

비수리(*Lespedeza cuneata* G. Don) 메탄올 추출물로부터 분획된 용매분획물의 항산화활성과 α -Glucosidase 저해활성

김현영¹ · 고지연¹ · 송석보¹ · 김정인¹ · 서혜인¹ · 이재생¹ · 광도연¹ ·
정태욱¹ · 김기영¹ · 오인석¹ · 정현상² · 우관식^{1*}

¹농촌진흥청 국립식량과학원 기능성작물부
²충북대학교 식품공학과

Antioxidant and α -Glucosidase Inhibition Activities of Solvent Fractions from Methanolic Extract of *Sericea Lespedeza* (*Lespedeza cuneata* G. Don)

Hyun Young Kim¹, Jee Yeon Ko¹, Seuk Bo Song¹, Jung In Kim¹, Hye In Seo¹, Jae Saeng Lee¹,
Do Yeon Kwak¹, Tae Wook Jung¹, Ki Young Kim¹, In Seok Oh¹,
Heon Sang Jeong¹, and Koan Sik Woo^{1*}

¹Dept. of Functional Crop, National Institute of Crop Science, Rural Development Administration,
Gyeongnam 627-803, Korea

²Dept. of Food Science and Technology, Chungbuk National University, Chungbuk 361-763, Korea

Abstract

The purpose of this study was to evaluate the antioxidant contents and antioxidant activities of solvent fractions from methanolic extract of sericea lespedeza. To determine the antioxidant compounds in solvent fractions from methanolic extract, total polyphenolic, flavonoid, tannin, and proanthocyanidin contents were measured by spectrophotometric methods. Solvent fractions were evaluated for antioxidative capacity according to DPPH and ABTS radical scavenging activities. Total polyphenolic contents were 12.44, 3.61, 6.39, 27.11, 20.00, and 9.32 mg gallic acid equivalent (GAE)/g extract residue (ER), respectively. Total flavonoid contents were 2.94, 9.92, 7.77, 9.27, 5.11, and 2.66 mg catechin equivalent (CE)/g ER, respectively. Total tannin contents were 8.75, 10.04, 7.42, 17.32, 11.65, and 7.61 mg tannic acid equivalent (TAE)/g ER, respectively. Total proanthocyanidin contents were 346.09, 63.50, 103.76, 288.62, 231.99, and 358.48 μ g CE/g ER, respectively. DPPH radical scavenging activities of solvent fractions from methanolic extract of sericea lespedeza were 20.62, 5.16, 9.29, 20.80, 20.00 and 20.79 mg Trolox equivalent (TE)/g ER, and ABTS radical scavenging activities were 33.86, 9.24, 17.36, 33.76, 33.49, and 33.86 mg TE/g ER, respectively. SOD-like activities were 4.12, 0.61, 2.01, 9.89, 13.47, and 11.82 units/mL, and α -glucosidase inhibition activities were 93.85 and 61.64% at concentrations of 50 and 25 μ g/mL in the water fraction, respectively. The results of this study show that notable antioxidant activities in sericea lespedeza have significant health benefits.

Key words: sericea lespedeza (*Lespedeza cuneata* G. Don), polyphenol, proanthocyanidin, antioxidant activity, superoxide dismutase-like activity

서 론

최근 식생활의 서구화로 현대인의 영양 상태는 매우 향상되었으나 비만, 당뇨, 고혈압 등 생활습관병이 날로 증가하는 추세이며, 이러한 질환의 예방과 치료에 대한 연구가 많이 진행되고 있고 특히 천연물 재료를 이용한 예방 및 치료제 개발 연구가 많이 진행되고 있다(1). 또한 인간의 노화에 대해 많은 연구가 진행되고 있지만, 다양한 현상과 복합적인 특징으로 인해 아직 정확한 기전은 규명되지 못하고 있다(2). 다만 최근의 현상학적 연구를 통해 노화와 노화 관련

각종 퇴행성질환 및 생활습관성질환이 사회적 문제가 되고 있으며, 그 원인이 활성산소에 기인한 것으로 알려져 있으며, superoxide, nitric oxide, nitrogen dioxide, hydroxyl, peroxynitrite 등과 같은 활성산소 종들은 인간의 대사과정 중에 끊임없이 발생되어 노화 및 관련 질병의 주요 인자로 작용하고 있다(3). 이런 활성산소의 독성을 억제하기 위한 항산화 활성 물질로서 아스코르빈산, 토코페롤, 카로티노이드, 플라보노이드, 탄닌 등의 천연 항산화제와 함께 butylated hydroxy anisol(BHA) 및 butylated hydroxy toluene (BHT) 등의 합성 항산화제가 개발되었으며, 천연 항산화제

*Corresponding author. E-mail: wooks@korea.kr
Phone: 82-55-320-1269, Fax: 82-55-352-3059

들은 항산화력이 비교적 낮고 합성 항산화제의 경우는 생체 효소 및 지방의 변이원성 및 독성으로 인체에 암을 유발할 수 있다는 보고가 있어(4), 보다 안전하고 강한 항산화제의 개발이 요구되고 있는 실정이다. 따라서 최근에는 각종 생약 추출물 등에서 보다 안전하고 항산화효과가 뛰어난 천연 항산화제를 개발하기 위한 많은 연구가 활발히 이루어지고 있다(5).

