

포제한약재의 최종당화산물 생성 억제 활성 및 항산화 효과

이아름^{1#}, 권오준^{2#}, 최준영³, 노성수^{1*}

1 : 대구한의대학교 한의과대학 본초약리학교실, 2 : 경북지역사업평가단
3 : 농업회사법인 새얼 바이오푸드 주식회사

Inhibitory Activity of Advanced Glycation Endproducts (AGEs) Formation and Antioxidant Activity of Processed Korean Medicines

AhReum Lee^{1#}, OJun Kwon^{2#}, JoonYoung Choi³, Seong-Soo Roh^{1*}

1 : College of Korean Medicine, Daegu Haany University, Republic of Korea
2 : Gyeongbuk Institute for Regional Program Evaluation, Republic of Korea
3 : Sae Earl Bio Food co., Ltd, Republic of Korea

ABSTRACT

Objectives : Advanced glycation end product (AGEs) is combine formation of glucose and protein. AGEs and reactive oxygen species are potential therapeutic targets for the various disease such as diabetic complications, renal injury, skin damage. The aim of this study was investigated the AGEs inhibitory activity and antioxidant activity of water extracts from 40 Korean medicines and 5 heating-processed Korean medicines.

Methods: AGEs formation inhibitory activities of Korean medicines measured using bovine serum albumin (BSA), glucose, and fructose. Then, five effective Korean medicines were selected and heated with 30% ethanol. The AGEs inhibitory activities of heated Korean medicine were measured compared with not-heated Korean medicines. The antioxidant activities were evaluated through radical scavenging assays using 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) and 2,2'-azino-bis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonic acid) (ABTS) radicals. Furthermore, we examined total phenol and flavonoids contents.

Results: Scutellariae Radix, Corni Fructus, Persimmon Fruit, Paeoniae Radix, *Mori Folium* respectively reduced AGEs production. Moreover, heating-processed Scutellariae Radix has AGEs inhibitory activities better than not-processed Scutellariae Radix. Heating-processed Scutellariae Radix scavenged DPPH and ABTS effectively and IC₅₀ of DPPH and ABTS radical scavenging activity of Heat processed Scutellariae Radix were $15,47 \pm 0,26 \mu\text{g}/\text{mL}$ and $12,07 \pm 1,23 \mu\text{g}/\text{mL}$. It caused heat processing methods of Scutellariae Radix up regulated total phenol and flavonoids contents ($26,68 \pm 0,10$ to $46,15 \pm 0,10$, $20,30 \pm 0,38$ to $64,20 \pm 0,52$).

Conclusion: It has AGEs inhibitory activities that 20 kind of medicinal plants of 40 medicinal plants. Especially, heat processed Scutellariae Radix has excellent AGEs inhibitory activities and antioxidant effect.

Key words : Medicinal plants, processing method, antioxidant activity, advanced glycation end products (AGEs).

*Corresponding author : Seong-Soo Roh, College of Korean Medicine, Daegu Haany University, 136, Sincheondong-ro, Suseong-gu, Daegu, 42158, Republic of Korea.

· Tel : +82-53-770-2351 · Fax : +82-53-768-6340 · E-mail : ddede@dhu.ac.kr

#First author : Ah Reum Lee, College of Korean Medicine, Daegu Haany University, 136, Sincheondong-ro, Suseong-gu, Daegu, 42158, Republic of Korea.

· Tel : +82-53-770-2258 · Fax : +82-53-768-6340 · E-mail : rmi2222@naver.com

OJun Kwon, Gyeongbuk Regional industry Evaluation, Daegyong Institute for Regional Program Evaluation, 27, Sampung-ro, Gyeongsan-si, Gyeongsangbuk-do, 38542, Republic of Korea.

· Tel : +82-53-818-9504 · E-mail : gbria@hanmail.net

- These authors are contributed equally a this manuscript.

· Received : 11 April 2017 · Revised : 6 May 2017 · Accepted : 20 May 2017

I. 서 론

최종당화산물 (Advanced glycation endproducts, AGEs) 이란 혈중의 당이 높아졌을 때 환원당인 포도당이 단백질의 free amino group과 반응하여 단백질에 비효소적 당화 반응을 일으키고 단백질과 포도당 사이에 공유결합을 이루게 된 형태를 말한다¹⁾. 당화 반응에 의한 최종당화산물의 생성은 당뇨병 동맥경화, 말초신경마비, 망막질환, 신장질환, 피부질환 등을 유발하는 것으로 알려져 있다. 최종당화산물은 세포의 수용체를 거쳐 신호전달체계를 활성화하여 활성산소종 (reactive oxygen species, ROS)를 유도하며 전구물질을 분해하는 효소인 glyoxalase의 활성을 감소시켜 세포 내 스트레스를 가속화한다²⁾. 고혈당 조건에서 산화적 스트레스는 헤모글로빈, 인슐린 등의 단백질을 비효소적 당화반응과 산화과정을 통해 당화혈색소를 만들고 이후 다양한 형태의 최종당화산물을 생성하게 된다. 즉, 혈당의 상승은 최종당화산물을 생성하고 이는 과다한 산화물질을 유발하게 되며³⁾ 한 한번 생성되면 분해되기 힘들어 정상혈당으로 회복되어도 분해되지 않고 혈액이나 조직에 결합하여 장기의 손상을 유발한다⁴⁾.

