

## 강원도 10종 산채류의 항산화 및 인지능력개선 효능 평가

한웅호 · 최선일 · 김민종\* · †이옥환\*\*

강원대학교 식품생명공학과 대학원생, \*강원대학교 식품생명공학과 학부생, \*\*강원대학교 식품생명공학과 교수

### Evaluation of Antioxidant and Cognition Improvement Effects of 10 Wild Vegetables Cultivated in Gangwon Province

Xiongao Han, Sun-Il Choi, Min-Jong Kim\* and †Ok-Hwan Lee\*\*

Graduate Student, Dept. of Food Science and Biotechnology, Kangwon National University, Chuncheon 24341, Korea

\*Undergraduate Student, Dept. of Food Science and Biotechnology, Kangwon National University, Chuncheon 24341, Korea

\*\*Professor, Dept. of Food Science and Biotechnology, Kangwon National University, Chuncheon 24341, Korea

#### Abstract

The purpose of this study was to investigate effect of methanolic extracts of 10 kinds of wild vegetables cultivated in Gangwon province on antioxidant activity, acetylcholinesterase, and  $\beta$ -secretase inhibitory activities. Results showed that among the wild vegetables, *Aralia elata*(Miq.) Seem shoot extract exhibited the highest total phenol content (84.65±1.08 mg GAE/g) and total flavonoids content (70.77±0.55 mg RE/g), respectively. The antioxidant activity of wild vegetables extracts was measured by using 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) and 2,2'-azino-bis-(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) (ABTS) assay. *Aralia elata*(Miq.) Seem shoot extracts had the highest DPPH and ABTS scavenging activity (90.16%, 40.18% at 2 mg/mL). As a result, *Aralia elata*(Miq.) Seem shoot extract was the most effective in terms of acetylcholinesterase inhibitory activity (35.94% at 1 mg/mL). In the  $\beta$ -secretase activity assay, all 10 kinds wild vegetables extracts showed low inhibitory activity, and *Aralia elata*(Miq.) Seem shoot extract had highest inhibitory activity among the 10 wild vegetables extracts was 14.99%. Taken together, these results showed that *Aralia elata*(Miq.) Seem shoot extract has potential cognition improvement impact, suggesting that it may provide an effective strategy for improving cognition.

Key words: wild vegetables extracts, antioxidant activity, cognition improvement effect, acetylcholinesterase,  $\beta$ -secretase

#### 서론

의료기술의 발달과 건강에 대한 관심 증대로 평균수명이 연장되어 고령화 사회로 빠르게 진행되고 있다. 그 중 한국의 경우 2050년에는 65세 이상의 노인 비율이 2000년보다 약 5배 증가하여 34.9%로 도달하게 된다고 보고되었다(KOSTAT 2015). 고령인구의 급격한 증대로 노인성 질환으로 간주되는 다양한 퇴행성 질환의 발병률이 급증하고 있다. 특히 노화에 따른 알츠하이머병(Alzheimer's disease) 및 치매 등에 의한 급격한 기억력 및 인지능력 저하는 심각한 건강 문제로 대두되고 있다(Morris JC 1996). 이러한 기억력 및 인

지능력 저하는 노인의 사회생활 가능 여부를 결정하는 매우 중요한 요소이며, 사회적 경제적 부담을 초래한다.

뇌세포 간에 신호는 해마의 신경전달물질에 의해 전달되며, 신경전달물질의 활동 감소는 인지능력 저하에 원인이 된다. 특히 콜린성 신경세포 퇴화로 인한 아세틸콜린의 감소는 인지능력 저하의 원인이다. 베타 아밀로이드( $\beta$ -amyloid, A $\beta$ )는 신경세포 외측에 비정상적으로 쌓여 해마의 신경세포 퇴화 및 사멸을 유도한다. A $\beta$ 는 아밀로이드 전구 단백질(amyloid precursor protein, APP)이 대사 과정에서  $\gamma$ -secretase,  $\beta$ -secretase 효소에 의해 생성된다(Younkin 등 1986; Talesa VN 2001; Hwang 등 2002; Park & Jang 2013). 현재 Alzheimer

† Corresponding author: Ok-Hwan Lee, Professor, Dept. of Food Science and Biotechnology, Kangwon National University, Chuncheon 24341, Korea. Tel: +82-33-250-6454, Fax: +82-33-259-5565, E-mail: loh99@kangwon.ac.kr

disease(AD)의 인지기능 저하 치료제로 tacrine, donepezil 및 galantamine 등이 상용화되고 있다(Figueiró 등 2010). 하지만 이러한 약물들은 낮은 생체 이용률과 간독성 유발 등의 문제점으로 인해 이를 대체할 수 있는 천연소재의 탐색이 꾸준히 요구되고 있다.

