



저작자표시-비영리-변경금지 2.0 대한민국

이용자는 아래의 조건을 따르는 경우에 한하여 자유롭게

- 이 저작물을 복제, 배포, 전송, 전시, 공연 및 방송할 수 있습니다.

다음과 같은 조건을 따라야 합니다:



저작자표시. 귀하는 원저작자를 표시하여야 합니다.



비영리. 귀하는 이 저작물을 영리 목적으로 이용할 수 없습니다.



변경금지. 귀하는 이 저작물을 개작, 변형 또는 가공할 수 없습니다.

- 귀하는, 이 저작물의 재이용이나 배포의 경우, 이 저작물에 적용된 이용허락조건을 명확하게 나타내어야 합니다.
- 저작권자로부터 별도의 허가를 받으면 이러한 조건들은 적용되지 않습니다.

저작권법에 따른 이용자의 권리는 위의 내용에 의하여 영향을 받지 않습니다.

이것은 [이용허락규약\(Legal Code\)](#)을 이해하기 쉽게 요약한 것입니다.

[Disclaimer](#)

碩士學位論文

노박덩굴 추출분획물의
항산화 및 미백활성 평가

Evaluation of Antioxidative and Whitening Activity of
Extract and Fractions from *Celastrus orbiculatus* Thunb.

濟州大學校 大學院

農學科

盧壽邦

2017年 12月

노박덩굴 추출분획물의
항산화 및 미백활성 평가

指導教授 宋 昌 吉

盧 壽 邦

이 論文을 農學 碩士學位 論文으로 提出함.

2017年 12月

盧壽邦의 農學 碩士學位 論文을 認准함

審査委員長 (印)

委 員 (印)

委 員 (印)

濟州大學校 大學院

2017年 12月

목 차

LIST OF TABLE	ii
LIST OF FIGURE	iii
ABSTRACT	iv
I. 서언	1
II. 연구사	3
III. 재료 및 방법	5
1. 실험재료	5
2. Phenol 함량 분석	7
3. Flavonoid 함량 분석	7
4. ABTS radical 소거활성 측정	8
5. DPPH radical 소거활성 측정	9
6. Tyrosinase 저해활성 측정	10
7. 통계분석	11
IV. 결과	12
1. 노박덩굴 추출물 및 분획물의 수율	12
2. Phenol 검량 분석	13
3. Flavonoid 검량 분석	15
4. ABTS radical 소거활성 측정	17
5. DPPH radical 소거활성 측정	20
6. Tyrosinase 저해활성 측정	23
7. 상관관계분석	26
V. 고찰	27
VI. 적요	30
인용문헌	32

LIST OF TABLES

Table 1. Yield extract and Fraction from <i>Celastrus orbiculatus</i> Thunb.	12
Table 2. Total phenolic contents of Organic solvent extract and fractions of <i>Celastrus orbiculatus</i> Thunb. climbing stem.	14
Table 3. Total flavonoid contents of Organic solvent extract and fractions of <i>Celastrus orbiculatus</i> Thunb. climbing stem.	16
Table 4. ABTS radical scavenging activities of Organic solvent extract and fractions from <i>Celastrus orbiculatus</i> Thunb. climbing stem.	19
Table 5. DPPH radical scavenging activities of Organic solvent extract and fractions from <i>Celastrus orbiculatus</i> Thunb. climbing stem.	22
Table 6. Tyrosinase inhibitory activities of Organic solvent extract and fractions from <i>Celastrus orbiculatus</i> Thunb. climbing stem.	25
Table 7. Correlation coefficient between active components and their biological activities of <i>Celastrus orbiculatus</i> Thunb. climbing stem extract and fractions.	26

LIST OF FIGURES

Fig. 1. <i>Celastrus orbiculatus</i> Thunb.	5
Fig. 2. Solvent fractionation of <i>Celastrus orbiculatus</i> Thunb.	6
Fig. 3. ABTS radical scavenging activities of Organic solvent extract and fractions from <i>Celastrus orbiculatus</i> Thunb. climbing stem	18
Fig. 4. DPPH radical scavenging activities of Organic solvent extract and fractions from <i>Celastrus orbiculatus</i> Thunb. climbing stem	21
Fig. 5. Tyrosinase inhibitory activities of Organic solvent extract and fractions from <i>Celastrus orbiculatus</i> Thunb. climbing stem	24

ABSTRACT

This study was implemented to investigate Antioxidant and Tyrosinase Inhibitory Activities of *Celastrus orbiculatus* Thunb. climbing stem natural product. The purpose of this study is to provided the basic data for developing how to utilized *Celastrus orbiculatus* Thunb. native to Gotjawal Jeju Island, South Korea and natural product-derived antioxidant.

As a result of total phenolic contents are showed the highest amount of ethyl acetate($320.51 \pm 4.25\text{mg/g}$), followed by *n*-butanol, chloroform, 80% ethanol, *n*-hexane and aqueous from *Celastrus orbiculatus* Thunb.. The climbing stems showed low amounts of flavonoids in all of fraction from extract and a extract.

In antioxidation activity ABTS, RC_{50} which was necessary concentration for expressing the 50% inhibition activity. *n*-butanol fractions that value is ($4.62 \pm 0.20\mu\text{g/ml}$) was the highest in ABTS. ethyl acetate($5.69 \pm 0.25\mu\text{g/ml}$) was the second highest value after *n*-butanol. Especially, antioxidative effect higher than BHT in *n*-butanol and Ethyl acetate fractions over $12.5\mu\text{g/ml}$ concentration.

In antioxidation activity DPPH, RC_{50} which was necessary concentration for expressing the 50% inhibition activity. *n*-butanol fractions that value is ($20.98 \pm 0.51\mu\text{g/ml}$) was the highest in DPPH. ethyl acetate($29.24 \pm 1.05\mu\text{g/ml}$) was the second highest value after *n*-butanol. Especially, antioxidative effect higher than BHT in *n*-butanol and Ethyl acetate fractions over $6.25\mu\text{g/ml}$ concentration.

n-butanol fraction showed the highest DPPH and ABTS radical scavenging activity. ethyl acetate was the second highest value after *n*-butanol.

Inhibition of Tyrosinase activity, IC_{50} which was necessary concentration for expressing the 50% inhibition activity. ethyl acetate fractions that value is $(78.06 \pm 18.16\mu\text{g}/\text{ml})$ was the highest in inhibition of tyrosinase activity. chloroform $(79.67 \pm 13.57\mu\text{g}/\text{ml})$ was the second highest value after ethyl acetate. Especially, antioxidative effect higher than arbutin in ethyl acetate and chloroform fractions over $25\mu\text{g}/\text{ml}$ concentration.

Correlation coefficient between active components and their biological activities of climbing stem extract and fractions were found that there are some high correlation of Phenol, ABTS, DPPH, and Tyrosinase.

Based on the findings above, *Celastrus orbiculatus* Thunb. has the possibility to be utilized as a natural antioxidant or cosmetic products to replace the synthesized antioxidant, BHT.

I. 서 언

노박덩굴(*Celastrus orbiculatus* Thunb.)은 우리나라 중남부지방 나지막한 산지에서 흔하게 볼 수 있는 호광성(好光性) 낙엽활엽 덩굴식물이다. 숲 가장자리 식생을 구성하는 대표적인 종으로 밝은 이차림에서도 잘 살며 종종 산기슭 가장자리에서도 산다. 온대림지역에 널리 분포하는 동아시아적 덩굴식물종이다(Kim, 2013; 이, 1980).

우리나라에서 자라는 노박덩굴과(*Celastraceae*) 노박덩굴속(*Celastrus* L.) 식물로는 노박덩굴을 비롯하여 개노박덩굴(*Celastrus orbiculatus* var. *strigillosus*), 털노박덩굴(*Celastrus orbiculatus* *stephanotifolius* Makino), 덩불노박덩굴(*Celastrus orbiculatus* var. *sylvestris*), 해변노박덩굴(*Celastrus orbiculatus* var. *punctatus*), 노랑노박덩굴(*Celastrus orbiculatus* for. *aureo-arillata*), 훈지나무(*Celastrus flagellaris*) 등 7종이 있으며 세계적으로는 약 30종이 분포하고 상록성과 꽃의 색이나 열매의 크기에 변이가 있다. 주로 낙엽활엽 만경목(落葉闊葉 蔓莖木)으로서 잎은 타원형이며 길이 5~10 cm, 너비 3~8 cm로서 끝이 뾰족하고 밑 부분은 둥글며 가장자리에 톱니가 있고 엽병은 길이 1~2.5 cm이다. 꽃은 암꽃차례와 수꽃차례가 따로 있거나 양성화, 수꽃 암꽃이 피며 5~6월에 황록색으로 피며 취산꽃차례로 잎겨드랑이에서 나와 1~10여개가 달리며 작은 꽃대는 길이 3~5 mm이다. 꽃받침 잎과 꽃잎은 각각 5개이고 수꽃에 5개의 긴 수술이 있으며 암꽃에는 5개의 짧은 수술과 1개의 암술이 있다. 열매는 구형이고 지름 8 mm정도의 삭과로서 10월에 황색으로 익어 3개로 갈라지고 종자는 황적색 종의로 싸여 있다(이, 1980). 줄기는 남사등, 뿌리는 남사등근, 잎은 남사등엽이라 하며 주로 민방에 사용되어 왔다. 남사등은 거풍습, 활혈맥, 근골동통, 사지마비, 소아경기, 콜레라, 장티푸스, 이질, 두운통, 치통, 구토에 사용되어왔다. 남사등근은 거풍습, 활혈, 소종해독, 류머티즘에 의한 근골통, 타박상, 사기에 의한 구토, 복통, 중독에 사용되어 왔으며 남사등엽은 독사교상에 생즙을 내어 황주를 타서 복용하고 상처에 붙이는 민간요법이 알려져 있으며 종자는 허리통증이나 류머티즘 치료 및 진경작용에 이용되며 열

매는 생리통 치료에 효과적이다(Gunatilaka, 1996; Jiansu, 1997; Jin HZ, 2002; Choi, 1991).

합성 항산화제인 BHA, BHT, Trolox를 필두로 한 많은 항산화제가 개발되어 있지만, 합성 항산화제에 대한 소비자의 기피성향과 합성 항산화제가 대량으로 투여된 동물실험에서 발암성이 보고되고 있어 합성 항산화제의 사용이 점차 제한되고 있다. 따라서 보다 안전한 식물유래의 천연 항산화제의 개발이 요구된다(Cho, 2001).

