

마전자 추출물의 항산화 및 Alpha-Glucosidase 저해 활성

이정민¹ · 박재희² · 박해룡¹ · 박은주^{2*}

¹경남대학교 식품생명학과

²경남대학교 식품영양학과

Antioxidant and Alpha-Glucosidase Inhibitory Activity of *Strychnos nux-vomica* Extracts

Jeung-Min Lee¹, Jae-Hee Park², Hae-Ryong Park¹, and Eunju Park^{2*}

¹Dept. of Food Science and Biotechnology and

²Dept. of Food and Nutrition, Kyungnam University, Gyeongnam 631-701, Korea

Abstract

The physiological activities of *Strychnos nux-vomica* extracts were investigated through the total phenolic contents (TPC), 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) radical scavenging activity (RSA), comet assay, and α -glucosidase inhibitory activity. *S. nux-vomica* extracts were prepared with methanol, ethanol, and acetone. The methanol extract showed the highest phenolic content (71 mg/100 g gallic acid equivalents). Pretreatment with *S. nux-vomica* extracts resulted in significant reductions in oxidative DNA damage at all of the concentrations tested (1~50 μ g/mL). The α -glucosidase inhibitory activity of a methanol extract was 12.8% at the concentration of 1 mg/mL. Therefore, these results indicate that *S. nux-vomica* might be a noble potential candidate exhibiting antioxidant and α -glucosidase inhibitory activity.

Key words: *Strychnos nux-vomica*, antioxidant, anti- α -glucosidase, comet assay

서 론

경제가 발전함에 따라 평균수명이 증가하면서 퇴행성 질환과 관련된 문제가 야기되고 있으며(1), 그중 노화는 확실한 치료제가 존재하지 않지만 현대인의 미용과 생명연장에 관한 관심의 증가에 따라 노화의 억제에 대한 관심이 증가하고 있다. 노화와 관련된 원인인 활성산소는 세포 내에서 대사과정 중 생성되며, 이 활성산소로 인하여 세포막이 파괴되기도 하고 DNA가 변성을 일으키기도 하며 단백질 변성을 일으키기도 한다(2). 이러한 활성산소를 제거하기 위해 우리 몸에서는 glutathione S-transferase, glutathione peroxidase, superoxide dismutase 등의 효소가 작용을 하지만 생성되는 활성산소를 전부 제거하기에는 부족하다(3). 그러므로 활성산소는 세포에 산화적 스트레스를 유발하여 암, 신경질환, 심혈관질환, 당뇨병, 노화 등이 발생하게 된다(4-6). 그중에서도 당뇨병은 혈관 내 당의 농도를 체장에서 조절하지 못하여 신장에서의 당의 흡수가 과잉되어 소변으로 당이 배설되는 질환으로써 여타 성인병과 더불어 최근 급격히 증가하고 있으며(7,8), 점점 발병시기가 빨라지고 있다. 특히, 당뇨병은 완벽한 치료제가 없고, 이로 인하여 여러 가지 합병증이

몸 전체에 발병을 하며, 그중 신경질환, 케톤산혈증, 혈관질환이 큰 문제로 야기되고 있다(9-11). 이러한 당뇨병은 식이 조절과 적절한 운동을 병행하면 치료가 가능하지만, 꾸준히 관리하는 것이 힘들기 때문에 치료에 어려움을 겪고 있다(12). 또한, 여러 연구 분야에서 당뇨병을 치료하기 위한 연구를 진행하고 있지만, 당뇨병의 치료는 쇼크나 저혈당 현상과 같은 부작용이 심하게 나타나기 때문에 치료가 오히려 더 위험해질 수 있다는 단점을 가지고 있다(13,14).

당뇨병의 치료제 개발을 위한 여러 기전 중 하나인 α -glucosidase 저해제는 소장에 존재하는 이당류의 소화 효소인 α -glucosidase를 억제하여 이당류가 단당류로 분해되는 것을 막아 소장 융털에서의 흡수를 지연시켜 식후 혈당의 급격한 증가를 막아주어 약화된 췌장에서 분비되는 인슐린 만으로도 혈당 조절을 가능하게 하는 기전을 이용하는 치료제이다(15). 이러한 치료제의 종류로는 acarbose, voglibose, miglitol이 있으며, 그 외에도 천연물 유래의 추출물 등이 보고되어 있다(16-18). 그러나 α -glucosidase 저해제 또한 부작용이 존재하며, 효소의 활성을 저해하여 분해되지 않은 이당류가 대장으로 넘어가 대장에 존재하는 박테리아로 인해 분해되어 가스, 설사, 변비 등 배설에 관련된 질환을 야기할

*Corresponding author. E-mail: pej@kyungnam.ac.kr
Phone: 82-55-249-2218, Fax: 82-505-999-2139

수 있다(19,20). 그리고 효소를 완전히 저해시킬 경우 흡수되는 당의 양이 없어 저혈당 현상이 일어나는 단점이 있으며, 이를 보완하기 위하여 α -glucosidase 저해제와 천연물을 병용 처리하여 부작용을 줄이려는 연구가 진행되고 있다(21,22).

