

큰방가지뚱 추출물의 항당뇨 및 항고혈압효과

허명록 · 王兰¹ · 许桂芳 · 王명현^{1*}
하남과학기술학원, ¹강원대학교 의생명과학대학

Antidiabetes and Angiotensin Converting Enzyme Inhibitory Activity of *Sonchus asper* (L) Hill Extract

Ming-Lu Xu, Lan Wang¹, Gui-Fang Xu and Myeong-Hyeon Wang^{1*}

Henan Institute of Science and Technology, Henan Province, Xinxiang 453-003, China

¹Department of Medical Biotechnology, College of Biomedical Science, Kangwon National University, Chuncheon, Gangwon-do, 200-701, South Korea

Abstract – In this study, we evaluated the bioactivities of methanol extract and its solvent fractions of *Sonchus asper* (L.) Hill. The EtOAc fraction of *S. asper* exhibited more strong antioxidant activity than other extracts as evidenced by the strongest 1,1-diphenyl-2-picryl hydrazyl (DPPH) radical scavenging activity with a EC₅₀ value at 33.55 µg/mL and reducing power, the total polyphenol (180.71 mg GAE/g) and flavonoid contents (145.86 mg QE/g) of *S. asper* extract were higher than other extracts. The EtOAc fraction of the *S. asper* also showed 47.38% mushroom tyrosinase inhibition activity, 56.22% α-glucosidase inhibition and 46.58% α-amylase inhibition ratio at 1 mg/mL. Both methylene chloride and EtOAc fractions of methanol extract of *S. asper* effectively reduced of the 86.34% and 62.03% angiotensin I converting enzyme (ACE) activity at 2 mg/mL, respectively. These findings suggest that the EtOAc fraction of the *S. asper* could be a potential antioxidant in food additive, medicinal, and industry product.

Key words – *Sonchus asper*, tyrosinase, α-glucosidase, α-amylase, ACE inhibitory activity

전세계 인구의 3%가 당뇨병으로 고통받고 있으며, 국내 당뇨병 및 합병증으로 인한 사망률이 전체 사인의 4위로 보고되고 있다.^{1,2)} 당뇨병은 환경적, 유전적 및 대사적 요인에 의해 체중에 있는 β-세포에서의 인슐린 분비장애와 말초조직에 대한 인슐린 저항에 의해 나타나고 고혈당을 특징으로 한다.³⁾ 당뇨병은 고혈당 상태가 오랜 시간 지속됨에 따라 뇌중풍, 심근경색, 협심증, 시신경손상, 족부궤양 등 만성합병증이 발생하게 되는 대사성질환으로서 현재 우리나라 인구의 약 10%가 이 질병을 앓고 있으며, 그 발병률 또한 급격히 증가하고 있는 추세이다.⁴⁾

당뇨병의 치료는 대부분 약물치료와 식이요법에 의존하고 있어 약물복용에 따른 독성문제와 환자의 내성문제가 대두되고 있다. 최근에는 천연물질에서의 약리물질을 탐색하는 연구가 이루어 지고 있으며, 당뇨병 치료에 효과가 있다고 보고된 전통식물은 전 세계적으로 약 400여종 이상으로

추정된다.⁵⁾ 현재 임상에서 사용하고 있는 혈당 강하제 약물들은 공통적으로 복부팽만, 설사 등의 위장 장애와 같은 부작용을 야기하고 있는 것으로 알려져 있다.⁶⁾ 따라서 이러한 기존 약제들의 문제점들을 극복하기 위하여 새로운 α-glucosidase나 α-amylase 저해 물질을 찾는 연구들이 꾸준히 진행되고 있다.

큰방가지뚱 (*Sonchus asper* (L.) Hill)은 국화과 (Compositae)에 속하는 식물로서 유럽이 원산이며, 세계에 널리 귀화해 있는 식물이다. 방가지뚱 (*Sonchus oleraceus* L.)과 비슷한 식물이며 잎 윗면이 짙은 녹색이고 광택이 나며, 가장자리의 톱니 끝은 예리한 가시이다. 잎몸의 밑부분은 둥근모양이며, 줄기를 감싼다. 또한 방가지뚱의 수과는 그물무늬 주름이 있으나, 큰방가지뚱의 수과는 표면이 세로로만 주름져 있는 것이 구별된다.⁷⁾ 큰방가지뚱은 방가지뚱과 같은 *Sonchus* 속내 속하는 식물로서 농경지에 자라는 잡초이며 생명력이 왕성하여 작물의 생장에도 영향을 준다고 알려져 있다.

큰방가지뚱의 화학성분으로는 sesquiterpene glycosides 계열 sonchusides E-I와 ionone derivative glycosides 계열의 물

*교신저자 (E-mail): mhwang@kangwon.ac.kr
(Tel): +82-33-250-6486

질 sonchuiosides A-C, 그외도 sonchuside D와 icariside B₁를 분리하였다고 보고 되어있다.⁸⁾ 최근 연구 보도에 의하면 큰방가지뚝 뿌리로부터 11 β ,13-dihydrourospermal A, 15-O- β -D-glucopyranosyl-11 β ,13-dihydrourospermal A, 15-O- β -D-glucopyranosylurospermal A, 15-O-[6-(*p*-hydroxyphenylacetyl)]- β -D-glucopyranosylurospermal A, 14-O-methyl-acetal-15-O-[6-(*p*-hydroxyphenylacetyl)]- β -D-glucopyranosylurospermal A 등과 그들의 배당체들을 분리 하였다고 한다.⁹⁾ 또 Afolayan과 Jimoh¹⁰⁾의 연구에 의하면 luteolin, apigenin, quercetin 등 플라보노이드계열 물질 또 caffeic, chlorogenic 그리고 isochlorogenic 등 phenolic acid와 쿠마린계열 aesculetin과 cichoriin이 다량 함유되어 있다고 보고하였다.

