

모링가 잎 추출물의 항당뇨, 알코올 대사 및 간 보호 활성

최영주 · 정경임

신라대학교 의생명과학대학 식품영양학과

Anti-Diabetic, Alcohol-Metabolizing, and Hepatoprotective Activities of Moringa (*Moringa oleifera* Lam.) Leaf Extracts

Young Ju Choi and Kyung Im Jung

Department of Food and Nutrition, College of Medical Life Sciences, Silla University

ABSTRACT This study was carried out to investigate anti-inflammatory, anti-diabetic, alcohol metabolizing, and hepatoprotective effects of hot water (MOW) and 80% ethanol (MOE) extracts from moringa (*Moringa oleifera* Lam.) leaf. The total phenol content of MOW and MOE were 45.49 and 63.06 mg tannic acid equivalents/g, respectively. 1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl radical scavenging activities of MOW and MOE were remarkably elevated in a dose-dependent manner, and about 60.8% and 71.3% at 1 mg/mL, respectively ($P<0.01$). Superoxide dismutase-like activities of MOW and MOE were 2.8% and 7.4% at 5 mg/mL, respectively ($P<0.05$). α -Glucosidase inhibitory activity also increased in a dose-dependent manner in both extracts, and MOE was higher about two times than MOW at 5 mg/mL ($P<0.001$). The effects of MOW and MOE on alcohol metabolizing activity were determined by measuring generation of reduced nicotinamide adenine dinucleotide (NADH) by alcohol dehydrogenase (ADH) and acetaldehyde dehydrogenase (ALDH). ADH and ALDH activities significantly increased upon addition of MOW and MOE ($P<0.05$). Anti-inflammatory activity was examined in lipopolysaccharide-stimulated RAW 264.7 cells. Nitric oxide production was reduced to 32.1% and 81.2% by addition of MOW and MOE at 1 mg/mL, respectively ($P<0.05$). MOW and MOE showed significant protective effects against tacrine-induced cytotoxicity in Hep3B cells at 100 μ g/mL. These results suggest that moringa leaf extracts have great potential as natural health products.

Key words: moringa (*Moringa oleifera* Lam.), anti-inflammatory, anti-diabetic, alcohol dehydrogenase, hepatoprotective

서 론

모링가(*Moringa oleifera* Lam.)는 모링가과(Moringaceae)의 높이가 5~10 m에 이르는 나무로(1) 원산지는 히말라야 북서부와 인도, 파키스탄 및 아프리카 지역이며(2) 현재는 아시아, 아프리카, 아라비아 등에서 재배되고 있다(3). 비타민과 단백질이 풍부하여 높은 영양가를 지닌 것으로 알려져 있으며(4), 전통적으로 꽃, 뿌리, 씨, 잎, 열매의 모든 부위는 중앙, 괴혈병, 피부감염 및 마비성 발작과 같은 질환에 사용되었다(5). 모링가 씨 추출물은 isothiocyanates, glucosinolates, thiocarbamate, flavonoid와 같은 생리활성물질을 함유하고 있으며(6), 특히 간 기능 보호 효과(7), 암세포의 세포자살과 증식 억제 효과 등이 있는 것으로 알려져 있고(5), 모링가의 잎은 콜레스테롤 제거 및 간 손상 방지와 염증, 심장병 등의 치료 효과가 있는 것으로 알려져 있다

(8,9).

모링가에 대한 연구로는 품종별 항산화, 항균 및 phytochemical(10), 신장 섬유화 억제 효과(11), 유방암 세포 활성 및 발현 억제 효과(12), 항히스타민 효과(13), 피부노화 억제 및 항염증 효과(4), 간 섬유화 억제 효과 및 항염증, 항균, 항고혈당증, 항종양, 항암 효과(14) 등이 보고되어 있다. 그러나 모링가 잎의 항당뇨 효과와 숙취 해소능 및 간세포 보호 효과에 대한 연구는 상대적으로 미흡한 실정이다.

최근 생활방식의 변화로 생긴 식습관의 서구화, 운동량 감소 등으로 인해 당뇨병 등의 대사성 질환이 늘어나고 있다(15). 보건복지부와 질병관리본부의 조사 결과에 따르면 2010년 우리나라 성인의 당뇨병 유병률이 10.1%이고 공복 혈당장애 유병률이 19.9%로 나타났으며, 2050년도 우리나라 당뇨병 환자 수는 약 600만 명으로 추정되고 있다(15). 이에 따라 약용식물 등 천연물로부터 항당뇨 소재를 탐색하고자 많은 연구가 이루어지고 있다. 한편, 체내 흡수된 알코올 대부분은 위와 소장에서 흡수되어 간으로 이동된 후 대사 과정을 거쳐 분해되는데, 만성적인 알코올 섭취는 영양소의 흡수장애와 간 기능 손상을 초래할 수 있으며(16), 간의 주요한 병태생리적인 증상이나 간질환은 염증반응에 의해 야

Received 29 January 2016; Accepted 23 May 2016

Corresponding author: Kyung Im Jung, Department of Food and Nutrition, College of Medical Life Science, Silla University, Busan 46958, Korea

E-mail: jki9074@silla.ac.kr, Phone: +82-51-999-7618

기되기 때문에 항염증 연구는 중요하다(17). 염증은 염증을 유도하는 cytokines과 cyclooxygenase-2(COX-2), prostaglandin E₂(PGE₂) 및 inducible nitric oxide synthase (iNOS)에 의해서 생성된다. 특히 iNOS는 lipopolysaccharide (LPS), interferon- γ 및 염증 유도 cytokines에 노출되는 경우에만 발현된다(18). 이러한 nitric oxide(NO) 합성은 세균을 죽이거나 종양 제거의 중요한 역할을 하지만 병리적인 원인에 의한 과도한 NO의 형성은 염증을 유발해 조직 손상, 신경 손상 및 유전자 변이 등을 유발한다(19).

따라서 본 연구에서는 모링가 잎의 열수 및 에탄올 추출물에 대한 생리작용을 규명하기 위해 항당뇨 활성과 항염증, 알코올분해능 및 간 보호 효과에 대한 생리활성을 조사하여 새로운 소재로서의 가능성을 검토하고자 한다.

재료 및 방법

시료 및 추출

본 연구에 사용한 모링가 잎 분말(*Moringa oleifera* Lam., 인도산)은 시중에서 구입하여 시료로 사용하였다. 모링가 잎 분말 50 g에 용매(증류수, 80% 에탄올) 500 mL를 가하여 증류수 추출은 80°C에서 12시간, 에탄올 추출은 상온에서 24시간 동안 추출하였다. 각각의 추출물은 Whatman No. 2 filter paper(Whatman International Ltd., Maidstone, UK)로 여과한 후 rotary evaporator(EYELA N-1000, Rikakikai Co., Tokyo, Japan)로 농축하였다. 추출물들은 동결 건조하여 -70°C에서 보관하면서 본 실험에 사용하였다.

