ISSN(Print) : 1738-7248, ISSN(Online) : 2287-7428
Korean J Food Preserv
21(3), 396-403 (2014)
http://dx.doi.org/10.11002/kjfp.2014.21.3.396

사단법인 한국식품저장유통학회
The Korean Society of Food Preservation

Antioxidant activity and inhibition activity against α-amylase and α-glucosidase of *Juniperus rigida* Sieb extracts

Jeung-Hoan Kim[1], Soo-Yeon Lee[1], Jung-Mi Park[1], Joo-Hoon Park[1], O-Jun Kwon[2], Jin-Young Lee[1]*

[1]*Department of Herbal Cosmetic Science, Hoseo University, Chungnam 336-795, Korea*
[2]*Daegyeong Institute for Regional Program Evaluation, Gyeongsan 712-210, Korea*

노간주나무(*Juniperus rigida* Sieb) 추출물의 항산화 활성 및 α-amylase와 α-glucosidase에 대한 저해활성

김정환[1] · 이수연[1] · 박정미[1] · 박주훈[1] · 권오준[2] · 이진영[1]*
[1]호서대학교 한방화장품과학과, [2]대경지역사업평가원

Abstract

In this study, the antioxidant effect of water and ethanol extracts from *Juniperus rigida* Sieb were investigated. The activities of each of the extracts were measured based on their total phenolic and flavonoid contents and using antioxidant test such as of 2,2-azinobis (3-ethyl benzothiazoline-6-sulfonic acid (ABTs) radical scavenging activities, ferric reducing antioxidant power (FRAP), angiotensin I converting enzyme (ACE) inhibition activity, antioxidant protection fator (PF), thiobarbituric acid reactive substances (TBARs) content, and α-glucosidase and α-amylase inhibition activity assay. The result of the examination to measure the polyphenol content by investigating the antioxidativity of the *J. rigida* Sieb. extract showed 71.3 mg/g polyphenol content in the water extract, and 116.0 mg/g in the ethanol extract and a 17.7 mg/g flavonoid content in the water extract and in 76.4 mg/g in the ethanol extract. The ABTS radical cation decolorization showed 76.4% and 79.3% scavenging activities of the 500 μg/mL water extract and ethanol extract, respectively. The FRAP showed 1.83 mM efficacy in the water extract and a lower 1.77 mM in ethanol extract. Both the water extract and the ethanol extract showed reduced ACE activities of 75.39% and 71.25% at 500 μg/mL, respectively. The antioxidant protection factor of the water and 70% ethanol extracts of *J. rigida* Sieb were 1.5 PF and 2.1 PF, respectively. In the TBARS inhibitory activity, the extracts showed 55.78% and 71.48% antioxidant activities at the 500 μg/mL concentration. The results of the measurement of the α-amylase inhibitory activity indicated more than 90% of activity inhibition in the 500 μg/mL concentration of the ethanol extract. For the α-glucosidase inhibitory activity, the ethanol extract showed 70% activity inhibition at the 500 μg/mL concentration.

Key words : antioxidant, α-amylase, α-glucosidase, *Juniperus rigida* Sieb

서 론

최근에는 많은 천연소재의 생리활성물질의 연구가 활발히 진행되고 있는 상황이다(1,2). 또한 이러한 연구는 건강식품의 항산화 활성과 현대인들이 많은 관심을 가지고 있는 피부노화에 대한 anti-aging 등의 다양한 기능에 초점이 맞추어져있다. 따라서 기존의 천연물보다 좋은 기능성과 안전성이 요구되는 새로운 천연소재의 개발이 절실히 요구되는 실정이다(3).

노간주나무(*Juniperus rigida*)는 노가지나무, needle juniper로도 불리며 측백나무과에 속하는 늘푸른 큰키나무로 한국, 중국, 시베리아 전역에 분포되어 있다. 한국에서는 석회암지대에서 자라며, 추위에 강하고 해풍을 잘 견디는 특징이 있어 해안가에서 방풍림으로 이용되고 있다(4). 노

*Corresponding author. E-mail : jylee@hoseo.edu
Phone : 82-41-540-9552, Fax : 82-41-540-9538

간주나무의 열매는 두송실이라고 하는데 거풍제습과 이뇨작용이 있어 관절염에 외용약으로 쓰거나, 부조, 통풍, 요로생식기 질환에 사용한다(5). 노간주나무의 열매는 정유성분으로 α-pinene, myrene, careen, limonene, p-cymene 등이 함유되어 있다. 또한 다른 측백나무과 식물들의 잎은 보통 hinokiflavone 외에 amentoflavone과 podocarpusflavone을 함유하는 특징이 있다(6,7).

당뇨병은 진행되는 동안 베타세포의 기능 손상에 의해 체내 free radical의 농도와 산화적 스트레스가 증가되며, 항산화 효소의 활성을 감소시켜 합병증으로 인한 사망의 주요한 원인으로 작용한다(8). α-Glucosidase는 식이 중에 함유된 탄수화물의 소화과정 마지막 단계를 촉매하여 포도당으로 전환시키는 효소로서, α-glucosidase 저해제는 탄수화물의 소화와 흡수를 지연시켜 식후 혈당증가를 완화시킨다. α-glucosidase 저해제는 고인슐린 혈증이나 저혈당을 유발하지 않고, 인슐린 분비를 촉진시키며 소장에서 글루카곤 분비를 억제하는 glucagon-like peptide-1의 분비를 촉진한다(9). 현재 acarbose와 voglibose 등의 glucosidase 저해제가 시판되고 있으나, 이들 약제를 장기간 복용한 경우 일부 환자에 있어서 복부팽만감, 구토, 설사 등 부작용을 나타낼 수 있어 그 사용이 제한될 수 있다(10).

