

## 싸리나무(*Lespedeza bicolor*) 부위별 추출물의 항산화 활성 및 항산화물질 분리

이재학 · 주진우\*

강원대학교 동물식품응용과학과

### Antioxidant Activity of Different Parts of *Lespedeza bicolor* and Isolation of Antioxidant Compound

Jae-Hak Lee and Jin-Woo Jhoo\*

Department of Animal Products and Food Science, Kangwon National University

**Abstract** In this study, total antioxidant properties of extracts from different parts of *Lespedeza bicolor* were determined using techniques of measuring 1,1-diphenyl-2-picryl hydrazyl/2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid)-radical scavenging activity and total phenolic contents. The total antioxidant activities of leaf, stem and root extracts from various solvents (water, 50, 70, 100% ethanol, and hot-water) indicated that 50 and 70% ethanol extracts have high radical scavenging activities and phenolic contents. A systematic approach was used to determine the total antioxidant activity of different solvent fractions of the *Lespedeza bicolor* extracts, partitioning with chloroform, ethyl acetate, *n*-butanol, and water, and the ethyl acetate fraction was found to have the strongest antioxidant activity. Antioxidant assay-guided isolation was carried out to isolate potential antioxidant compounds. The ethyl acetate fraction of the leaf extract was subjected to silica gel, LH-20 and RP-18 column chromatography successively, and afforded compound 1, which was identified as eriodictyol by NMR and MS analysis, after which its antioxidant activity was determined.

**Keywords:** *Lespedeza bicolor*; antioxidant activity, radical scavenging activity, flavonoid, eriodictyol

## 서 론

최근 소비자들의 건강에 대한 관심이 높아짐에 따라 기능성이 강화된 건강기능식품의 소비가 증가하는 추세이며, 특히 천연 항산화제를 함유하는 건강기능식품 개발에 대한 관심이 높아지고 있다. 인간을 비롯한 모든 생물체들은 생체 내 생화학 반응 및 환경적 인자에 의해 superoxide radical, hydroxyl radical, peroxy radical, hydrogen peroxide 등과 같은 활성산소종(reactive oxygen species, ROS)이 생성되며, 생체내 이들의 생성이 증가된 상태인 산화적 스트레스(oxidative stress)에 의해 세포내 구성성분인 단백질 및 지질성분 등이 기능적으로 손상되는 것으로 알려져 있다(1,2). 이러한 ROS의 작용에 의한 생체기능 저하는 노화, 심장병, 당뇨병, 관절염, 알츠하이머 질환 및 파킨슨병 등과 같은 다양한 질환의 원인이 되기도 하며, DNA 손상에 따른 발암과정에도 깊게 관여하고 있는 것으로 보고되고 있다(1,2). 산화적 스트레스에 의한 세포 구성성분의 산화적 손상을 지연시키거나 억제하는 물질을 항산화물질(antioxidant)이라 하며(2), 천연물로부터 이러한 항산화특성을 이용한 기능성소재의 개발에 대한 관심이 높아지고 있다.

싸리(*Lespedeza bicolor*)는 콩과(Leguminosae)에 속하는 다년생의 활엽 관목으로서 높이가 3 m에 달하며, 가지는 능선이 있고 암갈색이며 목재는 연한 녹색으로 열매는 10월에 성숙하고 7-8월에 개화하며 한국, 중국, 일본 및 극동러시아에 분포하는 식물이다(3). 한방에서는 진해, 거담, 만성 기관지염, 지혈, 청열, 학질, 발한, 해열의 치료제 및 이뇨제와 건비제 등의 목적으로 사용하고 있다(4). 싸리나무와 관련된 연구로는 싸리나무의 환원당, 유리당, 무기질 및 아미노산 등의 성분을 분석하여 보고하였으며(5), 또한 싸리나무 추출물이 xanthin oxidase 및 tyrosinase 저해활성을 가지는 것으로 보고하였다(6). 싸리나무 추출물의 전자공여능, superoxide dismutase 유사활성, 아질산염 소거능 등의 항산화활성을 분석한 연구가 수행되었고(5), 최근 연구에서 Ryu 등(7)은 싸리나무 꽃 에탄올 추출물이 피부의 멜라닌 형성을 저해하는 효과를 보고하였다. 또한 싸리나무의 생리활성으로 항염증작용(4), 항균작용(8), 항바이러스작용(9) 등이 알려져 있다. 싸리속 식물에 함유되어 있는 2차 대사산물을 분석한 연구로는 싸리나무(*Lespedeza bicolor*) 줄기로부터 caffeic acid, protocatechuic acid, betulinic acid, botulin,  $\beta$ -sitosterol 등의 화합물 및 prenylated isoflavanone을 분리하여 보고 하였으며(10), 좁싸리(*Lespedeza virgate*)로부터 항산화활성을 가지는 6종의 플라보노이드를 분리하여 보고하였다(11). Baek 등(12)은 참싸리(*Lespedeza cyrtobotrya*) 줄기의 메탄올 추출물로부터 분리된 dalbergiodin이 멜라닌 생합성을 저해하는 효과를 규명하였다. 비수리(*Lespedeza cuneata*)의 지상부에서는 kaempferol, quercetin 외에 hyperin, hirsutrin, desmodin, homoadonivernite 등의 플라보노이드가 분리되어 보고되었으며(13), 또한 비수리는 플라페놀 및 플라보노이드 함량이 높아 천연물 유

\*Corresponding author: Jin-Woo Jhoo, Department of Animal Products and Food Science, Kangwon National University, Chuncheon, Gangwon 200-701, Korea  
Tel: 82-33-250-8649  
Fax: 82-33-251-7719  
E-mail: jjhoo@kangwon.ac.kr  
Received August 14, 2012; revised September 17, 2012;  
accepted September 26, 2012

래 생리활성물질의 개발 가능성을 확인 할 수 있었다(14). 분홍 싸리(*Lespedeza floribunda*) 뿌리의 메탄을 추출물로부터 총 51종의 플라보노이드를 확인하였으며, 이들 화합물 중 멜라닌 생합성을 저해하는 효과가 피부 미백제인 hydroquinone보다 우수한 것으로 보고하였다(15).

싸리나무(*Lespedeza bicolor*)는 다양한 기능성을 가지는 유용 식물자원임에도 불구하고 이들의 유효성분 및 생리활성에 관한 연구는 미흡한 것으로 판단된다. 본 연구에서는 싸리나무의 기능성 소재로서의 특성을 검토하기 위해 싸리나무 부위별 추출물의 항산화활성을 비교분석하며, 유효활성물질을 antioxidant activity guided-isolation을 통해 분리하여 제시함으로써 싸리나무의 기능성소재 개발을 위한 기초자료를 제공하고자 한다.

## 재료 및 방법

### 실험재료

본 실험에서 이용한 1,1-diphenyl-2-picryl hydrazyl(DPPH), 2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) diammonium salt (ABTS), Folin Ciocalteu's reagent, trifluoroacetic acid(TFA), Trolox, gallic acid 및 eriodictyol 표준물질은 Sigma-Aldrich사(St. Louis, MO, USA)로부터 구입하여 실험에 이용하였다. 컬럼크로마토그라피에 이용한 LH-20는 Amersham Bioscience사(Uppsala, Sweden)로부터 구입하였으며, Silica gel 60은 Merck사(Darmstadt, Germany)의 제품을 이용하였다. 실험에 이용한 에탄올(purity 96%), 메탄올 및 에틸아세테이트는 SK Chemicals(Seongnam, Korea)에서 구입하였으며, *n*-부탄올 및 클로로포름은 Daejung Chemicals & Metals(Siheung, Korea)에서 구입하여 이용하였다. HPLC 분석에 이용한 아세토니트릴 및 물은 Burdick & Jackson(Ulsan, Korea)에서 구입하였다. 싸리나무 시료는 강원도 인제지역에서 채배하는 싸리나무의 잎, 줄기 그리고 뿌리를 2011년 9월에 (유)화전민에서 채집 및 동정하여 제공한 것을 실험에 사용하였으며, 싸리나무 각 부위는 이물질을 제거하여 건조 후 분쇄기를 이용하여 40 mesh 크기로 분쇄하여 시료로 이용하였다. 시료의 수분함량을 분석한 결과는 잎, 줄기 및 뿌리 각각 7.17, 7.45, 4.42%를 함유하는 것으로 분석되었다.