비수리(*Lespedeza cuneata* G. Don)는 콩과(Leguminosae)의 여러해살이 초본성 아관목으로 야관문, 삼엽초 등의 여러 가지 이름으로 불린다(6). 우리나라 전국의 산야에 분포하며, 중국, 일본, 대만, 인도 등지에도 분포하고 있다(7). 농업 분야에서는 절개 사면의 지피식물이나 지력증진, 녹화용 식물로 연구되고 있다(2). 예로부터 민간에서는 간과 콩팥의 기능을 보호해 주고, 폐를 강화시키므로 해수, 천식, 유방염, 종기, 시력 강화 작용에 뛰어난 효과가 있다고 알려져 있다(8-10). 지금까지 비수리에 관한 연구로서는 종자의 열수 및 에탄올 추출물의 항산화활성과 미네랄, 아미노산, 비타민 분석이 보고되었으며, 잎 추출물에는 C-glycosyl-flavone 화합물인 isorientin, isovitexin 등과 quercetin, kaempferol, vitexin, avicularin, juglanin 등이 보고되어 있다(1,2). 또한 비수리 추출물의 피부 상재균에 대한 항균작용과 항산화활성, tyrosinase 저해 효과 등에 관한 연구가 보고되어 있다(7,11,12). 이에 본 연구에서는 예로부터 약용 또는 식용으로 사용되어온 비수리의 식품학적 활용으로 이용가능성을 확인하기 위해 비수리 지상부를 메탄올 추출물로부터 분획된 용매분획물의 항산화성분 및 항산화활성, superoxide dismutase 유사활성, α -glucosidase 저해활성 등에 대해 검토하였다.

재료 및 방법

메탄올 추출물 및 용매분획물 제조

본 실험에 사용한 비수리는 경남 밀양의 하천 둑에서 자생하는 것을 2010년 9월 중순경에 지상부만을 채취하여 동결 건조한 후 분쇄하여 -20°C 에 보관하면서 실험에 사용하였다. 비수리 메탄올 추출물 및 용매분획물 제조는 비수리 건조 분말 1 kg에 100% 메탄올 10 L를 가하여 24시간씩 3회 진탕추출(SK-71 Shaker, JEIO Tech, Kimpo, Korea)한 다음 추출액을 여과한 후 회전진공농축기(EYELA N-1000, Tokyo Rikakikai Co., Tokyo, Japan)를 이용하여 35°C 에서 용매를 완전히 제거한 후 동결건조 하여 추출수율을 측정하였으며, 동결건조물 일정량을 취하여 증류수 1 L로 재용해하여 hexane(1 L×3회), chloroform(1 L×3회), ethyl acetate(1 L×3회)와 butanol(1 L×3회)을 순차적으로 가하여 분획물을 얻었고 최종 남은 용액을 물 분획물이라 칭하였으며, 이 분획물들은 감압농축한 후 동결건조 하여 -20°C 에 보관하면서 실험에 사용하였다. 농축 및 건조된 추출물 및 용매

분획물은 DMSO(Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA)에 녹여 성분 및 활성 분석용 시료로 사용하였다.

총 polyphenol, flavonoid 및 tannin 함량 분석

비수리 메탄올 추출물로부터 분획된 용매분획물에 대한 총 polyphenol 함량은 Folin-Ciocalteu phenol reagent가 추출물의 폴리페놀성 화합물에 의해 환원된 결과 몰리브덴 청색으로 발색하는 것을 원리로 분석하였다(13). 각 추출물 50 μL 에 2% Na_2CO_3 용액 1 mL를 가한 후 3분간 방치하여 50% Folin-Ciocalteu reagent(Sigma-Aldrich) 50 μL 를 가하였다. 30분 후 반응액의 흡광도 값을 750 nm에서 측정하였고 표준물질인 gallic acid(Sigma-Aldrich)를 사용하여 검량선을 작성하였고 회귀식은 $y=0.0031x$ ($R^2=0.9941$)로 나타났으며, g중의 mg gallic acid equivalent(GAE, dry basis)로 나타내었다. 총 flavonoid 함량은 Dewanto 등(13)의 방법에 따라 추출물 250 μL 에 증류수 1 mL와 5% NaNO_2 75 μL 를 가한 다음, 5분 후 10% $\text{AlCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 150 μL 를 가하여 6분간 방치하고 1 N NaOH 500 μL 를 가하였다. 11분 후, 반응액의 흡광도 값을 510 nm에서 측정하였다. 표준물질인 (+)-catechin(Sigma-Aldrich)을 사용하여 검량선을 작성하였고 회귀식은 $y=0.0044x$ ($R^2=0.9962$)로 나타났으며, 시료 g중의 mg catechin equivalent(CE, dry basis)로 나타내었다. 총 tannin 함량은 Duval과 Shetty(14)의 방법에 따라 측정하였다. 즉, 시료 용액 1 mL에 95% ethanol 1 mL와 증류수 1 mL를 가하여 잘 흔들어 주고 5% Na_2CO_3 용액 1 mL와 1 N Folin-Ciocalteu reagent(Sigma-Aldrich) 0.5 mL를 가한 후 실온에서 60분간 발색시킨 다음 725 nm에서 흡광도를 측정하였으며, tannic acid(Sigma-Aldrich)를 표준물질로 검량선($y=0.0107x$, $R^2=0.9996$)을 작성하여 시료 g중의 mg tannic acid equivalent(TAE, dry basis)로 나타내었다. 총 proanthocyanidin의 함량은 vanillin-sulfuric acid법(15)을 변형하여 측정하였다. 추출시료 10 mg에 메탄올 1 mL를 가하여 교반한 후 1%(w/v) 바닐린/메탄올을 2 mL 첨가하여 교반하였다. 여기에 25%(v/v) 황산/메탄올을 2 mL 첨가하고 교반하여 30°C 에서 15분간 진탕하고 메탄올 1 mL를 첨가하여 교반하였다. 4,000 rpm으로 10분간 원심분리 하고 상등액을 취하여 500 nm에서 흡광도를 측정하였으며, (+)-catechin(Sigma-Aldrich)을 표준물질로 검량선을 작성하여 추출물 g당 μg catechin equivalent(CE, dry basis)로 나타내었다.

