

## 비타민나무 잎으로부터 항산화활성 관련 Flavonol Glycoside 분리

이지원\*<sup>#</sup> · 박주희\*<sup>#</sup> · 김주성\*\*\* · 최은영\* · 한상노\* · 성은수\*\* · 유창연\*\*\*\*\* · 권용수\*\*\*\* · 김명조\*\*\*\*\*†

\*삼성생약(주)부설 바이오생명공학연구소, \*\*강원대학교 농업생명과학대학 식물자원응용공학과,  
\*\*\*제주대학교 생명자원과학대학 생물산업학부, \*\*\*\*강원대학교 약학대학 약학과, \*\*\*\*\*강원대학교 한방Bio연구소

### Isolation of Flavonol Glycoside Related to Antioxidant Activity from *Hippophae rhamnoides* Leaves

Ji Won Lee\*<sup>#</sup>, Ju Hee Park\*<sup>#</sup>, Ju Sung Kim\*\*\*, Eun Young Choi\*, Sang No Han\*, Eun Soo Seong\*\*, Chang Yoen Yu\*\*\*\*\*, Yong Soo Kwon\*\*\*\* and Myong Jo Kim\*\*\*\*\*†

\*Institute of Samsung Herb Medicine Co., Ltd. Chuncheon 200-701, Korea.

\*\*Department of Applied Plant Sciences, Kangwon National University, Chuncheon 200-701, Korea.

\*\*\*College of Applied Life Science, Jeju National University, Jeju 690-756, Korea.

\*\*\*\*Department of Pharmacy, Kangwon National University, Chuncheon 200-701, Korea.

\*\*\*\*\*Oriental Bio-herb Research Institute, Kangwon National University, Chuncheon 200-701, Korea

**ABSTRACT :** The leaves of *Hippophae rhamnoides* were extracted with methanol and then further fractioned with hexane, ethyl acetate, butanol and water in order to investigate biological activity. Two flavonol glycosides were isolated and identified from ethyl acetate soluble fraction, which showed the strongest antioxidant activity ( $RC_{50} = 4.33 \mu\text{g}/\text{mL}$ ). Isolated two compounds have shown strong free radical scavenging activity. Especially, quercetin 3-O-glucoside ( $RC_{50} = 2.60 \mu\text{g}/\text{mL}$ ) was more active than  $\alpha$ -tocopherol ( $RC_{50} = 4.67 \mu\text{g}/\text{mL}$ ). Total phenol and flavonoid contents were the highest to 4.17 and 1.14 mg/mL in the ethyl acetate soluble fraction. In addition, ethyl acetate soluble fraction was shown to the strongest  $\alpha$ -glucosidase inhibitory activity ( $IC_{50} = 137.88 \mu\text{g}/\text{mL}$ ) among the fractions. The results suggest that leaves of *H. rhamnoides* could be a potential source of natural antioxidant.

**Key Words :** *Hippophae rhamnoides*, Flavonol Glycoside, DPPH Free Radical Activity,  $\alpha$ -Glucosidase Inhibitory Activity.

## 서 언

Flavonoid는 항산화 특성을 가진 대표적인 polyphenol 화합물로서 식물의 색과 풍미에 관여하며 병원체와 곤충들의 공격에 대한 방어 기능 및 항암, 항바이러스, 항염, 항알러지 등의 활성을 나타낸다 (Deshner *et al.*, 1991; Hwang, 2009; Lee *et al.*, 2006). Flavonoid는 화학구조에 따라서 flavonol, flavone, flavanone, anthocyanidin, catechin, bioflavan 등으로 나뉘며, 이 중 flavonol은 특이적인 골격 diphenylpropane ( $C_6-C_3-C_6$ )의  $C_3$  수소가 hydroxyl group로 치환된 형태로 자연계에서 유리상태 (free state)로 존재하기도 하나 대개의 경우 O- 나 C-glycoside의 형태로 존재한다 (Chen and Zuo, 2007). Flavonol glycoside계 화합물은 현재 100여종이 밝혀졌으며 aglycone의 종류에 따라 quercetin, isorhamnetin 및

kaempferol 등의 glycoside로 분류할 수 있는데, 항산화 활성이 있다고 알려진 이들 배당체의 경우 hydroxyl group의 수나 위치가 활성에 중요한 영향을 미치는 것으로 보고되었다 (Shim *et al.*, 2005).