민간에서 오랫동안 약재로 사용해 오던 식물들의 생리활성들이 피부과학적으로 입증되면서 그 식물들로부터 유효성분을 농축하거나 분리하여 화장품 등에 이용되고 있다. 또한 기능성 화장품의 출현으로 소비자들의 인식도 높아져 피부의 생리활성을 향상시켜 주는 천연원료를 첨가하여 미백, 주름개선 등의 효과를 나타내는 제품들도 많이 개발되어 왔다. 하지만, 전 세계 39여만 종의 식물 가운데 연구가 진행되어 온 것은 5% 정도에 불과하다. 이것을 고려하면 앞으로도 이를 이용한 생리활성물질의 연구 및 개발이 더 필요함은 물론, 매우 높은 부가가치를 생산하는 산업으로 자리매김 할 것으로 예상된다(Kim, 2005).

화장품내 미백분야에서는 멜라닌 생성 및 배설촉진, 멜라노사이트 자극물질 조절, tyrosinase 활성 저해 등의 연구가 진행되고 있으며 이를 제어하는 방법과 소재 개발로서 색소 변이 치유제품 개발이 가능해지는 추세이지만 미백 기능을 나타내고 있는 자원의 한계성과 과학적 활성 검증 기술로 이에 대한 적절한 대비책이 필요하다. 때문에 미백 기능성 제품은 내용물의 차별화 시도가 뚜렷하여 미백 효과가 뛰어난 소재 개발 기술이 절실히 요구된다(Jung, 1995; Kim, 2008; Cha, 2010).

본 연구에서는 제주도 꽃자왈에서 자생하는 노박덩굴 줄기로부터 에탄올 추출물 및 순차적 용매 분획물을 얻은 후 노박덩굴이 가진 항산화성 및 미백효과를 연구함으로써 화장품 및 식품보조제 등의 기능성 소재로서의 개발 가능성을 알아보고 그 활용방안과 기초자료로 제공하기 위하여 실시하였다.

II. 연구 사

노박덩굴에 관한 연구로는 과거에는 생장 또는 수리학적 분류에 관한 연구를 했다면 최근 20년간 항산화, 항균, 항염증, 암세포, 약리학, 신호전달물질에 관련된 연구가 주를 이루고 있다.

항산화, 항균, 항염증에 관한 연구로는 노박덩굴의 methanol 추출액과 butanol 분획물이 암세포증식억제, 항산화효과 및 항균효과 검증에 관련된 활성을 가지는 것으로 판단되며 이 두 개의 층에 효과적인 생리 활성물질이 함유되어 있을 것으로 보고되어 있다(Ku, 2007)., 항산화 활성과 항균력을 나타내는 생리활성 물질이 함유 되어있을 것으로 사료되며 향후 연구를 통한 항산화제, 식품보조제 및 항균제와 같은 기능성 식품으로서의 활용가능성이 기대된다(Kang *et al.*, 2009). 다양한 한국산 천연물 중 cyclooxygenase 활성 억제효과에 관하여 노박덩굴이 강력한 억제효과를 나타내었고 항염증 활성 또한 보고되어있다(Min, 1999). 노박덩굴 열매 추출물은 항산화 효과가 있으며 열매 추출물과 수용성 키토산을 혼합할 때 그 효능이 증가하였으며 향후 매우 유용한 소재가 될 것으로 판단된다(Kim *et al.*, 2015).

암세포, 약리학, 물질분리에 관한 연구로는 남사등(노박덩굴)은 수종의 자유기에 대한 항산화 실험 결과, 농도의존적인 강한 자유기 소거능 및 환원능을 보여주었다. 중추성 및 말초성 통증에 대해 유의성 있는 진통효과를 보여주었으며 암 전이와 관련하여 세포 활성화와 발현을 효과적으로 억제하고 침투 및 이동도 현저히 감소시켰다. 남사등은 다양한 약리활성을 가지고 있는 것을 알 수 있었으며 이와 관련된 질환에 효과적으로 활용될 수 있을 것으로 사료된다(Park, 2011). 노박덩굴 분획물을 이용한 암세포성장저해 능력을 연구한 연구결과가 있고(Kang *et al.*, 2006), 노박덩굴 분획물을 이용한 암세포 억제 증식 효과 및 quinone reductase 활성 증가효과에 대한 연구결과를 보고하였고(Ku, 2007), 노박덩굴 추출물이 간세포성암에 미치는 영향에 대한 연구결과를 보고하였고(Zhang *et al.*, 2012), 노박덩굴에 함유된 celastrol 성분의 파킨슨병을 유발시킨 쥐에서의 도파민

신경세포 보호효과에 대한 연구결과를 보고하였고(Lee *et al.*, 2008), 노박덩굴의 약리학 반응에 대한 연구결과를 보고하였고(Park, 2011), 염증반응과 그 발생과정에 중요한 신호전달물질을 억제하는 물질인 NF- κ B을 분리한 연구결과를 보고하였고(Lee, 2006), 노박덩굴과 식물로부터 살충성분 물질을 분리한 연구결과를 보고하였고(Wang, 2002), 노박덩굴 열매로부터 sesquiterpene esters 물질을 분리 보고하였고(Guo, 2004), 노박덩굴 ethyl acetate 분획물에서 epicatechin, epiafzelechin 등의 페놀성 물질이 분리되었다(Hwang, 2001).

문헌연구와 수리분류학적 연구로는 한국산 노박덩굴과 약용식물에 관한 문헌연구가 있고(Song *et al.*, 1996), 한국산 화살나무속 노박덩굴과의 수리분류학적 연구가 있다(Kim, 1997).

생장에 관련해서는 수분공급량에 따른 노박덩굴의 생장에 미치는 영향(Kim, 1976) 노박덩굴의 번식에 관한 연구(Shim, 1984) 등으로 과거에 연구가 이루어졌다.

본 연구에서는 제주도 꽃자왈에서 자생하는 노박덩굴 줄기로부터 에탄올 추출물 및 순차적 용매 분획물을 얻은 후 노박덩굴이 가진 항산화성 및 미백효과를 연구함으로써 화장품 및 식품보조제 등의 기능성 소재로서의 개발 가능성을 알아보고 그 활용방안과 기초자료로 제공하기 위하여 실시하였다.

Ⅲ. 재료 및 방법

1. 실험재료

본 실험에 사용한 노박덩굴(*Celastrus orbiculatus* Thunb., CO)은 2016년 10월 제주시 한경면 저지리에 위치한 곳자왈 일대 자생지에서 채집하여 2주간 음건한 뒤 분쇄한 노박덩굴 목질부 300g를 각각 15:1 비율로 EtoH 80%(v/v) 침지하여 72시간, 3회 교반추출하였다.

추출액은 각각 여과지(No.2, Advantec, Toyo Roshi Kaisha, Japan)가 깔려있는 흡인여과기(Buchner funnel)를 이용하여 감압여과하여 부유물을 제거하였으며, 추출액은 회전감압농축기 Rotary Evaporator(Laborota 4000, Heidolph, Germany)를 사용하여 40°C에서 감압 농축하였다.

농축한 추출액은 각각 분획깔때기에서 헥산(*n*-hexane), 클로로포름(chloroform), 에틸아세테이트(ethyl acetate), 부탄올(*n*-butanol), 수분층(aqueous)으로 순차 분획하였으며, 각각의 분획물은 회전감압농축기로 완전건조 후 본 실험에 사용하였다.

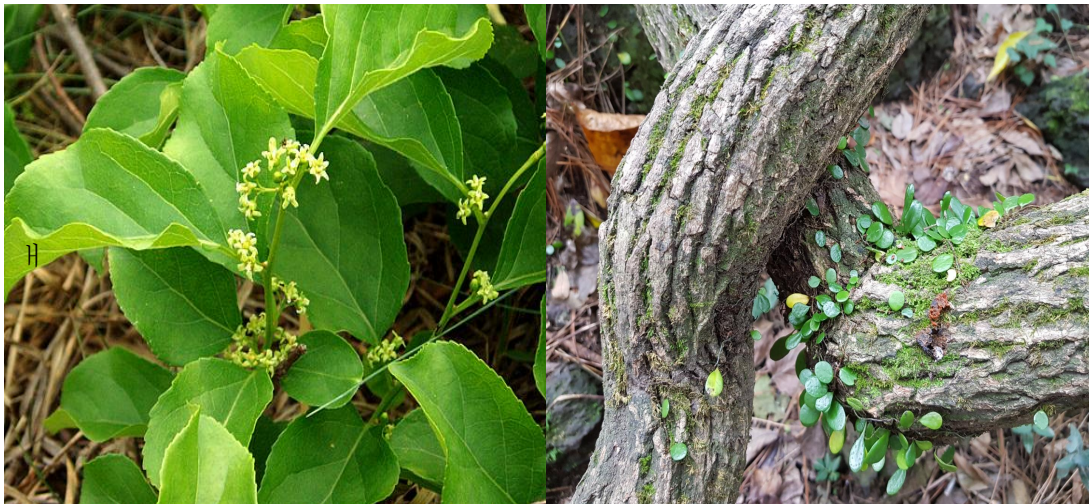


Fig. 1. *Celastrus orbiculatus* Thunb.

