

순비기나무(*Vitex rotundifolia*) 줄기 추출물의 폴리페놀 함량과 생리활성

주은영 · 이양숙 · 김남우[†]

대구한의대학교 한방생약자원학과

Polyphenol Compound Contents and Physiological Activities in Various Extracts of the *Vitex rotundifolia* Stems

Eun-Young Joo, Yang-Suk Lee and Nam-Woo Kim[†]

Dept. of Herbal Biotechnology, Daegu Haany University, Gyeongbuk 712-715, Korea

Abstract

For this study, extracts of *Vitex rotundifolia* stems were prepared using reflux water extraction (WE), reflux ethanol extraction (EE) and hot water extract under high pressure (HWE). The extracts were investigated for the total content of phenolic compounds, antioxidant activities, and inhibitory potencies for xanthine oxidase and tyrosinase. The EE extraction method yielded the highest content of polyphenol compounds (176.34 mg/g). The electron donating abilities (EDA) were 93.46~96.92%, when extracts were assayed at 1.0 mg/mL. The superoxide dismutase (SOD)-like activity was the highest in the WE extract (47.32% at 1.0 mg/mL). The nitrite scavenging abilities (pH 1.2) were 84.61~88.36% and the inhibition of xanthine oxidase were over 90% at 0.5 mg/mL. Tyrosinase inhibition of HWE and WE were 57.84% and 53.47% respectively. It implies that *V. rotundifolia* stems have potent physiological activities and their activities were differently exhibited depending on solvent fractions.

Key words: *Vitex rotundifolia* stems, polyphenol, electron donating ability, SOD-like activity, nitrite scavenging ability, xanthine oxidase, tyrosinase

서 론

천연물은 항산화제, 항균제, 항돌연변이제, 항암제 등 생물학적 활성이 있는 자원으로 주목받고 있다. 호기성 생물체에서 산소는 전자수용체로써 호흡과정을 통해 에너지를 획득하며 생명 유지에 절대적으로 필요한 물질이다. 그러나 대사과정의 불균형과 화학물질, 공해 등과 같은 물리·화학적 요인으로 인해 H₂O₂(hydrogen peroxide), O₂⁻(superoxide anion), ¹O₂(singlet oxygen), ·OH(hydroxy radical) 등과 같은 반응성이 높은 활성산소(reactive oxygen)로 전환된다. 이 활성산소들은 강한 산화력으로 치명적인 산소독성을 일으키며, 세포막 파괴, 효소 불활성화, 지질산화, DNA 변성, 세포노화 등을 초래함으로써 암을 비롯한 파킨슨병과 같은 뇌질환, 뇌졸중, 그리고 동맥경화, 염증, 자가면역질환 등의 심각한 생리적 장애를 일으킨다(1-3).

현재 활성산소를 제거하는 항산화 물질에 대한 질병의 치료 가능성과 유용한 물질을 탐색하고 이를 개발하기 위한 연구가 활발히 이루어지면서 각종 과채류에 다량으로 존재하는 phenol 화합물과 flavonoid류 등이 항산화, 항암, 항균 등의 다양한 생리활성 기능을 갖는 것으로 보고되어 있으며

(4-6), 최근에는 한의학에서 주로 이용되던 약용식물에 대한 관심이 높아지고 있다(5,7).

순비기나무(*Vitex rotundifolia* L.)는 마편초과(Verbenaceae)에 속하는 낙엽관목으로 황해도 이남의 섬이나 해안가에 자생한다(8). 한방에서는 건조된 순비기나무의 열매를 만형자(蔓荊子)라 하고, 잎과 가지는 독특한 향기가 있어 목용 재료 및 실내의 습기 제거 및 방매제로 사용하기도 하였다(8,9). 만형자는 강장, 진정, 진통, 소염의 목적으로 감기, 두통, 신경통 및 다양한 알러지성 질환 등을 치료하기 위한 한방생약재로 사용한다(10-13). 순비기나무에 함유되어 있는 성분들의 생리적 활성과 관련하여 항암(14-16), 항돌연변이(17), 항알러지(18), 곤충기피효과(repellent)(19), 진통효과(20) 등에 관하여 보고되어 있으며, Jang 등(13)은 줄기에서 α-pinene과 α-terpineol을 포함한 64종의 정유성분을 분리, 동정한 바 있다. 또한 식물의 생장조절작용을 나타내는 5종류의 페놀화합물과 4종류의 flavonoids가 분리 동정되었으며(21), 순비기나무 성분 중 luteolin은 강력한 aldose reductase inhibitor로서 작용하며(22), 골수성 백혈병 저해에도 효과적인 것으로 알려져 있다(23).

한방 생약자원은 관련 질환의 총체적 치료 또는 예방용도

[†]Corresponding author. E-mail: tree@dhu.ac.kr
Phone: 82-53-819-1441, Fax: 82-53-819-1272

로 처방, 이용되어 왔으나 유효성분이나 독성 및 그 효능에 대하여 명확히 밝혀지지 않은 상태에서 이용되고 있어 상대적으로 그 활용도가 낮다고 할 수 있다. 그러므로 이의 적절한 사용을 위하여 유용한 성분 및 효능에 대한 과학적 근거를 제시하는 것이 필요하며, 한방자원과 천연물 및 그 부산물에 함유된 활성물질을 포함한 기능성 물질을 탐색·개발하는 것은 자원의 효율적인 이용과 국민보건 증진에 기여할 수 있는 측면에서 의미 있는 일이라 할 수 있다.

