

왕벚나무 껍질의 에탄올 추출물과 용매 분획물의 항산화활성 비교

주 신 윤^{1,*}
¹대전대학교 식품영양학과

Comparison of *Prunus yedoensis* Matsumura bark ethanol extract and solvent fraction antioxidant activities

Shin Youn Joo^{1,*}

¹Department of Food Science and Nutrition, Daejin University

Abstract This study was conducted to investigate the antioxidant compounds and activities of *Prunus yedoensis* Matsumura bark (PYMB) ethanol extracts (EE) and various other fractions. Among them, the highest total phenol content was 496.80 mg gallic acid equivalent/g in the ethyl acetate fractions (EAF). The flavonoid contents were 7.26-265.52 rutin equivalent mg/g, with the EAF showing the highest levels. The highest proanthocyanidin content was determined to be 326.31 catechin equivalent mg/g in the EAF and the remaining values in descending order were as follows: *n*-butanol, ethanol, dichloromethane, water, and *n*-hexane. EAF exhibited the highest DPPH, ABTS⁺, superoxide radical scavenging activities, and reducing power, whereas the nitrite scavenging activities were the highest in the case of the EE. The *n*-hexane and water fraction antioxidant compounds and activities were lower than those of the other fractions. In summary, these results suggest that the PYMB EAF is a potential source of natural antioxidants.

Keywords: *Prunus yedoensis* Matsumura, antioxidant activity, proanthocyanidin, DPPH radical scavenging activity, ABTS⁺ radical scavenging activity

서 론

왕벚나무(*Prunus yedoensis* Matsumura)는 장미과 벚나무속에 속하며 우리나라에는 20여종이 분포하고 있다. 왕벚나무의 열매는 치통, 유선염, 수종, 각기병 및 통경제로 이용되었으며(Kim 등, 1998), 왕벚나무의 껍질(화피, 樺皮)은 우육채, 기침, 두드러기 등의 민간약으로 사용되어왔다(Park 등, 1998). 왕벚나무 껍질은 임상에서 염증성 질환에 주로 이용되고 있으며, 최근 사용량이 증가하는 추세이다(Hong 등, 2013). 왕벚나무 껍질에 대한 선행연구로는 항산화(Ju 등, 2004), 항염(Kang, 2006; Lee, 2008; Lim, 2011), 항암(Ju 등, 2004), 항균(Jung 등, 2002; Jung, 2011) 및 간 보호 작용(Matsuda 등, 1998) 등이 보고되고 있다. 하지만 왕벚나무 껍질의 특정 분획물 및 성분에 대한 항산화 연구는 아직 미흡한 실정이다. 우리나라에는 900여 종의 약효를 나타내는 식물이 분포하고 있으며 이들은 다양한 생리활성 물질을 함유하고 있다(Rim 등, 2000). 대부분 오랫동안 식품으로 이용되어 왔고 많은 질병을 예방하고 치료하는 용도로 사용되어 왔으나 그 효능에 대한 명확한 과학적 근거를 제시하지 못하여 상대적으로 그 활용도가 낮은 실정이다(Jung 등, 2013).

최근 경제가 성장함에 따라 건강기능성 제품에 대한 소비자들의 관심이 증가하고 있으며, 새로운 기능성 소재에 관한 연구가 광범위하게 진행되고 있다(Lee 등, 2013). 여러 질환 발병의 원인으로 알려진 유리라디칼(free radical)은 체내 정상적인 대사과정 중 생성되는 reactive nitrogen species (RNS), reactive oxygen species (ROS) 등을 말한다. 이들이 체내 과잉생산 될 경우 DNA, 단백질 및 세포의 산화적 손상을 가져오고 알츠하이머병, 암, 심혈관질환 등을 일으킨다. 체내에는 산화적 스트레스에 대한 방어 시스템이 존재하고 있지만 환경오염, 과도한 스트레스, 화학약품, 음주, 흡연 등에 의해 유리라디칼의 생성이 더 많아지고 있어 체내 산화 방어시스템을 증가시킬 수 있는 항산화제에 대한 개발의 필요성이 강조되고 있다(Hyon 등, 2010; Kim 등 2016; Valko 등, 2007; Wojsiat 등 2018). 항산화제는 유리라디칼을 제거하거나 산화적 스트레스를 감소시키는 역할을 하고 있으며, 합성 항산화제와 천연 항산화제가 사용되고 있다. 그러나 합성 항산화제의 경우 독성을 나타낸다고 알려져 있어 천연 소재를 이용한 항산화 활성에 대한 연구가 많이 진행되고 있다(Jeon 등, 2012). 소리쟁이 추출물은 산화적 스트레스의 감소에 효과를 나타냈고(Kim 등, 2018b), 홍삼 사포닌 분획물은 지방분해 시 생성되는 ROS의 생성을 효과적으로 억제하여 산화방지 시스템을 활성화시킨 것으로 알려져 있으며(Kim 등, 2018a), 구아바 잎 추출물은 간세포를 산화적 스트레스로부터 보호하는 효과를 보여주었다(Cheon 등, 2019). 또한 감 심지의 추출물은 산화적 스트레스로부터 신경세포 보호 효과를 나타내어 퇴행성 신경질환 예방에 유용한 소재로 보고되었다(Byun 등, 2020). 천연 항산화 소재는 대부분 경제적이고 안전한 식물 기원의 페놀성 물질로 식물의 줄기, 열매, 꽃, 잎, 씨앗, 뿌리 등에 존재한다. 이러한 식물에 함유된 항산화성

*Corresponding author: Shin Youn Joo, Department of Food Science and Nutrition, Daejin University, Pocheon, Gyeonggi 11159, Republic of Korea
Tel: +82-31-539-1865
Fax: +82-31-539-1860
E-mail: joo@daejin.ac.kr
Received May 7, 2020; revised June 17, 2020;
accepted June 29, 2020

화합물은 유리라디칼의 생성을 억제하고 그 활성을 저해하는 작용을 한다고 알려져 있다(Elzaawely 등, 2007; Pyo 등, 2004).

따라서 본 연구에서는 한의학이나 민간의학에서 오랜 시간 사용되어온 왕벚나무 껍질을 이용하여 에탄올로 추출한 후 용매 분획하여 각 추출물의 항산화물질 및 항산화활성을 측정함으로써 천연 항산화제로써의 이용 가능성을 검토하고자 하였다.

