

## 천연자원의 라디칼 소거능과 최종당화산물의 생성저해활성 검색

김민석 · 김동욱 · 류동영\*  
목포대학교 응용생명과학부 생약자원전공

### Screening of Natural Resources with Inhibitory Activity on Free Radicals and Advanced Glycation end Products (AGEs) Formation

Min Suk Kim, Dong Wook Kim, and Dong Young Rhyu\*

Department of Medicinal Plant Resources, Mokpo National University, Muan 534-729, Korea

**Abstract** – Reactive oxygen species (ROS) and formation of advanced glycation end products (AGEs) play an important role in the pathogenesis of diabetic nephropathy by hyperglycemia. To find natural agents improving diabetic nephropathy, 63 natural resources which used to the treatment of diabetes mellitus in a folk remedy were investigated with an *in vitro* system employing radical scavenging activity and inhibitory activity of AGEs formation. In results, the extracts of *Aspalathus linearis*, *Rubus coreanus*, *Rosa rugosa*, and *Epimedium koreanum* significantly inhibited the 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) radical with  $IC_{50}$  values less than 10  $\mu$ g/ml. The extracts of *Zea mays*, *Cucurbita moschata*, *Cudrania tricuspidata*, and *Aspalathus linearis* effectively reduced the formation of AGEs compared with the positive control *N*-acetyl-L-cystine (NAC) and aminoguanidine (AG). In addition, the extracts of *Aspalathus linearis*, *Commelina communis*, *Cornus officinalis*, and *Lespedeza cuneata* showed the all inhibitory activity against DPPH radical and AGEs formation. Also, these resources definitely showed the radical scavenging activity against peroxynitrite (ONOO<sup>-</sup>) and hydroxyl radical ( $\cdot$ OH) relating to high glucose-induced ROS production. Thus, these results suggest that some natural resources may regulate the initiation and progression of diabetic nephropathy through inhibition of ROS production and AGEs formation.

**Key words** – diabetic nephropathy, reactive oxygen species (ROS), advanced glycation end products (AGEs), natural resources

당뇨병성 신증(diabetic nephropathy)은 당뇨병에 의하여 신장 기능장애를 초래하는 진행성 질환으로서 만성신부전증의 가장 중요한 원인질환이다.<sup>1)</sup> 또한 국내·외 투석이나 신 대체요법을 받는 환자의 약 40%가 당뇨병성 신증에 의한 것으로 알려져 있으며, 당뇨병 환자의 증가와 사회의 고령화 현상으로 인하여 그 비율이 매년 증가하고 있는 추세이다.<sup>2,3)</sup> 이러한 당뇨병성 신증은 만성적인 고혈당으로부터 활성산소종(reactive oxygen species, ROS)과 후기당화산물(advanced glycation end products, AGEs)의 생성, 알도스 환원 효소(aldoase reductase, AR) 경로의 이상 및 protein kinase C(PKC)와 신장 조직내 여러 세포에 작용하는 성장인자나 사이토카인(cytokine)의 활성화로 인한 세포외기질(extracellular matrix, ECM) 단백질 축적을 특징으로 하는 당뇨병성 합병증이다.<sup>4,6)</sup> 이처럼 다양한 발병인자 중에서도

ROS와 AGEs는 당뇨병성 신증의 초기 발생과 진행에 있어 상위 조절자로서 다양한 신호전달의 역할을 이끄는 주요 인자이다.<sup>7)</sup> 더불어 당뇨병에 기인한 신장 세포내의 ROS 생성은 고혈당의 신호전달을 촉진시키는 AGEs, angiotensin II 및 전환성장인자(transforming growth factor- $\beta$ 1, TGF- $\beta$ 1)에 의해 유도되어 조직 섬유화 기전 및 세포외기질 단백질 축적에도 직간접적으로 관여하고 있다.<sup>8)</sup> 그리고 고혈당과 단백질 비효소적 당화과정으로부터 생산되는 AGEs는 ROS에 의하여 가속화되거나 세포 표면의 AGEs 수용체와 결합함으로써 ROS 생성을 유발하여 사이토카인과 호르몬 등의 비생리적 유전자 산물의 표현을 증가시켜 세포 손상을 유발시키거나 혈관평활근세포의 증식에 직접 관여하여 당뇨병성 동맥경화증을 유발하는데도 기여하는 것으로 보고되어져 있다.<sup>9,10)</sup> 따라서 당뇨병성 신증의 초기 단계에 치명적인 영향을 미치는 ROS와 AGEs의 생성증가를 억제시키는 항산화제와 aminoguanidine(AG)에 의한 당뇨병성 합병증 발

\*교신저자(E-mail) : rhyudy@mokpo.ac.kr  
(FAX) : 061-450-6443

생 감소여부를 확인하는 연구가 진행되고 있으나, 아직까지 당뇨병 환자의 치료에 유의한 효과를 확실하게 입증하지 못하였거나 독성이 있어 활용되지 못하고 있으므로 보다 안전하고 우수한 효능을 지닌 새로운 천연약물의 개발이 요구되고 있다.<sup>11,12)</sup>

