

제비꽃 추출물의 항산화 활성 및 α -Amylase와 α -Glucosidase에 대한 저해 활성

이보배¹ · 박순례¹ · 한창석² · 한동열² · 박은주³ · 박해룡¹ · 이승철^{1*}

¹경남대학교 식품생명학과

²대한당한약방 한약연구실

³경남대학교 식품영양학과

Antioxidant Activity and Inhibition Activity against α -Amylase and α -Glucosidase of *Viola mandshurica* Extracts

Bo-Bae Lee¹, Soon-Rye Park¹, Chang Suk Han², Dong Youl Han²,
Eunju Park³, Hae-Ryong Park¹, and Seung-Cheol Lee^{1*}

¹Dept. of Food Science and Biotechnology, Kyungnam University, Masan 631-701, Korea

²Laboratory of Herbal Medicine, Daehandang Herb Clinic, Sancheong 666-921, Korea

³Dept. of Food and Nutrition, Kyungnam University, Masan 631-701, Korea

Abstract

This study was performed to investigate the physiological activities of *Viola mandshurica*. Antioxidant activity was evaluated by measuring total phenolic contents, reducing power, 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) radical scavenging activity, 2,2'-azino-di-2-ethyl-benzthiazoline sulphonate (ABTS) radical scavenging activity while anti-diabetic activity was measured by inhibition activities on α -amylase and α -glucosidase. *V. mandshurica* extracts were prepared by extracting with four different solvents (methanol, ethanol, acetone, and water). The methanol extract showed the highest total phenol content (34.49 mg/g gallic acid equivalents) among the extracts. The water extract showed the highest reducing power (0.454) at the concentration of 1,000 μ g/mL. The acetone extract showed the most potent radical scavenging activity. DPPH and ABTS radical scavenging activity of the acetone extract at the concentration of 1,000 μ g/mL were 21.13% and 43.53%, respectively. The inhibitory activity of acetone extracts against α -amylase and α -glucosidase showed more than 100% at the concentration of 1,000 μ g/mL. The results indicate that *V. mandshurica* might have potential antioxidant and anti-diabetic activities.

Key words: *Viola mandshurica*, antioxidant, α -amylase, α -glucosidase

서 론

최근 생활환경과 식생활 패턴의 변화 등으로 현대인들은 노화를 포함한 각종 성인병 발생의 원인이 되고 있는 활성산소가 주목받고 있다. 생체 내 정상적인 세포대사과정에서 생성되는 활성산소는 체내에서 세포막 손상, DNA 변성, 지질 산화, 단백질 분해 등을 초래한다(1-3). 이러한 활성산소에 대한 내인성 방어기작으로는 glutathione S-transferase, glutathione peroxidase, superoxide dismutase, 그리고 catalase 등의 효소가 있으며, 외인성 방어기작으로는 비타민 A, C, E, flavonoid계 색소, 폴리페놀류 등이 존재한다(4). 그러나 이러한 방어기작의 능력을 초과하는 활성산소의 생성으로 인한 산화적인 스트레스는 노화뿐만 아니라 암, 심혈관계 질환, 당뇨, 신경계 질환, 골다공증과 같은 다양한 질병을 유발하는 원인으로 알려져 있다(5). 이러한 여러 가지 질

병들 중 당뇨병은 최근 환자수가 빠른 속도로 증가할 뿐만 아니라 그 유병 연령이 점차 낮아지고 있어 그 심각성이 대두되고 있다(6). 우리나라 당뇨 환자의 대부분인 인슐린 비의존형 당뇨병 치료 약물에 대한 연구는 당의 소화 및 흡수를 제어할 목적으로 α -amylase 및 α -glucosidase 저해제에 대한 연구가 진행되고 있다(7). 식물에서 보고된 α -amylase 저해제는 밀, 보리, 두류식물 등에서 유래한 것으로 당 단백질과 관련된 물질이 대부분이고, 일부 한약재와 미생물을 대상으로 한 연구가 있을 뿐 식물 유래의 저해물질에 대한 보고는 미흡한 수준이다(8).

