48.3±6.8
PR	26.8±4.3	33.3±5.7	19.1±1.3**	49.4±3.2
DU	27.6±3.2	31.7±3.3	17.5±1.9	47.5±5.2

<sup>1)</sup> CR : Room temperature control, CH : Heat environment control, PR : Taken with diet containing final beverage products, DU : Taken with final diluted beverage products substituted for water. \*\* P<0.05 vs CH group.

고온환경 부가에 따른 간, 비장, 신장 등의 주요 장기 변화를 전체 체중에 대한 중량비의 변화로 측정하여 살펴본 결과는 아래 Table 1-14와 같다.

Table 1-14. Effects of heat environment and final beverage products containing medicinal herb composite on organ weights in rat

Group <sup>1)</sup> (n=8)	Liver	Kidney	Spleen
CR	2.72 ± 0.11	0.70 ± 0.02	0.20 ± 0.04
CH	2.67 ± 0.08	0.73 ± 0.02	0.21 ± 0.02
PR	2.72 ± 0.07	0.74 ± 0.03	0.20 ± 0.02
DU	2.71 ± 0.09	0.71 ± 0.03	0.18 ± 0.02

<sup>1)</sup> CR : Room temperature control, CH : Heat environment control, PR : Taken with diet containing final beverage products, DU : Taken with final diluted beverage products substituted for water



전체적으로 주기적인 고온환경 부가에 따라 간의 중량비는 2.72%에서 2.67%로 다소 감소하고 신장은 오히려 0.70%에서 0.73%으로 다소 증가하는 경향이였다. 반면 본 연구에서 개발한 인삼함유 생약재 조성물 함유 음료 제품 투여군의 경우 간의 2.71~2.72%로 상온대조군과 유사한 간 중량비를 나타낸 반면 신장은 0.71~0.74%, 비장은 0.18~0.20%를 나타내어 고온대조군과 큰 차이를 보이지 않았다. 간의 경우 대체로 중량비가 다소 커 그 차이는 나타냈으나 개체 간의 차이로 유의적인 차이를 확인하기에는 다소 어려움이 있었고 신장과 비장은 중량비가 매우 낮아 정확한 경향을 파악하기 다소 어려움이 있었다.

본 연구에서 개발한 인삼함유 생약재 조성물을 이용한 음료제품이 고온환경 부가에 따른 간의 산화적 스트레스 즉 지질 과산화를 억제시키는 효과를 간 중의 MDA 함량 변화로 살펴본 결과는 Fig. 1-19와 같다.

주기적으로 고온환경에 노출된 흰쥐의 경우 간의 MDA 함량이 51.2 nmole/g으로 상온대조군의 34.7 nmole/g에 비해 47.5% 정도 높은 MDA함량을 나타내어 주기적인 고온환경 부가에 의해 간의 지질과산화가 진행되었음을 확인할 수 있었다. 반면 인삼 함유 생약재 조성물을 이용한 음료 제품을 투여한 경우 38.5~39.5 nmole/g으로 고온환경 부가에 의한 간의 지질 과산화가 대부분 억제되었음을 알 수 있었으며 투여방법에 따른 차이는 거의 없었다.

이상의 결과로 미루어 볼 때 본 연구에서 최종적으로 개발한 인삼함유 생약재 조성물 및 이를 이용한 음료제품을 지속적으로 투여할 때 주기적인 고온환경 즉 무더위에 노출시에 일어날 수 있는 체중증가를 감소, 식이섭취량 감소 및 간의 지질과산화를 방어하는 효과가 있음을 확인할 수 있었다.

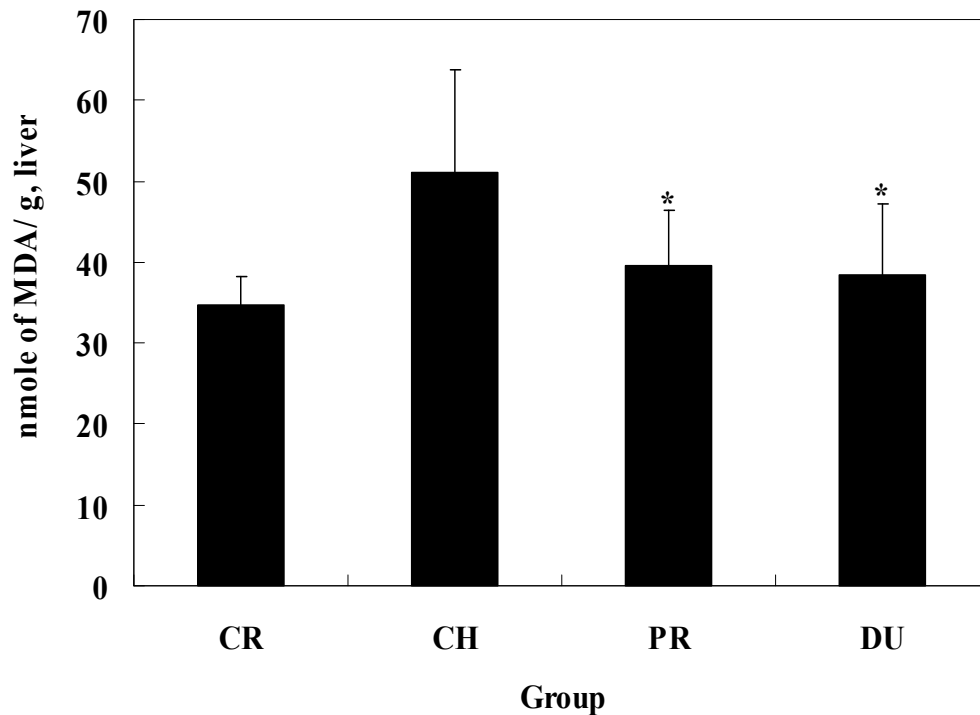


Fig. 1-19. Effects of heat environment and final beverage products containing medicinal herb composite on lipid peroxidation of liver in rat. CR : Room temperature control, CH : Heat environment control, PR : Taken with diet containing final beverage products, DU : Taken with final diluted beverage products substituted for water. \* P < 0.10 vs CH group.

#### 4. 참고문헌

American Institute of Nutrition : Report of the American Institute of Nutrition ad hoc committee on standards for nutritional studies. *J. Nutr.* **107**, 1340-1348 (1977)

American Institute of Nutrition : Second report of the ad hoc committee on standards for nutritional studies. *J. Nutr.* **110**, 1726 (1980)

Brekhman, I. I., and Dardtmow, I.V. : New substances of plants origin which

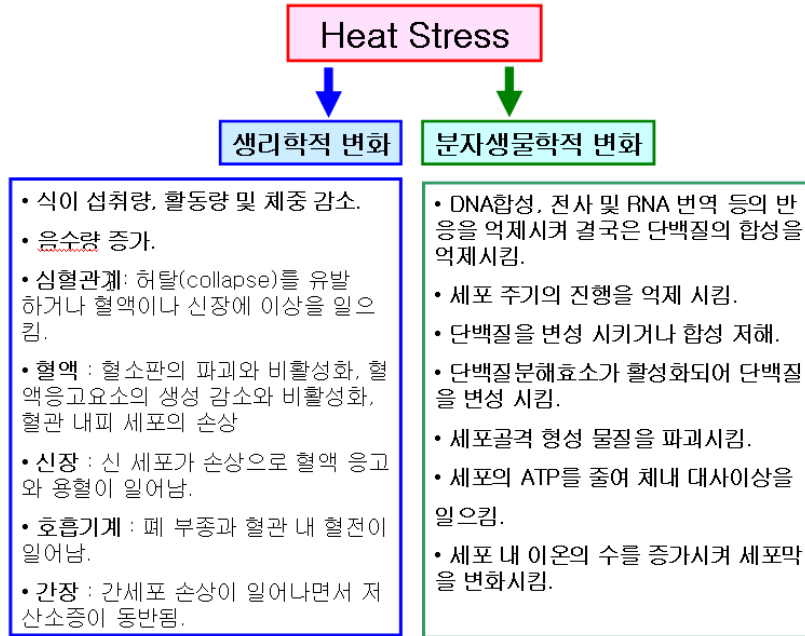
- increase non-specific resistance. *Ann. Rev. Pharmacol.* **9**, 419-430 (1969)
- Cho, T.S., Lee, S.M., Yeom, J.H., Yu, E.J., Lim, S.W., Jang, B.S., Kim, Y.M., Yu, Y.H. and Park, M.H. : Anti-stress effects of ursodeoxycholic acid on the restraint stress in rats. *J. Pharm. Soc. Korea* **39**, 548-553 (1995)
- Chung, S.K., Kim, K.O., Lee, J.H., Kim, Y.C., Kim, M.Y., Lee, H.S. and Sohn, Y.K. : Effects of apple pomace on the liver damage in bromobenzene-treated rats, *Food Sci. Biotechnol.* **10(3)**, 278-281 (2001)
- Fujimoto, K., Sakato, T., Ishimura, T., Etoh, H., Ookuma, K., Kurokawa, M., Machidori, H. : Attenuation of anorexia induced by heat or surgery during sustained administration of ginsenoside Rg1 into rat third ventricle. *Psychopharmacology* **99**, 257-260 (1989)
- Kang, M., Yoshimatsu, H., Oohara, A., Kurokawa, M., Ogawa, R. and Sakata, T. : Ginsenoside Rg1 modulates ingestive behavior and thermal response induced by interleukin-1 $\beta$  in rats. *Physiol. Behv.* **57**, 393-396 (1995)
- Kaushik, S. and Kaur, J. : Chronic cold exposure affects the antioxidant defense system in various rat tissue. *Clinica Chimica Acta* **333**: 69-77 (2003)
- Kennet, G.A., Dickson, S.L. and Curson, G. : Enhancement of some 5-HT dependent behavioural response following repeated immobilization in rats. *Brain Res.* **330**, 253-263 (1985)
- Kim, C.C. : Influence of Panax Ginseng on the response of stressful stimuli in the experimental animal exposed to various stress. *Korean J. Ginseng Sci.* **3**, 168-186 (1979)
- Kim, S.H., Lee, S.R., Do, J.H., Lee, S.K. and Lee, K.S. : Effects of korean red ginseng and western ginseng on body temperature, pulse rate, clinical symptoms and the hematological changes in humans. *Korean J. Ginseng Sci.* **19(1)**, 1-16 (1995)

- Lee, H.S. and Csailany, A.S. : Measurement of free and bound malondialdehyde in vitamin E-deficient and -supplemented rat liver tissue. *Lipids* **20**, 104–107 (1987)
- Morley, J.E. and Levine, A.S. Stress induced eating is mediated through endogenous opiates. *Science* **209(12)**, 9–12 (1980)
- Patz, J.A., Campbell-Lendrum, D., Holloway, T. and Foley, J. A. : Impacts of regional climate change on human health. *Nature* **438(17)**, 310–317 (2005)
- Sakato, T., Etoh, H., Fujimoto, K., Ookuma, K., Hayashi, T. and Arichi, S. : Central effects of ginsenosides on feeding behavior and response to stress in rats. *Korean J. Ginseng Sci.* **11**, 164–172 (1987)
- Sant'Anna, G.M., and Mortola, J.P. : Thermal and respiratory control in young rats exposed to cold during postnatal development. *Comp. Biochem. Physiol.* **A134**, 449–459 (2003)
- SAS : SAS/STAT user's guide, 8th ed. SAS Institute Inc., Cary NC, USA (1996)
- Taché, Y., Du Ruisseau, P., Ducharme, J.R. and Collu, R. : Pattern of adenohipophyseal hormone changes in male rats following chronic stress. *Neuroendocrinology* **26**, 208–219 (1978)
- Venditti, P., De Rosa, R. and Di Meo, S., Effects of cold-induced hyperthyroidism on H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> production and susceptibility to stress conditions of rat liver mitochondria. *Free Radical Biology & Medicine* **36(3)**, 348–358 (2004)
- Venditti, P., Rosa, R.D., Portero-Otin, M., Pamplona, R. and Meo, S.D. : cold-induced hyperthyroidism produces oxidative damage in rat tissues and increases susceptibility to oxidants.