마전자(*Strychnos nux-vomica*)는 마전과에 속하는 상록 교목인 마전나무 과실의 종자로 과육 속에 있는 3~5개의 씨가 한약재로 사용되고 있으며, 냄새는 거의 없고, 맛은 매우 쓰며(22), 인도, 미얀마, 베트남, 태국, 스리랑카, 오스트레일리아의 북부, 중국의 운남 지방 등에서 주로 생산되고 있다(23). Brusine과 strychnine 등의 성분을 함유한 마전자의 생리활성에 관한 보고는 항암 효과, 진통 효과, 항알레르기 효과, 중추신경계 및 소화계통에 대한 작용 등이 있지만(24-27), 항산화 활성과 항당뇨 효과에 관한 보고는 되어 있지 않다.

따라서 본 연구에서는 천연자원으로부터 항산화 활성과 α -glucosidase 저해활성 효과를 가진 천연물을 탐색하기 위한 목적으로 마전자 추출물의 생리활성을 측정하여 그 효능을 밝히고자 하였다.

재료 및 방법

재료 및 시약

본 실험에서 사용한 마전자(*Strychnos nux-vomica*)는 2009년 6월 경남 마산시 (주)금강제약으로부터 제공을 받아 실험에 사용하였다. 항산화 효과를 측정하기 위해 사용한 시약으로 Folin-Ciocalteu's phenol, 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl과 comet assay에 사용된 시약인 hydrogen peroxide, Histopaque 1077, low melting point agaroses, normal melting point agarose Triton X-100, disodium salt ethylenediaminetetraacetic acid, Tris-buffer, sodium chloride, sodium hydroxide, ethidium bromide, potassium chloride, potassium phosphate, sodium hydrogen phosphate, sodium Na_2CO_3 등은 Sigma Chemical Co.(St. Louis, MO, USA)에서 구입을 하였으며, α -glucosidase 저해활성 효과를 확인하기 위해 rat intestinal acetone powder(Sigma Chemical Co.)와 glucose kit(Bio Clinical system, Anyang, Korea)를 사용하였다. 그 외 연구에 사용된 여러 종류의 용매 및 시약은 모두 일등급 이상을 사용하였다.

시료의 추출

마전자 15 g를 100 mL의 methanol, ethanol 및 acetone 용매에 첨가하여 상온에서 3일간 정치시켜 추출한 다음 여과지(Whatman No.1, Advantec, Tokyo, Japan)를 이용하여 여과를 하였다. 여과된 추출물은 회전감압농축기(EYELA, Tokyo, Japan)를 이용하여 40°C에서 감압농축을 하였으며, methanol 추출물은 SNM, ethanol 추출물은 SNE 그리고 acetone 추출물은 SNA라 명명을 하였다. 항산화 활성 및 α -glucosidase 저해활성을 확인하기 위하여 각각의 추출물

은 DMSO와 methanol에 녹여 사용하였다.

총 페놀 함량

총 페놀 함량은 Singleton과 Rossi(31)의 방법을 변형하여 측정하였다. 즉, 마전자 추출물 200 μL 에 1 N Folin-Ciocalteu reagent 200 μL 를 첨가하여 실온에서 3분간 방치 후 10% Na_2CO_3 200 μL 를 첨가하였다. 암실에서 1시간 방치 후, $13,400\times g$ 에서 5분 동안 원심분리 한 뒤 반응액을 흡광도 690 nm 파장에서 측정하였다. 표준검정곡선은 gallic acid를 사용하여 작성하였으며, 총 페놀 함량은 시료 100 g 중의 mg gallic acid equivalents로 나타내었다.

DPPH 라디칼 소거능 측정

마전자 추출물의 DPPH 라디칼 소거활성(radical scavenging activity, RSA)은 Thitilertdecha 등(32)의 방법을 변형하여 측정하였다. 시료 20 μL 에 0.2 mM DPPH 용액 80 μL 를 첨가하여 vortex mixer로 10초 동안 진탕하고 실온에서 10분 방치 후 492 nm에서 흡광도를 측정하였다. 이때 라디칼 소거활성은 시료 첨가구와 무첨가구의 흡광도 차이를 백분율(%)로 구하였다.

