

## 홍경천 추출물의 생리활성

박경욱 · 윤재호<sup>1</sup> · 김재용<sup>2</sup> · 정창호 · 박채규<sup>3</sup> · 송원섭<sup>1</sup> · 서권일<sup>†</sup>  
순천대학교 식품과학부, <sup>1</sup>순천대학교 식물생산과학부, <sup>2</sup>경북대학교 식품공학과, <sup>3</sup>KT&G 중앙연구원

## Biological Activity of the Fractions Extracted from *Rhodiola dumulosa*

Kyung-Uk Park, Jae-Ho Yoon<sup>1</sup>, Jae-Yong Kim<sup>2</sup>, Chang-Ho Jeong,  
Chae-Kyu Park<sup>3</sup>, Won-Seob Song<sup>1</sup> and Kwon-Il Seo<sup>†</sup>

Division of Food Sciences, Suncheon National University, Sunchon 540-742, Korea

<sup>1</sup>Division of plant Science and Production, Suncheon National University, Sunchon 540-742, Korea

<sup>2</sup>Dept. of Food Science and Technology, Kyungpook National University, Daegu 750-701, Korea

<sup>3</sup>Division of Ginseng Research, KT&G Central Research Institute, Daejeon 305-764, Korea

### Abstract

To develop functional food material using *Rhodiola dumulosa*(RD), the biological activities such as antioxidation, antiproliferation in the cancer cells and immuno-activity in macrophage cells were investigated with hexane, ethylacetate, n-butanol, methanol and water fractions of RD 80% methanol extract. Hydrogen-donating activities of hexane, ethyl acetate, n-butanol, methanol and water fraction were 28.30, 53.21, 35.48, 42.64 and 21.14%, respectively, at a concentration of 100 µg/mL, and the activity of ethyl acetate fraction was similar to as that of BHT. After treated for 48 hrs, the ethyl acetate fraction decreased the proliferation of the A549 and SW480 cells in a dose-dependent manner at concentration of 10, 50, and 100 µg/mL, the activities were higher than other fractions. Morphology of cells treated with the ethyl acetate fraction for 48 hr at 100 µg/mL was distorted with shrank cell mass, and the cell number was lower than that of control cells the macrophage cells treated. The methanol fraction was significantly induced NO production compared with untreated control cells at above 10 µg/mL concentration. These results indicate that RD would be used the functional food material.

**Key words** : *Rhodiola dumulosa*, antioxidation, anticancer activity, immuno modulating activity

### 서 론

홍경천(*Rhodiola dumulosa*)은 고산지대에서 자라는 다년생 초본 식물로서 분류학상 피자식물문(*Angiospermae*), 돌나무과(*Crassulaceae*), 돌꽃(*Rhodiola*)속에 속하는 식물로서, 중요한 약용부위로는 뿌리와 줄기로 알려져 있다(1,2). 우리나라 북부지방의 백두산, 포태산, 낭림산의 산꼭대기 부근 바위틈에서 자라고, 특히 백두산의 해발 1,800-2,300 m사이의 이끼가 낀 원시림 속 자작나무 숲과 협곡의 바위틈에서 많이 자란다(3). 이는 온도가 낮고 건조하고, 산소가

적으며, 강한 자외선이 비치고 낮과 밤의 온도 차이가 큰 곳에서 자생할 수 있는 특수한 적응성을 가지고 있기 때문이다(3). 또한 인삼과 가시오갈피 이후에 발견된 보건의약품 식물의 일종으로서 원기를 회복시키고 병과 독을 극복하며, 장수하게 할 수 있어 “고원인삼”이라는 별칭을 가지고 있다(1). 홍경천의 약리 효능은 오래전부터 민간에서 진정제, 해열제, 수렴제로 사용되었으며, 중추신경계에 대한 긴장작용, 항피로효과, 신경증과 고혈압에 대해 효과가 있다고 알려져 있으며, 당뇨병, 폐결핵, 빈혈, 간 및 담낭질병에 가루약이나 탕제로 쓸 뿐 아니라 정신 및 육체적 피로 신경쇠약, 산후 및 병후허약, 건망증 등에 사용되었다고 알려져 있다(4,5). 홍경천에 함유되어 있는 주요 약리적 성분으로

