

고내후성 활엽수종의 추출성분을 이용한 신기능성 물질의 분리 및 생리활성^{1*}

배영수², 이상용², 오덕환³, 최돈하⁴, 김영균⁵

Bioactivities and Isolation of Functional Compounds from Decay-Resistant Hardwood Species^{1*}

Young-Soo Bae², Sang-yong Lee², Deog-Hwan Oh³, Don-Ha Choi⁴ and Young-Kyoon Kim⁵

요 약

아까시나무의 목질부와 현사시나무, 물푸레나무 및 느릅나무의 수피를 채취하여 아세톤-물 혼합 용액(7:3,v/v)으로 추출한 후 hexane, chloroform, ethylacetate 및 수용성으로 분획하고 동결건조하여 분말로 조제한 후 메탄올-물 등의 용리용매로 Sephadex LH-20 칼럼에서 크로마토그래피를 수행하였다. 물푸레나무에서는 aesculetin 및 그 파생물인 fraxetin 등 다량의 쿠마린화합물과 에스테르화합물을 분리하였으며, 느릅나무로부터 C-7에 xylopyranose와 apiofuranose와 같은 5단당이 결합된(+)-catechin 배당체 화합물과 procyanidin B-3를 분리하였다. 아까시나무에서는 leucorobinetinidin의 C-4에 ethoxyl 기가 결합된 flavan 유도체 화합물과 robinetin 등의 flavanone 화합물을 분리하였다. 현사시나무에서는 taxifolin 등의 후라보노이드 화합물과 배당체인 sakuranetin-5-O-glucoopyranoside를 분리하였으며 살리신 유도체인 salireposide 등을 분리하였다. 내후성 시험에서는 목재블록에 부후균을 접종하여 배양한 후 중량감소를 측정하는 방법과 목분-agar 배지에 부후균을 접종한 후 균사의 생장 직경을 측정하는 방법을 적용하였다. 아까시나무가 다른 시료들보다 우수한 활성을 나타내었으며 특히 메탄올 추출처리를 하지 않은 시료가 처리한 시료보다 좋은 균사생장 저해효과를 나타냈다. 항산화 활성 시험에서는 물푸레나무의 에틸아세테이트 분획이 가장 높은 활성을 보였으며, 아까시나무의 에틸아세테이트 분획도 비교적 높은 효과를 나타내었고, 이 두 분획으로부터 분리된 주요 단리화합물에 대해서는 물푸레나무의 aesculetin이 가장 높았으며 아까시나무의 robinetinidin도 비교적 좋은 효과를 나타냈다.

ABSTRACT

Wood of *Robinia pseudoacacia* and bark of *Populus alba*×*P. glandulosa*, *Fraxinus rhynchophylla* and *Ulmus davidiana* var. *japonica* were collected, debarked and extracted with acetone-water

¹ 접수 2000년 10월 16일 Received on October 16, 2000.

² 강원대학교 산림과학대학 College of Forest Sciences, Kangwon Natl. Univ., Chuncheon 200-701, Korea

³ 강원대학교 농업생명과학대학 College of Agriculture and Life Sciences, Kangwon Natl. Univ., Chuncheon 200-701, Korea

⁴ 임업연구원 화학미생물과 Div. Wood Chemistry and Microbiology, KFRI, Seoul 130-012, Korea

⁵ 국민대학교 산림과학대학 College of Forest Sciences, Kookmin Univ., Seoul 136-702, Korea

* 이 논문은 1997년 한국학술진흥재단의 공모과제 연구비에 의하여 연구되었음.

(7:3, v/v) in glass jar to examine whether its bioactive compounds exist. The concentrated extracts were fractionated with hexane, chloroform, ethylacetate and water, and then freeze-dried for column chromatography and bioactive tests. The isolated compounds were sakuranetin-5-O- β -D-glucopyranoside from *Populus alba* × *P. glandulosa*, 4-ethoxy-(+)-leucorobinetinidin from *R. pseudoacacia* and fraxetin from *F. rhynchophylla* and were characterized by ^1H and ^{13}C NMR and positive FAB-MS. Decay-resistant activity was expressed by weight loss ratio and hyphae growth inhibition in the wood dust agar medium inoculated wood rot fungi. *R. pseudoacacia* showed best anti-decaying property in both test and its methanol untreated samples, indicating higher activity than methanol treated samples in hyphae growth test. In antioxidative test, α -tocopherol, one of natural antioxidants, and BHT, one of synthetic antioxidants, were used as references to compare with the antioxidant activities of the extracted fractions. Ethylacetate fraction of *F. rhynchophylla* bark indicated the highest activity in this test and all fractions of *R. pseudoacacia* extractives also indicated higher activities compared with the other fractions. In the isolated compounds, aesculetin isolated from *F. rhynchophylla* bark showed best activity and followed by robonetinidin from *R. pseudoacacia*.

