생 약 학 회 지
Kor. J. Pharmacogn. 52(2) : 77 ~ 83 (2021)
https://doi.org/10.22889/KJP.2021.52.2.77

전호 지하부와 지상부 추출물의 주요성분 및 생리활성 비교

김 솔 · 김하림 · 김상준 · 김선영*
(재)전주농생명소재연구원

Comparison of Main Compounds and Physiological Activities of *Anthriscus sylvestris* (L.) Hoffm. Roots and Aerial Parts Extracts

Sol Kim, Ha-Rim Kim, Sang-Jun Kim, and Seon-Young Kim*
Jeonju AgroBio-materials Institute, Jeonju, Jeollabuk-do 54810, Korea

Abstract – The number of people suffering from diabetes have been increased around the world. In this study, we investigated the antidiabetic and antioxidant effects of *Anthriscus sylvestris*(L.) Hoffm and its main compounds. It was divided into root(R) and aerial part(AP) for comparative analysis. Total polyphenol, total flavonoid content was higher in AP extract, but nodakenin content was higher in R(1169.13 ± 6.00 mg/g) extract. Antioxidant activity was also higher in AP extract. To compare anti-diabetic efficacy, we analyzed the effects of R and AP extracts on α-glucosidase inhibition(AGI), dipeptidyl peptidase-4(DPP-4) and protein tyrosine phosphatase(PTP)1B activity. R and AP extracts showed similar effects on AGI and DPP-4 activity in a concentration dependent manner, and there was no effect on PTP1B activation. Glucose uptake(139.51 ± 3.19%) in 3T3-L1 cells was more effective in the AP extract-treated group than the positive control, rosiglitazone, group. Both R and AP extracts were effective in protecting against pancreatic beta cell damage caused by hyperglycemia. These results suggest that *Anthriscus sylvestris*(L.) Hoffm. could be used as a candidate for diabetes treatment.

Keywords – *Anthriscus sylvestris*(L.) Hoffm., Anti-oxidant, Anti-diabetes

최근 세계보건기구(WHO)의 데이터에 따르면 전 세계적으로 당뇨병을 앓고 있는 사람들의 수가 최근 몇 년간 급격하게 증가했다고 보고되고 있으며, 이는 여러 유전적, 환경적, 생활습관 등 복잡한 상호작용으로 인하여 발생하는 대사 장애이다.[1] 당뇨병은 제 1형(type 1 diabetes)과 제 2형 당뇨병(type 2 diabetes)으로 분류할 수 있으며, 제 1형 당뇨병은 인슐린의 분비가 부족하여 발생하고, 제 2형 당뇨병은 인슐린 저항성으로 인해 발생한다. 당뇨병을 치료하는 여러 약물은 다양한 부작용을 유발하여 최근에는 천연 소재 추출물을 이용한 약용 가치를 연구[2]하고 있다. 전호(*Anthriscus sylvestris* (L.) Hoffm.)는 미나리과(Apiaceae)에 속하는 다년생 초본 식물로 한국, 중국, 일본 등 온대지역에 분포한다.[3] 전호의 지상부는 식용으로 사용되고 있으며 지하부인 뿌리는 한방에서 약용으로 사용되며 아삼(蛾蔘)으로 알려져 있다.[4] 전호의 주요성분은 decursin, decursidin, nodakenin, coumarin, umbelliferone, scopoletin, andelin, bergapten, isoimperatorin, imperatorin 및 hydroxypeucedanin등으로 보고되었다.[5] 이중 decursin과 decursinol은 항산화, 간섬유화 억제, 항비만, 항당뇨 등 광범위한 생리활성 효과가 있음이 보고되었다.[6-8] 또한, nodakenin과 coumarin은 alpha-glucosidase 및 dipeptidyl peptidase-4 활성을 조절하여 혈당 조절 효과가 있는 것으로 밝혀졌다.[9-11] 그러나 전호의 항당뇨 효능에 대한 연구는 미비한 실정이므로 본 연구에서는 전호의 지하부와 지상부 추출물의 주요 성분 함량을 비교하고 항산화 및 항당뇨 활성을 평가하였다.

*교신저자(E-mail) : seon02@jami.re.kr
(Tel) : +82-63-711-1053

재료 및 방법

시약 – Sodium phosphate(Na_3PO_4), 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl(DPPH), L-ascorbic acid, 2,2'-azinobis-(3-ethybenzthiazoline-6-sulphonic acid(ABTS), trolox, α-glucosidase, 4-nitrophenyl-α-D-glucopyranoside(p-NPG), sodium hydroxide, sodium carbonate, aluminium chloride hexahydroxide, gallic acid, acarbose(A8980), dimethyl sulfoxide(DMSO), folin & ciocalteu's phenol은 Sigma-Aldrich(St. Louis, MO, USA)로부터 구입하여 사용하였으며, protein tyrosine phosphatase (PTP-1B) assay kit는 Enzo Life Sciences(Farmingdale, NY,

USA)로부터 구입하여 사용하였으며, dipeptidyl peptidase-4(DPP4) assay kit는 Abcam(Cambridge, California, USA)로부터 구입하여 실험에 사용하였다. 실험에 사용된 모든 용매와 시약은 특급시약을 사용하였으며 기기로는 HPLC Agilent 1200 series with DAD(Diode Array Detector), EYELA (N-1000S-W, Tokyo, Japan), UV-Visible Spectrophotometer (Multiskan ELISA, Thermo scientific Co. Ltd), 동결건조기 (FDU-8606, OPERON Co. Ltd, korea)가 사용되었다. 실험에 사용된 시료는 초저온 냉장고(-80°C)에 보관하여 사용하였다.