<sup>†</sup>Corresponding author. E-mail : seoki@sunchon.ac.kr,  
Phone : 82-61-750-3655, Fax : 82-61-750-3655

는 salidroside, p-tyrosol, flavonoid, mono-terpene glycoside, cyanoglycoside, pentyl glycoside, aliphatic glycoside, phenylpropanoid, proanthocyanidin 등이 함유되어 있다고 알려져 있다(6,7). 홍경천에 대한 생리활성에 관한 연구로는 항산화(8), 기억력 증진(9), 항균(10), 항알러지(11), 항피로(12), 항노화(13), 고산병에 대한 내성 증강작용(14), 항부정맥(15), 혈당강하(16) 및 면역기능 촉진 작용(17) 등이 보고 되고 있다. 이와 같이 홍경천의 여러 생리활성 효과로 최근에는 많은 관심 속에 연구가 활발히 진행되고 있지만 이에 대한 체계적인 연구는 부족한 실정이다.

따라서 본 연구에서는 홍경천(*Rhodiola dumulosa*)을 기능성 식품 소재로 활용하기 위하여 홍경천 메탄을 추출물을 용매의 극성 증가순으로 계통분획한 후 이들에 대한 항산화, 항암 및 면역활성과 같은 생리활성을 검토하였다.

## 재료 및 방법

### 재 료

본 실험에 사용된 홍경천(*Rhodiola dumulosa*)뿌리는 2004년 3월에 중국과학원 식물연구소에서 제공받아 생리활성 실험에 사용하였다.

### 추출물의 조제

홍경천 뿌리(*Rhodiola dumulosa*)를 마쇄한 다음 시료 100 g에 80% 메탄을 1,000 mL 첨가하여 80°C에서 3시간동안 3회 열수 추출하고 여과하여 농축한 다음 용매의 순차적으로 헥산, 클로로포름, 에틸아세테이트, 부탄올, 메탄올 및 물을 첨가하여 분획하였다. 각 분획물을 여과한 후 rotary vacuum evaporator로 45°C에서 감압농축한 후 4°C 냉장고에서 보관하면서 각종 생리활성측정을 위한 시료로 사용하였다.

### 수소전자공여능에 의한 항산화 활성 측정

홍경천 추출물의 분획물 대한 DPPH radical 소거활성은 Blois 방법(18) 에 의한 2,2'-diphenyl-1-picrylhydrazine (DPPH)의 환원성을 이용하여 517 nm에 UV/Vis-spectrophotometer로 측정하였다. 즉 각 분획물 및 대조구로 사용한 BHT 1 mL 와  $4 \times 10^{-4}$  M DPPH 용액 3 mL를 5초 동안 vortex mixer로 혼합하여 첨가한 후 이를 30분간 암소에서 반응시킨 후 흡광도를 측정하고, 대조구는 시료대신 에탄올 1 mL을 첨가하여 대조구에 대한 흡광도의 감소비율로 나타내었다.

### 암세포 성장 억제효과

본 실험에 사용한 암세포주는 인체 폐암세포주인 A549(human lung carcinoma cell; KCLB 30022) 및 SW480

(human colon carcinoma cell; KCLB 10228)를 한국세포주은행으로부터 분양받아 10% FBS(fetal bovine serum)를 첨가한 RPMI 1640배지를 첨가하여 37°C, 5% CO<sub>2</sub> incubator에서 계대 배양하면서 실험에 사용하였다. Mono-layer로 자란 암세포주를 0.25% trypsin-EDTA용액으로 처리하여 single cell로 만든 후 최종 세포농도가  $5 \times 10^4$  cells/mL 되도록 희석하여 48 well plate에 각 well당 450  $\mu$ L씩 분주한 다음 37°C, 5% CO<sub>2</sub> incubator에서 24시간 동안 배양한 후, 홍경천 분획물 희석액을 50  $\mu$ L씩 각 농도별로 첨가하고 48시간 배양한 후 세포증식 정도를 SRB 방법에 의하여 측정하였다(19).

