

The Physiological Activities of Bark Extract of *Albizia julibrissin*

Yang Suk Lee¹, Kwang Kon Kim² and Nam Woo Kim^{1*}

¹Department of Herbal Biotechnology, Daegu Haany University, Gyeongsan 712-715, Korea

²Nam-I Pharmaceutical, Hwanam-myeon Shinhori, Yeongcheon 770-833, Korea

자귀나무(*A. julibrissin*) 수피 추출물의 생리활성

이양숙¹ · 김광곤² · 김남우^{1*}

¹대구한의대학교 한약자원학과, ²남이제약

Abstract

Three bark extracts of *Albizia julibrissin* were prepared using water (AW), 70% (v/v) ethanol (AE), and hot water (AHW). Organic solvent fractions were analyzed for total flavonoids and polyphenols, antioxidant activities, and inhibitory activities against xanthine oxidase. Total flavonoid and polyphenol contents of the AHW extract were 8.57 mg/g and 108.67 mg/g, respectively. The SOD-like activities of all extracts, assayed at 1.0 mg/mL, were 10.46-16.73%. The nitrite-scavenging ability of the AHW extract, assayed at pH 1.2, was 60.82%, and the IC₅₀ value was 770.18 µg/mL. The electron-donating ability of the AHW extract, at 0.3 mg/mL, was 92.30%; the IC₅₀ values of the AW and AHW extracts were 31.31 µg/mL and 36.22 µg/mL, respectively; thus higher than that of ascorbic acid (39.06 µg/mL). Xanthine oxidase inhibition by the AHW extract, at 1.0 mg/mL, was 94.05%. These results indicate that the AHW of *A. julibrissin* has potential as a natural antioxidant, for addition to foods and nutraceuticals.

Key words : *Albizia julibrissin* bark, hot water extract, electron donating, xanthine oxidase

서 론

생물체는 외부로부터 지속적인 자극과 에너지 생성을 위한 산화과정에서 상당량의 free radical과 활성산소(reactive oxygen species, ROS)를 생성하여 산화물질이 축적된다. 이에 대한 방어기전으로 산화억제물질을 생성하여 대부분 소멸되나 환경오염, 스트레스, 불규칙적인 식습관, 약물, 유전적 요인 등에 의해 항산화 방어계와의 균형이 깨어지면 free radical과 활성산소와 같은 산화물질이 세포막 파괴, DNA 변성, 세포노화 등을 초래하며, 이들에 의한 산화적 스트레스는 암을 비롯한 뇌질환, 동맥경화, 관절염, 자가면역질환 등 각종 생리적 장애와 노화와 관련된 여러 질환의 원인이 된다(1,2). 이러한 활성산소를 제거하기 위하여 butylated hydroxy anisole (BHA)과 butylated hydroxy toluene (BHT), PG (Propyl gallate) 등의 합성 항산화제가

개발되어 이용되고 있으나 과량 섭취 시 간비대, 체내 흡수 물질의 독성화 및 발암 가능성 등의 심각한 부작용을 나타낼 수 있는 것으로 보고되어 합성 항산화제의 사용량이 법적으로 엄격하게 규제되고 있다(3). 최근에는 민간이나 한방에서 식이가 가능하고 효능이 검증된 약용식물자원 유래의 생리활성이 우수한 기능성 물질에 대해 선진각국에서 많은 연구가 이루어지고 있으며, 일부는 의약, 농업, 정밀화학 등 여러 분야에서 실용화되고 있다(4).

자귀나무(*Albizia julibrissin* Durazz)는 콩과(Leguminosae)의 낙엽소교목으로 전국 각지에 자생한다. 작은 잎이 밤에 서로 포개진다고 하여 야합(夜合) 또는 합혼(合昏) 이라고도 하며, 6-7월경에 연한 분홍색꽃이 개화하며, 잎은 호생으로 깃꼴모양으로 나며, 9-10월에 10-15 cm 정도의 편평한 꼬투리에 5-6개의 성숙된 종자가 들어있다(5). 자귀나무의 어린 잎과 꽃은 향기가 좋아 일반채소처럼 요리하여 식용하며, 잎은 말려서 차의 대용품으로 이용되기도 하며, 꽃과 줄기는 한방에서 합환화(合歡花)와 합환피(合歡皮)라 하여 한방

*Corresponding author. E-mail : tree@dhu.ac.kr,
Phone : 82-53-819-1438, Fax : 82-53-819-1440

생약재로 사용한다. 한방에서는 독이 없으며, 성질이 평(平)하고, 단맛을 지니고 있어 간의 기가 멎쳐있는 것을 풀고 정신을 안정시키며, 혈액이 잘 소통되게 하고 통증을 없애고, 살충, 구충작용 및 종기나 상처가 부은 것을 가라앉히는 등의 효능이 있다고 하여 불면증이나 심신불안, 신경쇠약, 타박상, 근골절상 및 피부질환 치료 및 예방에 응용된다(6,7).

자귀나무의 성분에 관한 연구로는 수피에서 다양한 종류의 quercetin (8), flavonoid (9) 및 saponins (10,11) 등이 분리 동정되었으며, 잎에서는 quercitrin과 afzelin을 분리하여 이의 DPPH 라디칼 소거능을 보고하였다(12). 꽃에서 분리된 flavonol 배당체는 항우울증 효과(13)를 나타내며, 수피 추출물은 자궁수축작용(14), 항암(15), 급성림프성 백혈병 세포주의 세포사멸 유도효과(16) 및 세포주기 억제(17) 등의 활성을 나타낸다고 보고한 바 있다.

이미 효능이 검증된 유용 약용식물 자원으로부터 특정 성분을 추출하여 천연 식품보존제 등을 개발하려는 연구가 활발히 진행되고 있는 상황에서 합환피라는 약재명으로 이용 및 유통되고 있는 자귀나무 수피를 이용하여 생리활성을 지닌 기능성 식품, 식품첨가제 및 의약품의 개발과 상품화가 용이할 것으로 판단된다. 이에 본 연구에서는 약리학적인 활성을 갖는 것으로 알려져 있는 자귀나무 수피의 생리활성을 증진시키기 위한 추출방법이나 용매를 설정하고 폴리페놀과 플라보노이드 함량, SOD 유사활성, 아질산염 소거, DPPH를 이용한 전자공여 작용 및 xanthin oxidase 저해활성을 측정하였다.