전호 추출물 제조 – 본 실험에 사용된 전호는 국내산으로 강원도 홍천 약재상에서 구입하여 우석대학교 한의과대학 김홍준 교수에 의해 시료를 검증하였다. 추출을 위해 전호 지상부(AP)와 지하부(R)를 나누어 분말화한 다음 100 mesh 체를 통과시켜 일정 크기의 시료를 확보하였다. 전호 각 분말은 10배수의 70% 에탄올을 첨가하여 1시간 동안 초음파 추출하였다. 1시간 초음파 추출 후 여과하여 회전증발농축기(N-1000S-W, EYELA, Japan)로 용매를 제거한 뒤 동결건조 하였다. 각 추출물은 생리활성 분석을 위해 100 mg/ml의 농도로 DMSO에 녹인 후 -80°C에 보관하였다.

총 폴리페놀 함량 측정 – 총 폴리페놀 함량 측정은 Elin[12]의 방법을 변형하여 측정하였다. 추출물과 표준검액 100 μl에 folin & ciocalteu's phenol reagent 50 μl와 deionized water 500 μl를 혼합한 후 실온에서 5분 동안 incubation 후 2% sodium carbonate 용액 600 μl를 혼합한 후 37°C에서 30~60분 동안 incubation하여 765 nm ELISA(Multiskan, Thermo scientific Co. Ltd) 로 흡광도를 측정하였다. 표준물질은 gallic acid를 사용하였고, 표준곡선을 사용하여 GAE mg/g (gallic acid equivalent)로 함량을 표기하였다.

총 플라보노이드 함량 측정 – 총 플라보노이드 함량 측정은 Elin[12]의 방법을 변형하여 측정하였다. 추출물과 표준검액과 10% aluminium chloride aq.(w/v)을 50% 비율로 혼합한 후 실온에서 5분 동안 반응시킨 후 415 nm 파장에서 ELISA (Multiskan, Thermo scientific Co. Ltd)를 사용하여 흡광도를 측정하였다. 표준 물질은 quercetin을 사용하였고, 표준곡선을 사용하여 QE(gallic acid equivalent, GA/g)로 함량을 표기하였다.

항산화능 분석 – DPPH(2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl)에 대한 수소 공여능은 Blois[13]의 방법을 변형하여 측정하였다. DPPH에 대한 수소 공여능은 96-well plate에 시료액 20 μl와 DPPH 용액 80 μl를 혼합하여 암소에서 30분간 실온에 방치한 후 517 nm에서 파장에서 ELISA(Multiskan, Thermo scientific)로 측정하였다. 시료를 첨가하지 않은 대조군과 비교하여 라디칼 소거효과를 다음과 같이 계산하여 백분율로(%)로 나타내었다. 양성대조군으로는 L-Ascorbic acid를 사용하였다.

Inhibition (%) = [1-(시료액의 흡광도-공시험액의 흡광도)/무첨가액의 흡광도] × 100

ABTS(2,2'-azinobis-(3-ethylbenzthiazoline-6-sulphonic acid) 라디칼 소거활성 측정은 80 mM ABTS 용액에 30 mM Potassium persulfate를 혼합하여 암소에서 1시간 반응시킨 후 734 nm에서 흡광도 값이 0.8~0.9 범위의 ABTS solution을 사용하였다. 시료액 10 μl에 ABTS solution 90 μl를 혼합하여 37°C에서 30분 동안 암 반응시킨 후 734 nm의 파장에서 UV분석기 ELISA(Multiskan, Thermo scientific)로 흡광도를 측정하였다. 결과 값은 추출물 첨가구와 무첨가구를 양성대조군과 비교하여 라디칼 소거능을 백분율(%)로 나타내었다. 양성대조군으로는 trolox를 사용하였다.

Inhibition (%) = [1-(시료액의 흡광도-공시험액의 흡광도)/무첨가액의 흡광도] × 100

전호 부위별 주요 성분 함량 분석 – 전호 지하부와 지상부의 주요 지표성분인 nodakein, coumarin 함량을 HPLC (high performance liquid chromatograph, Agilent 1200 series, USA)를 사용하여 비교 분석하였다. 정성 및 정량 분석을 위해 CapCell PAK MG II C18 컬럼(4.6 × 150 mm, 3 μm, Shiseido Co., Ltd., Japan)을 사용하였다. 모든 표준액은 0.22 μm PVDF membrane을 통해 여과하였다. 이동상은 용매 A(0.1% 인산 수용액)과 용매 B(아세토니트릴)로, 7 min-10% B, 11 min-25% B, 13 min-25% B, 17 min-30% B, 19 min-30% B, 21 min-33% B, 24 min-35% B, 30 min-42% B, 32 min-45% B, 38 min-55% B, 41 min-55% B, 49 min-70% B, 50 min-10% B의 조건으로 DAD(diode array detector, Agilent, USA) 254, 280, 330 nm 파장에서 검출하였고, 컬럼 온도 35°C, 유속 0.44 ml/min, 주입량은 15 μl로 하였다. 표준물질 검량선의 회귀식을 이용해 농도를 산출하였다. 검량선의 회귀식은 다음과 같다.