### 형태학적 변화

광학현미경으로 세포를 관찰하기 위해 SRB정량 분석을 하기 전에 대조구와 실험군의 세포모양 변화를 inverted microscope로 관찰하고 사진을 촬영하였다.

### 일산화질소 측정

안정된 일산화질소 산화물인 NO<sub>2</sub>-(nitrite)는 Griess반응을 이용하여 측정하였다(20). 대식세포주(RAW 264.7)에 홍경천 분획물을 48시간동안 처리 한 후 배양 상층액을 96 well plate에 100  $\mu$ L씩 넣고 여기에 Griess시약 (0.1% N-1-naphthyl-ethylendiamine in H<sub>2</sub>O : 1% sulfanilamide in 5% H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> = 1 : 1)을 동량 첨가하여 10분간 반응시킨 후, microplate reader(Titertek Multiscan Plus, Finland)로 550 nm에서 흡광도를 측정하였다. Nitrite의 농도는 sodium nitrite를 이용하여 2배씩 희석하여 얻은 표준곡선과 비교하여 계산하였다

### 통계처리

실험결과는 평균(mean)±표준편차(SD)로 나타내었고, Student t-test를 이용하여 통계처리한 후 p<0.05, p<0.01 수준에서 유의성을 검정하였다.

## 결과 및 고찰

### 항산화 활성 효과

홍경천메탄을 추출물의 분획물에 대한 항산화 활성을 측정한 결과는 Table 1과 같다. 각 분획물들은 농도 의존적으로 수소공여능이 증가하였으며, 100  $\mu$ g/mL의 농도로 처리시 에틸아세테이트, 메탄올, 부탄올, 헥산 및 물 분획물 순으로 각각 53.21, 42.64, 35.48, 28.30 및 21.14%로 활성을 나타내었으며, 이 중 에틸아세테이트 분획물은 대조구인 항산화성 물질의 BHT(55.21%)를 100  $\mu$ g/mL의 농도로 처리한 구와 비슷한 항산화 활성을 나타내었다.

Cui 등(21)은 홍경천 추출물과 분획물을 이용하여 항산화 활성을 측정한 결과 에탄올, 에틸아세테이트, 부탄올

**Table 1. Hydrogen donating activity(HDA) of each fraction from methanol extracts of the *Rhodiola dumulosa* root**

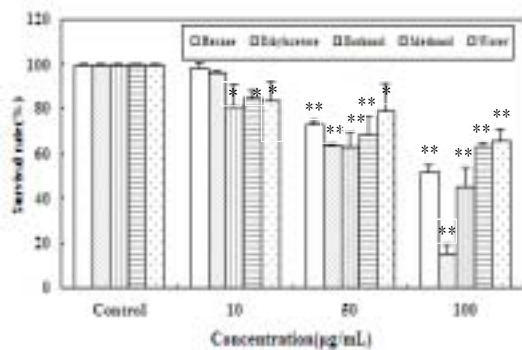
Sample	Concentration( $\mu\text{g/mL}$ )		
	10	50	100
BHT	13.00 $\pm$ 0.03 <sup>1)</sup>	16.19 $\pm$ 0.02	55.21 $\pm$ 0.05
Hexane	15.59 $\pm$ 0.05	15.59 $\pm$ 0.04	28.30 $\pm$ 0.01
Ethyl acetate	10.57 $\pm$ 0.01	10.57 $\pm$ 0.01	53.21 $\pm$ 0.01
Butanol	9.83 $\pm$ 0.02	9.83 $\pm$ 0.01	35.48 $\pm$ 0.05
Methanol	8.79 $\pm$ 0.02	8.79 $\pm$ 0.01	42.64 $\pm$ 0.03
Water	11.01 $\pm$ 0.01	11.01 $\pm$ 0.02	21.14 $\pm$ 0.03

<sup>1)</sup>Data values are expressed as mean $\pm$ SD of triplicate determinations.