### 싸리나무 부위별 추출물 제조

싸리나무 부위별(잎, 줄기, 뿌리) 시료 10 g을 200 mL의 증류수, 50% 에탄올 수용액, 70% 에탄올 수용액 그리고 100% 에탄올(purity 96%, SK Chemicals)로 혼합한 후 초음파 추출(DH.D.300H, Daihan, Wonju, Korea)을 2시간씩 3회 반복 추출하여 얻은 추출액을 No. 2 여과지(Whatman, Kent, UK)를 이용하여 감압여과 후 여과액을 회전감압농축기(N-N Series, Eyela Co., Tokyo, Japan)를 이용하여 농축하였다. 또한 환류냉각기가 장착된 가열추출장치를 사용하여 시료(10 g)와 200 mL 증류수를 넣은 후 끓은점에서 6시간씩 3회 반복 추출하여 추출액을 얻었으며, 이를 No. 2 여과지를 이용하여 감압여과 후 여과액을 회전감압농축기를 이용하여 농축하였다. 각 부위의 추출물은 동결건조기(FD-1000, Eyela)을 이용하여 동결건조 후 분석시료로 이용하였다.

### DPPH 라디칼 소거활성

DPPH 라디칼 소거활성은 Blois 방법(16)에 따라 DPPH(1,1-diphenyl-2-picryl-hydrazyl)에 대한 전자공여능(electron donating ability)으로 추출물에 대한 환원력을 측정하였으며, 싸리나무 추출물과 분획물이 DPPH 라디칼을 50% 소거하는데 필요로 하는

농도(EC<sub>50</sub>)를 측정하였다. 시료와 150 μM DPPH용액 1 mL을 혼합한 후 암소에서 30분간 반응시킨 후 반응액을 517 nm에서 흡광도를 측정하였다. DPPH 라디칼 소거활성은 다음의 식과 같이 계산하였다.

$$\text{DPPH 라디칼 소거활성(\%)} = (1 - A/B) \times 100$$

A: 시료첨가구의 흡광도, B: 대조구의 흡광도

### ABTS 라디칼 소거활성

ABTS 라디칼 소거활성을 이용한 항산화력 측정은 ABTS cation decolorization assay 방법(17)에 의하여 측정하였다. 7 mM ABTS와 2.45 mM K<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>8</sub>를 실온인 암소에서 24시간 반응하여 ABTS 라디칼을 형성시켜 ABTS stock solution을 제조하였다. 이후 stock solution을 증류수를 이용하여 734 nm에서 흡광도 0.70±0.02로 희석시켜 ABTS working solution을 제조하였다. Working solution 1 mL와 시료를 첨가하여 암실에서 10분간 반응시킨 후 734 nm에서 흡광도를 측정하여 ABTS 라디칼 소거율을 분석하였다. Trolox equivalent antioxidant capacity(TEAC) 값을 측정하기 위하여 Trolox(Sigma-Aldrich)를 사용하여 농도별 ABTS 라디칼 소거율을 측정하였다. 이의 표준곡선을 작성하여 slope 값을 얻었으며, 각각의 시료는 농도에 따른 ABTS 라디칼 소거율을 측정하여 각 분석시료에 대한 slope 값을 분석하였다. 각 시료의 TEAC value는 다음의 식과 같이 계산하였다.

$$\text{TEAC value} = \text{slope of sample} / \text{slope of Trolox}$$

### 총 페놀성 화합물 함량분석

시료의 총 페놀성 화합물 함량은 Singleton과 Rossi의 방법(18)을 이용하여 측정하였다. 시료 40 μL와 증류수 1.56 mL를 첨가한 후 0.1 mL Folin-Ciocalteu's phenol reagent(Sigma-Aldrich)를 첨가하여 혼합한 후 5분간 실온에서 반응시켰으며, 이후 2 M sodium carbonate 용액 0.3 mL를 첨가하여 40°C에서 30분간 동안 반응시켜 750 nm에서 흡광도를 측정하였다. 페놀성 화합물 분석을 위한 표준물질은 gallic acid(Sigma-Aldrich)를 이용하여 농도별 표준곡선을 작성한 후 시료의 총 페놀성 화합물 함량을 mg gallic acid equivalent(GAE)/g으로 나타내었다.

### 싸리나무 부위별 추출물의 분획물 제조

싸리나무 부위별 시료 300 g을 증류수 1,500 mL에 용해시킨 후 싸리나무 잎의 경우 70% 에탄올을 이용하여 2시간씩 초음파 추출을 3회 반복하였으며, 싸리나무 줄기와 뿌리는 50% 에탄올을 이용하여 2시간씩 초음파추출을 3회 반복하여 추출한 추출액을 감압농축하였다. 농축물은 증류수에 용해 시킨 후 분획할때기에서 극성별 유기용매 클로로포름, 에틸아세테이트, *n*-부탄올을 순차적으로 이용하여 분리되어 얻은 용액을 감압농축하여 분석시료로 사용하였다. 싸리나무 잎, 줄기 및 뿌리 분획물의 제조단계 및 수율은 각각 Fig. 1에 나타내었다.

### 화합물 구조분석 및 HPLC 분석

분리된 물질을 확인하기 위하여 실험에 이용한 Thin-layer chromatography(TLC) 분석은 Merck사 Silica gel 60 F<sub>254</sub>를 이용하여 실시하였으며 spot은 UV illumination과 5%(v/v) H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>에 탄올 용액을 스프레이하여 확인하였다. <sup>1</sup>H NMR, <sup>13</sup>C NMR 및 DEPT spectra는 Bruker Avance 600 spectrometer(Billerica, MA, USA)를 이용하여 측정하였다. 순수 분리된 화합물은 CD<sub>3</sub>OD

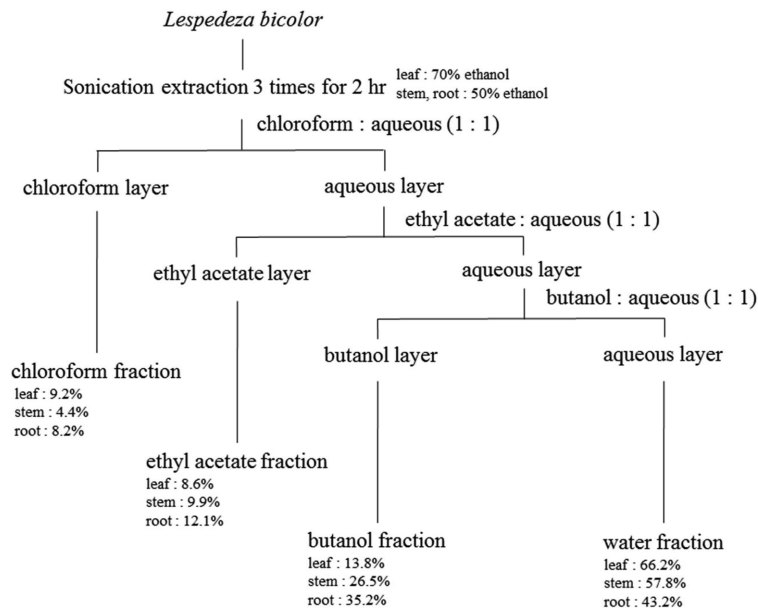


Fig. 1. Extraction and fractionation procedures of different parts of *Lespedeza bicolor*.

