

## 헛개나무로부터 생리활성물질의 추출 및 효능에 관한 연구

<sup>1</sup>김성문 · <sup>1</sup>강성희 · <sup>2</sup>마진열 · †<sup>1</sup>김진현  
<sup>1</sup>공주대학교 화학공학부, <sup>2</sup>한국한의학연구원 한약제제연구부  
(접수 : 2005. 6. 13., 게재승인 : 2006. 1. 23.)

### A Study on the Extraction and Efficacy of Bioactive Compound from *Hovenia dulcis*

Sung-Mun Kim<sup>1</sup>, Sung-Hee Kang<sup>1</sup>, Jin Yeul Ma<sup>2</sup>, and Jin-Hyun Kim<sup>1†</sup>

<sup>1</sup>Department of Chemical Engineering, Kongju National University, Kongju 314-701, Korea

<sup>2</sup>Korea Institute of Oriental Medicine, Daejeon 305-811, Korea

(Received : 2005. 6. 13., Accepted : 2006. 1. 23.)

The biological activities of extracts from the fruit, stem, and leaf of *Hovenia dulcis* were examined. In the batch mode of operation, the fruit, stem, and leaf of *Hovenia dulcis* were extracted with hot water for 10 hr. The fruit extract of *Hovenia dulcis* gave the highest activity for decreasing alcohol concentration which was 138% of control. The equilibrium between bioactive compound in the fruit (size : 4 mm) and hot water solution was reached within 6 hr and the recovery was 95% by three-times extraction. The fruit extract of *Hovenia dulcis* showed significant alcohol decrease in blood and hepatoprotective activity against CCl<sub>4</sub>-toxicity in rat. The fruit extract significantly inhibited the elevation of serum alanine aminotransferase (ALT), aspartate aminotransferase (AST), and lactate dehydrogenase (LDH) levels.

**Key Words** : *Hovenia dulcis*, fruit extract, biological activity, alcohol concentration, hepatoprotective activity

#### 서론

천연물로부터 생리활성물질을 찾는 연구는 오래전부터 많은 연구자들에 의해 이루어지고 있으며 특히 질병에 대한 치료제 및 예방책 또는 건강보조제로서 식물자원이 널리 이용되고 있는 실정이다. 현재 우리나라의 경우 경제성장과 국민소득의 증대와 더불어 각종 성인병이 증가 추세에 있어 기능성식품 및 건강식품에 대한 관심이 급증하고 있다. 특히 약용 식물에 대한 여러 가지 향암 및 생리활성 기능이 밝혀짐에 따라 이들을 추출·정제하여 기능성 식품 및 의약품으로 개발함으로써 많은 관심을 가져오고 있다(1-3). 기능성 식품 시장현황을 살펴보면 1997년 650억불 규모였던 세계 시장은 2000년 1,380억불 규모로 높은 성장률을 보였으며, 2005년도에는 현재 시장의 10배 이상 규모로 증가할 것으로 예상된다(4). 세계 기능성 식품 시장은 미국이 99년 445억불로 세계시장의 35%를 차지하였으며, 유럽이 422억불로 33%, 일본이 232억불로 18%를 차지하여 미국, 유럽, 일본이 세계 시장의 86%를 차지함으로써 기능성

식품 시장은 주로 선진국을 중심으로 발달되었음을 알 수 있다.