본 실험에서는 예로부터 한방생약자원으로 이용되고 있으며, 유용성분 및 효과가 있는 것으로 알려져 있는 순비기나무의 줄기를 채취하여 다양한 방법으로 추출하여 천연 항산화제나 기능성 식품의 첨가 원료로서의 순비기나무 줄기의 이용 가능성을 높이기 위한 기초자료를 제공하고자 한다.

재료 및 방법

재료 및 추출물 제조

본 실험에 사용한 순비기나무(*Vitex rotundifolia* L.)는 2006년 7월경에 경남 하동의 한약재 생산 농가에서 동정 후 채집하였으며, 줄기 부분만을 따로 분리하여 증류수에 세척한 후 음건하여 잘게 세절하였으며 이를 추출 시료로 사용하였다.

순비기나무 줄기의 물 추출물(water extract: WE)과 에탄올 추출물(ethanol extract: EE)은 환류 냉각관을 부착시킨 둥근 플라스크에 생체 시료 당 10배에 해당되는 증류수 및 70% 에탄올을 넣고 80°C와 60°C의 수욕 상에서 각각 3시간씩 3회 반복 추출하였다. 열수 추출물(hot water extract: HWE)은 시료의 30배 분량의 증류수를 넣고 압력추출기(KSNP B1130, Kyungseo Korea)로 110°C, 1.5기압 하에서 3시간 동안 추출하였다. 모아진 추출액은 filter paper로 여과한 다음, rotatory vacuum evaporator(Eyela 400 series, Japan)로 감압농축한 후에 동결건조(FD 5510 SPT, Ilshin Korea)하여 분말로 제조하여 시료로 사용하였다.

총 폴리페놀 화합물 함량

순비기나무의 동결건조된 추출물을 1.0 mg/mL의 농도로 3차 증류수에 희석하여 Folin-Denis법(24)으로 측정하였다. Folin-Ciocalteu's phenol reagent 0.2 mL를 첨가하여 혼합한 후 3분간 실온에서 방치한 다음, sodium carbonate(Na_2CO_3) 포화용액 0.4 mL를 가하였다. 여기에 증류수를 1.4 mL 가하고 실온에서 1시간 동안 반응시킨 후 spectrophotometer를 사용하여 725 nm에서 흡광도를 측정하였다. 총 폴리페놀 화합물은 tannic acid를 이용하여 위와 같은 방법으로 측정된 흡광도의 표준곡선으로부터 순비기나무 추출물의 총 폴리페놀 화합물 함량을 구하였다.

전자공여능 측정

순비기나무 줄기의 전자공여능 측정은 Blois의 방법(25)

에 따라 DPPH(1,1-diphenyl-2-picryl hydrazyl)에 대한 수소공여 효과로 측정하였다. 일정 농도의 시료 2 mL에 0.2 mM의 DPPH용액(dissolved in 99% ethanol)을 1 mL 가하고 혼합하여 37°C에서 30분간 반응시켰다. 이 반응액을 517 nm에서 흡광도를 측정하였으며, 전자공여능은 시료 첨가 전·후의 흡광도 차이를 백분율(%)로 나타내었다.

SOD 유사활성능 측정

순비기나무 SOD 유사활성은 Marklund와 Marklund의 방법(26)에 따라 hydrogen peroxide(H_2O_2)로 전환시키는 반응을 촉매하는 pyrogallol의 생성량을 측정하여 SOD 유사활성으로 나타내었다. 일정 농도의 시료 0.2 mL에 pH 8.5로 보정한 tris-HCl buffer(50 mM tris+10 mM EDTA, pH 8.5) 2.6 mL와 7.2 mM pyrogallol 0.2 mL를 첨가하여 25°C에서 10분간 반응 후, 1 N HCl 0.1 mL를 가하여 반응을 정지시켰다. 반응액 중 산화된 pyrogallol의 양은 420 nm에서 흡광도를 측정하여 추출물의 첨가구와 무첨가구의 흡광도의 차이를 백분율(%)로 나타내었다.

아질산염 소거능 측정

아질산염(NaNO_2) 소거 작용은 Kato 등의 방법(27)에 따라 측정하였다. 1 mM의 NaNO_2 용액 2 mL에 일정 농도의 순비기나무 추출물을 첨가하고, 여기에 0.1 N HCl(pH 1.2)과 0.2 M citrate buffer를 사용하여 반응용액의 pH를 각각 1.2, 3.0, 6.0으로 조정하여 반응용액의 부피를 10 mL로 하여 37°C에서 1시간 동안 반응시킨 후 각각 1 mL씩 취하였다. 여기에 2% acetic acid를 5 mL 첨가하고, Griess reagent (A:B=1:1, A: 1% sulfanilic acid in 30% acetic acid, B: 1% naphthylamine in 30% acetic acid) 0.4 mL 첨가하여 혼합한 후, 실온에서 15분간 반응시켰다. 반응시킨 시료를 520 nm에서 흡광도를 측정하였고, 대조구는 Griess reagent 대신 증류수 0.4 mL를 가하여 상기와 동일한 방법으로 측정하여 순비기나무 추출물의 첨가구와 무첨가구 사이의 흡광도 차이를 백분율(%)로 나타내었다.