큰방가지뚝의 생리활성을 보면 메탄올추출물들의 nephrotoxicity의 보호작용에서 좋은 활성을 나타낸다고 보고되었다.¹¹⁾ 그외에도 큰방가지뚝의 뿌리, 줄기, 잎, 즙, latex 혹은 전초를 약용으로 기침, 편도선, 상처, 종기, 빈혈등 치료에도 사용하였으며, 성병, 피부궤양, ailments, stomach complaints이나, 식욕부진, 치통, 태반제거 등에도 사용되었다. 또한 폐, 신장과 간장기능문란과 말기부진, 결장암에도 효과가 있다고 민간에서 사용하였으므로 자원이 풍부한 큰방가지뚝의 기능성 소재로서의 활용가치가 높게 평가되어 다양한 생리활성에 관한 연구의 필요성이 증가되고 있다.

본 연구는 큰방가지뚝 메탄올 추출물과 각각의 분획들의 항산화 활성을 측정함과 동시에 tyrosinase저해활성, α -glucosidase, α -amylase, angiotensin I converting enzyme (ACE)활성을 측정하여 항당뇨나 항고혈압에 기능성 식품이나 약효로서의 이용 가능성을 알아 보고자 실험을 진행하였다.

재료 및 방법

실험재료 및 추출방법 - 본 실험에 사용한 큰방가지뚝 (*Sonchus asper* (L) Hill) 지상부분은 중국 하남성 쑤쑤(新券)시에서 채집한 것으로 음건된 10 kg을 이용하여 MeOH 3 L로 60°C 수욕에서 24시간씩 세번 추출하고 추출액을 합하고 감압 농축하여 MeOH추출물 405.6 g을 얻었다. 상기 추출물을 물로 녹인 후 hexane, MC, EtOAc, BuOH등 용매 극성 순으로 세 번씩 분획하고 용매별 분획을 합병하고 농축하여 hexane (83.3 g), methylene chloride (MC) (5.6 g), EtOAc (12.3 g), BuOH (30.6 g) 및 H₂O (271.4 g) 분획을 얻었다. 상기분획들을 동결건조하여 -40°C에서 보관하며, 본 실험에 사용하였다. 생리 활성 실험에서는 모든 샘플과 부동한 농도에서 3반복으로 실험 하였으며, 통계 프로그램은 SPSS 11.5에서 one-way ANOVA중 Duncan's multiple range test를 사용하여 분석하였다.

총페놀함량 - 총 페놀성 함량은 페놀성 물질이 phosphomolybdic acid와 반응하여 청색으로 발색되는것을 이용한

Folin-Ciocalteu방법에 따라 분석하였다. 즉, 실험방법에 따라 조제한 추출물에 Folin-Ciocalteu시액 첨가하고, 실온에서 5%의 탄산나트륨 (Na₂CO₃)용액을 넣은 다음 잘 혼합하여 실온에서 30분간 반응 후, 분광도계 (ELx800, Biotec, USA)를 이용하여 750 nm에서 흡광도를 측정하여 결정하였다. 표준시약으로 gallic acid를 사용하여 표준곡선을 작성하고, 총 페놀성 화합물의 함량은 mg gallic acid equivalent로 계산하였다.

총플라보노이드 함량 - 총 플라보노이드 함량은 Davis¹²⁾ 방법을 이용하였다. 실험방법에 따라 조제한 추출물에 diethylene glycol과 1 N NaOH를 가하고 잘 혼합한 후 30°C에서 1시간 반응시킨 후 420 nm에서 흡광도를 측정하였다. 이때 검량곡선은 quercetin (Sigma Co., USA)을 이용하여 작성 하였으며 총 플라보노이드 함량을 mg quercetin equivalent로 계산하였다.

DPPH radical 소거활성 - DPPH radical 소거 실험은 광범위하게 쓰이는 간단하고 편리한 항산화 검색법으로, 특히 phenol과 aromatic amine 화합물의 항산화능 측정에 많이 사용된다.¹³⁾ 큰방가지뚝 메탄올 추출물과 각 분획물 시료를 10, 50, 100, 500, 1000 μ g/mL의 농도로 준비한 추출물 1 mL에 0.2 mM DPPH용액 1 mL을 잘 혼합하여 30분간 실온에서 방치하고 multiplate spectrophotometer (ELx800TM, Biotek, USA)를 사용하여 515 nm에서 흡광도를 측정하고 아래와 같이 계산하여 EC₅₀값으로 나타내었다.

$$\text{Scavenging effect (\%)} = [1 - (A_{\text{sample}} - A_{\text{blank}}) / A_{\text{control}}] \times 100\%$$

L-Ascorbic acid와 BHT (Butylated hydroxytoluene)를 positive 대조군으로 사용하였다. EC₅₀ (μ g·mL⁻¹) 는 DPPH 라디칼 소거활성이 50% 나타내는 추출물의 농도를 나타내는 것이다.