재료 및 방법

실험재료 및 시료 제조

본 실험에 사용한 왕벚나무 껍질은 서울 경동시장에서 구입하여 미세 분쇄한 후 시료로 사용하였다. 항산화물질 및 항산화활성 측정에 사용한 Folin & Ciocalteu's reagent, DPPH (1,1-diphenyl-1-picrylhydrazyl), ascorbic acid 등은 Sigma-Aldrich사(St. Louis, MO, USA)에서 구입하여 사용하였고, 그 외 시약 1급을 사용하였다.

왕벚나무 껍질 분말 100 g에 1 L의 70% 에탄올을 넣고 80°C에서 3시간 추출한 후 다시 반복 추출하였다. 추출액은 여과(Whatman No. 1, Whatman International Ltd., Maidstone, UK)하여 40°C에서 감압농축(Eyela N-N, Rikakikai Co., Tokyo, Japan)하였다. 농축한 시료는 동결건조(TD5508, Inshin Lab, Co., Ltd, Seoul, Korea)한 후 분말화하여 -40°C 초저온 냉동고(DFU-128E, Operon Co., Seoul, Korea)에 보관하면서 사용하였다. 에탄올 추출물 분말에 증류수를 넣고 용해시킨 후 동량의 *n*-hexane과 혼합하여 *n*-hexane 분획물을 얻고, 남은 증류수층을 이용하여 dichloromethane, ethyl acetate, *n*-butanol, water 순으로 분획물을 얻었다. 각 분획물은 감압농축하여 동결건조한 후 항산화물질 및 항산화활성 측정용 시료로 사용하였다.

총 페놀 및 총 플라보노이드 함량

총 페놀 함량은 Kumaran와 Karunakaran (2007)의 방법에 준하여 측정하였다. 150 μ L의 시료액과 2400 μ L의 증류수, 150 μ L의 2 N Folin-Ciocalteu reagent를 혼합하여 3분간 방치하였다. 여기에 300 μ L의 1 N Sodium carbonate (Na_2CO_3)를 넣고 2시간 동안 암반응시킨 후 725 nm에서 흡광도(WKSP-2000UV, Woongki, Seoul, Korea)를 측정하였다. Gallic acid를 표준물질로 하여 검량선을 작성하였고 시료 1 g당 mg gallic acid (mg GAE/g)로 결과를 나타냈다.

총 플라보노이드 함량은 Um와 Kim (2007)의 방법에 준하여 측정하였다. 1 mL의 시료액과 10 mL의 90% diethyglycol, 1 mL의 1 N NaOH를 혼합하여 37°C에서 1시간 반응시킨 후 420 nm에서 흡광도(WKSP-2000UV, Woongki, Seoul, Korea)를 측정하였다. Rutin을 표준물질로 하여 검량선을 작성하였고 시료 1 g당 mg rutin (mg RE/g)로 결과를 나타냈다.

프로안토시아닌 함량

프로안토시아닌 함량은 Price 등(1980)의 방법에 준하여 측정하였다. 0.5 mL의 시료액과 3 mL의 4% vanillin 용액, 2 mL의 25% H_2SO_4 용액을 혼합하여 15분간 반응시킨 후 500 nm에서 흡광도(WKSP-2000UV, Woongki, Seoul, Korea)를 측정하였다. Catechin을 표준물질로 하여 검량선을 작성하였고 시료 1 g당 mg catechin (mg CE/g)로 결과를 나타냈다.

DPPH 라디칼 소거능

DPPH 라디칼 소거능은 Lee 등(2007)의 방법에 준하여 측정하

였다. 4 mL의 시료액에 1 mL의 DPPH 용액(1.5×10^{-4} M)을 넣고 혼합한 후 30분간 암반응시켰다. 반응액은 517 nm에서 흡광도(WKSP-2000UV, Woongki, Seoul, Korea)를 측정하였으며 다음의 계산식에 의해 결과를 산출하였다. DPPH 라디칼 소거능은 대조군에 대해 50%의 소거능을 나타내는 시료의 농도(IC_{50})로 값을 나타냈다.

$$\text{DPPH radical scavenging activity (\%)} \\ = \left(1 - \frac{\text{추출물 첨가구의 흡광도}}{\text{추출물 무첨가구의 흡광도}}\right) \times 100$$

ABTS⁺ 라디칼 소거능

ABTS⁺ 라디칼 소거능은 Re 등(1999)의 방법에 준하여 측정하였다. ABTS (7 mM)에 potassium persulfate (2.45 mM)를 넣고 12-16시간 동안 암반응 시킨 후 ABTS 용액을 제조하였다. 이때, ABTS 용액은 에탄올로 희석하여 734 nm에서 흡광도가 0.70 ± 0.02 가 되도록 조정된 후 실험에 사용하였다. 시료 0.1 mL에 ABTS 용액 0.9 mL를 가하여 6분 동안 반응 시킨 후 흡광도(734 nm, WKSP-2000UV, Woongki, Seoul, Korea)를 측정하였으며, 다음의 계산식에 의해 결과를 산출하였다. ABTS⁺ 라디칼 소거능은 대조군에 대해 50%의 소거능을 나타내는 시료의 농도(IC_{50})로 값을 나타냈다.

$$\text{ABTS}^+ \text{ radical scavenging activity (\%)} \\ = \left(1 - \frac{\text{추출물 첨가구의 흡광도}}{\text{추출물 무첨가구의 흡광도}}\right) \times 100$$

Superoxide⁻ 라디칼 소거능

Superoxide⁻ 라디칼 소거능은 Zhao 등(2006)의 방법에 준하여 측정하였다. 시료 0.3 mL에 NBT (150 M) 0.75 mL와 NADH (468 M) 0.75 mL를 혼합한 후 100 mM Tris-HCl buffer (pH 7.4)를 넣어 최종부피 3 mL를 맞추어준다. 이 혼합액에 PMS (60 M) 0.75 mL를 가하여 5분 동안 방치한 후 흡광도(560 nm, WKSP-2000UV, Woongki, Seoul, Korea)를 측정하였으며, 다음의 계산식에 의해 결과를 산출하였다. Superoxide⁻ 라디칼 소거능은 대조군에 대해 50%의 소거능을 나타내는 시료의 농도(IC_{50})로 값을 나타냈다.

