

A Study on the Extraction and Efficacy of active ingredient from *Hovenia dulcis*

Seong-Mun Kim and Jin-Hyun Kim*

Biochemical Engineering Laboratory, Department of Chemical Engineering, Kongju National University, 182 Shinkwan-Dong, Kongju 314-701, Chungnam, South Korea

TEL: +82-41-850-8642, FAX: +82-41-858-2575

Abstract

The water extracts of *Hovenia dulcis* Thunb. showed significant reducing alcohol concentration in blood and hepatoprotective activity against D-galactoseamine/LPS and CCl₄-toxicity. The concentration of blood alcohol was decreased from 2hr after injected in rats with *Hovenia dulcis* extracts. The water extracts of *Hovenia dulcis* significantly inhibited the elevation of serum ALT, AST and LDH levels. In this study, we investigated the effect of *Hovenia dulcis* extract on reducing alcohol concentration in blood. Also the efficacy and toxicity of *Hovenia dulcis* extract were evaluated by *in vivo* and *in vitro* tests.

서 론

헛개나무(*Hovenia dulcis* Thunb.)는 온화한 남쪽지방에서 잘 생육하는 교목으로 과병과 줄기는 단맛과 향을 내어 식용, 과주(果酒) 및 약용으로 주독(酒毒)을 제거 하는데 상용되어 왔다.¹⁾ 민간요법에서는 헛개나무의 잎, 줄기 및 열매로 만든 차가 주독(酒毒) 제거 및 과음(過飲)시 부작용으로 나타나는 황달, 지방간, 간경화증, 위장병 등의 간 기능 보호에 효능이 뛰어난 것으로 전해지고 있다.²⁾ 또한 Yoshikawa³⁾ 등이 열매에서 Hovenitins I 와 (+)-ampelopsin을 분리하였으며, Hase⁴⁾ 등은 쥐에 간염을 유발한 후에 헛개나무 추출물을 첨가하였을 경우 효과를 보고하였고, Sakai⁵⁾ 등은 헛개나무의 추출물이 알코올을 투여한 쥐의 혈중 알코올 농도를 저하시키는 효과가 있음을 보고하였다. 본 연구에서는 국내산 헛개열매로부터 생리활성물질의 추출조건을 최적화 하였으며 또한 동물실험을 통하여 헛개열매 추출물의 효능 및 독성 시험을 수행하여 헛개열매의 활용 가능성을 확인하였다.

재료 및 방법

1) 헛개나무

본 실험에 사용한 헛개나무(*Hovenia dulcis*)는 충청남도 공주시에서 채취한 것을 실험에 사용하였으며, 헛개나무를 열매, 잎, 줄기로 나누어 채취한 뒤 시료 중량에 대해 각각 10배의 증류수로 30분부터 10시간 동안 100 °C에서 Hot plate를 사용하여 추출하였다. 추출액은 WHATMAN 0.45µm FILTER를 사용하여 여과하였다. 열매 중 일부는 분쇄하였고 일부는 crude fruit를 사용하여 각각 추출하였다.

2) 알코올 농도의 분석

헛개나무의 열매, 잎, 줄기의 알코올 분해 효과를 알아보기 위해 각각의 추출물을 효소반응 시켜 GC/Mass(HP6890)를 사용하여 알코올 농도를 측정하였다. 열매의 일부는 분쇄하여 추출한 다음 같은 방법으로 알코올 분해 효과를 확인하였다. Internal standard로 1-pentanol을 사용하였으며, column은 HP-5MS (5% Phenyl Methyl Siloxane, 250 µm×30 m)을 사용하였다. 초기 온도는 29°C, 최종 온도는 80°C로 하여 10°C/min로 gradient를 주어 수행하였으며 injection volume은 1µl로 하였다.

3) 동물실험

(1) Rat(SD)에 있어서 혈중 알코올 농도 저하에 대한 효능 시험

군당 7마리 수컷 Rat(SD)를 공시하였으며, 투여경로는 알코올(50%, 10 ml/kg)을 Rat(SD)에 경구 투여하고, 헛개열매 추출물(10ml/kg)을 1시간 후에 경구 투여하였다. 알코올(50%, 10 ml/kg) 및 헛개열매 추출물을 Rat(SD)에 투여 후 2, 4 및 6시간의 혈장 내 알코올 농도를 분석하였다.

(2) D-galactosamine/LPS 와 사염화탄소(CCl₄)에 의한 간 독성 시험

수컷 SD(rat)에 D-galactosamine(600µg/kg)/LPS(60µg/kg) 처리 4시간 후, 혈액을 채취하여 AST, ALP 및 LDH 활성도를 측정하였으며, 간 조직을 고정하여 형태학적으로 관찰하였다. 헛개열매 추출물은 D-galactosamine/LPS 처리 1시간 후에 15ml/kg 용량으로 투여하였다. 수컷 SD(rat)에 CCl₄(1.0 ml/kg) 처리 24시간 후, 혈액을 채취하여 AST, ALP 및 LDH 활성도를 측정하였으며, 간 조직을 고정하여 형태학적으로 관찰하였다. 헛개열매 추출물은 CCl₄(1.0 ml/kg) 처리 1시간 후에 15 ml/kg 용량으로 투여하였다.

(3) 급성 및 아급성 시험

급성독성 시험

헛개열매 추출물의 단회 투여에 의한 독성을 조사하기 위하여 SD(rat) 수컷에 0, 15.36, 19.2, 24 및 30ml/kg의 용량으로 5마리씩 단회 경구투여하고 14일간의 사

망울, 일반증상, 체중변화 및 부검소견을 관찰하였다.

