

## 싸리 추출물의 폴리페놀 함량과 생리활성

이양숙 · 주은영 · 김남우<sup>†</sup>  
대구한의대학교 한방생약자원학과

### Polyphenol Contents and Physiological Activity of the *Lespedeza bicolor* Extracts

Yang-Suk Lee, Eun-Young Joo and Nam-Woo Kim<sup>†</sup>  
Department of Herbal Biotechnology, Daegu Haany University, Gyeongbuk, 712-715 Korea

#### Abstract

This study was intended to analyze the contents of polyphenol compounds and vitamin C, and the inhibitory activities of xanthine oxidase and tyrosinase to measure physiological effects of various extracts of *Lespedeza bicolor*. The vitamin C content was  $26.42 \pm 0.08$  mg/100 g. The content of phenolic compounds included in the fresh *L. bicolor* was  $1.14 \pm 0.02$  mg/g. The ethanol extracts by reflux method and water extracts by the microwave-assisted method showed the highest content as 154.95 mg/g and 145.17 mg/g, respectively. The xanthine oxidase inhibitory rate of water extracts was the highest value of 87.85% at the concentration of 1,000 ug/mL. All kinds of extracts showed the highest inhibitory activity for the xanthine oxidase at the concentration of 1,000 ug/mL, and a decreasing pattern of the inhibitory rate over the concentration of 1,000 ug/mL. The tyrosinase inhibitory rate was increased with an increment of the extract concentrations, and the activity of ethanol extracts was the highest as 55.22% at the concentration of 3,000 ug/mL.

**Key words :** *Lespedeza bicolor*, vitamin C, polyphenols, xanthine oxidase, tyrosinase

#### 서 론

최근 생명산업과 기능성 제품 시장의 규모는 건강 및 장수와 관련된 well-being 제품의 수요증가와 함께 급속히 확대되고 있다. 천연물에 함유되어 산화방지 작용을 나타내는 페놀 성분을 포함한 2차대사 생리활성 물질은 매우 적은 양으로도 현저한 활성을 나타내는 고부가가치 물질로써 천연 식물성 소재를 대상으로 새로운 여러 가지 생리활성 물질을 찾아내고자 하는 연구가 활발히 진행되고 있다(1-4). 2005년도 특허청 통계자료에서는 국내 천연물 신약의 특허출원에서 사용된 원료의 70%가 식물에서 유래되어 있음을 제시하고 있어, 식물자원이 개발 가능성이 높은 기능성 식·의약품 소재임을 나타내고 있다(5).

천연식물의 페놀성 화합물들은 단순한 페놀류, phenolic

acid, phenylpropanoid류, flavonoid류 등이 대부분으로서, 항균, 항알러지, 항산화, 항암, 충치예방, 심장질환 및 당뇨병 예방 등에 효과가 있는 것으로 보고되고 있으며(6), 페놀성 항산화제들은 연쇄반응에서 alkyl radical이나 alkylperoxy radical에 수소를 공여하여 그 radical을 제거함으로써 산화를 억제하는 작용을 가진 물질로 알려져 있다(7). 그리고 비타민 C와 폴리페놀은 운동에 의해 증가되는 지질과산화물인 MDA(maleondialdehyde)의 활성을 저하시키고 항산화 효소인 SOD(superoxide dismutase)의 활성을 증가시키는 것으로 보고되어 있다(8).

천연 생리활성 물질을 추출하는데 있어서 가장 우선적으로 고려해야 할 것은 추출 수율 및 생리활성 물질의 활성도가 가장 높은 추출방법을 선택하는 것이다. 이전부터 환류냉각 추출(Reflux extraction)방법이 많은 천연물의 추출방법으로 이용되어 왔으나, 1회 추출하는데 2-3시간 이상의 긴 시간이 요구되는 단점이 있다. 이에 비하여 마이크로웨이브 추출(Microwave-assisted extraction)방법은 적은 용매

<sup>†</sup>Corresponding author. E-mail : tree@dhu.ac.kr,  
Phone : 82-53-819-1438, Fax : 82-53-819-1272

를 사용하여 단시간에 원하는 물질을 추출할 수 있는 것으로 알려져 있어, 환류 냉각 추출방법을 비롯한 Soxhlet 추출 등 기존의 추출방법보다 추출효율이 높은 것으로 보고되어 있다(9-11).

싸리(*Lespedeza bicolor*)는 콩과(Leguminosae)에 속하는 다년생의 낙엽 관목으로서 7~8월에 개화하며, 우리나라 전역의 양지바른 산과 들에 널리 분포하는 식물이다. 한방에서는 싸리를 호지자(胡枝子)라 하여 진해, 거담, 만성 기관지염, 지혈, 청열, 학질, 발한, 해열 등의 치료 및 이노제와 건비제 등으로 사용하여 왔다(12,13). 그리고 민간에서는 피부질환 치료제로써 싸리를 비롯한 *Lespedeza*속 식물의 추출물이 피부 진균 치료제로 이용되어 왔다(14). 그리고 싸리의 뿌리는 자궁 수축제로 사용되는 dimethyl triptamine 성분을 함유한 것으로 보고되어 있으며(15), 종자는 유지자원과 사료로서의 이용가치도 높은 것으로 알려지고 있다(16,17).

