J. Appl. Biol. Chem. **52**(4), 216-220 (2009)

Short Communication

한국 자생식물 추출물의 항산화 및 Aldo-keto Reductase Family 1 B10 효소 억제 효과

판철호[1] · 이주영[1] · 송대근[1] · 김종환[2] · 안수용[2] · 배덕성[3] · 김영훈[3] · 이재권[3]*

[1]한국과학기술연구원 강릉분원 천연물소재연구센터, [2]강원도 농업기술원 특화작물시험장,
[3]충북대학교 사범대학 생물교육과

Antioxidant and Aldo-keto Reductase Family 1 B10 Inhibition Activities of Korean Local Plant Extracts

Cheol-Ho Pan[1], Joo Young Lee[1], Dae-Geun Song[1], Jong Hwan Kim[2], Soo Young Ahn[2], Deok Sung Bae[3], Young Hoon Kim[3], and Jae Kwon Lee[3]*

[1]*Natural Products Research Center, Korea Institute of Science and Technology (KIST) Gangneung Institute, Gangneung 210-340, Korea*
[2]*Specialty Crops Experiment Station, Gangwondo Agricultural Research and Extension Services, Gangneung 210-851, Korea*
[3]*Department of Biology Education, College of Education, Chungbuk National University, Cheongju 361-763, Korea*

Received October 22, 2009; Accepted November 23, 2009

Aldo-keto reductase family 1 B10 (AKR1B10) has been considered as a potential cancer therapeutic target. Ethanol extracts prepared from 82 Korean local plants were examined for their antioxidant activity and inhibitory effects on recombinant human AKR1B10 (rhAKR1B10) *in vitro*. 21 extracts showed more than 80% of ABTS radical scavenging activity at 100 μg/mL and 11 extracts inhibited more than 50% of rhAKR1B10 activity at 10 μg/mL. Especially, 9 extracts showed potent inhibition on rhAKR1B10 activity compared with positive control tetramethylene glutaric acid.

Key words: *ABTS radical scavenging activity, Aldo-keto reductase family 1 B10, aldose reductase-like 1, antioxidant, anti-cancer*

Aldo-keto reductases(AKRs)는 원핵세포에서 진핵세포까지 두루 존재하며 생체 내의 다양한 aldehydes와 ketones를 해당 alcohols로의 환원을 촉매하는 NAD(P)H 의존 산화환원 효소로 생합성, 대사, 해독에 관여하는 것으로 알려져 있다[Jin과 Penning, 2007; Barski 등, 2008]. AKRs는 AKR1에서 AKR14까지 14개 family로 나누어지며, 사람에서는 family 1, 6, 7에 속하는 총 13개의 AKR 효소들이 보고되었다[Barski 등, 2008]. AKRs는 내생적 기질로 당이나 지질의 aldehydes, 프로스타글란딘, 레티날, 스테로이드 호르몬 등을 이용하며, 핵 수용체의 신호전달을 조절하는 것으로 알려졌다[Barski 등, 2008]. 또한, AKR은 다양한 약물이나 발암 물질과 같은 xenobiotics의 해독에 중요한 역할을 하는 것으로 보고되었다[Jin과 Penning, 2007].

사람의 13개 AKR 효소들 가운데 family 1의 B10 (AKR1B10)은 1998년 두 연구 그룹이 독립적으로 처음 보고하였으며[Cao 등, 1998; Hyndman과 Flynn, 1998], 당시에는 aldose reductase-like 1(ARL1) 또는 small intestine aldose reductase로 불렸다. AKR1B10은 정상인의 간에서는 낮은 수준으로, 폐에서는 발현을 확인하지 못 하였지만 간암[Cao 등, 1998], 폐암[Fukumoto 등, 2005], 구강암[Nagaraj 등, 2006], 자궁암[Yoshitake 등, 2007] 등에서 강하게 발현되는 것이 확인되어 신규한 암 진단과 암 치료의 표적으로 대두되고 있으며, 그 역할을 밝히기 위한 연구가 계속되고 있다.