(Sigma-Aldrich)에 용해하여 측정하였으며 chemical shift는  $\delta$ (ppm)으로 표시하였다. HR-EI-MS 분석은 JEOL JMS-700(Tokyo, Japan)를 이용하여 분석을 실시하였다. 본 실험에서 분리된 항산화물질의 싸리나무 잎에 함유되어 있는 함량을 분석하기 위하여 HPLC(LC-20A, Shimadzu, Tokyo, Japan)를 이용하였으며, 분석용 컬럼은 Luna C<sub>18</sub> column(Phenomenex, Torrance, CA, USA, 10  $\mu$ m, 250×4.6 mm)을 사용하였다. 분석에 이용한 이동상 A는 0.1%(v/v) TFA를 함유하는 물을 이용하였으며, 이동상 B는 0.1%(v/v) TFA를 함유하는 아세트니트릴을 이용하였다. 이동용매는 이동상 B 5%에서 95% 까지 30분간 gradient 조건으로 증가시켰으며, 이동상 B 95%를 5분간 유지하여 분석시간 35분간 컬럼을 통해 나오는 화합물을 288 nm에서 모니터링하며 분석을 실시하였다. 이동용매의 용출속도는 1.0 mL/min, 컬럼온도의 온도는 40°C로 유지 하였으며, 시료는 0.45  $\mu$ m syringe filter(Advantec, Tokyo, Japan)로 여과하여 시료 10  $\mu$ L를 HPLC에 주입하여 분석하였다.

**통계분석**

실험결과는 SPSS 19.0(SPSS Inc., Chicago, IL, USA)을 이용하여 ANOVA로 분석하였고, 집단 간 비교를 위한 사후분석은 Tukey로 검증하였으며  $p < 0.05$  이상일 때만 통계적 유의성이 있는 것으로 판단하였다. 모든 분석항목은 3회 이상 반복 시험하여 얻은 결과를 평균±표준편차로 나타내었다.

**결과 및 고찰**

**싸리나무 부위별 추출물 제조**

싸리나무 부위별 최적 추출조건을 탐색하기 위하여 물, 50, 70, 100% 에탄올 용액 및 열수추출 방법을 포함하는 다섯가지 추출조건을 이용하여 싸리나무의 부위별 추출조건을 탐색하였다. 다섯가지 추출조건에 따른 추출물의 수율은 Table 1에 나타내었다. 싸리나무 잎의 경우 70% 에탄올을 이용하여 추출하는 것이 높은 추출수율을 나타내는 경향을 보였으며, 물, 50% 에탄올, 100% 에탄올 추출물의 경우 추출용매의 에탄올 비율에 따른 추출수율의 유의적 차이는 나타나지 않았다. 싸리나무 줄기는 추출용매를

Table 1. Extraction yields of different parts of *Lespedeza bicolor* with different solvent systems (%)

Extraction solvent system	Extraction yields		
	Leaf	Stem	Root
100% ethanol ext.	28.67±1.93 <sup>aAB</sup>	5.67±0.23 <sup>bC</sup>	4.57±0.42 <sup>bD</sup>
70% ethanol ext.	31.93±1.36 <sup>aA</sup>	11.57±1.20 <sup>bAB</sup>	12.87±0.93 <sup>bAB</sup>
50% ethanol ext.	26.83±0.57 <sup>aAB</sup>	12.63±0.51 <sup>bA</sup>	13.80±0.82 <sup>bA</sup>
Water ext.	26.40±3.95 <sup>aAB</sup>	10.87±1.19 <sup>bAB</sup>	10.03±0.81 <sup>bC</sup>
Hot-water ext.	25.57±0.95 <sup>aB</sup>	10.10±0.87 <sup>bB</sup>	10.87±0.83 <sup>bBC</sup>

Data are expressed as mean±SD of triplicate experiments. <sup>a,b</sup>Means in the same row with different superscripts are significantly different ( $p < 0.05$ ). <sup>A-D</sup>Means in the same column with different superscripts are significantly different ( $p < 0.05$ ).

100% 에탄올을 이용하여 추출하는 경우 가장 낮은 추출수율을 나타내었으며, 70%와 50% 에탄올 수용액을 이용하여 추출하는 경우 100% 에탄올을 이용하는 것 보다 추출수율이 증가하는 것을 확인 할 수 있었다. 물과 열수를 이용하여 추출하는 경우 가열에 따른 추출수율의 유의적인 차이는 나타나지 않았다. 싸리나무 뿌리의 경우 추출수율은 100% 에탄올을 이용하여 추출하는 경우 가장 낮은 추출수율을 나타내었으며, 70%와 50% 에탄올 수용액을 이용하여 추출하는 경우 100% 에탄올을 이용하는 것 보다 추출수율이 증가하는 것을 확인 할 수 있었다. Lee 등(19)은 싸리나무 줄기를 이용하여 얻은 추출 실험결과에서 추출용매로 아세톤, 75% 에탄올 및 메탄올을 이용하는 방법과 열수추출 방법을 이용하여 추출 후 얻은 수율은 각각 0.97, 2.34, 2.12% 및 4.25%로 보고하였다. 또한 Lee 등(8)은 싸리나무 줄기를 물 및 에탄올을 이용하여 추출하는 경우 추출수율을 각각 4.38% 및 5.60%로 나타나는 것으로 보고하였으며, 싸리나무 잎의 경우 물 및 에탄올을 이용한 추출의 경우 각각 6.58% 및 8.23%로 보고하였다. 이러한 결과는 본 실험에서 제시한 추출수율과 차이가 나타나는 경향이 있는데, 이는 본 실험에서 적용한 초음파 추출 방법이 추출수율에 영향을 준 것으로 판단되며, 초음파 추출은

**Table 2. DPPH radical scavenging activity of different parts of *Lespedeza bicolor* extract**

Samples	(µg/mL)		
	EC <sub>50</sub>		
	Leaf	Stem	Root
100% ethanol ext.	16.53±0.32 <sup>c</sup>	40.30±0.52 <sup>a</sup>	19.39±0.16 <sup>b</sup>
70% ethanol ext.	14.99±0.11 <sup>c</sup>	38.48±0.90 <sup>a</sup>	19.35±0.18 <sup>b</sup>
50% ethanol ext.	15.82±0.31 <sup>b</sup>	29.34±0.38 <sup>a</sup>	12.42±0.09 <sup>d</sup>
Water ext.	84.19±3.34 <sup>a</sup>	175.89±1.43 <sup>a</sup>	38.12±0.20 <sup>a</sup>
Hot-water ext.	29.93±0.92 <sup>b</sup>	76.97±0.46 <sup>a</sup>	34.64±0.21 <sup>b</sup>

Data are expressed as mean±SD of triplicate experiments.

<sup>a-c</sup>Means in the same row with different superscripts are significantly different ( $p < 0.05$ ).

<sup>A-D</sup>Means in the same column with different superscripts are significantly different ( $p < 0.05$ ).

초음파의 효과에 의하여 식물시료의 세포벽이 파괴되고 추출용매가 세포로 침투되어 추출효율을 증가시키는 것으로 알려져 있다(20).

#### 싸리나무 부위별 추출물의 DPPH 라디칼 소거력 분석

싸리나무 부위별 시료의 추출조건을 달리하여 얻은 추출물의 DPPH 라디칼 소거력을 분석하여 Table 2에 나타내었다. 싸리나무 잎 50, 70, 100% 에탄올 추출물의 DPPH 라디칼 소거력에 있어서 유의적 차이는 나타나지 않는 것으로 분석되었다. 물 추출물의 EC<sub>50</sub> 값은 84.19 µg/mL로 에탄올 수용액 추출물에 비하여 유의적으로 낮은 DPPH 라디칼 소거력을 가지는 것으로 나타났으나, 열수추출물의 경우 EC<sub>50</sub> 값이 29.93 µg/mL로 분석되어 열수추출법이 라디칼 소거활성을 가지는 항산화 화합물들을 추출하는데 유효한 추출조건임을 확인 할 수 있었다. 싸리나무 줄기의 경우 50% 에탄올 추출물의 EC<sub>50</sub> 값이 29.34 µg/mL로 다른 추출물들에 비하여 라디칼 소거능이 우수한 것으로 나타났다. 싸리나무 잎의 분석결과와 유사한 경향으로 싸리나무 줄기의 물 추출물은 가장 낮은 라디칼 소거력을 나타내었으나, 열수추출물은 물 추출물 보다 우수한 라디칼 소거력을 가지는 것으로 나타났다. 싸리나무 뿌리의 경우 50% 에탄올 추출물의 EC<sub>50</sub> 값이 12.42 µg/mL로 가장 우수한 DPPH 라디칼 소거력을 가지는 것으로 분석되었으며, 물 추출물의 경우 잎 및 줄기와 유사한 경향으로 DPPH 라디칼 소거력이 가장 낮았다. 잎과 줄기의 경우 열수추출물이 물 추출물에 비해 2배 이상 우수한 라디칼 소거력을 나타냈으나, 뿌리 열수추출물의 경우 물 추출물과 라디칼 소거능이 큰 차이를 나타내지 않았다. 싸리나무 부위별 50% 에탄올을 이용하여 얻은 추출물의 DPPH 라디칼 소거력을 비교한 결과 뿌리 > 잎 > 줄기의 순으로 라디칼 소거력이 우수한 것으로 나타났다. Lee 등(21)은 싸리나무 줄기의 70% 메탄올 수용액을 이용하여 환류냉각장치를 장착한 추출장치에서 얻은 추출물의 DPPH 라디칼 소거력 EC<sub>50</sub>을 164.90 µg/mL로 보고 하였으며, Yang 등(22)은 국내 자생자원 140여종의 항산화활성을 검토하여 제시한 보고에서 싸리의 경우 ORAC 수치가 대조군인 Trolox에 비해 1.5 배인 것으로 나타나 우수한 항산화 소재임을 보고한 바 있다. 또한 Kim 등(23)은 싸리나무 메탄올 추출물의 부위별 DPPH 라디칼 소거능을 비교한 결과 뿌리 > 잎 > 줄기 > 꽃 순서로 소거능이 우수한 것으로 보고하여 본 실험에서 얻은 결과와 유사한 경향을 나타내었다.