따라서 본 연구에서는 노간주나무 추출물의 다양한 항산화 작용과 항당뇨 효과를 통하여 천연항산화제 및 항당뇨의 기능성 식품 및 약품 소재로서의 활용에 있어 기초자료로 사용하고자 본 실험을 수행하였다.

재료 및 방법

재료 및 시료 추출

본 실험에 사용된 노간주나무(*Juniperus rigida* Sieb.)는 충북 괴산에서 2012년 봄에 생산 된 건채를 구입하여 추출시료로 사용하였다. 시료의 추출은 열수 및 에탄올 추출을 하였다. 시료의 에탄올 추출물은 70% 에탄올 10배의 양을 가하여 실온에서 24시간 침지하여 상등액과 침전물을 분리하여 동일한 방법으로 3회 반복 추출하였고, 열수 추출물은 증류수 10배의 양을 가하여 80℃에서 3시간 가량 환류냉각 추출해 실온에서 24시간 침지하여 상등액과 침전물을 분리하여 동일한 방법으로 3회 반복 추출하였다. 각 시료 추출물은 여과지(Whatman No.2)를 이용하여 여과한 후 EYELA evaporator(SB-1100, Tokyo, Japan)로 감압 농축하여 용매를 완전히 제거한 후 동결 건조하여 -20℃에 보관하면서 본 실험의 시료로 사용하였다.

총 폴리페놀 함량 측정

폴리페놀 정량은 Folin-Denis 방법(11)에 준하여 정량하였다. 즉, 500배 희석한 시료 용액 50 μL에 folin-ciocalteu's phenol reagent 시약 50 μL을 첨가하여 실온에서 3분간 반응시킨 후, 포화용액 0.7 M Na_2CO_3 용액 50 μL을 첨가하여 혼합한 후 1시간 실온에서 방치하고, 700 nm에서 흡광도를 측정한 후 표준물질인 tannic acid로 미리 작성한 표준곡선의 흡광도 값과 비교하여 폴리페놀 함량(mg/g)을 산출하였다.

총 플라보노이드 함량 측정

총 플라보노이드 함량은 Zhuang 등의 방법(12)을 변형하여 측정하였다. 즉, 추출물 100 μL에 2% $AlCl_3$ ethanol solution 100 μL을 혼합하여 실온에서 1시간 방치한 후 microplate reader를 이용하여 420 nm에서 흡광도를 측정하였다. 표준물질로는 quercetin을 사용하였으며, 표준물질의 검량선과 비교하여 총 플라보노이드 함량(mg/g)을 구하였다.

$ABTS^+$ cation radical scavenging activity 측정

ABTS radical cation decolorization의 측정은 Pellegrini 등의 방법(13)의 의해 측정하였다. 즉, 7 mM ABTS 5 mL와 140 mM $K_2S_2O_8$ 88 μL를 섞어 어두운 곳에 14~16시간 방치시킨 후, 이를 absolute ethanol과 약 1 : 88 비율로 섞어 734 nm에서 대조군의 흡광도 값이 0.7 ± 0.002가 되도록 조절한 ABTS solution을 사용하였다. 시료용액 50 μL와 ABTS solution 1 mL을 혼합하여 30초간 진탕한 후 2.5분간 반응시키고 734 nm에서 흡광도를 측정하여 아래의 식에 의해 라디칼 소거활성을 계산하였다.

$$\text{Radical scavenging activity}(\%) = \left(1-\frac{\text{시료첨가군의 흡광도}}{\text{무첨가군의 흡광도}}\right) \times 100$$

FRAP assay 측정

FRAP assay는 Benzie와 Strain법(14)을 96well plate에 맞게 수정하여 실시하였다. 반응액은 30 mM acetate buffer (pH 3.6) 10 mM의 TPTZ의 $FeCl_3 \cdot 6H_2O$를 10:1:1의 비율로 실험 직전에 만들어 사용하였다. 반응액 150 mL와 시료 20 mL를 혼합하여 8분간 실온에서 반응시킨 후 593 nm에서 흡광도를 측정하였다. 표준물질로는 $FeSO_4 \cdot 7H_2O$를 사용하였다.

