

## 추출 방법에 따른 여정실의 최종당화산물 생성 저해 및 라디칼 소거 활성

정윤희<sup>#</sup>, 김서윤, 정경한, 김태훈<sup>\*</sup>

대구대학교 식품공학과

### Anti-Glyaction and Radical Scavenging Activities of Ligustri Fructus by Extraction Method

Yun Hee Jeong<sup>#</sup>, Seo Yoon Kim, Gyeong Han Jeong, Tae Hoon Kim<sup>\*</sup>

Department of Food Science and Biotechnology, Daegu University, Republic of Korea

#### ABSTRACT

**Objectives** : Ligustri Fructus has been used since ancient times as a medicinal usages in folk medicines against anti-tumor purpose. Many biological active constituents have been identified from this biomass such as several terpenoids and lignans. In current study, the properties of antioxidant and anti-diabetic complications using 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) and 2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonic acid)(ABTS<sup>+</sup>) radicals scavenging, and advanced glycation end products (AGEs) inhibition assays were evaluated by different extraction methods of Ligustri Fructus.

**Methods** : In present continuing research for development of bioactive natural ingredients, antioxidant and AGEs formation inhibitory capacities of Ligustri Fructus extracts using different organic solvents were prepared and the biological potentials were investigated using *in vitro* bioassays. Antioxidant properties were evaluated employing radical scavenging assays using DPPH and ABTS<sup>+</sup> radicals. In addition, the anti-diabetic complications effects of Ligustri Fructus extracts were tested via AGEs formation inhibitory assay. The total phenolic contents were determined using a spectrophotometric method.

**Results** : All the tested extracts exhibited dose-dependent radical scavenging and AGEs formation inhibitory activities. Among the tested samples, hot water extract of Ligustri Fructus was showed the most potent activity with IC<sub>50</sub> value of 494.8±6.7  $\mu\text{g/ml}$  against DPPH radical scavenging assay. Also, ABTS<sup>+</sup> radical scavenging activity of hot water extract was higher than those of other extracts. In addition, AGEs formation inhibitory effects of each extracts and total phenolic contents were evaluated.

**Conclusions** : These results suggested that Ligustri Fructus can be considered as a new effective source of natural antioxidant and anti-diabetic complications resources.

**Key words** : Ligustri Fructus, total phenolic content, DPPH, ABTS<sup>+</sup>, advanced glycation end products (AGEs)

## I. 서 론

최근의 생활수준의 향상으로 인한 식습관의 변화로 현대인

들의 대사성 질환 중 당뇨병 및 당뇨합병증 발병률이 증가하고 있으며, 이로부터 동맥경화, 신경장애, 망막병증, 고혈압 및 심근경색 등의 질병이 연관되어 집이 보고되어있다<sup>1)</sup>. 당뇨합

\*Corresponding author : Tae Hoon Kim, Department of Food Science and Biotechnology, Daegu University 201 Daegudae-ro, Gyeongsan-si, Gyeongsangbuk-do, 38453, Republic of Korea.

· Tel : +82-53-850-6533 · E-mail : skyey7@daegu.ac.kr

#First author : Yun Hee Jeong, Department of Food Science and Biotechnology, Daegu University 201 Daegudae-ro, Gyeongsan-si, Gyeongsangbuk-do, 38453, Republic of Korea.