**Table 3. ABTS radical scavenging activity of different parts of *Lespedeza bicolor* extract**

Extracts	TEAC value <sup>1)</sup>		
	Leaf	Stem	Root
100% ethanol ext.	0.0814 <sup>a</sup>	0.0967 <sup>b</sup>	0.2294 <sup>a</sup>
70% ethanol ext.	0.0780 <sup>b</sup>	0.1289 <sup>a</sup>	0.2328 <sup>a</sup>
50% ethanol ext.	0.0798 <sup>a</sup>	0.1312 <sup>a</sup>	0.2992 <sup>a</sup>
Water ext.	0.0322 <sup>b</sup>	0.0325 <sup>b</sup>	0.1497 <sup>a</sup>
Hot-water ext.	0.0714 <sup>c</sup>	0.0826 <sup>b</sup>	0.1732 <sup>a</sup>

<sup>1)</sup>TEAC value of Trolox expressed as 1.

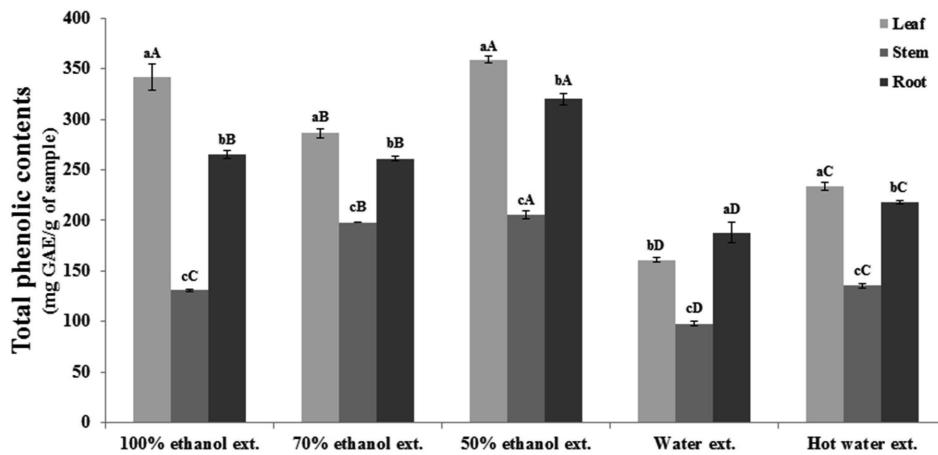
Data are expressed as mean of triplicate experiments.

<sup>a-c</sup>Means in the same row with different superscripts are significantly different ( $p < 0.05$ ).

<sup>A-D</sup>Means in the same column with different superscripts are significantly different ( $p < 0.05$ ).

#### 싸리나무 부위별 추출물의 ABTS 라디칼 소거력 분석

싸리나무 부위별 다른 추출조건을 이용하여 얻은 추출물의 ABTS 라디칼 소거력을 Trolox equivalent antioxidant capacity (TEAC)로 분석하여 Table 3에 나타내었다. TEAC value는 분석시료의 농도에 따른 ABTS 라디칼 소거율을 측정하여 얻은 회귀식의 slope와 Trolox의 slope의 비율로 계산하였으며, 이때 Trolox의 TEAC value는 1로 나타내었다. Trolox의 농도에 따른 ABTS 라디칼 소거율을 측정하여 표준곡선에서 얻은 회귀식의 R square 값은 0.998으로 나타났으며 Trolox의 농도 증가에 따라 ABTS 라디칼 소거율이 선형적으로 증가하는 것을 확인 할 수 있었다. 싸리나무 부위별 추출물의 ABTS 라디칼 소거활성을 검토한 결과 싸리나무 잎의 경우 100% 에탄올을 추출용매로 이용하여 얻은 추출물이 가장 높은 라디칼 소거능을 나타내었다. 물 추출물은 가장 낮은 라디칼 소거능을 나타내었으나, 열수추출법을 이용하여 추출할 경우 추출물의 라디칼 소거력이 약 2배 정도 증가하는 것으로 나타났다. 이러한 결과는 DPPH 라디칼 소거력을 비교한 결과와 유사한 경향으로 분석되었다. 싸리나무 줄기를 이용하여 70% 및 50% 에탄올을 이용하여 추출한 경우 100% 에탄올을 이용한 추출물보다 우수한 라디칼 소거력을 나타내는 것으로 분석되었다. 싸리나무 잎과 동일한 경향으로 물 추출물은 가장 낮은 라디칼 소거능을 나타내었으나, 열수추출물의 경우 라디칼 소거능이 증가하는 것으로 분석되어 열수추출법에 의해 항산화 화합물들이 효과적으로 추출되는 것으로 판단할 수 있었다. 싸리나무 뿌리의 ABTS 라디칼 소거력은 잎, 줄기 추출물에 비해 비교적 우수한 것으로 분석되었으며, 50% 에탄올 추출물이 가장 라디칼 소거능이 높은 것으로 나타났다. DPPH 라디칼 소거력을 분석한 실험에서 싸리나무 줄기의 50% 에탄올 추출물이 70% 에탄올 추출물보다 높은 항산화력을 가지는 것으로 분석되었으나, ABTS 라디칼 소거력을 분석한 결과 유의적 차이는 나타나지 않았다. 이는 DPPH 및 ABTS 라디칼의 특성 때문으로 분석시료의 항산화물질의 특성에 따라 반응정도 차이에 따라 라디칼을 제거하는 능력의 차가 생기기 때문인 것으로 판단된다(24). Kim 등(23)의 보고에서 싸리나무 부위별 메탄올 추출물의 경우 ABTS 라디칼 소거활성을 검토한 결과 싸리나무 뿌리 > 줄기 > 잎의 순서로 라디칼 소거활성이 높았으며, 이러한 경향은 본 실험의 결과와 유사한 것으로 분석되었다.



**Fig. 2. Total phenolic contents of different parts of *Lespedeza bicolor* extracts.** <sup>A-D</sup>Different letters in the same color bars are significantly different ( $p < 0.05$ ). <sup>a-c</sup>Different letters in the same extraction solvent groups are significantly different ( $p < 0.05$ ).