비타민나무(*Hippophae rhamnoides*)는 보리수과에 속하는 관목으로서 ‘산자나무’, ‘갈매보리수나무’, ‘보리수아재비’ 등으로 불려지기도 하며 vitamin, flavonoid, amino acid, 미량원소 등 100여 종 이상의 풍부한 유효성분을 포함하고 있다. 최근 열매, 잎, 수피 등의 뛰어난 영양학적 가치와 생리활성을 활용한 기능성 제품개발에 많은 관심이 집중되면서 전세계적으로 재배 면적이 점차 확대되어 가고 있다. 중국과 러시아 및 일부 유럽국가에서는 열매와 오일을 이용하여 액상형, 환약, 연고 등 여러 형태의 의약품과 화장품이 개발하여 사용하고 있으며 잼, 주스 등 열매를 활용한 다양한 제품이 출시되고 있

†Corresponding author: (Phone) +82-33-250-6413 (E-mail) kimmjo@kangwon.ac.kr

<sup>#</sup>Ji Won Lee and Ju Hee Park are contributed equally to this work.

Received 2011 July 27 / 1st Revised 2011 August 13 / Accepted 2011 August 16

다. 비타민 나무의 열매는 polyphenol, tocopherol, carotenoid 등 항산화 물질이 풍부하여 (Kim *et al.*, 2009), 뛰어난 항산화 효과를 나타내는 것으로 보고되었다. 열매로부터 추출된 오일은 피부질환, 호흡기질환, 소화기계통 질환, 상처, 화상, 염증 치료에 효과가 뛰어난 것으로 알려져 있다 (Ge *et al.*, 1985; Xing *et al.*, 2002; Xu *et al.*, 1994; Yang *et al.*, 2000). 비타민나무의 잎은 항산화, 항미생물, 항바이러스, 항종양 활성 등이 보고되어 있고 (Geetha *et al.*, 2002; Tsybikava *et al.*, 1983), 관절염 유도 처리된 rat model에서 우수한 항염증 활성을 나타내 관절염 치료제로의 개발 가능성이 제시되었다 (Ganju *et al.*, 2005). 이처럼 비타민나무를 이용한 연구가 활발히 진행 중에 있고 다양한 제품이 개발되고 있지만 대부분은 열매와 오일에 한정되어 있으며, 잎에 대한 이화학적 성분이나 유효성분의 자료는 부족한 실정이다.

이에 본 연구는 비타민나무 잎 추출물의 생리활성을 검증하여 항산화 활성이 있다고 알려진 flavonol glycoside를 분리함으로써 비타민나무 잎의 항산화제로서의 활용에 기초 자료를 제공하고자 한다.

## 재료 및 방법

### 1. 실험재료

본 연구에 사용한 비타민나무 잎은 실온 음지에서 7일 동안 건조한 후 세절하였다. 이를 100% methanol에 침지하여 실온에서 3일간 추출한 후 감압 농축하여 조추출물을 얻었다. 이후 조추출물을 증류수에 현탁시켜 hexane, ethyl acetate, 수포화 butanol을 이용하여 순차적으로 용매 분획하였다.

### 2. 총 페놀 및 플라보노이드 함량

Total phenol 함량은 Folin-Ciocalteu 시약을 이용하여 측정하였다 (Sato *et al.*, 1996). 시료 100  $\mu$ l에 Folin-Ciocalteu 시약 50  $\mu$ l을 넣어 5분간 안정화 시킨 뒤 20% Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>(w/v)을 300  $\mu$ l 첨가하여 다시 15분간 안정화시킨 뒤 1 ml의 증류수를 첨가하여 725 nm 파장에서 흡광도를 측정하고 gallic acid를 이용하여 검량선을 작성하여 결과를 나타내었다.

Total flavonoid 함량은 Moreno 등 (2000)의 방법을 변형하여 각 농도 별 추출액 0.1 ml를 첨가 하여 80% 에탄올 0.4 ml를 첨가하여 혼합한 후 10% aluminum nitrate 0.1 ml와 1M potassium acetate 0.1 ml 그리고 80% ethanol 4.3 ml을 가하여 25°C에서 40분간 반응시킨 후 415 nm에서 흡광도를 측정하였다. Quercetin의 농도가 10, 25, 50, 100, 250, 500  $\mu$ g/ml가 되도록 취하여 위와 동일한 방법으로 측정된 표준곡선으로부터 산출하여 전체 추출물과 분획물의 total flavonoid 화합물 함량을 구하였다.

### 3. DPPH free radical 소거법에 의한 항산화 활성

Xiong 등 (1996)의 방법을 변형하여 측정하였다. 시험관에 4 ml의 methanol을 넣고 시료 화합물을 농도 별로 첨가한 다음 0.15 mM DPPH 용액을 1 ml 첨가하여 실온에서 30분간 반응 시킨 후 517 nm에서 흡광도를 측정하였다 (Hong *et al.*, 2007). 이 때 RC<sub>50</sub> ( $\mu$ g/ml)은 시료를 첨가하지 않은 대조군의 값을 50% 감소시키는 화합물의 농도를 나타냈으며, 기존 항산화제인  $\alpha$ -tocopherol, *tert*-butyl hydroxyanisole (BHA), *tert*-butyl hydroxyl-toluene (BHT)과 비교 하였다.

