

참당귀(*Angelica gigas* Nakai) 꽃 추출물의 생리활성

박유화^{1*} · 임상현¹ · 김희연¹ · 박민희¹ · 이광재¹ · 김경희¹ · 김영국² · 안영섭²

¹강원도 농업기술원 농산물이용시험장

²국립원예특작과학원 인삼특작부

Biological Activities of Extracts from Flowers of *Angelica gigas* Nakai

Yu Hwa Park^{1*}, Sang Hyun Lim¹, Hee Yeon Kim¹, Min Hee Park¹, Kwang-Jae Lee¹,
Kyung Hee Kim¹, Young-Guk Kim², and Young Sup Ahn²

¹Gangwon Provincial Agricultural Research & Extension Services, Gangwon 200-150, Korea

²Dept. of Herbal Crop Research, NIHHS, RDA, Chungbuk 369-873, Korea

Abstract

We investigated the biological activities of extracts from the flowers of *Angelica gigas* Nakai. The IC₅₀ of the DPPH radical scavenging activity was 3,535 and 105.0 µg/mL in the water and ethanol extracts, respectively, whereas it was 12.7 µg/mL for ascorbic acid. The results showed that the total polyphenol content of the ethanol extracts (48.43±0.18 mg/g) was higher than that of the water extracts (39.03±0.69 mg/g). The flavonoid content of the ethanol extracts (67.02±4.38 mg/g) was higher than that of the water extracts (50.32±1.24 mg/g). The ethanol extract showed a 34.45% lower α-glucosidase inhibition activity than that for acarbose. The ethanol extract showed a 23.62% lower α-amylase inhibition activity compared with that for acarbose. The water extract showed 16.76% lower pancreatic lipase inhibition activity. Anti-cancer and anti-inflammatory activity was also lower. These results suggest that the flower of *Angelica gigas* Nakai may be useful as an anti-oxidative agent.

Key words: *Angelica gigas* Nakai, biological activities, anti-oxidative

서 론

2000년대 들어서 세계적으로 천연물 의약품 및 기능성식품에 관한 시장이 확대되었고 이에 따라 천연 소재에 대한 연구가 활발히 진행되고 있다(1). 국내에서도 서구화된 생활, 핵가족화 등 사회적인 변화에 따라 만성 퇴행성 질환이 증가하고 있으며, 이로 인해 다양한 형태의 건강기능성 식품과 의약품들이 개발되고 있다(2,3). 기능성 소재물질에 관한 탐색 연구는 주로 민간요법이나 한방에서 이미 효능이 검증된 소재를 활용하고 있으며, 식이가 가능하고 부작용이 적은 천연물을 이용한 연구가 활발히 이루어지고 있다(4).

참당귀(*Angelica gigas* Nakai)는 미나리과의 *Angelica* 속 식물로, 줄기는 암록색, 키가 1.0~1.5 m, 꽃은 담자색, 개화기는 8~9월이며 우리나라와 중국 그리고 일본에서 한방약재로 사용하기 위해 재배되고 있다(5). 참당귀는 빈혈치료, 진정작용, 항암작용, 진통억제, 상처치료, 당뇨성 고혈압 치료에 효과가 있다고 알려져 있으며, 또한 nodakentin, decursin, decursinol, umbelliferon, β-sitosterol 등 많은 기능성 성분들을 함유하고 있다(6,7).

참당귀에 관한 연구로는 streptozotocin 유도 mouse에서

참당귀 뿌리 50% ethanol 추출물의 당뇨개선 효과에 관한 연구(8), 항산화에 관한 연구(9,10), nitric oxide 저해 효과에 의한 염증 억제 반응에 관한 연구(9), 참당귀 뿌리 methanol 추출물의 암세포 증식 억제 효과(11), 지상부와 지하부 ethyl acetate 추출액의 항균 활성 효과(12), 참당귀 뿌리에 존재하는 pectin질의 다당과 무기물에 의한 면역 증강에 관한 연구(13) 등이 보고되어 있다.

국내에서 참당귀는 경북 봉화, 강원 평창, 삼척, 정선 등지에서 재배되고 있으며 개화기 전의 뿌리가 주로 식용 또는 약용으로 사용되고 있지만(14), 참당귀 잎 부분을 이용한 샐러드, 차류뿐 아니라 동물사료 등으로 활용되고 있다. 또한 참당귀의 뿌리, 줄기, 씨앗은 오일 형태로 가공되어 식품, 의약품, 향료 등의 중간소재로 다양하게 활용되고 있다(15). 그러나 참당귀에 관한 연구는 대부분 뿌리나 줄기의 유효 성분분에 관한 정성·정량 분석 등 이화학적 성분에 국한된 것이며 지상부의 생리활성 연구 및 활용 방안에 관한 연구는 미흡한 실정이다.

따라서 본 연구에서는 참당귀 뿌리 부분을 제외하고 전량 폐기되고 있는 지상부 특히 꽃 부위의 활용방안을 모색하기 위해 꽃을 용매추출(물 추출, 알코올 추출)하여 생리활성을 조사하였다.

