

한국산 감잎로부터 Polyphenol계 생리활성물질 분리

안봉진¹ · 배만종¹ · 최희진 · 張云彬 · 심태수² · 최 청*

영남대학교 생물산업공학과, ¹경산대학교 생명자원공학과, ²창원전문대학 식품영양과

(2002년 7월 23일 접수, 2002년 10월 9일 수리)

옛부터 민간 약제로 사용했던 감나무 잎을 식품, 화장품 기능 생물 신소재로 활용하기 위해 감나무잎의 주성분으로 알려진 폴리페놀 화합물을 분리하고 생리활성 기능을 조사하였다. 감나무 잎을 60%의 아세톤으로 추출한 용액을 동결 건조시켜 농도별로 조제하고 glucosyltransferase, tyrosinase 효소저해를 관찰한 결과 glucosyltransferase는 1.8×10^{-1} mg/ml에서 82.84% 저해를, tyrosinase는 0.80 mg/ml에서 21.65% 저해 활성이 확인되었다. Sephadex G-50으로 gel filtration한 결과 fraction 1, 2, 3, 4, 5로 분획되었고 이중 fraction 1, 2에서 효소 저해 활성을 나타내었다. 활성 분획물의 물질군을 확인하기 위해 proteinase K 처리와 멸균처리한 결과 효소저해에 영향은 없어 활성물질군은 단백질군이 아니며, UV spectrum에서 자외선 영역에 최대 흡광치를 보여줌으로 페놀링을 갖는 화합물로 추정하게 되었다. 추정화합물을 Sephadex LH-20, MCI-gel 및 Bondapak C₁₈ column에서 분리한 결과 F1 fraction에서 compound 1~4까지 4종류의 화합물, F2 fraction에서는 compounds 5, 6, F3 fraction에서 compound 7, 8, 9를 순수 정제하여 재결정하였다. 분리된 화합물은 TLC 발색반응에서 flavan-3-ol 골격을 기본으로 하는 축합탄닌 반응을 보였고 전개정도에서 monomer가 2종류, dimer가 3종류, trimer가 1종류로 확인되었다.

Key words: 감잎차, polyphenol 화합물, glucosyltransferase, tyrosinase, 저해제

서 론

감나무는 우리 나라 중부 이남에서 잘 자라는 과실수종의 하나로 열매인 감은 독특한 맛을 가진 과실로서 이용되고 감나무 잎은 감잎차의 원료로서 오래전부터 민간에서 이용되고 있다.

감잎에 대한 임상학적 약리작용과 효능은 동의보감과 본초강목 등의 여러 고문헌에 잘 나타나 있지만 감잎의 성분과 그 효과에 관한 연구는 최근에 이루어지고 있다. 감잎에 대한 국내 외의 연구동향은 감잎의 성분,^{1,2)} 감잎차의 제조방법 및 향기성분,³⁾ 감잎차의 품질향상의 연구⁴⁾ 등이 있다. 감잎은 고혈압,⁵⁾ 동맥경화⁶⁾ 등의 성인병과 돌연변이 억제효과,⁷⁾ 암예방 효과⁸⁾가 있다고 연구된 바 있다. 그 외 비타민 B₁, 판토텐산, 엽산의 함유량도 많아 감잎차의 경우 성인병 예방을 위한 좋은 식품으로 권장되고 있다.⁹⁾ 감 및 감잎의 짧은 맛 성분인 탄닌은 여러 가지 생물학적 활성과 함께 뱀독소 및 박테리아 독소를 해독하는 작용,¹⁰⁾ 면역기능 부활작용과 활성산소 유리기 소거작용¹¹⁾ 등이 알려져 항암성이 기대되며, 감잎으로부터 분리한 플라보노이드가 중앙세포의 증식을 억제한다고 알려져 있다.¹²⁾

최근 들어 감잎으로부터 분리한 여러 flavonoid들이 체내에서 angiotensin converting enzymes의 활성을 억제시키는 효과가 있음을 보고하였다.¹³⁾ 우리 나라에서의 연구로서는 감잎의 hexane 분획^{14,15)} 및 탄닌성분이 *Salmonella typhimurium* TA 100에서 항돌연변이 효과와 탄닌 악성종양에 대한 억제 효과가 있음이 보고되고 있다.¹⁶⁾ Funayama와 Hikino 등¹⁷⁾은 감잎 탄닌 화합

물의 고혈압에 대한 영향을 살펴 본 결과 gallate를 함유한 탄닌 화합물들이 혈압 상승 억제 효과가 있음을 입증하였고 Uchida 등⁹⁾은 감잎 탄닌을 고혈압을 유발시킨 rat에 주입시켜 생명의 연장을 검토하였다.

