

## 노박덩굴 추출물의 항산화 및 항균 효과

강대연<sup>1</sup> · 신미옥<sup>2</sup> · 손재학<sup>3</sup> · 배송자<sup>1,2,\*</sup>

<sup>1</sup>신라대학교 마린바이오 산업화 지원센터, <sup>2</sup>신라대학교 식품영양학과, <sup>3</sup>바이오식품소재학과

Received August 2, 2008 / Accepted November 28, 2008

**The Antioxidative and Antimicrobial Effects of *Celastrus orbiculatus*.** Kang, Dae-Yeon<sup>1</sup>, Shin, Mi-Ok<sup>2</sup> and Shon, Jae-Hak<sup>3</sup> and Bae, Song-Ja<sup>1,2,\*</sup>. <sup>1</sup>Marine Biotechnology Center for Biofunctional Material Industries, <sup>2</sup>Department of Food and Nutrition, <sup>3</sup>Bio-food Material, Silla University, Busan 617-736, Korea - This study was carried out to investigate the antioxidative and antimicrobial activities of *Celastrus orbiculatus* (CO). CO was extracted with methanol and then further fractionated with n-hexane (COMH), butanol (COMB), methanol (COMM) or aqueous (COMA) to get active fractions. The antioxidative activity of fractions from CO was investigated by measuring the scavenging activities of CO against DPPH radical, peroxyxynitrite (ONOO) and reactive oxygen species (ROS). Among the various solvent fractions, the COMB showed a marked scavenging effect against DPPH radical, peroxyxynitrite (ONOO) and reactive oxygen species(ROS). The antimicrobial activity was increased in proportion to its concentration by the paper disk method. Among the various solvent fractions, the COMM and COMB fractions of CO showed strong antimicrobial activities. The results suggest that The CO may be suitable for development as a food preservative and alternative antioxidant.

**Key words :** Antioxidative activity, antimicrobial activity, *Celastrus orbiculatus*

### 서 론

Superoxide radical anion ( $O_2^{\cdot-}$ ), hydrogen peroxide ( $H_2O_2$ ), hydroxyl radical ( $OH^{\cdot}$ ) 등과 같은 반응성이 큰 reactive oxygen species (ROS)와 nitric oxide ( $NO^{\cdot}$ ), peroxyxynitrite (ONOO)와 같은 reactive nitrogen species (RNS)는 생체 내에서의 산화와 관련된 현상으로 인식되고 있는 노화의 원인 물질로 알려져 있으며, 신진대사의 부산물질로서 세포 내에서 계속적으로 생산되거나 환경으로부터 유입되어 진다[27,34]. 이와 같이 ROS와 RNS의 축적이 계속되면 세포내의 환경조건이 변화하게 됨으로써 지질과산화 유도, 단백질의 산화 및 DNA 변성등을 유발시켜 세포의 정상적인 기능을 억제시키고, 세포의 노화와 관련된 여러 가지 질병을 일으키는 것으로 알려져 있다[30,31,39]. 그러나 생체 내에는 복잡한 항산화 방어망이 잘 발달되어 있어 이들에 대항하여 보호 작용을 하는 superoxide dismutase (SOD), catalase, peroxidase 등의 항산화 효소와 함께 vitamin E, vitamin C 및 glutathione 등과 같은 저분자 항산화 물질이 존재하여 인체를 유해한 산소로부터 보호해 주는 역할을 한다[2,10,25,38,41]. 또한 과산화물질의 축적이 계속되거나 환경적인 변화를 보호하기 위해서는 인위적으로 항산화제를 사용한 기능성 식품 등 개발이 활발히 이루어지고 있다. 흔히 사용되고 있는 항산화제 중 일반적으로는 페놀계 합성 항산화제인 BHA (butylated hydroxyanisole)

와 BHT (butylated hydroxytoluene) 등은 탁월한 항산화력과 경제성 등으로 널리 이용되어왔으나 안정성 논란으로 인하여 대부분 사용규제를 받고 있는 실정이다[4,13]. 이에 따라 최근 항산화효과가 높으면서 안전하고 경제적인 측면에서 우수한 천연 항산화제를 개발하고자 많은 연구가 진행되고 있으며 그 가운데 주로 식물 분야에서의 연구가 많이 이루어지고 있다. 식용으로 이용되는 식품 중에는 영양적인 측면 외에도 인체의 기능을 향상시키거나 약리학적 활성을 지닌 물질들이 많이 알려져 있다. 현재까지 알려진 천연 항산화제로는 포도, 녹차 등의 catechin을 포함한 폴리페놀(polyphenol)류가 있으며, 그 외에도 각종 천연 향신료 등으로부터 항산화 활성 등 생리활성 물질의 검색 및 그 작용 기전에 관한 연구가 활발히 진행되고 있다[15,18,29,32].

