

## 토후박 추출물의 항산화 및 항당뇨 활성

허명록\* · JianHe Hu\* · 왕 란\*\* · 김현삼\*\* · 김성무\*\* · 조동하\*\*\*\*\*†

\*남양과학기술학원, \*\*강원대학교 BT특성화대학, \*\*\*강원대학교 생명공학연구소

### Antioxidant and Anti-diabetes Activity of Extracts from *Machilus thunbergii* S. et Z.

Ming Lu Xu\*, Jian He Hu\*, Lan Wang\*\*, Hyun Sam Kim\*\*, Cheng Wu Jin\*\* and Dong Ha Cho\*\*\*\*\*†

\*Henan Institute of Science and Technology, Xinxiang 453-003, PR.China.

\*\*School of Biotechnology, Kangwon National University, Chuncheon 200-701, Korea.

\*\*\*Institute of Bioscience & Biotechnology, Kangwon National University, Chuncheon 200-701, Korea.

**ABSTRACT:** *Machilus thunbergii* was an important medicinal resource and distributed widely in China. In this study, the bioactivities of dichloromethane fraction (DF) and water fraction (AF) from *Machilus thunbergii* methanol extract were investigated. Total phenolic contents of DF and AF were 57.90 mg Gal/g and 189.92 mg Gal/g, and total flavonoid contents were 17.34 mg Que/g and 58.38 mg Que/g respectively. The EC<sub>50</sub> for DPPH radical scavenging activity of DF and AF were 24.37 μg/ml and 2.10 μg/ml. Reducing power and hydroxyl radical scavenging activities of AF were higher than those of DF. The α-glucosidase inhibitory activity of AF (IC<sub>50</sub> = 1.13 μg/ml) was higher than that of DF (IC<sub>50</sub> = 5.34 μg/ml). The cell viability was showed that only the DF had anti-proliferation effect on human cancer cell HT-29. These results suggested that both the DF and AF extract of *Machilus thunbergii* were potential materials for anti-diabetes and functional food for their radical scavenging activity.

**Key Words :** *Machilus thunbergii*, Antioxidant, α-glucosidase, Anti-diabetes

## 서 언

후박나무 (*Machilus thunbergii*)는 녹나무과 (Lauraceae)에 속하며, 그 수피를 토후박 (厚朴) 또는 홍남피라고 하는데, 주로 남부지역에 자생 또는 재배되고 있다. 후박나무의 약효로는 복통, 천해, 흉복부팽만의 치료제나 정장, 이노, 건위, 소담 등으로 알려져 있으며, 껍질에서는 미백효과가 있는 machilin A, meso-monomethyl dihydroguaiaietic acid, nectandrin A와 nectandrin B 같은 lignan계 화합물 (Li *et al.*, 2003) 및 sesquiterpene이 보고되어 있으며, 잎에서는 quercetin, trifolin 및 quercitrin 등의 flavonoid (Park *et al.*, 1990)류가 있다.

한방에서는 나무껍질을 후박피라 하며 최근에는 약리작용 연구가 많이 진행되어 수십 가지의 효능이 알려졌다. 토후박에서 분리된 meso-dihydroguaia-retic acid (MDGA), licarin A는 glutamate유도에 의해 신경독성을 억제하는 신경보호활성을 연구한 결과에서 이 두 물질은 항산화 활성을 통하여 배양한 신경세포를 뚜렷하게 보호한다고 보고되어 있다 (Ma *et al.*, 2005)와 CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> fraction에서 분리된 (+)-9'-hydroxygalbelgin, isogalcatinB, (7S,8S,8'R)-3',4'-dime-thoxy-3,4-methylenedioxy-lignan-

7-ol, 1-hydroxy-7-hydroxymethyl-6-methoxyxantho-ne, 5,7-dimethoxy-3',4'- methylenedioxyflavan-3-ol, (+)-(3S,4S,6R)-3,6-dihydroxy-piperitone, protocatechuic acid methyl ester와 tyrosol들도 신경보호활성을 연구한 실험에서 rat의 피질세포 배양을 통하여 신경독성 억제 율을 측정하였을 때 MK-801과 비교할만한 활성을 나타내었으며 농도 범위는 0.1 μM에서 10.0 μM로 나타났다고 보고되어 있으며 (Ma *et al.*, 2009), 또 Machilin A는 Melanoma B-16 cell에서 melanine의 생성을 억제한다고 보고되어 있어 미백효과에도 가능성이 있다고 알려져 있다 (Li *et al.*, 2004).

