

복분자(*Rubus coreanum* F.) 열수 및 에탄올추출물의 생리활성비교

조영제^{1*} · 천성숙² · 권효정¹ · 김정환¹ · 윤소정¹ · 이경환¹

¹상주대학교 식품공학과

²영남대학교 식품가공학과

Comparison of Physiological Activities between Hot-Water and Ethanol Extracts of Bokbunja (*Rubus coreanum* F.)

Young-Je Cho^{1*}, Sung-Sook Chun², Hyo-Jung Kwon¹, Jeung-Hoan Kim¹,
So-Jung Yoon¹ and Kyoung-Hwan Lee¹

¹Dept. of Food Engineering, Sangju National University, Sangju 742-711, Korea

²Dept. of Food Science & Technology, Yeungnam University, Gyeongsan 712-749, Korea

Abstract

Physiological activities of hot-water extract and various concentration ethanol extracts from Bokbunja (*Rubus coreanum* F.) were examined. Total phenol content of extract showed higher content in hot-water extract (41.4 mg/g) than other extracts. Optimum condition of extraction for phenolic was 60% ethanol extract (41.3 mg/g). The ABTS radical decolorization and antioxidant protection factor were determined. Results shown inhibition rate on ABTS of 60% ethanol extract (99.8%) and antioxidant protection factor of water extract (1.2 PF). Electron donation ability on DPPH was higher 60% ethanol extract than another percent ethanol extracts. Also hydroxyl radical scavenging activity of extracts was higher 60% ethanol extracts (0.03 × 100 μM) than another extracts because the value of TBARS was lower than another extracts. But hot-water extract had higher inhibitory activities on xanthine oxidase and pancreatin α-amylase than 60% ethanol extract. ACE (angiotensin converting enzyme) inhibitory activities were equaled to hot water extract and 60% ethanol extract. Protocatechuic acid was the most abundant phenolic compounds as analyzed by HPLC. The results will be useful as natural antioxidants and functional foods for understanding the physiological activities of Bokbunja extracts.

Key words: Bokbunja (*Rubus coreanum* F.), xanthine oxidase, angiotensin converting enzyme, antioxidant, physiological

서 론

현대의학이 고도로 발달한 서구사회를 중심으로 동양의학에서 주로 이용되던 약용식물로부터 신약을 개발하려는 연구가 이루어지고 있으며, 이에 대한 관심이 집중되고 있다. 우리나라에서도 오래전부터 사용되어 온 약용식물을 관련 질환의 총체적 치료 또는 예방용으로 처방, 이용되었으나, 효능의 과학적 근거를 명확히 제시하지 못하여 상대적으로 그 활용도가 낮았는데, 약용식물의 2차 대사산물이 생체에 대한 생리활성을 나타내면서 많은 천연자원에 대한 연구가 활발히 진행되고 있다(1). 즉, 물질의 보고라고 할 수 있는 식물자원에서 항암, 항알레르기, 항비만, 항산화, 항균 등의 기능성 물질 탐색에 관한 연구가 활발히 진행되고 있는 가운데, 이들 유용성분을 식품에 첨가하거나 그 자체를 이용

하려는 시도 또한 활발하게 진행되고 있다(2-7). 이 중 항산화물질은 유지의 자동산화 과정의 연쇄반응을 억제하는 radical-scavenger나 금속이온 킬레이트 또는 LDL 산화에 의한 동맥경화, 심장병 예방, 노화억제 등의 다양한 효과가 있는 것으로 알려져 있다(8,9). 따라서 국민소득의 증가와 더불어 한약재를 이용한 건강식품의 수요가 많아지고 약용식물의 재배가 증가하는 추세에 있는 지금, 이의 적절한 사용을 위하여 그 효능에 대한 과학적 근거를 제시하는 것이 필요하다. 복분자(*Rubus coreanum* F.)는 장미과(Rosaceae)에 속하는 낙엽 활엽성 관목으로 중국이 원산지이며, 한방에서는 복분자의 덜 익은 열매, 즉 미성숙 과실을 사용하는데 약리 효과로는 허준의 「동의보감」에 의하면 피로로 인한 간손상을 보호하여 눈을 밝게 할 뿐만 아니라 이뇨제의 효능이 있고, 양기, 신기 부족으로 인한 유정, 정액부족, 발기부전

*Corresponding author. E-mail: yjcho@sangju.ac.kr
Phone: 82-54-530-5265, Fax: 82-54-530-5269

및 성기능을 높이고 속을 덥게 하며, 기운을 세게 하고, 발포를 촉진함과 동시에 머리가 회계 세는 것을 방지한다고 알려져 있다(10). 복분자는 가공식품 분야에서 음료 등으로 이용되고 있으며, 그에 대한 연구는 유전, 육종분야, 성분연구, phenol성분들의 항산화성 등이 이루어져 있으나, 지금까지 동양에서 많이 사용되어 온 약용식물의 항산화활성 및 여러 생리활성효과들을 측정된 연구결과는 보고되었으나, 어떤 질량과 관련된 연구결과는 적은 실정이나 만큼 복분자의 기타 생리활성에 대한 연구는 미흡한 편이다(11-14).

