약학회지 제 47 권 제 4 호 212~217 (2003)
Yakhak Hoeji Vol. 47, No. 4

藥學會誌

도토리와 밤 외피의 항산화 성분 및 활성

차배천# · 이혜원 · 임태진
상지대학교 생명자원과학대학
(Received July 4, 2003; Revised August 19, 2003)

Antioxidative Constituents and Activities of Acorn hull and Chestnut Hull

Bae Cheon Cha#, Hye Won Lee and Tae Jin Rhim
College of Life Science and Natural Resources, Sangji University, Wonju 220-702, Korea

Abstract — We have carried out the antioxidative activity of nuts species for the development of antioxidant from natural products. From our previous report, EtOAc and *n*-BuOH extracts of acorn hull and chestnut hull were found to have a strong antioxidative activity in various antioxidant experiment. In the continuous study, we isolated several compounds from EtOAc and *n*-BuOH extracts of acorn hull and chestnut hull by fractionation using column chromatography. The structures of isolated compounds were identified as catechin, naringenin and ellagic acid on the basis of their spectroscopic properties and by comparison of their physical and spectra data with published value. Antioxidative activities of catechin, naringenin and ellagic acid were measured by DPPH, ferric-thiocyanate and Rancimat method.

Keywords □ acorn hull, chestnut hull, antioxidant, catechin, naringenin, ellagic acid, DPPH, ferric-thiocyanate, rancimat

흔히 유해산소라 불려지는 활성산소는 가장 안정한 형태의 산소인 삼중항산소($^3O_2$)가 산화, 환원과정에서 환원을 받아 생성되는 일중항산소인 superoxide($^1O_2$), hydroxy radical(·OH)과 같은 짝짓지 않은 상태의 free radical과 과산화수소수(H_2O_2)와 같은 활성산소종(reactive oxygen species, ROS)으로서, 이들이 단백질, DNA, 효소 및 T세포와 같은 면역계통의 인자를 손상시켜 질환을 일으키며, 특히 문제가 되는 것은 활성산소종이 세포 생체막의 구성성분인 불포화지방산을 공격하여 과산화반응을 일으켜 체내 과산화 지질을 축적함으로 인해 생체기능이 저하되고 동시에 노화 및 류마티스성 관절염, 심장병, 파킨스씨병, 순환기장애, 간장질환 등과 같은 성인병 질환을 유발하는 것으로 알려져 있다.[1-4]

최근 국민 소득의 향상 및 기초 생활 수준의 향상으로 인해 노령 인구가 증가되면서 성인병, 노화 및 강장 등에 대한 국민들의 관심이 증대되고 있고, 특히 노화와 성인병 질환의 원인이 활성산소에 기인된 것이라는 학설이 점차 인정되어짐에 따라 활성산소종을 조절할 수 있는 물질로 알려진 항산화제의 개발 연구가 활발히 진행되어 효소계열인 예방적 항산화제인 SOD(superoxide dismutase), catalase, glutathioneperoxidase 등과 천연 항산화제인 tocopherol, 비타민 C, 카로테노이드, catechin, glutathione 및 합성 항산화제인 BHA, BHT, Troxol-C를 필두로한 많은 항산화제가 알려져있고, 그 외 많은 항산화제의 개발 연구가 보고되어져 있다.[5-8]

본 연구자들은 기존에 연구 개발되어진 천연 항산화제 보다도 보다 안전하고 우수한 활성을 발현하는 항산화제를 천연물로부터 개발하기 위한 연구의 일환으로 다양한 nut류에 대하여 각 부위별로의 항산화 시험을 실시하였다. 그 결과 도토리 외피와 밤의 외피가 강력한 항산화 효과를 나타내었고, 이들의 용매별 분획에 대하여 DPPH법에 의한 항산화 실험 결과 도토리 외피와 밤 외피의 EtOAc 및 *n*-BuOH 엑스가 항산화 활성 주분획임을 보고하였다.[9] 본 연구에서는 도토리 외피와 밤 외피의 항산화 활성 주분획으로 밝혀진 EtOAc 및 *n*-BuOH 엑스로부터 칼럼 크로마토그래피를 통한 순차적인 극성별 분획들의 항산화활성을 연속적으로 측정하는 과정을 통해 도토리 외피와 밤 외피의 EtOAc 및 *n*-BuOH 엑스로 부터 항산화 활성 주성분을 단리하고, 이들의 free radical 소거효과는 DPPH법을, 항산화 효과는 Ferric-thiocyanate법 및 Rancimat법에 의해 검토한 결과 다음과 같은 지견을 얻었기에 보고하고자 한다.