환원력의 측정 - 각각의 농도별로 조제한 시료 0.1 mL에 0.2 M 인산 완충액 (pH6.8) 0.25 mL과 1% potassium ferricyanide [K₃F₆(CN)₆] 0.25 mL을 넣은 다음, 50°C에서 20분간 반응시킨다. 반응 후 0.25 mL의 10% trichloroacetic acid를 첨가하고 1000 rpm 10분간의 원심분리를 통하여 얻어진 상층 액에 0.1%의 FeCl₃ 0.05 mL을 넣어서 발색반응을 유도시킨 다음, multiplate spectrophotometer (ELx800 TM, BioTek, USA)를 사용하여 750 nm에서 흡광도를 측정 하였다.¹⁴⁾

Tyrosinase의 활성 저해 - Tyrosinase의 활성 저해 분석에 의한 미백활성 효과는 멜라닌 합성의 중요한 효소인 tyrosinase의 작용결과 생성되는 L-DOPA (Dihydroxyphenylalanine) 생성물의 흡광도를 흡수분광 광도계 (U-2001 spectrometer, Hitachi, Japan)를 이용하여 측정하였다. 시험관에 1 mg/mL 샘플용액 40 μ L와 67 mM potassium phosphate buffer (pH 6.8) 80 μ L, tyrosinase 효소액 40 μ L (125 units)

를 첨가하여 37°C에서 5분간 반응시킨 다음 25 mM L-DOPA 40 μ L를 넣고 다시 37°C에서 20분간 incubation하였다. 반응액은 495 nm에서 흡광도를 측정후 tyrosinase 효소활성 저해율을 구하였다. 효소활성 저해율은 시험시료가 포함되지 않은 반응액을 대조군으로 하여 계산하였다.¹⁵⁾

α -Glucosidase 억제활성 측정 - 큰방가지뚥추출물과 용매분획물의 α -glucosidase 억제활성은 Hwang 등¹⁶⁾의 방법에 의하여 측정하였다. Positive control로는 acarbose를 사용하였으며, α -glucosidase 효소액 및 p-NPG (p-nitrophenyl- α -D-glucopyranoside)기질은 0.2 M PBS buffer (pH 7.0)에 용해하여 사용하였다. 각각의 샘플 50 μ L에 0.35 U의 α -glucosidase 효소액 50 μ L를 넣고 혼합하여 37°C에서 15분간 반응시킨 후 3 mM p-NPG 100 μ L를 가하여 37°C에서 10분간 반응시키고, 0.1 M Na₂CO₃ 750 μ L를 가하여 반응을 정지시킨 후 405 nm에서 흡광도를 측정하여 저해율을 계산하였다.

α -Amylase 저해활성 측정 - 시료의 α -amylase저해활성은 환원당 분석법¹⁷⁾을 응용하여 효소원으로 porcine pancreas type VI-B amylase를 사용하고 기질로서 0.5% starch를 이용하여 효소활성을 측정하였다. 즉, 효소액 250 μ L, 시료 50 μ L, 250 μ L, potassium phosphate buffer(pH 6.8) 250 μ L와 혼합하여 37°C에서 10분간 pre-incubation한 후 기질 0.5% starch용액을 500 μ L가한 다음 37°C에서 5분간 incubation 한 다음 48 mM DNS발색시약 (3,5-dinitrosalicylic acid and 30% sodium potassium tartarate in 0.5 M NaOH) 500 μ L를 넣고 100°C에서 15분간 끓여 발색시킨후 충분히 냉각시켰다. 이 반응액에 3배량의 물을 가하고 잘 교반한 후 540 nm에서 흡광도를 측정하여 저해도를 계산하였다. 이때 활성비교를 위하여 acarbose를 사용하였다.

Angiotensin 전환효소(ACE) 저해활성 - ACE저해 활성은 Cushman 등¹⁸⁾의 방법을 일부 수정하여 다음과 같이 측정하였다. 즉, 동결 건조시킨 시료 1 mg을 500 μ L의 증류수에 녹인 다음 rabbit lung powder에서 추출한 ACE효소액 50 μ L와 기질 용액 (pH8.3의 100 mM borate 완충용액 2.5 mL에 25 mg Hip-His-Leu을 녹인 것) 50 μ L를 넣은 후 37°C에서 30분간 반응시킨 다음 1 N HCl 250 μ L로 반응을 정지시켰다. 이 반응액에 유리되어 나오는 hippuric acid의 양을 228 nm에서 흡광도를 측정하여 산출하였고 시료를 첨가하지 않은 것을 대조군으로 하여 아래식으로 저해활성을 계산하여 비교하였다.

$$\text{ACE 저해율 (\%)} = [1 - (A_{\text{sample}} - A_{\text{blank}}) / A_{\text{control}}] \times 100\%$$

결과 및 고찰

총 폴리페놀 함량 및 총 플라보노이드 함량 - 천연물에서 얻어지는 폴리페놀류와 플라보노이드류의 화합물은 항

Table I. Total phenolics and total flavonoid contents of fractions from methanol extract of *S. asper*

Extracts	Total phenolics (mg GAE/g extract)	Total flavonoids (mg QE/g extract)
MeOH extract	27.57 \pm 1.48	16.62 \pm 1.07
Hexane extract	52.14 \pm 1.79	8.29 \pm 0.66
MC extract	61.43 \pm 2.26	2.38 \pm 0.08
EtOAc extract	180.71 \pm 4.91	145.86 \pm 4.39
BuOH extract	54.29 \pm 1.85	37.23 \pm 1.33
H ₂ O extract	12.86 \pm 0.88	6.92 \pm 0.54