총폴리페놀 함량 측정

총폴리페놀 함량은 Folin-Ciocalteu법(20)을 약간 변형시켜 측정하였으며 표준물질로는 tannic acid(Sigma-Aldrich Co., St. Louis, MO, USA)를 사용하여 분석하였다. 일정농도의 모링가 추출물을 시험관에 취한 후 증류수를 가하여 2 mL로 정용한 다음 Folin-Ciocalteu reagent 0.3 mL를 가하여 잘 혼합한 후 3분간 실온에서 반응시켰다. 혼합물에 7.5% Na₂CO₃ 용액 0.4 mL를 가하여 혼합하고 50°C에서 5분간 발색시킨 후 760 nm에서 흡광도를 측정하였다. 모링가 추출물의 총폴리페놀 함량은 mg tannic acid equivalents(TAE)/g으로 나타내었다.

1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl(DPPH) radical 소거능 측정

모링가 추출물의 전자공여능은 Blois(21)의 방법을 약간 변형하여 DPPH에 대한 수소공여 효과로 측정하였다. 96-well plate에 시료와 0.4 mM DPPH 용액을 1:4 비율로 혼합하여 37°C에서 30분간 반응시킨 후, ELISA reader(Versa Max Microplate Reader, Molecular Device, Sunnyvale, CA, USA)를 이용하여 520 nm에서 흡광도를 측정하였다.

전자공여능(electron donating ability, EDA)은 시료를 첨가하지 않은 대조그룹과 흡광도 차를 비교하여 free radical의 제거 활성을 백분율로 나타내었다.

$$\text{EDA (\%)} = \frac{\text{대조구 흡광도} - \text{시료 첨가구 흡광도}}{\text{대조구 흡광도}} \times 100$$

Superoxide dismutase(SOD) 유사 활성 측정

SOD 유사 활성은 Marklund와 Marklund(22)의 방법에 따라 활성산소종을 과산화수소(H₂O₂)로 전환하는 반응을 촉매하는 pyrogallol의 생성량을 측정하여 나타내었다. 시료를 농도별로 희석하여 10 μ L씩 96-well plate에 취한 후 Tris-HCl buffer(50 mM Tris aminomethane, 10 mM EDTA, pH 8.0) 150 μ L와 7.2 mM pyrogallol 10 μ L를 가하여 실온에서 10분간 반응시키고, 1 N HCl 50 μ L를 가하여 반응을 정지시킨 후 ELISA reader를 사용하여 420 nm에서 흡광도를 측정하였다. SOD 유사 활성은 시료 첨가구와 무첨가구 사이의 흡광도 차이를 백분율로 나타내었다.

$$\text{SOD activity (\%)} = \left(1 - \frac{\text{시료 첨가구의 흡광도}}{\text{시료 무첨가구 흡광도}}\right) \times 100$$

α -Glucosidase 활성 억제 효과 측정

모링가 잎 추출물의 α -glucosidase 활성 억제 효과는 Watanabe 등(23)의 방법으로 측정하였는데, 이는 다당류가 단당류로 분해되는 경로의 억제능을 알아볼 수 있는 assay 법이다. 효소용액은 PBS에 2.0 g/L BSA(bovine serum albumin), 0.2 g/L NaN₃와 함께 효소(0.7 unit/mL, Sigma-Aldrich Co.)를 용해하여 만들고, 기질용액은 p-nitrophenyl- α -D-glucopyranoside(PNPG, Sigma-Aldrich Co.)를 PBS에 5 mM 농도로 용해하여 만들었다. 효소용액 0.5 mL에 시료 0.1 mL를 넣은 후 405 nm에서 흡광도를 측정한다음 5분간 실온에 방치, 기질용액 0.5 mL를 넣고 5분간 반응시킨 후 다시 흡광도를 측정하였다. Positive control로는 acarbose를 사용하였으며, 저해율은 아래의 식을 사용하여 백분율로 나타내었다.

$$\text{Inhibitory rate (\%)} = \left(1 - \frac{\text{시료 첨가구의 흡광도}}{\text{시료 무첨가구 흡광도}}\right) \times 100$$

Alcohol dehydrogenase(ADH) 활성 측정

ADH 효소 활성 측정은 Choi 등(24)과 Racker(25)의 방법을 변형하여 측정하였으며, 생성된 NADH의 양을 340 nm에서 흡광도를 측정하였다. 시험관에 알코올 0.1 mL, NAD 수용액(2 mg/mL) 0.5 mL 및 시료 0.1 mL를 첨가하고 10 mM glycine-NaOH buffer(pH 8.8)를 총 부피가 1.8 mL가 되도록 조절하여 25°C 항온수조에서 10분간 반응시킨 후, ADH(10 unit/mL, Sigma-Aldrich Co.)를 가하여 340 nm에서 spectrophotometer(Amersham Pharmacia Biotech, Cambridge, UK)를 이용하여 흡광도의 변화를 측정하였다. 대조구는 시료 대신 증류수를 첨가하였으며, po-

sitive control은 약국에서 구입한 Hepos를 1/2로 희석하여 사용하였다. ADH의 활성은 다음과 같은 식으로 상대적인 백분율로 계산하였다.

$$\text{ADH activity (\%)} = \frac{\text{실험구의 최대 흡광도}}{\text{대조구의 최대 흡광도}} \times 100$$

Acetaldehyde dehydrogenase(ALDH) 활성 측정

ALDH의 효소 활성 측정은 Koivula와 Koivusalo(26)의 방법을 약간 변형하여 측정하였다. 반응용액은 증류수 2.1 mL, 1.0 M Tris-HCl buffer(pH 8.0) 0.3 mL, 20 mM NAD⁺ 0.1 mL, 0.1 M acetaldehyde 0.1 mL, 3.0 M KCl 0.1 mL, 0.33 M 2-mercaptoethanol 0.1 mL 및 시료 0.1 mL를 혼합하여 25°C에서 10분간 반응시킨 후, ALDH(1 unit/mL) 0.1 mL를 첨가하여 25°C 항온수조에서 5분간 반응시킨 다음 340 nm에서 흡광도의 변화를 측정하였다. 대조구는 시료 대신 TE buffer(pH 8.0)를 첨가하여 상대 활성(%)으로 나타내었고, positive control은 ADH 활성 측정에서와 같이 Hepos를 사용하였으며, ALDH 활성 측정은 ADH 활성 측정식과 같은 식을 사용하였다.