#본 논문에 관한 문의는 저자에게로
(전화) 033-730-0554 (팩스) 033-730-0503
(E-mail) bccha@mail.sangji.ac.kr

실험 방법

실험재료 및 시약

본 실험에서 사용한 도토리(*Quercus acutissima* Carruth.)와 밤(*Castanea crenata* Sieb. et Zucc.)은 강원도 일대에서 구입하여 감별한 후 음건하고 각 부위별로 분리한 후 세절하여 재료로 사용하였다. 성분 분리를 위한 순상 column chromatography용 silica gel은 Kiesel gel 60(particle size 70-230 mesh, ASTM, Merck)을 사용하였고, 역상 column chromatography용 충진제는 Sephadex LH-20(Bead size 25~100 μm, Sigma)을 사용하였으며, 성분 확인용 TLC plate는 Kiesel gel $60F_{254}$(Art. 5715 Merck)를 사용하였다. 자유라디칼 소거효과 측정용 시약인 DPPH(1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl)는 Aldrich사 제품을 구입하여 사용하였다. 항산화 측정용 시약인 ammonium thiocyanate, Tween 20, HCl 및 EtOH 등은 모두 특급시약을 사용하였고, 식용유지(soybean, corn, palm, lard)는 첨가제가 첨가되지 않은 식용유지를 사용하여 측정하였다. 표준품인 tocopherol 및 BHA(butylated hydroxyanisole)는 Sigma사 제품을 구입하여 사용하였고, 기타 용매는 1급 시약을 사용하여 실험하였다.

기기

NMR spectra는 Varian Mercury 300 spectrometer를 이용하여 TMS를 내부표준 물질로 사용하여 측정하였으며 chemical shift는 δ unit로 나타내었다. Infrared spectra는 Nicolet Impact 420 FT-IR 분광광도계를 사용하여 KBr disk법으로 측정하였고, Melting point는 Mettler FP 5 융점측정기를 사용하였고 보정은 하지 않았다. 흡광도는 Milton-Roy spectronic Genesys-5 UV spectro-photometer를 사용하여 측정하였고, 산화 안정도 측정기기로서는 Rancimat 679 METROHM을 사용하여 측정하였다.

추출 및 분획

음건한 도토리와 밤의 외피 각 100 g에 MeOH 500 ml을 가하여 실온상에서 5시간 환류냉각하면서 3회 추출을 반복하여 얻어진 MeOH 용액을 농축하여 도토리 외피 MeOH 엑스(15 g)와 밤 외피 MeOH 엑스(8.3 g)를 얻었다. 얻어진 도토리 외피 및 밤 외피의 MeOH 엑스는 *n*-hexane과 MeOH 1 : 1로 분배한 후, MeOH 용액은 다시 농축한 후 이를 H_2O와 EtOAc 1 : 1로 분배하여 EtOAc 용액을 얻고 이를 농축하여 도토리 외피 EtOAc 엑스(3.1 g)와 밤 외피 EtOAc 엑스(1.6 g)를 얻었다. 잔여의 H_2O층의 *n*-BuOH을 H_2O층과 같은 비율이 되도록 가한 후 분배시켜 *n*-BuOH층을 얻고 이를 농축하여 각각 도토리 외피 *n*-BuOH 엑스 3.3 g)와 밤 외피 *n*-BuOH 엑스(4 g)를 얻었다.