최근 최종당화산물의 생성을 억제하거나 이미 생성된 최종당화산물의 조직 내 결합을 억제하는 물질의 연구가 활발히 진행되고 있다. 대표적인 최종당화산물 억제제는 aminoguanidine이 있는데, 이는 환원당과 단백질의 결합을 방해하여 효과적으로 AGEs 생성을 억제하는 것으로 알려져 있다. 그러나 최근 임상적으로 aminoguanidine이 독성을 나타내는 것이 보고되어 문제가 되고 있다. 따라서 부작용이 적으면서 AGEs 생성을 억제하거나 생성된 AGEs를 소거하는 효능이 뛰어난 천연물 소재의 탐색이 절실한 실정이다⁵⁾.

따라서 본 연구는 국내외의 한약재 40종을 대상으로 glycation 억제효능 및 DPPH, ABTS 라디칼 소거능 및 총 페놀, 플라보노이드 함량을 실험하여 항산화 효능을 나타내는 소재를 검토하였다.

II. 재료 및 방법

1. 실험재료

본 실험에 사용된 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH), 7 mM 2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonic acid) (ABTS), potassium phosphate monobasic, potassium phosphate dibasic, gallic acid, Folin-Ciocalteu's phenol reagent, diethylene glycol, sodium hydroxide, naringin, bovine serum albumin, glucose, fructose은 Sigma Aldrich (St Louis, MO, USA)에서 구입하여 사용하였다.

2. 한약재 및 포제한약재 추출물 제조

본 실험에서 사용한 한약재 중 柿果은 경상북도 상주시에서 채취하여 사용하였고, 柿果을 제외한 39종의 한약재는 옹기 한약국 (Daegu, Korea)에서 구입하여 사용하였다. 최종당화산물 생성 억제활성 실험을 통하여 선별한 5종의 시료는 roasting machine (Genesis Co., Ltd., Kyungki-do, Korea) 기기를

이용하여 200℃에서 7분간 에탄올 30% 사용해 酒炒를 하였다.

건조한 한약재 40종 및 포제법을 적용한 한약재 5종을 분쇄한 다음 10배수의 증류수를 가하고 100℃에서 2시간 동안 가열하여 추출한 다음 이를 여과지 (Whatman No.2, GE healthcare, Arlington Heights, IL, USA)를 사용하여 여과하였다. 여과액을 rotary vacuum evaporator (JP/N-1000X, Sunileyela Co. Ltd, Gyeonggi-do, Korea)를 사용하여 감압농축 후 동결건조하고 얻어진 분말을 -20℃에 보관하여 사용하였다.

3. 최종 당화 산물 억제 활성 측정

1 mg/ml의 시료 0.3 ml에 bovine serum albumin을 50 mM phosphate buffer (pH 7.4)에 용해하여 0.3 ml 가하였다. 50 mM glucose 및 fructose를 각각 0.3 ml씩 가하였고 배양액의 변질을 방지하기 위하여 sodium azide를 첨가한 후 37℃에서 1주일간 incubation하였다. Incubation 후에 반응액을 UV spectrophotometer (UV1800, Shimadzu, Kyoto, Japan)를 사용하여 흡광도 excitation 350nm, emission 450nm에서 측정하였으며 양성대조군으로는 aminoguanidine을 사용하였다.

4. 항산화 활성 측정

1) DPPH 라디칼 소거 활성 측정

항산화 활성을 측정하는 방법으로 Blois에 의한 DPPH free radical 소거법을 사용하였다⁶⁾. DPPH 라디칼 소거 활성은 시료 중에 포함된 항산화 물질의 양을 측정하는데 사용되는 대표적인 실험법이다. 일정농도의 시료 100 μ l과 60 μ M DPPH 용액을 100 μ l 넣고 혼합한 후, 실온에서 30분간 반응시켰다. 이 반응액을 UV spectrophotometer (UV1800, Shimadzu, Kyoto, Japan)를 사용하여 517 nm에서 흡광도를 사용하여 측정하여 산출하였다. 시료를 첨가하지 않은 대조군의 흡광도를 50% 감소시키는데, 필요한 시료의 양을 IC₅₀으로 하여 나타내었다.

2) ABTS 라디칼 소거 활성 측정

한약재 및 포제한약재의 항산화 효능을 평가하기 위하여 ABTS 라디칼 소거활성을 측정하였다. 7 mM ABTS와 2.45 mM Potassium persulfate를 증류수에 녹인 다음 12시간동안 차광하여 반응시킨 후, 이 반응액을 734 nm에서 ethanol을 이용하여 흡광도 0.70 \pm 0.02로 보정하였다. ABTS 용액 95 μ l에 시료 5 μ l를 첨가하고 15분동안 반응시킨 후 734 nm에서 흡광도를 측정하였다⁷⁾.

3) 총 페놀 함량 측정

한약재 및 酒炒 한약재의 총 페놀 함량 측정은 Folin-Denis법에 의해 측정하였다. 시료 20 μ l 에 증류수 1.58 ml, Folin-Ciocalteu's phenol reagent 100 μ l를 혼합하여 실온에서 1분간 반응시킨 후 300 μ l 의 20% Na₂CO₃를 첨가하였다. 20℃에서 2시간 후 UV spectrophotometer (Infinite M200,

Tecan, Salzburg, Austria)를 이용하여 765 nm에서 흡광도를 측정하였다. 표준물질 gallic acid를 사용하여 표준 검량선을 구하고, 시료의 총 페놀 함량을 산출하였다⁸⁾.