Key words : *Robinia pseudoacacia*, *Populus alba* × *P. glandulosa*, *Fraxinus rhynchophylla*, *Ulmus davidiana* var. *japonica*, extractives, decay-resistant, antioxidant, anti-decaying

서 론

최근 추출성분을 이용한 기능성 물질, 의약품, 또는 환경농약 등의 개발에 많은 연구와 관심이 증대되고 있으나 수목의 추출성분에 관한 연구는 약용 식물자원을 대상으로 의학 및 약학 분야에서 수행되고 있는 신물질이나 신약 개발 연구에 비해 상대적으로 미흡한 실정이다.

그러나 전통의학 및 한방에서는 예로부터 약용식물과 함께 수목의 수피, 잎, 또는 열매 등을 중요한 약재로 이용하여 왔으며 특히 우리나라에 자생하는 많은 활엽수종들은 특별한 기능성을 지니고 있는 것으로 알려져 있다. 이러한 활엽수 중에서 아까시나무는 내후성이 뛰어나며^{4,6)} 현사시나무 또한 수피에 다량의 살리신 유도체 화합물을 함유하고 있어 항균, 항충성이 우수한 것으로 알려져¹⁴⁾ 있으나 체계적인 연구가 이루어진 것은 없는 실정이다. 물푸레나무와 느릅나무는 우리나라의 산림에서 흔히 볼 수 있는 약용수종으로써 물푸레나무의 수피는 눈병, 이질, 소염, 해열 등의 증상에 효능을 지니며 느릅나무의 수피는 부종, 거담, 위

통 및 종창에 탁월한 효능을 지니는 것으로 알려져 있다.^{9,10)}

본 연구는 내후성이나 항균력이 뛰어난 아까시나무, 현사시나무를 비롯해서 약리효능이 우수한 것으로 알려진 물푸레나무, 느릅나무의 추출성분에 포함된 기능성 물질을 분리하고 그 구조를 규명하며 부후균에 의한 내후성 시험과 각 수종의 추출성분에 대한 항산화 활성 시험을 수행하여 이 수종들에 대한 생리활성 시험의 기초자료를 작성하고 아울러 추출성분의 기능적 이용 가능성을 탐색하고자 실시하였다.

재료 및 방법

2.1 공시재료

2.1.1 공시수종

아까시나무(*Robinia pseudoacacia*), 현사시나무(*Populus alba* × *P. glandulosa*), 물푸레나무(*Fraxinus rhynchophylla*)와 느릅나무(*Ulmus davidiana* var. *japonica*)의 목질부와 수피부를 공시재료로 사용하였다.

아까시나무는 14년생, 현사시나무는 18년생으로 각각 1998년 3월과 10월에 강원대학교 구

내림에서 벌채하였고, 물푸레나무는 30년생, 느릅나무는 27년생으로 각각 1998년 4월과 8월에 강원대학교 연습림에서 벌채하였으며 즉시 파괴하여 실험실에서 약 2주간 건조한 후 추출용 시료 및 내후성 실험에 사용하였다.

2.1.2 내후성 실험용 공시균주

내후성 실험용 공시균주로 리그닌 분해균은 흑잔나비버섯(*Fomitopsis cytisina*)과 흰옴털구름버섯(*Trametes pubescens*)을 사용하였고, 셀룰로오스분해균으로는 잣버섯(*Lentinus lepideus*)과 등갈색송편버섯(*Daedalea dickinsii*)를 사용하였다.

2.2 화합물의 단리 및 구조분석

2.2.1 화합물의 분획 및 단리

기진된 시료 1~2kg을 아세톤-물(7:3, v/v)의 혼합용매로 약 3일간씩 3회 추출한 후 농축하여 분획할때기에서 헥산용성, 클로로포름용성, 에틸아세테이트용성 및 수용성으로 분획한 후 농축하여 동결건조하였다.

각 분획으로부터 단일 화합물을 단리하기 위하여 Sephadex LH-20 칼럼크로마토그래피를 실시하였고 용리용매는 메탄올:물(4:1, 1:1 등, v/v) 혼합액과 에탄올:헥산(4:1, 2:1 등, v/v) 혼합액을 사용하였으며 fraction collector를 이용하여 용리용액을 모았다.

화합물의 단리여부를 확인하기 위하여 박층 크로마토그래피(TLC)를 실시하였으며 박판은 Merck사의 DC-Plastikfolien Cellulose F 였고, 전개용매로는 t-butanol-acetic acid-H₂O(3:1:1, v/v, TBA(solvent A))와 6% acetic acid(solvent B)를 사용하였다.

전개된 화합물의 spot는 UV램프로 관찰하였고, vanillin-HCl-ethanol(60:0.15:6)용액을 분무 후 가열 건조하여 나타나는 색을 관찰하였다.