## 제 2 절. 유전자 발현조사를 통한 고려인삼과 생약재 의 고온환경에 대한 방어효능연구 (협동과제)

### 1. 서론

포유동물류의 생물체가 고온환경에 노출되면 Table 2-1과 같은 생리학적 변화와 분자생물학적 변화를 초래 하게 된다. 먼저, 생리학적 변화를 살펴보면 1) 식이 섭취량, 활동량 및 체중감소; 2) 음수량 증가; 3) 심혈관계에서는 허탈(collapse)을 유발하거나 혈액이나 신장에 이상을 일으킴; 4) 혈소판의 파괴와 비활성화, 혈액응고요소의 생성 감소와 비활성화, 혈관 내피 세포의 손상; 5) 신장에서는 세포가 손상되어 혈액 응고와 용혈이 일어남; 6) 호흡기계에서는 폐 부종과 혈관 내 혈전이 일어남; 7) 간세포 손상이 일어나면서 저산소증이 동반 되는 현상이 일어난다. 또한, 분자생물학적 변화를 살펴보면 1) DNA합성, 전사 및 RNA 번역 등의 반응을 억제시켜 결국은 단백질의합성을 억제시킴; 2) 세포 주기의 진행을 억제시킴; 3) 단백질을 변성 시키거나 합성 저해; 4) 단백질 분해 효소가 활성화되어 단백질을 변형시킴; 5) 세포골격 형성물질을 파괴시킴; 6) 세포의 ATP를 줄여 체내 대사이상을 일으킴 ; 7) 세포 내 이온의 수를 증가시켜 세포막을 변화 시키는 등의 반응을 일으킨다.



**Table 2-1. 고온환경에 노출시 생물체내의 생리학적, 분자생물학적 변화**

고온환경에 노출시 위와 같은 변화 중 분자생물학적 변화를 방어할 수 있는 유전자들을 기존의 문헌보고와 예비시험을 통하여 선정하였다. Heat Shock Protein family는 분자량에 따라 이름 붙여진 HSP90, HSP70, HSP27이 잘 알려져 있으며 cell stress를 받은 후에 cell repair, protein folding, signaling protein과의 interaction을 조절하는 역할을 한다. Heat Shock Proteins (HSPs)은 UV, heat stress, infection, inflammation, 세포분화, 조직발달을 포함한 다양한 stress를 받았을 때 발생하는 heat shock에 의해 유도되어 chaperone의 기능을 한다(2). 또한, HSPs는 heat shock factor-1 (HSF-1)이 핵으로 이동하여 heat shock elements (HSE)에 결합하게 되면 HSPs gene이 전사되어 활성화된다(3). Fig. 2-1에서 볼 수 있듯이 heat stress에 의한 피부노출에 가장 빨리 반응하는 세포의 반응은 growth factor receptor (EGF-R) 수용체를 활성화시키는 것이다

. 이들 수용체의 활성화는 결과적으로 downstream의 신호전달을 매개하는 단백질들을 활성화시켜 MAP (Mitogen-Activated Protein) kinase인 기작인 ERK가 발현되어 immune function에 관여되게 되고, apoptosis signal regulating kinase1이 활성화 되어 HSP27이 발현되어 actin filament를 안정화시켜 heat stress로 인해 파괴 될 수 있는 cell skeletal components를 보호한다(4).

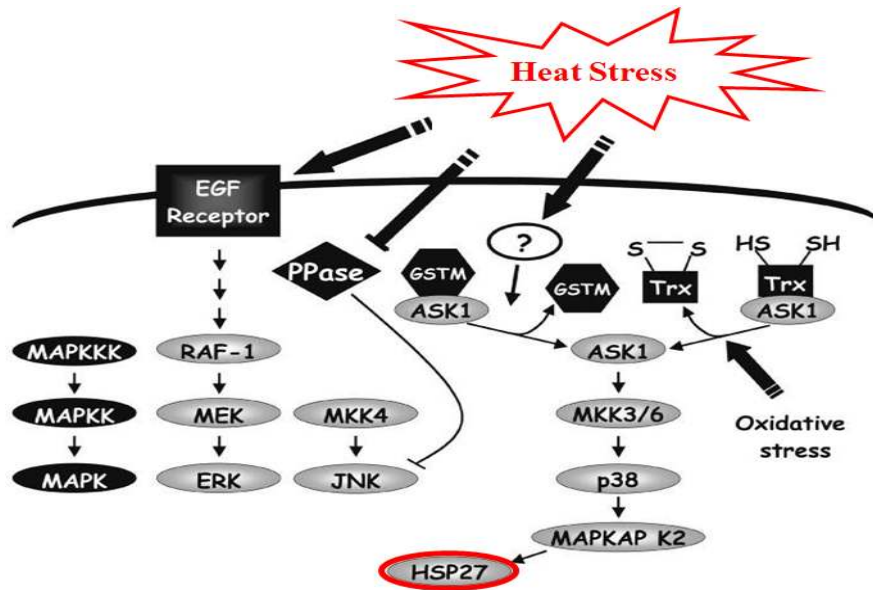


Fig. 2-1. Mechanism for the activation of the mitogen-activated protein kinase pathways by heat stress (Dorion, S. and J. Landry., 2002).

또한, heat stress로 인해 감소된 immune function에는 Interferon-induced protein with tetratricopeptide repeats1,2 (IFIT1, IFIT2)가 관여하게 된다. Fig. 2-2에서 볼 수 있듯이 고온환경 노출시 over-expression 되어, transcription factor인 eIF3에 결합하여, cellular stress response로 인한 translation을 억제하는 역할을 한다(5).

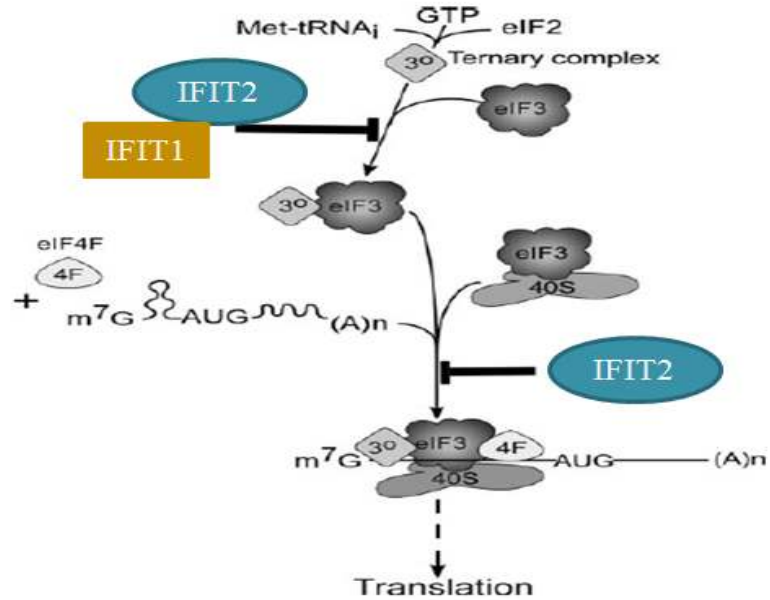


Fig. 2-2. Inhibition of protein synthesis by IFIT1 and IFIT2 (*Fulvia Terenzi. et. al., 2006*).

또한, heat stress로 인하여 세포의 apoptosis가 일어나게 되는데, Fig. 3-3에서 볼 수 있듯이 apoptotic cell의 표면에 phosphatidyl serine이 돌출되어 phagocyte의 phosphatidylserine receptor(Ptdsr)에 의해 제거되게 된다. heat stress로 인하여 일어난 apoptotic cell을 빠르게 제거하여 다른 세포까지 손상 입는 것을 막아준다(6).



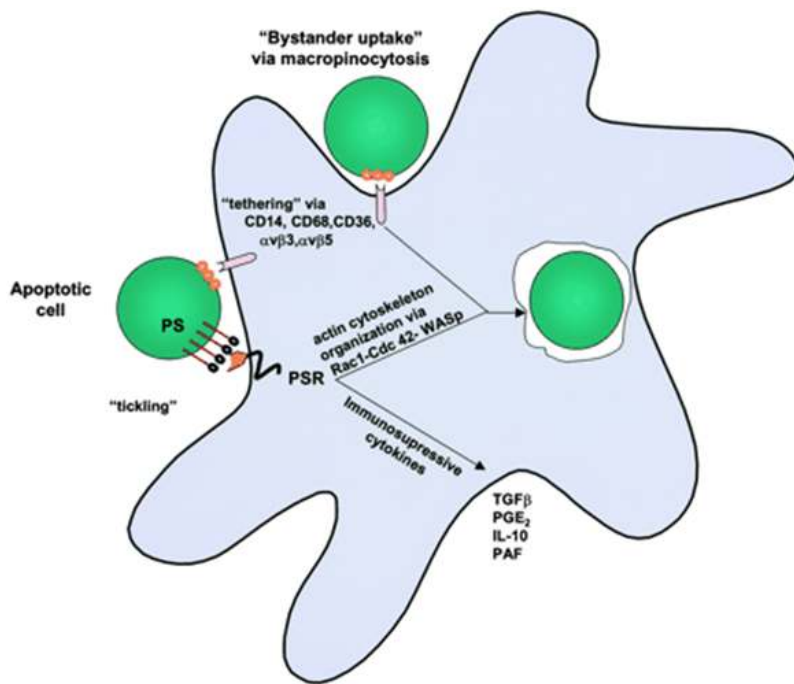


Fig. 3-3. Role of Ptdsr  
(Selin Somersan and Nina Bhardwaj., 2001).

고려인삼과 여러 생약재들은 예로부터 삼복더위를 견디고 여름철 원기 회복을 위한 자양 강장용 식품으로 오랜 기간 이용되어왔다. 특히, 고려인삼 (*Panax ginseng* C.A.Meyer)은 오갈피나무과 (Araliaceae)의 인삼 속에 속하는 다년생 초본류로서 뿌리를 중요한 약재로 사용하여 왔으며(7), 주요 생리활성 성분으로는 사포닌, 페놀성 성분, 폴리아세틸렌 성분, 알칼로이드 성분, 다당체 등이 알려져 있다(8). 이 중 Rb<sub>1</sub>, Rg<sub>1</sub> 성분이 독성으로부터 cell의 damage를 막아준다는 연구보고가 있으며(9), Rb<sub>1</sub>, Rg<sub>3</sub> 성분은 세포내 칼슘 이온의 흐름을 조절한다는 결과가 보고된 바 있다(10). 또한 ginsenoside Rg<sub>1</sub>은 고온장애에 대한 방어효과가 있음이 일본연구자에 의해서 보고되었다(11). 이러한 연구결과

를 비추어 볼 때 인삼의 일부 ginsenoside는 체온의 항상성을 유지시켜 주거나 heat stress로부터 cell을 보호하는 효과가 있다고 사료되어진다. 하지만 인삼 및 생약재의 일부 ginsenoside의 가 고온환경 방어효과가 있다고 알려져 있으나 현재까지 대부분의 연구는 생리학적 측면에서의 연구가 활발하였으며 분자생물학적 측면에서의 연구는 매우 미흡한 수준이다. 따라서, 본 연구에서는 인삼 및 생약재의 고온환경 방어 효과를 살펴보기 위해서 고온환경에 노출된 쥐의 간에서 Heat Shock Protein family, IFIT1, IFIT2, Ptdsr 유전자의 발현 변화량을 조사하였다.

