

## 추출 용매에 따른 오갈피속 근피의 생리활성 기능 탐색 및 비교

김승경\*·김영길·이미경·한종수\*·이진하·이현용

### Comparison of biological activity according to extracting solvents of four *Acanthopanax* root bark

Sung Kyoung Kim\*, Young Gil Kim, Mi Kyoung Lee, Jong Soo Han\*  
Jin Ha Lee and Hyeon Yong Lee

**ABSTRACT** : The biological activities of water, ethanol and 50% ethanol extracts from *Acanthopanax* root bark were compared. 94% of Hep3B cell growth was inhibited by adding 1.0g/L of 50% ethanol extracts from *A. senticosus* root bark. It was also showed that above 90% of A549 cell growth was inhibited by adding 1.0g/L of 50% ethanol extracts.

The 50% ethanol extracts of *A. sessiliflorum* root bark showed that the extracts selectivity were from 1.5 to 3.4 by adding all samples. For screening immunomodulating activities, Jurkat (T-cell) was showed that the cell growth and viability were more increased and activated 275% by adding the 50% ethanol extracts from *A. senticosus* root bark. The result of anti-mutagenicity of 50% ethanol extracts of *A. senticosus* root bark was most effective than any other samples. The enhancement of glutathione-S-transferase activity was increased 241% by adding 1.0g/L 1 : 1 extracts of *A. senticosus* root bark. 72% of oxidation was inhibited by adding 1.0g/L of 50% ethanol extracts from *A. senticosus* root bark.

**Key words** : *Acanthopanax* sp. , extracts solvents, biological activity

## 서 언

오갈피 나무속(*Eleutherococcus Maxim*, kim & Sun)은 두릅나무과(*Araliaceae*)에 속하는 낙엽관목으로 오가피라고도 불린다. 한국에서 자생하는 오갈피 속은 8속 14종 5변종이 있는 것으로 보고되고 있다(Lee, 1979; Yook, 1976). 이 오갈피는 고전에 따르면 발산, 구풍작용 등의 대사 촉진제로

이용되어져 왔고, 음위, 강장, 강정, 진경, 근골동통, 산기복통, 요슬동통 등에 유효한 약물로 알려져 있다(韓 등, 1961). 현재에는 근피나 수피를 전제나 주제로 만들어 신경통, 중풍, 고혈압, 당뇨병 및 류마티스 등의 치료에 이용하고 있다.

한국산 오갈피류의 효능에 대해서는 간 해독 작용, 동물의 생명연장, 대사촉진(韓 등, 1977), 단백질 합성촉진(盧 등, 1977) 등이 보고되었다. 특히 한 등은 지리오갈피 나무에서 얻은 배당체에 관

\* 강원도 농업기술원 북부 농업 시험장 (Northern Agriculture Research Station, Kangwon-do ARES)

\*\* 강원대학교 식품생명공학부 식품공학전공 전화 (Division of Food and Biotechnology, Kangwon National Uni., Chunchon 200-701, Korea) (0361) 250-6455, FAX (0361) 256-4819, E-mail Hyeonl@cc.kangwon.ac.kr <99. 12. 6 접수>

한 실험에서 항 histamine 작용, 항당뇨 작용, 해독 작용 등의 생리활성을 보고하였다.

이 같이 현재는 국내에서 한방 처방 약으로 오갈피가 빈도 높게 이용되고 있고 각종의 오갈피 속들에 대해 많은 연구가 이루어져왔다(Lee 등, 1966). 그러나 이들 각각이 가지고 있는 유용 생리활성들에 대해 전반적인 정량적 비교 분석이 이루어져 있지 않으며, 특히 국내산과 중국산의 생리활성에 대한 비교분석도 전혀 이루어져 있지 않다.

