

Comparative Radical Scavenging and Nitric Oxide Production Capacity of Water Extracts of *Acanthopanax divaricatus* var, *Albeofructus* and *Eleutherococcus divaricatus* var. *Chiisanensis*

Dong-Min Kim · Bora Jin · Ji Yeon Kim*

지리산오가피와 흰털오가피 열수추출물의 라디칼 제거 활성 및 대식세포에서의 산화질소 생성능 비교

김동민 · 진보라 · 김지연*

Received: 9 April 2014 / Accepted: 10 July 2014 / Published Online: 31 December 2014
© The Korean Society for Applied Biological Chemistry 2014

Abstract In the present study, water extracts of *Acanthopanax divaricatus* var, *albeofructus* and *Eleutherococcus divaricatus* var. *chiisanensis* were prepared and their antioxidant and anti-inflammatory effects were compared. The water extract of *Acanthopanax divaricatus* var, *albeofructus* showed significantly higher activity in total polyphenol and flavonoid contents, while there were no significant differences in ABTS/DPPH radical scavenging activities and ferric reducing antioxidant power. However, the water extract of *Eleutherococcus divaricatus* var. *chiisanensis* at the highest dose showed significantly lower capacity in nitric oxide production than that of *Acanthopanax divaricatus* var, *albeofructus*. Taken together, there were differences between *Acanthopanax divaricatus* var, *albeofructus* and *Eleutherococcus divaricatus* var. *chiisanensis* in total polyphenol/flavonoid contents and anti-inflammatory effect, however, the antioxidant effect was almost similar.

Keywords *Acanthopanax divaricatus* var. · *albeofructus* · anti-inflammatory effect · antioxidant · *Eleutherococcus divaricatus* var. *chiisanensis*

D.-M. Kim · B. Jin · J. Y. Kim
Department of Food Science and Technology, Seoul National University of Science and Technology, Seoul, 139-743, Republic of Korea

*Corresponding author (J. Y. Kim: jjiyeonk@seoultech.ac.kr)

This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0/>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

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 (Dotan 등, 2004). 이러한 산화적 손상을 억제 할 수 있는 플라보노이드나 폴리페놀을 비롯한 다양한 천연물 유래의 항산화 물질에 대한 연구가 활발히 전개되고 있다. 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 식용식물을 충분히 섭취하게 되면 노화방지 및 심혈관질환과 같은 성인성 만성질환의 예방과 개선에 도움이 되는 것으로 보고되고 있다(Cha 등, 2001).

유용 식물자원으로 두릅나무과에 속하는 오가피는 식물분류학상 인삼과 같이 오가피과에 속하는 다년생 낙엽 활엽 관목으로 일명 시베리아 인삼이라 불린다(Lim 등, 2007). 지리산과 치악산, 태백산 등의 표고 900 m 내외의 심산계곡에서 자라고 높이는 2–3 m 정도이며, 일본과 중국, 러시아에 분포되어 있고 성상은 다른 오가피에 비교하여 가시가 줄기 전체에 가늘게 털어난 것처럼 많이 있는 것이 특징이다(Li 등, 2002). 오가피 추출물은 한방에서 오랫동안 사용되어 왔던 약재 중의 하나로 다양한 연구가 최근까지 계속해서 수행되어 오면서 약리학적 또는 생리학적으로 의미 있는 연구 결과들이 보고되고 있다(Ko 등, 2002). 오가피 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(Kim과 Lee, 1990). 오가피의 기능성은 광범위하고(Zhao 등, 1999), 계절에

