

## Antioxidative Activity and Chemical Characteristics of Leaves, Roots, Stems and Fruits Extracts from *Acanthopanax senticosus*

Su-Jin Heo<sup>1</sup>, Hee-Young Ahn<sup>1</sup>, Min-Jeong Kang<sup>1</sup>, Jae-Hong Lee<sup>1</sup>, Jae-Young Cha<sup>2</sup> and Young-Su Cho<sup>3\*</sup>

<sup>1</sup>Department of Medical Biosciences, Graduate School, Dong-A University, Busan 604-714, Korea

<sup>2</sup>Technical Research Institute, Daesun Distilling Co, Ltd, Busan 619-951, Korea

<sup>3</sup>Department of Biotechnology, Dong-A University, Busan 604-714, Korea

Received June 14, 2011 / Revised July 21, 2011 / Accepted July 21, 2011

The contents of bioactive and antioxidative activities (DPPH ( $\alpha, \alpha'$ -diphenyl- $\beta$ -picrylhydrazyl), free radical scavenging activity, peroxidation of linoleic acid and rat hepatocyte microsome, and Fe/Cu reducing power, tyrosinase inhibition activity) were tested by *in vitro* experimental models using water, hot water, ethanol and methanol extracts of leaves (ASL), roots (ASR), stems (ASS) and fruits (ASF) from *Acanthopanax senticosus*. Hot water extract from ASL showed the highest extraction yield (16.04%) as well as highest contents of phenolic compounds (2.67%) and flavonoids (1.43%). Major minerals were K, Ca and Mg. In oxidation *in vitro* models using DPPH free radical scavenging activity, Fe/Cu reducing power, Fe<sup>2+</sup>/ascorbate-induced linoleic acid peroxidation by ferric thiocyanate and thiobarbituric acid (TBA) methods, tyrosinase inhibition activity and autooxidation of rat hepatic microsomes membrane, and antioxidative activities were strong in *Acanthopanax senticosus*. From these results, ASL extracts were shown to have the most potent antioxidative properties and contain the highest amounts of antioxidative compounds such as phenolic compounds and flavonoids. These results may provide the basic data to understand the biological activities of bio-active materials derived from leaves of *Acanthopanax senticosus*.

**Key words** : *Acanthopanax senticosus*, DPPH, antioxidative activity, phenolic compounds, flavonoids

### 서 론

인간의 질병이 발생하고, 노화가 진행되는 대사과정 중 산화반응에 의해 생성된 hydroxyl, nitric oxide, superoxide, hydroperoxyl radical 등의 산화반응물은 체내 지질, 단백질, DNA와 같은 물질의 손상을 유발하여 심혈관질환, 동맥경화, 암, 당뇨 등과 같은 만성질환을 유발시키는 것으로 알려져 있다. 이러한 산화적 손상을 억제 할 수 있는 플라보노이드나 폴리페놀을 비롯한 다양한 천연물 유래의 항산화 물질에 대한 연구가 활발히 전개되고 있다[15]. 식물 유래의 phenolic compounds, carotenoids, flavonoids, tocopherol 등의 생리활성 물질은 천연 항산화제로 널리 알려져 있는데, 이들 성분을 많이 함유하고 있는 각종 한방 생약재 또는 과채류 등의 식용식품을 충분히 섭취하게 되면 노화방지 및 심혈관질환과 같은 성인성 만성질환의 예방과 개선에 도움이 되는 것으로 보고되고 있다[8].

유용 식물자원으로 두릅나무과에 속하는 가시오가피(*Acanthopanax senticosus*)는 낙엽성 활엽관목으로 그 생김새는 산삼을 닮았으며 한국의 지리산, 일본, 중국 등에 분포하고

주로 깊은 산지의 계곡에서 서식한다. 가시오가피 추출물은 한방에서 오랫동안 사용되어져 왔던 약재 중의 하나로 다양한 연구가 최근까지 계속해서 수행되어 오면서 약리학적 또는 생리학적으로 의미 있는 연구 결과들이 보고되어 졌다[19].

가시오가피 추출물의 주요 성분은 lignan (eleutheroside E) 과 같은 화합물(acanthoside D)이 발견된 이래로 (-)sesamine, phenolic glycoside, syringaresinol diglucoside, B-sitosterol, isofraxidin, friedelin, syringin 등이 있고, 그 동안 이들 개별성분에 대한 기능분석이 주요 연구대상이 되어왔다[16]. 가시오가피의 효능은 대단히 광범위하고, 독성이 거의 무시될 수 있을 정도이며[4], 계절에 따른 효능의 차이가 적다는 사실이 알려져 있다[9]. 이와 같은 특징은 장기간 복용하는데 유리한 특성을 지니며, 재료식물의 채취시기 등이 까다롭지 않다는 장점을 나타내는 것으로 판단된다. 현재 보고된 약리 효과는 혈당강하[19], 체내 지질대사 개선[27], 항바이러스 활성[12], 심근경색치료 효과[2], 항산화체계 강화 기능[11] 등 가시오가피에 대한 많은 임상적 연구가 이루어져왔지만 주로 나무의 근피나 줄기에서 추출된 것에 한정 되어 있다. 가시오가피는 나무 줄기 외에도 잎, 열매, 뿌리 등 부위에 따라 약리적 효능이 다를 것으로 판단되지만 부위별 용매 추출을 달리하여 진행된 연구는 찾아보기 힘들다. 따라서, 본 연구에서는 가시오가피 잎, 뿌리, 줄기, 열매에 존재하는 생리활성 물질을 탐색하기

#### \*Corresponding author

Tel : +82-51-200-7586, Fax : +82-51-200-7505

E-mail : choys@dau.ac.kr

위하여 용매 추출물별 이화학적 특성과 항산화 효과에 대하여 검토하였다.

## 재료 및 방법

### 실험재료

본 실험에 사용한 가시오가피(*Acanthopanax senticosus*)는 2010년 11월에 강원도 양구군 고지대에서 재배해 잎, 뿌리, 줄기 및 열매 부분으로 나누어 건조시켜 판매하고 있는 것을 직접 구입하여 분쇄 후 시료로 사용하였다.