Note: The results are presented as the mean SD. Different values indicate significance at p<0.05 value

산화 효과를 나타내는 등 생리활성 기능을 가지는 것으로 알려져 있다.¹⁹⁾ 식물의 2차 대사산물의 하나인 페놀성 화합물은 분자내 phenolic hydroxyl기가 존재하여 전자를 수용하는 기작으로 항산화 효과를 나타내며, 그 외 항돌연변이, 항암, 혈중 콜레스테롤 감소 등의 다양한 생리활성을 가지는 것으로 알려져 있다.²⁰⁾ 또한, 식물에 널리 분포하는 플라보노이드는 항균, 항암, 항바이러스, 항알레르기, 지질저하 작용, 면역증강작용, 모세혈관 강화 및 항염증 활성을 지니며 모든 질병의 원인이 되는 생체내 산화작용을 억제하는 항산화 효과도 있는 것으로 알려져 있다.²¹⁾

큰방가지뚥 추출물에 존재하는 총 폴리페놀과 플라보노이드 함량은 Table I과 같다. 총 폴리페놀과 플라보노이드 함량은 EtOAc층에서 180.71 mg GAE/g, 145.86 mg QE/g으로 나타났으며, 폴리페놀 함량은 MC, BuOH, Hexane층에서도 61.43 mg GAE/g, 54.29 mg GAE/g, 52.14 mg GAE/g으로 다소 높게 나타났지만, 플라보노이드 함량은 BuOH층 37.23 mg QE/g 이외 다른 분획에서는 모두 10 mg QE/g 이하로 낮게 나타났다. 따라서 큰방가지뚥에도 높은 폴리페놀을 함유하여 항산화효과 및 다른 생리활성 효과가 우수할 가능성이 높을 것으로 생각된다.

전자공여능 - 전자공여능의 작용은 자유라디칼에 전자를 공여하여 식품의 지방산화를 억제하고 인체 내에서는 자유라디칼에 의한 노화를 억제시키는 작용으로 많이 이용된다.²²⁾ 그래서 큰방가지뚥 메탄올 추출물과 각각의 용매별 분획에 대하여 DPPH 라디칼 소거활성을 측정한 결과 EtOAc 분획의 DPPH 라디칼 소거능이 33.55 μ g/mL (EC₅₀)으로 가장 높게 나타났다 (Table II). 이는 EtOAc분획 중 총 폴리페놀 함량과 총 플라보노이드 함량과 연관이 있으며 또 대조군 BHT (11.23 μ g/mL)나 L-Ascorbic acid (8.89 μ g/mL)처럼 비교적 높은 소거 활성을 나타내었다.

환원력의 측정 - 시료에 존재하는 reductones이 제공하는 수소원자가 활성 라디칼 사슬을 분해 함으로써 나타나는 흡광도 수치를 측정하여 환원력의 정도를 나타내며 이러한 환

Table II. DPPH radical scavenging ability (EC_{50}) of fractions from methanol extract of *S. asper*, BHT and L-ascorbic acid

Extracts	EC_{50} (mg/mL)
MeOH extract	405.80±3.67
Hexane extract	326.23±2.81
MC extract	269.24±2.67
EtOAc extract	33.55±0.36
BuOH extract	237.97±2.54
H ₂ O extract	>1000
BHT	11.23±0.05
L-Ascorbic acid	8.89±0.04

Note: The results are presented as the mean±SD. Different values indicate significance at $p < 0.05$ value

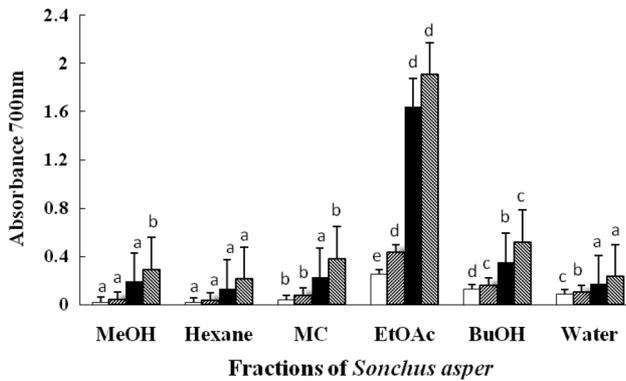


Fig. 1. Reducing power of methanol extract and its solvent fractions of *S. asper* and ascorbic acid. □ 50 µg/mL; ▨ 100 µg/mL; ■ 500 µg/mL; ▩ 1000 µg/mL. Each value is expressed as mean ± standard deviation (n=3). Different values indicate significance at $p < 0.05$ value.

