

발간등록번호

11-1543000-000085-01

고려인삼과 화기삼의 체열에 대한 임상 및
전임상 연구

Clinical and Pre-clinical Studies on the Changes
in Body Energy Metabolism of Korean Ginseng and
American Ginseng

경희대학교

농림축산식품부

제 출 문

농림축산식품부 장관 귀하

이 보고서를 “고려인삼과 화기삼의 체열에 대한 임상 및 전임상 연구” 과제의 보고서로 제출합니다.

2013년 6 월 25 일

주관연구기관명 : 경희대학교

주관연구책임자 : 양덕춘

세부연구책임자 : 최광태

세부연구책임자: 강동호

세부연구책임자: 인준교

협동연구기관명 : 대구한의대

협동연구책임자 : 변준석

협동연구기관명 : 가천의대

협동연구책임자 : 전희숙

요 약 문

I. 제 목

II. 연구개발의 목적 및 필요성

- (1) 고려인삼과 화기삼의 체열에 대한 과학적 근거 제시
- (2) 전임상과 임상실험을 통한 인삼의 체열에 대한 과학적인 증명과 기전규명
- (3) 체열반응에 대한 자료를 확보하고 이러한 결과를 바탕으로 해외 홍보
- (4) 연구결과물 해외홍보와 인삼의 임상적용확대

III. 연구개발 내용 및 범위

- (1) 고려인삼 및 화기삼의 체열반응 조사를 위한 국제적인 다기관 임상검증
 - 3개국(한국, 중국, 베트남, 대만) 이상에서 대규모 임상시험 실시
 - 국내외의 국가지정임상센터에서 임상시험 실시
- (2) 전임상 실험을 통한 체열메카니즘 규명
 - 임상시험을 통하여 인삼을 복용 후 시료 실험 및 프로파일 확보
 - 인삼의 각 유효성분에 대한 체내 동태 연구
- (3) 「실시간동물대사 chamber」를 이용한 체열현상 규명
 - Metabolic cage를 활용한 마우스체온 및 실시간에너지 대사분석
 - 고려인삼과 화기삼 투여 후 미토콘드리아의 구조적변화 및 에너지 대사분석
 - 고려인삼 단기 및 장기투여 후 체온 및 대사 변화 관찰
- (4) 발열관련 생리기전의 전체 프로파일링 분석
 - PPD 및 PPT 사포닌 섭취에 따른 동물 체열변화 분석
 - 동물 및 임상실험과 연계한 microarray 분석을 통한 생리기전분석
 - 백삼, 홍삼 및 화기삼 섭취시 국가별(인종별) 차이에 따른 체열반응상호작용 분석을 위한 DNA chip을 이용한 차별발현유전자 프로파일링 분석
 - Compound K의 인체흡수에 따른 체열분석
- (5) 연구결과의 추적조사 및 홍보자료제작
 - 대전 MBC와 공동으로 고려인삼과 화기삼의 체열반응에 대한 다큐멘터리 제작
 - 해외홍보를 위한 영문화 CD제작(한국어, 영어, 베트남어)
 - 다큐멘터리(고려인삼은 화(火)를 내지 않는다) 국내외 방영

IV. 연구개발결과

V. 연구성과 및 성과활용 계획

- (1) 본 연구의 결과는 중국 및 동남아시아에서 화기삼의 관촉 전략에 대응할 수 있는 근거로 활용하여 인삼의 주된 수출 시장인 일본, 중국, 동남아시아 지역에서 고려인삼의 수출과 관촉 활동에 가장 큰 장애 요인의 하나인 체열상승과 관련된 부작용 우려감에 대한 부정적 인식을 제거하는데 큰 역할을 할 것이다. 이를 위해서 동양의 한의학적 관점과 현대과학의 인간유전자 마이크로어레이를 이용한 객관적이고 과학적인 자료를 통하여 고려인삼에 대한 부정적인 인식을 불식시키고 우려감을 해소 할 수 있는 학술홍보자료로 활용할 수 있을 것임.
- (2) 또한 임상효능연구결과는 아시아와 유럽, 미국 등에서 화기삼의 관촉 전략에 대응할 수 있는 학문적 대응 논리로서 유용하게 사용될 수 있을 것이며, 연구 결과는 유수의 SCI 국제 학술지에 발표함으로써 국내 인삼 업계의 각종 인삼 제품의 대외 수출 홍보에도 크게 기여할 것임.
- (3) 또한 연구추적결과 방영물들은 수출지역의 언어(3개국 이상)로 번역하여 홍보물을 제작하고 방영함으로써 국제시장에서 고려인삼의 우수성을 적극적으로 홍보할 것임.
- (4) 고려인삼에 체열작용이 있다는 담론은 세계인들이 고려인삼을 소비하는 데 장애물로 작용하고 있는 실정으로 본 연구에서 이러한 담론이 생겨난 역사적 배경을 문헌적으로 밝히고 체열작용에 대한 담론의 작위성을 드러내고, 이를 통해 고려인삼의 소비에 대한 장애요인을 제거하여 국제적으로 고려인삼의 시장확대에 크게 기여할 것임.
- (5) 고려인삼과 화기삼이 한국과 중국, 베트남, 대만에서 임상실험을 통한 체온, 체열, 심박변이도, 혈액 구성 성분, 섭취 후 단시간(2-3시간) 뇌혈류에 대한 영향을 임상적으로 시험하고 그 결과를 학술대회 및 학술지에 발표하여 “고려인삼이 화기삼에 비해 승열작용이 있어 동남아인에게 맞지 않다”는 추측성 가설의 오류를 증명하고, 국내외 홍보를 통해 현재 중국 및 홍콩 시장에서 화기삼에게 우위를 내주고 있는 고려인삼의 시장확대에 크게 기여할 것임.
- (6) 특화된 기술을 활용하여 기존 연구와는 차별화된 인삼에 의한 승열작용에 대한 종합적이고 체계적인 해답을 제시할 수 있음. Metabolic cage의 도입은 단순 체온변화 이상의 다양한 대사지표를 객관화 할 수 있도록 하여 한정적이고 단편적이었던 인삼 체열작용에 대한 연구를 한차원 높은 수준으로 향상 시킬 것으로 기대됨.
- (7) 열감, 체열에 대한 객관적인 지표를 마련하여 추후 관련된 연구의 기틀이 되고 인삼의 효능을 증명하는 근거자료를 확립함

목 차

- 제 1 장 연구개발과제의 개요
- 제 2 장 국내외 기술개발 현황
- 제 3 장 연구개발수행 내용 및 결과
- 제 4 장 목표달성도 및 관련분야에의 기여도
- 제 5 장 연구개발 성과 및 성과활용 계획
- 제 6 장 연구개발과정에서 수집한 해외과학기술정보
- 제 7 장 연구시설·장비 현황
- 제 8 장 참고문헌

제 1 장 연구개발과제의 개요

제1절 연구개발의 목적

한국을 대표하며 종주국인 고려인삼의 산업을 활성화시켜 세계시장에서 그 우수성을 인정받고자 현재 세계 시장에서 문제시 되고 있는 고려인삼의 승열반응에 대한 객관적인 증명 연구를 수행 하고자 한다. 최근 국제시장에서의 고려인삼의 승열에 대한 학설로 인하여 경쟁력이 크게 악화되고 있어 본 연구에서는 고려인삼과 화기삼의 체열에 대한 과학적 근거를 제시하고 임상 실험을 통한 체열반응의 유무에 대한 과학적 증명 및 기전을 규명하여 고려인삼에 대해 잘못 알려진 내용을 바로잡고 국제적 경쟁력 강화를 목표로 인삼산업 관련종사자의 문제점을 해결하고 인삼산업 및 해외수출을 증진시키고자 한다.

제2절 연구개발의 필요성

가. 목표설정의 배경

1) 국내 인삼산업 시장현황

- 고려중엽 인삼의 인공재배법이 세계 최초로 우리나라에서 개발되어지면서 우리나라가 세계의 주요 인삼 산지이자 종주국으로서의 위치를 차지하였음. 인삼은 현재도 많은 병증에 치유효과를 지닌 주요 중·한약 및 자양강장제로서 동북아시아 지역에서 중시되고 있고, 세계 생산량의 약 80% 내외가 이 지역에서 생산·소비되고 있음. 특히, 중국 내에서의 인삼재배 및 가공기술의 발전, 역내 주민들의 급격한 소득수준 향상의 영향으로 그 수급규모가 날로 증가하고 있음.
- 최근에는 인삼(Ginseng)이 인체의 생리기능을 활성화시키는 기능성 식품으로서 여러가지 유용성이 과학적으로 입증되면서, 세계의 건강보조식품시장에서 은행(Ginco)잎 추출물, 마늘(Galic)과 함께 소위 3-G 붐업(Boom-up)을 주도할 정도로 비중이 점차 높아지고 있음. 또한 인삼의 주요 지표물질들이 천연활성 면역반응 변형제(Biological Active Immune Response Modifiers)로서도 우수함이 밝혀짐에 따라 앞으로 면역 의학적 치료보조제로서의 수요도 크게 증가할 것이 기대되고 있는데 반하여, 불행히 우리나라의 인삼시장은 침체일로에 있음.

① 생산성의 문제점 : 국내 인삼 재배지의 유지확대에 어려움이 가중되고 있음. 안삼 4년근 경작농가의 연간소득이 노지 참외의 93%, 시설참외의 38%, 사과 74%에 불과할 정도로 상대적 소득경쟁력이 낮아 재배농가의 이탈 증가하고 있음. 더욱이 농촌 노동력의 부족으로 인한 지속적인 인건비 상승은 이러한 어려움을 더욱 가중시키고 있

으며, 실제로 주 작업 기계화율이 48%수준에 그치고 있는 인삼경작의 경우 전체 경비 중 인건비가 29%정도에 달할 정도로 높아(시설채소 15% 내외) 생산비 절감이 어렵고, 까다로운 생육조건과 연작이 어려운 특성으로 타 작목에 비해 재배면적 확보가 쉽지 않은 부분 역시 생산기반 유지확대에 부정적으로 작용.

② **저렴한 외국산 인삼의 대량 유입** : 농산물 무역의 개방확대에 따라 국내시장에 외국산 인삼류의 수입 가능성이 증대함. 2004년까지는 양허협정에 따라 높은 관세를 부과하고 있어 큰 피해는 없었으나, 2005년부터 시장개방이 본격화되 국내 인삼 생산농가들에게 큰 부담이 되고 있음. 더구나 국내시장을 목표로 한 우리인삼 품종의 해외재배가(중국 길림성 지역) 성행하고 있어 가격경쟁력이 높은 외국산 인삼의 수입가능성에 대한 심각성이 매우 큼.

③ **인삼산업의 전매제 폐지** : 1984년 백삼의 전매제 폐지, 1996년 홍삼의 전매제 폐지 이후 민간 자율성이 확대되고 경쟁체제가 자리잡아감에 따라 산업전체의 발전가능성이 점차 증대되고 있음. 이러한 시장활성화는 부가가치가 높은 홍삼가공이 확대되는 등 가공과 소비패턴의 변화로 새로운 수요의 창출이 가능하였음. 그러나 국내의 경쟁기반이 성숙되기 전에 경쟁체제의 도입으로 인하여 우리나라의 백삼시장은 그 경쟁력을 잃었고, 홍삼전매제가 폐지된 시점에서 과거 백삼의 전매제폐지에 따른 문제점이 홍삼시장에서 재연되고 있는 실정임.

④ **세계인삼시장의 확대** : 인삼의 효능에 대한 인식확대로 세계 인삼시장의 규모가 점점 확대되어 가고 있는 추세임. 실제로 최근 10년간 세계 인삼시장은 물량면에서 5배, 금액면에서 2.4배가 증가하여 커다란 성장세를 보여주고 있음. 이러한 세계 인삼시장의 성장은 침체에 빠져있는 국내 인삼산업의 새로운 돌파구를 제공해 준다는 면에서 커다란 기회임. 인삼의 종주국으로서 국제사회에서 인지도가 높기 때문에 향후 우리나라가 국책정책으로 인삼산업을 활성화시키고 품질·가격경쟁력을 제고하면, 세계 인삼에서 주도권을 지속적으로 보유할 수 있을 것이나 **현재 저가의 중국삼과 미국, 캐나다 삼의 승열작용을 활용한 마케팅에 밀려 고전을 면치 못하고 있는 실정임**-> 마케팅부재, 홍보전략 미숙, 표준화 안됨.

- **국내인삼의 소비현황** : 현재 국내 인삼의 소비현황은 원형삼을 직접 가공한 것과 원형삼을 원료로 하여 관련 제품을 만든 것으로 나누어 보면, 홍삼이 총 46.2%, 백삼이 7.9%, 태극삼이 7.9%이며 수삼으로 사용된것이 45.7% 차지하고 있다. 그러나 수삼의 경우 거의 내수시장에 한정되어 있으며 수출은 전혀 없는 상태이다. **한국은 2010년 역시 내수가 87.6% 수출 12.4%에 그치고 있다(표 1).**

표 1 . 국내 생산 인삼류 소비형태

구 분	생산량	가공 및 제품형태 (톤)		
		전 체	내 수	수 출
홍 삼	12,448톤 (46.2%)	뿌리삼 가공 2,826 (22.7%)	540 (19.1%)	2,286 (80.9%)
		가공 제품류 9,622 (77.3%)	8,843 (91.9%)	779 (8.1%)
태극삼	54톤 (0.2%)	뿌리삼 가공 54 (100%)	51 (94.1%)	3 (5.9%)
백 삼 용	2,129톤 (7.9%)	뿌리삼 가공 1,676 (78.7%)	1,461 (87.2%)	215 (12.8%)
		가공 제품류 453 (21.3%)	386 (85.2%)	67 (14.8%)
수 삼 용	12,313톤 (45.7%)	뿌리삼 생산(100%)	12,313톤 (100%)	0
계	26,944톤 (100%)	뿌리삼 : 16,869(62.6%) 가공제품 : 10,075 (37.4%)	23,594 (87.6%)	3,350 (12.4%)

- 자료 : 농림수산식품부 인삼통계자료(2010).

- 우리 나라의 인삼 수출은 1990년 미화 164.9백만 달러를 정점으로 더 이상 늘어나지 않고 오히려 계속 하락하여 1999년에는 미화 8,400만 달러로 1990년의 50%수준까지 감소함. 이로 인하여 원형삼의 경우 세계 최대의 인삼 소비시장인 중국 및 화교권 시장에서 중국삼(Asian ginseng)과 화기삼(American ginseng) 등에 대부분의 시장을 잠식당한 상태가 되었고, 기타 제품들도 고가인데다 상품의 형태나 품질마저 현지시장의 요구에 적응하지 못하여 한국산 인삼의 신규수요가 전혀 증가하지 못함.
- 한국에서 생산되는 인삼은 크게 홍삼(紅蔘)과 백삼(白蔘)으로 한국산 백삼은 이미 세계 시장성을 잃어버렸고 대부분 국내시장에만 유통되고 있는 실정임. 현재 세계 백삼 시장은 캐나다와 미국에서 생산되는 화기삼(피부백삼)이 장악하고 있는 실정으로 우리가 인삼 중주국이라는 명성과 권위를 지금까지 누리고 있는 것은 6년근 홍삼 때문임.
- 하지만, 홍삼 역시 1996년의 전매제 폐지에 따른 품질저하, 국내업체간 수출시장에서의 과당경쟁, 외국시장에서의 가짜 홍삼 범람, 국내 묘종을 해외에서 생산함에 따른 품질격차의 감소, 적정재배지역의 감소, 인건비의 상승 등 생산원가의 증가, 불합리한 유통구조에 의한 물류비용의 증가 등으로 인해 지속적으로 해외 시장점유율이 감소하고 있음. 특히 고려인삼의 승열에 대한 내용을 외국삼이 마케팅 포인트로 삼으면서 고려인삼의 경쟁력이 급격히 악화 되고 있으며 시장 점유율 또한 낮음.

2) 해외 인삼산업의 시장현황

- 세계 인삼류 주요국의 수출시장 규모는 1995년 기준으로 약 368백만불로 추정되고 있으며 한국은 139백만불 이었다. 그러나 15년이 지난 현재 2010년통계에는 124만불로 인삼값의 소폭상승에도 불구하고 오히려 감소하는 경향을 보여 수출에 심각한 타격을 입고 있는 상황이다(표 2).

표 2. 인삼류의 년도별 수출액

년 도	1995	1998	2002	2004	2006	2008	2010
홍삼류(백만불)	74.0	44.4	21.6	54.6	55.2	62.2	86.5
백삼류(백만불)	59.1	29.5	27	26.6	29.7	26.6	26.4
기 타(백만불)	6.8	8.1	6.4	8.0	4.1	8.4	11.3
계(백만불)	139.9	82	55	89.2	89	97.2	124.2

- 자료 : 농림수산물부 인삼통계자료(2010).

- 지역별 수출실적을 보면 1996년도에는 총 112,656천불이었던 인삼수출실적이 2003년도에는 최저로 내려가 66,642천불로 절반가량이 떨어 졌으며 2010년에는 1996년수준으로 올라갔으나 가격인상분을 포함하고 제품의 다양성을 고려한다면 증가되었다고 보기가 어렵다(표 3).

표 3. 주요국의 지역별 수출실적

(단위 : 천불, %)

년도	아시아	북미	중남미	유럽	중동	기타	계
1996	98,632	7,688	996	4,247	674	419	112,656
2003	57,232	5,589	319	2,619	316	567	66,642
2010	107,982	10525	338	3,411	932	1,016	124,204

- 자료 : 농림수산물부 인삼통계자료(2010).

3) 주요 국가들의 인삼 소비 실태와 인식

- **주요 국가별 인삼제품 소비 실태** : 각 나라의 소비자들이 구입 해본 인삼제품 중 한국, 미국, 일본, 그리고 대만 소비자들은 한국 인삼을 가장 많이 구입하고 홍콩 소비자들은 서양삼(화기삼), 중국 소비자들은 자국의 인삼을 가장 많이 구입하고 있음. 한국, 홍콩, 중국, 일본 그리고 대만의 소비자들이 자주 구입하는 인삼 제품 형태는 원형삼(뿌리삼)인 것으로 나타났고, 미국 소비자들은 타블렛을 가장 선호하는 것으로 나타남. 인삼제품을 구입하는 주된 이유는 대만을 제외한 대부분 국가에서 **건강을 위해서 구입**한다고 가장 많이 응답하였고, 인삼 제품을 주로 구입하는 곳으로는 한국, 미국, 중국, 그리고 일본은 건강 식품점에서 홍콩과 대만 국가의 소비자들은 약국에서 가장 많이 구입함. 인삼 제품을 얼마나 자주 구입하는지에 대한 질문에 대해서는 대부분 국가들은 1년에 1-3회로 구입한다고 미국은 6개월에 1-3회로 구입한다고 가장 많았음. 그러므로 대부분 국가들의 소비자들이 인삼을 정기적으로 복용하지 않는 것으로 나타나 전 세계 인삼 소비자들에게 인삼을 장기적으로 복용하도록 홍보할 필요가 있음. 인삼제품 구입 시 1회 평균 지출액은 한국 소비자들은 10만원 이상, 미국, 홍콩, 그리고 대만 소비자들은 1-3만원 정도, 중국과 일본 소비자들은 5-10만원으로 지출하고 있음. 인삼제품을 구입하는 주 계절에 대해서는 계절에 상관없이 년중 인삼 제품을 구입함. 인삼제품 구입시 주로 영향을 받는 광고에 대한 의견으로 한국과 미국은 주위의 추천으로, 홍콩과 대만은 TV광고로 중국은 인터넷 광고 그리고 일본은 방문 판매에 가장 많이 영향을 받는 것으로 조사됨.
- **각국 인삼제품에 대한 인식** : 각 국가별 소비자들이 구입하는 각국의 인삼제품에 대한 평가 결과 한국, 미국, 일본, 그리고 대만은 한국산 인삼을 홍콩과 중국은 서양삼(화기삼)을 주로 구입한다고 가장 많이 응답하였음. 중국 소비자를 제외하고는 대부분 국가의 소비자들은 한국산 인삼 제품이 최고의 품질로 인정한다고 각각 응답함. 구입하는 국가의 인삼 제품 중 가격이 가장 적당한 국가의 것에 대한 의견으로 한국, 미국, 그리고 대만 소비자들은 잘모르다가 가장 많이 응답하였으며 홍콩은 서양삼(화기삼), 중국은 중국삼, 일본은 자국삼의 가격이 가장 적당하다고 각각 응답함. 이는 각국의 소비자들이 각국의 인삼 제품에 대한 적당한 가격에 정보를 잘 모르고 있어 각국의 인삼 제품에 대한 가격 정보를 제대로 홍보할 필요가 있음. 어느 국가의 인삼 제품이 가장 약효가 있는가에 대한 의견으로 중국과 대만을 제외한 국가의 소비자들은 한국의 인삼 제품이 가장 약효인 것으로 생각한다고 응답하였고, 중국은 중국산 그리고 대만은 잘 모르겠다고 가장 많았음. 어느 국가의 인삼 제품이 최고의 포장 디자인이냐에 대한 질문에는 미국과 홍콩은 한국의 것으로 중국은 서양삼(화기삼), 일본은 자국 삼 그리고 한국과 대만은 잘 모르겠다고 각각 가장 많았음 -> 한국 인삼제품의 포장 디자인에 대한 개선이 필요함. 어느 국가의 인삼 제품이 가장 편리한 포장단위냐에 대한 의견으로는 미국과 홍콩은 한국의 것으로 중국은 서양삼(화기삼), 일본은 일본삼 그리고 한국과 대만은 잘 모르겠다고 각각 가장 많이 응답하였음 -> 한국의 인삼제품의 포장 단위에 대한 개선이 필요함. 어느 국가 인삼 제품의 광고가 최고이냐에 대한 질문으로는 한국, 미국, 그리고 홍콩은 한국의 것으로 중국은 서양삼(화기삼), 일본은 일본삼 그리고 대만은 잘 모르겠다고 각각

가장 많이 응답 -> 한국인삼의 적극적인 광고가 필요. 어느 국가의 인삼 제품의 향기와 맛이 최고이냐에 대한 의견으로 한국, 미국, 그리고 홍콩은 한국의 것으로 중국은 서양삼(화기삼), 일본은 일본삼 그리고 대만은 잘 모르겠다를 각각 가장 많이 응답하였음.

4) 세계인삼 시장의 점유율을 높이기 위한 전략

- 중국 및 동남아시아 등에서 화기삼의 판촉 전략에 대응할 수 있는 근거로 활용하여 인삼의 주된 수출 시장인 일본, 중국, 동남아시아 지역에서 고려인삼의 수출과 판촉 활동에 가장 큰 장애 요인의 하나인 **체열상승과 관련된 부작용 우려감에 대한 부정적 인식을 제거가 필수** 적임.
- 고려인삼에 체열작용이 있다는 담론은 세계인들이 고려인삼을 소비하는 데 장애물로 작용하고 있는 실정으로 본 연구에서 이러한 담론이 생겨난 **역사적 배경을 문헌적으로 밝히고 체열작용에 대한 담론의 작위성을 드러내고, 이를 통해 고려인삼의 소비에 대한 장애요인을 제거**
- 한국 인삼의 적절한 가격 정책과 승열 작용에 대한 해소를 하기 위해 **적극적인 홍보가 필요함** -> 해외 인삼시장에 대한 현실을 제대로 파악하여 인삼 수출 마케팅 전략을 마련 할 수 있는 계기가 필요함.

5) 미래전망

- **기능성시장 전망** : 2003년 세계 기능성식품 시장규모는 1,152억 달러로 지속적인 성장이 예상되며, 미국, 유럽, 일본이 전체시장의 83%를 차지하고 있으며 장기적으로는 경제성장과 소득수준 향상으로 아시아, 남미지역의 시장점유율도 증가할 것으로 전망됨.
- **고려인삼의 세계화** : 인삼은 세계의 건강보조식품시장에서 은행(Ginco)잎 추출물, 마늘(Galic)과 함께 소위 3-G 붐업(Boom-up)을 주도할 정도로 비중이 점차 높아지고 있고, 또한 인삼의 효능에 대한 인식확대로 세계 인삼시장의 규모가 점점 확대되어 가고 있는 추세로 실제로 최근 10년간 세계 인삼시장은 물량면에서 5배, 금액면에서 2.4배가 증가하여 커다란 성장세를 보여주고 있어 세계시장에서 침체에 빠져있는 우리나라 인삼산업의 새로운 돌파구를 제공해 준다는 면에서 커다란 기회요인임에 틀림없음.
- **해외시장에서 한국인삼의 침체원인 분석** : 고려 인삼은 80여 국가에 수출하고 있으나 수출액의 87%가 일본, 홍콩, 대만, 미국이 차지하고 그중 일본이 40% 수준을 차지하고, 국내 원료삼 가격상승으로 원료확보가 어렵고 수출원가가 상승되어 해외 바이어들이 유통 마진이 저어 우리나라 인삼을 사용·취급을 기피함. 화기삼 및 중국삼의 품질향상·저가 공세와 고려인삼의 승열작용에 대한 홍보가 고려인삼의 입지를 좁게하는 중요한 요인임.

- **인삼산업 전망과 발전방향** : 고려인삼은 역사적으로 문화적으로 그리고 산업적으로 매우 중요한 우리나라의 천혜적인 민족 유산으로, 2001년 삼성경제연구소는 고려인삼을 반도체와 함께 우리나라 10대 세계 일류 상품 중에 하나로 선정. 또한 외국인들에게 한국하면 김치, 태권도와 더불어 고려인삼을 가장 먼저 연상함. 이런 천혜의 천연생약 자원을 가지고 고 부가가치를 가진 상품으로 개발하여 세계화하지 못하는 아쉬움이 있음. 스위스의 파마톤 사는 1960년대부터 단순한 인삼의 성분표준화(총함량 사포닌 4%)을 이용한 건강보조식품을 만들어 전 세계에 수출하여 연간 3조원의 매출을 올리고 있음. 세계적으로 인삼의 약효성이 알려지면서 천연생약으로 인식하여 전 세계적으로 생산을 확대하고 있음. 미국과 캐나다는 산업화하여 성공하였고 최근에는 호주와 뉴질랜드 그리고 유럽지역까지도 대단위로 생산할 준비를 하고 있음. 이러한 세계의 대단위 인삼 생산은 인삼 중주국으로서 위협적인 요소를 안고 있으며 세계 시장에서 고려 인삼의 위상을 날로 추락하고 있음. 이러한 위기를 탈출하여 비상할 수 있는 길은 기존의 고려인삼이 가지고 있는 부정적 이미지를 제거하고 승열에 대한 과학적이고 객관적인 해답을 제시하여 고려인삼의 소비의 장애요인을 제거하고 국내의 홍보를 통해 현재 중국 및 홍콩 시장에서 화기삼에게 우위를 내주고 있는 고려인삼의 시장확대시켜야 함. 더불어 고려인삼의 여러 약효성분을 이용한 고부가가치를 지닌 인삼제품을 개발하고 상품화하여 세계시장을 진출하여 세계화하여야 함.

6) 과제간의 유기성 및 중요성

- 세계시장에서 고려인삼의 경쟁력을 높이기 위해서는 실추된 고려인삼의 이미지를 다시 향상시키는 것이 필수. 따라서 국제적인 고려인삼의 경쟁력을 키우기 위해서는 승열작용에 대한 국제적인 공동연구를 통해 보다 종합적이고 체계적인 해답을 제시할 수 있어야 하며 이와 연계된 홍보 전략의 수립 등의 사항들을 상호 유기적으로 잘 조화시켜 나가야 인삼중주국의 위치를 확고히 하고 고려인삼의 수요를 증가시켜 국부창출을 할 수 있음.

7) 기술개발의 필요성

- 인삼은 한국을 대표하는 특산물로 한국문화상징 Best 10, 세계일류상품 55개, 한국일등상품 10개 중 하나로, 세계시장에서도 그 우수성을 인정받고 있는 농산물임
- 하지만 최근 고려인삼의 승열작용에 대한 근거없는 부정적 이미지로 인하여 국제적으로 경쟁력이 크게 약화되었으며 실제 수출 및 점유율의 급감등의 문제점이 대두되고 있는 실정임
- 2006년도 농촌진흥청 국정감사에서 밝힌 자료에 따르면 세계 인삼의 최대 집산지로 해외 인삼유통의 척도가 되는 홍콩시장에서 2005년 고려인삼 점유율은 물량기준 1.5%(47t), 금액 기준 2.8%(220만 달러)로 5위를 차지하고 있다. 홍콩시장의 국가별 인삼 수입실적을 보면 캐나다가 5490만 달러로 전체의 69.6%를 차지했으며 다음으로 중

국과 대만이 각각 890만 달러로 11.3%, 미국이 25만 달러로 3.1%, 한국 2.8% 순이다. 고려인삼은 지난 90년 당시 수출물량이 1억달러 이상 기록했지만 이후 차츰 수출량이 떨어지기 시작하여 2006년도에는 220만 달러까지 곤두박질 쳤고 현재는 미국과 캐나다 등에서 재배되는 북미산 화기삼이 전체 판매량의 72.7%를 차지하며 시장을 휩쓸고 있다. 이는 고려인삼의 약성은 온(溫)하여 몸에 열을 나게 하고 북미지역의 화기삼은 약성이 량(涼)하여 열을 내리는 작용을 하기 때문에 더운 지역에 사는 동남아인에게 고려인삼이 부적당하다는 화기삼의 홍보전략 때문인 것으로 판단된다.¹⁾

- 해외시장에서 널리 퍼져 있는 고려인삼과 화기삼 간의 열과 관련된 인식은 대개 경험적인 수준이며, 실제 사람을 대상으로 한 임상시험은 한국인과 중국인을 대상으로 고려인삼과 화기삼의 효능을 시험한 서정철 등²⁻⁴⁾의 연구와 혈압강하 효능을 비교한 조기호 등⁵⁾의 연구 이외에는 전무한 실정이다. 서정철 등의 연구에서도 복용기간이 4주로 비교적 짧고, 시험대상이 한국인과 중국인에만 국한되며, 열감에 관한 지표도 체열과 체온, 자각 증상에만 국한되어 있다는 한계가 있다. 조기호 등의 연구에서도 한국인과 중국인 군이 구별되어 연구되지 않고 혈압에 미치는 영향만 연구된 한계가 있다.
- 따라서 고려인삼이 승열작용이 있어 더운 지역에 사는 동남아인에게 맞지 않는다는 화기삼의 판촉 홍보 전략에 대응하기 위해서는 한국인과 중국인, 동남아인을 대상으로 고려인삼과 화기삼을 복용한 후에 체온, 체열, 심박변이도, 열감에 대한 자각 증상, 혈액 구성에 미치는 영향을 임상적으로 시험하여 체열반응에 미치는 영향에 대한 논리적이고 객관적인 근거자료를 마련하는 것이 시급한 현실이다.
- 승열에 대한 정확한 정의 및 실제 고려인삼의 승열작용의 실체에 대한 학술적 검증을 통해 기존의 고려인삼의 수출 장애요인을 극복하고 이를 홍보하여 국제적으로 실추되어진 고려인삼의 이미지를 회복시켜야 할 필요성이 있으며 이는 결국 고려인삼의 국제적 경쟁력 향상의 도움을 주어 고려인삼의 고부가가치 제품으로서의 수출을 가능하게 할 것임.
- 고려인삼의 체온 및 신체 대사에 미치는 영향을 과학적인 분석기술을 활용하여 객관화하고 다양한 인자들에 의해 체온 및 혈압에 미치는 영향을 체계적으로 연구하여 고려인삼의 체열반응에 대한 근거없는 속설을 과학적으로 규명하여야 함. 이를 바탕으로 고려인삼의 가치를 제고하고 수출 및 판매량 증진에 기여할 수 있을 것으로 기대됨.

제2절 연구개발의 범위

기술개발 내용

(1) 주관연구기관(제1세부, 경희대학교 양덕춘)

[표준화원료공급 및 국제적인 고려인삼홍보]

(가) 연구개발의 최종목표

임상실험을 위해서 인삼원료를 표준화하고 이를 공급하면서 연구결과 및 전문가 그룹을 통한 체열에 대한 명확한 정의(definition)를 확립하고 수출증진을 위해 체열반응에 대한 영상자료를 제작한다. 또한 명확한 정의에 의한 고려인삼과 화기삼이 나타내는 인삼체열반응을 학회등에 발표하고 적극적인 국제적 홍보를 위한 연구결과의 추적촬영, 제작, 배포 및 해외홍보를 위한 외국어 책자를 발간한다.

(나) 연구개발의 내용

① 명확히 표준화된 인삼원료의 제조 및 공급

- 본 실험에서 가장 중요한 부분은 어떠한 시료를 가지고 실험을 하느냐에 따라 실험결과의 활용도가 높아지게 된다. 그동안 인삼의 임상실험에서 많은 결과가 도출되긴 하였으나 실험자마다 그리고 실험시기마다 결과가 상이하게 나온 결과가 많았는데 본 실험에서는 모든 연구자에게 표준화된 시료를 공급하고자 한다.
- 시료는 한국인삼공사와 협조하여 동일한 인삼품종(천풍)을 기준으로 하여 4 - 6년동안 관리되었으며 특히 농약에 노출되지 않은 시료를 2개군으로 나뉘어 제조하는데 우선 임상실험용으로는 홍삼, 백삼, 서양삼(화기삼), 위약군등은 캡슐용으로 1일 4g씩, 3개월간 총 500kg (약 70%적용)을 한국인삼공사에서 동일하게 제조할 것이며, 전임상실험용 300kg는 고려인삼명품화사업단에서 시험자의 목적에 맞게 추출, 정제 및 제조하여 표준화된 상태에서 공급할 것이다.
- 시료의 표준화를 위해서 고려인삼명품화사업단의 분석실에서 사포닌의 (ginsenoside Rb1, Rg1)패턴과 함량을 명확히 조사할 것이다.
→ 성분표준화 : 임상시험용 캡슐화전과 후에 ginsenoside 성분검사 실시

② 연구결과 및 전문가 그룹을 통한 체열에 대한 명확한 정의(definition) 확립

- 체열에 대한 명확한 정의(definition) 확립을 위하여 한의학적인 측면에서 보는 본초의 사기와 관련하여 조사할 것이며 또한 인삼은 전형적인 보기약이므로 보기적인 측면에서, 그리고 사상의학적인 측면에서 체열을 조사할 것이다. 특히 현대과학에 의한 의약학측면에서 체열에 대한 정의를 같이 아울러 조사할 것이다.
- 본 과제를 위해서는 그동안 체열에 대한 연구를 주도한 전문가와 혈압관련, 에너지 대사관

련, 항염증관련, 인삼의 아답토젠 및 항상성에 대한 연구, 그리고 인삼의 사이드에펙트(부작용)에 대하여 보고한 학자들과 아울러 홍보물제작에 활용할것이다.

- 또한 현재 인삼의 복용을 주로 제한하고 있는 한의원의 한의사 그리고 사상체질에 입각한 인삼복용의 제한을 요구하는 학자 및 한의과 대학의 교수들과도 함께 논의 할것이다.

→ **전문 심의위원회 구성** : 한의학, 의약학, 생화학 전문가로 구성하여 주기적인 모임개최

③ 수출을 위한 체열반응에 홍보 방안 모색

- 인삼은 한때 국가의 기관산업으로 농산물로서 해외수출을 주도한적도 있었으며 세계의 모든 인삼이 모인다는 홍콩시장의 점유율이 40%을 넘어 설 정도로 수출 효자 상품이였으나 근래에는 겨우 2%내외에서 수출이 되고 있는 실정이다.
- 이런 인삼수출의 부진원인을 많은 분야에서 거론할수 있으나 우선적으로는 홍콩시장에서 인삼홍보의 미흡이 아닌가 생각된다. 이미 인삼의 유통시장을 장악하고 있는 중국계화교들이 고려인삼은 열을 올려주고 화기삼은 열을 내려준다는 고려인삼의 체열작용에 많은 원인이 있는 것으로 판단된다.
- 고려인삼이 열을 올려준다는 중국계화교들의 유통상술은 우선 중국이 고려인삼을 견제하고 화기삼과 중국삼(*Panax notoginseng*, 전칠 및 삼칠삼)을 국가적인 정책사업으로 지정하고 나서 더욱더 강화되고 있는데 한국과학자를 포함한 일본학자들의 연구의 결과이기도 하다. 즉 인삼사포닌 중에서 diol계 사포닌은 혈압, 흥분등을 내려주고 반대로 triol계 사포닌은 혈압, 흥분 등을 올려준다는 결과에 준하여 화기삼이 고려인삼보다 diol계 사포닌이 훨씬 많아 혈압 및 흥분을 내려준다는 이론이며, 특히 한국의 한의원에서도 소양인이나, 태양인 같이 선천적으로 몸에 열이 많은 사람에게는 복용치 말라고 한다고 악선전을 함으로서 유통시장에서 고려인삼이 고전을 면치 못하고 있다.
- 그러나 이런 홍보는 얼마든지 대응할 수 있는데 우선 화기삼이 diol계 사포닌이 많은것이 확실하지만 또한 triol계도 매우 많기 때문에 절대값으로 따지면 오히려 화기삼이 더 많아 triol계 사포닌 더 많기 때문에 고려인삼이 체열작용이 있다는 것은 오히려 허구이다. 뿐만 아니고 오히려 상호 길항적으로 작용하는 triol계 사포닌과 diol계 사포닌의 비율이 오히려 더 중요한 것으로 얼마든지 홍보할 수 있어 이런 문제는 해결할 수 있을것이다. 그러나 정말 과거의 in vitro 실험결과가 임상결과까지 연결될지는 본 실험을 통해서 명확일 밝혀질것이다.
- 또한 국내 한의사들이 인삼의 복용을 제한한 점에 대해서는 복용량을 조절해줌으로서 가능할것이다. 현재 한의원에서는 과거에 동의 보감이나 본초강목등에 나온 처방을 아직도 그대로 사용하는 경향이 있어 보통 1일 4-5g 함량을 사용하고 있다. 인삼을 복용하고 부작용같은 체열작용을 경험했다면 이는 오히려 명현반응일것이며 함량을 조절하여 장기적으로 투여한다면 오히려 명현반응을 보이지 않은 사람보다 더 효과를 볼지도 모르는 사항이며로 이런 내용을 과학적인 근거로 제시가 요구되면 이를 시험하여 결과의 도출이 필요하다.
- 결국 이런 결과들이 나온다면 홍보가 절대적이므로 우선적적으로 연구결과의 추적촬영 및 이를 방송 홍보용 프로그램으로 제작

④ 명확한 정의에 의한 체열반응을 학회등에 발표

- 체열, 체열, 보기작용등에 대한 명확한 정의가 나오고 이에대한 연구결과를 국내외 학술지

에서 인정을 받으며 각종 홍보물에 적극적으로 활용할 수 있도록 건의 할 것이다.

⑤ 홍보를 위한 연구결과의 추적촬영, 제작 및 배포

- 본 과제에서는 한의(중의)적인 측면에서 체열에 대한 정의내리고, 또한 사상체질면에서 체열작용을 같이 조사한 내용, 또한 현대의학에서 요구된 기계적인 방법과 생리적인 방법을 동원하여 열의 실체를 밝히는 과정등을 MBC방송과 함께 추적하여 실험방법 및 결과등을 계속적으로 촬영하고 해외수출 및 국내용으로 제작하여 방송을 하며 이 비디오 테이프를 영문, 일문 및 중문등으로 변환하여 세계인들이 알 수 있도록 배포할 것이다.

→ 홍보용 MBC 다큐멘터리 제작 : 연구내용홍보를 위한 국내, 국외 연구 촬영

(2) 주관연구기관(제2세부, 경희대학교 최광태)

[고려인삼과 화기삼의 체열반응에 대한 중국인, 베트남인, 대만인 임상연구]

(가) 연구개발의 최종 목표

본 연구의 최종 목표는 중국인, 베트남, 대만인을 대상으로 체열반응에 미치는 고려인삼과 화기삼의 영향을 임상적(활력징후(체온, 혈압, 맥박), 체열진단, 심박변이도(자율신경활성화), 혈액검사 및 설문지를 통한 자각 증상의 변화, 뇌혈류 검사 등)으로 평가하여 거대 중국 시장에서 화기삼의 판촉전략에 대응할 수 있는 논리개발을 위한 객관적, 임상적 결과자료를 확보한다.

(나) 연구개발의 내용

① 중국, 베트남, 대만에서의 임상시험 준비

- 임상시험을 위한 protocol 임상시험심사위원회(IRB) 심사
- 연구참여자 개시 미팅 및 역할분담
- 피험자 모집 공고(지역일간지 광고, 병원내 홍보문건, 포스터제작, 병원 홈페이지 광고)

② 복용량의 설정

- 인삼, 홍삼, 화기삼 분말을 500mg 캡슐에 담은 것을 사용하고, 복용량은 1회 2g(500mg캡슐 4개)을 1일 2회 복용하여 1일 복용량은 4g으로 한다. 위약군은 같은 모양의 캡슐에 같은 용량의 옥수수전분을 사용한다.

③ 중국인 대상 임상시험 실시(1~2차년도)

- 피험자 동의서 작성 및 선정기준에 따른 선정, 등록순서에 따른 코딩 및 무작위배정
- 시험약 배부 및 시험시작

④ 베트남인 대상 임상시험 실시(1~2차년도)

- 피험자 동의서 작성 및 선정기준에 따른 선정, 등록순서에 따른 코딩 및 무작위배정
- 시험약 배부 및 시험시작

⑤ 대만인 대상 임상시험 실시(2~3차년도)

- 피험자 동의서 작성 및 선정기준에 따른 선정, 등록순서에 따른 코딩 및 무작위배정
- 시험약 배부 및 시험시작

⑥ 임상시험 CRC 작성

- 선정된 피험자를 대상으로 시험시작전, 2주후, 4주후, 8주후, 12주후의 적외선체열검사, 심박변이도, 체온, 맥박, 혈압의 변화, 자각증상의 변화 및 순응도 평가 작성한다.
- 뇌혈류(Transcranial doppler) 측정기를 사용하여 인삼복용 후 3시간 이내에 뇌혈류량, 혈압, 맥박, 체온 등의 초기효능을 비교·분석한다.
- 적외선체열진단기를 이용하여 인삼복용 직전, 복용 2주후, 4주후, 8주후, 12주후에 얼굴, 가슴, 복부의 10군데 (인당, 수구, 전중, 중완, 권료 좌/우, 인영 좌/우, 운문 좌/우)의 체표온도를 측정할 뿐만 아니라 계절적 온도차이 등의 외부적 인자의 간섭을 배제할 수 있는 복부와 얼굴의 온도차이 ($\Delta T = \text{중완의 온도} - \text{권료의 온도}$)를 측정하여 비교 분석한다.
- 전자체온계를 이용하여 고막의 온도를 인삼 복용전, 복용 2주후, 4주후, 8주후, 12주후에 측정하여 비교분석한다.
- 혈액을 분석하여 생화화적인 표지인자를 조사를 위해서 WBC, E.S.R, ALT (SGPT), Albumin, Bilirubin, Total Cholesterol, Creatinine, TG(Triglyceride), Glucose, T3, T4, TSH 등을 분석한다.
 - WBC와 ESR 수치 : 염증이나 감염으로 발열이 있을 때 증가하는 표지인자, 열감의 변화여부 관찰
 - 갑상선 호르몬인 T3, T4, TSH : 인체의 자율신경을 조절하는 대표적인 호르몬
 - 인삼 복용직전, 복용 4주, 8주, 12주에 각각 혈액 검사를 통해 고려인삼과 화기삼의 영향을 평가
- 심박변동 측정용 맥파계를 이용하여 인삼 복용전, 복용 2주후, 4주후, 8주후, 12주후에 심박수, SDNN (standard deviation of all normal R-R intervals), TP (total power), LF (low frequency power), HF (high frequency power) 측정치를 비교분석한다.
- 인삼 복용전, 복용 2주후, 4주후, 8주후, 12주후에 혈압과 맥박을 측정하여 비교분석한다.
- 설문지를 이용하여 인삼 복용전, 복용 2주후, 4주후, 8주후, 12주후에 두통, 현훈, 상열감, 상복부 불편감, 발진, 식욕부진, 소화불량, 설사, 변비, 불면, 구순건조, 가슴답답함, 헛바늘, 비출혈을 조사하여 수치화하여 비교분석한다.

⑥ 임상시험결과의 통계분석

- 복용 전 기초자료 수집 후 무작위 배정받은 모든 피험자를 대상으로 분석한다. 임상시험과정중 순응도가 일정 수준 이하인 피험자가 일부 발생할 경우 이 피험자도 자료 분석에 포함한다.
- 기초평가자료 (인구학적 특성포함)에 대한 분석은 기초평가시의 각종 정보와 인구학적 특성 (예, 성별, 혈압, 체중, 맥박수 등)들은 단순 통계치 (연속형 변수의 평균, 표준편차, 범주형 변수의 percentage)로서 요약될 것이다. 연속변수에 대한 두 표본 t-검정 (two-sample t-test)과 범주형 변수에 대한 카이제곱 검정이 각 군간의 동질성을 검정하기 위해 사용될 것이다.

- 시험결과에 대한 비교분석은 각 시점에서 각 군간의 시험결과에 대한 평균의 차이를 다중 비교법 (multiple comparison)을 통해 비교 분석한다. 또한 각 군의 임의의 두 시점 (예, 복용전과 복용 후 마지막시점)에서의 시험 결과에 대한 평균변화량의 차이를 쌍체비교법 (paired-comparison)인 paired t-test를 통해 분석한다. 나아가, 본 연구에서 얻어지는 전체 자료는 동일한 피험자를 대상으로 각 시점에서 반복측정한 경시적 자료 (longitudinal data) 이므로 각 피험자의 관측값들 간의 상관관계를 고려할 수 있는 반복측정자료 분산분석 (repeated measured ANOVA)법을 이용하여 정밀하게 분석을 실시한다. 이를 통해 모든 결과에 대한 군간효과 (group effect), 시간효과 (time effect), 기관효과 (institution effect), 기관에 따른 군간의 효과의 차이 (교호작용, interaction effect) 등을 통계적으로 분석한다.

⑦ 국제전문학술지(SCI)에 논문게재

- 중국, 베트남, 대만에서 실시한 임상시험 결과는 통계처리를 통하여 국제적으로 인정받을 수 있는 국제저널(SCI)투고한다.

(3) 주관연구기관(제3세부, 경희대학교 강동호)

[체온조절 기전에 의한 인삼의 체열작용]

(가) 연구개발의 최종목표

인삼의 체온조절기전에 미치는 영향을 동물실험에서 규명하여 체열작용의 과학적 근거와 유해성 여부를 밝히는 것을 본 연구의 최종 목표로 한다.

(나) 연구개발의 주요내용

- ① 동물을 저체온/고체온 상태로 각각 만든 후 인삼을 투여하고 대뇌 시상하부에서 UCP2의 조절기전을 규명한다.
 - 저체온/고체온 동물 모델 수립 및 대뇌 시상하부 UCP2 발현 변화 규명
 - 저체온/고체온 동물 모델에 화기삼과 고려인삼 투여시 대뇌 시상하부 UCP2 발현 비교
 - 저체온/고체온 동물 모델에 화기삼과 고려인삼 투여시 시간별 UCP2 조절 profiling
- ② 동물을 저체온/고체온 상태로 각각 만든후 인삼을 투여하고 직장내 온도 측정, 피부표면의 온도와 습도 측정하여 체내온도와 체표온도의 상관관계를 규명하고 인삼투여의 발산작용 여부를 밝힘
 - 체내온도와 체표온도의 상관성 분석
 - 피부습도의 변화 비교
 - 체내온도와 체표온도의 시간별 profiling
- ③ 동물을 저체온/고체온 상태로 각각 만든후 인삼을 투여하고 혈압과 혈행의 변화를 분석하여 혈관계에 대한 영향을 규명한다.
 - 혈압에 대한 영향 비교
 - 말초혈행에 대한 영향

- 혈압과 혈행의 시간별 profiling

4) 주관연구기관(제4세부, 경희대학교 인준교)

[동물 및 임상시험을 통한 체열관련 생리기전 연구]

(가) 연구개발의 최종목표

체열작용의 주요 원인으로 인식되어온 protopanaxtriol계 사포닌과 함께 인삼에 다량으로 존재하는 PPD 4종(Rb1, Rb2, Rc, Rd), Oleanane 1종(Ro)을 각각 single compound로 분리하고 동물실험을 통하여 단일사포닌 섭취에 따른 체열변화 및 차별발현유전자의 프로파일링 분석을 실시한다. 또한 백삼, 홍삼 및 화기삼 섭취에 따른 인체 차별 발현 유전자의 프로파일링 분석 및 국가별(인증별) 차이에 따른 체열반응의 상호작용을 human DNA chip을 이용하여 발열관련 생리기전의 근거를 명확히 파악하는 것이 최종목적이다.

(나) 연구개발의 내용

- ① PPD 4종(Rb1, Rb2, Rc, Rd), PPT 3종(Re, Rf, Rg1), Compound K 단일성분 분리
 - 고려인삼의 주요 체열의 원인으로 지목되어온 PPT 3종(Re, Rf, Rg1)을 비롯하여 다량으로 존재하는 사포닌을 TLC를 이용하여 분리한 후 HPLC분석과 NMR로 순도분석을 실시하고 동물실험에 사용하기 전까지 냉동보관한다.
- ② 단일사포닌 처리시 동물실험에서 체열반응에 미치는 영향의 분석
 - PPD 4종(Rb1, Rb2, Rc, Rd)을 각각 마우스에 200 mg을 4주간 투여
 - PPT 3종(Re, Rf, Rg1)을 각각 마우스에 200 mg을 4주간 투여
 - Compound K를 마우스에 200 mg을 4주간 투여
 - PPD과 PPT 비율별(1:1, 5:1, 10:1) 마우스에 4주간 투여
 - 자율신경계 호르몬, 면역계 관련 생화학적 지표분석
 - 생리적 관찰을 통한 체열반응의 변화조사
- ③ 마우스 DNA chip을 이용한 차별발현유전자 프로파일링 분석
 - 마우스의 발열 및 에너지 대사 관련 유전자의 발현양상(gene expression profiling)을 종합적으로 관찰할 수 있다. 마우스를 그룹으로 여러 번의 체계적인 일련의 실험을 통해 생물학적인 진행과정(biological process)을 통해 변화되는 해당유전자들을 시간별, 유전체 시료를 대상으로 조사함으로써 유전자 발현의 전체적인 윤곽을 분석한다.
 - 발열, 에너지 대사, 염증 관련 유전자들의 차별발현 유전자를 탐색하여 홍삼섭취에 따른 분자수준의 지표(molecular signature)로서 역할을 담당 할 수 있는 유전자군(biomarker)을 확보한다.
- ④ 임상연구와 연계한 인체 차별 발현 유전자의 프로파일링 분석
 - 인삼 섭취에 따른 인간의 발열, 염증 및 자율신경계 관련 유전자 발현양상(gene expression pattern)을 마이크로어레이 실험을 통해 하나의 단순한 데이터 실체로 해석한다. 여러 번의 체계적인 일련의 실험을 통해 생물학적인 진행과정(biological process)을 통해 변화되는 해당유전자

들을 시간별로 또는 여러 가지 유전체 시료를 대상으로 조사함으로써 유전자 발현의 expression profile을 조사한다.

- 한국인을 대상으로 10명씩을 선발하고 이들에 대해서는 성별이나 몸무게, 체지방, 나이, 혈압, 혈당 등 기본적인 임상정보를 수집한다.

→ 제1협동 임상연구와 연계하여 혈액 및 임상자료과 연계하여 종합적인 결과 분석

- 고려인삼과 화기삼을 복용 직전과 2주, 4주, 8주, 12주후에 말초혈액을 채취한다. 채취한 말초혈액으로부터 3시간이내로 QiaAmp RNA blood mini kit을 이용하여 total RNA를 추출한다. 정량 후 RNA를 Aliquot하여 -80 °C에 보관하였다가 마이크로어레이 실험에 사용한다.
- 추출한 각 RNA 샘플은 Illumina사의 프로토콜에 따라 합성한 750ng cRNA와 Illumina HumanHT-12 v3 Expression BeadChip (Illumina, Inc., San Diego, CA) 에 58°C에서 16시간 이상 hybridization한 후 Amersham fluorolink streptavidin-Cy3를 반응시켜 signal intensity를 확인한다.
- Chip은 Illumina Bead Array Reader Confocal Scanner를 통해 이미지 분석하고, Illumina BeadStudio v3.1.3(Gene Expression Module v3.3.8)에서 Raw data를 추출한다.

⑤ 백삼, 홍삼 및 화기삼 섭취에 따른 체열반응 유전자들의 상호비교분석

- 전체 48,803개의 유전자 probes에 대해서, 신뢰성이 높은 결과를 얻기 위해서, 전체 샘플 중 50%이상에서 detection p-value <0.05 인 probes 만 분석한다.
- 선별된 probes에 대해서, 마이크로어레이 실험에서 발생하는 시스템적 변동(실험 단위에서 발생하는 오차)을 줄이기 위해서, Quantile Normalization 방법으로 보정한다.
- 샘플과 그룹 간의 차이 살펴보기 위해서, Fold-change와 Paired t-test를 통한 유전적 차이를 확인한다.
- 수 만개의 유전자들을 한꺼번에 검정하면서 생길 수 있는 multiple test(다중검정, 확률적으로 오류를 범할 확률이 높아짐)를 피하기 위해서, Benjamini-Hochberg FDR(False Discovery Rate)로 p-value값을 보정한다. (참고 논문 : Benjamini,Y. and Hochberg,Y(1995).Controlling the False Discovery Rate, A Practical and Powerful Approach to Multiple Testing. Journal of Royal statistical Society Series B,57(1),289-300.)
- 유의한 유전자에 대해서 Hierarchical cluster (Euclidean method, complete linkage) 를 통해, 각 샘플간 및 genes의 유사성이 어느 정도인지 살펴본다.
- 유전자의 functional analysis와 pathway를 통해서 생물학적, 생리적 기능을 분류한다.
- 따라서, 고려인삼 내지는 화기삼 섭취로 인한 체내의 발열관련 유전자들의 발현양상을 조사함으로써, 고려인삼의 섭취시의 체열에 대한 명확한 분자생물학적 근거를 확보하고, 이를 해외 판촉 전략을 수립하는 기초연구 결과로 활용한다.

⑥ Compound K의 인체 흡수에 따른 체열분석

- Compound K의 인체 흡수 및 배설을 조사

- Compound K에 의한 체열반응에 미치는 임상적{활력징후(체온, 혈압, 맥박), 체열진단, 심박변이도(자율신경활성화), 혈액검사 및 자각 증상의 변화, 뇌혈류 검사 등을 조사

(6) 협동연구기관(제1협동, 대구한의대학교 변준석)

[인삼과 홍삼, 화기삼이 한국인의 체열반응에 미치는 영향 비교 임상연구]

(가) 연구개발의 최종목표

한국인을 대상으로 고려인삼의 백삼, 홍삼, 화기삼을 복용한 후에 체온, 체열, 심박변이도, 뇌혈류에 미치는 영향에 대한 비교 임상연구와 자각적인 열감에 대해 설문지를 통한 비교 분석으로 체열과 관계된 Biomarker를 개발하여 화기삼의 홍보전략에 대응하는 과학적이고 논리적인 근거 자료를 마련하고 이를 국제전문학술지에 발표하여 세계 인삼 시장의 점유율 증대를 목적으로 한다.

(나) 연구개발의 내용

① 한국인 대상 임상시험 준비

- 임상시험의 protocol IRB 심사
- 연구참여자 개시 미팅 및 역할분담
- 피험자 모집 공고(지역일간지 광고, 병원내 홍보문건, 포스터제작, 병원 홈페이지 광고)

② 한국인 대상 임상시험 실시

- 피험자 동의서 작성 및 선정기준에 따른 선정, 등록순서에 따른 코딩 및 무작위배정
- 시험약 배부 및 시험시작

③ 임상시험 CRC 작성

- 선정된 피험자를 대상으로 시험시작전, 2주후, 4주후, 8주후, 12주후의 적외선체열검사, 심박변이도, 체온, 맥박, 혈압의 변화, 자각증상의 변화 및 순응도 평가 작성한다.
- 뇌혈류(Transcranial doppler) 측정기를 사용하여 인삼복용 후 3시간 이내에 뇌혈류량, 혈압, 맥박, 체온 등의 초기효능을 비교·분석한다.
- 적외선체열진단기를 이용하여 인삼복용 직전, 복용 2주후, 4주후, 8주후, 12주후에 얼굴, 가슴, 복부의 10군데 (인당, 수구, 전중, 중완, 권료 좌/우, 인영 좌/우, 운문 좌/우)의 체표온도를 측정할 뿐만 아니라 계절적 온도차이 등의 외부적 인자의 간섭을 배제할 수 있는 복부와 얼굴의 온도차이 ($\Delta T = \text{중완의 온도} - \text{권료의 온도}$)를 측정하여 비교 분석한다.
- 전자체온계를 이용하여 고막의 온도를 인삼 복용전, 복용 2주후, 4주후, 8주후, 12주후에 측정하여 비교분석한다.
- 혈액을 분석하여 생화화적인 표지인자를 조사를 위해서 WBC, E.S.R, ALT (SGPT), Albumin, Bilirubin, Total Cholesterol, Creatinine, TG(Triglyceride), Glucose, T3, T4, TSH 등을 분석한다.
→ WBC와 ESR 수치 : 염증이나 감염으로 발열이 있을 때 증가하는 표지인자, 열감의 변화여부 관찰

→ 갑상선 호르몬인 T3, T4, TSH : 인체의 자율신경을 조절하는 대표적인 호르몬
 → 인삼 복용직전, 복용 4주, 8주, 12주에 각각 혈액 검사를 통해 고려인삼과 화기삼의 영향을 평가

- 심박변동 측정용 맥파계를 이용하여 인삼 복용전, 복용 2주후, 4주후, 8주후, 12주후에 심박수, SDNN (standard deviation of all normal R-R intervals), TP (total power), LF (low frequency power), HF (high frequency power) 측정치를 비교분석한다.
- 인삼 복용전, 복용 2주후, 4주후, 8주후, 12주후에 혈압과 맥박을 측정하여 비교분석한다.
- 설문지를 이용하여 인삼 복용전, 복용 2주후, 4주후, 8주후, 12주후에 두통, 현훈, 상열감, 상복부 불편감, 발진, 식욕부진, 소화불량, 설사, 변비, 불면, 구순건조, 가슴답답함, 헛바늘, 비출혈을 조사하여 수치화하여 비교분석한다.

④ 임상시험결과의 통계분석 및 국제전문학술지(SCI)에 논문게재

- 복용 전 기초자료 수집 후 무작위 배정받은 모든 피험자를 대상으로 분석한다. 임상시험과 정중 순응도가 일정 수준 이하인 피험자가 일부 발생할 경우 이 피험자도 자료 분석에 포함한다.
- 기초평가자료 (인구학적 특성포함)에 대한 분석은 기초평가시의 각종 정보와 인구학적 특성 (예, 성별, 혈압, 체중, 맥박수 등)들은 단순 통계치 (연속형 변수의 평균, 표준편차, 범주형 변수의 percentage)로서 요약될 것이다. 연속변수에 대한 두 표본 t-검정 (two-sample t-test)과 범주형 변수에 대한 카이제곱 검정이 각 군간의 동질성을 검정하기 위해 사용될 것이다.
- 시험결과에 대한 비교분석은 각 시점에서 각 군간의 시험결과에 대한 평균의 차이를 다중 비교법 (multiple comparison)을 통해 비교 분석한다. 또한 각 군의 임의의 두 시점 (예, 복용전과 복용 후 마지막시점)에서의 시험 결과에 대한 평균변화량의 차이를 쌍체비교법 (paired-comparison)인 paired t-test를 통해 분석한다. 나아가, 본 연구에서 얻어지는 전체 자료는 동일한 피험자를 대상으로 각 시점에서 반복측정한 경시적 자료 (longitudinal data) 이므로 각 피험자의 관측값들 간의 상관관계를 고려할 수 있는 반복측정자료 분산분석 (repeated measured ANOVA)법을 이용하여 정밀하게 분석을 실시한다. 이를 통해 모든 결과에 대한 군간효과 (group effect), 시간효과 (time effect), 기관효과 (institution effect), 기관에 따른 군간의 효과의 차이 (교호작용, interaction effect) 등을 통계적으로 분석한다.

(7) 협동연구기관(제2협동, 가천의과학대학 전희숙)

[대사변화 관찰을 통한 인삼체열 반응 연구의 과학적 입증]

(가) 연구개발의 최종목표

고려인삼의 체온 및 신체 대사에 미치는 영향을 특화된 분석 기술 및 시설을 활용하여 객관화 하고 다양한 인자들에 의해 체온 및 혈압에 미치는 영향을 체계적으로 연구하여 고려인삼의 체열반응에 대한 근거없는 속설을 과학적으로 규명하며 이를 바탕으로 고려인삼의 가치를 제고하고 수출 및 판매량 증진에 기여하는 것을 목적으로 한다.

(나) 연구개발의 내용

- ① Metabolic cage를 이용한 고려 인삼과 화기삼 추출물의 단기 투여에 따른 체열 반응연구
- 인삼 단기 투여 후 체온 변화 및 대사량 변화를 측정한다. 특히 특화된 장비인 metabolic cage를 도입하여 체온, 혈압, 식이량, 활동량 및 에너지 대사량 등을 전시험기간동안을 관찰하여 기존의 단편적인 연구와는 차별성을 둔 실시간 자료를 확보하고 고려인삼과 서양삼(화기삼)의 체온, 혈압 변화 비교 관찰한다.
 - 발열성 cytokine, prostaglandin E2(PGE2), 신경전달물질(epinephrine, tyroxin) 조사한다.
 - 체온 조절에 관여하는 유전자 발현 관찰
 - 세 가지의 세포주 (간세포, 지방세포, 베타세포주)와 베타세포의 일차배양 시스템을 구축하고, 인삼추출물을 배양액에 섞어서 처리하고 최적농도를 조사한다.
- ② 고려 인삼과 화기삼 추출물의 미토콘드리아의 구조변화 분석
- 에너지 대사의 중추인 미토콘드리아의 fusion과 fission의 빈도를 형광현미경 및 전자현미경을 이용하여 조직학적으로 관찰한다.
 - 미토콘드리아 fusion, fission의 marker의 양적변화 관찰하고 막전위 변화를 측정한다.
- ③ 고려 인삼과 화기삼 추출물 장기 투여에 의한 체열 반응 연구
- 고려인삼 및 화기삼을 장기간(4주) 투여 후 체온 및 신체 대사량 변화를 과학적으로 규명함. 체온조절에 관여하는 발열성 cytokine, PGE2, 및 신경전달물질의 변화량을 측정하여 대사량 뿐 아니라 종합적인 체온조절 메커니즘에 미치는 영향을 연구한다.
 - 마우스에 고려인삼과 화기삼 추출물을 장기투여하고 metabolic cage monitoring에 의해 체온, 혈압, 식이량, 활동량의 변화를 실시간으로 측정하고 에너지 대사율을 분석한다.
 - 발열성 cytokine, prostaglandin E2(PGE2), 신경전달물질(epinephrine, tyroxin)을 조사하고 체온 조절에 관여하는 유전자 발현을 조사한다.
- ④ 고려 인삼과 화기삼 추출물에 의한 에너지 대사의 변화 측정
- 미토콘드리아의 양(mitochondrial mass), ATP synthase의 양적 변화 및 ATP/ADP 비율의 변화를 측정한다.
 - 미토콘드리아 DNA의 변화와 대사활동측정모델의 장기에서 미토콘드리아의 변화를 관찰한다.
- ⑤ 고려 인삼과 화기삼의 추출물 투여 후 저온 및 고온 스트레스에 의한 체열 반응 연구
- 저체온 및 고체온 환경을 조성하여 체온 및 대사량의 변화를 metabolic cage를 이용하여 측정하고 화기삼과 고려인삼의 체온 및 혈압 변화를 비교분석한다.
 - 발열성 cytokine, prostaglandin E2(PGE2), 신경전달물질(epinephrine, tyroxin)을 조사하고 온 조절에 관여하는 유전자 발현을 관찰한다.
- ⑥ 고려인삼과 화기삼 투여에 따른 미토콘드리아의 변화와 그에 따른 세포 변화 관찰
- 미토콘드리아의 구조변화를 분석하고 에너지 대사의 변화를 측정하고 미토콘드리아 fusion 및 fission 유도모델 제작하고 marker의 변화 확인한다.
 - 인삼추출물의 미토콘드리아 fusion, fission 유도모델에서 미토콘드리아와 세포보호효과를

확인한다.

제 2 장 국내외 기술개발 현황

제1절 세계적 수준

개념정립 단계	O	기업화 단계	O	기술 안정화 단계	
---------	---	--------	---	-----------	--

- 고려인삼의 승열에 대한 과학적인 명확한 기준이 제시되지 않았으며 실제 승열이라는 의미 자체도 모호한 상황임. 그러나 미국, 캐나다를 중심으로 ‘고려인삼은 체온을 올리고 북미산 화기삼은 낮춘다’는 연구결과가 세계 시장에 번져 현재는 고려인삼이 아닌 화기삼이 세계 인삼시장에서 상위권을 차지하고 있다.
- 미국은 ‘화기삼’이라 불리는 북미삼의 원산지로 연방과 주정부의 품질보증정책, 공격적 마케팅 전략으로 홍콩 등 주요 인삼 수입국에 인지도를 높여 세계적 인삼 수출국으로 등극했다.
- 캐나다 걸프대, 토론토대 등에서 기업과 손잡고 인삼을 효능과 품질 개선 등에 대한 연구를 집중적으로 하고 있다. 최근 인삼이 감기 예방은 물론 치료에도 효과가 뛰어나다는 연구 결과가 나오면서 건강보조식품의 형태로 인삼제품 수요가 급증하고 있다.
- 유럽 중에서 스위스는 대표적 제약회사 베링거인겔하임의 자회사인 파마톤은 인삼가공제품 시장 점유율 세계 1위 기업이다. 인삼의 주성분인 사포닌을 추출해 ‘진사나’라는 브랜드의 캡슐제품으로 생산, 판매해 연간 4000만 달러의 매출을 올리고 있다.

제2절 국내수준

- 국내 및 국외시장 분석결과 고려인삼의 품질 우수성등 그 명성은 유지되고 있으나 가격 경쟁력 열세와 미국과 캐나다의 화기삼에 대한 적극적 홍보 및 마케팅 전략의 성공 (고려인삼은 몸에 열을 냄으로 더운 동남아 지역인 에게는 부적합하고 열을 내리는 작용이 있는 화기삼이 좋다는 인식 확산)으로 세계 수출시장에서 물량 및 금액면에서 열세로 전환.
- 고려인삼에 대한 체열작용 (인삼이 몸에 열을 낸다)에 대한 과학적 근거를 제시하고 성

분 효능면에서 비교 우위성을 제시 할 수 있는 새로운 학술적 대응 논리 개발로 전 세계 시장에서 질적 차별화 전략 필요.

- 국내 및 국외시장 분석결과 고려인삼은 다양한 형태의 건강 보조 식품으로 널리 판매되고 있으나 해외시장에서는 가격경쟁력에 뒤지고 있으며 체열작용을 일으킨다는 근거 없는 속설로 인해 판매량이 급감하고 있는 실정임. 본 연구과제에서 인삼에 의한 체열작용에 대한 근거 없는 속설에 대해 과학적으로 증명이 된다면 해외시장에서 판매량 증진에 기여할 것으로 예상됨.

제3절 연구현황

※ 인삼, 홍삼, 화기삼과 체열 또는 체열과 관련된 특허는 없음.

※ 2009 생명공학연구원 생명공학연구센터 인삼, 홍삼 특허분석

1. 인삼/홍삼' 두 단어로만 Keyword로 실시한 분석 결과
 - 1991년 이후 논문 5,000여건, 특허는 국외 약 1,300건, 국내 약 3,000건으로 인삼/홍삼 산업이 활성화
 - 질병관련, 의약품, 식품, 발모제 등 다양한 분야가 도출되어 특성화 연구분야를 도출할 필요
 - 시사점 : KT&G(한국인삼공사) 등에서 국내 인삼/홍삼연구 및 산업화를 독점하고 있어 홍삼연구소는 특성화된 연구분야를 개척할 필요
2. 인삼/홍삼 연구 분야 중 '뇌기능 관련 의약품 및 기능성식품' 등으로 제한하여 실시한 분석 결과
 - 1976년 이후 논문 1,500여건, 특허는 국외 약 298건, 국내 약 185건으로 산업화 진출 상대적 저조
 - 뇌기능 및 뇌인지, 기능성식품, 면역 기능, 발모 등의 기능성 의약품 및 식품분야에서 특허결과 도출
 - 시사점 : 정량적 분석에서 특허 출원/등록건수가 낮아 특성화 연구를 위한 심층분석 필요
3. 나노관련 연구 분야 중 '인삼/홍삼/천연물/한약재' 등으로 제한하여 이를 Keyword로 실시한 분석 결과
 - 1976년 이후 논문 71건, 특허는 국외 약 58건, 국내 약 455건으로 산업화 진출 상대적 저조
 - 시사점 : 조성 및 제형 특허 이외에는 매우 적어 관련 산업화가 미흡 것으로 분석, 나노관련 Keyword의 재검토가 필요
4. 인삼 연구 분야 중 수삼저온저장기술 관련(등으로 제한하여 이를 Keyword로 실시한 분

석 결과

- 1976년 이후 논문 175건, 특허는 국외 291건, 국내 2건으로 국내 산업화 진출 상대적 저조
- 시사점 : 관련분야 등에서 정량적분석의 특허 출원/등록건수가 낮아 특성화 연구를 위한 중점분야 Keyword 도출 필요

개발기술명		(기술 1)	(기술 2)
Keyword		metabolomics	natural medicine
검색건수			
유효특허건수			
핵심특허 및 관련성	특허명	가스크로마토그래피-질량분석기를 이용한 두 생체시료군 간 대사체 차별성 분석방법	탈모방지 및 모발성장 촉진용 조성물
	보유국	한국	한국
	등록년도	2007	2008 (출원)
	관련성(%)	80	80
	유사점	약물투여 전후의 대사차별성을 metabolomics 연구를 통하여 검출하여 독성을 예측	targeted metabolic profiling을 이용하여 한약재 작용을 증명함.
	차이점	한약재를 사용하지 않음	체질과의 연관성은 검토하지 않음

No	Title	출원번호	출원일자	출원인
1	성인병 예방 및 치료 보조제(Preventive and Dietary Supplement for adult chronicdisease)	1020020030460	2002.05.30	주식회사 지니스
2	약효가 증가된 특수가공처리 인삼 추출물을 함유하는뇌졸중의 예방 및 치료를 위한 조성물	1020020018844	2002.04.08	홍림통산(주)
3	고혈압에 효과적인 건강보조식품 및 이의 제조방법(The health-supporting food being effective thehypertension and its preparation method)	1020020057660	2002.09.23	김우영
4	삼칠근과 단삼의 혼합 추출물을 포함하는 고혈압 치료 및 콜레스테롤 저하 조성물 및 그의 제조 방법	1019990035427	1999.08.25	(주) 메드빌
5	혈액순환 촉진용 건강식품 조성물(Healthy food for promoting the circuration of the blood)	1020000045721	2000.08.07	한완석
6	고지질혈증 예방 치료제 및 기능성 식품(Medicament for treating hyperlipemia and foodcontaining the same)	1020000046580	2000.08.11	박찬우
7	Composition for preventing hypertension	20050256195	20051117	-
8	Hypertension-treatment composition containing panax notoginseng and salvia miltiorhiza and method of preparing same	20030003165	20030102	MEDVILL CO., LTD.
9	Blood Pressure Lowering Peptides From Glycomacropptide	20080161227	20080703	-

논문분석

가. 논문분석 범위

대상국가	미국, 일본, 유럽
논문 DB	pubmed DB(www.ncbi.nlm.nih.gov)
검색기간	최근 10년간
검색범위	body temperature, uncoupling protein 2

나. 논문분석에 따른 본 연구과제와의 관련성

개발기술명	인삼과 uncoupling protein 2 분비와의 관계
Keyword	body temperature, uncoupling protein 2
검색건수	109

유효논문건수		7
핵심논문 및 관련성	논문명	Transgenic mice with a reduced core body temperature have an increased life span.
	학술지명	Science
	저자	Conti B, Sanchez-Alavez M, Winsky-Sommerer R, Morale MC, Lucero J, Brownell S, Fabre V, Huitron-Resendiz S, Henriksen S, Zorrilla EP, de Lecea L, Bartfai T.
	게재년도	2006
	관련성(%)	50%
	유사점	체온조절기전에 중요한 biomarker로 uncoupling protein 2 발현
	차이점	인삼 투여에 따른 uncoupling protein 2 발현 변화

개발기술명		인삼과 혈압과의 관계
Keyword		ginseng, blood pressure
검색건수		93
유효논문건수		7
핵심논문 및 관련성	논문명	Effect of Korea red ginseng on the blood pressure in conscious hypertensive rats
	학술지명	Gen Pharmacol.
	저자	Jeon BH, Kim CS, Park KS, Lee JW, Park JB, Kim KJ, Kim SH, Chang SJ, Nam KY.
	게재년도	2000
	관련성(%)	70%
	유사점	고혈압 동물모델에게 홍삼 투여 후 나타나는 혈압 변화
	차이점	체온조절 기전의 상관성

개발기술명	(기술 1)	(기술 2)
Keyword	metabolomics	natural medicine과 pharmacodynamic
검색건수	1483	34

유효논문건수		4	15
핵심논문 및 관련성	논문명	An experimental design approach using response surface techniques to obtain optimal liquid chromatography and mass spectrometry conditions to determine the alkaloids in Meconopsi species.	Protective effect of astragalosides on myocardial injury by isoproterenol in SD rats.
	학술지명	J. Chromatogr. A	Am. J. Chin. Med.
	저자	Zhou Y, Song JZ, Choi FF, Wu HF, Qiao CF, Ding LS, Gesang SL, Xu HX.	Chen XJ, Meng D, Feng L, Bian YY, Li P, Yang D, Cao KJ, Zhang JN
	게재년도	2009	2006
	관련성(%)	50	30
	유사점	한약재 종의 구별을 위하여 metabolomic 접근방식을 이용하며 그 분석방법을 확립함.	질병유발 동물 모델을 사용하여 심근경색효과를 검증함.
	차이점	한약재의 효능이나 부작용의 약효 측면에서의 접근은 이루어 지지 않음	한약의 단일 효능만을 검색하였으며 metabolomic를 사용한 작용과 독성의 원인규명 및 기전 연구는 이루어 지지 않음

< 관련 논문 >

1. Science. 2006 Nov 3;314(5800):825-8. Transgenic mice with a reduced core body temperature have an increased life span.
2. Methods Enzymol. 2009;457:395-404. Methods for assessing and modulating UCP2 expression and function.
3. J Invest Dermatol. 2008 Aug;128(8):1894-900. Epub 2008 Feb 28. Expression of uncoupling proteins in human skin and skin-derived cells.
4. Cardiovasc Res. 2008 Jan 15;77(2):425-31. Epub 2007 Aug 14. Mitochondrial uncoupling protein 2 mediates temperature heterogeneity in atherosclerotic plaques.
5. Physiol Genomics. 2008 Jan 17;32(2):161-9. Epub 2007 Oct 30. Marsupial uncoupling protein 1 sheds light on the evolution of mammalian nonshivering thermogenesis.
6. Neonatology. 2008;93(3):171-7. Epub 2007 Sep 24. Effect of Acute Administration of Recombinant Human Leptin during the Neonatal Period on Body Temperature and Endocrine Profile of the Piglet.
7. EuroIntervention. 2007 Aug;3(2):275-9. Uncoupling protein 2-mediated thermogenesis in vulnerable atherosclerotic plaques.

제 3 장 연구개발수행 내용 및 결과

1세부 - 표준화 원료공급 및 국제적인 고려인삼홍보

1) 원료 표준화를 위한 고려인삼, 화기삼의 사포닌 분석

고려인삼과 화기삼의 샘플을 각각 확보한 후 이를 경희대학교 인삼유전자원 소재은행으로부터 분양받은 화기삼과 고려인삼 분별 마커를 이용하여 고려인삼과 화기삼을 명확히 구별하여 연구에 사용하였다(그림 1).

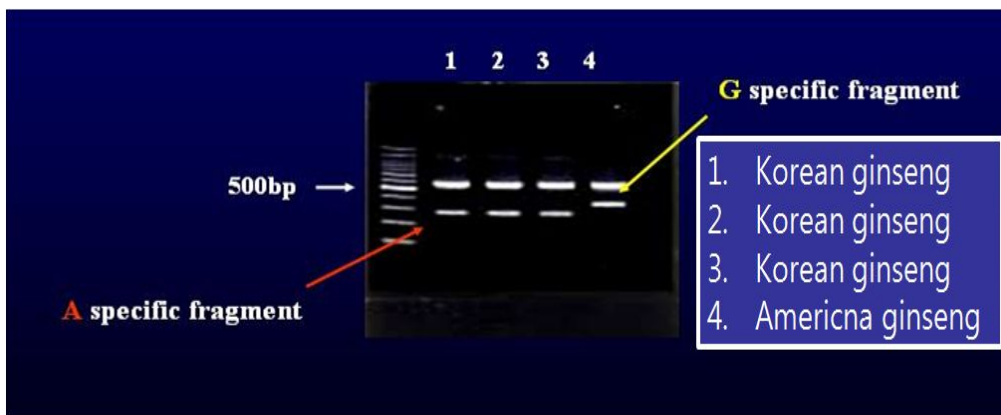


그림 1. DNA 분자 마커를 이용한 고려인삼과 북미삼의 구별

위의 검정 방법으로 검증된 고려인삼과 화기삼 6년근 샘플을 이용하여 사포닌 분석을 수행하였다. 각각의 샘플을 분쇄기를 이용하여 분말형태로 만든 후 이를 사포닌 추출에 이용하였다. 시료 1g을 80% MeOH 20ml에 섞어 80℃ 수욕조에 환류추출을 하여 추출액을 얻었다. 추출은 총 2회에 걸쳐서 진행 하였으며 얻어진 추출액은 감압농축기를 이용하여 농축하였다. 농축된 추출물은 물 25ml에 녹여 이를 BuOH 추출법 및 SPE카트리지 처리법을 이용하여 HPLC로 분석하였다.

전처리 방법은 ① 10 g의 sample을 80% MeOH 20ml을 가하여 2회 환류추출 한다. ② 추출액을 농축 하고 이를 25ml의 D.W로 용해하여 이중 5ml을 SepPak C18cartridge에 loading 한다. ③ 20 ml의 D.W로 cartridge를 세척한다. ④ 15 ml의 30% MeOH으로 cartridge를 세척한다. ⑤ 5 ml의 MeOH로 gisenoside를 용출 시킨다. ⑥ 용출된 용매를 HPLC 분석 시료로 이용한다.

(1) HPLC 분석

1) Column: ODS (4.6 mm x 12.5 cm; 5 µm)

- 온도: 45℃

- 2) Mobile phase
 - A: Water, B: acetonitrile,
 - 유속: 1.6 mL/min
- 3) Detection: UV 203 nm
- 4) Equilibrium time: 20 min
- 5) Injection volume: 20 µL

Total time	Time	Act(100%)	DW(100%)
0	0	15	85
5	5	15	85
25	20	21	79
65	40	45	55
75	10	90	10
85	10	90	10
87	2	15	85
100	23	15	85

위와 같은 조건에서 실험하였으며 이 실험에 대한 확인 및 안정성의 규명다음 Validation 방법으로 시행하였다.

VALIDATION OF ANALYTICAL PROCEDURES: METHODOLOGY

- Guideline Title Validation of Analytical Procedures:
Methodology
- Legislative basis Directive 75/318/EEC as amended
- Date of first adoption December 1996
- Date of entry into force For studies commencing after June 1997
- Status Last revised 1996
- Previous titles/other references ICH Q2B/CPMP/ICH/281/95
- Additional Notes
 - This note for guidance concerns test procedures used in documentation submitted in accordance with Part 2, sections A~F of the annex to Directive 75/318/EEC as amended, with a view to the granting of a marketing authorisation for a medicinal product.
 - This guideline is complementary to, and should be read in conjunction with, the guideline on Validation of Analytical Procedures: Definition and Terminology.

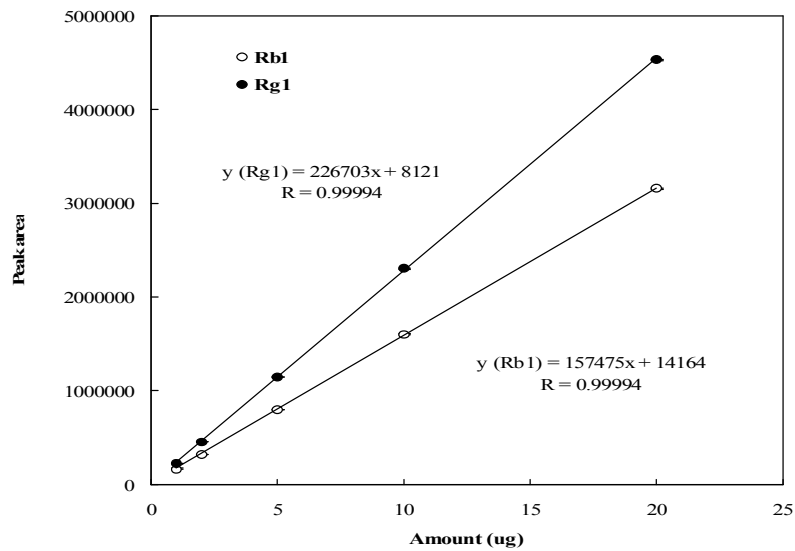


그림 2. 인삼 사포닌 정량분석을 위한 Calibration Curves.

표 1. 표준물질의 Validation 확인

Parameter	Ginsenoside-Rg1	Ginsenoside-Rb1
직선성	Y= 226703X + 8121 (r=0.9999) Ginsenoside Rg1 amount (ug) Y:X; Detector response	Y= 157475X + 14164 (r=0.9999) Ginsenoside Rb1 amount (ug) Y: Detector response
범위	HPLC 주입량: 1~20 ug	HPLC 주입량: 1~20 ug
검출한계	0.05 ug	0.04 ug
정량한계	0.15 ug	0.12 ug

위와 같은 방법으로 확립되어진 사포닌 분석법을 시중의 홍삼 분말 및 농축액 제품에 적용시켜 사포닌 분석을 수행하였으며 기존의 부탄올 추출법과의 비교를 통하여 분석법의 적합성을 판단하였다(표 1).

(2) 홍삼분말제품의 ginsenoside 함량분석

동일 샘플을 5회 반복하여 사포닌 분석을 진행하였다(그림 3). 인삼 분말 제품의 Ginsenoside Rg1의 함량은 5.22 ± 0.16 mg/g로 조사되었다. ginsenoside Rb1의 함량은 2.31 ± 0.10 mg/g으로 나타나 반복실험에 따른 차이가 거의 없음을 확인하였으며 기존의 함량분석과 유의적인 차이가 적은 바 본 시험 방법이 인삼 분말 제품 분석을 위해 적합함을 확인 할 수 있었다. 동일 시료를 이용하여 기존의 방법인 부탄올을 이용하여 사포닌을 정량 분석할 경우 ginsenoside Rg1 함량이 4.61 ± 0.52 mg/g, ginsenoside Rb1함량이 2.04 ± 0.29 mg/g 으로 상대적으로 오차 값이 크게 나타난 것을 확인 할 수 있었다. 이는 부탄올층

의 분획과정 중의 유화현상에 의한 실험상의 오차와 더불어 부탄올 분획상에 사포닌 성분 뿐 아니라 비사포닌 성분이 혼합되어 존재하기 때문으로 사료되어진다. 따라서 추출상의 효율성이 뛰어난 C18카트리지를 이용하여 사포닌을 추출하여 분석하는 것이 인삼 및 홍삼 제품 분석에 더 효율적일 것으로 판단되어진다.

(3) 홍삼농축액제품의 ginsenoside

함량분석

홍삼농축액을 이용하여 사포닌 분석법의 적합성을 조사하였다(그림 4). HPLC분석결과 ginsenoside Rg1 및 ginsenoside Rb1이 올바르게 분리됨을 확인 할 수 있었다. 샘플로 이용한 홍삼 농축액의 ginsenoside Rg1의 함량은 0.301 ± 0.01 로 나타났으며 ginsenoside Rb1의 함량은 2.97 ± 0.07 mg/g로 조사된 바 적은 오차를 나타내어 본 시험법은 홍삼 농축액을 분석하기에 적합할 것으로 사료된다. 동일 샘플을 부탄올을 이용하여 추출할 경우 ginsenoside Rg1의 함량은 0.290 ± 0.19 로 나타났으며 ginsenoside Rb1의 함량은 2.91 ± 0.21 로 조사되었다.

(4) 고려인삼과 화기삼의 기능성 물질 함량 비교

전처리를 통하여 얻어진 고려인삼과 북미삼의 사포닌을 HPLC를 통하여 검정하여 본 결과는 다음과 같다.

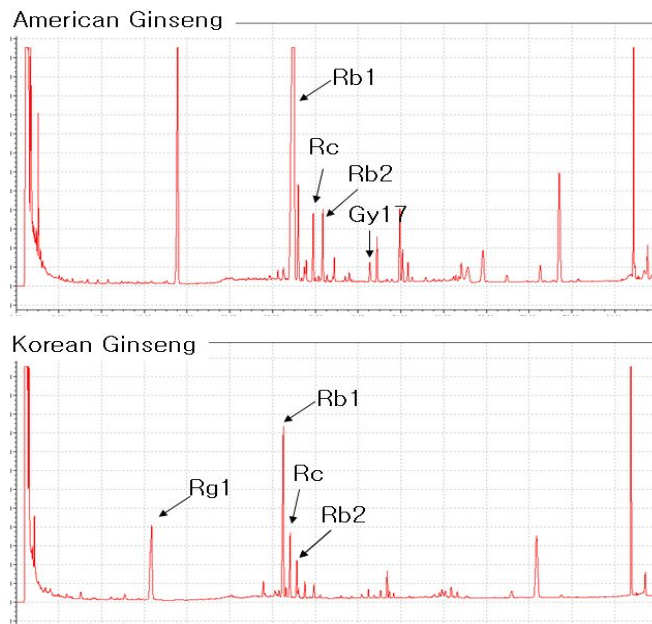


그림 3. 고려인삼과 북미삼의 HPLC 분석 크로마토그램

그림 5에서 위쪽의 chromatogram은 화기삼의 사포닌 분석결과이고 아래쪽의 chromatogram의 결과는 고려인삼의 분석결과이다. 본 연구결과의 chromatogram에서 알수 있듯이 화기삼의 사포닌이 고려인삼보다 상대적으로 많았는데, 특히 Rb1의 경우 고려인삼에 비하여 5배 이상 존재하였다. 또한 ginsenoside-Rf는 고려인삼에만 존재하였다(표 2, 그림 4).

표 2. 고려인삼과 화기삼의 사포닌 함량 비교분석

	Rb1	Rb2	Rc	Rd	Re	Rg1	Rf
Korean Ginseng	3.57	1.6	2.96	1.27	1.18	0.72	0.63
American Ginseng	18.99	0.45	3.21	3.44	13.42	0.48	

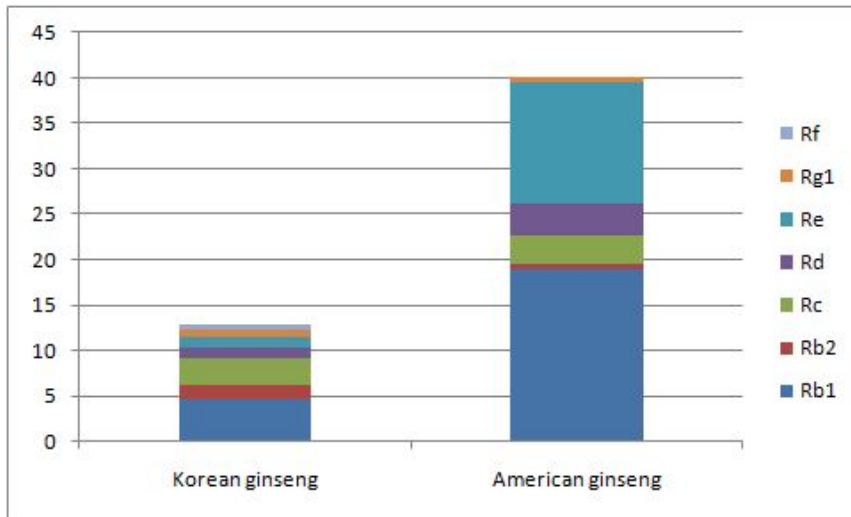


그림 4. 고려인삼과 화기삼의 total 사포닌의 비교.

정량 결과 북미삼의 major 7종에 대한 total 사포닌량이 고려인삼에 비해 약 3배 이상 많은 것으로 나타났다. 특히 PPD계열에선 인삼의 대표 사포닌 중 하나인 ginsenoside Rb1이 약 5배 정도 많은 것으로 나타났으며 그 밖에 Rc 및 Rd 또한 화기삼이 더 많은 것으로 확인되었다. ginsenoside Rb2의 경우는 특이적으로 고려인삼이 더 많은 것으로 PPD계열 중 유일하게 북미삼보다 많은 사포닌으로 확인되었다. PPT계열의 경우 ginsenoside Re가 북미삼이 고려인삼에 비해 약 10배 정도 많은 것으로 나타났으며 Rg1은 고려인삼이 약 2배 정도 많은 것으로 확인되었다. 특이적으로 화기삼에는 ginsenoside Rf가 없는 것으로 확인되었다.

2) 고려인삼의 승열작용에 대한 역사 문헌적 고찰

인삼(*Panax ginseng*)은 오가피나무과 파낙스속에 속하는 다년생 초본 식물의 뿌리를 말하며 수천 년 동안 약재로 사용되어 왔다. 인삼이 한약으로 기록된 것은 약 2000년 전으로 중국의 전한환제시대의 문헌 급취장에 강장약으로 처음 인삼의 參 자가 소개 되었다. 인삼의 우리나라 고유의 이름은 심이며, 이 어원이 처음 사용된 연대는 알 수 없으나 동의보감, 제중신편이나 방약합편에 인삼이 심이라고 표기되어 그부터 사용된 것으로 추정되고 있다. 고려인삼의 효능은 역사적으로 잘 알려져 있으며 신농본초경, 본초강목, 동의보감 등의 문헌을 통하여 구체적으로 기술되어지고 있다(그림 5).

우리나라에 있어서 백제 26대 성왕27년에 초나라와 인삼을 교역하였고, 신라와 당나라가 인삼을 교역하였으며, 발해 문왕은 일본과 인삼교역을 하였다고 알려져 있다. 이처럼 인삼을 소비하는 주변 국가들에서는 고려인삼의 가치를 높게 평가하였고 특히 18세기 일본에서는 인삼이 대유행하여 이를 구매하기 위해 막부가 우려할 정도의 막대한 은이 조선으로 유출되었다. 19세기에는 홍콩시장에서 고려인삼이 북미삼의 10배의 해당하는 고가에 판매되기도 하였다.

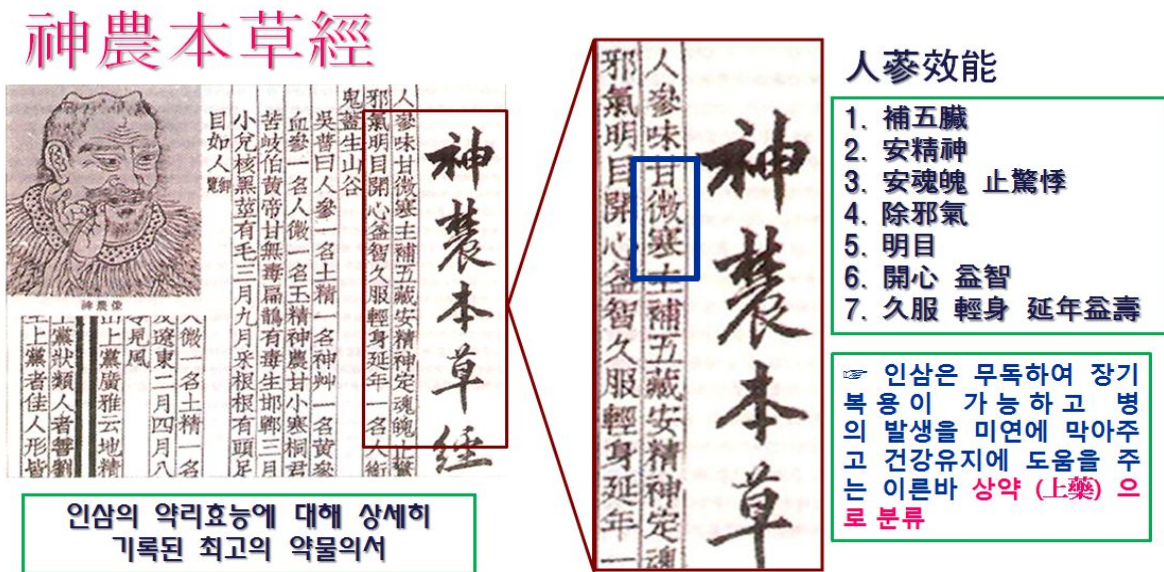


그림 5. 신농본초경에 기록되어진 고려인삼의 효능

그러나 국제 인삼유통시장인 홍콩시장에서 서양삼(화기삼)은 청열작용이 있고 고려인삼은 승열작용이 있다고 홍보되며 더운지방에 사는 사람들은 서양삼(화기삼)을 복용하는 것이 좋다는 인식이 강해지면서 고려인삼이 세계적으로 널리 사용되는데 적지 않은 장애요인으로 작용하고 있다(그림 6).

神農本草經



년대	등양		서양	
	문헌	性味	Asian ginseng	American ginseng
한나라 (B.C.202-A.D.28)	신농본초경 [神農本草經]	味甘/微寒		
후한-삼국시대 (A.D.29-280)	명의별록 [名醫別錄]	味甘/微溫/無毒	Sunshine	Shadow
1590	본초강목 [本草綱目]	味甘/微寒	Hot	Cold
1694	본초비요 [本草備要]	生涼苦/熱溫甘	Heating	Cooling
1611	동의보감 [東醫報鑑]	味甘/微溫/無毒	Positive	Negative
1884	대방약합편 [大方藥合編]	生涼苦/熱溫甘	Male	Female
1894	동의수세보원 [東醫壽世保元]	味甘/微溫	Wikipedia Alternative Medicine NCCAM	
2000	중약대사전 [中藥大辭典]	味甘/微溫		

그림 6. 문헌으로 기록되어진 고려인삼의 효능 및 서양삼(화기삼)과의 차이

따라서, 본 연구에서는 이러한 승열작용에 대한 담론이 언제부터, 어떻게, 왜 생겨났는가를 역사적으로 밝혀내는 작업 필요하다고 판단하였다. 더불어 승열작용 담론의 진실여부를 과학적으로 명확히 밝혀 고려인삼의 승열작용에 대한 담론이 분명한 과학적 사실에 기초해 생겨난 것이 아니라 역사적 과정 속에서 특정한 목적으로 만들어진 것임을 역사적 문헌 고찰을 통해 밝히고자 하였다. 또한, 고려인삼에 대한 고대로부터 기록, 특히 고려인삼의 효능과 작용대한 기록을 검토, 특히 19세기말에서 20세기 초에 미국의 외교관, 인삼 재배업자들이 고려인삼에 대해 언급한 내용과 기록 및 고려인삼에 대해 조사하고 보고했던 기록을 탐색하는 방법 등을 통하여 고려인삼의 국제화에 장애요인으로 작용하는 고려인삼의 승열작용 이론이 등장하게 된 역사적 배경과 과정을 조사하였다.



인삼칠효설(人蔘七效說)

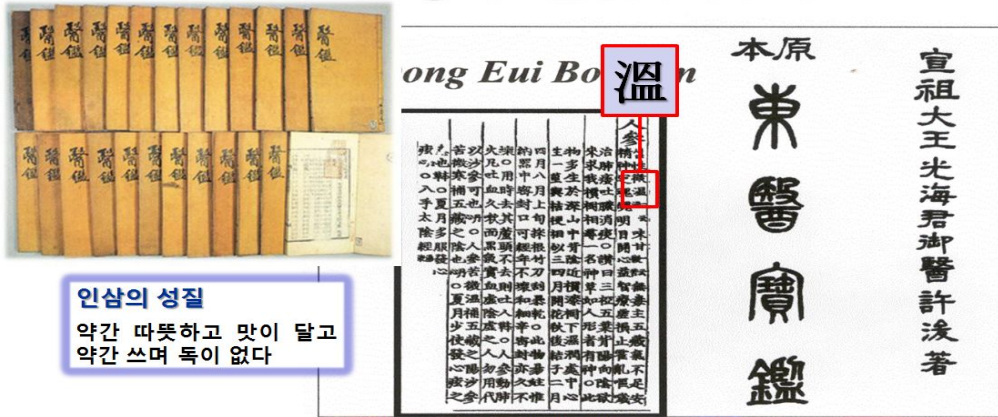
항목	내용
補氣救脫	원기를 보하고 허탈을 구한다 (피로회복, 체력 증진)
益血復脈	혈액을 보충하고 절맥(脈絶)을 회복시킨다 (빈혈, 저혈압, 심장쇠약 치료)
養心安神	마음을 길러 주고 정신을 안정시킨다 (노이로제, 자율신경실조 치유)
生津止渴	진액을 생기게 하고 갈증을 멈추게 한다 (당뇨병에 유효)
補肺定喘	폐를 보하고 천식을 멈추게 한다 (폐결핵과 천식에 유효)
健脾止瀉	위장을 튼튼하게 하고 설사를 멈추게 한다 (위장염, 설사, 변비, 식욕부진에 유효)
托毒合瘡	독을 배제하고 부스럼을 없앤다 (종기, 피부병, 살갓을 부드럽게 함)

3,521 가지의 처방전이 있을 정도로 인삼은 중요한 약재

그림 7. 중약대사전에 기록되어진 고려인삼의 효능.

중약대사전에 기록되어진 고려인삼은 3,521 가지의 처방전이 있을 정도로 중국에서도 중요한 약재였으며(그림 7), 우리나라에서도 광해군 3년 허준이 집대성한 우리나라의 동의보감에 따르면 인삼은 그 성질이 약간 따뜻하고 맛이 달고 쓰며 독이 없으며 오장의 양기를 보한다고 기록되어 있고(그림 8), 3,994 처방 중 인삼의 배합 처방은 653으로 17%에 달할 정도로 쓰임이 많았던 약재로 기록되고 있다.

동의보감 (東醫寶鑑)



인삼의 성질

약간 따뜻하고 맛이 달고
약간 쓰며 독이 없다

- 광해군 3년(1611)에 허준완성, 총 25권 25책

3,944 처방중 인삼 배합 처방 653 (17%)

그림 8. 동의보감에 기록되어진 고려인삼의 효능

조선시대의 방약합편의 약성가에서는 인삼은 生凉하고 홍삼은 숙온한 성질을 가진다고 기록되어 있으며, 인삼의 약성을 ‘人蔘味甘’이라고 하였는데 人蔘味甘은 맛이 달다는 뜻으로, 동양의학의 기본이론 중 하나인 오행론을 검토하면, 감(甘)은 오미의 한 요소로서 오행의 토에 해당하며, 오장에서 비에 해당하는 것으로 인삼이 오장을 다 보하지만, 조로 비장으로 약성이 작용한다는 의미이다. 더불어 오장육부의 신진대사와 혈액순환을 담당하는 원기를 보한다고 기록되어 있다.



- 황필수(黃泌秀) 증보(1884, 고종 21) 편찬

467 처방중 인삼 배합 처방 132 (28%)

그림 9. 방약합편에 기록되어진 고려인삼의 효능

서양삼(화기삼)(북미삼)은 200여년전 중국 청나라 본초서인 본초강목습유 및 본초비요에 처음으로 약용 본초로 등장하였으며 폐의 음액을 보충하고 허화를 내리고 갈증을 멎게하는 효능이 기록되어 있다. 이같은 효능은 고려인삼이 갖고 있는 대보원기 작용으로서 보기제의 개념이 아니고, 음액 보충제로서의 약성을 나타내는 것으로 고려인삼은 기, 혈, 진액을 모두 보충하지만, 서양삼(화기삼)은 진액보충에 국한된 효능을 나타내고 있다는 것을 알 수 있다. 인삼이 본초서에서 맛이 달고 약간 쓰며, 약간 따뜻한 성질을 갖고, 주로 비,폐,심 경맥으로 들어가 약성을 발휘한다. 반면 서양삼(화기삼)은 성미가 맛은 달고 약간 쓰며, 서늘한 성질을 갖고, 주로 심, 폐, 신 경맥으로 들어가 약성을 발휘한다고 기록되어 있다(그림 9).

이러한 중국 전통의약을 인용하여 화기삼은 cooling효과 아시아삼은 heating 효과라 표기하여 홍콩시장에서 열이 많은 서양인들은 서양삼(화기삼)을 복용하는 것이 좋다고 홍보하여 왔다(그림 12). 실제 인삼은 주로 보기약으로 쓰여왔으며 서양삼(화기삼)은 보음의 약성을 나타낸다. 보기는 원기를 보하는 것으로 열을 넣어주는 의미는 아니며 서양삼(화기삼)의 보음의 약성은 청열 작용을 나타낼 수 있지만 인삼의 본 약성인 보원기제와는 차이가 있다. 따라서 이러한 cooling과 heating의 의미는 열을 올리고 내린다는 의미라기 보다는 음과 양을 영문으로 표기하는 과정상의 차이로 보인다. 고려인삼의 승열작용에 대한 담론이 등장한 역사적 배경과 문헌적 고찰을 통하여 종합적으로 보면 승열담론은 최근 서구인들의 서양삼(화기삼)의 홍보 목적으로 만들어 진 것으로 판단된다. 하지만 문헌적인 고찰을 고려하였을 때 고려인삼과 서양삼(화기삼)(북미삼)의 성질의 차이가 존재하는 것으로 나타나 실제 보기약인 고려인삼과 보음적인 약성을 가진 서양삼(화기삼)을 섭취하였을 때 나타나는 체열, 혈압, 혈류량 등의 변화를 과학적으로 검증해야 할 필요가 있을 것으로 판단된다.

3) 고려인삼 체열반응의 홍보를 위한 연구결과의 다큐멘터리 제작

본 연구의 결과를 대중매체를 통하여 적극적인 홍보를 위하여 대전 MBC방송국과 협약을 체결하고 이를 다큐멘터리로 제작을 기획하였다. 이를 위해서 대전 MBC방송국과 1, 2년차로 나누어 촬영을 진행하기로 협약을 체결하였다.

특집 프로그램 기획서

<1> 프로그램명 : 왜? 고려인삼인가? (가제)

<2> 방송일시 : 2011년 9월 예정

<3> 제작사 및 책임자 : 대전MBC 프로그램제작부장 오승용

<4> 기획의도

- 고려인삼의 승열작용이 국제시장 확대에 큰 장애요인으로 작용하고 있어 이를 해결하기 위한 대책마련이 절실히 필요

- 화기삼의 관측 홍보 전략에 대응하기 위한 대규모 국제적인 임상실험 및 발열반응에 대한

과학적인 규명을 통한 학술적인 근거자료 확보가 필요

- 2011 국제 인삼박람회를 맞아 한국 고려인삼의 명실상부한 효능과 명성을 과학적이고 임상적 실험을 통해 밝히고자 함

<5> 내용

A. 세계 인삼시장의 현황과 고려인삼 수출부진의 현주소

- ① 화기삼의 마케팅 전략에 위축된 고려인삼
- ② 인삼재배적지 감소와 재배여건 악화로 생산부진
- ③ 중국삼 점유율 증가에 따른 제품수출시장 쇠퇴
- ④ 해외수입국의 안전성 기준 강화로 규제 심화
- ⑤ 고려인삼의 승열작용에 대한 부정적 이미지 부각으로 화기삼 판매업자들이 시장 주도

B. 인삼의 한방효능과 승열작용에 대한 정의 확립

- 전임상 실험을 통한 승열매커니즘 규명

C. 임상실험을 통한 고려인삼 및 화기삼의 체열반응 조사

- ① 4개국(한국, 중국, 홍콩, 베트남)에서 대규모 임상적 효능시험
- ② 에너지 메타볼리즘(energy metabolism)분석
- ③ 체온, 혈압, 맥박, 심장박동, CO₂ 분비량 등 체온관련 인자 분석
- ④ 적외선 체열검사를 이용한 고려인삼과 화기삼 체열반응 비교
- ⑤ 설문지를 이용한 인삼별 자각증상 비교
- ⑥ 실험 자료의 통계분석

D. 발열관련 생리기전의 전체 프로파일링 분석

- ① 고려인삼과 화기삼 섭취 시 체열관련 발열인자들의 발현양상분석
- ② 국가별(인종별) 차이에 따른 발열인자들의 상호비교분석
- ③ 발열인자들의 기능 분류 및 pathway 분석

E. 고려인삼 수출 장애요인의 과학적 입증 및 대처방안

- ① 동양과 서양의 관점에서 임상효능연구의 홍보 전략 제안
- ② 2011 국제인삼엑스포의 의미와 기대 효과
- ③ 고려인삼의 세계시장점유 확대 방안 제시

<6> 제작일정

- 2009년 1차년도 기획회의 및 자문위원단 구성
- 2010년 2차년도 각종 자료수집 및 방송자료 모니터, 실험과정 부분 촬영
- 2011년 3차년도 촬영 및 대본 영상작업 완작 및 방영

<7> 자문위원 및 기관

A. 연구팀

- ① 경희대학교 한방재료가공학과 양덕춘
 - 임상시험용 시료 표준화 및 공급 및 고려인삼 표준화
 - 연구홍보를 위한 국제심포지움 개최

B. 전임상 기초연구

- ① 인하대학교 의과대학 박인선
 - In vitro 전임상(에너지 대사 관련 등)
미토콘드리아 모든 에너지 현상 및 변화(in vivo, in vitro)
승열작용: 신경작용과 밀접한 관련성, 뉴론변화 분석 등(in vitro)
- ② 가천의과대학 전희숙
 - In vivo 전임상(동물 에너지 대사 프로파일링 분석 등)
시설을 이용한 metabolic cage 활용한 운동량 등 모든 대사과정조사
- ③ 경희대학교 한방바이오(주) 인준교
 - 임상과 연계한 발열관련 생리기전의 인체 프로파일링 분석

C. 임상연구

- ① 경희대학교 고려인삼명품화사업단 최광태
 - 해외임상실험 : 홍콩지역 / 북경 중의학원(한방) / 베트남 하노이
- ② 대구한의대학교 변준석
 - 대한민국 국내 임상시험
 - 승열에 대한 임상실험을 위한 제조건 준비

D. 2011년 국제인삼엑스포 조직위원회

프로그램 제작 지원 약정서

경희대학교 산학 협력단 (이하 '갑' 이라 칭함)과 대전문화방송(주) (이하 '을' 이라 칭함)은 「고려인상과 화기상의 체열에 관한 다류엔터리」 프로그램의 제작지원에 관하여 다음과 같이 약정한다.

제 1조 (목적)

본 약정은 '갑' 과 '을' 이 프로그램 제작 지원을 진행하기 위해 필요한 제반사항을 규정함을 목적으로 한다.

제 2조 (내 용)

1. 프로그램 : 고려인상과 화기상의 체열에 관한 다류엔터리
2. 내 용 : 국내외에 고려인상의 우수성과 과학적인 연구사실을 홍보
3. 제작기간 : 2009년 12월 28일부터 2011년 12월 27일 까지
4. 방송일시 : 2011년 9월중 (세계인상엑스포기간) 특집 다류엔터리(60분)
(단, 제작지원 기간 중 다류 제작 완료 이후의 연구결과물은 뉴스나 정보프로그램으로 방송한다.)
5. 제작지원금 : 총 100,000,000 원 (부가세 포함)

제 3조 (방송제작 지원금 청구 및 입금)

1. '을' 은 '갑' 에게 제작 지원비를 아래와 같이 2회에 걸쳐 청구하고 '갑' 은 청구일로부터 1주일 안에 입금한다.
(입금계좌 : 하나은행 628-329320-00504 예금주 : 대전문화방송)
- 1) 본 약정서 체결과 동시에 계약금으로 30,000,000 원을 청구한다.
- 2) 2차년도인 2011년 2월 증금 70,000,000 원을 청구한다.

제 4조 (방송 제작 및 방송)

'을' 은 약정에 따라 프로그램을 제작, 방송하되 프로그램 스태프 자막 처리 시에 '갑'의 제작지원 사실을 고지하고 방송 10일전 PR시에도 하단 1/4에 해당하는 자막으로 제작지원 사실을 고지한다.

제 5조 (방송 제작물의 저작권 및 제작물 제출)

1. 방송 제작물의 저작권은 '을'에게 귀속되며 '갑' 은 '을'과 협의하여 제작물을 비영리 목적으로 사용 할 수 있다.
2. '을'은 방송 종료 후 방송된 BETA TAPE 1개와 DVD 2개를 '갑'에게 제출한다.

제 6조 (기타사항)

1. 촬영 및 홍보물 촬영 시 본교의 영칭 및 로고가 사용(용) 경우, 출판문화원과 협의 후 진행 하도록 한다.
2. 본 약정서에 명시되지 아니한 사항은 '갑'과 '을'이 별도 합의하여 정하거나 일반 상 관례에 따른다.
3. '갑'과 '을'은 협약을 충실히 이행키 위해 본 약정서를 2부를 작성하여 서명날인 후 각각 1부씩 보관한다.

2010. 3.

갑 : 경희대학교 산학협력단장
갑-1 주관 연구 책임자

을 : 대전문화방송(주) 대표이사 사장
을-1 대전문화방송 방송본부장

황 주 호
양 덕 춘

고 대 석
박 선 자



대전 MBC와 경희대학교간의 프로그램 제작지원 약정서

2000-08-19 16:21 FROM:FEDEX CS 0327446204 TO:90312815437 P:2/3

023 MIE 34198474

SHIPPER NAME AND ADDRESS: GINSENG & HERB COOP 3909 1/2 COUNTY ROAD B P.O. BOX 581 MARATHON, WI 54448

SHIPMENT NUMBER: 75300 1KSEF18

SHIP TO: GLOBAL CAMPUS KYUNG HEE UNIVERSITY YONGIN, GYEONGGI-DO, SOUTH KOREA

SHIP DATE: 01-1-1819/0216

SHIP TO: 21500 EAST COLLEGE AVE CUDAHY, WI 53110

SHIP TO: MICE MILWAUKEE WISCONSIN

SHIP TO: ICN FEDERAL EXPRESS

SHIP TO: ICN INCHEON INTE

SHIP TO: SOUTH KOREA

SHIP TO: GINSENG POWDER SHIP

SHIP TO: NLR

SHIP TO: PICK UP CHARGE SECURITY SURCH \$210.40

SHIP TO: FUEL SURCHARGE \$210.40

SHIP TO: TBA SECURITY PROGRAM

SHIP TO: FEDERAL EXPRESS

2000-08-19 16:22 FROM:FEDEX CS 0327446204 TO:90312815437 P:3/3

Invoice

Ginseng & Herb Cooperative

P O Box 581
3909 1/2 County Road B
Marathon, WI 54448

Date: 7/14/2010
Invoice #: 2010-203

PAID

Ship To: [Blank]

Bill To: Attn: Prof Kwang-Teo Global Campus Kyung Hee University Yongin, Gyeonggi-Do, Korea

Country of Origin	Terms	Ship	Via	Destination
U.S.A.	Prepaid	7/14/2010	Global Carrier	KOREA

Quantity in Pounds	Item Code	Description	Unit Price/Lb USD	Amount USD
660	Powder	Lot 104 100% Wisconsin American Ginseng Powder (ground 100 mesh)	25.00	16,500.00
	Shipping/Hk.	Ginseng and Herb Cooperative paid	0.00	0.00
			Total USD	\$16,500.00

화기삼 구입을 위한 invoice [GINSENG & HERB CORP.]

American ginseng powder(100 mesh)



임상실험을 위해 수입된 화기삼 분말(100 mesh powder)

4) 전임상, 임상실험을 위한 표준화 샘플의 제조

표준화 된 고려인삼과 백삼, 화기삼 샘플의 분석을 하기 위하여 각각의 샘플의 사포닌을 측정하였다. 각 샘플을 1g을 80% MeOH로 총 2회 추출한 후 추출액을 감압 농축하였다. 농축물은 다시 물 25ml로 녹여 이를 SPE 카트리지를 이용하여 사포닌만을 용출하였다. SPE는 C18이 충전되어진 카트리지를 활용하였고 물로 평형화된 카트리지에 샘플을 흡착하고 이를 물과 30% 메탄올로 세척한 후 다시 100% 메탄올로 용출하였으며 이를 필터링하여 시험용액으로 사용하였다. 제조된 시험용액은 HPLC를 통하여 정량 분석하였다.

표 3. 각 인삼 샘플의 사포닌 함량

	Rg1	Re	Rh1	Rb1	Rc	Rb2	Rd	Rg2	Rg3	F2	Rf	C-K	Rh2	Total
RG	0.72 ±0.0 1	1.18 ±0.0 1	0.3± 0.02	3.57 ±0.0 1	2.96 ±0.0 1	1.6± 0.01	1.27 ±0.0 1	0.11 ±0.0 2	0.94 4±0. 01	ND	0.63 ±0.0 1	ND	0.12 ±0.0 1	13.4 04
AG	0.48 ±0.0 1	13.4 2±0. 01	ND	18.9 9±0. 01	3.21 ±0.0 1	0.45 ±0.0 1	3.44 ±0.0 1	0.42 ±0.0 1	ND	ND	ND	ND	ND	41.9 1
WG	0.69 8±0. 01	1.72 ±0.0 1	0.12 ±0.0 2	5.52 ±0.0 1	3.24 ±0.0 1	2.55 ±0.0 1	1.07 ±0.0 1	0.03 ±0.0 2	ND	ND	0.73 ±0.0 1	ND	ND	15.6 6

RG: 고려홍삼, AG: 화기삼 백삼, WG: 고려인삼(백삼)

고려홍삼과 백삼의 경우 화기삼에 비하여 전체적인 사포닌 함량은 떨어지는 것으로 확인되었다. 이는 화기삼이 가진 Rb1과 Re의 함량이 상대적으로 매우 높기 때문으로 확인되었다. 고려홍삼의 경우 백삼에서 나타나지 않았던 다양한 사포닌들이 검출된 것을 확인 할 수 있었는데 이는 홍삼으로 제조하는 과정 중 열처리를 통하여 major한 사포닌들이 minor 사포닌들로 전환되었기 때문으로 사료된다. ginsenoside Rf의 경우 고려인삼과 고려홍삼에만 들은 성분으로 확인되었으며 metabolite를 통하여 화기삼과 고려홍삼을 구분할 수 있는 중요한 지표성분이 될 수 있을 것으로 생각되어진다. 더불어 본 연구에서는 고려인삼과 화기삼의 명확한 구별을 위하여 고려인삼과 화기삼을 구분할 수 있는 마커를 개발하였으며 이를 통해 실제 고려인삼과 화기삼을 명확히 구분하여 사용하고자 하였다. 고려인삼 (*Panax ginseng* C.A.Meyer)과 화기삼 구별을 위한 분자마커를 개발할 목적으로 EST분석을 통하여 고려인삼과 화기삼을 구별을 시도하였다. 현재 인삼 구별을 위해서 사용되고 있는 분자생물학적 방법은 주로 random amplified polymorphic DNA (RAPD), polymerase chain reaction- restriction fragment length polymorphism (PCR-RFLP), multiplex PCR, inter simple sequence repeat (ISSR) 등이 있다. 그러나 이들 방법은 특이적인 마커 선발의 어려움과 재현성있는 결과를 얻기 어려워 유연관계가 근접한 인삼 품종간의 구별이 쉽지 않는 상황이다. 본 연구에서는 인삼의 종구별을 위한 분자마커 개발을 위해서 최근 인간의 질병진단 및 신약개발 분야에서 많이 이용되는 single nucleotide polymorphism (SNP) 방법을 이용하였다. SNP 마커 선발을 위한 후보 유

전자 선발을 위해서 천풍과 자경종의 뿌리에서 다발현 되는 유전자를 각각 선발하여 비교분석하였다. 그 결과 "ribosomal external transcribed spacer region" 유전자를 대상으로 고려인삼을 구별할 수 있는 특이적 SNP를 발견할 수 있는 가능성이 높다고 판단되어 이 유전자를 선발하였다. 고려인삼과 화기삼의 분자마커 확인 실험은 SNP에 근거하여 3'-end에서 mismatching을 주는 방법을 사용하여 SNP primer를 디자인 하고 PCR, multiplex PCR 등 방법으로 확인해 보았다.

DNA추출은 CTAB method(Doyle *et* Doyle, 1987)를 다소 변형한 아래의 방법으로 실시하였다. 우선 냉동보관 된 약 1.0g의 분말조직을 0.5% 2-β-mercaptoethanol이 첨가된 15 ml의 extraction buffer(2% CTAB; 100 mM Tris, pH 8.0; 50 mM EDTA, pH 8.0; 500 mM NaCl)에 넣은 후 65°C에서 20분간 incubation하며, 조직내 phenol 화합물, 탄닌 등의 불순물을 제거하기 위하여, extraction buffer에 2% PVP-40을 첨가한다. Incubation 후 SEVAC 용액(chloroform:Isoamyl alcohol=24:1) 7.5 ml를 첨가하여, 8000 g에서 30분간 원심분리하여 상등액을 취하고 이 부피의 2/3이 되는 양의 isopropanol을 첨가한 후 -20°C에서 12시간 이상 보관하였다가 8000 g로 30분간 원심분리하여 DNA를 분리하였다. 분리된 DNA pellet은 70% ethanol로 세척한 후 TE buffer(1 M Tris, 0.5 M EDTA, pH 8.0)에 용해하였으며, 그 후 필요에 따라 7.5 M ammonium acetate, 2.5 M sodium acetate 등을 이용한 정제과정을 거쳤다. 추출된 DNA 용액에 RNA를 제거하기 위하여 RNase(2 unit/ml, 37°C, 1 hour; Berhinger Mannheim)을 처리하며, GeneClean kit(Bio 101 Inc., CA, USA)와 Chelex 100(Bio-Rad Lab., CA, USA)를 이용하여 DNA를 순수정제하였다. 정제된 DNA는 0.7% Agarose gel로 전기영동한 후 1% EtBr로 염색하여 UV illuminator상에서 marker와의 밝기정도를 비교하는 spot-test를 실시하거나, spectrophotometer를 이용하여 그 농도를 계산하였다.(20ng/μl)

추출된 DNA로부터 절편의 증폭반응은 Perkin-Elmer 9600 thermal cycler에서 수행된다. PCR 반응은 전체 20μl 부피로 행하며, 10-50ng DNA, 1.5unit Taq DNA Polymerase(Perkin & Elmer, Cetus), 10mM Tris-HCl, pH 8.3, 50mM KCl, 1.5mM MgCl₂, 0.001% gelatin, 0.5-1.0μM primer 및 200μM의 각 dATP, dCTP, dGTP, dTTP 등이 포함되어 있다

PCR에 의한 "ribosomal external transcribed spacer region" ETS의 증폭 : 추출된 DNA로부터 ETS region의 증폭은 다음의 PCR(polymerase chain reaction) 반응을 이용하여 실시한다. PCR 반응은 전체 20μl 부피로 행하며, 10-50ng DNA, 1.5unit Taq DNA Polymerase, 10mM Tris-HCl, pH 8.3, 50 mM KCl, 1.5mM MgCl₂, 0.001% gelatin, 0.5-1.0μM primer 및 200μM의 각 dATP, dCTP, dGTP, dTTP 등이 포함되어 있다. 우선 PCR에 사용되는 EST gene primer는 NCBI(National Center for Biotechnology Information)에서 염기서열을 확인 후 제작된 primer

ETSF: 5'-TTTGCAAGTCGTGTGAGTTC-3'와

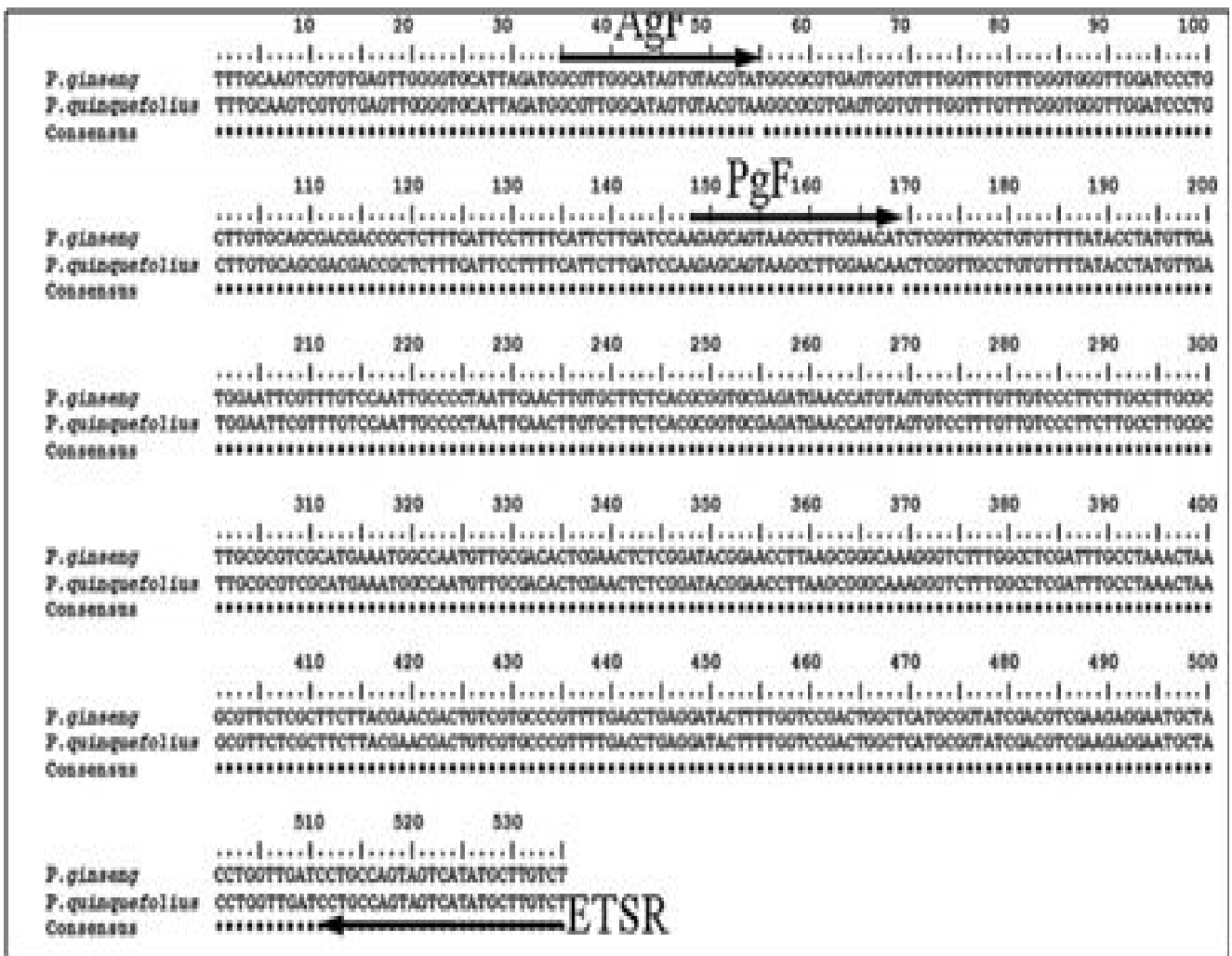
ETSR: 5'-AGACAAGCATATGACTACTGGCACG-3'를 이용하였다

Oligonucleotide sequences of primers used in this study.

