

흑삼의 화학성분 및 생리활성에 대한 최근 연구

남기열¹ · 김영수² · 손미례² · 박종대^{2*}
¹충남농업마이스터대학, ²(재)금산국제인삼약초연구소

Recent Advances in Studies on Chemical Constituents and Biological Activities of Korean Black Ginseng(*Panax ginseng* C. A. Meyer)

Ki Yeul Nam¹, Yeong Su Kim², Mi Yae Shon² and Jong Dae Park^{2*}

¹Dept. of medicinal Crop/Ginseng, Chungnam Agricultrive Meister College, Daejon 305-764, Korea

²International Ginseng & Herb Research Institute, Geumsan 312-804, Korea

Abstract – We have conducted a comprehensive literature review regarding the chemical constituents and biological activities of Korean black ginseng(*Panax ginseng* C. A. Meyer), three to nine times-steamed and dried ginseng, which shows strong black color through Maillard browning reaction. It has been reported that some chemically deglycosylated and transformed saponins are obtained from black ginseng as artifacts produced during intensive steaming. They have been known to be ginsenosides Rg3, Rg4, Rg5, Rg6, Rh1, Rh2, Rh4, Rk1 and Rk3, quite different from those of red ginseng, among which ginsenosides Rg3, Rg5 and Rk1 are considered to be major components. And also, black ginseng has been recently found to demonstrate anti-cancer, recovery from learning and memory damages, hypotensive, antidiabetic, antiobesitic, tonic and antiatopic activities, together with antioxidative and exercise performance improving activities, exhibiting their effects to be a little bit stronger than those of red ginseng. These findings suggest that black ginseng might play an important role in the development of promising functional foods and drugs from the viewpoint of the chemical composition and biological activities of black ginseng with a distinction from those of white and red ginsengs. In this review, the authors will survey and evaluate further functions of black ginseng with a focus on its physicochemical properties and biological activities.

Key words – *Panax ginseng*, Black ginseng, Chemical constituents, Ginsenosides, Biological activities, Safety

인삼은 가공 방법에 따라 수삼, 백삼, 태극삼 및 홍삼 등으로 분류된다. 백삼은 수삼을 햇볕 또는 열풍으로 건조시킨 것이고, 태극삼은 수삼을 물로 익히거나 그 밖의 방법으로 익혀서 말린 것이며, 홍삼은 수삼을 증삼(蒸蔘, 인삼등을 수증기 또는 기타 방법으로 찌서 익힘)하여 건조한 것을 말한다.¹⁾ 홍삼은 증숙(蒸熟) 과정을 거치는 동안 일부 성분의 화학적 변환이 일어나 수삼이나 백삼에 존재하지 않는 새로운 생리활성 성분이 생성된다.^{2,4)} 이들 성분 중 대표적인 것이 ginsenoside(G)-Rg3를 비롯한 prosapogenin 배당체 성분으로서 항암효능을 비롯한 다양한 생리활성이 보고되었다.³⁾ 그러나 일반적으로 수증기로 2~3시간 1회 찌서 제조하는 홍삼 중에는 이들 성분이 극히 미량으로 존재하기 때문에 이들 미량 생리활성 성분을 증가시키는 가공법의 개

발이 시도 되었다. 이와 관련하여 2000년대 초부터 금산 지역을 중심으로 한약재의 수치법(修治法)의 일종인 아홉 번 찌고 아홉 번 말리는 이른바, 구증구포(九蒸九曝)의 원리를 이용하여 인삼을 찌는 가공법이 개발되었고 수삼을 찌고 말리는 과정을 반복하여 색깔이 흑색을 띠게 됨으로 흑삼(black ginseng)이라고 부르게 되었다.^{6,7)} 한편 흑삼은 한동안 홍삼의 일종(일명, 흑홍삼)으로 홍삼액 파우치제품이나 농축액 등의 원료로 일부 시장에서 제한적으로 유통되었으며, 이와 병행하여 흑삼의 성분과 효능 등에 대한 연구들이 수행되어 왔다. 따라서 그동안의 연구를 통해 흑삼은 기존의 홍삼과는 외관 특성과 성분 면에서 차별화되고 홍삼에 미량으로 존재하는 G-Rg3를 비롯한 생리활성 성분들이 흑삼에서 현저히 증가된다는 것이 밝혀지게 되었다.⁷⁻⁹⁾ 흑삼은 2012년 인삼산업법의 개정으로 기존의 수삼, 백삼, 태극삼, 홍삼 등에 추가하여 인삼류의 새로운 품목으로 지정되어 유통이 가능하게 되었다. 이 총설에서는 지금까지 추진되어온 흑삼

*교신저자(E-mail): jdpark0901@ginherb.re.kr
(Tel): +82-41-750-1601

의 가공방법을 비롯한 성분과 생리활성 연구 결과들을 종합하였다.

흑삼의 가공방법과 이화학적 특성

흑삼의 가공방법 - 최근 인삼의 분석화학기술의 진보와 구조 활성에 대한 연구를 통해 홍삼에 미량으로 존재하는 저극성의 배당체 성분들의 항암활성을 비롯한 다양한 약리활성이 밝혀졌다.¹⁰⁻¹²⁾ 이러한 미량 생리활성 성분을 최대화하기 위한 인삼 가공기술로 인삼을 단순히 찌거나 건조시키는 방법외에 볶음, 팽화, 발효, 식초 침지, 고온/고압처리, 그리고 다증다포 공정을 적용한 새로운 형태의 인삼 및 흑삼 가공제품들이 출시되고 있다.¹³⁻¹⁷⁾ 흑삼의 제조과정을 보면 증삼/건조 방법에 있어 온도와 시간, 증포(蒸曝, 찌서 말림) 횟수 등이 보고자들에 따라 차이가 있다. G-Rg3와 같은 생리활성성분의 함량증가와 흑삼 제조 시 발생이 우려되는 benzopyrene함량의 최소화를 위해 증포 온도와 시간

등의 요인변수를 중심으로 반응표면분석을 통한 흑삼 제조공정의 최적화 연구 결과, 증포 온도와 시간의 증가에 따라 G-Rg3와 산성다당체, 폴리페놀과 함께 benzopyrene 함량도 증가되었으며, 최적화 조건은 증삼온도는 113.04°C에서 18시간, 건조온도는 100°C에서 8.03시간으로 설정하였다.¹⁸⁾ 그러나 현행 인삼산업법에서 정하는 흑삼의 제조기준을 보면 “흑삼은 수삼을 증삼장치에서 수증기 또는 그 밖의 방법으로 찌서 익히고 건조하는 과정을 3회이상 반복한다”라고 되어 있기 때문에 이런 조건은 실제 적용에는 문제가 있다. 또한 흑삼의 색상은 담흑갈색(淡黑褐色) 또는 흑다갈색(黑茶褐色)으로 되어 있는데 이에 대한 고려도 제시되지 않았다. 또한 최근 G-Rg3, -Rk1, -Rg5 함량 증대를 위한 인삼가공법으로 증삼시간을 증대하는 제조방법을 제시하였다. 즉 백삼을 밀폐된 용기에서 98°C에서 30시간 증삼 후 건조한 다음 다시 30-45시간 증삼한 후 건조 한 결과 G-Rb1, -Rb2, -Rc, -Rg1와 같은 극성 진세노사이드는 거의 검출되지 않았고, 20(S)-G-Rg3, 20(R)-G-Rg3, G-Rk1, -Rg5 함량은 각각

Table I. Contents of ginsenoside-Rg3, -Rg5, -Rk1 in black ginseng (mg/g)

Source	20(S)-G-Rg3	20(R)-G-Rg3	G-Rg5	G-Rk1	G-Rg5+G-Rk1	Ref.
RG ¹⁾	1.95	1.36	0.89	0.22	1.11	41
BG ¹⁾	6.52	3.85	2.81	0.68	3.49	
RG	0.20	0.01	0.20	0.10	0.30	40
BG(Process A ²⁾)	1.60	1.10	2.90	0.70	0.35	
RG	0.25	0.12	-	-	-	111
BG	2.32	5.19	-	-	-	
RG	0.47	0.15	-	-	-	112
BG	4.43	1.69	-	-	-	
RG (MR ¹⁾)	0.25	0.06	-	-	0.42	
BG (Process A ²⁾) (MR)	4.37	1.74	-	-	8.44	23
RG (FR ¹⁾)	0.47	0.23	-	-	0.80	
BG (Process A) (FR)	9.72	3.82	-	-	14.87	
RG	0.25	0.21	-	0.18	-	20
BG (Process A)	4.36	3.84	-	4.07	-	
BG	1.97	5.80	-	-	-	113
RG	0.42	-	-	-	-	50
BG (Process A)	9.22	-	-	-	-	
BG (Process B ³⁾)	0.23~0.35	-	-	-	-	8
BG (Process A)	2.96	-	-	-	-	
RG	0.22	-	-	-	-	110
BG (Process A)	10.5	-	-	-	-	
RG	0.25	-	-	-	-	63
BG (Process A)	11.48	-	-	-	-	

¹⁾RG: Red ginseng, BG: Black ginseng, MR: Main root, FR: Fine root

²⁾Process A: Nine time-steaming and drying process

³⁾Process B: One to five time-steaming and drying process

23.98, 15.01, 11.36과 17.56 mg/g이었다.¹⁹⁾ 필자 등의 증삼 방법에 따른 진세노사이드(G-Rg3와 G-Rk1) 함량 조성변화 조사결과, 증포횟수 9중9포(증삼시간: 3시간, 9회)와 연속증삼 27시간 제조 흑삼의 G-20(S)-Rg3는 각각 4.38와 4.36 mg/g, G-20(R)-Rg3는 3.89와 3.84 mg/g, G-Rk1은 4.20와 4.01 mg/g 등으로 증삼시간(27시간)이 같은 경우 거의 같은 함량의 결과를 보였다(미발표)(Table I 참조). 이로서 동일 온도에서 증삼할 경우 증포 횟수 반복보다는 총 증삼시간이 영향을 크게 미친다는 보여 주었다. 앞으로 흑삼의 제조 조건과 관련하여 어느 정도의 온도에서 얼마 동안 찌 것인지, 건조는 어떻게, 얼마나 할 것인지, 그리고 반복해서 증포 횟수를 늘리는 것이 좋은지 아니면 증삼온도를 높이거나 증삼시간을 늘리는 것이 좋은지 등에 대해서 다각적으로 검토하여 흑삼의 표준화 공정이 확립되어야 할 것이다.

증포 횟수에 따른 색도 변화 - 증포 횟수에 따른 색도변화를 조사한 결과 밝기를 나타내는 L값은 3회 증숙처리 및 5회 증숙 이후부터 급격히 변화였고, 전반적으로 3~5회 증포 이후부터 갈변도가 급격히 증가하여 점차 흑색으로 변화기 시작한다.^{8,20)} 인삼산업법에서 흑삼의 색택 검사기준은 담흑갈색, 흑다갈색으로 되어 있는데, 이러한 색도의 변화는 원료삼의 품질이나 증삼조건 및 건조방법 등에 따라 차이가 있을 수 있다. 수삼을 증삼/건조를 반복하면 인삼 중 탄수화물이 5-hydroxymethyl-2-furaldehyde(5-HMF)로 분해되고, 그 다음 5-HMF는 아미노산, 단백질과 결합하여 Maillard reaction²¹⁾의 최종 생성물인 melanoidins을 만들면서 가공삼의 색깔은 점점 흑색으로 변하게 된다. 이러한 현상은 다른 전통적 한약재의 증포 과정에서도 일어난다.²²⁾ 5-HMF는 백삼에서는 검출되지 않으나 반복적 증포 횟수 증가에 따라 점차 증가하며, 인삼의 고온처리에 의해 현저한 증가가 일어난다.²³⁾

일반성분과 산도(pH) 등 - 증포 횟수(0~9회)에 따른 가용성 총당(total sugar)은 증포 횟수 증가에 따라 점차 감소하며, 환원당(reducing sugar)은 증가하다가 7회 이후 약간 감소를 보였다.²⁴⁾ 조지방과 조단백질 함량은 증포 횟수 증가에 따라 감소를 보이고, 유리아미노산도 감소를 보인다.^{25,26)} 최근 수삼과 가공삼의 비교에서 흑삼은 수삼에 비해 아미노산(3.1% vs 9.1%)과 다당체의 함량이 거의 1/3로 감소된다고 보고하였다.²⁶⁾ 또한 증포 횟수 증가에 따라 갈색도의 증가와 함께 산도(pH)는 저하된다.^{25,27)} 이는 증포 횟수 증가에 따른 비효소적 amino-carbonyl 반응의 진행에 의한 갈변물질의 증가와 carbonyl기의 증가, 가용성 염기성 아미노산의 감소 및 유기산 생성의 증가 등에 기인되는 것으로 여겨진다. 이로서 흑삼의 관능적 특성으로 산도저하로 약간 신맛이 나는 것이 특징적이다. 또한 향기성분 조사에서 증포 횟수 증가에 따라 terpene계 화합물인 bicyclogermacrene 성분이 감소하고, caramel 향기 성분은 증가하였는데 지속