원력의 정도는 항산화활성과 관련이 있는 것으로 알려져 있다.²³⁾ 메탄올 추출물의 각 용매별 분획물의 환원력을 측정 한 결과 Fig. 1와 같이 시료 농도가 증가할수록 환원력도 증가하는 경향을 보였으며, 그 중에서도 EtOAc 분획물이 1000 µg/mL과 500 µg/mL에서 1.902와 1.634의 흡광도로 환원력이 가장 높게 나타났다. 특히 EtOAc 분획물의 환원력은 하 고초 줄기의 메탄올, 에탄올, 물 추출물에 비해 더 높은 환원력을 보였다.²⁴⁾

Tyrosinase의 활성 저해 - 멜라닌색소의 주된 생합성 경로는 tyrosine으로부터 tyrosinase의 효소작용에 의해서 생성되는 dopaquinone 등의 유도체를 경유하여 아미노산 및 단백질과의 중합반응으로 생성된다.²⁵⁾ Tyrosinase의 활성을 억제하는 유효물질에는 ascorbic acid, arbutin, kojic acid, azelaic acid, tropolone 등이 보고되고 있으나 안전성과 경제성에 문제가 있어 최근에는 다양한 종류의 식물로부터 tyrosinase 활성 억제작용을 나타내는 물질을 분리하여 이용

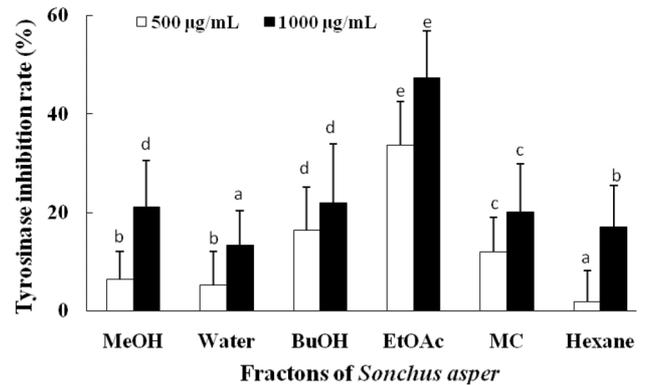


Fig. 2. Tyrosinase inhibitory activity of methanol extract and its solvent fractions of *S. asper*. Each value is expressed as mean ± standard deviation (n=3). Different values indicate significance at $p < 0.05$ value

하고자 하는 시도가 활발히 진행되고 있다.²⁶⁾ 그러므로 멜라닌 생성의 효소인 tyrosinase 효소 자체를 억제하면 미백 효과를 기대할 수 있다. 큰방가지뚱 메탄올 추출물과 그 용매 분획들의 tyrosinase 활성 저해효과는 Fig. 2에 나타내었다. 농도별 tyrosinase 활성의 저해효과는 EtOAc분획이 1000 µg/mL과 500 µg/mL에서 47.38%와 33.63%로 나타내어 기타 분획물에 비해 비교적 높은 저해율을 나타내었다. 한편, Ra 등²⁷⁾은 총페놀함량 및 항산화 효과와 tyrosinase 활성의 저해는 상관관계가 있다고 하였는데 이는 큰방가지뚱 메탄올 추출물의 EtOAc분획에 총 페놀함량이 높은 것과 관련이 있는 것으로 사료되며 tyrosinase 활성을 억제하는 단일 물질분리에 대한 추가적인 연구 필요성이 제기되었다.

α-Glucosidase 저해 활성 및 α-amylase 저해 활성 - 당뇨병은 암 및 순환기 질환과 더불어 3대 질병의 하나로 지목되고 있다. α-Glucosidase는 소장의 brush-border membrane에 존재하는 소화효소이다. 이들은 이당류나 다당류를 탄수화물이 소화 흡수되기 위한 상태인 단당류로 가수분해하는 역할을 한다. α-Glucosidase 저해제는 탄수화물식이 후 혈당 상승을 억제할 수 있다. α-amylase는 탄수화물이 가수분해에 가장 먼저 작용하는 소화효소로 크게 타액의 α-amylase와 췌장 기원의 α-amylase로 나뉘게 된다. 탄수화물의 소화에 있어서 중요한 효소인 α-amylase의 저해제 개발을 통한 탄수화물의 소화속도를 낮추어 식후 혈당 상승을 억제할 수 있다.

그리하여 큰방가지뚱 메탄올 추출물과 각 용매분획들이 α-glucosidase와 α-amylase에 대한 저해 활성을 검토한 결과를 Fig. 3과 Fig. 4에 표시하였다. Fig. 3에서 보여주는 바처럼 α-glucosidase 저해활성에서는 EtOAc분획물이 1000 µg/mL에서 56.22%의 활성을 나타내었으며, 500 µg/mL에서는 31.72%로 다소 높은 활성은 나타내었다. 이는 쇠뜨기 70% 에탄올 추출물 1000 µg/mL에서 48.28%는 높게 나타났으나

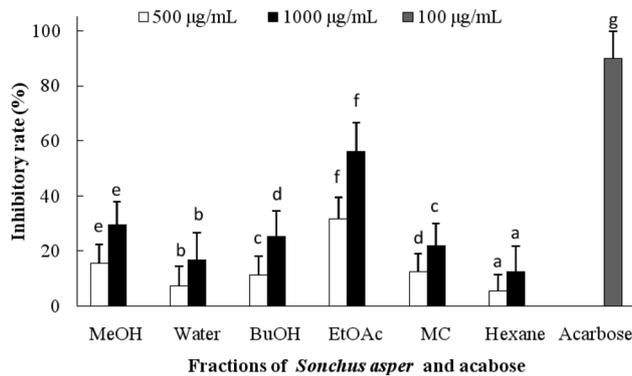


Fig. 3. α -Glucosidase inhibitory activity of methanol extract and its solvent fractions of *S. asper*. Each value is expressed as mean \pm standard deviation (n=3). Different values indicate significance at $p < 0.05$ value.

