

한국산 생열귀나무(*Rosa davurica* Pall.) 잎의 성분 및 항산화 효과에 관한 연구

김준범¹ · 최승필¹ · 이득식² · 함승시^{1†}

¹강원대학교 바이오산업공학부, ²동해대학교 외식산업학과

Studies on the Composition and Antioxidative Effect of Leaves from Korean *Rosa davurica* Pall.

Joon-Bum Kim¹, Cheng-Bi Cui¹, Deuk-Sik Lee² and Seung-Shi Ham^{1†}

¹School of Biotechnology and Bioengineering, Kangwon National University, Chuncheon 200-701, Korea

²Dept. of Food Service Industry, Dong Hae University, Dong Hae 240-713, Korea

Abstract

The objective of this study was carried out to investigate nutritional characteristics and biological activities effects of Korean leaf of *Rosa davurica* Pall. in vitro. They were extracted with methanol and then further fractionated to n-hexane, chloroform, ethyl-acetate, n-butanol and water from methanol extracts. Methods of the antigenotoxic used in this experiment were UVA/UVB absorption property and DPPH radical scavenge. The proximate compositions of leaves of *Rosa davurica* Pall were 67.5% of crude Moisture, 0.7% of crude fat, 6.8% of crude protein, 6.1% of crude ash, and 20.8% of crude fiber. The major minerals were K (1637.2 mg%), Ca (219.5 mg%), P (182.1 mg%), and Mg (135.1 mg%). Most of the fractions of methanol extract which leaves of *Rosa davurica* Pall. have strong absorbency at UVB region (308 nm) and UVA region (350 nm). These fractions have a good absorbency property as synthetic filter and could be served as substitutes for synthetic UV sunscreen agents. All fractions (n-hexane, ethyl-acetate, n-butanol and water) from methanol extracts except chloroform fraction exhibited DPPH radical scavenging activity with IC₅₀ of 35.3, 6.0, 14.0, and 18.0 μg/mL.

Key words : *Rosa davurica* Pall, analysis, antioxidative effect

서론

최근 국내 연구 활동이 여러 분야에서 활발하게 이루어지고 있으며, 특히 천연물과 전통식품 및 한약재를 대상으로 유용한 기능을 검색하려는 노력은 상당히 괄목할 만한 성과를 보이고 있다. 국내에서 항암 또는 항종양 물질을 검색하는 방법으로는 발암물질 분해능, *in vitro*와 *in vivo* 세포 독성 실험과 병리 조직 면역화학적 방법에 의한 GST-π 양성 병소 등의 방법이 이용되고 있다. 따라서 암을 비롯한 만성 질환(chronic disease)에 대한 국민의 관심이 고조되고 있는 현 시점에서 식이 성분 또는 그 합성 유도체들에 의한 화학적 암 예방 연구가 상당히 활성화 될 것으로 기대된다(1).

일반적으로 식물자원을 활용하는 방법은 크게 두 가지로 나누어 생각해 볼 수 있는데 하나는 식품이 함유하는 1차 대사산물인 탄수화물, 지방유, 셀룰로오스 등과 같은 것을

식량, 식품, 종이, 목재 등으로 이용하는 것으로서 양적으로 대량 생산되는 식품성분이다. 다른 하나는 이와는 달리 2차 대사산물을 활용하는 것인데 매우 적은 양만이 식물에 함유되어 있으며, 특정 식물에만 국한되어 존재하는 것이 특징이다.

그 식물 중에 생열귀나무(*Rosa davurica* Pall.)는 장미과에 속하는 다년생 식물로서 우리나라 중부 및 북부, 일본, 만주 및 시베리아 등에 분포하는 낙엽활엽관목으로, 높이 1~1.5 m이며 줄기는 곧게 서고 적갈색이며 가시가 있다. 잎은 우상복엽으로 나며 타원형 또는 장타원형으로 양끝이 뾰족하며 길이 1~3 cm로서 가장자리에 잔 톱니가 있고 뒷면에 선점이 있다. 꽃은 장미색으로 향기가 짙다. 과실은 구형이며 9월에 황홍색으로 익는다. 꽃잎은 광도란형이며 끝이 오므라든다. 민간에서는 식용으로 쓰이고 있으며, 뿌리는 당뇨병에 과실은 위통에 사용하여 왔다. 또한 민간에서는 비타민 결핍증과 여러 질병들에 대한 저항성 증가, 간 기능 보호 약 등으로도 사용되어 왔다(2).