헛개나무 (*Hovenia dulcis*)는 갈매나무과의 교목으로 지구 자나무라고도 한다. 높이는 10~20 m, 직경 40~80 cm 내외로 자라며 열매는 10~11월경에 갈색으로 열리며 지름 8 mm 정도로 닭의 발톱모양이다. 우리나라에서는 설악산, 오대산, 지리산, 한라산 및 계룡산 등에 주로 자라며 중북부 지방보다는 온화한 남쪽지방에서 잘 생육하는 교목으로 과병과 줄기는 단맛과 향을 내어 식용, 과주 및 약용으로 주목을 제거하는데 상용되어 왔다(3, 5). 헛개나무에 관한 연구로는 민간요법으로 헛개나무 잎, 줄기 및 열매로 만든 차가 주독제거 및 과음 시 부작용으로 나타나는 황달, 지방간, 간경화증, 위장병 등의 간 기능 보호에 효능이 뛰어난 것으로 전해지고 있다(3). 또한 Yoshikawa 등(6)이 헛개나무의 열매로부터 분리한 hovenitin I [(2R,3R)-5,7,4',5'-tetrahydroxy-3'-methoxydihydroflavonol]와 (+)-ampelopsin이 알코올 분해 및 간 기능 회복에 효과가 있음을 보고하였으며, Hong 등(3)은 헛개열매 추출물에서 분리한 hovenodulinol (flavonol 성분)이 쥐의 알코올 분해에 효과가 있음을 보고하였다. Hase 등(7)은 쥐에서의 간 보호 효과를 보고하였고, Sakai 등(8)은 쥐의 혈중 알코올 농도를 저하시키는 효과가 있음을 보고하였다. 또한 헛개열매의 단맛을 이용한 감미료로서의 이용 가능성과 항 알러지 치료 가능성이 보고 되기

† Corresponding Author : Department of Chemical Engineering,  
Kongju National University, Kongju 314-701, Korea  
Tel : +82-41-850-8642, Fax : +82-41-858-2575  
E-mail : jinhyun@kongju.ac.kr

도 하였다(9). 본 연구에서는 헛개나무를 숙취해소 및 간 보호 관련 기능성 식품으로 개발하기 위하여 헛개나무의 부위별 (열매, 잎 및 줄기) 알코올 분해 효과를 확인하였고, 알코올 분해능이 있는 생리활성물질의 추출 조건을 확립하였으며, 동물실험을 통하여 혈중 알코올 농도 저하 및 간 보호 효능을 검증하였다.

## 재료 및 방법

### 식물재료 및 추출 방법

본 실험에서 사용한 헛개나무 (*Hovenia dulcis*)의 열매, 잎 및 줄기는 충청남도 공주시에서 2004년에 채집하여 냉동보관 하면서 실험의 재료로 사용하였다. 헛개나무를 열매, 잎, 줄기로 나누어 채집하고 건조시킨 뒤 분쇄하여 시료 중량에 대해 각각 10배의 증류수로 10시간 동안 100°C에서 hot plate를 사용하여 열수 추출하였다. 추출물은 Whatman 0.45 µm 여과지를 사용하여 여과하였다.

### 알코올 농도의 분석

헛개나무의 열매, 잎 및 줄기의 열수 추출물을 각각 효소 반응시켜 GC/Mass (HP 6890N, USA)를 사용하여 알코올 농도를 측정하였다(3). Internal standard로 1-pentanol을 사용하였으며 column은 HP-5MS (5% phenyl methyl siloxane, 250 µm × 30 m)를 사용하였다.

### 알코올분해효소 (alcohol dehydrogenase, ADH)의 활성 측정

알코올 분해 효소의 활성 측정은 50 mM sodium pyrophosphate, 95% (v/v) ethanol, 15 mM NAD에 효소액과 시료를 가하고, 효소작용으로 생성된 NADH를 UV/Visible spectrophotometer (Jenway 6505, Japan)를 사용하여 340 nm에서 흡광도를 측정하였다(10). 헛개열매 추출물 대신 증류수를 첨가하여 대조군으로 사용하였다.

### 알데하이드 분해 효소 (aldehyde dehydrogenase, ALDH)의 활성 측정

증류수, 1 M tris HCl buffer, 20 mM β-nicotinamide adenine dinucleotide, 100 mM acetaldehyde, 3 M potassium chloride, 1 M mercaptoethanol, 100 mM tris HCl Buffer with 0.02% (w/v) bovine serum albumin에 효소액과 시료를 첨가하여 상온에서 UV/Visible spectrophotometer (Jenway 6505, Japan)를 사용하여 340 nm에서 흡광도를 측정하였다(10). 헛개열매 추출물 대신 증류수를 첨가하여 대조군으로 사용하였다.