본 연구에서는 당뇨병성 신증의 초기 진행기전을 개선시킬 수 있는 천연자원의 효능을 검색하기 위하여 고문서와 민간에서 당뇨병 치료에 활용되었던 기록이 있는 63종의 천연자원에 대하여 *in vitro* 실험계를 이용하여 1,1-dipheyl-2-picrylhydrazyl(DPPH) radical, peroxyxynitrite(ONOO<sup>-</sup>)와 hydroxyl radical(OH<sup>·</sup>)의 소거능 및 AGEs 생성 억제효과를 갖는 생리활성 기능을 탐색하였다.

**재료 및 방법**

**실험 재료** - 본 실험에 사용한 천연자원(Table I) 중에서 약용자원은 순천 화생당에서 구입하거나 직접 채취하여 전문가의 감정을 거친 후 실험재료로 사용하였으며, 식용자원과 해양자원은 시장으로부터 구입하였다.

**추출물의 조제** - 천연자원 50 g 정도를 증류수와 함께 추출용기에 넣고 60분간 추출하고 여과한 후, 45°C 이하의 수욕상에서 감압농축하고 다시 동결건조기에서 건조하였다.

**시약** - Bovine serum albumin(BSA), 3-morpholinopyrrolidone(SIN-1), dihydrorhodamine123(DHR123), *N*-acetyl-L-cysteine(NAC), ascorbic acid(AA), aminoguanidine (AG), penicillamine 등은 Sigma사(St. Louis, MO, USA)의 제품을 구입하여 사용하였다. DPPH, 5,5-dimethyl-1-pyrroline-*N*-oxide(DMPO), dimethylenetriaminepenta acetic acid (DTPA), thiourea 등은 Wako사(Osaka, Japan)의 제품을 이용하였으며, 기타 용매는 덕산과학의 제품을 사용하였다.

**DPPH radical 소거능** - 천연자원 추출물을 각 농도별로 조제한 용액을 96-well plate에 각 well당 100 µl씩 넣은 다음에 150 µM DPPH 용액을 각 well당 100 µl씩 첨가한다. 차광상태로 30분 동안 실온에 방치한 후, ELISA reader (Immuno Mini NJ-2300)로 540 nm에서 흡광도를 측정하였다.<sup>13)</sup> DPPH radical 소거능은 대조군에 대한 50% 흡광도의 감소를 나타내는 검체의 농도(IC<sub>50</sub>)로 표시하였으며 각 시료를 3회 반복 실시하여 평균하였다. 양성 대조물로는 NAC와 AA를 이용하였다.

**최종당화산물 생성 저해능** - 10 mg/ml의 BSA, 25 mM glucose, 25 mM fructose 및 시료를 50 mM phosphate buffer (pH7.2)에 녹여 용액을 만든다. 그 다음에 microtube에 앞서 만든 용액을 순서대로 0.3 ml씩 첨가한 후 37°C에서 14일 동안 반응시켰다. 또한 0.02% sodium azide를 넣어 반응기간 동안 박테리아 생성을 방지하였다. 14일 후, 반응액을 6배 희석시켜 fluorescence spectrophotometer(F-4500 Fluoresence