적 증포 시 5차 이후 인삼의 흠냄새는 사라지고 탄 냄새가 증가한다.²⁵⁾

화학적 성분

다당체 성분(Polysaccharides) - 20여종 이상의 중성 및 산성다당체가 인삼에서 분리되었으며, 그 중에서 산성다당체 성분이 주요한 생리활성물질로서 알려져 있고 그 함량은 증삼 온도와 시간에 비례하여 증가하였다.¹⁸⁾ 증포 횟수별 산성다당체 함량은 초기 4.41%에서 1회 증숙 시 6.8%로 증가하였으나 그 이후는 큰 변화는 없었다.⁸⁾ 인삼의 산성다당체 성분은 암 면역능 증가 작용과 암세포의 독소호르몬 억제작용, 그리고 방사선방어, 항피로 및 항우울증에 대한 효과가 보고되었다.^{29,31)} 또한 인삼의 열수추출물로부터 분리된 펙틴 구조를 가진 수용성 다당체 성분(pectic polysaccharides)이 설사를 유발하는 rotavirus를 억제하는 효과가 있고, 림프구 증식을 촉진하는 면역촉진 작용을 가진 수용성 6종의 oligosaccharides가 분리되었다.³²⁾

페놀 화합물(Phenolic Compounds) - 페놀화합물은 식물에 일반적으로 발견되는 성분으로 여러 가지 생리활성, 특히 항산화 활성에 관련이 있는 것으로 알려져 있다. 인삼은 maltol, salicylic acid, vanillic acid, *p*-coumaric acid를 비롯한 20 여종 이상의 페놀성 화합물을 함유하고 있다. 이들 페놀화합물은 인삼의 중요한 항산화 성분으로 알려지고 있다.³³⁾ 5년근 수삼의 증포 횟수에 따른 총 페놀 함량과 페놀산 분획물의 추출 수율을 조사한 결과 총 페놀함량은 수삼 0.42%, 1회 증숙 0.53%에서 5회 증숙 이후 급격히 증가하여 9회 증포 경우 2.89%를 보였으며, 이와 유사한 연구 결과에서도 총 페놀 함량은 증포 횟수 증가와 함께 증가하였다.^{8,24,27,34)} 증포 횟수 증가에 따른 페놀함량의 증가는 열처리에 의한 불용성 페놀화합물이 고분자물질로부터 분리되어 유리형으로 분해되거나 배당체나 아민작용기(amine functionalities)와 연결되어있는 결합형 페놀산이 열처리에 의해 분리되어 유리 및 복합 페놀산의 증가에 기인된다.²⁸⁾ 특히 페놀성 화합물 중에서 maltol 성분은 Maillard reaction products(MRPs)중의 하나로서 홍삼의 주요 항산화 성분으로 보고되었다.³⁵⁾ Maillard reaction 반응은 여러 종류의 생약의 열처리과정에서 항산화 효과증대와 관련 있는 중요한 요인중의 하나로 간주되고 있다. 인삼에 있어서도 MRPs은 증숙에 의해 증가되는데 증삼과정에서 maltol은 인삼 중에 있는 아미노산 화합물과 유리당 혹은 페놀성 배당체 화합물이나 ginsenoside로부터 분리된 당부분이 반응하여 생성되며, 특히 고온 증삼의 경우 현저한 함량증가가 일어난다.^{33,36)}

흑삼의 주요 진세노사이드 - 인삼 중 사포닌 함량은 인삼의 종(species)과 부위 및 가공방법 등에 따라 달라지는데 지금까지 *Panax*속 식물체(뿌리, 잎, 줄기, 열매, 꽃 등)로부



Fig. 1. Photographic appearances of black ginseng based upon steaming and drying times.

터 총 289종의 진세노사이드가 분리 보고되었다.³⁷⁾ 가공방법에 따라 인삼의 진세노사이드의 함량조성은 달라질 수 있는데 일반적인 홍삼의 증삼조건은 95~100°C에서 2~3시간 증삼이다. 항암활성을 가진 prosapogenin(G-Rg3, -Rg2, -Rh1, -Rh2) 등의 함량 증대를 위한 증삼조건 조사에서 80°C~90°C에서 증삼시간을 늘려도 prosapogenin 함량의 유의한 증가는 보이지 않았고, 100°C에서는 증삼시간(2~8시간) 증가에 따라 가파른 함량 증가를 보여 6시간이 최대량을 보여(90°C/6시간 0.83 mg/g, 100°C/6시간 2.83 mg/g) 증삼시간보다 온도가 더 영향을 미치는 것으로 보인다.³⁸⁾ 그러나 증삼 후 건조조건(온도/시간)은 증삼조건보다는 큰 영향을 미치지 않는다. 이는 사포닌의 변환은 단순한 열처리가 아닌 수분이 매개된 가수분해반응에 의해 성분변환이 주로 일어나기 때문으로 건조된 백삼을 열처리해도 사포닌변화는 거의 일어나지 않는다.³⁹⁾ 흑삼의 화학적 조성을 구명하기 위해서 HPLC-ESI-MS/MS method를 적용하여 98°C에서 3시간 증삼하고 60°C에서 18시간 건조하는 과정을 9회 반복하여 제조한 흑삼을 분석하였다.²²⁾ 백삼과 흑삼으로부터 분석된 총 29종의 ginsenoside 중 16종(20(S)/20(R)-G-Rg2, 20(S)/20(R)-G-Rg3, 20(S)/20(R)-G-Rs3, G-Rh1, -Rg6, -F4, -Rk1, -Rg5, -Rk3, -Rh4, -Rs5, -Rs4, -Rh2)이 흑삼에서 검출되었다. 일반적으로 인삼의 주종 사포닌(major ginsenosides)인 극성 진세노사이드들은 홍삼으로 제조 시 증가된다. 이는 인삼에 malonyl ginsenoside의 열처리에 의해 말로닐기의 제거로 중성 사포닌으로 전환되기 때문이다. 그러나 고온(100°C 이상)이나 반복적 증삼처리의 경우 이들 ginsenoside는 감소되고, 중간정도의 극성을 가진 G-Rg2, -Rh1 등은 증가 후 감소되고, 흑삼의 경우 일반적으로 4~5회 증포 이후부터 G-Rg3를 비롯한 저극성의 진세노사이드의 현저한 양적증가가 일어난다.^{20,24)} 이는 흑삼제조과정 중 ginsenoside의 C-3와 C-6에서 가수분해 반응과 이성화 반응, 그리고 C-20의 탈수

반응의 과정을 거쳐 보다 저극성의 진세노사이드로 구조 변환이 일어나기 때문이다.⁹⁾ 이로서 증삼과정에서 인삼 주종 사포닌인 극성 진세노사이드인 G-Rg1, -Re, -Rb1, -Rc, -Rb2, -Rd는 상당히 감소되고 보다 극성이 낮은 20(S)/20(R)-G-Rg2, 20(S)/20(R)-G-Rg3, G-Rk1, -Rg5, -Rk3, -Rh4 등은 증가한다.^{20,22)} 흑삼 추출물 중 prosapogenin을 조사한 결과, 1.15%(G-Rg2, -Rg3, -Rg5, -Rg6, -Rh1, -Rh4, -Rk1, -Rk3, -F1, -F4의 합계)로 총 함량(1.76%)의 65% 이상을 차지하였다. 이는 1회 증삼하여 제조한 홍삼보다 2.7배 많은 함량이었고, 특히 G-Rg3 함량도 1회 0.02%에 비해 0.28%로 10 배 이상 높은 함량을 보였고,⁴⁰⁾ 홍삼과 흑삼(9증9포)의 prosapogenin의 함량 비교에서도 이와 유사한 결과를 보였다.⁴¹⁾ 지금까지 흑삼 제조시험을 통해 조사된 흑삼의 주요 진세노사이드 함량을 1회 증삼/홍삼과 비교하면 조사자에 따라 상당한 차이를 보이지만, 일반적으로 9회 증포 과정을 거쳐 가공된 흑삼은 1회 증삼하여 제조한 홍삼에 비해 G-Rg3, -Rg5, -Rk1의 함량이 현저히 높다. 9회 증포한 흑삼의 경우 G-Rg3, -Rg5, -Rk1 함량의 조성 비율을 보면 총 진세노사이드(13종) 함량의 50~70%의 조성비율을 보여 흑삼의 주요 ginsenoside로 간주된다(Table I 참조).^{41,42)}

흑삼의 제조과정 중 진세노사이드구조 변환 기전 - 홍삼의 제조과정 중 새로운 ginsenoside들이 생성되는데, 관련기전으로는 진세노사이드 C-20번에서 가수분해 반응, 탈수반응, 이성화 반응이 일어나고, 또한 C-3이나 C-6에서 가수분해 반응이 일어나는 것으로 추정된다.³⁷⁾ PPD계의 G-Rb1과 G-Rc의 경우 가수분해 반응을 통해 C-20에 있는 glycosyl moiety의 제거로 G-20(S)-Rg3와 G-20(R)-Rg3로 된다. 그 다음 G-Rg3는 탈수반응에 의해 G-Rk1과 G-Rg5로 변환된다. 또한, C-3 위치의 말단에 붙어있는 포도당분자 하나가 떨어지면 G-Rh2로 된다(Fig. 2). PPT계 사포닌인 G-Rg1은 가수분해와 탈수반응에 의해 G-Rh1과 G-Rh4로 된다(Fig. 3). 한

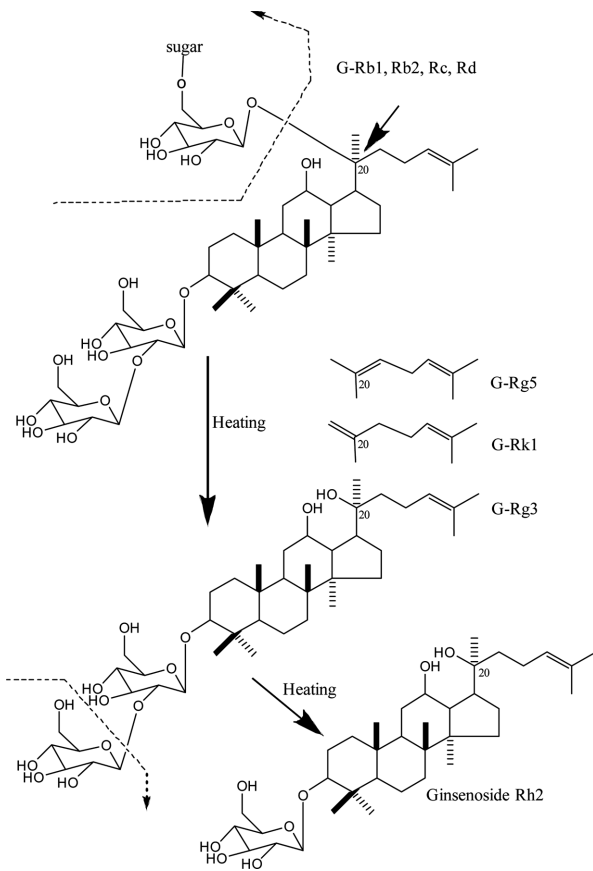


Fig. 2. Possible chemical transformation of ginsenoside Rb1, Rb2, Rc and Rd, a protopanaxadiol saponin, during the manufacturing process of black ginseng.

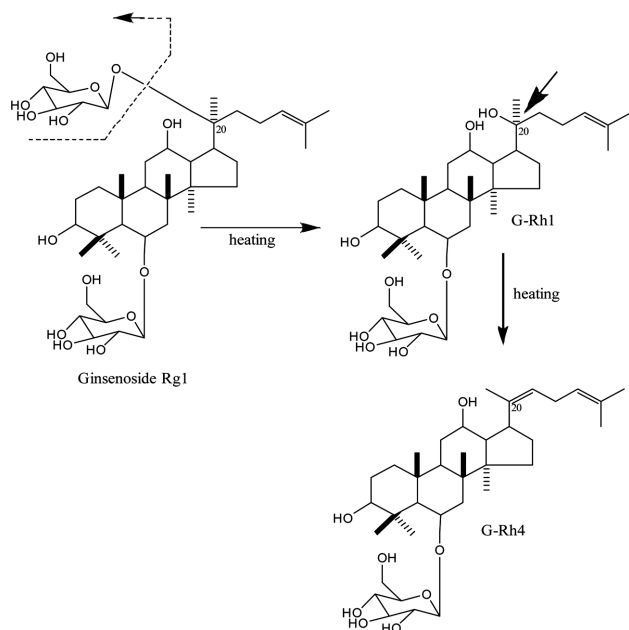


Fig. 3. Possible chemical transformation of ginsenoside Rg1, a protopanaxatriol saponin, during the manufacturing process of black ginseng.