따른 차이가 적다는 사실이 알려져 있다(Dardymov 등, 1972). 이와 같은 특징은 채취시기 등을 고려하였을 때 재료식품의 공급이 까다롭지 않다는 장점을 나타내는 것으로 판단된다. 현재 보고된 기능성은 혈당강하(Ko 등, 2002), 체내 지질대사 개선(Szolomicki 등, 2000), 항바이러스 활성(Glatthaar-Saamuller 등, 2001), 심근경색치료 효과(Afanaseva 등, 1987), 항산화체계 강화(Ferrando 등, 1999) 기능 등이다. 하지만 주로 오가피의 근피나, 줄기, 잎, 열매, 뿌리 등 부위에 따라 추출된 것에 한정되어 있고(Heo 등, 2011) 재배 지역의 차이 및 오가피 종간의 차이에 대한 연구는 찾아보기 힘들다. 따라서 본 연구에서는 토종 오가피로 알려진 여러 오가피 중 국내에서 많이 섭취하고 있는 지리산오가피(*Eleutherococcus divaricatus* var. *chiisanensis*)와 흰털오가피(*Acanthopanax divaricatus* var. *albeofructus*) 두 종의 오가피의 항산화능과 항염증 활성을 비교하여 두 오가피 종의 차이를 확인하고자 하였다.

지리산오가피와 흰털오가피는 (주)생명의 나무(Korea)에서 제공받았다. 지리산오가피와 흰털오가피는 뿌리와 줄기를 1:4의 비율로 사용하였다. 오가피에 함유되어 있는 기능성분으로 알려진 *acanthoside D*는 낮은 농도의 ethanol에서 유의하게 높은 추출 효율을 보이는 것으로 연구된 바 있다(Lee 등, 2011). 따라서 본 연구에서는 건강기능식품 소재로의 산업화 개발이 용이하고 수용성 기능성분을 잘 추출할 수 있는 열수추출을 적용하여 지리산오가피와 흰털오가피 시료를 준비하였다. 항산화능을 비교하기 위해서는 총 폴리페놀 함량, 총 플라보노이드 함량, ABTS 라디칼 소거능, DPPH 라디칼 소거능, FRAP 방법을 이용하였고, 항염증 활성을 측정하기 위해서는 Raw 264.7 (Macrophage from blood of mouse, Korea cell line bank, Korea)를 lipopolysaccharide (LPS)로 자극하여 생산되는 nitric oxide (NO)의 함량을 정량하여 비교하였다. 모든 실험은 3회 반복으로 실시한 평균과 표준편차로 나타내었으며, 각 실험결과에 대한 통계분석은 SPSS 20.0 (Statistical Package for Social, SPSS Inc., USA) software를 이용하여 one-way ANOVA 방법으로 분석하였고 유의적 차이가 있는 항목에 대해서 Duncan's multiple range test로 $p < 0.05$ 수준에서 유의차 검정을 실시하였다.

지리산오가피와 흰털오가피의 총 폴리페놀 함량과 플라보노이드 함량을 분석 한 결과는 Table 1과 같다. 지리산오가피와 흰털오가피의 총 폴리페놀 함량은 각각 47.91 ± 3.38 mg/g과 55.65 ± 3.36 mg/g으로 흰털오가피가 유의하게 높았고 ($p < 0.05$), 플라보노이드 함량 역시 각각 53.44 ± 1.34 mg/g과 58.45 ± 2.00 mg/g으로 흰털오가피가 유의하게 높았다($p < 0.05$). 본 연구에서 사용한 종은 아니지만 오가피(*Acanthopanax sessiliflorum* Seeman)의 부위별로 폴리페놀 함량을 비교한 연구(Choi 등, 2011)에 의하면 오가피 뿌리에 가장 많은 폴리페놀이 함유되어 있고 줄기에는 100 g 당 150 mg, 열매에는 100 g 당 약 50 mg의 폴리페놀이 함유되어 있다고 보고되어 있다. 본 연구결과에서는 총 폴리페놀 함량이 100 g 당 지리산오가피에는 4.8 g, 흰털오가피에는 5.8 g 정도 함유되어 있는 것으로 나타났으며 이는 열수추출에 의해 수용성 폴리페놀 성분이 다량 농축되었기 때문에 나타

나는 차이라고 판단된다.