Osawa와 Namiki 등¹⁸⁾은 천연 항산화제의 구조적 설명과 분석에서 flavan-3-ol 화합물의 hydroxyl기가 지방산화과정중 free radical의 증가를 억제하여 우수한 항산화제라고 증명하였고 Uchida 등¹⁹⁾도 축합형 탄닌이 활성 탄소의 free radical억제 효과가 있다고 보고하였다. Hashimoto 등²⁰⁾은 축합형 탄닌 분리 기술을 설명하고 순수 분리된 화합물이 스트레스로 유발된 위산과 peptide 활성기능에 영향을 끼침을 보고한 바 있다.

우리는 감잎의 주성분으로 존재하는 축합형 탄닌들은 다수가 존재하며 생리 활성도 매우 다양하리라 생각되어진다. 그러므로 본 연구는 한국산 감잎 속의 생리활성물질로 알려진 polyphenol 화합물군을 분리하고 예로부터 민간에서 이용되어 왔던 감잎의 체계적인 성분 분석과 식품, 화장품의 기능 소재로서 활용 가치를 탐색하여 산업적 활용 가능성을 제시하고자 이 실험을 행하였다.

실험재료 및 방법

공시재료. 본 실험에 사용된 감잎(*Diospyros kaki* L. Folium)은 청도, 창령 및 상주에서 재배하는 감나무인 청도반시, 창녕부유, 상주동시의 3품종에서 1996년 5월부터 9월까지 새순에서 돌아나는 두번째 내지 세번째 잎을 채취하였다. 채취한 감잎은 표면의 이물질 제거 후 polyethylene film에 넣어 -20°C 냉동고에 보관하면서 사용하였다.

감잎 아세톤 추출물의 분리. 건조된 감잎 10 kg을 60%

*연락처

Phone: 82-53-810-2952; Fax: 82-53-815-1891

E-mail: cchoi@yumail.ac.kr

acetone을 가하여 실온에서 24시간 추출한 후 1,690×g에서 30분 원심분리하여 상정액과 침전물을 얻었고 이 침전물은 다시 60% acetone을 가하고 위와 같은 추출 과정을 4회 반복하였다. 각각의 상정액을 모아 농축 여과하여 chlorophyll을 제거하고 2L의 농축물로 만든 후 acetone 추출물로서 분획을 위한 시료로 하였다.

Glucosyltransferase(GTase) 효소저해 활성측정. Glucosyltransferase 저해 활성 측정은 일본 동경대학 Endo 등²¹⁾의 방법에 따라 행하였다. 즉 시료용액 0.18 ml, sucrose-NaN₃의 기질 0.8 ml와 GTase 0.02 ml를 혼합하여 1 ml로 한 후 37°C에서 16시간 반응시켜 그 상정액을 버리고 증류수 3 ml를 가해 ultrasonicator로 균질화 한 다음 550 nm에서 흡광도를 측정 한 후 다음 식에 따라 % 저해율로서 구하였다.

$$\text{저해율}(\%) = \frac{A-B}{A} \times 100$$

여기서 A는 대조구에서 형성된 부착성의 불용성 glucan의 흡광도 550 값이며 B는 감잎 동결 건조된 acetone추출물을 첨가함으로써 저해된 부착성의 불용성 glucan 흡광도 550 값이다. Sucrose 12.5 g, sodium azide 0.25 g을 0.062 M potassium phosphate buffer (pH 6.5) 1 l에 혼합하여 조제하였으며 GTase는 일본 합동 주정에서 구입한 원액의 15배 희석액을 실험에 사용하였다.