Xanthine oxidase 저해 활성

Xanthine oxidase(XO) 저해 활성 측정은 Stirpe와 Della Corte의 방법(28)에 따라 실시하였다. 일정 농도로 희석한 순비기나무 추출물 0.1 mL에 0.1 M potassium phosphate buffer(pH 7.5) 0.6 mL와 xanthine 2 mM을 녹인 기질액 0.2 mL를 첨가하였다. 여기에 0.2 U/mL(Sigma, USA) 농도의 XO 0.1 mL를 가하여 37°C에서 5분간 반응시킨 다음 1 N HCl 1 mL를 가하여 반응을 정지시킨 후, 반응액 중에 생성된 uric acid를 흡광도 292 nm에서 측정하였다. 순비기나무 추출물에 대한 xanthine oxidase 저해 활성은 시료용액의 첨가구와 무첨가구의 흡광도 감소율을 백분율(%)로 나타내었다.

Tyrosinase 저해 활성

Tyrosinase 저해 활성은 Yagi 등의 방법(29)에 따라 측정

하였다. 0.175 M sodium phosphate buffer(pH 6.8) 0.5 mL에 10 mM L-DOPA를 녹인 기질액 0.2 mL와 일정농도로 희석한 순비기나무 줄기 추출물 0.1 mL를 혼합한 용액에 mushroom tyrosinase(110 U/mL) 0.2 mL 첨가하여 25°C에서 2분간 반응 후, 생성된 DOPA chrome을 흡광도 475 nm에서 측정하였다. Tyrosinase 저해 활성은 시료용액의 첨가구와 무첨가구의 흡광도 감소율을 백분율(%)로 나타내었다.

통계처리

본 실험결과는 독립적으로 3회 이상 반복 실시하여 실험결과를 평균±표준편차로 나타내었다. 실험군간의 유의성을 검정하기 위하여 SPSS 12.0 for windows program을 이용하여 ANOVA test를 실시한 후 유의성이 있는 경우, p<0.05 수준에서 Duncan's multiple range test를 실시하였다.

결과 및 고찰

총 폴리페놀 화합물 함량

순비기나무 줄기 추출물들을 페놀성 물질이 phosphomolybdic acid와 반응하여 청색을 나타내는 현상을 이용한 Folin-Denis법(24)으로 함량을 측정된 결과는 Fig. 1과 같다. 에탄올 추출물인 EE에서 176.34 mg/g으로 가장 많이 함유하였으며, 열수 추출물(HWE)에서는 171.17 mg/g, 물 추출물(WE)은 122.01 mg/g의 폴리페놀을 함유하여 추출용매나 방법에 따라 폴리페놀의 함량에 차이가 있는 것으로 분석되었다. 물보다는 에탄올을 용매로 사용하는 것이 폴리페놀 화합물이 더 잘 용출되었으며 물을 용매로 이용한 경우에는 100°C 이상의 고온과 고압으로 조직과의 결합이 파괴되어 추출이 잘 이루어졌기 때문에 물 추출물보다는 열수 추출물의 폴리페놀 함량이 더 높은 것으로 판단된다.

본 실험결과는 약용식물의 총 폴리페놀 함량을 측정된 Kim 등(30)의 음양곽, 칩, 오가피, 해동피 등이 59.75 mg/g~

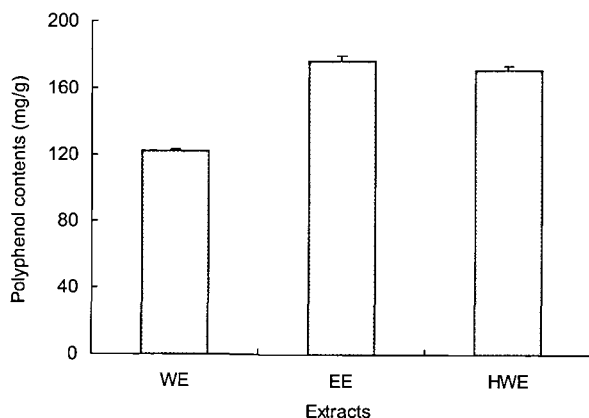


Fig. 1. Contents of total polyphenol compounds in various extracts from *V. rotundifolia* stems. All value are mean±SD of triplicate determinations. WE: water extract, EE: ethanol extract and HWE: hot water extract.

81.20 mg/g이라는 결과와 비교하여 순비기나무 줄기의 폴리페놀 함량이 약 2배 높았으며 Moon 등(31)의 건조 약용식물의 메탄올 추출물인 정향(10.31%), 목단(5.57 mg/g), 측백(4.74 mg/g), 계피(3.03 mg/g) 등과 비교하여도 12~40배 이상 많은 폴리페놀을 함유하였다. 그러므로 순비기나무의 줄기는 항산화 효능을 나타내는 것으로 알려진 폴리페놀 화합물을 다량 함유하고 있어 이용가치가 높은 것으로 생각된다.