재료 및 방법

실험 재료

실험 재료인 자귀나무(*A. julibrissin*) 수피는 2007년 7월 ~8월경에 경북 경산 일대의 야산에서 동정 후 채집하여 흐르는 물에 수회 세척하여 흙과 이물질을 제거하였다. 줄기는 목질부의 심피는 제거하고 수피부분만을 분리하여 0.5 cm 정도로 세절하여 열풍건조기(DR-0160, Hankwang, Siheung, Korea)를 이용하여 40°C의 조건으로 24시간 동안 충분히 건조시켜 추출시료로 사용하였다.

추출물 제조

건조하여 잘게 세절된 자귀나무 수피는 수직으로 환류 냉각관을 부착시킨 둥근 플라스크에 각 시료의 10배에 해당하는 증류수와 70% 에탄올을 넣고 각각 80°C와 60°C의 수욕상에서 3시간 동안 환류 추출하였다. 이 과정을 3회 반복하여 물 추출물(AW; *A. julibrissin* bark water extract)과 에탄올 추출물(AE; *A. julibrissin* bark ethanol extract)을 얻었으며, 압력추출기(DM-701, Daehan median, Seoul, Korea)

를 이용하여 110°C, 1.5 기압 하에서 3시간 동안 추출하여 이를 열수 추출물(AHW; *A. julibrissin* bark hot water extract under high pressure)로 하였다. 자귀나무 수피의 3가지 추출물은 filter paper (Whatman No 2, Kent, England)로 여과하고 회전감압농축(Eyela 400 series, Tokyo, Japan)한 후 동결 건조(FD 5510 SPT, Ilshin, Yangju, Korea)하여 분말로 제조하였으며, 일정 농도로 희석하여 생리활성을 측정하기 위한 시료액으로 사용하였다. 대조구는 추출물 대신 합성 항산화제인 BHA (Sigma-Aldrich Co, St Louis, MO, USA)와 천연항산화제인 L-ascorbic acid (Sigma-Aldrich Co, St Louis, MO, USA)를 추출물과 동일한 농도로 희석하여 생리활성을 비교하였다.

플라보노이드 화합물 함량

추출방법이 상이한 자귀나무 수피의 3가지 추출물에 함유된 플라보노이드 화합물의 함량을 측정하기 위하여 Nieva Moreno 등(18)의 방법을 변형하여 각 분말시료를 80% 에탄올을 용매로 일정농도로 희석하여 각각의 추출시료 0.1 mL에 10% aluminum nitrate 0.1 mL와 1 M potassium acetate 0.1 mL 그리고 80% ethanol 4.7 mL를 가하여 25°C에서 40분간 반응 후 415 nm에서 spectrophotometer (Shimadzu U-1201, Kyoto, Japan)를 이용하여 흡광도를 측정하였다. 총 플라보노이드 정량은 quercetin (Sigma-Aldrich Co, St Louis, MO, USA)을 이용하여 최종농도가 0~500 µg/mL의 농도로 위와 동일한 방법으로 측정된 표준곡선으로 각 추출물의 플라보노이드 화합물 함량을 산출하였다.

폴리페놀 화합물 함량

자귀나무 수피 추출물을 10 mg/mL 농도로 증류수에 희석하여 Folin-Denis법(19)으로 측정하였다. 일정농도로 희석된 추출시료 0.2 mL를 시험관에 취하여 10배로 희석한 후 Folin-ciocalteu's phenol reagent (Junsei Chemical Co, Tokyo, Japan) 0.2 mL를 첨가, 희석하여 실온에서 3분간 반응한 뒤, sodium carbonate 포화용액 0.4 mL를 가하여 혼합하고 증류수 1.4 mL 첨가하여 실온에서 1시간 동안 반응 후 725 nm에서 흡광도를 측정하였다. 이때 총 폴리페놀 화합물은 tannic acid (Sigma-Aldrich Co, St Louis, MO, USA)를 이용한 표준곡선으로부터 함량을 구하여 자귀나무 수피 추출물에 함유된 폴리페놀 화합물 함량을 산출하였다.

SOD 유사활성

일정 농도로 희석된 자귀나무 수피 추출물은 Marklund와 Marklund (20)의 방법으로 유해 환원 산소종을 hydrogen peroxide로 전환시키는 반응을 촉매하는 pyrogallol의 생성량을 측정하여 Superoxide dismutase (SOD; superoxide oxidoreductase EC 1.15.1.1) 유사활성능을 나타내었다. 추

추출물 시료 0.2 mL에 pH 8.5로 보정한 tris-HCl buffer 2.6 mL와 7.2 mM pyrogallol 0.2 mL를 첨가하여 25°C에서 10분간 반응시킨 후, 1 N의 hydrogen chloride 0.1 mL를 가하여 pyrogallol의 생성반응을 정지시켰다. 반응액 중 산화된 pyrogallol의 양은 spectrophotometer를 사용하여 420 nm에서 흡광도를 측정하여 자귀나무 추출시료의 첨가구와 무첨가구 사이의 흡광도 차이를 백분율(%)로 나타내었다. 대조구로는 BHA와 L-ascorbic acid를 위와 동일한 방법으로 측정하였다.