따라서 본 논문은 가시오갈피, 지리오갈피, 오갈피, 중국산 가시오갈피의 생리활성 기능이 가장 높은 것으로 보고되고 있는 근피들을 식용으로 사용 가능한 용매들을 이용하여 추출 용매를 다르게 하여 추출 용매에 따른 각 추출물들의 생리활성을 체계적으로 탐색하고 각각의 생리활성의 차이를 비교하여 생리활성 효과가 우수한 종류를 선별함과 동시에 신소득 작목으로 개발 가능성이 높은 가시오갈피의 기능성 식품 가치를 홍보함으로써 가시오갈피 재배 농가의 소득향상과 국민 건강 증진에 기여함을 목적으로 한다. 또한 이 같은 생리활성 효과가 보고되어 있는 오갈피 류에 대한 보다 명확한 작용 기작을 알기 위해 이들 추출물들의 면역세포 생육 촉진 효과를 비교했다. 면역 반응 조절에 대해서는 감염에 대한 보호 작용, 자기 면역 질환, 그리고 암 등 여러 가지 질환에 있어서 면역 반응을 조절하려는 시도로 많은 면역 조절제 또는 생물학적 반응 조절제가 연구되고 있다. 생물학적 반응 조절제로서 천연 물질은 생체에 투여 시 부작용이 거의 없고 세포의 기능을 변화시키거나 조절하는데 큰 효과를 나타내는 새로운 물질원이 된다는 점에서 높이 평가되고 있다(Kupin, 1992).

항산화 작용은 암, 면역기능 저하, 혈관계 질환, 노화의 발생이나 진행의 주요 촉진 인자로 생체 내에 존재하는 free radical의 관련과 이에 중재되어지는 작용 기작이 오래 전부터 알려져 왔으며, 항산화제는 체내의 free radical을 소거함으로써 이와 관련된 질병 예방에 이용될 수 있는 것으로 사료되고 있다. 따라서 항산화 활성의 측정은 암이나 노화의 진행을 억제할 수 있는 천연물질의 규명에 이용될 수 있다(Frei, 1994).

## 재료 및 방법

### 시료의 조제

오갈피 속의 뿌리는 채취한 뒤 깨끗이 세척, 음건 후 박피하여 근피를 얻었다. 수직으로 환류 냉각기를 부착시킨 flask에 시료 중량에 대해 10배의 증류수, ethanol 및 50% ethanol 용액(증류수 : ethanol, 1 : 1 v/v)으로 12시간 동안 2회 열탕 추출하였다. 얻어진 각각의 추출물들을 뜨거운 상태에서 감압 여과한 후 농축, 동결건조하고 분말화하여 실험에 사용하였다.

### 암세포 생육 억제 및 세포 독성 실험

본 실험에 사용된 균주는 인간 유래의 간암 세포(Hep3B), 폐암 세포(A549), 유방암 세포(MCF7)이며, 정상 세포는 간세포(WRL68)를 사용하였다. 실험에 사용된 기본 배지는 DMEM과 RPMI 1640(GIBCO, USA)이며 FBS(GIBCO, USA) 10% (v/v)를 첨가해 35°C, 5% CO<sub>2</sub>의 incubator에서 배양하였다. 실험에 사용된 초기 세포 수는 2×10<sup>4</sup> cells/ml로 조절하여 96 well tissue culture microplate에 100 μl/well씩 접종하여 사용하였다. 세포 생육도 측정은 SRB(sulforhodamine B) 방법(Kata 등 1986; Kun, 1992)을 이용하였으며 세포의 성장률은 각 plate의 대조군과 비교하여 측정하였고, 세포 독성은 MTT 방법을 이용하였다(Lee 등, 1996).

### 돌연변이 유발 억제 효과 실험

실험에 사용된 균주는 *Bacillus subtilis* PB 1652 rec<sup>+</sup>와 PB 1791 rec<sup>-</sup>이며 동결건조된 이 균주를 clean bench에서 메스를 이용하여 nutrient agar를 고화시킨 petri-dish에 접종시킨 후 24-48시간 배양하였다. 배양이 완료되면 멸균된 TSB 액체 배지에 1 백균이를 취하여 37°C에서 24시간 배양하여 실험에 사용하였다(Franca, 1995).