### 4. $\alpha$ -Glucosidase 저해 활성

$\alpha$ -Glucosidase는 장내에 분비되는 다당류의 분해 효소로 식후 혈중 당의 흡수를 결정하는 중요한 효소이나, 당뇨병자의 식후 고혈당 문제를 야기 시킨다. 이에 비타민나무 잎 추출물과 분획물 50  $\mu$ l를 0.15 U/ml  $\alpha$ -glucosidase 효소액 50  $\mu$ l, 0.2M KPB (pH 7.0) 50  $\mu$ l와 혼합하여 37°C에서 15분간 preincubation 한 후 3 mM pNPG (4-nitrophenyl- $\alpha$ -D-glucopyranoside) 100  $\mu$ l를 가하여 37°C에서 10분간 반응시켰다. 0.1M Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 750  $\mu$ l로 반응을 정지시킨 후, 분광광도계를 이용하여 405 nm에서 흡광도를 측정하였다. 대조구로는 acarbose를 사용하였으며,  $\alpha$ -glucosidase의 IC<sub>50</sub>을 계산하였다.

### 5. Column chromatography법에 의한 활성물질 분리

비타민나무 잎 추출물로부터 얻은 용매 분획물 중 DPPH free radical 소거법에 따른 항산화 활성을 지표로 활성물질을 분리·정제하였다. 높은 항산화 활성을 나타낸 ethyl acetate 분획물 23.7g을 methanol로 용해시킨 후, silica gel이 충전된 glass column ( $\phi$  6×60 cm)을 이용하여 chloroform, methanol의 혼합용매로 전개하여 5개의 소획분을 얻었다. 이 중 강한 활성을 나타내며 수율이 높은 소분획 3을 대상으로 2차 open column chromatography를 실시하였다. Octadecyl silica gel (ODS)을 glass column ( $\phi$  1.5×60 cm)에 충전하고 gradient system을 이용하여 20% methanol에서 80% methanol까지 전개하여 compound 1, 2 (55, 20mg)를 분리하였다. 상기의 방법으로 분리된 화합물은 <sup>1</sup>H-NMR, <sup>13</sup>C-NMR, MS, IR, UV/VIS, 등의 기기분석을 통하여 화학적 구조를 밝혔다.

Compound 1; Pale yellow powder; MS m/z : 449 [M+H]<sup>+</sup>; IR :  $\gamma$ max (KBr, cm<sup>-1</sup>) 3291 (OH), 1515, 1456 (aromatic C=C); UV :  $\lambda$ max (MeOH, nm): 254; <sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>):  $\delta$ : 7.71 (1H, d, J=1.89 Hz, H-2'), 7.58 (1H, d, J=8.43, 1.89 Hz, H-6'), 6.87 (1H, dd, J=8.43 Hz, H-5'), 6.19 (1H, d, J=1.77 Hz, H-8), 6.19 (1H, d, J=1.77 Hz, H-6), 5.25 (1H, d, J=7.47 Hz, anomeric H); <sup>13</sup>C-NMR (100 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>):  $\delta$ : 170.50 (C-4), 166.17 (C-7), 163.07 (C-5), 159.02 (C-9), 158.49 (C-2), 149.89 (C-4'), 145.94

**Table 1.** DPPH free radical scavenging activity of *H. rhamnoides* leaves.

Sample	RC <sub>50</sub> ( $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) <sup>‡</sup>
Methanol extract	10.00±0.00 <sup>†</sup>
Hexane fraction	65.67±0.58
Ethyl acetate fraction	4.33±0.12
Butanol fraction	8.27±0.23
Water fraction	12.87±0.23
Compound 1	2.60±0.00
Compound 2	19.47±0.09
BHA <sup>§</sup>	6.00±1.16
BHT <sup>¶</sup>	90.67±1.15
$\alpha$ -Tocopherol	4.67±1.15

<sup>†</sup>Each value is mean±standard derivation of triplicate tests.

<sup>‡</sup>RC<sub>50</sub> : Amount required for 50% reduction of DPPH after 30 min.

<sup>§</sup>tert-Butyl hydroxyanisole <sup>¶</sup>tert-Butyl hydroxytoluene

(C-3'), 135.64 (C-3), 122.23 (C-6'), 123.09 (C-1'), 117.58 (C-5'), 116.03 (C-2'), 105.68 (C-10), 104.34 (C-1''), 99.95 (C-6), 94.77 (C-8), 78.42 (C-5''), 78.14 (C-3''), 75.76 (C-2''), 71.23 (C-4''), 62.57 (C-6'').