암 치료의 표적 가능성은 siRNA를 이용한 AKR1B10의 발현 억제 연구에 의하여 가시화되었다. 즉, 직장암 세포의 AKR1B10을 siRNA로 silencing한 결과 암 세포의 성장을 저해하는 것을 확인하였다[Yan 등, 2007]. 이는 AKR1B10의 활성을 억제할 수 있는 저해제가 암 세포의 성장을 저해할 가능성이 있음을 암시하는 것이다. AKR1B10의 세포분열 촉진 효과 구명을 위한 연구에서는 암 세포에서 높게 발현된 AKR1B10 활성이 retinal을 retinol로 환원시켜 세포 내의 retinoic acid 농도를 감소시켜 세포 분화를 억제하고 암 세포의 성장을 촉진시킨 결과로 추정하고 있다[Gallego 등, 2006]. 또한, AKR1B10은 항암제인 daunorubicin와 항구토제인 dolasetron을 비활성화

*Corresponding author
Phone: +82-43-261-2734; Fax: +82-43-271-0526
E-mail: chemokine@chungbuk.ac.kr

doi:10.3839/jabc.2009.037

시키는 주된 효소로 동정되었으며[Martin 등, 2006], 또 다른 prodrug 항암제인 cyclophosphamide에 대한 암 세포 저항성과의 관련이 보고되었다[Bacolod 등, 2008].

이상의 보고된 결과를 토대로 암 세포에서 과발현된 AKR1B10은 암 세포 내의 retinoic acid 농도를 낮추어 암 세포의 성장을 촉진시키는 한편 활성 moiety로 aldehyde기와 ketone기를 가지는 항암제를 비활성화시켜 암 세포의 항암제 저항성을 높이는 것으로 생각되어, AKR1B10의 특이적 저해제는 암 치료에 다양하게 적용될 수 있을 것으로 기대된다. 그러나, AKR1B10 저해제 개발에 대한 연구는 거의 이루어지지 않고 있는 실정이다. 본 연구자들은 AKR1B10 저해 활성을 가지는 천연물 식의약 소재를 개발하기 위한 연구를 수행하고 있으며, AKR1B10 저해 활성의 탐색 방법 개발 및 23종의 한국 자생식물 추출물로부터 AKR1B10 저해 활성 탐색 결과를 보고한 바 있다[Lee 등, 2009]. 여기에서는 추가로 확보한 82종의 자생식물 추출물에 대한 AKR1B10 저해 활성 탐색 결과를 보고하고자 한다. 아울러 AKR1B10이 환원효소이므로 추출물의 항산화도와 AKR1B10 저해도의 상관관계를 고찰하고자 하였다.

본 연구에 사용한 식물은 82종으로 강원도 일대에서 수집하여, 강원대학교 이우철 명예교수가 동정하였다. 각 시료는 건조하여 95% 에탄올로 추출 후 감압 건조하여 DMSO에 20 mg/mL로 녹여 활성 측정에 사용하였다. 항산화도는 ABTS 라디칼 소거능을 Lee 등[2009a]의 방법에 따라 측정하여 결정하였으며, AKR1B10 저해도는 Lee 등[2009b]의 방법 에 따라 재조합

Table 1. ABTS radical scavenging activities and rhAKR1B10 inhibition effects of Korean plant extracts