· Tel : +82-10-9234-4052 · E-mail : hsje713@naver.com

· Received : 07 June 2018 · Revised : 03 July 2018 · Accepted : 25 July 2018

병증의 대표적인 기전은 알도스 환원효소(aldoase reductase, AR) 경로의 이상, protein kinase C(PKC)와 신장 조직 내 여러 세포와 작용하는 성장인자나 cytokine의 활성화로 인한 세포외기질 단백질의 축적 및 최종당화산물(advanced glycation end products, AGEs)의 생성 증가가 보고되어 있다<sup>2)</sup>. 특히, 최종당화산물은 고혈당의 조건에서 환원당과 단백질의 비효소적 반응에 형성되며, 한번 생성되면 분해가 어려워 다시 정상혈당으로 회복되어도 분해되지 않고 혈액 단백질 등 여러 조직에 결합하여 장기손상을 유발 한다<sup>3)</sup>. 최근에는 당뇨합병증의 예방 및 치료제 개발과 관련하여 최종당화산물의 생성 저해제 및 생성된 최종당화산물의 조직 내 결합(AGEs-protein cross-link)을 억제하는 물질 개발이 계속적으로 진행되고 있으며<sup>4)</sup>, 그중에서도 천연물 유래의 최종당화산물 생성을 저해하는 물질의 개발이 주목을 받고 있다<sup>5)</sup>. 또한 고혈당과 단백질의 비효소적 당화과정으로부터 생성되는 최종당화산물은 활성산소종(reactive oxygen species, ROS)에 의해 체내에서 생성이 가속화되면, 세포표면의 최종당화산물 수용체와 결합함으로써 활성산소종의 생성을 유발하여 당뇨합병증을 유도 한다<sup>6)</sup>. 이러한 접근방법을 기초로 하여 현재까지 알려진 대표적인 저해제로는 aminoguanidine, pyridoxamine, ALT-711등이 보고되어져 있으나<sup>7,8)</sup> 임상 실험에서 독성으로 인하여 이들 저해제를 대체하기 위한 천연물 유래의 부작용이 없는 최종당화산물 생성 저해 물질의 개발이 필요한 시점이다<sup>9)</sup>. 최근의 천연물 유래의 최종당화산물 생성 저해제에 관한 연구가 활발히 진행 중이며, 그 중 갈근(*Pueraria lobata*)에 함유되어 있는 flavonoid 화합물들이 최종당화산물의 생성을 효과적으로 저해하는 것으로 보고 되었고<sup>10)</sup>, 또한 상황버섯(*Phellinus linteus*) 추출물에서 분리된 stilbenoid류 화합물이 우수한 최종당화산물 생성 저해활성을 나타내는 것이 보고 되었다<sup>11)</sup>.

여정실(Ligustri Fructus)은 물푸레나무과(Oleaceae)에 속하는 상록관목으로, 광나무라고도 불리는 여정자의 과실로서 우리나라에서는 주로 남부 지방의 산속에서 자생하며 그 외에도 중국, 일본 및 대만 등 아시아의 전 지역에서 널리 분포한다<sup>12)</sup>. 이전 연구에서 여정실로부터 triterpenoid, secoiridoid 및 lignan류의 화합물들이 분리 및 동정 되었으며<sup>13)</sup>, 그 중 triterpenoid 화합물인 oleanolic acid는 우수한 항종양 활성을 나타내었다<sup>14)</sup>. 본 연구에서는 여정실을 극성별 유기용매 및 증류수를 활용하여 추출 한 후 항산화 활성과 관련된 DPPH 및 ABTS<sup>+</sup> 라디칼 소거활성 평가와 당뇨합병증 관련된 최종당화산물 생성 저해활성 평가를 수행하였으며, 여정실의 열수 추출물에서 우수한 활성이 나타나 그 결과를 보고 하고자 한다.

## II. 재료 및 방법

### 1. 재료

본 실험에 시료로 사용한 여정실(Ligustri Fructus)은 전라남도 목포에서 2015년 9월에 채취한 건조된 여정실을 사용하였다. 표본시료는 대구대학교의 식품공학과 천연물화학 실험실에 보관하고 있으며, 본 실험에서 사용된 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl(DPPH), 2,2'-azinobis-3-

ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid(ABTS<sup>+</sup>), bovine serum albumin(BSA), (+)-catechin, aminoguanidine, gallic acid 및 추출에 사용된 acetone, ethyl alcohol, methyl alcohol의 기타 시약은 Sigma-Aldrich Chemical Co.(St. Louis, MO, USA)에서 구입하여 사용하였다.