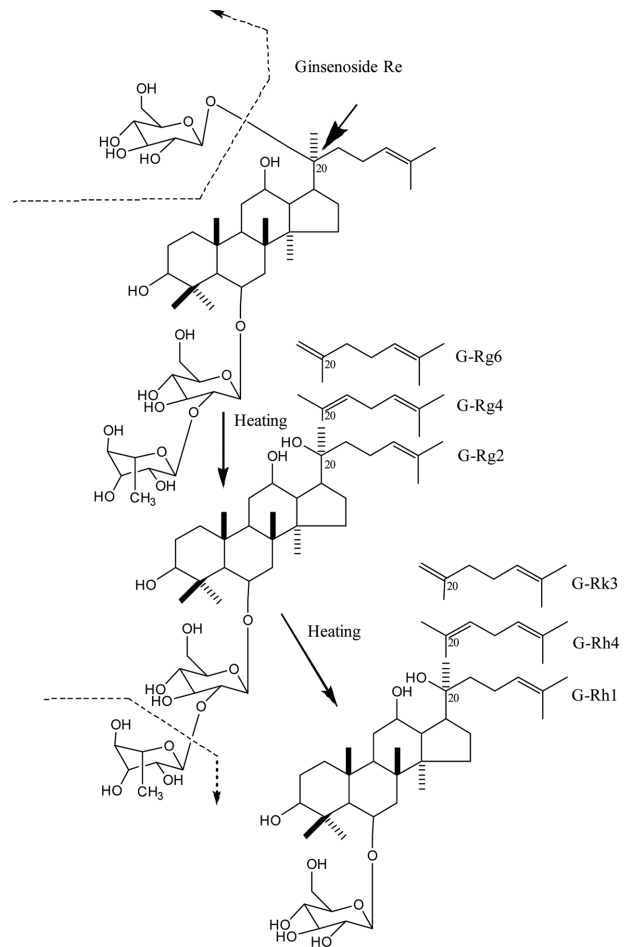


Fig. 4. Possible chemical transformation of ginsenoside Re, a protopanaxatriol saponin, during the manufacturing process of black ginseng.

편, 주요 PPT계 사포닌의 하나인 G-Re는 C-20에 있는 포도당 1분자가 떨어져 G-Rg2가 되고 다시 side chain의 탈수반응으로 인해 G-Rg4와 G-Rg6로 전환된다. 즉, G-Rg4와 G-Rg6는 G-Rg2의 C-20(21) 또는 C-20(22)에 이중결합이 도입됨으로서 생성되는 것이고 그 후 G-Rg4와 G-Rg6의 C-6에 붙어있는 말단포도당 1분자가 제거되어 G-Rh4와 G-Rk3로 생성된다. 동일한 메커니즘으로 G-Rh1은 G-Rg2로부터 생성된다(Fig. 4). 이로부터 흑삼에서 새로이 생기는 G-Rg3, -Rk1, -Rh2, -Rg5 등은 PPD계 사포닌인 G-Rb1, -Rb2, -Rd로부터 생성되며, G-Rg2, -Rg4, -Rg6, -Rh1, -Rh4, -Rk3 등은 PPT계 사포닌인 G-Re, -Rg1으로부터 가수분해, 탈수반응 및 이성화반응으로 생성되는 것으로 생각할 수 있다.

흑삼의 항산화 활성

산화적 스트레스는 신경퇴행성 장애, 심혈관질환, 당뇨병, 암, 뇌졸중 등과 같은 광범위한 질환의 발생에 관여하기 때

문에 항산화제로 산화적 스트레스를 개선하는 것이 여러 가지 질환의 치료를 위한 효과적인 전략이 될 수 있다.⁴³⁾ 흑삼과 백삼의 80% 에탄올 추출물을 제조하여 DPPH(2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl radicals) 소거활성, superoxide (SOD) 활성, 그리고 xanthine oxidase 억제 활성을 비교한 결과 열처리하지 않은 백삼보다 구증구포한 흑삼의 효과가 우수하였다. 성분조성 비교결과 조사된 ginsenoside(9종)의 총 함량은 백삼이 많았으나 백삼에는 G-Rg3는 검출되지 않았고, 특히 항산화 활성성분으로 잘 알려진 페놀 함량은 백삼보다 흑삼이 현저히 많았다.¹⁴⁾ 약초나 향신료에 있어서 대부분의 항산화 작용은 함유되어 있는 페놀화합물의 수소공여체, 환원제, 그리고 유리기 제거물질로서 작용하는데 기인되는 것으로 여겨진다.⁴⁴⁾ 흑삼제조과정 중 증포 횟수별 가공삼의 에탄올추출물의 항산화 활성(DPPH, ABTS, hydroxyl radical, FRAP assays)은 가공삼의 증포 횟수 증가와 함께 유리기 소거능이 증가되었으며, 이와 함께 총 페놀함량도 증가되었다. 흑삼의 항산화 활성 증가는 페놀물질의 증가와 관련이 있는 것으로 시사되었다.²⁷⁾ 구증구포 흑삼의 DPPH 소거활성을 조사한 결과 페놀함량이 가장 높은 7회 증포한 흑삼에서 가장 강한 소거활성을 보여 페놀성분이 주요 항산화 성분으로 주목하였다.²⁴⁾ 최근 고려인삼(*Panax ginseng*), 서양삼(*Panax quinquefolium*), 전칠삼(*Panax notoginseng*)을 각각 흑삼으로 제조하여 DPPH라디칼 소거능을 비교한 결과 열처리하지 않은 백삼보다 흑삼의 활성이 강하였으며, 인삼종(species) 중에서 고려인삼과 고려흑삼의 항산화 활성이 가장 우수하였고, 진세노사이드 조성함량 조사결과 흑삼에서는 백삼에 존재하지 prosapogenin인 G-Rk3, -Rk4, 20(S)/(R)-G-Rg3함량이 증가되었고, 총 페놀함량도 현저히 높았다.⁴⁰⁾ 한편 흑삼의 주요 성분인 G-Rg3의 항산화 활성에 기인한 여러 가지 약리효과가 보고되었다. Electron spin resonance spectrometer(ESR)을 이용한 유리 수산화(·OH)소거활성과 ferrous metal ion-chelating activity를 조사한 결과 그 활성의 강도는 G-Rg3>-Rb1>-Rg1>-Rc>-Rb2>-Rd순으로 흑삼에 다량 존재하는 G-Rg3가 가장 강력하였다.⁴⁵⁾ 최근 동물시험을 통해 증삼과정에서 생성되는 G-Rg3, -Rg5, -Rk1와 MRPs인 maltol 성분들이 산화적 스트레스로 유도되는 신기능장해를 개선시키는 주요한 생리활성 성분임을 제시되었다.⁴⁶⁾ 또한 뇌허혈(저산소증) 유도 랫드를 이용한 20(S)-G-Rg3의 신경보호효과 조사에서 G-Rg3는 지질과산화의 감소, 유리기의 소거 활성, 에너지 대사 개선을 통하여 뇌허혈성 신경장해를 보호하는 효과를 확인하였다. 20(S)-G-Rg3는 당뇨병 랫드의 신부전을 개선하고 그 효과는 NMDA-receptor 매개 산화적 스트레스에 대한 억제효과와 관련이 있었다.⁴⁷⁾ 또한 G-Rg3는 cisplatin에 대한 암세포의 감수성을 증가시키고 cisplatin에 의해 유도되는 활성산소종의 소거작용을 통해 간과 신장의 조직손상을 방어하는 효

과를 나타낸다.⁴⁸⁾ 그동안 진세노사이드에 대한 다양한 항산화 실험에서 ginsenoside는 체내에 있는 항산화 효소의 증가를 통하여 또 한편으로는 직접 유리기 소거제로서 역할을 함으로서 항산화 능력에 의한 보호효과를 나타내는 것으로 밝혀졌다.^{47,49,50)} 따라서 인삼의 항산화 활성 성분에 대해서는 연구자들의 실험방법에 따라서 다를 수 있으며, 아마도 무세포 시스템(cell free system)에서는 직접 유리기 소거활성은 ginsenoside보다는 페놀성 화합물과 같은 환원활성이 강한 비사포닌계 물질이 강할 수 있을 것으로 여겨진다. 그러나 인삼의 산화적 스트레스에 대한 방어 효능은 ginsenoside 또는 페놀성분 단일 성분으로 설명하기에는 부족한 점이 많다. 특히 지금까지 흑삼의 유리기 소거활성이 백삼이나 1회 증삼 가공한 홍삼에 비해 강한 것으로 평가되었는데, 이는 흑삼제조과정 중 증포 횟수의 증가에 따른 열처리에 의해 진세노사이드의 C-20에 부착된 당분자가 탈당화되어 G-Rg3, -Rk1, -Rg5와 같은 저극성 진세노사이드와 MRPs인 maltol을 비롯한 페놀성물질의 증가에 의한 이들 성분의 상승적 효과에 기인되는 것으로 사료된다. 더욱이 지금까지 흑삼의 항산화 효과는 대부분 in vitro 라디칼 소거활성을 중심으로 조사되었으므로 금후 in vivo 실험계를 이용한 활성성분에 대한 보다 많은 연구가 요망된다.

흑삼의 항암 효능

흑삼과 그 주요 함유 Ginsenosides의 항암 활성 - 홍삼과 흑삼 추출물의 항암효과 비교에서 MTT assay를 이용한 배양암세포에 대한 세포독성은 홍삼조사포닌 분획물(100 mg/ml)은 보이지 않았으나, 흑삼조사포닌 추출물은 신장암세포(ACHN), 결장암세포(HCT-15), 전립선암세포(PC-3)에 대한 IC₅₀ 값이 각각 60.3, 61.2 및 90.8 mg/ml로서 대조 항암제(adriamycin의 0.1~0.3 mg/ml)에 비해서는 현저히 약하지만 홍삼보다는 강한 세포독성을 보였다.⁵²⁾ 그러나 폐암세포주(Lewis lung carcinoma cell)를 이식한 중앙마우스 실험에서는 흑삼과 홍삼추출물 투여(20 mg/kg/day, 2주) 결과 종양크기를 지표로 측정된 항암효과는 각각 36.7%, 22.4%의 억제효과를 보여 흑삼이 홍삼보다 우수한 항암효과를 보였다(대조약물 taxol, 12.5 mg/kg/day, 2주: 46.4% 항암효과). 또한 흑삼 중에는 G-Rg3, -Rg5, -Rk1 등의 함량이 높았으며, 특히 G-Rg3 함량은 홍삼의 0.25 mg/g 보다 현저히 많은 11.48 mg/g이었다.⁵²⁾ 새로운 혈관 형성(angiogenesis)은 산소와 영양분의 공급에 의한 종양 성장과 전이에 중요한 역할을 한다. 흑삼의 항암효능에 대한 기전연구의 일환으로 흑삼추출물과 흑삼으로부터 G-Rg3와 G-Rg5를 분리하여 혈관신생 억제 효능을 검정하였다. 흑삼추출물과 G-Rg3, -Rg5 처리는 혈관내피세포인 human umbilical vein endothelial cells(HUVECs)의 배양실험에서 basic fibroblast growth

factor(bFGF)에 의해 유도되는 HUVEC의 증식(proliferation), 이동(migration), 및 관형성(tube formation)을 억제하였다.⁵³⁾ 또한 *in vivo* 실험모델로 수정란을 이용한 chick embryo chorioallantoic membrane assay에서도 흑삼추출물과 G-Rg3 및 G-Rg5 모두 새로운 혈관형성을 억제효과가 관찰되었다. 이전의 다양한 실험적 연구(*in vivo*, *in vitro*)를 통해 흑삼에 고함유된 G-Rg3의 혈관신생억제 효능이 다수 보고되었다.⁵¹⁾ 최근 미삼을 구증구포하여 제조한 흑미삼의 진세노사이드 조성함량 조사에서 흑미삼의 조사포닌 분획물 중 G-Rg5가 가장 다량함유(약 10% 함유) 성분임을 확인하고 G-Rg5의 유방암 세포(MCF-7 breast cancer cells)에 대한 항암활성과 그 작용기전을 조사하였다.⁵⁰⁾ MTT assay와 세포주기 검정(cell cycle assay), 그리고 단백질 발현 분석법(western blot analysis)을 이용하여 조사한 결과 G-Rg5 처리는 유방세포의 증식을 용량 의존적으로 억제하고, 암세포의 세포주기에 관여하는 단백질 발현의 조절(p53, p21WAF1/CIP1, p15INK4B)의 발현 증가, cyclin D1, cyclin E2, CDK4는 감소) 작용을 통해 세포주기를 G0/G1 phase에 정지시켰다. 또한 G-Rg5는 암세포의 세포사멸에 관여한 Bax, PARP, Cytochrome C 등의 단백질 발현을 조절하여 유방암 세포의 apoptosis를 촉진하였다. G-Rg5의 이러한 효과는 G-Rg3에 비해 보다 강한 것으로 보였다. 한편 유방암환자(1455명)를 대상으로 생존율과 생활의 질(quality of life, QOL) 개선에 대한 연관성조사에서 인삼을 규칙적/자주 섭취하는 환자들은 사망위험도 감소와 생활의 질 개선에 효과적이었다는 역학조사도 보고되었다.⁵⁴⁾ 금후 *in vivo* 실험과 임상적용 시험을 통해 G-Rg5를 다량 함유한 흑삼의 유방암 관리에 효과적인 천연의 새로운 소재(natural new material)로 될 수 있을 것으로 기대된다. 또한 G-Rg5의 인체 자궁경부암세포주(HeLa, MS751, C33A, Me180, HT3)에 대한 세포독성, DNA 손상, 세포사멸효과를 가지고 있는지를 평가하였다. 그 결과 G-Rg5는 인체자궁경부암 세포의 DNA 손상과 세포사멸을 강력히 유도하였으며, HeLa와 MS751 세포주가 G-Rg5에 대해 더욱 감수성을 보였다.⁵⁵⁾ *In vitro* 세포배양시험에서 흑삼의 알코올추출물은 전이성이 강한 대장암세포주(colon26-M3.1 carcinoma cells)에 대한 증식억제 활성을 보였으나, 정상세포(마우스 비장세포)에는 세포독성을 보이지 않았으며, 그 억제 활성은 흑삼이 백삼보다 강력하였다. 또한 흑삼은 LPS로 유도되는 대식세포의 염증성 사이토카인인 TNF- α 의 생성을 농도 의존적으로 억제하였으며 역시 그 효과는 백삼보다 우수하였다. 이로써 흑삼의 대장암세포에 대한 항암활성과 항염증 효과가 시사되었으며 이러한 효과는 흑삼제조 과정 중 생성되는 G-Rg3와 G-Rh2에 기인하는 것으로 추정되었다.⁵⁶⁾ 특히 만성염증은 암발생 위험을 증가와 관련이 있으며⁴⁹⁾ 이미 흑삼에 다량 함유된 G-Rg3가 염증감소에 중요한 역할을 한다는 것이 보고되고 있어 암