### 면역 활성 증진 실험

실험에 사용된 균주는 인간 면역 세포인 T cell (Jurkat, TL-6)로서 생육 촉진 정도를 측정하였

다. 우선 활성화된 T cell의 농도를  $2 \times 10^4$  cells/ml의 농도로 조절한 후에 20% FBS를 함유하는 RPMI 1640 배지에서 배양하고 MTT 방법을 이용하여 T cell의 생육을 시료를 투여하지 않은 대조구와 비교하여 측정하였다(Lee 등, 1996).

### 간기능 및 항산화 활성 실험

GST의 활성 측정은 먼저 LOWRY법을 이용하여 시료의 단백질 함량을 측정한다. 그리고 각 추출물을 test tube에 농도별로 첨가한 후 37℃에서 5분 동안 반응시킨 후 1-chloro-2,4-dinitrobenzene을 첨가하여 다시 37℃에서 2분 동안 반응시키고 20% TCA를 가하여 반응을 종결한다. 원심분리하여 상등액을 340 nm에서 흡광도를 측정하고 시료를 투여하지 않은 대조구와 비교하여 단백질 함량에 따른 specific activity와 활성율을 계산하였다(William 등; Benson, 1979; Kim 등, 1994).

항산화 활성은  $4.5 \times 10^{-3}M$  Linolenic acid 5 ml를 50℃에서 산화반응을 실시한다. 여기에 각 시료를 농도별로 첨가하고 4시간마다 1 ml를 채취하여 TCA와 TBA를 첨가한다. 그리고 비등수욕 상에서 15분 동안 가열하고 빙냉한 후 빙초산 1 ml, chloroform 2 ml를 가하여 원심분리(2500, 10분)

하여 상등액을 532 nm에서 흡광도를 측정한다. 시료를 투여하지 않은 대조구와 비교하여 항산화 활성을 측정한다(Koji 등, 1997).

### 통계처리

실험을 통해 얻어진 모든 결과의 유의성은 SAS (Statistical Analysis System) program을 이용하여 실험군당 평균 (Mean) ± 표준편차 (SEM) 로 표시하였고, 각 군의 평균차의 통계적 유의성을  $p < 0.05$  수준에서 Duncan's multiple range test에 의해 검정하였다.

## 결과 및 고찰

본 실험에 사용된 각 시료 추출물의 농도는 0.2, 0.4, 0.6, 0.8, 1.0 g/L로 조절하여 사용하였다. 각 암 세포에 대한 실험결과 간암 세포의 경우는 가시오갈피 근피를 50% ethanol 용매를 이용한 추출물(1.0 g/L)이 94%의 가장 높은 생육 억제 활성을 나타내었다. 또한 모든 오갈피 속의 50% ethanol 용액 추출물(1.0 g/L)에서 80%이상의 높은 생육 억제 활성을 나타내었다(Fig. 1.1, 1.2, 1.3). Fig. 2는 폐암 세포에 대한 생육 억제 활성을 검색