### 2. 방법

건조된 여정실의 유기용매 추출은 80% acetone, 80% EtOH, 80% MeOH 용매 500 ml에 여정실 10 g을 잘게 마쇄한 뒤 24시간 침치추출을 3회 반복 후 추출물을 얻었으며, 열수 추출은 잘게 마쇄한 여정실 10 g에 증류수 500 ml을 가한 후 70°C에서 3시간 추출하였다. 각 추출물을 filter paper로 여과한 후, 저온감압 농축하여 건조 시킨 후 80% acetone 추출물(8.1 g), 80% EtOH 추출물(9.4 g), 80% MeOH 추출물(9.5 g), 열수 추출물(7.8 g)을 얻었으며, 각 추출물을 대상으로 DPPH 및 ABTS<sup>+</sup> 라디칼 소거활성과 total phenolic 함량 평가 및 최종당화산물 생성저해 활성을 측정하였다.

### 3. 항산화 활성 측정

#### 1) 총 페놀 함량 측정

총 페놀 함량은 Folin-Denis 방법<sup>15)</sup>에 따라 측정하였으며, 추출물을 1.0 mg/ml 농도로 조제한 후, 시료 50  $\mu$ l와 Folin-Denis 시액 50  $\mu$ l, 0.7 M 탄산나트륨 포화용액 50  $\mu$ l를 차례로 넣은 다음 이것을 잘 혼합하여 실온에서 60분 방치한 후 UV/VIS 분광광도계로 750 nm에서 흡광도를 측정하였으며, 표준물질은 gallic acid를 이용하여 표준곡선을 작성하여 양을 환산하였다.

#### 2) DPPH 라디칼 소거활성 측정

건조된 여정실 추출물의 전자공여능은 Blois 방법<sup>16)</sup>에 따라 측정하였다. 각 시료용액에 120  $\mu$ l에 0.45 mM의 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl(DPPH) 용액 60  $\mu$ l을 넣고 교반한 후 15분간 방치한 다음 517 nm에서 흡광도를 측정하였다. 전자공여능은 시료용액의 첨가군과 무첨가군의 흡광도 차이를 백분율로 나타내었다.

#### 3) ABTS<sup>+</sup> 라디칼 소거활성 측정

유기용매와 증류수를 사용하여 추출된 여정실의 각 추출물에 대하여 2,2'-azinobis-3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid(ABTS<sup>+</sup>) radical 소거능을 Re<sup>17)</sup>의 방법을 변형하여 다음과 같이 측정하였다. 7 mM ABTS<sup>+</sup>와 2.4 mM K<sub>2</sub>O<sub>8</sub>S<sub>2</sub>동량을 혼합 후 실온, 암소에서 12시간 방치하여 라디칼의 생성을 유도한 후 ABTS<sup>+</sup> 라디칼 용액을 희석하여 734 nm에서 흡광도 값이 0.7-0.8 정도가 되도록 희석한 후 사용하였다. 희석한 ABTS<sup>+</sup> 라디칼 용액 100  $\mu$ l와 여정실 추출액 100  $\mu$ l을 혼합하여 실온에서 7분간 반응시킨 후 734 nm에서 흡광도를 측정하였다. 이때 positive control로는 (+)-catechin을 사용하였으며 결과는 시료를 처리하지 않은 군에 대한 백분율로 나타내었다.

#### 4. 당뇨합병증 활성 측정

##### 1) 최종당화산물 생성 저해활성 측정

최종당화산물 생성 저해활성은 Vinson과 Howard<sup>18)</sup>가 행한 방법을 변형하여 실시하였다. 10 mg/ml의 우혈청 알부민(bovine serum albumine)을 0.2 M phosphate buffer(pH .4)에 용해시키고 0.2 M의 fructose와 glucose를 처리하였다. 이때 0.2 M phosphate buffer에 0.02% sodium azide를 넣어 반응기간 동안 박테리아의 생성을 방지하였다. 시료는 10%의 DMSO에 녹여 준비하였으며, 이 반응액에 추출물 또는 양성 대조군인 aminoguanidine을 첨가한 후 37 °C에서 7일 동안 반응시켰다. 배양 후에는 spectrofluorometric detector(Infinite F200, Tecan Austria GmBH)를 이용하여 형광도(Ex: 350 nm, Em: 450 nm)를 측정하였다.