*Corresponding author. E-mail: pyh0524@hotmail.com
Phone: 82-33-248-6534, Fax: 82-33-248-6555

재료 및 방법

시료 조제

본 실험에 사용한 참당귀 꽃은 2010년 강원도농업기술원 농산물이용시험장에서 수확하여 동결건조(PVTFD10R, Ilshinbiobase, Yangju, Korea)한 후 사용하였다. 시료 추출 용매는 물과 에탄올을 사용하였다. 물 추출은 분말 시료 20 g에 1차 증류수 200 mL를 첨가하여 60°C에서 6시간 동안 초음파추출기(8510R-DTH, Branson, Danbury, CT, USA)를 이용하여 2회 추출하였다. 추출물은 여과지(No. 2, Whatman, Maidstone, England)가 깔려있는 buchner funnel을 통과시켜 잔재물을 제거한 후 감압 여과하여 rotary vacuum evaporator(N-21NS, EYELA, Tokyo, Japan)로 완전히 농축하였다. 농축이 완료된 후 건조물은 증류수 10 mL를 첨가하여 용해시킨 후, 동결건조 하여 -20°C의 냉동고에 보관하면서 사용하였다. 에탄올 추출은 분말 시료 20 g에 에탄올 200 mL를 첨가하여 상온에서 120 rpm의 진탕기에서 12시간 동안 2회 추출하였다.

일반성분 분석

조추출물의 일반 성분 분석은 AOAC 표준분석법(16)에 준하여 수분은 수분건조기(MA 40, Sartorius, Gottingen, Germany)를 이용하여 처음 시료의 양과 건조된 후의 중량 차이로 수분값을 산출하였고, 조회분은 600°C 회화로에서 직접 회화시켜 중량법으로 정량하였으며, 조단백질은 Kjeldahl법, 조섬유는 Fibertec(FOSS Tecator, FOSS, Hoganas, Sweden)을 이용하여 섬유질만을 남긴 후, 회화를 통해 조섬유 값을 측정하였고, 조지방은 지방 자동추출장치인 Soxtec (2050 SOXTEC, FOSS)을 이용하여 측정하였으며, 무기성분은 습식분해법을 이용하여 측정하였다.

항산화 활성 측정

DPPH radical에 대한 소거활성: DPPH radical에 대한 소거활성, 폴리페놀, 플라보노이드 함량으로 측정했으며, Blois의 방법(17)을 변형하여 측정하였다. 각 농도별로 조제한 시료 0.2 mL에 0.2 mM의 DPPH 용액 0.8 mL를 가하여 혼합한 뒤 상온에서 30분간 반응시킨 후 UV-visible spectrophotometer(DU 730, Beckman Coulter, Fullerton, CA, USA)를 이용하여 517 nm에서 흡광도를 측정하였고, 각 시료를 3회 반복 실시하여 평균하였다. DPPH radical 소거능은 시료 용액의 첨가구와 무첨가구 사이의 흡광도의 차이를 아래와 같이 백분율로 나타내었으며, DPPH radicals scavenging activity의 값이 50%가 되는 시료의 농도를 IC₅₀값으로 구하였다. 대조약제로는 기존의 항산화제인 ascorbic acid(Sigma, St. Louis, MO, USA)를 사용하여 비교하였다.

DPPH radicals scavenging activity (%) =

$$\left(1 - \frac{\text{시료첨가구의 흡광도}}{\text{무첨가구의 흡광도}}\right) \times 100$$

총 폴리페놀 함량의 측정: 총 폴리페놀 함량의 측정은 페놀성 물질인 phosphomolybdic acid와 반응하여 청색을 나타내는 원리를 이용한 Folin Denis 방법을 응용하여 측정하였다(18). 참당귀 꽃 추출물 시료를 0.2 mL를 시험관에 취하고 증류수 1.8 mL를 가하여 2 mL로 만든 후, 0.2 mL의 Folin-Ciocalteu's phenol reagent(Sigma)를 첨가하여 3분간 실온에 방치하였다. 70°C에서 녹인 Na₂CO₃ 포화용액 0.4 mL를 가하여 혼합하고 증류수 1.4 mL를 첨가한 후 실온에서 1시간 경과 후 UV/VIS spectrophotometer로 725 nm에서 흡광도를 측정하고 tannic acid로 표준곡선을 구해 정량하였다.

총 플라보노이드 함량 측정: 참당귀 꽃 추출물 시료 0.1 mL를 취하여 튜브에 넣고, 증류수를 0.4 mL와 5% NaNO₂ 0.03 mL를 첨가하여 잘 혼합한 후 5분간 실온에 방치하였다. 10% AlCl₃ 0.03 mL를 첨가하여 혼합하고 실온에 5분간 방치한 후, 1 M NaOH 용액을 0.2 mL 첨가하였다. 1분간 상온에서 반응시킨 후 증류수를 3.24 mL를 첨가한 후 잘 혼합하여 UV/VIS spectrophotometer로 510 nm에서 흡광도를 측정하였다. 표준물질은 rutin을 이용하여 표준곡선을 구해 정량하였다(19).

암세포 억제 효과 검증

HL3T1, HT-29 cell, DU-145 cell을 한국 세포주 은행으로부터 분양받아 배양하면서 실험에 사용하였다. 배양된 세포는 96 well plate에 1×10⁴ cells/mL가 되도록 100 μL씩 분주하여 37°C CO₂ incubator에서 48시간 배양하였다. 배지를 제거한 후, serum free 배지 90 μL를 넣고 각 농도별로 조제한 시료를 10 μL씩 분주하였으며, 37°C CO₂ incubator에서 24시간 배양하였다. 여기에 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazoliumbromide(MTT) 용액 20 μL를 첨가하여 동일한 조건에서 4시간 더 배양하였다. 이때 생성된 formazan 결정을 DMSO에 녹여서 ELISA reader로 570 nm에서 흡광도를 측정하였다(20).

$$\text{생존율(\%)} = \left(1 - \frac{\text{시료 처리군의 흡광도}}{\text{대조군의 흡광도}}\right) \times 100$$

항당뇨 활성 검증

α-Glucosidase 저해 효과 측정: 각 농도별로 조제한 시료 200 μL, yeast baker 기원의 α-glucosidase(Sigma) 200 μL, 0.2 M potassium phosphate buffer(pH 6.8) 1 mL를 24-well plate에 넣고 405 nm에서 흡광도를 측정하였다(21,22). 실온에서 10분간 배양한 후 5 mM *p*-nitrophenyl α-D-glucopyranoside 200 μL를 가하여 37°C에서 20분간 반응시킨 뒤, 동일한 파장에서 흡광도를 측정하였고, 흡광도의 변화로부터 효소저해활성을 계산하였다. 대조구로는 acarbose를 사용하였으며, 시료와 같은 농도로 제조하여 측정하였다.