DPPH 및 ABTS radical 소거활성 측정

비수리 메탄올 추출물로부터 분획된 용매분획물의 DPPH 및 ABTS radical 소거활성은 Choi 등(16)의 방법을 변형하여 측정하였다. DPPH radical 소거활성은 전자공여능(Electron donating ability, EDA)을 측정하여 표준물질로서 Trolox(Sigma-Aldrich)를 동량 첨가하여 g당 TE(Trolox equivalent)로 표현하였다. 즉, 시료 0.2 mL에 0.2 mM DPPH(Sigma-Aldrich) 용액(99% methanol에 용해) 0.8 mL를 가

한 후, vortex mixer로 10초간 진탕하고 30분 후에 525 nm에서 흡광도를 측정하였다. 흡광도를 측정할 때 셀에 분주되는 각 시료에 의한 흡광도의 차이는 용해한 용매만의 흡광도를 측정하여 보정해 주었다. ABTS radical 소거활성은 7.4 mM 2,2'-azino-bis-3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid (ABTS, Sigma-Aldrich)와 2.6 mM potassium persulphate(Sigma-Aldrich)를 혼합하고 하루 동안 암소에 방치하여 ABTS 양이온을 형성시킨 후 이 용액을 734 nm에서 흡광도 값이 1.0이 되도록 몰 흡광계수($\epsilon=3.6 \times 10^4 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$)를 이용하여 메탄올로 희석하였다. 희석된 ABTS용액 1 mL에 추출액 20 μL 를 가하여 흡광도의 변화를 정확히 30분 후에 측정하였으며, 표준물질로서 Trolox를 동량 첨가하였고 총 항산화력은 g당 TE로 표현하였다.

Superoxide dismutase(SOD) 유사활성 측정

비수리 메탄올 추출물로부터 분획된 용매분획물의 SOD 유사활성은 Cayman Chemical kit(Cayman Chemical Co., Ann Arbor, MI, USA)를 이용하여 분석하였다. 먼저 standard well에는 radical detector 200 μL 와 SOD standard 10 μL 를 첨가하고 sample well에는 radical detector 200 μL 와 sample 10 μL 를 첨가하였다. 모든 well에 xanthine oxidase 20 μL 를 첨가한 후 cover를 덮고 혼합하여 20분 후 cover를 제거하고 450 nm에서 흡광도를 측정하여, superoxide radical을 50% dismutation 하는데 필요한 SOD양을 1 unit로 하여 활성 정도를 추출물 1 mL 단위로 나타내었다.

α -Glucosidase 저해활성 측정

비수리 메탄올 추출물로부터 분획된 용매분획물의 α -glucosidase 저해활성은 Tibbot와 Skadsen(17)의 방법에 따라 각 농도별 추출물 50 μL 를 0.35 unit/mL α -glucosidase (Sigma-Aldrich) 효소액 100 μL 와 혼합하여 37°C에서 10분간 전배양한 후 1.5 mM pNPG(*p*-nitrophenyl- α -glucopyranoside, Sigma-Aldrich) 50 μL 를 가하여 37°C에서 20분간 반응시켰다. 그 후, 1 M sodium carbonate 1,000 μL 로 반응을 정지시키고 405 nm에서 흡광도를 측정하였으며, 대조군에 대한 흡광도 감소 정도를 백분율로 표현하였다.

통계분석

모든 데이터는 3회 반복 측정하였으며, 통계분석은 SAS version 9.2(Statistical Analysis System, SAS Institute, Cary, NC, USA) program을 이용하여 각 측정 군의 평균과 표준편차를 산출하고 Duncan's multiple range test를 이용하여 유의성을 검정하였다.