NO assay 및 cell viability 측정

NO 소거 활성은 마우스의 대식세포 세포주인 RAW 264.7 세포를 배양판에 1.0×10^5 cells/mL의 세포가 되도록 분주하여 LPS 자극 하에 24시간 배양하고 그 배양 상층액 내의 NO 생성은 Griess 반응으로 세포 상층액에 축적되는 nitrite 양으로 측정하였다(27). 대조군으로는 10 µg/mL의 LPS를 처리하여 활성화를 유도한 세포를 사용하였다. 배양 후 100 µL의 상층액을 취하여 동량의 Griess 시약[1% sulfanilamide(30% acetic acid)와 0.1% N-(1-naphthyl) ethylenediamine dihydrochloride(60% acetic acid) 혼합액]을 가하여 상온에서 20분간 반응시킨 후 ELISA reader를 이용하여 540 nm에서 흡광도를 측정하였다.

세포독성 실험은 mitochondrial dehydrogenase activity의 index를 나타내는 MTT calorimetric reduction assay 법으로 추출물이 세포생존율에 미치는 영향을 측정하였다. 96-well microtiter plate(SPL Lifesciences, Gyeonggi, Korea)에 RAW 264.7 macrophage를 1.0×10^5 cells/well의 농도로 분주하고, 분주 24시간 후 모링가 열수 및 에탄올 추출물이 함유된 배지를 각각 100 µL씩 넣어 48시간 동안 배양하였다. Plate에 2 mg/mL 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyl-tetrazolium bromide(MTT, Sigma-Aldrich Co.) 용액을 20 µL씩 첨가하여 4시간 동안 배양시키고 formazan을 형성시킨 후 조심스럽게 상층액을 제거하였다. DMSO 150 µL를 첨가하여 formazan을 녹인 후 ELISA reader를 이용하여 570 nm에서 흡광도를 측정하였다.

Hep3B 세포배양 및 간세포 보호 활성 측정

실험에 사용한 간암세포인 Hep3B는 한국세포주은행(Seoul, Korea)에서 구입하였으며, 세포의 배양을 위해 10% heat-inactivated fetal bovine serum 및 100 U/mL penicillin, 100 µg/mL streptomycin이 첨가된 MEM(Cellgro by Mediatech, Inc., Manassas, VA, USA) 배지를 이용하여 37°C, 5% CO₂ incubator에서 배양하였다.

세포의 성장과 cell viability를 확인하기 위해 96-well cell culture plate(SPL Lifesciences)에 Hep3B 세포를 배지 100 µL에 2×10^5 cells/well의 농도로 각 well에 분주하여 24시간 배양한 다음 모링가 열수 및 에탄올 추출물을 처리하였고, 2시간 후 0.15 mM의 Tactrine(Santa Cruz Biotechnology Inc., Dallas, TX, USA)을 처리하였다. 24시간 배양한 후 EZ-Cytox Cell viability assay solution WST-1[®](Daeil Lab Service, Seoul, Korea)을 각 well에 넣고 37°C, 5% CO₂ incubator에서 5시간 동안 반응시킨 다음 ELISA reader를 이용하여 460 nm에서 흡광도를 측정하였다. 세포의 성장 상태는 현미경을 사용하여 확인하였다.

통계처리

실험 결과는 통계 SAS package(Statistical Analysis System, Version 9.1, SAS Institute Inc., Cary, NC, USA)를 사용하여 각 시료의 평균과 표준편차를 계산하였고, 분산분석(ANOVA)과 Duncan's multiple range test를 실시하여 $P < 0.05$ level에서 시료 간의 유의차를 검정하였으며, 추출물의 동일 농도에 대한 차이분석을 위해 t-test를 실시하였다.

결과 및 고찰

총폴리페놀 함량

식물계에 널리 분포된 폴리페놀 화합물은 생체 내에서 항산화 효과 등 다양한 생리활성을 나타내는 것으로 알려져 있다(28). 본 연구에서는 모링가 추출물의 총페놀 함량을 tannic acid 표준 곡선으로부터 측정하였다. 모링가 열수 및 에탄올 추출물의 총페놀 함량을 측정된 결과(Table 1) 각각 45.49와 63.06 mg TAE/g으로 에탄올 추출물이 열수 추출물보다 약 38.6% 높은 함량을 나타내었다. Moyo 등(29)은 남아프리카공화국의 림포포산 모링가 열수 및 아세톤 추출물의 총페놀 함량이 각각 40.27과 120.33 TE/g으로 보고하

Table 1. Total polyphenol contents of moringa (*Moringa oleifera* Lam.) leaf extracts

Extracts	Total polyphenol (mg TAE/g) ¹⁾	t value	P value
Hot water	45.49±0.06 ²⁾	-274.808****	<0.0001
Ethanol	63.06±0.22		

¹⁾TAE standards for tannic acid equivalents.

²⁾Results are mean±SD of triplicate data.

**** $P < 0.0001$.

였고, Siddhuraju와 Becker(30)는 산지별 모링가 잎 열수 및 에탄올 추출물의 총페놀 함량을 인도산 각각 5.25와 8.11 g GAE/100 g, 니카라과산 각각 7.43과 11.04 g GAE/100 g, 니제르산 6.83과 8.78 g GAE/100 g으로 유기용매에 의한 추출물의 총페놀 함량이 높은 것으로 보고하였으며, Verma 등(31)은 인도산 모링가 잎 추출물의 분획별 총페놀 함량을 aqueous 33.82 mg GAE/g, chloroform 55.69 mg GAE/g, ethyl acetate 336.95 mg GAE/g으로 유기용매 분획물의 총페놀 함량이 높은 것으로 보고하여 본 연구와 유사하였다. 그러나 Kwon과 Youn(32)은 모링가 열수 및 에탄올 추출물의 총페놀 함량이 각각 58.04와 40.72 mg GAE/g으로 열수 추출물의 총페놀 함량이 높은 것으로 보고하여 본 연구와는 차이가 있었다. 한편 Ndhlala 등(10)은 산지 및 품종별 총페놀 함량을 0.3~1.5 mg GAE/g으로 보고하였고, Iqbal과 Bhangar(33)는 파키스탄 내 생산지역 및 수확시기에 따른 모링가 잎 에탄올 추출물의 총페놀 함량에 차이가 있는 것으로 보고하였다. Jeong 등(34)은 추출방법에 따라 약용식물의 총페놀 함량은 다르게 나타나는 것으로 보고하였고, Kwon 등(35)은 열처리에 따른 항산화 활성과 유용성분이 식물의 종류나 결합구조, 소재에 따른 성분의 변화 모두에 영향을 미치는 것으로 보고하였다.