**Table I.** Natural resources used in experiment

Korean name	Scientific name	Used part
가는잎췌기풀	<i>Urtica angustifolia</i>	전초
갈파래	<i>Ulva lactuca</i>	전초
감나무	<i>Disopyros kaki</i>	잎
결명자	<i>Cassia tora</i>	종자
골담초	<i>Caragana sinica</i>	뿌리
구기자	<i>Lycium chinense</i>	열매
까마중	<i>Solanum nigrum</i>	전초
꼬시래기	<i>Gracilaria verrucosa</i>	전초
꾸지뽕나무	<i>Cudrania tricuspidata</i>	줄기
냉이	<i>Capsella bursapastoris</i>	뿌리, 전초
느릅나무	<i>Ulmus davidiana</i> var. <i>japonica</i>	뿌리껍질
다시마	<i>Lamimaria japonica</i>	전초
닭의장풀	<i>Commelina communis</i>	전초
담쟁이덩굴	<i>Parthenocissus tricuspidata</i>	잎, 줄기
돌미나리	<i>Oenanthe stolonifera</i>	전초
두릅나무	<i>Aralia elata</i>	줄기껍질
등굴래	<i>Polygonatum odoratum</i> var. <i>pluriflorum</i>	뿌리
루이보스	<i>Aspalathus linearis</i>	잎
마디풀	<i>Polygonum aviculare</i>	전초
메밀	<i>Fagopyrum esculentum</i>	종자
모란	<i>Paeonia suffruticosa</i>	잎, 줄기
모자반	<i>Sargassum fulvellum</i>	열매
미끌도박	<i>Grateloupia thruturu</i>	전초
미역	<i>Undaria pinnatifida</i>	전초
복분자	<i>Rubus coreanus</i>	열매
부추	<i>Allium tuberosum</i>	전초
비수리	<i>Lespodeza cuneata</i>	전초
비파나무	<i>Eriobotrya japonica</i>	잎
산사나무	<i>Crataegus pinnatifida</i>	열매
산수유	<i>Cornus officinalis</i>	열매
삼백초	<i>Saururus chinensis</i>	전초
삼지구엽초	<i>Epimedium koreanum</i>	전초
새삼	<i>Cuscuta japonica</i>	종자
소나무	<i>Pinus densiflora</i>	잎
쇠비름	<i>Portulaca oleracea</i>	전초
수박	<i>Citrullus vulgaris</i>	껍질
약모밀	<i>Houttuynia cordata</i>	전초
엄나무	<i>Kalopanax pictus</i>	뿌리
영경귀	<i>Cirsium japonicum</i> var. <i>ussuriense</i>	뿌리
오미자	<i>Schizandra chinensis</i>	열매
옥수수	<i>Zea mays</i>	수염
우영	<i>Arcrium lappa</i>	뿌리줄기
으름덩굴	<i>Akebia quinata</i>	잎
은행나무	<i>Ginkgo biloba</i>	잎
자리공	<i>Phytolacca esculenta</i>	뿌리
적복령	<i>Poria cocos</i>	균핵
조릿대	<i>Sasa borealis</i>	잎

Table I. Continued

Korean name	Scientific name	Used part
지층이	<i>Sargassum thunberii</i>	전초
질경이	<i>Plantago asiatica</i>	전초
참마	<i>Dioscorea japonica</i>	뿌리줄기
참취	<i>Aster scaber</i>	꽃
청각	<i>Codium fragile</i>	전초
케일	<i>Brassica oleracea</i> var. <i>acephala</i>	잎
툇	<i>Hizika fusiformis</i>	전초
팥	<i>Phaseolus angularis</i>	종자
패랭이꽃	<i>Dianthus chinensis</i> var. <i>chinesis</i>	전초
하늘타리	<i>Trichosanthes kirilowii</i>	덩이뿌리
하이보스	<i>Aspalathus linearis</i>	잎
합초	<i>Saliconia herbacea</i>	전초
해당화	<i>Rosa rugosa</i>	뿌리
호박	<i>Cucurbita moschata</i>	열매
화살나무	<i>Euonymus alatus</i>	줄기
환삼덩굴	<i>Humulus japonicus</i>	전초

spectrophotometer)를 이용하여 형광도(Ex: 350, Em: 450 nm)를 측정하였다.<sup>14)</sup> 양성 대조물로는 NAC와 AG를 이용하였다.

**ONOO<sup>-</sup> radical 소거능** - 시료를 각 농도별로 조제한 용액을 96-well plate에 각 well당 10  $\mu$ l씩 넣은 후, 90 mM sodium chlorid와 5 mM potassium chloride가 함유된 50 mM phosphate buffer(pH 7.4)에 5 mM DTPA(4  $\mu$ l)와 5 mM DHR123(0.2  $\mu$ l)이 첨가된 용액을 조제하여 각 well당 180  $\mu$ l씩 첨가한다. 그 다음에 200  $\mu$ M SIN-1 용액을 다시 첨가하고서 차광상태로 실온에서 10분간 방치시킨 후, fluorescence spectrophotometer(DEKAN SPECTRFlour Plus)를 이용하여 형광도(Ex: 485, Em: 535 nm)를 측정하였다.<sup>15)</sup> ONOO<sup>-</sup> radical 소거효과는 대조군에 대한 감소 정도로 표시하였으며 양성 대조물로는 penicillamine을 이용하였다.

**·OH radical 소거능** - Fenton 반응에 의해 유리되는 ·OH radical은 spin-trap제인 DMPO와 빠르게 반응하여 생성되어지는 DMPO-OH adduct를 측정하는 방법으로 생성억제효과를 측정하였다. 10% DMPO(v/v), 0.2 mM FeSO<sub>4</sub> 및 1 mM DTPA 용액을 순차적으로 microtube에 넣은 후 시료의 추출물과 1 mM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 용액을 첨가한다. 5분 후, 반응액의 DMPO-OH adduct의 spin spectrum은 electron spin resonance (ESR) spectrometer(JEOL FESX)를 이용하여 측정하였다.<sup>16)</sup> ESR spectrometer는 microwave power 1.02 mW, modulation frequency 9.4397 GHz, field modulation 339.458 mT, sweep width 5.000 mT, time constant 0.03 sec의 조건에서 측정하였다.