	Korean name	Family name	Scientific name	Radical scavenging activity (%)[a)]	rhAKR1B10 inhibition (%)[b)]
1	다래나무	Actinidiaceae	*Actinidia arguta*	90.40±3.89	34.10±7.89
2	우슬	Amaranthaceae	*Achyranthes japonica*	29.37±3.76	26.67±9.03
3	비름	Amaranthaceae	*Amaranthus mangostanys*	15.38±4.67	17.03±7.37
4	옻나무	Anacardiaceae	*Rhus verniciflua*	97.50±1.30	62.87±1.95
5	창포	Araceae	*Acorus calamus*	61.13±6.74	33.09±7.16
6	독활	Araliaceae	*Aralia cordata*	37.68±4.12	57.59±1.62
7	두릅	Araliaceae	*Aralia elata*	77.96±4.26	32.34±2.62
8	오갈피나무	Araliaceae	*Eleutherococcus sessiliflorus*	92.91±6.13	35.85±4.67
9	음나무	Araliaceae	*Kalopanax pictus*	78.91±3.27	33.82±8.13
10	돌단풍	Asclepiadaceae	*Metaplexis japonica*	92.66±3.07	44.21±3.75
11	고사리	Aspleniaceae	*Pteridium aquilinum*	74.61±5.64	30.64±3.55
12	산오리나무	Betulaceae	*Alnus sibirica*	98.94±0.24	30.05±7.91
13	컴프리	Boraginaceae	*Symphytum officinale*	82.92±8.15	37.67±8.98
14	잔대	Campanulaceae	*Adenophora triphylla*	61.85±4.79	21.70±7.80
15	영아자	Campanulaceae	*Asyneuma japonicum*	30.51±3.11	31.58±9.37
16	섬초롱꽃	Campanulaceae	*Campanula punctata*	38.31±2.92	22.25±3.31
17	더덕	Campanulaceae	*Codonopsis lanceolata*	24.63±4.83	3.91±3.13
18	만삼	Campanulaceae	*Codonopsis pilosula*	82.88±4.58	44.33±1.63
19	도라지	Campanulaceae	*Platycodon grandiflorum*	42.74±5.03	26.42±2.88
20	화살나무	Celastraceae	*Euonymus alatus*	73.80±8.18	41.63±3.47
21	톱풀	Compositae	*Achillea alpina*	79.32±5.38	25.31±2.25
22	멸가치	Compositae	*Adenocaulon himalaicum*	91.20±5.08	56.54±7.83
23	참쑥	Compositae	*Artemisia dubia*	92.69±5.45	44.91±3.20
24	더위지기	Compositae	*Artemisia gmelini*	31.70±1.21	41.11±6.65
25	섬쑥부쟁이	Compositae	*Aster glehni*	94.72±3.31	58.12±4.89
26	참취	Compositae	*Aster scaber*	91.90±6.79	58.63±2.14
27	개미취	Compositae	*Aster tataricus*	86.66±3.71	39.45±6.17
28	삽주	Compositae	*Atractylodes ovata*	74.25±4.85	14.03±3.31
29	담배풀	Compositae	*Carpesium abrotanoides*	89.54±4.57	59.81±1.82
30	물엉겅퀴	Compositae	*Cirsium nipponicum*	44.26±6.14	30.86±4.00
31	고려엉겅퀴	Compositae	*Cirsium setidens*	72.75±3.99	10.39±7.95
32	왕고들빼기	Compositae	*Lactuca indica*	23.96±4.50	25.59±10.80
33	곰취	Compositae	*Ligularia fischeri*	94.81±3.05	56.57±7.27
34	각시취	Compositae	*Saussurea pulchella*	68.46±5.82	26.10±3.47
35	울릉미역취	Compositae	*Solidago virg-aurea*	81.54±4.96	35.88±7.26
36	사데풀	Compositae	*Sonchus brachyotus*	35.97±2.51	32.55±7.99
37	흰민들레	Compositae	*Taraxacum coreanum*	23.60±4.11	26.70±4.43
38	서양민들레	Compositae	*Taraxacum officinale*	38.14±3.54	21.68±8.66
39	이고들빼기	Compositae	*Youngia denticulata*	75.65±5.73	39.84±6.15
40	고들빼기	Compositae	*Youngia sonchifolia*	77.32±8.59	31.44±6.80