강원도에서 자생하는 생물자원은 총 3,200 여종으로 알려져 있으며, 그 중에서 건강기능식품학적 가치가 높은 식물은 80 여종이 있다. 산채류는 기능적 우수성에도 불구하고, 이를 활용한 고부가가치상품 개발이 미비하며, 안전성이 확보된 바이오 신소재로서의 종합적인 연구가 필요한 실정이다. 또한 산채류에 다량 함유된 폴리페놀류는 인지기능 개선에 도움을 줄 수 있어(Nurk 등 2009; Lee 등 2010), 인지기능 개선 및 고령친화식품소재로서의 가능성을 탐색할 연구가 필요한 실정이다. 이에 본 연구는 강원도에서 재배량이 가장 많은 10종의 산채류를 대상으로 총 폴리페놀 함량, 총 플라보노이드 함량, DPPH 라디칼 소거 활성, ABTS 라디칼 소거 활성, AChE 저해 활성,  $\beta$ -secretase 저해 활성을 측정하여 강원도에서 재배된 산채류의 인지기능 개선 천연소재로서의 가치를 검토하였다.

## 재료 및 방법

### 1. 실험재료 및 시약

본 연구에 사용된 10종의 산채류는 강원도 농업기술원 산채연구소에서 발표한 강원도 2015 산채류 재배현황(GARES 2016)에서 재배면적이 가장 많은 10종의 산채로써 강원도 지역의 농장에서 구매하였다. 10종의 산채류로는 두릅나무(*Aralia elata*(miq.) Seem.) 순, 도라지(*Platycodon grandiflorum*) 뿌리, 터덕(*Codonopsis lanceolate*) 뿌리, 곤달비(*Ligularia stenocephala*) 전초, 산마늘(*Allium microdictyon* Prokh.) 전초, 곰취(*Ligularia fischeri*) 전초, 나물취(*Aster scaber* Thunb.) 전초, 고사리(*Pteridium aquilinum* var. *latiusculum*) 전초, 고려엉겅퀴(*Cirsium setidens*) 전초, 음나무(*Kalopanax septemlobus*) 속껍질이며, 100% 메탄올을 이용하여 25°C에서 24시간 동안 추출하였다. 추출과정은 3회 반복하였으며, 추출용액은 여과지(No. 3, Whatman, Maidstone, Kent, UK)로 여과한 후 회전농축기(Tokyo Rikakikai Co, Ltd, Tokyo, Japan)를 사용하여 감압 농축하였다. 농축액은 동결건조(Ilshinbiobase Co, Ltd, Yangju, Korea) 후 -20°C에서 보관하면서 실험에 사용하였다. 10종 산채류 동결건조물은 각각의 실험에 맞추어 100% 메탄올로 희석하여 실험에 사용하였다. 완충용액 제조와 분석에 사용되는 시약은 Sigma-Aldrich Co.(St. Louis MO, USA)로부터 구입하였고, 그 밖의 모든 시약은 분석에 적합한 특급시약을 사용하였다.

### 2. 총 폴리페놀 함량 측정

총 페놀 함량은 Duval & Shetty (2001)의 방법에 따라 산채 추출물, 2% Follin-Ciocalteau's phenol reagent 및 10%  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  를 1:1:1의 비율로 혼합한 후 1시간 동안 반응시켰다. 이후 microplate reader(Molecular Devices, Sunnyvale, CA, USA)를 이용하여 750 nm에서 흡광도를 측정 후 gallic acid 표준곡선을 이용하여 총 페놀 함량을 계산하였다.

### 3. 총 플라보노이드 함량 측정

총 플라보노이드 함량은 각 산채 추출물 0.5 mL에 95% ethanol 1.5 mL, 10% aluminum nitrate 0.1 mL, 1 M potassium acetate 0.1 mL, 증류수 2.8 mL를 첨가하여 상온에서 30분 동안 반응시켰다. 이후 microplate reader로 415 nm에서 흡광도를 측정 후 rutin 표준곡선을 이용하여 총 플라보노이드 함량을 측정하였다.

### 4. DPPH radical 소거활성 측정

2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl(DPPH) 라디칼 소거능은 Ozgen 등(2006)의 방법을 변형하여 측정하였다. 0.5, 1, 2 mg/mL 농도의 산채 추출물 0.2 mL에 에탄올로 용해한 0.4 mM DPPH 용액 0.8 mL를 첨가하여 암소에서 10분간 반응시켰다. 흡광도 값은 microplate reader의 517 nm에서 측정하였으며, 다음 식에 의하여 DPPH 라디칼 소거능을 나타내었다. 양성대조군으로는 ascorbic acid를 사용하였다.

$$\text{DPPH 라디칼 소거능(\%)} = \left(1 - \frac{\text{Experiment}}{\text{Control}}\right) \times 100$$

### 5. ABTS radical 소거활성 측정

7 mM 2,2'-azino-bis(3-ethylbenzthiazoline-6-sulfonic acid)(ABTS) 용액과 2.45 mM 과황산칼륨을 혼합하여 암소에서 약 16시간 반응시켰으며, 734 nm에서 흡광도가 0.70±0.02가 되도록 희석하였다. 0.5, 1, 2 mg/mL 농도의 산채 추출물 50  $\mu\text{L}$ 에 ABTS 용액 150  $\mu\text{L}$ 를 첨가하여 상온에서 20분 동안 반응시켜 microplate reader의 734 nm에서 흡광도를 측정하였다. 다음 식에 의하여 ABTS 라디칼 소거능을 나타내었으며, 양성대조군으로는 ascorbic acid를 사용하였다.

