

싸리속 식물 메탄올 추출물의 항산화 활성

- 연구노트 -

김상민¹ · 정유진² · 판철호¹ · 엄병현^{1*}

¹한국과학기술연구원, 강릉분원, 천연물소재연구센터

²강릉원주대학교 해양생물공학전공

Antioxidant Activity of Methanol Extracts from the Genus *Lespedeza*

Sang Min Kim¹, Yu-Jin Jung², Cheol-Ho Pan¹, and Byung-Hun Um^{1*}

¹Natural Product Research Center, KIST Gangneung Institute, Gangwon 210-340, Korea

²Faculty of Marine Bioscience & Technology, Gangneung-Wonju National University, Gangwon 210-702, Korea

Abstract

The genus *Lespedeza* belonging to Leguminosae is an annual or perennial herb, which has been used as a Chinese herbal medicine. Antioxidant activity on DPPH ((1,1)-diphenyl-2-picrylhydrazyl) and ABTS (2,2'-azino-bis(3-ethylenebenzothiazoline-6-sulfonic acid) radicals and the contents of total polyphenol and flavonoid were analyzed with 12 methanol extracts from six *Lespedeza* genus plants with different plant parts. The highest content of total polyphenol was detected in the leaves of *Lespedeza* × *robusta* (194.6 mg GAE/g), while the highest content of total flavonoid existed in the aerial part of *Lespedeza thunbergii* var. *intermedia* (47.9 mg QE/g). Generally, the amounts of polyphenol and flavonoid compounds were higher in the leaves than in the stems. The SC₅₀ value of DPPH radical scavenging activity ranged from 10.16 to 90.94 ppm, of which the strongest activity was determined in the leaves of *L. robusta*. Most ABTS radical scavenging activities from the investigated methanol extracts were higher than that of L-ascorbic acid, implying the excellent antioxidant activity. The radical scavenging activity in this study showed high correlation with the amount of total polyphenol rather than that of total flavonoid. These data suggest that the methanol extracts from these *Lespedeza* spp. could be potential candidates for natural antioxidants.

Key words: antioxidant activity, *Lespedeza* genus, medicinal plant, natural antioxidant, total flavonoid, total polyphenol

서 론

싸리속(Genus *Lespedeza*)은 콩과(Leguminosae)에 속하는 다년생의 낙엽 관목으로서 7~8월에 개화하며, 우리나라 전역의 양지바른 산과 들에 널리 분포하는 식물이다(1). 싸리속은 북아메리카와 동부 아시아 온대에 약 60여 종이 있으며, 국내에는 싸리나무(*Lespedeza bicolor*), 풀싸리(*Lespedeza thunbergii* var. *intermedia*), 조록싸리(*Lespedeza maximowiczii*), 참싸리(*Lespedeza cyrtobotrya*), 고양싸리(*Lespedeza* × *robusta*), 털조록싸리(*Lespedeza maximowiczii* var. *tomentella*), 지리산싸리(*Lespedeza* × *chiisanensis* T. LEE), 해변싸리(*Lespedeza* × *maritima*), 들싸리(*Lespedeza tomentosa*), 검나무싸리(*Lespedeza bicolor* Turczaninow var. *higoensis*), 팽이싸리(*Lespedeza pilosa*), 좁싸리(*Lespedeza virgata*(Thunb.) DC.), 분홍싸리(*Lespedeza floribunda* Bunge) 등 30여 종이 자라고 있다.

한방에서는 싸리속 식물의 줄기와 뿌리를 야관문(夜關門)

이라 하여 진해, 거담, 만성 기관지염, 지혈, 청열, 학질, 발한, 해열의 치료제 및 이뇨제와 건비제 등으로 사용하여 왔다(2). 그리고 민간에서는 피부질환 치료제로 싸리속 식물의 추출물이 피부 진균 치료제로 이용되어 왔다(3). 특히 싸리나무는 백반증, 폐열, 해수와 백일해, 소변 임력, 요통, 무릎 관절통, 탈력증, 유주종독 등의 치료에 쓰였다고 기록되어 있고, 종자는 유지자원과 사료로서의 이용가치도 높은 것으로 알려져 있다(4,5).

우리나라의 싸리속 식물에 관한 연구는 주로 싸리나무 추출물을 대상으로 이루어졌다. 싸리나무 줄기로부터 일반성분 분석과 환원당, 유리당, 무기질 및 아미노산 등의 성분 및 함량의 분석이 이루어졌고(3), 총 폴리페놀의 함량과 xanthin oxidase 저해활성, tyrosinase 저해활성 등이 보고되었으며(2), 싸리나무 줄기의 물 추출물과 에탄올 추출물을 대상으로 전자공여능, SOD 유사활성, 아질산염 소거능 등의 항산화성에 관한 연구가 수행되었다(6). 또한 싸리나무 줄기와 잎에 대해서 총 폴리페놀의 함량, 총 플라보노이드 함량,

*Corresponding author. E-mail: albertum@kist.re.kr
Phone: 82-33-650-7201, Fax: 82-33-650-7299

항산화 및 항균효과에 대해서도 조사되었고, 세포독성 평가를 통해 화장품 원료로서 적용 가능성도 조사되었다(7). 최근에는 Ryu 등(8)에 의하여 싸리나무 꽃의 에탄올 추출물이 라디칼 소거활성과 아질산염 소거능 등을 통해서 피부의 멜라닌 형성을 저해하여化粧품의 원료로서 이용될 수 있는 가능성을 제시하였다. 그 외의 연구로서 지리산싸리로부터 지질 구성 지방산과 유리아미노산 및 구성 총 아미노산 조성에 관한 연구가 이루어졌고(5), 참싸리 줄기의 메탄올 추출물로부터 분리된 dalbergiodin이 멜라닌 생합성을 저해한다는 보고가 있었다(9).