## 2. 재료 및 방법

### 가. 시약

Trizol reagent (invitrogen, USA), Isopropyl alcohol (Sigma, USA), Chloroform 99% (Sigma, Germany) 등 시약은 E.P. 급이상의 시약을 구입하여 사용하였다.

### 나. 시료선정 및 동물시험 처리구

고온장애에 방어효과가 있다고 보고된 우리나라 대표 생약재인 고려인삼과 고전문헌상의 전통식품 소재를 참조하여 몇 가지 생약재를 선정하고 이들 열수 추출물을 조제하였다. 실험동물은 생후 5주령된 prague-Dawley계 수컷 흰쥐를 공시하여 1주일간 기본식으로 적응 시킨 후 초기 체중을 측정하고 난괴법 (randomized complete block design)으로 시험군당 8~10마리씩 배치한다. 실험동물은 각각 정상온도, 고온환경, 인삼 및 생약재 투여군으로 나누어 처음 4주간은 정상온도(25℃)로 사육한 후, 2주 동안 고온환경 (36~38℃, 5 hr/day, 14 days)에서 사육한다. 이때, 조명주기는 12시간, 물과 식이는 자유급이 (*ad libitum*)로 하였다.

본 연구를 위해 필요한 장기는 주로 간을 사용하였으며 주관 연구기관에서 동물실험 종료일 부검시 간 조직 일부를 제공 받아 실험에 사용하였다. Table

2-2의 '인삼과 가시오가피의 고온환경 방어효과 시험'에서는 인삼 (FG), 가시오가피 (GS) 1~6주 동안 하루에 1번 경구 투여하였으며, Table 2-3의 인삼함유 생약재 조성물의 고온환경 방어효과 시험'에서는 1~6주 동안 먹이에 첨가하여 자유급이로 하였다. 또한, Table 2-4의 주관연구기관에서 개발한 인삼 함유 생약재 조성물을 함유한 음료제품을 사료에 첨가 (PR) 하거나 음수에 첨가 (DU) 하여 자유급이로 하였다.

Table 2-2. 인삼과 가시오가피의 고온환경 방어효과 시험

그룹 (n=8~10)	1~4주 (25℃)	5~6주 (36~38℃, 5hr/day)
정상온도 (CR)	정상온도 +기본식이	정상온도 +기본식이
고온대조군 (CH)	정상온도 +기본식이	고온환경 +기본식이
인삼 (FG)	정상온도 +기본식이 +FG	고온환경 +기본식이 +FG
가시오가피(GS)	정상온도 +기본식이 +GS	고온환경 +기본식이 +GS

Table 2-3. 인삼함유 생약제 조성물의 고온환경 방어효과 시험

그룹 (n=8~10)	1~4주 (25℃)	5~6주 (36~38℃, 5hr/day)
상온 (CR)	정상온도 +기본식이	정상온도 +기본식이
고온대조군 (CH)	정상온도 +기본식이	고온환경 +기본식이
COM1	정상온도 +기본식이 +COM1	고온환경 +기본식이 +COM1
COM2	정상온도 +기본식이 +COM2	고온환경 +기본식이 +COM2

Table 2-4. 조성물의 투여방법에 따른 고온환경 방어효과 시험

그룹 (n=8~10)	1~4주 (25℃)	5~6주 (36~38℃, 5hr/day)
정상온도 (CR)	정상온도+기본식이	정상온도+기본식이
고온대조군 (CH)	정상온도+기본식이	고온환경+기본식이
PR (조성물 사료에 첨가)	정상온도+기본식이 +PR	고온환경+기본식이 +PR
DU (조성물 음수에 첨가)	정상온도기본식이 +DU	고온환경+기본식이 +DU

#### 다. 시험동물의 조직으로부터 total RNA의 추출

실험동물의 조직으로부터 total RNA의 추출은 TRIzol reagent (phenol + guanidine isothiocyanate)(Invitrogen, USA) 방법을 이용한다. 정상온도, 고온환경, 고온환경에 노출되면서 인삼 및 생약재를 투여한 그룹의 간 조직을 각각 일정량 취하여 RNAlater 10 ml가 넣어져 있는 50 ml tube에 넣어서 -80℃ Deep Freezer에 넣어 보관한다. -80℃ Deep Freezer 보관중인 sample을 꺼내어 녹은 즉시, TRIzol reagent 1ml을 넣은 후 homogenizer로 lysis 시킨 후 상온에서 약 10 min 동안 보관한다. 이 후 chloroform을 약 200 µl 넣고, 15 sec 간 잘 흔들어 준 후 4℃, 10 min 반응시키고, 15,000rpm에서 10 min 원심분리한 후 투명 색의 상등액을 gently하게 취하여 새로운 튜브에 옮긴다. 새로운 tube에 옮겨진 투명한 상등액에 isopropyl alcohol을 넣어 10 min간 반응시켜 RNA를 침전시킨다. 침전된 RNA는 75% DEPC-ethanol로 2-3회 washing해준 후 15,000rpm에서 약 5min 원심분리 한다. 실온에서 RNA가 포함된 pellet을 건조시킨 후 RNase-free water 30 µl로 녹이고 DEPC-treated water로 희석한다. 대부분의

경우 실험결과는 사용하는 RNA의 순도에 의해 크게 좌우되므로 사용전에 반드시 RNA의 순도 검정을 해야 한다. Total RNA(혹은 Poly(A)+RNA)의 순도와 농도 계산을 위해 260nm 및 280nm의 흡광도를 측정하였다. A260/A280의 비가 1.8~2.1이면 단백질의 혼입이 적고 고순도의 RNA시료이며 A260/A280의 비가 1.7 이하인 경우는 실험에 사용할 수 없다. 본 실험에 사용된 sample은 모두 A260/A280 ratio 1.9 이상으로 높은 순도를 보였으며, 유전자 발현량의 비교를 위하여 모든 sample은 200 ng/ $\mu$ l의 똑같은 농도로 희석하여 semi-quantitative reverse transcriptase polymerase reaction에 사용하였다.

#### **라. Total RNA로부터 cDNA의 합성 및 RT-PCR**

역전사중합효소(reverse transcriptase)를 사용하여 total RNA로부터 complementary DNA (cDNA)를 합성한 후 문헌 및 기타 연구결과를 토대로 선정된 주요 유전자들의 primer를 제작하여 RT-PCR로 유전자의 발현정도를 측정한다. Total RNA는 Maxime RT PreMix Kit (Intron Biotechnology, Korea)를 사용하여 complementary DNA (cDNA)를 합성 하였다. 합성된 cDNA에 Taq DNA Polymerase, 10X taq reaction buffer, 10mM dNTP mix를 혼합하여 PCR DNA Thermal Cycler (Corbett, San Francisco, CA, USA)로 실험하였다. 각 유전자는 맞는 조건에 따라서 RT-PCR이 수행되었으며, 그 결과를 확인하기 위하여 1.5% agarose gel로 전기영동 하였다.

#### **마. Real-Time PCR을 통한 주요 유전자 발현 정량**

SYBR Green은 double strand DNA에 결합하여 증폭과 함께 형광을 나타내는데 이 형광강도를 검출하여 증폭산물의 생성량을 측정하여 보다 정확한 유전자의 발현정도를 측정할 수 있다. 합성된 cDNA를 주형가닥으로 하여 QuantiTect SYBR Green PCR Kit (QIAGEN, Dutch)를 사용하여 SYBR green PCR master mix protocol에 따라 Roter-Gene 3000 Sequence Detection System (Applied Corbett Research)으로 실험하였다. 각 유전자의 primer sequence는 RT-PCR시 사용한 것과 같으며, annealing 온도는 Table 2-5와 같

다. 처음 95°C, 15min동안 incubation하고 denaturation (95°C, 15s), annealing (각 유전자의 적정 온도, 15s), extension (75°C, 15s)의 조건으로 40cycle 실행하였다. 유전자의 발현량의 측정법은 threshold값과 peak가 만나는 점인 Ct (cycle 수) 값을 얻어 house keeping gene인  $\beta$ -actin으로 오차 값을 보정한 후 ddCt method로 유전자의 발현량을 정량하여 비교하였다.

Table 2-5. RT-PCR과 Real-Time PCR에 사용한 primer sequence와 TM 값

Gene	Primer sequence (5' to 3')	RT-PCR TM(°C)	Real-Time PCR TM(°C)	Product size (bp)
$\beta$ -actin	F: 5'-CTATGTTGCCCTAGACTTCG-3' R: 5'- ACTTCATGATGGAATTGAATG-3'	61	58	230
HSP27	F: 5'- GAGGAGCTCACAGTGAAGAC-3' R: 5'- CTGATTGTGTGACTGCTTTG-3'	63	60	211
HSP70	F: 5'- CTGAGAAAGAGGAGTTCGTG-3' R: 5'- GTCTGTCTCTAGCCAACACC-3'	61	60	206
HSP90	F: 5'- ACGACAAAGCTGTCAAAGAC-3' R: 5'- AACAAAGAACTGCAGCAATG-3'	63	63	178
IFIT1	F: 5'- AAGCTATGTCTTTTCGCTACG-3' R: 5'- TATAATTCCTGCCTTCTGG-3'	63	58	199
IFIT2	F: 5'- TACTGAACACCGAAGAAACC-3' R: 5'- CCTTGTGAATTCTTTCTGG-3'	57	54	201
Ptdsr	F: 5'- CTTAGTTCAGGGTCACAAGC-3' R: 5'- CTCCTGGTTTCTGCAATATC-3'	61	62	194

#### 바. 통계 분석

모든 실험은 3회 반복으로 하였으며, 측정된 결과들은 SAS package (8.01)를 이용하여 통계적 유의성을 측정하였다. 정상온도 그룹과 고온환경 그룹간의 비교는 t-test를 실행하였으며, 고온환경에 노출되면서 일반식이 만을 먹인 그룹과 일반식이와 인삼 및 생약재를 함께 먹인 그룹간의 비교는 One-Way

ANOVA test를 실행하였다. 사후 검정으로 Tukey test를 실행하였으며, Statistical significance는  $p < 0.05$  일 때 채택하였다. (SAS Inst., Inc., Cary, NC, USA)

### 3. 결과 및 고찰

#### 가. 인삼과 가시오가피의 고온환경 방어효과

##### (1) RT-PCR을 통한 유전자의 발현변화

Fig. 2-4와 같이 정상온도의 그룹보다 고온환경에 노출된 그룹의 간에서 선정된 모든 유전자의 발현량이 증가 한 것을 확인 할 수 있었으며 이것은 heat stress에 대한 response가 작동된 것으로 판단된다. 흥미롭게도 인삼과 가시오가피를 먹인 그룹의 간 조직에서는 고온환경에 노출되었음에도 불구하고 일반식이만을 먹인 그룹보다 유전자의 발현량이 감소하여 정상온도 그룹의 발현량과 비슷해진 것을 확인 할 수 있었다. 본 실험에 사용한 인삼 및 생약재가 고온환경 방어에 효과가 있다는 것을 알 수 있었다.