**싸리나무 부위별 추출물의 총 페놀성 화합물 함량**

식물계에 널리 분포되어 있는 2차대사산물인 페놀성 화합물의 함량은 항산화활성의 간접적인 지표가 되는 것으로 알려져 있다. 싸리나무의 부위별 추출물의 총 페놀성 화합물 함량은 Fig. 2와 같다. 싸리나무 잎의 경우 50% 에탄올 추출물에서 총 페놀성 화합물의 함량이 359.05 mg GAE/g으로 물 추출물에 비하여 약 2 배 이상의 함량을 가지는 것으로 분석되었다. 100% 및 70% 에탄올 추출물의 경우 각각 341.75, 286.15 mg GAE/g으로 나타났다. 물 추출물의 페놀성 화합물의 함량은 160.68 mg GAE/g으로 가장 낮았으며, 열수추출물의 경우 이의 함량이 증가하는 것으로 나타났다. 싸리나무 줄기의 경우 50% 및 70% 에탄올 추출물은 각각 페놀성 화합물 함량의 유의적 차이는 나타나지 않았다. 100% 에탄올을 이용하여 추출한 경우 이의 함량은 130.77 mg GAE/g으로 감소하는 것으로 나타났다. 물을 이용하여 추출한 경우 97.82 mg GAE/g으로 분석되어 가장 낮은 함량을 보였으며, 열수추출물의 경우 135.50 mg GAE/g으로 분석되어 추출온도를 증가함에 따라 페놀성 화합물의 추출수율이 증가하는 것을 확인 할 수 있었다. 뿌리의 경우 줄기에 비하여 많은 페놀성 화합물을 함유하는 것으로 분석되었으며, 50% 에탄올 추출물의 페놀성 화합물의 함량이 320.07 mg GAE/g로 가장 높았다. 70% 및 100% 에탄올 추출물은 각각 페놀성 화합물 함량이 261.22 mg GAE/g, 264.78 mg GAE/g로 분석되어 유의적 차이는 나타나지 않았다. 물을 이용하여 추출한 경우 187.75 mg GAE/g으로 분석되어 가장 낮은 함량을 보였으며, 열수추출물의 경우 217.88 mg GAE/g으로 분석되어 추출온도를 증가함에 따른 총 페놀성 화합물의 추출수율이 증가하는 것은 싸리나무의 다른 부위와 유사한 경향을 나타내었다. Lee 등(8)은 싸리나무의 줄기와 잎에서 총 폴리페놀의 함량과 플라보노이드 함량을 분석하여 보고 하였는데, 잎과 줄기의 총 폴리페놀의 함량을 각각 58.20 및 80.60 mg/g으로 보고하였으며, 총 플라보노이드 함량은 잎과 줄기 각각 64.1 및 23.80 mg/g으로 보고하여 싸리나무 잎이 줄기 부위에 비하여 플라보노이드 함량이 높아 우수한 라디칼 소거력을 가지는 것으로 보고하였다. Lee 등(19)은 싸리나무 줄기를 이용하여 아세트, 에탄올, 메탄올 및 물을 이용하여 얻은 추출물의 총 폴리페놀 함량을 분석한 결과 메탄올을 이용하여 추출한 시료가 가장 높은 총 폴리페놀 함량(216.5 mg/g tannic acid equivalent, TAE)을 가지는 것으로 보고하였으며, 물 추출물의 경우 149.5 mg/g TAE로 가장 낮은 추출수율을 가지는 것으로 보고하였다. 이러한 추출용매의 종류에 따

른 페놀성 화합물의 추출수율의 차이는 본 연구와 유사한 경향으로 나타나는 것으로 분석되었다.

**싸리나무 부위별 추출물 분획물의 DPPH 및 ABTS 라디칼 소거활성**

싸리나무 부위별 추출물의 항산화활성 특성을 분획별로 검토하기 위하여 유기용매를 이용하여 용매 분획물을 획득하였다. 싸리나무 부위별 최적 추출수율을 검토한 선행실험 결과를 적용하여 싸리나무 잎의 70% 에탄올 추출물과 싸리나무 줄기 및 뿌리의 50% 에탄올 추출물을 물에 용해 시킨 후 분획깔대기에서 클로로포름, 에틸아세테이트, *n*-부탄올을 순차적으로 적용하여 극성에 따른 분획물을 얻었다. 이를 동결건조 한 후 시료로 이용하여 DPPH 및 ABTS 라디칼 소거력을 검토하였으며 이들 결과를 Table 4과 5에 나타내었다. DPPH 라디칼 소거활성을 분석한 결과 싸리나무 잎 분획물의 경우 에틸 아세테이트 분획물에서 EC<sub>50</sub>이 19.55 µg/mL로 분석되어 클로로포름, *n*-부탄올 및 물 분획물에 비하여 우수한 DPPH 라디칼 소거력을 가지는 것으로 확인되었으며, 물 분획물은 EC<sub>50</sub>이 367.35 µg/mL로 DPPH 라디칼 소거력이 가장 낮은 것으로 나타났다. 싸리나무 잎 분획물의 DPPH 라디칼 소거력은 에틸아세테이트 분획물 > 부탄올 분획물 > 클로로포름 분획물 > 물 분획물 순으로 높은 것으로 분석되었다. 싸리나무 줄기 분획물의 경우 에틸아세테이트 분획물의 EC<sub>50</sub>이 14.31 µg/mL으로 가장 우수한 DPPH 라디칼 소거력을 가지는 것으로 나타났으며, 부탄올 분획물, 클로로포름 분획물 및 물 분획물의 EC<sub>50</sub> 값은 각각 28.49, 96.11, 223.84 µg/mL로 나타나 각 분획물의 DPPH 라디칼 소거력의 경향은 싸리나무 잎 분획물과 유사한 경향으로 나타나는 것으로 분석되었다. 싸리나무 뿌리 분획물의 경우 에틸아세테이트 분획물의 EC<sub>50</sub>이 8.86 µg/mL으로 가장 우수한 DPPH 라디칼 소거력을 가지는 것으로 나타났으며, 부탄올 분획물, 클로로포름 분획물 및 물 분획물의 EC<sub>50</sub> 값은 각각 13.82, 37.71, 66.63 µg/mL로 나타났다. 싸리나무 부위별 분획물들의 라디칼 소거력을 분석한 결과 싸리나무 뿌리의 에틸아세테이트 분획물이 가장 우수한 DPPH 라디칼 소거능을 가지는 것을 확인 할 수 있었다.

Table 5는 싸리나무 부위별 추출물을 이용하여 용매 분획한 분획물의 ABTS 라디칼 소거력을 측정된 결과를 나타내었다. 싸리나무 잎의 경우 에틸아세테이트 분획물의 ABTS 라디칼 소거력이 다른 분획물에 비하여 가장 높은 것으로 나타났으며, 부탄올

**Table 4. DPPH radical scavenging activity of fractions from different parts of *Lespedeza bicolor* extract ( $\mu\text{g/mL}$ )**

Fractions	EC <sub>50</sub>		
	Leaf	Stem	Root
Chloroform fr.	79.82±0.93 <sup>BB</sup>	96.11±0.71 <sup>AB</sup>	37.71±0.34 <sup>CB</sup>
Ethyl acetate fr.	19.55±0.10 <sup>AC</sup>	14.31±0.11 <sup>BD</sup>	8.86±0.03 <sup>CD</sup>
Butanol fr.	23.89±0.24 <sup>BC</sup>	28.49±0.12 <sup>AC</sup>	13.82±0.17 <sup>CC</sup>
Water fr.	367.35±13.67 <sup>AA</sup>	223.84±2.99 <sup>BA</sup>	66.63±1.21 <sup>CA</sup>

Data are expressed as mean±SD of triplicate experiments.

<sup>a-c</sup> Means in the same row with different superscripts are significantly different ( $p<0.05$ ).

<sup>A-D</sup> Means in the same column with different superscripts are significantly different ( $p<0.05$ ).

**Table 5. ABTS radical scavenging activity of fractions from different parts of *Lespedeza bicolor***

Fractions	TEAC value <sup>1)</sup>		
	Leaf	Stem	Root
Chloroform fr.	0.0361 <sup>cC</sup>	0.0696 <sup>bC</sup>	0.1493 <sup>aC</sup>
Ethyl acetate fr.	0.1895 <sup>aA</sup>	0.2596 <sup>bA</sup>	0.3740 <sup>aA</sup>
Butanol fr.	0.1252 <sup>bB</sup>	0.0818 <sup>cB</sup>	0.2642 <sup>aB</sup>
Water fr.	0.0332 <sup>bC</sup>	0.0322 <sup>bD</sup>	0.0981 <sup>aD</sup>

<sup>1)</sup>TEAC value of Trolox expressed as 1.

Data are expressed as mean of triplicate experiments.