싸리속 식물에서는 주로 플라보노이드 화합물이 분리되었다고 보고되었다. 싸리나무 줄기로부터 caffeic acid, protocatechuic acid, betulinic acid, betulin 등의 알려진 화합물과 함께 두 개의 새로운 prenylated isoflavanone이 분리되었다(10). Tan 등(11)은 좁싸리로부터 6종의 플라보노이드를 분리하였는데, 그중 5-hydroxy-6-methyl-2'-methoxy-[6'',6''-dimethyl-pyrano(2'',3'':7,8)]-[6'',6''-dimethylpyrano(2'',3''':4',5')]-[2S] flavanone은 새로운 구조의 플라보노이드로서 강한 항산화 활성을 보였다. 분홍싸리의 뿌리에서는 51종의 플라보노이드가 분리되었는데, 그중 40종의 화합물이 새로운 구조로 보고되었다. 이 중 상당수의 화합물에서 멜라닌 생합성을 저해하는 효과가 피부 미백제인 hydroquinone보다 높았다(12). 비수리(*Lespedeza cuneata*)의 지상부에는 kaempferol, quercetin 외에 hyperin, hirsutrin, desmodin, homoadonivernite 등의 플라보노이드가 분리, 보고되었다(13).

본 연구에서는 우리나라에서 자생하는 싸리속 식물의 천연 항산화제로서의 가능성을 검토하기 위해, 6종의 싸리속 식물로부터(조록싸리, 풀싸리, 싸리나무, 참싸리, 고양싸리, 털조록싸리) 얻은 각 부위별 메탄올 추출물 12종에 대해서 ABTS 및 DPPH 라디칼 소거능을 조사하여 항산화 활성을 분석하였다. 또한 총 폴리페놀 함량과 총 플라보노이드 함량을 조사한 후 이들 성분과 라디칼 소거능 사이의 상관관계를 분석하여, 싸리속 식물의 항산화 소재로서의 활용 가능성을 제시하였다.

재료 및 방법

재료

본 연구에 사용한 싸리속 식물의 메탄올 추출물은 한국생명공학연구원 한국식물추출물은행에서 구입하였다. 일반적으로 채취된 시료는 상온에서 건조 후 분쇄하여 추출과정을 하기 전까지 냉장보관 되었다. 각 시료는 ASE 200 Accelerated solvent extractor(Dionex Corp., Sunnyvale, CA, USA)를 사용하여 상온에서 99.9% 메탄올을 용매로 사용하여 추출되었고, 추출용액은 Speed-Vac concentrator(Savant DNA 120, Thermo Scientific, Waltham, MA, USA)를 사용하여 농축되었다. 시료는 한국식물추출물은행에서 구입할 수 있는 목록에서 선택하였고, 시료 목록은 조록싸리와 풀싸리의 지상부, 싸리나무의 꽃, 잎, 줄기 및 뿌리, 참싸리, 고양싸리, 털조록싸리의 잎과 줄기로, 총 6종의 싸리속 식물로부터 각각 다른 부위의 총 12종류의 추출물을 분양받았다. 각 시료의 식물 부위와 채취 시기는 Table 1에 표시되었다.

총 폴리페놀 함량 측정

총 폴리페놀 함량은 Folin-Denis 방법(14)에 따라 Folin-Ciocalteu 시약(Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA)이 추출물의 폴리페놀성 화합물에 의해 환원되어 몰리브덴 청색으로 발색되는 원리를 이용하여 분석하였다. 즉, 건조된 추출물 시료를 물에 녹여 1 mg/mL 농도로 만든 후에 이를 100 μ L 취하고, 여기에 Folin-Ciocalteu 시약 100 μ L, 증류수 300 μ L를 가하였다. 상온에 5분간 방치한 다음 20% Na_2CO_3 500 μ L를 가하고 다시 상온에서 30분간 방치한 후, spectrometer (Lambda 15 UV-Vis spectrophotometer, Perkin-Elmer, Norwalk, CT, USA)를 이용하여 730 nm에서 반응액의 흡광도 값을 측정하였다. 표준물질로 gallic acid(Sigma-Aldrich)를 사용하였고, gallic acid의 검량선을 이용하여 총 폴리페놀 함량을 mg GAE(gallic acid equivalent)/g 추출물로 표현하였다.