DPPH radical 소거능

인체의 세포 손상과 노화에 의한 질병은 생체 내에서 생성되는 free radical에 의해 발생한다(36). 항산화 효과의 지표로 전자공여능이 사용되고 있으며, DPPH는 비교적 안정한 free radical을 가지고 있는 화합물로 항산화 물질과 만나게 되면 환원작용 때문에 radical이 소거되어 탈색되는 점을 이용하여 항산화 효과를 측정하게 된다(21). 모링가 열수 및 에탄올 추출물의 DPPH radical 소거능은 농도 의존적으로($P<0.05$) 증가하였다(Table 2). 1 mg/mL 농도의 열수 및 에탄올 추출물은 각각 60.81%와 71.29%로 에탄올 추출물의 DPPH radical 소거능이 높게 나타났다($P<0.01$). Kim 등(37)은 술잎과 녹차 열수 추출물 1 mg/mL에서 55.2%와 53.2%, 같은 농도의 에탄올 추출물은 84.4%와 74.9%로 보고하였고, Ko 등(38)은 비타민나무 열수 추출물 1 mg/mL에서 45.89%로 보고하여, 열수 추출물에서는 모링가 잎 추출물의 DPPH radical 소거능이 술잎과 녹차 및 비타민나무 추출물보다 높은 것으로 나타났다. 이상의 결과에서와

같이 모링가 잎 추출물은 기능성 식품 소재로 다양하게 이용되는 술잎과 녹차보다 높은 DPPH radical 소거능을 보였기에 이를 이용한 기능성 식품 소재로 활용될 수 있을 것으로 생각한다.

SOD 유사 활성

SOD는 산화로 인해 형성된 superoxide anion을 과산화수소로 전환하는 반응을 촉매하고, 다시 catalase에 의해 생성된 과산화수소를 인체에 무해한 물 분자와 산소 분자로 전환해 활성산소로부터 인체를 보호하는 효소로 잘 알려져 있다. 체내에서 생성된 과산화수소는 DNA를 비롯한 세포의 구성성분들에 산화적 손상을 발생시킴으로써 질병 및 노화의 원인으로 작용하는 활성산소의 하나이다(39). SOD는 비교적 분자량이 큰 단백질로 열, 알칼리 등에 약하므로 이러한 단점을 보완할 수 있는 저분자 물질로서 체내에서 유사한 역할을 할 수 있는 물질을 찾고자 하는 연구가 수행되고 있다. SOD 유사 활성물질은 항산화 효소는 아니지만 주로 phytochemical로서 SOD와 유사한 기능을 하는 저분자 물질로 superoxide anion의 반응성을 억제하여 항산화 기능을 하는 것으로 알려져 있다(40). 따라서 본 연구에서는 SOD 유사 활성을 가진 천연물 소재를 탐색하고자 모링가 열수 및 에탄올 추출물에 대해 분석하였는데(Table 3), 모링가 잎 추출물에 대한 SOD 유사 활성을 측정한 연구는 거의 없는 실정이다. 모링가 열수 및 에탄올 추출물의 SOD 유사 활성은 농도 의존적으로 증가하였으며($P<0.05$), 5 mg/mL 농도의 열수 및 에탄올 추출물에서 각각 2.82%와 7.40%로 에탄올 추출물의 활성이 높은 것으로 나타났다($P<0.05$). Han 등(41)은 무순 추출물의 SOD 유사 활성 실험 결과에서 에탄올 추출물이 열수 추출물보다 높은 활성을 나타낸 결과와 유사한 경향이었으나, Kim 등(42)은 새송이버섯 열수 추출물이 에탄올 추출물보다 높은 활성을 나타낸 것과는 차이가 있었다.

α -Glucosidase 활성 억제 효과

α -Glucosidase는 이당류, 다당류 등의 탄수화물을 단당류 형태로 가수분해하는 효소로서 소장 brush-border membrane에 존재한다(43). 다당류가 포도당으로 분해되는 것을 저해하는 α -glucosidase 저해제 개발은 당뇨 등의 질병 예방을 위해 중요하다. 따라서 본 연구에서는 모링가

Table 2. DPPH free radical scavenging activity (%) of moringa (*Moringa oleifera* Lam.) leaf extracts

Extracts	Concentration (mg/mL)				Vitamin C 0.1
	0.5	1	5	10	
Hot water	30.76±1.86 ⁽¹⁾²⁾	60.81±2.37 ^d	85.42±0.37 ^b	87.16±1.84 ^b	96.46±0.11 ^a
Ethanol	45.76±2.12 ^c	71.29±1.75 ^c	87.83±0.71 ^b	88.26±0.20 ^b	
t value	-7.257 ^{**}	-5.029 ^{**}	-4.262 [*]	-0.838	
P value	0.0019	0.0073	0.0130	0.4494	

¹⁾Results are mean±SD of triplicate data.

²⁾Different letters within a total sample differ significantly ($P<0.05$).

* $P<0.05$, ** $P<0.01$.

Table 3. Superoxide dismutase (SOD) activity (%) of moringa (*Moringa oleifera* Lam.) leaf extracts

Extracts	Concentration (mg/mL)				Vitamin C 0.5
	1	5	10	20	
Hot water	ND ¹⁾	2.82±1.28 ^{g2)3)}	13.59±1.38 ^e	21.13±2.37 ^d	94.69±0.81 ^a
Ethanol	ND	7.40±1.15 ^f	27.22±1.97 ^c	63.51±2.41 ^b	
t value		-3.757 [*]	-7.999 ^{**}	-17.758 ^{****}	
P value		0.0198	0.0013	<0.0001	

¹⁾Not detected.
²⁾Results are mean±SD of triplicate data.
³⁾Different letters within a total sample differ significantly ($P<0.05$).
^{*} $P<0.05$, ^{**} $P<0.01$, ^{****} $P<0.0001$.

열수 및 에탄올 추출물의 α-glucosidase 저해 활성을 제2형 당뇨병 치료제로 시판되고 있는 acarbose를 positive control로 하여 측정하였다(Table 4). 각각의 추출물은 농도 의존적으로 증가하였으며($P<0.05$), 5 mg/mL 농도의 열수 및 에탄올 추출물에서 45.19%와 88.14%로 에탄올 추출물의 저해 활성이 유의적으로 높게($P<0.001$) 나타났다. Xu 등(44)은 총페놀 함량과 DPPH radical 소거능이 높을수록 α-glucosidase 활성이 높다고 보고하여 본 연구 결과와 유사한 경향이였다. Kwon 등(35)은 환류냉각 및 저온고압 쇄비름 추출물 0.5 mg/mL에서의 α-glucosidase 저해 활성을 18.23~48.90%로 보고하여 급격한 혈당 증가를 예방할 수 있는 기능성 소재로서의 가능성을 보고하였다. 이상에서와 같이 모링가 잎 추출물은 탄수화물 소화 과정에서 α-glucosidase에 의한 포도당 등 단당류의 생성을 저해하여 식후 급격한 혈당 상승을 효과적으로 제어할 수 있을 것으로 생각한다.