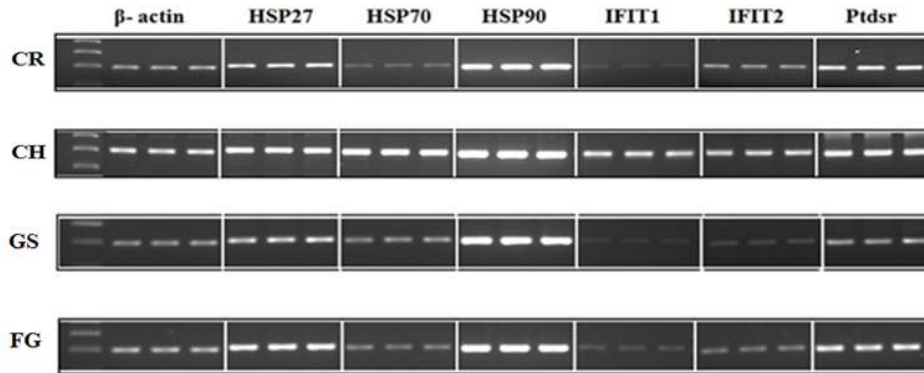


Fig. 2-4. RT-PCR. Expression of Heat Shock Protein family, IFIT1, IFIT2 and Ptdsr in control room temperature, heat stress-induced rat and groups, which were administrated with ginseng and medicinal herbs on heat stress. \* CR : Control Room temperature \* CH : Control Heat Environment \* GS : *Acanthopanax senticosus* \* FG : Fresh Ginseng

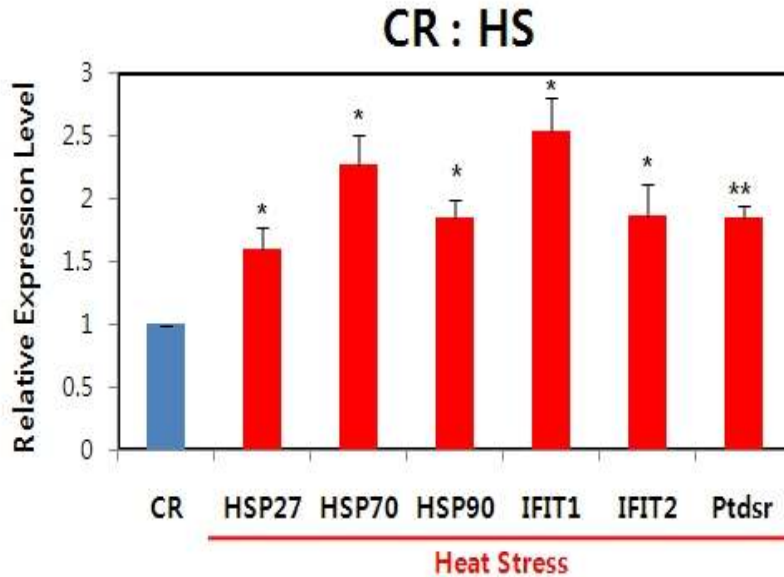
## (2) Real-Time RT-PCR을 통한 유전자의 발현변화

RT-PCR의 결과를 토대로 Real-Time PCR을 통하여 유전자의 발현량을 보다 정확하게 정량하였다.

### (가) 정상온도 vs 고온환경 노출군의 전체적인 유전자 발현 비교

본 시험에서 고온환경에 의해 영향을 크게 받는 것으로 선정한 유전자들의 변화가 실제 고온환경에 노출시 어떻게 변화되는지를 시료 투여시와 비교해서 조사하기 위한 대조군으로 일반식이를 투여하면서 정상온도에서 사육한 그룹과 고온환경에 노출시키면서 사육한 그룹의 전체적인 유전자 변화를 먼저 살펴보았다. 또한 각각의 투여시료가 바뀔 때 마다 매회 정상온도 노출군과 고온환경 노출군의 유전자 발현비교시험을 실시하여 유전자 발현변화를 측정하는 대조군

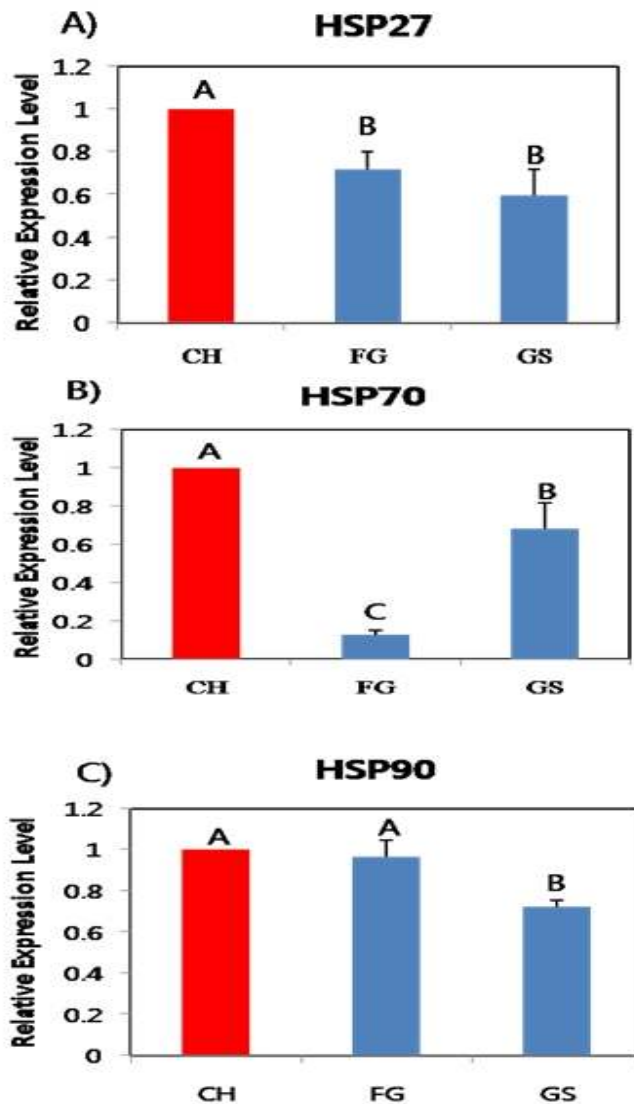
로 사용하였다. Fig. 2-5에서 볼 수 있듯이 고온환경에 노출되면 protein refolding, repair에 관여하고 있는 heat shock protein 27, 70 그리고 90이 1.6~2.6 fold 정도로 발현량이 증가한 것을 알 수 있었다. 또한 heat stress에 노출시 immune function이 약화되어 infection의 위험이 증가될 수 있다. 이때, innate immune function에 중요한 역할을 하는 IFIT1, IFIT2 의 발현량이 증가되어 heat stress로 인해 일어날 수 있는 translation을 억제하는 역할을 한다. 앞서 RT-PCR로 확인한 결과와 같이 유전자의 발현 변화를 정량하는 실험에서도 고온환경 노출시 IFIT1, 2 유전자의 발현량이 약 1.8~2.3 fold 증가된 것을 확인할 수 있었다. 또한, 오랜시간 고온환경에 노출되게 되면 cell의 apoptosis가 일어나 급격히 증가하게 되면 주변세포에게까지 damage를 줄 수 있다. 이러한 apoptotic cell의 표면에는 phosphatidylserine이 돌출되고, apoptotic cell은 phagocyte의 phosphatidylserine receptor (Ptdsr)에 의해 인식되어져 신속히 제거되게 된다. Fig 2-5.에서 볼 수 있듯이 heat stress로 인한 damage를 막기 위해 Ptdsr 유전자 또한 정상온도의 그룹보다 약 1.8 fold 증가하여 heat stress에 대한 response가 작동된 것으로 보여진다.



**Fig. 2-5. Gene expression in the liver of rats exposed to heat stress.** Relative expression level was increased 1.6~2.6 fold heat-induced group compared to group which control room temperature condition. \* $p < 0.05$ , \*\* $p < 0.005$ .

#### (나) Heat Shock Protein family 유전자의 발현변화

Heat Shock Proteins 유전자의 발현변화를 통하여 인삼 (FG), 가시오가피 (GS) 투여구중 어떤 것이 고온환경 방어효과가 좋은지를 조사하였다. Heat stress시 증가되는 HSP27 (Fig. 2-6, A)은 모든 투여구에서 고온대조군 보다 유전자의 발현량이 약 28~40% 정도 낮게 발현되어 정상온도 처리구와 비슷한 발현량을 나타내는 고온환경 방어효과를 관찰할 수 있었다. 하지만, 특이하게도 HSP70 (Fig. 2-6, B)의 발현량을 통한 고온환경 방어효과를 살펴보면, 인삼 (FG)을 먹인 그룹에서 Heat stress로 인해 증가된 유전자의 발현량이 약 90% 까지 낮게 발현된 것을 알 수 있었고, HSP90 (Fig. 2-6, C) 유전자에서는 가시오가피 (GS)를 투여한 그룹에서 고온대조군 보다 약 30% 가량 낮게 발현되어 가장 고온환경에 대한 방어 효과가 뛰어난 것으로 나타났다.



**Fig. 2-6 Effect of ginseng and medicinal herbs on heat-stressed rat.**

A) Expression of HSP27 mRNA of rats, which were administrated with ginseng and medicinal herbs. The significant reduction of heat response groups were observed in FG and GS groups ( $P < 0.05$ ). B) Expression of HSP70 mRNA of rats, which were administrated with ginseng and medicinal herbs. The significant reduction of heat response groups were observed in FG group ( $P < 0.0001$ ). C) Expression of HSP90 mRNA of rats, which were administrated with ginseng and medicinal herbs. The significant reduction of heat response groups were observed in GS group ( $P < 0.05$ ). Statistics analysis was performed one-way anova. Post-hoc comparisons were done by Tukey's Honestly Significant Difference test.

#### (다) IFIT1, IFIT2 유전자의 발현변화

IFIT1 유전자 발현변화량을 살펴보면 Fig. 2-7, A에서와 같이 가시오가피, 수삼, 가시오가피+수삼 복합물을 먹인 모든 그룹에서 heat stress에 방어하기 위해 증가되었던 유전자의 발현량이 약 20% 정도 낮게 발현된 것을 관찰 할 수 있었다. 하지만, IFIT2 (Fig. 2-7, B) 유전자에서는 가시오가피 > 인삼 순으로 증가된 유전자의 발현량보다 약 50~70% 정도 낮게 발현되어 고온환경 방어효과가 나타났다.