제비꽃(*Viola mandshurica*)은 제비꽃과(Violaceae)의 다년생 식물로서 우리나라 전역의 양지바르고 습기가 있는 지역에 무리를 이루어 자라는 식물이다(9). 제비꽃의 성분으로는 배당체류, 플라본류, 세로틴류, 알코올류 등이 있으며, 우리나라 한방에서는 일반적으로 화농성피부질환에 대한 상

*Corresponding author. E-mail: sclee@kyungnam.ac.kr
Phone: 82-55-249-2684, Fax: 82-55-249-2995

용약으로 사용되어 왔으며, 각종 염증성 질환에 외용제 또는 내복약으로도 사용되었다. 중국에서는 '자화지정초'라 하여 각종 증기, 급성결막염, 해충에 물렸을 때 또는 전염성 간염 초기에 사용되었다(10).

본 연구는 제비꽃의 다양한 용매 추출물로부터 항산화 활성과 항당뇨 활성을 탐색하여 기능성식품 소재개발의 기초 자료를 얻고자 하였다.

재료 및 방법

재료

본 실험에서 사용한 제비꽃은 경상남도 산청군 지리산 근처에서 채집한 것을 음건한 후 각 용매로 추출하여 사용하였다. 항산화력 측정에 사용된 Folin-Ciocalteu 시약은 Wako Pure Chemical Industries, Ltd.(Osaka, Japan)에서 구입하였고, 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl(DPPH), 2,2'-azino-di-2-ethyl-benzthiazoline sulphonate(ABTS), peroxidase, α -amylase, α -glucosidase, gallic acid는 Sigma Chemical Co.(St Louis, MO, USA)에서 구입하여 사용하였다. 그 외 potassium ferricyanide, trichloroacetic acid(TCA), ferric chloride, hydrogen peroxide, dimethyl sulfoxide(DMSO) 등 실험에 사용된 용매 및 시약은 모두 일급 이상의 등급을 사용하였다.

추출물의 제조

제비꽃 10 g을 200 mL의 용매(메탄올, 에탄올, 아세톤, 물)에 각각 가하여 상온에서 12시간 동안 추출하였다. 각각의 추출물은 여과지(whatman No. 1)로 여과한 후, 이것을 회전진공농축기(Eyela N-1000, Tokyo Rikakikai Co., Tokyo, Japan)로 40°C에서 농축하였다. 각 농축물은 50 mg/mL의 농도로 DMSO에 녹여 4°C에서 보관하면서 적당한 농도로 희석해서 실험에 사용하였다.

총 페놀 함량

총 페놀 함량은 Gutfinger의 방법(11)을 변형하여 측정하였다. 즉, 시료 1 mL를 취하여 2%(w/v) Na_2CO_3 용액 1 mL를 가하고 3분간 방치한 후, 50% Folin-Ciocalteu 시약 0.2 mL를 첨가하여 반응시켜 30분간 상온에서 방치하였다. 이 혼합물을 10분간 13,400×g에서 원심분리한 후, 상정액 1 mL를 취하여 750 nm에서 흡광도를 측정하였다. 총 페놀 함량은 gallic acid를 이용하여 작성한 표준곡선으로 mg/g GAE (gallic acid equivalent) 단위로 나타내었다.

DPPH 라디칼 소거능 측정

DPPH 라디칼 소거능은 Jeong 등의 방법(12)에 준하여 시료 0.1 mL에 4.1×10^{-5} M의 DPPH 용액 0.9 mL를 가한 후 상온에서 30분간 반응시켜 517 nm에서 흡광도를 측정하였다. 각 시료의 라디칼 소거능은 아래의 식에 의해 전자공

여능으로 계산하여 나타내었다.

$$\text{전자공여능(\%)} = \left(1 - \frac{\text{시료 첨가구의 흡광도}}{\text{무처리 구의 흡광도}}\right) \times 100$$