4) 총 플라보노이드 함량 측정

한약재 및 酒炒 한약재의 총 플라보노이드 함량은 Lister 등의 방법에 의해 구하였다⁹⁾. 1 ml의 diethylene glycol과 시료추출물 100 μ l 및 1 N NaOH 10 μ l를 잘 혼합시켜 37 $^{\circ}$ C의 water bath에서 1시간 동안 반응시킨 후 420 nm에서 흡광도를 측정하였다. 표준물질로는 naringin를 사용하였으며, 표준 검량선을 구하여 시료의 플라보노이드 함량을 구하였다.

5. 통계분석

데이터는 평균 \pm 표준편차로 표현하였으며, SPSS (Version

22.0, IBM, Armonk, NY, USA)을 사용하여 one-way analysis of variance (ANOVA) test를 실시한 후 Student's t-test방법에 의하여 각 구간의 유의성 차이를 검증하였다 (* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$).

III. 결 과

1. 최종당화산물 억제 활성

40종의 한약재의 최종 당화 산물 억제 활성을 분석한 결과, 桑葉 추출물이 77.37 \pm 0.72%의 억제율을 보여 양성대조군은 aminoguanidine (84.30 \pm 1.19)와 유사한 억제 활성을 나타냈다. 또한 黄芩 (68.95 \pm 2.14), 白芍藥 (54.92 \pm 1.42), 柿果 (46.27 \pm 0.34), 山茱萸 (37.46 \pm 1.15)가 높은 최종 당화 산물 억제 활성을 나타내었다 (Table 1.).

Table 1. Inhibition for AGEs formation of medicinal plants.

latin name	Scientific name	Used part	Inhibitory activity (%)
	Aminoguanidine		84.30 \pm 1.19
Rehmanniae Radix	<i>Rehmannia glutinosa</i>	Root	ND
Cirsii Herba	<i>Cirsium japonicum</i>	Whole	ND
Salviae Miltiorrhizae Radix	<i>Salvia miltiorrhiza</i>	Root	ND
Scutellariae Radix	<i>Scutellaria baicalensis</i>	Root	68.95 \pm 2.14
Paeoniae Radix	<i>Paeonia lactiflora</i>	Root	54.92 \pm 1.42
Xanthii Fructus	<i>Xanthium strumarium</i>	Fruit	9.37 \pm 0.98
Dioscoreae Rhizoma	<i>Dioscorea batatas</i>	Root stock	ND
Hoelen	<i>Poria cocos</i>	Whole	33.57 \pm 4.74
Cnidii Rhizoma	<i>Cnidium officinale</i>	Root stock	ND
Mori Folium	<i>Morus alba</i>	Leaf	77.37 \pm 0.72
Alli Tuberosi Semen	<i>Allium tuberosum</i>	Stem	10.37 \pm 1.53
Zingiberis Rhizoma Crudus	<i>Zingiber officinale</i>	Root	ND
Mori Ramulus	<i>Morus alba</i>	Bark	ND
Glycyrrhizae Radix et Rhizoma	<i>Glycyrrhiza uralensis</i>	Root stock	ND
Astragali Radix	<i>Astragalus membranaceus</i>	Root	5.15 \pm 0.18
Angelicae Gigantis Radix	<i>Angelica gigas</i>	Root	ND
Cinnamomi Cortex Spissus	<i>Cinnamomum cassia</i>	Bark	14.89 \pm 0.96
Eriobotryae Folium	<i>Eriobotrya japonica</i>	Leaf	21.74 \pm 1.41
Schisandrae Fructus	<i>Schisandra chinensis</i>	Fruit	ND
Lithospermi Radix	<i>Lithospermum erythrorhizon</i>	Root	ND
Curcuma Longae Rhizoma	<i>Curcuma longa</i>	Root stock	ND
Menthae Herba	<i>Mentha arvensis</i>	Leaf	8.03 \pm 3.97
Atractylodis Rhizoma Alba	<i>Atractylodes japonica</i>	Root stock	ND
Citri Unshii Pericarpium	<i>Citrus unshiu</i>	Fruit flesh	10.29 \pm 0.63
Lycii Fructus	<i>Lycium chinense</i>	Fruit	3.65 \pm 1.88
Alismatis Rhizoma	<i>Alisma orientale</i>	Root stock	ND
Corni Fructus	<i>Cornus officinalis</i>	Fruit	37.46 \pm 1.15
Gastrodiae Rhizoma	<i>Gastrodia elata</i>	Root stock	ND
Taraxaci Herba	<i>Taraxacum platycarpum</i>	Whole	11.36 \pm 2.89

latin name	Scientific name	Used part	Inhibitory activity (%)
Notoginseng Radix	<i>Panax notoginseng</i>	Root	ND
Ganoderma	<i>Ganoderma lucidum</i>	Whole	11.04±0.28
Gardeniae Fructus	<i>Gardenia jasminoides</i>	Fruit	0.48±1.80
Coptidis Rhizoma	<i>Jeffersonia dubia</i>	Root stock	36.50±0.66
Curcumae longae Radix	<i>Curcuma longa</i>	Root	ND
Mori Cortex Radicis	<i>Morus alba</i>	Bark	1.65±3.25
Artemisiae Capillaris Herba	<i>Artemisia capillaris</i>	Whole	ND
Ginseng Radix Alba (Ginseng)	<i>Panax ginseng C.A.Meyer</i>	Root	ND
Ginseng Radix Alba (Red ginseng)	<i>Panax ginseng C.A.Meyer</i>	Root	ND
Ginseng Radix Alba (Black ginseng)	<i>Panax ginseng C.A.Meyer</i>	Root	14.55±0.79
Persimmon	<i>Diospyros kaki</i>	Fruit	46.27±0.34

