

## Antioxidant and Antidiabetic Activities of Jerusalem Artichoke Composites Containing *Gynura procumbens*, *Momordica charantia*, and *Curcuma longa* via AMPK Activation

Soo-Jung Lee<sup>1</sup>, Wen-Si Hu<sup>2</sup>, Jae-Ho Pyo<sup>3</sup>, Ji Hyeon Ryu<sup>4</sup>, Dawon Kang<sup>4</sup>, Bo-Young Jeong<sup>1,2</sup> and Nak-Ju Sung<sup>2,5\*</sup>

<sup>1</sup>Institute of Agriculture and Life Science, Gyeongsang National University, Jinju 52828, Korea

<sup>2</sup>Department of Food Science and Nutrition, Gyeongsang National University, Jinju 52828, Korea

<sup>3</sup>Sancheong of Functional Bean Farming Union Corporation, Sancheong-Gun 52233, Korea

<sup>4</sup>Department of Physiology, College of Medicine, Gyeongsang National University, Jinju 52727, Korea

<sup>5</sup>Research Institute of Natural Science, Gyeongsang National University, Jinju 52828, Korea

Received August 22, 2017 / Revised September 26, 2017 / Accepted October 9, 2017

This study was performed to identify the antioxidant and  $\alpha$ -glucosidase inhibitory activities of water and 70% ethanol extracts of the three following herbs: *G. procumbens*, *M. charantia*, and *C. longa*. In addition, the antioxidant and antidiabetic activities of five types of Jerusalem artichoke composites (JA1 - 5), which were prepared by adding ethanol extracts of several herbs to Jerusalem artichoke concentrate, were studied and compared. The results showed that the total phenol and flavonoid contents of the ethanol extracts were higher than those of the water extracts. The DPPH and ABTS radical scavenging activities and reducing power depended on the total phenol and flavonoid contents. The antioxidant activities of ethanol extracts from *G. procumbens* and *C. longa* were comparable. Moreover, the  $\alpha$ -glucosidase inhibitory activity of the ethanol extracts (2,000  $\mu$ g/ml) from each herb was found to be over 50%. In contrast, the five types of JA composites showed higher total phenol and flavonoid contents than those of JA concentrate. In addition, increased antioxidant and  $\alpha$ -glucosidase inhibitory activities were observed, with that of JA1 being the highest. However, all concentrations (1~100  $\mu$ g/ml) of JA tested did not affect the cell viability of Chang cells. In addition, JA induced the activation of AMP-activated protein kinase (AMPK) in Chang cells and significantly increased the glucose uptake in C2C12 cells. Therefore, it could be concluded that the JA composites (JA1 - 5) mixed with *G. procumbens*, *M. charantia*, and *C. longa* extracts were effective in increasing the extracts' antioxidant and antidiabetic activities.

**Key words** : Antioxidant, antidiabetes, *Gynura procumbens*, Jerusalem artichoke

### 서 론

복잡하고 불규칙한 현대인의 생활습관, 환경오염과 더불어 육류의 섭취 증가에 의한 식생활 패턴 변화는 생체 내 항산화 기작을 점진적으로 저하시켜 만성적인 퇴행성 질환을 초래하게 한다. 특히 당뇨병은 인슐린 분비이상에 의한 혈당 조절 불균형으로 야기되는 대사성 질환으로, 식후 급격한 혈당 상승과 만성적인 고혈당 현상이 망막, 신장 및 심혈관계 등에 합병증을 유발시키게 된다[2]. 고혈당은 체내 활성산소종

(reactive oxygen species, ROS)의 과다 생성과 증가된 산화적 스트레스로 인해 당뇨병의 합병증 발병이 빨라지는데 원인이 되므로 이러한 합병증의 예방과 질환의 악화 방지에 관심이 높아지고 있으며, 특히 제 2형 당뇨병의 경우 대부분이 생체 내 산화적 스트레스의 경감 및 혈당강하 활성을 가진 식물류를 이용한 대체 식이요법에 의존도가 높은 실정이다.

당뇨병의 약물요법으로 이용되는 경구 혈당강하제는 부작용이나 경제적인 이유로 점차 천연식물 소재로 전환되는 경향이 있으며, 이와 관련하여 다양한 천연 식물자원으로부터 항당뇨 활성을 구명하기 위한 연구가 수행되고 있다. 더욱이 천연 식물류의 경우 항산화와 항당뇨 기작의 관련성이 높다는 연구 결과가 다수 보고된 바 있는데[18, 35], 특히 천연 소재의 다양한 생리활성은 시료 자체의 생리활성을 기본으로 하며[32], 단일 원료보다는 여러 원료가 혼합될 경우 그 효과가 상승되는 것으로 알려져 있다[7].

Adenosine 5'-monophosphate (AMP)-activated protein kinase (AMPK) 활성화는 간 세포에서 콜레스테롤과 지방산

#### \*Corresponding author

Tel : +82-55-772-1431, Fax : +82-55-772-1439

E-mail : [snakju@gnu.ac.kr](mailto:snakju@gnu.ac.kr)

This is an Open-Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

합성 및 당신생 합성을 억제시키고, 골격근에서는 지방산 산화 및 당 유입(glucose uptake)을 촉진하며, 췌장 β-세포에서 인슐린의 분비를 촉진시키게 된다[49]. 따라서 AMPK 활성화는 제2형 당뇨병의 치료제 개발을 위한 표적으로 활용되고 있다[56].

전통적으로 돼지감자, 명월초, 여주 및 울금은 혈당 조절을 위해 민간요법에서 자주 사용되어 온 식물이며, 돼지감자는 우리나라의 기후조건에서 생장이 잘 되며, 전국 각지에서 재배되거나 자생되고 있는 작물이다. 주성분은 난소화성 당류로써 이눌린이 건물 중량의 약 75% 함유되어 있으며[29], 이 성분에 의해 돼지감자는 비만 개선, 중성지방 감소 및 대장암 발생 감소 등에 효과적이며[23] 혈당강하 효능도 보고된 바 있다[26, 29]. 명월초(*Gynura procumbens*)는 국화과에 속하는 다년생 식물로써 항당뇨[57], 항산화[46] 활성이 있으며, 유효 성분으로 kaempferol이 알려져 있다[9]. 여주(*Momordica charantia* L., bitter melon)는 생체 내 인슐린과 유사작용을 하는 펩타이드의 일종인 식물 인슐린이 간 조직에서 포도당의 연소를 도우며, 유효성분으로 카란틴(charantin)이 췌장 기능을 활성화시키므로써 혈당강하에 효과적인 것으로 알려져 있어[50], 당뇨병자의 약 30%에서 대체 식이로 이용되고 있는 식물이다[20]. 울금(*Curcuma longa*)은 고혈당으로 인한 산화적 스트레스와 염증반응 시 유효성분인 커큐민(curcumin)에 의해 신장질환의 발병과 관련된 유전자 발현 증가가 억제됨으로써 당뇨 합병증의 지연 효능이 있으며[14], *db/db* 비만 마우스에서 혈당 및 당화헤모글로빈의 함량을 저하시킴으로써 제 2형 당뇨병의 진행을 늦추는 효과가 있다[25].

노인 인구의 증가와 함께 현재 우리나라 30대 이상 성인 중 약 11%에서 당뇨병 진단과 당뇨로 인한 입원율이 OECD 평균의 2배 이상이라는 보고[18]로 볼 때 당뇨병의 치료 및 합병증 예방을 위해 부작용이 없는 천연 식물의 지속적인 확보는 절실하며[33, 43] 단일 소재보다는 여러 소재의 혼합에 따른 복합물의 생리활성이 증대됨으로써 이와 관련된 연구는 증가되는 추세에 있다[53]. 따라서 본 연구는 명월초, 여주 및 울금을 이용하여 *in vitro*에서 항산화 및 α-glucosidase 저해 활성을 확인하고, 돼지감자 농축액에 대한 최적 혼합비를 선정함으로써 항산화 및 항당뇨 활성이 증대된 돼지감자 복합물을 제조하고자 수행되었다.

## 재료 및 방법

### 추출물 및 돼지감자 복합물의 제조

명월초, 여주 및 울금은 건조 상태의 시료를 구입하여 100~150 mesh로 분쇄한 후 시료 20 g에 대해 10배의 물 및 70% 에탄올을 각각 가한 후 60℃에서 6시간씩 2회 반복 추출하여 여과한 후(Whatman No. 6, Whatman International Ltd., Maidstone, England) 회전식 진공증발농축기로 완전 건조시

Table 1. Mixing ratio for the different herb ethanol extracts and Jerusalem artichoke concentrate (%)

Composites*	Ethanol extracts			Jerusalem artichoke concentrate
	G. <i>procumbens</i>	M. <i>charantia</i>	C. <i>longa</i>	
JA1	50	12.5	12.5	25
JA2	25	12.5	25	12.5
JA3	25	12.5	12.5	50
JA4	12.5	12.5	25	50
JA5	12.5	25	12.5	50

\*Each extracts and concentrate were mixed with 1,000 µg/ml concentration.