α-Amylase 저해 효과 측정: 1%의 agar와 1%의 가용성

전분을 증류수에 녹여 끓인 후, 121°C에서 15분간 멸균하여 약 20 mL씩 petri dish에 부어 준비한 plate에 각 농도별로 조제한 시료 16.8 µL와 porcine pancreas 기원의 α-amylase (Sigma) 13.2 µL(300 U/mL)를 섞어 plate에 놓인 disc paper 위에 각각 분주하였다. 무처리구는 시료 대신 증류수를 넣어 37°C에서 3일간 배양하였으며, I₂/KI(5 mM I₂ in 3% KI) 4 mL를 가하여 15분간 발색시킨 후 면적의 측정은 clear zone의 반지름을 측정하여 π²로 계산하여 다음의 식으로 저해율을 계산하였다(23). 대조구로는 acarbose를 사용하였으며, 시료와 같은 농도로 제조하여 측정하였다.

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

항비만 활성 검정

Pancreatic lipase 저해 효과 측정: Pancreatic lipase의 활성 억제제는 Kim 등(24)의 방법에 따라 0.1 M NaCl이 포함된 0.1 M N-tris-(hydroxymethyl)-methyl-2-amino-ethanesulfonic acid(pH 7.0) 9 mL에 triolein 80 mg, gum arabic 45 mg, taurocholic acid 5 mg을 첨가하고, sonicator(8510R-DTH, Branson)로 5분 동안 처리하여 반응 기질 용액을 완전히 용해시켜 제조하였다. 제조된 기질 용액에 대해 효소용액(pancreatic lipase, 1,500 U/mL) 15 µL, 참당귀 꽃 추출물 5 µL, 기질용액 180 µL을 혼합하여 최종 부피가 200 µL가 되도록 반응용액을 제조한 뒤(pH 7.0), 37°C에서 30분간 반응시켰다. 반응용액 0.2 mL에 ethanol/chloroform/heptane(v/v/v, 2:49:49) 용액 3 mL을 첨가하여 10분 동안 혼합한 후, 10분 동안 원심분리 하여(2,000×g) 물층을 제거하였다. 여기에 copper 반응액(0.1 M triethanolamine HCl 50 mL와 277 mM cupric nitrate hydrate 50 mL를 혼합하여 5 N NaOH로 pH 8.0으로 조정된 뒤, 포화 NaCl 100 mL를 첨가하여 제조) 1 mL를 첨가하여 10분 동안 혼합한 후, 다시 10분 동안 원심분리 하여(2,000×g) 추출된 oleic acid와 copper salt가 포함된 유기 용매층 1 mL를 취하여 0.05%(w/v) bathocuprione 용액 1 mL을 첨가하여 혼합하였다. 그런 다음 최종 반응액에 대해 480 nm에서 흡광도를 측정하여 효소 반응 후 생성된 oleic acid의 양을 측정하였다. 대조구로는 orlistat(Sigma)를 사용하였으며, 시료와 같은 농도로 제조하여 측정하였다.

항염 활성 검정

Nitric oxide(NO) 생성량 측정: NO 소거활성은 한국 세포주 은행에서 분양받은 마우스의 대식세포 세포주인 Raw264.7 세포를 이용하여 측정하였다(25). 세포는 10%의

FBS가 함유된 DMEM media에서 계대 배양하였다. NO 소거활성을 측정하기 위하여 세포를 24 well plate에 각 well당 2×10⁵ cells을 분주한 후, 37°C, 5% CO₂ incubator에서 24시간 배양하였다. 그리고 final 농도를 1 mg/mL로 한 참당귀 꽃 추출물과 1 µg/mL의 lipopolysaccharide(LPS) 20 µL를 세포배양 well에 첨가하여 37°C, 5% CO₂ incubator(311, Thermo electron Co., Marietta, OH, USA)에서 24시간 배양하였다. 시료에 대한 대조구로는 1 µg/mL의 lipopolysaccharide만을 20 µL 처리하여 활성화된 세포를 사용하였다. 배양 후 상층액 100 µL를 회수하고 여기에 2-naphthylamine이 포함된 Griess solution(Fluka Chemie AG, Buchs, Switzerland)을 첨가하여 상온에서 15분간 반응시킨 후 상층액의 발색도를 ELISA reader(ASYS UVM-340, Biochrom Asys, Slazburg, Austria)를 사용하여 517 nm에서 흡광도를 측정하였다. 세포가 생산한 NO는 sodium nitrate를 사용하여 표준곡선을 작성한 후 NO 함량을 정량하였다.

통계처리

실험 결과는 평균값과 표준편차로 나타내었으며, 통계처리는 SPSS(statistical package for social sciences, version 12.0, SPSS Inc., Chicago, IL, USA)를 이용하여 one-way ANOVA 분석을 실시한 후 Duncan's multiple range test로 유의성을 p<0.05 수준에서 검증하였다.