$$\text{ABTS 라디칼 소거능(\%)} = \left(1 - \frac{\text{Experiment}}{\text{Control}}\right) \times 100$$

### 6. AChE(acetylcholinesterase) 저해 활성

Acetylcholinesterase(AChE) 저해 활성은 Ellman 등(1961)의 방법을 변형하여 측정하였다. 2.45 U/mL AChE, 0.1 M phosphate

buffer(pH 8.0) 및 3 mM 5,5'-dithio-bis-2-nitrobenzoic acid (DTNB) 용액을 1:2:5의 비율로 혼합액 200  $\mu$ L를 제조한 후, 산채 추출물(1 mg/mL) 25  $\mu$ L와 37°C에서 10분간 반응시켰다. 이후 기질 0.075 M acetylthiocholine iodide(ATCI) 25  $\mu$ L를 첨가하였으며, 분광광도계(Optizen POP UV/Vis Spectrophotometer, MECASYS, KR)를 사용하여 412 nm에서 흡광도를 측정하였다. 저해활성은 다음식에 의하여 산출하였다.

$$\text{AChE 저해활성(\%)} = \frac{[Cabs - (Sabs - Babs)]}{Cabs} \times 100$$

Cabs: 0.1 M phosphate buffer의 흡광도  
 Sabs: 산채 추출물과 ATCI 기질 혼합물의 흡광도  
 Babs: 산채 추출물의 흡광도

### 7. BACE1( $\beta$ -Secretase1)저해활성

산채 추출물의  $\beta$ -secretase 효소 활성은 BACE1( $\beta$ -secretase) FRET assay kit (Panvera, Madison, WI, USA)을 사용하여 측정하였다. Black 96-microwell plate에 reaction buffer 10  $\mu$ L, substrate (0.75  $\mu$ M Rh-EVNLDAEFK-quencher in 50 mM ammonium bicarbonate) 10  $\mu$ L,  $\beta$ -secretase 효소(1 units/mL) 및 각 산채 추출물(1 mg/mL) 10  $\mu$ L를 첨가하여 상온에서 1시간 반응시킨 후 stop solution 10  $\mu$ L를 가하여 반응을 정지시켰다. 이후 fluorescent microplate reader(Spectramax i3, Molecular Devices, Sunnyvale, CA, USA)를 이용하여 Ex 545/Em 585 nm 파장에서 Substrate인 Rh EVNLDAEFK-quencher가  $\beta$ -secretase 효소에 의해 분해되어 나타내는 형광강도를 측정하였다.

### 8. 통계처리

모든 실험은 3회 반복 수행하여 평균값을 계산하였고, 결과값의 통계처리는 SAS version 9.4(SAS institute Inc., Cary, NC, USA)를 이용하여 분석하였다. 유의성 분석은 ANOVA 검정을 실시하며, Duncan의 다중범위 검정법(Duncan's multiple range test)으로 유의성은  $p < 0.05$  수준에서 검정하였다. 상관관계는 SPSS statistics를 이용하여 검증하였다.

## 결과 및 고찰

### 1. 총 폴리페놀 함량과 총 플라보노이드 함량

페놀성 화합물은 식물체에 다량 분포되어 있는 2차 대사산물의 하나로서 다양한 구조와 분자량을 가지고 있다. 이들은 phenolic hydroxyl(OH)기를 포함하기 때문에 단백질 및 기타 거대 분자들과 쉽게 결합하며, 항산화 효과 등의 다양한 생리활성을 갖는 것으로 알려져 있다(Halliwel 등 1995; Kim 등 2000). 10종의 산채류 메탄올 추출물 중 두릅 순에서 총

폴리페놀 함량과 총 플라보노이드 함량은 각각 84.65 $\pm$ 1.08 mg GAE/g과 70.77 $\pm$ 0.55 mg RE/g으로 10종 산채류 중에서 가장 높은 함량을 보였다. 다른 9종의 산채류의 총 폴리페놀 함량은 곶취(59.92 $\pm$ 0.36 mg GAE/g), 곤달비(51.42 $\pm$ 0.13 mg GAE/g), 고려영귀(44.37 $\pm$ 0.20 mg GAE/g), 고사리(44.32 $\pm$ 0.31 mg GAE/g), 나물취(38.71 $\pm$ 0.32 mg GAE/g), 산마늘(31.90 $\pm$ 0.18 mg GAE/g), 음나무(26.18 $\pm$ 0.11 mg GAE/g), 도라지(5.23 $\pm$ 0.04 mg GAE/g), 더덕(4.95 $\pm$ 0.01 mg GAE/g) 순으로 총 폴리페놀 함량이 측정되었다. 두릅 순을 제외한 산채류의 총 플라보노이드 함량은 곶취(43.23 $\pm$ 1.26 mg RE/g), 고사리(34.93 $\pm$ 0.42 mg RE/g), 고려영귀(32.92 $\pm$ 0.22 mg RE/g), 나물취(31.74 $\pm$ 0.41 mg RE/g), 곤달비(31.18 $\pm$ 0.36 mg RE/g), 산마늘(22.00 $\pm$ 0.30 mg RE/g), 음나무(10.06 $\pm$ 0.13 mg RE/g)순으로 총 플라보노이드 함량이 측정되었으며, 도라지와 더덕은 검출되지 않았다(Table 1). 이러한 결과는 100% 메탄올 상온추출 방법에서 도라지, 더덕의 폴리페놀 및 플라보노이드 성분의 추출에 영향이 있는 것으로 판단되었다. 또한 Hwang 등(2011)은 열처리온도에 따른 더덕과 도라지의 화학성분과 항산화활성 연구에서 열처리하지 않은 더덕과 도라지에서 총 폴리페놀 함량이 0.60 및 0.59 mg GAE/g으로 함량이 아주 낮은 것으로 보고된 바 있어 가열을 하지 않은 상온추출이 더덕과 도라지 추출물의 낮은 총 폴리페놀 및 플라보노이드 함량이 측정되지 않은 원인으로 사료