### Rat (SD)에 있어서 혈중 알코올 농도 측정 및 생화학적 검사

동물실험용 Rat (SD)로부터 안와정맥총을 이용하여 혈액을 채취한 후, Sigma 332-C Diagnostic Kits and Reagents를 사용하여 효소학적 방법으로 혈중 알코올 농도를 측정하였다(8). 후대정맥에서 혈액을 채취한 후, 혈청 분리관 (RM603PS, Iatron Co., Japan)을 이용하여 혈액을 실온에서

응고시키고, 냉장고속원심분리기 (Avanti 30, Beckman Co., USA)를 사용하여 5000 rpm에 10분간 원심 분리하였다. 분리된 혈청은 deep freezer (-70°C)에 보관하여 생화학적 분석기 (Advia 1650, Jeol Co., Japna)를 이용하여 AST (aspartate aminotransferase; glutamic oxaloacetic transaminase, GOT), ALT (alanine aminotransferase; glutamic pyruvic transaminase, GPT), LDH (lactate dehydrogenase)의 생화학적 검사를 실시하였다 (7).

### 사염화탄소 (CCl<sub>4</sub>)에 의한 간 독성 유발

사염화탄소 (CCl<sub>4</sub>)는 간에 독성을 유발하는 표본 물질로서 간에 대한 독성 연구를 하는데 널리 사용되고 있다(11). Rat (SD)에 사염화탄소 (CCl<sub>4</sub>) 1.0 mL/kg 를 복강 주사하여 간에 독성을 유발하고 헛개열매 추출물을 경구 투여 (15 mL/kg)한 후에 혈액을 채취하여 AST, ALT, 및 LDH 활성을 측정하여 간 보호 효과를 관찰하였다(7). 대조군과 투여군 사이의 통계학적 유의차는 Student's t-test에 의하여 평균과 표준편차를 구하고 통계처리 (p < 0.05)하였다. 동물 실험용 Rat (SD)는 군별로 각각 9마리씩 균등한 체중으로 분배하여 실험에 이용하였다.

## 결과 및 고찰

### 헛개나무 열수 추출물의 알코올 분해 효과

헛개나무의 부위별 (열매, 잎, 줄기) 열수 추출물을 이용하여 알코올분해 효과를 조사한 결과를 Fig. 1에 나타내었다. 헛개나무의 부위별로 10시간 추출한 추출물을 이용하여 알코올 분해 효과를 관찰한 결과, 열매 추출물은 38%, 잎 추출물은 10%, 줄기 추출물은 3%로 각각 나타났다. 헛개나무의 부위별 알코올분해 효과는 열매 추출물이 가장 높았으며 추출 6시간에서 평형 (헛개열매와 열수추출액 사이의 생리활성물질 농도)에 도달함을 알 수 있었다. 헛개나무의 잎과 줄기 추출물은 상대적으로 알코올 분해 효과가 떨어짐을 알 수 있었다. 헛개열매 추출물의 경우 6시간에서 평형에 도달하였으므로 회분식으로 6시간 반복 열수 추출하여 추출 횟수별 추출효율을 확인하였다. Fig. 2에서 보는 바와 같이 적어도 3회 추출하여야 헛개열매로부터 알코올 분해에 효과가 있는 생리활성물질의 거의 대부분 (>95%)이 추출됨을 알 수 있었다. 또한 추출을 위한 헛개열매 분쇄 정도에 따른 영향은 동일량의 열매를 1 mm로 분쇄하여 추출할 경우에는 4 mm로 분쇄하여 추출할 경우보다 추출 4시간에 평형에 도달하여 평형 도달 시간이 줄어드는 것을 알 수 있었다(Fig. 3).

