The Journal of the Convergence on Culture Technology (JCCT)
Vol. 10, No. 2, pp.73-80, March 31, 2024. pISSN 2384-0358, eISSN 2384-0366

http://dx.doi.org/10.17703/JCCT.2024.10.2.73

JCCT 2024-3-10

섬오갈피 추출물 중 acanthoic acid 및 Kaurenoic acid 함량 분석 및 기능성 활성 평가

The Evaluation Functional Activity and Indicator Component Analysis and According to the Extraction Method of *Eleuthrococcus Gracilistylus*

김현경*

Hyun Kyoung Kim*

요 약 우리는 섬오갈피의 70% 에탄올과 열수추출물의 지표성분인 *Acanthoic acid*과 *Kaurenoic acid* 함량을 확인하기 위해 시료 내 각 화합물의 정량분석을 HPLC-UVD로 실시하였다. 또한, LC-MS 분석을 통해 시료 내 각 화합물의 성분을 확인하였다. 그 결과, 70% 에탄올 추출물의 *Acanthoc acid*와 *Kaurenoic acid*의 함량은 각각 28.84±0.21 mg/g(2.88%), 26.38±1.63 mg/g(2.64%)로 나타났다. 그러나 열수추출물에서는 두 가지 화합물의 *Acanthoc acid*와 *Kaurenoic acid*의 함량이 관찰되지 않았다. 결론적으로 섬오갈피 추출물로부터 *Acanthoc acid*과 그 대사산물을 추출하기 위한 최적의 추출용매로서 70% 에탄올이 열수용매보다 우수함을 알 수 있었다. 또한 DPPH 라디컬 소거능, total polyphenols, flavonoids 함량이 삼채+섬오갈피 복합추출물의 70% 에탄올 복합 추출물이 열수용매보다 더 우수한 효과를 보였다. 삼채와 섬오갈피 등 에탄올복합추출물(SEC) 처리에 의해 유의적 또는 부분적으로 항염증을 감소되었다.

주요어 : 섬오갈피, 아칸토산, 카우레논산, 항산화 활성, 항염증 활성

Abstract To determinate the content of acanthoic acid and kaurenoic acid in 70% EtOH and hot water extracts of *Eleutherococcus gracilistylus,* quantitative analysis of each compound in samples was carried out by a HPLC-UVD. Also, the identification of each acompound in samples was successfully assigned by LC-MS analysis. In result, the contents of acanthoic acid and kaurenoic acid in 70% ethanoic extracts were 28.84±0.21 mg/g (2.88%), 26.38±1.63 mg/g (2.64%), respectively. However, the content of two compounds in hot-water extracts was not observed. In conclusion, it shows that 70% ethanol as a best extraction solvent to extract the acanthoic acid and its metabolite from *Eleutherococcus gracilistylus* was better than hot-water solvent. The 70% ethanol complex extract of *Allium Hookeri* and *Eleutherococcus gracilistylus* showed better effectiveness. In addition, the 70% ethanol extract complex of *Allium Hookeri* and *Eleutherococcus gracilistylus* showed better effects than the hot water solvent of DPPH radical scavenging ability, total polyphenols, and flavonoids content. The anti-inflammatory activity were significantly or partially reduced by treatment with ethanol extract complex(SEC) by *Allium Hookeri* and *Eleutherococcus gracilistylus.*

Key words : *Eleuthrococcus gracilistylus*, Acanthoic acid, Kaurenoic acid, Antioxidant activity, Anti-inflammatory

*정회원, 서원대학교 식품공학과 조교수
접수일: 2023년 12월 27일, 수정완료일: 2024년 1월 26일
게재확정일: 2024년 2월 15일

Received: December 27, 2023 / Revised: January 26, 2024
Accepted: February 15, 2024
*Corresponding Author: Kimhk4@seowon.ac.kr
Dept. of Food Science and Enginerring, Seowon Univ, Korea