Alcohol 분해 활성(ADH, ALDH)

모링가 추출물의 숙취 해소능을 알아보기 위해서 체내 알코올 대사의 1차 효소인 ADH 활성 및 acetaldehyde를 분해하는 ALDH 활성에 대한 모링가 열수 및 에탄올 추출물의 영향을 알코올 분해와 숙취에 효과가 있는 것으로 보고된 Hepos를 positive control로 하여 분석하였다. 체내에서 흡수된 알코올의 분해 시 생성되는 대사산물인 acetaldehyde는 숙취의 주 원인물질인데, ADH의 활성화는 혈중 알코올 농도를 빠르게 감소시킬 수는 있지만 간이나 혈액에 잔존하는 acetaldehyde는 계속 축적되어 심한 숙취를 유발할 가능성이 있다. 따라서 본 연구에서는 ADH 및 ALDH 두 가지 효소 모두에 미치는 모링가 열수 및 에탄올 추출물의 영향을 분석하였으며, 그 결과(Table 5, 6) 각각의 추출물은 농도 의존적으로 증가하였다($P<0.05$). 5 mg/mL 농도의 열수 및 에탄올 추출물에서의 ADH 활성은 각각 184.36%와 322.37($P<0.0001$), ALDH 활성은 각각 165.69%와 298.63%($P<0.001$)로 두 가지 효소 모두 Hepos보다 유의적으로 높게

Table 4. Inhibitory effects (%) of moringa (*Moringa oleifera* Lam.) leaf extracts on α-glucosidase activity

Extracts	Concentration (mg/mL)				Acarbose ¹⁾ 0.5
	0.25	0.5	1	5	
Hot water	18.16±3.27 ^{g2)3)}	30.72±1.75 ^f	37.78±3.98 ^{ef}	45.19±3.95 ^d	62.03±1.29 ^b
Ethanol	35.12±4.39 ^f	43.49±2.79 ^{de}	52.46±5.08 ^c	88.14±1.05 ^a	
t value	-4.375 [*]	-5.482 ^{**}	-3.219 [*]	-14.877 ^{***}	
P value	0.0119	0.0054	0.0323	0.0001	

¹⁾Acarbose is used as positive control.
²⁾Results are mean±SD of triplicate data.
³⁾Different letters within a total sample differ significantly ($P<0.05$).
^{*} $P<0.05$, ^{**} $P<0.01$, ^{***} $P<0.001$.

Table 5. Effects (%) of moringa (*Moringa oleifera* Lam.) leaf extracts on the alcohol dehydrogenase (ADH)

Extracts	Concentration (mg/mL)				Hepos ¹⁾
	0.5	1	5	10	
Hot water	108.87±4.84 ^{h2)3)}	121.23±8.00 ^g	184.36±1.48 ^d	288.81±4.39 ^c	181.67±2.73 ^d
Ethanol	132.98±1.27 ^f	160.09±3.22 ^e	322.37±7.22 ^b	449.90±5.43 ^a	
t value	-6.818 ^{**}	-6.370 ^{**}	-26.494 ^{****}	-32.632 ^{****}	
P value	0.0024	0.0031	<0.0001	<0.0001	

¹⁾Hepos (50%) is used as positive control.
²⁾Results are mean±SD of triplicate data.
³⁾Different letters within a total sample differ significantly ($P<0.05$).
^{**} $P<0.01$, ^{****} $P<0.0001$.

Table 6. Effects (%) of moringa (*Moringa oleifera* Lam.) leaf extracts on the acetaldehyde dehydrogenase (ALDH)

Extracts	Concentration (mg/mL)				
	0.5	1	5	10	Hepos ¹⁾
Hot water	97.93±0.96 ^{a2)3)}	109.89±0.62 ^c	165.69±10.37 ^{ef}	215.56±4.94 ^d	161.98±5.06 ^b
Ethanol	116.57±2.48 ^f	145.25±6.35 ^{de}	298.63±13.43 ^c	532.99±19.91 ^a	
t value	-9.926 ^{***}	-7.835 ^{**}	-11.078 ^{***}	-21.883 ^{****}	
P value	0.0006	0.0014	0.0004	<0.0001	

¹⁾Hepos (50%) is used as positive control.

²⁾Results are mean±SD of triplicate data.

³⁾Different letters within a total sample differ significantly ($P<0.05$).

** $P<0.01$, *** $P<0.001$, **** $P<0.0001$.

나타났다. 한편 Kim 등(45)은 믹서에 간 콩나물 여과액의 ADH 활성을 157.19%로 보고하였고, Kim 등(46)은 헛개나무 열수 추출물의 농도가 증가할수록 효소 활성이 증가하나 부위(열매, 잎, 줄기) 및 분쇄 정도와 추출시간에 따라 차이가 있다고 보고하였다.

만성적으로 다량의 음주를 하는 알코올 중독자의 15% 정도만이 알코올성 간경변증에 이른다 알려져 있는데, 이는 과량의 음주만이 알코올성 간경변증을 유발하는 필요충분조건이 아니라는 것을 의미한다(47). 천연물의 알코올 분해 활성에 관한 연구로는 약용식물의 알코올 분해효소 활성에 관한 연구(48) 및 헛개나무 추출물의 알코올 분해 효과(46) 등이 있다. 모링가 잎 추출물에 대한 알코올 분해 활성을 측정하는 연구는 미흡한 실정으로, 본 연구 결과 모링가 잎 추출물의 알코올 분해 활성이 우수한 것으로 나타났기에 숙취 해소를 위한 기능성 소재 개발의 기초자료로 제공될 수 있을 것으로 생각한다.

Cell viability 및 NO assay

MTT 분석을 통해 세포독성 실험을 수행한 결과(Fig. 1A), 100~1,000 µg/mL의 모링가 열수 및 에탄올 추출물로 처리된 대식세포의 세포생존율이 각각 102.00~85.33%와 115.67~88.33%로 LPS 처리군(83.67%)보다 유의적으로 높게 나타났다($P<0.05$). 그러나 Lee와 Chang(4)은 스키랑카산 모링가 잎 추출물 0~400 µg/mL의 농도에서 86.7~100%의 생존율을 보였으나 800 µg/mL에서는 64.0%의 생존율을 보여 독성이 있는 것으로 보고한 결과와는 차이가 있었는데, 이는 모링가 산지 및 추출용매의 차이에 따른 결과라 생각한다.