및 물 등의 추출물과 분획물에서 RC<sub>50</sub>이 각각 27.9, 14.3, 24.4, 22.3  $\mu\text{g/mL}$ 로 나타났으며, 특히 에틸아세테이트 분획물에서 RC<sub>50</sub>이 14.3  $\mu\text{g/mL}$ 로 대조구로 사용된  $\alpha$ -tocopherol 과 비슷한 항산화 활성을 나타내었다고 보고하여 본 실험과 유사한 결과를 나타내었다.

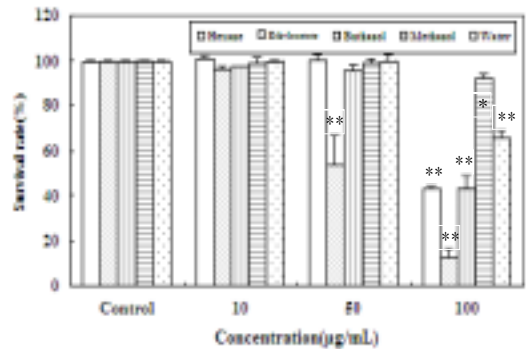
**암세포 성장억제 효과**

A549 및 SW480 암세포주 성장에 대한 각 용매분획물의 억제효과를 조사한 결과는 Fig 1 및 2와 같다. 홍경천 추출물의 용매분획물은 처리농도에 의존적으로 이들 암세포의 성장을 억제하는 경향을 나타내었다. 특히 에틸아세테이트 분획물은 다른 분획물에 비하여 월등히 높은 암세포 성장 억제 효과를 나타내었으며, 특히 100  $\mu\text{g/mL}$ 의 농도로 처리 시 이들 암세포의 성장을 80% 이상 저해하는 것으로 나타났다.



**Fig. 1. Growth inhibitory effect of each fractions from methanol extract of the *Rhodiola dumulosa* root in the A549 lung cancer cells by SRB assay after 24 hrs of treatment.**

Cui 등(21)은 홍경천 뿌리 에탄올 추출물의 A549, HepG2, MCF-7 및 AGS와 같은 암세포에 대한 저해 효과를 측정된 결과, 시료의 농도가 증가함에 따라 암세포의 성장 저해 효과도 증가하는 것으로 보고하였다.

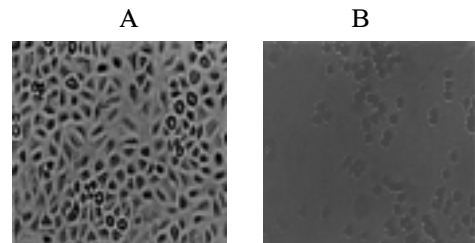


**Fig. 2. Growth inhibitory effect of each fractions from methanol extract of the *Rhodiola dumulosa* root in the SW480 colon cancer cells by SRB assay after 24 hours of treatment.**

따라서 이전의 연구결과 및 본 실험의 결과를 종합하여 볼 때 홍경천에는 암세포 증식을 억제하는 물질을 함유하고 있다는 것을 알 수 있었으며, 차후 이들 물질을 분리한 후 암세포의 사멸 기전에 관한 심도 깊은 연구가 진행되어야 할 것으로 사료된다.

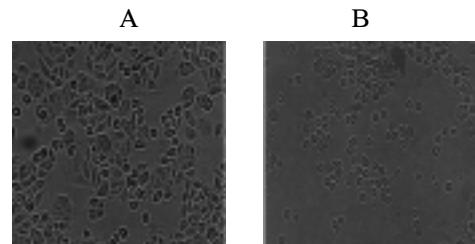
**암세포의 형태변화**

홍경천 분획물 중 암세포 성장 억제효과가 높게 나타난 에틸 아세테이트 분획물을 A549 및 SW480 세포에 100  $\mu\text{g/mL}$  농도처리하고, 48시간 배양한 후 광학현미경으로 관찰한 결과는 Fig. 3 및 4와 같다. 즉, 이들 암세포주의



**Fig. 3. Inverted photomicrograph of A549 cells treated with the ethyl acetate fraction from methanol extract of the *Rhodiola dumulosa* root for 2 days( $\times$  200).**

A : Control, B : Ethyl acetate fraction of 100  $\mu\text{g/mL}$ .



