



저작자표시-비영리-변경금지 2.0 대한민국

이용자는 아래의 조건을 따르는 경우에 한하여 자유롭게

- 이 저작물을 복제, 배포, 전송, 전시, 공연 및 방송할 수 있습니다.

다음과 같은 조건을 따라야 합니다:



저작자표시. 귀하는 원저작자를 표시하여야 합니다.



비영리. 귀하는 이 저작물을 영리 목적으로 이용할 수 없습니다.



변경금지. 귀하는 이 저작물을 개작, 변형 또는 가공할 수 없습니다.

- 귀하는, 이 저작물의 재이용이나 배포의 경우, 이 저작물에 적용된 이용허락조건을 명확하게 나타내어야 합니다.
- 저작권자로부터 별도의 허가를 받으면 이러한 조건들은 적용되지 않습니다.

저작권법에 따른 이용자의 권리는 위의 내용에 의하여 영향을 받지 않습니다.

이것은 [이용허락규약\(Legal Code\)](#)을 이해하기 쉽게 요약한 것입니다.

[Disclaimer](#)

이 학 석 사 학 위 논 문

황색 및 자색 양파 껍질의
항당뇨 및 항산화 활성 비교



2017년 2월 24일

부경대학교 대학원

임상영양학과

양 수 진

이 학 석 사 학 위 논 문

황색 및 자색 양파 껍질의
항당뇨 및 항산화 활성 비교

지도교수 최재수

이 논문을 이학석사 학위논문으로 제출함

2017년 2월 24일

부경대학교 대학원

임상영양학과

양 수 진

양수진의 이학석사 학위논문을 인준함.

2017년 2월 24일



주 심 이학박사 류 은 순 (인)

위 원 이학박사 김 재 일 (인)

위 원 약학박사 최 재 수 (인)

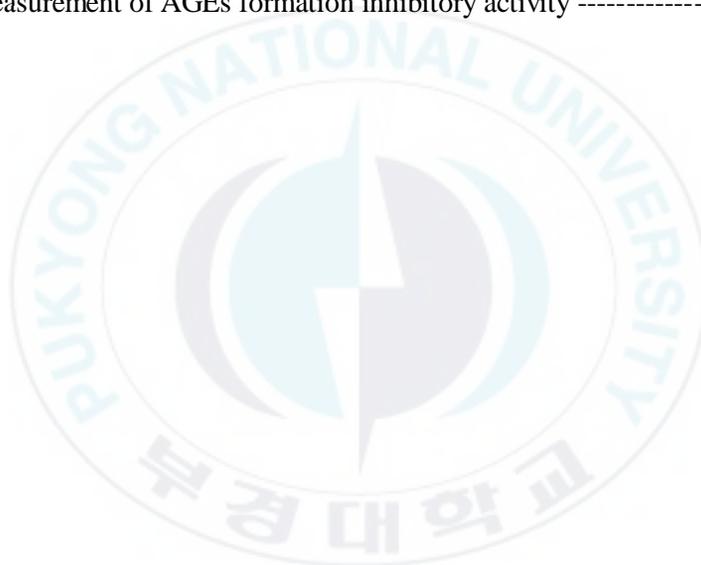
목 차

LIST OF SCHEMES	i
LIST OF TABLES	ii
LIST OF FIGURES	iii
ABBREVIATIONS	iv
ABSTRACT	v
I. 서론	1
II. 재료 및 실험방법	7
1. 재료	7
2. 시약 및 기기	7
2-1. 시약	7
2-2. 기기	7
3. 실험방법	8
3-1. 추출	8
4. <i>In vitro</i> 실험	10
4-1. 항산화 활성	10
4-1-1. Total phenolic contents (TPC) 측정	10
4-1-2. Total flavonoid contents (TFC) 측정	11

4-1-3. DPPH radical 소거활성	-----	12
4-1-4. ABTs radical 소거활성	-----	14
4-2. 항당뇨 및 항당뇨 합병증 활성	-----	15
4-2-1. 항당뇨 활성	-----	15
4-2-1-1. Protein tyrosine phosphatase 1B 억제 활성	-----	15
4-2-1-2. α -Glucosidase 억제 활성	-----	17
4-2-2. 항당뇨 합병증 활성	-----	19
4-2-2-1. Advanced glycation endproducts 형성 억제 활성	-----	19
5. 통계처리	-----	21
III. 결과 및 고찰	-----	22
1. 항산화 활성	-----	22
1-1. 황색과 자색 양파껍질의 Total phenolic contents	-----	22
1-2. 황색과 자색 양파껍질의 Total flavonoid contents	-----	24
1-3. 황색과 자색 양파껍질의 DPPH radical 소거 활성	-----	26
1-4. 황색과 자색 양파껍질의 ABTS radical 소거 활성	-----	28
2. 항당뇨 및 항당뇨 합병증 활성	-----	31
2-1. 항당뇨 활성	-----	31
2-1-1. Protein tyrosine phosphatase 1B 억제 활성	-----	31
2-1-2. α -Glucosidase 억제 활성	-----	33
2-2. 항당뇨 합병증 활성	-----	36
2-2-1. Advanced glycation endproducts 형성 억제 활성	-----	36
IV. 결론 및 요약	-----	39
V. 참고문헌	-----	42

LIST OF SCHEMES

Scheme	Page
Scheme 1. Extraction of <i>Allium cepa</i> L. onion peel -----	9
Scheme 2. Measurement of DPPH radical scavenging activity -----	13
Scheme 3. Measurement of Protein tyrosine phosphatase 1B inhibition activity -----	16
Scheme 4. Measurement of α -glucosidase inhibitory activity -----	18
Scheme 5. Measurement of AGEs formation inhibitory activity -----	20



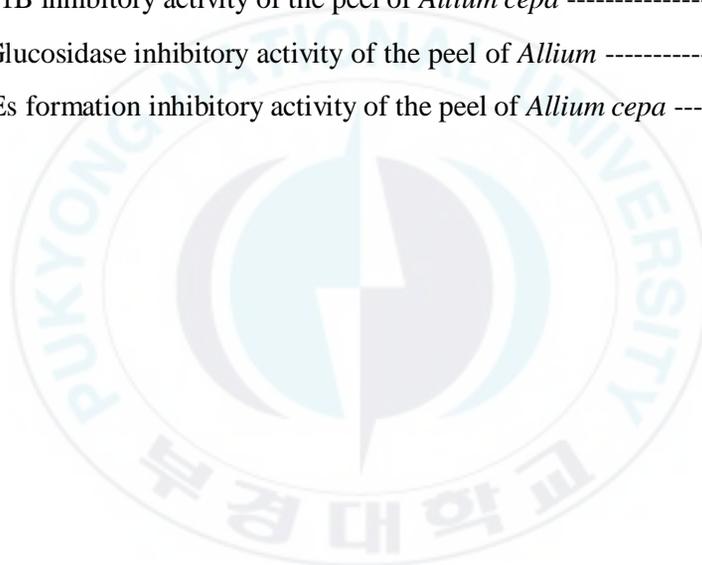
LIST OF TABLES

Table	Page
Table 1. DPPH and ABTS radical scavenging activities of the peel of <i>Allium cepa</i> -----	30
Table 2. Protein tyrosine phosphatase 1B and α -glucosidase inhibitory activities of the peel of <i>Allium cepa</i> -----	35
Table 3. AGEs formation inhibitory activities of the peel of <i>Allium cepa</i> -----	38



LIST OF FIGURES

Figure	Page
Figure 1. Total phenol content of the peel of <i>Allium cepa</i> -----	23
Figure 2. Total flavonoid content of the peel of <i>Allium cepa</i> -----	25
Figure 3. DPPH radical scavenging activity of the peel of <i>Allium cepa</i> -----	27
Figure 4. ABTS radical scavenging activity of the peel of <i>Allium cepa</i> -----	29
Figure 5. PTP1B inhibitory activity of the peel of <i>Allium cepa</i> -----	32
Figure 6. α -Glucosidase inhibitory activity of the peel of <i>Allium</i> -----	34
Figure 7. AGEs formation inhibitory activity of the peel of <i>Allium cepa</i> -----	37



ABBREVIATIONS

<i>p</i> NPP	: <i>p</i> -nitrophenyl phosphate
MeOH	: methyl alcohol
EtOH	: ethyl alcohol
IC ₅₀	: 50% inhibitory concentration
PTP1B	: protein tyrosine phosphatase 1B
DMSO	: dimethylsulfoxide
<i>p</i> NPG	: <i>p</i> -nitrophenyl α-D-glucopyranoside
AGEs	: advanced glycation endproducts
ROS	: reactive oxygen species
DTT	: dithiothreitol
DPPH	: 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl
QCE	: quercetin equivalence
GAE	: gallic acid equivalence
ABTS	: 2,2-azino-bis[3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonicacid]
TPC	: Total phenol contents
TFC	: Total flavonoid contents
PTPs	: protein tyrosine phosphatase
LAR	: leukocyte antigen-related tyrosine phosphatase
SHP2	: SH2-domain containing phosphotyrosine phosphatase
IR	: insulin receptor
IRS	: insulin receptor substrates
EDTA	: ethylene diamine tetra acetic acid
BSA	: bovine serum albumin
RE	: red onion peel ethanol extracts
YE	: yellow onion peel ethanol extracts
RW	: red onion peel water extracts
YW	: yellow onion peel water extracts
<i>A. cepa</i>	: <i>Allium cepa</i> L.

Comparative anti-diabetic and antioxidant activity of peels from yellow and red onion cultivars

Su jin yang

Department of clinical nutrition, The Graduate School,
Pukyong National University

Abstract

The aim of the present study was to investigate comparative anti-diabetic activities of both water and ethanol extracts derived from yellow and red onion (*Allium cepa* L.) peels via human recombinant protein tyrosine phosphatase 1B (PTP1B), α -glucosidase and advanced glycation end-products (AGEs) formation inhibitory assays, as well as antioxidant activities by evaluating the ability of extracts to scavenge 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) and 2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonic acid) (ABTS), respectively. In addition, total phenolic (TP) and total flavonoid (TF) contents were measured to assess phytochemical characteristics. Higher TP and TF contents derived from both yellow and red peel ethanol extracts (YE and RE) than both yellow and red water peel extracts (YW and RW) were correlated to the corresponding higher antioxidant effects in DPPH and ABTS scavenging assays as well as anti-diabetic effects in α -glucosidase and AGEs formation assays. Between the two cultivars, yellow onion peel showed higher antioxidant activity than red onion peel. Considering the anti-diabetic potential, RE, YE, RW, and YW exhibited significant PTP1B inhibitory activities with corresponding IC₅₀ values of 0.76 ± 0.17 , 0.86 ± 0.04 , 0.33 ± 0.01 , and 0.30 ± 0.08 $\mu\text{g/mL}$, as compared with the positive control, ursolic acid with IC₅₀

value of $3.40 \pm 0.34 \mu\text{g/mL}$. In particular, water extracts were found to be more effective against PTP1B inhibition than the ethanol extracts. On the other hand, yellow onion peel (YE and YW) exhibited higher α -glucosidase inhibitory activities than red onion peel (RE and RW) with the IC_{50} values of 3.90 ± 0.08 , 5.44 ± 0.06 , 5.76 ± 0.03 , and $8.99 \pm 0.56 \mu\text{g/mL}$, respectively. Moreover, ethanol extracts (RE and YE) exhibited higher AGEs formation inhibitory activity than water extracts (RW and YW) with the respective IC_{50} values of 12.79 ± 0.22 , 12.25 ± 1.35 , 51.91 ± 1.53 , and $25.17 \pm 1.75 \mu\text{g/mL}$. Interestingly, yellow and red onion peel extracts exhibited higher anti-diabetic activity than positive control in the respective assays. In conclusion, both yellow and red onion peel revealed significant *in vitro* antioxidant and anti-diabetic potential. Therefore, these results suggest that inhibitory activities of onion peel depends upon cultivar color and extraction method which could be a promising strategy to prevent diabetes and diabetic complications.