### Ⅲ. 결 과

#### 1. 항산화 활성

##### 1) 총 페놀 함량

여정실의 각 추출물 총 페놀 함량은 Table 1에 나타내었으며, 그 결과 여정실의 열수 추출물에서 112.6±1.2 mg GAE/g으로 가장 많은 페놀성 화합물을 함유 하는 것으로 나타났으며, 그 다음 80% acetone 추출물에서 81.7±3.1 mg GAE/g의 페놀성 화합물이 함유하였다. 80% MeOH 추출물과 80% EtOH 추출물은 각 74.0±1.1, 58.8±2.6 mg GAE/g으로 열수추출방법에 비하여 상대적으로 낮은 총 페놀 함량을 나타내었다. 이상의 결과로 여정실을 유기용매로 추출하는 것 보다 열수 추출 시 페놀성 화합물이 가장 많이 함유함을 확인하였다.

Table 1. Total phenolic contents of several extracts obtained from Ligustri Fructus

Extracts	Phenolic contents (mg GAE/g) <sup>a</sup>
Hot water ext.	112.6±1.2
80% Acetone ext.	81.7±3.1
80% MeOH ext.	74.0±1.1

<sup>a</sup>Data represent the mean±SD three replications.

##### 2) DPPH 라디칼 소거 활성

여정실을 극성별 유기용매와 열수 추출물에 대하여 항산화 활성과 관련된 DPPH 라디칼 소거활성을 평가한 결과, 총 페놀성 화합물이 가장 많이 함유되어 있는 여정실 열수 추출물의 IC<sub>50</sub>값이 494.8±6.7 µg/ml로 우수한 DPPH 라디칼 소거활성이 나타났으며, 다음으로 여정실의 80% acetone 추출물에서 IC<sub>50</sub>값이 546.2±2.9 µg/ml의 소거 활성을 확인하였다. 또한 여정실의 80% MeOH 및 80% EtOH은 IC<sub>50</sub>값이 각 570.8±2.6 및 642.2±1.9 µg/ml으로 열수 추출물에 비하여 상대적으로 낮은 DPPH 라디칼 소거활성을 나타내었다. 이상의 결과로부터 여정실의 추출 방법에 따른 DPPH 라디칼 소거활성은 양성대조군으로 사용된 천연 항산화 성분인 (+)-catechin (IC<sub>50</sub> = 73.7±1.6 µg/ml)과 비교하였을 때 다소 약한 활성임을 나타내었으나, 추출물 상태에서의 효능으로 단일물질로서의 분리 정제시 우수한 라디칼 소거활성 성분의 존재를 시사하였다. 최근 페놀성 화합물과 DPPH 라디칼 소거활성 밀접한 상관관계가 있다는 보고<sup>19)</sup>에 근거하여 Table 1 및 2에서 나타낸 바와 같이 페놀성 화합물의 함량과 DPPH 라디칼 소거활성은 밀접한 상관관계가 있음을 시사하였다.

Table 2. Comparison of DPPH radical scavenging activities of Ligustri Fructus extracts by different extraction conditions

Extracts	Inhibition (%) <sup>a</sup>					IC <sub>50</sub> (µg/ml)
	1000	500	250	125	62.5	
Hot water ext.	79.3±0.1	51.6±1.2	21.7±1.1	5.9±0.9	2.7±1.3	494.8±6.7
80% Acetone ext.	79.3±0.9	42.3±1.4	21.5±0.9	7.3±1.3	3.6±1.4	546.2±2.9
80% MeOH ext.	72.6±1.7	43.9±0.3	21.2±1.1	10.1±0.7	6.4±0.8	570.8±2.6
80% EtOH ext.	75.1±1.3	34.8±2.1	12.4±1.5	1.1±2.1	0.3±0.1	642.2±1.9
(+)-Catechin <sup>b</sup>	94.2±1.1	89.4±0.3	85.0±0.6	67.8±1.7	43.8±1.0	73.7±1.6

<sup>a</sup>All samples were examined in triplicate experiments. Radical scavenging activity are expressed as the mean±SD of triplicate experiments.