전자공여능

순비기나무 줄기 추출물들은 생리활성 물질이 환원되어 자색으로 탈색되는 정도에 따라 항산화 활성 정도를 파악할 수 있는 DPPH를 이용하여 전자공여능을 측정하였다(Table 1). 시료를 0.1 mg/mL에서 1.0 mg/mL의 농도로 측정된 결과 WE는 90.93~93.46%였으며, EE는 91.61~96.92%로 가장 높은 효과가 나타났으며 HWE에서는 89.06~94.59%로 추출물 모두에서 0.1 mg/mL의 농도에서도 약 90%의 매우 높은 전자공여 효과를 나타내었으며 추출물의 농도가 증가함에 따라 전자공여능도 높아졌다.

약용식물 메탄올 추출물의 전자공여능을 측정된 Jung 등(32)이 0.1 mg/mL의 농도에서 순비기나무가 18.4%라는 결과와 비교하여 약 4배 이상 높았으며, 피화 줄기가 76.9%, 녹차 64.6%, 작약 57.1%, 애엽 30.5%라는 결과보다도 높았다. 또한 Kim 등(33)의 국내 생약 추출물에서 작약과 목단이 80% 이상의 전자공여 효과를 나타낸다는 보고와 비교하여도 순비기나무 줄기 추출물이 더 높은 전자공여 활성을 나타내어 이상의 결과로 보아 순비기나무 줄기의 전자공여 효과가 매우 높은 기능성 식품자원인 것으로 판단된다.

SOD 유사활성능

순비기나무 줄기 추출물을 산화방지 및 노화 억제 작용과 관계가 있는 것으로 알려져 있는 SOD 유사활성 측정을 위해 산화효소인 pyrogallol과 농도에 따라 반응시킨 결과 1.0 mg/mL의 농도에서 WE(47.32%)>EE(8.34%)>HWE(6.01%)의 활성을 나타내었다(Fig. 2). WE가 EE와 HWE보다 5배 이상 높은 활성을 나타내었으며 0.1 mg/mL의 농도에서도 6.27%로 HWE보다 높은 SOD 유사활성능을 나타내었다.

활나물의 가지와 지상부의 에탄올 추출물에서 70.85%와

Table 1. Electron donating ability of various extracts from *Vitex rotundifolia* stems

Concentration (mg/mL)	Extracts ¹⁾		
	WE	EE	HWE
0.1	90.93±0.18 ^{a2)}	91.61±0.51 ^a	89.06±0.33 ^b
0.3	91.88±0.24 ^b	93.79±0.00 ^a	91.93±0.40 ^b
0.5	92.30±0.09 ^b	94.43±0.00 ^a	92.68±1.26 ^b
1.0	93.46±0.09 ^c	96.92±0.33 ^a	94.59±0.48 ^b

¹⁾The abbreviations of introductory remarks are the same as in Fig. 1.

²⁾All values present mean±SD of triplicate determinations and different superscripts within the same row are significantly different at p<0.05 by Duncan's multiple range test.

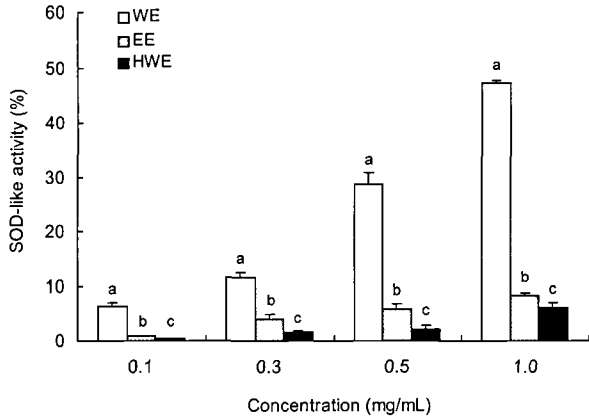


Fig. 2. Superoxide dismutase like activity of various extracts from *V. rotundifolia* stems.

The abbreviations of introductory remarks are the same as in Fig. 1. Bars within different letters are significantly different at $p < 0.05$ by Duncan's multiple range test.

78.95%의 SOD 유사활성을 나타낸다는 Kang 등(34)의 보고와 비교하면 순비기나무 줄기의 활성이 낮았다. 또한 Lim 등(35)의 한국산 약용식물에서 원지 48.30%, 인진, 25.40%, 금은화 21.60%라는 결과와 비교하면 순비기나무의 WE의 SOD 유사활성이 더 높았으나 EE와 HWE는 낮았으나 마황(5.83%), 시호(4.97%), 하수오(5.57%)보다는 높았다. Lim 등(35)과 Kwon 등(36)의 SOD 활성이 높을수록 폴리페놀의 함량이 높다는 보고와는 본 실험에서 상반되는 결과로 폴리페놀의 함량이 가장 낮은 WE의 유사활성이 가장 높게 나타나 이에 관한 추가적인 연구가 이루어져야 할 것으로 생각된다.