Primer name	Nucleotide sequence (5' → 3')
ETSF	TTTGCAAGTCGTGTGAGTTG
ETSR	AGACAAGCATATGACTACTGGCAGG
AgF	GTGTTGCCATAGTGTACGTTA (A → T)
PgF	AGAGCAGTAAGCCTTGGAAAAT (C → A)

- Sequencing 및 결과 분석

위에서 증폭된 PCR product는 PCR DNA purification kit(GeneAll)를 사용하여 정하였으며 염기서열 전문 분석기관 Genotech에 의뢰하여 sequencing 하였다. Sequencing 결과는 BioEdit 프로그램을 이용하여 편집하고 온라인상의 ClustalW2 프로그램을 이용하여 정렬하여 primer를 제작하였다.



- Primer제작 및 Multiplex-PCR

화기삼 특이프라이머 AgF:5'-GTGTTGGCATAGTGTACGTTA-3'와 고려인삼 PgF:5'-AGAGCAGTAAGCCTTGAAAAAT-3'의 특이성을 확인하기 위하여 PCR을 수행하였으며 ethidium bromide를 10 μ l 첨가한 1% agarose gel 상에서 전기영동하여 UV로 증폭정도를 확인하였다. PCR mixture는 5pmol primer 2 μ l+2 μ l, 10ng DNA 1 μ l, 2x premix 10 μ l, distilled water 5 μ l를 혼합하여 total volume 20 μ l가 되도록 하였다. PCR 조건은 pre-denaturation 94 $^{\circ}$ C에서 4분, denaturation 94 $^{\circ}$ C에서 30초, annealing 65 $^{\circ}$ C에서 30초, extension 72 $^{\circ}$ C에서 40초로 35cycle, final extension 72 $^{\circ}$ C에서 7분으로 하였다

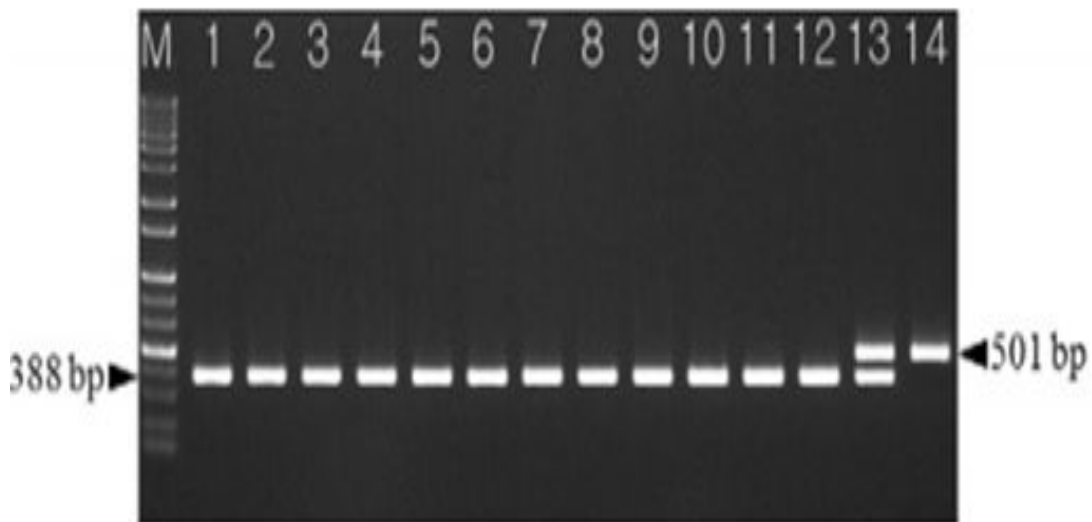


그림10. Multiplex allele-specific PCR을 이용한 고려인삼과 화기삼의 분석 . Lane M: 1 kb DNA ladder; Lane 1~12: *P. ginseng* 13: mixture of *P. ginseng* and *P. quinquefolius*; Lane 14: *P. quinquefolius*

시험성분 분석을 통해 표준화된 고려인삼, 백삼, 화기삼, 전분 샘플을 각각 캡슐로 제조하여 임상시험의 샘플로 활용하였다. 각각의 샘플은 한 캡슐당 400mg의 파우더를 넣었으며 GMP시설에서 제조하였다. 생산된 각각의 샘플들은 각 세부과제의 임상시험을 위해 공급 되었으며 고려홍삼(101), 화기삼(201), 전분(301), 고려백삼(401)으로 라벨링하였다. (실제 샘플은 101, 201, 301, 401로 라벨링하여 블라인드 테스트를 진행하였다.)



그림11. 임상실험용 캡슐 제작

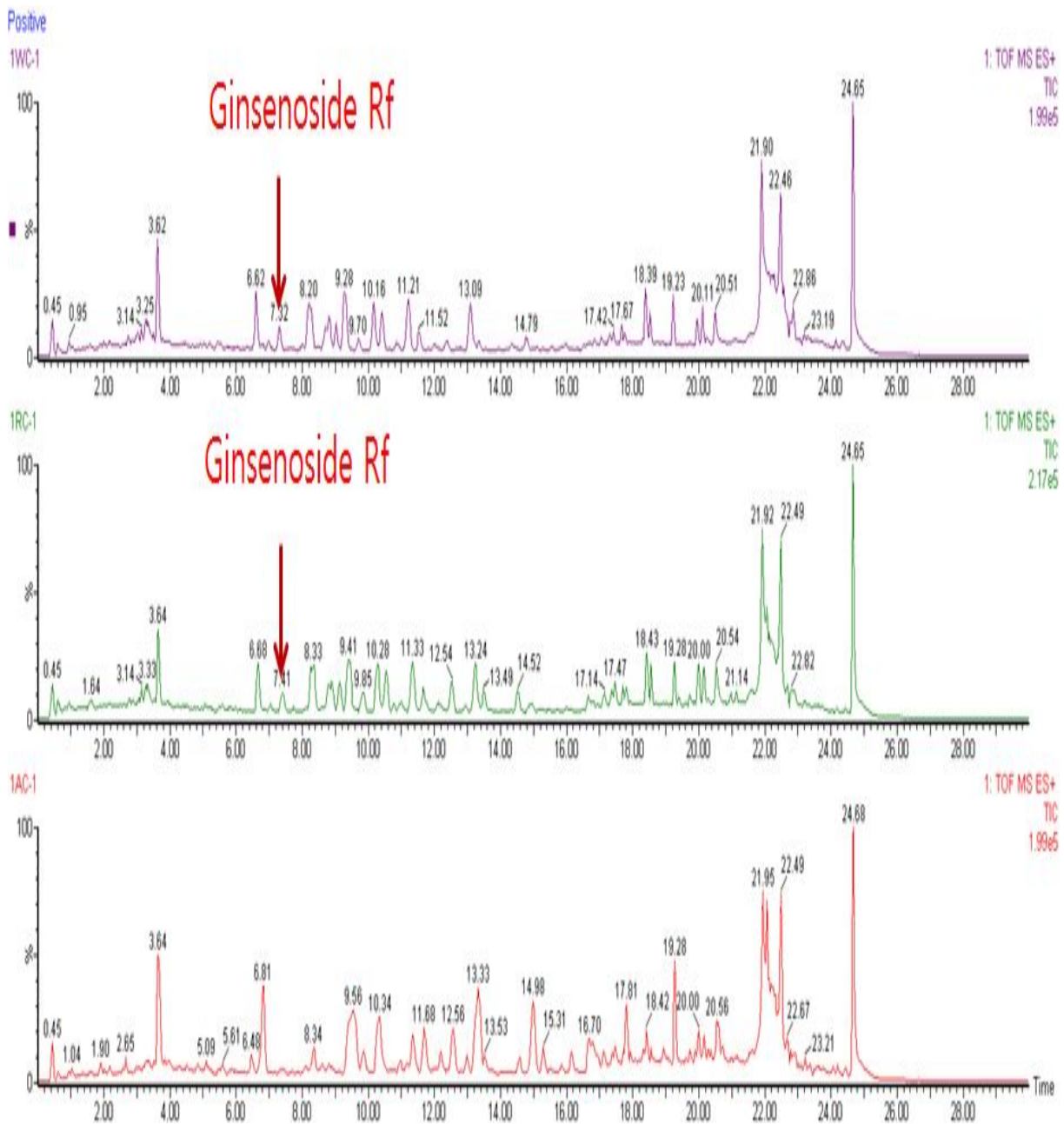


그림12. 백삼, 고려홍삼, 화기삼간의 TOF MS ES+ TIC

고려인삼과 화기삼간의 metabolites 분석을 위해 이를 Q-TOF/MS를 활용하여 분석하여 보았다. TIC확인 결과 MS data상에 ginsenoside Rf가 북미삼과 고려인삼을 구분할 수 있는 중요한 요소로 확인 되었다. 사포닌 이외의 성분의 profiling 분석을 위해 whole metabolite의 통계분석을 시도하고 있으며 현재 고려인삼과 화기삼의 특이 성분일 것으로 추정되는 후보 물질을 선정 하고 있으며 후보 물질중 일부를 metabolite ID를 통하여 어떠한 물질인지 밝혀 내고자 한다.

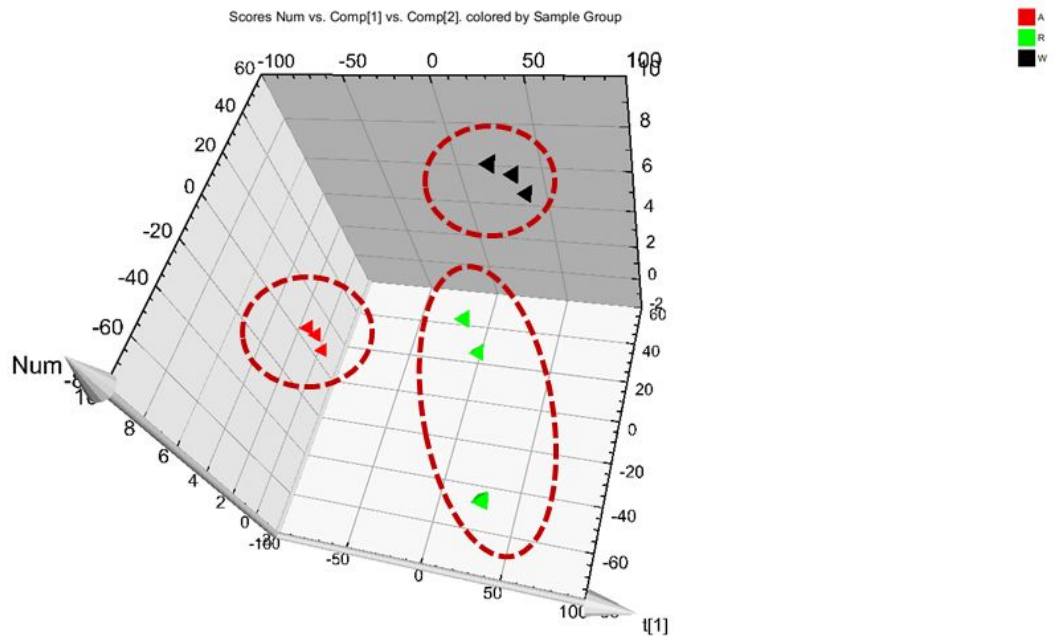
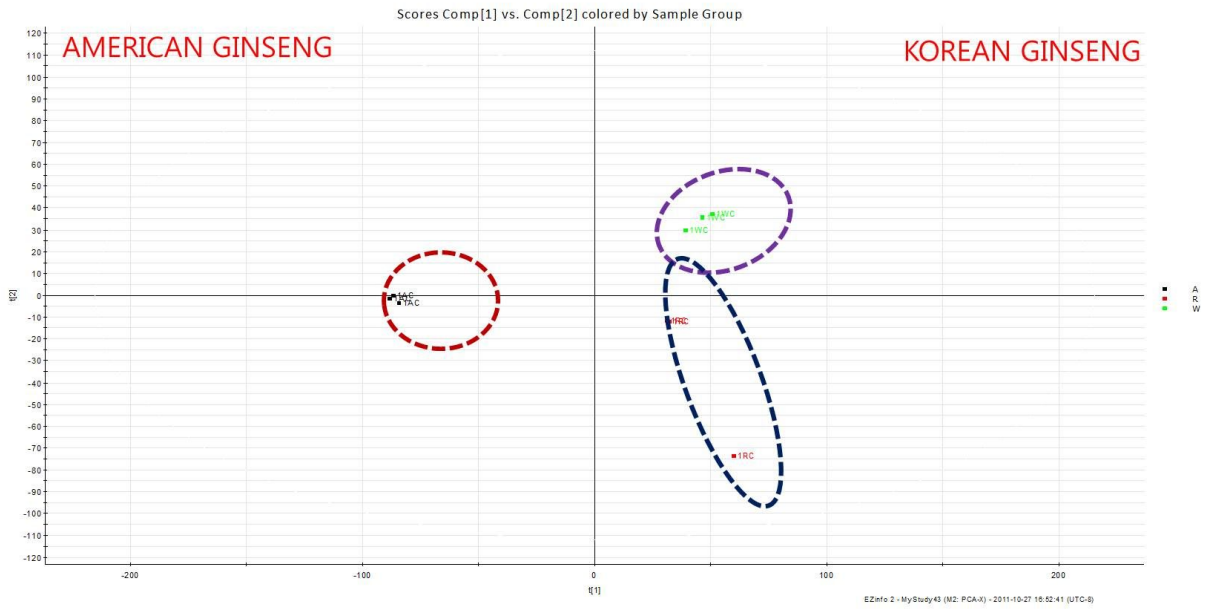


그림13. 통계 Scores를 통한 고려인삼과 화기삼 샘플의 분석

고려인삼(백삼), 홍삼과 화기삼 샘플군의 Scores 분석을 진행하여 본 결과 PC1을 기준으로 고려인삼과 백삼이 한 그룹으로 화기삼이 다른 한 그룹으로 나뉘는 것을 알 수 있었다. 이는 고려인삼과 백삼은 가공의 방법의 차이로 인하여 변화가 일어난 것으로 차이가 적지만 실제 화기삼과는 전체 metabolite에서 많은 차이가 다양한 성분들에서의 차이가 있다는 것을 의미한다.

OPLS-DA를 통하여 고려인삼과 화기삼에서 서로 명확한 차이를 가지는 물질을 현재 후보군으로 선정하고 있다.

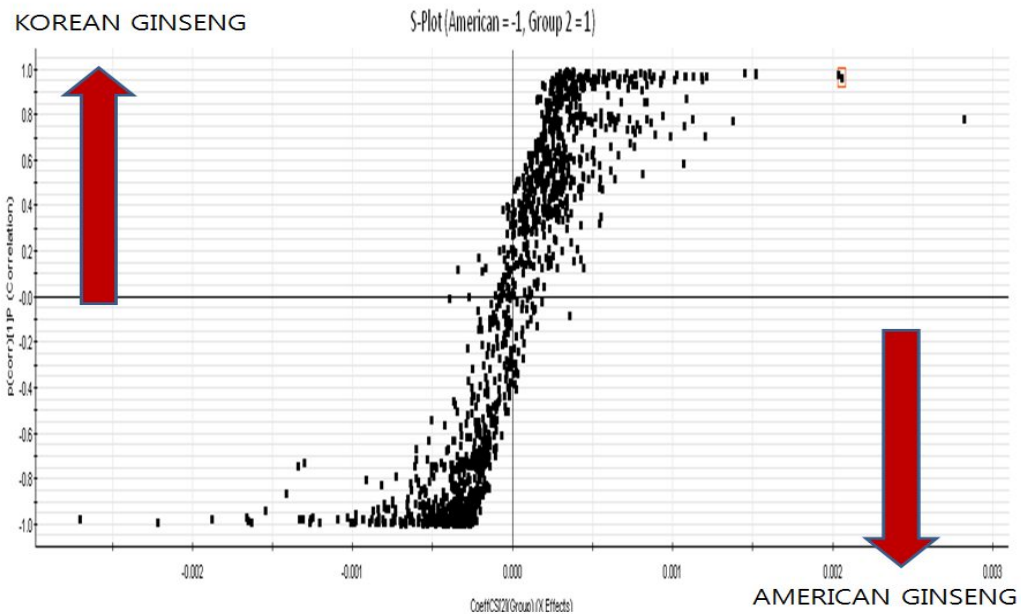
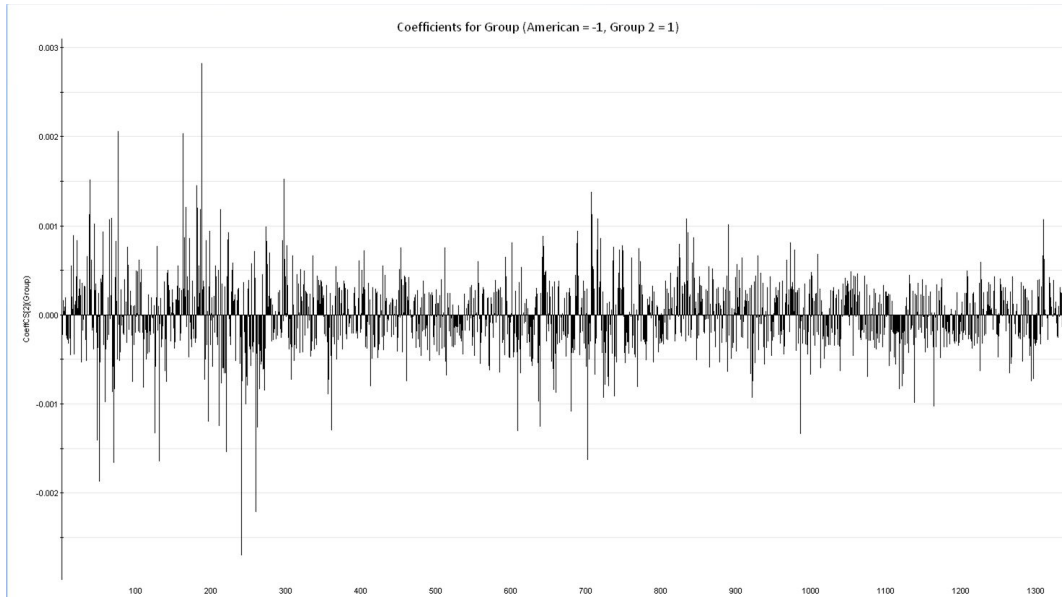
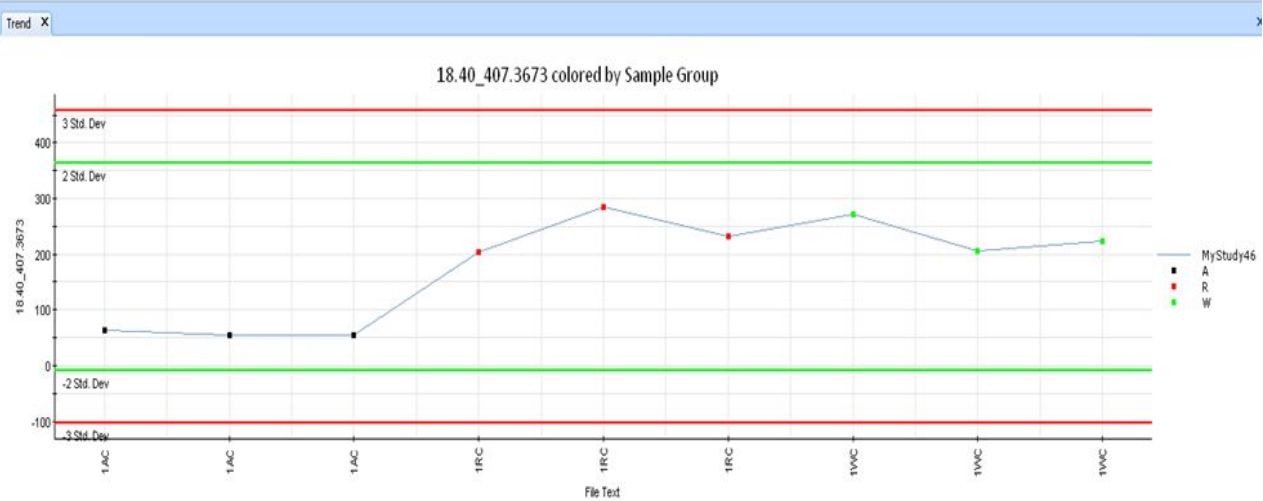
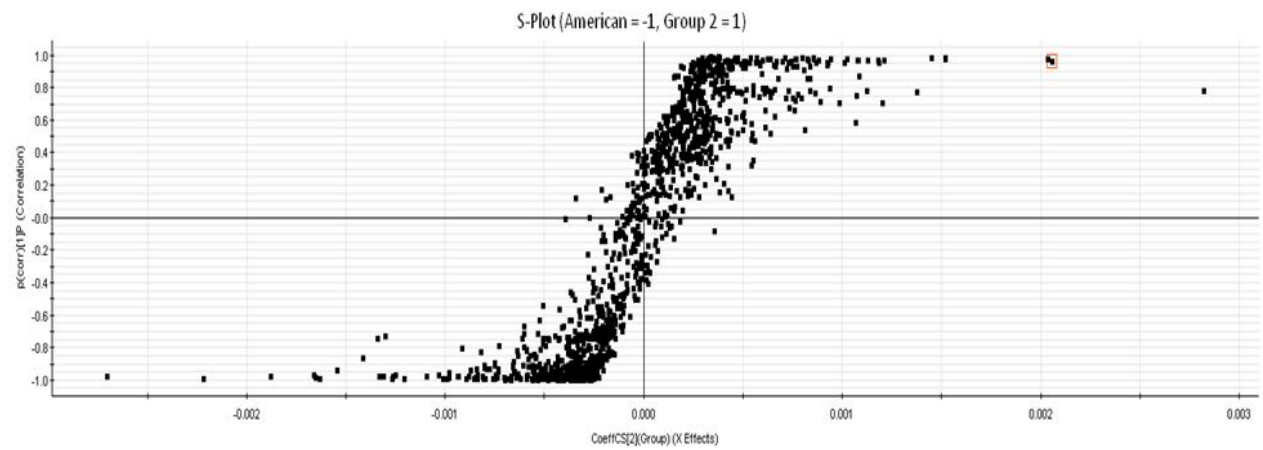
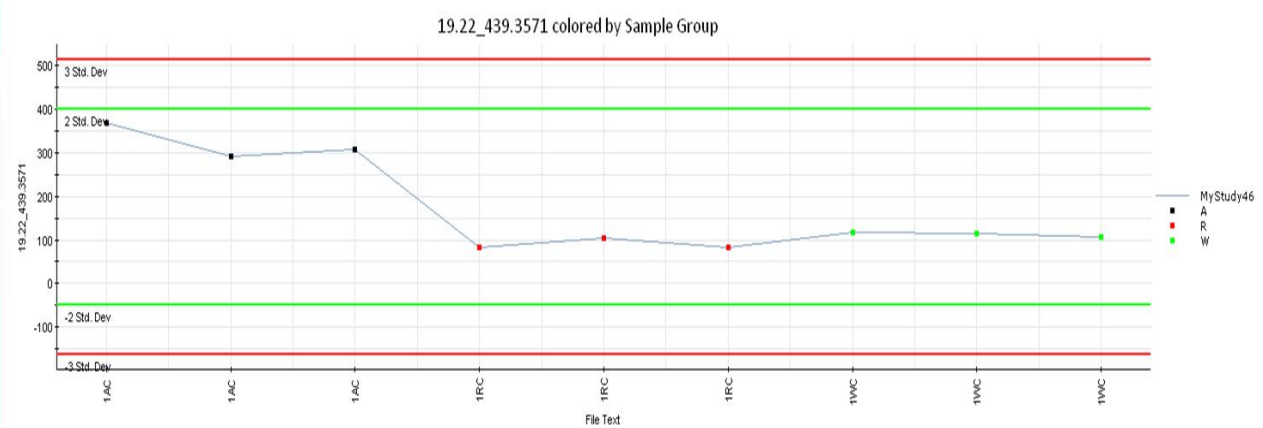


그림 14. S-Plot을 통하여 확인한 고려인삼(백삼, 홍삼) 및 화기삼이 특수하게 가진 후보물질

화기삼의 성분을 음의값 고려인삼 그룹의 성분을 양의 값으로 하여 전체 metabolite의 패턴을 보았을 때 실제 고려인삼에는 높은 peak intensity를 가지지만 화기삼에는 거의 없는 부분도 있고 반대로 고려인삼에는 낮지만 화기삼에서는 높은 구간도 있음을 확인 할 수 있다. 이들을 활용한다면 고려인삼과 화기삼을 메타볼라이트 수준에서 구분이 가능하며 더불어 고려인삼과 화기삼의 차별화된 성분을 통한 효능을 구별하는데도 활용 될 수 있을 것으로 기대된다.



(6) 발효홍삼의 섭취에 따른 인체에 미치는 생리적 영향분석

고사포닌 환경에서의 성장 가능 균주의 선발 및 사포닌 전환

본 연구에서는 유산균 등의 발효 균주를 이용하여 인삼 사포닌을 전환 하고자 하였다. 다양한 김치시료에서 327 종의 미생물을 분리하였으며, 이중 ginsenoside 전환능력을 가진 균주 202 주를 분리하여 16S rRNA gene sequence를 분석한 결과, *Lactobacillus* 속 (26.8%), *Leuconostoc* 속(10.3%), *Weissella* 속(7.2%), *Bacillus* 속 (1.7%), *Arthrobacter* 속 (1.4%), *Pediococcus* 속(1.0%) 을 발견하였다. 이 중 *Lactobacillus* 속에 속하는 균주가 가장 많았으며, *Leuconostoc*, *Weissella* 순으로 분리되었다.

MRS Agar 배지에 $10^{-1} \sim 10^{-4}$ 샘플희석액 100 ul 도말 후 37°C에서 배양

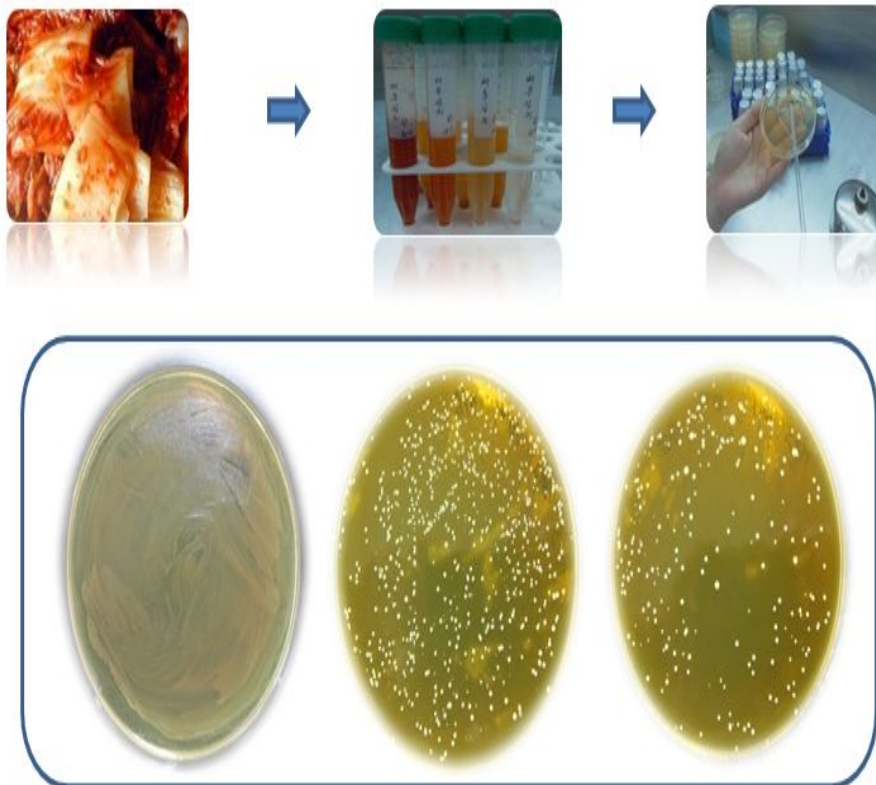


그림 15. 김치 시료로부터 유산균의 분리

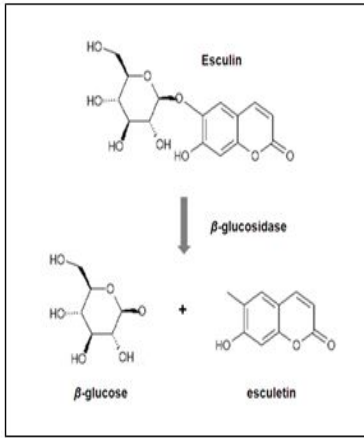


Fig. Decomposition of esculin into β -glucose and esculetin by β -glucosidase.

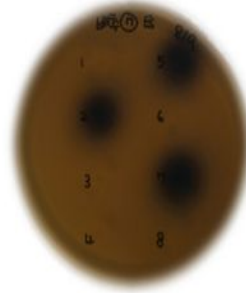


Fig. Screening of lactic acid bacteria producing β -glucosidase.

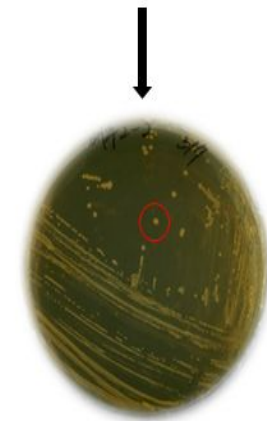


Fig. Pure culture of lactic acid bacteria producing β -glucosidase.

-Esculin Agar 법에 의한 β -glucosidase
생산 균주 선발

-MRS Agar 배지에서 분리된 colony를 Esculin agar
plate에 옮겨 37°C incubator에서 24 h 배양 후 색깔
변화 관찰

그림16. Esculin agar법을 이용한 glucosidase 활성 균주의 선발

분리된 균주를 Esculin agar 법을 활용하여 glucosidase 생산 활성이 있는 균주를 선발하였고 이를 다시 인삼 사포닌과 반응시켜 실제 인삼 사포닌이 전환 되는지를 검증하였다.

단일 ginsenoside와의 반응 통해 실제 사포닌 전환 활성을 확인 한 결과 다양한 균주들에서 인삼 사포닌을 분해시키는 활성이 확인되었다. 그러나 이렇게 인삼 사포닌을 분해하는 균주는 대부분 시간이 상당히 오래 걸리며 실제 인/홍삼 농축액들을 사용할 경우 균주의 생장이 저해받기도 하는 것을 확인 할 수 있었다. 이럴 경우 균주가 생산하는 효소에도 영향을 주어 실제 사포닌 전환이 원활히 일어나지 않는 문제가 발생할 수 있을 것으로 판단되어 본 연구에서는 인삼 홍삼의 농축액 발효에 적합한 균주를 선발을 위하여 사포닌이 고농도로 함유되어진 배지에서 성장할 수 있는 균주를 스크리닝 하였으며 다양한 배지 조건을 탐색하였다.

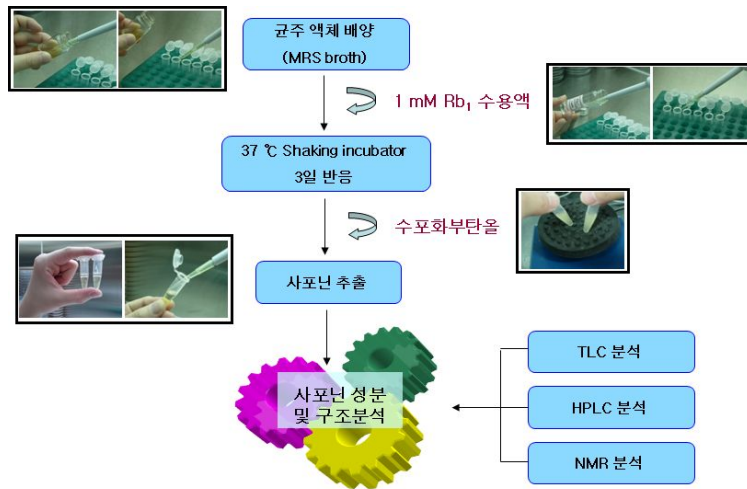


그림 17. 균주를 이용한 사포닌 전환의 모식도

인삼으로부터 crude ginsenoside를 분리하여 이를 1/10 MRS 와 혼합하여 agar배지를 제조한 후 이를 균주 스크리닝 배지로 활용하였다. 기존에 분리되어진 균주와 함께 다양한 발효식품을 이용하여 균주를 선발 하고자 하였다.

표4. 분리 균주의 목록 및 사포닌 내성확인

Stock No.	Sample name	Blast search result high score cultured strain	Similarity(%)	고사포닌생존
1	60301	Lactobacillus sakei	99	x
2	60801	Leuconostoc mesenteroides	99	x
3	61001	Lactobacillus arizonensis	99	x
4	61101	Leuconostoc mesenteroides	99	x
5	61201	Yeast		x
6	61301	Not determined		x
7	61401	Not determined		x
8	61501	Leuconostoc pseudomesenteroides	99	x
9	61601	Lactobacillus plantarum	99	x
10	61701	Leuconostoc citreum	99	x
11	61901	Leuconostoc citreum	99	x
12	62001	Not determined		x
13	62301	Lactobacillus paraplantarum	99	x
14	62401	Lactobacillus plantarum	99	o
15	62501	Not determined		x
16	62601	Lactobacillus sakei	99	x

17	62701	Weissella cibaria	99	x
18	62801	Not determined		x
19	72602	Lactobacillu ssakei	99	o
20	72702	Lactobacillus sakei	100	x
...				
147	LH8	Lactobacillus brevis	99	o
148	N1	Leuconostoc sp.	99	x
149	N6	Leuconostoc sp.	99	x
150	N16	Lactobacillus sp.	99	o

선발 균주는 균주의 배양 시 다양한 첨가물을 활용하여 사포닌을 변환 여부를 탐색 하였으며 그 결과 cysteine의 첨가가 유산균의 성장에 도움을 주는 것을 확인 할 수 있었다. 본 균주를 통하여 인삼 사포닌을 반응시켜 본 결과 Rb1이 C-K로 전환되는 활성이 검출이 되었다. 하지만 사포닌 양이 많아 질 경우 상대적으로 Rb1에서 Rd까지는 잘 전환 되지만 약간의 C-K가 생성되는 수준에서 멈추는 문제점을 확인 할 수 있었는데 효소를 정제하여 확인 한 결과 본 균주의 효소는 Rb1에서 Rd로의 전환 활성 및 F2에서 C-K로의 전환 활성은 뛰어나나 Rd에서 F2까지의 전환 활성이 약한 것으로 확인 되어 본 실험실에서 보유하고 있는 Rd에서 F2로의 전환 활성이 있는 균주를 공동 배양하여 발효에 이용하였다.

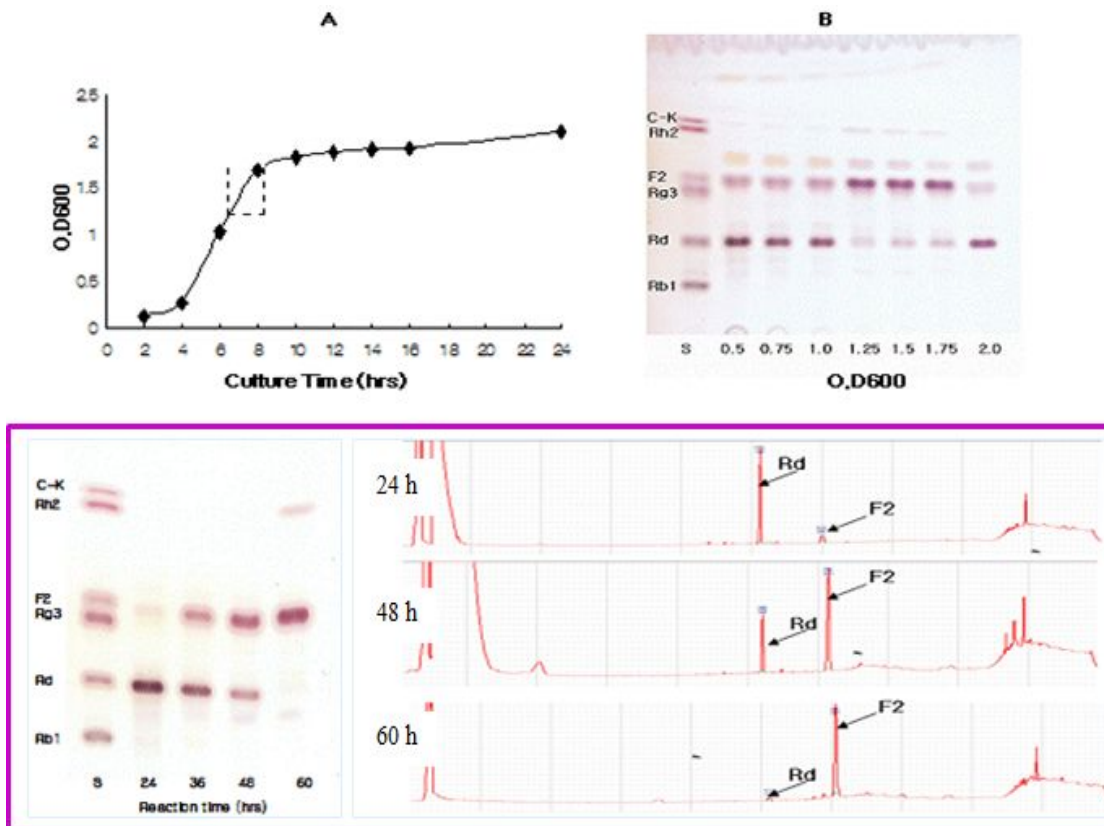
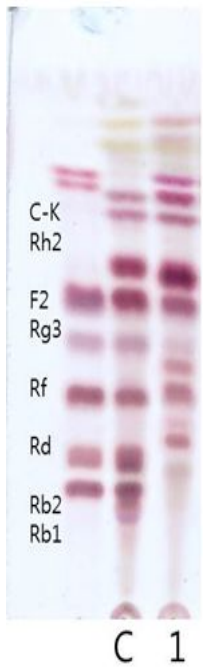


그림18. *L. pentosus* 균주를 이용한 Rd의 F2로의 전환

균주를 통하여 발효를 할 경우의 조건은 다음과 같다.



C: 홍삼 농축액
 1: 홍삼 농축액 + JW02 + *Lactobacillus pentosus*
 + cysteine 10mM
 + Lactose 1% + yeast ext. 0.5%
 + sodium phosphate(pH 7.0)

총 반응 시간 72h

균주 배양조건

37도, MRS, 8h O.D 1.0 -> 5% 홍삼농축액에 1% 접종
 -> 30도, 72h 발효

그림19. 균주 발효에 조건에 따른 사포닌 변환

각 각의 균주를 MRS 배지를 이용하여 37℃에서 약 8시간 배양하였으며 이때의 600nm의 O.D는 약 1.0임을 확인하였다. 5% 홍삼농축액 수용액에 각각의 균주배양액을 총액의 1% 씩 접종하여 30℃하에서 72시간 동안 배양하였다. 본 배양액을 HPLC로 분석 한 결과는 다음과 같다.

표5. 발효홍삼과 일반 홍삼의 HPLC를 통한 사포닌 분석

	Rg1	Re	Rh1	Rb1	Rc	Rb2	Rd	Rg2	Rg3	F2	Rf	C-K
CON	0.72±0.01	1.18±0.01	0.3±0.02	3.57±0.01	2.96±0.01	1.6±0.01	1.27±0.01	0.11±0.02	0.64±0.01	0.31±0.0	0.63±0.01	ND
FG	0.1±0.01	0.21±0.01	0.66±0.02	0.82±0.01	0.56±0.01	0.11±0.01	0.99±0.01	0.54±0.02	1.24±0.01	1.44±0.0	0.37±0.01	2.4±0.01

일반홍삼 농축액에서의 Rb1 및 Rc, Rb2, Rd 등의 major PPD 계열의 사포닌이 분해 된 것을 확인 할 수 있었으며 F2와 C-K의 Minor 사포닌이 생성됨을 확인 할 수 있었다. 더불어 Rg1과 Re, Rf와 같은 PPT 계열의 사포닌의 함량이 줄어들고 Rh1, Rg2와 같은 minor PPT계

사포닌들이 생성됨이 확인 되었다.

연구용 사포닌 생산을 위한 minor대량 전환 시스템 개발

발효에 필요한 최적의 효소 생산 등에 대한 고찰을 위하여 본 균주에서 분비되는 효소확인 하고 gene cloning 및 expression vector system을 활용하여 균주 효소의 대량 발현 시스템을 확립하였으며 본 시스템은 연구용 사포닌 단일 물질의 대량생산 및 효소 활성 검정에 사용 하였다.

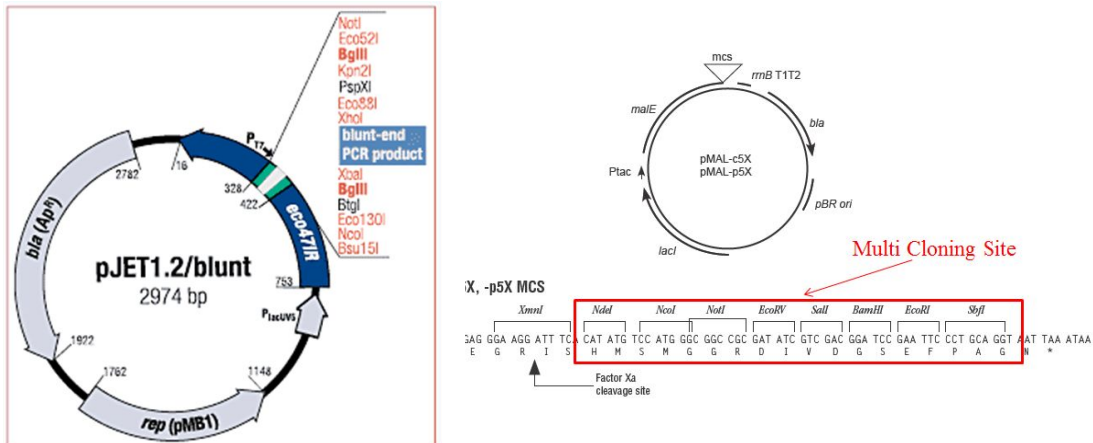


그림20. 연구에 활용한 gene cloning vector와 expression vector

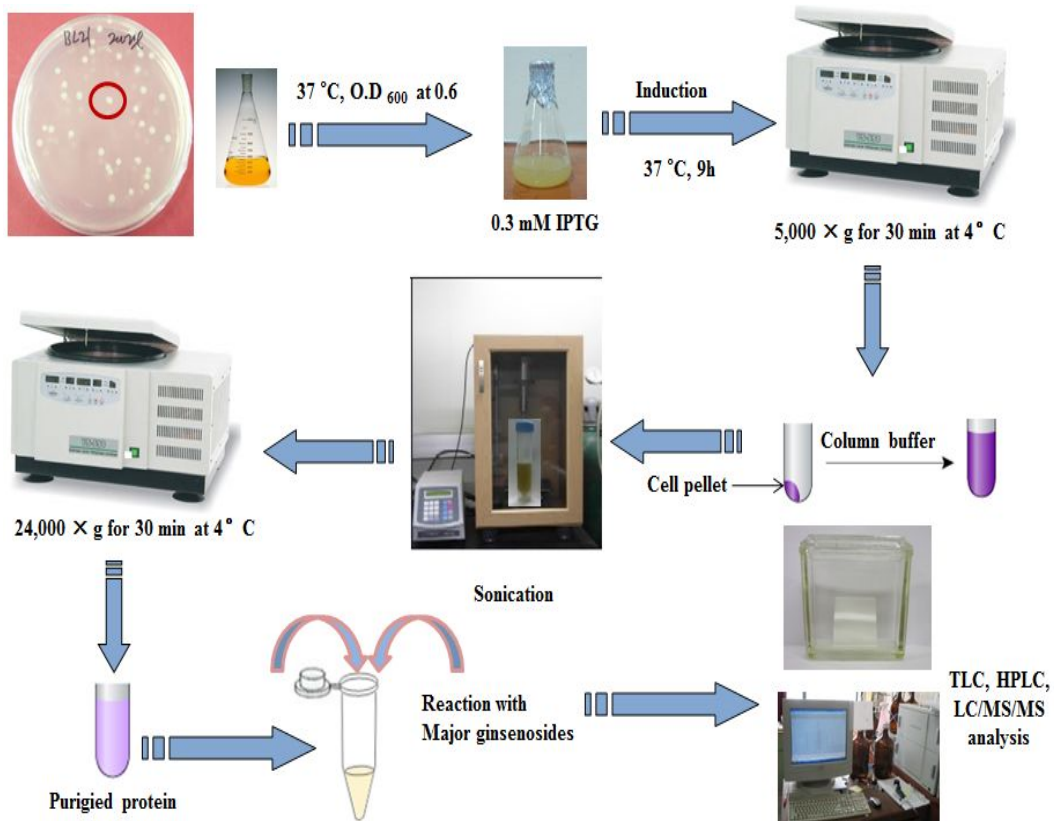


그림21. 대량 발현 시스템을 활용한 사포닌 전환 효소의 생산 및 사포닌 전환

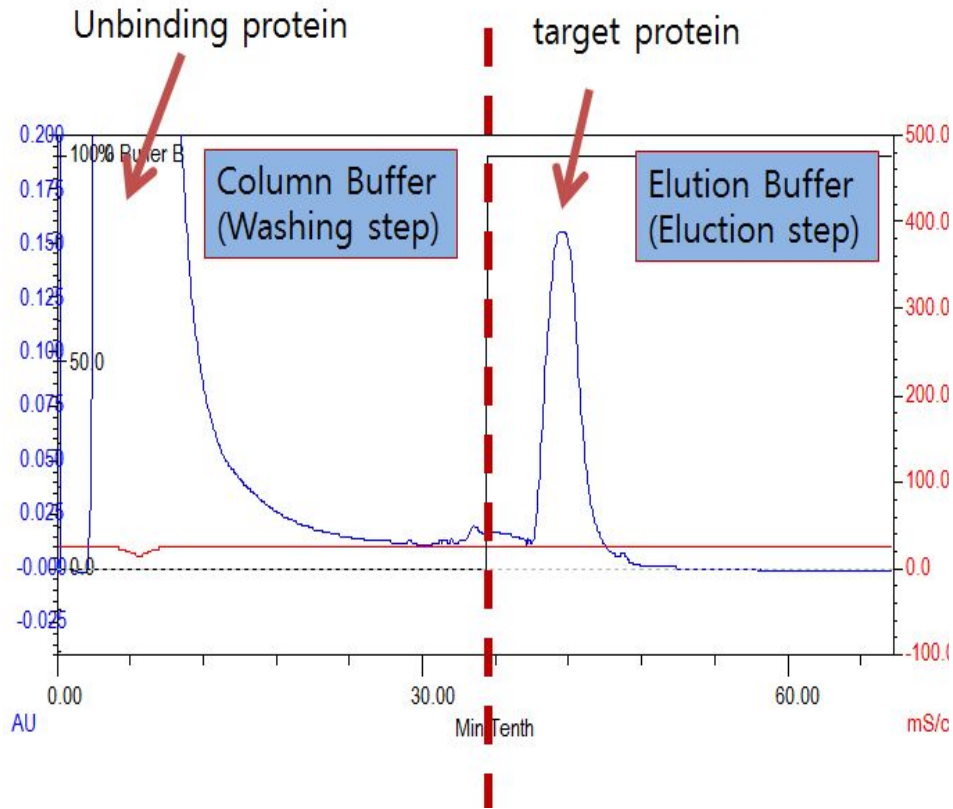


그림22. Affinity chromatography를 활용한 타겟 단백질의 분리 정제

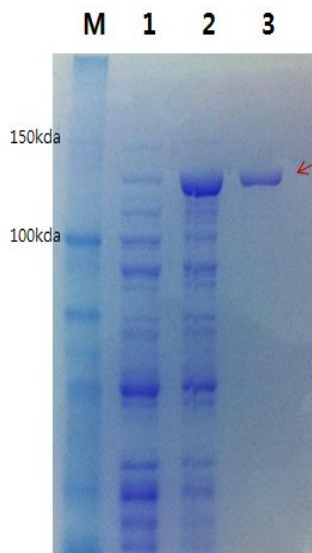


Table . Purification of Recombinant GH3 expressed in *E. coli* BL21(DE3)

purification step	total protein (mg)	activity (U/mg)	specific activity (U/mg)	purification (fold)	yield(%)
crude extract	86.1	1579.2	18.34	1.0	100
pMAL binding column	8.3	1330.6	160.31	8.9	14.28

a One unit of enzyme activity was defined as the amount of enzyme which released 1 μ Mol *p*-nitrophenol per minute.

Fig. 1. SDS-PAGE analysis of recombinant GH3. Lane M, molecular mass standard; lane 1, crude extract of uninduced BL21 (DE3) cells carrying pMAL-GH3; lane 2, crude extract of induced recombinant BL21 (DE3) cells showing pMAL-GH3; lane 3, purified GH3 protein eluted from the second amylose column.

그림23. Affinity chromatography를 활용한 타겟 단백질의 분리 정제

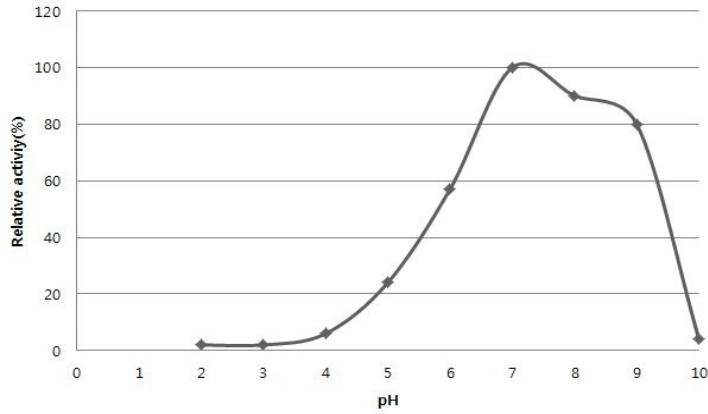


그림24. 생산 효소의 pH에 따른 활성 확인

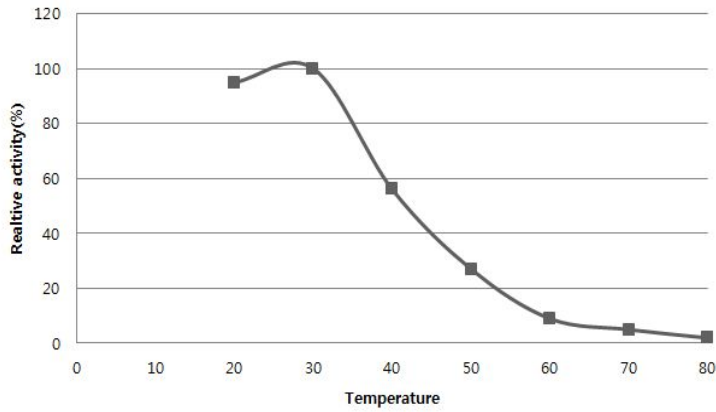
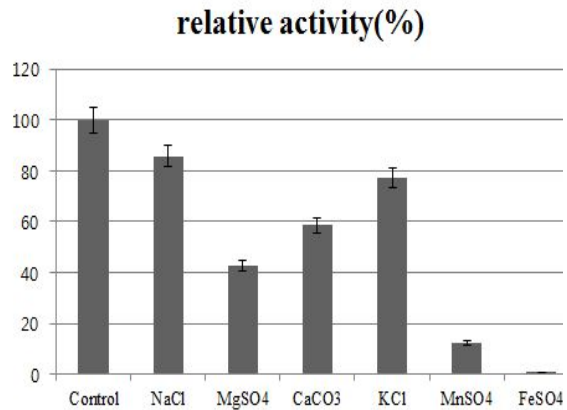


그림25. 생산 효소의 온도에 따른 활성 확인

substance	relative activity(%)
Control	100
NaCl	85.8
MgSO ₄	42.5
CaCO ₃	58.5
KCl	77.4
MnSO ₄	12.3
FeSO ₄	0.9



1 One unit of enzyme activity was defined as the amount of enzyme which released 1 μ Mol *p*-nitrophenol per minute.

그림26. 효소의 기질별 반응 활성 확인

*Aspergillus*를 활용한 사포닌 전환 효소의 탐색

Protein purification

preparation of crude enzyme from *A.niger*

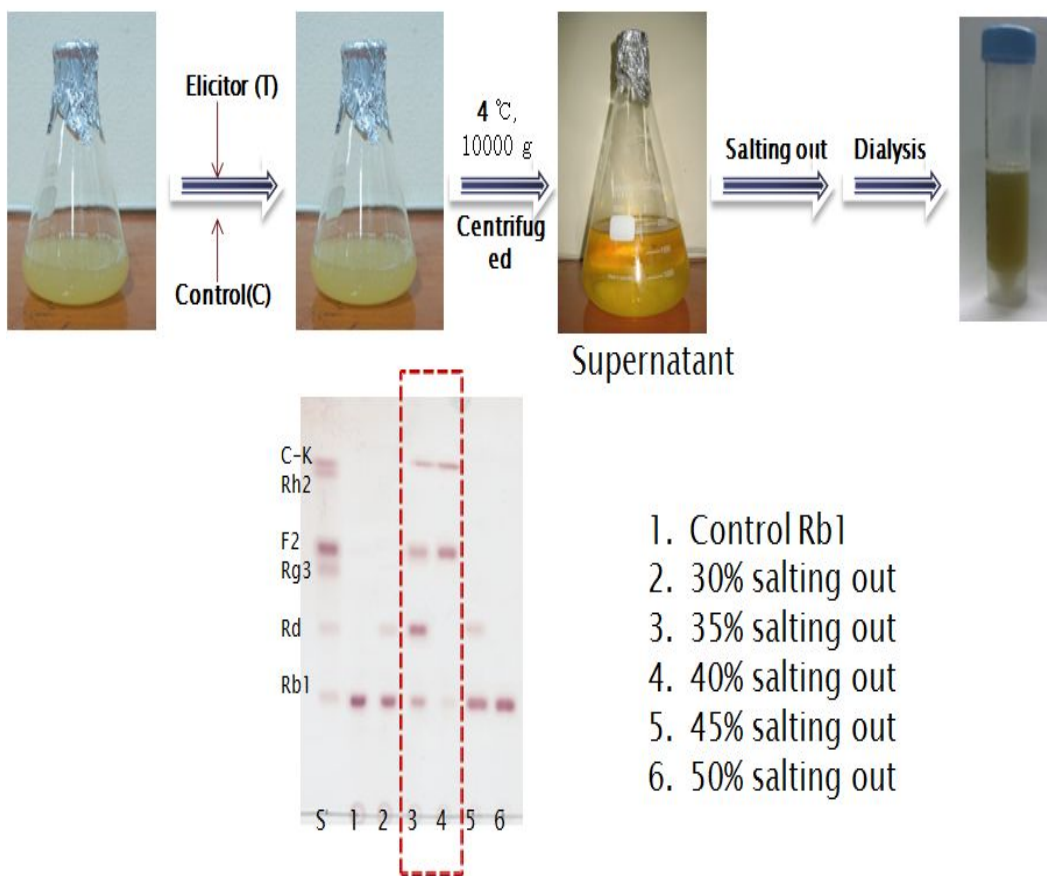


그림27. 염석농도에 따른 단백질 석출 및 각 분획별 ginsenoside 변환 능력검정

조효소를 제조하기 위하여 염석법을 활용하였는데 염석농도에 따라 각각의 분획으로 나누었고 탈염과정을 거쳐 이를 인삼사포닌인 ginsenoside Rb1과의 반응을 통하여 실제적으로 사포닌을 변환 시키는 분획물이 어느 분획에 있는지 확인 하였다. 그 결과 30% 농도까지의 분획에서는 사포닌 전환 활성을 가진 효소가 거의 존재하지 않음을 알 수 있었고 35~40% 농도의 분획에서는 ginsenoside Rb1이 C-K로 전환됨을 확인 할 수 있어 대부분의 사포닌전환효소들이 본 분획에 존재함을 알 수 있었다. 따라서 본 연구에서는 1차적인 정제를 염석 농도를 통해 진행하였고 이를 다시 column chromatography를 이용하여 후속 정제 과정을 수행하였다.

Substrate: Rb1

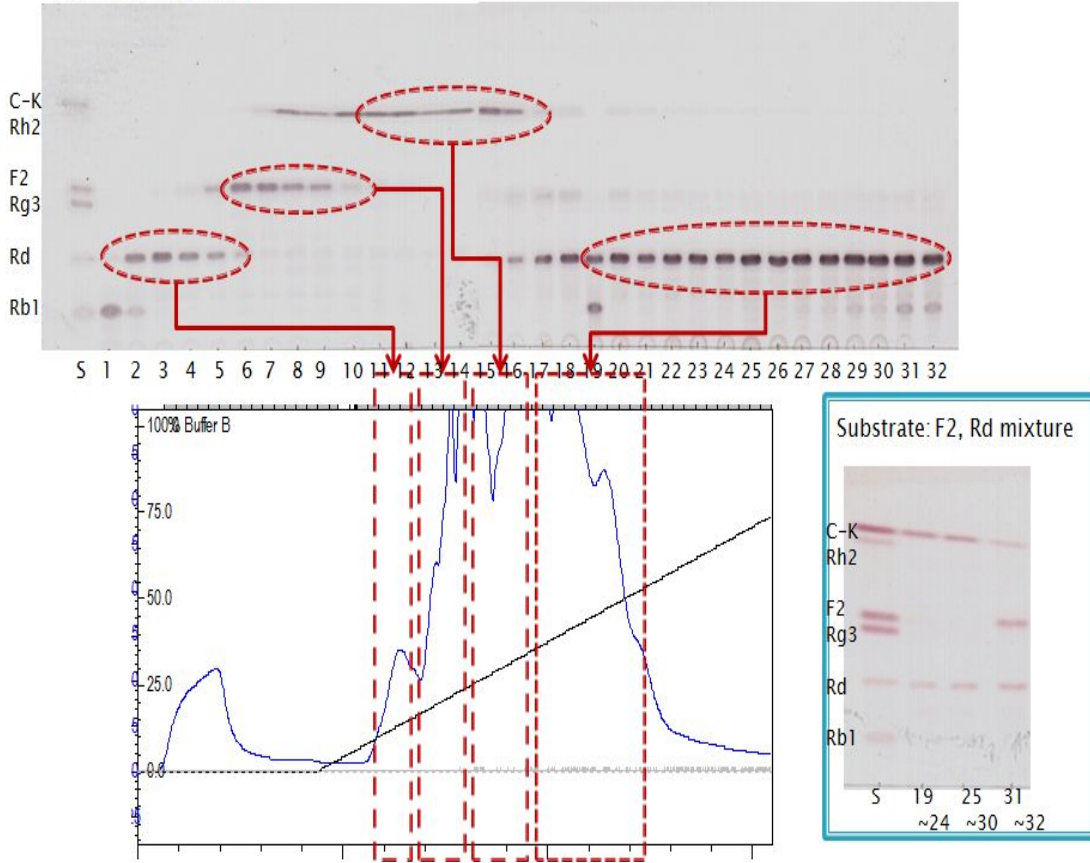


그림28. 인삼 사포닌 변환 효소 정제 (IEX)

Column chromatography는 FPLC(Biorad, Deoflow)를 활용하여 수행하였다. 염석을 통하여 1차적으로 분획된 분획물을 다시 IEX column chromatography를 수행하였다. 컬럼은 Q-sepharose를 이용하였으며 pH7의 sodium phosphate 버퍼를 기본으로 하여 NaCl 농도를 조절하는 gradient 방법을 사용하여 단백질을 용출 시켰다. 각각의 분획은 모두 ginsenoside Rb1과 반응을 시켜 실제로 사포닌 전환이 이루어지는지 확인 하였다. 그 결과 일부 분획에서 C-K로 전환되는 것을 확인할 수 있었으며 일부의 경우 F2 및 Rd로만 전환이 됨을 확인 하였다. 19번 이후 분획물 같은 경우 Rb1의 사포닌 전환이 Rd까지만 이루어 졌지만 이를 F2와 반응 시켰을 때는 C-K로 전환되는 결과를 보였다. 이를 정리하면 Rb1에서 Rd까지의 전환이 가능하지만 Rd에서 F2까지의 전환이 불가능했고 생성된 F2가 없어 실제적으로 F2에서 C-K의 생산이 가능함에도 불구하고 반응이 Rd에서 종료된 것으로 판단된다. 이는 본 균주의 효소의 경우 한 종류의 효소가 다양한 사포닌 전환 pathway에 관여하는 것이 아니라 각각의 pathway에 관여하는 효소가 따로 있음을 추측하게 한다. 이번 연구에서는 C-K 생성에 관여하는 효소를 집중적으로 확인하기 위해 C-K로의 전환 활성이 있었던 분획만을 모아 이를 다

시 HIC(Hydrophobic Interaction Chromatography)를 수행하였다.

Substrate: F2, Rd mixture

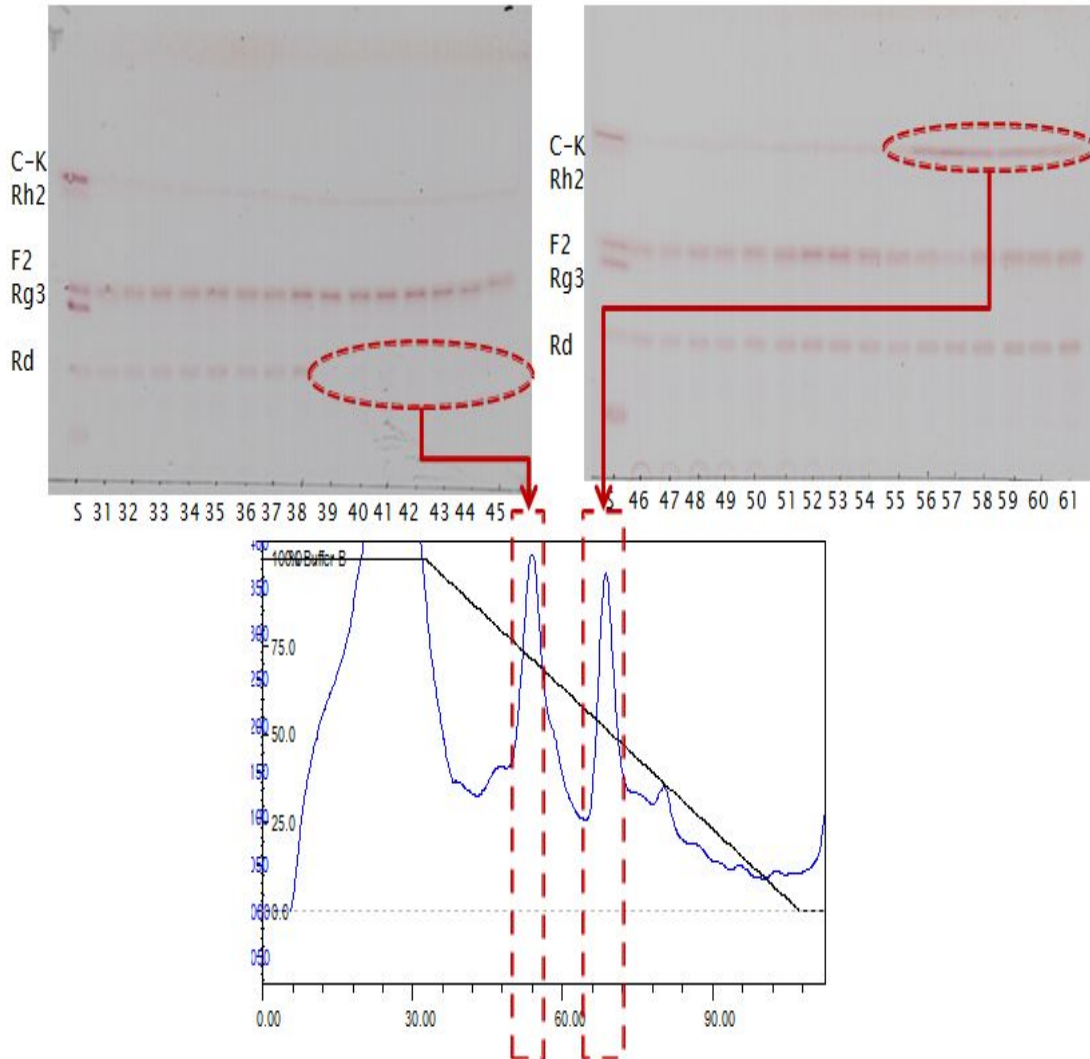


그림29. 인삼 사포닌 변환 효소 2차 정제 (HIC)

C-K 생성 분획을 desalting column을 통해 탈염 과정을 거친 후 이를 HIC을 이용하여 2차 정제를 수행하였다. 1M ammonium sulfate가 첨가된 sodium phosphate 버퍼를 기본으로 하여 염농도를 순차적으로 낮춰줘 순수 버퍼 조성으로 바꾸는 gradient를 사용하였고 각각의 분획은 Rd와 F2의 mixture를 사용하였다. 39~45분획의 경우 Rd가 대부분 분해되었으나 C-K는 생성되지 않았다. 따라서 본 분획은 Rd에서 F2까지의 전환에 관여하는 효소라고 판단되었으며 55~61분획의 경우 C-K로 전환 활성이 있는 것으로 확인 되었다. 하지만 Rd의 경우 대부분 전환 되지 않아 본 효소 분획은 F2에서 C-K의 전환 활성에 관여하는 효소로 추정 된다.

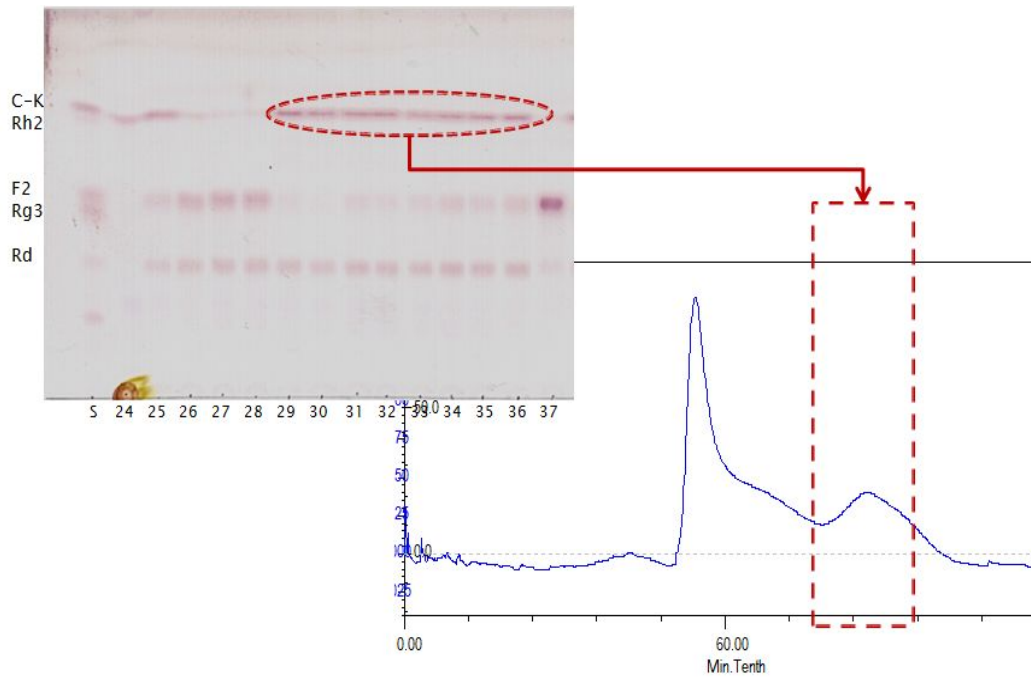


그림30. 인삼 사포닌 변환 효소 3차 정제 (gel filtration)

Substrate: F2, Rd mixture

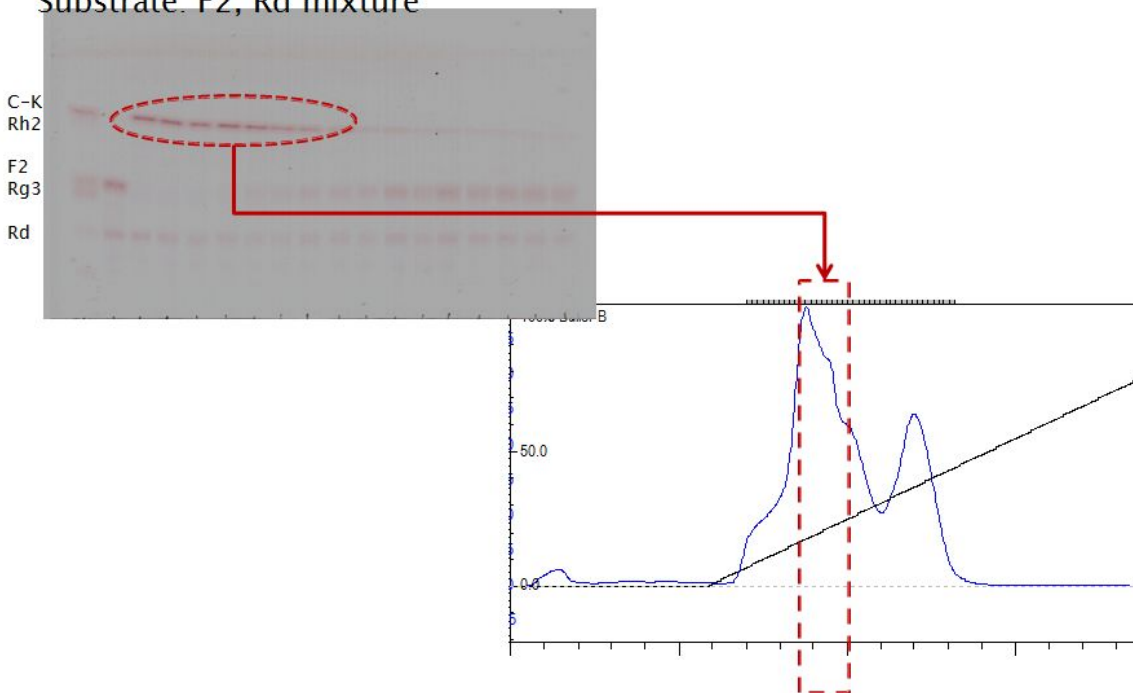


그림31. 인삼 사포닌 변환 효소 4차 정제 (CHT)

추가적으로 Sephacryl S200, CHT hydroxy apatite를 활용한 추가적인 정제를 하였으며 각각의 분획을 반응시켜 C-K 생성 분획을 획득하였다.

표6. 효소정제에 따른 단백질의 함량 및 타겟 활성화도 측정

Purification steps	Protein(mg) ^a	Total activity(U) ^b	Specific activity(U/mg)	Purification(fold)
Crude extract	2618.81	112.17	0.043	1.0
35-40% (NH ₄)SO ₄	231.94	33.54	0.145	3.4
Q-Sepharose	26.61	23.33	0.877	20.5
Phenyl-Sepharose	8.01	16.7	2.085	48.7
Sephacryl S200	4.71	13.11	2.783	65.0
CHT	2.46	9.18	3.732	87.1

^a Protein contents were determined according to the method of Bradford, using bovine serum albumin as the standard

^b One unit(U) of b-D-glucosidase was defined as the amount of enzyme liberating 1nmol/min of p-nitrophenyl

각 단계 별 분획의 protein 함량 및 total activity를 측정한 결과 Crude extract에 비해 최종 단계에서의 단백질 함량은 크게 줄어들었지만 실제적인 glucosidase의 activity는 증가하여 purification fold값이 87.1을 나타냄을 확인 할 수 있었고 이는 단백질 정제에 따라 총 단백질의 양은 감소하지만 타겟 단백질의 농도가 증가하였음을 의미한다. 각각의 분획을 SDS로 확인하여 본 결과 정제 단계에 따라 crude 한 샘플에서 단일에 가까운 밴드로 정제됨을 확인 하였으며 타겟 단백질의 사이즈는 110 kDa 정도가 됨을 확인 할 수 있었다. 최종적으로 정제된 샘플을 ginsenoside F2와 반응 시켜 본 결과 다음과 같이 C-K로 생성됨을 확인 할 수 있었다.

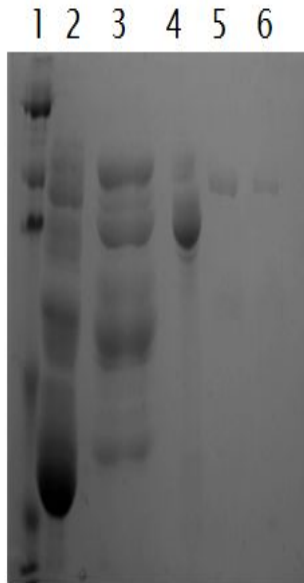


Fig. SDS-Page analysis of the ginsenoside hydrolyzing enzyme

1. Protein Marker
2. Crude extract
3. Q-Sepharose
4. Phenyl Sepharose
5. Sephacryl S200
6. CHT Hydroxy apatite

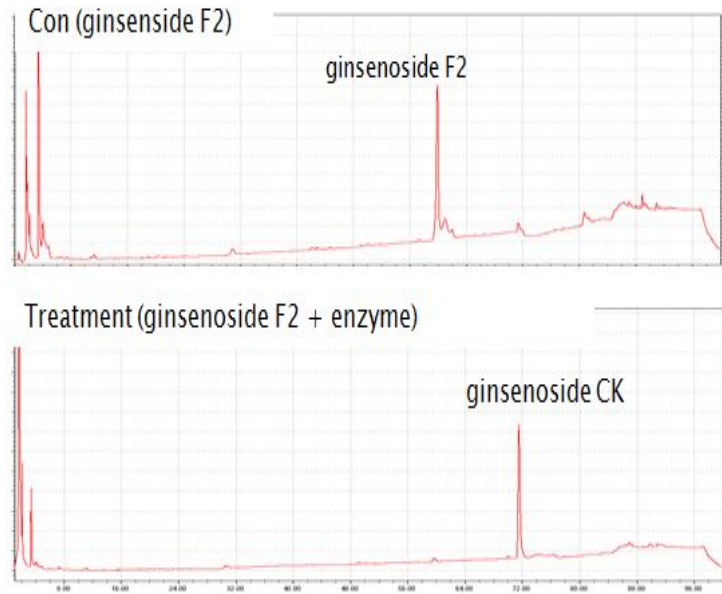


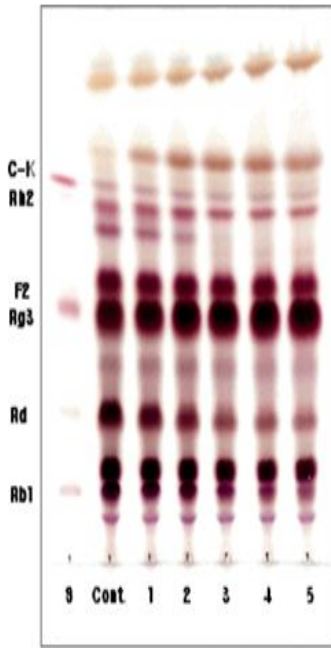
Fig. HPLC analysis of the hydrolysis of ginsenoside by purified glucosidase. The reaction mixture(200ul) 10mM of ginsenoside F2 and 5U of enzyme was incubated at 45 for up 24h

그림18. 사포닌 전환 활성 효소 분획 SDS 검정 및 ginsenoside 반응

Ginsenoside 분석용 표준품 확보를 위한 사포닌 분리 정제

유용 균주의 탐색 및 인삼 사포닌 전환

인삼 사포닌 전환 능력을 가지는 균주를 선별하기 위하여 다양한 균주를 분리 및 동정하였다. 그중 일부 균주에서 인삼 사포닌을 특이적으로 이용하여 분해하는 능력이 있음을 확인 하였고 이를 16S rRNA sequencing 을 통하여 분리 동정 하였다.



ginseng root saponin

•s: standard
 •1, 2, 3, 4 and 5 are reaction time.
 (1, 6 h; 2, 12 h; 3, 24 h; 4, 36 h; 5, 48 h.)

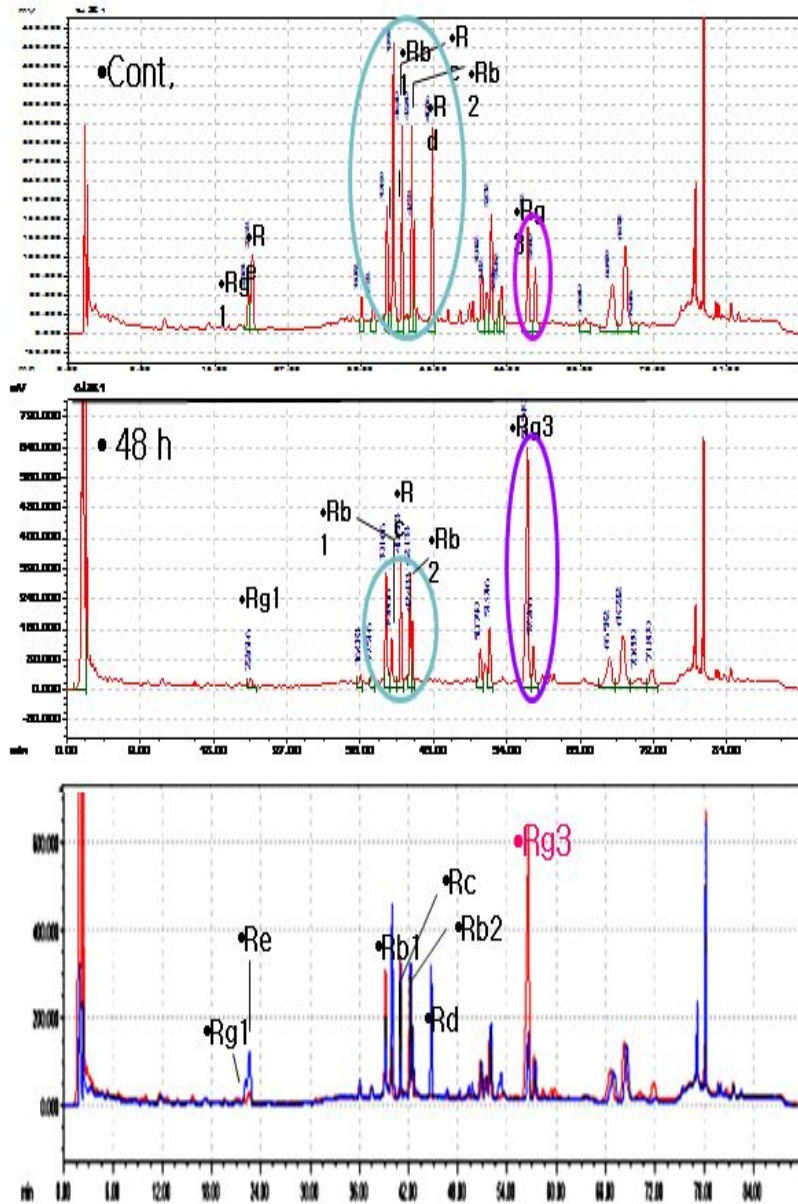


그림32. GS514 균주를 활용한 인삼 사포닌의 전환 확인

preparation of *microbacterium* SP. GS 514 producing ginsenoside Rg3

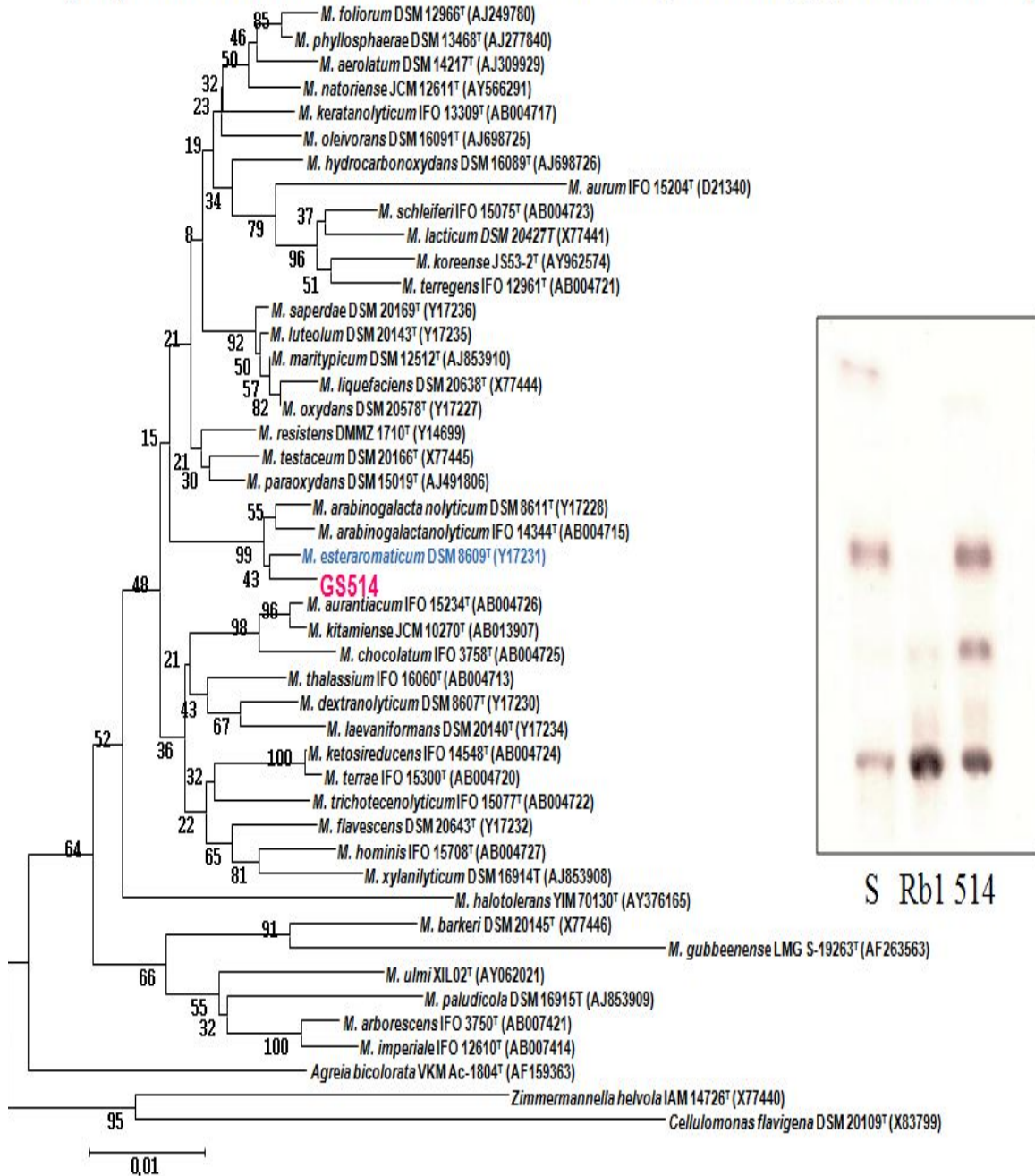
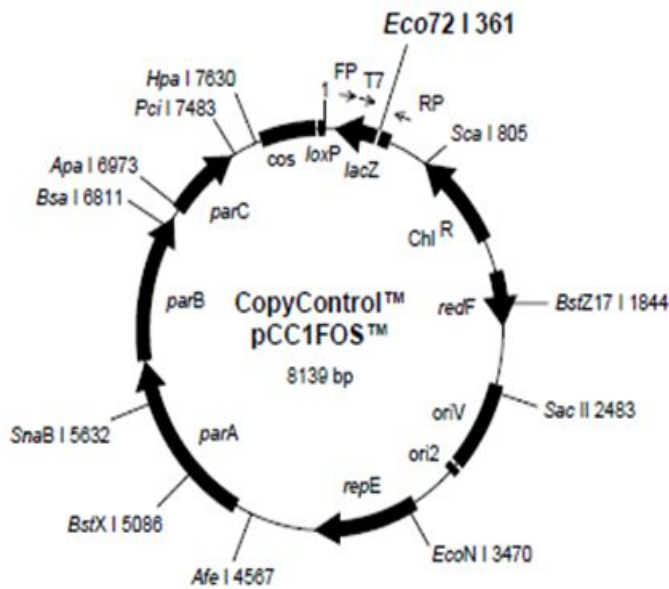


그림33. 16S rRNA를 활용한 균주의 동정

본 균주는 *M. esteraromaticum* GS514로 명명 하였으며 특이적으로 ginsenoside Rg3로의 변환 활성을 가지고 있었으며 일부 C-K를 생성하는 것으로 확인 된 바 본 균주효소를 대량생산하기 위하여 사포닌 전환 관여 효소 유전자원을 확보하기 위하여 library를 구축하고자 하였다.

Fosmid library 구축

인삼의 major 사포닌의 minor 사포닌으로의 전환 활성을 가진 GS514 균주의 fosmid library 를 구축하였다. GS514 균주의 Fosmid DNA를 추출하여 이를 랜덤하게 fosmid vector에 ligation 한 후 이를 transformation 하여 숙주를 제작 하였다. 제작 된 숙주에 실제 사포닌 대사에 관련된 유전자가 있는지 선별하기 위하여 ginsenoside Rb1과 반응을 진행하였고 이중 Rg3 및 C-K 등의 minor 사포닌 전환 활성이 있었던 균주를 선별하여 shotgun clone sequencing을 진행하였으며 sequencing 결과 총 37,915 bp의 염기서열을 확보하였다. 확보된 염기서열을 바탕으로 ORF를 각각 조사하였으며 그 결과 총 8개의 ORF를 확보하였으며 이를 NCBI의 blast를 통하여 확인하여 본 결과 각각 glucosidase family 1, 2, 3, 43으로 확인되었다.



Note: Not all restriction enzymes that cut only once are indicated above. See Appendix E (pg. 16) for complete restriction information. Primers are not drawn to scale.

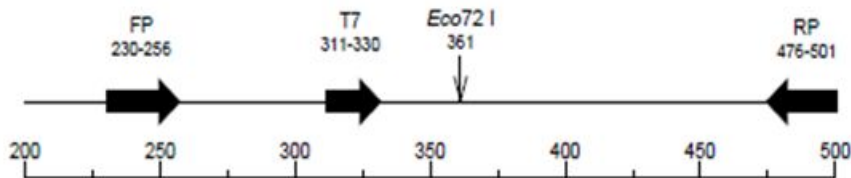


그림34. 본 연구에서 활용한 fosmid vector map

얻어진 일부 ORF를 이용하여 gene cloning을 수행하였으며 이를 다시 pMAL expression vector에 삽입하여 *E. coli* BL21 DE3 숙주에 transformation 시켜 재조합 과발현 system을 구축하였다. 숙주를 이용하여 최적 발현 조건 및 효소 분리 조건을 확립하고 이를 수행하여 glucosidase family 3 domain을 가진 bgp3 효소를 생산하였으며 이를 각각의 인삼 사포닌과 반응시켜 실제 사포닌의 변환을 확인하였다.

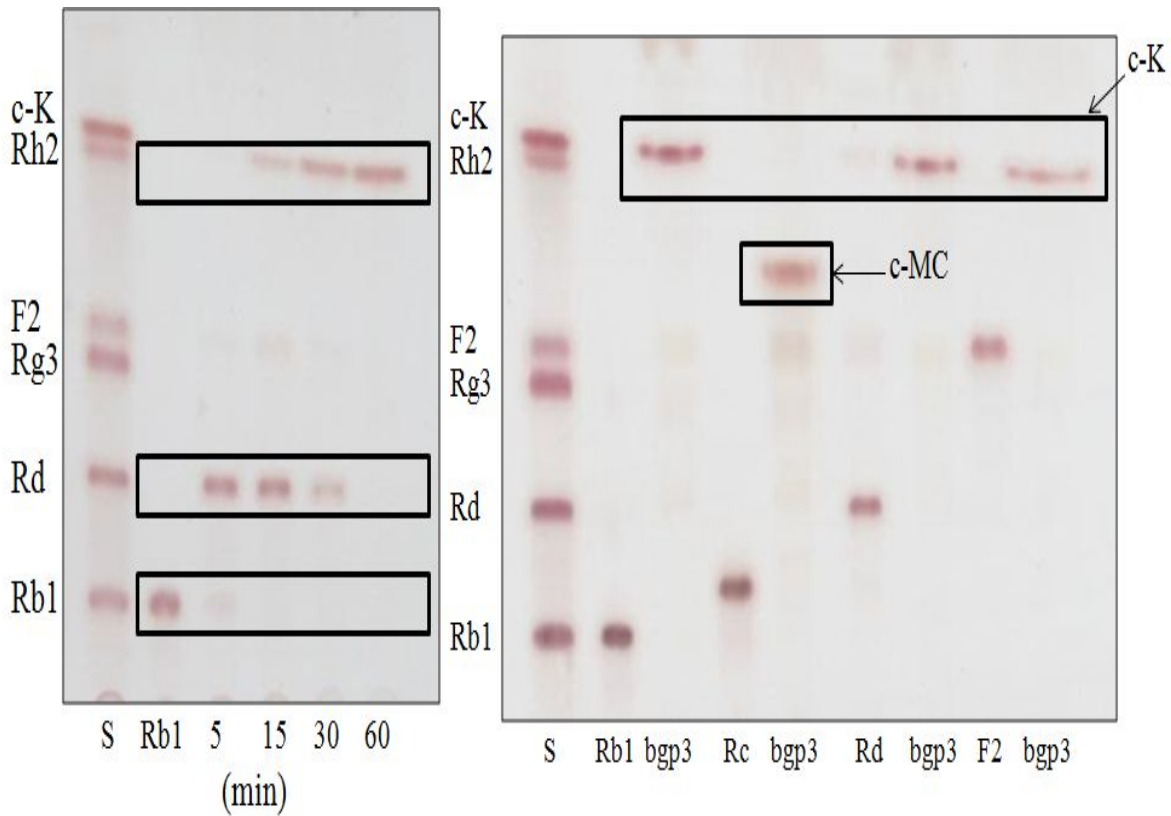


그림35. TLC를 통한 bgp3와 인삼 단일 사포닌과의 반응분석

과발현 system을 통해 생성된 효소를 각각의 PPD 계열의 major ginsenoside와 반응시켜 본 결과 minor 사포닌으로 전환을 확인 할 수 있었다. Ginsenoside Rb1의 경우 Rd 및 F2를 거쳐 C-K로 전환됨을 확인 할 수 있었으며 Rc의 경우는 C-MC를 거쳐 C-K로 전환 됨을 확인 할 수 있었다. 본 연구를 통해 개발 되어진 bgp3 효소는 각각의 PPD 계열의 major 사포닌을 모두 C-K로 바꾸어 C-K 생산에 적합할 것으로 판단되며 과발현 시스템을 통해 효소의 양을 scale up이 용이하기 때문에 연구용 minor 사포닌 생산에도 적합할 것으로 기대된다.

C-K 뿐 아니라 다양한 PPD 계열의 사포닌은 물론 PPT 계열의 사포닌의 전환을 하는 시스템을 개발하였다. 위와 동일한 균주로부터 얻어진 fosmid library를 이용하여 각각의 유전자를 클로닝한 결과 인삼의 사포닌을 선택적으로 생산할 수 있는 각각의 시스템을 확립하였으며 특히 최근 화장품 소재로 각광받는 PPT 계열의 사포닌을 선택적으로 대량생산 할 수 있어 추후 산업적으로 유용하게 적용 될 수 있을 것으로 기대된다.

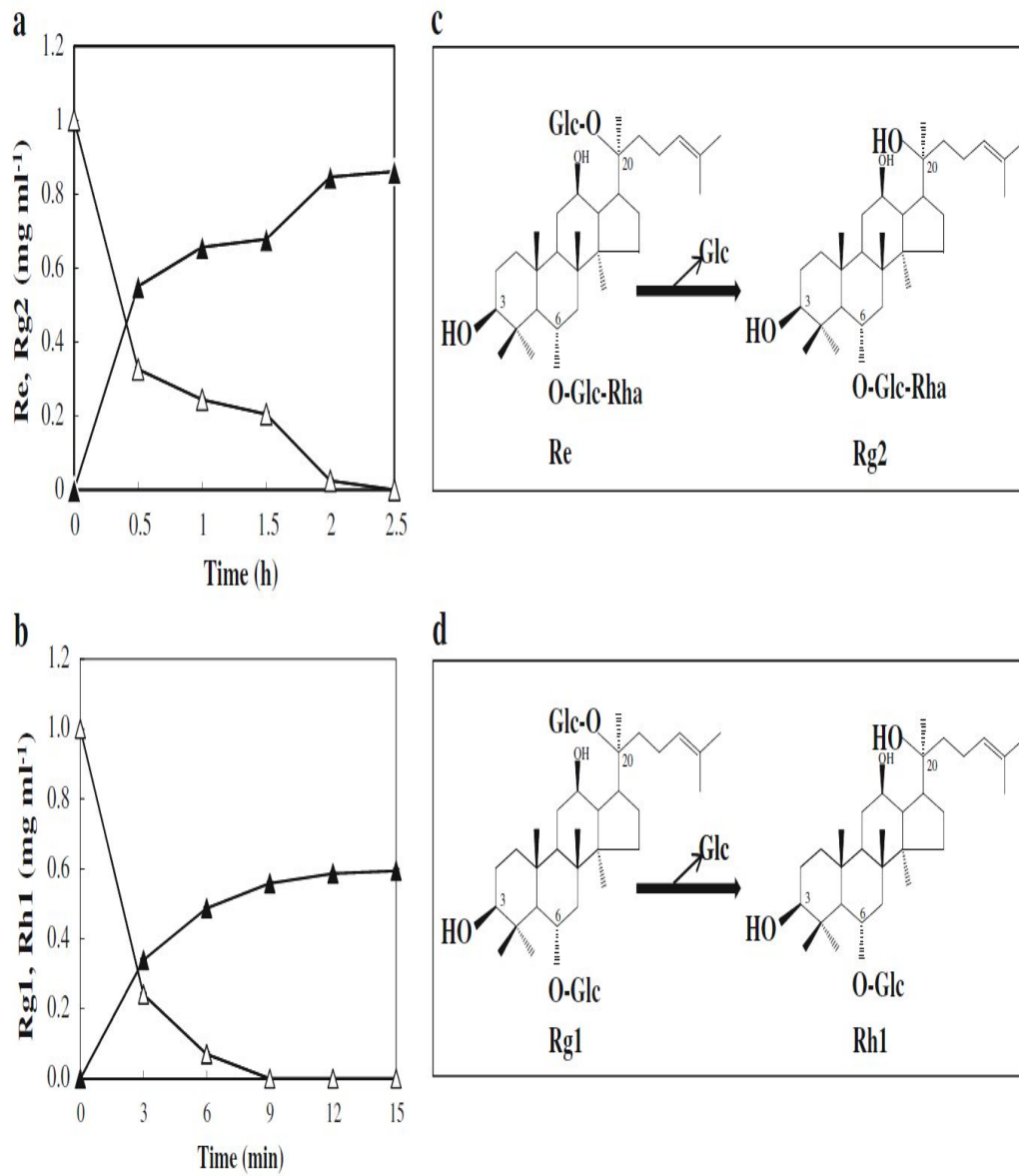


그림36. 생산 system을 활용한 PPT 계열의 사포닌의 전환

(7) 표준 효능 물질 생산을 위한 ginsenoside의 대량 전환 및 정제

본 연구과제를 통해 개발되어진 균주 및 사포닌 전환 시스템을 이용하여 인삼의 minor 사포닌의 표준효능물질을 생산하였다.

Major ginsenoside의 정제

인삼 시료로 3kg를 사포닌 정제에 이용하였다. 인삼 3kg을 80% MeOH에 총 2회 추출하였다. 추출액은 감압농축하여 물로 희석하였다. 희석된 추출액에 에테르 또는 ethyl acetate를 첨가하여 물층만을 분획함으로써 지질성분을 제거 하였으며 얻어진 물층에 동량의 수포화부탄올을 첨가하여 부탄올 층을 crude 사포닌 분획으로 얻었다. 부탄올은 모두 감압농축하여 파우더 형태의 조사포닌을 제조하였으며 이 조사포닌은 단일성분 정제에 이용하였다.

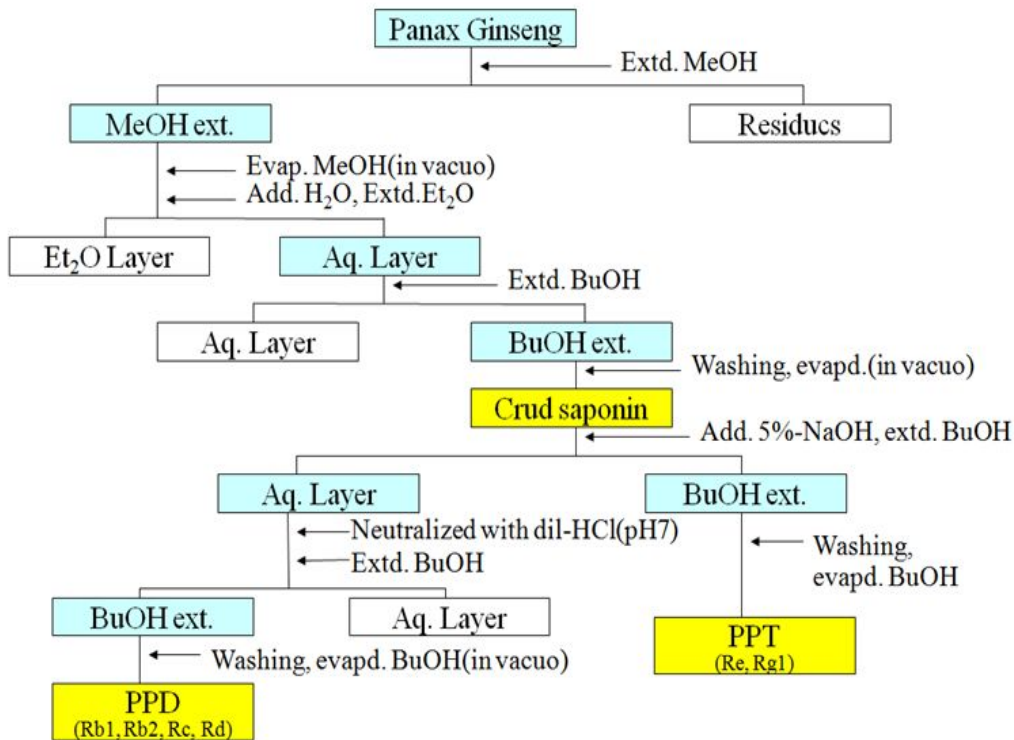


그림37. 사포닌 분리 모식도

조사포닌 중 단일 성분의 사포닌만을 정제하기 위해서 Silica gel column chromatography를 수행하였다. 조사포닌 100g를 메탄올에 녹인 후 소량의 실리카를 첨가하여 농축하여 loading 샘플을 조제 하였다. Loading 샘플은 Silica gel이 충전 된 open 컬럼에 loading 시켰

으며 전개용매는 CHCl₃:MeOH:Water(65:35:10)혼합 용매를 사용하였다. 각각의 분획은 TLC로 확인하여 유사한 Rf값을 가지는 물질끼리 혼합하여 농축하였으며 이를 2차 분리 시료로 사용하였다.

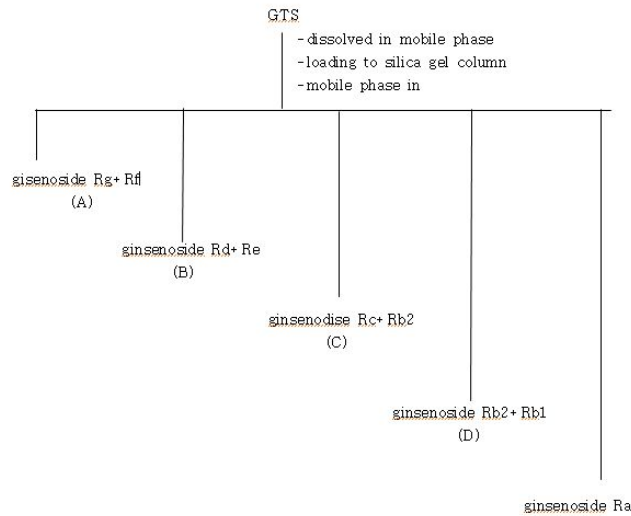


그림38. Silica gel column chromatography를 활용한 1차 정제

1차 분획은 ginsenoside Rg₁+Rf, ginsenoside Rd+Re, ginsenoside Rc+Rb₂, ginsenoside Rb₂+Rb₁, Ra로 나누었다. 이 중 Rb₁+Rb₂ 분획은 ginsenoside Rb₁을 얻어내기 위해서 ODS column chromatography를 이용하여 2차 정제에 이용하였다.

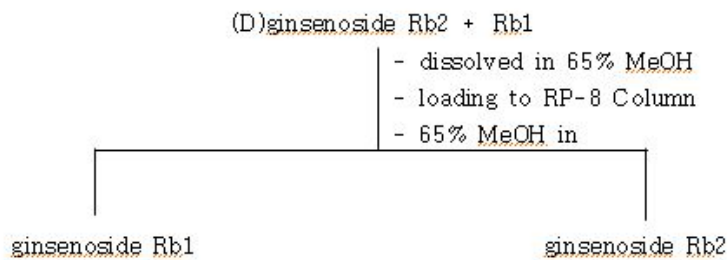
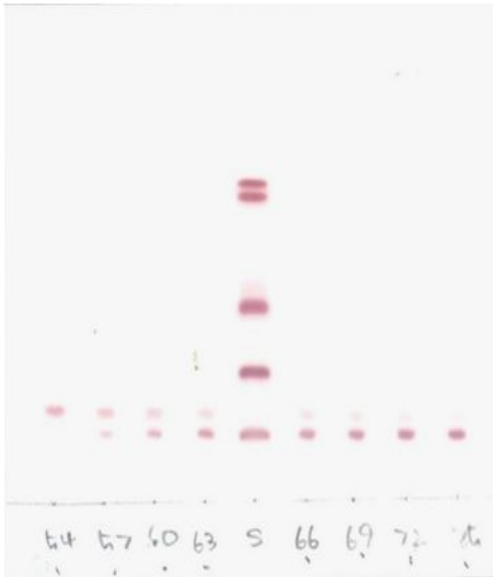


그림39. Ginsenoside Rb1과 Rb2의 분리

1차 분획 시 사용한 silica gel chromatography에서는 Rb₁과 Rb₂의 Rf 값이 매우 유사하게 나타나 동일한 순상의 고정상을 이용할 경우 분리가 어려울 것으로 판단 되었다. 따라서 본 연구에서는 순상 resin과 다른 성질을 가지는 역상 resin을 2차 분리에 사용하였다. 2차 분획에서는 RP-8을 고정상으로 사용하였으며 전개용매는 65% MeOH를 사용하였다. 1차 분획과 마찬가지로 각각의 분획은 TLC를 통하여 동일 한 Rf값을 가지는 물질만을 분획하여 농축하였으며 HPLC로 확인 하였다.

A



B

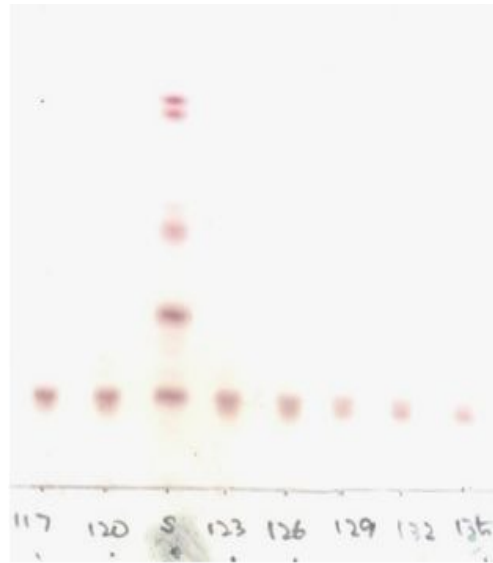


그림40. Ginsenoside Rb1의 분리

A: Silica gel column chromatography, B: ODS column chromatography

<그림41>에서 보는 것과 같이 최종적으로 TLC상에서 순수하게 보이는 ginsenoside Rb1을 분획할 수 있었다. 이를 HPLC로 분석 한 결과는 다음과 같다.

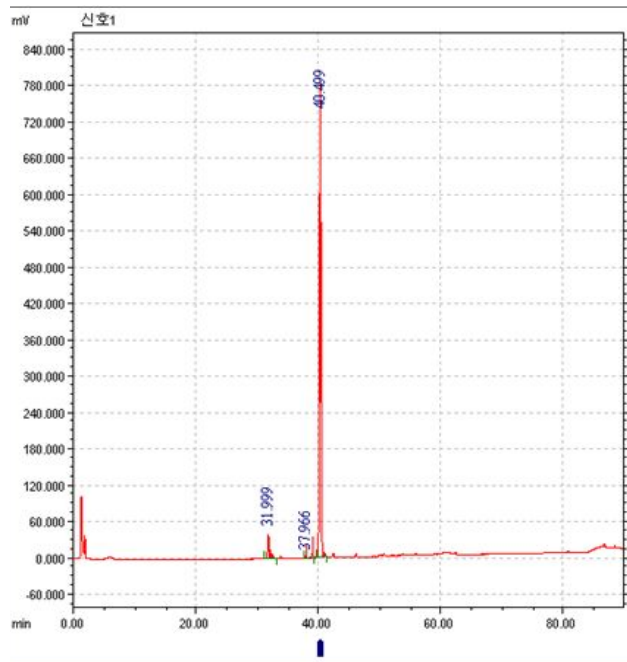


그림41. 분리된 ginsenoside Rb1의 HPLC를 통한 분석

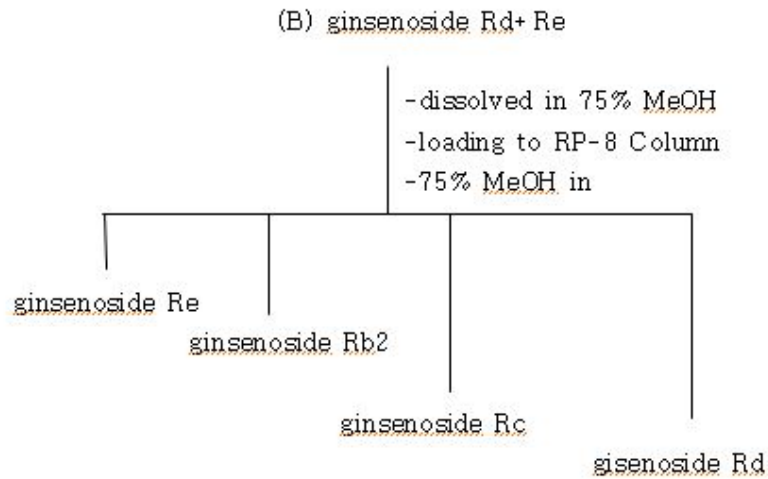


그림42. Ginsenoside Rd의 분리 방법

Rd분리의 경우 Rd는 순상 column에서 Re와 Rf값이 상당히 유사하여 역시 순상 컬럼을 다시 이용하여 분리하기가 어려웠다. 따라서 역상 column(RP8)을 이용하여 정제를 진행하였으며 전개용매는 75% MeOH을 이용하였다. 하지만 2차 정제 시에 Rd 이외의 다른 사포닌들이 존재함을 확인함에 따라 분획물을 모아 flash column chromatography(RP18)을 이용한 3차 정제를 실시하였고 이 결과 순수한 Rd를 얻을 수 있었다.

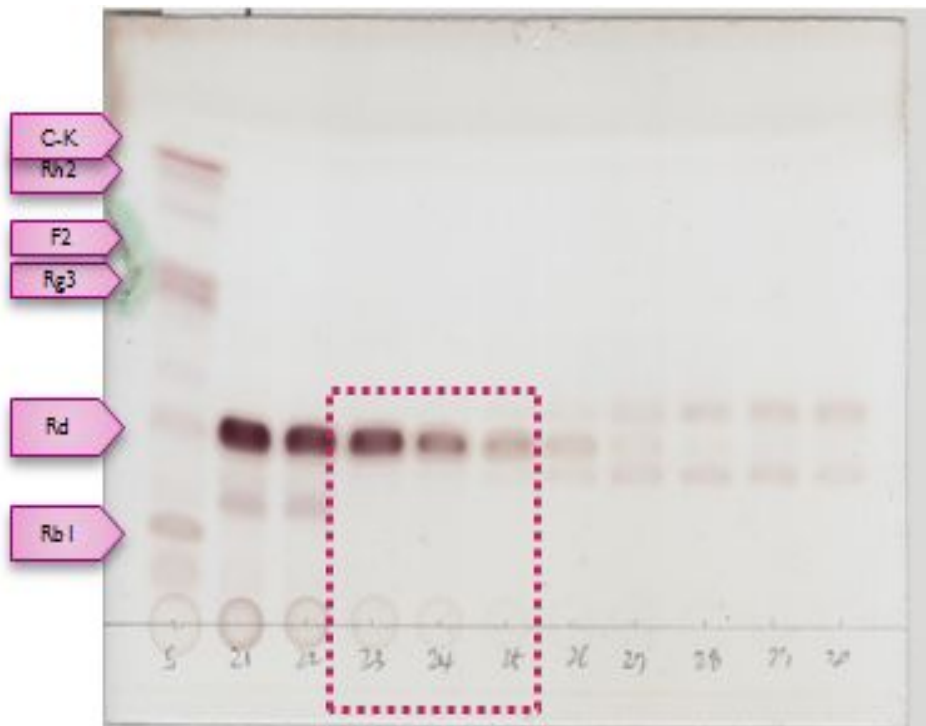


그림43. ginsenoside Rd의 분리의 확인

이와 같이 얻어진 물질들은 사포닌 변환실험의 기질 물질로 사용하였다. 고기능성의 minor 사포닌의 표준물질을 생산하기 위해서 균주 및 정제효소 등을 이용하여 major 사포닌을 전환시켰으며 변환된 사포닌을 순수 정제하여 NMR을 통해 구조·동정하였다.

Ginsenoside Rg3 정제

Ginsenoside Rg3를 생산하기 위해 GS514 균주를 활용하여 인삼의 조사포닌을 변환시켰다. 인삼 조사포닌 50g을 물 1L에 녹여 균주 배양액과 48 시간동안 반응 후 이를 사포닌 정제에 활용하였다. 반응된 조사포닌 분획물을 수포화부탄올을 이용하여 사포닌 분획만을 분리하였고 이를 농축하여 변환 사포닌 분말을 제조하였다. 사포닌 분말은 다시 open column silica gel chromatography (CHCl₃:MeOH = 10:1, 9:1, 8:1, 7:3:0.5)를 이용하여 분획을 한 후 이를 ODS flash column chromatography(50% ~ 100% MeOH, gradient)를 활용하여 최종정제하였다. 정제된 사포닌은 NMR을 통하여 최종 확인 하였으며 분리하였다. 일반적으로 ginsenoside Rg3는 홍삼의 제조방법인 열처리를 통해 쉽게 만들어 질 수 있는 것으로 알려져 있으나 이 경우 자연계에 존재하는 (S)-form 타입의 ginsenoside외에 부반응을 통해 (R)-form의 ginsenoside가 생성된다. 하지만 균주 및 효소를 이용할 경우 부반응 없이 원하는 물질만을 정확히 생산 할 수 있으며 이렇게 생산된 물질은 표준물질로 생산하기 위해 silica gel chromatography 및 ODS column chromatography를 수행하여 정제 하였다.

■ Conversion of crude ginseng root saponins

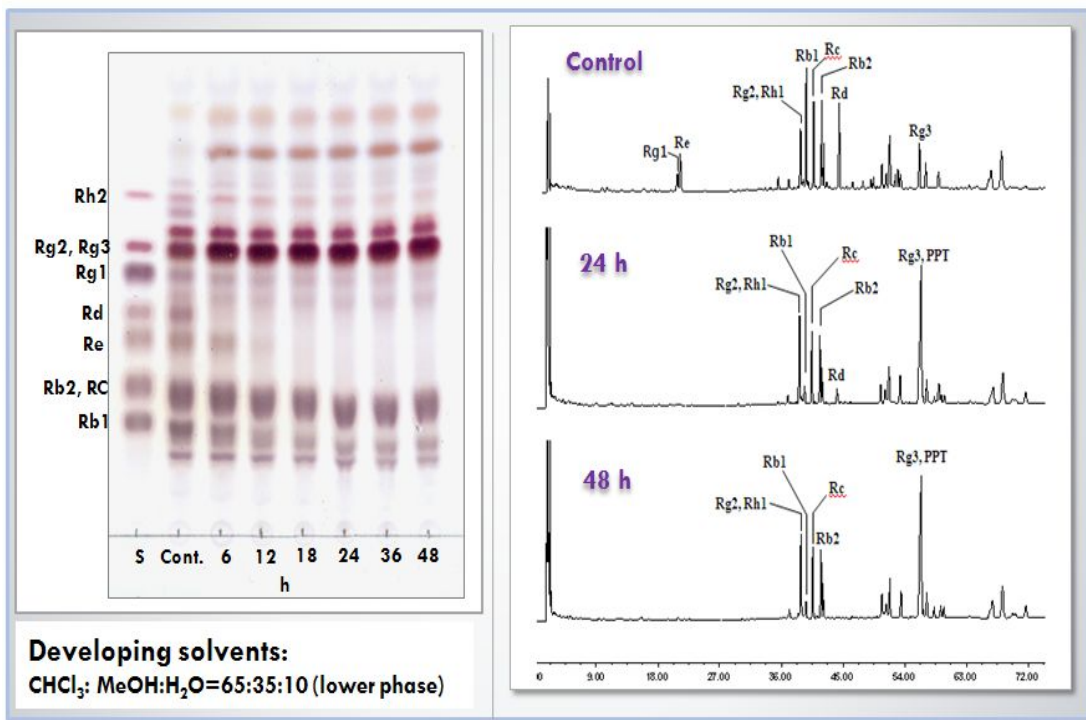


그림44. GS514 균주를 활용한 인삼 조사포닌의 ginsenoside Rg3로의 전환

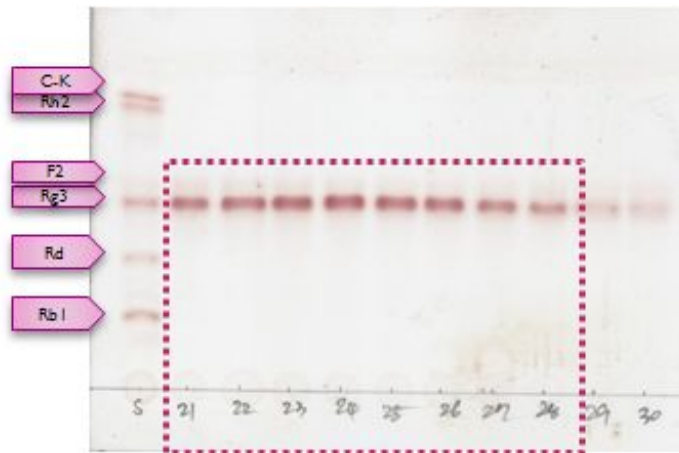
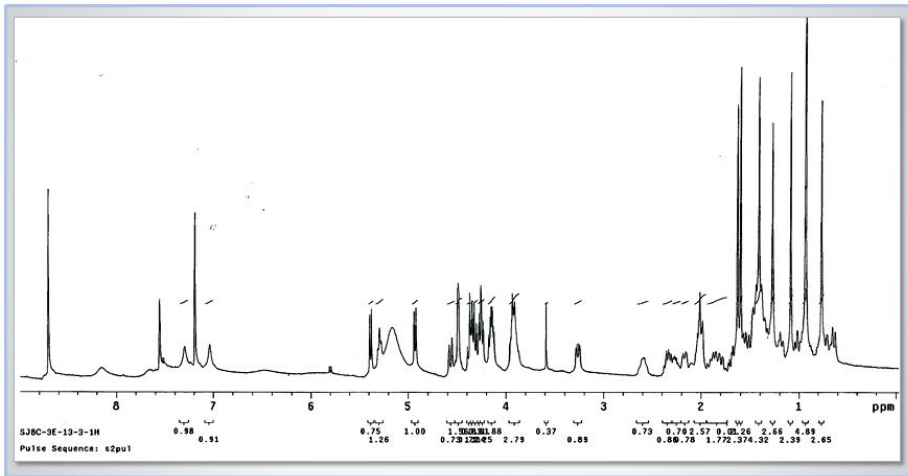


그림45. Ginsenoside Rg3의 분리

¹H-NMR (400 MHz, pyridine-d₅)



¹³C-NMR ((100 MHz, pyridine-d₅))

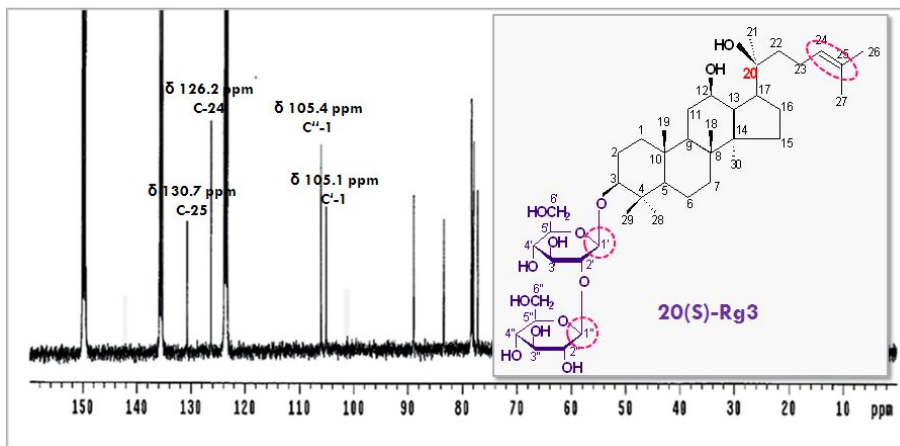


그림46. NMR을 통한 분리된 ginsenoside Rg3의 확인

Ginsenoside Rg2를 생산하기 위해 KHU330 균주를 활용하여 PPT 계열의 ginsenoside Re 변환 시켰다. KHU330 균주를 키운 배양액을 유기용매를 활용하여 조효소액을 제조한 후 이를 인삼 ginsenoside Re 10g을 물 1L에 녹여 균주 배양액과 72 시간동안 반응 후 이를 사포닌 정제에 활용하였다. 반응된 조사포닌 분획물을 수포화부탄올을 이용하여 사포닌 분획만을 분리하였고 이를 농축하여 변환 사포닌 분말을 제조하였다. 사포닌 분말은 다시 open column silica gel chromatography (CHCl₃:MeOH = 10:1, 9:1, 8:1, 7:3:0.5)를 이용하여 분획을 한 후 이를 ODS flash column chromatography(30% ~ 70% MeOH, gradient)를 활용하여 최종정제 하였다. 정제된 사포닌은 NMR을 통하여 최종 확인 하였으며 분리하였다.

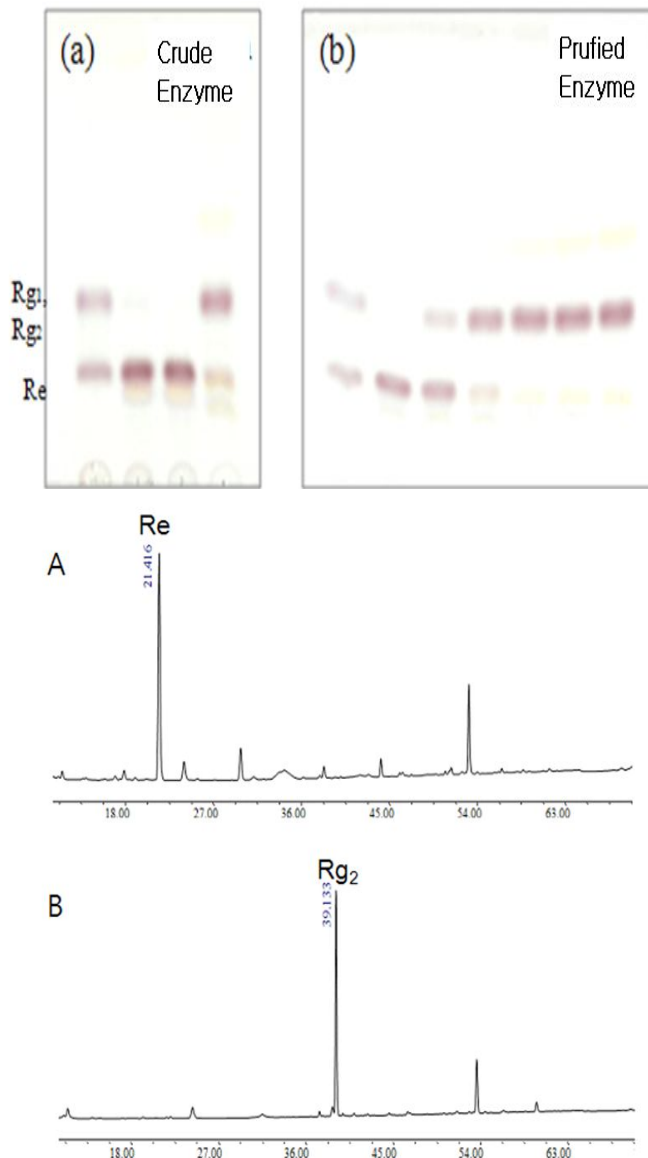


그림47. KHU330 균주를 활용한 ginsenoside Rg2의 생산

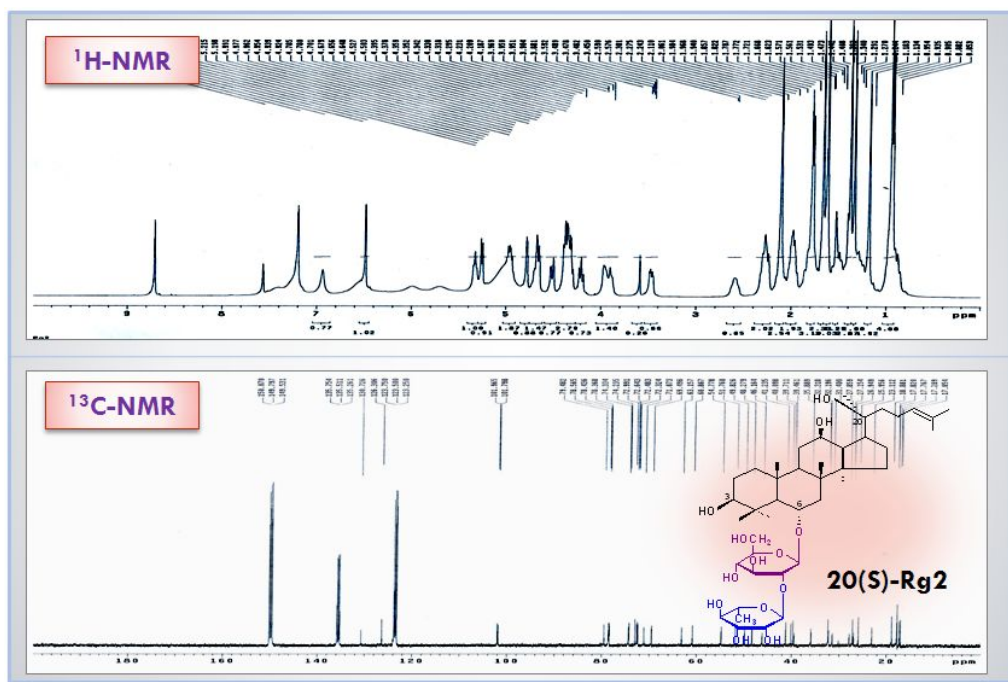


그림48. 분리된 ginsenoside Rg2의 NMR을 통한 재확인

순수하게 분리된 0.2 mM ginsenoside 전환산물은 pyridine- d_5 에 용해시켜 $^1\text{H-NMR}$ 과 $^{13}\text{C-NMR}$ 을 수행하였으며, 기기는 FT-NMR spectrometry (400 MHz Varian Inova AS 400, Varian USA)를 사용하였다. 분석결과 20(S)- ginsenoside Rg3으로 구조동정 되었다(표 4).