총 플라보노이드 함량 측정

추출물 시료 용액(1 mg/mL) 100 μ L와 에탄올 400 μ L를

Table 1. List of the *Lespedeza* spp. used in this study

Scientific name	Sample code	Korean name	Plant part	Harvest date
<i>Lespedeza maximowiczii</i>	LM-A	조록싸리	aerial	2001. 05. 17
<i>Lespedeza thunbergii</i> var. <i>intermedia</i>	LTi-A	풀싸리	aerial	2001. 07. 04
<i>Lespedeza bicolor</i>	LB-F	싸리나무	flower	2001. 08. 28
	LB-L		leaf	2001. 08. 28
	LB-S		stem	2001. 08. 28
	LB-R		root	2004. 04. 28
	<i>Lespedeza cyrtobotrya</i>	LC-L	참싸리	leaf
	LC-S		stem	2001. 08. 30
<i>Lespedeza</i> × <i>robusta</i>	LR-L	고양싸리	leaf	2002. 05. 08
	LR-S		stem	2002. 05. 08
<i>Lespedeza maximowiczii</i> var. <i>tomentella</i>	LMt-L	털조록싸리'	leaf	2005. 07. 12
	LMt-S		stem	2005. 07. 12

혼합하고 2% AlCl₃·6H₂O 500 μL를 가하였다. 상온에 5분간 방치한 후, spectrophotometer를 이용하여 430 nm에서 반응액의 흡광도 값을 측정하였다. 표준물질로 quercetin(Sigma-Aldrich)을 사용하여 검량선을 작성하였고, 플라보노이드 함량은 mg QE(quercetin equivalent)/g 추출물로 표현하였다.

DPPH 라디칼 소거능 측정

전자공여능은 Blois 방법(15)에 의한 DPPH 라디칼 소거법으로 측정하였다. 12종의 싸리속 메탄올 추출물을 10, 50, 100, 200 ppm의 네 가지 농도로 만들어 96 well plate에 100 μL씩 분주하였다. 그리고 400 μM DPPH 용액 100 μL를 넣어 주고 상온, 어두운 곳에 30분 방치시킨 후, 515 nm에서 흡광도를 측정하였다. 대조군으로 비타민 C(L-ascorbic acid, Sigma-Aldrich)를 사용하였다. 각 시료의 DPPH 라디칼 소거능은 아래의 식에 의해 전자공여능으로 계산하였고, 50% 전자공여능 값을 나타내는 SC₅₀ 값으로 표현하였다.

$$\text{전자공여능(\%)} = \left(1 - \frac{\text{시료첨가구의 흡광도}}{\text{무처리구의 흡광도}}\right) \times 100$$

ABTS 라디칼 소거능 측정

ABTS 라디칼 소거능은 Re 등(16)의 방법에 따라 측정하였다. ABTS 라디칼 용액은 3.5 mM potassium persulfate를 포함하는 2 mM ABTS 용액을 8배 희석시킨 후, 어두운 곳에 14시간 보관하여 만들었다. 추출물은 0.2, 0.5, 1, 5 ppm 농도로 만든 후 96 well plate에 100 μL씩 분주하고, ABTS 용액 100 μL씩 가하였다. 상온에서 5분 반응 후, 414 nm에서 흡광도를 측정하였다. 대조군으로 비타민 C(L-ascorbic acid, Sigma-Aldrich)를 사용하였다. 각 시료의 ABTS 라디칼 소거능은 DPPH와 같은 방법으로 계산하였고, 50% 전자공여능 값을 나타내는 SC₅₀ 값으로 표현하였다.

통계분석

모든 실험은 독립적으로 3회 이상 반복으로 실시하였으며, 실험 결과를 평균값과 오차로 나타내었고, ANOVA test를 이용하여 통계처리 한 후 p<0.05 수준에서 Newman Keuls test를 실시하여 실험군 간의 유의성을 검정하였다. 활성과 총 폴리페놀, 총 플라보노이드 함량과의 연관성은 단순회귀분석을 실시하여 검토하였다.

결과 및 고찰

총 폴리페놀 함량

식물에는 토코페롤, 비타민 C 등 다양한 종류의 항산화물질이 존재하는 것으로 알려져 있는데, 그 중 폴리페놀 화합물은 우수한 항산화 물질로 단백질, 효소 단백질, 그리고 기타 거대 분자들과 결합하여 항산화 효과와 항균 효과를 나타낸다(17). 이러한 폴리페놀은 많은 식물에서 발견되고 있으며, 최근에는 콩과류에서 이소플라본(isoflavone)과 리그난(lignan) 등의 폴리페놀성 화합물이 주목을 받으면서 콩과류에 대한