환원력의 측정

환원력은 Oyaizu의 방법(13)에 따라 측정하였으며, 항산화 물질에 대한 철 이온의 환원력을 측정하였다. 즉, 1 mL의 인산염 완충 용액(0.2 M, pH 6.6)에 1 mL의 제비꽃 추출물과 1%(w/v) potassium ferricyanide 용액 1 mL을 가하고 이 혼합물을 50°C에서 20분간 반응을 시킨 후, 10%(w/v) trichloroacetic acid 용액 1 mL을 넣었다. 반응이 끝난 혼합물을 12,000 rpm에서 원심분리하여 얻은 상정액 1 mL과 증류수 1 mL을 넣고 0.1% 염화철 용액 0.1 mL을 가하여 700 nm에서 흡광도를 측정하였다.

ABTS 라디칼 저해능

ABTS 라디칼 소거능은 Muller(14)의 방법에 따라 측정하였다. 시료 0.1 mL에 0.1 M의 phosphate buffer(pH 5.0) 0.1 mL과 10 mM의 hydrogen peroxide 20 mL을 가하고 이 혼합물을 37°C에서 5분간 예비반응을 시켰다. 이 반응물에 1.25 mM의 ABTS와 peroxidase(1 U/mL)를 30 mL씩 넣고 다시 37°C에서 10분간 반응시킨 후, 405 nm에서 Multiplate Reader(Sunrise, Tecan, Crailsheim, Germany)로 흡광도를 측정하였다.

$$\text{라디칼 소거능(\%)} = \left(1 - \frac{\text{시료 첨가구의 흡광도}}{\text{무처리 구의 흡광도}}\right) \times 100$$

α -amylase 저해 활성

제비꽃 추출물 50 mL에 0.6 U/mL의 타액 유래 α -amylase 효소액 250 mL, 200 mM potassium phosphate buffer(pH 6.8) 250 mL와 혼합하여 37°C에서 10분간 pre-incubation한 후 0.5% starch를 500 mL 가하여 37°C에서 5분간 반응시킨 뒤 반응액에 48 mM DNS 발색시약(3,5-dinitrosalicylic acid and 30% sodium potassium tartarate in 0.5 M NaOH) 500 mL를 넣고 100°C에서 15분간 끓여 발색을 시킨 후 충분히 냉각시킨다. 이 반응액에 3배량의 물을 가하고 잘 교반한 후 540 nm에서 흡광도를 측정하였다.

$$\text{효소 저해능(\%)} = \left(1 - \frac{\text{시료 첨가구의 흡광도}}{\text{무처리 구의 흡광도}}\right) \times 100$$

α -glucosidase 저해 활성

제비꽃 추출물 50 mL를 0.15 U/mL α -glucosidase 효소액 50 mL, 200 mM potassium phosphate buffer(pH 6.8) 50 mL와 혼합하여 37°C에서 10분간 preincubation한 후 0.1 M phosphate buffer(pH7.0)에 녹인 3 mM *p*-NPG(*p*-nitrophenyl α -glucopyranoside) 100 mL를 가하여 37°C에서 10분간 반응시켰다. 0.1 M Na_2CO_3 750 mL로 반응을 정지시키

Table 1. Total phenol contents of *Viola mandshurica* extracts

| | Extraction solvent | | | |
|------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|
| | MeOH | EtOH | Acetone | Water |
| mg/g GAE ¹⁾ | 34.49±1.11 ^a | 29.45±3.05 ^c | 17.80±3.37 ^d | 30.71±1.28 ^b |

All measurements were done triplicate, and values are average of three replication. Different letters (a-d) within a row are significantly different (p<0.05), n=3.

¹⁾GAE: gallic acid equivalents.

고 405 nm에서 흡광도를 측정하였다.

$$\text{효소 저해능(\%)} = \left(1 - \frac{\text{시료 첨가구의 흡광도}}{\text{무처리 구의 흡광도}}\right) \times 100$$

통계처리

데이터의 통계처리는 각 시료를 3회 반복으로 행해졌으며, SAS(Statistical Analysis System)를 이용하여 평균과 표준오차, Newman-Keul's multiple range tests로 평균값들에 대해 유의성을 검정하였다(15).