**Table 1. Total polyphenol contents and total flavonoid contents of wild vegetables extracts**

Scientific name	Total polyphenol (mg GAE <sup>1)</sup> /g)	Total flavonoid (mg RE <sup>2)</sup> /g)
<i>Aralia elata</i> (Miq.) Seem.	84.65 $\pm$ 1.08	70.77 $\pm$ 0.55
<i>Platycodon grandiflorum</i>	5.23 $\pm$ 0.04	ND
<i>Codonopsis lanceolata</i>	4.95 $\pm$ 0.01	ND
<i>Ligularia stenocephala</i>	51.42 $\pm$ 0.13	31.18 $\pm$ 0.36
<i>Allium microdictyon</i> Prokh.	31.90 $\pm$ 0.18	22.00 $\pm$ 0.30
<i>Ligularia fischeri</i>	59.92 $\pm$ 0.36	43.23 $\pm$ 1.26
<i>Aster scaber</i> Thunb.	38.71 $\pm$ 0.32	31.74 $\pm$ 0.41
<i>Pteridium aquilinum</i> var. <i>latiusculum</i>	44.32 $\pm$ 0.31	34.93 $\pm$ 0.42
<i>Cirsium setidens</i>	44.37 $\pm$ 0.20	32.92 $\pm$ 0.22
<i>Kalopanax septemlobus</i>	26.18 $\pm$ 0.11	10.03 $\pm$ 0.13

<sup>1)</sup> GAE: gallic acid equivalent.

<sup>2)</sup> RE: rutin equivalent.

된다. 산채류 메탄올 추출물의 총 폴리페놀 함량과 총 플라보노이드 함량 결과는 Lee 등(2011)의 국내산 산채류의 물 및 메탄올 추출물에 대한 항산화 활성 연구에서 보고된 산채류 메탄올 추출물의 결과와 유사한 총 폴리페놀 함량을 보였다.

## 2. DPPH radical 소거활성 측정

DPPH 라디칼 소거능은 자유 라디칼이 항산화 물질에 의해 환원되면서 짙은 보라색이 탈색되는 원리를 이용한 방법으로 비교적 간단하여 다양한 천연소재로부터 항산화 활성을 탐색할 때 유용하다. 0.5 mg/mL, 1 mg/mL, 2 mg/mL 세 가지 농도로 희석한 10 종 산채류 메탄올 추출물의 DPPH 라디칼 소거활성 결과는 Fig. 1 과 같다. 더덕과 도라지 추출물을 제외한 나머지 산채류 추출물에서 농도유의적으로 DPPH 라디칼 소거능이 증가하였다. 농도가 가장 높은 2 mg/mL 에서 추출물들은 50% 이상의 DPPH 라디칼 소거능을 보였으며, 그 중 두릅 순 메탄올 추출물에서 90.16%로 가장 높은 소거활성을 보였다. 곰취, 곤달비, 나물취 메탄올 추출물에서는 각각 88.43%, 85.74%, 81.83%로 두릅 순 다음으로 높은 소거활성을 보였으며, 음나무, 고사리, 고려영경귀, 산마늘 메탄올 추출물에서는 각각 61.04%, 59.22%, 56.37%, 50.65%의 라디칼 소거활성을 나타냈다. 일반적으로 항산화 효과와 총 폴리페놀 및 플라보노이드 함량 사이의 관계는 높은 상관관계를 나타낸다(Gheldof & Engeseth 2002). Cha 등(2009)이 보고한 바에 따르면 두릅에는 페놀성 화합물이 많이 함유되어 있어 DPPH 및 ABTS 라디칼 소거능이 우수한 결과를 나타내었으며, Lee 등(2009)의 보고에 따르면 두릅 순에서 분리된 플라보노이드 배당체 화합물에서도 높은 항산화 효능을

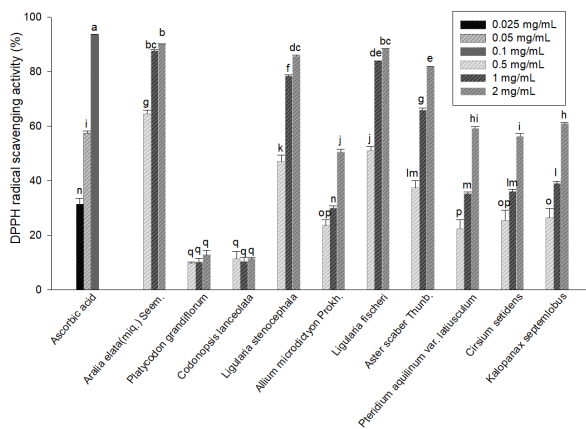
나타내었다. 따라서 본 연구 결과와 유사한 항산화 효과를 나타내었다.