<sup>a-c</sup> Means in the same row with different superscripts are significantly different ( $p<0.05$ ).

<sup>A-D</sup> Means in the same column with different superscripts are significantly different ( $p<0.05$ ).

분획물이 클로로포름과 물 분획물에 비하여 라디칼 소거력이 우수한 것으로 나타났다. 그러나 클로로포름 분획물과 물 분획물간의 라디칼 소거력은 유의적 차이를 나타내지 않았다. 싸리나무 줄기 및 뿌리 분획물의 경우 ABTS 라디칼 소거력은 에틸아세테이트 분획물 > 부탄올 분획물 > 클로로포름 분획물 > 물 분획물 순으로 우수한 것으로 분석되었다. 싸리나무 각 부위별 분획물의 ABTS 라디칼 소거력을 분석한 결과 에틸아세테이트 분획물이 가장 라디칼 소거력이 우수한 것으로 나타나 추출물 중 에틸아세테이트용성 화합물들이 우수한 항산화력을 가지는 것으로 판단 할 수 있었다. 싸리나무의 부위별 에틸아세테이트 분획물의

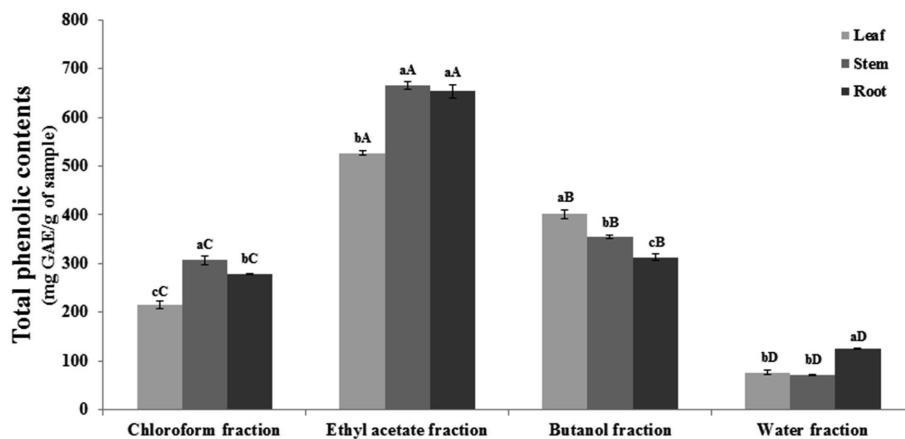
라디칼 소거력은 뿌리 > 줄기 > 잎 순으로 높은 것으로 분석되었다.

#### 싸리나무 부위별 분획물의 총 페놀성 화합물 함량

싸리나무의 부위별 분획물의 페놀성 화합물의 함량은 Fig. 3과 같다. 싸리나무 잎의 에틸아세테이트 분획물이 526.42 mg GAE/g으로 다른 분획물들에 비하여 페놀성화합물 함량이 약 2-7배 높은 것으로 나타났으며, 부탄올 분획물, 클로로포름 분획물 및 물 분획물은 각각 401.08, 214.30, 76.31 mg GAE/g으로 분석되었다. 싸리나무 줄기의 경우 에틸아세테이트 분획물이 666.17 mg GAE/g으로 가장 높은 페놀성 화합물을 함유하는 것으로 분석되었다. 부탄올 분획물은 354.10 mg GAE/g, 클로로포름 분획물은 306.27 mg GAE/g 그리고 물 분획물은 71.71 mg GAE/g으로 나타났다. 뿌리의 경우 에틸아세테이트 분획물이 653.53 mg GAE/g으로 부탄올 분획물에 비하여 약 2배 높은 페놀성 화합물을 함유하는 것으로 분석되었으며, 에틸아세테이트 분획물 > 부탄올 분획물 > 클로로포름 분획물 > 물 분획물 순으로 페놀성 화합물이 많이 함유되어 있는 것으로 분석되어 잎 및 줄기 분획물의 분석결과와 유사한 경향을 나타내었다. 이러한 결과는 각 분획물별 페놀성 화합물의 함량이 증가함에 따라 라디칼 소거능이 증가하는 것을 확인할 수 있어 싸리나무에 함유되어 있는 페놀성 화합물 성분이 DPPH 및 ABTS 라디칼 소거활성에 주요한 영향을 미치는 것으로 판단할 수 있다. 이는 싸리속 식물의 항산화 활성을 분석한 결과 페놀성화합물의 함량과 라디칼 소거력의 상관관계를 보고한 연구와도 유사한 경향을 나타내었다(23).

#### 싸리나무 잎 에틸아세테이트 분획물로부터 eriodyctol 분리

싸리나무의 부위별 라디칼 소거력 및 페놀성 화합물의 함량을 분석한 결과 뿌리 부위의 항산화 활성이 우수한 것으로 분석되었으나, 싸리나무의 경우 식품의약품안전청에서 제공하는 식품원재료 데이터베이스(25)에서는 싸리나무 잎이 차 또는 나물 가공하여 식용이 가능 한 것으로 제시하고 있다. 따라서 본 실험에서는 싸리나무의 부위중 식용이 가능한 잎 부위를 이용하여 이의 분획물 중 가장 우수한 라디칼 소거력을 나타낸 에틸아세테이트 분획물로부터 antioxidant assay-guided isolation을 이용하여 항산화물질을 분리정제 하였다. 싸리나무 잎 ethyl acetate 분획물 (5.7 g)을 silica gel column chromatography(ethyl acetate:methanol :water=14:1:0.9)에 도입하여 5개의 fraction(LBFR 1-LBFR 5)을 얻었으며, 각 fraction의 DPPH 라디칼 소거력을 분석한 결과

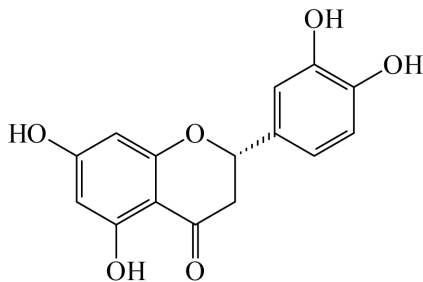


**Fig. 3. Total phenolic contents of fractions from different parts of *Lespedeza bicolor* extract.** <sup>A-D</sup>Different letters in the same color bars are significantly different ( $p<0.05$ ). <sup>a-c</sup>Different letters in the same extraction solvent groups are significantly different ( $p<0.05$ ).

**Table 6. DPPH radical scavenging activity of column chromatography fractions from ethyl acetate fraction of *Lespedeza bicolor* leaf** (µg/mL)

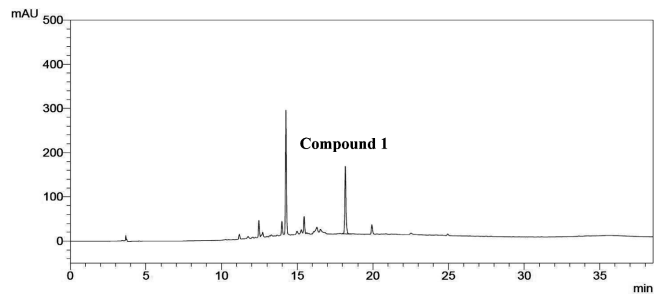
Fractions	EC <sub>50</sub>
LBFR 1	6.74±0.03 <sup>d</sup>
LBFR 2	11.56±0.53 <sup>c</sup>
LBFR 3	13.28±0.43 <sup>c</sup>
LBFR 4	21.97±1.21 <sup>a</sup>
LBFR 5	17.72±0.75 <sup>b</sup>

Data are expressed as mean±SD of triplicate experiments.  
<sup>a-d</sup>Means in the same column with different superscripts are significantly different (*p*<0.05).