ABTS는 양이온 라디칼(cation radical)로 유리기(hydroxyl, peroxy, alkoxy)들과 반응하여 상대적으로 안정한 ABTS^{•+}를 형성한다. 항산화 물질과 반응하여 청록색이 탈색되어 흡광도 값을 변화시켜 항산화능을 측정할 수 있다(Kim 등, 2014). 농도에 따른 흰털, 지리산오가피의 라디칼 소거능을 측정한 결과는 Fig. 1A와 같다. 흰털, 지리산오가피 모두 농도 의존적으로 ABTS radical 소거능을 보이는 것으로 나타났다. 1000, 125, 62.5 µg/mL의 농도에서는 흰털오가피의 ABTS radical 소거능이 높은 것으로 나타났고, 500, 250 µg/mL의 농도에서는 지리산오가피의 ABTS radical 소거능이 높은 것으로 나타났으나 그 차이가 1000, 125, 62.5 µg/mL에서 각각 0.72, 3.82, 5.62의 차이로 흰털오가피가 높았고, 500, 250 µg/mL에서는 각각 7.65, 0.96의 차이로 지리산오가피가 높은 것으로 나타났다. 하지만 이들 차이는 매우 근소한 차이로 흰털오가피와 지리산오가피의 ABTS 라디칼 소거능에는 차이가 거의 없는 것으로 판단된다. 활성 라디칼인 DPPH는 ascorbic acid, tocopherol 등과 같은 항산화제에 의해 환원되어 탈색이 되는 성질을 이용하여 식물 추출물의 항산화 효과를 확인하는데 널리 사용되고 있다(Cheng 등, 1998). 농도에 따른 흰털, 지리산오가피의 DPPH 라디칼 소거활성을 측정한 결과는 Fig. 1B와 같다. ABTS 라디칼 소거능 결과와 마찬가지로 DPPH 라디칼 소거능도 농도가 높아짐에 따라 소거활성이 높은 것으로 나타났다. DPPH 라디칼 소거능에서도 각 농도별로 흰털, 지리산오가피의 소거능에 유의한 차이가 없이 동일한 효과를 보이는 것으로 나타났다. 항산화능을 확인하는 방법 중의 하나인 환원력은 철 이온을 Fe⁺⁺⁺에서 Fe⁺⁺로 환원시키는 강도가 클수록 환원력, 즉 항산화능이 강하다고 판단하며 발색의 정도로 측정할 수 있다(Yildirim 등, 2011). 농도에 따른 흰털, 지리산오가피의 환원력을 분석 한 결과는 Fig. 1C와 같다. ABTS와 DPPH를 이용한 라디칼 소거능에서와 마찬가지로 흰털, 지리산오가피의 농도가 높을수록 항산화능이 높은 것으로 나타났으며, 1000, 500 µg/mL 농도에서 흰털오가피의 항산화능이 높은 것으로 나타났다. 총 폴리페놀 함량 및 플라보노이드 함량과 비교해볼 때 흰털오가피의 총 폴리페놀 함량이 유의하게 높았으며, 이는 FRAP 결과와 일치하는 경향을 보이는 것으로 판단된다. 하지만 고농도에서 보이는 FRAP 값의 차이는 매우 근소한 차이이며, 또한 비교적 낮은 농도인 250, 125, 62.5 µg/mL의 농도에서는 흰털, 지리산오가피의 FRAP 값에 유의한 차이가 없는 것으로 나타나, 비록 지리산오가피가 흰털오가피에 비해 총 폴리페놀 및 플라보노이드를 유의하게 많이 함유하고 있다고 하더라도, 항산화 활성에는 차이가 없는 것을 알 수 있었다.