DNA 손상 측정(Comet assay)

신선한 전혈 5 mL을 Histopaque 1077을 이용해 백혈구만을 분리해 낸 후 본 실험에 사용하였다. 3종류의 마전자 추출물(SNM, SNE, SNA)을 각각 1, 5, 10, 50 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 의 농도로 백혈구에 처리하고 37°C에서 30분간 반응시킨 후 백혈구에 산화적 손상을 주기 위해 200 μM 의 hydrogen peroxide (H_2O_2)를 4°C에서 5분간 처리한 뒤 PBS로 세척하였다. Negative control은 백혈구에 PBS만을 처리하였으며, positive control은 추출물 대신 PBS를 사용하여 반응시킨 후 200 μM H_2O_2 를 처리하였다. Comet assay를 위해 반응을 끝낸 백혈구를 75 μL 의 0.7% low melting agarose gel(LMA)과 섞은 후, 1.0% normal melting agarose(NMA)가 미리 코팅된 슬라이드 위로 세포현탁액과 LMA의 현탁액이 골고루 분산되게 하고 커버글래스로 덮어 4°C 냉장고에 보관하였다. 젤이 굳으면 커버글래스를 벗기고 그 위에 다시 0.7% LMA 용액 75 μL 로 한 겹 더 덮었다. 미리 준비해 둔 차가운 alkali lysis buffer(2.5 M NaCl, 100 mM Na_2EDTA , 10 mM tris)에 사용 직전에 1% Triton X-100을 섞은 후 슬라이드를 담가 저온, 암실에서 1시간 동안 침지시켜 DNA의 double strand를 풀어주었다. Lysis가 끝난 후, 슬라이드를 전기영동 수조에 배열하고 4°C의 전기영동 buffer(300 mM NaOH, 10 mM Na_2EDTA , pH>13)를 채워 20분 동안 unwinding 시켜 DNA의 alkali labile sites가 드러나게 한 후 25 V/300 \pm 3 mA의 전압을 걸어 20분간 전기영동을 실시하였다. 빛에 의해 DNA가 부가적으로 손상되는 것을 방지하기 위해 위의 과정은 전기영동 수조를 어두운 천으로 덮은 채 실시하였다. 전기영동이 끝난 후 0.4 M Tris buffer(pH 7.4)에 5분씩 담가 세척하는 과정을 3회 반복하여 슬라이드를 건조시켰다. 20 $\mu\text{g}/$

mL 농도의 ethidium bromide로 핵을 염색하여 커버글라스로 덮은 뒤 형광현미경(Leica, Wetzlar, Germany) 상에서 관찰하였다. CCD camera(Nikon, Tokyo, Japan)를 통해 보내진 각각의 세포핵 이미지는 comet image analyzing system(Komet 5.0, Kinetic Imaging, Liverpool, UK)이 설치된 컴퓨터 상에서 분석하였다. 백혈구의 H₂O₂에 의한 DNA 손상 및 각 시료에 의한 손상억제 정도는 핵으로부터 이동해서 꼬리 부분으로 떨어져 나간 꼬리 부분 내 DNA %함량(tail intensity)을 측정하여 나타내었다. 각각의 처리구에서 2개의 슬라이드를 만들어 각각 100개 세포의 DNA 손상 정도를 측정하고 각 처리구는 최소 3회 반복 실험하였다.

α-Glucosidase 저해활성

α-glucosidase 저해활성은 rat intestinal acetone powder (1.86 unit/mg) 5 mg에 0.1 M maleate buffer 1 mL를 첨가하여 충분히 혼합하여 4°C에서 30분간 초음파 분쇄(40 KHZ, SD-250H, Seongdong, Seoul, Korea)를 시켜준 후 다시 11,000 rpm, 4°C, 30분간 원심분리를 시켜 중간층을 α-glucosidase enzyme solution으로 사용하였다. 50 μL enzyme solution과 50 μL extract solution과 100 μL 0.1 M maleate buffer를 첨가하고 충분히 섞어 10분간 37°C에 incubation 시킨 것을 다시 섞어준 후 이당류인 maltose substrate solution을 첨가하여 다시 37°C 30분간 incubation 시켜주었다. 이후 꺼내어 10분 정도 차가운 상태를 유지시켜주고 10 μL에 glucose kit 1 mL을 첨가시켜 37°C, 5분 incubation한 후 흡광도 405 nm에서 측정하여 그 수치를 이용하였다. 효소 처리 시간에 따른 변화를 알아보기 위하여 위의 방법과 동일하게 하되 enzyme solution과 extracts solution을 처리하는 시간을 5, 10, 20, 40분을 처리하여 실험을 실시하였다.

$$\text{효소 저해능(\%)} = \left(\frac{\text{무처리군} - \text{sample 처리군}}{\text{무처리군}} \right) \times 100$$

통계처리

실험을 통하여 얻어진 결과는 SPSS/Windows 14.0(Statistical Package for the Social Sciences, SPSS Inc., Chicago, IL, USA) program을 이용하여 평균±표준편차로 나타내었고, 실험군 간의 평균값의 통계적 유의성은 p<0.05 수준에서 Duncan's multiple range test에 의해 검정하였다.

