

제 1차년도
년차보고서

다년생도라지의 약리작용에 기초한
건강식품 소재의 개발

Development of the material for health food
using medical action of a perennial
platycodon grandiflorum

연구기관

경상대학교 자연과학대학

농림수산부

1년차 연구보고서

1995년도 농림수산특정연구사업에 의하여 개발중인 다년생 도라지의 약리작용에 기초한 건강식품 소재의 개발에 관한 연구의 1년차 보고서를 별첨과 같이 제출합니다.

첨부 : 1. 1년차 보고서 3부

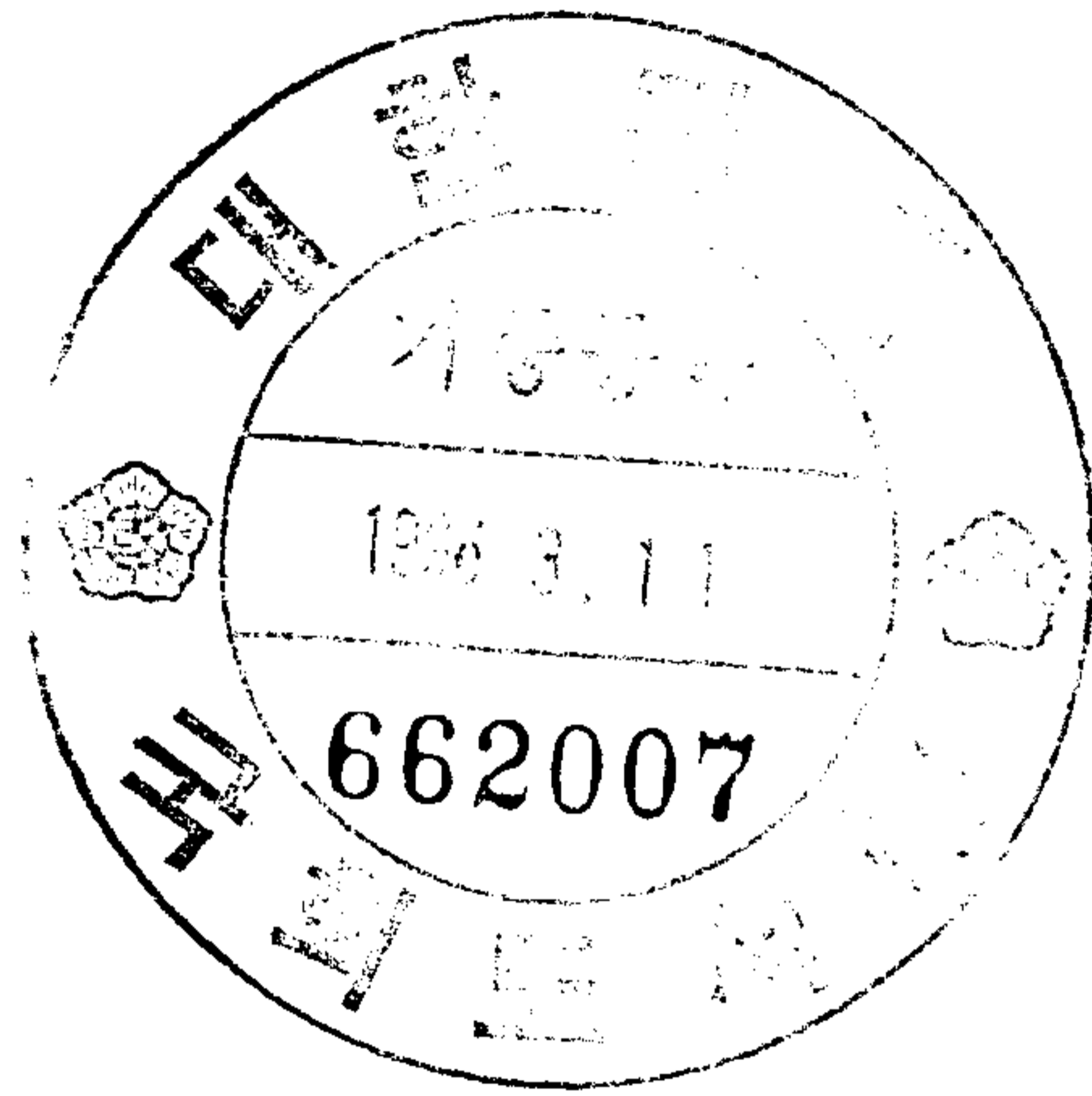
1995. 12. 15

주관 연구 기관 : 경상대학교 자연과학대학

총괄연구책임자 : 교수 성 낙 주

주관연구기관장 : 총장 서 영 배 (직인)

농 립 수 산 부 장 관 귀 하



제 출 문

농림수산부 장관 귀하

본 보고서를 “다년생도라지의 약리작용에 기초한 건강식품 소재의 개발에 관한 연구” 과제의 1년차 보고서로 제출합니다.

1995. 12. 15.

주관연구기관명 : 경상대학교 자연과학대학

총괄연구책임자 : 성 낙 주

연 구 원 : 고 영 희

연 구 원 : 전 효 곤

연 구 원 : 강 인 수

연 구 원 : 정 영 철

연 구 원 : 김 양 우

연 구 원 : 이 수 정

연 구 원 : 이 성 호

요 약 문

I. 제 목

다년생도라지의 약리작용에 기초한 건강식품 소재의 개발

II. 연구개발의 목적 및 중요성

지금까지 보고된 도라지에 관한 문헌을 수집하여 정리한 후 2년생 도라지의 약리성분과 생리적 활성을 토대로 22년생 도라지의 특수 성분은 분석하여 이들 물질의 약리작용을 *in vivo* 와 *in vitro* 상태에서 확인 하였으며, 22년생 도라지에 많이 함유되어 있는 성분의 생리활성과 구조해석을 진행하여 건강보조식품 개발에 적용함으로써 고소득 작물로 육성하고, 동시에 국민보건 향상에 기여한다.

III. 연구개발 내용 및 범위

다년생 도라지의 건강식품 소재화에 요구되는 주요 실험을

1. 4년생 및 다년생 도라지의 성분 분석 및 비교
2. 다년생도라지의 유용물질 검색 및 활성 검사
3. 다년생도라지를 이용한 각종 건강 보조식품의 소재화로 대별하여 진행하였다.

IV. 연구개발결과 및 활용에 대한 건의

2~4년생과 22년생 도라지의 약리성분에 대한 검색 및 효능이 일차적으로 완료되어 이들 실험 결과를 기초한 건강보조식품도 4종이 개발되었으므로, 또한 다년생 도라지 재배자 (77농가)를 중심으로 결성된 “성호 다년생 도라지 영농조합 법인”에 기술을 이전하여 산지가공공장 설립을 하는데 있어 정부의 지원이 요망된다.

SUMMARY

Platycodon radix is a dried root of *Platycodon grandiflorum* (*P. grandiflorum*) A. DC, a perennial grown on the hills and fields in Korea and Japan, or cultivated in various districts. The roots of *P. grandiflorum* have been used as an expectorant in the symptoms of cold, cough, asthma and pulmonary tuberculosis and as valuable for the control of pleuritis in oriental medicine. As folk medicine, it is used in cough with sputum, tonsillitis, laryngeal pain, pulmonary pain, pertussis and inflammatory diseases.

Recently, *P. grandiflorum* was succeeded in cultivating for a long period above 22 years old and has generally been employed as folk remedy for diseases of adulthood such as hyperlipidemia, hypertension and diabetes. Thus, this study was performed to ultimately develop the materials for health food using 22 years old *P. grandiflorum* by investigating effective medical compounds and examining their medical action *in vitro* and *in vivo*. As the first step, the chemical compositions and effective compounds of 4 years old and 22 years old *P. grandiflorum* were analyzed and compared. The contents of crude saponin, dietary fiber, inulin, inorganic elements showed slight difference between 4 years and 22 years old *P. grandiflorum*. Particularly, the significant difference of inulin oligomers from G-F₂ to G-F₉ in 4 and 22 years old roots suggested conformation change according cultivation period. Extracts of ethanol and methanol isolated from 4 and 22 years old roots were analyzed by HPLC. The results showed two different peaks which represented higher peak area in 22 years old root than that in

4 years old root.

To identify above compounds, various instrumental analyses were performed for petroleum, diethyl ether fractionation HPLC fraction, and the major compound was estimated to be steroid. This steroid had the free radical removal activity but did not show cell toxicity.

Ethanol and water extracts of 4 and 22 years old *P. grandiflorum* were tested for their antimicrobial activities against 15 types of strain. The ethanol extracts of 22 years old root inhibited the growth of all test organisms except *Rhizopus javanicus*. Minimal inhibition concentration against 15 types of strain, pH, temperature stability and extraction condition of antimicrobial agent were investigated.

To study the effect of *P. grandiflorum*(22 years old) feeding on serum and liver lipid concentration, diet-induced hyperlipidemic rats were fed diets containing 5% and 10% *P. grandiflorum* powder for 3 weeks. The *P. grandiflorum* feeding markedly decreased both serum and liver lipid concentrations in hyperlipidemic rats. Especially, 5% *P. grandiflorum* diet significantly decreased the concentration of total cholesterol and triglycerides in serum and liver as compared with those of the hyperlipidemic control group. Dietary *P. grandiflorum* also induced a reduction in low-density lipoprotein(LDL) cholesterol as well as an increase in the concentration of high-density lipoprotein (HDL) cholesterol in serum. Furthermore, the atherogenic index was also low in rats fed *P. grandiflorum* diet. These results indicated that dietary *P. grandiflorum* may have a beneficial effect on preventing hypercholesterolemia and hyperlipidemia.

Six types of health food were developed using above results; enzyme

treatment food, functional food and *P. grandiflorum* treated other medicinal herbs.

CONTENTS

I . Introduction

1. Purpose and Scope of R & D
2. Results Anticipated
3. Plan for Practical Use

II. Analysis and Comparison of Major Effective Compounds between 4 and 22 Years *P. grandiflorum*.

1. Introduction
2. Materials and Methods
3. Results and Discussion

III. Screening and Activity Test of Major Effective Compounds from a Perennial *P. grandiflorum*

1. Introduction
2. Materials and Methods
3. Results and Discussion

IV. Development of Health Food using a perennial *P. grandiflorum*

1. Introduction
2. Materials and Method
3. Results and Discussion

V. Summary

목 차

제 1 장 서론

제 1절 연구개발의 목적과 범위

제 2절 기대되는 성과

제 3절 실용화 방안

제 2 장 4년생 및 22년생 도라지의 성분분석 및 비교

제 1절 서설

제 2절 재료 및 방법

제 3절 결과 및 고찰

제 3 장 다년생 도라지의 유용물질 검색 및 활성검사

제 1절 서설

제 2절 재료 및 방법

제 3절 결과 및 고찰

제 4 장 건강보조 식품의 개발

제 1절 서설

제 2절 재료 및 방법

제 3절 결과 및 고찰

제 5 장 요약

제 1장 서론

제 1절 연구개발의 목적과 범위

도라지(길경)는 한방에서 배농, 거담제로 주로 사용되는 생약재로서 도라지가 배합되어 있는 한방 처방수는 동의보감에 278건, 방약합편에 49건에 수록되어 있을 정도로 다양한 약리작용을 지닌 중요한 식물이다. 도라지의 식물화학적 연구가 1940년대부터 일본의 연구자들에 의해 시작되어 약리성분인 terpenoid계 saponin이 발견된 후 1974년부터 국내에서도 서울대 생약연구소의 이은방 박사 팀 등이 도라지 약리 물질인 platycodin의 약리작용을 광범위하게 조사하였다.

이 연구에 의하면 도라지는 ① 중추억제작용(진통,해열 및 진정작용) ② 항염증작용 ③ 위궤양 예방 및 치료작용 ④ 혈압강하작용 ⑤ 항choline효능성 작용, intestinal propulsion의 억제 및 용혈작용이 있는 것으로 밝혀졌으며, 최근에는 Nakata등이 도라지내의 inulin이 항암효과가 우수하다는 연구결과를 보고 하였고, Hitokoto등은 독소를 생성하는 미생물의 독소생성능과 생육을 억제하는 효능을 발표한 것을 비롯하여 외국에서는 약리성분에 대한 연구가 활발하게 진행 중에 있다. 그런데 지금까지 한방, 식용 및 실험에 사용되어온 도라지는 1~3년생의 도라지를 사용할 수 밖에 없었다. 그러나 이성호씨에 의해 재배에 성공한 다년생 도라지(22년생)에 대한 약리효과는 당뇨병, 고혈압, 동맥경화증, 협심증 및 혈관순환 장애등의 성인병 환자 그리고 기관지 질환 환자에게 투여하여 완치시킨 임상결과는 많이 보관하고 있으나 실험을 통한 연구결과는 거의 없고, 단지 본 연구책임자와 진주전문대 식품영양과 정영철 박사팀(본연구의 협동연구개발자)에 의해 식품부패 및 병원성 미생물에 대한 항균활성이 확인되었고 또한 고지혈증 쥐와 당뇨병 유발 쥐에 도라지 추출물을 투여하였을때 치료효과가 있음이 관찰된 바 있다.

다년생 도라지는 1956년 이성호씨에 의해 재배연구가 시작되어 15년동안 실패를 거듭한 후 1991년에 재배방법에 대한 특허를 취득하였으며, 현재 국내는 물론 세계에서 유일하게 15년 이상의 다년생 도라지 6만평(60,000x15kg=900톤)과 22년생 이상의 다년생도라지 2만평(20,000평x15kg=300톤)을 서부경남 일대의 4개면 120여 농가에 위탁재배 형식으로 집단화하여 농가소득 증대(평당 순수익 3,500원)에 기여하고 있다.

최근 22년생 도라지는 당뇨병, 고혈압과 동맥경화증 등의 심장순환기계 질환 그리고 기관지 질환 환자를 완치한 많은 임상 결과의 내용이 MBC TV(6시 내 고향, 92년 11월 3일), KBS TV(농어촌 지금은, 94년 5월 8일), 주간조선(94년 4월호), 월간신시(93년 12월호)등을 비롯한 각종 일간지에 보도된 바 있어 그 수요가 급격히 증가하고 있다. 그러나 1995년 부터 매년 2만여 평에 생산되는 22년생 이상의 다년생 도라지가 300여톤 (3,600억, 300톤x12만원/kg)에 달하여 현재 시판되고 있는 형태인 생도라지로서의 판매는 한계가 있어 우선 건강보조식품으로의 개발이 시급한 과제이다. 따라서 본 연구는 국내외적으로 연구가 거의 없는 다년생 도라지의 약리효능을 기초로한 건강보조식품을 개발하여 다년생 도라지의 공급을 안정화시켜 위탁재배농가에 고소득을 지속적으로 보장해 주고 궁극적으로는 부가가치가 높은 우루과이 라운드 대체작물로 발전시키는데 있다.

특히 1995년 1월 다년생도라지 재배자(77농가)를 주축으로 “성호 다년생도라지 영농조합 법인”을 설립하여 다년생도라지의 가공 공장 설립을 추진하고 있어 본 연구의 결과는 건강식품 개발에 매우 중요한 자료로 활용할 수 있다. 따라서 1차년도에서는 4년근과 22년근 도라지의 일반성분을 비롯한 몇몇 약리활성물질의 함량을 비교분석 하고, 또한 22년근도라지에만 존재하거나 혹은 4년근에 비하여 특히 많이 함유되어 있는 유용물질을 분리하여 이들 물질의 활성 검사를 시도함으로써 궁극적으로는 22년근 도라지를 이용한 건강보조식품 개발을

위한 소재화 기초연구를 수행하였다.

제 2절 기대되는 성과

1. 농가소득 증대 측면

일반적으로 농가에서 재배하는 쌀, 보리, 고구마등의 재배시에 농비를 제외하면 평균 순수익이 평당 1,000원인데 비하여 다년생 도라지를 위탁재배한 경우에는 평당 3,000원(1-3년간), 4년 부터는 4,000원 으로서 3-4배의 순수익이 보장되어 약 110여 가구에 3억 4천만원에서 4억 6천만원의 농가소득이 보장되어 있고, 재배자 중심으로 영농조합법인이 결성되어 있어 이것을 이용하여 건강보조 식품화가 되면 그 소득은 연간 최소 20억 이상으로 증가할 것으로 예상된다.

2. 지방 부존자원 활용측면

가. 다년생 도라지는 한번 심으면 비료, 농약이 필요없이 5년 이상을 재배하는 무공해 생약재이므로 관리와 노동력이 절감되는 장점이 있다. 따라서 농한기를 이용하기 때문에 다른 작물의 재배도 충분히 가능하다(주로2-3월).

나. 토질과 관계없이 도라지는 잘 생육하므로 휴경지 및 개간지 등을 활용할 수 있다.

다. 다년생 도라지가 가공식품화가 되면 공급이 확대되고 가격안정화에도 기여하기 때문에 다년생 도라지의 재배 면적 확대로 인하여 농한기, 휴경지, 개간지등의 활용이 증대될 것으로 예상된다.

3. 고용효과

주원료 생산을 위한 고용 및 가공식품 생산에 활용될 인원이 약 40~50명이 될 것임.

가공식품 생산에 필요한 인원은 영농조합법인의 조합원 중심 또는 공장소재

지 인근 농민을 대상으로 채용할 계획임.

4. 향후전망

다년생 도라지(최고 25년생)는 재배특허자이며 본 연구의 협동연구자인 이 성호씨와 110여가구 재배자만이 소유하고 있는 생약재로서 중국, 일본등에 최소한 향후 15년까지는 지속적인 수출이 가능하다. 따라서 다년생 도라지의 건강보조식품 및 의약화로써의 성공여부는 유용 물질의 약리효과를 구명하는데 있을 것으로 판단되어 지속적인 연구로 궁극적으로 의약품 개발로 부가가치를 높혀 수출을 계획중에 있음.

