Kor. J. Hort. Sci. Technol. 28(4):685-690, 2010

추출조건이 노니 부정근에 함유된 rubiadin의 추출 효율에 미치는 영향

김명기[1,2] · 정철승[2] · 신용국[2] · 박경희[2] · 이운장[2] · 이은정[3,4] · 백기엽[4*]

[1]충북대학교 원예학과, [2]충북테크노파크 보건의료산업센터, [3]씨비엔 플랜텍, [4]충북대학교 첨단원예기술개발연구센터

Effects of Extraction Condition on Extraction Efficiency of Rubiadin in Adventitious Roots of Noni (*Morinda citrifolia*)

Myong-Ki Kim[1,2], Cheol-Seung Jeong[2], Yong-Kook Shin[2], Kyong-Hee Park[2], Woon-Jang Lee[2], Eun-Jung Lee[3,4], and Kee-Yoeup Paek[4*]

[1]Department of Horticulture, Chungbuk National University, Cheongju 361-763, Korea
[2]Health Industry Center, Chungbuk Technopark, Cheongwon 363-883, Korea
[3]CBN PLANTECH, Cheongju 361-763, Korea
[4]Research Center for the Development of Advanced Horticultural Technology, Chungbuk National University, Cheongju 361-763, Korea

Abstract. Rubiadin, a major compound of noni (*Morinda citrifolia*) adventitious root, is highly valued in pharmaceutical industry due to hepatoprotective activity. To dissect rubiadin's effective extraction condition, extraction process of noni adventitious roots was performed with different solvent types, ratio of water to methanol (water, 20, 40, 60, 80, and 100% of methanol), extraction time, and extraction method. In contrast, we also developed a reverse- phase HPLC assay method to determine rubiadin from noni adventitious roots. The HPLC assay of rubiadin was performed by C-18 column using a gradient solvent system of methanol and water with UV detector at 280 nm. The extraction efficiency of different types of solvents were increased in order of methanol (0.08%) > ethanol (0.05%) > acetonitrile (0.03%) > acetone (0.02%) and methylene chloride (0.02%). The results of rubiadin extraction using different solvents showed that 1 hour of ultrasonic extraction was effective in order of 60% methanol (0.21%) > 80% methanol (0.13%) > 100% methanol (0.07%), 40% methanol (0.07%) and 2 hours of reflux extraction was effective in order of 60% methanol (0.21%) > 40% methanol (0.17%) > 80% methanol (0.14%). To compare the extraction efficiency of rubiadin according to the extraction methods and time for high rubiadin content, the extracts of rubiadin in noni adventitious roots were isolated with the methods of ultrasonic extraction, shaking extraction and reflux extraction. Rubiadin extracted from the methods of ultrasonic waves and shaking displayed the highest contents at 8 and 24 hours, respectively.

***Additional key words*:** HPLC, methanol, reflux extraction, shaking extraction, ultrasonic extraction

서 언

노니(*Morinda citrifolia* L.)는 꼭두서니과(Rubiaceae)에 속하는 다년생 상록관목으로서 2000년 전부터 동남아시아 지역에서 식품, 향신료, 음료, 자양강장제 등 다양한 분야에 사용되고 있으며 뿌리, 줄기, 잎, 열매 등 식물체의 전체 부위가 이용된다. 특히 열매는 주스 등 다양한 제품으로 만들어지고 있다(Chan-Blanco 등, 2006; Yoo 등, 2004).

노니 식물체에서 이미 알려진 화합물은 160여 종으로 식물체 부위별로 다양한 성분들이 분포하고 있다. 잎 부분에는 ursolic acid, citrifolinoside B 등이 있으며, 뿌리 부분에는 anthraquinone 계열의 화합물인 morindone, damnacanthal, morenone 1, morenone 2, morindine, soranjidiol, alizarin, rubiadin 등이 함유되어 있으며, 열매 부위에는 ascorbic acid, asperulosidic acid, caprylic acid 등이 있다(Chan-Blanco 등, 2006). Farine 등(1996)은 열매 부위에서 휘발성 유기화합물을

***Corresponding author:** paekky@chungbuk.ac.kr

※ Received 14 May 2010; Accepted 14 July 2010. 이 논문은 지식경제부 지역산업기술개발사업 연구비지원에 의하여 연구되었음.