NO는 정상적인 상태에서는 nitric oxide synthase에 의하여 L-arginine으로부터 생성되어 체내 방어기능, 신호전달, 혈관확장 등의 다양한 기능을 수행하나 NO의 생성량이 정상 이상으로 지속적으로 상승되어 산소와 결합한 proxynitrite (ONOO-)가 생성되면 세포와 조직에 산화적 손상을 주게 된다(Epe 등, 1996; Bordan, 2001). Raw 264.7 cell line에 LPS를 이용하여 과도한

Table 1 Total polyphenol and flavonoid contents for water extract of *Acanthopanax divaricatus* var. *albeofructus* and *Eleutherococcus divaricatus* var. *chiisanensis*

	Total Polyphenol(mg/g)	Total Flavonoid(mg/g)	p-value
<i>Acanthopanax divaricatus</i> var. <i>albeofructus</i> water extract	55.65±3.36	58.45±2.00	$p < 0.05$
<i>Eleutherococcus divaricatus</i> var. <i>chiisanensis</i> water extract	47.91±3.39	53.44±1.34	$p < 0.05$

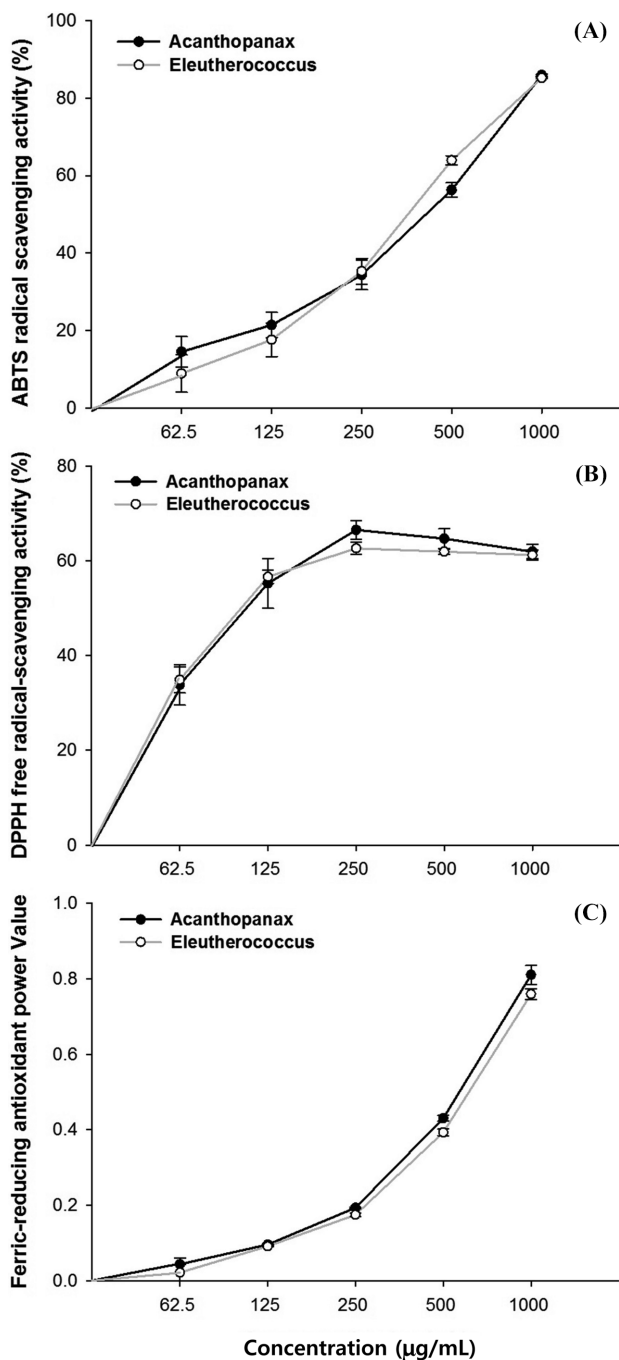


Fig. 1 Antioxidant activities of water extracts of *Acanthopanax divaricatus* var. albofructus and *Eleutherococcus divaricatus* var. chiisanensis. (A) ABTS radical scavenging activities, (B) DPPH free radical scavenging activities, (C) Ferric-reducing antioxidant power value.