### 시료의 추출조건 및 수율

수용성 추출은 가시오가피 잎, 뿌리, 줄기와 열매의 건조분말 100 g을 각각 취해 10배의 정제수로 온수 추출물과 90°C 열수 추출물을 얻었다. 유기용매 추출은 10배의 95% 에탄올과 95% 메탄올을 사용하여 상온에서 3시간씩 3회 환류 추출하여 Whatman No. 1 여과지(Toyo 2A; Toyo Roshi, Tokyo, Japan)로 여과한 다음, 회전진공농축기(Buchi Rotavapor R-215, Flawil, Switzerland)로 40°C에서 농축하여 유기용매를 완전히 제거한 조추출물을 얻었다. 물 추출물과 유기용매 조추출물은 동결건조기(Eyela FUD-2100, Tokyo Rikakikai Co., Tokyo, Japan)로 동결 건조시켜 추출 수율(%)을 구하고 분석 시료로 사용하였다.

### 페놀성 화합물 함량 측정

페놀성 화합물의 함량은 Folin-ciocalteu's phenol reagent를 이용한 Folin-Denis법[26]으로 비색시켜 spectrophotometer (Hitachi U-2900, Tokyo, Japan)의 760 nm에서 흡광도를 측정하였다. 이 때 함량은 tannic acid를 일정 농도(0-500 µg/ml)로 하여 시료와 동일한 방법으로 측정된 표준곡선으로부터 계산하였다.

### Flavonoid 함량 측정

Flavonoid 함량은 Jia 등의 방법[14]에 따라 각 시료의 추출 용매별 농도에 정제수와 5% NaNO<sub>2</sub> 용액 및 10% AlCl<sub>3</sub>·6H<sub>2</sub>O를 잘 혼합하여 반응시킨 용액을 spectrophotometer (Hitachi U-2900)의 510 nm에서 흡광도를 측정하였다. 이 때 함량은 표준 물질로서 (+)-catechin hydrate을 일정 농도(20 - 200 µg/ml)로 시료와 동일한 방법으로 측정하여 작성한 표준 곡선으로부터 계산하였다.

### DPPH에 의한 항산화 활성 측정

항산화 활성 측정은 Blois 방법[3]에 따라 각 용매 추출물 분말을 0.01, 0.05, 0.1, 0.5 및 1% 농도로 만든 시료 용액에서 α,α'-diphenyl-β-picrylhydrazyl (DPPH) free radical scavenging 활성을 spectrophotometer (Hitachi U-2900)의 528 nm에

서 흡광도를 측정하여 시료 첨가구와 무첨가구의 흡광도차를 백분율(%)로 표시하였다. 이때 활성 비교는 합성 항산화제 butylated hydroxytoluene (BHT)를 0.05% 농도로 첨가하여 시료와 동일한 방법으로 흡광도를 측정하였다.

DPPH radical scavenging activity (%)=[1-(sample absorbance 528 nm)/control absorbance 528 nm]×100

### 미네랄 함량 측정

미네랄 함량은 AOAC 분석 방법[1]에 준하여 측정하였다. 즉, 각 시료 분말 1 g을 정확히 취해 550°C에서 3시간 회화시킨 후 6 N HCl에 용해시켜 완전히 산분해시켜 수욕상에서 산을 완전히 제거하고, 이 건조물에 3 N HCl를 가하여 여과한 후 원소 종류에 따라 각각 일정비율로 희석하여 원자흡광 분광광도계(Analyst 300, Perkin Elmer, Norwalk CT, USA)를 이용하여 측정하였다.

### Fe/Cu 환원력 측정

Fe-환원력 측정은 Zhu 등의 방법[31]에 따라 각 용매 추출물 0.01, 0.05, 0.1, 0.5 및 1% 농도의 시료 용액에 0.2 M sodium phosphate buffer (pH 6.6) 및 1% (w/v) potassium ferricyanide [K<sub>3</sub>Fe(CN)<sub>6</sub>]를 혼합하여 50°C에서 반응 시키고 10% trichloroacetic acid (w/v) 상층액에 증류수 및 0.5% ferric chloride (FeCl<sub>3</sub>)를 혼합한 후 실온에서 반응 시켜 spectrophotometer (Hitachi U-2900)의 700 nm에서 흡광도를 측정하였다. 한편, Cu-환원력 측정도 각 용매 추출물 0.01, 0.05, 0.1, 0.5 및 1% 시료 용액에 0.01 M CuCl<sub>2</sub>, 7.5 mM ethanolic neocupronine solution, 1 M NH<sub>4</sub>OAc buffer를 혼합하여 상온에서 반응시킨 후 420 nm에서 흡광도를 측정하였다. 이때 환원력 비교를 위하여 천연 항산화제 ascorbic acid와 합성 항산화제 BHT를 각각 시료와 동일한 농도와 방법으로 흡광도를 측정하였다.

### Fe<sup>++</sup>/ascorbate에 의해 유도된 항산화 활성 조사

성장기의 정상 흰쥐 간 조직으로부터 microsome 분획을 조제 하였다. 간 microsome 분획을 이용한 항산화 활성은 Wong 등의 방법[29]에 따라 50 mM Tris-HCl buffer (pH 7.5), 간 microsome 분획(1 ml 중 1 mg의 단백질 함유), 0.1 mM ascorbate 및 5 mM FeSO<sub>4</sub> 반응액을 잘 혼합한 후 37°C에서 1시간 반응시켜 과산화물을 유도시켰다. 이때 대조구는 시료를 첨가시키지 않고 동일한 방법으로 실시하였다. 반응액에 3 M trichloroacetic acid와 2.5 N HCl의 혼합용액을 가하고 원심분리 한 후 상등액에 0.67% TBA를 넣고 가열하여 발색시켰다. 발색된 반응액은 535 nm에서 흡광도를 측정하였으며, 지질과산화의 억제율은 대조구의 흡광도에 대한 저해율(%)로 비교하였다.

Thiocyanate에 의한 항산화 활성 측정

Ohkawa의 방법[23]에 따라 먼저 linoleic acid로 유도된 과산화 지질 용액에 70% ethanol과 ammonium thiocyanate 용액(0.3 g/ml in H<sub>2</sub>O), ferrous chloride 용액(2.45 mg/ml in 3.5% hydrochloric acid)을 혼합한 후 정확히 3분 후에 500 nm에서 흡광도를 측정하였다. 이때 활성의 비교를 위하여 BHT를 0.05% 농도로 사용하였다.