**통계처리** - 모든 실험결과는 최소한 3회 이상 반복하여 평균치±표준오차로 표시하였고, 각 군과의 비교는 Dunnett's

test를 이용하여 각각 \**p*<0.05인 경우를 유의성 있는 것으로 판정하였다.

## 결과 및 고찰

**DPPH radical 생성저해효과** - DPPH는 free radical이지만 안정된 화학적 구조 때문에 천연자원의 항산화 효과를 측정하는데 일반적으로 활용되는 실험방법이다. 그러므로 당뇨병성 신증의 초기 진행기전에 중요한 신호전달의 역할을 행하는 ROS에 대한 천연자원의 항산화 효과도 DPPH radical에 대한 전자공여능을 측정하여 대조군의 흡광도를 50% 감소시키는데 필요한 시료의 농도(IC<sub>50</sub>)로 계산하였다. 63종의 천연자원 물 추출물에 대한 DPPH radical 소거효과에 의한 항산화 활성을 측정된 결과, IC<sub>50</sub> 값이 100  $\mu$ g/ml 보다 낮은 농도에서 강한 항산화 활성을 나타낸 추출물은 27종이며 Table II와 같다. 이 가운데 양성 대조군으로 이용된 항산화제 NAC(3.50±0.04)와 AA(3.24±0.01)보다 강력한 항산화 활성을 갖는 추출물은 없지만, 하이보스(5.83±0.02), 복분자(5.84±0.01), 해당화(7.99±0.01), 삼지구엽초(8.75±0.00), 루이보스(11.14±0.01) 추출물 순으로 효과가 좋게 나타났다. 하이보스 추출물이 가장 뛰어난 항산화 효과를 나타냈다. 그러나 루이보스<sup>17)</sup> 추출물의 지질과산화 억제효과와 복분자,<sup>18)</sup> 해당화,<sup>19)</sup> 삼지구엽초<sup>20)</sup> 추출물에 대한 DPPH 라디칼 소거효과는 이미 보고된 바 있다.

**최종당화산물 생성억제효과** - AGEs는 고혈당의 농도에 비례하여 조직에 축적되는 단백질 당화산물로 당뇨병 발 동물에서 정상쥐에 비하여 신장내 최종당화산물의 생성이 3-4배 증가하고, 당뇨병 환자의 혈관 collagen의 최종당화산물 함량도 비당뇨 환자보다 4배 이상 증가하는 것으로 밝혀지는 등 당뇨병성 합병증과 밀접한 상관성을 갖는 중요한 인자로 알려져 있다.<sup>21-23)</sup> 더불어 당뇨병으로부터 발생하는 산화적 스트레스는 AGEs를 생산하고 세포 표면 수용체와 결합한 AGEs는 다시 ROS를 생산하는 악성 순환과정을 반복한다. AG는 AGEs 생산과 단백질간의 교차결합을 억제하는 AGEs의 억제제로서 당뇨쥐에서 관찰되는 다양한 변화를 억제하는 효과를 갖지만 생체내 부작용으로 인하여 임상에서는 활용되지 못한다. 그러므로 안전성과 우수한 효능을 지닌 새로운 후보약물의 도출이 필요하므로 63종 천연자원의 AGEs 생성억제효과를 검색한 결과, 11종의 추출물이 대조군보다 낮은 형광도 값을 나타냈다. 이 중에서도 루이보스, 산수유, 호박, 꾸지뽕나무, 구기자, 가늘잎 췌기풀, 옥수수 추출물은 대조군에 비교하여 유의성 있는 AGEs 생성억제효과를 나타냈다(Table III). 특히, 옥수수, 호박, 꾸지뽕나무, 루이보스 추출물은 대조군에 비하여 각각 약 32%, 27%, 26%, 25% 정도로 AGEs 생성을 억제하였으며 양성 대조군인 항산화제 NAC(23%)와 AG(31%)보다 더 강력하거나 유

**Table II.** DPPH radical scavenging activity of natural resources extracts with IC<sub>50</sub> values values of less than 100 µg/ml