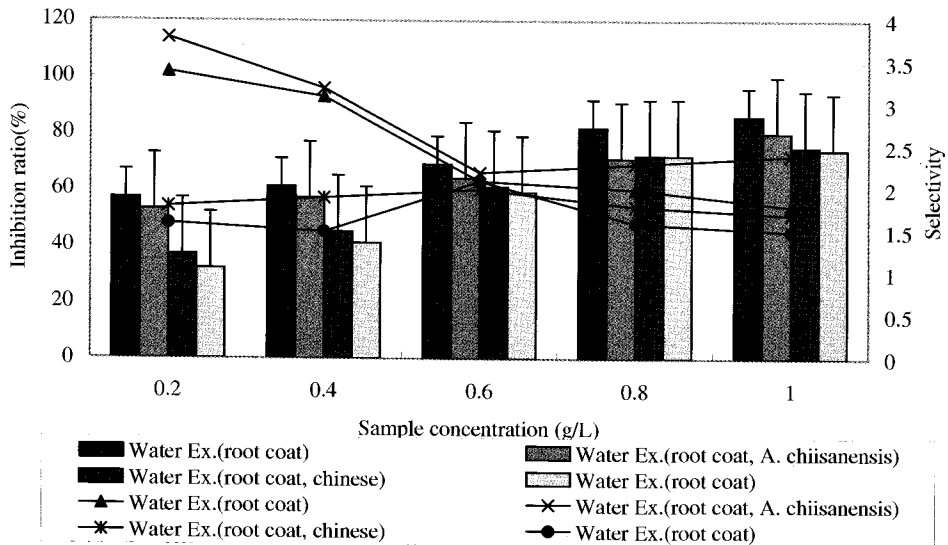


Fig. 1. Inhibition ratio of the growth of Hep 3B (bar chart, Z&) and selectivity (line) in adding water extracts from *Acanthopanax* sp.

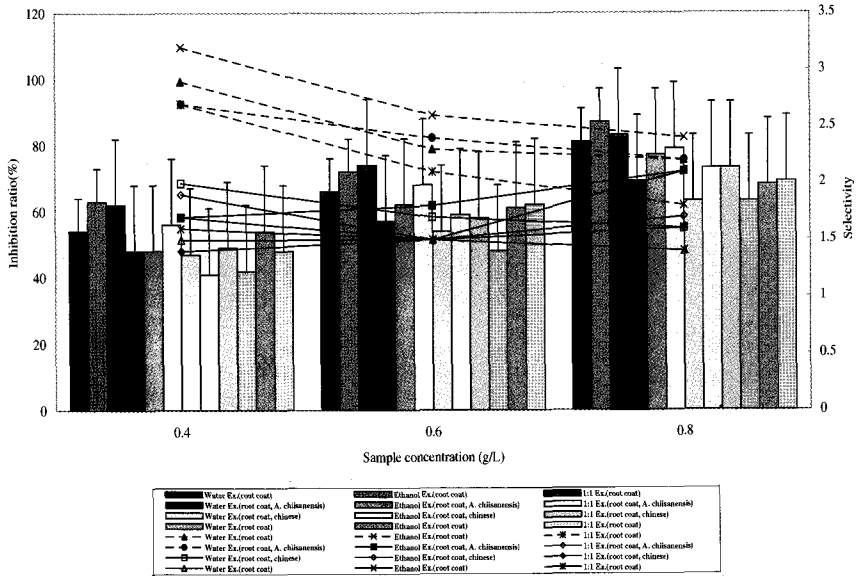


Fig. 2. Inhibition ratio of the growth of A549 (bar chart, %) and selectivity (line) in adding water, ethanol 50% ethanol extracts from *Acanthopanax* sp.