### 헛개열매 열수 추출물의 알코올 및 알데하이드 분해효소 활성에 미치는 영향

헛개열매 추출물이 알코올분해효소 (ADH) 및 알데하이드 분해효소 (ALDH)의 활성에 미치는 영향을 확인하였다. Fig. 4에서 보는 바와 같이 알코올분해효소의 경우 헛개열매 추출물의 농도가 10, 30, 60 및 100% (v/v)에서 상대적인 효소 활성 증가는 각각 4.4, 14.4, 25.0 및 46.6%로 추출물의 농도가 증가할수록 알코올분해효소의 활성이 증가함을 알 수 있었다.

또한 알데하이드분해효소의 활성은 추출물의 농도 10, 30, 60 및 100% (v/v)에서 상대적인 효소 활성 증가는 각각 13.1, 15.9, 29.0 및 40.7%로 추출물 농도가 증가 할수록 효소 활성이 증가하였다.

이러한 효과는 헛개열매 속의 생리활성물질이 간장의 해독기능을 증진, 알코올 대사 물질의 체내 분해를 촉진,

나아가 숙취의 주된 현상인 두통의 원인이 되는 알데하이드의 잔류를 억제하는 효과가 있음을 알 수 있었다. Lee 등(1)은 Cathepsin-B를 이용한 효소반응에서 헛개열매가 알코올 분해를 40~50% 증가시켰다고 보고하였다. 이는 매우 유사한 결과이며 헛개열매 추출물이 알코올 분해에 뛰어난 효과가 있음을 의미한다.

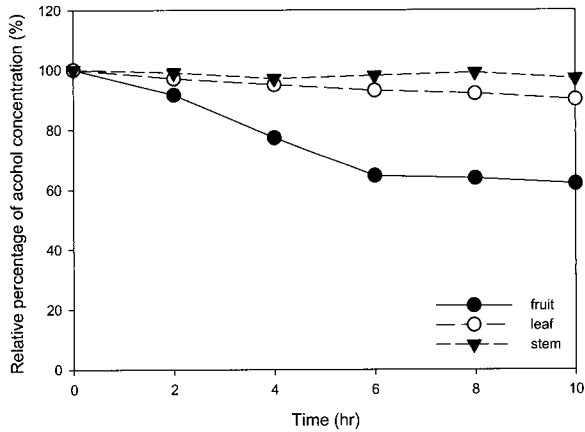


Figure 1. Effect of fruit, leaf, and stem extracts of *Hovenia dulcis* on the decrease of alcohol concentration.

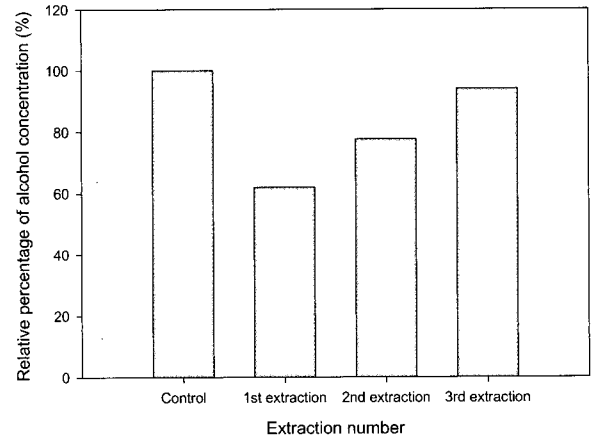


Figure 2. Effect of extraction number on the decrease of alcohol concentration from fruit of *Hovenia dulcis*.

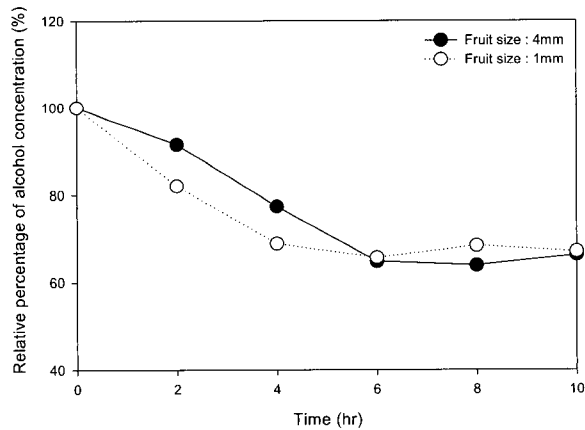


Figure 3. Effect of fruit size on the efficiency of extraction.