Angiotensin converting enzyme (ACE) 저해활성 측정

ACE 저해효과 측정은 Cushman 등의 방법(15)에 의하여 행하였다. 즉, 반응구는 0.3 M NaCl을 함유하는 0.1 M potassium phosphate buffer (pH 8.3)에 기질로 2.5 mM hippuryl-histidyl- leucine 용액 0.15 mL를 혼합하였으며, 대조구는 추출액 대신 동일 buffer 0.1 mL를 첨가하여 37℃에서 30분간 반응시키고 1 N HCl 0.35 mL 첨가로 반응을 중지시킨 뒤 3 mL의 ethyl acetate를 첨가하였다. Ethyl acetate 층만을 취한 다음 용매를 증류시킨 잔사에 2 mL의

증류수를 첨가하여 효소에 의해 기질로부터 분리되어 추출된 hippuric acid를 280 nm에서 흡광도를 측정한 후 표준곡선에서 양을 환산하여 아래의 식에 의해 저해율을 계산하였다.

$$\text{저해율(\%)} = \left(1 - \frac{\text{반응구의 hippuric acid의 생성량}}{\text{대조구의 hippuric acid의 생성량}}\right) \times 100$$

Antioxidant protection factor (PF) 측정

PF는 Andarwulan와 Shetty의 방법(16)으로 측정하였다. 10 mg의 β-carotene/50 mL chloroform 용액 1 mL를 evaporator용 수기에 넣고 40℃ water bath에서 chloroform을 증류시킨 후, 20 μL linoleic acid, 184 μL tween 40과 50 mL H_2O_2를 가하여 emulsion을 만들고, 5 mL emulsion을 시료용액 100 uL에 혼합하여 잘 섞어준 뒤 50℃에서 30분간 반응시켜 냉각시킨 다음, 470 nm에서 흡광도를 측정하였고, PF는 반응구의 흡광도/대조구의 비로 나타내었다.

TBARS 측정

본 실험에 TBARS는 Burge와 Aust의 방법(17)에 따라 측정하였다. 1% linoleic acid와 1% tween-40으로 emulsion을 만들고 emulsion 0.8 mL와 시료 0.2 mL를 섞은 후 50℃ water bath에서 10시간 반응시켰다. 반응 후 반응액 1mL에 TBA reagent 2mL를 가하고 15분간 중탕한 다음 10분간 냉각시킨 후 15분간 1,000 rpm으로 원심분리 하였다. 원심분리 한 액을 실온에서 10분간 방치 한 후 상등액을 532 nm서 흡광도를 측정하였으며, TBARS 값은 1 mL 반응혼합물에 대해서 생성된 1,1,3,3-tetraethoxy propane (TEP)의 함량을 환산하여 [1-(반응구의 생성량/대조구의 생성량)] × 100 으로 항산화 활성을 나타내었다.

α-glucosidase 저해활성 측정

세포를 α-glucosidase 저해활성을 측정하기 위하여 Tibbot 등의 방법(18)에 따라 반응 혼합액은 50 mM sodium succinate buffer (pH 4.2)에 p-nitrophenol-α-D-glucopyranoside (PNPG)를 용해시켜 1 mg/mL의 농도로 기질을 만들었다. 기질 1 mL와 효소(Sigma, 37℃, pH 6.8, 1,000 unit/mL) 0.1 mL를 혼합하고 대조구에는 증류수 0.1 mL, 반응구에는 시료 0.1 mL을 넣어 37℃에서 30분간 반응시킨 후 1N-NaOH 0.1 mL를 첨가하여 발색시켰다. 이때 생성된 p-nitrophenol (PNP)은 400 nm에서 spectro-photometer를 이용하여 측정하였으며, 그 양은 표준물질 p-nitrophenol로 부터 작성한 표준곡선으로부터 구하여 다음의 식으로 저해율을 구하였다.

$$\text{저해율(\%)} = \left(1 - \frac{\text{반응군의 PNP 생성량}}{\text{대조군의 PNP 생성량}}\right) \times 100$$

α-amylase 저해활성 측정

α-amylase 저해활성 측정은 agar diffusion 방법(19)을 이용하여 측정하였다. Plate는 5 g의 agar와 5 g의 soluble starch를 500 mL 증류수에 녹인 후 121℃, 15분간 감압 살균하고 15 mL씩 분주하여 제조하였고, 대조군의 경우 0.8 μL의 증류수 0.2 μL의 효소(Sigma, 20℃, pH 6.9, 1,000 unit/mL)를 섞고 반응군은 증류수 대신 추출물을 효소와 섞어 plate에 놓인 disc paper 위에 각각 분주하고 37℃에서 3일간 배양한 후 I2/KI (5 mMI_2 in 3%KI) 5 mL를 가하여 15분간 발색 후 다음의 식으로 효소 저해율을 구하였다.

$$\text{저해율(\%)} = \left(1 - \frac{\text{대조군의 면적-반응군의 면적}}{\text{대조군의 면적}}\right) \times 100$$

결과 및 고찰

총 폴리페놀 함량 확인

식물체 내의 페놀성 화합물은 2차 대사산물로서 항산화, 항균 등 다양한 생리활성을 나타내며, 특히 항산화 활성은 페놀성 화합물이 작용하는 것으로 보고되고 있고(20), 이와 같이 페놀성 화합물 함량과 항산화 활성간의 상호작용에 대한 많은 연구들에서 알 수 있듯이 식물체가 지니고 있는 페놀성 화합물의 함량을 조사함으로서 항산화 활성을 탐색하는 일차적인 자료가 될 수 있을 것으로 생각된다(20). Tannic acid를 기준물질로 하여 표준곡선을 그린 후 노간주나무 추출물에 존재하는 총 폴리페놀 함량 측정 결과를 Table 1에 나타내었다. 노간주나무 열수추출물에서 71.3 mg/g의 함량을 나타내었으며 에탄올추출물에서 116.0 mg/g로 Yoo 등(21)이 보고한 솔잎 수용성 추출물의 함량인 16.1mg/g, Moon 등(22)이 보고한 녹차10.9 mg/g, 인지 6.7 mg/g의 추출물로 노간주 추출물이 많은 폴리페놀이 함유되어 있음을 확인할 수 있었다.