<sup>b</sup>(+)-Catechin was used as a positive control.

##### 3) ABTS+ 라디칼 소거 활성

천연물의 추출에 사용되는 대표적 유기용매와 열수추출방법을 활용하여 다양한 여정실 추출물에 대해서 ABTS<sup>+</sup> 라디칼 소거활성 평가를 수행하여 항산화 활성을 평가하였다. 그 결과, DPPH 라디칼 소거에서 가장 우수한 활성을 나타낸 여정실 열수 추출물의 IC<sub>50</sub>값이 129.7±2.5 µg/ml의 우수한 ABTS<sup>+</sup> 라디칼 소거활성을 나타냈으며, 80% acetone 추출물과 80%

MeOH 추출물에서 각각 IC<sub>50</sub>값이 163.1±7.1 및 189.1±5.0 µg/ml으로 우수한 ABTS<sup>+</sup> 라디칼 소거 활성을 나타내었다. 또한 80% EtOH 추출물에서는 IC<sub>50</sub>값이 222.9±6.8 µg/ml으로 다른 용매를 활용한 추출물에 비해 상대적으로 낮은 활성임을 확인하였으며, DPPH 라디칼 소거활성 평가와 유사한 실험 결과를 나타내었다.

Table 3. Comparison of ABTS<sup>+</sup> radical scavenging activities of Ligustri Fructus extracts by different extraction conditions

Extracts	Inhibition (%) <sup>a</sup>					IC <sub>50</sub> (μg/ml)
	1000	500	250	125	62.5	
Hot water ext.	99.6±1.1	99.3±1.4	72.1±1.1	45.5±1.6	27.6±1.6	129.7±2.5
80% Acetone ext.	98.9±0.9	85.2±0.7	49.8±0.4	23.1±1.4	13.1±0.9	163.1±7.1
80% MeOH ext.	99.0±1.2	92.0±1.9	55.1±1.3	32.1±1.9	20.1±1.1	189.1±5.0
80% EtOH ext.	98.2±1.3	90.5±1.3	54.8±1.5	27.1±1.1	12.1±1.3	222.9±6.8
(+)-Catechin <sup>b</sup>	96.1±0.6	93.2±1.3	89.5±1.7	77.1±0.5	65.2±0.7	33.2±3.0

<sup>a</sup>All samples were examined in triplicate experiments. Radical scavenging activity are expressed as the mean±SD of triplicate experiments.

<sup>b</sup>(+)-Catechin was used as a positive control.

## 2. 항당뇨합병증 관련 활성

### 1) 최종당화산물 생성 저해활성

본 연구에서는 부작용이 없는 천연물 유래의 당뇨합병증의 치료 및 예방에 유효한 성분의 탐색을 위하여 다양한 유기용매 및 열수추출 방법을 활용한 여정실 추출물에 대하여 최종당화산물 생성 저해활성을 평가하였다. 그 결과, 열수 추출물에서 IC<sub>50</sub>값이 143.9±3.7 μg/ml로 가장 우수한 최종당화산물 생성 저해활성을 나타냈으며, 80% acetone 추출물의 IC<sub>50</sub>값은 183.1±5.7 μg/ml, 80% MeOH 추출물과 80% EtOH 추출

물의 IC<sub>50</sub>값은 각 268.4±6.9 및 278.5±7.5 μg/ml로 열수 추출물에 비하여 다소 낮은 최종당화산물 생성 저해활성을 확인하였다. 용매를 달리하여 추출한 여정실 추출물에서 유기용매를 사용하여 추출한 시료보다 열수 추출한 추출물에서 상대적으로 높은 활성을 확인하였다. 최근 본 연구팀에서 천연물 유래의 생리활성 소재 개발을 위한 연구가 수행 중이며, 향후 가장 우수한 활성을 나타낸 여정실 열수 추출물에 대해서 각종 칼럼크로마토그래피 및 기기분석을 활용한 단일물질의 분리 및 정제를 통하여 활성 성분의 구조 동정을 위한 추가적인 연구가 필요하다고 판단된다.