Scientific name (Korean name)	IC <sub>50</sub> (µg/ml)
NAC	3.50±0.04
AA	3.24±0.01
<i>Akebia quinata</i> (으름덩굴)	16.38±0.03
<i>Allium tuberosum</i> (부추)	>100
<i>Aralia elata</i> (두릅나무)	>100
<i>Arctium lappa</i> (우엉)	52.09±0.02
<i>Aspalathus linearis</i> (하이보스)	5.83±0.02
<i>Aspalathus linearis</i> (루이보스)	11.14±0.01
<i>Aster scaber</i> (참취)	15.80±0.02
<i>Brassica oleracea</i> var. <i>acephala</i> (케일)	>100
<i>Capsella bursapastoris</i> (냉이)	>100
<i>Caragana sinica</i> (골담초)	>100
<i>Cassia tora</i> (결명자)	>100
<i>Cirsium japonicum</i> var. <i>ussuriense</i> (영경귀)	82.73±0.04
<i>Citrullus vulgaris</i> (수박)	>100
<i>Commelina communis</i> (닭의장풀)	23.56±0.01
<i>Cornus officinalis</i> (산수유)	18.53±0.02
<i>Codium fragile</i> (청각)	>100
<i>Crataegus pinnatifida</i> (산사나무)	>100
<i>Cucurbita moschata</i> (호박)	>100
<i>Cudrania tricuspidata</i> (꾸지뽕나무)	>100
<i>Cuscuta japonica</i> (새삼)	>100
<i>Dianthus chinensis</i> var. <i>chinensis</i> (패랭이꽃)	>100
<i>Dioscorea japonica</i> (참마)	>100
<i>Disopyros kaki</i> (감나무)	13.78±0.01
<i>Epimedium koreanum</i> (삼지구엽초)	8.75±0.00
<i>Eriobotrya japonica</i> (비파나무)	20.96±0.02
<i>Euonymus alatus</i> (화살나무)	>100
<i>Hizikia fusiformis</i> (뚝)	16.86±0.01
<i>Houttuynia cordata</i> (약모밀)	>100
<i>Humulus japonicus</i> (환삼덩굴)	>100
<i>Kalopanax pictus</i> (엄나무)	32.48±0.02
<i>Lespedeza cuneata</i> (비수리)	16.33±0.02
<i>Lamimaria japonica</i> (다시마)	>100
<i>Lycium chinense</i> (구기자)	>100
<i>Oenanthe stolonifera</i> (돌미나리)	>100
<i>Paeonia suffruticosa</i> (모란)	99.88±0.07
<i>Parthenocissus tricuspidata</i> (담쟁이덩굴)	14.36±0.01
<i>Phaseolus angularis</i> (팥)	47.19±0.01
<i>Phytolacca esculenta</i> (자리공)	>100
<i>Pinus densiflora</i> (소나무)	21.42±0.02
<i>Plantago asiatica</i> (질경이)	>100
<i>Polygonatum odoratum</i> var. <i>pluriflorum</i> (동글레)	>100
<i>Polygonum aviculare</i> (마디풀)	17.63±0.01
<i>Poria cocos</i> (적복령)	>100
<i>Portulaca oleracea</i> (쇠비름)	24.14±0.01

**Table II.** Continued

Scientific name(Korean name)	IC <sub>50</sub> (µg/ml)
<i>Rosa rugosa</i> (해당화)	7.99±0.01
<i>Rubus coreanus</i> (복분자)	5.84±0.01
<i>Saliconia herbacea</i> (함초)	28.07±0.02
<i>Sarfassuno thunberii</i> (지층이)	25.53±0.02
<i>Sargassum fulvellum</i> (모자반)	>100
<i>Sasa borealis</i> (조릿대)	>100
<i>Saururus chinensis</i> (삼백초)	93.46±0.02
<i>Schizandra chinensis</i> (오미자)	48.32±0.01
<i>Solanum nigrum</i> (까마중)	>100
<i>Trichosanthes kirilowii</i> (하늘타리)	>100
<i>Ulmus davidiana</i> var. <i>japonica</i> (느릅나무)	29.56±0.04
<i>Ulva lactuca</i> (갈파래)	>100
<i>Undaria pinnatifida</i> (미역)	>100
<i>Urtica angustifolia</i> (가는잎 췌기풀)	>100
<i>Zea mays</i> (옥수수)	>100

NAC and AA are positive control.

**Table III.** Inhibitory effect of natural resources extracts, (100 µg/ml) on the AGEs formation

Scientific name (Korean name)	Fluorescence
Control	637.21±8.51
NAC	493.76±0.62*
AG	438.67±2.43*
<i>Aspalathus linearis</i> (루이보스)	479.43±1.01*
<i>Brassica oleracea</i> var. <i>acephala</i> (케일)	610.47±23.01
<i>Commelina communis</i> (닭의장풀)	617.49±4.92
<i>Cornus officinalis</i> (산수유)	604.65±16.32*
<i>Cucurbita moschata</i> (호박)	468.98±9.60*
<i>Cudrania tricuspidata</i> (꾸지뽕나무)	472.38±6.67*
<i>Fagopyrum esculentum</i> (메밀)	634.56±5.19
<i>Lespedeza cuneata</i> (비수리)	607.99±8.39
<i>Lycium chinense</i> (구기자)	575.16±5.24*
<i>Urtica angustifolia</i> (가는잎 췌기풀)	572.96±4.67*
<i>Zea mays</i> (옥수수)	434.12±22.05*

NAC and AG are positive control.

\**p*<0.05 : significantly different from the control values.

