

메꽃(*Calystegia japonica*) 잎 추출물의 함유성분과 생리활성에 관한 연구

최복동 · 전호성¹ · 이양숙 · 주은영 · 김남우*

대구한의대학교 한방생약자원학과, ¹(주)정문 한방생명자원연구소

Analysis of the Contents and Physiological Activities of *Calystegia japonica* Leaf Extracts

Bok-Dong Choi, Ho-Sung Jeon¹, Yang-Suk Lee, Eun-Young Joo, and Nam-Woo Kim*

Department of Herbal Biotechnology, Daegu Haany University

¹Research Institute for Biomedical Resources, JungMon

Abstract This study examined the physiological activities as well as the total polyphenol and flavonoid content of water extract (WE), ethanol extract (EE) and hot water extract of *Calystegia japonica* leaves under high pressure (HWE). The xanthine oxidase inhibitory rate of EE was the highest with a value of 98.89% at a concentration of 1.0 mg/mL, whereas the rate of WE and HWE was over 90% at a concentration of 0.3 mg/mL. The superoxide dismutase (SOD)-like activity of HWE was the highest at 18.88%. The nitrite scavenging abilities were 64.59-66.46% at conditions of pH 1.2 and 1.0 mg/mL, and 52.78-55.89% at pH 3.0. The electron donating ability of EE was the highest with a value of 84.80% at a concentration of 0.1 mg/mL. All extracts showed the highest degree of electron donating at the concentration of 0.1 mg/mL, and this effect decreased as the extract concentration increased. The EE had the highest content of total polyphenol compound (173.89 mg/g) and flavonoid compounds (40.68 mg/g).

Key words: *Calystegia japonica*, xanthine oxidase, SOD like activity, nitrite-scavenging ability, electron donating ability, polyphenol, flavonoid

서 론

현대인들은 생활환경과 식생활 패턴의 변화 등으로 과도한 스트레스가 유발됨으로 인하여 암, 심장질환, 동맥경화, 고혈압 등과 같은 각종 성인병이 증가하고 있다. 이러한 질병의 원인으로 superoxide anion radical(O₂⁻), hydroxyl radical(OH), singlet oxygen (¹O₂) 및 hydrogen peroxide(H₂O₂) 등과 같은 활성산소를 주목하고 있으며(1,2), 이러한 활성산소의 반응성을 감소 또는 무력화 할 수 있는 물질의 발굴과 이용에 관한 연구가 활발히 이루어지고 있다. 식·약용식물들 대부분 부식 재료나 구황작물로써 유용하게 이용되었으며, 특유의 맛과 향, 약효, 계절감 등 다양한 이유로 지금까지도 널리 애용되고 있다(3). 특히 최근에는 건강에 대한 관심이 증가하면서 생체의 리듬조절, 질병 치료 및 노화억제 등 생리활동에 영향을 미치는 여러 가지 건강식품이나 자연 식품에 식·약용식물들의 수요가 증가하고 있다(4).

메꽃(*Calystegia japonica*)은 메꽃과(Convulvaceae)의 덩굴성 다년 생 초본으로 초봄에 채취하여 산야채로 이용되며, 이뇨, 강장, 피로

회복 및 혈당저하 등의 효능이 있는 것으로 알려져 있어 민간에서는 당뇨병과 고혈압의 치료 및 완화를 위하여 이용하던 야생 식용 식물이다. 한방에서는 메꽃의 전초를 선화(旋花), 구구양(狗狗秧), 고자화(藪子花)라고도 하며, 성질은 따뜻하고, 맛은 달며, 독이 없으며, 기를 보하고(補氣), 열을 내리며(淸熱), 얼굴의 주근깨를 없애고 혈색을 좋게 하며, 혈압강하의 효능이 있다고 하였다(5,6).

메꽃에 관한 선행 연구로는 메꽃의 생물학적 특성(7), 형태와 유전적 특성(8), 메꽃속 식물의 분류학적 동정을 위한 성분분석(9)에 대해 보고되어 있으며, 부위별 휘발성 풍미성분(10)에 대한 연구 등이 이루어졌다. 그러나 약리, 식품학적 효능을 지닌 메꽃에 대한 생리활성에 관한 연구는 이루어진 바 없다.

이에 본 연구는 메꽃 잎을 물과 에탄올을 용매로 추출하여 각 추출물에 대한 xanthine oxidase 저해, SOD 유사활성, 아질산염 소거, 전자공여능 그리고 메꽃 추출물에 함유된 폴리페놀과 플라보노이드 화합물의 총 함량을 측정함으로써 생리활성과 기능성 식품으로서의 개발 가능성에 대하여 알아보하고자 한다.

재료 및 방법

실험 재료

본 실험 재료인 메꽃(*Calystegia japonica*) 잎은 2007년 5월 중순 경북 경산시 야산에서 동정 후 채집하였으며, 세척하여 물기를 제거하고 열풍순환건조기(DR-0160, Hankwang, Anyang, Korea)를 이용하여 40°C 조건으로 12시간 건조하여 추출물 제조를 위한 시료로 사용하였다.