결과 및 고찰

총 페놀 함량

페놀은 식물계에서 널리 분포되어 있는 식물체 유래의 대사산물 중 하나이다. 이들 물질은 phenolic hydroxyl기를 가지고 있기 때문에 단백질 및 기타 거대 분자들과 결합하려는 성질을 가지고 있으므로 항산화 효과 등의 생리활성 기능도 가진다(28). 본 논문에서는 polyphenol성 물질인 gallic acid를 기준으로 하여 추출물 중의 polyphenol성 물질의 함량을

Table 1. Total phenol contents of *Strychnos nux-vomica* extracts

	Extraction solvent		
	SNM	SNE	SNA
mg/100 g GAE ¹⁾	71.43±0.50 ^{a2)}	24.51±1.03 ^b	11.17±0.34 ^c

All measurements were done triplicate, and values are average of three replication.

¹⁾GAE: gallic acid equivalents.

²⁾Means with the same letter among samples are not significantly different (p<0.05).

알아보고자 하였다. 마전자 추출물(SNM, SNE, SNA)의 총 페놀 함량을 측정된 결과, 표준물질인 gallic acid를 기준으로 SNM, SNE 및 SNA에서의 총 페놀 함량은 각각 71.43, 24.51 및 11.17 mg/100 g이었다. 이상의 결과는 마전자 100 g당 추출물 속에서 함유하고 있는 polyphenol 성분의 양을 나타낸 것으로 SNM에서 페놀 함량이 가장 높은 것을 확인할 수 있었다(Table 1). Xu 등(29)은 토후박 추출물 CH₂Cl₂ 분획의 총 페놀함량은 57.90 mg gal/g, H₂O 분획은 189.92 mg gal/g이라고 보고하여, 마전자 추출물보다 높은 함량을 보였지만 분획을 통해 정제하여 나온 결과이므로 마전자 추출물 또한 분획을 통하여 총 페놀 함량을 측정한다면 더 높은 함량을 기대할 수 있을 것으로 생각된다.

DPPH 라디칼 소거능

항산화 효과 측정하는 실험 중 DPPH는 실제 항산화 효과와 연관성이 있으며 α-tocopherol, ascorbic acid, polyhydroxy 방향족 화합물 등의 항산화체에 의해 환원되어 짙은 자색이 노란색으로 탈색되는 정도를 측정하는 것으로, 항산화 물질의 수소공여능으로 알려져 있다(30). 마전자 추출물 SNM, SNE, SNA에 대한 항산화 효과를 DPPH 실험으로 측정된 결과 Table 2와 같이 SNM에서는 농도 1 mg/mL에서 50.06%를 나타내었고, SNE에서는 53.96%를 나타내었으며, SNA에서는 30.01%로 나타났으며, 이는 positive control로 사용한 vit C의 81.73%보다는 낮은 수준의 항산화 활성을 보였다. 이런 결과는 총 페놀 함량에 포함되어 있는 물질에 의해 SNM에서는 농도에 따라 증가함을 확인하였으나, SNE에서는 페놀 함량에 비해 높은 DPPH 라디칼 소거능이 증가하는 점은 페놀성 화합물 이외의 에탄올 추출물에 함유되어 있는 성분이 DPPH 라디칼을 소거시키는 것으로 생각된다. 이 점은 추후 분리정제를 통하여 단일물질로 분리한 후 작용

Table 2. DPPH radical scavenging activity (RSA) of *Strychnos nux-vomica* extracts

DPPH	Extraction solvent (1 mg/mL)			Vitamin C (1 mg/mL)
	SNM	SNE	SNA	
RSA (%)	50.06±2.15 ^{c1)}	53.96±1.44 ^b	30.01±1.82 ^d	81.73±0.36 ^a

All measurements were done triplicate, and values are average of three replication.

¹⁾Means with the same letter among samples are not significantly different (p<0.05).

하는 화합물의 구조를 확인할 수 있을 것으로 생각된다.

산화적 스트레스에 의한 DNA 손상 보호능

Single-cell gel-electrophoresis(SCGE) assay로 잘 알려진 comet assay는 활성산소에 의한 산화적 스트레스 유발 시 세포내의 DNA 손상 정도를 직접적으로 확인할 수 있는 유용한 지표로 사용되고 있다(33,34).

마전자 추출물 SNM, SNE, SNA의 200 μM H_2O_2 에 의한 DNA 손상 억제 효과는 Fig. 1과 같다. 건강한 성인의 백혈구에 산화적 스트레스를 유도하는 200 μM H_2O_2 처리 시 DNA 손상은 유의적으로 증가한 반면, 마전자 추출물 첨가에 의해 그 손상은 유의적으로 감소되었다. 마전자 추출물에 따른 DNA 손상 억제정도 비교 시 50 $\mu\text{g/mL}$ 에서 메탄올이 48.7%로 가장 높았고, 에탄올 40.0%, 아세톤 35.0% 순서로 총 페놀 함량의 결과와 일치하는 것으로 나타났는데, 이는 Park 등(35)의 결과에서도 가공방법에 따른 마늘의 페놀함량이 높을수록 H_2O_2 유도 DNA 손상 억제 정도가 높아졌음을 확인할 수 있었다.