사한 효능을 나타내므로 이 추출물들이 매우 강력한 생리활성을 갖는 화합물을 함유하고 있음이 확인되었다. 그렇지만 이전의 발표된 연구결과에 따르면 꾸지뽕나무,<sup>24)</sup> 구기자,<sup>25)</sup> 루이보스,<sup>26)</sup> 산수유<sup>27)</sup>의 항당뇨 효능은 당뇨유발 동물 모델에서 입증되어 보고된 바 있다.

ONOO<sup>-</sup> radical 소거 활성효과 - 산화적 스트레스와 관련된 당뇨병성 신증을 포함한 다양한 질환에서 발생하는 ONOO<sup>-</sup>는 nitric oxide(NO)와 superoxide anion(O<sub>2</sub><sup>-</sup>)의 결합에 의해 생성되는 강력한 산화제로 다른 free radical보다 비

교적 안정한 분자이며 지질과산화, 항산화 효소 활성억제, DNA 손상, 단백질의 변성 및 세포의 사멸에도 관여하는 것으로 알려져 있다.<sup>28,29)</sup> 또한 생체내 유도된 ONOO<sup>-</sup>는 강력한 산화 작용을 갖는 nitrogen dioxide(NO<sub>2</sub>)와 ·OH radical을 발생시킴으로서 여러 가지 세포구성 성분을 손상시키는 독성인자이기도 하다.<sup>30)</sup> 이러한 ONOO<sup>-</sup>는 당뇨병성 신증 환자의 신장 조직에서도 증가하는 것으로 이미 밝혀져 있다.<sup>31)</sup> 그러므로 63종의 천연자원 추출물 중 DPPH radical 소거능과 최종당화산물 생성억제효과를 모두 나타내는 산수유, 루이보스, 비수리, 닭의장풀의 추출물에 대해서만 ONOO<sup>-</sup> 소거능을 측정하였다. 그 결과, 시료 2.5 µg/ml 농도에서 양성 대조군인 penicillamine 75%에 비하여 루이보스 73%, 비수리 65%, 닭의장풀 60%, 산수유 53%로 ONOO<sup>-</sup> 소거능을 나타냈으며, 이 중에서 루이보스 추출물이 가장 높은 ONOO<sup>-</sup>

소거 활성효과를 나타냈다(Fig. 1).

·OH radical 소거 활성효과 - Fenton 반응과 산수유, 루이보스, 비수리, 닭의장풀 추출물을 함께 첨가시킨 혼합물에 hydroxyl과 superoxide radical을 구별할 수 있는 유일한 spin-trap제인 DMPO를 첨가시킨 후 ESR을 이용하여 signal peak/Mn peak을 비교함으로써 ·OH radical 소거 활성효과를 측정하였다. 그 결과, 추출물의 농도 1 mg/ml에서 ·OH radical 소거 활성효과가 비수리 1.35, 닭의장풀 1.50, 산수유 1.56, 루이보스 1.69로 대조군의 2.21 signal peak/Mn peak 보다 낮게 나타났으나 양성 대조군인 thiourea 1.16 보다는 모두 높게 나타냈다(Fig. 2, Table IV). 본 연구의 결과, 산수유, 루이보스, 비수리, 닭의장풀 추출물은 뚜렷한 최종당화산물 생성저해작용 및 항산화작용을 갖는 다양한 화합물을 함유하고 있음이 확인되었다. 그러므로 본 연구결과는 새로운 기

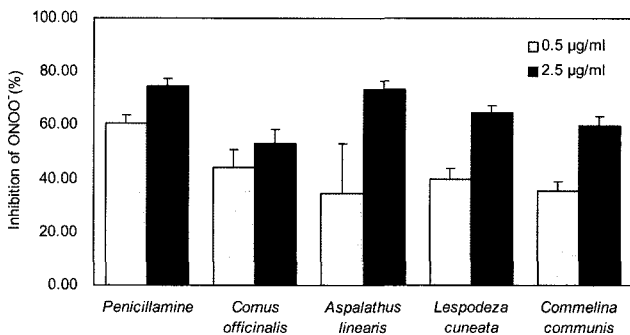


Fig. 1. Peroxynitrite (ONOO<sup>-</sup>) inhibitory activity of natural resources extracts. Penicillamine is positive control.

Table IV. Hydroxyl radical (·OH) scavenging activity of natural resources extracts (1 mg/ml) on signal peak of DMPO-OH at 5 minutes

Scientific name (Korean name)	Signal peak/Mn peak
Control	2.21
Thiourea	1.16
<i>Aspalathus linearis</i> (루이보스)	1.69
<i>Commelina communis</i> (닭의장풀)	1.50
<i>Cornus officinalis</i> (산수유)	1.56
<i>Lespedeza cuneata</i> (비수리)	1.35

Thiourea is positive control.