항산화 활성물질의 단리

우수한 항산화효과를 나타낸 도토리와 밤 외피의 EtOAc 및 *n*-BuOH 엑스의 활성 주성분을 다음과 같이 단리하였다. 도토리 외피 EtOAc 엑스(3 g) 및 밤 외피 EtOAc 엑스(1 g)를 각각 silica gel을 이용하여 흡착시킨 후 $CHCl_3$: MeOH=10 : 1에서 단계적으로 극성을 높여 column chromatography를 실시하여 도토리 외피 EtOAc 엑스로부터 화합물 1(127 mg)과 밤 외피 EtOAc 엑스로부터 화합물 2(42 mg)를 얻었다. 도토리 외피 *n*-BuOH 엑스(3 g)와 밤 외피 *n*-BuOH 엑스(3 g)도 silica gel에 흡착시킨 후 $CHCl_3$: MeOH : H_2O=6 : 4 : 1을 사용하여 1차 분리한 후 MeOH를 용매로 하여 Sephadex LH-20 역상 column chromatography를 실시하여 도토리 외피 *n*-BuOH 엑스로부터 화합물 3(20 mg)과 밤 외피 *n*-BuOH 엑스로부터 화합물 4 (35 mg)를 단리 하였다.

화합물 1 – m.p : 250~251°C; ^{1}H-NMR(300 MHz, CD_3OD) δ: 7.37(1H, d, *J*=8.4 Hz, H-6'), 7.37(1H, d, *J*=8.4 Hz, H-2'), 6.87(1H, d, *J*=8.4 Hz, H-5'), 6.87(1H, d, *J*=8.4 Hz, H-3'), 5.93(1H, d, *J*=2.1 Hz, H-8), 5.92(1H, d, *J*=2.1 Hz, H-6), 5.35(1H, dd, *J*=12.9, 3.0 Hz, H-2), 3.12(1H, dd, *J*=17.1, 12.9 Hz, H-3a), 2.71(1H, dd, *J*=17.1, 3.0 Hz, H-3b); ^{13}C-NMR (75 MHz, DMSO-d_6) δ: 196.4(C-4), 166.9(C-7), 163.7(C-5), 163.1(C-8a), 157.9(C-4'), 129.1(C-1'), 128.5 (C-2'), 128.5(C-6'), 115.6(C-3'), 115.6(C-5'), 102.1(C-4a), 96.3(C-6), 95.4(C-8), 78.8(C-2), 42.4(C-3); UVλmax : 214, 289(EtOH); IR(KBr)cm^{-1} : 3484(OH), 1630(CO); EI-MS m/z 272 [M$^+$].

화합물 2 – m.p : 175~176°C; ^{1}H-NMR(300 MHz, DMSO-d_6) δ: 6.71(1H, d, *J*=1.8 Hz, H-2'), 6.68(1H, d, *J*=8.1 Hz, H-5'), 6.60(1H, dd, *J*=1.8, 8.1 Hz, H-6'), 5.88(1H, d, *J*=2.1 Hz, H-8), 5.68(1H, d, *J*=2.1 Hz, H-6), 4.48(1H, d, *J*=7.5 Hz, H-2), 3.81(1H, m, H-3), 2.68(1H, dd, *J*=5.7, 16.2 Hz, H-4a), 2.38(1H, dd, *J*=8.1, 16.2 Hz, H-4b); ^{13}C-NMR(75 MHz, CD_3OD) δ: 157.9(C-9), 157.6(C-5), 156.9 (C-7), 146.2(C-3'), 146.2(C-4'), 132.2(C-1'), 120.0(C-6'), 116.0(C-5'), 115.3 (C-2'), 100.8(C-10), 96.3(C-6), 95.5(C-8), 82.9(C-2), 68.8(C-3), 28.5(C-4); UVλmax : 211, 280(EtOH); IR(KBr)cm^{-1} : 3415(OH); EI-MS m/z 290 [M$^+$].

화합물 3 및 4 – m.p > 300°C; ^{1}H-NMR(300 MHz, DMSO-d_6) δ: 7.46(1H, s,), 3.46(OH); ^{13}C-NMR(75 MHz, DMSO-d_6) δ: 159.2(C-7), 159.2(C-7'), 153.0(C-4), 153.0(C-4'), 140.2(C-3), 140.2(C-3'), 136.4(C-2), 136.4(C-2'), 112.3(C-1), 112.3(C-1'), 111.4(C-5), 111.4(C-5'), 107.7(C-6), 107.7(C-6'); UVλmax : 256, 358(MeOH); IR(KBr)cm^{-1} : 3552(OH), 1725(COO); EI-MS m/z 302[M$^+$].