당뇨병은 고혈당을 특징으로 하는 일련의 대사 질환군으로, 만성적인 고혈당은 대혈관 합병증, 미세혈관합병증, 당뇨병성 신경병증 및 신장질환과 같은 합병증을 야기한다 (Defronzo, 1981; Steiner *et al.*, 1984; Young and Stout, 1987). 이에 당뇨병에 대한 치료목표는 지속적으로 이상적인 혈당을 유지하여 당뇨병성 합병증을 예방하고 지연하는 것이다. 또한 공복혈당뿐 아니라 식후혈당을 가능한 정상치에 가깝게 조절하는 것은 당뇨병의 치료 및 예방에 있어서 매우 중요하다 (Jenkins *et al.*, 1988; Haller, 1998; Lebovitz, 1998).

†Corresponding author: (Phone) +82-33-250-6475 (E-mail) chodh@kangwon.ac.kr

Received 2009 December 23 / 1st Revised 2010 January 22 / 2nd Revised 2010 February 8 / Accepted 2010 February 11

$\alpha$ -glucosidase는 식이 중에 함유된 탄수화물의 소화과정 마지막 단계를 촉매하여 포도당으로 전환시키는 효소로서,  $\alpha$ -glucosidase 저해제는 탄수화물의 소화와 흡수를 지연시켜 식후 혈당증가를 완화시킨다.  $\alpha$ -glucosidase 저해제는 고인슐린 혈증이나 저혈당을 유발하지 않고, 인슐린 분비를 촉진시키며 소장에서 글루카곤 분비를 억제하는 glucagon-like peptide-1의 분비를 촉진한다 (Mooradian and Thurman, 1999; Baron, 1998). 현재 acarbose와 voglibose 등의  $\alpha$ -glucosidase 저해제가 시판되고 있으나 이들 약제를 장기간 복용한 경우 일부환자에 있어서 복부팽만감, 구토, 설사 등 부작용을 나타낼 수 있어 그 사용이 제한될 수 있다 (Hanefeld, 1998). 따라서 이런 부작용을 줄이고 식후의 혈당강하 효과를 낼 수 있는 대체 식품 및 천연물에 대한 관심이 모아지고 있다.

따라서 본 연구에서는 항산화효과가 뛰어난 토후박 추출물이 인류건강과 의약품, 식품 등 여러 분야의 천연항산화제로의 가능성과 항암활성의 가능성을 알아 보고, 항당뇨의 기능성 식품, 약품으로서의 활용에 있어 기초자료로 사용하고자 본 실험을 수행하였다.

## 재료 및 방법

### 1. 실험재료 및 추출방법

본 실험에 사용한 토후박나무 껍질은 중국 강소성에서 채집한 것으로 음건된 2 kg 을 이용하여 MeOH로 60°C에서 24시간씩 세 번 추출하고 농축하여 MeOH추출물 238.5 g을 얻었다. 상기 추출물을 물로 녹인 후 Hexane, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, BuOH등 용매극성 순으로 세 번씩 분획하고 용매별 분획을 합병하고 농축하여 Hexane (23.7 g), CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (71.0 g), BuOH (56.2 g) 및 H<sub>2</sub>O (96.9 g) 분획을 얻었다. 상기분획들 중 항당뇨활성이 있는 CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> fraction (DF)과 H<sub>2</sub>O fraction (AF)을 항산화활성 실험과 병행하여 본 연구를 진행하였다. 생리 활성 실험에서는 모든 샘플과 부동한 농도에서 3반복으로 실험하였으며, 통계 프로그램은 SPSS 11.5에서 one-way ANOVA중 Duncan's multiple range test를 사용하여 분석하였다.

### 2. 총페놀성 및 총플라보노이드 화합물 함량측정

총페놀성 화합물의 함량 측정은 Folin-Denis (Jayaprakasha *et al.*, 2007) 법에 의해 정량하였다. 먼저 1.0 mg/ml로 조제한 추출물 1 ml에 Folin-reagent 1 ml를 가하여 3분간 정치한 후 10% Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 1ml을 혼합하고 1시간 실온에서 방치한 후 725 nm에서 흡광도 (Optizen 2120UV, MECASYS CO. LTD, Daejeon KOREA)를 측정하였다. 표준곡선은 gallic acid (Sigma Co., USA)를 이용하여 작성하였다. 총 폴리페놀 함량은 아래의 식에 의해 계산하였다.

$$\text{Absorbance} = 0.0069 \text{ mg gallic acid} - 0.042 \quad (R^2 = 0.9982)$$

총플라보노이드 함량은 Davis (Chang *et al.*, 2002)변법을 이용하였다. 1.0 mg/ml로 조제한 추출물 1 ml에 diethylene glycol 10 ml 및 1 N NaOH 1 ml을 가하고 잘 혼합한 후 30°C에서 1시간 반응시킨 후 420 nm에서 흡광도를 측정하였다. 이때 검량곡선은 quercetin (Sigma Co., USA)을 이용하여 작성하였으며. 총플라보노이드 함량은 아래의 식에 의해 계산하였다.

$$\text{Absorbance} = 0.0061 \text{ mg quercetin} - 0.0281 \quad (R^2 = 0.9997)$$

### 3. DPPH radical 소거활성 측정

DPPH radical 소거 실험은 광범위하게 쓰이는 간단하고 편리한 항산화 검색법으로, 특히 phenol과 aromatic amine 화합물의 항산화능 측정에 많이 사용된다 (Blois, 1958).