표7. Ginsenoside Rg3의 $^{13}\text{C-NMR}$ 을 통한 분석 결과 (inpyridine- d_5)

C	20(R)-Rg3	20(S)-Rg3	Sample	C	20(R)-Rg3	20(S)-Rg3	Sample
1	39.2	39.2	39.3	22	43.3	36.0	36.0
2	26.7	26.8	26.9	23	22.7	23.1	23.2
3	89.0	89.0	89.0	24	126.1	126.4	126.3
4	39.8	39.8	39.8	25	130.8	130.8	130.7
5	56.4	56.5	56.5	26	25.9	25.9	25.9
6	18.5	18.5	18.6	27	17.7	17.1	17.2
7	35.2	35.3	35.3	28	28.2	28.2	27.2
8	40.0	40.1	40.1	29	16.6	16.7	16.8
9	50.4	50.5	50.5	30	17.4	17.8	17.8
10	37.0	37.0	37.0	3-O-inner -Glc-1	105.2	105.2	105.1

11	32.2	32.1	32.2	2	83.5	83.5	83.6
12	70.9	71.0	71.1	3	78.0	78.0	78.0
13	49.3	48.7	48.7	4	71.8	71.8	71.7
14	51.9	51.8	51.8	5	78.1	78.3	78.3
15	31.5	31.4	31.5	6	62.9	62.9	62.9
16	26.8	26.9	27.0	Outer-Glu -1	106.1	106.1	106.1
17	50.7	54.9	54.9	2	77.2	77.2	77.2
18	15.9	15.9	16.0	3	78.4	78.4	78.4
19	16.4	16.4	16.5	4	71.7	71.7	71.7
20	73.0	73.0	73.0	5	78.3	78.2	78.2
21	22.8	28.2	28.3	6	62.8	62.8	62.8

Compound K 정제

Ginsenoside의 하나인 compound K는 인삼 사포닌의 최종 대사체로 알려져 있는 사포닌으로 실제 인삼에는 거의 존재하지 않는 것으로 알려져 있다. 일반적으로 인삼을 섭취하였을 때 담즙 및 장내 미생물에 의하여 사포닌이 가수분해되어 최종적으로 C-K로 변환되어 체내에 흡수된다고 보고 되어있다. 따라서, C-K를 대량으로 정제하기 위해서는 미생물 등에 의한 가수분해 과정을 반드시 거쳐야 한다. 본 연구에서는 인삼유전자원소재은행으로부터 분양받은 인삼 사포닌 분해 효소를 이용하여 사포닌을 변환 하였으며 이를 C-K 분리 시료로 이용하였다.

효소처리를 통해 가수분해 된 인삼 사포닌은 TLC 및 HPLC분석을 통해 실제 C-K가 생성되었는지 확인 후 정제 시료로 이용하였다. C-K의 경우 Rb1 등에 비하여 극성이 낮은 물질으로 본 연구에서는 silica gel을 고정상으로 하여 이동상은 CHCl₃:MeOH(10:1), CHCl₃:MeOH(9:2), CHCl₃:MeOH(8:3) 비율로 점차적으로 극성을 올려주는 step gradient 방법을 이용하여 사포닌 정제를 수행하였다(그림). 이를 NMR을 통해 구조·동정하였으며 C-K로 최종 확인하였다.

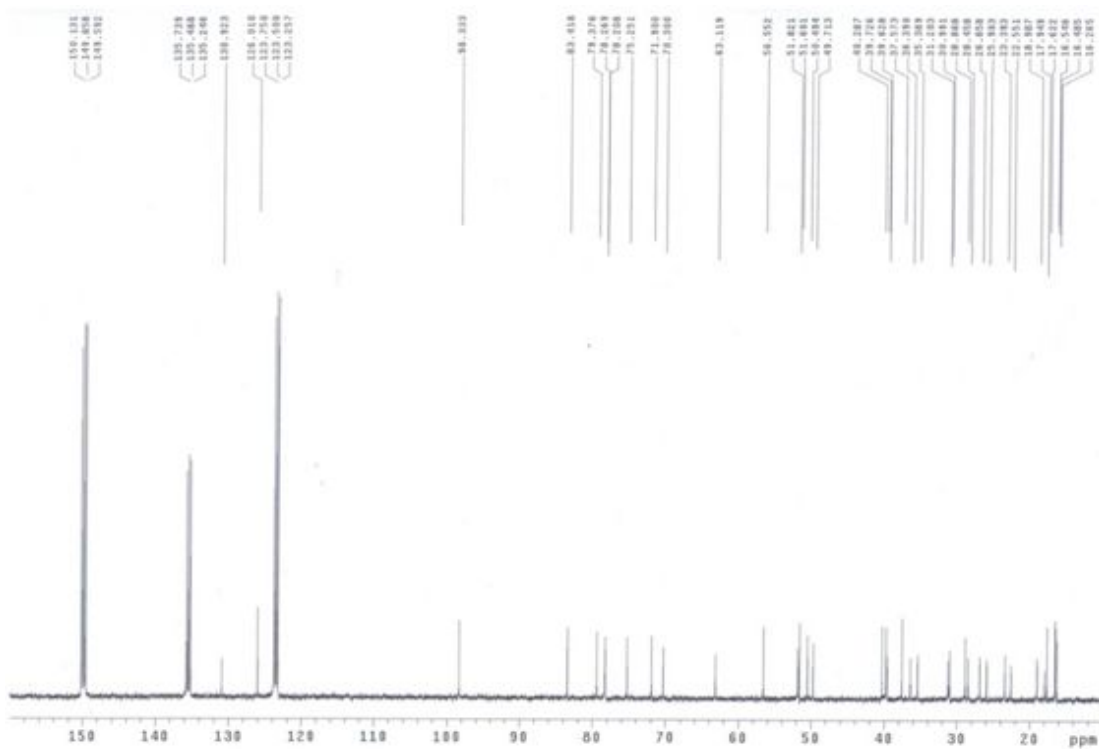


그림51. C-K의 ^{13}C -NMR 결과 스펙트럼 (100MHz,solvent:pyridine- d_5)

표8. Compound K의 ^{13}C -NMR을 통한 확인(inpyridine- d_5)

Carbon No.	C-K (100 MHz)	2006 (100 MHz)	2006 (125 MHz)	2007	Carbon No.	C-K (100 MHz)	2006 (100 MHz)	2006 (125 MHz)	2007
1	39.62	39.4	39.19	39.42	19	16.26	16.1	16.14	16.40
2	28.45	28.3	28.05	28.30	20	83.41	83.3	83.08	83.32
3	78.20	78.0	77.83	78.07	21	23.39	22.5	22.13	22.37
4	39.72	39.6	39.34	39.60	22	36.39	36.1	35.96	36.20
5	56.55	56.3	56.14	56.38	23	23.62	23.4	22.98	23.22
6	18.98	18.8	18.55	18.80	24	126.01	125.9	125.75	126.03
7	35.38	35.2	34.95	35.19	25	130.92	130.9	130.69	130.01
8	40.28	40.1	39.86	40.09	26	25.90	25.9	25.54	25.81
9	50.49	50.3	50.09	50.33	27	17.62	17.9	17.54	17.80
10	37.57	37.4	37.14	37.38	28	28.86	28.8	28.47	28.73
11	30.99	30.8	30.56	30.70	29	16.54	16.4	16.14	16.30
12	70.30	70.3	69.96	70.19	30	17.34	17.4	17.18	17.42
13	49.71	49.4	49.30	49.54	1'	98.33	98.3	98.05	98.9
14	51.60	51.4	51.21	51.45	2'	75.25	75.2	74.92	75.10

15	31.20	30.9	30.74	30.99	3'	79.37	79.2	79.10	79.39
16	26.85	26.7	26.42	26.67	4'	71.90	71.5	71.45	71.63
17	51.82	51.7	51.39	51.62	5'	78.26	78.4	78.07	78.30
18	16.48	16.4	15.81	16.06	6'	63.11	62.8	62.68	62.92

(8) 단일 인삼 사포닌처리에 의한 발열생리기전 연구

본 연구기간 중에는 단일 사포닌 중에서 PPD중에서 Rb1, PPT중에서 Re 및 Rg1을 분리하여 실험동물에 투여하여 체열반응에 미치는 영향을 관찰하고 각각의 항목을 분석하였다. 본 연구기간에 수행한 연구방법 및 결과는 다음과 같다.

1) 실험동물

실험동물은 수컷 ICR 마우스(6주령, 22 - 26 g)는 코아텍(경기도 평택)으로부터 구입하여 약 1주간 실험실 순화과정을 거친 후 본 실험에 사용하였다. 동물은 마우스용 케이지(220 x 200 x 145 mm)에 2마리씩 수용하였다. 동물실험실의 환경은 온도 23±2℃, 상대습도 55±10%, 환기횟수 12 회/시간, 조명주기 12시간(07:00 - 19:00), 조도 150 - 300 lux로 조절되었다. 실험동물용 pellet형 고형사료인 Purina Rat Chow[®]을 급여하였으며, 음수는 멸균정제수를 자유롭게 섭취하도록 하였다.

2) 실험군의 구성

마우스는 8마리씩을 한 군으로 하여 4개의 실험군으로 분류하였다. Ginsenoside 투여군은 Rb1, Re, Rg를 체중 kg당 200 mg 수준으로 경구용 주사기를 이용하여 매일 일정한 시간에 4주간 경구로 투여하였고 정상대조군은 동일한 용량의 증류수를 경구투여하였다. Ginsenoside는 증류수에 용해하여 마우스 체중 kg 당 10 ml의 양으로 용해하여 투여하였다.

3) 체중 측정

체중은 시험개시 1주일 전에 초기체중을 측정한 후, 시험종료 시까지 4주간 매주 1회 일정한 시간에 전자저울(GX-2000 AND EK-120A, Japan)을 이용하여 측정하였다. 각 실험군의 체중의 변화는 Fig. 1에 나타낸 바와 같다. 정상대조군에 비하여 ginsenoside를 투여한 실험군에서 4주 동안에 통계학적인 차이가 없었으며, 실험군 중에서는 ginsenoside-Rg1을 투여한 실험군에서 체중의 증가가 다소 관찰이 되었다(그림 52).

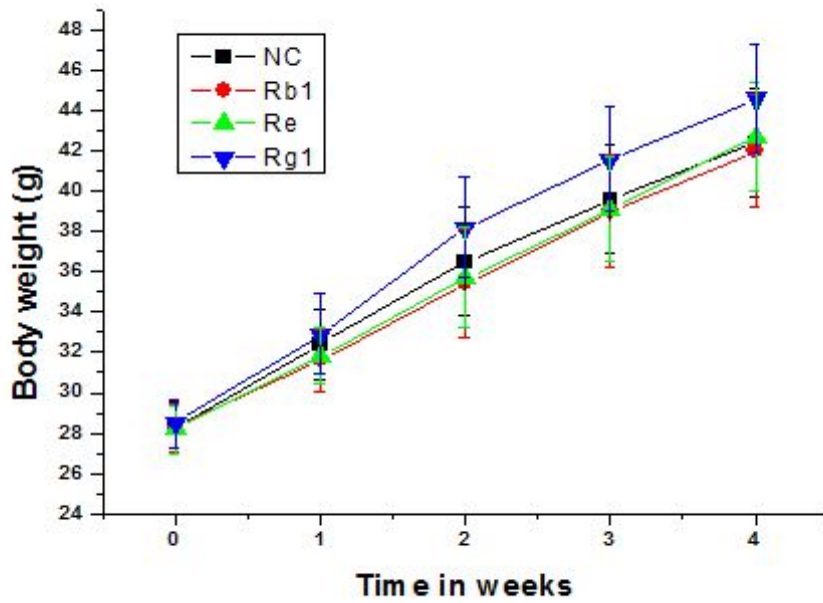


그림 52 단일 ginsenoside 투여 실험군의 체중 변화. NC, 대조군; Rb1, ginsenoside Rb1; Re, ginsenoside Re; Rg1, ginsenoside Rg1.

4) 체온의 변화분석

시험개시 1주일 전에 체온을 측정 한 후, 시험종료 시까지 4주간 매주 1회 일정한 시간에 전자체온계(TECPEL Thermometer 305B, Twaiwan)을 이용하여 직장내에서 측정하였고 실험 당 체온은 3회를 측정하여 평균치로 나타내었다(Fig. 2). 각 실험군에서 체온은 정상대조군과 차이가 없었으며, ginsenoside를 투여한 실험군 사이에서도 유의한 차이는 관찰되지 않았다(그림 53).

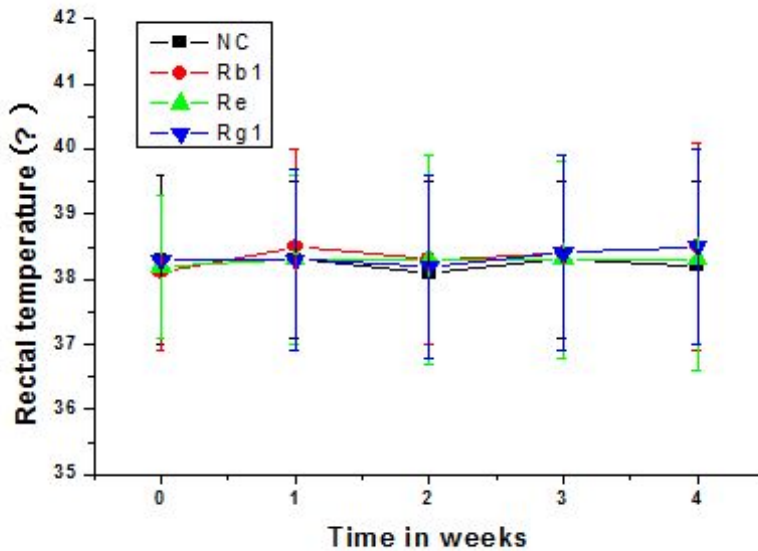


그림 53. 실험군의 체온의 변화. NC, 대조군; Rb1, ginsenoside Rb1; Re, ginsenoside Re; Rg1, ginsenoside Rg1.

5) 식이사료의 섭취량

사료섭취량은 매주 1회 일정한 시간(체중 측정 시)에 측정하였으며, 사료이용효율은 체중 10 g당 섭취하는 양으로 비교한 결과 실험군간의 유의한 차이는 확인할 수 없었다(자료 미제시).

6) 혈장내 사이토카인 (IL-1 β , IL-6, IFN- γ , TNF) 측정

마우스의 혈장내 IL-1 β , IFN- γ , TNF활성도 측정은 Assay Designs (Michigan, USA)을 사용하였고 IL-6의 측정은 BD Biosciences(San Jose, USA)사의 ELISA kit를 이용하였다. 각 사이토카인의 측정치는 Table 1에 보여주는 바와 같다. 측정대상 사이토카인은 모든 실험군에서 주목할 만한 차이를 나타내지 않았다.

표 9. 단일 사포닌 투여 실험군의 사이토카인 변화분석

	IL-1β (pg/ml)	IL-6 (pg/ml)	IFN-γ (pg/ml)	TNF-α (pg/ml)
NC	45.2 \pm 5.8	46.5 \pm 5.1	67.3 \pm 7.3	78.8 \pm 8.4
Rb1	41.9 \pm 6.5	48.1 \pm 6.6	61.4 \pm 7.8	79.3 \pm 9.2
Re	48.3 \pm 6.1	43.3 \pm 5.9	63.4 \pm 7.9	76.0 \pm 8.7
Rg1	51.2 \pm 6.5	48.5 \pm 4.7	66.8 \pm 7.1	76.7 \pm 7.1

7) 혈액의 생화학적 검사

혈액의 생화학적 검사는 부검전 12시간 절식시킨 동물을 에테르 마취하에, 복대동맥에서 heparin을 처리하고 전 채혈하여 얻은 혈액을 원심분리(3,000 rpm, 15분)하여 얻은 혈장에 대하여 aspartate transaminase(AST), alanine transaminase(ALT), alkaline phosphatase(ALP), glucose, creatinine, blood urea nitrogen(BUN), uric acid, total protein, albumin, albumin/globulin (A/G) ratio, calcium, phosphorus, cholesterol, triglyceride의 혈액생화학적 검사를 자동분석기(Hitachi-747, Hitachi medical, Japan)를 사용하여 측정하였다. 혈액생화학적 검사상에서 실험군간 유의한 차이를 보이는 항목은 관찰되지 않았다(표 9).

표 10.. 단일사포닌 투여 실험군의 혈액생화학적 분석

Parameters/Group	NC	Rb1	Re	Rg1
AST(U/l)	58.4 ± 6.8	54.1 ± 5.2	56.2 ± 6.1	59.1 ± 7.6
ALT(U/l)	38.4 ± 4.3	36.8 ± 3.9	39.2 ± 5.6	37.0 ± 4.5
ALP(U/l)	133.2 ± 13.7	138.1 ± 14.1	130.1 ± 12.8	139.3 ± 13.4
Glucose(mg/dl)	109.5 ± 11.3	110.9 ± 10.7	111.2 ± 10.9	115.2 ± 13.0
Creatinine(mg/dl)	0.50 ± 0.06	0.52 ± 0.07	0.51 ± 0.05	0.50 ± 0.04
BUN(mg/dl)	16.2 ± 2.1	16.5 ± 2.0	16.5 ± 2.0	16.1 ± 1.8
Uric acid(mg/dl)	0.72 ± 0.11	0.73 ± 0.09	0.70 ± 0.12	0.71 ± 0.10
T-protein(g/dl)	5.42 ± 0.43	5.46 ± 0.42	5.40 ± 0.40	5.48 ± 0.37
Albumin(g/dl)	2.82 ± 0.13	2.80 ± 0.11	2.83 ± 0.11	2.86 ± 0.14
A/G ratio	0.64 ± 0.04	0.62 ± 0.03	0.63 ± 0.05	0.65 ± 0.06
Calcium(mg/dl)	11.6 ± 1.3	11.4 ± 1.2	11.8 ± 1.4	11.7 ± 1.6
Phosphorus(mg/dl)	9.53 ± 1.12	9.50 ± 1.13	9.56 ± 1.14	9.63 ± 1.11
Cholesterol(mg/dl)	60.1 ± 5.8	60.6 ± 5.4	63.4 ± 6.9	61.2 ± 5.7
Triglyceride(mg/dl)	93.8 ± 9.1	93.3 ± 9.1	91.2 ± 8.8	90.1 ± 7.9

8) 통계분석

본 실험에서의 모든 실험결과는 평균 및 표준편차로 나타내었으며, 시험결과에 대한 유의성 분석은 One-Way ANOVA (SPSS for Windows, Release 10.10, Standard Version, Chicago, IL)를 이용하여 실시하였다. 유의성은 P value < 0.05인 경우에 인정하였다.

다. Mouse microarray 분석을 통한 단일 사포닌 투여가 유전자 발현에 미치는 영향의 분석

1) RNA preparation

수컷 ICR 마우스(6주령, 22 - 26 g)를 1주간 순화과정을 거친 후 200 mg/kg양으로 30일간 투여한 후 3조직(근육, 간, 뇌)으로 나누어 실험에 사용하였다. Total RNA는 Trizol (Invitrogen Life Technologies, Carlsbad, USA)로 추출하고 RNeasy columns (Qiagen, Valencia, USA)을 사용하여 정제하였다. RNA 순도와 상태는 denaturing gel electrophoresis 와 OD 260/280 ratio 그리고 Agilent 2100 Bioanalyzer (Agilent Technologies, Palo Alto, USA)를 사용하여 분석하였고 28S/18S의 비율이 1.3 이상인 시료를 array 분석에 사용하였다.

2) Labeling and purification

Total RNA는 biotinylated cRNA를 생산하기 위해서 Ambion Illumina RNA amplification kit (Ambion, Austin, USA)을 사용하여 증폭하고 정제하였다. 550 ng total RNA는 T7 oligo(dT) primer를 이용하여 reverse-transcribed cDNA를 생산하였고, Second-strand cDNA는 *in vitro*에서 biotin-NTP로 합성하였다. 합성된 cRNA는 ND-1000 Spectrophotometer(NanoDrop, Wilmington, USA)로 분석하였다. 본 실험에 이용한 microarray chip은 Illumina Mouse REF-8로 게놈 서열을 분석하여 유전자를 예측한 것으로서 24,854개(RefSeq NM), 다양한 서열 정보와 문헌 정보를 종합적으로 분석하여 중복성을 제거한 769개(RefSeq XM)와 noncoding RNA가 47개로 총 25,697개의 reference가 포함되어 있다(그림 54).

Category	Mouse WG-6	Mouse REF-8
RefSeq Probes (Build 36, Release 22)		
RefSeq NM	26,766	24,854
RefSeq XM	6,856	769
RefSeq NR	56	47
Supplementary Probes		
RIKEN FANTOMS	5,659	0
MEEBO	2,371	0
Total	45,281	25,697



그림 54. 본 실험에 사용한 Illumina사의 Mouse REF-8 microarray chip의 특성.

3) Hybridization과 data export

750 ng의 labeled cRNA samples은 각각 mouse-8 expression bead array에 58°C에서 16-18 h동안 hybridization을 실시하였다(Illumina, Inc., San Diego, USA). Microarray signal 분석은 Amersham fluorolink streptavidin-Cy3 (GE Healthcare Bio-Sciences, Little Chalfont, UK) 으로 실시함. Arrays는 Illumina bead array Reader confocal scanner 로, data는 Illumina BeadStudio v3.1.3(Gene Expression Module v3.3.8)으로 분석을 실시하였고 control의 signal을 기준으로 이상 유무를 확인한 후 data 분석을 실시하였다(그림 55).

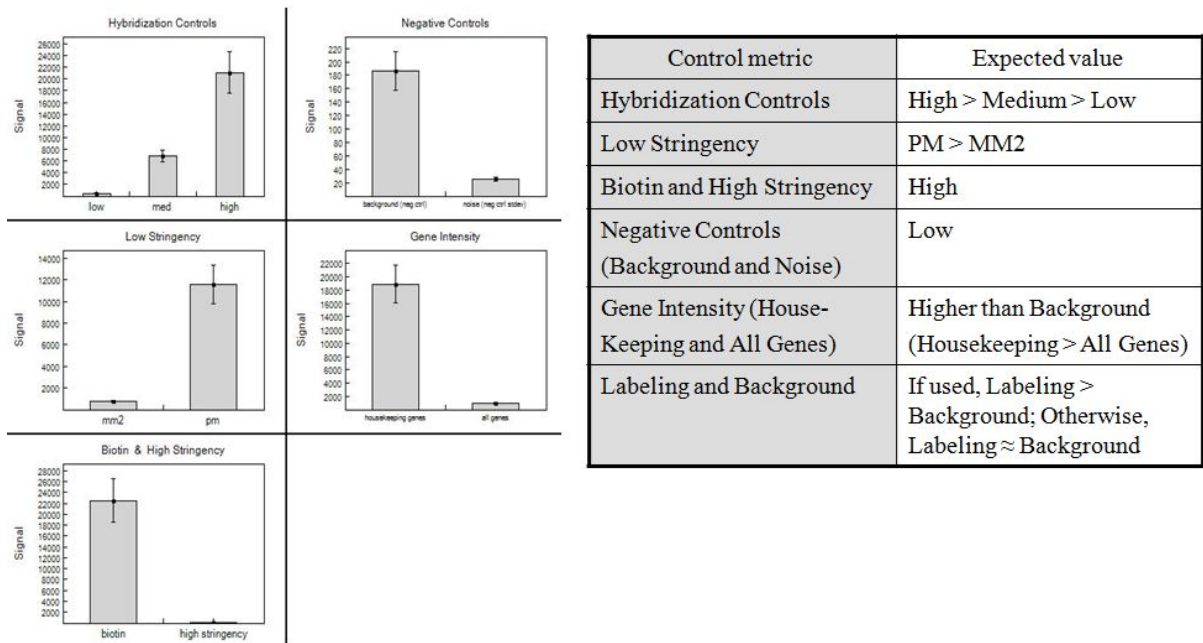


그림 55. Microarray control 분석을 통한 signal 분석.

4) Raw data preparation과 통계분석

Raw data는 Illumina GenomeStudio v2009.2 (Gene Expression Module v1.5.4)로 추출하고 적어도 p-value < 0.05인 것으로 설정하였고 시료간의 비교는 FDR pvalue로 조정된 fold-change, independent t-test를 사용하였다. Hierarchical cluster 분석은 유사도 측정치로서 complete linkage와 Euclidean distance를 이용함. Go-ontology 분석은 PANTHER (<http://www.pantherdb.org/panther/ontologies.jsp>)를 사용하였다(그림 56).

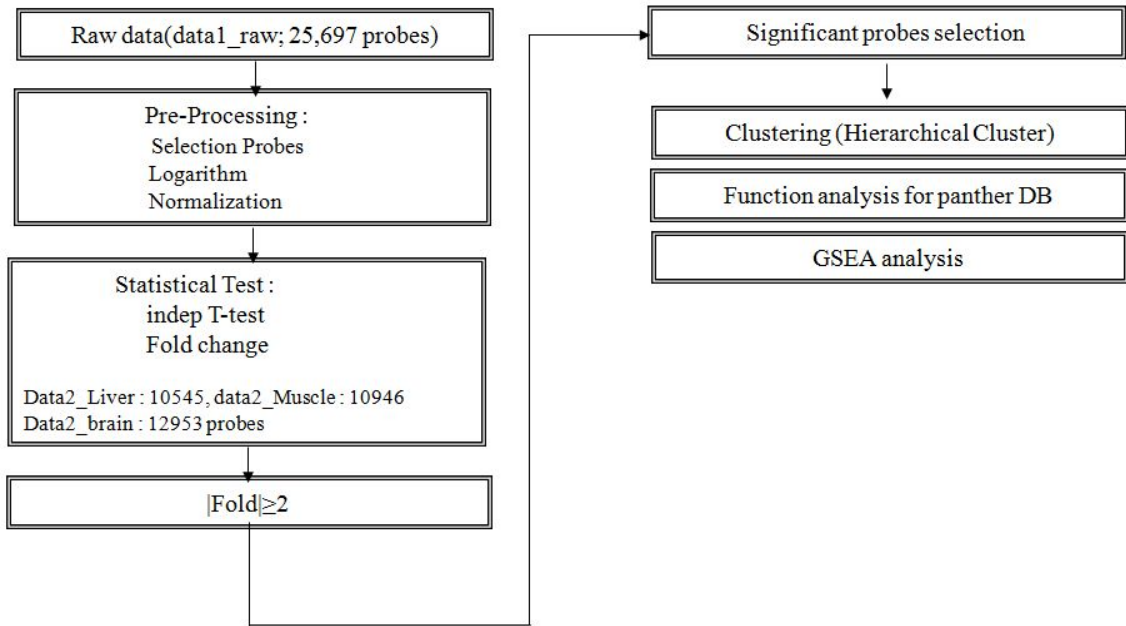


그림 56. 단일사포닌 투여 mouse의 microarray data analysis flow.

5) 실험구간의 pair-wise scatter plots

Ginsenoside-Rb1, -Re, -Rg1을 30일간 복용한 mouse의 3조직(근육, 간, 뇌조직)으로부터 추출한 total RNA를 이용하여 microarray 분석을 실시하였다. 각 ginsenoside 투여 시료간의 pair-wise scatter plots 분석을 실시한 결과 그룹 내의 반복성 높게 나타났으며, group 간의 유사성도 높았다(그림 57).

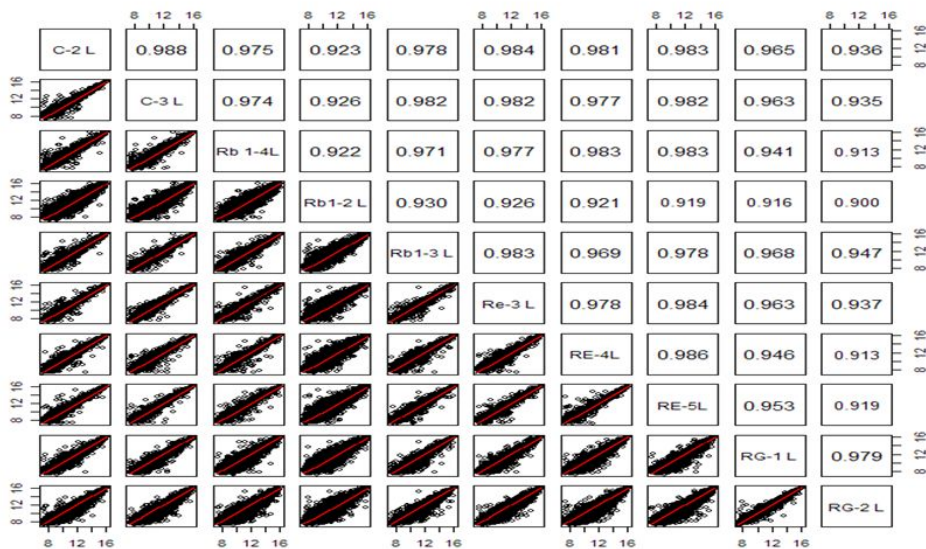


그림 57. 단일사포닌 투여한 마우스의 간 조직에서 microarray pair-wise scatter plots 분석.

6) 유전자 발현 프로파일링 분석

(1) 단일사포닌 투여에 따른 조직별 up, down 유전자의 비교분석

고려인삼에서 분리된 인삼사포닌의 약리작용을 살펴보면, protopanaxadiol saponin인 ginsenoside-Rb1은 중추신경억제 및 정신안정, 중추성 섭식억제, 신경전달물질 분비촉진, 콜레스테롤 대사촉진, 핵산 단백질 및 지질 생합성 촉진, 뇌기능 개선, 공격성 행동억제, 간상해 보호, 항산화 촉진 효능이 알려져 있다. Protopanaxatriol saponin인 ginsenoside-Re는 항당뇨, 인슐린 저항성 감소, 신경세포 보호, 정자 수정력 증진, 항산화 증진효능이, -Rg1은 중추신경흥분작용, 기억 및 학습기능 증진, 뇌세포 보호, 신경세포증식 촉진, 항스트레스, 스트레스성 섭식장애억제, 면역기능증강, 항피로, 혈소판응집억제, 혈관확장 등이 대표효능으로 지목되고 있다.

수컷 마우스에 -Rb1, -Re, -Rg1을 각각 200 mg/kg 용량으로 30일간 투여한 후 근육, 간, 뇌조직으로 나누어 유전자의 발현프로파일링을 조사한 결과 간조직에서는 대조군에 비하여 -Rg1투여군에서 517개의 유전자발현이 down되는 결과를 보였다(그림 58-A). 근육조직에서는 -Re 투여군에서 up된 유전자보다 25개로 2배 정도 down 발현 유전자가 많았다(그림 58-B). Ginsenoside-Rb1은 중추신경억제 및 정신안정, -Rg1은 중추신경흥분작용, 기억 및 학습기능증진, 뇌세포 보호 등 뇌조직과 관련된 효능들이 언급되고 있는데, 본 연구의 microarray 결과에서는 신경세포의 보호효능이 있는 것으로 알려진 -Re가 91개로 대조군에 비하여 2배 이상 up된 유전자가 -Rb1, -Rg1 투여군에 비하여 많이 관찰되었다(그림 58-C).

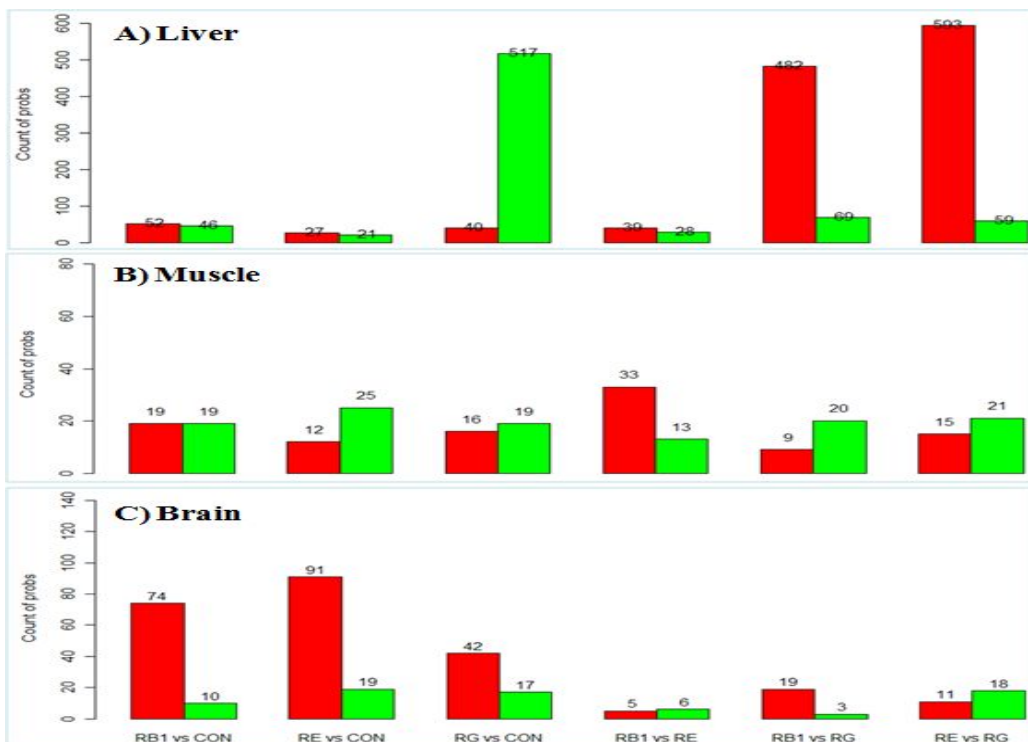


그림 58. 단일사포닌 투여에 의한 조직별 유전자 발현프로파일링. Red, up; Green, down regulation.

유효한 유전자목록을 기준으로 계층적 군집분석(hierarchical clustering analysis)을 실시한 결과(그림 59), 간조직에서 ginsenoside-Rg1은 대조군과 -Rb1, -Re처리구와는 달리 down regulation된 유전자군들의 프로파일링을 명확히 확인할 수 있었다(그림 18-A). 그러나 뇌조직에서는 ginsenoside-Rb1, -Re, -Rg1 모두에서 대조군보다 명확히 up regulation이 관찰되었으며, 특히 -Re에서 91개의 up된 유전자가 관찰되어 가장 많았다.

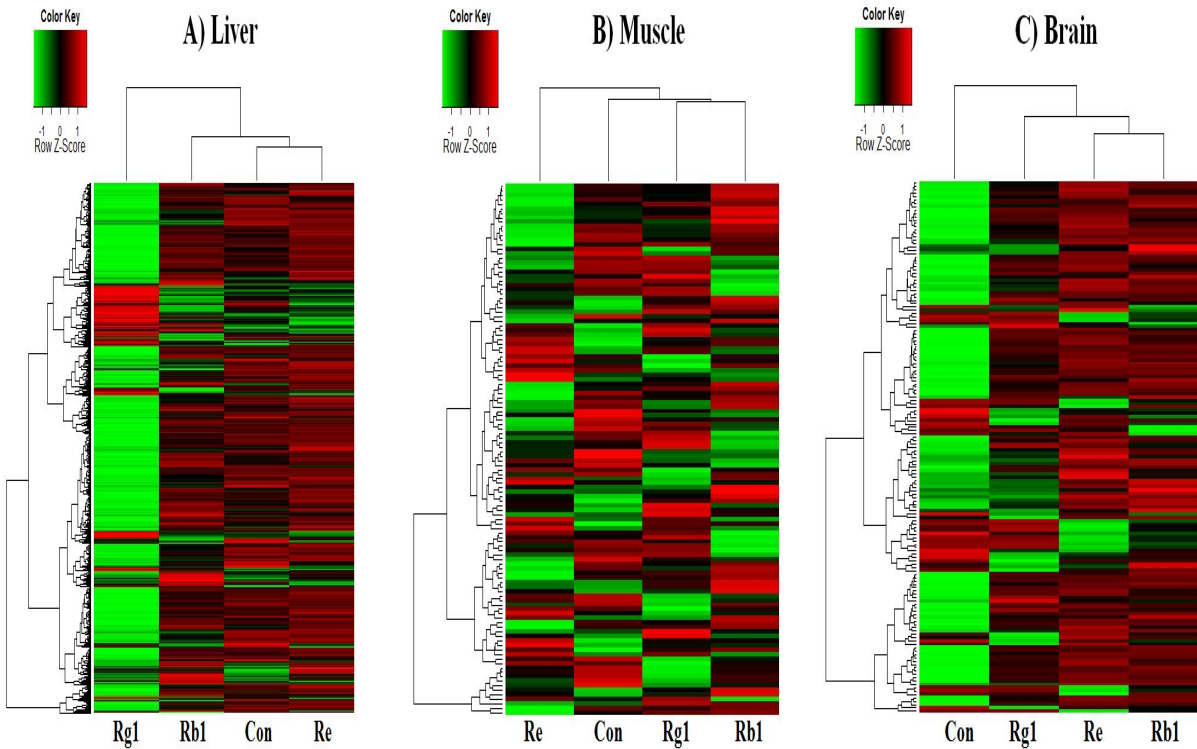


그림 59. Microarray 분석유효 유전자목록을 기준으로 계층적 군집분석(hierarchical clustering analysis)

(3) 단일사포닌 투여에 의한 조직별 유전자발현 분석

인삼으로부터 분리한 단일사포닌을 마우스에 30일간 투여한 후 이를 실험재료로 하여 Illumina Mouse REF-8(25,697개의 reference) chip을 사용하여 분석한 결과 간조직에서는 10,545개, 근육조직에서는 10,946개, 뇌조직에서는 12,953개의 유의성이 있는 자료를 얻었다. 이들 실험군 자료에 대조구와 비교하여 발현이 2배(fold change 2.0>)이상인 유전자만을 선별하여 기능별로 분류하였다(표 11).

조직별 Muscle contraction을 비롯한 29개 항목으로 biological process에 따라서 구분하여 본 결과 각 조직별로 현저한 발현차이를 나타내었는데, 간조직에서 1,253개로 가장 많은 유전자의 발현차이를 나타내었다. 이 중에서 Protein metabolism and modification에 194개로 가장 많았으며, Nucleoside, nucleotide and nucleic acid metabolism 항목에 162개, signal transduction에 133개, Immunity and defense에 99개 그리고 Lipid, fatty acid and steroid metabolism에 88개 관찰이 되었다. 근육조직에서는 총 162개 중 Transport 항목에 24개,

Signal transduction에 21개 등이 검색되었고, 뇌조직에서는 총 215개 중 Nucleoside, nucleotide and nucleic acid metabolism 항목에서 34개, Signal transduction에 24개 관찰되었다.

또한, Viral protien 항목을 비롯하여 28개로 Molecular function에 따라서 분류하였다(표 12). 간조직에서는 844개의 유전자가 분류되었고 이 중 Nucleic acid binding에 154개로 가장 많았다. 근육조직에서는 105개가 분류되었고 이 중 Transfer/carrier protein이 16개, 뇌조직에서는 143개로 이 중 Nucleic acid binding에 31개로 가장 높았다.

표11. 조직별 Biological Process에 따른 유전자 발현분석

Biological Process	Total probes no.		
	Liver	Muscle	Brain
Muscle contraction	3	4	9
Non-vertebrate process	3	0	1
Miscellaneous	4	2	2
Blood circulation and gas exchange	5	4	3
Coenzyme and prosthetic group metabolism	5	4	0
Sulfur metabolism	5	0	1
Phosphate metabolism	6	0	0
Homeostasis	7	2	1
Neuronal activities	9	4	11
Protein targeting and localization	12	0	6
Sensory perception	13	5	5
Amino acid metabolism	14	3	1
Cell adhesion	15	3	1
Oncogenesis	18	1	3
Cell proliferation and differentiation	24	1	5
Apoptosis	30	4	3
Electron transport	32	2	0
Cell structure and motility	37	8	10
Other metabolism	37	2	5
Carbohydrate metabolism	39	7	2
Intracellular protein traffic	54	6	10
Cell cycle	57	5	7
Developmental processes	72	10	21
Transport	76	24	13
Lipid, fatty acid and steroid metabolism	88	12	7
Immunity and defense	99	9	9
Signal transduction	133	21	24
Nucleoside, nucleotide and nucleic acid metabolism	162	10	34
Protein metabolism and modification	194	9	21
Sum	1,253	162	215

* Fold change ± 2.0 이상인 유전자.

마우스의 발열 및 에너지 대사 관련 유전자의 발현양상(gene expression profiling)을 종합적으로 관찰하기 위해서 1차로 인삼의 단일사포닌 중 ginsenoside-Rb1과 -Re, Rg1을 30일간 200 mg/kg투여한 후 microarray 분석을 실시하였다. 그러나 과량의 ginsenoside를 투여한 실험에서 생리적 관찰(체온, 체중)과 혈액의 생화학적 관찰을 통해서도 인삼 사포닌 투여시 뚜렷한 체온 상승 및 이와 관련된 유의한 생화학적 차이는 발견할 수 없었다.

3종 사포닌의 array 분석 결과에서도 체온 상승과 관련된 뚜렷한 결과는 아직까지 관찰되지 않고 있다. 동물의 체온상승과 직접적인 관련이 있는 것으로 알려진 mitochondria의 proton carrier 인 uncoupling protein 2(UCP2)유전자와 인체에서 열발생을 일으키는 주요인자인 prostaglandin E2(PGE2)는 3개의 ginsenoside 투여군에서는 관찰이 되지 않았다. 그러나 근육조직에서는 비추위성 열발생의 주요인인 thermogenin(uncoupling protein 1, or UCP1)유전자가 1개 관찰이 되었으나, 오히려 대조군에 비하여 단일사포닌 처리 3구(Rb1, -1.82; Re, -2.96; Rg1, -2.05)에서 모두 발현이 억제되는 결과를 보였다. 추후 추가적인 실험을 통하여 종합적인 결론이 도출되어야 할 것으로 사료된다.

표12. 조직별 Molecular Function에 따른 유전자 발현분석

Molecular Function	Total probes no.		
	Liver	Muscle	Brain
Viral protein	1	0	1
Cell junction protein	2	0	1
Ion channel	2	2	5
Lyase	6	1	3
Extracellular matrix	8	3	3
Isomerase	8	1	1
Cell adhesion molecule	9	1	0
Select calcium binding protein	9	3	4
Synthase and synthetase	13	2	0
Membrane traffic protein	15	1	2
Phosphatase	15	3	1
Cytoskeletal protein	17	5	11
Chaperone	20	1	1
Ligase	21	2	1
Signaling molecule	25	7	8
Transfer/carrier protein	26	16	6
Kinase	31	3	9
Defense/immunity protein	33	2	1
Miscellaneous function	35	5	2
Protease	36	3	4
Hydrolase	39	3	3
Transporter	39	7	2
Receptor	47	3	7
Select regulatory molecule	50	5	11
Transferase	50	6	4
Oxidoreductase	66	7	4
Transcription factor	67	6	17
Nucleic acid binding	154	7	31
Sum	844	105	143

* Fold change ± 2.0 이상인 유전자

RRLC 및 LC/MS를 활용한 인삼 사포닌 분석 조건 확립

일반적으로 이용되는 사포닌 분석법은 ginsenoside Rb1 및 Rg1의 사포닌 분석에 기준이 맞추어져 있으며 분석 시간이 매우 오래 걸리는 단점이 있다. 최근 물리적 가공 처리 및 발효 등을 통해 minor 사포닌 등이 강화되어진 제품 개발에 대한 연구가 꾸준히 이루어지고 있고 일부의 경우 제품화 되고 있지만 minor 사포닌에 대한 정확한 분석을 거의 이루어지지 못하고

있으며 더불어 샘플 당 분석시간이 매우 길어 비효율적이다. 따라서 본 연구에서는 비교적 짧은 시간에 다양한 사포닌을 분석 할 수 있는 가장 적합한 사포닌 분석법을 확립 하고자 하였다.

◎ 분석조건

- 기기 : Agilent Infinity 1260
- Column : Poroshell 120 Eclipse plus C18 (3.0 x 50mm, 2.7um)
- Column oven temp : 40℃
- Injection volume : 5ul
- Flow rate : 0.8 ml/mini
- Gradient method: A(Water), B(ACN)

	A (Water)	B (ACN)
0.0	83	17
6.0	83	17
9.0	71	29
14.0	60	40
17.0	30	70
18.5	10	90
22.0	10	90
22.5	83	17
26.0	83	17

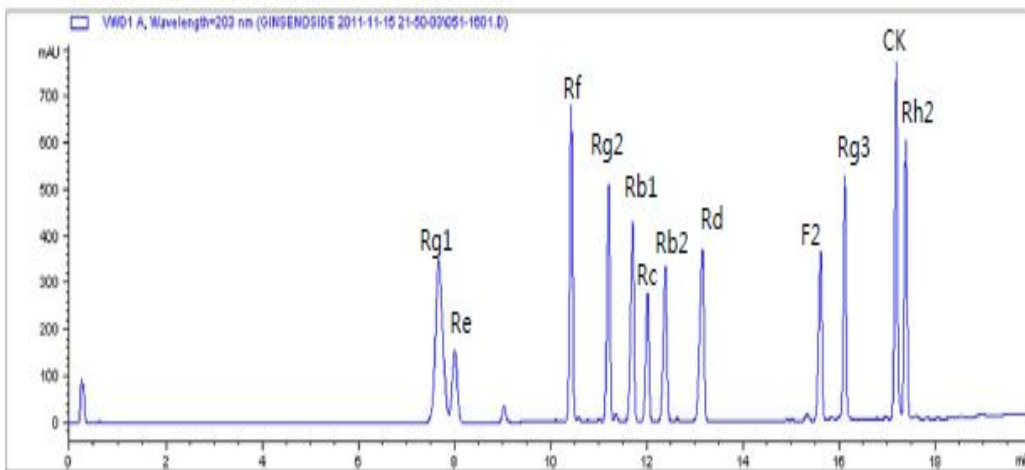


그림60. 새로운 사포닌분석 방법을 통한 HPLC 크로마토그램

LC/MS분석에는 Waters사의 LC Mass ZQ가 이용되었으며 컬럼은 Hallo C18(2.1 x 110mm, 2.7um)를 사용하였고 A(Acetonitrile + 0.1% Formic acid)와 B(Water + 0.1 Formic acid) 혼합용매를 flow 0.3ml/min gradient법을 사용하여 분석하였으며 UV는 203nm에서 측정하였고 이온화기법으로 Electrospray ionization(ESI) negative mode를 이용하였다. 각각의 사포닌 표준품을 plasma에 spiking하여 LOD와 LOQ를 각각 측정하였으며 그 결과는 아래와 같다.

표13. 혈장 내 spike 물질의 최저검출한계 및 최저정량한계의 측정

Compound	n	R ²	LOD (ng/ml ⁻¹)	LOQ (ng/ml ⁻¹)	Theoretical accurate mass	MS(m/z)(ESI-)
Rb1	5	0.9998	1	2	1109.6	1108.6
Rb2	5	0.9997	2	5	1079.6	1078.5
Rc	5	0.9997	3	4	1079.6	1078.5
Rd	5	0.9999	4	6	947.5	946.6
Re	5	0.9995	3	6	947.5	946.5
Rg1	5	0.9998	4	5	801.5	800.5
Rf	5	0.9998	8	10	801.5	800.4
Rg2	5	0.9997	2	4	785.5	785.5
F2	5	0.9999	8	13	785.5	784.4
Rg3	5	0.9995	6	10	785.5	784.5
Rh1	5	0.9999	8	10	639.4	638.4
F1	5	0.9996	11	18	639.4	638.4
C-K	5	0.9998	12	17	623.4	622.5
Rh2	5	0.9997	13	18	623.4	622.4
PPT	5	0.9999	16	20	460.7	459.6
PPD	5	0.9998	15	21	476.7	475.7

(9) 발효홍삼 및 일반홍삼 복용에 따른 인체 생리대사 반응

1. 발효홍삼과 일반홍삼 투여에 따른 생체 반응 확인 연구

본 연구의 목적은 일반홍삼 투여가 일반인의 혈류량, 심박수 및 체표면 온도에 미치는 영향을 확인하고, 연구가 미비한 발효홍삼에 대해 운동선수들에게 무산소적·유산소적 운동 능력 향상과 항산화 능력의 지표인 MDA(malondialdehyde), SOD(superoxide dismutase), 간기능 지표인 SGOT(serum glutamic-oxaloacetic transaminase), SGPT(serum glutamic-pyruvic transaminase), 말초피로 시 증가되는 CK 그리고 지질대사와 관련하여 TC와 TG의 변화 양상을 확인해 보고 기능성 식품으로서 발효홍삼의 가능성을 규명하고자 하는 것이다. 더불어 발효홍삼과 일반 홍삼의 minor 사포닌의 체내 흡수 동태를 확인하여 발효홍삼의 섭취 시 일반 홍삼에 비하여 사포닌의 흡수가 더 용이하다는 것을 확인하고자 한다.

가. 연구의 가설

본 연구의 가설은 다음과 같다.

1. 일반 홍삼에 비하여 발효홍삼의 체내 흡수율이 더 높을 것이다.
2. 일반홍삼의 투여가 일반인의 심혈관계 변인의 변화를 가져 올 것이다.
3. 발효홍삼 투여가 운동선수의 무산소적·유산소적 운동 능력을 향상 시킬 것이다.
4. 발효홍삼 투여가 운동선수의 항산화 능력을 향상 시키고, 간기능을 개선시키고 지질 대사 능력을 향상 시킬 것이다.

나. 연구의 제한점

본 연구는 체표면 온도 측정에 있어 측정 공간의 일정 온도 유지가 결과에 큰 영향을 미칠 수 있다. 이에 측정 장소의 온도를 일정하게 유지하려 노력하였으나 현실적으로 여러 가지 제한점들이 발생하였다. 그리고 혈류량 측정에 있어 사정상 여러 명의 검자가 번갈아 측정하였고, 이에 따른 측정 간에 오차가 발생하였을 수도 있다. 또한, 운동선수를 대상으로 한 운동능력 실험에서는 배구선수와 육상선수 간, 그리고 선수 개인 간의 실험 중 운동량과 운동방법 통제에 어려움이 있었고, 특정 종목 선수를 대상으로 실험이 진행되었다는 것이 본 연구의 제한점으로 작용하였다.

다. 연구대상

발효홍삼과 일반홍삼의 섭취에 따른 pharmacokinetics 연구는 경희대학교에 재학 중인 일반 학생을 각각 15명씩 총 30명을 대상으로 실시되었다. 본 연구에 참가한 학생들은 평소 인삼을 섭취하지 않았으며 모든 피험자는 실험 전 실험의 내용과 절차에 대한 설명을 들은

후 실험 참가 동의서를 작성하였다. 모든 실험군은 블라인드 테스트로 진행 되었으며 먼저 15명의 학생을 대상으로 일반 홍삼을 섭취 시킨 후, 혈액 샘플을 확보하였고 이후 15명의 학생을 대상으로 발효홍삼을 섭취 시킨 후, 혈액 샘플을 확보하여 혈액 내의 인삼 사포닌의 흡수 동태를 확인하고자 하였다.

발효홍삼과 일반홍삼의 섭취에 따른 체내 변화에 대한 연구에서는 본 연구는 경희대학교에 재학 중인 일반 남학생, 여학생 각 20명, 총 40명과 체육대학 소속 남자 배구 선수 10명과 남자 육상선수 6명을 대상으로 실시되었으며, 신체적 특성에 영향을 받는 운동능력 테스트에 참가한 그룹의 신체적 특성은 <표 7>에 제시된 바와 같다. 본 연구에 참가한 일반 학생은 전문적인 트레이닝을 받고 있지 않고 특별한 형태의 식이를 하지 않는 학생으로 선정하였고, 배구 선수와 육상 선수는 현재 경희대학교에서 선수생활을 하고 있는 선수들로 선정하였다. 모든 피험자는 실험 참가 전 실험의 내용과 절차에 대한 설명을 들었고, 실험 참가 동의서를 작성하였다. 피험자들은 실험이 진행되는 동안 일반적인 식사 형태를 유지하면서, 보약이나 영양제와 같은 식품은 섭취하지 않도록 하였다. 또한, 특별한 운동에 참여하거나 평소에 실시하지 않았던 트레이닝을 실시하지 않도록 하였고, 평소의 생활습관을 유지하도록 하였다. 먼저, 일반 대학생 40명을 대상으로 일반홍삼 섭취 후, 체표면 온도와 말초 혈류 속도의 변화 및 심박수를 측정하였고, 이 후 배구 선수와 육상 선수를 대상으로 발효홍삼 섭취 그룹 11명과 placebo 그룹 11명으로 나누어 더블 블라인드 테스트로 실시하여, 홍삼 섭취에 따른 운동능력의 향상과 혈액 변인 분석을 통해 생리 의학적 변화를 확인하였다.

표13. 피험자의 신체적 특성의 확인

	FRG group(N=11)	Placebo group(N=11)
Age	20.55±1.57	19.36±1.36
Height(cm)	188.45±7.52	183.45±7.12
Weight(kg)	76.62±11.40	74.85±1.02

FRG: fermented red ginseng

라. 연구 설계

실험은 발효홍삼과 일반 홍삼 섭취에 따른 사포닌 흡수 조사, 발효홍삼 및 일반 홍삼 섭취에 따른 혈류량 및 체표면 온도 조사, 발효홍삼과 일반 홍삼의 섭취에 따른 운동능력 및 항산화 지표 검사 등 총 세 가지로 나누어 실시되었으며, 각 실험은 다음과 같다.

먼저, 일반 대학생을 각 15명을 대상으로 일반홍삼의 농축액과 발효홍삼 농축액을 각각 섭취시켰고, 섭취 전, 섭취 후 0.5, 1, 2, 4, 8, 12 시간 때에 혈액을 5ml씩 채취 하였다. 각

각의 혈액 샘플은 10,000g에서 20분간 원심분리하여 혈장만을 분리 한 후 이를 -70℃ 초저온 냉동고에 보관하고 분석에 활용하였다.

심박수, 체표면 온도 및 말초 혈류의 대한 조사의 경우 일반 대학생 남, 여 각 20명을 대상으로 일반홍삼 캡슐을 섭취시켰고, 섭취 후 30분, 60분, 120분에 각각 측정 그 값의 변화를 측정하였다. 이때, 실험 조건의 통일을 위하여 측정 공간내의 온도 유지에 주의 하였다.

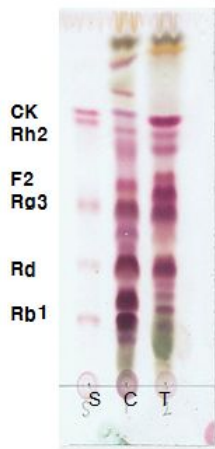
일반인을 대상으로 발효홍삼의 인체 반응을 확인한 후, 운동선수에게 적용하는 실험을 실시하였다. 이 실험은 배구선수와 육상선수를 대상으로 실시하였고, 두 그룹으로 무선 할당 후 한 그룹에는 발효홍삼정 환을, 다른 그룹에는 placebo 환을 각각 섭취하게 하였다. 8주간의 장기 복용을 실시하고, 발효홍삼정 환 섭취 전과, 4주, 8주에 운동 능력과 관련된 항목과 항산화 지표, 간기능과 관련된 변인들을 측정 하였다.

마. 일반홍삼 및 발효홍삼의 제조와 공급

인삼 사포닌 체내 흡수율 확인 연구를 위한 샘플인 홍삼농축액 및 발효홍삼 농축액은 경희대학교 기술지주회사 한방바이오에서 제조 하였다. 6년근 홍삼을 50% 주정으로 추출 및 농축하여 60 brix의 홍삼 농축액을 제조하였고 이 홍삼 농축액을 활용하여 발효를 시켜 발효홍삼 농축액을 제조하였다. 발효홍삼 제조 시 균주는 *L. brevis*, *L. pentosus*, *L. plantalum*의 유산균주 혼합 배양액과 *A. niger* 배양액을 혼합하여 사용하였으며 HPLC를 활용하여 발효 농축액의 사포닌을 측정하여 minor 사포닌의 생성량을 확인 한 후 일정 수준의 C-K 함량을 지닌 샘플만을 발효홍삼 샘플로 이용하였다.(그림39. 발효홍삼 농축액과 일반홍삼 농축액의 사포닌 함량 조사). 심박수, 체표면 온도 및 말초 혈류, 운동 능력 평가 등의 연구를 위한 샘플의 제조 및 공급은 다음과 같다. 일반 학생을 대상으로 한 실험에 사용된 일반홍삼은 경희대학교 기술지주회사 한방바이오에서 제조 및 공급해 주었으며, 캡슐의 형태로 피험자들에게 제공되었다. 각 캡슐에는 400mg의 유효성분이 포함되었고, 실험 당일 5 캡슐, 총 2g의 일반홍삼이 섭취되었다.

운동선수를 대상으로 한 운동능력 향상 실험 역시 경희대학교 기술지주회사 한방바이오에서 제공해 주었고, *A. niger*로부터 유래한 두 종의 효소를 사용하여 24시간 동안 반응시켜 생산되었고, 이 발효홍삼은 홍삼정환의 형태로 1환 당 160mg의 물질을 함유하였고, 8주간 1일 2회에 걸쳐 13환, 1일 총 4g분량을 섭취하였다. Placebo 그룹은 같은 용량을 가진 환에 발효홍삼 성분을 쌀가루와 옥수수전분으로 채워 넣어 제조되었다. 일반홍삼 캡슐과 placebo 캡슐 그리고 발효홍삼 정환과 placebo 정환의 성분표는 <표8>과 같다.

섭취 샘플의 성분 분석



ginsenoside	Concentration(mg/g)	
	CON	7days
Rb1	6.41	2.36
Rb2	4.01	1.51
Rc	4.97	1.66
Rd	2.32	3.03
Rf	0.41	0.5
Rg1	0.65	0.23
Re	2.54	0.92
Rg2	0.31	0.88
Rg3	0.84	0.92
Rh2	0.31	0.34
C-K	0	3.24
Major	21.31	10.21
Minor	1.46	5.38
Total	22.77	15.59

Major is sum of Rb1, Rb2, Rc, Rd, Rf, Rg1, Re
Minor is sum of Rg2, Rg3, Rh2, C-K

그림61. 발효홍삼 농축액과 일반 홍삼 농축액의 사포닌 함량 조사

표14. 실험에 이용된 일반홍삼(RG) 및 발효홍삼(FRG) 캡슐의 성분(%)

Components	RG	FRG	Placebo
Rg1	2.85	1.48	0
Re	11.16	5.90	0
Rb1	28.15	15.14	0
Rc	21.83	10.65	0
Rb2	17.61	9.69	0
Rd	10.19	19.44	0
Rg2	1.36	5.64	0
Rg3	3.69	5.90	0
Rf	1.80	3.20	0
Rh2	1.36	2.18	0
C-K	0.00	20.78	0
Corn starch	0.00	0.00	100
Total	100.00	100.00	100

바. 측정 항목 및 방법

1) LC/MS를 통한 사포닌 분석

각각의 혈장 샘플은 LC/MS의 분석을 위해 전처리를 진행 하였다. Plasma는 유기용매 침전법을 활용하여 단백질을 제거하고 사포닌을 분리하여 분석시료로 이용하였다. 분석에는 LC/MS(Waters)이 이용되었으며 컬럼은 Hallo C18(2.1 x 110mm, 2.7um)를 사용하였고 A(Acetonitrile + 0.1% Formic acid)와 B(Water + 0.1% Formic acid) 혼합용매를 flow 0.3ml/min gradient법을 사용하여 분석하였으며 UV는 203nm에서 측정하였고 이온화기법으로 Electrospray ionization(ESI) negative mode를 이용하였다. MS분석은 초기 섭취 전 혈장 샘플 및 ginsenoside standard, internal standard로의 digoxin을 첨가한 샘플을 활용하여 1차적으로 분석 조건을 확립하였다. Negative 모드 하에서 Compound K와 IS로 첨가한 digoxin의 분자량이 확인하였다. 더불어 예비실험으로 섭취 전 혈장과 일반 홍삼 및 발효홍삼의 샘플을 활용하여 각각의 샘플의 분석을 진행 하였으며 그 결과, 섭취 전 샘플의 경우 인삼 사포닌이 혈장 내에서 검출 되지 않았으며 일반홍삼과 발효홍삼을 직접적으로 비교하였을 때 발효홍삼을 섭취하였을 때 높은 C-K에 대한 intensity를 가지는 것으로 확인 하였다. 이는 샘플 내에 상대적으로 C-K의 양이 발효홍삼에 더 많다는 것을 의미 하는 것으로 실제 발효홍삼이 체내에서 흡수가 더 잘 되기 때문이라 판단된다. 본 연구는 Rb1, Rg1등의 Major compound의 혈액 내의 흡수 여부와 Rg3, F2, Rh2. C-K의 흡수를 파악하여 실제 발효홍삼이 일반홍삼에 비하여 흡수에 뛰어난 효과가 있는 정확히 알아보고자 하였다.

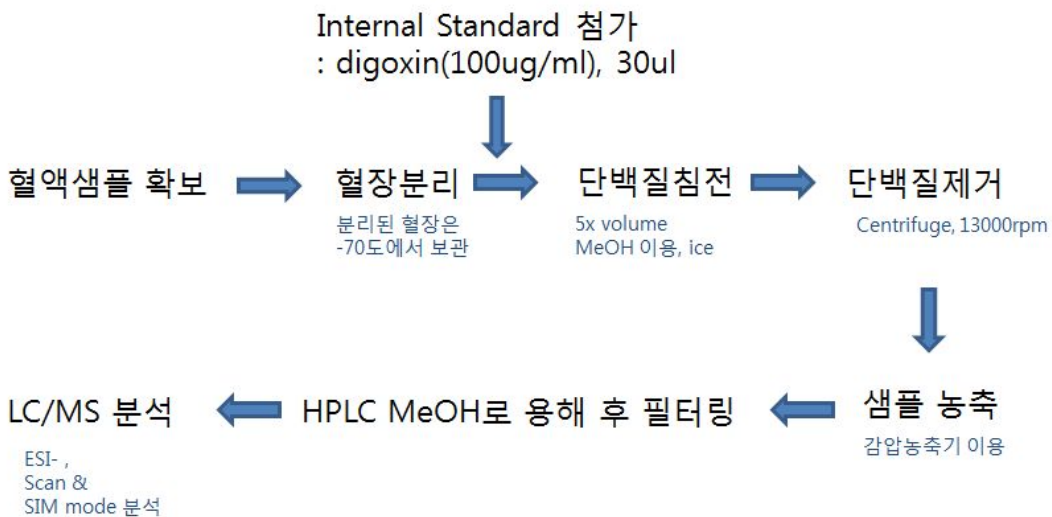


그림62. MS분석을 위한 혈액샘플의 전처리 방법

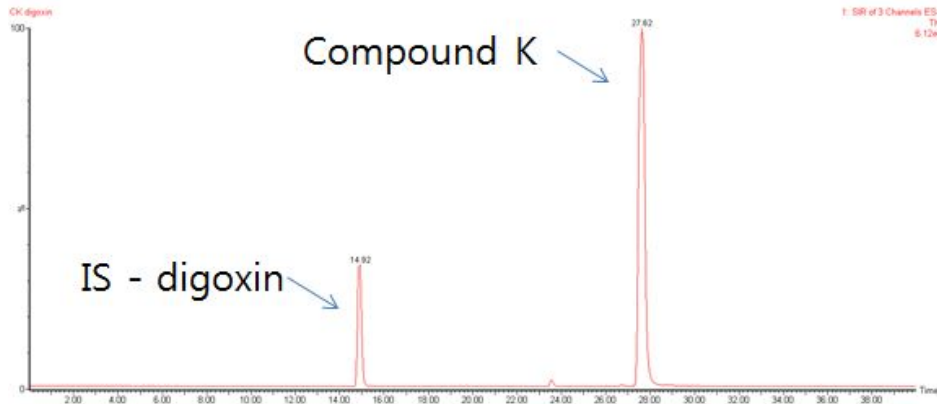


그림63. 공혈장내 IS와 C-K의 spike에 따른 MS확인

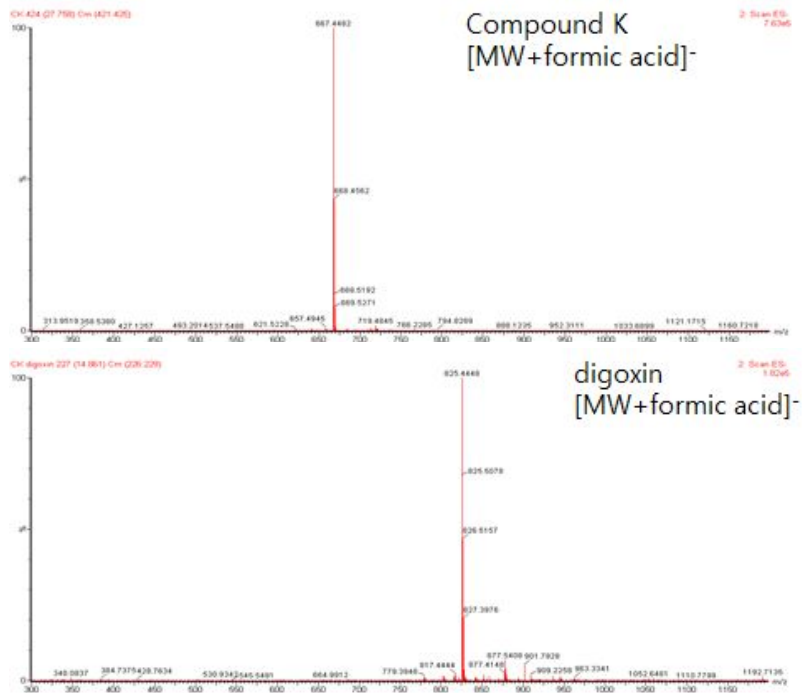


그림64. 공혈장내 IS와 C-K의 spike에 따른 MS확인(분자량분석)

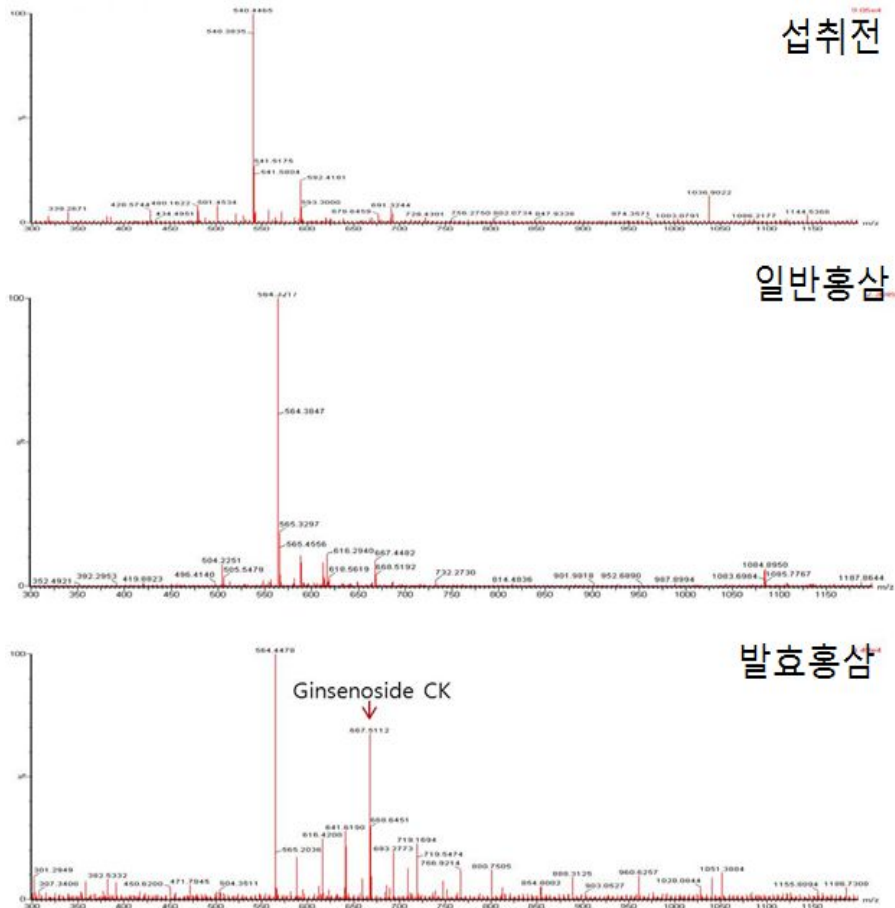


그림65. 일반홍삼과 발효홍삼 섭취에 따른 혈액 내 C-K 함량비교

2) 체온 측정

체온의 측정은 적외선 체열 측정 장비(ABB3000, Korea)를 이용하여 체열 상승을 확인 하였고, 측정 결과는 얼굴과 등 부위로 한정하여 통계처리가 가능하도록 수치화하여 기록하였다. 측정은 일반홍삼 섭취 전, 섭취 후 30분, 섭취 후 60분, 섭취 후 120분에 각각 측정하였다. 측정에 따른 오차를 최소화하기 위하여 실험 중 실험실 온도는 25℃로 유지시켰다.

3) 혈류 속도 측정

체온 측정과 함께 말초 혈류 속도 측정 장비(Periflux system 5000, Sweden)를 이용하여 측정하였고, 이는 손목 부위에 레이저 probe를 부착시켜 혈류 속도의 변화를 모니터링 하는 방법으로 약 3분간 측정되었다. 이후 데이터 처리에는 probe를 부착 후 안정화된 이후 2~3 분 사이의 데이터를 사용하여 통계처리에 사용하였다.

4) 심박수 측정

심박수의 측정은 체온, 혈류 측정과 함께 이루어 졌으며, 요골동맥의 축진을 통하여 측정

되었다. 운동선수를 대상으로 운동능력 향상 확인을 위한 안정 시 심박수의 측정은 아침 기상 후 10~15분간의 안정 후 요골동맥 측진을 통해 측정되었다.

5) 안정 시 젖산의 측정

운동선수를 대상으로 운동능력 향상 효과를 확인하기 위해 안정 시 젖산 농도를 측정하였고, 이는 아침 기상 후 심박수 측정과 함께 젖산분석장비(YSI1500, USA)를 이용하여 측정하였다.

6) 무산소성 운동능력 테스트

무산소적 운동능력 테스트는 민첩성, 순발력, 최대근력, 근지구력과 관련되어 총 8가지를 실시하였다. 각 변인의 측정은 사전, 사후(발효홍삼 섭취 8주)에 측정 되었다. 민첩성과 관련하여 전신반응 측정기(SH-20001, Korea)를 사용하여 반응 시간을 측정 하였고, 순발력과 관련하여 30m, 60m dash 기록과 sargent jump 기록을 측정 후 비교 하였다. 최대 근력 테스트로는 leg press와 lat pull down 테스트를 1RM 값으로 측정, 비교하였다. 근지구력과 관련하여 sit-up 테스트를 윗몸일으키기 장비(SH-20000N, Korea)를 통해 1분간 실시 횟수를 측정, 비교하였다.

7) 유산소성 운동능력 테스트

운동선수를 대상으로 운동능력의 향상 효과 중 유산소적 운동능력의 향상을 확인하기 위한 측정 변인으로 shuttle-run 테스트를 사전, 중간, 사후에 테스트를 실시하여 증가량을 확인하였다. 각 측정에 앞서 간단한 스트레칭을 실시한 후 20m의 구간을 처음에는 8.5km/h의 속도로 빠른 걸음으로 걷기 시작하여 1분 간격으로 0.5km/h 씩 신호음 간격이 점증적으로 빨라지도록 설정되어 있는 오디오 리듬에 맞춰 20m 구간을 계속해서 달리다가 신호음에 맞춰 뛰는 것이 불가능하여 2회 이상 리듬을 놓칠 경우 테스트를 종료하고 그때까지 20m 구간 왕복 횟수를 기록 하였다. 본 연구에서 실시한 shuttle-run 테스트는 Leger & Lambert(1982), Leger & Gadoury(1989), Stickland et al.(2003), Cooper et al.(2005) 등의 연구에서 최대산소섭취량과의 관련성을 검증받았고, 이는 shuttle-run 테스트를 통한 심폐기능 평가 즉, 유산소적 운동 능력을 간접적으로 평가할 수 있는 지표로서 널리 활용되고 있다.

8) 혈액변인 분석

운동선수를 대상으로 채취될 혈액은 혈청만을 분리 하여 항산화 능력의 지표인 SOD와 MDA, 간세포 손상의 정도를 나타내는 SGOT, SGPT의 변화를 각각 분석하였다. 본 실험에서 수집된 혈액의 검사는 녹십자 의료재단에 의뢰 분석을 실시하였다.

사. 자료처리방법

본 실험에서 얻은 자료는 SPSS 18.0 통계프로그램을 이용하여 처리 하였다. 측정치는 평균(mean)과 표준오차(standard error)로 표시 하였고, 인체 반응에 대한 결과 분석에는 일원변량 분석(one-way ANOVA)를 실시하였고, 운동 능력에 대한 결과 분석에는 두 집단의 사전검사와 사후검사 결과의 평균차이를 검증하기 위하여 이원분산분석(repeated measure design two-way ANOVA)을 실시하였으며, 유의한 결과가 있는 변인의 개별 분석을 위해 일원분산분석(one-way ANOVA)과 종속 t -검정(paired t -test)을 실시하였다. 모든 통계분석의 유의수준(α)은 .05로 설정하였다.

2. 발효홍삼과 일반홍삼 투여에 따른 생체 반응 결과

본 연구에서 일반 대학생을 대상으로 발효홍삼과 일반홍삼 섭취에 따른 체내 흡수 동태, 체온과 심박수 및 혈류 속도의 변화와 배구선수와 육상선수를 대상으로 발효홍삼의 섭취에 따른 심박수, 젖산 농도의 변화, 무산소적·유산소적 운동능력 및 혈액 변인 분석을 실시하였으며 그 결과는 다음과 같다.

가. 인체 반응 변화 결과

1) 인삼 사포닌의 체내 흡수 동태

발효홍삼 섭취군과 일반홍삼 섭취한 섭취군의 사포닌 흡수 동태를 확인 하였다. 일반적으로 인삼을 섭취하게 되면 인삼 사포닌은 체내에서 minor 사포닌 화 되어 흡수되어 진다. 특히 C-K는 PPD 계열의 사포닌의 최종 대사체로 알려져 있어 사포닌의 체내 흡수에 있어 key가 되는 화합물로 잘 알려져 있다. 본 연구에서는 발효홍삼과 일반홍삼의 섭취 시 혈액 내에 나타나는 시간과 함량을 분석하여 발효홍삼과 일반홍삼의 섭취 시 일어나는 사포닌 흡수의 차이를 확인해 보았다.

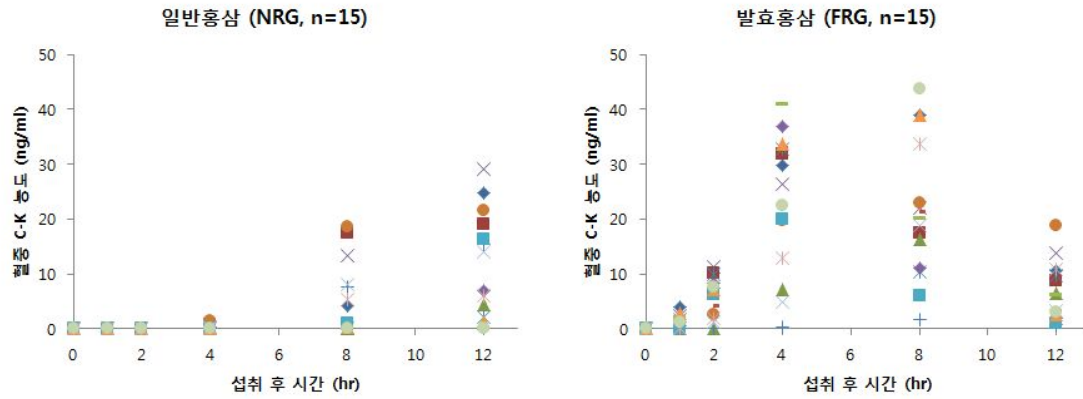


그림66. 섭취시간에 따른 사포닌의 흡수량 확인

발효홍삼과 일반홍삼의 섭취 후 C-K의 체내 흡수를 확인 하여 본 결과 발효홍삼의 체내 흡수율이 비교적 높은 것을 확인 해 볼 수 있다. 발효홍삼군의 경우 대부분의 피험자들에서 C-K의 함량이 2시간에 최대치를 기록 하지만 일반 홍삼의 섭취군의 경우 12시간에 최대치를 기록하는 것을 확인 할 수 있다. 더불어 함량의 차이에서도 발효홍삼의 섭취 군이 평균적으로 약 3배 이상 높은 흡수를 가지는 것을 확인 할 수 있었다.

일반홍삼 VS 발효홍삼 흡수율 차이

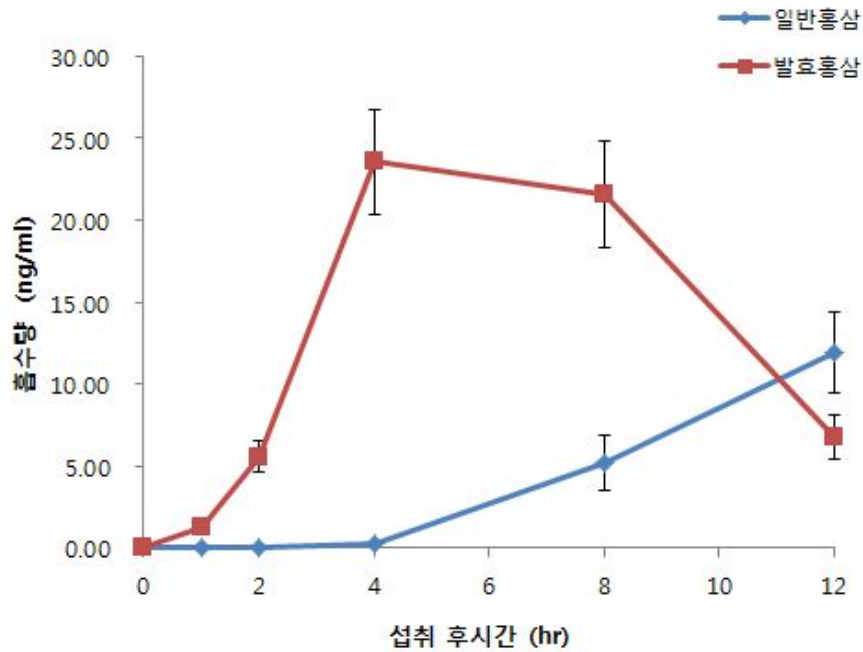


그림67. 일반홍삼과 발효홍삼 섭취에 따른 C-K함량의 변화

각 각의 그룹을 5명으로 인위적으로 나누어 흡수의 차이에 따라 상위, 중위, 하위군으로 각각 나누어 분석 하여 본 결과 상위군의 경우 일반 홍삼을 섭취 하였을 때 어느 정도의 높은 흡수율을 가지는 것을 확인 할 수 있다. 그러나 하위군으로 갈수록 흡수율이 떨어지는 것을 확인 할 수 있다. 반면에 발효홍삼의 경우 상위에서 하위까지의 피시험자 모두 비교적 고 른 사포닌 흡수율을 보이는 것으로 확인 되었다. 이는 인위적으로 발효를 통해 사포닌을 minor 화하여 섭취한 경우가 일반 홍삼을 섭취 했을 때에 보다 편차가 적다는 것을 의미하 며 minor 사포닌을 직접 섭취함으로써 장내 미생물에 의한 사포닌 전환 과정이 불필요하게 되어 소화능력이 떨어지는 피시험자들도 사포닌 흡수를 잘 할 수 있었다는 것을 의미한다.

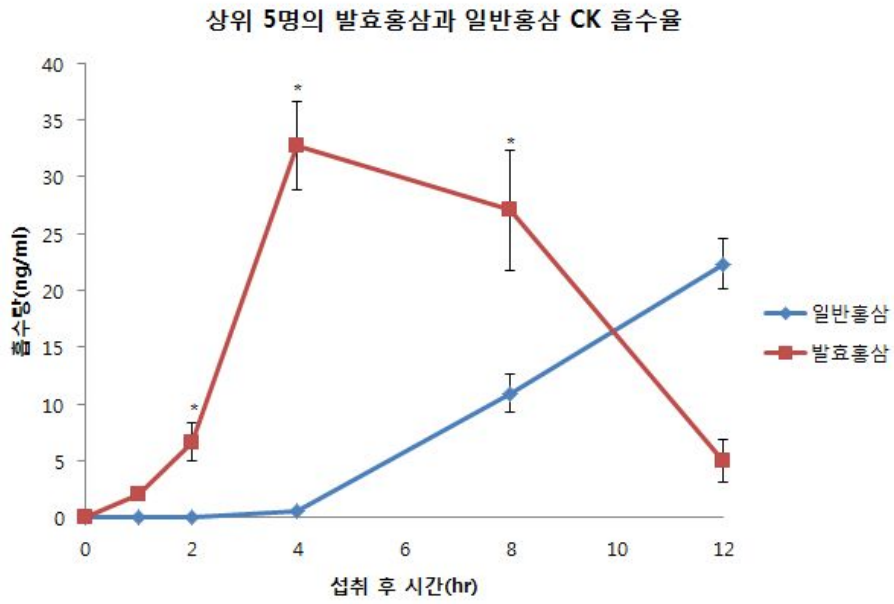


그림68. 상위 5명 그룹의 일반홍삼과 발효홍삼 섭취에 따른 C-K함량의 변화

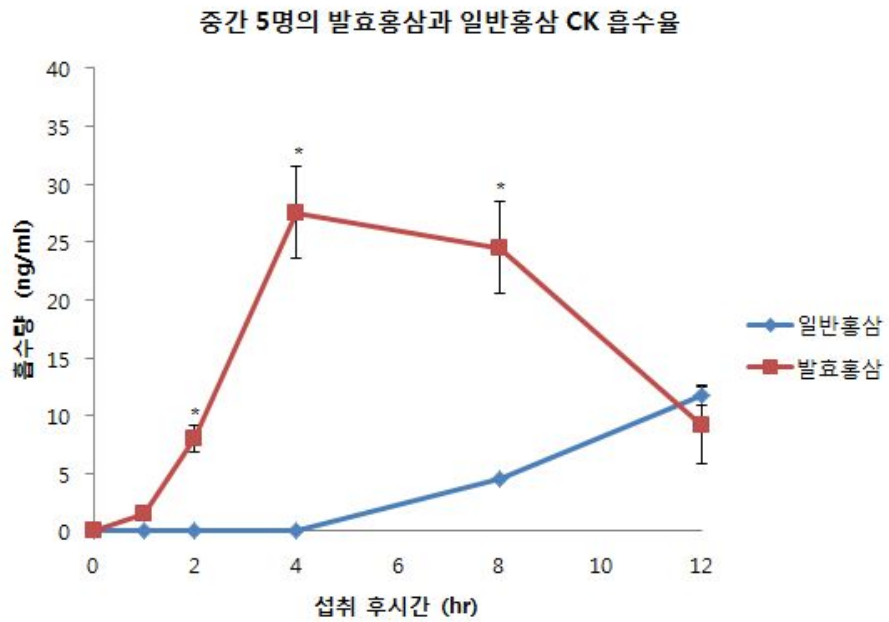


그림69. 중간 5명 그룹의 일반홍삼과 발효홍삼 섭취에 따른 C-K함량의 변화

하위 5명의 발효홍삼과 일반 홍삼 CK흡수율

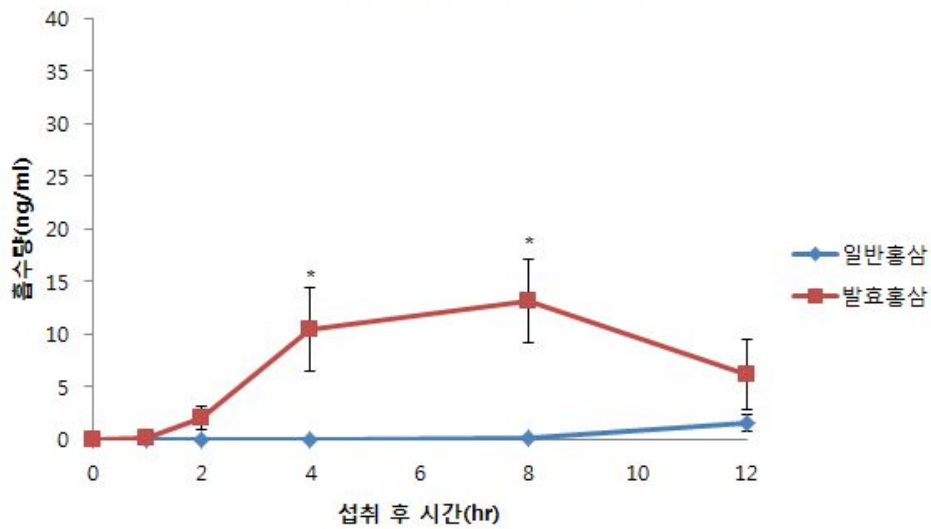


그림70. 하위 5명 그룹의 일반홍삼과 발효홍삼 섭취에 따른 C-K함량의 변화

Ginsenoside Rg3의 경우 혈장 내에 미량 존재 하였으나 발효홍삼군과 일반홍삼군의 유의적인 차이가 없었으며 C-K에 비하여 낮은 체내 흡수를 보였다. 이는 비교적 분자량이 큰 Rg3가 C-K에 비하여 흡수가 용이하지 못한 것을 나타내는 것으로 사료된다.

발효홍삼과 일반홍삼 섭취에 따른 Rg3흡수량

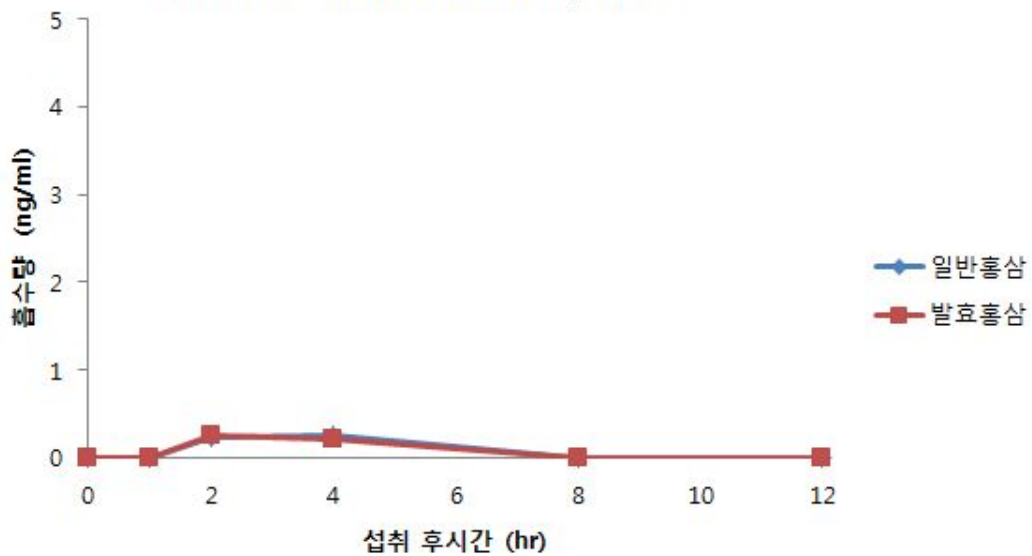


그림71. 일반홍삼과 발효홍삼 섭취에 따른 Rg3 함량의 변화

Ginsenoside Rh2의 경우 일반인삼 섭취군과 발효홍삼 섭취군의 유의적인 차이가 관찰되지 않았으며 C-K에 비하여도 낮은 흡수율을 가진 것을 확인 할 수 있었다. 이는 기존의 문헌으로 보고되었던 C-K와 Rh2의 흡수율 비교 실험과 비교 하였을 때 Rh2의 생체 흡수 이용률이 낮다는 기존의 보고와 유사한 것으로 사료되어진다. 본 연구의 경우 발효홍삼 군과 일반홍삼군의 Rh2 함량이 전체적으로 유사하였기 때문에 거의 비슷한 패턴의 흡수 정도를 가지는 것으로 판단되어진다.

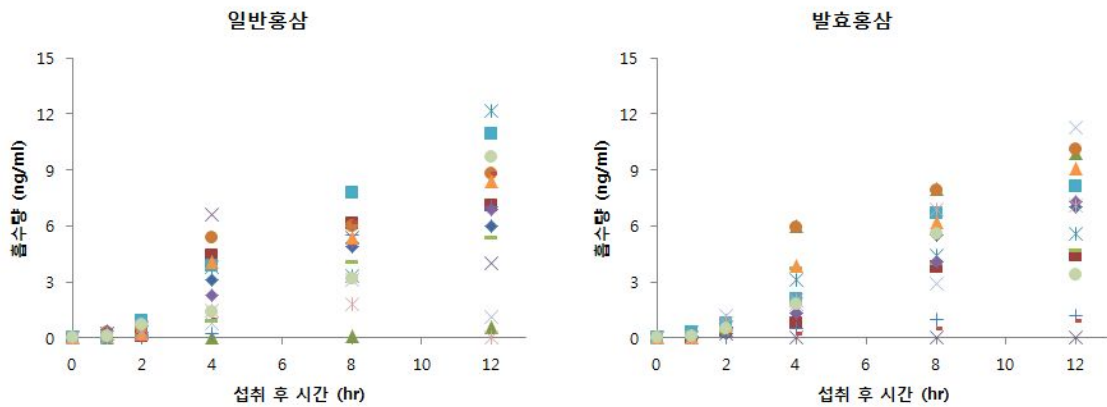


그림72. 섭취시간에 따른 ginsenoside Rh2의 흡수량 확인

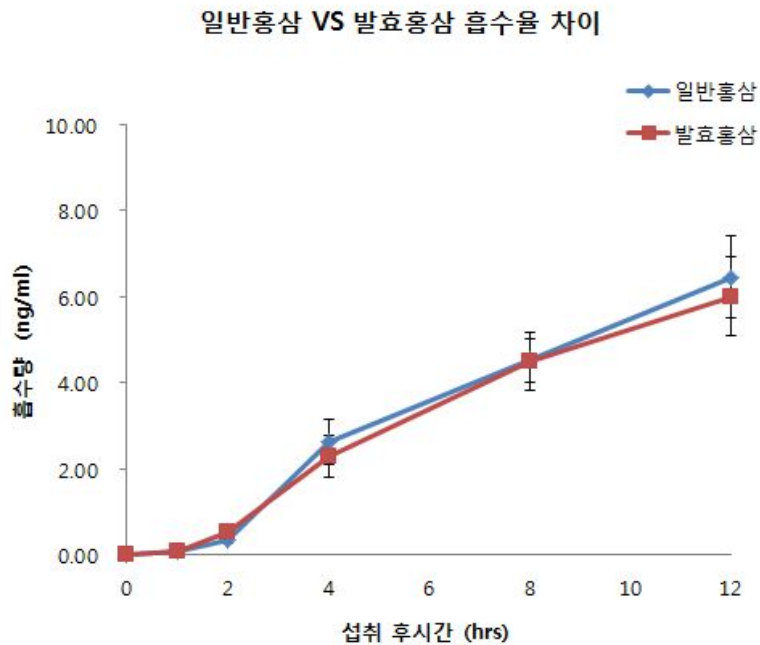


그림73. 일반홍삼과 발효홍삼 섭취에 따른 Rh2 함량의 변화

PPT 계열의 사포닌의 흡수를 확인하여 본 결과 major 사포닌인 Rg1, Re가 혈장 내에 미량 존재하는 것으로 나타났지만 두 그룹간의 유의적인 차이는 확인되지 않았다. major 사포닌의 함량이 일반 홍삼군에서 월등히 높지만 이처럼 두군 간의 차이가 나지 않는다는 것은 major 사포닌의 흡수가 쉽지 않다는 것을 의미하는 것으로 생각되어진다.

더불어 인삼의 PPT 계열의 사포닌인 ginsenoside F1을 측정하여 본 결과 다음과 같은 결과를 얻을 수 있었다. C-K의 흡수와 유사한 패턴을 가지는 것을 확인 할 수 있었으며 발효 시 PPT계 사포닌이 minor화 된 F1의 형태로 체내에 흡수가 일어나는 것으로 보이며 F1의 경우 발효홍삼군에서 더 빠르게 많은 양이 흡수되는 것으로 확인 되었다.

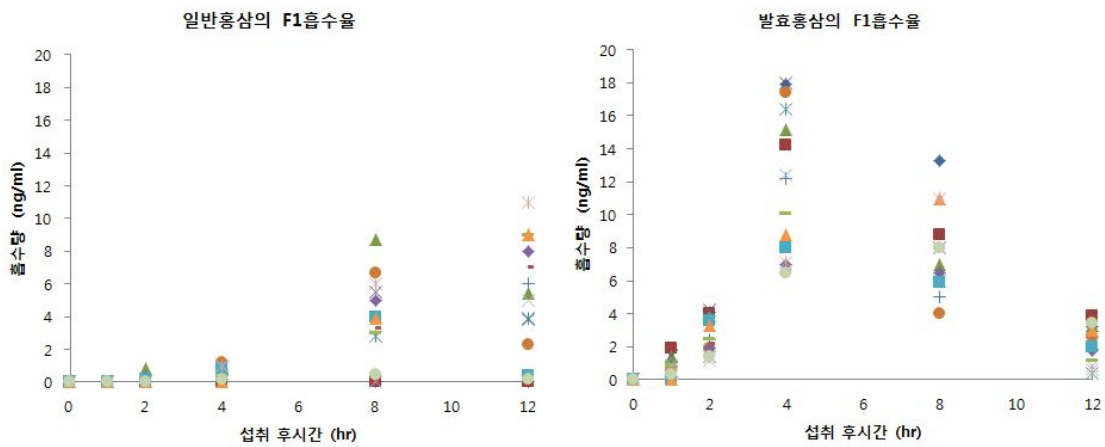


그림74. 섭취시간에 따른 Ginsenoside F1의 흡수량 확인

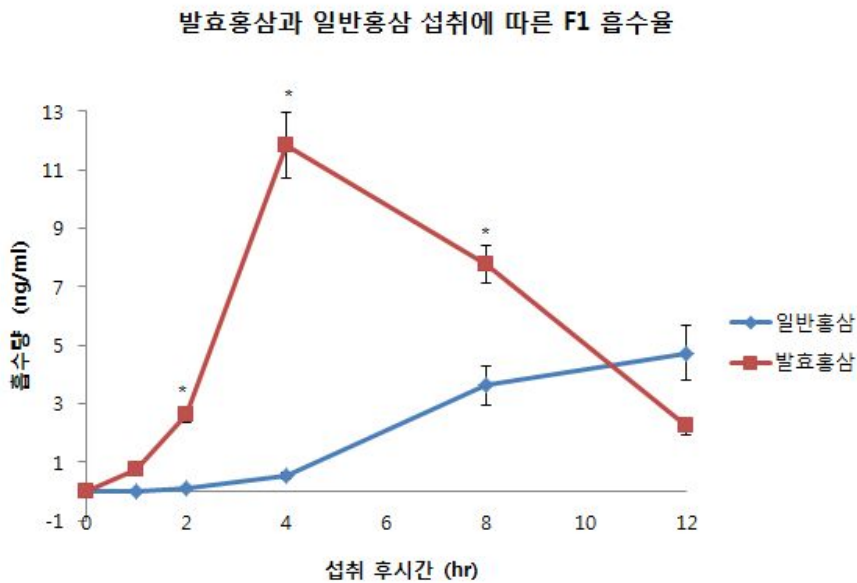


그림75. 섭취시간에 따른 Ginsenoside F1의 흡수량 확인

2) 체표면 온도

적외선 체열 측정 장비를 이용한 체열 변화 측정은 <표 15>와 같다. 두 그룹 간에 그룹 간 그리고 검사 간 상호작용은 통계적으로 유의하지 않았고, 그룹 내에서 측정 시점 간 변화에서 두 그룹 모두 통계적으로 유의한 변화가 있었다(p<.05).

표15. 적외선 체열 측정 장비를 이용한 체열 변화 (°C)

Variable	Group	0	30	60	120	Sig.
Temp.	FRG	31.9±0.11 ^{abc}	32.8±0.12 ^a	32.8±0.15 ^b	32.7±0.15 ^c	T:0.000*** T×G:0.681 G:0.628
	Placebo	31.9±0.10 ^{abc}	32.7±0.13 ^a	32.8±0.13 ^b	32.6±0.14 ^c	

Mean±SE, *p<.05, **p<.01, ***p<.001 level.

Same alphabet indicate significant difference by LSD.

T:time; G:group; T×G:interaction. FRG: fermented red ginseng.

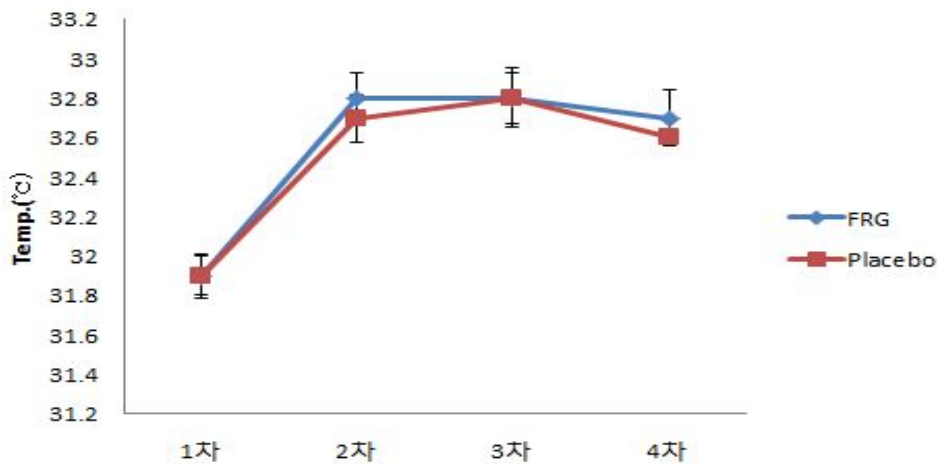


그림 76. 섭취 후 온도 변화

Mean±SD, p<.05 level. *: significantly different from placebo group.

3) 혈류 속도

일반 대학생을 대상으로 한 발효홍삼 섭취에 따른 인체 반응 실험 중 말초 혈류 속도의 변화 결과는 <표 16>와 같다. 발효홍삼 그룹과 placebo 그룹과 검사 시점에 대한 상호작용과 그룹 간 차이, 측정 시점별 차이 모두에서 통계적으로 유의한 차이가 나타나지 않았다 ($p < .05$).

표 16. 혈류 속도(Unit)

Variable	Group	0	30	60	120	Sig.
Blood flow rate	FRG	29.4±3.49	24.4±2.58	19.8±2.32	24.1±3.70	T:0.153
	Placebo	32.8±3.49	22.27±2.58	21.65±2.32	31.32±3.70	T×G:0.383 G:0.421

Mean±SE, * $p < .05$, ** $p < .01$, *** $p < .001$ level.

Same alphabet indicate significant difference by LSD.

T:time; G:group; T×G:interaction. FRG: fermented red ginseng.

4) 안정 시 심박수

일반 대학생을 대상으로 한 일반홍삼 섭취에 따른 인체 반응 실험 중 안정 시 심박수의 변화 결과는 <표 17>과 같다. 일반홍삼 섭취 그룹과 검사 시점간에 상호작용 효과는 없었으며, 검사 시점간 통계적으로 유의하게 두 그룹 모두 감소하였다($p < .05$).

표17. 안정 시 심박수 변화(bpm)

Variable	Group	0	30	60	120	Sig.
HR	FRG	72.3±1.73 _a	70.1±1.63 ^a _b	67.5±1.39 ^{abc}	66.1±1.29 ^{abc}	T:0.000***
	Placebo	75.5±1.75 _a	71.4±1.65 ^a _b	69.5±1.40 ^{ab}	66.8±1.30	T×G:0.164 G:0.378

Mean±SE, * $p < .05$, ** $p < .01$, *** $p < .001$ level.

Same alphabet indicate significant difference by LSD.

T:time; G:group; T×G:interaction. FRG: fermented red ginseng.

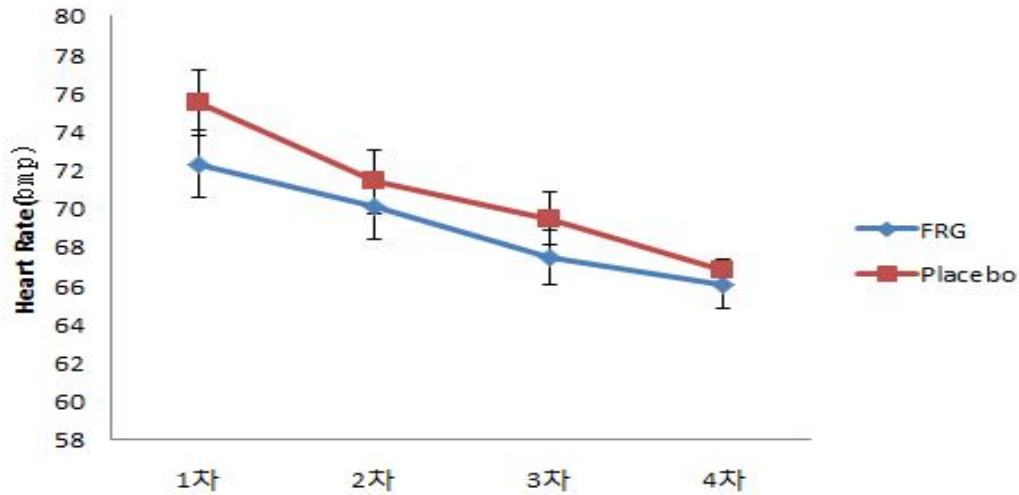


그림 77. 심박수 변화

Mean±SD, p<.05 level. *: significantly different from placebo group.

나. 운동 능력 변화 결과

1) 안정 시 심박수

배구선수와 육상선수 22명을 대상으로 한 운동능력 측정 실험에서 피험자들의 안정 시 심박수의 변화는 <표 18>, <그림 78>과 같다. 발효홍삼을 섭취한 그룹과 placebo 그룹간의 상호작용은 없었고, 그룹간의 차이도 없게 나타났지만, 검사간에 1차와 2차 측정 사이에 통계적으로 유의한 감소가 나타났다(p<.05).

표 18. 심박수의 변화(bpm)

Variable	Group	pre	mid	post	Sig.
HR	FRG	63.2±2.55	66.0±2.58 ^a	59.2±2.30 ^a	T:0.006**
	Placebo	65.2±2.55	66.8±2.58	62.8±2.30	T×G:0.660 G:0.513

Mean±SE, *p<.05, **p<.01, ***p<.001 level.

Same alphabet indicate significant difference by LSD.

T:time; G:group; T×G:interaction. FRG: fermented red ginseng.

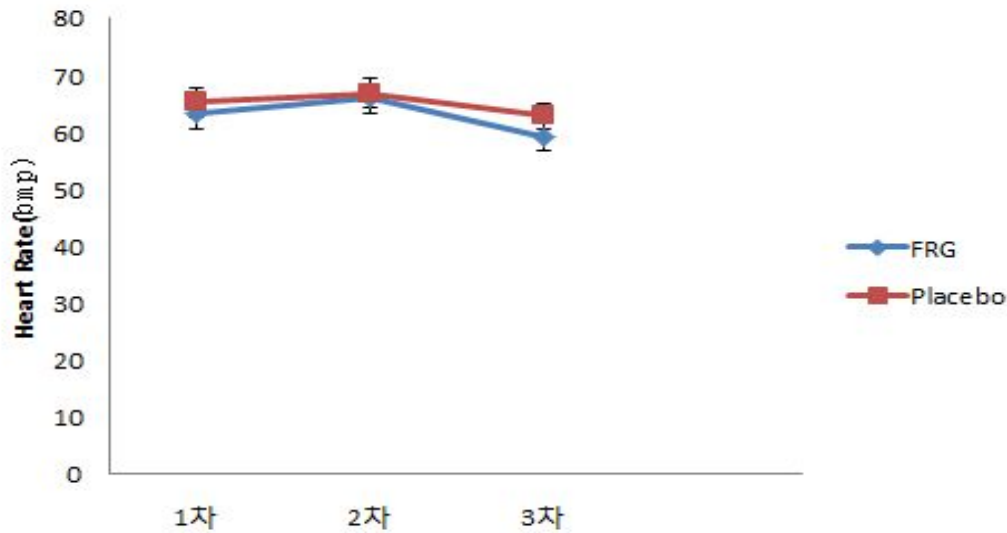


그림 78. 심박수 변화.

Mean±SD, p<.05 level. *: significantly different from placebo group.

2) 안정 시 젖산 농도

배구선수와 육상선수 22명을 대상으로 한 운동능력 측정 실험에서 피험자들의 안정 시 젖산 농도의 변화는 <표 19>과 같다. 발효홍삼을 섭취한 그룹과 placebo 그룹간의 상호작용, 그룹 간 및 처치 간에서 모두 통계적인 유의차가 나타나지 않았다(p<.05).

표 19. 젖산 농도 측정 (mg/dL)

Variable	Group	pre	mid	post	Sig.
Lactate	FRG	0.53±0.11	0.50±0.13	0.51±0.31	T:0.380 T×G:0.728 G:0.876
	Placebo	0.52±0.15	0.49±0.17	0.53±0.09	

Mean±SE, *p<.05, **p<.01, ***p<.001 level.

Same alphabet indicate significant difference by LSD.

T:time; G:group; T×G:interaction. FRG: fermented red ginseng.

3) 무산소성 운동능력

배구선수와 육상선수 22명을 대상으로 한 운동능력 측정 실험에서 피험자들의 무산소성

운동능력의 변화는 <표 20>와 같다. 민첩성의 척도로 본 reaction time 테스트에서 발효홍삼을 섭취한 그룹과 placebo 상호작용 효과와 그룹간의 유의적 차이는 없었고, 측정 간에 차이만 유의하게 나타났다($p<.05$). 순발력과 관련하여 30m dash와 60m dash 결과에서는 상호작용 효과는 나타나지 않았으며, 측정 간에 차이만 유의하게 나타났다($p<.05$), 또 하나의 순발력 관련 측정 변인인 sargent jump 결과는 측정간의 유의한 차이만 나타났다($p<.05$). 최대 근력 테스트를 위한 측정 변인인 leg press와 lat pull down 테스트는 측정 간에 통계적으로 유의한 차이만을 보였다($p<.05$). 근 지구력 관련 측정 변인인 sit-up 테스트의 결과에서는 그룹 간 그리고 측정 간에 각각 통계적으로 유의한 차이를 나타냈지만, 상호작용 효과는 없었다($p<.05$).

표 20. 무산소성 운동능력시험

Variables	Group	pre	mid	post	Sig.
Reaction time (sec)	FRG	211.4±14.80 ^a	183.0±10.40 ^{ab}	163.3±10.75 ^{ab}	T:0.000 ^{***}
	Placebo	189.4±14.80 ^a	170.9±10.40	157.6±10.75 ^a	T×G:0.257 G:0.399
30m dash (sec)	FRG	4.58±0.07 ^a	4.61±0.06 ^b	4.40±0.07 ^{ab}	T:0.000 ^{***}
	Placebo	4.61±0.07	4.61±0.06 ^a	4.48±0.06 ^a	T×G:0.754 G:0.605
60m dash (sec)	FRG	8.09±0.14 ^a	8.20±0.14 ^a	8.04±0.13	T:0.042 [*]
	Placebo	8.06±0.12	8.17±0.12	8.11±0.12	T×G:0.479 G:0.979
Sargent jump (cm)	FRG	58.6±3.10 ^a	61.56±2.91 ^a	62.31±3.12	T:0.020 ^{**}
	Placebo	56.9±3.10	57.87±2.90	58.25±2.12	T×G:0.248 G:0.463
Leg press (kg)	FRG	207.3±63.64	non	252.0±73.13	T:0.000 ^{***}
	Placebo	190.3±45.11 ^a	non	252.00±45.41 ^a	T×G:0.457 G:0.721
Lat pull down (kg)	FRG	184.5±35.15	non	191.7±31.5	T:0.005 ^{**}
	Placebo	171.7±33.23 ^a	non	200.5±52.7 ^a	T×G:0.072 G:0.905
Sit-up (count)	FRG	33.8±0.98 ^{ab}	35.1±0.92 ^{ac}	37.4±0.90 ^{bc}	T:0.000 ^{***}
	Placebo	31.0±0.98 ^{ab}	32.4±0.92 ^{ac}	34.7±0.90 ^{bc}	T×G:0.992 G:0.033 [*]

Mean±SE, * $p<.05$, ** $p<.01$, *** $p<.001$ level.

Same alphabet indicate significant difference by LSD.

T:time; G:group; T×G:interaction. FRG: fermented red ginseng.

4) 유산소성 운동능력

배구선수와 육상선수 22명을 대상으로 한 운동능력 측정 실험에서 피험자들의 유산소성 운동능력의 변화는 <표 21>와 같다. 유산소적 능력 측정의 변인으로 shuttle-run 테스트를 실시한 결과 그룹과 측정 간에 상호작용 효과가 유의하게 나타났다($p < .05$). 즉 발효홍삼의 섭취 그룹에서 1차 측정과 2차 측정 사이에 그리고 2차와 3차 측정 사이에 통계적으로 유의한 증가를 보였다.

표 21. 유산소적 운동능력 검사

Variable	Group	pre	mid	post	Sig.
20m shuttle run	FRG	109.3±4.76 ^{ab}	117.8±5.23 ^{ac}	126.4±5.68 ^{bc}	T:0.000 ^{***}
	Placebo	109.7±4.76	114.1±5.23 ^a	116.8±5.68 ^a	T×G:0.033 [*] G:0.514

Mean±SE, * $p < .05$, ** $p < .01$, *** $p < .001$ level.

Same alphabet indicate significant difference by LSD.

T:time; G:group; T×G:interaction. FRG: fermented red ginseng.

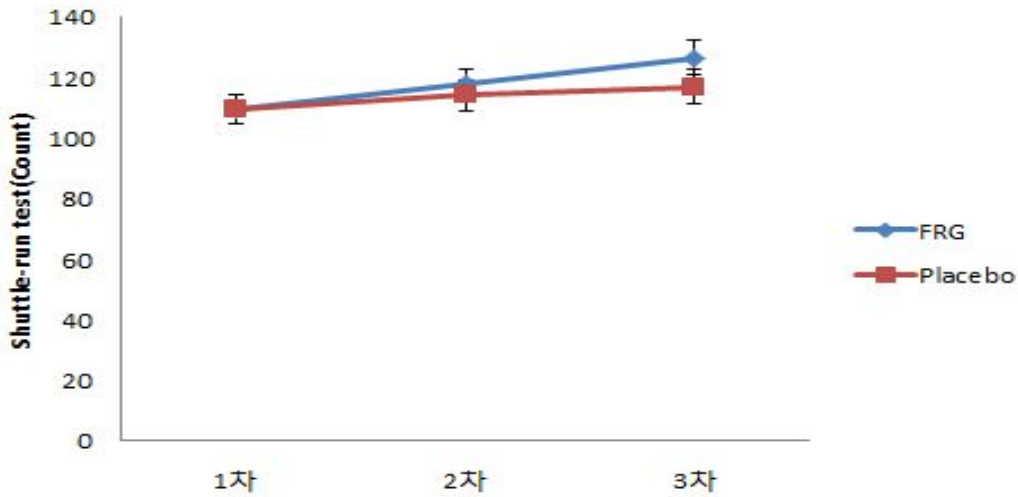


그림 79. 유산소적 운동능력 측정.

Mean±SD, $p < .05$ level. *: significantly different from placebo group.

5) 혈액 변인 분석

배구선수과 육상선수 22명을 대상으로 한 운동능력 측정 실험에서 피험자들의 항산화 능력을 나타내는 지표인 MDA, SOD, 간 기능 검사로서 간의 손상정도를 나타내는 SGOT, SGPT의 측정값은 <표 22>에 제시된 바와 같다. MDA는 두 그룹 간에 통계적으로 유의한 차이가 없었고(p<.05), SOD 역시 두 그룹 간에 통계적으로 유의한 차이가 없는 것으로 나타났다(p<.05). SGOT 값은 그룹 간 그리고 측정 간에 통계적으로 유의한 차이가 있었고 (p<.05), SGPT 값은 측정 간에 통계적으로 유의한 차이를 보였다(p<.05). 말초 피로 변인으로서의 CK농도는 그룹 간, 검사 간 그리고 상호작용 효과에 있어 통계적으로 유의한 차이가 나타나지 않았고(p<.05), 지질대사와 관련하여 TC는 검사 간 그리고 그룹 간에 통계적으로 유의한 차이를 보였지만(p<.05), TG는 주 효과와 상호작용 효과에서 모두 통계적으로 유의한 차이를 보이지 않았다(p<.05).

표 22. 혈액분석

Variables	Group	pre	mid	post	Sig.
MDA ($\mu\text{mol/L}$)	FRG	1.45 \pm 0.26	1.18 \pm 0.08	1.18 \pm 0.10	T:0.380
	Placebo	1.23 \pm 0.26	1.11 \pm 0.08	1.23 \pm 0.10	T \times G:0.728 G:0.876
SOD (U/mL)	FRG	2.89 \pm 0.57	2.51 \pm 0.48	2.87 \pm 0.46	T:0.380
	Placebo	2.80 \pm 0.54	2.64 \pm 0.45	2.84 \pm 0.43	T \times G:0.728 G:0.876
SGOT (U/L)	FRG	29.1 \pm 1.94 ^a	25.2 \pm 1.75 ^a	28.1 \pm 1.88	T:0.020*
	Placebo	22.5 \pm 1.94	20.0 \pm 1.75	22.7 \pm 1.88	T \times G:0.814 G:0.020*
SGPT (U/L)	FRG	13.6 \pm 1.50 ^a	14.5 \pm 1.10 ^b	18.7 \pm 1.48 ^{ab}	T:0.000***
	Placebo	14.1 \pm 1.50	13.2 \pm 1.10 ^a	16.2 \pm 1.48 ^a	T \times G:0.184 G:0.527
CK (U/L)	FRG	429.9 \pm 79.52	318.5 \pm 73.12	367.3 \pm 83.52	T:0.135
	Placebo	349.6 \pm 79.52	218.8 \pm 73.12	339.6 \pm 83.52	T \times G:0.827 G:0.437
TC (mg/dL)	FRG	181.4 \pm 6.63 ^a	180.0 \pm 7.30 ^b	164.0 \pm 7.96 ^{ab}	T:0.001**
	Placebo	159.6 \pm 6.63	152.8 \pm 7.30	148.1 \pm 7.96	T \times G:0.331 G:0.034*
TG (mg/dL)	FRG	62.0 \pm 4.11	94.1 \pm 14.82	78.7 \pm 7.15	T:0.06
	Placebo	58.2 \pm 4.11	81.5 \pm 14.82	62.9 \pm 7.15	T \times G:0.751 G:0.303

Mean \pm SE, *p<.05, **p<.01, ***p<.001 level.

Same alphabet indicate significant difference by LSD.

T:time; G:group; T \times G:interaction. FRG: fermented red ginseng.

3. 논 의

발효홍삼은 인삼의 효능을 유지하며, 이에 더하여 일부 생리활성 성분의 함량이 증가된 홍삼의 소화 흡수상의 문제점을 개선하고자 개발된 것으로 발효홍삼은 최근 건강 보조 식품으로서 각광 받고 있다. 하지만 이와 함께 발효홍삼으로 가공하기 전 상태인 일반홍삼의 부작용으로 발열증이 대두되고 있고, 이러한 이유로 그 효능만큼의 인정을 받지 못하고 있는 실정이다. 그리고 발효홍삼은 최대 산소섭취량을 증가시키고, FFA의 산화 능력을 향상시키며, 근육 내 미토콘드리아 대사 활성을 증가시킨다는 보고가 있지만 아직 운동선수들을 위한 에르고제닉 에이드로서의 가치는 인정받지 못하고 있는 실정이다. 이에 본 연구는 일반인을 대상으로 일반홍삼 및 발효홍삼의 일회성 섭취에 따른 인체 반응으로서 체내의 사포닌의 흡수 동태 및 체표면 온도와 혈류의 흐름, 심박수의 변화를 확인해 보고, 이 일반홍삼의 특별한 가공을 거친 형태인 발효홍삼의 장기간 섭취에 따라 운동선수에 무산소적, 유산소적으로 효과가 있는 에르고제닉 에이드 인지를 확인해 보고자 실시하였다. 이와 함께, 운동선수에 필요한 항산화 효과와 간기능, 그리고 피로 변인으로서 CK변화를 확인해 보고 지질대사에 대한 효과를 분석하였다. 분석한 변인들의 결과에 대한 논의는 다음과 같다.

가. 인체 반응

1) 사포닌의 체내 흡수 동태

발효홍삼과 일반홍삼의 섭취에 따른 사포닌 흡수 동태를 확인하여 본결과 일반적으로 major 사포닌이 체내에서 장내 미생물에 의하여 가수분해 되어 최종적으로 흡수 된다고 알려진 C-K의 흡수가 큰 차이가 있는 것으로 확인 되었다. 일반적으로 장내의 미생물 군집에 따라 사포닌의 전환이 일어나고 이 사포닌들이 체내로 흡수되어 인삼의 약리작용이 일어난다고 하지만 개개인의 미생물 군집과 소화능력이 달라 사람마다의 편차가 일어나게 되고 더불어 일부의 경우 사포닌의 전환 능력이 떨어져 minor 사포닌으로의 전환이 거의 일어나지 않는다. 따라서 이러한 사람의 경우 자연히 사포닌의 이용률이 떨어지게 된다. 하지만 발효홍삼을 섭취 하였을 경우, 발효라는 과정을 통하여 홍삼의 사포닌을 인위적으로 minor화 하게 되고 사람들은 minor화 된 사포닌을 흡수하게 됨으로써 장내에서 사포닌 전환이 불필요하게 된다. 따라서 소화능력 및 장내미생물의 사포닌 전환 능력이 떨어지는 사람들 까지도 비교적 사포닌 흡수가 용이하게 된다는 장점이 있다. 실제 본 연구에서 확인하여 본 결과 C-K의 흡수가 발효홍삼의 경우 2시간, 일반홍삼의 경우 12시간의 최대치를 기록하여 발효홍삼의 흡수가 훨씬 빠른 것으로 확인 되었으며 더불어 흡수량도 발효홍삼이

월등히 높았음을 확인 할 수 있었다. 특히, 흡수율이 낮은 하위 5명의 그룹을 비교 확인해보면 일반홍삼군에서 거의 흡수하지 못하지만 발효홍삼을 섭취하였을 때는 일반홍삼에 비하여 흡수가 잘 되는 것으로 확인 되어 발효홍삼이 실제 일반홍삼보다 흡수율이 일반 홍삼에 비하여 높으며 개인적 흡수 편차가 상대적으로 적어 대부분의 사람들에게 흡수를 쉽고 빠르게 해주게 하는 장점이 있는 것으로 사료된다.

2) 체표면 온도의 변화

적외선 체표면 온도 측정 장비를 이용한 일반홍삼 섭취에 따른 체온 변화 양상을 확인하고자 실시된 본 실험에서 일반홍삼 섭취 그룹과 placebo 섭취 그룹 간 그리고 처치 간의 상호작용 효과는 없었다($p < .05$). 하지만 같은 그룹 내에서는 섭취 후 30분까지 체온이 상승되고 그 이후 체온이 일정 수준까지 하강하는 곡선을 보였다. 이는 발효홍삼과 placebo 섭취에 의한 식이성 발열이 발생한 것으로 생각된다.

홍삼 투여에 따른 체온 증가를 보고한 Kim 등(1995), Song 등(1997)의 연구와 고려인삼 섭취에 따른 체표면 온도의 감소를 보고한 Seo 등(2003)의 연구에서와 같이 선행 논문들과 같이 선행 연구들에서 발효홍삼 혹은 홍삼의 섭취에 따른 체온 변화는 통일된 결과를 내놓지 못하고 있고, 본 실험에서는 발효홍삼의 섭취에 따른 발열증은 통계적으로 유의한 증가나 감소를 보이지 않은 것으로 나타났다.

3) 혈류 속도의 변화

혈류 속도 측정 장비를 이용한 말초 혈류 측정의 결과 그룹 간 검사간의 상호작용 효과와 그룹 간, 검사 간에 통계적으로 유의한 증가나 감소가 나타나지 않았다($p < .05$).

나. 운동 능력 실험

1) 안정 시 심박수

현재 운동선수로 활동하고 있는 배구선수와 육상선수를 대상으로 8주간의 발효홍삼 복용 후 안정 시 심박수의 변화는 발효홍삼 그룹과 placebo 그룹 간에 유의한 차이는 나타나지 않았다. 이는 단순히 장기간의 발효홍삼의 섭취가 심장 근육의 강화나 심박수에 영향을 미치는 여러 요인들에 영향을 미치지 않는다는 것이라 생각된다. 실제로 Kim 등(2007)의 홍삼 투여에 따른 지구성 운동수행능력 연구에서도 홍삼의 장기간 섭취에 따른 심박수의 유의한 변화는 없는 것으로 보고되고 있다.

2) 안정 시 젖산 농도

피로의 판단 척도로 사용되는 인체의 젖산 농도는 8주간의 발효홍삼과 placebo 섭취에 따라 두 그룹에서 모두 통계적으로 유의한 차이를 보이지 않았다($p < .05$). 이는 발효홍삼의 장기적 섭취가 혈중 젖산 농도의 변화에 영향을 미치지 않음을 의미하는데, Kim 등(2007)의 연구에서 밝혀진 바로는 최대 운동 직후의 혈중 젖산 농도에서는 홍삼의 투여에 따라 통계적으로 유의한 감소를 보인 것으로 보고되고 있다. 이는 운동 중 축적되는 젖산의 생성은 홍삼의 특정 유효성분의 영향으로 감소되지만 안정 시 젖산의 농도에는 영향을 미치지 않는 것으로 생각된다.

3) 무산소성 운동 능력

현직 대학 운동선수를 대상으로 한 운동능력 측정 실험에서 무산소성 운동능력 중 민첩성의 척도로 본 reaction time 테스트에서는 그룹간에 통계적으로 유의한 차이를 보이지 않았다($p < .05$). 하지만 두 그룹 모두에서 감소하는 경향성을 보이는데, 이는 평소 접하지 못하던 반응시간 테스트에 대한 반복 측정에 따른 적응으로 사료된다.

순발력의 변화를 알아보기 위한 테스트인 30m dash, 60m dash 시간의 변화는 통계적으로 유의하지 않았다($p < .05$). 그리고 또 하나의 순발력 측정 변인인 sargent jump 테스트는 통계적으로 유의한 차이를 보이지 않았다($p < .05$). 이상의 순발력 관련 변인의 통계결과는 발효홍삼의 섭취가 순발력 향상에 도움이 되지 않는다는 것을 보여주고 있으나 무산소성 트레이닝과 함께 연구를 진행한다면 의미 있는 결과가 나올 것으로 생각된다.