GC-MS로 분석한 결과 51종의 화합물이 발견되었으며, 이들 성분의 구성은 acids(82.88%), alcohols(5.1%), esters(2.76%), ketones(0.41%), lactones(0.18%), 기타 화합물(7.67%)로 되어 있다고 보고하였다.

노니에 함유된 화합물들은 항균효과(Babu 등, 2003), 유리 radical 소거 효과(Yang 등, 2007), 항암(Hiramatsu 등, 1993; Yoo 등, 2004), 항산화(Choi 등, 2005; Zin 등, 2002), 항염증(Choi와 Sim, 2005), 항알러지(Younos 등, 1990) 등 다양한 효과가 있음이 보고되고 있다.

Rao 등(2006)은 노니에서 추출 분리한 rubiadin이 CCl_4 유도 간 손상에 대한 간 보호 효과가 농도에 따라 의존적으로 나타났다고 보고하여 rubiadin의 효능에 대한 연구가 일부 진행되였으나 아직 미진한 수준이다. Jasril 등(2000)은 *Morinda elliptica*를 추출 정제하여 anthraquinone 계열 중에서 가장 대표적인 rubiadin의 구조분석을 하였고, rubiadin의 화학식은 $C_{15}H_{10}O_4$, 분자량은 254이며 구조는 Fig. 1과 같다고 보고하였다. 한편, Lee 등(2006)은 파극천(*Morinda officinals*)에서 rubiadin을 순수분리하여 함량분석을 하였으나 함량이 미미하다고 보고하였다.

이와 같이 노니는 대표적인 약용식물로 많은 생리활성물질을 함유하고 있으나, 목본류로 수확까지의 기간이 8년 이상 길고 재배지도 한정되어 있어 식물체에서 직접 생리활성물질을 추출하여 상업화하는 데는 여러 가지 제약이 있다. 또한 노지 재배 시 생리활성물질이 재배 환경에 따라 달라질 수 있으므로 일정한 생리활성물질을 함유한 식물체를 확보하는 것이 어렵다. 한편, 식물조직배양기술은 모식물체의 세포 또는 기관을 무균상태인 배양 환경에서 번식하는 방법으로써 빠른 번식 속도와 2차 대사산물의 함량을 조절할 수 있는 장점이 있다. 최근에 식물조직배양기술을 이용한 노니 세포에서 anthraquinone 을 생산하기 위한 연구가 꾸준히 진행되고 있다(Bassetti 등, 1995; Stalman 등, 2003). 즉, 노니를 세포 및 부정근 배양방법에 의해 생산할 경우 단시간 내에 노니의 유효성분을 생산할 수 있으며, 토양 및 기후 등의 영양 없이 균일한 원료를 지속적으로 공급할 수 있다.

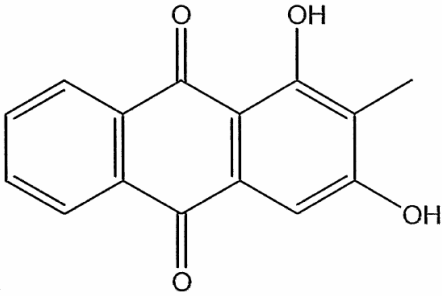

Fig. 1. Chemical structure of rubiadin.

꼭두서니과 식물체나 조직 배양체에서의 anthraquinone의 추출 및 함량분석에 대한 연구는 다수 보고 되었으나 노니의 주요 생리활성물질인 rubiadin의 함량분석 및 추출조건에 대한 연구는 아직 미진한 상태이다. 따라서 본 연구에서는 노니의 생리활성물질을 균일하게 대량생산 할 수 있는 조직 배양 된 노니 부정근의 rubiadin 함량분석방법을 확립하고 다양한 추출용매 및 추출방법을 통하여 효율적인 추출조건을 제시하고자 하였다.