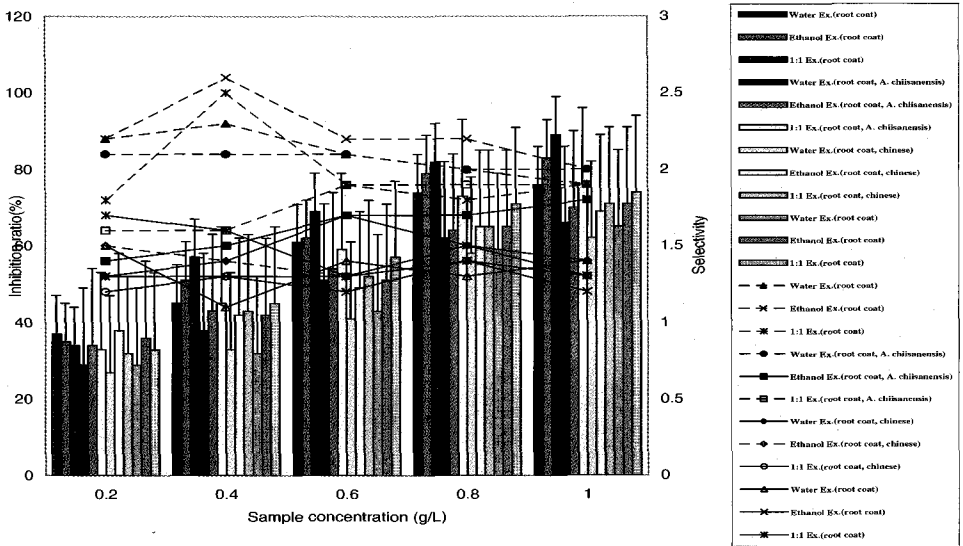


Fig. 3. Inhibition ratio of the growth of MCF7 (bar chart, %) and selectivity (line) in adding water, ethanol 50% ethanol extracts from *Acanthopanax* sp.

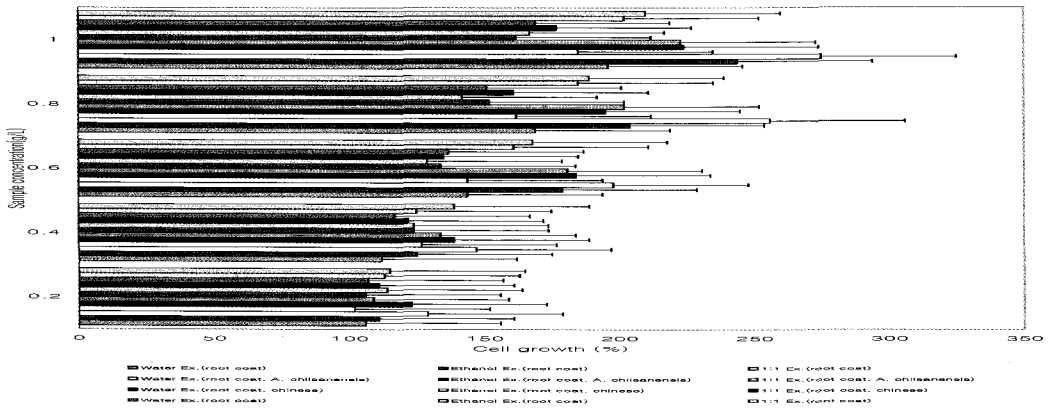


Fig. 4. The effect of the water, ethanol and 50% ethanol extracts from the *Acanthopanax* sp on the growth of urkat (Human CD4<sup>+</sup>T cell).

한 결과로 가시오갈피 근피의 50% ethanol 용액 추출물 (1.0 g/L)에서 91%의 최고 수치를 나타내었고, 지리오갈피 근피 또한 50% ethanol 용액 추출물 (1.0 g/L)에서 86%의 높은 생육 억제 활성을 나타내었다. 유방암 세포에 대한 생육 억제 활성의 검토 결과인 Fig. 3에서는 역시 가시오갈피 근피의 50% ethanol 용액 추출물 (1.0 g/L)에서 가장 높은 89%의 생육 억제 활성을 보였고 다른 오갈피 류에서는 70% 내외의 생육 억제 활성을 나타내었다. 전체적으로 검색된 모든 암세포에서 가시오갈피 근피 추출물이 다른 오갈피 근피 보다 우세한 암세포 생육 억제 활성을 나타내었으며 용매별로는 50% ethanol 용매에서 가장 좋은 활성을 나타내었고 에탄올, 증류수의 순으로 억제 활성이 나타났다. 그리고 각 암 세포에서의 정상 간세포에 대한 selectivity는 간암 세포의 경우 가시오갈피 근피가 1.8-3.4, 폐암 세포에서는 가시오갈피 근피가 1.8-3.2로 그리고 유방암 세포에서는 1.8-2.5로 나타났다. 오갈피류 근피의 돌연변이 유발 억제 효과 검색을 위해 먼저, paper disk에 추출물을 100  $\mu$ l 씩 점종하여 예비 실험을 하였는데 모든 시료에서 돌연변이원성은 나타나지 않았다. 또한 Table 1에서 보듯이 가시오갈피 근피의 모든 추출물에서 돌연변이 유발 억제 효과를 나타내었다. 특히 가시오갈피 근피가 50% ethanol 용매 추출물 (g/L)에서