결과 및 고찰

총 페놀 함량

폴리페놀계 물질들은 한 분자 내에 2개 이상의 phenolic hydroxyl(-OH)기를 가진 방향족 화합물들을 총칭하며, 식물체에 특수한 색깔을 부여하고 산화-환원반응에서 기질로 작용한다. 플라보노이드와 탄닌이 주된 식물계 폴리페놀 물질이며, 충치 예방, 고혈압 억제, 항에이즈, 항산화, 항암 등의 다양한 생리활성을 가진다(16). 일반적으로 식물성분의 항산화 활성은 페놀성 화합물이 원인물질로 관련되어 있는 것으로 알려져 있어 gallic acid를 표준용액으로 하여 작성한 검정곡선으로부터 제비꽃 추출물의 총 페놀 함량을 조사하여 Table 1에 나타내었다. 그 결과 메탄올 추출물이 34.49 mg/g GAE로 가장 높은 함량을 나타내었고, 다음으로 물, 에탄올 그리고 아세톤 추출물이 각각 30.71, 29.45, 17.80 mg/g GAE로 나타났다.

DPPH 라디칼 소거능

항산화 활성 측정방법 중 DPPH 법은 실제 항산화 활성과 연관성이 높은 방법으로서, 활성 라디칼에 전자를 공여하여 지방질의 산화를 억제시키는 척도로 사용되고 있을 뿐 아니라, 인체 내에서 활성 라디칼에 의한 노화를 억제하는 작용의 척도로 이용되고 있다(17). 따라서 제비꽃 추출물의 항산화 활성을 평가하기 위해 DPPH 라디칼 소거능을 측정하여 Table 2에 나타내었다. 그 결과 모든 용매 추출물에서 농도가 증가함에 따라 활성이 증가하는 것을 확인할 수 있었다. 그리고 아세톤 추출물의 경우에는 1,000 µg/mL의 농도에서 21.13%로 가장 높은 활성을 나타내었으며, 다음으로 물 추출물(14.43%)과 에탄올 추출물(12.74%)이 높았으며, 메탄올

Table 2. DPPH radical scavenging activity of *Viola mandshurica* extracts (Unit: %)

| (µg/mL) | Extraction solvent | | | |
|---------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|
| | MeOH | EtOH | Acetone | Water |
| 50 | 0.74±0.13 ^{by} | 0.44±0.13 ^{bz} | 1.40±0.13 ^{ay} | 0.52±0.34 ^{bz} |
| 100 | 0.66±0.38 ^{by} | 1.91±0.44 ^{ay} | 1.69±0.67 ^{aby} | 1.62±0.13 ^{by} |
| 500 | 7.22±0.22 ^{bcx} | 6.41±0.58 ^{cx} | 10.24±0.38 ^{ax} | 7.88±0.46 ^{bx} |
| 1,000 | 10.38±0.26 ^{cw} | 12.74±0.44 ^{dw} | 21.13±0.38 ^{aw} | 14.43±0.13 ^{bw} |

All measurements were done triplicate, and values are average of three replication. Different letters within a row (a-d) and a column (w-z) are significantly different (p<0.05), n=3.

추출물이 10.38%로 가장 낮은 활성을 보였다. 이는 제비꽃 추출물의 페놀 함량 결과와 비교해 볼 때 다른 경향을 보임을 알 수 있는데, 이는 페놀물질이 항산화 활성에 관여한다는 많은 보고가 있지만(18-20) 페놀화합물의 종류나 구조에 따라 항산화 활성이 차이가 나거나(21), 페놀물질 이외의 다른 다양한 물질들이 항산화 활성에 기여하는 것으로 생각되어진다. 제비꽃에는 높은 항산화 활성을 가지고 있는 페놀화합물인 p-hydroxybenzoic acid와 trans-p-hydroxycinnamic acid, 그리고 플라보노이드 화합물인 kaempferol-3-o-rhamnopyranoside이 존재한다고 보고된 바 있어(22) 이들을 위주로 한 물질들이 항산화 활성에 기여한다고 추측된다.