발생 위험을 감소시킬 수 있음을 보여주었다.⁵⁷⁾ 따라서 금후 흑삼에 대한 항염증효과와 관련된 암예방효과에 대한 보다 많은 연구가 기대된다. *In vivo* 실험으로 흑삼추출물의 암 전이억제효과를 조사하였다. 전이성이 강한 colon 26-M3.1 암세포를 Balb/c 마우스의 꼬리 정맥주사하고 암세포 이식 14일 후 폐로 전이된 암세포의 전이수를 계측하여 평가하였다. 흑삼추출물을 암세포 이식 후 5일간 1일 1회씩 3 mg 또는 5 mg/mouse 경구투여 한 결과 각각 13%, 23%의 암전이 억제효과를 보였다.⁵⁸⁾ 또한 흑삼추출물을 경구투여 한 마우스 비장세포의 배양시험 결과, 비장세포의 B세포와 T세포 증식반응의 증가활성이 관찰되었다. 이에 흑삼추출물의 암전이 억제효과는 이러한 면역증강효과에 기인될 수 있음이 시사되었다. 그러나 이외에도 흑삼의 암전이 억제효과는 흑삼에 다량 존재하는 G-Rg3의 암세포의 침윤과 전이 및 혈관신생억제효과에 기인될 수도 있다고 본다.⁵¹⁾ 한편 진세노사이드의 항암활성은 그 구조와 활성관계 조사에서 부착 당분자의 수와 위치, 수산기의 수와 위치, 당분자의 소수성 정도, 20(S)와 20(R)의 입체 선택성 등에 따라 항암활성이 달라진다.⁵⁹⁾ 부착 당분자 수나 수산기가 적을수록, 당분자의 부착위치 즉, C-6보다는 C-3에 당분자를 가진 PPD가 PPT사포닌보다 강하다. 예를 들면 G-Rh2(C₃₆H₆₂O₈)와 G-Rh1(C₃₆H₆₂O₉)은 유사구조를 가지고 있지만 포도당 분자가 C-3에 부착되어 있는 PPD계의 G-Rh2가 C-6에 있는 PPT계의 G-Rh1보다 현저히 강한 항암활성을 나타낸다.⁶⁰⁾ 흑삼이 백삼이나 일반 홍삼보다 항암활성(*in vitro*)이 강한 것은 제조과정 중 hydrolysis, dehydration, deglycosylation, 그리고 isomerization반응 등으로 항암활성이 증강되는 방향으로 진세노사이드의 구조적 변환이 일어나기 때문으로 여겨진다.

흑삼의 기억/학습효능

인삼은 전통적으로 정신증상의 개선이나 뇌기능 증진을 위해 사용되어 왔고, 특히 건망증에 유효한 처방 중 대부분에 인삼이 중요 구성 생약으로 포함되어 있다. 지난 30여간 인삼의 *in vitro*, *in vivo* 실험모델을 이용한 다양한 실험적 연구를 통해 인삼과 주요 약효성분인 ginsenoside들이 학습/기억력을 개선시켜 지적수행 능력의 향상에 도움을 준다는 증거들이 계속 증가되고 있다.⁶¹⁻⁶⁴⁾ 흑삼의 기억학습에 미치는 효과 연구는 인삼과 홍삼의 기억학습 효능을 기초로 이들 인삼류와 주로 비교연구를 중심으로 수행되었다. Scopolamine(SCOP) 투여로 유도되는 마우스 건망증 모델(SCOP, 2 mg/kg, i.p.)에 백삼, 홍삼, 흑삼의 추출물을 각각 투여(200 mg/kg, p.o.)하고 그 효과를 조사하였다. 그 결과 이들 추출물투여는 SCOP 유도 기억력 손상을 유의하게 역전시키는 효과를 보였고, SCOP에 의한 acetylcholinesterase (AChE)의 활성 증가도 유의하게 억제되었다. 한편 acetyl-

choline 합성효소인 choline acetyltransferase(ChAT) 활성은 홍삼과 흑삼추출물투여로 유의하게 증가하였다. 또한 이들 추출물 투여는 SCOP 투여로 증가된 malondialdehyde(MDA) 생성량의 저하와 superoxide dismutase(SOD)와 catalase(CAT) 활성의 저하를 회복시키는 효과를 보였다.⁶⁴⁾ 콜린가설(cholinergic hypothesis)은 중추신경계에서 콜린성 기능의 감소가 노인이나 알츠하이머 질환(AD)의 인지능 저하에 유의한 관련성을 제시하고 있다.⁶⁵⁾ 최근까지 AD의 약물치료는 콜린 가설(cholinergic hypothesis)에 근거한 치료제가 근간이 되고 있고, 이들 약물은 기억과 학습에 중요한 신경전달물질인 신경세포의 acetylcholine 농도를 일시적으로 상승시켜 치료 효과를 나타낸다.⁶⁶⁾ SCOP는 사람이나 설치류에서 인지기능을 저하시키는 muscarinic acetylcholine(ACh) receptor의 차단제로서 콜린성 신경전달의 방해해서 아세틸콜린 분해효소(AChE)활성을 증가시켜 인지기능의 손상을 야기시킨다.⁶⁷⁾ SCOP 유도 기억장애모델이 실험동물에서 학습기능에 항건망증 약물의 효과를 평가하는데 광범위하게 사용되고 있다. 이에 SCOP 유도 마우스 실험에서 흑삼의 인지능 개선 효과에 대한 분자기전을 조사하기 위해서 SCOP 유도 건망증 마우스 모델을 이용하여 백삼과 홍삼, 흑삼의 cholinesterase(ChE)의 억제활성 비교와 콜린성 효과(cholinergic effect)에 대한 영향을 평가하였다. *In vitro* ChE 억제활성조사에서 백삼, 홍삼, 흑삼의 80% 에탄올 추출물은 농도 의존적으로 acetylcholinesterase(AChE), butyrylcholinesterase(BuChE) 활성을 억제하였다. AChE에 대한 억제활성(IC₅₀)은 흑삼 추출물(1.72 mg/ml), 백삼(5.89 mg/ml), 홍삼(6.30 mg/ml)으로 흑삼이 가장 강했고, BuChE에 대한 억제 활성은 거의 비슷한 수치(1.8~2.5 mg/ml)를 보였다. 수동회피반응 시험결과 흑삼추출물(100, 200 mg/kg, p.o.) 투여는 SCOP에 의한 기억손상을 유의하게 개선시켰다. 또한 western blot과 RT-PCR 분석결과 흑삼투여는 SCOP에 의한 기억손상 마우스의 대뇌피질과 해마에서 ChAT 단백질 발현의 활성화와 AChE 단백질 발현의 억제효과를 보였다. 이로서 흑삼 추출물은 acetylchoine(ACh)대사를 조절하여 시냅스 아세틸콜린(synaptic ACh)함량을 높여 SCOP-유도 건망증을 방어해 주는 것으로 보여졌다.⁶⁸⁾ 수동회피시험과 수미로시험(morris water maze test)결과, 흑삼과 홍삼투여군에서 기억 손상이 유의적으로 개선되었다. 또한 생화학적 조사에서 뇌조직에서 choline acetyltransferase(ChAT) 활성은 홍삼과 흑삼투여군에서 대조군에 비해 각각 42%, 71% 수준의 유의성 있는 활성증가를 보였고, 뇌조직의 지질 과산화물(malondialdehyde)의 함량도 홍삼과 흑삼투여군에서 각각 33%, 37%의 유의성 있는 감소를 보였다. 이로서 흑삼의 반복 경구투여는 scopolamine으로 유도된 흰쥐에서 기억력 감퇴를 개선하는 데 가장 효과적인 것으로 사료되었다.⁴⁶⁾ 중대뇌 동맥폐색 랫드 모델을 제작하여 뇌허혈로 유

도되는 기억학습 장애와 신경세포 손상에 대한 흑삼의 보호 효과를 조사하였다. 흑삼추출물 투여는 뇌허혈로 유도되는 랫드의 학습과 기억력 손상을 개선하고, 해마부위의 콜린성 신경세포의 감소를 억제하고 신경세포의 NO 생성을 증가시켰다.⁶⁹⁾ 콜린신경세포의 퇴화가 알츠하이머병(AD)이나 혈관성치매의 일반적 특징이고 인지기능 저하와 관련이 있고, 또한 AD 환자 해마부위의 NOS 함유 신경세포의 특이적 감소가 존재한다고 밝혀지고 있다.^{70,71)} 한편 흑삼 함유 주요 진세노사이드인 G-Rg3, -Rg5, -Rk1에 대한 기억학습에 미치는 영향과 그 작용기전에 대한 연구가 다수 추진되고 있어 흑삼의 유용성을 더욱 뒷받침해주고 있다. 흑삼의 주요 성분인 G-Rg3와 G-Rg5/Rk1(혼합물)은 ethanol과 scopolamine으로 유도된 마우스 기억장애 모델에서 이들 진세노사이드의 경구투여(10 mg/kg, 4일)는 유의하게 기억장애를 개선시켰으며, 이러한 효과는 이들 진세노사이드의 glutamate 혹은 NMDA에 의해 유도되는 흥분성 신경독성에 의한 신경세포 손상 방어 작용에 기인되는 것으로 여겨진다.⁷²⁾ 또한 STZ 유도 알츠하이머 랫드 모델시험에서 G-Rg5는 신경세포 염증반응의 억제(염증성 사이토카인 TNF- α 와 IL-1 β 의 감소)를 통해 손상된 인지기능을 개선시키는 효과를 제시하였다.⁷³⁾ 이외에도 G-Rg3는 세포배양실험계(CHO 287 cells)에서 용량의존적 amyloid peptide(A)의 농도 감소와 알츠하이머 질환모델 동물(Tg2576 transgenic mice)을 이용한 *in vivo*에서도 A β 생성의 유의한 감소효과를 보였다. 또한 G-Rg3는 뇌해마에서 염증성 매개인자(tumor necrosis factor- α , interleukin-1 β , cyclooxygenase-2 등)의 발현을 억제하여 만성염증으로 유발되는 기억/인지장애를 개선시키는 효과를 보였고,⁷⁴⁾ 랫드시험에서 일과성 국소허혈성 뇌손상에 대한 20(R)-G-Rg3의 신경보호 효과등이 보고되었다.⁷⁵⁾ 이상에서와 같이 G-Rg3와 G-Rg5/Rk1와 같은 저극성의 진세노사이드들은 흑삼의 주요 함유성분이므로 이들의 기억력개선 효과는 흑삼의 항건망증에 대한 유용성을 간접적으로 입증해주고 있다. 그러나 흑삼은 아직 인삼이나 홍삼 연구에 비해 연구수행이 미진한 실정이나 효과의 우수성면에서 긍정적인 연구결과들이 도출되고 있어 임상적 적용의 확대를 위해서는 좀더 다양한 실험모델을 이용한 추가적 연구가 필요하다.