Ⅰ. 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[1, 2]. 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 심혈관 질환과 같은 성인성 만성질환의 예방과 개선에 도움이 되는 것으로 보고되고 있다[3, 4]. 유용 식물자원으로 두릅나무과에 속하는 가시오가피는 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[5]. 가시오가피 추출물의 주요 성분은 리그난 (eleutheroside E)과 같은 화합물(acanthoside D)이 발견된 이래로 (-)-sesamine, phenolic glycoside, syring-garesinol diglucoside, β-sitosterol, isofraxidin, friedelin, syringin 등이 있고, 그동안 이들 개별성분에 대한 기능 분석이 주요 연구 대상이 되어왔다. 가시오가피의 효능은 대단히 광범위하고, 독성이 거의 무시될 수 있을 정도이며, 계절에 따른 효능의 차이가 적다는 사실이 알려져 있다. 이와 같은 특징은 장기간 복용하는데 유리한 특성을 지니며, 재료식물의 채취시기 등이 까다롭지 않다는 장점을 나타내는 것으로 판단된다. 현재 보고된 약리 효과는 혈당강하, 체내 지질대사 개선, 항바이러스 활성, 심근경색치료 효과, 항산화 체계 강화 기능 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. 섬오가피는 두릅나무과의 약초로 항피로, 항산화, 항스트레스 등의 생리활성으로 체내 생물의 기능 증진을 통한 기능성 식품 또는 약재로 사용되었다. 항염증 활동. 이들 약초의 주성분은 리그난 배당체, 플라보노이드, 디테르페노이드, 루판, 페닐프로파노이드 등으로 보고되고 있다. 그 중 아칸토산은 폐혈증, 관절염, 염증, 간경화증, 규폐증 질환의 치료를 위한 약리작용에 중요한 역할을 하는 것으로 알려져 있다. 그러나 섬오갈피로 부터 아칸토산을 대량생산하기 위한 최적의 추출방법은 현재까지 보고된 바가 없다. 따라서 본 연구의 목적은 HPLC-UVD 분석을 이용하여 열수와 70% 에탄올 추출물의 아칸토산과 대사산물인 카우레논산의 함량 비교를 통해 섬오갈피로부터 아칸토산의 최적 추출법을 개발하는 것이다. 또한 이에 관한 기능성 활성성분(항산화 활성 및 항염증 활성) 효과를 측정하였다.

Ⅱ. 재료 및 방법

1. 실험재료

본 실험에 사용한 섬오갈피(*Eleuthrococcus gracilistylus*)는 2023년도 제주도에서 재배해 뿌리, 줄기 및 열매 부분으로 나누어 건조시켜 판매하고 있는 것을 직접 구입하여 분쇄 후 실험 재료로 사용하였다.

2. 발효주정의 처리

추출 용매에 사용되는 발효 주정은 알코올 함량이 95%로 냄새가 심하여 탈취제인 활성탄을 1L당 1.3g 비율로 유리 용기에 넣어 잘 저어준 다음 뚜껑을 닫고 15~18시간 동안 방치한 후 여과지로 2~3회 반복하여 여과 하였다.

3. 시료의 추출조건 및 수율

수용성 추출은 가시오가피 잎, 뿌리, 줄기와 열매의 건조분말 100 g을 각각 취해 10배의 정제수로 온수 추출물과 90℃ 열수 추출물을 얻었다. 유기용매 추출은 전처리된 시료 300g 당 발효주정 추출용매 70% 발효 주정 7.5 L의 비율로 첨가 후 100℃ 유지하는 항온수조에서 환류냉각 장치를 부착하여 상온에서 3시간씩 3회 환류 추출하여 Whatman No. 1 여과지(Toyo 2A; Toyo Roshi, Tokyo, Japan)로 여과한 다음, 회전진공 농축기(Buchi Rotavapor R-215, Flawil, Switzerland)로 40℃에서 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.

4. Acanthoic acid 및 Kaurenoic acid 함량 측정

각 acanthoic acid 및 kaurenoic acid 표준품 약 10 mg씩 정밀히 달아 70% 메탄올 10 mL에 녹여서 표준원액을 제조하였다(1.0 mg/mL) 각각 조제된 표준원액을 7.81 15.63, 31.25, 62.5, 125.0 μL씩 각각 취한 후, 여기에 70% 메탄올을 가하여 정확히 1 mL로 하여 표준액을 조제하다(7.81, 15.63, 31.25, 62.5, 125.0 μg/mL).

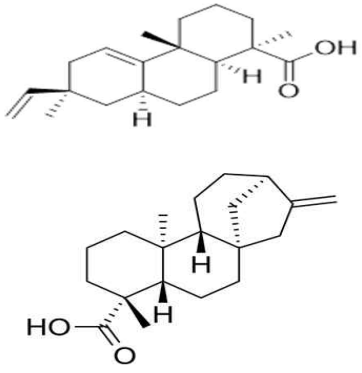

그림 1. 섬오갈피의 주요 지표물질 화학구조
Figure 1. Chemical structure of main indicator substances of Achyranthesia.