켰다. 돼지감자 농축액(60 brix)은 산청기능성콩영농조합법인에서 시판되는 것을 구입하여 사용하였다. 명월초, 여주 및 울금 추출물의 추출 수율은 물 및 70% 에탄올 추출 전·후 시료의 중량비(%)로 계산하였으며, 이때 수율은 명월초, 여주 및 울금의 물 추출물에서 각각 11.56%, 19.54% 및 13.73%였으며, 에탄올 추출물에서는 30.70%, 24.72% 및 11.95%였다.

돼지감자 복합물은 돼지감자 농축액에 명월초, 여주 및 울금 에탄올 추출물의 혼합비를 달리하여 Table 1과 같이 5종을 제조하였다.

### 총 페놀 및 플라보노이드 함량 측정

시료 추출물 및 복합물의 총 페놀 함량은 Folin-Denis법[10]에 따라 시료액 1 ml에 Folin-Ciocalteu (Sigma-Aldrich Co., St. Louis, MO, USA)시약 및 10% Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>용액을 각각 1 ml씩 차례로 가하여 5초간 혼합한 후 실온의 암실에서 1시간 반응시켜 시료 무침가구를 대조로 하여 760 nm에서 흡광도를 측정하였다. 플라보노이드 함량은 Moreno 등[40]의 방법에 따라 상기의 시료액 1 ml에 10% aluminum nitrate 0.1 ml, 1 M potassium acetate 용액 0.1 ml, 80% ethanol 4.3 ml를 차례로 가하여 혼합한 후 실온의 암실에서 40분간 반응시켜 시료 무침가구를 대조로 하여 415 nm에서 흡광도를 측정하였다. 시료의 총 페놀 및 플라보노이드 함량은 표준품으로써 각각 gallic acid 및 quercetin을 사용하여 얻은 표준 검량선에 따라 계산하였다.

### 항산화 활성 측정

1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) 라디칼 소거활성은 5 mg/100 ml의 DPPH (Sigma-Aldrich Co.) 용액과 시료액을 100 µl씩 동량으로 혼합하여 반응시킨 후 517 nm에서 흡광도를 측정하였다[4]. 2,2'-azinobis-(3-ethyl-benzo-thiazoline-6-sulfonate) (ABTS, Sigma-Aldrich Co.) 라디칼 소거활성은 7 mM ABTS 용액에 potassium persulfate를 2.4 mM 되도록 용해시켜 냉암소에서 12~16시간 반응시킨 후 415 nm에서 1.5~1.6의 흡광도로 조절된 ABTS 기질용액을 사용하였다. 이 기질

용액 100  $\mu$ l에 시료 추출물 50  $\mu$ l를 혼합하여 실온에서 5분간 반응시킨 후 415 nm에서 흡광도를 측정하였다[47]. 라디칼 소거활성은 시료 무첨가구에 대한 시료 첨가구의 흡광도 비(%)로 계산하였다. Ferric-reducing antioxidant potential (FRAP) 법에 의한 환원력은 300 mM acetate 완충용액(pH 3.6), 10 mM의 2,4,6-tripyridyl-s-triazine (TPTZ, Sigma-Aldrich Co.) 용액 및 20 mM  $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  용액을 혼합한 기질용액을 37°C로 조정하여 사용하였다. 96 well plate에 시료 40  $\mu$ l, FRAP 기질용액 100  $\mu$ l 및 증류수 40  $\mu$ l를 차례로 가하여 잘 혼합한 다음 37°C에서 4분간 반응시켜 593 nm에서 흡광도를 측정하였으며, 시료의 환원력은  $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  (Sigma-Aldrich Co.)를 사용한 표준 검량선에 따라 계산하였다[3].

### $\alpha$ -Glucosidase 저해활성 측정

$\alpha$ -Glucosidase 저해활성은 0.1 M phosphate 완충액(pH 6.8)에 용해한 2.5 mM의  $\rho$ -nitrophenyl- $\alpha$ -D-glucopyranoside (Sigma-Aldrich Co.) 100  $\mu$ l, 0.2 U/ml의  $\alpha$ -glucosidase 및 시료액 50  $\mu$ l를 혼합하여 37°C에서 20분간 반응시켰다. 이어 0.1 M NaOH 100  $\mu$ l로 반응을 정지시킨 후 405 nm에서 흡광도를 측정하여 시료 무첨가구의 흡광도에 대한 비(%)로 계산하였다[1].

### 세포배양 및 세포독성 측정

인체 정상 간세포주인 Chang Liver (Chang) 및 생쥐 근육 세포주인 C2C12는 American Type Culture Collection (ATCC, Manassas, VA, USA)로부터 구입하였으며, 10% fetal bovine serum (FBS, Gibco, Grand Island, NY, USA) 및 penicillin (100 U/ml)/ streptomycin (100  $\mu$ g/ml, Gibco)이 포함된 Dulbecco's modified eagle medium (DMEM) 배지를 사용하여 37°C, 5%  $\text{CO}_2$ 조건 하에서 배양하였다. 세포독성 및 세포 생존율을 측정하기 위해 3-(4,5-dimethylthiazole-2-yl)-2,5-diphenyl tetrazolium bromide (MTT, Duchefa, Haarlem, The Netherlands)방법을 이용하였다. 세포 배양용 96-well plate에  $1 \times 10^4$  cells/ml로 세포를 분주하고 시료액을 처리하였다. 24시간 후 5 mg/ml의 MTT 용액을 처리한 후 37°C에서 3시간 동안 배양하여 반응을 유도하였으며, 100  $\mu$ l의 dimethyl sulfoxide (DMSO)를 첨가하여 형성된 formazan을 용해하여 570 nm에서 흡광도를 측정하였다[44].

### Western blotting

Chang 세포에 단백질가수분해효소 억제제가 포함된 RIPA lysis buffer를 첨가하여 단백질을 추출한 후 sodium dodecyl sulphate (SDS) polyacrylamide gel을 이용하여 분리하고 nitrocellulose membrane으로 electroblotting에 의해 전이시켰다. 그 후 membrane의 비 특이적 단백질에 대한 blocking을 위해 blocking buffer (5% skim milk)에서 1시간 동안 반응시

키고 수회 수세하였다. 준비된 membrane에 1차 항체인 phospho-AMPK- $\alpha$  및 AMPK- $\alpha$  (1:1,000 dilution, Cell Signaling Technology, Danvers, MA, USA)를 처리하여 4°C에서 overnight한 후 재차 수세하였다. 2차 항체(1:10,000 dilution, anti-rabbit antibody)를 처리하고 실온에서 1시간 반응시킨 후 enhanced chemiluminescence 용액(Dogen, Seoul, Korea)을 처리한 다음 암실에서 X-ray film에 감광시켜 단백질의 발현을 확인하였으며, ImageJ software (version 1.49, National Institute of Health, Bethesda, MD, USA)를 이용하여 단백질의 발현을 정량화하였다.

### Glucose uptake 측정

C2C12 근육세포에서 시료액에 의한 당 유입 활성을 확인하기 위해 glucose uptake Cell-Based Assay kit (Cayman, Ann Arbor, MI, USA)를 이용하였다. 96-well plate에  $3 \times 10^4$  cells/well로 세포를 분주하여 24시간 동안 배양하였다. Glucose가 포함되어 있지 않은 DMEM에 각 시료액 및 fluorescent 2-[N-(7-nitrobenz-2-oxa 1,3-diazol-4-yl) amino]-2-deoxy (2-NBDG; Invitrogen, Carlsbad, CA, USA)를 조제하였으며, 이를 세포에 처리하여 3시간 동안 반응시켰다. 이를 400 $\times$  g에서 5분간 원심분리하여 상층액을 조심스럽게 제거한 후, cell-based assay 완충액으로 세포를 2회 세척하였으며, 세포내로 유입되는 2-NBDG를 형광으로 측정하였다.

### 통계분석

본 실험에서 얻은 결과는 SPSS 12.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA) 통계 프로그램을 이용하여 평균 $\pm$ 표준편차로 표시하였고, 실험구별 유의성 검정은 Student t-test 및 일원배치 분산분석(one-way analysis of variance)을 한 후 유의수준  $p < 0.05$  수준에서 Duncan's multiple range tests로 사후검정을 하였다.