본 논문은 예로부터 국내에서 약용으로 많이 사용되어진

[†]Corresponding author. E-mail : hamss@cc.kangwon.ac.kr, Phone : 82-33-250-6453, Fax : 82-33-250-6453

장미과의 생열귀나무 중 잎을 연구대상으로 하여 일반성분, 미량성분 분석, 항산화 효과 및 생리적 기능을 밝힘으로써 기능식품의 소재로서의 가치를 제시하고 가공개발 및 의약품 신소재 개발의 기초 자료를 얻는데 목적을 두었다.

재료 및 방법

재료

본 연구에 사용될 생열귀나무는 강원도 정선 생열귀 영농조합에서 생열귀나무의 잎을 공급받아 감별하고 증류수로 잘 세척, 세절 후 음건 혹은 동결건조 후 본 실험에 사용하였다. 또한 -10°C 이하의 냉동실에 보관하면서 시료를 사용하였다. 추출 용매인 메탄올, 에탄올, 헥산, 클로로포름, 에틸아세테이트 및 부탄올 등의 유기 용매는 특급시약을 사용하였다. 또한 일반성분, 무기질, tocopherol 동족체 함량분석 등에 사용된 황산, 수산화나트륨, 질산, 인산 등 여러 유기용매들도 분석용 특급시약을 사용하였다.

일반성분

일반성분 분석은 식품공전(3) 방법에 따라 분석하였다. 수분은 105°C 건조법, 조단백질 함량은 semimicro kjeldahl법(N 계수 = 6.25), 조지방 함량은 soxhlet추출법, 회분은 550°C 에서 백색~회백색의 회분이 얻어질 때까지 회화하여 측정하였다. 탄수화물은 100에서 수분, 조회분, 조지방, 조단백질을 뺀 값으로 결정하였다.

Tocopherol 동족체

비타민 E는 60% KOH로 검화 후 ethyl-acetate : n-hexane (1:9) 용매로 추출하여 HPLC (Waters, Co., USA)로 분석하였다. HPLC의 분석 조건으로 컬럼은 HP APS Hypersil(200 × 4.6 mm)를 사용하였으며, 이동상은 n-hexane : isopropanol (98:2 v/v)이었다. 형광검출기를 이용하여 Ex. 297 nm, Em. 327 nm에서 내부표준법으로 측정하였다. 내부표준물질로 2, 5, 7, 8-pentamethyl-6-hydroxychroman을 사용하였으며 HPLC 분석조건은 Table 1과 같다.

무기질 분석

무기질 함량은 시료를 황산-질산 습식 분해법으로 분해한 후 일정용액으로하여 atomic absorption spectrophotometer(Varian Spectra AA-300, Australia)로 분석하였다. 칼슘은 인의 간섭을 피하기 위하여 AAS의 manual(4)에 따라 KCl을 첨가하였으며, nitrous oxideacetylene gas를 사용하였다. 인은 Hewlett-packard UV/Vis spectrophotometer 8452A를 이용하여 몰리브덴 청 비색법으로 분석하였다(5). 또한 inductivel

coupled plasma emission spectroscopy(Varian, Spectra A-220 Fs, Germany)로 일정용액으로 하여 분석하였다.

Table 1. Instrument and operation conditions for tocopherols analysis by HPLC

Parameter	Condition
Instrument	HPLC Waters
Detector	470 Scanning Fluorescence Detector
	Gain : 32×10 Filter : 1.5
	Ex. : 297 nm Em. : 327 nm
Injector	U6K Injector
Controller	Automatic gradient controller
Pump	510 Delivery system
Column	HP-APS Hypersil 5 μm , 200 × 4.6 mm
Mobile phase	n-Hexane : IPA (98 : 2)
Flow rate	1.5 mL/min

시료의 분획

항산화 활성이 탁월한 생열귀나무 잎을 대량 채취하여(약 100g 정도) 음건 세절한 후 추출용기에 넣고 메탄올 20 L로 3일간 상온에서 2회 추출하였다. 추출하여 얻어진 용액을 감압 농축하여 메탄올 엑기스를 얻은 다음 추출물의 높은 항산화력 부분을 보다 더 정제하기 위하여 메탄올 엑기스를 물에 현탁시켰다. 용매의 극성 차에 따라서 헥산, 클로로포름, 에틸아세테이트, 부탄올로 분획한 후 각각의 용매혼합액을 감압 농축하였다. 이때 얻어진 각 분획물의 수율 (%)을 계산하였으며, 그 방법은 Fig. 1에 나타내었다.