I. 서론

지난 30 년간 급격한 경제발전을 이룩한 우리나라는 생활수준의 향상과 더불어 식습관 및 생활양식이 서구화 되며 당뇨병, 고혈압, 비만, 고지혈증 등의 만성 질환의 발병률이 증가하였고, 이로 인해 만성 질환의 예방과 치료에 대한 국민들의 관심이 증가하고 있다 (당뇨병 연구회, 2009; 허갑범, 2006). 특히, 당뇨병은 대표적인 만성질환으로 고혈당 자체로서의 문제만이 아니라 심혈관 및 뇌혈관 질환 등 각종 만성 질환으로의 합병증 이환에 직·간접적인 원인으로 잘 알려져 있어 개인을 비롯한 국가적 차원의 꾸준한 관리가 필요한 질환이다 (Pickup JC, Williams G. 2003). 최근 발표된 세계당뇨병연맹 (International Diabetes Federation, IDF)의 자료에 의하면 2013 년을 기준으로 전 세계 성인 인구의 약 8.3%인 약 3 억 8 천만 명이 당뇨병을 가지고 있고 향후 25 년 이내에 그 수는 5 억 9 천만 명으로 증가할 것으로 예상하였다. 이러한 경향은 우리나라를 포함한 서태평양 지역 아시아 여러 국가들에서 더욱 두드러져 전 세계적인 평균을 상회하는 것으로 추정되기도 한다. 우리나라 국민건강영양조사 (Korea National Health and Nutrition Examination Surveys, KNHANES)결과를 이용한 2013 국민건강통계 자료에 따르면 30 세 이상 성인의 당뇨병 유병률은 11.9%(남자: 13.6%, 여자: 10.3%)로 보고되어 이에 대한 견해를 뒷받침하고 있어 당뇨병 예방과 치료는 국민 보건상 큰 관심거리가 아닐 수 없다.

제 2 형 당뇨병 증상 중의 하나인 인슐린 저항성에 관련된 효소 중에는 protein tyrosine phosphatase 1B (PTP1B)가 있다. PTP1B 는 단백질의 인산화된

티로신 잔기로부터 인산기를 제거하는 protein tyrosine phosphatase (PTPs)이다. PTP 에는 PTP- α , leukocyte antigen-related tyrosine phosphatase (LAR), SH2-domain containing phosphotyrosine phosphatase (SHP2) 등이 있는데, 이것들은 세포 내 신호와 신진대사에 있어 중요한 역할을 하고, 또한 인슐린 신호전달 조절에 관련된다 (Kwon et al., 2008). 주요한 PTP 인 PTP1B 는 간, 근육, 지방세포 등과 같은 전형적으로 인슐린이 작용하는 조직 내의 소포체의 세포질의 표면에서, 인슐린의 세포 내 신호전달을 차단하여 인슐린 저항성을 유발한다 (Tonks et al., 2003; Ahmad et al., 1997; Byon et al., 1998; Goldstein et al., 1998). 세포막 내 인슐린 수용체 (insulin receptor, IR)의 α -subunit 에 인슐린이 결합하면 β -subunit 의 세포 내 영역에 있는 protein tyrosine phosphatase 가 활성화되고, IR 에 있는 tyrosine 잔기의 인산화가 일어난다. 동시에 인슐린 수용체 물질 (IR substrates, IRS)도 인산화가 되어지면서 세포 내로 glucose 수송과 glycogen 합성 등을 야기시키는 신호전달체계를 활성화시킨다 (Na et al., 2006; Bialy and Waldmann, 2005). 다량의 PTP1B 가 IR 에 작용하게 되면, PTP1B 는 IR 와 IRS 단백질을 탈인산화하여, IR 의 신호전달을 저해하고, 결과적으로 인슐린 저항성을 높여 체내로 당이 흡수되지 못하고 혈중 당 함량이 증가하게 된다 (Jeong et al., 2011). 그러므로 PTP1B 의 활성억제는 제 2 형 당뇨병의 치료를 위해 이용될 수 있다.

포유류의 α -glucosidase 는 소장 점막 용모 내에 존재하는 소화효소로서 (Mohamed et al., 2011), 체내에 들어온 올리고당류, 다당류 형태의 탄수화물의 단당류로의 가수분해를 촉진하여, 당이 체내로 흡수되도록 한다 (Toshiyuki et al., 2011). α -Glucosidase 의 작용이 증가하여 분해된 포도당이 증가하게 되면,

혈당 수치가 높아져 고혈당 상태가 야기된다 (Caspary, 1978). α -Glucosidase 억제제는 소장 내에서 탄수화물의 소화를 지연시켜, 식후의 혈당 수치의 증가를 약화시키고 (Hillebrand et al., 1979; van de Laar FA et al., 2008), 고혈당으로 인한 인슐린 분비를 지연시키는데 효과적이다 (Sato et al., 1989). 상업적으로 이용 가능한 α -glucosidase 억제제로는 acarbose, miglitol 그리고 voglibose 등이 있으며 이들은 제 2 형 당뇨병을 치료하는데 사용되고 있다 (van de Laar FA et al., 2005).

당뇨 합병증을 유발하는 기전으로는 혈중의 다량의 당과 단백질과의 결합에 의한 단백질 당화가 있다. 당의 케톤기 (ketone group)와 카르보닐기 (carbonyl group)는 단백질, 지질, 핵산 등의 아미노기와 비효소적 밀라아드 반응 (millard reaction)에 의해 시프염기 (schiff base)가 형성되는데 (Soman S et al., 2010), 이는 가역적이고 수시간에 걸쳐 일어난다. 그러나 만성적 고혈당 상태에서는, 시프염기가 수일간에 거쳐 비 가역적이고, 더욱 안정된 구조인 초기당화산물 (Amadori products)로 재배열된다. 이러한 초기당화산물들은 탈수, 축합, 분열, 산화 등을 거쳐 비가역적인 형성물인 최종당화산물 (advanced glycation end products, AGEs)이 된다 (Bucala R et al., 1995). AGEs 의 형성과 축적은 당뇨 합병증, 정상 노화, 아테롬성 동맥경화증, 알츠하이머 질병 등을 야기하는 주요한 발병 과정에 연루되어 있을 뿐 만 아니라 (Ahmed et al., 2005; Takeuchi et al., 2008), 당화 과정에서 반응 산소 종 (reactive oxygen species, ROS)의 형성은 조직의 산화적 스트레스와 손상을 야기할 수 있다. 또한 형성된 AGEs 은 혈당이 정상으로 회복된 후에도 분해되지 않고 축적되어, 혈청알부민 (serum albumin), 수정체 (lens crystalline)등의 콜라겐과 같은 수명이

긴 단백질과 교차결합을 하여 아테롬성 동맥경화증, 신장해, 망막증 등의 심각한 당뇨합병증을 유발한다 (Bucala et al., 1995). AGEs 형성 억제제로는 초기당화산물과 결합하여 단백질과의 교차결합을 억제한다고 알려진 아미노구아니딘 (aminoguanidine)이 있으나 (Edelstein and Browmalee, 1992), 이는 당뇨병성 신경 장애 환자를 대상으로 한 임상 연구에서 독성이 발견되어 개발이 중단되었기에 (Rahbar and Figarola, 2003), 당뇨 합병증의 치료, 예방하기 위한 약제 개발로서 AGEs 형성 억제제 개발이 중요하다.

Superoxide ($\bullet\text{O}_2^-$), hydrogen peroxide (H_2O_2), hydroxyl radical ($\bullet\text{OH}$), singlet oxygen ($^1\text{O}_2$), alkoxyl radical ($\text{RO}\bullet$), peroxy radical ($\text{ROO}\bullet$) 그리고 peroxylnitrite ($\text{ONOO}\bullet$)와 같은 reactive oxygen species (ROS) 및 reactive nitrogen species (RNA)는 macrophages 등의 염증성 세포로부터 생성된다. 이들 ROS 와 RNA 는 지질, 단백질, 핵산, 그리고 DNA 와 같은 우리 몸을 구성하는 성분에 손상을 주는 강력한 산화 및 질화 요소로 작용하며, 이로 인해 염증 및 노화와 관련된 만성질환이 야기된다 (Beckman et al., 1990; Vallyathan and Shi, 1997). 그리고 ROS 및 RNS 는 cyclooxygenase 와 lipooxygenase 에 의한 arachidonic acid 에서 염증성 매개체로의 전환에 영향을 주며, macrophages 에 의한 염증 과정 동안 free radical 이 생성된다. 따라서 free radicals 을 소거할 수 있는 항산화제가 염증 및 산화적 스트레스로 인한 질환을 예방하고 치료할 수 있을 것으로 기대할 수 있다 (Backhouse et al., 1994).