따라서 본 연구는 약용식물의 하나인 복분자를 이용한 에탄올 추출물의 농도별 항산화 및 생리활성을 탐색하고자 각종 항산화 실험을 비롯하여 여러 가지 성인병과 관련하여 혈압상승억제효소인 ACE의 저해효과와 통풍을 일으키는 xanthine oxidase의 활성억제효과를 측정하고, 항당뇨와 관련이 있을 것으로 추정되는 α -amylase의 활성억제효과를 측정하여 이들에 대한 기능성이용 및 부가가치를 높이고자 하는 것을 목적으로 하였다.

재료 및 방법

시료의 선정 및 제조

이 실험에서 사용된 복분자는 시중 한약 건재상에서 구입하여 이를 분쇄한 후 저온저장하면서 이용하였다. 열수추출물은 복분자 1 g을 증류수 200 mL에 넣고 액이 100 mL가 될 때까지 가열한 후 냉각하였고, 에탄올 추출물은 복분자 1 g씩을 에탄올 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 100% 각 100 mL에 가한 뒤, 이들 모두는 150 rpm에서 24시간 교반 추출한 후 10,000 rpm으로 15분간 원심분리하고, 각각의 상정액을 Whatman No.1 여과지로 여과하여 시료로 사용하였다.

시약 및 실험장치

Buthylhydroxytoluene(BHT), β -carotene, H_2O_2 , linoleic acid, tween 40, α, α -diphenyl- β -picrylhydrazyl(DPPH), xanthine oxidase(XOase), xanthine, angiotensin converting enzyme(ACE), hippuryl-L-histidyl-L-leucine(HHL), hippuric acid, soluble starch, agar powder, pancreatin α -amylase는 Sigma사(USA)의 특급시약을 사용하였다. 시료의 페놀성 화합물들의 정량에 사용한 HPLC는 Waters 2690 separations Module과 2487 UV detector를 사용하였고, 이동상의 acetonitile은 J.T.Baker사의 HPLC급을, formic acid, Folin-Ciocalteu시약, trichloroacetic acid(TCA), Na_2CO_3 , HCl은 일제 특급시약을 사용하였다.

총 폴리페놀함량 측정

시료 추출물의 총 폴리페놀함량은 다음과 같이 Folin-Denis법으로 정량하였다(15). 시료액 1 mL에 95% 에탄올

1 mL, 증류수 5 mL, 그리고 1 N-Folincioaltea시약 0.5 mL를 각각 가하여 잘 섞어주고 5분간 발색시킨 후, 5% Na_2CO_3 1 mL를 가하고 어두운 실온에 정치시킨 후 1시간 이내에 725 nm에서 흡광도를 측정하여 gallic acid를 이용한 표준곡선으로 양을 환산하였다.

페놀산 분석

표준 용액은 protocatechuic acid, caffeic acid, coumaric acid, rosmarinic acid의 총 4종을 메탄올에 용해시켜 사용하였고, 시료는 0.2 μ m filter로 2 mL를 여과하고 5 μ L를 주입하였다. 분석 조건은 Xterra(RP-18, 250 \times 4.6 mm, Waters(USA)) column을 30 $^{\circ}$ C로 유지하였고, 검출기는 Waters 2487 UV detector를 사용하여 306 nm에서 측정하였다. 이동상은 acetonitile과 formic acid 수용액(pH 3.0)을 이용한 gradient 용출법(Table 1)으로 흐름 속도는 0.5 mL/min으로 하였다.

DPPH-전자공여능 측정

전자공여능(electron donating ability)은 Blois방법(16)에 의한 DPPH free radical 소거법을 변형하여 측정하였다. 즉 시료 0.5 mL에 60 mM DPPH용액 3 mL를 가하여 섞은 뒤 15분간 정치한 후 517 nm에서 흡광도를 측정하여 아래의 식에 의해 전자공여능을 계산하였다.

$$\text{전자공여능(\%)} = \frac{\text{Control O} \cdot \text{D} - \text{Sample O} \cdot \text{D}}{\text{Control O} \cdot \text{D}} \times 100$$