## 결과 및 고찰

### 명월초, 여주, 울금 추출물의 총 페놀 및 플라보노이드 함량

명월초, 여주, 울금의 물 및 에탄올 추출물에서 총 페놀 및 플라보노이드 함량을 측정된 결과는 Table 2와 같다. 에탄올 추출물은 물 추출물에 비해 더 많은 함량이었으며, 여주는 추출 용매에 따른 차이가 적었다. 물 추출물 중 명월초에서 총 페놀 및 플라보노이드 함량이 가장 많았으며, 에탄올 추출물에서는 울금에서 그 함량이 가장 많았다. 명월초와 여주 추출물에서 플라보노이드 함량은 총 페놀 함량에 대해 56.8~69.0%인 반면, 울금의 에탄올 추출물에서 플라보노이드 함량은 총 페놀 함량에 대해 1.6배 정도 많았다.

명월초 에탄올 추출물에서 총 페놀 함량은 16.08 mg/g, 플라보노이드 함량은 총 페놀 함량의 64.24%였다는 보고[22]는 본 연구결과와 유사한 경향이였다. 명월초를 다양한 용매로

Table 2. Total phenol and flavonoid contents in the water and ethanol extracts of *G. procumbens*, *M. charantia* and *C. longa*

	Total phenol (mg GAE/g)	Flavonoids (mg QE/g)	Flavonoids/ Total phenol (%)
<i>G. procumbens</i>			
Water ex.	29.97±0.04 <sup>C</sup>	20.66±0.08 <sup>C</sup>	68.9
Ethanol ex.	38.78±0.04 <sup>B</sup>	26.76±0.08 <sup>B</sup>	69.0
<i>M. charantia</i>			
Water ex.	18.56±0.26 <sup>A</sup>	10.73±0.08 <sup>A</sup>	57.8
Ethanol ex.	19.89±0.57 <sup>A</sup>	11.30±0.33 <sup>A</sup>	56.8
<i>C. longa</i>			
Water ex.	23.47±0.00 <sup>B</sup>	17.30±0.14 <sup>B</sup>	73.7
Ethanol ex.	43.56±0.31 <sup>C</sup>	67.85±0.33 <sup>C</sup>	155.8

Each value represents mean ± SD (n=4).

<sup>A-C</sup>Means with different superscript in the same column are significantly different at  $p < 0.05$ .

Total phenol and flavonoids contents of Jerusalem artichoke concentrate were 20.50 mg GAE/g and 16.61 mg QE/g, respectively.

분획하였을 때 에틸아세테이트 분획물의 항산화 활성이 부탄올 및 메탄올 분획물에 비해 높았는데, 이는 분획물의 총 페놀 화합물 함량에 비례적이었으며[48], 특히 항산화 활성과 관련된 있는 kaempferol-3-O-rutinoside 및 astragalinal의 함량이 많았기 때문이라고 고찰된 바 있다[11]. 한편 명월초의 물 추출물이 에탄올 추출물에 비해 총 페놀 함량이 적은 것은 에탄올 가용성의 페놀 화합물이 상대적으로 많았기 때문이라는 보고[15]와 유사한 것으로 사료된다.

여주의 70% 메탄올 추출물에서 총 페놀 및 플라보노이드 함량은 3.82% 및 2.22%였으며[6], 건조 여주의 50% 주정 추출물에서 총 페놀 함량은 11.23 mg GAE/g, 총 플라보노이드 함량은 9.79 mg rutin/g으로 보고된 바 있는데[1], 본 연구결과는 이보다 다소 높은 함량이었다. 울금의 에탄올 추출물에서 총 페놀 및 플라보노이드 함량은 각각 9.01% 및 6.88%였다는 보고가 있는데[45], 이는 본 연구 결과와 비교해 볼 때 총 페놀 함량은 2배 정도 높았으며, 플라보노이드 함량은 비슷한 수준이었다. 한편 미안마산 울금과 인도산 강황에서 총 페놀 함량은 각각 약 98.4 µg/mg과 85.7 µg/mg이었으며, 국내산 울금은 42.5 µg/mg으로 산지에 따른 시료간에 상당한 함량차를 보이나, 울금 및 강황류에서 항산화 활성은 시료 중 페놀 화합물의 함량에 의존적인 것으로 알려져 있다[21].

울금의 총 페놀 및 플라보노이드 함량은 에탄올 추출물이 물 추출물에 비해 더 많았으며, 플라보노이드 함량이 총 페놀 함량에 비해 7.8~34.3배 정도 높았는데, 물보다 에탄올에서 울금 특유의 색을 나타내는 curcumin류의 용출이 용이했기 때문이라고 보고되어 있다[42]. 이와 같이 본 연구에서 울금이

총 페놀에 비해 플라보노이드 함량이 더 많았다는 결과는 상기의 보고와 유사한 결과였다. 더욱이 명월초, 여주 및 울금은 총 페놀 함량에 대한 플라보노이드의 비율이 50% 이상인 것을 고려해 본다면 이들 시료의 생리활성이 플라보노이드 성분에 다소 의존적일 것으로 생각된다.

#### 명월초, 여주 및 울금 추출물의 항산화 활성

명월초, 여주 및 울금의 물과 70% 에탄올 추출물의 항산화 활성은 100~10,000 µg/ml의 농도범위에서 DPPH, ABTS 라디칼 소거활성과 환원력으로 측정하였으며, DPPH 및 ABTS 라디칼의 50% 소거 및 환원력으로써 FeSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O의 50 µM에 해당되는 시료 추출물의 함량(EC<sub>50</sub>)은 Table 3과 같다.

DPPH 라디칼 소거활성은 여주 및 울금의 경우 물 추출물에 비해 에탄올 추출물에서 유의적으로 높았으나, 명월초는 추출 용매에 따른 유의적인 차이가 없었다. 물 추출물에서는 명월초가 여주 및 울금에 비해 유의적으로 높았으나, 에탄올 추출물에서는 명월초와 울금의 활성이 비슷한 경향이였다. 특히 울금의 에탄올 추출물에서 EC<sub>50</sub>값은 물 추출물의 5.9%에 불과하여 울금 에탄올 추출물의 DPPH 라디칼 소거활성이 월등히 높은 것으로 판단된다. ABTS 라디칼 소거활성은 물 추출물에서 명월초가 유의적으로 높았으며, 에탄올 추출물에서는 명월초와 울금의 활성이 비슷한 경향이였다. 여주는 물 추출물에 비해 에탄올 추출물의 EC<sub>50</sub>값이 2배 정도 많아 물 추출물의 활성이 더 높았으며, 울금은 에탄올의 활성이 물 추출물에 비해 유의적으로 높았다. 환원력은 모든 시료의 EC<sub>50</sub>값이 물 추출물에 비해 에탄올 추출물에서 1.9~2.2배 정도 높았으며, 특히 명월초의 에탄올 추출물에서 환원력이 다소 높은 경향이였다.

명월초의 총 페놀 및 플라보노이드 함량은 DPPH 및 ABTS 라디칼 소거활성과의 상관관계가 0.9이상이었다는 보고가 있으며[22], 명월초의 DPPH 라디칼 소거활성[15], 여주의 라디칼 소거활성 및 환원력[39]은 에탄올 추출물이 물 추출물에 비해 우수한 것으로 보고된 바 있다. 여주의 총 페놀 및 플라보노이드성 물질은 ABTS 라디칼 소거활성에 긍정적인 영향을 미치며[5], 건조 여주의 50% 주정 추출물은 시료의 함량이 많아질수록 환원력이 증가되었다는 보고[1]는 본 연구와 일치하는 경향이였다. 또한 울금의 에탄올 추출물이 물 추출물에 비해 DPPH 라디칼 소거활성이 3배 높았다는 보고[51]도 본 연구와 잘 일치한 결과였다.