Compound 2; Yellow liquid; MS m/z : 462 [M]<sup>+</sup>; IR :  $\gamma$ max (KBr, cm<sup>-1</sup>) 3267 (OH), 1706 (-COO<sup>-</sup>), 1512, 1445 (aromatic C=C) ; <sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, MeOH-*d*<sub>6</sub>):  $\delta$  : 7.95 (1H, d, *J* = 1.27 Hz, H-2'), 7.61 (1H, dd, *J* = 8.39, 1.27 Hz, H-6'), 6.93 (1H, d, *J* = 8.93 Hz, H-5'), 6.42 (1H, br s, H-8), 6.22 (1H, br s, H-6), 5.42 (1H, d, *J* = 7.12 Hz, aromatic H), 3.97 (3H, s, -OCH<sub>3</sub>). <sup>13</sup>C-NMR (100 MHz, MeOH-*d*<sub>6</sub>):  $\delta$  : 177.79 (C-4), 165.11 (C-7), 161.70 (C-5), 158.63 (C-9), 158.54 (C-2), 150.89 (C-4'), 148.43 (C-3'), 135.32 (C-3), 123.83 (C-6'), 123.13 (C-1'), 116.02 (C-5'), 114.38 (C-2'), 105.67 (C-10), 103.67 (C-1''), 100.06 (C-6), 94.95 (C-8), 78.57 (C-5''), 78.10 (C-3''), 75.94 (C-2''), 71.51 (C-4''), 62.55 (C-6''), 56.78 (-OCH<sub>3</sub>).

## 결과 및 고찰

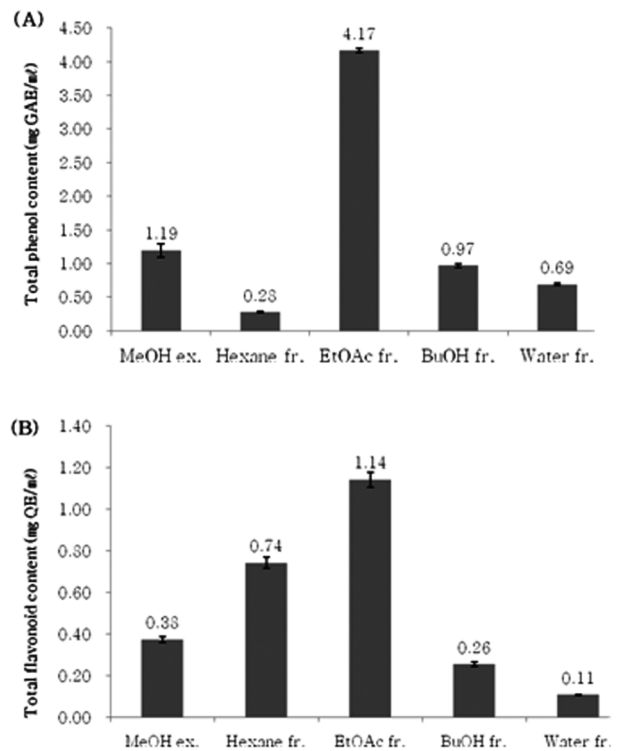
### 1. Flavonol glycoside 구조 해석

Compound 1은 IR 흡수 spectrum이 페놀성 화합물의 특징을 보이며 <sup>1</sup>H-NMR에서 meta coupling하는 두 개의 proton [ $\delta$  6.19 (1H each, d, *J* = 1.77 Hz)과 ABX system의 coupling [ $\delta$  7.71 (1H, d, *J* = 1.89 Hz, H-2'),  $\delta$  6.87 (1H, d, *J* = 8.43 Hz, H-5'),  $\delta$  7.58 (1H, d, *J* = 8.43, 1.89 Hz, H-6')]은 식물체에 널리 분포되어 있는 flavonoid aglycon인 quercetin의 전형으로 보여졌다. 또한 <sup>13</sup>C-NMR에서 78.42, 78.14, 75.76, 71.23, 62.57 등에서 나타나는 signal들로부터 결합된 당은 glucose임을 알 수 있었다. 이상의 결과와 문헌 (Rösch *et al.*,

**Table 2.**  $\alpha$ -Glucosidase inhibition effect of extract and fractions from *H. rhamnoides* leaves.

Sample	IC <sub>50</sub> ( $\mu\text{g}/\text{mL}$ )
Methanol extract	240.25±2.15*
Hexane fraction	203.23±1.57
Ethyl acetate fraction	137.88±5.73
Butanol fraction	191.96±7.62
Water fraction	781.00±58.91
Compound 1	>1000
Compound 2	739.73±26.57
Acarbose	0.01±0.00

\*Each value is mean±standard derivation of the triplicate test.



**Fig. 1.** Total phenol (A) and flavonoid (B) contents of the extract and fractions from *H. rhamnoides* leaves.

2003)을 비교하여 화합물 1을 quercetin 3-*O*-glucoside로 동정하였다.