시료를 10, 50, 100, 500, 1000  $\mu$ g/ml의 농도로 준비한 추출물 1 ml에 0.2 mM DPPH용액 1 ml을 잘 혼합하여 25분간 실온에서 방치하고 multiplate spectrophotometer (ELx800TM, Biotek, USA)를 사용하여 515 nm에서 흡광도를 측정(Eom *et al.*, 2007)하고 아래와 같이 계산하여 EC<sub>50</sub>값으로 나타내었다.

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

L-Ascorbic acid를 positive 대조군으로 사용하였다. EC<sub>50</sub> (/)는 DPPH 라디칼 소거활성이 50% 나타내는 추출물의 농도를 나타내는 것이다.

### 4. 환원력의 측정

즉 각각의 농도별로 조제한 시료 0.1 ml에 0.2 M 인산 완충액 (pH 6.8) 0.25 ml과 1% potassium ferrocyanide [K<sub>3</sub>F<sub>6</sub>(CN)<sub>6</sub>] 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 FeCl<sub>3</sub> 0.05 ml을 넣어서 발색반응을 유도시킨 다음, multiplate spectrophotometer (ELx800TM, BioTek, USA)를 사용하여 750 nm에서 흡광도를 측정하였다(Goh *et al.*, 2009).

### 5. •OH 소거능 측정

Hydroxyl radical 소거능 측정은 Fenton 반응으로 생성된 •OH에 의해 핵산의 구성당인 deoxyribose 분해되는 정도를 TBA 발색법을 이용하여 측정한다. 시험관에 각 추출물 0.2 ml에 10 mM FeSO<sub>4</sub>/EDTA용액 0.2 ml, 10 mM 2-deoxyribose 0.2 ml, 0.1 M phosphate buffer (pH 7.4) 1 ml를 잘 혼합한 후, 10 mM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 0.2 ml를 가하고 37°C에서 4시간 반응시킨 후 2.8% TCA (trichloroacetic acid)용액 1 ml과 0.1% TBA (Thiobarbituric acid)를 첨가하여 100°C에서 10분간 가열한 후 급속 냉각시켜 532 nm에서 UV-visible spectrophotometer (Optizen 2120UV, Mecasys, Korea)에서 흡광도를 측정하였다.

6. 세포독성 및 항암활성 측정

토후박나무껍질 MeOH추출물의 각 용매분획의 암세포 및 정상세포의 증식 억제효과는 Green *et al.* (1984)등의 방법에 따라 MTT assay를 이용하여 시행하였다. MTT분석은 세포 단백질 염색을 이용하여 세포증식이나 독성을 측정하는 방법으로 10% fetal bovine serum 및 각각의 MDA-MB-231과 HT-29를 함유하는 RPMI 164배지와 293을 함유하는 DMEM 배지를 5 × 10<sup>5</sup> cell/ml 농도로 200 μl 씩 각 well에 첨가하여 72시간 동안 배양 (37°C, 5% CO<sub>2</sub>)시킨 후 0.2 M 이하의 DMSO로 녹인 300 μg/ml의 시료를 첨가하여 48시간 동안 다시 배양하였다. 그 후 상등액을 aspirator로 조심스럽게 제거하고 새로운 배지와 MTT용액을 50 ml 씩 첨가해 4시간 동안 염색시켰다. 결합되지 않은 MTT염색액은 네 번 정도 행구어, 건조시킨 후 DMSO 150 μl로 염색제를 녹인 후 550 nm에서 흡광도 (ELx800 Absorbance Microplate Reader, Biotek, USA)를 측정하였다.

7. α-glucosidase 저해활성

토후박의 용매별에 따른 추출물을 10, 50, 100, 200 μg/ml의 농도로 희석하여 0.75 unit/ml의 α-glucosidase 효소액 25 μl를 50 mM potassium phosphate buffer (pH 6.5) 200 μl에 넣고 혼합한 후 2 mM p-nitrophenyl-α-D-glucopyranoside를 가하여 37°C에서 30분간 반응시켰다. 0.5 M Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>를 가하여 반응을 정지시킨 후 405 nm에서 흡광도를 측정하여 효소 반응으로 생성된 nitrophenyl의 함량을 정량하여 각 추출물을 처리하지 않은 대조구와 비교하여 효소활성을 계산하였다 (Kim *et al.*, 1991).