가장 높은 돌연변이 유발 억제 효과를 나타내었으며 용매별로는 50% ethanol 용매 추출물이 가장 높은 돌연변이 유발 억제 효과를 나타내었고 에탄올, 증류수 추출물의 순으로 돌연변이 유발 억제 효과가 나타났다. 이러한 항돌연변이원성은 단일 성분에 의한 것이 아니라 여러 성분의 복합적인 작용의 결과로 보이며 가시오갈피 근피 추출물이 강력한 돌연변이원성 물질인 MNNG의 DNA나 RNA와의 결합을 어느 정도 억제하는 것으로 추측된다. 이와 같은 결과는 앞서 살펴본 항암 효과와 관련해 가시오갈피 근피의 암세포 생육 억제 활성을 예측할 수 있다.

이와 같은 항암 및 항돌연변이원성을 토대로 오갈피류 근피들이 가지고 있을 것으로 기대되는 생물학적 면역 반응 조절능을 확인하기 위해 인간 면역 세포인 T 세포 (Jurkat)에 각각의 추출물들을 농도별로 첨가했을 때의 세포수를 대조군과 비교하여 측정하였다. 그 결과, 전체적으로 시료의 농도가 증가할수록 T 세포의 생육도는 증가하는 것으로 나타났다. 특히 가시오갈피 근피의 50% ethanol 용액 추출물의 가장 높은 농도인 1.0 g/L에서 275%의 가장 높은 면역 증진능을 보였고 추출 용매별로는 50% ethanol 용액 추출물, 에탄올 추출물, 증류수 추출물의 순으로 활성을 나타내었으며 전체적으로 가시오갈피 근피 추출물이 활성이 가장 높고 지리오갈피 근피의 순으로 나타났다. 오갈피 근피와 중국산 가시오갈피 근피는 유사한 활

Table 1. Antimutagenicity test of *Bacillus* rec-assay in adding the water, ethanol and 50% ethanol extracts from the *Acanthopanax* sp. root bark

Sample	Inhibition half diameter (cm)		Difference zone (cm)	Difference ratio (Sample/MNNG)	
	rec <sup>+</sup>	rec <sup>-</sup>			
<i>A. senticosus</i>	Water	1.2±0.05	2.5±0.12	1.4±0.04	0.78
	Ethanol	0.0±0.04	2.2±0.1	1.3±0.05	0.72
	50% ethanol	0.9±0.04	2.1±0.1	1.2±0.06	0.67
<i>A. chiisanensis</i>	Water	1.3±0.06	2.7±0.12	1.4±0.05	0.78
	Ethanol	1.3±0.05	2.6±0.1	1.3±0.05	0.72
	50% ethanol	1.2±0.05	2.6±0.12	1.4±0.06	0.78
<i>A. senticosus</i> (chinese)	Water	1.4±0.06	2.7±0.1	1.3±0.05	0.72
	Ethanol	1.3±0.05	2.7±0.13	1.4±0.05	0.78
	50% ethanol	1.5±0.05	2.8±0.1	1.3±0.05	0.72
<i>A. sessiliflorus</i>	Water	1.3±0.05	2.8±0.12	1.5±0.07	0.83
	Ethanol	1.5±0.07	2.9±0.12	1.4±0.05	0.78
	50% ethanol	1.3±0.06	2.6±0.1	1.3±0.06	0.72
MNNG		1.1±0.05	2.9±0.13	1.8±0.07	1.0

성을 나타내었다. 각 오갈피 속의 간기능 보호능은 간장의 고유 기능인 해독 작용에 대해 시료가 가지는 활성을 측정하는 것으로 가시오갈피 근피의 세 가지 추출물 모두에서 190% 내외의 높은 활성을 나타내었고 특히, 가시오갈피 근피의 1.0 g/L, 50% ethanol 용액 추출물에서 241%의 가장 높은 활성을 나타내었다. 그리고 가시오갈피 잎, 지리오

갈피 근피의 순으로 180% 내외의 높은 활성을 나타내었다 (Fig. 5). 추출 용매별로는 50% ethanol, 에탄올, 증류수의 순으로 활성이 나타났다.