결과 및 고찰

비수리 메탄올 추출물로부터 분획된 용매분획물의 항산화 성분 함량

페놀성 화합물은 식물계에 널리 분포되어 있는 물질로 다

양한 구조와 분자량을 가지며 페놀성 화합물의 phenolic hydroxyl기가 단백질과 같은 거대분자와의 결합을 통해 항산화, 항암 및 항균 등의 생리기능을 가지는 것으로 알려져 있다(18). 항산화 물질 중 polyphenolic 화합물들은 우수한 항산화력을 가지는 것으로 알려져 있으며, 이는 free radical을 안정화시킬 수 있는 phenolic ring의 존재 때문인 것으로 보고되었다(19). 또한 flavonoid는 주로 anthocyanidins, flavonols, flavones, catechins 및 flavanones 등으로 구성되어 있으며, 그 구조에 따라 특정 flavonoid는 항산화 및 항균성 등 다양한 생리활성을 갖고 있는 것으로 보고되고 있다(19). 항산화활성 측정에 있어 추출물의 수율은 중요한 요소로 작용하며, 항산화성분의 추출은 용매에 대한 용해도 차이로 인해 차이가 있을 수 있다(20). Zieliński와 Kozłowska(21)는 메탄올을 사용하였을 경우 그 추출물의 높은 항산화활성과 항산화성분 함량을 보고하여 본 연구에서 메탄올을 추출용매로 사용하였다. 비수리 지상부를 100% 메탄올로 추출한 후 농축 및 동결건조 하여 추출 수율을 측정된 결과 19.52%(dry basis)로 나타났다. 메탄올 추출물을 hexane, chloroform, ethyl acetate 및 butanol 분획물과 최종 남은 물 분획물을 농축 및 동결건조 하여 수율을 측정할 결과 각각 3.85, 21.00, 6.73, 7.31 및 61.11%(dry basis)로 나타났다. 비수리 지상부 메탄올 추출물과 용매분획물의 총 polyphenol, flavonoid, tannin 및 proanthocyanidin 함량을 측정된 결과 Table 1과 같이 나타났다. 비수리 지상부 메탄올 추출물의 총 polyphenol 함량은 12.44 mg GAE/g extract residue(ER)로 나타났으며, 각각의 용매분획물에서는 각각 3.61, 6.39, 27.11, 20.00 및 9.32 mg GAE/g ER로 나타나 ethyl acetate 및 butanol 분획에서 유의적으로 높은 함량을 보였다. 총 flavonoid 함량은 메탄올 추출물의 경우 2.94 mg CE/g ER로 나타났고 각각의 용매분획물은 9.92, 7.77, 9.27, 5.11 및 2.66 mg CE/g ER의 함량을 보여 hexane 및 ethyl acetate 분획에서 유의적으로 높은 함량을 보였으며, 총 tannin 함량은 메탄올 추출물에서 8.75 mg TAE/g ER, 용매분획물은 각각 10.04, 7.42, 17.32, 11.65 및 7.61 mg TAE/g ER의 함량을 보여 유의적으로 ethyl acetate 분획에서 높은 함량을 보였다. 총 flavonoid와 tannin 함량이 hexane과 chloroform 분획에서 총 polyphenol 함량보다 높게 나타났는데 이는 비수리 지상부에 함유되어 있는 flavonoid와 tannin 성분이 hexane과 chloroform에 용출이 잘되는 성분이 포함되어 있어 이러한 결과가 나타난 것으로 보이며, 이에 관련된 성분의 분석이 추후 필요할 것으로 보인다. 총 proanthocyanidin 함량은 메탄올 추출물의 경우 346.09 $\mu\text{g CE/g ER}$ 의 함량을 보였고 각각의 용매분획물에서는 63.50, 103.76, 288.62, 231.99 및 358.48 $\mu\text{g CE/g ER}$ 을 보여 ethyl acetate 분획 이후부터 물 분획까지 함량이 유의적으로 증가한 것으로 나타나 극성을 가진 성분이 많은 것으로 생각된다.

Table 1. Extraction yields and antioxidant compounds of the methanolic extracts and solvent fractions from the *Lespedeza cuneata* G. Don

Sample	Extraction yields	Antioxidant compounds			
		Polyphenol ¹⁾	Flavonoid ²⁾	Tannin ³⁾	Proanthocyanidin ⁴⁾
Methanol	19.52	12.44±0.24 ^{5)c6)}	2.94±1.53 ^d	8.75±0.89 ^{cd}	346.09±16.70 ^a
Hexane	3.85	3.61±0.09 ^f	9.92±1.14 ^a	10.04±0.44 ^c	63.50±2.69 ^e
Chloroform	21.00	6.39±0.18 ^e	7.77±0.37 ^b	7.42±0.84 ^d	103.76±5.17 ^d
Ethyl acetate	6.73	27.11±1.03 ^a	9.27±0.24 ^a	17.32±1.47 ^a	288.62±17.59 ^b
Butanol	7.31	20.00±1.95 ^b	5.11±0.08 ^c	11.65±0.46 ^b	231.99±4.42 ^c
Water	61.11	9.32±0.03 ^d	2.66±0.05 ^d	7.61±0.61 ^d	358.48±5.50 ^a

¹⁾mg gallic acid equivalent per gram extract residue.

²⁾mg catechin equivalent per gram extract residue.

³⁾mg tannic acid equivalent per gram extract residue.

⁴⁾µg catechin equivalent per gram extract residue.

⁵⁾Each value is mean±SD (n=3).

⁶⁾Any means in the same column followed by the same letter are not significantly ($p<0.05$) different by Duncan's multiple range test.