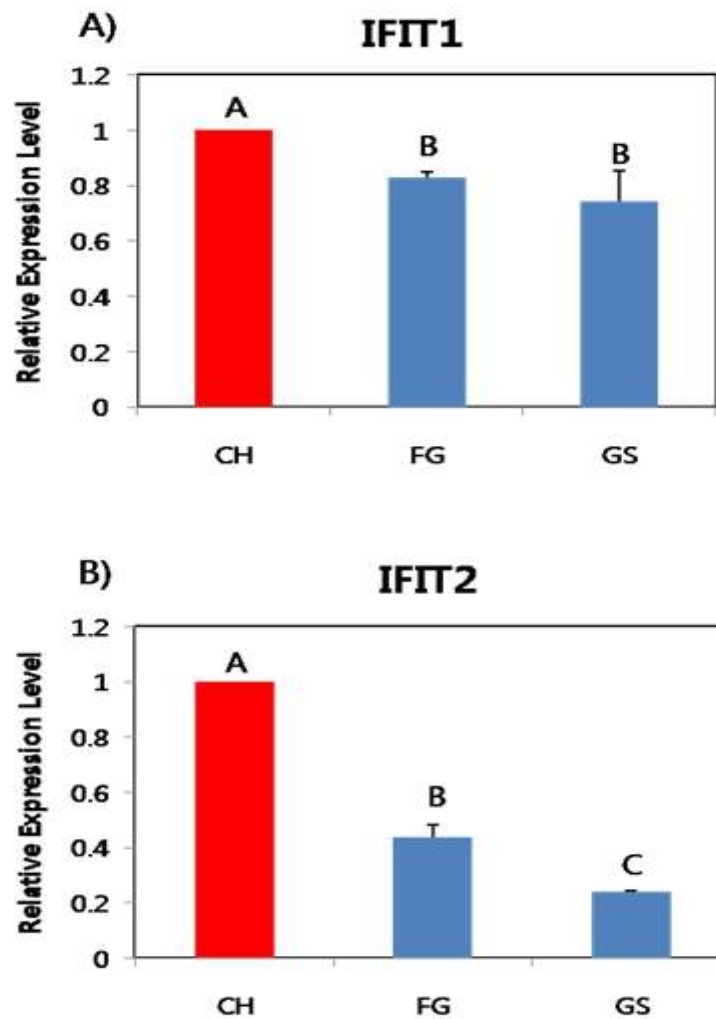


Fig. 2-7. Effect of ginseng and medicinal herbs on heat-stressed rat. A) Expression of IFIT1 mRNA of rats, which were administrated with ginseng and medicinal herbs. The significant reduction of heat response groups were observed in all groups ( $P < 0.05$ ). B) Expression of IFIT2 mRNA of rats, which were administrated with ginseng and medicinal herbs. The significant reduction of heat response groups were observed in GS group ( $P < 0.0001$ ). Statistics analysis was performed one-way anova. Post-hoc comparisons were done by Tukey's Honestly Significant Difference test.

### (라) Ptdsr 유전자의 발현변화

Ptdsr의 유전자 발현변화는 Fig. 2-8에서와 같이 heat stress로 증가된 유전자의 발현량이 가시오가피 투여구 (GS)에서 고온대조군 보다 약 80%가량 낮게 발현된 것으로 나타나, 2 투여구 중 방어효과가 가장 뛰어났다. 인삼 투여구 (FG) 또한 heat stress로 인해 증가된 유전자의 발현량이 약 50%가량 낮게 발현되어 정상온도 처리군의 발현량과 비슷하게 나타났다.

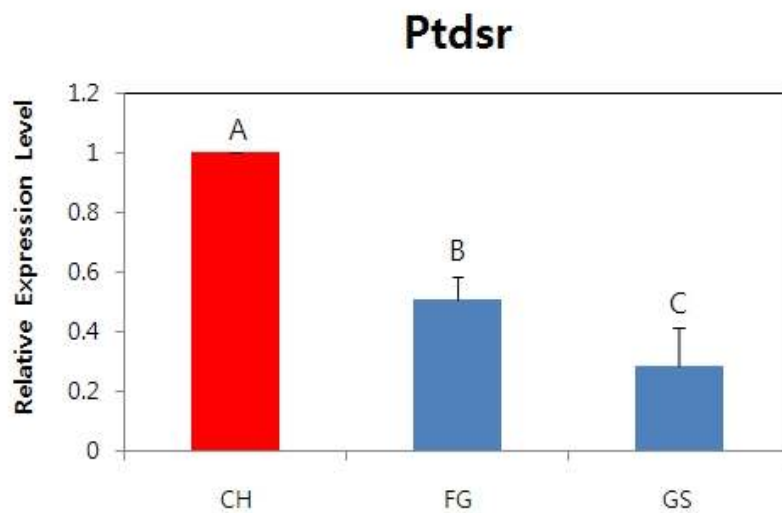


Fig. 2-8. Effect of ginseng and medicinal herbs on heat-stressed rat. Expression of Ptdsr mRNA of rats, which were administrated with ginseng and medicinal herbs. The significant reduction of heat response groups were observed in GS group ( $P < .0001$ ). Statistics analysis was performed one-way anova. Post-hoc comparisons were done by Tukey's Honestly Significant Difference test.

전체적으로 판단할 때, 인삼과 가시오가피의 고온환경 방어효과 시험에서는 HSP27 유전자의 발현변화에서는 인삼, 가시오가피 2 처리구 모두에서 고온환경 방어 효과가 나타났으며, HSP70 유전자의 발현변화에서는 가시오가피 처리구에서, HSP90 유전자의 발현변화에서는 인삼 투여구에서 가장 좋은 고온환경 방어 효과가 나타났다. 또한, IFIT2 유전자의 발현변화에서 가시오가피, 인삼 투여구

에서 고온환경 방어효과가 있었으며, Ptdsr 유전자의 발현변화에서는 가시오가피 투여구에서 가장 효과적이었다.

## 나. 인삼함유 생약재 조성물의 고온환경 방어효과

### (1) 정상온도 vs 고온환경 전체적인 유전자 발현 비교

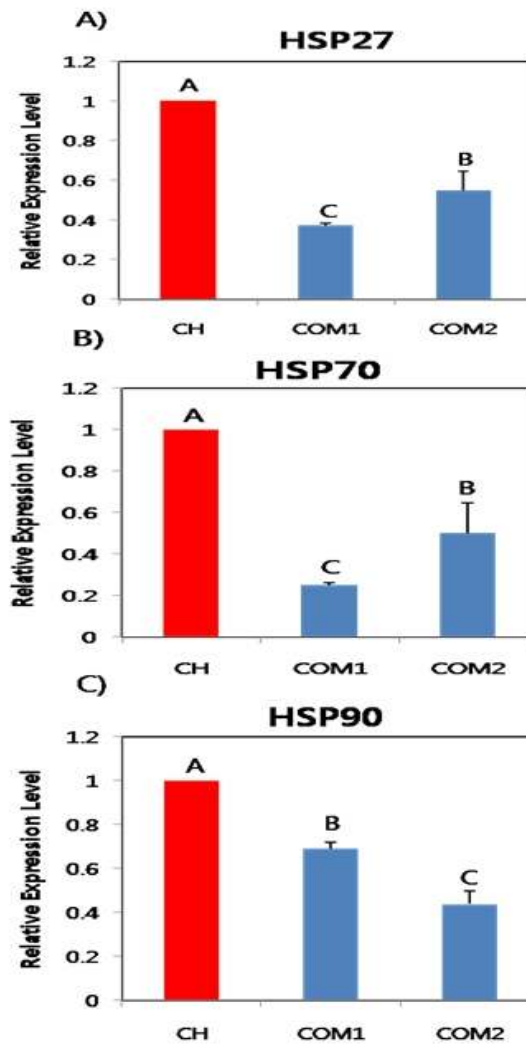
본 시험에서 고온환경에 의해 영향을 크게 받는 것으로 선정한 유전자들의 변화가 실제 고온환경에 노출시 어떻게 변화되는지를 시료 투여시와 비교해서 조사하기 위한 대조구로 일반식이를 투여하면서 정상온도에서 사육한 그룹과 고온환경에 노출시키면서 사육한 그룹의 전체적인 유전자 변화를 먼저 살펴보았다. 또한 각각의 투여시료가 바뀔 때 마다 매회 정상온도 노출군과 고온환경 노출군의 유전자 발현비교시험을 실시하여 유전자 발현변화를 측정하는 대조구로 사용하였다. 인삼함유 생약재 조성물의 고온환경 방어효과 시험에서도 고온환경 노출시 정상온도의 그룹보다 HSP27, HSP70, HSP90, IFIT1, IFIT2, Ptdsr 유전자의 발현량이 1.6~2.6배 증가하는 인삼과 가시오가피의 고온환경 방어효과 시험에서의 유전자 발현변화와 같은 경향을 나타냈으므로, 반복해서 부연 설명하지는 않았다.

### (2) Heat Shock Protein들의 발현변화

고온환경에 노출시키면서 생약재 시료들을 투여한 후 개별유전자들의 변화를 조사한 결과를 보았다. HSP27 유전자의 발현량의 변화는 Fig. 2-9, A에서 볼 수 있듯이 인삼함유 생약재 COM2를 투여한 그룹에서 heat stress로 인해 증가된 유전자의 발현량보다 약 50% 정도 낮게 발현되는 것으로 나타났다. 인삼함유 생약재 COM1을 투여한 그룹에서는 약 60% 정도 낮게 발현되는 효과가 있어, 2 투여구 중에 COM1 투여구가 고온환경 방어효과가 가장 뛰어난 것으로 판단되었다. HSP70 (Fig. 2-9, B) 유전자의 발현변화를 살펴보면, COM2 투여구에서 heat Stress로 인해 증가된 유전자의 발현량 보다 약 50%정도 낮게 발현되는 것으로 관찰되었으며, COM1 투여구에서는 고온대조군 보다 약 70%정



도 낮게 발현되는 효과가 관찰되었다. HSP27, 70 유전자의 발현변화로 알 수 있듯이 고온환경 방어 효과가 가장 뛰어나 HSP27, 70유전자를 regulation하는 처리구는 COM1 투여구로 판단된다. HSP90 (Fig. 2-9, C) 유전자의 경우, heat stress로 증가된 유전자의 발현량보다 약 50%정도 낮게 발현되는 COM2에서 가장 효과가 뛰어난 것으로 관찰되었다.

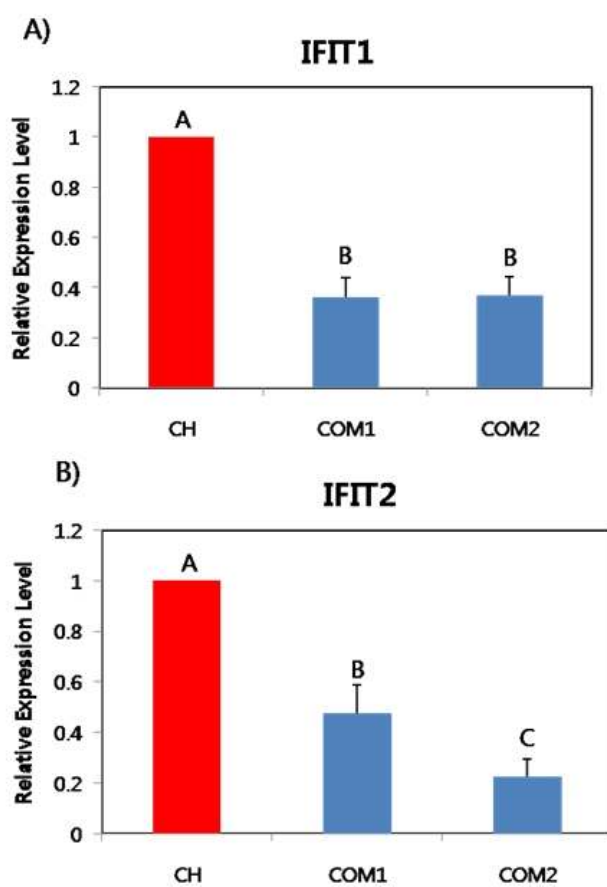


**Fig. 2-9. Effect of ginseng and medicinal herbs on heat-stressed rat.**

A) Expression of HSP27 mRNA of rats, which were administrated with ginseng and medicinal herbs. The significant reduction of heat response groups were observed in COM1 group ( $P < .0001$ ). B) Expression of HSP70 mRNA of rats, which were administrated with ginseng and medicinal herbs. The significant reduction of heat response groups were observed in COM1 group ( $P < 0.05$ ). C) Expression of HSP90 mRNA of rats, which were administrated with ginseng and medicinal herbs. The significant reduction of heat response groups were observed in COM2 group ( $P < .0001$ ). Statistics analysis was performed one-way anova. Post-hoc comparisons were done by Tukey's Honestly Significant Difference test.