명월초의 에틸아세테이트 분획물은 low density lipoprotein (LDL)에 대한 항산화 활성이 우수하였는데, 이는 시료 중 astragalinal, isoquercetin, kaempferol 및 rutin 등의 성분에 기인되며, 특히 isoquercetin과 rutin의 항산화 활성이 여타 물질에 비해 높았기 때문이라고 보고되어 있다[16]. 울금의 냉수, 열수 및 메탄올 추출물에서 DPPH 및 ABTS 라디칼 소거활성은 메탄올 추출물에서 가장 높아 유기 용매에 용출되는 대부

Table 3. Effective concentration values for antioxidant activities in the water and ethanol extracts of *G. procumbens*, *M. charantia* and *C. longa*

	Extract concentration for antioxidant activities (µg/ml)		
	DPPH radical scavenging <sup>1)</sup>	ABTS radical scavenging <sup>1)</sup>	Reducing power <sup>2)</sup>
<i>G. procumbens</i>			
Water ex.	378.22±44.44 <sup>A</sup>	394.51±228.00 <sup>A</sup>	148.65±11.04 <sup>B</sup>
Ethanol ex.	252.16±8.01 <sup>A</sup>	331.32±4.27 <sup>A</sup>	69.00±11.14 <sup>A</sup>
<i>M. charantia</i>			
Water ex.	6,041.78±584.92 <sup>D</sup>	3,235.51±74.38 <sup>C</sup>	1,713.10±46.39 <sup>E</sup>
Ethanol ex.	5,280.14±266.82 <sup>C</sup>	6,529.60±93.04 <sup>D</sup>	883.59±100.76 <sup>D</sup>
<i>C. longa</i>			
Water ex.	4,869.43±56.22 <sup>B</sup>	958.02±20.81 <sup>B</sup>	272.87±36.84 <sup>C</sup>
Ethanol ex.	286.23±9.22 <sup>A</sup>	298.93±8.33 <sup>A</sup>	130.31±5.58 <sup>AB</sup>

Each value represents mean ± SD (n=4).

<sup>A-E</sup>Means with different superscript in the same column are significantly different at  $p < 0.05$ .

<sup>1)</sup>Effective concentration values (EC<sub>50</sub>, µg/ml) were calculated from the regression lines using seven different concentrations(100, 200, 500, 1,000, 2,000, 5,000 and 10,000 µg/ml) and their data were presented as 50% scavenging activity of DPPH and ABTS radical.

<sup>2)</sup>Reducing power values (EC<sub>50</sub>, µg/ml) was presented by the sample concentration at 50 µM of FeSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O as standard. EC<sub>50</sub> values as 50% scavenging activity of DPPH and ABTS radical, 50 µM FeSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O of reducing power from the Jerusalem artichoke concentrate were 1687.38±34.56 µg/ml, 1941.97±15.20 µg/ml and 417.90±65.36 µg/ml, respectively.

분의 물질이 페놀성 화합물이나 플라보노이드류이기 때문에 이들 물질의 함량과 항산화 활성간에 유의적 상관성이 성립된다고 보고되어 있다[45]. 따라서 본 연구에서도 명월초, 여주 및 울금의 항산화 활성이 시료 중의 페놀 화합물 및 플라보노이드 함량에 의존적인 것으로 판단된다.

**명월초, 여주 및 울금 추출물의 α-glucosidase 저해활성**

명월초, 여주 및 울금의 물과 에탄올 추출물의 α-glucosidase 저해활성을 500~10,000 µg/ml의 농도범위에서 측정 한 결과는 Fig. 1과 같다. 명월초의 물 및 에탄올 추출물은 시료량이 많아질수록 α-glucosidase 저해활성이 유의적으로 증가하였으며, 물 추출물은 5,000 µg/ml 이상, 에탄올 추출물은 2,000 µg/ml 농도에서 50% 이상의 저해활성을 보였다. 여주 추출물은 모든 시료 농도에서 50% 이하의 저해활성이었으며, 울금의 에탄올 추출물은 500 µg/ml 농도에서도 50% 이상의 저해활성을 보여 positive control로 사용한 acarbose (EC<sub>50</sub>, 595.13 µg/ml)보다 높은 활성이었다.

α-Glucosidase 저해활성은 이당류 분해효소인 α-glucosidase의 활성을 억제시킴으로써 분해되는 이당류의 감소, 포도당 흡수를 억제시킴으로써 식후 급격한 혈당상승을 지연시키는 기작으로 알려져 있다[38]. 일반적으로 vanillic acid, p-hydroxybenzaldehyde와 같은 phenolic acid 및 플라보노이드계 화합물이 항산화 활성과 함께 α-glucosidase 저해활성에 관여하는 것으로 보고되어져 있다[54].

명월초의 물 추출물은 50%의 α-glucosidase 저해활성을 위한 시료량(0.092 mg/ml)과 acarbose의 함량(0.075 mg/ml)간

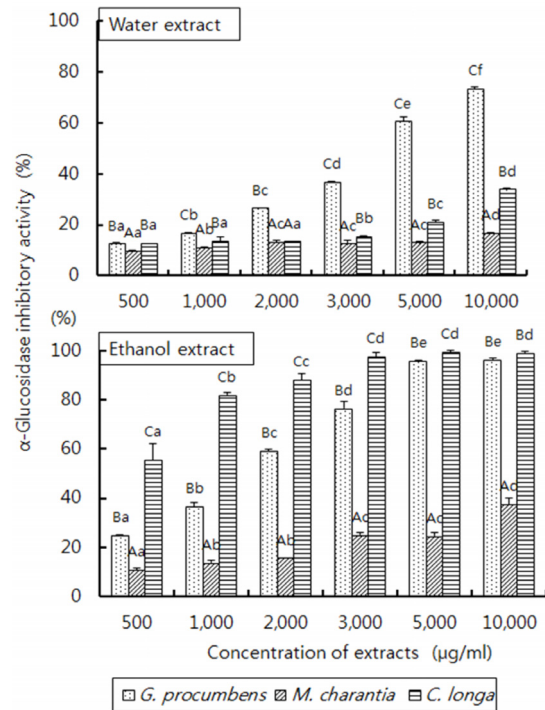


Fig. 1. α-Glucosidase inhibitory activity in the extracts of *G. procumbens*, *M. charantia* and *C. longa*. Each value represents mean ± SD (n=4). <sup>a-e</sup>Means with different superscript in the same sample are significantly different at  $p < 0.05$ . <sup>A-C</sup>Means with different superscript in the same concentration in the same solvent extract are significantly different at  $p < 0.05$ . α-Glucosidase inhibitory activity (EC<sub>50</sub>) of acarbose as positive control was 595.13 µg/ml.

에 유의차가 없었으며, 시료의 플라보노이드 성분 중 kaempferol의 함량이 가장 많았다는 보고[9]로 볼 때 플라보노이드 성분이 α-glucosidase 저해활성과 상관성이 있는 것으로 추정된다. 또한 건조 여주의 50% 주정 추출물은 시료 농도가 많아짐에 따라 α-glucosidase 저해활성이 증가되었으며, 1,000 µg/ml 농도에서 10.23%의 활성을 보였다는 보고[1]는 본 연구와 유사한 경향이였다. 더욱이 항산화 물질로 잘 알려진 quercetin이 α-glucosidase 저해활성과 관련이 높다는 보고[31]로 볼 때 본 연구에서 명월초, 여주 및 울금의 α-glucosidase 저해활성도 이들 시료 중의 페놀 및 플라보노이드 성분에 의존적인 것으로 추정된다.

**돼지감자 복합물의 총 페놀 및 플라보노이드 함량**

명월초, 여주 및 울금의 에탄올 추출물은 물 추출물에 비해 항산화 활성 및 α-glucosidase 저해활성이 높아 이를 돼지감자 농축액과 혼합하여 혼합비가 다른 5종의 복합물을 제조하였다. 이들 복합물의 총 페놀 및 플라보노이드 함량을 비교한 결과는 Table 3에 나타내었다. 돼지감자 농축액 자체의 총 페놀 및 플라보노이드 함량은 20.50 mg GAE/g 및 16.61 mg QE/g이었으며, 명월초, 여주 및 울금 추출물이 첨가된 복합물은 돼지감자 농축액에 비해 더 높은 함량이었다. 특히 복합물 JA1과 JA2의 총 페놀 함량은 31.58~32.25 mg GAE/g으로 타 복합물에 비해 유의적으로 높은 함량이었으며, 플라보노이드 함량은 JA2에서 가장 많았다.