**Fig. 4. Chemical structure of compound 1 (eriodictyol).**

LBFR 1이 가장 우수한 DPPH 라디칼 소거력을 가지는 것으로 나타났다(Table 6). 이후 LBFR 1을 LH-20 column chromatography에 도입하여 에탄올에 의해 용출되어 분리되는 물질들을 분리하였으며, 이들을 TLC 분석을 이용하여 순수한 물질을 함유하는 fraction을 분리하였다. 이러한 fraction을 농축하여 재차 RP-18 column chromatography(methanol:water=1:1)에 도입하여 순수물질을 분리하여 compound 1을 얻었으며, 이의 화학적 구조를 확인하기 위하여 NMR 및 MS 분석을 실시하였다. 분리된 compound 1의 HR-EI-MS 분석결과 *m/z* 288.0641을 확인하여 compound 1의 분자구조식이 C<sub>15</sub>H<sub>12</sub>O<sub>6</sub>을 가지는 화합물임을 유추 할 수 있었다. 또한 <sup>13</sup>C NMR spectrum 을 통해 15개의 carbon signal을 확인하였으며, DEPT를 통해 1개의 CH<sub>2</sub>, 6개의 CH 및 8개의 quaternary carbon을 가지는 화합물로 확인 할 수 있었다. <sup>1</sup>H NMR spectrum에서 flavanone 화합물의 특이적인 signal 인 5.24(dd, *J*=12.7, 2.7 Hz, H-2)을 확인 할 수 있었으며, methylene proton pair 2.66(dd, *J*=17.4, 3.0 Hz, H-3a)와 3.03(dd, *J*=16.9, 12.9 Hz, H-3b)을 확인 할 수 있었다. 이로부터 분리된 compound 1 화합물이 flavanone skeleton을 가지는 화합물로 확인되어졌으며, 문헌 자료(26)와 비교하여 분리된 compound 1은 eriodictyol (Fig. 4)로 확인 할 수 있었다. 또한 표준시료 eriodictyol(Sigma-Aldrich)을 구입하여 NMR 분석 결과를 비교하였으며, HPLC 분석을 통해 retention time을 비교하여 동일 화합물임을 확인하였다. Eriodictol은 플라보노이드 화합물로 Ohira(27)는 *Lespedeza*속의 잎으로부터 eriodictyol을 분리하여 보고하였으며, 또한 다양한 종류의 식물에서 분리되어 보고되었다(28,29). Bucolo 등(30)은 당뇨모델 동물 실험에서 eriodictyol의 망막보호 기작을 보고하였으며, Johnson 등(31)은 eriodictyol 화합물의 세포의 산화적 손상을 phase II 효소계의 유도를 통한 보호기작을 보고하였다. 또한 Lee 등(32)은 eriodictyol의 항염증에 대한 유효 효능에 대해 보고하였다. 따라서 싸리나무 잎에 함유되어 있는 플라보노이드 화합물이 다양한 생리활성을 가지며 이를 이용한 기능성 소재로서 개발 가능성을



**Fig. 5. HPLC chromatogram of *Lespedeza bicolor* leaf extracts.**

**Table 7. DPPH and ABTS radical scavenging activity of compound 1 isolated from *Lespedeza bicolor* leaf extract**

	DPPH radical scavenging activity (EC <sub>50</sub> , mg/mL) <sup>1)</sup>	ABTS radical scavenging activity (TEAC value) <sup>1)</sup>
Compound 1	5.98±0.14	0.7881

확인 할 수 있다.

Compound 1: HR-EI-MS *m/z*: 288.0641 (calcd. for C<sub>15</sub>H<sub>12</sub>O<sub>6</sub>, 288.0634), <sup>1</sup>H NMR (600 MHz, CD<sub>3</sub>OD): δ 2.66 (1H, dd, *J*=17.4, 3.0), 3.03(1H, dd, *J*=16.9, 12.9), 5.24(1H, dd, *J*=12.7, 2.7), 5.87 (1H, d, *J*=1.8), 5.88 (1H, d, *J*=1.9), 6.77 (2H, s), 6.91 (1H, s). <sup>13</sup>C NMR (CD<sub>3</sub>OD): δ 44.2 (C-3), 80.6 (C-2), 96.3 (C-8), 97.2 (C-6), 103.5 (C-10), 114.8 (C-2'), 116.4 (C-5'), 119.4 (C-6'), 131.9 (C-1'), 146.6 (C-3'), 146.9 (C-4'), 164.9 (C-9), 165.5 (C-5), 168.4 (C-7), 197.9 (C-4).

**싸리나무 잎의 eriodictyol 함량 및 항산화활성 분석**

분리된 eriodictyol 화합물이 싸리나무 잎에 함유되어 있는 함량을 분석하기 위하여 HPLC를 이용한 정량분석을 실시하였다. 표준물질을 이용하여 농도별 표준용액을 제조하고 정량분석을 위한 표준곡선(Y=32033X-19100, r<sup>2</sup>=0.999)을 작성하였다. 싸리나무 잎 추출물의 HPLC 이용하여 얻은 크로마토그램은 Fig. 5와 같으며, 표준곡선을 이용하여 eriodictyol의 함량을 분석한 결과 이의 함량은 10.50 mg/g으로 분석되었다. 또한 eriodictyol의 항산화 활성을 검토하기 위하여 DPPH 및 ABTS 라디칼 소거력을 분석하였으며, 그 결과를 Table 7에 나타내었다. Eriodictyol의 DPPH 라디칼 소거력을 검토한 결과 EC<sub>50</sub>은 5.98 µg/mL로 분석되었으며, ABTS 라디칼 소거력을 분석한 결과로 부터 TEAC value는 0.7881로 나타났다. 따라서 싸리나무 잎에서 유래한 플라보노이드 성분인 eriodictyol이 높은 항산화 활성을 가지는 것을 확인 할 수 있으며 추후 싸리나무 잎을 이용한 기능성 소재로서의 개발 가능성을 확인 할 수 있었다.

**요 약**

본 연구에서는 싸리나무의 부위별 항산화활성을 검토하기 위하여 각 부위별 물, 50, 70, 100% 에탄올 용액과 열수추출조건을 이용하여 얻은 추출물의 DPPH 및 ABTS 라디칼 소거능, 총 페놀성 화합물의 함량을 비교분석하였다. 싸리나무 잎의 경우 70% 에탄올 수용액, 줄기 및 뿌리의 경우는 50% 에탄올 수용액을 이용하여 추출하는 것이 높은 추출수율을 나타내는 경향을 나타내었다. 부위별 추출조건에 따른 DPPH 라디칼 소거력을 분석한 결

과는 싸리나무 잎의 경우 70% 에탄올 추출물이 높은 라디칼 소거능을 나타냈으나, 추출용액의 에탄올 비율에 따른 유의적인 차이는 나타나지 않았다. 줄기 및 뿌리의 경우에는 50% 에탄올 추출물이 가장 우수한 DPPH 라디칼 소거능을 가지는 것으로 확인할 수 있었다. 각 부위별 물 추출물은 에탄올 수용액을 이용한 추출물에 비하여 낮은 라디칼 소거능을 보였으며, 열수추출조건에 얻은 추출물의 라디칼 소거능은 물 추출물에 비하여 소거능이 증가하는 것을 확인할 수 있었다. ABTS 라디칼 소거력을 분석한 결과는 싸리나무 잎의 경우 100% 에탄올 추출물이 다른 추출조건에서 얻은 추출물에 비하여 우수한 라디칼 소거능을 나타내는 경향을 보였으며, 줄기 및 뿌리의 경우에는 50% 및 70% 에탄올 추출물이 우수한 라디칼 소거능을 가지는 것으로 확인할 수 있었다. 각 부위별 물 추출물은 제일 낮은 라디칼 소거능을 보였으며, 열수추출에 의해 얻은 추출물의 ABTS 라디칼 소거능은 물 추출물에 비하여 증가하는 것으로 나타났다. 각 부위별 총 페놀성 화합물 함량을 분석한 결과 50% 에탄올 추출물이 가장 높은 페놀성 화합물의 함량을 가지는 경향을 보였으며, 물 추출물의 페놀성 화합물의 함량은 감소하는 것으로 분석되었다. 또한 열수추출에 의해 페놀성 화합물의 함량이 증가하는 것을 확인할 수 있었다.