*Corresponding author: Nam-Woo Kim, Department of Herbal Biotechnology, Daegu Haany University, Gyeongsan, Gyeongbuk 712-715, Korea

Tel: 82-53-819-1438

Fax: 82-53-819-1440

E-mail: tree@dhu.ac.kr

Received October 14, 2009; revised November 26, 2009;

accepted December 7, 2009

추출물 제조

채집하여 건조된 메꽃 잎은 환류냉각관을 부착시킨 둥근 플라스크에 건체 당 10배에 해당하는 증류수와 70% 에탄올을 넣고 각각 80°C와 60°C의 수욕 상에서 3시간 동안 추출하고 이 과정을 3회 반복하여 물 추출물(WE; water extract)과 에탄올 추출물(EE; ethanol extract)을 얻었다. 그리고 열수 추출물(HWE; Hot water extract under high pressure)은 시료의 30배에 해당하는 증류수를 넣고 압력추출기(DM-701, Daehan median, Seoul, Korea)를 이용하여 110°C, 1.5 기압 하에서 3시간 동안 추출하였다. 메꽃 잎의 3가지 추출물은 filter paper(Whatman No 2, Maidstone, England)로 여과 하고 회전감압농축(Eyela 400 series, Eyela, Saitawa, Japan)한 후 동결건조(FD 5510 SPT, Ilshin, Seoul, Korea)하여 분말로 제조하였다. 이를 일정 농도로 3차 증류수 및 80% 에탄올에 희석하여 생리활성을 측정하기 위한 시료액으로 사용하였다. 대조구는 추출물 대신 합성 항산화제인 BHA(Butylated hydroxy anisole, Sigma Co., St. Louis, MO, USA)와 천연항산화제인 아스코르브산(Sigma Co., USA)을 추출물과 동일한 농도로 첨가하여 생리활성을 비교하였다.

Xanthine oxidase 저해 활성

Xanthine oxidase 저해활성은 Stirpe와 Corte(11)의 방법에 따라 증류수로 일정 농도로 희석한 시료액 0.1 mL에 0.1 M potassium phosphate buffer(pH 7.5) 0.6 mL와 xanthine 2 mM을 녹인 기질액 0.2 mL를 첨가하였다. 여기에 0.2 U/mL 농도의 xanthine oxidase (Sigma Co., USA) 1 mL를 넣고 25°C에서 15분간 반응시킨 후 1 N HCl 1 mL를 가하여 반응을 정지시켰다. 이것을 spectrophotometer (Shimadzu U-1201, Tokyo, Japan)를 이용하여 반응액 중에 생성된 uric acid를 292 nm에서 흡광도를 측정하여 시료액의 첨가구와 무첨가구의 흡광도 감소를 백분율(%)로 나타내어 xanthine oxidase 저해활성으로 표시하였다.

SOD 유사활성능(Superoxide dismutase-like activity) 측정

SOD 유사활성은 Marklund와 Marklund(12)의 방법에 따라 pyrogallol의 산화된 양을 측정하여 SOD 유사활성을 평가하였다. 일정 농도의 시료 0.2 mL에 pH 8.5로 보정한 tris-HCl buffer(50 mM tris amino-methane+10 mM EDTA) 2.6 mL와 7.2 mM의 pyrogallol(Sigma Co., USA) 0.2 mL를 첨가하여 25°C에서 10분간 반응 후, 1 N HCl 0.1 mL를 가하여 반응을 정지시켰다. 반응액 중 산화된 pyrogallol을 420 nm에서 흡광도를 측정하여 시료액 첨가구와 무첨가구 사이의 흡광도의 차이를 백분율(%)로 나타내어 SOD 유사활성능으로 표시하였다.

아질산염 소거능(Nitrite-scavenging ability) 측정

아질산염 소거능은 Kato 등(13)의 방법에 따라 1 mM의 아질산염 용액 2 mL에 증류수로 희석한 메꽃 잎 추출물을 1 mL씩 첨가하고, 0.1 N HCl과 0.2 M citrate buffer를 완충용액으로 하여 반응용액의 pH를 각각 1.2, 3.0, 6.0으로 보정한 다음, 반응액의 부피를 10 mL로 하여 37°C에서 1시간 동안 반응시켰다. 이를 1 mL씩 취하고 2% acetic acid 5 mL를 가하여 griess 시약(A:B=1:1, A; 1% sulfanilic acid in 30% acetic acid, B; 1% naphthyl-amine in 30% acetic acid) 0.4 mL 첨가, 혼합하여 실온에서 15분간 반응 후 520 nm에서 흡광도를 측정, 잔존하는 아질산염을 산출하였다. 대조구는 griess 시약 대신 증류수 0.4 mL를 첨가한 후, 위와 동일한 방법으로 측정하여 시료용액의 첨가구와 무첨가구 사이의 흡광도의 차이를 백분율(%)로 나타내었다.