아질산염 소거

자귀나무 수피 추출물에 대한 아질산염 소거 작용은 Kato 등(21)의 방법에 따라 1 mM의 아질산염 용액 2 mL에 일정농도로 희석된 추출물 1 mL를 첨가하고, pH 1.2 (0.1 N HCl)와 pH 3.0 그리고 pH 6.0의 조건을 완충용액으로 0.2 M citrate buffer로 보정한 다음, 반응용액의 부피를 10 mL로 하여 37°C에서 1시간 동안 반응시킨 후, 각각 1 mL씩 취하여 2% acetic acid 5 mL를 첨가하였다. 그리고 griess 시약(A:B=1:1, A; 1% sulfanilic acid in 30% acetic acid, B; 1% naphthylamine in 30% acetic acid)을 0.4 mL 첨가하여 혼합한 다음, 실온에서 15분간 반응시켰다. 이 반응액을 520 nm에서 흡광도를 측정하여 잔존하는 아질산염으로 산출하였으며, griess 시약 대신 증류수 0.4 mL를 첨가한 후, 상기와 동일한 방법으로 측정하여 시료용액의 첨가구와 무첨가구 사이의 흡광도의 차이를 백분율(%)로 표시하여 아질산염 소거효과로 나타내었다. 또한 활성정도를 정확하게 파악하기 위하여 시료 무첨가구의 흡광도를 50% 감소시키는데 필요한 추출물의 농도인 IC₅₀ (µg/mL)을 구하였다. 대조구로는 BHA와 L-ascorbic acid를 위와 동일한 방법으로 측정하였다.

전자공여능

추출방법이 상이한 자귀나무 수피 추출물을 일정농도로 희석한 각 추출물의 전자공여 활성을 측정하기 위하여 변형된 Blois (22)의 방법으로 free radical인 DPPH (1,1-diphenyl- 2-picryl hydrazyl; Sigma-Aldrich Co, St Louis, MO, USA)에 대한 수소공여 효과로 평가하였다. 일정농도의 시료 2 mL에 0.2 mM DPPH 용액(dissolved in 99.9% ethyl alcohol) 1 mL 가하여 혼합하여 37°C에서 30분간 반응시켰다. 이 반응액을 spectrophotometer를 사용하여 517 nm에서 흡광도를 측정하여 DPPH radical 소거능(%)를 나타내었으며, 활성정도를 정확하게 파악하기 위하여 시료 무첨가구의 흡광도를 50% 감소시키는데 필요한 추출물의 농도인 IC₅₀ (µg/mL)을 구하였으며, 소거효과의 비교를 위하여 기존의 항산화제인 BHA와 ascorbic acid를 대조구로 위와 동일한 방법으로 측정하였다.

Xanthine oxidase 저해활성

Stirpe와 Corte (23)의 방법으로 추출조건이 상이한 자귀나무 추출물 3종류의 xanthine oxidase 저해활성은 일정농도로 희석된 추출물 0.1 mL와 0.1 M potassium phosphate buffer (pH 7.5) 0.6 mL에 xanthine 2 mM을 녹인 기질액 0.2 mL를 첨가하고 여기에 xanthine oxidase (0.2 U/mL) 0.1 mL를 가하여 25°C에서 15분간 반응시킨 후 1 N의 HCl 1 mL를 가하여 반응을 정지시켜 반응액에 생성된 uric acid를 292 nm에서 흡광도를 측정하여 추출물 첨가구와 무첨가구의 흡광도 감소율을 백분율(%)로 표시하였다. 저해효과를 정확하게 측정하기 위하여 xanthine oxidase 활성을 50% 저해하는 추출물의 농도를 IC₅₀ (µg/mL)으로 계산하였으며, BHA와 L-ascorbic acid를 대조구로 사용하여 비교하였다.

통계처리

자귀나무 수피 추출물의 생리활성을 측정한 결과는 독립적으로 3회 이상 반복 실시하여 version 17.0의 통계프로그램 SPSS (Package for Social Science, SPSS Inc., Chicago, IL, USA)를 이용하여 평균(mean) ± 표준편차(standard deviation)로 표시하였고, 각 군간의 평균치의 통계적 유의성 검정은 ANOVA test (one - way analysis of variance test)를 실시하였다. 다군간의 차이는 p<0.05 수준에서 Duncan's multiple range test로 사후 검정하였다.

결과 및 고찰

추출물 수율

자귀나무 수피를 추출온도 및 용매가 상이한 조건에서 추출하여 고형화 한 각 추출물의 수율을 측정된 결과, 물을 용매로 80°C의 조건에서 추출한 물 추출물(AW)은 5.71%였으며, 110°C에서 추출된 열수 추출물(AHW)는 6.38%의 수율을 나타내었다. 70% 에탄올을 용매로 60°C에서 추출된 자귀나무 수피의 에탄올 추출물(AE)은 6.75%로 고형분 수율이 가장 높았다.

플라보노이드 및 폴리페놀 화합물 함량

식물의 모든 부분에 존재하는 2차 대사산물 중 하나로 식물체에 특수한 색과 산화-환원반응의 기질로 작용하는 페놀화합물은 hydroxyl기를 가진 방향족 화합물로서 구조에 따라 flavonoid류(C₆-C₃-C₆), coumarin류(C₆-C₁, C₆-C₃), 그리고 탄닌류로 나뉘며, 구조에 따라 이화학적 성질 및 생리활성이 달라진다(24,25). 플라보노이드를 포함한 폴리페놀 화합물은 free radical을 제거함으로써 산화를 억제하여 활성산소의 소거 및 산화적 스트레스를 막아 항암, 항균, 항알러지, 노화방지 및 심장질환 등을 예방하거나 지연시키는 등 광범위한 약리학적 활성을 나타내어 식품, 의약품,

화장품 등 많은 분야에 활용되고 있다(26). 이에 자귀나무 수피 추출물에 함유된 플라보노이드와 폴리페놀 화합물의 함량을 측정된 결과 플라보노이드는 6.36~8.57 mg/g, 폴리페놀 화합물은 82.89~108.67 mg/g으로 AHW > AE > AW의 순으로 플라보노이드와 폴리페놀 화합물을 함유하였다.