PF(antioxidant protection factor) 측정

PF는 Andarwulan과 Shetty(17)의 방법으로 측정하였다. 즉, 10 mg β -carotene/50 mL의 chloroform용액 1 mL를 농축용 수기에 취한 후, 40 $^{\circ}$ C water bath에서 chloroform을 완전히 제거하고, 거기에 20 μ L linoleic acid와 184 μ L Tween 40을 차례로 spotting하여, β -carotene을 충분히 끊어낸 후 50 mL H_2O_2 를 가하여 이를 emulsion으로 하였다. Emulsion 5 mL에 시료용액 100 μ L를 잘 혼합한 뒤 50 $^{\circ}$ C water bath에서 30분간 반응하고 냉각시킨 다음 470 nm에서 흡광도를 측정하여 아래의 식에 의해 PF값을 계산하였다.

$$\text{PF} = \frac{\text{Sample O} \cdot \text{D}}{\text{Control O} \cdot \text{D}}$$

Table 1. HPLC eluent condition (v/v, %) for separating phenolic compounds

| Time (min) | Acetonitile | Formic acid (pH 3.0) |
|------------|------------------|----------------------|
| 0 | 10 ¹⁾ | 90 |
| 5 | 10 | 90 |
| 35 | 50 | 50 |
| 40 | 10 | 90 |
| 45 | 10 | 90 |

¹⁾This experiment repeated 6 times.

TBARS(thiobarbituric acid reactive substances) 측정

TBARS는 Buege와 Aust의 방법(18)에 따라 측정하였다. 즉, 1% linoleic acid와 1% Tween 40을 동량 섞어 emulsion을 제조하고, 이 emulsion 0.8 mL와 시료용액 0.2 mL를 혼합한 후, 50°C water bath에서 10시간 반응시키고 반응액 1 mL에 TBA reagent 2 mL를 가한 뒤 15분간 끓인 후 10분간 냉각시키고 15분간 1,000 rpm으로 원심분리하여 실온에서 10분간 방치한 뒤 상정액을 532 nm에서 흡광도를 측정하였다. TBARS 값은 '흡광도 수치×0.0154'로 1 mL 반응혼합물에 대해서 생성된 1,1,3,3-tetra-ethoxy propane(TEP)의 μM 로 표시하였다.

ABTS 측정

ABTS radical cation decolorization의 측정은 Pellegrin 등(19)의 방법에 의해 측정하였다. 7 mM ABTS와 140 mM $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$ 을 5 mL : 88 μL 로 섞어 어두운 곳에 14~16시간 방치시킨 후, 이를 absolute ethanol과 1 : 88 비율로 섞어 734 nm에서 대조구의 흡광도 값이 0.7 ± 0.002 가 되도록 조절한 ABTS solution을 사용하였다. 시료용액 50 μL 와 ABTS solution 1 mL를 30초 동안 섞은 후 2.5분간 incubation하여 734 nm에서 흡광도를 측정하여 아래의 식에 의해 저해율을 계산하였다.

$$\text{Inhibition rate (\%)} = \left(1 - \frac{\text{Sample O} \cdot \text{D}}{\text{Control O} \cdot \text{D}}\right) \times 100$$

XOase 활성억제 측정

XOase 활성억제 측정은 Stirpe와 Corte(20)의 방법에 따라 측정하였다. 즉 반응구는 0.1 M potassium phosphate buffer(pH 7.5)에 xanthine 2 mM을 녹인 기질액 1 mL에 XOase(0.25 U/mL) 0.1 mL와 시료액 0.1 mL를 가하고 대조구에는 시료액 대신 증류수를 0.1 mL 첨가하여 37°C에서 5분간 반응시키고 20% TCA 1 mL를 가하여 반응을 종료시키고 3,500 rpm에서 15분간 원심분리하여 단백질을 제거한 후 반응액 중에 생성된 uric acid 양을 292 nm에서 흡광도를 측정하여 구한 뒤 표준곡선에서 양을 환산하여 아래의 식에 의해 저해율(%)을 계산하였다.

$$\text{저해율 (\%)} = \left(1 - \frac{\text{반응구의 uric acid 생성량}}{\text{대조구의 uric acid 생성량}}\right) \times 100$$

ACE 활성억제 측정

ACE 활성억제 측정(21)은 0.3 M NaCl을 함유하는 0.1 M potassium phosphate buffer(pH 8.3)에 2.5 mM hippuryl-histidyl-leucine을 녹인 기질액 0.15 mL에 ACE(0.125 U/mL) 0.1 mL와 시료액 0.1 mL를 가하고 대조구에는 시료액 대신 증류수를 0.1 mL를 첨가하여 37°C에서 30분간 반응시키고 1 N-HCl 0.35 mL를 가하여 반응을 종료시킨 뒤 ethyl

acetate 3 mL를 가하고 ethyl acetate층만을 취하여 evaporating한 뒤 그 잔사에 증류수 2 mL를 가하여 효소에 의해 기질로부터 분리되어 추출된 hippuric acid를 녹여 280 nm에서 흡광도를 측정하여 구한 뒤 표준곡선에서 양을 환산하여 아래의 식에 의해 저해율(%)을 계산하였다.