표 1은 2종의 섬오갈피 추출물에 대한 각 지표물질의 함량을 측정하기 위한 HPLC-UVD 분석조건을 다음과 같이 설정하였다.

표 1. Acanthoic acid와 kaurenoic acid에 대한 HPLC-UVD 분석조건
Table 1. Sample Preparation for HPLC Analysis and HPLC Analytical Condition.

Instrument	Shimadzu LC-20A system
Detector/ wavelength	UVD / UV 210 nm
Column	ACE 5 C18 (250 mm x 4.6 mm (i.d.), 5 um, Advanced Chromatography Technologies Ltd., USA)
Column Temp.	35 ℃
Mobile phase	50 mM sodium acetate in water - acetonitrile (20:80)
Analytical time	40 min
Flow rate	1.0 mL/min
Injection volume	20 μL
Retention time	acanthoic acid 13.44분, kaurenoic acid 14.43분

5. 총 폴리페놀 함량 분석

총 폴리페놀 함량은 Folin-Denis 방법 및 김 등 의 방법을 참조하여 다음과 같이 실험조건을 약간 변경하여 정량하였다. 시료별로 조제된 검액 및 gallic acid 농도별 표준액을 각각 500μL을 취한 다음 50% Folin & ciocaltue's phenol reagent을 500μL을 가하였다. 실온에서 3분 간 방치 후 7.5% sodium carbonate 200μL을 가한 다음 진탕하고 12,000rpm으로 10분간 원심분리 하였다. 시료 별로 상등액을 각각 200μL씩 취하여 96 well cell culture plate에 가한 다음에 실온에서 10분 경과한 다음 microplate reader를 이용하여 750nm에서 흡광도를 측정하여 총 폴리페놀 함량을 gallic acid 표준 검량선을 이용하여 정량한 다음 gallic acid equivalent 함량으로 환산하였다[6].

5. 총 플라보노이드 함량 분석

총 플라보노이드 함량 측정은 김 등의 방법을 참조하여 다음과 같이 실험조건을 약간 변경하여 사용하였다. 시료별 시험액 100μL에 90% diethylene glycol 1ml 및 1 N NaOH 용액 20 μL을 넣고 시험관 진탕기로 혼합하여 37℃ water bath에서 1시간동안 반응 후 420nm에서 흡광도를 측정하였다. 표준곡선은 Rutin (Sigma Aldrich., MO, USA)의 표준용액을 농도별로 (0~200ug/1ml) 조제한 표준액의 흡광도를 측정한 표준 검량선을 이용하여 총 플라보이드 함량을 rutin equivalent로 함량으로 환산하였다[7].

6. DPPH 라디컬 소거능 측정

DPPH 라디컬 소거능 측정은 Fang 등 및 김 등의 방법을 참조하여 다소 변형하여 다음과 같은 방법으로 측정하였다. DPPH 라디컬 소거용 측정용 시액은 사용 직전에 DPPH를 에탄올 용액에 용해시켜 0.5x1 mM 농도로 조제하여 사용하였다. 시료 용액 및 대조군 용액을 각각 100μL을 EP튜브에 취하고 여기에 0.5x1 mM DPPH 시액을 900ml씩 가한 다음 뚜껑을 닫고 5초간 상하로 맹렬히 진탕하였다. 그 다음 각각 실온의 암소에서 30분 간 보관한 다음에 microplate reader plate에 200μL씩 취하여 517nm에서 3반복으로 검액의 흡광도를 동시에 측정하고 평균값을 제시하였다. 측정한 값은 다음과 같은 공

식을 이용하여 EDA(electron donating ability, %) 값으로 산출하였다[8].

Radical scavenging activity (%) = Abs of blank - Abs of sample/Abs of blank x 100

7. ABTS Radical Scavenging activity 분석

ABTS radical 소거능은 Fang 등 의 방법을 응용하여 설정하였다. 분석용 시액은 0.7mM ABTS용액을 조제하여 2.45mM potassium persulfate($K_2O_8S_2$)을 동량으로 배합하여 암소에 12~16시간 동안 보관하여 ABTS stock solution을 제조하였다. 그 다음 사용 전에 꺼내어 10mM sodium phosphate를 첨가 희석하여 734 nm에서 흡광도가 0.70±0.02인 ABTS working solution을 제조한다. 시료 별로 시료액 50ul과 희석한 ABTS 시액 3ml을 혼합하여 실온에서 10분간 반응시킨 뒤 microplate reader (Thermo Scientific, MA USA)로 734 nm에서 흡광도를 측정하여 ABTS radical 소거능을 측정하였다[9, 10].