Table 1. Total phenolic and flavonoid contents of *Juniperus rigida* Sieb. extract

Sample	Extract	Total phenolics (mg/g)	Total flavonoids (mg/g)
Juniperus rigida S.	EtOH	116.0 ± 0.14	76.4 ± 2.16
	Water	71.3 ± 2.03	17.7 ± 2.03

All value presents the SD mean ± SD of triplicate determinations.

플라보노이드 함량 확인

페놀성 물질은 phenolic hydroxyl기를 가지며 단백질 및 거대 분자들과 쉽게 결합하며, 항산화 활성과 같은 다양한 생리활성을 가지고 있다. 또한 플라보노이드는 유리 라디칼 분해 능력을 가져서 항산화제로 작용할 수 있다. 이와

같이 천연 항산화제로 작용할 수 있는 폴리페놀 화합물이나 플라보노이드는 식물에 존재하는 phytochemical로서 여러 가지 식물에 다량 함유되어 있는 것으로 보고되었다(23). 노간주나무 추출물에 함유된 플라보노이드 화합물을 quercetin을 표준물질로 측정한 결과 Table 1에 나타내었다. 노간주나무 열수추출물에서 17.7 mg/g 에탄올추출물에서 76.4 mg/g로 Yin 등(24)이 보고한 대황 24.47 mg/g, 석류 43.27 mg/g, 은행 0.97 mg/g, 천마 14.57 mg/g 에탄올 추출물보다 노간주 에탄올 추출물에 많은 플라보노이드가 함유되어 있음을 확인할 수 있었다.

ABTS$^+$ cation radical scavenging activity assay 측정 결과

ABTS 라디칼 소거능 측정은 potassium persulfate와 반응하여 녹색의 ABTS radical을 형성하고, 생성된 양이온(ABTS+·)은 항산화성을 가진 물질에 의해 제거되어 radical 특유의 색인 청록색에서 연한 녹색으로 탈색되는 것을 측정하는 방법이다(25). DPPH radical 소거활성 실험과 동일한 원리로, ABTS 시약은 합성된 radical이나 물과 유기용매 모두에 용해되므로 극성 시료뿐만 아니라 비극성 시료의 항산화 활성 측정에 모두 사용 가능하다(26). 이러한 원리를 이용하여 ABTS를 측정한 결과 500 μg/mL에서 에탄올추출물은 79.3%의 활성을 보였으며, 열수추출물은 76.4%의 활성을 나타내었다(Fig. 1). 이는 Cho 등(27)과 Kim 등(28)이 까막살, 참보라색 우무 에탄올 추출물과 송이즙 1.0 mg/mL 농도에서 ABTS radical 소거능이 13.6 %, 16.2 %, 7 %를 보인 결과와 비교하여 볼 때 노간주 추출물의 ABTS radical 소거능이 높음을 알 수 있었다.

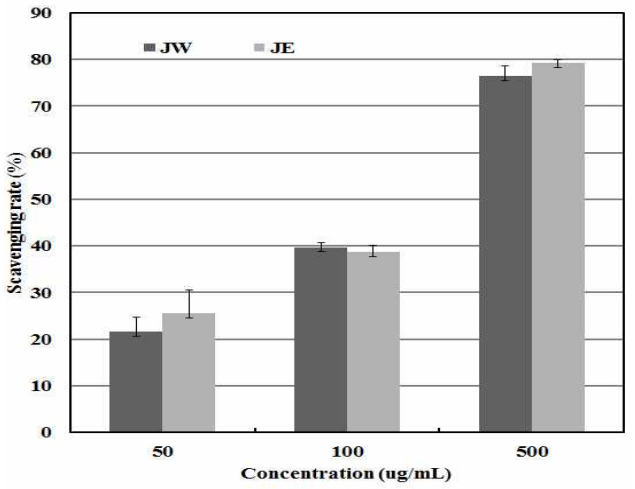

Fig. 1. Effect of extracts from *Juniperus rigida* Sieb. on ABTS radical cation decolorization.

■ JW : *J. rigida* Sieb. extracted with water, ■ JE : *J. rigida* Sieb. extracted with ethanol. Results are means ± S.D. of triplicate data.

FRAP 측정

환원력은 항산화 능력과 관련이 있는 중요한 인자로서 FRAP에 의한 환원력 측정은 산성 pH에서 환원제에 의해 ferric tripyridyltriazine (Fe^{3+}-TPTZ) 복합체가 ferrous tripyridyltriazine (Fe^{2+}-TPTZ)으로 환원되는 원리를 이용한 것으로, 항산화제와 같이 환원력을 가진 물질은 Fe^{3+}-ferricyanide 복학체를 Fe^{2+}형태로 환원시켜 청색을 띠게 한다(15). 노간주나무 추출물에 존재하는 FRAP값을 측정한 결과 열수추출물에서 1.83 mM의 함량을 나타내었으며, 에탄올 추출물에서 1.77 mM로 Jang 등(29)이 보고한 엉겅퀴 추출물의 0.58 mM을 보인 결과와 비교할 때 노간주 에탄올추출물이 FRAP의 함량이 높음을 확인할 수 있었다 (Table 2).