## 3. ABTS radical 소거활성 측정

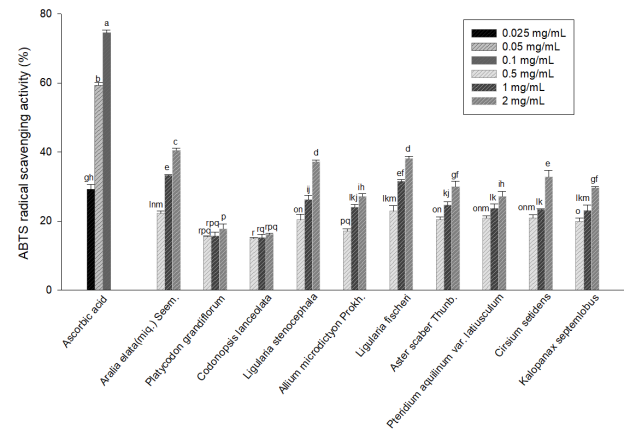
ABTS assay 는 과황산칼륨과 반응하여 청록색의 ABTS 라디칼을 생성하고, 생성된 ABTS 양이온은 시료 추출물의 항산화 효능에 의해 청록색이 무색으로 환원되는 원리를 이용한 측정법이다. 0.5 mg/mL, 1 mg/mL, 2 mg/mL 세 가지 농도로 희석한 10 종 산채류 메탄올 추출물의 ABTS 라디칼 소거활성 결과는 Fig. 2 와 같다. 더덕, 도라지를 제외한 모든 추출물에서 농도유의적으로 ABTS 라디칼 소거능이 증가하였으며, DPPH 라디칼 소거능 결과와 같이 두릅 순 메탄올 추출물에서 40.18%로 가장 높은 소거활성을 나타냈다. 전체적으로 DPPH 라디칼 소거능보다 낮은 ABTS 라디칼 소거활성을 나타내었다. 이는 ABTS 는 양이온 라디칼이지만 DPPH 는 안전한 유리 라디칼이며, ABTS 는 친수성과 소수성 물질 모두 적용할 수 있지만 DPPH 는 주로 소수성 물질의 항산화능을 측정한다. 이러한 이유로 ABTS 라디칼 소거활성이 보다 낮은 것으로 사료된다(Uchida & Stadtman 1993; Re 등 1999).

## 4. Acetylcholinesterase 저해 활성

기억력 저하 및 인지기능 장애를 특징으로 하는 퇴행성 뇌 질환인 알츠하이머병은 AChE 활성 증가로 인해 Ach 가 분해되어 콜린성 신경전달물질 기능손상이 주요 원인으로 제시되고 있다. 신경전달물질인 ACh 의 분해를 막기 위한 AChE 저해제로는 galactamine, donepezil, rivastigmine, tacrine 등이

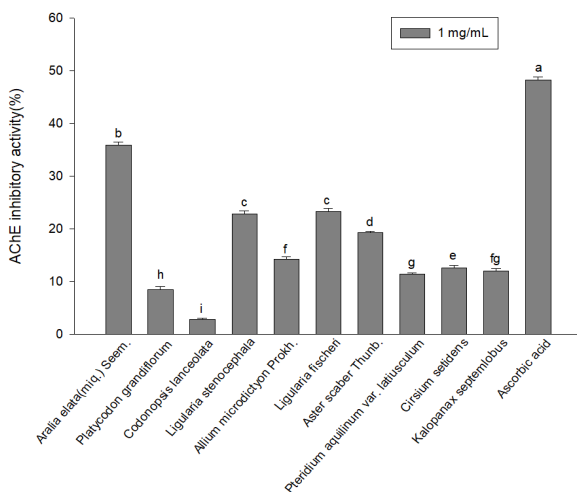


**Fig. 1. DPPH radical scavenging activity of wild vegetables extracts.** Results are presented as the mean±SD of three independent in triplicate. Means with different letters above bars are significantly different at  $p<0.05$  by Duncan's multiple range test.



**Fig. 2. ABTS radical scavenging activity of wild vegetables extracts.** Results are presented as the mean±SD of three independent in triplicate. Means with different letters above bars are significantly different at  $p<0.05$  by Duncan's multiple range test.