아질산염 소거능

순비기나무 줄기의 다양한 추출물로부터 발암성 물질인 nitrosamine을 쉽게 생성하는 아질산염 제거 효과를 측정하기 위하여 pH 1.2와 3.0 그리고 6.0의 조건에서 측정하였다(Table 2). pH 1.2의 1.0 mg/mL의 농도에서는 54.75~88.36%였으며, pH 3.0에서는 25.83~30.24%로 HWE 추출물에서 아질산염 소거능이 가장 높았다. pH 6.0에서는 10.32~16.12%로 에탄올 추출물인 EE의 소거효과가 높았으며 세가지 추출물 모두 시료의 농도가 증가할수록 pH가 산성화 될수록 아질산염 소거능이 높아졌다.

약용식물의 메탄올 추출물의 아질산염 소거능을 측정한 Moon 등(31)의 지구자목(96.73%), 팔각향(95.63%), 측백(94.44%), 계피(89.47%) 등의 결과보다 낮았으나 당귀, 백지, 천궁, 식방풍 등이 60% 이하의 낮은 소거효과를 나타낸다는 보고와 Kim 등(37)의 팽이버섯, 하수오, 오미자, 행인 등이 20% 이하의 소거능을 나타내었다는 결과와 비교하면 순비기나무 줄기의 아질산염 소거효과가 높았다. 또한 pH의 변화에 따른 효과에서는 pH가 낮아질수록 아질산염 소거능이 증가한다는 기존의 결과와도 일치하였으며, 아질산염 소거작용의 경향과도 일치하였다(37,38). 니트로화 반응에 영향을 주는 nitrite는 nitrous acid(HNO_2)를 형성하기 위해 산성

Table 2. Nitrite scavenging ability of various extracts from *V. rotundifolia* stems at pH respectively

Concentration (mg/mL)	Extracts ¹⁾			
	WE	EE	HWE	
pH 1.2	0.1	19.32±0.39 ^{b2)}	0.83±0.42 ^c	27.34±0.72 ^a
	0.3	46.73±0.37 ^b	17.70±0.12 ^c	51.37±0.23 ^a
	0.5	64.86±0.19 ^b	32.09±0.32 ^c	72.19±1.17 ^a
	1.0	84.61±0.28 ^b	54.75±0.55 ^c	88.36±0.83 ^a
pH 3.0	0.1	12.95±0.68 ^b	6.67±0.51 ^c	16.75±0.52 ^a
	0.3	18.17±0.26 ^b	12.92±0.51 ^c	21.21±0.43 ^a
	0.5	22.11±0.27 ^b	16.40±0.41 ^c	23.84±0.91 ^a
	1.0	25.83±0.26 ^b	26.43±0.43 ^b	30.24±0.52 ^a
pH 6.0	0.1	3.53±0.46 ^a	1.21±0.62 ^c	2.00±0.20 ^b
	0.3	4.97±0.65 ^b	5.01±0.62 ^b	6.50±0.38 ^a
	0.5	7.02±1.01 ^c	9.73±0.61 ^a	8.63±0.54 ^b
	1.0	10.32±1.37 ^c	16.12±0.70 ^a	13.59±0.23 ^b

¹⁾The abbreviations of introductory remarks are the same as in Fig. 1.

²⁾All values present mean±SD of triplicate determinations and different superscripts within the same row are significantly different at $p < 0.05$ by Duncan's multiple range test.

화되고, HNO_2 는 H_2NO_2^+ 으로 proton화 되어 선택적으로 amide와 반응하여 nitrosamide를 형성한다. 이러한 산성화 과정 때문에 니트로화 반응은 생체내의 산성조건인 위장에서 발생한다(39,40). 연구 결과 아질산염 소거능이 인체의 위장 내 pH 조건과 비슷한 pH 1.2에서 가장 우수한 것으로 측정되어 순비기나무 줄기 추출물들은 생체내에서도 효과적으로 nitrosamine 생성을 억제할 것으로 생각되며 물을 용매로 추출할 경우 더욱 효과적인 것으로 판단된다.

Xanthine oxidase 저해 활성

생체내에서 purine 대사에 관여하여 통풍과 신장질환의 원인인 uric acid를 xanthine에서 산화시키는 반응에 관여하는(41) XO를 농도에 따라 순비기나무 줄기 추출물에 대한 저해활성을 측정하였다(Table 3). WE에서는 51.13~95.24%이었으며, EE는 61.62~94.40% 그리고 HWE는 61.11~96.11%로 0.5 mg/mL의 농도에서 90% 이상의 저해 활성이 나타났으며 0.1 mg/mL의 농도에서도 50% 이상을 저해하였다. 세 추출물 모두 시료의 농도가 증가함에 따라 XO 저해 활성도 증가하였으며, 0.5 mg/mL 이상의 농도에서는 세가

Table 3. Xanthine oxidase inhibition of various extracts from *V. rotundifolia* stems

Concentration (µg/mL)	Extracts ¹⁾		
	WE	EE	HWE
0.1	51.13±0.51 ^{b2)}	61.62±1.19 ^a	61.11±0.96 ^a
0.3	87.47±0.87 ^b	78.15±0.68 ^c	89.72±0.96 ^a
0.5	92.73±0.87 ^a	91.50±0.83 ^b	92.50±0.00 ^a
1.0	95.24±1.80 ^a	94.40±0.97 ^a	96.11±0.96 ^a

¹⁾The abbreviations of introductory remarks are the same as in Fig. 1.