Compound 2는 IR 흡수 spectrum이 페놀성 화합물의 특징을 보이며 <sup>1</sup>H-NMR에서 meta coupling하는 두 개의 proton [ $\delta$  6.20 (1H each, d, *J* = 1.77 Hz)과 ABX system의 coupling [ $\delta$  7.95 (1H, d, *J* = 1.89 Hz, H-2'),  $\delta$  6.93 (1H, d, *J* = 8.43 Hz, H-5'),  $\delta$  7.61 (1H, d, *J* = 8.43, 1.89 Hz, H-6')] 또한 flavonoid aglycon인 quercetin로 보여졌다. 그리고 <sup>13</sup>C-NMR에서 78.78, 78.02, 74.04, 71.09, 62.35 등에서 나타나

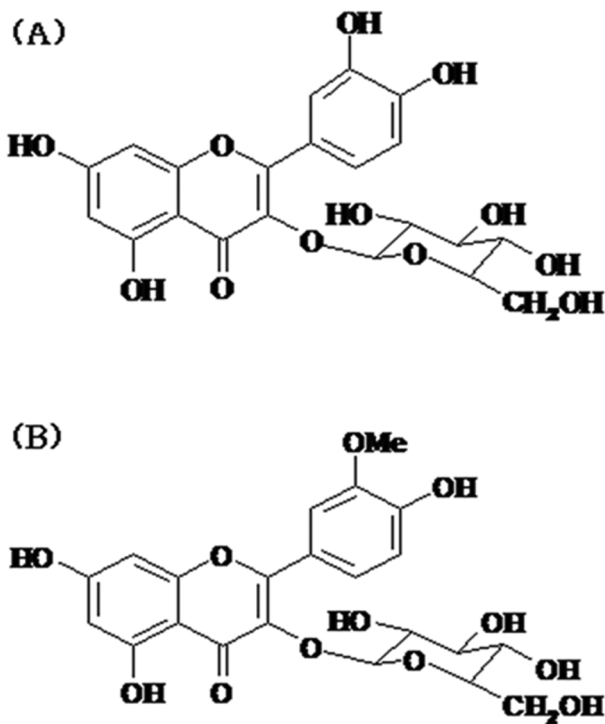


Fig. 2. Chemical structure of compounds 1, 2 from *H. rham-noides* leaves. (A) Compound 1: quercetin 3-O-glucoside. (B) Compound 2: isorhamnetin 3-O-glucoside.

는 signal로부터 결합된 당은 glucose임을 알 수 있었다. 이상의 결과와 문헌 (Rösch *et al.*, 2003)을 비교하여 화합물 2를 isorhamnetin 3-O-glucoside로 동정하였다.

식물 내 quercetin은 당과 결합되어 있으며, 특히  $\beta$  glycoside 형태로 이들 quercetin glycoside는 sugar moiety의 영향을 받는다. 식품 내 quercetin의 중요형태인 quercetin-4-glucoside는 섭취된 양의 52%가 흡수되어 생체 이용성이 높은 것으로 알려져 있다 (Hollman *et al.*, 1995).

Compound 1 (quercetin 3-O-glucoside)은 차, 토마토, 사과 등에 흔히 함유되어 있으며, 생체이용성은 quercetin-4-glucoside와 거의 비슷하며 다른 quercetin glucoside보다 빠르게 흡수되는 것으로 보고되었다 (Hollman and Buysman, 1996). 또한 quercetin glucoside의 50% 정도는 소장에서 흡수되어 간이나 다른 장기에서 isorhamnetin 등으로 대사 된다고 알려져 있다 (Margreet *et al.*, 2000).

## 2. 총 페놀 및 플라보노이드 함량

Gallic acid를 표준용액으로 하여 작성한 검량선으로부터 비타민나무 잎 추출물의 total phenol 함량을 계산하였다. 그 결과 ethyl acetate 분획 (4.17 mg GAE/ml)에서 가장 높은 함량을 보였고, 다음으로 methanol 추출물 (1.19 mg GAE/ml), butanol (0.97 mg GAE/ml), 물 (0.69 mg GAE/ml), hexane

(0.28 mg GAE/ml) 분획물 순으로 나타났다. Total flavonoid 함량 측정결과 ethyl acetate 분획물에서 1.14 mg QE/ml로 가장 높은 함량을 나타냈다. 식물계에 널리 분포되어 있는 페놀성 물질은 다양한 구조와 분자량을 가지며, 항산화, 항균, 항암 등의 다양한 생리활성을 나타낸다 (Oh *et al.*, 2010). 또한 세포벽, 다당류, 리그닌 등과 에스테르 결합되어 있거나 중합체로 존재하며, 수산기를 통한 수소 공여와 페놀 고리구조의 공명 안정화에 의해 항산화 능력을 나타낸다고 보고되었다 (Hermann *et al.*, 1989; Yusof *et al.*, 1990). Flavonoid는  $^1O_2$ ,  $O_2^-$ 와 결합하여 안정한 complex를 형성하여 지질과산화에 대한 항산화 효과가 있는 것으로 밝혀져 있다 (Choi *et al.*, 2009). 비타민나무 잎의 ethyl acetate 분획물에는 phenolic compound 및 flavonoid가 존재하여 항산화 활성을 나타냄을 알 수 있었다.