결과 및 고찰

일반성분 분석

참당귀꽃 생체의 일반분석 결과는 Table 1과 같다. 즉 수분이 84.4%, 탄수화물 10.7%(조섬유 2.2%), 조단백질 3.0%, 조회분 1.6%, 조지방 0.2% 순으로 나타났다. 참당귀 꽃 전체의 일반 분석 결과는 탄수화물 63.4%(조섬유 11.9%), 조단백질 19.0%, 조회분 10.0%, 수분 6.8%, 조지방 0.7% 순으로 나타났다.

항산화 활성 검정

참당귀 꽃 부분의 추출 방법별 DPPH radical 소거활성, 총 polyphenol 함량 및 총 flavonoid 함량을 측정하여 나타난 결과는 Table 2와 같다. 즉 자유 라디칼은 산화에 의해 형성된 화학적 물질로서 항산화제는 이러한 자유 라디칼을 소거하는 능력을 가지고 있다. DPPH는 513 nm에서 흡광도를 보이는 보라색의 화합물로 항산화 활성의 측정에 사용된다(26). 실험에 사용된 참당귀꽃 추출물의 항산화 활성은 DPPH free radical을 50% 억제하는데 필요한 시료의 농도

Table 1. Proximate components from flowers of *Angelica gigas* Nakai (Unit: %)

Samples condition	Calories (kcal)	Moisture	Crude ash	Crude protein	Crude fat	Carbohydrate
Fresh	48	84.4±3.60	1.6±0.10	3.0±0.17	0.2±0.02	10.7±3.72 (2.2±0.17) ¹⁾
Dried	288	6.8±0.30	10.0±1.00	19.0±1.00	0.7±0.10	63.4±0.20 (11.9±0.30)

¹⁾Parentheses was expressed as crude fiber content.

Table 2. IC₅₀ of DPPH radical scavenging, total polyphenol and flavonoid contents in extracts from flowers of *Angelica gigas* Nakai

Samples ¹⁾	IC ₅₀ ²⁾ (µg/mL)	Polyphenol (mg/g)	Flavonoid (mg/g)
WEAG	3,535	39.03±0.69 ³⁾	50.32±1.24
EEAG	105.0	48.43±0.18	67.02±4.38
Control	12.7	—	—

¹⁾WEAG: water extract from the flower of *Angelica gigas* Nakai, EEAG: ethanol extract from the flower of *Angelica gigas* Nakai, Control: ascorbic acid.

²⁾IC₅₀: The values indicate 50% decrease of DPPH radical.

³⁾Values are mean±SD (n=3).

(IC₅₀)로 나타내었으며, 천연항산화제로 사용되고 있는 ascorbic acid를 대조구로 사용하였다. 참당귀 꽃의 물과 에탄올 추출물에 대하여 DPPH radical scavenging을 측정된 결과 IC₅₀값이 각각 3,535, 105.0 µg/mL로 나타났으며, 대조구로 쓰인 ascorbic acid는 12.7 µg/mL을 나타냈다. 추출물 모두 대조구에 비하여 낮은 소거능력을 나타내었다. Park 등(10)은 참당귀 뿌리 메탄올 추출물에서 항산화 활성을 측정된 결과 1000 µg/mL에서 50% 정도의 DPPH radical 소거능력을 보인다고 보고하였으며, 이번 실험 결과와 비교하여 참당귀 꽃의 에탄올 추출물이 뿌리 메탄올 추출물보다는 낮은 IC₅₀(105.0 µg/mL)을 나타냄을 알 수 있었다. Kang 등(11)은 참당귀 뿌리 물과 메탄올 추출물의 free radical 소거능력을 측정된 결과 125 µg/mL에서 20~30%의 소거능력을 보였으며, 1000 µg/mL에서는 66~81%의 소거능력이 있음을 보고하였다. 이번 실험 결과 참당귀 꽃 에탄올 추출물은 1000 µg/mL에서 89%의 free radical 소거능력을 보였으며, ascorbic acid와 비교하여 다소 낮은 항산화 활성 효과를 보이지만 활용적인 측면과 정제되지 않은 조추출물임을 감안할 때 항산화 소재로의 가능성이 충분히 있다고 사료된다.

페놀성 화합물은 천연에 널리 분포되어 있는 식물의 2차 대사산물로서 flavonoid, stilbene, lignan, tannin 등의 화합물이 있다. 이는 phenolic hydroxyl(OH)기와 탈수소 반응을 일으켜 수소원자를 공유하여 라디칼이 안정한 형태를 형성하도록 유도하는 역할을 함으로써 항산화 활성 및 각종 생리 활성을 갖는다(27). 참당귀 꽃 부분의 총 폴리페놀 함량은 에탄올 추출물이 48.43±0.18 mg/g(4.84%), 물 추출물이 39.03±0.69 mg/g(3.90%)으로서 에탄올 추출물의 경우가 물 추출물의 경우보다 다소 많았다. Heo 등(5)은 참당귀의 부위별, 용매별 페놀성 화합물 함량을 측정된 결과 물 추출의 경우, 잎/줄기에서 9.22%, 뿌리 부위에서 2.78% 측정되었고, 에탄올 추출의 경우, 잎/줄기에서 14.99%, 뿌리 부위에서 14.40%의 함량을 보인다고 보고하였다. 본 실험에서 참당귀 꽃 에탄올 추출물 중의 폴리페놀 함량은 기존에 Heo 등(5)이 보고한 잎/줄기, 뿌리의 폴리페놀 함량보다는 함유량이 적었다. 또한 물 추출물에서는 꽃 부위가 잎/줄기보다는 함유량이 낮았으나 뿌리보다는 함유량이 다소 높음을 알 수 있었

다. 용매별 폴리페놀 함유량에서는 기존 보고와 동일하게 물 추출물보다는 에탄올 추출물에서 높음을 알 수 있었다.