Table 2. Total FRAP activity of *Juniperus rigida* Sieb. extract

Extract	Total FRAP value (Fe^{2+}Mm/mg)
Water	1.83 ± 0.06
EtOH	1.77 ± 0.04

Millimole of total Fe^{2+}/mg of *Juniperus rigida* Sieb. extract based on $FeSO_4.7H_20$ as standard. All value presents the SD mean ± SD of triplicate determinations.

ACE 측정 결과

ACE는 renin에 의해 생성된 angiotensin I의 C-말단부터 가수분해하여 angiotensin Ⅱ로 전환시키는 효소로 angiotensin Ⅱ는 강력한 혈관수축 작용으로 혈압을 상승시켜 고혈압의 주된 원인이 되며 이러한 ACE 활성의 저해요소로는 메밀에 많이 포함된 rutin과 저분자 peptide, 그리고 녹차에 함유되어있는 catechin 등 polyphenol 성분이 대표적이다(23). 이러한 ACE의 작용을 억제하기 위하여 노간주나무 추출물의 저해효과를 측정한 결과 500 μg/mL 농도에서 열수추출물은 75.39%, 에탄올추출물은 71.25% 저해활성을 나타내었다(Fig. 2). 이는 Xu 등(30)이 보고한 ethyl acetate 분획물

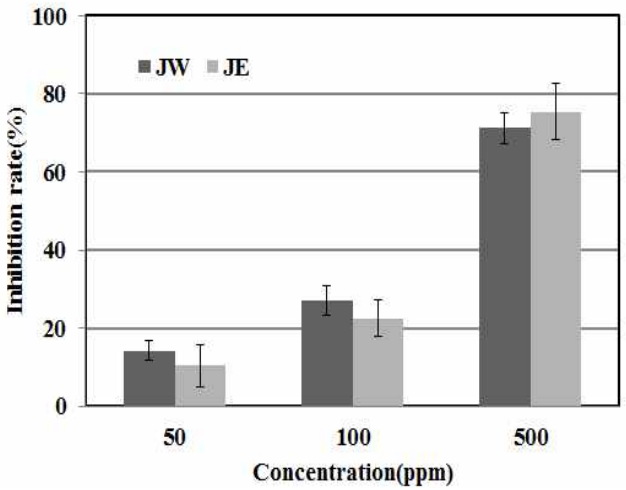

Fig. 2. Effect of inhibition an angiotensin converting enzyme by extracts from *Juniperus rigida* Sieb.

■ JW: *J. rigida* Sieb. extracted with water, ■ JE: *J. rigida* Sieb. extracted with ethanol. Result are means ± SD of triplicate data.

이 2 mg/mL와 1 mg/mL 의농도에서 62.03%, 46.97% 나타난 것과 비교하여 노간주 추출물의 효능이 높음을 알 수 있었다.

Antioxidant protection factor (PF) 측정 결과

지질 산화과정에서 생성되는 peroxy radical과 반응하여 불활성물질(inactive products)을 형성하고 그로 인해 free radical에 의한 연쇄 반응을 중단시킨다는 β-carotene은 주로 lipoprotein과 같은 지방친화성 구조의 내부에 존재하면서 singlet oxygen을 효과적으로 억제하는 것으로 알려져 있다(16). 노간주나무 추출물의 지용성 물질에 대한 항산화력을 측정하기 위해 PF를 측정하였다. PF를 측정한 결과 열수추출물에서는 1.4 PF, 에탄올 추출물에서는 2.1 PF로 우수한 항산화력이 있는 것으로 확인되었다(Fig. 3). 이는 Jo 등(31)의 연구에서 열수 추출물에서 2.0 PF값과 에탄올 추출물에서 1.2 PF값을 나타낸 것과 비교하여 노간주 추출물의 항산화력이 우수한 것으로 확인되었다.

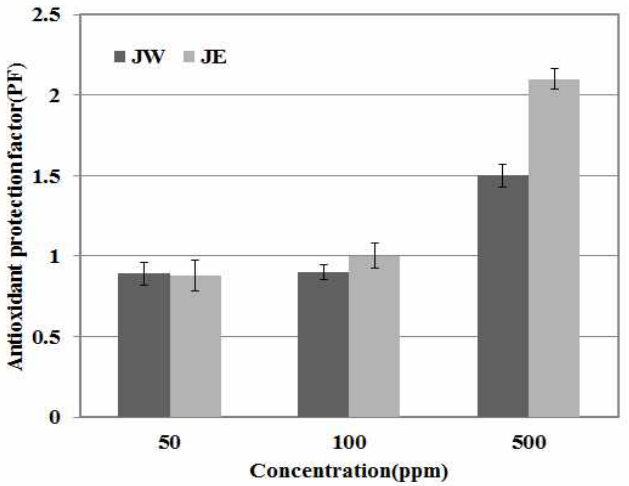

Fig. 3. Effect of extracts from *Juniperus rigida* Sieb. on antioxidant protection factor.

JW: *J. rigida* Sieb. extracted with water, JE: *J. rigida* Sieb. extracted with ethanol. Result are means ± SD of triplicate data.