Table 1. Continued

	Korean name	Family name	Scientific name	Radical scavenging activity (%)[a]	rhAKR1B10 inhibition (%)[b]
41	기린초	Crassulaceae	*Sedum kamtschaticum*	75.36±8.07	32.41±8.52
42	돌나물	Crassulaceae	*Sedum sarmentosum*	39.08±4.65	23.32±1.21
43	측백	Cupressaceae	*Thuja orientalis*	39.27±1.61	67.30±1.03
44	속새	Equisetaceae	*Equisetum hyemale*	36.60±4.38	51.07±2.73
45	박하	Labiatae	*Mentha arvensis*	88.09±6.28	28.96±6.30
46	자소	Labiatae	*Perilla frutescens*	67.93±7.67	38.76±1.93
47	나비나물	Leguminosae	*Vicia unijuga*	36.19±3.61	23.63±7.78
48	영양부추	Liliaceae	*Allium anisopodium*	45.70±3.34	16.14±3.34
49	산마늘	Liliaceae	*Allium microdictyon*	29.74±3.28	12.11±4.92
50	두메부추	Liliaceae	*Allium senescens*	40.40±4.64	24.63±7.15
51	윤판나물	Liliaceae	*Disporum uniflorum*	54.14±2.64	25.85±5.86
52	일월비비추	Liliaceae	*Hosta capitata*	43.64±5.54	30.40±4.31
53	비비추	Liliaceae	*Hosta longipes*	19.72±4.83	25.83±4.60
54	옥잠화	Liliaceae	*Hosta plantaginea*	30.36±4.00	25.73±5.60
55	박새	Liliaceae	*Veratrum oxysepalum*	49.77±3.87	48.02±1.66
56	털부처꽃	Lythraceae	*Lythrum salicaria*	91.77±2.95	56.13±8.41
57	야산고비	Onagraceae	*Oenothera biennis*	78.32±4.18	27.93±0.23
58	고비	Osmundaceae	*Osmunda japonica*	79.55±6.89	12.24±2.50
59	질경이	Plantaginaceae	*Plantago asiatica*	88.84±5.68	24.42±3.24
60	여뀌	Polygonaceae	*Persicaria hydropiper*	53.31±5.00	17.85±9.05
61	대황	Polygonaceae	*Rheum undulatum*	44.77±4.72	53.88±3.36
62	소리쟁이	Polygonaceae	*Rumex crispus*	21.74±3.78	43.00±6.87
63	쇠비름	Portulacaceae	*Portulaca oleracea*	55.73±4.96	23.15±3.74
64	큰까치수염	Primulaceae	*Lysimachia clethroides*	91.23±3.62	28.86±3.46
65	좀쌀풀	Primulaceae	*Lysimachia vulgaris*	77.95±5.87	46.89±4.58
66	짚신나물	Rosaceae	*Agrimonia pilosa*	94.62±3.21	10.95±1.49
67	눈개승마	Rosaceae	*Aruncus dioicus*	94.34±3.24	12.41±6.24
68	오이풀	Rosaceae	*Sanguisorba officinalis*	69.96±8.51	40.44±4.90
69	황기	Saxifragaceae	*Astilboides tabularis*	35.45±4.50	39.18±1.78
70	고광나무	Saxifragaceae	*Philadelphus schrenkii*	52.88±5.06	27.63±8.20
71	오미자	Schisandraceae	*Schisandra chinensis*	14.70±4.85	36.31±1.11
72	개오미자	Schisandraceae	*Schisandra chinensis* (Trurcz.) Baill	41.11±5.76	27.29±10.49
73	꽈리	Solanaceae	*Physalis alkekengi*	32.64±6.45	21.97±8.30
74	강활	Umbelliferae	*Angelica koreana*	20.53±2.41	41.13±4.49
75	묏미나리	Umbelliferae	*Angelica miqueliana*	69.32±8.41	28.38±4.06
76	개시호	Umbelliferae	*Bupleurum longeradiatum*	60.77±4.94	30.61±2.49
77	파드득나물	Umbelliferae	*Cryptotaenia japonica*	45.85±6.48	22.09±2.55
78	섬바디	Umbelliferae	*Dystaenia takesimana*	52.01±3.66	27.16±2.60
79	어수리	Umbelliferae	*Heracleum moellendorffii*	49.53±9.55	45.89±3.10
80	갯기름나물	Umbelliferae	*Peucedanum japonicum*	49.89±4.23	13.86±8.64
81	누룩치	Umbelliferae	*Pleurospermum camtschaticum*	24.13±5.20	19.81±4.46
82	마타리	Valerianaceae	*patrinia scabiosaefolia*	68.81±3.80	42.56±10.87

[a]The concentrations of plant extracts used in the study are 100 μg/mL. Results are means±SE of 3 separate experiments.
Radical scavenging activity (%)=[100-(Absorbance of Sample/Absorbance of Control)]×100, where Control means ABTS reagent and DMSO instead of sample.
[b]The concentrations of rhAKR1B10 and plant extracts used in the study are 1 μM (0.003 U) and 10 μg/mL, respectively. Results are means±SE of 3 separate experiments.
rhAKR1B10 inhibition (%)=(1-ΔAbsorbance of Sample for 1 min/ΔAbsorbance of Control for 1 min)×100, where Control means reaction mixture without sample.