마전자는 strychnine, brucine과 같은 알칼로이드가 주요 생리활성 성분으로 HeLa cell과 HepG2 cell에서 항암효과와 같은 약리작용을 가지는 것으로 보고되고 있으며(36,37), Vijayakumar 등(38)은 마전자 앞에는 비효소적 항산화성분(ascorbic acid, polyhydroxy, α -tocopherol, GSH, total phenol)과 효소적 항산화성분(superoxide dismutase, catalase, peroxidase)이 풍부하게 함유되어 있음을 보고하였다. 대사과정에서 발생하는 부산물인 활성산소종은 그 양이 과다할 경우 산화-항산화 균형을 파괴시키고 지질, 단백질, DNA, RNA를 공격하여 암, 퇴행성 질환들을 유발하게 되는데(39), 항산화제는 지질과산화물 통한 세포막의 변화, DNA 손상과 돌연변이를 차단하여 이들 질병의 발생을 억제하게 된다. 따라서 산화적 스트레스에 의한 DNA 손상 보호 효과는 마전자에 함유되어 있는 다양한 생리활성 성분들에 의한 것으로 생각되어진다.

α -Glucosidase 저해활성

α -Glucosidase는 소장엔 존재하는 이당류의 소화 효소로서 섭취된 다당류는 α -amylase에 의해 이당류로 분해되고, 분해된 이당류는 α -glucosidase에 의해 단당류로 분해되어 흡수가 된다. 이때 α -glucosidase를 억제하여 이당류가 단당류로 분해되는 것을 막아 소장 용털에서의 흡수를 지연시켜 식후 혈당의 급격한 증가를 저해시켜 준다(15). 마전자 추출물 SNM, SNE, SNA를 이용하여 α -glucosidase 억제 활성을 확인하였으나, SNM에서만 α -glucosidase 저해활성을 확인하여 농도별로 저해활성을 확인한 결과는 Fig. 2A와 같다. 250 $\mu\text{g/mL}$, 500 $\mu\text{g/mL}$, 1000 $\mu\text{g/mL}$ 에서 4.3%, 8.5%, 12.8%로 농도 의존적 활성이 보였으며, SNM 처리 시간을 5 min, 10 min, 20 min, 40 min로 하였을 때 시간 의존적으로 활성이 증가하는 것을 확인할 수 있었다(Fig. 2B). 마전자