The final concentration of each medicinal plant extract was 1 mg/ml. Data was expressed as Inhibitory activity (%) compared with control. All values are mean±SD of three replications.

ND : Inhibitory effect was not detected.

최종 당화 산물 억제 활성을 평가하여 선정된 5종 (桑葉, 黃芩, 白芍藥, 柿果, 山茱萸)을 酒炒하여 최종 당화 산물 억제 활성을 확인한 결과, 桑葉 추출물 (77.37±0.72%)은 酒炒하였을 때, 42.68±3.24%의 억제율을 보여 비교적 감소된 모습을 나타내었다. 黃芩 추출물 (68.95±2.14)은 酒炒하였을 때

71.31±0.14%의 억제율을 보여 酒炒로 인하여 억제활성이 상승된 것을 확인하였다. 酒炒한 감 (57.59±1.31), 白芍藥 (67.71±0.43) 또한 최종 당화산물 억제 활성이 증가하였으나 山茱萸 (28.59±0.38)는 활성이 감소하였다 (Table 2.).

Common name	Scientific name	Used part	Inhibitory activity (%)
	Aminoguanidine		82.42±2.12
Scutellariae Radix*	<i>Scutellaria baicalensis</i>	Root	71.31±0.14
Corni Fructus*	<i>Cornus officinalis</i>	Fruit	28.59±0.38
Persimmon*	<i>Diospyros kaki</i>	Fruit	57.59±1.31
Paeoniae Radix*	<i>Paeonia lactiflora</i>	Root	67.71±0.43
Mori Folium*	<i>Morus alba</i>	Leaf	42.68±3.24

The final concentration of each medicinal plant extract was 1 mg/ml. Data was expressed as Inhibitory activity (%) compared with control. All values are mean±SD of three replications.

* heating-processed with 30% ethanol.

2. 항산화 활성

1) DPPH 라디칼 소거 활성

AGEs 생성 억제 활성을 나타낸 한약재 및 酒炒한 한약재의 DPPH 라디칼 소거 활성을 실험한 결과, 黃芩의 DPPH 라디칼 소거능은 IC₅₀값이 58.47±6.59 µg/ml 으로 나타난 반면, 酒炒 黃芩은 15.47±0.26 µg/ml으로 나타나 우수한 항산화 활성을 보였다. 이 결과는 AGEs 소거능 측정 결과와 일치하는 것으로 黃芩은 酒炒하면 항산화 효능 및 AGEs 소거능이 증가하는 것으로 확인되었다.

山茱萸 및 酒炒 山茱萸의 DPPH 라디칼 소거능 측정 결과 山茱萸는 IC₅₀값이 30.09±1.23 µg/ml 으로 나타난 반면, 酒炒 山茱萸는 40.18±0.78 µg/ml으로 나타났다. 따라서 山茱萸는 酒炒하였을 때, DPPH 라디칼 및 AGEs 소거능이 낮아지는 것으로 확인되었다. 柿果, 白芍藥, 桑葉의 DPPH 라디칼 소거능 측정 결과, IC₅₀값은 각 22.14±0.19 µg/ml, 14.99±0.06 µg/ml, 26.64±0.48 µg/ml로 높게 나타났으며, 酒炒하였을 때 52.91±1.59 mg/ml, 22.95±1.06 mg/ml, 23.49±0.43 mg/ml

으로 나타나 柿果, 白芍藥은 항산화 활성이 다소 감소하였고 桑葉은 酒炒의 영향을 받지 않고 유사한 활성을 나타내는 것을 알 수 있었다 (Fig.1.).

2) ABTS 라디칼 소거 활성

黃芩 및 酒炒 黃芩의 ABTS 라디칼 소거능 측정 결과 黃芩은 IC₅₀값이 31.04±1.10 µg/ml 으로 나타난 반면, 酒炒 黃芩은 12.07±1.23 µg/ml으로 나타나 黃芩은 酒炒하였을 때, ABTS 라디칼 소거능이 높아지는 것을 확인하였다. 山茱萸 및 酒炒 山茱萸의 ABTS 라디칼 소거능 측정 결과 山茱萸는 IC₅₀값이 24.77±0.40 µg/ml 으로 나타났고, 酒炒 山茱萸는 28.35±1.06 µg/ml으로 나타나 유사한 활성을 보였다. 柿果, 白芍藥, 桑葉의 ABTS 라디칼 소거능 결과, IC₅₀값은 80.62±3.41 mg/ml, 10.68±0.21 mg/ml, 29.63±0.43 mg/ml 으로 나타났고 酒炒하였을 때는 154.31±8.86 mg/ml, 43.96±1.03 mg/ml, 86.47±3.66 mg/ml으로 나타나 전체적으로 유사하거나 다소 감소된 것을 알 수 있었다 (Fig. 2.).