전자공여능(Electron donating ability) 측정

전자공여능 측정은 Blois(14)의 방법에 따라 DPPH(1,1-diphenyl-2-picryl hydrazyl)에 대한 수소공여 효과를 측정하여 전자공여능을 나타내었다. 즉 일정 농도의 시료 2 mL에 0.2 mM 농도의 DPPH용액(dissolved in 99% Ethanol) 1 mL 가하여 혼합 후, 37°C에서 30분간 반응시켰다. 이 반응액을 517 nm에서 흡광도를 측정하여 메꽃 잎 시료액 첨가구와 무첨가구 사이의 흡광도의 차이를 백분율(%)로 나타내어 전자공여능으로 표시하였다.

총 폴리페놀 함량

메꽃 잎 추출물에 함유된 폴리페놀 총 함량은 각 추출분말을 증류수에 10 mg/mL로 희석하여 Folin-Denis법(15)으로 다음과 같이 측정하였다. 시료액 0.2 mL에 Folin-ciocalteu's phenol reagent 0.2 mL를 첨가한 후, 혼합하여 3분간 실온에서 반응한 다음, Na₂CO₃ 포화용액 0.4 mL를 가하여 혼합하고 증류수 1.4 mL 첨가하였다. 이를 실온에서 1시간 동안 반응시킨 후 725 nm에서 흡광도를 측정하였다. 폴리페놀의 정량은 tannic acid(Sigma Co., USA)을 이용하여 최종농도가 0-1,000 µg/mL가 되도록 취하여 위와 동일한 방법으로 측정된 검량선으로부터 산출하여 폴리페놀 함량을 구하였다.

총 플라보노이드 함량

플라보노이드 함량은 Nieva Moreno 등(16)의 방법을 변형하여 80% 에탄올에 메꽃 잎 추출물을 10 mg/mL의 농도로 희석하고 시료액 0.1 mL에 10% aluminum nitrate 0.1 mL, 1 M의 potassium acetate 0.1 mL 그리고 80% ethanol 4.7 mL를 가하여 25°C에서 40분간 반응시킨 후 415 nm에서 흡광도를 측정하였다. 총 플라보노이드 정량은 quercetin(Sigma Co., USA)을 이용하여 최종농도가 0-500 µg/mL가 되도록 취하여 위와 동일한 방법으로 측정된 검량선으로부터 산출하여 메꽃 추출물에 함유된 플라보노이드 함량을 구하였다.

통계처리

메꽃 잎의 각 추출물에 대한 결과는 독립적으로 3회 이상 반복 실시하여 평균(mean)과 표준편차(standard deviation)로 표시하였다. 각 군간의 유의성을 검정하기 위하여 SPSS 17.0 for windows program을 이용하여 ANOVA test를 실시하였으며, 유의적인 경우 다군간의 차이는 p<0.05 수준에서 Duncan's multiple range test로 사후 검정하였다.

결과 및 고찰

추출 수율

메꽃 잎 추출물을 동결건조한 고형분 함량을 측정한 결과는 Table 1과 같다. 용매와 추출방법에 따른 고형분 수율은 HWE (32.40%)>EE(29.20%)>WE(23.46%)의 순이었으며, 물을 용매로 고온과 고압에서 추출된 HWE의 수율이 가장 높았다. Lee와 Hwang(17)은 추출온도가 높을수록, 특히 80°C에서 100°C로 증가하면 고형분의 수율이 상당히 증가한다고 하였으며, 추출용매의 종류에 따라서는 물보다는 에탄올의 수율이 상대적으로 높으며, 추출용매의 양이 많을수록 수율이 우수하다고 하여 본 실험 결과와 일치하였다. 또한 Lee 등(18)도 고온의 고압조건에서 추출 수율이 가장 우수하다고 보고하여 메꽃 잎 추출물 획득을 위한 가장 적합한 방법이라고 판단된다.

Table 1. Comparison of the extraction yield by extraction methods and solvents from *C. japonica* leaf

Extracts	Yields (% w/w)
WE ¹⁾	23.46
EE ²⁾	29.20
HWE ³⁾	32.40

¹⁾WE: Water extract²⁾EE: Ethanol extract³⁾HWE: Hot water extract under high pressure

Xanthine oxidase 저해활성

Xanthine oxidase는 xanthine 또는 hypoxanthine으로부터 uric acid를 형성하여 염증 및 심한 통증을 동반하는 통풍과, 신장에 침착시 신장질환을 유발하는 효소로 알려져 있어(19) xanthine oxidase의 저해는 활성산소의 생성을 억제하므로 항산화, 노화 및 항암 등 생물학적으로 중요한 효소라고도 할 수 있다. 용매와 추출방법이 상이한 메꽃 잎 추출물의 xanthine oxidase 저해율을 측정 한 결과 1.0 mg/mL의 농도에서는 96.97-98.89%로 EE에서 가장 우수한 저해효과를 보였으며, 0.5 mg/mL에서도 92.22-95.96%로 저해효과가 높았으며 WE의 활성이 최고치를 보였다(Fig. 1). 물을 용매로 추출한 WE와 HWE는 0.3 mg/mL의 농도에서 90% 이상의 xanthine oxidase 저해율을 나타내었으며, 특히 WE는 0.1 mg/mL에서도 87%의 우수한 저해를 보였다. 메꽃 잎 추출물은 1.0 mg/mL 농도에서는 추출물간의 저해효과에 유의적 차이가 없는 것으로 나타났다($p < 0.05$).