**Fig. 4. Inverted photomicrograph of SW480 cells treated with the ethyl acetate fraction methanol extract of the *Rhodiola dumulosa* root for 2 days ( $\times$  200).**

A : Control, B : Ethyl acetate fraction of 100  $\mu\text{g/mL}$ .

대조구는 세포막을 유지하며 plate의 기벽에 부착되어 긴 세포모양을 유지하고 있으나, 처리구는 사멸한 세포가 배양용기에서 떨어져 배지에 부유하는 것을 관찰할 수 있었고, 또한 대조구에 비하여 세포의 밀도와 수도 시료 처리구에서 급격히 감소하였다.

**NO 생성효과**

홍경천 메탄올 추출물의 분획물이 대식세포의 NO 생산에 어떠한 영향을 미치는지 알아보기 위하여 대식세포주인 RAW264.7에 홍경천 분획물들을 농도별로 처리하여 48시간 배양한 후, 배양액 중의 대식세포가 생산한 NO로부터 산화된 NO<sub>2</sub> 농도를 측정하였다. 그 결과 홍경천메탄올 분획물을 각각 0.1, 1, 10 및 50 µg/mL의 농도로 처리시 대조구(1.056 uM)에 비하여 NO의 생산이 증가되었으며, 특히 10 µg/mL 이상의 농도에서는 메탄올 분획물 처리구에서 NO의 생성이 4.878 uM(10 µg/mL), 5.669 uM(50 µg/mL)로 크게 유도되었다(Fig. 5). 또한 대식세포에 1 µg/mL 농도의 LPS와 홍경천메탄올 분획물을 함께 처리시 50 µg/mL의 농도에서 부탄올(7.698 uM) 및 메탄올 분획물(8.086 uM) 처리구가 핵산(5.934 uM), 에틸아세테이트(3.707 uM), 물(5.994) 분획

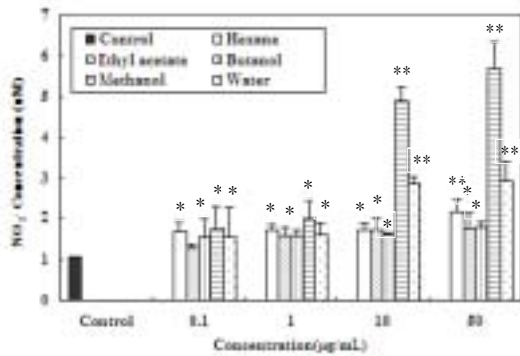


Fig. 5. Effect of the each fractions from methanol extract of the *Rhodiola dumulosa* root on the production of nitric oxide in a macrophage cells.

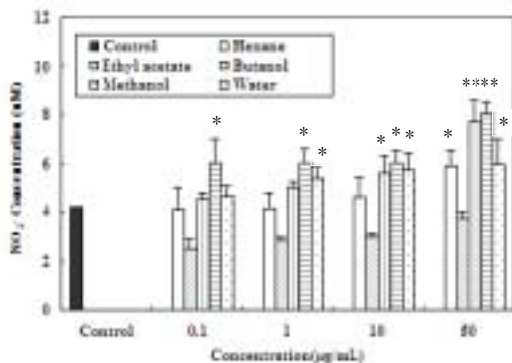


Fig. 6. Effect of the each fractions from methanol extract of the *Rhodiola dumulosa* root on the production of nitric oxide in LPS-treated macrophage cells.