환원력

항산화 작용의 여러 가지 기작 중에서 활성 산소종 및 유리기에 전자를 공여하는 능력이 환원력이므로 이를 측정하여 항산화 활성을 검정하는 수단으로 이용할 수 있으며, 환원력이 클수록 녹색에 가깝게 발색되므로 항산화 활성이 큰 물질일수록 높은 흡광도 값을 나타낸다(23). 그리하여 제비꽃 추출물의 환원력을 조사한 결과를 Table 3에 나타내었다. 그 결과, 모든 용매 추출물에서 농도 유의적으로 흡광도 수치가 증가함을 알 수 있었고, 물 추출물의 경우에는 1,000 µg/mL의 농도에서 흡광도 수치가 0.454로 나타나 가장 높은 활성을 보였다. 다음으로 메탄올, 에탄올, 아세톤 추출물이 각각 0.275, 0.233, 0.101의 흡광도 수치를 나타내었다. 이는 Shon 등(24)의 후발효차 추출물의 항산화 효과에 대한 연구에서 후발효차의 75%의 에탄올 추출물과 열수 추출물이 500 µg/mL의 농도에서 각각 0.78과 0.60의 흡광도 수치를 나타낸 것과 비교해 볼 때 낮은 수치임을 알 수 있었다.

Table 3. Reducing power of *Viola mandshurica* extracts (Unit: O.D)

| (µg/mL) | Extraction solvent | | | |
|---------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|
| | MeOH | EtOH | Acetone | Water |
| 50 | 0.086±0.003 ^{az} | 0.064±0.005 ^{bz} | 0.071±0.003 ^{bz} | 0.081±0.004 ^{az} |
| 100 | 0.098±0.001 ^{ay} | 0.078±0.002 ^{by} | 0.078±0.001 ^{by} | 0.100±0.002 ^{ay} |
| 500 | 0.180±0.003 ^{bx} | 0.148±0.003 ^{cx} | 0.090±0.001 ^{dx} | 0.260±0.001 ^{ax} |
| 1,000 | 0.275±0.008 ^{bw} | 0.233±0.005 ^{cw} | 0.101±0.003 ^{dw} | 0.454±0.006 ^{aw} |

All measurements were done triplicate, and values are average of three replication. Different letters within a row (a-d) and a column (w-z) are significantly different (p<0.05), n=3.

Table 4. ABTS radical scavenging activity of *Viola mandshurica* extracts (Unit: %)

| (µg/ mL) | Extraction solvent | | | |
|-------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|
| | MeOH | EtOH | Acetone | Water |
| 50 | -2.38±7.43 ^{ax} | -0.08±3.94 ^{ax} | 0.56±5.36 ^{ay} | -2.59±0.76 ^{ay} |
| 100 | -4.49±2.19 ^{ax} | -6.66±2.30 ^{ay} | 4.77±6.44 ^{ay} | 3.56±1.35 ^{ay} |
| 500 | 4.03±1.86 ^{cx} | -2.21±1.09 ^{cx} | 15.52±2.88 ^{ax} | 7.01±1.49 ^{bx} |
| 1,000 | 16.04±1.13 ^{bw} | 11.26±1.93 ^{cw} | 43.53±3.01 ^{aw} | 18.34±0.14 ^{bw} |

All measurements were done triplicate, and values are average of three replication. Different letters within a row (a-d) and a column (w-z) are significantly different ($p < 0.05$), $n = 3$.

Table 5. α -amylase inhibitory activity of *Viola mandshurica* extracts (Unit: %)

| (µg/ mL) | Extraction solvent | | | |
|-------------|---------------------------|--------------------------|---------------------------|--------------------------|
| | MeOH | EtOH | Acetone | Water |
| 50 | 81.30±0.01 ^{aw} | 17.22±1.25 ^{dx} | 61.54±0.01 ^{cy} | 71.92±3.86 ^{bw} |
| 100 | 86.60±13.31 ^{aw} | 54.48±0.01 ^{bx} | 78.65±0.99 ^{ax} | 26.72±8.18 ^{cy} |
| 500 | 92.51±8.56 ^{aw} | 65.70±0.01 ^{bw} | 92.28±6.30 ^{aw} | 55.26±6.38 ^{bx} |
| 1,000 | 98.03±12.09 ^{aw} | 71.16±7.31 ^{bw} | 105.30±8.63 ^{aw} | 79.49±8.43 ^{bw} |

All measurements were done triplicate, and values are average of three replication. Different letters within a row (a-d) and a column (w-z) are significantly different ($p < 0.05$), $n = 3$.