본 결과를 Choi 등(20)의 1.0 mg/mL의 자화지정 추출물에서 98.67%의 xanthine oxidase 저해활성을 나타내었다는 보고와, 홍차와 녹차에서 78.7%와 93.2%의 저해효과를 나타내었다는 결과(21)와 비교하면 메꽃 잎은 자화지정과 유사한 xanthine oxidase 저해를 보였으며, 녹차와 홍차보다는 우수한 저해율을 나타내었다. 또한 메꽃 잎 추출물은 천연 항산화제인 아스코르브산보다도 높은 항산화 효과를 나타내었으며, BHA와도 유사한 활성을 나타내어 메꽃 잎 추출물과 유의적 차이가 없었다. 이러한 저해율은 메꽃 잎을 이용한 식음료 개발 가능성을 보여준다고 하겠다.

SOD 유사활성능

Superoxide dismutase(SOD)는 생체내에서 superoxide radical을 산소로 산화시켜 활성산소를 안정한 물질로 전환시켜 산소상해로부터 생체를 보호하는 작용을 나타내는 효소로 산화방지는 물론 노화억제와도 밀접한 관계가 있는 것으로 알려져 있어(22) 상업적으로 관절염이나 류머티즘 등과 같은 각종 퇴행성 질병 치료를 위한 항염증제나 피부 노화방지를 위한 화장품의 첨가제로도 이용되고 있다. 메꽃 잎의 각 추출물을 0.1-1.0 mg/mL의 농도

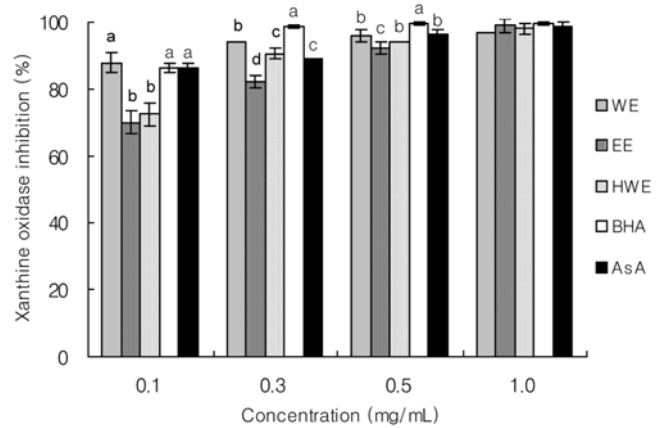


Fig. 1. Xanthine oxidase inhibitory rates of various extracts from *C. japonica* leaf. WE, Water extract; EE, Ethanol extract; HWE, Hot water extract under high pressure; BHA, Butylated hydroxy anisole; AsA, Ascorbic acid. All values present the mean±SD of triplicate determinations. Bars with different letters are significantly different at $p < 0.05$ by Duncan's multiple range test.

에서 SOD 유사활성을 측정한 결과 HWE(6.99-18.88%)>EE(2.82-12.66%)>WE(1.57-5.19%)의 순으로, 고온의 높은 압력에서 추출된 HWE는 WE보다 약 3.6배, EE보다는 약 1.5배 높은 활성을 나타내었다(Table 2). 특히 HWE는 0.1 mg/mL에서도 6.99%로 1.0 mg/mL의 WE(5.19%)보다 높은 SOD 유사활성 효과를 나타내었다.

한국산 약용식물의 SOD 유사활성능을 측정 한 Lim 등(23)의 박하(15.00%), 형개(11.60%), 익모초(7.53%), 소엽(3.67%) 등의 전초류 한약재에 대한 결과와 비교하면 메꽃 잎은 박하보다는 낮았으나 형개와 익모초, 소엽보다는 유사하거나 높았다. 또한 자화지정 잎의 물 추출물은 17.28%, 에탄올 추출물에서는 10.35%라는 Choi 등(20)의 보고와 비교하면 본 실험의 재료인 메꽃 잎이 약간 더 높은 SOD 유사활성을 보였다.

아질산염 소거능

아질산염은 생물체내의 상재성분으로 위장내의 낮은 산성조건에서 쉽게 발암성 물질인 nitrosamine이 생성될 가능성이 증가하며, 매우 낮은 농도에서의 노출로도 위암이나 후두암, 방광암 등 다양한 암을 유발 및 증가시킬 수 있어 환경적 발암 인자로 중요시 되고 있다(24) 메꽃 잎 추출물을 농도와 pH가 상이한 조건에서 아질산염 소거효과를 측정 한 결과 pH 1.2의 1.0 mg/mL의 농도에서는 64.59-66.46%였으며, pH 3.0에서는 52.78-55.89%로 물을 용매로 추출한 WE에서 아질산염 소거효과가 가장 높았다. pH 6.0은 3.05-9.14%로 세가지 추출물 중에서 HWE의 소거율이 가장 높았다(Table 3). 본 실험에서 추출물의 농도가 비교적 낮은

Table 2. SOD-like activities of the various extracts from *C. japonica* leaf

Concentration (mg/mL)	Extracts (%)			Controls (%)	
	WE	EE	HWE	BHA	AsA
0.1	-	2.82±0.52 ^c	6.99±0.70 ^b	98.43±0.19 ^a	99.19±1.17 ^a
0.3	1.57±0.84 ^c	7.34±0.39 ^b	7.58±0.40 ^b	99.33±0.00 ^a	99.32±0.00 ^a
0.5	2.42±0.21 ^c	9.38±0.20 ^b	8.97±0.81 ^b	99.55±0.19 ^a	99.77±0.20 ^a
1.0	5.19±0.75 ^d	12.66±1.37 ^c	18.88±1.26 ^b	99.78±0.19 ^a	99.77±0.00 ^a

All values present the mean±SD of triplicate determinations. Different letter within the same row are significantly different at $p < 0.05$ by Duncan's multiple range test.

