

산딸나무의 부위별 추출물 및 용매 분획물의 생리활성 비교

김영중, 정진아, 권수현, 이철희*

충북대학교 원예과학과

Comparison of Biological Activities of Extracts from Different Parts and Solvent Fractions in *Cornus kousa* Buerger

Young Jung Kim, Jin-A Jeong, Su-Hyun Kwon and Cheol Hee Lee*

Dept. of Horticultural Science, Chungbuk National Univ., Cheongju 361-763, Korea

Abstract - Several extracts of different parts and solvent fractions of *Cornus kousa* were obtained and their functional material contents, antioxidant activities and tyrosinase inhibition effects were determined. Content of total polyphenols and flavonoids contents in flower were 169.638 mg · g⁻¹ and 25.418 mg · g⁻¹, respectively, which were much higher than those of other parts. Also, flower extracts showed the strongest effects on DPPH and ABTS radicals scavenging and ferrous ion chelating. In flower, leaf, and stem extracts, inhibition effects on peroxidation of linoleic acid determined by ferric thiocyanate (FTC) method were higher than a synthetic antioxidant, BHT. Tyrosinase inhibition activities were shown only in flower extract. Flower and leaf extracts, showing high biological activities in various system, were successively reextracted with n-hexane, chloroform, ethylacetate and n-butanol. Total polyphenol contents of water fractions were higher than any other solvent fractions in both flower and leaf, 67.006mg · g⁻¹ and 66.739mg · g⁻¹, respectively. But total flavonoid contents were higher in ethyl acetate fraction for flower extract and butanol fraction for leaf extract. Among the solvent fractions, the highest efficiency of free radical scavenging activities was obtained in ethyl acetate fraction for flower extract and n-butanol fraction for leaf extract. Tyrosinase inhibition activities were higher in water fraction for both flower and leaf extracts, 49.24% and 31.8%, respectively.

Key words - Functional materials, Antioxidant activities, Tyrosinase inhibition, Polyphenols, Flavonoids

서 언

산여지, 들매나무, 산딸나무, 박달나무, 미영꽃나무 등으로 불리며 중부 이남에 자생하는 층층나무과 산딸나무(*Cornus kousa* Buerger.)는 소화경이 없는 20~30개의 꽃이 등글게 모여 피며, 열매는 취과로서 등글고, 타원형의 종자가 맺히며 종자를 둘러싸고 있는 꽃턱은 육질로서 식용한다(Lee, 2003). 또한 한 방에서는 꽃과 잎을 야여지(野茹枝)라 하며 외상 출혈과 이질에 약용한다. 잎에서는 pentaacetyl quercetin과 gallic acid (Ryu and Yook, 1971), 열매에서는 안토시아닌인 cyanidin 3-O-glucoside, cyanidin 3-O-galactoside(Vareed *et al.*, 2006), 배양된 캘러스에서는 β-glucogallin, (+)-catechin, (+)-gallocatechin, procyanidin β-3 emddml(Kanji *et al.*,

1993)이 분리되었으며, 완숙 열매 추출물에는 면역조절효과가 높고(Kim *et al.*, 2002), 가지와 잎 추출물에서는 reverse tran-scriptase의 저해활성이 높아 HIV-1의 억제효과(Min *et al.*, 2001)가 있는 등 유용 물질함량 및 생리활성이 우수한 것으로 알려져 있다.

최근 인체 내 활성산소가 각종 질병의 주요 원인으로 밝혀짐에 따라 항산화제에 대한 관심이 높아지고 있다. 그러나 합성 항산화제인 BHT와 BHA는 다량섭취 시 지질변화 및 발암독성이 있어 사용이 제한되며(Choi *et al.*, 1992; Cha *et al.*, 2005; Lee *et al.*, 2005), ascorbic acid 및 tocopherol 같은 천연항산화제는 단독으로는 항산화 효과가 낮고 가격이 비싸 제한적으로 사용되므로 대체 항산화제로써 다양한 식물의 항산화 연구가 이루어지고 있다.

피부가 자외선에 노출되면 멜라닌 세포내의 tyrosinase의 생합성 작용으로 산화 반응을 일으켜 멜라닌을 생성하며 과잉 생산된 멜라닌은 피부에 기미, 주근깨 등의 색소 침

*교신저자(E-mail) : leech@chungbuk.ac.kr

착을 일으키게 된다(Sung and Kim, 2005). Tyrosinase의 활성을 억제하는 유효물질에는 ascorbic acid, arbutin, kojic acid, azelaic acid, tropolone 등이 보고되고 있으나 안전성과 경제성에 문제가 있어(Jung *et al.*, 1995), 최근에는 쑥(Kwak *et al.*, 2001), 울무(Kim and Lee, 2000), 오매, 계피, 무, 무순(Jung *et al.*, 1995), 개나리꽃(Jung *et al.*, 2005) 등의 식물추출물로부터 천연미백제 개발에 관한 연구가 활발히 이루어지고 있다.

본 연구에서는 산딸나무의 꽃, 잎, 가지 및 열매를 각각 채취하여 부위별 기능성물질 함량, 항산화 활성 및 미백효과를 비교 분석하였으며, 또한 생리활성이 높게 나타난 꽃과 잎 추출물에 대한 용매 분획별 생리활성을 탐색하였다.