### (3) IFIT1, IFIT2 유전자의 발현변화

Fig. 2-10의 IFIT1, IFIT2 유전자의 발현변화를 살펴보게 되면 모든 투여구에서 heat stress로 증가된 유전자의 발현량보다 약 50%이상 낮게 발현되는 것으로 나타났다. IFIT1 (Fig. 10, A) 유전자의 발현량을 살펴보면, 인삼함유 생약재 COM1 및 COM2 투여구에서 높은 방어효과가 나타났지만, IFIT2 (Fig. 10, B) 유전자의 경우는 COM2 투여구에서 증가된 발현량 보다 약 70% 정도 낮게 발현되어 정상온도 처리구의 유전자 발현과 비슷한 것을 확인 할 수 있었다.

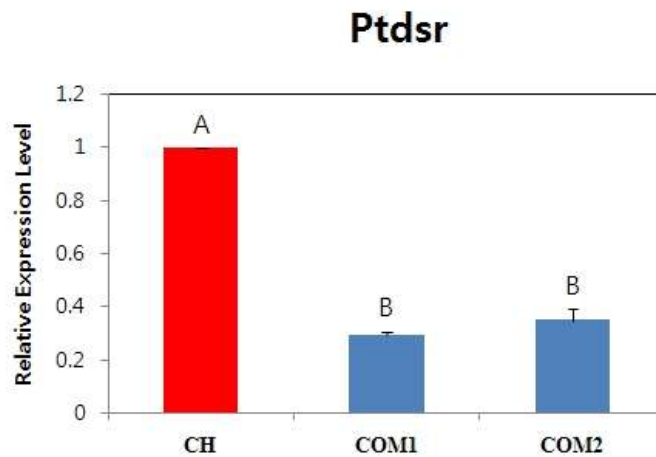


**Fig. 2–10. Effect of ginseng and medicinal herbs on heat–stressed rat.**

A) Expression of IFIT1 mRNA of rats, which were administrated with ginseng and medicinal herbs. The significant reduction of heat response groups were observed in all groups(  $P < 0.0001$ ). B) Expression of IFIT2 mRNA of rats, which were administrated with ginseng and medicinal herbs. The significant reduction of heat response groups were observed in COM2 group (  $P < 0.0001$ ). Statistics analysis was performed one–way anova. Post–hoc comparisons were done by Tukey's Honestly Significant Difference test.

#### (4) Ptdsr 유전자의 발현변화

Ptdsr 유전자의 발현변화를 통한 고온환경 방어효과는 Fig. 2-11에서 볼 수 있듯이, COM1, COM2의 2 투여구 모두 heat stress시 증가하였던 유전자의 발현량보다 약 70%이상 낮게 나타나 고온환경 방어효과를 관찰 할 수 있었다.



**Fig. 2-11. Effect of ginseng and medicinal herbs on heat-stressed rat. Expression of Ptdsr mRNA of rats, which were administrated with ginseng and medicinal herbs.** The significant reduction of heat response groups were observed in all groups ( $P < .0001$ ). Statistics analysis was performed one-way anova. Post-hoc comparisons were done by Tukey's Honestly Significant Difference test.

전체적으로 판단할 때, Heat Shock Protein family의 유전자의 발현 변화를 통한 고온환경 방어효과 시험에서 인삼함유 생약재 (COM1, COM2) 모두에서 효과적이었으며, IFIT1, 2 유전자 발현변화에서도 또한, 2 처리구 (COM1, COM2) 모두에서 고온환경 방어효과가 관찰되었다.

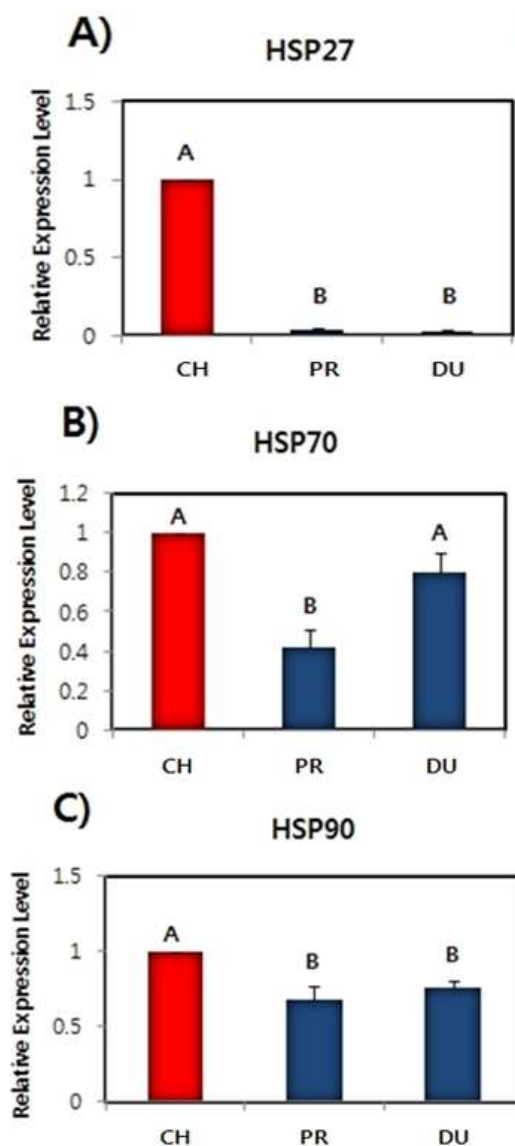
#### 다. 조성물의 투여방법에 따른 고온환경 방어효과

##### (1) 정상온도 vs 고온환경 전체적인 유전자 발현 비교

본 시험에서 고온환경에 의해 영향을 크게 받는 것으로 선정한 유전자들의 변화가 실제 고온환경에 노출시 어떻게 변화되는지를 시료 투여시와 비교해서 조사하기 위한 대조구로 일반식이를 투여하면서 정상온도에서 사육한 그룹과 고온환경에 노출시키면서 사육한 그룹의 전체적인 유전자 변화를 먼저 살펴보았다. 또한 각각의 투여시료가 바뀔 때 마다 매회 정상온도 노출군과 고온환경 노출군의 유전자 발현비교시험을 실시하여 유전자 발현변화를 측정하는 대조구로 사용하였다. 가시오가피, 감초, 홍삼 시제품의 고온환경 방어효과 시험에서도 고온환경 노출시 정상온도의 그룹보다 HSP27, HSP70, HSP90, IFIT1, IFIT2, Ptdsr 유전자의 발현량이 1.6~2.6배 증가하는 ‘인삼과 가시오가피 고온환경 방어효과’에서의 유전자 발현변화와 같은 경향을 나타냈으므로, 반복해서 부연 설명하지는 않았다.

## (2) Heat Shock Protein들의 발현변화

HSPs 유전자의 발현변화를 통한 고온환경 방어 효과를 살펴보게 되면 모든 처리구에서 heat stress로 인하여 증가되었던 유전자의 발현량 보다 낮게 발현되는 것을 관찰할 수 있었으며, 이것은 고온환경 방어효과가 있다고 사료되어진다. Fig. 2-12, A의 HSP27 유전자의 발현변화에서는 놀랍게도 사료에 인삼 함유 생약재 조성물을 첨가하여 투여한 군(PR)과 음수 형태로 최종 음료제품을 투여한 군(DU) 모두에서, 고온환경에 노출시키면서 일반 사료만을 먹인 그룹보다 발현량이 감소하여 정상온도 처리구의 발현량과 같아진 것을 관찰할 수 있었다. HSP70 (Fig. 2-12, B)의 발현변화에서는 음수형태로 투여한 군 (DU)보다 사료형태로 투여한 군(PR)에서 heat stress로 증가된 유전자의 발현량 보다 약 60%정도 낮게 발현되어 고온환경 방어효과가 더 뛰어난 것을 관찰 할 수 있었다. HSP90 (Fig. 2-12, C)의 발현량의 변화로 조사한 고온환경 방어효과는 PR 군과 DU군 모두에서 heat stress로 증가된 유전자의 발현량 보다 약 30% 정도 낮게 발현되는 효과가 있음을 관찰 할 수 있었다.

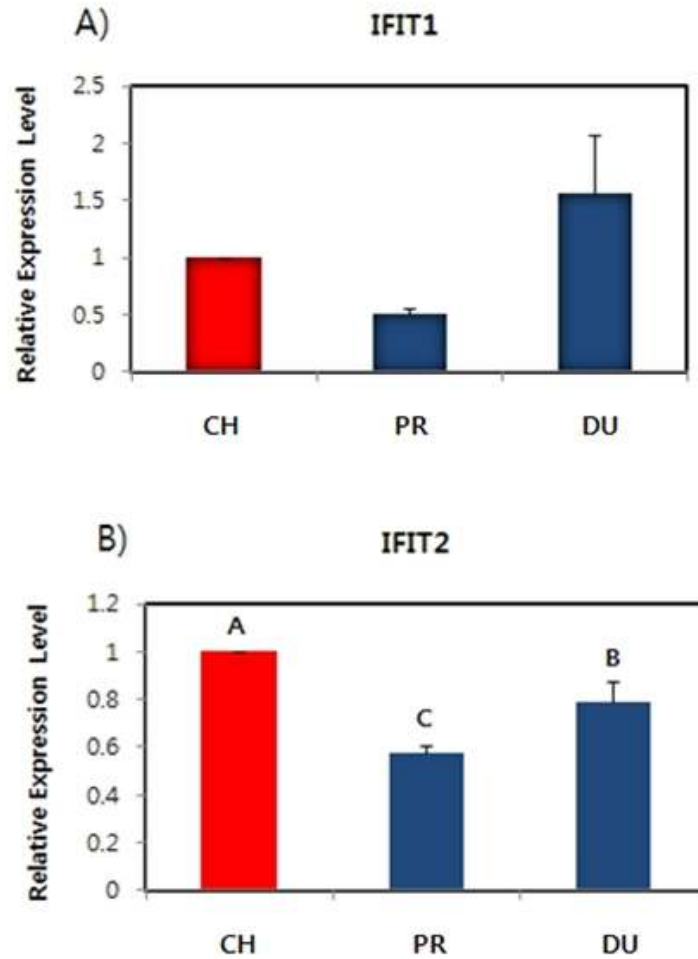


**Fig. 2–12. Effect of final beverage products on heat–stressed rat 1.** A) Expression of HSP27 mRNA of rats, which were administrated with ginseng and medicinal herbs. The significant reduction of heat response groups were observed in PR, ㉸ groups ( $P < .0001$ ). B) Expression of HSP70 mRNA of rats, which were administrated with ginseng and medicinal herbs. The significant reduction of heat response groups were observed in PR group ( $P < 0.0005$ ). C) Expression of HSP90 mRNA of rats, which were administrated with ginseng and medicinal herbs. The significant reduction of heat response groups were observed in PR and ㉸ groups ( $P < .0001$ ). Statistics analysis was performed one–way anova. Post–hoc comparisons were done by Tukey's Honestly Significant Difference test.

### (3) IFIT1, IFIT2 유전자의 발현변화

IFIT1, IFIT2 유전자의 발현변화를 통한 고온환경 방어효과를 살펴본 결과는 Fig. 2-13와 같다. IFIT1 (Fig. 2-13, A) 유전자의 발현변화에서는 사료에 최종 음료제품을 사료로 투여한 군(PR)에서 heat stress로 증가된 유전자의 발현량보다 약 50% 정도 낮게 발현되었지만, 통계적 유의성은 없는 것으로 나타났다. Fig. 2-13, B의 IFIT2 유전자의 발현변화를 살펴보면, 사료에 인삼함유 생약제 조성물을 첨가하여 투여한 구 (PR)에서 더 뛰어난 고온환경 방어 효과를 관찰 할 수 있었다.