The abbreviations of introductory remarks are shown in Fig. 1.

Table 3. Nitrite scavenging abilities of the various extracts from *C. japonica* leaf

Concentration (mg/mL)	Extracts (%)			Controls (%)		
	WE	EE	HWE	BHA	AsA	
pH 1.2	0.1	14.75±0.50 ^c	13.09±0.89 ^b	9.34±0.75 ^d	4.84±1.23 ^e	53.29±0.22 ^a
	0.3	32.66±1.22 ^c	32.14±0.99 ^c	29.02±0.75 ^d	49.01±1.30 ^b	97.70±0.45 ^a
	0.5	47.03±1.00 ^c	44.78±0.77 ^d	42.06±0.81 ^d	61.09±0.25 ^b	99.34±0.08 ^a
	1.0	66.46±0.29 ^c	64.59±0.69 ^d	65.54±0.49 ^{cd}	72.16±1.07 ^b	99.34±0.16 ^a
pH 3.0	0.1	14.84±0.50 ^b	13.74±0.50 ^b	10.93±0.59 ^c	-	31.46±0.59 ^a
	0.3	33.00±0.90 ^b	32.30±0.30 ^c	28.63±0.91 ^c	6.46±0.71 ^d	55.07±0.61 ^a
	0.5	42.45±0.64 ^b	40.29±0.23 ^d	38.28±0.69 ^d	8.46±1.08 ^e	67.93±0.41 ^a
	1.0	55.89±1.06 ^b	53.37±0.70 ^c	52.78±0.86 ^c	10.81±0.89 ^d	83.85±0.45 ^a
pH 6.0	0.1	1.89±0.17 ^c	1.44±0.63 ^c	5.40±0.19 ^a	-	3.12±0.32 ^b
	0.3	3.67±0.42 ^c	2.16±0.19 ^d	8.12±0.65 ^b	0.64±0.27 ^e	13.32±0.64 ^a
	0.5	4.95±0.48 ^c	2.66±0.25 ^d	8.87±0.42 ^b	3.25±0.36 ^e	26.89±0.72 ^a
	1.0	7.79±0.68 ^c	3.05±0.50 ^d	9.14±0.67 ^b	6.97±0.63 ^e	47.82±0.57 ^a

All values present the mean±SD of triplicate determinations. Different letters within the same row are significantly different at $p < 0.05$ by Duncan's multiple range test.

The abbreviations of introductory remarks are shown in Fig. 1.

0.1-0.3 mg/mL의 pH 1.2와 3.0의 조건하에서는 추출물간에 아질산염 소거능의 유의적인 차이가 없었으며, 동일한 추출물에서 pH에 따른 차이도 나타나지 않았다. 그러나 0.5 mg/mL 이상에서는 pH가 낮을수록 아질산염 소거효과가 높은 것으로 나타나 pH 1.2에서 가장 높은 소거율을 보였다. 이러한 결과는 아질산염 소거능이 pH에 매우 의존적이며 pH가 높을수록 소거효과가 감소된다는 Kytopoulos(25)의 결과와도 일치하였다.

메꽃의 실험결과를 국내산과 중국산 자화지정 잎 추출물을 pH 1.2의 1.0 mg/mL에서 아질산염 소거능을 측정한 결과 23.97%-50.74%라는 Choi 등(20)의 결과와, 쑥과 솔잎 물 추출물은 37%와 65%이며, 에탄올 추출물은 27%와 53%의 아질산염 소거효과를 나타내었다는 Park 등(26)의 결과 비교하면 메꽃 잎 추출물의 아질산염 소거율이 유사하거나 높은 소거효과를 보였다. 또한 본 실험에서 대조군인 아스코르브산과 비교하면 메꽃 잎의 아질산염 소거효과가 낮았고, pH 1.2의 조건에서의 BHA보다 메꽃의 소거율이 낮았으나 pH 3.0에서는 BHA보다 약 4.5배 이상 높은 아질산염 소거효과를 나타내었다.

Takashi 등(27)은 폴리페놀 화합물이 아질산염을 효과적으로 분해하여 nitrosoamine 생성을 효과적으로 억제한다고 하였으며, Shenoy와 Choughuley(28)은 각종 페놀이 아민의 니트로화(nitrosation)의 저해제로 작용한다고 보고하였다. 이상의 결과에서 메꽃 잎 추출물은 0.1 mg/mL의 농도에서도 60% 이상의 아질산염 소거활성을 보이므로 육제품이나 단백질이 다량 함유된 가공식품의 제조 시 아질산염 소거 효과를 가진 천연 첨가물로서의 이용 가능성이 있다고 판단된다.