재료 및 방법

추출 및 분획

본 실험에서 사용된 산딸나무의 꽃, 잎, 가지, 열매는 2005년 6월부터 10월까지 충북 청주시에서 채취하여 음건한 뒤 분쇄한 후 -70℃에서 보관하면서 사용하였다. 부위별 각 분말시료에 80% 에탄올을 용매로 하여 60℃ 항온수조 상에서 6시간 환류 냉각추출 한 후, 여과지(Advantec No.2, Toyo, Japan)를 사용하여 감압여과하였다. 꽃과 잎을 용매분획하기 위해 분말시료를

Fig. 1과 같이 80% 에탄올로 3회 추출한 다음 rotary vacuum evaporator(EYELA, Japan)로 감압농축한 후 동결건조하였다. 이를 증류수, hexane과 1:9:10의 비율로 혼합하여 분획한 후 hexane 분획물을 얻었다. 남은 수층은 다시 chloroform, ethylacetate, butanol 순으로 순차적으로 용매 분획하였다.

총 폴리페놀 함량

건조시료 g당 총 폴리페놀 함량은 Folin-Ciocalteu 시약을 이용하여 측정하였다(Velioglu *et al.*, 1998). 추출물 희석액 0.1 mL에 2% Na₂CO₃용액을 2mL 첨가하고 3분 후 Folin-Ciocalteu 시약 0.1 mL를 혼합하여 30분간 정치한 후 750nm에서 흡광도를 측정하였다. Tannic acid를 표준물질로 하여 검량선을 작성한 후 총 폴리페놀 함량을 tannic acid 기준으로 환산하였다.

총 플라보노이드 함량

건조시료 g당 총 플라보노이드 함량은 diethylene glycol 비색법을 이용하여 정량하였다(NFRI, 1990). 추출물 희석액 0.2 mL에 diethylene glycol 2mL, 1 N NaOH 0.2 mL를 첨가하였다. 이를 37℃의 water bath에서 1시간 동안 반응시킨 후 420nm에서 흡광도를 측정하였다. Naringin을 표준물질로 검

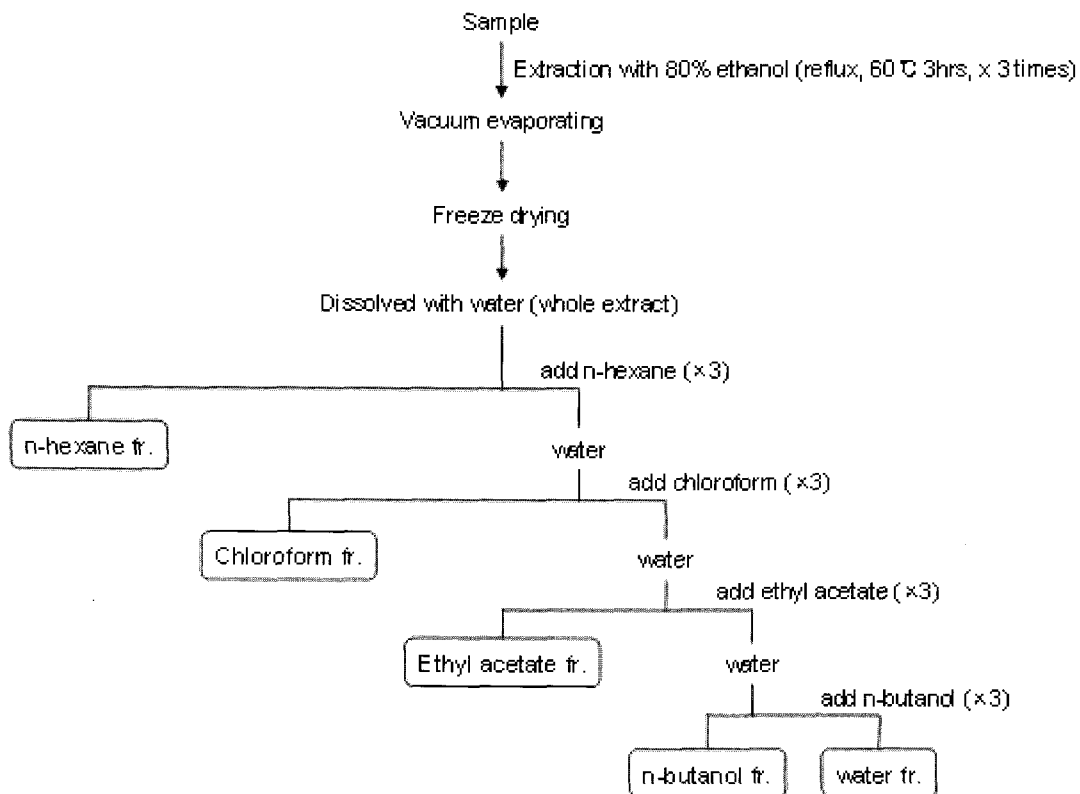


Fig. 1. Scheme for solvent fractionation of whole extract using n-hexane, chloroform, ethyl acetate, and n-butanol.

량을 작성한 후 총 플라보노이드 함량을 naringin 기준으로 환산하였다.

DPPH radical 소거활성

Blois(1958)의 방법을 응용하여 실행하였다. DPPH는 0.15 mM의 농도로 99.9% 에탄올에 녹여 사용하였으며, DPPH 용액 0.8mL에 여러 농도의 시료 0.2mL를 각각 혼합하여 암소에서 30분 반응시킨 후에 517nm에서 흡광도를 측정하였다. DPPH 자유 라디칼에 대한 소거능(RC₅₀)은 용매만을 사용한 대조군의 흡광도를 50% 감소시키는데 필요한 농도로 나타냈으며, 소거효과의 비교를 위한 대조군으로는 ascorbic acid와 BHT를 사용하였다.