이러한 약리적 기능과 유용자원으로써 높은 이용가치를 지닌 싸리속 식물에 대한 연구로는, 싸리의 종자에서 추출된 유지의 일반성분과 지질성분 및 지방산의 조성(16), 지리산싸리 종자의 아미노산 및 지방성분 등에 대한 연구가 이루어 졌으며(17), 싸리 줄기의 무기질과 아미노산에 관한 연구(18), 꽃참싸리와 해변싸리 줄기의 flavonoid계 성분의 화학적 구조(19) 등이 보고 된 바 있다. 그리고 Lee 등(20)은 싸리 추출물의 전자공여능, SOD 유사활성능 및 아질산염 분해능 등에 대해서 보고하였으며, Miyase 등(21)은 *L. homoloba* 추출물이 지질과산화 반응에 대해 강한 항산화 효과를 나타낸다고 보고한 바 있다. 그러나 항산화 물질로 알려져 있는 폴리페놀의 함량과 통풍과 신장질환의 원인이 되는 xanthine oxidase 저해작용 및 피부의 미백, 노화와 식품 등의 갈변화에 관련된 tyrosinase 저해작용 등에 대한 연구는 이루어진 바 없다.

본 연구는 싸리의 비타민 C 함량과 추출방법(환류, 마이크로웨이브, 가압열수)에 따른 싸리 각 추출물의 폴리페놀 함량, xanthine oxidase 저해 그리고 tyrosinase에 대한 저해 활성 등에 대하여 분석하고, 싸리에서 가장 효율적인 천연 생리활성물질을 추출하는 방법에 대하여 알아보고자 한다.

## 재료 및 방법

### 재 료

본 실험에 사용한 싸리(*L. bicolor*)는 2003년 10월부터 2004년 5월 사이에 경북 경산지역의 야산에서 채집하여 동정한 후 줄기부분만을 잘게 마쇄하여 추출용 시료로 사용하였다.

### 추출물 제조

시료의 추출은 Fig. 1과 같이 실시하였다. 환류 물 추출물

(Reflux extraction-Water)과 환류 에탄올 추출물(Reflux extraction-Ethanol)은 환류 냉각관을 부착시킨 둥근 플라스크에 시료 당 10배에 해당되는 양의 증류수 및 70% 에탄올을 넣고 80℃와 60℃의 수욕 상에서 3시간씩 3회 반복 추출하였다. 마이크로웨이브 추출물(Microwave-assisted extraction-Water)은 시료의 증량비 10배에 해당하는 용매를 넣고 120W로 하여 30분씩 3회 반복 추출하였으며, 가압열수 추출물(Pressure heating extraction-Water)은 시료의 30배 분량의 증류수를 넣고 압력추출기로 110℃, 1.5 기압 하에서 3시간 동안 추출하였다. 모아진 추출액은 filter paper (Whatman No. 2)로 거른 다음, rotatory vacuum evaporator (Eyela 400 series, Japan)로 감압농축한 후에 동결건조(FD 5510 SPT, Ilshin Korea)하여 분말로 제조하였으며, xanthine oxidase 저해와 tyrosinase 저해 활성의 측정에 사용하였다.

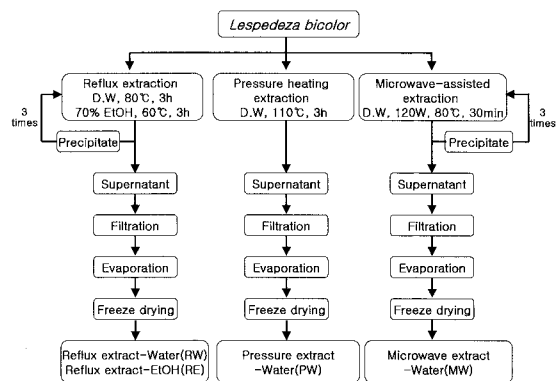


Fig. 1. Extraction procedure of the *L. bicolor*.

### 비타민 C 함량

비타민 C 함량 측정은 시료 10 g에 2% metaphosphoric acid 용액을 가하여 homogenizing 한 후, 여과하여 100 mL로 정용 사용하였다. 이를 측정 시료로 사용하여 2,4-dinitrophenol hydrazine(DNP) 비색법(22)으로 비타민 C의 함량을 측정하였다. 즉, 시료액 2 mL에 indophenol 0.2 mL, metaphosphoric acid 혼합액 2 mL를 넣고 혼합한 다음, DNP 1 mL를 가하여 60℃에서 90분간 반응시킨 후, 방냉하였다. 이후 85% H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 용액 5 mL를 혼합하고 실온에서 30분간 반응시킨 후, 540 nm의 UV/VIS spectrophotometer (Hitachi UV-2001, Japan)에서 흡광도를 측정하였다. 표준곡선은 비타민 C(Sigma, USA)를 1 mg/mL 농도로 증류수에 녹이고 최종농도가 0, 62.5, 125, 250, 500 ug/mL 용액이 되도록 취한 후, 위와 같은 방법으로 540 nm서 흡광도를 측정하여 비타민 C의 함량을 구하였다.