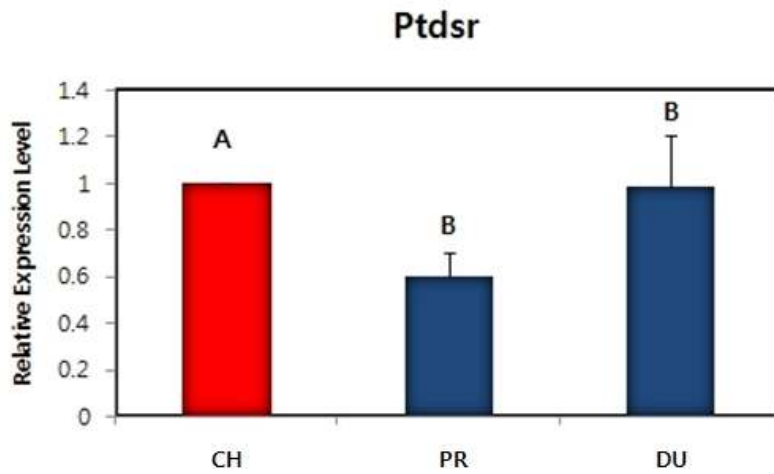


**Fig. 2-13. Effect of final beverage products on heat-stressed rat 2.** A) Expression of IFIT1 mRNA of rats, which were administrated with ginseng and medicinal herbs. B) Expression of IFIT2 mRNA of rats, which were administrated with ginseng and medicinal herbs. The significant reduction of heat response groups were observed in PR group ( $P < 0.0001$ ). Statistics analysis was performed one-way anova. Post-hoc comparisons were done by Tukey's Honestly Significant Difference test.

#### (4) Ptdsr 유전자의 발현변화

Fig. 2-14의 Ptdsr 유전자의 발현변화량을 통한 고온환경 방어 효과에서는 사료형태로 최종음료제품을 투여한 군(PR)에서 heat stress로 증가된 유전자의 발현량보다 약 40%정도 낮게 발현되는 효과가 있음을 관찰 할 수 있었다.

HSP27, HSP70, HSP90 유전자의 발현변화에서는 사료에 형태로 투여한 군(PR)과 음수 형태로 투여한 군(DU) 모두에서 고온환경 방어효과가 우수하게 나타났다. IFIT1, IFIT2, Ptdsr 유전자의 발현변화에서는 사료형태로 투여한 군(PR)에서 더욱 효과적이었다. 결론적으로 본 연구에서 고온환경에 대한 방어효능을 가지는 인삼 함유 생약재 조성물로 제조한 음료제품을 사료형태로 섭취시킬 경우(PR)가 고온환경 방어효과에 더 뛰어나다고 사료되어진다.



**Fig. 2-13. Effect of final beverage products on heat-stressed rat.** Expression of Ptdsr mRNA of rats, which were administrated with ginseng and medicinal herbs. The significant reduction of heat response groups were observed in PR1 and 여 groups(  $P < 0.05$ ). Statistics analysis was performed one-way anova. Post-hoc comparisons were done by Tukey's Honestly Significant Difference test.

전체적으로 본 연구를 통하여 종합해 보면 인삼 및 생약재가 정확하게 어떤 기작을 통하여 고온환경에 방어효과를 나타내는지 모두 알 수는 없었지만 어느 정도의 분자생물학적인 기작 구명의 가능성은 제시할 수 있었다. 또한 선정된 몇 가지 생약재들과 이를 이용하여 조제한 조성물, 조성물을 이용하여 개발한 음료제품들은 유전자 발현변화 연구를 통하여 판단할 때 고온환경에 대한 신체 방어 효능이 있는 것으로 판단되었다.

#### 4. 요약

정상온도 노출군과 고온환경 노출군의 HSP27, HSP70, HSP90, IFIT1, IFIT2, Ptdsr 유전자의 발현변화에서 정상온도 노출군보다 고온환경 노출군의 유전자 발현량이 1.6~2.6배 증가하여 고온환경에 대한 response 기작을 보이는 것으로 관찰되었다.

가시오가피, 인삼의 고온환경 방어효과 시험'에서는 HSP27 유전자의 발현변화에서는 인삼, 가시오가피 2 처리구 모두에서 고온환경 방어 효과가 나타났으며, HSP70 유전자의 발현변화에서는 가시오가피 처리구에서, HSP90 유전자의 발현변화에서는 인삼 투여구에서 가장 좋은 고온환경 방어효과가 나타났다. 또한, IFIT2 유전자의 발현변화에서 인삼, 가시오가피 투여구 (FG, GS)에서만 고온환경 방어효과가 있었으며, Ptdsr 유전자의 발현변화에서는 가시오가피 투여구 (GS)에서 가장 효과적이었다.

인삼함유 생약재 조성물의 고온환경 방어효과 시험'에서는 Heat Shock Protein family의 유전자의 발현변화를 통한 고온환경 방어효과 시험에서 가시오가피+감초에 대하여 인삼 제품을 첨가한 투여구 (COM1, COM2)에서 효과적이었으며, IFIT1, 2 유전자 발현변화에서도 2 처리구 (COM1, COM2) 모두에서 고온환경 방어효과가 관찰되었다.

최종적으로 개발한 인삼 함유 생약재 조성을 이용하여 개발한 음료 시제품의 고온환경 방어 효과를 사료형태 및 음수형태 등 투여 방법별로 조사한 시험에서는 HSP27, HSP70, HSP90 유전자의 발현변화에서는 사료 형태로 투여한 군(PR)과 음수 형태로 투여한 군(여) 모두에서 고온환경에 대한 방어 효과가 우수하였다. IFIT1, IFIT2, Ptdsr 유전자의 발현변화에서는 특히 사료형태로 첨가한 투여구 (PR)에서 더욱 효과적이었다.

## 5. 참고문헌

- (1) Sonna, L. A., J. Fujita, et al. : Invited review: Effects of heat and cold stress on mammalian gene expression. *J Appl Physiol* **92**(4): 1725–42 (2002).
- (2) Asea, A. A., V. Milani, et al. Heat shock proteins in physiology and pathology: the Berlin meeting. *Cell Stress Chaperones* **12**(3): 205–8 (2007).
- (3) Wang, Z. and S. Lindquist . Developmentally regulated nuclear transport of transcription factors in Drosophila embryos enable the heat shock response. *Development* **125**(23): 4841–50 (1998).
- (4) Dorion, S. and J. Landry. Activation of the mitogen-activated protein kinase pathways by heat shock. *Cell Stress Chaperones* **7**(2): 200–6 (2002).
- (5) Terenzi, F., D. J. Hui, et al. Distinct induction patterns and functions of two closely related interferon-inducible human genes, ISG54 and ISG56. *J Biol Chem* **281**(45): 34064–71 (2006).
- (6) Somersan, S. and N. Bhardwaj. Tethering and tickling: a new role for the phosphatidylserine receptor. *J Cell Biol* **155**(4): 501–4 (2001).
- (7) Ha, D. C. and Ryu, G. H. : Chemical components of red, white and extruded root ginseng. *J. Korea Soc. Food Sci. Nutr.* 34, 247–254 (2005).
- (8) Park, C.K., Jeon, B. S. and Yang, J. W. : The chemical components of korean Ginseng. *Food Industry and Nutrition* 8, 10–24 (2003).
- (9) Attele, A.S., Wu, J.A. and Yuan, C.S. : Ginseng pharmacology: multiple constituents and multiple actions. *Biochem Pharmacol* 58, 1685–1693 (1999).
- (10) Kim, Y.C., Kim, S.R., Markelonis, G.J. and Oh, T.H. : Ginsenosides Rb<sub>1</sub> and Rg<sub>3</sub> protect cultured rat cortical cells from glutamate-induced neurodegeneration. *J. Neurosci. Res* 53, 426–432 (1998).

(11) Hiromobu Yoshinatsu, Toshiie Sakata, Hironobu Machidori, Kazuma Fujimoto, Atsusi Yamatodain and Hiroshi Wada : Ginsenoside Rg<sub>1</sub> Prevents Histaminergic Modulation of Rat Adaptive Behavior From Elevation of Ambient Temperature. *Physiology and Behavior* 53, 1-4 (1993).

### 제 3 절. 고온환경에 대한 생체 방어용 기능성 식품 개발

#### 1. 인삼 함유 생약재 조성물의 조제

앞서 인삼과 생약재의 고온환경에 대한 방어효능 평가 결과와 관능적 품질을 고려하여 인삼(홍삼), 가시오가피 및 감초를 각각 500g, 500g, 50g을 취해 추출포에 넣고 약 20배 가량 가수한 후 2회 반복 열수 추출하였다. 이후 여과포를 이용하여 1차 조여과한 후 필요에 따라 20  $\mu$ m 카트리지 필터를 이용하여 2차 여과하였다. 여과물은 함께 감압농축장치를 이용하여 약 고형물 함량이 40%수준이 되게 농축하였다.

그 결과 약 350~400 g의 인삼 함유 생약재 조성물(KFRI-08)을 얻었으며 농축물 형태의 조성물과 이때 사용한 주요 생약재의 형태는 아래 Fig. 3-1과 같으며 생약재 조성물의 주요 성분 함량은 아래 Table 3-1과 같다.



Fig. 3-1. Medicinal herbs composite containing red ginseng extract.

Table 3-1. Contents of principal components of Medicinal herbs composite(KFRI-08)

Components	Contents (%)	Origin
Acidic polysaccharide	10.1~11.7	Korean ginseng
Total Phenolic	2.2~2.5	
Crude saponin	7.0~7.9	Korean ginseng
Ginsenosides		
Rb <sub>1</sub>	≒ 0.3	Korean ginseng
Rg <sub>1</sub>	≒ 0.2	Korean ginseng
Glycyrrhizin	0.03~0.07	Glycyrrhizae Radix.

본 연구에서 제조한 인삼함유생약재 조성물(KFRI-08)의 경우 인삼으로부터 유래 했을 것으로 추정되는 산성다당체 10.1~11.7%, 조사포닌 7.0~7.9%, 사포닌 성분중에서 대표적인 진세노사이드인 Rb<sub>1</sub>과 Rg<sub>1</sub>이 각각 0.3, 0.2% 수준 함유되어 있었으며 감초의 지표성분인 글리시리진 역시 0.03~0.07% 정도 함유되어 있었다. 또한 인삼과 감초, 가시오가피 등으로부터 유래한 것으로 추정되는 페놀화합물 역시 2.2~2.5% 정도 함유되어 있었다.

## 2. 음료제품 개발

쉽게 음용가능한 음료 제품을 개발하기 위해 적정 인삼 함유 생약재 조성물 첨가량을 결정하였으며 다양한 과일 농축액을 이용하여 생약재 특유의 이취 및 이미를 최소화 하였다. 이후 고과당, 올리고당 등의 감미료와 구연산, 비타민C, 타우린 등의 산미료와 첨가물을 혼합하여 음료제품을 개발하였으며 최종 배합비와 제품 형태는 Table 3-2 와 Fig 3-2와 같다.