Tyrosinase 효소저해 활성측정. Tyrosinase 활성저해 측정 방법은 tyrosinase의 작용과 생성되는 dopachrome을 비색법에 의해 측정하는 Yagi 등²²⁾의 방법에 따라 행하였다. Mushroom tyrosinase를 90 unit/ml로 되게하고 이것을 0.5 ml, 기질로서 DOPA 0.5 ml, buffer 1 ml의 혼합액에 시료용액 1 ml를 첨가 25°C, 2분간 반응시켜 475 nm에서 측정하고 dopachrome의 변화를 저해값으로 환산하였다. 저해활성은 550 nm에서 단위시간 당 변화된 초기 흡광도의 변화값(C-D)에 효소액 대신에 증류수를 첨가한 흡광도값과 시료용액 대신에 증류수를 첨가하여 측정 한 값(A-B)를 가지고 다음식에 의해 계산하였다.

$$\text{저해율}(\%) = \left(1 - \frac{C-D}{A-B}\right) \times 100$$

저해물질의 부분정제. 아세톤 추출물을 동결건조하여 얻은 350 mg을 Sephadex G-50 column(2.5×20.0 cm)에 의해 분획하였다. 용출액은 증류수를 사용하고 용출 속도는 1 ml/min로 튜브당 3 ml를 취하여 glucosyltransferase, xanthine oxidase, ACE 및 tyrosinase 저해활성 실험을 한 후 동결건조시켰다. 이와 동시에 Sephadex LH-20 column(2.5×500 cm)에도 아세톤 추출물에서 동결건조된 350 mg을 loading하여 분획하고 용출용매는 물과 methanol을 사용하며 유출 속도는 0.8 ml/min로 3 ml씩 취하여 저해실험을 한 후 분획별로 동결건조하였다.

흡광 분포도 측정. 감잎 분획물 50 mg에 부탄올 5 ml를 첨가하고 2시간 동안 교반하고 추출한 후 1,690×g에서 30분간 원심분리하였다. 이 과정을 3회 반복하여 얻은 상정액을 UV/Vis Spectrophotometer(UV 2401PC, Shimadzu Ltd., Japan)로 200~400 nm파장에서 최대 흡광도 분포를 조사하였다.

TLC에 의한 polyphenol류의 동정. Column에 의해 분리된 용출액을 cellulose 및 silica gel thin layer chromatography (TLC; 5.0×5.0 cm)에 10 μl씩 spotting하고 cellulose TLC는 2% acetic acid, silica gel TLC는 benzene; ethylformic acid; formic acid(1:7:1, 1:7:2 또는 2:5:1, v/v/v)의 용매로 전개한 다음 전개 정도를 자외선에서 확인하였다. Cellulose와 silica TLC상에서 FeCl₃에 의해 청색으로 발색되는 물질은 가수분해형 polyphenol로 동정하였으며 silica TLC에서 FeCl₃에 비하여 청색으로, anisaldehyde에 의해 갈색으로 발색되는 물질은 축합형 polyphenol로 분류하였다.

Sephadex LH-20에 의한 분리정제. Sephadex LH-20 컬럼을 이용하여 흡착성의 성질에 의해 분리하였다. 용출용매는 normal phase type으로서 ethanol → H₂O 및 60% methanol, 60 → 80% methanol과 reverse phase는 H₂O → methanol의 순으로 용출시켜 TLC상에서 polyphenol 유무 및 종류를 확인한 후 감압 농축하였다.

MCI-gel CHP 20P에 의한 정제. MCI-gel은 다공성 polystyren gel로서 흡착성을 이용하며 용출용매는 일반적인 reverse phase type인 H₂O → ethanol로 용출하고 polyphenol 유무는 TLC 상에서 확인하였다.

Octadecyl silica gel(ODS)에 의한 분리. 본 실험에서는 Bondapak C₁₈, Prep-PAK 500/C₁₈, Fuji-gel ODS G₃, Cosmosil 75 C₁₈-OPN을 주로 사용하였고 추출 용매로서는 H₂O → methanol type을 사용하였다.