최대 근력의 변화를 확인하기 위한 변인인 leg press와 lat pull down 테스트 모두에서 통계적으로 유의한 차이는 발견되지 않았다($p < .05$). Yoon 등(2008)의 연구에서도 이와 같은 결과를 보였는데, 8주간의 무산소성 트레이닝을 함께한 홍삼 섭취 그룹과 트레이닝과 placebo를 섭취한 그룹에서 통계적으로 유의한 증가를 보였지만, 홍삼만을 섭취한 그룹에서는 증가하는 경향성만을 보였다. 이에 Yoon 등(2008)은 이를 홍삼 섭취에 따른 근력의 증가라고 설명하기는 어려우며, 트레이닝에 따른 효과라고 설명하였다.

최대 근력은 ATP-PCr 시스템 및 무산소성 해당과정을 통한 10~30초 간의 최대 근력 발휘 능력을 말하는데, 본 연구에서는 발효홍삼 섭취 그룹과 placebo 그룹 모두에서 통계적으로 유의한 차이가 없는 것으로 나타났으며, 이를 통해 발효홍삼의 성분들은 최대 근력과 관련된 에너지 동원 체계에 영향을 미치지 않는 것으로 사료된다.

근 지구력과 관련된 측정 변인으로 실시된 sit-up 테스트에서 역시 그룹과 측정간에 상호작용 효과가 없는 것으로 나타났다($p < .05$).

본 연구에서 무산소성 운동능력의 변인으로 측정된 대부분의 값들이 통계적으로 유의한 차이가 없음을 확인하였다. 이는 발효홍삼의 성분이 직접적으로 무산소성 에너지 시스템 또는 근육 또는

운동 단위에 긍정적 영향을 미치지 않음을 간접적으로 보여주고 있는 것이다. 하지만, 장기간의 발효홍삼 복용과 함께 무산소성 트레이닝이 이루어질 경우 무산소성 트레이닝만이 이루어진 집단에 대해 더 향상된 효과를 볼 수 있을 것이라는 것이 이미 선행 연구들에서 제시되어지고 있다. 따라서 무산소성 트레이닝을 동반한 발효홍삼의 섭취 효과에 대한 추가적 연구가 필요하다고 사료된다.

4) 유산소성 운동능력

현직 대학 운동선수를 대상으로 한 운동능력 측정 실험에서 유산소성 운동능력은 Leger & Lambert(1982), Leger & Gadoury(1989), Stickland et al.(2003), Cooper et al.(2005) 등의 연구를 통해 최대산소섭취량과의 관련성을 검증받았고, 유산소적 운동 능력을 평가할 수 있는 지표로 널리 사용되고 있는 shuttle-run 테스트를 통해 측정되었다.

통계 결과에서 두 그룹간의 상호작용 효과가 확인되었고, 이는 검사의 주효과에 의한 것으로, 발효홍삼을 섭취한 집단에서 3회 측정 모두에서 통계적으로 유의한 증가를, placebo 집단에서는 2차와 3차 측정 사이에서 통계적으로 유의한 증가를 보였으나($p < .05$) 그룹간의 차이는 확인되지 않았다. 이미 많은 선행 연구에서 홍삼의 섭취가 최대 하 운동수준에서 골격근에 글리코겐 이용을 억제하고, FFA(free fatty acid)의 산화능력을 증가시키고, 혈중 헤모글로빈 농도를 증가시키고, 근육 내 미토콘드리아 대사 활성을 증가시키는 등 유산소성 운동 수행 능력과 관련된 요인에 긍정적인 영향을 줄 수 있다고 보고되어 있다. 본 연구에서도 그룹 간의 통계적 유의차는 확인되지 않았지만 각 그룹의 유산소성 운동능력의 측정에 따른 증가양상에 있어, placebo 그룹 보다 발효홍삼 섭취 그룹의 증가율이 더 큰 것을 <그림 57>를 통해 확인 할 수 있다. 따라서, 발효홍삼의 섭취는 유산소적 운동능력의 향상에 긍정적인 영향을 미친다고 사료된다.

5) 혈액 변인 분석

발효홍삼 섭취 그룹과 placebo 그룹의 혈액에 대한 분석은 항산화 능력의 지표인 MDA와 SOD, 간기능의 지표인 SGOT와 SGPT, 말초 피로 변인인 CK, 지질대사와 관련된 TC와 TG가 각각 분석되었다.

먼저 항산화 능력의 지표인 MDA는 두 그룹 모두에서 통계적 유의차가 없게 나타났고, SOD 역시 통계적 유의차가 없게 나타났다($p < .05$). 하지만 지질과산화의 최종산물인 MDA는 발효홍삼 섭취 그룹에서 감소하는 경향을 보였다. 김경현 등(2000)의 연구에서 홍삼의 섭취가 항산화 효소 활성을 증가시키고 지질과산화를 억제한다는 보고가 있었고, 김동조 등(2004), 이종원 등(2005)의 많은 연구에서 항산화 효과가 있는 것으로 확인된 바 있다. 하지만 본 연구에서와는 달리 특정 성분들만을 추출하여 특정 성분의 효과를 확인한 실험들로 본 연구에서 사용된 발효홍삼

과는 성분 구성에 있어 차이가 있고, 이에 따라 다른 결과를 보인 것으로 생각된다.

간의 손상정도를 나타내는 척도인 SGOT와 SGPT는 본 연구에서 모두 통계적으로 유의한 상호작용 효과는 확인되지 않았으나, 이와 관련된 선행 연구들에서는 지질대사의 촉진과 함께 간 기능을 증진 시킨다고 보고되고 있다. 송용범 등(2008)의 연구에서는 고콜레스테롤 혈증이 유발된 마우스에서 간의 지질대사 및 간 기능을 증진시킴으로써 비만의 식이요법 및 고콜레스테롤 혈증에 유용할 것이라고 보고되고 있다.

말초 피로의 변인으로서의 CK 농도는 통계적으로 유의한 변화가 나타나지 않았다($p < .05$). 과도한 운동에 의한 피로 현상으로 혈청 효소인 CK가 증가하는 경향을 볼 수 있는데, 이 효소는 에너지 대사에 관여하는 중요한 효소로 장기간 운동 시 근세포의 손상에 의해 혈청 농도가 증가한다(Kanter et al., 1998; Clarkson & Hubal, 2002). 본 연구에서 측정된 항목들은 선행 논문들이 말하고 있는 과도한 운동과는 거리가 있다. 따라서 기존 연구들과 같은 CK의 통계적 유의차가 발생하기에는 어려웠다고 보여진다.

앞서 제시한 항산화, 간기능, 말초 피로등과 함께 체내 지질대사에 미치는 영향도 살펴보았다. TC와 TG 모두 통계적으로 유의한 상호작용 효과가 나타나지 않았고($p < .05$), TC 수치만 측정간에 발효홍삼섭취 그룹과 placebo 그룹 모두에서 감소하는 경향을 보였다.

4. 결 론

본 연구는 30명의 피시험자를 대상으로 일반홍삼과 발효홍삼의 섭취 시 일어나는 인삼 사포닌의 흡수 동태를 확인해 보았으며 더불어, 20대 대학생 40명을 대상으로 일반홍삼 섭취에 따른 심박수, 체표면 온도, 말초 혈류 속도의 변화를 확인해 보고, 20대 현직 대학생 운동선수를 대상으로 발효홍삼의 섭취에 따른 안정 시 심박수, 젖산 농도, 무산소적, 유산소적 운동능력을 여러 가지 측정 변인을 통해 파악해 보고, 혈액 변인 분석을 통해 항산화 능력과 간기능의 변화를 확인하고 더불어 지질 대사에 미치는 영향을 확인해 보고자 하였으며, 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. 발효홍삼과 일반홍삼의 섭취에 따른 인삼 사포닌의 체내 흡수율을 비교한 결과 발효홍삼 섭취군에서 일부 인삼의 minor사포닌의 흡수가 유의적으로 증가하였다.
2. 발효홍삼의 섭취군에서는 일반홍삼 섭취군에 비하여 minor 사포닌 흡수의 편차가 적어 소화능력이 떨어지는 사람들까지도 사포닌 흡수가 용이 할 수 있을 것이라 추측된다.

3. 일반홍삼은 일반 대학생의 체온, 혈류 속도, 심박수에 통계적으로 유의한 변화를 일으키지 않는 것으로 나타났다.
4. 발효홍삼은 운동선수의 안정 시 심박수와 안정 시 젖산 농도에 통계적으로 유의한 차이를 주지 않은 것으로 나타났다.
5. 발효홍삼은 운동선수의 무산소적 운동 능력 중 순발력, 최대 근력, 근 지구력 등에 있어 증가하는 경향이 나타났다.
6. 발효홍삼은 운동선수의 유산소적 운동 능력에 있어 통계적으로 유의한 증가가 나타났다.
7. 발효홍삼의 섭취는 항산화 효과, 간기능, 말초피로, 지질대사 등에 통계적으로 유의한 영향을 미치지 않은 것으로 나타났다.

이상의 결과를 종합해 볼 때, 발효홍삼은 일반 홍삼의 섭취에 비하여 사포닌을 분해하지 못하는 사람들에게 사포닌의 체내이용률을 높일 수 있을 것으로 사료된다. 일반홍삼의 섭취는 인체에 부정적인 영향으로 언급된 발열증을 유도하지 않았고, 심박수의 증가도 일으키지 않았지만, 말초 혈액 순환 개선의 효과는 보이지 않았다. 그리고 에르고제닉 에이드로서의 발효홍삼은 무산소적 운동능력에서는 효과를 보이지 않았지만, 근지구력과 유산소성 운동능력에 있어 효과를 보인 것으로 나타났다. 그러나 보다 확실한 결론을 얻기 위해서는 실험에 있어서 보다 확실한 개개인에 대한 통제가 이루어 져야 하고, 운동효과와 관련하여 발효홍삼 섭취와 함께 트레이닝을 병행하고, 이에 따른 장·단기간 투여 효과와 함께 다양한 대상자들을 고려한 지속적인 연구가 이루어 져야 할 것이라 사료된다.

고려인삼 체열반응 홍보를 위한 홍보 다큐멘터리 제작 및 방영

제작기간: 2010. 9 ~ 2011. 9

방영: MBC

고려인삼은 과연 열을 내는가?

대전MBC 창사47주년특별기획
고려인삼은 화를 내지 않는다

Q1 고려인삼의 부작용에 대해 들어본 적 있나?

아니오	예
87명	157명

총 244명(중국, 홍콩, 베트남)

Q2 고려인삼의 부작용은 무엇인가?

열 많은 사람, 동남아 사람의 열을 더욱 높인다.	88명
심장병, 고혈압 환자들에게 위험하다.	63명

총 244명(중국, 홍콩, 베트남)

신본농초경 B.C.202 - A.D.28	味甘 / 微寒	맛이 달며 약간 차다
명의별록 A.D.29 - 280	味甘 / 微溫 / 無毒	맛이 달고 따뜻하며 독이 없다
본초강목 1590	味甘 / 微寒	맛이 달며 약간 차다
본초비요 1694	生凉苦 / 熟溫甘	생것은 차고 쓰며 찌는 것은 따뜻하며 달다
동의보감 1611	味甘 / 微溫 / 無毒	맛이 달고 따뜻하며 독이 없다

체표온도변화

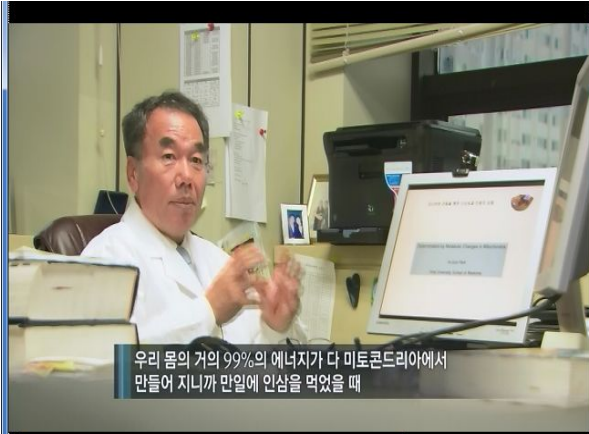
0분 30분 60분

체온의 변화 (24시간 평균 체온)

Group	Average Body Temperature (°C)
PBS	~37.0
백삼	~36.5
홍삼	~36.5
화기삼	~36.5



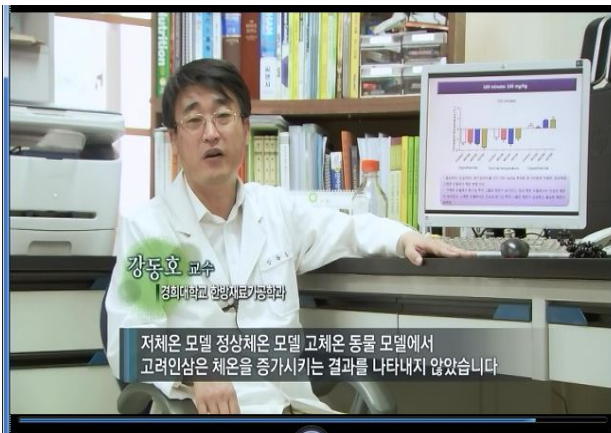
전희숙 교수
가천의과학대학교
지금까지 실험한 결과로는 체내에 온도를 실시간으로 측정해 봤을 때



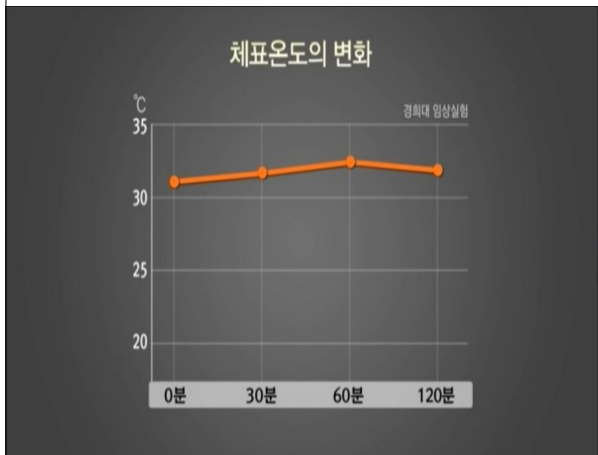
박인선 교수
인하대학교 약리학과
가장 기초적인 차원에서는 화기삼이나 고려인삼이나 에너지에 어떤 대사 작용에서는 전혀 차이를 보이고 있지 않은 거죠



최광태 교수
고려인삼학회
고려인삼을 복용하게 되면 열을 올려서 좋지 않다



강동호 교수
경희대학교 한방치료가학과
저체온 모델 정상체온 모델 고체온 동물 모델에서 고려인삼은 체온을 증가시키는 결과를 나타내지 않았습니다



특집다큐멘터리 '고려인삼은 화를 내지 않는다' 방송내용 3개국어로 제작

한국어 : 고려인삼은 화(火)를 내지 않는다
표지모습



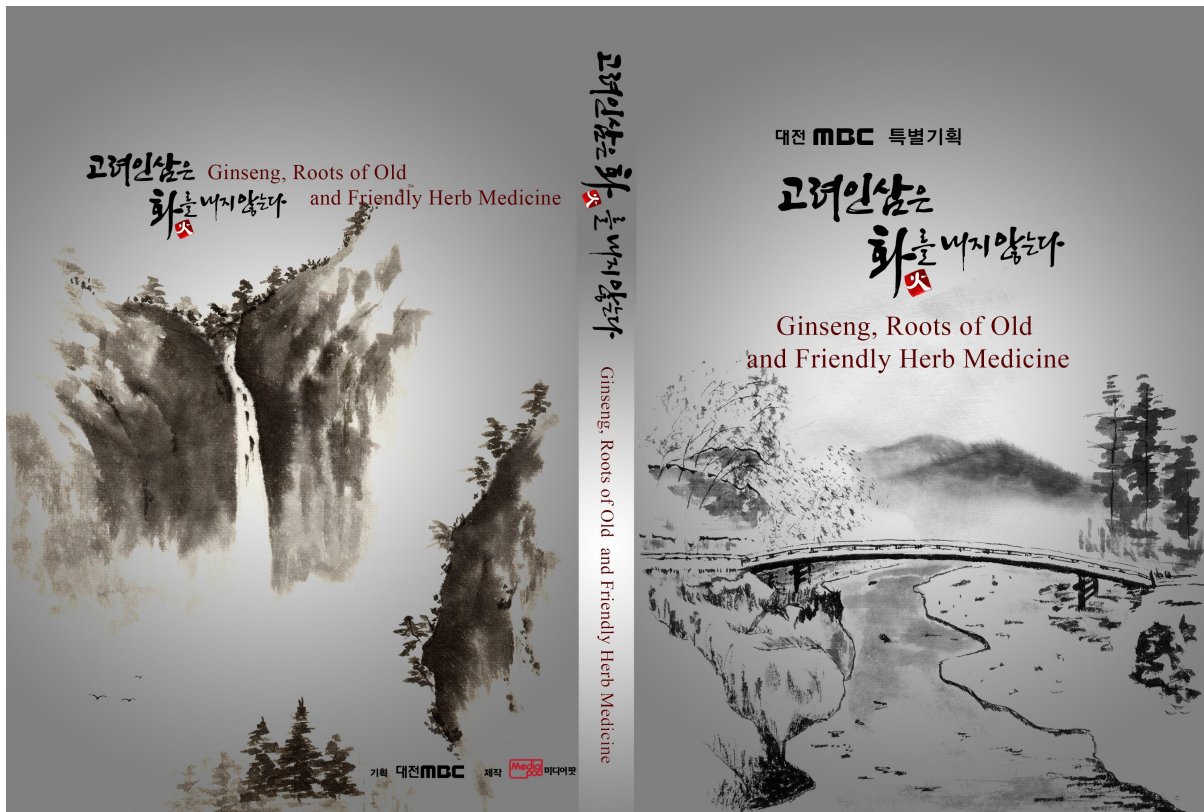
제작

DVD 양면

베트남어 : 더빙 및 자막처리 (고려인삼은 화(火)를 내지 않는다)
표지모습



영어 : 자막처리 (Ginseng, Roots of old and friendly herb medicine)
표지모습



특집다큐멘터리'고려인삼은화를내지않는다'방송내역

방송국명	프로그램명	방송일자	방송시간	분량	비고
대전MBC	특별기획 고려인삼은 화를 내지 않는다 (본방송)	2011년 9/15(목)	23:05-24 :00	55분	지역방송
대전MBC	고려인삼은 화를 내지 않는다 스페셜 (재방송)	2012년 4/26(목)	08:30-09 :35	65분	지역방송
MBC	MBC네트워크 특선 고려인삼은 화를 내지 않는다	2012년 9/10(월)	14:55-15 :50	55분	전국방송
전주MBC	특집다큐 고려인삼은 화를 내지 않는다	2011년 10/31 (월)	18:50-19 :45	55분	지역방송
목포MBC	특집다큐 고려인삼은 화를 내지 않는다	2011년 11/6(일)	15:00-16 :00	60분	지역방송
제주MBC	특집다큐 고려인삼은 화를 내지 않는다	2011년 11/13 (일)	08:25-09 :25	60분	지역방송
광주MBC	특집다큐 고려인삼은 화를 내지 않는다	2011년 12/4(일)	13:50-14 :50	60분	지역방송
춘천MBC	특집다큐 고려인삼은 화를 내지 않는다	2011년 10/6(목)	18:50-19 :45	55분	지역방송
청주MBC	특집다큐 고려인삼은 화를 내지 않는다	2011년 10/16 (일)	13:10-14 :00	50분	지역방송
울산MBC	특집다큐 고려인삼은 화를 내지 않는다	2011년 9/28(수)	11:00-12 :00	60분	지역방송
국회방송	NATV 특선다큐 고려인삼은 화를 내지 않는다 (본방송)	2013년 2/4(월)	06:00-06 :50	50분	전국방송 (케이블)
	NATV 특선다큐 고려인삼은 화를 내지 않는다 (재방송)	2013년 2/5(화)	23:00-23 :50	50분	전국방송 (케이블)
	NATV 특선다큐 고려인삼은 화를 내지 않는다 (재방송)	2013년 2/7(목)	01:00-01 :50	50분	전국방송 (케이블)
	NATV 특선다큐 고려인삼은 화를 내지 않는다 (재방송)	2013년 2/7(목)	14:00-15 :00	60분	전국방송 (케이블)
	NATV 특선다큐 고려인삼은 화를 내지 않는다 (재방송)	2013년 2/7(목)	20:30-21 :25	55분	전국방송 (케이블)
	NATV 특선다큐 고려인삼은 화를 내지 않는다 (재방송)	2013년 2/9(토)	13:00-13 :50	50분	전국방송 (케이블)

KBS 생로병사의 비밀

2011. 7. 2

KBS 생로병사의 비밀

生老病死
생로병사의 비밀

인삼 섭취 후 나타나는 체온 변화

출처 : 대구한의대 한의과대학

기간	백 삼	홍 삼
0주	36,503	36,594
2주	36,522	36,659
4주	36,572	36,556

안덕춘 교수 | 경희대학교 상림과대학

인삼은 혈류량을 증가시켜서 혈액순환을 왕성하게 하며
신진대사를 촉진해서 우리 몸에 에너지를 공급하게 됩니다

인삼의 효능이 작용하면서 일시적으로 나타나는
명현현상이라고 할 수 있습니다

열이 많은 사람에게 인삼이
해롭다는 근거는 없다

정중환씨 적외선 체열 검사

Date: 20110622 Time: 13:23:57

인삼 섭취 전

Date: 20110622 Time: 15:37:26

인삼 섭취 후

고려인삼 해외 홍보 -베트남 하노이 관련 사항

1. 2012/12/6-8 : 베트남 하노이
2. 경남 칼리다스 호텔 1층 특설전시장 상설상영
3. 3일간 매일 8회 (베트남어 자막) **총 24회 상영**
4. DVD 500개 제작 (베트남어 자막)-현지 VIP 선물로 증정

(베트남 식품부 장관관 및 정부 주요 인사, 인삼 관련 학자
관련 사업 대표 및 바이어)

2세부

고려인삼과 화기삼의 체열반응에 대한 베트남인, 중국인, 대만인 임상 연구(Clinical Trials on the Body Temperature Responses of Vietnamese, Chinese, and Taiwanese Administered Korean Ginseng and American Ginseng)

주관연구기관 : 경희대학교 체열반응 연구사업단 총괄책임자 양덕춘
연구책임자 : 경희대학교 체열반응 연구사업단 연구책임자 최광태
협동연구기관 :

1) 베트남

National Hospital of Traditional Medicine,
Hanoi, Vietnam
Dr. Tran Quoc Binh

2) 중국

School of Pharmacy, Shenyang
Pharmaceutical University, Shenyang, China
Prof. Changshan Sun

3) 대만

College of Chinese Medicine, China Medical University,
Taichung, Taiwan
Prof. Shung-Te Kao

목 차

1. 연구배경 및 목적
2. 해외 연구책임자, 연구기관 및 연구비
3. 시험제품
4. 피험자
5. 관찰항목 및 검사
6. 통계적 분석
7. 시험결과
 - 1) Vietnam
 - 2) China
 - 3) Taiwan
8. 외국인 대상 체열반응 임상시험의 종합결론

1. 연구배경 및 목적

고려인삼은 지난 90년 당시 수출물량이 1억달러 이상 기록했지만 이후 차츰 수출량이 떨어지기 시작하여 2006년도에는 220만 달러까지 곤두박질 쳤고 현재는 미국과 캐나다 등에서 재배되는 북미산 화기삼이 전체 판매량의 72.7%를 차지하며 시장을 휩쓸고 있다. 이는 고려인삼의 약성은 온(溫)하여 몸을 열을 나게 하고 북미지역의 화기삼은 약성이 량(涼)하여 열을 내리는 작용을 하기 때문에 더운 지역에 사는 동남아인에게 고려인삼이 부적당하다는 화기삼의 홍보전략 때문인 것으로 판단된다.¹⁾ 해외시장에서 널리 퍼져 있는 고려인삼과 화기삼 간의 열과 관련된 인식은 대개 경험적인 수준이며, 실제 사람을 대상으로 한 임상시험은 한국인과 중국인을 대상으로 고려인삼과 화기삼의 효능을 시험한 서정철 등²⁻⁴⁾의 연구와 혈압강하 효능을 비교한 조기호 등⁵⁾의 연구 이외에는 전무한 실정이다. 서정철 등의 연구에서도 복용기간이 4주로 비교적 짧고, 시험대상이 한국인과 중국인에만 국한되며, 열감에 관한 지표도 체열과 체온, 자각증상에만 국한되어 있다는 한계가 있다. 조기호 등의 연구에서도 한국인과 중국인 군이 구별되어 연구되지 않고 혈압에 미치는 영향만 연구된 한계가 있다. 따라서 고려인삼이 승열작용이 있어 더운 지역에 사는 동남아인에게 맞지 않는다는 화기삼의 판촉 홍보 전략에 대응하기 위해서는 한국인과 중국인, 동남아인을 대상으로 고려삼과 화기삼을 복용한 후에 체온, 체열, 심박변이도, 열감에 대한 자각 증상, 혈액 구성에 미치는 영향을 임상적으로 시험하여 체열반응에 미치는 영향에 대한 논리적이고 객관적인 근거자료를 마련하는 것이 시급한 현실이다.

본 임상시험의 최종 목적은 베트남인, 중국인, 대만인을 대상으로 홍삼분말과 인삼분말, 화기삼분말을 복용한 후에 체열반응에 미치는 고려인삼과 화기삼의 영향을 임상적 {활력징후(체온, 혈압, 맥박), 체열진단, 심박변이도(자율신경활성화) 및 설문지를 통한 자각 증상의 변화 등}으로 평가하여 인삼의 수요가 거대한 중국 시장과 동남아 시장에서 화기삼의 판촉전략에 대응할 수 있는 논리개발을 위한 객관적, 임상적 결과 자료를 마련하고자 한다.

2. 해외 연구책임자, 연구기관 및 연구비

2-1. Vietnam

Tran Quoc Binh, Ph.D
Director,
National Hospital of Traditional Medicine
29 Nguyen Binh Khiem Street, Ha Noi, Vietnam

Research Fund : Total US\$ 52,000

2-2. China

Prof. Changshan Sun
School of Pharmacy, Shenyang Pharmaceutical University
Wenhua Road 103#, Shenyang,110016 China

Research Fund : Total US\$ 55,000

2-3. Taiwan

Prof. Shung-Te Kao
College of Chinese Medicine, China Medical University
Taichung, Taiwan

Research Fund : Total US\$ 58,000

3. 시험제품

3-1. 제품의 성분 및 제형 등

	시험제품 1	시험제품 2	시험제품 3	위제품
성분 및 함량	한국산 4년근 인삼 분말 400mg	미국산 4년근 화기삼 분말 400mg	한국산 6년근 홍삼 분말 400mg	옥수수 전분 400mg
제형	연질캡슐			
투여방법	1회 5캡슐, 1일 2회 섭취			
저장방법	직사광선을 피해 서늘한 곳에 보관 또는 냉장보관			
유효기간	제조일로부터 2년			

3-2. 임상시험 제품의 보관 및 지급

임상시험에 사용한 제품은 시험의뢰자인 경희대학교 체열반응 연구사업단으로부터 제공받았으며, 피험자에게 지급하기까지 실온에서 직사광선을 피하여 서늘한 곳에 보관하였다. 시험제품은 선정된 피험자에게 4주간 복용할 용량과 5회분의 여유분을 각각 시험시작일, 4주째, 8주째 방문일에 지급하였다.

3-3. 임상시험에 사용된 제품의 포장 및 관리

임상시험용 제품(시험제품 및 위제품)은 경희대학교 체열반응연구사업단에서 제공하며, 피험자 1인이 복용할 4주분(28일분 + 여분6회분)을 플라스틱 용기에 담아 담당자(관리약사)에게 제공하고, 담당자는 이를 직사광선을 피해 서늘한 곳에 보관하였다. 그 중 1회분의 시험용 제품은 담당자가 날짜를 기입하여 시험 종료 후 6개월까지 보관하였다. 나머지 제품(28일분 + 여분 5회분)은 무작위배정 계획에 따라 배정번호 및 방문차수가 명시된 라벨을 부착하여 피험자가 병원 방문시 지급하여, 이 제품을 직사광선을 피해 서늘한 곳에서 보관하도록 계도하였다.

3-4. 시험 제품의 사용 방법

1) 시험제품의 복용방법

피험자는 시험제품 또는 위제품을 1일 2회(1회당 5캡슐씩), 아침과 저녁 식후 30분

에 적당량의 물과 함께 경구로 복용하였다.

2) 시험 제품의 복용기간

12주로 하였다.

3) 사용상의 주의사항

- 임신 및 수유 시 복용하지 말 것
- 소아의 손에 닿지 않게 할 것
- 피험자 외의 타인에게 복용시키지 말 것
- 복용 중 기도에 들어가지 않도록 주의하여 복용 할 것

4) 병용 금기 약물 또는 주의 식품

- 병용 금기 약물 : 혈압강하제, 혈당강하제, 스테로이드제, 갑상선질환치 료제, 골다공증치료제, 기타 호르몬제 등
- 병용 주의 식품 : 튀긴 음식 등 기름진 음식과 커피 등 소화 장애를 유발할 수 있는 음식, 인삼성분 포함 건강식품 등

4. 피험자

만 20세 이상 만 50세 미만의 성인 남녀를 대상으로 수행하였다.

4-1. 선정기준

- 1) 만 20세 이상 만 50세 미만의 건강한 남성 및 여성
- 2) 본 임상시험에 자의로 참여 결정하고, 시험 참가에 관하여 본인 또는 보호자가 동의서에 서명한 자
- 3) 시험기간 동안 추적 관찰이 가능한자
- 4) 피험자가 WASHOUT 조건에 부합하고 시험 중에 제한 기준을 따르는 데 동의한 자
- 5) 평소 인삼, 홍삼 등의 인삼성분 포함 건강식품을 복용하던 사람의 경우 7일간의 WASHOUT 기간을 둔 후에 제한 기준을 따르는 데 동의한 자.

5. 관찰항목 및 검사

5-1. 피험자 배경 및 병력

시험담당자는 방문 1에 피험자의 성명(이니셜), 성별, 나이, 생년월일, 신장, 체중, 직업, 이병기간 병력 및 기초질환, 가족력 및 과거력, 병용약제를 관찰하고 기록하였다.

5-2. 체표온도검사

시험담당자는 방문 1에 복용전, 복용 1시간후, 방문 2, 방문 3, 방문 4, 방문 5에 체표온도를 측정하여 기록하였다. 검사실은 외부로부터 빛과 열이 차단되고 습도가 낮으며 실내기류가 일정하고 항온상태(22-25℃)를 갖춘 곳에서 실행하였으며 피험자는 체표온도의 적응을 위하여 검사실 내에서 15-20분간 휴식을 취하였다. 검사전날에는 음주를 금하며 검사 2시간 전까지는 흡연이나 카페인 음료 등의 섭취를 피하였다. 검사장비는 적외선체열진단기DITI(Digital Infrared Thermal Imaging System(IBB-6000))를 이용하여 온도는 10군데 (인당, 수구, 전중, 중완, 권료 좌/우, 인영 좌/우, 운문 좌/우)의 체표온도를 측정하고, 계절적 온도차이 등의 외부적 인자의 간섭을 배제할 수 있는 복부와 얼굴의 온도차이 ($\Delta T = \text{중완의 온도} - \text{권료의 온도}$)를 기록하였다.

5-3. 뇌혈류속도 검사

시험담당자에 의하여 복용전, 복용 후 30분, 1시간, 2시간, 2주, 4주에 측정하여 기록하였다. 피험자는 의자에서 최소 5분간 안정하게 한 후 Laser Doppler Flow (PeriFlux System 5000)를 이용하여 혈류속도를 기록하였다.

5-4. 임상 증상 검사

시험담당자에 의하여 방문 1, 방문 2, 방문 3, 방문 4, 방문 5에 측정하여 기록하였다. 제품 복용후에 두통, 어지러움, 상열감, 상복부 불쾌감, 발진, 식욕부진, 소화불량, 설사, 변비, 불면, 입술건조, 가슴답답함, 헛바늘, 코피의 발생여부와 발생한 경우에는 그 정도를 경, 중, 심의 3가지 단계로 표기하여 기록하였다.

5-5 이상반응 평가

임상병리검사 및 기타 이상반응 발생여부으로써 피험자 방문 2, 방문 3, 방문 4, 방문 5 시 책임연구자 또는 시험담당자가 평가하였다. 단, 피험자 방문시가 아니더라도 이상 반응이 나타날 시 피험자는 책임연구자나 시험담당자에게 즉시 보고하는 것을 원칙으로 하였다.

임상시험용 제품 복용 후 비정상적 변화가 나타난 경우에는 임상시험용 제품과의 관련성을 평가하고 추적조사를 실시하였다.

5-6. 안전성 평가

피험자 방문 2, 방문 3, 방문 4, 방문 5 시 시험담당자가 피험자의 상태를 평가하여 이상반응여부와 이학적 검진 상태를 참고하여 총괄 안전도를 평가하였다.

6. 통계적 분석

통계분석은 PASW 20.0을 이용하여 분석하였다. 수치형(연속형) 자료의 경우 평균과 표준오차를 대푯값으로 사용하여 표현하였으며, 통계검정은 정규성 검정과 등분산 검정을 통해 가정이 부합되는 경우에는 모수적 방법인 ANOVA test를 이용하였다. 특히 반복측정된 자료의 경우에는 반복측정 분산분석(Repeated measure ANOVA test)을 실시하여 군간의 차이를 분석하였으며, 분산분석을 통해 인삼제품 군간의 차이가 있음이 확인된 경우에 한하여 사후검정으로 최소유의차검정(Least significant difference test)을 실시하여 차이를 보이고 있는 군을 확인하였다. 통계검정은 유의수준 5%에서 실시하였다.

7. 시험결과

각 국가별 시험결과는 보내온 Final Report를 중심으로 편집하였으며 그 내용은 다음과 같다.

1) 베트남

Comparative Clinical Trials on the Body Temperature Responses of Vietnamese Administered Korean Ginseng and American Ginseng

Tran Quoc Binh¹, TaThuThuy¹, Jin-Woo Min², Van-An Hoang², Kwang-Tae Choi², Deok-Chun Yang^{2*}

¹ The National Hospital of Traditional Medicine, Vietnam

² Korean Ginseng Center and Ginseng Resource Bank, Kyung Hee University, Yongin 449-701, Korea

ABSTRACT

Based on the theory of Ying–Yang, Korean ginseng has warm properties and induces heat, whereas American ginseng has cool properties and reduces heat. Therefore, American ginseng is preferred for people who live in warm climates like South–Eastern Asia. However, there has been no reliable evidence–based clinical research on the thermal effects of these two different types of ginseng. The aim of this study was to compare the thermal responses to intake of Korean ginseng and American ginseng in Vietnamese by monitoring vital signs (body temperature, blood pressure, pulse rate) and body heat. Results showed that administration of either type of ginseng did not produce any significant difference in body temperature responses in Vietnamese. In terms of blood pressure, Korean red ginseng lowered systolic blood pressure after two weeks, while American ginseng increased systolic blood pressure abruptly 1 hour after ingestion, and again 2 hours before the next scheduled dose. American and Korean white ginseng caused increases in diastolic blood pressure after 1 hour and four weeks, respectively. There was no change in diastolic blood pressure between subjects taking Korean red ginseng and placebo. Overall, adverse effects such as headache, epigastric discomfort, chest fullness, insomnia, dry lips and mouth, feeling of obstruction in the chest, and nasal bleeding were not found in most of the subjects after taking ginseng capsules. Several subjects experienced mild palpitation, heat sensation, constipation, and sores on the tongue. Taken together, there was no significant difference in body temperature in Vietnamese subjects after administration of either Korean ginseng or American ginseng.

Keywords: Korean ginseng, American ginseng, body temperature responses, heart rate variability (HRV), vital signs.

INTRODUCTION

Ginseng has a long history of medicinal use [1–4]. Today, ginseng preparations are amongst the most popular and best–selling herbal medicines worldwide [5]. They are employed for a broad range of conditions, sometimes without sufficient proof of their efficacy [6]. There is a clear distinction between Siberian (sometimes also called Russian) ginseng, *Eleutherococcus senticosus*, and Asian ginseng, *Panax ginseng*[7]. The genus *Panax* includes various species such as *Panax quinquefolius*(American ginseng) and *Panax japonicus*(Japanese ginseng)[5]. The range of ginsenosides contained in Korean *Panax ginseng* has been

reported to be larger than that in other species[2]. Ginseng is composed of 60% to 70% carbohydrates (including starch) and contains unique components such as ginseng saponin (ginsenoside), polyacetylene, aromatic compounds, acidic peptide, etc. [1].

Natural-dried ginseng is known as white ginseng, and red ginseng is made by steaming unpeeled, fresh ginseng. As it is processed into red ginseng, white ginseng will lose malonyl groups (malonyl-Rb1, malonyl-Rb2, malonyl-Rc, and malonyl-Rd) and glycosyl groups at the C-20 position. In addition, the hydroxyl group at the C-20 position can undergo isomerization into 20(S)-ginsenoside Rg3, 20(R)-ginsenoside Rh2, and 20(R)-ginsenoside Rh1, which are characteristic components of red ginseng [8]. When ginseng is taken, its protopanaxadiol ginsenosides will be converted into 20-O-D-glucopyranosyl-20(S)-protopanaxadiol (compound K) in the intestine by human intestinal bacteria[9, 10]. Various physiological and pharmacological effects of ginseng have been reported: general 'tonic', anti-fatigue, anti-stress, immune-modulator [11-13], antioxidant, recovery from inflammatory diseases, anti-aging, activation of brain function [14-16], improvement of mental performance [17,18], anti-cancer [19-21] and anti-metastatic effects [22], tumor-suppressing activity [23], anti-carcinogenic effects [24], antidiabetic activity [25-28], and reduction of hypertension [29, 30].

Traditional Chinese medicine (TCM) states that American ginseng can be effectively taken cold and, therefore, can function as a substitute for someone who cannot take a hot tonic of Korean ginseng. Most people do not agree with this statement [31]. The assumption that Korean ginseng has warm properties and thus induces heat compared to American ginseng, which has a cool properties and reduces heat, is based solely on empirical evidence. There has been no reliable evidence-based clinical research on the thermal effects of these two ginseng types. Although there has been some research by The Korean Society of Ginseng and The Korea Association of Herbology, more advanced and extensive evidence-based research is required to test these assumptions regarding Korean ginseng and American ginseng.

MATERIALS AND METHODS

After receiving approval from the Ethical Committee of the National Hospital of Traditional Medicine, 128 healthy Vietnamese subjects of either gender between the ages of 20 and 50 were recruited. They provided written informed consent to the National Hospital of Traditional Medicine, Hanoi, Vietnam. The study was conducted from May until September 2011.

The clinicopathological tests were carried out at the Department of Laboratory Diagnosis, National Hospital of Traditional Medicine, Vietnam prior to intake and 12 weeks post intake. The following liver function tests were included: aspartate transaminase (AST), alanine transaminase (ALT), glucose (mmol/L). Urea (mmol/L) and creatinin ($\mu\text{mol/L}$) test for kidney function were also done. Hematological tests for RBC (T/l); WBC (G/l); PLT (G/l) and content of HGB (g/dL) HCT (%) were also conducted.

The 145 subjects were divided randomly into four different groups: group 101 (37 subjects) received Korean red ginseng, group 201 (38 subjects) received American ginseng, group 301 (34 subjects) was the placebo group and received corn starch, and group 401 (36 subjects) received white ginseng. Powder-based ginseng capsules (400mg) were distributed to each of the subjects in the experiment groups in a double-blind fashion. Each subject took 2,000 mg (5 capsules) b.i.d. for 12 weeks. All subjects continued the study for 12 weeks. During this period, all data was collected at before intake, 30, 60, and 120 minutes after the first dose, and biweekly (2nd, 4th, 6th, 8th, 10th, 12th week). To measure body heat response, the temperatures of 11 acupuncture points [Indang, Sugu (GV-26), Juning (CV17), Jungwa (CV12), Gwanwon (CV4), left and right of Gyeonryo (SI-1), left and right of Inyeong (S-9), and left and right of Wunmun (L-2)] were checked by means of DITI (Digital Infrared Thermal Imaging). Environmental factors like external temperature, which can influence the measurement of body heat, were controlled for. Vital signs (body temperature, blood pressure, and pulse rate) were examined at every visit. All subjects received questionnaires, including scaling charts for general physical conditions such as headache, dizziness, sensation of an increase in heat, epigastric discomfort, skin rash, loss of appetite, indigestion, diarrhea, constipation, insomnia, dry lips and mouth, an obstructive feeling in the chest, sores on the tongue, and nasal bleeding. Utilizing scaling charts allows self-reported symptoms to be measured and analyzed.

The compiled data was analyzed using SPSS ver. 16.0. ANOVA and t-tests were used to analyze the distribution patterns of variables. Multiple correlation coefficients $\{r\}$ were used to determine the correlations between the studied parameters. A p-value of less than 0.05 and 0.01 was considered statistically significant. All data are presented as means \pm SD.

RESULTS

Change of acupuncture point temperature at each time point

The temperatures of eleven acupuncture points [Indang, Sugu (GV-26), Juning (CV17), Jungwa (CV12), Gwanwon(CV4), left and right Gyeonryo (SI-1), left and right Inyoung (S-9), and left and right Wunmun (L-2)] were checked to measure the body heat response of study participants who took Korean red ginseng, Korean white ginseng, and American ginseng. The results are shown in Tables 1-11.

Patients in the placebo group had a temperature increase at the Indang acupuncture point after 30, 60 and 120 minutes. This was also true of all other groups after 8, 10 and 12 weeks. The difference is statistically significant ($p < 0.01$ (Table 1)). There were differences in the temperature at the Indang acupuncture point between the American ginseng group and the Korean white ginseng group 30 minutes after the initial dose and 10-weeks after the initial dose. The temperature increase of the Korean white ginseng group was greater than that of the American ginseng group, however, the differences were not statistically significant.

The Korean red ginseng group, American ginseng group and Korean white ginseng group all exhibited temperature drops at the Sugu acupuncture point (GV-26) after 2 and 4 weeks. All four groups experienced an increase in temperature after 8, 10, and 12 weeks (Table 2). The difference is statistically significant ($p < 0.01$). In terms of temperature at the Sugu acupuncture point, there were no notable differences before and after administration of the ginseng. All four groups exhibited a temperature drop at the Juning acupuncture point (CV-17) after 2 and 4 weeks (Table 3). They also experienced an increase in temperature after 10 and 12 weeks. The difference is statistically significant with a p value of < 0.01 .

There was an increase in temperature at the Jungwa acupuncture point (CV-12) in the Korean red ginseng group after 30 and 60 minutes. This increase was also seen in the placebo group after 2 and 4 weeks (Table 4). The American ginseng group experienced a drop in temperature after 60 and 120 minutes. All four groups experienced an increase in temperature after 8, 10 and 12 weeks. The difference is statistically significant ($p < 0.01$). However, the differences between the Korean red ginseng group, white ginseng group, and American ginseng group were not statistically significant.

The Korean red ginseng group experienced a rise in temperature at the Gwanwon acupuncture point (CV-4) after 30 and 60 minutes. Groups 2, 3 and 4 saw a temperature drop after 2 and 4 weeks. All four groups experienced an increase in temperature after weeks 10 and 12 (Table 5). The difference is statistically significant, with a p value of < 0.01 . There were no significant differences between the three types of ginseng.

The Korean red ginseng group, American ginseng group and Korean white ginseng group all exhibited temperature drops at the left and right of Gyeonryo (SI-1), the left and right of Inyeong (S-9), and the left and right of Wunmun (L-2) acupuncture points after 2 and 4 weeks. All four groups experienced an increase in temperature after 8, 10, and 12 weeks (Tables 6~11). And the differences between the Korean red ginseng group, white ginseng group, and American ginseng group were not statistically significant.

Effect of Korean red ginseng, Korean white ginseng and American ginseng on systolic and diastolic blood pressure

Systolic blood pressure and diastolic blood pressure of Vietnamese patients who took Korean red ginseng, Korean white ginseng, and American ginseng were measured and the results are shown in Figs. 1-2.

In terms of systolic pressure, there was a decline until after week 2, and then pressure remained constant after week 4 in group 101 (Korean red ginseng). The difference is statistically significant, with a p value of < 0.05 (Fig. 1). After 60 and 120 minutes, groups 201 (American ginseng) and 401 (Korean white ginseng) experienced a rise in systolic blood pressure. The difference is statistically significant, with $p < 0.01$ and $p < 0.05$. Group 301 (placebo) experienced no change in systolic pressure before and after intake. It was found that Korean red ginseng lowered systolic blood pressure in this clinical trial (Fig. 1).

There was a rise diastolic blood pressure in groups 201(American ginseng) and 401 (Korean white ginseng) after 60 minutes and 4 weeks, respectively (Fig. 2). The difference is statistically significant ($p < 0.01$). There was no change in diastolic blood pressure in groups 101 (Korean red ginseng) and 301 (placebo) before and after intake. After four weeks of therapy with ginseng or placebo, there was a difference in diastolic blood pressure between groups 101 and 401 (Korean red and white ginseng), as well as 301 and 401 (placebo and Korean white ginseng). This is also true of group 101 and 201 (Korean red and American ginseng), group 101 and 401 (Korean red and white ginseng) after 8 weeks.

Effect of Korean red ginseng, Korean white ginseng, and American ginseng on pulse rate and respiration

The pulse rate and respiration of study participants who took Korean red ginseng, Korean white ginseng and American ginseng were measured and the

results are shown in Figures 3–4.

After 30, 60 and 120 minutes, groups 301 (placebo) and 401 (Korean white ginseng) experienced a decline in pulse rate (Fig. 3). The difference is statistically significant with a p value < 0.01. There was no change in pulse rate in the other groups. There was a difference in pulse rate between groups 201 (American ginseng) and 401 (Korean white ginseng) after 30 and 120 minutes. The pulse rate of the American ginseng group was faster than the pulse rate of the Korean white ginseng group, a difference which is statistically significant. After 60 minutes, there were differences in pulse rate between the Korean red and white ginseng groups, the American and Korean white ginseng groups, and the placebo and Korean white ginseng groups. After 2 weeks,, there were differences in pulse rate between the Korean red and the American ginseng group, the American ginseng group and placebo, and the American and Korean white ginseng groups. Among all the groups, the American ginseng group had the fastest pulse rate, which was statistically significant. After 6 weeks, there was a difference in pulse rate between the American ginseng group and placebo. The pulse rate of the American ginseng group was slower than that of the placebo group.

After 60 and 120 minutes and 2 and 4 weeks, all four groups experienced an increase in respiration. This difference is statistically significant. There was no change in respiration in any of the groups at the other time points (Fig. 4).

Effect of Korean white, red ginseng and American ginseng on hepatochemical (urea, creatinine, glucose) and content of AST (SGOT), ALT (SGPT)

Hepatochemical (urea, creatinine, glucose) and AST (SGOT), ALT (SGPT) levels of Vietnamese study participants who took Korean red ginseng, Korean white ginseng and American ginseng were measured and the results are shown in Table 12.

After ginseng intake, there is a decline in the urea index in the Korean red ginseng and placebo groups. The difference is statistically significant with $p < 0.01$ (Table 12). The Korean red ginseng group and American ginseng group both experienced a drop in creatinin index after intake ($p < 0.05$) (Table 12).

Ginseng intake does not lead to any change in glucose index. There was no difference in glucose index in any groups before and after intake ($p > 0.05$).

After ginseng intake, there was a rise in AST levels in the American ginseng group ($p < 0.01$), while there was a drop in ALT levels in the placebo group.

The difference is statistically significant, with a p value of < 0.01 . In terms of the other groups, there was no change in AST and ALT levels before and after ginseng intake.

Abnormal reactions

There were 172 subjects at the beginning of the clinical trial and 145 subjects completed the trial. Twenty-seven subjects were excluded.

Overall, general adverse reactions such as headache, epigastric discomfort, skin rashes, loss of appetite, indigestion, diarrhea, constipation, insomnia, dry lips and mouth, obstructive feeling in the chest, sores on the tongue, and nasal bleeding did not occur in most participants after taking ginseng capsules. Several cases of constipation, palpitation, diarrhea, headache, insomnia, and sores on the tongue did occur (Table 13).

DISCUSSION

This study demonstrates that, despite the fact that temperature changes at different acupuncture points occur at different time points after ginseng intake, overall, temperature has a downward trend after 30, 60 and 120 minutes, 2 and 4 weeks and an upward trend after 8 weeks. The change is still within the normal limit of body temperature. The least change occurred in the group treated with Korean red ginseng.

Blood pressure, pulse, and breathing rate all changed before and after ginseng intake in all 4 groups. However, this change remains within normal limits. Overall, there was no significant difference in the degree of change between the four groups.

The change in acupuncture point temperature at each time point indicates that *Panaxginseng* and *Panaxquinquefolius* show a similar tendency in body temperature regulation. These results are in agreement with the study results of Lee [32], Kim *etal.*[33], and Seo *etal.*[34] in terms of comparison of the effects between Korean red ginseng and American ginseng on the indices of haemodynamic and body temperature. However, the increase or decrease of ginseng on body temperature is generally dose-dependent. In our research, all four groups took a dose of 2,000 mg ginseng (5 capsules) for 12 weeks. There may have been some factors affecting the measurement results during ginseng intake; for example, some subjects showed signs of constipation, diarrhea, or insomnia, so we recommended a dose reduction to 8 capsules or 6 capsules per day in order to continue participation in our study. However, the number of patients who

reduced their dosage was low, and the frequency of side effects was rare in this clinical trial.

According to traditional medicine theory, acupuncture points are places where the Qi of the viscera (Zang–Fu) goes in and out of the body. These points are used in acupuncture treatment. Depending on the location and nature of the point, each acupuncture point will have different Qi strength and is monitored using temperature. Our study differs from previous studies in that we assess the change in body temperature after ginseng intake at acupuncture points for 12 weeks. This method of temperature measurement showed differences in the change in temperature among acupuncture points after intake is different in all four groups.

Change in vital signs (blood pressure, pulse rate, respiration) at each time point

In the Korean red ginseng group, SBP (systolic blood pressure) decreased at 6 weeks and 8 weeks after intake. In the American ginseng group, SBP increased 60 mins and 120 minutes after intake. This difference is statistically significant with $p < 0.01$ and $p < 0.05$, respectively. The SBP of all 4 groups showed no difference compared to before intake at the other time points.

The decrease in SBP of Korean red ginseng group in the first 8 weeks is in agreement with findings by Jeon *et al.* [35], in which a crude saponin of Korean red ginseng (50, 100mg/kg, iv) significantly decreased mean blood pressure (MBP) in a dose-dependent manner in anesthetized normotensive rats and significantly decreased MBP in conscious hypertensive and normotensive rats. It has been suggested that the hypotensive effects of Korean red ginseng may be due to the action of its saponin fraction.

In terms of DBP, the American ginseng group exhibited an increase in DBP 60 minutes after ginseng intake and the Korean white ginseng group experienced an increase in DBP after 4 weeks. This difference is statistically significant with a p value of < 0.01 . There was no difference in DBP between the Korean red and American ginseng group at any time points.

This result is quite similar to those of the study by Caron *et al.* [36], in which it was found that diastolic blood pressure (DBP) was reduced from 75 ± 5 mmHg at baseline to 70 ± 6 mmHg at the same time point when placebo was compared to *P.ginseng*. In a study by Lee [32], 9.0 g of *Panax ginseng* and *Panax quinquefolius* showed a decrease in SBP, DBP and MBP, whereas other ginseng conditions increased DBP and MBP. However, all *Panax quinquefolius* groups tended to show abrupt increases in SBP, DBP and MBP before decreasing quickly.

Groups 301 (placebo) and 401 (Korean white ginseng) both displayed a decrease in pulse rate after ginseng consumption after 30, 60, and 120 minutes. This difference is statistically significant ($p < 0.01$). The remaining groups showed no change in pulse rate at any time points compared to before intake. This result is somewhat different from those of previous studies. Lee's study [32] showed that *Panax ginseng* was more effective in maintaining homeostasis than *Panax quinquefolius* in terms of blood flow and that *Panax quinquefolius* groups showed sudden increases and decreases. This difference may be due to the fact that different doses of *Panax ginseng* and *Panax quinquefolius* were used (typical, high and very high doses) to monitor the hemodynamic indexes [35]. In this study, we used a dose of 4g/day in all groups, and the result showed that there was no significant change in pulse rate in the four groups. The change before and after intake in group 301 and 401 remained within the normal limits of pulse rate.

In our study, respiration changed at different time points, but variation in respiration were the same in all four groups. The breathing rates of all four groups increased at 60 minutes, 120 minutes, 2 weeks and 4 weeks after ginseng intake and remained within normal limits. Respiration of did not differ in any groups at the remaining time points from before intake.

Effects of Korean red, white ginseng and American ginseng on hepatochemical (urea, creatinine, glucose) and content of AST (SGOT), ALT (SGPT)

Although the change in urea and creatinine indexes before and after intake in groups 101, 201 and 301 was statistically significant (Table 12), we can make no conclusions regarding the impact of Korean red, white and American ginseng on renal function. There may be some confounding factors in the study process such as the diet or medicines used by subjects used in this period that we did not controlled for.

There was no difference in blood glucose levels before and after intake in any group. There was a change in AST and ALT levels before and after intake. So, there is still no basis to evaluate the effects of Korean red, white and American ginseng on the levels of liver enzymes, as control group 301 also changes. Some deviations due to equipment and chemicals might also have affected the results of this experiment.

Evaluation of side effects

Statistics show that 11 of the 172 subjects experienced side effects when taking ginseng and did not continue participating in the research. The most common side effects were constipation, palpitation, diarrhea, headache, insomnia and sores on the tongue. These effects are similar to the results from other studies on symptoms occurring while taking ginseng such as headaches, insomnia, nausea and vomiting, digestion, and confusion. However, more studies are needed on this aspect for a full systematic evaluation of the side effects of different kinds of ginseng.

In conclusion, this study provides preliminary clinical evidence regarding the body temperature responses of Vietnamese patients administered Korean ginseng and American ginseng. We have shown for the first time that there are no significant differences in thermal effect between the two different kinds of ginseng studied. The comparative vital signs data (body temperature, pulse rate, respiration, blood pressure) showed no remarkable difference between any of the groups, with the exception of blood pressure. Systolic blood pressure was decreased by Korean red ginseng, and was increased by American ginseng. Ginseng did not affect hepatochemical makeup (urea, creatinine, glucose) or levels of AST, ALT. Overall, Korean and American ginseng use had no effect on liver and renal function. Several cases of palpitation, heat sensation, and constipation did occur but were mild in severity. Further studies need to be done in order to identify the extent of Korean ginseng and American ginseng effects and optimal dose.

ACKNOWLEDGMENTS

The research funding was fully supported by the Korea Institute of Planning & Evaluation for Technology in Food, Agriculture, Forestry & Fisheries (KIPET). The ginseng sample used in this study was provided by KHU.

REFERENCES

1. Jia L, Zhao Y. Current evaluation of the millennium phytomedicine--ginseng (I): etymology, pharmacognosy, phytochemistry, market and regulations. *Curr Med Chem* 2009; 16:2475–2484.
2. Choi KT. Botanical characteristics, pharmacological effects and medicinal components of Korean *Panax ginseng* C. A. Meyer. *Acta Pharmacol Sin* 2008; 29:1109–1118.
3. Liu CX, Xiao PG. Recent advances on ginseng research in China. *J*

Ethnopharmacol 1992; 36:27–38.

4. Xiang YZ, Shang HC, Gao XM, Zhang BL. A comparison of the ancient use of ginseng in traditional Chinese medicine with modern pharmacological experiments and clinical trials. *Phytother Res* 2008; 22:851–858.

5. Ernst E. The risk–benefit profile of commonly used herbal therapies: Ginkgo, St. John’s wort, ginseng, Echinacea, saw palmetto, and kava. *Ann Intern Med* 2002; 136:42–53.

6. Heavey S. Herbs, supplements often sold deceptively: U.S. report. Available from: <http://www.reuters.com/article/idUSTRE64P5MY20100526>.

7. Chen CF, Chiou WF, Zhang JT. Comparison of the pharmacological effects of *Panax ginseng* and *Panax quinquefolium*. *Acta Pharmacol Sin* 2008; 29:1103–1108.

8. Park JD. Recent studies on the chemical constituents of Korean ginseng (*Panax ginseng* C. A. Meyer). *Korean J Ginseng Sci* 1996; 20:389–415.

9. Akao T, Kida H, Kanaoka M, Hattori M, Kobashi K. Intestinal bacterial hydrolysis is required for the appearance of compound K in rat plasma after oral administration of ginsenoside Rb1 from *Panax ginseng*. *J Pharm Pharmacol* 1998;50:1155–1160.

10. Kim DH. Chemical diversity of *Panax ginseng*, *Panax quinquefolium*, and *Panax notoginseng*. *J Ginseng Res* 2012; 36(1):1–15.

11. Liu CX, Xiao PG. Recent advances on ginseng research in China. *J Ethnopharmacol* 1992; 36:27–38.

12. Hartz AJ, Bentler S, Noyes R, Hoehns J, Logemann C, Sinift S, Butani Y, Wang W, Brake K, Ernst M et al. Randomized controlled trial of Siberian ginseng for chronic fatigue. *Psychol Med* 2004; 34:51–61.

13. Micheal F Caron, Audrea L Hostko, Stacy Robertson, Lilia Mandybur, Jeffrey Kluger and C Micheal White. Electrocardiographic and hemodynamic effects of *Panax Ginseng*. 2002; 36: 758–763.

14. Kim JH. Cardiovascular diseases and *Panax ginseng*: A review on molecular mechanisms and medical application. *J Ginseng Res* 2012; 36(1):16–26.

15. Kim ND. Pharmacological effects of red ginseng. *J Ginseng Res* 2001;25:2–10.

16. Cho YD. Clinical effects of ginseng components and biochemical mechanism. *J Ginseng Res* 2001; 25:19–25.

17. Chong SK, Oberholzer VG. Ginseng: is there a use in clinical medicine? *Postgrad Med J* 1988; 64:841–846.

18. Yeo HB, Yoon HK, Lee HJ, Kang SG, Jung KY, Kim L. Effects of Korean red ginseng on cognitive and motor function: A double–blind, randomized, placebo–controlled trial. *J Ginseng Res* 2012; 36(2):190–197.

19. Surh YJ, Na HK, Lee JY, Keum YS. Molecular mechanisms underlying anti-tumor promoting activities of heatprocessed Panax ginseng C.A. Meyer. *J Korean Med Sci* 2001; 16 Suppl: S38–S41.
20. Shin JY, Lee JM, Shin HS, Park SY, Yang JE, KimCho SM, Yi TH. Anti-cancer effect of ginsenoside F2 against glioblastoma multiforme in xenograft model in SD rats. *J Ginseng Res* 2012; 36(1):86–92.
21. Choi KS, Song H, Kim EH, Choi JH, Hong HH, Han YM, Ham KB. Inhibition of hydrogen sulfide-induced angiogenesis and inflammation in vascular endothelial cells : Potential mechanisms of gastric cancer prevention by Korean red ginseng. *J Ginseng Res* 2012; 36(2):135–145.
22. Mochizuki M, Yoo YC, Matsuzawa K, Sato K, Saiki I, Tono-oka S, Samukawa K, Azuma I. Inhibitory effect of tumor metastasis in mice by saponins, ginsenoside-Rb2, 20(R)- and 20(S)-ginsenoside-Rg3, of red ginseng. *Biol Pharm. Bull.* 1995; 18:1197–1202.
23. Li G, Wang J, Sun Y, Liu K, Wang J. Ginsenoside 20(S)-protopanaxdiol inhibits the proliferation and invasion of human fibrosarcoma HT1080 cells. *Basic Clin. Pharmacol. Toxicol.* 2006; 98:588–592.
24. Fukushima S, Wanibuchi H, Li W. Inhibition by ginseng of colon carcinogenesis in rats. *J. Korean Med. Sci.* 2001; 16:S75–80.
25. Vuksan V, Sievenpiper JL. Herbal remedies in management of diabetes: Lessons learned from the study of ginseng. *Nutr. Metab. Cardiovasc. Dis.* 2005; 15:149–160.
26. Lai DM, Tu YK, Liu IM, Chen PF, Cheng JT. Mediation of beta-endorphin by ginsenoside Rh2 to lower plasma glucose in streptozotocin-induced diabetic rats. *Planta Med.* 2006; 72:9–13.
27. Yuan HD, Kim JT, Kim SH, Chung SH. Ginseng and diabetes: The evidences from in vitro, animal and human studies. *J Ginseng Res* 2012; 36(1):27–39.
28. Park EY, Kim HJ, Kim YK, Park SU, Choi JE, Cha JY, Jun HS. Increase in insulin secretion induced by Panax ginseng berry extracts contributes to the amelioration of hyperglycemia in streptozotocin-induced diabetic mice. *Journal of Ginseng Research* 2012; 36(2):153–160.
29. Vuksan V, Starvro M, Woo M, Leiter A, Sung MK, Sievenpiper L. Korean red ginseng (*Panax ginseng*) can lower blood pressure in individuals with hypertension : A randomized controlled trial. *Proc. The 9th International Symposium on Ginseng* 2006:225–228.
30. Han K, Shin IC, Choi KJ, Yun YP, Hong JT, Oh KW. Korean red ginseng water extract increases nitric oxide concentrations in exhaled breath. *Nitric Oxide* 2005; 12(3):159–162.
31. Wong YYY. Exploration of the origin of the comprehensive concept for the

nourishment of Yin by American ginseng. Proc. International Ginseng Conference–Vancouver 1994:104–108.

32.

33. Kim SH, Lee SR. Effect of Korean red ginseng and western ginseng on body temperature, pulse rate, clinical symptoms and the hematologic changes in human. *J Ginseng Res* 1995;19(1): 1–16.

34. Seo JC, Han SW, Byun JS, An HD, Han ID, Cho GH, LeemKH, Heo ZJ, Yi JL, Jin MX. The effects of ginseng and American ginseng on general symptoms in Koreans and Chinese – Double-blind randomized controlled trials. *J Ginseng Res* 2005;29(1): 27–36.

35. Jeon BH, Kim CS, Park KS, Lee JW, Park JB, Kim KJ, Kim SH, Chang SJ and Nam KY. Effect of Korea red ginseng on the blood pressure in conscious hypertensive rats. *GENPHARMACOL–VASC* 2000; S.35(3):135–141.

36. Micheal F Caron, Audrea L Hostko, Stacy Robertson, Lilia Mandybur, Jeffrey Kluger and C Micheal White. Electrocardiographic and hemodynamic effects of Panax Ginseng. 2002;36: 758–763

Table 1. Temperature of the Indang acupuncture point at each timepoint

Time point	Ginseng	Korean red ginseng	American ginseng	Placebo	Korean white ginseng
Before intake		31.4 ± 1.5	31.1 ± 1.7	30.8 ± 2.1	32.0 ± 1.8
30 min. after intake		31.6 ± 1.2	31.3 ± 1.5	31.5 ± 1.4 *	32.0 ± 1.5
60 min. after intake		31.5 ± 1.3	31.5 ± 1.3	31.6 ± 1.3 *	31.9 ± 1.5
120 min. after intake		31.4 ± 1.2	31.6 ± 1.1 *	31.6 ± 1.4 *	32.0 ± 1.1
2– weeks after intake		30.5 ± 1.8 **	30.3 ± 1.9 *	30.3 ± 1.8	30.4 ± 1.9 **
4–weeks after intake		30.6 ± 2.1	30.6 ± 2.0	30.7 ± 2.5	30.4 ± 2.0 **
6–weeks after intake		31.8 ± 2.5	31.6 ± 2.2	31.7 ± 2.9	31.8 ± 2.3
8–weeks after intake		32.6 ± 2.2 **	32.8 ± 2.2 **	32.6 ± 2.1 **	32.7 ± 2.3
10–weeks after		33.6 ± 1.9	32.5 ± 5.2	33.8 ±	34.4 ±

intake	**		1.5 **	1.8 **
12-weeks after	34.1±1.9	33.6 ± 1.8	34.0 ±	34.0 ±
intake	**	**	1.9 **	1.7 **

* p < 0.05,; ** p < 0.01

Table 2. Temperature of the Sugu acupuncture point at each time point

Ginseng Time point	Korean red ginseng	American ginseng	Placebo	Korean white ginseng
Before intake	30.4 ± 1.7	30.7 ± 1.8	30.5 ± 2.4	31.2 ± 1.8
30 min. after intake	30.8 ± 1.8	30.8 ± 1.4	30.6 ± 1.7	30.8 ± 1.6
60 min. after intake	30.7 ± 1.5	30.6 ± 1.5	30.9 ± 1.4	31.1 ± 1.4
120 min. after intake	30.5 ± 1.4	30.6 ± 1.1	30.9 ± 1.6	31.1 ± 1.1
2-weeks after intake	29.8 ± 1.9	29.5±1.6**	29.6 ± 1.9	29.6±1.8**
4-weeks after intake	29.5 ± 1.8*	29.7± 2.0*	30.3 ± 2.3	29.5±2.0**
6-weeks after intake	31.0 ± 2.4	31.0 ± 2.2	30.9 ± 2.7	30.9 ± 2.4
8-weeks after intake	31.7± 2.2**	31.6± 2.2*	32.0± 1.7**	32.0 ± 2.5
10-weeks after intake	32.7± 1.9**	32.6±1.9**	32.8± 1.7**	33.1±1.7**
12-weeks after intake	32.9± 1.9**	32.5±1.9**	33.1± 2.0**	33.4±1.8**

*p < 0.05,; ** p < 0.01

Table 3. Temperature of the Juning acupuncture point at each time point

Ginseng Timepoint	Korean red ginseng	American ginseng	Placebo	Korean white ginseng
Before intake	29.6 ± 1.8	29.9 ± 2.5	29.5 ± 3.2	29.9 ± 2.3
30 min. after intake	30.0 ± 2.1	29.8 ± 2.2	30.1 ± 2.4*	31.9± 11.6
60 min. after intake	30.0 ± 1.7	29.9 ± 2.4	30.1 ± 2.6*	30.3 ± 2.7
120 min. after intake	29.9 ± 1.8	30.1 ± 1.9	30.2 ± 2.3*	30.2 ± 2.0
2- weeks after intake	28.9 ± 2.1*	28.6±2.3**	28.5 ± 2.3*	28.1±2.3**
4-weeks after intake	28.5 ± 2.7*	28.5±2.3**	28.8 ± 2.7	28.3±2.6**
6-weeks after intake	30.2 ± 2.9	30.2 ± 5.5	29.9 ± 3.5	29.4 ± 2.8
8-weeks after intake	30.2 ± 3.0	30.4 ± 2.2	31.0 ± 3.0*	30.7 ± 2.7
10-weeks after intake	31.6± 2.3**	31.3±2.5**	31.5±2.0**	32.3± .2**
12-weeks after intake	31.9± 2.6**	31.5±2.3**	32.1± 2.6**	31.5±2.3**

* p < 0.05,; ** p < 0.01

Table 4. Temperature of the Jungwa acupuncture point at each time point

Ginseng Timepoint	Korean red ginseng	American ginseng	Placebo	Korean white ginseng
Before intake	29.2 ± 2.1	29.7 ± 2.3	29.3 ± 3.2	29.8 ± 2.3
30 min. after intake	29.8 ± 2.2*	29.7 ± 2.0	29.8 ± 2.5	30.0 ± 2.4
60 min. after intake	29.9± 1.9**	29.8 ± 2.2	30.0 ± 2.5*	30.1 ± 2.4
120 min. after intake	29.6 ± 2.0	30.1 ± 1.9	30.1± 2.5**	30.5± 2.0*
2- weeks after intake	28.8 ± 2.3	28.4±2.6**	28.5 ± 2.3	28.0±2.2**
4-weeks after intake	28.4 ± 2.8	28.4± 2.4*	28.7 ± 3.4	28.3±2.6**
6-weeks after intake	30.1 ± 3.1	29.6 ± 2.9	29.8 ± 3.5	29.5 ± 2.9
8-weeks after intake	30.5 ± 2.8*	30.3 ± 2.5	31.0± 3.0**	30.9± 2.9*
10-weeks after intake	31.6± 2.1**	31.1±2.5**	31.4± 2.2**	32.2±2.5**
12-weeks after intake	31.9± 2.8**	31.5±2.3**	31.9± 2.9**	31.5±2.3**

* p < 0.05,; ** p < 0.01

Table 5. Temperature of the Gwanwon acupuncture point at each time point

Timepoint	Ginseng	Korean red ginseng	American ginseng	Placebo	Korean white ginseng
Before intake		28.7 ±	28.9 ±	28.8 ±	28.8 ±
		1.8	2.4	3.1	2.3
30 min. after intake		29.5±	28.5 ±	28.8 ±	28.9 ±
		2.2**	2.2	2.7	2.1
60 min. after intake		29.4 ±	28.7 ±	28.7 ±	28.8 ±
		2.2*	2.2	2.7	2.2
120 min. after intake		29.2 ±	28.9 ±	29.0 ±	29.5 ±
		1.8	1.8	2.6	2.0
2- weeks after intake		28.5 ±	27.9±	27.6±	
		2.4	2.2*	2.4**	27.3±1.9**
4-weeks after intake		28.1 ±	27.6±	27.8 ±	
		3.0	2.3*	2.6	27.5±2.2**
6-weeks after intake		29.1 ±	28.6 ±	28.9 ±	28.7 ±
		3.9	2.5	3.5	2.5
8-weeks after intake		30.1±	29.7 ±	29.5 ±	29.4 ±
		2.5**	2.1	5.3	2.9
10-weeks after intake		30.7±	30.4±	30.9±	
		2.3**	2.3**	2.1**	30.7±2.5**
12-weeks after intake		31.1±	30.8±	31.4±	
		2.4**	1.9**	3.0**	30.5±2.5**

* p < 0.05,; ** p < 0.01

Table 6. Temperature in left of Gyeonryo(SI-1) acupuncture point at each time point

Ginseng Time	point	Korean red ginseng	American ginseng	Placebo	Korean white ginseng
Before intake		28.9 ± 1.6	28.7 ± 1.7	29.2 ± 2.1	29.4 ± 2.2
30 min. after intake		29.2 ± 1.7	29.0 ± 1.6	29.4 ± 1.5	29.2 ± 1.5
60 min. after intake		28.9 ± 1.4	29.0 ± 1.6	29.0 ± 1.2	29.3 ± 2.4
120 min. after intake		29.1 ± 1.2	28.9 ± 1.3	29.6 ± 1.8	28.9 ± 1.5
2- weeks after intake		28.4 ± 1.5	28.2 ± 1.6	28.0 ± 1.9	28.2 ± 1.6
4-weeks after intake		28.4 ± 2.0	28.2 ± 2.2	28.9 ± 2.7	28.0 ± 1.8
6-weeks after intake		29.5 ± 2.3	29.5 ± 2.1	29.8 ± 2.7	29.3 ± 2.0
8-weeks after intake		30.7 ± 2.4	30.7 ± 2.3	31.6 ± 2.7	30.9 ± 2.4
10-weeks after intake		31.2 ± 1.9	31.1 ± 1.8	31.7 ± 1.5	32.1 ± 2.0
12-weeks after intake		31.7 ± 2.0	31.6 ± 2.0	31.9 ± 2.0	32.1 ± 1.9

Table 7. Temperature in right of Gyeonryo(SI-1) acupuncture point at each time point

Ginseng Time point	Korean red ginseng	American ginseng	Placebo	Korean white ginseng
Before intake	29.3 ± 1.8	29.4 ± 2.0	29.6 ± 2.3	30.0 ± 2.4
30 min. after intake	29.7 ± 1.8	29.5 ± 1.7	29.7 ± 1.5	29.9 ± 1.5
60 min. after intake	29.6 ± 1.6	29.7 ± 1.7	29.7 ± 1.5	29.5 ± 1.8
120 min. after intake	29.3 ± 1.4	29.5 ± 1.5	29.7 ± 1.5	29.6 ± 1.4
2- weeks after intake	29.0 ± 1.8	28.7 ± 1.7	28.7 ± 2.1	28.6 ± 1.9
4-weeks after intake	28.8 ± 2.0	29.1 ± 2.3	29.4 ± 2.6	28.8 ± 2.1
6-weeks after intake	30.2 ± 2.3	30.0 ± 2.3	30.2 ± 2.8	29.5 ± 2.2
8-weeks after intake	31.3 ± 2.4	30.1 ± 2.3	30.9 ± 1.7	31.1 ± 2.3
10-weeks after intake	31.7 ± 1.9	31.7 ± 1.8	32.2 ± 1.4	32.3 ± 1.9
12-weeks after intake	32.0 ± 2.0	31.8 ± 1.9	32.1 ± 1.9	32.1 ± 1.7

Table 8. Temperature in left of Inyoung(S-9) acupuncture point at each time point

Ginseng Time point	Korean red ginseng	American ginseng	Placebo	Korean white ginseng
Before intake	30.8 ± 1.6	30.7 ± 1.9	30.4 ± 1.8	31.3 ± 1.7
30 min. after intake	30.9 ± 1.8	30.8 ± 2.0	30.8 ± 1.4	31.1 ± 1.6
60 min. after intake	30.8 ± 1.2	31.0 ± 1.5	30.9 ± 1.3	31.0 ± 1.7
120 min. after intake	30.6 ± 1.7	30.8 ± 1.2	31.1 ± 1.4	31.2 ± 1.4
2- weeks after intake	29.9 ± 1.7	29.8 ± 1.7	29.5 ± 2.3	29.7 ± 1.8
4-weeks after intake	29.8 ± 1.9	29.7 ± 2.1	30.0 ± 2.4	29.7 ± 2.2
6-weeks after intake	31.1 ± 2.2	30.8 ± 2.3	31.1 ± 2.9	31.0 ± 2.3
8-weeks after intake	32.2 ± 2.3	32.4 ± 2.4	32.3 ± 1.9	32.5 ± 2.1
10-weeks after intake	33.3 ± 1.9	33.1 ± 1.7	32.2 ± 1.7	33.8 ± 1.8
12-weeks after intake	33.3 ± 1.9	32.9 ± 2.0	33.5 ± 2.0	33.7 ± 1.7

Table 9. Temperature in right of Inyoung(S-9) acupuncture point at each time point

Ginseng Time point	Korean red ginseng	American ginseng	Placebo	Korean white ginseng
Before intake	31.1 ± 1.7	31.2 ± 1.8	30.9 ± 2.0	31.9 ± 1.7
30 min. after intake	31.2 ± 1.6	31.2 ± 1.5	31.3 ± 1.5	31.6 ± 1.5
60 min. after intake	31.3 ± 1.2	31.6 ± 2.1	31.5 ± 1.4	31.8 ± 2.4
120 min. after intake	30.2 ± 1.4	31.2 ± 1.2	31.5 ± 1.4	31.9 ± 1.3
2- weeks after intake	30.3 ± 1.8	30.1 ± 1.7	30.1 ± 1.9	30.3 ± 1.9
4-weeks after intake	30.3 ± 1.9	30.2 ± 2.0	30.4 ± 2.4	30.1 ± 2.1
6-weeks after intake	31.6 ± 2.2	31.1 ± 2.3	31.5 ± 3.0	31.3 ± 2.4
8-weeks after intake	32.4 ± 2.2	32.5 ± 2.2	32.4 ± 1.7	32.8 ± 2.2
10-weeks after intake	33.5 ± 1.9	33.0 ± 1.8	33.5 ± 1.6	33.8 ± 1.8
12-weeks after intake	33.5 ± 1.8	33.0 ± 1.9	33.6 ± 2.0	33.7 ± 1.8

Table 10. Temperature in left of Wunmun(L-2) acupuncture point at each time point

Ginseng Time point	Korean red ginseng	American ginseng	Placebo	Korean white ginseng
Before intake	29.6 ± 1.7	29.8 ± 2.2	29.6 ± 2.9	30.3 ± 2.2
30 min. after intake	29.6 ± 2.1	29.6 ± 1.9	30.1 ± 2.1	30.1 ± 2.9
60 min. after intake	30.0 ± 1.5	29.9 ± 1.9	30.0 ± 1.9	30.2 ± 2.8
120 min. after intake	29.8 ± 1.5	29.8 ± 1.3	30.2 ± 1.9	30.4 ± 1.4
2- weeks after intake	28.9 ± 2.0	28.7 ± 1.9	29.0 ± 2.0	28.6 ± 1.9
4-weeks after intake	28.8 ± 2.6	28.6 ± 1.9	28.9 ± 2.2	28.8 ± 2.2
6-weeks after intake	30.0 ± 2.6	29.5 ± 2.3	30.2 ± 3.2	29.9 ± 2.8
8-weeks after intake	31.0 ± 2.5	30.9 ± 1.9	31.3 ± 2.3	30.8 ± 2.4
10-weeks after intake	32.1 ± 2.0	31.5 ± 2.1	32.2 ± 1.7	32.4 ± 2.0
12-weeks after intake	32.0 ± 2.3	31.7 ± 2.0	33.0 ± 2.3	32.8 ± 2.0

Table 11. Temperature in right of Wunmun(L-2) acupuncture point at each time point

Ginseng Time point	Korean red ginseng	American ginseng	Placebo	Korean white ginseng
Before intake	29.8 ± 1.8	30.0 ± 2.2	29.9 ± 2.9	30.5 ± 2.2
30 min. after intake	30.3 ± 2.7	29.8 ± 2.4	30.2 ± 2.2	30.5 ± 1.9
60 min. after intake	30.3 ± 1.6	29.9 ± 1.8	30.3 ± 2.0	30.4 ± 1.8
120 min. after intake	30.1 ± 1.4	30.1 ± 1.5	30.3 ± 1.8	30.5 ± 1.4
2- weeks after intake	29.1 ± 2.1	28.9 ± 2.0	29.0 ± 2.3	28.6 ± 1.9
4-weeks after intake	29.2 ± 2.4	28.8 ± 2.0	29.1 ± 2.1	28.9 ± 2.4
6-weeks after intake	30.3 ± 2.4	30.0 ± 2.3	30.4 ± 3.2	30.1 ± 2.8
8-weeks after intake	31.3 ± 2.5	31.2 ± 2.0	31.5 ± 2.4	31.5 ± 2.5
10-weeks after intake	32.4 ± 2.1	31.6 ± 2.3	33.1 ± 1.5	32.3 ± 3.1
12-weeks after intake	32.3 ± 2.3	31.8 ± 2.3	33.0 ± 2.1	32.2 ± 1.9

Table 12. Change in hepatochemical index before and after intake ginseng

Ginseng		Korean red ginseng	American ginseng	Placebo	Korean white ginseng
Urea	Before intake	4.4 ± 0.9	4.2 ± 1.0	4.5 ± 0.8	4.4 ± 0.9
	After intake	4.0 ± 1.1	4.1 ± 1.1	3.9 ± 1.1	4.2 ± 0.9
	12 w	1.1	1.1	1.1	0.9
	p	< 0.01	> 0.05	< 0.01	> 0.05
Creatinine	Before intake	72.7 ± 11.3	77.3 ± 13.2	71.5 ± 10.6	70.2 ± 18.3
	After intake	70.0 ± 10.9	75.5 ± 12.6	67.2 ± 18.2	73.0 ± 10.6
	12 w	10.9	12.6	18.2	10.6
	p	< 0.05	< 0.05	> 0.05	> 0.05
Glucose	Before intake	4.9±0.6	5.1±0.7	4.9 ± 0.5	5.1 ± 0.7
	After intake	5.0±0.9	5.2±0.6	4.8 ± 0.7	5.2 ± 0.9
	12 w	5.0±0.9	5.2±0.6	0.7	0.9
	p	> 0.05	> 0.05	> 0.05	> 0.05
AST	Before intake	19.0 ± 5.4	17.5 ± 3.3	21.1 ± 7.3	20.1 ± 6.0
	After intake	20.0 ± 7.3	20.2 ± 6.4	20.1 ± 5.5	21.4 ± 5.3
	12 w	7.3	6.4	5.5	5.3
	p	> 0.05	< 0.01	> 0.05	> 0.05
ALT	Before intake	21.7 ± 7.8	20.7 ± 4.6	28.0 ± 14.9	23.5 ± 9.3
	After intake	21.2 ± 9.5	20.4 ± 7.3	22.5 ± 9.3	22.2 ± 7.0
	12 w	9.5	7.3	9.3	7.0
	p	> 0.05	> 0.05	< 0.01	> 0.05

Table 13. Number of subjects with unwanted effects appearing in the intake process

Group		The subject did not visit again	Abnormal reaction	Exclude for non-compliance of test plan	Total
Korean ginseng	red	02	02 (Constipation)	01	05
American ginseng		02	03 (02 Palpitation, 01 diarrhea)		05
Placebo		05	03 (01 headaches, 02 insomnia)	02	10
Korean white ginseng		03	03 (01 Palpitation; 02 sores on the tongue)	01	07
Total		12	11	04	27

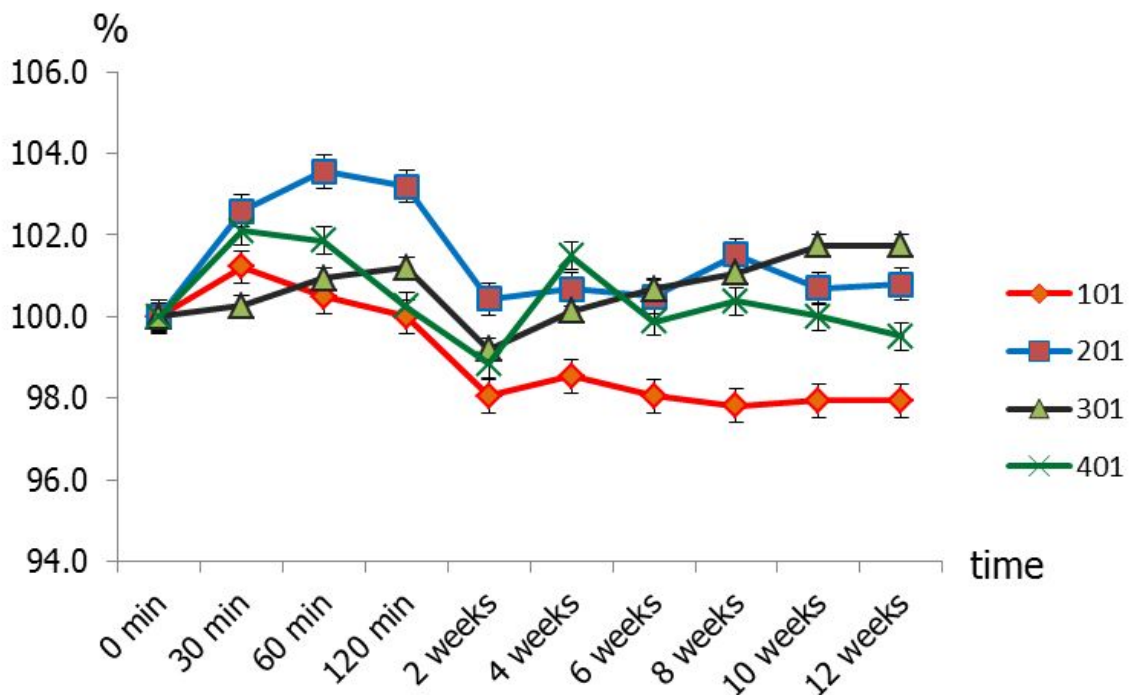
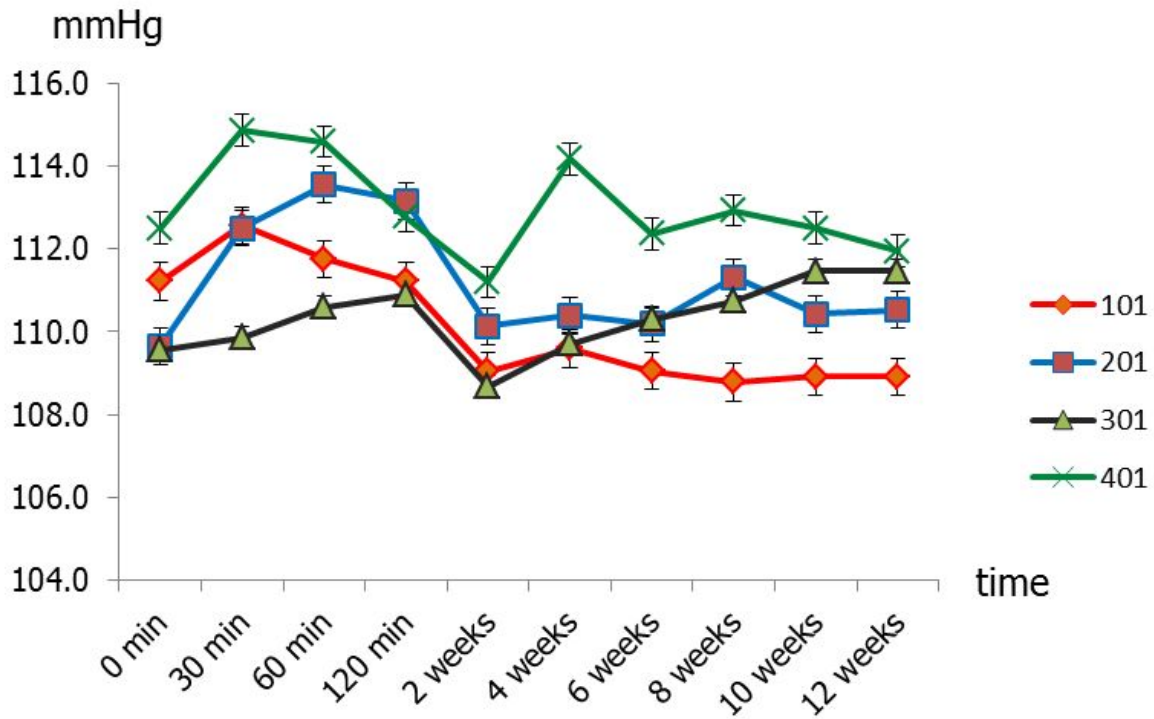


Fig. 1. Change in value of systolic blood pressure. 101: Korean red ginseng, 201: American ginseng, 301: Placebo, 401: Korean white ginseng. There was a decline of systolic pressure after week 2, and then pressure remained constant after week 4 in group 101 (Korean red ginseng).

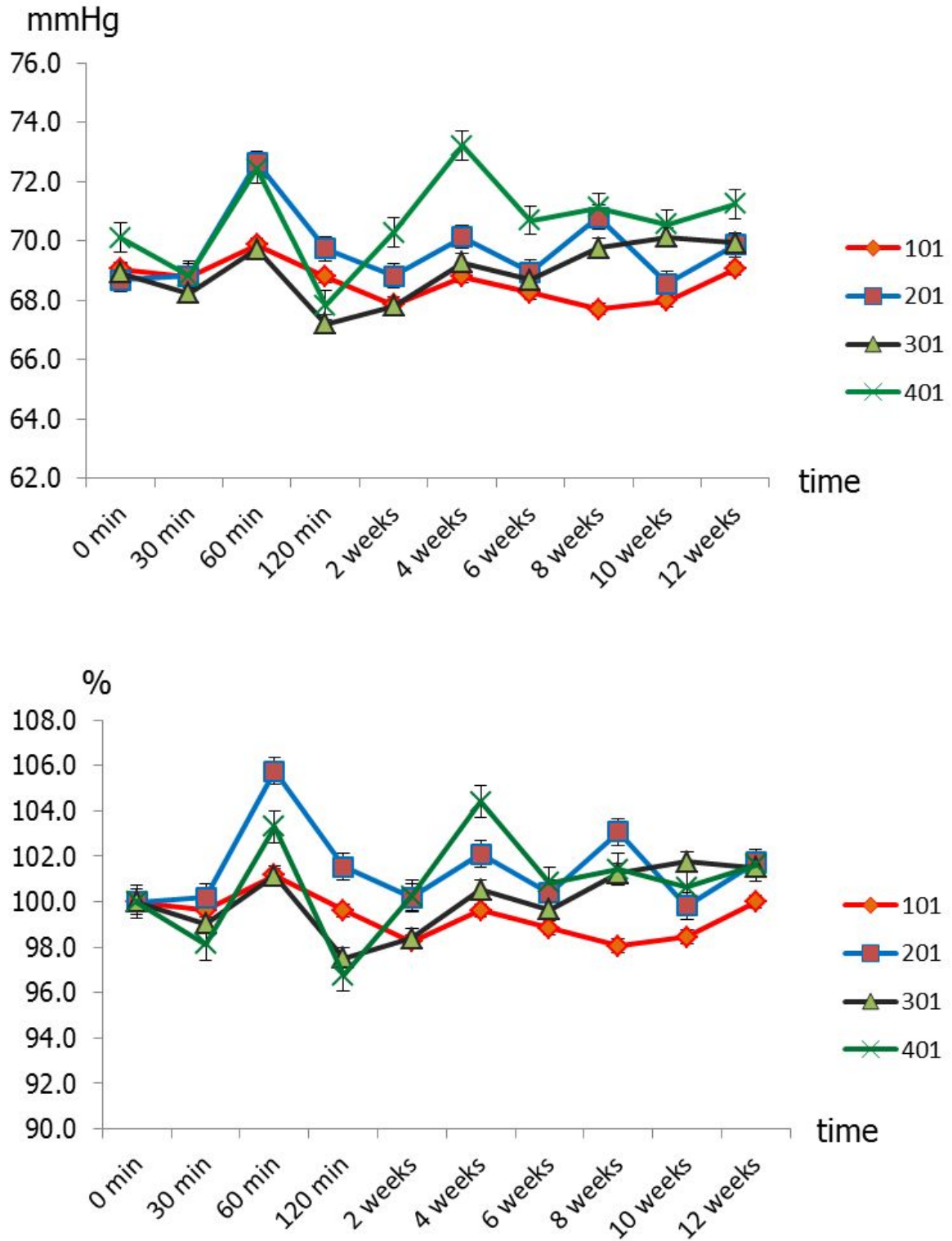


Fig. 2. Change in value of diastolic blood pressure. 101: Korean red ginseng, 201: American ginseng, 301: Placebo, 401: Korean white ginseng. There was a rise in diastolic blood pressure in groups 201(American ginseng) and 401 (Korean white ginseng) after 60 minutes and 4 weeks, respectively, no change in groups 101 (Korean red ginseng) and 301 (placebo) before and after intake.

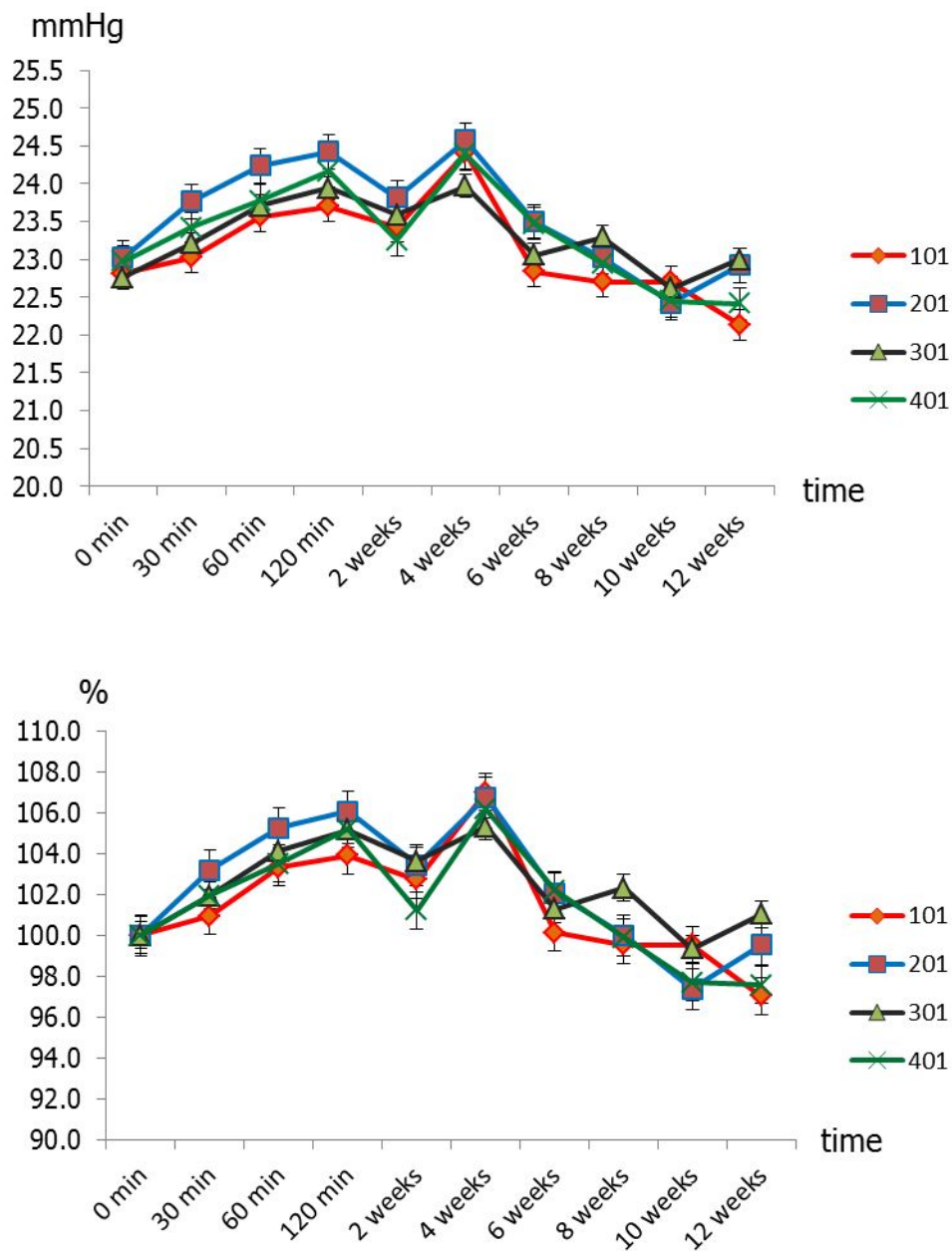


Fig. 3. Change in pulse rate by time in research groups. 101: Korean red ginseng, 201: American ginseng, 301: Placebo, 401: Korean white ginseng. A decline in pulse rate was experienced after 30, 60 and 120 minutes in groups 301 (placebo) and 401 (Korean white ginseng).

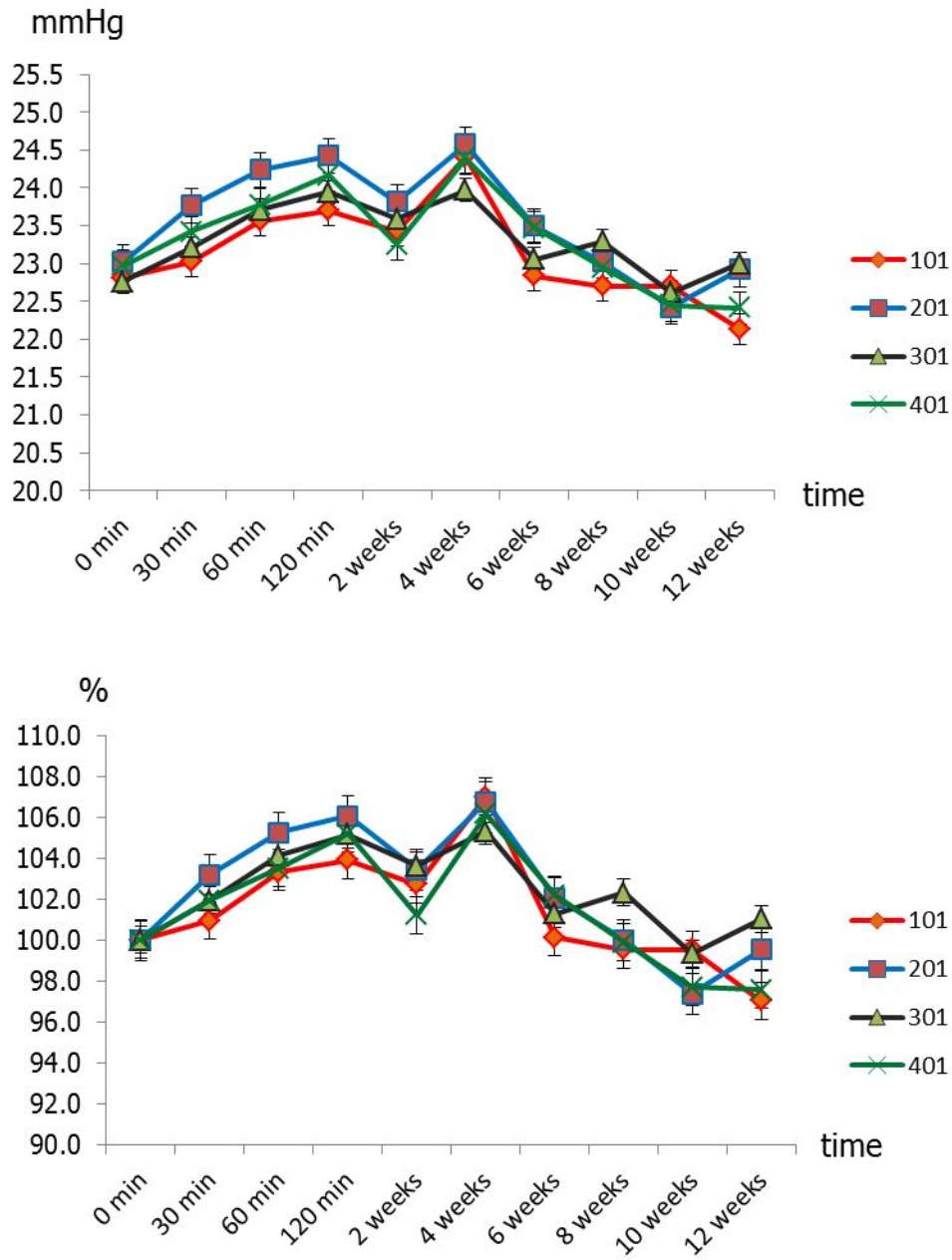


Fig. 4. Respiration change sample groups. 101: Korean red ginseng, 201: American ginseng, 301: Placebo, 401: Korean white ginseng. After 60 and 120 minutes and 2 and 4 weeks, all four groups experienced in increase in respiration.

결 론

1. 베트남인을 대상으로 11곳 침구점에 대한 체열을 측정하였는 바, 고려홍삼, 백삼 그리고 화기삼(화기삼) 간의 유의성 있는 차이는 발견되지 않았다.
2. 수축기 혈압은 고려홍삼의 경우 복용 2주후에 감소하였으나 화기삼은 복용 1시간후와 2시간후에 급격히 증감함으로서 초기혈압이 대단히 불안정하였다. 이완기 혈압은 고려홍삼은 일정하게 유지된 반면에 백삼과 화기삼은 복용 1시간후, 4주후에 증가하였다.
3. 복용후 부작용을 보면 두통, 속 더부룩함, 가슴 불편함, 코피, 불면, 입술마름과 같은 증상은 발견되지 않았으며 가벼운 심계항진, 열감, 변비 코골음 등의 경미한 부작용은 모두 관찰되었다.

2) 중국

Comparative study of Chinese northeast ginseng, Korean ginseng and American ginseng on temperature influence and tonic effects to human body

中国东北人参韩国人参与西洋参对人体体温影响及滋补等作用的对比研究

Introduction

It is well known that ginseng has a tonic effect. It has many good effects such as nourishing, strong and anti-aging effects to human body with physical weakness, rehabilitation, aging and ailing after the disease. Therefore there are many folklores about ginseng with magic effects. However, in recent years, there is a parlance that it can cause human febrile reaction after taking ginseng, so a considerable number of people in need to take nourishing ginseng dare not take Chinese northeast ginseng or Korean ginseng for fear of causing fever, so they take American ginseng and other supplements instead of Chinese northeast ginseng or Korean ginseng, because they believe that American ginseng has a cool feature, and it has a tonic effect and without fever and other adverse reactions . This phenomenon is particularly common especially in southern China and Southeast Asia.

The main function of Ginseng recorded in the Traditional Chinese Medicine (TCM) literature is the strong tonic effect, but steady strong function is not included. Therefore Ginseng does not cause fever reaction. Especially today Ginseng is not only drug, but also as a kind of food in applications. In this way, ginseng plays a role of tonic, improving the human physique and function, disease resistance, anti-aging to achieve the purpose of longevity.

The intent of this study is to verify that ginseng has no adverse reaction of fever in order to lift the misunderstanding of the people taking ginseng. Anther intent of this study is to enhance the tonic effect of ginseng .The study is focus on the tonic and fever reaction after having the China northeast ginseng, Korean ginseng and American ginseng

Key words: China northeast ginseng, Korea ginseng, American ginseng, body temperature, body temperature effect, heart rate variability, vital signs, nourishing, strong.

1.简介

众所周知，人参具有滋补作用。对于体质虚弱，病后康复和年老体衰具有良好的滋补，强壮和抗衰老等作用，民间流传众多的有关人参神奇疗效的传说。但是在近几年也流传服用人参

后，会引起人体发热反应，使相当一部分人在需要服用滋补人参时，由于害怕引起发热而不敢服用，甚至转而服用西洋参等滋补品.他们认为西洋参具有寒凉性质，服后既具有滋补作用，而又不会引起发热等不良反应。这种现象特别在中国南方和东南亚地区尤为多见。

经查阅中医文献记载人参主要功能是具有滋补强壮功能，而并未有温补强壮功能的记载。因此不会引起发热反应。尤其当今人参已不仅是药品，而且已经作为食品在广泛应用。从而发挥人参的滋补强壮作用，提高人体体质和机能，抗病能力，发挥抗衰老作用，从而达到提高生活质量，延年益寿的目的。

为了验证人参确无发热的不良反应，解除人们对服用人参的误区，为进一步发挥人参的食疗作用，制定本项科研计划，对东北人参，韩国人参和西洋参共同对比服后发热及滋补强壮作用进行临床研究。

关键词：东北人参，韩国人参，西洋参，体温，身体的温度效应，心率变异性，生命体征，滋补，强壮

Methods and materials:

Select 184 subjects, Chinese in China among group of age between 20 and 50. Random allocation method divided into five different groups of columns. Prepare powder capsules of 400mg with Korean red ginseng for the 38 volunteers in group 101, American ginseng for the 38 volunteers in group 201, corn starch for placebo for the 34 volunteers in group 301, and Korean white ginseng for the 39 volunteers in group 401. Northeast China ginseng for the 35 volunteers in group 5. Distribute capsules to each group subjects with the double-blind method. Each subject intakes 2,000 mg (5 capsules). b.i.d. for 12 weeks. Check body temperature, blood pressure, pulse rate and respiration before intake and after initial intake 30 minute and biweekly (2nd, 8th, 12th week), collect the data of Before intake and after initial intake 30 minute, 60 minute, 120 minute and biweekly (2nd, 8th, 12th week) for 10 acupuncture points (YinTang, GV26, CV17, CV12, SI18, ST9, LU2). Temperature difference between abdominal area (CV12) and facial area (SI18) so the to eliminate environmental factors like external temperature which can influence the measurement of body heat of the subject. HRV is measured as an indicator to ANS (Autonomic Nervous System), which is hyper-activated with increasing heat sensation. Check the vital signs including body temperature, blood pressure, pulse rate and respiration. After taking up every cases are in the order of the adverse reactions of interrogation: for example headache, dizziness, heat-rising sensation, discomfort in epigastria, skin rashes, loss of appetite, indigestion, diarrhea, constipation, insomnia, dry lips and mouth, obstructive feeling in the chest, sores on the tongue, and nasal

bleeding. The above items in Chinese life, liver, lung fire, stomach heat range. The compiled data were analyzed using SPSS ver.16.0. ANOVA and t-test were used to study the pattern of distribution of different variables. Multiple correlation coefficients {r} were used to determine the correlation of the studied parameters to each other. A p-value of less than 0.05 and 0.01 was considered to indicate statistical significance. All data are presented as means \pm SD.

材料和方法

选择184名年龄位于20至50岁的健康人，按随机分配方法分成五个不同组：第101组38个人服用红参，第201组38个人服用西洋参，第301组34个人为空白组服用淀粉，第401组39个人服用白参，第501组35人服用东北人参。将含有400mg内容物的胶囊采用双盲法分给每组的志愿者。每个志愿者服用2000mg(5粒)，每天两次，每个志愿者都持续服用12周。分别在服用前后30min、2周、8周以及第12周，考察体温、呼吸、脉搏、血压等，服用前后30min、1h、2h、2周、8周以及第12周，考察各个穴位的温度等。使用DITI（数字红外热成像）测量10处(YinTang, GV26, CV17, CV12, CV4等)体温，腹部区域(CV12)和面部区域(SI18)的温差以消除外部温度等环境因素对体热测量的影响。心率变异性是ANS（植物神经系统）的一个指标，ANS会随着热感觉的逐渐增大而被高度激活。记录每个志愿者的生命特征（体温、血压、脉搏等）。

服药后每一例复诊时均按下列次序进行对不良反应的问诊：例如，头痛，头晕，发热，腹部不适，皮疹，食欲不振，消化不良，腹泻，便秘，失眠，唇腔干燥，胸闷，舌疮，鼻出血。以上项在中医心火、肝火、胃火的范围之内。

最后得到的数据使用SPSS ver. 16.0. ANOVA分析，此测试用来研究转移模式的不同变量。采用多重相关系数来确定各系数之间的相关性。P值小于0.05和0.01来表示其显著性差异。所有的数据均以标准平均偏差表示。

结果：

Results:

1 At each time point temperature change

Table 1. Indang

Time point (时间点) Group (组)	Before intake (服用前)	After intake 30' (服用后30分钟)	After intake 60' (服用后60分钟)	After intake 120' (服用后120分钟)	After intake 2w (服用后2周)	After intake 4w (服用后4周)	After intake 8w (服用后8周)	After intake 12w (服用后12周)
101	34.48436	34.01361	34.64342	34.49667	34.54171	33.53875	33.57429	34.01361
201	34.57263	35.53472	35.53265	35.43714	34.27629	33.55457	33.074	34.19933
301	34.03706	34.60853	34.49324	34.49	33.63265	33.58912	33.89235	33.57353
401	34.29056	34.63757	34.85054	34.70243	33.82081	33.94324	33.02216	33.7459

Table 2. Sugu

Time point (时间点) Group (组)	Before intake (服用前)	After intake 30' (服用后30分钟)	After intake 60' (服用后60分钟)	After intake 120' (服用后120分钟)	After intake 2w (服用后2周)	After intake 4w (服用后4周)	After intake 8w (服用后8周)	After intake 12w (服用后12周)
101	33.59615	33.0025	33.98605	34.0159	34.11086	32.895	33.132	33.0025
201	33.79605	34.55917	34.90529	34.53143	34.10543	33.41457	32.15114	33.6
301	33.48206	34.20529	34.20324	33.81265	33.22529	33.45824	33.06706	33.04176
401	33.74778	34.07324	34.30757	34.09865	33.75568	33.89568	33.45838	33.21514

Table 3. Left Gwanryo

Time point (时间点) / Group (组)	Before intake (服用前)	After intake 30' (服用后30分钟)	After intake 60' (服用后60分钟)	After intake 120' (服用后120分钟)	After intake 2w (服用后2周)	After intake 4w (服用后4周)	After intake 8w (服用后8周)	After intake 12w (服用后12周)
101	32.7353 8	32.4666 7	33.3143 2	33.3371 8	33.2982 9	32.4340 6	32.3725 7	32.4666 7
201	33.26	34.0347 2	34.1344 1	33.9991 4	32.9545 7	32.6548 6	31.6122 9	32.8353 3
301	32.7217 6	33.3785 3	33.4617 6	33.2570 6	32.3135 3	32.625	32.0594 1	32.4564 7
401	33.2466 7	33.7356 8	33.5913 5	33.6991 9	32.4067 6	32.9494 6	32.6221 6	32.4270 3

Table 4. Right Gwanryo

Time point (时间点) / Group (组)	Before intake (服用前)	After intake 30' (服用后30分钟)	After intake 60' (服用后60分钟)	After intake 120' (服用后120分钟)	After intake 2w (服用后2周)	After intake 4w (服用后4周)	After intake 8w (服用后8周)	After intake 12w (服用后12周)
101	33.0620 5	32.9327	33.6931 6	33.7946 2	33.774	32.5922 6	32.5185 7	32.9327
201	34.0178 9	34.665	34.69	34.5662 9	33.2894 3	32.3851 4	32.2222 9	32.7013 3
301	33.0941 2	34.0473 5	33.9808 8	33.7217 6	32.3102 9	32.4861 8	32.4276 5	32.3929 4
401	33.8008 3	33.8091 9	34.1497 3	34.0873	32.6275 7	32.6032 4	32.4197 3	32.3751 4

Table 5. Left Inyeong

Time point (时间点) Group (组)	Before intake (服用前)	After intake 30' (服用后30分钟)	After intake 60' (服用后60分钟)	After intake 120' (服用后120分钟)	After intake 2w (服用后2周)	After intake 4w (服用后4周)	After intake 8w (服用后8周)	After intake 12w (服用后12周)
101	33.8810 3	33.2132 4	34.3181 6	34.2348 7	34.3697 2	33.6132 3	33.1648 6	33.2132 4
201	34.0626 3	34.6761 1	35.0524 2	35.056	33.6631 4	33.0728 6	32.5422 9	33.492
301	33.6161 8	34.1455 9	34.0935 3	34.2011 8	32.8735 3	33.0208 8	32.9276 5	33.0229 4
401	33.7122 2	34.0264 9	34.3352 8	34.4791 9	33.4424 3	33.4340 5	33.0316 2	33.0105 4

Table 6. Right Inyeong

Time point (时间点) Group (组)	Before intake (服用前)	After intake 30' (服用后30分钟)	After intake 60' (服用后60分钟)	After intake 120' (服用后120分钟)	After intake 2w (服用后2周)	After intake 4w (服用后4周)	After intake 8w (服用后8周)	After intake 12w (服用后12周)
101	34.0879 5	33.3756 8	34.7847 4	34.6102 6	34.5237 8	33.9160 6	33.2188 6	33.3756 8
201	34.3455 3	35.2291 7	35.4973 5	35.5025 7	34.1951 4	33.5037 1	33.2165 7	34.0463 3
301	33.8926 5	34.4961 8	34.5729 4	34.7247 1	33.3555 9	33.6102 9	33.245	33.3441 2
401	34.0922 2	34.4794 6	34.7416 2	34.7678 4	33.7213 5	33.7705 4	33.3562 2	33.5081 1

Table 7. Left Unmun

Time point (时间 点) Group (组)	Before intake (服用前)	After intake 30' (服用后30 分钟)	After intake 60' (服用后60 分钟)	After intake 120' (服用后1 20分钟)	After intake 2w (服用后2周)	After intake 4w (服用后4周)	After intake 8w (服用后8周)	After intake 12w (服用后1 2周)
101	35.1212 8	34.0737 8	35.6065 8	35.4692 3	35.7810 8	35.0957 6	34.5565 7	34.0737 8
201	35.4852 6	36.0119 4	36.4638 2	36.4962 9	35.354	34.5891 4	34.2171 4	35.29
301	34.9920 6	35.4205 9	35.6761 8	35.5785 3	34.6344 1	34.6135 3	34.7135 3	34.0255 9
401	34.9588 9	34.4794 6	35.6229 7	35.6316 2	35.0191 9	34.9637 8	34.6148 6	34.0491 9

Table 8. Right Unmun

Time point (时间 点) Group (组)	Before intake (服用前)	After intake 30' (服用后30 分钟)	After intake 60' (服用后60 分钟)	After intake 120' (服用后1 20分钟)	After intake 2w (服用后2周)	After intake 4w (服用后4周)	After intake 8w (服用后8周)	After intake 12w (服用后1 2周)
101	35.2920 5	34.2154 1	35.6965 8	35.5489 7	35.7064 9	35.3666 7	34.7768 6	34.2154 1
201	35.6557 9	36.1538 9	36.4629 4	36.6597 1	35.412	34.8405 7	33.6954 3	35.3176 7
301	35.2788 2	35.6238 2	35.7367 6	35.7485 3	34.7617 6	34.8091 2	34.8038 2	34.0688 2
401	35.0405 6	35.2805 4	35.7032 4	35.8245 9	35.1086 5	35.1694 6	34.8713 5	34.2651 4

Table 9. Geoguel

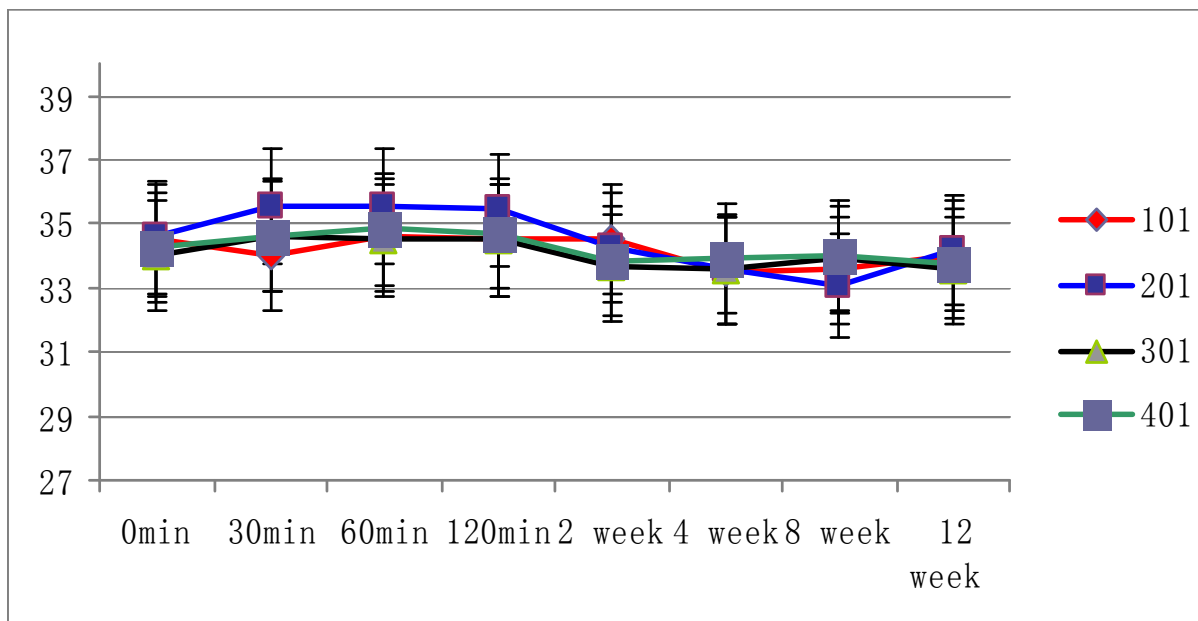
Time point (时间 点) Group (组)	Before intake (服 用前)	After intake 30' (服 用后30 分钟)	After intake 60' (服 用后60 分钟)	After intake 120' (服 用后1 20分钟)	After intake 2w (服 用后2周)	After intake 4w (服 用后4周)	After intake 8w (服 用后8周)	After intake 12w (服 用后1 2周)
101	34.4648 7	33.5486 5	34.8084 2	34.8761 5	35.0635 1	34.2793 9	34.3219 4	33.5486 5
201	34.8236 8	35.535	36.745	35.9354 3	34.7102 9	34.0251 4	32.6765 7	34.7253 3
301	34.3735 3	35.0170 6	34.8776 5	34.8852 9	33.7676 5	33.8905 9	34.2273 5	33.6161 8
401	34.3688 9	34.2951 4	35.5613 5	34.9559 5	34.2570 3	34.4021 6	33.7678 4	33.6370 3

Table 10. Jungwan

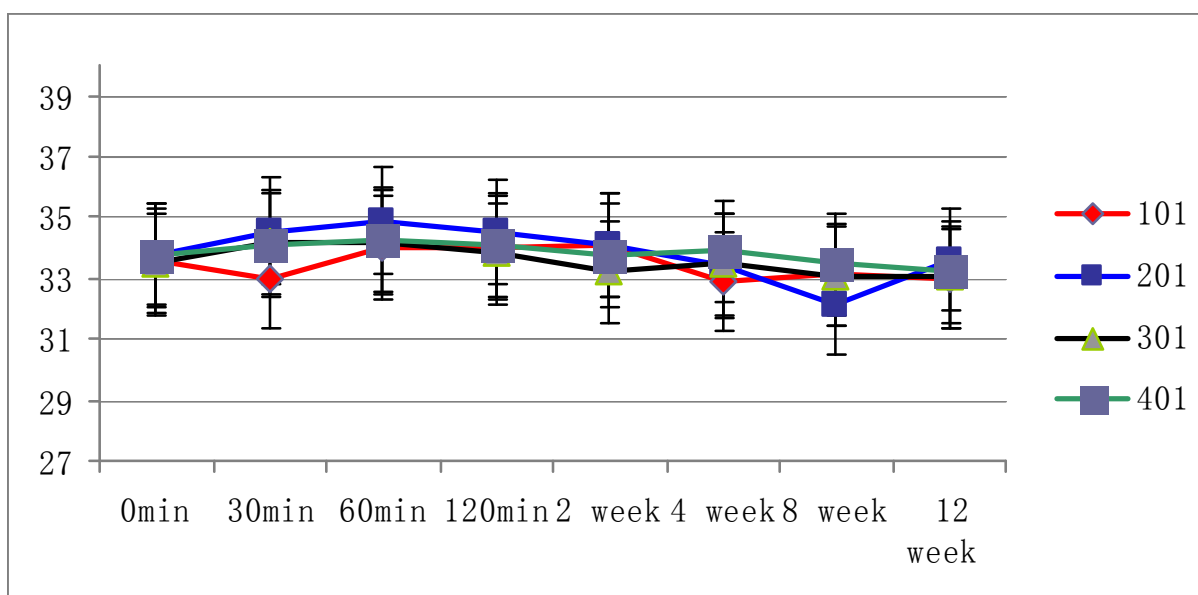
Time point (时间 点) Group (组)	Before intake (服 用前)	After intake 30' (服 用后30 分钟)	After intake 60' (服 用后60 分钟)	After intake 120' (服 用后1 20分钟)	After intake 2w (服 用后2周)	After intake 4w (服 用后4周)	After intake 8w (服 用后8周)	After intake 12w (服 用后1 2周)
101	33.5651 3	32.7065 7	33.8723 7	33.9253 8	34.1916 2	33.7497	33.4925	32.7065 7
201	33.4365 8	34.6391 7	34.5858 8	34.84	33.0194 3	32.8562 9	29.5691 4	33.1816 7
301	33.3255 9	33.7885 3	33.6858 8	33.9097 1	32.7276 5	33.0423 5	32.9402 9	32.5858 8
401	32.695	33.4051 4	33.7754 1	33.8805 4	32.4321 6	33.1494 6	32.8691 9	32.4027

Table 11. Mimun

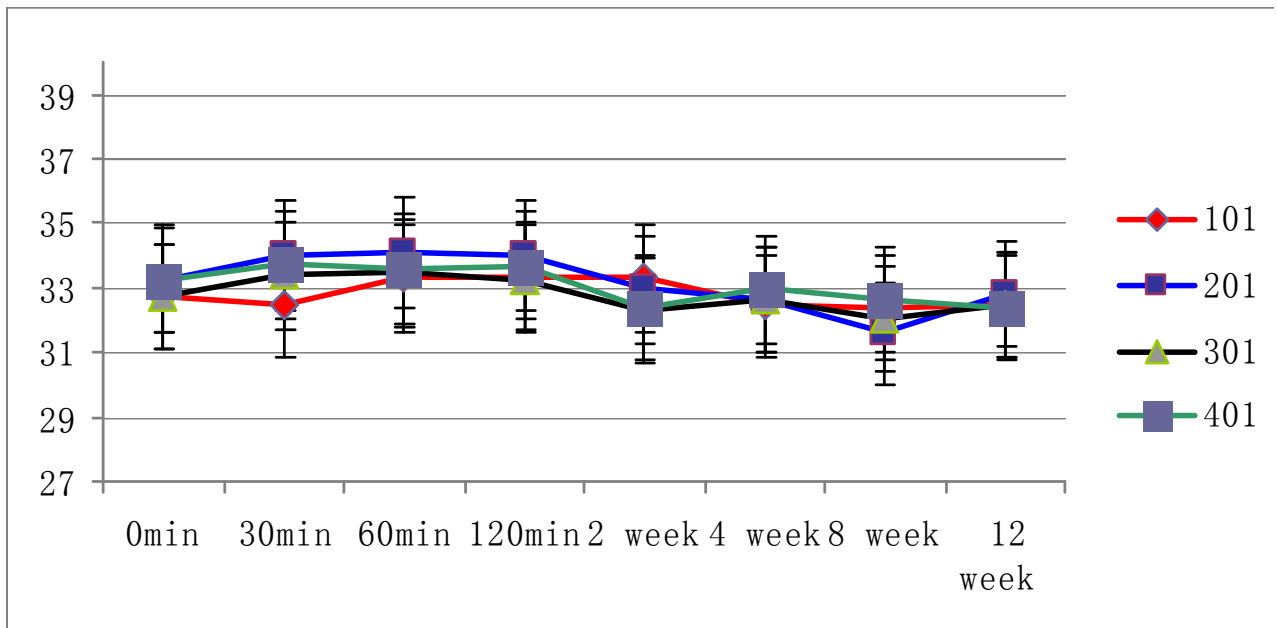
Time point (时间 点) Group (组)	Before intake (服 用前)	After intake 30' (服 用后30 分钟)	After intake 60' (服 用后60 分钟)	After intake 120' (服 用后1 20分钟)	After intake 2w (服 用后2周)	After intake 4w (服 用后4周)	After intake 8w (服 用后8周)	After intake 12w (服 用后1 2周)
101	28.2030 8	28.7408 1	28.775	28.9733 3	28.9119 4	27.6606 1	27.99	28.7408 1
201	28.8873 7	28.9816 7	29.2276 5	29.216	27.7291 4	28.1005 7	27.9813 3	27.6546 7
301	28.8608 8	29.0438 2	28.3541 2	28.6776 5	27.3414 7	27.3526 5	26.9052 9	27.6864 7
401	28.2569 4	28.5237 8	29.1648 6	29.2862 2	27.9181 1	28.6824 3	27.9148 6	27.8716 2