있으며, 이들은 FDA에 허용되어 치료제로 사용하고 있다. 뇌에서 ACh 농도 유지는 인지기능 개선 효과와 상관관계가 있는 것으로 보고되고 있다(Coyle 등 1983; Shao 등 2004). 이에 본 실험에서는 10종 산채류 추출물의 인지기능 개선 효능을 확인하기 위해 AChE 저해 활성을 측정하였으며, 그 결과를 Fig. 3에 나타내었다. 그 결과, 두릅 순 메탄올 추출물에서 35.94%의 가장 높은 AChE 저해활성을 보였으며, 곰취(23.29%), 곤달비(22.80%), 나물취(19.30%), 고려엉겅퀴(14.31%), 산마늘(12.65%), 음나무(11.98%), 고사리(11.48%), 도라지(8.49%), 더덕(2.83%) 순으로 측정되었다. 뇌 콜린 에스테라아제 억제 활성이 있다고 보고된 ascorbic acid는 양성 대조군으로 사용되었으며, 1 mg/mL에서 48.25%의 저해활성을 보였다(Dhingra 등 2006). Jeong 등(2009)은 국내시판 4종 차의 열수추출물을 이용하여 항산화 및 AChE 억제활성을 측정한 결과, 폴리페놀 함량이 가장 높은 녹차 열수추출물이 가장 높은 AChE 억제활성을 보고하였다. 본 연구에서도 두릅 순 메탄올 추출물의 가장 높은 총 폴리페놀 함량을 나타내어 가장 높은 AChE 저해 활성을 보인 것으로 사료된다. 또한 Lee 등(2010)의 보고에 따르면 채소 및 과일의 AChE 저해활성을 측정한 결과, 대부분 채소 및 과일에서는 AChE 억제 활성이 낮거나 측정되지 않았다. 이에 본 연구에서는 10종의 산채류 메탄올 추출물 중 8종의 산채류 추출물이 10% 이상의 AChE 저해 활성을 나타내어 인지기능 개선에 도움을 주는 천연 식품원료로서의 활용도가 매우 넓은 것으로 판단된다.



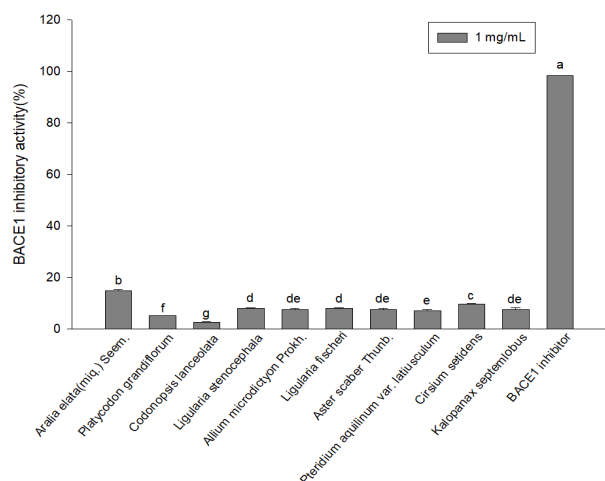
**Fig. 3. Acetylcholinesterase inhibitory activity of wild vegetables extracts at 1 mg/mL.** Results are presented as the mean±SD of three independent in triplicate. Means with different letters above bars are significantly different at  $p<0.05$  by Duncan's multiple range test.

## 5. BACE1( $\beta$ -secretase) 저해 활성

$\beta$ -Secretase는 아밀로이드 전구 단백질의 아미노산 말단을 절단하여  $A\beta$  생성에 관여하기 때문에 최근 알츠하이머병 치료제로 많은 연구가 되고 있다(Vassar 등 1999). 이에 본 연구에서는  $A\beta$  생성에 영향을 줄 수 있는  $\beta$ -secretase 효소에 대한 10종 산채류 메탄올 추출물의 억제 활성을 측정하였다. Fig. 4와 같이 두릅 순 메탄올 추출물을 제외한 9종의 산채류 추출물에서는 10% 미만의 저해 활성이 관찰되어  $\beta$ -secretase 효소 저해 효능이 미미한 것으로 나타났으며, 두릅 순 메탄올 추출물에서는 14.99%의  $\beta$ -secretase 효소 억제 활성을 나타내었다. 식물에서 분리한 플라보노이드류 화합물이  $\beta$ -secretase 효소 저해활성이 있다는 연구는 있지만, 이의 작용기전은 아직 명확하지 않다(Jung 등 2015; Youn 등 2016). 향후 연구에서는 두릅 순에서 분리한 화합물로  $\beta$ -secretase 효소 저해활성에 대한 추가적인 연구와  $A\beta$  형성 조절 기전에 대한 연구가 필요할 것으로 사료된다.

## 6. 상관관계 분석

본 연구에서 측정한 10종 산채류 추출물의 총 폴리페놀, 플라보노이드 함량과 DPPH 라디칼 소거활성, ABTS 라디칼 소거활성, AChE 저해활성, BACE1 저해활성 간의 상관관계를 Table 2에 나타내었다. 그 결과, 총 폴리페놀 함량과 총 플라보노이드 함량의 상관성은  $R^2=0.982$ 로 유의적( $p<0.01$ )으로 가장 높은 상관관계를 나타내었으며, 총 폴리페놀 함량과 DPPH 라디칼 소거활성, ABTS 라디칼 소거활성, AChE 저



**Fig. 4. BACE1( $\beta$ -secretase) inhibitory activity of wild vegetables extracts at 1 mg/mL.** Results are presented as the mean±SD of three independent in triplicate. Means with different letters above bars are significantly different at  $p<0.05$  by Duncan's multiple range test.