양파 (*Allium cepa* L.)는 백합과에 속하는 2 년생 초본으로, 전세계적으로 식품의 향신 조미료 외에 약재로도 널리 애용되어, 예로부터 해열, 구충, 해독 및 종양 치료에 사용되어 왔다 (Sheo et al., 1993). 양파의 다양항 생리 활성을

나타내는 주요 성분인 flavonoid 계 성분에는 quercetin, quercitrin 그리고 rutin 등이 있는데 특히, 국내에서 재배되는 황색 양과는 quercetin 함량이 매우 높은 것으로 알려져 있다 (Lakhanpal et al., 2007). 양과의 quercetin 은 지방암 억제, LDL 산화 억제 등의 생리활성을 가지는 것으로 알려져 있으며, 이러한 quercetin 은 양과의 중심부 보다는 껍질 부분으로 갈수록 함량이 높아져, 양과 과육 및 양과즙에는 0.01 %의 함량을 보이는 반면, 양과 껍질에는 6.5 %을 차지하는 것으로 보고된 바 있으며, 또한 껍질 부위에는 식이섬유도 가식부인 과육 (0.4~0.5 %)에 비해 약 25~32 %로 매우 높은 함량을 가지는 것으로 나타났다 (Bang et al., 1998). 양과는 국내 생산량의 약 10 %가 가공품으로 이용되고 있으며, 최근 단체급식의 위생화 및 소비자의 신선식품 선호 등의 추세로 인해, 껍질과 뿌리를 제거한 1 차 가공품의 상태로 유통되는 경우가 증가하고 있어 가공 시 발생하는 껍질과 뿌리가 증가하고 있으나 이는 사료로 이용되거나 폐기되고 있는 실정이다 (Jeon et al., 2012). 따라서 양과 가공부산물인 양과껍질의 생리 활성기능을 탐색하여 새로운 기능성 식품 소재로서의 활용이 가능해 질 것으로 사료되며, 이는 폐자원을 이용한다는 면에서 의미가 있다. 한편 현재까지 진행된 연구로는 양과 과육 및 양과즙에 대한 연구가 대부분이었으며, 껍질에 대한 생리활성 연구로는 항산화 (Son et al., 1998), xanthine oxidase 저해활성 (Ra et al., 1998), 혈행개선 (Lee et al., 2010) 등에 대한 연구들이 대부분으로 항당뇨에 대한 연구는 전무한 실정이다.

본 연구에서는 황색과 자색, 두 종류의 양과껍질을 각각 물과 에탄올 추출하였고, 각 추출물을 대상으로 PTP1B 억제활성, α -glucosidase 억제활성을 측정하여 항 당뇨 활성을 비교 조사하였다. 또한 AGEs 형성 억제 활성을

측정하여 항당뇨 합병증 활성화에 대해 조사하여 양과껍질의 당뇨에 대한 치료, 예방효과를 분석하였다. 뿐만 아니라 당뇨의 발생과 당뇨합병증의 예방과 치료에 있어서 중요한 체내 항산화능 개선의 효과를 알아보기 위해 각 추출물의 총 페놀함량, 총 플라보노이드 함량, DPPH radical 소거활성, ABTS radical 소거활성을 조사하였다. 따라서 이러한 양과껍질의 우수성을 입증하여 산화적 스트레스로 인한 질환과 이로 인해 발생할 수 있는 당뇨를 예방하고 치료하기 위한 기능성 식품으로 이용할 수 있는 가능성을 제시하고자 하였다.



II. 실험재료 및 방법

1. 재료

본 실험에서 사용한 양파껍질 (*Allium cepa* L.)은 창녕에서 재배된 것으로 부산자유시장에서 구입하여 재료로 사용하였고, 식물표본은 부경대학교 최재수 교수가 감별하였으며 실험실에 보관하였다 (NO. 201510).

2. 시약 및 기기

2-1. 시약

Yeast α -glucosidase, acarbose, *p*-nitrophenyl phosphate (*p*NPP), *p*-nitrophenyl α -D-glucopyranoside (*p*NPG), ethylene diamine tetra acetic acid (EDTA), bovine serum albumin (BSA), aminoguanidine, D-(-)-fructose, D-(+)-glucose, quercetin, DL-glyceraldehyde dimer, dimethyl sulfoxide (DMSO)는 Sigma Chemical Co. (St. Louis, MO, USA)에서 구입하였다. Protein tyrosine phosphate 1B (PTP1B, human recombinant)는 Biomol[®] International LP (Plymouth Meeting, PA, USA)에서, dithiothreitol (DTT)는 Bio-Rad Laboratories (Hercules, CA, USA)에서 구입하였고, sodium azide 는 Junsei Chemical Co. (Tokyo, Japan)에서 구입하였다.

2-2. 기기

TPC 와 TFC 측정은 Ultrospec 2100pro UV/Visible spectrophotometer 와 SWIFT II applications software (Amersham Biosciences, Piscataway, NJ, U.S.A)를 이용하여 측정하였다. DPPH, ABTS radical 소거 활성, protein tyrosine phosphatase 1B 억제

활성 그리고 α -glucosidase 억제 활성 측정은 microplate reader spectrophotometer (Molecular Devices, VERSA max, CA, USA)를 사용하였으며, AGEs 형성 억제 측정은 Spectrofluorometric detector (Bio-Tek Instruments, Inc., FLx 800 microplate fluorescence reader, Winooski, VT. U.S.A.)를 이용하였다.

3. 실험방법

3-1. 추출

양파껍질의 물과 EtOH 추출 과정은 scheme 1에서 나타냈다. 건조된 자색 양파껍질 (110g), 황색 양파껍질 (70g)을 EtOH과 물로 3회 이상 50℃로 수욕상에서 추출한 후 여과하고 그 여액을 rotary vacuum evaporator을 이용하여 농축하였다. 그 결과 자색 에탄올 추출물 (RE), 자색 물 추출물 (RW), 황색 에탄올 추출물 (YE) 그리고 황색 물 추출물 (YW)을 각각 15.93, 23.25, 6.24 그리고 7.41g을 얻었다.

Dried red onion peel (110 g)
| 70% EtOH (5 L × 3 times)
Red onion peel
EtOH extract (RE)
(15.93 g)

Dried red onion peel (110 g)
| Water (5 L × 3 times)
Red onion peel
Water extract (RW)
(23.25 g)

Dried yellow onion peel (70 g)
| 70% EtOH (5 L × 3 times)
Yellow onion peel
EtOH extract (YE)
(6.24 g)

Dried yellow onion peel (70 g)
| Water (5 L × 3 times)
Yellow onion peel
Water extract (YW)
(7.41 g)

Scheme 1. Extraction of *Allium cepa* L. onion peel

4. *In vitro* 실험

4-1. 항산화 활성

4-1-1. Total phenol contents (TPC) 측정

양과깍질 추출물의 총 페놀 함량은 Folin-Denis 법을 응용하여 측정하였다 (Iqbal and Bhanger, 2006). 1 mg/mL 농도로 녹인 시료 25 μ L 를 시험관에 취하고 Foline-Ciocalcaus' phenol reagent 75 μ L 를 첨가하여 혼합한 다음 5 분간 실온에서 반응시켰다. 7.5 % Na_2CO_3 포화용액 200 μ L 을 가하고 증류수 700 μ L 를 혼합한 다음 실온에서 40 분 동안 반응 시킨 후 상등액의 흡광도를 765 nm 에서 Ultrospec 2100pro UV/Visible spectrophotometer 와 SWIFT II applications software (Amersham Biosciences, Piscataway, NJ, U.S.A)를 이용하여 측정하였다. 표준물질은 gallic acid 를 이용하여 시료와 동일한 방법으로 측정하여 얻은 표준검량곡선으로부터 추출물의 총 페놀 함량을 구하였다.

4-1-2. Total Flavonoid contents (TFC) 측정

양과겉질 추출물의 총 플라보노이드 함량은 flavonoid 가 aluminium 과 complex 를 형성하며 특히, acid 를 첨가하면 flavonoid 골격 중에서 *O*-dihydroxyl, 3-hydroxyl, 4-keto 등과 같은 특징기를 보유하고 있는 flavonoid 를 탐지하는 aluminium chloride colorimetric 방법을 응용하였다 (Chang et al., 2002). 5 mg/mL 농도로 녹인 시료 100 μ L 를 시험관에 취하고 10 % Aluminium chloride 20 μ L 를 첨가하여 혼합한 다음 1 M 의 Potassium acetate 20 μ L 를 첨가한다. 860 μ L 의 증류수를 혼합한 다음 실온에서 30 분동안 반응 시킨 후 상등액의 흡광도를 415 nm 에서 Ultrospec 2100pro UV/Visible spectrophotometer 와 SWIFT II applications software (Amersham Biosciences, Piscataway, NJ, U.S.A)를 이용하여 측정하였다. 표준물질은 quercetin 을 이용하여 시료와 동일한 방법으로 측정하여 얻은 표준검량곡선으로부터 추출물의 총 플라보노이드 함량을 구하였다.

4-1-3. DPPH radical 소거활성

DPPH radical 소거반응은 간단한 항산화 검색법으로 광범위하게 사용되고 있으며 특히 phenol 과 aromatic 화합물의 항산화 활성 측정에 많이 사용되는 방법이다 (Blois, 1958). 일종의 염료인 diphenylpicrylhydrazine 은 자신이 가지고 있는 홀수 전자 때문에 520 nm 에서 강한 흡수 band 를 보이는 특성을 가지고 있다. 그러나 phenol 과 같이 수소나 전자를 제공해 주는 전자 공여체와 반응하게 되면 공여체로부터 전자나 hydrogen radical 을 받아 phenoxy radical 을 생성하게 된다. 이때 특징적인 흡수 band 도 사라지고 안정한 분자로 된다. 즉 공여된 전자는 비가역적으로 결합하며, 그 수에 비례하여 진보라색의 DPPH 의 색은 점점 옅어지게 되고 흡광도도 감소하게 되므로 반응액 색이 보라색에서 노란색으로 변하는 흡광도의 감소를 측정함으로써 radical 소거 활성을 알 수 있다.

각 시료의 DPPH radical 에 대한 소거활성 측정은 각 농도별 시료를 MeOH 에 녹인 뒤 160 μ L 씩 취하여 1.5×10^{-4} M 의 DPPH-MeOH 용액 40 μ L 와 잘 혼합하였다. 이 반응 혼합액을 실온에서 30 분간 방치한 후 microplate reader spectrophotometer VERSA max (U.S.A)로 520 nm 에서 흡광도를 측정하였다. Radical 소거능을 비교하기 위한 양성 대조군은 *L*-ascorbic acid 를 사용하였다. Radical 을 50 % 소거하는 시료의 농도 (IC_{50})는 μ g/mL 로 나타내었다. 측정치는 3 회 반복 실험하여 얻은 결과를 평균한 값으로 나타내었다 (Scheme 2).

