

## 좁은잎천선과 잎 추출물 유래 항산화 활성 성분의 동정 및 효능 확인

박 성 환 · 김 정 은 · 염 현 숙 · 이 남 호<sup>†</sup>

제주대학교 화학 · 코스메틱스학과  
(2016년 9월 7일 접수, 2016년 11월 28일 수정, 2016년 12월 9일 채택)

### Isolation and Evaluation of Anti-oxidative Constituents from the Extracts of *Ficus erecta* var. *sieboldii* King Leaves

Sung Hwan Park, Jung Eun Kim, Hyun Sook Yeum, and Nam Ho Lee<sup>†</sup>

Department of Chemistry and Cosmetics, Jeju National University, 102 Jejudaehak-ro, Jeju-si, Jeju 63243, Korea  
(Received September 7, 2016; Revised November 28, 2016; Accepted December 9, 2016)

**요 약:** 본 연구에서는 좁은잎천선과 잎 추출물 및 극성별 용매 분획물의 항산화 활성을 검색하고 유효성분을 분리하여 화학구조를 규명하였다. 좁은잎천선과 잎 추출물 및 용매 분획물의 DPPH 및 ABTS<sup>+</sup> 라디칼 소거 활성을 측정된 결과 에틸아세테이트 분획물에서 우수한 라디칼 소거 활성을 확인하였다. 활성이 좋은 에틸아세테이트 분획물에서 유효성분을 찾고자 vacuum liquid chromatography (VLC), silica gel column chromatography를 실시하였으며, 분리된 화합물은 <sup>1</sup>H 및 <sup>13</sup>C NMR 데이터 분석 및 문헌치 비교를 통하여 총 5개의 화합물을 동정하였다. 분리된 화합물은 monoolein (1), oleic acid (2), lutein (3), afzelechin (4), catechin (5)으로 확인되었으며 이들은 모두 좁은잎천선과에서 처음으로 분리된 화합물이다. 분리된 화합물에 대한 DPPH 및 ABTS<sup>+</sup> 라디칼 소거 활성 실험 결과 afzelechin (4) 및 catechin (5)에서 활성이 우수하게 나타났으며 특히 catechin (5)의 경우 대조군인 비타민 C보다 더 좋은 라디칼 소거 활성이 있음을 확인하였다. 또한 HPLC 분석을 통해 좁은잎천선과 잎에서 분리된 catechin의 함량을 확인한 결과 추출물에서 3.8 mg/g, 에틸아세테이트 분획물에서 20.8 mg/g이 함유되어 있는 것으로 확인되었다. 이상의 연구 결과로부터 좁은잎천선과 잎을 이용한 천연 항산화 소재로의 개발이 가능할 것이라 사료된다.

**Abstract:** In this study, we investigated identification of anti-oxidative constituents from *Ficus erecta* var. *sieboldii* King (*F. erecta*) leaves. DPPH and ABTS<sup>+</sup> radical scavenging activities were screened for the ethanol extract and solvent fractions, and ethyl acetate fraction showed the most potent scavenging activities. Five constituents were isolated from the ethyl acetate fraction of *F. erecta* leaves; monoolein (1), oleic acid (2), lutein (3), afzelechin (4), catechin (5). The chemical structures of the isolated compounds were elucidated based on the spectroscopic data including NMR spectra, as well as comparison of the data to the literature values. As far as we know, all of the compounds 1 ~ 5 were isolated for the first time from this plant. Studies on DPPH and ABTS<sup>+</sup> radical scavenging activities were conducted for the isolated compounds. Among them, afzelechin (4) and catechin (5) showed strong DPPH and ABTS<sup>+</sup> radical scavenging activities, whose activities were comparable to a positive control vitamin C. Also, the content of catechin isolated from this plant was determined by HPLC and it was about 3.8 mg/g for the 70% ethanol extract and 20.8 mg/g for the ethyl acetate fraction. From these results, *F. erecta* leaves extract could be potentially applicable as anti-oxidant ingredients in cosmetic industries.

**Keywords:** *Ficus erecta* var. *sieboldii*, anti-oxidation, DPPH radical, ABTS radical, isolation

<sup>†</sup> 주 저자 (e-mail: namho@jeju.ac.kr)  
call: 064)754-3548

## 1. 서 론

인간의 노화 요인에는 여러 가지가 있지만, 인체 내의 다양한 질병과 더불어 활성산소(reactive oxygen species, ROS)가 노화 원인물질로 밝혀져 ROS를 제거하기 위한 기능성 식품과 기능성 화장품 분야의 연구가 활발히 진행되고 있다[1]. 인체는 생명유지에 필요한 에너지를 만들기 위해 끊임없이 산소를 필요로 하며 에너지를 만드는 호흡과정에서 흡입된 산소 중 일부분(약 2 ~ 3%)은 활성산소로 전환되어 생체에 특이한 반응을 하는 것으로 알려져 있다[2]. 생체 내에서 생성되는 다양한 ROS는 세포 생체막의 구성물질인 불포화 지방산을 공격하여 과산화반응을 일으켜 체내 과산화 지질을 축적함으로써 생체기능이 저하되고 동시에 노화 및 다양한 성인병 질환을 유발하는 것으로 알려져 있다[3]. 이러한 활성산소를 제거하기 위한 항산화제는 크게 천연 항산화제와 합성 항산화제로 나누어지며 천연 항산화제로 널리 사용되는 vitamin C, E 등은 안전성은 높으나 단독으로는 산화반응 저지 능력이 약하고 가격이 고가인 단점이 있다[4]. 반면에 합성 항산화제인 butylated hydroxyanisole (BHA)과 butylated hydroxytoluene (BHT) 등은 탁월한 항산화 효과와 경제성 때문에 널리 이용되고 있으나 생체효소의 활성을 억제하고 암을 유발시키는 등 안전성의 여부가 논란이 되면서 소비자의 기피 현상이 두드러지고 있다[5]. 이에 천연에 존재하는 생물자원으로부터 항산화력이 우수한 천연물질의 개발이 매우 활발하게 진행되고 있으며, 아울러 이들 성분의 응용연구 또한 시도되고 있다[6].