TBA (2-thiobarbituric acid)에 의한 항산화 활성 측정

Linoleic acid (25 mg/ml in EtOH)를 기질로 하여 0.2 M phosphate buffer (pH 7.0)와 각 시료 용액을 가하여 40°C에서 1주일 동안 과산화 지질을 유도하였다[5]. 과산화 지질 측정은 반응액에 35% trichloroacetic acid와 0.75% aqueous TBA를 혼합하고 가열처리 한 후 70% trichloroacetic acid를 가한 다음 원심분리 하여 그 상등액을 532 nm에서 흡광도를 측정하였다.

Tyrosinase 활성 측정

Tyrosinase 활성은 Masamoto 등의 실험 방법[21]을 약간 변형하여 측정하였다. *In vitro* mushroom tyrosinase 활성 저해 능력을 측정하기 위하여 1.5 ml plastic cuvette에 2.5 mM 3,4-dihydroxyphenylalanin (L-DOPA) 0.3 ml, 시료 추출물 0.05 ml 및 0.1 M phosphate buffer (pH 6.8)을 혼합하여 25°C에서 먼저 반응시켰다. 여기에 1,380 units/ml mushroom tyrosinase (2,500 unit, Sigma Chemical Co., St. Louis MO, USA) 0.05 ml를 넣은 후 25°C에서 2분간 반응시키면서 475 nm에서 흡광도를 측정하여 계산하였다. 대조구는 시료가 들어있지 않는 시료 용해 용액을 사용하였고, 양성대조구는 tyrosinase 저해제로 알려진 0.6 mM kojic acid를 사용하였다. 이때 tyrosinase 활성 저해율(%)은 다음의 공식에 의하여 산출하였다.

$$\text{Tyrosinase 활성 저해율(\%)} = 100 - [(A-B)/A] \times 100$$

A는 시료가 들어있지 않은 반응액의 0.5-1분 사이의 흡광도 차이  
B는 시료가 들어있는 반응액의 0.5-1분 사이의 흡광도 차이

통계처리

실험으로부터 얻어진 결과치는 one-way ANOVA 검정에 의한 평균치와 표준오차(mean±SD)로 표시하였다[10].

결과 및 고찰

추출물 수율

가시오가피 잎의 추출 수율은 열수 추출물 16.04%, 온수 추출물 11.7%, 메탄올 추출물 9.91%, 에탄올 추출물 6.69% 순으로 추출되었다(Table 1). 가시오가피 뿌리의 경우 온수 추출물이 6.78%로 가장 높았으며, 열수 추출물 6.75%, 메탄올 추출물 3.73%, 에탄올 추출물 2.09% 순으로 추출되었다. 가시오가

피 줄기는 열수 추출물 4.57%, 온수 추출물 4.25%, 메탄올 추출물 2.87%, 에탄올 추출물 2.09% 순이었고, 가시오가피 열매는 다른 것과 다르게 메탄올 추출물이 13.94%로 가장 높았고, 온수 추출물 10.75%, 열수 추출물 9.71%, 에탄올 추출물 8.73% 순으로 추출되었다. 가시오가피 부위별 추출 수율에서 잎은 뿌리, 줄기 및 열매에 비해 높았다(Table 1). 일반적으로 수용성 추출의 경우 전분, 섬유질, 펙틴질 및 단백질 등의 고분자물질이 다량 용출되어 고농도 에탄올 사용 때보다 많은 양의 추출물을 얻을 수 있으며, 고농도 에탄올의 경우 배당체, 유기산, 정유성분 등이 용출되거나 추출 수율이 다소 떨어져 제조하고자 하는 제품의 특성에 따라 추출 용매의 선택이 달라져야 한다고 하였다[20]. 그에 따라 본 실험에서 수용성 추출물과 에탄올 추출물, 메탄올 추출물의 추출수율이 다양하게 나타났다. 식용식품 중의 flavonoid와 같은 페놀성 화합물은 수용성 또는 지용성으로 구분되어 있어 추출되는 용매에 따라 성분들이 달라지기 때문에 추출 수율에 있어서도 차이를 보인다[7].

총 페놀성 화합물 함량

페놀성 화합물은 식물체에 널리 분포되어 있는 2차 대사산물로서 flavonoid, catechin, tannin 류로 크게 구분되며, 이들 물질들은 전자공여능이 있어 높은 항산화 작용을 나타내는 것으로 알려져 있다[22]. 가시오가피에서 잎, 뿌리, 줄기 및 열매 모두 에탄올 추출물과 메탄올 추출물보다 수용성 추출물에서 페놀성 화합물 함량이 높았다. 그 중 열수 추출물에서 2.67%, 0.88%, 0.52%, 0.65%로 가장 높았고, 온수 추출물이 1.54%, 0.69%, 0.32%, 0.63%로 높았다. 또한 메탄올 추출물은 1.66%, 0.57%, 0.3%, 0.61%이며, 에탄올 추출물은 0.79%, 0.35%, 0.12%, 0.31%였다(Table 2). 가시오가피 잎을 제외하고 나머지 뿌리, 줄기, 열매에서 수용성 추출물이 지용성 추출물보다 더 많은 페놀성 화합물이 용출되었는데, 이는 대부분의 가시오가피의 유효성분이 극성물질이기 때문이라고 사료된다[30].

플라보노이드 함량

식용식품 자원에 함유되어 있는 flavonoid는 항균 활성, 항산화 효과, 항염증 작용, 콜레스테롤 저하작용, 지방간 억제

Table 1. Extracted yield in the water, hot water, ethanol, methanol extracts from *Acanthopanax senticosus* leaf (ASL), root (ASR), stem (ASS) and fruit (ASF)

	Extracted yield (%)			
	ASL	ASR	ASS	ASF
Water	11.70 <sup>a</sup>	6.78 <sup>a</sup>	4.25 <sup>a</sup>	10.75 <sup>a</sup>
Hot water	16.04 <sup>b</sup>	6.75 <sup>b</sup>	4.57 <sup>b</sup>	9.71 <sup>b</sup>
EtOH	6.69 <sup>c</sup>	2.09 <sup>c</sup>	1.61 <sup>c</sup>	8.73 <sup>c</sup>
MeOH	9.91 <sup>d</sup>	3.73 <sup>d</sup>	2.87 <sup>d</sup>	13.94 <sup>d</sup>

Values are mean±SD, n=3.