ABTS radical scavenging activity (%)= [1-(*A*s - *A*c) /*A*b] x 100

→ *A*s, *A*c and *A*b : the absorbance values of the sample, control, and blank

8. 염증성 매개물질 관련 단백질 및 염증성 싸이토카인 mRNA 발현 검사

TRIzol reagent를 사용하여 세포로부터 total RNA를 분리한 다음, RT-PCR을 통해 GAPDH, iNOS, COX-2, TNF-α, IL-1β, IL-6의 mRNA 발현량을 조사하였다. EtBr 염색된 아가로스 겔에 PCR 산물을 전기영동하고 겔 현상기를 통해 현상하였다. 겔 이미지는 ImageJ 소프트웨어를 이용해 정량화되었다

III. 실험결과

1. 삼채 및 섬오갈피 등 추출물 수율

표 2에서 보인 바와 같이 삼채 및 섬오갈피 시료는 물 추출물에 비하여 70% 에탄올 추출물의 수율이 전반적으로 높았다. 70% 에탄올 추출물의 추출효과가 양호하였다. 일반적으로 수용성 추출의 경우 전분, 섬유질, 펙틴질, 단백질 등의 고분자 물질이 다량 용출되어 고농도 에탄올을 사용 때보다 많은 양의 추출물을 얻을 수 있으며, 고농도 에탄올의 경우 배당체, 유기산, 정유 성분 등이 용출되나 추출 수율이 다소 떨어져 제품의 특성에 따라 추출 용매의 선택이 달라져야 한다. 그에 따라 본 실험에서는 수용성 추출물과 에탄올 추출물, 메탄올 추출물의 추출 수율이 다양하게 나타난다. 식용 식물중의 flavonoid와 같은 페놀성 화합물은 수용성 또는 지용성으로 구분되어 있어 추출되는 용매에 따라 성분들이 달라지기 때문에 추출 수율에 있어서도 차이를 보인다. 특히, 삼채+오갈피 혼합 복합물, 삼채 추출물, 오갈피 추출물의 순으로 수율이 높았다. 전반적으로 물 추출물 수율에 비하여 70%에탄올 추출물의 수율이 높았다(Table 2).

표 2. 물 추출물 및 70%에탄올 추출물 수율
Table 2. Extracts yields in water, 70% ethanol extracts from *Acanthopanax gracilistylus*.

Samples	Water extracts(%)	70% ethanol extract(%)
Allium Hookeri	10.25	11.5
Eleutherococcus gracilistylus	9.10	19.1
Allium Hookeri + *Eleutherococcus gracilistylus* Complex	23.00	22.55

2. HPLC 패턴분석

그림 2은 2종의 섬오가피 추출물 중 acanthoic acid 및 kaurenoic acid를 분석한 결과, 70% 에탄올 추출물에서는 머무름시간 13.44분 부근에서 acanthoic acid의 성분피크가, 14.43분 부근에서 kaurenoic acid의 성분피크가 각각 확인되었다. 이에 반해, 열수 추출물에서는 두 성분 모두 검출되지 않았다(Figure 2). 그림 3은 검량선 분석결과 acanthoic acid 및 kaurenoic acid 표준액의 측정 범위(7.81~125.0 μg/mL) 내에서 각 성분피크의 피크면적을 이용하여 최소자승법에 따라 결정계수를 측정한 결과, 두 성분 모두 R^2 값이 0.999 이상으로 매우 양호한 원점을 통과하는 직선을 나타내었다(Figure 3).

3. 섬오갈피 추출물의 acanthoic acid 및 kaurenoic acid의 함량 분석 결과

표 3에서 보인 바와 같이 2종의 섬오갈피 추출물 중 acanthoic acid 및 kaurenoic acid의 함량 측정 결과는 다음과 같다. 측정 결과, 70% 에탄올 추출물에서는 acanthoic acid 28.84±0.21 mg/g (2.88%), kaurenoic acid 26.38±1.63 mg/g (2.64%)로 각각 측정되었고, 이때의 상대표준편차(%RSD)는 acanthoic acid 0.73%, kaurenoic acid 6.16%로 비교적 양호하였다(Table 3).