저해율 (%) = (1 - A/B) × 100. A: 시료 첨가구의 흡광도, B: 시료 무첨가구의 흡광도. (단, A, B 모두 대조구의 흡광도를 제외한 수치임)

결과 및 고찰

1. 총페놀성 및 총플라보노이드 함량

식물계에 널리 분포되어 있는 페놀성 화합물은 2차 대사산물의 하나로 다양한 구조와 분자량을 가진다. 이들은 phenolic hydroxyl기를 가지므로 단백질 및 거대분자들과 쉽게 결합하여, 항암 및 항산화 활성과 같은 다양한 생리활성을 나타낸다 (Choi *et al.*, 2005; Lee and Lee, 1994). 따라서 본 실험에서는 토후박나무 껍질의 항산화 및 항암활성을 알아보기로 토후박나무 껍질의 두 가지 fractions의 총페놀성 및 총플라보노이드 함량을 측정 후 그 결과를 Table 1에 나타내었다. 토후박나무 껍질의 DF와 AF의 총페놀 함량은 57.90 mg/g과 189.92 mg/g으로 나타 내었으며 상기 두 가지 fraction의 총플라보노이드 함량은 17.34 mg/g과 58.38 mg/g으로 나타났다.

Table 1. Total phenolics and total flavonoid contents of *Machilus thunbergii* extracts.

Extracts	Total phenolics (mg Gal <sup>a</sup> /g)	Total flavonoids (mg Que <sup>b</sup> /g)
DF	57.90 ± 1.62	17.34 ± 0.71
AF	189.92 ± 1.83	58.38 ± 0.59

<sup>a</sup>Gallic acid (Gal) was used as a standard for measuring of the total phenolic content.

<sup>b</sup>Quercetin (Que) was used as a standard for measuring of the total flavonoid content.

Note: Values expressed are the mean ± S.D. of three parallel measurements.

Table 2. DPPH radical scavenging activities of *Machilus thunbergii* extracts.

Sample	EC <sub>50</sub> (μg/ml)
DF	24.37 ± 0.88
AF	2.10 ± 0.11
L-Ascorbic acid	12.25 ± 0.39

Note: DF and AF represent CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> and H<sub>2</sub>O fraction from methanol extract of *Machilus thunbergii*, L-Ascorbic acid is the positive control.

Park and Lim, (2009)에 따르면 조릿대 잎 70% 에탄올 조추출물로부터 얻어진 각 용매별 분획 중 chloroform (155.9 mg/g)과 ethyl acetate (124.6 mg/g) 및 n-butanol (119.2 mg/g) 분획은 천연 항산화제로서 특히, 지질의 과산화를 방지하는 용도로서의 활용 가치가 있다고 보고하였는데, 이러한 결과를 토대로 토후박의 경우 DF와 AF가 57.90 mg/g과 189.92 mg/g의 총페놀함량을 보이므로 상당한 항산화 활성을 가지고 있음을 확인할 수 있었다.

2. DPPH radical 소거활성

토후박나무 껍질의 MeOH 추출물의 DF와 AF의 DPPH free radical 소거 활성을 측정 후 Table 2에 나타내었다. 항산화 활성 중 DPPH radical에 대한 토후박나무 껍질의 DF와 AF 두 가지 fractions의 소거 활성은 EC<sub>50</sub> 24.37 ± 0.88 μg/ml과 2.10 ± 0.11 μg/ml로 비교적 높은 항산화 활성을 나타내었다. 이러한 결과는 토후박나무 껍질 MeOH 추출물이 항산화 활성이 뛰어나 항산화제로의 이용가능성 측면에서도 매우 좋을 것으로 사료된다. Kwoen *et al.* (2006)은 여러 조건에서 상황버섯을 추출한 후 DPPH radical을 측정 후 EC<sub>50</sub> 17.14 μg/ml의 결과 값을 얻어 상황버섯 추출물이 뛰어난 항산화제임을 제시하였다. 이와 같은 결과로 미루어 토후박은 상황버섯보다 더 뛰어난 항산화제로 이용가능성을 확인할 수 있었다.

