

헛개나무(*Hovenia dulcis* THUNBER var. *koreana* Nakai)

추출물의 항산화효과

이윤아 문혜연

대구대학교 생물공학과

TEL; 053)850-6552, FAX; 053)850-6559

Abstract

Antioxidative activities of Methanol and Ethanol extract of branch, bark, leaves, fruits, wood of *Hovenia dulcis* THUNBER var. *koreana* Nakai were analyzed for total poly phenol, flavonoid, antioxidant capacity and DPPH free radical scavenging activity. The most total polyphenol and flavonoid contents measured extract from bark and fruits. Extract from fruits and bark show high on antioxidant capacity and DPPH free radical scavenging activity. There was a good correlation between total polyphenol or flavonoid contents and antioxidant activity.

서론

최근 각종 성인병과 노화 및 암 발병의 주된 원인으로 부각되는 활성 산소종이란 홀수전자를 갖는 원자단을 말하며 이들은 모두 반응성이 높아 생체내에서 강력한 산화제로 작용하여 노화와 질병을 진행시킨다. 생체 내에서 산소는 그 화학적 성질로 인하여 슈퍼옥사이드(O_2), 과산화수소(H_2O_2), 수산화기(OH), 및 단일항 산소 (1O_2)같은 활성 산소종의 산화적 대사산물로 생성되고있는데 이들은 생체내 DNA와 단백질 및 세포막 등을 자극하여 이들을 산화시켜 질병을 유도하므로 암과 성인병 발병을 증가시킨다.

현재 전 세계적으로 합성 항산화제인 BHA(butylated hydroxyanisol)와 BHT(butylated hydroxytoluene) 및 Trolox, PG(propyl gallate), TBHQ(tertiary butylhydroquinone)등이 개발되어 이용되고 있지만 장기 복용 시 부작용이 우려되므로 규제가 강화되고 있다 그러므로 천연물을 이용한 보다 안전한 항산화제 연구가 활발하게 이루어지고 있다. 특히 식물의 추출물 중 polyphenol류 물질이 강력한 항산화력을 나타내는 것으로 알려져 있다.

헛개나무 (*Hovenia dulcis* THUNBER var. *koreana* Nakai)는 중국과 일본 및 우리

나라에 주로 분포하고 있는 갈매나무과의 낙엽교목으로서 우리나라에서는 주로 강원도 및 황해도 이남, 중부지방에 분포하고 있는 수종으로 매우 드물게 군락을 형성하고 있다. 헛개나무의 약리적인 기능에 대한 기록들을 살펴보면 간장의 기능을 좋게 하고 간에 쌓인 독을 풀어 주는 효과가 있어 음주 후에 나타나는 두통, 어지러움, 속 불편함, 구취, 소갈 등의 다양한 숙취증상을 해소하는 기능과 위장병, 대장염 등 음주로 인하여 생긴 병을 고치는 효능이 있는 것으로 알려지고 있다. 최근 헛개나무가 간의 항암작용에도 뛰어난 효과가 있는 것으로 알려지면서 많은 연구가 이루어지고 있다.

본 연구에서는 헛개나무 추출물에 대한 간의 항암 효과를 알아보기 위하여 항산화 물질로 유력한 polyphenol 함량과 항산화 활성을 검정하기 위해 각 부위별 추출물을 실험하였다.

재료 및 방법

Extract - 헛개나무(*Hovenia dulcis* THUNBER var. *koreana* Nakai)를 가지 및 수피, 열매, 잎, 목부는 심재와 변재 부분으로 나눈 다음 건조 후 분쇄하여 사용하였다. 각 부위 별 1 : 10 (w;v) 비율로 에탄올, 메탄올 100%, 80% 50%에 1, 2, 3일간 추출하였다.

Total Polyphenol content - 부위별 헛개나무 추출물 1 ml을 ddH₂O 9 ml로 희석하여 Folin & Ciocalteu's phenol 시약을 1 ml가한 후 잘 흔들어 5분간 방치 후 7% Na₂CO₃ 10 ml과 총 반응물이 25 ml이 되도록 ddH₂O를 가하였다. 90분 후 750 nm에서 흡수치를 측정하였다. Gallic Acid를 농도를 달리하여 표준곡선을 작성하였다.

Total flavonoid content - 부위별 헛개나무 추출물 1 ml을 ddH₂O 4 ml로 희석시킨 후 5% NaNO₂ 0.3 ml가해 5분 동안 반응시키고 10% AlCl₃ 0.3 ml첨가하여 6분 뒤 1 M NaOH를 가한다. 총 반응물이 10 ml되도록 ddH₂O를 가한다. 510 nm에서 흡수치를 측정하였다. Catechin으로 표준곡선을 작성하였다.