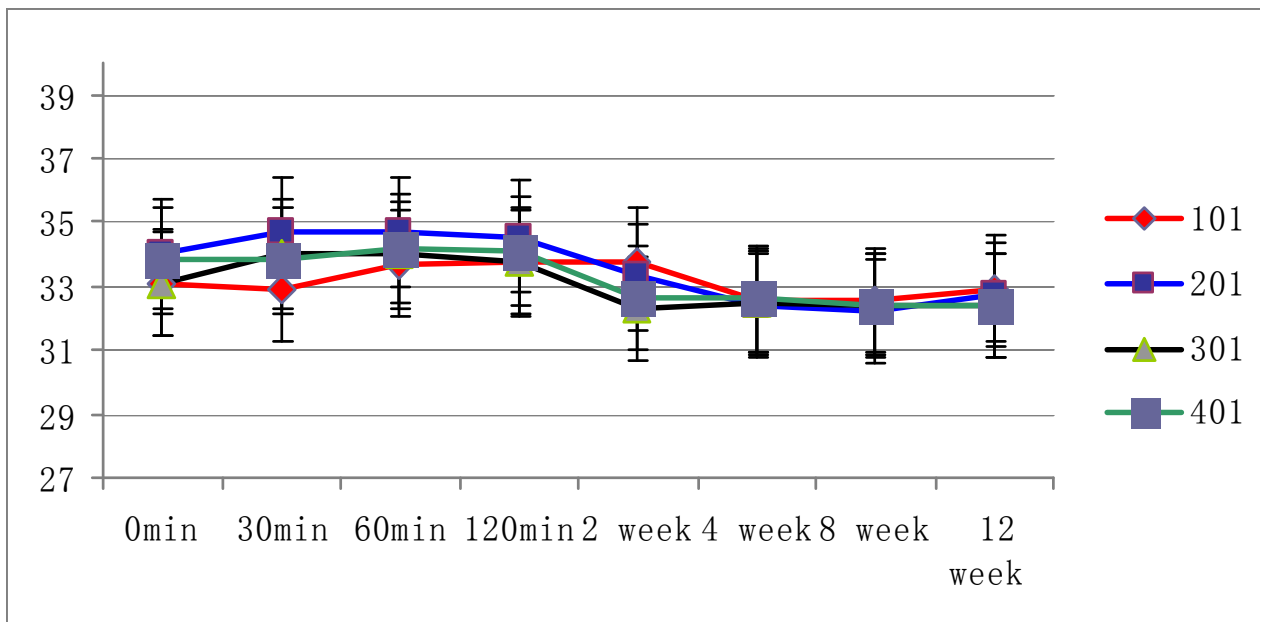
Indang



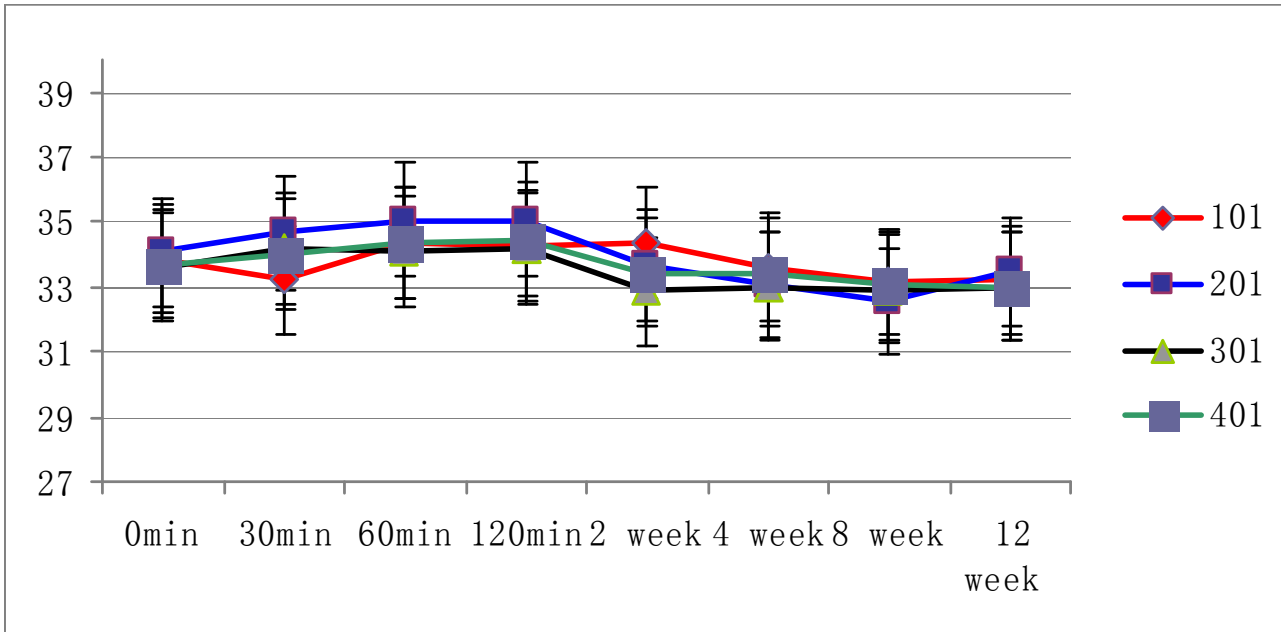
Sugu (GV-26)



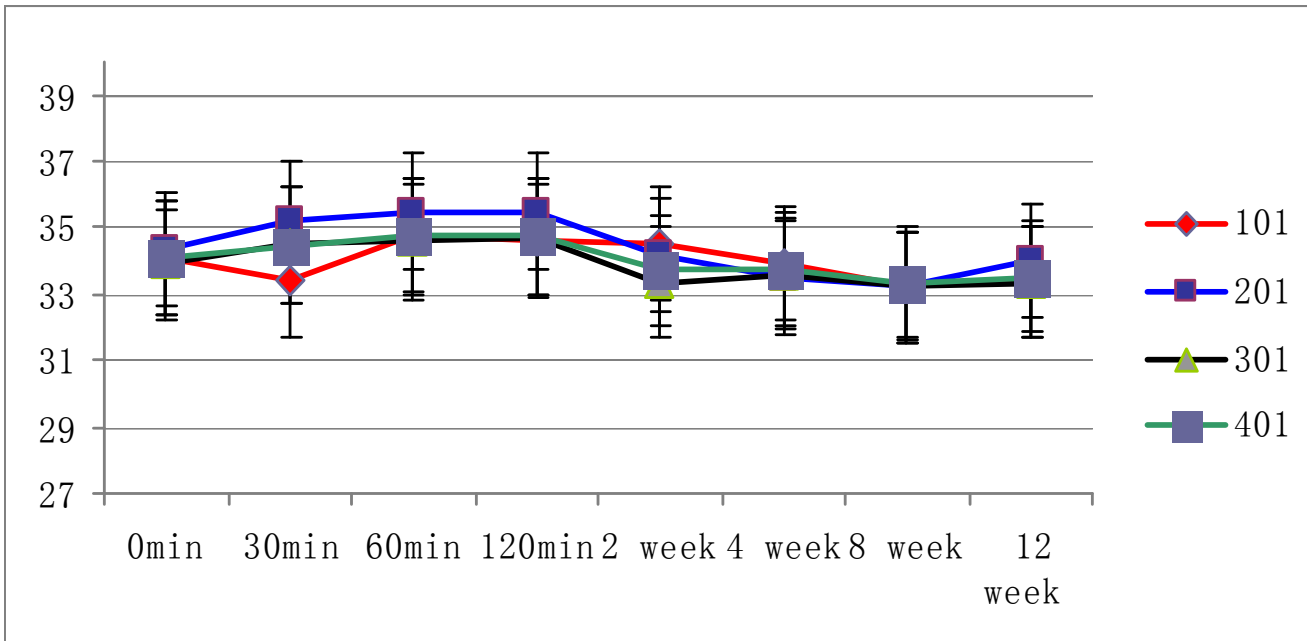
Left Gwanryo



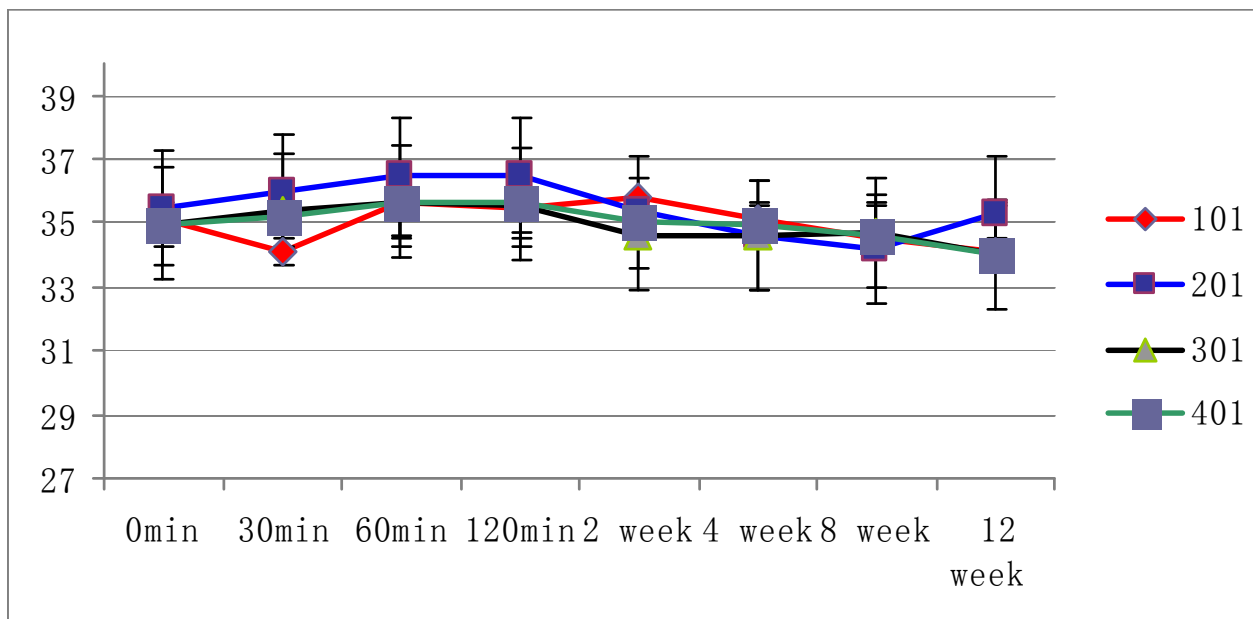
Right Gwanryo



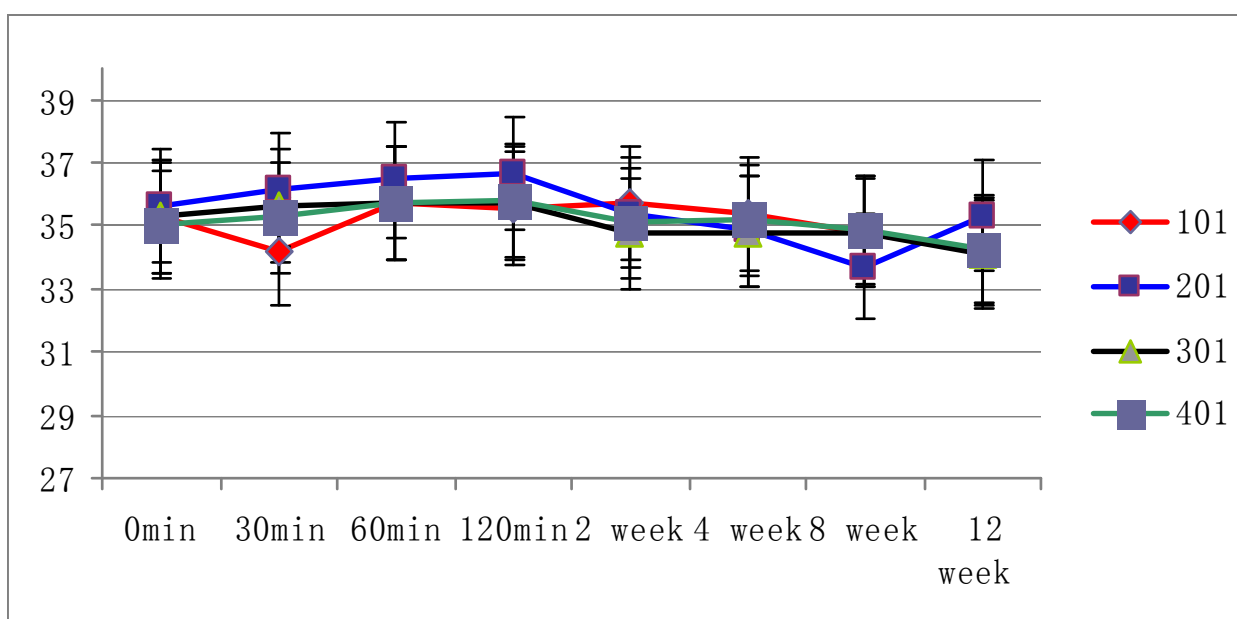
Left Inyeong



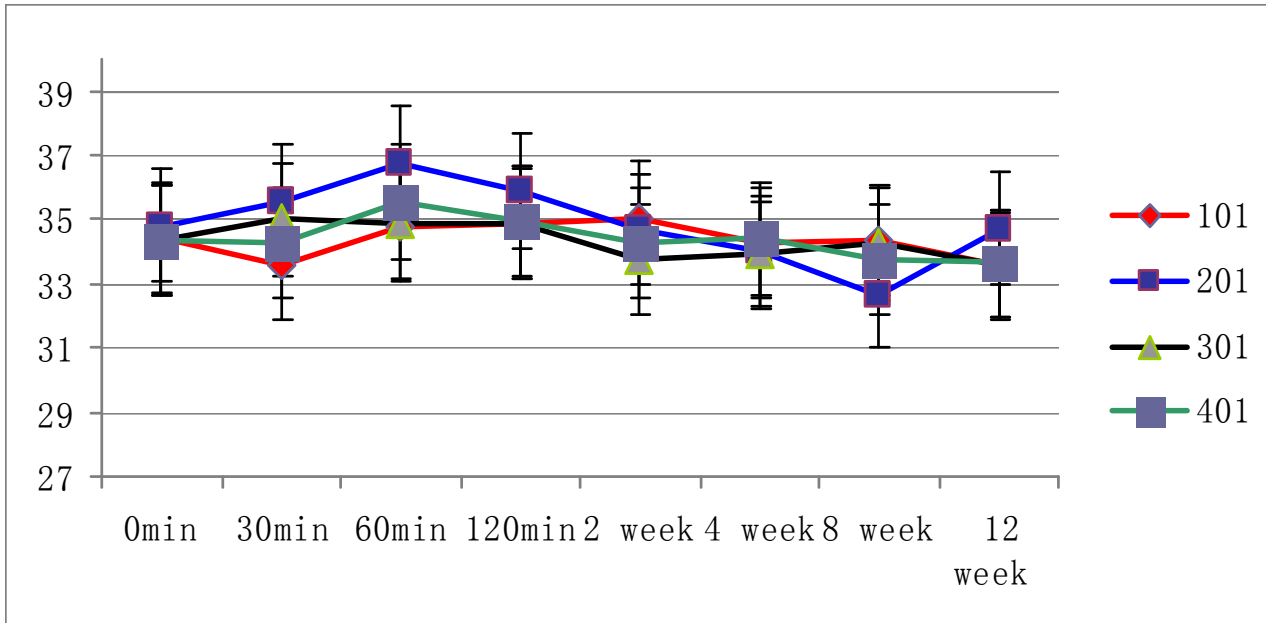
Right Inyeong



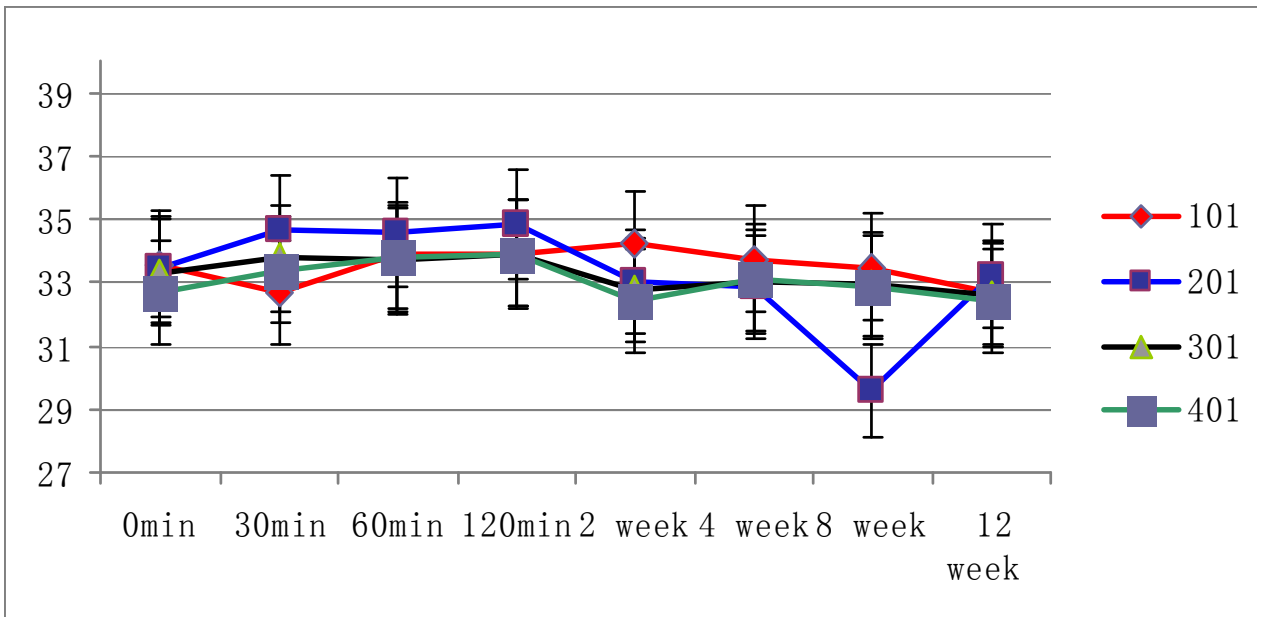
Left Unmun



Right Unmun



Geoguel



Jungwan

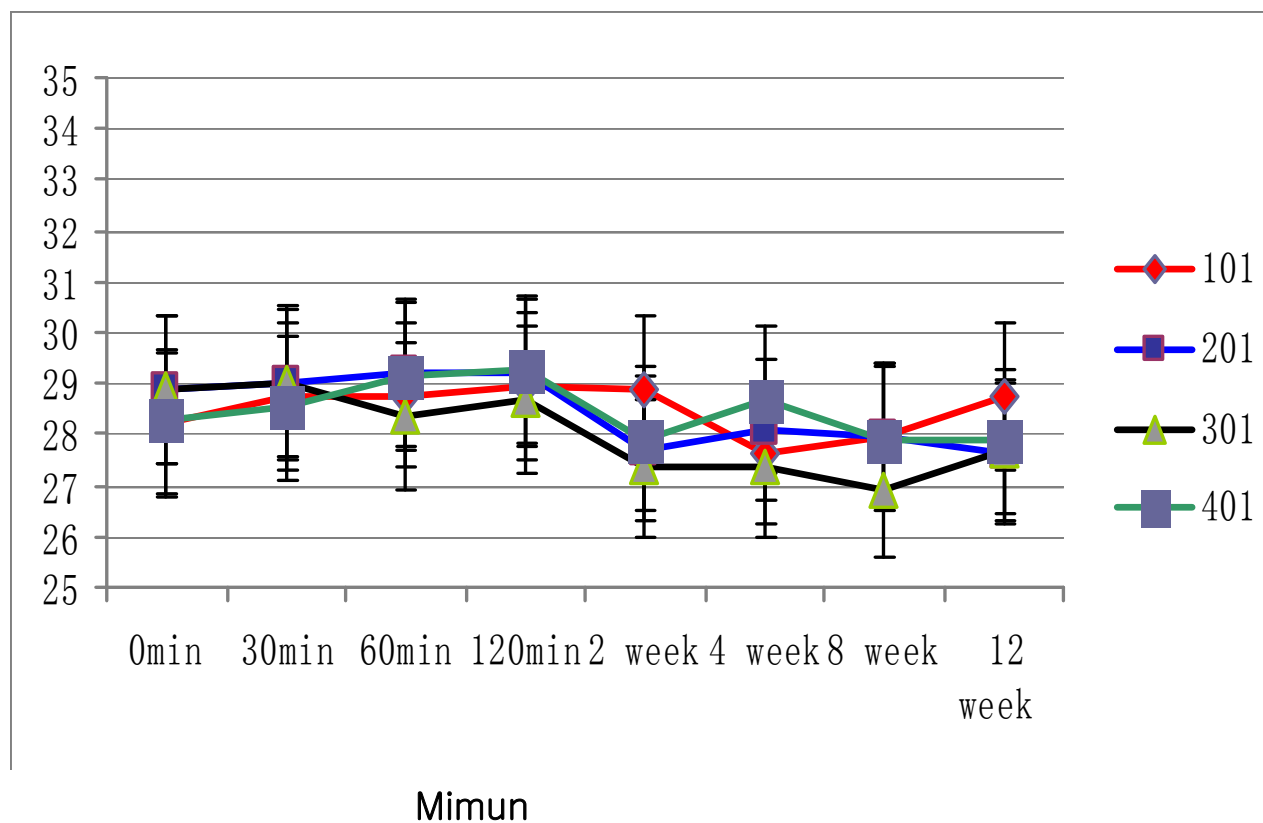


Figure 1. Change of acupuncture points temperature at each time point.

检验结果：

Findings:

In Korean red ginseng(group 1), there is no significant difference between the temperature of each point of before and after intake of the medication.

In American ginseng(group 2), the temperature of each point has no significant differences after intake of 0, 30min, 60min, 2weeks, 4weeks. Compared with before intake and after intake of 8 weeks, the difference is statistically significant with $P<0.05$.The temperature of each point recovered to the level of before intake of medicine.

After intake of 30min, there is a difference between group1 and group2 and the

difference is statistically significant with $P < 0.05$ (Tables 1-10, Fig. 1).

第1组各服药后各个穴位和服药前比各个时间点均没有显著性差异。

第2组服药后0,30min, 60min, 120min, 2周和4周各个穴位均没有显著性差异, 8周后体温下降, 统计学显著性差异为 $P < 0.05$,12周恢复至服药前的水平。

服药30min后, 第1组, 第2组有区别, 统计学的显著性差异为 $P < 0.05$

2 每个时间点的生命体征 (脉搏、血压、呼吸)

2 Ranges of vital signs (pulse rate, blood pressure, respiration) at each time point

2.1 中国人参、韩国白参、红参以及西洋参对高压和低压的影响

2.1 Effect of Chinese ginseng, Korean white, red ginseng and American ginseng on the SYSTOLIC and DIASTOLIC

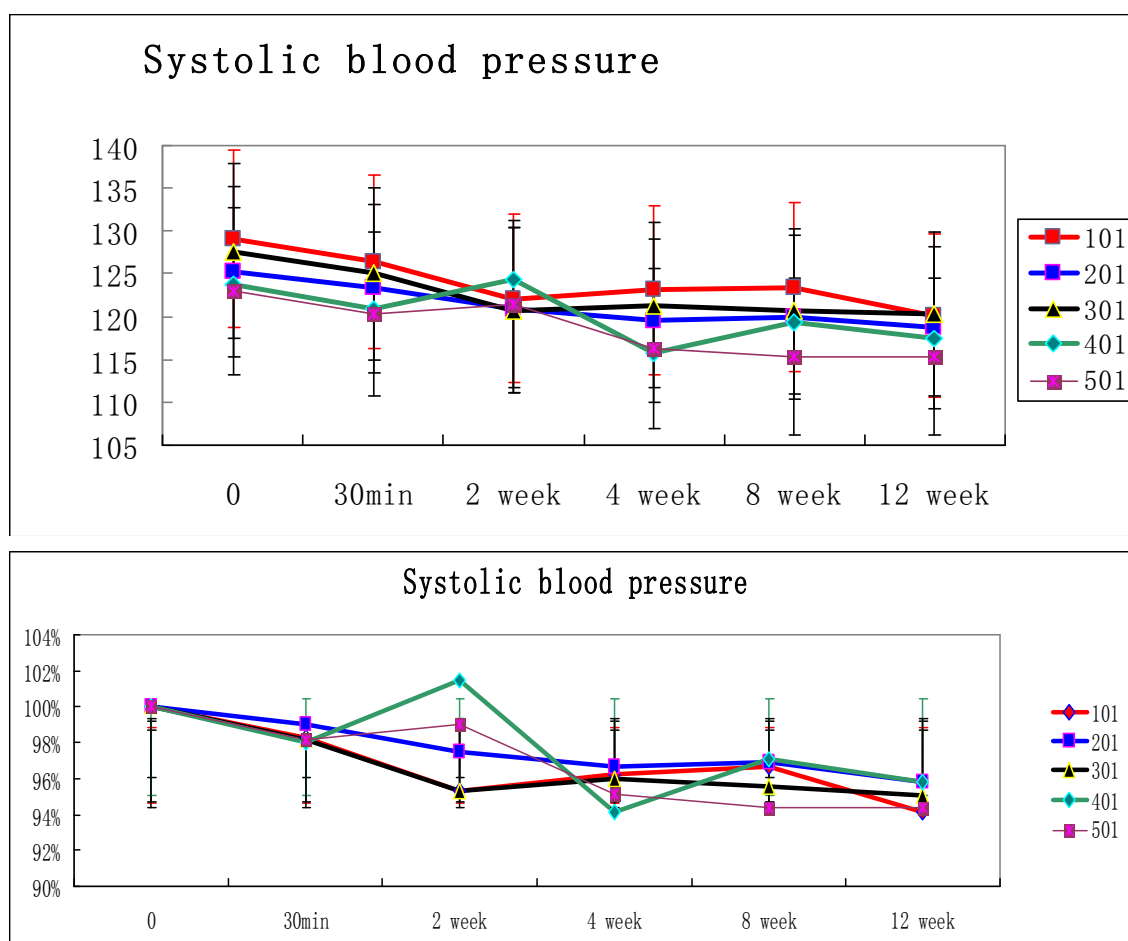


Figure 2. Change in value of Systolic (高压变化)

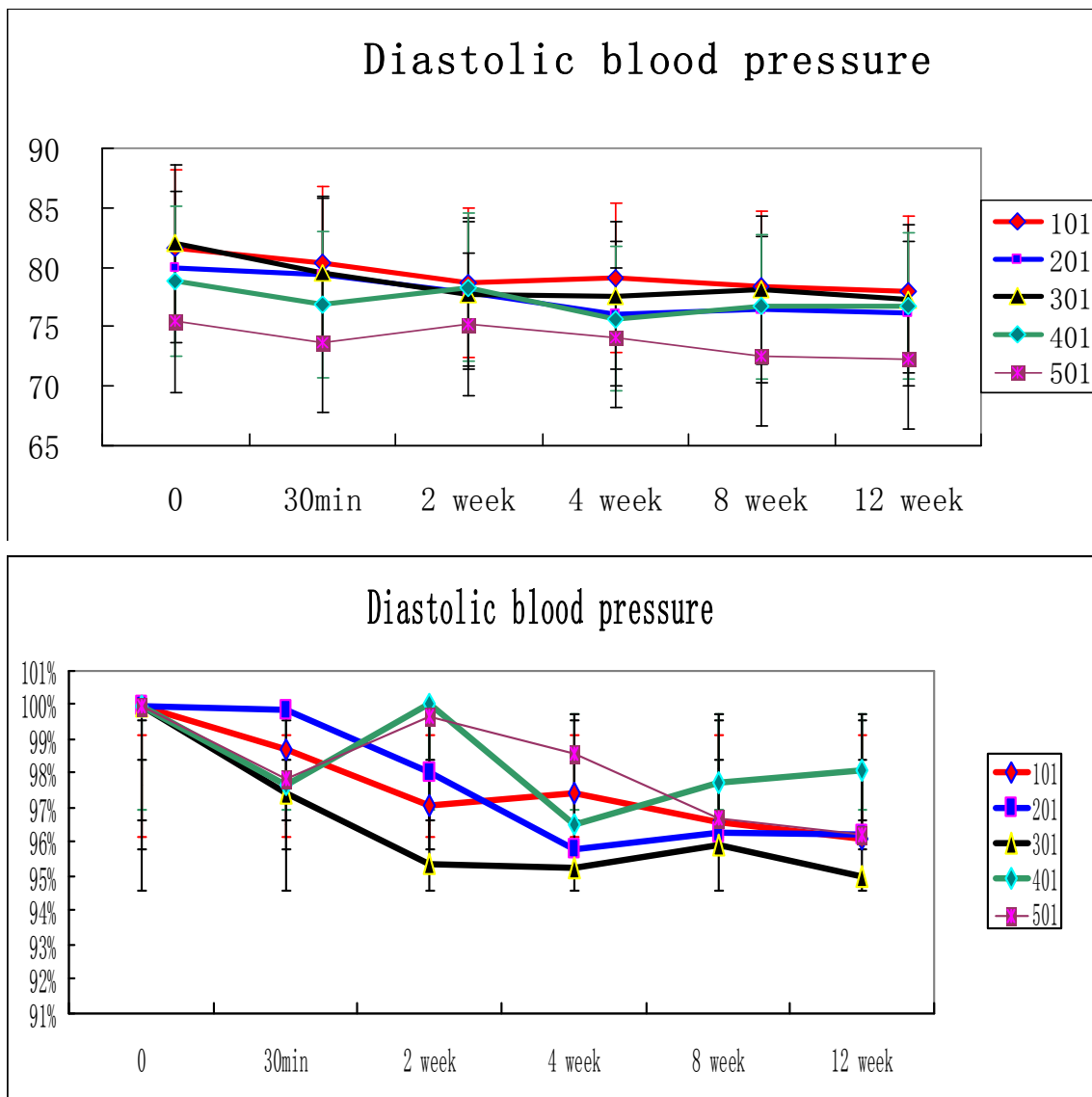


Figure 3. Change in value of Diastolic (低压变化)

检验结果：

Findings:

In Korean red ginseng (group1), the Systolic decrease sharply after intake of 30min and 2weeks compared with before having the medicine(Fig. 2). The difference is statistically significant with $p < 0.05$ and $p < 0.01$.

In American ginseng (group2), the Systolic decrease slowly until after taking 4weeks. But there is no statistically significant difference compared with before

intake.

In placebo (group3), the Systolic decrease sharply after intake of 30min and 2weeks, the difference between before and after intake of the medicine is statistically significant with $p < 0.01$.

After intake of 2weeks, the Systolic increase in Korean white ginseng (group4) compared with before intake of the medicine, but there is no statistically significant difference. And there are a difference between Korean red ginseng (group 1) and American ginseng (group 2) and between Korean red ginseng (group 1) and Korean white ginseng (group 4) on 2 weeks after intake(Fig. 2).

In Northeast China red ginseng (group5), after intake of 30min, the Systolic decrease compared with before intake of the medicine, and the difference is statistically significant with $p < 0.05$. After intake of 4weeks, 8weeks and 12weeks, the Systolic decrease compared with before intake of the ginseng and the difference is statistically significant with $p < 0.01$. But there is no difference with other groups at every point-in-time.

第1组服药30min和2周后高压迅速降低。统计学的显著性差异和服药前比分别为 $p < 0.05$ 和 $P < 0.01$ 。

第2组服药后高压缓慢降低，第4周降至最低。但和服药前比无显著性差异。

第3组服药30min和2周后高压迅速降低，第2周和服药前比统计学差异 $P < 0.01$ 。

服药2周后，和服药前比第4组的高压升高，但无显著性差异。第1组和第2组，第1组和第4组有差别。

第5组服药后30min和服药前比高压有显著性变化， $P < 0.05$ 。服药后4周、8周和12周服药前比高压有显著性变化， $P < 0.01$ 。各个时间点和和其他组相比无显著性差异。

In Korean red ginseng (group1), the Diastolic decline after intake of 30min and 2weeks, but has no statistically significant difference compared with before intake of the medicine(Fig. 3).

In American ginseng (group2), the Diastolic decline slowly after intake of 30min, but decrease sharply after intake of 2weeks and 4weeks.The difference between before intake and after intake of 4 weeks is statistically significant with $P < 0.01$.

In placebo (group3), the Diastolic decline sharply after intake of 30min and 2weeks, compared with before intake, the statistically significant difference is $P < 0.05$, the Diastolic decline continuously , the difference between before intake and after intake of 4weeks is no statistically significant with $P < 0.01$.

In Northeast China redginseng(group5), after intake of 30min, theDiastolic decrease compared with before intake of the medicine, and the difference is statistically significant with $p<0.05$. After intake of 8 weeks and 12 weeks, the Systolic decrease, the difference is statistically significant with $p<0.05$ and $P<0.01$. But there is no difference with other groups at every point-in-time.

第1组服药后30min和2周后低压降低，但与服药前比无显著性差异。

第2组服药后30min低压缓慢降低，2周、4周后低压迅速降低，第4周和服药前比统计学的显著性差异为 $P<0.01$ 。

第3组服药30min，2周后低压迅速降低，与服药前比的统计学差异 $P<0.05$ ，第4周继续缓慢降低，与服药前比的统计学差异 $P<0.01$ 。

第5组服药后30min和服药前比低压降低，有显著性差异 $P<0.05$ 。服药8周和12周服药前比低压降低，显著性差异 $P<0.05$ 和 $P<0.01$ 。各个时间点和其他组相比无显著性差异。

2.2中国人参、韩国白参、红参和西洋参对脉搏的影响

2.2. Effect of Chinese ginseng, Korean white, red ginseng and American ginseng on the Pulse rate

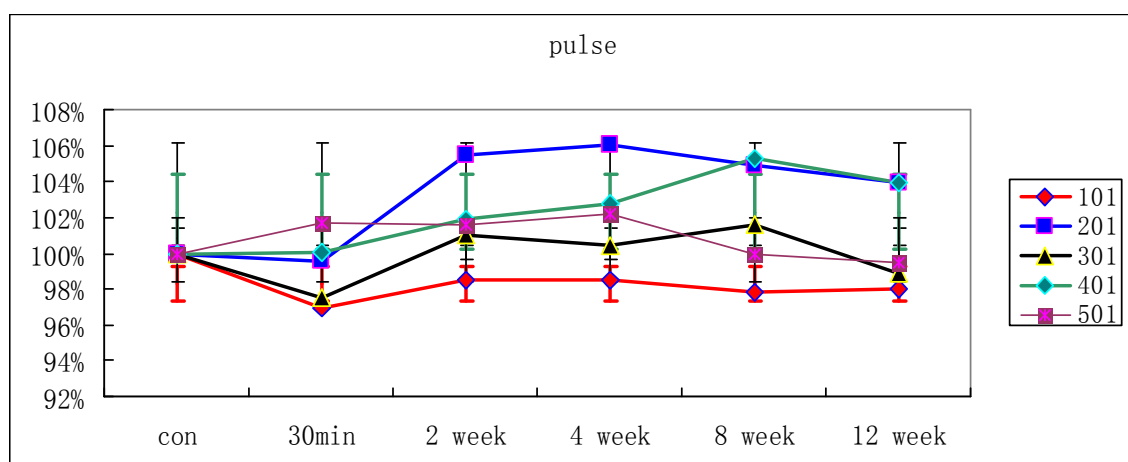
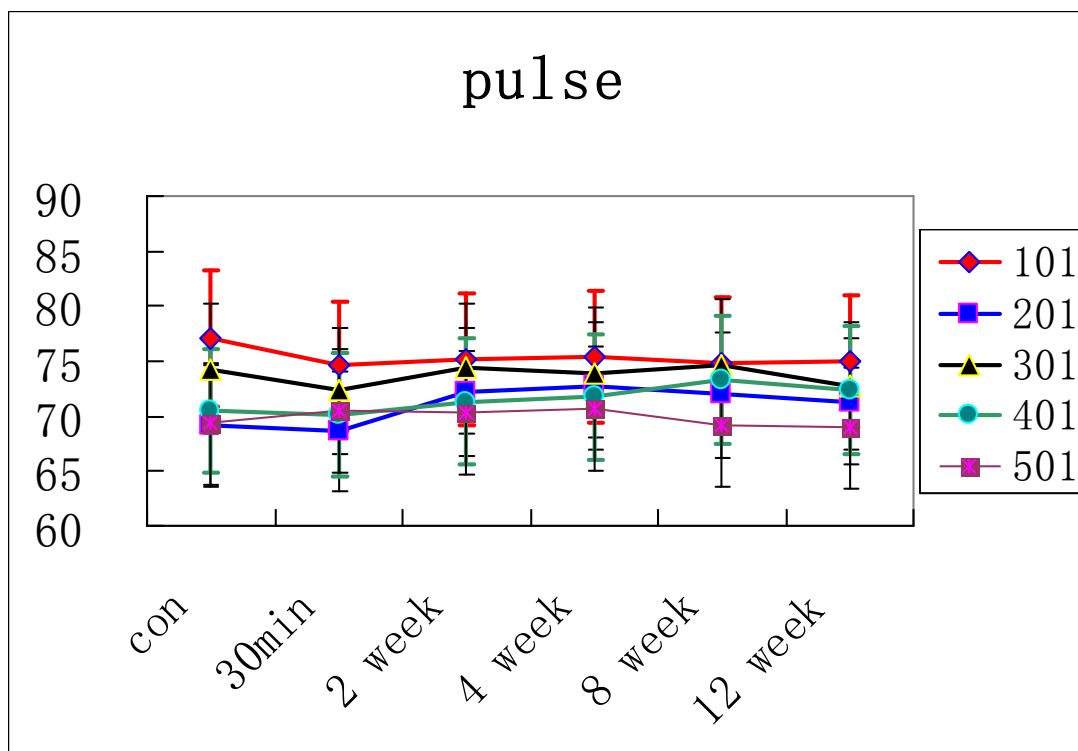


Figure 4. Change in pulse rate by time in research groups (每组脉搏的影响)

调查结果：

Findings:

After intake of 30min, the pulse rate of American ginseng (group2) decrease slightly and has no significant difference compared with before intake of the medicine. The pulse rate of Korean red ginseng (group1) and placebo (group3) decrease sharply, the statistically significant difference is $P < 0.05$.

In American ginseng (group2), the pulse rate increase after intake of

2weeks and 4weeks, the statistically significant difference compared with before intake of the medicine is $P<0.05$. After intake of 8weeks and 12weeks, the pulse rate has a little decrease and the statistically significant difference compared with before intake of the medicine is $P<0.05$.

In placebo (group3), the pulse rate increase after intake of 2weeks but has no statistically significant difference compared with before intake.

In Korean white ginseng (group 4), the pulse rate increase until after intake of 8weeks and the statistically significant difference compared with before intake of the medicine is $P<0.05$.

There is statistically significant difference after intake of 30min and 4weeks in Northeast China red ginseng (group5) and the difference is statistically significant with $P<0.05$. Compared with Korean red ginseng (group1) and placebo (group3), the pulse rate of Northeast China red ginseng (group5) is different, the statistically significant difference is $P<0.01$.

和服药前比, 30min后第2组脉搏稍有降低, 无显著性差异。第1和第3组组脉搏迅速降低, 显著性差异为 $P<0.05$ 。

第2组在服药后2周, 4周后脉搏上升, 与服药前比显著性差异 $P<0.01$ 。8周, 12周后稍有降低, 和服药前比的显著性差异为 $P<0.05$ 。

In group5,

第3组服药后2周脉搏上升, 与服药前比无显著性差异。

第4组在服药后脉搏持续升高, 第8周达到最大, 与服药前比的显著性差异为 $P<0.05$ 。12周稍有降低, 与服药前比无显著性差异。

第5组服药30min和4周后和服药前比有显著性差异, $P<0.05$ 。服药30min后第5组与第1组、第3组均有显著性差异, $p<0.01$ 。

2.3中国人参、韩国白参、红参和西洋参对呼吸的影响

2.3. Effect of Chinese ginseng, Korean white, red ginseng and American ginseng on the Respiration

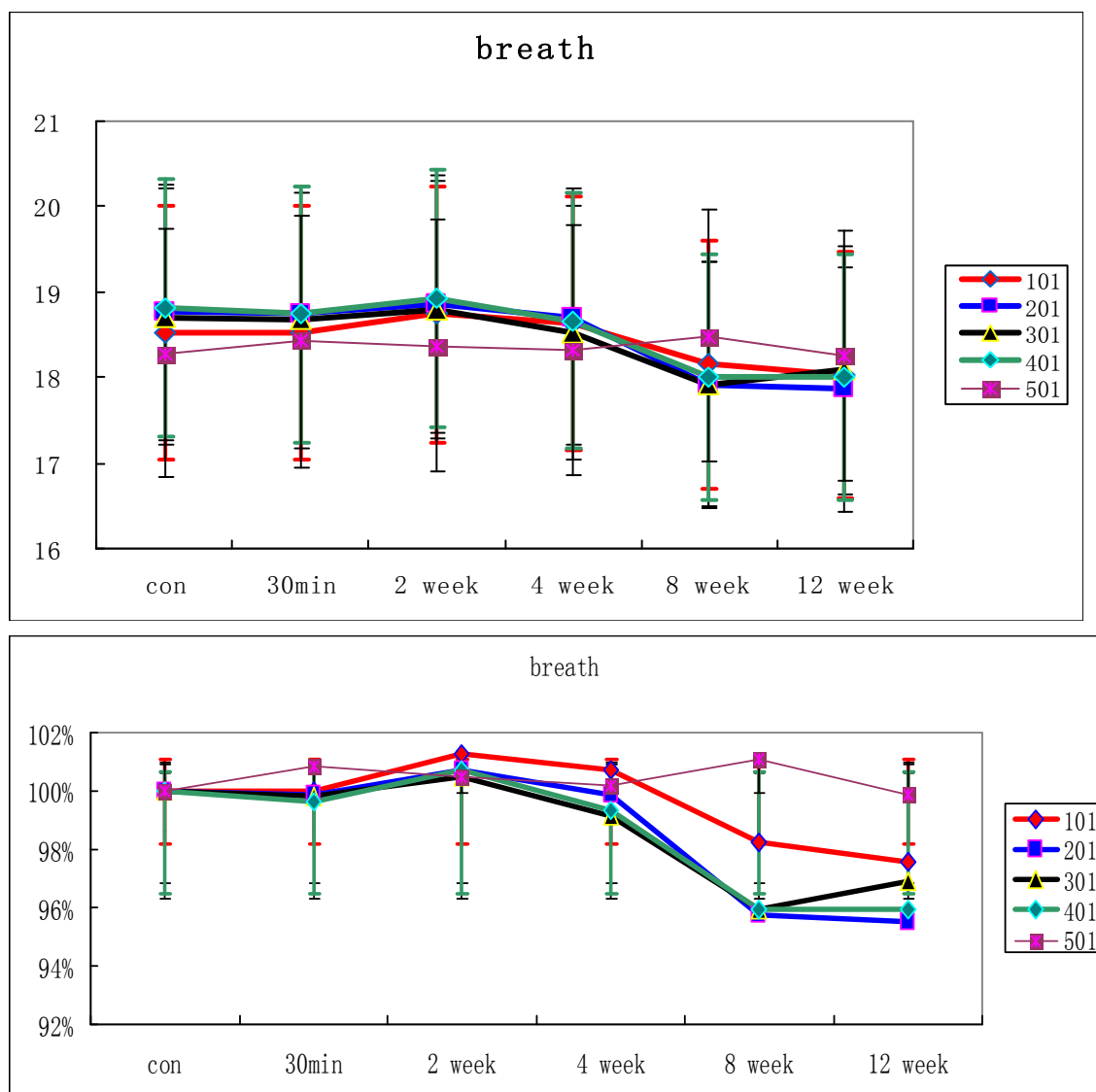


Figure 5. Respiration change in chronological order in sample groups (每组呼吸的影响)

调查结果：

Findings:

After intake of 60 and 120 minutes, 2 and 4 weeks, all the four groups witness a rise in respiration against before intake. But the pulse rate remains in the normal level. At the other time points, there is no change in respiration in 5 groups before and after intake

所有组在服用后的60min, 120min, 2周和4周后, 所有组志愿者的呼吸频率和服用前比均升高, 但是升高后仍维持在正常的水平范围内。在剩下的时间点, 所有组的呼吸频率和服用前比没有区别。

其它相关考察：

Relative observes：

服用人参后头晕症状改善统计表：

Dizziness symptom after taking ginseng

头晕 Different ginseng for volunteers with dizziness	Total number of volunteers with dizziness	After 2 weeks, the number of volunteers with dizziness	After 4weeks, the number of volunteers with dizziness	After 8 weeks, the number of volunteers with dizziness	After 12 weeks, the number of volunteers with dizziness	number of improvements/ Total rates of improvements 总改善数/率
101	19	10	5	4	4	15/78.95%
201	17	11	8	1	1	16/94.12%
301	16	13	9	8	8	8/50%
401	20	11	8	6	3	17/85%
501	18	11	9	4	3	15/83.33%

服用人参后头痛症状改善统计表：

Headache symptom after taking ginseng

头痛 Different ginseng for volunteers with headache	Total number of volunteers with headache	After 2 weeks, the number of volunteers with headache	After 4 weeks, the number of volunteers with headache	After 8 weeks, the number of volunteers with headache	After 12 weeks, the number of volunteers with headache	Total number of improvements/ Total rates of improvements 总改善数/率
101	13	7	4	3	0	13/100%
201	16	11	5	3	1	15/93.75%
301	15	10	3	3	3	12/73.33%
401	12	3	1	1	1	11/91.67%
501	14	10	7	2	2	12/85.71%

服用人参后失眠症状改善统计表：

Insomnia symptom after taking ginseng

失眠 Different ginseng for volunteers with	Total number of volunteers with insomnia	After 2 weeks,the number of volunteers with insomnia	After 4 weeks,the number of volunteers with insomnia	After 8 weeks,the number of volunteers with insomnia	After 12 weeks,the number of volunteers with insomnia	Total number of improvements/ Total rates of improvements 总改善数/率
101	21	16	9	7	2	19/90.48 %
201	18	11	10	1	0	18/100%
301	20	18	10	9	6	14/70%
401	26	15	8	5	2	24/92.31 %
501	25	15	8	5	3	22/91.67 %

服用人参后精神不振症状改善统计表：

Neither hale nor hearty symptom improvement after taking ginseng

精神不振Dif ferent ginseng for volunteers with either hale nor hearty symptom	Total number of volunteers with Neither hale nor hearty symptom	After 2 weeks,the number of volunteers with Neither hale nor hearty symptom	After 4 weeks,the number of volunteers with Neither hale nor hearty symptom	After 8 weeks,the number of volunteers with Neither hale nor hearty symptom	After 12 weeks,the number of volunteers with Neither hale nor hearty symptom	Total number of improvements/ Total rates of improvements 总改善数/率
101	8	6	3	1	1	7/87.50 %
201	4	1	1	1	1	3/75%
301	6	5	2	2	1	5/83.33 %
401	7	5	5	5	1	6/85.71 %
501	9	7	4	2	2	7/77.78 %

服用人参后鼻干症状改善统计表：

Dry nose symptom tables

Different ginseng for volunteers with dry nose	Total number of volunteers with dry nose	After 2 weeks, the number of volunteers with dry nose	After 4 weeks, the number of volunteers with dry nose	After 8 weeks, the number of volunteers with dry nose	After 12 weeks, the number of volunteers with dry nose	Total number of improvements / Total rates of improvements 总改善数/率
101	6	3	5	4	4	2/33.33%
201	7	3	3	1	0	7/100%
301	10	8	6	5	5	5/50%
401	11	7	6	2	1	10/90.9%
501	8	5	4	3	1	7/87.5%

服用人参后症状改善统计表：

Dry tongue symptom after taking ginseng

口舌干燥Different ginseng for volunteers with dry tongue	Total number of volunteers with dry tongue	After 2 weeks, the number of volunteers with dry tongue	After 4 weeks, the number of volunteers with dry tongue	After 8 weeks, the number of volunteers with dry tongue	After 12 weeks, the number of volunteers with dry tongue	Total number of improvements/ Total rates of improvements 总改善数/率
101	19	14	8	6	4	15/78.95%
201	11	6	4	4	2	9/81.81%
301	10	8	7	6	5	5/50%
401	16	8	5	3	1	15/93.75%
501	15	8	5	3	2	13/86.67%

4. Abnormal reactions 副作用

组别	Number of original participated in test 原参加测试人数	The subject did not visit again (没有再次接受测试)	Abnormal Reaction (副作用)	Exclude for non-compliance of test plan 试验中由于受试者不适应退出的	Total 退出者总数
101	45	3	1 (tongue sores)	3	7
201	43	2	1 (tongue sores)	2	5
301	40	2	1 (tongue sores)	3	6
401	45	2	1 (toothache)	3	6
501	42	2	2 (one case of tongue sores, one case of toothache)	3	7
Total 总数	215	11	6	14	31

On the whole, the general physical conditions for example, headache, discomfort in epigastria, chest fullness, skin rashes, loss of appetite, indigestion, diarrhea, insomnia, dry lips and mouth, obstructive feeling in the chest, and nasal bleeding have not been found in all of participants after taking ginseng capsules. Several cases occur sores on the tongue with mild or moderate degree but we have excluded them from the clinical trial due to the subjects request.

总的来说，一般身体条件下的患者服用人参胶囊后都没有出现头痛，腹部不适，胸中痞硬，皮疹，食欲不振，消化不良，腹泻，失眠，口干，胸闷，流鼻血。几例患者出现舌疮等轻微的症状，但是由于受试者的要求我们把他们从临床试验中排除了。

5讨论

Ginseng is a kind of tonic Traditional Chinese medicine having a history of nearly 2,000 years in application. Ginseng recorded in the earliest book about Traditional Chinese medicine----- [Sheng Nong's herbal classic](#) 《神农本草经》 (about 200 AD) :Ginseng: sweet, slightly cold, mainly make up the five internal organs, making the spirit calm, giving the soul ended fright, making eyes clear, making people more happy, making people clever, making people live longer if people take it for a long time. This is similar to the record in the famous book about Traditional Chinese medicine -----[Compendium of Materia Medica](#) 《本草纲目》 . Modern pharmacological studies confirmed that ginseng has an educational effect, actually, ginseng has an effect of improving the memory of the test animals. Making up the five internal organs, actually, ginseng has the capability to improve the immunity, hematopoietic function, Adrenal of corticosteroids and hormonefunction.Itcanalsopromotethesynthesisofnucleicacidsandproteins,improvehe artfunction,regulatingbloodpressureandanti-aging.The latterismainlypresentthanginsen gcanprolongthelifeoftheanimalshavinggginsenoside.Ginsengcanprolonglifeaccordingtoi nhibitingofmonoamineoxidaseactivity,improvingtheactivityofsuperoxidedismutaseandc atalaseandfreeradicals.

Drugs are classified into three types according to their properties (cool, warm or leveling) in 《the pearl sac addendum herbs ode》 which is important in the developing history of ginseng. It put forward that “ginseng is drug of Leveling” “ginseng is able to make the lung moist, make people happier, ginseng is good for spleen and stomach. From the aforementioned, we can see than ginseng has no cool property, applying in clinical trails as a leveling drug. We can see that ginseng has no fever reaction or cool reaction. Therefore ginseng can be taken long-term as a tonic and anti-aging food.

In chinese medicine diet, ginseng has been used as drug material which has the capability to reinforce vital energy, relieving depletion promoting the production of the body fluid, soothe the nerves, facilitate the development of brain. The main treatment of ginseng is tired after hard work, weak for a long time, declined vital energy and blood, the burnout of virtual cough, breathlessness, spontaneous perspiration, palpitation, forgetfulness, dizziness and frequent urination, women uterine, male impotence, pediatric fright . The method applied to ginseng can be bubble, stewed, steamed, braised, baked, boiled, boil, etc., each taking 1-10 grams.

By the above summary discusses we can see that ginseng has been used in China up to the history of more than 2000 years. Ginseng is applied in Korea, Japan, Vietnam and Southeast Asia has reached more than a millennium.

Ginseng is employed all over the world because of its outstanding treatment in the present. Ginseng is not only used in clinic as drug which can treat the clinical asthenic disease caused by the weakness of lung, spleen, kidney, brain, but also utilized as food which has the capability to improve the physique and energy and prevent aging. This is in line with the requirements of the WHO , whose purpose is the disease prevention and treatment, improving the quality of life and prolonging life.

It was the rumor that taking ginseng can cause human fever and increased temperature. It may be caused by ginseng employed improperly that the individual wishes to achieve the purpose of longevity .The rumor is spread widely and a considerable crowd of people dare not take ginseng. Some people even take American ginseng health products. The intent of this study is to verify that taking ginseng does not cause the body fever and elevated body temperature. The study suggests that:

人参作为具有滋补作用的中药，在中国应用已具有近2000年历史，如在中国最早的中药专著，成书于公元200年左右的《神农本草经》中明确记载“人参：味甘，微寒，主补五脏，安精神，定魂魄，止惊悸，除邪气，明目，开心，益智，久服，轻身延年。”⁴而在世界著名中药巨著《本草纲目》中也有相同类似记载。⁵经当地药理学研究证实人参益智作用，实际具有提高实验动物的记忆功能，而补五脏，实际具有提高实验动物的免疫能力，增强造血功能；增强肾上腺皮质激素和性腺激素的功能；促进核酸和蛋白质的合成；提高心脏功能，调节血压及抗衰老作用。后者主要表现在能延长应用人参皂苷动物寿命。主要通过抑制使人衰老的脑内单胺氧化酶活性和提高体内超氧化物歧化酶和过氧化氢酶活性，清除引起衰老的自由基等实现抗衰老，延长寿命作用。⁶

在人参发展史上具有重要作用的中药专著《珍珠囊补益药性赋》，该书将药物以具有热性，寒性和平性来分类，提出“人参为平性药物”，“人参润肺宁心，开脾助胃”可见人参不具有寒热的属性，而作为具有平性药物应用于临床。可见人参既不能引起人体怯寒而发热，同时也不能引起人体清热而生寒。⁷因此可作为滋补品长期应用于保健和抗衰老而服食。

在中药药膳学中，已将人参作为药膳应用的药物性原料，具有大补元气，固脱生津，安神益智功能。主要劳伤虚损，久虚不复，一切气血衰微不足之证及食少，倦怠之虚咳，喘促，自汗，惊悸，健忘，眩晕尿频，妇女崩漏，男子阳痿，小儿惊悸等。可以应用泡，炖，蒸，焖，煨，煮，熬等方法，每次服用1-10克。⁸

通过以上摘要论述，可见人参在中国应用已有达2000年以上的历史。在韩国，日本，越南及东南亚地区应用已达千年以上，目前人参由于有显著疗效作用适应用已几遍布全世界，在应用上不仅作为药物应用于临床主治由于肺，脾，肾，脑等多脏腑功能亏损而引起的一切临床虚损病症。同时也可以由于人参的提高人体体质，体能，抗衰老等功效而作为常用食品而服食。达到提高健康水平，提高生活质量，进而发挥抗衰老，延长寿命的功效。这是非常符合WHO对于临床防治疾病的目的是提高生活质量和延长寿命的要求。

当前有人传说服食人参会引起人体发热，体温升高，估计是个别人欲达到延年益寿的目的而服食人参不当，引起上火或发热的不良反应而以讹传讹，久之甚至使相当人群认为人参会引起发热而不敢服食，甚至转而服用西洋参等保健品，为了验证服食人参不会引起人体发热和体温升高，制定本项科研。

The study demonstrates that despite the fact that the temperature change in the Acupuncture Points occurs at different time points of intake, it has a downward trend after intake of 30, 60 and 120 minutes, 2 and 4 weeks and an upward trend after 8 weeks'intake onwards. The change is still within the normal limit of body temperature. We find out that there is the least change in Korean red ginseng(group 1).

本项研究显示尽管在服用人参后的不同时间点穴位的温度有所变化，但在服用30min, 60min, 120min, 2周及4周后体温有下降的趋势，服用8周后有上升的趋势。体温变化后仍在正常的范围内。第一组的体温变化最小。

In terms of indicators of blood pressure, pulse, breathing rate, there is a change at some time points before and after intake in all 5 groups. However, this change remains within normal limits. Overall, there is no significant difference when the comparison among the 5 groups is made as far as the change of these indicators is concerned.

以血压，脉搏和呼吸频率为指标，五个组在服用人参前和服用后的一些时间点相比以上指标有所变化。然而这些变化仍在正常的范围内。总之，就这些指标而言，五个组没有很大的区别。

Experimental results on a comprehensive discussion could be considered:

1. According to the study of clinical trails, taking 4g Chinese Northeast ginseng, Korea red ginseng and Korea White Ginseng respectively in two times. Continued for 12weeks, we cannot observe any reaction fort emperature rises. At the same time the pulse, breathing observation revealed no fast and slow response. Blood pressure(systolicpressure) and low pressure(diastolicpressure) have no rising or declining reaction. But for the patient with higher blood pressure, it has a certain effect.

2. In the test of surface temperature of certain acupoint, the temperature of some people taking Korea red ginseng, Korea White Ginseng, American ginseng

may slightly rise compared with the control group. The reason is that the scientific research conducted during January to June, putting it another way, the scientific research conducted during the winter, spring, summer in northern of China. During the three seasons, the changes significantly, the indoor temperature is between 18°C-25°C therefore the surface temperature constitutes a positive temperature effect. No significant differences among the four groups, having no statistically significant.

3. According to the clinical comparative study, the Northeast red ginseng, Korean red ginseng, Korean white ginseng have a strong tonic effect .They can build up strength and energy, recover from the symptoms caused by tiredness. The effective rate of recovering from dizziness, headache, fatigue, doldrums, insomnia and dry mouth which arised commonly is between 70% and 90%.It is of prominent significance.

4. With regard to the ingestion dose and treatment of ginseng (taking time), according to the 6 analysis of clinical symptoms of dizziness, headache, fatigue, doldrums, insomnia and dry mouth, the ingestion dose is 2g pe rperson a day(lower than 2/3 of 3g which is the therapeutic dose), two times a day is proper. Therefore, mentioned does is deemed as the optimal dose and should continue not less than 2 months. Based on the clinical analysis, the symptoms are mitigated after intake of 2months, also, the energy and physique are improved significantly. Reverse reaction such as dizziness and headache are mitigated obviously. Fatigue, lack of energy, insomnia, dry mouth and other symptoms are mitigated obviously. Korean red ginseng, American ginseng, Korean white ginseng, Northeast China Ginseng and control group comparison, statistical treatment of these symptoms efficacy significant, and the contrast between the Korean red ginseng, American ginseng, Korean white ginseng and Chinese northeast ginseng group, statistical treatment efficacy difference meaningless.

5. Finally, when taking ginseng, according to Chinese Medicated Diet learn Note: hypreactivity of *yang* due to deficiency of *yin*, hectic fever, cough, hemoptysis, lung-heat or cough with accumulation of phlegm, hyperactivity of liver-*yang*, flushed eyes dizziness, and all hyper activity of fire *yin* deficiency contraindications taking, as ginseng has atonic qi role, Chinese medicine believes that “The excess of *qi* is fire. ”so the hyperactivity of yang should not take ginseng.

综上所述实验结果讨论可认为：

1、通过临床对比研究，每人每日服用东北人参、韩国红参和韩国白参4g分两次服用。连服十二周，未发现有体温升高的反应。同时对脉搏，呼吸观测未发现有增快和减慢的反应。对血压高压（收缩压），低压（舒张压）未有升压和降压的反应。但对部分血压偏高者。有一定的降压作用。

2、在对人体体表特定穴位的体表体温检测中，有部分人在服用韩国红参，韩国白参，西洋参和对照组均有体表穴位体温轻度升高的现象。经分析是由于科研时间在一月至六月间进行，期间正值中国北方冬、春、夏三季，气温由低向高变化明显，室内温度在18℃-25℃间上升因此对体表温度构成正温度效应。四组间未有明显差异，不具备统计学意义。

3、经临床对比研究发现服用东北红参、韩国红参，韩国白参有较好的滋补强壮作用。对于提高体质，体能和改善由于疲乏劳累引起的临床不适症状有明显改善作用。其中对于出现几率较高的临床症状头晕、头痛、疲乏、精神不振、失眠，口干舌燥6项进行临床对比分析，其有效率在70%-90%之间。对于提高体质具有显著的意义。

4、关于人参的服食剂量和疗程（服食时间），通过对头晕、头痛、疲乏、精神不振、失眠，口干舌燥6项临床症状的分析，服食剂量每人每次2g人参（剂量低于人参临床每人每次治疗最低剂量3g的2/3），每日分两次服用较为适宜。可以认为是养生保健的最佳剂量。而服食时间应最少不应低于两个月。经临床分析，上述临床症状均为在服两个月后疗效最为明显。证明经过两个月服食后人体的体质和体能有明显的改善。证明临床不适如：头痛，头晕等症状有明显的改善。

5、最后在服食人参时，按中医药膳学的使用注意中提出：阴虚阳亢骨蒸潮热，咳嗽吐衄，肺有实热或痰气壅滞的咳嗽，肝阳上升，目赤头晕以及一切火郁内实之证均忌服。这是由于人参具有大补元气之作用，中医认为气有余便是火，因此具有阴虚阳亢之证的人不易服食人参。

References

1. Zhao Jinduo. 《The Marquis of syndrome in TCM differential diagnostics》 [M]. The first edition. Beijing: People's Health Publishing House,1987:93
2. Zhao Jinduo. 《The Marquis of syndrome in TCM differential diagnostics》 [M]. The first edition. Beijing: People's Health Publishing House,1987:109
3. Chen Jiaxu. 《Diagnostics of TCM》 [M].The second edition. Beijing: People's Health Publishing House,2012:154
4. He qinghu. 《Handed Down Collection of book.the sub-libraries. The department of medical 》 [M]. (wei)Wujin. 《 [Sheng Nong's herbal classic](#)》 [M]. The first edition. Haikou:The Hainan International News Publishing Center, March 1995:1797
5. Li Shizhen. 《Compendium of Materia Medica》 [M].The first edition. Beijing:

People's Health Publishing House,1982:201

6. Hou Baoyu. 《The pharmacology of traditional Chinese medicine》 [M]. The second edition.Beijing:Traditional Chinese Medicine Press, march 2007:211-214

7. Zhao Jinduo. 《The Marquis of syndrome in TCM differential diagnostics》 [M].The first edition. Beijing:People'sHealthPublishingHouse,1987:1962

8. Tan Xinggui. 《Chinese Materia Medicated Diet》 [M].The first edition,the nineteenth.Beijing:Traditional Chinese Medicine Press ,march 2011:162

参考文献

- 1、赵金铎主编《中医证候鉴别诊断学》人民卫生出版社 北京 1987年第一版 93.
- 2、赵金铎主编《中医证候鉴别诊断学》人民卫生出版社 北京 1987年第一版 109.
- 3、陈家旭等编《中医诊断学》人民卫生出版社 北京 2012第二版 154.
- 4、河清湖主编《传世藏书.子库.医部》 [魏] 吴普等述《神农本草经》 海南国际新闻出版中心出版 海口 1995年3月 第一版 1797.
- 5、李时珍著《本草纲目》人民卫生出版社 北京 1982年 第一版 201.
- 6、侯宝玉等编《中药药理学》 中国中医药出版社 北京 2007年3月第二版 211-214.
- 7、赵金铎主编《中医证候鉴别诊断学》人民卫生出版社 北京 1987年第一版 1962.
- 8、谭兴贵主编《中药药膳学》中国中医药出版社 北京 2003年 第一版 2011年3月 第19次印刷 162.

결 론

1. 중국인을 대상으로 10곳 침구점에 대한 체열을 측정하였는 바, 체열은 화기삼과 백삼 복용그룹의 경우에는 모든 침구점에서 복용후 60분 까지 증가한 후 12주까지 약간 떨어지는 경향이였으며, 고려홍삼은 복용후 30분에는 화기삼과 반대로 떨어졌으며 복용후 60분부터 12주까지는 화기삼과 백삼의 체열과 같은 경향을 나타내었다 (Tables 1-10, Fig. 1).
2. 수축기 혈압은 고려홍삼 복용그룹의 경우에는 복용후 2주까지 급격히 감소한 후에 12주까지 일정하게 유지된 반면에 화기삼과 백삼은 느린 속도로 감소하는 경향을 보였다(Fig. 2). 이완기 혈압은 고려홍삼, 화기삼 모두 복용후 4주까지 서서히 감소하였다(Fig. 3).
3. 맥박은 고려홍삼 복용그룹의 경우에는 복용후 30분에는 감소하였으며 이후 12주까지 일정하게 유지되었으며 화기삼의 경우에는 복용후 2주까지 증가하였으며 이후 12주까지 증가한 상태로 계속 유지되어 고려홍삼과 다른 양상을 보였다(Fig. 4).
4. 복용후 부작용을 보면 심계항진, 변비, 두통, 속 더부룩함, 가슴 불편함, 코피, 불면 등과 같은 증상은 발견되지 않았으며 고려홍삼과 화기삼 복용그룹에서는 헛바늘 돌음 현상이 각각 1명씩 발생하였으며 백삼 복용그룹에서는 치통이 1명 발생한 것외

에는 부작용이 전혀 발생되지 않았다.

3) Taiwan

Comparative Clinical Trials on the Body Temperature Responses of Taiwanese Administered Korean Ginseng and American Ginseng

Purpose :

The aim of this study was to compare the thermal responses between intaking of Korean ginseng and American ginseng in Taiwanese by monitoring vital signs (body temperature, blood pressure, pulse rate) and body heat.

Materials and Methods :

Healthy Taiwanese subjects of either gender between the ages of 20 and 60 were recruited. The subjects were divided randomly into four different groups: Korean red ginseng group, American ginseng group, Korean white ginseng group and placebo group. Powder-based ginseng capsules (400mg) were distributed to each of the subjects in the experiment groups in a double-blind fashion. Each subject took 2,000 mg (5 capsules) b.i.d. for 4 weeks. During this period, all data was collected at before, 60 min, 120 min, 2nd week and 4th week after the first dose intake. Body heat response including the temperatures of 11 acupuncture points [Indang, Sugu (GV-26), Juning (CV17), Jungwa (CV12), Gwanwon(CV4), left and right of Gyeonryo (SI-1), left and right of Inyeong (S-9), and left and right of Wunmun (L-2)] checked by means of DITI (Digital Infrared Thermal Imaging). And Vital signs (body temperature, blood pressure, and pulse rate) were measured. All subjects received questionnaires, including scaling charts for general physical conditions such as headache, dizziness, sensation of an increase in heat, epigastric discomfort, skin rash, loss of appetite, indigestion, diarrhea, constipation, insomnia, dry lips and mouth, an obstructive feeling in the chest, sores on the tongue, and nasal bleeding. Utilizing scaling charts allows self-reported symptoms to be measured and analyzed.

The compiled data was analyzed using SAS. ANOVA between groups and repeated ANOVA Within the group. and Tukey's post-hoc was applied. A p-value

of less than 0.05 and 0.01 was considered statistically significant. All data are presented as means \pm SD.

Results :

Change of acupuncture point temperature at each time point

The temperatures of eleven acupuncture points [Indang, Sugu (GV-26), Juning (CV17), Jungwa (CV12), Gwanwon(CV4), left and right tGyeonryo(SI-1), left and right Inyoung(S-9), and left and right Wunmun (L-2)] were checked to measure the body heat response of study participants who took Korean red ginseng, Korean white ginseng, and American ginseng. The results are shown in Tables 1-11.

Korean red ginseng group, American ginseng group, and Korean white ginseng group all exhibited constant temperature at all acupuncture points until 4 weeks after intake. There were no significant differences of body heat responses(the temperature of 11 acupuncture points) between Korean ginseng and American ginseng at all acupuncture points (Tables 1-11).

Changes of vital signs such as blood pressure, pulse rate, and respiration at each time point

Vital signs such as blood pressure, pulse rate, and respiration at each time point were compared between 4 groups. The results are shown in Figs. 1-4.

Systolic blood pressure in Korean red ginseng group and American ginseng group were not changed and constant until 4 weeks after intake (Table 12). However, that of Korean white ginseng group rapidly increased in 60 minutes after intake, decreased in 2 hours after intake and then maintained constantly. Diastolic blood pressure in all ginseng groups was the same trend as the systolic blood pressure (Table 13).

Pulse rate in Korean red ginseng group and American ginseng group were not changed until 4 weeks after intake. However, that of Korean white ginseng group was increased in 2 weeks after intake (Table 14).

Respiration in Korean red ginseng group was increased until 120 minutes after intake and then decreased (Table 15). However, respiration of American ginseng group was decreased until 120 minutes and then increased.

Abnormal reactions :

Overall, general adverse reactions such as headache, epigastric discomfort, skin rashes, loss of appetite, indigestion, diarrhea, constipation, insomnia, dry lips and mouth, obstructive feeling in the chest, and sores on the tongue occur in some participants after taking herb. In this study, minor symptoms on headache, diarrhea, and sores on the tongue occurred in some participants after taking Korean white ginseng capsule.

Table 1. Temperature of the Indang acupuncture point at each time point

Ginseng Time point	Korean red ginseng	American ginseng	Placebo	Korean white ginseng
Before intake	32.4 ± 1.2	32.3 ± 1.0	32.6 ± 1.1	32.4 ± 1.1
60 min. after intake	32.3 ± 0.9	32.5 ± 1.0	32.5 ± 0.7	32.0 ± 1.1
120 min. after intake	32.4 ± 1.2	31.7 ± 1.1	31.9 ± 1.1	32.2 ± 0.8
2- weeks after intake	32.1 ± 0.6	32.5 ± 0.8	33.0 ± 1.0*	32.4 ± 1.4
4-weeks after intake	32.5 ± 1.1	32.6 ± 0.8	33.0 ± 0.7*	32.7 ± 0.5

* Compare with 120 min. after intake, $p < 0.05$

Table 2. Temperature of the Sugu acupuncture point at each time point (GV26)

Ginseng Time point	Korean red ginseng	American ginseng	Placebo	Korean white
-----------------------	-----------------------	---------------------	---------	-----------------

				ginseng
Before intake	31.±1.2	31.6±1.5	1.1	31.9 ± 31.8±1.0
60 min. after intake	31.4±1.2	31.5±1.4	1.1	31.6 ± 31.4±0.9
120 min. after intake	31.1±	31.1±0.9	1.0	31.0 ± 31.5±1.0
2- weeks after intake	31.5±	32.1±0.8	1.4	31.9 ± 21.0±1.2
4-weeks after intake	31.8±	32.0±0.9	0.7*	32.3± 32.3±0.4

* Compare with 120 min. after intake, p < 0.05

Table 3. Temperature of the Juning acupuncture point at each time point (CV17)

Ginseng Time point	Korean red ginseng	American ginseng	Placebo	Korean white ginseng
Before intake	32.0±1.3	31.8±1.5	32.6±1.3	32.1±1.9
60 min. after intake	32.7±1.2	32.4±1.6	32.5±1.2	32.1±1.2
120 min. after intake	32.5±1.7	31.8±1.7	32.6±1.1	32.6±0.7
2- weeks after intake	32.3±1.0	32.1±1.0	33.0±0.7	32.3±1.4
4-weeks after intake	32.2±1.6	32.2±1.2	32.6±1.0	32.7±0.8

Table 4. Temperature of the Jungwa acupuncture point at each time point (CV12)

Ginseng Time point	Korean red ginseng	American ginseng	Placebo	Korean white ginseng
Before intake	31.5±1.5	31.2±1.7	32.2±1.6	31.9±2.1
60 min. after intake	32.1±1.5	31.6±2.0	32.3±1.4	31.9±1.2
120 min. after intake	32.1±1.8	31.2±1.9	32.3±1.3	32.2±1.0
2- weeks after intake	31.9±1.2	31.8±1.0	32.6±1.1	32.0±1.7
4-weeks after intake	31.7±2.2	31.9±1.2	32.4±0.8	32.2±1.0

Table 5. Temperature of the Qihai acupuncture point at each time point(CV 6)

Ginseng Time point	Korean red ginseng	American ginseng	Placebo	Korean white ginseng
Before intake	29.5±1.9	30.1±2.0	30.3±1.7	29.5±2.6
60 min. after intake	30.0±2.1	30.2±2.3	30.3±1.4	30.0±1.2
120 min. after intake	30.2±2.1	30.5±1.6	30.5±1.2	30.8±1.7
2- weeks after intake	29.7±2.3	30.2±1.4	31.2±1.3	30.6±1.7
4-weeks after intake	29.8±2.2	31.1±3.2	31.1±0.8	30.2±2.3

Table 6. Temperature in left of Gyeonryo(SI-1) acupuncture point at each time

Ginseng Time point	Korean red ginseng	American ginseng	Placebo	Korean white ginseng
Before intake	25.4 ± 1.2	24.6 ± 0.8*	25.8 ± 1.6	25.7 ± 1.6
60 min. after intake	25.1 ± 1.7	24.8 ± 1.5	24.9 ± 0.9	25.7 ± 2.0
120 min. after intake	24.9 ± 1.7	24.6 ± 0.8*	24.6 ± 1.1*	25.9 ± 1.6
2- weeks after intake	25.9 ± 1.8	26.0 ± 1.7	26.1 ± 1.6	26.4 ± 1.2
4-weeks after intake	26.4 ± 2.5	24.7 ± 1.1*	25.7 ± 1.6	26.3 ± 1.7

* Compare with 2-weeks after intake, p < 0.05

Table 7. Temperature in right of Gyeonryo(SI-1) acupuncture point at each time point

Ginseng Time point	Korean red ginseng	American ginseng	Placebo	Korean white ginseng
Before intake	26.6 ± 1.7	26.1 ± 1.7	26.3 ± 1.8	26.1 ± 1.6
60 min. after intake	25.8 ± 1.5	26.0 ± 2.2	26.3 ± 1.7	27.1 ± 2.5
120 min. after intake	26.3 ± 1.7	25.6 ± 1.0	25.5 ± 0.8	27.1 ± 2.4
2-weeks after intake	26.3 ± 1.7	26.2 ± 1.2	27.5 ± 2.6***	27.3 ± 2.0
4-weeks after intake	27.8 ±1.6**	27.2 ± 1.8	27.8 ± 1.9***	28.2 ± 1.0

**Compare with 60 min. after intake, p < 0.01

*** Compare with 120 min. after intake, p < 0.01

Table 8. Temperature in left of Inyoung(S-9) acupuncture point at each time point

Ginseng Time point	Korean red ginseng	American ginseng	Placebo	Korean white ginseng
Before intake	32.2 ± 1.4	31.7 ± 1.5	32.5 ± 1.3	32.0 ± 1.0
60 min. after intake	32.1 ± 1.8	32.1 ± 1.3	32.1 ± 1.0	31.6 ± 1.2
120 min. after intake	32.2 ± 1.4	31.4 ± 1.5	31.8 ± 0.9	32.1 ± 0.5
2-weeks after intake	31.8 ± 0.9	32.1 ± 0.9	29.9 ± 8.7	31.9 ± 1.2
4-weeks after intake	32.2 ± 1.5	32.0 ± 1.2	32.7 ± 0.6	32.5 ± 0.6

Table 9. Temperature in right of Inyoung(S-9) acupuncture point at each time point

Ginseng Time point	Korean red ginseng	American ginseng	Placebo	Korean white ginseng
Before intake	32.1 ± 1.5	31.8 ± 1.7	32.4 ± 1.3	32.1 ± 1.0
60 min. after intake	32.3 ± 1.9	32.2 ± 1.5	32.2 ± 1.1	31.9 ± 1.3
120 min. after intake	30.3 ± 1.5	31.5 ± 1.8	31.9 ± 1.1	32.4 ± 0.6
2-weeks after intake	31.9 ± 0.9	32.3 ± 1.0	32.8 ± 1.0	32.2 ± 1.3
4-weeks after intake	32.4 ± 1.5	32.2 ± 1.5	32.7 ± 0.6	32.8 ± 0.6

Table 10. Temperature in left of Wunmun(L-2) acupuncture point at each time point

Ginseng Time point	Korean red ginseng	American ginseng	Placebo	Korean white ginseng
Before intake	32.4 ± 1.3	31.7 ± 1.3	32.6 ± 1.2	32.5 ± 1.2
60 min. after intake	33.0 ± 1.3	32.1 ± 1.3	32.7 ± 1.0	32.2 ± 1.1
120 min. after intake	32.7 ± 1.4	31.6 ± 1.5	32.4 ± 1.0	32.5 ± 0.7
2-weeks after intake	32.6 ± 0.7	32.2 ± 0.8	33.0 ± 0.6	32.6 ± 1.5
4-weeks after intake	32.3 ± 1.6	32.0 ± 1.1	33.0 ± 0.7	32.8 ± 0.6

Table 11. Temperature in right of Wunmun(L-2) acupuncture point at each time point

G i n s e n g Time point	Korean red ginseng	American ginseng	Placebo	Korean white ginseng
Before intake	32.8 ± 1.6	32.2 ± 1.6	33.0 ±1.3	32.7 ± 1.4
60 min. after intake	33.2 ± 1.4	32.7 ± 1.3	33.1 ± 0.9	32.6 ± 1.3
120 min. after intake	32.8 ± 1.5	31.8 ± 1.7	31.7 ± 3.6	32.9 ± 0.6
2-weeks after intake	32.5 ± 0.8	32.4 ± 1.0	33.4 ± 1.1	33.0 ± 1.8
4-weeks	32.7 ± 1.8	32.6 ± 1.3	33.5 ± 0.7	33.1 ± 0.6

Table 12. Change in value of systolic blood pressure at each time point

Ginseng	Korean red	American	Placebo	Korean
---------	------------	----------	---------	--------

Timepoint	ginseng	ginseng		white ginseng
Before intake	116 ± 11	110 ± 13	108 ± 12	110 ± 14
60 min. after intake	113 ± 13	108 ± 11	108 ± 14	111 ± 11
120 min. after intake	117 ± 15	110 ± 10	108 ± 14	112 ± 11
2- weeks after intake	115 ± 17	116 ± 12	107 ± 7.1	110 ± 14
4-weeks after intake	114 ± 12	112 ± 13	106 ± 10	113 ± 15

Table 13. Change in value of diastolic blood pressure at each time point

Ginseng Timepoint	Korean red ginseng	American ginseng	Placebo	Korean white ginseng
Before intake	73 ± 12	71 ± 8.7	72 ± 6.0	68 ± 14
60 min. after intake	72 ± 8.3	67 ± 10*	69 ± 10	71 ± 9.5*
120 min. after intake	72 ± 11	68 ± 10	64 ± 6.5	70 ± 9.0*
2- weeks after intake	67 ± 12	69 ± 8.7	65 ± 6.3	62 ± 7.8
4-weeks after intake	68 ± 11	72 ± 6.0	64 ± 6.1	69 ± 9.5*

* Compare with 2- weeks after intake, (p < 0.05)

Table 14. Change in value of pulse rate at each time point

Ginseng	Korean red	American	Placebo	Korean
---------	------------	----------	---------	--------

Timepoint	ginseng	ginseng		white ginseng
Before intake	71 ± 8.9	73 ± 15	73 ± 10	68 ± 7.7
60 min. after intake	66 ± 8.7	68 ± 12	69 ± 11	68 ± 10
120 min. after intake	69 ± 12	72 ± 9.9	69 ± 9.7	72 ± 11
2- weeks after intake	68 ± 11	76 ± 14	70 ± 7.4	74 ± 8.0
4-weeks after intake	72 ± 9.3	78 ± 11	73 ± 8.7	70 ± 8.2

Table 15. Respiration change at each time point

Ginseng Timepoint	Korean red ginseng	American ginseng	Placebo	Korean white ginseng
Before intake	19.6 ± 3.2	20.8 ± 3.0	19.6 ± 1.5	18.9 ± 2.5
60 min. after intake	20.1 ± 2.2	20.0 ± 2.5	19.4 ± 2.3	18.7 ± 3.4
120 min. after intake	20.9 ± 1.3	19.4 ± 2.5	20.3 ± 2.6	20.2 ± 4.0
2- weeks after intake	20.3 ± 2.8	19.8 ± 2.8	21.4 ± 1.8	20.5 ± 2.8
4-weeks after intake	20.3 ± 2.6	21.0 ± 2.2	21.6 ± 1.5*	22.1 ± 5.0

* Compare with 60 min. after intake, (p < 0.05)

References

1. Choi KT. Botanical characteristics, pharmacological effects and medicinal components of Korean Panax ginseng C. A. Meyer. *Acta Pharmacol Sin* 2008; 29:1109-1118.
2. Liu CX, Xiao PG. Recent advances on ginseng research in China. *J Ethnopharmacol* 1992; 36:27-38.
3. Kim SH, Lee SR. Effect of Korean red ginseng and western ginseng on body temperature, pulse rate, clinical symptoms and the hematologic changes in human. *J Ginseng Res* 1995;19(1): 1-16.
4. Seo JC, Han SW, Byun JS, An HD, Han ID, Cho GH, LeemKH, Heo ZJ, Yi JL, Jin MX. The effects of ginseng and American ginseng on general symptoms in Koreans and Chinese - Double-blind randomized controlled trials. *J Ginseng Res* 2005;29(1): 27-36.

결론

1. 대만인을 대상으로 11곳 침구점에 대한 체열을 측정하였는 바, 체열은 고려홍삼, 화기삼, 백삼 복용그룹 모두 모든 침구점에서 복용후 4주 까지 변화가 없었으며 삼종 간에도 체열의 차이는 관찰되지 않았다 (Tables 1-11).
2. 수축기 혈압은 고려홍삼 복용그룹과 화기삼 복용그룹의 경우에는 복용후 4주까지 변화없이 일정하게 유지되었고, 백삼의 경우에는 복용후 60분에 급격히 증가한 후 복용후 2시간까지 감소하였으며 이후 4주까지 일정하게 유지되었다(Fig. 1). 이완기 혈압은 고려홍삼, 화기삼, 백삼 복용그룹 모두 복용후 4주까지 서서히 감소하였다 (Fig. 2).
3. 맥박은 고려홍삼과 화기삼 복용그룹의 경우에는 복용후 4주까지 변화가 없었으나 백삼 복용그룹의 경우에는 복용후 2주에 증가하는 양상을 보였다(Fig. 3).
4. 호흡은 고려홍삼 복용그룹의 경우 복용후 120분까지 증가하다가 이후 감소하였으며, 화기삼의 경우에는 반대로 120분까지 감소하다가 이후 증가하였다(Fig. 4).
5. 복용후 부작용을 보면 백삼 복용그룹에서 변비, 두통, 헛바늘 돋음 등의 현상에 대한 가벼운 증상이 발생하였다.

8. 외국인 대상 체열반응에 대한 임상시험의 종합결론

1) 베트남인 대상 임상시험

- (1) 베트남인을 대상으로 11곳 침구점에 대한 체열을 측정하였는 바, 고려홍삼, 백삼 그리고 화기삼(화기삼) 간의 유의성 있는 차이는 발견되지 않았다.
- (2) 수축기 혈압은 고려홍삼의 경우 복용 2주후에 감소하였으나 화기삼은 복용 1시간후와 2시간후에 급격히 증감함으로서 초기혈압이 대단히 불안정하였다. 이완기 혈압은 고려홍삼은 일정하게 유지된 반면에 백삼과 화기삼은 복용 1시간후, 4주후에 증가하였다.
- (3) 복용후 부작용을 보면 두통, 속 더부룩함, 가슴 불편함, 코피, 불면, 입술마름과 같은 증상은 발견되지 않았으며 가벼운 심계항진, 열감, 변비 코골음 등의 경미한 부작용은 모두 관찰되었다.

2) 중국인 대상 임상시험

- (1) 중국인을 대상으로 10곳 침구점에 대한 체열을 측정하였는 바, 체열은 화기삼과 백삼 복용그룹의 경우에는 모든 침구점에서 복용후 60분 까지 증가한 후 12주까지 약간 떨어지는 경향이였으며, 고려홍삼은 복용후 30분에는 화기삼과 반대로 떨어졌으며 복용후 60분부터 12주까지는 화기삼과 백삼의 체열과 같은 경향을 나타내었다 (Tables 1-10, Fig. 1).
- (2) 수축기 혈압은 고려홍삼 복용그룹의 경우에는 복용후 2주까지 급격히 감소한 후에 12주까지 일정하게 유지된 반면에 화기삼과 백삼은 느린 속도로 감소하는 경향을 보였다(Fig. 2). 이완기 혈압은 고려홍삼, 화기삼 모두 복용후 4주까지 서서히 감소하였다(Fig. 3).
- (3) 맥박은 고려홍삼 복용그룹의 경우에는 복용후 30분에는 감소하였으며 이후 12주까지 일정하게 유지되었으며 화기삼의 경우에는 복용후 2주까지 증가하였으며 이후 12주까지 증가한 상태로 계속 유지되어 고려홍삼과 다른 양상을 보였다(Fig. 4).
- (4) 복용후 부작용을 보면 심계항진, 변비, 두통, 속 더부룩함, 가슴 불편함, 코피, 불면 등과 같은 증상은 발견되지 않았으며 고려홍삼과 화기삼 복용그룹에서는 헛바늘 돌음 현상이 각각 1명씩 발생하였으며 백삼 복용그룹에서는 치통이 1명 발생한 것외에는 부작용이 전혀 발생되지 않았다.

3) 대만인 대상 임상시험

- (1) 대만인을 대상으로 11곳 침구점에 대한 체열을 측정하였는 바, 체열은 고려홍삼, 화기삼, 백삼 복용그룹 모두 모든 침구점에서 복용후 4주 까지 변화가 없었으며 삼종 간에도 체열의 차이는 관찰되지 않았다 (Tables 1-11).
- (2) 수축기 혈압은 고려홍삼 복용그룹과 화기삼 복용그룹의 경우에는 복용후 4주까지 변화없이 일정하게 유지되었고, 백삼의 경우에는 복용후 60분에 급격히 증가한 후 복용후 2시간까지 감소하였으며 이후 4주까지 일정하게 유지되었다(Fig. 1). 이완기 혈압은 고려홍삼, 화기삼, 백삼 복용그룹 모두 복용후 4주까지 서서히 감소하였다 (Fig. 2).
- (3) 맥박은 고려홍삼과 화기삼 복용그룹의 경우에는 복용후 4주까지 변화가 없었으나 백삼 복용그룹의 경우에는 복용후 2주에 증가하는 양상을 보였다(Fig. 3).
- (4) 호흡은 고려홍삼 복용그룹의 경우 복용후 120분까지 증가하다가 이후 감소하였으며, 화기삼의 경우에는 반대로 120분까지 감소하다가 이후 증가하였다(Fig. 4).
- (5) 복용후 부작용을 보면 백삼 복용그룹에서 변비, 두통, 헛바늘 돋음 등의 현상에 대한 가벼운 증상이 발생하였다.

3세부 - 체온조절 기전에 의한 인삼의 승열작용 연구

제 3 장 연구개발수행 내용 및 결과

1. 이론적 접근방법

인삼의 체온조절기전에 미치는 영향을 동물실험에서 규명하여 승열작용의 과학적 근거와 유효성 여부를 밝히는 것을 본 연구의 최종 목표로 함. Bartfai 팀은 2006년 (Science. 2006 Nov 3;314(5800):825-8)에 UCP2의 과다 발현이 체온을 저하시켜 수명을 연장시킬 수 있음을 보고하여 대뇌 시상하부의 UCP2 발현이 체온조절기전에 중요한 biomarker임을 입증하였음. 따라서 본 연구에서는 저체온, 고체온 동물모델과 저온과 고온에 노출시킨 동물 모델에 인삼과 화기삼을 투여했을 때의 체온 변화를 비교하고, 각각의 동물 모델의 대뇌 시상하부에서 UCP2 발현을 비교하여 체온조절기전에 의한 인삼의 승열작용 원리를 규명함

- 포유동물에서 체온의 항상성은 시상하부에 위치한 preoptic area에서 이루어 진다고 알려져 있음. Hypocretin은 lateral 시상하부에서 약 3000개의 뉴런으로 발현되고 sleep/wake cycle, 에너지 밸런스, 음식섭취, 내분비, 자율신경계, 열발생에 관여한다고 알려져 있음.(J. G. Sutcliffe et al., 2002; J. T. Willie et al., 2001; E. Mignot et al., 2002).

- Uncoupling protein은 미토콘드리아 안쪽 막에 위치하고 31 ~ 34 kDa 의 분자크기로 되어있음(Krauss et al., 2005). 이 단백질은 산화적 인산화 과정을 ATP합성으로 연결시키지 못하게 하고 중간에서 끊는다는 의미에서 uncoupling protein(UCP)이라고 부르며 이 과정에서 산화환원 에너지가 열로 소모되어 온도상승 효과를 나타냄. Uncoupling protein은 4가지 type이 있는데 그 중 UCP2는 뇌, 신장, 간, 갈색 지방 조직, 심장과 근육을 포함한 조직에서 광범위하게 발현되며 에너지 밸런스, 체중, 체온조절에 중요한 역할을 한다고 보고됨. UCP2는 포유동물의 체온조절에 중요한 역할을 한다고 보고되고 있고 시상하부의 hypocretin에서도 발현되기(Bruno et al., Sciences, 2006) 때문에 RT-PCR에서 UCP2의 mRNA의 발현 정도를 확인하기로 함.

- UCP2는 뇌의 시상하부를 채취하여 mRNA 발현을 확인하는 방법으로 임상에서 측정하기는 어려움.

2. 실험적 접근방법

- 1) 저체온, 고체온 동물 모델 개발
- 2) 저체온, 고체온 동물 모델에 인삼과 화기삼 단회 투여 후 체열 반응 연구
- 3) 고온, 저온 동물 모델에 인삼과 화기삼 단회 투여 후 체열 반응 연구
- 4) 고온, 저온 동물 모델에 인삼과 화기삼 반복 투여 후 체열 반응 연구
- 5) 고온, 저온 동물 모델에 고려인삼과 화기삼 투여에 의한 대뇌시상하부에서 UCP2 mRNA 발현 비교
- 6) 고온, 저온 동물 모델에 고려인삼과 화기삼 투여에 의한 대뇌시상하부에서 UCP2 protein 발현 비교

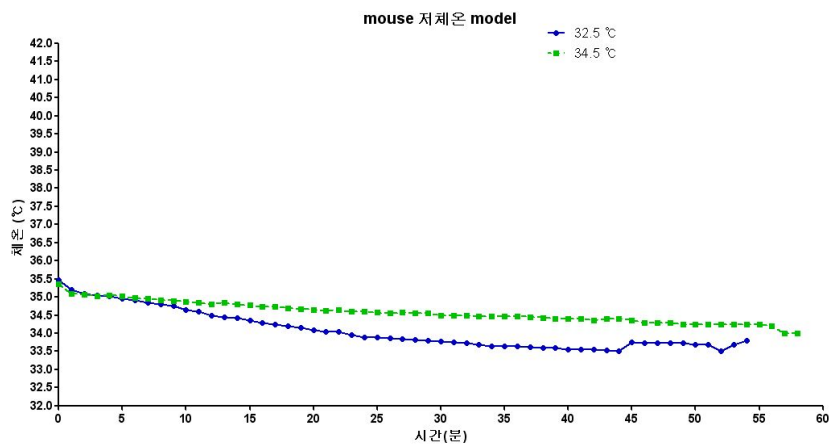
3. 연구내용

1) 저체온, 고체온 동물 모델 개발

(1-1) 마우스 저체온/고체온 모델 validation

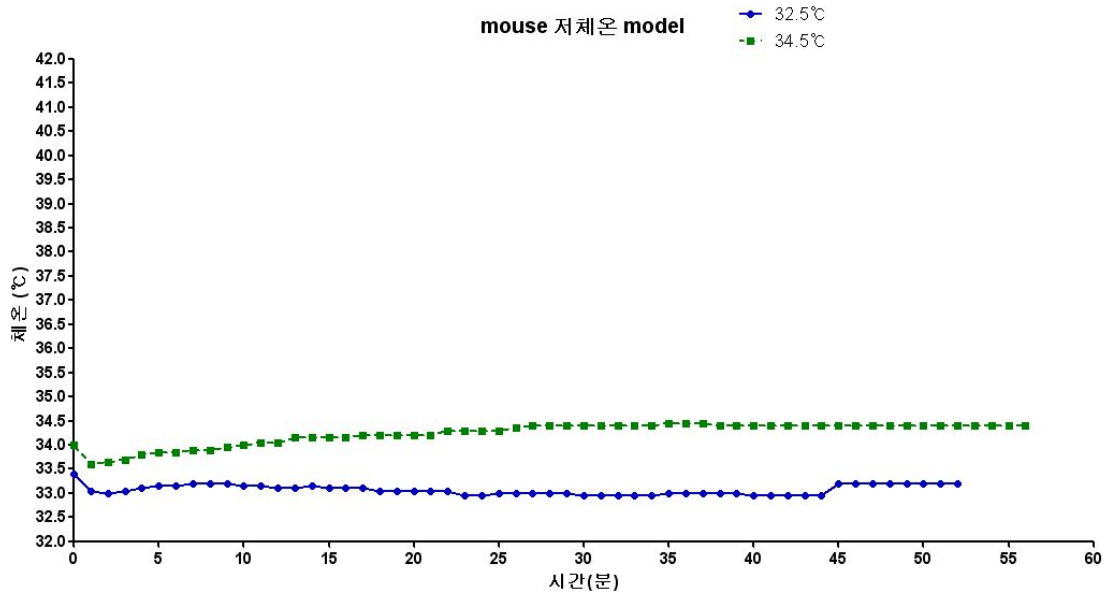
(1-1-1) 체온조절 패드를 이용한 저체온 모델

- 마우스를 케타민 4.57 mg/kg와 자일리신 0.43 mg/kg를 근육주사로 마취한 후 체온조절 패드를 이용하여 32.5°C(n=4)와 34.5°C(n=4) 모델 수립
- 마취 후 약 25분 후부터 34.5°C 모델은 목표체온을 유지한 반면, 32.5°C 모델은 목표 체온에 도달하지 못함.



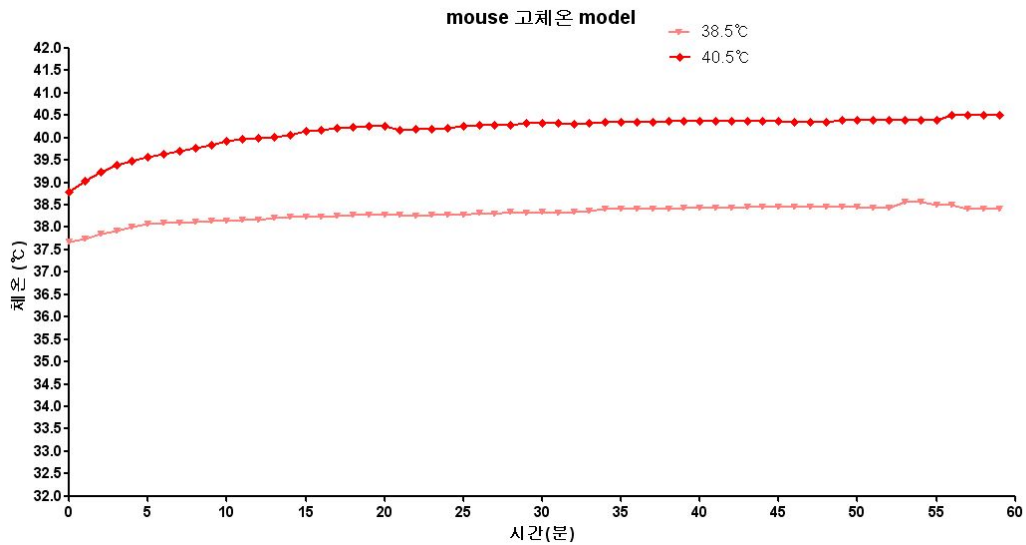
(1-1-2) ice pack을 이용한 저체온 모델

- 마우스를 케타민 4.57 mg/kg와 자일리신 0.43 mg/kg를 근육주사로 마취한 후 ice pack을 이용하여 32.5°C(n=4)와 34.5°C(n=4) 모델 수립
- 약 50분 정도 목표 체온 유지 잘 되었음



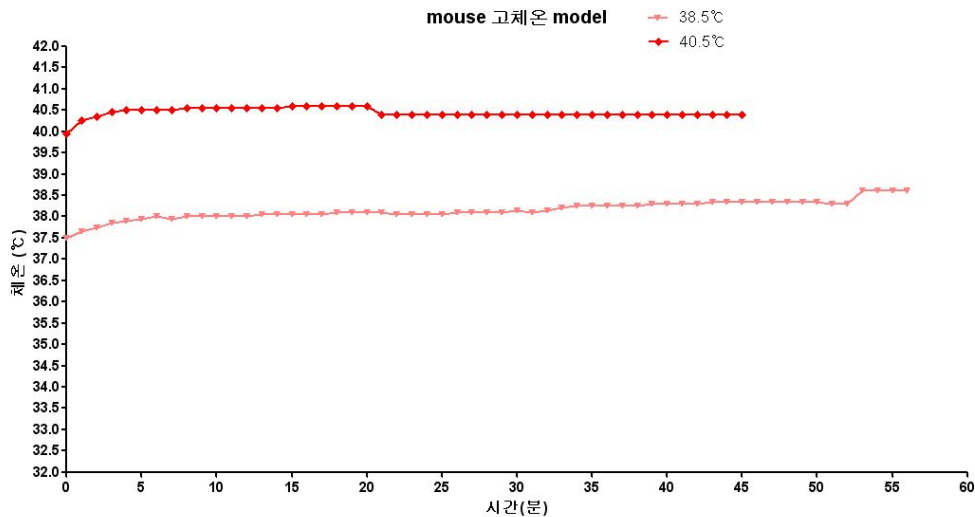
(1-1-3) 체온조절 패드를 이용한 고체온 모델

- 마우스를 케타민 4.57 mg/kg와 자일리신 0.43 mg/kg를 근육주사로 마취한 후 체온 조절 패드를 이용하여 38.5°C(n=4)와 40.5°C(n=4) 모델 수립
- 마취 후 체온이 증가하기는 했으나 마취시간 동안 목표체온에 도달하지 못함.



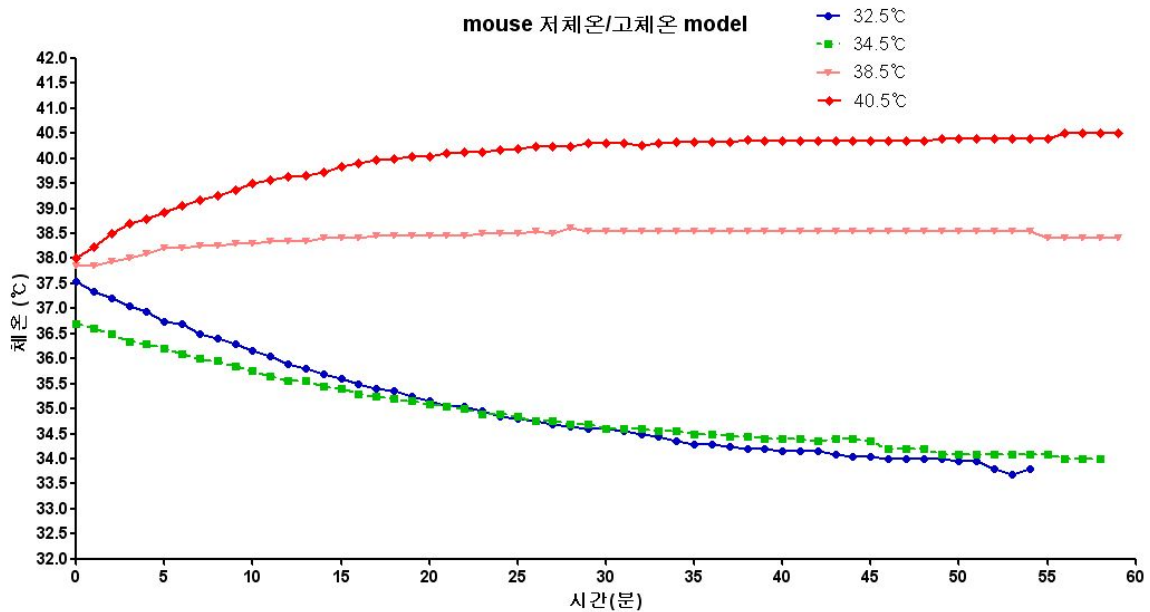
(1-1-4) 온열기구를 이용한 고체온 모델

- 마우스를 케타민 4.57 mg/kg와 자일리신 0.43 mg/kg를 근육주사로 마취한 후 온열기구와 온열패드를 이용하여 38.5°C(n=4)와 40.5°C(n=4) 모델 수립
- 마취 후 5분 이내에 목표 체온에 도달하여 마취기간 동안 유지됨



(1-1-5) 저체온/고체온 모델 validation

- 마우스를 케타민 4.57 mg/kg와 자일리신 0.43 mg/kg를 근육주사로 마취한 상태에서 32.5°C(n=4)와 34.5°C(n=4)의 저체온 모델과 38.5°C(n=4)와 40.5°C(n=4)의 고체온 모델 수립
- 마취 동안 저체온 모델 중 34.5°C는 모델수립이 가능했으며, 고체온 모델에서는 40.5°C의 모델이 정상체온과 차이를 보이는 고체온 모델로 적절한 것으로 사료됨.

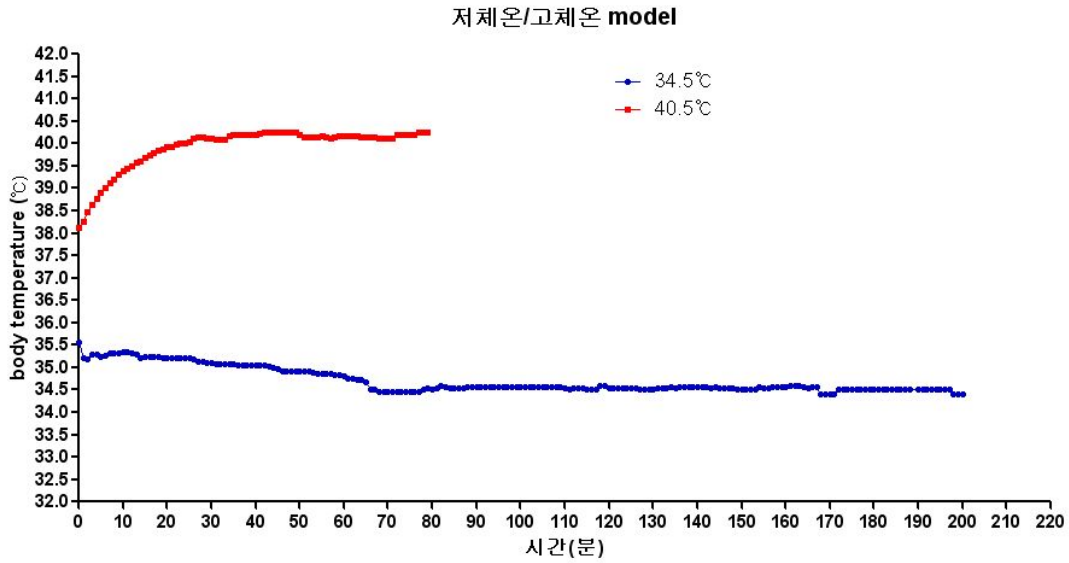


(1-2) 저체온/고체온 유지 시간 validation

(1-2-1) 마취용량 100% 증가

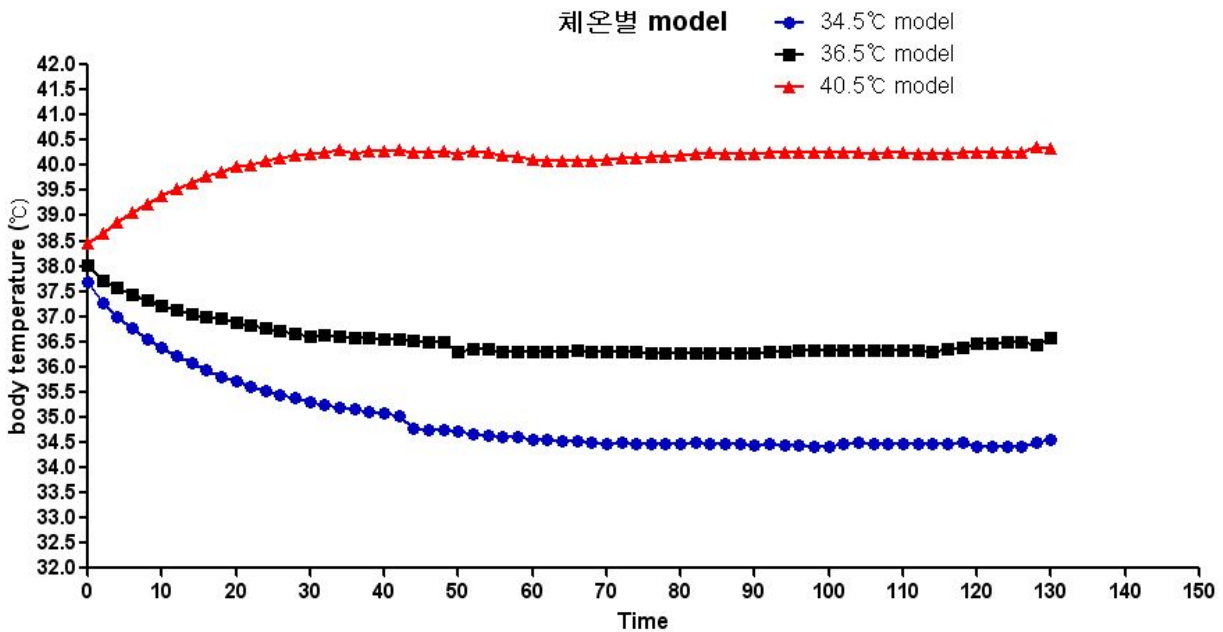
- 인삼 투여 후 체온 변화를 관찰하기 위해서는 저체온과 고체온 동물 모델의 체온 유지 시간이 더 길어야 할 것으로 사료되어 마취 용량을 2배로 증가하여 실험함
- 마우스를 케타민 9.14 mg/kg와 자일리신 0.86 mg/kg를 근육주사로 마취한 상태에서 34.5°C(n=4)의 저체온 모델과 40.5°C(n=4)의 고체온 모델 마취시간 측정
- 34.5°C 모델은 약 200분 동안 마취가 되었으며 이때 70분 이후부터 목표 체온유지가 잘 된 반면,

40.5℃ 모델은 마취 후 30분부터 목표 체온을 유지하였으나 마취 80분 후에 마취가 풀림. 그러나 높은 용량의 마취 후 마우스의 50%가 사망하여 마취주사를 2회에 나눠하는 것이 필요할 것으로 사료됨.



(1-2-2) 마취투여 2회로 증가

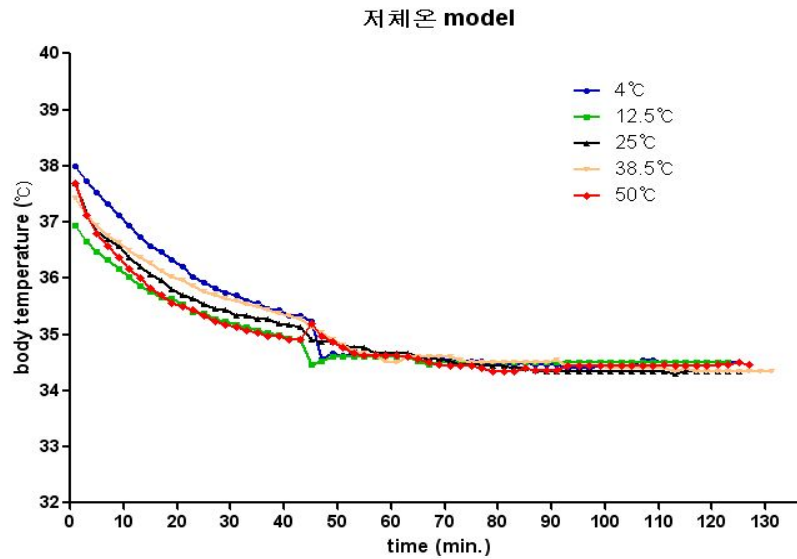
- 마우스를 케타민 4.57 mg/kg와 자일리신 0.43 mg/kg를 근육주사로 마취한 상태에서 34.5℃(n=4)의 저체온 모델, 36.5℃(n=4)의 정상체온 모델, 그리고 40.5℃(n=4)의 고체온 모델의 체온 측정하며 1차 마취 40분 후에 마취용량의 50%를 추가 투여함
- 저체온 모델은 43분부터, 정상체온 모델은 50분부터 그리고 고체온 모델은 38분부터 목표 체온을 유지하며 이후 130분까지 마취상태와 체온상태를 안정적으로 유지하여 체온별 동물 모델을 수립함.



(1-3) 투여 용매 온도별 validation

(1-3-1) 저체온 모델에서 투여 용매의 온도별 체온변화

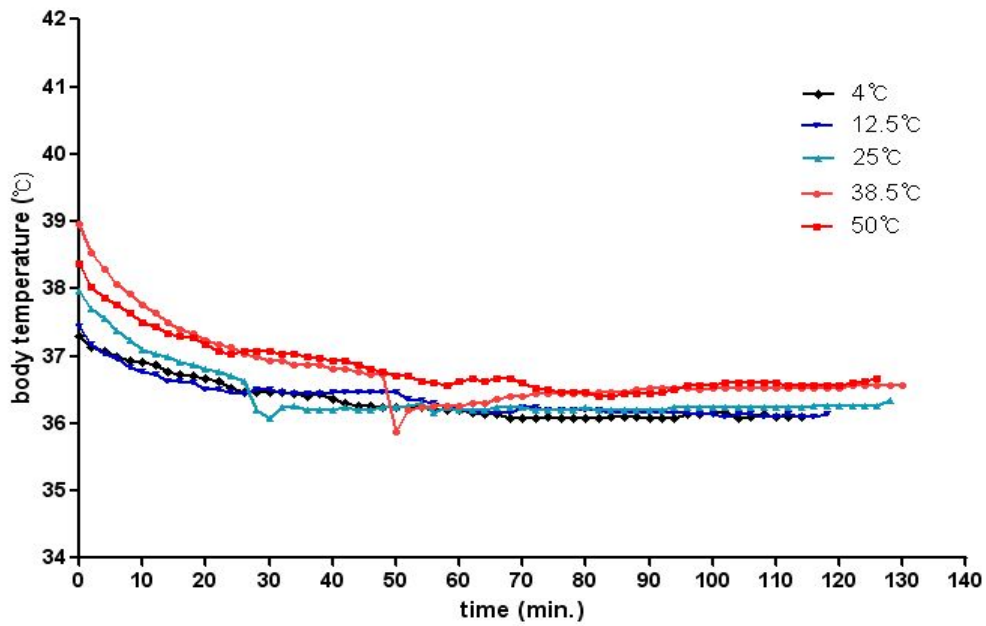
- 인삼 투여 후 체온 변화를 관찰하기 위해 체온에 영향을 미칠 수 있는 용매의 온도 변화에 따른 영향을 평가하고자 실험함
- 마우스를 케타민 4.57 mg/kg와 자일리신 0.43 mg/kg를 근육주사로 마취한 상태에서 각각 4°C(n=4), 12.5°C(n=4), 25°C(n=4), 38.5°C(n=4), 50°C(n=4)의 용매를 먹인 후 40~50분 사이에 2차 마취 후 총 120분 가량 체온을 측정
- 모든 그룹에서 50분 이후에 목표 체온에 도달하였으며 용매 온도에 따른 체온 차이는 나타나지 않음.



(1-3-2) 정상체온 모델에서 투여 용매의 온도별 체온변화

- 마우스를 케타민 4.57 mg/kg와 자일리신 0.43 mg/kg를 근육주사로 마취한 상태에서 각각 4°C(n=4), 12.5°C(n=4), 25°C(n=4), 38.5°C(n=4), 50°C(n=4)의 용매를 먹인 후 40~50분 사이에 2차 마취 후 총 120~130분 가량 체온을 측정
- 4°C, 12.5°C, 25°C 용매 투여 그룹들은 목표체온보다 좀 낮은 체온으로 유지한 반면, 38.5°C, 50°C 용매 투여 그룹들은 50분 이후 목표 체온에 도달하였음.
- 정상 체온 모델에서는 용매 온도에 따른 체온 차이가 나타남.

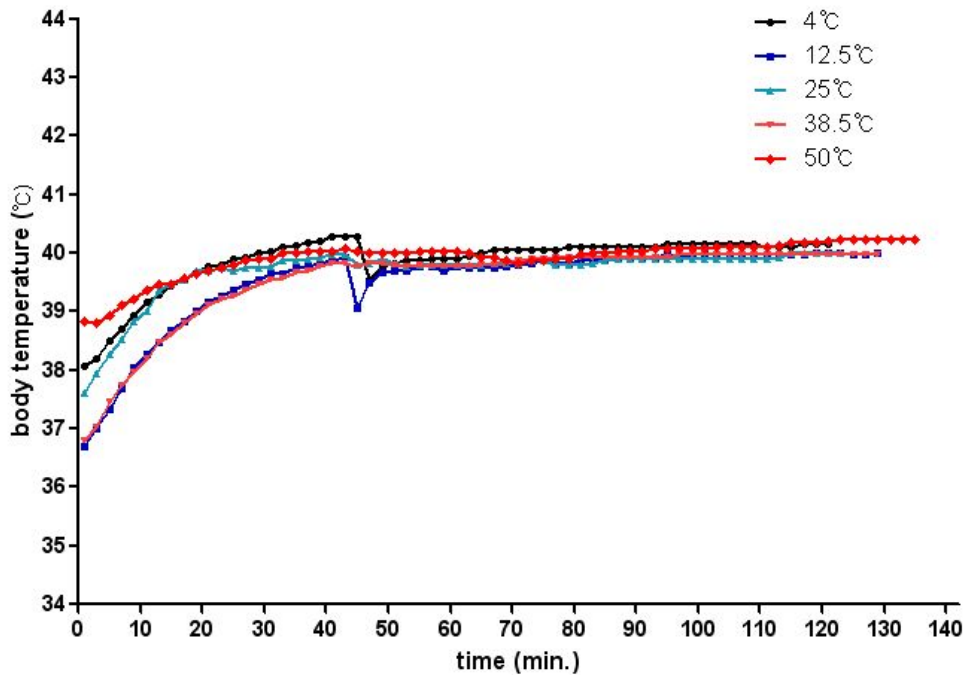
정상체온 model



(1-3-3) 고체온 모델에서 투여 용매의 온도별 체온변화

- 마우스를 케타민 4.57 mg/kg와 자일리신 0.43 mg/kg를 근육주사로 마취한 상태에서 각각 4°C(n=4), 12.5°C(n=4), 25°C(n=4), 38.5°C(n=4), 50°C(n=4)의 용매를 먹인 후 40~50분 사이에 2차 마취 후 총 130~140분 가량 체온을 측정
- 모든 용매 그룹에서 50분 이후에는 목표체온을 유지함.

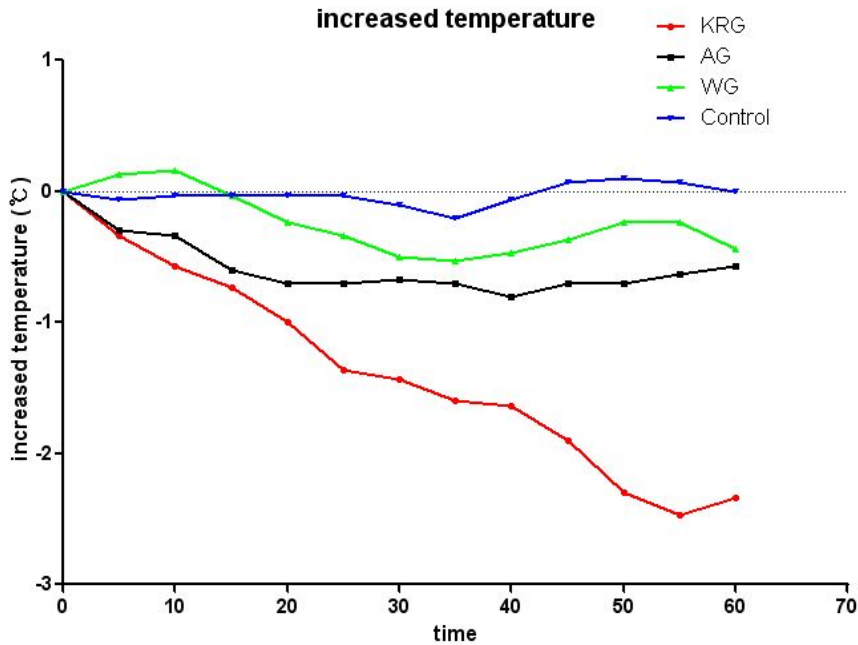
고체온 model



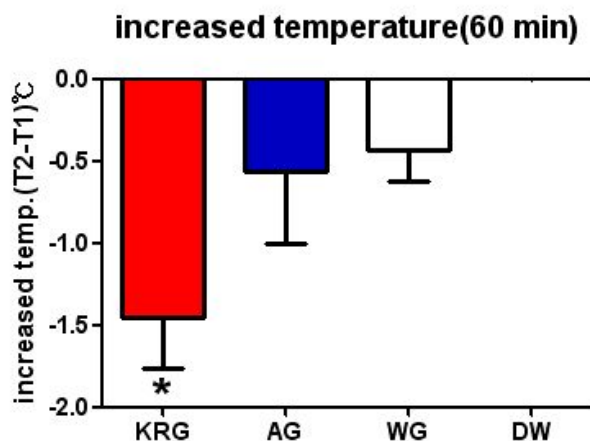
2) 저체온, 고체온 동물 모델에 인삼과 화기삼 단회 투여 후 체열 반응 연구

(2-1) 정상 마우스에서 인삼별 체온 변화

- 마취하지 않은 정상 마우스에서 홍삼(KRG), 화기삼(AG), 백삼(WG)을 투여한 후 60분 동안 체온 변화를 관찰함
- 60분동안 인삼을 투여하지 않은 control 그룹의 경우 체온 변화가 나타나지 않은 반면, 백삼(WG), 화기삼(AG) 홍삼(KRG) 투여 그룹 순서로 체온이 낮아짐.



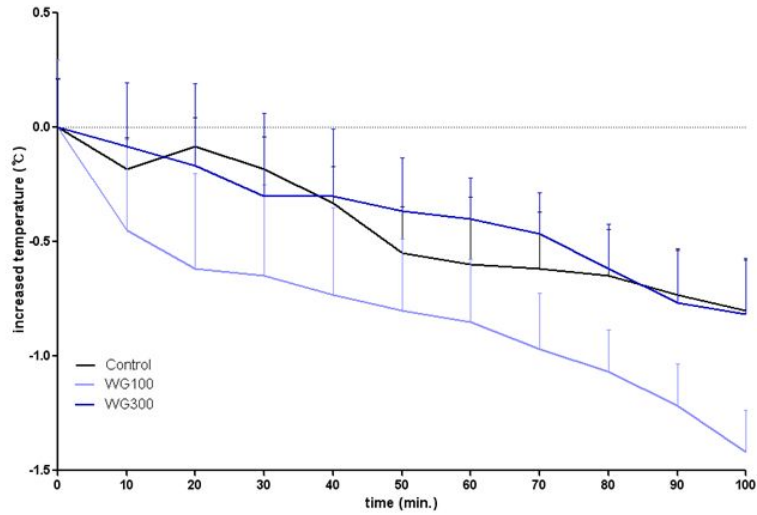
- 마취하지 않은 정상 마우스에서 홍삼(KRG), 화기삼(AG), 백삼(WG)을 투여한 후 시작 체온에서 60분 후의 체온을 뺀 결과 홍삼(KRG) 투여 그룹의 경우 평균 1.5°C 낮아져 통계적으로 유의미한 체온 감소를 나타냄.