생리활성 효과가 더욱 기대되고 있다(18). 본 실험에서는 국내에서 자생하고 있는 싸리속 식물을 대상으로 총 폴리페놀 함량을 분석해 보았다. 일반적으로 식물의 경우 각 부위마다 포함되어 있는 성분이 다를 뿐만 아니라, 그로 인해서 각 식물의 식용 방법이나 질병의 치료에 적용 방법이 다르다. 따라서 싸리속 식물의 각 부위별로 성분 조사가 이루어진다면, 싸리속 식물의 이용에 더욱 자세한 기초 자료를 제시할 수 있을 것으로 생각되어, 본 실험에서는 싸리속 식물의 각 부위별로 분석이 이루어졌다. 분석 결과, 싸리속 식물에는 메탄올 추출물의 7~19% 범위로 폴리페놀이 존재하는 것으로 밝혀졌다(Fig. 1). 폴리페놀을 가장 적게 함유하고 있는 식물은 조록싸리의 지상부(LM-A)로, 77.2 mg GAE/g의 폴리페놀을 포함하고 있었다. 반면, 고양싸리의 잎(LR-L)은 194.6 mg GAE/g의 총 폴리페놀을 포함하고 있어 가장 많은 함유량을 보여주었다. 싸리나무의 부위별 함량을 비교해 보면, 꽃(LB-F)은 100.3 mg GAE/g, 잎(LB-L)은 125.4 mg GAE/g, 줄기(LB-R)는 96.9 mg GAE/g, 뿌리(LB-R)는 151.4 mg GAE/g의 폴리페놀을 함유하고 있는 것으로 나타나, 지상부보다는 뿌리에 더 많은 폴리페놀 화합물이 존재하는 것으로 조사되었다. 싸리나무(LB), 참싸리(LC), 고양싸리(LR), 털조록싸리(LMt)에서 줄기(L)와 잎(S)을 비교해보면, 참싸리를 제외하고 모두 줄기보다는 잎에서 폴리페놀의 함량이 많은 것으로 나타났다. 따라서 일반적으로 줄기보다는 잎에서 폴리페놀 화합물의 함량이 많은 것으로 보인다. Lee 등(3)에 의한 연구에서도 싸리나무 줄기(LB-S)에는 총 폴리페놀 성분이 117 mg GAE/g 함유되어 있는 것으로 보고되어, 본 실험의 결과와 유사한 것을 확인할 수 있었다. 약용식물의 총 폴리페놀 함량을 조사한 Kim 등(19)에 의한 연구에서도 옥죽, 갈근, 감조, 당귀, 산수유 등 20종의 약용식물에서 총 폴리페놀 함량이 2.6(옥죽)~81.2 mg GAE/g(음양곽)의 범위로 존재하는 것으로 보고되어, 본 실험에서 분석한 싸리속 식물이 이들 약용식물보다 최소 2~3배의 폴리페놀 화합물을 포함하는 것으로 나타났다. 이는 싸리속 식물이 천연 항

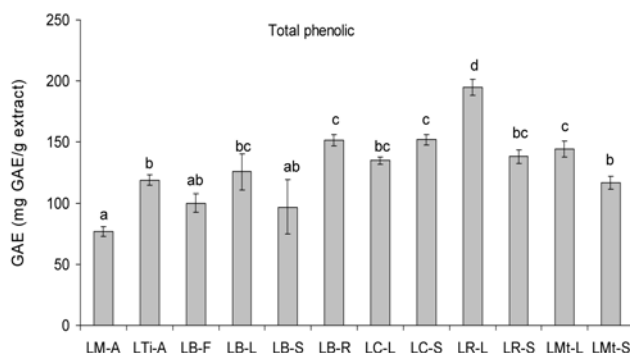


Fig. 1. Content of total polyphenols in the *Lespedeza* methanol extracts. GAE means for quercetin equivalent. The amounts were represented as mean values from the three independent experiments with error bar. Values with the same superscript letter are not significantly different (p<0.05).

산화제 소재로 개발될 가능성이 충분함을 보여주고 있다.

총 플라보노이드 함량

플라보노이드(flavonoid)는 플라본(flavone)을 기본 구조로 갖는 노란색 식물 색소를 총칭하는 것으로, 천연에는 각종 식물의 꽃·잎·뿌리·줄기·열매 등에 함유되어 있다(20,21). 식물에는 6000종 이상의 플라보노이드가 존재한다고 알려져 있는데, 식물에 존재하는 플라보노이드는 항산화, 에스트로겐 효과, 항암 효과 등 다양한 생리활성을 가지고 있는 것으로 보고되었다(22,23). 본 연구에서 조사된 싸리속 식물의 총 플라보노이드 함량은 13.1~47.9 mg QE/g인 것으로 나타났다(Fig. 2). 싸리나무 줄기(LB-S)가 13.1 mg QE/g으로 가장 함량이 낮았고, 풀싸리의 지상부(LTi-A)가 47.9 mg QE/g으로 가장 높은 함량을 보여주었다. 싸리나무의 각 부위별 플라보노이드 화합물은 줄기(LB-S, 13.1 mg QE/g), 꽃(LB-F, 20.0 mg QE/g), 뿌리(LB-R, 21.3 mg QE/g), 잎(LB-L, 25.0 mg QE/g) 순으로 높은 함량을 보여주었다. 줄기와 잎의 플라보노이드 함량 비교에서는, 싸리나무(LB), 참싸리(LC), 고양싸리(LR), 털조록싸리(LMt) 모두 줄기보다는 잎에서의 플라보노이드 함량이 많은 것으로 조사되었다. 특히, 털조록싸리의 경우 잎(LMt-L)에서의 함량이 43.8 mg QE/g으로 줄기(LMt-S)에서의 함량인 17.5 mg QE/g보다 2배 이상 많은 것으로 나타났다. 옥죽, 갈근, 감초, 당귀, 산수유 등의 20종 약용식물에서 조사된 플라보노이드 함량은 0.38 mg NE(naringinin equivalent)/g(황정)~55.35 mg NE/g(감초)으로 본 연구에서 조사된 싸리속 식물에 함유된 플라보노이드 함량은 대부분 이들 약용식물과 비슷하였다(19). 플라보노이드가 다량 함유되었다고 알려진 녹차의 경우 조건에 따라 13~81 mg HE(hesperidin equivalent)/g의 플라보노이드가 추출되었다고 보고되었는데, 싸리속 식물의 경우 대부분 이 범주 안에 포함되는 것으로 밝혀졌다(24).