**Table 2. Correlation coefficient between total polyphenol content, total flavonoid contents and antioxidant, AChE inhibitory, BACE1 inhibitory activities of wild vegetable extracts**

	TP <sup>1)</sup>	TF <sup>2)</sup>	DPPH	ABTS	AChE	BACE1
TP	1	0.982**	0.884**	0.959**	0.930**	0.894**
TF	-	1	0.830**	0.922**	0.909**	0.892**
DPPH	-	-	1	0.917**	0.925**	0.706*
ABTS	-	-	-	1	0.914**	0.834**
AChE	-	-	-	-	1	0.885**
BACE1	-	-	-	-	-	1

<sup>1)</sup> TP: Total polyphenol contents.

<sup>2)</sup> TF: Total flavonoid contents.

\*  $p < 0.05$ .

\*\*  $p < 0.01$ .

해활성, BACE1 저해활성들 사이의 상관관계에서 높은 상관성( $R^2=0.884-0.959$ ,  $p < 0.01$ )을 나타내었다. 총 플라보노이드 함량과 DPPH 라디칼 소거활성, ABTS 라디칼 소거활성, AChE 저해활성, BACE1 저해활성들 사이에서도  $R^2=0.830-0.922$ 로 유의적( $p < 0.01$ )으로 높은 상관관계를 나타내었다. 따라서 본 연구에서 산채류에 함유되어 있는 플라보노이드 성 페놀 화합물이 항산화 효과에 많은 기여를 하고 있을 뿐만 아니라, 인지능력 개선 효능에도 높은 상관관계가 있음을 확인하였다.

## 요약 및 결론

본 연구에서는 강원도에서 재배량이 가장 많은 10종 산채류를 이용하여 항산화 및 인지능력 개선을 위한 천연소재로서의 가치를 검토하기 위해 총 폴리페놀 함량, 총 플라보노이드 함량, DPPH radical 소거활성, ABTS radical 소거활성, acetylcholinesterase(AChE) 저해 활성,  $\beta$ -secretase 효소 저해활성을 비교하였다. 산채류 메탄올 추출물의 총 폴리페놀 함량과 총 플라보노이드 함량을 측정된 결과, 두릅 순 추출물에서 각각  $84.65 \pm 1.08$  mg GAE/g,  $70.77 \pm 0.55$  mg RE/g으로 가장 높았으며, DPPH radical 및 ABTS radical 소거활성 측정에서도 두릅 순 메탄올 추출물이 가장 높은 활성을 나타내었다. AChE 저해 활성 측정결과에서도 두릅 순 추출물이 35.94%로 가장 높은 저해 활성을 보였다. 또한,  $\beta$ -secretase 효소 억제 활성은 10종 산채류 메탄올 추출물에서 미미한 억제활성이 관찰되었지만, 그 중 두릅 순 추출물에서 14.99%로 10종의 산채류 추출물 중 가장 높은 억제활성을 나타내었

다. 이상의 결과로 미루어 보았을 때 두릅 순 추출물이 인지능력 개선 소재로서의 활용 가능성이 가장 높은 것으로 사료되며, 추가로 생리활성 물질 구명 및 작용기전 입증을 위한 후속 연구가 진행되어야 할 것으로 생각한다.

## 감사의 글

본 연구는 2019년 대학혁신지원사업 도전 연구비 지원 프로그램의 지원을 받아 수행됨.

## References

- Cha JY, Ahn HY, Eom KE, Park BK, Jun BS, Cho YS. 2009. Antioxidative activity of *Aralia elata* shoot and leaf extracts. *J Life Sci* 19:652-658
- Coyle JT, Price DL, DeLong MR. 1983. Alzheimer's disease: a disorder of cortical cholinergic innervation. *Science* 219: 1184-1190
- Dhingra D, Parle M, Kulkarni SK. 2006. Comparative brain cholinesterase-inhibiting activity of *Glycyrrhiza glabra*, *Myristica fragrans*, ascorbic acid, and metrifonate in mice. *J Med Food* 9:281-283
- Duval B, Shetty K. 2001. The stimulation of phenolics and antioxidant activity in pea (*Pisum sativum*) elicited by genetically transformed anise root extract. *J Food Biochem* 25:361-377
- Ellman GL, Courtney KD, Andres V, Feather-Stone RM. 1961. A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. *Biochem Pharmacol* 7:88-95
- Figueiro M, Ilha J, Pochmann D, Porciuncula LO, Xavier LL, Achaval M, Nunes DS, Elisabetsky E. 2010. Acetylcholinesterase inhibition in cognition-relevant brain areas of mice treated with a nootropic Amazonian herbal (Marapuama). *Phytomedicine* 17:956-962
- Gangwondo Agricultural Research and Extension Services. 2016. Easy production and use of wild vegetables. pp.8-9
- Gheldof N, Engeseth NJ. 2002. Antioxidant capacity of honeys from various floral sources based on the determination of oxygen radical absorbance capacity and inhibition of *in vitro* lipoprotein oxidation in human serum samples. *J Agric Food Chem* 50:3050-3055
- Halliwell B, Aeschbach R, Loliger J, Aruoma OI. 1995. The characterization of antioxidants. *Food Chem Toxicol* 33:601-617