$$\text{저해율 (\%)} = \left(1 - \frac{\text{반응구의 hippuric acid 생성량}}{\text{대조구의 hippuric acid 생성량}}\right) \times 100$$

Pancreatin α -amylase 활성억제 측정

Pancreatin α -amylase 활성억제 측정은 agar diffusion method(22)를 이용하여 측정하였다. 즉, plate는 5 g의 agar와 5 g의 soluble starch를 500 mL 증류수에 녹여 끓인 후, 121°C로 15분간 멸균하고 15 mL씩 petri dish에 붓고 식힌 뒤 시료액 0.8 μL 와 효소액 0.2 μL (1,000 U/mL)를 섞어 plate 위에 놓인 disc paper 위에 각각 분주하고 대조구에는 시료액 대신 증류수를 넣어 37°C에서 3일간 배양한 후 I_2/KI (5 mM I_2 in 3% KI) 5 mL를 가하여 15분간 발색시킨 후 다음의 식으로 저해율을 계산하였다.

$$\text{저해율 (\%)} = \left(\frac{\text{대조구의 면적} - \text{반응구의 면적}}{\text{대조구의 면적}}\right) \times 100$$

통계분석

모든 실험 결과는 각 군마다 6개의 측정치에 평균치와 표준오차로 표시하였으며, t분포표에 의한 통계처리로 $p < 0.05$ 또는 $p < 0.01$ 수준에서 대조구에 대한 유의성 여부를 판단하였다(23).

결과 및 고찰

추출물의 총 페놀 및 페놀산 함량

복분자 추출물의 총 페놀 함량을 측정해본 결과, Fig. 1에

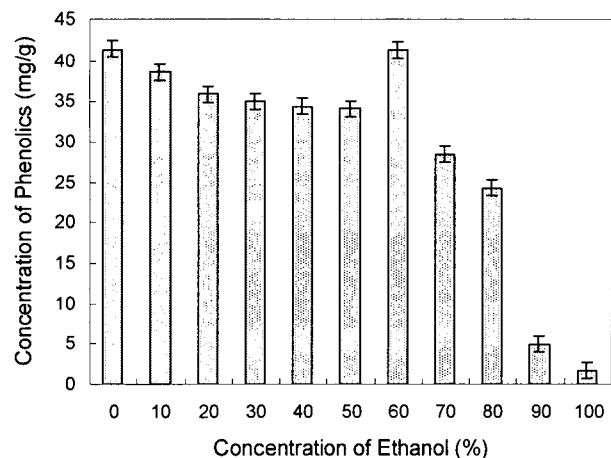


Fig. 1. Effect of ethanol concentration on extraction of phenolic compounds from *Rubus coreanum* F.

Table 2. Phenolic compound profiles of *Rubus coreanum* F.

| Phenol | Content (mg/g) | |
|---------------------|------------------------|------------------|
| | Water extracts | Ethanol extracts |
| Protocatechuic acid | 10.0±0.1 ¹⁾ | 12.5±0.2 |
| Caffeic acid | 8.6±0.1 | 2.9±0.2 |
| Courmaric acid | 0.5±0.1 | 2.0±0.1 |
| Rosemarinic acid | 2.4±0.1 | 1.5±1.1 |

¹⁾Values are mean±SD (n=6).

서와 같이 열수추출물에서 41.4 mg/g으로 가장 높은 함량을 나타내었으며, 에탄올 추출물의 경우 60% 에탄올 추출물에서 41.3 mg/g으로 가장 높았다. 나머지 농도의 추출물에서는 페놀함량이 낮았으며, 특히 90%나 100%는 각각 4.9 mg/g, 1.7 mg/g으로 아주 낮은 페놀함량을 나타내었다.

복분자 추출물을 HPLC를 이용하여 본 실험에서 주요 target으로 하고 있는 항산화성을 비롯한 생리활성에 관여하는 4종의 페놀화합물인 protocatechuic acid, caffeic acid (24), coumaric acid, rosmarinic acid(25)를 선정하여 표준 물질로 해서 Table 1의 operation 조건으로 roading하여 retention time을 비교하여 정량 분석을 한 결과 Table 2와 같이 protocatechuic acid가 열수추출물 및 60% 에탄올 추출물에서 각각 10.0 mg/g과 12.5 mg/g으로 그 외 다른 3종의 페놀물질에 비해 함량이 높은 것으로 나타났다.

추출물로부터의 항산화성

복분자 추출물의 여러 가지 항산화 효과를 측정해 본 결과, 열수추출물과 60% 에탄올 추출물에서 아주 높은 항산화 효과가 확인되었으며, 에탄올 함량이 높아질수록 추출물의 페놀함량이 낮게 나타났으며, 항산화 효과 또한 낮게 나타나는 것으로 보아 복분자에 존재하는 phenol성 물질이 항산화 효과에 작용하는 것으로 사료되었다. 따라서 본 실험에서는 가장 효과가 좋은 60% 추출물을 주 target으로 하여 열수추출물과 비교하였다.