한편 생활수준의 향상과 더불어 부는 웰빙 바람은 현대인들의 식생활에도 많은 변화를 주고 있다. 또한 소비자들의 식품 첨가물에 대한 관심도가 높아짐에 따라 합성 보존제의 안전성 문제로 인한 기피현상이 나타나고 있으므로 인체에 무해한 천연물 유래의 항균제 개발이 절실히 요구되고 있다. 현재 단백질 및 지방산소재 및 한약재의 추출성분에서의 천연 항균성 물질개발 등이 연구 중에 있으며, 이들이 가진 천연항균물질의 검색 및 그 작용 기전에 관한 규명도 지속적으로 이루어지고 있다[14,26,33,36].

또한, 우리나라를 포함한 중국이나 일본 등은 약용식물 및 생약 등의 천연물로부터 특정성분을 분리해내거나, 천연물이 가지는 생리활성 물질을 대상으로 천연 항산화제 및 항균제들을 연구, 개발하고 있다.

#### \*Corresponding author

Tel : +82-51-999-5462, Fax : +82-51-999-5687

E-mail : sjbae@silla.ac.kr

본 연구에서 사용된 노박덩굴(CO)은 화살나무과(Celastraceae)에 속하는 노박덩굴속(Celastrus L.)으로 전통약용 식물로서 민간요법에서 광범위한 분야에 효능을 보이며 산 기슭이나 들에서 자라는 낙엽활엽 만경목(落葉闊葉 蔓莖木)이다. 한국 외 중국, 일본등지에 자생하며 잎은 타원형이며 꽃은 이가화로 5월과 6월에 걸쳐 황록색으로 피며 10월에는 붉은 황색으로 열매를 맺으며, 관상가치가 매우 높아 꽃꽂이 소재로 주로 사용되고 있다. 예로부터 노박덩굴은 허리통증이나 류머티즘 치료 및 진경작용으로 인해 생리통 치료에 효과적이며, 항염증 작용, 거풍습(祛風濕), 활혈(活血), 소종(消腫) 등의 치료에 이용되고 있다[5,8,16,17]. Lee 등[24]은 염증반응과 그 발생과정에 중요한 신호전달 물질인 NF- $\kappa$ B를 억제하는 물질을 분리한 연구 결과를 보고하였고, Wang 등[37]은 노박덩굴과 식물에서 살충성분을 분리한 연구 결과를 내었으며, Guo 등[9]은 노박덩굴 열매로부터 sesquiterpene esters 물질을 분리하여 보고하였다.

본 연구에서는 노박덩굴(CO)로부터 메탄올 추출물 및 순차적 용매 분획물을 얻은 후 이 식물이 가진 항산화성 및 항균효과를 검색함으로써 노박덩굴의 생리활성효과와 식품 보존제 및 천연항균제 등의 기능성 소재로서의 개발 가능성을 알아보고자 하였다.

## 재료 및 방법

### 재료

본 실험에 사용한 노박덩굴(CO)은 2006년 5월 강원도 인제군 북면에 위치한 민속 약초 연구회에서 제공받았다. 열매부분을 따로 분리하였고, 이를 세척하고 충분히 건조하여 마쇄한 후 -75°C에서 보관하면서 사용하였다.

### 시약

2',7'-dichlorodihydrofluorescein diacetate (DCFDA), penicillamine, trolox 및 DPPH (1,1-diphenyl-2-picryl hydrazyl) 등의 시약들은 Sigma Chemical Co. (USA)로부터, dihydro-rhodamine 123 (DHR123)은 Molecular Probes (USA)로부터, ONOO<sup>-</sup>는 Cayman Chemical Co. (USA)로부터 구입하여 사용하였으며, 추출용매 및 그 외 시약은 일급 또는 특급 시약을 사용하였다.

### 시료의 추출 및 분획물 제조

시료로 사용된 노박덩굴(CO, 2 Kg)은 건조 후 시료와 methanol을 1 : 5 (W/V)로 첨가하여 상온에서 2회 추출하고, 극성과 비극성 물질을 선별, 추출하기 위해 methanol과 dichloromethane (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>)을 1 : 1로 섞은 용액에 2회 추출하여 회전식 진공농축기로 감압 농축시켜 동결건조 후 45 g의 노박덩굴 추출물(COM)을 얻고, 이 추출물을 각각 용매별로

Table 1. Yields of various solvent fractions of CO

Fraction	Yields (g)	Yields (%)
Methanol ex.	45.00	15.00
Methanol fr.	0.62	1.37
Hexane fr.	3.81	8.46
Butanol fr.	0.72	1.60
Aqueous fr.	12.46	27.68

\* ex: extract, fr: fraction.