물 처리구 보다 NO의 생성을 더 많이 유도하였다(Fig. 6). Lee 등(22)은 대식세포, 간세포 및 혈관 평활근 세포의 일산화질소 합성에 미치는 홍경천 추출물의 효과에 대하여 조사한 결과 홍경천 뿌리의 물 추출물 단독 처리구에서는 NO 생성을 유도하지 못했지만 interferon- $\gamma$ 의 존재하에서는 농도 의존적으로 NO의 생성을 증가시키는 결과를 나타내어 홍경천의 물추출물이 NO의 생성을 높여준다는 유사한 결과를 나타내었다.

대식세포는 박테리아, 암세포와 같은 항원이 발견되었을 때 NO를 방출하여 이들을 사멸 또는 증식을 억제한다. 따라서 이런 결과를 고려할 때 홍경천 추출물은 NO 생성을 유도하여 암세포의 성장을 억제하는 것으로 생각되나, 이에 대한 연구는 더욱 진행되어야 할 것으로 생각된다.

**요 약**

홍경천(*Rhodiola dumulosa*)을 기능성 식품소재로 개발하기 위하여 홍경천(뿌리)을 80% 메탄올로 열수 추출하여 용매 분획한 후 이들에 대한 항산화, 암세포 성장 억제 및 대식세포의 면역활성 등과 같은 기능성을 조사하였다. 홍경천 메탄올 추출물의 핵산, 에틸 아세테이트, 부탄올 및 물 분획물의 수소공여능은 100 µg/mL의 농도에서 각각 28.30, 53.21, 35.48, 42.64 및 21.14% 로서 에틸아세테이트 분획물이 가장 높았으며, 이는 합성 항산화제인 BHT와 비슷한 항산화 효과를 나타내었다. A549 및 SW480와 같은 암세포에 용매 분획물 1, 10 및 100 µg/mL의 농도로 48시간 처리한 결과 에틸아세테이트 분획물이 다른 분획물에 비하여 암세포주의 성장을 강하게 억제하였으며, 그 활성은 농도 의존적으로 나타났다. 또한 100 µg/mL의 농도로 48시간 동안 에틸아세테이트 분획물을 암세포에 처리시 처리구에서의 암세포는 뚜렷한 세포수의 감소와 함께 심한 형태학적 변화가 관찰되었다. 대식세포주(RAW 264.7)에 1, 10 및 50 µg/mL의 농도로 용매 분획물을 처리한 후 NO의 생성량을 측정한 결과 10 µg/mL 이상의 농도에서 메탄올 분획물에서 NO 생성을 강하게 유도하였다. 따라서 본 결과는 홍경천의 기능성 식품소재로의 활용 가능성을 시사한다.

**참고문헌**

1. Chung, T.H. (1974) Korean Flora(*Herb part*). Academy-book, Seoul. p. 283
2. Lee, Y.N. (1997) Flora of Korea. Kyo-Hak Publishing, Seoul., p. 277