(2-2) 저체온/고체온/정상체온 동물 모델에 인삼 투여

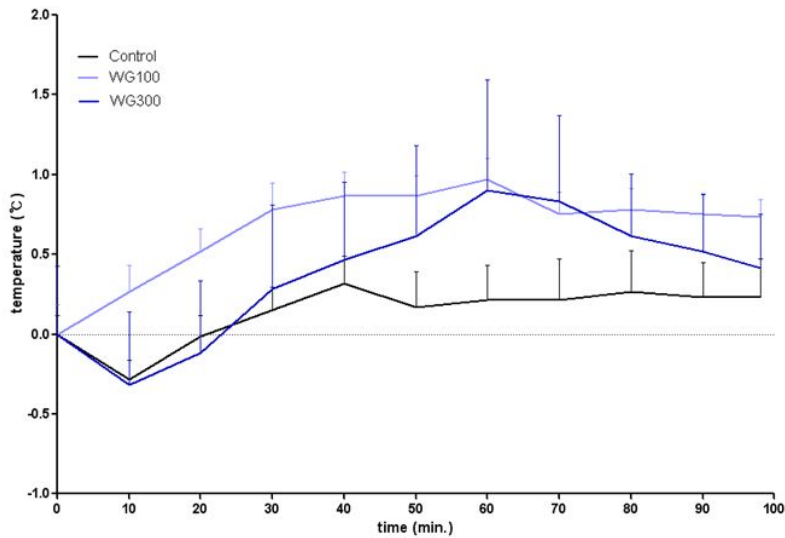
(2-2-1) 정상체온 동물 모델에 인삼 투여

- 마우스에 인삼 100 mg/kg(WG100)와 인삼 300 mg/kg (WG300) 투여 후 체온 측정 변화 비교
- Control 그룹에 비해 WG100 그룹의 체온의 감소 폭이 더 컸으며, WG300은 control 그룹과 비슷한 것으로 나타남



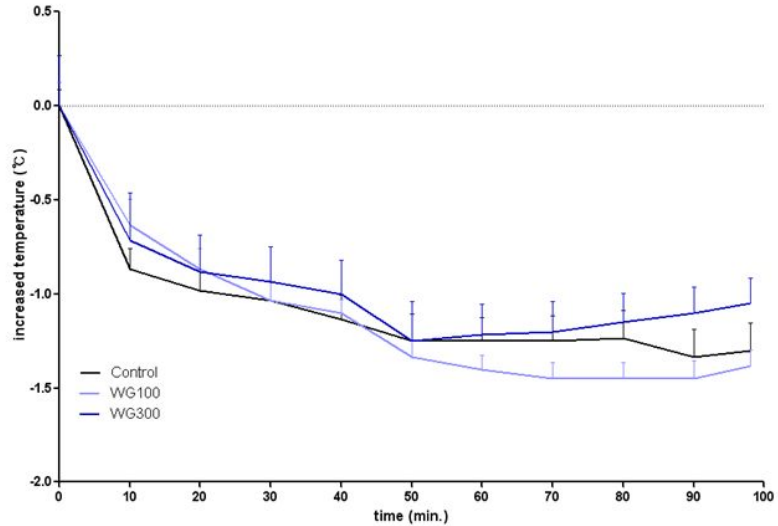
(2-2-2) 고체온 동물 모델에 인삼 투여

- 고체온 모델에서 인삼 100 mg/kg(WG100)와 인삼 300 mg/kg (WG300) 투여 후 체온 변화 측정
- Control 그룹의 체온보다 인삼투여 그룹의 체온이 높게 나타났으며, 인삼 투여 용량이 낮을수록 체온이 더 높게 나타남



(2-2-3) 저체온 동물 모델에 인삼 투여

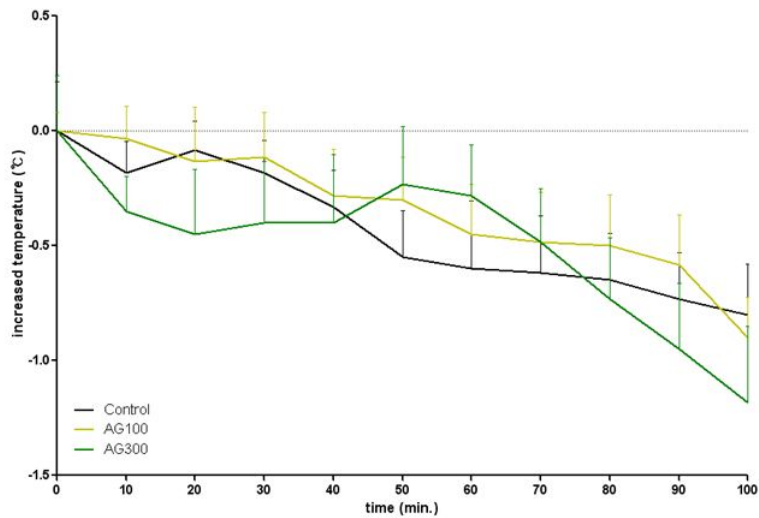
- 저체온 모델에서 인삼 100 mg/kg(WG100)와 인삼 300 mg/kg (WG300) 투여 후 체온 변화 측정
- Control 그룹과 인삼 투여 그룹은 비슷한 경향으로 체온 유지



(2-3) 저체온/고체온/정상체온 동물 모델에 화기삼 투여

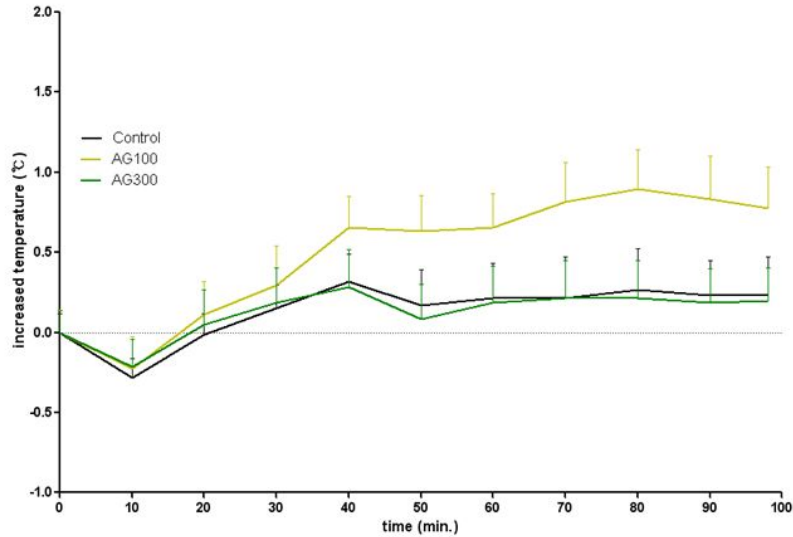
(2-3-1) 정상체온 동물 모델에 화기삼 투여

- 마우스에 화기삼 100 mg/kg(AG100)와 화기삼 300 mg/kg (AG300) 투여 후 체온 측정 변화 비교
- 두 그룹 모두 체온이 감소하였으며 Control과 AG100 그룹은 비슷한 경향으로 낮아지는 반면 AG300은 60분 이후에 체온이 감소하는 것으로 나타남



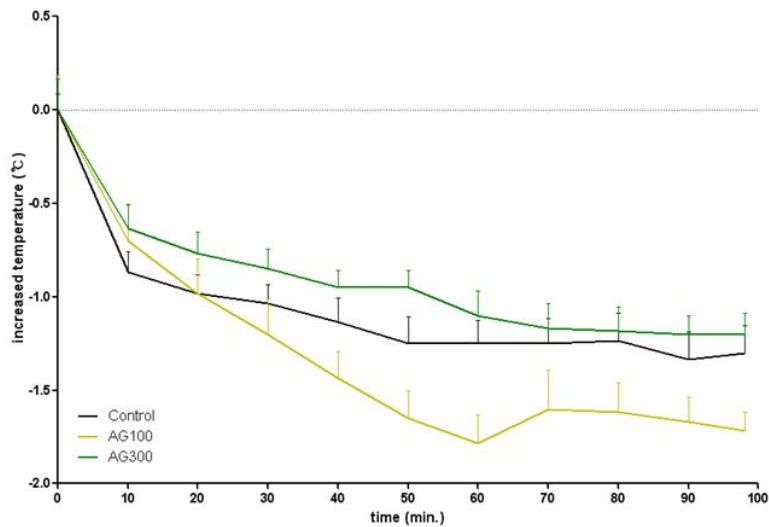
(2-3-2) 고체온 동물 모델에 화기삼 투여

- 고체온 모델에서 화기삼 100 mg/kg(AG100)와 화기삼 300 mg/kg (AG300) 투여 후 체온 변화 측정
- Control 그룹과 AG300 그룹의 체온은 비슷한 경향을 유지한 반면 AG100 투여 그룹은 체온이 더 상승하였음



(2-3-3) 저체온 동물 모델에 화기삼 투여

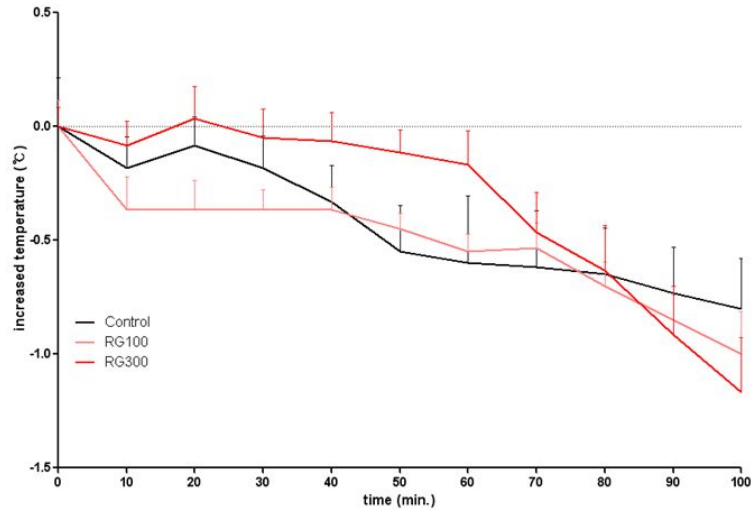
- 저체온 모델에서 화기삼 100 mg/kg(AG100)와 화기삼 300 mg/kg (AG300) 투여 후 체온 변화 측정
- Control 그룹보다 AG100 그룹은 체온이 더 낮아졌으며 AG300 그룹은 체온이 다소 높아졌으나 control 그룹과 비슷한 경향으로 체온 유지



(2-4) 저체온/고체온/정상체온 동물 모델에 홍삼 투여

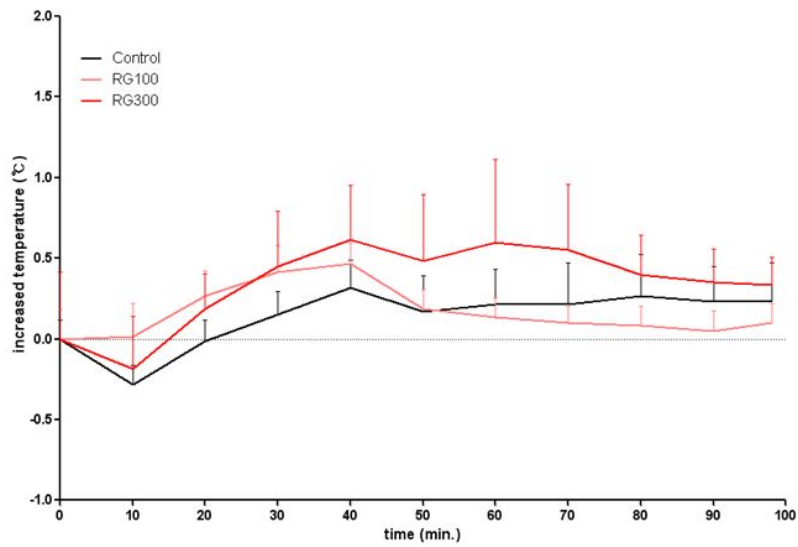
(2-4-1) 정상체온 동물 모델에 홍삼 투여

- 마우스에 홍삼 100 mg/kg(RG100)와 홍삼 300 mg/kg (RG300) 투여 후 체온 변화 측정
- RG100의 경우 Control 그룹과 비슷하게 체온이 낮아진 반면, RG300 투여 그룹의 체온은 60분까지 유지되다가 그 이후에 감소하는 경향 나타남



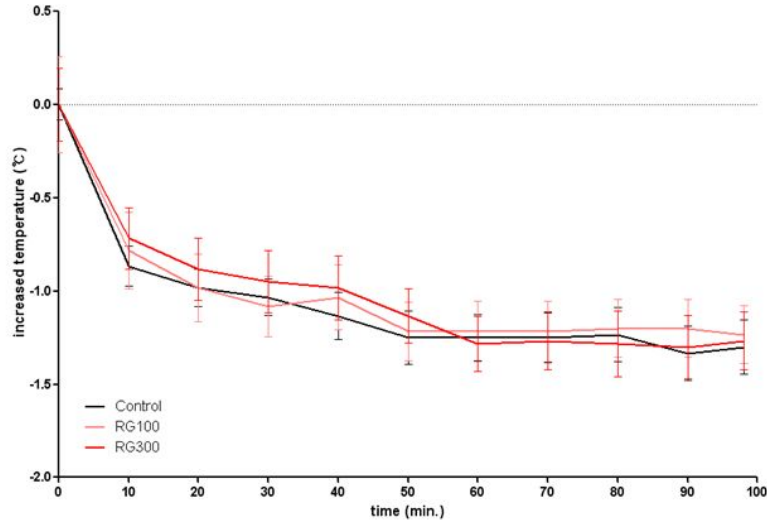
(2-4-2) 고체온 동물 모델에 홍삼 투여

- 고체온 모델에서 홍삼 100 mg/kg (RG100), 홍삼 300 mg/kg (RG300) 투여 후 체온 변화 측정
- RG100의 경우 Control 그룹과 비슷한 체온을 나타냈으나 RG300은 Control 그룹보다 체온이 높게 나타남



(2-4-3) 저체온 동물 모델에 홍삼 투여

- 저체온 모델에서 홍삼 100 mg/kg (RG100), 홍삼 300 mg/kg (RG300) 투여 후 체온 측정
- Control 그룹과 홍삼 투여 그룹은 비슷한 경향으로 유지

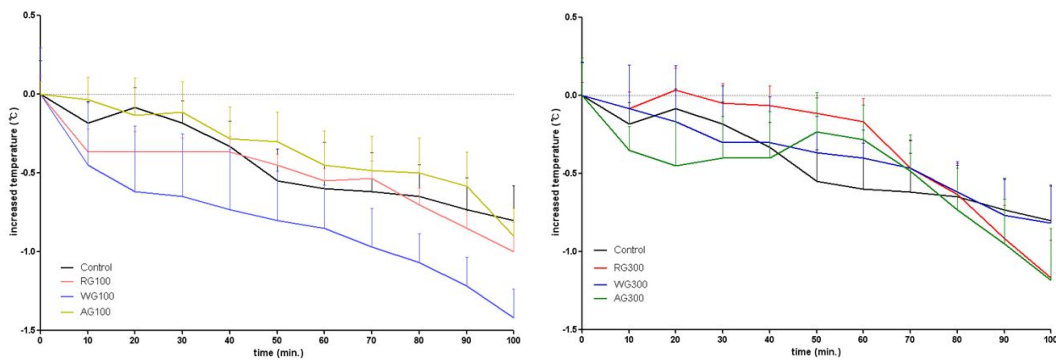


(2-5) 저체온/고체온/정상체온 동물 모델에 인삼, 화기삼, 홍삼 투여 비교

(2-5-1) 정상체온 동물 모델에 인삼, 화기삼, 홍삼 투여 비교

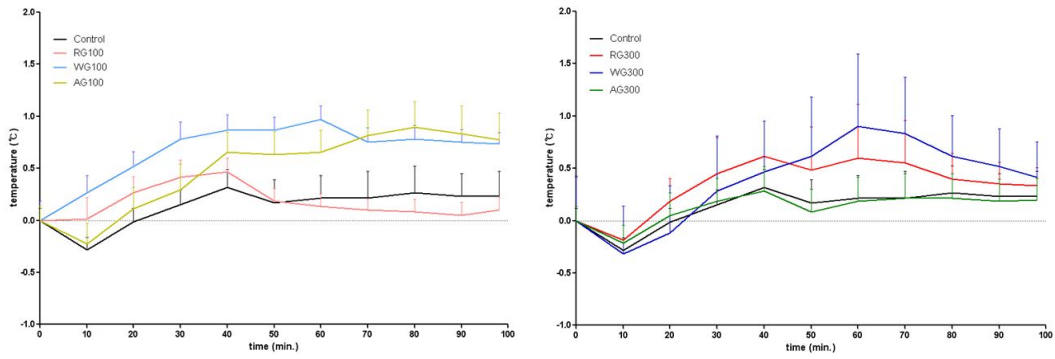
- 홍삼(RG), 인삼(WG), 화기삼(AG)을 각각 100 mg/kg 투여한 후 체온 변화 비교 시 인삼 투여 그룹의 체온이 낮아지는 경향이 나타났음
- Control 그룹과 홍삼과 화기삼 투여 그룹의 경우 비슷한 경향 유지

- 홍삼(RG), 인삼(WG), 화기삼(AG)을 각각 300 mg/kg 투여한 후 체온의 증감을 비교한 결과 인삼과 홍삼 그리고 화기삼은 control과 비슷한 경향으로 나타남



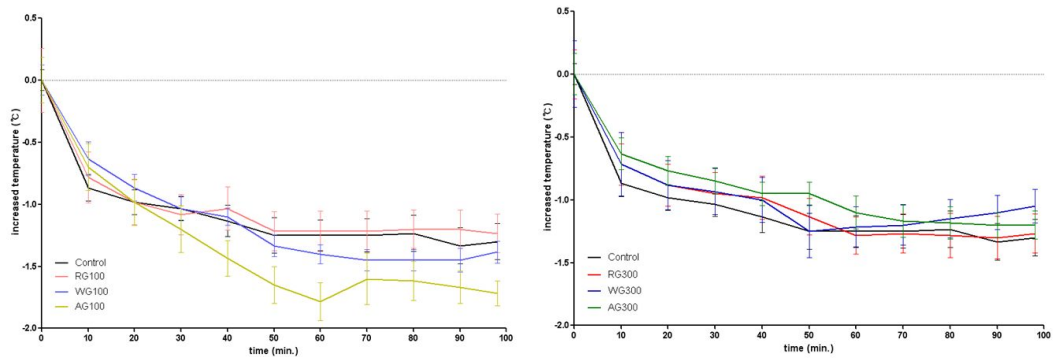
(2-5-2) 고체온 동물 모델에 인삼, 화기삼, 홍삼 투여 비교

- 홍삼(RG), 인삼(WG), 화기삼(AG)을 각각 100 mg/kg 투여한 후 체온의 증감을 비교한 결과 인삼이 가장 높은 체온을 유지하는 경향을 보였으며 화기삼도 시간이 증가할수록 체온이 더 증가하였으나 반면 홍삼은 Control 그룹과 비슷한 경향을 보임
- 홍삼(RG), 인삼(WG), 화기삼(AG)을 각각 300 mg/kg 투여한 후 체온의 증감을 비교한 결과 홍삼과 인삼은 체온이 높아지는 경향을 보였으나 반면 화기삼은 Control 그룹과 비슷한 경향을 보임

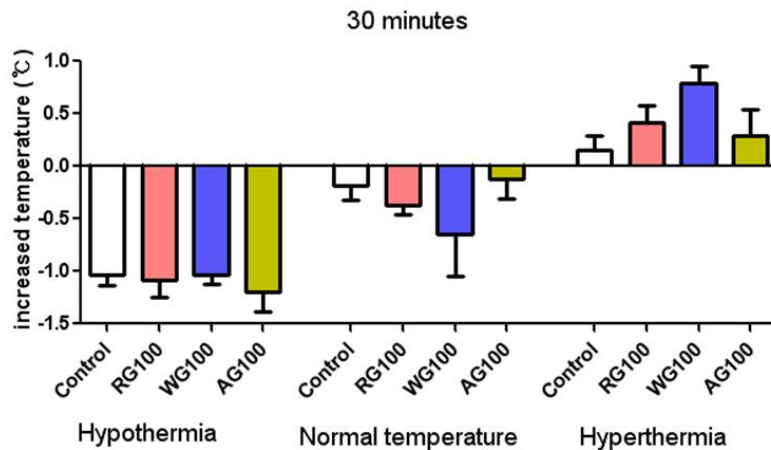


(2-5-3) 저체온 동물 모델에 인삼, 화기삼, 홍삼 투여 비교

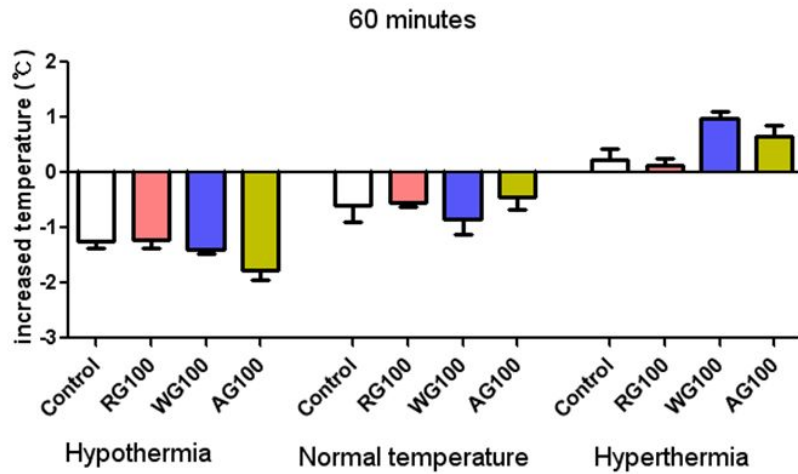
- 홍삼(RG), 인삼(WG), 화기삼(AG)을 각각 100 mg/kg 투여한 후 체온을 비교한 결과 화기삼의 경우 Control 그룹과 비교하여 체온이 계속 낮아졌고, 인삼 역시 체온이 낮아지는 경향을 보임
- 홍삼 투여의 경우 control 그룹과 유사하게 체온이 유지되는 경향을 보임
- 홍삼(RG), 인삼(WG), 화기삼(AG)을 각각 300 mg/kg 투여한 후 체온을 비교한 결과 화기삼의 경우 Control 그룹과 비교하여 체온이 높아졌으며 인삼과 홍삼은 control 그룹과 유사하게 체온이 유지되는 경향을 보임.



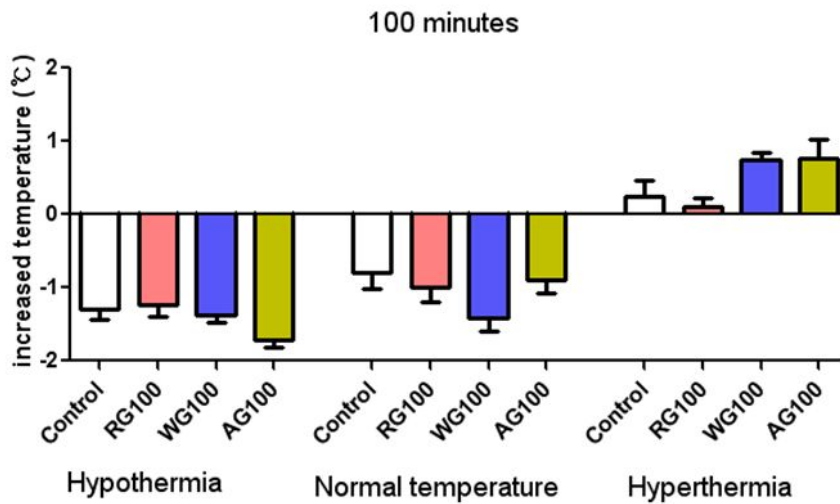
- 홍삼(RG), 인삼(WG), 화기삼(AG)을 각각 100 mg/kg 투여한 후 30분에 저체온, 정상체온, 고체온 모델에서 체온 변화 비교
- 정상체온 모델에서 인삼의 체온이 낮아졌고 고체온 모델에서 홍삼과 인삼의 체온이 높게 나타남



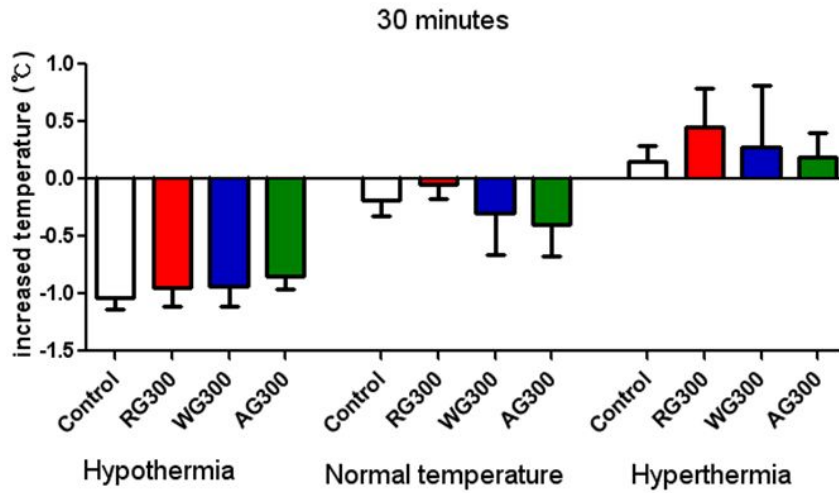
- 홍삼(RG), 인삼(WG), 화기삼(AG)을 각각 100 mg/kg 투여한 후 60분에 저체온, 정상체온, 고체온 모델에서 체온 변화 비교
- 저체온 모델에서 화기삼 투약 그룹의 체온이 낮아졌고, 고체온 모델에서는 인삼 투약 그룹의 체온이 상승함



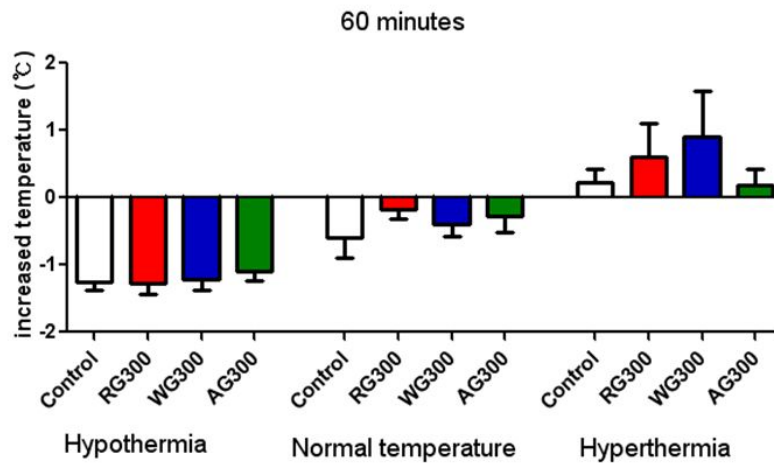
- 홍삼(RG), 인삼(WG), 화기삼(AG)을 각각 100 mg/kg 투여한 후 100분에 저체온, 정상체온, 고체온 모델에서 체온 변화 비교
- 저체온 모델에서 화기삼 투약 그룹의 체온이 낮아졌고, 정상 체온 모델에서는 인삼의 체온이 낮아졌고, 고체온 모델에서는 인삼과 화기삼 투약 그룹의 체온이 상승했고 홍삼은 체온이 낮아짐



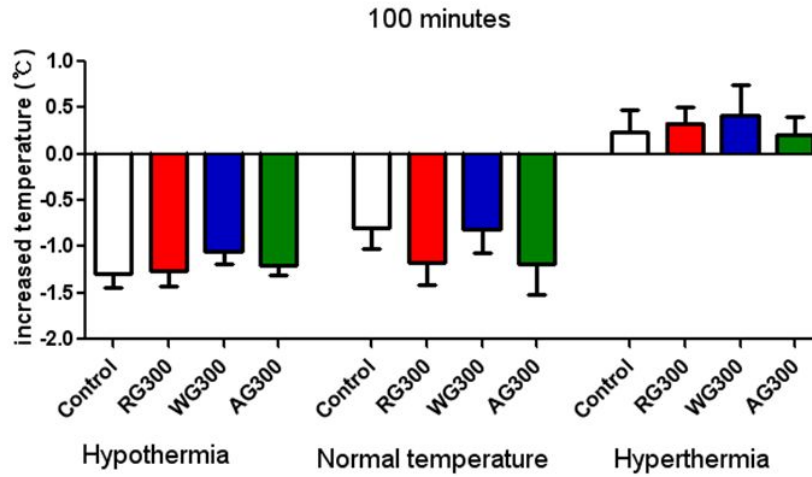
- 홍삼(RG), 인삼(WG), 화기삼(AG)을 각각 300 mg/kg 투여한 후 30분에 저체온, 정상체온, 고체온 모델에서 체온 변화 비교
- 저체온 모델에서는 홍삼, 인삼, 화기삼 투약 그룹의 체온이 높아졌고, 정상체온 모델에서는 인삼과 화기삼 투약 그룹의 체온이 낮아졌고, 고체온 모델에서는 홍삼 투약 그룹의 체온이 높게 나타남



- 홍삼(RG), 인삼(WG), 화기삼(AG)을 각각 300 mg/kg 투여한 후 60분에 저체온, 정상체온, 고체온 모델에서 체온 변화 비교
- 저체온 모델에서 화기삼 투약 그룹의 체온이 높아졌고, 고체온 모델에서는 인삼과 홍삼 투약 그룹의 체온이 상승함



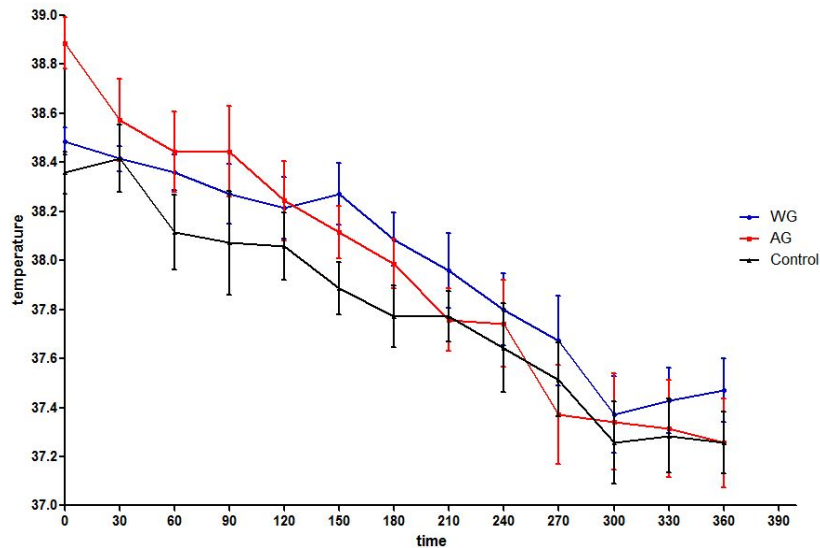
- 홍삼(RG), 인삼(WG), 화기삼(AG)을 각각 300 mg/kg 투여한 후 100분에 저체온, 정상체온, 고체온 모델에서 체온 변화 비교
- 저체온 모델에서 인삼 투약 그룹의 체온이 상승했고, 정상 체온 모델에서는 홍삼과 화기삼의 체온이 낮아졌고, 고체온 모델에서는 인삼과 화기삼 투약 그룹의 체온이 상승함



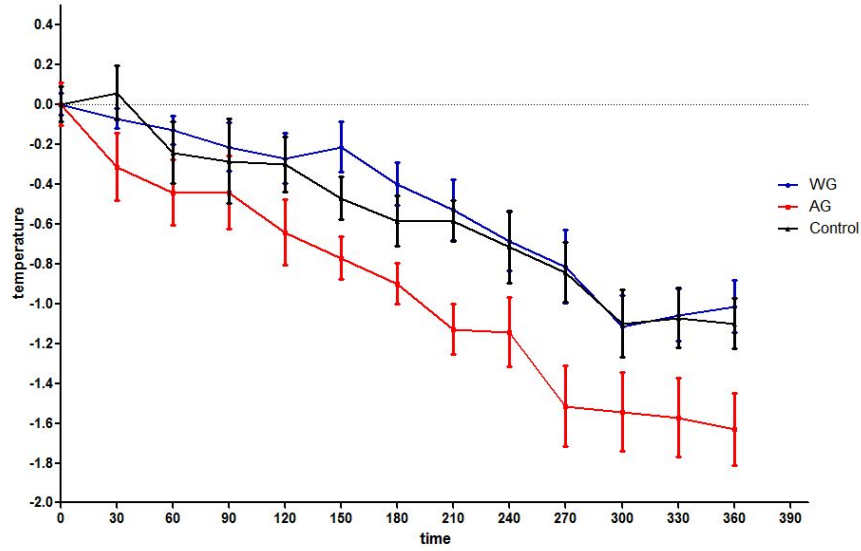
3) 고온, 저온 동물 모델에 인삼과 화기삼 단회 투여 후 체열 반응 연구

(3-1) 실온에서 인삼과 화기삼 투여시 동물의 체온 비교

- 인삼(WG), 화기삼(AG)을 각각 100 mg/kg 투여한 후 실온에서 체온 변화 비교 시 모든 그룹에서 체온이 낮아지는 경향이 나타났음
- 인삼과 화기삼 투여 그룹의 경우 유의적인 차이는 나타나지 않음

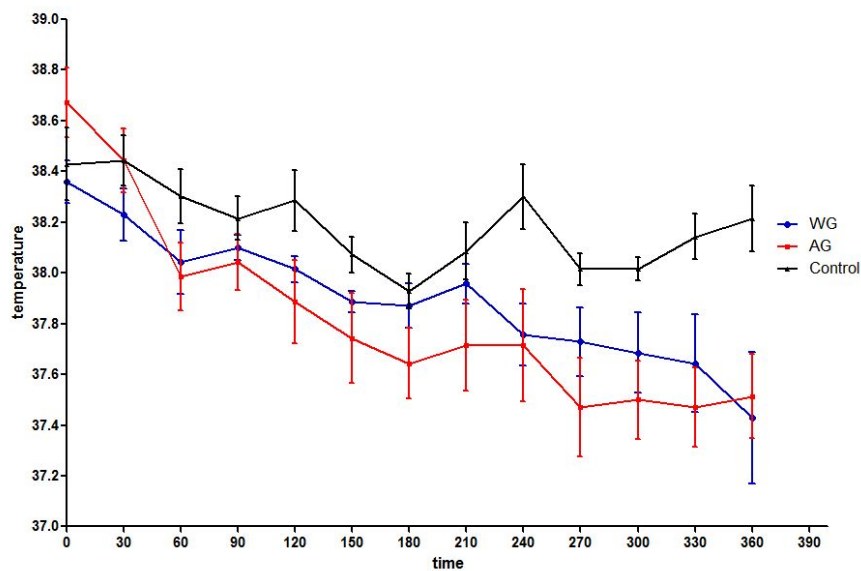


- 인삼(WG), 화기삼(AG)을 각각 100 mg/kg 투여한 후 실온에서 체온의 증감을 비교한 결과 인삼과 화기삼은 유의적인 차이가 나타나지 않았음

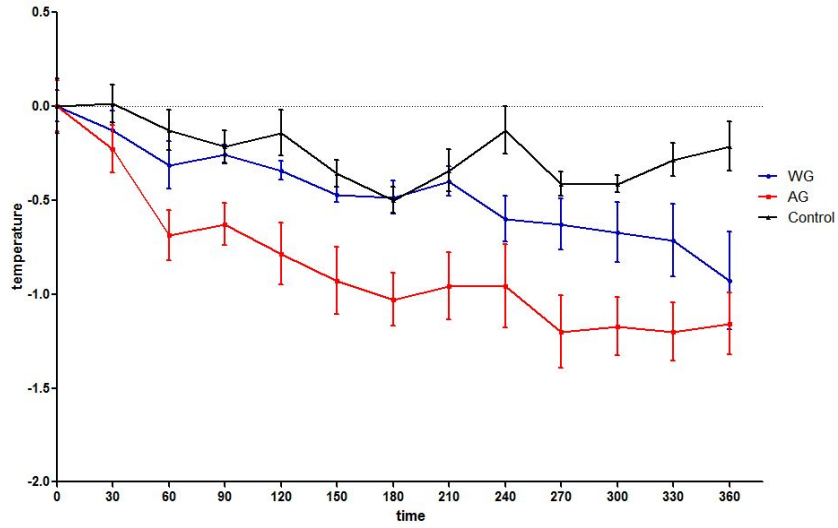


(3-2) 고온에서 인삼과 화기삼 투여시 동물의 체온 비교

- 인삼(WG), 화기삼(AG)을 각각 100 mg/kg 투여한 후 고온에서 체온 변화 비교 시 모든 그룹에서 체온이 낮아지는 경향이 나타났음
- 인삼과 화기삼 투여 그룹의 경우 유의적인 차이는 나타나지 않음

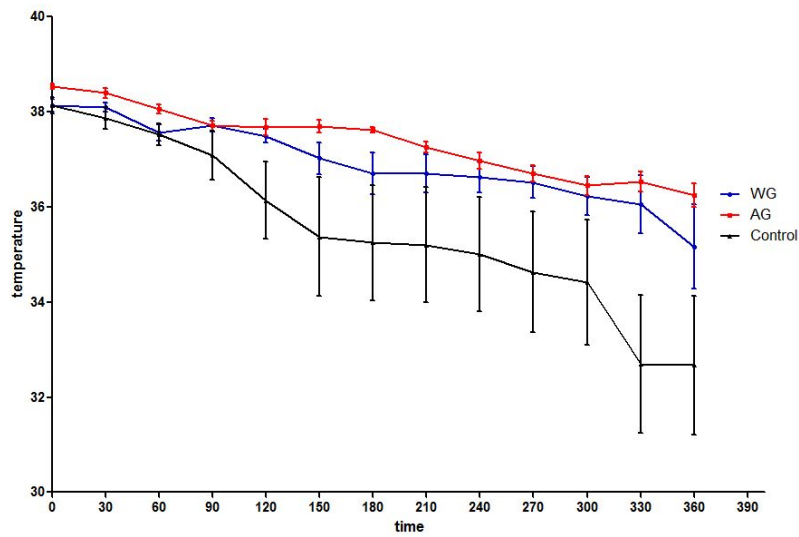


- 인삼(WG), 화기삼(AG)을 각각 100 mg/kg 투여한 후 고온에서 체온의 증감을 비교한 결과 인삼과 화기삼은 유의적인 차이가 나타나지 않았음

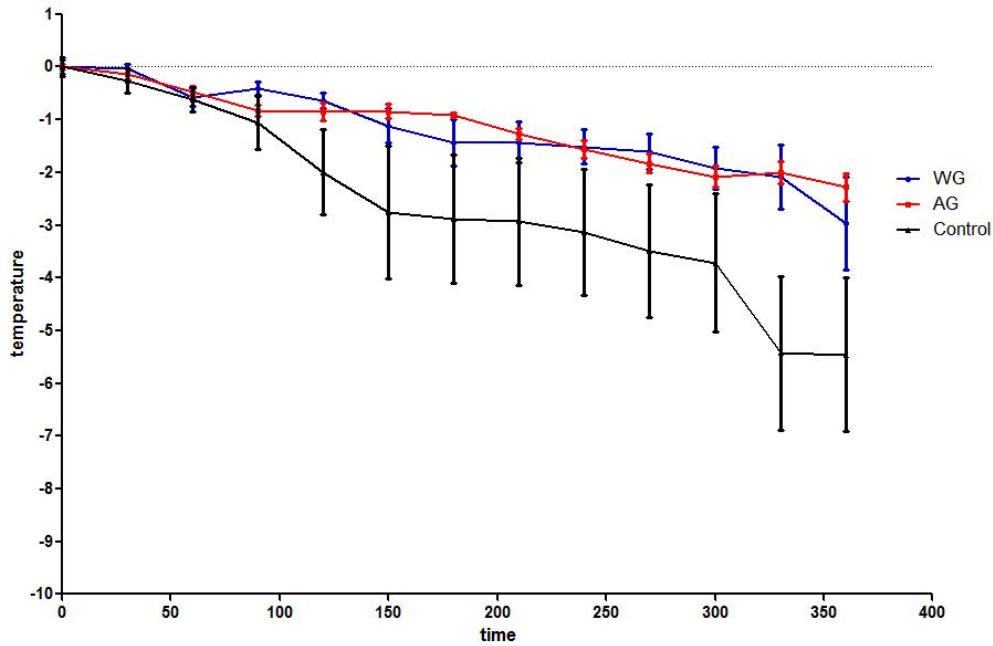


(3-3) 저온에서 인삼과 화기삼 투여시 동물의 체온 비교

- 인삼(WG), 화기삼(AG)을 각각 100 mg/kg 투여한 후 저온에서 체온 변화 비교 시 모든 그룹에서 체온이 낮아지는 경향이 나타났음
- 인삼과 화기삼 투여 그룹의 경우 유의적인 차이는 나타나지 않음



- 인삼(WG), 화기삼(AG)을 각각 100 mg/kg 투여한 후 저온에서 체온의 증감을 비교한 결과 인삼과 화기삼은 유의적인 차이가 나타나지 않았음



4) 고온, 저온 동물 모델에 인삼과 화기삼 반복 투여 후 체열 반응 연구

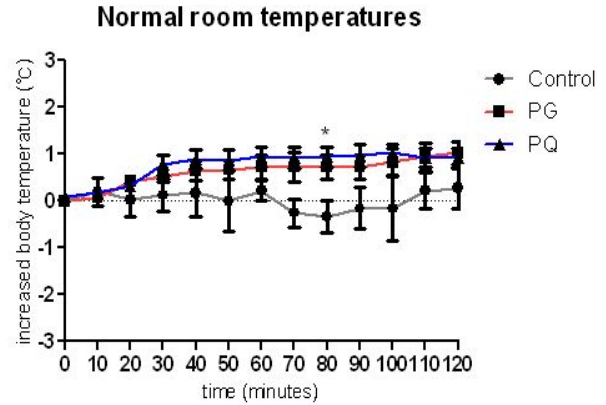
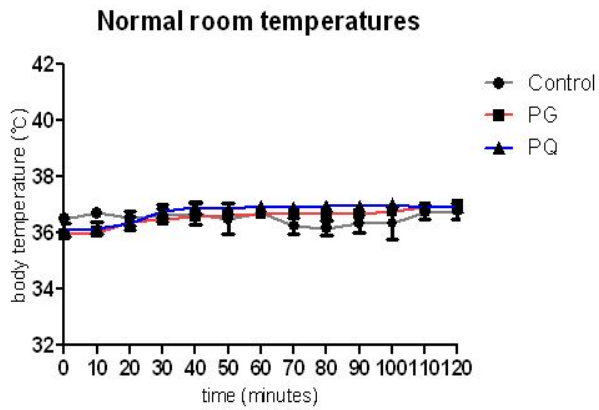
(4-1) 실온에서 고려인삼과 화기삼의 반복 투여에 의한 체열반응 비교

(4-1-1) 실험 방법

- 동물 : 7주령의 수컷 ICR 마우스 (n=5/group)
- Group : Control (DW treatment)
 - PG (고려인삼 300 mg/kg)
 - PQ (화기삼 300 mg/kg)
- 14일간 동일한 시간에 투약 후, 14일 째 투약 2시간 후에 120분 동안 매 10분마다 체온 측정
- 120분 동안 마우스는 25℃의 실온에서 체온 측정

(4-1-2) 실험 결과

- 좌측의 체온 그래프에서는 세 그룹이 120분 동안 일정한 체온을 유지하는 것으로 나타남
- 체온 측정 시작 지점을 기준으로 우측의 증감 그래프에서는 control 그룹이 일정한 체온을 유지하는 반면, 고려인삼과 화기삼 투여 그룹은 체온이 1℃이하로 증가하는 경향을 보임.



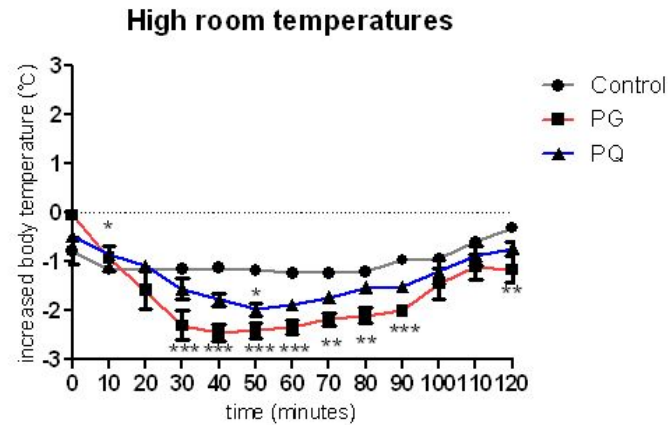
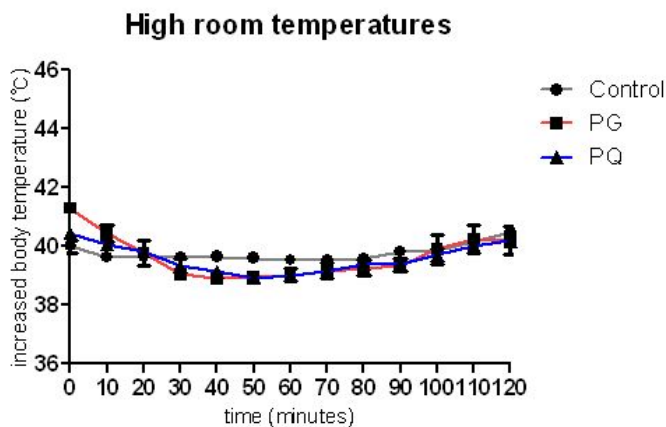
(4-2) 고온에서 고려인삼과 화기삼의 반복 투여에 의한 체열반응 비교

(4-2-1) 실험 방법

- 동물 : 7주령의 수컷 ICR 마우스 (n=5/group)
- Group : Control (DW treatment)
PG (고려인삼 300 mg/kg)
PQ (화기삼 300 mg/kg)
- 14일간 동일한 시간에 투약 후, 14일 째 투약 2시간 후에 120분 동안 매 10분마다 체온 측정
- 120분 동안 마우스는 38°C의 고온 챔버내에서 체온 측정

(4-2-2) 실험 결과

- 좌측의 체온 그래프에서는 세 그룹이 120분 동안 체온이 하락했다가 다시 상승하는 패턴을 보임
- 체온 측정 시작 지점을 기준으로 우측의 증감 그래프에서는 control 그룹의 체온이 1°C 정도 감소하는 반면, 고려인삼 투여 그룹에서는 2~3°C 정도 체온이 유의적으로 감소되었고, 화기삼 투여 그룹에서는 2°C 정도 체온이 감소하는 경향을 보임.
- Control 그룹과 대비하여 고려인삼과 화기삼 투여 마우스들은 고온 환경에서 체온을 하락시키려는 작용이 나타났으며, 이때 화기삼보다 고려인삼에서 더 큰 하락폭을 보였음



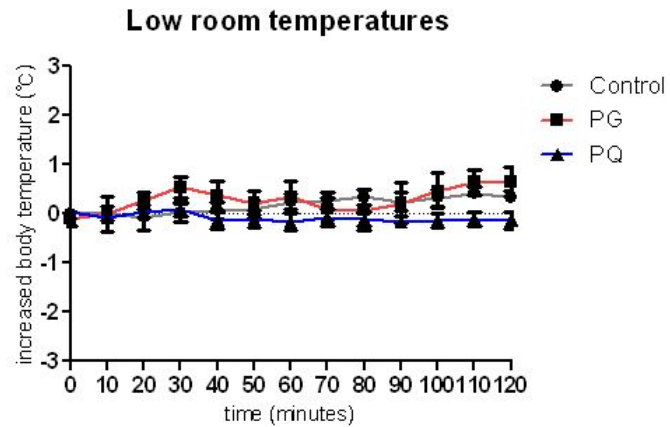
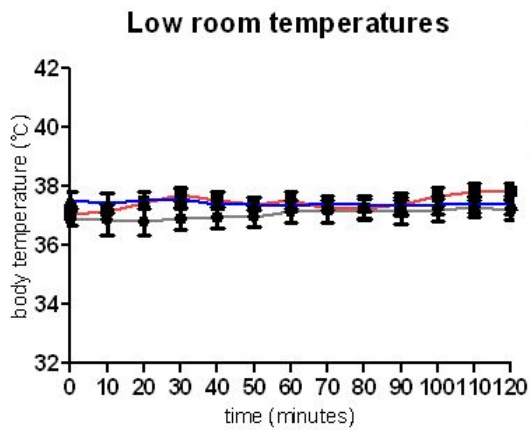
(4-3) 저온에서 고려인삼과 화기삼의 반복 투여에 의한 체열반응 비교

(4-3-1) 실험 방법

- 동물 : 7주령의 수컷 ICR 마우스 (n=5/group)
- Group : Control (DW treatment)
 - PG (고려인삼 300 mg/kg)
 - PQ (화기삼 300 mg/kg)
- 14일간 동일한 시간에 투약 후, 14일째 투약 2시간 후에 120분 동안 매 10분마다 체온 측정
- 120분 동안 마우스는 10°C의 저온 챔버내에서 체온 측정

(4-3-2) 실험 결과

- 좌측의 체온 그래프에서는 세 그룹이 120분 동안 체온이 유지되는 패턴을 보임
- 체온 측정 시작 지점을 기준으로 우측의 증감 그래프에서는 화기삼 투여 그룹은 체온의 변화가 없었고, control 그룹과 고려인삼 투여 그룹에서는 체온이 1°C 이하의 범위에서 증가하는 경향을 보임.



5) 고온, 저온 동물 모델에 고려인삼과 화기삼 투여에 의한 대뇌시상하부에서 UCP2 mRNA 발현 비교

(5-1) 실험방법

- 실온/고온/저온에서 체열 측정이 끝난 그룹별 마우스의 대뇌시상하부 적출

- Total RNA isolation

1. 조직을 0.03~5g정도 잘라 Trizol 500ul에 넣어준다.
2. Homogenization한다.
3. Trizol의 1/5양의 chloroform을 넣어준다
4. 충분히 vortex한다.
5. 5 mins at RT or on ice
6. 14000rpm, 15min, at 4°C
7. Aqueous phase만 새로운 tube에 옮긴다.
8. 옮긴 aqueous phase만큼 isopropanol을 넣어준다.
9. Up&Down 5회 후 3mins on ice
10. 14000rpm 10mins at 4°C
11. 상층액을 제거한 뒤 75% EtOH(with DEPC)500ul를 첨가하여 살짝 vortex하여 wash해준다
12. 7500rpm 5mins at 4°C
13. EtOH를 완전히 제거후 5mins air dry
14. 이후 pellet의 양에 따라서 DEPC water로 녹여준다.

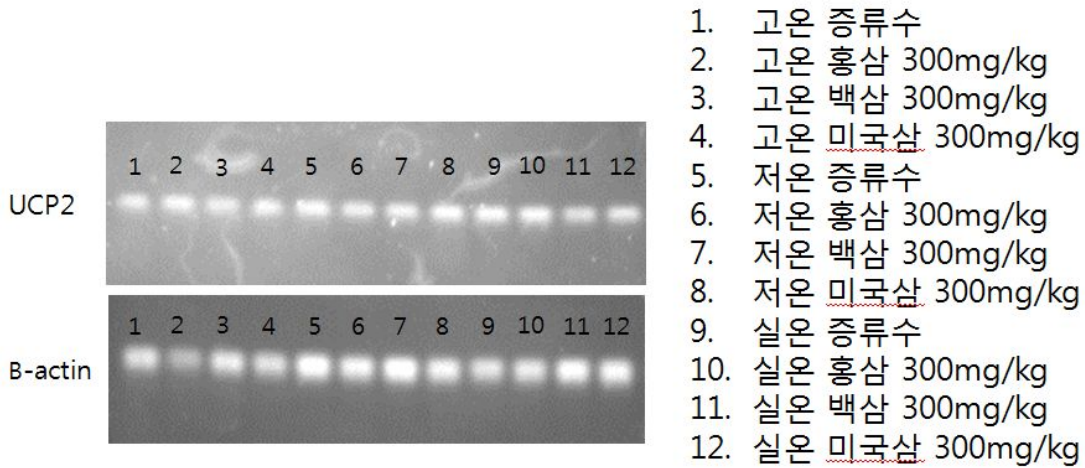
- cDNA synthesis

1. 4mg(일정 양의 total RNA)에 DNase와 DNase buffer를 10Unit 넣는다.
2. 30mins at 37°C
3. Stop solution을 1ul 넣는다
4. 10 mins at 65°C
5. OligoDT primer와 dNTP를 각각 50uM, 10mM 넣어준다
6. 5 mins at 65°C
7. RTase 와 RTase buffer, RNase inhibitor, RNase Free water를 넣는다
8. 1hr at 42°C, 15mins at 72°C

- Real time PCR

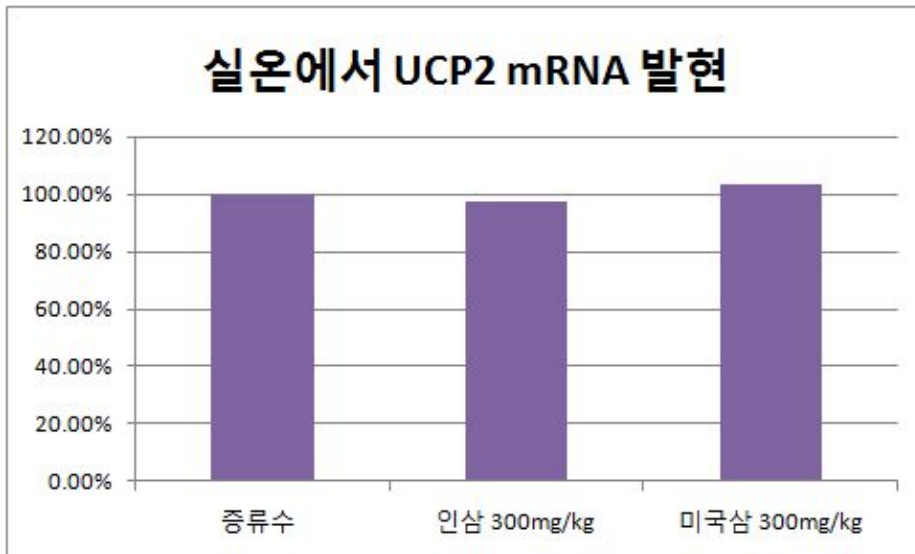
SYBR master mix	5ul
Primer(Forward, 5pmol)	1ul
Primer(Reverse, 5pmol)	1ul
water (DNase, RNase free)	2ul
template	1ul
total volume	10ul 로 real-time pcr 수행

(5-2) 고온, 저온 동물 모델에 고려인삼과 화기삼 단회 투여에 의한 대뇌시상하부에서 UCP2 mRNA 발현 비교



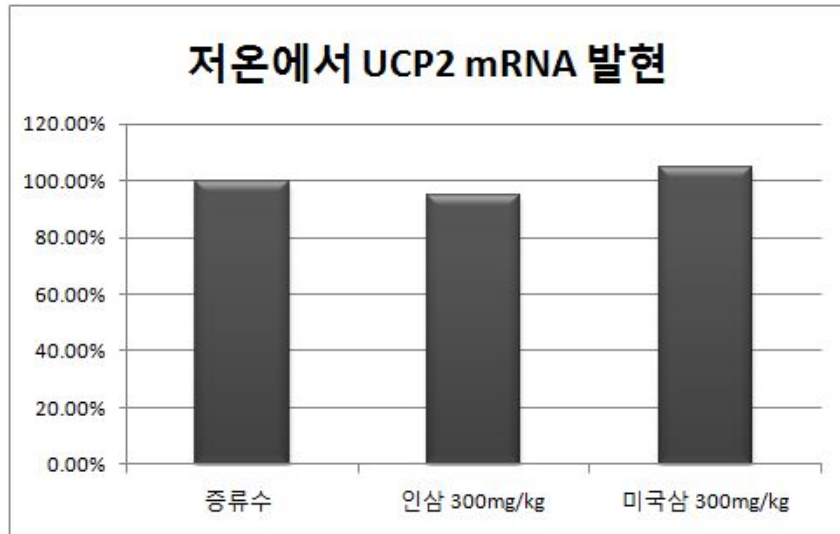
(5-2-1) 실온 마우스에서 UCP2 발현 확인

- 실온에서 고려인삼과 화기삼을 투약한 마우스의 UCP2 발현 확인 실험 시 고려인삼과 화기삼의 UCP2 발현이 증류수 대비 약 80%로 낮아졌으나 두 그룹간 유의적인 차이는 나타나지 않음



(5-2-2) 저온 마우스에서 UCP2 발현 확인

- 저온에서 고려인삼과 화기삼을 투약한 마우스의 UCP2 발현 확인 실험 시 고려인삼은 약간 낮아지고 화기삼은 약간 높아지는 경향이 나타났으나 두 그룹간 유의적인 차이는 나타나지 않음



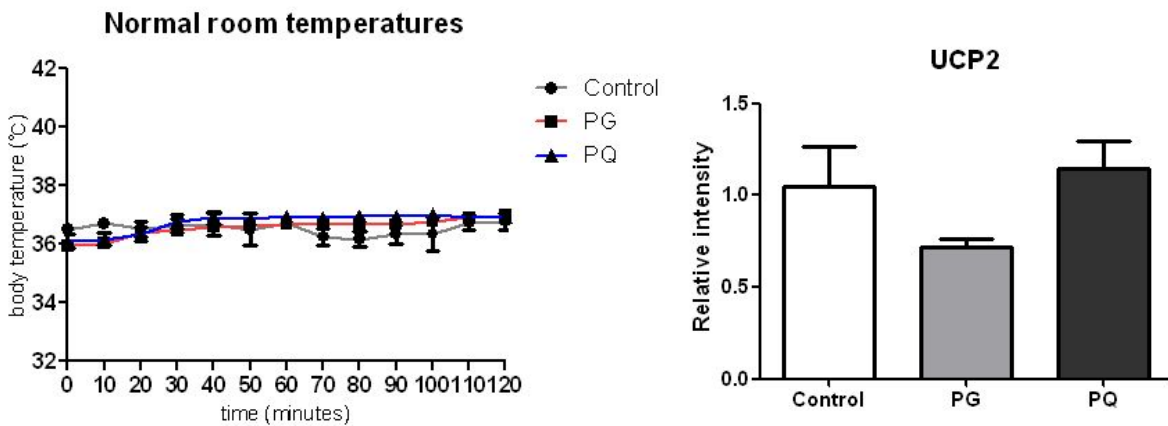
(5-3) 고온, 저온 동물 모델에 고려인삼과 화기삼 반복 투여에 의한 대뇌시상하부에서 UCP2 mRNA 발현 비교

(5-3-1) 실온 마우스에서 UCP2 mRNA 발현 확인

- 실온 마우스의 체온 증감 결과 화기삼과 인삼 투여 마우스와 control 그룹과 유의적인 차이는 나타나지 않음

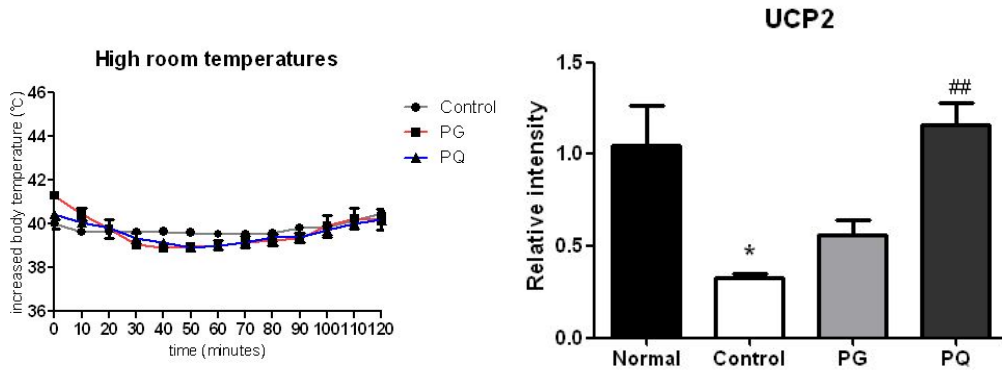
- 고려인삼과 화기삼을 반복 투여한 실온 마우스의 대뇌시상하부에서 UCP2 발현을 분석한 결과 고려인삼 투여 그룹이 control 그룹보다 다소 낮고, 화기삼 투여 그룹은 비슷하게 나타났으나 유의적인 차이는 나타나지 않았음

- 실온 마우스의 체온 증감 결과와 UCP2 mRNA 발현 결과 모두 control 그룹과 인삼 또는 화기삼 투여 그룹간에 유의적인 차이가 나타나지 않아 일치하는 결과가 나타남



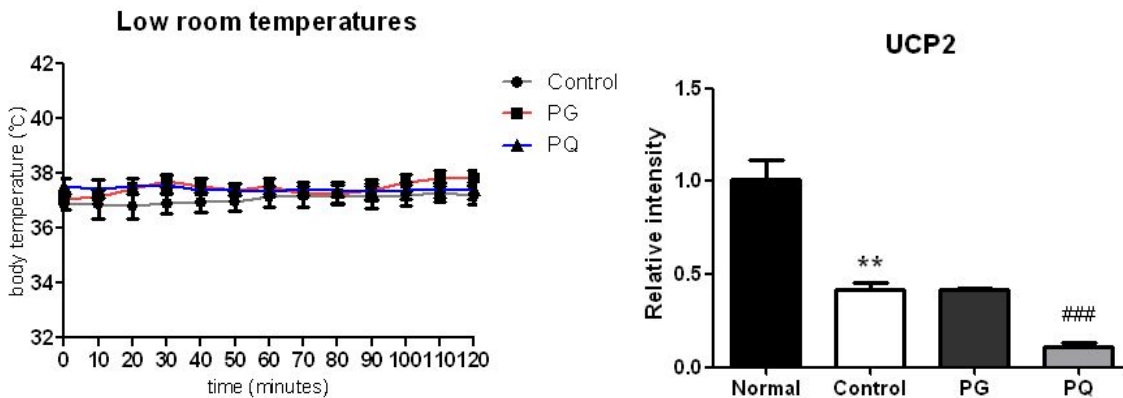
(5-3-2) 고온 마우스에서 UCP2 mRNA 발현 확인

- 고온 마우스의 체온 증감 결과 실험 시작 시에 체온은 정상 체온보다 높은 상태였으며, 이때 화기삼과 인삼 투여 시 체온이 낮아지는 경향을 보였음
- 고온 마우스의 대뇌시상하부에서 UCP2 발현을 분석한 결과 실온 마우스보다 고온 마우스의 UCP2 발현이 낮아 실온 마우스의 정상체온보다 고온 마우스의 체온이 증가하는 결과와 일치하였음
- 고려인삼과 화기삼 투여 그룹이 control 그룹보다 UCP2 발현이 높아 체온이 낮아지는 결과와 일치하는 결과가 나타남.



(5-3-3) 저온 마우스에서 UCP2 mRNA 발현 확인

- 저온 마우스의 체온 증감 결과 실험 시작 시에 체온은 정상 체온과 비슷한 상태였으며, 이때 화기삼과 인삼 투여 후에도 체온은 유지되는 경향을 보였음
- 저온 마우스의 대뇌시상하부에서 UCP2 발현을 분석한 결과 실온 마우스보다 저온 마우스의 UCP2 발현이 유의적으로 낮아 저온 환경에서 체온을 유지하기 위해 UCP2 발현이 낮아지는 것으로 사료됨
- 고려인삼과 화기삼 투여 그룹이 control 그룹보다 UCP2 발현이 비슷하거나 낮아 저온환경에서 체온을 유지하는 결과와 일치하는 결과가 나타남.



6) 고온, 저온 동물 모델에 고려인삼과 화기삼 투여에 의한 대뇌시상하부에서 UCP2 protein 발현 비교

(6-1) 실험방법

- 실온/고온/저온에서 체열 측정이 끝난 그룹별 마우스의 대뇌시상하부 적출
- protein 추출

1. extraction buffer 조성

- 0.1M HEMG(4°C Keeping).....9.6 ml
- ddH2O78 ml
- 1M HEPES(pH 7.5)..... 2 ml
- 1M KCl10 ml
- 50% Glycerol 10 ml

100 ml

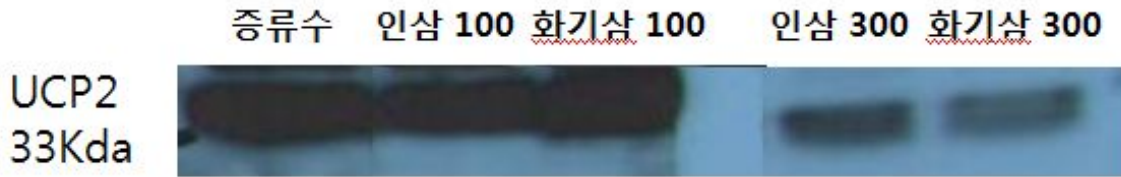
- 0.5M EDTA(pH 8.0) 100 μ l
- 2M MgCl 10 μ l
- 1M DTT(-20°C Keeping)..... 10 μ l
- 10% Triton X-100 100 μ l

* protease inhibitor Cocktail Tablet 첨가

2. 14000rpm, 15mins at 4°C
3. 상층액을 다른 tube에 옮긴다.
4. 14000rpm, 5min at 4°C
5. 상층액을 다른 tube에 옮긴다.
6. thermo-nano drop으로 정량한다.
7. 2X sample buffer 와 1:1비율로 섞어 준다
8. 5mins, at 95°C

- Western blot

1. 8% Resolving gel을 만든다
2. 준비해둔 liver, kidney sample을 loading 한다
3. 120v 2hr running 한다.
4. Running 된 gel을 nitrocellulose membrane에 transfer
5. 100v 1hr transfer
6. Transfer 된 membran을 PBS-T로 wash한다
7. Blocking: 5% skim milk 1hr at RT
8. 1차 항체 : 5% skim milk + Nr3c1 Ab, Actin Ab 1hr at RT (Nr3c1= 1:7500, Actin= 1:2000)
9. Wash : 5mins X 4
10. 2차 항체 : 5% skim milk + Anti-rabbit Ab conjugated HRP (Nr3c1= 1:5000, Actin= 1:3000)
11. Wash : 5mins X 4
12. ECL solution 처리 후 Detection



4. 연구결과

- 인삼과 화기삼이 마우스의 체온에 따라 어떠한 체열반응을 미치는지 알아보기 위해 저체온/정상체온/고체온 동물 모델을 만든 후 인삼과 화기삼을 투여하여 체온변화를 관찰한 결과 저체온/정상체온/고체온 동물 모델 모두에서 투약하지 않은 대조군과 유의적인 차이가 나타나지 않았으며, 체온의 시간별 변화 추이도 비슷한 양상을 보임. 따라서 **인삼과 화기삼이 마우스의 체온변화에 영향을 주지 않는 것으로 사료됨.**
- 인삼과 화기삼이 마우스의 환경적 온도 변화에 미치는 영향을 알아보기 위해 저온환경/실온환경/고온환경에 마우스를 거주시킨 후 인삼과 화기삼을 투여하여 체온변화를 관찰 한 결과 고온환경에서는 대조군의 체온이 정상체온보다 높았으며, 인삼과 화기삼 투여 마우스의 체온은 다소 낮아지는 경향을 보였고, 저온 환경에서는 대조군과 인삼과 화기삼 투여 마우스 모두 정상 체온을 유지하는 경향을 보임. 저온 환경에서는 대조군과 인삼 또는 화기삼 투여 마우스 간에 차이가 나타나지 않아 인삼과 화기삼의 역할이 나타나지 않음. **인삼과 화기삼은 환경 온도상승 시 체온을 정상화시키는 체온조절 작용을 부분적으로 보여주었고 인삼의 승열 작용은 없음.**
- 마우스의 환경적 온도 변화에 인삼과 화기삼이 체내 체온 조절에 미치는 영향을 알아보기 위해, 실험 종료 후 마우스 시상 하부를 채취해 UCP2 mRNA 발현을 확인 한 결과 고온환경에서는 UCP2 발현이 증가하여 체온을 낮추려 하였고, 저온환경에서는 UCP2 발현이 정상 마우스와 비슷하거나 낮게 나타남. 이러한 결과는 마우스의 체온 측정과 일치하는 결과로 인삼과 화기삼은 고온에서는 체온을 낮추기 위한 추가적인 작용이 나타났으며, 저온에서는 체온유지 작용에 추가적인 영향을 주지 않는 것으로 나타남.
- 결론적으로 체온별, 환경온도별 마우스의 체온 변화에 인삼과 화기삼에간에는 유의적인 차이가 나타나지 않아 마우스 모델에서 인삼의 승열작용에 대한 근거는 발견되지 않음.

1협동 - 인삼, 홍삼, 화기삼이 한국인의 체열반응에 미치는 영향 비교 임삼 연구

연구개발수행 내용 및 결과

1. 연구배경 및 목적

1990년대 중반부터 미국과 캐나다에서 생산한 화기삼이 세계시장에서 차지하는 비중이 점차 커지고 있으며 이는 화기삼이 인체의 열을 낮추는 효능이 있다며 시장개척을 한 결과로 이해된다.¹⁾ 고려인삼은 열을 올리기 때문에 더운 지역에 사는 동남아 사람에게는 부적당하다고 홍보하는 화기삼의 홍보전략 및 속설에 대한 객관적이고 정확한 시험결과가 필요한 현실이다.¹⁾ 또한 열을 올린다는 것이 현대의학적으로는 구체적으로 어떠한 반응을 나타내는 것인지에 대한 명확한 정의가 필요한 시점이다.

해외시장에서 널리 퍼져 있는 고려삼과 화기삼 간의 열과 관련된 인식은 대개 경험적인 수준이며, 실제 사람을 대상으로 한 임상시험은 한국인과 중국인을 대상으로 고려삼과 화기삼의 효능을 시험한 서정철 등²⁻⁴⁾의 연구와 혈압강하 효능을 비교한 조기호 등⁵⁾의 연구 이외에는 전무한 실정이다. 서정철 등의 연구에서도 복용기간이 4주로 비교적 짧고, 시험대상이 한국인과 중국인에만 국한되며, 열감에 관한 지표도 체표온도와 체온, 자각증상에만 국한되어 있다는 한계가 있다. 조기호 등⁵⁾의 연구에서도 한국인과 중국인 군이 구별되어 연구되지 않고 혈압에 미치는 영향만 연구된 한계가 있다.

따라서 한국인과 중국인, 미국인, 대만인을 대상으로 고려인삼과 화기삼을 복용한 후에 체온, 체표온도, 심박변이도, 혈액구성, 뇌혈류속도에 미치는 영향을 임상적으로 연구하고, 또한 열감에 대한 설문지와의 비교 분석을 통해 열을 올린다는 반응의 정의를 확립하고, 전임상연구를 통하여 열과 관계된 생리지표를 확립하는 것이 본 인삼관련 통합과제의 목표이다. 본 연구는 인삼의 열과 관련된 반응 연구를 주제로 경희대학교 체열반응연구사업단 주관으로 해외 및 국내 임상시험 및 전임상시험의 통합과제 중에서 한국인을 대상으로 하는 세부과제이며, 한국인 대상의 임상시험과 동일한 방법으로 중국인, 미국인, 대만인을 대상으로 해외임상시험이 별도 과제로 진행된다.

본 임상시험의 목적은 한국인을 대상으로 인삼분말과 홍삼분말, 화기삼분말을 복용한 후에 열과 관련되는 반응(체온, 체표온도, 심박변이도, 혈액구성, 뇌혈류속도, 자각증상)에 미치는 영향을 위제품 대조로하여 평가하고자 한다.

2. 시험 제품

2-1. 제품의 성분 및 제형 등

	시험제품 1	시험제품 2	시험제품 3	위제품
성분 및 함량	한국산 4년근 인삼분말 400mg	미국산 4년근 화기삼분말 400mg	한국산 6년근 홍삼분말 400mg	옥수수전분 400mg
제형	연질캡슐			
투여방법	1회 5캡슐, 1일 2회 섭취			
저장방법	직사광선을 피해 서늘한 곳에 보관 또는 냉장보관			
유효기간	제조일로부터 2년			

2-2. 임상시험 제품의 보관 및 지급

임상시험에 사용한 제품은 시험의뢰자인 경희대학교 체열반응 연구사업단으로부터 제공받았으며, 피험자에게 지급하기까지 실온에서 직사광선을 피하여 서늘한 곳에 보관하였다. 시험제품은 선정된 피험자에게 4주간 복용할 용량과 5회분의 여유분을 각각 시험시작일, 4주째, 8주째 방문일에 지급하였다.

2-3. 임상시험에 사용된 제품의 포장 및 관리

임상시험용 제품(시험제품 및 위제품)은 경희대학교 체열반응연구사업단에서 제공하며, 피험자 1인이 복용할 4주분(28일분 + 여분6회분)을 플라스틱 용기에 담아 담당자(관리약사)에게 제공하고, 담당자는 이를 직사광선을 피해 서늘한 곳에 보관하였다. 그 중 1회분의 시험용 제품은 담당자가 날짜를 기입하여 시험 종료 후 6개월까지 보관하였다. 나머지 제품(28일분 + 여분 5회분)은 무작위배정 계획에 따라 배정번호 및 방문차수가 명시된 라벨을 부착하여 피험자가 병원 방문시 지급하여, 이 제품을 직사광선을 피해 서늘한 곳에서 보관하도록 계도하였다.

2-4. 임상시험에 사용된 제품의 라벨링

임상시험에 사용되는 제품의 용기나 포장 라벨에는 다음의 사항을 기재하였다.

- | | |
|-------------------------------|-------------|
| 1) 무작위배정번호 | 2) 방문차수 |
| 3) “인체시험용”이라는 표시 | 4) 제품의 코드명 |
| 5) 제조 연월일 및 유효기간 | 6) 저장방법 |
| 7) “인체시험 외의 목적으로 사용할 수 없음” 표시 | 8) 제조업자의 상호 |

(예시)

무작위배정번호	방문
코드명	
제조 년 월일	
유효기간	제조일로부터 2년
저장방법	직사광선을 피해 서늘한곳에 보관
이 제품은 인체시험용 제품이며, 인체시험 외의 목적으로 사용할 수 없습니다. - 경희대학교 체열반응연구 사업단-	

2-5. 시험 제품의 사용 방법

- 1) 시험제품의 복용방법

피험자는 시험제품 또는 위제품을 1일 2회(1회당 5캡슐씩), 아침과 저녁 식후 30분에 적당량의 물과 함께 경구로 복용하였다.

2) 시험 제품의 복용기간
12주로 하였다.

3) 사용상의 주의사항

- 임신 및 수유 시 복용하지 말 것
- 소아의 손에 닿지 않게 할 것
- 피험자 외의 타인에게 복용시키지 말 것
- 복용 중 기도에 들어가지 않도록 주의하여 복용 할 것

4) 병용 금기 약물 또는 주의 식품

- 병용 금기 약물 : 혈압강하제, 혈당강하제, 스테로이드제, 갑상선질환치료제, 골다공증치료제, 기타 호르몬제 등
- 병용 주의 식품 : 튀긴 음식 등 기름진 음식과 커피 등 소화 장애를 유발할 수 있는 음식, 인삼성분 포함 건강식품 등

3. 피험자

만 20세 이상 만 50세 미만의 성인 남녀를 대상으로 수행하였다.

3-1. 선정기준

- 1) 만 20세 이상 만 50세 미만의 건강한 남성 및 여성
- 2) 본 임상시험에 자의로 참여 결정하고, 시험 참가에 관하여 본인 또는 보호자가 동의서에 서명한 자
- 3) 시험기간 동안 추적 관찰이 가능한자
- 4) 피험자가 WASHOUT 조건에 부합하고 시험 중에 제한 기준을 따르는 데 동의한 자
- 5) 평소 인삼, 홍삼 등의 인삼성분 포함 건강식품을 복용하던 사람의 경우 7일간의 WASHOUT 기간을 든 후에 제한 기준을 따르는 데 동의한 자.

3-2. 제외기준

- 1) 질병의 치료를 위한 약제(혈당강하제, 혈압강하제, 고지혈증치료제, 갑상선질환치료제, 갱년기질환치료제, 스테로이드제, 호르몬제, 한약 등)를 사용해야 하는 경우
- 2) 연구개시 3개월이내 심혈관계, 내분비계, 면역관련 질환에 대해 진단을 받고 약물이나 치료가 필요하다고 진단받은 경우
- 3) 임신중이거나 수유중인 자 (여성의 경우 피험자 스크리닝시 임신반응검사를 시행함)
- 4) 기타 위의 사항들 외에 책임연구자, 부책임연구자 혹은 시험담당자의 판단으로 임상시험 수행이 곤란하다고 판단되는 경우

3-3. 중지 및 탈락기준

1) 시험 중지 기준

- A. 책임연구자, 시험담당자가 임상시험용 제품과 ‘관련없음’으로 판정한 이상반응으로 인하여 조기에 연구를 중지한 경우

- B. 임상시험용 제품과의 관련성이 명백하지 않은 기타의 이유로 조기에 시험을 중지한 경우
- C. 임상시험 계획서를 심하게 벗어난 경우(예를 들면, 검사를 받지 않거나 계획된 일정을 따르지 않는 경우, 더 이상의 투약을 거부하는 경우, 병용금지약물을 사용하였을 경우 등)
- D. 임신 한 경우

‘중지자’에 해당하는 피험자는 책임연구자, 부책임연구자 또는 시험담당자와 상담 후 임상시험계획서에 따라 임상시험 실시 또는 탈락 여부를 책임연구자 또는 시험담당자가 결정한다.

2) 시험 탈락 기준

- A. 시험담당자가 임상시험용 제품과 ‘관련이 있을 수 있음’ 또는 ‘명백한 관련 있음’으로 판정한 이상 반응으로 인하여 조기에 연구를 중지한 경우
- B. 제품복용 순응도가 80% 미만인 경우
- C. 책임연구자 또는 시험담당자의 판단으로 임상시험 수행이 곤란하다고 판단되는 경우

3-4. 자료분석 대상 피험자

본 임상시험에서 171명을 대상으로 선정검사를 진행하였으며, 168명의 피험자가 선정기준에 적합하여 시험에 참여하였다. 시험에 참여한 168명 중 개인변심으로 인한 동의철회 21명, 이상반응 5명, 기타 순응도 미달 등으로 10명이 탈락기준에 해당하여 시험을 중지하였다. 따라서 시험제품을 복용한 168명 중 132명이 시험계획서를 준수하고 시험을 종료하였다.

4. 피험자 방문일정

4-1. 방문 1(Screening, visit 1.)

피험자가 본 시험에 등록 가능한지 선정/제외기준에 대한 검토를 하고, 선정/제외기준에 적합하면, 서면 동의를 한 후 피험자의 배경 및 병력, 신체검사, 활력징후 측정 후 시험에 등록하였다.

시험에 등록된 피험자는 적외선체열검사, 심박변이도 검사, 임상증상 설문지 작성, 뇌혈류 속도 검사, 혈액검사를 시행한 후 4주분의 제품(28일분 + 여유분 5회)을 공급받고 1회분을 복용하였고, 복용 1시간 후에 활력징후검사, 적외선체열검사, 심박변이도 검사, 임상증상 설문지를 작성하였다.

4-2. 방문 2.

방문 1. 이후 발생한 이상반응과 병용약물 조사, 활력징후검사, 적외선 체열검사, 심박변이도 검사, 임상증상 설문지를 작성하였다.

4-3. 방문 3.

방문 2. 이후 발생한 이상반응과 병용약물 조사, 활력징후검사, 적외선 체열검사, 심박변이도 검사, 뇌혈류 검사, 임상증상 설문지를 작성하였다. 섭취하고 남은 제품과 용기를 회수하고 4주분(28일분+5회분)의 시험제품을 공급하였다.

4-4. 방문 4.

방문 3. 이후 발생한 이상반응과 병용약물 조사, 활력징후검사, 적외선 체열검사, 심박변이도 검사, 임상증상 설문지를 작성하였다. 섭취하고 남은 제품과 용기를 회수하고 4주분(28일분+5회분)의 시험제품을 공급하였다.

4-5. 방문 5.

방문 4. 이후 발생한 이상반응과 병용약물 조사, 활력징후검사, 적외선 체열검사, 심박변이도 검사, 뇌혈류 검사, 혈액검사, 임상증상 설문지를 작성하였다. 섭취하고 남은 제품과 용기를 회수하였다.

5. 관찰항목 및 검사

5-1. 피험자 배경 및 병력

시험담당자는 방문 1에 피험자의 성명(이니셜), 성별, 나이, 생년월일, 신장, 체중, 직업, 이병기간 병력 및 기초질환, 가족력 및 과거력, 병용약제를 관찰하고 기록하였다. 단, 직업은 한국표준 직업분류(2000년 1월 기준)의 11개 분류 및 분류 코드를 따랐다.

5-2. 체표온도검사

시험담당자는 방문 1에 복용전, 복용 1시간후, 방문 2, 방문 3, 방문 4, 방문 5에 체표온도를 측정하여 기록하였다. 검사실은 외부로부터 빛과 열이 차단되고 습도가 낮으며 실내기류가 일정하고 항온상태(22-25℃)를 갖춘 곳에서 실행하였으며 피험자는 체표온도의 적응을 위하여 검사실 내에서 15-20분간 휴식을 취하였다. 검사전날에는 음주를 금하며 검사 2시간 전까지는 흡연이나 카페인 음료 등의 섭취를 피하였다. 검사장비는 적외선체열진단기(IRIS-XP (주)MEDICORE)를 이용하여 온도는 10군데 (인당, 수구, 전중, 중완, 권료 좌/우, 인영 좌/우, 운문 좌/우)의 체표온도를 측정하고, 계절적 온도차이 등의 외부적 인자의 간섭을 배제할 수 있는 복부와 얼굴의 온도차이 ($\Delta T = \text{중완의 온도} - \text{권료의 온도}$)를 기록하였다.

5-3. 혈액검사

피험자 스크리닝시 여성의 경우 임신반응검사스틱으로 소변검사를 시행하여 음성으로 판명된 경우 선정하였다.

시험담당자는 방문 1과 방문 5에 다음과 같은 항목에 대하여 측정하였다.

- 혈액 병리 검사 : WBC, RBC, Hemoglobin, Hematocrit, E.S.R, Platelet, differential count of WBC (Neutro, Eosino, Baso, Lympho, Mono)
- 혈액 화학 검사 : BUN, Creatinine, Protein Total, Albumin, SGOT, SGPT, TG, Glucose, Bilirubin(Total, Direct), Cholesterol(Total), ALP
- 뇨 검사 : Specific Gravity, PH, Glucose, Protein, Occult blood, Ketone, Bilirubin, Urobilinogen, WBC, RBC, HCG
- 갑상선 기능 검사 : T3, T4, TSH

5-4. 심박변이도 검사

시험담당자는 방문 1에 복용전, 복용 1시간후, 방문 2, 방문 3, 방문 4, 방문 5에 심박변이도를 측정하여 기록하였다. 측정 시 외적 환경에 의하여 자율신경계가 영향을 받지 않도록 하기 위하여 검사실의 온도는 일정하게 유지하고 피험자들은 침대에서 양와위 자세로 10분간의 안정을 취하여 환경에 적응하도록 한 후 측정하였다. 검사 전날의 음주는 금하며 검사 2시간 전에는 흡연과 카페인이 함유된 음식의 섭취를 피하게 하였다. 심박변동 측정용 맥파계인 SA-3000P (주)MEDICORE를 이용하며 좌우 손목부위와 좌우 발목부위에 각각 전극을 부착하고 5분간 측정하며 측정결과는 심박수(Mean HRT), SDNN, RMSSD, PSI, ApEn, SRD, TSRD, TP, VLF, LF, HF, LF Norm, HF Norm, LF/HF를 기록하였다.

5-5. 뇌혈류속도 검사

- 시험담당자에 의하여 방문 1의 시험시작전, 방문 3, 방문 5에 측정하여 기록하였다. 피험자는 의자에서 최소 5분간 안정하게 한 후 SONARA (주)BioBeat 를 이용하여 MCA, ACA, ICA, PCA, BA, VA의 혈류속도를 기록하였다.

5-6. 임상 증상 검사

- 시험담당자에 의하여 방문 1, 방문 2, 방문 3, 방문 4, 방문 5에 측정하여 기록하였다. 제품 복용후에 두통, 어지러움, 상열감, 상복부 불편감, 발진, 식욕부진, 소화불량, 설사, 변비, 불면, 입술건조, 가슴 답답함, 헛바늘, 코피의 발생여부와 발생한 경우에는 그 정도를 경, 중, 심의 3가지 단계로 표기하여 기록하였다.

5-7. 순응도 평가

피험자 방문 2, 방문 3, 방문 4, 방문 5 시 복용하지 못하고 남은 임상시험용 제품의 양과 복약률을 조사하였다. 피험자는 다음의 3가지 원칙을 지키지 않을 경우 중지자로 처리하였다.

원칙 ① 전체 복약률 80% 이하

원칙 ② 연속 6회 이상 복용 중지 금지

또한 임상시험용 제품 복용 전후의 피험자의 병용 약품(한약 또는 양약 등)의 변동을 조사하여 시험담당자가 자세히 기록하였다. 시험담당자는 피험자에게 복약 원칙을 알리고, 복용순응도 조사지를 배부하여 매일의 복용 결과를 기록하도록 지시하였다. 한편 시험담당자는 미복용한 시험 제품을 수거하여 순응도를 높이도록 하였다.

5-8 이상반응 평가

임상병리검사 및 기타 이상반응 발생여부로서 피험자 방문 2, 방문 3, 방문 4, 방문 5 시 책임연구자 또는 시험담당자가 평가하였다. 단, 피험자 방문시가 아니더라도 이상 반응이 나타날 시 피험자는 책임연구자나 시험담당자에게 즉시 보고하는 것을 원칙으로 하였다. 임상시험용 제품 복용 후 비정상적 변화가 나타난 경우에는 임상시험용 제품과의 관련성을 평가하고 추적조사를 실시하였다.

5-9. 안전성 평가

피험자 방문 2, 방문 3, 방문 4, 방문 5 시 시험담당자가 피험자의 상태를 평가하여 이상반응여부와 이학적 검진 상태를 참고하여 총괄 안전도를 평가하였다.

6. 통계적 분석

통계분석은 PASW 20.0을 이용하여 분석하였다. 자료의 표현은 범주형 자료의 경우 빈도와 백분율(%)로 표시하였으며, 범주형 자료의 통계검정은 χ^2 test를 이용하여 독립성 검정을 실시하였다. 수치형(연속형) 자료의 경우 평균과 표준오차를 대푯값으로 사용하여 표현하였으며, 통계검정은 정규성 검정과 등분산 검정을 통해 가정이 부합되는 경우에는 모수적 방법인 ANOVA test를 이용하였으며, 가정이 부합되지 않는 경우에는 비모수적 방법인 Kruskal-Wallis test를 이용하여 군간의 차이를 평가하였다. 특히 반복측정된 자료의 경우에는 반복측정 분산분석(Repeated measure ANOVA test)을 실시하여 군간의 차이를 분석하였으며, 분산분석을 통해 인삼제품 군간의 차이가 있음이 확인된 경우에 한하여 사후검정으로 최소유의차검정(Least significant difference test)을 실시하여 차이를 보이고 있는 군을 확인하였다. 통계검정은 유의수준 5%에서 실시하였다.

6-1. 자료분석 대상군(Analysis Sets)

본 시험의 통계분석은 최초 무작위 배정된 모든 피험자에 대하여 처리군에 따라 분석하는 ITT(Intention-To-Treat)분석을 원칙으로 하였다. 하지만, 두 군(PP와 FA)의 견실성(robustness) 유지를 검토하기 위하여 두 군 모두 분석하여 비교검토도 수행하였다.

6-2. 기초평가자료(인구학적 특성 포함)에 대한 분석

기초평가자료의 각종 정보와 인구학적 특성(예: 성별, 나이 등)들은 단순 통계치(연속형 변수의 평균, 표준편차, 범주형 변수의 percentage)로서 요약되었다. 연속변수에 대한 두-표본 t-검정(two sample t-test)과 범주형 변수에 대한 카이제곱 검정은 시험군과 대조군간의 동질성을 검증하기 위하여 사용되었다.

6-3. 유효성 평가에 대한 분석

체열반응에 미치는 영향을 평가하기 위한 1차 유효성 평가변수는 체표온도의 변화를 이용하였으며, 체표온도의 측정은 임상시험전, 임상시험기간중, 임상시험완료시 측정하고자 기록된 시점에 따라 측정된 시험군, 대조군간의 변화로 평가하였다. 또한 2차 유효성 평가변수는 심박변이도, 뇌혈류속도, 혈액구성 성분, 자각증상에 대한 항목별/시점별 측정치를 이용하여, 유효성 평가를 실시하였다. 2차 유효성 평가변수에 대해서도 임상시험전과 임상시험기간중, 임상시험완료후 측정하고자 기록된 시점에 따라 측정하여 시험군, 대조군간의 변화양상의 차이를 알아보았다.

1) 유효성 평가에 따른 통계적 분석방법

(1) 인구 통계학적 변수 및 대조군 실험군간의 비교 동등성검정

피험자들의 모든 인구 통계학적 특성 및 임상적특성(예 : 성별, 나이, 체중)에 대하여 기본적으로 descriptive analysis를 통하여, 양적자료에 대해서는 평균, 표준편차 및 중앙값, 범위로 그 특징을 나타내고, 질적자료에 대해서는 빈도와 백분율을 제시하였다.

대조군 및 실험군의 인구 통계학적 변인 및 임상적특성에 대하여 시험군, 대조군간의 비교동등성을 파악하였으며, 자료의 상황으로 정규성 검정이 필요하다고 여겨지면 정규성 검정을 실시하여, 모수적/비모수적 접근방법에 대한 타당성을 제시하고 각 접근방법에 따른 분석을 실시하였다. 모수적 접근방법으로 양적자료는 이표본 t-검정(two sample t-test)으로 비교하였으며, 비모수적 접근방법으로는 윌콕슨 순위합 검정(Wilcoxon's rank sum test)을 실시하였다. 질적 자료에 대해서는 카이제곱검정(Chi-square test)으로 비교하였다.

2) 유효성 평가변수 분석

2)-1. 1차 유효성 평가 변수(체표온도)에 대한 분석

체열반응을 보기위한 주평가변수인 체표온도에 대한 분석은 방문 1과 방문 5에 측정된 체표온도의 평균 변화량을 제시하고, 이 변화량이 시험군, 대조군간에 차이가 있는지 확인하기 위하여, 자료의 상황으로 정규성 검정이 필요하다고 여겨지면 정규성 검정을 실시하여, 모수적/비모수적 접근방법에 대한 타당성을 제시하고 각 접근방법에 따른 분석을 실시하였다. 모수적 접근방법으로 양적자료는 이표본 t-검정(two sample t-test)으로 비교하였으며, 비모수적 접근방법으로는 윌콕슨 순위합 검정(Wilcoxon's rank sum test)을 실시하였다. 또한 각 군의 평균변화량에 대한 95% 신뢰구간도 동시에 제시하였다. 이와 더불어, 시험군, 대조군의 모든 시점에서 측정된 전체자료에 대한 체표온도의 변화를 보기위해서 각 방문시점에서 반복측정된 각 피험자의 관측값들의 상관관계를 고려한 반복측정 이요인 분석(repeated measure two factor analysis, mixed -effects model)을 실시하여, 대조군과 시험군간의 차이, 시험전과 후의 시점에 따른 차이, 대조군과 시험군의 시점에 따른 체표온도 변화양상의 차이-상호작용효과를

비교하였다.

2)-2. 이차 유효성평가변수

심박변이도, 뇌혈류속도, 혈액구성성분, 자각증상과 같은 이차 유효성 평가변수에 대한 분석은 방문 1과 방문 5에 측정된 주어진 변수에 대한 평균 변화량을 제시하고, 이 변화량이 시험군, 대조군간에 차이가 있는지 확인하기 위하여, 자료의 상황으로 정규성 검정이 필요하다고 여겨지면 정규성 검정을 실시하여, 모수적/비모수적 접근방법에 대한 타당성을 제시하고 각 접근방법에 따른 분석을 실시하였다. 모수적 접근방법으로 양적자료는 이표본 t-검정(two sample t-test)으로 비교하였으며, 비모수적 접근방법으로는 윌콕슨 순위합 검정(Wilcoxon's rank sum test)을 실시하였다. 또한 각 군의 평균변화량에 대한 95% 신뢰구간도 동시에 제시하였다.

이차 유효성 평가변수인 심박변이도, 뇌혈류속도, 혈액구성성분, 자각증상에 대해서도 각 방문시점에서 반복측정된 각 피험자의 관측값들의 상관관계를 고려한 반복측정 이요인 분석(repeated measure two factor analysis, mixed -effects model)을 실시하여, 대조군과 실험군간의 차이, 실험전과 후의 시점에 따른 차이, 대조군과 실험군의 시점에 따른 변화양상의 차이를 비교하였다. 자각증상과 같은 범주변수에 대해서는 카이제곱검증을 이용하여 각 군간의 동질성 평가를 실시하였다.

7. 규정 및 기타

7-1. 피험자의 안전보호

본 임상시험은 Helsinki 선언에 입각하여 인간의 존엄성 및 권익을 존중함과 더불어 피험자에게 불이익이 초래되지 않도록 실시되었다. 시험담당자는 피험자를 임상시험에 등록하기 전에 각 피험자의 건강상태를 확인하여 연구에 참여할 수 있는지를 확인하였다. 또한 시험담당자는 임상시험 제품에 관하여 충분히 숙지하고 피험자의 안전을 보장하기 위하여 최선을 다하였다.

7-2. 피험자 동의서 및 동의서 설명문

시험책임자와 시험담당자는 연구가 시작되기 전 피험자에 대한 선정기준 및 제외기준을 모두 만족하는 피험자를 대상으로 피험자 본인 또는 보호자에게 시험에 관련된 모든 사항을 자세히 설명하고 모든 예측 가능한 결과에 대하여 알 수 있는 충분한 기회를 부여하였다. 피험자가 동의한 내용은 문서로 기록하고 시험책임자가 피험자 동의서에 서명하여 확인하였다.

7-3. 비밀의 보장

시험에 참여한 모든 피험자명은 비밀로 유지하였다. 서명을 받은 피험자 동의서는 연구자가 보관하며, 시험담당자 또는 모니터는 피험자번호, 피험자 이니셜 및 피험자명이 기록된 리스트를 별도로 관리하여 추후의 기록 및 평가 시 찾을 수 있도록 하였다.

7-4. 기타 피험자를 보호할 수 있는 사항

피험자가 임상시험으로 인해 피해를 입은 경우 피해자 보상규약에 따라 보상하도록 하였다. 임상시험 실시 기관은 본 시험계획서에 규정된 대로 시험이 적절히 진행될 수 있도록 임상 시험에 필요한 설비와 전문 인력을 갖추고 피험자의 안전보호에 만전을 기하였다. 연구자는 본 계획서에 명시된 이상반응 및 주의사항 등에 대하여 사전에 충분히 숙지하고 연구 도중 발생한 이상 반응에 대해 적절한 조치를 취한 후 임상시험 심사위원회 및 연구의뢰자에게 통보하였다.

피험자에게 본 임상시험에 참여한 결과로 직·간접적 손해가 발생되었을 경우 책임연구자 또는 시험담당자

가 상해의 치료를 위하여 최선의 조치를 취하며, 본 임상시험으로 인한 피험자의 신체적인 손상(사망포함)과 이로 인한 경제적, 정신적, 사회적 피해에 대한 보상 발생시 본 임상시험을 의뢰하는 기관이 보상하는 것을 원칙으로 하였다. 일시적 통증 또는 쉽게 치료될 수 있는 정도의 손상뿐만 아니라 지속적이고 영구적인 기능장애를 초래한 정도의 심각한 손상에 대해서도 본 임상시험을 의뢰하는 기관이 보상하도록 하였다. 임상시험 제품에 의하여 생긴 부작용이나 부작용처리 과정에서 발생한 손상이 있는 경우 임상시험용 제품이 직접적인 원인이 된 손상에 대하여 본 임상시험을 의뢰하는 기관이 보상하도록 하였다. 시험 제품에 의해 생긴 부작용이나 부작용 처리과정에서 발생한 손상이 있는 경우, 시험제품이 직접적인 원인이 된 손상에 대해 본 임상시험을 의뢰하는 기관이 보상하도록 하였다. 단, 본 임상시험 수행과 무관한 입원비, 검사, 진찰료는 피험자가 부담하는 것을 원칙으로 하였다. 임상시험 중 중지되거나 탈락된 피험자에 대한 진료 및 치료는 일반적인 진료 및 치료 기준 원칙에 따른다. 즉, 피험자의 상태나 의사에 따라 다른 종류의 약물요법(침구요법 등)을 시행하거나 대증요법 등을 시행하도록 하였다.

8. 시험 결과

8-1. 피험자 정보

성별 구성비율은 남자 69명, 여자 99명으로 총 168명이 연구대상자로 선정되었다. 선정된 피험자들의 평균 연령은 33.89 ± 8.42 세 이었으며, 평균신장 166.51 ± 8.21 cm, 평균체중 61.46 ± 10.70 kg이었다.

8-2. 복용전 baseline 변수의 통계분석

군간 배정에 따른 인구학적 차이를 분석한 결과 성별차이에서는 A(홍삼제품)군 남자 17명, 여자 25명, B(화기삼제품)군 남자 16명, 여자 26명, C(대조제품)군 남자 18명, 여자 24명, D(인삼제품)군 남자 18명, 여자 24명으로 조사되어 군간 성별의 차이는 보이지 않았다($\chi^2=0.271$, $p=0.965$).

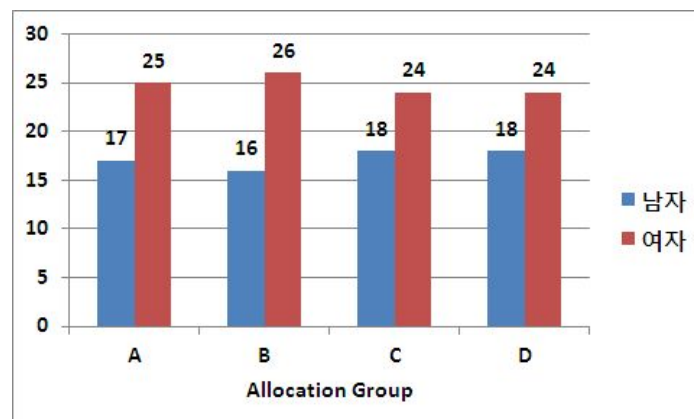


그림 185 무작위 배정 군간 성별 분포

평균 연령에서는 A(홍삼제품)군 34.52 ± 8.55 세, B(화기삼제품)군 34.17 ± 7.53 세, C(대조제품)군 32.21 ± 8.59 세, D(인삼제품)군 37.67 ± 8.99 세로 나타나 군간의 차이는 없는 것으로 조사되었다.(Kruskal-Wallis test; $p=0.464$),

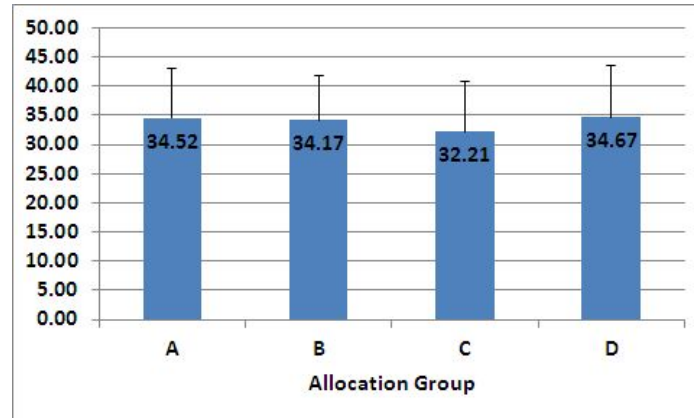


그림 186 무작위 배정 군간 연령 분포

평균 신장에서는 A(홍삼제품)군 $166.31 \pm 7.71\text{cm}$, B(화기삼제품)군 $166.95 \pm 9.14\text{cm}$, C(대조제품)군 $166.51 \pm 8.93\text{cm}$, D(인삼제품)군 $166.27 \pm 7.16\text{cm}$ 으로 각각 측정되어 역시 군간 차이는 없는 것으로 분석되었다(ANOVA test; $p=0.981$).

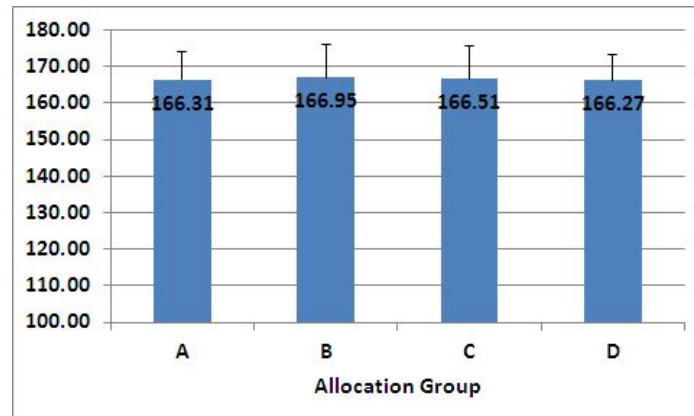


그림 187 무작위 배정 군간 신장 분포

평균 체중에서는 A(홍삼제품)군 $61.50 \pm 11.77\text{kg}$, B(화기삼제품)군 $61.43 \pm 9.78\text{kg}$, C(대조제품)군 $61.61 \pm 11.92\text{kg}$, D(인삼제품)군 $61.29 \pm 9.51\text{kg}$ 으로 각각 측정되어 역시 군간 차이는 없는 것으로 분석되어(ANOVA test; $p=0.999$), 배정에 따른 비뚤림(bias)은 없는 것으로 분석되었다.

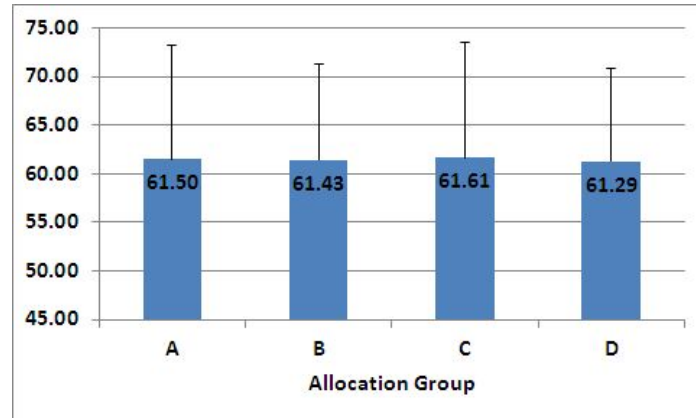


그림 188 무작위 배정 군간 체중 분포

총 선정자 168명 중 36명(21.4%)이 중도탈락하여 최종적으로 132명이 시험을 종료하였다. 중도탈락 또는 위반사유로는 ‘내원 또는 방문불가’가 11명으로 가장 많았으며, ‘단순 또는 개인 변심’ 10명, 순응도 미달을 포함한 시험계획서 미준수가 6명 순으로 조사되었다.

각 군별 중도탈락율은 군당 42명의 배정인원 중 A(홍삼제품) group은 11명(26.2%), B(화기삼제품) group은 10명(23.8%), C(대조제품) group은 4명(9.5%), D(인삼제품) group은 11명(26.2%)으로 배정 군별 중도탈락율의 차이를 보였으나 통계적으로 차이는 관찰되지 않았다($\chi^2=3.778$, $p=0.286$).

중도탈락으로 인한 무작위 배정의 비뚤림 영향을 분석한 결과 각 배정군간 인구학적 특성의 차이는 없는 것으로 분석되어 중도탈락으로 인한 비뚤림은 발생하지 않은 것으로 나타났다.

표 1 중도탈락 및 위반 사유

중도탈락 사유	무작위 배정									
	A(홍삼제품) group		B(화기삼제품) group		C(대조제품) group		D(인삼제품) group		Total	
	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%
내원 또는 방문불가	4	9.5	2	4.8	1	2.4	4	9.5	11	6.5
다른 약물 복용을 위해 더 이상 투약을 거부	0	0.0	0	0.0	0	0.0	1	2.4	1	0.6
변심	1	2.4	4	9.5	2	4.8	3	7.1	10	6.0
부작용 의심	2	4.8	1	2.4	0	0.0	2	4.8	5	3.0
외국인	0	0.0	1	2.4	0	0.0	0	0.0	1	0.6
추적관찰 불가	1	2.4	0	0.0	0	0.0	0	0.0	1	0.6
한방검사에 대한 거부감으로 검사거부 Protocol 미준수 (순응도 미달 포함)	0	0.0	0	0.0	0	0.0	1	2.4	1	0.6
합계	11	26.2	10	23.8	4	9.5	11	26.2	36	21.4

선정된 피험자들의 군간 기저 수축기 및 이완기 혈압과 맥박, 호흡수, 체온을 측정된 결과 군 간의 차이는 없는 것으로 나타났다(ANOVA test & Kruskal-Wallis test).

그림 189 생체징후의 군간 분포

8-3. 유효성 평가 통계분석

8-3-1. 1차 유효성 평가변수(체열) 분석

8-3-1-1. Intend-to-treat 분석

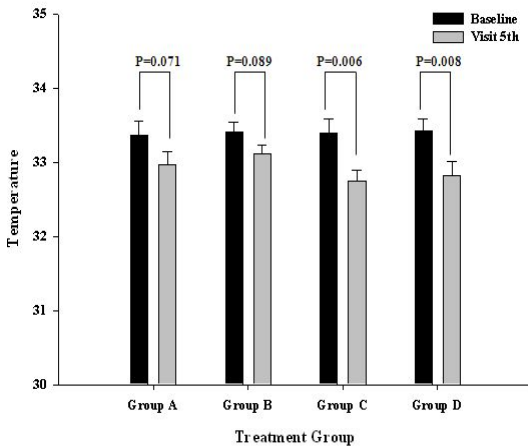


그림 190 인당 체열 전후 비교

그림 191 인당 체열 변화 군간 비교

LOCF (Last Observation Carried Forward) - ITT (Intention-to-treat) 분석결과 C(대조제품), D(인삼제품) group에서 복용 전에 비해 12주 복용 후에 인당부위 체열의 유의한 감소를 보인 반면 A(홍삼제품), B(화기삼제품) group에서는 차이가 있는 감소가 보이지 않았으며, 반복복용에 따른 군간의 차이도 없는 것으로 관찰되었다(Repeated measured ANOVA $F=0.687$, $p=0.561$).

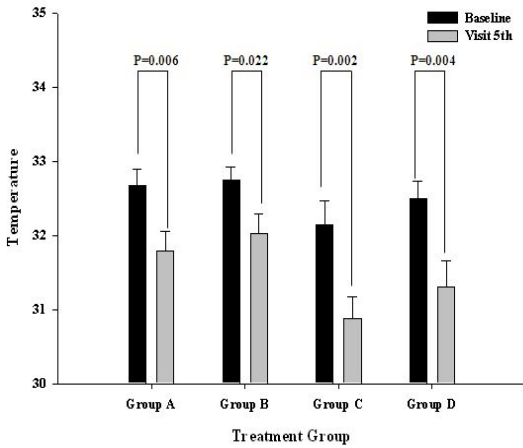


그림 192 권료(우) 체열 전후 비교

그림 193 권료(우) 체열 변화 군간 비교

우측 권료부위의 체열변화를 비교한 결과에서는 모든 군에서 인삼제품 복용 전에 비해 복용 12주 후에 체열이 감소한 결과를 보이고 있었으나, 반복복용에 따른 군간의 차이는 없는 것으로 나타났다 (Repeated measured ANOVA $F=1.725$, $p=0.164$).

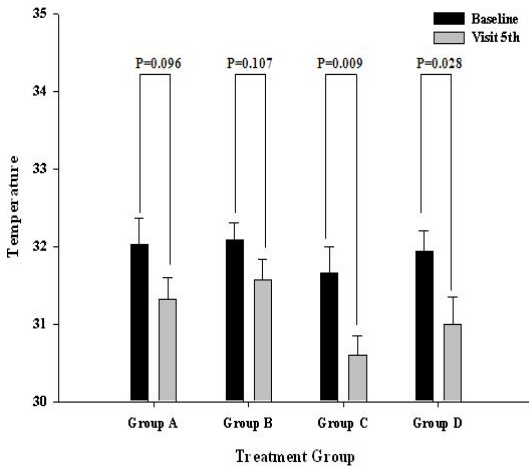


그림 194 권료(좌) 체열 전후 비교

그림 195 권료(좌) 체열 변화 군간 비교

좌측 권료의 체열변화에서는 C(대조제품), D(인삼제품) group에서만 복용 전에 비해 12주 복용 후에 유의하게 감소하는 경향을 보이고 있었으며, 반복투여에 따른 군간의 차이는 관찰되지 않았다 (Repeated measured ANOVA $F=0.798$, $p=0.497$).

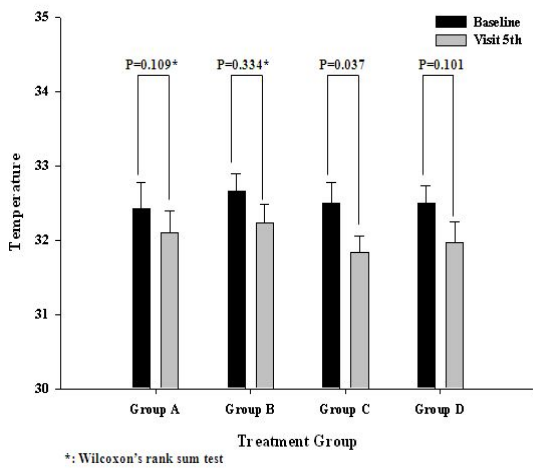


그림 196 수구 체열 전후 비교

그림 197 수구 체열 변화 군간 비교

수구부위의 체열변화를 분석한 결과에서는 C(대조제품) group에서 12주 복용 후에 체열이 통계적으로 차이가 있는 감소를 보인 반면 다른 군에서는 의미가 있는 감소가 없는 것으로 분석되었으며, 군간의 반복투여에 따른 차이 역시 없는 것으로 나타났다(Repeated measured ANOVA $F=0.281$, $p=0.839$).

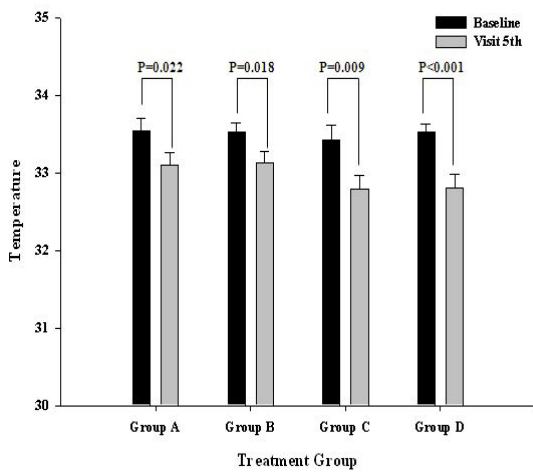


그림 198 인영(우) 체열 전후 비교

그림 199 인영(우) 체열 변화 군간 비교

우측 인영부위의 체열변화에서는 인삼제품 복용 전에 비해 모든 군에서 12주 복용 후 통계적으로 의미있는 감소를 보인 반면, 반복복용으로 인한 군간의 차이는 없는 것으로 분석되었다(Repeated measured ANOVA $F=1.748$, $p=0.159$).

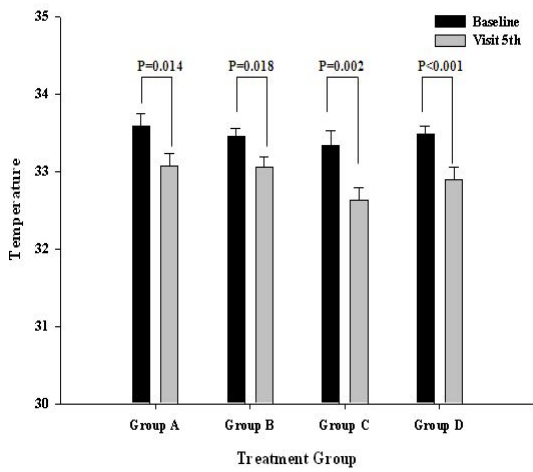


그림 200 인영(좌) 체열 전후 비교

그림 201 인영(좌) 체열 변화 군간 비교

좌측 인영부위의 체열 역시 복용 전에 비해 복용 후에 유의한 감소를 보이고 있었으나 반복 복용에 따른 군간의 차이는 없는 것으로 나타났다(Repeated measured ANOVA $F=1.566$, $p=0.200$).

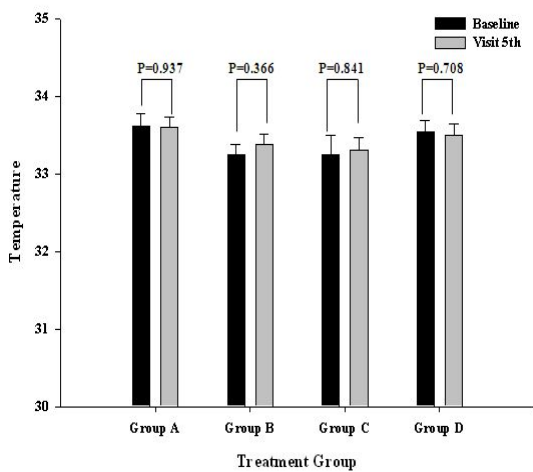


그림 202 운문(우) 체열 전후 비교

그림 203 운문(우) 체열 변화 군간 비교

우측 운문에서의 체열변화는 인삼제품 복용 전과 후를 비교하였을 때 유의한 차이는 나타나지 않았으며, 반복복용 결과에서도 군간의 차이는 나타나지 않았다(Repeated measured ANOVA $F=1.065$, $p=0.366$).

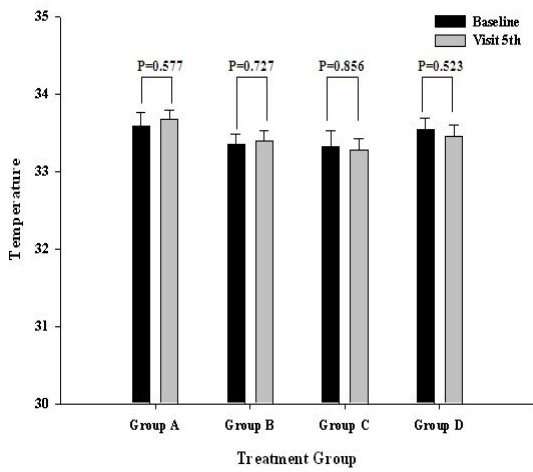


그림 204 운문(좌) 체열 전후 비교

그림 205 운문(좌) 체열 변화 군간 비교

좌측 운문 부위 역시 복용 전과 후를 비교하였을 때 모든 군에서 유의한 차이는 나타나지 않았으며, 반복복용 결과에서도 군간의 차이는 나타나지 않았다(Repeated measured ANOVA $F=1.200$, $p=0.312$).

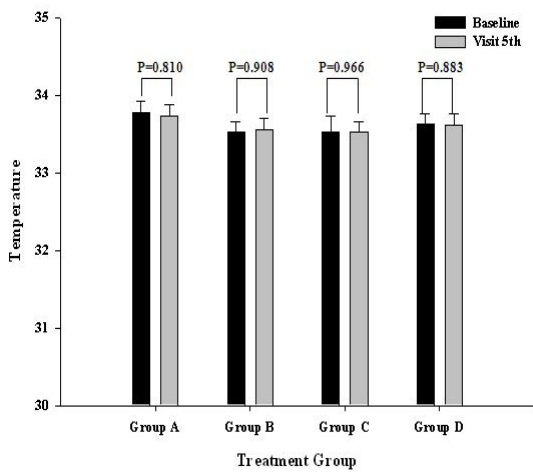


그림 206 전중 체열 전후 비교

그림 207 전중 체열 변화 군간 비교

전중 부위의 체열변화 분석에서도 복용 전-후 차이와 반복복용 군간 차이 모두 다 없는 것으로 분석되었다(Repeated measured ANOVA $F=0.974$, $p=0.406$).

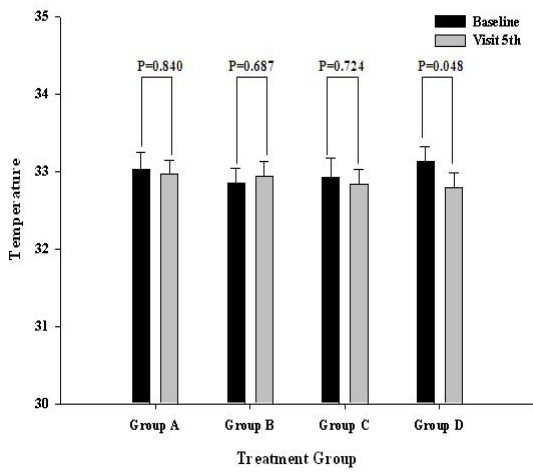


그림 208 중완 체열 전후 비교

그림 209 중완 체열 변화 군간 비교

중완 체열 변화에서는 D(인삼제품) group에서 복용 전에 비해 복용 12주 후에 체열이 감소한 결과를 보였으나 다른 군에서는 의미있는 차이는 없는 것으로 분석되었다. 반복복용에 따른 군간의 차이에서도 차이는 없는 것으로 나타났다(Repeated measured ANOVA F=0.190, p=0.903).

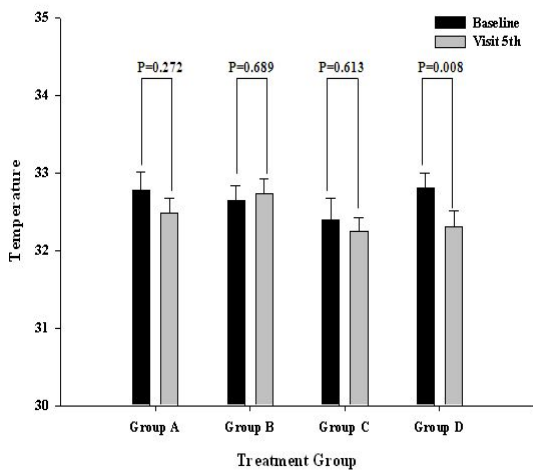


그림 210 관원 체열 전후 비교

그림 211 관원 체열 변화 군간 비교

관원부위의 체열 변화 역시 중완부위의 결과와 유사하게 D(인삼제품) group을 제외한 나머지 군에서는 의미있는 차이는 없는 것으로 분석되었으며, 반복복용에 따른 군간의 차이에서도 차이는 없는 것으로 나타났다(Repeated measured ANOVA F=0.461, p=0.710).

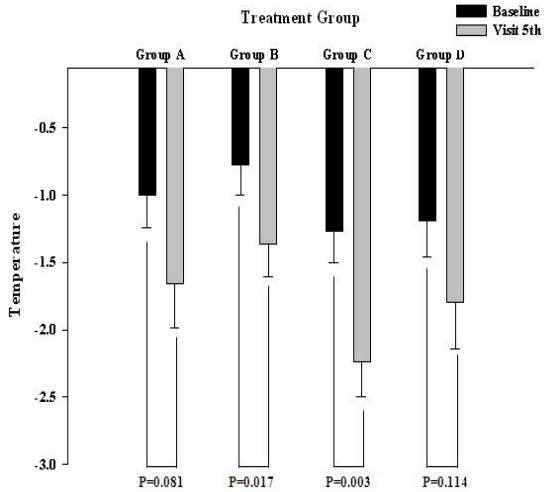


그림 212 권료(좌)-중완 체열 차이 전후 비 그림 213 권료(좌)-중완 체열차이 변화 군간 비교

좌측 권료부위와 중완에서 측정된 체열의 차이를 비교한 결과 B(화기삼제품), C(대조제품) group에서 복용 전에 비해 12주 복용 후에 좌측 권료부위보다는 중완부위에서 체열이 더 증가한 경향을 보였으나, A(홍삼제품)와 C(대조제품) group에서는 통계적으로 유의하게 증가한 양상을 관찰할 수 없었으며, 반복 복용에 따른 군간의 차이는 관찰되지 않았다(Repeated measured ANOVA $F=0.571$, $p=0.635$).

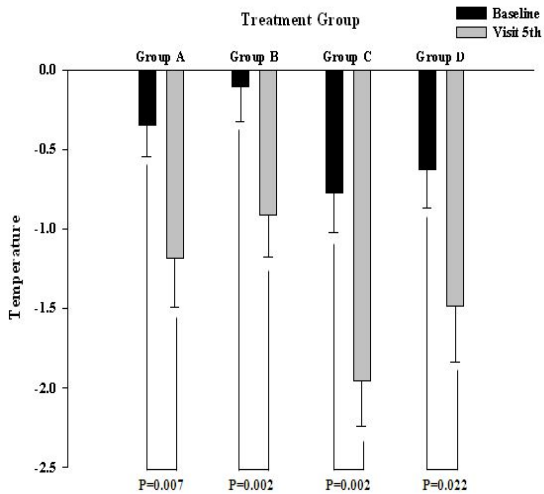


그림 214 권료(우)-중완 체열 차이 전후 비 그림 215 권료(우)-중완 체열차이 변화 군간 비교

우측 권료부위와 중완에서 측정된 체열의 차이를 비교한 결과 모든 군에서 복용 전에 비해 12주 복용 후에 좌측 권료부위보다는 중완부위에서 체열이 의미있게 더 증가한 경향을 보였으나, 반복복용에 따른 군간의 차이는 관찰되지 않았다(Repeated measured ANOVA $F=1.132$, $p=0.338$).

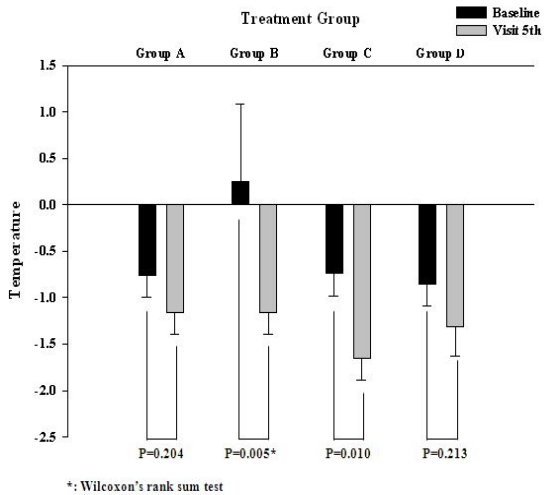


그림 216 권료(좌)-관원 체열 차이 전후 비 그림 217 권료(좌)-관원 체열차이 변화 구간
교 비교

좌측 권료부위와 관원에서 측정된 체열의 차이를 비교한 결과 B(화기삼제품) group의 경우 복용 전에 권료부위의 체열이 더 높았으나 복용 후에는 관원부위의 체열이 증가한 것으로 분석되었으며, C(대조제품) group에서도 복용 전에 비해 복용 후에 관원부위에서 통계적으로 차이가 있는 체열증가가 관찰되었다. 하지만 반복복용에 따른 군간의 차이 역시 관찰되지 않았다(Repeated measured ANOVA $F=0.652$, $p=0.583$).

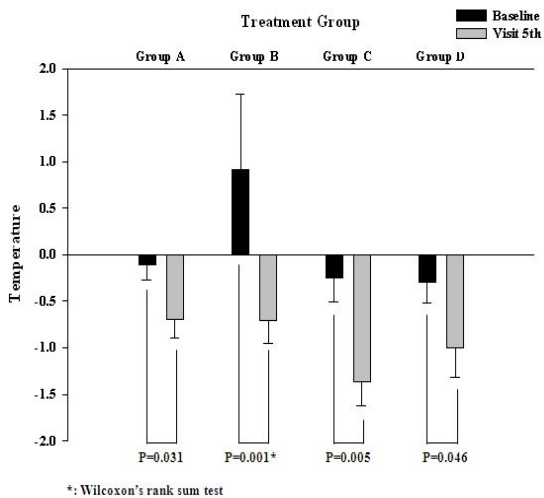


그림 218 권료(우)-관원 체열 차이 전후 비 그림 219 권료(우)-관원 체열차이 변화 구간
교 비교

우측 권료부위와 관원에서 측정된 체열의 차이를 비교한 결과 모든 군에서 복용 전에 비해 12주 복용 후에 좌측 권료부위보다는 관원부위에서 체열이 더 증가한 경향을 보였으나, 반복복용에 따른 군간의 차이 관찰되지 않았다(Repeated measured ANOVA $F=1.190$, $p=0.315$).

8-3-1-2. Per Protocol 분석

인당의 체열검사 결과에서는 B(화기삼제품) group을 제외한 나머지 군에서 복용전에 비해 12주 복용 후 체열이 낮아진 것으로 나타났으나(paired *t*-test), 처치 군간 인당부분의 체열변화를 살펴본 결과에서 군간의 변화는 없는 것으로 분석되었다(Repeated measured ANOVA $F=0.469$, $p=0.704$).

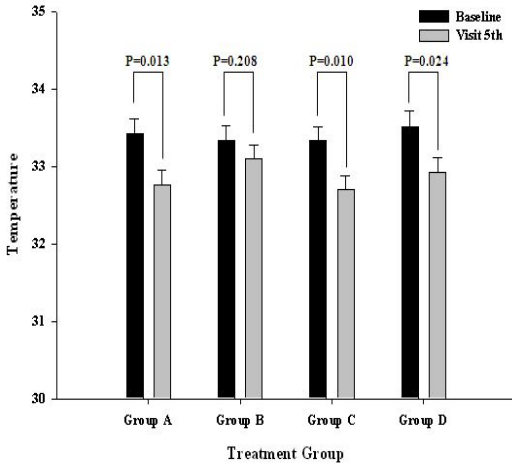


그림 220 인당 체열 전후 비교

그림 221 인당 체열 변화 군간 비교

권료(우)의 경우에도 B(화기삼제품) group을 제외한 나머지 군에서 복용 전에 비해 12주복용 후 체열이 낮아진 것으로 나타났으며(paired *t*-test), 처치군간의 체열변화는 없는 것으로 분석되었다(Repeated measured ANOVA $F=0.930$, $p=0.428$).

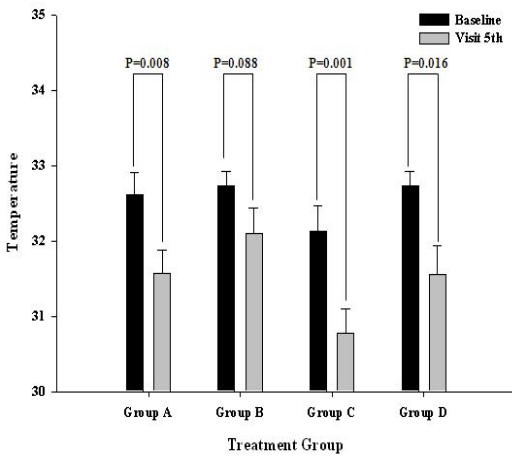


그림 222 권료(우) 체열 전후 비교

그림 223 권료(우) 체열 변화 군간 비교

권료(좌)의 체열검사에서는 복용 전에 비해 12주복용 후 A(홍삼제품)와 C(대조제품) group에서 통계적으로 유의한 감소를 보이고 있는 반면에 B(화기삼제품)와 D(인삼제품) group에서는 체열이 감소하였지만 통계적인 유의성은 관찰되지 않았다(paired *t*-test). 반복투여에 따른 처치군 간 체열변화에서는 군간의 통계적 유의성은 관찰되지 않았다(Repeated measured ANOVA $F=0.556$, $p=0.645$).

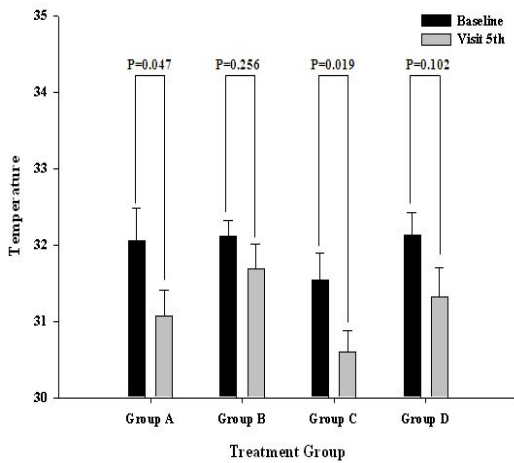


그림 224 권료(좌) 체열 전후 비교

그림 225 권료(좌) 체열 변화 군간 비교

수구부위의 체열검사 분석 결과 복용전과 12주복용후의 체열변화는 유의하게 감소하지 않는 것으로 나타났다(paired *t*-test, Wilcoxon's rank sum test), 반복투여에 따른 군간의 차이도 없는 것으로 분석되었다(Repeated measured ANOVA $F=0.877$, $p=0.455$).