분획하여 hexane층(COMH) 3.81 g, methanol층(COMM) 0.62 g, butanol층(COMB) 0.72 g 및 수층(COMA) 12.46 g을 얻었다(Table 1.)

### 항산화 효과

#### DPPH 라디칼 소거활성 측정

노박덩굴 분획물의 전자 공여능(electron donating ability, EDA) 측정은 Blois의 방법[3]에 준하여 각 분획층의 DPPH (1,1-diphenyl-2-picryl hydrazyl)에 대한 수소공여 효과로 측정하였다. 일정농도의 시료와 대조군으로 vitamin C를 사용하여 96-well plate에 160  $\mu$ l를 넣고 0.2mM DPPH 40  $\mu$ l를 첨가하여 vortex로 균일하게 혼합한 다음 실온의 암실에서 30분간 방치한 후, Multi-detection microplate로 520 nm에서 흡광도를 측정하였다.

흡광도를 측정할 때 웰에 분주되는 각 시료에 의한 흡광도의 차이는 ethanol만의 흡광도를 측정하여 보정해 주었고, 이때 전자 공여능은 시료첨가구와 비첨가구의 흡광도 차이를 백분율(%)로 구하였으며, 추출물의 EDA (%)값을 50% 감소시키는 IC<sub>50</sub> (Inhibition Concentration)을 구하였고 모든 실험은 3회 반복 측정하였다.

#### ROS 제거능 측정

ROS 제거능을 측정하기 위해 DCFDA 측정방법[28]을 사용하여 측정하였다. 99.9%의 ethanol에 용해한 12.5 mM DCFDA와 3차 증류수에 용해한 600 U/ml esterase를 -20°C에 stock solution으로 저장하고, 실험 시 10  $\mu$ l DCFDA와 600 U/esterase를 혼합하여 조제된 2',7'-dichlorodihydrofluorescein (DCFH) 용액을 37°C에서 20분간 배양한 후 사용 전까지 암소에서 냉동보관 하였다.

지용성의 DCFDA는 esterase 또는 산화적 가수분해를 받아 비 형광성인 DCFH로 탈아세틸화되며, DCFH는 활성산소에 의해 산화되어 강한 형광을 나타내는 2',7'-dichlorofluorescein (DCF)이 되므로 excitation wavelength 485 nm 및 emission wavelength 530 nm에서 multi-detection microplate reader로 측정하였다.

시료를 10  $\mu$ l를 넣은 후 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>를 190  $\mu$ l씩 넣고 반응시키고, DCFDA에 esterase를 넣어 만든 DCFH를 50  $\mu$ l 첨가하여 25분간 생성된 형광의 변화를 관찰하였고 모든 실험은 3회 반복

측정하였다.

**ONOO<sup>-</sup> 제거능 측정**

Crow의 방법[6]에 의해 ONOO<sup>-</sup> 제거능을 측정하였다. 96-well plate에 sample을 농도별로 취하고, 90 mM NaCl, 5 mM KCl 및 100 μM diethylenetriaminepenta acetic acid와 10 μM DHR 123을 함유하는 sodium phosphate buffer (pH 7.4)를 가한다. 그리고 10 μM ONOO<sup>-</sup> 첨가한 후 형광광도를 이용하여 excitation (500 nm)과 emission (536 nm)을 측정하였고 모든 실험은 3회 반복 측정하였다. ONOO<sup>-</sup> 생성원으로는 시판되는(Cayman Chemical Co.)를 직접 사용하거나 SIN-1에 의해 생성되는 ·O<sub>2</sub>와 NO의 반응으로 발생하는 ONOO<sup>-</sup>의 제거 활성능을 검토하였다.

**항균활성 측정**

**사용 균주 및 배지**

본 실험에 사용한 균주는 단백질 부패 원인균인 *Proteus mirabilis* (ATCC 25933), *Serratia marcescens* (ATCC 14756) 및 *Proteus vulgaris* (ATCC 13315)의 3종의 균과 쌀과 빵등의 부패 균인 *Bacillus subtilis* (ATCC 6633) 등 4가지 균주를 사용하였으며, 각 균의 생육 및 보존을 위한 배지는 Nutrient agar (Difco), Yeast extract, Malt extract를 사용하였다.