²⁾All values present mean±SD of triplicate determinations and different superscripts within the same row are significantly different at $p < 0.05$ by Duncan's multiple range test.

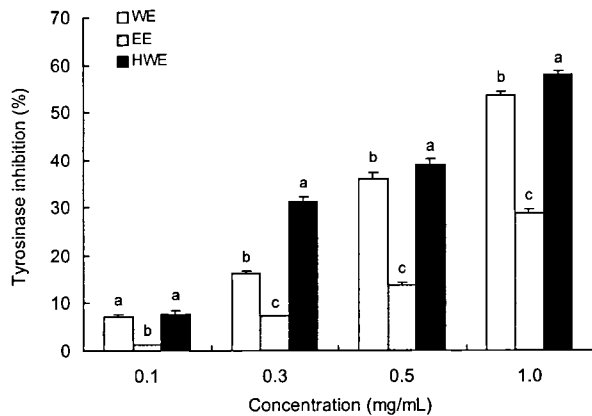


Fig. 3. Tyrosinase inhibition of various extracts from *V. rotundifolia* stems.

The abbreviations of introductory remarks are the same as in Fig. 1. Bars within different letters are significantly different at $p < 0.05$ by Duncan's multiple range test.

지 추출물간에 유의적 차이가 없었다.

순비기나무 줄기의 XO 저해율은 1.0 mg/mL의 농도에서 찌리 추출물이 79~85%로 보고한 Lee 등(42)의 결과와 Moon과 Lee(43)의 감잎 열수 추출물(82.9%)보다 높은 XO 저해 효과가 나타났다. 그러므로 순비기나무 줄기의 XO 저해 활성은 매우 높은 것으로 분석되었으며 항염증제나 항산화제로써 이용가치가 높은 기능성 식품자원으로 기대된다.

Tyrosinase 저해 활성

Tyrosinase에 의해 생합성되는 melanin은 자연계에 널리 존재하는 페놀류의 고분자 물질로 건조나 자외선과 같은 외부적 환경에 의한 손상으로부터 생물체를 보호하며, 식물의 갈변화 방지 등의 작용을 한다(44). 그러나 과도한 melanin의 합성은 기미, 주근깨, 검버섯 등을 형성하고 피부노화 촉진 및 피부암을 유발하며 채소, 과일, 생선 등의 갈변화로 품질이 저하될 수 있는 문제점이 있다(45). 본 실험에서 추출 방법이 다른 순비기나무 줄기 추출물의 tyrosinase 저해 활성을 L-DOPA를 이용하여 0.1~1.0 mg/mL의 농도로 측정 한 결과(Fig. 3), WE는 7.15~53.47%, EE는 1.25~28.79%였으며 HWE는 7.65~57.84%로 가장 높은 tyrosinase 저해 활성을 나타내어 물을 용매로 추출한 WE와 HWE가 에탄올 추출물인 WE보다 약 1.8배 이상 높았다. EE는 0.1 mg/mL의 농도에서 반응이 나타나지 않았으며, 모든 추출물은 농도가 증가함에 따라 저해 활성도 증가하였다.

찌리 추출물이 1.0 mg/mL의 농도에서 6.17~27.61%라는 Lee 등(42)과 당귀, 토사자, 숙지황 등이 40% 미만의 tyrosinase 저해율을 나타낸다고 보고한 Jung 등(46)의 결과와 비교하면 순비기나무 줄기 추출물의 WE와 HWE가 더 높았으나, 계피(81%), 정향(83%), 복분자(63%)보다는 저해율이 낮았다. 따라서 순비기나무 줄기는 물을 이용하여 추출하는 것이 효과적이며 순비기나무 줄기 추출물이 기존에 보고된 약용식물보다 유사하거나 높은 효과를 나타내므로 기

능성 식품에 이용 가능할 것으로 기대된다.

요 약

순비기나무(*Vitex rotundifolia*)의 줄기를 새로운 천연 항산화제나 생리활성 재료로 이용하기 위하여 한류 물 추출물(WE)과 에탄올 추출물(EE) 그리고 열수 추출물(HWE)에 대하여 총 폴리페놀 함량과 전자공여능, SOD 유사활성능, 아질산염 소거능 및 xanthine oxidase와 tyrosinase 저해 활성을 측정하였다. 총 폴리페놀의 함량을 측정한 결과 122.01 mg/g~176.34 mg/g으로 EE에서 가장 많은 폴리페놀을 함유하였다. 전자공여능은 1.0 mg/mL의 농도에서 93.46~96.92%로 EE가 가장 높았으며 0.1 mg/mL에서도 90% 이상이었으며, SOD 유사활성능은 WE가 47.32%로 가장 높은 활성을 나타내었다. 아질산염 소거능은 pH 1.2의 조건에서 세가지 추출물이 84.61~88.36%였으며 pH 3.0에서는 25.83~30.24%였다. Xanthine oxidase 저해 활성을 측정한 결과 0.5 mg/mL의 농도에서 세 가지 추출물 모두 90% 이상이었으며, 1.0 mg/mL에서도 91.02~97.51%로 EE 추출물이 가장 높은 저해 활성을 나타내었다. 미백효과와 관련이 있는 tyrosinase 저해 활성을 측정한 결과 HWE와 WE는 57.84%와 53.47%를 나타내어 EE(28.79%)보다 높은 저해 효과가 나타났다. 따라서 순비기나무 줄기 추출물은 다량의 폴리페놀을 함유하며 항산화 활성과 xanthine oxidase 및 tyrosinase 저해 활성이 우수하므로 천연 항산화제나 미백 및 기능성 식품 소재로써 활용할 수 있을 것으로 기대된다.