ABTS radical 소거활성

ABTS+· cation decolorization assay방법(Re *et al.*, 1999)에 의하여 ABTS radical 소거활성을 측정하였다. 7.4mM ABTS를 2.6mM potassium persulfate에 녹인 후 실온인 암소에서 24시간 동안 방치하여 ABTS+·를 형성시켰다. 사용 직전에 732nm에서 흡광도 값이 1.4~1.5가 되도록 ABTS 시약의 농도를 phosphate-buffered saline(PBS, pH 7.4)으로 희석하였다. 희석된 ABTS 용액 950μL에 시료를 농도별로 50μL씩 첨가한 후 10분 후에 732nm에서 흡광도를 측정하였다. ABTS 자유 라디칼에 대한 소거능은 RC₅₀으로 나타내었다.

Ferrous ion chelating 효과

Yena 등(2002)의 방법을 응용하여 실시하였다. 추출물의 농도를 달리한 시료 1mL에 용매(80% EtOH) 0.8mL를 혼합하여 2mM FeCl₂·4H₂O 100μL와 5mM ferrozine 100μL를 순서대로 첨가하고 실온에서 10분간 반응시킨 후 562nm에서 OD를 측정하였고 결과를 RC₅₀값으로 나타냈다. EDTA를 시료대신 같은 방법으로 사용하여 시료의 결과와 비교하였다.

Linoleic acid에 대한 항산화 효과

Ferric thiocyanate(FTC) 방법을 사용하여 과산화에 대한 저해효과를 조사하였다(Haraguchi *et al.*, 1992). 반응액은 2.51% linoleic acid 0.5mL, 0.05 M phosphate buffer(pH

7.0) 1 mL, 증류수 0.5mL, 그리고 최종농도가 0.025 mg·mL⁻¹가 되도록 조제한 시료 0.5mL로 조성하였으며, 40℃의 암소에서 반응시켰다. 8일을 주기로 반응액 0.1mL를 취하여 75% 에탄올 2.7mL, 30% ammonium thiocyanate 0.1mL, 3.5% HCl에 녹인 0.02 M ferrous chloride 0.1mL와 혼합한 후 500nm에서 흡광도를 측정하여 산화양상을 조사하였다. Linoleic acid의 과산화 저해율은 반응 16일째에 용매만을 사용한 대조군의 흡광도에서 시료 첨가군의 흡광도 값을 뺀 값을 대조군의 흡광도 값으로 나눈 값의 백분율로 산출하였다.

Tyrosinase 억제활성

Tyrosinase 억제활성 정도는 Yagi 등(1986)의 방법을 응용하여 실시하였다. 1/15M sodium phosphate buffer(pH 6.8)를 반응물의 용매로 사용하였으며, 5mM L-DOPA 200 μL, tyrosinase(100unit·ml⁻¹) 200μL, 추출시료 200μL(4mg·mL⁻¹), phosphate buffer(pH 6.8) 400μL를 혼합한 후 37℃에서 30분간 반응시키고 ice 상에서 반응을 정지시킨 후 475nm에서 흡광도를 측정하였다. Tyrosinase의 억제정도는 시료 첨가하지 않은 반응물의 흡광도 값에서 시료를 첨가한 반응물의 흡광도 값과 효소 대신 buffer를 첨가한 대조군의 흡광도 값을 제하고 이를 시료를 첨가하지 않은 반응물의 흡광도 값으로 나눈 값의 백분율로 산출하였다.

결과 및 고찰

부위별 추출물의 생리활성

산딸나무의 꽃, 열매, 잎 및 가지를 음건하여 각각 80% 에탄올로 추출한 결과, 추출수율은 열매에서 39.20%로 가장 높았으며 가지에서 21.10%로 가장 낮았고, 평균수율은 32.9%였다(Table 1). 활나물 또한 잎의 추출 수율(19.59%)이 가지(12.68%)보다 높고(Kang *et al.*, 2002), 해당화의 추출수율은 잎(27.37%), 열매(10.56%), 가지(7.56%)의 순으로 나타나 전반적으로 잎, 열매의 추출수율이 가지 등의 부위에 비하여 높음을 알 수 있었다(Kim *et al.*, 2001).

산딸나무의 부위별 총 폴리페놀 함량과 플라보노이드 함량을 측정한 결과는 Table 2와 같았다. 총 폴리페놀 함량은 꽃에서

Table 1. Extraction yield of various parts of *Cornus kousa*

| Plant part ^a | Harvest time | Extraction yield (%) ^b |
|-------------------------|--------------|-----------------------------------|
| FL | Jun. 2004 | 35.00 |
| FR | Oct. 2005 | 39.20 |
| LF | Jun. 2005 | 32.70 |
| BH | Jun. 2005 | 21.10 |

^aExtraction yield (%) = weight of extracted solid/weight of dry sample.

^bFL: Flower, FR: Fruit, LF: Leaf, BH: Branch.