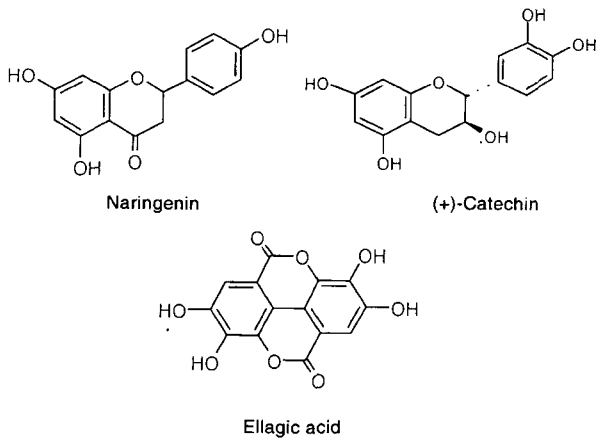

Fig. 1 – Structures of compounds 1, 2, 3 and 4.

도토리 및 밤 외피의 항산화 활성 주성분의 DPPH 라디칼 소거작용의 측정

Uchiyama 등[10]의 방법을 약간 변형시킨 Yoshikawa 등[11]의 방법에 의해 다음과 같이 측정하였다. 0.1 M의 초산 완충액(pH 5.5, 2.0 m*l*)에 시료의 EtOH 용액(2.0 m*l*) 및 2×10^{-4} M DPPH EtOH 용액(1.0 m*l*)을 가하여 전량을 5 m*l*로 하고 실온에 방치한 후, 30분 후 517 nm에서의 흡광도 감소를 측정하였다. 시료 무첨가의 control의 흡광도를 1/2로 감소시키는데 필요한 시료의 양(mg)을 tocopherol 및BHA와 같은 기존의 항산화제를 대조군으로 하여 시험하였다.

도토리 및 밤 외피의 항산화 활성 주성분의 Ferric-Thiocyanate 법에 의한 지질산화 억제활성

Ferric-Thiocyanate법은 Inatani 등[12]의 방법에 따라 다음과 같이 측정하였다. 시료의 EtOH 용액(2.0 m*l*), linoleic acid EtOH 용액[linoleic acid(2.51 g)의 EtOH(100 m*l*)용액](2.0 m*l*), 0.05 M 인산완충액(pH 7.0, 4.0 m*l*), 증류수(1.9 m*l*) 및 10% Tween 20(0.1 m*l*)을 20 m*l*의 시험관에 시료의 최종농도가 0.005%가 되도록 전량을 10 m*l*로 하여 40°C의 암소에 방치하였다. 이 시료 0.1 m*l*에 75% EtOH(9.7 m*l*) 및 30% ammonium thiocyanate (0.1 m*l*)를 가하여 혼합하였다. 이 혼합액에 2×10^{-2} M 염화제일철의 3.5% 염산용액(0.1 m*l*)을 가하고, 정확히 3분 후에 500 nm에서 흡광도를 측정하였다.

도토리 및 밤 외피의 항산화 활성 주성분의 Rancimat법에 의한 지질의 산화억제 활성의 측정

Rancimat법은 Chen 등[13]과 Lim 등[14]의 방법에 따라 다음과 같이 측정하였다. 시료+유지 2.5 g, 증류수 70 m*l*, flow rate 20 *l*/hr, 반응온도 120°C로 하여 산화 안정성을 비교하였다. Antioxidant index(AI)는 각 시료를 첨가한 실험군의 유도기간을 무첨가군의 유도기간으로 나눈 값으로 구하였다. 이때 시료의 첨가량은 각각 200, 400 및 600 ppm로 하여 3회 반복 측정하여 얻은 값의 평균치로 표시하였다.

결과 및 고찰

산업적으로 널리 사용되어지는 항산화제 가운데 식품의 가공 또는 저장 중에 일어나는 산화를 방지하기 위한 수단으로 가장 많이 사용되는 항산화제 중 하나인 tocopherol은 합성 항산화제에 비해 효과가 비교적 낮은 편임에도 불구하고 제조원가가 비싸며,[15] 합성 항산화제인 BHA와 BHT는 효과는 우수하나 그의 변이원성 및 독성이 지적되면서[16] 보다 안전하고 효력이 강한 천연 항산화제의 개발이 절실히 요구되어지고 있다.