5. 학술적 효과

가. 1차년도에서 얻어진 년근별 도라지의 inulin의 fructose 중합도 차이는 도라지의 재배기간을 측정할 수 있는 기초 자료로 활용할 수 있다.

나. 동물실험에서 밝혀진 고지혈증 치료 효능은 다른 한방제제의 혼용으로 혈액순환기계 질환의 예방 및 치료제 개발에 이용될 수 있다.

6. 기타

현재 당뇨병, 고혈압, 천식, 폐렴, 관절염등에 탁월한 효과가 임상실험으로 증명되고 있어 국민보건증진은 물론 UR대체 식물로서 발전가능성이 매우 높다.

제 3절 실용화 방안

1차년도 연구에서 얻어진 다년생 도라지의 유용물질 및 약리적 작용은 건강보조식품의 소재화에 이용될 수 있는데, 현재 다년생 도라지 재배자를 중심으로 결성된 “성호 다년생 도라지 영농조합 법인”에 이들 기술을 이전하여 산지 가공 공장 설립에 기여하고 또한 향후 과학적 홍보 자료로 활용하고자 한다.

제 2장 4년생 및 22년생 도라지의 성분분석 및 비교

제 1절 서설

도라지(길경, *Platycodon grandiflorum* A. DC)는 도라지과에 속하는 다년생 초로서, 한국, 일본, 중국 등에서 널리 자생하며 식용 및 약용으로서의 소비량 증가로 재배면적이 확대되고 있는 실정이다. 길경이 배합된 한방처방에는 방약합편에 49건, 동의보감에 287건이 수록되어 있을 정도로 유용한 생약재로서 기관지염, 천식, 소염, 배농, 보혈, 양혈 등에 오랫동안 광범위하게 처방되어 왔으나, 현재의 약리적 기초연구는 미흡한 수준이다.

도라지의 약리성분에 대한 연구는 Akiyama가 triterpenoid계인 platycodigenin을 분리한 것을 시초로 platycodigenin I, platycodigenic acid A, B, C 등의 구조가 규명되었으며, 그 외에 betulin과 α -spinasterol의 존재가 보고된 바 있고, 최근에는 도라지의 D inulin이 특이하게 항암활성과 면역증강 효과가 있음이 보고되고 있다.

지금까지 도라지에 대한 모든 연구는 2~4년근 도라지만 사용할 수 밖에 없었으나, 본 연구과제의 협동연구자인 이성호씨에 의해 개발된 20년 이상의 다년생 도라지의 유용성분 및 약리적 효능에 대한 연구는 서부 경남 120여 농가, 약 10만평에 집단화 되어 있는 다년생 도라지의 건강보조식품 소재화에 큰 기여를 할 것으로 예상된다. 따라서 1차년도에서는 4년생과 22년생 도라지의 일반성분과 지금까지 보고 되어 있는 주요 성분에 대한 함량을 비교 분석함으로써 건강보조식품 개발에 필요한 기초 자료로 활용할 수 있을 뿐만 아니라 長生 도라지의 연수 측정에 기초 자료로 이용하고자 한다.

제 2절 재료 및 방법

1. 도라지

본 실험에서 사용된 4년생 및 22년생 도라지는 본 연구의 협동개발연구자인 이성호씨로부터 공급 받았으며, 수분함량이 15% 내외로 건조한 다음 추출시료로 사용하였다.

2. 식이섬유

도라지를 세척 및 탈피한 후 세절하여 동결건조한 다음 Prosky-AOAO법에 따라 식이섬유를 추출하였고, 불용성 및 수용성 식이섬유 추출법은 Fig. 2-1과 같다.

3. saponin

동결건조한 분말 5g을 취하여 Shibata 등의 방법에 의하여 crude saponin을 추출 분석하였다.

즉, 수분 함량이 15%이하로 된 건조 분말 도라지에 80% methanol을 첨가하여 70℃에서 4회 추출한 후 농축한 액에 물을 첨가하였다. 여기에 diethyl ether로 다시 4회 추출하여 물층을 분리하고 buthanol과 물로 불순물을 제거한 다음 crude saponin을 얻었으며 TLC 및 HPLC로 확인 또는 정량 하였다.

4. 에탄올 추출물

동결건조한 도라지 분말 100g에 95% 에탄올 1,000ml을 가한 후 실온에서 125rpm으로 교반하면서 24시간 동안 추출한 액을 여과(Whatman No.2)하였다. 잔사에 위와 같은 조작을 2회 반복하여 얻은 에탄올 추출액을 rotary evaporator로 감압농축하여 에탄올 추출물을 얻었다.

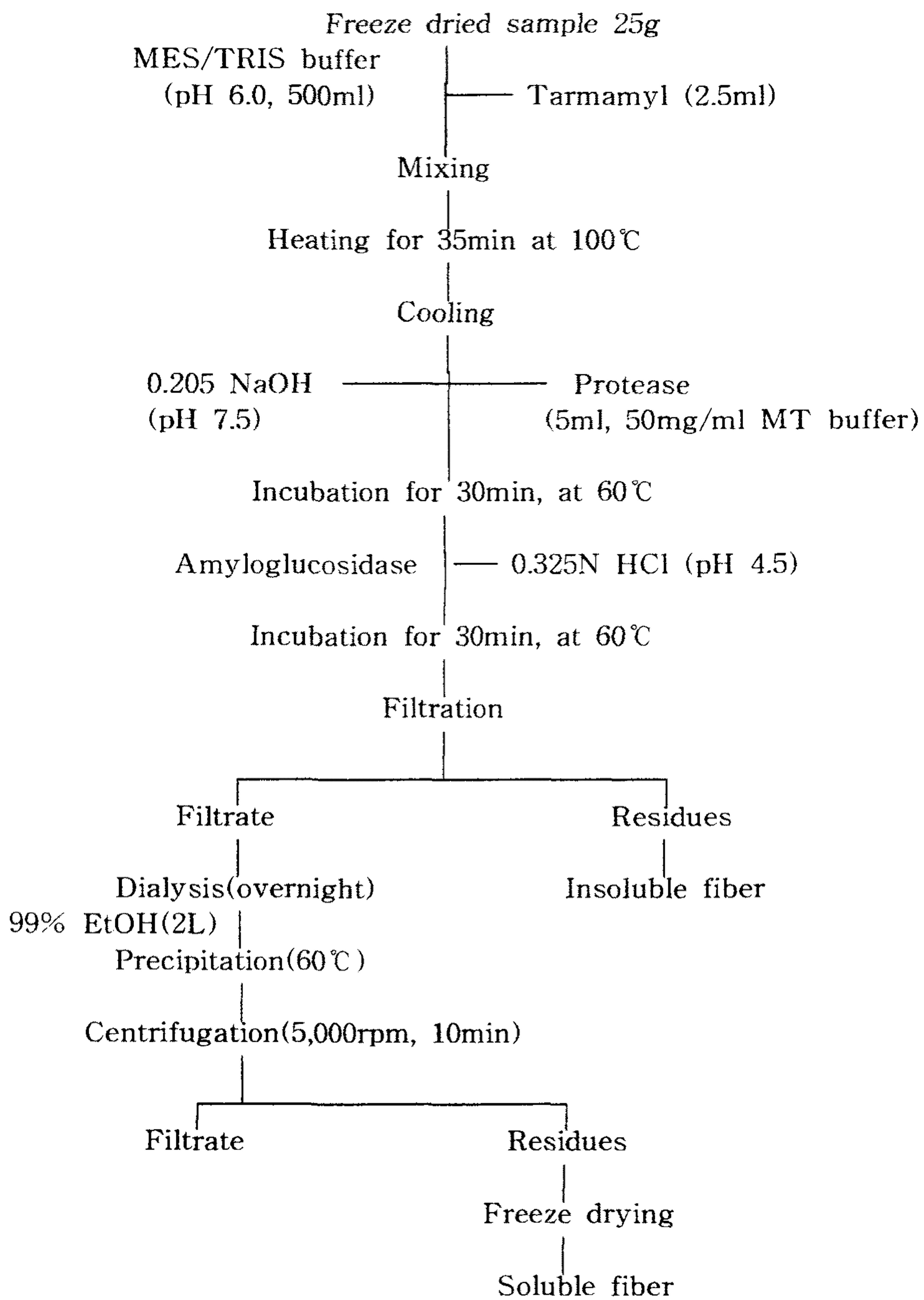


Fig. 2-1. Extraction procedure of insoluble and soluble fiber from *Platycodon grandiflorum*.

5. 이눌린

도라지 300g을 70%에탄올(물 v/v) 용액 2.5 l 에 침적하여 3주간 방치한 후 여과하여 에탄올을 30도에서 진공증류하여 수층을 11로 만들었다. 이후 1-butanol 500ml로 5회 추출하고 물층은 30도의 진공상태에서 300ml가 될때까지 증류하였다. 이것을 동결건조 시킨 결과 각각 22g과 21g씩의 고형 성분을 얻었다.

이들 고형성분 1.5g을 물 20ml에 녹인후 Charcoal과 Celite의 1:1(W/W) 혼합한 관을 통과시킨 후 여과 하여 1.2g의 고형성분을 얻었다. 이렇게 하여 얻어진 고형성분들을 HPLC(Senshu Pak-NH₂ column)하여 각각의 성분들의 상대적인 비율을 구하였다. 이때 사용된 HPLC는 Waters 510을 사용하였으며 detector는 Waters Differential Refractometer R401인 RI를 사용하였다. HPLC의 사용 조건은 1000psi의 압력으로 용매의 양은 2ml/min로 하였으며 column은 Senshu-pak NH₂(8x250mm)를 사용하였다.

6. 4년근 및 22년근 도라지 추출물의 HPLC에 의한 비교분석

가. 22년근 추출물의 조제

100g의 시료에 500ml의 80% ethanol을 넣고 mixer에서 갈아 여과하여 그 여액을 모우고 잔사는 다시 500ml 80% ethanol로 두번 추출하여 여액을 모아 감압농축하여 80% 에탄올 추출물로 하였고 나머지 잔사는 30% 메탄올 11로 추출하여 30% 메탄올 추출물로 하였다.

나. 4년근 추출물의 조제

22년근 추출물 조제 방법과 동일하게 행하였다.

다. 추출물의 고속액체 크로마토그래피

TOSho제 고속액체 크로마토그래피 장치를 사용하였고 column은 YMC pack

ODS-AQ column을, 용매는 15% MeOH을 이용하였고 이때 유속은 1ml/min이였다.

7. 22년근 도라지의 성분 분획

HPLC 분석에서 4년생 도라지와 성분함량이 확인된 성분의 구조 및 특성규명을 위해 Fig.2-2와 같이 처리하여 그 특성을 조사 중에 있다.

8. 석유에테르와 디에틸에테르 추출물의 분획

석유에테르 용매로 충전한 Silicagel column(2.5x25cm)에 Silica와 함께 건조한 추출물을 loading 하여 석유에테르와 디에틸에테르의 비율을 10:0, 9:1, 8:2, 7:3, 6:4, 5:5, 4:6, 3:7, 2:8, 1:9, 0:10로 한 혼합 용매 300ml로 순차적으로 용출하여 용출되는 용액을 50ml씩 분획하였고 이중에서 8-21번 fraction을 254nm에서 흡광도를 나타내는 물질을 Phenomenex C₁₈-NH₂ column으로 3가지 화합물을 순수하게 분리하여 H-NMR, MS, IR등을 이용하여 구조분석 중이며 14-16번 fraction에서 steroid 성분으로 추정되는 물질을 Sephadex LH20 column과 결정화로 분리하여 TLC에서 전개하여 anisaldehyde-H₂SO₄ 용액에서 청색으로 발색되는 성분을 순수하게 분리하여 구조분석 중에 있다.

9. BuOH 추출물의 분획

Sephadex LH20 column에 MeOH를 사용하여 분획하였다.

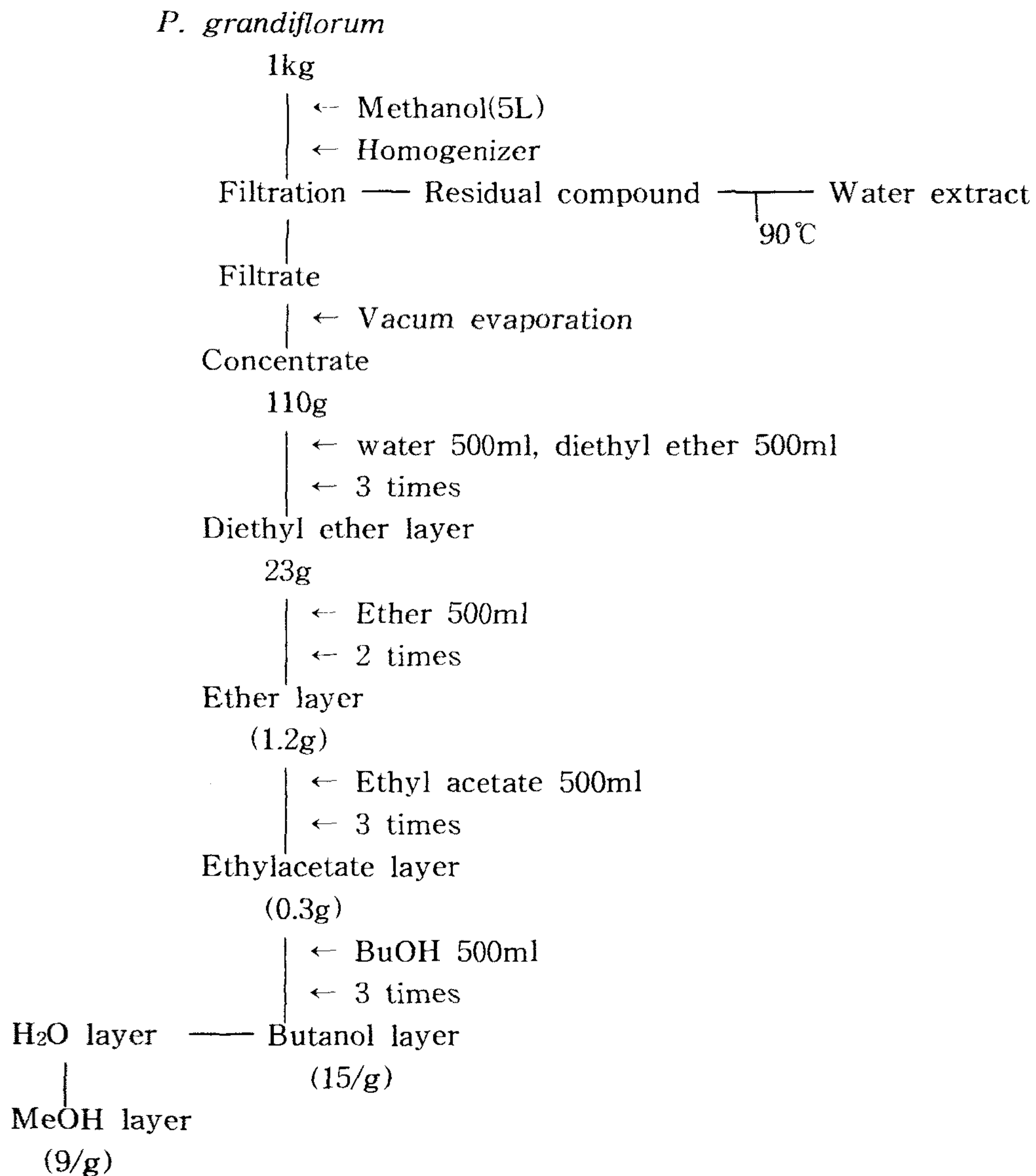


Fig. 2-2. Fractionation procedure of biologically active compounds from *P. grandiflorum* (22 years).

제 3절 결과 및 고찰

1. 일반성분

본 실험에 사용된 4년근 및 22년근 도라지의 일반성분은 Table 5와 같다. 4년근과 22년근 도라지의 총 식이섬유 함량은 각각 50.0%, 53.1%로서 불용성 식이 섬유가 32.0%, 40.6%, 수용성 식물섬유가 18.0%, 12.0%이고, 에탄올 추출물은 11.6%, 12.0%였으며, 도라지의 crude saponin은 3.0%, 3.4%로서 22년근이 4년근 보다 약 0.4% 높았는데, 이는 인삼의 사포닌 함량이 5년근까지는 현저히 증가하나 6년근부터는 saponin함량 증가가 미미하다는 것과 비슷한 경향을 보였다.