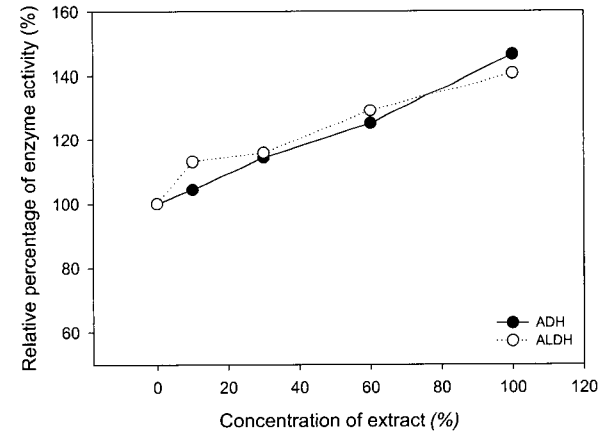


Figure 4. Effect of fruit extract on the activity of alcohol dehydrogenase (ADH) and aldehyde dehydrogenase (ALDH).

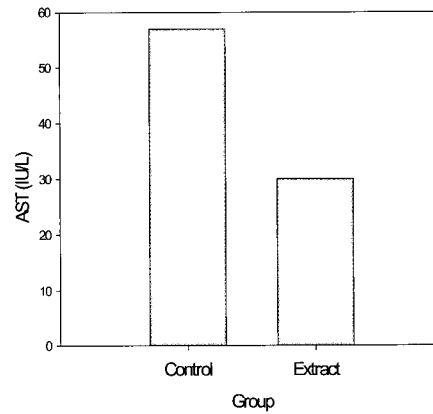
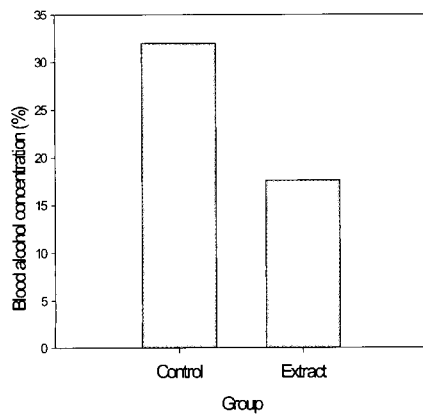


Figure 5. Effect of oral administration of fruit extract on blood alcohol concentration and serum AST level in rats at 2 hr after ethanol administration.

### 헛개열매 추출물의 혈중 알코올 농도 및 AST 저하 효과

알코올 (50%, 10 ml/kg) 및 헛개열매 추출물 (10 ml/kg) 을 Rat (SD)에 투여하고 2시간 후 혈장 내 알코올 농도를 분석한 결과, 대조군 (알코올만 투여한 군)에 비해 헛개열매 추출물을 함께 투여한 군에서 혈중 알코올 농도가 44% 저하되었으며 통계적 유의성 ( $p < 0.05$ )을 확인할 수 있었다(Fig. 5). An 등(12)은 헛개열매 추출물을 투여한 군에서 혈중 알코올 농도가 32% 저하됨을 보고하였으며 약간의 차이가 있었으나 헛개열매 추출물이 쥐의 혈중 알코올 농도를 낮추는데 상당한 효과가 있음을 알 수 있었다. 혈청 중에 있는 각종 효소의 활성을 측정하는 것은 독성물질 판단시 많은 정보를 얻을 수 있다. 특히 혈중 AST는 간독성과 심장의 질환을 진단하는데 있어서 중요한 지표로 사용된다. 간 조직 파괴에 의해 관 동맥이 지방질의 침착으로 폐쇄되면 국소적으로 심한 산소 결핍이 되어 최종적으로는 심근이 국부적으로 변성되며, 이 과정에서 AST가 손상된 심근 세포로부터 유래되어 혈장 내의 AST 양을 증가시킨다(11). 실험동물 Rat (SD)에 헛개열매 추출물 (10 ml/kg)을 1회 경구투여 할 경우 Fig. 5에서 보는 바와 같이 투여 2시간 후 혈청 내 AST의 양은 대조군 (알코올만 투여한 군)에 비해 47% 감소하여 헛개열매 추출물 내의 생리활성 물질이 간 보호에 상당히 효과가 있는 것으로 판단된다.