감사의 글

본 연구는 산업자원부 지역혁신센터사업(대구한의대학교 한방생명자원연구센터)의 지원에 의하여 이루어진 것임.

문 헌

- Freeman BA, Grapo JD. 1982. Biology of disease; free radicals and tissue injury. *Lab Invest* 47: 412-426.
- Ames BN. 1983. Dietary carcinogens and anticarcinogens. Oxygen radical and degenerative disease. *Science* 221: 1256-1264.
- McCord JM. 1987. Oxygen-derived radicals; a link between reperfusion injury and inflammation. *Fed Proc* 46: 2402-2406.
- Pratt DE. 1992. Natural antioxidants from plant materials. In *Phenolic Compounds in Food and Their Effects on Health (II)*. Huang MT, Hi ST, Lee CY, eds. Am Chem Soc, Washington DC. p 54-60.
- Hatano T. 1995. Constituents of natural medicines with scavenging effects on active oxygen species-tannins and related polyphenols. *Nat Med* 49: 357-363.
- Shin DH. 1997. The study course and movement of natural antioxidants. *Kor Food Sci Tech* 30: 14-18.
- Akaike T, Ijiri S, Sato J, Katsiki T, Maeda H. 1995.

- Determination of peroxy radical-scavenging activity in food by using bactericidal action of alkyl peroxy radical. *J Agric Food Chem* 43: 1864-1870.
8. Lee TB. 1993. *Illustrated Flora of Korea*. 5th ed. Hyangmoonsa, Seoul, Korea. p 644.
 9. Yeeh Y, Kang SS, Chung HG, Chung MS. 1996. Genetic and clonal diversity in Korean populations of *Vitex rotundifolia* (Verbenaceae). *J Plant Research* 109: 161-168.
 10. 구본홍. 1994. 동의보감 한글완역본(허준 저). 대중서관, 서울. p 293, 1445.
 11. But PPH, Guo JX, Sung CK. 1996. *International collation of traditional and folk medicine*. World Scientific Publishing, Singapore. p 141-142.
 12. 國家中醫藥管理局編委會. 1999. 中華本草. 上海科學技術出版社, 上海. Vol 6, p 604-608.
 13. Jang SJ, Kim YH, Kim MK, Kim KW, Yun SE. 2002. Essential oil composition from leaves, flowers, stems, and fruits of *Vitex rotundifolia* L. fil. *J Korean Soc Agric Chem Biotechnol* 45: 101-107.
 14. Fiala ES, Reddy BS, Weosbirger JH. 1985. Naturally occurring anticarcinogenic substances in foodstuffs. *Annu Rev Nutr* 5: 295-321.
 15. Kang SS, Kim JS, Kim HJ, Jung YR. 1994. Phytochemical analysis of *Vitex Fructus*. *Kor J Pharmacogn* 25: 214-220.
 16. Kobayakawa J, Sate-Nishimori F, Moriyasu M, Matsukawa Y. 2004. G2-M arrest and antimutagenic activity mediated by casticine, a flavonoid isolated from *Vitex Fructus* (*Vitex rotundifolia* Linne fil.). *Cancer Lett* 208: 59-64.
 17. Miyazawa M, Shimamura H, Nakamura S, Kameoka H. 1995. Antimutagenic activity of (+)-polyalthic acid from *Vitex rotundifolia*. *J Agric Food Chem* 43: 3012-3015.
 18. Shin TY, Kim SH, Lim JP, Suh ES, Jeong HJ, Kim BD, Park EJ, Hwang WJ, Rye DG, Baek SH, An NH, Kim HM. 2000. Effect of *Vitex rotundifolia* on immediate-type allergic reaction. *J Ethnopharmacol* 72: 443-450.
 19. Watanabe K, Takata Y, Matsuo M, Nishimura H. 1995. Rotundial, a new natural mosquito repellent from the leaves of *Vitex rotundifolia*. *Biosci Biotechnol Biochem* 59: 1979-1980.
 20. Okuyama E, Fujimori S, Yamazaki M, Deyama T. 1998. Pharmacologically active components of *Vitis Fructus* (*Vitex rotundifolia*). II. The components having analgesic effects. *Chem Pharm Bull* 46: 655-662.
 21. Yoshioka T, Inokuchi T, Fujioka S, Kimura Y. 2004. Phenolic compounds and flavonoids as plant growth regulators from fruit and leaf of *Vitex rotundifolia*. *Z Naturforsch [C]* 59: 509-514.
 22. Shin KH, Kang SS, Kim HJ, Shin SW. 1994. Isolation of an aldose reductase inhibitor from the fruits of *Vitex rotundifolia*. *Phytomed* 1: 46-48.
 23. Ko WG, Kang TH, Lee SJ, Kim NY, Kim YC, Sohn DH, Lee BH. 2000. Polymethoxyflavonoids from *Vitex rotundifolia* inhibit proliferation by inducing apoptosis in human myeloid leukemia cells. *Food Chem Toxicol* 38: 861-865.