본 결과를 일부 약용식물 추출물의 플라보노이드 함량을 측정된 Kim 등(27)은 오가피 44.04 mg/g, 인삼 5.91 mg/g, 황기에는 1.83 mg/g이며, 엉겅퀴 줄기에는 0.47 mg/g의 플라보노이드가 함유되었다는 Chung 등(28)의 결과와 비교하면 한약재로 사용되는 자귀나무 수피는 오가피 보다는 낮았으나 인삼과 황기와 비교하면 유사하거나 높은 플라보노이드 화합물을 함유하였다. 폴리페놀 화합물은 순비기나무 줄기에서 122.01~176.34 mg/g으로 열수 추출물이 가장 높으며(29), 산뽕나무 줄기의 물과 에탄올 추출물이 각각 4.14 mg/g과 5.38 mg/g이라는 Sa 등(30)의 보고와 비교하면 자귀나무 수피에 함유된 폴리페놀 화합물 함량은 순비기나무 줄기보다는 낮았으나 산뽕나무 줄기보다는 15~20배 이상 많았다. 또한 열수 추출물에서 가장 많은 폴리페놀을 함유하였다는 Joo 등(29)의 결과와 물을 용매로 추출 시 폴리페놀 화합물 추출량이 높아진다는 Sa 등(30)의 보고와 자귀나무 수피 결과와 일치하였다.

Table 1. Contents of the total flavonoid and polyphenol compounds of bark extracts of *A. julibrissin*

Extract ¹⁾	(mg/g)		
	AW	AE	AHW
Flavonoids	6.36 ± 0.27 ^{b2)}	6.84 ± 0.45 ^b	8.57 ± 0.47 ^a
Polyphenols	82.89 ± 0.19 ^c	88.67 ± 0.67 ^b	108.67 ± 0.67 ^a

¹⁾AW: *A. julibrissin* bark water extract, AE: *A. julibrissin* bark ethanol extract, AHW: *A. julibrissin* bark hot water extract under high pressure.

²⁾Result are mean ± SD of triplicate determinations. Different superscripts within a row (a-c) indicate significantly different at p<0.05 by Duncan's multiple range.

SOD 유사활성

SOD는 호기성 생물체내의 대표적 활성산소 저해효소로 관절염이나 류머티즘 등과 같은 각종 퇴행성 질병 치료를 위한 항염증 제제나 피부 노화방지를 위한 화장품의 첨가제 및 환경 스트레스에 대한 내성을 증가시킬 수 있는 효소 중 하나로 상업적으로 매우 중요한 효소이다(31). 그러나 SOD는 30 Kda 이상의 분자량이 큰 단백질로 쉽게 흡수되지 못하며, 열과 pH에 쉽게 불활성화 되어(32) 이러한 문제점을 보완할 수 있는 저분자 물질이면서, 체내에서 SOD와 유사한 작용을 나타내는 물질에 대한 연구가 활발히 진행되고 있다. 이에 superoxide의 활성을 억제시키며, 노화와도 관계가 있는 SOD 유사물질의 활성능을 pyrogallol에 대한 자동산화 반응을 이용하여 자귀나무 수피 추출물에 대해 측정된 결과는 Table 2에 나타내었다. 1.0 mg/mL의 농도에서 자귀나무 수피의 AHW는 16.73%였으며, AW는 15.76%

로 유의적 차이는 없었으며(p<0.05), AE는 10.46%로 대표적인 합성 항산화제인 BHA (100%)와 천연 항산화제인 ascorbic acid (99.77%)와 비교하여 낮은 SOD 유사활성효과를 나타내었다.

Nice 등(33)은 SOD 유사활성 물질의 대부분은 저분자의 phytochemical로 SOD와 결합된 페놀류인 것으로 보고한 바 있어 본 결과에서도 폴리페놀과 플라보노이드 함량이 가장 많은 AHW의 SOD 유사활성능이 가장 높았다. 일부 한국산 약용식물의 SOD 유사활성을 분석한 Lim 등(34)은 인진쑥 줄기 25.40%, 황백 13.80%, 마황 5.83%, 그리고 죽여는 4.37%이며, 싸리나무 줄기의 물과 에탄올 추출물이 각각 20.0%와 29.86%는 결과(35)와 비교하면 자귀나무 수피 추출물의 SOD 유사활성은 싸리나무나 인진쑥 줄기보다는 낮았으나 한약재로 사용되고 있는 마황이나 죽여 보다는 약 1.8~2.8배 높은 SOD 유사활성을 나타내었다.

Table 2. Superoxide dismutase (SOD)-like activity of bark extracts of *A. julibrissin*

Conc. (mg/mL)	Extract ¹⁾			Control ²⁾	
	AW	AE	AHW	BHA ²⁾	AsA
0.1	5.82 ± 0.00 ^{c3)}	2.58 ± 0.37 ^d	2.73 ± 0.94 ^d	99.78 ± 0.19 ^a	94.69 ± 0.52 ^b
0.3	6.18 ± 0.73 ^c	7.75 ± 0.74 ^d	9.05 ± 0.94 ^d	99.89 ± 0.19 ^a	97.52 ± 0.26 ^b
0.5	11.03 ± 0.84 ^b	8.73 ± 0.77 ^c	11.65 ± 0.57 ^b	100 ± 0.00 ^a	99.08 ± 0.20 ^a
1.0	15.76 ± 1.05 ^b	10.46 ± 0.93 ^c	16.73 ± 0.57 ^b	100 ± 0.00 ^a	99.77 ± 0.20 ^a

¹⁾Abbreviation: same as in Table 1.

²⁾BHA: Butylated hydroxy anisole, AsA: L-ascorbic acid

³⁾Result are mean ± SD of triplicate determinations. Different superscripts within a row (a-e) indicate significantly different at p<0.05 by Duncan's multiple range.