따라서 본 연구는 식용으로 널리 사용되고 있는 nut류 중에서 우수한 항산화 활성을 나타낸 도토리와 밤의 외피에 대하여, 그들의 항산화 활성 주성분을 규명하기 위하여 도토리와 밤 외피의 MeOH 엑스로부터 얻어지는 항산화 활성 주분획인 도토리와 밤 외피의 EtOAc와 *n*-BuOH 엑스로부터 연속적인 항산화 활성 검색을 통하여 항산화 활성 주성분을 단리하고 그 구조를 명확히 하였으며, 동시에 그들의 항산화 활성을 검정하였다.

도토리 외피의 EtOAc 엑스로부터 단리된 화합물 1은 황색분말로서 $FeCl_3$ 시험에서 녹색을, 아니스알데히드-황산 시액에서 오렌지색을 나타내어 flavan계 물질로 추정되었고, IR spectrum에서 수산기와 카르보닐기가 확인되고 UV에서 벤젠환의 존재를 확인할 수 있었다. ^{1}H-NMR에서는 δ5.35에서 산소와 결합한 methine 피크가 관측되고, 이 피크의 coupling constant로부터 δ3.12 및 δ2.71의 methylene 피크와 결합되어 있음을 알 수 있었다. 그 외에 flavonoid 화합물의 6번과 8번 proton에 기인하는 2개의 피크가 δ5.92 및 δ5.93에서 관측되고 δ7.37과 δ6.87에서 1번과 4번에 이중치환이 일어난 벤젠환에서 기인하는 방향족 proton 피크가 관측되었다. ^{13}C-NMR에서 δ196.4에서 카르보닐기의 피크가 관측되는 것을 비롯하여 flavonoid에서 기인하는 탄소 피크가 확인되었다. 이상의 기기분석치를 표준품 및 문헌치[17,18]와의 spectral data와 비교함에 의하여 화합물 1은 naringenin으로 동정하였다.

밤 외피의 EtOAc 엑스로부터 단리된 화합물 2는 백색분말로서 $FeCl_3$ 시험에서 녹색을, 아니스알데히드-황산 시액에서 오렌지색을 나타내어 flavan계 물질로 추정되었고, IR spectrum에서 수산기가 확인되고 UV에서 벤젠환의 존재를 확인할 수 있었다. ^{1}H-NMR에서 δ6.71, δ6.68 및 δ6.60에서 ABX형의 proton 피크가 관측되어짐에 따라 3치환 벤젠의 존재를 시사하고, δ5.88과 δ5.68에서 각각 A환의 meta couple된 doublet 피크가 관측되어 이들은 H-6과 H-8에 귀속되었다. 한편 지환족 영역에서는 δ2.38과 2.68에서 ABX 형의 피크와 δ3.81과 δ4.48에서 관측된 피크

Table I – Radical scavenging effect of isolated compounds from acorn hull and chestnut hull on DPPH radical method

Samples	50%reduction (mg)[a]
α-Tocopherol	0.022
BHA	0.018
Naringenin	0.018
(+)-Catechin	0.016
Ellagic acid	0.019

[a]Amount required for 50% reduction of DPPH (2×10^{-7} ml, 0.079 mg) solution.

에 의하여 flavan-3-ol의 존재가 시사되어졌다. 또한 δ4.48에서 관측된 2번 proton 유래 피크의 coupling constant로부터 H-2와 H-3은 서로 trans 배치를 하고 있음을 알 수 있었다. ^{13}C-NMR에서 δ68.8에서 수산기가 결합된 지환족 탄소 피크를 비롯하여 flavan-ol기에 해당하는 탄소 피크가 관측되었다. 이 기기분석치를 표준품 및 문헌치[19-21]의 spectral data와 비교 분석하여 화합물 2는 (+)-catechin으로 동정하였다.