재료 및 방법

식물재료

시료는 충북대학교 첨단원예기술개발센터에서 조직 배양된 노니 부정근을 60℃에서 48시간 동안 열풍건조 후 분쇄하여 시료로 사용하였다.

시약 및 기기

부정근의 시료 추출 및 분석용으로 사용된 용매는 B&J사(USA)의 HPLC급 시약을 사용하였고 고성능액체크로마토그래프(HPLC)는 1200series(Agilent, USA)로 분석하였다.

표준품 제조

Rubiadin(Chromadex, USA) 5mg을 HPLC용 메탄올에 녹이고 이것을 stock solution으로 단계적으로 희석하여 검량선 표준용액으로 제조하였다. 표준용액 20μL를 HPLC에 주입하여 농도와 면적에 따른 검량선으로 함량을 계산하였다.

HPLC 분석조건

HPLC는 1200series(Agilent, USA), column은 eclipse XDB C18(4.6 × 250mm, 5um, Agilent)를 사용하였다. 이동상으로는 메탄올 농도를 50%에서 70%까지 단계적으로 농도구배를 주었으며(Table 1), 유속은 1.0mL·min^{-1}, 파장 280nm

Table 1. Composition of mobile phase.

Time (min)	Mobile phase	
	Methanol (%)	1% acetic acid in water (%)
0	50	50
10	55	45
20	60	40
40	65	35
60	70	30
75	70	30
77	50	50
90	50	50

에서 분석하였다.

추출조건

추출용매

노니 부정근의 유효활성물질인 rubiadin의 용매별 추출효율을 확인하기 위하여 극성이 다른 여러 종류의 추출용매를 사용하였다. 사용된 추출용매로는 물, 에탄올, 메탄올, 아세토니트릴, 아세톤, 메틸렌클로라이드로 HPLC급 용매를 사용하였다. 시료 1g에 각 용매별로 100mL를 넣고 초음파 추출기(5510, Bransonic, USA)를 이용하여 실온에서 추출하였으며 주파수는 42kHz이었다. 추출된 시료는 0.22um syringe filter로 여과하여 여액을 분석용 검액으로 사용하였다.

추출용매 비율

추출용매 비율에 따른 rubiadin의 함량 변화를 보기 위해 추출용매 중 추출효율이 가장 좋은 메탄올에 물의 혼합비율을 달리하여 추출하였다. 혼합비율은 물, 20%, 40%, 60%, 80%, 100%(v/v) 메탄올로 하였다. 추출용매에 따른 rubiadin의 함량 비교는 초음파 추출기, 환류냉각 추출기(BS-31, 창신과학, Korea)로 추출하였다. 초음파추출은 시료 1g에 각 용매별로 100mL를 넣고 60분간 추출하였으며, 환류냉각추출은 80℃에서 2시간 추출 후 여과하여 분석용 검액으로 사용하였다.

추출시간 및 추출방법

노니 부정근의 적정 추출시간을 모색하고자 추출방법별로 추출시간을 달리하여 추출하였다. 초음파추출은 추출효율이 가장 좋은 60% 메탄올의 추출용매비로 0.5, 1, 2, 4, 6, 8, 10시간 동안 추출하였다. 진탕추출은 shaker(BS-31, Jeio-tech, Korea)로 6, 12, 24, 48 시간 동안 상온에서 150rpm으로 진탕 추출하였다. 한류냉각추출 추출기를 이용한 추출은 80℃에서 2, 4, 6, 8시간 동안 추출하였다.