총 플라보노이드 함량은 물 추출물에서 50.32±1.24 mg/g(5.03%), 에탄올 추출물에서 67.02±4.38 mg/g(6.70%)으로 측정되어 에탄올 추출물에서 많이 검출됨을 알 수 있었다. Heo 등(5)은 참당귀의 플라보노이드 함량을 측정된 결과 물 추출물의 경우, 잎/줄기부위에서 4.50%, 뿌리부위에서 1.03%이었고, 에탄올 추출물의 경우, 잎/줄기부위에서 14.79%, 뿌리부위에서 3.30%으로 보고하였다. 본 실험에서는 참당귀의 꽃 부분의 플라보노이드 함량이 기존에 보고된 참당귀의 잎/줄기 에탄올 추출물(14.79%)보다는 함유량이 낮았으나, 나머지 다른 부분보다는 플라보노이드 함량이 더 높음을 알 수 있었다. 따라서 DPPH radical 소거능이 우수하고, 폴리페놀과 총 플라보노이드 함량이 기존과 비슷하거나 다소 높았던 참당귀 꽃 에탄올 추출물은 항산화 활성이 높을 것으로 기대되며, 또한 항산화 소재로 활용되기 위해서는 꽃 추출물로부터 활성물질을 분리 및 구조 동정에 관한 추가적인 연구를 통해 참당귀 꽃의 다양한 활용 방안을 모색해야 할 것이다.

암세포 억제 효과 검증

참당귀 꽃 추출물을 HL3T1, HT-29 cell, DU-145 cell에 처리하여 암세포 억제 효과를 측정하였다(Table 3). 실험 결과 참당귀 꽃 물 추출물의 경우 일반 신장세포주인 293 cell에 대해서 8.25%의 다소 낮은 세포 독성을 나타내었고, 에탄올 추출물의 경우에는 42.51%의 높은 세포 독성을 나타내었다. 세포 독성이 낮았던 물 추출물의 경우에는 각각의 암세포에 대해서 세포 억제 효과가 없거나 낮은 수준이었다. 반면 에탄올 추출물의 경우에는 세포 독성을 제외하고 20~30% 정도의 암세포 억제 효과를 보였다. Park 등(10)은 전립선 암세포인 DU-145 cell에 대하여 참당귀 뿌리 메탄올 추출물을 40 µg/mL로 처리한 경우 26.8% 세포 억제 효과를 보인다고 보고하였으며, Yim 등(28)은 DU-145 cell에 대하여 당귀로부터 분리한 decursin(32.8 µg/mL)이 33%의 세포 사멸 효과를 보인다고 보고하였다. 이번 실험 결과 참당귀 꽃 에탄올 추출물의 경우 기존 문헌보다는 높은 농도인 1000 µg/mL에서 HL3T1, DU-145 cell에 대해 20~30% 정도의 낮은 암세포 억제 효과를 보였다. 참당귀 꽃 추출물의 경우 암세포

Table 3. Growth inhibitory abilities from flowers of *Angelica gigas* Nakai on 293, HL3T1, DU-145 and HT-29 cells

Sample ¹⁾	Cytotoxicity (%)			
	HL3T1	DU-145	HT-29	293
WEAG	6.71±3.90 ²⁾	NI ³⁾	10.78±5.54	8.25±6.20
EEAG	66.71±7.50	69.43±1.16	42.42±4.62	42.51±1.37

¹⁾WEAG: water extract from the flower of *Angelica gigas* Nakai, EEAG: ethanol extract from the flower of *Angelica gigas* Nakai. Treatment concentration of samples: 1 mg/mL

²⁾Values are mean±SD (n=3).

³⁾NI: not inhibited.

억제 효과는 전체적으로 낮았으며, 에탄올 추출물에서는 일부 독성도 있었다. 종합적으로 보았을 때 참당귀 꽃 추출물은 항암 관련 소재로의 활용성은 낮은 것으로 사료된다.

항당뇨 활성 검정

α -Glucosidase는 소장에 존재하는 소화효소로서 이들은 이당류나 다당류가 탄수화물이 소화 흡수되기 위한 상태인 단당류로 가수분해하는 역할을 하며, 정상인의 경우 소장 내에 maltase나 sucrase 같은 α -glucosidase들을 적절히 억제함으로써 식후에 급격한 혈당상승을 억제하는 것으로 알려져 있다(29). 참당귀 꽃의 물, 에탄올 추출물로부터 당 분해를 억제할 수 있는 가능성을 찾기 위한 항당뇨 효과의 지표로 α -glucosidase 활성 저해 효과를 측정한 결과 Table 4와 같이 나타났다. 실험 결과 참당귀 꽃 물 추출물에서는 활성 저해 효과가 나타나지 않았으며, 에탄올 추출물에서는 acarbose 대비 약 34.45%의 낮은 활성 저해 효과를 나타내었다. Chang 등(30)은 당귀 열수 추출물에 대하여 α -glucosidase 억제능은 28.90%로써 당뇨 상태의 개선 혹은 예방을 기대하기는 낮은 편이라고 보고하였으며, 이번 참당귀 꽃 추출물 역시 α -glucosidase 억제능은 26.29%로 이와 유사한 결과를 보여 α -glucosidase 저해를 통한 항당뇨 개선에는 효과적으로 작용하지 않을 것으로 판단된다.