조제 농도의 단위: μg/ml
검량선 회귀식: $y = ax + b$
(y: peak 면적비, x: 조제농도, a: 기울기, b: y절편)

Alpha-Glucosidase 저해 활성 측정 – Alpha-glucosidase 저해능을 측정하기 위하여 Apostolidis의 방법[14]을 변형하여 항당뇨 실험을 진행하였으며 실험에 따라 반응 혼합액은 시료액 50 μl에 0.1 M Na_3PO_4(sodium phosphate Buffer, pH6.9) 100 μl, 효소액 alpha-glucosidase 0.5 unit/ml을 혼합하여 37°C에서 10분간 반응시켰다. 10분 후 3 mM *p*-nitrophenol-*a*-D-glucopyranoside(pNPG) 50 μl를 넣고 37°C에서 5분 동안 추가 반응시킨 다음 ELISA(Multiskan, Thermo scientific)를 사용하여 405 nm에서 흡광도를 측정하고 저해율(%)을 계산하였으며 양성대조군으로 acarbose(1 mg/ml, Sigma-Aldrich Co., USA)를 사용하였다.

Inhibition rate(%) = [1-(AbS-AbB)/AbC] × 100
Abs: Absorbance of the sample
AbB: Absorbance of the blank
AbC: Absorbance of the control

DPP-4 저해 활성 측정 – DPP-4 억제 활성은 DPP-4 inhibitor screening assay kit(Abcam®)를 사용하여 측정하였으며, 형광 microplate reader(SPECTRA MAX GEMINI EM,

Molecular Devices, USA)로 흡광도를 측정하였다.

PTP1B 저해활성 측정 – PTP1B 저해 활성은 PTP1B Tyrosine phosphatase drug discovery kit(Enzo)를 사용하여 측정하였으며, ELSA(Multiskan Sky, Thermo-Scientific)로 분석(620 nm)하였다.

고포도당에 의한 췌장 베타 세포 보호능 분석 – 산화적 스트레스에 따른 췌장 베타 세포 손상 정도를 관찰하기 위해 lactate dehydrogenase(LDH) assay를 이용하여 측정하였다. 6 well plate에 RINm5F(ATCC, American Tissue Culture Collection, USA) 세포를 5×10^5/well로 분주하고 포도당(11.1 또는 30 mM)이 포함된 배지에서 48시간 전 배양하였다. 전호 지하부와 지상부 추출물을 농도별로 처리 한 후, 48시간 동안 추가 배양하였다. 모든 실험은 무혈청 RPMI 1640 배지에서 수행되었다. PBS로 세척한 후, 세포 현탁액을 추출하여 세포질에서 유리된 LDH 농도를 Quanti-LDH^{TM} Cytotoxicity assay kit(BIOMAX, Seoul, Korea)를 이용하여 490 nm에서 측정하였다.

Glucose uptake – Glucose uptake는 Thamilvaan[12] 방법을 변형하여 실험하였다. 3T3-L1(ATCC, USA) 지방전구세포를 10% NCS(Newborn Calf Serum, Gibco), 100 unit/ml의 페니실린, 100 mg/ml의 스트렙토마이신을 함유한 DMEM에서 37°C, 5% CO_2조건으로 배양하였다. 분화를 위해 MDI(Isobutylmethylxanthine 0.5 mM, dexamethasone 1 mM, insulin 10 mg/ml)와 10% FBS(Thermo Scientific)를 함유한 DMEM 배지를 사용하여 2일간 배양하였다. 2일 후(D-2) insulin 10 mg/ml 만을 첨가한 DMEM으로 교체하여 2일 추가 배양한 뒤, D-5일째부터 10% FBS만을 포함한 DMEM 배지로 교체하여 D-8이 되는 시점까지 배양하였다. 시료는 분화 배지 교환 시 매번 동일 농도로 처리하였다. 분화 후 80 μM 2-NDBG를 처리한 후 1시간 방치하고, PBS로 세척하였다. 0.2 M NaOH로 lysis하여 96 well plate에 옮긴 후, 형광 microplate reader(SPECTRA MAX GEMINI EM, Molecular Devices, USA)로 흡광도를 측정하였다.

통계처리 – 모든 실험은 3회 반복 측정하여 평균 ± 표준편차로 나타내었다. 통계적 분석은 ANOVA(One way analysis of variance) 및 Student's t-test를 사용하였으며 $p < 0.05$을 유의한 것으로 판정하였다.

결과 및 고찰

총 폴리페놀, 총 플라보노이드 함량 비교 – 전호 지하부와 지상부의 추출 수율은 각각 6.54, 13.74%로 지하부가 지상부에 비해 추출 수율이 높았다. 총 폴리페놀 함량은 160 μg/ml에서 지하부와 지상부에서 각각 22.24 ± 0.45, 54.69 ± 1.27 mg GAE/g 이었고(Fig. 1A), 총 플라보노이드 함량은 각각 2.34 ± 0.01, 27.38 ± 0.01 mg QE/g로 분석되었다(Fig. 1B). 지하부에 비해 지상부에서 총 폴리페놀과 총 플라보노이드 함량이 높은 것으로 확인되었다.