비수리 메탄올 추출물로부터 분획된 용매분획물의 항산화활성

생체 내 생체막에 존재하는 지질은 활성산소의 존재 하에 유리기와 연쇄 반응을 일으켜 산화되어 생체노화의 원인이 된다(22,23). 천연물의 항산화활성은 활성 radical에 전자를 공여하고 식품 중의 지방질 산화를 억제하는 특성을 가지고 있고 인체내에서는 활성 radical에 의한 노화를 억제시키는 역할을 하고 있으며, radical 소거작용은 인체의 질병과 노화를 방지하는데 대단히 중요한 역할을 한다(24). Ascorbic acid, tocopherol, polyhydroxy 방향족화합물, 방향족 아민 등에 의해서 환원되어 짙은 자색이 탈색됨으로써 항산화 물질의 전자공여능을 측정할 때 사용되고 있는 DPPH radical 소거활성법(25)과 혈장에서 ABTS radical의 흡광도가 항산화제에 의해 억제되는 것에 기초하여 개발된 ABTS radical 소거활성법(26)을 표준물질인 Trolox와 비교하여 mg TE/g ER로 나타내었다. 비수리 지상부 메탄올 추출물 및 순차적 용매분획물에 대한 DPPH 및 ABTS radical 소거활성을 측정한 결과 Fig. 1과 같이 나타났다. 비수리 지상부 메탄올 추출물의 DPPH radical 소거활성은 20.62 mg TE/g ER로 나타났으며, hexane, chloroform, ethyl acetate 및 butanol

분획물과 최종 남은 물 분획물의 활성은 각각 5.16, 9.29, 20.80, 20.00 및 20.79 mg TE/g ER의 활성을 보여 ethyl acetate, butanol 및 물 분획물에서 유의적으로 높은 활성을 보였다. ABTS radical 소거활성은 메탄올 추출물에서 33.86 mg TE/g ER로 나타났으며, 용매분획물은 각각 9.24, 17.36, 33.76, 33.49 및 33.86 mg TE/g ER의 활성을 나타내어 ethyl acetate, butanol 및 물 분획물에서 유의적으로 높은 활성을 나타내었다. Kim과 Ryu(2)의 보고에 의하면 메탄올 추출물 250 mg/mL 농도에서 DPPH 라디칼 소거능이 90% 이상을 나타내는 것으로 보고하였으며, Kim과 Kim(6)은 비수리 종자 열수추출물과 80% 에탄올 추출물 10 µg을 100 mL에 녹여 DPPH 라디칼 소거능을 측정한 결과 39.5 및 95.3%의 활성을 보이는 것으로 보고하였는데 비수리 추출물은 높은 항산화력을 보유하여 체내 및 식품에서 항산화제로서 도움을 줄 수 있을 것으로 보인다.

비수리 메탄올 추출물로부터 분획된 용매분획물의 SOD 유사활성

항산화 효소 중의 하나인 SOD는 세포에 유해한 환원 산소종을 과산화수소로 전환시키는 반응을 촉매로 하는 효소이며, SOD에 의해 생성된 H₂O₂는 peroxidase나 catalase에 의하여 무해한 물 분자와 산소분자로 전환시켜 산소 상해로부터 생체를 보호하는 기능으로 알려져 있다(27). 또한 SOD는 자유 라디칼을 근본적으로 제거하는 효소이고 다른 종류의 항산화제보다 우수한 효과를 나타내기 때문에 의약제제로서 많은 관심을 일으키고 있으며, 현재 항염증제나 피부 노화방지를 위한 미용제제로 화장품 등에 이용되고 있다(28). SOD 유사활성 측정은 xanthine과 xanthine oxidase를 반응시킨 후 생성되는 superoxide anion radical(O²⁻)의 양을 nitroblue tetrazolium(NBT)으로 발색하는 능력을 바탕으로 측정하는 방법이다(29). 비수리 지상부 메탄올 추출물 및 순차적 용매분획물에 DMSO에 녹여 10 µg/mL의 농도에서 SOD 유사활성을 측정한 결과 Fig. 2와 같이 나타났다. 메탄올 추출물의 SOD 유사활성은 4.12 unit/mL로 나타났으며,

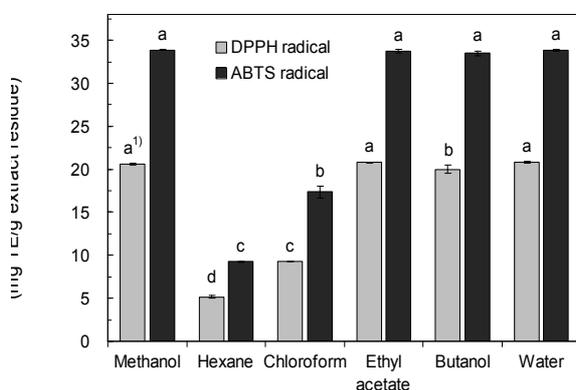


Fig. 1. DPPH and ABTS radical scavenging activities of methanolic extract and solvent fractions from *Lespedeza cuneata* G. Don. ¹⁾Values with different superscripts are significantly different at $p<0.05$ by Duncan's multiple ranged tests.