MeOH solution (160 μL) of Sample at various concentrations

Methanolic solution 40 μL of DPPH ($1.5 \times 10^{-4} \text{M}$)



Shaking vigorously (10-20 sec)

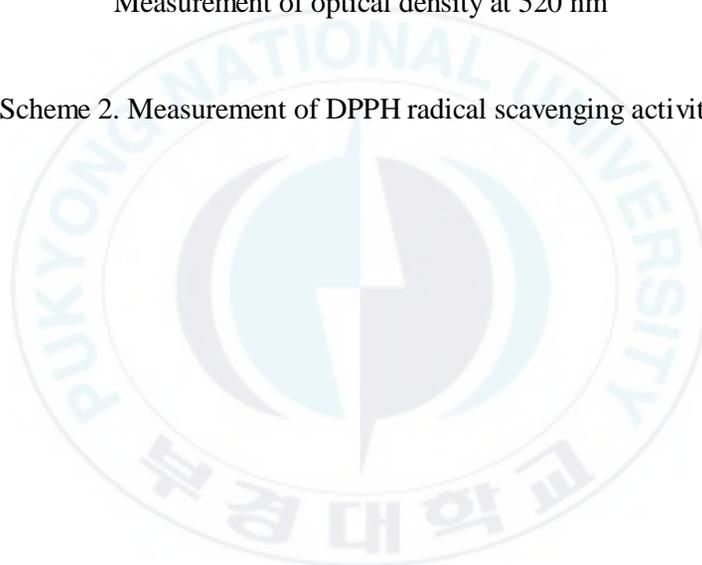


Standing at room temperature for 30 min



Measurement of optical density at 520 nm

Scheme 2. Measurement of DPPH radical scavenging activity



4-1-4. ABTS radical 소거활성

7 mM의 ABTS (2,2-azino-bis[3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid]; A9941, Sigma, USA)와 2.45 mM potassium persulfate를 혼합하여 실온 • 암소에서 12~16 시간 동안 방치하여 radical을 형성시켰다. ABTS용액은 실험 직전에 734 nm에서 흡광도가 0.70 ± 0.02 (mean \pm S.E.M.)이 되도록 phosphate-buffered saline (pH 7.4)으로 희석하여 사용하였다. 농도별 추출물 20 μ L에 ABTS 용액 180 μ L를 첨가하여 10~20초간 균질하게 섞고 실온에서 2분간 방치한 후 734 nm에서 흡광도를 측정하였다 (Re *et al.*, 1999). ABTS radical 소거능 (IC_{50})은 DPPH radical 소거능을 계산할 때와 같은 방법으로 구하였으며, radical을 50 % 소거하는 시료의 농도 (IC_{50})는 μ g/mL로 나타내었다. Radical 소거능을 비교하기 위한 양성 대조군은 trolox를 사용하였다.

4-2. 항당뇨 및 항당뇨 합병증 활성

4-2-1. 항당뇨 활성

4-2-1-1. Protein tyrosine phosphatase 1B 억제활성

Protein tyrosine phosphatase 1B (PTP1B)의 억제활성을 평가하는 방법은 Na *et al.* (2006)의 방법을 변형하여 실험하였다. PTP1B (human, recombinant) 효소는 BIOMOL international LP (USA)로부터 구입하였다. 효소의 활성은 *p*-nitrophenyl phosphate (*p*NPP)을 기질로서 사용하여 측정하였다. 96-well microtiter plate 에 반응 혼합물의 총 부피를 100 μ L 로 한다. 먼저 여러 농도의 sample 10 μ L 와 PTP1B buffer [0.1 M NaCl, 1 mM EDTA, 1 mM DTT] 30 μ L, 효소 10 μ L 를 37 $^{\circ}$ C, 5~10 분간 preincubation 시킨다. 그리고 기질 (*p*-NPP) 50 μ L 를 첨가하여 37 $^{\circ}$ C 15 분간 incubation 을 시킨 후 10 M NaOH 10 μ L 를 넣어 반응을 종결 시킨다. 이후 microplate reader spectrophotometer (molecular Devices, VERSA max, CA, USA)로 405 nm 에서 흡광도를 측정하였고 ursolic acid 를 양성 대조군으로 사용하였다. PTP1B 억제 활성은 아래의 식을 이용하여 구한 후, IC₅₀ 값으로 환산하였다 (Scheme 3).

$$\text{Inhibition (\%)} = \{1 - (A_{\text{sam}} - A_{\text{sam-C}}) / A_{\text{Cont}}\} \times 100$$

A_{sam} : 측정시료를 넣었을 때의 흡광도

$A_{\text{sam-C}}$: 측정시료를 넣고 *p*NPP 를 넣지 않았을 때의 흡광도

A_{Cont} : 측정시료를 넣지 않았을 때의 흡광도

Sample 10 μ L + PTP1B buffer 30 μ L + PTP1B enzyme 10 μ L



Substrate (*p*NPP) 50 μ L



37 °C incubation for 15 min

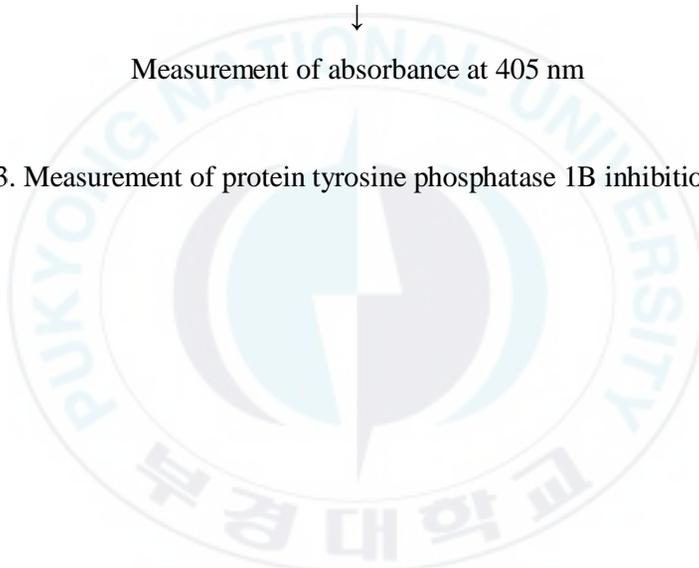


10 M NaOH 10 μ L



Measurement of absorbance at 405 nm

Scheme 3. Measurement of protein tyrosine phosphatase 1B inhibition activity.



4-2-1-2. α -Glucosidase 억제활성

α -Glucosidase 효소의 억제활성을 측정하기 위해서 Li *et al.* (2005)의 방법을 수정하여 실시하였다. 96-well microtiter plate 에 반응 혼합물의 총 부피를 160 μ L 로 한다. 각각의 well 에 10 % DMSO 에 녹인 여러 농도의 sample 20 μ L 와 100 mM phosphate buffer (pH 6.8) 20 μ L 를 넣는다. 그리고 효소인 0.2 unit/mL α -glucosidase 를 10 mM phosphate buffer (pH 6.8)에 녹여 20 μ L 를 넣고 37°C에서 5 분 동안 preincubation 을 시킨다. 그리고 기질로 사용된 100 mM phosphate buffer (pH 6.8)에 녹인 2.5 mM *p*-nitrophenyl α -D-glucopyranoside (*p*NPG) 20 μ L 넣은 후 37°C 15~20 분 incubation 시킨다. 반응을 종결시키기 위해 0.2 M sodium carbonate solution 80 μ L 를 넣는다. 이후 405 nm 에서 microplate reader spectrophotometer (Molecular Devices, VERSE max, CA, USA)를 사용하여 흡광도를 측정하였으며 acarbose 를 양성 대조군으로 사용하였다. α -Glucosidase 억제활성은 아래의 식을 이용하여 억제율을 구한 후, IC₅₀ 값으로 환산하였다 (Scheme 2).

$$\text{Inhibition (\%)} = \{1 - (A_{\text{Sam}} - A_{\text{Sam-C}}) / A_{\text{Cont}}\} \times 100$$

A_{Sam} : 측정시료를 넣었을 때의 흡광도

A_{Sam-C} : 측정시료를 넣고 *p*NPG 를 넣지 않았을 때의 흡광도

A_{Cont} : 측정시료를 넣지 않았을 때의 흡광도

Sample 20 μL + 100mM phosphate buffer 20 μL + α -glucosidase enzyme 20 μL



37 $^{\circ}\text{C}$ preincubation for 5 min



2.5 mM *p*NPG 20 μL



37 $^{\circ}\text{C}$ incubation for 15~20 min



0.2 M Na_2CO_3 80 μL



Measurement of absorbance at 405 nm

Scheme 4. Measurement of α -glucosidase inhibitory activity

4-2-2. 항당뇨 합병증 활성

4-2-2-1. Advanced glycation endproducts 형성 억제활성

최종당화산물 형성 억제활성은 Joe *et al.* (1996)의 방법을 변형하여 실험하였다. 0.2 M glucose, 0.2 M fructose 와 bacteria 의 성장을 막기 위한 0.02 % sodium azide 를 50 mM phosphate buffer 에 녹인 후, 10 mg/mL bovine serum albumin 을 첨가한다. AGEs reaction solution 950 μ L 과 10 % DMSO 에 녹인 여러 농도의 sample 50 μ L 를 섞은 후, 37 $^{\circ}$ C에서 7 일간 incubation 한다. 대조군은 4 $^{\circ}$ C에서 7 일간 incubation 한다. 이후 spectrofluorometric detector (FLx800 microplate fluorescence reader, Bio-Tek Instrument, Inc., Winooski, USA)를 이용하여 350 nm (excitation wavelengths)와 450 nm (emission wavelengths)에서 반응생성물의 fluorescence intensity 를 측정하였다. aminoguanidine hydrochloride 을 양성 대조군으로 사용하였으며, AGEs 형성 억제율은 아래의 식을 통하여 구한 후, 선형회귀방정식을 이용하여 통계처리 하였다 (Scheme 3).

$$\text{Inhibition (\%)} = \{1 - (A_{\text{Sam}} - A_{\text{Sam-C}}) / A_{\text{Cont}}\} \times 100$$

A_{Sam} : 측정시료를 넣고 37 $^{\circ}$ C에서 7 일간 incubation 한 형광도

$A_{\text{Sam-C}}$: 측정시료를 넣고 4 $^{\circ}$ C에서 7 일간 incubation 한 형광도

A_{Cont} : 측정시료를 넣지 않았을 때의 형광도

Reaction solution preparation



0.2 M glucose + 0.2 M fructose + 0.02 % sodium azide + BSA



Reaction solution 950 μ L + Sample 50 μ L

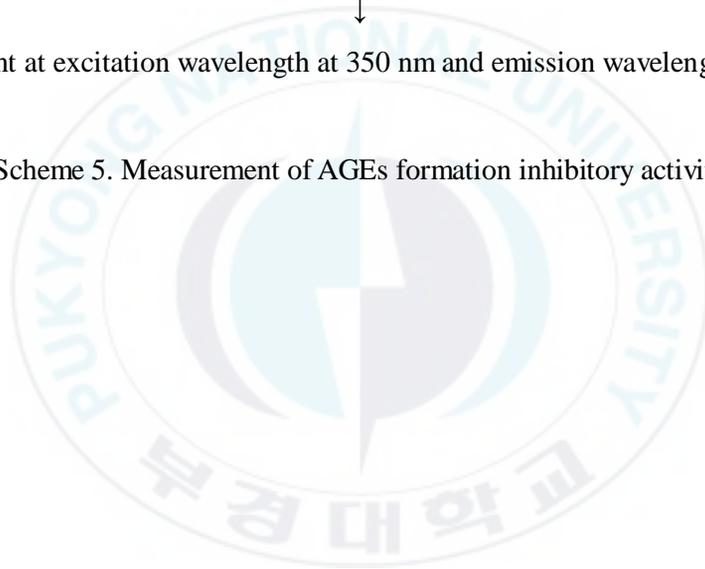


Incubation 37 $^{\circ}$ C and 4 $^{\circ}$ C during 7 days



Measurement at excitation wavelength at 350 nm and emission wavelength at 450 nm

Scheme 5. Measurement of AGEs formation inhibitory activity



5. 통계처리

실험을 통하여 얻어진 모든 결과는 평균±표준편차 (mean±SEM)로 나타내었다. 각 시험군의 유의성에 대한 통계는 농도에 따른 저해율의 통계학적 비교를 위해 One-way ANOVA SPSS v. 18 (SPSS INC. , Chicago, USA)를 사용하여 분석하였으며, Duncan's 사후 검정을 실시하여 $p<0.05$ 이하일 때 통계적으로 유의한 것으로 판단하였다.