Table 6. α -glucosidase inhibitory activity of *Viola mandshurica* extracts

(Unit: %)

| (µg/mL) | Extraction solvent | | | |
|---------|----------------------------|---------------------------|----------------------------|---------------------------|
| | MeOH | EtOH | Acetone | Water |
| 50 | 60.74±6.42 ^{ax} | 48.89±22.22 ^{aw} | 69.63±1.28 ^{ax} | 60.74±4.63 ^{aw} |
| 100 | 61.48±5.13 ^{ax} | 50.37±28.23 ^{aw} | 69.63±2.57 ^{ax} | 60.74±4.63 ^{aw} |
| 500 | 91.85±5.59 ^{cw} | 53.33±4.44 ^{bw} | 128.89±5.59 ^{aw} | 64.44±11.76 ^{bw} |
| 1,000 | 77.04±13.52 ^{bwx} | 60.74±13.39 ^{bw} | 129.63±24.98 ^{aw} | 64.59±2.57 ^{bw} |

All measurements were done triplicate, and values are average of three replication. Different letters within a row (a-d) and a column (w-z) are significantly different ($p < 0.05$), $n = 3$.

ABTS 라디칼 소거 활성

ABTS 라디칼 소거 활성법은 *in vitro*에서의 항산화능 측정뿐만 아니라 *in vivo*에서도 항산화능을 측정하기 위한 방법으로 널리 이용되고 있다(25). ABTS를 peroxidase, H_2O_2 와 반응시켜 활성 양이온인 $ABTS^+$ 이 형성되면 추출물의 항산화력에 의해 $ABTS^+$ 이 소거되어 라디칼 특유의 색인 청록색이 탈색되는데 이를 흡광도 수치로 나타내어 추출물의 항산화 활성을 평가할 수 있다. 제비꽃 추출물의 ABTS 라디칼 소거 활성을 평가한 결과, Table 4에 나타낸 바와 같이 아세톤 추출물이 가장 높은 농도인 1,000 µg/mL의 농도에서 43.53%로 가장 높게 나타나는 것을 확인할 수 있었다. 그리고 물 추출물과 메탄올 추출물은 유사한 경향을 나타내었으며, 에탄올 추출물은 11.26%로 추출물들 중에서 가장 낮은 활성을 나타내었다. 이 결과는 Table 2와 Table 3의 DPPH 라디칼 소거능, 환원력과 다소 다른 경향을 보이고 있는데, 이는 항산화 물질들의 작용 기작이 연쇄반응 개시의 방지, 전이금속 이온과 결합, 과산화물의 분해 등으로 다양하기 때문이다(26).

α -amylase 저해 활성

α -amylase는 탄수화물의 α -D-(1,4)-glucan 결합을 분해하는 효소로서 사람, 동물, 미생물, 곤충 등의 탄수화물 대사에 필수적인 효소이다. 그러나 당뇨, 비만, 과혈당증 등 탄수화물과 관련된 질병치료를 위한 식물에서 보고된 α -amylase 저해제에 대한 보고는 미흡한 실정이다(27). 따라서 제비꽃 추출물을 이용하여 α -amylase 효소 저해 활성을 알아 보았다(Table 5). 그 결과 모든 용매 추출물이 농도 의존적으로 활성이 증가함을 알 수 있었고, 아세톤과 메탄올 추출물의 경우에는 500 µg/mL의 농도에서 각각 92.51과 92.28%로

높은 저해 활성을 나타내었다. 그리고 에탄올과 물 추출물의 경우에도 같은 농도에서 65.70과 55.26%로 비교적 높은 저해 활성을 나타내었다. 이는 Kwon 등(7)의 연구에서 화살나무 잎의 열수 추출물이 0.001~0.1 mg/mL 사이의 농도에서 21~22%의 α -amylase 저해능을 보이는 것과 비교해 볼 때 매우 높은 수치임을 알 수 있었다.