전자공여능

전자공여능은 free radical에 전자를 공여하여 지방질 산화를 억제시키는 척도로 사용되고 있을 뿐만 아니라 인체 내에서 free radical에 의한 노화를 억제하는 작용의 척도로 이용되며, 전자공여능 측정시 사용되는 DPPH는 비교적 안정된 free radical로써 cystein, glutathione과 같은 황함유 아미노산과 ascorbic acid, BHA 등에 의해 환원되므로 다양한 추출물로부터 항산화 활성을 측정하는데 유용하다(29). 이러한 radical을 환원시키거나 상쇄하는 능력이 크면 높은 항산화 활성 및 활성산소를 비롯한 다른 radical

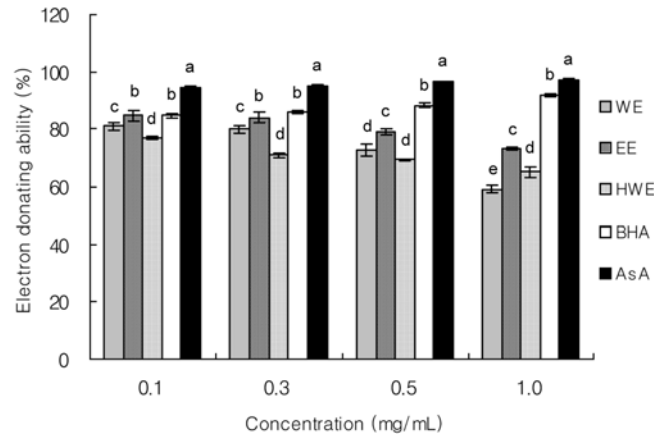


Fig. 2. Electron donating abilities of the various extracts from *C. japonica* leaf. All values present the mean±SD of triplicate determinations. Bars with different letters are significantly different at $p < 0.05$ by Duncan's multiple range test. The abbreviations of introductory remarks are shown in Fig. 1.

에 대한 소거 작용을 기대 할 수 있다. 메꽃 잎 추출물을 농도에 따라 DPPH에 의해 생성된 radical 소거율을 측정한 결과 WE는 59.19-81.14%, EE 73.33-84.80% 그리고 HWE는 65.05-76.97%의 활성을 나타내었다(Fig. 2). 세가지 추출물 모두 본 실험에서 가장 저농도인 0.1 mg/mL에서 가장 우수한 전자공여효과를 보였으며, 대조군인 아스코르브산보다는 낮았으나 EE는 BHA와 유사한 활성을 나타내었다. 일반적으로 시료의 농도가 증가할수록 전자공여효과도 높아지며(20) 대조군인 BHA와 아스코르브산도 전자공여능이 증가하였으나 메꽃 잎 추출물은 시료의 농도가 증가할수록 전자공여능이 감소하였으므로 이를 저해하는 성분이 메꽃 잎 추출물에 함유된 것으로 사료된다.

본 실험의 결과를 솔잎과 녹차의 물 추출물의 전자공여능이 1.0 mg/mL에서 각 52.2%와 53.2%라고 보고한 Kim 등(30)의 결과와, Moon 등(31)의 박하(26.27%), 애엽(68.90%) 등의 결과와 비교하여도 메꽃 잎의 전자공여능이 높은 것으로 나타났다.

Table 4. Contents of polyphenol and flavonoid compounds by extraction methods and solvents of *C. japonica* leaf

Samples		Total polyphenols (mg/g)	Total flavonoids (mg/g)
Extracts	WE	156.02±0.90 ^b	35.73±1.88 ^b
	EE	173.89±0.90 ^a	40.68±2.45 ^a
	HWE	150.76±0.95 ^b	24.01±0.72 ^c

All values present the mean±SD of triplicate determinations. Different superscripts within the same column are significantly different at $p < 0.05$ by Duncan's multiple range test

The abbreviations of introductory remarks are the same as in Fig. 1

폴리페놀 함량과 플라보노이드 함량

페놀성 화합물은 식물체에 널리 분포되어 있는 2차 대사산물 중 하나로 phenolic hydroxy group을 지닌 방향족 화합물로 다양한 구조와 분자량을 나타내며, C₆-C₃-C₆의 기본 탄소골격을 지닌 flavonoid류가 대부분을 차지하며 이외에 monocyclic phenol류, phenyl propanoid류 등이 있다. Flavonoid류는 지방질 산화, 활성 산소의 소거 및 산화적 스트레스를 막는 역할을 하여 노화방지, 암 및 심장질환 등을 예방하거나 지연 시키는 효과를 나타내어 식품, 의약품, 화장품 등 많은 분야에서 활용되고 있으며, 다른 폴리페놀성 화합물도 항산화, 항균, 항암 등 여러 생리활성을 나타낸다(32). 메꽃 잎 추출물에 존재하는 총 폴리페놀과 플라보노이드 함량을 tannin acid와 quercetin을 기준으로 측정된 결과 총 폴리페놀은 150.76-173.89 mg/g, 플라보노이드는 24.01-40.68 mg/g으로 EE>WE>HWE의 순으로 함유되어 있었다(Table 4).