싸리나무의 부위별 유기용매를 이용하여 얻은 분획물의 항산화 활성을 분석한 결과 잎, 줄기 및 뿌리 부위에서 에틸아세테이트 분획물에서 가장 높은 DPPH 및 ABTS 소거능을 보였으며, 각 부위는 동일한 경향으로 부탄올 분획물 > 클로로포름 분획물 > 물 분획물 순으로 라디칼 소거능이 우수한 것으로 나타났다. 싸리나무의 경우 식품소재로 이용이 가능한 잎 부위를 이용하여 항산화 유효물질을 확인하기 위한 antioxidant assay-guided isolation을 실시하였으며, 가장 라디칼 소거능이 우수한 분획인 LBFR1에서 compound 1을 분리하였다. 이의 화학적 구조를 <sup>1</sup>H 및 <sup>13</sup>C NMR, MS를 이용하여 분석한 결과 플라보노이드 화합물인 eriodictyol로 동정할 수 있었다. 분리한 eriodictyol의 DPPH 라디칼 소거능을 분석한 결과 EC<sub>50</sub>은 5.98 µg/mL로 분석되었으며, ABTS 라디칼 소거력 분석을 통해 TEAC value는 0.7881로 분석되어 높은 항산화활성을 가지는 것을 확인할 수 있었다. 또한 싸리나무 잎에 함유되어 eriodictyol의 함량을 HPLC를 이용하여 분석한 결과 10.50 mg/g of dry weight으로 분석되어 잎에 함유되어 있는 플라보노이드 화합물을 이용한 기능성 소재로 개발 가능성을 기대할 수 있었다.

## 감사의 글

본 연구는 강원도 인제군 (유)화전민의 연구비 지원에 의해 수행되었으며 이에 감사드립니다.

## 문헌

- Valko M, Leibfritz D, Moncol J, Cronin MT, Mazur M, Telser J. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *Int. J. Biochem. Cell B.* 39: 44-84 (2007)
- Halliwel B, Gutteridge JMC. *Free Radicals in Biology and Medicine.* Oxford University Press, New York, NY, USA. pp. 105-350 (1999)
- Korea National Arboretum. Available from: <http://www.kna.go.kr>. Accessed Jun. 1, 2012.
- Lee KI, Yang SA, Kim SM. Antioxidative and nitric oxide production inhibitory activities of *Lespedeza bicolor* stem extracts depending on solvents. *Korean J. Medicinal Crop Sci.* 19: 368-372 (2011)
- Lee YS, Joo EY, Kim NW. Antioxidant activity of extracts from the *Lespedeza bicolor*. *Korean J. Food Preserv.* 12: 75-79 (2005)
- Lee YS, Joo EY, Kim NW. Polyphenol contents and physiological activity of the *Lespedeza bicolor* extracts. *Korean J. Food Preserv.* 13: 616-622 (2006)
- Ryu IS, Lee SJ, Lee SW, Mun YJ, Woo WH, Kim YM, Lee JC, Lim KS. Dermal bioactive properties of the ethanol extract from flowers of *Lespedeza bicolor*. *J. Korean Oriental Medical Ophthalmol. & Otolaryngol. Dermatol.* 20: 1-9 (2007)
- Lee A, Kim BN, Zhoh CK, Shin GH. Studies on the antioxidative and antimicrobial effects of *Lespedeza bicolor* extracts. *J. Korean Soc. Esthet. Cosmeceutics* 1: 109-120 (2006)
- Yang JK, Yeo HD, Baik SC, Jung JY, Kim BM, Jeong MJ, Lee CH, Karigar CS, Park HM, Choi MS. Antibacterial and immunomodulatory activity of ethanol extracts from *Lespedeza* sp. during *Helicobacter pylori* infections. *Biotechnol. Bioprocess Eng.* 15: 1077-1083 (2010)
- Maximov OB, Kulesh NI, Stepanenko LS, Dmitrenko PS. New prenylated isoflavanones and other constituents of *Lespedeza bicolor*. *Fitoterapia* 75: 96-98 (2004)
- Tan L, Zhang XF, Yan BZ, Shi HM, Du LB, Zhang YZ, Wang LF, Tang YL, Liu Y. A novel flavonoid from *Lespedeza virgata* (Thunb.) DC.: Structural elucidation and antioxidative activity. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 17: 6311-6315 (2007)
- Baek S, Kim J, Kim D, Lee C, Kim J, Chung DK, Lee C. Inhibitory effect of dalbergioidin isolated from the trunk of *Lespedeza cyrtobotrya* on melanin biosynthesis. *J. Microbiol. Biotechnol.* 18: 874-879 (2008)
- Kwon DJ, Bae YS. Flavonoids from the aerial parts of *Lespedeza cuneata*. *Biochem. Syst. Ecol.* 37: 46-48 (2009)
- Kim EJ, Choi JY, Yu MR, Kim MY, Lee SH, Lee BH. Total polyphenols, total flavonoid contents, and antioxidant activity of Korean natural and medicinal plants. *Korean J. Food Sci. Technol.* 44: 337-342 (2012)
- Mori-Hongo M, Takimoto H, Katagiri T, Kimura M, Ikeda Y, Miyase T. Melanin synthesis inhibitors from *Lespedeza floribunda*. *J. Nat. Prod.* 72: 194-203 (2009)
- Blois MS. Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature* 181: 1199-1200 (1958)
- Re R, Pellegrini N, Proteggente A, Pannala A, Yang M, Rice-Evans C. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Bio. Med.* 26: 1231-1237 (1999)
- Singleton VL, Rossi JAJ. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *Am. J. Enol. Viticult.* 16: 144-158 (1965)
- Lee KI, Yang SA, Kim SM. Antioxidative and nitric oxide production inhibitory activities of *Lespedeza bicolor* stem extracts depending on solvent. *Korean J. Medicinal Crop. Sci.* 19: 368-372 (2011)
- Wang LJ, Weller CL. Recent advances in extraction of nutraceuticals from plants. *Trends Food Sci. Tech.* 17: 300-312 (2006)
- Lee YS, Chang Z, Park SC, Rim NR, Kim NW. Antioxidant activity and irritation response of *Lespedeza bicolor*. *J. Toxicol. Pub. Health* 21: 115-119 (2005)
- Yang YJ, Kim HJ, Kang SH, Kang SC. Screening of natural herb resources for anti-oxidative effects in Korea. *Korean J. Plant Res.* 24: 1-9 (2011)
- Kim SM, Jung YJ, Pan CH, Um BH. Antioxidant activity of methanol extracts from the genus *Lespedeza*. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 39: 769-775 (2010)
- Prior RL, Wu X, Schaich K. Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements. *J. Agr. Food Chem.* 53: 4290-4302 (2005)
- KFDA, Food materials information. Available from: <http://fse.foodnara.go.kr>. Accessed Jun. 1, 2012.
- da Silva SAS, Agra MD, Tavares JF, da-Cunha EVL, Barbosa JM, da Silva MS. Flavanones from aerial parts of *Cordia globosa* (Jacq.) Kunth, Boraginaceae. *Rev. Bras. Farmacogn.* 20: 682-685 (2010)
- Ohira T. Eriodictyol in the leaves of *Lespedeza*. *Nippon Nogei K. Kaishi* 9: 448-452 (1933)



28. Yun BS, Lee IK, Kim JP, Chung SH, Shim GS, Yoo ID. Lipid peroxidation inhibitory activity of some constituents isolated from the stem bark of *Eucalyptus globulus*. Arch. Pharm. Res. 23: 147-150 (2000)
29. Ismaili H, Sosa S, Brkic D, Fkih-Tetouani S, Iidirissi A, Touati D, Aquino RP, Tubaro A. Topical anti-inflammatory activity of extracts and compounds from *Thymus broussonetii*. J. Pharm. Pharmacol. 54: 1137-1140 (2002)
30. Bucolo C, Leggio GM, Drago F, Salomone S. Eriodictyol prevents early retinal and plasma abnormalities in streptozotocin-induced diabetic rats. Biochem. Pharmacol. 84: 88-92 (2012)
31. Johnson J, Maher P, Hanneken A. The flavonoid, eriodictyol, induces long-term protection in ARPE-19 cells through its effects on Nrf2 activation and phase 2 gene expression. Invest. Ophthalm. Vis. Sci. 50: 2398-2406 (2009)
32. Lee JK. Anti-inflammatory effects of eriodictyol in lipopolysaccharide-stimulated Raw 264.7 murine macrophages. Arch. Pharm. Res. 34: 671-679 (2011)