### 총 폴리페놀 화합물 함량

총 폴리페놀 화합물 함량은 싸리의 생체와 각 추출물의 동결건조 된 시료를 사용하였다. 생체의 폴리페놀 함량은 생체시료 10 g에 증류수를 가하고 마쇄한 다음 상층액만을

여과한 뒤 100 mL로 정용하였다. 각 추출물의 동결 건조된 시료는 10 mg/mL로 희석하여 폴리페놀 함량을 측정하기 위한 시료액으로 사용하였다. 총 폴리페놀 화합물의 함량은 Folin-Denis(22,23)법으로 측정하였다. 즉 시료를 1 ug/mL 농도로 증류수에 녹인 다음 Folin-ciocalteu's phenol reagent 0.2 mL를 첨가한 후, vortex하여 3분간 실온에서 방치한 다음, Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 포화용액 0.4 mL를 가하여 혼합하고 증류수를 1.4 mL 가하고 실온에서 1시간 동안 반응시킨 후 725 nm에서 흡광도를 측정하였다. 총 폴리페놀 화합물은 tannic acid를 이용하여 표준곡선으로부터 함량을 구하였다. 표준곡선은 tannic acid를 10 mg/mL 농도로 증류수에 녹이고 최종농도가 0, 37.5, 75, 150, 300 ug/mL 용액이 되도록 취하여 위와 같은 방법으로 725 nm에서 흡광도를 측정하여 작성하였다.

### Xanthine oxidase 저해 활성

Xanthine oxidase 저해 활성 측정은 Stirpe와 Corte(24)의 방법에 따라 실시하였다. 각 시료용액 0.1 mL와 0.1M potassium phosphate buffer(pH 7.5) 0.6 mL에 xanthine 2 mM을 녹인 기질액 0.2 mL를 첨가하였다. 여기에 xanthine oxidase(0.2 U/mL) 0.1 mL를 가하여 37°C에서 5분간 반응시킨 후 1N HCl 1 mL를 가하여 반응을 정지시킨 후, 반응액 중에 생성된 uric acid를 흡광도 292 nm에서 측정하였다. Xanthine oxidase 저해 활성은 시료용액의 첨가구와 무첨가구의 흡광도 감소율을 백분율(%)로 나타내었다.

### Tyrosinase 저해 활성

Tyrosinase 저해 활성은 Yagi 등(25)의 방법에 따라 측정하였다. 0.175 M sodium phosphate buffer(pH 6.8) 0.5 mL에 10 mM L-DOPA를 녹인 기질액 0.2 mL와 시료용액 0.1 mL를 혼합한 용액에 mushroom tyrosinase(110 U/mL) 0.2 mL 첨가하여 25°C에서 2분간 반응시킨 후, 생성된 DOPA chrome을 흡광도 475 nm에서 측정하였다. Tyrosinase 저해 활성은 시료용액의 첨가구와 무첨가구의 흡광도 감소율을 백분율(%)로 나타내었다.

### 통계처리

본 연구의 실험은 독립적으로 3회 이상 반복 실시하여 실험결과를 평균 ± 표준편차로 나타내었고, ANOVA test를 이용하여 통계처리 한 후 p<0.05, p<0.01 수준에서 실험구간의 유의성을 검정하였다.

## 결과 및 고찰

### 추출 수율

싸리 줄기의 생리활성 물질의 탐색 및 이용 가능성을

검토하기 위하여 환류 물 추출물(RW)과 환류 에탄올 추출물(RE), 마이크로웨이브 물 추출물(MW) 그리고 가압열수 추출물(PW)로 나누어 분석한 추출수율은 Table 1과 같다. 시료 100 g당 추출수율은 PW에서 6.45 g으로 추출수율이 가장 높았으며 RW 4.75 g, MW 4.73 g, 그리고 RE는 4.12 g으로 가장 낮은 추출수율을 나타내어, 싸리의 추출방법은 가압열수 추출방법을 이용한 PW의 추출수율이 가장 높은 것으로 분석되었다. 그러므로 고온의 압력을 가한 추출방법인 가압열수 추출법이 싸리 줄기의 추출물 획득을 위한 가장 좋은 방법이라고 판단된다.

Table 1. Extraction yield by extraction methods and solvents from *L. bicolor*

Fraction	Yield (g/100 g)
RW <sup>1)</sup>	4.75
MW <sup>2)</sup>	4.73
PW <sup>3)</sup>	6.45
RE <sup>4)</sup>	4.12

<sup>1)</sup>RW: Reflux extraction-Water, <sup>2)</sup>MW: Microwave-assisted extraction-Water, <sup>3)</sup>PW: Pressure heating extraction-Water, <sup>4)</sup>RE: Reflux extraction-70% Ethanol.