항당뇨 효능

지난 10여년간 인삼과 그 성분에 대한 많은 전임상 연구를 통해 당뇨병에 대한 인삼의 유용성이 제시되고 있다. 인삼의 주요 활성성분인 사포닌 성분의 항당뇨 효과는 인슐린의 생산/분비 촉진, 당대사 조절 및 흡수 촉진, 또는 염증과정의 조절, AMP-activated protein kinase signaling pathway 등 상당히 복합적 작용 기전을 가지고 있는 것으로 알려지고 있다. 더욱이 최근 임상실험을 통해 인슐린 저

항성 개선 등 당뇨병 관리에 도움을 줄 수 있는 긍정적 결과들이 발표되고 있다.⁷⁶⁻⁷⁸⁾ Streptozotocin(STZ)-유도 당뇨병 랫드 모델을 제작하여 흑삼추출물(80% 에탄올 추출물)의 투여(5 mg/kg, 3주간) 효과를 조사하였다. 3주후 혈청 중 포도당 농도(mg/dL)는 정상군 62.2, STZ 군 391.4, STZ+흑삼 투여군 101.6으로 흑삼투여군에서 STZ 투여군에 비해 현저한 감소효과를 보였다. 또한 흑삼투여는 STZ에 의한 저하된 당대사와 지방대사에 관여하는 효소(glucokinase, glucose-6-phosphatase, glucose-6-phosphatate dehydrogenase, 6-phosphogluconate dehydrogenase, acetyl CoA carboxylase) 활성을 회복시키는 효과를 보였다.⁷⁹⁾ db/db 마우스를 이용한 당뇨모델에서 흑삼추출물을 3, 5 mg/mouse 투여량으로 1일 1회 5일간 경구 투여한 결과 용량 의존적으로 유의한 혈당저하 효과가 관찰되었으며, 흑삼 투여군에서 기초대사량(basic metabolic rate)이 유의하게 증가되었다. 이러한 기초대사량의 증가는 조직에서의 포도당 소모를 촉진하여 결과적으로 혈액 내 혈당치를 낮추게 하는 효과를 초래하는 것으로 여겨진다.⁸⁰⁾ 백삼과 흑삼의 항당뇨 효과를 비교하기 위해서 유전적 당뇨 마우스(C57BLKS/J-db/db mice)를 이용하여 6주간 백삼과 흑삼을 각각 300 mg/kg 용량으로 투여한 후 OGTT(oral glucose tolerance test)와 IPITT (intraperitoneal insulin tolerance test) 및 공복 혈당과 혈중 인슐린 함량을 조사하였다. 그 결과 흑삼 투여군에서 긍정적인 결과를 보였고, 특히 공복 혈당치와 인슐린 농도는 흑삼 투여군에서 유의적으로 저하되어 항당뇨 효과는 백삼 보다 흑삼이 더욱 효과적이었다.⁸¹⁾ 당뇨모델 쥐(db/db mice)에서 흑삼추출물(50% 에탄올 추출물)을 경구 투여(10 mg/kg, 흑삼 분말로 300 mg/kg 상당량)가 당뇨합병증인 고지혈증이나 조직 손상에 대한 저해효과가 있는지 조사하였다. 실험결과 6주간 흑삼을 투여한 흑삼 비투여 대조군에 비해 혈청 HDL 수준은 유의적으로 증가된 반면, triglyceride(TG)와 non-esterified fatty acid(NEFA) 수준은 감소되었다. 정상대조군(normal group)의 간 조직은 그 표면에 윤기가 있고 탄력성도 있었으나 당뇨대조군(positive group)의 간 조직의 표면은 지방 침착으로 윤기와 탄력성이 현저하게 저하되고, 심한 지방 침착, 괴사 및 문맥에 염증세포의 침윤현상이 관찰되었다. 그러나 흑삼이 투여된 당뇨모델 쥐의 간 조직은 정상적인 구조로 간세포가 잘 배열되어 있고, 지방세포 비대, 괴사 및 염증현상이 관찰되지 않았다.⁸²⁾

항비만효과

많은 연구들은 인삼사포닌이 혈청 콜레스테롤 감소와 지방대사 촉진, 고지혈증과 비만에 유익한 효과를 가지고 있음을 제시하였다. 또한 비만모델을 이용한 실험에서 인삼 섭취는 지방함량과 체중 감소, 지방산 산화촉진 및 인슐린 저

항성 방지 효과를 보였고, 최근 비만 중년여성(n=10)을 대상으로 한 임상시험에서 인삼추출물 섭취에 의한 체중감소 효과가 관찰되었다.^{83,84)} Rat시험에서 백삼, 홍삼, 흑삼의 조사포닌분획물(100 mg/kg/day, p.o., 3 weeks) 투여하고 체중 변화와 혈액 중 지질함량을 조사하였다. 흑삼추출물 투여군에서 체중증가율이 유의하게 억제(대조군 대비 체중감소율: 홍삼 44.9%, 흑삼 81.0%)되었다. 체지방질 및 lipid profile의 변화는 총콜레스테롤과 LDL- HDL-cholesterol의 수치는 유의성이 없었으나, 체지방감소 동(부고환 및 복부지방) 및 혈액 중 중성지질(triglyceride) 함량은 유의한 감소를 보였으며, 흑삼이 더 효과적이었다.⁸⁵⁾ 일반적으로 비만은 에너지 흡수와 배출의 불균형로서 혈액 중 지방농도가 증가되고 지방조직에 지방의 축적을 특징으로 한다.⁸⁷⁾ 또한 고지방식으로 유도되는 비만 마우스(C57BL/6J mice; 6주령) 모델을 이용하여 흑삼에탄올 추출물의 항비만효과를 조사하였다. 흑삼 추출물을 고지방식이에 사료량의 1%, 3%, 5%를 첨가하여 12주간 투여한 결과 고지방식으로 유도된 고지혈증, 간의 지방축적, 백색 지방조직은 흑삼추출물 투여 후 감소되었으며, 총 대변 중량과 대변 지방배설량 역시 흑삼추출물 투여로 증가되었다. 이러한 결과는 흑삼에탄올 추출물이 지방소화의 강력한 억제작용을 통해 고지방식이에 비만 개선에 유용할 수 있음을 시사하였다.⁸⁸⁾

혈압강화작용

인삼의 혈압작용에 대해서는 이론이 많다. 인삼은 혈압을 상승시킨다는 조사 보고도 있고, 혈압의 정상화작용도 보고되고 있다. 그동안의 실험적 연구결과들은 인삼추출물의 종류와 투여용량, 투여방법, 그리고 동물 종에 따라 혈압반응이 다르고, 인삼 중에는 혈압을 저하 또는 상승시키는 성분이 공존되어 있음이 발견되었다.^{89,90)} 따라서 이러한 인삼의 약리작용을 기초로 과연 임상적용 시 혈압반응에 어떤 영향을 미치며 혈압강화제와 병용이 가능한지, 또는 혈압강화제의 장기복용에 따른 생활질(QOL)의 악화에 개선효과가 있는지 등을 중심으로 연구검토가 이루어졌다.⁹¹⁾ Deoxycorticosterone acetate(25 mg/kg, 3 times/week for 3 weeks)에 의한 고혈압 유발 랫드 모델을 제작하여, 흑삼열수추출물(250 mg/kg/day)을 4주간 경구 투여하고 혈압과 심박도수 변화 주요 장기의 조직학적 검사를 하였다. 체중은 대조군의 체중감소에 비해 흑삼 투여군은 정상대조군 수준을 유지하였다. 폐와 심장무게는 대조군에서 중량 증가를 보였으나 흑삼 투여군은 정상대조군 수준을 유지하였다. 혈압 및 심박수는 대조군은 175.2±5.4 mmHg, 정상군은 129.1±1.2 mmHg, 흑삼투여군은 142.6±94.5 mmHg로 나타나, 혈압저하효과가 관찰되었다. 또한 심박수에 있어서도 고혈압 유도 대조군은 유의한 증가를 보였으나 흑삼 투여군에서는 감소

를 거의 정상대조군 수준으로 감소를 보였다. 특히 또한 혈압상승과 관련 있는 혈장 중 aldosterone 수치는 고혈압대조군에서 유의한 증가를 보였으나, 흑삼 투여군에서 그 상승이 유의하게 억제되었다. 조직검사결과 흑삼 투여군에서는 신과 폐의 조직화학적 염색소견에서는 정상에 근접한 상태의 소견을 나타냈다.⁸⁶⁾ 또한 최근 흑삼의 주요 성분인 G-Rg5는 NO/cGMP 경로의 조절, insulin-like growth factor-1 receptor의 활성화를 통한 혈관내피세포의 혈관신생 촉진 및 혈관이완 효과를 보여 고혈압 개선에 유용성을 시사하는 실험적 결과가 보고되었다.⁹²⁾ 인삼의 혈압강하 작용 기전은 현재까지 분명히 밝혀지지는 않았다. 초기의 연구에서 인삼의 혈압강하 기전으로 histamine 유리설, 중추억제설, 자율신경 작용설, Ca²⁺ 길항설 등이 거론되었으나, 최근 연구 결과에 의하면 가능성 있는 기전은 혈압조절에 중요한 역할을 하는 혈관내피세포에서 유래되는 혈관이완반응의 촉진과 특히 혈관확장 물질인 NO 분비의 유리작용과 혈관조직내 cGMP의 생성을 증진하여 혈관을 확장하기 때문에 발현되는 것으로 이해되고 있다.^{89,93,94)} 한편 홍삼은 free radical에 의한 혈관내피세포의 산화적 손상을 보호하고 혈압상승 유도과 관련된 혈관수축물질(throboxane A2, endothelin 등)에 대해 길항적 작용을 발현하고 세포내 Ca²⁺ 농도 조절 등 혈압조절과 순환기계의 항상성 유지(homeostatic activities)에 유용한 효과를 미치는 것으로 추정된다.^{90,95-97)} 흑삼에 대한 혈압반응에 대한 연구는 많이 이루어지지 않았으나 인삼의 혈관이완작용과 혈압 강하작용을 비롯한 심혈관질환에 다양한 약리활성을 나타내는 주요 활성 성분인 G-Rg3가 흑삼에 다량 함유되어 있는 성분임을 고려하면 금후 흑삼의 혈압강하 효과에 대한 더 많은 연구를 기대할 수 있다.

운동력 증강 및 기타 효능

운동력 증강 - 인삼은 항스트레스 및 항피로 효과를 나타내며 많은 동물시험에서 운동수행능력의 개선효과가 관찰되었다.⁹⁸⁾ 운동선수를 대상으로 한 인체시험에서도 긍정적 개선효과를 보여 스포츠의학계에서도 인삼의 유용성에 많은 관심이 모아지고 있다.⁹⁹⁾ 지속적인 운동 모델(랫드)을 이용하여 흑삼추출물의 운동능력에 미치는 효과를 조사한 결과 흑삼추출물을 6주동안 투여(75, 150 및 300 mg/kg, 경구) 한 시험군에서 운동대조군에 비해 treadmill에서 측정된 최대운동거리의 유의적인 증가를 보였다.¹⁰⁰⁾ 이러한 운동능력 증가는 흑삼투여로 인해 혈청 젖산 농도감소와 골격근의 산화력과 호흡능력을 측정하는 대표적 평가지표인 citrate synthase의 활성도 증가, 그리고 간과 근육의 glucose-6-phosphate 함량의 증가로 인해 나타난 것으로 해석되었다. 최근 랫드시험을 통해 흑삼의 주요 성분인 G-Rg3을 유산소 운동과 함께 투여시 심근조직 미토콘드리아의 동적 리모델

링을 조절하고 미토콘드리아의 양적/질적 기능개선을 통해 심근의 운동 적응력을 높인다고 보고되었다.¹⁰¹⁾

아토피 억제활성

최근 아토피 피부염의 발병률은 증가 추세이며 이미 의학 적 문제를 넘어서 사회적 문제로 인식되고 있다. 현재 가장 많이 사용되고 있는 아토피피부염의 치료제는 항히스타민제, 스테로이드제 등이 있다. 항히스타민제는 아토피 피부염을 완화할 수 있으나 근본적으로 치료할 수 없고, 스테로이드제는 가장 기본적으로 효과적인 아토피 피부염의 치료제로 사용되고 있지만 장기간 사용할 경우 피부 위축 등 여러 가지 부작용을 일으킬 수 있다. 보다 안전하면서도 근본적으로 치료할 수 있는 아토피 억제약물 개발이 절실히 요구되고 있다. 집먼지 진드기(*Dermatophagoides pteronissinus*)는 아토피 피부염, 천식, 비염 등의 대표적 원인으로 알려져 있다.¹⁰²⁾ 또한 최근의 연구에 따르면 이러한 아토피를 유발하는 *D. pteronissinus* 추출물(*D. pteronissinus* extract, DpE)이 면역조절 cytokine인 IL-4와 IL-13의 분비를 유도하며, 상피세포에서 IL-8의 분비를 촉진하고, THP-1세포(human acute monocytic leukemia cell line) 및 EoL-1세포(human eosinophilic leukemic cells)에 대해서 monocyte chemoattractant protein (MCP-1), IL-6, IL-8의 분비를 유발한다고 알려져 있다.^{103,104)} 아토피를 유발한다고 알려져 있는 DpE를 THP-1과 EoL-1 세포에 처리 하였을 때 IL-6, IL-8 및 MCP-1이 급격하게 증가하는데, 흑삼(뿌리, 잎) 추출물이 유의적으로 증가된 IL-6, IL-8 및 MCP-1의 양을 강하게 억제하는 것을 확인하였다.¹⁰⁵⁾ 또한 흑삼 추출물보다는 흑삼조사포닌 추출물이 강한 억제활성을 나타내는 것으로 보아 억제활성을 나타내는 것은 사포닌 성분을 것으로 판단되었다. 더욱이 흑삼에 함유된 주요 사포닌 성분인 G-Rg3와 G-Rh2를 함유한 사포닌 분획물이 피부염증 마우스모델을 이용한 실험에서 만성염증성 피부질환에 관여하는 염증인자(COX-2, TNF- α , IL- β)의 발현을 억제함으로 아토피와 접촉성 피부염을 개선시키는 효과가 있고, 또한 이들 사포닌 분획물이 피부가려움증을 억제하는 효과도 보고되었다.^{106,107)} 이로서 흑삼은 아토피를 비롯한 피부 질환에도 효과적으로 사용될 수 있는 기능성 소재로 활용이 기대된다. 이를 위해서 in vivo 효과 조사와 함께 흑삼의 주요 활성성분으로 알려진 G-Rg3(S, R), -Rk1, -Rg5등의 단일 사포닌의 효과 검정과 작용 기전에 대한 추가적인 연구가 필요하다고 본다.