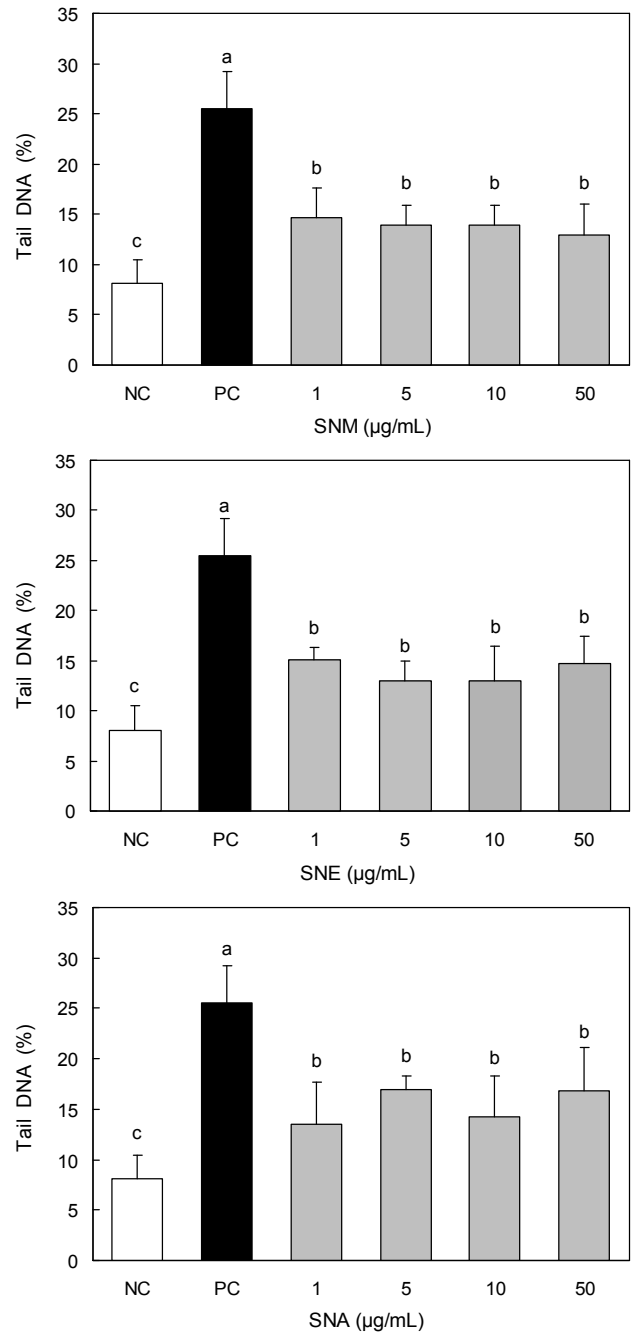


Fig. 1. The effect of *Strychnos nux-vomica* extracts (1, 5, 10, and 50 $\mu\text{g/mL}$) on 200 μM H_2O_2 induced DNA damage in human leukocytes. NC, PBS-treated normal control (without oxidative stimulus); PC, 200 μM H_2O_2 treated positive control. SNM, *Strychnos nux-vomica* methanol extracts; SNE, *Strychnos nux-vomica* ethanol extracts; SNA, *Strychnos nux-vomica* acetone extracts. Values not sharing the same letter are significantly different from one another ($p < 0.05$) by Duncan's multiple range test.

추출물은 페놀 성분을 함유하고 있으며, 항산화 활성(DPPH 라디칼 소거능, comet assay)과 α -glucosidase 저해활성을 보였는데, Xu 등(29)은 토후박 추출물에서 총 페놀 함량과 DPPH 라디칼 소거능이 높을수록 α -glucosidase의 활성이 높다고 보고하였다. 이상의 결과로부터 SNM은 positive con-

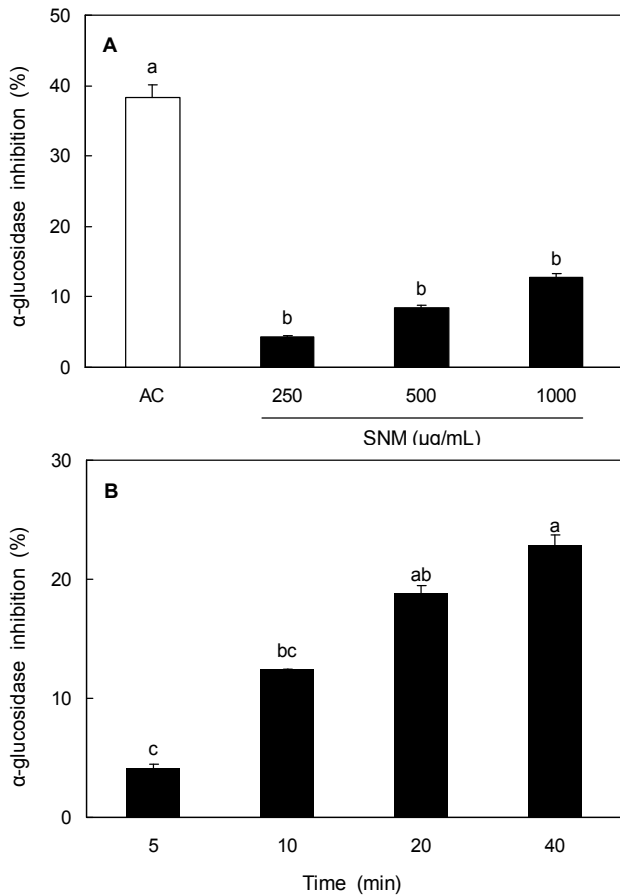


Fig. 2. Anti- α -glucosidase activity of methanolic extracts from *Strychnos nux-vomica* (SNM). A: α -glucosidase inhibitory activity assay of SNM. AC, acarbose (250 μ g/mL) positive control; SNM, *Strychnos nux-vomica* methanol extracts (250, 500, and 1000 μ g/mL) assay. B: The case which will increase a control time (5, 10, 20, and 40 min), confirmed that the activity increases (SNM 1000 μ g/mL). Values not sharing the same letter are significantly different from one another ($p < 0.05$) by Duncan's multiple range test.

ontrol로 시중에 시판되고 있는 제약제품으로 α -glucosidase 억제제인 acarbose와 비교하면 α -glucosidase의 저해활성이 낮은 것으로 보이지만, SNM이 추출물인 점을 감안한다면 충분히 α -glucosidase 저해를 통해 당뇨병 치료제로써의 가능성을 확인시켜 주었다.

요 약

본 연구는 마전자(*Strychnos nux-vomica*) 추출물의 항산화 활성 및 α -glucosidase 저해활성을 측정하였다. 먼저, 마전자를 각각의 용매로 추출하여 페놀 함량을 알아본 결과 100 g당 SNM에서 71.43 mg을 함유하고 있으며, SNE에서는 24.51 mg, SNA에서는 11.17 mg을 함유하고 있었다. DPPH 라디칼 소거능은 SNM, SNE가 1 mg/mL의 농도에서 50% 정도의 활성을 나타내 항산화 효과가 있다는 것을 확인할 수 있었다. 또한 200 μ M H₂O₂에 의한 DNA 손상에 대해

마전자 추출물의 보호 효과를 확인할 수 있었다. SNM의 α -glucosidase 저해활성 측정 시 SNM 1 mg/mL의 농도에서 12.8%의 억제 활성을 나타내었고, SNM 처리시간을 증가시킬 경우 그 활성도가 유의적으로 증가하는 것을 보였다. 이상의 결과로 마전자 추출물의 항산화 활성 및 SNM의 α -glucosidase 억제 활성을 확인할 수 있었다.