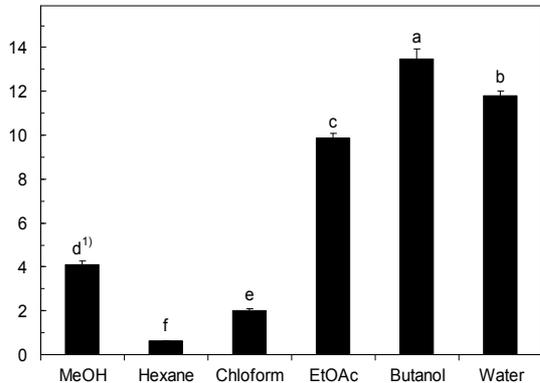


Fig. 2. SOD (superoxide dismutase)-like activity of methanolic extract and solvent fractions from *Lespedeza cuneata* G. Don. ¹⁾Values with different superscripts are significantly different at $p < 0.05$ by Duncan's multiple ranged tests.

hexane, chloroform, ethyl acetate 및 butanol 분획물과 최종 남은 물 분획물의 활성은 각각 0.61, 2.01, 9.89, 13.47 및 11.82 unit/mL의 활성을 보여 butanol 분획과 물 분획에서 유의적으로 높은 활성을 나타내어 비수리에는 SOD 유사활성을 보이는 수용성의 성분이 함유되어 있는 것으로 생각된다. SOD는 체내에 존재하는 활성산소를 과산화수소로 전환시켜 세포내 활성산소의 농도를 줄이는 중요한 역할을 담당하고 있는 효소(30,31)로 이러한 활성산소 종이 체내에서 제거되지 않으면 산화적 스트레스로 인해 다른 질병의 원인이 되기도 하고 식품에서 부패와 독성물질 생성 등으로 유해작용을 하는 것으로 알려져 있는데(32) 비수리 추출물이 체내 및 식품에서 활성산소 종 제거에 도움을 줄 수 있을 것으로 보인다.

비수리 메탄올 추출물로부터 분획된 용매분획물의 α -glucosidase 저해활성

α -Glucosidase는 소장 상피세포의 brush-border membrane에 존재하는 효소(33)로서 소장에서 음식물 중의 전분을 포도당과 같은 단당으로 분해하여 흡수시킨다. α -Glucosidase 저해제는 소장점막의 미세융모막에 존재하는 이당류의 분해효소를 가역적으로 억제하여 탄수화물의 흡수를 지연시키는 역할을 하며, 소장 전체에 포도당이 흡수되어 식후 혈당 상승을 완만하게 한다(34). 본 연구에서는 비수리 지상부 메탄올 추출물과 순차적 용매분획물의 α -glucosidase 저해활성을 측정하여 향후 혈당상승 억제제로 활용될 수 있는

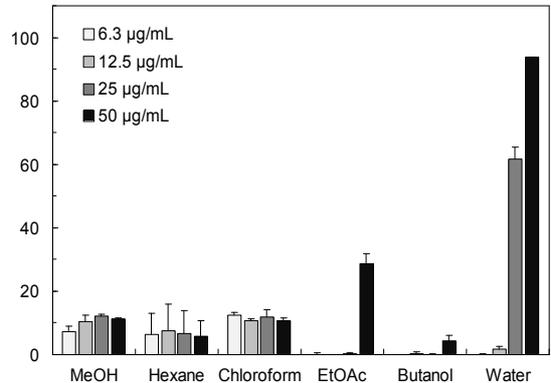


Fig. 3. α -Glucosidase inhibition activity of methanolic extract and solvent fractions from *Lespedeza cuneata* G. Don.

소재 활용성을 검토하였다. 비수리 지상부 메탄올 추출물 및 순차적 용매분획물에 α -glucosidase 저해활성을 측정 한 결과 Fig. 3과 같이 나타났다. 추출물 및 용매분획물의 농도는 50, 25, 12.5 및 6.3 μ g/mL로 희석하여 분석하였으며, 메탄올 추출물의 α -glucosidase 저해활성은 각각 11.33, 12.09, 10.33 및 7.29%로 나타났다. 순차적 용매분획물 중 물 분획 50 및 25 μ g/mL에서 각각 93.85 및 61.64%로 높은 저해활성을 보이는 것으로 나타났으며, hexane, chloroform, ethyl acetate 및 butanol 분획물은 활성이 거의 없거나 미약한 것으로 나타났다. 이상의 결과에서 비수리에는 α -glucosidase 저해활성을 가지는 수용성의 물질을 함유한 것으로 보이며, 활성을 보이는 물질에 대한 추후 연구가 필요할 것으로 생각 된다.

비수리 추출물 항산화성분과 활성 간의 상관관계

비수리 추출물의 항산화성분과 활성 간 상관관계를 SAS program으로 분석한 결과 Table 2와 같이 상관관계가 높지 않은 것으로 나타났다. 추출수율과 α -glucosidase 저해활성 간에 r값은 0.9083($p < 0.01$)으로 높은 상관성을 보였으며, 총 폴리페놀 함량과 총 탄닌 함량과의 r값은 0.8535($p < 0.05$)로 나타났다. 총 프로안토시아니딘 함량과 DPPH 및 ABTS radical 소거활성 간에 r값은 각각 0.9402($p < 0.01$) 및 0.9285 ($p < 0.01$)로 높은 정의 상관관계를 보였으며, DPPH radical 소거활성과 ABTS radical 소거활성, SOD 유사활성 간에 r값은 각각 0.9982($p < 0.001$) 및 0.7997($p < 0.05$)로 나타났고

Table 2. Correlation coefficients among extraction yield, total polyphenol, flavonoid, tannin, and proanthocyanidin contents, ABTS and DPPH radical scavenging activities of methanolic extract from *Lespedeza cuneata* G. Don