2.2.2 단리화합물의 구조분석

단리된 화합물의 구조는 핵자기공명분광분석 스펙트럼을 이용하여 분석하였으며 정확한 분자량측정을 위하여 질량분석을 실시하였다. NMR 기기는 강원대학교 공동실험실습관의 Bruker DPX 400MHz NMR기기를 사용하였으며 methanol-d₄ 및 acetone-d₆를 용매로 사용

하였다. 질량분석기기는 강원대학교 공동실험실습관의 Micromass사 Autospec M363을 사용하여 FAB-MS 스펙트럼을 분석하였다.

2.2.3 수종별 단리화합물

2.2.3.1 아까시나무 목질부

에틸아세테이트용성 분획에 대하여 칼럼크로마토그래피를 수행하여 화합물 1(107mg)을 단리하였다.

4-Ethoxy-(+)-leucorobinetinidin(1)

R_f : 0.69(solvent A), 0.74(solvent B), FAB-MS: [M+H]⁺ m/z 334

¹H-NMR(δ , CD₃OD): 1.20(3H, t, J=6.9Hz, ethoxy CH₃), 3.66(2H, dd, J=3.1Hz, 7.0Hz, ethoxy OCH₂), 3.94(1H, dd, J=3.3Hz, 9.1Hz, H-3), 4.27(1H, d, J=3.3Hz, H-4), 4.90(1H, d, J=9.3Hz, H-2), 6.27(1H, d, J=2.3Hz, H-8), 6.36(1H, dd, J=2.4Hz, 8.3Hz, H-6), 6.44(2H, s, H-2',6'), 7.06(1H, d, J=8.3Hz, H-5)

¹³C-NMR(δ , CD₃OD): 16.07(ethoxy CH₃), 66.05(ethoxy OCH₂), 71.45(C-3), 75.84(C-4), 79.20(C-2), 103.92(C-8), 108.13(C-2',6'), 109.35(C-6), 114.22(C-10), 131.74(C-1'), 132.69(C-5), 134.60(C-4'), 147.22(C-3',5'), 156.85(C-9), 160.53(C-7)

2.2.3.2 현사시나무 수피

에틸아세테이트용성 분획에 대하여 칼럼크로마토그래피를 수행하여 노란색의 화합물 2(102mg)를 단리하였다.

Sakuranetin-5-O- β -D-glucopyranoside(2)

R_f : 0.80(solvent A), 0.25 (solvent B), FAB-MS : m/z [M+Na]⁻ 471, [M+H]⁻ 449

¹H-NMR(δ , CD₃OD) : 2.72(1H, dd, J=2.9Hz, 17.3Hz, Heq-3), 3.01(1H, dd, J=13.1Hz, 17.3Hz, Hax-3), 3.36~3.57(4H, br m, H-2'',3'',4'',5''), 3.71(1H, dd, J=5.8과 6.2Hz, 12.1Hz, Ha-6''), 3.82(3H, s, -OCH₃), 3.93(1H, dd, J=1.9Hz, 12.0Hz, Hb-6''), 4.79(1H, d, J=7.5Hz, H-1''), 5.34(1H, dd, J=2.8Hz, 13.1Hz, H-2), 6.29(1H, d, J=2.3Hz, H-6), 6.59(1H, d, J=2.3Hz, H-8), 6.81(2H, d, J=8.6Hz, H-3',5'), 7.30(2H, d, J=8.6Hz, H-2',6')

^{13}C -NMR(δ , CD_3OD) : 46.65(C-3), 56.82(-OCH₃), 63.02 (C-6''), 71.82 (C-4''), 75.11(C-2''), 77.60(C-3''), 79.14(C-5''), 80.79(C-2), 98.17(C-8), 99.93(C-6), 105.40(C-1''), 108.27(C-10), 116.78(C-3',5'), 129.45(C-2',6'), 131.24(C-1'), 159.43 (C-4'), 162.37(C-5), 166.91(C-9), 168.58(C-7), 193.59(C-4)

2.2.3.3 물푸레나무 수피

에틸아세테이트용성 분획에 대하여 칼럼크로마토그래피를 수행하여 흰색 결정성의 화합물 3(385mg)을 단리하였다.

Fraxetin(3)

R_f : 0.64(solvent A), 0.58(solvent B)

^1H -NMR(δ , acetone- d_6): 3.88(3H, s, OCH₃), 6.23(1H, d, J=9.4Hz, H-3), 6.80(1H, s, H-5), 7.90(1H, d, J=9.4Hz, H-4)

NOE spectrum : irradiated peak, 3.88(3H, s, OCH₃) - enhanced peak 6.80(1H, s, H-5), 7.90(1H, d, J=9.4Hz, H-4)

^{13}C -NMR(δ , acetone- d_6): 57.83(OCH₃), 102.15(C-5), 112.80(C-10), 114.09(C-3), 134.75(C-6), 141.09(C-7), 141.27(C-8), 147.10(C-4), 147.55(C-9), 163.15(C-2)

2.2.3.4 느릅나무 수피

에틸아세테이트용성에서 (+)-catechin, procyanidin B-3 및 그 배당체 화합물을 단리하였다¹²⁾.