α -glucosidase 저해 활성

α -glucosidase는 소장 상피세포의 brush-border membrane에 존재하는 효소로서 이당류나 다당류를 탄수화물이 소화 흡수되기 위한 상태인 단당류로 가수분해하는 역할을 한다. α -glucosidase에 대한 저해능은 탄수화물 식이 후 혈당상승을 억제할 수 있어 항당뇨 활성 측정법으로 이용된다(28). 제비꽃 추출물의 α -glucosidase에 대한 저해 활성 결과를 Table 6에 나타내었다. 제비꽃의 아세톤 추출물이 모든 농도에서 높은 저해 활성을 나타내었으며, 특히, 1,000 µg/mL의 농도에서는 100% 이상의 높은 저해 활성을 보였다. 메탄올, 에탄올 그리고 물 추출물의 경우에도 1,000 µg/mL의 농도에서 각각 77.04, 60.74, 64.59%로 높은 활성을 보였다. 따라서 제비꽃 추출물은 탄수화물의 소화 과정에서 α -amylase와 α -glucosidase에 의한 단당류 생성을 저해함으로써 식사 후 혈당이 급격히 상승하는 등의 증상에 효과적으로 이용될 수 있음을 확인할 수 있었다.

요 약

민간요법에서 화농성 피부질환이나 염증성 질환에 대해 효과가 있다고 알려진 제비꽃(*Viola mandshurica*)의 항산화 활성과 항당뇨 활성을 조사하였다. 제비꽃 10 g에 200 mL의

네 가지 용매(메탄올, 에탄올, 아세톤, 물)를 각각 가하여 추출한 다음, 농축하여 각각의 용매별 추출물을 얻었다. 이 용매별 추출물의 총 페놀 함량은 메탄올 추출물이 34.49 mg/g 갈산 당량으로 가장 높았고, DPPH 라디칼과 ABTS 라디칼 소거능은 아세톤 추출물이 1,000 μ g/mL 농도에서 각각 21.13%와 43.53%로 가장 높은 값을 보였다. 환원력의 경우에는 물 추출물이 1,000 μ g/mL 농도에서 0.454의 값으로 가장 높은 활성을 보였다. 항당뇨 활성은 α -amylase와 α -glucosidase에 대한 저해 활성으로 측정하였는데 아세톤 추출물이 가장 활성이 높았으며 1,000 μ g/mL 농도에서 모든 효소 활성들을 저해하였다. 이상의 결과로부터 제비꽃 추출물은 항산화효과, 당뇨 관련 효소에 대한 저해능이 있음을 확인할 수 있었다.