**추출물의 용매 분획별 항균성 검색**

분획된 노박덩굴 추출물의 항균력 검색은 paper disc method를 사용하였다[7]. 항균성 시험용 평판배지는 멸균 후 petri dish에 20 ml씩 분주하여 응고시키고 전배양한 각종 시험균을 무균적으로 첨가하여 기층용 배지위에 다시 10 ml씩 분주하여 이중의 평판배지를 만들었다. 각 용매 분획별 추출물의 농도를 500~2,000 μg/ml로 하여 멸균된 disc(직경 8 mm, Toyo Roshi Kaisha, LTD. Japan)에 흡수, 건조시켜 균주가 도달된 plate 표면에 올려놓은 후 37°C incubator에서 24시간 배양하여 disc 주위에 생성된 clear zone의 직경(mm)으로부터 각 분획물의 항균활성을 측정하였으며 실험을 5회 반복하여 평균치를 나타내었다.

**통계 처리**

본 실험에 대한 실험결과는 3번 반복 실험하여 얻어진 평균치 및 표준편차를 나타내었다.

**결과 및 고찰**

**DPPH free radical 소거활성**

Free radical은 생물학적 손상의 주요 요인으로 잘 알려져 있는데, DPPH는 천연 항산화제의 free radical 소거활성을 평가하는데 일반적으로 사용되며[40], 노박덩굴의 각 용매별로 DPPH free radical 소거 활성을 측정한 결과는 Table 2와 같다.

Table 2. DPPH radical-scavenging activity of the partition layers of CO

Sample	IC <sub>50</sub> (μg/ml) <sup>1</sup> ±SE <sup>2</sup>
COMM	>50
COMH	>50
COMB	39.71±3.81*
COMA	>50
Ascorbic acid (control)	13.79±2.05

<sup>1</sup>IC<sub>50</sub>: half-maximal scavenging concentration.

<sup>2</sup>SE: standard error, statistical significance: \*p<0.05 versus control.

여러 분획물 중 COMB층에서 가장 높은 DPPH free radical 소거 활성을 나타내었고 다른 분획층에서는 DPPH free radical의 소거활성이 낮게 나타났다. 즉 COMB층은 39.75 μg/ml에서 50%의 DPPH free radical의 소거활성을 보였고, positive control인 ascorbic acid와 비교하였을 때 비교적 높은 소거활성을 나타내었다. 이러한 결과는 예로부터 식품 또는 약용식물로 사용된 자생식물 중 쇠비름[22]과 영경귀 잎[23]이 butanol 분획층에서 가장 높은 DPPH radical 소거활성을 나타낸 결과와 유사하였다. 따라서 노박덩굴에 함유되어 있는 항산화 물질이 butanol에 잘 용해되는 물질로 추정되어진다.

**ROS 제거능**

O<sub>2</sub>·와 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>를 포함하는 ROS는 생체 내에서 지속적으로 생성되지만 적절하게 제어되지 않으면 축적되어서 단백질, 지질, 핵산 등에 손상을 야기하고[1,11], 또한 노화과정에 중요한 역할을 한다고 알려져 있다. 노박덩굴 분획물의 ROS 제거활성을 측정한 결과는 Table 3과 같다. Butanol 분획층인 COMB층은 4.73 μg/ml에서 50%의 ROS 제거활성을 나타내었으며, COMA층은 8.09 μg/ml 그리고 COMM층은 19.09 μg/ml에서 50%의 ROS 제거활성을 나타내었다. 그 결과 여러 분획물중 COMB층이 가장 높은 ROS 제거활성을 보였으며, 특히 IC<sub>50</sub>값이 3.42 μg/ml인 Trolox와 유사한 제거활성을 나타내었다.

**ONOO<sup>-</sup> 제거능**

ONOO<sup>-</sup>는 과량의 NO와 superoxide 음이온에 의해 생성되

Table 3. ROS scavenging activity of the partition layers of CO

Sample	IC <sub>50</sub> (μg/ml) <sup>1</sup> ±SE <sup>2</sup>
COMM	19.09±1.13**
COMH	>50
COMB	4.73±0.04***
COMA	8.09±0.75**
Trolox (control)	3.42±0.06

<sup>1</sup>IC<sub>50</sub>: half-maximal scavenging concentration.

<sup>2</sup>SE: standard error, statistical significance: \*p<0.05, \*\*p<0.01, \*\*\*p<0.001 versus control.

Table 4. ONOO<sup>-</sup> scavenging activity of the partition layers of CO

Sample	IC <sub>50</sub> (μg/ml)±SE
COMM	7.04±0.48*
COMH	>50
COMB	3.71±0.11*
COMA	39.31±5.96*
Penicillamine (control)	4.34±0.03

<sup>1)</sup>IC<sub>50</sub>: half-maximal scavenging concentration.

<sup>2)</sup>SE: standard error, statistical significance: \**p*<0.05 versus control.