전호 지하부와 지상부 주요성분의 HPLC 정량평가 – 전호 지하부와 지상부의 주요 지표성분은 nodakenin과 coumarin을 선정하였다. 표준성분과 전호 지하부 및 지상부의 chromatogram은 Fig. 2에서 제시하였다. 정량 분석결과 nodakein은 지하부에서 39.82 ± 0.46 mg/g, 지상부에서 0.87 ± 0.07 mg/g으로 지하부가 지상부에 비해 높은 함량을 함유한 것으로 확인되었고, coumarin은 지하부, 지상부 모두에서 검출되지 않았다(Table I). Jeong[5]의 보고에 따르면, 자화전호 및 백화전호는 함유성분으로서 coumarin 기본 골격 구조의 성분이 대부분을 차지하고 있고, 아삼의 경우에는 상대적으로 coumarin 계열 성분이 적은 것으로 보고된 바 있다. 따라서, 본 연구에서 평가된 전호는 HPLC 프로파일링 결과 coumarin 성분이 불검출되어 아삼 소재 인것으로 확인하였다.

전호 지하부와 지상부 추출물의 항산화 활성 – 전호 지하부와 지상부 추출물의 항산화 활성을 비교하기 위해 DPPH, ABTS 라디칼 소거 활성을 분석하였다. DPPH와 ABTS 라디칼 소거활성은 간단하고 정확성이 높은 실험방법으로 천연물에 대한 항산화능 평가에 널리 쓰이고 있다. DPPH 라디칼은 안정적인 자유 라디칼로서 보랏빛을 띠게 되나 항산화 물질과 반응하게 되면 구조가 바뀌어 노란빛을 띄게 된다. ABTS 라디칼은 짙은 청록색을 띄며 항산화 물질과 반응하면 투명색으로 탈색이 된다. DPPH 라디칼 소거활성은 양성 대조군인 ascorbic acid 처리군에서 93.10 ± 0.60%로

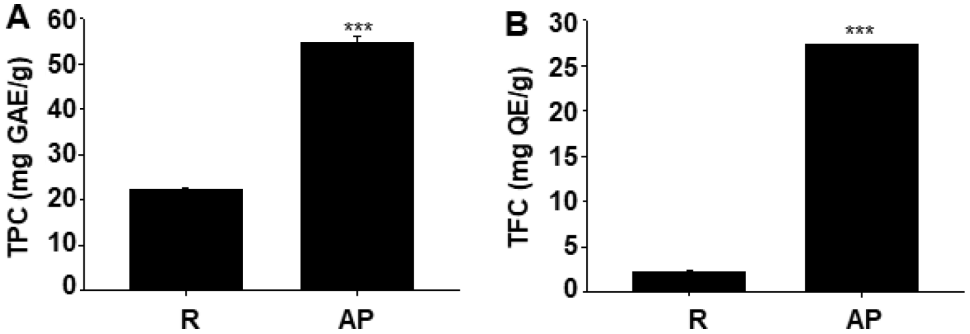

Fig. 1. A. Total phenolic content(TPC) B. Total flavonoid content(TFC) in root and aerial part extract of *Anthriscus sylvestris* (L.) Hoffm. Values are means ± SD of three independent experiments. $^{***}p < 0.001$ vs. R. R, *Anthriscus sylvestris*(L.) Hoffm. root; AP, *Anthriscus sylvestris*(L.) Hoffm. aerial part; GAE, gallic acid equivalent; QE, quercetin equivalent.