ABTS 라디칼 소거능에 의한 항산화 활성

라디칼 소거능은 페놀산과 플라보노이드 화합물 등의 폴

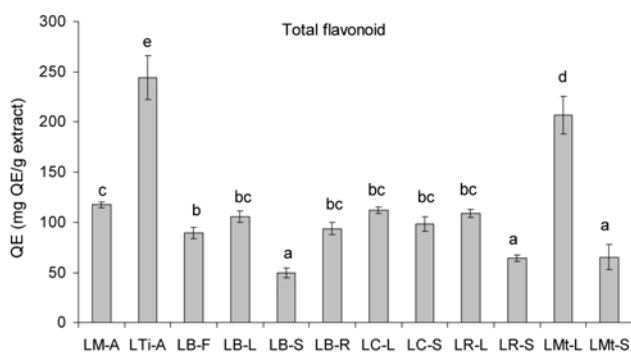


Fig. 2. Content of total flavonoids in the *Lespedeza* methanol extracts. QE means for quercetin equivalent. The amounts were represented as mean values from the three independent experiments with error bar. Values with the same superscript letter are not significantly different ($p < 0.05$).

리페놀성 물질에 의한 항산화 활성의 지표이며, 환원력이 큰 물질일수록 전자공여능이 높아진다고 알려져 있다(25). 본 연구에서는 싸리속 식물의 각 부위별 추출물을 대상으로 ABTS 라디칼 소거능을 조사하였다. 0.2~5 ppm까지의 각 추출물의 농도에서 각 추출물의 ABTS 라디칼 소거능은 농도에 따라 증가하는 결과를 보여주었다. 이들의 활성도를 보다 정확히 파악하기 위하여 최대 활성의 50%를 나타낼 수 있는 농도인 SC_{50} 값을 측정하였다(Table 2). 본 실험에서 양성대조군으로 사용한 비타민 C의 경우 2.67 ppm의 SC_{50} 값을 보여 주었다. 가장 ABTS 라디칼 소거 활성이 좋은 시료는 고양싸리의 잎(LR-L)으로, 0.77 ppm의 SC_{50} 값을 갖는 것으로 나타났다. 이는 양성 대조군인 비타민 C보다 3배 이상의 높은 ABTS 라디칼 소거능이었다. 싸리나무의 꽃(LB-F)은 SC_{50} 값이 3.68 ppm으로 비타민 C보다 약 37% 정도가 낮은 값을 보여 주었다. 본 실험에 사용된 추출물 중 싸리나무 꽃(LB-F)과 잎(LB-L)을 제외하고 나머지 추출물들은 모두 비타민 C보다 낮은 SC_{50} 값을 나타내어, ABTS 라디칼에 대해서는 본 실험에서 사용된 추출물 대부분이 매우 좋은 소거 활성을 보이는 것으로 나타났다. 뿌리와 잎의 비교에서는 싸리나무(LB), 참싸리(LC), 고양싸리(LR), 털조록싸리(LMt) 중 고양싸리를 제외하고 모두 줄기에서 낮은 SC_{50} 값을 보여, 잎보다는 줄기가 더 좋은 ABTS 라디칼 소거 활성을 가지고 있는 것으로 밝혀졌다.

DPPH 라디칼 소거능에 의한 항산화 활성

ABTS 라디칼 소거능과 마찬가지로 DPPH 라디칼에 대해서도 싸리속 식물의 각 추출물에 대해서 라디칼 소거능을 조사하였다(Table 2). 본 실험에서 조사한 시료 중 가장 활성이 좋은 시료는 고양싸리의 잎(LR-L)이었고(SC_{50} =10.16 ppm),

Table 2. Radical scavenging activities (SC_{50} in ppm) of the *Lespedeza* methanol extracts

Samples	DPPH radical scavenging activity, SC_{50} (ppm)	ABTS radical scavenging activity, SC_{50} (ppm)
LM-A	90.94 ± 7.09 ^f	2.23 ± 0.45 ^{bc}
LTi-A	49.62 ± 1.76 ^c	1.86 ± 0.12 ^b
LB-F	87.95 ± 4.36 ^c	3.68 ± 0.21 ^d
LB-L	57.57 ± 4.23 ^d	3.49 ± 0.68 ^d
LB-S	60.66 ± 2.28 ^d	2.67 ± 0.50 ^c
LB-R	26.85 ± 1.13 ^b	0.92 ± 0.04 ^a
LC-L	30.88 ± 3.90 ^b	2.17 ± 0.09 ^{bc}
LC-S	34.06 ± 1.65 ^b	1.63 ± 0.06 ^b
LR-L	10.16 ± 7.29 ^a	0.77 ± 0.14 ^a
LR-S	32.49 ± 1.17 ^b	1.21 ± 0.07 ^{ab}
LMt-L	31.15 ± 1.43 ^b	1.67 ± 0.24 ^b
LMt-S	59.90 ± 4.98 ^d	1.64 ± 0.18 ^b
L-ascorbic acid	2.18 ± 0.06	2.67 ± 0.36

The concentration of samples that scavenged the radical by 50% (SC_{50}) were determined by linear regression of scavenging percentage. Each value presents the mean ± SD of triplicate determinations. Values with the same superscript letter are not significantly different ($p < 0.05$).