며 단백질 및 지질의 과산화를 유발하고, Alzheimer's disease, Parkinson's disease 및 amyotrophic lateral sclerosis 등의 중추신경계 질환을 유발한다고 알려져 있다[35]. 이와 같이 NO는 NO자체로서 보다는 ONOO<sup>-</sup>의 형태로 다양한 산화적 손상을 유발한다. NO의 생성단계는 iNOS의 발현 또는 효소활성을 저해함으로써 조절가능하며, 일단 생성된 NO는 ONOO<sup>-</sup>의 형태로 의해 뇌조직 손상을 일으키므로, NO에 의한 다양한 신경계 질환을 예방 또는 치료하기 위해서는 ONOO<sup>-</sup>를 소거할 수 있는 물질이 유용하다. 노박당굴 용매 분획물의 ONOO<sup>-</sup> 소거 활성을 DHR 123을 이용하여 측정 한 결과는 Table 4와 같다.

노박당굴 분획물의 ONOO<sup>-</sup>의 제거활성은 COMB>COMM>COMA 순으로 나타났으며 각각 3.71 μg/ml, 7.04 μg/ml, 및 39.31 μg/ml에서 50%의 제거활성을 나타내었다. 여러 분획물중 COMB층이 가장 높은 ONOO<sup>-</sup> 제거활성을 보였으며 특히 positive control인 penicillamine의 IC<sub>50</sub>값 4.34 μg/ml과 비교하였을 때 더 높은 제거활성효과를 나타내어 높은 항산화활성효과를 알 수 있었다.

**항균활성 측정**

노박당굴 분획물의 항균활성은 전반적으로 disc에 점적한 분획물의 농도가 증가할수록 농도 의존적인 항균활성을 나타내었으며 그 결과는 Table 5와 같다. 단백질 부패원인균인 *Proteus miabilis*의 경우 COMB층에서만 활성이 나타났으며, 노박당굴 분획물을 각각 500, 1,000, 1,500 및 2,000 μg/ml를 가하였을 때 각각 6.90, 7.70, 8.40 및 8.80 mm의 항균활성을 나타내었다.

같은 단백질 원인균인 *Serratia marcescens*의 경우 앞서의 *Proteus miabilis*와는 달리 COMM 층에서만 그 활성이 나타남을 알 수가 있다. 분획물의 첨가농도를 500, 1,000, 1,500 및 2,000 μg/ml를 가하였을 때 각 농도에 해당하는 항균 효과는 각각 7.40, 7.80, 8.40 및 8.90 mm의 항균활성 나타내었다.

*Proteus vulgaris*의 경우에는 앞서의 단백질 부패 원인균인 *Proteus miabilis*와 *Serratia marcescens*가 나타내었던 COMM층과 COMB 층에서 항균효과가 나타났으며, 특히

Table 5. Antimicrobial activity of the partition layers of CO

Stains	Concn (μg/ml)	Clear zone on plate (mm) <sup>1)</sup>			
		COMM	COMH	COMB	COMA
<i>Proteus mirabilis</i> (KCTC 2566)	500	-	-	+	-
	1,000	-	-	++	-
	1,500	-	-	++	-
	2,000	-	-	++	-
<i>Serratia marcescens</i> (KCTC 2356)	500	+	-	-	-
	1,000	++	-	-	-
	1,500	++	-	-	-
	2,000	+++	-	-	-
<i>Proteus vulgaris</i> (IFO 3851)	500	++	-	-	-
	1,000	++	-	-	-
	1,500	++	-	-	-
	2,000	+++	-	++	-
<i>Bacillus subtilis</i> (ATCC 6633)	500	++	-	+	+
	1,000	++	-	++	+
	1,500	++	-	++	++
	2,000	+++	-	+++	++

<sup>1)</sup>COMM: Methanol partition layer of methanol extracts COM; COMH: Hexane partition layer of COM; COMB: Butanol partition layer of COM; COMA: Aqueous layer of COM.

<sup>2)</sup>Treated sample was adsorbed into paper disc (6mm, diameter) and the diameter (mm) of clear zone was confirmed around the colony.

Growth inhibition size of clear zone: +++, larger than 9.5 mm; ++, 9.5-7.5 mm; +, smaller than 7.5 mm; -, not detected.

COMM 층의 경우는 500 μg/ml의 농도 처리 시 7.50 mm의 항균활성을 나타내었고, 그 값이 농도 의존적으로 점차 증가하다 최종농도인 2,000 μg/ml에서 9.00의 높은 항균활성을 볼 수 있었다. 그러나 COMB 층에서는 500, 100 및 1,500 μg/ml에서 항균활성 효과가 거의 나타나지 않았으나 최종농도인 2,000 μg/ml 농도에서만 8.7 mm의 항균활성 효과를 볼 수 있었다.