문 헌

- Valko M, Leibfritz D, Moncol J, Cronin MTD, Mazur M, Telsler J. 2007. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *Int J Biochem Cell Biol* 39: 44-84.
- Yim MH, Hong TG, Lee JH. 2006. Antioxidant and antimicrobial activities of fermentation and ethanol extracts of pine needles (*Pinus densiflora*). *Food Sci Biotechnol* 15: 582-588.
- Kim YG. 2004. *Antioxidants*. Yeomunkak, Seoul. p 153-176.
- Kim OK. 2005. Antidiabetic and antioxidative effects of *Corni fructus* in streptozotocin-induced diabetic rats. *J Korean Oil Chemists Soc* 22: 157-167.
- Takamatsu S, Hodges TW, Rajbhandari I, Gerwick WH, Hamann MT, Nagle DG. 2003. Marine natural products as novel antioxidant prototypes. *J Nat Prod* 66: 605-608.
- Lim CS, Li CY, Kim YM, Lee WY, Rhee HI. 2005. The inhibitory effect of *Cornus walteri* extract against α -amylase. *J Korean Soc Appl Biol Chem* 48: 103-108.
- Kwon GJ, Choi DS, Wang MH. 2007. Biological activities of hot water extracts from *Euonymus alatus* leaf. *Korean J Food Sci Technol* 39: 569-574.
- Lee WY, Ahn JK, Park Y, 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.
- Park HM. 2006. Method of extraction anticancer activity substance from violet. *Korean Patent* 10-061208-7-00.
- Chung CJ. 1989. *Viola mandshurica* W. Becker. *Bull Korean Plant Conserv Soc* 14: 100.
- Gutfinger T. 1981. Polyphenols in olive oil. *J Am Oil Chem Soc* 58: 966-968.
- Jeong SM, Kim SY, Park HR, Lee SC. 2004. Effect of far-infrared radiation on the activity of extracts from *Citrus unshiu* peels. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 33: 1580-1583.
- Oyaizu M. 1986. Studies on product of browning reaction prepared from glucose amine. *Jap J Nutr* 44: 307-315.
- Müller HE. 1995. Detection of hydrogen peroxide produced by microorganism on ABTS-peroxidase medium. *Zentralbl Bakteriol Mikrobiol Hyg* 259: 151-158.
- SAS. 1995. SAS/STAT User's Guide. SAS Institute, NC, USA
- Yu MH, Im HG, Lee HJ, Ji YJ, Lee IS. 2006. Components and their antioxidative activities of methanol extracts from sarcocarp and seed of *Zizyphus jujuba* var. *inermis* Rehder. *Korean J Food Sci Technol* 38: 128-134.
- Ahn SI, Heung BJ, Son JY. 2007. Antioxidative activity and nitrite-scavenging abilities of some phenolic compounds. *Korean J Food Cookery Sci* 23: 19-24.
- Cha JY, Kim HJ, Chung CH, Cho YS. 1999. Antioxidative activities and contents of polyphenolic compound of *Cudrania tricuspidata*. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 28: 1310-1315.
- Caldwell CR. 2001. Oxygen radical absorbance capacity of the phenolic compounds in plant extracts fractionated by high-performance liquid chromatography. *Anal Biochem* 293: 232-238.
- Arnous A, Makris DP, Kefalas P. 2001. Effect of principal polyphenolic components in relation to antioxidant characteristic of aged red wines. *J Agric Food Chem* 49: 5736-5742.
- Rice-Evans CA, Miller NJ, Paganga G. 1996. Structure-antioxidant activity relationships of flavonoid and phenolic acids. *Free Radic Biol Med* 20: 933-956.
- Ahn DK. 2004. Pharmaceutical activity of *Viola mandshurica* W. Becker. *Bull Korean Plant Conserv Soc* 59: 20-21.
- Kim JH, Kim JK, Kang WW, Ha YS, Choi SW, Moon KD. 2003. Chemical composition and DPPH radical scavenger activity in different sections of safflower. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 32: 733-738.
- Shon MY, Kim SH, Nam SH, Cho YS, Park SK, Sung NJ. 2004. Antioxidant activity of solvent extracts from Korean fermented tea. *Korean J Food Preserv* 11: 544-549.
- Meller NJ, Rice-Evans C, Davies MJ, Gopinathan V, Milner A. 1993. A novel method for measuring antioxidant capacity and its application to monitoring the antioxidant status in premature neonates. *Clin Sci* 84: 407-412.
- Diplock AT. 1997. Will the good fairies please prove to us that vitamin E lessens human degenerative disease? *Free Radic Res* 27: 511-532.
- Kim JH, Kim MU, Cho YJ. 2007. Isolation and identification of inhibitory compound from *Crataegi fructus* on α -amylase and α -glucosidase. *J Korean Soc Appl Biol Chem* 50: 204-209.
- Gua J, Jin YS, Han W, Shim TH, Sa JH, Wang MH. 2006. Studies for component analysis, antioxidative activity and α -glucosidase inhibitory activity from *Equisetum arvense*. *J Korean Soc Appl Biol Chem* 49: 77-81.

(2008년 1월 17일 접수; 2008년 3월 10일 채택)