Table 2. Concentrations of phenolic compounds and flavonoids in the water, hot water, ethanol, methanol extracts from *Acanthopanax senticosus* leaf (ASL), root (ASR), stem (ASS) and fruit (ASF)

	Total phenolic compounds concentrations (%)				Flavonoids concentrations (%)			
	ASL	ASR	ASS	ASF	ASL	ASR	ASS	ASF
Water	1.54±0.00 <sup>a</sup>	0.69±0.00 <sup>a</sup>	0.32±0.00 <sup>a</sup>	0.63±0.00 <sup>a</sup>	0.41±0.00 <sup>a</sup>	0.20±0.00 <sup>a</sup>	0.10±0.00 <sup>a</sup>	0.30±0.01 <sup>a</sup>
Hot water	2.67±0.00 <sup>b</sup>	0.88±0.00 <sup>b</sup>	0.52±0.00 <sup>b</sup>	0.65±0.00 <sup>b</sup>	1.43±0.07 <sup>b</sup>	0.26±0.00 <sup>b</sup>	0.16±0.00 <sup>b</sup>	0.33±0.00 <sup>b</sup>
EtOH	0.79±0.02 <sup>c</sup>	0.35±0.00 <sup>c</sup>	0.12±0.00 <sup>c</sup>	0.31±0.00 <sup>c</sup>	0.75±0.01 <sup>c</sup>	0.09±0.00 <sup>c</sup>	0.04±0.00 <sup>c</sup>	0.20±0.00 <sup>c</sup>
MeOH	1.66±0.00 <sup>d</sup>	0.57±0.00 <sup>d</sup>	0.30±0.00 <sup>d</sup>	0.61±0.01 <sup>a</sup>	0.89±0.00 <sup>d</sup>	0.15±0.00 <sup>d</sup>	0.09±0.00 <sup>d</sup>	0.23±0.00 <sup>d</sup>

Values are mean±SD, n=3.

Values with different letters are significantly different at  $p < 0.05$ .

작용 등이 보고되어 있으며, 여러 종양 세포의 성장 및 분화를 저해시키는 효과도 다수 보고되어 있다[8]. 플라보노이드 함량은 페놀성 화합물의 결과와 비슷한 양상을 나타내었다. 가시오가피 잎, 뿌리, 줄기 및 열매 열수 추출물의 플라보노이드 함량이 1.43%, 0.26%, 0.16% 및 0.33%로 다른 추출물보다 많았다. 가시오가피 잎, 뿌리, 줄기 및 열매 온수 추출물에서는 0.41%, 0.2%, 0.1% 및 0.3% 였으며, 메탄올 추출물에서는 0.89%, 0.15%, 0.09% 및 0.23% 였고, 에탄올 추출물에서는 0.75%, 0.09%, 0.04% 및 0.2%로 나타났다(Table 2). 대부분의 식물체에서 폴리페놀 함량이 플라보노이드보다 많이 함유되어 있으면서 대체로 폴리페놀 함량이 많은 식물이 플라보노이드의 함량도 많이 함유하고 있는데, 가시오가피 잎의 폴리페놀 함량과 플라보노이드 함량이 다른 뿌리, 줄기, 열매보다 많이 함유하고 있는 것도 이들 결과와 일치하였다[17].

#### DPPH free radical에 의한 전자공여 활성

DPPH는 비교적 안정한 free radical로써 식물 추출물의 항산화 활성을 간단히 측정할 수 있는 동시에 실제 항산화 활성과도 연관성이 매우 높기 때문에 많이 이용되고 있다[6].

본 연구 결과에서는 가시오가피 잎, 뿌리, 줄기, 열매의 용매별 추출물의 DPPH free radical scavenging 활성은 시료의 처리 농도 증가와 함께 활성도 증가되는 경향을 보였다(Fig. 1) 이 중 뿌리의 에탄올 추출물 및 메탄올 추출물 0.5%에서 각각 93.15% 및 94.09%로 매우 높은 활성을 나타내었고, 잎에서는 에탄올 추출물과 메탄올 추출물 0.5%에서 각각 85.16%, 87.79%의 높은 활성이 나타났으며, 줄기 추출물에서도 에탄올 추출물과 메탄올 추출물 0.5%에서 각각 80.18%, 88.96%로 나타났다. 이는 대부분 식물 추출물에서 폴리페놀 함량이 높을수록 항산화 활성이 높다고 하는 결과와 일치하지 않았다[17]. 그러나 가시오가피 열매의 수용성 추출물이 에탄올 추출물과 메탄올 추출물보다 항산화 활성이 높은 것으로 나타났다. 이때 대조구로 사용된 시판 합성 항산화제인 BHT 0.05% 처리에 의해서는 91.05%로 항산화 활성이 높았다. 이상의 결과에서 가시오가피 잎, 뿌리, 줄기 및 열매의 항산화 활성은 추출 용매의 차이에 의해 영향을 받는 것으로 나타났다.

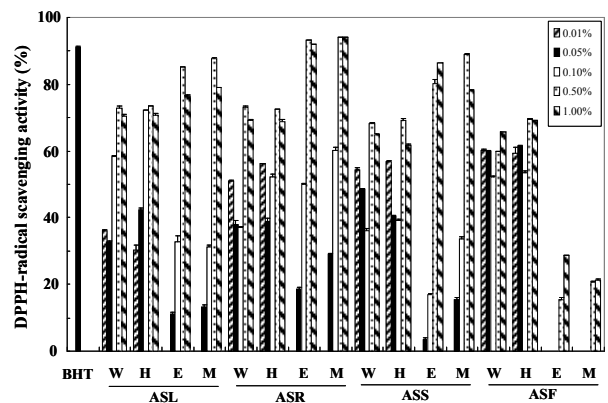


Fig. 1. DPPH radical scavenging activities of water (W), hot water (H), ethanol (E), and methanol (M) extracts from *Acanthopanax senticosus* leaf (ASL), root (ASR), stem (ASS) and fruit (ASF). BHT: butylated hydroxytoluene (0.05%); Values are mean±SD, n=3.

#### 미네랄 함량

가시오가피 잎, 뿌리, 줄기 및 열매의 미네랄 함량을 측정하는 결과는 Table 3과 같다. 미네랄 성분 조성 비율을 보면 전체적으로 가시오가피 잎, 뿌리, 줄기와 열매에서 K이 각각 1195, 3040, 2343.3, 1479.3 mg/100 g으로 뿌리에 가장 많이 함유되어 있었으며, 다음으로 Ca이 1344.3, 43.7, 367.2, 46.5 mg/100 g으로 잎에서 가장 많이 함유되어 있었다. 나머지 Mg, Mn, Fe, Zn, Na은 소량 함유되어 있었다.