Table 3-2. Final recipe and properties of beverage products developed using medicinal herbs composites containing Korean ginseng

Medicinal herbs composite (KFRI-M08)		1 %
Apple conc.		2 %
Promegrnate conc.		0.5 %
High fructose syrup		6 %
Oligo-sugar		2 %
Honey		1 %
Citric acid		0.13 %
Vitamin C		0.03 %
Taurin		1 %
Water		86.34 %
Physico-chemical Properties	Brix (°Bx)	10.5
	pH	3.46
	Flavor	6.08
Sensory properties*	Taste	6.62
	Color	6.92
	Preference	6.92

\* 9-point scale (9 point: very good ~ 1 point : very poor).



Fig. 3-2. Beverage products developed using medicinal herbs composites containing Korean ginseng

### 3. 분말과립 제품개발

인삼 함유 생약재 조성물 7.5g, 사과와 석류 농축액 각각 5g, 2.5g, 비타민 C 5g, (홍삼 농축액 2.5g)에 무수결정 포도당 80g (75g)을 첨가한 후 배합, 성형하여 15~20mesh 정도의 과립제품을 제조하였다. 본 제품의 경우 과립 비타민 C와 유사한 형태로 그냥 섭취하거나 물에 현탁하여 섭취 가능한 제품으로 인삼 고유의 맛과 향이 유지되면서도 과실농축액 및 미타민C 첨가로 상큼한 맛이 느껴지는 분말 과립제품이었다. 본 제품의 제품 형태는 아래 Fig. 3-3과 같다.



Fig. 3-3. Granule type product developed using medicinal herbs composites containing Korean ginseng

## 제 4 장 목표의 달성도 및 관련 분야에의 기여도

### 1. 고온환경에 대한 방어효능을 가진 생약재 소재의 선발

국내를 대표하는 주요 생약재 중에 하나이고 여름철 보양식품의 주요 소재로 활용되어 온 고려인삼을 포함하여 감초 등 5종의 생약재와 전통탕류인 생맥산의 투여가 고온환경에 주기적으로 노출된 흰쥐에 미치는 영향을 구명하였다. 기존의 선행연구 및 본 연구사업 모든 연구결과를 종합해 보면 지속적이고 주기적인 고온환경(무더위 조건)의 부가는 흰쥐의 체중증가를 및 식이 섭취량을 감소시키고 음수량을 증가시키며 간의 지질과산화를 촉진하는 것으로 나타났다. 또한 일관적이고 유의한 결과는 아니었지만 간의 중량을 감소시키거나 혈액중 백혈구 수치를 증가시키는 현상도 관찰되었다. 본 연구에서는 앞서 선정한 6~7종의 시료를 대상으로 이와 같은 고온환경에 의한 생리적 변화를 방어해 주는 효능을 평가하였으며 그 결과 고온환경에 의한 흰쥐의 체중 증가를 감소, 식이 섭취량 감소 및 간의 지질과산화를 방어해 주는 효능이 있는 것으로 판단되어지는 인삼 등 생약재 3종을 최종 선발 완료하였다. 비록 일부 연구결과는 동물 실험의 특성상 통계학적으로 유의적이지는 못하였으나 인삼과 국내 주요 생약재의 외부 환경 변화에 대한 항상성 유지효과를 일부나마 과학적으로 구명했다는 데 큰 의미가 있다고 여겨진다.

### 2. 인삼 함유 생약재 조성물 및 최종개발 시제품의 고온환경에 대한 방어효능평가

인삼(홍삼 또는 인삼추출 부산물)을 주성분으로 하고 여기에 감초 및 가시오가피를 문헌상 권장 섭취량 및 관능적 품질 요인을 고려하여 일정 비율로 배합한 후 추출, 농축하여 인삼 함유 생약재 조성물을 개발 완료하였다. 본 연구에서 개발된 생약재 조성물을 장기적으로 투여한 흰쥐의 경우 일반식이만 섭취한 고온대조군에 비해 약 12% 정도의 체중 증가를 감소를 방어하는 효과가 있었으며 식이섭취량 감소 역시 10% 정도 개선시키는 효과가 있었다. 또한 간의

지질과산화물을 크게 억제하는 것으로 나타났다. 따라서 향후 다양한 배합비 및 섭취량에 대한 추가적인 연구는 필요할 것이라 여겨지지만 고온환경에 대한 방어효능을 나타내는 인삼 함유 생약제 조성물 1~2종을 개발 완료하였으며 이에 대한 산업재산권을 출원하였다. 본 연구개발에서 얻어진 인삼함유 생약제 조성물의 경우 다양한 기능성 식품이나 가공제품의 소재로 활용이 가능할 것이라 여겨진다.

또한 인삼 함유 생약제 조성물의 관능적 품질을 개선하고 일부 기능성 소재를 첨가하여 음료 시제품을 개발하였으며 이에 대한 고온환경에 대한 방어효능을 사료형태와 음수형태 등으로 투여방법을 달리하여 평가해 하였다. 그 결과 시료의 투여 형태별로 약간의 차이가 있었으나 고온환경에 따른 체중 증가를 감소는 17.0~20.7%, 식이섭취량 감소는 40% 수준까지, 간의 지질과산화 증가는 70% 수준까지 방어해주는 효능을 최종 확인하였다. 이상의 결과는 본 연구에서 개발한 인삼함유 생약제 조성물을 이용하여 고온환경에 대한 방어효능을 가진 다양한 기능성 식품을 제조할 수 있음을 나타내는 의미있는 결과로 여겨졌다.

### 3. 유전자 발현조사를 통한 인삼 및 생약제의 고온환경 방어효능 평가

본 연구에서 고온환경에 영향을 받을 것이라 추정되었던 HSP27, HSP70, HSP90, IFIT1, IFIT2, Ptdsr 유전자들 모두 고온환경에 의해 그 발현양이 변화함을 확인하였다. 이는 고온환경 노출시 정상온도보다 이들 유전자의 발현량이 증가되어 heat response가 작동된 것을 판단되었다.

HSP27 유전자의 경우 가시오가피, 인삼 등의 투여시 고온환경에 의한 발현량 변화가 억제 되었으며 HSP70유전자의 가시오가피 투여군에서, HSP90 유전자의 발현변화에서는 인삼 추출물에서 그 발현량 변화가 억제되었다. IFIT2 유전자는 가시오가피, 인삼 투여군에서 고온환경 방어효과가 있었으며, Ptdsr 유전자의 발현변화에서는 가시오가피 투여군에서 고온환경 방어 효과가 가장 뛰어났다. 또한 가시오가피와 감초 추출물에 대하여 고려인삼 추출물을 첨가한 투여군 시험에서는 고려인삼 첨가에 따른 synergistic effect가 나타남을 구명하

였다. 최종시제품의 투여시에도 사료형태나 음수형태 등 투여방법에 상관없이 고온환경에 의한 이들 유전자 발현량 변화가 억제됨도 구명하였다.

이와 같은 결과는 기존에 주위 온도변화에 의한 영향을 받는 것으로 보고된 유전자들의 발현량 변화가 본 연구에서 개발된 소재 및 시제품 섭취에 의해 방어할 수 있음을 과학적으로 증명했다는 것에 큰 의미가 있다고 판단되며 향후 보다 많은 유전자 발현관련 연구를 통한 정확한 기전연구에 기초자료로 활용가능할 것이라 여겨진다.

#### **4. 인삼함유 생약재 조성물을 이용한 기능성 식품개발**

고온환경에 의한 생리적 및 유전자적 변화를 방어해주는 인삼 함유 생약재 조성물을 주원료로 하고 관련 기능성을 강화하기 위한 일부 소재의 첨가, 관능적 품질 개선을 위한 부재료의 선정 및 첨가량 결정 연구를 통해 바로 음용 가능한 음료제품 1종 개발 완료 하였으며 또한 휴대가 용의하고 그대로 섭취가능한 분말과립제품 1종도 개발하였다.

## 제 5 장 연구개발결과의 활용계획

### 1. 학술분야

고전으로부터 전해져 오던 고려인삼의 항상성 유지 효능에 대한 과학적 구명을 위한 연구는 그리 많지 않으므로 본 연구를 통해 얻어진 고려인삼의 고온 환경에 대한 항상성 유지 효능에 대한 연구결과를 적극적인 학술활동을 통해 홍보하고자 하였음. 또한 고온환경 등 외부환경 변화에 신체 방어 효능연구에 대한 다양한 연구가 보다 폭 넓은 소재를 대상으로 이루어질 수 있도록 기초자료를 제공하고자 하였다. 본 연구기간동안 수행하였으나 예정된 학술활동의 내용은 아래와 같음.

#### o 학술발표 : 총 8 회 (국내 4건, 국외 4건)

- 고려인삼의 고온환경에 대한 생체 방어효능 (고려인삼학회, 2006)
- Effects of Korean Ginseng (Panax ginseng C.A. Meyer) on Rat Exposed to Chronic Heat Environment(KOCI-VAST 국제공동컨퍼런스, 베트남, 2007. 9)
- Effect of Ginseng and medicinal herbs on expression of heat shock proteins in rat liver in vivo heat stress(한국식품영양과학회 2007.10, 최우수 논문상 수상)
- 인삼함유 생약재 조성물이 주기적인 고온환경에 노출된 흰쥐에 미치는 영향 (한국식품영양과학회 2007.10)
- Protective Effect of Ginseng and Several Medicinal Herbs on Heat Stress by Phosphatidylserine receptor Gene Expression (한국분자 세포생물학회, 2008.2.)
- Protective Effect of Ginseng and Several Medicinal Herbs on Heat Stress by IFIT1 and IFIT2 Gene Expression (Experimental Biology. 미국샌디에고 2008. 4.)
- External heat stimulus and gene expression changes: a cDNA microarray analysis

study.(Experimental Biology. 미국샌디에고 2008. 4.)

- Protective effect of Korean ginseng and medicinal herb composite on rat exposed to periodic heat stress (IFT 국제학술발표, 2008.6 발표 확정)

**o 학회투고논문 : 총 1 회 (국내 1 건)**

국내, 외논문의 경우 초기 인삼에 대한 기초적인 연구결과만 논문으로 투고 하였으며 이후 연구결과의 경우 산업재산권 출원시기와 관련이 있어 산업재산권 출원이 완료된 이후 국내, 외 논문을 투고할 예정임..

- 고려인삼 추출물이 고온환경에 노출된 흰쥐에 미치는 영향 (고려인삼학회지, 30:4, 199-205, 2006)

**o 전시, 홍보 : 총 1 회**

- Effects of Korean Ginseng on Body Adaptation under Chronic Heat Environment (국제인삼엑스포, 금산, 2006. 9)

**o 산업재산권 출원**

- “주기적인 무더위에 대한 신체 방어용 인삼함유 생약제 조성물” 에 대한 산업재산권을 2006년 5월중 출원예정임.

**2. 제품개발 및 상품화 분야**

본 연구에서는 일반 음료 시제품과 편의성이 높은 과립제품을 개발하였으며 특히 음료제품의 경우 제품자체에 대한 생리학적, 분자생물학적 효능 평가를 완료하였음. 따라서 본 제품에 대한 상품화를 참여기업인 (주) 알앤엘생명과학과 협의 중에 있으며 이러한 환경관련 기능성 제품에 대한 시장이 국내에 거의 형성되어 있지 못한 현실을 감안하여 식품이외의 다양한 제품개발에 대한 활용성도 검토 중에 있음



## 주 의

1. 이 보고서는 농림식품수산부에서 시행한 농림기술개발사업의 연구 보고서입니다.
2. 이 보고서 내용을 발표할 때에는 반드시 농림수산식품부에서 시행한 농림기술개발 사업의 연구결과임을 밝혀야 합니다.
3. 국가과학기술 기밀유지에 필요한 내용은 대외적으로 발표 또는 공개하여서는 아니 됩니다.