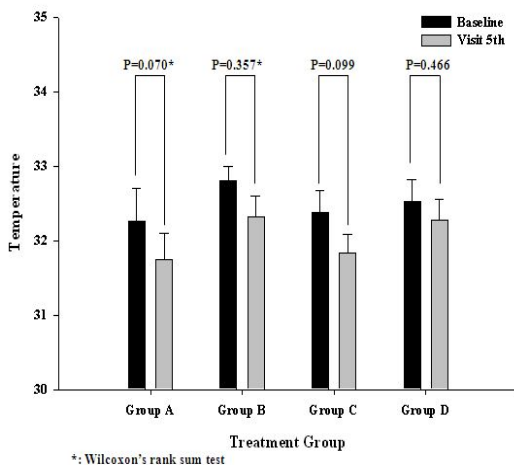


그림 226 수구 체열 전후 비교

그림 227 수구 체열 변화 군간 비교

우측 인영 부위의 체열검사 분석 결과 복용전과 12주 복용 후에서 B(화기삼제품) group을 제외한 나머지 군의 경우 체열의 유의한 감소가 있었으나, 반복투여에 따른 군간의 차이는 없는 것으로 나타났다(Repeated measured ANOVA $F=0.882$, $p=0.452$).

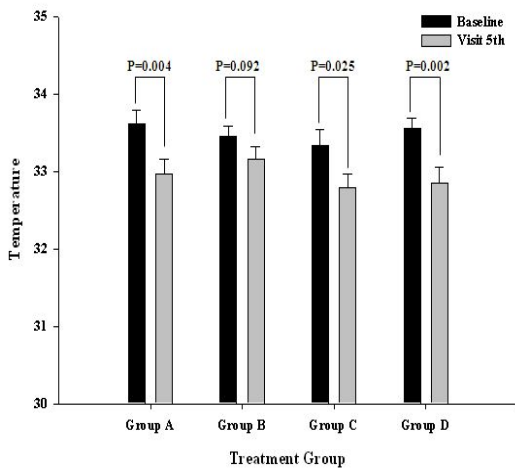


그림 228 인영(우) 체열 전후 비교

그림 229 인영(우) 체열 변화 군간 비교

좌측 인영 부위의 체열검사 분석 결과에서도 복용전과 12주 복용 후에서 B(화기삼제품) group을 제외한 나머지 군의 경우 체열의 유의한 감소가 있었으나, 반복투여에 따른 군 간의 차이는 없는 것으로 나타났다(Repeated measured ANOVA $F=0.701$, $p=0.553$).

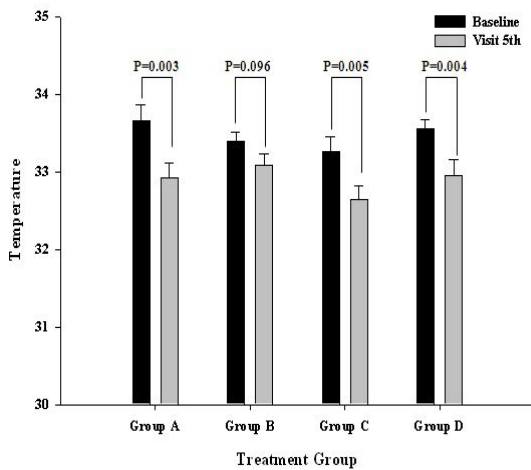


그림 230 인영(좌) 체열 전후 비교

그림 231 인영(좌) 체열 변화 군간 비교

인삼제품 복용 후 우측 운문부위의 체열변화를 분석한 결과 복용 전에 비해 복용 12주 후 통계적으로 의미있는 변화는 관찰되지 않았으며, 특히 B(화기삼제품)와 C(대조제품) group의 경우 체열이 증가하는 양상을 보이고 있었다. 반복투여에 따른 체열의 군간 비교에서도 유의한 차이는 관찰되지 않았다 (Repeated measured ANOVA $F=1.502$, $p=0.217$).

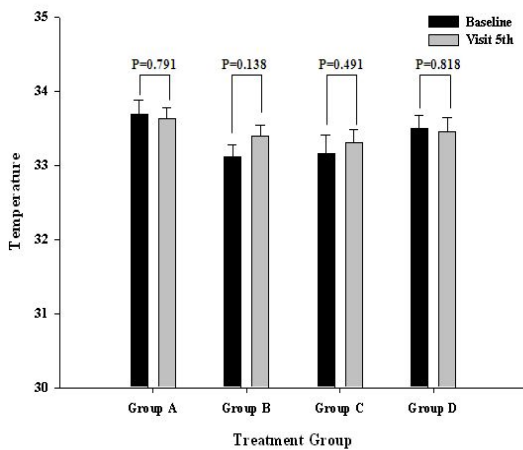


그림 232 운문(우) 체열 전후 비교

그림 233 운문(우) 체열 변화 구간 비교

좌측 운문부위의 체열변화 역시 복용 전과 복용 12주 후를 비교하였을 때 의미있는 변화는 관찰되지 않았으며, 복용기간에 따른 군간의 변화에서도 차이는 없는 것으로 나타났다(Repeated measured ANOVA $F=1.801$, $p=0.150$).

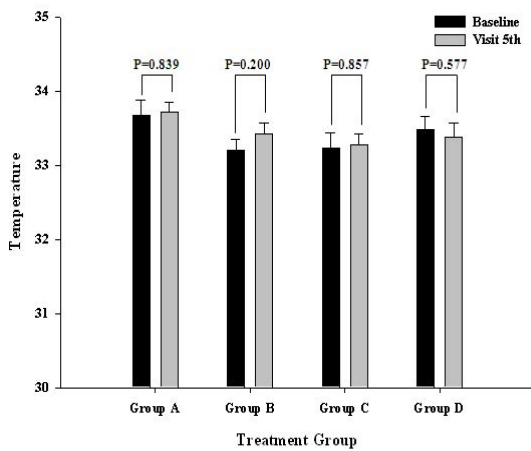


그림 234 운문(좌) 체열 전후 비교

그림 235 운문(좌) 체열 변화 구간 비교

전중부위의 체열변화 역시 복용 전과 복용 12주 후를 비교하였을 때 의미있는 변화는 관찰되지 않았으며, 복용기간에 따른 군간의 변화에서도 차이는 없는 것으로 나타났다(Repeated measured ANOVA $F=0.917$, $p=0.435$).

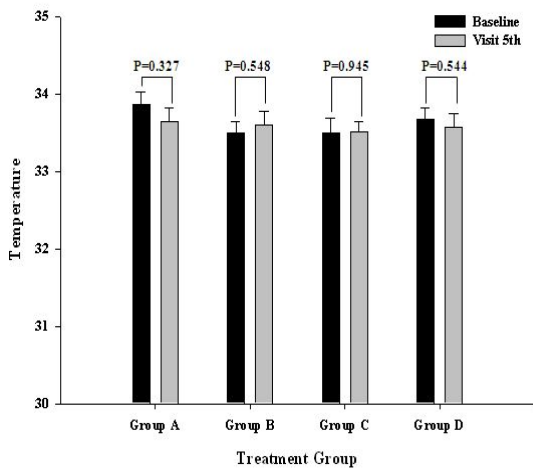


그림 236 전중 체열 전후 비교

그림 237 전중 체열 변화 군간 비교

중완부위의 체열변화 역시 복용 전과 복용 12주 후를 비교하였을 때 의미있는 변화는 관찰되지 않았으며, 복용기간에 따른 군간의 변화에서도 차이는 없는 것으로 나타났다(Repeated measured ANOVA $F=0.467$, $p=0.706$).

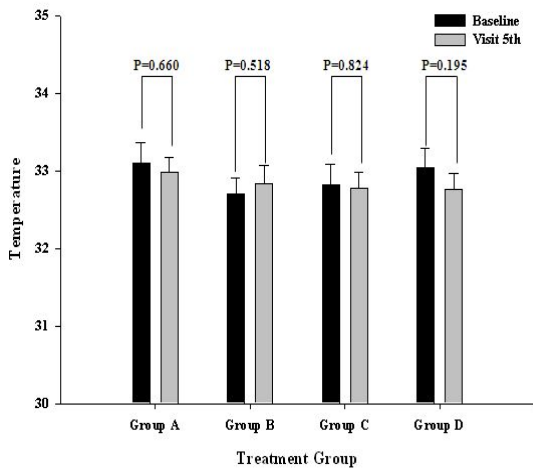


그림 238 중완 체열 전후 비교

그림 239 중완 체열 변화 군간 비교

관원부위의 체열변화에서는 D(인삼제품) group에서 복용 전에 비해 12주 복용 후 감소하는 경향을 보이고는 있었으나 통계적인 차이는 관찰되지 않았으며, 나머지 군에서도 복용 전과 복용 12주 후를 비교하였을 때 의미있는 변화는 관찰되지 않았다. 복용기간에 따른 군간의 변화에서도 차이는 없는 것으로 나타났다(Repeated measured ANOVA $F=0.114$, $p=0.952$).

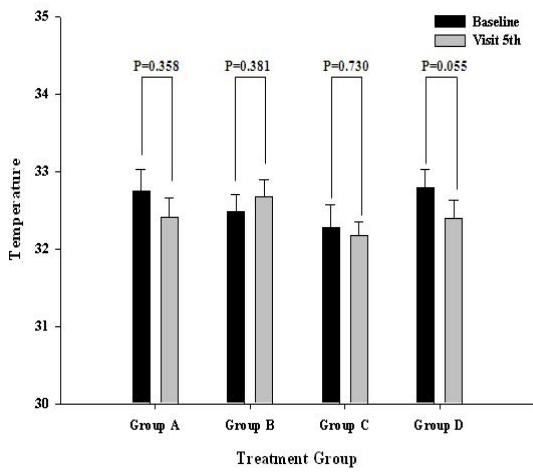


그림 240 관원 체열 전후 비교

그림 241 관원 체열 변화 구간 비교

좌측 권료부위와 중완에서 측정된 체열의 차이를 비교한 결과 모든 군에서 복용 전에 비해 12주 복용 후에 좌측 권료부위보다는 중완부위에서 체열이 더 증가한 경향을 보였으며, 특히 A(홍삼제품)와 C(대조 제품) group에서 통계적으로 유의하게 증가한 양상을 관찰할 수 있었다. 하지만 반복복용에 따른 군간의 차이는 관찰되지 않았다(Repeated measured ANOVA $F=1.556$, $p=0.203$).

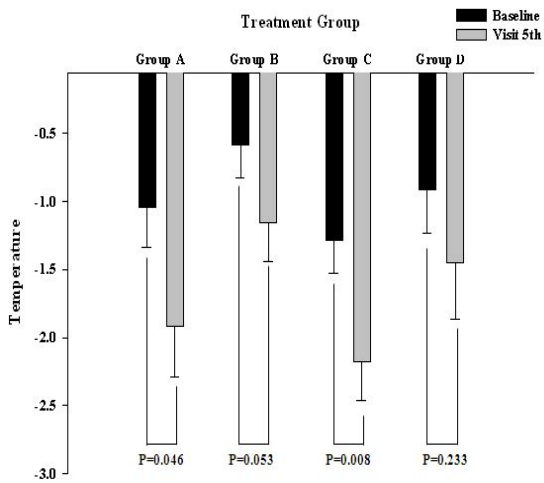


그림 242 권료(좌)-중완 체열 차이 전후 비교

그림 243 권료(좌)-중완 체열차이 변화 구간 비교

우측 권료부위와 중완에서 측정된 체열의 차이를 비교한 결과 모든 군에서 복용 전에 비해 12주 복용 후에 좌측 권료부위보다는 중완부위에서 체열이 의미있게 더 증가한 경향을 보였으며, 특히 B(화기삼제품) group의 경우 복용 전에는 우측 권료부위의 체열이 더 높았으나 12주 복용 후에는 중완의 체열이 더 증가한 것으로 나타났다. 하지만 반복복용에 따른 군간의 차이는 관찰되지 않았다(Repeated measured ANOVA $F=1.413$, $p=0.242$).

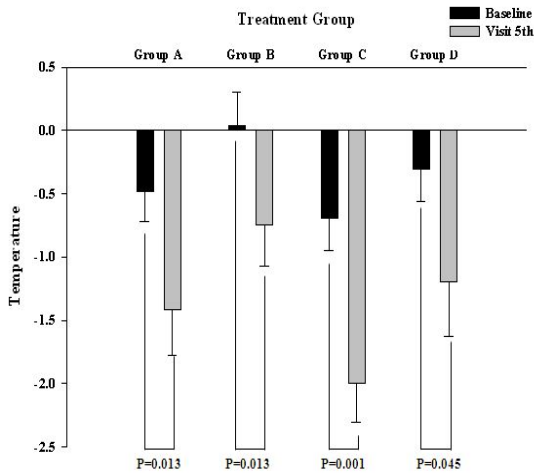


그림 244 권료(우)-중완 체열 차이 전후 비 그림 245 권료(우)-중완 체열차이 변화 구간 비교

좌측 권료부위와 관원에서 측정된 체열의 차이를 비교한 결과 모든 군에서 복용 전에 비해 12주 복용 후에 좌측 권료부위보다는 관원부위에서 체열이 더 증가한 경향을 보였지만 A(홍삼제품)와 D(인삼제품) group에서 통계적으로 유의한 변화는 관찰되지 않았으며, 반복복용에 따른 군간의 차이 역시 관찰되지 않았다(Repeated measured ANOVA $F=0.840$, $p=0.474$).

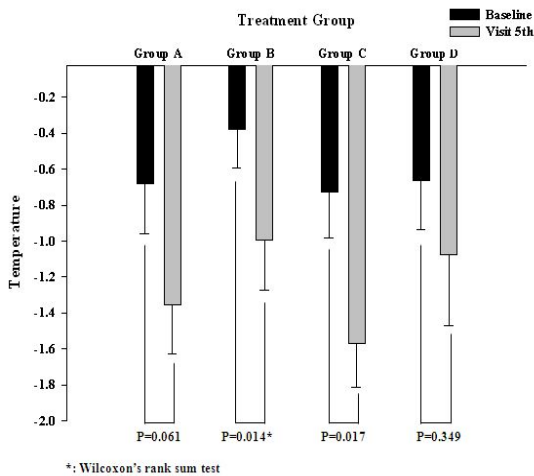


그림 246 권료(좌)-관원 체열 차이 전후 비 그림 247 권료(좌)-관원 체열차이 변화 구간 비교

우측 권료부위와 관원에서 측정된 체열의 차이를 비교한 결과 D(인삼제품) group을 제외한 나머지 군에서 복용 전에 비해 12주 복용 후에 좌측 권료부위보다는 관원부위에서 체열이 더 증가한 경향을 보였으며, 반복복용에 따른 군간의 차이 관찰되지 않았다(Repeated measured ANOVA $F=0.957$, $p=0.415$).

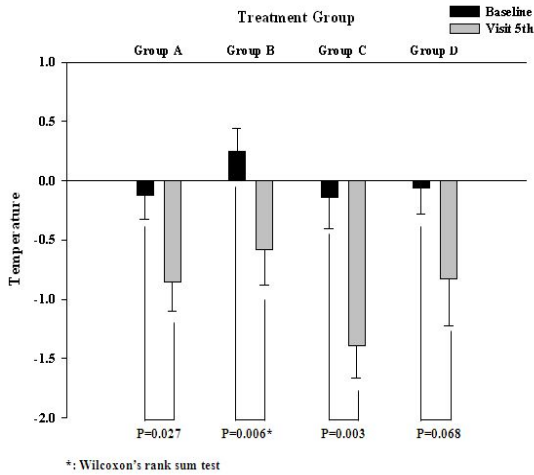


그림 248 권료(우)-관원 체열 차이 전후 비 그림 249 권료(우)-관원 체열차이 변화 군간 비교

이상 1차 유효성 변수에 대한 분석결과 ITT 분석에서는 모든 군에서 우측 권료부위, 우측 및 좌측 인영 부위, 우측 권료부위와 중완 또는 관원에서의 체열 차이에서 복용 전에 비해 복용 후에 체열의 변화가 있는 것으로 나타났으며, PP 분석에서는 우측 권료부위, 우측 권료부위와 중완 또는 관원에서의 체열 차이에서 복용 전에 비해 복용 후에 모든 군에서 체열의 변화가 있는 것으로 나타났다. 그러나 반복복용에 따른 군 간의 체열변화 분석에서는 통계적으로 유의한 차이를 보이지 않았으나 복용 전에 비해 복용 1시간 후에는 체열이 증가하는 양상을 보이고 있어 반복복용에 따른 체열의 증가보다는 복용 후 일정시간이 내의 체열변화가 예상된다.

8-3-1-3. 복용 1시간 후의 체열변화 분석결과

복용 전과 복용 1시간 후의 체열변화를 분석한 결과 모든 지표에서 복용 전에 비해 유의한 변화를 보이고 있지 않았다($p>0.05$). 인삼 제품 및 대조제품을 복용한 1시간 후 체열이 증가하는 변화가 예상되었으나 통계적인 유의성이 나타나지 않았다.

그림 250 인당 전후 비교

그림 251 우측 권료 전후 비교

그림 252 좌측 권료 전후 비교

그림 253 수구 전후 비교

그림 254 우측 인영 전후 비교

그림 255 좌측 인영 전후 비교

그림 256 우측 운문 전후 비교

그림 257 좌측 운문 전후 비교

그림 258 전중 전후 비교

그림 259 중완 전후 비교

그림 260 관원 전후 비교

8-3-2. 임상증상 분석결과

임상증상에 대한 설문조사는 0(증상이 없음)점에서 3(지속적으로 나타나며 일상생활에 지장을 준다.)점 까지 4점 척도로 측정이 되었다. 인삼제품을 12주 복용하였을 때 제품 군에 따른 임상증상의 변화 차이는 없는 것으로 분석되었다($p>0.05$).

그림 261 두통 변화

그림 262 어지러움증 변화

그림 263 상열감 변화

그림 264 피부발진 변화

그림 265 불면 변화

그림 266 입술마름 변화

그림 267 가슴답답함 변화

그림 268 헛바늘 변화

그림 269 코피 변화

그림 270 식욕부진 변화

그림 271 소화불량 변화

그림 272 설사 변화

그림 273 변비 변화

8-3-3. 혈액검사 결과

혈액검사 결과에서도 모든 항목에서 복용한 인삼제품에 따른 군간의 차이는 없는 것으로 분석되었다 ($p>0.05$).

그림 274 WBC 차이

그림 275 Hb 차이

그림 276 Hct 차이

그림 277 혈소판 차이

그림 278 중성구 차이

그림 279 호산구 차이

그림 280 Lymphocyte 차이

그림 281 단핵구 차이

그림 282 ESR 차이

그림 283 S.G. 차이

그림 284 Protein 차이

그림 285 Glucose 차이

그림 286 AST 차이

그림 287 ALT 차이

그림 288 Total protein 차이

그림 289 Albumin 차이

그림 290 Total bilirubin 차이

그림 291 Direct bilirubin 차이

그림 292 PH 차이

그림 293 ALP 차이

그림 294 T. cholesterol 차이

그림 295 BUN 차이

그림 296 Creatinine 차이

그림 297 TG 차이

그림 298 Glucose A 차이

그림 299 T3 차이 (G078까지)

그림 300 T3 차이 (G114부터)

그림 301 TSH 차이 (G078까지)

그림 302 TSH 차이 (G114부터)

그림 303 T4 차이 (G078까지)

그림 304 T4 차이 (G114부터)

8-3-4. 심박변이도 결과

심장박동에 대한 지표들 역시 인삼제품의 12주 복용에 따른 복용제품 군간의 차이는 없는 것으로 분석되었다($p>0.05$).

그림 305 Mean HRT 변화

그림 306 SDNN 변화

그림 307 RMSSD 변화

그림 308 PSI 변화

그림 309 ApEn 변화

그림 310 SRD 변화

그림 311 TSRD 변화

그림 312 TP 변화

그림 313 VLF 변화

그림 314 LF 변화

그림 315 HF 변화

그림 316 TP2 변화

그림 317 VLF2 변화

그림 318 LF2 변화

그림 319 HF2 변화

그림 320 LF normal 변화

그림 321 HF normal 변화

그림 322 LF/HF ratio 변화

8-3-5. 뇌혈류속도 검사 결과

뇌혈류속도 검사 결과 검사 지표 중 BA depth를 제외한 나머지 지표들에서 12주 복용한 인삼제품 군에 따라 뇌혈류에 영향을 미친 제품은 없는 것으로 분석되었다($p > 0.05$). BA depth의 경우 인삼제품 군간의 차이가 있는 것으로 분석되었으며(Repeated measure ANOVA $F=2.829$, $p=0.041$), 사후분석을 통해 A(홍삼제품) group과 B(화기삼제품) group이 각각 D(인삼제품) group과 유의한 차이를 나타내었다(Least Significant Difference (LSD) test, A:D $p=0.033$, B:D $p=0.033$). 그러나 BA depth는 기저 동맥을 측정하는 혈관깊이를 나타내는 수치이므로 인삼제품의 복용여부와는 무관한 군별 특성일 뿐이다.

그림 323 Left VA depth 변화

그림 324 Right VA depth 변화

그림 325 Left VA mean 변화

그림 326 Right VA mean 변화

그림 327 Left VA peak 변화

그림 328 Right VA peak 변화

그림 329 Left VA EDV 변화

그림 330 Right VA EDV 변화

그림 331 Left VA PI 변화

그림 332 Right VA PI 변화

그림 333 Left VA RI 변화

그림 334 Right VA RI 변화

그림 335 Left MCA depth 변화

그림 336 Right MCA depth 변화

그림 337 Left MCA mean 변화

그림 338 Right MCA mean 변화

그림 339 Left MCA peak 변화

그림 340 Right MCA peak 변화

그림 341 Left MCA EDV 변화

그림 342 Right MCA EDV 변화

그림 343 Left MCA PI 변화

그림 344 Right MCA PI 변화

그림 345 Left MCA RI 변화

그림 346 Right MCA RI 변화

그림 347 Left ACA depth 변화

그림 348 Right ACA depth 변화

그림 349 Left ACA mean 변화

그림 350 Right ACA mean 변화

그림 351 Left ACA peak 변화

그림 352 Right ACA peak 변화

그림 353 Left ACA EDV 변화

그림 354 Right ACA EDV 변화

그림 355 Left ACA PI 변화

그림 356 Right ACA PI 변화

그림 357 Left ACA RI 변화

그림 358 Right ACA RI 변화

그림 359 Left PCA depth 변화

그림 360 Right PCA depth 변화

그림 361 Left PCA mean 변화

그림 362 Right PCA mean 변화

그림 363 Left PCA peak 변화

그림 364 Right PCA peak 변화

그림 365 Left PCA EDV 변화

그림 366 Right PCA EDV 변화

그림 367 Left PCA PI 변화

그림 368 Right PCA PI 변화

그림 369 Left PCA RI 변화

그림 370 Right PCA RI 변화

그림 371 Left ICA depth 변화

그림 372 Right ICA depth 변화

그림 373 Left ICA mean 변화

그림 374 Right ICA mean 변화

그림 375 Left ICA peak 변화

그림 376 Right ICA peak 변화

그림 377 Left ICA EDV 변화

그림 378 Right ICA EDV 변화

그림 379 Left ICA PI 변화

그림 380 Right ICA PI 변화

그림 381 Left ICA RI 변화

그림 382 Right ICA RI 변화

그림 383 BA mean 변화

그림 384 BA depth 변화

* Significant difference was showed by Least Significant Difference (LSD) multi-comparison test

그림 385 BA peak 변화

그림 386 BA EDV 변화

그림 387 BA PI 변화

그림 388 BA RI 변화

8-3-6. 이상반응

연구 중 이상반응은 총 168명 중 자료분석이 가능한 163명을 대상으로 평가되었으며 총 12명에게서 복수 이상반응을 포함하여 17건의 이상반응이 있는 것으로 분석되었다. 군에 따른 이상반응의 차이는 없는 것으로 나타났다($\chi^2=50.312$, $p=0.501$).

표 2 이상반응 결과

이상반응	A(홍삼제품) group	B(화기삼제품) group	C(대조제품) group	D(인삼제품) group	Total
	N	N	N	N	
내용없음	0	1	0	0	1
이지롱관련	0	1	0	0	1
타이레놀관련	0	1	0	0	1
가려움증	1	0	0	0	1
간헐적 설사, 답답함	0	1	0	0	1
간헐적 입마름	0	0	1	0	1
감기	0	1	0	1	2
두통	0	0	0	1	1
방문2이상반응	0	1	0	0	1
불면	1	0	0	0	1
상열감, 월경시 흥민	0	0	1	0	1
안구충혈	1	0	0	0	1
안면부발진	0	0	0	1	1
어지러움	0	1	0	0	1
하혈	0	0	0	1	1
헛바늘, 식욕감퇴	0	0	1	0	1
합계	3	7	3	4	17

이상반응으로 인해 시험중단은 A(홍삼제품) group과 D(인삼제품) group에서 각각 1명씩 중단이 되었으

나 결과에는 영향을 미치지 않았다.

총괄안전도는 1(안전하지 않음)부터 4(안전)까지 4점 척도로 측정되었으며 군간의 차이를 분석한 결과 군간 차이는 없는 것으로 나타났다(Repeated measured ANOVA $F=0.903$, $p=0.443$).

그림 389 군간 총괄안전도 변화

9. 요약 및 결론

9-1. 피험자 정보 분석

본 시험의 선정검사에 참여한 총 피험자 수는 171명이었으며, 이 중에서 ITT군은 168명이었고, PP군은 중도탈락자 36명을 제외한 132명이었다. 네군간의 중도탈락율에 대한 통계적인 유의성은 없었다.

성별 구성비율은 남자 69명, 여자 99명으로 총 168명이 연구대상자로 선정되었다. 선정된 피험자들의 평균 연령은 33.89 ± 8.42 세 이었으며, 평균신장 166.51 ± 8.21 cm, 평균체중 61.46 ± 10.70 kg이었다.

피험자들의 시험제품 복용전 baseline 변수(나이, 성별, 신장, 체중)에 대해서는 통계적으로 유의한 차이가 없었다.

9-2. 1차 유효성 평가항목(체열반응)

9-2-1. ITT분석

모든 군에서 우측 권료부위, 우측 및 좌측 인영부위가 복용 전에 비해 복용 후에 체열이 감소하는 것으로 나타났으며, 우측 권료부위와 중완 또는 관원에서의 체열 차이에서는 복용 전에 비해 복용 후에 체열의 차이가 감소하는 것으로 나타났다.

특히 D(인삼제품) group에서는 인당, 좌측 권료, 중완, 관원부위의 체열이 복용 전에 비해 복용 후에 유의하게 감소하는 것으로 관찰되었다. 그러나 반복복용에 따른 군 간의 체열변화 분석에서는 통계적으로 유의한 차이를 보이지 않았으며 또한, 복용 전에 비해 복용 1시간 후에는 체열이 증가하는 양상을 보이고 있었으나 통계적으로 유의성은 나타나지 않았다. 따라서 대조 제품을 포함한 인삼 제품을 복용한 일정시간 이내에서도 체열이 상승은 나타나지 않았으며, 12주간의 반복복용후에도 체열이 증가하는 경향은 보이지 않았다. 따라서 인삼제품의 복용이 체열상승을 일으킨다고 근거는 찾을 수 없었다.

9-2-2. PP분석

우측 권료부위, 좌측 인영, 우측 인영부위에서는 B(화기삼제품) group을 제외한 나머지 군에서 복용전에 비해 복용 후에 체열이 낮아진 것으로 나타났다. 우측 운문 부위는 복용 전에 비해 복용 후에 B(화기삼제품)와 C(대조제품) group의 체열이 증가하는 양상을 보이고 있었다.

양측 권료부위와 중완 또는 관원에서의 체열 차이에서 복용 전에 비해 복용 후에 모든 군에서 체열의 차이가 감소한 것으로 나타났다.

그러나 반복복용에 따른 군 간의 체열변화 분석에서는 통계적으로 유의한 차이를 보이지 않았으나 복용 전에 비해 복용 1시간 후에는 체열이 증가하는 양상을 보이고 있으나 통계적인 유의성은 없었다. 따라서 대조 제품을 포함한 인삼 제품을 복용한 일정시간 이내에서도 체열이 상승은 나타나지 않았으며, 12주간의 반복복용후에도 체열이 증가하는 경향은 보이지 않았다. 따라서 인삼제품의 복용이 체열상승을 일으킨다고 근거는 찾을 수 없었다.

9-3. 2차 유효성 평가 항목 (임상증상, 혈액검사, 심박변이도, 뇌혈류속도)

9-3-1. 임상증상 검사

인삼제품을 12주 복용하였을 때 제품 군에 따른 임상증상의 변화 차이는 없는 것으로 분석되었다.

9-3-2. 혈액검사

혈액검사 결과에서도 모든 항목에서 복용한 인삼제품에 따른 군간의 차이는 없는 것으로 분석되었다.

9-3-3. 심박변이도

심박 변이 지표들 역시 인삼제품의 12주 복용에 따른 복용제품 군간의 차이는 없는 것으로 분석되었다.

9-3-4. 뇌혈류 속도 검사

뇌혈류속도 검사 결과 검사 지표 중 BA depth를 제외한 나머지 지표들에서 12주 복용한 인삼제품 군에 따라 뇌혈류에 영향을 미친 제품은 없는 것으로 분석되었다($p>0.05$). BA depth의 경우 A(홍삼제품) group과 B(화기삼제품) group이 각각 D(인삼제품) group과 유의한 차이를 나타내었다. 그러나 BA depth는 기저동맥을 측정하는 혈관깊이를 나타내는 수치이므로 인삼제품의 복용여부와는 무관한 군별 특성일 뿐이다.

연구 중 이상반응은 총 168명 중 자료분석이 가능한 163명을 대상으로 평가되었으며 총 12명에게서 복수 이상반응을 포함하여 17건의 이상반응이 있는 것으로 분석되었다. 군에 따른 이상반응의 차이는 없는 것으로 나타났다.

이상의 결과로 보아 대조제품을 포함한 인삼제품을 복용하기 전과 12주 복용 후 체열에 미치는 영향은 전반적으로 체열이 감소되는 경향이 있었으며, 또한 권료와 중완의 체열차이, 권료와 관원의 체열차이도 감소되는 결과를 보였다. 이는 안면부에 위치한 권료와 복부에 위치한 중완과 관원의 체열차이가 인삼 제품을 복용한 이후에 감소되는 것으로 보아 전체적으로 인체의 체열편차가 줄어드는 현상으로 해석할 수 있다. 체열 이외의 임상증상, 혈액검사, 심박변이도, 뇌혈류속도의 변화에서도 시험군간의 차이는 찾

아볼 수 없었으며, 이상반응 및 총괄 안전도 평가에서도 제품군간의 차이는 나타나지 않았다.

결론적으로 인삼, 홍삼제품은 화기삼 제품 및 대조군 제품에 비해서 체열을 상승시키는 결과는 나타나지 않았으며, 오히려 화기삼에 비해 안면부의 체열이 하강하거나 복부와의 체열차이가 감소되는 결과가 나타났다.

또한 복용 1시간 후에는 모든 시험군에서 체열이 상승하는 경향이 있었으나 통계적인 유의성은 나타나지 않았다. 대조약을 포함한 모든 인삼제품 복용 1시간 후에 체열이 상승하는 경향은 있었으나 유의성이 없었던 점으로 미루어보아, 복용 직후에 주로 호소하는 열이 오르는 느낌은 실제 체열이 상승하거나 검사지표가 변화할 정도의 변화가 아니라 인삼제품이라는 선입견으로 가지는 주관적인 감정일 가능성이 높다.

결과적으로 인삼, 홍삼 및 화기삼제품이 복용 일정시간 후, 또는 반복 복용 후에 체열을 상승시킨다는 근거는 찾을 수 없었다.

3협동 - 대사변화 관찰을 통한 인삼승열 반응 연구의 과학적 입증

1. 이론적 접근방법

1) 고려 인삼의 승열 반응에 관한 과학적 입증의 필요성

- 인삼은 한의학적인 음양개념에 의하면 양성 약으로 서양삼(화기삼)의 음의 성질과는 다르며 한의학적 음양의 개념을 이용하여 인삼은 열을 올리고 서양삼(화기삼)은 열을 내리는 약으로 구분하여 동남아 지역등의 더운 지역 주민들에게는 음의 성질을 지닌 서양삼(화기삼)이 적합하다는 논리로 고려인삼의 수출을 어렵게 하고 있는 실정임.
- 최근 연구결과에 의하면 인삼 복용에 의해서는 고온에서는 열을 내리고 저온에서는 열을 올리는 인체에 이로온 적응 반응을 일으킨다는 보고가 있으며 인삼 복용은 면역력 증강작용의 일환으로 승열작용을 일으키며 만성적인 섭취에 의해서는 몸이 적응을 하므로 약효에는 영향을 주지 않는다는 보고가 있음.
- 인삼 투여에 의한 체온변화에 대한 연구가 다수 진행되고 있지만 동물 및 사람의 단순 체온 변화에 대한 연구결과가 대부분이며 산소 소비량, 이산화탄소 발생량 및 활동도등의 종합적 대사 변화 측면에서 관찰한 연구는 전무한 실정임.

2) 발열 메커니즘

- 체온은 시상하부에 있는 체온 조절 중추의 체온을 감지하는 부위, 정상체온 기준치를 제공하는 부위, 체열의 생산과 방출을 조절하는 부위의 유기적인 조절에 의해 일정하게 유지됨.
- 근수축과 대사과정에서 생산되는 열과 피부와 폐를 통해 유실되는 열 사이에 균형을 맞추어 체온이 유지되며 여러 장기의 대사 작용과 내부장기의 활동에 의해 열이 발생함. 특히 brown adipose tissue 의 미토콘드리아는 간이나 심장보다 대사율이 높으며 열 발생에 중요한 역할을 함.
- 또한 베타세포는 말초조직에서 에너지원인 포도당과 지방산의 대사작용에 직접 관여하는 인슐린을 분비하고 그 자신이 포도당의 작용에 민감하게 반응하는 세포로서 이 세포에서의 에너지대사작용을 검증하는 것이 필요함.
- 발열은 주로 외부에서 침입하는 병원성 미생물에 대한 방어기전으로 중심체온이 상승하는 상태를 말하며 미생물이나 미생물 독소가 발열원이 되며 또한 면역세포들에서 분비되는 여러 가지 싸이토카인(IL1, IL-6, TNF-a, CNTF, IFN)이 내열성 발열원이 됨.
- 분비된 사이토카인은 prostaglandin E2(PGE2) 분비를 촉진시키며 PGE2는 cAMP를 분비시

켜 직접적 혹은 신경전달물질을 이용하여 시상하부를 자극하여 발열 반응을 일으킴.

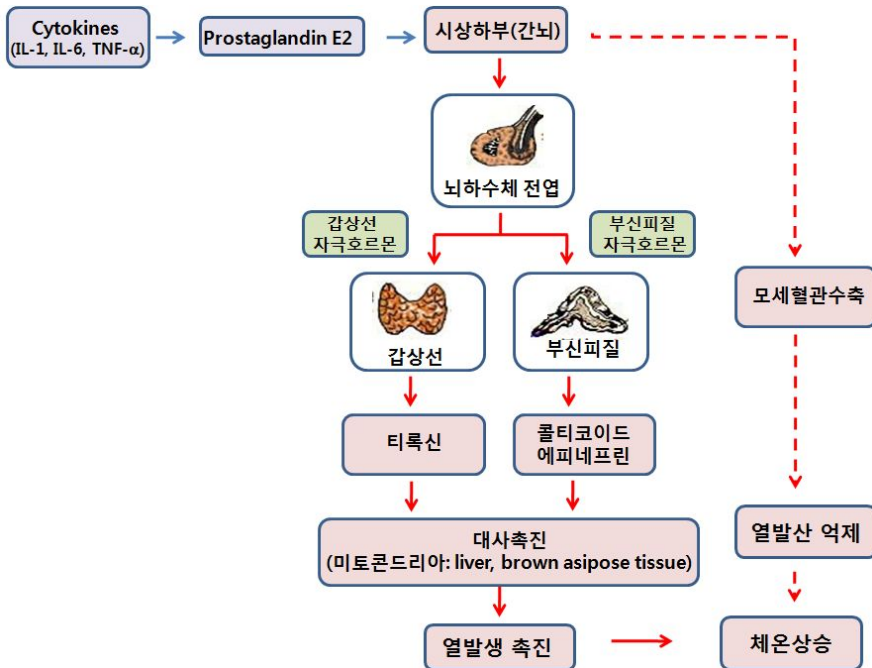


그림 390 발열 메커니즘

3) 미토콘드리아와 승열반응의 관계

- 미토콘드리아는 진핵세포 (eucaryotic cell) 세포질 부피의 상당부위를 차지하는 세포소기관으로 에너지 대사의 핵심적인 역할을 하며 섭취된 영양분이 세포질의 해당과정을 통해 전체 자유에너지의 10% 미만의 에너지가 생성되는 반면(두 분자의 ATP가 생성됨) 미토콘드리아에서는 매우 효율적인 에너지 대사가 이루어져 30분자 이상의 ATP가 생성됨.
- 미토콘드리아에서 에너지 생산 대사과정은 피루르산과 지방산(fatty acid)을 원료로 하여 시작됨. 피루르산은 매트릭스에 존재하는 효소에 의해 중요한 대사 중간체인 활성 아세트산(acetyl CoA)으로 변형되며 활성 아세트산은 구연산회로를 통하여 산화과정을 거치게 됨.
- 구연산 회로는 미토콘드리아에서 에너지를 발생시키는 과정중 하나로 2개의 ATP와 2개의 FADH₂ 및 8개의 NADH를 생성하며 이때 발생한 H⁺는 미토콘드리아 내막에 전위차를 발생시켜 전자전달체인을 통해 막사이 공간으로 이동하고 ATPase를 통해 미토콘드리아 매트릭스 내부로 다시 들어오는 과정을 거치는데 이때 ADP와 phosphate가 만나서 ATP가 합성됨.

- 또한 brown adipose tissue에 다량 존재하는 미토콘드리아에는 thermogenin(uncoupling protein 1)이라는 단백질이 존재하여 에너지를 열로 만들어 방출하는데 중추적인 역할을 함. 따라서 미토콘드리아는 체온조절의 핵심적인 세포내 소기관임.

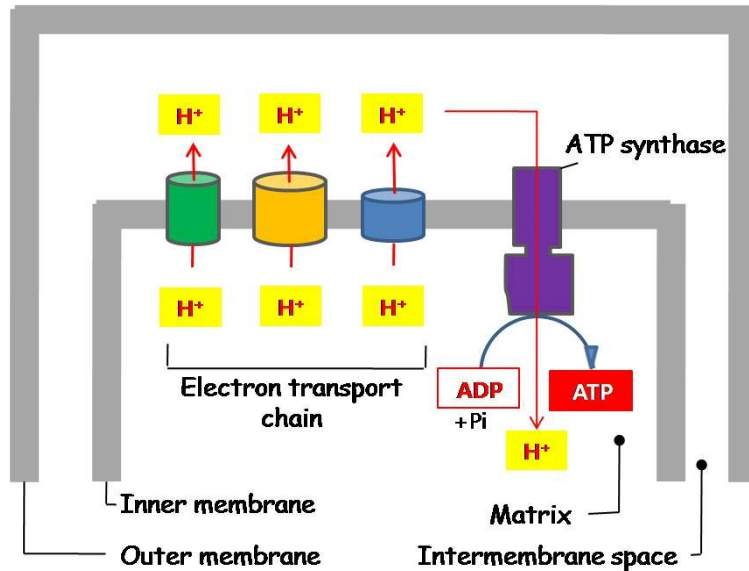


그림 391 미토콘드리아에서 ATP 생성 과정

4) 실시간 대사 변화 측정과 생화학, 분자생물학적 접근을 통한 승열 반응의 과학적 입증의 필요성

- metabolic cage는 체온 변화, 산소 소비량/이산화 탄소 배출량 및 활동도등을 종합적이고 비침습적으로 측정할 수 있는 장비이나 고가이며 숙련된 전문가의 기술이 필요하여 사용이 제한적임. 따라서 단순 체온 변화뿐 아니라 대사적 측면을 반영한 종합적인 체온변화의 측정을 위해서는 첨단 장비인 metabolic cage 도입이 필요함.

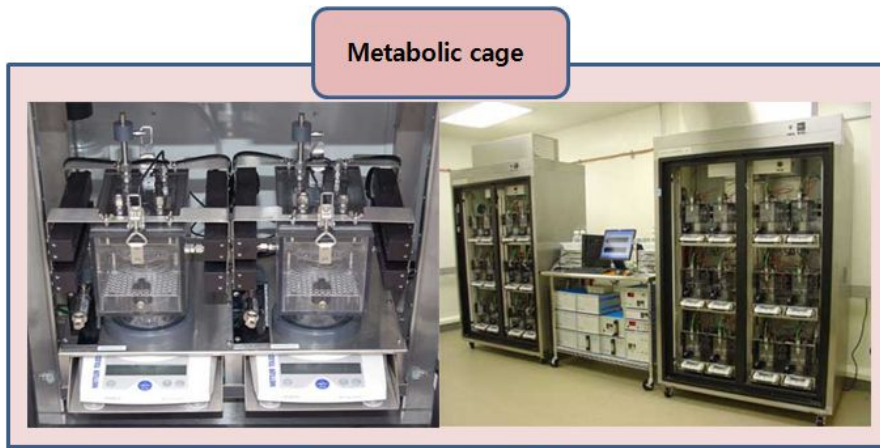


그림 392 metabolic cage

- 체온의 변화는 발열성 cytokine, 신경전달 물질, 미토콘드리아내 단백질의 발현 및 호르몬 등이 관여하는 복합적인 신체 적응 반응임. 그러나 인삼에 의한 승열반응 연구는 이러한 생화학적, 분자생물학적 접근을 통한 심도 깊은 연구가 이루어 지지 못하고 있으며 단순 현상 해석에 국한되어 있음.
- 인삼에 의한 체온 및 혈압변화에 영향을 미치는 다양한 인자 (투여 기간, 저온 및 고온 스트레스)에 관한 체계적인 실험적 데이터 또한 전무함.
- 따라서 고려인삼에 의한 승열작용에 대해 체온 뿐 아니라 대사변화 측면에서의 종합적 연구가 수행되어야 이에 관여하는 생화학, 면역학적 인자와 미토콘드리아에서의 에너지 대사에 관한 생화학, 분자생물학적인 기전에 대한 심도깊은 연구를 통해 과학화 및 객관화 할 필요성이 대두되고 있음

2. 실험적 접근방법

(1) 고려 인삼과 화기삼 추출물의 단기 투여에 따른 승열 반응연구

; 인삼 단기 투여 후 체온 변화 및 대사량 변화를 측정함. 특히 특화된 장비인 metabolic cage를 도입하여 체온, 혈압, 식이량, 활동량 및 에너지 대사량등을 관찰하여 기존의 단편적인 연구와는 차별성을 둠.

(2) 고려 인삼과 화기삼 추출물 장기 투여에 의한 승열 반응 연구

; 고려인삼 및 화기삼을 장기간(4주) 투여 후 체온 및 신체 대사량 변화를 과학적으로 규명함. 체온조절에 관여하는 발열성 cytokine, PGE2, 및 신경전달물질의 변화량을 측정하여 대사량 뿐 아니라 종합적인 체온조절 메커니즘에 미치는 영향을 연구함.

(3) 고려 인삼과 화기삼의 추출물 투여 후 공복 스트레스에 따른 미토콘드리아 기능 평가 및 in vitro 미토콘드리아 효능 평가 연구

; 공복 스트레스 상황을 유발하고 난 후 인삼을 투여하여 미토콘드리아 효능에 미치는 영향을 평가함.

; 인삼의 생리학적 단회 투여에 의한 체온 및 대사능의 변화를 metabolic cage를 이용하여 측정함.

(4) 고려인삼과 화기삼 투여에 따른 미토콘드리아의 변화와 그에 따른 세포 변화 관찰

; 미토콘드리아의 구조변화를 분석하고 에너지 대사의 변화를 측정함.

3. 연구내용

(1) 인삼 단회 투여시 체열 및 대사에 미치는 영향 관찰

- Metabolic cage를 활용하여 인삼 단회 투여에 의한 체온 및 대사변화 관찰

- 연구목적: metabolic cage를 사용하면 체온 변화, 식이량, 활동량 및 호흡량등을 실시간으로 모니터링 하여 약물에 의한 체내 대사 변화를 종합적으로 관찰할 수 있음. 본 실험에서는 ICR마우스에 고려인삼(홍삼과 백삼) 및 화기삼을 1000 mg/kg의 독성 농도로 단회 투여하고 난 후 24시간 동안 각종 지표를 모니터링 하여 고려인삼과 화기삼의 체온 변화에 미치는 영향을 객관적으로 평가 하고자 함.

1) metabolic cage를 활용한 체온변화 관찰: 체온 chip을 이식한 마우스에 고려인삼 및 화기삼을 1000mg/kg 농도로 단회 투여한 후 metabolic cage에서 24시간 동안 실시간으로 체온을

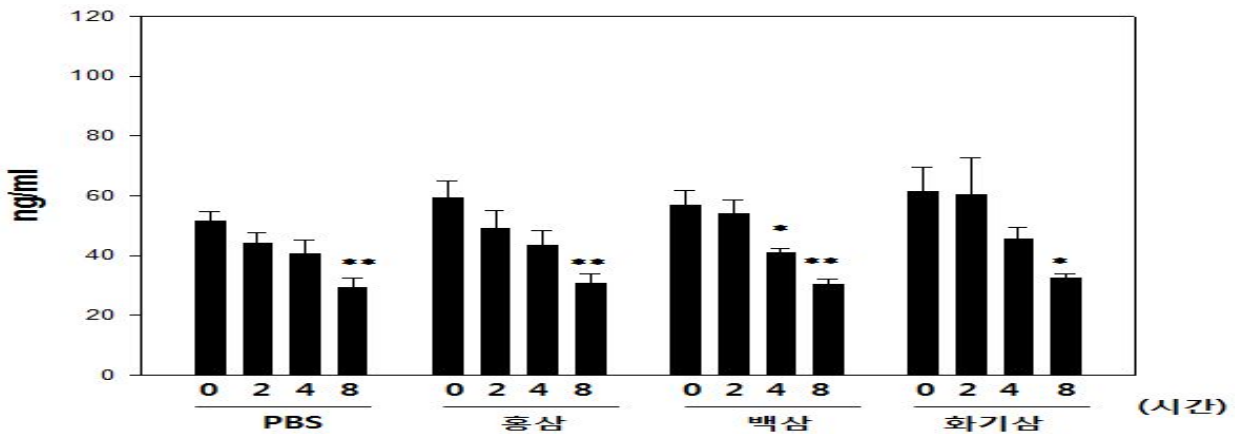


그림 393 체온 chip 이식 마우스에 인삼 투여 후 24시간 실시간 체온 모니터링(왼쪽)결과 및 체온 평균(오른쪽) 측정 한 후 평균값을 계산하여 온도 변화를 관찰함.

- 연구결과: 실시간 체온 모니터링 결과 고려인삼과 화기삼 투여에 의한 유의적인

체온 증가 및 강하효과는 관찰되지 않음. 24시간 온도 평균값의 결과에서도 인삼에 의한 체온 변화는 군별 차이 없음

이상의 결과로 홍삼, 백삼 및 화기삼 단회 투여에 의한 체온변화는 없는 것으로 관찰됨.

2) skin 체온계에 의한 체온변화 관찰: skin 체온계를 사용하여 마우스에 주는 스트레스를 최소화 하여 체온 변화를 측정함.

- 실험 결과: 대조군, 고려인삼 및 화기삼을 1000mg/kg 농도로 투여하고 난후 0, 2, 4, 8 시간

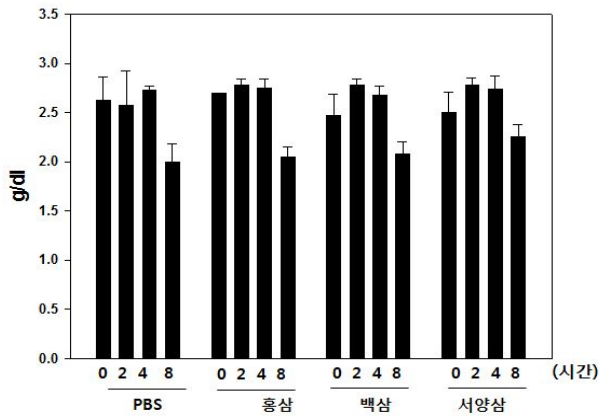


그림 394 skin 체온계를 활용하여 인삼 단회 투여에 의한 시간별(0, 2, 4, 8h) 체온변화 관찰

후 체온 변화를 관찰함. 관찰 결과 홍삼 및 백삼 화기삼 투여에 의해 체온 변화는 관찰 되지 않음. 본 실험 결과 홍삼, 백삼 및 화기삼 단회 투여에 의해 체온에는 영향을 미치지 않음.

3) 인삼 투여에 의한 먹이량 및 음수량 변화량 측정: 인삼 투여가 마우스 대사에 미치는 영향을 알아보기 위해 음수량과 먹이량을 실시간으로 분석함.

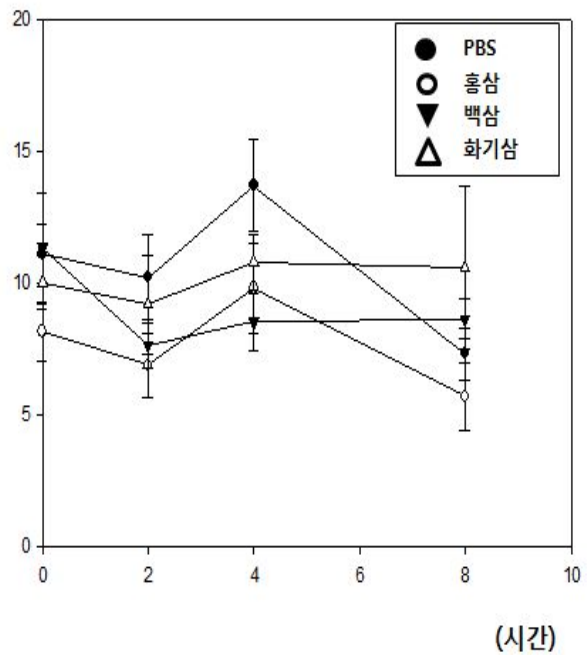
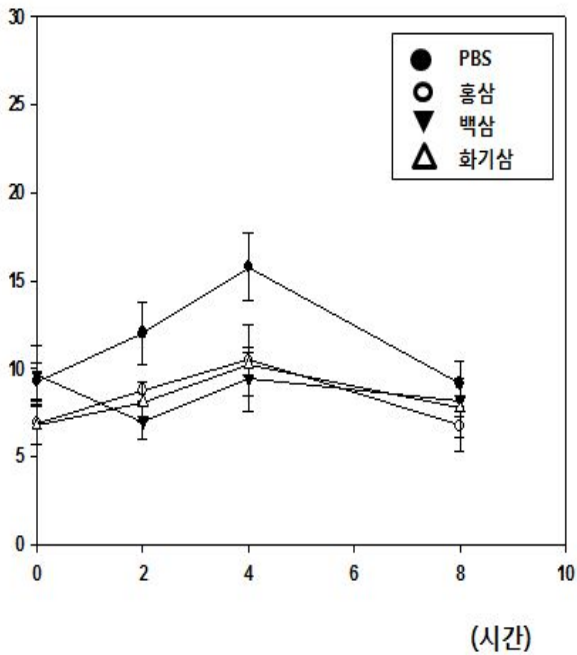


그림 395 인삼 투여에 의한 먹이량 및 음수량 변화 (위-시간별, 아래-24h 평균)

● 실험결과: 인삼 투여(군당 1000 mg/kg)에 의한 먹이량을 무게당 섭취량 및 시간당 섭취 칼로리로 표기함. 실험 결과 인삼 투여 후 시간별 먹이 섭취량에는 차이가 없는 것으로 관찰됨. 또한 대조군 대비 인삼 투여군, 고려인삼(백삼, 홍삼)대비 화기삼간의 차이도 관찰되지 않았음. 음수량은 서양삼(화기삼) 군에서 감소하는 경향으로 나타났으나 통계적으로 유의하지 않았음. 이상의 결과 고려인삼 및 화기삼 단회 투여에 의해 먹이 섭취량 및 음수량에는 변화가 없음.

4) 인삼 투여에 의한 에너지 대사 인자 관찰

- 실험목적: 인삼 투여(1000 mg/kg)에 의한 에너지 대사변화를 실시간 모니터링 장비를 활용하여 측정함. 에너지 대사에 중요한 인자인 산소 소비량(VO_2), 이산화탄소(VCO_2) 생성량, 호흡변화 비율($RER:VCO_2/VO_2$) 및 소비에너지(energy expenditure)량의 변화를 관찰함.

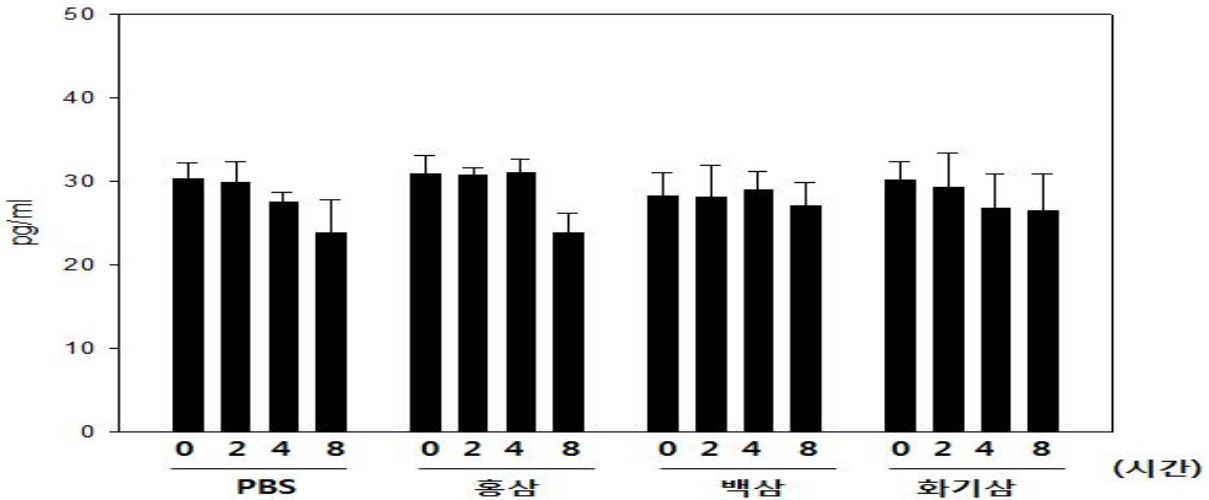


그림 396 인삼 투여 후 산소 소비량(왼쪽), 이산화탄소 생성량(가운데) 및 RER(오른쪽) 실시간 분석(위) 24h 시간 평균값(아래)

- 실험결과: 화기삼 투여군에서 시간별로 산소 소비량이 다소 감소하는 것으로 보이나 군간 통계적 유의성은 나타나지 않음. 홍삼 백삼 및 화기삼에 의한 이산화

탄소 생성량의 비율도 변화가 없음. 호흡변화 비율을 나타내는 RER값도 인삼 투여에 의해 군간 차이가 없었음. 또한 홍삼, 백삼 및 화기삼 단회 투여에 의한 소비에너지량의 변화는 군간 차이가 없음. 그러나 24시간 평균 활동량은 홍삼 투여군과 화기삼 투여군에서 증가하였음. 백삼은 활동량이 증가하는 경향을 보이나 통계적으로 유의하지는 않음. 홍삼과 화기삼간의 통계적 유의성은 관찰되지 않음.

이상의 실험결과 에너지 대사에 관여하는 인자인 산소 소비량, 이산화탄소 생성량 및 소비에너지는 홍삼과 백삼 및 화기삼 단회 투여에 의해 변하지 않음. 하지만 홍삼 및 화기삼 투여에 의해 24시간 평균 활동량이 증가했음을 알 수 있음.

- 비침습적 혈압 측정을 통한 고려인삼과 화기삼에 의한 혈압 변화 관찰

- 연구목적: 고려인삼과 화기삼을 1000 mg/kg의 농도로 단회 투여하고 난 후 일정 시간 동안

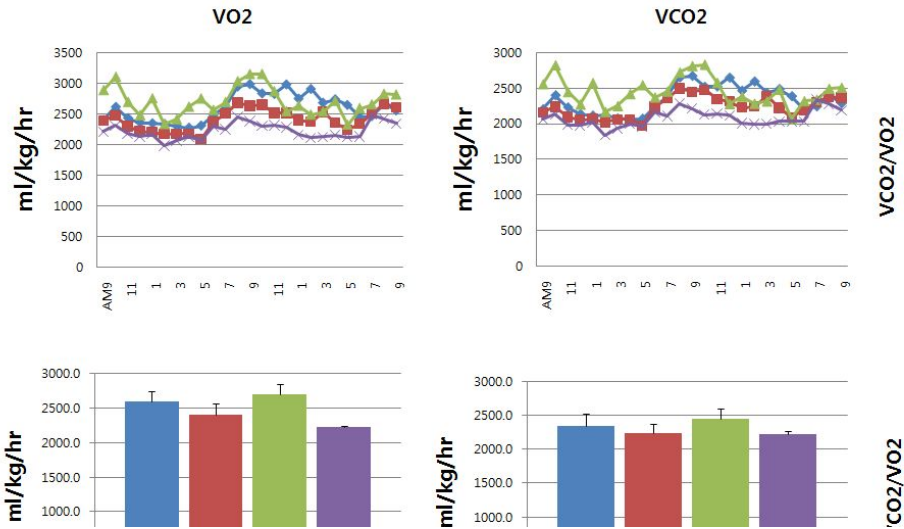


그림 397 인삼 단회 투여에 의한 소비에너지(왼쪽) 및 활동량 측정(오른쪽) 혈압 변화를 비침습적으로 측정함으로써 인삼 투여에 의한 혈압 변화를 객관적으로 평가함.

1) 고려인삼 및 화기삼 단회 투여에 의한 혈압 변화 관찰

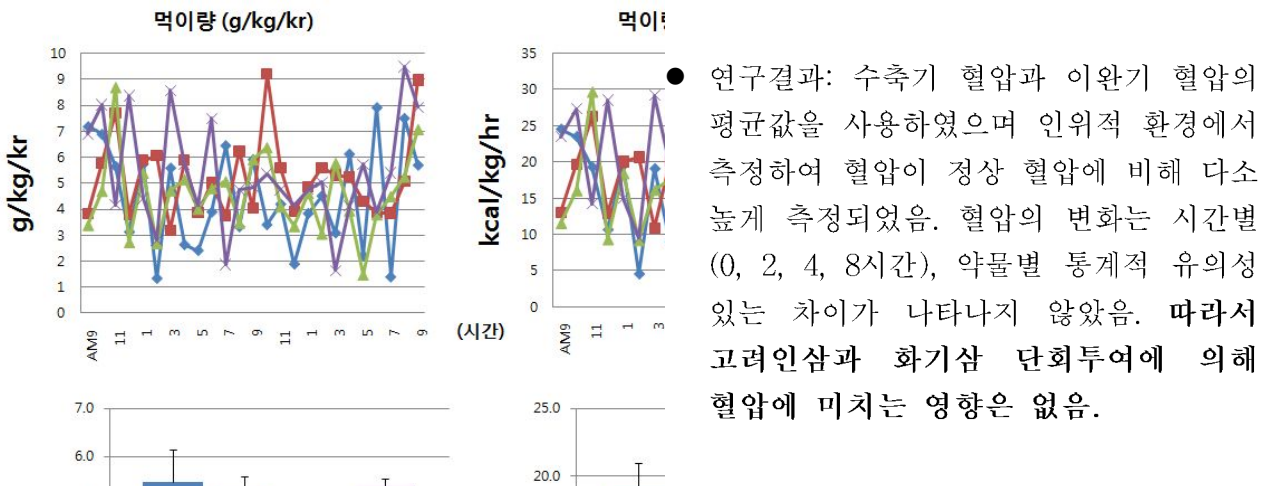


그림 398 인삼 단회 투여에 의한 시간별 혈압 변화

2) 고려인삼 및 서양삼(화기삼) 단회 투여

에 의한 혈류량 및 혈액량 변화 관찰

- 연구결과: 혈압 변화에 중요한 영향을 미치는 혈류속도 및 혈액량을 ICR마우스의 꼬리에서 측정된 결과 혈류속도는 대조군에 비해 홍삼, 백삼 및 화기삼 투여군이 감소하는 경향을 보였으나 통계적으로 유의하지 않음. 혈액량의 변화는 시간별 군별 차이가 없음.

이상의 결과를 종합하면 홍삼, 백삼 및 화기삼 단회투여에 의해 혈압, 혈류속도 및 혈류량에는 차이가 없음.

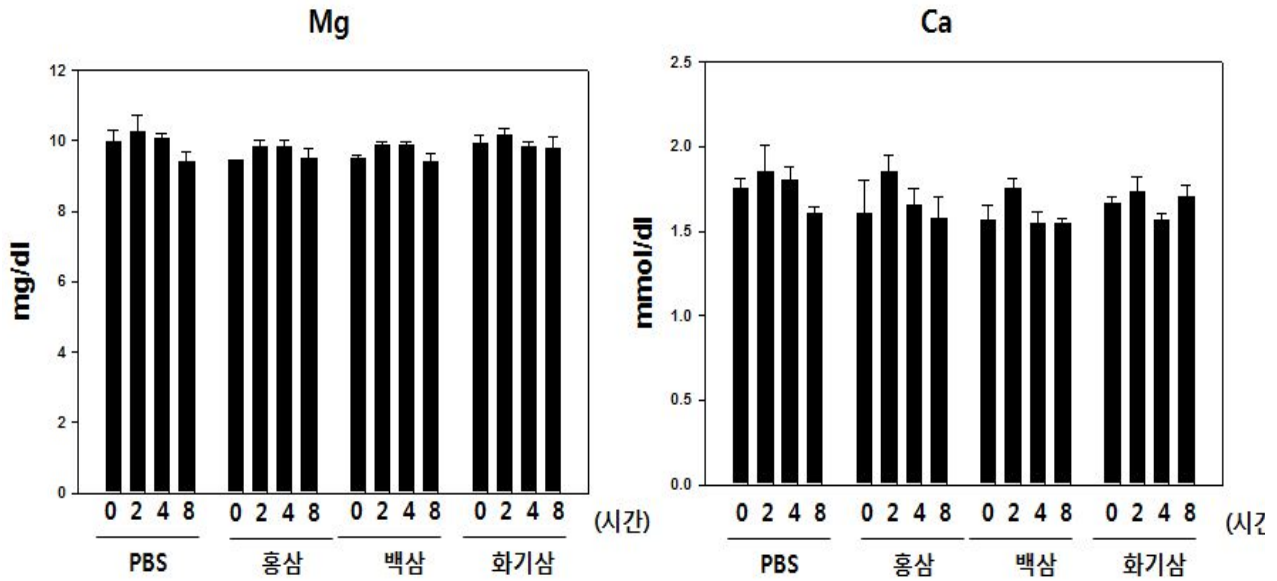


그림 399 인삼 투여 후 시간별 혈류속도(왼쪽) 및 혈액량(오른쪽) - 혈액 중 발열 인자 및 신경 전달물질 변화 관찰

- 연구목적: 고려인삼과 화기삼을 1000 mg/kg의 농도로 단회 투여하고 난 후 일정 시간 후 혈액을 얻어 각종 발열 인자 및 신경전달 물질의 변화량 및 체내 혈액 화학적 지표를 관찰함.

1) 고려인삼 및 화기삼 단회 투여에 의한 T4(thyroxine)변화 관찰 : 혈액 중 T3 및 T4량의 변화 및 발현비율 변화는 급성 감염 및 고체온증 등의 병리적 상태에서 관찰되는 현상임. 본 실험에서는 고려인삼 및 화기삼에 의한 T4발현 변화를 혈액(plasma)에서

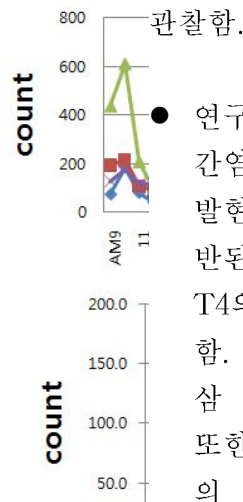
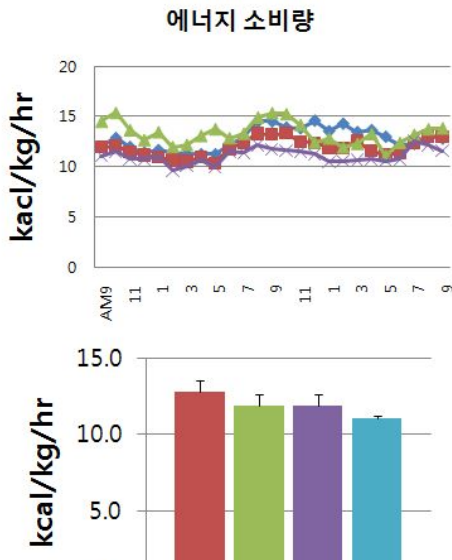


그림 400 인삼 단회 투여에 의한 혈중 T4량 변화 관찰

및 화기삼 단회 투여에 의한 T4량의 발현변화는 군간 차이가 없었음.

- 연구결과: 선행보고에 의하면 급성 감염 및 고체온증 상태일 때 T4의 발현량은 증가 혹은 감소한다는 상반된 보고가 있음. 본 실험에서는 T4의 발현량은 시간에 따라 감소함. 하지만 대조군대비 홍삼, 화기삼 간의 차이는 관찰되지 않았음. 또한 홍삼 및 백삼 대비 화기삼간의 T4 발현량의 차이도 관찰되지 않았음. 본 실험 결과 홍삼, 백삼

2) 고려인삼 및 서양삼(화기삼) 단회 투여에 의해 PGE2 변화량 관찰: PGE2는 Arachidonic acid의 대사과정 중 생성되는 생리활성 물질로 발열에 관여하는 중요한 인자임. 본 실험에서는

단회 투여(1000mg/kg)에 의한 시간별 혈중 PGE2의 변화를 EIA방법을 활용하여 측정함.

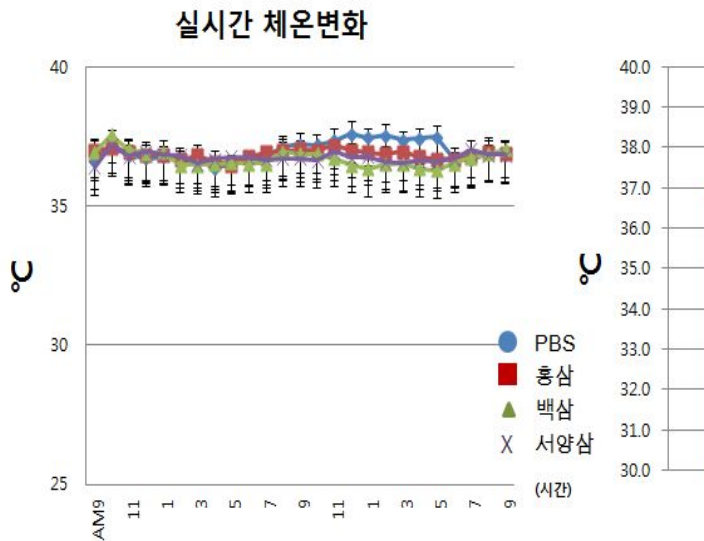


그림 401 인삼 투여 후 PGE2의 혈중 농도 변화 관찰

- 연구결과: 대조군 및 홍삼투여 후 8시간 후 PGE2 혈중 농도가 감소하는 경향을 보이거나 통계적으로 유의적이지 않음. 백삼과 화기삼 투여군 또한 혈중 PGE2의 양적 변화는 관찰되지 않았음. 이상의 결과를 통해 발열에 관여하는 생리활성 물질인 PGE2의 혈중 농도는 홍삼, 백삼 및 화기삼 투여에 의해 영향 받지 않음을 알 수 있음.

3) 고려인삼 및 화기삼 단회 투여에 의한 혈중 무기질 변화

- 연구목적: 혈액내 무기질은 체조직을 구성하고 혈액 및 체액의 분량 및 삼투압을 조절함. 고려인삼 및 서양삼(화기삼) 단회 투여에 의한 혈액내 무기질의 변화를 분석하여 체온 변화에 영향을 미칠 수 있는 인자를 관찰함.

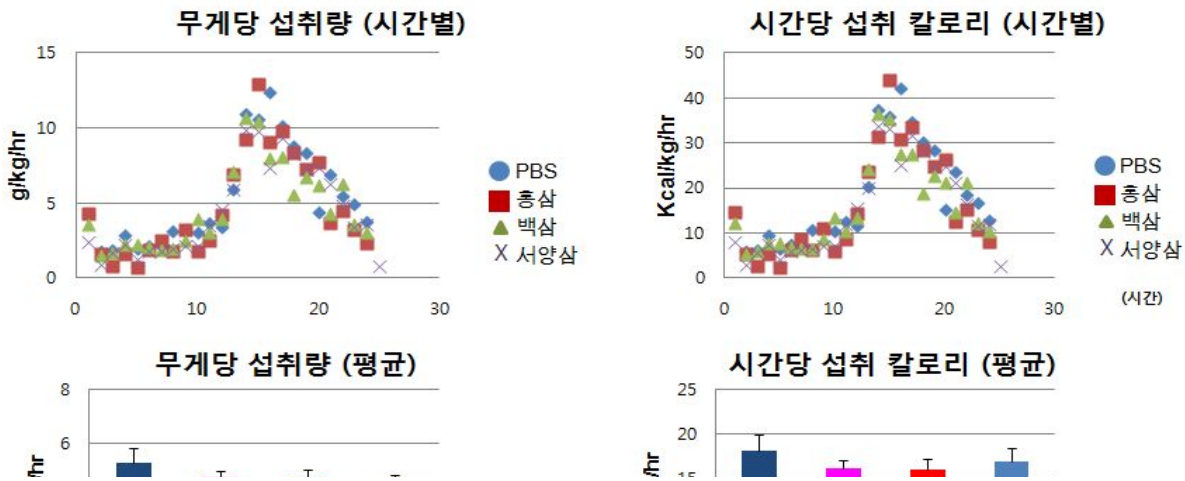


그림 402 혈중 무기질의 변화. Mg (왼쪽), Ca (오른쪽)

- 연구결과: 무기질 중 Mg 와 Ca의 변화량을 측정함. 인삼 단회 투여(1000mg/kg)에 의해 Mg와 Ca량의 혈액 중 변화량의 차이는 관찰되지 않음. 본 실험 결과 고려인삼 및 화기삼 단회 투여에 의한 무기질량의 변화 (특히 Ca, Mg)는 없음을 알 수 있음.

4) 고려인삼 및 화기삼 단회 투여에 의한 발열 cytokine 관찰 : 급성 감염등의

원인에 의해 발열 cytokine류인 TNF-a, IFN-g 및 interleukine류의 혈중 농도가 증가됨. 본 실험에서는 인삼 단회(1000mg/kg) 투여에 의해 대표적 발열 cytokine 류인 TNF-a 및 INF-g의 변화를 관찰함.

- 연구결과: 고려인삼 및 화기삼 단회 투여 후 0, 2, 4, 8시간 후 혈중 발열 cytokine류의 유리량 변화를 측정된 결과 대조군 인삼 투여군 모두 혈중 발열 cytokine류의 혈중 농도가 매우 낮아 측정 범위 이하였으며 시간에 따른 혈중 유리농도 증가는 관찰되지 않음. 본 결과에 의해 고려 인삼 및 화기삼 단회 투여에 의해 cytokine류의 혈중 유리량에는 차이가 없으며 결과적으로 고려 인삼 및 화기삼은 급성 체온상승 인자가 아님을 알 수 있음.

5) 혈중 알부민 변화관찰: 혈장 단백질의 50-60 %를 차지하는 알부민은 발열에 중요한 인자인 체액의 삼투압을 조절하며 외부 독성물질을 중화시키는 역할을 함. 본 실험에서는 홍삼 백삼 및 화기삼 단회 투여 후 시간별 혈중 알부민의 농도를 측정함.

- 연구결과: 8시간 후 혈중 알부민량이 감소하는 경향을 보이나 통계적으로 유의하지 않음. 이는 반복된 혈액채취에 의해 8시간후에 군간 차이 없이 알부민의 양이 감소하는 것으로 보이며 홍삼, 백삼 및 화기삼 단회 투여군간의 차이는 관찰되지 않았음.

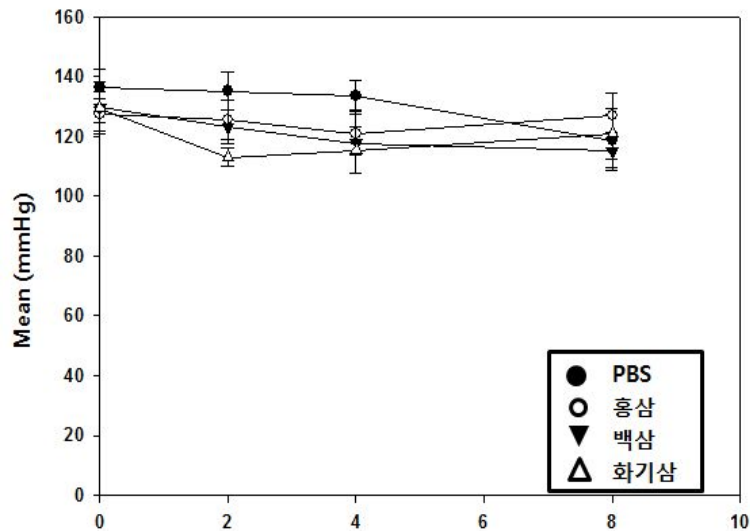


그림 403 인삼 단회 투여에 의한 혈중 알부민량 측정

이상의 결과를 종합하면 홍삼, 백삼 및 화기삼 단독 투여에 의해 혈중 발열 cytokine류 및 신경전달 물질등의 양에는 군별 차이가 없는 것으로 관찰됨. 또한 체온 및 대사등에 영향을 미치는 혈중 무기질 및 알부민 등에도 차이가 없는 것으로 관찰됨. 따라서 본 실험 결과 및 metabolic cage에서 측정된 체온 데이터를 종합하면 홍삼, 백삼 및 화기삼 단회 투여에 (1000 mg/kg) 의해 마우스의 체온 및 체온 상승 인자에는 영향을 미치지 않음을 알 수 있음.

(2) 고려 인삼과 화기삼 추출물의 전달체계 구축

- 연구목적: 고려인삼과 화기삼의 승열작용을 세포차원에서 밝히기 위하여 대표적 에너지대사관련 세포인 지방세포 및 베타세포주를 실험대상으로 설정하고, 이들에서 나타나는 에너지대사의 변화를 관찰하기 위하여 이들 세포에 대한 일차배양 시스템을 구축하고, 인삼추출물에 대한 최적농도 및 적합배양환경을 설정하는 것을 목표로 함.

1) 지방세포의 분화와 배양

지방세포는 섬유아세포주(3T3 cell)를 이용하여 분화시켰으며, 이에 대한 방법과 체계는 아래와 같음 (그림 12).

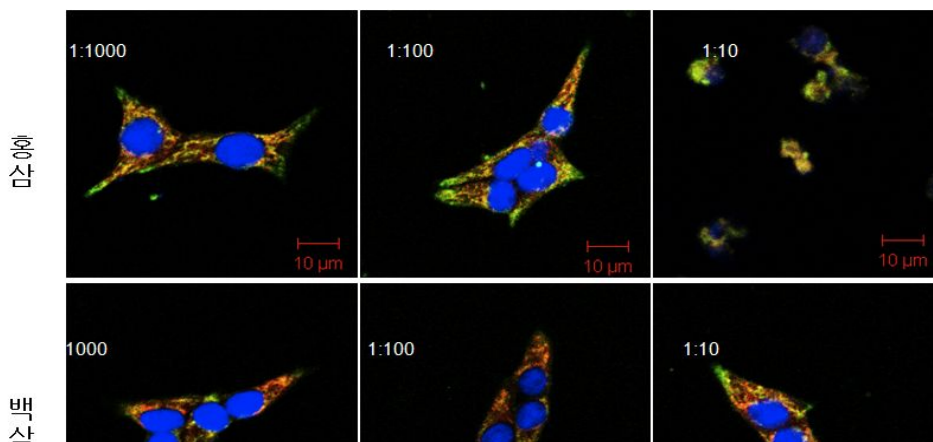


그림 404 지방세포 분화체계

- T3-L1(fibroblast)상태로 유지하기 위한 배지로 DMEM-high glucose(10% calf serum+1% P/S)을 사용하였으며 confluency가 35%이상이 되지 않도록 배양하고, 분화과정에서는 confluency가 100%가 될 때까지 배양한 뒤 분화배지를 3가지를 사용함.
- 첫 번째 분화배지는 DMEM-high glucose(10% FBS+ 1% P/S+ 0.5mM IBMX+ 1uM Dexamethasone+ 10ug/ml Insulin)이며 이를 사용하여 3일간 배양한 뒤, 두 번째 분화배지는 DMEM-high glucose(10% FBS+ 1% P/S+ 10ug/ml Insulin)으로 2일간 배양하였고, 세 번째 분화배지는 DMEM-high glucose(10% FBS+ 1% P/S)으로 2일 마다 배지를 교환해 줌.

- 지방세포의 분화확인

- 분화된 지방세포는 oil-red O 염색을 실시하여 세포내 지방축적을 확인하고, 지방세포의 분화 marker인 PPAR γ , AFABP 및 Adiponectin의 발현을 확인 (그림 16).

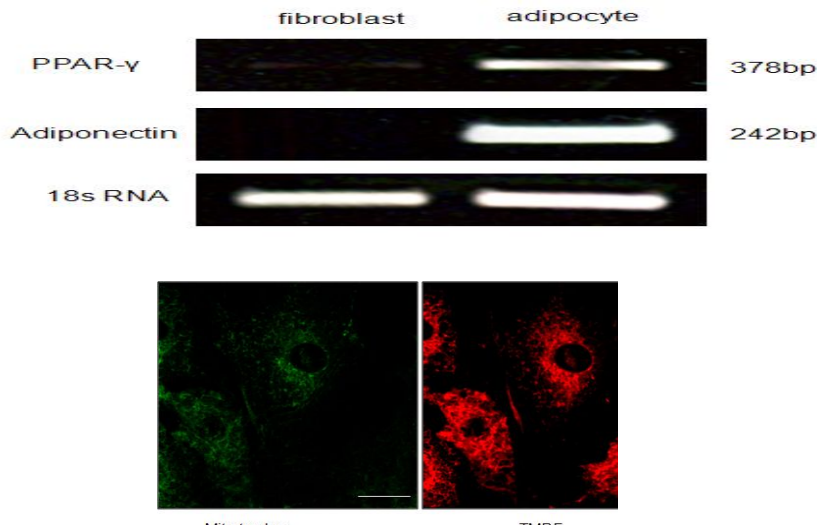


그림 405 지방세포의 분화의 형태학적확인 (위), PCR방법을 통해 분화인자확인 (아래)

- 분화된 지방세포에서 미토콘드리아 인자 확인 : 분화된 지방세포에서 미토콘드리아의 marker인 mitotracker와 TMRE를 이용하여 미토콘드리아의 존재와 위치 및 수량을 공초점현미경을 이용하여 확인함. (그림 17).

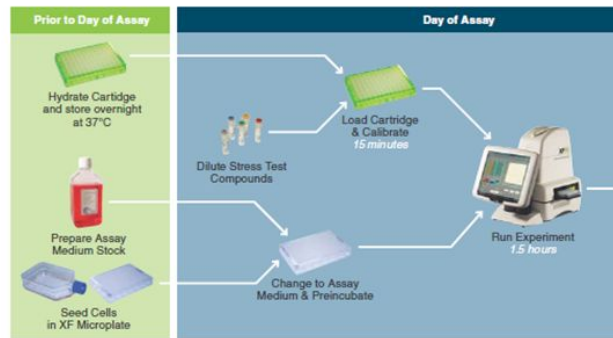


그림 406 미토콘드리아의 marker인 mitotracker와 TMRE를 이용한 지방세포내 미토콘드리아의 확인

- 지방세포내 미토콘드리아 융합및 분열인자확인: 분화된 지방세포에서 미토콘드리아의 융합인자인 Opa-1과 분열인자인 Dlp-1의 존재를 면역세포화학법으로 확인함. (그림 18).

- 미토콘드리아의 membrane potential 변화 확인 : 지방세포 미토콘드리아에서 나타나는 막전위차이를 확인하기 위하여 막전위를 일으키는 CCP를 처리한 다음 JC-1을 tagging 시켜 FACS로 변화를 확인함. (그림 19).

Mitochondria membrane potential - 3T3-L1



그림 407 지방세포에서 미토콘드리아의 fusion(Opa-1) 및 fission (Dlp-1) marker 확인

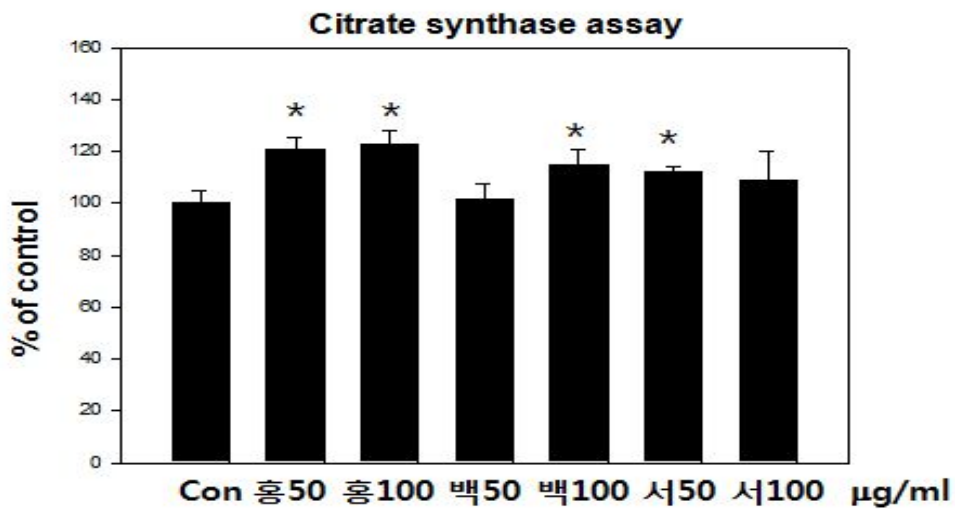


그림 408 CCCP를 처리한 3T3-L1 Fibroblast (분화전)에서 MMP의 변화 관찰 Membrane potential을 지니는 mitochondria는 red, membrane potential이 depolarization된 mitochondria는 green으로 염색됨

- 췌장베타세포의 배양체계 구축과 인삼의 처리환경 최적화

1) 췌장베타세포의 배양체계 구축: 췌장베타세포는 INS1cell을 이용하였으며, RPMI-1640(10% FBS+1% P/S) 배지에서 배양하였고 이에 대한 미토콘드리아에 대한 기초분석은 전술한 지장 세포와 같이 시행함.

2) 인삼의 처리환경 최적화: 연구시료인 인삼 추출물은 미국산 화기삼과 고려인삼인 백삼과 홍삼에서 얻은 추출물을 이용함. 추출물은 1g-72°C brix 을 기준으로 하였음. 배양세포에 처리할 인삼추출물의 최적농도를 결정하기 위하여 인삼 추출물 100mg을 증류수 900µl에 용해시킨 것을 기준농도로 정하고 인삼추출물 3가지를 1:1000, 1:100, 1:10으로 24시간 처리한 후 변화를 관찰하였음. 관찰 후 농도에 따른 세포의 형태변화를 본 결과 1:10의 농도에서 세포의 사멸과 같은 변화가 가장 심하였으며, 1:100 및 1:1000의 농도에서 세포는 정상적으로 배양되는 모습을 관찰 하였음.(그림 17). 그러므로 이후 배양세포에 처리되는 인삼 추출물의 농도는 1:100 또는

1:1000의 농도로 정하였음.

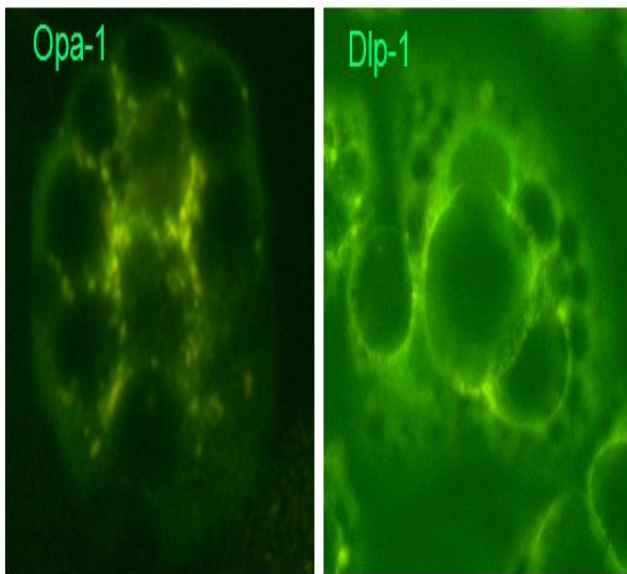


그림 409 인삼 추출물의 농도에 따른 베타세포의 형태학적 변화

3) 인삼 추출물에 의한 베타세포에서의 미토콘드리아의 변화: 인삼 추출물이 미토콘드리아에 미치는 영향을 관찰하기 위하여, 추출물을 24시간 배양액에 혼합하여 처리한 다음 mitotracker를 반응시켜 미토콘드리아의 형태학적 변화를 관찰한 결과 고려인삼 특히 홍삼 추출물에 의한 mitochondria의 점상변화가 관찰되었음. (그림 20).

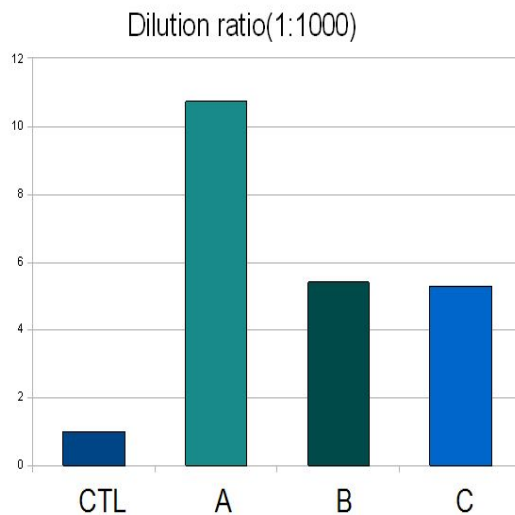


그림 410 인삼 추출물의 처리에 따른 베타세포의 미토콘드리아의 형태학적 변화

4) 인삼추출물에 의한 세포내 에너지 생산 비교연구

- 연구목적: 서양삼(화기삼)과 고려인삼에 의한 세포내 에너지 생산의 변화를 세포수준에서 관찰하기 위해서 서양삼(화기삼)과 고려인삼(백삼 및 홍삼)추출물을 베타세포주에 처리시

킨 후 나타나는 ATP 및 ADP synthase의 양적 변화와 ATP/ADP 비율의 변화를 측정하는 연구를 수행하였음.

5) 인삼 추출물에 의한 베타세포에서의 미토콘드리아의 융합인자의 변화: 인삼 추출물이 미토콘드리아의 융합반응에 미치는 영향을 관찰하기 위하여, 추출물을 24시간 배양액에 혼합하여 처리한 다음 고정된 후 융합반응 단백질인 Opa-1에 대한 면역염색을 시행한 후 공초점 현미경으로 관찰하였음. 그 결과 화기삼과 홍삼 추출물에서 Opa-1의 발현이 증가되는 양상을 나타냄. (그림 22).

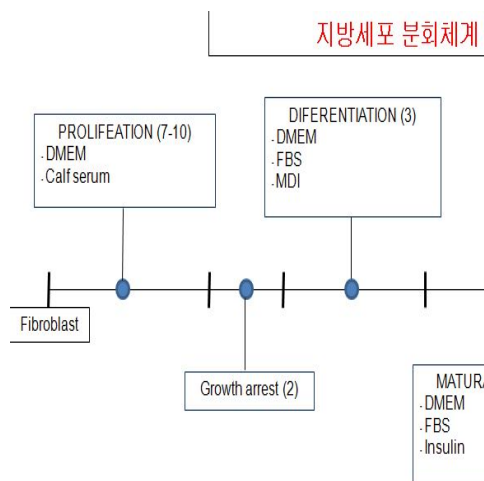


그림 411 그림 18) 인삼 추출물의 처리에 따른 베타세포 미토콘드리아에서의 Opa-1의 발현 변화

6) 인삼 추출물에 의한 베타세포에서의 미토콘드리아의 에너지대사의 변화: 인삼 추출물에 의한 베타세포에서의 미토콘드리아의 에너지대사의 변화를 분석하기 위하여 각각의 인삼 추출물을 처리한 다음 ADP/ATP ratio를 abcam의 kit(ab65313)를 이용하여 측정하였음. 그 결과 인삼추출물을 처리한 모든 실험군에서 ADP/ATP ratio가 높게 측정되었으며, 특히 화기삼 추출물에서 더 높은 ADP/ATP ratio를 나타내었음. (그림 23). 그러나 이 결과는 2차년도 연구를 위한 예비 실험의 결과이고 2차 년도에는 더 많은 실험군에서의 결과를 더하여 종합된 결론을 낼 예정임.

(3) 인삼 장기 투여에 의한 체온, 대사변화 및 혈압 변화 관찰

- Metabolic cage를 활용하여 인삼장기 투여에 의한 체온 및 대사변화 관찰

● 연구목적: metabolic cage를 사용하면 체온 변화, 식이량, 활동량 및 호흡량등을 실시간으로

지방세포 분화체계

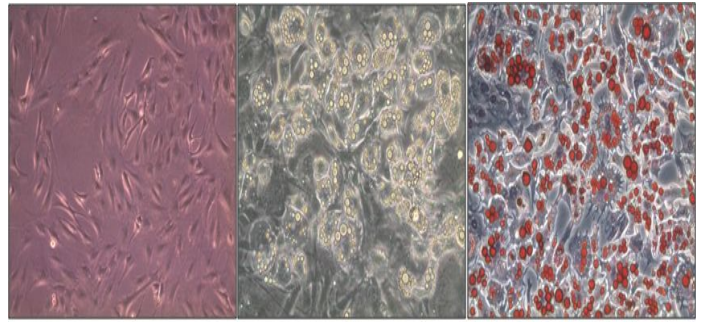
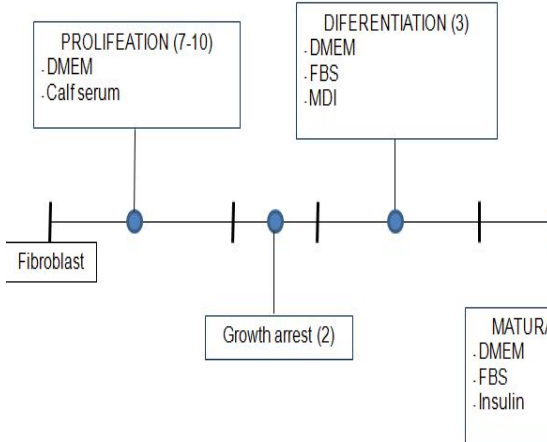


그림 412 인삼 추출물의 처리에 따른 배타세포 미토콘드리아에서의 Opa-1의 발현 변화 (왼쪽), 인삼 추출물에 의한 ADP/ATP ratio 변화 모니터링 하여 약물에 의한 체내 대사 변화를 종합적으로 관찰할 수 있음. 본 실험에서는 ICR마우스에 고려인삼(홍삼과 백삼) 및 서양삼(화기삼)을 200 mg/kg의 농도로 4주간 투여하고 난 후 48시간 동안 각종 지표를 모니터링 하여 고려인삼과 서양삼(화기삼)의 체온 변화에 미치는 영향을 객관적으로 평가 하고자 함.

1) **metabolic cage**를 활용한 체온변화 관찰: 고려인삼 및 서양삼(화기삼)을 200 mg/kg 농도로 4주간 투여한 후 metabolic cage에서 48시간 동안 실시간으로 체온을 측정 한 후 평균값을 계산하여 온도 변화를 관찰함. (체온 chip은 metabolic cage 실험 시작 일주일전 복강에 이식함. 48시간 데이터를 24시간 주기로 분석함.)

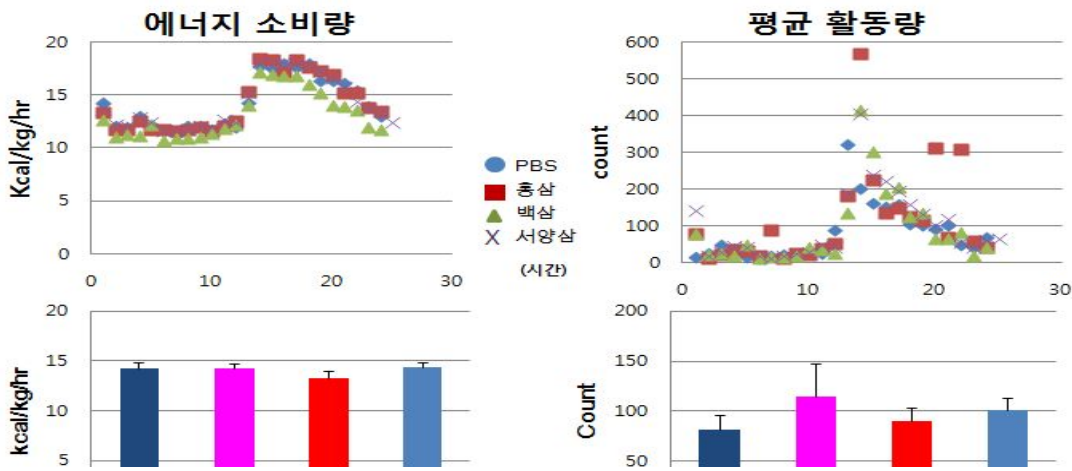


그림 413 체온 chip 이식 마우스에 인삼 투여 후 시간별 체온 모니터링 (왼쪽 결과 및 체온 평균 요른 쪽)

- 연구결과: 실시간 체온 모니터링 결과 고려인삼과 서양삼(화기삼) 투여에 의한 유의적인 체온 증가 및 강하효과는 관찰되지 않음. 24시간 온도 평균값의 결과에서도 인삼에 의한 체온 변화는 군별 차이 없음. 이상의 결과로 홍삼, 백삼 및 서양삼(화기삼) 4주간 투여에 의한 체온변화는 없는 것으로 관찰됨.

2) 인삼 투여에 의한 먹이량 변화 측정: 인삼 투여가 마우스 대사에 미치는 영향을 알아보기 위해 먹이량을 실시간으로 분석함.

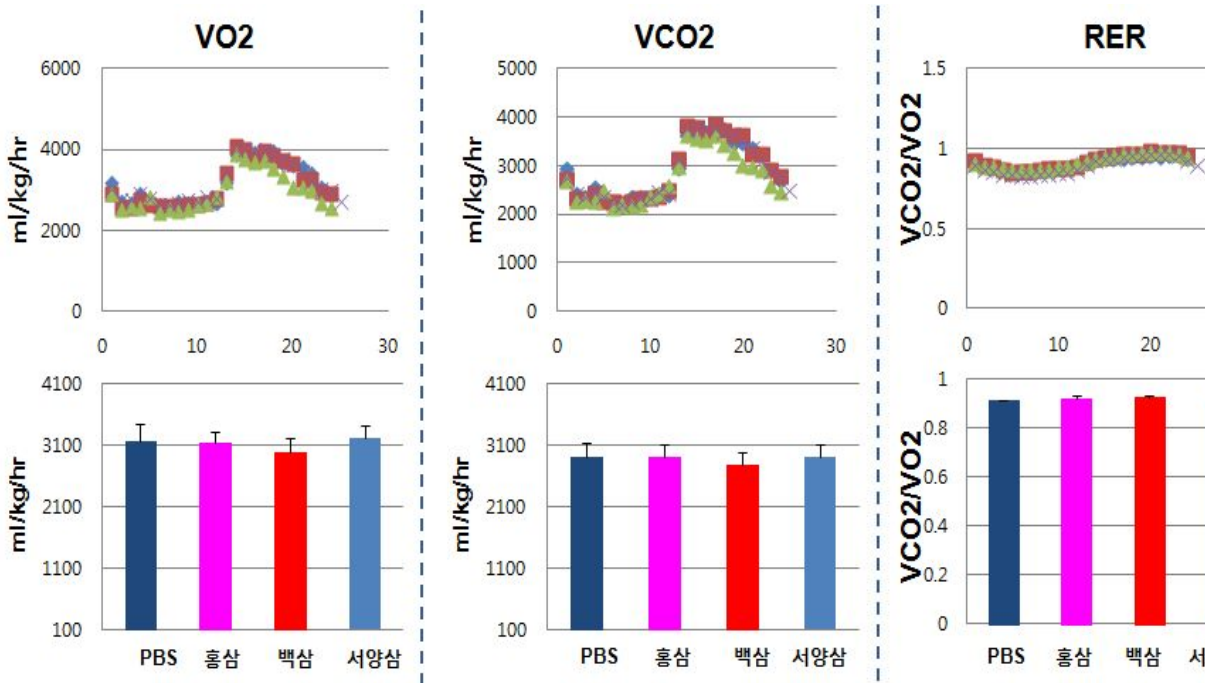


그림 414 인삼 장기 투여에 의한 먹이량 변화 (왼쪽-무게당 섭취량 변화, 오른쪽-시간당 섭취 칼로리)

- 실험결과: 인삼 투여(군당 200 mg/kg)에 의한 먹이량을 무게당 섭취량 및 시간당 섭취 칼로리로 표기함. 실험 결과 인삼 투여 후 시간별 먹이 섭취량에는 차이가 없는 것으로 관찰됨. 또한 대조군 대비 인삼 투여군, 고려인삼(백삼, 홍삼)대비 서양삼(화기삼)간의 차이도 관찰되지 않았음. 이상의 결과 고려인삼 및 서양삼(화기삼) 장기 투여에 의해 먹이 섭취량에는 변화가 없었음.

3) 인삼 투여에 의한 에너지 대사 인자 관찰

- 실험목적: 인삼 장기 투여에 의한 에너지 대사변화를 실시간 모니터링 장비를 활용하여 측정함. 에너지 대사에 중요한 인자인 산소 소비량(VO2), 이산화탄소(VCO2) 생성량, 호흡변화 비율(RER:VCO2/VO2) 및 소비에너지(energy expenditure)량의 변화를 관찰함.

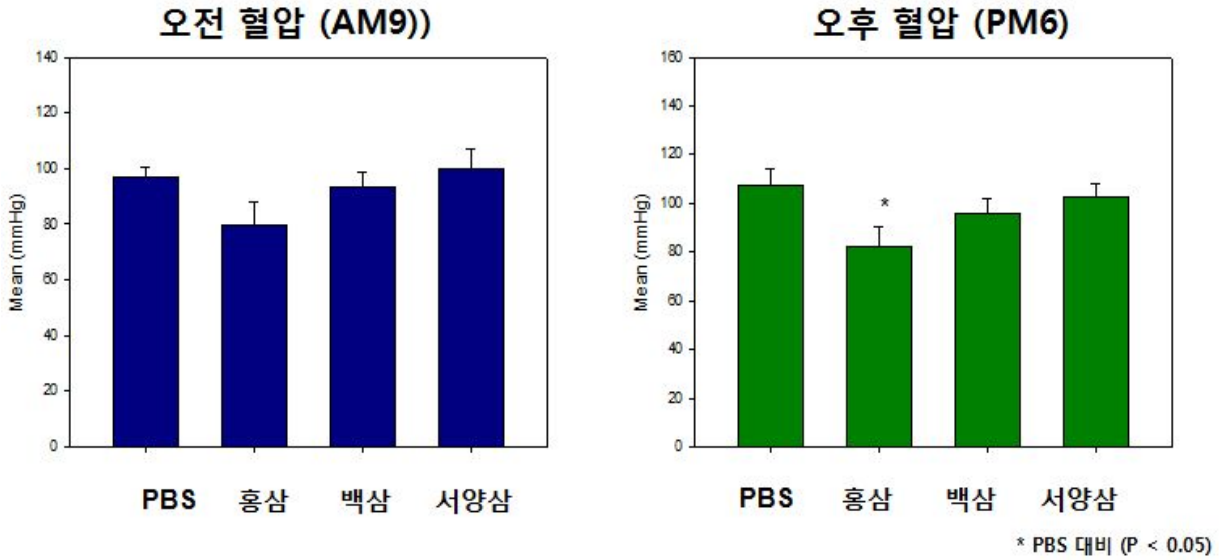


그림 415 4주간 인삼 투여 후 산소 소비량(왼쪽), 이산화탄소 생성량(가운데) 및 RER(오른쪽) 실시간 분석(위), 24h시간 평균값 (아래)

- 실험결과: 홍삼 백삼 및 서양삼(화기삼)에 의한 산소 소비량 및 이산화탄소 생성량 비율에는 변화가 없음. 호흡변화 비율을 나타내는 RER값도 인삼 투여에 의해 군간 차이가 없었음. 또한 홍삼, 백삼 및 서양삼(화기삼) 장기투여에 의한 소비에너지량의 변화는 군간 차이가 없음. 평균 활동량은 인삼 투여군 모두에서 다소 증가하는 경향을 보이나 통계적으로 유의하지 않음.

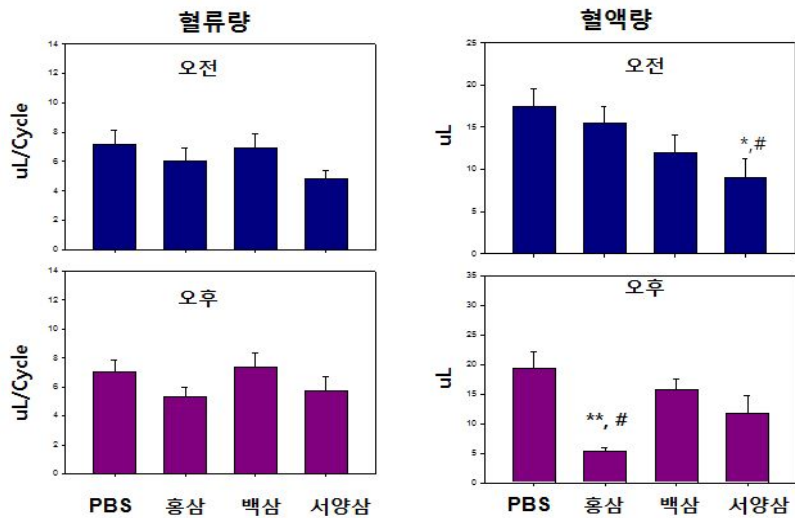


그림 416 인삼 장기 투여에 의한 소비에너지(왼쪽) 및 활동량 측정(오른쪽)

이상의 실험결과 에너지 대사에 관여하는 인자인 산소 소비량, 이산화탄소 생성량, 소비에너지 및 활동량은 홍삼과 백삼 및 서양삼(화기삼) 장기 투여에 의해 변하지 않음.

- 비침습적 혈압 측정을 통한 고려인삼과 서양삼(화기삼)에 의한 혈압 변화 관찰

- 연구목적: 고려인삼(백삼, 홍삼)과 서양삼(화기삼)을 200 mg/kg의 농도로 3주간 투여하고 난 후 1주일동안 투여와 훈련을 병행하고 난 후 4주째 오전 오후 혈압 변화를 비침습적으로 측정함으로 인삼 투여에 의한 혈압 변화를 객관적으로 평가함.

1) 고려인삼 및 서양삼(화기삼) 장기 투여에 의한 혈압 변화 관찰

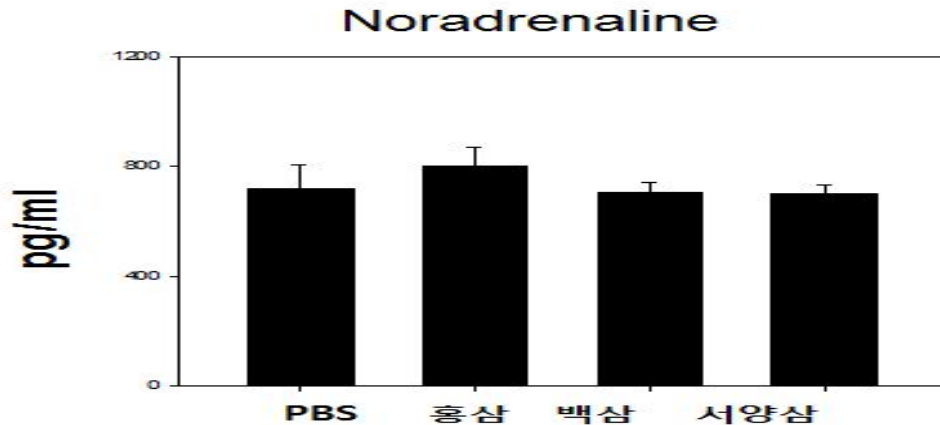


그림 417 인삼 장기투여에 의한 혈압 변화 관찰

- 연구결과: 평균 혈압값을 사용하여 분석하였으며 오전 오후 혈압 측정시 홍삼 투여군에서 혈압이 다소 감소하였으며 오후 혈압의 경우 홍삼 투여군에서 유의적인 감소를 보였음. 오후 혈압의 경우 인삼 투여군 모두에서 혈압이 다소 감소하는 경향을 보였으나 군간 통계적 유의성은 없었음. 따라서 고려인삼과 서양삼(화기삼) 장기투여에 의해 홍삼군은 혈압이 감소하였으나 약물투여군간 유의적인 차이는 없었음.

2) 고려인삼 및 서양삼(화기삼) 장기 투여에 의한 혈류량 및 혈액량 변화 관찰

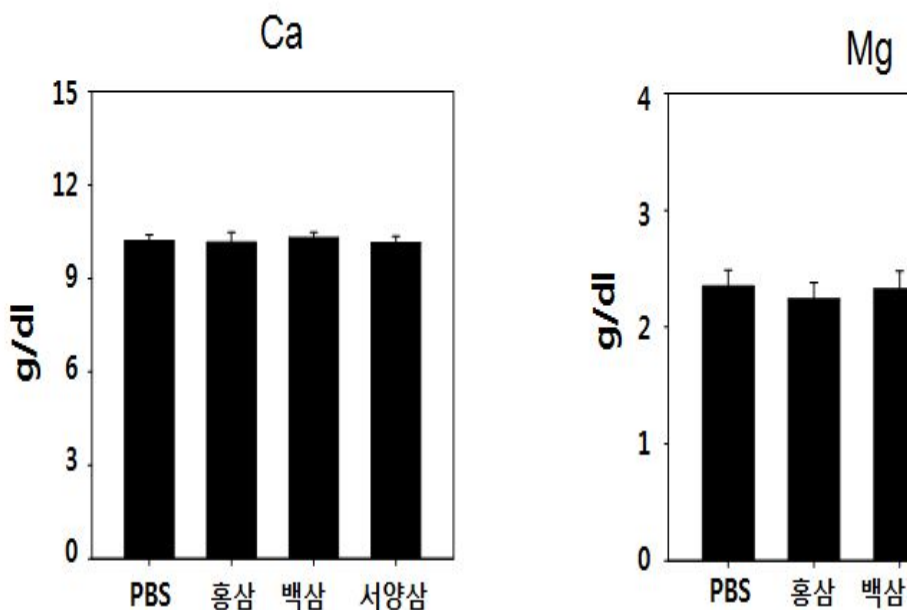


그림 418 인삼 투여 후 시간별 혈류속도(왼쪽) 및 혈액량 (오른쪽) 관찰

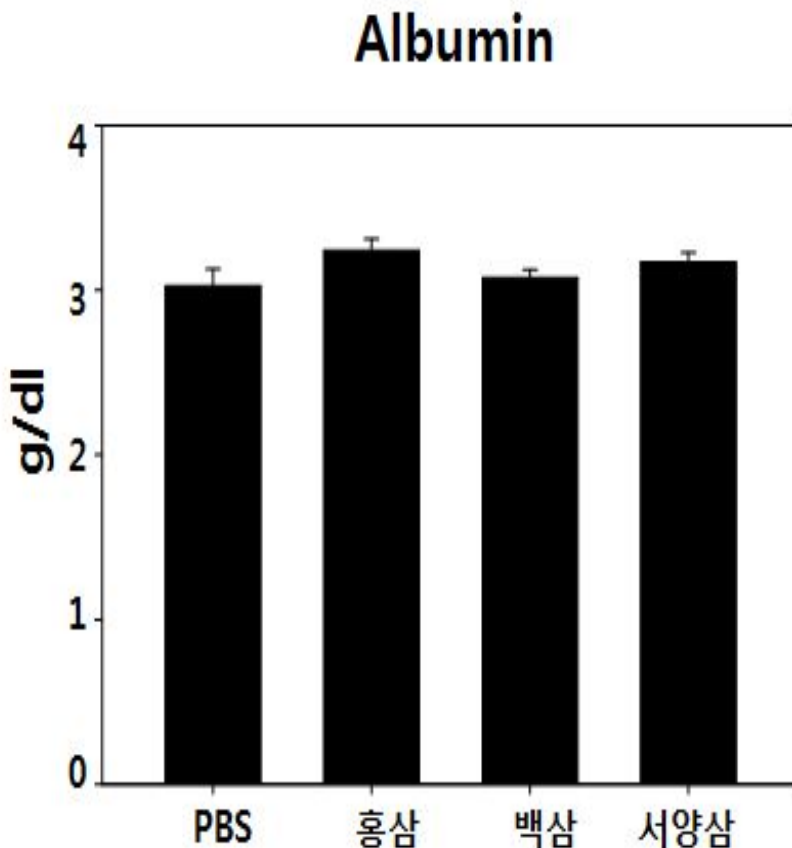
- 연구결과: 혈압 변화에 중요한 영향을 미치는 혈류속도 및 혈액량을 ICR마우스의 꼬리에서 측정된 결과 혈류속도는 오전 오후 모두 유의적인 변화 없음. 혈액량의 변화는 오전 혈액량은 서양삼(화기삼)에서 대조군 및 홍삼 군 대비 유의적으로 감소하며 오후 혈액량은 대조군 및 백삼군 대비 홍삼 투여군에서 감소함.

이상의 결과를 종합하면 홍삼, 백삼 및 서양삼 장기투여에 의해 혈류속도에도 차이가 없으나 혈압은 홍삼 투여군에서 감소하였으며 혈류량도 서양삼(화기삼) 군 및 홍삼군에서 감소하였음.

- 혈액 중 발열 인자 및 신경 전달물질 변화 관찰

- 연구목적: 고려인삼과 서양삼(화기삼)을 200 mg/kg의 농도로 4주간 투여하고 난 후 혈액을 얻어 각종 발열 인자 및 신경전달 물질의 변화량 및 체내 혈액 화학적 지표를 관찰함.

1) 고려인삼 및 서양삼(화기삼) 장기 투여에 의한 TSH, T3 및 T4변화 관찰 : 혈액 중 T3 및 T4량의 변화 및 발현비율 변화는 급성 감염 및 고체온증 등의 병리적 상태에서 관찰되는 현상임. 본 실험에서는 고려인삼 및 화기삼에 의한 TSH, T3 및 T4발현 변화를 혈액(plasma)에서 관찰함.



- 연구결과: TSH 및 T3의 발현량의 차이는 인삼 투여에 의해 관찰되지 않음. T4의 발현량

은 홍삼투여군에서 대조군 대비 감소함. 하지만 인삼 군간의 차이는 관찰되지 않았음. 본 실험 결과 홍삼, 백삼 및 서양삼(화기삼) 장기 투여에 의한 T4량의 감소가 홍삼군에서 관찰되었으나 인삼 투여군간 유의적인 변화는 없었음.

2) 고려인삼 및 서양삼(화기삼) 장기 투여에 따른 신경전달 물질 변화: 신경전달 물질의 증가는 체온상승 유발인자중의 하나임. 본 실험에서는 혈액내 신경 전달물질중 하나인 Noradrenaline의 변화를 관찰하여 혈액 중 체온 상승 인자의 증가가 있는지를 확인함.

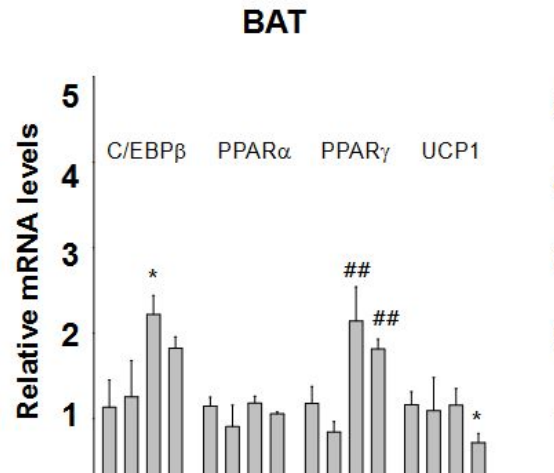


그림 420 혈중 noradrenaline의 변화량 관찰

- 연구결과: noradrenaline의 양은 인삼 투여군 별로 차이가 없음. 본 실험 결과 홍삼, 백삼 및 서양삼(화기삼) 장기 투여에 의한 신경전달 물질의 양에는 변화가 없음을 알 수 있음.

3) 고려인삼 및 서양삼(화기삼) 장기 투여에 의한 혈중 무기질 변화

- 연구목적: 혈액내 무기질은 체조직을 구성하고 혈액 및 체액의 분량 및 삼투압을 조절함. 고려인삼 및 서양삼(화기삼) 장기 투여에 의한 혈액 내 무기질의 변화를 분석하여 체온 변화에 영향을 미칠 수 있는 인자를 관찰함.

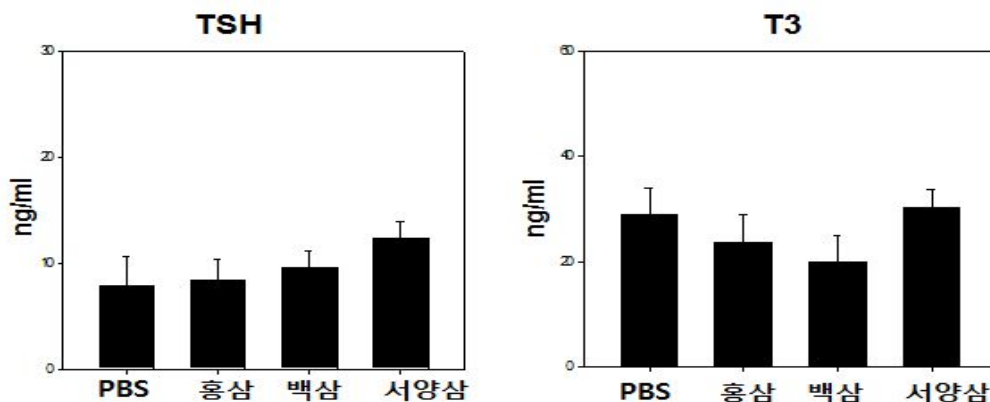


그림 421 혈중 무기질의 변화. Ca (왼쪽), Mg (오른쪽)

- 연구결과: 무기질 중 Ca 와 Mg의 변화량을 측정함. 인삼 장기투여에 의해 Ca 와 Mg량 혈액 중 변화는 관찰되지 않았음. 본 실험 결과 고려인삼 및 서양삼(화기삼) 장기 투여에 의한 무기질량의 변화 (특히 Ca, Mg)는 없음을 알 수 있음.

4) 고려인삼 및 서양삼(화기삼) 장기 투여에 의한 발열 cytokine 관찰 : 급성 감염등의 원인에 의해 발열 cytokine류인 TNF-a, IFN-g 및 interleukine류의 혈중 농도가 증가됨. 본 실험에서는 인삼을 4주 동안 투여한 후 (200 mg/kg) 대표적 발열 Cytokine 류인 TNF-a 및 INF-g의 변화를 관찰함.

- 연구결과: 고려인삼 및 서양삼(화기삼)을 투여한 후 혈중 발열 cytokine류의 유리량 변화를 측정한 결과 대조군 인삼 투여군 모두 혈중 발열 cytokine류의 혈중 농도가 매우 낮아 측정 범위 이하였음. 본 결과에 의해 고려 인삼 및 서양삼(화기삼) 장기 투여에 의해 cytokine류의 혈중 유리량에는 차이가 없으며 결과적으로 고려 인삼 및 화기삼은 체온상승 인자가 아님을 알 수 있음.

5) 혈중 알부민 변화관찰 : 혈장 단백질의 50-60 %를 차지하는 알부민은 발열에 중요한 인자인 체액의 삼투압을 조절하며 외부 독성물질을 중화시키는 역할을 함. 본 실험에서는 홍삼 백삼 및 서양삼(화기삼)을 4주간 투여 한 후 혈중 알부민의 농도를 측정함.

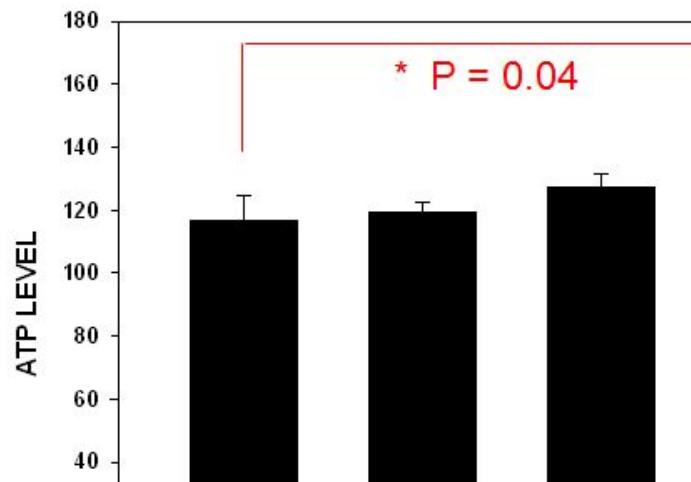


그림 422 인삼 장기 투여에 의한 혈중 알부민량 측정

연구결과: 4주간 인삼 투여에 의해 혈중 알부민 농도는 차이가 없음.

- 조직 중 발열 인자 발현 변화 관찰

- 연구목적: 고려인삼과 서양삼(화기삼)을 200 mg/kg의 농도로 4주간 투여하고 난 후 갈색 지방(brown adipose tissue) 및 근육(muscle)을 얻어 대사 및 발열에 관여하는 유전자의

발현 변화를 관찰함.

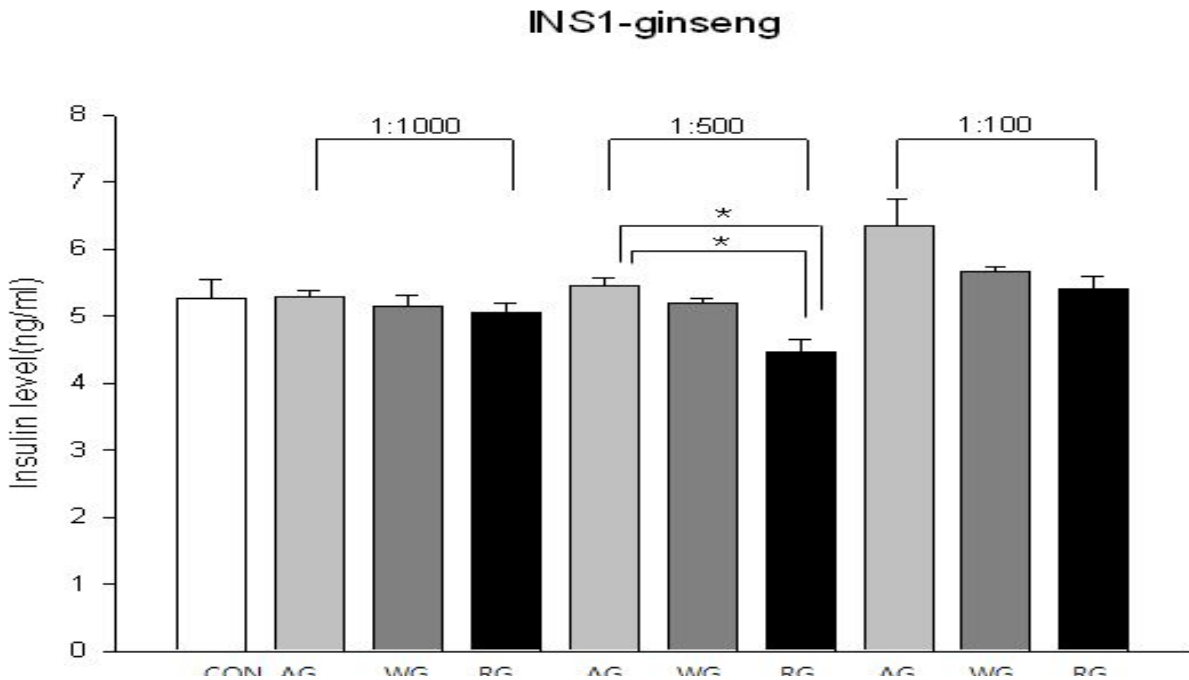


그림 423 갈색 지방(BAT) 및 근육조직에서 대사 및 발열관련 유전자 관찰

- 연구결과: 갈색지방에서 발현되는 대표적 발열관련 유전자인 UCP-1의 발현량은 서양삼(화기삼)에서 대조군 대비 다소 감소함. 홍삼 및 백삼 투여군에서는 유의적인 차이가 없었음. 갈색지방에서 대사 관련 유전자의 발현을 조절하는 전사인자인 PPAR γ 의 발현은 백삼과 서양삼(화기삼)에서 증가하였음. 근육조직에서 대사조절 전사인자인 PPAR α 의 발현량이 인삼 투여군에서 모두 증가하였으며 특히 홍삼 및 서양삼(화기삼) 군에서 증가하는 것으로 관찰 됨.

이상의 결과를 종합하면 홍삼, 백삼 및 서양삼(화기삼) 장기 투여에 의해 혈중 발열 cytokine 류 및 신경전달 물질등의 양에는 군별 차이가 없는 것으로 관찰됨. 또한 체온 및 대사등에 영향을 미치는 혈중 무기질 및 알부민 등에도 차이가 없는 것으로 관찰됨. 따라서 metabolic cage에서 측정한 체온 데이터, 혈압 변화 관찰, 발열인자 및 발열관련 유전자 관찰 결과 홍삼, 백삼 및 서양삼(화기삼) 장기 투여시 마우스의 체온변화에는 영향을 미치지 않음을 알 수 있음.