#### 환원력 효과

Fe 또는 Cu 환원력에 의한 항산화 반응은 수소 원자를 제공하는 유리 라디칼의 연쇄 반응이며, 또한 과산화 반응에서 일정한 전구물질과 반응하여 과산화 물질의 형성을 방해하는데, 플라보노이드 화합물은 이 안정된 생성물로 이들을 전환시키기 위하여 유리기와 반응하거나 전자를 공여함으로써 환원과 같은 유사한 형태에서 반응하고 유리라디칼 연쇄반응을 종료하는 것으로 알려져 있다[13]. 환원력 효과는 반응 물질의 흡광도 수치가 높을수록 환원력의 세기가 높다는 것을 나타내는데 대부분이 농도 의존적으로 환원력도 증가하는 경향이 보였지만 일부에서 높은 농도에서 감소하는 경향

Table 3. Mineral contents in *Acanthopanax senticosus* leaf (ASL), root (ASR), stem (ASS) and fruit (ASF)

	Mineral contents (mg/100 g dry wt)			
	ASL	ASR	ASS	ASF
Potassium	1195.00±1.37	3040.00±0.58	2343.30±1.20	1479.30±0.41
Calcium	1344.30±16.86	43.70±0.03	367.20±0.05	46.50±0.04
Magnesium	350.00±0.58	89.70±0.03	84.30±0.07	143.30±0.33
Manganese	103.50±0.03	22.80±0.08	45.30±0.05	19.90±0.02
Iron	16.80±0.00	20.90±0.00	6.40±0.01	0.00±0.00
Zinc	4.00±0.01	1.50±0.00	2.90±0.00	1.30±0.00
Sodium	1.90±0.00	1.30±0.00	1.40±0.00	0.60±0.00

Values are mean±SD, n=3.

이 있었다. 이는 오히려 높은 농도가 되면 반응을 저해하는 효과가 있을 것이라 사료된다. 본 연구결과에서 Fe-환원력은 가시오가피 잎의 0.5%에서 에탄올 추출물이 2.006로 열수 추출물, 온수 추출물, 메탄올 추출물 보다 높게 나왔으며, 뿌리에서는 온수 추출물이, 줄기에서는 열수 추출물, 열매에서는 온·열수에서 높게 나왔다. 잎을 제외하고는 뿌리, 줄기, 열매에서 수용성에서 높은 환원력이 나타난 것을 알 수 있다. 이는 추출물 중에 함유된 폴리페놀 화합물 및 플라보노이드 함량과 밀접한 관계를 보였다(Fig. 2). 하지만 Cu-환원력의 경우에는 조금 다른 양상을 보였다. Cu-환원력에서는 에탄올 추출물과 메탄올 추출물이 수용성 추출물보다 더 높은 환원력을 나타내었다. 그리고 잎, 뿌리, 줄기 및 열매가 골고루 높은 환원력을 나타내었다(Fig. 3).

간장 microsome의 지질 과산화 억제활성

지질 과산화 반응은 여러 가지 독성 화학물이나 약물 또는 당뇨병 등 생체 이상에 의해 간세포에 중대한 손상을 입히는 것으로 알려져 있다[24]. 이러한 기전은 조직 내 세포의 산화적 스트레스 증가 또는 항산화적 방어력의 감소로 인해 일어나게

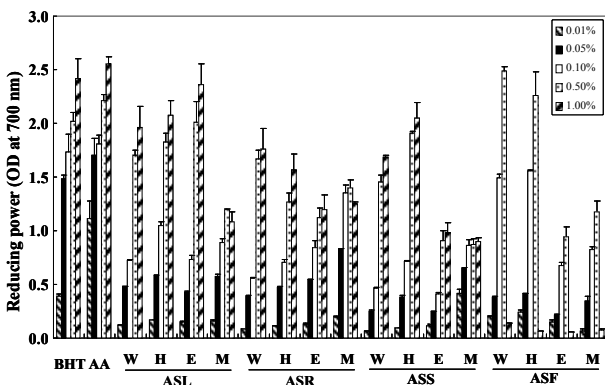


Fig. 2. Fe-Reducing power of water (W), hot water (H), ethanol (E), and methanol (M) extracts from *Acanthopanax senticosus* leaf (ASL), root (ASR), stem (ASS) and fruit (ASF). BHT: butylated hydroxytoluene; AA: ascorbic acid; Values are mean±SD, n=3.

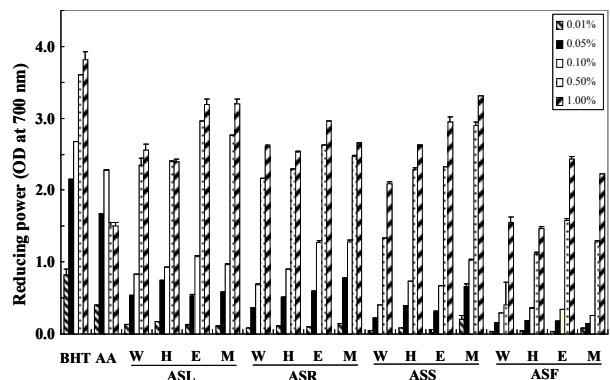


Fig. 3. Cu-Reducing power of water (W), hot water (H), ethanol (E), and methanol (M) extracts from *Acanthopanax senticosus* leaf (ASL), root (ASR), stem (ASS) and fruit (ASF). BHT: butylated hydroxytoluene; AA: ascorbic acid; Values are mean±SD, n=3.

되며, 생체 내에서 퇴행성 과정을 거쳐 질환을 유발하거나 노화를 촉진 시키는 원인으로 알려져 있어[25], 생체 내에서 지질 과산화물의 제어는 매우 중요하다. 동물 체내에서 생체막 지질의 과산화물 생성 정도를 나타내는 TBARS 함량은 각 조직 세포의 microsome에 Fe<sup>++</sup>/ascorbate을 첨가하여 비효소적으로 유도하는데[29], 가시오가피 잎, 뿌리, 줄기 및 열매의 용매별 추출물이 농도 의존적으로 매우 높은 지질 과산화 억제활성을 나타내었다. 전반적으로 수용성, 에탄올, 메탄올 추출물 모두에서 높은 활성을 나타내었는데, BHT 0.05%가 85.25%의 활성을 나타내었고, 잎과 줄기의 에탄올 추출물이 같은 농도에서 각각 76.32%, 73.53%로 나타나 높은 지질 과산화 억제활성을 나타내었다(Fig. 4).