흑삼의 안전성

인삼의 안전성과 관련된 독성시험이 이루어졌다. 급성독성, 아급성, 만성/발암성시험, 유전독성, 생식독성 등에 관한

독성시험을 통해 인삼은 유의할만한 독성이 없음이 보고되었다.¹⁰⁸⁾ 흑삼은 백삼과 1회 증삼/건조하여 제조하는 홍삼과는 다르게 수회 증삼/건조를 반복하여 제조한다. 따라서 흑삼의 증포 과정에서 안전성에 대한 평가가 중요시 되고 있다. 이와 관련하여 우선적으로 홍삼 추출물(50% 에탄올 추출물)에 대한 급성독성시험이 수행되었다. 실험동물은 8주령의 male sprague-dawley rats를 사용하여 검체(흑삼추출물)는 생리식염수에 용해하여 투여용량은 5, 10, 15 g/kg bw으로 투여경로는 경구(p.o.)로 하였고, 14일간 관찰한 결과 15 g/kg bw투여 용량에서도 사망률이나 행동이상, 비정상적 임상증상이 없었고, 사료섭취량, 체중, 내장기관의 무게 등도 대조군과 유의할만한 변화는 없었다. 흑삼 추출물의 경구 반치사량(LD₅₀)은 15 g/kg bw이상으로 이었다. 혈액 및 생화학적 검사에서도 유의할만한 독성적 이상소견은 보이지 않았으며, 신장과 간의 조직검사에서도 이상 소견은 발견되지 않았다. 이로서 흑삼추출물의 급성독성은 없는 것으로 평가되었다.¹⁰⁸⁾ 흑삼에 대한 아급성 및 만성독성시험은 수행되지 않았으며, 흑삼추출물의 급성독성이 LD₅₀이 15 g/kg bw이상임을 고려하면 아마도 유의한 독성은 없을 것으로 여겨진다. 그러나 흑삼의 증포방법의 잘못으로 발암물질인 benzopyrene이나 열분해 산물의 생성에 따른 부정적인 우려감도 있을 수 있다. 흑삼이 처음 개발되어 아직 인삼류의 한 품목으로 설정되기 이전 흑삼제조방법상 증삼 및 건조과정의 잘못으로 인해 흑삼/제품에서 발암물질로 알려진 benzopyrene의 과다 검출 사례가 보도된 바 있다. 이후 식품공전의 benzopyrene 허용기준은 흑삼분말 2.0ppb($\mu\text{g}/\text{kg}$) 이하, 흑삼농축액 4.0 ppb이하로 규정하고 있다. 지금까지 흑삼의 benzopyrene 함량에 대한 분석결과를 보면 9증구포 흑삼에서 0.04 ppb, 8회 증포 0.06 ppb, 9회 증포 0.07 ppb로 보고되었다.¹⁰⁹⁾ 또한 1차 95°C에서 6시간 증삼, 2차 120°C에서 3시간 증삼 후 60°C에서 건조하여 제조한 흑삼에서 0.75 ppb, 또한 최근의 흑삼분석에서는 0.17 ppb이었다.¹⁰⁵⁾ 특히 흑삼의 증삼과 건조온도에 따른 benzopyrene 함량을 조사한 결과 80~120°C의 증삼온도 범위에서는 온도 상승에 따른 영향은 거의 없었으나 건조온도(40~130°C)의 상승에 따른 benzopyrene의 유의적인 증가를 보였다. Benzopyrene 발생은 증삼온도보다는 건조온도가 큰 영향을 미치므로 건조온도는 50°C이하가 적합하며, 특히 미삼의 경우 건조시 과건(過乾)의 우려가 있으므로, 본삼과 분리하여 제조하는 것이 바람직하다. 아울러 G-Rg3의 함량 증대와 benzopyrene 함량을 고려한 최적화 조건은 증삼온도 113.04°C에서 18시간, 건조온도는 100°C에서 8.03시간으로 설정하고 이때 benzopyrene 함량은 0.26 ppb이었다.¹⁸⁾ 지금까지의 흑삼의 benzopyrene 분석 결과를 종합하면 모두 허용기준 2 ppb보다 현저히 적게 검출되었고, 일반적으로 증삼온도 100°C이하, 건조온도, 50°C이하에서의 흑삼제조는 benzopyrene

에 대한 안전성 우려는 거의 없을 것으로 사료된다.

결 론

흑삼은 전통적 한약재의 수처방법 중의 하나인 구증구포 방법을 적용하여 제조한 가공삼으로 증포 횟수를 반복함으로써 Maillard reaction products(MRPs)의 증가로 흑색을 띠게 되어 흑삼이라 명명되었다. 더욱이 흑삼은 반복적 증포 과정을 거쳐 제조된 새로운 가공삼으로서 백삼이나 홍삼에 거의 없거나 극히 미량 존재하는 저극성의 진세노사이드(G-Rg3, -Rg5, -Rk1, -F4, -Rg6, -Rh2, -Rh3, -Rh4, -Rk3, -Rs3, -Rs4, etc)의 함량이 높은 것이 특징이다. 그 중에서 현저히 조성함량이 높은 G-Rg3, -Rk1, -Rg5 등이 주요 성분으로 간주되고 있다. 또한 인삼의 비사포닌계 활성성분으로 산성 다당체 성분과 페놀성 화합물도 증포과정을 통해 증가된다. 일반적으로 흑삼은 기존의 백삼이나 홍삼보다 생리활성이 강한 것으로 인식되고 있다. 지금까지 실험적 연구를 통해 흑삼의 항산화활성을 비롯한 항암활성, 학습기억력 개선, 혈압저하, 항당뇨, 항비만, 운동력 증강 및 항 아토피효과 등이 보고되었으며, 흑삼의 생리활성은 백삼이나 홍삼에 비해 비교적 강한 것으로 보였다. 이처럼 흑삼의 화학적 조성과 생리활성이 기존의 백삼이나 홍삼과는 차별성을 보이고 있으므로 금후 그 활성 제고가 기대된다. 따라서 흑삼은 증삼 온도와 시간, 그리고 증포 횟수 등의 성분변이 요인을 고려하여 보다 실용적이고 안전성 있는 제조법의 확립이 필요하다. 아울러 금후 흑삼의 임상적 적용 확대를 위해서는 in vitro/in vivo 실험의 확충과 이를 기초로 한 무작위 임상시험의 추진이 더욱 강조된다. 그러나 아직 흑삼에 대한 연구는 기존의 백삼이나 홍삼연구에 비해 매우 미흡하다. 그 제조방법에 있어 연구자에 의해 많은 차이를 보이고 있고, 흑삼의 화학적 분석결과에 있어서도 많은 변이를 보이고 있다. 일반적으로 물리적 방법인 증삼처리는 생물학적 변환방법인 효소적 처리방법에 비해 선택성이 약하다. 특히 증삼 온도와 시간, 그리고 증포 횟수에 따라 G-Rg3, -Rk1, -Rg5 등의 프로사포게닌의 생성량이 달라질 수 있다. 약효의 재현성 확보를 위해서는 함유성분의 표준화가 되어야 한다. 따라서 흑삼 제조공정의 표준화를 위한 최적화 제조방법의 확립이 시급한 실정이다. 약리 효능연구 분야에서는 지금까지의 흑삼 연구 결과들이 대부분 in vitro 실험계를 중심으로 수행된 결과로서 더욱 in vivo 연구의 확충이 요망된다. 현재 백삼과 홍삼은 건강기능식품으로 그 기능성을 인정받고 있으나 아직 흑삼은 기능성 원료로 인정을 받지 못하고 있다. 흑삼의 기능성 인정을 위한 목표 지향적이고, 체계적 전임상 및 임상연구의 추진이 시급한 실정이다. 또한 이와 병행하여 흑삼의 기능성 성분/표지성분의 설정을 위한 성분과 연계한 기능성평가 연구가 이루어져야 할 것이다.

인용문헌

- Ginseng Industry Act (2015), Ministry of Agriculture, Food and Rural Affairs, 1.
- Kitagawa, I., Taniyama, T., Shibuya, H., Noda, T. and Yoshikawa, M. (1987) Chemical studies on crude drug processing. V. on the constituents of ginseng radix rubra (2): Comparison of the constituents of white ginseng and red ginseng prepared from the same *Panax ginseng* root. *Yakugaku Zasshi* **107**: 495-505.
- Nam, K. Y. (2005) The comparative understanding between red ginseng and white ginsengs processed ginsengs. *J. Ginseng Res.* **29**: 1-18.
- Choi, J. E., Nam, K. Y., Li, X. G., Kim, B. Y., Cho, H. S. and Hwang, K. B. (2010) Changes of chemical compositions and ginsenoside contents of different root parts of ginsengs with processing method. *Korean J. Medicinal Crop. Sci.* **18**: 118-125.
- Nam, K. Y., Choi, J. E., Hong, S. C., Pyo, M. K. and Park, J. D. (2014) Recent progress in research on anticancer activities of ginsenoside-Rg3. *Kor. J. Pharmacogn.* **45**: 1-10.
- Jo, E. J., Kang, S. J. and Kim, A. J. (2009) Effects of steam- and dry processing temperatures on the benzo(a)pyrene content of black and red ginseng. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* **22**: 199-204.
- Han, S. T., Whang, W. K., Kim, I. H., Yang, B. W., Cho, S. H. and Ko, S. K. (2005) Analysis of ginsenosides of black ginseng. *Yakhak Hoeji* **49**: 490-494.
- Hong, H. D., Kim, Y. C., Rho, J. H., Kim, K. T. and Lee, Y. C. (2007) Changes on physiological properties of *Panax ginseng* C. A. Meyer during repeated steaming process. *J. Ginseng Res.* **31**: 221-229.
- Sun, B. S., Gu, L. J., Fang, Z. M., Wang, C. Y., Wang, Z., Lee, M. R., Li, Z., Li, J. J. and Sung, C. K. (2009) Simultaneous quantification of 19 ginsenosides in black ginseng developed from *Panax ginseng* by HPLC-ELSD. *J. Pharm. Biomed. Anal.* **50**: 15-22.
- Qi, L. W., Wang, C. Z. and Yuna, C. S. (2011) Isolation and analysis of ginseng: advances and challenges. *Nat. Prod. Rep.* **28**: 467-495.
- Dong, H., Bai, L. P., Wong, V. K., Zhou, H., Wang, J. R., Liu, Y., Jiang, Z. H. and Liu, L. (2011) The in vitro structure-related anti-cancer activity of ginsenosides and their derivatives. *Molecules* **16**: 10619-10630.
- Kim, W. Y., Kim, J. M., Han, S. B., Lee, S. K., Kim, N. D., Park, M. K., Kim, C. K. and Park, J. H. (2000) Steaming of ginseng at high temperature enhances biological activity. *Nat. Prod.* **63**: 1702-1704.
- Nam, K. Y., Choi, J. E. and Park, J. D. (2013) Transformation techniques for the large scale production of ginsenoside Rg3. *Korean J. Medicinal Crop. Sci.* **2195**: 401-414.
- Yoon, S. R., Lee G. D. and Kwon, J. H. (2010) Monitoring of roasting-induced changes in ginsenoside composition of ginseng (*Panax ginseng* C.A. Meyer). *Food Sci. Biotechnol.* **19**: 151-157.
- An, Y. E., Ahn, S. C., Yang, D. C., Park, S. J., Kim, B. Y. and Baik, M. Y. (2011) Chemical conversion of ginsenosides in puffed red ginseng. *LWT - Food Sci. Technol.* **44**: 370-374.
- Kim, M. H., Hong, H. D., Kim, Y. C., Rhee, Y. K., Kim, K. T. and Rho, J. H. (2010) Ginsenoside changes in red ginseng manufactured by acid impregnation treatment. *J. Ginseng Res.* **34**: 93-97.
- Lee, H. S., Lee, H. J., Yu, H. J., Ju do, W., Kim, Y., Kim, C. T., Kim, C. J., Cho, Y. J., Kim, N., Choi, S. Y. and Suh, H. J. A. (2011) Comparison between high hydrostatic pressure extraction and heat extraction of ginsenosides from ginseng (*Panax ginseng* CA Meyer). *J. Sci. Food Agric.* **91**: 1466-1473.
- Ban, Y. J., Yang, B. W., Baik, M. Y., Hahm, Y. T. and Kim, B. Y. (2010) Optimization of the manufacturing process for black ginseng. *J. Korean Soc. Appl. Biol. Chem.* **53**: 71-77.
- Jo, S. K., Kim, I. S., Yoon, K. S., Yoon, H. H. and Yoo, H. H. (2015). Preparation of ginsenosides Rg3, Rk1, and Rg5-selectively enriched ginsengs by a simple steaming process. *Eur. Food Res. Technol.* **240**: 251-256.
- Nam, K. Y., Lee, N. R., Moon, B. D., Song, G. Y., Shin, H. S. and Choi, J. E. (2012) Changes of ginsenosides and color from black ginsengs prepared by steaming-drying cycles. *Korean J. Medicinal Crop. Sci.* **20**: 2735.
- Maillard, L. C. (1912) Formation of melanoidins in a methodical way. *Compt. Rend.* **154**: 66.
- Sun, B. S., Pan You, F. U. and Sung, C. K. (2011) Repetitious steaming-induced chemical transformations and global quality of black ginseng derived from *Panax ginseng* by HPLC ESI-MS/MSn based chemical profiling approach. *Biotechnol. Bioprocess Eng.* **16**: 956-965.
- Yang, S. J., Woo, K. S., Yoo, J. S., Kang, T. S. and Noh, Y. H. (2006) Change of Korean ginseng components with high temperature and pressure treatment. *Korean J. Food Sci. Technol.* **38**: 521-525.
- Jin, Y., Kim, Y. J., Jeon, J. N., Wang, Chao., Min, J. W., Jung, S. Y. and Yang, D. C. (2012) Changes of ginsenosides and physiochemical properties in ginseng by new 9 repetitive steaming and drying process. *Korean J. Plant Res.* **25**: 473-481.
- Kim, D. W., Lee, Y. J., Min, J. W., Lee, B. S., In, H. G. and Yang, D. C. (2008) Conversion of brown materials, crude Lipids, crude proteins and aromatic compounds of changed ginseng by 9 repetitive steaming and drying process. *Korean J. Oriental Physiology & Pathology* **22**: 333-339.
- Wan, J. Y., Fan, Y., Yu, Q. T., Ge, Y. Z., Yan, C. P., Alolga, R. N., Li, P., Ma, Z. H. and Qi, L. W. (2015) Integrated evaluation of malonyl ginsenosides, amino acids and polysaccharides in fresh and processed ginseng. *J. Pharm. Biomed. Anal.* **107**: 89-97.