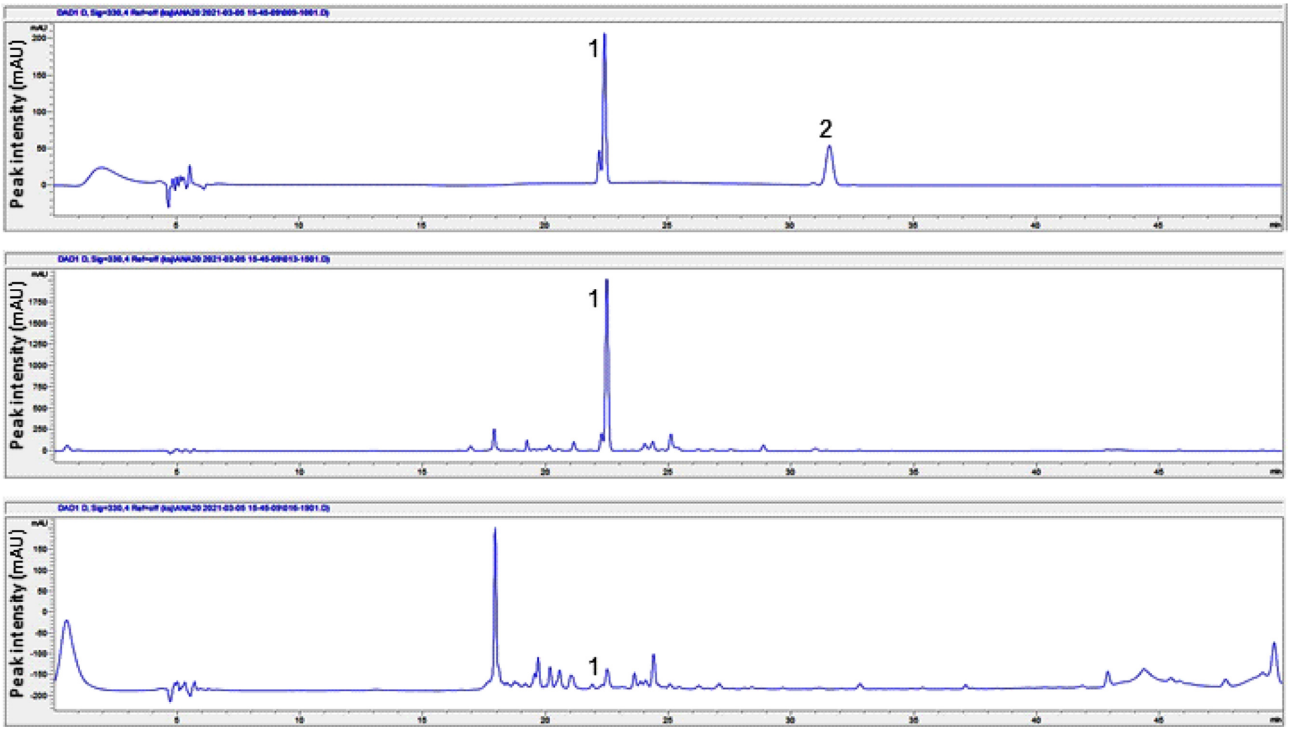

Fig. 2. Comparative HPLC chromatograms on root and areial part extracts of *Anthriscus sylvestris*(L.) Hoffm. Indicated peaks presented nodakenin (1) and coumarin (2) in the standard solution(upper panel), root extract(middle panel) and aerial part extract(low panel). 1. Nodakenin and 2. Coumarin.

Table I. HPLC quantitatiation of nodakenin and courmarin in *Anthriscus sylvestris*(L.) Hoffm. root and aerial part extract

	Nodakenin (mg/g)	Coumarin (mg/g)
R	39.82 ± 0.46	ND
AP	0.87 ± 0.07	ND

R, *Anthriscus sylvestris*(L.) Hoffm. root; AR, *Anthriscus sylvestris*(L.) Hoffm. aerial part, ND: none detected

나타났으며, 지하부와 지상부 500 μg/ml 처리농도에서 각각 18.19 ± 0.80%, 37.11 ± 1.74%의 소거능을 보였다(Fig. 3A). ABTS 라디칼 소거활성은 양성대조군인 trolox 처리군에서 45.72 ± 1.78%로 나타났으며, 지하부와 지상부 각각 처리농도 100 μg/ml에서 29.53 ± 0.74%, 39.30 ± 1.26%의 소거능을 보였다(Fig. 3B). 총 폴리페놀, 총 플라보노이드 함량 분석 결과와 마찬가지로 전호 지하부보다 지상부 추출물이 DPPH, ABTS 라디칼에 대한 소거활성이 우수한 것으로 확인되었다.

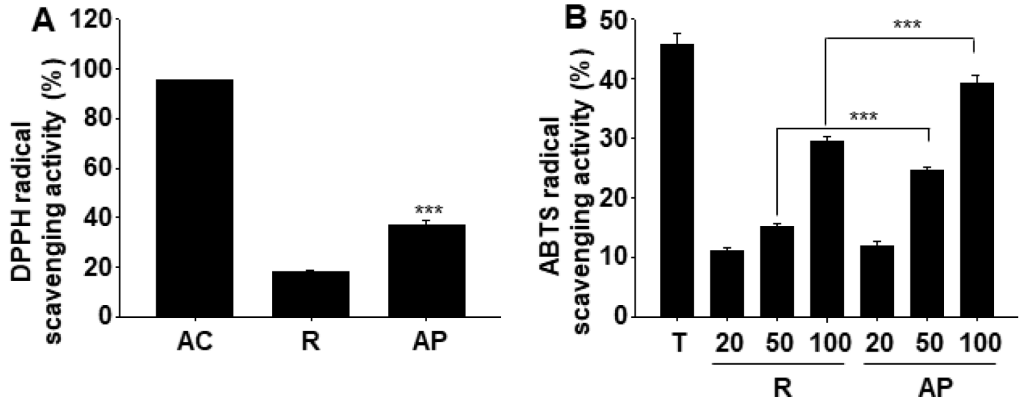

Fig. 3. Antioxidant effects of *Anthriscus sylvestris*(L.) Hoffm. root and aerial part extracts. A. DPPH radical scavenging activity at 500 μg/ml of R and AP extract. B. ABTS radical scavenging activity at a various concentration(μg/ml) of R and AP extract. Values are shown as mean ± SD of 3 replicates. $^{***}p < 0.001$ vs. R. AC, ascorbic acid; T, Trolox; R, *Anthriscus sylvestris*(L.) Hoffm. root; AP, *Anthriscus sylvestris*(L.) Hoffm. aerial part.

전호 지하부와 지상부 추출물의 항당뇨 활성 비교 – Alpha-glucosidase는 탄수화물을 포도당으로 전환시켜 혈중 포도당 농도를 증가시키는 효소이다. 따라서 alpha-glucosidase 활성을 억제하는 화합물은 제 1형 당뇨병을 개선하는 것으로 밝혀[16]졌다. 전호의 뿌리와 지상부의 alpha-glucosidase 저해 활성은 Fig. 4A에서 제시한 바와 같다. 양성대조군인 acarbose에 의한 저해능은 50.08 ± 1.54%로 나타났으며, R과 AP 추출물은 모두 유사한 저해활성을 보였다. PTP1B(Protein tyrosine phosphatase 1B)는 제 2형 당뇨병을 제어하기 위한 효과적인 타깃으로 인슐린의 작용을 억제하는 기능이 있는 것으로 밝혀졌다.[17,18]

또한, dipeptidyl peptidase-4(DPP-4) 억제제는 제 2형 당뇨병이 있는 성인의 고혈당을 조절하기 위해 사용되는 처방약으로 식후 인슐린 농도와 C-peptide 농도를 증가시키며, 글루카곤의 농도를 감소시켜 식후 혈당을 감소시키는 작용[19]을 한다. R과 AP 추출물의 DPP-4 저해활성은 Fig. 3B에서 나타낸 바와 같으며, R 및 AP 추추출 모두 농도 의존적으인 저해능을 보였다. PTP1B 활성 조절능을 R 및 AP 추출물 모두 PTP1B 활성 조절에 유의한 효과는 보이지 않았다 (Fig. 4C).