Toyopearl HW 40(TSK gel). 친수성 vinylpolymer로서 본 실험에서는 30~60 μm 입자 크기의 gel을 사용하였고 용출

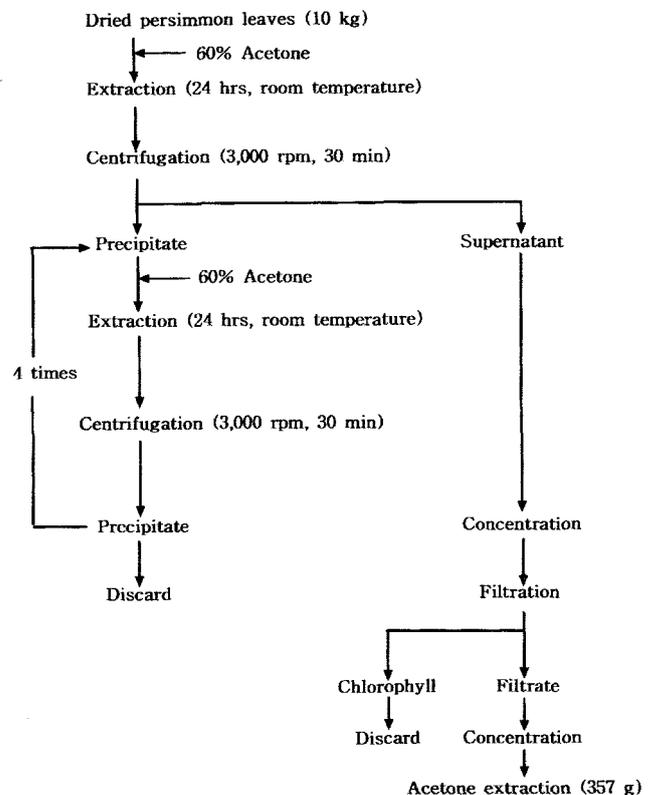


Fig. 1. Procedure for extraction of dried persimmon leaves.

Table 1. Effect of acetone extract of persimmon leaves on the GTase activity

Concentration (mg/ml)	GTase activity	
	Absorbance (550 nm)	Inhibition (%)
Control	1.44	-
1.8	0.01	99.03
0.8	0.012	99.00
1.8×10^{-1}	0.24	82.86
1.8×10^{-2}	1.20	16.72
1.8×10^{-3}	1.45	-

Table 2. The yield of fraction by Sephadex G-50 of acetone extract of persimmon leaves

	Fraction				
	A	B	C	D	E
Weight (mg)	23.5	12.7	2	3.5	1.7
Fraction rate (%)	54.14	29.26	4.6	8.06	3.91

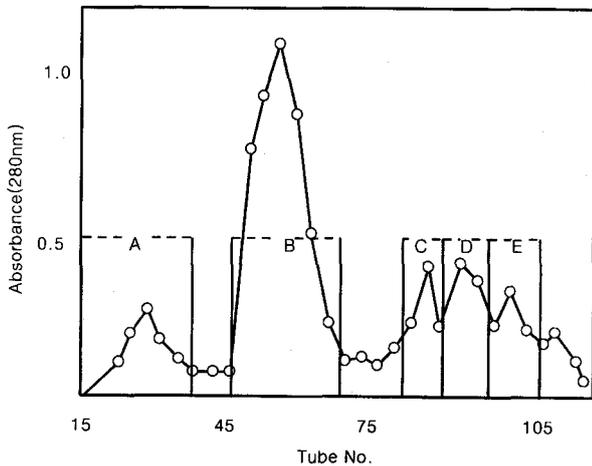


Fig. 2. Elution profile of acetone extract of persimmon leaves by Sephadex G-50. Column: 2.5×20.0 cm, Flow rate: 1.0 mL/min, Elution solvent: H_2O

용매로서는 $H_2O \rightarrow$ methanol, $H_2O \rightarrow$ acetone type을 병용 하였다.