쌀과 빵등의 부패균인 *Bacillus subtilis*의 경우는 앞서의 *Proteus miabilis*, *Serratia marcescens* 및 *Proteus vulgaris*의 단백질 부패균들과 비교하여 매우 높은 항균 활성을 나타내었다. COMH 층을 제외하고 모든 층에서 항균활성을 나타내었으며 COMM, COMB 및 COMA 층 순서로 각각 활성을 보였으며, 특히 COMM 층의 경우는 최저 농도인 500 μg/ml에서 이미 8.00 mm의 항균 효과를 보였고 1,000, 1,500 및 2,000 μg/ml 농도에서는 각각 8.30, 8.70 및 9.40 mm의 농도 의존적인 항균활성을 나타내었다. 그 다음으로 활성을 보인 COMB 층의 경우는 최저농도인 500 μg/ml 농도에서 6.50의 다소 낮은 효과를 나타내었으나, 최고 농도인 2,000 μg/ml에서는 9.00 mm의 항균활성을 나타내었다. 그리고 COMA 층의 경우는 앞서 사용한 단백질 부패 원인이 되는 다른 세 균주에서는 활성이 나타나지 않았으나 *Bacillus subtilis*에서만 항균활성을 나타내

였으며 500, 1,000, 1,500 및 2,000 µg/ml 의 시료 첨가 시 각각 6.50, 7.30, 7.60 및 7.70 mm 의 항균활성을 나타내었다.

이상의 결과에서 극성이 낮은 hexane 층에서는 사용한 4가지 균주에서 모두 항균활성이 나타나지 않은 것으로 보아 노박덩굴 분획물의 주요 항균활성 물질은 극성용매인 methanol 층이나 butanol 층에서 잘 녹는 물질로 추정되어지며 이와 같은 결과는 감초[19]와 영굴[20]의 용매별 추출물에서 비극성용매인 hexane층보다 메탄올과 같은 극성용매에 항균활성이 높게 나타난 결과와 유사하였다. 또한 삼백초[21] 추출물의 경우 5~10 mg/ml, 발아메틸[12]은 10~40 mg/ml에서 항균효과가 나타난 것으로 보아 노박덩굴 분획물은 삼백초나 발아메틸등의 천연물에 비하여 약 10~40배정도의 상대적으로 높은 항균 효과를 가지는 것으로 사료된다.

## 요 약

본 연구는 천연소재를 이용하여 식품 저장성과 안전성 향상을 위한 식품첨가제나 보존제등의 개발 가능성을 알아보기와 민간에서 사용되어 온 노박덩굴 분획물에 대한 항산화 효과 및 항균활성을 측정하였다.

DPPH free radical 소거활성을 측정하여 항산화 활성효과를 알아 본 결과 COMB층이 39.75 µg/ml에서 50%의 DPPH free radical의 소거활성을 보여 가장 높은 항산화 효과를 나타내었다. ROS 제거활성 측정결과에서도 COMB층이 가장 높은 항산화 효과를 나타내었으며 4.73 µg/ml에서 50%의 ROS 제거 활성을 나타내어 positive control로 사용한 trolox와 거의 유사한 제거활성을 보였다. 그리고 ONOO<sup>-</sup> 제거활성 역시 COMB층이 가장 높게 나타났으며, 특히 positive control인 penicillamine의 IC50값인 4.34 µg/ml과 비교하였을 때 더 높은 제거 활성 효과를 나타내어 높은 항산화 효과를 확인할 수 있었다.

또한 paper disc method를 이용한 항균효과 실험 결과, 사용한 모든 균주에서 COMH층을 제외한 COMM, COMB 및 COMA층이 항균활성을 나타내었다. 특히 bacillus subtilis에서는 COMH층을 제외한 모든 층에서 농도에 비례하여 항균력이 점차 증가하였으며, 전반적으로 COMM층과 COMB층에서 높은 항균활성을 나타냄을 알 수 있었다.

본 연구 결과를 종합해보면 항산화효과는 노박덩굴의 butanol 분획층인 COMB층에서 가장 높았으며 그 다음으로 COMM 순이었다. 항균 효과는 사용한 모든 균주에서 methanol 분획층인 COMM층이 전반적으로 높은 항균활성이 나타났으며 COMB층이 다음으로 높은 항균활성을 나타내었다. 이상의 결과로 노박덩굴의 butanol 분획층인 COMB층과 methanol 분획층인 COMM층에서 항산화 활성과 항균력을 나타내는 효과적인 생리 활성물질이 함유되어 있을 것으로 사료되어지며, 앞으로 더욱 심도 있는 연구를 통하여 천연 항산화제,

천연식품보조제 및 천연 항균제등의 기능성 식품으로서의 활용가능성을 기대할 수 있을 것으로 생각된다.