α -Amylase는 탄수화물의 소화에 관여하는 중요한 효소로써 α -amylase inhibitor는 탄수화물의 소화속도를 조절하여 식후 혈당 상승을 억제한다(31). 참당귀 꽃 추출물로부터 α -amylase 활성 저해 효과를 측정한 결과는 Table 4와 같다. Acarbose가 10 mg/mL의 농도에서 81.10%의 활성 저해 효과를 보였으며, 참당귀 꽃 물 추출물은 활성이 나타나지 않았고 에탄올 추출물은 acarbose 대비 23.62%의 낮은 활성 저해 효과를 나타내었다. 참당귀 꽃 추출물은 혈당 강하 효과가 낮았으며, 탄수화물의 흡수 조절에 의한 항당뇨의 소재로는 활용 가능성이 낮은 것으로 판단된다.

항비만 활성 검정

췌장 지방 분해 효소인 pancreatic lipase에 대한 저해 활

Table 4. α -Amylase, α -glucosidase and pancreatic lipase inhibitory activity from flowers of *Angelica gigas* Nakai

Sample ¹⁾	Inhibitory activity (%)		
	α -Amylase	α -Glucosidase	Pancreatic lipase
WEAG	NI ²⁾	NI	16.76 \pm 2.67 ³⁾
EEAG	18.92 \pm 4.97	26.29 \pm 1.00	NI
Acarbose ⁴⁾	80.10 \pm 3.06	76.31 \pm 3.85	—
Orlistat ⁵⁾	—	—	79.01 \pm 2.62

¹⁾WEAG: water extract from the flower of *Angelica gigas* Nakai, EEAG: ethanol extract from the flower of *Angelica gigas* Nakai. Treatment concentration of samples: 10 mg/mL.

²⁾NI: not inhibited.

³⁾Values are mean \pm SD (n=3).

⁴⁾Acarbose concentration: 10 mg/mL.

⁵⁾Orlistat concentration: 1 μ g/mL.

성을 측정하였다(Table 4). 대조구인 orlistat는 1 μ g/mL에서 79.01%의 저해 활성을 나타내었으며, 참당귀 꽃 물 추출물은 orlistat 대비 21.21% 낮은 저해 활성을 나타내었고 참당귀 꽃 에탄올 추출물은 활성이 나타나지 않았다. Oh 등(32)은 Sprague-Dawley 수컷쥐에 Ain-76+5% 당귀(뿌리) 첨가 식이를 투여하였을 때 혈중 LDL-콜레스테롤 농도를 유의적으로 낮추었고, 혈중 및 간조직 중의 지질 농도도 완화시켜 주는 효과를 나타내었다고 보고하였다(32). 하지만 이번 참당귀 꽃 추출물의 pancreatic lipase 저해 효과 측정을 통한 항비만 활성 검정 실험에서는 참당귀 꽃이 비만을 예방하거나 치료하기 위한 소재로는 활용성이 낮은 것으로 판단되었다.

Nitric oxide(NO) 생성량 측정

NO, prostaglandin(PGE₂), tumor necrosis factor- α (TNF- α), interleukin(IL)-1, IL-6 등 여러 염증성 매개체들은 조직 손상의 복구와 보호의 역할도 하지만, 과량 생산되면 정상조직에도 과도한 면역반응과 염증반응을 일으키게 된다(33). 참당귀 꽃 추출물의 NO 생성량 측정을 통해 항염증 효과를 확인한 결과(Fig. 1), 물 추출물과 에탄올 추출물 모두 낮은 NO 생성 억제 효과를 보였으며, 염증유발물질인 LPS 단독 처리군과 비교하여 비슷한 NO 생성 억제 효과를 보였다. LPS 단독 처리군의 NO 생성량은 22.9 μ M이었고, LPS와 함께 처리한 참당귀 꽃 물 추출물은 21.7 μ M이었다. 또한 참당귀 꽃 에탄올 추출물은 LPS 단독 처리군의 NO 생성량은 22.7 μ M이었고, LPS와 함께 처리한 참당귀 꽃 물 추출물은 19.1 μ M이었다. 두 추출물 모두 LPS 대조구 대비 통계적으로 유의적인 차이점은 없었다. Lee(9)는 참당귀 뿌리 물 추출물에서 LPS 단독 처리 시 NO 농도가 증가하였고, 농도별로 RAW 264.7에서 LPS와 추출물을 같이 처리하였을 경우 NO 생성량이 감소한다고 보고하였다. Ma 등(34)은 참당

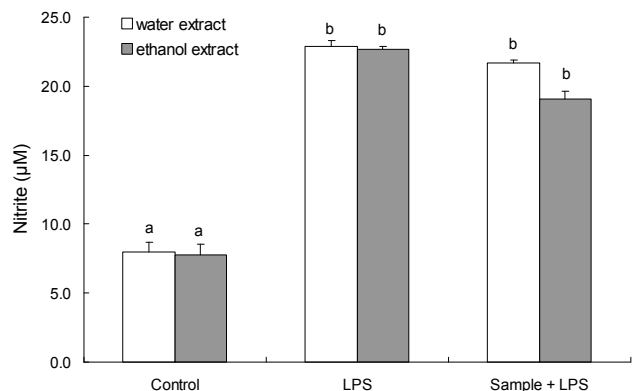


Fig. 1. Inhibitory effects of extracts from flowers of *Angelica gigas* Nakai on the production of nitric oxide in RAW 264.7 cell. Each value is expressed as mean \pm SE (n=3) of triplicate determinations. Means with different letters are significantly different (p<0.05) by Duncan's multiple range test. Sample concentration: 10 mg/mL. Control: water, ethanol, LPS: lipopolysaccharide, Sample+LPS: water, ethanol extract+lipopolysaccharide.