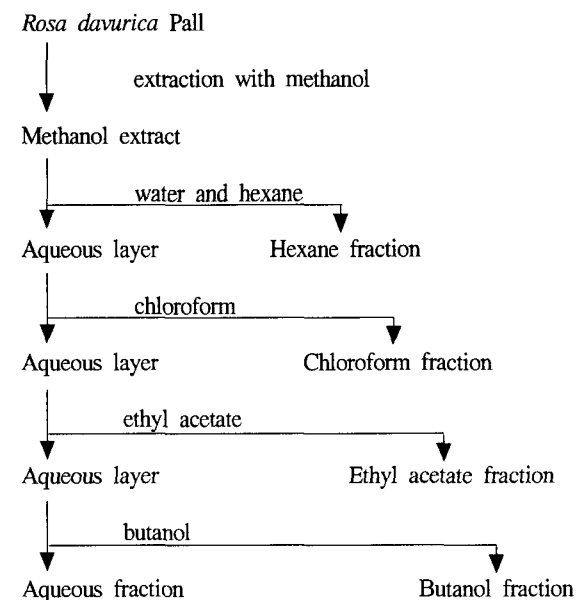


Fig. 1. Scheme of extraction which leaf of *Rosa davurica* Pall.

추출용매의 자외선 (UV 308, 350 nm) 차단효과

생열귀나무 잎의 추출물들의 농도를 0.1 mg/mL로 조제하였고 필요시 에탄올로 희석하면서 UV 308 nm와 350 nm에서의 흡광도를 자외선가시광선 분광광도계(8452A, HP)를 사용하여 측정하였다. 자외선 차단력(E %cm)은 에탄올 추출물 1% 농도 시, 직경 1 cm의 UV cell에서의 흡광도를 측정하여 자외선 차단력을 비교, 검토하였다(6).

DPPH 자유라디칼 (free radical) 소거법에 의한 항산화성

각 추출물과 메탄올 분획물들은 Choi 등(7)의 방법에 의한 수소전자공여능에 의해 항산화 활성을 측정하였다. 여러 농도의 시료를 4 mL의 메탄올에 녹여 1.5×10^{-4} M DPPH 용액 (in methanol)을 1 mL를 첨가한 후 30분간 암소에 방치한 후 517 nm에서 흡광도를 측정하였다. 수소전자공여능은 각 실험을 3회 반복하여 평균을 낸 다음 대조구에 대한 흡광도의 감소정도를 다음 식에 의하여 계산하였다. IC₅₀은 시료가 대조구의 흡광도를 50%로 감소시키는 농도로 표시하였으며, 검체의 농도에 따른 수소전자공여능 변화곡선을 통해 결정하였다.

결과 및 고찰

생열귀나무 잎의 일반성분

생열귀나무 잎의 일반성분의 분석 결과는 Table 2에 나타내었다. Table 2에서 보는 바와 같이 수분 함량이 67.5%, 탄수화물이 18.9%로 나타났으며, 조단백질이 6.8%, 회분이 6.1%였으며, 조지방은 0.7%로 나타났다. 타 부위별 일반성분과 비교 시 수분은 열매(86.4%)에 비해 낮았고 줄기(64.9%), 뿌리(50.2%)보다는 높았다. 탄수화물은 뿌리 (36.9%), 줄기 (24.8%)가 잎보다 높았으며, 열매(7.8%)도 낮았다. 조단백질은 뿌리(7.8%)가 잎보다 높았으며, 줄기(6.2%), 열매(2.1%) 순으로 함량이 낮게 나타났다. 조지방은 모든 부위가 비슷한 0.6-0.8%로 나타났다. 회분은 잎이 가장 높았으며, 각 부위별 함량은 뿌리 (4.5%), 줄기(3.3%), 열매(2.9%) 순이었다.