Ⅲ. 결과 및 고찰

1. 항산화 활성

1-1. 황색과 자색 양파껍질의 Total phenol contents

총 페놀 함량은 Folin-Denis법을 응용하여 측정하였으며 표준 물질로 gallic acid를 이용하여 각 추출물들의 TPC를 계산하였다. RE, YE, RW, YW의 TPC 값은 각각 233.40, 335.14, 112.09, 그리고 142.47 GAE mg/g으로 나타났으며, 그 결과는 Figure 1에 나타내었다. 양파껍질 추출물들 중에서 총 페놀 함량은 물보다 에탄올 추출물의 값이 2배 이상 높았으며 자색보다 황색의 양파껍질 추출물이 높은 값을 나타내었다.

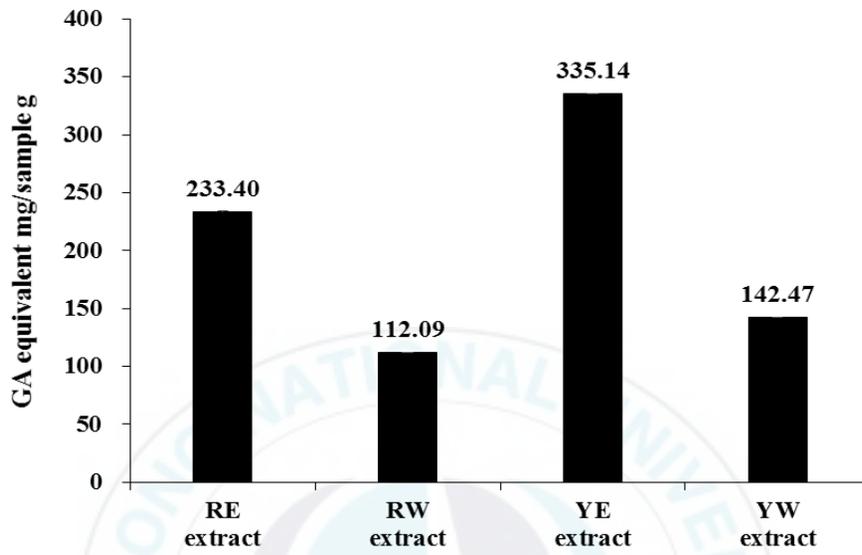
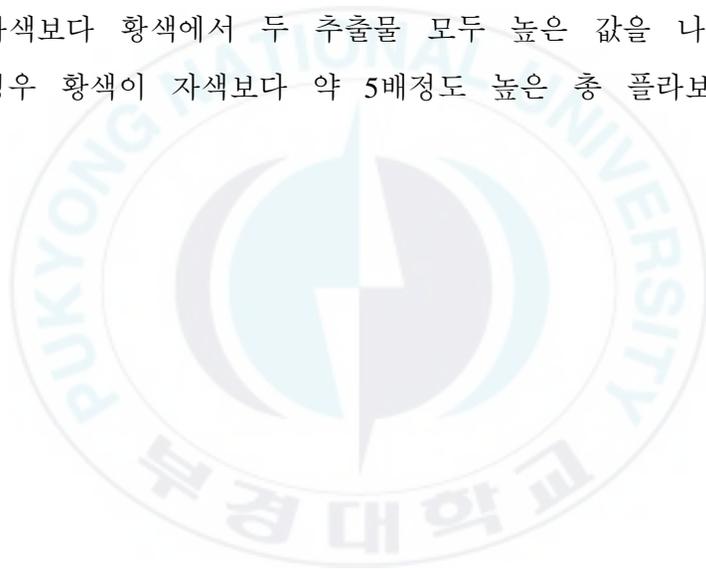


Figure. 1. Total phenol contents of the peel of *Allium cepa*

1-2. 황색과 자색 양과껍질의 Total flavonoid contents

총 플라보노이드 함량은 aluminium chloride colorimetric 방법을 응용하여 측정하였으며 표준 물질로 quercetin을 이용하여 각 추출물들의 TFC를 계산하였다. RE, YE, RW, YW의 TFC 값은 각각 181.86, 214.42, 31.96, 그리고 142.09 QCE mg/g으로 나타났으며, 그 결과는 Figure 2에 나타내었다. 양과껍질 추출물들 중에서 물보다 에탄올 추출물의 총 플라보노이드 함량 값이 높았으며 자색보다 황색에서 두 추출물 모두 높은 값을 나타내었다. 물 추출물의 경우 황색이 자색보다 약 5배정도 높은 총 플라보노이드 값을 나타내었다.



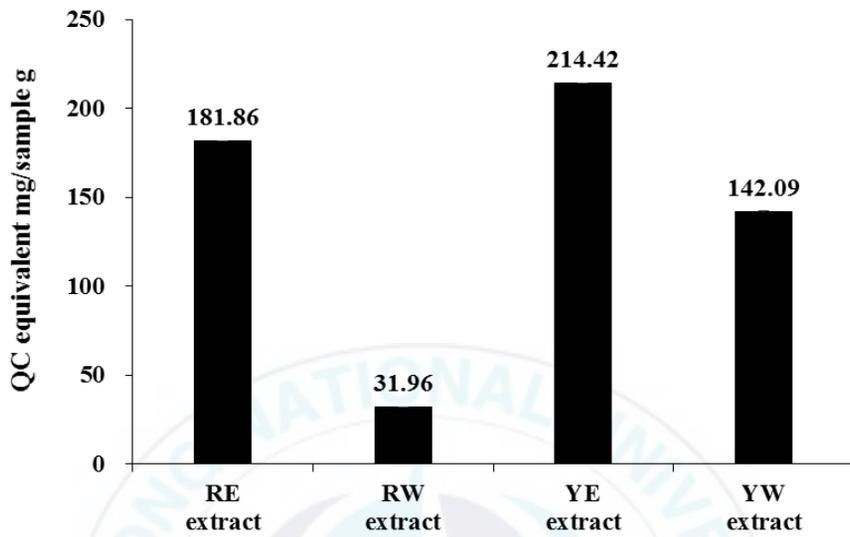


Figure 2. Total flavonoid contents of the peel of *Allium cepa*

1-3. 황색과 자색 양파껍질의 DPPH radical 소거활성

황색과 자색 양파껍질의 에탄올과 물 추출물의 DPPH 소거 활성을 측정하여 50 % DPPH radical 소거활성을 나타내는 IC₅₀ 값 (µg/ml)으로 나타내었으며, 그 결과는 Table 1에 나타내었다. 각 추출물의 농도별 소거능 (%)은 Figure 3에 나타내었다. 양성 대조군으로는 대표적인 항산화제로 널리 알려져 있는 *L*-ascorbic acid를 선택하여 그 활성을 함께 비교하였다. RE, YE, RW, YW의 IC₅₀ 값은 각각 10.60 ± 0.18 , 4.50 ± 0.06 , 9.86 ± 1.40 , 그리고 6.77 ± 1.27 µg/mL으로 높은 DPPH radical 소거 활성을 나타냈으며 대조군인 *L*-ascorbic acid의 IC₅₀ 값은 1.27 ± 0.01 µg/mL로 나타났다. 자색 보다 황색 양파껍질에서 소거활성이 높았으며, 황색 양파껍질의 에탄올 추출물이 물 추출물보다 높은 소거활성을 보였다. 또한 양파 껍질 추출물의 농도가 1.28µg/mL, 6.4 µg/mL 그리고 32 µg/mL로 증가함에 따라 농도 의존적으로 소거능이 높아짐을 관찰할 수 있었다.

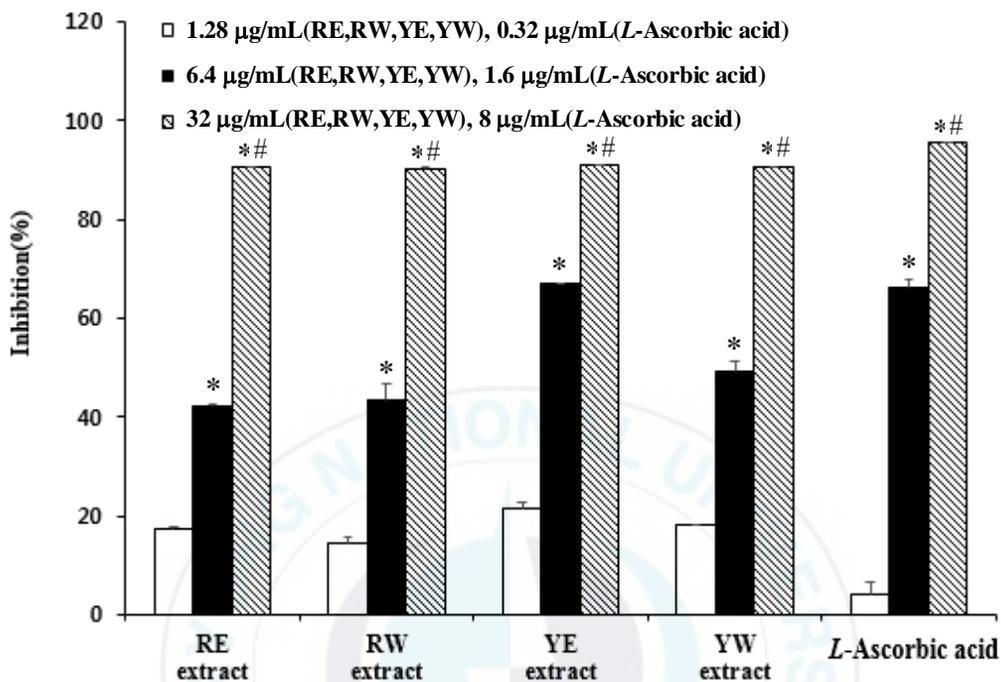


Figure 3. DPPH radical scavenging activity of the peel of *Allium cepa*

* $P < 0.05$ compared with the 1.28 µg/mL concentration of each onion peel extract or 0.32 µg/mL concentration of *L*-Ascorbic acid. *# $P < 0.05$ compared with the 6.4 µg/mL concentration of each onion peel extract or 1.6 µg/mL concentration of *L*-Ascorbic acid.