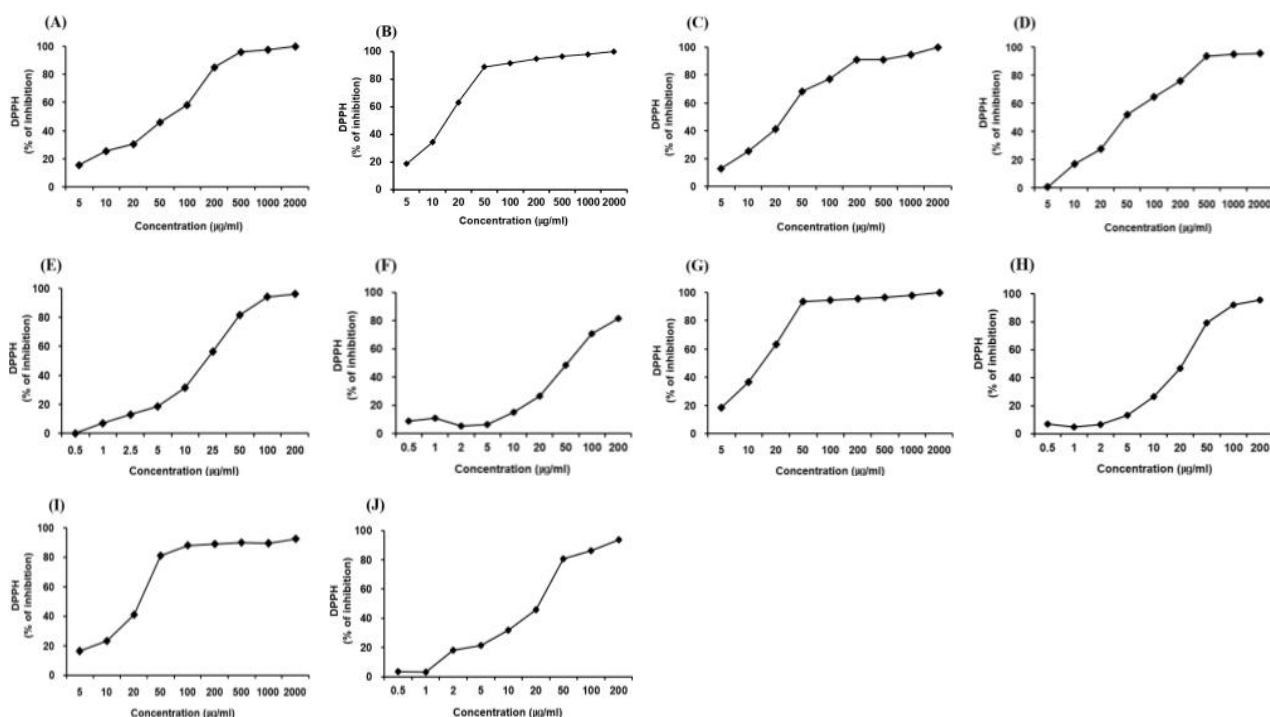


Fig. 1. Scavenging activity of medicinal plants and heat processed medicinal plants on DPPH radical. Scavenging activity of *Scutellariae Radix* against DPPH radical; (A), Scavenging activity of heat processed *Scutellariae Radix* against DPPH radical; (B), Scavenging activity of *Corni Fructus* against DPPH radical; (C), Scavenging activity of heat processed *Corni Fructus* against DPPH radical; (D), Scavenging activity of *Persimmon* against DPPH radical; (E), Scavenging activity of heat processed *Persimmon* against DPPH radical; (F), Scavenging activity of *Paeoniae Radix* against DPPH radical; (G), Scavenging activity of heat processed *Paeoniae Radix* against DPPH radical; (H), Scavenging activity of *Mori Folium* against DPPH radical; (I), Scavenging activity of *Mori Folium* against DPPH radical; (J).