Table 4. Comparison of advanced glycation end products(AGEs) formation inhibitory effects of Ligustri Fructus extracts by different extraction conditions

Extracts	Inhibition (%) <sup>a</sup>					IC <sub>50</sub> (μg/ml)
	500	250	125	62.5	31.3	
Hot water ext.	89.1±1.1	75.2±1.1	44.4±0.4	19.2±1.5	0.3±1.1	129.7±2.5
80% Acetone ext.	78.1±0.3	70.0±2.1	33.1±1.4	12.9±1.6	7.0±1.0	163.1±7.1
80% MeOH ext.	66.4±1.2	54.6±1.4	23.4±1.1	11.0±1.2	4.3±0.9	189.1±5.0
80% EtOH ext.	65.6±1.1	54.1±1.9	20.2±1.3	9.1±0.8	3.9±0.6	222.9±6.8
(+)-Catechin <sup>b</sup>	98.1±1.2	95.3±1.0	85.5±0.7	79.8±0.8	45.3±0.4	33.2±3.0

<sup>a</sup>All samples were examined in triplicate experiments. Radical scavenging activity are expressed as the mean±SD of triplicate experiments.

<sup>b</sup>(+)-Catechin was used as a positive control.

## IV. 고찰

페놀성 물질은 페닐기에 hydroxyl기가 결합된 방향족 화합물을 말하며, 천연에 존재하는 2차 대사산물로서 다양한 화합물과 생리활성을 나타내는 것으로 잘 알려져 있다<sup>20)</sup>. 이러한 화합물들은 항산화, 항암, 항균 등의 활성을 나타내는 특성이 있으며<sup>21)</sup>, 또한 산화의 원인 중 한가지로서 노화는 활성산소의 작용으로 인해 발생하기 때문에 최근 활성산소의 저해에 대한 관심이 증가하고 있다. DPPH 라디칼은 항산화 활성이 있는 화합물과 반응하면 안정한 형태로 돌아가면서 보라색으로 탈색되어 흡광도 값이 감소하는 것을 측정하는 원리이며, ABTS<sup>+</sup>

라디칼 역시 항산화물질과 반응 하여 청록색을 띄는 ABTS<sup>+</sup> 라디칼이 소거되어 탈색되는 원리를 이용한 항산화 활성 측정 방법으로 천연물 유래 항산화 활성 물질 개발을 위한 연구에 광범위하게 사용되고 있다.

당뇨합병증 활성과 관련된 최종당화산물 생성 저해는 고혈당 조건에서 환원당과 단백질의 비효소적 반응에 의하여 형성되는 것으로, 한번 생성되면 분해되지 않아 정상혈당으로 회복되어도 잔존하여 혈액 단백질이나 여러 신장조직과 결합하여 장기의 손상을 유발한다. 또한 최종당화산물이 생성은 활성산소종에 의해 생성이 가속되거나 세포표면의 최종당화산물 수용체와 결합하여 세포손상 및 당뇨합병증 유발에 관여하는 것이 보되

어 있다<sup>6)</sup>. 현재까지 잘 알려진 최종당화산물 생성 저해제로는 aminoguanidine이 있으나, 임상시험에서 독성이 나타내는 것이 보고됨에 따라 보다 부작용이 적고 안전한 천연물 유래의 최종당화산물 생성 저해제의 탐색이 지속적으로 연구되고 있다.