$$\text{Superoxide}^- \text{ radical scavenging activity (\%)} \\ = \left(1 - \frac{\text{추출물 첨가구의 흡광도}}{\text{추출물 무첨가구의 흡광도}}\right) \times 100$$

아질산염 소거능

아질산염 소거능은 Kato 등(1987)의 방법에 준하여 측정하였다. 시료 1 mL와 NaNO_2 용액(1 mM) 1 mL를 혼합한 후 pH 1.2의 HCl (0.1 N)를 가하여 pH를 2.0로 맞추었다. 이 용액에 증류수를 넣어 최종부피 10 mL를 만들고 37°C에서 60분간 반응시켰다. 반응액 1 mL에 2% acetic acid 5 mL와 griess 시약 0.4 mL를 혼합하여 15분간 반응시킨 후 흡광도(520 nm, WKSP-2000UV, Woongki, Seoul, Korea)를 측정하였으며, 다음의 계산식에 의해 결과를 산출하였다. 아질산염 소거능은 대조군에 대해 50%의 소거능을 나타내는 시료의 농도(IC_{50})로 값을 나타냈다.

$$\text{Nitrite scavenging activity (\%)} \\ = \left(1 - \frac{\text{추출물 첨가구의 흡광도}}{\text{추출물 무첨가구의 흡광도}}\right) \times 100$$

환원력

환원력은 Oyaizu (1986)의 방법에 준하여 측정하였다. 시료 2.5 mL에 1% potassium ferricyanide 2.5 mL와 0.2 M sodium phosphate buffer (pH 6.6) 2.5 mL를 넣고 섞은 다음 20분 동안 50°C water bath에서 반응시켰다. 반응액에 2.5 mL의 10% trichloroacetic acid를 넣고 원심분리(3,000 rpm, 10분)하여 상등액을 얻었다. 상등액 5 mL에 증류수 5 mL와 0.1% ferric chloride 1 mL를 넣고 섞은 후 흡광도(700 nm, WKSP-2000UV, Woongki, Seoul, Korea)를 측정하여 환원력을 나타냈다.

통계처리

본 연구의 결과는 3회 이상 반복 실험하여 평균과 표준편차로 나타내었고, 통계처리는 SPSS 25.0 (IBM Inc., Armonk, NY, USA)을 이용하였다. 유의성 검증을 위하여 분산분석(ANOVA)을 실시하였고, 유의적 차이가 있는 항목은 Duncan's multiple range test ($p < 0.05$)를 이용하여 사후검정을 하였다.

결과 및 고찰

총 페놀, 총 플라보노이드 및 프로안토시아닌 함량

플라보노이드, 페놀산 및 탄닌 등의 페놀성 물질은 함유되어 있는 물질로 강한 킬레이트 작용 및 항산화력을 가지고 있다고 보고되고 있다(Onofrei 등, 2017). 또한 프로안토시아닌은 항산화, 항균, 항돌연변이 및 항고혈압 활성 등의 생리활성을 나타낸다고 알려져 있다(Song과 Oh, 1996). 왕벚나무 껍질 에탄올 추출물 및 분획물의 총 페놀, 플라보노이드 및 프로안토시아닌 함량은 각각 Fig. 1, 2, 3에 제시하였다.

왕벚나무 껍질 에탄올 추출물의 총 페놀 함량은 306.01 mg GAE/g으로 측정되었다. Hong 등(2013)의 연구에서 왕벚나무 껍질 에탄올 추출물의 총 페놀 함량은 233.78 mg GAE/g로 보고되어 본 연구 결과에 비해 다소 낮은 함량을 보여주었다. 최근 약효를 나타내는 식물에 대한 항산화 활성 연구에는 지치, 창이자와 인동초(Jung 등, 2013), 화살나무 줄기, 주목 열매 및 두충 잎(Lee와 Yoon, 2015), 소리쟁이 뿌리(Kim 등, 2018b), 마치현 뿌리(Jeong 등, 2019), 구아바 잎(Cheon 등, 2019) 등이 이용되었다. 이들 약용식물은 종류에 따라 총 페놀 함량이 매우 상이하게 나타나 적게는 0.004 mg GAE/g, 많게는 271.57 mg GAE/g으로 보고되었다. 마치현 뿌리(163.35 mg GAE/g)와 구아바잎(271.57 mg GAE/g)의 경우 다른 약용식물에 비해 높은 총 페놀 함량이 보고

되었지만 왕벚나무 껍질 추출물에 함유된 총 페놀 함량보다는 낮았다. 왕벚나무 껍질 분획물의 총 페놀 함량은 ethyl acetate가 496.80 mg GAE/g으로 가장 높았고, *n*-buthanol은 293.67 mg GAE/g, dichloromethane은 90.93 mg GAE/g, *n*-hexane은 19.36 mg GAE/g, water는 9.90 mg GAE/g 순으로 나타났다($p < 0.05$).

왕벚나무 껍질 에탄올 추출물 및 분획물의 총 플라보노이드 함량은 7.26-265.52 mg RE/g으로 측정되어 ethyl acetate 분획물이 가장 높았고 그 다음으로 에탄올 추출물, *n*-buthanol 분획물의 함량이 높게 나타났다($p < 0.05$). Lee 등(2018)은 딸기 잎 분획물의 총 플라보노이드 함량을 측정된 결과, ethyl acetate 분획물이 191.07 mg CE/g으로 가장 높았고 *n*-buthanol 분획물이 100.53 mg CE/g로 분획물 중 두 번째로 높은 함량을 나타냈다고 보고하여 본 연구 결과와 유사한 경향을 나타냈다.

왕벚나무 껍질 에탄올 추출물 및 분획물의 프로안토시아닌 함량은 ethyl acetate 326.31 mg CE/g, *n*-buthanol 181.90 mg CE/g, ethanol 152.17 mg CE/g, dichloromethane은 30.85 mg CE/g, water 15.14 mg CE/g, *n*-hexane은 12.45 mg CE/g 순으로 높았다($p < 0.05$). Cho 등(2015)은 국내 산림지역 자생 식물 11종의 프로안토시아닌 함량을 측정된 결과, 비목나무가 536.22 µg CE/g, 윤노리나무가 497.52 µg CE/g로 가장 높았다고 보고하여 본 연구의 왕벚나무 껍질 에탄올 추출물 및 분획물의 함량이 이에 비해 매우 높은 것을 알 수 있었다.