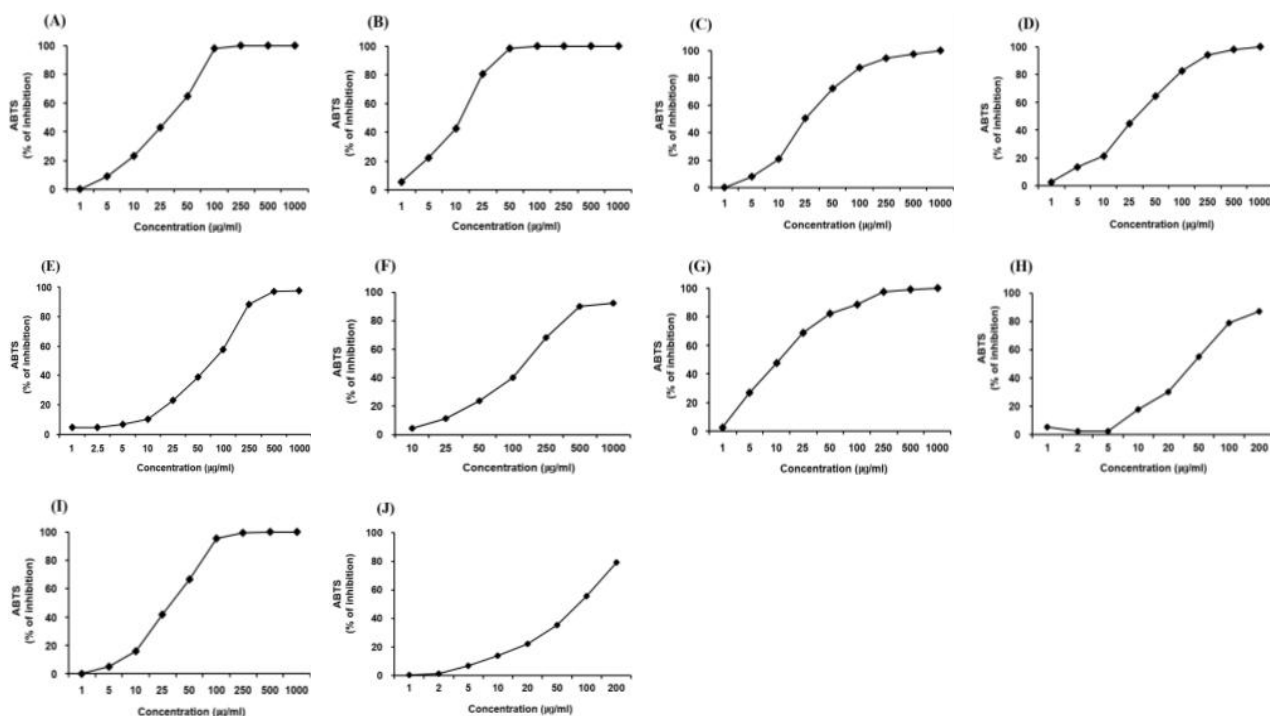


Fig. 2. Scavenging activity of medicinal plants and heat processed medicinal plants on ABTS radical. Scavenging activity of *Scutellariae Radix* against ABTS radical; (A), Scavenging activity of heat processed *Scutellariae Radix* against ABTS radical; (B), Scavenging activity of *Corni Fructus* against ABTS radical; (C), Scavenging activity of heat processed *Corni Fructus* against ABTS radical; (D), Scavenging activity of *Persimmon* against ABTS radical; (E), Scavenging activity of heat processed *Persimmon* against ABTS radical; (F), Scavenging activity of *Paeoniae Radix* against ABTS radical; (G), Scavenging activity of heat processed *Paeoniae Radix* against ABTS radical; (H), Scavenging activity of *Mori Folium* against ABTS radical; (I), Scavenging activity of *Mori Folium* against ABTS radical; (J).

3) 총 페놀 및 플라보노이드 함량

총 페놀 및 플라보노이드 측정 결과, 黃芩은 酒炒하였을 때, 그 함량이 29.68 ± 0.01 mg/g에서 46.15 ± 0.10 mg/g으로 플라보노이드함량은 20.30 ± 0.38 mg/g에서 64.20 ± 0.52 mg/g으로 매우 높게 증가하는 것을 확인하였다. 이에 비해 山茱萸는 31.81 ± 0.12 mg/g에서 酒炒하였을 때 26.41 ± 0.01 mg/g로 총 페놀 함량이 다소 감소하였고, 플라보노이드함량은 0.84 ± 0.09 mg/g에서 1.13 ± 0.03 mg/g으로 증가하였다. 柿果, 白芍藥, 桑葉은 총 페놀 함량이 각 39.44 ± 0.68 mg/g, 45.65 ± 0.02 mg/g, 43.21 ± 0.08 mg/g로 나타났고 플라보노이드 함량은 5.05 ± 0.10 mg/g, 4.42 ± 0.42 mg/g, 39.32 ± 0.29 mg/g으로 나타났다. 이 시료들을 酒炒한 결과, 柿果은 총 페놀 및 플라보노이드 함량이 감소하였고, 白芍藥, 桑葉은 총 페놀함량은 감소하였으나 플라보노이드 함량은 소폭 증가하였다.

Table 3. Total polyphenol and total flavonoid contents of medicinal plants and heat processed medicinal plants

Test sample	Total polyphenol (mg/g)	Total flavonoid (mg/g)
Scutellariae Radix	29.68 ± 0.01	20.30 ± 0.38
Processed Scutellariae Radix*	46.15 ± 0.10	64.20 ± 0.52
Corni Fructus	31.81 ± 0.12	0.84 ± 0.09
Processed Corni Fructus*	26.41 ± 0.01	1.13 ± 0.03
Persimmon	39.44 ± 0.68	5.05 ± 0.10
Processed Persimmon*	7.88 ± 0.02	2.09 ± 0.01
Paeoniae Radix	45.65 ± 0.02	4.42 ± 0.42
Processed Paeoniae Radix*	23.03 ± 0.06	5.33 ± 0.40
Mori Folium	43.21 ± 0.08	39.32 ± 0.29
Processed Mori Folium*	21.69 ± 0.08	44.83 ± 0.28

All values are mean \pm SD of three replications.

* heating-processed with 30% ethanol.