감사의 글

이 연구결과물은 2010 학년도 경남대학교 학술연구장려금지원에 의한 것임.

문 헌

- Cowburn R, Hardy J, Roberts P, Briggs R. 1988. Regional distribution of pre- and postsynaptic glutamatergic function in Alzheimer's disease. *Brain Res* 452: 403-407.
- Golbidi S, Laher I. 2010. Antioxidant therapy in human endocrine disorders. *Med Sci Monit* 16: RA9-24.
- Miller E, Mrowicka M, Zolyński K, Kedziora J. 2009. Oxidative stress in multiple sclerosis. *Pol Merkur Lekarski* 27: 499-502.
- Guida G, Culla B, Scirelli T, Bellone G, Sciascia S, Brussino L, Novero D, Palestro G, Heffler E, Gavarotti P, Rolla G, Bucca C. 2009. Exhaled nitric oxide and nitric oxide synthase expression in Hodgkin's disease. *Int J Immunopathol Pharmacol* 22: 1027-1034.
- Hakim FA, Pflueger A. 2010. Role of oxidative stress in diabetic kidney disease. *Med Sci Monit* 16: RA37-48.
- Padurariu M, Ciobica A, Hritcu L, Stoica B, Bild W, Stefanescu C. 2010. Changes of some oxidative stress markers in the serum of patients with mild cognitive impairment and Alzheimer's disease. *Neurosci Lett* 469: 6-10.
- Egede LE, Ellis C. 2010. Diabetes and depression: global perspectives. *Diabetes Res Clin Pract* 87: 302-312.
- Deedwania PC, Fonseca VA. 2005. Diabetes, prediabetes, and cardiovascular risk: shifting the paradigm. *Am J Med* 118: 939-947.
- Glaser N, Yuen N, Anderson SE, Tancredi DJ, O'Donnell ME. 2010. Cerebral metabolic alterations in rats with diabetic ketoacidosis: effects of treatment with insulin and intravenous fluids and effects of bumetanide. *Diabetes* 59: 702-709.
- Shindler DM, Kostis JB, Yusuf S, Quinones MA, Pitt B, Stewart D, Pinkett T, Ghali JK, Wilson AC. 1996. Diabetes mellitus, a predictor of morbidity in the studies of left ventricular dysfunction (SOLVD) trials and registry. *Am J Cardiol* 77: 1017-1020.
- Stancoben A, McGuire DK. 2007. Preventing macrovascular complications in type 2 diabetes mellitus: glucose control and beyond. *Am J Cardiol* 99(11A): 5H-11H.
- Jin HK, Chung HK. 2009. Self-reported goals in aged patients type 2 diabetes mellitus. *Korean Diabetes J* 33: 439-447.
- BS Min, SK Kang. 1984. Side reaction and its management of the oral hypoglycemic agents. *Korean Diabetes J* 8: 1-3.
- Nair S, Wilding JP. 2010. Sodium glucose cotransporter 2 inhibitors as a new treatment for diabetes mellitus. *J Clin Endocrinol Metab* 95: 34-42.
- Adisakwattana S, Chantarasinlapin P, Thammarat H,