Vitamin C equivalent antioxidant capacity(VCEAC) assay using ABTS radical -

AAPH와 ABTS를 PBS에 녹여 70℃에 30분간 반응시켜 hot radical solution을 제조하여 각 추출물 20 μ l에 radical solution을 980 μ l을 가한 후 10분 동안 38℃에서 반응시키고 734 nm에서 흡수치를 측정하였다. Ascorbic Acid를 농도별로 반응시켜 표준곡선을 작성하였다.

DPPH free radical scavenging activity - 추출물 100 μ l에 0.1 mM DPPH solution 290 μ l 가하여 23℃에서 30분간 반응시킨 후 517 nm에서 흡수치를 측정하였다.

결과 및 고찰

Total Polyphenol content - 모든 추출물의 total polyphenol 함량을 측정한 결과 에탄올 메탄올 모두 80% 가 가장 많이 측정되었다. 부위별 함량은 80% 에탄올 추출물 중 수피가 가장 많았으며 열매, 심재, 잎, 변재, 가지 순이었다. 80% 메탄올 추출물 역시 수피가 많았으며 열매, 잎, 심재, 변재, 가지 순으로 나타났다 (Fig. 1.) 부위별로 total polyphenol 함량이 가장 많이 측정된 추출물을 선별하였다.

Total flavonoid content - flavonoid 함량은 80%에탄올 수피추출물에서 73.5 mg/10 g Dry Weigh 가장 많았고 열매 잎 변재 심재 가지 순이었다. 80% 메탄올 추출물에서도 수피가 81 mg/10 g Dry Weigh로 가장 많았고 열매 잎 심재 가지 잎 순으로 나타났다.(Fig. 1.)

Vitamin C equivalent antioxidant capacity(VCEAC) assay using ABTS radical

각 추출물에서 VCEAC는 에탄올 추출물에서 열매, 수피, 심재, 잎, 변재, 가지, 메탄올 추출물에서는 수피, 열매, 심재, 잎, 변재, 가지, 순으로 나타났다.(Fig. 2.) 각 추출물의 poly phenol또는 flavonoid 함량은 항산화 활성과 연관성이 비교적 높게 나타났다. 식물 추출물인 Polyphenol류가 다량 존재할수록 높은 항산화 활성을 나타나는 것으로 사료된다.(Fig. 3.)

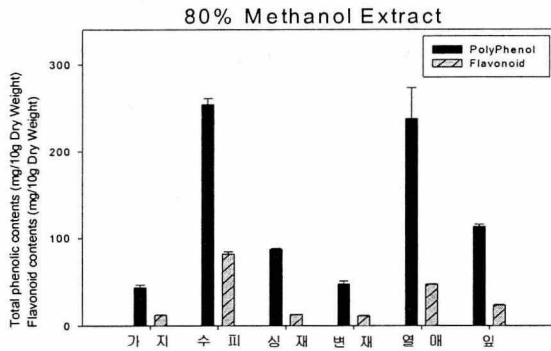


Fig. 1. Contents of total phenolics and flavonoids in extract from different section of *Hovenia dulcis* THUNBER var. *koreana* Nakai.

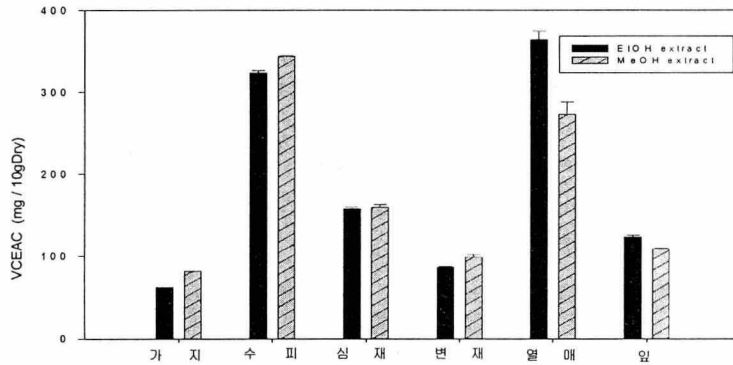


Fig. 2. Vitamin C equivalent antioxidant capacity(VCEAC) of extract from *Hovenia dulcis* THUNBER var. *koreana* Nakai.

DPPH free radical scavenging activity

항산화물질의 가장 특징적인 역할 중 하나인 수소공여능을 분석하기 위해 DPPH free radical 소거 활성을 측정해본 결과 수피와 열매에서는 α -tocopherol의 2 배 BHT의 4배가량의 활성이 있고 다른 부위 모두 BHT보다 높은 소거 활성을 나타내었다 (Fig. 4.)

total polyphenol 함량과 Flavonoid 함량이 높았던 열매와 수피에서 뛰어난 radical 소거활성을 보임에 따라 total polyphenol 성분이 항산화 반응을 촉진 활성화시킬 것으로 사료된다.