Table 2-1. Chemical composition of *platycodon grandiflorum*

Composition\Year	(%)	
	4	22
Moisture	1.90	0.70
Crude lipid	1.03	0.99
Total dietary fiber	50.00	53.10
Insoluble fiber	32.00	40.60
Soluble fiber	18.00	12.50
Crude saponin	3.00	3.40
Ethanol extract	11.60	12.00

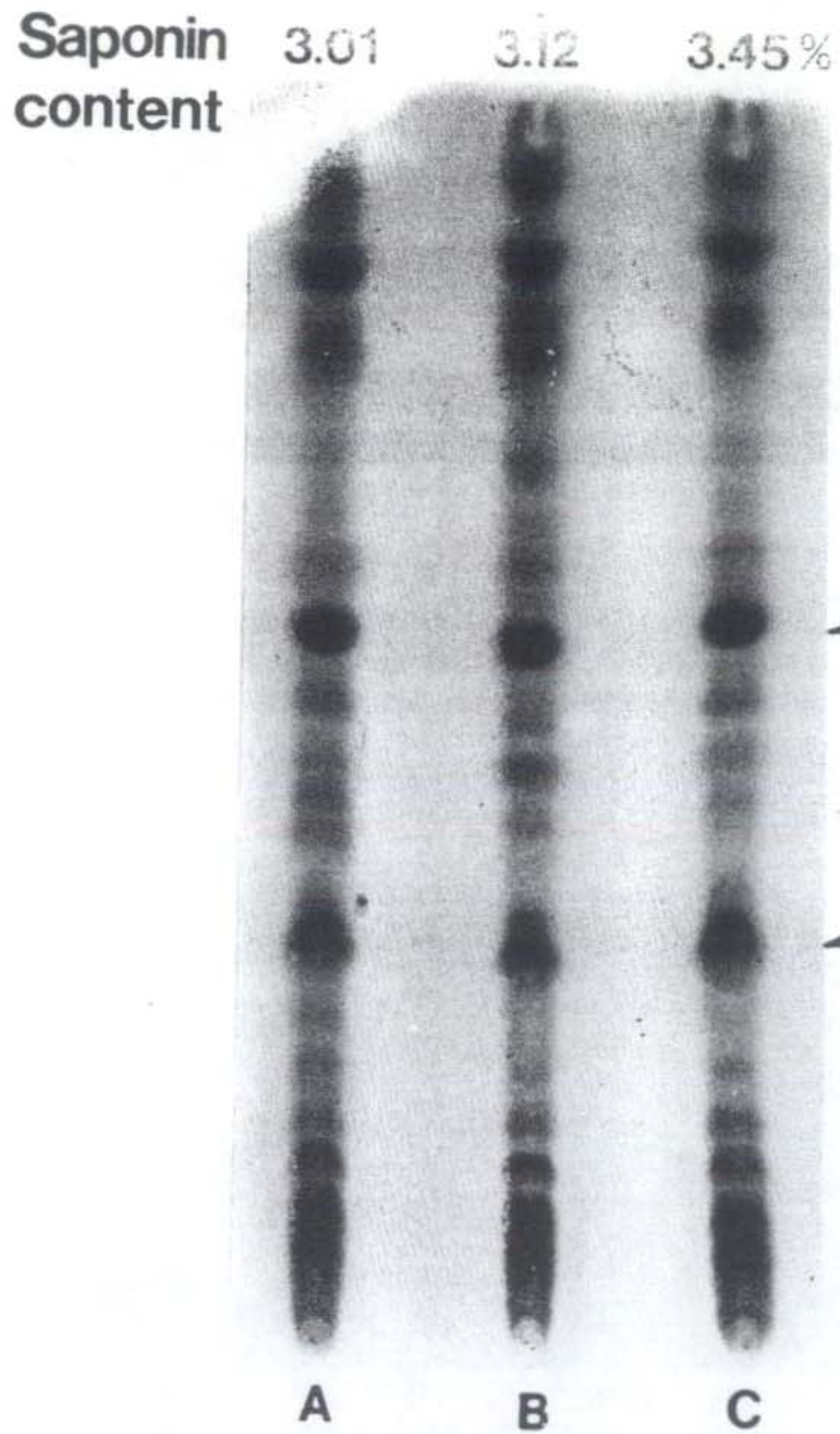


Fig. 2-3. TLC pattern of crude saponin isolated from *P. grandiflorum*, 4 years old(A), 10 years old(B) and 22 years old(C)

Fig. 2-3은 년근별 도라지의 조사포닌을 TLC에서 관찰한 결과로서, 18종의 사포닌이 확인되었으나 년근별 도라지의 사포닌 함량과 전체적 pattern에서는 큰 차이를 발견할 수 없었다. 현재 TLC 상에서 분리가 가능한 두 종류의 사포닌(화살표)을 수확하여 구조분석을 진행 중에 있다.

2. 이눌린 함량

도라지의 이눌린은 강력한 항암효과가 있음이 보고되었고, 또한 치커리의 이눌린은 당뇨치료 효과가 우수하다는 연구 보고를 기초로 년근별 도라지의 이눌린 함량을 조사한 결과 4년근은 73mg/g, 22년근은 70mg/g으로 거의 차이가 없었다. 따라서 fructose 중합체인 이눌린의 중합도에 차이가 있을 것으로 추측되어 fructooligosaccharide의 크기를 HPLC로 분석한 결과 몇가지 흥미있는 결과를 얻을 수 있었다.

Fig.2-4에서 보는 바와 같이 retention time이 16.5분을 중심으로 3년생 도라지의 경우는 앞 retention time의 성분(42.3%)과 뒤 retention time의 성분(56.6%)이 거의 차이가 없이 나타났으나 22년생 도라지의 경우는 앞 retention time의 성분(67.9%)과 뒤 retention time의 성분(27.9%)이 많은 차이가 나타났다. 또한 물/에탄올로 추출한 후 나머지를 다시 물속에서 환류시켜 얻은 소량의 성분들에서도 상기와 같은 결과를 관찰할 수 있었다.

이 결과에서 2가지 중요한 사실을 유추할 수 있다. 첫째는 4년생 도라지와 22년생 도라지의 약효성분의 차이를 설명할 수 있는 근거가 될 수 있으며, 다른 하나는 년근별 도라지들의 성분을 비교 분석하는 연구를 계속하고 있다. 또한 각 성분들에 대한 면역부활활성을 조사하고 있다.

Fig. 2-5는 년근별 도라지 이눌린의 fructose 중합도의 pattern을 HPLC로 분석한 결과이다.

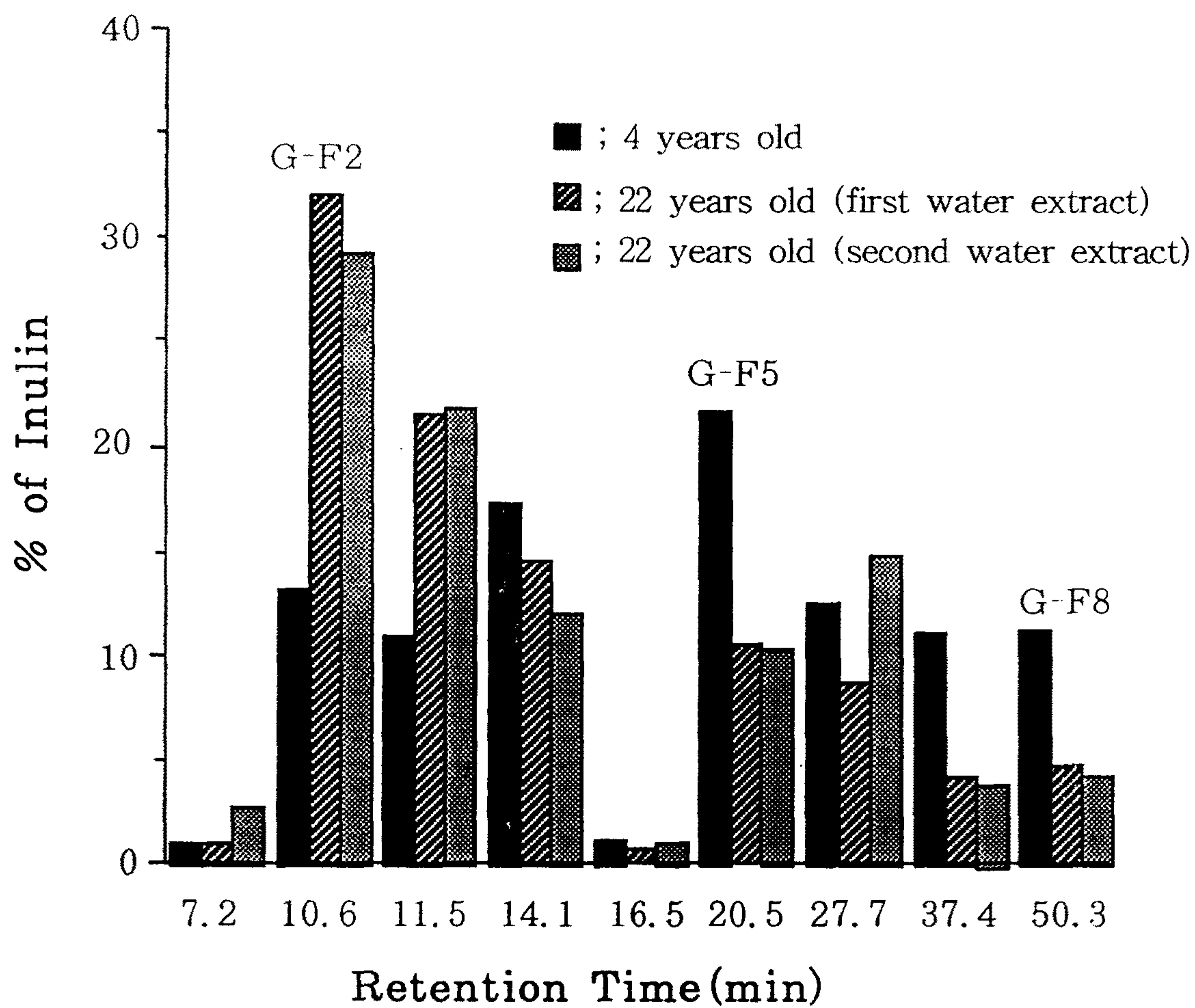


Fig. 2-4. Fructooligosaccharide content of inulin isolated from *P. grandiflorum*

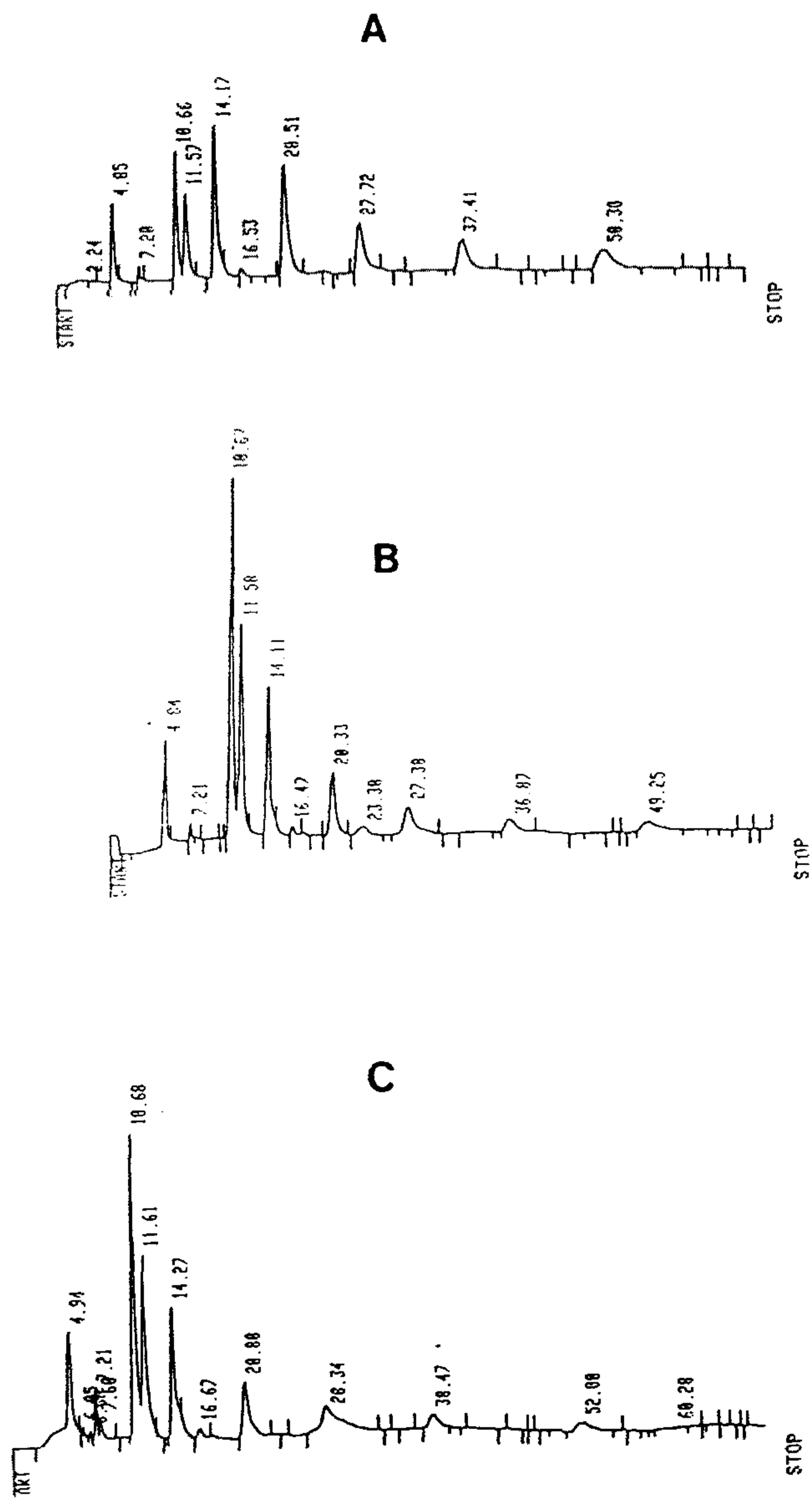


Fig. 2-5. HPLC pattern of fructooligosaccharide isolated from *P.grandiflorum*,
4 years old(A), 22 years old(B), and 22 years old(C)¹

* 1, Second water extract

년근별 도라지(3, 6, 10, 15, 20, 24년)를 95% ethanol과 열수로 각각 추출하여 각종 무기염의 농도를 Atomic Absorption Spectrophotometer(Thermo Jarrell Ash AA spectrophotometer 1000/4000)로 측정하였다.

95% ethanol 추출물에서 년근별 도라지의 무기염은 전반적으로 K과 Cu함량이 높았고, Mg과 Cu는 24년근에서 특이적으로 높게 검출되었다(Fig. 2-6). 그의 Fe, Ca, Al, K등은 재배년수에 따른 유의적인 차이를 나타내지 않았다.

열수추출물에서의 년근별 도라지의 무기염 농도는 에탄올 추출물에서의 결과와 상이하게 나타났는데 즉, Ca과 K의 농도가 Fe, Mg, Al에 비하여 높게 검출되었고 특히 Ca의 농도가 재배년수에 따라 증가하여 24년생근에서는 3년근에 비하여 4.5배 증가된 결과를 얻었다(Fig. 2-7).

Fig. 2-8은 각종 무기염의 AA chromatogram을 나타낸 것이다.

4. 4년근 및 22년근 도라지 추출물의 HPLC에 의한 비교분석

가. 80% 에탄올 추출물의 HPLC분석

Fig. 2-9에서 나타난 결과와 같이 년근별 도라지의 성분 차이가 확인되었다. 즉, 22년근의 경우 11.40의 retention time(RT)을 가지는 peak의 량이 4년근의 11.71보다 약 3배정도 많이 존재하는 것으로 나타났고 retention time 5분과 6분대 peak는 22년근과 4년근에서 차이는 관찰할 수 없었으나 retention time의 차이가 나는 것으로 보아 어떤 성분의 유무와 상관성이 있을 것으로 추정된다. 그리고 RT가 낮은 부위에서 22년근의 함량이 4년근보다 높은 것으로 추정된다.