각 오갈피 속의 항산화 활성 검색 결과, 가시오갈피 근피 50% ethanol 용액 추출물이 1.0 g/L의 농도에서 72%의 가장 높은 항산화 활성을 나타내었다 (Table 2). 항산화 활성은 가시오갈피 근피,

Table 2. The result of antioxidation activities of water, ethanol and 50% ethanol extracts from the *Acanthopanax* sp. root bark

solvent (g/L) sample	Water					Ethanol					1:1				
	0.2	0.4	0.6	0.8	1.0	0.2	0.4	0.6	0.8	1.0	0.2	0.4	0.6	0.8	1.0
<i>A. senticosus</i>	30*±1	34±1	46±2	57±2	62±2	34±1.5	43±1	51±2	59±2	68±3	37±1	47±2	54±2	65±2	72±2.5
<i>A. chiisanensis</i>	28±1	34±1.5	42±2	48±2	56±1	32±1.5	48±2	56±2	58±2	61±2	34±1.5	40±2	46±1.5	58±2	67±3
<i>A. senticosus</i> chinese	19±0.5	29±1	34±1	44±1	50±2	23±1	33±1	41±2	48±1	54±2	31±1	39±1	45±2	52±1.5	62±2
<i>A. sessiliflorus</i>	24±1	31±1	39±1.5	49±1	52±2	27±1	40±1.5	49±2	52±2	59±2	30±1	37±1.5	48±2	57±1.5	63±3

\* : Inhibition compared to the control.

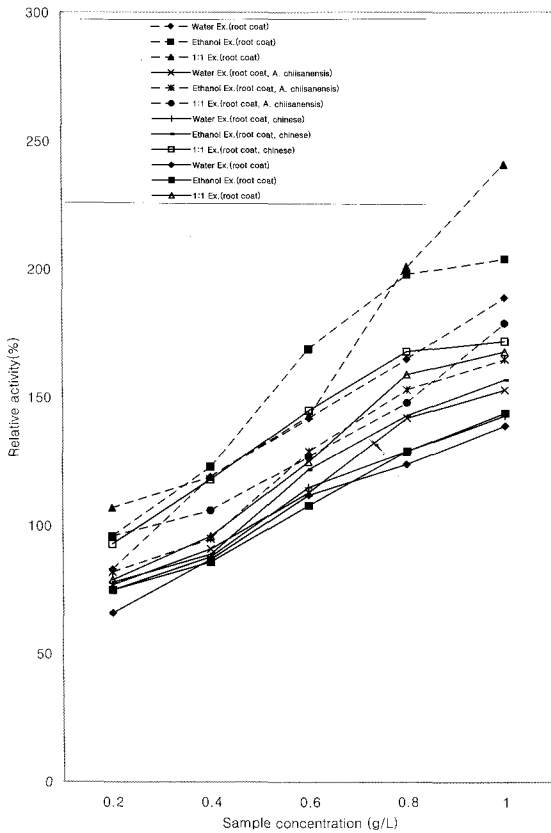


Fig. 5. Relative activities of glutathione-S-transferase in adding water, ethanol and 50% ethanol extracts from *Acanthopanax* sp.

지리오갈피 근피의 순으로 나타났다. 추출용매에 따른 항산화활성은 전체적으로 50% ethanol 용액 추출물이 가장 높은 활성을 나타내었고 에탄올과 증류수 추출물의 순으로 활성을 나타내었다.