### 비타민 C 함량

비타민 C, 즉 L-ascorbic acid는 생명유지를 위한 필수미량원소로 항괴혈병 인자이며 최근에는 질병예방, 건강유지 및 증진을 위해 다량섭취를 권장하고 있는 주요한 수용성 항산화 물질이다. 체내 활성산소의 자유라디칼을 제거하고, 과산화물 생성을 감소시키며, 분해를 촉진시키므로 노화, 암, 심혈관 질환 등에 효과적인 것으로 보고되고 있다(26,27). 최근 새로운 생리적 역할로서 혈관 내피 세포 강화(28), 약물투여 시 암세포 증식 억제(29), 배양세포의 증식 촉진(30,31) 및 protocollagen의 collagen 생합성을 촉진시키며(32-34), 피부 모세혈관이 약해지는 것을 방지하고 산화된 멜라닌을 환원시켜 피부의 색소 침착 저해(35) 등 장기간에 걸친 건강의 유지 및 증진에 효과적인 것으로 보고되고 있다.

싸리 줄기의 비타민 C 함량을 분석한 결과 26.42 ± 0.08 mg/100 g이 함유된 것으로 분석되었다. 이러한 결과는 Shin(36)이 보고한 민들레의 67.4 mg과 고구마의 48.70 mg(37) 보다는 낮았으나, Shim 등(38)이 보고한 참쑥의 26.12 mg과는 유사한 함량을 나타내었다. 또한 취나물, 호박, 두릅의 비타민 C 함량이 2.2~2.5 mg이라고 보고한 Kwon 등(39)의 결과와 비교하면 약 10배 이상의 비타민 C를 함유하고 있다고 할 수 있다. 이와 같이 싸리 줄기의 비타민 C 함량은 다른 식물보다 비교적 높다고 할 수 있으므로 항산화 작용에 효과적인 생물자원이 될 수 있을 것으로 판단된다.

**총 폴리페놀 함량**

본 실험에서 싸리의 생리활성에 영향을 미치는 총 폴리페놀은  $1.14 \pm 0.02$  mg/g을 함유하는 것으로 분석되었다 (Table 2). 각 추출물의 폴리페놀 함량은 RE에서  $154.95 \pm 0.47$  mg/g으로 가장 많이 함유되어 있었으며, MW  $145.17 \pm 1.12$  mg/g, PW  $121.99 \pm 1.68$  mg/g, RW  $116.99 \pm 0.69$  mg/g으로 측정되어 추출방법에 따른 폴리페놀 함량에 유의적인 차이를 나타내었다( $p < 0.01$ ). Baek 등(40)이 초석잠 줄기의 메탄올 추출물에서 폴리페놀 함량이 1.97 mg/g으로 보고한 결과와 비교하면 싸리 생체의 폴리페놀 함량은 낮았다. 국내 식물성 식품의 총 폴리페놀의 함량을 분석한 Lee와 Lee(41)의 보고에서 감잎(5.80 mg/g), 울피(2.10 mg/g), 칩뿌리(2.00 mg/g)보다는 낮았으나, Moon 등(42)의 약용식물 추출물의 폴리페놀 함량에서 당귀(0.52 mg/g)와 흑두(0.55 mg/g)의 결과와 비교하면 싸리 생체의 폴리페놀 함량이 2배 이상 높았으며 백지(0.75 mg/g), 소회향(0.81 mg/g) 및 창출(1.04 mg/g)보다도 높은 함량을 나타내었다. 그리고 싸리의 물과 에탄올 추출물의 폴리페놀 함량이 상항버섯(17.93 mg/g), 녹차(10.98 mg/g), 진피(5.40 mg/g) 등과 비교하면 매우 높은 것으로 분석되었다. 한편 Kwon 등(8)은 폴리페놀의 함량이 높을수록 SOD의 유사활성이 증가한다고 보고하였으며, 본 실험의 RE에서 폴리페놀 함량이 가장 높게 분석된 결과는 싸리의 에탄올 추출물에서 가장 높은 SOD 유사활성능을 나타낸다는 Lee 등(20)의 연구결과와도 일치하였다. 그러므로 SOD 유사활성능을 포함한 항산화 작용에 폴리페놀이 많은 영향을 나타낸다는 기존의 연구결과(6,8,43)들에 근거하여, 본 실험 결과는 싸리의 폴리페놀 항산화 효능을 입증하는 것으로 천연 항산화제로써 이용 가치가 있을 것으로 판단된다.

**Table 2. Contents of total phenolic compounds by extraction methods and solvents of *L. bicolor* extract**

Fraction	Total polyphenols (mg/g)
Fresh	$1.14 \pm 0.02$
RW	$116.99 \pm 0.69$
MW	$145.17 \pm 1.12$
PW	$121.99 \pm 1.68$
RE	$154.95 \pm 0.47$

Each value presents the mean  $\pm$  SD of triplicate determinations. Significantly different at between 4 groups of extraction method  $p < 0.01$ . The abbreviations of introductory remarks are the same as in Fig. 1.