Thiobarbituric acid reactive substances (TBARS) 측정 결과

지방산패도를 나타내는 TBARS값은 TBA시약과 반응하여 붉은색을 띄는 malondialdehyde (MA)의 생성량을 나타낸 것이다(17). 불포화 지방산이 자동산화 하는 과정 중 지방산화의 2차 산물인 MA가 생성된다. 이에 노간주 추출물의 MA생성 억제활성을 알아본 결과 500 μg/mL 함량에서 열수추출물은 55.78%, 에탄올추출물은 71.48%의 항산화 효과를 나타내었으며, 이러한 결과로 볼 때 추출물의 첨가농도가 높아질수록 농도 의존적으로 항산화 효과도 증가함을 알 수 있었다(Fig. 4). 생체 내에서 세포막에 존재하는 인지질 및 당지질과 혈관에 존재하는 지질은 산소와 결합하여 과산화류, keton류 등을 생성하여 DNA를 손상시켜 암을 유발하기도 하며, 세포의 노화를 일으키는 것으로 알려져 있는데(32), 노간주 추출물이 지방 자동 산화 과정 중 생성되는 2차 대사산물의 생성을 억제하는 것으로 확인되어 항산화 소재로 활용가능 할 것으로 보인다.

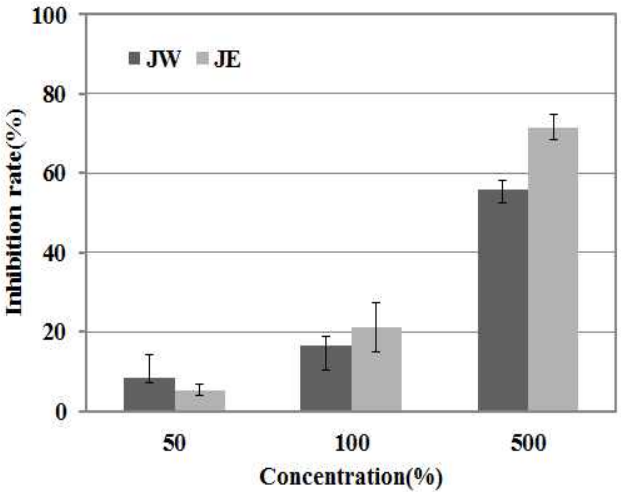

Fig. 4. Effect of extract from *Juniperus rigida* Sieb. on TBARS.

JW: *J. rigida* Sieb. extracted with water, JE: *J. rigida* Sieb. extracted with ethanol. Result are means ± SD of triplicate data.

α-glucosidase 저해활성 측정 결과

α-glucosidase는 brush-border membrane에 존재하는 소화효소로 이당류나 다당류를 단당류로 가수분해하는 역할을 한다. α-glucosidase 저해제는 탄수화물 식이 후 혈당 상승을 억제할 수 있는데 이는 활성물질이 α-glucosidase에 경쟁적으로 결합하여 효소 활성을 억제함으로서 장내에서 당질의 소화와 흡수를 지연시켜 급격한 혈당의 상승과 불필요한 인슐린의 분비를 억제하기 때문이다(33). 본 실험에서는

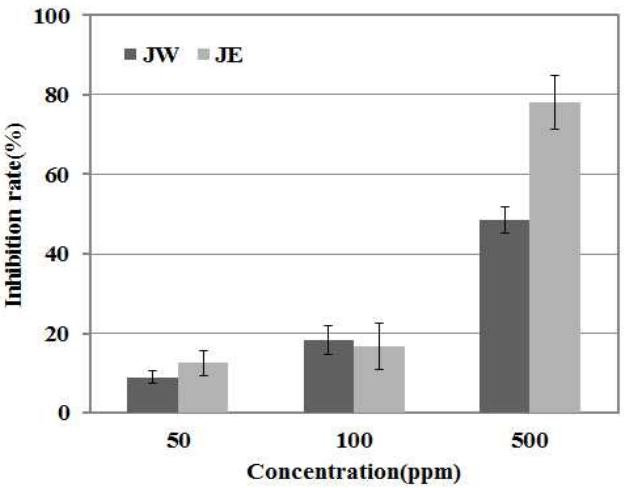

Fig. 5. Inhibition effect of extract from *Juniperus rigida* Sieb. on α-glucosidase.

JW: *J. rigida* Sieb. extracted with water, JE: *J. rigida* Sieb. extracted with ethanol. Result are means ± SD of triplicate data.

500 μg/mL 농도에서 열수추출물은 48.39% 에탄올 추출물의 경우 78.14 %로 Yin 등(34)이 보고한 6년근 황기에탄올 추출물의 500 μg/mL의 농도에서 24.59 %의 효능을 나타낸 것과 비교하여 높은 저해율을 보여 기능성 소재로 활용할 수 있을 것으로 기대된다(Fig. 5).

α-amylase 저해활성 측정 결과

α-amylase는 탄수화물의 α-D-(1,4)-glucan 결합을 분해하는 효소이고, α-glucosidase 소장 상피세포의 brush-border membrane에 존재하는 효소로서 소장에서 음식물 중의 전분을 포도당과 같은 단당으로 분해하여 흡수시킨다(33). 따라서 소장의 α-amylase와 α-glucosidase를 저해함으로서 포도당의 흡수를 지연시킬 수 있어 α-amylase와 α-glucosidase의 저해활성은 혈당수치 상승억제의 지표로서 사용된다(35). 노간주나무 추출물의 α-amylase 저해활성을 검토한 결과 500 μg/mL 농도에서 열수추출물은 87.59%, 에탄올추출물은 98% 저해 활성을 보였다(Fig. 6). 이는 Xu 등(30)이 보고한 500 μg/mL의 농도에서 14.62 %와 비교하여 높은 저해율을 보여 기능성 소재로 활용 가능성을 제시한다.