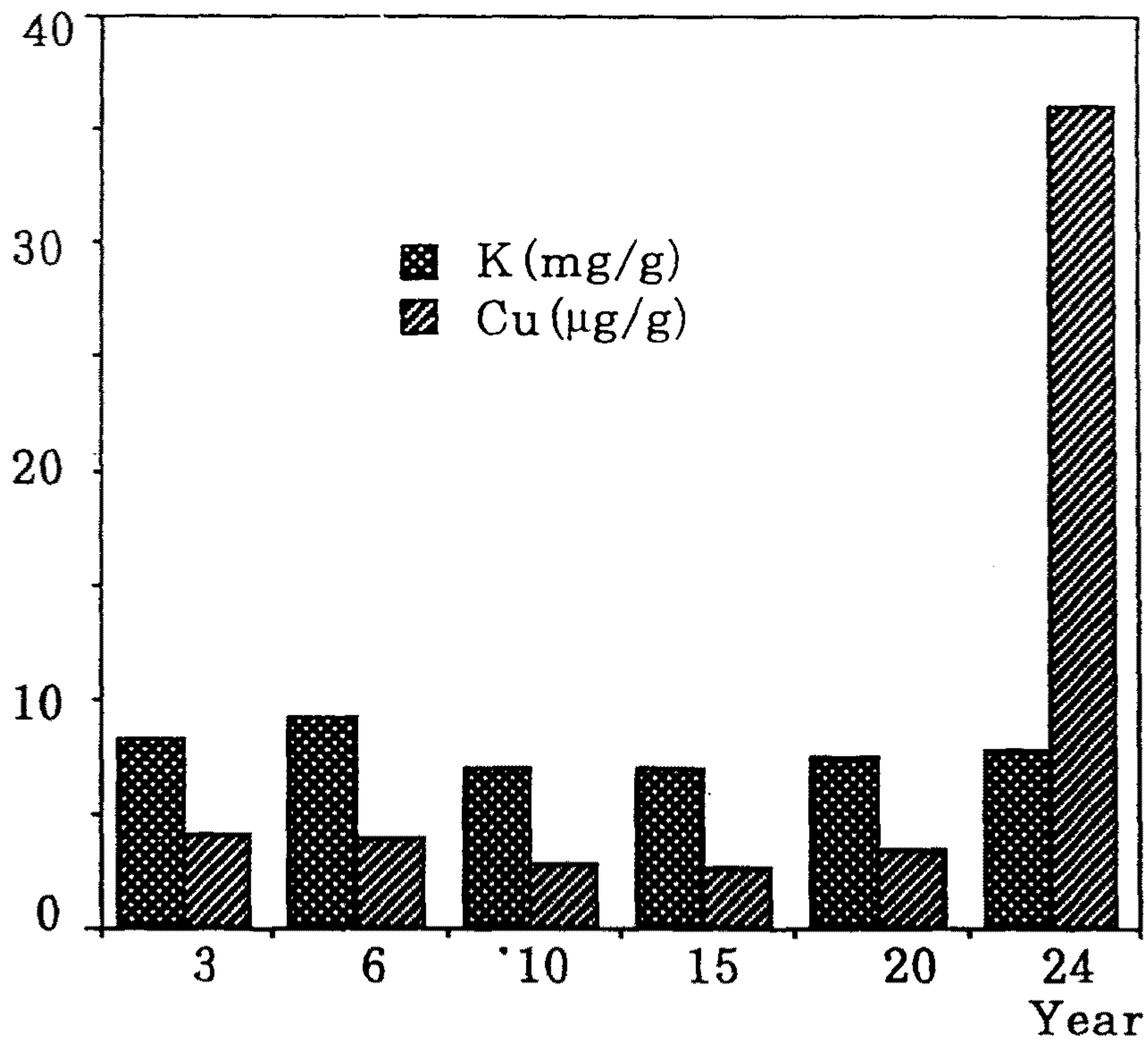
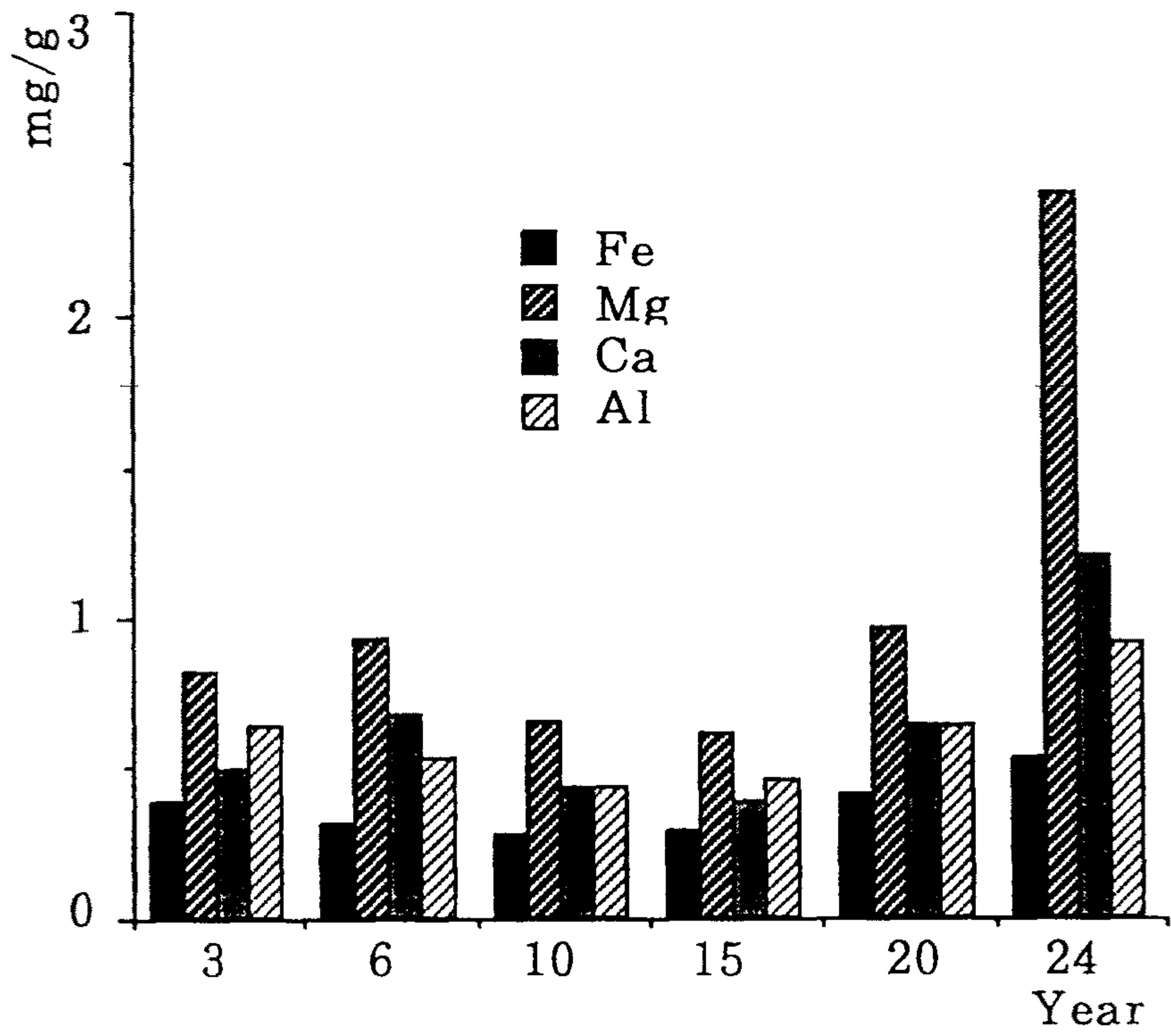


Fig. 2-6. Inorganic components of *P. grandiflorum* ethanol extracts

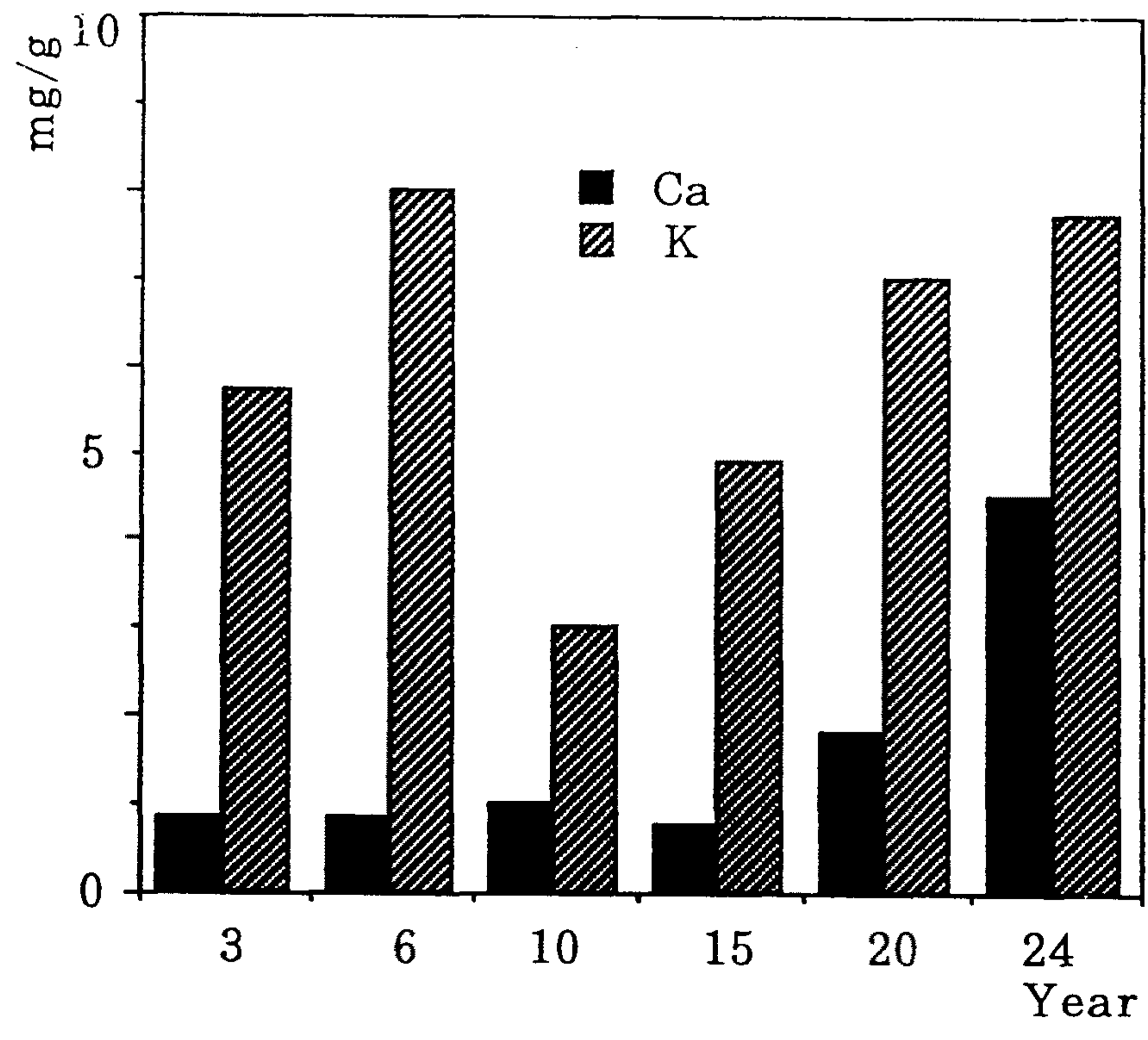
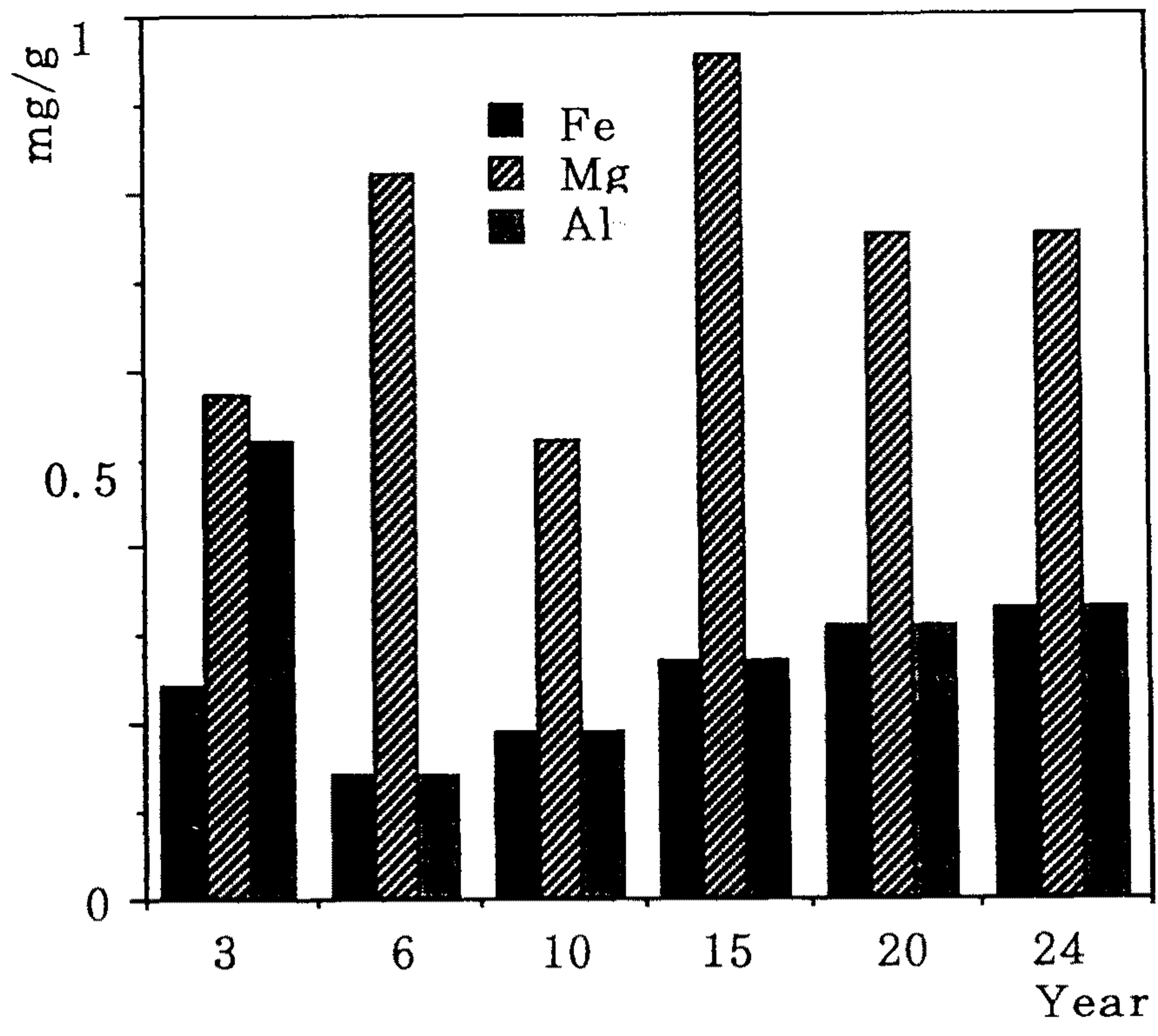


Fig. 2-7. Inorganic components of *P. grandiflorum* hot water extracts

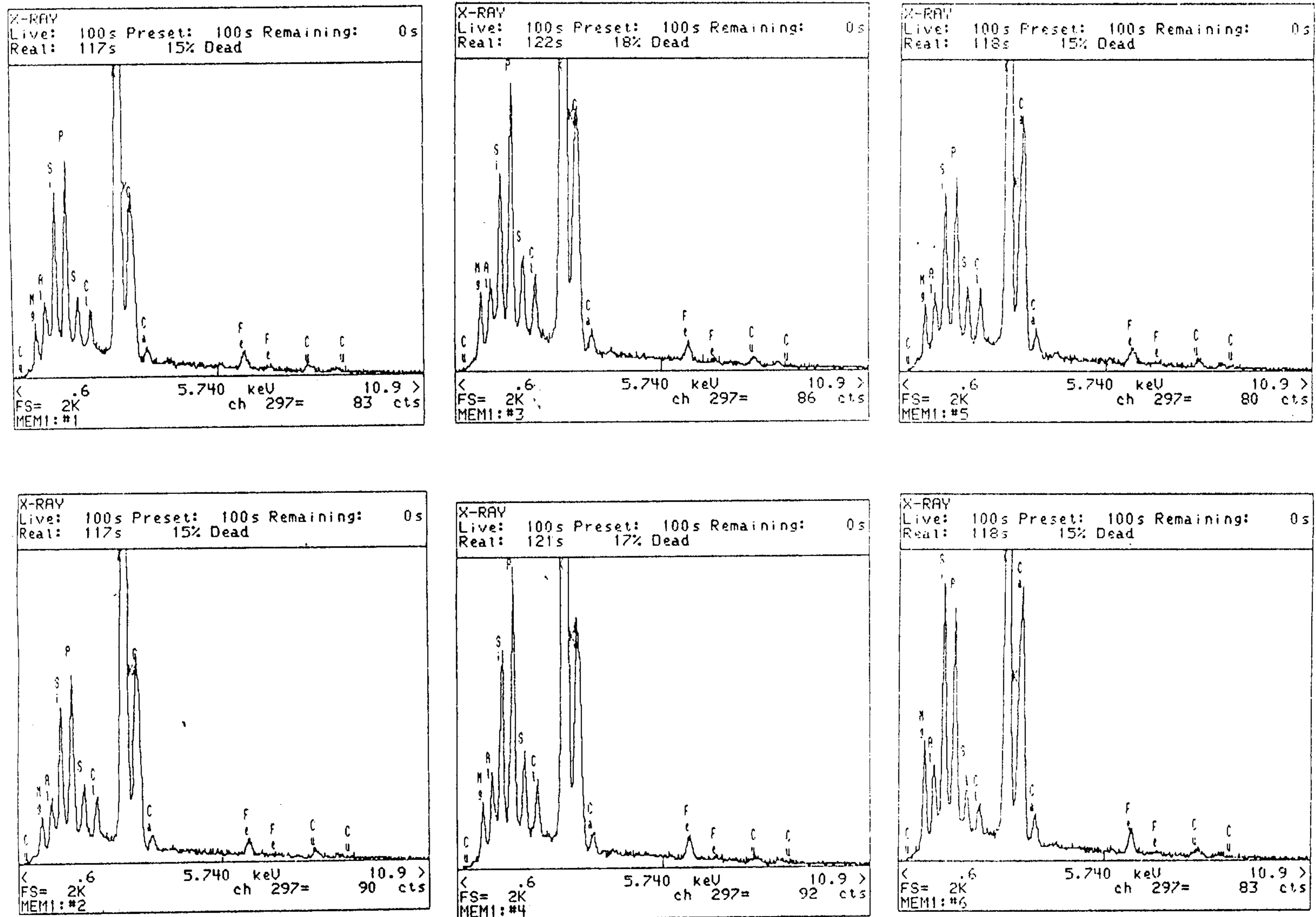


Fig. 2-8. AA chromatogram of *P. grandiflorum* ethanol extracts.