**Xanthine oxidase 저해 활성**

Xanthine oxidase는 생체내 purine 대사에 관여하는 효소으로써 xanthine 또는 hypoxanthine로부터 요산을 형성하여 통풍을 일으키는 효소로 알려져 있다(44-46). 통풍은 purine 뉴클레오티드의 과다생성을 일으키는 여러 대사 이상에 기인하는 요산의 과다 생성으로 혈액 내에 증가하면 관절이

나 관절 주위조직 및 신장 등에 침착되어 염증을 일으키고, 이로 인하여 통증 및 신장 질환을 일으키는 대사성 질환이다(44). Xanthine oxidase는 산소를 수소 수용체로 이용하여 xanthine을 요산 형태로 산화하는 반응을 촉매한다. 따라서 xanthine oxidase의 저해효과는 자유라디칼의 생성을 억제하므로 항산화, 노화 및 항암 등 생물학적으로 중요한 의의를 가진다.

싸리의 RW와 RE, MW 및 PW를 대상으로 농도(500 ug/mL, 1,000 ug/mL, 2,000 ug/mL, 3,000 ug/mL)에 따른 xanthine oxidase 저해 활성을 측정한 결과는 Table 3과 같다. RW가 73.19%~79.71%, MW 69.16%~87.85%, PW 72.73%~84.30% 그리고 RE가 63.16%~79.70%의 저해활성을 나타내었다. 네 가지 유형의 추출물 모두 500 ug/mL 농도에서는 저해율이 가장 낮았고, 1,000 ug/mL에서는 가장 높은 저해 활성을 나타내었으며, 농도에 따라 xanthine oxidase 저해 활성에 유의적인 차이를 나타내었다( $P < 0.05$ ). 그러나 2,000 ug/mL과 3,000 ug/mL으로 농도가 높을수록 저해율이 점차 낮아졌는데 이는 싸리 추출물 자체의 농도가 너무 높아 활성을 저해하는 것으로 판단된다. 용매에 따라서는 물 추출물이 에탄올 추출물보다 저해 활성도가 높았으며, 특히 마이크로웨이브 추출물 1,000 ug/mL 농도에서 87.85%로 가장 높은 xanthine oxidase의 저해를 나타내어, 추출시간이 가장 짧은 마이크로웨이브 추출법이 가장 효율적인 방법으로 볼 수 있다. 본 실험결과는 Moon과 Lee(47)의 감잎 1,000 ug/mL 농도에서 열수 추출물이 82.9%라는 보고와 유사한 결과를 나타내었으나, 1,000 ug/mL 농도에서 울피의 열수 물 추출물이 70%, 에탄올 추출물이 63%를 나타낸 Jung 등(48)의 결과와 함초의 물 추출물이 55%(49)라는 결과와 비교하면 싸리 줄기의 xanthine oxidase 저해율이 높았다. 그리고 5,000 ug/mL 농도에서 산사자 물 추출물이 15.2%, 에탄올 추출물이 16.2%(50)의 결과와 비교하면, 싸리의 xanthine oxidase 저해활성은 매우 높은 것으로 분석되어 천연 항산화제나 항염증제로써 이용 가치가 높을 것으로 판단된다.

**Table 3. Xanthine oxidase inhibitory activity of the *L. bicolor* extract**

Fraction	Concentration (ug/mL)			
	500	1,000	2,000	3,000
RW**	$73.19 \pm 1.26$	$79.71 \pm 1.26$	$75.36 \pm 1.26$	$74.64 \pm 1.26$
MW**	$69.16 \pm 0.00$	$87.85 \pm 1.62$	$81.31 \pm 3.24$	$79.44 \pm 1.62$
PW**	$72.73 \pm 0.00$	$84.30 \pm 1.43$	$78.51 \pm 1.43$	$77.27 \pm 1.43$
RE**	$63.16 \pm 3.45$	$79.70 \pm 0.00$	$75.94 \pm 1.30$	$72.18 \pm 1.30$

Each value presents the mean  $\pm$  SD of triplicate determinations. \*\*Significantly different between 4 groups of concentration at  $p < 0.01$ . The abbreviations of introductory remarks are the same as in Fig. 1.

## Tyrosinase 활성 저해

자연계에 널리 존재하는 페놀류의 고분자 천연 색소인 멜라닌은 생물체의 종류에 따라 다양하며 페놀류의 효소적·비효소적 산화 및 중합반응 등의 다단계 과정을 거쳐 생성된다. 피부에서는 세포내의 tyrosinase라는 효소의 생합성 과정에서 만들어지며(51), 자외선, 건조, 극한 온도 등에 대한 피부의 저항력을 높여주지만, 과도한 멜라닌 생성은 인체에 기미, 주근깨, 검버섯 등과 같은 색소 침착을 일으키고, 피부의 노화를 촉진시킨다. 또한 식품에서는 야채나 과실류 특히, 감자의 갈변화 현상을 일으켜 품질을 저하시키는 문제점이 있다(52). 그러므로 tyrosinase 저해활성은 특히 화장품 산업에서 미백효과를 비롯하여 식품산업의 갈변화 방지 등에 있어서 매우 중요한 부분이다(51,53).