 24. AOAC. 2005. *Official Method of Analysis*. 18th ed. Association of Official Analytical Chemists, Washington DC, USA. Vol 45, p 21-22.
 25. Blois MS. 1958. Antioxidant determination by the use of a stable free radical. *Nature* 181: 1199-1200.
 26. Marklund S, Marklund G. 1975. Involvement of superoxide amino radical in the oxidation of pyrogallol and a convenient assay for superoxide dismutase. *Eur J Biochem* 47: 468-474.
 27. Kato H, Lee IE, Chuyen NV, Kim SB, Hayase F. 1987. Inhibition of nitrosamine formation by nondialyzable melanoidins. *Agric Biol Chem* 51: 1333-1338.
 28. Stirpe F, Della Corte E. 1969. The regulation of rat liver xanthine oxidase. *J Biol Chem* 244: 3855-3861.
 29. Yagi A, Kanbara T, Morinobu N. 1987. Inhibition of mushroom-tyrosinase by aloe extract. *Planta Med* 53: 517-519.
 30. Kim EY, Baik IH, Kim JH, Kim SR, Rhyu MR. 2004. Screening of the antioxidant activity of some medicinal plants. *Korean J Food Sci Technol* 36: 333-338.
 31. Moon JS, Kim SJ, Park YM. 2004. Activities of anti-oxidation and alcohol dehydrogenase inhibition of methanol extracts from some medicinal herbs. *Korean J Food Preserv* 11: 201-206.
 32. Jung SJ, Lee JH, Song HN, Seong NS, Lee SE, Baek NI. 2004. Screening for antioxidant activity of plant medicinal extracts. *J Korean Soc Appl Biol Chem* 47: 135-140.
 33. Kim HK, Kim YE, Do JR, Lee YC, Lee BY. 1995. Antioxidative activity and physiological activity of some Korean medicinal plants. *Korean J Food Sci Technol* 27: 80-85.
 34. Kang MH, Choi CS, Kim ZS, Chung HK, Min KS, Park CG, Park HW. 2002. Antioxidative activities of ethanol extract prepared from leaves, seed, branch and aerial part of *Crotalaria sessiflora* L. *Korean J Food Sci Technol* 34: 1098-1102.
 35. Lim JD, Yu CY, Kim MJ, Yun SJ, Lee SJ, Kim NY, Chung IM. 2004. Comparison of SOD activity and phenolic compound contents in various Korean medicinal plants. *Korean J Medicinal Crop Sci* 12: 191-202.
 36. Kwon TD, Choi SW, Lee SJ, Chung KW, Lee SC. 2001. Effects of polyphenol or vitamin C ingestion on anti-oxidative activity during exercise in rats. *Kor J Phys Edu* 3: 891-899.
 37. Kim SM, Cho YS, Sung SL. 2001. The antioxidant ability and nitrate scavenging ability of plant extract. *Korean J Food Sci Technol* 33: 623-632.
 38. Lee YS, Joo EY, Kim NW. 2005. Antioxidant activity of extract from the *Lespedeza bicolor*. *Korean J Food Preserv* 12: 75-79.
 39. Mirvish SS. 1975. Formation of N-nitroso compounds: chemistry, kinetics, and *in vivo* occurrence. *Toxicol Appl Pharmacol* 31: 325-351.
 40. Leaf CD, Vecchio AJ, Roe DA, Hotchkiss JH. 1987. Influence of ascorbic acid dose on N-nitrosoproline formation in humans. *Carcinogenesis* 8: 791-795.
 41. Kramer HM, Curhan G. 2002. The association between gout and nephrolithiasis. *Am J Kid Diseases* 40: 37-42.
 42. Lee YS, Joo EY, Kim NW. 2006. Polyphenol contents and physiological activity of the *Lespedeza bicolor* extracts. *Korean J Food Preserv* 13: 616-622.
 43. Moon SH, Lee MK. 1998. Inhibitory effects of xanthine oxidase by boiled water extract and tannin from persimmon leaves. *Korean J Food Nutr* 11: 354-357.
 44. Hashiguchi H, Takahashi H. 1976. Inhibition of two copper containing enzymes, tyrosinase and dopamine β -hydroxylase, by L-mimosine. *Mol Pharmacol* 13: 362-367.
 45. Sanchez-Ferer A, Rodriguez-Lopez JN, Garcia-Canova F, Garcia-Carmona F. 1995. Tyrosinase a comprehensive review of its mechanism. *Biochem Biophys Acta* 1247: 1-11.
 46. Jung SW, Lee NK, Kim SJ, Han DW. 1995. Screening of tyrosinase inhibitor from plants. *Korean J Food Sci Technol* 27: 891-896.