표 3. 섬오갈피의 물 추출물 및 70% 에탄올 추출물의 acanthoic acid와 karenoic acid의 함량 분석 결과
Table 3. The contents of acanthoic acid and karenoic acid in 70% EtOH extract and hot water extract of *Eleuthrococcus gracilistylus*.

Samples	Acanthoic acid			Kaurenoic acid		
	Content (mg/g±S.D.)	Content (%)	%RSD	Content (mg/g±S.D.)	Content (%)	%RSD
Hot water extract	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00
70% EtOH extract	28.84±0.21	2.88±0.02	0.73	26.38±1.63	2.64±0.16	6.16

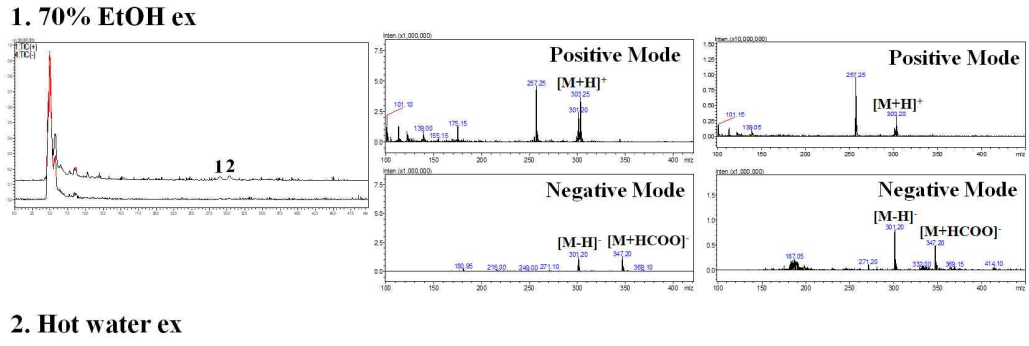

그림 2. 섬오갈피의 물추출물 및 70% 에탄올 추출물의 acanthoic acid와 karenoic acid의 HPLC chromatogram
Figure 2. HPLC chromatograms of acanthoic acid and karenoic acid in 70% EtOH ex and hot water ex of *E. gracilistylus* monitored at UV 210 nm.

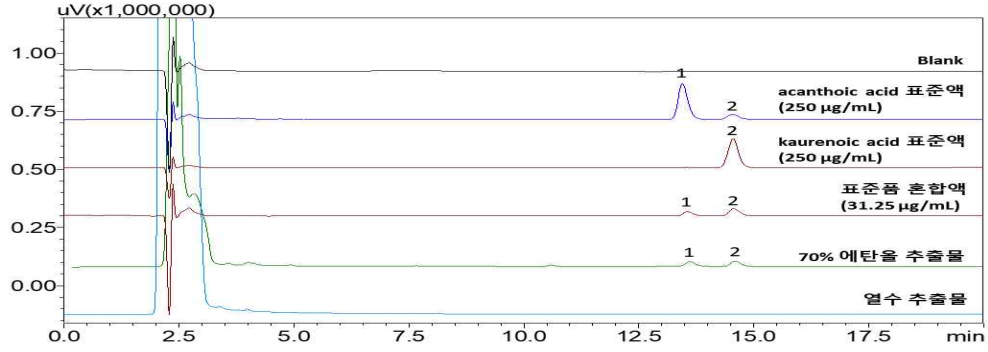

그림 3. 섬오갈피의 물추출물 및 70% 에탄올 추출물의 LC-MS 과 MS 스펙트럼
Figure 3. LC-MS TICs and MS spectra of marker compounds in 70% EtOH extract and hot water ex of *Eleuthrococcus gracilistylus*.

4. 삼채 및 섬오갈피 추출물의 DPPH radical scavenging activity 활성 평가

표 4은 건조된 삼채 및 섬오갈피의 물 추출물과 70%에탄올 추출물의 DPPH 소거능을 비교한 결과, 삼채와 섬오갈피 등 혼합추출물> 삼채 추출물 > 섬오갈피 추출물의 순위로 그 함량이 높았고 활성이 강하였다. 또한 물 추출물에 비하여 70%에탄올 추출물의 total polyphenols 및 flavonoids 함량이 높은 경향과 비교해 볼 때 DPPH radical 소거능 활성 성분과 상관성이 높다는 것을 고찰할 수 있었다(Table 4).

표 4. 삼채와 섬오갈피의 물 추출물 및 70% 에탄올 추출물의 DPPH 라디컬 소거능 활성 효과
Table 4. DPPH radical scavenging activity of water extract and 70% ethanol extract of *Eleuthrococcus gracilistylus and Allium Hookeri*.