인간 AKR1B10(rhAKR1B10)을 제조하여 측정하였다.

먼저, 각 추출물의 ABTS 라디칼 소거능을 측정하여 Table 1의 결과를 얻었다. 100 μg/mL의 추출물 농도에서 80% 이상의 ABTS 라디칼 소거능을 보인 시료는 다래나무, 옻나무, 오갈피나무, 돌단풍, 산오리나무, 컴프리, 만삼, 멸가치, 참쑥, 섬쑥부쟁이, 참취, 개미취, 담배풀, 곰취, 울릉미역취, 박하, 털부처꽃, 질경이, 큰까치수염, 짚신나물, 눈개승마 등 21종 이었으며, 이들 추출물에 대하여 ABTS 라디칼을 50% 소거하는 농도인 IC_{50}를 구한 결과(Fig. 1), 각각 28.08, 33.04, 26.15, 34.54, 22.10, 57.61, 42.47, 33.66, 25.48, 26.08, 53.96, 56.90, 38.73,

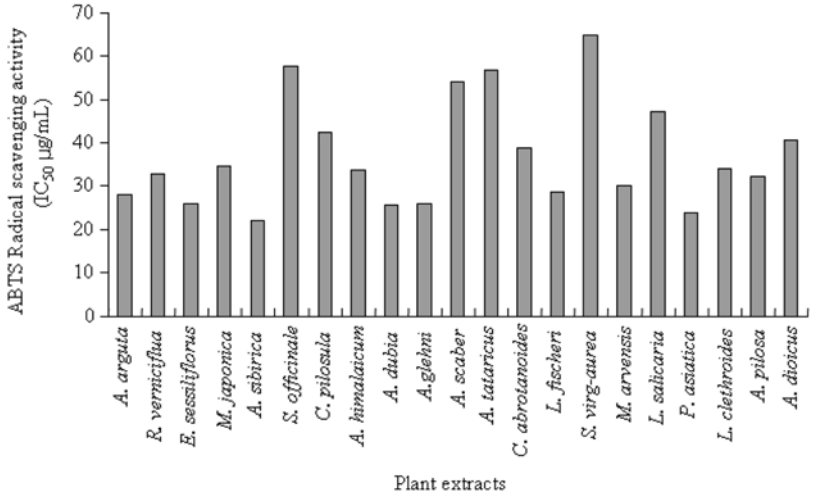

Fig. 1. IC_{50} measurements of Korean local plant extracts showing more than 80% of ABTS radical scavenging activity at 100 μg/mL.

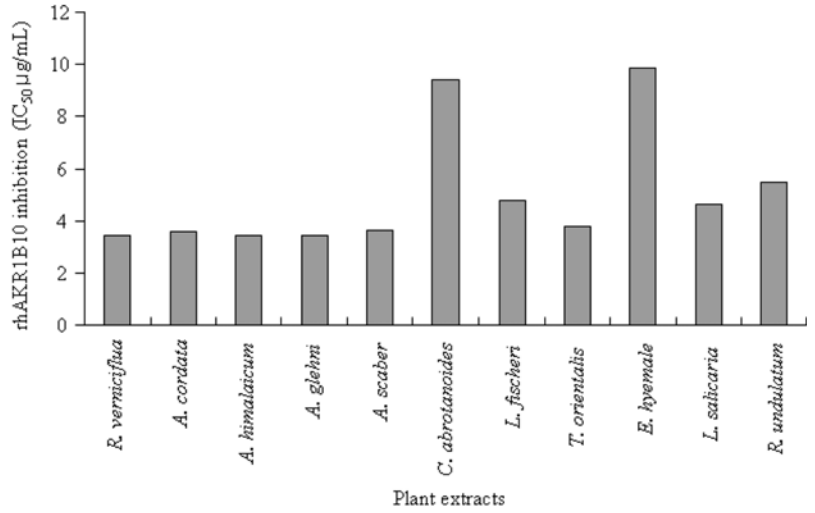

Fig. 2. IC_{50} measurements of Korean local plant extracts showing more than 50% inhibition of rhAKR1B10 activity at 10 μg/mL.