총 페놀 함량이 6.94 mg/g인 돼지감자 조청에 돼지감자 분말의 첨가량이 4~16%로 많아짐에 따라 조청의 총 페놀 함량은 9.75~14.38 mg/g으로 유의적인 증가를 보였으며[34], 돼지감자로부터 추출 온도와 시간을 달리하여 얻은 메탄올 추출물 중 180~200℃에서 90~120분간 추출한 추출물은 50~100℃에서 얻은 추출물보다 총 페놀 및 플라보노이드 함량이 유의적으로 많았다고 보고되어 있다[17]. 본 연구에서 사용한 돼지감자 농축액은 돼지감자를 장시간 추출하여 얻은 농축액으로 페놀 화합물의 함량이 많을 것으로 여겨진다. 더욱이 천연물을 혼합하여 복합물로 제조될 경우 천연물로부터 유래된 페놀 화합물이 공존되어 복합물의 총 페놀 함량은 구성하는 각 식물류의 페놀 함량에 의존적이라는 보고[36]로 볼 때, 본 연구에서 복합물 JA1과 JA2의 총 페놀 함량이 많았던 것도 구성하는 시료 중 명월초 추출물의 혼합비율이 높았기 때문이라 생각되며, 이들 복합물은 유효성분에 의존적으로 항산화 활성도 높을 것으로 예상된다.

**돼지감자 복합물의 항산화 활성**

돼지감자 농축액에 명월초, 여주 및 울금 에탄올 추출물의 혼합비를 달리한 복합물에 대한 항산화 활성을 비교한 결과는 Table 4와 같다. 1,000 µg/ml의 농도에서 돼지감자 농축액의 DPPH 및 ABTS 라디칼 소거활성은 각각 36.15%, 27.79%였으

Table 4. Contents of total phenol and flavonoids in the Jerusalem artichoke composites (mg/g)

Composites*	Total phenol	Flavonoids
JA1	32.25±0.62 <sup>D</sup>	31.86±0.44 <sup>C</sup>
JA2	31.58±0.24 <sup>D</sup>	37.96±0.97 <sup>E</sup>
JA3	27.19±0.21 <sup>B</sup>	26.39±0.32 <sup>B</sup>
JA4	29.30±0.28 <sup>C</sup>	36.77±0.64 <sup>D</sup>
JA5	25.07±0.48 <sup>A</sup>	21.54±0.44 <sup>A</sup>

\*Refer to the Table 1.

Each value represents mean ± SD (n=4).

<sup>A-E</sup>Means with different superscript in the same column are significantly different at p<0.05.

Contents of total phenol and flavonoids in the Jerusalem artichoke concentrate were 20.50 mg/g and 16.61 mg/g, respectively.

며, 환원력은 90.11 µM FeSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O이었다.

5종의 복합물은 돼지감자 농축액에 비해 DPPH라디칼 소거활성은 1.1~2.0배, ABTS라디칼 소거활성은 2.4~2.7배, 환원력은 1.3~3.2배 증가되었는데, 특히 JA1의 활성이 유의적으로 높았다. 따라서 돼지감자 농축액에 명월초, 여주 및 울금 추출물의 혼합은 돼지감자 농축액의 항산화 활성 증대에 효과적이었으며, JA1의 활성이 우수한 것은 명월초의 활성에 기인된 결과로 해석된다.

이는 외송 추출물에 여러 한약재의 추출물을 혼합한 복합물은 각 추출물에 비해 항산화 활성이 증가되어 시료의 혼합에 따른 유효물질의 함량이 증가되었기 때문이라는 보고[37]와 유사한 결과였다. 여러 종류의 식물류가 혼합된 복합물은 단일 식물류에 비해 항산화 활성이 증가되었다는 보고가 많은데, 주로 혼합에 따른 식물체간의 상호작용에 의한 시너지 효과에 기인된 것으로 알려져 있다[7, 53].

돼지감자 농축액에 비해 식물류의 에탄올 추출물이 혼합된 돼지감자 복합물에서 총 페놀 및 플라보노이드 함량은 증가되었으며, 이에 따른 항산화 활성도 향상된 것으로 판단된다. 따라서 단일 시료의 추출물에 비해 여러 시료가 혼합된 복합물이 상대적 유효물질의 함량 증가와 함께 생리활성의 안정화를 유지함으로써[30] 항산화 활성에 긍정적인 효과를 나타내는 것으로 생각된다.

**돼지감자 복합물의 α-glucosidase 저해활성**

명월초, 여주 및 울금 추출물이 혼합된 5종의 돼지감자 복합물에 대한 α-glucosidase 저해활성을 비교한 결과는 Fig. 2와 같다. 돼지감자 농축액(1,000 µg/ml)은 12.91%의 저해활성을 보인 반면, 복합물에서는 28.99~46.51%의 저해활성으로 특히 JA3의 활성이 유의적으로 높았다.

현재 α-glucosidase 저해제로써 시판되고 있는 acarbose와 voglibose 등은 장기 복용 시 복부팽만감, 구토, 설사 등의 부작용을 유발할 수 있어[12], α-glucosidase 저해활성이 높은 천

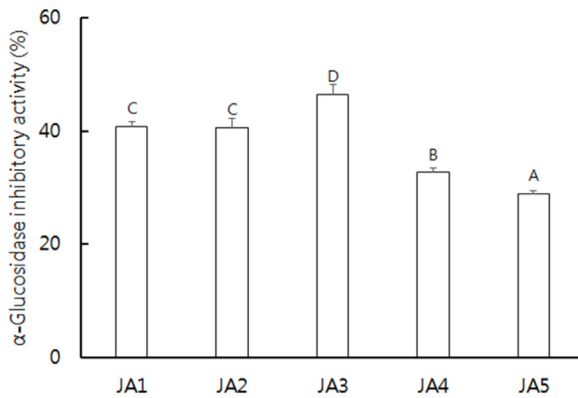


Fig. 2. α-Glucosidase inhibitory activity in the mixture (1,000 μg/ml) from Jerusalem artichoke composites. Each value represents mean ± SD (n=4). <sup>A-D</sup>Means with different superscript in the same column are significantly different at *p*<0.05. α-Glucosidase inhibitory activity of Jerusalem artichoke concentrate (1,000 μg/ml) was 12.91%.

연식물류의 대체 사용에 대한 관심이 증가되고 있다. Kim 등 [24]은 지골피, 가시오가피 및 동충하초를 혼합한 복합물에서

α-glucosidase 저해활성이 높아 항당뇨 활성에 적용가능성을 시사한 바 있다. 더욱이 돼지감자는 고온에서 추출하였을 때 α-glucosidase 저해활성이 증가되었는데, 가열 시 돼지감자 중의 불용성 페놀 화합물이 유리형태로 전환되기 때문이며[17], 이러한 성분에 의해 돼지감자는 췌장 β-세포의 보호 및 혈당 조절에 긍정적인 영향을 주는 것으로 보고되어 있다[29]. 따라서 본 연구에서 돼지감자 복합물은 *in vitro*에서 항산화 및 α-glucosidase 저해활성이 확인되어 생체 내에서 혈당강하에도 효과적일 것으로 생각된다.

**돼지감자 복합물의 세포독성**

명월초, 여주 및 울금 추출물이 혼합된 돼지감자 복합물의 간세포 독성 정도를 확인하기 위해 인체의 정상 간세포주인 Chang세포에 대한 세포 생존율을 측정된 결과는 Fig. 3과 같다. 실험에 사용한 돼지감자 복합물은 1~100 μg/ml의 농도범위에서 독성을 나타내지 않았으며, JA1, JA2 및 JA5 처리구에서는 무처리구에 비해 오히려 세포 생존율이 유의적으로 증가되었다.

인체 간암 세포주인 HepG2에서 명월초의 물 추출물은 250

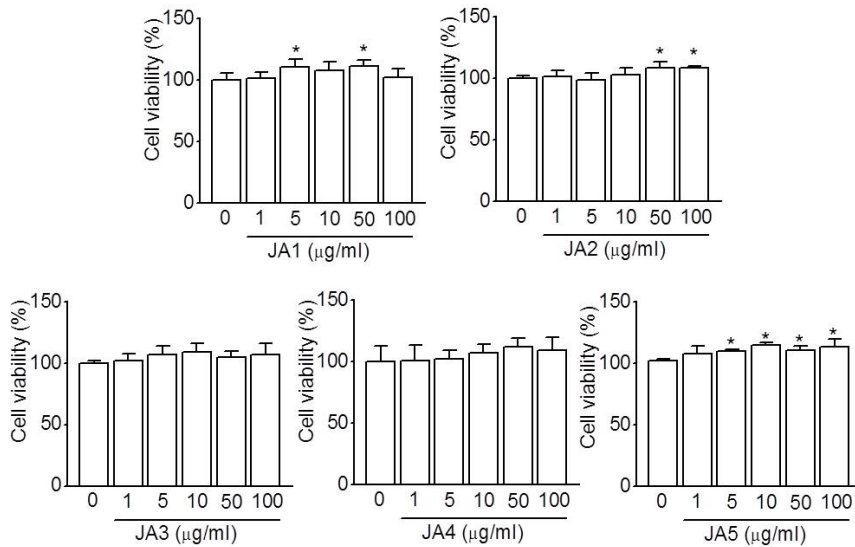


Fig. 3. Effect of Jerusalem artichoke composites on viability of Chang cells. Different concentrations Jerusalem artichoke composites were treated to cells for 24 hr. Data were shown as the mean ± SD (n=5). \**p*<0.05 compared to the no treatment.