### 적 요

오갈피류 근피를 증류수, 에탄올, 50% ethanol 용액 (증류수 : 에탄올, 1 : 1 v/v) 로 추출하여 생리활성을 검색하였다. 암세포 생육 억제 효과는 검색된 모든 암세포 (Hep3B, A549, MCF7) 에서 높은

억제 활성을 나타내었고, 특히 간암 세포에 대해서는 가시오갈피 근피의 50% ethanol 용액 추출물 (1.0 g/L) 이 94%의 가장 높은 억제 활성을 나타내었다. 돌연변이 유발 억제 실험에서는 가시오갈피 근피의 50% ethanol 용액 추출물에서 가장 높은 억제 효과를 나타내었으며 면역증진 실험에서도 가시오갈피 근피가 가장 높은 효과를 나타내었다. 가시오갈피 근피는 또한 수행된 간기능 보호능과 항산화 실험에서도 가장 높은 효과를 나타내었다. 따라서 모든 활성 실험에서 50% ethanol 용액 추출물이 에탄올과 증류수 추출물에 비해 좋은 것으로 나타났다. 이는 증류수나 에탄올 단일의 용매에 의한 추출보다 혼합 용매에 의한 추출이 유용 생리활성 물질 추출에 유리함을 보여준다.

### 사 사

본 연구는 강원도 농업기술원 북부 농업 시험장과 강원도 식품산업기술 지원 센터의 지원 하에 이루어진 것으로 깊은 감사를 표합니다.

### LITERATURE CITED

Frei, B 1994. Natural antioxidants in human health and disease. Academi press. San Diego : 1-21

Benson, A. M., Y. N. Cha and P. Talalay. 1979. Elevation of extrahepatic GST and epoxide hydrase activities by hydroxyanisole. *Cancer Res.* 39 : 2971-2977

Franca, Z. 1995. Studies on the insectidal activities of some new N-benzol-N' - sryluureas. *Pestic. Sci.* 44 : 227-236

Kata, T., T. Inoue, T. Ohta, and Y. Shrisu. 1986. Antimutagen and their modes of action. In D. H. Shankel *et al*, Plenum, New York. 181-189

Kim S. H. and E. S. park. 1994. Yhe study of prepared GE-132 on the hepatic Glutathione-S-transferase activity in rat. *J. k. Soc. Food Nutr.* 23 : 581-586

Tamagawa, K., S. Iizuka, S. Fukushima, Y. Endo and Y. Komyama. 1997. Antioxidative activity of

- polyphenol extracts from Barley Bran. *Nippon Shokuhin k.* 44 (7) : 512-515
- Kun, Y. P. and H. R. Sook. 1992. Inhibitory effect of green-yellow vegetables on the mutagenicity in salmonella assay system and on the growth of AZ-521 human gastric cancer cells. *J. Kor. Soc. Food Nutr.* 21 (2) : 149-153
- Kupin, V. 1992. A new biological response modifier, *Ganoderma lucidum*, and its application in oncology, Abstracts of the international Symposium on *Ganoderma lucidum* : 36-37
- Lee G. Y. and U. K. Jee. 1996. Cytotoxicity, stability and antitumor activity of 5-florouracil prodrugs entrapped in liposomes. *Yakhak Hoeji.* 40 (5) : 522-531
- Lee, S. J. 1966. *Korean Folk Medicine.* Seoul National University Press, Seoul. 34
- Lee, W.T. 1979. *Eleutherococcus Maxim*, Araliaceae and *Acanthopanax sp.* in korea. *Kor. J. Pharmacog.* 10 (3) : 103-107
- W. Habig. H. and J. M. Pabst. Glutathione-S-transferase. *J. Biol. Chem.* 22 : 7130-7139
- Yook, C. S, D. H. Lee. and Y. K. Seo. 1976. *Kor. J. Pharmacog.* 7 : 179
- Kim, C. H. 1997. 오갈피 나무속 및 근연속 (두릅나무과)의 분류. 전북대학교 박사 논문집
- 盧煥成 등. 1977. 生藥學會誌. 21 (2). 81
- 韓代錫外. 1961. 본초학. 동명사 55
- 韓德龍外. 1977. 人蔘과 五加科植物의 藥理比較(1). 傳統材料研究所 報告