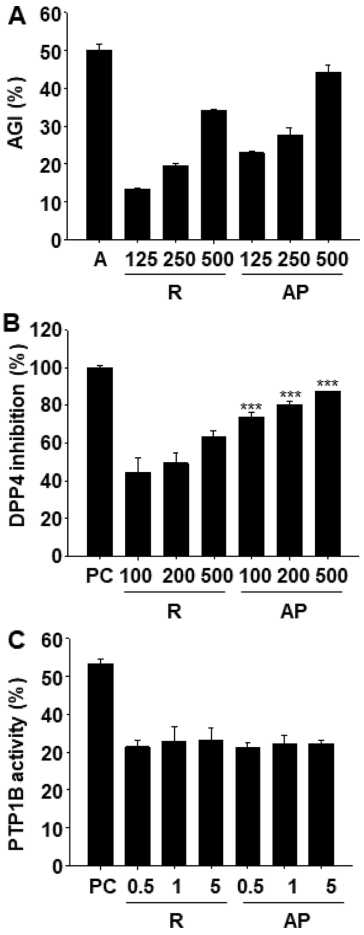

Fig. 4. Effects of *Anthriscus sylvestris*(L.) Hoffm. root and aerial part extracts on α-glucosidase inhibition, DPP4, and PTP1B activity. A. α-Glucosidase inhibition, B. DPP4 activity, C. PTP1B activity, PC: suramin 10 uM. Values are shown as mean ± SD of 3 replicates. $^{***}p < 0.001$ vs. R. A, acarbose 500 μg/m; R, root of *Anthriscus sylvestris*(L.) Hoffm.; AP, aerial parts of *Anthriscus sylvestris*(L.) Hoffm.

지방 전구세포(3T3-L1)에서 전호 지상부와 지하부의 포도당 흡수능 – 3T3-L1 세포에서 전호 R 및 AP 추출물의 포도당 흡수에 대한 효능을 비교하기 위해 우선 처리 농도별 세포 독성을 비교하였다. 결과, R(Fig. 5A) 및 AP(Fig. 5B) 추출물 모두 200 μg/ml까지 독성이 없음을 확인 하였다.

3T3-L1 세포에서 전호 R 및 AP 추출물의 포도당 흡수에 대한 효능은 음성대조군인 MDI를 100%를 기준으로 백분율로 환산하여 표기하였다(Fig. 6). 결과, 양성대조군과 뿌리 및 지상부에서 유의적으로 차이가 있음을 확인하였다. 양성대조군으로 처리된 rosiglitazone에서는 133.32±5.85%로 나타났으며, rosiglitazone과 전호의 뿌리와 지상부를 비교하였을 때 지상부의 20 μg/mL에서 139.51 ± 3.19%로 양성대조군보다 높은 glucose uptake 능력을 확인하였다.

췌장 베타세포에서 전호 지상부와 지하부의 포도당에 의한 세포 보호능 – 고농도 포도당은 산화 스트레스에 의해 췌장 베타세포의 인슐린 분비를 저해하고 세포독성을 유발한다고 알려져 있다. 본 연구에서 전호 R 및 AP 추출물의 포도당 독성에 대한 베타 세포 보호 효과를 알아보기 위하여 RINm5F 세포에 고농도 포도당 자극을 가한 후 세포 생존율의 변화를 관찰하였다. Lactate dehydrogenase(LDH)는 세포질 내 LDH가 apoptosis 혹은 necrosis 등에 의하여 죽거나 손상된 세포에서 방출되는 양을 측정하는 방법이다.

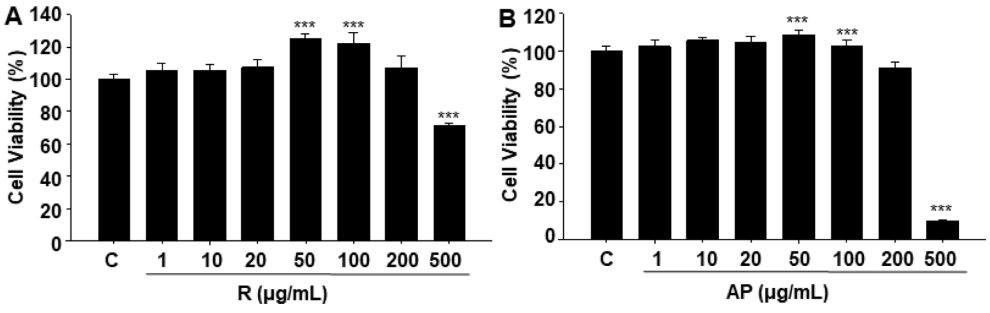

Fig. 5. Cytotoxicity of *Anthriscus sylvestris*(L.) Hoffm. A. root and B. aerial part extracts in 3T3-L1. Values are shown as mean ± SD of 3 replicates. $^{***}p < 0.001$ vs. C. C, control; R, root of *Anthriscus sylvestris*(L.) Hoffm.; AP, aerial parts of *Anthriscus sylvestris*(L.) Hoffm.