불포화 지방산 linoleic acid 산화 실험계를 이용한 항산화 활성

불포화 지방산인 linoleic acid를 이용한 thiocyanate 방법으로 가시오가피 잎, 뿌리, 줄기 및 열매의 용매별 추출물의 항산화 활성을 측정된 결과는 Fig. 5와 같다. 반응 7일째에 대조구에 대한 상대 활성으로 나타난 결과는 가시오가피 잎 추출물

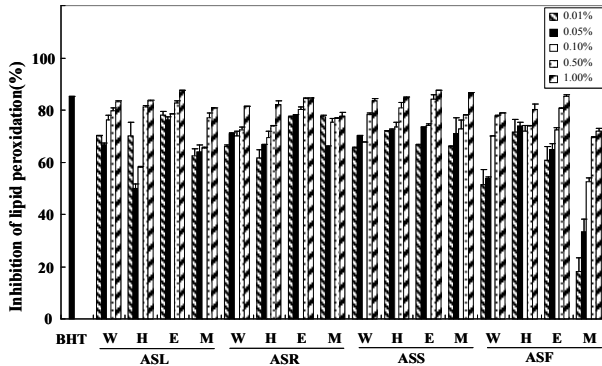


Fig. 4. Antioxidant activities of water (W), hot water (H), ethanol (E), and methanol (M) extracts from *Acanthopanax senticosus* leaf (ASL), root (ASR), stem (ASS) and fruit (ASF) on lipid peroxidation using rat liver homogenate as measured by TBARS method. BHT: butylated hydroxytoluene (0.05%); Values are mean±SD, n=3.

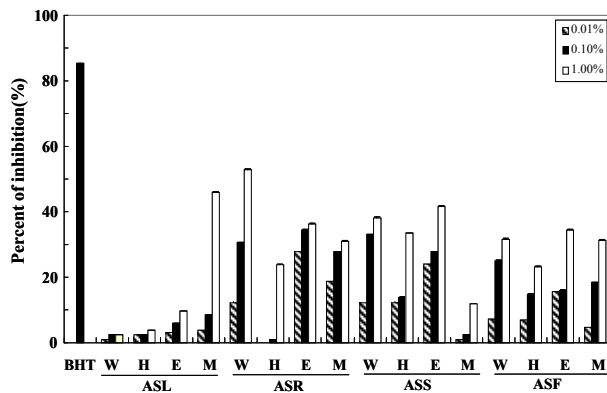


Fig. 5. Antioxidant activities of water (W), hot water (H), ethanol (E), and methanol (M) extracts from *Acanthopanax senticosus* leaf (ASL), root (ASR), stem (ASS) and fruit (ASF) on linoleic acid oxidation as measured by the ferric thiocyanate method. BHT: butylated hydroxytoluene (0.05%); Values are mean±SD, n=3.

1% 처리 시 메탄올 추출물에서 약 45%로 가장 높은 저해율을 보였고, 에탄올, 열수, 운수 추출물 순으로 저해 활성을 보였다. 가시오가피 뿌리 추출물에서는 1% 처리 시 운수 추출물이 약 52%로 가장 높은 저해율을 보였고, 에탄올, 메탄올, 열수 추출물 순으로 저해율을 보였다. 나머지 뿌리, 줄기 추출물에서 1% 처리 시 에탄올 추출물이 가장 높은 저해율을 보였고, 열수, 운수, 메탄올 추출물 순으로 저해율을 보였다. 이들에 비해 대조구로 사용된 시판 합성 항산화제인 BHT는 약 85%의 높은 항산화 활성을 보였다.

불포화 지방산인 linoleic acid를 이용한 TBA법으로 가시오가피 잎, 뿌리, 줄기 및 열매의 용매별 추출물의 항산화 활성을 측정된 결과는 Fig. 6과 같다. 가시오가피 잎 추출물은 열수

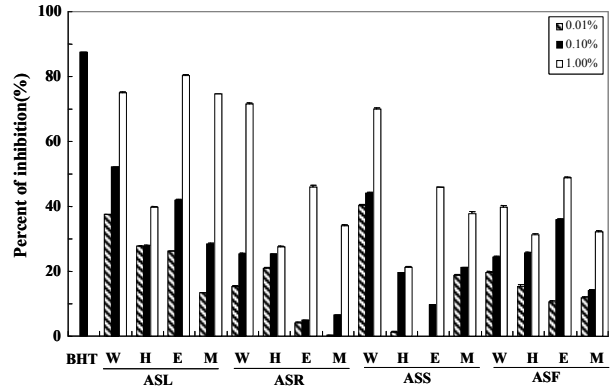


Fig. 6. Antioxidant activities of water (W), hot water (H), ethanol (E), and methanol (M) extracts from *Acanthopanax senticosus* leaf (ASL), root (ASR), stem (ASS) and fruit (ASF) on lipid peroxidation as measured by ferric TBA method. BHT: butylated hydroxytoluene (0.05%); Values are mean±SD, n=3.

추출물을 제외한 나머지 추출물에서 약 70% 이상의 높은 저해 활성을 보였으며, 가시오가피 뿌리 추출물은 잎 추출물 보다 조금 못한 70% 이하의 활성을 보였다. 가시오가피 줄기 추출물 중 열수 추출물은 약 70%의 저해율을 보였지만 나머지 추출물은 약 50% 이하의 저해율을 보였다. 가시오가피 열매 추출물은 모든 용매에서 약 50% 이하의 낮은 저해율을 보였다. 이때 대조구로 사용된 시판 합성 항산화제인 BHT는 약 87%의 높은 항산화 활성을 보였다.