Samples	Water Extracts (%)	70% ethanol extract
Allium Hookeri	67.44±0.28	75.63±0.40
Eleutherococcus gracilistylus	55.04±0.12	54.20±0.30
Allium Hookeri +*Eleutherococcus gracilistylus* Complex	75.38±0.46	79.16±0.16

5. 삼채 및 섬오갈피 추출물의 총 폴리페놀 함량

표 5은 건조된 삼채 및 섬오갈피의 물 추출물과 70%에탄올 추출물의 polyphenol 함량을 비교해 볼 때 삼채와 섬오갈피 혼합추출물> 삼채 추출물 > 섬오갈피 추출물의 순위로 그 함량이 높았다. 또한 물 추출물에 비하여 70% 에탄올 추출물에서 함량이 높았다. 따라서 total polyphenols 및 flavonoids에 다수 결합된 히드록실기(-OH)는 수소공여 작용을 함으로써 free radical 소거 활성에 기여하여 산화가 용이한 화합물을 안정화 시키는 것으로 시사되었다(Table 5).

표 5. 삼채와 섬오갈피의 물 추출물 및 70% 에탄올 추출물의 총 폴리페놀 함량
Table 5. Total polyphenols comtents of water extract and 70% ethanol extract of *Eleuthrococcus gracilistylus and Allium Hookeri*..

Samples	Water Extracts (%)	70% ethanol extract
Allium Hookeri	17.93±0.05	19.29±0.10
Eleutherococcus gracilistylus	13.66±0.16	13.15±0.11
Allium Hookeri +*Eleutherococcus gracilistylus* Complexs	19.91±0.10	26.50±0.16

6. 삼채 및 섬오갈피 추출물의 총 플라보노이드 화합물 함량

표 6에서 보는 바와 같이 삼채와 섬오갈피 혼합 복합추출물, 삼채 추출물, 섬오갈피 추출물의 총 플라보노이드 화합물 함량은 0.95~4.58 mg/gl 수준이었다. 삼채와 섬오갈피 혼합추출물> 삼채 추출물 > 섬오갈피 추출물의 순위로 그 함량이 높았다. 또한 물 추출물에 비하여 70% 에탄올 추출물에서 함량이 높았다. 따라서 total polyphenols 및 flavonoids에 다수 결합된 히드록실기(-OH)는 수소공여 작용을 함으로써 free radical 소거 활성에 기여하여 산화가 용이한 화합물을 안정화 시키는 것으로 시사되었다(Table 6).

표 6. 삼채와 섬오갈피의 물 추출물 및 70%에탄올 추출물의 총 플라보노이드 함량
Table 6. Total flavonoids comtents of water extract and 70% ethanol extract of *Eleuthrococcus gracilistylus and Allium Hookeri*..

Samples	Water Extracts (%)	70% ethanol extract
Allium Hookeri	3.59±0.14	3.86±0.22
Eleutherococcus gracilistylus	4.21±0.19	4.58±0.04
Allium Hookeri +*Eleutherococcus gracilistylus* Complex	0.95±0.10	1.35±0.08

7. 삼채와 섬오갈피 에탄올복합추출물의 Raw 264.7 세포에서 염증 매개체 및 사이토카인 발현량 측정

RAW 264.7 세포에 삼채와 섬오갈피 등 에탄올복합추출물(SEC)을 처리한 후 LPS로 자극을 주었다. 세포로부터 Total RNA를 추출, RT-PCR을 통해 iNOS, COX-2, TNF-α, IL-1β 및 IL-6의 mRNA 발현량을 조사하였다. 그림 4에서 보는 바와 같이 염증성 매개물질 및 염증성 사이토카인 모두 LPS에 의해 현저하게 발현이 증가하였고, 이는 삼채와 섬오갈피 등 에탄올복합추출물(SEC) 처리에 의해 유의적 또는 부분적으로 감소되었다. 위의 결과들을 종합하여 결과를 보면 삼채와 섬오갈피 등 에탄올복합추출물(SEC)이 RAW264.7 세포를 이용한 in *vitro* 시험에서 잠재적 항염증 효과를 가지는 것을 확인할 수 있었다(Figure 4).