아급성독성 시험

헛개열매 추출물을 28일간 연속 경구투여에 의한 독성을 조사하기 위하여 SD 계통의 랫트 수컷에 각각 0, 1.5, 3.5, 및 10 ml/kg/day의 용량으로 9마리씩 4주간 경구투여하고 일반증상, 체중변화, 혈액검사, 생화학검사, 부검소견, 장기무게 및 간 조직을 관찰하였다.

결과 및 고찰

1) 알코올 분해 효과

헛개나무 열매, 잎 및 줄기를 부위별로 열수 추출한 추출물의 알코올 분해 효과를 관찰한 결과 열매, 잎, 줄기는 각각 38%, 10%, 3%의 분해 효과를 나타내었다(Fig. 1). 헛개 열매 열수 추출의 경우 추출시간 6시간 이후에는 유용성분의 농도가 평형에 도달함을 알 수 있었으며 추출횟수는 3회로 유용성분을 95%이상 회수 가능하였다.

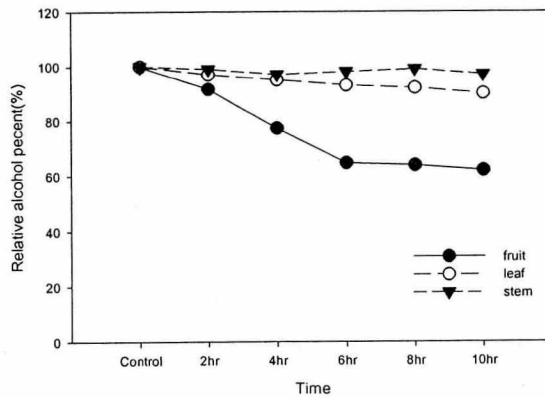


Fig. 1 헛개나무의 열매, 잎 및 줄기의 알코올 분해 효과.

3) 헛개열매 추출물의 효능 시험

수컷 Rat(SD)에 D-galactosamine(600 μ g/kg)/LPS(60 μ g/kg) 처리시 ALT, AST 및 LDH의 수치가 증가하는 경향을 보였으며 이에 헛개열매 추출물 투여 시 그 증가된 폭을 완화시키는 것으로 나타났다. 또한 수컷 Rat(SD)에 CCl₄(1.0 ml/kg) 처리시 ALT, AST 및 LDH의 수치가 증가하는 경향을 보였으며 이에 헛개열매 추출물 투여 시 AST, ALT 및 LDH는 각각 45%, 52% 및 52%가 감소하여 뛰어난 간 보호 효과가 있음을 알 수 있었다.

4)헛개열매 추출물의 급성 및 아급성 시험

급성독성 시험

본 시험에서 시험물질 헛개열매 추출물 투여와 관련된 어떠한 독성 증상도 관찰되지 않았으며 LD₅₀값은 30ml/kg을 훨씬 상회할 것으로 사료된다. 이상의 결과에서 헛개열매 추출물은 수컷 랫트에 의한 단회 경구투여 급성독성시 안전한 물질로 작용되는 것으로 사료된다.

아급성독성 시험

실험 결과로 보아 헛개열매 추출물의 4주간 SD Rat에 연속 경구 투여 시 아무런 독성 증상도 발생되지 않았으며 간독성 지표물질인 AST, ALT 및 LDH의 혈장 내의 함량은 대조군에 비해 감소하는 경향을 보였다. 본 시험물질 헛개열매 추출물은 SD(rat) 수컷에 28일 연속 경구 투여시 실험동물 Rat에 안전한 물질로 작용하는 것으로 사료된다.

요 약

헛개나무 열매, 잎 및 줄기를 부위별로 열수 추출한 추출액의 알코올 분해 효과를 관찰한 결과 6hr 인 경우, 헛개열매의 알코올 분해 효과가 38% 증가하였고 6hr 이후에는 평형에 도달함을 알 수 있었다. D-galactosamine(600 μ g/kg)/LPS(60 μ g/kg)와 CCl₄(1.0 ml/kg) 를 처리한 후 헛개열매 열수 추출물을 투여한 결과 간 기능 수치인 AST, ALT 및 LDH 값이 상당히 감소함을 알 수 있었다. 급성독성 시험과 아급성독성 시험에서도 헛개열매 추출물이 안전한 물질로 작용하는 것을 알 수 있었다.

감 사

본 연구는 한국과학재단 지정 공주대학교 자원재활용 신소재 연구센터의 지원에 의하여 수행되었습니다.

참고문헌

1. 김태정, "한국의 식물자원Ⅲ"(1996), 서울대학교 출판부, 72.
2. 김창민, 신민교, 안덕균, 이경준 (1998), "중약대사전", 도서출판 청담, 5078-5081.
3. Mssayuki Yohsikawa, Tohsiyuki Murakami (1996), "Absolute Stereostructures of New Dihydroflavonols, Hovenitins I, II and III, Isolated from Hovenia Semen Seu Fructus of *Hovenia dulcis* Thunb.", *Chem. Pharm. Bull.* **117**(2), 108-118.
4. Koji Hase, Purusotam Basnet (1997), "Effect of *Hovenia dulcis* on lipopolysaccharide-induced liver injury in chronic alcohol-fed rats", *J. Traditional Medicines* **14**(1), 28-33.
5. Kiyoshi Sakai, Toshiko Yamane (1987), "Effect of water extracts of crude drugs in decreasing blood alcohol concentrations in rats", *Chem. Pharm. Bull.* **35**(11), 4597-4604.