도토리와 밤 외피의 BuOH 엑스로부터 단리된 화합물 3과 4는 담황색분말로서 IR spectrum에서 수산기와 카르보닐기가 확인되고 UV에서 벤젠환의 존재를 확인함에 의해 방향족 화합물로 추정하였다. ^{1}H-NMR에서 δ7.46에서 1H분의 피크가 관측되고, δ3.46에서 수산기 유래 피크가 관측되어짐에 따라 대칭 구조임을 추정할 수 있었고, ^{13}C-NMR에서 δ159.2에서 카르보닐 유래의 피크와 벤젠환 유래의 탄소 피크가 모두 대칭적으로 관측되었다. 이상의 기기분석치와 표준품 및 문헌치[22-24]의 spectral data를 비교하여 화합물 3과 4는 ellagic acid로 동정하였다.

한편 단리된 도토리와 밤 외피의 항산화 활성 주성분 3종에 대하여 DPPH법 의한 라디칼 소거효과를 검토한 결과 Table I에 나타낸 바와 같이 3종 화합물 모두 천연 항산화제인 tocopherol

Table II – Antioxidative effect of isolated compounds from acorn hull and chestnut hull on Ferric-Thiocyanate method

Sample \ Day	3	6	9	12	15	18	21
Control	0.117	0.980	2.034	2.166			
α-Tocopherol	0.167	0.391	0.505	0.981	2.071	2.098	
BHA	0.013	0.029	0.204	0.284	0.327	0.359	0.383
Naringenin	0.122	1.065	2.072	2.146	2.147		
(+)-Catechin	0.109	0.941	1.060	1.168	1.260	1.932	2.089
Ellagic acid	0.048	0.068	0.110	0.133	0.152	0.168	0.180

Sample \ Day	24	27	30	33	36	39	42
Control							
α-Tocopherol							
BHA	0.423	0.450	0.628	0.644	0.623	0.631	0.622
Naringenin							
(+)-Catechin	2.158						
Ellagic acid	0.161	0.179	0.198	0.186	0.198	0.195	0.202

Each value represents the O.D value in 500 nm.

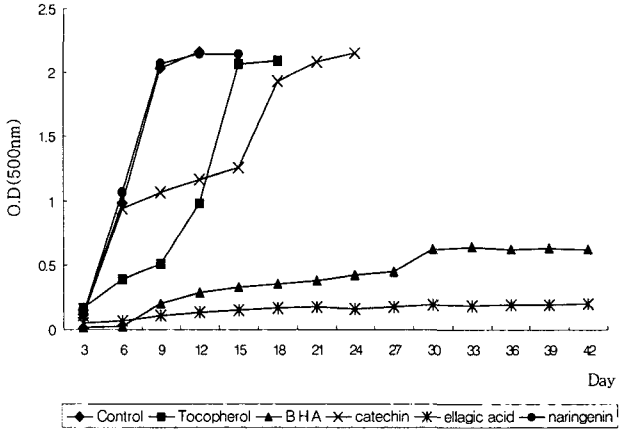

Fig. 2 – Antioxidative effect of isolated compounds from acorn hull and chestnut hull on Ferric-Thiocyanate method.

보다 강하고 합성 항산화제인 BHA와는 유사한 우수한 free radical 소거효과를 나타내었으며, 특히 밤 외피의 EtOAc 엑스로부터 단리된 (+)-catechin은 합성 항산화제인 BHA 보다 우수한 강력한 free radical 소거효과를 나타내었다. Linoleic acid 등의 지방산을 기질로 시험관 내에서의 비색법에 의해 과산화지질의 양을 정량하여 과산화도를 평가하는 Ferric- thiocyanate법에 의한 과산화지질 억제효과에서는 Table II와 Fig. 2에 나타낸 것과 같이 ellagic acid가 tocopherol 및 BHA보다 우수한 과산화지질 억제효과를 나타내었고, 식용 유지를 직접 사용하여 공기에 의한 지질 산패도를 측정하는 Rancimat법에 의한 지질 산패 억제효과에서는 Table 3에 나타낸 바와 같이 4종의 oil을 사용한 결과 (+)-catechin이 BHA와 유사한 가장 우수한 지질산패 억제효과를 나타내었다.

결 론

노령 인구의 증가와 식생활 습관, 대기오염 등과 같은 환경변화에 따라 다양한 성인병이 야기되고 있다. 이들 성인병의 발생원인이 활성산소에 의한 것으로 밝혀짐에 따라 이들로부터 유발되는 다양한 성인병을 예방 치료할 수 있는 안전하고 우수한 항산화 물질을 천연 부존자원으로부터 개발하기 위한 연구의 일환으로 도토리 및 밤 외피의 분획에 대한 항산화 활성 주성분의 구조연구 및 이들 주성분의 항산화 효과를 연구한 결과 다음과 같은 지견을 얻었다.