2.3 목재의 내후성 실험

2.3.1 중량감소율 측정

각 시료의 목질부를 1.5×1.5×1.5(cm)의 정육면체 블록으로 제조하여 각 부후균에 대하여 3반복으로 수행하였다. 각 블록은 60℃에서 3일간 건조한 후 무게를 측정하였고 블록 배양병에 vermiculite와 증류수(3:1)를 혼합하여 적당량 넣은 후 수종별로 3개씩을 넣고 121℃에서 30분 동안 autoclaving 하였다.

PDA 배지에서 성장시킨 접종원의 균사 선단부(직경 6mm)를 떼어낸 후 블록에 9개씩 접종하였다. 저온배양기(25℃, RH 80~90%)에서 13주 동안 배양한 후 증류수로 균사를 깨끗이

씻어내고 60℃에서 3일간 건조시킨 후 블록의 무게를 측정하여 중량감소율을 측정하고 평균값을 구하였다.

2.3.2 균사생장 억제시험

추출성분에 의한 부후균의 생장 저해 효과를 비교하기 위하여 목질부 시료를 목분으로 조제하고 메탄올로 실온에서 3일간 추출한 후 실험에 적용하였다. 메탄올 처리 및 무처리 목분을 각각 50g, agar 15g 그리고 증류수 500ml의 비율로 섞은 후 autoclaving을 하고 55~60℃ 정도로 식힌 후 petri dish(9cm)에 적당량 분주하여 평판고화시켰다. 준비한 4종의 접종원의 균사선단부(직경 6mm)를 떼어내어 접종하고 25℃의 배양기에서 배양하면서 매 2일마다 균사직경을 측정하였다.

2.4 추출물의 항산화활성 검증

2.4.1 Free radical 소거능

시험관에 소정 농도의 시료를 포함한 메탄올 용액 4ml 및 0.5mM의 DPPH·메탄올용액 1ml를 가하여 총 5ml가 되도록 하고, vortexing하여 30분간 상온에서 반응시킨 후 UV/vis 분광광도계로 520nm에서 흡광도를 측정하였다. Free radical 소거능^{2,8)}은 다음과 같이 백분율로 나타내었다.

Free radical 소거능(%)

$$= \left[\frac{(\text{무첨가구의 흡광도}) - (\text{첨가구의 흡광도})}{(\text{무첨가구의 흡광도})} \right] \times 100$$

2.4.2 Ferric thiocyanate법

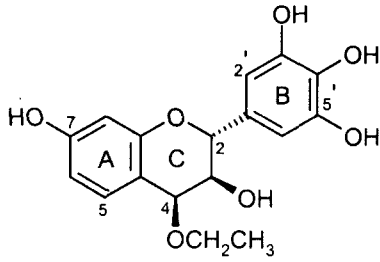
80% 에탄올에 녹인 단리화합물 일정량을 2.51% linoleic acid 2.88ml, 40ml phosphate buffer(pH 7.0) 9ml와 혼합 후 40℃에서 incubation 하면서 경시적으로 시료액 100 μl 를 가하고 3분 후 20ml FeCl₂/3.5% HCl 100 μl 를 가하여 강하게 진탕한 다음 500nm에서 흡광도를 측정하여 대조구와 비교하였다. 항산화력은 다음과 같이 백분율로 나타냈다.

항산화력(%)

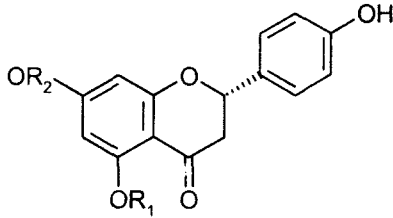
$$= \left[1 - \frac{(\text{대조구 흡광도}) - (\text{시료구 흡광도})}{(\text{시료구 흡광도})} \right] \times 100$$

결과 및 고찰

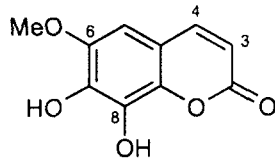
3.1 단리화합물



1 : 4-Ethoxy-(+)-leucorobinetinidin



2 : R₁= β -D-Glucopyranose, R₂=Me
Sakuranetin-5-O- β -D-glucopyranoside



3 : Fraxetin

아까시나무 목질부로부터 (+)-leucorobinetinidin, robinetin, robtin, dihydrorobinetin 및 4'-methoxy-(+)-leucorobinetinidin 화합물을, 현사시나무 수피에서는 (+)-catechin, naringenin, eriodictyol, sakuranetin, aromadendrin, taxifolin, coumric acid 및 salireposide, aesculin을, 물푸레나무 수피에서는 aesculetin, aesculin, ligstroside, oleuropein 화합물을 그리고 느릅나무 수피로부터 (+)-catechin, (+)-catechin-7-O- β -D-xyropyranoside, (+)-catechin-7-O- β -D-apiofuranoside 및 (+)-catechin 이량체 화합물인 (+)-catechin(4 α - \rightarrow 8)-(+)-catechin(procyanidin B3)을 이미 단리하여 보고하였으며^{11,12,13)} 본 실험에서는 이외에 새로이 단리된 화합물을 중심으로

로 고찰하였다.