귀 뿌리로부터 분리된 coumarin계 화합물 중 decursin, decursinol, 7-demethylsuberosine이 농도 의존적으로 NO 생성을 억제한다고 보고하였으며, 염증 관련 인자인 iNOS, IL-1 β , COX-2 유전자 발현을 억제하여 항염 소재로 활용가능성이 높음을 보고하였다. 반면 Park 등(10)은 RAW 264.7 세포에서 NO₂⁻(nitrite) 함량이 증가하지 않아 대조군과 차이가 없었으며, 참당귀 뿌리 methanol 추출물은 면역 활성화의 관련성이 적을 것이라고 보고하였다. 이번 실험에서 참당귀 꽃 추출물 역시 효과적으로 NO 생성 억제를 하지 못하였고, 항염증 관련 효과는 미비한 것으로 나타났다. 뿌리에서는 항염증 효과가 크고 꽃 부위에는 효과가 나타나지 않은 것은 Ma 등(34)이 보고한 항염증 관련 성분들이 꽃에는 미량 존재하거나 존재하지 않기 때문인 것으로 사료된다.

요 약

본 연구에서는 참당귀(*Angelica gigas* Nakai) 꽃 부위를 이용하여 항산화 활성, 암세포 억제 효과, 항당뇨 활성, 항비만 활성, 항염 활성 효과를 평가하였다. 항산화 활성 검정을 위해 참당귀 꽃의 물과 에탄올 추출물에 대하여 DPPH radical scavenging을 측정된 결과 IC₅₀ 값이 각각 3,535, 105.0 μ g/mL로 나타났으며, 대조구로 쓰인 ascorbic acid는 12.7 μ g/mL을 나타냈다. 총 폴리페놀 함량은 에탄올 추출물(48.43 \pm 0.18 mg/g)이 물 추출물(39.03 \pm 0.69 mg/g)보다 높았고, 총 플라보노이드 함량도 에탄올 추출물(67.02 \pm 4.38 mg/g)이 물 추출물(50.32 \pm 1.24 mg/g)보다 높음을 알 수 있었다. 항당뇨 활성을 위해 α -glucosidase와 α -amylase 저해 활성을 측정된 결과, 참당귀 꽃 에탄올 추출물에서는 acarbose 대비 약 34.45%의 낮은 활성 저해 효과를 나타내었고, α -amylase 활성 저해 효과는 에탄올 추출물이 acarbose 대비 23.62%의 낮은 활성 저해 효과를 나타내었다. Pancreatic lipase에 대한 저해 활성을 측정된 결과 참당귀 꽃 물 추출물은 16.76%의 낮은 저해 활성을 나타내었다. 항암 및 항염 활성 측정 결과 모두 활성이 없거나 낮은 수준이었다. 이러한 결과 참당귀 꽃 추출물은 항산화 관련 기능성 소재로의 활용가능성이 높음을 알 수 있었다.

감사의 글

이 논문은 농촌진흥청에서 시행한 지역 특산 약용작물 명품화 기술 개발 어젠다과제(과제번호: RIMS 2009010FT 072045283)의 지원으로 이루어졌으며 이에 감사드립니다.