DPPH 라디칼 소거능

왕벚나무 껍질 에탄올 추출물 및 분획물의 DPPH 라디칼 소거능을 측정하여 IC₅₀값으로 나타낸 결과는 Table 1에 제시하였다. 왕벚나무 껍질 에탄올 추출물의 IC₅₀값은 5.39 µg/mL를 나타냈고, 분획물은 *n*-hexane, dichloromethane, ethyl acetate, *n*-buthanol, water가 각각 36.42, 21.19, 3.47, 5.42, 56.52 µg/mL를 나타내어 ethyl acetate 분획물의 활성이 가장 좋은 것을 알 수 있었다($p < 0.05$). 양성대조군인 vitamin C와 trolox의 IC₅₀값은 각각 2.44, 17.19 µg/mL로 나타났다. Ethyl acetate 분획물은 vitamin C와 유사한 DPPH 라디칼 소거활성을 나타냈고($p < 0.05$), 에탄올 추출물과 *n*-buthanol 분획물도 이와 유사한 수치를 나타내어 세 가지 시료가 매우 높은 활성을 가진 것으로 생각된다. 왕벚나무 껍질 에탄올 추출물 및 분획물의 DPPH 라디칼 소거능은 국내 산림지역 자생 식물 11종의 70% 에탄올 추출물 IC₅₀값 21.13-55.30 µg/mL(Cho 등, 2015)보다 높았고, 소리쟁이 뿌리 분획물 5종의 IC₅₀값 11.90-126.20 µg/mL (Kim 등, 2018b) 및 딸기 잎 분획물 4종의

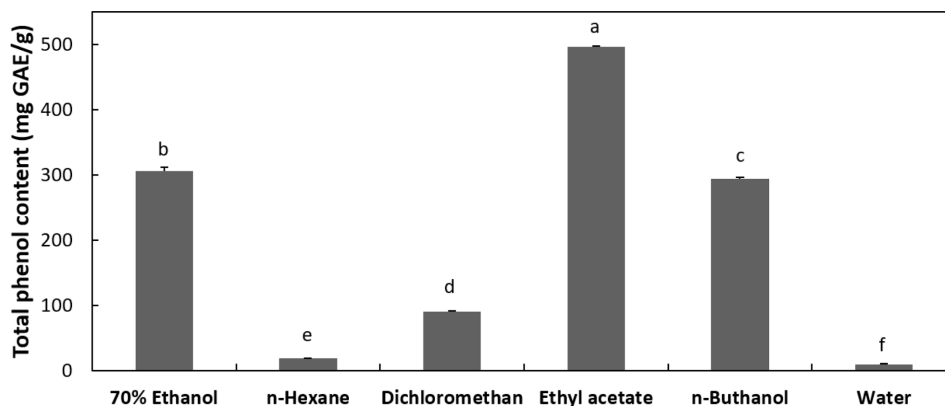


Fig. 1. Total phenol content of different fractions from ethanol extracts of *Prunus yedoensis* Matsumura bark. Different superscripts (a-f) on the bar charts indicate significant differences at $p < 0.05$ by Duncan's multiple range test. GAE: gallic acid equivalent.

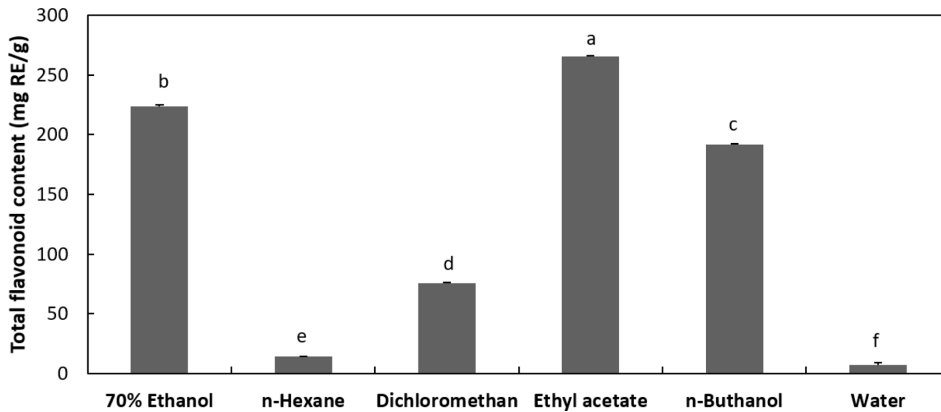


Fig. 2. Total flavonoid content of different fractions from ethanol extracts of *Prunus yedoensis* Matsumura bark. Different superscripts (a-f) on the bar charts indicate significant differences at $p < 0.05$ by Duncan's multiple range test. RE: rutin equivalent.

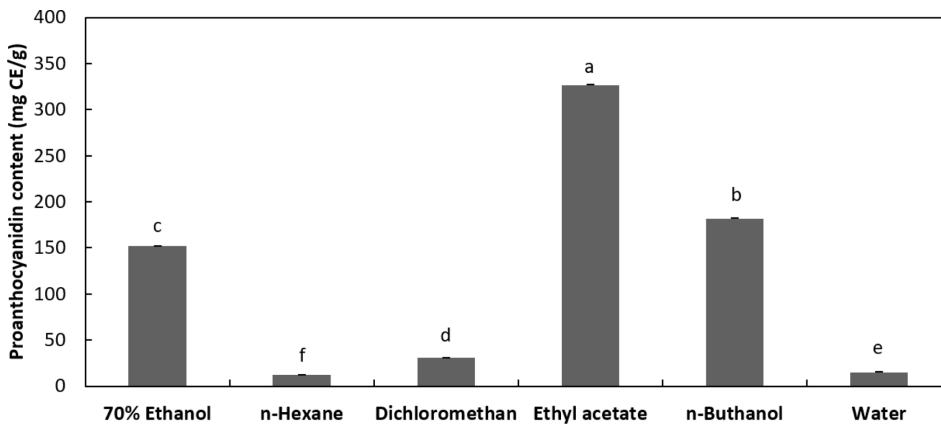


Fig. 3. Proanthocyanidin content of different fractions from ethanol extracts of *Prunus yedoensis* Matsumura bark. Different superscripts (a-f) on the bar charts indicate significant differences at $p < 0.05$ by Duncan's multiple range test. CE: catechin equivalent.