## References

- Ames, B. N., M. K. shigenoga and T. M. Hagen. 1993. Oxidations, antioxidants, antioxidants, and the degenerative diseases of aging. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **90**, 7915-7922.
- Bendich, A., E. Gabriel and L. J. Machlin. 1986. Dietary vitamin E requirement for optimum immune responses in the rat. *J. Nutr.* **116**, 675-681.
- Blois, M. S. 1958. Antioxidant determination by the use a stable free radical. *Nature* **26**, 1199-1200.
- Branen, A. L. 1975. Toxicology and biochemistry of butylated hydroxyanisole and butylated hydroxytoluene. *J. Am Oil Chem Soc.* **52**, 59-63.
- Choi, O. J. 1991. pp. 454-455, Ingredient and utilization of medicinal herbs. il wol Co. Ltd., Seoul.
- Crow, J. P. 1997. Dichlorodihydrofluorescein and dihydro-rhodamine123 are sensitive indicators of peroxynitrite in vitro: implications for intracellular measurement of reactive nitrogen and oxygen species. *Nitric Oxide* **1**, 145-157.
- Davidson, P. M. and M. E. Parish. 1989. Methods for testing the efficacy of food antimicrobials. *J. Food Sci. Technol.* **1**, 148-155.
- Gunatilaka, A. L. 1996. Triterpenoid quinonemethides and related compounds (celastroloids). pp. 1-176, *In Herz W, Kirby GW, Moore RE, Steglich W, Tamm CH, (eds.), Progress in the chemistry of organic natural products, Vol. 67*, Springer, Vienna.
- Guo, Y. Q., X. Li, J. Xu, N. Li, D. L. Meng and J. H. Wang. 2004. Sesquiterpene esters from the fruit of *Celastrus orbiculatus*. *Chem Pharm Bull.* **52**, 1134-1136.
- Halliwell, B. and J. M. Gutteridge. 1989. Protection against oxidants in biological systems: The superoxide theory of oxygen toxicity, in *Free Radicals in Biology and Medicine*. pp. 86-187, 2nd eds., Clarendon Press, Oxford.
- harman, D. 1956. Aging: A theory based on free radical and radiation chemistry. *J. Gerontol.* **2**, 298-300.
- Hwang, E. J., S. Y. Lee, S. J. Kwon, M. H. Park and H. O. Boo. 2006. Antioxidative, antimicrobial and cytotoxic activities of *Fagopyrum esculentum* Moench extract in Germinated seeds. *Korean J Medicinal Crop Sci.* **14**, 1-7.
- Ito, N., S. Fukushima, A. Hagiwara, M. Shibata and T. Ogiso. 1983. Carcinogenicity of butylated hydroxyanisole in F344 rats. *J. Natl. Cancer Inst.* **70**, 343-352.
- Jang, D. S., K. H. Park, J. R. Lee, T. J. Ha, Y. B. Park, S. H. Nam and M. S. Yang. 1999. Antimicrobial activities of sesquiterpene lactones isolated from *Hemisteptia lyrata*, *Chrysanthemum zawadskii* and *Chrysanthemum boreale*. *Agricultural Chemistry and Biotechnology* **42**, 176-179.
- Jang, J. K. and J. Y. Han. 2002. The antioxidant ability of grape seed extracts. *Korean J. Food Sci. Technol.* **34**, 524-528.
- Jiangsu, Y. 1997. Dictionary of Chinese Herbal medicine. pp 1550-1563, New Medicinal College, Shanghai People's