- Yibchok-Anun S. 2009. A series of cinnamic acid derivatives and their inhibitory activity on intestinal alpha-glucosidase. *J Enzyme Inhib Med Chem* 24: 1194-1200.
16. Gholamhoseinian A, Fallah H, Sharifi far F. 2009. Inhibitory effect of methanol extract of *Rosa damascena* Mill. flowers on alpha-glucosidase activity and postprandial hyperglycemia in normal and diabetic rats. *Phytomedicine* 16: 935-941.
 17. Kang W, Zhang L, Song Y. 2009. Alpha-glucosidase inhibitors from *Luculia pinciana*. *Zhongguo Zhong Yao Za Zhi* 34: 406-409.
 18. Rosak C, Mertes G. 2009. Effects of acarbose on proinsulin and insulin secretion and their potential significance for the intermediary metabolism and cardiovascular system. *Curr Diabetes Rev* 5: 157-164.
 19. Göke B, Fuder H, Wieckhorst G, Theiss U, Stridde E, Littke T, Kleist P, Arnold R, Lücker PW. 1995. Voglibose (AO-128) is an efficient alpha-glucosidase inhibitor and mobilizes the endogenous GLP-1 reserve. *Digestion* 56: 493-501.
 20. Vannasaeng S, Ploybutr S, Nitiyanant W, Peerapatdit T, Vichayanrat A. 1995. Effects of alpha-glucosidase inhibitor (acarbose) combined with sulfonylurea or sulfonylurea and metformin in treatment of non-insulin-dependent diabetes mellitus. *J Med Assoc Thai* 78: 578-585.
 21. Drent ML, Tollefsen AT, van Heusden FH, Hoenderdos EB, Jonker JJ, van der Veen EA. 2002. Dose-dependent efficacy of miglitol, an alpha-glucosidase inhibitor, in type 2 diabetic patients on diet alone: results of a 24-week double-blind placebo-controlled study. *Diabetes Nutr Metab* 15: 152-159.
 22. Han QB, Li SL, Qiao CF, Song JZ, Cai ZW, Pui-Hay But P, Shaw PC, Xc HX. 2008. A simple method to identify the unprocessed *Strychnos* seeds used in herbal medicinal products. *Planta Med* 74: 458-463.
 23. Frédéricich M, Choi YH, Verpoorte R. 2003. Quantitative analysis of strychnine and Brucine in *Strychnos nux-vomica* using ¹H-NMR. *Planta Med* 69: 1169-1171.
 24. Cai B, Nagasawa T, Kadota S, Hattori M, Namba T, Kuraishi Y. 1996. Processing of nux vomica. VII. Antinociceptive effects of crude alkaloids from the processed and unprocessed seeds of *Strychnos nux-vomica* in mice. *Biol Pharm Bull* 19: 127-131.
 25. Duddukuri GR, Brahman AN, Rao DN. 2008. Suppressive effect of *Strychnos nux-vomica* on induction of ovalbumin-specific IgE antibody response in mice. *Indian J Biochem Biophys* 45: 341-344.
 26. Tripathi YB, Reddy MM, Pandey RS, Subhashini J, Tiwari OP, Singh BK, Reddanna P. 2004. Anti-inflammatory properties of BHUX, a polyherbal formulation to prevent atherosclerosis. *Inflammopharmacology* 12: 131-152.
 27. Yin W, Deng XK, Yin FZ, Zhang XC, Cai BC. 2007. The cytotoxicity induced by brucine from the seed of *Strychnos nux-vomica* proceeds via apoptosis and is mediated by cyclooxygenase 2 and caspase 3 in SMMC 7221 cells. *Food Chem Toxicol* 45: 1700-1708.
 28. Kim HY, Jun BS, Kim SK, Cha JY, Cho YS. 2000. Polyphenolic compound content and antioxidative by extracts from seed sprout and flower of safflower (*Carthamus tinctorius* L.). *J Korean Soc Food Sci Nutr* 29: 1127-1132.
 29. Xu ML, Wang L, Kim HS, Jin CW, Cho DH. 2010. Antioxidant and anti-diabetes activity of extracts from *Machilus thunbergii* S. et Z. *Korean J Medicinal Crop Sci* 18: 34-39.
 30. Cherdshewasart W, Sutjit W. 2008. Correlation of antioxidant activity and major isoflavonoid contents of the phytoestrogen-rich *Pueraria mirifica* and *Pueraria lobata* tubers. *Phytomedicine* 15: 38-43.
 31. Singleton VL, Rossi JA. 1965. Colorimetry of total phenolics with phosphomolibdic-phosphotungstic reagents. *Am J Enol Vitic* 16: 144-158.
 32. Thitilertdech N, Teerawutgulrag A, Rakariyatham N. 2008. Antioxidant and antibacterial activities of *Nephelium lappaceum* L. extracts. *LWT-Food Sci Technol* 41: 2029-2035.
 33. Singh PN, McCoy MT, Tice RR, Schneider EL. 1988. A simple technique for quantitation of low levels of DNA damage in individual cells. *Exp Cell Res* 175: 184-191.
 34. Ostling O, Johanson KJ. 1984. Microgel electrophoretic study of radiation-induced DNA damages in individual mammalian cells. *Biochem Biophys Res Commun* 123: 291-298.
 35. Park JH, Park YK, Park E. 2009. Antioxidative and anti-genotoxic effects of garlic (*Allium sativum* L.) prepared by different processing methods. *Plant Food Hum Nutr* 64: 244-249.
 36. Cai BC, Chen L, Namba T. 1995. Processing of *nux vomica*. IV. A comparison of nine alkaloids from processed seeds of *Strychnos nuxvomica* L. on tumor cell lines. *Natural Medicines* 49: 39-42.
 37. Denga XK, Yinb W, Li WD, Yin FZ, Lu XY, Zhang XC, Huab ZC, Cai BC. 2006. The anti-tumor effects of alkaloids from the seeds of *Strychnos nux-vomica* on HepG2 cells and its possible mechanism. *J Ethnopharma* 106: 179-186.
 38. Vijayakumar R, Zhao CX, Gopal R, Jaleel CA. 2009. Non-enzymatic and enzymatic antioxidant variations in tender and mature leaves of *Strychnos nux-vomica* L. (Family: Loganiaceae). *C R Biol* 332: 52-57.
 39. Wickens AP. 2001. Ageing and the free radical theory. *Respir Physiol* 128: 379-391.

(2010년 6월 3일 접수; 2010년 7월 20일 채택)