Table 2. Content of total polyphenols and flavonoids in various parts of *Cornus kousa*

| Sample | Total polyphenols (mg · g ⁻¹) ^y | Total flavonoids (mg · g ⁻¹) ^y |
|-----------------|--|---|
| FL ^x | 169.638a ^z | 25.418a |
| FR | 21.139d | 0.385c |
| LF | 132.868b | 7.628b |
| BH | 36.107c | 0.899c |

^xMilligrams of total polyphenols content per g various parts of *Cornus kousa* tannic acid as standard.

^yMilligrams of total flavonoids content per g various parts of *Cornus kousa* naringin as standard.

^zFL: Flower, FR: Fruit, LF: Leaf, BH: Branch.

^zMean separation within columns by Duncan's multiple range test, p<0.05.

169.638mg · g⁻¹으로 가장 높았고, 그 뒤를 이어 잎, 가지, 열매의 순이었다. 잎의 경우 폴리페놀함량이 132.868mg · g⁻¹으로 꽃 부위와 큰 차이를 보이지 않았는데, 가지와 열매의 경우 함량의 차이가 상당히 큰 편이었다.

총 플라보노이드 함량 또한 총 폴리페놀 함량과 마찬가지로 꽃에서 25.418mg · g⁻¹으로 가장 높게 조사되었는데, 잎의 경우 폴리페놀 함량은 꽃과 큰 차이를 보이지 않았지만 총 플라보노이드 함량은 꽃의 1/6 이하로 감소하였다. 가지와 열매 부위는 총 플라보노이드 함량이 0.385~0.899mg · g⁻¹으로 아주 미미한 수준이었다. 따라서 산딸나무에서 총 폴리페놀 및 플라보노이드는 꽃, 잎, 가지, 열매 등 부위에 따라 함량이 현저히 다른 것을 알 수 있었다.

산딸나무의 부위별 추출물을 이용하여 DPPH와 ABTS 라디칼 소거능 그리고 ferrous 이온 chelate 효과를 조사한 결과는 Table 3과 같았다.

꽃에서 0.036mg · mL⁻¹의 RC₅₀값으로 가장 높은 활성을 보였는데, 이는 천연항산화제인 ascorbic acid(0.026mg · mL⁻¹)와 비슷한 수준이었다. 그 뒤를 이어 잎 추출물에서 RC₅₀ 0.121mg · mL⁻¹으로 BHT(0.121mg · mL⁻¹)와 같은 소거활성을 보였으며, 가지와 열매 부위는 꽃과 잎에 비해 저조한 소거활성을 나타냈다.

ABTS 라디칼 소거활성은 전체적으로 DPPH 라디칼 소거활

성과 유사한 경향을 보였으며, RC₅₀은 0.208~2.953mg · mL⁻¹으로 다양하게 나타났다. 활성이 가장 높은 꽃 추출물의 RC₅₀은 0.208mg · mL⁻¹으로 ascorbic acid(RC₅₀ = 0.199mg · mL⁻¹)보다는 활성이 낮지만 BHT (RC₅₀ = 0.217mg · mL⁻¹) 보다는 높은 것으로 조사되었다. 잎 추출물은 RC₅₀이 0.231mg · mL⁻¹으로 꽃과 큰 차이를 보이지 않았지만 열매와 가지 추출물은 ABTS 라디칼 소거활성이 상대적으로 낮게 조사되었다.

금속이온은 자동산화과정에서 산화촉진제로 작용하여 특히 2가나 또는 그 이상의 산화수를 갖는 금속들은 산화촉진효과가 크다(Cho *et al.*, 1989). Fe²⁺ chelate 효과는 추출물 내의 항산화 성분에 의해 Fe²⁺이온이 제거되어 ferrozine-Fe²⁺ 복합체의 형성이 감소되는 것을 반응의 기본원리로 하여 측정하였다. 실험결과 잎, 가지 및 꽃 추출물의 RC₅₀이 각각 2.607, 3.560, 및 3.783mg · mL⁻¹으로 유의적으로 비슷한 chelate 활성을 보였으며, 열매는 6.954mg · mL⁻¹의 RC₅₀을 보여 효과가 낮았다.

FTC(Ferric thiocyanate)방법은 산화 초기에 생성되는 과산화물의 양을 측정하여 지질산화의 정도를 조사하는 것으로, 과산화물은 ferrous chloride와 반응하여 빨간색에 가까운 ferric chloride 색소를 생성한다. 본 실험에서는 불포화지방산인 linoleic acid와 시료를 반응시킨 후 8일 간격으로 흡광도를 측정하였다. 그 결과 무첨가구에서는 8일째에 지질산화에 의한 과산화물의 생성으로 흡광도가 3.652로 높게 측정되었으나, BHT

Table 3. Radical scavenging activities and ferrous ion chelating effect of 80% ethanol extracts from various parts of *Cornus kousa*

| Sample | DPPH radical RC ₅₀ ^x (mg · mL ⁻¹) | ABTS radical RC ₅₀ ^y (mg · mL ⁻¹) | Fe ²⁺ chelating RC ₅₀ ^z (mg · mL ⁻¹) |
|-----------------|--|--|--|
| BHT | 0.121 | 0.217 | - |
| EDTA | - | - | 0.030 |
| Ascorbic acid | 0.026 | 0.199 | - |
| FL ^x | 0.036 d ^z | 0.208 c | 3.783 b |
| FR | 1.934 a | 2.953 a | 6.954 a |
| LF | 0.121 c | 0.231 c | 2.607 b |
| BH | 0.204 b | 1.041 b | 3.560 b |

^xConcentration of the material which is required to scavenging 50% of 0.15mM DPPH radicals.