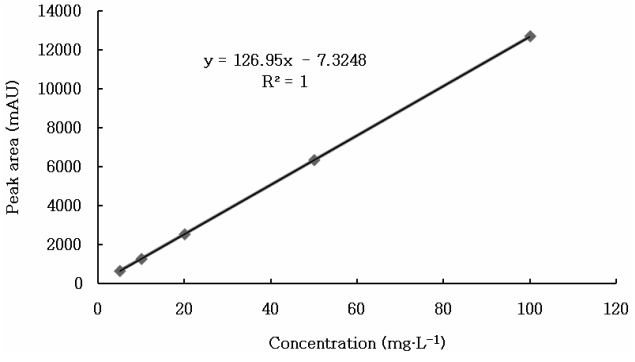

Fig. 2. Calibration curve of standard solution.

결과 및 고찰

Rubiadin HPLC 분석

Rubiadin 표준품 및 추출 시료에 대한 HPLC chromatogram은 Fig. 3에서와 같으며 표준품에 대한 검량선은 126.9x-7.324(r^2=1)로 직선성이 인정되었다(Fig. 2). HPLC chromatogram에서 rubiadin의 retention time은 55분대에서 확인되었다.

추출용매에 따른 rubiadin의 함량

추출용매에 따른 rubiadin의 함량은 Fig. 4와 같다. 초음파 추출기를 이용하여 1시간 동안 추출한 결과 추출용매 중 메탄올에서 0.08%로 가장 좋은 추출효과를 보여 에탄올(0.05%)보다 1.6배 가량 추출효율이 좋았다. 아세토니트릴

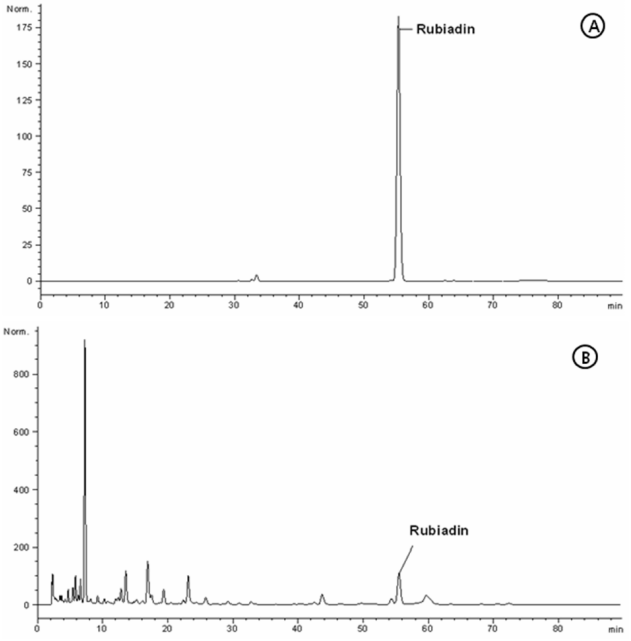

Fig. 3. HPLC chromatogram of rubaidin standard (A) and extract from noni adventitious roots (B).

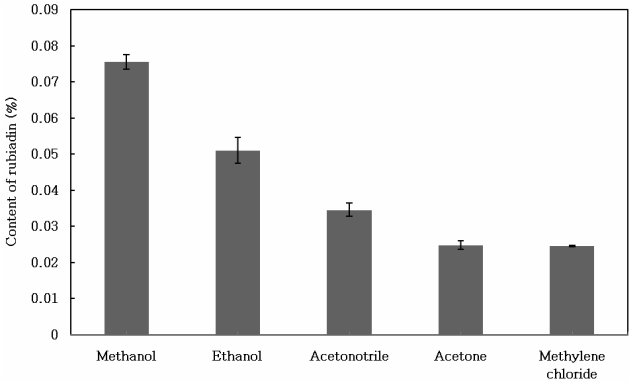

Fig. 4. Contents of rubiadin in noni adventitious roots as affected by extraction solvents. Error bars present mean ± SE (n=3).