3.1.1 4-Ethoxy-(+)-leucorobinetinidin(1)

아까시나무 심재의 에틸아세테이트용성 분획에서 붉은색의 화합물로 단리되었으며 2D-TLC에서의 R_f 값은 0.69(solvent A)와 0.74(solvent B)로 나타났다.

Foo와 Porter(1985)³⁾는 flavan-3,4-diol 화합물의 C-4에 수산기 대신 ethoxyl기가 치환되었을 경우 C-4는 약 5-6ppm정도 downfield되며 ethoxyl기의 CH₂는 65.0ppm, CH₃는 15ppm 부근에서 나타난다고 보고 하였다. 화합물 1의 ethoxyl기의 data 역시 이와 유사한 값을 나타냈다.

¹H-NMR과 ¹³C-NMR의 A환과 B환의 data는 (+)-leucorobinetinidin과 유사한 값을 나타내고 있으며¹³⁾ 단지 C환의 4번 위치가 ethoxyl기의 영향으로 7ppm downfield되어 나타났다. 이상의 결과로 화합물 1은 (+)-leucorobinetinidin의 C-4의 위치에 ethoxy가 결합한 구조로 규명되었으며 FAB-MS 분석 결과 [M+H]⁺의 m/z가 334로써 이 화합물의 분자량인 333과 정확히 일치하였다.

3.1.2 Sakuranetin-5-O- β -D-glucopyranoside(2)

화합물 2는 현사시나무 수피의 에틸아세테이트용성 분획에서 노란색의 화합물로 단리되었으며 2D-TLC에서 용매 전개 후 UV 램프 하에서는 갈색으로 관찰되었고 R_f 값은 0.80(solvent A)와 0.25(solvent B)로 나타났다.

구조는 이미 보고했던 sakuranetin과 salipurposide의 data를 비교 분석하였다¹⁾. ¹H-NMR 스펙트럼에서 δ 3.36~3.57의 여러 피크들은 β -D-glucopyranose의 H-2'',3'',4''과 5''를, δ 3.71과 3.93의 double doublet의 피크들은 H-6''의 두 수소를 나타내며 C-2'', C-3'', C-4'', C-5''과 C-6''은 각각 δ 75.11, 77.60, 71.82, 79.14와 63.02에서 전형적인 β -D-glucopyranose의 피크형태를 나타냈다.

A환에서 H-8과 H-6은 δ 6.59와 6.29에서 서로 meta coupling된 doublet으로 나타나고 있으며 salipurposide의 H-8과 H-6 보다는 각각 0.12와 0.17ppm이 down 되었다. C-6과 C-8은 δ 99.93과 98.17로서 salipurposide 보다는 각각

1.3과 0.48ppm 정도 upfield로 이동되었다. 또한 salipurposide와 비교해보면 C-5와 C-9는 차이가 없으며 C-7은 1.5ppm 정도, C-10은 1.2ppm 정도 down 되었으며 C-7에 methoxyl기가 결합됨으로써 para 위치에 영향을 주고있음을 알 수 있으며 보고된 data와 일치하였다¹³⁾.

FAB-MS 분석에서는 $[M+Na]^+$ 의 m/z 는 471이고 $[M+H]^+$ 의 m/z 가 449로써 이 화합물의 분자량인 448과 정확히 일치하였다.

3.1.3 Fraxetin

물푸레 나무 수피의 에틸아세테이트 분획에서 결정으로 단리하였으며 2D-TLC에서 Rf 값은 0.64(solvent A), 0.58(solvent B)이었다.

¹H NMR 스펙트럼에서 δ 6.23과 7.90의 doublet($J=9.4\text{Hz}$)은 coumarin의 전형적인 H-3과 H-4의 형태를 나타냈고 C-3과 C-4는 각각 δ 114.09와 147.10에서 나타났으며 δ 163.15의 피크는 ester의 특징적인 피크임을 알 수 있다⁶⁾.

H-5는 δ 6.80에서 주위의 수소와 coupling이 없는 singlet으로 나타났으며 δ 102.15에서 C-5가 나타났으며, C-6,7,8의 피크는 각각 δ 134.75, 141.09와 141.28에서 나타남으로써 수산기와 methoxyl기가 치환되어 있음을 알 수 있다.