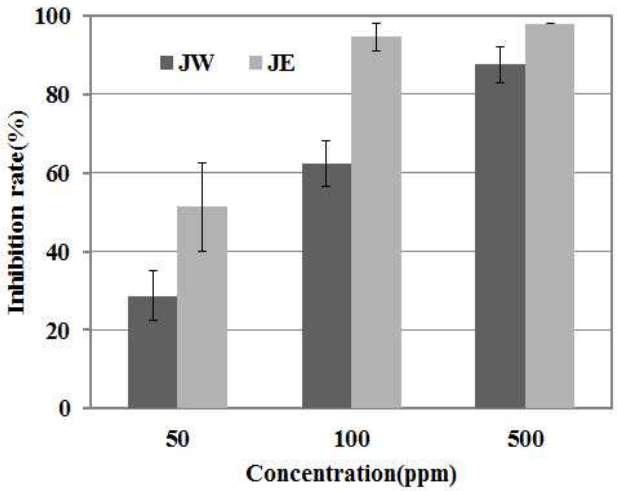

Fig. 6. Inhibition effect of extract from *Juniperus rigida* Sieb. on α-amylase.

JW: *J. rigida* Sieb. extracted with water, JE: *J. rigida* Sieb. extracted with ethanol. Result are means ± SD of triplicate data.

요 약

본 연구에서는 노간주나무 추출물의 항산화 및 α-amylase와 α-glucosidase을 조사하여 항산화소재로 이용하고자 실험하였다. 노간주나무 추출물의 항산화효과를 살펴보기 위하여 총 폴리페놀 함량을 측정한 결과 열수추출물은 71.3 mg/g, 에탄올추출물은 116.0 mg/g 함량을 포함하고 있었으며, 플라보노이드 함량은 열수추출물은 17.7 mg/g, 에탄올추출물은 76.4 mg/g 함량을 포함하고 있었다. ABTS 라디칼 소거능을 측정한 결과 500 μg/mL 농도에서 열수추출물은 76.4%, 에탄올 추출물은 79.3% 라디칼 소거능을 나타내었다. FRAP 값을 측정한 결과 열수추출물에서 1.83 mM를 에탄올추출물에서 1.77 mM로 열수추출물에서 더 높은 효과를 나타내었다. ACE 활성억제효과는 500 μg/mL 농도에서 열수추출물 75.39%, 에탄올 추출물 71.25%로 저해율을 나타내었다. 노간주나무 추출물의 antioxidant protection factor를 측정한 결과 열수추출물의 경우는 1.5 PF, 에탄올추출물의 경우는 2.1 PF를 나타내었다. TBARS 저해율은 500 μg/mL 농도에서 열수추출물과 에탄올추출물 각각 55.78%와 71.48%을 나타내었다. α-glucosidase와 α-amylase 저해효과를 측정한 결과 500 μg/mL 농도에서 각각 70%와 90% 이상의 저해효과를 나타내어 항산화 및 항당뇨 예방물질 소재로의 활용이 가능할 것으로 판단된다.

감사의 글

본 연구는 보건복지부 보건의료연구개발사업의 지원에 의하여 이루어진 것임. (과제고유번호: HN10C0014)

References

1. Kim SY, Kim JH, Ki SK, Oh MJ, and Jung MY (1994) Antioxidant activities of selected oriental herb extracts, J Am Oil Chem Soc, 71, 633-640
2. Kang JM, Cha IH, Lee YK and Ryu HS (1997) Idenification of valatile essential oil, and flavor characterization an antimicrobial effect of fractions from Houttuynia cordata thumb. J. Korean Soc Food Sci Nutr, 26, 209-213
3. Sharman S, Jill DS, Kelloff GJ, and Vernon ES (1994) Screening of potential chemopreventive agents using biochemical markers of cacinogenesis. Cancer Res, 54, 5848-5855.
4. Adams RP (2000) Systematics of Juniperus section Juniperus based on leaf essential oils and random amplified polymorphic DNAs (RAPDs). Biochem Syst Ecol, 28, 515-528
5. An DK (1999) 原色韓國本草圖鑑, Kyohak published, Seoul. 9, 324
6. Mashima T, Okigawa M, Kawano N (1970) On the bisflavones in the leaves of Juniperus rigida Sieb. et Zucc. Yakugaku Zasshi, 90, 512-513
7. Adams RP (1998) The leaf essential oils and