Table 2. Proximate composition of leaves of *Rosa dauvrica* Pall

Sample	Leaves of <i>Rosa dauvrica</i> Pall.(%)
Moisture	67.5 ± 0.42 ¹⁾
Ash	6.1 ± 0.31
Crude lipid	0.7 ± 0.04
Crude protein	18.9 ± 1.42
Carbohydrate	6.8 ± 0.32

¹⁾ Values are the mean ± S.D. (n=3).

생열귀나무 잎의 tocopherol 동족체의 함량 분석

생열귀나무 잎의 tocopherol 동족체 함량을 HPLC로 분석한 결과 Table 9에서 보는 바와 같이 전체적으로 α-form(8.21 mg%)이 다른 β-(0.28 mg%), γ-(0.15 mg%), δ-(0.01 mg%)-form에 비해 상당히 많은 함량을 나타내었으며, δ-form은 거의 존재하지 않은 것으로 나타났다. 비타민 E는 생체에서 항산화 물질로 작용하는데, 이 중 α-form이 가장 강력한 항산화 능력을 보이는 반면 δ-form이 가장 낮은 효과를 지닌 것으로 알려져 있다(8,9). 최근 γ-form의 비타민 E는 α-form에 비하여 염증조직에서 macrophage에 의해 생성되는 peroxynitrite를 효율성 높게 trap하여 지방의 과산화를 효과적으로 억제한다는 사실이 *in vitro*에서 보고되고 있다(10).

Table 3. Tocopherol homologues contents of leaves of *Rosa dauvrica* Pall

Sample	Leaves of <i>Rosa dauvrica</i> Pall.(mg%)
α-Tocopherol	8.21 ± 0.345 ¹⁾
β-Tocopherol	0.28 ± 0.021
γ-Tocopherol	0.15 ± 0.014
δ-Tocopherol	0.01 ± 0.004

¹⁾ Values are the mean ± S.D. (n=3).

생열귀나무 잎의 무기질 함량 분석

황산-질산법으로 분해한 생열귀나무의 주요한 무기질 함량을 분석한 결과 Table 4에 나타낸 바와 같이 칼륨 성분이 1,637.2 mg%로 가장 높게 나타났으며, 그 다음으로 칼슘이 219.5 mg%, 인이 182.1 mg% 그리고 마그네슘이 135.1 mg% 등의 순으로 나타났다. 그리고 철분, 아연 및 구리의 함량은 각각 1.4, 0.7, 0.4 mg%로 극히 미량으로 나타났다.

Table 4. Mineral contents of leaves of *Rosa dauvrica* Pall

Sample	Leaves of <i>Rosa dauvrica</i> Pall. (mg%)
P	182.1 ± 2.37 ¹⁾
K	1637.2 ± 24.52
Fe	1.4 ± 0.10
Mg	135.1 ± 1.89
Ca	219.5 ± 8.75
Zn	0.7 ± 0.13
Cu	0.4 ± 0.07

¹⁾ Values are the mean ± S.D. (n=3).

유기용매에 의한 생열귀나무 잎 메탄올 추출물의 분획

생열귀나무 잎 추출물의 높은 항산화력을 나타내는 부분을 보다 더 정제하기 위하여, 메탄올 추출물을 물에 현탁한

후 용매의 극성차에 따라 분획하였다. 즉, 잘게 세절하여 음건한 생열귀나무 잎 (100 g)을 메탄올 20 L를 가하여 3일간 냉침 추출하고, 다시 잔류물을 메탄올 20 L로 추출한 뒤, 추출물을 모두 감압농축하여 메탄올 추출물 (MeOH ex.)을 얻었다. 이 메탄올 추출물을 물로 현탁시킨 후, 헥산, 클로로포름, 에틸아세테이트 및 부탄올 순서로 용매분획하여 각각의 분획물을 얻었다. Table 5와 같이 물 (34.8%), 헥산 (24.6%), 부탄올 (16.2%) 그리고 에탄올 (7.1%)순으로 용매 분획되었으며, 클로로포름층 (3.7%)은 소량 분획되었다.