Tyrosinase 활성

멜라닌은 피부, 머리카락, 눈동자 등 생물체에 널리 분포되어 있는 색소 성분으로 인체 내에서는 표피층의 멜라노사이트라는 색소세포 내의 멜라노솜에서 합성되는데, tyrosine을 시발 물질로 하여 tyrosinase 효소에 의해 DOPA (3,4-dihydroxy-phenylalanine) 또는 DOPA 퀴논으로 산화 및 중합 반응에 의해 멜라닌이 만들어 진다[28]. 이때 생성되는 멜라닌이 자외선과 같은 피부자극에 대해 저항력을 높여주지만, 과도한 멜라닌 생성은 기미, 주근깨, 검버섯과 같은 색소 침착과 피부 손상을 일으키는데, 이때 피부 미백효과를 측정하는 하나의 지표로 tyrosinase 활성을 측정하고 이를 효과적으로 저해하는 생리활성물질을 탐색하는 것은 화장품산업에서 매우 중요한 부분이다. 본 연구결과에서 대조구로 사용된 kojic acid는 87.12%로 높은 tyrosinase 저해활성을 나타내었다. 가시오가피 잎, 뿌리, 줄기 및 열매에서는 뿌리의 메탄올 추출물이 50.06%로 비교적 높은 tyrosinase 저해활성을 나타내었고, 나머지 추출물에서는 운수가 28.84%, 열수가 25.25%, 에탄올이 32.84%로 나타났다. 그 외 잎에서는 열수 추출물이 28.17%, 줄기에서는 운수 추출물이 24.44%, 열매에서는 에탄올 추출물이 41.65%로 용매별로 골고루 나타났다(Fig. 7). 이는 멜라노마

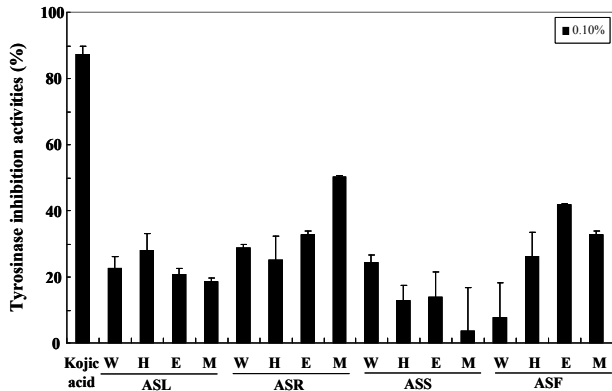


Fig. 7. Tyrosinase inhibition activities of water (W), hot water (H), ethanol (E) and methanol (M) extracts from *Acanthopanax senticosus* leaf (ASL), root (ASR), stem (ASS) and fruit (ASF). Values are mean±SD, n=3.

세포 증식과 멜라닌 생합성을 억제시키는 대표적인 화합물 중에 페놀성 화합물, flavonoid, albutin, glycolic acid, kojic acid, pentadecenoic acid, ferulic acid, isoflavonoids 등이 제시되고 있는데[18], 이러한 화합물이 여러 용매에서 다양하게 추출되어 나왔기 때문이라 사료된다.

이상의 연구에서 가시오가피 잎에서는 총 폴리페놀 화합물 함량과 플라보노이드 함량이 높았고 그에 따라 Fe/Cu reducing power 또한 높았다. 그리고 잎에서 간장 microsome의 지질 과산화 억제활성과 thiocyanate법 및 TBA법에 의한 지질 과산화 저해율 정도를 봤을 때 비교적 높은 항산화 활성이 있었다. 뿌리에서는 DPPH free radical scavenging 활성, tyrosinase 저해활성이 높았다. 이상의 실험결과를 바탕으로 가시오가피는 잎을 비롯하여 나머지 뿌리, 줄기 및 열매 모두 비교적 높은 생리활성 물질과 항산화 효과를 나타내어 한방 약재나 건강 기능성식품 원료로 모두 사용될 수 있을 것으로 사료되어 진다.

감사의 글

본 연구는 농림수산식품부 Medi-Farm 산업화 연구사업단 연구비 지원에 의해 이루어졌습니다.

References

1. A.O.A.C. 1975. Official methods of analysis. 12th eds., Association of official analytical chemists. Washington, D.C., U.S.A.
2. Afanaseva, T. N. and N. P. Lebkova. 1987. Effect of *Eleutherococcus* on the subcellular structures of the heart in experimental myocardial infarct. *Biull. Eksp. Biol. Med* **103**, 212-215.
3. Blois, M. S. 1958. Antioxidant determination by the use of

- a stable free radical. *Nature* **26**, 1199-1204.
4. Brekhman, I. I. 1975. Ancient ginseng and pharmacology of the future. *Symposium of Gerontology*, April 9-12, Lugano. 1-12.
5. Cha, J. Y. and Y. S. Cho. 1999. Effect of potato polyphenolics on lipid peroxidation in rats. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* **28**, 1131-1136.
6. Cha, J. Y., H. J. Kim, C. H. Chung, and Y. S. Cho. 1999. Antioxidative activities and contents of polyphenolic compound of *Cudrania tricuspidata*. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* **28**, 1310-1315.
7. Cha, J. Y., H. Y. Ahn, K. E. Eom, B. K. Park, B. S. Jun, and Y. S. Cho. 2009. Antioxidative activity of *Aralia elata* shoot and leaf extracts. *J. Life Sci.* **19**, 652-658.
8. Cha, J. Y., Y. S. Cho, I. Kim, T. Anno, S. M. Rahman, and T. Yanagita. 2001. Effect of hesperetin, a citrus flavonoid, on the liver triacylglycerol content and phosphatidate phosphohydrolase activity in orotic acid-fed rats. *Plant Foods Human Nutr.* **56**, 349-358.
9. Dardymov, I. V., G. N. Bezdetko, and I. I. Brekhman. 1972. Incorporation of phosphorus-32 into rat liver RNA during physical exercise and under the effect of glycosides from *Eleutherococcus senticosus*. *Vop. Med. Khim* **18**, 267-269.
10. Duncan, D. B. 1959. Multiple range and multiple F test. *Biometrics* **1**, 1-42.
11. Ferrando, A, L. Vila, J. A. Voces, A. C. Cabrol, A. I. Alvarez, and J. G. Prieto. 1999. Effects of ginseng extract on various haematological parameters during aerobic exercise in the rat. *Planta Med* **65**, 288-290.
12. Glatthaar-Saamuller, B., F. Sacher, and A. Esperester. 2001. Antiviral activity of an extract derived from root *Eleutherococcus senticosus*. *Antiviral Res.* **50**, 223-228
13. Jayaprakasha, G. K., R. P. Singh, and K. K. Sakariah. 2001. Antioxidant activity of grape seed (*Vitis vinifera*) extracts on peroxidation models *in vitro*. *Food Chem* **73**, 285-290.
14. Jia, Z., M. Tang, and J. Wu. 1999. The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. *Food Chem* **64**, 555-559.
15. Johnson, J. E., R. Walford, D. Harma, and J. Miquel. 1986. In 'Free radicals, aging and degenerative disease', Alen R. Liss, N.Y.
16. Kim, C. W. and H. Y. Lee. 1990. Studies on the constituents of seeds of *Acanthopanax senticosus* for inermis Harms. *Korean J. Pharmacogn.* **21**, 235-238.
17. Kim, E. Y., I. H. Baik, J. H. Kim, S. R. Kim, and M. R. Rhyu. 2004. Screening of the antioxidant activity of some medicinal plants. *Korean J. Food Sci. Technol.* **36**, 333-338.
18. Kim, S. J., M. Y. Heo, K. H. Bae, S. S. Kang, and H. P. Kim. 2003. Tyrosinase inhibitory activity of plant extract (III): Fifty Korean indigenous plants. *J. Applied Pharmacol.* **11**, 245-248.
19. Ko, S. K., J. S. Kim, Y. E. Choi, S. J. Lee, K. S. Park, and S. H. Chung. 2002. Anti-diabetic effects of mixed water extraction from Ginseng *Radix rubra acanthopanaxis* cortex and cordyceps. *Korean J. Pharmacogen.* **33**, 337-342.
20. Lee, J. J., A. R. Kim, Y. N. Seo, and M. Y. Lee. 2009.