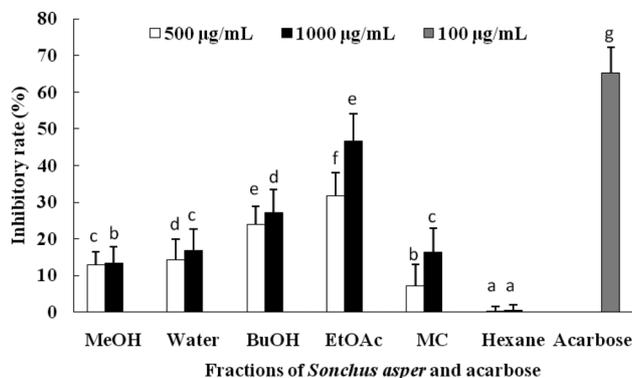


Fig. 4. α -Amylase inhibitory activity of methanol extract and its solvent fractions of *S. asper*. Each value is expressed as mean \pm standard deviation (n=3). Different values indicate significance at $p < 0.05$ value.

70% 메탄올 추출물의 1000 μ g/mL에서 82.05% 보다는 낮게 나타났으며, Guo등²⁸⁾의 연구에서 6년근 황기 1000 μ g/mL의 농도에서 49.71%나 500 μ g/mL의 농도에서 14.62% 보다는 다소 높게 나타났다.²⁹⁾ Fig. 4에서 큰방가지뚝 메탄올 추출물의 EtOAc분획이 α -amylase저해 활성에서는 1000 μ g/mL과 500 μ g/mL농도에서 각각 46.58%와 31.72%로 다소 높은 저해 활성을 나타낸 반면 hexane분획물은 거의 활성을 나타내지 않았다. 이는 비타민나무 잎 추출물 (10 mg/mL)의 54.7%의 α -amylase 저해 효과보다 높을 것으로 예상된다.³⁰⁾ Kim 등³¹⁾에 따르면 phenolic 물질이 α -amylase의 저해활성을 나타낸다고 보고하였으며, 이는 큰방가지뚝 메탄올 추출물의 EtOAc분획이 다른 분획보다 페놀 함량이 높다는 결과와 일치하였다. 따라서 본 실험의 결과를 토대로 보았을 때 큰방가지뚝 메탄올 추출물의 EtOAc분획이 α -glucosidase나 α -amylase의 저해활성이 다소 높게 나타났으며, 또한 쇠뜨기나 6년근 황기보다 더 좋은 활성을 나타내므로 항당뇨 또는 혈당강하 효과를 기대하며, 기능성 소

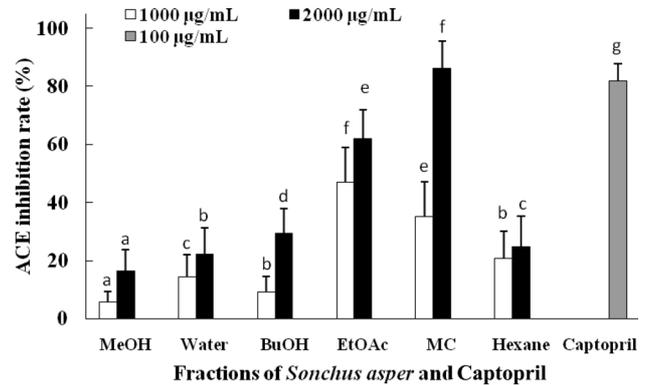


Fig. 5. ACE inhibitory activity of methanol extract and its solvent fractions of *S. asper*. Each value is expressed as mean \pm standard deviation (n=3). Different values indicate significance at $p < 0.05$ value.

재료 활용 가능성을 제시한다.

Angiotensin 전환효소(ACE) 저해활성 - 고혈압이 발생하는 기작에서 rennin-angiotensin system은 혈압조절에 매우 중요한 역할을 한다. Angiotensin I converting enzyme (ACE)은 angiotensin I에서 angiotensin II를 합성하는 마지막 단계에 관여하는 효소이다. Angiotensin II는 A-II수용체와 결합하여 동맥과 소동맥을 수축시키고 부신피질을 흥분시켜 알도스테론의 유리를 촉진시켜 결과적으로 혈압의 증가를 가져온다. 따라서 ACE 저해물질은 ACE의 활성을 억제함으로써 고혈압을 직접적으로 억제할 수 있다.³²⁾ 이미 알려진 고혈압 치료제는 합성 약물들로 높은 특이성 때문에 유익한 부작용을 나타낼 가능성을 가지고 있기 때문에 이러한 문제점을 해소하기 위해 ACE 저해활성을 가진 물질들은 천연물로부터 검색하는 연구가 다양하게 이루어지고 있으며 이들이 ACE저해 약물들을 대신할수 있을 것으로 기대한다.