3. 환원력 측정

토후박의 식품 또는 의약품으로의 연구 가치를 측정하는 가

## 토후박 추출물의 항산화 및 항당뇨 활성

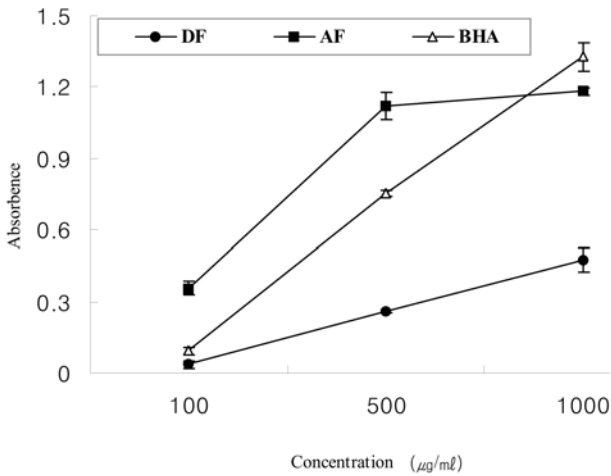


Fig. 1. Reducing power of *Machilus thunbergii* extracts.

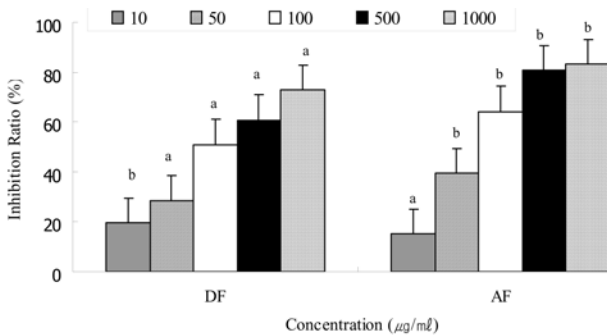


Fig. 2. Effects of *Machilus thunbergii* extracts on hydroxyl radical ( $\cdot\text{OH}$ ) scavenging assay.

<sup>a-b</sup>Values with different letters differ significantly ( $p < 0.05$ ).

장 기초적인 단계로서, 본 실험에서는 토후박나무 껍질의 메탄올 추출물로부터 얻은 DF와 AF의 환원력을 측정하였다 (Lee *et al.*, 2004). Fig. 1에서 나타나는 바와 같이 토후박의 환원력은 100, 500, 1000  $\mu\text{g/ml}$ 의 농도에서는 DF는 0.036, 0.260과 0.476, AF는 0.357, 1.122와 1.181의 흡광도를 보여 농도 의존적으로 환원력을 보임을 확인할 수 있었다. 그러나 동일 농도에서 항산화제로 널리 쓰이는 BHA (0.129, 0.297, 1.096)보다 DF는 약한 환원력을 AF는 강한 환원력을 나타냄을 알 수 있었다.

### 4. $\cdot\text{OH}$ 소거활성 측정

$\cdot\text{OH}$ 은 수용액에서 강산 반응성을 나타내어 지질산화를 개시하고 DNA에 손상을 주거나 돌연변이를 유발하는 물질로 알려져 있고 생체의 대사과정에서 생성되는 기질의 과산화물이나 과산화수소가  $\text{Fe}^{2+}$ 나  $\text{Cu}^{2+}$ 이온의 존재 하에서 생성되며 가장 독성이 강한 자유라디칼로서 소거하는 정도를 측정하였다 (Bu *et al.*, 2004). 대조군으로는 항산화제로 알려져 있는

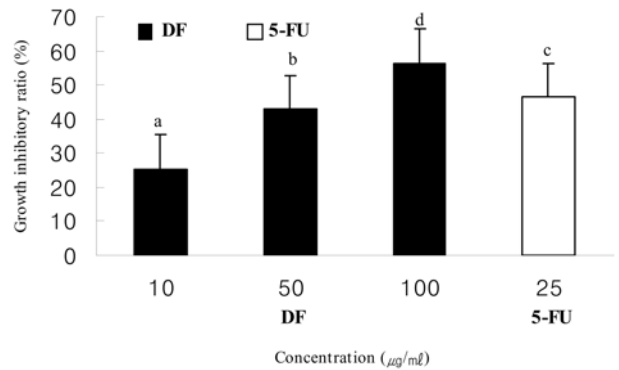


Fig. 3. Anti-proliferation effect of *Machilus thunbergii* extracts on human cancer cell HT-29.

The final concentration of positive control 5-FU is 25  $\mu\text{g/ml}$ .

<sup>a-d</sup>Values with different uppercase superscripts among the three concentrations and 5-FU are significantly different at  $p < 0.05$  by ANOVA with Duncan's multiple range test.

BHT를 사용하였다. Fig. 2에서 보여주는 바와 같이 토후박의 DF와 AF분획은 100  $\mu\text{g/ml}$ 의 농도에서 50%와 60% 이상의 라디칼 억제 능력을 보였으나, AF는 오히려 500과 1000  $\mu\text{g/ml}$  농도에서는 활성이 큰 변화를 나타내지 않았음을 확인할 수 있었다.