또한 methoxyl기의 정확한 치환위치를 알기 위하여 NOE 스펙트럼을 분석한 결과 ¹H NMR 스펙트럼의 δ 3.88(OCH₃) 피크를 조사(irradiation)할 경우 δ 6.80과 7.90의 피크들의 강도가 증가함을 알 수 있었다. 이것은 methoxyl의 수소들과 H-5 및 H-4가 같은 입체공간 내에서 관계하고 있음을 의미하므로 C-6에 methoxyl기가 치환되어 있는 fraxetin임을 알 수 있다.

3.2 목재부후균에 의한 내후성 시험

3.2.1 목재 부후균에 의한 중량감소율

목재부후균에 의한 시험편의 중량감소율은 Table 1에서 보는 바와 같이 아까시나무가 백색부후균과 갈색부후균 모두에 대해서 중량감소율이 약 1% 전후로써 매우 우수한 내후성을 나타냈다. 이것은 아까시나무가 우수한 내후성을 지니며 목재 중에 포함되어 있는 여러 가지 페놀성 추출성분들이 목재부후균의 생육저지 효능을 발휘한다는 보고와 일치하는 것이다^{4,6)}.

반면 현사시나무는 잣버섯에 대해서는 23.46%, 흰용털구름버섯에 대해서는 9.1%로 부후가 비교적 많이 진행되어 중량감소율이 가장 높게 나타났다. 느릅나무는 흰용털구름버섯에 대해서는 1.61%, 흑잔나비버섯에 대해서는 2.15%, 등갈색송편버섯에 대해서는 2.47%의 중량감소율을 나타내었다. 물푸레나무도 등갈색송편버섯에 대해서는 1.13%의 낮은 감소율을 나타냈으나 다른 부후균들에 대해서는 3% 이상의 감소율을 나타내어 부후균의 생육저지능력이 낮음을 나타낸다.

3.2.2 균사생장 억제효과

목분배지를 이용한 목재부후균의 균사생장 억제 실험은 아까시나무가 4종의 공시 부후균에 대해 가장 높은 억제효과를 나타냈으며 특히 Fig. 3에서 보는 바와 같이 잣버섯에 대해서는 가장 좋은 효과를 보였다. 아까시나무의 메탄올 추출 목분 배지는 흑잔나비버섯에서는 Fig. 1에서 보는 바와 같이 거의 차이가 없었으나 흰용털구름버섯(Fig. 2), 잣버섯(Fig. 3) 및 등갈색송편버섯(Fig. 4)에 대해서는 균사의 생장이 다른 수종들보다는 늦게 자라지만 무처리 목분보다 빠르게 진행되었음을 알 수 있다.

Table 1. Weight loss rates(%) of wood block specimens by wood decaying fungi

Fungi species	Tree species	<i>Populus alba</i> × <i>P. glandulosa</i>	<i>Ulmus davidiana</i> var. <i>japonica</i>	<i>Robinia</i> <i>pseudoacacia</i>	<i>Fraxinus</i> <i>rhyrachophylla</i>
White rot	<i>Fomitopsis cytisina</i>	3.55	2.15	1.13	3.62
	<i>Trametes pubescens</i>	9.10	1.61	0.04	3.90
Brown rot	<i>Lentinus lepideus</i>	23.46	3.19	0.10	3.24
	<i>Daedalea dickinsii</i>	6.37	2.47	0.49	1.13

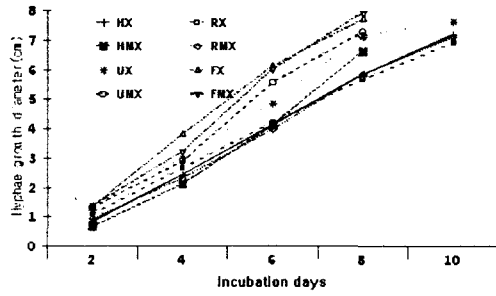


Fig. 1. Hyphae growth diameter of *Fomitopsis cytisina* on culture media using wood meal

R: *Robinia pseudoacacia*
 H: *Populus alba* × *P. glandulosa*
 U: *Ulmus davidiana* var. *japonica*
 F: *Fraxinus rhynchophylla*
 M: methanol extraction
 X: xylem

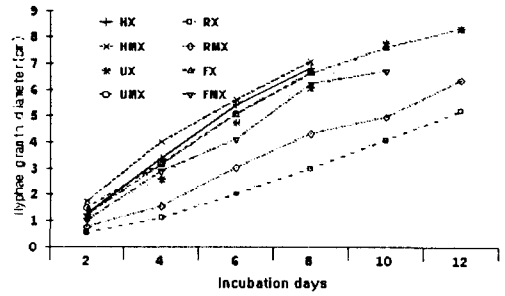


Fig. 2. Hyphae growth diameter of *Trametes pubescens* on culture media using wood meal

R: *Robinia pseudoacacia*
 H: *Populus alba* × *P. glandulosa*
 U: *Ulmus davidiana* var. *japonica*
 F: *Fraxinus rhynchophylla*
 M: methanol extraction
 X: xylem