본 연구에서는 다양한 유기용매와 열수 추출을 활용한 여정실 추출물에 대해 항산화 활성과 관련된 총 페놀 함량 측정, DPPH 및 ABTS<sup>+</sup> 라디칼 소거활성을 평가하였고, 당뇨합병증 활성과 관련된 최종당화산물 생성 저해활성에 대한 평가를 수행하였다. 그 결과, 여정실 열수 추출물에서 총 페놀 함량이 다른 유기용매를 사용한 추출물에 비해 상당히 높은 함량을 나타냈으며, DPPH 및 ABTS<sup>+</sup> 라디칼 소거활성에서 역시 다른 유기용매에 비해 상대적으로 우수한 라디칼 소거활성이 나타났었다. 이상의 결과는 이전 연구에서 페놀성 화합물들이 DPPH 라디칼 소거활성에 우수한 활성을 나타냄이 보고가 되었으며<sup>19)</sup>, 여정실 열수 추출물에서 상대적으로 많이 함유하고 있는 여정실 유래의 페놀성 화합물들이 우수한 라디칼 소거활성을 나타내는 것이라고 생각된다. 또한 당뇨합병증과 관련되어 활성산소종에 의해 최종당화산물 생성이 증가가 보고가 되었으며<sup>9)</sup>, 여정실 열수 추출물에서 우수한 라디칼 소거활성이 나타냄에 따라 최종당화산물 생성 저해활성 역시 다른 유기용매보다 열수를 활용한 추출물에서 우수한 저해활성이 나타났다. 이상의 연구 결과 유기용매를 활용하여 추출한 여정실 추출물보다 열수추출 방법을 활용한 추출물에서 총 페놀 함량, DPPH 및 ABTS<sup>+</sup> 라디칼 소거활성 및 최종당화산물 생성 저해활성에서 가장 우수한 활성을 나타냈으며, 향후 각종 칼럼크로마토그래피 및 기기분석을 활용하여 여정실 열수 추출물에 함유하고 있는 항산화 및 항당뇨합병증에 유효한 활성 성분의 분리 정제 및 구조 동정에 대한 추가적인 연구가 필요하다고 사료된다.

## V. 결 론

건조된 여정실을 다양한 유기용매 및 열수추출 방법을 활용한 추출방법으로 얻어진 추출물에 대하여 항산화 활성과 관련된 총 페놀 함량 측정, DPPH 및 ABTS<sup>+</sup> 라디칼 소거활성 평가와 당뇨합병증 활성과 관련된 최종당화산물 생성 저해활성 평가를 수행하였으며, 그 결과는 다음과 같다.

1. 여정실의 hot water 추출물에서 총 페놀 함량이 112.6 ± 1.2 mg GAE/g으로 상대적으로 가장 많은 페놀성 화합물들의 함유되어 있음을 확인하였고, DPPH 라디칼 소거활성 평가에도 역시 열수 추출물에서 IC<sub>50</sub>값이 494.8 ± 6.7 μg/ml로 다른 유기용매로 추출한 여정실 추출물보다 상대적으로 우수한 DPPH 라디칼 소거활성이 나타났다.
2. 항산화 활성과 관련된 ABTS<sup>+</sup> 라디칼 소거활성 평가에서는 여정실 열수 추출물에서의 IC<sub>50</sub>값이 129.7 ± 2.5 μg/ml로 가장 우수한 활성을 나타냈다.
3. 최종당화산물 생성 저해활성 평가에서는 열수 추출물 >

80% acetone 추출물 > 80% MeOH 추출물 > 80% EtOH 추출물 순서의 최종당화산물 생성 저해활성을 확인하였으며, 그 중 열수 추출물의 IC<sub>50</sub>값이 143.9 ± 7.7 μg/ml로 가장 우수한 활성을 나타내었다.

이상의 연구 결과로부터 여정실의 추출방법별 추출물에서 우수한 항산화 및 항당뇨합병증 활성을 확인하였으며, 가장 우수한 활성을 나타낸 열수 추출물을 대상으로 각종 칼럼크로마토그래피 및 기기분석을 활용하여 안전하고 부작용이 없는 천연 물질 동정 연구가 수행 및 활성 기작 연구를 통하여 천연물 유래의 기능성 신소재 개발의 가능성이 있을 것으로 기대 된다.