싸리 줄기의 RW와 RE, MW 및 PW에 대해 500 ug/mL, 1,000 ug/mL, 2,000 ug/mL 그리고 3,000 ug/mL의 농도로 tyrosinase 저해 활성을 측정하는 결과는 Table 4와 같다. 싸리의 RE에서 15.67%~55.22%로 가장 높은 저해율을 나타내었으며, MW 14.96%~31.39%, RW 7.41%~18.52% 그리고 PW는 4.94%~13.58%의 범위로 가장 낮은 저해율을 나타내었다. 모든 추출물에서 농도가 높아짐에 따라 tyrosinase 저해활성이 증가하는 것으로 나타났으며( $P < 0.05$ ), 에탄올 추출물의 3,000 ug/mL 농도에서 55.22%로 저해 활성이 가장 높았고, 물을 용매로 사용한 추출물보다 1.7배~4배 이상 높은 것으로 분석되어 폴리페놀의 함량이 에탄올 추출물에서 가장 높다는 본 실험결과로 보아 폴리페놀의 함량이 높을수록 tyrosinase 저해율도 높은 것으로 나타났다. 물을 추출용매로 사용한 경우에는 마이크로브 추출법이 31.39%로 가장 높았으며 가압열수 추출방법이 13.58%로 가장 낮은 것으로 분석되어 추출시간과 추출온도가 낮을수록 tyrosinase 저해활성이 높은 것으로 나타났다. 본 실험결과를 Jung 등(54)의 계피 81%, 모과 66% 그리고 상백피 63%의 보고와 비교하면 싸리의 tyrosinase 저해율이 낮았다. 그러나 오가피(22%), 감초(13%), 두충(17%), 택사(5%), 시호(4%) 그리고 복령(0.4%) 등과 비교하면 매우 높은 tyrosinase 저해효과를 나타내어 피부나 식품의 갈변화 방지에 이용 가능한 생물자원인 것으로 판단된다.

Table 4. Tyrosinase inhibition activity of the *L. bicolor* extract

Fraction	Concentration (ug/mL)			
	500	1,000	2,000	3,000
RW*	7.41±3.21	12.96±3.21	14.81±3.21	18.52±3.21
MW**	14.96±1.26	18.61±1.26	26.64±2.19	31.39±2.53
PW**	4.94±2.14	6.17±2.14	9.88±2.14	13.58±2.14
RE**	15.67±2.59	27.61±2.59	40.30±2.59	55.22±0.00

Each value presents the mean ± SD of triplicate determinations.

\*Significantly different between 4 groups of concentration at  $p < 0.05$ .

\*\*Significantly different between 4 groups of concentration at  $p < 0.01$ .

The abbreviations of introductory remarks are the same as in Fig. 1.

## 요 약

싸리(*L. bicolor*)의 생리활성물질 탐색을 위한 연구의 일환으로 비타민 C와 총 폴리페놀의 함량 그리고 각 추출물의 xanthine oxidase 및 tyrosinase 저해 활성을 측정하였다. 싸리의 비타민 C 함량은  $26.42 \pm 0.08$  mg/100 g이었으며, 싸리 생체의 총 폴리페놀은  $1.14 \pm 0.02$  mg/g을 함유하였으며, 싸리 추출물의 폴리페놀은 RE에서 154.95 mg/g으로 가장 높은 폴리페놀 함량을 나타내었다. 각 추출물의 농도에 따른 xanthine oxidase 저해 활성을 측정한 결과는 MW(87.85%) > PW(84.30%) > RW(79.71%) > RE(79.70%)의 순으로 저해 활성 나타내었다. 모든 종류의 추출물이 1,000 ug/mL 농도에서 가장 높은 xanthine oxidase 저해율을 나타내었고, 그 이상의 농도에서는 저해율이 농도가 증가함에 따라 감소하였다. Tyrosinase 저해 활성을 측정한 결과는 RE(55.22%) > MW(31.39%) > RW(18.52%) > PW(13.58%)의 순으로 나타났으며 각 추출물의 농도가 증가할수록 저해율이 증가하였다. RE 추출물은 xanthine oxidase 저해율은 가장 낮았으나 tyrosinase 저해율은 가장 높았으며, 물추출 중에서는 MW의 추출물이 xanthine oxidase와 tyrosinase 저해율이 가장 높은 것으로 분석되었다.

## 감사의 글

본 연구는 산업자원부 지역혁신센터사업(대구한의대학교 한방생명자원연구센터)의 지원에 의하여 이루어진 것임.