염증을 유발하게 되면 NO의 생성량이 증가하는 것을 볼 수 있다. 지리산오가피와 흰털오가피를 미리 Raw 264.7 cell line에 처리한 후 LPS로 염증을 유발한 결과 낮은 농도에서는 NO 생성능 저해가 유의하지만 30%정도 밖에는 보이지 않았으나 높은 농도에서는 50% 이상의 NO 생성능 저해를 확인할 수 있었

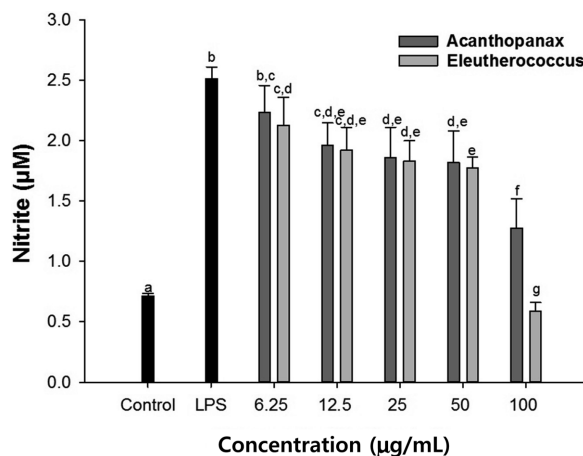


Fig. 2 Anti-inflammatory activity of water extracts of *Acanthopanax divaricatus* var. albofructus and *Eleutherococcus divaricatus* var. chiisanensis. Raw264.7 cells, pre-treated with the water extracts of *Acanthopanax divaricatus* var. albofructus and *Eleutherococcus divaricatus* var. chiisanensis for 24 h, were stimulated with LPS for 48 h, and then nitric oxide was quantified. Different letters on bars mean significant differences tested by Duncan's multiple range ($p < 0.05$).

다. 특히 지리산오가피는 가장 높은 농도인 100 µg/mL 처리 시 75% 정도의 NO 생성능을 저해하였다(Fig. 2).

이상으로 본 연구에서는 국내에서 유통되는 오가피종 중 건강기능식품 개발 소재로 많이 사용되는 지리산오가피와 흰털오가피의 항산화, 항염증 활성을 비교해보았다. 비록 두 오가피종의 학명이 다르고 총 폴리페놀과 플라보노이드 함량에 차이가 있으나 항산화 활성은 거의 유사한 것으로 판단된다. 하지만 고농도 추출물에서는 지리산오가피가 우세한 항염증 활성을 보이는 것으로 확인되었다.

초 록

본 연구에서는 지리산오가피와 흰털오가피의 항산화 및 항염증 활성의 차이를 알아보기 위해 총 폴리페놀 및 플라보노이드 함량, ABTS 및 DPPH 라디칼 소거능, FRAP assay를 이용한 환원력을 비교 조사하였고, mouse의 대식세포인 Raw 264.7 cell에 LPS를 이용하여 자극시킨 후 생성되는 NO의 함량을 비교 하였다. 총 폴리페놀 및 플라보노이드 함량은 흰털오가피가 유의하게 높은 것으로 나타났으나 그 차이가 크지 않으며 ABTS 및 DPPH 라디칼 소거능과 FRAP 방법을 이용한 환원력에서는 두 오가피 종에서 차이가 없는 것으로 나타났다. 항염증 활성을 비교하기 위해 확인한 NO 생성량은 지리산오가피가 고농도 처리시 유의하게 항염증 활성이 높은 것으로 나타났다.

Keywords *Acanthopanax divaricatus* var. · albofructus · anti-inflammatory effect · antioxidant · *Eleutherococcus divaricatus* var. chiisanensis

감사의 글 이 연구는 서울과학기술대학교 교내연구비의 지원으로 수행되었습니다(과제번호, 2013-0284).