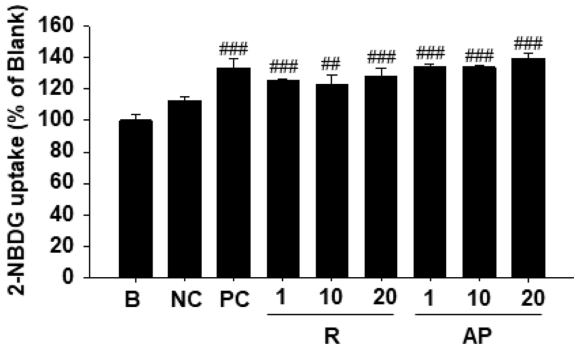

Fig. 6. Effects of *Anthriscus sylvestris*(L.) Hoffm. root and aerial part extracts on glucose uptake in 3T3-L1 cells. Data are means ± SD of 3 replicates. $^{\#\#}p < 0.01$ and $^{\#\#\#}p < 0.001$ vs. NC. B, blank; NC, negative control(MDI group); PC, positive control(rosiglitazone treatment group); R, root of *Anthriscus sylvestris*(L.) Hoffm.; AP, aerial parts of *Anthriscus sylvestris*(L.) Hoffm.

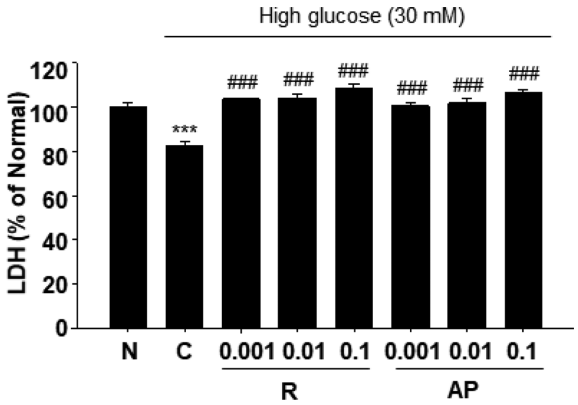

Fig. 7. Effects of *Anthriscus sylvestris*(L.) Hoffm. root and aerial part extracts on high glucose-induced RINm5F cells damage. Data are means ± SD of 3 replicates. $^{***}p < 0.001$ vs. N, $^{###}p < 0.001$ vs. C. N, Normal; C, negative control; R, root of *Anthriscus sylvestris*(L.) Hoffm.; AP, aerial parts of *Anthriscus sylvestris*(L.) Hoffm.

세포 배양 배지 내 LDH의 함량은 세포벽, 세포막 등의 손상을 대변하며 이를 통해 세포 손상 정도를 확인할 수 있다. 본 연구에서 고농도 포도당에 의한 췌장 베타 세포 손상에 대해 전호 R 및 AP 추출물이 세포 손상을 억제하는지 알아보고자 LDH 함량을 측정하였다. 그 결과 대조군에 비해 고농도 포도당을 처리한 군의 약 20% 세포막 손상이 관찰되었다. 전호 R 및 AP 추출물 모두 세포 손상 억제 효능을 확인하였고, 농도 의존적인 효능은 확인되지 않았다(Fig. 7).

결 론

전호(*Anthriscus sylvestris*(L.) Hoffm.)는 우리 나라 전역에 분포하며 약용으로 잎과, 뿌리가 흔하게 사용된다. 본 연구에서는 전호의 지하부와 지상부 추출물의 주요성분의 함량과 항산화 및 항당뇨 활성을 비교하였다. 전호 지하부 와 지상부의 총 플라보노이드와 총 폴리페놀 함량을 비교한 결과 지하부에 비하여 지상부에서 각각 27.38 ± 0.01 mg QE/g, 54.69 ± 1.27 mg GAE/g으로 상대적으로 높은 것으로 확인되었다. 지하부와 지상부의 HPLC 분석결과 nodakenin의 함량이 지하부에서 1169.13 ± 6.00 mg/g으로 나타났다. 항산화 효능을 비교한 결과 지하부와 지상부의 DPPH 라디칼 소거활성의 경우 각각 18.19 ± 0.80%, 37.11 ± 1.74%의 소거능을 나타냈으며, ABTS 라디칼 소거능의 경우 각각 29.53 ± 0.74%, 39.30 ± 1.26%의 소거능을 나타냈다. 전호의 지하부와 지상부의 항당뇨 효능을 비교한 결과 alpha-glucosidase와 DPP-4 저해활성은 농도 의존적으로 부위별 유사한 효능을 보였으며, PTP1B 활성은 지하부 지상부 모두 유의적인 효과는 관찰되지 않았다. 3T3-L1 세포에서 포도당 흡수능은 전호 지상부와 지하부를 비교하였을 때 지상부 추출물 처리 논도 20 μg/mL에서 139.51%로 양성대조군보다 높은 포도당 흡수능이 확인되었다. 또한, 고농도 포도당에 의한 췌장 베타세포 손상에 대한 보호 효과를 비교한 결과 전호 지하부와 지상부 추출물 처리에 의해 췌장 베타 세포 보호 효과를 확인하였으나 농도 의존적인 유의성은 관찰되지 않았다. 본 연구는 전호를 지하부와 지상부로 나누어 70% 에탄올로 추출한 뒤 각 부위별 이화학적 특성 및 HPLC 함량 분석, 항산화 및 항당뇨 효능을 비교하였고, 항산화 활성과 항당뇨 효과가 확인되었으며, 결과는 전호의 당뇨 치료제 개발을 위한 기초자료로 활용되리라 사료된다.