## 참고문헌

- Halliwell, B., Hoult, R.J. and Blake, D.R. (1988) Oxidants, inflammation, and anti-inflammatory drugs. *FASEB J.*, 2, 2867-2870
- Kitahara, K., Matsumoto, Y., Ueda, H. and Ueoka, R. (1992) A remarkable antioxidation effect of natural phenol derivatives on the autoxidation of irradiated methyl linoleate. *Chem. Pharm. Bull.*, 40, 2208-2209
- Chan, K.M., Decher, E.A. and Means, W.J. (1993) Extraction and activity of carnosine, a naturally occurring antioxidant in beef muscle. *J. Food. Sci.*, 58, 1-4
- Hatano, T. (1995) Constituents of natural medicines with scavenging effect on active oxygen species-tannins and related polyphenols. *Natural Medicine*, 49, 357-363

5. 특허청. (2005) 지식재산 통계연보. 특허청
6. Azuma, K., Nakayama, M., Koshika, M., Lppoushi, K., Yamaguchi, Y., Kohata, K., Yamaguchi, Y., Ito, H. and Higashio, H. (1999) Phenolic antioxidants from the leaves of *Corchorus olitorius* L. J. Agric. Food. Chem., 47, 3963-3966
7. Labuza, T.P. (1973) Kinetic of lipid oxidation in foods. CRS critical Rev. Food Technol., p.335
8. Kwon, T.D., Choi, S.W., Lee, S.J. Chung, K.W. and Lee, S.C. (2001) Effects of polyphenol or vitamin C ingestion on antioxidative activity during exercise in rats. Kor. J. Physical Education, 3, 891-899
9. Giese, J. (1992) Advances in microwave food processing. Food Tchnol., 46, 118-123
10. Schiffmann, R.F. (1992) Microwave processing in the U. S. food industry. Food Technol., 46, 50-56
11. Pare, J.R.J., Belanger, M.R. and Stafford, S.S. (1994) Microwave-assisted process(MAP<sup>TM</sup>): a new tool for the analytical laboratory. Trends in Analytical Chemistry, 13, 176-184
12. 國家中醫藥管理局編委會. (1999) 中華本草. 上海科學技術出版社, 4, p.540
13. Kang, S.S., Yun, H.S. and Chang, I.M. (1988) Natural products sciences. Seoul Nat. Univ. Korea, p.289
14. Lee, S.J. (1972) Report on korean folk-medicine. Seoul Nat. Univ. Korea, p.75-101
15. Mitsuhashi, H. (1988) In illustrated medicinal plants of the world in color. Hokuryukan. Tokyo, p.220
16. Kim, H.R., Koh, M.S. and Yang, H.C. (1987) Studies on the lipid composition of bush clover (*Lespedeza bicolor*) seed. J. Korean Soc. Food Nutr., 16, 75-81
17. Kim, C.K. (1993) Compositions of fatty acid, free amino acid and total amino acid of *Lespedeza chiisanensis* T. LEE. J. Korean Soc. Food Nutr., 22, 586-591
18. Lee, Y.S., Joo, E.Y. and Kim, N.W. (2005) Analysis on the components in stem of the *Lespedeza bicolor*. J. Korean Soc. Food Sci. Nutr., 34, 1246-1250
19. Kim, B.H. and Kim, C.M. (1995) A study on the constituents of stem of *Lespedeza nakaii*. T. LEE. Kor. J. Pharmacogn., 26, 13-17
20. Lee, Y.S., Joo, E.Y. and Kim, N.W. (2005) Antioxidant activity of extracts from the *Lespedeza bicolor*. Korean J. Food Preserv., 12, 75-79
21. Miyase, T., Sano, M., Nakai, H., Muraoka, M., Nakazawa, M., Suzuki, M., Yoshino, K., Nishihara, Y. and Tanai, J. (1999) Antioxidants from *Lespedeza homoloba* (I). Phytochemistry, 52, 303-310
22. AOAC. (1985) Official method of analysis. 16th ed., Association of official analytical chemists. Washington D.C. USA
23. Swain, T., Hillis, W.E. and Ortega, M. (1959) Phenolic constituents of *Ptunus domestica*. I. Quantitative analysis of *phenolic constituents*. J. Sci. Food Agric., 10, 83-88
24. Stirpe, F. and Corte, E.D. (1969) The regulation of rat liver xanthine oxidase. J. Biol. Chem., 244, 3855-3861
25. Yagi, A., Kanbara, T. and Morinobu, N. (1986) The effect of tyrosinase inhibition for aloe. Planta Medica, 3981, 517-519
26. Byers, T. and Perry, G. (1991) Dietary carotenes, vitamin C and vitamin E as protective antioxidants in human cancers. Ann. Rev. Nutr., 12, 139-159
27. Diplock, A.T. (1991) Antioxidants nutrients and disease prevention. Am. J. Clin. Nutr., 53, 1895-1935
28. Frei, B. (1991) Ascorbic acid protects lipids in human plasma and low density lipoprotein against oxidative damage. Am. J. Clin. Nutr., 54, 1113-1115
29. Park, Y.J., Kim, M.H. and Bae, S.J. (2002) Enhancement of anticarcinogenic effect by combination of *Lycii fructus* with vitamin C. J. Korean Soc. Food Nutr., 3, 143-148
30. Peterkofsky, B. (1972) The effect of ascorbic acid on collagen polypeptide synthesis and proline hydroxylation during the growth of cultured fibroblasts. Arch Biochem. Biophys., 152, 318-328
31. Murad, S., Tajima, S., Johnson, G.R., Sivarajah, A. and Pinnell, S.R. (1981) Collagen synthesis in cultured human skin fibroblasts: effect of ascorbic and its analogs. J. Invest. Dermatol., 81, 158-162
32. Murad, S., Sivarajab, A., Pinnell, S.R. (1981) Regulation of prolyl and lysyl hydroxylase activities in cultured human skin fibroblasts by ascorbic acid. Biochem. Biophys. Res. Commun., 101, 868-875
33. Chan, D., Lamande, S.R., Cole, W.G. and Bateman, J.F. (1990) Regulation of procollagen synthesis and processing during ascorbate-induced extracellular matrix accumulation in vitro. J. Biochem., 269, 175-179
34. Yu, R., Kirata, T., Kim, M. and Arakawa, N. (1991) The behavior of L-ascorbic acid in the healing process of dorsal wounds in guinea pigs. J. Nutr. Sci. Vitaminol., 37, 207-211
35. Kim, M.H. (1998) The effect of ascorbic acid on the enzyme reaction in pyridinoline formation during soluble collagen maturation. J. Korean Soc. Food Sci. Nutr., 27, 305-312
36. Shin, S.R. (1999) Studies on the nutritional components