### 5. 토후박 추출물의 암세포 증식 억제 효과

항암활성을 측정하는 방법 중 MTT 검색법은 96-well plate를 사용하며 그 결과를 ELISA reader (Multiwell microplate reader)를 이용하여 많은 시료를 간단하게 판독할 수 있어 세포독성 및 세포증식을 검색하는 범으로서 sulforhodamin B (SRB)검색법과 더불어 널리 사용되고 있는 분석 방법이다. 일반 세포와 달리 암세포는 대사과정에서 미토콘드리아의 탈수소 효소 작용에 의해 노란색 수용성 MTT tetrazolium을 자주색을 띠는 비수용성의 MTT formazan으로 환원시킨다. MTT formazan의 흡광도는 550 nm 근처 파장에서 최대가 되며, 대사적으로 왕성한 세포의 농도를 반영하는 것이다 (Park *et al.*, 1987). Fig. 3과 같이 실험에 사용된 토후박 추출물의 경우 10, 50, 100  $\mu\text{g/ml}$ 로 조절하였으며 정상세포와 암세포에 성장에 대한 억제 효과를 검토하였다. 대조군 5-FU이 25  $\mu\text{g/ml}$ 의 농도에서  $46.35 \pm 0.65\%$ 의 세포 성장 억제력을 나타내었으며, DF는 대장암 세포인 HT-29 cell line에서는 50, 100  $\mu\text{g/ml}$ 에서  $42.76 \pm 1.07\%$ 와  $56.35 \pm 1.65\%$ 의 억제율을 나타내었으며, 유방암 세포인 MDA-MB-231에서의 샘플은 각각  $17.35 \pm 1.26\%$  및  $25.48 \pm 2.37\%$ 의 성장 억제력을 보였으나, AF는 억제능력을 거의 나타내지 않았다. 이와 같은 결과는 Kwon *et al.* (2007) 등 발표한 결과와 비교해 보았을 때 토후박이 뛰어난 항암 활성도 가지고 있음을 확인할 수 있었다.

**Table 3.**  $\alpha$ -glucosidase inhibitory activity of *Machilus thunbergii* extracts.

Extracts	IC <sub>50</sub> ( $\mu$ g/ml)
DF	5.34 $\pm$ 0.31
AF	1.13 $\pm$ 0.79
Acarbose	0.068 $\pm$ 0.03

**6.  $\alpha$ -glucosidase 저해효과**

고혈당과 관련된 많은 생화학적 경로들 (포도당의 자가산화, polyol 경로, 단백질 당화 등)에 의해 자유 라디칼의 생성이 증가됨이 알려졌고, 그 밖에도 당뇨병에서는 여러 인자들에 의해 산화 스트레스 및 조직의 산화적 손상이 증가될 수 있다 (Baynes and Thorpe, 1999). 당뇨병에서 혈장, 적혈구막, 저밀도 지단백 등의 지질과산화이 증가됨이 밝혀졌다 (Sato *et al.*, 1979). 이런 산화스트레스를 막을 수 있는 기전은 자유 라디칼의 직접적인 소거, 지질과산화의 억제 혹은 생체 내 항산화 효소계 (superoxide dismutase, catalase, glutathione peroxidase)를 활성화 하는 방법으로 나눌 수 있다.

당뇨병은 암 및 순환기 질환과 더불어 3대 질병의 하나로 지목되고 있다.  $\alpha$ -Glucosidase는 소장의 brush-border membrane에 존재하는 소화효소로서 이당류나 다당류 형태의 탄수화물이 소화 흡수되기 위한 상태인 단당류로 가수분해하는 역할을 한다.  $\alpha$ -Glucosidase 저해제는 탄수화물 식이 후 혈당상승을 억제할 수 있다.

토후박의 DF와 AF 시료를 농도별로 조제하여 효모 기원의  $\alpha$ -glucosidase에 대한 저해활성을 검토한 결과 100  $\mu$ g/ml 농도에서 DF와 AF이 각각 79.97%와 56.99%로 비교적 높은 억제효과를 보였다. Table 3에 표시한 바와 같이 양성대조군으로 사용한 acarbose의 IC<sub>50</sub>은 0.068  $\pm$  0.03  $\mu$ g/ml로 나타났으며, DF와 AF의 IC<sub>50</sub>은 각각 5.34  $\pm$  0.31  $\mu$ g/ml 과 1.13  $\pm$  0.79  $\mu$ g/ml로 나타내었다. Cho 등 (2007)은 오미자 추출물에서  $\alpha$ -glucosidase 저해 활성을 측정된 결과 200  $\mu$ g/ml의 농도에서 물 추출물이 97.4%, 60.0%, 에탄올 추출물이 84.5%의 활성을 나타낸다고 보고한 바 있다. 따라서 토후박 추출물이 오미자의 물 추출물과 에탄올 추출물과 비교하였을 때 더욱 강한 활성을 나타냄은 알 수 있었으며, 토후박의 두 가지 추출분획으로부터 높은 억제 효과를 나타내는 물질 분리 정제를 통해 강력한  $\alpha$ -glucosidase 억제제를 개발 할 수 있다고 판단된다.