L-Arginine의 guanidino nitrogen으로부터 NOS에 의해 생성된 NO(49)는 과도할 경우 조직과 신경손상 및 염증과 유전자 변이를 유발한다(18). 모링가 잎 추출물의 항염증 효과를 알아보기 위하여 대장균의 LPS를 대식세포에 처리하여 NO를 유도한 후 MTT 분석을 통해 확인한 세포독성이 거의 없는 범위(100~1,000 µg/mL)의 모링가 열수 및 에탄올 추출물을 대식세포에 처리하여 각 추출물이 NO 활성에 미치는 영향을 분석하였다(Fig. 1B). LPS에 의해 유도된 대식세포의 NO 합성은 각 추출물 모두 농도 의존적으로 감소하였는데($P<0.05$), 1,000 µg/mL 농도의 열수 및 에탄올 추

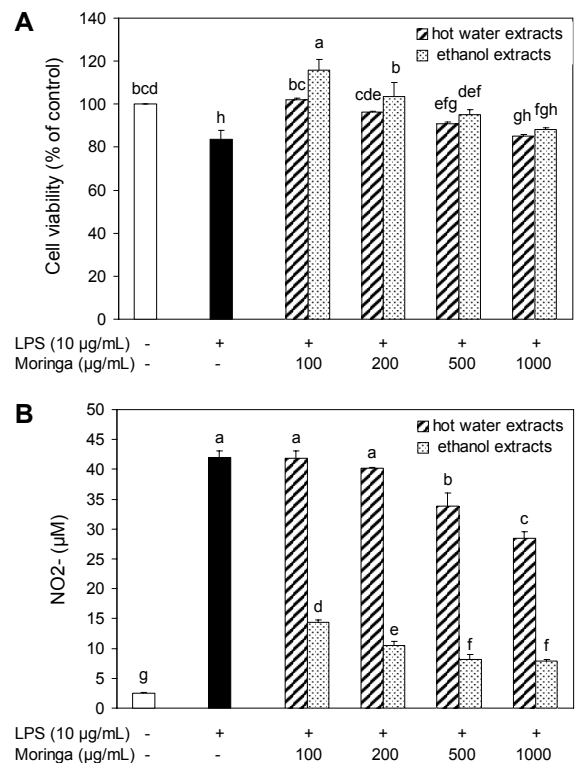


Fig. 1. Effects of moringa (*Moringa oleifera* Lam.) leaf extracts on cell viability (A) and NO synthesis (B) in bacterial LPS-stimulated RAW264.7 cells. RAW264.7 cells were cultured for 24 h with various concentration of PBE in the presence of LPS (10 µg/mL). NO release was measured using the method of Griess (nitrite). Cytotoxicity was determined by MTT assay. Results are mean±SD of triplicate data. Different letters within a total sample differ significantly ($P<0.05$).

출물에서의 NO 합성은 28.50%와 7.90%로 LPS 처리군(41.96%)보다 각각 32.1%와 81.2% 현저히 감소하였다($P<0.05$). 이러한 결과로 NO 생성량의 변화는 세포독성에 의한 영향과는 무관하다는 것을 확인할 수 있었으며, 모링가 잎 추출물은 항염증 효능이 높은 것으로 생각한다.

간세포 보호 효과

Hep3B 간암 세포를 이용하여 모링가 잎 추출물의 간세포 보호 효과를 *in vitro* assay로 확인하였다. 본 연구에서는 tacrine으로 독성을 유발한 간암세포 유래의 Hep3B 세포주

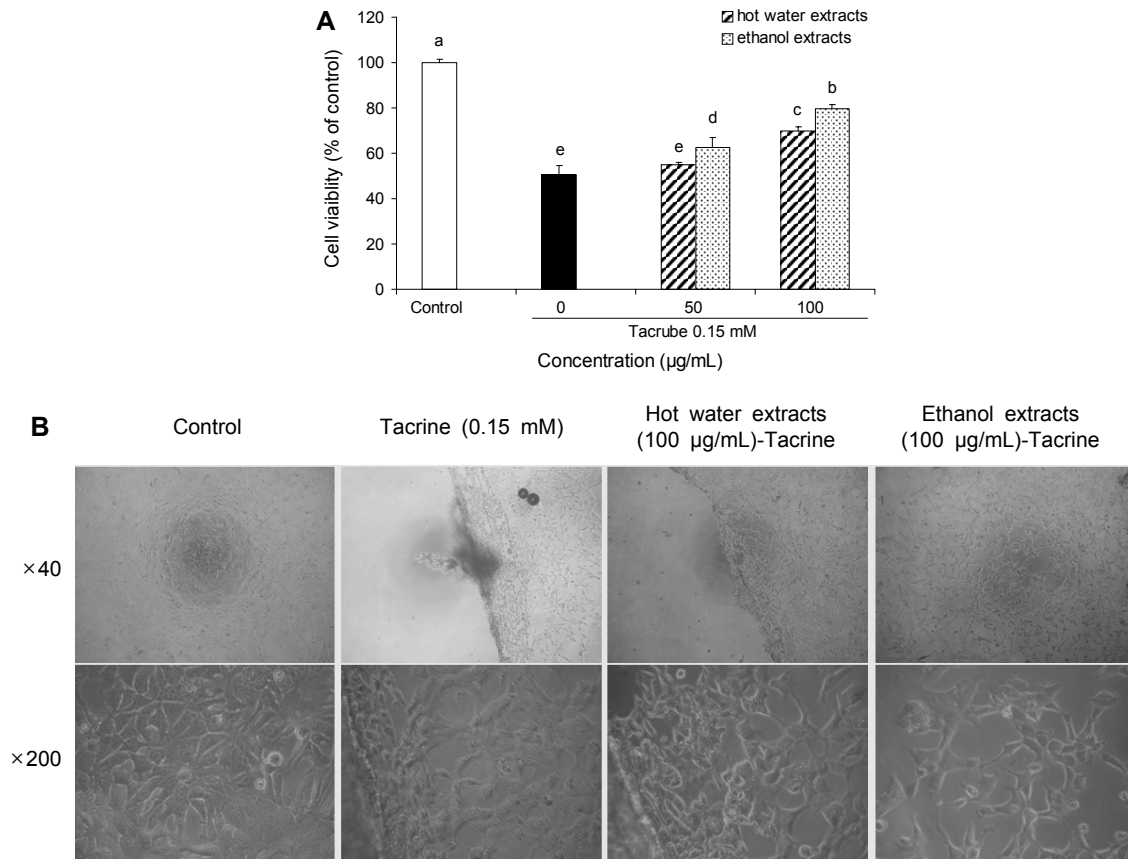


Fig. 2. Hepatoprotective effects of moringa (*Moringa oleifera* Lam.) leaf extracts against tacrine-induced cytotoxicity in Hep3B cells. (A) Cytotoxicity was assessed after 5 h with 0.15 mM of tacrine in RPMI medium. Results are mean±SD of triplicate data. Different letters within a total sample differ significantly ($P<0.05$). (B) Morphological change by moringa (*Moringa oleifera* Lam.) leaf extracts on Hep3B as examined by inverted microscope.

를 대상으로 모링가 잎 추출물의 세포생존율에 대한 증가 여부를 관찰하여 간암 세포주에 미치는 독성 및 간 보호 효과를 확인하였다. Tacrine만을 처리하였을 때의 세포생존율은 50.63%였으나 100 µg/mL 농도의 모링가 열수 및 에탄올 추출물과 tacrine을 함께 처리하였을 때의 세포생존율은 각각 69.96%와 79.49%로 tacrine만을 처리했을 때보다 세포의 생장이 유의적으로 증가하였음을 확인하였다($P<0.05$, Fig. 2A). 따라서 모링가 잎 추출물이 독성에 의한 간세포 손상에 대해 보호 효과가 있는 것으로 판단된다.