1. 강력한 항산화 활성을 나타낸 도토리 및 밤 외피의 분획에 대해 주성분을 검토한 결과 도토리 외피 EtOAc 엑스로부터는 naringenin, 밤 외피 EtOAc 엑스로부터는 (+)-catechin을 단리하였고, 도토리 및 밤 외피의 *n*-BuOH 엑스로부터는 ellagic acid를 단리하여 그들의 구조를 명확히 하였다.

2. DPPH법을 사용하여 단리된 3종 화합물에 대하여 free

Table III – Induction time of lipid oxidation measured of isolated compounds from acorn hull and chestnut hull on Rancimat method[1)]

Sample	Soybean			Corn		
	200 ppm	400 ppm	600 ppm	200 ppm	400 ppm	600 ppm
Tocopherol	1.034	1.045	0.951	1.227	1.142	1.129
BHA	1.031	1.119	0.734	1.063	1.061	1.092
Naringenin	1.052	1.117	1.086	1.065	1.043	1.065
(+)-Catechin	1.347	1.504	1.568	1.172	1.400	1.475
Ellagic acid	0.952	0.962	1.026	1.340	1.069	1.424
Sample	Palm			Lard		
	200 ppm	400 ppm	600 ppm	200 ppm	400 ppm	600 ppm
Tocopherol	0.916	0.907	0.889	1.885	3.111	3.096
BHA	0.985	1.062	1.022	3.098	3.901	4.325
Naringenin	1.029	1.122	1.100	1.112	1.153	1.233
(+)-Catechin	1.571	2.206	2.546	3.034	4.409	5.062
Ellagic acid	1.083	1.163	1.143	1.217	1.555	1.279

[1)]Antioxidative index (AI, induction time of oil containing of each extract/induction time of test oil).

radical 소거작용을 검색한 결과 3종 모두 tocopherol 보다는 우수하고, BHA와 유사한 작용을 나타내었고, 특히 (+)-catechin은 합성 항산화제인 BHA보다 우수한 강력한 free radical 소거효과를 나타내었다.

3. Ferric-thiocyanate법에 의한 과산화지질 억제효과에서는 ellagic acid가 tocopherol 및 BHA보다 우수한 과산화지질 억제효과를 나타내었고, Rancimat법에 의한 지질산패 억제효과에서는 4종의 oil을 사용한 결과 (+)-catechin이 BHA와 유사한 가장 우수한 지질산패 억제효과를 나타내었다.

4. DPPH법과 Ferric-thiocyanate법 및 Rancimat법을 이용한 다양한 항산화 실험 결과 (+)-catechin이 전반적으로 모두 우수한 항산화 효과를 나타내었다. 이는 (+)-catechin은 기전이 서로 다른 산화 작용에 대해서도 항산화 효과를 가지는 중요한 성분으로 판명되었다.