활성이 가장 낮은 시료는 조록싸리의 지상부(LM-A)로 SC₅₀ 값이 90.94 ppm이었다. 싸리나무 각 부위의 활성은 꽃(LB-F, 87.95 ppm), 줄기(LB-S, 60.66 ppm), 잎(LB-L, 57.57 ppm), 뿌리(LB-R, 26.85 ppm) 순으로 라디칼 소거능이 높았다. 싸리나무(LB), 참싸리(LC), 고양이싸리(LR), 털조록싸리(LMt)에서 줄기와 잎의 DPPH 라디칼 소거능을 비교해 본 결과 모두 잎의 SC₅₀값이 낮게 측정이 되어 DPPH 라디칼 소거 활성이 잎에서 높은 것으로 나타났다. 양성 대조군으로 사용한 비타민 C의 경우 SC₅₀값이 2.18 ppm으로 나타나 싸리속 메탄올 추출물의 DPPH 라디칼 소거능은 비타민 C에 비해 최소 5배 이상 낮은 것으로 조사되었다. 싸리속 메탄올 추출물의 ABTS 라디칼 소거능과 달리 DPPH 라디칼 소거능이 이렇게 낮은 이유는 DPPH 라디칼의 반응 속도에서 그 이유를 찾을 수 있을 것이다. 반응 속도가 빠른 ABTS 라디칼과는 달리, DPPH 라디칼의 반응 속도는 화합물에 따라서 매우 다르다고 알려져 있는데, 비타민 C의 경우는 EC₅₀ 농도에서 동적평형상태(steady state)로 도달하는 시간이 1.15 분인데 반해, 플라보노이드 화합물인 rutin의 경우 103분이 걸린다는 보고가 있다(26). 경우에 따라서는 ABTS 라디칼과는 잘 반응하는 항산화 물질이 DPPH와는 전혀 반응하지 않을 수도 있다고 알려져 있다. 따라서 다양한 폴리페놀과 플라보노이드가 포함되어 있는 싸리속 추출물의 경우, 본 실험에서 DPPH와의 반응 시간이 충분하지 않거나 반응이 이루어지지 않아 상대적으로 높은 SC₅₀값이 측정되었을 가능성이 있다.

총 폴리페놀, 총 플라보노이드 함량과 항산화와의 상관관계 총 폴리페놀 함량, 총 플라보노이드 함량과 항산화 활성과의 상관관계를 알아보기 위하여 단순회귀분석을 실시하여 보았다(Fig. 3). 총 폴리페놀 함량과 DPPH, ABTS 라디칼 소거능의 SC₅₀값 사이에서는 음의 상관관계를 나타내어(Fig. 3a, 3b), 총 폴리페놀 함량과 라디칼 소거 활성 사이에서는 양의 상관관계가 있다는 것을 알 수 있었다. 12개의 메탄올 추출물 중 10개의 추출물에서 총 폴리페놀 함량과 DPPH 라디칼 소거능 사이에서 r²=0.71 수준으로, 12개의 메탄올 추출물 중 9개의 추출물에서 총 폴리페놀 함량과 ABTS 라디칼 소거능 사이에서 r²=0.65 수준으로 상관관계를 나타내었다. 하지만 총 플라보노이드 함량과 항산화 활성과의 관계에서는 특별한 상관관계를 보이지 않았다(Fig. 3c, 3d). 12개의 메탄올 추출물에서 r²=0.001(DPPH), r²=0.008(ABTS) 값을 보여 상관관계가 거의 없음을 보여주었다. 이는 싸리속 식물에서 항산화를 나타내는 주요 화합물이 플라보노이드 계열의 화합물보다는 다른 종류의 폴리페놀 화합물이라는 것을 나타내고 있다. 다른 많은 연구들에서도 비슷한 결과가 보고되었는데, 감잎 추출물에서도 폴리페놀 화합물이 증가할수록 DPPH 라디칼 소거능이 비례적으로 증가하였다(27). 또한 다양한 약용식물들에서도 폴리페놀 함량과 총 항산화, 히드록시 라디칼 소거능, superoxide 라디칼 소거능 사이에서 강한 양의 상관관계가 나타났다(19). 이러한 경향은 육상 식물뿐만 아니라 해조류에서도 나타났는데, Kwak 등(28)의 연구에 따르면, 한국산 해조류 5종에서 총 플라보노이드 함