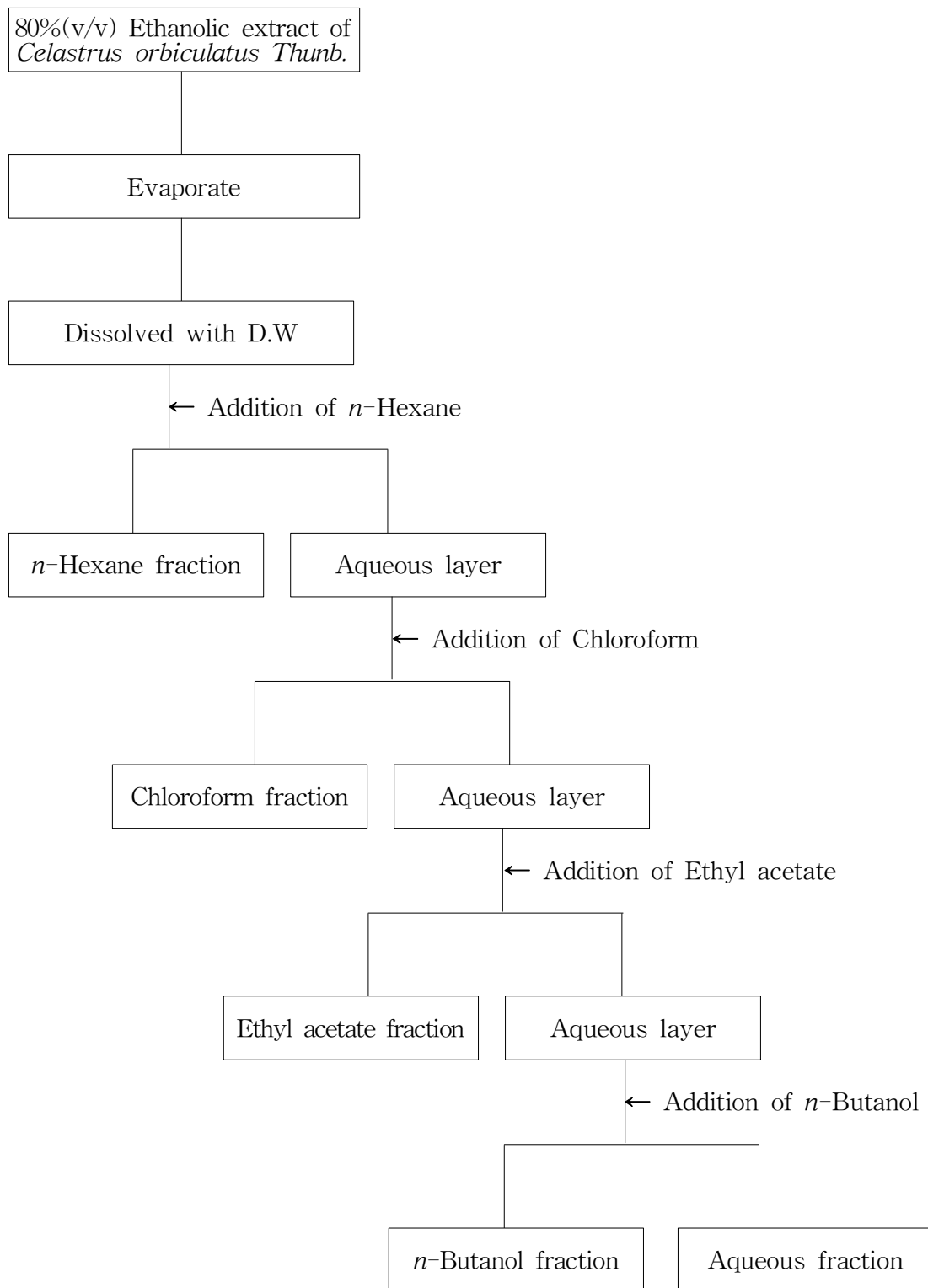


Fig. 2. Solvent fractionation of *Celastrus orbiculatus* Thunb.

2. Phenol 함량 분석

총 페놀 함량 분석은 Folin-Denis 분석방법을 변형하여 사용하였다 (Singleton, 1999). 추출액 및 분획물(80% ethanol, *n*-hexane, chloroform, ethyl acetate, *n*-butanol, aqueous) 각각 100 μ l에 증류수 500 μ l 그리고 Folin-Ciocalteu 시약 50 μ l을 넣고 균일하게 혼합하기 위해 vortexing을 실시하고 5분간 반응하고 20% Na₂CO₃을 300 μ l 넣어 상온에 20분 동안 반응시킨 후 분광광도계 spectrophotometer(Cary 50 Conc UV-Visible, Varian)를 이용해 Y자형 큐벳을 사용하여 725nm에서 흡광도를 측정 하였다. 본 실험은 동일 조건아래 총 3회 실시하였으며 추출액 및 분획물(80% ethanol, *n*-hexane, chloroform, ethyl acetate, *n*-butanol, aqueous)에서의 페놀 함량 산출은 gallic acid를 표준물질로 하여 얻은 표준검량곡선으로부터 GAE(gallic acid equivalent, mg·GAE/g)로 나타내었다.

3. Flavonoid 함량 분석

총 플라보노이드 함량 분석은 식품의약품 안전청의 식품공전에 게재된 방법을 변형하여 분석하였다(Kim, 2012). 추출액 및 분획물(80% ethanol, *n*-hexane, chloroform, ethyl acetate, *n*-butanol, aqueous)에 각각 200 μ l에 10% aluminum nitrate 100 μ l과 1M potassium acetate 100 μ l을 혼합 후 80% 에탄올을 4.6ml를 첨가하여 40분 동안 반응시킨다. 분광광도계 Spectrophotometer를 이용해 417nm에서 흡광도를 측정하였다. 본 실험은 동일 조건아래 총 3회 실시하였으며 추출액 및 분획물(80% ethanol, *n*-hexane, chloroform, ethyl acetate, *n*-butanol, aqueous)에서의 플라보노이드 함량 산출은 quercetin을 표준물질로 하여 얻은 표준검량곡선으로부터 QE(quercetin equivalent, mg·QE/g)로 나타내었다.

4. ABTS radical 소거활성 측정

ABTS 라디칼 소거 활성 측정은 Ko의 방법을 변형하여 분석하였다(Ko, 2016). 7.4mM 2,2'-azino-bis-3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid(Sigma Co., 이하 ABTS)와 2.6mM potassium persulphate 혼합 후 실온, 암소에서 24 시간 방치하여 ABTS 양이온 생성 후 ABTS+ 용액을 희석하여 734nm에서 흡광도 값이 1.0nm 정도가 되도록 희석하여 사용하였다. 희석한 ABTS+ 용액 180 μ l에 추출액 및 분획물(80% ethanol, *n*-hexane, chloroform, ethyl acetate, *n*-butanol, aqueous)을 각각 3.125 μ g/ml, 6.25 μ g/ml, 12.5 μ g/ml, 25 μ g/ml, 50 μ g/ml, 100 μ g/ml 농도로 20 μ l를 혼합하여 실온, 암실에서 30분간 반응시킨 후 734nm에서 흡광도를 측정하였다. 모든 실험은 동일 조건아래 3회 실시하였으며 ABTS radical을 50% 소거하는데 필요한 시료의 양은 RC₅₀으로 표기하였다.

5. DPPH radical 소거활성 측정

노박덩굴 분획물의 전자 공여성(electron donating ability, 이하 EDA) 측정은 Blois(1958)의 방법을 변형하여 각 추출물 및 분획물(80% ethanol, *n*-hexane, chloroform, ethyl acetate, *n*-butanol, aqueous)에 메탄올을 혼합하여 각각 3.125 $\mu\text{g}/\text{ml}$, 6.25 $\mu\text{g}/\text{ml}$, 12.5 $\mu\text{g}/\text{ml}$, 25 $\mu\text{g}/\text{ml}$, 50 $\mu\text{g}/\text{ml}$, 100 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 농도로 20 μl 로 만든 후 0.15mM DPPH(1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl(DPPH) 용액 180 μl 를 96-well plate에 넣어 실온, 암실에서 30분간 방치 후 multi-micro plate reader(Spectramax i3, molecular device, USA)를 이용하여 517nm에서 흡광도를 측정하였다. 모든 실험은 동일 조건아래 3회 실시하였으며 DPPH free radical 소거능은 아래의 계산식으로 계산하였고 DPPH radical을 50% 소거하는데 필요한 시료의 양은 RC_{50} 으로 표기하였다(Blois, 1958).

$$\text{Inhibition rate (\%)} = [1 - (A - B) / C] \times 100$$

A : absorbance of the sample

B : absorbance of the blank

C : absorbance of the control

6. Tyrosinase 저해활성 측정

멜라닌은 생물체의 눈동자, 피부, 머리카락 등 널리 분포되어 있는 색소 성분으로 인체 내에서는 표피층의 멜라노사이트라는 세포 내의 멜라노솜에서 합성되는데, tyrosine을 전구물질로 tyrosinase 효소에 의해 DOPA (3,4-dihydroxy-phe-nylalanine) 또는 DOPA quinone으로 산화 및 중합 반응에 의해 멜라닌이 생합성 된다(Vile, 1993; Cha, 2011). 생성된 멜라닌은 피부색을 검게 하므로 tyrosinase의 활성을 저해하는 생리활성물질을 탐색하는 실험이 미백 효과를 찾는 데 매우 유용한 연구방법으로 평가받고 있다(Jung, 2003; Kim, 2003).

Tyrosinase 저해 활성측정은 Bernard의 실험 방법을 변형하여 각 추출물 및 분획물(80% ethanol, *n*-hexane, chloroform, ethyl acetate, *n*-butanol, aqueous) 10 μ l(final conc. 100, 50, 25, 12.5, 6.25 μ g/ml)와 Mushroom tyrosinase(Aldrich, Co., St, Louis, MO 63103 USA 314-771-5765)를 50mM phosphatebuffer(PH 6.5) 희석시킨 후 20ul (500U/ml)을 혼합하였다(Bernard, 2002). tyrosine을 함유한 mixture(1 mM L-tyrosine : 50 mM phosphate buffer : 증류수 = 10 : 10 : 9)를 제조 한 후 170 μ l을 가한 후 37 $^{\circ}$ C 아래 30분간 incubation 한 후 multi-micro plate reader를 이용하여 490nm에서 흡광도를 측정하였으며 동일 조건 아래 총 3회 실험을 실시하였다.

7. 통계분석

본 실험의 분석 결과 값은 그래프 및 평균 \pm 표준편차로 나타내었으며 각 실험 내용의 통계 처리를 하기위한 프로그램으로 SAS 9.0을 사용하였으며 추출물 및 분획물간의 생리활성을 비교하기 위하여 던컨의 다중범위 검정(Duncan's multiple range test, DMRT)을 사용하여 통계학적 유의성을 분석하였다. 또한 페놀 및 플라보노이드, 항산화 및 tyrosinase 저해활성 간 연관성을 밝히기 위하여 Pearson's Correlation Coefficient 상관관계분석을 실시하였다.

(* $p>0.05$, ** $p>0.01$, *** $p>0.001$)

IV. 결과

1. 노박덩굴 추출물 및 분획물의 수율

채취한 노박덩굴 시료를 2주 이상 음건한 뒤 덩굴줄기를 2cm 이하의 크기로 세절하여 3일 동안 80% ethanol로 3회 반복 추출하였다. ethanol 추출액은 여과지(No.2, Advantec, Toyo Roshi Kaisha, Japan)가 깔려있는 흡인여과기(Buchner funnel)를 이용하여 감압농축한 후 침전물을 분리하였으며, 추출액은 회전농축기 Rotary Evaporator(Laborota 4000, Heidolph, Germany)를 사용하여 40°C에서 감압 농축하였다. 줄기부분에서 26.77g의 분말을 얻어 8.92%의 수율을 나타내었다. 노박덩굴 추출물을 증류수와 혼합하여 분별 깔때기를 사용하여 *n*-hexane, chloroform, ethyl acetate, *n*-butanol, aqueous로 순서대로 분획하였다. 각각의 분획은 3회 반복으로 진행하였으며 각각의 용매 분획량은 줄기부분 분획물에서 *n*-hexane 2.99g(11.87%), chloroform 0.15g(0.58%), ethyl acetate 8.74g(34.70%), *n*-butanol 6.50g(25.82%), aqueous 6.81g(27.03%)를 얻었다(Table 1).