27. Kim, H. J., Lee, J. Y., You, B. R., Kim, H. R., Choi, J. E., Nam, K. Y., Moon, B. D. and Kim, M. R. (2011) Antioxidant activities of ethanol extracts from black ginseng prepared by steaming-drying cycles. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* **40**: 156-162.
28. Yoon, S. R., Lee, M. H., Park, J. H., Lee, I. S., Kwon, J. H. and Lee, G. D. (2005) Changes in physicochemical compounds with heating treatment of ginseng. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* **34**: 1572-1578.
29. Park, K. M., Jeong, T. C., Kim, Y. S., Shin, H. J., Nam, K. Y. and Park, J. D. (2000) Immunomodulatory effect of acidic polysaccharide fraction from Korean red ginseng (*Panax ginseng*). *Nat. Prod. Sci.* **6**: 31-35.
30. Kwak, Y. S., Shin, H. J., Song, Y. B., Kyung, J. S., Wee, J. J. and Park, J. D. (2005) Effect of oral administration of red ginseng acidic polysaccharide (RGAP) on the tumor growth inhibition. *J. Ginseng Res.* **29**: 176-181.
31. Wang, Q., Sun, L. H., Jia, W., Liu, X. M., Dang, H. X., Mai, W. L., Wang, N., Steinmetz, A., Wang, Y. Q. and Xu, C. J. (2010) Comparison of ginsenosides Rg1 and Rb1 for their effects on improving scopolamine-induced learning and memory impairment in mice. *Phytother. Res.* **24**: 1748-1754.
32. Baek, S. H., Lee, J. G., Park, S. Y., Bae, O. N., Kim, D. H. and Park, J. H. (2010) Pectic polysaccharides from *Panax ginseng* as the antirotavirus principals in ginseng. *Biomacromolecules.* **11**: 2044-2052.
33. Kang, K. S., Kim, H. Y., Pyo, J. S. and Yokozawa, T. (2006) Increase in the free radical scavenging activity of ginseng by heat-processing. *Biol. Pharm. Bull.* **29**: 750-754.
34. Kim, Y. C., Hong, H. D., Rho, J. H., Cho, C. W., Rhee, Y. K. and Yim, J. H. (2007) Changes of phenolic acid contents and radical scavenging activities of ginseng according to steaming times. *J. Ginseng Res.* **31**: 230-236.
35. Han, B. H., Park, M. H. and Han, Y. N. (1981) Studies on the antioxidant components of Korean ginseng (III) *Arch. Pharm. Res.* **4**: 53-58.
36. Li, X., Zheng, Y., Liu, M. and Zhang, L. (1999) Study on Maillard reaction and its products during processing of red ginseng. *China J. Chi. Mat. Med.* **24**: 274-278.
37. Yang, W. Z., Hu, Y., Wu, W. Y., Ye, M. and Guo, D. A. (2014) Saponins in the genus *Panax* L. (Araliaceae): A systematic review of their chemical diversity. *Phytochemistry* **106**: 7-24.
38. Kim, E. J., Jung, I. H., Van Le, T. K., Jeong, J. J., Kim, N. J. and Kim, D. H. (2013) Ginsenosides Rg5 and Rh3 protect scopolamine-induced memory deficits in mice. *J. Ethnopharmacol.* **146**: 294-299.
39. Xie, Y. Y., Luo, D., Cheng, Y. J., Ma, J. F., Wang, Y. M., Liang, Q. L. and Luo, G. A. (2012) Steaming-induced chemical transformations and holistic quality assessment of red ginseng derived from *Panax ginseng* by means of HPLC-ESI-MS/MS(n)-based multicomponent quantification fingerprint. *J. Agric. Food Chem.* **60**: 8213-8224.
40. Lee, S. A., Jo, H. K., Im, B. O., Kim, S. G., Whang, W. K. and Ko, S. K. (2012) Changes in the contents of prosapogenin in the red ginseng (*Panax ginseng*) depending on steaming batches. *J. Ginseng Res.* **36**: 102-106.
41. Jo, H. K., Sung, M. C. and Ko, S. K. (2011) The Comparison of ginseng prosapogenin composition and contents in red and black ginseng. *Kor. J. Pharmacogn.* **42**: 361-365.
42. Kim, S. J. and Kim, A. K. (2015) Anti-breast cancer activity of fine black ginseng (*Panax ginseng* Meyer) and ginsenoside Rg5. *J. Ginseng Res.* **39**: 125-134.
43. Giustarini, D., Dalle-Donne, I., Tsikas, D. and Rossi, R., (2009) Oxidative stress and human diseases: origin, link, measurement, mechanisms, and biomarkers. *Crit. Rev. Clin. Lab. Sci.* **46**: 241-281.
44. Shahidi, F. and Wanasundara, P. K. (1992) Phenolic antioxidants. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* **32**: 67-103.
45. Kang, K. S., Kim, H. Y., Baek, S. H., Yoo, H. H., Park, J. H. and Yokozawa, T. (2007) Study on the hydroxyl radical scavenging activity changes of ginseng and ginsenoside-Rb2 by heat processing. *Biol. Pharm. Bull.* **30**: 724-728.
46. Kang, K. S., Woo, J. H. and Kim, A. J. (2013) The effects of Korean ginseng on memory loss in a rat models. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* **42**: 1190-1196.
47. Tian, J., Fu, F., Geng, M., Jiang, Y., Yang, J., Jiang, W., Wang, C. and Liu, K. (2005) Neuroprotective effect of 20(S)-ginsenoside Rg3 on cerebral ischemia in rats. *Neurosci. Lett.* **374**: 92-97.
48. Lee, C. K., Park, K. K. and Chung, W. Y. (2012) Ginsenoside Rg3 enhances the chemosensitivity of tumors to cisplatin by reducing the basal level of nuclear factor erythroid 2-related factor 2-mediated heme oxygenase-1/NAD(P)H quinone oxidoreductase-1 and prevents normal tissue damage by scavenging cisplatin-induced intracellular reactive oxygen species. *Food and Chem. Toxicol.* **50**: 2565-2574.
49. Lim, J. H., Wen, T. C., Matsuda, S., Tanaka, J., Maeda, N., Peng, H., Aburaya, J., Ishihara, K. and Sakanaka, M. (1997) Protection of ischemic hippocampal neurons by ginsenoside Rb1, a main ingredient of ginseng root. *Neurosci. Res.* **28**: 191-200.
50. Qi, B., Zhang, L., Zhang, Z., Ouyang, J. and Huang, H. (2014) Effects of ginsenosides-Rb1 on exercise-induced oxidative stress in forced swimming mice. *Pharmacogn. Mag.* **10**: 458-463.
51. Nam, K. Y., Choi, J. E., Hong, S. C., Pyo, M. K. and Park, J. D. (2014) Recent progress in research on anticancer activities of ginsenoside-Rg3. *Kor. J. Pharmacogn.* **45**: 1-10.
52. Kim, E. K., Lee, J. H., Cho, S. H., Shen, G. N., Jin, L. G., Myung, C. S., Oh, H. J., Kim, D. H., Yun, J. D., Roh, S. S., Park, Y. J., Seo, Y. B. and Song, G. Y. (2008) Preparation of black *Panax ginseng* by new methods and its antitumor activity. *Kor. J. Herbology* **23**: 85-92.