생체막 구성성분을 파괴하며 각종 산화작용을 나타내는 활성산소를 소거하여 줄 수 있는 활성을 알아보기 위하여 복분자 추출물의 전자공여능을 살펴보았다. 그 결과 Table 3에서와 같이 60% 에탄올 추출물에서 93.9%로 아주 높은 전자공여능을 나타내었으며, 대조구로 열수추출물에서는 91.1%의 전자공여능을 나타내어 60% 에탄올 추출물보다 낮은 전자공여능을 보였으나, 복분자는 높은 전자공여능을 보

이는 것으로 보아 항산화 효과가 높을 것으로 추정되었다.

지용성 물질의 항산화력을 측정하기 위하여 β-carotene을 첨가한 linoleic acid emulsion을 사용하여 복분자 추출물의 항산화 효과를 측정한 결과 Table 3에서와 같이 60% 에탄올 추출물에서 1.3 PF의 수치로 열수추출물의 1.2 PF보다 높은 항산화 효과를 보였다.

복분자 추출물의 TBARS값을 측정해 본 결과 Table 3에서와 같이 60% 에탄올 추출물에서 대조구의 0.32(×100 μM)에 비해 비교적 낮은 0.03(×100 μM)의 TBARS값을 나타내어 항산화 효과가 우수한 것으로 나타났으며, 열수추출물 또한 0.04(×100 μM)의 TBARS값을 나타내어 대조구에 대해서 항산화력이 다소 높게 나타나, 복분자 추출물은 산화촉진인자를 제어하는 능력이 높은 물질로 판단되었다.

복분자 추출물의 친수성 및 lipophilic물질의 항산화력을 측정하기 위하여 ABTS의 radical cation decolorization을 측정한 결과 Table 3에서와 같이 60% 에탄올 추출물과 열수추출물 모두 99.8%와 99.3%로 저해율이 높게 나타났다.

이상으로 복분자 추출물 중 페놀함량에 의거하여 항산화 효과가 높을 것으로 사료된 60% 에탄올 추출물과 그에 대한 대조구로 열수 추출물의 항산화력을 비교해본 결과 60% 에탄올 추출물에서 아주 높은 효과가 나타났다. 이는 식물에 존재하는 많은 phytochemical 중 폴리페놀 화합물이나 플라보노이드류는 여러 가지 식품에 널리 분포되어 있으며 천연 항산화제로써 작용할 수 있다는 연구보고(26-28)를 토대로 하였을 때, 복분자 열수추출물 및 60% 에탄올 추출물 속에 함유된 페놀 화합물의 성분 및 함량에 의한 것으로 판단되었다. 또한 페놀함량은 열수추출물이 더 많으나, 항산화효과는 60% 에탄올 추출물이 더 높게 나온 것으로 보아 총 페놀 함량 중 항산화효과에 영향을 미치는 페놀 물질은 열수보다 60% 에탄올에 의해 더 많이 용출되는 것으로 사료되었다. 그러나 열수추출물의 항산화성도 60% 에탄올 추출물과 큰 차이가 나지 않게 존재하는 것으로 보아 복분자는 열수추출을 하거나 60% 에탄올로 추출해서 이용한다면 아주 좋은 항산화효과를 가진 천연 항산화제로서의 활용가치가 높을 것으로 판단되었다.

XOase 활성억제효과

통풍(gout)에 관여하는 XOase에 대한 복분자 추출물의 억제효과를 실험한 결과 Table 4에서와 같이 대조구가 29.1

Table 3. Antioxidant activity of water and ethanol extracts from *Rubus coreanum* F.

| Antioxidant activity | Solvent | | |
|------------------------|----------|--------------------------|------------------------|
| | Control | Water extracts | 60% Ethanol extracts |
| DPPH | - | 91.1±0.3 ^{1)**} | 93.9±0.5 ^{**} |
| Protection factor (PF) | - | 1.2±0.1 [*] | 1.3±0.2 [*] |
| TBARS (×100 μM) | 0.32±0.1 | 0.04±0.1 [*] | 0.03±0.1 [*] |
| ABTS ⁺ | - | 99.3±0.1 [*] | 99.8±0.1 [*] |

¹⁾Values are mean±SD (n=6).

*p<0.05, **p<0.01.