Factor	Polyphenol	Flavonoid	Tannin	Proanthocyanidin	DPPH	ABTS	SOD	α -Glucosidase
Yield	-0.2870 ^{NS}	-0.6776 ^{NS}	-0.5506 ^{NS}	0.5261 ^{NS}	0.3315 ^{NS}	0.3302 ^{NS}	0.3059 ^{NS}	0.9083 ^{**}
Polyphenol	1.0000	0.0368 ^{NS}	0.8535 [*]	0.4901 ^{NS}	0.7123 ^{NS}	0.7100 ^{NS}	0.6749 ^{NS}	-0.0433 ^{NS}
Flavonoid	-	1.0000	0.4953 ^{NS}	-0.7507 ^{NS}	-0.6542 ^{NS}	-0.6641 ^{NS}	-0.4373 ^{NS}	-0.4770 ^{NS}
Tannin	-	-	1.0000	0.1273 ^{NS}	0.3156 ^{NS}	0.2954 ^{NS}	0.3608 ^{NS}	-0.1900 ^{NS}
Proanthocyanidin	-	-	-	1.0000	0.9402 ^{**}	0.9285 ^{**}	0.6410 ^{NS}	0.5808 ^{NS}
DPPH	-	-	-	-	1.0000	0.9982 ^{***}	0.7997 [*]	0.4178 ^{NS}
ABTS	-	-	-	-	-	1.0000	0.8011 [*]	0.3994 ^{NS}
SOD	-	-	-	-	-	-	1.0000	0.4722 ^{NS}

^{NS}Not significant. Significant at ^{*} $p < 0.05$, ^{**} $p < 0.01$, ^{***} $p < 0.001$.

ABTS radical 소거활성과 SOD 유사활성 간에 r 값은 0.8011 ($p < 0.05$)로 정의 상관관계를 보이는 것으로 나타났다.

요 약

비수리의 식품학적 이용가능성을 확인해 보고자 항산화 성분 및 항산화활성, superoxide dismutase 유사활성, α -glucosidase 저해활성 등에 대해 검토하였다. 비수리 메탄올 추출물과 hexane, chloroform, ethyl acetate, butanol 및 물 분획 등 순차적 용매분획물의 총 폴리페놀 함량은 각각 12.44, 3.61, 6.39, 27.11, 20.00 및 9.32 mg GAE/g extract residue(ER)로 나타났으며, 총 플라보노이드 함량은 각각 2.94, 9.92, 7.77, 9.27, 5.11 및 2.66 mg CE/g ER, 총 탄닌 함량은 각각 8.75, 10.04, 7.42, 17.32, 11.65 및 7.61 mg TAE/g ER, 총 프로안토시아니딘의 함량은 346.09, 63.50, 103.76, 288.62, 231.99 및 358.48 μ g CE/g ER로 나타났다. 비수리 메탄올 추출물과 hexane, chloroform, ethyl acetate, butanol 및 물 분획물의 DPPH radical 소거활성은 각각 20.62, 5.16, 9.29, 20.80, 20.00 및 20.79 mg TE/g ER, ABTS radical 소거활성은 각각 33.86, 9.24, 17.36, 33.76, 33.49 및 33.86 mg TE/g ER로 나타났다. SOD 유사활성은 각각 4.12, 0.61, 2.01, 9.89, 13.47 및 11.82 unit/mL의 활성을 보여 butanol 분획과 물 분획에서 유의적으로 높은 활성을 나타내었고 α -glucosidase 저해활성은 물 분획 50 및 25 μ g/mL에서 각각 93.85 및 61.64%로 높은 저해활성을 보이는 것으로 나타났다. 이상의 결과에서 비수리 추출물은 항산화성분 및 항산화활성, SOD 유사활성, α -glucosidase 저해활성을 가지는 물질을 함유한 것으로 보이며, 체내 및 식품에서 활성산소 종 제거에 도움을 줄 수 있을 것으로 보인다.