Table 1. Yield extract and fraction from *Celastrus orbiculatus* Thunb.

Extract and fraction	climbing stem	
	Weight (g)	Yield (%)
80% Ethanol (Extract)	26.77	8.92
<i>n</i> -Hexane	2.99	11.87
Chloroform	0.15	0.58
Ethyl acetate	8.74	34.70
<i>n</i> -Butanol	6.50	25.82
Aqueous	6.81	27.03

2. Phenol 검량 분석

식물계에 널리 분포된 2차 대사산물중 하나인 폴리페놀성 물질들은 항산화, 항암, 항염 활성 등과 같은 다양한 생리 활성을 가지며 화학적 구조와 분자 크기가 다양하다(Choe, 2008). 또한 페놀성 수산기를 가지고 있기에 단백질 같은 생체 고분자 화합물과 결합하는 성질이 있어 항산화 효과 등의 생리활성 기능을 가진다(Seob, 2003). 통상적으로 총 페놀성 화합물의 함량은 항산화효과 및 활성을 가지는 물질의 평가지표로 이용되기에 이를 활용해서 노박덩굴 열매의 총 페놀성 화합물 함량을 분석하였다.

본 연구에서 노박덩굴 줄기의 유기용매 추출물 및 분획물을 각각 725nm의 분광광도계로 측정하였으며, 검량선은 gallic acid를 사용하였다. 노박덩굴 줄기의 추출물 및 분획물 폴리페놀 함량은 ethyl acetate($320.51 \pm 4.25\text{mg/g}$)에서 가장 높았으며 함량 순서대로는 ethyl acetate($320.51 \pm 4.25\text{mg/g}$) > *n*-butanol($303.63 \pm 3.10\text{mg/g}$) > chloroform($262.19 \pm 3.35\text{mg/g}$) > 80% ethanol($194.55 \pm 1.97\text{mg/g}$) > *n*-hexane($159.47 \pm 2.71\text{mg/g}$) > aqueous($57.69 \pm 0.74\text{mg/g}$)순이었다(Table 2).

Table 2. Total phenolic contents of Organic solvent extract and Fractions of *Celastrus orbiculatus* Thunb. climbing stem.

Extract and fraction	Total phenolics (mg Gallic acid eq·g ⁻¹) ¹⁾
80% Ethanol (Extract)	194.55 ± 1.97 ^d
<i>n</i> -Hexane	159.47 ± 2.71 ^e
Chloroform	262.19 ± 3.35 ^c
Ethyl acetate	320.51 ± 4.25 ^a
<i>n</i> -Butanol	303.63 ± 3.10 ^b
Aqueous	57.69 ± 0.74 ^f

¹⁾mg· GAE/g; mg· gallic acid equivalent per sample 1g.

The different letters in the same column of five different fractions shows the significant difference by Duncan's multiple range test($p < 0.05$).

3. Flavonoid 검량 분석

플라보노이드는 주로 anthocyanidins, flavonols, flavones, catechins 및 flavanones 등으로 구성되어 있으며, 특정 flavonoid는 구조에 따라 항산화 효과 및 활성을 가지며 다양한 생리활성을 가지고 있다고 보고된다. polyphenolic 화합물은 우수한 항산화능력을 가지고 있고 이는 free radical을 안정시키는 phenolic ring의 존재로 인한 것으로 연구되었다. 통상적으로 총 페놀성 화합물의 함량은 항산화효과 및 활성을 가지는 물질로 이용되기에 이를 활용해서 노박덩굴 줄기의 총 플라보노이드 함량을 분석하였다.

본 연구에서 노박덩굴 줄기의 유기용매 추출물 및 분획물을 각각 415nm의 분광광도계로 측정하였으며, 검량선은 quercetin을 사용하였다.

플라보노이드 함량은 *n*-hexane($8.68 \pm 0.41\text{mg/g}$)에서 가장 높았으며 함량 순서대로는 *n*-hexane($8.68 \pm 0.41\text{mg/g}$) > chloroform($6.56 \pm 0.76\text{mg/g}$) > 80% ethanol($3.01 \pm 1.24\text{mg/g}$) > *n*-butanol($1.91 \pm 0.31\text{mg/g}$) > ethyl acetate($1.50 \pm 0.75\text{mg/g}$) > aqueous($0.02 \pm 0.04\text{mg/g}$)순이었다(Table 3).

Table 3. Total flavonoid contents of whole phenolic extract and its solvent fractions of *Celastrus orbiculatus* Thunb. climbing stem.

Extract and fraction	Total flavonoids (mg Quercetin acid $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$) ¹⁾
80% Ethanol (Extract)	3.01 \pm 1.24 ^c
<i>n</i> -Hexane	8.68 \pm 0.41 ^a
Chloroform	6.56 \pm 0.76 ^b
Ethyl acetate	1.50 \pm 0.75 ^d
<i>n</i> -Butanol	1.91 \pm 0.31 ^{cd}
Aqueous	0.02 \pm 0.04 ^e

¹⁾ mg· QE/g; mg· quercetin acid equivalent per sample 1g.

The different letters in the same column of five different fractions shows the significant difference by Duncan's multiple range test($p < 0.05$).

4. ABTS radical 소거활성 측정

ABTS 라디칼 소거 활성 측정은 $K_2S_2O_8$ 와의 반응에 의해 생성된 ABTS 라디칼이 시료 내에 있는 항산화 물질에 의해 양이온이 제거되어 라디칼 특유의 색상인 청록색이 탈색되는 것을 이용한 방법이다.

노박덩굴 줄기의 분획물을 각각 3.125, 6.25, 12.5, 25, 50, 100 μ g/ml의 농도로 제조하여 ABTS 소거 활성 결과를 나타내었다(Fig. 3 and Table 4).

Fig. 3에서 노박덩굴 줄기 추출물의 분획별 ABTS radical 소거 활성능력은 50 μ g/ml 농도아래 80% ethanol 추출물(94.2%), *n*-hexane(87.7%), chloroform(90.1%), ethyl acetate(97.9%), *n*-butanol(98.1%) 분획물은 control 대비 85% 이상의 소거활성 능력을 나타냈으며, 25 μ g/ml 농도아래 ethyl acetate(95.3%), *n*-butanol(97.0%) 분획물은 control 대비 95% 이상의 활성을 나타냈으며, 12.5 μ g/ml 농도아래 ethyl acetate 분획물(80.5%), *n*-butanol 분획물(85.6%)에서는 control 대비 80%이상의 활성을 나타냈으며, 특히 ethyl acetate 분획물과 *n*-butanol 분획물은 12.5 μ g/ml 이상의 농도아래 각각 합성항산화제 양성대조군 BHT보다 비슷하거나 높은 항산화활성을 나타낸다(Fig. 3).

Table 4에서 보는 것과 같이 노박덩굴 줄기의 추출물, 분획물 별 ABTS radical을 50% 저해할 때 필요한 시료의 농도값(RC_{50})은 *n*-butanol(4.62 \pm 0.20 μ g/ml), ethyl acetate(5.69 \pm 0.25 μ g/ml), 80% ethanol(12.16 \pm 0.36 μ g/ml), chloroform(13.74 \pm 0.38 μ g/ml), *n*-hexane(16.18 \pm 0.37 μ g/ml), aquarius(100.65 \pm 4.16 μ g/ml) 순으로 나타났으며 *n*-butanol 분획물에서 RC_{50} 값은 (4.62 \pm 0.20 μ g/ml)로 가장 높은 활성을 나타냈다(Table 4).

이는 추출물의 다양한 radical 소거능은 추출물 및 분획물에 함유된 폴리페놀 함량과 밀접한 관계를 가진다(Maisuthisakul, 2007). ethyl acetate 분획물과 *n*-butanol 분획물의 경우 총 페놀함량이 가장 많이 함유했던 것과 같이 ABTS radical 소거능 또한 이와 같은 경향으로 *n*-butanol 및 ethyl acetate 분획물에서 가장 높은 활성을 나타냈다.

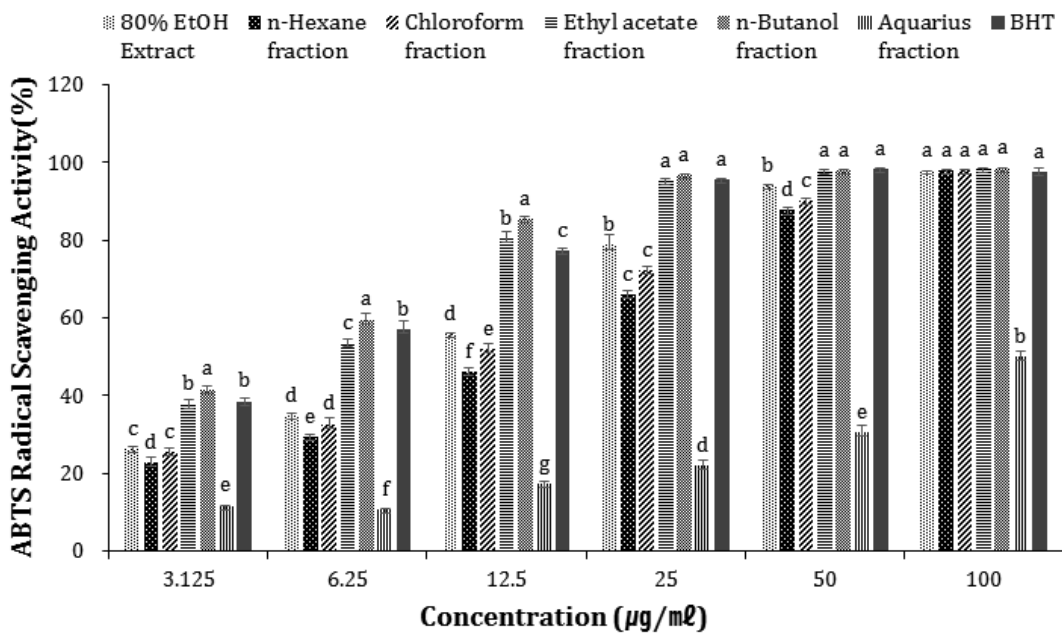


Fig. 3. ABTS radical scavenging activities of Organic solvent extract and Fractions from *Celastrus orbiculatus* Thunb. climbing stem

The different letters in the same column of five different fractions shows the significant difference by Duncan's multiple range test ($p < 0.05$).