결과 및 고찰

감잎의 아세톤 추출물의 분리. 건조된 감잎 10 kg을 Fig. 1 과 같이 60% acetone을 가하여 실온에서 24 시간 추출한 후 1,690× g에서 30 분간 원심분리하여 상정액과 침전물을 얻었고 이 침전물은 다시 60% acetone을 가하고 위와 같은 추출 과정을 4회 반복하였다. 각각의 상정액을 모아 농축 여과하여 chlorophyll을 제거하고 여액 357 g를 2l의 농축물로 만든 후 acetone 추출물로서 분획하였다.

아세톤 추출물에 의한 효소저해 작용. 감잎 10 kg을 60%의 아세톤으로 가해 추출한 용액 357 g를 동결건조시켜 농도별로 조제하고 glucosyltransferase(Table 1) 및 tyrosinase 저해효과를

Table 3. Effect of Sephadex G-50 fraction of acetone extract from persimmon leaves on the GTase activity

Concentration (mg/ml)	Fraction					
	Control	A	B	C	D	E
Concentration (mg/ml)	-	1	1	1	1	1
Absorbance (550 nm)	1.42	0.08	0.70	1.18	1.23	1.21
Inhibition (%)	-	93.32	50.59	17.06	13.35	13.02

Table 4. Effect of Sephadex G-50 fraction of acetone extract from persimmon leaves on the tyrosinase activity

Concentration (mg/ml)	Fraction					
	Control	A	B	C	D	E
Concentration (mg/ml)	-	1	1	1	1	1
Absorbance (A-B)	0.83	-	-	-	-	-
(C-D)	-	0.51	0.50	0.85	0.89	0.87
Inhibition (%)	-	38.55	39.75	-	-	-

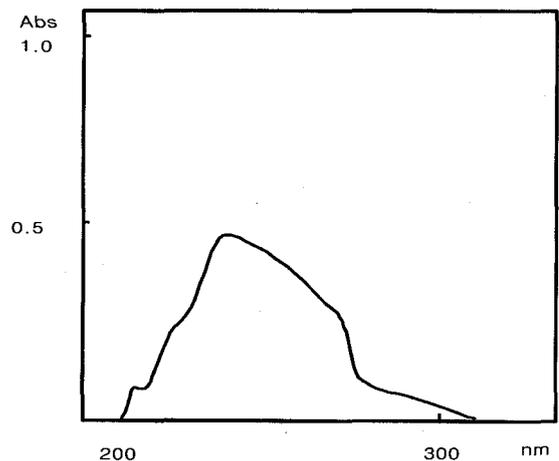


Fig. 3. UV-Spectrum of butanol fraction of acetone extract of persimmon leaves.

관찰한 결과 glucosyltransferase저해는 1.8×10^{-2} mg/ml에서 16.72%의 저해를 시작으로 1.8×10^{-1} mg/ml에서 82.86%, 0.8 mg/ml에서 거의 완벽한 저해가 관찰되었다. Tyrosinase는 0.8 mg/ml에서 21.65%의 저해를 보여주었다. 일반적으로 페놀 유래의 화합물과 단백질과의 결합은 퀴논류와 단백질의 활성부 위와의 공유결합에 의한 비가역적 반응으로 단백질과 침전반응을 일으켜 효소 불활성화를 일으키는 것으로 추측된다.

저해물질의 부분정제에 대한 수율. 감잎의 acetone 농축물 350 mg을 동결건조하여 Sephadex G-50으로 gel filtration한 결과 A, B, C, D, E의 5부분으로 분획되었고(Fig. 2) 각각의 yield(%)는 A: 54.14%, B: 29.26%, C: 4.6%, D: 8.06%, E: 3.91%였다(Table 2). 280 nm에서 흡광도를 갖는 물질 중 80% 이상이 용출되었으나 회수율은 전체 loading양에 비해 12.4%로 매우 낮은 수율을 보여주었다.