MEM 1 : #1(3 years), #2(6 years), #3(10 years), #4(15 years), #5(20 years), #6(24 years)

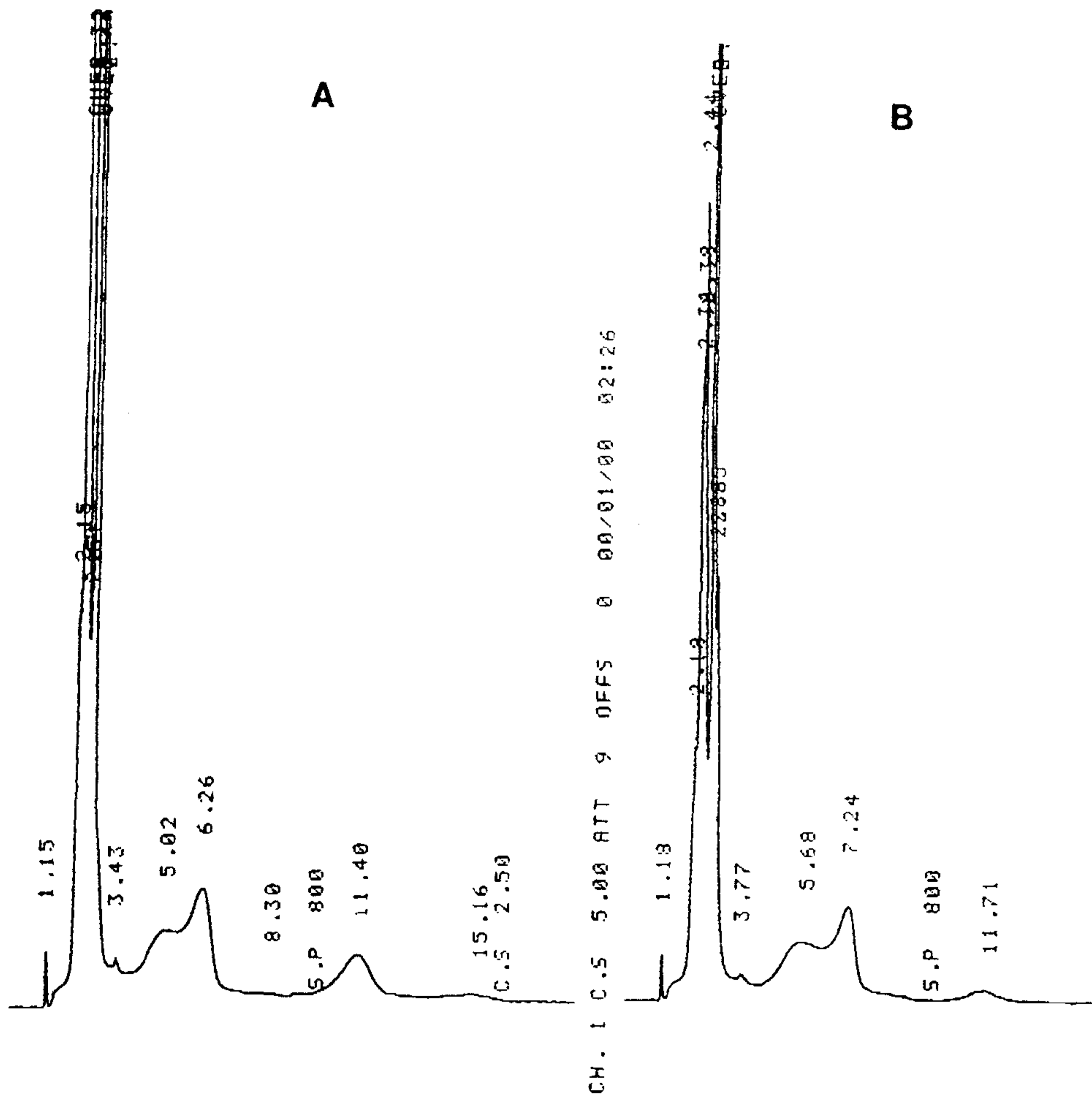


Fig. 2-9. HPLC profile of 80% ethanol extracts from *P. grandiflorum*, 22 years old (A) and 4 years old (B).

타나 본 성분함량이 22년근에서 4년근에 비해 3배정도 높게 존재하는 것으로 추정되고 5.08분대의 peak는 4년근이 22년근에 비해 2배정도 더 존재하는 것으로 추정된다(Fig. 2-10).

다. 22년근 도라지의 유용물질의 분리

4년근 및 22년근 도라지의 추출물을 HPLC로 분석하였을때 (Fig. 2-9, 2-10) 성분함량의 차이가 뚜렷한 분획으로 부터 유용물질을 분리하여 그 구조 및 특성을 구명하기 위하여, 먼저 Fig.2-2와 같이 분획하였을때 석유 ether와 diethyl ether 추출물 중에서 여러 생리활성 효과가 인정되어, 이들 추출물을 재료 및 방법에서 기술된 방법으로 정제하여 HPLC에서 정제도를 조사하였다.

Fig. 2-11에서 나타난 바와 같이 순수하게 분리된 물질을 확인할 수 있었으며, 이 물질을 Fig. 2-12와 같이 $^1\text{H-NMR}$ Spectrum을 측정하였다.

$^1\text{H-NMR}$ spectrum에서 6.9ppm 부근에서 aromatic ring 구조에 기인하는 peak가 관찰되었고 0.9ppm의 methyl기와 1.3ppm의 peak, 2.0ppm의 peak, 2.8ppm의 peak, 5.4ppm의 peak등이 $^1\text{H-homocopy}$ spectrum(Fig. 2-13)에서 연결되어 있는 것으로 보아 본 화합물은 unsaturated aliphatic fatty acid와 ring 구조를 가진 화합물이 결합되어 있는 것으로 추정되며, $^{13}\text{C-NMR}$ spectrum에서 174ppm의 carbon은 carboxylic acid에서 유래되고 또한 20.0ppm과 40.0ppm 사이에서 나타난 chemical shift로 부터 methylene group 에서 유래되는 carbon peak들로 추정되어 fatty acid의 존재를 확인할 수 있었고(Fig. 2-14), $^1\text{H-NMR}$ 에서 3.6ppm의 methoxy peak와 $^{13}\text{C-NMR}$ 에서 56ppm의 methyl carbon으로 부터 aromatic ring 구조에 O-methoxy가 결합되어 있는 것으로 추정된다. 또한 ether분획에서 결정상의 물질을 분리하여 $^1\text{H-NMR}$ spectrum을 조사하여 본 결과 (Fig. 2-15) steroid성 화합물로 추정되었다.

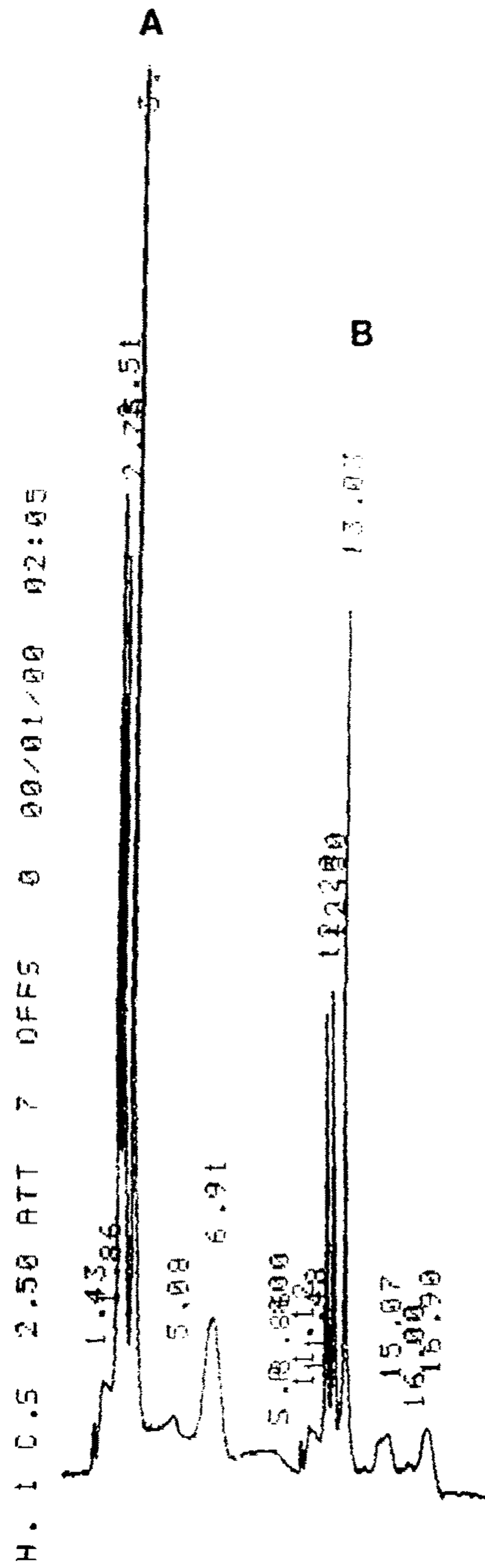


Fig. 2-10. HPLC profile of 30% methanol extracts from *P. grandiflorum*, 22years old (A) and 4 years old (B).

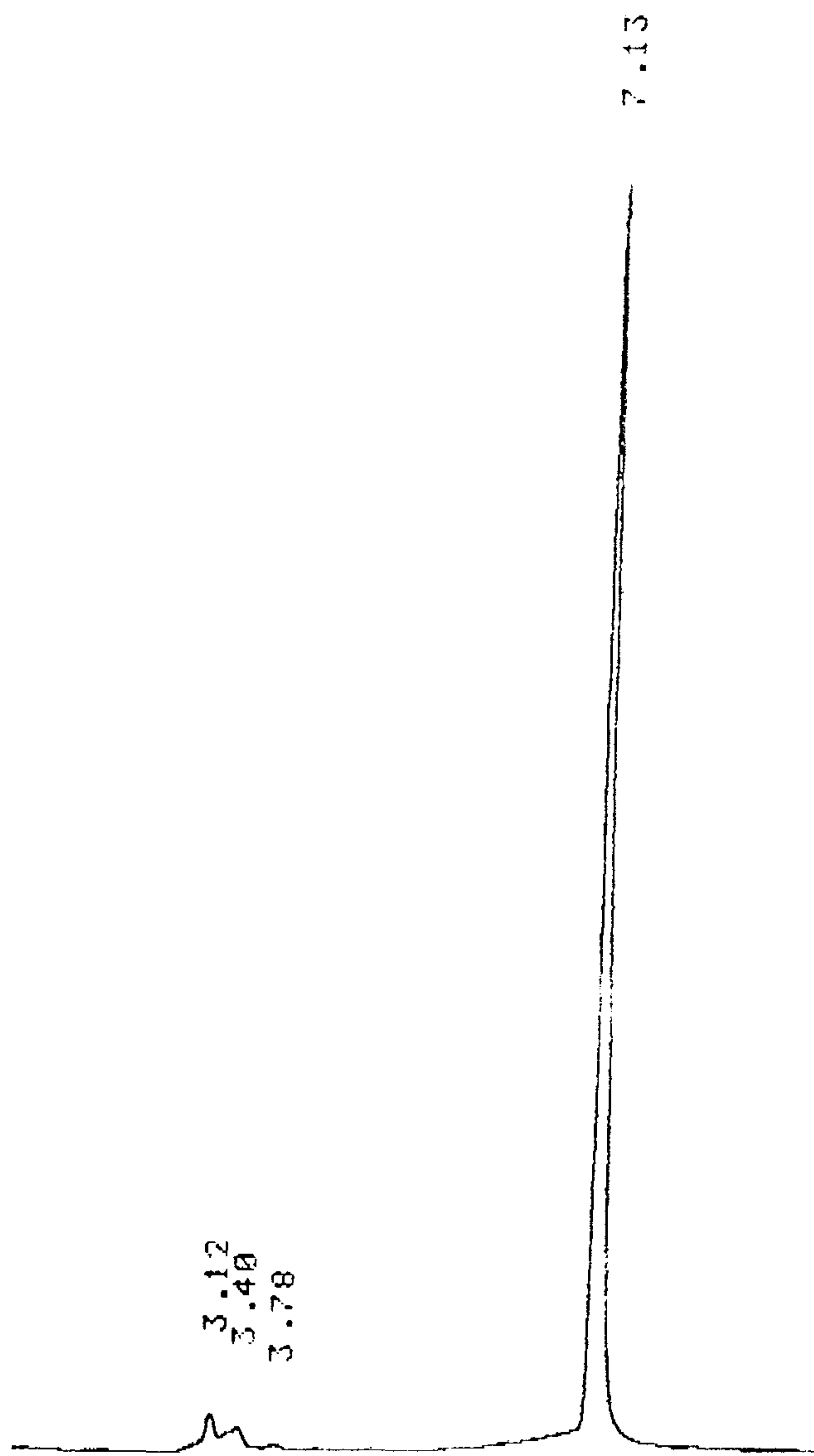


Fig. 2-11. HPLC profile of ether and diethyl ether extract fractionated from methanol extracts.

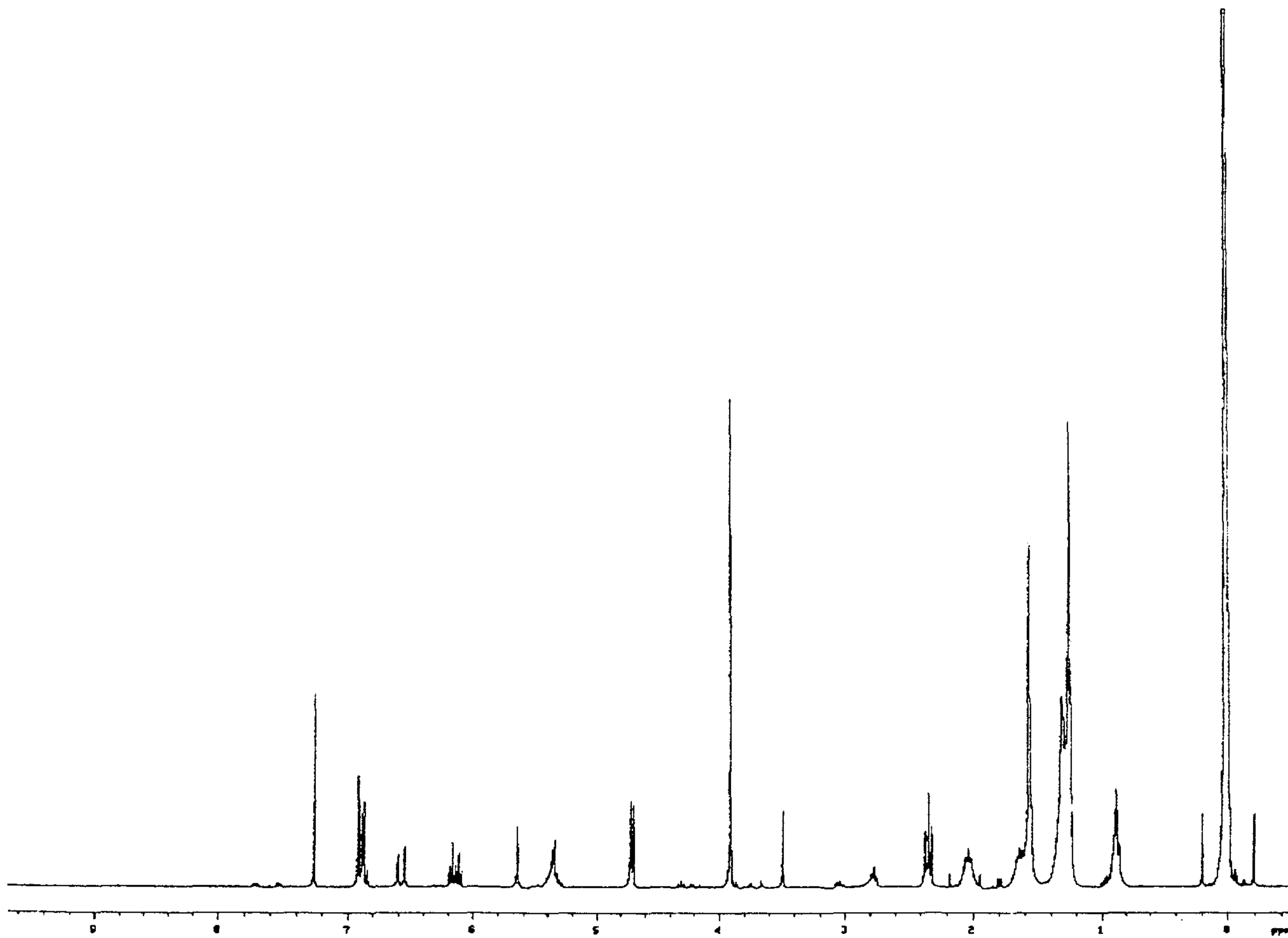


Fig. 2-12. ¹H-NMR spectra of *P. grandiflorum*, ether and diethyl ether fractionate.