Table 5. Antioxidant activities in the Jerusalem artichoke composites

Composites*	DPPH radical scavenging (%)	ABTS radical scavenging (%)	Reducing power (FeSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O, μM)
JA1	72.08±0.74 <sup>D</sup>	77.64±1.41 <sup>C</sup>	288.08±6.29 <sup>D</sup>
JA2	60.46±0.90 <sup>C</sup>	65.97±3.61 <sup>A</sup>	220.95±6.23 <sup>C</sup>
JA3	49.82±0.68 <sup>B</sup>	71.46±0.61 <sup>B</sup>	179.95±5.31 <sup>B</sup>
JA4	50.58±0.77 <sup>B</sup>	74.18±1.69 <sup>B</sup>	184.08±5.44 <sup>B</sup>
JA5	38.93±4.46 <sup>A</sup>	65.44±0.99 <sup>A</sup>	124.95±3.76 <sup>A</sup>

\*Refer to the Table 1.

Each value represents mean ± SD (n=4).

<sup>A-E</sup>Means with different superscript in the same column are significantly different at *p*<0.05.

DPPH, ABTS radical scavenging activities and reducing power of Jerusalem artichoke concentrate (1,000 μg/ml) were 36.15%, 27.79% and 9.11 μM, respectively.

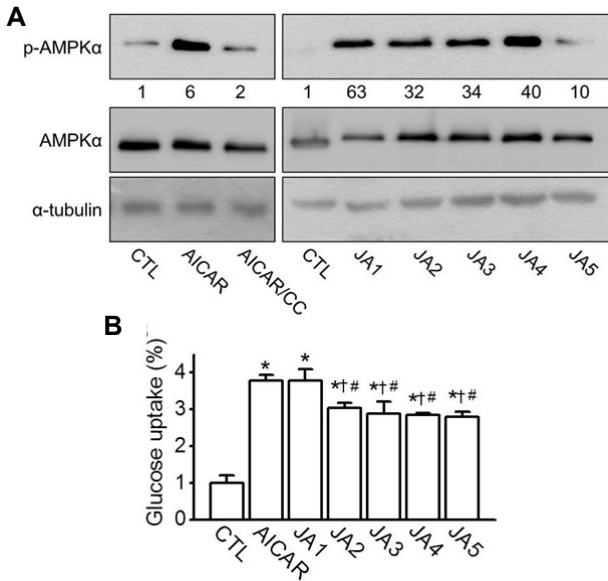


Fig. 4. Jerusalem artichoke composite-induced AMPK activation and glucose uptake. (A) Chang cells were pretreated for 1 hr with CC (10 μM) before activation with Jerusalem artichoke composite (100 μg/ml) for 6 hr or AICAR (1 mM) for 1 hr. The total protein isolated from the cells was subjected to Western blot analysis. Equal amounts (30 μg) of total protein were loaded in each lane. The size of molecules is 62 kDa. α-Tubulin was used as a loading control. The experiment was performed three times and an image from one experiment is shown. The numbers between blots represent the normalized ratio of the expression levels of p-AMPKα to those of AMPKα for each lane. (B) C2C12 cells were incubated with the Jerusalem artichoke composite (100 μg/ml) or AICAR (1 mM) in the presence of 10 μM 2-NBDG for 3 hr, and then the fluorescence intensity was measured. Data were shown as the mean ± SD (n=5). \*p<0.05 compared to the control (CTL). †p<0.05 compared to AICAR treatment. #p<0.05 compared to JA1 treatment.

~1,000 μg/ml의 농도범위에서 세포독성을 나타내지 않았으며[27], 여주의 열수 및 에탄올 추출물은 100~1,000 μg/ml의 농도범위에서 생쥐의 피부 흑색종 세포주인 B16F10에 대한 세포독성을 보이지 않아 이들 시료의 세포내 적용 시 안전성이 높은 것으로 보고된 바 있다[28]. 따라서 본 연구에 사용된 돼지감자 복합물의 경우 최대농도인 100 μg/ml에서 상대적으로 다른 추출물에 비해 안전성이 확보됨으로서 실험동물 및 인체 적용 시 안전성의 장점이 있을 것으로 사료된다[29].

**돼지감자 복합물의 AMPK 활성화 및 당대사 영향**

돼지감자 복합물의 항당뇨 활성 관련 기전을 조사하기 위해 Chang세포에서 AMPK 활성화 및 근육세포인 C2C12세포에서 당 유입에 미치는 영향을 측정된 결과는 Fig. 4와 같다. 세포에 독성을 나타내지 않은 시료의 농도로서 100 μg/ml의 돼지

감자 복합물 처리구는 무처리구에 비해 모두 AMPK 활성이 증가되었다. 특히, JA1 처리구는 무처리구에 비해 63배 더 높았으며, JA2, JA3 및 JA4는 32~40배의 수준이었으나, JA5는 10배 수준으로 활성화된 AMPK의 발현 정도가 가장 낮았다 (Fig. 4A). 5-Aminoimidazole-4-carboxamide-1-β-D ribofuranoside (AICAR)는 AMPK 활성화의 양성 대조물질로 사용되어 AICAR의 처리로 AMPK 활성이 증가됨을 볼 수 있었으며, 반면 compound C (CC)의 전처리로 AMPK 활성이 감소되었다. 돼지감자 복합물 처리구는 무처리구에 비해 세포 내 당 유입을 유의적으로 증가시켰는데, 특히, JA1은 무처리구에 비해 약 3.8배의 높은 활성을 보였다. 이는 양성 대조물질로 사용한 AICAR의 활성과도 유사한 수준이었다(Fig. 4B).

돼지감자 추출물은 제 2형 당뇨병 흰쥐에서 AMPK 활성화를 통해 혈당을 감소시키고 간 조직에서 인슐린 민감도를 향상시킨다고 보고되어 있다[55]. 명월초 물추출물의 급이는 제 2형 당뇨병환 모델인 *db/db* 생쥐에서 AMPK 활성화를 통해 골격근의 인슐린 민감도를 향상시키고 간 조직내 포도당 생성을 억제함으로써 고혈당 개선에 효과적인 것으로 보고된 바 있다[8]. 여주 추출물은 *db/db* 생쥐에서 혈중 인슐린, 지질 및 당화혈색소 수준을 감소시켰으며, 근육내의 당 수송에 관여하는 제 4형 당 수송체(glucose transporter type 4, GLUT4) 및 AMPK 활성화를 유도함으로써 생체 내 항당뇨 활성에 관여하는 것으로 보고되어 있다[19]. 커큐민은 streptozotocin (STZ)에 의한 당뇨쥐에서 AMPK-sterol regulatory element-binding protein (SREBP) 신호전달을 통해 신장조직 내 지방 축적이 감소되며[52], 또한 커큐민이 AMPK 활성화를 증가시킴으로써 근육 내 인슐린 저항성을 증가시키는 것으로 보고되어 있다[41].

본 연구에서 돼지감자 복합물은 간세포에서 AMPK 활성화와 근육세포에서의 당 유입을 촉진함으로써 항당뇨 효과를 나타내는 것으로 판단되며, 상기의 돼지감자 복합물은 STZ에 의해 유도된 당뇨쥐에 4주간 급이 시 혈당강하 활성이 있었다는 보고[13]로 볼 때 AMPK 활성화를 통하여 항당뇨 활성이 확인된 명월초, 여주 및 울금이 혼합된 돼지감자 복합물은 돼지감자 농축액 단독의 항당뇨 활성에 시너지 효과를 발휘할 수 있을 것으로 기대된다.

**감사의 글**

본 연구는 2015년도 경상남도 항노화바이오산업육성사업의 지원으로 수행된 연구결과이며, 이에 감사 드립니다.