일부 약용식물 추출물에 함유된 총 폴리페놀의 함량을 측정된 Moon 등(31)이 애엽, 측백, 적양 등에 4.41-8.55 mg/g의 폴리페놀이 함유되었다는 결과와 비교하면 메꽃 잎 추출물의 함유량이 17배 더 높았다. 그리고 일부 산채류의 에탄올 추출물의 플라보노이드 함량을 분석한 결과 섬고사리 16.75 mg/g, 눈개승마 16.47 mg/g, 물영경귀 13.30 mg/g라는 Lee 등(33)과 비교하여도 메꽃 잎 추출물에 함유된 플라보노이드가 1.5-2.5배 이상 많이 함유된 것으로 분석되었다.

Kang 등(34)은 전자공여능이 phenolic acids와 flavonoids 및 기타 phenol성 물질에 대한 항산화작용의 지표이며, 이러한 물질은 환원력이 큰 것일수록 전자공여능이 높다고 하였는데, 본 실험에서도 폴리페놀과 플라보노이드 함량이 높은 EE에서 가장 우수한 전자공여능을 나타낸 결과와 일치하였다. 또한 폴리페놀과 플라보노이드 화합물은 종류에 따라 차이는 있으나 아질산염을 효과적으로 분해하여 니트로사민의 생성을 억제한다고 보고한 Takashi 등(27)의 결과와도 일치하였다. 따라서 메꽃 잎은 플라보노이드와 폴리페놀 화합물의 함량이 높고 항산화 효능이 높은 것으로 나타나 천연 항산화제로써 이용가치가 높을 것으로 판단된다.

요 약

본 연구에서는 야생 식·약용식물들을 새로운 기능성 소재로 개발하기 위한 연구의 일환으로 메꽃 잎의 물(WE)과 에탄올(EE) 그리고 열수 추출물(HWE)에 대한 xanthine oxidase 저해, SOD 유사활성, 아질산염 소거, 전자공여능 그리고 총 폴리페놀과 플라보노이드 함량을 측정하였다. 메꽃 잎의 세가지 추출물은 0.5 mg/mL에서 90% 이상의 xanthine oxidase 저해율을 나타내었으며, 고농도에서는 항산화제로 사용되는 BHA나 아스코르브산과 유사한 xanthine oxidase 저해효과를 나타내었다. SOD 유사활성은

HWE 추출물이 1.0 mg/mL에서 18%의 활성을 나타내었다. 아질산염에 대한 소거능을 측정된 결과에서는 1.0 mg/mL의 pH 1.2에서 세가지 추출물 모두 약 65% 이상, pH 3.0의 조건에서는 50% 이상의 소거능을 보였으며, WE가 가장 높은 아질산염 소거율을 나타내었다. 전자공여능은 0.1 mg/mL에서 EE가 84.80%로 가장 높았으며, 세가지 추출물 모두 저농도에서 가장 우수한 활성을 나타내었고, 추출물의 농도가 증가할수록 전자공여능이 감소하였다. 그리고 EE는 179.89 mg/g의 폴리페놀과 40.68 mg/g의 플라보노이드 화합물을 함유하였다. 이상의 결과 메꽃 잎은 우수한 생리활성과 다량의 폴리페놀과 플라보노이드를 함유하므로 이를 이용한 식재료나 기능성 가공식품, 식품 보존제 개발에 유용하게 활용될 수 있는 기능성 소재인 것으로 생각된다.

감사의 글

본 연구는 지식경제부 지역혁신센터사업(대구한의대학교 한방생명자원연구센터)의 지원에 의하여 이루어진 것임.