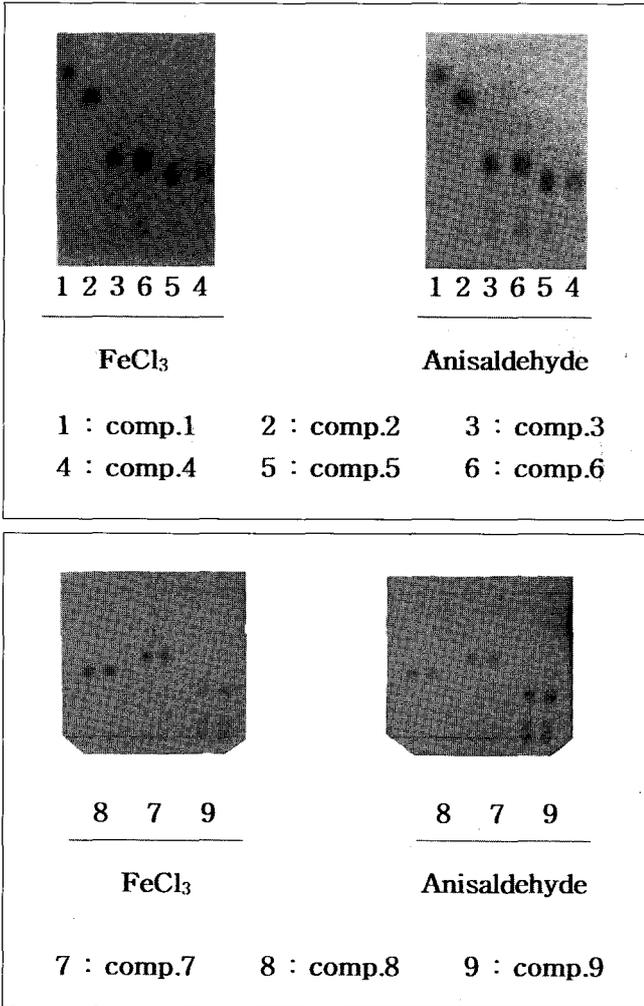


Fig. 5. Thin layer chromatogram of polyphenols isolated from the persimmon leaves. Solvent: benzene: ethylformic acid: formic acid (1 : 7 : 1, v/v/v)

서는 청색을 나타냈다. Sephadex LH-20에 메탄올 : 증류수 (0:1 → 1:0) 용출용매를 사용할 때 이 화합물은 약 60% 메탄올 용액에서 용출되었다. 이러한 결과는 분리된 화합물이 flavan-3-ol 골격을 기본으로 하는 축합형 탄닌으로 추정되며 반응색으로 붉은 정도와 선명도로 보아 화합물 B환에 hydroxyl기가 1개가 더 결합하고 있거나 다른 부위에 gallate가 함유한 화학구조로 추정되었다. 용출속도에서 결과를 비교해 보면 정제된 화합물은 겔의 흡착정도로 보아 procyanidin 계통 (proanthocyanidin)으로 추정하게 되었고 분자량은 dimer 이상에서 다른 화합물이 결합되어 있음을 확인 할 수 있었다.

최근에는 녹차나 홍차에서 떫은맛을 내는 탄닌의 일종인 catechin 성분이 쥐실험을 통해 항암효과와 콜레스테롤 억제 효과가 있음이 밝혀졌다.²³⁻²⁵ 감잎의 탄닌은 여러 가지 축합형 탄닌의 혼합물로 그 중 (-)-epicatechin, (+)-catechin, phloroglucinol은 nitrite scavenger로 작용하여²⁶ 위암의 원인이 될 수 있는 nitrosamine의 생성을 억제하며, 감잎의 탄닌은 catechin류, catechin-3-O-gallate류가 1:2의 비율로 구성되어 있고,²⁷ 그 외 알려지지 않은 말단잔기와 proanthocyanidin group

에 속하는 것으로 구성되어 있으므로 감잎의 여러 가지 약리 작용과 더불어 항암효과도 예상된다 하겠다.

감사의 글

이 연구는 1996년도 농림부 첨단기술 개발 사업과제(No. 388. 1996)에 의하여 연구비를 받아 수행하였으므로 이에 감사드립니다.