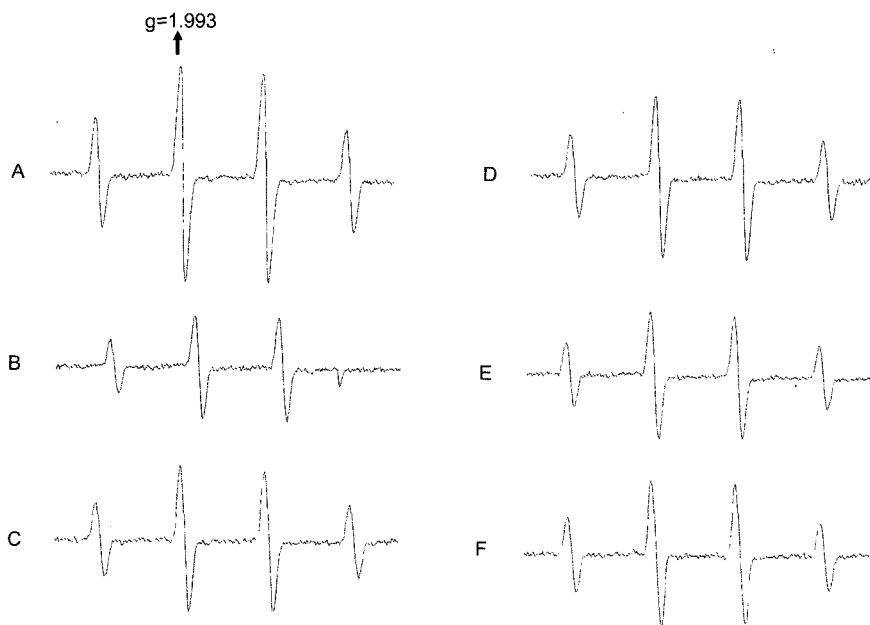


Fig. 2. Hydroxyl radical (·OH) scavenging activity of natural resources extracts against the spectra of DMPO-OH. A; Control, B; Thiourea(positive control), C; *Commelina communis*, D; *Aspalathus linearis*, E; *Lespedeza cuneata*, F; *Cornus officinalis*.

능성 소재 개발을 위한 중요한 기초 자료로 활용될 수 있을 뿐만 아니라 당뇨병성 신증을 포함한 당뇨병성 합병증의 치료를 위한 천연제제의 개발에 이용될 수 있을 것이다.

## 결 론

고문서와 민간에서 당뇨병 치료에 활용되었던 기록이 있는 천연자원 63종 중에서 루이보스, 비수리, 산수유, 닭의장풀의 물 추출물은 당뇨병성 신증의 초기진행기전에 관여하는 ROS와 최종당화산물의 생성을 저해시키는 뚜렷한 효능을 나타냈다. 특히, 비수리의 항산화 및 항당뇨 작용에 대한 연구결과가 보고된 바가 없으므로 새로운 당뇨병성 신증을 개선시킬 수 있는 소재로서 지속적인 연구가 필요하리라 사료된다.

## 사 사

본 연구는 목포대학교 기초보호학문육성연구비 지원으로 수행되었으며 이에 감사드립니다.