### 사염화탄소 (CCl<sub>4</sub>)에 의한 간 독성 유발 및 헛개열매 추출물의 간 보호 효과

Rat(SD)에 CCl<sub>4</sub> (1.0 ml/kg)를 복강주사하면 Fig. 6에서 보는 바와 같이 AST, ALT 및 LDH 수치는 유의성 ( $p < 0.01$ ) 있게 증가하였다. 여기에 헛개열매 추출물 (15 ml/kg) 투여할 경우 증가된 AST, ALT 및 LDH 수준이 각각 45%, 52%, 52% 감소됨을 알 수 있었다. Yoshikawa 등(9)은 헛개열매 추출물이 Rat의 AST와 ALT 수치를 50% 정도 감소시키는 것을 보고하였다. 이는 매우 유사한 결과이며 헛개열매 추출물이 쥐의 간 보호에 뛰어난 효과가 있음을 알 수 있었다. 이러한 연구결과로부터 헛개열매 추출물 내의 유효 생리활성물질이 간 보호에 상당한 효과가 있는 것으로 판단된다.

### 요 약

본 연구에서는 헛개나무를 숙취해소 및 간 보호 관련 기능성 식품으로 개발하기 위하여 헛개나무 열매, 잎 및 줄기 추출물의 알코올 분해효과를 확인하였고, 유효 성분의 추출조건을 확립하였으며, 동물실험을 통하여 혈중 알코올농도 저하 및 간 보호 효능을 검증하였다. 헛개나무의 열매 추출물이 가장 높은 알코올 분해 효능을 보였으며 대조군에 비해 38% 알코올 감소 효과가 있었다. 헛개 열매 (크기 : 4 mm)의 회분식 추출에서 유용 생리활성물질은 추출 6시간에 평형에 도달하였으며 총 3회의 추출로 대부분의 생리활성물질을 회수(>95%)할 수 있었다. 또한 동물실험에서 헛개열매 추출물은 혈중 알코올 농도를 현저히 감소시켰으며 사염화탄소에 의한 간 독성 유발 쥐의 간 기능 수치인 AST, ALT 및 LDH 수준을 각각 45%, 52% 및 52% 감소시켜 헛개열매 추출물이 간 보호 효과가 있음을 확인하였다.

### 감 사

본 연구는 산업자원부 지정 공주대학교 자원재활용연구소 재연구센터의 지원에 의하여 수행되었으며 이에 감사드립니다.

### REFERENCES

1. Lee, M. K., Y. G. Kim, S. W. An, M. H. Kim, J. H. Lee, and H. Y. Lee (1999), Biological activities of *Hovenia dulcis* THUNB, *Korean J. Medicinal Crop Sci.* 7, 185-192.
2. Lee, K. J. and K. H. Row (2004), Comparison of extraction methods for aglycone isoflavones from Korean Soybean, *Korean J. Biotechnol. Bioeng.* 19, 421-426.
3. Hong, Y. L., M. H. Kim, C. Ahn, H. Y. Lee, and J. D. Kim (2000), Studies on the biological activities of the extract from *Hovenia dulcis* THUNB, *Inst. Agr. Sci., Kangwon Nat'l. Univ.* 11, 1-11.
4. D.-C. Kim, M.-J. In, and H. J. Chae (2001), *Functional foods*, Hangchang Press, Seoul, Korea.