1-4. 황색과 자색 양과껍질의 ABTS radical 소거활성

황색과 자색 양과껍질의 에탄올과 물 추출에 대한 ABTS radical 소거 활성을 측정하였으며 결과는 Table 1에 나타냈다. 각 추출물의 농도별 소거능 (%)은 Figure 4에 나타내었다. 양성 대조군으로는 trolox을 선택하여 그 활성을 함께 비교하였다. RE, YE, RW, YW의 IC₅₀ 값은 각각 7.00 ± 0.20 , 6.64 ± 0.03 , 29.04 ± 0.11 , 그리고 12.08 ± 0.23 $\mu\text{g/mL}$ 으로 높은 ABTS radical 소거 활성이 나타났으며 대조군인 trolox의 IC₅₀ 값은 2.76 ± 0.05 $\mu\text{g/mL}$ 로 나타났다. 자색 보다 황색 양과껍질에서 소거활성이 높았으며, 에탄올 추출물이 물 추출보다 2배 이상 높은 소거활성을 보였다. 또한 양과 껍질 추출물의 농도가 2 $\mu\text{g/mL}$, 10 $\mu\text{g/mL}$ 그리고 50 $\mu\text{g/mL}$ 로 증가함에 따라 농도 의존적으로 소거능이 높아짐을 관찰할 수 있었다.

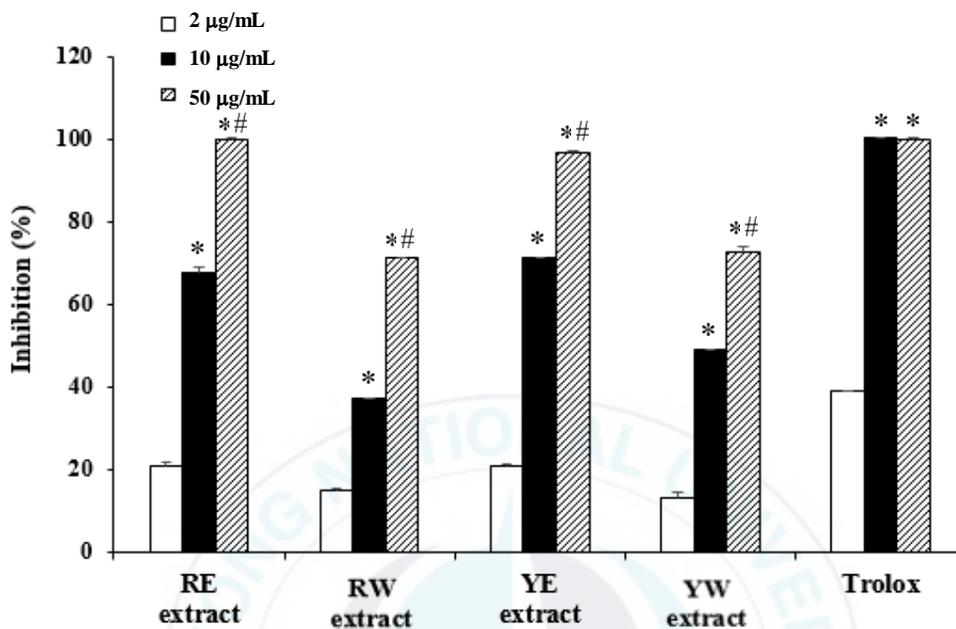


Figure 4. ABTS radical scavenging activity of the peel of *Allium cepa*

* $P < 0.05$ compared with the 2 µg/mL concentration of each onion peel extract and trolox. *# $P < 0.05$ compared with the 10 µg/mL concentration of each onion peel extract and trolox.

Table 1. DPPH and ABTS radical scavenging activities of the peel of *Allium cepa*

Samples	DPPH ^a	ABTS ^b
	IC ₅₀ (Mean ± SEM)	IC ₅₀ (Mean ± SEM)
RE extract	10.60 ± 0.18	7.00 ± 0.20
RW extract	9.86 ± 1.40	29.04 ± 0.11
YE extract	4.50 ± 0.06	6.64 ± 0.03
YW extract	6.77 ± 1.27	12.08 ± 0.23
<i>L</i> -Ascorbic acid ^c	1.27 ± 0.01	
Trolox ^d		2.76 ± 0.05

^{a, b} The 50 % inhibitory concentration (IC₅₀) values (µg/mL) were calculated from a log dose inhibition curve and expressed as mean ± S.E.M of triplicate experiments. ^c

^d Positive control.

2. 항당뇨 및 항당뇨 합병증 활성

2-1. 항당뇨 활성

2-1-1. PTP1B 억제활성

황색과 자색 양과껍질의 에탄올과 물 추출물에 대한 PTP1B 억제활성을 측정하여 50 % PTP1B 억제활성을 나타내는 IC₅₀ 값 (μg/mL)으로 나타냈으며 그 결과는 Table 2에 나타냈다. 각 추출물의 농도별 저해율 (%)은 Figure 5에 나타내었다. 양성 대조군으로는 ursolic acid를 선택하여 그 활성을 함께 비교하였다. RE, YE, RW, YW의 IC₅₀ 값은 각각 0.76±0.17, 0.86±0.04, 0.33±0.01, 그리고 0.30±0.08 μg/mL으로 대조군인 ursolic acid (IC₅₀ = 3.40±0.34 μg/mL) 보다 상당히 높은 PTP1B 억제활성을 보였다. 특히, 두 종류의 양과껍질의 물 추출물이 에탄올 추출물과 비교해서 2~3배 높은 억제 활성을 보였으며 양과 껍질의 색상별 활성에서는 뚜렷한 차이가 없었다. 또한 양과껍질의 농도가 0.4 μg/mL, 2 μg/mL, 10 μg/mL로 증가함에 따라 황색양과껍질 추출물이 농도 의존적으로 저해율이 높아짐을 관찰 할 수 있었다.

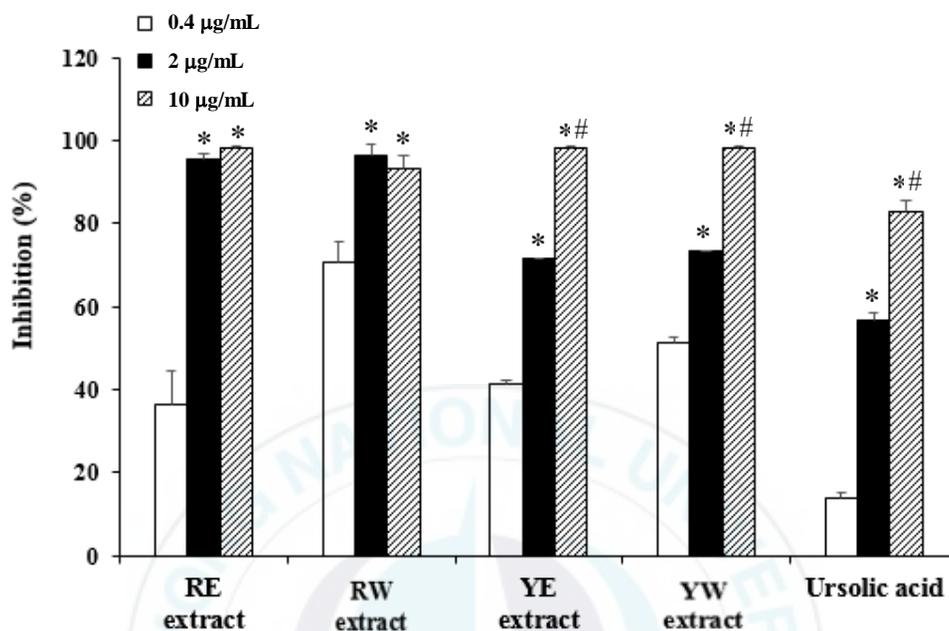


Figure 5. PTP1B inhibitory activity of the peel of *Allium cepa*

* $P < 0.05$ compared with the 0.4µg/mL concentration of each onion peel extract and ursolic acid. *# $P < 0.05$ compared with the 2µg/mL concentration of each onion peel extract and ursolic acid.

2-1-2. α -Glucosidase 억제활성

황색과 자색 양과껍질의 에탄올과 물 추출물에 대한 α -glucosidase 억제활성을 측정하여 α -glucosidase를 50 % 억제하는 시료의 농도를 나타내는 IC_{50} 값 ($\mu\text{g/mL}$)으로 나타냈으며 그 결과는 Table 2에 나타냈다. 각 추출물의 농도별 저해율 (%)은 Figure 6에 나타내었다. 양성 대조군으로는 acarbose를 선택하여 그 활성을 함께 비교하였다. RE, YE, RW, YW의 α -glucosidase 저해 활성에 대한 IC_{50} 값은 각각 5.76 ± 0.03 , 3.90 ± 0.08 , 8.99 ± 0.56 , 그리고 $5.44 \pm 0.06 \mu\text{g/mL}$ 으로 대조군인 acarbose ($IC_{50} = 70.17 \pm 4.96 \mu\text{g/mL}$)와 비교해서 상당한 저해 활성을 보였다. 특히, 에탄올 추출물이 물 추출물보다 약 1.5배 우수한 저해 활성을 보였으며 자색보다 황색 양과껍질에서 저해 활성이 높았다. 또한 양과껍질의 농도가 $2 \mu\text{g/mL}$, $10 \mu\text{g/mL}$, $50 \mu\text{g/mL}$ 로 증가함에 따라 농도 의존적으로 저해율이 높아짐을 관찰 할 수 있었다.