IV. 고찰

당화반응은 단백질의 유리 아미노기인 lysine, arginine과 당의 carbonyl기가 반응하여 Schiff base를 형성하고 연속적인 반응을 거쳐 갈색의 화합물을 만드는데 이것을 최종당화산물이라 한다¹⁰⁾. 보통은 고혈당의 상태가 지속되는 당뇨환자에게서 많이 일어나지만 정상 혈당의 경우에도 인체의 노화가 진행됨에 따라 체내에서 과다 생성되게 된다¹¹⁾. 따라서 최종당화산물 억제활성을 나타내는 한약재는 혈관질환, 신장질환, 동맥경화와 같은 당뇨합병증 억제제로 사용될 수 있을 뿐 아니라¹²⁾ 비교적 반감기가 긴 피부의 콜라겐과 쉽게 결합하여 피부의 탄력을 떨어뜨리기 때문에 피부 주름 개선 소재로도 활용될 수 있다¹³⁾.

炮製란 修治, 修製라고도 불리며 약물을 가공 처리하는 방법의 총칭이다. 이러한 炮製를 통하여 효능을 변화시키고 적용 범위를 넓혀 임상목적에 맞게 다양하게 사용할 수 있다^{14,15)}.

본 연구에서는 국내의 한약재 및 포제한 한약재를 열수 추출하여 최종당화산물 생성 억제활성 및 항산화 활성을 평가하였다. BSA에 glucose, fructose 및 1 mg/ml의 시료를 가한 후 37°C에서 일주일간 최종당화산물을 유발하여 억제활성을 평

가한 결과 黃芩, 山茱萸, 桑葉, 柿果, 白芍藥에서 뛰어난 최종당화산물 억제활성을 나타내었고 따라서 추후 연구에서는 5종의 시료를 대상으로 진행하였다.

黃芩, 山茱萸, 柿果, 白芍藥, 桑葉 및 이를 酒炒하여 최종당화산물 생성억제활성을 평가한 결과 黃芩, 柿果, 白芍藥에서 활성이 증가한 것을 확인하였다. 5종의 시료 및 酒炒한 시료의 항산화 활성을 알아보기 위하여 DPPH, ABTS 라디칼 소거능 및 페놀, 플라보노이드 함량을 평가하였다. 천연물에서 분리한 페놀, 플라보노이드 화합물은 항산화 활성을 판단하는 지표가 될 뿐만 아니라 최종당화산물 억제활성을 가지고 있음이 보고되어 있다^{16,17)}.

실험 결과, 柿果, 白芍藥, 桑葉, 山茱萸 추출물은 酒炒하였을 때 큰 변화를 나타내지 않았으나 黃芩은 酒炒하였을 때 DPPH, ABTS 라디칼 소거능이 증가하는 것으로 나타났으며 이는 신등¹⁸⁾의 연구결과와 일치함을 확인하였다. 이러한 결과는 黃芩의 플라보노이드계 성분인 baicalin, baicalein, wogonin의 뛰어난 항산화 활성에 의한 것으로 사료되며¹⁹⁾ 黃芩은 포제하였을 때 baicalein, wogonin의 함량이 증가하는 것으로 알려져 있다²⁰⁾. 또한 총 페놀, 플라보노이드 함량이 酒炒하였을 때 크게 증가하는 것은 라디칼 소거능을 증가시키는데 기인한 것으로 보여진다.

본 논문의 실험 결과를 종합하여 보면 국내의 한약재 40종 중 20종의 한약재가 최종당화산물 억제활성을 가지고 있는 것으로 확인되었다. 이는 국내 한약재의 최종당화산물 억제활성이 뛰어난 식물이 다량 있음을 의미하며 이에 대한 심도 깊은 연구가 추후에 필요하다고 사료된다. 20종의 한약재 중 黃芩의 경우 특히 AGEs 생성억제활성 및 항산화 활성이 뛰어난 뿐 아니라 酒炒하였을 때 활성이 크게 증가한 것을 확인하여 AGEs 관련 질환 개선에 활용될 수 있음을 시사하였다.

V. 결론

본 논문에서는 국내외의 한약재 40종의 최종당화산물 억제활성 및 항산화 활성에 관하여 실험하였고 그 결과는 다음과 같다.

1. 국내외의 한약재 40종 중 20종의 한약재는 최종당화산물 억제 활성을 나타내었고 그 중, 黃芩, 山茱萸, 柿果, 白芍藥, 桑葉은 뛰어난 최종당화산물 억제 활성을 나타내었다.
2. 黃芩, 山茱萸, 柿果, 白芍藥, 桑葉을 酒炒하여 최종당화산물억제활성을 살펴본 결과 黃芩, 柿果, 白芍藥은 최종당화산물 억제 활성이 증가하였다.
3. 黃芩, 山茱萸, 柿果, 白芍藥, 桑葉 및 이를 酒炒하여 DPPH 라디칼 활성 및 ABTS 라디칼 활성을 분석한 결과 酒炒한 黃芩이 우수한 항산화 활성을 나타냄을 확인하였다.
4. 黃芩, 山茱萸, 柿果, 白芍藥, 桑葉 및 이를 酒炒하여 총

폐놀함량과 플라보노이드 함량을 분석한 결과, 酒炒한 黃芩에서 높은 폐놀함량과 플라보노이드함량이 나타났다.