- Publishing House, Shanghai.
17. 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- $\kappa$ B activation and NO production. *J. Nat. Prod* **65**, 89-91.
  18. Kim, J., S. A. Kim, W. K. Yun, E. J. Kim, M. K. Woo and M. S. Lee. 2004. Antioxidative effect of ethanol extract for 5 kinds of spice. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* **33**, 1426-1431.
  19. Kim, S. J., J. Y. Shin, Y. M. Park, K. M. Chung, J. H. Lee and D. H. Kweon. 2006. Investigation of antimicrobial activity and stability of ethanol extracts of Licorice Root (*Glycyrrhiza glabra*). *Korean J. Food Sci. Technol.* **38**, 241-248.
  20. Kim, Y. D., Y. J. Kim, S. W. Oh, Y. J. Kang and Y. C. Lee. 1999. Antimicrobial activities of solvent extracts from *Citrus sudachi* juice and peel. *Korean J. Food Sci. Technol.* **31**, 1613-1618.
  21. Koh, M. S. 2004. Antimicrobial activity of Saururus chinensis Baill extract. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* **33**, 1098-1105.
  22. 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 J. Biotechnol Bioeng* **18**, 165-169.
  23. 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 J. Med. Crop Sci.* **11**, 53-61.
  24. 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- $\kappa$ B activation through targeting I $\kappa$ B kinase by celastrol, a quinone methide triterpenoid. *Biochemical pharmacology* **72**, 1311-1321.
  25. Mavelli, I., M. R. Ciriolo, G. Rotilio, P. DeSole, M. Castorino and A. Stabile. 1982. Superoxide dismutase, glutathione peroxidase and catalase in oxidative hemolysis. A study of Fanconi's anaemia erythrocytes. *Biochem Biophys. Res. Commun.* **106**, 286-290.
  26. Nakamura, S., A. Kato and K. Kobayashi. 1991. New antimicrobial characteristics of lysozyme-dextran conjugate. *J. Agric Food Chem* **39**, 647-650.
  27. Oberley, T. D., J. L. Schultz, N. Li and L. W. Oberley. 1995. Antioxidant enzyme levels as a function of growth state in cell culture. *Free Radic. Biol. Med.* **19**, 53-65.
  28. Paraiathathu, T. and J. P. Kegerer. 1992. Production of reactive oxygen by mitochondria from normoxic and hypoxic rat heart tissue. *Free Radic. Biol. Med.* **13**, 289-297.
  29. Ramos, A., A. Visozo, J. Piloto, A. García, C. A. Rodríguez and R. Rivero. 2003. Screening of antimutagenicity via antioxidant activity in Cuban medicinal plants. *J. Ethnopharmacol.* **87**, 241-246.
  30. Rice-Evans, C. and R. Burdon. 1993. Free radical-lipid interactions and their pathological consequences. *Prog. Lipid Res.* **32**, 71-110.
  31. Schneider, J. E., S. Price, L. Mardt, J. M. Gutteridge and R. A. Floyd. 1990. Methylene blue plus light mediates 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine formation in DNA preferentially over strand breakage. *Nucleic Acids Res.* **18**, 631-635.
  32. Seeram, N. P., S. M. Henning, Y. Niu, R. Lee, H. S. Scheuller and D. Heber. 2006. Catechin and caffeine content of green tea dietary supplements and correlation with antioxidant capacity. *J. Agric. Food Chem.* **54**, 1599-1603.
  33. Song, J. H., M. J. Kim, H. D. Kwon and I. H. Park. 2003. Antimicrobial activity of fractional extracts from *Houttuynia cordata* root. *J. Korean Soc. Food Sci Nutr* **32**, 1053-1058.
  34. Stratton, S. P. and D. C. Liebler. 1997. Determination of singlet oxygen-specific versus radical-mediated lipid peroxidation in photosensitized oxidation of lipid bilayers: effect of beta-carotene and alpha-tocopherol. *Biochemistry* **36**, 12911-12920.
  35. Szabo, C. 1996. The pathophysiological role of peroxynitrite in shock, inflammation and ischemia-reperfusion injury. *Shock* **6**, 79-88.
  36. Wang, L. L., B. K. Yang, K. L. Parkin and E. A. Johnson. 1993. Inhibition of *Listeria monocytogenes* by monoacylglycerols synthesized from coconut oil and milk fat by lipase-catalyzed glycerolysis. *J. Agric. Food Chem* **41**, 1000-1005.
  37. Wang, M. A. and W. J. Wu. 2002. The insecticide constituents of several Celastraceae plants. *The Korean J. of Pesticide Sci.* **6**, 9-15.
  38. Wayner, D. D., G. W. Burton, K. U. Ingold, L. R. Barclay and S. J. Locke. 1987. The relative contributions of vitamin E, urate, ascorbate and proteins to the total peroxy radical-trapping antioxidant activity of human blood plasma. *Biochim Biophys Acta.* **924**, 408-419.
  39. Wright, A., W. A. Bubb, C. L. Hawkins and M. J. Davies. 2002. Singlet oxygen-mediated protein oxidation: evidence for the formation of reactive side chain peroxides on tyrosine residues. *Photochem. Photobiol.* **76**, 35-46.
  40. 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. *Biochem. pharm.* **56**, 213-222.
  41. Yu, H. E., M. M. Leaniza, Y. J. Bae, D. H. Lee, J. S. Park, H. S. Kwak, H. K. Kim and J. S. Lee. 2005. Screening and extraction condition of antiaging bioactive substances from medicinal plants. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* **34**, 1136-1142.