## 3. DPPH free radical 소거법에 의한 항산화 활성

DPPH를 이용한 전자 공여능 측정법은 식물 추출물의 항산화 활성을 간단히 측정할 수 있는 동시에 실제 항산화 작용과도 연관성이 매우 높아 많이 이용되고 있다 (Jun *et al.*, 2001). DPPH는 전자 또는 수소를 받으면 517 nm 부근에서 흡광도가 감소하며, 이러한 DPPH free radical을 환원시키거나 상쇄시키는 능력이 크면 활성산소를 비롯한 다른 radical에 대하여 소거 활성을 기대할 수 있다 (Kim *et al.*, 2010). 비타민나무 잎 추출물 및 분획물에 대한 항산화 활성은 DPPH free radical을 50% 억제하는데 필요한 시료의 농도 ( $RC_{50}$ )로 나타났다. Ethyl acetate 분획물에서  $RC_{50}$  값이 4.33  $\mu\text{g/ml}$ 로 가장 높은 활성을 보였는데 이는 합성 항산화제인 BHA ( $RC_{50} = 6 \mu\text{g/ml}$ )와 천연 항산화제  $\alpha$ -tocopherol ( $RC_{50} = 4.67 \mu\text{g/ml}$ )과 비교해 볼 때 더욱 강한 활성을 나타냄을 확인할 수 있었다. 또한 methanol 추출물과 butanol 분획물에서도 각각 10과 8.27  $\mu\text{g/ml}$ 의  $RC_{50}$  값을 나타내며 강한 항산화 활성을 나타내는 것을 알 수 있었다. 정 등 (2010)은 비타민나무 뿌리와 줄기의 ethyl acetate 분획물이 각각 1.5와 1.0  $\mu\text{g/ml}$ 의  $RC_{50}$  값을 나타내며 높은 radical 소거활성을 나타냈으며, 높은 활성은 ethyl acetate 분획물에 존재하는 다량의 polyphenolic constituent에 의한 것이라 보고하였다. 이는 total phenol 함량이 높을수록 DPPH radical 소거활성이 높게 나타난 본 연구 결과와 일치하는 것이다. 산화 활성이 가장 높았던 ethyl acetate 분획물을 대상으로 분리한 compound 1 (quercetin 3-O-glucoside)의 경우 단일화됨에 따라 더 높은 활성을 나타내는 것을 확인할 수 있었다 ( $RC_{50} = 2.6 \mu\text{g/ml}$ ). 반면에 compound 2 (Isorhamnetin 3-O-glucoside)는 19.47  $\mu\text{g/ml}$ 의  $RC_{50}$  값을 나타내며 ethyl acetate 분획물 ( $RC_{50} = 4.33 \mu\text{g/ml}$ )보다 낮은 활성을 보였다. 일반적으로 flavonoid의 항산화 활성은 diphenylpropane에서 phenolic hydroxyl group의 위치에 영향

을 받는 것으로 알려져 있다 (Moon *et al.*, 2001). 조 등 (2008)은 *Camellia japonica* 잎으로부터 분리한 14개 phenolic compound와 flavonoid를 대상으로 DPPH radical 소거활성을 검정한 결과 monohydroxy phenyl group을 가진 화합물에 비해 catechol moiety를 가진 화합물의 활성이 훨씬 더 높게 나타났다고 보고하였다. 이는 flavonoid의 기본골격에서 B ring에 catechol moiety를 가진 compound 1 (quercetin 3-O-glucoside)의 DPPH free radical 소거 활성이 compound 2 (isorhamnetin 3-O-glucoside)보다 높게 나타난 본 연구 결과와 일치한다.