(4) 인삼추출물에 의한 세포 기능 및 에너지 대사 비교

- 세포정상기능 분석

- 연구목적: 서양삼(화기삼)과 고려인삼의 작용을 세포수준에서 관찰하기 위해서는 우선 인삼 추출물 자체가 세포의 정상작용을 유지시켜주는지를 확인하여야 하며 이를 통하여 인삼추출물의 적정처리 농도를 정할 수 있음. 이를 위하여 고려인삼과 서양삼(화기삼) 추출물을

다양한 농도(1:100, 1:500 및 1:1000)로 희석하여 insulin을 분비하는 INS-1 cell 과 MIN-6 cell에 적용한 후 24시간 배양하여 배지내에 분비된 인슐린 농도를 ELISA로 측정 하였음.

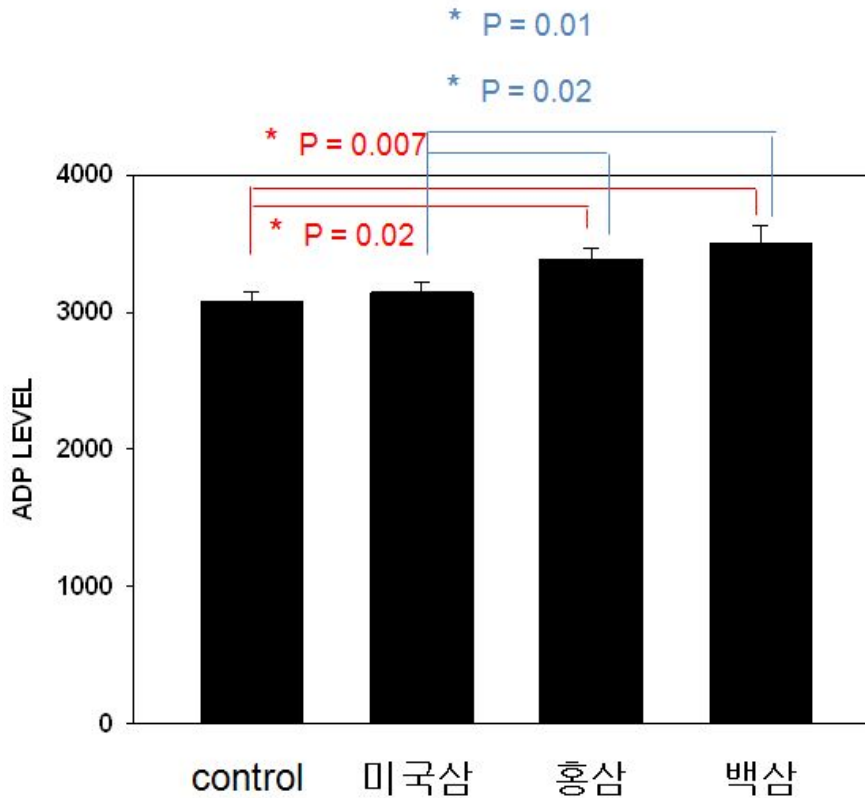


그림 424 베타세포주에서 인슐린 분비능에 인삼이 미치는 영향 관찰

- 연구결과: 서양삼(화기삼) 또는 고려인삼의 추출물은 인슐린 분비세포의 분비기능에 분별있는 영향을 미치지 않았음. 특히 인삼 추출물은 고농도 (1:100 또는 1:500) 보다는 저농도 (1:1000)에서도 인슐린 분비를 방해하지 않는 것으로 나타났음. 이상의 결과로 차후의 실험에서 인삼의 추출물이 세포의 정상기능을 유지시켜주면서 에너지 대사 및 미토콘드리아의 변화를 관찰할 수 있다는 판단을 할 수 있게 되었고, 특히 저 농도의 추출물에 의한 변화가 고농도 처리에 의한 변화보다 더 신뢰할 수 있는 결과를 도출할 것이라는 결론을 얻을 수 있었음.

- 인삼추출물에 의한 세포내 에너지 생산 비교연구

- 연구목적: 서양삼(화기삼)과 고려인삼에 의한 세포내 에너지 생산의 변화를 세포수준에서 관찰하기 위해서 서양삼(화기삼) 과 고려인삼(백삼 및 홍삼)추출물을 베타세포주에 처리시킨 후 나타나는 ATP및 ADP synthase의 양적 변화와 ATP/ADP 비율의 변화를 측정하는 연구를 수행하였음.

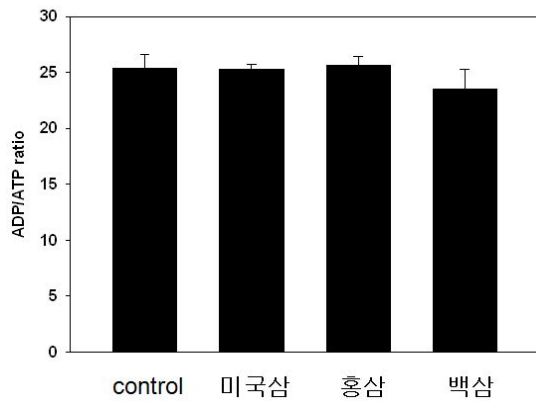


그림 425 INS-1 cell에 인삼 추출물을 1:1000으로 24시간 처리 후 ATP농도

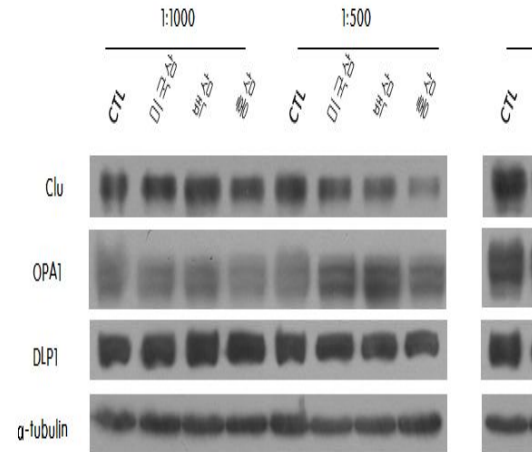


그림 426 INS-1 cell에 인삼 추출물을 1:1000으로 24시간 처리 후 ADP농도

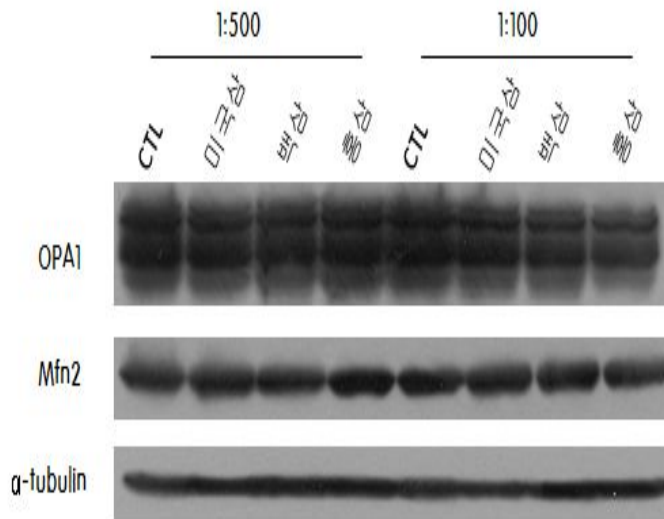


그림 427 INS-1 cell에 인삼 추출물을 1:1000으로 4시간 처리 후 ADP/ATP ratio

- 연구결과: 서양삼(화기삼) 또는 고려인삼의 추출물이 세포내의 ATP생산으로 만 보면 백삼의 경우 무처리 대조군에 비하여 ATP 생성이 다소 증가하는 것으로 나타났고, ADP의 생성으로 만 볼 때도 서양삼(화기삼)이나 고려인삼(홍삼 및 백삼)이 의미 있게 증가하고 있는 것처럼 보임. 그러나 이들의 ADP/ATP 비율을 보면 대조군과 인삼추출물 사이의 차이 뿐 아니라 화기삼과 고려인삼 사이의 차이도 나타나지 않음. 이는 ATP나 ADP의 생성에서 나타나는 차이는 ADP-ATP생성과정에서 나타나는 착시현상으로 실제 에너지 생산의 차이는 없다는 결론을 얻을 수 있음.

- 인삼추출물에 의한 미토콘드리아 단백질의 발현변화

- 연구목적: 미토콘드리아는 세포에서 에너지를 발생시키는 중요한 세포소기관으로 세포전체

의 1/4정도를 점유하고 있으며, 그 활성정도에 따라 구조 (수, 크기 및 모양)가 변화 (mitochondrial dynamics)함. 이때 미토콘드리아는 융합 (fusion)과 분리(fission)이라는 과정을 거쳐 크기와 수를 변화시키며, 기능향상 또는 기능상실의변화가 나타남. 본 연구에서는 서양삼(화기삼)과 고려인삼이 세포내 미토콘드리아의 역동성변화를 유도하는 단백질의 변화를 관찰하였음. 이를 위하여 서양삼(화기삼)과 고려인삼 (백삼 및 홍삼)추출물을 베타세포주에 처리시킨 후 나타나는 fusion protein (OPA1 및 Mfn2) 와 fission protein (DLP1)의 변화를 western blot 으로 분석하였음.

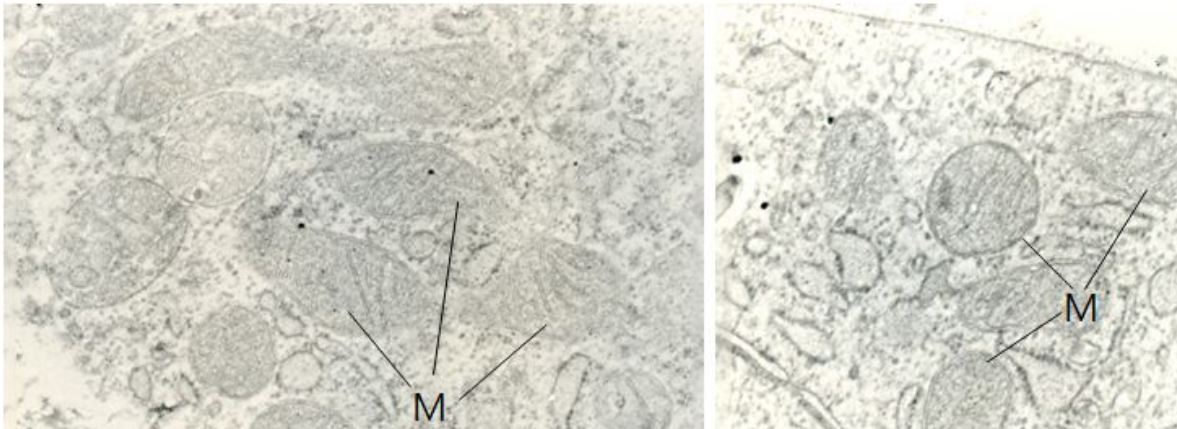


그림 428 INS-1 cell에 인삼 추출물 처리 후 단백질 변화

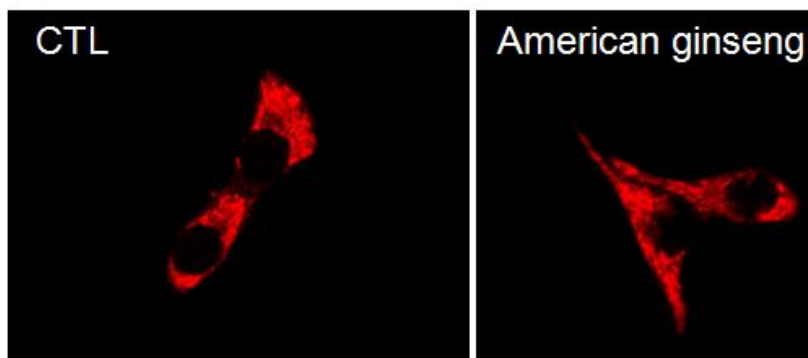


그림 429 분화시킨 3T3-L1-adipocyte에 인삼 추출물 처리 후 단백질의 변화

- 연구결과: 서양삼(화기삼) 또는 고려인삼의 추출물이 세포내의 미토콘드리아의 역동성을 유발시키는 fusion protein (OPA1 및 Mfn2)는 물론 fission protein (DLP1)의 발현에도 영향을 미치지 않는 것으로 나타났음. 이는 서양삼(화기삼)과 고려삼 모두 미토콘드리아의 역동성에는 의미 있는 변화를 일으키지 않으며, 이에 따라 미토콘드리아의 수와 형태도 차이를 보이지 않을 것으로 판단됨.

- 인삼추출물에 의한 미토콘드리아 미세구조변화

- 연구목적: 미토콘드리아는 세포에서 에너지를 발생시키는 중요한 세포소기관으로 기능성

및 활성화에 따라 미세구조의 변화가 나타남. 서양삼(화기삼)과 고려인삼이 세포내 미토콘드리아 미세구조의 변화를 관찰하기 위하여 화기삼 과 고려인삼(백삼 및 홍삼)추출물을 베타세포주에 처리시킨 후 나타나는 미세구조의 변화를 전자현미경으로 관찰함.

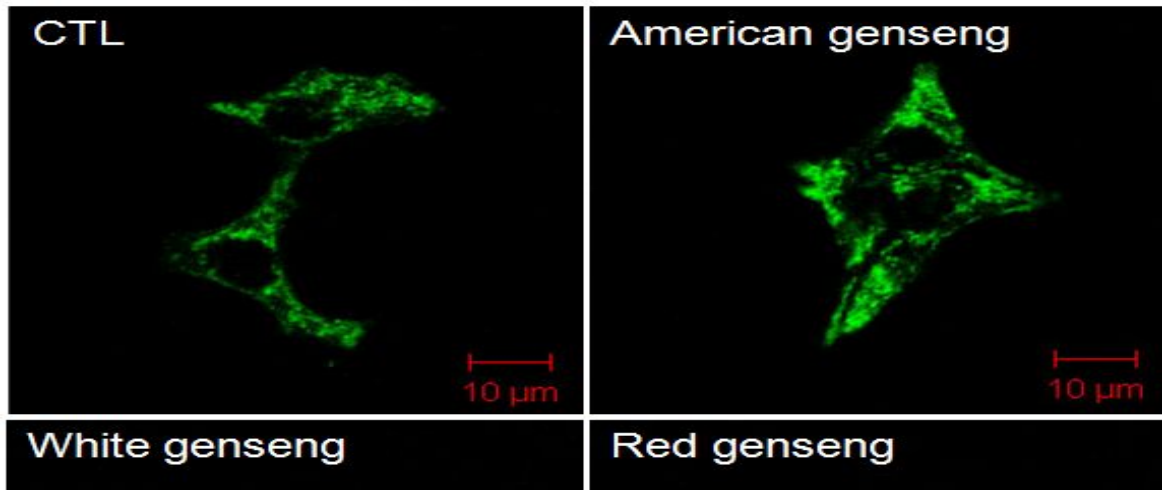


그림 430 INS-1 cell에 인삼 추출물 처리후 미토콘드리아 (M)의 미세구조변화

- 연구결과: 현재 실험이 진행 중이나 서양삼(화기삼) 또는 고려인삼의 추출물이 세포내의 미토콘드리아의 미세구조에는 영향을 미치지 않는 것으로 나타남. 이는 서양삼(화기삼) 과 고려삼 처리군 모두 미토콘드리아의 미세구조에는 영향을 미치지 않음. 이는 추후 관찰을 통하여 더 검증할 것임.

(5) 인삼이 미토콘드리아에 미치는 영향을 in vitro 및 in vivo 에서 평가

- 미토콘드리아 기능에 미치는 인삼의 영향 관찰

1) 간세포의 미토콘드리아 미치는 영향 관찰

세포내 소기관인 미토콘드리아는 에너지 대사 및 체열 조절에 중요한 역할을 담당함. 산화적 인산화 과정을 통하여 아데노신삼인산(ATP)를 생성하여 에너지 대사를 조절하며 언커플링이라는 단계를 통해 발열 반응을 일으킴. 따라서 미토콘드리아 기능 조절은 인체의 대사 조절, 질병 유발 및 체열 반응 조절에 중요한 역할을 담당함.

Body temperature

Boo

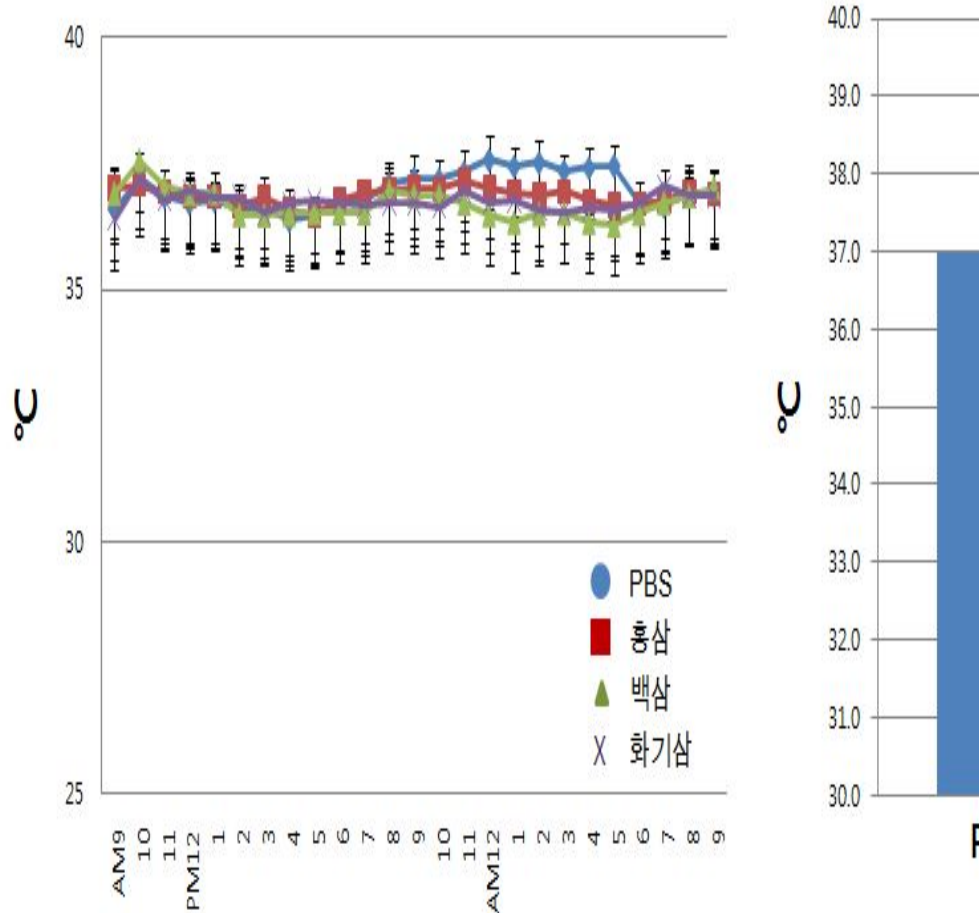


그림 431 간 세포주에 홍삼, 백삼 및 서양삼(화기삼) 투여 후 미토콘드리아 기능 및 발열 등에 관여하는 유전자 관찰 (홍: 홍삼, 백: 백삼, 서: 서양삼(화기삼), Res: resveratrol, 통계적 유의성은 대조군 대비, RE)

- 실험결과: Carnitine palmitoyltransferase I (CPT1) 은 미토콘드리아 outer membrane에 존재하며 지방산의 대사에 관여함. 따라서 CPT1a의 이상은 당뇨병과 같은 대사 질환과 밀접한 관련이 있음. 본 실험 결과 백삼과 서양삼(화기삼) 군에서는 유의적인 발현 증가가 관찰됨. PGC1은 미토콘드리아 생합성을 조절하는 중요한 유전자임. 본 실험 결과 홍삼과 백삼군에서 유의적인 발현 변화를 관찰하였음. 체열반응에 관여하는 UCP2의 발현에는 인삼 처리군 모두에서 유의적인 발현 변화를 관찰할 수 없었음. 미토콘드리아 기능, 대사 및 노화에 영향을 미치는 유전자인 SIRT1은 홍삼 처리시 증가 경향을 보였고 백삼과 서양삼(화기삼) 군에서는 유의적인 mRNA 증가를 관찰하였음. 이상의 결과를 종합하면 인삼 처리군에서 영향을 미치는 유전자는 달랐지만 미토콘드리아의 기능을 향상 시키는 유전자의 발현이 증가하였고 이는 홍삼, 백삼 및 서양삼(화기삼) 처리시 미토콘드리아의 기능이 향상될 수 있음을 시사함. 하지만 체열에 관여하는 유전자의 발현에는 세 인삼이 모두 영향을 미치지

지 않음.

2) 미토콘드리아의 에너지 대사능 측정

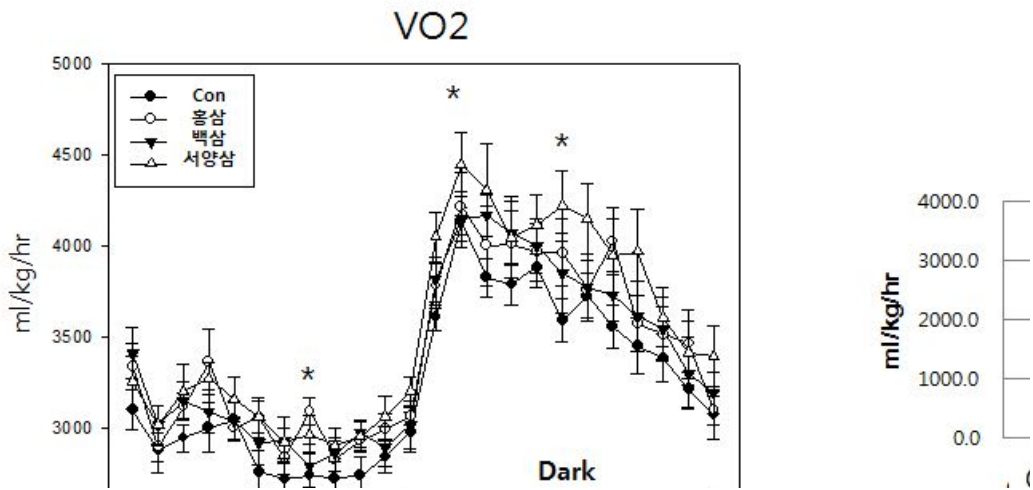


그림 432 XF analyzer의 실험 흐름 모식도

XF 분석기는 세포를 특수 plate에 seeding 하고 난 후 기계에 넣어주면 실시간으로 세포의 호흡량을 측정해주는 기기임. 미토콘드리아의 기능을 측정하기 위해 ATP coupler인 oligomycin을 투여하면 세포의 호흡량은 감소하게 되며 ETC accelerator (electron transport chain)활성화 제인 FCCP를 처리하게 되면 세포의 호흡량은 증가하게 되고 coupling 효율을 측정 할 수 있음. 또한 최대 호흡 후에 미토콘드리아 억제제인 antinomycin 및 rotenone 을 처리하게 되면 spare respiratory capacity를 구할 수 있는데 이 spare respiratory capacity는 세포가 외부 스트레스로부터 방어할 수 있는 에너지를 제공하는데 중요한 역할을 담당함. XF 분석기를 사용하여 인삼이 미토콘드리아 기능에 실질적으로 미치는 영향을 분석함.

- 실험결과: basal respiration 은 기초 호흡량으로 mitochondria 대사능을 나타내는 지표임. 본 실험 결과 세 인삼 투여군 모두에서 basal respiration 이 증가되었음을 관찰함. 외부 스트레스에 대항하는 능력을 나타내는 spare respiration 은 홍삼 100 ug/ml 투여군에서만 유의적으로 증가하였음. electron transport chain accelerator을 첨가하였을 때 홍삼과 백삼군에서는 유의적인 증가를 관찰하였고 서양삼(화기삼) 군은 증가하는 경향을 보였으나 유의적이지는 않았음. 이상의 결과를 종합하면 홍삼, 백삼 및 서양삼(화기삼)을 투여하게 되면 미토콘드리아 기능이 향상됨을 알 수 있음. 특히 홍삼의 경우 외부 스트레스에 대항하는 미토콘드리아의 기능을 더욱 강화해 줄 수 있다는 결과를 얻음.

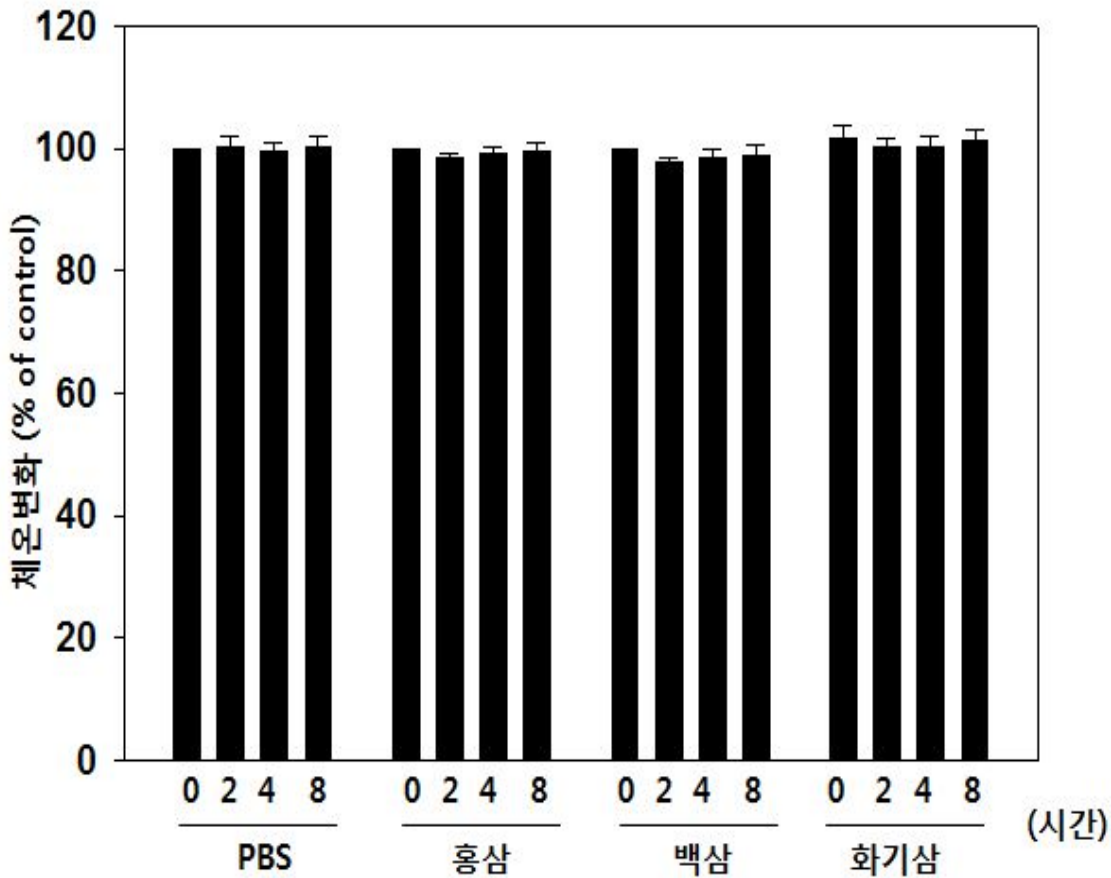


그림 433 XF분석기기를 이용한 미토콘드리아 기능 관찰

3) 근육세포내 미토콘드리아에 인삼이 미치는 영향 관찰

근육세포는 에너지 대사에 중요한 역할을 담당하는 장기임. 본 실험에서는 C2C12를 근육세포로 분화 시킨 후 인삼을 처리하여 근육세포내 미토콘드리아 기능에 인삼이 미치는 영향을 실험함.

- 실험결과: 근육 세포주에서 인삼처리에 의해서 미토콘드리아 기능에 영향을 미치는 유전자인 UCP2, UCP3, PGC1 및 SIRT의 mRNA 발현 변화를 관찰 한 결과 발현에는 인삼 처리군 모두 별다른 영향을 미치지 않음. CPT1a의 경우 백삼과 서양삼(화기삼) 처리 군에서 유의적인 유전자 발현 변화를 관찰함. 이상이 결과 in vitro 실험에서는 근육 세포내 미토콘드리아의 기능에 영향을 미치는 유전자 군에는 인삼의 영향이 미약함을 알 수 있음.

4) 근육세포내 citrate synthase활성에 인삼이 미치는 영향 관찰

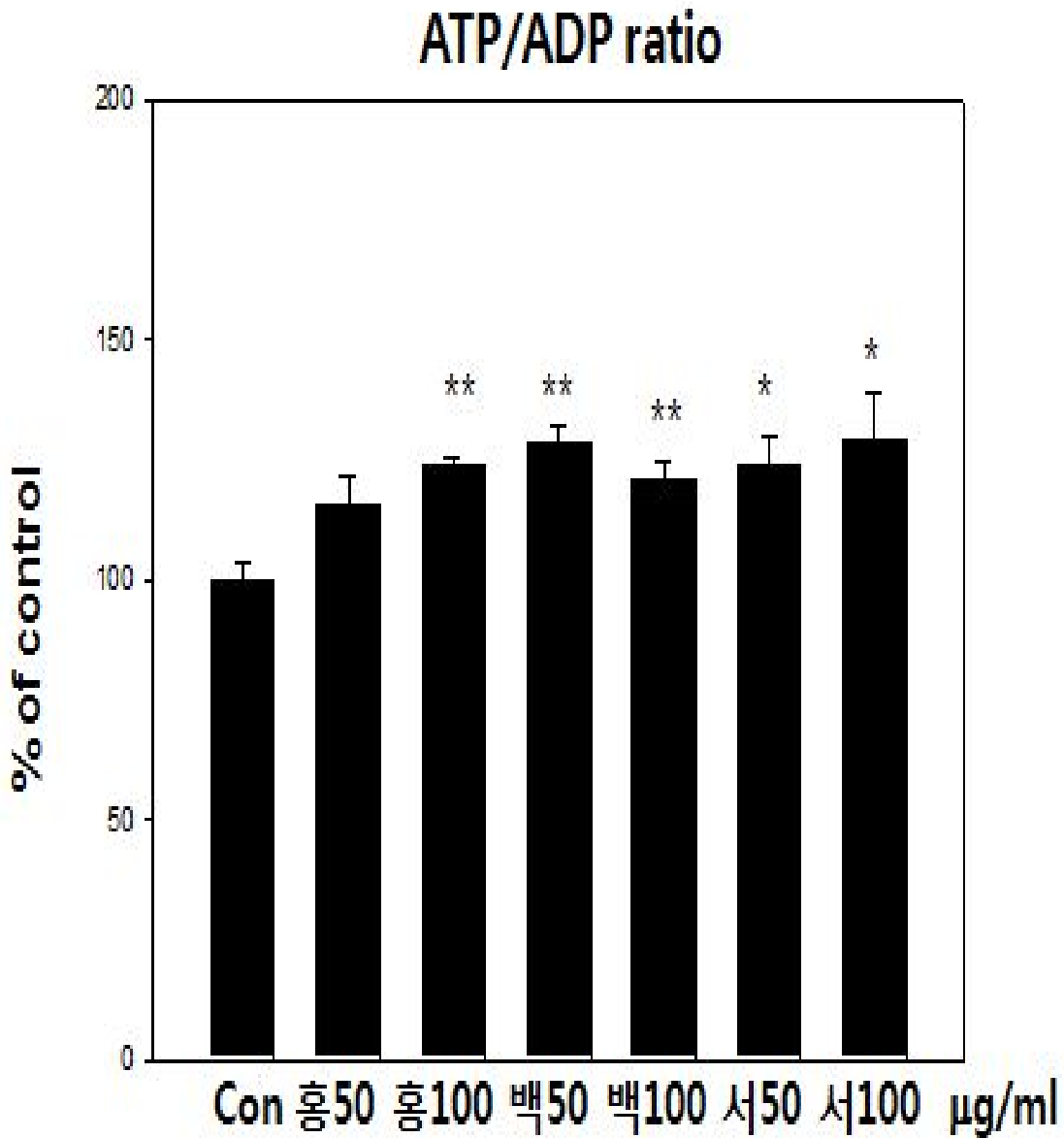


그림 434 근육세포주인 C2C12 세포에 인삼을 처리하고 난 후 미토콘드리아 기능에 영향을 미치는 유전자 발현을 관찰함.

- 실험목적: citrate synthase는 미토콘드리아내에서 Acetyl-coA와 oxaloacetate 가 결합하여 citrate로 변환하는 것을 조절하는 효소임. 따라서 citrate synthase 효소의 활성 증가는 미토콘드리아 기능 향상의 중요한 지표가 됨. 본 실험에서는 근육 세포주를 분화하고 난 후 인삼을 처리하고 citrate synthase의 활성을 관찰하여 미토콘드리아 에너지 대사에 인삼이 미치는 영향을 관찰함.

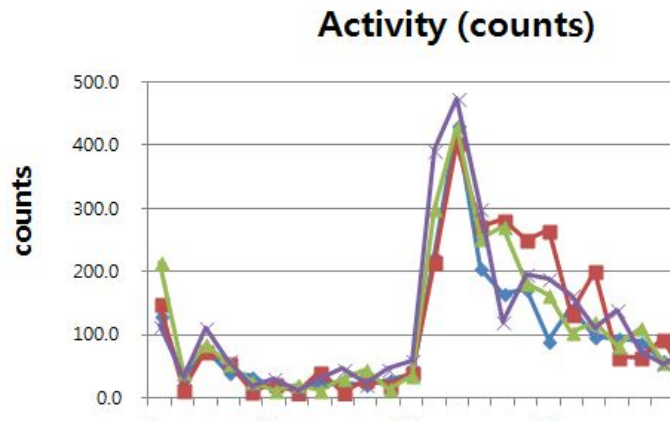
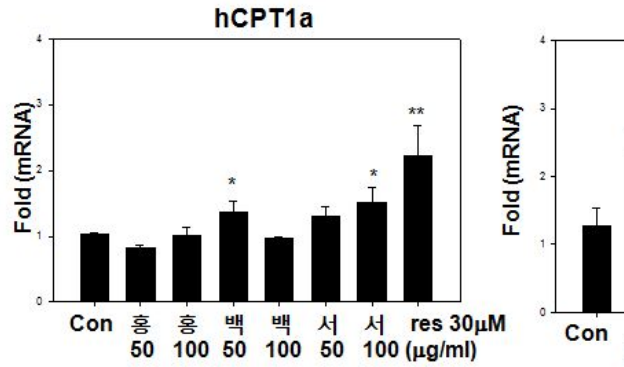


그림 435 근육 세포주에 인삼을 처리하고 난 후 citrate synthase 의 활성을 관찰함.

- 실험결과: citrate synthase의 활성을 관찰한 결과 홍삼은 50, 100 ug/ml 에서 백삼은 100 ug/ml, 서양삼(화기삼)은 50 ug/ml의 농도에서 citrate synthase의 활성이 증가하였음. citrate synthase의 실험 결과 인삼 처리시 미토콘드리아내 TCA cycle의 향상되고 이로 인해 에너지 생산이 증가될 수 있음을 시사함.

5) 근육세포내 ATP/ADP ratio 에 인삼이 미치는 영향 관찰

- 실험목적: 미토콘드리아의 에너지 대사 향상은 ATP 생성량을 증가시킴. 본 실험에서는 근육 세포주에 인삼을 처리하고 난 후 ATP/ADP ratio를 관찰하여 미토콘드리아 기능 향상 여부를 평가함.
- 실험결과: 홍삼 백삼 및 서양삼(화기삼)을 투여한 군 모두 ATP/ADP ratio가 증가되었음. 이상의 실험 결과 인삼 종류와 상관 없이 인삼을 투여 한 군 모두에서 에너지 생산이 증가 되는 것을 알 수 있음.



hCytB

그림 436 근육 세포주에 인삼을 처리하고 난 후 ATP/ADP ratio를 측정함.

- 동물 모델에서 체온 변화 및 미토콘드리아 기능에 인삼이 미치는 영향 관찰

1) metabolic cage를 이용하여 인삼 투여에 의한 체온 변화평가

- 실험목적: 인삼을 200 mg/kg의 농도로 단회 투여시 혈액량의 증가 및 체온의 변화가 관찰 되었다는 기존 문헌보고에 따라 본 실험에서는 인삼을 200 mg/kg의 농도로 단 회 투여 하 고 난 후 쥐의 에너지 대사 및 체온 변화를 관찰함. 또한 근육 및 간세포에서 미토콘드리아 기능에 영향을 미치는 인자의 변화를 관찰하여 인삼에 의한 전반적인 에너지 대사능을 평 가함. 쥐에 (ICR mouse)실험 일주일전 체온 chip을 이식하고 회복시킨 후 측정 12 시간전 metabolic cage에 이동시켜 안정화 함. 아침 8시에 측정을 시작하고 아침 9시 200 mg/kg 의 용량으로 인삼을 단회 투여함.

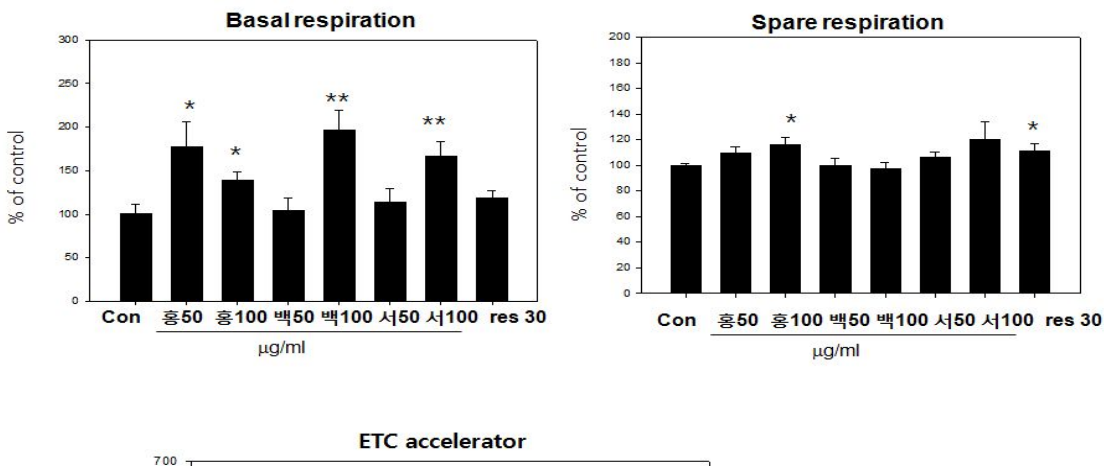


그림 437 ICR 마우스를 metabolic cage에 넣고 인삼을 200 mg/kg의 농도로 단회 투여 하고 난후 실시간으로 core temperature (왼쪽)을 측정하고 24시간 평균값으로 표시함 (오 른쪽)

2) 인삼 투여에 의한 대사능을 평가

- 실험결과: 홍삼 투여 후 1-2 시간 후 체온이 유의적으로 상승함. 서양삼(화기삼) 투여군에서는 8-9시간 후 일시적으로 체온 저하가 관찰 됨. 홍삼에 의한 일시적 체온 증가 현상에 대해서는 차 후 실험을 반복하여 보다 정확한 결과를 얻을 예정임. 또한 이시간 혈액량등에 미치는 영향을 관찰하여 결과를 좀더 객관화 할 예정임. 그러나 24시간 평균 체온 값에서는 인삼 투여군에 의한 체온 변화를 관찰하지 못함. 이상의 결과로 홍삼 및 서양삼(화기삼) 투여에 의해 일시적으로 체온이 변화할 수 있으나 평균적인 체온은 유지되는 되는 것을 관찰 할 수 있음.

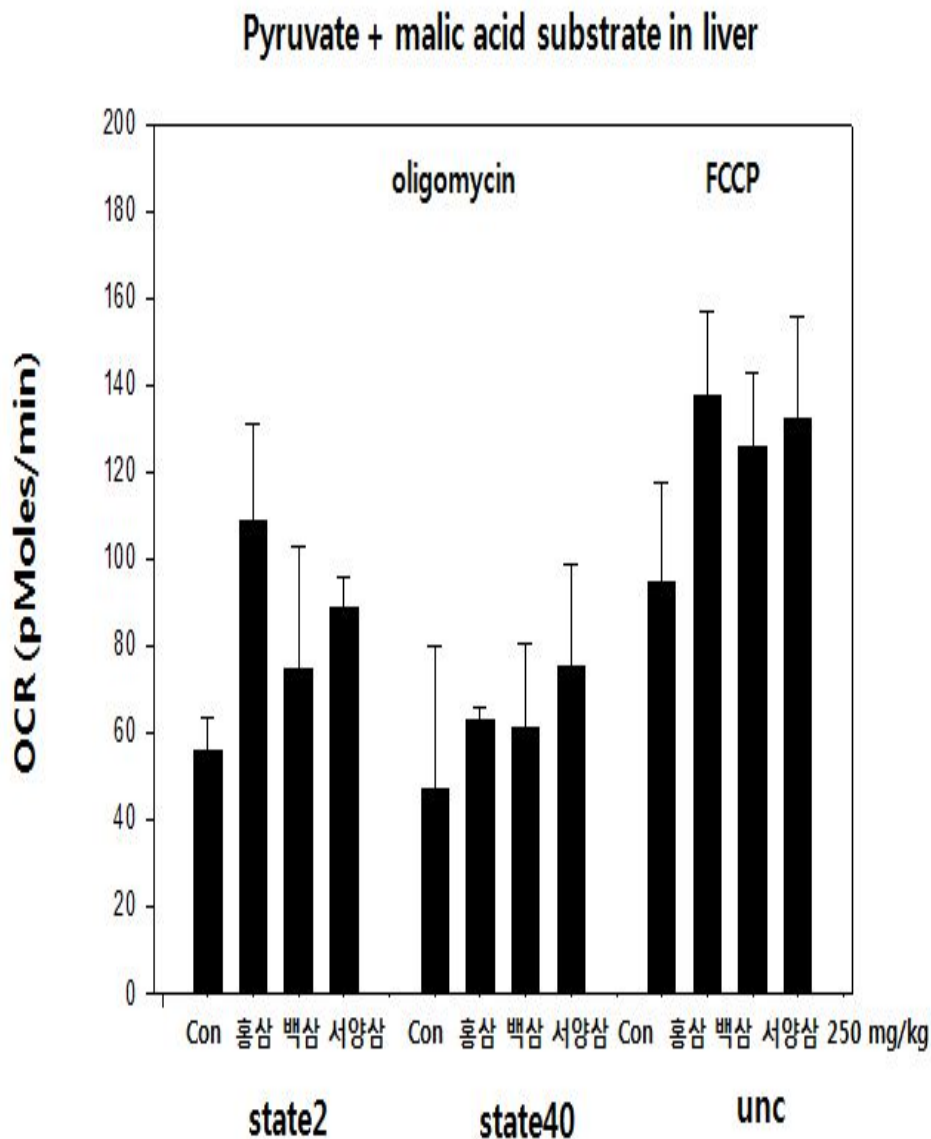


그림 438 산소 소비량 및 이산화 탄소 배출량을 실시간 (왼쪽) 으로 측정 한 후 24시간 평균량 (오른쪽) 으로 표시함. 인삼은 아침 9시에 세군 모두 200 mg/kg의 농도로 투여함

- 실험결과: metabolic cage에서 산소 소비량 및 이산화 탄소 배출량을 측정하여 인삼 투여에 의한 에너지 대사능을 관찰 해본 결과 산소 소비량이 서양삼(화기삼) 투여시 일시적으로 증가하는 현상을 관찰함. 그러나 산소 소비량, 이산화 탄소 배출량 및 RER의 24시간 평균 값에는 3가지 인삼 모두 별 차이가 없었으며 산소 소비량을 이산화 탄소로 나눈 값인 RER 값도 실시간 분석 결과에는 세 인삼군 모두 별 차이가 없었음. 서양삼(화기삼) 투여에 의해 일시적으로 산소 소비량도 증가하였지만 이산화 탄소량도 같이 증가했기 때문에 RER값은 차이가 없는 것으로 사료됨. 산소 소비량 증가의 원인에 대해서는 추후 실험이 필요함.

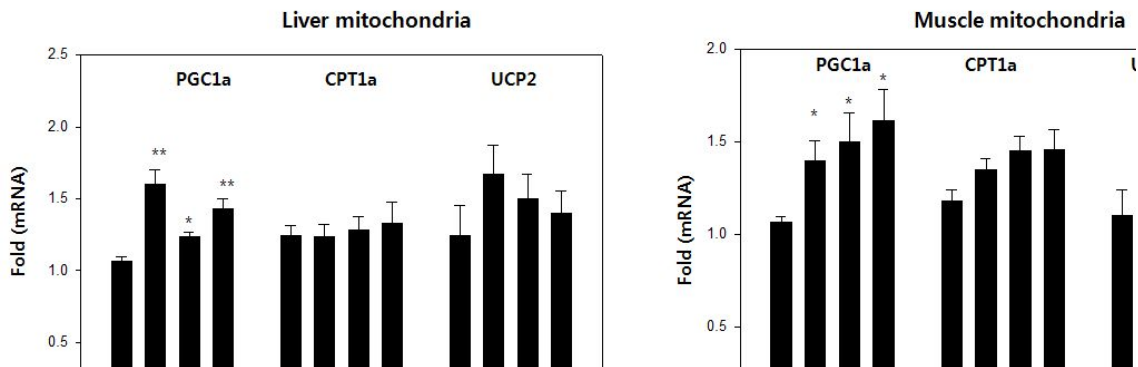


그림 439 인삼 단회 투여에 의한 activity 및 energy expenditure 변화 관찰

- 실험결과: 인삼 투여에 의한 activity 및 energy expenditure는 그룹 간 유의적 차이를 관찰 할 수 없었음. 이상의 결과 인삼에 투여에 의해 활동성 및 에너지 소비량은 변화가 없다는 사실을 알 수 있음.

3) 공복 스트레스를 준 쥐에 인삼을 투여하여 인삼의 미토콘드리아 미치는 영향 평가

- 실험목적: 인삼 투여에 의해 간 조직 및 근육 조직내 미토콘드리아의 citrate synthase의 활성을 관찰하여 실제 in vivo 상에서 인삼이 미토콘드리아 기능에 미치는 영향을 평가하고자 함. 공복을 14시간 유지하여 공복 스트레스를 유발하고 난 후 인삼을 각각 200 mg/kg의 농도로 단회 투여하고 난 후 간과 근육의 미토콘드리아를 분리하여 citrate synthase 활성도를 평가함.

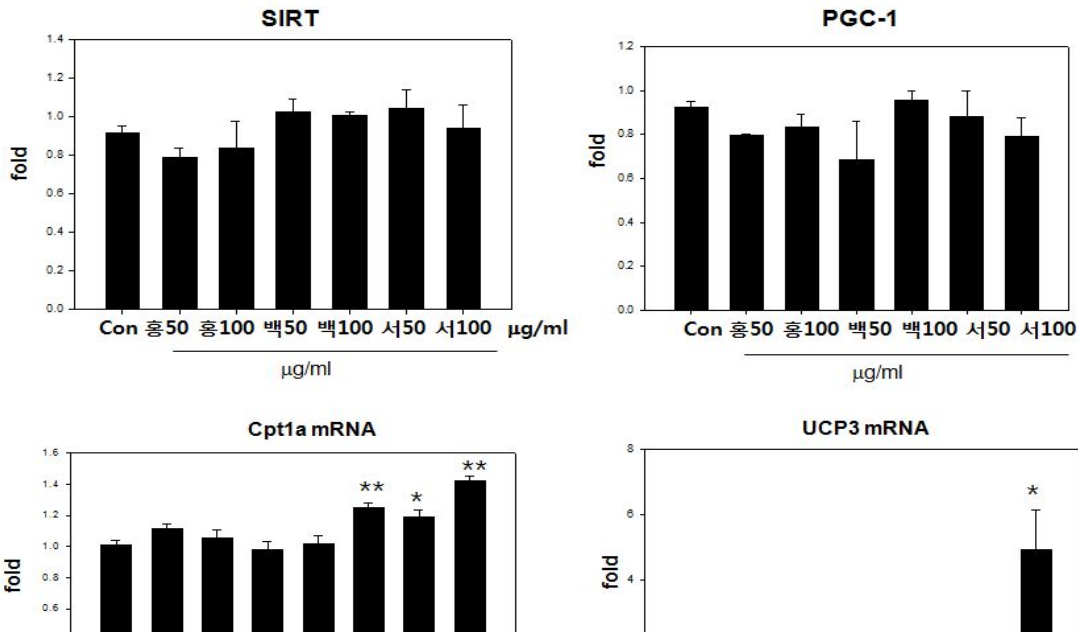


그림 440 실험 방법 (위), 간조직의 미토콘드리아를 분리 하고 난 후 citrate synthase의 활성을 관찰함 (왼쪽). 근육조직내 미토콘드리아 citrate activity를 관찰함 (오른쪽).

- 실험결과: 인삼 투여에 의해 간 조직내 미토콘드리아 에서는 백삼 투여군 에서 citrate synthase 활성이 증가 되는 경향을 보이나 통계적으로 유의적이지 않음. 근육의 미토콘드리아 경우 서양삼(화기삼) 투여에 의해 유의적으로 citrate synthase 활성이 증가함. 백삼 투여군은 증가하는 경향은 보이나 유의적이지 않음. 이상의 결과 백삼 및 서양삼(화기삼) 단회 투여에 의해 간 및 근육의 미토콘드리아의 활성이 증가 할 수 있음을 시사함.

4) 인삼 단회 투여에 의한 간내 미토콘드리아 기능 향상 여부 관찰

- 실험목적: 인삼을 투여한 쥐의 간을 분리하고 난 후 미토콘드리아를 얻어 특수 plate에 seeding 한 후 외부에서 기질로 활용할 수 있는 pyruvate 및 malate를 첨가하고 미토콘드리아 기능을 인위로 조절하는 oligomycin 및 FCCP 등을 처리하여 미토콘드리아 stage별 기능을 XF 분석기기를 이용하여 평가함. 이는 인삼 단회 복용에 따른 미토콘드리아 기능 향상 여부를 평가 하고자 함.

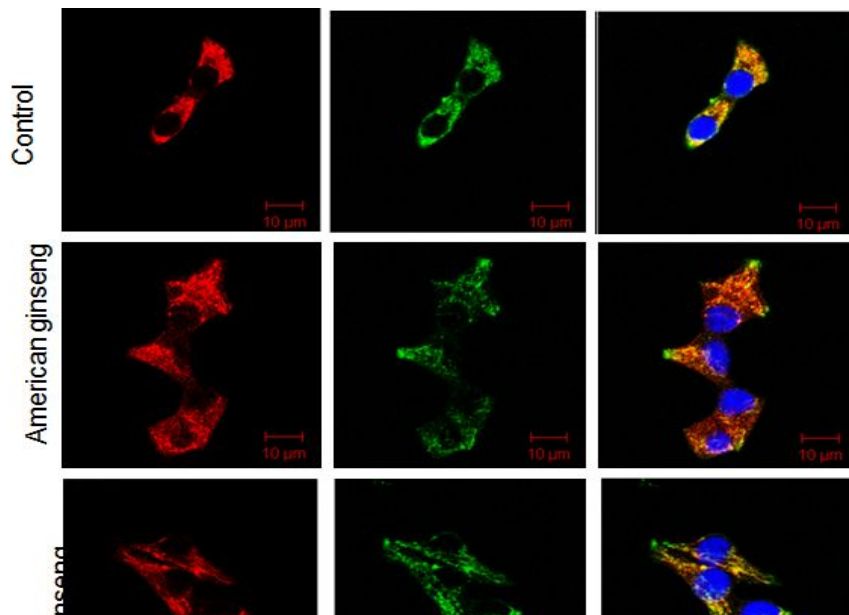


그림 441 인삼투여 후 동물의 간에서 미토콘드리아를 분리하고 난 후 기질 투여에 따른 OCR의 변화를 XF분석기를 이용하여 실시간으로 측정함.

- 실험결과: 인삼 단회 투여 후 기초 대사량 및 uncoupler 에 의한 반응이 홍삼 및 서양삼(화기삼) 투여 군에서 증가하는 경향이 보임. 하지만 통계적인 유의성을 관찰 할 수 없었음. 본 실험 결과는 반복 실험을 통해 많은 수의 동물 데이터를 얻어 결과를 좀더 확고히 할 예정임. 본 실험 결과 홍삼 및 서양삼(화기삼) 투여에 의해 동물모델에서 미토콘드리아의 기능이 향상 될 수 있음을 시사함. 그러나 그룹간의 차이를 관찰 하기는 어려움.

5) 인삼 투여에 의한 간 및 근육내 미토콘드리아의 대사 및 기능에 관여하는 유전자 발현 관찰

- 실험목적: 인삼 투여에 의해 간 및 근육의 미토콘드리아의 기능이 향상되는지 여부를 평가하기 위해 공복을 14시간 유지하여 스트레스를 유발한 동물에 인삼을 200 mg/kg의 농도로 단회 투여하고 난 후 6시간 후 간 및 근육을 얻어 미토콘드리아를 분리함. 분리한 미토콘드리아내 유전자 발현 변화를 qRT-PCR 방법을 활용하여 관찰함.

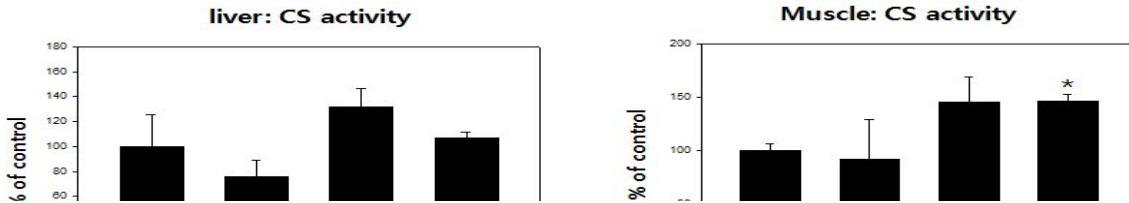


그림 442 인삼 투여에 의한 미토콘드리아의(간: 왼쪽, 근육: 오른쪽) 유전자 발현 관찰

- 실험결과: 공복 스트레스를 유발 하였을 경우 인삼 투여에 의해 간내 PGC1a의 mRNA의 수준이 홍삼, 백삼 및 서양삼(화기삼)을 투여하였을 경우 유의적으로 증가하였음. 근육의 경우 PGC1a의 mRNA량이 유의적으로 증가하였으며 CPT1a 및 UCP2 mRNA량도 증가하는 경향을 보였음. 이상의 결과 공복 스트레스 상황에서 인삼의 투여는 간 및 근육내 미토콘드리아의 기능을 향상 시킬 수 있는 유전자의 발현을 조절할 수 있음을 시사함.

(6) 지방세포 및 인슐린분비세포에서의 에너지 생성 비교완성

세포소기관인 미토콘드리아는 세포가요구하는 에너지의 대부분을 생산하는 주요기관임. 또한 미토콘드리아는 자신의 DNA(mitochondrial DNA)를 가지고 있어 에너지 합성에 필요한 단백질과 자신의 기능을 조절하는 여러 단백질 생산함. 여기에서는 세포내 에너지발생의 변화가 많은 지방세포와 인슐린분비세포에서 서양삼(화기삼)과 고려인삼에 의한 세포내 에너지 생산의 변화를 관찰하기 위해서 화기삼 과 고려인삼(백삼 및 홍삼)추출물을 베타세포주에 처리시킨 후 나타나는 ATP및 ADP synthase의 양적 변화와 ATP/ADP 비율의 변화를 완성함. 또한 mitochondria의 역동성기능(mitochondrial dynamics)을 조절하는 단백질의 변화 차이를 관찰 하였음

1) 지방세포에서의 에너지 생성비교

- 실험목적: 지방세포는 에너지 대사를 관찰하는데 매우 효과적인 세포임. 본 연구에서는 fibroblast로부터 분화 시킨 지방세포에 화기삼 과 국내산 백삼 및 홍삼 추출물을 처리하여 나타나는 ATP및 ADP synthase의 양적 변화와 ATP/ADP 비율을 다음과 같이 관찰하였 음.

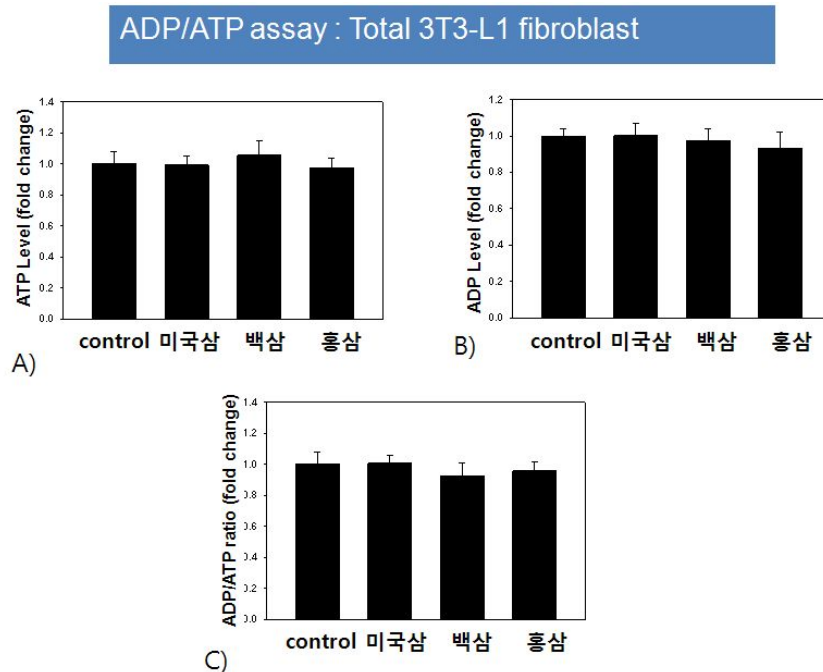


그림 443 분화된 지방세포 에 인삼 추출물을 1:1000으로 24시간 처 리 후 ATP농도 (A), ADP농도(B) 와 ADP/ATP ratio (C)

- 실험결과: 세포에 화기삼(미국삼), 백삼 및 홍삼을 처치한 실험군에서의 ATP 및 ADP생성 과 ADP/ATP ratio는 아무런 처치를 하지 않은 비교군과 차이를 보이지 않았고 화기삼(미 국삼), 홍삼 및 백삼처치군 사이에서도 통계적으로 유의한 차이를 나타내지 않았음.

2) 베타세포에서의 에너지 생성비교

- 실험목적: 인슐린 분비하는 베타세포는 에너지대사를 조절하는 인슐린을 분비하는 내분비 세포로 미토콘드리아의 분포와 기능이 활발한 세포임. 본 연구에서는 에 화기삼(미국삼)과 국내산 백삼 및 홍삼 추출물을 베타세포주인 MIN6 세포에 처리하여 나타나는 ATP 및 ADP synthase의 양적 변화와 ATP/ADP 비율을 다음과 같이 관찰하였음.

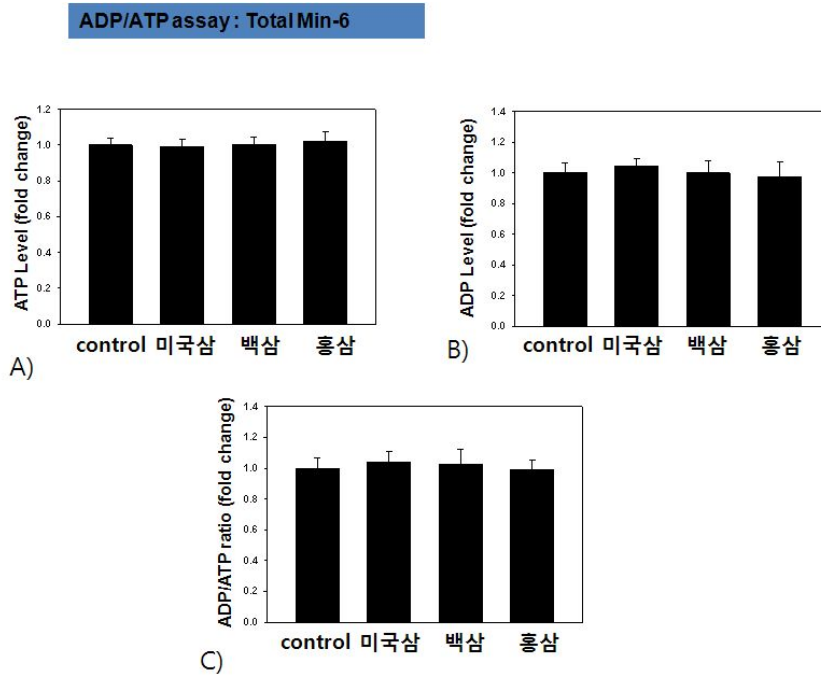


그림 444 MIN6 베타세포에 인삼 추출물을 1:1000으로 24시간 처리 후 ATP농도 (A), ADP농도(B) 와 ADP/ATP ratio (C)

- 실험결과: 지방세포에서와 마찬가지로 세포에 화기삼(미국삼), 백삼 및 홍삼을 처치한 실험군에서의 ATP 및 ADP생성과 ADP/ATP ratio는 아무런 처치를 하지 않은 비교군과 차이를 보이지 않았고 화기삼(미국삼), 홍삼 및 백삼처치군 사이에서도 통계적으로 유의한 차이를 나타내지 않았음.

3) 미토콘드리아의 역동성 생성비교

- 실험목적: 세포내 에너지(승열) 생성기관인 미토콘드리아는 자체기능을 유지하기위하여 계속적으로 융합(fusion)과 분리(fission)을 계속하며 자신의 크기와 수를 조절하며, 최종적으로는 autophage로 소멸됨. 본 연구에서는 인슐린분비세포에서 서양삼(화기삼)과 고려인

INS-1 (III)

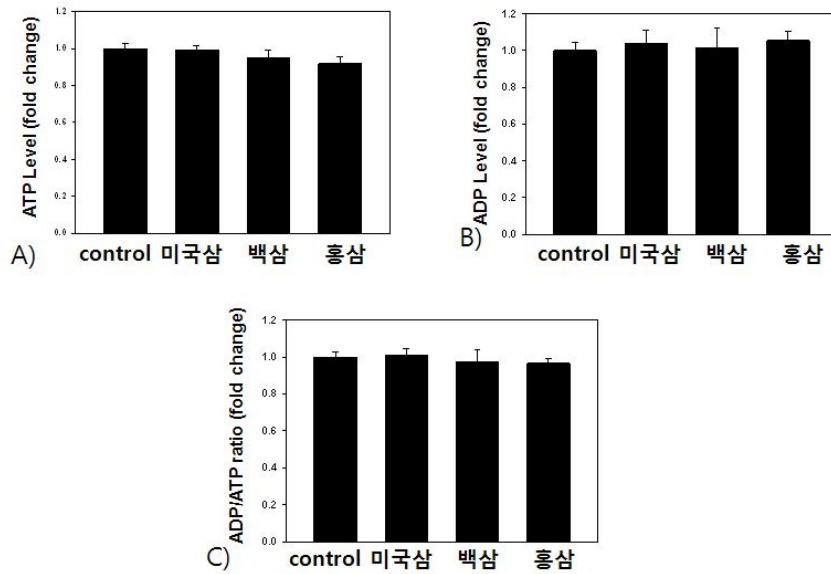


그림 445 INS-1 베타세포에 인삼 추출물을 1:1000으로 24시간 처리 후 ATP농도 (A), ADP농도(B) 와 ADP/ATP ratio (C) 삼에 의한 미토콘드리아의 변화를 관찰하기 위해서 화기삼(미국삼) 과 고려인삼(백삼 및 홍삼)추출물을 베타세포주에 처리시킨 후 나타나는 mitochondria의 역동성과 autophage 의 변화를 비교하였음.

- 세포내 미토콘드리아의 융합 (OPA-1) 과 분리(Drp-1) 및 autophage 표지단백질 (LC3-B)의 변화

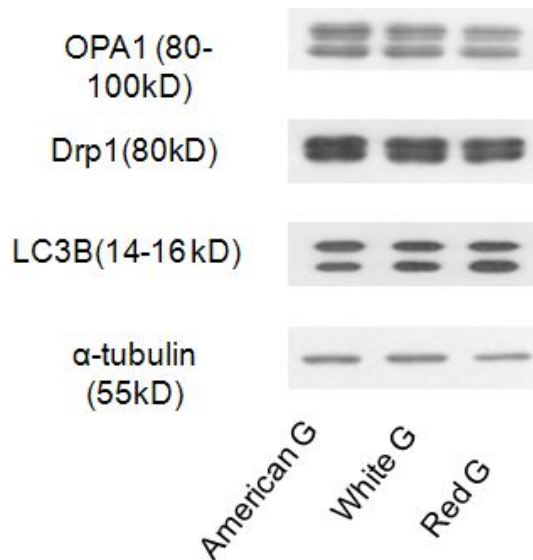


그림 446 MIN-6세포의 western blot 분석을 통한 fusion (OPA-1), fission (Drp-1) 및 autophage 표지단백질 (LC3B)은 화기삼(미국삼), 백삼 및 홍삼 처리에서 발현차이를 보이지 않았음.

- 형태학적 계측을 통한 세포내 미토콘드리아의 변화와 OPA-1 발현 변화

- 실험 목적: MIN-6세포에 서양삼(화기삼)과 고려인삼에 의한 미토콘드리아의 변화를 관찰하기 위해서 화기삼(미국삼) 과 고려인삼(백삼 및 홍삼)추출물을 베타세포주에 처리시킨 후 나타나는 mitotracker로 발색시켜 mitochondria의 모양과 분포정도를 관찰하고 미토콘드리아내 OPA-1의 발현을 면역형광법을 통하여 다음과 같이 관찰하였음.
- 실험결과: 우리 몸에서 요구되는 에너지(승열)의 대부분을 생산하는 세포기관인 mitochondria에서는 화기삼(미국삼), 백삼 및 홍삼에 의한 1) ATP 및 ADP생성과 ADP/ATP ratio의 변화가 없고, 2) 미토콘드리아의 기능 및 역동성을 나타내는 지표의 변화는 관찰되지 않았다. 이는 화기삼(미국삼)은 물론 국내산 백삼과 홍삼이 세포내 에너지 생성변화를 통한 승열반응을 유발하지 않음을 나타내는 것이라는 결론을 유추할 수 있음.

Core temperature (°C)

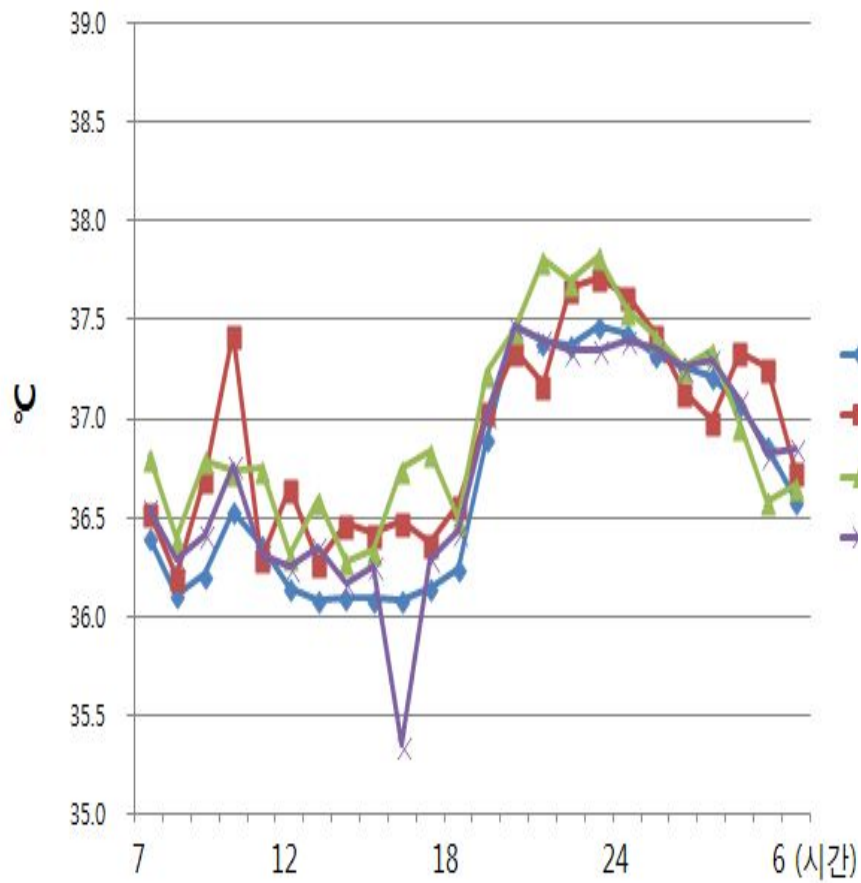


그림 447 MIN-6세포에 화기삼(미국삼)과 고려인삼(백삼 및 홍삼)추출물을 베타세포주에 처리시킨 mito tracker (왼쪽/적색)로 관찰되는 미토콘드리아의 수/양적 변화와 이들에서 발현되는 OPA-1(가운데/녹색)의 발현차이는 관찰되지 않았음. 오른쪽 column은 공초점현미경상 mitotracker와 OPA-1발현의 중합영상으로 mitochondria에서의 OPA-1의 발현을 나타냄.

제 4 장 목표달성도 및 관련분야에의 기여도

제1절 평가 착안점 및 달성도

세부과제명	세부연구목표	달성도 (%)	연구개발 수행내용
표준화 원료 공급 및 국제적인 고려인삼홍보	임상실험용 원료의 농약 및 사포닌 함량의 표준화	100	- 고려인삼 및 북미삼 샘플 확보 및 HPLC 분석법 확립을 통한 사포닌 분석
	체열정의 확립을 위한 전문가 그룹 구성 (한의사, 한의대 교수 등 전문가 대상 세미나)	100	- 체열반응의 명확한 정의 확립을 위한 전문가 그룹 구성 및 세미나 실시
	홍보를 위한 연구결과의 국내외 추적촬영	100	- 기획회의 및 자문위원단 구성
	해외홍보용 및 임상체험관 설립용 자료 수집	100	- 체열반응에 관한 역사, 문헌적 고찰
고려인삼과 화기삼(미국삼)의 체열반응에 대한 중국인, 대만인, 베트남인 임상연구	중국인 대상 임상시험 준비 및 임상시험	100	- 중국인 임상시험을 위한 연구기관 선정 및 연구계약 - 북경중의학원, 北京中醫藥大學 東方醫院 消化內科와 연구협약 - 임상시험의 protocol IRB심사 - 중국인 피험자 모집 및 screening flow chart에 따른 임상시험 진행
	베트남인 대상 임상시험 준비 및 임상시험	100	- 베트남인 임상시험을 위한 연구기관 선정 및 연구계약 - Vietnam Hanoi의 National Hospital of Traditional Medicine과 연구협약 - 임상시험의 protocol IRB심사 - 베트남인 피험자 모집 및 screening flow chart에 따른 임상시험 진행
	대만인 대상 임상시험 준비 및 임상시험	100	- 대만인 임상시험을 위한 연구기관 선정 및 연구계약 - College of Chinese Medicine,

			<p>China Medical University, Taichung, Taiwan과 연구협약</p> <ul style="list-style-type: none"> - 임상시험의 protocol IRB심사 - 대만인 피험자 모집 및 screening flow chart에 따른 상시험 진행
체온조절 기전에 의한 인삼의 체열 작용	저체온/고체온 동물 모델 수립	100	<ul style="list-style-type: none"> - 저체온 동물 모델 수립 - 고체온 동물 모델 수립 - 체온에 대한 샘플온도의 영향 validation - 정상체온 동물모델에서 인삼의 체온조절 작용
	저체온/고체온 동물 대뇌 시상하부 UCP2 발현 변화 규명	100	<ul style="list-style-type: none"> - 저체온동물 대뇌 시상하부 UCP2 발현 변화 - 고체온 동물 대뇌 시상하부 UCP2 발현 변화
	대뇌시상하부 UCP2 mRNA, UCP2 protein, Immunohistochemistry 분석	100	<ul style="list-style-type: none"> - 대뇌시상하부 UCP2 mRNA, UCP2 protein, Immunohistochemistry 분석

세부과제명	세부연구목표	달성도 (%)	연구개발 수행내용
동물 및 임상시험을 통한 체열관련 생리기전 연구	인삼 단일사포닌의 분리	100%	- PPD 4종(Rb1, Rb2, Rc, Rd), PPT 2종(Re, Rg1), compound K 단일성분 분리
	단일 인삼 사포닌처리에 의한 발열생리기전 연구	100%	- 단일사포닌 200 mg씩 4주간 마우스 투여 - 생리적 관찰을 통한 체열반응의 변화조사 - 자율신경계 호르몬, 면역계, 염증 관련 생화학적 지표분석 - Compound K의 흡수 kinetics 분석
	Microarray chip을 통한 유전자 발현분석	100%	- 단일사포닌의 종류별 체열반응에 대한 발현분석을 위해서 cDNA microarray(24K)분석 - Mouse의 3조직(근육, 간, 뇌) 별 유전자 발현프로파일링 조사
인삼과 홍삼, 화기삼(미국삼)이 한국인의 체열반응에 미치는 영향비교 임상연구	프로토콜 작성	100%	- 연구참여자 개시 미팅 및 역할 분담
	프로토콜 IRB 심사	100%	- IRB 심사 보완 결정
	피험자 모집공고	100%	- 지역일간지 광고, 병원내 홍보 문건, 포스터 제작, 병원 홈페이지 광고
	피험자 동의서 작성	100%	- 선정기준에 따른 피험자 선정 - 등록순서에 따른 코딩 및 무작위 배정 - 시험약 배부 및 시험시작
	임상시험 CRF 작성	100%	- 선정된 피험자를 대상으로 시험 시작 전, 복용 30분후, 2주후, 4주후, 8주후, 12주후의 적외선체열검사, 심박변이도, 체온, 맥박, 혈압의 변화, 자각증상의 변화 측정 - 시험 시작전과 12주후에 혈액검사, 시험시작 전, 복용 30분후, 4주후, 12주후에 TCD 변화 측정 - 시험 진행 과정의 순응도 이상 반응 조사

세부과제명	세부연구목표	달성도 (%)	연구개발 수행내용
대사변화 관찰을 통한 인삼체열 반응 연구의 과학적 입증	고려 인삼과 화기삼 (미국삼) 추출물의 단기투여에 따른 승열 반응연구	100%	<ul style="list-style-type: none"> - 인삼추출물을 단기 투여 후 metabolic cage monitoring 에 의해 체온, 혈압, 식이량, 활동량의 변화를 실시간으로 측정하고 에너지 대사율을 분석함. - 고려인삼과 서양삼 (화기삼) 체온 및 혈압 변화 비교 관찰 - 발열성 cytokine, prostaglandin E2(PGE2), 신경전달물질 (epinephrine, tyroxin)조사 - 체온 조절에 관여하는 유전자 발현 관찰 - 생화학적 인자 및 면역인자 조사
	고려 인삼과 화기삼 (미국삼) 추출물의 전달체계 확립	100%	<ul style="list-style-type: none"> - 에너지대사관련 세포주 (간세포, 지방세포, 베타세포) 외 일차배양 시스템을 구축하고, 인삼추출물을 배양액에 섞어서 처리하고 최적농도를 조사
	세포내 승열작용 비교분석(I): 고려 인삼과 화기삼 (미국삼) 추출물에 의한 미토콘드리아의 구조변화 분석	100%	<ul style="list-style-type: none"> - 미토콘드리아의 fusion 과 fission 의 빈도를 형광현미경 및 전자현미경을 이용하여 조직학적으로 관찰 - 미토콘드리아 fusion, fission의 marker의 양적변화 관찰
	세포내 승열작용 비교분석(II): 고려 인삼과 화기삼 (미국삼) 추출물에 의한 에너지 대사의 변화 측정 (2차년도 연구계획 예비실험)	100%	<ul style="list-style-type: none"> - ATP의 양적 변화 측정 - ATP/ADP 비율의 변화 측정

세부과제명	세부연구목표	달성도 (%)	연구개발 수행내용
표준화 원료 공급 및 국제적인 고려인삼홍보	임상 및 전임상 연구용 시료 표준화 및 공급	100%	- 고려인삼(백삼), 홍삼, 화기삼 (미국삼), 전분의 샘플 확보 및 명확한 성분분석을 통한 시료의 검증 및 임상, 전임상 시료로의 공급
	체열정의 공청회 및 한의학 관련 책자 반영 타진	100%	- 체열반응의 명확한 정의 확립을 위한 전문가 그룹 구성 및 세미나 실시
	홍보를 위한 연구결과의 추적촬영(MBC촬영팀)	100%	- MBC와 프로그램 제작협의를 위한 자문단 구성 및 프로그램 제작 방향 협의 - 체열반응 실험에 따른 추적 촬영 - 고려인삼과 화기삼(미국삼) 간의 체열반응을 주제로 한 다큐멘터리 제작 및 방영
	해외홍보를 위한 영문화책자 시안작성 및 임상체험관 설립용 자료수집	100%	- 체열반응에 관한 역사, 문헌적 고찰
고려인삼과 화기삼(미국삼)의 체열반응에 대한 중국인, 베트남인, 타이완인 임상연구	중국인 대상 임상시험 연구협약 및 임상시험	100%	- 중국인 대상 임상시험을 위한 연구기관 선정 및 연구협약 - 요녕성 Dr. Sun Changshan School of Pharmacy Shenyang Pharmaceutical University(Wenhua Road 103# Shenyang,110016 China)와 연구협약 - 중국인 피험자 모집(3개월 내 피험자 모집 완료예정)
	베트남인 대상 임상시험	100%	- 베트남인 임상시험 연구기관 : Vietnam Hanoi 의 National Hospital of Traditional Medicine - 인삼 복용전, 복용후 30분, 60분, 120분, 2주, 4주 후의 체열, 혈류속도, 심박변이도, 체온, 혈압, 맥박 등의 측정 - 인삼 복용후의 신체의 느낌, 부작용 등에 관한 설문조사
	타이완인 대상 임상시험 연구기관 선정	100%	- 타이완인 대상 임상시험을 위한 연구기관 선정 - 연구기관 및 연구자: Professor Shung-Te Kao, College of Chinese Medicine, China

			<p>Medical University</p> <ul style="list-style-type: none"> - 임상시험의 protocol인 임상시험심사위원회(Institutional Review Board, IRB)심사
체온조절 기전에 의한 인삼의 체열 작용	고려인삼, 화기삼 (미국삼 외) 정상 체온 동물 모델에서 체열반응	100%	<ul style="list-style-type: none"> - 정상체온 동물 모델에 고려인삼 투여 후 체열반응 조사 - 정상체온 동물 모델에서 화기삼 (미국삼) 투여 후 체열 반응
	고려인삼, 화기삼 (미국삼 외) 고체온 동물 모델에서 체열반응	100%	<ul style="list-style-type: none"> - 고체온 동물 모델에 고려인삼 투여 후 체열반응 조사 - 고체온 동물 모델에서 화기삼 (미국삼) 투여 후 체열반응 조사
	고려인삼, 화기삼 (미국삼 외) 저체온 동물 모델에서 체열반응	100%	<ul style="list-style-type: none"> - 저체온 동물 모델에 고려인삼 투여 후 체열반응 조사 - 저체온 동물 모델에서 화기삼 (미국삼) 투여 후 체열반응 조사
	고온, 저온, 실온에서 고려인삼과 화기삼(미국삼)의 체열반응	100%	<ul style="list-style-type: none"> - 고온에서 고려인삼과 화기삼 (미국삼) 투여 후 체열반응 조사 - 저온에서 고려인삼과 화기삼 (미국삼) 투여 후 체열반응 조사 - 실온에서 고려인삼과 화기삼 (미국삼) 투여 후 체열반응 조사
	고려인삼과 화기삼 (미국삼 외) UCP2 mRNA 발현 비교	100%	<ul style="list-style-type: none"> - 고려인삼 투여 마우스의 대뇌시상하부 UCP2 mRNA 분석 - 화기삼(미국삼) 투여 마우스의 대뇌시상하부 UCP2 mRNA 분석
	고려인삼과 화기삼 (미국삼 외) UCP2 protein 발현 비교	100	<ul style="list-style-type: none"> - 고려인삼 투여 마우스의 대뇌시상하부 UCP2 protein 분석 - 화기삼(미국삼) 투여 마우스의 대뇌시상하부 UCP2 protein 분석
인삼과 홍삼, 화기삼(미국삼)이 한국인의 체열반응에 미치는 영향비교 임상연구	프로토콜 작성	100%	<ul style="list-style-type: none"> - 연구참여자 개시 미팅 및 역할 분담
	프로토콜 IRB 심사	100%	<ul style="list-style-type: none"> - IRB 심사 보완 결정
	피험자 모집공고	100%	<ul style="list-style-type: none"> - 지역일간지 광고, 병원내 홍보 문건, 포스터 제작, 병원 홈페이지 광고
	피험자 동의서 작성	100%	<ul style="list-style-type: none"> - 선정기준에 따른 피험자 선정

			<ul style="list-style-type: none"> - 등록순서에 따른 코딩 및 무작위 배정 - 시험약 배부 및 시험시작
	입상시험 CRF 작성	100%	<ul style="list-style-type: none"> - 선정된 피험자를 대상으로 시험 시작 전, 복용 30분후, 2주후, 4주후, 8주후, 12주후의 적외선체열검사, 심박변이도, 체온, 맥박, 혈압의 변화, 자각증상의 변화 측정 - 시험 시작전과 12주후에 혈액검사, 시험시작 전, 복용 30분후, 4주후, 12주후에 TCD 변화 측정 시험 진행 과정의 순응도 이상 반응 조사
대사변화 관찰을 통한 인삼 체열 반응의 과학적 입증	-고려 인삼과 서양삼(화기삼) 추출물의 장기투여(4주)에 따른 체열반응연구	100%	<ul style="list-style-type: none"> -인삼추출물을 장기 투여(4주)후 metabolic cage monitoring 에 의해 체온, 식이량, 활동량의 변화를 실시간으로 측정하고 에너지 대사를 분석함. -고려인삼과 서양삼(화기삼)의 혈압 변화 비교 관찰 -발열성 cytokine, 신경전달물질(epinephrine, tyroxin)조사 -체온 조절에 관여하는 유전자 발현 관찰 -생화학적 인자 및 면역인자 조사
	-고려 인삼과 화기삼(미국삼) 추출물에 의한 에너지 대사의 변화 측정	100%	<ul style="list-style-type: none"> -세포내 승열작용 비교분석: 고려 인삼과 화기삼(미국삼) 추출물에 의한 에너지 대사의 변화 측정
	-고려 인삼과 화기삼(미국삼) 추출물에 의한 미토콘드리아의 단백질의 변화 비교	100%	<ul style="list-style-type: none"> -미토콘드리아 dynamics 관련 단백질 변화분석

--	--	--	--

	세부연구목표	평가의 착안점 및 기준
대사변화 관찰을 통한 인삼승열 반응 연구의 과학적 입증	- 고려인삼과 화기삼(미국삼) 단기투여에 따른 마우스 체온 및 대사 변화의 객관화	<ul style="list-style-type: none"> ● 체온 및 혈압의 객관적 측정 조건 구축 ● 미토콘드리아 fusion 및 fission ● 체온 및 대사의 과학적 측정을 위한 metabolic cage의 최적의 조건 구축 ● 체온 조절에 관여하는 cytokine류 및 체온조절 핵심 유전자 선정 및 관찰조건 확립 ● 고려인삼과 화기삼(미국삼) 단기투여에 의한 체온 및 대사량의 과학적 평가
	- 고려인삼과 화기삼(미국삼) 투여 후 미토콘드리아의 구조적변화 관찰	<ul style="list-style-type: none"> ● 형광현미경 및 전자현미경을 이용한 미토콘드리아의 조직학적 변화 분석 ● 미토콘드리아 fusion, fission marker의 양적변화 분석
	- 고려인삼 장기투여 후 체온 및 대사 변화 관찰	<ul style="list-style-type: none"> ● 고려인삼 및 화기삼(미국삼) 장기투여 후 체온 및 대사량의 과학적 평가 ● 체온조절 관련 유전자 발현 분석
	- 미토콘드리아의 에너지 대사 분석	<ul style="list-style-type: none"> ● 에너지 대사 관련 단백질의 양적변화 평가 ● 고려인삼과 화기삼(미국삼) 투여에 의한 에너지대사의 변화를 분석하여 승열 반응과의 관계 정립
- in vitro 및 in vivo 미토콘드리아 기능 평가		<ul style="list-style-type: none"> ● 인삼에 의한 in vitro 미토콘드리아 효능 평가
		<ul style="list-style-type: none"> ● 인삼에 의한 in vivo 미토콘드리아 기능 평가
- 생리적 농도 단회 투여에 따른 체열 및 대사 반응의 in vivo 효능 관찰		<ul style="list-style-type: none"> ● 고려인삼과 화기삼(미국삼) 투여에 의한 체온 및 대사량의 과학적 평가
- 고려인삼과 화기삼(미국삼) 추출물의 세포보호효과 분석		<ul style="list-style-type: none"> ● 미토콘드리아 fusion 및 fission 관찰
		<ul style="list-style-type: none"> ● 세포내 ATP/ADP ratio 관찰

목 표	연구개발 수행내용	달성도 (%)
- metabolic cage를 활용하여 체온 변화 및 대사 변화를 실시간 과학적으로 모니터링함.	<ul style="list-style-type: none"> ● 고려인삼(홍삼, 백삼) 및 서양삼(화기삼) 단회 투여 후 24시간 동안 체온 및 대사 변화를 metabolic cage를 사용하여 관찰함. 	100
- 비침습적 혈압기를 활용하여 홍삼, 백삼 및 화기삼 (미국삼) 투여에 의한 혈압 변화를 측정함.	<ul style="list-style-type: none"> ● 고려인삼(홍삼, 백삼) 및 서양삼(화기삼) 단회 투여 후 시간별(0, 2, 4, 8h) 혈압, 혈류량 및 혈류 속도를 측정함. 	100
- 혈액 중 체온 상승인자를 ELISA, EIA kit 및 혈액 분석기를 이용하여 측정함.	<ul style="list-style-type: none"> ● 고려인삼(홍삼, 백삼) 및 서양삼(화기삼) 단회 투여 후 시간별(0, 2, 4, 8h) 혈액을 채취하여 혈액 분석기를 이용하여 무기질 및 albumin등을 관찰함. ● 혈액중 TNF-a, INF-g, T4 및 PGE2의 양적 변화를 ELISA 및 EIA kit를 이용하여 측정함. 	100
-고려 인삼과 서양삼 화기삼 추출물의 장기투여(4주)에 따른 승열 반응연구	<ul style="list-style-type: none"> ● 인삼추출물을 장기 투여(4주)후 metabolic cage monitoring 에 의해 체온, 식이량, 활동량의 변화를 실시간으로 측정하고 에너지 대사를 분석함. ● 고려인삼과 서양삼(화기삼)의 혈압 변화 비교 관찰 ● 발열성 cytokine, 신경전달물질(epinephrine, tyroxin)조사 ● 체온 조절에 관여하는 유전자 발현 관찰 ● 생화학적 인자 및 면역인자 조사 	100
-고려 인삼과 서양삼 화기삼 추출물에 의한 에너지 대사의 변화 측정	<ul style="list-style-type: none"> ● 세포내 승열작용 비교분석: 고려 인삼과 서양삼(화기삼) 추출물에 의한 에너지 대사의 변화 측정 	100
-고려 인삼과 서양삼(화기삼) 추출물에 의한 미토콘드리아 in vitro 효능 관찰	<ul style="list-style-type: none"> ● 미토콘드리아 기능에 관여하는 유전자의 발현 및 기능에 중요한 역할을 담당하는 효소 활성 관찰 ● XF 분석기를 사용하여 미토콘드리아 기능 관찰 	100
-고려 인삼과 서양삼 화기삼 추출물에 의한 미토콘드리아 in vivo 효능 관찰	<ul style="list-style-type: none"> ● in vivo 동물모델에서 공복 스트레스를 유발하고 난 후 미토콘드리아 기능에 관여하는 유전자의 발현 및 기능에 중요한 역할을 담당하는 효소 활성 관찰 ● XF 분석기를 사용하여 미토콘드리아 기능 관찰 	100
- 고려인삼과 서양삼 화기삼의 투여에 의한 에너지 대사 효율 관찰	<ul style="list-style-type: none"> ● 인삼 투여에 의한 역동성, ATP/ADP ratio, 미토콘드리아 용합등 	100

제2절 기여도

- 인삼으로부터 ginsenoside Rg1, Re, Rd, F4, 20-gluco-ginsenoside Rf 등 17종의 ginsenoside를 분리하고, 정확히 동정하였다. 더불어 인삼의 대사체를 유용 미생물을 활용하여 생산하는 방법을 개발하였으며 이를 활용하여 인삼 사포닌의 대량생산을 통한 표준품을 정확히 동정함으로써 잘못 동정된 문헌을 수정하고, 인삼 사포닌 표준품에 대한 정확한 data base 구축과 함께 모든 연구자들이 표준품을 활용할 수 있게 하였다. 또한, 표준품의 NMR, MS, IR, HPLC 및 LC/MS 등의 표준화 자료를 확보 및 확립된 분석법은 산업적으로 이용될 수 있을 것이다. 더불어 이는 지표물질의 정확한 함량을 제품에 고시하는 것을 가능하게 하여 고부가가치 제품으로서의 수출을 가능하게 할 것으로 기대된다. 본 사업단에서는 품종 개념이 불분명한 고려인삼의 신품종의 개발 필요성이 대두됨에 따라 국내 인삼의 식물 유전자원의 확보 및 고품질 다수성 인삼 생산을 위한 신품종을 등록하였으며 기능성 계통을 선발하였다. 본 품종들은 본 사업단의 연구 성과로 이루어진 것으로 향후 인삼 농가의 고품질 인삼 생산에 도움을 주어 농가소득 확대에 기여할 수 있을 것으로 판단 되어 진다. 본 사업단의 고품질 인삼 품종 육성, 청정 인삼 재배, 소비국에 따른 제품개발의 다양화, 국제적인 표준물질을 이용한 제품의 품질인증, 고려인삼의 객관적이과 과학적인 효능의 검증 및 입증을 통해 고려인삼의 국제적인 고려인삼의 경쟁력을 키우고 나가야 인삼중주국의 위치를 확고히 하여 증가되는 인삼 수요에 부응하여 국부창출을 할 수 있을 것이다.

제 5 장 연구개발 성과 및 성과활용 계획

제 1 절 연구개발 성과 및 성과활용 계획

1) 성과지표 및 달성도 (정량 및 정성적 목표)

(1) 연구성과 목표

구분	특허		신품종등록 (유전자원 등 포함)	논문		기타 (신물질)
	출원	등록		국외(SCI)	국내	
1차년도				1	3	
2차년도				4	3	
3차년도				5	4	
합계				10	10	

(2) 연구결과 활용 목표 및 달성

구분	기술이전	상품화	정책자료	교육지도	언론홍보	달성도
활용건수			10	15	30	120

2) 사업단의 성과지표 (달성도)

(1) 연구성과 목표 :

구분	특허		신품종등록 (유전자원 등 포함)		논문		기타 (신물질)	달성도
	출원	등록	출원	등록	국외(SCI)	국내		
목표					10	10		
달성	5	1			14	3		115

* 논문의 경우 현재 submit된 건수 포함

(1) 논문게재 성과

게재연 도	논문명	저자			학술지명	Vol.(No.)	국내외 구분	SCI 구분
		주저자	교신저자	공동 저자				
1 2012	Increase in Insulin Secretion Induced by <i>Panax ginseng</i> Berry Extracts Contributes to the Amelioration of Hyperglycemia in Streptozotocininduced Diabetic Mice.		Hee Suk Jeon		Journal of ginseng research	36(2):153-60	국내	SCI E (2.25)
2 2013	Microbial transformation of ginsenoside Rb1 to compound K by <i>Lactobacillus paralimentarius</i>		Deok Chun Yang		World J Microbiol Biotechnol	29(6):1001-1007	국외	SCI E
3 2013	Computer-aided identification of EGFR tyrosinekinase inhibitors using ginsenosides from <i>Panax ginseng</i>		Deok Chun Yang		Computers in Biology and medicine	43: 786-797	국외	SCI
4 2013	Insilico profiling of microRNAs in Korean ginseng (<i>Panax ginseng</i> Meyer)		Deok Chun Yang		Journal of ginseng research	37(2) 227-247	국내	SCI E
5 2012	Physiochemical and quantitative analysis for the standardization of K3 preparation		Tong Ho Kang		Journal of Medicinal Plants Research	6(26); 4347-4353	국외	SCI E
6 2013	The Effects of <i>Panax ginseng</i> and <i>Panax quinquefolius</i> on Thermoregulation in Animal Models		Tong Ho Kang		Journal of ginseng research	in press	국내	SCI E
7 2013	Stimulative effect of ginsenosides Rg5:Rk1 on mouse osteoblastic MC3T3-E1 cells		Deok Chun Yang		Biochemical and Biophysical Research Communications	in press	국외	SCI

8	2013	In silico identification of Potential BACE1 inhibitors from <i>Panax ginseng</i> using molecular docking and dynamics simulation		Deok Chun Yang		Journal of Neurochemistry	in press	국외	
9	2013	Ginseng Saponins and the Treatment of Osteoporosis: Mini Literature Review		Deok Chun Yang		Journal of ginseng research	in press	국내	SCI E (2.2 25)
10	2013	Ginsenoside profiles and related gene expression during foliation in <i>Panax ginseng</i> Meyer		Deok Chun Yang		Journal of ginseng research	in press	국내	SCI E (2.2 25)
11		Comparitive Clinical Trials on the Body Temperature Responses of Vietnamese Administered Korean Ginseng and American Ginseng		Kwang Tae Choi		Journal of ginseng research	under revision	국내	(2.2 25)
12		Physiochemical Properties of Fermented Red Ginseng Extract Using <i>Lactobacillus paracasei</i> DCY66		Deok Chun Yang		Journal of the Science of Food and Agriculture	minor revision	국외	SCI
13	2013	Comparison of Korean and American ginseng on body temperature and metabolic parameters		Hee Suk Jeon		The American Journal of Chinese Medicine	under revision	국외	SCI
14		Enzymatic Transformation of Major Ginsenosides to Minor active ginsenosides by ginsenoside hydrolyzing enzyme from <i>Lactobacillus brevis</i> .		Deok Chun Yang			under revision	국외	SCI
15	2013	Plant Regeneration from Anther Culture of <i>Panax ginseng</i>		Deok Chun Yang		Korean J. Plant Res	26(3):214-119	국내	비 SCI
16		Growth Characteristics and conversion of Organic Germanium on <i>Panax ginseng</i>		Deok Chun Yang		Korean J. Plant Res	under revision	국내	비 SCI

17	The Efficacy of <i>Panax ginseng</i> treated with Germanium in the ginseng field	Deok Chun Yang	Korean J. Plant Res	under revision	국내	비 SCI
----	--	----------------	---------------------	----------------	----	-------

(2) 특허 출원 및 등록

출원국가	등록번호	발명의 명칭
대한민국	10-1080128-0000	NAD7 인트론4 영역에 특이적인 고려인삼 천풍 구별용 SNP 프라이머와 이를 이용한 천풍종 구별방법
대한민국	10-1020584-0000	COX2 인트론 II 영역에 특이적인 고려인삼 천풍구별용 SNP 프라이머 및 이를 이용한 고려인삼 천풍구별방법
대한민국	10-1080129-0000	MLP 유전자에 특이적인 고려인삼 천풍 구별용 SNP 프라이머 및 이를 포함하는 키트 및 이용한 고려인삼 천풍 구별방법
대한민국	10-1175955-0000	배추김치 유래의 젖산균을 이용하여 고동도의 홍삼 추출액을 함유하는 유제품을 젖산 발효하는 방법
대한민국	10-1253471-0000	β -글라이코시다제의 제조방법 및 진세노사이드 전환방법(bgp3)
대한민국	10-1253470-0000	β -글라이코시다제의 제조방법 및 진세노사이드 전환방법(bgp2)

(3) 인력지원 성과

지원 총인원	지원 대상 (학위별, 취득자)				성별		지역별		
	박사	석사	학사	기타	남	여	수도권	대전	기타지역
55	12	25	13	5	34	21	46		9

(4) 학술대회

학회 날짜	학회 이름	발표 내용
2010. 4.14 -16	작물기능유전체학 국제심포지엄	expressionANalysisofPOLYGALACTURONASEinhibitingproteingenefrom <i>Panax ginseng</i> C.A.meyer
2010. 4.14 -16	작물기능유전체학 국제심포지엄	MODULATION OF SPERMIDINE LEVELS IN GINSENG HAIRY ROOTS SUBJECTED TO LONG-TERM SALT STRESS
2010. 4.14 -16	작물기능유전체학 국제심포지엄	<i>MOLECULARCHARACTERIZATIONOFSESQUITERPENESYNTHASEGENEFROMPANAXGINSENGC.A.MEYER</i>
2010.	작물기능유전	COMPARATIVEGENOMICSOFTHEPANAXGINSENGC.A.MEYER

4.14 -16	체학 국제심 포지엄	
2010. 4.14 -16	작물기능유전 체학 국제심 포지엄	THE GINSENG EST DATABASE
2010. 4.14 -16	작물기능유전 체학 국제심 포지엄	MOLECULAR CHARACTERIZATION AND EXPRESSION PROFILING OF SEVERAL GENES IN <i>PANAX GINSENG</i> C.A. MEYER
2010. 4.14 -16	작물기능유전 체학 국제심 포지엄	TRANSCRIPTOME OF KOREAN GINSENG (<i>PANAX GINSENG</i>) ROOT
2010. 5.14 -15	한국자원식물 학회 춘계학 술발표대회	Transcript Profiling of Antioxidant Gene During Biotic and Abiotic stresses in <i>Panax ginseng</i> C.A. Meyer
2010. 5.14 -15	한국자원식물 학회 춘계학 술발표대회	Molecular authentication of the Oriental Medicinal Plant <i>Morus alba</i> (koranname: Ppon-na-mu) Linne by Multiplex PCR
2010. 5.14 -15	한국자원식물 학회 춘계학 술발표대회	<i>Methylobacterium ginseng</i> sp. nov., isolated from soil of ginseng field
2010. 5.14 -15	한국자원식물 학회 춘계학 술발표대회	Isolation and taxonomic study of <i>Flavobacterium</i> sp. DCY53 from Ginseng Field
2010. 5.14 -15	한국자원식물 학회 춘계학 술발표대회	Effect of Calmodulin on Abscisic acid-induced Antioxidant Defense in Ginseng Seedlings
2010. 5.14 -15	한국자원식물 학회 춘계학 술발표대회	Conversion of Ginsenoside using β -glucosidase activity of <i>Lactobacillus buchneri</i>
2010. 5.14 -15	한국자원식물 학회 춘계학 술발표대회	Bioconversion of Ginsenosides in by purified enzyme from <i>Lactobacillus kimchii</i>
2010. 5.14 -15	한국자원식물 학회 춘계학 술발표대회	Molecular Characterization of Glutathione Peroxidase Gene from <i>Panax ginseng</i>
2010. 5.14 -15	한국자원식물 학회 춘계학 술발표대회	Conversion of major ginsenoside Rb1 to minor ginsenosides by <i>Lactobacillus nagelii</i>
2010. 5.14 -15	한국자원식물 학회 춘계학 술발표대회	Transformation of Ginsenoside Rd by heat treatment process
2010. 5.14 -15	한국자원식물 학회 춘계학 술발표대회	COMPARATIVE GENOMICS OF THE <i>PANAX GINSENG</i> C.A. MEYER
2010. 5.14	한국자원식물 학회 춘계학	<i>Lactobacillus kimchicus</i> sp. nov., a β -glucosidase producing bacterium isolated from the kimchi

-15	술발표대회	
2010. 5.14 -15	한국자원식물 학회 춘계학 술발표대회	Gene Expression Analysis of Sesquiterpene Synthase Gene from <i>Panax ginseng</i> C. A. Meyer
2010. 5.14 -15	한국자원식물 학회 춘계학 술발표대회	The Difference of Ginsenosides Compositions According to the Condition of Extration and Method of Analysis
2010. 9.13~ 16	고려인삼학회	MolecularCloning,FunctionalExpressionandCharacterizationofTerpeneSynthaseGenefrom <i>Panaxginseng</i> C.A.Meyer
2010. 09.13 ~16	고려인삼학회	TransformationofProtopanaxadioltypeGinsenosidefrom <i>Panaxginseng</i> byusingFoodEnzymes.
2010. 09.13 ~16	고려인삼학회	TransformationofGypenosideVbyusingMicrobacterium <i>Esteraromaticum</i> GS514IsolatedfromGinsengField
2010. 10.07 -08	한국자원식물 학회 추계학 술대회	DevelopmentofamultiplexARMSPCRforsimultaneousauthenticationofKoreanginsengcultivars“Gumpoong”and“Chungsun”
2010. 10.07 -08	한국자원식물 학회 추계학 술대회	Molecular Authentication of Medicinal Plants Citri unshiu semen, Schizonepeta spike, and Prunella spike using DNA Analysis Techniques
2010. 10.07 -08	한국자원식물 학회 추계학 술대회	<i>Pedobacterginsengiterrae</i> DCY49 ^T sp.nov.,isolatedfromginsengsoilinSouthKorea
2010. 10.07 -08	한국자원식물 학회 추계학 술대회	<i>Bacillus ginsengisoli</i> sp. nov., isolated from soil of a ginseng field
2010. 10.07 -08	한국자원식물 학회 추계학 술대회	InsilicoAnalysisforExpressedSequenceTagsfromEmbryogenicCallusandFlowerBuds of <i>Panaxginseng</i> C.A.Meyer
2010. 10.07 -08	한국자원식물 학회 추계학 술대회	<i>IdentificationandCharacterizationofCytochromeP450(CYP96A)fromPanaxginseng</i>
2010. 10.07 -08	한국자원식물 학회 추계학 술대회	Isolationandtaxonomicstudyof <i>Flavobacterium</i> sp.DCY55fromGinsengField
2010. 10.07 -08	한국자원식물 학회 추계학 술대회	BioconversionofginsenosideRb1intocompoundKby <i>Lactobacillusbrevis</i> DCY102isolatedfromKimchi
2010. 10.07 -08	한국자원식물 학회 추계학 술대회	BioconversionofGinsenosidesinRedGinsengExtractby <i>Saccharomycesellipsoideus</i> and <i>Saccharomycesbayanus</i>
2011. 4.28 -29	고려인삼학회 춘계학술대회	Molecularauthenticationof <i>Panaxginseng</i> andginsengproductsusingrobustSNPmarkersinribosomalexternaltranscribedspacerregion
2011. 4.28 -29	고려인삼학회 춘계학술대회	InfluenceofPotassiumNitrateonAntioxidantLevelsandSecondaryMetaboliteGenes underColdStressin <i>Panaxginseng</i>

2011. 4.28 -29	고려인삼학회 춘계학술대회	Exogenous spermidine alleviates the growth of saline-stressed <i>Panax ginseng</i> seedling through antioxidant defense system
2011. 4.28 -29	고려인삼학회 춘계학술대회	Gene expression of some glycosyltransferase genes in ginseng tissues and adventitious root culture elicited by methyl jasmonate
2011. 4.28 -29	고려인삼학회 춘계학술대회	Transcript profiling of antioxidant genes during biotic and abiotic stresses in <i>Panax ginseng</i> C. A. Meyer
2011. 4.28 -29	고려인삼학회 춘계학술대회	Molecular modelling approach to identify potent inhibitor of MMP9 from <i>Panax ginseng</i>
2011. 4.28 -29	고려인삼학회 춘계학술대회	Discovery of potent inhibitors of BRCA1 protein from <i>Panax ginseng</i> using molecular simulations
2011. 4.28 -29	고려인삼학회 춘계학술대회	단일 인삼 사포닌 투여에 의한 마우스의 유전자 발현 프로파일링 분석
2011. 4.29 -30	한국자원식물 학회 춘계학 술발표대회	<i>Microbacterium panaciterrae</i> sp. nov., isolated from soil of a ginseng field
2011. 4.29 -30	한국자원식물 학회 춘계학 술발표대회	<i>Hymenobacter ginsengis</i> sp. nov., isolated from soil of a ginseng field
2011. 4.29 -30	한국자원식물 학회 춘계학 술발표대회	Brassicaceae functional metabolite database
2011. 4.29 -30	한국자원식물 학회 춘계학 술발표대회	In silico chemical genomics analysis to annotate <i>Brassicaceae</i> metabolites
2011. 4.29 -30	한국자원식물 학회 춘계학 술발표대회	3년근 고려인삼의 시기별 진세노사이드 함량 분석과 항산화 활성
2011. 4.29 -30	한국자원식물 학회 춘계학 술발표대회	<i>Lactobacillus</i> 속 균주에 의한 Major 인삼 사포닌의 Rg2로의 전환
2011. 4.29 -30	한국자원식물 학회 춘계학 술발표대회	Cloning and characterization of β -glucosidase from <i>Microbacterium lacticum</i> GS514 and its bioconversion of ginsenosides Re and Rg1
2011. 4.29 -30	한국자원식물 학회 춘계학 술발표대회	Effect of glucosinolate biosynthetic genes in response to temperature stress in <i>Brassicaceae</i>
2011. 4.29 -30	한국자원식물 학회 춘계학 술발표대회	인삼 근권 토양으로부터 <i>Flavobacterium</i> DCY54,55 균주의 분리 및 동정과 Ginsenoside Rb1의 전환
2011. 4.29 -30	한국자원식물 학회 춘계학 술발표대회	DNA 분석법에 의한 한약재 오가피(五加皮)의 종감별
2011. 6.30 -7.3	The 2 nd Interna tional Confere nce on Plant Me	M o l e c u l a r a u t h e n t i c a t i o n o f <i>Panax ginseng</i> and ginseng products using robust SNP markers

	tabolism	
2011. 6.30 -7.3	The2 nd International Conference on Plant Metabolism	Functional genomics approach towards the understanding of secondary metabolism in Panax ginseng C.A.
2011. 6.30 -7.3	The2 nd International Conference on Plant Metabolism	Conversion of Gypenosides into Minor Ginsenosides by Microbacterium esteraromaticum GS514
2011. 6.30 -7.3	The2 nd International Conference on Plant Metabolism	Triterpenoid ginseng saponin production in Panax ginseng C. A. Meyer
2011. 9.21	약용작물학회	Aspergillus 속 균주 유래 효소를 이용한 Gypneoside V의 ginsenoside Rg3로의 전환
2011. 9.21	약용작물학회	Coculture Fermentation of Red ginseng Extract using Lactic Acid Bacteria
2011. 10.06	한국분자세포생물학회	ginseng HMG Co-A reductase is regulated at the transcriptional level of isoprenoid biosynthesis pathway
2011. 11.11	고려인삼학회 추계학술대회	Acclimation of hydrogen peroxide enhances salt tolerance by the activation of antioxidant enzymes and defense related proteins in Panax ginseng C.A Meyer
2011. 11.11	고려인삼학회 추계학술대회	Overexpression of ginseng polygalacturonase inhibiting protein gene (PgPGIP) shows enhanced resistance against phytopathogens
2011. 11.11	고려인삼학회 추계학술대회	Interrelationship between calmodulin (CAM) and H2O2 in abscisic acid-induced antioxidant defense in the seedlings of Panax ginseng
2011. 11.11	고려인삼학회 추계학술대회	The influence of culture conditions on anther culture of Panax ginseng C. A. Meyer
2011. 11.11	고려인삼학회 추계학술대회	Biotransformation of ginsenoside Rb1 into compound K by a recombinant β -glucosidase from Microbacterium esteraromaticum GS514
2011. 11.11	고려인삼학회 추계학술대회	Enzymatic transformation of ginsenoside Rb1 to 20(S)-Rg3 by recombinant β -glucosidase from Microbacterium esteraromaticum
2011. 11.11	고려인삼학회 추계학술대회	Production of the rare ginsenoside Rh2 by recombinant glycosidase from Microbacterium esteraromaticum GS514
2011. 11.11	고려인삼학회 추계학술대회	Computational prediction of conserved miRNAs and their targets in Panax ginseng C. A. Meyer
2011. 11.11	고려인삼학회 추계학술대회	Bioinformatics and Digital Gene Expression analyses for annotate unknown transcripts in Panax ginseng C. A. Meyer
2011. 11.11	고려인삼학회 추계학술대회	Compound K Induces the Programmed Necrosis in MCF-7 Cells via Wnt/b-catenin and AIF Signaling Pathways
2011. 11.11	고려인삼학회 추계학술대회	Discrimination of Panax ginseng Roots Using Rapid Resolution LC-QTOF/MS Based Metabolomics Approach
2012. 2.14 -15	Pharmaceutical Biotechnology	Computational Model And Characterization Of the Glycoside Hydrolase 3 Enzyme from Microbacterium Esteraromaticum GS514 For Biotransformation Of Ginsenosides

2012. 4.23 -24	고려인삼학회 춘계학술대회	Changes of ginsenosides, Acidic Polysaccharide and Phenolic Compounds in Ginseng by 9 Repetitive Steaming and Drying Process
2012. 4.23 -24	고려인삼학회 춘계학술대회	Identification of microRNAs and their targets using deep sequencing for Panax ginseng C. A. Meyer roots
2012. 4.23 -24	고려인삼학회 춘계학술대회	AGROBACTERIUM-MEDIATED TRANSFORMATION OF GLYCOSYLTRANSFERASE GENES FROM PANAX GINSENG AND THEIR EXPRESSIONS IN ABIOTIC STRESS CONDITIONS
2012. 4.23 -24	고려인삼학회 춘계학술대회	Wounding along with Methyl Jasmonate Showed Negative Effect on Cytochrome P450 Expression and Terpenoid Accumulation in Panax ginseng
2012. 5.3- 4	2012년 한국 약용작물학회 심포지엄 및 춘계학술 발표 회	<i>Chryseobacterium ginsengiterrae</i> sp. nov., a bacterium with ginsenoside converting activity isolated from soil of a ginseng field
2012. 5.3- 4	2012년 한국 약용작물학회 심포지엄 및 춘계학술 발표 회	Authentication of Epimedium Herba and adulterant plants by Multiplex PCR
2012. 5.3- 4	2012년 한국 약용작물학회 심포지엄 및 춘계학술 발표 회	한약재 경천의기원정립과 감별마커
2012. 5.3- 4	2012년 한국 약용작물학회 심포지엄 및 춘계학술 발표 회	<i>Chryseobacterium ginsengisoli</i> sp. nov., isolated from mountain ginseng soil
2012. 5.3- 4	2012년 한국 약용작물학회 춘계학술 발표 회	근부병원인균 정밀진단을 위한 Multiplex PCR primer 개발
2012. 5.11 -12	2012년 한국 자원식물학회 춘계학술 발표 회	Multiplex PCR을 이용한 <i>cynanchunwilfordii</i> 과 <i>cynanchum auriculatum</i> 및 <i>polygonum multiflorum</i> 간의 분자마커의 개발 및 감별
2012. 5.11 -12	2012년 한국 자원식물학회 춘계학술 발표 회	인삼경작지로부터 분리된 신규 미생물 <i>chryseobacterium yeoncheonense</i> sp. nov., 분리동정 및 인삼사포닌 rb1으로부터 F2로의 전환 경로 탐색
2012. 5.11 -12	2012년 한국 자원식물학회	구증구포 인삼 추출물 처리시 당뇨 세포의 소포체 손상 억제 효과

	춘계 학술 발표회	
	한국식품생명공학	light-dependent expression of HMG-COA reductase regulates ginsenoside contents in <i>Panax ginseng</i> C.A Meyer
2012. 9.26-27	한국자원식물학회 춘계 학술대회	multiplex-pcr 을 이용한 <i>withania sominifera</i> 과 <i>withania coagulans</i> 의 분자마커 개발
2012. 9.26-27	한국자원식물학회 춘계 학술대회	인삼근권으로부터 신균 <i>Epilithonimonas ginsengisoli</i> 의 분리 및 특성
2012. 9.26-27	한국자원식물학회 춘계 학술대회	인삼근권토양으로부터 신균 <i>Microbacterium panacihumi</i> 의 분리 동정 및 특성 조사
2012. 9.26-27	한국자원식물학회 춘계 학술대회	인삼근권토양으로부터 신규미생물 <i>labrys soli</i> 분리 동정 및 특성
2012. 9.26-27	한국자원식물학회 춘계 학술대회	돌외서식지 근권토양으로부터 신규미생물 <i>arthrobacter soli</i> 분리 동정 및 특성
2012. 10.18	ANBRRC2012	Development of beneficial compounds using genetic and enzymatic technique
2012. 10.18	ANBRRC2012	the ginseng bank in korea to promote the nation
2012. 10.21-26	plant molecular biology	light/dark dependent regulation of ginsenoside production in <i>Panax ginseng</i> C.A Meyer and its modulation by HMG-COA-reductase
2012. 11.26	고려인삼학회 춘계 학술대회	Metabolite profiling of panax ginseng roots using GC-TOF/MS based metabolomics approach
2012. 11.26	고려인삼학회 춘계 학술대회	Transcript patten of cytochrome p450 ,antioxidant and ginsenoside biosynthetic pathway genes under heavy metal stress in panax ginseng meyer
2012. 11.26	고려인삼학회 춘계 학술대회	molecular identification of korean ginseng cultivar "chunpoong "using the "Auxin repressed protein gene"
2013. 04.16	고려인삼학회 춘계 학술대회	Distribution of ginsenoside in the different parts of <i>Panax ginseng</i> at different ages
2013. 04.16	고려인삼학회 춘계 학술대회	Molecular characterization of two glutathione peroxidase genes of <i>Panax ginseng</i> and their expression analysis against environmental stresses
2013. 04.16	고려인삼학회 춘계 학술대회	<i>Flavobacterium panaciterrae</i> sp. nov., isolated from soil of a ginseng field
2013. 04.16	고려인삼학회 춘계 학술대회	<i>Lactobacillus rossiae</i> DC05 as a potential strain for the bioconversion of the major ginsenosides Rb1 and Re into the pharmacologically active ginsenosides C-K and Rg2
2013. 04.16	고려인삼학회 춘계 학술대회	Glycosylation of ginsenoside F1 by cyclodextrin glycosyltransferase
2013. 04.16	고려인삼학회 춘계 학술대회	Characterization of <i>Flavobacterium kyunghensis</i> sp. nov., isolated from the ginseng field
2013. 04.16	고려인삼학회 춘계 학술대회	Ginsenoside F2 inhibits adipocyte differentiation via binding with PPAR γ in 3T3-L1 cell line

2013.04.16	고려인삼학회 춘계학술대회	Computer-Aided identification of EGFR tyrosine kinase inhibitors using ginsenosides from Panax ginseng
2013.5.14-16	생화학분자생물학회	Stimulative effect of ginsenosides Rg5:Rk1 on mouse osteoblastic MC3T3-E1 cells

2절 연구개발결과의 활용방안

가. 연구개발 결과의 활용방안

- (1) 본 연구의 결과는 중국 및 동남아시아에서 화기삼(미국삼)의 관촉 전략에 대응할 수 있는 근거로 활용하여 인삼의 주된 수출 시장인 일본, 중국, 동남아시아 지역에서 고려인삼의 수출과 관촉 활동에 가장 큰 장애 요인의 하나인 체열상승과 관련된 부작용 우려감에 대한 부정적 인식을 제거하는데 큰 역할을 할 것이다. 이를 위해서 국제간 임상시험, 동양의 한의학적 관점(체질연관) 및 전임상 연구를 통하여 객관적이고 과학적인 체열작용에 대한 자료를 축적하여 고려인삼에 대한 부정적인 인식을 불식시키고 우려감을 해소 할 수 있는 학술홍보자료로 활용할 수 있을 것임.
- (2) 또한 임상효능연구결과는 아시아와 유럽, 미국 등에서 화기삼(미국삼)의 관촉 전략에 대응할 수 있는 학문적 대응 논리로서 유용하게 사용될 수 있을 것이며, 연구 결과는 우수한 SCI 국제 학술지에 발표함으로써 국내 인삼 업계의 각종 인삼 제품의 대외 수출 홍보에도 크게 기여할 것임.
- (3) 또한 연구결과물들은 수출지역의 언어(3개국 이상)로 번역하여 홍보물을 제작하고 국제학술회의와 고려인삼 박람회 등을 개최함으로써 국제시장에서 고려인삼의 우수성을 적극적으로 홍보할 것임.
- (4) 임상실험을 통하여 규명되는 체열작용에 대한 학술적자료를 바탕으로 현재 한의대학교에서 교육되어지고 있는 교과서에 적극적으로 반영할 것임.

나. 기대성과

(1) 경제·산업적 측면

- 임상시험에서 나타난 열감, 체열에 대한 근거자료를 바탕으로 화기삼(미국삼)의 추측성 홍보전략에 대응하여 고려인삼의 국제시장 영역을 확대하고 수출의 증가를 기대함.
- 고려인삼에 체열작용이 있다는 담론은 세계인들이 고려인삼을 소비하는 데 장애물로 작용하고 있는 실정으로 본 연구에서 이러한 담론이 생겨난 역사적 배경을 문헌적으로 밝히

고 체열작용에 대한 담론의 작위성을 드러내고, 이를 통해 고려인삼의 소비에 대한 장애요인을 제거하여 국제적으로 고려인삼이 더욱 많이 소비되는 크게 기여할 것임.

- 2006년 조사에 따르면 세계인삼 집산지인 홍콩에서 고려인삼의 점유율은 금액기준 2.8%로 북미산 화기삼(미국삼)이 차지하는 72.7%에 비해 턱없이 부족한 실정으로 고려인삼의 시장확대를 위한 적극적인 대책이 필요한 시점임. 고려인삼과 화기삼(미국삼)이 한국인과 중국인, 대만인에게 미치는 체온, 체열, 심박변이도, 혈액 구성 성분에 대한 영향을 임상적으로 시험하고 그 결과를 학술대회 및 학술지에 발표하여 “고려인삼이 화기삼(미국삼)에 비해 체열작용이 있어 동남아인에게 맞지 않다”는 추측성 가설의 오류를 증명하고, 국내외 홍보를 통해 현재 중국 및 홍콩 시장에서 화기삼(미국삼)에게 우위를 내주고 있는 고려인삼의 시장확대에 크게 기여할 것임.
- 본 과제를 통하여 고려인삼이 체열을 올리는 역할을 하지 않는 것을 확인 하였으며 화기삼(미국삼)과 비교하였을 때도 열에 대한 유의적인 차이가 없음을 확인하였음. 따라서 기존의 고려인삼의 수출을 저해하는 가장 큰 원인 중 하나인 고려인삼의 승열에 대한 잘못된 인식을 바로잡기 위해 다양한 홍보 방안을 필요로 하며 본 연구과제를 활용한 정책적 접근이 요구되어짐.
- 참여 기업의 국내 및 해외 지사를 통한 연구결과물의 홍보, 기존 해외시장에서의 고려인삼 승열에 대한 반박자료로 활용, 해외 시장의 마케팅 자료로 활용

(2) 기술적 측면

- 체열에 해당하는 자각적인 열감을 객관적으로 판단할 수 있는 검사지표를 확립한다면 추후 화기삼(미국삼)의 체열에 관한 홍보전략에 대응하는 학문적 배경이 마련되고 적극적 시장확대의 주요 수단이 될 것임.
- 특화된 기술을 활용하여 기존 연구와는 차별화된 인삼에 의한 체열작용에 대한 종합적이고 체계적인 해답을 제시할 수 있음. Metabolic cage의 도입은 단순 체온변화 이상의 다양한 대사지표를 객관화 할 수 있도록 하여 한정적이고 단편적이었던 인삼 체열작용에 대한 연구를 한차원 높은 수준으로 향상 시킬 것으로 기대됨.
- 열감, 체열에 대한 객관적인 지표를 마련하여 추후 관련된 연구의 기틀이 되고 인삼의 효능을 증명하는 근거자료를 확립함.

제 6 장 참고문헌

1. 이동필. 화기삼(미국삼)의 효능주장과 화기삼(미국삼)의 발전과정에 관한 고찰. 고려인삼학회지. 2006;30(3):158-164
2. 서정철, 이경립, 변준석, 김명수, 하일도, 허정결 등. 한국인과 중국인에서 고려삼과 화기삼(미국삼)의 체표온도에 대한 이중맹검-무작위배정 임상시험. 대한본초학회지. 2003;18(2):71-86.
3. 서정철, 허정결, 한상원, 이경립, 변준석, 김명수 등. 한국인과 중국인에서 체온에 대한 고려삼과 화기삼(미국삼)의 영향-이중맹검 무작위배정 임상시험. 동의생리병리학회지. 2003;17(3):837-841.
4. 서정철, 한상원, 변준석, 안희덕, 하일도, 조건호 등. 한국인과 중국인에서 인삼과 서양삼(화기삼) 복용후 전신 증상 - 이중맹검 무작위배정 임상시험. 고려인삼학회지. 2005;29(1):27-36.
5. 조기호, 정우상, 김영석. 한국산 백삼, 홍삼, 중국산 백삼 및 서양삼(화기삼)의 혈압강하에 미치는 임상연구 - 무작위, 이중맹검 임상시험. 고려인삼 추계 학술대회. 2005.
6. 김성훈, 이상룡, 도재호, 이성계, 이광승. 고려홍삼과 서양삼(화기삼)이 사람의 체온, 맥박수, 임상증상 및 혈액학적 변화에 미치는 영향. 고려인삼학회지. 1995;19(1):1-16.
7. 경희대학교 한의과 대학 제45기 졸업준비위원회: 한방 진단의 실제적 접근, 서울, 일지사, 1997;266.
8. 이경섭. 한의학에 있어서의 DITI의 활용. Infrared Information Journal. 1996;6.
9. 이경섭, 김영수. DITI Findings Pre- and Post-Acupuncture Treatment on Cold Hypersensitivity. Infrared Information Journal. 1996:Sept.
10. 권기록, 고희균; 적외선 체열측정 영상의 한방 임상응용을 위한 표준화 연구 I. 대한침구학회지. 1996;13(2):8-9.
11. Pieper SJ, Hammill SC. Heart rate variability: technique and investigational applications in cardiovascular medicine. Mayo Clin Proc. 1995;70(10):955-64.
12. Zhao Jinduo. 《The Marquis of syndrome in TCM differential diagnostics》 [M]. The first edition. Beijing: People's Health Publishing House,1987:93
13. Zhao Jinduo. 《The Marquis of syndrome in TCM differential diagnostics》 [M]. The first edition. Beijing: People's Health Publishing House,1987:109
14. Chen Jiayu. 《Diagnostics of TCM》 [M].The second edition. Beijing: People's Health Publishing House,2012:154
15. He qinghu. 《Handed Down Collection of book.the sub-libraries. The department of medical 》 [M]. (wei)Wujin. 《 [Sheng Nong's herbal classic](#)》 [M]. The first edition. Haikou:The Hainan International News Publishing Center, March 1995:1797
16. Li Shizhen. 《Compendium of Materia Medica》 [M].The first edition. Beijing: People's Health Publishing House,1982:201
17. Hou Baoyu. 《The pharmacology of traditional Chinese medicine》 [M]. The second edition.Beijing:Traditional Chinese Medicine Press, march 2007:211-214

18. Zhao Jinduo. 《The Marquis of syndrome in TCM differential diagnostics》 [M].The first edition. Beijing:People'sHealthPublishingHouse,1987:1962
19. Tan Xinggui. 《Chinese Materia Medicated Diet》 [M].The first edition,the nineteenth.Beijing:Traditional Chinese Medicine Press ,march 2011:162

주 의

1. 이 보고서는 농림축산식품부에서 시행한 수출전략기술개발사업의 연구보고서입니다.
2. 이 보고서 내용을 발표할 때에는 반드시 농림축산식품부에서 시행한 수출전략기술개발사업의 연구결과임을 밝혀야 합니다.
3. 국가과학기술 기밀유지에 필요한 내용은 대외적으로 발표 또는 공개하여서는 아니 됩니다.