^yConcentration of the material which is required to scavenging 50% of 7.4mM ABTS radicals.

^zConcentration of the material which is required to scavenging 50% of ferrous ion.

^zFL: Flower, FR: Fruit, LF: Leaf, BH: Branch.

^zMean separation within columns by Duncan's multiple range test, p<0.05.

를 비롯하여 산딸나무의 각 부위별 추출물에서는 흡광도가 0.369~0.587로 나타나 지질산화가 억제되었음을 알 수 있었다 (Fig. 2). 24일이 지나자 무첨가구의 흡광도는 다소 감소된 반면, 열매 추출물의 첨가구에서 흡광도가 3.954로 높게 측정되었다. 32일이 지나자 BHT 처리구의 흡광도는 0.799로 다소 높게 증가하였으며, 산딸나무의 꽃, 잎, 가지는 각각 흡광도가 0.590, 0.560, 0.619로 BHT 비교적 낮게 조사되었다. 따라서 산딸나무의 꽃, 잎, 가지 추출물은 BHT 보다 높은 산화억제효과가 있으며, 열매 추출물은 지질산화 억제효과가 낮은 것으로 생각되었다.

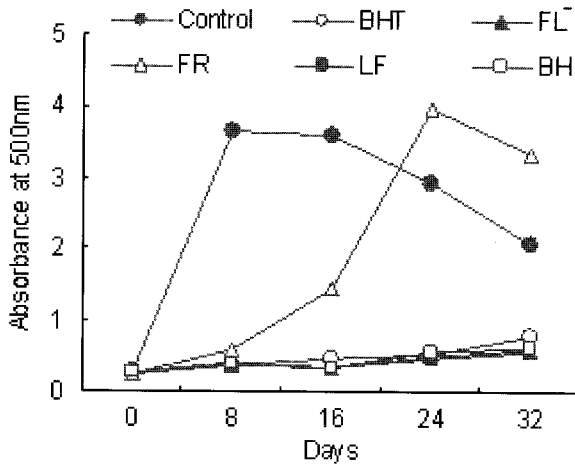


Fig. 2. Inhibition effects of 80% ethanol extracts from *Cornus kousa* on linoleic acid oxidation as measured by the thiocyanate method. FL: Flower, FR: Fruit, LF: Leaf, BH: Branch.

산딸나무의 꽃, 열매, 잎 및 가지의 추출물이 멜라닌 생성의 주 효소인 tyrosinase의 활성에 미치는 영향을 조사한 결과는 Fig. 3과 같았다. 실험결과 오직 꽃 추출물에서만 억제활성이 관찰되었는데, 그 밖의 다른 부위는 오히려 tyrosinase 활성의 촉진효과가 나타났다. 꽃 추출물의 경우 4mg · mL⁻¹의 농도에서 25.1%의 억제효과를 보였다.

이상 산딸나무의 부위별 추출물에서 나타난 각각의 총 폴리페놀 함량과 플라보노이드 함량, DPPH 및 ABTS 라디칼 소

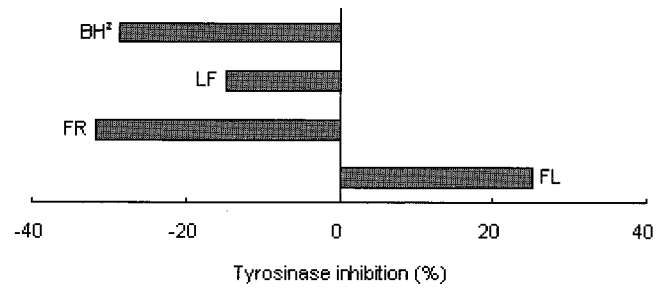


Fig. 3. Effects of different part extracts from *Cornus kousa* on tyrosinase activity. Tyrosinase activity was measured using L-Dopa as the substrate. FL: Flower, FR: Fruit, LF: Leaf, BH: Branch.

능, Fe²⁺ chelating 효과, 지질산화 억제를 간의 상호관련성을 분석한 결과는 Table 4와 같았다. 폴리페놀 함량과 DPPH 라디칼 소거능은 R² = 0.474의 연관성을 보였는데, Choi 등(2005)의 보고에 의하면 폴리페놀 함량과 DPPH 라디칼 소거능은 R² = 0.61로서 본 실험 결과보다 높은 상관관계를 보였다고 하였다. 폴리페놀 함량과 ABTS 라디칼 소거능은 R² = 0.686으로 DPPH 보다 높은 연관성을 보였다. DPPH 및 ABTS 라디칼 소거활성의 R² = 0.944로 분석되어 Lee 등(2005)이 보고한 R² = 0.76 보다 높은 연관성을 보였다. Kim 등(2004)의 보고에 의하면 폴리페놀 함량과 지질산화 억제는 R² = 0.739로 연관성이 높다고 하였으나, 본 실험에서는 R² = 0.401의 상대적으로 낮은 상관관계를 보였다. Fe²⁺ chelating과 DPPH 및 ABTS 라디칼 소거능, 지질산화 억제를 간에는 R² = 0.9 이상의 높은 연관성을 지니는 것으로 분석되었으며, 반면 플라보노이드 함량과 DPPH 라디칼 소거능 및 지질산화 억제율, Fe²⁺ chelating은 각각 R² = 0.286, R² = 0.220, R² = 0.333으로 낮은 연관성을 보여 산딸나무의 플라보노이드 성분은 항산화 활성에 큰 영향을 끼치지 않는 것으로 생각되었다.