28.66, 64.74, 30.22, 47.41, 23.96, 34.23, 32.27, 40.61 μg/mL로 나타났다. 대조군으로 사용한 trolox의 ABTS 라디칼 소거에 대한 IC_{50}는 5.48 μg/mL(21.88 μM)로 나타나 이와 비교하면 각 추출물들은 비교적 낮은 항산화 활성을 보유하는 것으로 판단하였다.

10 μg/mL의 추출물을 사용하여 rhAKR1B10 활성 저해 효과를 탐색하여 Table 1의 결과를 얻었다. rhAKR1B10 활성을 50% 이상 저해한 시료는 옻나무, 독활, 멸가치, 섬쑥부쟁이, 참취, 담배풀, 곰취, 측백, 속새, 털부처꽃, 대황 등 11종 이었으며, 이들 추출물에 대하여 rhAKR1B10 활성을 50% 소거하는 농도인 IC_{50}를 구한 결과(Fig. 2), 각각 3.48, 3.59, 3.45, 3.47, 3.63, 9.40, 4.79, 3.79, 9.87, 4.62, 5.50 μg/mL로 나타났다. 대조군으로 사용한 3,3-tetramethylene glutaric acid의 IC_{50}는 3.3 μg/mL(17.5 μM)로 나타나 옻나무, 독활, 멸가치, 섬쑥부쟁이, 참취, 곰취, 측백, 털부처꽃, 대황 등 9종의 식물 추출물은 유망한 AKR1B10 활성 억제 소재로 탐색되었다.

한편, rhAKR1B10은 NADPH를 cofactor로 사용하는 환원효소 이므로 ABTS 라디칼 소거능으로 측정된 추출물의 화학적

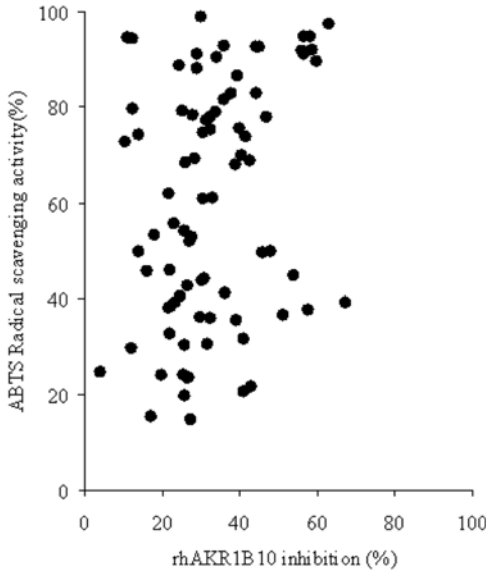

Fig. 3. Correlation between rhAKR1B10 inhibition activity and ABTS radical scavenging activity shown in Table 1.

항산화도가 rhAKR1B10 활성 저해에 어떤 영향을 미치는 지를 고찰하였다. Fig. 3에서 보는 바와 같이 이들 두 활성 사이의 정 또는 부의 상관관계는 없는 것으로 나타났다. 이로부터 식물 추출물에 의한 rhAKR1B10 활성 저해는 ABTS 라디칼 소거능으로 측정된 추출물의 화학적 항산화도가 rhAKR1B10의 효소 반응 과정에서 일어나는 NADPH의 산화에 영향을 주어 나타난 것은 아닌 것으로 판단하였다. 즉, 식물 추출물에 의한 rhAKR1B10 활성 저해는 식물 추출물 중에 존재하는 활성물질이 rhAKR1B10의 기질과 경쟁적이든, 비경쟁적으로 rhAKR1B10과 상호작용하여 효소의 활성을 저해한 결과로 추측하였다. 향후 연구를 통하여 유망한 AKR1B10 활성 억제 소재로 탐색된 9종의 식물 추출물로부터 활성물질을 분리 및 동정하고자 한다.