Tacrine과 모링가 잎 추출물이 간암 세포주에 미치는 영향을 세포 모양으로 확인한 결과(Fig. 2B), tacrine만을 처리한 경우보다 모링가 잎 추출물과 tacrine을 함께 처리하였을 때의 세포 모양이 대조군의 세포와 비슷한 모양을 나타낸 것을 확인할 수 있었다.

요 약

본 연구에서는 비타민과 단백질이 풍부하여 높은 영양가를 가지고 있으며, 콜레스테롤 제거 및 간 손상 방지와 염증, 심장병 등의 치료 효과가 있는 것으로 알려진 모링가 잎 추

출물의 새로운 소재로서의 가능성을 검토하고자 항산화 활성과 항당뇨, 항염증 및 알코올분해능을 탐색하였다. 모링가 열수 및 에탄올 추출물의 총페놀 함량은 각각 45.49와 63.06 mg TAE/g으로 나타났다. 1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl radical 소거능은 1 mg/mL 농도의 열수 및 에탄올 추출물에서 각각 60.81%와 71.29%로 에탄올 추출물의 소거능이 높게 나타났다. 모링가 열수 및 에탄올 추출물의 superoxide dismutase 유사 활성은 농도 의존적으로 증가하였으며, 5 mg/mL 농도의 열수 및 에탄올 추출물에서 각각 2.82%와 7.40%로 에탄올 추출물의 활성이 높은 것으로 나타났다. 모링가 추출물의 혈당 강하 효과를 확인하기 위해 실시한 α -glucosidase 활성 억제 효과는 5 mg/mL 농도의 열수 및 에탄올 추출물에서 45.19%와 88.14%로 에탄올 추출물의 저해 활성이 유의적으로 높게 나타났다. 숙취 해소능을 알아보기 위해 alcohol dehydrogenase 및 acetaldehyde dehydrogenase 활성을 측정된 결과 두 효소 모두 모링가 열수 및 에탄올 추출물의 농도에 의존적으로 증가하였다. Lipopolysaccharide(LPS)에 의하여 유도된 NO 합성은 열수 및 에탄올 추출물 1 mg/mL 농도에서 28.50%와 7.90%로 LPS 처리군(41.96%)보다 각각 32.1%와 81.2% 현저히 감소하

였으며, 모링가 열수 및 에탄올 추출물이 tacrine으로 유도된 Hep3B 간암 세포주에 대하여 유의적인 보호 활성을 나타냈다. 이상의 결과에서와 같이 모링가 잎 열수 및 에탄올 추출물은 우수한 항당뇨, 항염증, 숙취 해소 효과 및 간세포 보호 효과가 있는 것으로 나타났기에 기능성 소재로서의 활용도가 높을 것으로 판단된다.

REFERENCES

- Anwar F, Latif S, Ashraf M, Gilani AH. 2007. *Moringa oleifera*: a food plant with multiple medicinal uses. *Phytother Res* 21: 17-25.
- Somali MA, Bajneid MA, Al-Fhaimani SS. 1984. Chemical composition and characteristics of *Moringa peregrina* seeds and seed oil. *J Am Oil Chem Soc* 61: 85-86.
- Morton JF. 1991. The horseradish tree, *Moringa pterigospema* (Moringaceae)—A boon to arid lands?. *Econ Bot* 45: 318-333.
- Lee HJ, Chang YC. 2012. Suppression of TNF- α -induced inflammation by extract from different parts of *Moringa* in HaCaT cells. *J Life Sci* 22: 1254-1260.
- Sreelatha S, Jeyachitra A, Padma PR. 2011. Antiproliferation and induction of apoptosis by *Moringa oleifera* leaf extract on human cancer cells. *Food Chem Toxicol* 49: 1270-1275.
- Guevara AP, Vargas C, Sakurai H, Fujiwara Y, Hashimoto K, Maoka T, Kozuka M, Ito Y, Tokuda H, Nishino H. 1999. An antitumor promoter from *Moringa oleifera* Lam. *Mutat Res* 440: 181-188.
- Hamza AA. 2010. Ameliorative effects of *Moringa oleifera* Lam seed extract on liver fibrosis in rats. *Food Chem Toxicol* 48: 345-355.
- Ghasi S, Nwobodo E, Ofili JO. 2000. Hypocholesterolemic effects of crude extract of leaf of *Moringa oleifera* Lam in high-fat diet fed wistar rats. *J Ethnopharmacol* 69: 21-25.
- Okuda T, Baes AU, Nishijima W, Okada M. 2001. Coagulation mechanism of salt solution-extracted active component in *Moringa oleifera* seeds. *Water Res* 35: 830-834.
- Ndhkala AR, Mulaudzi R, Ncube B, Abdelgadir HA, du Plooy CP, Van Staden J. 2014. Antioxidant, antimicrobial and phytochemical variations in thirteen *Moringa oleifera* Lam. cultivars. *Molecules* 19: 10480-10494.
- Park SH, Chang YC. 2012. Anti-fibrotic effects by moringa root extract in rat kidney fibroblast. *J Life Sci* 22: 1371-1377.
- Cho HJ, Chang YC. 2014. Extract of moringa root inhibits PMA-induced invasion of breast cancer cells. *J Life Sci* 24: 8-13.
- Thakur S, Verma A. 2013. Antihistaminic effect of *Moringa oleifera* seed extract. *Int J Pharm Res Allied Sci* 2: 56-59.
- Abdull RAF, Ibrahim MD, Kntayya SB. 2014. Health benefits of *Moringa oleifera*. *Asian Pac J Cancer Prev* 15: 8571-8576.
- Lee DH, Han JM, Yang WM. 2015. The effects of *Atractylodes japonica* Koidz. on type 2 diabetic rats. *J Korean Med* 36: 75-85.
- Peters TJ. 1982. Ethanol metabolism. *Br Med Bull* 38: 17-20.
- Chu CJ, Hsiao CC, Wang TF, Chan CY, Lee FY, Chang FY, Chen YC, Huang HC, Wang SS, Lee SD. 2005. Prostaglandin inhibition by indomethacin aggravates hepatic damage and encephalopathy in rats with thioacetamide-induced fulminant hepatic failure. *World J Gastroenterol* 11: 232-236.
- Yun HY, Dawson VL, Dawson TM. 1996. Neurobiology of nitric oxide. *Crit Rev Neurobiol* 10: 291-316.
- Weisz A, Cicatiello I, Esumi H. 1996. Regulation of the mouse inducible-type nitric oxide synthase gene promoter by interferon-gamma, bacterial lipopolysaccharide and NG-monomethyl-L-arginine. *Biochem J* 316: 209-215.
- Singleton VL, Orthofer R, Lamuela-Raventos RM. 1999. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. *Methods Enzymol* 299: 152-178.
- Blois MS. 1958. Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature* 181: 1199-1200.
- Marklund S, Marklund G. 1975. Involvement of the superoxide anion radical in the autoxidation of pyrogallol and a convenient assay for superoxide dismutase. *Eur J Biochem* 47: 468-474.
- Watanabe J, Kawabata J, Kurihara H, Niki R. 1997. Isolation and identification of alpha-glucosidase inhibitors from tochu-cha (*Eucommia ulmoides*). *Biosci Biotechnol Biochem* 61: 177-178.
- Choi JT, Joo HK, Lee SK. 1995. The effect of Schizandrae fructus extract on alcohol fermentation and enzyme activities of *Saccharomyces cerevisiae*. *J Korean Soc Agric Chem Biotechnol* 38: 278-282.
- Racker E. 1955. Alcohol dehydrogenase from baker's yeast. *Methods Enzymol* 1: 500-503.
- Koivula T, Koivusalo M. 1975. Different forms of rat liver aldehyde dehydrogenase and their subcellular distribution. *Biochim Biophys Acta* 397: 9-23.
- Marletta MA. 1993. Nitric oxide synthase structure and mechanism. *J Biol Chem* 268: 12231-12234.
- Sato M, Ramarathnam N, Suzuki Y, Ohkubo T, Takeuchi M, Ochi H. 1996. Varietal differences in the phenolic content and superoxide radical scavenging potential of wines from different sources. *J Agric Food Chem* 44: 37-41.
- Moyo B, Oyedemi S, Masika PJ, Muchenje V. 2012. Polyphenolic content and antioxidant properties of *Moringa oleifera* leaf extracts and enzymatic activity of liver from goats supplemented with *Moringa oleifera* leaves/sunflower seed cake. *Meat Sci* 91: 441-447.
- Siddhuraju P, Becker K. 2003. Antioxidant properties of various solvent extracts of total phenolic constituents from three different agroclimatic origins of drumstick tree (*Moringa oleifera* Lam.) leaves. *J Agric Food Chem* 51: 2144-2155.
- Verma AR, Vijayakumar M, Mathela CS, Rao CV. 2009. *In vitro* and *in vivo* antioxidant properties of different fractions of *Moringa oleifera* leaves. *Food Chem Toxicol* 47: 2196-2201.
- Kwon YR, Youn KS. 2014. Antioxidant activity and physiological properties of *Moringa oleifera* (Lam.) leaves extracts with different solvents. *Korean J Food Preserv* 21: 831-837.
- Iqbal S, Bhangar MI. 2006. Effect of season and production location on antioxidant activity of *Moringa oleifera* leaves grown in Pakistan. *J Food Compos Anal* 19: 544-551.
- Jeong HJ, Lee SG, Lee EJ, Park W, Kim JB, Kim HJ. 2010. Antioxidant activity and anti-hyperglycemic activity of medicinal herbal extracts according to extraction methods. *Korean J Food Sci Technol* 42: 571-577.
- Kwon YR, Cho SM, Hwang SP, Kwon GM, Kim JW, Youn KS. 2014. Antioxidant, physiological activities, and acetylcholinesterase inhibitory activity of *Portulaca oleracea* ex-