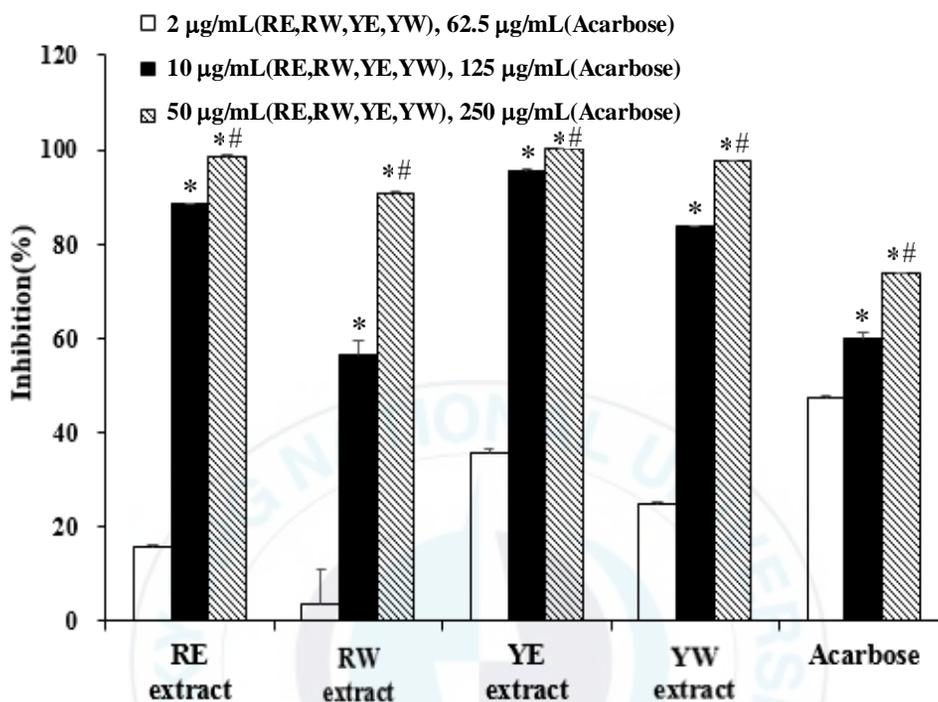


Figure 6. α -Glucosidase inhibitory activity of the peel of *Allium cepa*

* $P < 0.05$ compared with the 2 $\mu\text{g/mL}$ concentration of onion peel extract or 62.5 $\mu\text{g/mL}$ concentration of acarbose. *# $P < 0.05$ compared with the 10 $\mu\text{g/mL}$ concentration of each onion peel extract or 125 $\mu\text{g/mL}$ concentration of acarbose.

Table 2. Protein tyrosine phosphatase 1B and α -glucosidase inhibitory activities of the peel of *Allium cepa*

Samples	PTP1B ^a	α -Glucosidase ^b
	IC ₅₀ (Mean \pm SEM)	IC ₅₀ (Mean \pm SEM)
RE extract	0.76 \pm 0.17	5.76 \pm 0.03
RW extract	0.33 \pm 0.01	8.99 \pm 0.56
YE extract	0.86 \pm 0.04	3.90 \pm 0.08
YW extract	0.30 \pm 0.08	5.44 \pm 0.06
Ursolic acid ^c	3.40 \pm 0.34	
Acarbose ^d		70.17 \pm 4.96

^{a, b} The 50% inhibitory concentration (IC₅₀) values (μ L/mL) were calculated from a log dose inhibition curve and expressed as mean \pm S.E.M of triplicate experiments. ^{c, d} Positive control.

2-2. 항당뇨 합병증 활성

2-2-1. AGEs 형성 억제 활성

황색과 자색 양파껍질의 에탄올과 물 추출에 대한 AGEs 형성 억제활성을 측정하여 50% AGEs 형성 억제활성을 나타내는 IC₅₀ 값 (μg/mL)으로 나타냈으며 그 결과는 Table 3에 나타냈다. 각 추출물의 농도별 억제율 (%)은 Figure 7에 나타냈다. 양성 대조군으로는 aminoguanidine을 선택하여 그 활성을 함께 비교하였다. AGEs 형성 억제 활성에서 RE, YE, RW, YW의 IC₅₀ 값은 각각 12.79 ± 0.22, 12.25 ± 1.35, 51.91 ± 1.53, 그리고 25.17 ± 1.75 μg/mL 으로 나타났고 대조군인 aminoguanidine (IC₅₀ = 58.47 ± 0.17 μg/mL)과 비교했을 때 모든 시료에서 높은 AGEs 형성 억제 활성을 가지는 것으로 나타났다. 특히, 에탄올 추출물이 물 추출물보다 약 2~4배 높은 억제 활성을 보였으며 물 추출물에서는 황색이 자색 양파껍질보다 약 2배 높은 억제 활성을 보였다. 또한 양파껍질의 농도가 4 μg/mL, 20 μg/mL, 100 μg/mL로 증가함에 따라 대부분 농도 의존적으로 억제율이 높아짐을 관찰 할 수 있었다.

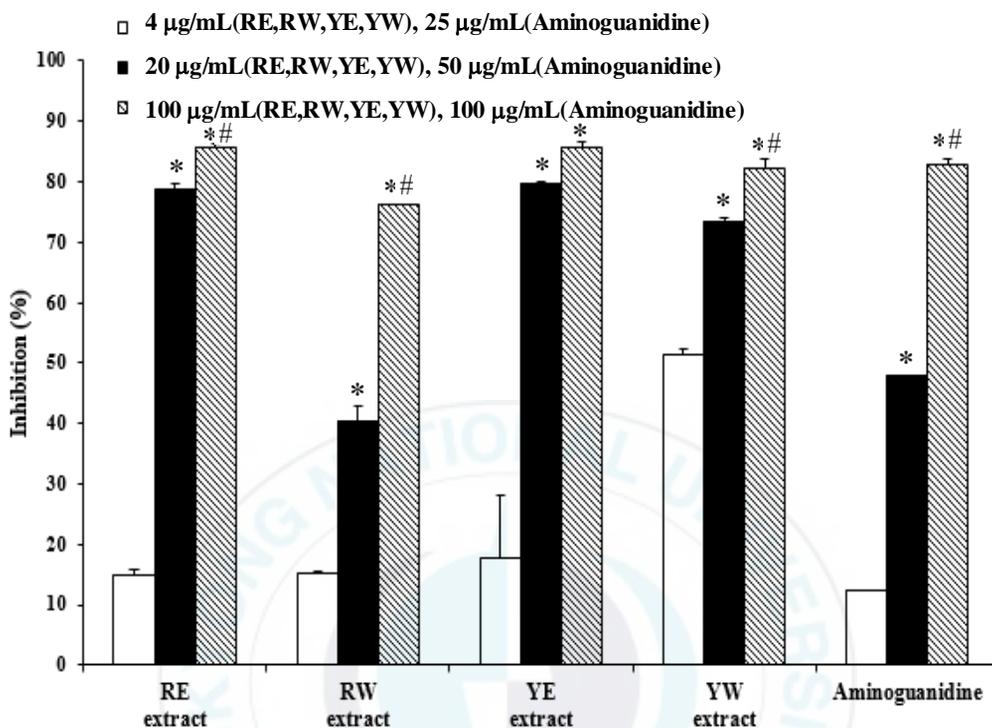


Figure 7. AGEs formation inhibitory activity of the peel of *Allium cepa*

* $P < 0.05$ compared with the 4 μg/mL concentration of onion peel extract or 25 μg/mL concentration of Aminoguanidine. *# $P < 0.05$ compared with the 20 μg/mL concentration of each onion peel extract or 50 μg/mL concentration of Aminoguanidine.

Table 3. AGEs formation inhibitory activities of the peel of *Allium cepa*

Samples	AGEs ^a
	IC ₅₀ (Mean ± SEM)
RE extract	12.79 ± 0.22
RW extract	51.91 ± 1.53
YE extract	12.25 ± 1.35
YW extract	25.17 ± 1.75
Aminoguanidine ^b	58.47 ± 0.17

^a The 50% inhibitory concentration (IC₅₀) values (μL/mL) were calculated from a log dose inhibition curve and expressed as mean ± S.E.M of triplicate experiments. ^b Positive control.

IV. 결론 및 요약

급속한 경제발전을 이룩한 우리나라는 생활수준의 향상과 더불어 서구화된 식습관 및 생활양식의 변화로 인하여 만성질환의 발병률이 점차 증가하고 있다. 식습관, 스트레스, 운동부족 등의 요인이 산화적 스트레스를 야기시켜 암, 심장질환, 알츠하이머 질환, 노화 등을 발병시킨다. 그 중 당뇨병은 우리나라에서 최근 10년간 가장 급증한 만성퇴행성 질환으로 국민의 삶의 질을 저하시키고 의료비 지출의 주요 요인이 되고 있다. 우리나라 국민의 사망요인 중 5위를 차지하고 있으며 당뇨병으로 인한 사망자수는 최근 10년간 200 % 급증하였고 전 세계적으로는 사망요인 중 10위 이내에 해당한다. 이에 본 연구에서는 항산화 활성을 확인하기 위해서 TPC, TFC, DPPH radical 소거활성, ABTS radical 소거활성 실험을 수행하였고, 항당뇨 활성을 확인하기 위해 PTP1B, α -glucosidase, AGEs 형성 억제 활성실험을 수행하였다.

1. RE, YE, RW, YW의 TPC 값은 각각 233.40, 335.14, 112.09, 그리고 142.47 GAE mg/g, TFC 값은 각각 181.86, 214.42, 31.96, 그리고 142.09 QCE mg/g로 나타났으며, 물 추출물보다 에탄올 추출물이 더 높은 TPC와 TFC 값을 가졌다. 특히, YE가 다른 추출물들과 비교해서 높은 TPC와 TFC 값을 보여주었다. 항산화 실험 결과, DPPH radical 소거활성은 RE, YE, RW, YW의 IC_{50} 값이 각각 10.60 ± 0.18 , 4.50 ± 0.06 , 9.86 ± 1.40 , 그리고 $6.77 \pm 1.27 \mu\text{g/mL}$ 으로 높은 소거 활성을 나타냈으며 대조군인 ascorbic acid의 IC_{50} 값은 $1.27 \pm 0.01 \mu\text{g/mL}$ 로 나타났다. ABTS radical 소거활성은 RE, YE, RW, YW의 IC_{50} 값이 각각 7.00 ± 0.20 , 6.64 ± 0.03 , 29.04 ± 0.11 , 그리고 $12.08 \pm 0.23 \mu\text{g/mL}$ 으로 높은 소거활성을

나타냈으며 대조군인 troxol의 IC_{50} 값은 $2.76 \pm 0.05 \mu\text{g/mL}$ 로 나타났다. 항산화 활성을 알아보는 위의 실험들의 결과에서 자색 보다 황색 양과껍질에서 소거활성이 높았으며, 에탄올 추출물이 물 추출보다 높은 소거활성을 동일하게 보여주었다. 이러한 결과는 높은 TPC와 TFC를 가짐으로써 YE가 다른 추출물들과 비교해서 상당히 높은 라디칼 소거능을 보여준 것으로 사료된다.