아질산염 소거

화학적 발암물질로 알려진 nitrite는 식물이나 동물 등에 존재하며, 육제품이나 수산가공품 등의 첨가제로도 사용되며, 단백질 식품이나 의약품 및 잔류농약 등에 존재하는 amine류와 반응하여 nitrosamine을 생성, 발암물질로 작용한다(36). 아질산염 소거는 pH 의존성이 높아 낮은 pH에서 소거능이 증가하고 중성에 가까울수록 소거능이 낮아지는 것으로 알려져 있으며(37), 식품에 함유된 phenolic guaiacol, resorcinol 등의 phenol계 물질들이 nitro화 반응을 강력하게 억제한다는 사실이 보고되어 있다(38). 이에 nitrosamine 생성 저해효과를 알아보기 위하여 상이한 pH 조건과 농도에서 자귀나무 수피의 3가지 추출물에 대한 아질산염 소거효과를 측정하였다(Table 3).

pH 1.2의 1.0 mg/mL의 농도에서 49.86~60.82%로 대조군인 BHA (72.16%)와 ascorbic acid (97.40%)보다는 낮았으나 자귀나무 수피의 열수 추출물(AHW)과 에탄올 추출물(AE)에서 약 60%의 소거효과를 나타내었다. 이것을 50%의 아질산염 소거능을 나타내는 IC₅₀을 나타낸 결과 AHW

Table 3. Nitrite scavenging ability of bark extracts of *A. julibrissin* under different pH conditions

Conc. (mg/mL)		Extract ¹⁾			Control ²⁾	
		AW	AE	AHW	BHA	AsA
pH 1.2	0.1	7.27 ± 0.95 ^{c3)}	8.21 ± 0.53 ^{bc}	9.91 ± 0.51 ^b	4.84 ± 1.23 ^d	25.45 ± 0.21 ^a
	0.3	18.71 ± 0.60 ^e	21.82 ± 0.36 ^d	25.71 ± 0.83 ^c	49.01 ± 1.30 ^b	77.87 ± 0.51 ^a
	0.5	27.09 ± 0.79 ^e	34.80 ± 0.36 ^d	37.28 ± 0.54 ^c	61.09 ± 0.25 ^b	92.95 ± 0.39 ^a
	1.0	49.86 ± 0.50 ^e	59.27 ± 0.10 ^d	60.82 ± 0.10 ^c	72.16 ± 1.07 ^b	97.40 ± 0.28 ^a
pH 3.0	0.1	6.42 ± 0.60 ^c	11.29 ± 0.26 ^b	6.99 ± 0.77 ^c	NA ⁴⁾	31.46 ± 0.59 ^a
	0.3	14.04 ± 0.60 ^d	20.52 ± 0.75 ^b	17.09 ± 0.54 ^c	6.46 ± 0.71 ^e	55.07 ± 0.61 ^a
	0.5	21.27 ± 0.20 ^d	29.24 ± 0.10 ^b	25.43 ± 0.51 ^c	8.46 ± 1.08 ^c	67.93 ± 0.41 ^a
	1.0	33.54 ± 0.50 ^d	41.91 ± 0.10 ^b	39.29 ± 0.37 ^c	10.81 ± 0.89 ^e	83.85 ± 0.45 ^a
pH 6.0	0.1	2.01 ± 0.91 ^b	0.31 ± 0.16 ^d	0.73 ± 0.27 ^{cd}	NA	3.17 ± 0.32 ^a
	0.3	3.01 ± 0.38 ^c	4.46 ± 0.18 ^b	1.05 ± 0.16 ^d	0.64 ± 0.27 ^d	13.32 ± 0.64 ^a
	0.5	3.81 ± 0.87 ^c	5.14 ± 0.79 ^b	2.04 ± 0.39 ^d	3.25 ± 0.36 ^c	26.89 ± 0.72 ^a
	1.0	4.26 ± 0.23 ^c	6.61 ± 0.96 ^b	4.64 ± 0.16 ^c	6.97 ± 0.63 ^b	42.41 ± 0.38 ^a

^{1,2)} Abbreviation: same as in Table 1 and 2.

³⁾ Result are mean ± SD of triplicate determinations. Different superscripts within a row (a-e) indicate significantly different at p<0.05 by Duncan's multiple range.

⁴⁾ NA is not activated

770.18 µg/mL > AE 810.58 µg/mL > AW 1,020.35 µg/mL 이었으며, 대조군인 BHA 324.59 µg/mL, ascorbic acid 146.83 µg/mL이었다(Fig. 1). pH 3.0에서는 AE와 AHW가 각각 41.91%와 39.29%였으며, AW는 33.54%로 ascorbic acid (83.85%)보다는 낮았으나 BHA (10.81%)보다는 3배 이상 높은 아질산염 소거효과를 보였으며, pH 6.0에서는 AE에서 6.61%의 소거율을 나타내었다. 자귀나무 수피의 추출물과 대조군에서 pH가 낮을수록, 추출물의 농도가 높을수록 아질산염 소거능은 증가하였다.

자귀나무 수피의 실험결과를 순비기나무 줄기 추출물은 pH 1.2의 조건에서 84.61%~88.36%이며, pH 3.0에서는 25.83%~30.24%의 아질산염 소거활성을 나타내었다는 Joo 등(29)의 결과보다 pH 1.2의 조건에서는 자귀나무 수피

추출물의 소거율이 낮았으나 pH 3.0의 조건에서는 약 10% 높은 소거율을 나타내었다. 또한 조릿대 줄기의 물과 에탄올 추출물이 5,000 µg/mL의 농도에서 33.42%와 25.43%의 소거율을 나타내었다는 보고(39)와, 목향의 hexane 분획물이 1,000 µg/mL의 농도에서 42%이며, 에틸에테르 분획물은 28.09%라는 결과(40)와 비교하면 자귀나무 수피 추출물은 구릿대 줄기보다 낮은 농도에서 높은 아질산염 소거활성 나타내었으며, 목향 분획물과 비교하여도 우수한 아질산염 소거율을 나타내었다.