**References**

1. Ahn, M. J., Yuk, H. J., Lee, H. Y., Hwang, C. E., Jeong, Y. S., Hong, S. Y., Kwon, O. K., Kang, S. S., Kim, H. R., Park, D. S. and Cho, K. M. 2015. Effect of the enhanced biological



- activities and reduced bitter taste of bitter melon (*Momordica charantia* L.) by roasting. *J. Agric. Life Sci.* **49**, 107-119.
2. Bantle, J. P., Rosett, J. W., Albright, A. L., Apovian, C. M., Clark, N. G., Frans, M. J., Hoogwerf, B. J., Lichtensterin, A. H., Davis, E. M., Mooradian, A. D. and Wheeler, M. L. 2000. Nutrition recommendation and principles for people with diabetes mellitus. *Diabetes Care* **23**, 843-846.
  3. Benzie, I. F. F. and Strain, J. J. 1996. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "antioxidant power": the FRAP assay. *Anal. Biochem.* **239**, 70-76.
  4. Blois, M. S. 1958. Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature* **181**, 1199-1200.
  5. Boo, H. O., Lee, H. H., Lee, J. W., Hwang, S. J. and Park, S. U. 2009. Different of total phenolics and flavonoids, radical scavenging activities and nitrite scavenging effects of *Momordica charantia* L. according to cultivars. *Kor. J. Medicinal Crop Sci.* **17**, 15-20.
  6. Cha, J. H., Jin, J. S. and Cho, Y. S. 2011. Biological activity of methanolic extract from *Ganoderma lucidum*, *Momordica charantia*, *Fagopyrum tataricum*, and their mixtures. *J. Life Sci.* **21**, 1016-1024.
  7. Cho, H. S., Lee, S. J., Shin, J. H., Kang, M. J., Cho, H. S., Lee, H. J. and Sung, N. J. 2007. Antioxidative activity and nitrite scavenging effect of the composites containing medicinal plant extracts. *J. Life Sci.* **17**, 1135-1140.
  8. Choi, S. I., Lee, H. A. and Han, J. S. 2016. *Gynura procumbens* extract improves insulin sensitivity and suppresses hepatic gluconeogenesis in C57BL/KsJ-db/db mice. *Nutr. Res. Pract.* **10**, 507-515.
  9. Choi, S. I., Park, M. H. and Han, J. S. 2016. *Gynura procumbens* extract alleviates postprandial hyperglycemia in diabetic mice. *Prev. Nutr. Food Sci.* **21**, 181-186.
  10. Gutfinger, T. 1981. Polyphenols in olive oil. *J. Am. Oil Chem. Soc.* **58**, 966-968.
  11. Han, J. T., Bang, M. H., Chun, O. K., Kim, D. O., Lee, C. Y. and Baek, N. I. 2004. Flavonol glycosides from the aerial parts of *Aceriphyllum rossii* and their antioxidant activities. *Arch. Pharm. Res.* **27**, 390-395.
  12. Hanefeld, M. 1998. The role of acarbose in the treatment of non-insulin-dependent diabetes mellitus. *J. Diabetes Complications* **12**, 228-237.
  13. Hu, W. S. 2017. Antioxidants and antidiabetic effects in the composite by *Gynura procumbens*, *Momordica charantia*, *Curcuma longa* and *Helianthus tuberosus*. MS dissertation, Gyeongsang National University, Jinju, Korea.
  14. Hyun, M. R. 2012. Effects of curcumin on high glucose-induced podocyte injury. MS dissertation, Soonchunhyang University, Asan, Korea.
  15. Jeon, H. J. and Kwon, H. J. 2014. Antioxidant effects and functional evaluation of *Gynura procumbens* extract as a collaboration material for cosmetics and functional food. *Kor. J. Aesthet. Cosmetol.* **12**, 499-507.
  16. Jeon, H. J., Cha, Y. H. and Jang, H. R. 2016. Isolation and rutin quantitative analysis of antioxidants substances from *Gynura procumbens* extract. *J. Welliness* **11**, 165-466.
  17. Jeong, H. J., Kim, J. S., Sa, Y. J., Kim, M. O., Yang, J. F. and Kim, M. J. 2011. Antioxidant activity and  $\alpha$ -glucosidase inhibitory effect of Jerusalem artichoke (*Helianthus tuberosus*) methanol extracts by heat treatment conditions. *Kor. J. Medicinal Crop Sci.* **19**, 257-263.
  18. Jeong, H. J., Lee, S. G., Lee, E. J., Park, W. D., Kim, J. B. and Kim, H. J. 2010. Antioxidant activity and anti-hyperglycemic activity of medicinal herbal extracts according to extraction methods. *Kor. J. Food Sci. Technol.* **42**, 571-577.
  19. Jeong, J. H., Lee, S. H., Hue, J. J., Lee, K. N., Nam, S. Y., Yun, Y. W., Jeong, S. W., Lee, Y. H. and Lee, B. J. 2008. Effect of bitter melon (*Momordica charantia*) on anti-diabetic activity in C57BL/6J db/db mice. *Kor. J. Vet. Res.* **48**, 327-336.
  20. Joseph, B. and Jini, D. 2013. Antidiabetic effects of *Momordica charantia* (bitter melon) and its medicinal potency. *Asian Pac. J. Trop. Dis.* **3**, 93-102.
  21. Jung, Y. S., Park, S. J., Park, J. H., Jhee, K. H., Lee, I. S. and Yang, S. A. 2012. Effects of ethanol extracts from *Zingiber officinale* Rosc., *Curcuma longa* L., and *Curcuma aromatica* Salisb. on acetylcholinesterase and antioxidant activities as well as GABA contents. *J. Kor. Soc. Food Sci. Nutr.* **41**, 1395-1401.
  22. Kaewseejan, N. and Siriamornpun, S. 2015. Bioactive components and properties of ethanolic extract and its fractions from *Gynura procumbens* leaves. *Ind. Crops Prod.* **74**, 271-278.
  23. Kim, C. G., Kim, S. I. and Shin, H. K. 1993. Effect of fructooligosaccharide-inulin of Jerusalem artichoke on the growth of intestinal microorganisms of pig. *Kor. J. Food Sci. Technol.* **25**, 395-399.
  24. Kim, D. J., Kim, J. M., Kim, T. H., Baek, J. M., Kim, H. S. and Choe, M. 2010. Anti-diabetic effects of mixed extracts from *Lycium chinense*, *Cordyceps militaris*, and *Acanthopanax senticosus*. *Kor. J. Plant Res.* **23**, 423-429.
  25. Kim, E. 2008. Anti-diabetic effects of *Eriobotrya japonica* and *Curcuma longa* L. in db/db mice. MS dissertation, Mokpo University, Mokpo, Korea.
  26. Kim, H. J., Kim, D. I. and Yon, J. M. 2015. Effects of Jerusalem artichoke (*Helianthus tuberosus* L.) extracts on blood glucose and lipid metabolism in STZ-induced diabetic rats. *Kor. J. Clin. Lab. Sci.* **47**, 203-208.
  27. Kim, H. S., Kim, T. W., Kim, D. J., Kim, K. K. and Choe, M. 2013. Effects of medicinal plant water extracts on expression of anti-diabetic enzymes mRNA. *J. Kor. Soc. Food Sci. Nutr.* **42**, 1008-1014.
  28. Kim, H. W., Shin, H. J., Hwang, D. B., Lee, J. E., Jeong, H. L. and Kim, D. U. 2015. Functional cosmetic characteristics of *Momordica charantia* fruit extract. *Kor. Chem. Eng. Res.* **53**, 289-294.
  29. Kim, J. L., Bae, C. R. and Cha, Y. S. 2010. *Helianthus tuberosus* extract has antidiabetes effects in HIT-T15 cells. *J. Kor. Soc. Food Sci. Nutr.* **39**, 31-35.
  30. Kim, K. D. 2007. Research of efficacy & stability about mixed medicinal plants extracts. *J. Kor. Soc. Cosm.* **13**, 601-608.
  31. Kim, S. J., Heo, M. Y., Bae, K. H., Kang, S. S. and Kim, H. P. 2003. Tyrosinase inhibitory activity of plant extract (III): Fifty Korean indigenous plants. *J. Applied Pharmacol.*