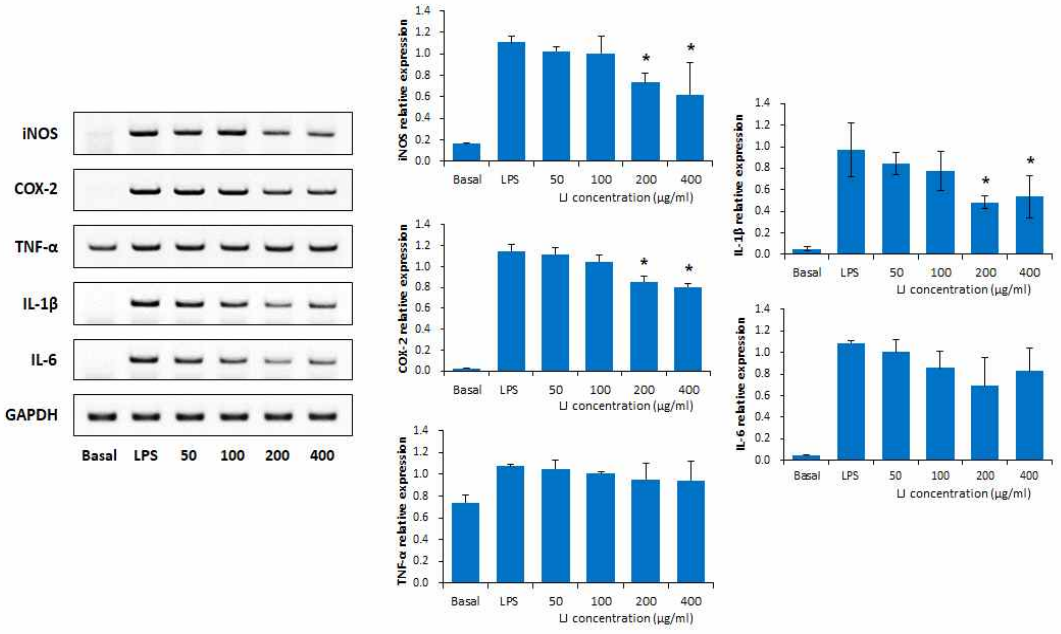

그림 4. Raw 264.7 세포에 대해 LPS 자극에 의한 삼채와 섬오갈피 등 에탄올복합추출물의 염증 매개체 및 사이토카인 발현량 측정.

Figure 4. Measurement of inflammatory mediators and cytokine expression levels of ethanol complex extracts of *Allium Hookeri* and *Eleuthrococcus gracilistylus* on Raw 264.7 cells.

V. 고찰 및 결론

우리는 섬오갈피로부터 아칸토산을 대량생산하기 위한 최적의 추출방법은 현재까지 보고된 바가 없다. 따라서 HPLC-UVD 분석을 이용하여 열수와 70% 에탄올 추출물의 acanthoic acid 과 대사산물인 kaurenoic acid의 함량 비교를 통해 섬오갈피로부터 아칸토산의 최적 추출법을 개발하는 것이다. 또한 이에 관한 기능성 활성 및 항염증 효과를 측정하였다. 그 결과, 70% 에탄올 추출물의 acanthoc acid와 Kaurenoic acid의 함량은 각각 28.84±0.21 mg/g(2.88%), 26.38±1.63 mg/g(2.64%)로 나타났다. 그러나 열수추출물에서는 두 가지 화합물의 함량이 관찰되지 않았다. 결론적으로 섬오갈피로부터 아칸토산과 그 대사산물을 추출하기 위한 최적의 추출용매로서 70% 에탄올이 열수용매보다 우수함을 알 수 있었다. 기능성 활성 평가를 한 결과 삼채와 섬오갈피 70% 에탄올 복합 추출물이 더 우수한 효과를 보였다. DPPH 유리라디칼 억제 항산화 효과는 시료별로 70% 에탄올 추출물의 효과가 물 추출물에 비하여 양호하였고, 특히 삼채와 섬오갈피 70% 에탄올 복합추출물의 효과가 양호하였다. 폴리페놀 함량도 대체로 70% 에탄올 추출물의 함량이 물 추출물에 비하여 높은 경향이었고, 천연물 추출물의 DPPH 항산화효과는 폴리페놀 함량과 상관성이 높다는 것을 확인할 수 있었다. 세포로부터 Total RNA를 추출, RT-PCR을 통해 iNOS, COX-2, TNF-α, IL-1β 및 IL-6의 mRNA 발현량을 조사한 결과에서는 염증 매개물질 및 염증성 사이토카인 모두 LPS에 의해 현저하게 발현이 증가하였고, 삼채와 섬오갈피 70% 에탄올 복합추출물의 처리에 의해 유의적 또는 부분적으로 감소되었다. 위의 결과들을 종합하면 삼채와 섬오갈피 70% 에탄올 복합추출물 유의적으로 기능성 활성 효과를 가지는 것을 확인할 수 있었다.