문 헌

- McCord JM. Oxygen derived radicals: A link between reperfusion injury and inflammation. Fed. Proc. 46: 2402-2406 (1987)
- Imalay IA, Limm S. DNA damage and oxygen radical toxicity. Science 240: 1302-1309 (1989)
- Cho JS. Food Material Science. Moon Woon Dang, Seoul, Korea, p. 267 (1993)
- Lee HS. Dietary fiber intake of Korea. J. Korean Soc. Food Sci. Nutr. 25: 540-548 (1997)
- State Administration of Traditional Chinese Medicine. Chinese Materia Medica. Shanghai Scientific and Technical Publishers, Shanghai, China. pp. 495-496 (1999)
- Park CH. Medicinal Plants of Korea. Shinil Books Co., Seoul, Korea. p. 1110 (2004)
- Chun JC. Biological characteristics of *Calystegia japonica*. Korean J. Weed. Sci. 4: 149-153 (1984)
- Kim YS, Choi BY. Chromosome number, morphological and anatomical study on *Calystegia* in Korea. Korean J. Plant Tax. 13: 89-107 (1983)
- Oh YC, Lee CS, Park EJ. A chemotaxonomic study on the genus *Calystegia* (Convolvulaceae) in Korea. Korean J. Plant Tax. 25: 13-24 (1995)
- Lee MS, Choi HS. Volatile flavor components in various edible portions of *Calystegia japonica* (T_{HUNB}) C_{HOIS}. Korean J. Food Sci. Technol. 26: 359-364 (1994)
- Stirpe F, Della Corte E. The regulation of rat liver xanthine oxidase. J. Biol. Chem. 244: 3855-3861 (1969)
- Marklund S, Marklund G. Involvement of superoxide amino radical in the oxidation of pyrogallol and a convenient assay for superoxide dismutase. Eur. J. Biochem. 47: 468-474 (1975)
- Kato H, Lee IE, Chuyen NV, Kim SB, Hayase F. Inhibition of nitrosamine formation by nondialyzable melanoidins. Agr. Biol. Chem. 51: 1333-1338 (1987)
- Blois MS. Antioxidant determination by the use of a stable free radical. Nature 181: 1199-1200 (1958)
- AOAC. Official Method of Analysis. 18th ed. Method 965.31. Association of Official Analytical Chemists, Washington DC, USA (2005)
- Nieva-Moreno MI, Isla MI, Sampietro AR, Vattuone MA. Comparison of the free radical-scavenging activity of propolis from several regions of Argentina. J. Ethnopharmacol. 71: 109-114 (2000)
- Lee BY, Hwang JB. Physicochemical characteristics of *Agastache rugosa* O. Kuntze extracts by extraction conditions. Korean J. Food Sci. Technol. 32: 1-8 (2000)
- Lee YS, Joo EY, Kim NW. Polyphenol contents and physiological activity of the *Lespedeza bicolor* extracts. Korean J. Food Preserv. 13: 616-622 (2006)

19. Storch I, Ferber E. Detergent-amplified chemiluminescence of lucigenin for determination of superoxide amino production by NADPH oxidase and xanthine oxidase. *Anal. Biochem.* 169: 262-267 (1988)
20. Choi BD, Park CS, Joo EY. Physiological activities of Korean and Chinese *Viola mandshurica* extracts. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 37: 1101-1108 (2008)
20. Yeo SG, Park YB, Kim IS, Kim SB, Park YH. Inhibition of xanthine oxidase by tea extracts from green tea, *oolong* tea, and black tea. *J. Korea Soc. Food Sci. Nutr.* 24: 154-159 (1995)
22. Gupta AS, Webb RP, Holaday AS, Allen RD. Overexpression of superoxide dismutase protects plants from oxidative stress. *Plant Physiol.* 103: 1067-1073 (1993)
23. Lim JD, Yu CY, Kim MJ, Yun SJ, Lee SJ, Kim NY, Chung IM. Comparison of SOD activity and phenolic compound contents in various Korean medicinal plants. *Korean J. Medicinal Crop Sci.* 12: 191-202 (2004)
24. Peter FS. The toxicology of nitrate, nitrite and N-nitroso compounds. *J. Sci. Food Agr.* 52: 1761-1764 (1975)
25. Kytopoulos SA. Ascorbic acid and formation of N-nitroso compounds; possible role of ascorbic acid in cancer prevention. *Am. J. Clin. Nutr.* 45: 1344-1350 (1987)
26. Park CS, Kwon CJ, Choi MA, Park GS, Choi KH. Antioxidative and nitrite scavenging activities of mugwort and pine needle extracts. *Korean J. Food Preserv.* 9: 248-252 (2002)
27. Takashi Y, Yamamoto M, Tamura A. Studies on the formation of nitrosamines; The effects of some polyphenols on nitrosation of diethylamine. *J. Food Hyg. Soc.* 19: 224-229 (1978)
28. Shenoy NR, Choughuley ASU. Effect of certain phenolics on nitrosamine formation. *J. Agr. Food Chem.* 37: 721-725 (1989)
29. Isono R, Yomokazu T, Esumi K. Preparation of Au/TiO₂ nano composites and their catalytic activity for DPPH radical scavenging reaction. *J. Colloid Interf. Sci.* 288: 177-183 (2005)
30. Kim HK, Choi YJ, Jeong SW, Kim KH. Functional activities of microwave-assisted extracts from *Lyophy ulmarium*. *Korean J. Food Preserv.* 9: 385-390 (2002)
31. Moon JS, Kim SJ, Park YM, Hwang IS, Kim EH, Park JW, Park IB, Kim SW, Kang SG, Park YK, Jung ST. Activities of antioxidation and alcohol dehydrogenase inhibition of methanol extracts from some medicinal herbs. *Korean J. Food Preserv.* 11: 201-206 (2004)
32. Lim DK, Choi U, Shin DH. Antioxidant activity of ethanol extract from Korean medicinal plants. *Korean J. Food Sci. Technol.* 28: 83-89 (1996)
33. Lee SO, Lee HJ, Yu MH, Im HQ, Lee IS. Total polyphenol contents and antioxidants activities of methanol extracts from vegetables produced in Ullung island. *Korean J. Food Sci. Technol.* 37: 233-240 (2005)
34. Kang YH, Park YK, Lee GD. The nitrite scavenging and electron donating ability of phenolic compounds. *J. Korean Soc. Food Sci. Technol.* 28: 232-236 (1996)