본 연구에서는 큰방가지뚝 메탄올 추출물과 각 용매분획물의 ACE 저해활성을 2 mg/mL와 1 mg/mL의 농도에서 측정된 결과, EtOAc분획이 62.03%와 46.97%로 다소 높게 나타났으며, MC 분획은 2 mg/mL농도에서 86.34%로 높게 나타났지만 1 mg/mL 농도에서는 35.13%로 다소 낮게 나타났으며, 대조군 captopril (0.1 mg/mL)은 41.96%로 나타났다 (Fig. 5). 메탄올 추출물과 물, n-butanol 및 n-hexane 분획물은 유사한 활성을 보였고 EtOAc 분획과 MC분획에서 비교적 높은 ACE 저해활성을 나타내었다. ACE 저해활성이 우수한 것으로 보고된 식물 추출물의 ACE 저해활성을 분석한 결과 10 mg/mL농도에서 파인애플 세이지의 잎은 91.2%,³³⁾ 헛개나무 메탄올과 물 추출물의 ACE 저해활성은 4 mg/mL농도에서 81.1% 및 75.8%의 억제활성을 보였다.³⁴⁾ 본 연구에서 큰방가지뚝 메탄올 추출물과 각 분획물중 EtOAc와 MC분획은 2 mg/mL의 농도에서도 ACE 저해활성이

62.03%와 86.34%로 높았으며, 특히 l acetate 분획물은 1 mg/mL의 낮은 농도에서도 46.97%의 높은 ACE 억제활성을 보였으므로 항고혈압 효과가 있는 천연물로 활용 가능하며, 차후 MC와 EtOAc 분획물로부터 ACE 저해활성물질의 분리 및 동정 등의 대한 더 많은 연구가 필요할 것으로 생각된다.

결 론

큰방가지뚥의 생리활성을 평가하여 천연물 유래 기능성 소재를 개발하기 위하여 메탄올 추출물 및 용매분획물의 항산화활성, tyrosinase 저해 활성 α -glucosidase와 α -amylase 억제능 및 ACE 저해활성을 측정하였다. 총 폴리페놀과 총 플라보노이드 함량 측정 결과 EtOAc분획에서 180.71 mg GAE/g과 145.86 mg QE/g로 높은 함량을 나타내었으며, DPPH free radical 소거 활성 (EC_{50})은 33.55 μ g/mL로 우수한 활성을 나타내었고, 환원력에서도 EtOAc분획이 1.9의 높은 흡광도를 나타내었으며, tyrosinase 저해 활성도 EtOAc 분획이 47.38%로 다소 높게 나타났으며, α -glucosidase와 α -amylase 억제능에서도 EtOAc 분획이 56.22%와 46.58%를 나타내었으며, ACE 저해활성에서는 MC분획이 86.34%와 EtOAc 분획이 62.03%로 높은 활성을 나타내었다. 이러한 결과를 종합하여 볼 때, 큰방가지뚥의 생리활성을 이용한 항당뇨와 항고혈압에 의약품 개발이나 기능성 소재로의 활용이 가능 할 것으로 사료된다.

인용문헌

1. Korea national statistical office (2003) The cause of death statistics.
2. Anoja, S. A. (2002) Antidiabetic effect of *Panax ginseng* Berry extract and the identification of an effective component. *Diabetes* **51**: 1858.
3. Krall, M. A., Bradley A., L. P., Christlieb, R. F., Soell, A. R. and Joslins, J. S. (1985) Diabetes mellitus 12th ed., Lea & Febiger, Philadelphia.
4. Cha, M. R., Park, J. H., Choi, Y. H., Choi, C. W., Hong, K. S., Choi, S. U., Kim, Y. S., Kim, Y. K., Kim, Y. H. and Ryu, S. Y. (2009) Alpha-glucosidase inhibitors from the branches extract of *Cotinus coggygria*. *Kor. J. Pharmacogn.* **40**: 229-232.
5. Bailey C. J. and Day, C. (1989) Traditional plant medicines as treatments for diabetes. *Diabetic Care* **12**: 553-564.
6. Tsujimoto, T., Shioyama, E., Moriya, K., Kawaratani, H., Shirai, Y., Toyohara, M., Mitoro, A., Yamao, J., Fujii, H. and Fukui H. (2008) Pneumatosis cystoides intestinalis following alpha-glucosidase inhibitor treatment: a case report and review of the literature. *World J. Gastroenterol.* **14**: 6087-6092.
7. Koh, K. S. and Jeon, E. S. (2003) Ferns, fern-alles and seed bearing. plants of Korea. p. 726.
8. Shimizu, S., Miyase, T., Ueno, A., and Usmanghani, K. (1989) Sesquiterpene lactone glycosides and ionone derivative glycosides from *Sonchus asper*. *Phytochemistry* **28**: 3399-3402.
9. Helal, A. M., Nakamura, N, El-Askary, H. and Hattori. M. (2000) Sesquiterpene lactone glucosides from *Sonchus asper*. *Phytochemistry* **53**: 473-477.
10. Afolayan, A. J. and Jimoh, F. O. (2009) Nutritional quality of some wild leafy vegetables in South Africa. *Int. J. Food Sci. Nutr.* **60**: 424-431.
11. Khan, R. A., Khan, M. R., Sahreen, S. and Bokhari, J. (2010) Prevention of CCl₄-induced nephrotoxicity with *Sonchus asper* in rat. *Food Chem. Toxicol.* **48**: 2469-2476.
12. Chang, C. C., Yang, M. H., Wen, H. M. and Chern, J. C. (2002) Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colorimetric methods. *J. Food Drug Anal.* **10**: 178-182.
13. Blois, M. S. (1958) Antioxidant determination by the use of a stable free radical. *Nature* **181**: 1199-1200.
14. Goh, E. J., Seong, E. S., Lee, J. G., Na, J. K., Lim, J. D., Kim, M. J., Kim, N. Y., Lee, G. H., Seo, J. S., Cheoi, D. S., Chung, I. M. and Yu, C. Y. (2009) Antioxidant activities according to peelling and cultivated years of *Astragalus membranaceus* Roots. *Kor. J. Med. Crop. Sci.* **17**: 233-237.
15. Heo, B. G., Park, Y. S., Hou, W. N., Im, M. H., Park, Y. J., Kim, H. J., Sin, J. S. and Cho, J. Y. (2008) In vitro assay on physiological activities of flower and leaf extracts of red lotus. *Kor. J. Hort. Sci. Technol.* **26**: 331-337.
16. Hwang, I. G., Kim, H. Y., Shin, S. L., Lee, C. H., Lee, J. S., Jang, K. I. and Jeong, H. S. (2010) Biological activities of *Coreopsis tinctoria* Nutt. flower extracts. *Kor. J. Hort. Sci. Technol.* **28**: 857-863.
17. Gao, H. and Kawabata, J. (2005) α -Glucoside inhibition of 6-hydroxyflavones. Part 3: Synthesis and evaluation of 2,3,4-trihydroxybenzoyl-containing flavonoid analogs and 6-aminoflavones as α -glucosidase inhibitors. *Bioorg. Med. Chem.* **13**: 1661-1671.
18. Cushman, D. W. and Cheung, H. S. (1971) Spectrophotometric assay and properties of the angiotensin I-converting enzyme of rabbit lung. *Biochem. Pharmacol.* **20**: 1637-1648.
19. Bravo, L. (1998) Polyphenols: chemistry, dietary sources, methbolism, and nutritional significance. *Nutr. Rev.* **56**: 317-333.
20. Lee, K. D., Kim, J. S., Bae, J. O. and Yoon, H. S. (1992) Antioxidative effectiveness of water extract and ether in wormwood (*Artemisia Montana* pampam). *J. Kor. Soc. Food Nutr.* **21**: 17-22.
21. Cha, J. Y., Kim, S. Y., Jeong, S. J. and Cho, Y. S. (1999) Effects of hesperetin and naringenin on lipid concentration in