- of dandelion(*Taraxacum officinale*). Korean J. Postharvest Sci. Technol., 6, 495-499
37. Kim, S.Y. and Ryu, J.H. (1995) Studies on the nutritional components of purple sweet potato(*Ipomoea batatas*). Korean J. Food Sci. Technol., 27, 819-825
  38. Shim, Y.J., Han, Y.S. and Chun, H.G. (1992) Studies on the nutritional components of mugwort *Artemisia mongolica* Fisher. Korean J. Food Sci. Technol., 24, 49-53
  39. Kwon, H.H., Kim, I.B., Kim, S.H., Kim, E.S., Kim, J.H. and Yu, J.Y. (1984). Studies on the nutritive value of Korean foods(XVI). J. Korean Soc. Food Nutr., 13, 334-338
  40. Baek, H.S., Na, Y.S., Ryu, B.H. and Song, S.K. (2003) Antioxidant activities of *Stachys sieboldii* MIQ. Stalks. Korean J. Biotechnol. Bioeng., 18, 266-271
  41. Lee, J.H. and Lee, S.R. (1994) Analysis of phenolic substances content of Korea plant foods. Korean J. Food Sci. Technol., 26, 310-316
  42. Moon, J.S., Kim, S.J., Park, Y.M., Hwang, I.S., Kim, E.Y., Park, J.W., Park, I.B., Kim, S.W., Kang, W.G., Park, Y.K. and Jung, S.T. (2004) Antimicrobial effect of methanol extracts from some medicinal herbs and content of phenolic compounds. Korean J. Food Preserv., 11, 207-213
  43. Ham, S.S., Hong, J.K. and Lee, J.H. (1997) Antimutagenic effects of juices from edible Korean wild herbs. J. Food Sci. Nutr., 2, 155-161
  44. Wyngaarden, J.B. and Holmes, E.W.Jr. (1977) Molecular nature of enzyme regulation in purine biosynthesis. Ciba Found Symp., 48, 43-64
  45. Storch, I. and 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
  46. Hatano, T., Yasuhara, T., Yoshihara, R. and Okuda, T. (1991) Inhibitory effects of galloylated flavonoids on xanthine oxidase. Planta Medica, 57, 83-86
  47. Moon, S.H. and Lee, M.K. (1998) Inhibitory effects of xanthine oxidase by boiled water extract and tannin from persimmon leaves. Korean J. Food Nutr., 11, 354-357
  48. Jung, S.H., Jo, W.A., Son, J.H., Choi, S.E., Park, C.I., Lee, I.C., An, B.J., Son, A.R., Kim, S.K., Kim, Y.S. and Lee, J.T. (2005) A study on the application of cosmetic materials and the physiological activities of *Forsythia koreana* Nakai. Kor. J. Herbology, 20, 61-68
  49. Lee, J.T. and Ann, B.J. (2002) Detection of physical activity of *Salicornia herbacea*. Kor. J. Herbology, 17, 61-69
  50. Ann, B.J. and Lee, J.T. (2002) Studies on biological activity from extract of *Crataegi fructus*. Kor. J. Herbology, 17, 29-38
  51. Ivengar, R. and McEvily, A.J. (1992) Anti-browning agents: alternatives to the use of sulfites in foods. Trends Food Sci. Technol., 3, 60-63
  52. Bell, A.A. and Weeler, M.H. (1986) Biosynthesis and melanin. Ann. Rev. Phytopathol., 24, 411-451
  53. Lee, S.J., Heo, M.Y., Son, K.H. and Kim, H.P. (2003) Tyrosinase inhibitory activity of 80 plant extract (II). J. Appl. Pharmacol., 11, 5-7
  54. Jung, S.H., Jo, W.A., Son, J.H., Park, C.I., Lee, I.C., An, B.J., Son, A.R., Kim, S.K., Kim, Y.S., Jung, Y.S., Kang, B.Y., Choi, E.Y. and Lee, J.T. (2005) A study on the application of new cosmetic materials of whitening effect and physiological activities of chestnut inner shell. Kor. J. Herbology, 20, 27-33

---

(접수 2006년 5월 31일, 채택 2006년 9월 29일)