문 헌

- Ding JL, Lim IJ, Lee HD, Cha WS. 2006. Analysis of minerals, amino acids and vitamin of *Lespedeza cuneata*. *Korean J Biotechnol Bioeng* 21: 414-417.
- Kim YH, Ryu SN. 2008. Antioxidant activity of methanol extract from aerial parts in *Lespedeza cuneata* G. Don. *Korean J Crop Sci* 53: 121-123.
- Shim JS, Kim SD, Kim TS, Kim KN. 2005. Biological activities of flavonoid glycosides isolated from *Angelica keiskei*. *Korean J Food Sci Technol* 37: 78-83.
- Branen AL. 1975. Toxicology and biochemistry of butylated hydroxy anisole and butylated hydroxytoluene. *J Oil Chem Soc* 52: 59-62.
- Masaki H, Sakaki S, Atsumi T, Sakurai H. 1995. Activeoxygen scavenging activity of plants extracts. *Biol Pharm Bull* 18: 162-166.
- Kim SJ, Kim DW. 2007. Antioxidative activity of hot water and ethanol extracts of *Lespedeza cuneata* seeds. *Korean J Food Preserv* 14: 332-335.
- Lee HJ, Lim GN, Park MA, Park SN. 2011. Antibacterial and antioxidative activity of *Lespedeza cuneata* G. Don extracts. *Korean J Microbiol Biotechnol* 39: 63-69.
- Kwon DJ, Kim JK, Ham YH, Bae YS. 2007. Flavone glycosides from the aerial parts of *Lespedeza cuneata* G. Don. *J Korean Soc Appl Biol Chem* 50: 344-347.
- Kwon DJ, Bae YS. 2009. Flavonoids from the aerial parts of *Lespedeza cuneata*. *Biochem Syst Ecol* 37: 46-48.
- Deng F, Chang J, Zhang JS. 2007. New flavonoids and other constituents from *Lespedeza cuneata*. *J Asian Nat Prod Res* 9: 655-658.
- Kim JS, Kim MJ. 2010. *In vitro* antioxidant activity of *Lespedeza cuneata* methanol extracts. *J Med Plants Res* 4: 674-679.
- Do JR, Kim KJ, Park SY, Lee OH, Kim BS, Kang SN. 2005. Antimicrobial and antioxidant activities of ethanol extracts of medicinal plants. *J Food Sci Nutr* 10: 81-87.
- Dewanto V, Xianzhong W, Liu RH. 2002. Processed sweet corn has higher antioxidant activity. *J Agric Food Chem* 50: 4959-4964.
- Duval B, Shetty K. 2001. The stimulation of phenolics and antioxidant activity in pea (*Pisum sativum*) elicited by genetically transformed anise root extract. *J Food Biochem* 25: 361-377.
- Baoshan S, Jorge M, Ricardo DS, Isabel S. 1998. Critical factors of vanillin assay for catechins and proanthocyanidins. *J Agric Food Chem* 46: 4267-4274.
- Choi Y, Lee SM, Chun J, Lee HB, Lee J. 2006. Influence of heat treatment on the antioxidant activities and polyphenolic compounds of shiitake (*Lentinus edodes*) mushroom. *Food Chem* 99: 381-387.
- Tibbot BK, Skadsen RW. 1996. Molecular cloning and characterization of a gibberellin-inducible, putative α -glucosidase gene from barley. *Plant Mol Biol* 30: 229-241.
- Rice-Evans CA, Miller N, Paganga G. 1997. Antioxidant properties of phenolic compounds. *Trends Plant Sci* 2: 152-159.
- Middleton E, Kandaswami C. 1994. Potential health-promoting properties of citrus flavonoids. *Food Technol* 48: 115-119.
- Choi Y, Kim MH, Shin JJ, Park JM, Lee J. 2003. The antioxidant activities of the some commercial teas. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 32: 723-727.
- Zieliński H, Kozłowska H. 2000. Antioxidant activity and total phenolics in selected cereal grains and their different morphological fractions. *J Agric Food Chem* 48: 2008-2016.
- Choi HS. 1994. Peroxide and nutrition of lipids. *J Korean Soc Food Nutr* 23: 867-878.
- Lim SY, Lee JY, Lee CS, Jang YJ, Park JW, Yoon S. 2007. Antioxidant and cell proliferation effects of *Acanthopanax senticosus* extract in human osteoblast-like MG-63 cell line. *Korean J Food Sci Technol* 6: 694-700.
- Kim SM, Cho YS, Sung SK. 2001. The antioxidant ability and nitrite scavenging ability of plant extracts. *Korean J Food Sci Technol* 33: 626-632.
- Moreno MI, Isla MI, Sampietro AR, Vattuone MA. 2000. Comparison of the free radical-scavenging activity of propolis from several regions of Argentina. *J Ethnopharmacol* 71: 109-114.
- Kim JE, Joo SI, Seo JH, Lee SP. 2009. Antioxidant and α -glucosidase inhibitory effect of tartary buckwheat extract obtained by the treatment of different solvents and enzymes. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 38: 989-995.
- Klug D, Rabani J, Fridovich I. 1972. A direct demonstration of the catalytic action of superoxide dismutase through the use of pulse radiolysis. *J Biol Chem* 247: 4839-4842.
- Kim HY, Yeo SI, Lee JT. 2011. Antioxidant effects of solvent fraction from *Sanguisorba officinalis* L. with acetone.

- J Appl Biol Chem* 54: 89-93.
29. Jung WY, Jeong JM. 2012. Change of antioxidative activity at different harvest time and improvement of atopic dermatitis effects for persimmon leaf extract. *Kor J Herbology* 27: 41-49.
30. Jeong KY, Kim ML. 2012. Physiological activities of *Ulmus pumila* K. extracts. *Korean J Food Preserv* 19: 104-109.
31. 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.
32. Harman D. 1982. *Free radical in biology V*. Academic Press, New York, NY, USA. p 255-275.
33. Lee BB, Park SR, Han CS, Han DY, Park EJ, Park HR, Lee SC. 2008. Antioxidant activity and inhibition activity against α -amylase and α -glucosidase of *Viola mandshurica* extracts. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 37: 405-409.
34. Kim HY, Lim SH, Park YH, Ham HJ, Lee KJ, Park DS, Kim KH, Kim S. 2011. Screening of α -amylase, α -glucosidase and lipase inhibitory activity with Gangwon-do wild plants extracts. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 40: 308-315.

(2012년 7월 30일 접수; 2012년 9월 2일 채택)