위와 같은 결과를 종합하여 보았을 때 黃芩 및 酒炒한 黃芩은 우수한 최종당화산물 억제활성과 항산화 활성을 가지고 있다고 사료되며 이와 관련하여 추후 연구가 진행된다면 기능성 식품 소재로서의 가치가 충분하다고 판단된다.

감사의 글

이 연구결과는 2017년도 중소기업청 기업부설연구소 신규 설치사업(C0268169)의 지원에 의해 수행되었습니다.

References

1. Park SJ, Chung H, Outer blood-retinal barrier alteration induced by intraocular advanced glycation endproduct. *J. Korean Ophthalmol. Soc.* 2001 ; 42(2) : 151-5.
2. Kwon HO, Lee MH, Kim YJ, Kim E, Kim OK, Beneficial effects of *Acanthopanax seticosus* extract in type II diabetes animal model via down-regulation of advanced glycated hemoglobin and glycosylation end products. *J. Korean Soc Food Sci Nutr.* 2016 ; 45(7) : 929-37.
3. Song F, Schmidt AM. Glycation and insulin resistance : novel mechanisms and unique targets. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2012 ; 32(8) : 1760-5.
4. Huebschmann AG, Regensteiner JG, Vlassara H, Reusch JEB. Diabetes and advanced glycoxidation end products. *Diabetes Care* 2006 ; 29(6) : 1420-32.
5. Rahbar S, Figarola JL. Novel inhibitors of advanced glycation endproducts. *Arch Biochem Biophys.* 2003 ; 419(1) : 63-79.
6. Blois MS. Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature*, 1958 ; 181(4617) : 1199-1200.
7. Re R, Pellegrini N, Proteggente A, Pannala A, Yang M, Rice-Evans C. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free radical biology and medicine.* 1999 ; 26(9) : 1231-37.
8. Folin O, Denis W. On phosphotungstic-phosphomolybdic compounds as color reagent. *Journal of biological chemistry.* 1912 ; 12(2) : 239-43.
9. Lister CE, Lancaster JE, Sutton KH, Walker JR. Developmental changes in the concentration and composition of flavonoids in skin of a red and a green apple cultivar. *Journal of the science of food and agriculture.* 1994 ; 64(2) : 155-61.
10. Maillard-Lefebvre H, Boulanger E, Daroux M, Gaxatte C, Hudson BI, Lambert M. Soluble receptor for advanced glycation end products: a new biomarker in diagnosis and prognosis of chronic inflammatory diseases. *Rheumatology (Oxford)* 2009 ; 48(10) : 1190-1196.
11. Sell DR, Kleinman NR, Monnier VM. Longitudinal determination of skin collagen glycation and glycoxidation rates predicts early death in C57BL/6NNIA mice. *FASEB J* 2000 ; 14(1) : 145-156.
12. Kim BH, Son SM. Mechanism of Developing Diabetic Vascular Complication by Oxidative Stress. *Endocrinology and Metabolism.* 2006 ; 21(6) : 448-59.
13. Lee HS, Yoon JA. Inhibitory activity of advanced glycation endproducts (AGE) formation of edible plant for development of anti-wrinkle ingredients. *J. Korean Soc Food Sci Nutr.* 2010 ; 39(2) : 186-92.
14. Seo CS, Kim JH, Shin HK, Kim BS. Quantitative Analysis of (+)-Catechin, Paeoniflorin, and Paeonol in Moutan Radicis Cortex and Its Processed Products. *Kor. J. Pharmacogn.* 2016 ; 47(3) : 237-45
15. Kwon SR, Kim HG, Ham IH, Lee JJ, Lee JH, Hong SP, Kim DH, Choi HY. Studies on the changes of oligosaccharide contents in *rehmanniae radix preparata* according to various processing methods. *Kor. J. Herbology.* 2007 ; 22(4) : 261-70.
16. Nakgawa T, Yokozawa T, Kim YA, Kang KS, Tanaka T. Activity of wen-pi-tang, and purified constituents of rhei rhizome and glycyrrhizae radix against glucose-mediated protein damage. *Am. J. Chin. Med.* 2005 ; 33(5) : 817-29.
17. Kim JM, Jang DS, Lee YM, Yoo JL, Kim YS, Kim JH, Kim JS. Aldose-reductase- and protein-glycation-inhibitory principles from the whole plant of *Duchesnea chrysantha*. *Chem. Biodivers.* 2008 ; 5(2) : 352-6.
18. Shin SH, Shin YO, Lee JY, Lee AR, Kim MY, Park CH, Seo BI, Roh SS. Ethanol-Heated Processed *Scutellariae Radix* Improve Inflammatory Response through an Inhibitory Effect against Oxidative Stress in Mice with the Lipopolysaccharide-induced Intestine Injury of Mice. *Kor. J. Herbology.* 2015 ; 30(4) : 81-8.
19. Kim NY. Effect of Antioxidation and Inhibition of Melanogenesis from *Scutellaria baicalensis* Extract. *Kor. J. Aesther. Cosmetol.* 2014 ; 12(1) : 41-7.
20. Ham IH, Maeng WM, Yang GS, Kim DH, Kim DH, Cho JH, Choi HY. Study on the Variation of Components from *Scutellariae Radix* by Processing and Storage Condition. *Kor. J. Herbology.* 2007 ; 22(2) : 189-99.