chemotaxonomy of Juniperus sect. Juniperus. Biochem Syst Ecol, 26, 637-645
8. Drews G, Krippeit-Drews P, Düfer M (2010) Oxidative stress and beta-cell dysfunction. Pflugers Arch, 460, 703-718
9. Hanefeld M (1998) The role of acarbose in the treatment of noninsulin-dependent diabetes mellitus. J Diabetes and its complications, 12, 228-237
10. Mooradian AD, Thurman JE (1999) Drug therapy of postprandial hyperglycaemia. Drugs, 57, 19-29
11. Folin O, Denis W (1912) On phosphotungsticphosp-homolybdic compounds as color reagents. J Bio Chem, 12, 239-249
12. Zhuang XP, Lu YY, Yang GS (1992) Extraction and determination of flavonoid in ginkgo. Chinese Herb Med, 23, 122-124
13. Pellegrin N, Re R, Yang M, Rice-Evans C (1998) Screening of dietary carotenoids and carotenoid-rich fruit extracts for antioxidant activities applying 2,2'-azinobis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) radical cation decolorization assay. Method Enzymol, 299, 379-389
14. Benzie I, Stranin J (1996) The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of antioxidant power: The FRAP assay. Anal Biochem, 239, 70-76
15. Cushman DW, Ondetti MA (1980) Inhibitors of angiotensin converting enzyme for treatment of hypertension. Biochem Pharmacol, 29, 1871-1877
16. Andarwulan N, Shetty K (1999) Phenolic content in differentiated tissue cultures of untransformed and Agrovacterium transformed roots of anise(*Pimpinella anisum* L.). Agric Food Chem, 47, 1776-1780
17. Buege J, Aust SD (1978) Microsomal lipid peroxidation. Method Enzymol, 105, 302-310
18. Tibbot BK, Skadsen RW (1996) Molecular cloning and characterization of a gibberellin- inducible, putative alpha-glucosidase gene from berley. Plant Mol Biol, 30, 229-241
19. Boo HO, Lee HH, Lee JW, Hwang SJ, Park SU (2009) Different of total phenolics and flavonoids, radical scavenging activities and nitrite scavenging effects of *Momordica charantia* L. according to cultivars. Korean Med Crop Sci, 17, 15-20
20. Choi SY, Lim SH, Kim JS, Ha TY, Kim SR, Kang KS, Hwang IK (2005) Evaluation of the estrogenic and antioxidant activity of some edible and medicinal plants. Korean Food Sci Technol, 37, 549-556
21. Yoo JH, Cha JY, Jeong YK, Chung KT, Cho YS (2004) Antioxidative effects of pine(*Pinus densflora*) nee-dle extract. J Life Sci, 14, 863-867.
22. Moon JS, Kim SJ, Park YM, Hwang IS, Kim EH (2004) Antimicrobial effect of methanol extracts from some medicinal herbs and the content of phenolic compounds. Korean J Food Pre 11, 207-213.
23. Lee DH, Kim JH, Kim NM, Park JS, Lee JS (2002) Manufacture and physiological functionality of Korean traditional liquor by using *Paecilomyses japonica*. Korean J Mycal, 30, 41-46
24. Yin Y, Hel SI, Jung MJ, Wang MH (2009) Antioxidant and antidiabetic effects of various sections of *Astragalus membranaceus*. Koran J Phamacogn 40, 1-5
25. Van DBR, Haenen GRMM, Van DBH, Bast A (1999) Applicability of an improved trolox equivalene antioxidant capaciry (TEAC) assay for evaluation of antioxidant capacity measurements of mixtures. Food Chem, 66, 511-517
26. Awika JM, Rooney LW, Wu X, Prior RL, Cisneros-Zevallos L (2003) Screening methods to measure antioxidant activity of sorghum (Sorghum bicolor) and sorghum products. Agric Food Chem, 51, 6657-6662
27. Cho ML, Lee DJ, You SG (2012) Radical scavenging activity of ethanol extracts and solvent partitioned fractions from various red seaweeds. Ocean Polar Res, 34, 445-451.
28. Kim YE, Yang JW, Lee CH, Kwon EK (2009) ABTS radical scavenging and anti-tumor effect of *Tricholoma matsutake* Sing(pine mushroom). J Korean Soc Food Sci Nutr, 38, 555-560
29. Jang MR, Hong EY, Cheong JH, Kim GH (2012) Antioxidative components and activity of domestic *Cirsium japonicum* extract. J. Korean Soc Food Sci Nutr, 41, 739-744
30. Xu ML, Wang L, Xu GF, Wang MH (2011) Antidiabetes and angiotensin converting enzyme inhibition activity of *Sonchus asper* L Hill extract, Koran J Pharmacogn, 42, 61-67.
31. Jo BS, Cho YJ (2012) Biological activity of extracts from *Acanthopanas sessiliflorum* Fruit. Korean J Food Preserv, 19, 586-593
32. Jeon MR, Choi SH (2011) Redidual nitrite content and storage properties of pork patties added with gardenia fructus extrct. Korean J Food Sci Ani Resour, 31, 741-747
33. Lee BB, Park SR, Han CS, Han DY, Park E, Park HS, Lee SC (2008) Antioxidant activity and inhibition activity

and inhibition activity against α-amylase and α-glucosidase of *Viola mandshurica* extracts. J Korean Soc Food Sci Nutr, 37, 405-409

34. Yin Y, Heo SI, Jung MJ, Wang MH (2009) Antioxidant and antidiabetic effects of various sections of *Astragalus membranaceus*, Korean J Pharmacogn, 40, 1-5
35. Oh SJ, Hong SS, Kim YH, Koh SC (2008) Screening of biological activities in ferm plants native to Jeju island. Korean J Plant Res, 21, 12-18

(접수 2013년 11월 8일 수정 2014년 2월 25일 채택 2014년 3월 27일)