References

[1] H. K. Kim, "The functional effects of anti-microbaial activity and anti-inflammatory

seaweed polysaccharide extracts," *The Journal of the Convergence on Culture Technology*, Vol. 4(2), pp. 155-163, 2018. http://dx.doi.org/10.17703/JCCT.2018.4.2.155.

[2] H. K. Kim, "The functional effects of anti-micro baial activity and anti-inflammatory seaweed poly-saccharide extracts," *The Journal of the Convergence on Culture Technology*, Vol. 4(2), pp. 155-163, 2018. http://dx.doi.org/10.17703/JCCT.2018.4.2.155.

[3] H. J. Lee, H. S. Kim, S. T. Kim, D. Park, J. T. Hong, Y. B. Kim and S. S. Joo, "Anti-inflammatory effects of hexane fraction from white rose flower extracts via inhibition of inflammatory repertoires," *Biomol Ther*, Vol. 19, pp. 331-335, 2011. http://dx.doi.org/10.4062/ biomoither.2011.

[4] Y. W. Kim, R. J. Zhao, S. J. Park, J. R. Lee, I. J. Cho, C. H. Yang, S. G. Kim and S. C. Kim "Anti-inflammatory effects of liquiritigenin as a consequence of the inhibition of NF-κB-dependent iNOS and proinflammatory cytokines production," *Brit. J. Pharmacol.* Vol. 154(1), pp. 165-173, 2008. http://dx.doi.org/10.1038/bjp.2008.79. Epub2008Mar10.

[5] A. K. Lee, S. H. Sung, Y. C. Kim and S. G. Kim, "Inhibition of lipopolysaccharide-inducible nitric oxide synthase, TNF-alpha and COX-2 expression by sauchinone effects on I-kappa B alpha phosphorylation, C/EBP and AP-1 activation," *Brit. J Pharmacol* Vol. 139(1), pp. 11-20, 2003. http://dx.doi.org/10.1038/sj.bjp. 0705231.

[6] H. J. Kim, B. S. Jun, S. K. Kim, J. Y. Kim, J. Y. Cha, and Y. S. Choi, "Polyphenolic compound content and antioxidative activities by extracts from seed, sprout and flower of safflower(carthamus tinctorious L.)," *J. Korean Soc. Food Sci Nutr*, Vol 29, pp.1127-1132, 2000. http://dx.doi.org/10.11002/kjfp.2013.20.2.227.

[7] F. O. Adetuyi and T. A. Ibrahim, "Effect of Fermentation Time on the Phenolic, Flavonoid and Vitamin C Contents and Antioxidant Activities of Okra (Abelmoschus esculentus) Seeds," *Nigerian Food Journal*, Vol. 32(2), pp. 128-137, 2014. https://doi .org /10.1016/s0189-7241(15) 30128-4.

[8] J. I. Hong, H. J. Kim and J. Y. Kim, "Factors affecting reactivity of various phenolic compounds with the Folin-Ciocaltue reagent," *J. Korean Soc Food Sci Nutr*, Vol. 40(2), pp. 205-213, 2011. http://doi.org/10.3746/Kfn.2022.40.2.205.

[9] J. H. Han, S. A. Lee, D. Kim and Y. Y. Chun, "Physicochemical Properties of Various Commercial Dried Tangerine Peel Tea Products," *Food Engineering Progress*. Vol. 25(3), pp. 476-478. 1947. http://doi.org/10.13050/foodengprog.2021.

[10] H. J. Yang, E. M. Kim and K. S. Jang, "Identification of the polyacetylenes extracted from Acanthopanax Senticosus by petroleum ether," *J. Agri. Sci.* Vol. 35. pp. 11-17. 2011. http:// doi.org/10.5352/JLS.2011.21.7.1052.

※ 본 과제(결과물)는 2023년도 교육부의 재원으로 한국연구재단의 지원을 받아 수행된 지자체-대학 협력기반지역혁신사업의 결과입니다.(연구과제명; 섬오가피 추출물을 활용한 근력 개선 건강기능식품 개별인정원료 조성물 개발 2021RIS-001:134537081). 이에 감사 드립니다.