사 사

"본 연구는 전라북도 전주시에 소재한 (재)전주농생명소재연구원의 지원에 의하여 이루어진 것임".

인용문헌

1. Association, A. D. (2021) Introduction: Standards of medical care in diabetes-2021.
2. Jugran, A. K., Rawat, S., Devkota, H. P., Bhatt, I. D. and Rawal, R. S. (2021) Diabetes and plant-derived natural products: From ethnopharmacological approaches to their potential for modern drug discovery and development. *Phytother Res*. **35**: 223-245.
3. Plunkett, G. M., Soltis, D. E. and Soltis, P. S. (1996) Evolutionary patterns in apiaceae: inferences based on matK sequence data. *Syst Bot*. **21**: 477-495.
4. Hong, J. H., Lee, M. J., Jo, Y. I., Moon, S. M., Lee, S. A. and Kim, S. S. (2021) Analytical method validation of cynaroside in domestic *Anthriscus sylvestris*(L.) Hoffm. leaves extract for standardization as a functional ingredient using RP-HPLC. *J Korean Soc Food Sci Nutr*. **50**: 395-402.
5. Jeong, S. I. and Kim, J. H. (2013) Chemical constituents of

Angelica decursiva(Miq.) Franch. & Sav., *Peucedanum praeruptorm* Dunn and *Anthriscus sylvestris*(L.) Hoffm. *Kor Herb Med Inf*. **1**: 3-23.
6. Li, L., Li, W., Jung, S. W., Lee, Y.-W. and Kim, Y. H. (2011) Protective effects of decursin and decursinol angelate against amyloid β-protein-induced oxidative stress in the PC12 cell line: the role of Nrf2 and antioxidant enzymes. *Biosci Biotechnol Biochem*. **75**: 434-442.
7. Choi, Y. J., Kim, D. H., Kim, S. J., Kim, J., Jeong, S. I., Chung, C. H., Yu, K.Y. and Kim, S. Y. (2014) Decursin attenuates hepatic fibrogenesis through interrupting TGF-beta-mediated NAD(P)H oxidase activation and smad signaling in vivo and in vitro. *Life Sci*. **108**: 94-103.
8. Hwang, J. T., Kim, S. H., Hur, H. J., Kim, H. J., Park, J. H., Sung, M. J., Yang, H. J., Tyu, S. Y., Kim, Y. S., Cha, M. R., Kim, M. S. and Kwon, D. Y. (2012) Decursin, an active compound isolated from *Angelica gigas*, inhibits fat accumulation, reduces adipocytokine secretion and improves glucose tolerance in mice fed a high?fat diet. *Phytother Res*. **26**: 633-638.
9. Bhawana, S., Ashwani, M. and Rajesh, D. (2018) Mechanistic approach of anti-diabetic compounds identified from natural sources. *Chem. Biol. Lett*. **5**: 63-99.
10. Pari, L., Rajarajeswari, N., Saravanan, S. and Rathinam, A. (2014). Antihyperlipidemic effect of coumarin in experimental type 2 diabetic rats. *Biomed Prev Nutr*. **4**: 171-176.
11. Singh, A. K., Patel, P. K., Choudhary, K., Joshi, J., Yadav, D. and Jin, J. O. (2020). Quercetin and coumarin inhibit dipeptidyl peptidase-4 and exhibits antioxidant properties: in silico, in vitro, ex vivo. *Biomolecules*. **10**: 207.
12. Elin, N. S., Berna, E. and Rani, S. (2018) Phytochemical screening, total flavonoid and total phenolic content and antioxidant activity of different parts of *Caesalpinia bonduc*(L.) Roxb, *Pharmacogn J*. **10**: 123-127.
13. Blois, M. S. (1958) Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature*. **181**: 1199-1200.
14. Apostolidis, E., Kwon, Y. I. and Shetty, K. (2007) Inhibitory potential of herb, ruit, and fungal-enriched cheese against key enzymes linked to type 2 diabetes and hypertension. Innov. *Food Sci. Emerg*. **8**: 46-54.
15. Thamilvaani, M., Cheng, H. M. and Uma, D. P. (2013) *Syzygium aqueum* leaf extract and its bioactive compounds enhances pre-adipocyte differentiation and 2-NBDG uptake in 3T3-L1 cells. *Food Chemistry* **136**: 354-363.
16. Karim, R., Nada, E. D., Fatima, A. S., Hiba, N. R., Richard, G. M. and Nicolas, L. (2017) Infrared-assisted extraction and HPLC-analysis of *Prunus armeniaca* L. pomace and detoxified-Kernel and their antidiabetic effects. *Published online in Wiley Online Library.*
17. 閔正雅., Development of PTP1B inhibitors (2001) 中央大學校 大學院.
18. Md, Y. A., Susoma, J., Hyun, A. J. and Jae, S. C. (2021) Insulin–mimetic dihydroxanthyletin-type coumarins from *Angelica decursiva* with protein tyrosine phosphatase 1B and α-glucosidase inhibitory activities and docking studies of their molecular mechanisms. *Antioxidants(Basel)*. **10**: 292.
19. 이대호 (2014) Dipeptidyl Peptidase-4(DPP-4) 억제제. *대한내과학회지* **87**.

(2021. 5. 28 접수; 2021. 6. 15 심사; 2021. 6. 17 게재확정)