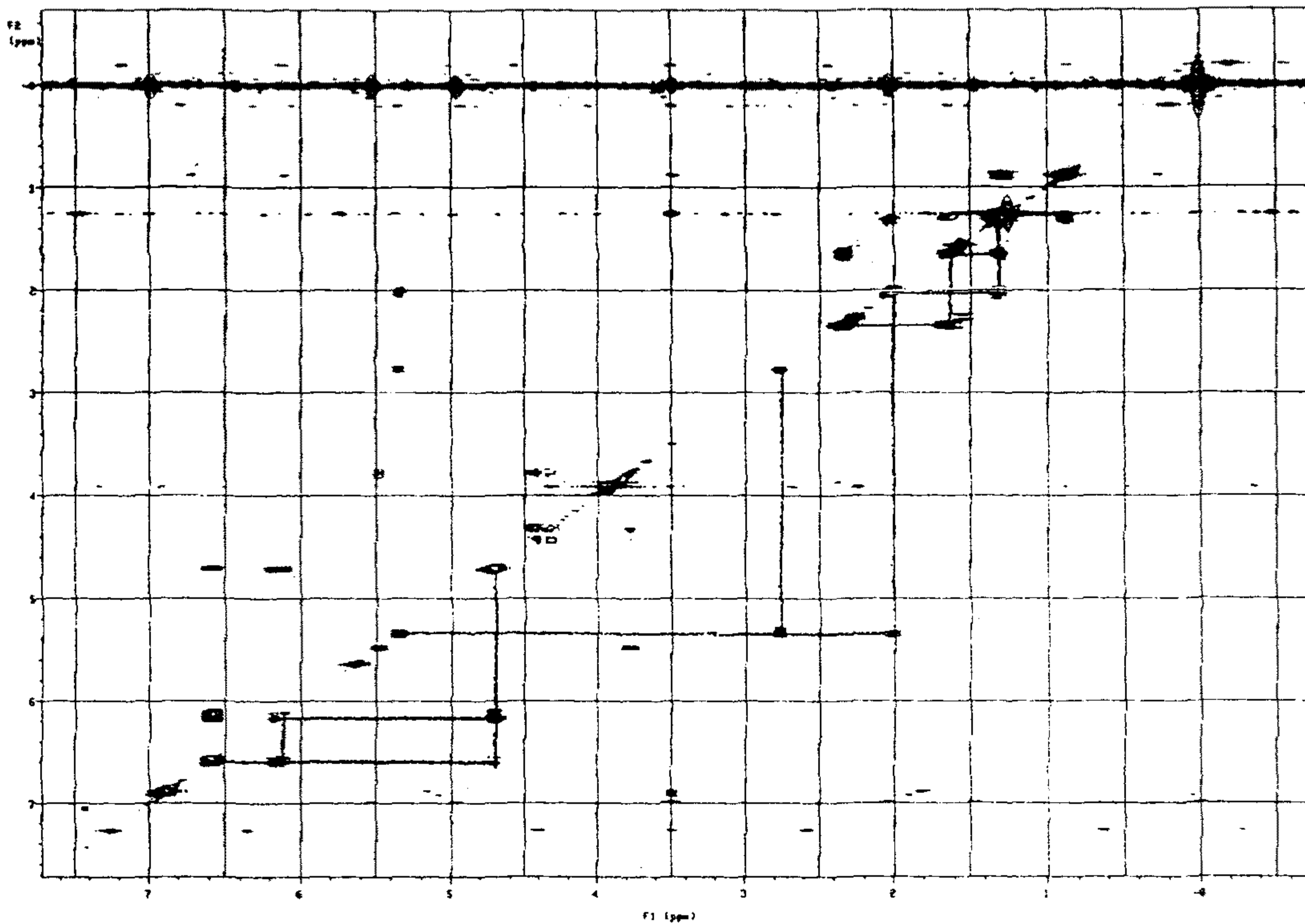


Fig. 2-13. $^1\text{H},^1\text{H}$ -homocorrelation spectrum of compound DI.

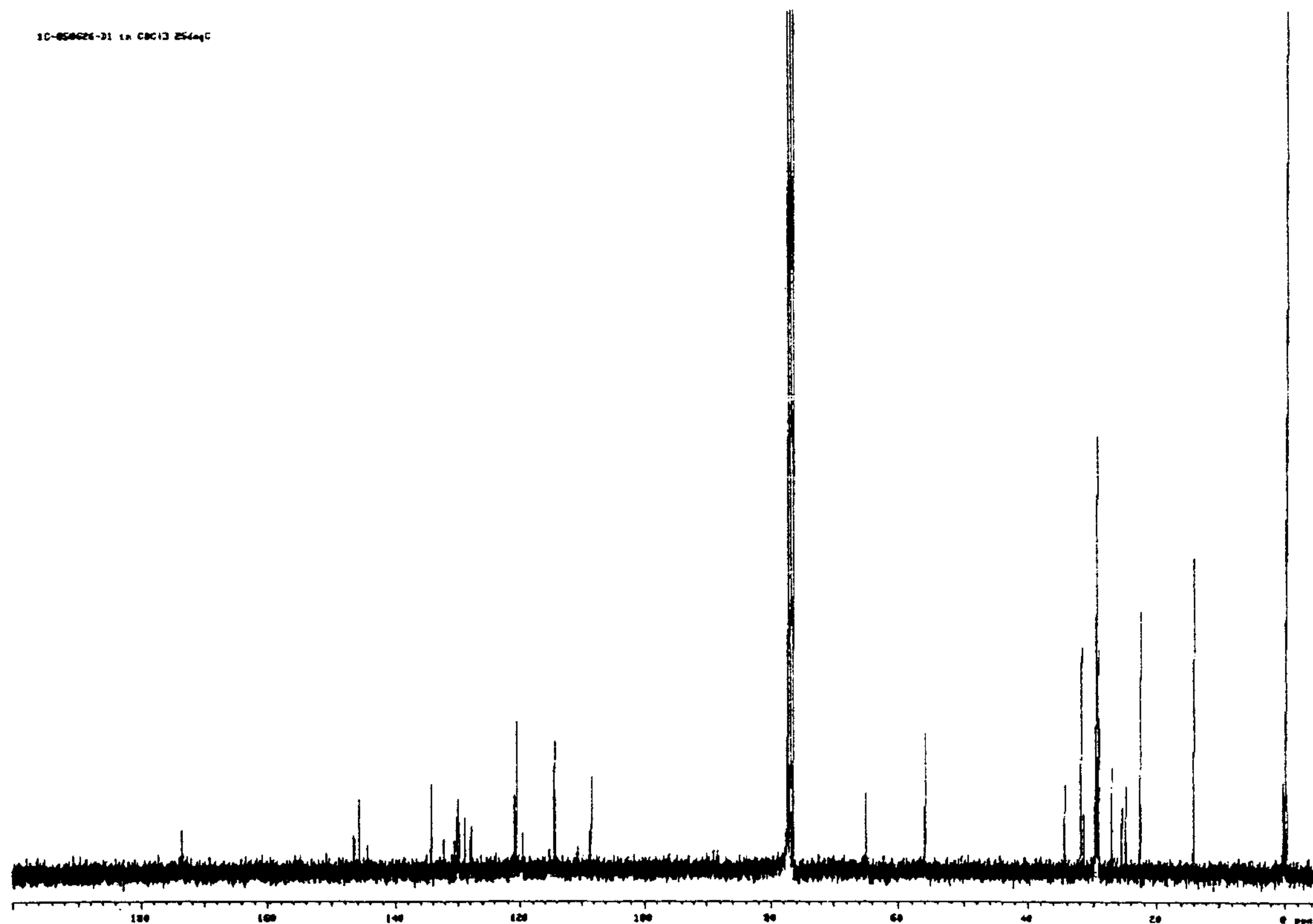


Fig. 2-14. ¹³C-NMR spectrum of compound isolated from *P.gradiflourm*.

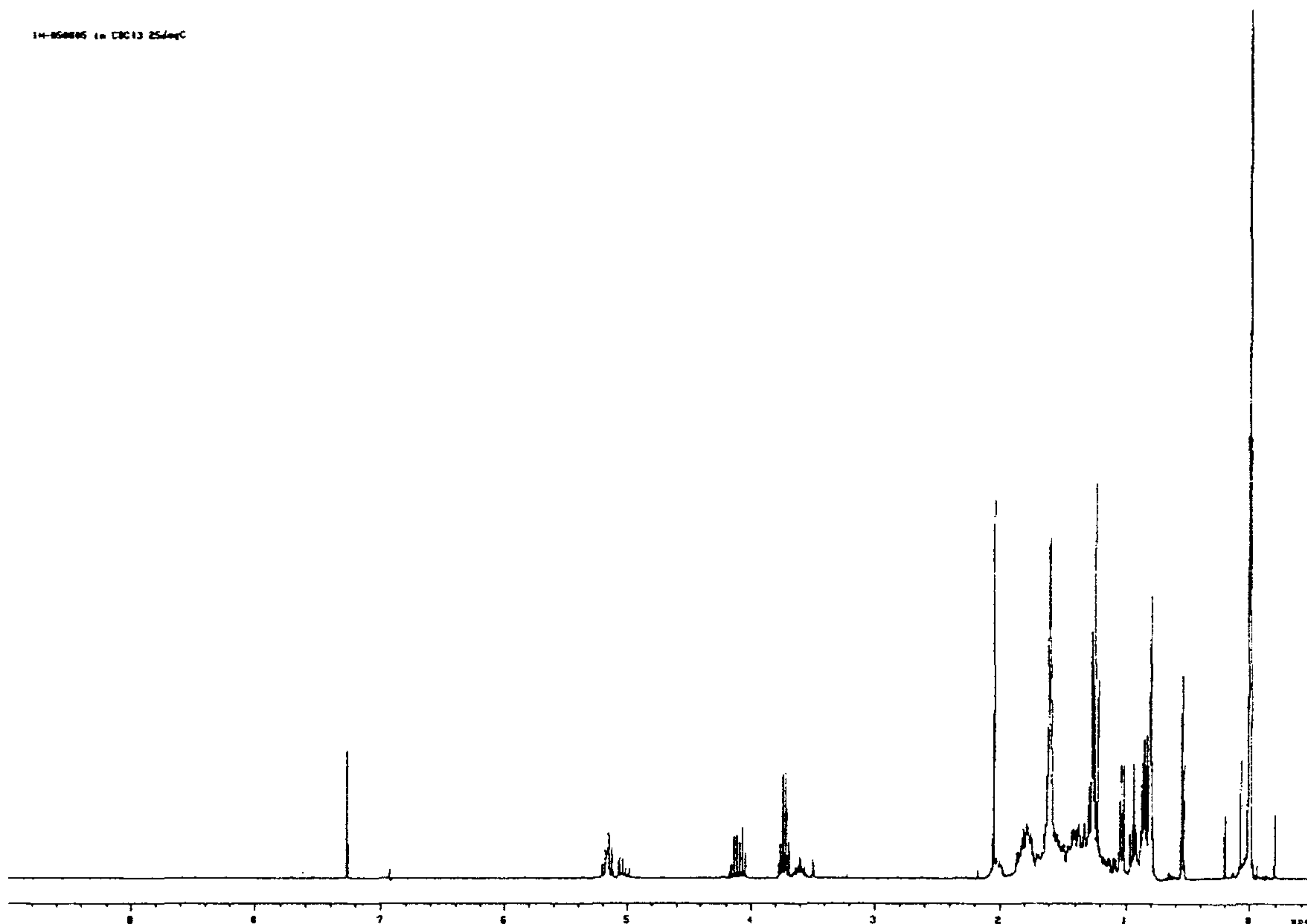


Fig. 2-15. ^1H -NMR spectrum of a steroid compound from *P. gradiflorum*.

제 3장 다년생 도라지의 유용물질 검색 및 활성검사

제 1절 서설

도라지는 만성기관지염, 천식, 기침, 관절염, 고혈압, 폐결핵, 늑막염, 당뇨병 치료제에 처방되는 광범위한 약리적 효능을 지닌 생약재이나 동물실험에 의해 확인된 실험결과는 거의 없고, 도라지의 주 약리물질인 Platycodigenin이 중요한 작용을 하는 것으로 보고되고 있다.

동물실험에 의한 기초 약리작용에 관한 연구는 1970년 초까지는 Igarashi의 거담작용 보고 이외에는 거의 없었으나 1974년 이가 도라지의 주요 약리성분인 platycodin을 마우스와 흰쥐에 투여하여 여러 약리효과를 검증한 결과, 중추신경 억제작용(진정, 진통, 해열효과), 급만성 염증에 대한 강력한 항염증 작용, 항궤양 치료 및 위액 분비 억제작용, 항choline성 작용, 용혈작용, 아나필락시성 속 및 장관추진의 억제작용이 확인되어 도라지는 항궤양 및 혈압강하의 임상응용의 가능성을 제시한 바 있다.

그 후 Hitokoto등은 도라지의 은수, chloroform 또는 에탄올 추출물을 미생물 배지에 첨가하여 *Aspergillus parasiticus*, *A. flavus*, *A.ochraceus* 및 *A. versicolor* 등을 배양하였을때 이들 곰팡이의 독소생성능이 감소됨을 보고하였고, Ishii 등은 도라지로 부터 17종의 새로운 saponin을 분리하여 기존에 규명된 prosapogenin 구조와 비교하였는 바, 8종의 saponin이 *o*-acetyl기를 함유하고 있음을 밝혔다. Kubo 등은 도라지로 부터 70% methanol 추출물, crude platycodi inulin 획분 및 crude platycodi saponin 획분을 마우스에 투여 했을때 식균작용을 촉진한다고 하였다. 또한 Nagao 등의 보고는 도라지의 inulin 성분이 마우스의 복수암에 대해 강력한 항암활성을 나타냄을 확인하였다.

이상의 연구보고에 기초하여 1차 년도에서는 22년생 장생도라지의 병원 및 식품부패 미생물에 대한 항균특성과 고지혈증 유발쥐에 대한 개선효과를 조사하였고, 또한 관절염 치료효과를 동물실험으로 확인중에 있다.

제 2절 재료 및 방법

1. 도라지

본 실험에서 사용된 4년생 및 22년생 도라지는 본 연구의 협동개발연구자인 이성호씨로부터 공급 받았으며, 수분함량이 15% 내외로 건조한 다음 추출시료로 사용하였다.

2. 사용균주

항균력 및 MIC 측정에 사용된 균주는 Gram 양성세균 3주, Gram 음성세균 5주, 효모 2주, 곰팡이 5주로 국립보건원과 한국미생물 보존센터(KCCM)에서 분양 받았으며, 종류는 Table 3-1과 같다.

3. 배지 및 배양

세균의 seed culture에는 Tryptic Soy Broth(TSB, Difco)를 사용하였으며, disc확산법에 의한 항균력 측정과 96-Well plate에서 MIC값 측정용 배지는 Muller Hinton Broth(MHB, Difco)을 사용하였고, 생균수 및 증식 곡선의 측정에는 Luria-Bertani(LB) Broth를 각각 사용하였다.

효모와 곰팡이의 seed culture, 항균력 및 균체생산에는 malt extract medium(Difco)과 Potato Dextrose Agar(PDA, Difco)를 각각 사용하였다. 8종의 세균과 2종의 효모는 TSB와 MEB를 사용하여 각각 37℃와 30℃에서 24시간 전배양한 후 다시 상기 배지에 접종하여 흡광도를 약 0.5로 조절하여 사용하였다. 5종의 곰팡이는 Bos의 방법으로 포자 현탁액을 조제하여 항균력 실험에 사용하였다.

Table 3-1. List of Microorganisms used as test strains for detecting antimicrobial activities of medicinal herbs

<i>Bacillus subtilis</i>	ATCC 6633
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	ATCC 12228
<i>Micrococcus luteus</i>	ATCC 9341
<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	ATCC 27519
<i>Escherichia coli</i>	ATCC 25922
<i>Klebsidla pneumoniae</i>	ATCC 13883
<i>Salmonella typhi</i>	ATCC 6229
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ATCC 10490
<i>Candida albicans</i>	ATCC 10259
<i>Saccharomyces cerevisial</i>	ATCC 2601
<i>Aspergillus flavus</i>	ATCC 9643
<i>Aspergillus niger</i>	ATCC 6273
<i>Rhizopus javanicus</i>	ATCC 22580
<i>Microsporum audouinii</i>	ATCC 9079
<i>Trichophyton mentagophytes</i>	ATCC 18749

4. 항균성 물질의 추출

검색용 항균성 물질의 추출은 건조 시료 100g당 시료 부피에 따라 6~9배 정도의 95% 에탄올을 첨가하여 실온에서 3시간 진탕(250rpm)한 후 여과(Toyo No.5)하여 얻은 액을 1차 추출액으로 하고, 상기 방법에 따라 2, 3차 추출액을 얻어 모두 혼합한 후 rotatory vaccum evaporator로 에탄올을 증발시킨 용액을 동결 건조시켜 고형물 함량을 계산하였다.

물 추출은 각 시료 100g에 증류수를 부피에 따라 3~6배 첨가하여 1시간 가열한 후 추출액을 멸균된 여과지(Toyo No.5)로 여과하는 조작을 3회 반복하여 얻은 총액을 감압농축하여 100ml로 조절하여 사용하였다.

5. 에탄올 추출물의 분획

도라지에 10배의 95% 에탄올을 가하여 실온에서 4시간마다 추출하고 여과하는 조작을 3회 연속 반복하여 합한 액에 헥산으로 지질 부분을 제거한 다음 감압농축 시켜 얻은 에탄올 추출물을 클로로포름, 에칠아세테이트, n-부탄올의 순으로 각각 분액여두에서 3회 반복 추출한 다음 45~50℃에서 rotatory vacuum evaporator에서 감압 농축하여 105℃ 건조기에서 용매를 제거한 후 용매별 고형물량을 산출하였다.

6. 항균활성 측정

항균성 물질의 검색시 항균력 측정은 disc diffusion법으로 행하였다. 세균은 TSB 배지, 효모는 malt extract 배지에 seed culture한 액을 접종하여 6~9시간 배양한 후 원심분리(7000rpm)하여 수거한 균체에 생리식염수로 희석시켜 600nm에서 흡광도가 0.5가 되도록 조절한 희석용액 0.1ml을 15ml씩 분주된 배양접시에 유리봉으로 고르게 도말하였다. 이 위에 disc(8ml, Toyo)를 6개씩 얹고 밀착시킨 후 에탄올 추출물(150mg/ml)과 물 추출물 50 μ l를 disc에 천천히 흡수시켜 37℃에서 48시간 배양하였다. 곰팡이는 포자현탁액 0.1ml을 malt extract agar 배지에 고르게 도말한 후 상기의 방법으로 disc에 에탄올 및 물 추출물을 흡수시킨 후 30℃에서 48시간 배양하여 억제환을 측정하였다.

7. Minimal inhibition concentration(MIC)측정

22년생 도라지의 15종 균주에 대한 MIC는 96-well plate을 사용하였고, 고체

배지에서의 MIC 농도 측정은 세균은 MHA배지, 곰팡이와 효모는 malt extract agar배지에 추출물의 농도를 조절한 후 45℃ 항온수조에서 10 μ l를 강하게 혼합하여 주입 시킨 후 세균은 37℃에서, 효모와 곰팡이는 30℃에서 24시간 각각 배양하였다. 이때 성장이 되지 않은 최소농도를 일차로 MIC값으로 결정하였다.