2. PTP1B 억제 활성 실험에서 RE, YE, RW, YW의 IC_{50} 값은 각각 0.76 ± 0.17 , 0.86 ± 0.04 , 0.33 ± 0.01 , 그리고 $0.30 \pm 0.08 \mu\text{g/mL}$ 으로 대조군인 ursolic acid ($IC_{50} = 3.40 \pm 0.34 \mu\text{g/mL}$)보다 상당히 높은 PTP1B 억제활성을 보였다. 특히, 두 종류의 양과껍질의 물 추출물이 에탄올 추출물과 비교해서 2~3배 높은 억제 활성을 보였으며 양과 껍질의 색상 별 활성에서는 뚜렷한 차이가 없었다. α -glucosidase 저해 활성실험에서 RE, YE, RW, YW의 IC_{50} 값은 각각 5.76 ± 0.03 , 3.90 ± 0.08 , 8.99 ± 0.56 , 그리고 $5.44 \pm 0.06 \mu\text{g/mL}$ 으로 대조군인 acarbose ($IC_{50} = 70.17 \pm 4.96 \mu\text{g/mL}$)와 비교해서 상당한 저해 활성을 보였다. 황색 양과 껍질이 자색 양과 껍질보다 높은 저해 활성을 보였으며, 에탄올 추출물이 물 추출물보다 약 1.5배 우수한 저해 활성을 보였다.

3. AGEs 형성 억제 활성에서 RE, YE, RW, YW의 IC_{50} 값은 각각 12.79 ± 0.22 , 12.25 ± 1.35 , 51.91 ± 1.53 , 그리고 $25.17 \pm 1.75 \mu\text{g/mL}$ 으로 나타났고 대조군인 aminoguanidine ($IC_{50} = 58.47 \pm 0.17 \mu\text{g/mL}$)과 비교했을 때 모든 시료에서 높은 AGEs 형성 억제 활성을 가지는 것으로 나타났다. 특히, 에탄올 추출물이 물 추출물보다 약 2~4배 높은 저해 활성을 보였으며 물 추출물에서는 황색 양과껍질에서 자색 양과껍질보다 더 높은 AGEs 저해활성을 보였다.

위의 결과를 바탕으로 황색과 자색 양과껍질의 에탄올과 물 추출에 따른 항산화, 항당뇨, 항당뇨 합병증의 효과를 비교 확인 할 수 있었다. 황색과 자색 양과 껍질 모두 상당한 항산화 및 항당뇨, 항당뇨 합병증의 효과를 보였으며 특히 황색 양과껍질이 더 우수한 활성을 나타냈다. 이는 양과껍질이 품종 색상과 추출 방법에 따라서 당뇨병과 당뇨병성 합병증을 예방하기 위한 소재로 이용 가능할 것으로 판단된다. 또한 양과껍질의 추출방법에 따라 실험의 효과가 다른 만큼 각 추출용매에 따라 양과껍질의 어떤 성분이 실험 결과에 영향을 미치는 가에 대한 추후 연구가 필요할 것으로 사료된다.



V. 참고문헌

당뇨병 연구회 편, 기적의 당뇨병 완치, 행복을 만드는 세상, 2009, p 20

Pickup JC, Williams G. Textbook of diabetes. 3rd ed. Malden, Mass: Blackwell Science, 2003.

International Diabetes Federation: Diabetes Atlas 6th ed. 2013.

2013 국민건강통계, 2014 보건복지부.

Ahmad, F., Azevedo, J. L., Cortright, R., Dohm, G. and Goldstein, B. J., Alterations in skeletal muscle protein-tyrosine phosphatase activity and expression in insulin-resistant human obesity and diabetes, *J.Clin.Invest.*, 100, 449-458, 1997.

Ahmed, N., Advanced glycation endproducts-role in pathology of diabetic complications, *DiabetesRes.Clin.Pract.*, 67, 3-21, 2005.

Byon, J. C., Kusari, A. B. and Kusari, J., Protein-tyrosine phosphatase-1B acts as a negative regulator of insulin signal transduction, *Mol.Cell.Biochem.* 182, 101-108., 1998.

Bialy, L. and Waldmann, H., Inhibitors of protein tyrosine phosphatases : Next-generation drugs, *Angew.Chem.Int.Ed.*, 44, 3814-3839, 2005.

Bucala, R. and Vlassara, H., Advanced glycosylation end products in diabetic renal and vascular disease, *Am. J. Kidney Dis.*, 26, 875-888, 1995.

Beckman, J. S., Beckman, T. W., Chen, J., Marshall, P. A., Freemam, B. A., Apparent hydroxy radical production by peroxynitrite: implications for endothelial injury from nitric oxide and superoxide, *proc. Natl. Acad. Sci.*, 87, 1620-1624, 1990.

backhouse, N., Delporte, C., Givernau, M., Cassels, B. K., Valenzuela, A., Speisky, H., Anti-inflammatory and antipyretic effects of boldine, *Agents Actions.*, 42, 114-117, 1994.

Bang, H. A. and J. S. Cho., Antioxidant effects on various solvent extracts from onion peel and onion flesh. *J. Korean Diet. Assoc.* 4: 14-19, 1998.

Blois MS., Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Naure* 181: 1198-1200, 1958

Caspary, W. F., Sucrose malabsorption in man after ingestion of α -glucosidase inhibitor, *Lancet*, 1, 1231-1233, 1978.

Chang, C. C., Yang, M. H., Wen, H. M. and Chern, J. C., Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colorimetric methods. *J. Food Drug Anal.*, 10, 178-182, 2002.

Edelstein, D. and Browmalee, M., Mechanistic studies of advanced glycosylation end products inhibition by aminoguanidine, *Diabetes*, 41, 26-29, 1992.

Goldstein, B. J., Ahmad, F., Ding, W., Li, P. M. and Zhang, W. R., Regulation of the insulin signaling pathway by cellular protein tyrosine phosphatases, *Mol. Cell. Biochem.*, 182, 91-99, 1998.

Hillebrand, I., Boehme, K., Frank, G., Fink, H. and Berchtold, P., The effects of the alpha-glucosidase inhibitor BAY g 5421 (Acarbose) on meal-stimulated elevations of circulating glucose, insulin, and triglyceride levels in man, *Res. Exp. Med. (Berl.)*, 175, 81-86, 1979.

Iqbal, S. and Bhangar, M. I., Effect of season and production location on antioxidant activity of *Moringa oleifera* leaves grown in Pakistan. *J. Food Compos. Anal.*, 19, 544-551, 2006.

Jeong, I. K. and King, G. L., New perspectives on diabetic vascular complications: the loss of endogenous protective factors Induced by hyperglycemia, *Diabetes Metab. J.*, 35, 8-11, 2011.

Jeon, S. Y., J. H. Baek, Jeong, E. J. and Y. J. Cha., Potential of onion peel extract as a functional ingredient for functional foods. *J. Life Sci.* 22: 1207-1213, 2012.

Joe, A. V. and Thomas B. H., Inhibition of protein glycation and advanced glycation end products by ascorbic acid and other vitamins and nutrients, *J.Nutr.Biochem.*,7,659-663, 1996.

Kwon, J. H., Chang, M. J., Seo, H. W., Lee, J. H., Min, B. S., Na, M., Kim, J. C., Woo, M. H., Choi, J. S., Lee, H. K., Bae, K., Triterpenoids and a sterol from the stem-bark of *Styrax japonica* and their protein tyrosine phosphatase 1B inhibitory activities, *Phytother. Res.*, 22, 1303-1306, 2008.

Lakhanpal,, P. and D. K. Rai., Quercetin: a versatile flavonoid. *I. J. M. U.* 2: 22-37, 2007.

Lee, H. J., K. H. Lee, Y. J. Cha, E. Park, and M. J. Shin., Effects of onion peel extracts on blood circulation in male smokers. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 39: 1790-1799, 2010.

Li, T., Zhang, X. D., Song, Y. W. and Liu, J. W., A microplate-based screening method for α -glucosidase inhibitors, *Chin.J.Clin.Pharmacol.Ther.*,10, 1128-1134, 2005.

Mohamed Sham Shihabudeen, H., Hansi Priscilla, D. and Thirumurugan, K., Cinnamon extract inhibits a-glucosidase activity and dampens postprandial glucose excursion in diabetic rats, *Nutr. Metab. (Lond.)*, 8, 46, 2011.

Na, M., Jang, J., Njamien, D., Mbafor, J. T., Fomum, Z. T., Kim, B. Y., Oh, W. K. and Ahn, J. S., Protein tyrosine phosphatase-1B inhibitory activity of isoprenylated flavonoids isolated from *Erythrina mildraedii*, *J. Nat. Prod.*, 69, 1572-1576, 2006.

Rahbar, S. and Figarola, J. L., Novel inhibitors of advanced glycation endproducts, *Arch. Biochem. Biophys.*, 419, 63-79, 2003.

Ra, K. S., S. H. Chung, H. J. Suh, J. Y. Son, and H. K. Lee., Inhibitor of xanthine oxidase from onion skin. *Korean J. Food Sci. Technol.* 30: 697-701, 1998.

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* 26: 1231-1237, 1999.

Sato, Y. and Rifkin, D. B., Inhibition of endothelial cell movement by pericytes and smooth muscle cells : Activation of a latent transformation growth factor B1-like molecule by plasmin during coculture, *J.Cell.Biol.*, 109, 309-315, 1989.

Soman, S., Rauf, A. A., Indira, M. and Rajamanickam, C., Antioxidant and antiglycative potential of ethyl acetate fraction of *Psidium guajava* leaf extract in streptozotocin-induced diabetic rats, *Plant Foods Hum. Nutr.*, 65, 386-391, 2010.

Sheo, H. J. and D. L. Jung., Effects of onion juice on toxicity of lead in rat. *J. Korean Soc. Food Nutr.* 22: 138-143, 1993.

Son, J. Y., H. S. Son, and W, D. Cho., Antioxidant effect of onion skin extract. *Korean J. Food Cookery Sci.* 14: 16-20, 1998.

Tonks, N. K., PTP1B : From the sidelines to the front lines, *FEBS. Lett.*, 546, 140-148, 2003.

Toshiyuki, T. and Mitsuo, M., Potent α -Glucosidase Inhibitors from Safflower (*Carthamus tinctorius L.*) Seed, *phytother. Res.*, 26, 722-726, 2011.

Takeuchi, M. and Yamagishi, S., Possible involvement of advanced glycation end-products (AGEs) in the pathogenesis of Alzheimer's disease, *Curr. Pharm. Des.*, 14, 973-978, 2008.

van de Laar, F. A., Alpha-glucosidase inhibitors in the early treatment of type 2 diabetes, *Vasc. Health Risk Manag.*, 4, 1189-1195, 2008.

van de Laar, F. A., Lucassen, P. L., Akkermans, R. P., van de Lisdonk, E. H., Rutten, G. E. and van Weel, C., Alpha-glucosidase inhibitors for patients with type 2 diabetes : results from a Cochrane systematic review and meta-analysis, *Diabetes Care*, 28, 154-163, 2005.

Vallyathan, V., Shi, X., The role of oxygen free radicals in occupational and environmental lung diseases, *Environ. Health Perspect.*, 105, 165-177, 1997.