문 헌

1. Son CY, Back IH, Song GY, Kang JS, Kwon KI. 2009. Pharmacological effect of decursin and decursinol angelate

- from *Angelica gigas* Nakai. *Yakhak Hoeji* 53: 303-313.
2. Choi HJ, Kang JS, Choi YW, Jeong YK, Joo WH. 2008. Inhibitory activity on the diabetes related enzymes of *Tetragonia tetragonioides*. *KSBB J* 23: 419-424.
3. Kwon SH, Yang HS, Kim JY, Park KW, Shon MY, Kang KS, Shim KH, Seo KI. 2009. Biological activities of ethanol extract from *Corni fructus*. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 38: 287-291.
4. Oh HS, Kim JH. 2006. Development of functional soy-based stew sauce including hot water extract of *Comus officinalis* S. et Z. *Korean J Food Culture* 21: 550-558.
5. Heo JS, Cha JY, Kim HW, Ahn HY, Eom KE, Heo SJ, Cho YS. 2010. Bioactive materials and biological activity in the extracts of leaf, stem mixture and root from *Angelica gigas* Nakai. *J Life Sci* 20: 750-759.
6. Kim KM, Jung JY, Hwang SW, Kim MJ, Kang JS. 2009. Isolation and purification of decursin and decursinol angelate in *Angelica gigas* Nakai. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 38: 653-656.
7. Ahn KS, Sim WS, Kim IH. 1995. Decursina cytotoxic agent and protein kinase c activator from the root of *Angelica gigas*. *Planta Med* 62: 7-9.
8. Park MJ, Kang SJ, Kim AJ. 2009. Hypoglycemic effect of *Angelica gigas* Nakai extract in streptozotocin-induced diabetic rats. *Korean J Food Nutr* 22: 246-251.
9. Lee SG. 2008. Comparison of activity of *Angelica gigas* and *Angelica acutiloba* from Kangwon. *Korean J Ori Med Physiol Pathol* 22: 1158-1162.
10. Park KW, Choi SR, Hong HR, Kim JY, Shon MY, Seo KI. 2007. Biological activities of methanol extract of *Angelica gigas* Nakai. *Korean J Food Preserv* 14: 655-661.
11. Kang SA, Han JA, Jang KH, Chone R. 2004. DPPH radical scavenger activity and antioxidant effects of Cham-Dang-Gui (*Angelica gigas*). *J Korean Soc Food Sci Nutr* 33: 1112-1118.
12. Yun KW, Choi SK. 2004. Antimicrobial activity in 2 *Angelica* species extracts. *Korean J Plant Res* 17: 278-282.
13. Ahn KS, Sim WS, Kim HM, Han SB, Kim IH. 1996. Immunostimulating components from the root of *Angelica gigas* Nakai. *Kor J Pharmacogn* 27: 254-261.
14. Choi MG, Bang JK, Chae YA. 2003. Comparison of volatile compounds in plant parts of *Angelica gigas* Nakai and *A. acutiloba* Kitagawa. *Korean J Medicinal Crop Sci* 11: 352-357.
15. Kawg JJ, Lee JG, Chang HH, Kim OC. 1998. Volatile flavor compounds of the domestic angelica root (*Angelica gigas* Nakai) extracts. *J Korean Soc Tobacco Sci* 20: 210-217.
16. AOAC. 1990. *Official methods of analysis*. 15th ed. Association of Official Analytical Chemists, Washington, DC, USA. p 8-35.
17. Blois MS. 1958. Antioxidant determination by the use of a stable free radical. *Nature* 181: 1198-1201.
18. Gutfinger T. 1981. Polyphenols in olive oils. *J Am Oil Chem Soc* 58: 996-968.
19. Jia Z, Tang M, Wu J. 1999. The determination of flavonoid content in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. *Food Chem* 64: 555-559.
20. Wang Z, Cai SR, He YL, Zhan WH, Chen CQ, Cui J, Wu WH, Wu H, Song W, Zhang CH, Peng JJ, Huang XH. 2009. High expression of PRL-3 can promote growth of gastric cancer and exhibits a poor prognostic impact on patients. *Ann Surg Oncol* 16: 208-219.
21. Bai G, Wang D, Cao X, Xiao H, Geng P, Liu Q, Yang W. 2004. Screening α -glucosidase inhibitors in traditional Chinese medicines. *Acta Scientiarum Naturalium Universita-*

- tis Nankaiensis* 37: 98-102.
22. Watanabe J, Kawabata J, Kurihara H. 1997. Isolation and identification of α -glucosidase inhibitors from Tochu-cha. *Biosci Biotechnol Biochem* 61: 177-178.
 23. Houghton PJ, Soumyanath A. 2006. α -Amylase inhibitory activity of some Malaysian plants used to treat diabetes with particular reference to *Phyllanthus amarus*. *J Ethnopharmacol* 107: 449-455.
 24. Kim YJ, Kim BH, Lee SY, Kim MS, Park CS, Rhee MS, Lee KH, Kim DS. 2006. Screening of medicinal plants for development of functional food ingredients with anti-obesity. *J Korean Soc Appl Biol Chem* 49: 221-226.
 25. Park YH, Lim SH, Ham HJ, Kim HY, Jeong HN, Kim KH, Kim S. 2010. Isolation of anti-inflammatory active substance β -sitosterol from seabuckthorn (*Hippophae rhamnoides* L.) stem. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 39: 980-985.
 26. Oh WG, Jang IC, Jeon GI, Park RK, Park HR, Lee SC. 2008. Antioxidative activity of extracts from *Wisteria floribunda* flowers. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 37: 677-683.
 27. Shahidi F, Wanasundara PK. 1992. Phenolic antioxidant. *Crit Rev Food Sci Nutr* 32: 67-103.
 28. Yim D, Singh RP, Agarwal C, Lee S, Chi H, Agarwal R. 2005. A novel anticancer agent, decursin, induces G₁ arrest and apoptosis in human prostate carcinoma cells. *Cancer Res* 65: 1035-1044.
 29. Kim MJ, Kwon YS, Yu CY. 2005. Anti-oxidative compounds in extracts of *Eleutherococcus senticosus* Max. plantlets. *Korean J Medicinal Crop Sci* 13: 194-198.
 30. Chang SK, Kim JH, Oh HS. 2008. The development of functional cold buckwheat noodles using biological activities of hot water extracts of *Ligularia fischeri* and *Angelica gigas* Nakai. *Korean J Food Culture* 23: 479-488.
 31. Lee JM, Park JH, Park HR, Park E. 2010. Antioxidant and alpha-glucosidase inhibitory activity of *Strychnos nuxvomica* extracts. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 39: 1243-1248.
 32. Oh SH, Cha YS, Choi DS. 1999. Effects of *Angelica gigas* Nakai diet on lipid metabolism, alcohol metabolism and liver function of rat administered with chronic ethanol. *J Korean Soc Agric Chem Biotechnol* 42: 29-33.
 33. Fenton MJ, Golenbock DT. 1998. LPS-binding proteins and receptors. *J Leuko Biol* 64: 25-32.
 34. Ma Y, Jung JY, Jung YJ, Choi JH, Jeong WS, Song YS, Kang JS, Bi K, Kim MJ. 2009. Anti-inflammatory activities of coumarins isolated from *Angelica gigas* Nakai on LPS-stimulated RAW 264.7 cells. *J Food Sci Nutr* 14: 179-187.

(2011년 5월 25일 접수; 2011년 6월 30일 채택)