전자공여능

안정된 free radical을 갖는 화합물인 DPPH를 이용하여 전자공여능을 0.01~0.3 mg/mL의 농도에서 측정 한 결과는 Fig. 2와 같이 AHW가 0.3 mg/mL의 농도에서 92.30%로 가장 우수한 전자공여활성을 나타내었으며, 0.05 mg/mL에서도 AW와 AHW는 각각 74.01%와 65.71%의 활성을 나타내었다. 자귀나무 수피 추출물은 모든 농도에서 대조군인 BHA보다는 낮았으나 AW와 AHW는 천연 항산화제로 많이 사용되고 있는 ascorbic acid보다 높은 활성을 보였다. IC₅₀의 농도를 측정한 결과 BHA 13.73 µg/mL > AW 31.31 µg/mL > AHW 36.22 µg/mL > ascorbic acid 39.10 µg/mL > AE 75.51 µg/mL의 순으로 대조군인 BHA 보다는 약 2.3~5.5배 높은 농도에서 50%의 활성을 나타내었으나 낮았으나 AW와 AHW는 ascorbic acid보다 낮은 농도에서도 50%의 전자공여능을 나타내었다.

일부 수피류 한약재 추출물의 전자공여효과를 측정 한 Nam과 Kang(41)은 오갈피 나무 줄기에서 약 80%의 활성을

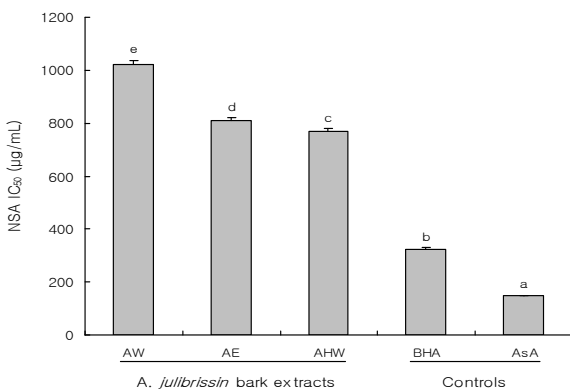


Fig. 1. IC₅₀ concentration of nitrite scavenging ability of bark extracts of *A. julibrissin* bark under pH 1.2.

Abbreviations are the same as in Table 1 and 2. Means with different letters are significantly different at p<0.05 by Duncan's multiple range.

나타내며, 육계 83%, 정향피 70%, 지골피 69% 그리고 목단 피에서는 54%라는 결과와 비교하면 자귀나무 수피의 전자공여능이 유사하거나 높은 활성을 나타내었다. Kang 등(42)은 phenolic acid와 flavonoid 및 기타 phenolic 화합물의 함량이 높을수록 전자공여 활성이 우수하다고 보고한 바 있어 본 실험에서도 플라보노이드와 폴리페놀 화합물의 함량이 가장 많은 열수 추출물(AHW)에서 가장 우수한 전자공여 효과를 나타내어 Kang 등(42)의 결과와 일치하였다.

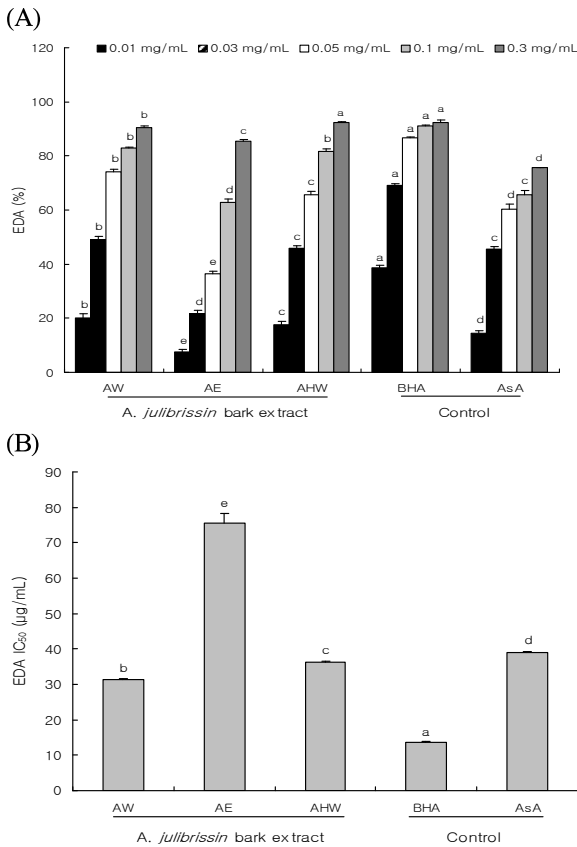


Fig. 2. Electron donation ability (A) and IC₅₀ concentration of bark extracts of *A. julibrissin*.

Abbreviation is See Table 1 and 2. Means with different letters are significantly different at p<0.05 by Duncan's multiple range.

Xanthine oxidase 저해활성

Xanthine oxidase (XO)는 주로 purine 대사에 관여하는 효소로써 xanthine 또는 hypoxanthine으로부터 uric acid를 형성하며 이것이 생체내 축적되면 통풍을 일으키고 free radical을 생성하기도 하므로 XO 저해는 항산화, 노화 및 항암 등 생물학적으로 중요한 효소이다(43).

자귀나무 수피의 3가지 추출물에 대한 XO 저해효과를 측정된 결과는 Fig. 3과 같다. 1.0 mg/mL의 농도에서 83.33~94.05%로 열수 추출물인 AHW가 가장 우수한 저해활성을 나타내었으며, 50%의 XO 저해효과를 나타낸 IC₅₀은 대조군인 BHA (53.54 µg/mL)와 ascorbic acid (45.25 µg/mL)보

다는 낮았으나 열수 추출물인 AHW가 127.78 µg/mL, 에탄올 추출물인 AE는 159.63 µg/mL, 물 추출물인 AW는 185.49 µg/mL이었다. Hayashi 등(44)과 Hatano 등(45)은 flavonoid 화합물이 경쟁적으로 XO의 활성을 저해하며, hydroxyl기의 위치 및 방향족 hydroxyl의 수에 따라 XO 저해율에 차이가 있다고 하여, 본 실험에서도 flavonoid 화합물의 함량이 가장 많은 AHW에서 가장 높은 XO 저해율과 IC₅₀을 나타내었다. Joo 등(29)은 순비기나무 줄기 추출물이 약 95%의 XO 저해율을 나타내며, 싸리나무의 물과 에탄올 추출물이 79~87%라는 결과(35)와 비교하여 자귀나무 수피 추출물은 순비기나무 저해율과 유사하거나 낮았으나 싸리나무보다는 높은 XO 저해효과를 나타내었다.