추출 시 rubiadin의 함량은 0.03% 이었고 아세톤(0.02%), 메틸렌클로라이드(0.02%)는 상대적으로 낮은 추출효율을 보여 추출용매로는 적합하지 않은 용매로 판단된다. Hemwimol 등(2006)은 노니 뿌리에서 anthraquinone을 용매별로 초음파 추출 하였을 때 아세톤 > 아세토니트릴 > 메탄올 > 에탄올 순으로 회수율이 좋다고 보고하였다. 노니 뿌리를 마이크로웨이브로 15분간 추출 한 경우 메탄올에서 anthraquinone의 가장 좋은 회수율을 보였으며, 25℃에서 45분간 침지했을 때는 아세톤에서 추출효율이 좋다고 보고하였다(Hemwimon 등, 2007). 한편, Sato 등(1992)에 의하면 rubidia tinctrum을 클로로포름으로 추출하였을 때 rubiadin은 7%(area percent relative to largest peak as 100%)의 추출을 보였다. 노니 부정근에서 rubiadin을 메탄올로 추출하였을 때 추출효율이 좋은 것은 다른 추출용매에 비해 메탄올에 대한 용해도가 높기 때문으로 생각된다. 따라서 메탄올로 추출용매를 선정하여 추출 시험을 진행하였다.

추출용매 비율에 따른 rubiadin의 함량

초음파 추출기로 1시간 동안 노니 부정근을 추출용매 비율에 따라 추출하여 rubiadin의 함량을 분석한 결과 60% 메탄올에서 0.21%로 가장 높은 함량을 보였다. 60% 메탄올로 추출할 때 rubiadin의 함량은 80% 메탄올에서 0.13% 보다 1.6배 가량 높은 추출효율을 보였다. 100% 메탄올의 경우 rubiadin의 함량은 0.07%로 40% 메탄올에서 0.07%와 같은 함량으로 추출 효율 낮았고, 20% 메탄올 이하에서는 거의 추출이 이루어지지 않았다(Table 2). Hemwimol 등(2006)의 연구 결과에 따르면 노니 뿌리의 anthraquinone을 용매 비율별로 초음파 및 침지추출을 통해 함량을 분석한 결과 50% 에탄올에서 가장 추출효과가 좋았으며 20% 및 100% 에탄올에서는 상대적으로 낮은 회수율을 보이고 있다.

환류냉각 추출기를 이용하여 2시간 동안 추출용매 비율에 따른 rubiadin의 함량 변화를 조사한 결과 60% 메탄올에서 0.21%로 추출효율이 가장 좋았다(Table 2). 40% 메탄올로 추출하였을 때는 rubiadin의 함량은 0.17%이었고 80% 메탄올 및 100% 메탄올에서는 각각 0.14% 및 0.13%의 함량을 보였다.

추출용매 비율에 따른 rubiadin의 함량을 분석한 결과 초음파 추출기와 환류냉각 추출기를 이용한 추출방법 모두 60% 메탄올에서 가장 추출효과가 좋았다. 100% 메탄올보다 60%에서 추출효율이 좋은 것은 일정 비율의 물이 함유될 때 건조된 시료의 조직을 팽창시켜 용매가 시료 공극 내부로 더 많이 침투되어 추출효과가 좋은 것으로 생각된다.

Table 2. Effects of extraction solvents on contents of rubiadin in tissue noni adventitious roots.

Extraction Solvents	Rubiadin content (%)	
	Ultrasonic extraction (1h, room temp.)	Reflux extraction (2h, 80℃)
Water	Trace	Trace
20% methanol	Trace	Trace
40% methanol	0.07	0.17
60% methanol	0.21	0.21
80% methanol	0.13	0.14
100% methanol	0.07	0.13