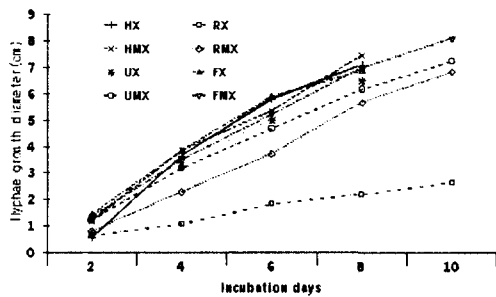


Fig. 3. Hyphae growth diameter of *Lentinus lepideus* on culture media using wood meal

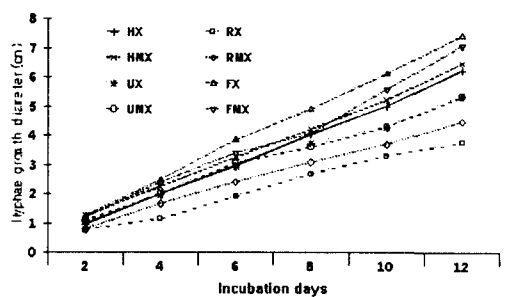


Fig. 4. Hyphae growth diameter of *Daedalea dickinsii* on culture media using wood meal

이것은 아까시나무 목질부의 추출물이 목재부 후균에 대해서 우수한 항균효과를 가지고 있음을 의미한다.

군중에 따라 그리고 수종별로 다소의 차이를 나타냈으나 대체적으로 아까시나무를 제외한 현사시나무, 느릅나무, 물푸레나무에 대해서는 뚜렷한 성장억제효과 차이를 나타내지 않았다.

3.3 추출물의 항산화 활성 검증

3.3.1 각시료의 분획별 항산화활성

각 시료의 free radical 소거능은 유의성이 명확히 나타나는 농도인 10 μ g/ml 농도로 조제하여 검증하였을 때 Table 2에서 보는 바와 같이 아까시나무 목질부의 에틸아세테이트용성 분획이 90.7%, 물푸레나무 수피의 에틸아세테이트용성 분획이 91.5%, 느릅나무 수피의 수용성 분획이 91.6%로 매우 우수한 것으로 나타

났으며 합성 항산화제인 BHT가 57.6%, 천연 항산화제인 α -tocopherol이 37.3%로 나타났다. 이상의 결과는 물푸레나무와 아까시나무의 항산화 활성이 높다는 보고와도 일치하였다.

3.3.2 주요 단리화합물의 항산화 활성

항산화 효과를 높게 나타내는 아까시나무와 물푸레나무의 에틸아세테이트용성 분획으로부터 단리된 주요화합물을 대상으로 항산화 효과를 측정된 결과 Table 3에서 보는 바와 같이 aesculetin은 50ppm의 농도에서 96.80%, 10ppm에서는 94.47%로써 대조구인 α -tocopherol 보다 우수한 효과를 나타냈으며 아까시나무로부터 단리된 robinetin은 85.75(50ppm)% 및 67.74(10ppm)%로써 비교적 높게 나타났다.

Table 2. Free radical scavenging effects of extractive fractions

Sample fraction	Free radical scavenging effect(%)		
	100 μ g/ml	10 μ g/ml	1 μ g/ml
R-C	92.4	21.2	2.5
R-E	93.8	90.7	10.5
R-W	95.1	14.2	1.2
H-C	11.8	1.5	0.2
H-E	87.8	16.5	1.8
H-W	28.4	11.6	12.3
U-C	81.6	20.6	11.9
U-W	90.0	91.6	24.4
F-H	95.6	25.3	3.4
F-C	93.0	17.5	3.7
F-E	95.5	91.5	11.6
F-W	94.8	24.3	3.6
α -Tocopherol	92.9	37.3	10.5
BHT	92.6	57.6	15.8

R: *Robinia pseudoacacia*, H: *Populus alba* \times *P. glandulosa*, U: *Ulmus davidiana* var. *japonica*, F: *Fraxinus rhynchophylla*, C: chloroform soluble fraction, E: ethylacetate soluble fraction, W: water soluble fraction, HX: hexane soluble fraction

Table 3. Antioxidative activity of the isolated compounds(%)

Materials	Concentration	
	50ppm	10ppm
Robtin	43.64	49.08
Robinetin	85.75	67.74
Dihydrorobinetin	50.64	50.44
(+)-Leucorobinetinidin	60.94	54.33
Aesculetin	96.80	94.47
α -Tocopherol	93.49	81.27

결론

국내에서 자생하며 내후성 및 약용수목으로 알려진 아까시나무, 현사시나무, 물푸레나무 및 느릅나무를 대상으로 추출물을 분리하여 단리 화합물의 구조를 분석하고, 내후성 및 항산화 활성을 시험을 통하여 얻어진 결과는 다음과 같다.