시판되고 있는 acarbose와 같은  $\alpha$ -glucosidase 저해제는 장기간 복용할 경우 일부 환자에 있어서 복부팽만감, 구토, 설사 등 부작용을 나타낼 수 있어 그 사용이 제한될 수 있다. 이에 부작용이 적은 천연물로부터 혈당강하제를 찾으려는 연구가 활발히 진행되고 있으며, 상엽, 상백피(Asano *et al.*, 1994; Goldman *et al.*, 1990), 황금(Nishioka *et al.*, 1998) 등의 추출물이  $\alpha$ -glucosidase 저해활성이 높았고 이들 추출물로부터

$\alpha$ -glucosidase 저해제를 분리하기도 하였다.

본 연구에서도 천연물인 토후박 추출물로부터  $\alpha$ -glucosidase의 저해활성을 확인함으로써 혈당강하제로서의 토후박 추출물의 기능성을 검증하였다. 하지만, 본 연구에서는 토후박 추출물이  $\alpha$ -glucosidase에 대한 높은 저해활성을 나타냄을 밝혔을 뿐이기에, 앞으로 토후박의 추출물 중 어떤 물질에 의해 탄수화물 소화효소의 저해활성이 높아졌는지에 대한 추후 연구가 필요하다.

**LITERATURE CITED**

Asano N, Tomioka E, Kizu H and Matsui K. (1994). Sugars nitrogen in the ring isolated from the leaves of *Morus bombycis*. *Carbohydrate Research*. 253:235-245.

Baron AD. (1998). Postprandial hyperglycemia and  $\alpha$ -glucosidase inhibitors. *Diabetes Research and Clinical Practice*. 40:S54-S55.

Baynes JW and Thorpe SR. (1999). Role of oxidative stress in diabetic complications: a new perspective on an old paradigm. *Diabetes*. 48:1-9.

Blois MS. (1958). Antioxidant determination by the use of a stable free radical. *Nature*. 181:1199-1200.

Bu HJ, Lee HJ, Yoo ES, Jung DS, Riu KZ and Lee S. (2004). Antioxidant effects and inhibitory effect on NO synthesis by extracts of *Canavalia lineate*. *Korean Journal of Phramcognosy*. 35:338-345.

Chang CC, Yang MH, Wen HM and Chern JC. (2002). Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colorimetric methods. *Journal of Food and Drug Analysis*. 10:178-182.

Choi SY, Lin SH, Ha TY, Kim SR, Kang KS and Hwang IK. (2005). Evaluation of the estrogenic and antioxidant activity of some edible and medicinal plant. *Korean Journal of Food Science and Technology*. 37:549-556.

Cho YJ, Ju IS, Kim BC, Lee WS, Kim MJ, Lee BG, An BJ, Kim JH and Kwon OJ. (2007). Biological activity of Omija (*Schizandra chinensis* Baillon) extracts. *Journal of the Korean Society for Applied Biological Chemistry*. 50:198-203.

Defronzo RA. (1981). The effect of insulin on renal sodium metabolism. *Diabetologia*. 21:165-171.

Eom SH, Park HJ, Jin CW, Park SM, Kim MJ, Yu CY and Cho DH. (2007). Changes of antioxidant activity in *Juglans mandshurica* Maxim. leaves by far infrared ray irradiation. *Korean Journal of Medicinal Crop Science*. 15:266-270.

Goh EJ, Seong ES, Lee JG, Na JK, Lim JD, Kim MJ, Kim NY, Lee GH, Seo JS, Cheoi DS, Chung IM and Yu CY. (2009). Antioxidant activities according to peeling and cultivated years of *Astragalus membranaceus* roots. *Korean Journal of Medicinal Crop Science*. 17:233-237.

Goldman A, Milat ML and Ducrot PH. (1990). Tropane derivatives from *Calystegia sepium*. *Phytochemistry*. 29:2125-2128.