용매분획물의 생리활성

폴리페놀과 플라보노이드 함량이 높고 항산화 효과가 뛰어난 산딸나무의 꽃과 잎 추출물을 hexane, chloroform, ethyl acetate, butanol 및 water 순으로 용매 분획하여 각각의 생리

Table 4. Correlation of functional materials and biological activities

| | Coefficient of determination (R ²) | | | | |
|----------------------------|--|------------|-------------------|--------------------|----------------------------|
| | Polyphenols | Flavonoids | DPPH · scavenging | ABTS+ · scavenging | Fe ²⁺ chelating |
| Polyphenols | - | - | - | - | - |
| Flavonoids | 0.799 | - | - | - | - |
| DPPH · scavenging | 0.474 | 0.286 | - | - | - |
| ABTS+ · scavenging | 0.686 | 0.409 | 0.944 | - | - |
| Fe ²⁺ chelating | 0.652 | 0.333 | 0.967 | 0.994 | - |
| Antioxidant activity | 0.401 | 0.220 | 0.994 | 0.911 | 0.937 |

Table 5. Solvent fraction yields^a of *Cornus kousa* flowers and leaves

| Part | Whole extract | n-Hexane | Chloroform | Ethyl acetate | n-Butanol | Water |
|--------|---------------|----------|------------|---------------|-----------|--------|
| Flower | 13.160 | 0.839 | 0.373 | 2.481 | 1.486 | 7.127 |
| Leaf | 25.200 | 0.420 | 0.427 | 2.767 | 5.200 | 15.973 |

^ag of each extract obtained as dried basis.

활성을 비교 분석하였다. 각 분획물에서 얻어진 가용성 고형분의 함량은 꽃과 잎 각각 water 분획물에서 7.127g 및 15.973g으로 가장 높았고, chloroform 분획물에서 0.373g과 0.427g으로 가장 낮았으며, 비극성 용매인 hexane 분획물에서 0.839g 및 0.420g으로 수율이 낮은 편이었다(Table 5).

산딸나무의 꽃과 잎을 용매 분획하여 총 폴리페놀과 플라보노이드 함량 및 항산화 효과를 측정된 결과는 Table. 6과 같다. 꽃과 잎 모두 water 분획물에서 67.006mg · g⁻¹, 66.739mg · g⁻¹으로 폴리페놀 함량이 가장 높게 측정되었고, 플라보노이드 함량은 꽃의 경우 ethyl acetate 분획물에서 8.084mg · g⁻¹으로 가장 높았고, 잎은 butanol 분획물에서 2,857mg · g⁻¹으로 높게 나타났다. DPPH 및 ABTS를 이용한 라디칼의 소거활성은 꽃의 ethyl acetate 분획물에서 각각 0.034mg · mL⁻¹과 0.066mg · mL⁻¹으로 높게 조사되었고 잎은 butanol 분획물에서 0.033mg · g⁻¹, 0.060mg · g⁻¹으로 가장 높은 소거활성을 보였다. 꽃과 잎 각각에서 ethyl acetate, butanol, water 분획물의 DPPH 라디칼 소거능은 ascorbic acid(RC₅₀ = 0.26mg · mL⁻¹)보다는 낮지만 BHT(RC₅₀ = 0.121mg · mL⁻¹)보다는 높았다. ABTS 라디칼 소거능의 경우 꽃의 ethylacetate 분획물과 잎의 butanol 분획물은 ascorbic acid(RC₅₀ = 0.199mg · mL⁻¹)보다도 3배 가량 높은 소거활성을 나타냈다.

각 분획물이 tyrosinase 활성에 미치는 영향을 조사한 결과, 꽃과 잎의 water 분획물에서 각각 49.24%, 31.8%로 가장 높은 억제 효과를 보였다(Fig. 4). 잎은 hexane 분획물에서 9.16%의

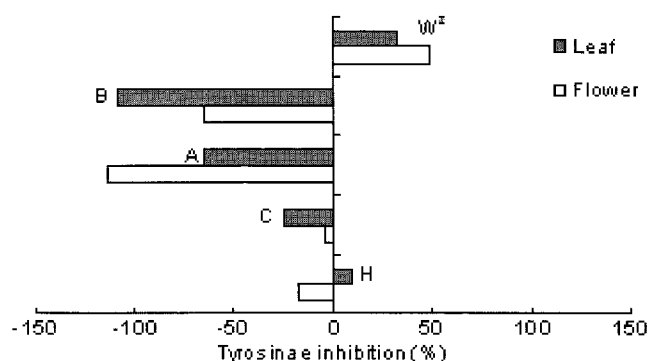


Fig. 4. Effects of each fractions from *Cornus kousa* flower and leaf on tyrosinase activity. Tyrosinase activity was measured using L-Dopa as the substrate.

^aW: Water, B: Butanol, A: Ethyl acetate, C: Chloroform, H: Hexane.