#### 4. $\alpha$ -Glucosidase 저해 활성

$\alpha$ -Glucosidase는 소장 brush-border membrane에 존재하는 소화 효소다. 이들은 이당류나 다당류를 탄수화물이 소화 흡수되기 위한 상태인 단당류로 가수분해하는 역할을 한다.  $\alpha$ -Glucosidase 저해제는 탄수화물식이 후 혈당 상승을 억제하는데 (Caspary, 1978), 활성 억제 정도를  $IC_{50}$  ( $\mu\text{g/ml}$ ) 값으로 나타낸 결과  $\alpha$ -glucosidase에 대해 ethyl acetate 분획물의 저해 활성이  $137.88 \pm 5.73 \mu\text{g/ml}$ 로 가장 높게 측정되었으며, 그 다음으로 butanol ( $191.96 \pm 7.62 \mu\text{g/ml}$ ), hexane ( $203.23 \pm 1.57 \mu\text{g/ml}$ ), methanol 추출물 ( $240.25 \pm 2.15 \mu\text{g/ml}$ ), 물 분획물 ( $781.00 \pm 58.91 \mu\text{g/ml}$ ) 순으로 활성 억제를 나타내었다. 이 결과로 볼 때 안개나무 가지 추출물의 ethyl acetate 분획물이 5 mg/ml의 농도에서 95.8%의 높은 억제활성을 나타냈다는 보고 (Cha *et al.*, 2009)와 같이 비타민나무 잎에 함유된  $\alpha$ -glucosidase 저해활성 성분들이 주로 ethyl acetate 분획물에 집중되어 있을 것이라 예측할 수 있었다. 그러나 ethyl acetate 분획물에서 분리된 화합물을 이용하여  $\alpha$ -glucosidase에 대한 저해활성을 검토한 결과 compound 1의 경우 고농도 (1000  $\mu\text{g/ml}$ )에서도 저해효과가 나타나지 않았으며, compound 2는 739.73  $\mu\text{g/ml}$ 의 농도에서 저해효과가 나타났다. 이는 ethyl acetate 분획물에서 분리된 두 개의 화합물 외에  $\alpha$ -glucosidase 저해활성을 나타내는 성분이 존재할 것으로 생각할 수 있으며, 이에 ethyl acetate 분획물에 대한 심도 있는 연구가 필요할 것이다.

#### 감사의 글

본 연구는 중소기업청 산학협력력 기업부설연구소 지원사업 (과제명: 비타민 나무의 유용성분 탐색 및 기능성 제품개발)의 지원에 의해 수행된 것으로 이에 감사 드립니다.

#### LITERATURE CITED

Caspary W. (1978). Sucrose malabsorption in man after ingestion

- of  $\alpha$ -glucosidase inhibitor. *Lancet*. 311:1231-1233.
- Cha MR, Park JH, Choi YH, Choi CW, Hong KS, Choi SU, Kim YS, Kim YK, Kim YH and Ryu SY. (2009). Alpha-glucosidase inhibitors from the branches extract of *Cotinus coggygria*. *Korean Journal of Pharmacognosy*. 40:229-232.
- Chen H and Zuo Y. (2007). Identification of flavonol glycosides in American cranberry fruit. *Food Chemistry*. 101:1357-1364.
- Cho JY, Ji SH, Moon JH, Lee KH, Jung JH and Park KH. (2008). A novel benzoyl glucoside and phenolic compounds from the leaves of *Camellia japonica*. *Food Science and Biotechnology*. 17:1060-1065.
- Choi SR, You DH, Kim JY, Park CB, Kim DH and Ryu J. (2009). Antioxidant activity of methanol extracts from *Cudrania tricuspidata* Bureau according to harvesting parts and time. *Korean Journal of Medicinal Crop science*. 17:115-120.
- Deshner EE, Ruperto J, Wong G and Newmark HL. (1991). Quercetin and rutin as inhibitors of azoxymethanol-induced colonic eoplasia. *Carcinogenesis*. 7:1193-1196.
- Ganju L, Padwad Y, Singh R, Karan D, Chanda S, Chopra KM, Bhatnagar P, Kashyap R and Sawhney RC. (2005). Anti-inflammatory activity of sea buckthorn (*Hippophae rhamnoides*) leaves. *International Immunopharmacology*. 5: 1675-1684.
- Ge XY, Shi GF, Zhang YM and Wang TB. (1985). Medical application of seabuckthorn. *Shanxi Medical Research*. 2:9-14.
- Geetha S, SaiRam M, Singh V, Ilavazhagan G and Sawhney RC. (2002). Antioxidant and immunomodulatory properties of seabuckthorn an *in-vitro* study. *Journal of Ethnopharmacology*. 79:373-378.
- Hermann K. (1989). Occurrence and content of hydroxycinnamic and hydroxybenzoic acid compounds in foods. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 28:315-347.
- Hollman PC, Vries JH, Jeeuwen SD, Mengelers MJ and Katan MB. (1995). Absorption of dietary quercetin glycosides and quercetin in healthy ileostomy volunteers. *American Journal of Clinical Nutrition*. 62:1276-1282.
- Hollman PT and Buysma M. (1996). Fluorescence detection of flavonols in HPLC by postcolumn chelation with aluminum. *Analytical Chemistry*. 68:3511-3515.
- Hong BK, Eom SH, Lee CO, Lee JW, Jeong JH, Kim JK, Cho DH, Yu CY, Kwon YS and Kim MJ. (2007). Biological activities and bioactive compounds in the extract of *Acer tegmentosum* Maxim. stem. *Korean Journal of Medicinal Crop Science*. 15:296-303.
- Hwang EK. (2009). Effect of quercetin supplement on major biochemical parameters in sera of rats fed high fat and high cholesterol diet. *Journal of Veterinary Clinics*. 26:413-418.
- Jeong JH, Lee JW, Kim KS, Kim JS, Han SN, Yu CY, Lee JK, Kwon YS and Kim MJ. (2010). Antioxidant and antimicrobial activities of extracts from a medicinal plant, sea buckthorn. *Journal of the Korean Society for Applied Biological Chemistry*. 53:33-38.
- Jun BS, Cha JY and Cho YS. (2001). Antioxidative activities of fruit extracts of *Paulownia tomentosa* stued. *Korean Journal of Food Preservation Sciences Technology*. 8:231-238.
- Kim KM, Park MH, Kim HK, Im SH and Kim YN. (2009). Analysis of chemical composition and *in vitro* anti-oxidant