1. 아까시나무의 목질부 추출물로부터 (+)-leucorobinetinidin, robinetin, robtin, dihydrorobinetin 및 4'-methoxy-(+)-leucorobinetinidin과 함께 4-ethoxy-(+)-leucorobinetinidin을 단리하였으며 아직 보고된 바 없는 새로운 화합물로 사료된다.

2. 현사시나무 수피에서 (+)-catechin, narin-genin, eriodictyol, sakuranetin, aromadendrin, taxifolin, coumaric acid, salireposide 및 aesculin과 함께 후라보노이드 배당체인 sakuranetin-5-O- β -D-glucopyranoside를 단리하였다.

3. 물푸레나무 수피에서는 aesculetin, aesculin, ligstroside, oleuropein외에 fraxetin을 단리하였고 느릅나무에서는 (+)-catechin, (+)-catechin-7-O- β -D-xyropyranoside, (+)-catechin-7-O- β -D-apiofuranoside 및 procyanidin B3를 단리하여 이미 보고한 바 있다.

4. 내후성 시험에서는 아까시나무의 중량감 소율이 1% 내외로 가장 적었으며, 부후균의 균사생장 억제도 가장 큰 효과를 나타내었으며, 메탄올 처리시료보다는 무처리시료가 더 좋은 억제효과를 나타냄으로써 아까시나무의 추출물이 항균작용을 하는 것으로 판단된다.

5. 항산화 시험에서는 아까시나무 목질부의 클로로포름 및 에틸아세테이트용성 분획과 물푸레나무 수피의 에틸아세테이트용성 분획이 α -tocopherol 보다도 좋은 활성을 보였으며, 이들 추출물로부터 단리된 주요화합물을 대상으로 시험한 결과 aesculetin이 10ppm의 농도에서 94.47%로 가장 높은 효과를 나타내었고 robinetinidin은 67.74%로써 비교적 좋은 효과를 나타내었다. 그러므로 aesculetin과 robinetinidin이 물푸레 및 아까시나무의 항산화능에 많은 영향을 미치는 것으로 생각된다.

인용문헌

- Bilia, A.R., S. Catalano, L. Pistelli, and I. Morelli. 1993. Flavonoids from *Pyracantha coccinea* roots, Phytochemistry. 33(6):1449-1452.
- Blois, M.S. 1958. Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. Nature. 181:1199-1200.
- Foo, L.Y., and L.J. Porter. 1982. Leucocyanidin : Synthesis and properties of (2R, 3S, 4R)-(+)-3,4,5,7,3',4'-hexahydroxyflavan. Phytochemistry. 21(12): 2947-2952.

4. Roux, D.G., and E. Paulus. 1962. Condensed tannins : Interrelationships of flavonoid components from the heartwood of *Robinia Pseudoacacia*. *Biochem. J.* 82:324-330.
5. Rowe, J.W. 1989. Natural Products of Woody Plants II: Chemicals extraneous to the lignocellulosic cell wall. Springer-Verlag, 869pp.
6. Schultz, T.P., W.B. Harms., T.H. Fisher., K.D. McMurtrey., J. Minn and D.D. Nicholas. 1995. Durability of Angiosperm Heartwood: The Importance of Extractives. *Holzforschung.* 49(1):20-34.
7. Silverstein, R.M., G.C. Bassler, and T.C. Morrill. 1991. Spectrometric Identification of Organic Compounds. Jhon Wiley & Sons, Inc. 210-265pp.
8. Yoshida, T., K. Mori, T. Hatano, T. Okumura, I. Uehara, K. Komagoe, Y. Fujita, and T. Okuda. 1989. Studies on inhibition mechanism of autoxidation by tannins and flavonoids. V. Radical-scavenging effects of tannins and related polyphenols on 1,1-diphenyl-2-picryl-hydrazyl radical. *Chem. Pharm. Bull.* 37(7):1919-1921.
9. 김창민, 신민교, 안덕균, 이경순. 1998. 중약 대사전. 도서출판 정담. 7, 8:4319-4321, 5194-5199.
10. 동의학연구소. 1994. 동의보감. 여강출판사. pp. 2798-2815.
11. 배영수, 함연호. 2000. 기능성 활엽수종의 생리활성. *한국목재공학회지* 28(2): 66-74.
12. 배영수, 김진규. 2000. 약용활엽수종인 물푸레나무와 느릅나무 수피의 추출성분. *한국목재공학회지* 28(3):62-69.
13. 배영수, 함연호. 2000. 내후성 활엽수종인 아까시나무 목질부와 현사시나무 수피의 추출성분. *한국목재공학회지* 28(3): 52-61.
14. 이상용, 김완규. 1990. 소나무 리지나뿌리썩음병에 관한 연구. *한국임학회지* 79(3):322-329.
15. 최돈하, 이학주, 이성숙, 강하영, 김윤근. 1999. 아까시 심재의 항산화 물질 분리. *한국목재공학회. '99 학술발표논문집.* 253-257pp.