IC₅₀값 0.050.52 mg/mL (Lee 등, 2018)보다 상당히 높게 나타났다. Jeong 등(2019)은 마치현 뿌리 추출물이 높은 DPPH 라디칼 소거능을 나타낸 것은 총 페놀 및 총 플라보노이드 함량에 의한 결과라고 보고하였다. 본 연구 결과에서도 항산화물질(총 페놀, 총 플라보노이드 및 프로안토시아니딘) 함량이 가장 높았던 ethyl acetate 분획물이 가장 높은 DPPH 라디칼 소거능을 나타냈고, 항산화물질의 함량이 낮았던 n-hexane, water 분획물이 낮은 활성을 나타내어 항산화물질이 DPPH 라디칼 소거능에 영향을 준 것으로 사료된다.

ABTS⁺ 라디칼 소거능

왕벚나무 껍질 에탄올 추출물 및 분획물의 ABTS⁺ 라디칼 소거능을 측정하여 IC₅₀값으로 나타낸 결과는 Table 1에 제시하였다. 왕벚나무 껍질 에탄올 추출물 및 분획물의 ABTS⁺ 라디칼 소거능은 ethyl acetate, n-buthanol, ethanol, dichloromethan, n-hexane, water 순으로 높게 나타났으며, 각각 24.61, 46.85, 55.05, 183.99, 366.11, 677.86 µg/mL의 IC₅₀값을 보여주었다($p < 0.05$). 양성대조군으로 사용된 trolox의 IC₅₀값은 23.52 µg/mL로 왕벚나무 껍질 ethyl acetate 분획물과 유사한 활성을 나타냈다($p < 0.05$). Hong 등(2013)은 왕벚나무 껍질 80% 에탄올 추출물이 50 µg/mL 농도에서 79.5%의 소거능을 나타냈다고 보고하여 본 연구결과와 차이를 보였다. Cho 등(2015)의 연구에서 국내 산림지역 자생 식물 11종의 70% 에탄올 추출물 IC₅₀값은 28.15-120.76 µg/mL으로

밤나무의 활성이 가장 높았으며, 이는 본 연구의 ethyl acetate 분획물과 유사한 활성을 보여주었다. 또한 Jeong 등(2019)은 마치현 줄기 에탄올 추출물이 100 µg/mL에서 48.19%의 ABTS⁺ 라디칼 소거능을 나타냈다고 보고하여 왕벚나무 껍질 에탄올 추출물, ethyl acetate 및 n-buthanol 분획물의 활성이 마치현 줄기 추출물보다 높았다. 본 연구의 ABTS⁺ 라디칼 소거능 결과, 앞선 실험의 DPPH 라디칼 소거능과 유사한 경향을 나타냈다. Lee 등(2018)은 딸기 잎 항산화 연구에서 ABTS⁺ 라디칼 소거능은 DPPH 라디칼 소거능과 유사한 경향을 보였으며, 이는 자유라디칼을 제거하는 공통적인 기작에 의한 것으로 보고하여 본 연구결과와 유사하였다.

Superoxide⁻ 라디칼 소거능

왕벚나무 껍질 에탄올 추출물 및 분획물의 superoxide⁻ 라디칼 소거능을 측정하여 IC₅₀값으로 나타낸 결과는 Table 1에 제시하였다. 왕벚나무 껍질 에탄올 추출물의 IC₅₀값은 43.39 µg/mL, 왕벚나무 껍질 분획물은 ethyl acetate, n-buthanol, water이 각각 14.11, 23.16, 443.06 µg/mL로 나타나 ethyl acetate와 n-buthanol 분획물은 에탄올 추출물의 활성보다 높게 측정되었다($p < 0.05$). 왕벚나무 껍질 분획물 중 n-hexane 및 dichloromethane의 IC₅₀값은 1,000 µg/mL 이상으로 나타나 활성이 높지 않음을 알 수 있었다. DPPH 및 ABTS⁺ 라디칼 소거능에서 water 분획물은 가장 낮은 활성을 보였지만 superoxide⁻ 라디칼 소거능에서는 n-hexane과

Table 1. IC₅₀ values for antioxidant activities of different fractions from ethanol extracts of *Prunus yedoensis* Matsumura

| | IC ₅₀ ¹⁾ value (µg/mL) | | | |
|--------------------|--|---------------------------|-----------------------------|--------------------------|
| | DPPH | ABTS ⁺ | O ₂ ⁻ | NO ⁻ |
| 70% Ethanol | 5.39±0.02 ^{2)e3)} | 55.05±0.81 ^d | 43.39±6.44 ^b | 167.94±5.24 ^d |
| Fraction | | | | |
| <i>n</i> -Hexane | 36.42±1.67 ^b | 366.11±15.25 ^b | >1,000 | >1,000 |
| Dichloromethan | 21.19±0.35 ^c | 183.99±8.66 ^c | >1,000 | 441.09±5.57 ^e |
| Ethyl acetate | 3.47±0.11 ^f | 24.61±2.56 ^e | 14.11±1.32 ^d | 267.73±0.55 ^c |
| <i>n</i> -Buthanol | 5.42±0.19 ^e | 46.85±1.57 ^d | 23.16±1.21 ^c | 280.00±1.70 ^b |
| Water | 56.52±1.55 ^a | 677.86±28.40 ^a | 443.06±11.36 ^a | >1,000 |
| Standard | | | | |
| Vitamin C | 2.44±0.04 ^f | - | - | - |
| Trolox | 17.19±0.55 ^d | 23.52±0.75 ^e | - | 13.51±3.00 ^f |
| Tannic acid | - | - | 46.88±1.27 ^b | - |
| Catechin | - | - | - | 64.65±0.33 ^e |

¹⁾Amount required for 50% reduction of DPPH radical (DPPH), ABTS⁺ radical (ABTS⁺), superoxide⁻ radical (O₂⁻) and nitrite (NO⁻) scavenging activity.