Table 4. ABTS radical scavenging activities of Organic solvent extract and fractions from *Celastrus orbiculatus* Thunb. climbing stem(mean±SD)

Extract and fraction	RC ₅₀ ($\mu\text{g}/\text{ml}$) ¹⁾
80% Ethanol	12.16±0.36 ^c
<i>n</i> -Hexane fraction	16.18±0.37 ^b
Chloroform fraction	13.74±0.38 ^{bc}
Ethylacetate fraction	5.69±0.25 ^d
<i>n</i> -Butanol fraction	4.62±0.20 ^d
Aqueous fraction	100.65±4.16 ^a
BHT ²⁾	5.38±0.11 ^d

1) RC50 : Amount required for a 50% reduction of ABTS free radicals after 15 min.

2) BHT : Butylated hydroxytoluene.

The different letters in the same column of five different fractions shows the significant difference by Duncan's multiple range test($p < 0.05$).

5. DPPH radical 소거활성 측정

DPPH는 어두운 자색을 띠는 비교적 안정한 free radical로 항산화물질에 의한 전자 공여에 의해 지진과산화 연쇄반응에 관여하는 산화성 free radical의 억제 정도를 간접적으로 측정할 수 있다(Kim, 2009).

노박덩굴 줄기의 분획물을 각각 3.125, 6.25, 12.5, 25, 50, 100 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 의 농도로 제조하여 DPPH 소거 활성을 측정 결과를 나타내었다(Fig. 4 and Table 5).

Fig. 4에서 노박덩굴 줄기 추출물의 분획별 DPPH radical 소거 활성능력은 50 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 농도아래 ethyl acetate(61.4%), *n*-butanol(70.6%) 분획물은 control 대비 60% 이상의 활성을 나타냈으며, 25 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 농도아래 *n*-butanol(55.0%) 분획물은 control 대비 55%이상의 활성을 나타냈으며, 80% ethanol(35.8%) 추출물, *n*-hexane(34.2%), chloroform(32.1%) 분획물에서 25 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 농도아래 control 대비 30% 이상의 DPPH radical 소거 활성능력을 보였다. 특히 aquarius 분획물을 제외한 모든 분획물은 6.25 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 이상의 농도아래 각각 합성항산화제 양성대조군 BHT보다 높은 항산화활성을 나타내었다(Fig. 4).

Table 5에서 보는 것과 같이 노박덩굴 줄기의 추출물, 분획물 별 ABTS radical 50%저해하는데 필요한 농도값(RC₅₀)은 *n*-butanol(20.98 \pm 0.51 $\mu\text{g}/\text{ml}$), ethyl acetate(29.24 \pm 1.05 $\mu\text{g}/\text{ml}$), ethanol 80%(48.09 \pm 1.67 $\mu\text{g}/\text{ml}$), *n*-hexane(51.58 \pm 1.15 $\mu\text{g}/\text{ml}$), chloroform(56.34 \pm 4.09 $\mu\text{g}/\text{ml}$), aquarius(445.53 \pm 69.09 $\mu\text{g}/\text{ml}$) 순으로 나타났으며 *n*-butanol 분획물에서 가장 높은 (20.98 \pm 0.51 $\mu\text{g}/\text{ml}$) RC₅₀을 나타내었다(Table 5).

이는 여러 가지 추출물의 페놀 함량이 DPPH radical 소거능과 어느정도 밀접한 관계가 있다(Zhou, 2006). 따라서 DPPH radical 소거능 또한 폴리페놀과 ABTS radical 소거능에서 ethyl acetate 분획물과 *n*-butanol 분획물의 소거능이 가장 좋음을 알 수 있다.

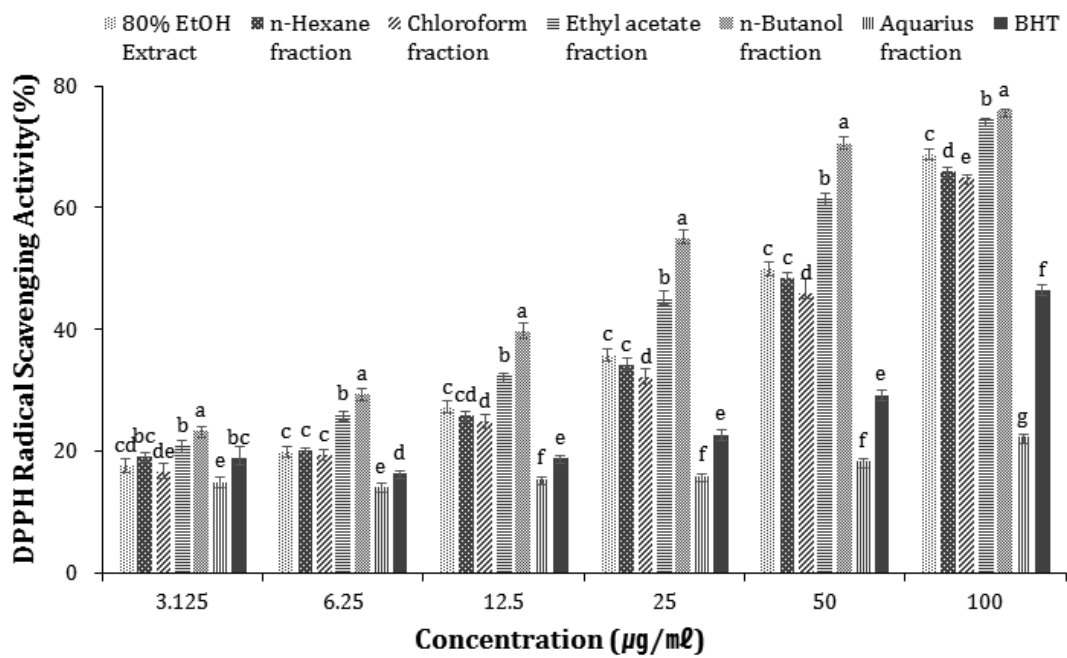


Fig. 4. DPPH radical scavenging activities of Organic solvent extract and fractions from *Celastrus orbiculatus* Thunb. climbing stem

The different letters in the same column of five different fractions shows the significant difference by Duncan's multiple range test ($p < 0.05$).

Table 5. DPPH radical scavenging activities of Organic solvent extract and fractions from *Celastrus orbiculatus* Thunb. climbing stem(mean±SD)

Extract and fraction	RC ₅₀ ($\mu\text{g}/\text{ml}$) ¹⁾
80% Ethanol	48.09±1.67 ^c
<i>n</i> -Hexane fraction	51.58±1.15 ^c
Chloroform fraction	56.34±4.09 ^c
Ethylacetate fraction	29.24±1.05 ^c
<i>n</i> -Butanol fraction	20.98±0.51 ^c
Aqueous fraction	445.53±69.09 ^a
BHT ²⁾	122.01±9.73 ^b

1) RC50 : Amount required for a 50% reduction of DPPH free radicals after 20 min.

2) BHT : Butylated hydroxytoluene.

The different letters in the same column of five different fractions shows the significant difference by Duncan's multiple range test($p < 0.05$).

6. Tyrosinase 저해활성

멜라닌은 생물체의 눈동자, 피부, 머리카락 등 널리 분포되어 있는 색소 성분으로 인체 내에서는 표피층의 멜라노사이트라는 세포 내의 멜라노솜에서 합성되는데 tyrosine을 전구물질로 tyrosinase 효소에 의해 3,4-dihydroxy-*phe*-nylalanine (DOPA) 또는 DOPA quinone으로 산화 및 중합 반응에 의해 멜라닌이 생합성된다(Vile, 1993). 생성된 멜라닌은 피부색을 검게 하므로 tyrosinase의 활성을 저해하는 생리활성물질을 탐색하는 실험이 미백 효과를 찾는데 매우 유용한 연구 방법으로 평가받고 있다(Jung, 2003; Kim, 2003).

노박덩굴 줄기의 분획물을 각각 6.25, 12.5, 25, 50, 100 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 의 농도로 제조하여 tyrosinase 저해활성 측정 결과에 나타내었다(Fig. 5 and Table 6).

Fig. 5에서 노박덩굴 줄기 추출물의 분획별 tyrosinase 저해활성능력은 100 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 농도아래 ethyl acetate 분획물에서는 control 대비 59.5%의 활성을 나타냈으며, chloroform 분획물에서는 41.3%의 활성을 나타내었다. 50 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 농도아래 ethyl acetate 분획물에서는 control 대비 39.5%의 활성을 나타냈으며, chloroform 분획물에서는 35.0%의 활성을 나타내었다. 특히 chloroform, ethyl acetate 분획물에 25 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 이상의 다양한 농도아래 각각 합성미백제 양성대조군 arbutin보다 높은 항산화활성을 나타낸다(Fig. 5).

Table 6에서 보는 것과 같이 노박덩굴 줄기의 추출물, 분획물 별 tyrosinase를 50% 활성을 저해 하는데 필요한 농도값(IC₅₀)은 ethyl acetate(78.06 \pm 18.16 $\mu\text{g}/\text{ml}$), chloroform(79.67 \pm 13.57 $\mu\text{g}/\text{ml}$), *n*-butanol(235.91 \pm 23.75 $\mu\text{g}/\text{ml}$), *n*-hexane(261.18 \pm 64.81 $\mu\text{g}/\text{ml}$), 80% ethanol(520.53 \pm 25.97 $\mu\text{g}/\text{ml}$), aquarius(1094.44 \pm 247.17 $\mu\text{g}/\text{ml}$) 순으로 나타났으며 ethyl acetate 분획물에서 IC₅₀ (78.06 \pm 18.16 $\mu\text{g}/\text{ml}$)로 가장 높은 활성을 보여주고 있다(Table 6).