- properties of extracts from seabuckthorn (*Hippophae rhamnoides*). Journal of Applied Biological Chemistry. 52:58-64.
- Kim SS, Jeong MH, Seo YC, Kim JS, Kim NS, Woon WB, Ahn JH, Hwang B, Park DS, Park SJ and Lee HY.** (2010). Comparison of antioxidant activities by high pressure extraction of *Codonopsis lanceolata* from different production areas. Korean Journal of Medicinal Crop science. 18:248-254.
- Lee CH, Krueger CG, Reed JD and Richards MP.** (2006). Inhibition of hemoglobin-mediated lipid oxidation in washed fish muscle by cranberry components. Food Chemistry. 99:591-599.
- Margreet RO, Peter CHH, Tom BV and Martijn BK.** (2000). Bioavailabilities of quercetin-3-glucoside and quercetin-4-glucoside do not differ in humans. The American Society for Nutritional Sciences. 130:1200-1203.
- Moreno MIN, Isla MI, Sampietro AR and Vattuone MA.** (2000). Comparison of the free radical-scavenging activity of propolis from several regions of Argentina. Journal of Ethnopharmacology. 71:109-114.
- Moon JH, Tsushida T, Nakahra K and Terao J.** (2001). Identification of quercetin 3-*O*- $\beta$ -D-glucuronide as an antioxidative metabolite in rat plasma after oral administration of quercetin. Free Radical Biology and Medicine. 30: 1274-1285.
- Oh YJ, Seo HR, Choi YM and Jung DS.** (2010). Evaluation of antioxidant activity of the extracts from the aerial parts of *Cnidium officinale* Makino. Korean Journal of Medicinal Crop Science. 18:373-378.
- Rösch D, Bergmann M, Knorr D and Kroh LW.** (2003). Structure-antioxidant efficiency relationships of phenolic compounds and their contribution to the antioxidant activity of seabuckthorn juice. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 51:4233-4239.
- Sato M, Ramarathnam N, Suzuki Y, Ohkubo T, Takeuchi M and Ochi H.** (1996). Varietal differences in the phenolic content and superoxide radical scavenging potential of wines from different sources. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 44:37-41.
- Shim JS, Kim SD, Kim TS and Kim KN.** (2005). Biological activity of flavonoid glycosides isolated from *Angelica keiskei*. Korean Journal of Food Science and Technology. 37:78-83.
- Tsybikova DTs, Rasputina DB, Zalykeeva DN, Darzhapova GZh and Khundanova LL.** (1983). A study of leaves and the oil cake of seabuckthorn; biology, chemistry and pharmacology of Sea buckthorn. Nauka Publishers, Novosibirsk. p. 107-109 (in Russia).
- Xing JF, Yang BR, Dong YL, Wang BW, Wang JX and Kallio HP.** (2002). Effects of sea buckthorn (*Hippophaë rhamnoides* L.) seed and pulp oils on experimental models of gastric ulcer in rats. Fitoterapia 73:644-650.
- Xiong Q, Kadota S, Tani T and Namba T.** (1996). Antioxidative effects of phenylethanoids from *Cistanche deserticola*. Biological Pharmaceutical Bulletin. 19:1580-1585.
- Xu MY, Sun XX and Tong WX.** (1994). Medical research and development on seabuckthorn. Hippophae. 7:32-39.
- Yang B, Kalimo KO, Tahvonen RL, Mattila LM, Katajisto JK and Kallio HP.** (2000). Effect of dietary supplementation with sea buckthorn (*Hippophaë rhamnoides*) seed and pulp oils on the fatty acid composition of skin glycerophospholipids of patients with atopic dermatitis. The Journal of Nutritional Biochemistry. 11:338-340.
- Yusof S, Chazali HM and King GS.** (1990). Naringin content in local citrus fruits. Food Chemistry. 37:113-121.