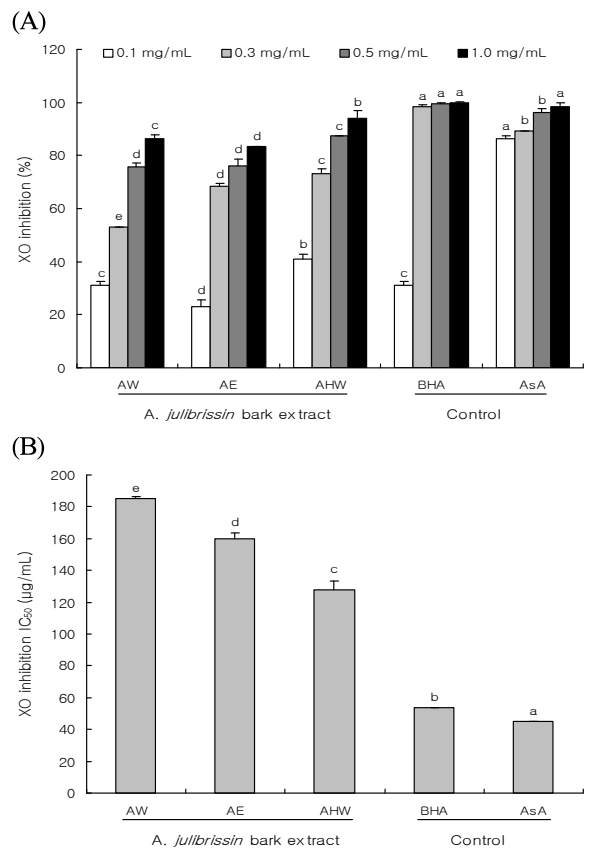


Fig. 3. Inhibition effects on xanthine oxidase (A) and IC₅₀ concentration (B) of bark extracts of *A. julibrissin* and controls.

Abbreviation is See Table 1 and 2. Means with different letters are significantly different at p<0.05 by Duncan's multiple range.

요 약

한방생약재로 사용되고 있는 자귀나무 수피를 천연 항산화제 및 기능성 식품이나 제품을 개발하기 위한 연구의 일환으로 자귀나무 수피를 물용매로 80°C와 110°C의 고온에서 추출된 물 추출물(AW)과 열수 추출물(AHW) 그리고 70% 에탄올을 용매로 60°C에서 추출된 에탄올 추출물

(AE)에 대한 생리활성 물질의 함량과 효과를 측정하였다. 자귀나무 수피의 열수 추출물인 AHW에서 가장 많은 8.57 mg/g의 플라보노이드와 108.67 mg/g의 폴리페놀 화합물을 함유하였다. SOD 유사활성은 1.0 mg/mL의 농도에서 10.46~16.73%였으며, 아질산염 소거능은 pH 1.2의 조건에서 49.86~60.82%로 AHW에서 가장 높은 소거효과를 보였으며 IC₅₀은 770.18 µg/mL였다. DPPH를 이용한 전자공여능 측정 결과에서는 0.3 mg/mL의 농도에서 AHW가 92.30%로 가장 우수한 활성을 보였으나, IC₅₀은 AW (31.31 µg/mL)와 AHW (36.22 µg/mL)가 ascorbic acid (39.10 µg/mL)보다 낮은 농도에서 50%의 전자공여능을 나타내었다. XO에 대한 저해효과를 측정한 결과에서도 AHW가 94.05%의 저해율과 127.78 µg/mL의 IC₅₀ 농도를 나타내었다. 이상의 결과 합환피 한약재명으로 사용되고 자귀나무 수피는 물을 용매로 110°C에서 추출된 열수 추출물(AHW)이 세가지 추출물 중 가장 많은 플라보노이드와 폴리페놀 화합물을 함유하며, 생리활성 효과에서도 우수하며 특히 전자공여능은 낮은 농도에서도 ascorbic acid보다 높은 활성을 나타내어 자귀나무 수피는 천연 생리활성 물질로서 식품과 기능성 제품에 활용 가능성이 있는 약용식물자원으로 생각된다.