추출방법 및 추출시간에 따른 rubiadin의 함량

노니 부정근을 shaker로 진탕추출함으로서 추출효율을 극대화 시키고자 하였다. 진탕추출은 시간이 증가함에 따라 rubiadin의 함량이 증가하여 24시간 동안 추출하였을 때 0.48%로 가장 효과적인 추출을 보였으나, 48시간 동안 추출 시 0.45%로 다소 감소하는 경향을 보였다(Fig. 5). 이는 추출시간이 증가함에 따라 오히려 rubiadin이 분해 되어 함량이 감소한 것으로 보여진다. 환류냉각 추출기를 이용하여

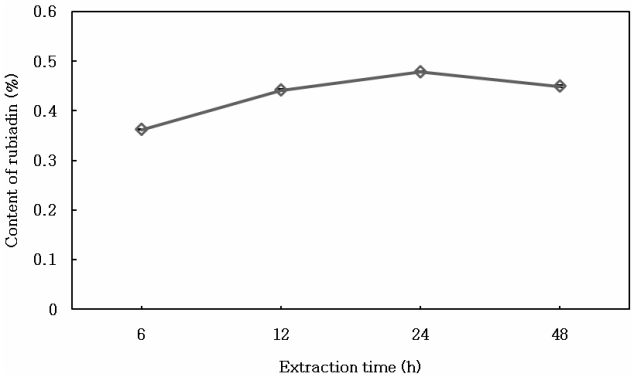

Fig. 5. Contents of rubiadin in noni adventitious roots as affected by extraction time with shaker. Error bars present mean ± SE (n=3).

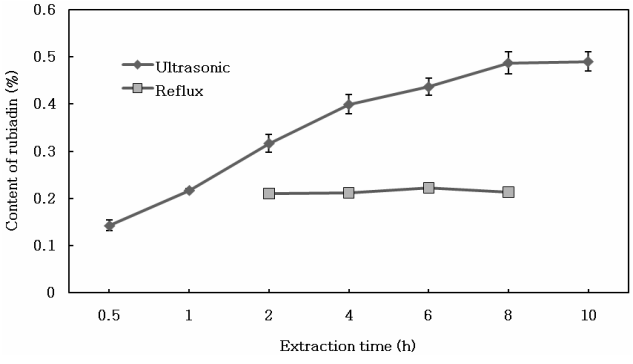

Fig. 6. Contents of rubiadin in noni adventitious roots as affected by extraction time with reflux and ultrasonic extraction. Error bars present mean ± SE (n=3).

노니 부정근을 추출한 결과 시간에 따른 rubaidin의 함량 변화는 거의 없었다(Fig. 6). 환류냉각추출 시 6시간 동안 추출하였을 때 0.22%로 가장 좋으나 2시간 동안 추출 시 0.21%와는 차이가 미미하여 환류냉각추출은 2시간이 적당한 것으로 판단된다. 초음파 추출기를 이용한 추출조건 시험에서는 추출시간에 따라 증가하여 8시간 동안 추출 하였을 때 rubiadin의 함량은 0.49%로 30분 추출하였을 때의 함량인 0.14%에 비해 3.5배 가량이 증가하였다. 하지만 10시간 동안 추출하였을 때는 0.49%로 8시간과 같은 추출효율을 보여 증가하지는 않았다(Fig. 6). 따라서 노니 부정근에서 rubiadin을 초음파추출할 경우 8시간 동안 추출하는 것이 적정한 추출시간으로 판단되었다.

Hemwimon 등(2007)은 노니 뿌리의 anthraquinone 추출에서 에탄올을 사용하여 마이크로웨이브, soxhlet 및 초음파 추출기로 회수율을 비교하였다. 추출결과 soxhlet법에서 100% 에탄올로 4시간 동안 추출한 조건에서 97.7%의 회수율을 보였으며, 초음파로 60분 동안 추출했을 때 62.2%, 3일간 상온에서 침지 한 경우 63.3%의 회수율이 있다고 보고하였다. 또한 마이크로웨이브로 30분 동안 추출하였을 때 65.9%의 회수율을 보였지만 물과 에탄올 비율을 달리하여 80% 에탄올에서 15분 동안 추출하였을 때 회수율이 95.9%로 증가하여 100% 에탄올보다 좋은 회수율을 얻었다고 보고하였다. 한편, Pongnaravane 등(2006)은 노니 뿌리에서 에탄올을 이용하여 anthraquinone을 3일간 실온에서 교반 추출한 결과 81.1%의 회수율을 보였으며, 60℃에서 2시간 동안 초음파추출 시 79.6%, 78℃에서 4시간 soxhlet법으로 추출한 결과 97.9%의 회수율을 보여 soxhlet법으로 추출할 때 효과가 좋다고 보고하였다.