53. Song, G. Y., Chung, K. J., Shin, Y. J., Lee, G. W., Lee, S. Y. and Seo, Y. B. (2011) Study on antiangiogenic effect of black ginseng radix. *Kor. J. Herbology* **26**: 83-90.
54. Cui, Y., Shu, X. O., Gao, Y. T., Cai, H., Tao, M. H. and Zheng, W. (2006) Association of ginseng use with survival and quality of life among breast cancer patients. *Am. J. Epidemiol.* **163**: 645-653.
55. Liang, L., He, T., Du, T., Fan, Y., Chen, D. and Wang, Y. (2015) Ginsenoside Rg5 induces apoptosis and DNA damage in human cervical cancer cells. *Mol. Med. Rep.* **11**: 940-946.
56. Kim, A. J., Kang, S. J., Lee, K. H., Lee, M. S., Ha, S. D., Cha, Y. S. and Kim, S. Y. (2010) The chemopreventive potential and antiinflammatory activities of Korean black ginseng in colon 26- M3.1 carcinoma cells and macrophages. *J. Kor. Soc. Appl. Biol. Chem.* **53**: 101-105.
57. Keum, Y., Han, S. and Chun, K. (2003) Inhibitory effects of the ginsenoside Rg3 on phorbol ester-induced cyclooxygenase-2 expression, NF- κ B activation and tumor promotion. *Mutat. Res.* **523**: 75-85.
58. Yang, H. S., Park, C. G. and Yoo, Y. C. (2007) Biological activities of the extract of black ginseng. *Food Indu. Nutr.* **12**: 1-4.
59. Wang, W., Zhao, Y., Rayburn, E. R., Hill, D. L., Wang, H. and Zhang, R. (2007) In vitro anti-cancer activity and structure-activity relationships of natural products isolated from fruits of *Panax ginseng* *Cancer Chemother. Pharmacol.* **59**: 589-601.
60. Man, S., Gao, W., Zhang, Y., Huang, L. and Liu, C. (2010) Chemical study and medical application of saponins as anti-cancer agents. *Fitoterapia* **81**: 703-714.
61. Nishijo, H., Uwano, T., Zhong Y. M. and Ono, T. (2004) Proof of the mysterious efficacy of ginseng: basic and clinical trials: effects of red ginseng on learning and memory deficits in an animal model of amnesia. *J. Pharmacol. Sci.* **95**: 145-152.
62. Zhong, Y. M., Nishijo, H., Uwano, T., Tamura, R., Kawashishi, K. and Ono, T. (2000) Red ginseng ameliorated place navigation deficits in young rats with hippocampal lesions and aged rats. *Physiol Behav.* **69**: 511-525.
63. Smith, I., Williamson, E. M., Putnam, S., Farrimond, J. and Whalley, B. J. (2014) Effects and mechanisms of ginseng and ginsenosides on cognition. *Nutr. Rev.* **72**: 319-333.
64. Lee, M. R., Yun, B. S., Liu, L., Zhang, D. L., Wang, Z., Wang, C. L., Gu, L. J., Wang, C. Y., Mo, E. K. and Sung, C. K. (2010) Effect of black ginseng on memory improvement in the amnesic mice induced by scopolamine. *J. Ginseng Res.* **34**: 51-58.
65. Bartus, R. T. (2000) On neurodegenerative diseases, models, and treatment strategies: lessons learned and lessons forgotten a generation following the cholinergic hypothesis. *Exp. Neurol.* **163**: 495-529.
66. Han, S. H. (2009) Novel pharmacotherapies for Alzheimer's disease. *J. Korean Med. Assoc.* **52**: 1059-1068.
67. Levey A. I. (1996) Muscarinic acetylcholine receptor expression in memory circuits: Implications for treatment of Alzheimer disease. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **93**: 13541-13546.
68. Lee, M. R., Yun, B. S., In, O. H. and Sung, C. K. (2011) Comparative study of Korean white, red, and black ginseng extract on cholinesterase inhibitory activity and cholinergic function. *J. Ginseng Res.* **35**: 421-428.
69. Park, H. J., Shim, H. S., Kim, K. S. and Shim, I. (2011) The protective effect of black ginseng against transient focal ischemia-induced neuronal damage in rats. *Korean J. Physiol. Pharmacol.* **15**: 333-338.
70. Bierer, L. M., Haroutunian, V., Gabriel, S., Knott, P. J., Carlin, L. S., Purohit, D. P., Perl, D. P., Schmeidler, J., Kanof, P. and Davis, K. L. (1995) Neurochemical correlates of dementia severity in Alzheimer's disease: relative importance of the cholinergic deficits. *Neurochemistry* **64**: 749-760.
71. Thorns, V., Hansen, L. and Masliah, E. (1998) nNOS expressing neurons in the entorhinal cortex and hippocampus are affected in patients with Alzheimer's disease. *Exp. Neurol.* **150**: 14-20.
72. Bao, H. Y., Zhang, J., Yeo, S. J., Myung, C. S., Kim, H. M., Kim, J. M., Park, J. H., Cho, J. and Kang, J. S. (2005) Memory enhancing and neuroprotective effects of selected ginsenosides. *Arch. Pharm. Res.* **28**: 335-342.
73. Chu, S., Gu, J., Feng, L., Liu, J., Zhang, M., Jia, X., Liu, M. and Yao, D. (2014) Ginsenoside Rg5 improves cognitive dysfunction and beta-amyloid deposition in STZ-induced memory impaired rats via attenuating neuroinflammatory responses. *Int. Immunopharmacol.* **19**: 317-326.
74. Lee, B., Sur, B., Park, J., Kim, S. H., Kwon, S., Yeom, M., Shim, I., Lee, H. and Hahm, D. H. (2013) Ginsenoside Rg3 alleviates lipopolysaccharide-induced learning and memory impairments by anti-inflammatory activity in rats. *Biomol. Ther. (Seoul)* **21**: 381-390.
75. He, B., Chen, P., Yang, J., Yun, Y., Zhang, X., Yang, R. and Shen, Z. (2012) Neuroprotective effect of 20(R)-ginsenoside Rg(3) against transient focal cerebral ischemia in rats. *Neurosci. Lett.* **526**: 106-111.
76. Yuan, H. D., Kim, J. T., Kim, S. H. and Chung, S. H. (2012) Ginseng and Diabetes: The Evidences from In Vitro, Animal and Human Studies. *J. Ginseng Res.* **36**: 27-39.
77. Vuksan, V., Sung, M. K., Sievenpiper, J. L., Stavro, P. M., Jenkins, A. L., Di Buono, M., Lee, K. S., Leiter, L. A., Nam, K. Y. and Arnason, J. T. (2008) Korean red ginseng (*Panax ginseng*) improves glucose and insulin regulation in well-controlled, type 2 diabetes: results of a randomized, double-blind, placebo-controlled study of efficacy and safety. *Nutr. Metab. Cardiovasc. Dis.* **18**: 46-56.
78. De Souza, L. R., Jenkins, A. L., Sievenpiper, J. L., Jovanovski, E., Rahelić, D. and Vuksan, V. (2011) Korean red ginseng (*Panax ginseng* C.A. Meyer) root fractions: dif-

- ferential effects on postprandial glycemia in healthy individuals. *J. Ethnopharmacol.* **137**: 245-250.
79. Kim, S. N. and Kang, S. J. (2009) Effects of black ginseng (9 times-steaming ginseng) on hypoglycemic action and changes in the composition of ginsenosides on the steaming process. *Korean J. Food Sci. Technol.* **41**: 77-81.
 80. Yang, H. S., Park, C. G. and Yoo, Y. C. (2007) Biological activities of the extract of black ginseng. *Food Ind. Nutr.* **12**: 1-4.
 81. Kang, S. J. and Kim, A. J. (2011) Anti-diabetic effect of black ginseng in C57BLKS/J-db/db mice. *Korean J. Food Nutr.* **24**: 770-776.
 82. Kim, A. J., Yoo, H. S. and Kang, S. J. (2012) Ameliorative effect of black ginseng on diabetic complications in C57BLKS/J-db/db Mice. *Korean J. Food Nutr.* **25**: 99-104.
 83. Francis, G., Kerem, Z., Makkar, H. P. and Becker, K. (2002) The biological action of saponins in animal systems: a review. *Br. J. Nutr.* **88**: 587-605.
 84. Lee, H., Park, D. and Yoon, M. (2013) Korean red ginseng (*Panax ginseng*) prevents obesity by inhibiting angiogenesis in high fat diet-induced obese C57BL/6J mice. *Food Chem. Toxicol.* **53**: 402-408.
 85. Song, K. Y., Oh, H. J., Rho, S. S., Seo, Y. B., Park, Y. J. and Myung, C. S. (2006) Effect of black ginseng on body weight and lipid profiles in male rat fed normal diets. *Yakhak Hoeji* **50**: 381-385.
 86. Song, N. K., Choi, H. J., Kim, D. Hee, Roh, S. S. and Seo, Y. B. (2009) Effects of black ginseng on hypertension-induced rats. *Kor. J. Herbology* **24**: 69-75.
 87. Spiegelman, B. M. and Flier, J. S. (2001) Obesity and the regulation of energy balance. *Cell* **104**: 531-543.
 88. Lee, M. R., Kim, B. C., Kim, R., Oh, H. I., Kim, H. K., Choi, K. J. and Sung, C. K. (2013) Anti-obesity effects of black ginseng extract in high fat diet-fed mice. *J. Ginseng Res.* **37**: 308-314.
 89. Gillis, C. N. (1997) *Panax ginseng* pharmacology: A nitric oxide link? *Biochem. Pharmacol.* **54**: 1-8.
 90. Jeon, B. H., Kim, C. S., Kim, H. S., Park, J. B., Nam, K. Y. and Chang, S. J. (2000) Effect of Korean red ginseng on blood pressure and nitric oxide production. *Acta Pharmacol. Sin.* **21**: 1095-1100.
 91. Han, K. H., Choe, S. C., Kim, K. D., Sohn, D. W., Nam, K. Y., Oh, B. H., Lee, M. M., Park, Y. B., Choi, Y. S., Seo, J. D. and Lee, Y. W. (1998) Effect of red ginseng on blood pressure in patients with essential hypertension and white coat hypertension. *Am. J. Chin. Med.* **26**: 199-209.
 92. Cho, Y. L., Hur, S. M., Kim, J. Y., Kim, J. H., Lee, D. K., Choe, J., Won, M. H., Ha, K. S., Jeoung, D., Han, S., Ryoo, S., Lee, H., Min, J. K., Kwon, Y. G., Kim, D. H. and Kim, Y. M. (2015) Specific activation of insulin-like growth factor-1 receptor by ginsenoside Rg5 promotes angiogenesis and vasorelaxation. *J. Biol. Chem.* **290**: 467-477.
 93. Punnonen, R. and Lukola, A. (1984) The effect of ginseng on serum total cholesterol, HDL-cholesterol and triglyceride levels in postmenopausal women. *Asia-Oceania Gynaecol.* **10**: 399-401.
 94. Sung, J., Han, K. H., Zo, J. H., Park, H. J., Kim, C. H. and Oh, B. H. (2000) Effects of red ginseng upon vascular endothelial function in patients with essential hypertension. *Am. J. Chin. Med.* **28**: 205-16.
 95. Lee, D. H., Cho, H. J., Kim, H. H., Rhee, M. H., Ryu, J. H. and Park, H. J. (2013) Inhibitory effects of total saponin from Korean red ginseng via vasodilator-stimulated phosphoprotein-Ser(157) phosphorylation on thrombin-induced platelet aggregation. *J. Ginseng Res.* **37**: 176-186.
 96. Zhou, W., Chai, H., Lin, P.H., Lumsden, A. B., Yao, Q. and Chen, C. (2004) Molecular mechanisms and clinical applications of ginseng root for cardiovascular disease. *Med. Sci. Monit.* **10**: RA187-192.
 97. Kim, N. D. (2008) Ginsenosides-mediated vascular relaxation and its molecular mechanism. *J. Ginseng Res.* **32**: 89-98.
 98. Bucci, L. R. (2000) Selected herbals and human exercise performance. *Am. J. Clin. Nutr.* **72**: 624S-636S.
 99. Bandyopadhyay, A.I., Ping, F. W. and Keong, C. C. (2011) Effects of acute supplementation of caffeine and *Panax ginseng* on endurance running performance in a hot and humid environment. *J. Hum. Ergol. (Tokyo)* **40**: 63-72.
 100. Jo, G. S., Cha, H. Y., Ji, H. J., Kang, M. H., Kang, S. J., Ji, J. G., Kim, D. J. and Lee, B. J. (2010) Enhancement of exercise capacity by black ginseng extract in rats. *Lab. Anim. Res.* **26**: 279-286.
 101. Sun, M., Huang, C., Wang, C., Zheng, J., Zhang, P., Xu, Y., Chen, H. and Shen, W. (2013) Ginsenoside Rg3 improves cardiac mitochondrial population quality: mimetic exercise training. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **441**: 169-174.
 102. Friedmann, P. S. (2006) The role of dust mite antigen sensitization and atopic dermatitis. *Clin. Exp. Allergy* **29**: 869-872.
 103. Lee, J. S., Kim, I. S., Ryu, J. S. and Yun, C. Y. (2008) House dust mite, *Dermatophagoides pteronissimus* increase expression of MCP-1, IL-6 and IL-8 in human monocytic THP-1 cells. *Cytokine* **42**: 365-371.
 104. Shimizu, Y., Shichijo, M., Hiramatsu, K., Takeuchi, M., Nagai, H. and Takagi, K. (1998) Mite antigen-induced IL-4 and IL-13 production by basophils derived from atopic asthma patients. *Clin. Exper. Allergy* **28**: 497-503.
 105. Shin, Y. J., Jang, H. H. and Song, G. Y. (2012) Study on anti-atopic effects of black ginseng. *Kor. J. Aesthet. Cosmetol.* **10**: 91-97.
 106. Bae, E.A., Joo, H.M., Shin, Y. W. and Kim, D. H. (2006) Inhibitory effects of korean red ginseng and its genuine constituents ginsenosides Rg3, Rf, and Rh2 in mouse passive cutaneous anaphylaxis reaction and contact dermatitis

- models. *Biol. Pharm. Bull.* **29**: 1862-1867.
107. Trinh, H. T., Shin, Y. W., Han, S. J., Han, M. J. and Kim, D. H. (2008) Evaluation of antipruritic effects of red ginseng and its ingredients in mice. *Planta Med.* **74**: 210-214.
108. Chani, P. C. and Fu, P. P. (2007) Toxicity of *Panax ginseng* -An herbal medicine and dietary supplement. *J. Food Drug Anal.* **15**: 416-427.
109. Jin, Y., Kim, Y. J., Jeon, J. N., Wang, C., Min, J. W., Noh, H. Y. and Yang, D. C. (2015) Effect of white, red and black ginseng on physicochemical properties and ginsenosides. *Plant Foods Hum. Nutr.* **70**: 141-145.
110. Lee, J. H., Shen, G. N., Kim, E. K., Shin, J. H., Myung, C. S., Oh, H. J. Kim, D. H., Roh, S. S., Cho, W., Seo, Y. B., Park, Y. J., Kang, C. W. and Song, G. Y. (2006) Preparation of black ginseng and its antitumor activity. *Kor. J. Orient. Physiol. Pathol.* **20**: 951-956.
111. Sun, B. S., Gu, L. J., Fang, Z., M, Wang, C. Y., Wang, Z. and Sung, C. K. (2009) Determination of 11 ginsenosides in black ginseng developed from *Panax ginseng* by high performance liquid chromatography. *Food Sci. Biotechnol.* **18**: 561-564.
112. Lee, M. R., Yun, D. S., Sun, B. S., Liu, L., Zhang, D. L., Wang, C. Y., Wang, Z., Ly, S. Y., Mo, E. K. and S, C. K. (2009) Change of ginsenoside Rg3 and acetylcholinesterase inhibition of black ginseng manufactured by grape juice soaking. *J. Ginseng Res.* **33**: 349-354.
113. Yun, B. S., Lee, M. R., Oh, C. J., Cho, J. H., Wang, C. Y., Gu, L. J., Mo, E. K. and Sung, C. K. (2010) Characterization of black ginseng extract with acetyl- and butyrylcholine esterase inhibitory and antioxidant activities. *J. Ginseng Res.* **34**: 348-354.

(2015. 7. 22 접수; 2015. 8. 14 심사; 2015. 8. 31 게재확정)