- Hwang CR, Oh SH, Kim HY, Lee SH, Hwang IG, Shin YS, Jeong HS. 2011. Chemical composition and antioxidant activity of Deoduk (*Codonopsis lanceolata*) and Doragi (*Platycodon grandiflorum*) according to temperature. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 40:798-803
- Hwang DY, Chae KR, Kang TS, Hwang JH, Lim CH, Kang HK, Goo JS, Lee MR, Lim HJ, Min SH, Cho JY, Hong JT, Song CW, Paik SG, Cho JS, Kim YK. 2002. Alterations in behavior, amyloid beta-42, caspase-3, and Cox-2 in mutant PS2 transgenic mouse model of Alzheimer's disease. *FASEB J* 16:805-813
- Jeong CH, Kang ST, Joo OS, Lee SC, Shin YH, Shim KH, Cho SH, Choi SG, Heo HJ. 2009. Phenolic content, antioxidant effect and acetylcholinesterase inhibitory activity of Korean commercial green, puer, oolong, and black teas. *Korean J Food Preserv* 16:230-237
- Jung HA, Karki S, Kim JH, Choi JS. 2015. BACE1 and cholinesterase inhibitory activities of *Nelumbo nucifera* embryos. *Arch Pharm Res* 38:1178-1187
- Kim HJ, Jun BS, Kim SK, Cha JY, Cho YS. 2000. Polyphenolic compound content and antioxidative activities by extracts from seed, sprout and flower of safflower (*Carthamus tinctorius* L.). *J Korean Soc Food Sci Nutr* 29:1127-1132
- KOSTAT. 2015. Elderly statistics 2015. Statistics Korea, Deajeon, Korea
- Lee EN, Song JH, Lee JS. 2010. Screening of a potent antidementia acetylcholinesterase inhibitor-containing fruits and optimal extraction conditions. *Korean J Food Nutr* 23:318-323
- Lee GH, Jung JW, Ahn EM. 2009. Antioxidant activity of isolated compounds from the shoot of *Aralia elata* Seem. *Korea J Herbol* 24:137-142
- Lee HM, Park EJ, Jeon IS, Kang YS, Jin DI, Chung HJ. 2010. Effect of maca supplementation on scopolamine-induced memory impairment of mice. *Korean J Food Nutr* 23:485-491
- Lee YM, Bae JH, Jung HY, Kim JH, Park DS. 2011. Antioxidant activity in water and methanol extracts from Korean edible wild plants. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 40:29-36
- Morris JC. 1996. Classification of dementia and Alzheimer's disease. *Acta Neurol Scand Suppl* 165:41-50
- Nurk E, Refsum H, Drevon CA, Tell GS, Nygaard HA, Engedal K, Smith AD. 2009. Intake of flavonoid-rich wine, tea, and chocolate by elderly men and women is associated with better cognitive test performance. *J Nutr* 139:120-127
- Ozgen M, Reese RN, Tulio AZ Jr, Scheerens JC, Miller AR. 2006. Modified 2,2-azino-bis-3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid (ABTS) method to measure antioxidant capacity of selected small fruits and comparison to ferric reducing antioxidant power (FRAP) and 2,2'-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) methods. *J Agric Food Chem* 54:1151-1157
- Park GH, Jang JH. 2013. Protective effect of luteolin against  $\beta$ -amyloid-induced cell death and damage in BV-2 microglial cells. *Korea J Herbol* 28:79-86
- Re R, Pellegrini N, Proteggente A, Pannala A, Yang M, Rice-Evans C. 1999. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radic Biol Med* 26:1231-1237
- Shao D, Zou C, Luo C, Tang X, Li Y. 2004. Synthesis and evaluation of tacrine-E2020 hybrids as acetylcholinesterase inhibitors for the treatment of Alzheimer's disease. *Bioorg Med Chem Lett* 14:4639-4642
- Talesa VN. 2001. Acetylcholinesterase in Alzheimer's disease. *Mech Ageing Dev* 122:1961-1969
- Uchida K, Stadtman ER. 1993. Covalent attachment of 4-hydroxy-nonenal to glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase. A possible involvement of intra- and intermolecular cross-linking reaction. *J Biol Chem* 268:6388-6393
- Vassar R, Bennett BD, Babu-Khan S, Kahn S, Mendiaz EA, Denis P, Teplow DB, Ross S, Amarante P, Loeloff R, Luo Y, Fisher S, Fuller J, Edenson S, Lile J, Jarosinski MA, Biere AL, Curran E, Burgess T, Louis JC, Collins F, Treanor J, Rogers G, Citron M. 1999.  $\beta$ -Secretase cleavage of Alzheimer's amyloid precursor protein by the transmembrane aspartic protease BACE. *Science* 286:735-741
- Youn K, Lee J, Ho CT, Jun M. 2016. Discovery of polymethoxyflavones from black ginger (*Kaempferia parviflora*) as potential  $\beta$ -secretase (BACE1) inhibitors. *J Funct Foods* 20:567-574
- Younkin SG, Goodridge B, Katz J, Lockett G, Nafziger D, Usiak MF, Younkin LH. 1986. Molecular forms of acetylcholinesterase in Alzheimer's disease. *Fed Proc* 45:2982-2988

---

Received 04 November, 2019

Revised 15 November, 2019

Accepted 27 November, 2019