미미한 억제효과가 나타났으며, 다른 분획물에서는 오히려 tyrosinase 활성 촉진효과가 나타났다. Kwak 등(2001)에 의하면 쑥 추출물은 hexane 및 chloroform 분획물에서 각각 96.7%와 98.9%의 높은 활성을 보였고, Park과 Chang(1997)은 느타리버섯, 양송이버섯, 영지버섯 및 운지버섯 추출물은 water 분획물에서 각각 40.2, 51.5, 67.3, 48.0%의 높은 tyrosinase 억제 활성을 보였고, 석이버섯 추출물은 ethyl acetate 분획물에서 78.2%의 높은 억제 효과를 보였다고 하였다. 또한 Hwang 등(2001)은 앵두 추출물은 ethyl acetate 분획물에서 73.8%의 가장 높은 억제 활성을 보였다고 보고한 바 있

Table 6. Functional materials and biological activities of *Cornus kousa* flower and leaf fractions

| Sample | Solvent | Total polyphenols (mg · g ⁻¹) | Total flavonoids (mg · g ⁻¹) | DPPH radical RC ₅₀ (mg · mL ⁻¹) | ABTS radical RC ₅₀ (mg · mL ⁻¹) |
|---------------|--------------|---|--|--|--|
| BHT | | - | - | 0.121 | 0.217 |
| Ascorbic acid | | - | - | 0.026 | 0.199 |
| FL | Hexane | 2.750 d | 0.137 d | 0.352 a | 0.856 a |
| | Chloroform | 1.341 d | 0.070 d | 0.351 a | 0.615 b |
| | Ethylacetate | 46.230 b | 8.084 a | 0.034 b | 0.066 c |
| | Butanol | 25.630 c | 4.182 b | 0.039 b | 0.077 c |
| | Water | 67.006 a | 3.326 c | 0.053 b | 0.112 c |
| LF | Hexane | 0.581 d | 0.139 b | 0.283 a | 0.856 b |
| | Chloroform | 0.698 d | 0.126 b | 0.241 a | 1.042 a |
| | Ethylacetate | 21.130 c | 2.060 a | 0.035 b | 0.082 c |
| | Butanol | 39.599 b | 2.857 a | 0.033 b | 0.060 c |
| | Water | 66.739 a | 2.316 a | 0.052 b | 0.108 c |

^aMean separation within columns on the lined by Duncan's multiple range test, p<0.05.

다. 따라서 tyrosinase의 활성을 억제시키는 물질의 종류는 다양하며, 같은 식물이라도 용매에 따라 억제활성의 정도에 차이가 있는 것으로 생각되었다.

적 요

산딸나무의 꽃, 잎, 열매, 가지 등 부위별 추출물과 용매 분획물을 제조하여 각각의 생리활성물질 함량, 항산화활성 그리고 tyrosinase 억제활성을 분석하였다. 총 폴리페놀 및 플라보노이드 함량은 다른 부위보다 꽃 추출물에서 169.638mg · g⁻¹과 25.418mg · g⁻¹으로 가장 높게 나타났다. DPPH 및 ABTS 라디칼 소거활성과 Fe²⁺ chelating 효과 역시 꽃 추출물에서 가장 우수한 것으로 조사되었다. Ferric thiocyanate 방법으로 지질 과산화 억제효과를 조사한 결과, 꽃, 잎, 가지의 경우는 BHT보다 높은 억제활성을 보였다. Tyrosinase 억제활성은 오직 꽃 추출물에서만 나타났다. 높은 생리활성을 보인 꽃과 잎 추출물을 n-hexane, chloroform, ethyl acetate, n-butanol의 순으로 용매분획한 결과, 폴리페놀함량은 꽃과 잎 모두 water 분획물에서 각각 67.006mg · g⁻¹ 및 66.739mg · g⁻¹으로 가장 많았다. 반면 플라보노이드 함량은 꽃의 경우 ethyl acetate 분획물에서 가장 높았고, 잎은 butanol 분획물에서 가장 높게 조사되었다. 자유라디칼 소거활성은 꽃 추출물의 경우 ethyl acetate 분획물에서 가장 높았고 잎 추출물은 butanol 분획물에서 가장 높게 조사되었다. 꽃과 잎의 각 용매 분획물이 tyrosinase의 활성에 미치는 영향을 조사한 결과, 모두 water 분획물에서 각각 49.24% 및 31.8%로 가장 높은 억제 효과를 보였다.

사 사

이 논문은 2007년도 충북대학교 학술연구지원사업의 연구비 지원에 의하여 연구되었음.

인용문헌

Blois, M.S. 1958. Antioxidant determination by the use of a stable free radical. *Nature* 26: 1198-1204.

Cha, B.C., E.H. Lee and M.A. Noh. 2005. Antioxidative active of *Spatholobus suberectus* Dunn, *Kor. J. Pharmacogn.* 36: 50-55.

Cho, M.Z., T.S. Hahn, T.B. Kwon and S.K. Oh. 1989. Antioxidant effect of some chelating agent on soybean oil. *Kor. J. Agric. Chem. Soc.* 32: 30-36.

Choi, S.Y., S.H. Lim, J.S. Kim, T.Y. Ha, S.R. Kim, K.S. Kang and I.K. Hwang. 2005. Evaluation of the estrogenic and antioxidant activity of

some edible and medicinal plants. *Kor. J. Food Technol.* 37: 549-556.

Choi, U., D.H. Shin, Y.S. Chang and J.I. Shin. 1992. Screening of natural antioxidant from plant and their antioxidative effect. *Kor. J. Food Sci. Tech.* 24: 142-148.

Haraguchi H., K. Hashimoto and A. Yagi. 1992. Antioxidative substances in leaves of *Polygonum hydropiper*. *J. Agric. Food Chem.* 40: 1349-1351.