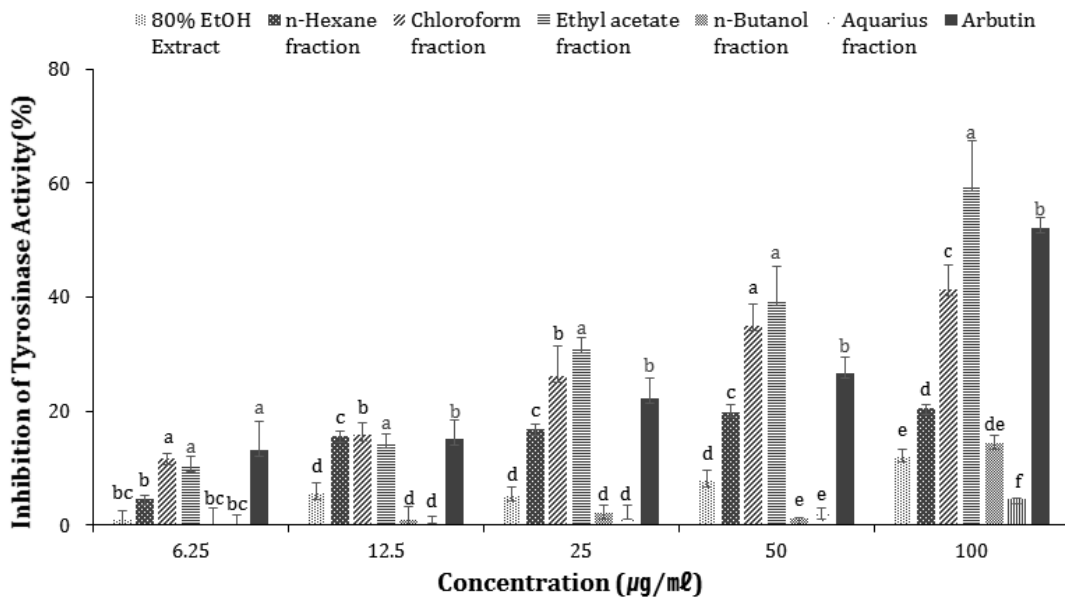


Fig. 5. Tyrosinase inhibitory activities of Organic solvent extract and Fractions from *Celastrus orbiculatus* Thunb. climbing stem

The different letters in the same column of five different fractions shows the significant difference by Duncan's multiple range test ($p < 0.05$).

Table 6. Tyrosinase inhibitory activities of Organic solvent extract and fractions from *Celastrus orbiculatus* Thunb. climbing stem(mean±SD)

Extract and fraction	IC ₅₀ ($\mu\text{g}/\text{ml}$) ¹⁾
80% Ethanol	520.53±25.97 ^b
<i>n</i> -Hexane fraction	261.18±64.81 ^c
Chloroform fraction	79.67±13.57 ^c
Ethylacetate fraction	78.06±18.16 ^c
<i>n</i> -Butanol fraction	235.91±23.75 ^c
Aquarius fraction	1094.44±247.17 ^a
Arbutin	97.02±1.63 ^c

1) IC₅₀ : Amount required for a 50% reduction of tyrosinase inhibition activity after 20 min.

The different letters in the same column of five different fractions shows the significant difference by Duncan's multiple range test($p < 0.05$).

7. 상관관계 분석

각 추출물 및 분획물간의 생리활성을 비교하기 위하여 던컨의 다중범위 검정 (Duncan's multiple range test, DMRT)을 이용하여 통계학적 유의성을 분석하였다. 또한 페놀 및 플라보노이드 함량과 항산화효과 및 tyrosinase 저해 활성간의 연관성을 분석하기 위하여 pearson의 상관관계분석을 하였으며 유의수준에 따라 표기하였다(* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$).

총 폴리페놀 함량과 ABTS 사이에 상관관계는 $-0.8493(p < 0.001)$ 으로 높은 부의 상관관계를 나타냈으며 폴리페놀 함량과 DPPH 사이에 관계는 $-0.7441(p < 0.001)$ 로 높은 부의 상관관계를 나타냈다. ABTS와 DPPH 소거 활성 값의 r값은 $0.9071(p < 0.001)$ 로 높은 정의 상관관계를 보였고 총 폴리페놀 함량과 tyrosinase 저해 활성 값의 r값은 $-0.7255(p < 0.001)$ 로 높은 부의 상관관계를 보이는 것으로 나타났다. 반면 플라보노이드 함량에 따른 통계학적 유의성은 매우 낮게 나타났다(Table 7).

Table 7. Correlation coefficient between active components and their biological activities of *Celastrus orbiculatus* Thunb. climbing stem extract and fractions.

Factor	Polyphenol	Flavonoid	DPPH	ABTS	Tyrosinase
Polyphenol	1	-0.0320^{NS}	-0.7441^{**}	-0.8493^{***}	-0.7255^{**}
Flavonoid	-	1	-0.0031^{NS}	0.0579^{NS}	-0.3791^{NS}
DPPH	-	-	1	0.9071^{***}	0.3333^{NS}
ABTS	-	-	-	1	0.4489^{NS}
Tyrosinase	-	-	-	-	1

^{NS} Not significant. Significant at * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$.

V. 고 찰

많은 합성항산화제가 개발되어 왔지만 보다 안전한 식물유래 천연 항산화제의 개발이 요구되고 있으며 최근 노박덩굴에 대한 항산화, 항균, 항염증, 암세포, 약리학, 신호전달물질에 대한 연구가 진행되어왔다. 본 연구에서는 제주도 꽃자왈에서 자생하는 노박덩굴 줄기로부터 에탄올 추출물 및 순차적 용매 분획물을 얻은 후 노박덩굴이 가진 항산화성 및 미백효과를 연구함으로써 특정 분획물에서 화장품 및 식품보조제 등의 기능성 소재로서의 개발 가능성을 알아보고 그 활용방안과 기초자료로 제공하기 위하여 실시하였다.

추출물 및 분획물의 폴리페놀 함량은 ethyl acetate($320.51 \pm 4.25\text{mg/g}$)와 *n*-butanol($303.63 \pm 3.10\text{mg/g}$) 순으로 높았다(Table 2).

이러한 결과는 예로부터 식용 또는 약용식물로 사용된 자생식물 중 야관문이 ethyl acetate 분획물 층에서 총페놀 함량이 가장 높은 값을 나타낸 결과와 유사하였고(Cho, 2011), 노박덩굴 열매의 총페놀함량은($69.92 \pm 0.53\text{mg/g}$)으로 페놀성 화합물의 함량이 높아 다양한 생리활성을 가질 것으로 추측된다(Kim, 2015). 감국, 산국, 구절초 추출물의 항산화 실험에서 폴리페놀 함량이 24.84mg/g, 42.44mg/g 및 34.94 mg/g이었고(Lee, 2009), 노박덩굴 줄기의 폴리페놀함량은 열매부분에 비해 약 4배 이상의 높은 페놀함량을 보인다.

추출물 및 분획물 플라보노이드 함량은 *n*-hexane($8.68 \pm 0.41\text{mg/g}$)와 chloroform($6.56 \pm 0.76\text{mg/g}$) 순으로 높았다(Table 3).

플라보노이드 함량에 따른 통계학적 유의성은 매우 낮게 나타났는데 분획을 진행하면서 분획물의 색상을 관찰할 때 안토시아닌, 클로로필은 대표적인 플라보노이드계 성분이며(Daley, 1985) 이들은 용매에 균일하게 녹아서 색을 띄는 것이 특징인 반면 분획을 진행하며 시각적으로 색상을 관찰하였을 때 안토시아닌, 클로로필과 같이 용매에 균일한 고유의 색상이 나타나지 않았으며 갈색 입상이 떠 있는 것을 미루어 카로티노이드계 색소로 사료된다.

항산화 활성 평가를 위해 진행한 DPPH와 ABTS 소거 활성은 두 실험 공통적으로

n-butanol 및 ethyl acetate 분획물에서 높은 활성을 나타내었으며 이때 ABTS의 RC₅₀값은 *n*-butanol($4.62 \pm 0.20 \mu\text{g}/\text{ml}$), ethyl acetate($5.69 \pm 0.25 \mu\text{g}/\text{ml}$) 활성을 나타냈으며 DPPH의 RC₅₀값은 *n*-butanol($20.98 \pm 0.51 \mu\text{g}/\text{ml}$), ethyl acetate($29.24 \pm 1.05 \mu\text{g}/\text{ml}$) 활성을 나타내었다. 두 실험 모두 *n*-butanol, ethyl acetate 분획물은 12.5 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 이상의 다양한 농도에서 각각 합성항산화제 양성대조군 BHT보다 비슷하거나 높은 항산화활성을 나타낸다(Table 4 and Table 5).

이러한 결과는 예로부터 식용 또는 약용식물로 사용된 자생식물 중 쇠비름과 엉겅퀴 잎이 *n*-butanol, ethyl acetate 분획물 층에서 가장 높은 DPPH radical 소거활성을 나타낸 결과와 유사하였고(Lee, 2003; Lee, 2003) 노박덩굴의 DPPH free radical 소거활성능력은 노박덩굴 추출물의 항산화 및 항균효과(Kang, 2009)에서 *n*-butanol 분획물에서 높았다고 보고된 결과와 일치하였고 항산화 활성평가 실험인 ROS제거 활성 측정에서도 *n*-butanol 분획물에서 높았다고 보고된 결과와 일치하였다(Ku, 2007). 따라서 노박덩굴에 함유되어 있는 항산화물질이 ethyl acetate, *n*-butanol에 잘 용해되는 물질로 추정되며 이는 노박덩굴에 존재하는 폴리페놀류 물질에 의하여 ABTS radical 및 DPPH free radical 소거 활성에 영향을 미치는 것으로 보여준다.

미백 활성 평가를 위해 진행한 노박덩굴 줄기 추출물의 분획별 tyrosinase 저해활성능력은 ethyl acetate 및 chloroform 분획물에서 높은 활성을 나타내었으며 이때 tyrosinase의 IC₅₀값은 ethyl acetate($78.06 \pm 18.16 \mu\text{g}/\text{ml}$), chloroform($79.67 \pm 13.57 \mu\text{g}/\text{ml}$) 활성을 나타내었다. ethyl acetate, chloroform 분획물은 25 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 이상의 다양한 농도에서 각각 합성미백제 양성대조군 양성대조군 arbutin보다 비슷하거나 높은 항산화활성을 나타낸다(Table 6).

총 폴리페놀 함량과 ABTS 사이의 상관관계는 높은 부의 상관관계를 나타냈으며 폴리페놀 함량과 DPPH 사이의 관계는 높은 부의 상관관계를 나타냈다. ABTS와 DPPH 사이의 관계는 높은 정의 상관관계를, 총 폴리페놀 함량과 tyrosinase 사이의 관계는 높은 부의 상관관계를 보이는 것으로 나타났다(Table 7).

기존 연구를 살펴보면 추출물의 활성산소종 radical 소거능은 추출물 및 분획물에 함유된 폴리페놀 함량과 밀접한 관계를 가지며(Maisuthisakul, 2007), 다양한 유기용매를 사용한 추출물의 페놀 함량이 DPPH radical 소거능과 어느정도

밀접한 관계가 있다고 보고되어있다(Zhou, 2006). 상대적으로 우수한 소거능을 보이는 DPPH 및 ABTS 특정 분획물이 tyrosinase저해 활성에서도 우수한 활성을 보인다(Kwon, 2016; Lee *et al.*, 2015; Yun *et al.*, 2004).