3. Choi, D.Y., Ahn, S.Y., Lee, S.G., Han, J.S., Kim, E.C., Lee, H.B., Shin, J.H, Kim, E.K. and Row, K.H. (2004) Separation and performance test of whitening agent in *Rhodiola sachalinensis*. J. Kor. Biotechnol. Bioeng., 19, 169-173
4. Bae, K.H. (2000) The medicinal plants of Korea. KyoHak Publishing, Seoul., p. 200
5. Lee, U.C. (1996) Standard Illustrations of Korean Plants. Academy Publishing, Seoul, p. 144
6. Kurkin, V.A., Zapesochnaya, G.G. and Klyazinka, V.G. (1982) Flavonoids of *R. rosea*. Khim Prir Soedin., 13, 581-584
7. Zapesochaya, G.G. and Kurkin, V.A. (1983) The flavonoids of the rhizomes *Rhodiola rosea*. II. A flavanolignan and of herbacetin. Khim Prir Soedin., 19, 23-32
8. Ryu, K.Y., Kang, W.S., Kim, Y.H., Jang, H.D., Hong, J.H., Yoo, H.S. and Yun, Y.P. (1998) Antioxidative effects of the rhizomes *Rhodiola sachalinensis*. Yakhak Hoeji, 42, 312-318
9. Salikhovw, R.A., Alesandrova, I.V., Mazuric, V.K., Mikhailov, V.F., Ushenkova L.N. and Poroshenko, G.G. (1997) Effect of *Rhodiola rosea* on the yield of mutation alterations and DNA repair in bone marrow cells. Patol. Fiziol. Eksp. Ter., 22, 4-8
10. Shim, C.J., Lee, G.H., Jung, J.H., Yi, S.D., Kim, Y.H. and Oh, M.J. (2004) Isolation and identification of antimicrobial active substances from *Rhodiola sachalinensis*. J. Kor. Food Preserv., 11, 63-70
11. Yoshikawa, M., Shimada, H., Horikawa, S., Murakami, T, Shimoda, H., Yamahara, J. and Matuda, H. (1997) Bioactive constituents of Chinese natural medicines. IV. *Rhodiola* radix. (2) : On the histamine release inhibitors from the underground part of *Rhodiola sacra*(Prain ex Hamet) S. H. Fu(Crassulaceae): chemical structures of rhodiocyanoside D and sacranosides A and B. Chem. Pharm. Bull., 45, 1498-1503
12. Spasov, A.A., Mandrikov, V.B. and Mironova, I.A. (2000) The effect of the preparation rodakson on the psychophysiological and physical adaption of students to an academic load. Eksp. Klin. Farmakol., 63, 76-78
13. Kelly, G. (2001) *Rhodiola rosea* : a possible plant adaptogen. Altern. Med. Rev., 6, 293-302
14. Zhang, Z., Feng, S., Hu, G., Cao, Z. and Wang, L. (1989) Effect of *Rhodiola kirilowii* (Regel.) Maxim on preventing high altitude reactions ; A comparison of cardiopulmonary functions in villagers at various altitudes. Zhongguo Zhong Yao Za Zhi, 14, 687-690
15. Maimeskulova, L. and Maslov, L. (2000) Anti-arrhythmic effect of phytoadaptogens. Eksp. Klin. Farmakol., 63, 29-31
16. Cheng, Z., Ki, L., Wu, Y., Zhao, Q., Du, G. and Liu, Y. (1993) Studies on the hypoglycemic effect of *Rhodiola sachalinensis* A. Bor. polysaccharides. Zhongguo Zhong Yao Za Zhi, 18, 557-559
17. Pae, H., Seo, W., Oh, G., Kim, N., Kim, Y., Kwon, T., Shin, M., Chai, K. and Chung, H. (2001) *Rhodiola sachalinensis* induces the expression of inducible nitric oxide synthase gene by murine fetal hepatocytes (BNLCL.2). Immunopharmacol. Immunotoxicol., 23, 25-33
18. Blois, M.S. (1958) Antioxidant determination by the use of a stable free radical. Nature, 181, 1199-1200
19. Skehan, P., Storeng, R. and Scudiero, D. (1990) New colorimetric cytotoxicity assay for anticancer-drug screening. J. Natl. Cancer Inst., 82, 1107-1112
20. Yee, S.T., Jeong, Y.R., Ha, M.H., Kim, S.H., Byun, M.W. and Jo, S.K. (2000) Induction of nitric oxide and TNF- $\alpha$  by herbal plant extract in mouse macrophage. J. Kor. Soc. Food Sci. Nutr., 29, 342-348
21. Cui, C.B., Lee, D.S. and Ham, S.S. (2003) Antioxidative, antimutagenic and cytotoxic effects of *Rhodiola sachalinensis* extract. J. Kor. Soc. Food Sci. Nutr., 32, 211-216
22. Lee, H.K., Shin, M.K., Pae, H.O., Seo, W.G., Oh, G.S., Ahn, B.S. and Chung, H.T. (2000) Effects of *Rhodiola Sachalinensis* on nitric oxide synthesis by macrophages, hepatocytes, and vascular smooth muscle cells. Kor. J. Immunol., 22, 229-234

---

(접수 2005년 7월 5일, 채택 2005년 9월 23일)