Hwang, H.S., J.M. Kim, Y.A. Song and Y.J. Jeon. 2001. Inhibition effect of ethanol extract and juice of the Korean cherry (*Prunus tomentosa* Thunberg) on tyrosinase activity *in vitro*. *Kor. J. Food Sci. Technol.* 33: 760-763.

Ishimaru, K., H. Arakawa and S. Neera. 1993. Polyphenol production in cell cultures of *Cornus Kousa*. *Phytochemistry* 32: 1193-1197.

Jung, S.W., N.K. Lee, S.J. Kim and D.S. Han. 1995. Screening of tyrosinase inhibitor from plants, *Kor. J. Food Sci Technol.* 27: 891-896.

Kang, M.H., C.S. Choi, Z.S. Kim, H.K. Chung, K.S. Min, C.G. Park and H.K. Park. 2002. Antioxidative activities of ethanol extract prepared from leaves, seed, branch and aerial part of *Crotalaria sessiflora* L. *Kor. J. Food Sci. Technol.* 34: 1098-1102.

Kim, E.Y., I.H. Baik, J.H. Kim, S.R. Kim and M.R. Rhyu. 2004. Screening of the antioxidant activity of some medicinal plants. *Kor. J. Food Sci. Thechnol.* 36: 333-338.

Kim, H.K., Y.E. Kim, J.R. Do, Y.C. Lee and B.Y. Lee. 1995. Antioxidative active and physiological activity of some Korean medicinal plants. *Kor. J. Food Sci. Technol.* 27: 80-85.

Kim, J.K. and H.S. Lee. 2000. Tyrosinase inhibitory and radical scavenging activities from the seeds of *Coix lachrymajobi* L. var. *mayuen* (Roman) Stapf. *Kor. J. Food Sci Technol.* 32: 1409-1413.

Kim, J.S., C.H. Oh, K.S. Lee and S.Y. Ma. 2002. Immuno-regulatory property of fruit-extracts of *Cornus kousa* Burg. *Kor. J. Med. Crop Sci.* 10: 327-332.

Kim, M.J., J.S. Kim, K.H. Shin, K. Heo, C.H. Park and C.Y. Yu. 2001. Comparison of antioxidative activities from different organs of *Rosa rugosa* Thunb. *Kor. J. Med. Crop Sci.* 9: 40-44.

Kwak, J.H., U.K. Seo and Y.H. Han. 2001. Inhibitory effect of mugwort extracts on tyrosinase activity. *Kor. J. Biotechnol. Bioeng.* 16: 220-223.

Jung, S.H., W.A. Cho, J.H. Son, E.Y. Choi, C.L. Park, I.C. Lee, B.J. An, A.R. Son, S.K. Kim, Y.S. Kim and J.T. Lee. 2005. A study on the application of cosmetic materials and the physiological activities of *Forsythia koreana* Nakai. *Kor. J. Herb.* 20: 61-68.

- Lee, C.B. 2003. Illustrated flora of Korea, Hyangmunsa, Seoul, pp. 2782.
- Lee, S.O., H.J. Lee, M.H. Yu, H.G. Im and I.S. Lee. 2005. Total polyphenol contents and antioxidant activities of methanol extracts from vegetables produced in Ullung island. Kor. J. Food Sci. Technol. 37: 233-240.
- Min, B.S., Y.H. Kim, M. Tomiyama, N. Nakamura, H. Miyashiro, T. Otake and M. Hattori. 2001. Inhibitory effects of Korean plants on HIV-1 activities. Phytother. Res. 15: 481-486.
- NFRI. 1990. Manuals of quality characteristic analysis for food quality evaluation (2). National Food Research Institute, Skuba, Japan, pp. 61.
- Park, Y.H. and S.K. Chang. 1997. Screening of inhibitory effect of edible mushrooms on tyrosinase and isolation of active component. J. Fd. Hyg. Safety 12: 195-199.
- Re Roberta, Nicoletta Pellegrini, Anna Proteggente, Ananth Pannala, M. Yang and Catherine Rice-Evans. 1999. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. Free Radical biology & Medicine 26: 1231-1237.
- Ryu, K.S. and C.S. Yook. 1971. On the constituents of leaves of *Cornus kousa* Burg. Kor. J. Pharmacog. 2: 41-42.
- Sung, K.C. and K.J. Kim. 2005. Tyrosinase activated inhibition effect & analysis of Pine-Needles extract. Kor. Oil Chem. Soc. 22: 71-76.
- Vareed, S.K., M.K. Reddy, R.E. Schutzki and M.G. Nair. 2006. Anthocyanins in *Cornus alternifolia*, *Cornus controversa*, *Cornus Kousa* and *Cornus florida* fruits with health benefits. Life Sci. 78: 777-784.
- Velioglu Y.S., G. Mazza, L. Cao and B.D. Oomah. 1998. Antioxidant activity and total phenolics in selected fruits, vegetables, and grain products. J. Agric. Food Chem. 46: 4113-4117.
- Yagi, A., T. Kanbara and N. Morinobu. 1986. The effect of tyrosinase inhibition for aloe. Planta Medica. 3981: 517-519.
- Yena G.C., P.D. Duhb and H.L. Tsai. 2002. Antioxidant and pro-oxidant properties of ascorbic acid and gallic acid. Food Chem. 79: 307-313.

(접수일 2007. 10. 24; 수락일 2007. 11. 5)