Table 5. Extraction yield of methanol extracts from leaf of *Rosa davurica* Pall. and their solvent fractionations

Fractions	Extraction yield (% weight/weight)
Methanol ex.	21.7
n-Hexane fr.	24.6
Chloroform fr.	3.7
Ethyl acetate fr.	7.1
Butanol fr.	16.2
Water fr.	34.8

생열귀나무 잎 메탄올 분획물의 자외선 차단효과

생열귀나무 잎 메탄올 추출물을 각각 n-헥산, 클로로포름, 에틸아세테이트, n-부탄올 및 물로 분획하여 자외선 차단효과를 측정할 결과는 Table 6과 같다. 장파장대(UVA 320~400 nm)의 경우 에틸아세테이트 분획물(151.4)에서 가장 높게 측정 되어졌으며, 그 다음으로 n-부탄올 분획물(101.5) 및 물 분획물(96.5) 순이었다. 중파장대(280~320 nm)에서도 장파장대에서도 같은 순으로 측정 되어졌으며, 물 분획물(59.7)과 n-부탄올 분획물(58.0)에서는 거의 비슷한 수치를 나타내었다.

Table 6. UVA/UVB Absorption properties of methanol extract and their solvent fractionations obtained from the leaves of *Rosa davurica* Pall

Extracts ¹⁾	E% cm	E% cm
	at 308 nm	at 350 nm
Sunscreen agents		
Dioxybenzone	412.6	208.5
Octyl methoxy cinnamate	924.4	16.9
Oxybenzone	423.8	216.1
Methanol ex.	89.8	49.3
n-Hexane fr.	72.5	42.4
Chloroform fr.	42.9	20.2
Ethyl acetate fr.	151.4	82.0
n-Butanol fr.	101.5	58.0
Water fr.	96.5	59.7

¹⁾ The coefficient of extinction, E% cm, is the theoretical absorbance of a 1% solution over an optic path of 1 cm.

생열귀나무 잎 메탄올 분획물의 DPPH 자유라디칼 소거법에 의한 항산화성 효과

생열귀나무 잎의 메탄올 분획물에 대한 항산화 활성을 검토한 결과 Table 7과 같이 에틸아세테이트 분획물의 항산화 활성(IC₅₀ : 6.0 μ g)이 가장 강한 활성을 나타내었으며, 그 다음이 부탄올 분획물(IC₅₀ : 14.0 μ g)로 나타났다. 에틸아세테이트 분획물의 경우, 대조구로 사용한 항산화제들인 butyl-hydroxytoluene, 비타민 C 및 알파-토코페놀과 유사하게 나타나 항산화 활성이 우수한 것으로 나타내었다. 최 등(11)은 해당화(*Rosa rugosa*) 잎의 DPPH 자유라디칼 소거법에 의한 항산화 실험에서 메탄올 추출물을 분획하여 각각의 분획물을 얻어 분석한 결과, 항산화 활성이 헥산 분획물(>100 μ g), 클로로포름 분획물(>100 μ g), 에틸아세테이트 분획물(12 μ g), 부탄올 분획물(18 μ g) 및 물 분획물(11 μ g)로 나타났으며, 최 등(11)이 실험한 해당화(*Rosa rugosa*) 잎의 DPPH 자유라디칼 소거법에 의한 항산화 효과와 비교하면 물 분획물을 제외하고는 생열귀나무 잎의 항산화 활성이 더 우수한 것으로 나타났다.

Table 7. DPPH radical scavenging activity for methanol extract and their solvent fractionations from the leaves of *Rosa davurica* Pall

Fractions	IC ₅₀ (μ g) ¹⁾
Methanol ex.	6.4
n-Hexane fr.	35.3
Chloroform fr.	118.4
Ethyl acetate fr.	6.0
n-Butanol fr.	14.0
Water fr.	18.0
Control antioxidants	nd ²⁾
Butyl-hydroxytoluene	5.4
Vitamin-C	4.2
α -tocopherol	3.3

¹⁾ Amount required for 50% reduction of DPPH (0.004 mM) after 30 min.