액체배지에서 MIC 농도 측정도 고체 배지에서의 MIC 측정 방법과 같은 농도의 생약 추출물을 MHB와 malt extract 액체 배지에 세균과 진균류를 각각 첨가하여 상기와 같은 온도와 시간으로 배양하여 생육이 되지 않은 최소농도를 일차로 MIC 값으로 결정하였다. MIC 값이 1.25mg/ml 이하의 것은 농도를 반으로 계속하여 줄여서 최종 MIC 값을 결정하였다.

8. 항균성 물질의 열 및 pH 안정성

22년생 도라지의 열안정성은 40~121℃ 범위에서 15분~1시간 동안 열처리 한 후 MIC값, MIC값 보다 높은 농도 및 낮은 농도를 첨가하여 생육정도를 조사하였고, pH 안정성은 pH1~13 범위에서 30℃, 1시간 방치한 후 pH7로 중화시켜 생육억제 정도를 측정하였다.

9. 세포독성 시험

사용한 세포주는 인간 뇌암세포인 T98G와 상피암세포인 HT1080이며 배양은 DMEM medium 100 μ l(10% FBS함유)에 96 well plate의 한 well당 log phase에 있는 세포를 세포수가 5,000 cells/well이 되도록 plating 하여 24시간 배양한 후 여러 농도의 시료를 처리하여 최종 용량이 200 μ l가 되도록 하였다. 이를 48시간 배양한 후 세포를 고정시키기 위하여 냉 50% trichloroacetic acid 50 μ l를 가하여 4℃에서 1시간 동안 방치하였다. 고정된 세포는 물로 5회 세척한 후에 0.4% sulforhodamine B(SRB)용액 100 μ l를 가하여 30분 동안 반응시킨 후, 1% 초산 용액으로 세척하고 풍건한 후 10mM Tris 용액으로 용해시켜 이

plate를 579nm에서 microplate reader를 이용하여 흡광도를 측정하였다. 대조구로는 vehicle로 사용한 DMSO를 사용하였고 활성물질로 doxorubicin 20mg/ml을 사용하여 비교하였다.

10. Free-radical 소거작용

7.5mM DPPH(diphenyl-2-picryl-hydrazyl)을 함유한 에탄올 용액과 시료를 37°C에서 30분간 반응시키고 516nm에서 흡광도를 측정하여 DPPH의 환원에 의한 흡광도 감소를 조사하였다.

11. 고지혈증 흰쥐의 혈청 및 간장의 지질대사 개선효과

가. 실험동물

평균체중이 60 ± 5 g의 4주령 된 Sprague-Dawley계 숫 흰쥐를 2주간 예비 사육한 후 3주간 실험 사육하였다.

나. 식이의 조제

기초식이, 유지식이 및 실험식은 각각 Table 3-2, 3-3, 3-4와 같다.

다. Aminotransferase 활성 측정

Boehringer Mannheim 사의 kit를 사용하며 생화학 자동분석기(Hitachi, 736-20)로 측정하였으며, 효소활성 단위는 혈청 1mg당 Karmen unit로 표시하였다.

라. Lactate dehydrogenase 활성 측정

Boehringer Mannheim 사의 kit를 이용하여 반응시킨 후 340nm에서 NADH 또는 NAD의 흡광도 차이를 측정하여 산출하였다. 효소활성 단위는 1μ M NADH 또는 NAD의 산화능을 Wroblewski unit로 표시하였다.

마. Cholesterol 농도 측정

혈청 중의 총 및 유리 콜레스테롤, LDL 및 LDL-콜레스테롤, HDL 및 HDL-콜레스테롤은 Boehring Mannheim사의 kit를 사용하여 반응시킨 후 생화학 자동분석기(Hitachi, 736-20)로 분석하였다.

바. 중성지방 및 인지질 농도 측정

혈청 및 간장의 중성 및 인지질의 농도는 각각의 kit시약(Boehringer Mannheim사)으로 처리한 후 생화학 자동분석기와 분광광도계 4020을 각각 사용하여 분석하였다.

Table 3-2. Composition of basal diet

Ingredient	(%)
Casein	20. 0
Mineral mixture	3. 5
Vitamin mixture	1. 0
Choline bitartrate	0. 2
Cellulose powder	5. 0
Sucrose	60. 3
Lard	7. 0
Corn oil	3. 0

Table 3-3. composition of hyperlipidemic diet

Ingredient	(%)
Casein	20. 0
Mineral mixture	3. 5
Vitamin mixture	1. 0
Choline bitartrate	0. 2
Cholesterol	1. 0
Na-cholate	0. 25
Cellulose powder	5. 0
Sucrose	49. 05
Lard	17. 0
Corn oil	3. 0

Table 3-4. composition of experimental diets (%)

Group	1	2	3	4	5	6
Ingredient						
Casein	20.0	20.0	20.0	20.0	20.0	20.0
Mineral mixture	3.5	3.5	3.5	3.5	3.5	3.5
Vitamin mixture	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0
Choline bitartrate	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2
Sucrose	60.3	60.3	60.3	60.3	60.3	60.3
Lard	7.0	7.0	7.0	7.0	7.0	7.0
Corn oil	3.0	3.0	3.0	3.0	3.0	3.0
Cellulose powder	5.0	5.0	—	—	5.0	5.0
Platycodon						
grandiflorum	—	—	5.0	10.0	—	—
(powder)						
Platycodon						
grandiflorum	—	—	—	—	A	B
(water extract)					(weak)	(strong)

제 3절 결과 및 고찰

1. 각종 생리활성의 비교

제1 세부과제에서 분리된 유용물질에 대한 생리 활성 효과를 80% ethanol 추출과 30% methanol 추출물에서 먼저 암의 발생과 관계가 있는 free radical 소거작용을 중심으로 조사하였다(Table 3-5).

Table 3-5. Free radical removal activity of *P. grandiflorum*, 22 years old and 4 years old

<i>P. grandiflorum</i>	80% EtOH extract	30% MeOH extract
22 years old	+ +	-
4 years old	+	-

+ : low activity ++ : high activity - : not detected

4년근 및 22년근 도라지는 30% methanol 추출물 보다 80% ethanol 추출물에서 free radical 소거작용이 우수하였고, 22년근은 4년근 보다 그 효과가 높게 나타났다.

2. 각 분획별 생리활성의 비교

22년근 도라지를 Fig.2-2와 분획하여 얻어진 물질들에 대한 생리활성을 free radical 소거작용, 세포독성, 항진균 활성 등으로 측정하였을때 대부분의 활성은 에테르, 에틸아세테이트 및 석유에테르 추출물에서 관찰되었다(Table 3-6). 이들 분획에서 나타난 생리활성 물질은 구조분석을 진행중에 있다.

Table 3-6. Various biological activities of fractionated
P.grandiflorum extracts

Fractionate	Free radical removal activity	Cell toxicity (500µg/ml)	Antifungal activity (100µg/ml)
Petroleum ether	+	-	-
Ether	++	-	+
Ethylacetate	++	-	-
Butanol	-	-	+
Methanol	-	-	-
Water	-	-	-

+ : low activity, ++ : high activity, - : not detected

3. 항균활성 물질의 검색

4년근 및 22년근 도라지의 에탄올 및 열수 추출물을 식중독, 병원성 미생물인 Table 3-1의 그람 양성세균 3주, 그람음성 5주, 진균류7주에 각각 첨가하여 각종 항균 특성을 조사하였다.

가. 항균성 물질의 검색

95% 에탄올과 물 추출물을 15종의 균주를 대상으로 항균활성을 조사하였을 때 4년근과 22년근 모두에서 에탄올 추출물에서 활성이 높게 나타났고, 또한 22년근의 에탄올 추출물은 4년근의 에탄올 추출물 보다 항균활성과 항균 spectrum이 훨씬 우수하였다(data not known).

나. 22년근 도라지 에탄올 추출물의 각 균주에 대한 MIC

22년생 도라지의 에탄올 추출물은 사용된 전 균주 중에서 *S. typhi*에 2.5mg/ml 농도로 가장 현저한 항균활성을 보였다(Table 3-7). 전반적으로

Gram 음성세균보다는 Gram 양성세균에 항균력이 높았으며 진균류 중에서 *S. cerevisiae*, *A. niger*, *M. audouinii*, *T. mentagophytes*에 10mg/ml 농도로 생육 억제 효과를 관찰할 수 있었고, *R. javanicus*는 80mg/ml 이상의 농도에서만 생육이 억제되었다.

Table 3-7. MIC of *Platycodon grandiflorum* extracts on several microorganisms

Strains	MIC(mg/ml)	
	Broth	Agar
<i>B. subtilis</i>	5.00	2.50
<i>M. luteus</i>	5.00	2.50
<i>S. epidermidis</i>	10.00	5.00
<i>E. coli</i>	10.00	5.00
<i>K. pneumoniae</i>	10.00	5.00
<i>P. aeruginosa</i>	20.00	5.00
<i>S. typhi</i>	2.50	2.50
<i>V. parahaemolyticus</i>	5.00	5.00
<i>C. albicans</i>	20.00	5.00
<i>S. cerevisiae</i>	10.00	5.00
<i>A. flavus</i>	20.00	5.00
<i>A. niger</i>	10.00	5.00
<i>R. javanicus</i>	80.00	80.00
<i>M. audouinii</i>	10.00	5.00
<i>T. mentagophytes</i>	10.00	10.00

다. 추출온도에 따른 항균활성

22년생 도라지는 실온과 80℃ 추출구에서 MIC농도인 5mg/ml 첨가시에는 배양 48시간 후에 균의 증식이 확인되었으나 50℃ 추출구에서는 5mg/ml 첨가시 48시간까지 증식이 억제됨은 물론 2.5mg/ml 첨가시에도 24시간까지 증식억제

효과가 관찰되어 50℃ 추출이 가장 효과적인 것으로 나타났다.

라. 에탄올 추출농도에 따른 항균활성

도라지의 경우에는 에탄올 농도가 높을수록 항균활성 물질이 용이하였다 (Table 3-8). 35% 및 55% 에탄올 추출물은 95% 에탄올 추출물의 *M. luteus*에 대한 MIC 농도인 5mg/ml 첨가구에서 균생육 억제효과가 없었고 10mg/ml 첨가구에서도 증식이 확인되었다.

Table 3-8. Growth inhibition of *M. luteus* by *Platycodon grandiflorum* extracts extracted with different ethanol conc

Ethanol Conc.(%)	Culture time(hrs)	Concentration(mg/ml)				
		10.0	5.0	2.5	1.25	0
35	24	+	+	+	+	+
	48	+	+	+	+	+
55	24	+	+	+	+	+
	48	+	+	+	+	+
75	24	-	-	+	+	+
	48	-	+	+	+	+
95	24	-	-	+	+	+
	48	-	-	+	+	+

(+) : Growth, (-) : No growth

마. 에탄올 추출물의 분획별 항균활성

22년근 도라지의 에탄올 추출물을 용매극성에 따라 분획하여 항균활성을 조사한 결과는 Table 3-9과 같다. 가장 높은 항균활성을 나타내는 실험군은 부탄올 분획으로서 에탄올 추출에서 각 실험대상 균주의 MIC 값보다 부탄올 분획에서는 *B. subtilis*와 *M. luteus*에 대해서는 비슷한 농도에서 생육억제 작용이

확인되었으나 다른 균주에 대해서는 2-4배의 감소된 농도에서도 항균활성을 나타냈다. 클로로포름 분획은 부탄올 분획보다 항균효과가 전반적으로 낮았으며 에칠아세테이트와 수층은 항균작용이 20mg/ml 농도까지는 전혀 항균력이 검출되지 않았다.

Table 3-9. Antimicrobial activities of fractionated *Platycodon grandiflorum* ethanol extracts

Strains	chloroform fraction(mg/ml)						Butanol fraction(mg/ml)						Ethylacetate frac. (mg/ml)		Water frac. (mg/ml)	
	20	10	5	2.5	1.25	0.62	20	10	5	2.5	1.25	0.62	20	10	20	10
<i>B. subtilis</i>	-	-	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+
<i>M. luteus</i>	-	-	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+
<i>S. epidermidis</i>	-	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+
<i>E. coli</i>	-	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>K. pneumoniae</i>	-	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>P. aeruginosa</i>	-	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+
<i>S. typhi</i>	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+
<i>V. parahaemolyticus</i>	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+
<i>C. albicans</i>	-	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+
<i>S. cerevisiae</i>	-	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+
<i>A. flavus</i>	-	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+
<i>T. mentagophytes</i>	-	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+

(+) : Growth, (-) : No growth

4. 고지혈증 흰쥐의 혈청 및 간장의 지질대사 개선효과

3주간 Table 3-4의 식이로 실험 사육한 흰쥐의 혈청 및 간장의 지질대사에 미치는 개선 효과는 다음과 같다.

가. 혈청중의 총 및 HDL-콜레스테롤 농도와 혈청중의 총콜레스테롤, HDL-콜레스테롤 농도와 그 비율 및 동맥경화 지수는 Table 3-10과 같다.

총콜레스테롤 농도는 대조군에 비하여 22년생 도라지 분말(3군)과 물 추출군

(5군)에서 유의적으로 낮게 나타났으며, HDL-콜레스테롤 농도는 대조구에 비하여 도라지 식이군(3, 4, 5, 6군) 모두에서 높게 나타났다. 이때 동맥경화 지수는 전 실험구에서 대조구에 비하여 낮은 값을 보였는데, 특히 도라지 열수추출 식이군(5군)에서 가장 낮은 값을 보였다.

Table 3-10. Concentration of total cholesterol, HDL-cholesterol, ratio of HDL-cholesterol total cholesterol and atherosclerotic in serum of rats fed the experimental diets for 3 weeks

Group	Total cholesterol (mg/dl)	HDL-cholesterol (mg/dl)	$\frac{\text{HDL-chol.}}{\text{Total chol.}} \times 100(\%)$	Atherosclerotic index *
1	167.7 ± 6.0 ^{***}	52.5 ± 2.3 ^a	31.5 ± 0.2 ^b	2.2
2	261.5 ± 6.4 ^c	62.7 ± 2.5 ^b	24.1 ± 1.0 ^a	3.2
3	166.1 ± 3.8 ^a	65.9 ± 2.6 ^b	39.9 ± 2.2 ^c	1.5
4	188.0 ± 2.3 ^b	77.1 ± 1.8 ^c	41.0 ± 1.2 ^c	1.4
5	166.6 ± 3.2 ^a	75.3 ± 4.5 ^c	45.3 ± 1.7 ^d	1.2
6	200.6 ± 4.0 ^b	81.7 ± 4.3 ^c	41.0 ± 1.3 ^c	1.5

* (Total chol. - HDL-chol) / HDL-chol.

** Mean ± S.E. (n=6) Means in the same column not sharing common superscript letters are significantly different (P<0.05)

나. 혈청중의 Low density lipoprotein 및 LDL-콜레스테롤 농도

Table 3-11의 결과와 같이 혈청중의 LDL 및 LDL-콜레스테롤 농도는 22년근 도라지 분말(3,4군)군과 열수추출물군(5군)이 대조군에 비해 유의적으로 낮았으며, 이런 특성은 총콜레스테롤 농도 변화와 유사한 경향을 보였다.

Table 3-11. Concentration of low density lipoprotein and LDL-cholesterol in serum of rats fed the experimental diets for 3 weeks (mg/dl)

Group	Low density lipoprotein	LDL-cholesterol
1	269.8 ± 7.9 ^{b*}	94.4 ± 2.8 ^b
2	391.9 ± 12.3 ^c	137.2 ± 4.3 ^c
3	212.7 ± 8.6 ^a	74.5 ± 3.0 ^a
4	272.2 ± 8.9 ^b	95.2 ± 3.1 ^b
5	263.2 ± 7.3 ^b	92.1 ± 2.5 ^b
6	307.0 ± 8.3 ^c	107.4 ± 2.9 ^c

* Mean ± S.E. (n=6) Means in the same column not sharing common superscript letters are significantly different (P<0.05)

다. 혈청중의 중성지질 및 인지질 농도

혈청중의 중성지질과 인지질은 대조군에 비하여 전 도라지 식이군(3,4,5,6군)에서 낮게 나타났으며 특히 열수추출(5군)에서 뚜렷한 감소 현상을 보였다 (Table 3-12).

라. 혈청중의 GPT, GOT 및 LDH 농도

혈청중의 GPT와 GOT 농도는 대조군에 비하여 전 도라지 실험군(3,4,5,6군)에서 낮게 나타나 고지방식에 의한 지방대사 장애에 개선효과가 있음이 확인되었다(Table 3-13).

마. 간장 중의 총콜레스테롤, 유리콜레스테롤 및 콜레스테롤 에스테르 농도

간장에서의 총콜레스테롤과 유리콜레스테롤의 농도는 대조구와 실험구에서 큰 차이가 없었고, 열수추출물(6군)에서 유의적인 감소 현상이 관찰되었다 (Table 3-14).

바. 간장중의 중성지방 및 인지질 농도

간장중의 중성지방 농도는 도라지 식이군(3,4,5,6군)이 대조구에 비하여 현저히 낮게 나타났으나, 인지질 농도는 유의적인 차이가 없었다(Table 3-15).