²⁾Data are means±standard deviation.

³⁾Different superscripts (a-f) in a column indicate significant differences at *p*<0.05 by Duncan's multiple range test.

Table 2. Reducing power of different fractions from ethanol extracts of *Prunus yedoensis* Matsumura

| | Concentration (µg/mL) | | | |
|--------------------|-----------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|
| | 125 | 250 | 500 | 1,000 |
| 70% Ethanol | 0.55±0.01 ^{1)Dd2)} | 0.91±0.02 ^{Dc} | 1.78±0.06 ^{Db} | 2.67±0.01 ^{Ba} |
| <i>n</i> -Hexane | 0.11±0.00 ^{Gd} | 0.15±0.00 ^{Gc} | 0.24±0.00 ^{Gb} | 0.43±0.00 ^{Ga} |
| Dichloromethan | 0.15±0.00 ^{Fd} | 0.25±0.00 ^{Fc} | 0.42±0.00 ^{Eb} | 0.74±0.00 ^{Ea} |
| Ethyl acetate | 0.85±0.00 ^{Bc} | 1.58±0.01 ^{Bb} | 2.61±0.01 ^{Ba} | 2.61±0.01 ^{Ca} |
| <i>n</i> -Buthanol | 0.58±0.00 ^{Cd} | 1.01±0.01 ^{Cc} | 1.89±0.01 ^{Cb} | 2.59±0.01 ^{Da} |
| Water | 0.14±0.01 ^{Fd} | 0.22±0.01 ^{Fc} | 0.36±0.01 ^{Fb} | 0.65±0.01 ^{Fa} |
| Vitamin C | 1.52±0.07 ^{Ad} | 2.74±0.03 ^{Ac} | 2.80±0.01 ^{Ab} | 2.96±0.04 ^{Aa} |

¹⁾Data are means±standard deviation.

²⁾Different superscripts in a column (A-F) and row (a-d) indicate significant differences at *p*<0.05 by Duncan's multiple range test.

dichloromethane에 비해 높은 활성을 보였다. 양성대조군으로 사용된 tannic acid의 IC₅₀값은 46.88 µg/mL으로 에탄올 추출물의 활성과 유사하였고, ethyl acetate와 *n*-buthanol 분획물은 양성대조군에 비해 높은 활성을 나타냈다(*p*<0.05). Kim 등(2018b)은 소리쟁이 뿌리 분획물의 superoxide⁻ 라디칼 소거능을 측정된 결과, ethyl acetate 분획물(IC₅₀, 4.45 µg/mL)의 활성이 가장 높았고 그 다음으로 dichloromethane 분획물(IC₅₀, 45.83 µg/mL)이 높았다고 보고하여 본 연구결과와 차이를 보였고, 소리쟁이 뿌리 ethyl acetate 분획물의 활성이 왕벚나무 껍질 ethyl acetate 분획물의 활성에 비해 높은 것을 알 수 있었다. 한약재 에탄올 추출물의 항산화 연구(Jung 등, 2013)에서 지치 추출물은 10 mg/mL 농도에서 37.8%의 소거능을 나타냈고, 창이자는 5 mg/mL 농도에서 49.0%, 인동초는 100 µg/mL 농도에서 23.2%의 소거능을 나타내어 왕벚나무 껍질 ethyl acetate 분획물의 활성이 이들에 비해 높게 나타났다. Ethyl acetate와 *n*-buthanol 분획물은 총 페놀, 총 플라보노이드, 프로안토시아닌 함량 측정 결과에서 가장 높은 수치를 나타냈다. 이들 항산화물질의 항산화력에 의해 두 분획물의 superoxide⁻ 라디칼 소거능 또한 높게 측정된 것으로 사료된다.

아질산염 소거능

왕벚나무 껍질 에탄올 추출물 및 분획물의 아질산염 소거능을

측정하여 IC₅₀값으로 나타낸 결과는 Table 1에 제시하였다. 왕벚나무 껍질 에탄올 추출물 및 분획물의 아질산염 소거능은 ethanol, ethyl acetate, *n*-buthanol, dichloromethane 순으로 높게 나타났으며 (*p*<0.05), IC₅₀값은 각각 167.94, 267.73, 280.00, 441.09 µg/mL로 나타났다. Ethyl acetate 분획물은 앞선 실험에서 항산화물질(총 페놀, 총 플라보노이드, 프로안토시아닌)이 가장 높게 나타났으며, DPPH, ABTS⁺ 및 superoxide⁻라디칼 소거능에서도 가장 좋은 효능을 보였다. 그러나 아질산염 소거능의 경우, 에탄올 추출물이 ethyl acetate 분획물에 비해 높은 소거능을 나타내어 이전 결과와는 다른 경향을 보여주었다. Cho 등(2015)은 총 페놀 함량과 아질산염 소거능과의 연관성은 낮다고 보고하였으며, 총 페놀 함량이 낮았던 박달나무과 복분자딸기가 높은 아질산염 소거능을 나타냈고 총 페놀 함량이 높았던 윤노리나무가 낮은 소거능을 나타냈다고 설명하였다. 분획물 중 *n*-hexane과 water은 IC₅₀값이 1,000 µg/mL 이상으로 나타나 아질산염 소거능이 낮은 것을 알 수 있었다. 양성대조군으로 사용된 trolox와 catechin은 각각 13.51, 64.65 µg/mL으로 왕벚나무 껍질 에탄올 추출물 및 분획물의 활성에 비해 높은 활성을 나타냈다(*p*<0.05). 국내 산림지역 자생 식물 11종의 항산화 연구(Cho 등, 2015)에서 11종의 70% 에탄올 추출물 중 밤나무, 복분자딸기, 비목나무가 200 µg/mL 농도에서 약 60%의 소거능을 나타내어 왕벚나무 껍질 에탄올 추출물과 유

사한 활성을 나타냈으며, 박달나무, 산수유, 진달래, 쇠물푸레, 윤노리나무, 오이풀이 200 µg/mL 농도에서 50% 이상의 소거능을 나타냈다고 보고하여 왕벚나무 껍질 ethyl acetate, *n*-buthanol, dichloromethane 분획물의 활성보다 높게 나타났다.