- orotic acid treated mice. *Kor. J. Life. Sci.* **9**: 389-394.
22. Lee, K. D., Chang, H. K. and Kim, H. K. (1997) Antioxidative and nitrite scavenging activities of edible mushrooms. *Kor. J. Food Sci. Technol.* **29**: 432-436.
23. Gordon, M. H. (1990) The mechanism of antioxidant action in vitro. In *Food antioxidants*. Hudson BJE, ed. Elsevier Applied Science, London, UK. p. 1-8.
24. Seo, J. K., Kang, M. J., Shin, J. H., Lee, S. J., Jeong, H. G., Sung, N. J. and Chung, Y. C. (2010) Antibacterial and antioxidant activities of solvent extracts from different parts of hagocho (*Prunella vulgaris*). *J. Kor. Soc. Food Sci. Nutr.* **39**: 1425-1432.
25. Pawelek, J. M. and Korner, A. M. (1982) The biosynthesis of mammalian melanin. *Amer. Sci.* **70**: 136-141.
26. Jung, S. W., Lee, M. K., Kim, S. J. and Han, D. S. (1995) Screening of tyrosinase inhibitor from plants. *Kor. J. Food Sci. Technol.* **27**: 891-896.
27. Ra, K. S., Suh, H. J., Chung, S. H. and Son, J. Y. (1997) Antioxidant activity of solvent extract from onion skin. *Kor. J. Food Sci. Technol.* **29**: 595-600.
28. Guo, J., Jin, Y. S., Han, W., Shim, T. H., Sa, J. H. and Wang, M. H. (2006) Studies for component analysis, antioxidative activity and α -glucosidase inhibitory activity from *Equisetum arvense*. *J. Kor. Soc. Appl. Biol. Chem.* **49**: 77-81.
29. Yin, Y., Heo, S. I., Jung, M. J. and Wang, M. H. (2009) Antioxidant and antidiabetic effects of various sections of *Astragalus membranaceus*. *Kor. J. Pharmacogn.* **40**: 1-5.
30. Park, Y. H., Lim, S. H., Ham, H. J., Jeong, H. N., Lee, K. J., Kim, K. H. and Kim, S. M. (2010) Comparison of biological activities of extracts from different Parts of Seabuckthorn (*Hippophae rhamnoides* L.). *J. Kor. Soc. Food Sci. Nutr.* **39**: 975-979.
31. Kim, J. H., Kim, M. U. and Cho, Y. J. (2007) Isolation and identification of inhibitory compound from *Crataegi fructus* on α -amylase and α -glucosidase. *J. Kor. Soc. Appl. Biol. Chem.* **50**: 204-209.
32. Ma, S. J. (2000) Inhibitory effect of onion seasoning on angiotensin converting enzyme. *J. Kor. Soc. Food Sci. Nutr.* **29**: 395-400.
33. Kwon, Y. I., Vatter, D. A. and Shetty, K. (2006b). Evaluation of clonal herbs of Lamiaceae species for management of diabetes and hypertension. *Asia. Pac. J. Clin. Nutr.* **15**: 107-118.
34. Lee, S. E., Bang, J. G. and Seong, N. S. (2004) Inhibitory activity on angiotensin converting enzyme and antioxidant activity of *Hovenia dulcis* Thunb. Cortex extract. *Kor. J. Med. Crop. Sci.* **12**: 79-84.
- (2011. 2. 10 접수; 2011. 3. 11 심사; 2011. 3. 11 게재확정)