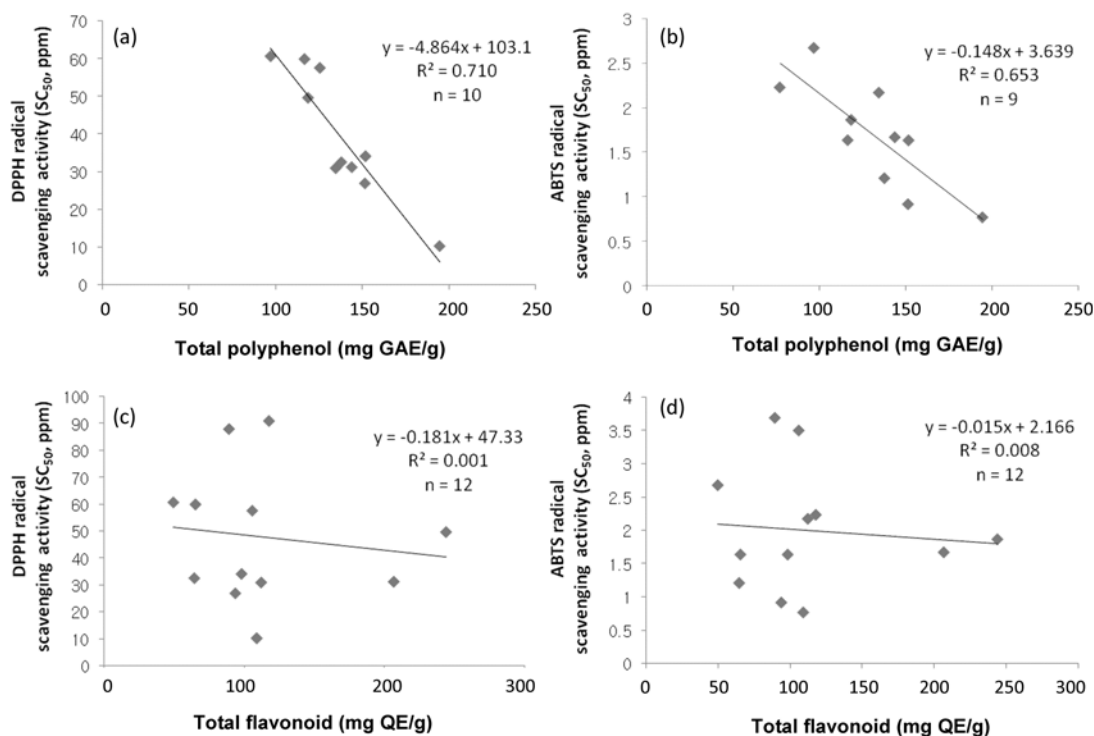


Fig. 3. Correlation between radical scavenging activities and total polyphenol (a, b), or total flavonoid (c, d) in the *Lespedeza* methanol extracts.

량과 3가지 다른 방법의 항산화 활성과는 유의한 상관관계가 없었으나, 총 폴리페놀 함량과 지질과산화 억제율, DPPH 라디칼 소거율, MDA-BSA conjugation 억제율 사이에서는 양의 상관관계를 보였다. 하지만 많은 연구에서 플라보노이드 화합물의 항산화 활성을 측정했을 때, 이 물질이 강한 항산화 활성을 가지고 있다는 것이 밝혀진 바 있다. 자유라디칼을 제거하는 능력을 비교하는 실험에서 플라보노이드는 비타민 C나 E에 비해 3배 내지 5배 이상의 항산화 작용을 나타낸다(29). 이러한 강한 항산화 활성에도 불구하고, 본 실험에서 라디칼 소거능과 플라보노이드 화합물 사이에 상관관계가 보이지 않는 이유는, 플라보노이드 외의 다른 계열의 폴리페놀 화합물이 더욱 강한 항산화 활성을 가지고 있거나 혹은 양적인 측면에서 플라보노이드 화합물 이외의 폴리페놀성 화합물이 더욱 많은 양으로 존재하여, 항산화 활성에 더 큰 영향을 주기 때문인 것으로 추정할 수 있다.

요 약

본 실험에서는 국내에 자생하는 콩과에 속하는 6종의 짜리속 식물의 각 부위별 추출물로부터 총 폴리페놀, 총 플라보노이드 함량을 측정하였고, DPPH, ABTS 라디칼 소거능을 조사하였다. 폴리페놀성 화합물은 고양짜리의 잎(LR-L)에 가장 많이 포함되어 있는 것으로 조사되었고, 플라보노이드 화합물은 풀짜리의 지상부(LTi-A)에서 가장 많이 검출되었다. 이들 시료의 항산화 활성을 조사하기 위해서 DPPH와 ABTS 라디칼에 대한 소거 활성을 조사해 본 결과 DPPH 라디칼에 대해서는 비타민 C보다 소거 활성이 적은 것으로 나타났지만, ABTS 라디칼에 대해서는 비타민 C보다 더 좋은 소거 활성을 보였다. 이들 활성과 폴리페놀, 플라보노이드 화합물간의 상관관계에서는 폴리페놀만이 양의 상관관계를 보여 폴리페놀의 농도에 따라 라디칼 소거 활성이 증가하는 것을 관찰할 수 있었다. 하지만 플라보노이드 화합물과 라디칼 소거 활성 간에는 뚜렷한 상관관계를 볼 수 없어, 짜리속 식물에서는 플라보노이드 화합물보다는 폴리페놀성 화합물이 항산화에 더욱 중요한 역할을 하는 것으로 판단할 수 있었다. 이러한 결과는 최근 각광을 받고 있는 천연 항산화제의 개발에 있어 짜리속 식물이 천연 항산화제로서 좋은 소재가 될 수 있음을 보여주어 주고 있다.

감사의 글

본 연구는 지식경제부 지방기술혁신사업(RT105-01-02) 지원으로 수행되었음.