문 헌

1) Jaeschke, H., Gores, G. J., Cederbaum, A. I., Hinson, J. A., Pessayre, D. and Lemasters, J. J. : Mechanism of hepatotoxicity. *Toxicol. Sci.* **65**, 166 (2002).
2) Gocke, E. : Photochemical mutagenesis : examples and toxicological relevance. *J. Environ. Pathol. Toxicol. Oncol.* **20**, 285 (2001).
3) Hollowell, B. : Drug antioxidant effects. *Drugs.* **42**, 569 (1991).
4) Fukuzawa, K. and Takaishi, Y. : Antioxidants. *J. Act. Oxyg. Free Rad.* **1**, 55 (1990).
5) Acuna, U. M., Atha, D. E., Ma, J., Nee, M. H. and Kennelly, E. J. : Antioxidant capacities of ten edible north american plants. *Phytother. Res.* **16**, 63 (2002).
6) Tziveleka, L. A., Kourounakis, A. P., Kourounakis, P. N., Roussis, V. and Vagias, C. : Antioxidant potential of natural and synthesised polyprenylated hydroquinones. *Bioorg. Med. Chem.* **10**, 935 (2002).
7) Arnao, M. B., Cano, A., Alcolea, J. F. and Acosta, M. : Estimation of free radical-quenching activity of leaf pigment extracts. *Phytochem. Anal.* **12**, 138 (2001).
8) Fukumoto, L. R. and Mazza, G. : Assessing antioxidant and prooxidant activities of phenolic compounds. *J. Agric. Food Chem.* **48**, 3597 (2000).
9) Cha, B. C., Lee, H. Y. and Choi, M. Y. : Antioxidative and antimicrobial effects of nut species. *Kor. J. Pharmacogn.* **29**, 28 (1998).
10) Uchiyama, M., Suzuki, Y. and Fukuzawa, K. : Biochemical studies of physiological function of tocopheronolactone. 1. *Yakugaku Zasshi.* **88**, 678 (1968).
11) Yoshikawa, M., Harada, E., Miki, A., Tsukamoto, K., Liang, S. Q., Yamahara, J. and Murakami, N. : Antioxidant constituents from the fruit hulls of Mangosteen (*Garcinia mangostana* L.) originating in vetnam. *Yakugaku Zasshi.* **114**, 129 (1994).
12) Inatani, R., Nakatani, N. and Fuwa, H. : Antioxidative effect of the constituents of rosemary (*Rosemaries officinalis* L.) and their derivatives. *Agric. Biol. Chem.* **47**, 521 (1983).
13) Chen, C. W. and Ho, C. T. : Antioxidant properties of polyphenols extracted from green and black teas. *J. Food Lipids.* **2**, 35 (1995).
14) Lim, D. K., Choi, U. and Shin, D. W. : Antioxidative of some solvent extract from *Caesalpinia sappan* L. *Korean J. Food Sci. Technol.* **28**, 77 (1996).
15) Corl, M. M. : Antioxidant activity of tocopherol and ascorbyl palmitate and their mode of action. *JAOCS.* **51**, 321 (1974).
16) Branen, A. L. : Toxicological and biochemistry of butylated hydroxyanisole and butylated hydroxytoluene. *JAOCS.* **52**, 59

(1975).

17) Bekker, R., Brandt, E. V. and Ferreira, D. : Biflavonoids Part 4. Structure and stereochemistry of novel flavanone and the first isoflavanone-benzofuranone biflavonoids. *Tetrahedron*. **55**, 10005 (1999).

18) Lee, I. K., Yun, B. S., Kim, J. P., Chung, S. H., Shin, G. S. and Yoo, I. D. : Antioxidative compounds isolated from the stem bark of *Eucalyptus globulus*. *Kor. J. Pharmacogn.* **29**, 163 (1998).

19) Choi, W. H., Park, W. Y., Hwang, B. Y., Oh, G. J., Kang, S. J., Lee, K. S. and Ro, J. S. : Phenolic compounds from the stem bark of *Cornus walteri* Wanger. *Kor. J. Pharmacogn.* **29**, 217 (1998).

20) Kim, D. K. and Shin, T. Y. : Flavonoids from *Sorbaria sorbifolia* var. *stellipilla*. *Kor. J. Pharmacogn.* **29**, 254 (1998).

21) El-Mousallamy, A. M. D. : Chemical investigation of the constitutive flavonoid glycosides of the leaves of *Crataegus sinaica*. *Natural Product Sciences*. **4**, 53 (1998).

22) Ahn, B. T. and Kang, S. S. : Phenolic compounds from aerial parts of *Euphorbia pekinensis* (II). *Kor. J. Pharmacogn.* **27**, 142 (1996).

23) Cai, L. and Wu, C. D. : Compounds from *Syzygium aromaticum* possessing growth inhibitory activity against oral pathogens. *J. Nat. Prod.* **59**, 987 (1996).

24) Ito, M., Shimura, H., Watanabe, N., Tamai, M., Hanada, K., Takahashi, A., Tanaka, Y., Arai, K., Zhang, P. L., Chang, R., Chen, W. M., Yang, J. S., Su, Y. L. and Wang, Y. L. : Hepatoprotective compounds from *Canarium album* and *Euphorbia nematocypha*. *Chem. Pharm. Bull.* **38**, 2201 (1990).