참고문헌

1. Chung, S. H., Moon, K. D., Kim, J. K., Seong, J. H. and Sohn, T. H. (1994) Change of chemical components in persimmon leaves during growth for processing persimmon leaves tea. *Korean J. Food Sci. Technol.* **26**, 141-146.
2. Choi, H. J., Son, J. H., Woo, H. S., An, B. J., Bae, M. J. and Choi, C. (1998) Changes of composition in the species of persimmon leaves during growth. *Korean J. Food Sci. Technol.* **30**, 529-534.
3. Choi, S. H. (1990) The aroma components of duchung tea and persimmon leaf tea. *Korean J. Food Sci. Technol.* **22**, 405-410.
4. Kim, M. J. and Oh, S. L. (1999) Effect of pre-treatment methods on the quality improvement of persimmon leaf tea. *Korean J. Postharvest Sci. Technol.* **6**, 435-441.
5. Choi, S. J., Jun, W. J., Yu, K. W., Shin, D. H., Hong, B. S., Cho, H. Y. and Yang, H. C. (2000) Purification and characterization of angiotensin I converting enzyme inhibitor from porphura yezoensis. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* **29**, 719-725.
6. Park, J. Y., Park, E. M., Lee, M. K., Jang, J. Y., Kim, M. J. and Cho, S. Y. (2000) Effect of persimmon leaves extract on serum and liver lipid concentrations in hypercholesterolemic rats. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* **29**, 537-542.
7. Kim, O. K. (2001) Protective effects of extracts of *Diospyrus kaki* Folium aganist hepatotoxicity in carbon tetra chloride intoxicated rats. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* **30**, 97-101.
8. Song, H. S., Lee, H. K. and Kang, M. H. (2000) Antimutagenic effects of persimmon leaf tea extract (PLTE) in mice using micronucleus & induction (MN) test. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* **29**, 881-887.
9. Uchida, S., Ohta, H., Niwa, M., Mori, A., Nonaka, G., Nishioka, I. and Ozaki, M. (1990) Prolongation of life span of stroke-prone spontaneously hypertensive rats (SHRSP) ingesting persimmon tannin. *Chem. Pharm. Bull.* **38**, 1049-1054.
10. Okonogi, T., Hattori, Z., Ogiso, A. and Mitsui, S. (1970) Detoxification by persimmon tannin of snake venoms and bacterial toxins. *Toxicon.* **17**, 524-529.
11. Nose, K. (1984) Inhibition by flavonoids of RNA synthesis in permeable WI-38 cells and of transcription by RNA polymerase II. *Biochem. Pharm.* **33**, 3823-3828.
12. Kim, B. G., Rhew, T. H., Choe, E. S., Chung, H. Y., Park, K. Y. and Rhee, S. H. (1933) Effect of selected persimmon leaf components against sarcoma 180 induced tumor in mice. *J. Korean soc. Food Nutr.* **22**, 334-340.
13. Kameda, K., Takaku, T., Okuda, H. and Kimura, Y. (1978) Inhibitory effects of various flavonoids isolated from leaves of