- 11, 245-248.
32. Kundu, J. K. and Surh, Y. J. 2012. Emerging avenues linking inflammation and cancer. *Free Radic. Biol. Med.* **52**, 2013-2037.
  33. Kwon, H. O., Lee, M. H., Kim, Y. J., Kim, E. and Kim, O. K. 2016. Beneficial effects of *Acanthopanax senticosus* extract in type II diabetes animal model via down-regulation of advanced glycated hemoglobin and glycosylation end products. *J. Kor. Soc. Food Sci. Nutr.* **45**, 929-937.
  34. Lee, A. J. 2015. Quality characteristics of Jochung containing various level of *Helianthus tuberosus* L. powder. MS dissertation, Sejong University, Seoul, Korea.
  35. Lee, J. M., Park, J. H., Chu, W. M., Yoon, Y. M., Park, E. J. and Park, H. R. 2011. Antioxidant activity and alpha-glucosidase inhibitory activity of stings of *Gleditsia sinensis* extracts. *J. Life Sci.* **21**, 62-67.
  36. Lee, M. H., Jo, D. J., Yoon, S. R. and Lee, G. D. 2007. Physico-chemical properties of functional herb mixtures. *J. Kor. Soc. Food Sci. Nutr.* **36**, 1571-1577.
  37. Lee, S. J., Shin, J. H., Kang, J. R., Hwang, C. R. and Sung, N. J. 2012. *In vitro* evaluation of biological activities of wa-song (*Orostachys japonicus* A. Berger) and Korean traditional plants mixture. *Kor. Soc. Food Sci. Nutr.* **41**, 295-301.
  38. Lo, H. Y., Ho, T. Y., Lin, C. J., Li, C. C. and Hsiang, C. Y. 2013. *Momordica charantia* and its novel polypeptide regulate glucose homeostasis in mice via binding to insulin receptor. *J. Agric. Food Chem.* **61**, 2461-2468.
  39. Moon, J. H., Choi, D. W., Kim, S. E., Seomoon, J. H., Hong, S. Y., Kim, H. K., Cho, K. M., Song, J., Kang, S. S., Kim, K. H. and Kwon, O. K. 2015. Comparison of biological activities of ethanol extracts of unripe fruit of bitter melon (*Momordica charantia* L.) cultivated in Hamyang, Korea. *J. Kor. Soc. Food Sci. Nutr.* **44**, 1637-1644.
  40. Moreno, M. I., Isla, M. I., Sampietro, A. R. and Vattuone, M. A. 2000. Comparison of the free radical-scavenging activity of propolis from several region of Argentina. *J. Ethnopharmacol.* **71**, 109-114.
  41. Na, L. X., Zhang, Y. L., Li, Y., Liu, L. Y., Li, R., Kong, T. and Sun, C. H. 2011. Curcumin improves insulin resistance in skeletal muscle of rats. *Nutr. Metab. Cardiovasc. Dis.* **21**, 526-533.
  42. Oh, S. J. and Mo, J. H. 2013. A study on skin related physiological activity of *Curcuma longa* and fermented *Curcuma longa* extracts. *J. Korea Soc. Beauty Art* **14**, 185-195.
  43. Park, C. J. and Han, J. S. 2015. Hypoglycemic effect of Jicama (*Pachyrhizus erosus*) extract on streptozotocin-induced diabetic mice. *Prev. Nutr. Food Sci.* **20**, 88-93.
  44. Park, H. J., Jeon, B. T., Kim, H. C., Roh, G. S., Shin, J. H., Sung, N. J., Han, J. and Kang, D. 2012. Aged red garlic extract reduces lipopolysaccharide induced nitric oxide production in raw 264.7 macrophages and acute pulmonary inflammation through haeme oxygenase-1 induction. *Acta Physiologica* **205**, 61-70.
  45. Park, J. J., Lee, J. M. and Jun, W. J. 2013. Radical scavenging and anti-obesity effects of various extracts from turmeric (*Curcuma longa* L.). *J. Kor. Soc. Food Sci. Nutr.* **42**, 1908-1914.
  46. Puangpronpitag, D., Chaichanadee, S., Naowaratwattana, W., Sittiwet, C., Thammasarn, K., Luerang, A. and Kaewseejan, N. 2010. Evaluation of nutritional value and antioxidative properties of the medicinal plant *Gynura procumbens* extract. *Asian J. Plant Sci.* **9**, 146-151.
  47. Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M. and Rice-Evans, C. 1999. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radic. Biol. Med.* **26**, 1231-1237.
  48. Rosidah, M., Yam, M. F., Sadikun, A. and Asmawi, M. Z. 2008. Antioxidant potential of *Gynura procumbens*. *Pharm. Biol.* **46**, 616-625.
  49. Sakamoto, K., Göransson, O., Hardie, D. G. and Alessi, D. R. 2004. Activity of LKB<sub>1</sub> and AMPK-related kinases in skeletal muscle: Effects of contraction, phenformin, and AICAR. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* **287**, E310-E317.
  50. Sarkar, S., Pranava, M. and Marita, R. 1996. Demonstration of the hypoglycemic action of *Momordica charantia* in a validated animal model of diabetes. *Pharmacol. Res.* **33**, 1-4.
  51. Shon, M. S. and Kim, G. N. 2014. Anti-oxidant and anti-obese activities of turmeric (*Curcuma longa* L.) extract in 3T3-L1 cells. *Asian J. Beauty Cosmetol.* **12**, 169-175.
  52. Soetikno, V., Sari, F. R., Sukumaran, V., Lakshmanan, A. P., Harima, M., Suzuki, K., Kawachi, H. and Watanabe, K. 2013. Curcumin decreases renal triglyceride accumulation through AMPK - SREBP signaling pathway in streptozotocin-induced type 1 diabetic rats. *J. Nutr. Biochem.* **24**, 796-802.
  53. Son, H. K., Han, J. H. and Lee, J. J. 2014. Anti-diabetic effect of the mixture of mulberry leaf and green tea powder in rats with streptozotocin-induced diabetes. *Kor. J. Food Preserv.* **21**, 549-559.
  54. Xu, M. L., Wang, L., Hu, J. H. and Wang, M. H. 2009. Antioxidant and  $\alpha$ -glucosidase inhibitory activities of some wild vegetable extracts. *J. Agric. Food Chem.* **47**, 4121-4125.
  55. Yang, H. J., Kwon, D. Y., Kim, M. J., Kang, S., Kim, D. S. and Park, S. 2012. Jerusalem artichoke and chungkookjang additively improve insulin secretion and sensitivity in diabetic rats. *Nutr. Metab.* **9**, 112.
  56. Zhang, B. B., Zhou, G. and Li, C. 2009. AMPK: An emerging drug target for diabetes and the metabolic syndrome. *Cell Metab.* **9**, 407-416.
  57. Zhang, X. F. and Tan, B. K. H. 2000. Effects of an ethanolic extract of *Gynura procumbens* on serum glucose, cholesterol and triglyceride levels in normal and streptozotocin-induced diabetic rats. *Singapore Med. J.* **41**, 9-13.

**초록 : 명월초, 여주 및 울금을 포함한 돼지감자 복합물의 항산화 및 AMPK 활성화를 통한 항당뇨 활성**

이수정<sup>1</sup> · 호문사<sup>2</sup> · 표재호<sup>3</sup> · 류지현<sup>4</sup> · 강다원<sup>4</sup> · 정보영<sup>1,2</sup> · 성낙주<sup>2,5\*</sup>

(<sup>1</sup>경상대학교 농업생명과학연구원, <sup>2</sup>경상대학교 식품영양학과, <sup>3</sup>산청기능성공영농조합법인, <sup>4</sup>경상대학교 의과대학 생리학교실, <sup>5</sup>경상대학교 기초과학연구소)

명월초, 여주 및 울금의 물 및 70% 에탄올 추출물에서 항산화 및  $\alpha$ -glucosidase 저해활성을 측정하였으며, 돼지감자 농축액에 이들 식물류의 에탄올 추출물을 첨가한 5종의 돼지감자 복합물(JA1~5)에서 항산화 및 항당뇨 활성을 비교하였다. 명월초, 여주 및 울금의 에탄올 추출물은 물 추출물에 비해 총 페놀 및 플라보노이드 함량이 많았다. DPPH, ABTS 라디칼 소거활성 및 FRAP법에 의한 환원력은 총 페놀 및 플라보노이드 함량에 의존적이었으며, 특히 명월초와 울금의 에탄올 추출물은 항산화 활성이 비슷한 수준이었다.  $\alpha$ -Glucosidase 저해활성은 에탄올 추출물의 2,000  $\mu$ g/ml 농도에서 50% 이상이었다. 5종의 복합물은 돼지감자 농축액에 비해 총 페놀 및 플라보노이드 함량이 많았다. 또한 항산화 활성 및  $\alpha$ -glucosidase 저해활성도 복합물에서 모두 증가되었으며, 특히 JA1의 활성이 유의적으로 높았다. 돼지감자 복합물은 인체 정상 간세포주인 Chang세포에 대해 세포독성이 없었으며, Chang세포에서 AMPK 활성화 및 근육세포인 C2C12세포에서 세포 내 당 유입을 유의적으로 증가시켰다. 이로써 명월초, 여주 및 울금의 추출물이 혼합된 돼지감자 복합물은 항산화 및 항당뇨 활성 증대에 효과적인 것으로 판단된다.