Table 4. Effect of inhibition on xanthine oxidase by water and ethanol extracts from *Rubus coreanum* F.

| Sample | Water extracts | | 60% Ethanol extracts | |
|--------------------------|--------------------------------|-------------------------|--------------------------------|-------------------------|
| | Uric acid ($\mu\text{g/mL}$) | Inhibitory activity (%) | Uric acid ($\mu\text{g/mL}$) | Inhibitory activity (%) |
| Control | $29.1 \pm 0.1^{1)}$ | - | 29.1 ± 0.1 | - |
| <i>Rubus coreanum</i> F. | $17.4 \pm 0.1^{**}$ | 40.9 | $24.0 \pm 0.3^{**}$ | 17.1 |

¹⁾Values are mean \pm SD (n=6).

^{**}p<0.01.

$\mu\text{g/mL}$ 의 uric acid를 생성한 것에 대하여 열수추출물에서 $17.4 \mu\text{g/mL}$ 의 uric acid를 생성하여 40.9%의 저해율을 보였으며, 60% 에탄올 추출물에서는 $24.0 \mu\text{g/mL}$ 의 uric acid를 생성하여 17.1%의 저해율을 나타내었다. 이러한 결과는 Stirpe와 Della Corte(20)의 XOase 저해실험에서 폴리페놀류가 저해효과가 높다는 연구보고에서와 같이 페놀함량이 더 높은 열수추출물이 60% 에탄올 추출물보다 XOase 억제효과가 더 높은 것으로 나타났다. 이로써 복분자 열수추출물을 통해 gout의 예방 또는 생약 치료제로 개발, 이용이 가능할 것으로 사료되었다.

ACE 활성억제효과

고혈압을 유도하는 효소인 ACE의 활성억제효과를 실험한 결과 Table 5에서와 같이 열수추출물과 60% 에탄올 추출물 모두 대조구의 $1.6 \mu\text{g/mL}$ 의 hippuric acid를 생성한 것에 대하여 $0.3 \mu\text{g/mL}$ 의 hippuric acid를 생성하여 78.0%의 저해율을 나타내었다. ACE저해활성은 An과 Lee(29) 및 Kim 등(30)의 연구에서 식물자원의 풍부한 폴리페놀 화합물의 작용에 의한 가능성이 높다는 보고를 토대로, 본 연구결과, 열수추출물과 60% 에탄올 추출물에서의 총 페놀 함량이 각각 41.4 mg/g 과 41.3 mg/g 으로 다른 에탄올 농도 추출물보다는 많지만, 그다지 많지 않은 함량임에도 78.0%의 저해효과를 나타내는 것으로 보아 총 페놀 함량 중 ACE저해활성효과가 있는 페놀성 물질이 많을 것으로 사료되었으며, 이는 매우

높은 저해율로 복분자는 고혈압 예방에 아주 유용한 생약재라고 판단되었다.

Pancreatin α -amylase 활성억제효과

전분을 무작위로 가수분해하여 glucose를 생성하여 액화시키는 액화효소인 pancreatin α -amylase를 이용하여 복분자 추출물이 이 효소의 작용을 얼마만큼 억제하여 당분해효과를 낮출 수 있는지를 실험해 본 결과 Table 6에서와 같이 열수추출물에서 100%의 pancreatin α -amylase 활성억제효과를 나타내었으며, 60% 에탄올 추출물에서는 84.0% 활성억제효과를 나타내었다. Iwuoha와 Aina(31)의 연구에 의하면 페놀물질은 전분분해능을 감소시키는 효과가 있으므로 amylase 활성을 억제하는 능력을 가지고 있다고 보고하였는데, 본 연구에서 페놀함량이 열수추출물에서 60% 에탄올 추출물보다 높게 나타난 것에 대하여, pancreatin α -amylase 활성억제효과가 열수추출물에서 60% 에탄올 추출물보다 더 높은 효과를 나타내는 것으로 보아 페놀함량에 의해 영향을 받은 것으로 사료되었다. 따라서, 복분자는 pancreatin α -amylase의 활성억제효과를 비교적 많이 나타내고 있으므로 항당뇨에 효과가 있을 것으로 판단되었으며, 특히, 열수추출물에서 그 효과가 100%로 나타났는데 실험적 오차를 고려한다 하더라도 아주 큰 효과가 있다고 판단되어지므로 복분자를 열수추출을 하여 이용한다면 당뇨병(32)에 아주 유용하게 이용될 것이라고 사료되었다.

Table 5. Effect of inhibition on angiotensin converting enzyme by water and ethanol extracts from *Rubus coreanum* F.

| Sample | Water extracts | | 60% Ethanol extracts | |
|--------------------------|------------------------------------|-------------------------|------------------------------------|-------------------------|
| | Hippuric acid ($\mu\text{g/mL}$) | Inhibitory activity (%) | Hippuric acid ($\mu\text{g/mL}$) | Inhibitory activity (%) |
| Control | $1.6 \pm 0.3^{1)}$ | - | 1.6 ± 0.3 | - |
| <i>Rubus coreanum</i> F. | 0.3 ± 0.1 | 78.0 | 0.3 ± 0.1 | 78.0 |

¹⁾Values are mean \pm SD (n=6).