일반적으로 환류냉각추출법은 추출시간이 오래 걸리는 단점이 있지만 추출효율이 좋아 많이 사용되는 방법이다. 하지만 rubiadin의 추출에서는 초음파추출이나 진탕추출방법에 비해 추출효율이 좋지 않았다. 노니 부정근의 추출방법 및 추출시간에 따른 rubiadin 함량은 초음파추출 및 진탕추출에서 각각 8 및 24 시간 추출하였을 때 가장 좋은 추출효과를 보였다.

초 록

노니(*Morinda citrifolia*) 부정근의 주요 성분인 rubiadin은 간 보호 효과가 있어 제약산업에서 높은 가치가 있다. 노니 부정근의 주요 유효성분인 rubiadin의 효율적인 추출조건을 규명하고자 용매 종류, 물과 메탄올의 비율(물, 20%, 40%, 60%, 80%, 100%), 추출시간 및 추출방법을 달리하여 추출하였다. 노니 부정근에서의 rubiadin의 함량분석은 HPLC 이용 분석조건을 확립하였으며, C-18 컬럼을 사용하여 280nm에서 메탄올과 물로 농도구배를 주어 분석하였다. 용매별 추출효율은 메탄올(0.08%) > 에탄올(0.05%) > 아세토니트릴(0.03%) > 아세톤(0.02%) 및 메틸렌클로라이드(0.02%) 순으로 증가하였다. 메탄올에 물의 혼합 비율을 달리하여 초음파 추출기로 1시간 동안 추출한 결과 60% 메탄올(0.21%) > 80% 메탄올(0.13%) > 100% 메탄올(0.07%) 및 40% 메탄올(0.07%) 순으로 효과적이었으며, 환류냉각 추출기로 2시간 동안 추출한 결과 60% 메탄올(0.21%) > 40% 메탄올(0.17%) > 80% 메탄올(0.14%) 용매처리구 순으로 효율이 좋았다. 추출방법 및 추출시간에 따른 rubiadin의 추출 효율을 비교하기 위해 환류냉각추출 및 초음파추출, 진탕추출법으로 추출하였다. 추출방법 및 추출시간에 따른 rubiadin의 추출효율은 초음파추출 및 진탕추출에서 각각 8 및 24시간 동안 추출했을 때 효율적이었다.

추가 주요어 : HPLC, 메탄올, 환류냉각추출, 진탕추출, 초음파추출

인용문헌

Babu, K.S., P.V. Srinivas, B. Praveen, K.H. Kishore, U.S. Murty, and J.M. Rao. 2003. Antimicrobial constituents from the rhizomes of *Rheum emodi*. Photochemistry 62:203-207.

Bassetti, L., M. Hagendoorn, and J. Tramper. 1995. Surfactnat-induced non-lethal release of anthraquinones from suspension cultures of *Morinda citrifolia*. J. Biotechnol. 39:149-155.

Chan-Blanco, Y., F. Vaillant, A.M. Perez, M. Reynes, J.M. Brillouet, and P. Brat. 2006. The noni fruit (*Morinda citrifolia* L.): A review of agricultural research, nutritional and therapeutic properties. J. Food Compos. and Anal. 19:645-654.

Choi, B.C. and S.S. Sim. 2005. Anti-inflammatory activity and phospholiphase A_2 inhibition of noni (*Morinda citrifolia*) methanol extracts. Yakhak Hoeji 49:405-409.