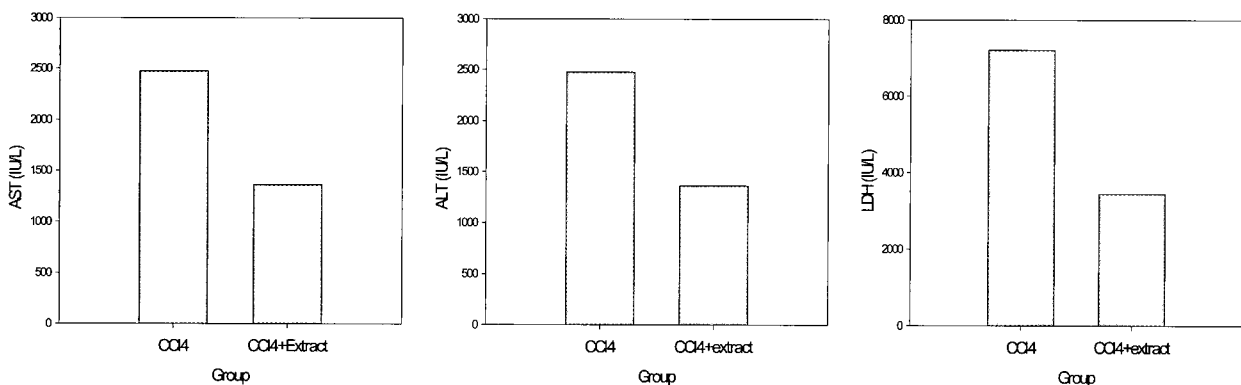


Figure 6. Effect of oral administration of fruit extract on serum AST, ALT, and LDH level in rats at 24 hr after CCl<sub>4</sub> and CCl<sub>4</sub> + *Hovenia dulcis* extract injection.

5. Jeong, C. H. and K. H. Shim (1999), Antimicrobial activity of *Hovenia dulcis* THUNB leaf and fruit stalk extracts, *J. Inst. Agri. & Fishery Develop., Gyeongsang Nat'l. Univ.* **18**, 25-32.
6. Yohsikawa, M., T. Murakami, T. Ueda, S. Yoshizumi, K. Ninomiya, N. Murakami, H. Matsuda, M. Saito, W. Fujii, T. Tanaka, and J. Yamahara (1997), Bioactive constituents of chinese natural medicines. Absolute stereostructures of new dihydroflavonols, hovenitis I, II and III, isolated from *Hovenia semen seu fructus*, the seed and fruit of *Hovenia dulcis*, *YAKUGAKU ZASSHI* **117**, 108-118.
7. Hase, K. and P. Basnet (1997), Effect of *Hovenia dulcis* on lipopolysaccharide-induced liver injury in chronic alcohol-fed rats, *J. Trad. Med.* **14**, 28-33.
8. Sakai, K., T. Yamane, Y. Saitoh, C. Ikawa, and T. Nishihata (1987), Effect of water extracts of crude drugs in decreasing blood alcohol concentrations in rats, *Chem. Pharm. Bull.* **35**, 4597-4604.
9. Yohsikawa, M. and T. Murakami (1996), Four methyl-migrated 16,17-seco-dammarane triterpene glycosides from chinese natural Medicine, *Hovenia semen seu fructus*, the seeds and fruit of *Hovenia dulcis* Thunb, *Chem. Pharm. Bull.* **44**, 1736-1743.
10. Kim, M. H. and O. H. Kwon (1992), Relationship hepatic triglyceride accumulation by ethanol to activity of lipogenic enzymes in rat liver, *Korea Biochem. J.* **25**, 499-503.
11. Burtist, C. A., E. R. Ashwood (1994), The textbook of clinical chemistry, 2nd ed., p788, WB saunders company, Philadelphia.
12. An, S. W., Y. G. Kim, M. H. Kim, B. I. Lee, S. H. Lee, H. I. Kwon, B. Hwang, and H. Y. Lee (1999), Comparison of hepatic detoxification activity and reducing serum alcohol concentration of *Hovenia dulcis* THUNB and *Alnus japonica* steud, *Korean J. Medicinal Crop Sci.* **7**, 263-268.