^{*}p<0.05, ^{**}p<0.01.

Table 6. Effect of inhibition on pancreatin α -amylase by water and ethanol extracts from *Rubus coreanum* F.

| Sample | Water extracts | | | 60% Ethanol extracts | | |
|--------------------------|------------------------------------|-----------------------------|----------------------|----------------------|---------------|--------|
| | CZ ²⁾ (cm^2) | PAA ³⁾ (Unit/mL) | IA ⁴⁾ (%) | CZ (cm^2) | PAA (Unit/mL) | IA (%) |
| Control | $12.6 \pm 0.2^{1)}$ | 200 | - | 12.6 ± 0.2 | 200 | - |
| <i>Rubus coreanum</i> F. | $0 \pm 0.1^{**}$ | 0 | 100 | $2.0 \pm 0.1^{**}$ | 32 | 84.0 |

¹⁾Values are mean \pm SD (n=6).

²⁾Clear zone. ³⁾Pancreatin α -amylase activity. ⁴⁾Inhibitory activity.

^{**}p<0.01.

요 약

복분자의 열수추출물과 에탄올 농도별 추출물의 항산화 및 생리활성효과를 비교하였다. 각 추출물의 총 페놀 함량은 열수추출물에서 41.4 mg/g으로 가장 높았으며, 에탄올 추출물은 60%에서 41.3 mg/g으로 높았다. 복분자 추출물의 항산화 효과는 ABTS가 60% 에탄올 추출물에서 99.8%, 열수추출물에서 99.3%로 나타났으며, PF는 1.3, 1.2, DPPH가 93.3%, 91.1%, TBARS가 0.03(×100 μM), 0.04(×100 μM)로 나타났다. 복분자 추출물의 생리활성효과는 XOase 활성억제 효과와 pancreatin α-amylase 활성억제효과가 열수추출물이 60% 에탄올 추출물보다 높았으며, ACE 활성억제효과는 열수추출물과 60% 에탄올 추출물이 같은 활성억제효과를 나타내었다. 복분자 추출물로부터 생리활성효과에 영향을 미치는 페놀화합물을 알아보기 위해 4가지 페놀화합물인 protocatechuic acid, caffeic acid, coumaric acid, rosmarinic acid를 선정하여 HPLC로 분석해 본 결과 60% 에탄올 추출물과 열수추출물 모두 protocatechuic acid가 12.5 mg/g, 10 mg/g으로 4가지 페놀화합물 가운데 가장 많이 검출되었다. 이상의 결과로 복분자 추출물의 생리활성효과는 천연항산화제 및 기능성 식품으로 이용 가능할 것으로 판단되었다.

감사의 글

본 연구는 한국산업기술재단에서 지원하는 2004년도 지원전락산업 석박사 연구인력 양성사업인 “한약재 및 herb로부터 *Helicobacter pylori*에 대한 항균성 물질 및 항당뇨 물질의 정제 및 사업화(과제번호 KOTEF-19)”과제로부터 얻어진 결과의 일부이며, 연구비 지원에 감사드립니다.

문 헌

1. Kim EY, Baik IH, Kim JH, Kim SR, Rhyu MR. 2004. Screening of the antioxidant activity of some medicinal plants. *Korean J Food Sci Technol* 36: 333-338.
2. Shim KH, Young HS, Lee TW, Choi JS. 1995. Studies on the chemical components and antioxidative effects of *Solanum lyratum* Thunb. *Korean J Pharmacogn* 26: 130-138.
3. Han YB, Kim MR, Han BH, Han YN. 1987. Studies on anti-oxidant component of mustard leaf and seed. *Korean J Pharmacogn* 18: 41-49.
4. Kim JS, Kang SS, Choi JS, Lee MH, Lee TS. 1998. Antioxidant components from *Aralia continentalis*. *Korean J Pharmacogn* 29: 13-17.
5. Shin TS, Moon JD, Kim YG, Kim YJ. 1998. Effect of natural antioxidants on lipid oxidation of ground pork. *Korean J Food Sci Technol* 30: 794-802.
6. Yamaguchi T, Takamura H, Matoba T, Terao J. 1998. HPLC method for evaluation of the free radical-scavenging activity of foods by 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl. *Biosci Biotech Biochem* 62: 1201-1204.
7. Kuo JM, Yeh DB, Pan BS. 1999. Rapid photometric assay