- tracts with different extraction methods. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 43: 389-396.
36. Han KI, Kim M, Jo BK, Kim MJ, Kang MJ, Park K, Koo Y, Kim B, Jung EG, Han MD. 2015. Antimicrobial and antioxidative activities of the extracts from walnut (*Juglans regia* L) green husk. *J Life Sci* 25: 433-440.
 37. Kim SM, Cho YS, Sung SK, Lee IG, Lee SH, Kim DG. 2002. Antioxidative and nitrite scavenging activity of pine needle and green tea extracts. *Korean J Food Sci Ani Resour* 22: 13-19.
 38. Ko MS, Lee HJ, Kang MJ. 2012. Antioxidant activities and whitening effects of extracts from *Hippolhae rhamnoides* L.. *J East Asian Soc Diet Life* 22: 812-817.
 39. Kim KM, Park MH, Kim KH, Im SH, Park YH, Kim YN. 2009. Analysis of chemical composition and *in vitro* antioxidant properties of extracts from Sea Buckthorn (*Hippolhae rhamnoides*). *J Appl Biol Chem* 52: 58-64.
 40. Heo SJ, Park EJ, Lee KW, Jeon YJ. 2005. Antioxidant activities of enzymatic extracts from brown seaweeds. *Biore-source Technol* 96: 1613-1623.
 41. Han JH, Moon HK, Chung SK, Kang WW. 2015. Comparison of physiological activities of radish bud (*Raphanus sativus* L.) according to extraction solvent and sprouting period. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 44: 549-556.
 42. Kim HK, Han HS, Lee GD, Kim KH. 2005. Physiological activities of fresh *Pleurotus eryngii* extracts. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 34: 439-445.
 43. Nam SM, Kang IJ, Shin MH. 2015. Anti-diabetic and antioxidative activities of extracts from *Crataegus pinnatifida*. *J East Asian Soc Diet Life* 25: 270-277.
 44. Xu ML, Hu JH, Wang L, Kim HS, Jin CW, Cho DH. 2010. Antioxidant and anti-diabetes activity of extracts from *Machilus thunbergii* S. et Z.. *Korean J Med Crop Sci* 18: 34-39.
 45. Kim KM, Jung HJ, Sung HM, Wee JH, Kim TY, Kim KM. 2014. Study of the antioxidant and alcohol-degrading enzyme activities of soybean sprout sugar solutions. *Korean J Food Sci Technol* 46: 581-587.
 46. Kim SM, Kang SH, Ma JY, Kim JH. 2006. A study on the extraction and efficacy of bioactive compound from *Hovenia dulcis*. *Korean J Biotechnol Bioeng* 21: 11-15.
 47. Kee JY, Kim MO, You IY, Chai JY, Hong ES, An SC, Kim H, Park SM, Youn SJ, Chae HB. 2003. Effects of genetic polymorphisms of ethanol-metabolizing enzymes on alcohol drinking behaviors. *Korean J Hepatol* 9: 89-97.
 48. Lee KS, Kim GH, Seong BJ, Kim HH, Kim MY, Kim MR. 2009. Effects of aqueous medicinal herb extracts and aqueous fermented extracts on alcohol-metabolizing enzyme activities. *Korean J Food Preserv* 16: 259-265.
 49. Lugnier C, Keravis T, Eckly-Michel A. 1999. Cross talk between NO and cyclic nucleotide phosphodiesterases in the modulation of signal transduction in blood vessel. *J Physiol Pharmacol* 50: 639-652.