Green LM, Reade JL and Ware CF. (1984). Rapid colometric assay for cell viability: Application to the quantitation of cytotoxic and growth inhibitory lymphokines. *Journal of*

- Immunological Methods. 70:257-268.
- Haller H.** (1998). The clinical importance of postprandial glucose. *Diabetes Research and Clinical Practice*. 40:S43-S49.
- Hanefeld M.** (1998). The role of acarbose in the treatment of non-insulin-dependent diabetes mellitus. *Journal of Diabetes and its Complications*. 12:228-237.
- Jayaprakasha GK, Negi PS, Jena BS and Rao LJM.** (2007). Antioxidant and antimutagenic activities of *Cinnamomum zeylanicum* fruit extracts. *Journal of Food Composition and Analysis*. 20:330-336.
- Jenkins DJ, Wolever TM and Jenkins AL.** (1988). Starchy foods and glycemic index. *Diabetes Care*. 11:149-159.
- Kim BN, Park HK, Kwon TB and Maeng YS.** (1991). Analysis of rutin contents in buckwheat noodles. *Journal of Korean Food Science and Nutrition*. 7:61-66.
- Koivisto VA.** (1993). Insulin therapy in type II diabetes. *Diabetes Care*. 16: 29-39.
- Kwoen DJ, Youn SJ, Cho JG, Choi UK and Kang SC.** (2006). Antioxidant activities and biological properties of *Phellinus linteus* extract according to different extraction methods. *Journal of the Korean Society for Applied Biological Chemistry*. 49:91-96.
- Kwon OW, Kim CH, Kim HS, Kwon MC, Ahn JH, Lee HJ, Kang HY and Lee HY.** (2007). Comparison of immuno-modulatory and anticancer activities according to the parts of the *Styrax japonica* Sieb. et Zucc. *Korean Journal of Medicinal Crop Science*. 15:170-176.
- Lebovitz HE.** (1998). Postprandial hyperglycemic state: importance and consequences. *Diabetes Research and Clinical Practice*. 40:S27-S28.
- Lee JH and Lee SR.** (1994). Analysis of phenolic substances content in Korean plants foods. *Korean Journal of Food Science and Technology*. 26:310-316.
- Lee YR, Kang MY, Koh HJ, Chin JH and Nam SH.** (2004). Screening of physiological functionality of germinated giant embryonic rices. *Journal of the Korean Society for Applied Biological Chemistry*. 47:216-221.
- Li gao, Lee CS, Woo MH, Lee SH, Chang HW and Son JK.** (2004). Lignans from the bark of *Machilus thunbergii* and Their DNA topoisomerase I and II inhibition and cytotoxicity. *Biological & Pharmaceutical Bulletin*. 27:1147-1150.
- Li gao, Ju HK, Chang HW, Jahng YD, Lee SH and Son JK.** (2003). Melanin biosynthesis inhibitors from the bark of *Machilus thunbergii*. *Biological & Pharmaceutical Bulletin*. 26:1039-1041.
- Ma CJ, Kim SR, Kim JW and Kim YC.** (2005). Mesodihydroguaiaretic acid and licarin A of *Machilus thunbergii* protect against glutamate-induced toxicity in primary cultures of a rat cortical cells. *British Journal of Pharmacology*. 146:752-759.
- Ma CJ, Kim YC and Sung SH.** (2009). Compounds with neuroprotective activity from the medicinal plant *Machilus thunbergii*. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*. 24:1117-1121.
- Mooradian AD and Thurman JE.** (1999). Drug therapy of postprandial hyperglycemia. *Drugs*. 57:19-29.
- Nishioka T, Kawabata J and Aoyama Y.** (1998). Baicalein, an alpha-glucosidase inhibitor from *Scutellaria baicalensis*. *Journal of Natural Products*. 11:1413-1415.
- Park JC, Kim BW and Young HS.** (1990). Further study on the flavonoids from the leaves of *Machilus thunbergii* in Korea. *Korean Journal Pharmacognosy*. 21:197.
- Park JG, Kramer BS, Steinber SM, Carmichael J, Collins JM, Minna JD and Gazar AF.** (1987). Chemosensitivity testing of human colorectal carcinoma cell lines using a tetrazolium-based colorimetric assay. *Cancer Research*. 47:5875-5897.
- Park YO and Lim HS.** (2009). Antioxidant activities of bamboo (*Sasa Borealis*) leaf extract according to extraction solvent. *Journal of the Korean Society of Food Science and Nutrition*. 38:1640-1648.
- Sato Y, Hotta N, Sakamoto N, Matsuoka S, Ohishi N and Yagi K.** (1979). Lipid peroxide level in plasma of diabetic patients. *Biochemical Medicine*. 21:104-107.
- Steiner G, Haynes F and Yoshino G.** (1984). Hyperinsulinemia and in vivo very-low-density lipoprotein triglyceride kinetics. *American Journal of Physiology*. 246:187-192.
- Young IR and Stout RW.** (1987). Effects of insulin and glucose on the cells of the arterial wall: Interaction of insulin with dibutyryl cyclic AMP and low density lipoprotein in arterial cells. *Diabetes & Metabolism*. 13:301-306.