References

- Afanaseva TN and Lebkova NP (1987) Effect of eleutherococcus on the subcellular structures of the heart in experimental myocardial infarct. *Biull Eksp Biol Med* **103**, 212–5.
- Bordan C (2001) Nitric oxide and the immune response. *Nat Immunol* **2**, 907–16.
- Cha JY, Cho YS, Kim I, Anno T, Rahman SM, and Yanagita T (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**, 349–58.
- Cheng ZJ, Kuo SC, Chan SC, Ko FN, and Teng CM (1998) Antioxidant properties of butein isolated from *Dalbergia odorifera*. *Biochim Biophys Acta* **1392**, 291–9.
- Choi JM, Kim KY, Lee SH, and Ahn JB (2011) Functional properties of water extracts from different parts of *acanthopanax sessiliflorus*. *Food engineering progress* **15**, 130–5.
- Dardymov IV, Bezdetko GN, and Brekhman II (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**, 267–9.
- Dotan Y, Lichtenberg D, and Pinchuk I (2004) Lipid peroxidation cannot be used as a universal criterion of oxidative stress. *Prog Lipid Res* **43**, 200–27.
- Epe B, Ballmaier D, Roussyn I, Briviba K, and Sies H (1996) DNA damage by peroxynitrite characterised with DNA repair enzymes. *Nucleic Acid Res* **24**, 4105–10.
- Ferrando A, Vila L, Voces JA, Cabrol AC, Alvarez AI, and Prieto JG (1999) Effects of ginseng extract on various haematological parameters during aerobic exercise in the rat. *Planta Med* **65**, 288–90.
- Glatthaar-Saamuller B, Sacher F, and Esperester A (2001) Antiviral activity of an extract derived from root *Eleutherococcus senticosus*. *Antiviral Res* **50**, 223–8.
- Heo SJ, Ahn HY, Kang MJ, Lee JH, Cha JY, and Cho YS (2011) Antioxidative activity and chemical characteristics of leaves, roots, stems and fruits extracts from *Acanthopanax senticosus*. *Journal of Life Science* **21**, 1052–9.
- Kim CW and Lee HY (1990) Studies on the constituents of seeds of *Acanthopanax senticosus* for inermis Harms. *Korean J Pharmacogn* **21**, 235–8.
- Kim OK, Nam DE, Lee MJ, Kang N, Lim JY, and Lee J (2014) Protective effects of green tea seed extract against UVB-irradiated human skin fibroblasts. *J Korean Soc Food Sci Nutr* **43**, 1–8.
- Ko SK, Kim JS, Choi YE, Lee SJ, Park KS, and Chung SH (2002) Anti-diabetic effects of mixed water extraction from Ginseng Radix rubra *acanthopanax cortex* and cordyceps. *Korean J Pharmacogn* **33**, 337–42.
- Lee SR, Shin HH, Jeong JH, Hwang KT, and Kim TY (2011) Effect of ethanol concentrations and extraction time on acanthoside-D and total polyphenol contents and antioxidant activities in ethanol extracts of eleuthero. *J Med Plants Res* **5**, 5700–5.
- Li HJ, Han SS, and Choi YS (2002) Antioxidant effects of the extracts of *Aacanthopanax senticosus*. *Korean J Pharmacogn* **33**, 359–63.
- Lim S, Leem JY, Lee CS, Jang YJ, Park JW, and Yoon S (2007) Antioxidant and cell proliferation effects of *acanthopanax senticosus* extract in human osteoblast-like MG-63 cell line. *Korean J Food Sci Technol* **39**, 694–700.
- Szolomicki J, Samochowies L, Drozdziak MWJ, and Szolomicki S (2000) The influence of active components of *eleutherococcus senticosus* on cellular defense and physical fitness in man. *Phytother Res* **14**, 30–5.
- Yildirim A, Mavi A, and Kara AA (2011) Determination of antioxidant and antimicrobial activities of *Rumex crispus* L. extracts. *J Agric Food Chem* **49**, 4093–89.
- Zhao WM, Qin GW, Xu RS, Li XY, Liu JS, Wang Y et al. (1999) Constituents from the roots of *Acanthopanax setchuensis*. *Fitoterapia* **70**, 529–31.