감사의 글

이 논문은 2009학년도 충북대학교 학술연구지원사업의 연구비 지원에 의하여 연구되었음.

참고문헌

Barski OA, Tipparaju SM, and Bhatnagar A (2008) The aldo-keto reductase superfamily and its role in drug metabolism and detoxification. *Drug Metab Rev* **40**, 553-624.

Bacolod MD, Lin SM, Johnson SP, Bullock NS, Colvin M, Bigner DD, and Friedman HS (2008) The gene expression profiles of medulloblastoma cell lines resistant to preactivated cyclophosphamide. *Curr Cancer Drug Targets* **8**, 172-179.

Cao D, Fan ST, and Chung SS (1998) Identification and characterization of a novel human aldose reductase-like gene. *J Biol Chem* **273**, 11429-11435.

Fukumoto S, Yamauchi N, Moriguchi H, Hippo Y, Watanabe A, Shibahara J, Taniguchi H, Ishikawa S, Ito H, Yamamoto S, Iwanari H, Hironaka M, Ishikawa Y, Niki T, Sohara Y, Kodama T, Nishimura M, Fukayama M, Dosaka-Akita H, and Aburatani H (2005) Overexpression of the aldo-keto reductase family protein AKR1B10 is highly correlated with smokers' non-small cell lung carcinomas. *Clin Cancer Res* **11**, 1776-1785.

Gallego O, Ruiz FX, Ardevol A, Dominguez M, Alvarez R, de Lera AR, Rovira C, Farres J, Fita I, and Pares X (2007) Structural basis for the high all-trans-retinaldehyde reductase activity of the tumor marker AKR1B10. *Proc Natl Acad Sci USA* **104**, 20764-20769.

Hyndman DJ and Flynn TG (1998) Sequence and expression levels in human tissues of a new member of the aldo-keto reductase family. *Biochim Biophys Acta* **1399**, 198-202.

Jin Y and Penning TM (2007) Aldo-keto reductases and bioactivation/detoxication. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* **47**, 263-292.

Lee EH, Ham J, Ahn HR, Kim MC, Kim CY, Pan CH, Um BH, and Jung SH (2009a) Inhibitory effects of the compounds isolated from *Sargassum yezoense* on α-glucosidase and oxidative stress. *Kor J Pharmacogn* **40**, 150-154.

Lee JY, Song DG, Jung SH, Kim JH, Ahn SY, Nho CW, and Pan CH (2009b) Inhibitory effects of Korean local plant extracts on AKR1B10. *Kor J Pharmacogn* **40**, 238-243.

Martin HJ, Breyer-Pfaff U, Wsol V, Venz S, Block S, and Maser E (2006) Purification and characterization of akr1b10 from human liver: role in carbonyl reduction of xenobiotics. *Drug Metab Dispos* **34**, 464-470.

Nagaraj NS, Beckers S, Mensah JK, Waigel S, Vigneswaran N, and Zacharias W (2006) Cigarette smoke condensate induces cytochromes P450 and aldo-keto reductases in oral cancer cells. *Toxicol Lett* **165**, 182-194.

Yan R, Zu X, Ma J, Liu Z, Adeyanju M, and Cao D. (2007) Aldo-keto reductase family 1 B10 gene silencing results in growth inhibition of colorectal cancer cells: Implication for cancer intervention. *Int J Cancer* **121**, 2301-2306.

Yoshitake H, Takahashi M, Ishikawa H, Nojima M, Iwanari H, Watanabe A, Aburatani H, Yoshida K, Ishi K, Takamori K, Ogawa H, Hamakubo T, Kodama T, and Araki Y (2007) Aldo-keto reductase family 1, member B10 in uterine carcinomas: a potential risk factor of recurrence after surgical therapy in cervical cancer. *Int J Gynecol Cancer* **17**, 1300-1306.