참고문헌

- Freeman BA, Grapo JD (1982) Biology of disease; free radicals and tissue injury. *Lab Invest*, 47, 412-426
- Bauer G (2000) Reactive oxygen and nitrogen species: Efficient, selective and interactive signals during intercellular induction of apoptosis. *Anticancer Res*, 20, 4115-4139
- Branen AL (1975) Toxicological and biochemistry of butylated hydroxyanisole and butylated hydroxytoluene. *J Am Oil Chem Soc*, 52, 59-65
- Kinsella JE, Frankel E, German B, Kanner J (1993) Possible mechanism for the protective role of antioxidants in wine and plant foods. *Food Technol*, 47, 85-89
- Lee TB (1993) Illustrated flora of Korea. 5th ed, Hyangmoonsa, Seoul, Korea, p 580
- Kim TJ (1996) Korean resources plants Part II. Seoul National University Press, Seoul, Korea, p 194-195
- Zhu YP (1998) Chinese materia medica chemistry, pharmacology and applications. Harwood Academic Publishers, Netherlands, p 519-520
- Kaneta M, Hikichi H, Endo S, Sugiyama N (1980) Identification of flavones in sixteen Leguminosae species. *Agric Biol Chem*, 44, 1407-1411
- Chamsuksai P, Choi JS, Woo WS (1981) 3',4',7-trihydroxyflavone in *Albizia julibrissin*. *Arch Pharm Res*, 4, 129-133
- Ikeda T, Fujiwara S, Araki K, Kimjo J, Nohara T, Ida Y, Shoji J, Singu T, Isobe R, Kajimoto T (1992) Three new triterpenoidal saponins acetylated with monoterpene acid from *Albizia Cortex*. *Bull Chem Soc Japan*, 68, 3483-3490
- Chen SP, Zhang RY (1997) Studies on the triterpene saponogenine from *Albizia Cortex*. *Acta Pharmaceutica Sinica*, 32, 144-147
- Jang KG, Oh HC, Ko EK, Kang KH, Park SE (2002) Free radical scavengers from the leaves of *Albizia julibrissin*. *Kor J Pharmacogn*, 33, 18-20
- Kang TH, Jeong SJ, Kim NY, Higuchi R, Kim YC (2000) Sedative activity of two flavonol glycosides isolated from the flowers of *Albizia julibrissin* Durazz. *J Ethnopharmacology*, 71, 321-323
- Woo WS, Kang SS (1984). Isolation of a new monoterpene conjugated triterpenoid from the stem bark of *Albizia julibrissin*. *J Nat Prod*, 47, 547-549
- Choi BD, Ryeom K (1999) Cytotoxicity of the components of *Albizia julibrissin*. *J Appl Pharmacol*, 7, 371-376
- Hwang SG, Kim CJ, Kim YI, Ju SM, Kim WS, Jeon BH (2001) Effect of the water extract of *Albizia julibrissin* on apoptotic cell death in the human leukemic Jurket T cell line. *Yakhak Hoeji*, 45, 730-738
- Hwang SG, Lee HC, Kim DG, Woo GA, Jeon BH (2002) Effect of the water extract of *Albizia julibrissin* on cell cycle progression in the human leukemic Jurket cells. *Kor J Pharmacogn*, 33, 29-34
- Nieva-Moreno MIN, Isla MI, Sampietro AR, Vattuone MA (2000) Comparison of the free radical-scavenging activity of propolis from several regions of Argentina. *J Ethnopharmacology*, 71, 109-114
- AOAC (2005) Official Method of Analysis. 18th ed, Association of Official Analytical Chemists, Washington DC, USA, Vol 45, p 21-22
- 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
- Kato H, Lee IE, Chuyen NV, Kim SB, Hayase F (1987) Inhibition of nitrosamine formation by nondialyzable melanoidins. *Agric Biol Chem*, 51, 1333-1338
- Blois MS (1958) Antioxidant determination by the use of a stable free radical. *Nature*, 181, 1199-1200
- Stirpe F, Corte ED (1969) The regulation of rat liver

- xanthine oxidase. J Biol Chem, 244, 3855-3861
24. Lee JH, Lee, SR (1994) Analysis of phenolic substances content on Korea plant foods. Korean J Food Sci Technol, 26, 310-316
 25. Ivor ED (2000) Antioxidant polyphenols in tea, cociam and wine. Nutrition, 16, 682-694
 26. Hertog MGL, Hollman PCH, Katan MB (1992) Content of potentially anticarcinogenic flavonoids of 28 vegetables and 9 fruits commonly consumed in the Netherlands. J Agric Food Chem, 40, 2379-2383
 27. 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
 28. Chung MS, Um HJ, Kim CK, Kim GH (2007) Development of functional tea product using *Cirsium japonicum*. Korean J Food Culture, 22, 261-265
 29. Joo EY, Lee YS, Kim NW (2007) Polyphenol compound contents and physiological activities in various extracts of the *Vitex rotundifolia* stems. J Korean Soc Food Sci Nutr, 36, 813-818
 30. Sa JH, Jin YS, Shin IC, Shim TH, Wang MH (2004) Photoprotective effect and antioxidative activity from different organs of *Morus bombycis* Koidzumi. Kor J Pharmacogn, 35, 207-214
 31. Donnelly JK, McLellan KM, Walker JK, Robinson DS (1989) Superoxide dismutase in foods. A Review. Food Chem, 33, 243-270
 32. Walker JL, McLellan KM, Robinson DS (1989) Heat stability of superoxide dismutase in cabbage. Food Chem, 23, 245-256
 33. Nice DJ, Robinson DS, Jolden MA (1995) Characterization of a heat-stable antioxidant co-purified with the superoxide dismutase activity from dried peas. Food Chem, 52, 393-397
 34. 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
 35. Lee YS, Koo EY, Kim NW (2006) Polyphenol contents and physiological activity of the *Lespedeza bicolor* extracts. Korean J Food Preserv, 13, 616-622
 36. Tannenbaum SR, Sinskey AJ, Weisman M (1974) Nitrite in human saliva; Its possible relation to nitrosamine formation. J Nat Cancer Inst, 53, 79-84
 37. Leaf CD, Vecchio AJ, Roe DA, Hotchkiss JH (1987) Influence of ascorbic acid dose on N-nitrosoproline formation in humans. Carcinogenesis, 8, 791-795
 38. Cooney RV, Ross PD (1987) N-nitrosation and N-nitration of morpholine by nitrogen dioxide in aqueous solution: Effect of vanillin and related phenols. J Agric Food Chem, 35, 789-793
 39. Ko MS (2008) Chemical components in stalks and leaves of *Sasa borealis* Makino and antioxidative and antimicrobial activities of extracts. Korean J Food Preserv, 15, 125-132
 40. Song JW, Min KJ, Cha CG (2008) Antioxidative and antitumor activity of extracts from *Saussurea lappa*. J Env Health Sci, 34, 55-61
 41. Nam SH, Kang MY (2000). Screening of antioxidative activity of hot water extracts from medicinal plants. J Korean Soc Agric Chem Biotechnol, 43, 141-147
 42. 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
 43. Storch I, Ferber E (1988) Detergent-amplified chemiluminescence of lucigenin for determination of superoxide amino production by NADPH oxidase and xanthine oxidase. Anal Biochem, 169, 262-267
 44. Hayashi T, Sawa K, Morita M (1988) Inhibition of Cow's milk xanthine oxidase by flavonoids. J Nat Prod, 51, 345-348
 45. Hatano T, Yasuhara T, Yoshihara R, Okuda T (1991) Inhibitory effects of galloylated flavonoids on xanthine oxidase. Planta Medica, 57, 83-86