- evaluating antioxidative activity in edible plants material. *J Agric Food Chem* 47: 3206-3209.
8. Manach C, Morand C, Crespy V, Demigne C, Texier O, Regerat F, Remesy C. 1998. Quercetin is recovered in human plasma as conjugated derivative which retain antioxidant properties. *FEBS Lett* 426: 331-336.
9. Rice-Evans CA, Miller NJ, Paganga G. 1996. Structure-antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acid. *Free Radic Biol Med* 20: 933-956.
10. Bae GH. 2000. *The medical plants of Korea*. Kyohak Publishing Co. Ltd, Seoul.
11. Kim SY, Kim JH, Ki SK, Oh MJ, Jung MY. 1994. Antioxidant activities of selected oriental herb extracts. *J Am Oil Chem Soc* 71: 633-640.
12. Lee JW, Do JH. 2000. Determination of total phenolics compounds from the fruit of *Rubus coreanum* and antioxidative activity. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 29: 943-947.
13. Hong WP, Kim MJ, Hong WN. 2002. Hereditary variety activity of nature group from *Rubus coreanum* F. *Korean Soc Forest* 91: 67-72.
14. Ju KJ, Park JM. 1982. Study of safety from anthocyanin. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 11: 67-74.
15. Dural B, Shetty K. 2001. The stimulation of phenolics and antioxidant activity in pea (*Pisum sativum*) elicited by genetically transformed Anise (*Pimpinella anisum* L.) root extract. *J Food Biochem* 25: 361-377.
16. Blois MS. 1958. Antioxidant determination by the use of stable free radical. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 26: 1198-1199.
17. Andarwulan N, Shetty K. 1999. Phenolic content in differentiated tissue cultures of untransformed and Agrobacterium-transformed roots of Anise (*Pimpinella anisum* L.). *J Agric Food Chem* 47: 1776-1780.
18. Buege JA, Aust SD. 1978. Microsomal lipid peroxidation. *Methods Enzymol* 52: 302-310.
19. Fellegrini N, Roberta K, Min Y, Catherine RE. 1999. Screening of dietary carotenoids and carotenoid-rich fruit extracts for antioxidant activities applying 2,2'-azinobis(3-ethylenebenzothiazoline-6-sulfonic acid) radical cation decolorization assay. *Methods Engymol* 299: 379-389.
20. Stürpe F, Della Corte E. 1969. The regulation of rat liver xanthine oxidase. *J Biol Chem* 244: 3855-3863.
21. Cushman DW, Ondetti MA. 1980. Inhibitors of angiotensin converting enzyme for treatment of hypertension. *Biochem Pharmacol* 29: 1871-1877.
22. Cavidson PH, Parish ME. 1989. Methods of testing the efficacy of food antimicrobials. *Food Technol* 43: 148-150.
23. Chun SS, Cho YJ, Cho KY, Choi C. 1995. Change of functional properties and extraction of sesame meal protein with phytase and protease. *Korean J Food Sci Technol* 30: 895-901.
24. Song YH, Kim DS, Jung SR, Seo YS, Chang KW. 2001. Inhibitory effect of caffeic acid phenethyl ester on the growth and glucosyltransferase activity of streptococcus mutans. *J Korean Acad Dent Health* 25: 299-306.
25. Nuytinck JKS, Goris RJA, Kalter ES, Schillings PHM. 1985. Inhibition of experimentally induced microvascular injury by rosmarinic acid. *Agents Actions* 17: 373-374.
26. Sato M, Ramarathnam N, Suzuki Y, Ohkubo T, Takeuchi M, Ochi H. 1996. Varietal differences in the phenolic content and superoxide radical scavenging potential of wines from different sources. *J Agric Food Chem* 44: 37-41.
27. Bors W, Saran M. 1987. Radical scavenging by flavonoid antioxidants. *Free Rad Res Comm* 2: 289-294.

28. Fitzpatrick DF, Hirschfield SL, Coffey RG. 1993. Endothelium-dependent vasorelaxing activity of wine and other grape products. *Am J Physiol* 265: 774-778.
29. An BJ, Lee JT. 1999. Isolation and characterization of angiotensin converting enzyme inhibitors from *Camellia sinensis* L. and their chemical structure determination. *Food Sci Biotechnol* 8: 285-289.
30. Kim KM, Suh HJ, Chung SH, Cho WD, Ma SJ. 1999. Chemical structure of angiotensin converting enzyme inhibitor isolated from onion flesh. *Food Sci Biotechnol* 8: 329-332.
31. Iwuoha CI, Aina JO. 1997. Effects of steeping condition and germination time on the alpha-amylase activity, phenolics content and malting loss of Nigerian local red and hybrid short kaura sorghum malt. *Food Chem* 58: 289-295.
32. Lee WY, Ahn JK, Park YK, Park SY, Kim YM, Rhee HI. 2004. Inhibitory effects of proanthocyanidin extracted from *Distylium racemosum* on α -amylase and α -glucosidase activities. *Kor J Pharmacogn* 35: 271-275.

(2005년 3월 28일 접수; 2005년 6월 30일 채택)