환원력

왕벚나무 껍질 에탄올 추출물 및 분획물의 환원력을 125, 250, 500, 1,000 µg/mL 농도에서 측정하여 흡광도로 나타낸 결과는 Table 2에 제시하였다. 왕벚나무 껍질 에탄올 추출물 및 분획물의 환원력 측정 결과, 대부분의 농도에서 ethyl acetate 분획물이 가장 높은 흡광도를 나타냈다($p < 0.05$). 이러한 경향은 앞의 3종 라디칼 소거능 측정 결과에서도 유사하게 나타났다. 이는 항산화 물질의 작용이 다양한 메커니즘(연쇄반응방어, 활성산소 및 과산화물 제거 등)과 연관성이 높아 나타난 결과로 생각된다(Kang 등, 2010). 모든 시료가 농도에 비례하여 증가하는 경향을 나타냈으나, ethyl acetate 분획물의 경우 500, 1,000 µg/mL에서 같은 활성을 보여주었다($p < 0.05$). 에탄올 추출물은 분획물 5종 중 *n*-buthanol 분획물과 가장 유사한 수치를 나타냈다. 양성대조군인 vitamin C는 왕벚나무 껍질 에탄올 추출물 및 분획물에 비해 높은 환원력을 나타내어 125, 250, 500, 1,000 µg/mL 농도에서 각각 1.52, 2.74, 2.80, 2.96의 수치를 보여주었다. Lee 등(2018)의 연구에서 딸기 잎 80% 에탄올 추출물의 환원력은 140 µg/mL에서 흡광도 0.50을 나타낸다고 보고하여 125 µg/mL 농도에서 흡광도 0.55를 나타낸 왕벚나무 껍질 에탄올 추출물과 유사한 활성을 보였다. 또한 Kim과 Han (2018)의 연구에서 양하 *n*-buthanol 분획물은 250, 500 µg/mL 농도에서 각각 0.25, 0.44의 흡광도를 나타냈는데, 본 연구의 *n*-buthanol 분획물의 경우 250, 500 µg/mL 농도에서 각각 1.01, 1.89의 흡광도를 보여 양하에 비해 활성이 4배 정도 높게 나타났다.

요 약

본 연구에서는 왕벚나무 껍질 에탄올 추출물과 분획물의 항산화물질 및 항산화활성을 측정하였다. 왕벚나무 껍질 에탄올 추출물 및 분획물의 총 페놀 함량은 ethyl acetate 분획물이 496.80 mg GAE/g으로 가장 높았고, 총 플라보노이드 함량은 7.26-265.52 mg RE/g으로 ethyl acetate 분획물이 가장 높게 나타났다. 프로안토시아닌 함량은 ethyl acetate, *n*-buthanol, ethanol, dichloromethane, water, *n*-hexane 순으로 높았다. DPPH, ABTS⁺, superoxide⁻ 라디칼 소거능 및 환원력은 ethyl acetate 분획물의 활성이 가장 좋았고, 아질산염 소거능에서는 에탄올 추출물이 가장 높은 활성을 나타냈다. 반면에 *n*-hexane과 water 분획물은 항산화물질의 함량이 낮고 항산화활성이 다른 시료에 비해 낮게 측정되었다. 따라서 왕벚나무 껍질 ethyl acetate 분획물은 항산화물질이 풍부하고 높은 항산화활성을 나타내어 천연 항산화제로 활용될 수 있을 것으로 기대된다.

References

Byun EB, Kim MJ, Kim SJ, Oh NS, Park SH, Kim WS, Song HY, Han JM, Kim KW, Byun EH. Antioxidant activity and neuroprotective effects of ethanol extracts from the core of *Diospyros kaki*. Korean J. Food Sci. Technol. 52: 60-66 (2020)
 Cheon WY, Seo DY, Kim YH. Antioxidative and hepatocyte protective effects of guava (*Psidium guajava* L.) leaves cultivated in Korea. Korean J. Food Nutr. 32: 33-40 (2019)
 Cho ML, Lee JS, Lee SR, Son YK, Bae CH, Yeo Jh, Lee HS, Ma