Choi, H.Y., B.C. Choi, and S.S Sim. 2005. Antioxidant effects of Noni (*Morinda citrifolia*) extracts treated with HCl and trypsin. Yakhak Hoeji 49:410-415.

Farine, J.P., L. Legal, B. Moreteau, and Le J.L. Quere. 1996. Volatile components of ripe fruits of *Morinda citrifolia* and their effects on *Drosophila*. Phytochemistry 41:433-438.

Hemwimol, S., P. Pavasant, and A. Shotipruk. 2006. Ultrasound-assisted extraction of anthraquinones from roots of *Morinda citrifolia*. Ultrason. Sonochem. 13:543-548.

Hemwimon, S., P. Pavasant, and A. Shotipruk. 2007. Microwave-assisted extraction of antioxidative anthraquinones from roots of *Morinda citrifolia*. Sep. and Purif. Technol. 54:44-50.

Hiramatsu, T., M. Imoto, T. Koyano, and K. Umezawa. 1993. Induction of normal phenotypes in ras-transormed cells by damnacanthal from *Morinda citrifolia*. Cancer Lett. 73:161-166.

Jasril, N.H., M.A. Abdullah, N.H. Ismail, A.M. Ali, M. Marziah, A.B. Ariff, M. Kitajima, H. Takayama and N. Aimi. 2000. Anthraquinones from cell suspension culture of *Morinda elliptica*. Natural Product Sciences 6:40-43.

Lee, H.W., S.Y. Park, B.C. Choo, J.I. Chun, A.Y. Lee, and H.K. Kim. 2006. Standardization of *Morinda officinalis* How. Kor. J. Pharmacogn. 37:241-245.

Pongnaravane, B., M. Goto, M. Sasaki, T. Anekpankul, P. Pavasant, and A. Shotipruk. 2006. Extraction of anthraquinones from roots of *Morinda citrifolia* by pressurized hot water: Antioxidant activity of extracts. J. Supercrit. Fluids 37:390-396.

Rao, G.M., C.V. Rao, P. Pushpangadan, and A. Shirwaikar. 2006. Hepatoprotective effects of rubiadin, a major constituent of *Rubia cordifolia* Linn. J. Ethnopharmcol. 103:484-490 (Abstr.).

Sato, K., Y. Goda, Y. Kawasaki, E. Okuyama, K. Yoshihira, Y. Ozeki, and M. Nakamura. 1992. Characteristic of anthraquinone production in plant roots and cell suspention cultures of *Rubia tinctorum* and *R. akane*. Plant tissue culture Lett. 9:220-226.

Stalman, M., A.M. Koskamp, R. Luderer, J.H.J. Vernooy, J.C. Wind, G.J. Wullems, and A.F. Croes. 2003. Regulation of anthraquinone biosysnthesis in cell cultures of *Morinda citrifolia*. J. Plant Physiol. 160:607-614.

Yang, J., R. Paulino, S. Janke-Stedronsky, and F. Abawi. 2007. Free-radical-scavenging activity and total phenols of noni (*Morinda citrifolia* L.) juice and powder in processing and storage. Food Chem. 102:302-308.

Yoo, J.S., J.T. Hwang, E.S. Yoo, and B.S. Cheun. 2004. Study on herbal extract on the Nonim (*Morinda citrifolia*). Kor. J. Biotechnol. Bioeng. 19:110-112.

Younos, C., A. Rolland, J. Fleurentin, M.C. Lanhers, R. Misslin, and F. Mortier. 1990. Analgesic and behavioral effects of *Morinda citrifolia*. Planta Medicine 56:430-434.

Zin, Z.M., A. Abdul-Hamid, and A. Osman. 2002. Antioxidative activity of extracts from Mengkudu (*Morinda citrifolia* L.) root, fruit and leaf. Food Chem. 78:227-231.