문 헌

1. Yao ZY, Kan FL, Wang ET, Wei GH, Chen WX. 2002.

- Characterization of rhizobia that nodulate legume species of the genus *Lespedeza* and description of *Bradyrhizobium yuanmingense* sp. nov. *Int J Syst Evol Micr* 52: 2219-2230.
2. Lee YS, Joo EY, Kim NW. 2006. Polyphenol contents and physiological activity of the *Lespedeza bicolor* extracts. *Korean J Food Preserv* 13: 616-622.
3. Lee YS, Joo EY, Kim NW. 2005. Analysis on the components in stem of the *Lespedeza bicolor*. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 34: 1246-1250.
4. Nemoto T, Ohashi H. 1993. Seedling morphology of *Lespedeza* (Leguminosae). *J Plant Res* 106: 121-128.
5. Kim CK. 1993. Compositions of fatty acid, free amino acid and total amino acid of *Lespedeza × chiisanensis* T. LEE. *J Korean Soc Food Nutr* 22: 586-591.
6. Lee YS, Joo EY, Kim NW. 2005. Antioxidant activity of extracts from the *Lespedeza bicolor*. *Korean J Food Preserv* 12: 75-79.
7. Lee A, Kim BN, Zhoh CK, Shin GH. 2006. Studies on the antioxidative and antimicrobial effects of *Lespedeza bicolor* extracts. *J Korean Soc of Esthe Cosmec* 1: 109-120.
8. Ryu IS, Lee SJ, Lee SW, Mun YJ, Woo WH, Kim YM, Lee JC, Lim KS. 2007. Dermal bioactive properties of the ethanol extract from flowers of *Lespedeza bicolor*. *Journal of Korean Oriental Medical Ophthalmology & Otolaryngology & Dermatology* 20: 1-9.
9. Baek SH, Kim JH, Kim DH, Lee CY, Kim JY, Chung DK, Lee CH. 2008. Inhibitory effect of dalbergioidin isolated from the trunk of *Lespedeza cyrtobotrya* on melanin biosynthesis. *J Microbiol Biotechnol* 18: 874-879.
10. Maximov OB, Kulesh NI, Stepanenko LS, Dmitrenko PS. 2004. New prenylated isoflavanones and other constituents of *Lespedeza bicolor*. *Fitoterapia* 75: 96-98.
11. Tan L, Zhang XF, Yan BZ, Shi HM, Du LB, Zhang YZ, Wang LF, Tang YL, Liu Y. 2007. A novel flavonoid from *Lespedeza virgata* (Thunb.) DC.: structural elucidation and antioxidative activity. *Bioorg Med Chem Lett* 17: 6311-6315.
12. Maya MH, Hiroyuki T, Takayuki K, Makoto K, Yu I, Toshio M. 2009. Melanin synthesis inhibitors from *Lespedeza floribunda*. *J Nat Prod* 72: 194-203.
13. Kwon DJ, Bae YS. 2009. Flavonoids from the aerial parts of *Lespedeza cuneata*. *Biochem Syst Ecol* 37: 46-48.
14. Zhang Q, Zhang J, Shen J, Silva A, Dennis AD, Barrow CJ. 2006. A simple 96-well microplate method for estimation of total polyphenol content in seaweeds. *J Appl Phycol* 18: 445-450.
15. Blois MS. 1958. Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature* 181: 1198-1200.
16. Re R, Pellegrini N, Proteggente A, Pannala A, Yang M, Rice-Evans C. 1999. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radic Biol Med* 26: 1231-1237.
17. Perron NR, Brumaghim JL. 2009. A review of the antioxidant mechanism of polyphenol compounds related to iron binding. *Cell Biochem Biophys* 53: 75-100.
18. Lin PY, Lai HM. 2006. Bioactive compounds in legumes and their germinated products. *J Agric Food Chem* 54: 3807-3814.
19. 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.
20. Kuhn J. 1976. The flavonoids. A class of semi-essential food components: their role in human nutrition. *World Rev Nutr Diet* 24: 117-191.
21. Veitch NC, Grayer RJ. 2007. Flavonoids and their glycosides,

- including anthocyanins. *Nat Prod Rep* 21: 539-573.
22. Geleijnse JM, Hollman PCH. 2008. Flavonoids and cardiovascular health: which compounds, what mechanisms? *Am J Clin Nutr* 88: 12-13.
 23. Pietta PG. 2000. Flavonoids as antioxidants. *J Agric Food Chem* 63: 1035-1042.
 24. Jang MJ, Ha HJ, Yoon SR, Noh JE, Kwon JH. 2006. Prediction of optimal leaching conditions for green tea. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 35: 747-753.
 25. Cai YZ, Sun M, Xing J, Luo Q, Corke H. 2006. Structure-radical scavenging activity relationships of phenolic compounds from traditional Chinese medicinal plants. *Life Sci* 78: 2872-2888.
 26. Huang D, Ou B, Prior RL. 2005. The chemistry behind antioxidant capacity assays. *J Agric Food Chem* 53: 1841-1856.
 27. Yoo KH, Jeong JM. 2009. Antioxidative and antiallergic effect of persimmon leaf extracts. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 38: 1691-1698.
 28. Kwak CS, Kim SA, Lee MS. 2005. The correlation of antioxidant effects of 5 Korean common edible seaweeds and total polyphenol content. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 34: 1143-1150.
 29. Kim DO, Lee KW, Lee HJ, Lee CY. 2002. Vitamin C equivalent antioxidant capacity (VCEAC) of phenolic phytochemicals. *J Agric Food Chem* 50: 3713-3717.

(2010년 2월 9일 접수; 2010년 3월 12일 채택)