## 인용문헌

- Cooper, M. E. (1998) Pathogenesis, prevention, and treatment of diabetic nephropathy. *Lancet*. **352(9123)**: 213-219.
- 대한신장학회 등록위원회 (1999) 우리나라 신대체 요법 현황. *대한신장학회지* **4**: S343-S354.
- Renal data system, USRDS (1999) Annual data report, National institute of diabetes and digestive and kidney disease.
- 하현주, 김경환 (1997) 당뇨병성 신증의 발생과 진행에 관여하는 산화성 스트레스의 역할. *대한신장학회지* **16(2)**: S134-S139.
- Gross, J. L., de Azevedo, M. J., Silveiro, S. P., Canani, L. H., Caramori, M. L. and Zelmanovitz, T. (2005) Diabetic nephropathy: diagnosis, prevention, and treatment. *Diabetes Care*. **228(1)**: 164-176.
- Lee, H. B., Ha, H., Kim, S. I. and Ziyadeh, F. N. (2000) Diabetic kidney disease research: Where do we stand at the turn of the century? *Kidney Int.* **58(Suppl. 77)**: S1-S2.
- Lee, H. B., Ha, H. and King, G. L. (2003) Reactive oxygen species and diabetic nephropathy. *J. Am. Soc. Nephrol.* **14**: S209-S210.
- Ha, H. and Lee, H. B. (2003) Reactive oxygen species and matrix remodeling in diabetic kidney. *J. Am. Soc. Nephrol.* **14**: S246-S249.
- 이희발 (2001) 당뇨병과 말기신부전증에서의 후기당화산물의 생산과 그 역할. *대한신장학회지* **20(1)**: 1-3.
- 김혜순, 이인규 (2002) 최종당화산물에 의한 혈관평활근세포 증식. *대한당뇨병학회* **26(2)**: 87-90.
- Ceriello, A. (2003) New insights on oxidative stress and diabetic complications may lead to a "causal" antioxidant therapy. *Diabetes Care*. **26(5)**: 1589-1596.
- Rahbar, S. and Figarola, J. L. (2003) Novel inhibitors of advanced glycation endproducts. *Arch. Biochem. Biophys.* **419(1)**: 63-79.
- 이동진, 이지영 (2004) 작물의 유용성분 분석 및 평가. 한국작물학회. 187-194.
- Yokozawa, T., Nakagawa, T. and Terasawa, K. (2001) Effects of oriental medicines on the production of advanced glycation endproducts. *Journal of Traditional Medicines* **18**: 107-112.
- Kooy, N. W., Royall, J. A., Ischiropoulos, H. and Beckman, J. S. (1994) Peroxynitrite-mediated oxidation of dihydrohodamine 123. *Free Radic. Biol. Med.* **16(2)**: 149-156.
- 한상국, 강준원 (2002) 고급산화법에서 생성되는 free radical의 전자기공방법에 의한 정성분석. *J. of KSEE.* **24(7)**: 1153-1161.
- Ha, H. C., Kim, H. S. and Ryu, B. H. (2000) Antioxidative effects of ethanol extract obtained from Rooibos Tea (*Aspalathus linearis*) and its application of food. *Korean J. Food & Nutr.* **13(1)**: 13-20.
- Yoon, I., Cho, J. Y., Kuk, J. H., Wee, J. H., Jang, M. Y., Ahn, T. H. and Park, K. H. (2002) Identification and activity of antioxidative compounds from *Rubus coreanum* fruit. *Food Sci. Technol.* **34(5)**: 898-904.
- Lee, H. J., An, J. U., Lee, B. J., Mun, S. G. and Seo, Y. W. (2004) Antioxidant activity of *Rosa rugosa*. *Korea J. Biotechnol. Bioeng.* **19(1)**: 67-71.
- Lee, J. W., Do, J. H. and Lee, S. K. (2000) Antioxidant Activity of the aerial part of *Epimedium koreanum* Nakai. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* **29(4)**: 732-736.
- Lee, H. B., Cha, M. K., Song, K. I., Kim, J. H., Lee, E. Y., Kim, S. I., Kim, J. and Yoo, M. H. (1997) Pathogenic role of advanced glycosylation end products in diabetic nephropathy. *Kidney Int. Suppl.* **60**: S60-S65.
- Makita, Z., Radoff, S., Rayfield, E. J., Yang, Z., Skolnik, E., Delaney, V., Friedman, E. A., Cerami, A. and Vlassara, H. (1991) Advanced glycosylation end products in patients with diabetic nephropathy. *N. Engl. J. Med.* **325(12)**: 836-842.
- Sato, T., Iwaki, M., Shimogaito, N., Wu, X., Yamagishi, S. and Takeuchi, M. (2006) TAGE (toxic AGEs) theory in diabetic complications. *Curr. Mol. Med.* **6(3)**: 351-358.
- Park, W. Y., Ro, J. S. and Lee, K. S. (2001) Hypoglycemic effect of *Cudrania tricuspidata* Root Bark. *Kor. J. Pharmacogn.* **32(3)**: 248-252.
- Shin, J. S., Kim, K. S., Joeng, G. H., Cheong, C. S., Ko, K. H., Park, H. I., Huh, H. and Kim, B. K. (1997) Antidiabetic Activity of Lycii Fructus. *Kor. J. Pharmacogn.* **28(3)**: 138-142.
- Ulicna, O., Vancova, O., Bozek, P., Carsky, J., Sebekova, K., Boor, P., Nakano, M. and Greksak, M. (2006) Rooibos tea

- (*Aspalathus linearis*) partially prevents oxidative stress in streptozotocin-induced diabetic rats. *Physiol. Res.* **55(2)**: 157-164.
27. Xu, H. Q. and Hao, H. P. (2004) Effects of iridoid total glycoside from *Cornus officinalis* on prevention of glomerular overexpression of transforming growth factor beta 1 and matrixes in an experimental diabetes model. *Biol. Pharm. Bull.* **27(7)**: 1014-1018.
28. Maeda, H. and Akaike, T. (1998) Nitric oxide and oxygen radicals in infection, inflammation, and cancer. *Biochemistry* **63(7)**: 854-865.
29. Kamat, J. P. (2006) Peroxynitrite: a potent oxidizing and nitrating agent. *Indian J. Exp. Biol.* **44(6)**: 436-447.
30. Beckman, J. S. and Koppenol, W. H. (1996) Nitric oxide, superoxide, and peroxynitrite: the good, the bad, and ugly. *Am. J. Physiol.* **271(5)**: C1424-C1437.
31. Thuraisingham, R. C., Nott, C. A., Dodd, S. M. and Yaqoob, M. M. (2000) Increased nitrotyrosine staining in kidneys from patients with diabetic nephropathy. *Kidney Int.* **57(5)**: 1968-1972.

(2006년 10월 24일 접수)