Table 3-12. Concentration of triglyceride and phospholipid in serum rats fed the experimental diets for 3 weeks (mg/dl)

Group	Triglyceride	Phospholipid
1	173.6 ± 5.3 ^{cd*}	159.7 ± 4.7 ^d
2	270.3 ± 12.0 ^c	187.7 ± 3.3 ^c
3	129.2 ± 5.0 ^b	117.5 ± 5.4 ^b
4	187.4 ± 4.4 ^d	138.9 ± 5.3 ^b
5	107.3 ± 2.6 ^a	131.0 ± 5.5 ^{ab}
6	154.9 ± 9.6	150.8 ± 3.6 ^b

Mean ± S.E. (n=6) Means in the same column not sharing common superscript letters are significantly different (P<0.05)

Table 3-13. Activities of GPT, GOT and lactate dehydrogenase (LDH) in serum of rats fed the experimental diets for 3 weeks

Group	G P T (Karmen unit/ml)	G O T (Karmen unit/ml)	L D H (Wroblewski unit/ml)
1	45.7 ± 2.1 ^{c*}	90.1 ± 2.5 ^c	1066.6 ± 23.7 ^a
2	35.6 ± 8.3 ^b	81.5 ± 3.3 ^b	1473.6 ± 40.6 ^{cd}
3	29.5 ± 5.1 ^a	80.7 ± 1.3 ^b	1329.2 ± 53.3 ^{bc}
4	24.3 ± 4.1 ^a	76.1 ± 3.0 ^{ab}	1224.6 ± 99.5 ^{ab}
5	25.2 ± 2.8 ^a	72.0 ± 2.9 ^a	1273.4 ± 68.8 ^b
6	26.9 ± 2.3 ^a	73.8 ± 2.9 ^{ab}	1521.0 ± 24.1 ^d

* Mean ± S.E. (n=6) Means in the same column not sharing common superscript letters are significantly different (P<0.05)

Table 3-14. Concentrations of total cholesterol, free cholesterol and cholesteryl ester in liver of rats fed the experimental diets for 3 weeks (mg/g)

Group	Total cholesterol	Free cholesterol	Cholesteryl ester
1	4.00 ± 0.15 ^{a*}	2.00 ± 0.05 ^a	2.00 ± 0.05 ^a
2	8.90 ± 0.15 ^d	2.40 ± 0.05 ^b	6.50 ± 0.15 ^f
3	6.20 ± 0.15 ^c	2.55 ± 0.15 ^{b*}	3.65 ± 0.15 ^{de}
4	7.10 ± 0.15 ^c	3.05 ± 0.05 ^d	4.05 ± 0.15 ^e
5	4.80 ± 0.25 ^b	2.70 ± 0.10 ^c	2.10 ± 0.05 ^{ab}
6	4.75 ± 0.05 ^b	2.05 ± 0.10 ^a	2.70 ± 0.05 ^c

* Mean ± S.E. (n=6) Means in the same column not sharing common superscript letters are significantly different (P<0.05)

Table 3-15. Concentration of triglyceride and phospholipid in liver of rats fed the experimental diets for 3 weeks (mg/g)

Group	Triglyceride	Phospholipid
1	36.8 ± 1.15 ^{c*}	11.9 ± 1.00 ^{ab}
2	44.1 ± 1.05 ^d	12.6 ± 0.70 ^{ab}
3	23.0 ± 0.80 ^b	11.2 ± 0.35 ^a
4	37.5 ± 1.00 ^c	12.1 ± 0.60 ^{ab}
5	18.3 ± 0.55 ^a	13.2 ± 0.60 ^b
6	21.6 ± 1.50 ^b	11.6 ± 0.70 ^a

* Mean ± S.E. (n=6) Means in the same column not sharing common superscript letters are significantly different (P<0.05)

제 4장 건강보조식품의 개발

제 1절 서설

본 연구에서는 먼저 도라지의 약리성분과 생리활성에 관한 자료수집을 한 결과 약 300여편의 논문이 보고 되어 있었고, 이것을 다시 성분 및 활성, 그리고 한방제제 별로 구분하여 정리한 결과, 특이한 것은 도라지 추출물이 알콜의 소화관내의 흡수를 지양하여 혈중 알콜농도를 저하시키며(일본공개특허 공보, JP03264534) 또한 도라지의 이눌린 성분은 강력한 항암 효과가 있음이 보고 되었다(일본공개특허 공보, JP0217292, JP60089427).

중국에서 발표된 결과에 의하면 도라지의 사포닌 성분이 만성기관지염을 유발시킨 토끼에 우수한 치료 효과가 있었으며, 소아의 기침과 혈장내의 분비물 촉진 작용에 뚜렷한 생리 활성이 관찰되었다.

현재 중국, 일본, 한국에서 도라지가 함유된 한방제제는 30여종이 시판되고 있는데, 이들 가운데 오약순기산, 통기환, 순기원등은 중풍과 관절염 치료제로, 안심원과 천왕보심단등은 고혈압, 신경성 질환, 뇌질환등에, 자모연조엑스는 기관지염, 폐결핵, 늑막염등에, 만옥단은 고혈압, 동맥경화, 당뇨병 치료에 각각 이용되고 있다. 그 외의 대부분의 도라지 함유 한방제제는 천식, 거담, 배농,진해 등과 같이 기관지 관련 질병에 치료제로서 사용되고 있다.

그리고 도라지의 열수 혹은 알콜 추출물은 당뇨병 유발쥐에 현저한 혈당하강 작용과 glycogen 축적 효과가 관찰되어 당뇨병 치료제로서의 이용가능성이 제시되었다.

이상의 자료수집 결과를 기초로 하여 본 보고서에서는 이미 임상 실험 결과에서 확인된 22년생 도라지의 약리성분을 3~4년생 도라지와 비교 분석하고 그리고 생리적 약리효과를 조사하고 있으며, 이것을 기초로 6가지의 건강보조식품과 기능성음료개발을 완료하였다.

제 2절 재료 및 방법

1. 도라지

본 실험에서 사용된 4년생 및 22년생 도라지는 본 연구의 협동개발연구자인 이성호씨로부터 공급 받았으며, 수분함량이 15% 내외로 건조한 다음 추출시료로 사용하였다.

2. 생약재

두충, 구기자, 시호, 독활, 우물, 백계자, 결명자, 창출, 오미자, 강활, 산약, 인진, 지모, 감초, 박하, 최향, 행인, 오배자, 원지, 황정, 창이자, 우슬, 방풍 등의 생약재를 건재상에서 구입하여 미분말 형태로 제조후 실험에 사용하였다.

3. 각종 생약재의 추출

상기의 각 생약재는 95% ethanol과 물로 각각 추출하였다. 즉 각 생약재에 95% ethanol을 10배 첨가하여 실온에서 진탕하면서 4시간마다 추출, 여과하는 조작을 3회 연속 반복하여 합한 액을 rotary vaccum evaporator로 감압 농축하여 실험재료로 사용하였다. 물추출물의 조제는 각 생약재에 20배의 물을 가하여 100℃에서 2시간 가열하여 여과한 후 95℃ rotary vaccum evaporator에서 감압 농축한 다음 고형분을 측정하여 일정한 농도를 실험에 사용하였다.

4. 건강보조식품의 개발

본 연구에서 얻어진 결과와 임상결과를 기초로 22년생 도라지가 주성분이 된 당뇨, 고혈압, 고지혈증 및 모든 염증용 한방제제, 기관지, 천식, 폐결핵용 제제 그리고 관절염용 제제등 3종류를 각종 생약재와 혼합하여 열수 추출하여 레토르트 파우치 형태의 시제품을 제조하였다. 또한 22년생 도라지와 한약재를 혼합하여 기관지염 전용 기능성 음료를 개발하였다.

그리고 용혈작용을 억제시키는 방법 및 효소처리에 의한 발효식품 개발을 진행중에 있다.

제 3절 결과 및 고찰

1. 4년생 도라지의 약리 효과

2~4년생 도라지에 관한 300여편의 문헌과 특허를 수집하여 그 성분과 약리작용을 조사한 결과에 의하면 당뇨병, 고혈압, 종양, 알콜흡수억제, 폐결핵, 기관지염, 늑막염, 천식, 거담, 진해 등에 효과가 있음이 보고되어 있었으며, 이들 정보는 22년생 도라지의 약효 검정에 중요한 자료가 될 것으로 사료된다.

2. 건강보조식품의 개발 및 진행 정도

가. 용혈물질 제거 방법

2~4년근 도라지의 사포닌은 용혈작용이 있는 것으로 밝혀져 있는데, 용혈성분을 줄이는 방법을 물에 침지시켜 사포닌 함량과 용혈활성을 비교 분석한 결과 실온의 물에 22년근 도라지를 12시간 이상 침지시 용혈활성은 거의 검출되지 않았다. 22년근은 4년근에 비하여 용혈활성이 낮은 것으로 확인하였다.

나. 효소처리 식품

도라지의 발효 중에 장애물질로 작용할 수 있는 항균물질은 대부분 사포닌에 유래되는 것으로 나타나 사포닌에 저항성이 있는 발효 미생물 선정 실험이 진행되고 있으며, 또한 도라지의 이눌린 중의 과당 중합도는 4년근과 22년근에서 뚜렷한 차이가 있음이 밝혀졌으므로 inulase처리에 의한 fructose 중합도에 따른 약리작용 효과를 조사중에 있다.

다. 기능성 음료 개발

도라지는 진해, 거담, 천식 등에 특이적인 생리활성을 나타내고 있어 흡연

자, 기관지 환자를 위한 기능성 음료 개발을 전통적으로 사용되어온 다른 생약재 즉, 행인, 목향, 반하, 맥문동, 후박, 회향, 비파, 박하, 영지, 감초의 열수 및 에탄올 추출물등과 혼합하여 개발된 13종의 음료중에 물리,화학적 특성 및 관능검사를 행하였을때 가장 우수한 한 제품을 선정하였다.

라. 엑기스 추출 방법

22년근 도라지의 추출방법을 ethanol과 열수로 한 결과 고형분 함량은 95% ethanol에서 가장 용이하게 추출되었고 이 물질은 pH와 열안정성이 확인되었다. 열수출시에는 온도가 높을수록 추출수율이 높게 나타났으며, 많은 양의 이눌린이 분리되었다.

마. 각종 건강보조식품의 개발

2~4년생 도라지의 약리효과, 본 연구에서 얻은 22년생 도라지의 약리특성, 리고 본 연구의 협동개발 연구자인 이성호씨의 임상실험 결과를 기초로 신경통, 당뇨, 고혈압, 각종 염증용 한방제제, 기관지, 천식, 결핵용 한방제제 그리고 간절염용 한방제제등 3종의 건강보조식품을 열수 추출하여 임상실험을 흰쥐를 이용하여 진행중에 있다.

개발된 한방제제의 조성비율은 먼저 고지혈증 및 고혈압용 제제는 22년근 도라지, 두충, 구기자, 시호, 독활, 우슬, 백계자, 결명자, 창출, 오미자, 강할, 산약, 인진, 지모, 감초등으로, 기관지, 천식 및 폐결핵용 제제는 22년근 도라지, 강할, 시호, 맥문동, 결명자, 행인, 목향, 오배자, 원지, 황정, 지모, 창이자, 인진, 감초등으로 구성되어 있고, 그리고 간절염용 제제는 22년근 도라지, 두충, 독활, 시호, 우슬, 강할, 배계자, 결명자, 창출, 오미자, 산약, 구기자, 방풍, 계제, 감초등을 열수추출하여 레토르트 파우치 또는 캔슐 형태로 시제품을 제조하였다. 상기 3종의 도라지 한방제제중에 고지혈증용과 기관지, 천식용은 쥐 실험을 통하여 약리적 효능을 검정중에 있다.

제 5 장 요약

도라지는 한방 또는 민간요법에서 배농, 거담, 천식 등의 기관지 관련질병에 사용되어온 전통생약재로서 도라지의 주요 약리성분인 platycodin의 약리효능은 비교적 잘 규명되어있으나, 다른 약리물질에 대한 연구는 미흡한 수준에 있다. 최근 도라지의 inulin 성분이 면역증강과 항암활성이 있다는 보고를 비롯하여 도라지의 추출물이 독소생성 미생물의 생육억제와 혈중 알콜농도의 감소효과가 밝혀져 연구과제의 재료로서 높이 평가받고 있다. 상기의 도라지는 2-4년생의 근을 실험에 사용할 수 밖에 없었으나 최근에 20년 이상의 장생 도라지가 재배에 성공하여 서부경남지역 10만여평에 집단화되어있어 이들 도라지의 약리작용에 기초한 건강보조식품의 소재화는 농가소득은 물론 고혈압, 당뇨병, 기관지 관련질환 등의 치료제로서의 개발가능성이 높다고 할 수 있다. 따라서 1차년도에서는 3분야로 대별하여 실험을 진행하였는데 그 대략적인 결과는 다음과 같다.

1. 4년생 및 22년생 도라지의 성분분석 및 비교

먼저 4년근 미만의 도라지에 대한 약리성분과 생리활성에 관한 자료를 400여편 수집하여 정리한 결과 특이한 것은 전통적으로 사용되어온 배농, 거담제 뿐만 아니라 고혈압, 당뇨병, 항암, 면역 등의 질환에 다양한 약리적 효능이 있음이 확인되었다. 일반성분중 수분, 조지방, 무기염 등에서는 4년근과 22년근에 있어서 큰 차이가 없었다. 그리고 식이섬유의 총량과 조사포닌양은 22년근에서 3.1%, 0.4%정도 각각 높게 검출되었다. 도라지의 구성당 중 inulin의 총합량은 70~73mg/g으로 거의 변화가 없었으나 inulin의 구성당인 fructose의 중합도에 큰 차이가 인정되었다. 즉 22년근에서는 G-F₂와 G-F₃의 함량이 높고 4년근에서는 G-F₅에서 G-F₈의 함량이 높게 나타나 inulin의 구조에 상당한 차이가 있음

이 밝혀졌다. 이 결과는 4년근에 비하여 22년근이 고혈압, 기관지, 당뇨병에 효능이 우수한 임상실험결과와 연관이 있는 것으로 추측된다. 무기염은 4년근 및 22년근 에탄올추출물 모두에서 K과 Cu의 함량이 높게 나타났으나 열수추출물에서는 Ca의 함량이 4년근에 비하여 22년근에서 4.5배 높게 검출되는 결과를 얻었다. 약리활성물질을 검색하기 위하여 80%에탄올과 30%메탄올로 추출하여 HPLC로 분석한 결과 80%에탄올과 30%메탄올 추출물에서 각각 한개와 두개의 peak를 확인하였다. 22년근에만 많이 존재하는 이 peak를 다시 극성도에 따라 용매로 분획하여 생리활성을 조사한 결과 석유에테르와 디에틸에테르 분획물에서 효과가 인정되어 여러기기분석을 통해 구조분석을 하였을때 steroid 물질임이 판명되었다.

2. 다년생 도라지의 유용물질 검색 및 활성검사

80%에탄올과 30%메탄올 추출물은 free-radical 소거작용과 항진균작용이 확인되었고 세포독성이 없는 것으로 밝혀졌다. 4년근 및 22년근이 에탄올 및 열수추출물을 식중독 및 병원성 미생물 등의 15종에 대한 항균활성을 조사하였을때 22년근의 에탄올 추출물은 *R. javanicus*를 제외한 14종의 미생물에 대해 항균작용이 확인되었으며 그리고 4년근에 비하여 광범위하고 우수한 항균 spectrum을 보였다. 22년근의 에탄올 추출물은 세균에 대해서는 10mg/ml 농도에서 진균류에 대해서는 10~20mg/ml 농도에서 MIC값을 나타내었다. 항균활성물질은 50℃, 95%에탄올 농도에서 가장 용이하게 추출되었다. 22년근의 95%에탄올 추출물을 다시 용매로 분획하였을때 butanol 분획에서 항균활성이 가장 높은 것으로 나타나는데 이것은 사포닌에 기인되는 것으로 추측되고, 다른 용매분획에서 활성이 검출되는 것으로 보아 항균활성물질이 2개 이상인 것으로 사료된다. 고지혈증 유발 쥐에 22년근 도라지 분말 또는 열수추출물을 3주동안 식이하면 혈청과 간의 지질함량을 현저히 감소시켰다. 특히 22년근 도라지 분말 5%식이군에

서는 혈청과 간장중의 총콜레스테롤과 중성지방의 농도가 현저히 감소되었고 이때 동맥경화지수도 대조군에 비하여 낮게 나타났다. 이런 결과는 고콜레스테롤증과 고지혈증예방에 22년근 도라지의 처방가능성을 제시해 주고있다.

3. 건강보조식품의 개발

현재까지 보고된 4년근 미만의 도라지의 약리활성 그리고 본 연구에서 밝혀진 약리효능을 기초로 22년근 도라지의 주성분으로하는 고지혈증 및 고혈압용 한방제제, 기관지, 천식 및 폐결핵용 한방제제 그리고 관절염용 한방제제를 레토르트 파우치 식품형태로 개발하여 먼저 관절염용 한방제제를 사용하여 동물험을 진행중에 있다. 그리고 진해, 거담, 천식 등에 생리활성이 있다고 보고된 6종의 생약재와 도라지를 혼합 또는 단독으로 추출하여 최적조건을 구한후 기관지용 기능성 음료를 개발하였으며 현재 이 제품에 대한 panel 조사를 하고있다. 도라지의 inulin 중합도와 구조차이에 의해 약리작용이 차이가 있을 것으로 예상되어 22년근 도라지에 inulase를 처리하여 효소식품을 개발 중에 있으며 또한 22년근 도라지의 엑기스 추출방법을 pH 및 열안정성, 용매, 온도 등을 기초로 최적화하였다. 도라지의 용혈물질을 제거하기 위한 방법으로서 22년근을 12시간 물에 침지시키면 용혈활성이 거의 검출되지 않았다.