JG, Lee OH, Kim JY. Antioxidant activity of 11 species in Korean native forest plants. Korean J. Food Nutr. 28: 1098-1106 (2015)
 Elzaawely AA, Xuan TD, Koyama H, Tawata S. Antioxidant activity and contents of essential oil and phenolic compounds in flowers and seeds of *Alpinia zerumbet* (Pers.) B.L. Burtt. & R.M. Sm. Food Chem. 104: 1648-1653 (2007)
 Hong SC, Jun JA, Kim DH. Comparative study of antioxidant abilities on *Prunus yedoensis* and *Betula platyphylla* var. japonica. J. Physiol. & Pathol. Korean Med. 27: 391-399 (2013)
 Hyon JS, Kang SM, Senevirathne M, Koh WJ, Yang TS, Oh MC, Oh CK, Jeon YJ, Kim SH. Antioxidative activities of dried and fresh citrus peels in Jeju. Korean J. Food Cook. Sci. 26: 88-94 (2010)
 Jeon SM, Lee JY, Kim HW, Lee YM, Jang HH, Hwang KA, Kim HR, Park DS. Antioxidant activity of extracts and fractions from *Aster scaber*. J. Korean Soc. Food Sci. Nutr. 41: 1197-1204 (2012)
 Jeong KH, Ji YS, Kil KJ, Yoo JH. Antioxidant effects of ethanol extracts from different parts of *Portulacae Herba*. Korean J. Herbol. 34: 59-65 (2019)
 Ju EM, Lee SE, Hwang HJ, Kim JH. Antioxidant and anticancer activity of extract from *Betula platyphylla* var. japonica. Life Sci. 74: 1013-1026 (2004)
 Jung MY. The antibacterial and antioxidant activity of oriental herbs. MS thesis, Paichai University, Daejeon, Korea (2011)
 Jung HA, Kim AR, Chung HY, Choi JS. In vitro antioxidant activity of some selected *Prunus* species in Korea. Arch. Pharm. Res. 25: 865-872 (2002)
 Jung MH, Lee SS, Park SH, Hwang HJ. The antioxidative effect of ethanol extracts from *Lithospermum erythrorhizon* Siebold & Zucc., *Xanthium strumarium* Linn, and *Lonicera japonica*. Korean J. Life Sci. 23: 643-649 (2013)
 Kang GJ. Inhibitory effect of organic extracts from *Prunus yedoensis* Matsumura barks on the atopic dermatitis-like inflammation. MS thesis, Cheju National University, Jeju, Korea (2006)
 Kang SK, Jeong CH, Heo HJ, Shin KH. Antioxidative activities of various solvent fractions from fruit and leaf of *Pinkpop Borisju*. J. Agric. Life Sci. 44: 69-78 (2010)
 Kato H, Lee IE, Chuyen NV, Kim SB, Hayase F. Inhibition of nitrosamine formation by non dialyzable melanoidins. Agric. Biol. Chem. 51: 1333-1338 (1987)
 Kim MH, Han YS. Anti-oxidative and anti-diabetic effects of butanol fraction from *Yangha* (*Zingiber mioga* ROSC). Korean J. Food Cook. Sci. 34: 105-112 (2018)
 Kim CH, Lee KY, Moon MO, Hyun HJ, Ihm BS, Kim MH. Natural habitat of *Prunus yedoensis* Matsumura and its morphological variation. Korean J. Pl. Taxon. 28: 117-137 (1998)
 Kim CY, Kang BB, Hwang JS, Choi HS. Red ginseng-derived saponin fraction inhibits lipid accumulation and reactive oxygen species production by activating nuclear factor (erythroid-derived 2)-like 2 (Nrf2)/Kelch-like ECH-associated protein 1 (Keap1) pathway. Korean J. Food Sci. Technol. 50: 688-696 (2018a)
 Kim JD, Kim JH, Bae JS. ROS homeostasis and metabolism: a critical liaison for cancer therapy. Exp. Mol. Med. 48: e269 (2016)
 Kim IY, Lee JY, Jeong YH. Antioxidant activities of *Rumex crispus* L. root extracts and fractions. J. Korean Soc. Food Sci. Nutr. 47: 1234-1241 (2018b)
 Kumaran A, Karunakaran RJ. In vitro antioxidant activities of methanol extracts of five *Phyllanthus* species from India. LWT Food Sci. Technol. 40: 982-990 (2007)
 Lee JY. Anti-inflammatory effect of *Prunus yedoensis* bark through inhibition of nuclear factor-κB in macrophages. MS thesis, Kyung Hee University, Seoul, Korea (2008)
 Lee SE, Choi JH, Lee JH, Noh HJ, Kim GS, Kim JK, Chung HY, Kim SY. Screening of useful plants with anti-inflammatory and antioxidant activity. Korean J. Plant Res. 26: 441-449 (2013)
 Lee YU, Huang GW, Liang ZC, Mau JL. Antioxidant properties of three extracts from *Pleurotus citrinopileatus*. LWT Food Sci. Technol. 40: 823-833 (2007)
 Lee DS, Kim KH, Yook HS. Antioxidant effects of fractional extracts from strawberry (*Fragaria ananassa* var. 'Seolhyang')

- leaves. J. Korean Soc. Food Sci. Nutr. 47: 263-270 (2018)
- Lee YR, Yoon NR. Anti-oxidative and anti-diabetic effects of methanol extracts from medicinal plants. J. Korean Soc. Food Sci. Nutr. 44: 681-686 (2015)
- Lim JP. Antibacterial activity against *S. mutans* or *P. gingivalis* and anti-inflammatory effect of betulae cortex. J. Physiol. & Pathol. Korean Med. 25: 635-640 (2011)
- Matsuda H, Ishikado A, Nishida N, Ninomiya K, Fujiwara H, Kobayashi Y, Yoshikawa M. Hepatoprotective, superoxide scavenging, and antioxidative activities of aromatic constituents from the bark of *Betula Platyphylla* var. Japonica. Bioorg. Med. Chem. Lett. 8: 2939-2944 (1998)
- Onofrei V, Burducea M, Lobiuc A, Teliban GC, Ranghiuc G, Robu T. Influence of organic foliar fertilization on antioxidant activity and content of polyphenols in *Ocimum basilicum* L.. Acta Pol. Pharm. Drug Res. 74: 611-615 (2017)
- Oyaizu M. Studies on products of browning reaction: Antioxidant activities of products of browning reaction prepared from glucosamine. Jpn. J. Nutr. 44: 307-315 (1986)
- Park ES, Shin MK, Song HJ. A study on the anti-allergenic effect of *Cortex Betula Platyphyllae* or *Cortex Pruni Serrulatae* extract. Kor. J. Herbology. 13: 57-68 (1998)
- Price ML, Hagerman AE, Butler LG. Tannin content of cowpeas, chick peas, pigeon peas, and mung beans. J. Agric. Food Chem. 28: 459-461 (1980)
- Pyo YH, Lee TC, Logendra L, Rogen RT. Antioxidant activity and phenolic compounds of Swiss chard (*Beta vulgaris* subspecies *cycla*) extracts. Food Chem. 85: 19-26 (2004)
- 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)
- Rim YS, Park YM, Park MS, Kim KY, Kim MJ, Choi YH. Screening of antioxidants and antimicrobial activity in native plants. Korean J. Med. Crop Sci. 8: 342-350 (2000)
- Song HK, Oh SJ. Isolation and structure elucidation of proanthocyanidin in bark of *Pinus densiflora*. Mokchae Konghak 24: 81-93 (1996)
- Um HJ, Kim GH. Studies on the flavonoid compositions of *Elsholtzia* spp.. Korean J. Food Nutr. 20:103-107 (2007)
- Valko M, Leibfritz D, Moncol J, Cronin MTD, Mazur M, Telse J. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. Int. J. Biochem. Cell Biol. 39: 44-84 (2007)
- Wojtsiat J, Zoltowska KM, Laskowska-Kaszub K, Wojda U. Oxidant/antioxidant imbalance in Alzheimer's disease: therapeutic and diagnostic prospects. Oxid. Med. Cell. Longevity 2018: 6435861 (2018)
- Zhao GR, Xiang ZJ, Ye TX, Yuan YJ, Guo ZX. Antioxidant activities of *Salvia miltiorrhiza* and *Panax notoginseng*. Food Chem. 99: 767-774 (2006)