²⁾ Not detected

이상의 연구 결과에서와 같이 생열귀나무 잎의 메탄올 추출물과 그 분획물이 높은 항산화 효과와 항돌연변이 활성을 나타냄으로서 약용식물인 생열귀나무를 이용하여 생열귀나무 음료 및 차 등의 건강보조식품, 기능성 화장품의 원료 및 천연항산화제 등의 의약품 소재 등으로 사용할수 있는 유용한 식물임을 알 수 있었다.

요 약

생열귀나무의 잎에 대한 일반성분과 tocopherol 동족체를

분석하였으며, 생리활성 기능을 검색하기 위해 메탄올 추출물의 항산화력을 보다 더 정제하기 위해 헥산, 클로르포름, 에틸아세테이트, 부탄올 및 물층으로 분획하여 얻어진 추출물과 분획물을 이용하여 자외선 (UV 308, 350 nm) 차단효과와 DPPH 자유라디칼 소거법에 의한 항산화성 효과를 검토하여 다음과 같은 결론을 얻었다. 일반성분의 분석 결과 수분이 67.5%로 가장 높게 나타났으며, 탄수화물 18.9%, 조단백질 6.8%, 회분 6.1% 그리고 조지방 0.7% 순이었다. 무기질 함량으로 가장 높은 것은 칼륨으로 1,637.2 mg%로 나타났다. 메탄올 추출물을 물로 현탁시킨 후 헥산, 클로르포름, 에틸아세테이트, 부탄올 순서로 용매를 분획하여 각각의 분획물을 얻은 결과 물(34.8%)이 가장 높게 분획되었으며, 메탄올 추출물을 각각 n-헥산, 클로르포름, 에틸아세테이트, n-부탄올 및 물 분획물을 얻어 자외선 차단효과를 측정하고 결과 장파장대 (UVA 320-400 nm)의 경우 에틸아세테이트 분획물(151.4)에서 가장 높게 측정되었다. 한편, 메탄올 분획물의 항산화 활성을 검토한 결과 에틸아세테이트 분획물의 항산화 활성 (IC₅₀ : 6.0 μg)이 가장 높았으며, 그 다음이 부탄올 분획물(IC₅₀ : 14.0 μg)로 나타났다.

참고문헌

1. 서영준 (1997) 식품을 이용한 화학적 암 예방. 식품과학과 산업, 30, 59-63
2. 육창수 (1989) 원색한국약용식물도감, p.272
3. 食品醫藥品安全廳. (2000) 食品公典(別冊). 문영사, 서울, p.69-72, p 273-277.
4. Varian Manual (1979) *Analytical Methods for Flame Spectroscopy*. Varian Techtron PTY, LTD, Springvale, p.9
5. Ohara, T., Yoneyama, T., Ohike, T., Miyazaki, T. and Negishi, M. (1980) Quantitative determination of rice or buckwheat flour contained in wheat flour by urea polyacrylamide gel electrophoresis. *Nippon Shokuhin Kogyo Gakkaishi*, 27, 426-432
6. Bobin, M.F., Raymond, M. and Martini, M.C. (1994) UVA and UVB absorption properties of natural products, *Cosmetics & Toiletries*, 109, 63-70
7. Choi, J.S., Park, J.H., Kim, H.G., Young, H.S. and Mun, S.I. (1993) Screening for antioxidant activity of plants and marine algae and its active principles from *Prunus daviana*. *Kor. J. Pharmacology*, 24, 299-303
8. Buring, J.E. and Hennekens, C.H. (1997) Antioxidant vitamins and cardiovascular disease. *Nutr. Rev.*, 55(II), S53-S60
9. Chen, C.K. and Pace-Asciak, C.R. (1996) Vasorelaxing activity of resveratrol and quercetin in isolated rat aorta. *Gen. Pharmacol.*, 27, 363-366
10. Chshman, D.W. and Ondetti, M.A. (1999) Design of angiotensin converting enzyme inhibitors. *Nature Med.* 5, 1110-1112
11. 최용화, 김명조, 이행순, 곽상수 (1997) 해당화(*Rosa rugosa*) 잎의 항산화 물질. *생약학회지*, 28, 179-184

(접수 2004년 1월 28일, 채택 2004년 3월 5일)