따라서 폴리페놀 함량이 높았던 ethyl acetate 분획물과 *n*-Butanol 분획물은 ABTS와 DPPH radical 소거능 활성에서도 높은 활성을 나타냈고 tyrosinase 저해활성에서도 ethyl acetate 분획물에서 높은 활성을 나타내었다.

노박덩굴 ethyl acetate 분획물에서 epicatechin, epiafzelechin 등의 페놀성 물질이 분리되었다(Hwang, 2001). epicatechin은 포도씨와 껍질에서 존재하며 우수한 항산화활성을 나타내고 있다(Yilmaz, 2004). epiafzelechin은 차풀나무에서 존재하며 우수한 항산화활성을 나타내고 있다(Kafui, 2010). epicatechin을 함유한 크림을 과색소침착 환자에게 투여했을 때 미백 효과가 보고되었다(Barkat, 2013).

따라서 각 실험의 상관관계 분석을 통하여 노박덩굴 줄기에 함유하고 있는 페놀성 화합물이 항산화 및 tyrosinase저해 활성에 영향을 준다고 사료된다.

향후 제주도 곳자왈에 널리 서식하는 노박덩굴은 낙엽활엽 덩굴식물이기에 줄기에 대한 특정 분획물을 이용한다면 화장품 및 식품보조제 등의 기능성 소재로서의 개발 이용이 가능할 것으로 사료된다.

VI. 적 요

본 연구에서는 제주도 꽃자왈에서 자생하는 노박덩굴 줄기로부터 에탄올 추출물 및 순차적 용매 분획물을 얻은 후 노박덩굴이 가진 항산화성 및 미백효과를 연구함으로써 화장품 및 식품보조제 등의 기능성 소재로서의 개발 가능성을 알아보고 그 활용방안과 기초자료로 제공하기 위하여 실시하였다.

추출물 및 분획물의 폴리페놀 함량은 ethyl acetate에서 가장 높았으며 순서대로는 ethyl acetate, *n*-butanol, chloroform, 80% ethanol, *n*-hexane, aqueous 순이었고(Table 2) 플라보노이드 함량은 추출물 및 분획물 모두 낮은 값을 보이고 있다(Table 3).

항산화 활성 평가를 위해 진행한 ABTS와 DPPH 소거 활성은 두 실험 공통적으로 *n*-butanol 및 ethyl acetate 분획물에서 높은 활성을 나타내었으며 이때 ABTS의 RC_{50} 값은 *n*-butanol($4.62 \pm 0.20 \mu\text{g/ml}$), ethyl acetate($5.69 \pm 0.25 \mu\text{g/ml}$) 활성을 나타내었다. *n*-butanol, ethyl acetate 분획물은 $12.5 \mu\text{g/ml}$ 이상의 다양한 농도에서 각각 합성항산화제 양성대조군 BHT보다 비슷하거나 높은 항산화활성을 나타낸다(Table 4).

DPPH의 RC_{50} 값은 *n*-butanol($20.98 \pm 0.51 \mu\text{g/ml}$), ethyl acetate($29.24 \pm 1.05 \mu\text{g/ml}$) 활성을 나타내었다. *n*-butanol, ethyl acetate 분획물은 $6.25 \mu\text{g/ml}$ 이상의 다양한 농도에서 각각 합성항산화제 양성대조군 BHT보다 비슷하거나 높은 항산화활성을 나타낸다(Table 5).

미백 활성 평가를 위해 진행한 노박덩굴 줄기 추출물의 분획별 tyrosinase 저해활성능력은 ethyl acetate 및 chloroform 분획물에서 높은 활성을 나타내었으며 이때 tyrosinase의 IC_{50} 값은 ethyl acetate($78.06 \pm 18.16 \mu\text{g/ml}$), chloroform($79.67 \pm 13.57 \mu\text{g/ml}$) 활성을 나타내었다. ethyl acetate, chloroform 분획물은 $25 \mu\text{g/ml}$ 이상의 다양한 농도에서 각각 합성미백제 양성대조군 arbutin보다 비슷하거나 높은 항산화활성을 나타낸다(Table 6).

상관관계 분석은 총 폴리페놀 함량과 ABTS 및 DPPH 소거 활성 값의 r값은 -0.8493($p < 0.001$) 및 -0.7741($p < 0.01$)로 높은 부의 상관관계를 보였으며 ABTS와 DPPH 소거 활성 값의 r값은 0.9071($p < 0.001$)로 높은 상관성을 보였고 총 폴리페놀 함량과 tyrosinase 저해 활성 값의 r값은 -0.7255($p < 0.01$)로 상관관계를 보이는 것으로 나타났다(Table 7).

따라서 폴리페놀 함량이 높았던 ethyl acetate 분획물과 *n*-butanol 분획물은 ABTS와 DPPH radical 소거능 활성에서도 높게 관찰되었고 tyrosinase 저해활성에서도 ethyl acetate 분획물에서 활성을 나타내는 각 실험의 상관관계 분석을 볼 때 이는 노박덩굴 줄기의 폴리페놀의 특정 성분이 항산화 능력과 tyrosinase 저해 활성능력을 발현하는데 많은 영향을 주고 있다고 볼 수 있다.

인 용 문 헌

- Barkat, A. K., N. Akhtar, I. Hussain and K. A. Abbas. 2013. Whitening efficacy of plant extracts including Hippophae rhamnoides and Cassia fistula extracts on the skin of Asian patients with melasma. *Postepy Dermatol Alergol* 30(4):226-232.
- Bernard, P., N. Burine, E. Arnoult, T. Scior and Q. T. Do. 2002. Preliminary screening of some tropical plants for anti-tyrosinase activity. *Journal of Ethnopharmacology* 82(2-3):155-158.
- Blois, M. S. 1958. Antioxidant determination by the use of a stable free radical. *Nature* 181:1199-1200.
- Cha, J. Y., H. J. Yang, J. J. Jeong, W. S. Seo, J. S. Park and M. Ok. 2010. Tyrosinase Inhibition Activity and Antioxidant Capacity by Fermented Products of Some Medicinal Plants. *Journal of Life Science* 20(6):940-947.
- Cha, J. Y. 2011. Biological Activity of Methanolic Extract from *Ganoderma lucidum*, *Momordica charantia*, *Fagopyrum tataricum*, and Their Mixtures. *Journal of Life Science* 21(7):1016-1024.
- Cho, E. J., H. M. Ju., C. H. Jeong., S. H. Eom., H. J. Heo. and D. O. Kim. 2011. Effect of phenolic extract of Dry Leaves of *Lespedeza cuneata* G. Don on Antioxidant Capacity and Tyrosinase Inhibition. *Korea journal of horticultural science & technology* 24(4):358-365.
- Cho, H. 2001. Isolation and Identification of the Antioxidant and Hepatoprotective Compounds from Natural Products. Department of Pharmaceutical Sciences Graduate School of Wonkwang University. (Translated by author)
- Choe, M., D. J. Kim, H. J. Lee, J. K. You, D. J. Seo, J. H. Lee and M. J. Chung. 2008. A study on the glucose-regulating enzymes and antioxidant activities of water extracts from medicinal herbs. *Journal of the Korean Soc*

- ity of Food Science and Nutrition 37(5):542-547.
- Choi, O. J. 1991. Ingredient and utilization of medicinal herbs. il wol Co. Ltd., 454-455.
- Daley, L. S. 1985. Attenuance rank is a rapid non-extractive measure of in vi vo anthocyanin color and chlorophyll content of leaves of *Corylus*. SCIENTIA HORTICULTURAE 28(1):165-176.
- Gunatilaka, A. L. 1996. Triterpenoid quinonemethides and related compounds (c elastroloids). Progress in the chemistry of organic natural products 67:1-176.
- Guo, Y. Q., X. Li, J. Xu, N. Li, D. L. Meng and J. H. Wang. 2004. Sesquiterp ene esters from the fruit of *Celastrus orbiculatus*. Chemical and Pharmac eutical Bulletin 52(9):1134-1136.
- Hwang, B. Y. 2001. Antioxidant Benzoylated Flavan-3-ol Glycoside from *Cela strus orbiculatus*. Journal of Natural Products 64(1):82-84.
- Jiangsu, Y. 1997. Dictionary of Chinese Herbal medicine. New Medicinal Colle ge, Shanghai People's Publishing House. 1550-1563.
- Jin, H. Z., B. Y. Hwang, H. S. Kim, J. H. Lee, Y. H. Kim and J. J. Lee. 2002. Antiinflammatory constituents of *Celastrus orbiculatus* inhibit the NF- κ B activation and NO production. Journal of Natural Products (65):89-91.
- Jung, S. W., N. K. Lee, S. J. Kim, and D. S. Han. 1995. Screening of tyrosina se inhibitor from plants. Korean Journal of Food Science and Technology (27):891-896.
- Kafui, K. 2010. Epiafzelechin from the Root Bark of *Cassia sieberiana*: Detecti on by DART Mass Spectrometry, Spectroscopic Characterization, and An tioxidant Properties. Journal of Natural Products 74(3):455-464.
- Kang, D. Y., M. O. Shin and S. J. Bae. 2009. The Antioxidative and Antimicr obial Effects of *Celastrus orbiculatus*. Journal of Life Science 19(1):52-57 (Translated by author)
- Kang, D. Y., M. O. Shin and S. J. Bae. 2006. Growth Inhibition Effects of Ca