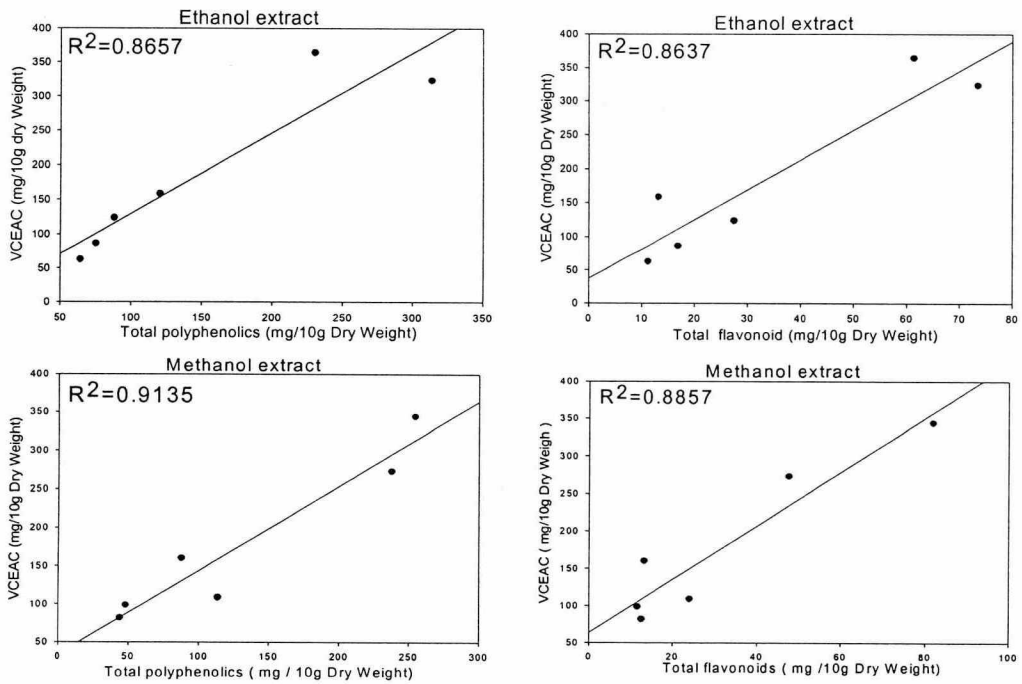


Fig. 3. Relationship between total phenolics or flavonoid and VCEAC.

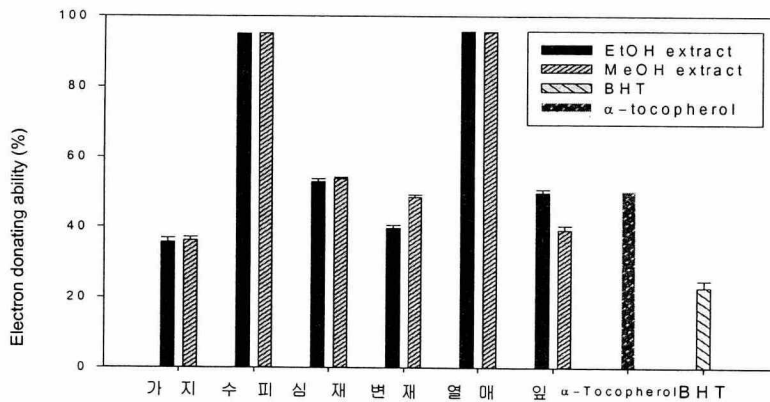


Fig. 4. Antioxidative activities of extract from different section of *Hovenia dulcis* THUNBER var. *koreana* Nakai by DPPH free radical scavenging activity.

요 약

헛개나무를 부위별 추출하여 total polyphenol과 flavonoid, Vitamin C equivalent antioxidant capacity를 연구한 결과 헛개나무의 수피와 열매에서 가장 많이 조사되었고 DPPH free radical scavenging activity에서도 수피와 열매에서 활성이 뛰어났다. 식물 추출물인 Polyphenol성 물질이 많이 존재 할 수록 항산화 활성은 뛰어났다.

References

1. J. Zhishen (1999), The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radical, *Food Chemistry* **64**, 555-559.
2. 강명화, 최장숙 (2002), “각부위별 활나무(*Crotalaria sessiflora* L.) 에탄올 추출물의 항산화 효과, *Kor. J. Food Sci. Technol.* **34**(6), 1098-1102.
3. Young-Joo Kwon, Kong-Hwan Kim (2002), Changes of Total PolyPhenol content and Antioxidant Activity of *Ligularia fischeri* Extract with Different Microwave-Assisted Extraction conditions, *Kor. J. Food Preservation* **9**(3), 332-337.
4. Dae-Ok Kim, Seung Weon Jeong, Chang Y. Lee (2003), Antioxidant capacity of phenolic phytochemicals from various cultivar of plums, *Food Chemistry* **81**, 321-326.
5. Hiroshi Kitagaki, Mitsuaki Tsugawa (1999), 1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl Radical(DPPH) Scavenging Ability of Sake during storage, *J. Biosci. Bioeng.* **87** (3) 328-332.