- persimmon on angiotensin-converting enzyme activity. *J. Natural Products* **50**, 680-686.
14. Moon, S. H., Kim, J. O., Rhee, S. H., Park, K. Y., Kim, K. H. and Rhew, T. H. (1993) Antimutagenic effects and compounds identified from hexane fraction of persimmon leaves. *J. Korean Soc. Food Nutr.* **22**, 307-402.
 15. Moon, S. H., Kim, J. O. and Rhee, S. H. (1993) Antimutagenic effects and compounds identified from hexane fraction of persimmon leaves. *J. Korean Soc. Food Nutr.* **22**, 307-312.
 16. Kim, B. G., Rhew, T. H., Choe, E. S., Chung, H. Y., Park, K. Y. and Rhee, S. H. (1990) Effect of selected persimmon leaf components against spontaneously hypertensive rats (SHRSP) ingesting persimmon tannin. *Chem. Pharm. Bull.* **38**, 1049-1054.
 17. Funayama, S. and Hikino, H. (1979) Hypotensive principles of Diospyros kaki leaves. *Chem. Pharm. Bull.* **27**, 2865-2870.
 18. Osawa, T. and Namiki, M. (1981) A novel type of antioxidant isolated from leaf wax of Eucalyptus leaves. *Agric. Biol. Chem.* **45**, 735-740.
 19. Uchida, S., Edamatsu, R., Hiramatsu, M., Mori, A., Nonaka, G.Y., Nishioka, I., Niwa, M. and Ozaki, M. (1987) Condensed tannins scavenge active oxygen free radicals. *Med. Sci. Res.* **15**, 831-836.
 20. Hashimoto, F., Nonaka, G. and Nishioka, I. (1989) Novel Chalcan-flavan Dimers, Assamicans A, B and C and a New Flavan-3-ol and Proanthocyanidins from the Fresh Leaves of *Camollia sinensis* L. *Chem. Pharm. Bull.* **37**, 77-82.
 21. Endo, T., Tanaka, O. and Shibata, S. (1971) Studies on glucosyltransferase inhibitor from *Aspergillus terreus*. *Syotakagaku Zasshi.* **25**, 28-32.
 22. Yagi, K. (1987) Lipid peroxides and human disease. *Chem. Phys. Lipids.* **45**, 337-341.
 23. Hirose, M., Hoshiya, T., Takahashi, S., Hara, Y. and Ito, N. (1991) Inhibition of carcinogenesis by green tea catechin in rats. Proceedings of the International Symposium on Tea Science (Japan). 210-215.
 24. Ikeda, I., Imasato, Y., Sasaki, S., Nakayama, M., Nagano, H., Takeo, T., Yayave, F. and Sugano, M. (1995) Tea catechins decrease micellar solubility and intestinal absorption of cholesterol in rats. Proceedings of the International Symposium on Tea Science (Japan). 215-221.
 25. Muramatsu, K., Sugiyama, K., Amano, S., Nakashima, J. and Saeki, S. (1995) Effect of green tea on cholesterol metabolism in rats. Proceedings of the International Symposium on Tea Science (Japan). 220-226.
 26. Choi, J. S., Park, S. H. and Choi, J. H. (1989) Nitrite scavenging effect by flavonoids and its structure effect relationship. *Arch. Pharm. Res.* **12**, 26-31.
 27. Matsuo, T. and Ito, S. (1978) The chemical structure of kaki-tannin from immature fruit of the persimmon (*Diospyros kaki* L.). *Agric. Biol. Chem.* **42**, 1637-3642.

Isolation of Polyphenol Compounds from the Leaves of Korean Persimmon (*Diospyros kaki* L. Folium)

Bong-Jeun An¹, Man-Jong Bae¹, Hee-Jin Choi, Yun-Bin Zhang, Tae-Soo Sung² and Cheong Choi* (*Department of Food Science & Technology, Yeungnam University, Kyungsan 712-749; ¹Faculty of Life Resources and Engineering, Kyungsan University, Kyungsan 712-240; ²Korea, Department of Food & Nutrition, Changwon Junior College, Changwon, 641-771, Korea*)

Abstract: We purified polyphenols from persimmon leaf and tested their biological activity. The 60% acetone extract was lyophilized and applied to test enzyme inhibition of glucosyltransferase and tyrosinase. GTase was 82.4% inhibited at 1.8×10^{-1} mg/ml and tyrosinase 21.7% inhibited at 0.8 mg/ml. The acetone extract was fractionated into F-1, 2, 3, 4, 5 by Sephadex Q-50 gel filtration and the fraction-1 and 2 showed higher enzyme inhibition activity than the other fractions. To the Proteinase K treatment and autoclaving of the two fractions had no effect on the enzyme activity, but these results suggested that active fraction was not protein but phenol ring completed compounds. By Sephadex LH-20, MCI-gel and Bondapak C₁₈ column chromatographies, compounds 1, 2, 3 and 4 from F-1 fraction, compounds 5 and 6 from F-2 fraction and compounds 7, 8 from F-3 fraction were purified and re-crystallized. The purified compounds was assumed to be condensed tannins of frame flavan-3-ol frame on the basis of color reagent reaction and to be a mixture of monomer, dimer and trimer according to TLC analysis.

Key words: persimmon leaf tea, polyphenol compounds, glucosyltransferase, tyrosinase, inhibitor

*Corresponding author