- ncer cell Lines by *Celastrus orbiculatus* Fractions. The Korean Society of Food Science and Nutrition. 34(6):771-775.(Translated by author)
- Kim, C. H., M. C. Kwon, H. G. Han, C. S. Na, H. G. Kwak, G. P. Choi, U. Y. Park, and H. Y. Lee. 2008. Skin-whitening and UV-protective effects of *Angelica gigas* Nakai extracts on ultra high pressure extraction process. Korean Journal of Medicinal Crop Science 16(4):255-260.
- Kim E. J., Choi J. Y., Yu M., Kim M.Y., Lee S. and Lee B.H. 2012. Total polyphenols, total flavonoid contents, and antioxidant activity of Korean natural and medicinal plants. Korean Journal of Food Science and Technology 44(3):337-342.
- Kim, H. S., M. J. Hong, I. Y. Kang, J. Y. Jung, H. G. Kim, Y. S. Shin, H. J. Jeon, J. G. Seo and Y. H. Kang. 2009. Radical scavenging activities and antioxidant constituents of oriental melon extract. Journal of bio-environment control 18(4):442-447.
- Kim, H. Y and M. H. Kang, 2005. Screening of Korean medicinal plants for lipase inhibitory activity. Phytotherapy research 19(4):359-361.
- Kim, J. H. 1997. Characters for numerical analysis of Korean *Euonymus*, Korean Journal of Plant Taxonomy 3(2):331-348.
- Kim, J. S., Y. S. Kwon., W. J. Chum., T. Y. Kim., J. Sun., C. Y. Yu., and M. J. Kim. 2011. Isolation and identification of sea buckthorn(*Hippophae rhamnoides*) phenolics with antioxidant activity and α -glucosidase inhibitory effect. Journal of Agricultural and Food Chemistry 59(1):138-144.
- Kim, J. S and K. C. Kim. 2016. Antioxidant and α -Glucosidase Inhibitory Activities of Hunt Leaf Extract and Fractions. Korean Journal of Medicinal Crop Science 24(3):222-227.
- Kim, K. J, H. J. Lee and W. Kim. 1976. Effects of Different Soil Moisture on the Growth of *Celastrus orbiculatus*. Nature & Life 12(6):73-81.
(Translated by author)
- Kim, S. H., B. O. Jung, S. J. Chung. 2015. The Effect of the Extracted *Celast*

- rus orbiculatus* Fruits on the Water-soluble Chitosan's Antioxidant Activity. *Journal of Chitin Chitosan*. 20(4):260-266.
- Kim, S. J., M. Y. Heo, K. H. Bae, S. S. Kang, and H. P. Kim. 2003. Tyrosinase inhibitory activity of plant extract (III): Fifty Korean indigenous plants. *Toxicology and Applied Pharmacology* 11(4):245-248.
- Ko, H. M., T. K. Eom, S. K. Song, G. Y. Jo and J. S. Kim. 2016. Tyrosinase and α -Glucosidase Inhibition Activities and Antioxidant Effects of Extracts from different Parts of *Hypochaeris radicata*. *Korea Journal of Medicinal Science*. 25(3):139-145.
- Ku, M. J. 2007. Effects of anticarcinogenic and antioxidant activity of *Celastrus orbiculatus* fractions. Department of Food and Nutrition Graduate School of Silla University.
- Ku, M. J. 2007. The Effects of Growth Inhibition and Quinone Reductase Activity Stimulation of *Celastrus Orbiculatus* Fractions in Various Cancer Cells. *The Korean Nutrition Society* 40(6):493-499.
- Kwon, O. J. 2016. Antioxidant and tyrosinase inhibitory activities of immature fruits of *Malus pumila* cv. Fuji. *Korean Journal of Food Preservation* 23(4):585-590.
- Lee, H. J., B. J. Lee, D. S. Lee and T. W. Seo. 2003. DPPH radical scavenging effect and in vitro lipid peroxidation inhibition by *Potulaca oleracea*. *Korean journal of biotechnology and bioengineering* 18(3):165-169.
- Lee, H. K., J. S. Kim, N. Y. Kim, M. J. Kim, S. U. Park and C. Y. Yu. 2003. Antioxidant, antimutagenicity and anticancer activities of extracts from *Cirsium japonicum* var. *ussuriense* KITAMARU. *Korean Journal of Medicinal Crop Science* 11(1):53-61.
- Lee, J. H., T. H. Koo, H. K. Yoon, H. S. Jung, H. Z. Jin, K. Lee, Y. S. Hong and J. J. Lee. 2006. Inhibition of NF- κ B activation through targeting I κ B kinase by celastrol, a quinone methide triterpenoid. *Biochemical pharmacology* 72(10):1311-1321.

- Lee, K. D., K. J. Kim. 2008. Protective Effects of Celastrol, the Triterpenoid Component of *Celastrus Orbiculatus*, on Dopaminergic Neuronal Cells in 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridinelesioned Parkinson's Disease Rats. *Journal of Korean Oriental Medicine* 29(4):94-103.
- Lee, K. E., E. S. Lee, S. G. Kang. 2015. Antioxidant and Tyrosinase Inhibitory Effects of the Extract Mixtures of *Perilla frutescens*, *Houttuynia cordata* and *Camellia sinensis*. *Journal of the Society of Cosmetic Scientists of Korea* 41(2):173 - 180.
- Lee, S. H., I. G. Hwang, J. W. Nho, Y. D. Chang, C. H. Lee, K. S. Woo and H. S. Jeong. 2009. Quality characteristics and antioxidant activity of *Chrysanthemum indicum* L., *Chrysanthemum boreale* M. and *Chrysanthemum zawadskii* K. powdered teas. *Journal of the Korean Society of Food Science and Nutrition* 38(7):824-831.
- Maisuthisakul, P., M. Suttajit and R. Pongsawatmanit. 2007. Assessment of phenolic content and free radical-scavenging capacity of some Thai indigenous plants. *Food Chemistry* 100(4):1409-1418.
- Min. K. R., 1999. Cyclooxygenase inhibition and anti-inflammatory effect of *Celastrus orbiculatus*. College of Pharmacy Graduate School of Chungbuk National University.
- Park, H. J. 2011. Pharmacological activity of *Celastrus orbiculatus*. College of Pharmacy Graduate School of Woosuk University. 12 - 13.
- Seob, U. H., H. J. Choe, H. S. Han, H. H. Park, J. H. Son, B. J. An, G. M. Son and C. Choe. 2003. Isolation of polyphenol from green tea by HPLC and its physiological activities. *Korean Journal of Food Science and Technology* 35(6):1199-1203.
- Shim, K. K. 1984. Studies on Propagation of Bittersweet(*Celastrus orbiculatus*). *Korean Society For Horticultural Science* 5:78-79
- Singleton, V.L., R. Orthofer and R.M. Lamuela-Raventos. 1999. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of F

- olin-Ciocalteu reagent. *Methods in Enzymology* 299:152-178.
- Song, H. J. and Kim, Y, J. 1996. A Bibliographic study on the medicinal plants of Celastraceae in Korea. *The Korea Journal of Herbology* 11(1):13-13.
- Vile, G. F. and R. M. Tyrrell. 1995. UVA radiation-induced oxidative damage to lipid and protein in vitro and in human skin fibroblast is dependent on iron and singlet oxygen. *Free Radical Biology and Medicine* 18(4):721-730.
- Wang, M. A. and W. J. Wu. 2002. The insecticide constituents of several Celastraceae plants. *The Korean Journal of Pesticide Science* 6(1):9-15.
- Yilmaz, Y. 2004. Major flavonoids in grape seeds and skins: antioxidant capacity of catechin, epicatechin, and gallic acid. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 52(2):255-60.
- Yokozawa, T., C. P. Chen, E. Dong, T. Tanaka, G. I. Nonaka and I. Nishioka. 1988. Study on the inhibitory effect of tannins and flavonoid against the 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl radical. *Biochemical Pharmacology* 56(2):213-222.
- You, J. K., M. J. Chung, D. J. Kim, D. J. Seo, J. H. Park, T. W. Kim, and M. Choi. 2009. Antioxidant and tyrosinase inhibitory effects of *Paeonia suffruticosa* water extract. *Journal of Korean Society of Food Science and Nutrition* 38(3):292-296.
- Yun, K. A. and Y. J. Park. 2004. Antioxidant and Tyrosinase Inhibitory Effects of *Brassica oleracea* L. Fractions. *Journal of Korean Society of Food Science and Nutrition* 33(1) :7-15.
- Zhou, K. and L. Yu. 2006. Total phenolic contents and antioxidant properties of commonly consumed vegetables grown in Colorado. *LWT-Food Science and Technology*. 39(10):1155-1162.
- Zhang, H., Y. Qian, Y. Liu, P. Cui, Y. Zhu, H. Ma, X. Ji, S. Guo and H. Tadashi. 2012. *Celastrus orbiculatus* extract induces mitochondrial mediated apoptosis in human hepatocellular carcinoma cells. *Journal of Traditional Chi*

nese Medicine 32(4):621-626.

김종원. 2013. 한국식물생태도감 1. 자연과생태. pp.204.

이창복. 1980. 대한식물도감. 향문사. pp.520-521.

정보섭, 1990. 신민교. 도해 향약(생약) 대사전(식물편). 영림사. pp.366.

感 謝 文

먼저 모든 영광을 하나님께 드립니다. 창밖으로 보드라운 눈송이들이 차분하게 내려앉고 있습니다. 부족한 한편의 논문이 완성되기까지 도움을 주신 분들이 새록새록 떠오릅니다. 저를 항상 믿고 지켜봐주시고 자상하게 지도해주신 지도교수 송창길 교수님께 그리고 대학원 진학의 길로 안내해주신 박석근 교수님께 진심으로 감사의 말씀드립니다. 그리고 바쁘신 와중에도 논문심사를 맡아 주시고 논문이 완성되기까지 좋은 지적과 조언을 해주신 전용철 교수님, 김주성 교수님께 진심으로 감사드리며 대학원 과정에서 많은 가르침을 주신 김동순 교수님, 현해남 교수님께도 감사의 말씀드립니다.

타 대학교 및 타과출신인 저에게 식물에 관심을 가지게 하고 물심양면 도와주신 김태근 선배님, 하영삼 선배님, 장용석 선배님, 김용근 선배님, 강영식 선배님, 문상호 선배님, 오명협 선배님, 고평열 선배님, 김순국 선배님, 김정수 선배님, 이종훈 조교님, 현명선 누나, 오동은, 이희선, 권난희, 최고봉, 라종환, 김경철, 고현민, 이성문, 이승학, 고명수, 고효순, 신용호, 라종환, 고은주, 이강해를 비롯한 대학 및 대학원 선후배님들께 감사의 말씀을 드리며 특히 같은 실험실 신용하 군의 안내가 없었다면 이 논문은 아마 길을 잃고 표류하는 한 척의 배가 되었을 것입니다.

대학원 뒤에서 묵묵히 지켜봐주시고 많은 배려를 해주고 조건없는 사랑을 베풀어준 가족들 아내 이지영, 아들 노윤우, 아버지 노전선, 어머니 문영순, 장인어른 이형철, 장모님 문은자, 손위처남 이지석, 아주머니 김수진, 논현동 외할머니 이순예, 수동 외할머니 이옥연, 명리동 할머니 김윤심에게 감사의 말씀드립니다. 또한 직장생활을 병행하며 제 빈자리를 대신해준 환상숲꽃자왈공원 직원 분들과 저지리 이웃 가족들에게도 감사의 말씀을 드립니다.

마지막으로 이 논문의 배경과 영감이 되어준 환상숲꽃자왈공원과 (사)꽃자왈사람들에게 가슴 깊은 곳으로부터 감사드립니다.