- Comparison of physicochemical composition of three species of genus *Angelica*. *Korean J. Food Preserv.* **16**, 94-100.
21. Masamoto, Y., H. Ando, Y. Murata, Y. Shimoishi, M. Tada, and K. Takahata. 2003. Mushroom tyrosinase inhibitory activity of esculetin isolated from seeds of *Euphorbia lathyris* L. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* **67**, 631-634.
  22. Oh, S. L., S. S. Kim, B. Y. Min, and D. H. Chung. 1990. Composition of free sugars, free amino acids, non-volatile organic acids and tannins in the extracts of *L. chinensis* M., *A. acutiloba* K., *S. chinensis* B. and *A. sessiliflorum* S. *Korean J. Food Sci. Technol.* **22**, 76-81.
  23. Ohkawa, H., N. Ohishi, and K. Yagi. 1979. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Anal. Biochem.* **95**, 351-358.
  24. Plaa, G. L. and H. Witschi. 1976. Chemicals, drugs and lipid peroxidation. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* **16**, 125-131.
  25. Saito, M. 1988. Interaction between lipid peroxide formation and nutritional status. *J. Jpn. Soc. Nutr. Food Sci.* **41**, 343-349.
  26. Swain, T., W. E. Hillis, and M. Oritega. 1959. Phenolic constituents of *Ptunus domestica*. I. Quantitative analysis of phenolic constituents. *J. Sci. Food Agric.* **10**, 83-88.
  27. Szolomicki, J., L. Samochowies, M. W. J. Drozdziak, and S. Szolomicki. 2000. The influence of active components of *Eleutherococcus senticosus* on cellular defense and physical fitness in man. *Phytother. Res.* **14**, 30-35.
  28. Vile, G. F. and R. M. Tyrrell. 1995. UVA radiation-induced oxidative damage to lipid and protein *in vitro* and in human skin fibroblast is dependent on iron and singlet oxygen. *Free Radical Biol. Med.* **18**, 721-730.
  29. Wong, S. F., B. Holliwell, R. Richmond, and W. R. Skowronek. 1981. The role of superoxide and hydroxyl radical in the degradation of hyaluronic acid induced by metal ions and by ascorbic acid. *J. Inorganic. Biochem.* **14**, 127-134.
  30. Yang, H. J., E. M. Kim, and K. S. Jang. 2008. Identification of the polyacetylenes extracted from *Acanthopanax Senticosus* by petroleum ether. *J. Agri. Sci.* **35**, 11-17.
  31. Zhu, Q. V., R. M. Hackman, X. X. Jodilensunsa, R. R. Holt, and C. L. Keen. 2002. Antioxidative activities of Oolong tea. *J. Agric. Food Chem.* **50**, 6229 - 6234.

#### 초록 : 가시오가피 잎 · 뿌리 · 줄기 · 열매 추출물의 이화학적 특성 및 항산화 효과

허수진<sup>1</sup> · 안희영<sup>1</sup> · 강민정<sup>1</sup> · 이재홍<sup>1</sup> · 차재영<sup>2</sup> · 조영수<sup>3\*</sup>

(<sup>1</sup>동아대학교 대학원 의생명과학과, <sup>2</sup>대선주조(주) 기술연구소, <sup>3</sup>동아대학교 생명공학과)

가시오가피 잎, 뿌리, 줄기 및 열매의 수용성, 에탄올 및 메탄올 추출물의 생리활성 물질 분석과 항산화 활성 (DPPH free radical scavenging 활성, Cu/Fe-환원력, 간 조직 microsomal 생체막 및 linoleic acid 과산화지질, Tyrosinase 저해활성)을 측정 하였다. 가시오가피 잎의 열수 추출물에서 추출 수율 16.04%, 폴리페놀 화합물 함량 2.67% 및 플라보노이드 함량 1.43%로 가장 높았다. 가시오가피 잎, 뿌리, 줄기 및 열매의 주요 미네랄은 K, Ca 및 Mg 이었다. DPPH free radical scavenging 활성, Cu/Fe-환원력, 간 조직 microsomal 생체막 및 linoleic acid의 과산화 지질 측정에 의한 항산화 활성은 가시오가피 잎, 뿌리, 줄기 및 열매 모두에서 나타났으며, 시료 처리 농도 의존적으로 활성이 증가되는 것으로 나타났다. 이상의 실험 결과에서 가시오가피 잎, 뿌리, 줄기 및 열매 모두에서 높은 항산화 활성이 있었으며, 이는 폴리페놀 화합물과 플라보노이드와 같은 생리활성 성분을 많이 함유하고 있는 것과 깊은 관련성이 있는 것으로 향후 건강기능식품이나 기능성화장품의 천연 항산화제 소재 개발 관련 연구의 기초자료로 활용될 수 있을 것으로 사료되어 진다.