## References

1. Ahmed N. Advanced glycation endproducts—role in pathology of diabetic complications. *Diabetes Res Clin Pr.* 2005 ; 67(1) : 3–21.
2. Nakamura J, Kasuya Y, Hamada Y, Nakashima E, Naruse K, Yasuda Y, Hotta N. Glucose-induced hyperproliferation of cultured rat aortic smooth muscle cells through polyol pathway hyperactivity. *Diabetologia.* 2001 ; 44(4) : 480–487.
3. Huebschmann AG, Regensteiner JG, Vlassara H, Reusch JE. Diabetes and advanced glycoxidation end products. *Diabetes Care.* 2006 ; 29(6) : 1420–1432.
4. Vlassara H. Advanced glycation end-products and atherosclerosis. *Ann Med.* 1996 ; 28(5) : 419–426.
5. Matsuda H, Wang T, Managi H, Yoshikawa M. Structural requirements of flavonoids for inhibition of protein glycation and radical scavenging activities. *Bioorg Med Chem.* 2003 ; 11(24) : 5317–5323.
6. Edelstein D, Brownlee M. Mechanistic studies of advanced glycosylation end product inhibition by aminoguanidine. *Diabetes.* 1992 ; 41(1) : 26–29.
7. Ceriello A. New insights on oxidative stress and diabetic complications may lead to a “causal” antioxidant therapy. *Diabetes care.* 2003 ; 26(5) : 1589–1596.
8. Stitt A, Gardiner TA, Anderson NL, Canning P, Frizzell N, Duffy N, Thorpe SR. The AGE inhibitor pyridoxamine inhibits development of retinopathy in experimental diabetes. *Diabetes.* 2002 ; 51(9) : 2826–2832.
9. Jeong GH, Park EK, Kim TH. New anti-glycative flavonoids from *Cirsium setidens* with potent radical scavenging activities. *Phytochem Lett.* 2018 ; 26 : 115–119.
10. Jang DS, Kim JM, Lee YM, Kim YS, Kim JH, Kim JS. Puerariafuran, a new inhibitor of advanced glycation end products (AGEs) isolated from the roots of *Pueraria lobata*. *Chem Pharm Bull.* 2006 ;

- 54(9) : 1315–1317.
11. Lee YS, Kang YH, Jung JY, Lee S, Ohuchi K, Shin KH, Lim SS. Protein glycation inhibitors from the fruiting body of *Phellinus linteus*. *Biol Pharm Bull*. 2008 ; 31(10) : 1968–1972.
  12. Zhang Y, Lai WP, Leung PC, Wu CF, Yao XS, Wong MS. Effects of *Fructus Ligustri Lucidi* extract on bone turnover and calcium balance in ovariectomized rats. *Biol Pharm Bull*. 2006 ; 29(2) : 291–296.
  13. Ngo QMT, Lee HS, Nguyen VT, Kim JA, Woo MH, Min BS. Chemical constituents from the fruits of *Ligustrum japonicum* and their inhibitory effects on T cell activation. *Phytochemistry*. 2017 ; 141 : 147–155.
  14. Zhang DF, Huang W, Huang JQ, Zhang RL, Liao ZQ. Study on proliferation inhibition and anti-invasion and apoptotic induction of oleanolic acid in human lung cancer cell line. *Cancer Prev Res*. 2003 ; 30 : 180–182.
  15. Singleton VL, Rossi JA. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic–phosphotungstic acid reagents. *Am J Enol Vitic*. 1965 ; 16(3) : 144–158.
  16. Blois MS. Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature*. 1958 ; 181(4617) : 1199–1200.
  17. Re R, Pellegrini N, Proteggente A, Pannala A, Yang M, Rice–Evans C. Antioxidant activity applying an improved ABTS+ radical cation decolorization assay. *Free Radic Biol Med*. 1999 ; 26(9) : 1231–1237.
  18. Vinson JA, Howard TB. Inhibition of protein glycation and advanced glycation end products by ascorbic acid and other vitamins and nutrients. *J. Nutr. Biochem*. 1996 ; 7(12) : 659–663.
  19. Balasundram N, Sundram K, Samman S. Phenolic compounds in plants and agri–industrial by–products: Antioxidant activity, occurrence, and potential uses. *Food Chem*. 2006 ; 99(1) : 191–203.
  20. Bravo L. Polyphenols: chemistry, dietary sources, metabolism, and nutritional significance. *Nutr Rev*. 1998 ; 56(11) : 317–333.
  21. Harborne JB, Williams CA. Advances in flavonoid research since 1992. *Phytochemistry*. 2000 ; 55(6) : 481–504.