지금까지 보고된 대부분의 천연 항산화제는 식물에서 유래된 폴리페놀(polyphenol) 화합물인 것으로 알려져 있다. 이 화합물은 하나 또는 둘 이상의 히드록시기로 치환된 방향족환(aromatic ring)을 가지고 있으며 자연에 대략 8000여 종이 존재하며 항산화, 항암 등의 기능을 지니고 있다[7]. 특히 폴리페놀의 일종인 플라보노이드(flavonoid)는 지질의 산화, 활성산소의 소거 및 산화적 스트레스를 막는 역할을 함으로써 노화방지, 암 및 심장질환 등을 예방하거나 지연하는 효과가 있어서 오늘날 식품, 의약품, 화장품 등의 소재로 많이 활용되고 있다[8].

좁은잎천선과(*F. erecta*)는 뽕나무과(*Moraceae*)에 속

하는 식물로 젓꼭지나무, 가는잎천선과 등의 이명을 가지며 제주도가 원산지이고 분포지역은 한국 남부, 일본, 타이완 등이다. 제주도에서는 해발 400 m 이하 지역에서 자생하며 높이 2 ~ 4 m 정도로 자라는 낙엽 관목이다. 좁은잎천선과는 주로 식용이나 관상용으로 이용되며 과실은 치질 치료를 목적으로 사용되어 왔으며 뿌리는 류머티즘을 치료하는데 사용되고 있다. 또한 경엽(줄기, 잎)은 해독의 효능과 류머티즘, 타박상 등을 치료하는데 이용되고 있다. 현재까지 보고된 좁은잎천선과 성분에 대한 연구로는 가지(branches) 추출물에서 5개의 *p*-hydroxybenzoic acid 유도체를 포함하여  $\beta$ -sitosterol,  $\alpha$ -amyrin acetate, ethyl linoleate 등 8개의 화합물이 분리 보고되어 있다. 이들 중 *p*-hydroxybenzoic acid 및 methyl *p*-hydroxybenzoate는 미백 효능이 있으며 작용 기전으로는 기질인 L-tyrosine과 유사한 구조로 기질과 경쟁적으로 tyrosinase의 활성을 저해시키는 것으로 알려져 있다[9].

그러나 아직까지 좁은잎천선과 잎(leaves)을 대상으로 한 활성 성분 연구는 보고되어있지 않다. 이에 본 연구에서는 좁은잎천선과 잎 추출물 및 극성별 용매 분획물의 항산화 효과를 확인하기 위해 DPPH 라디칼 소거(radical scavenging) 활성을 측정하였다. 또한, 항산화 활성을 갖는 물질을 규명하고자 단일물질 분리과정을 진행하였으며 분리된 화합물의 DPPH 라디칼 소거 활성도 확인하여 천연 항산화제로서의 이용 가능성을 알아보려고 하였다.

## 2. 재료 및 방법

### 2.1. 시약 및 기기

시료의 추출, 용매 분획 및 분리에 사용된 용매들은 Merck 및 Junsei 제품을 사용하였다. Vacuum liquid chromatography에는 silica gel (0.002 ~ 0.025 mm, Sigma, USA), silica gel column chromatography에는 silica gel 60 (0.040 ~ 0.063 mm, Merck, USA)이 사용되었다. 구조분석을 위한 NMR은 JNM-ECX 400 (FT-NMR system, JEOL, Japan)을 이용하였으며 NMR 측정 용매는 CIL 사의 NMR 전용 용매 CD<sub>3</sub>OD, CDCl<sub>3</sub>를 사용하였다.

## 2.2. 좁은잎천선과 잎의 추출 및 용매 분획

실험에 사용된 좁은잎천선과 잎(시료번호:224)은 2010년 6월에 제주 한라수목원에서 채집하였다. 채집한 시료는 실온에서 자연 건조시킨 후 분쇄하여 사용하였으며 시료 90.0 g을 70% 에탄올 2 L에 침적하여 실온에서 3일동안 침출시켰다. 침출시킨 시료를 감압 흡입여과기를 이용하여 여액만 취하였으며, 이와 같은 방법으로 분리한 잔사에 대하여 동일한 조건으로 2회 더 반복 실시하였다. 여과하여 얻어진 여액은 40 °C 수욕상에서 감압 농축하여 추출물 18.0 g을 얻었으며 이를 증류수 1 L에 현탁시키고 용매 극성순서에 따라 순차적으로 분획하여 헥산(*n*-hexane, *n*-Hex), 에틸아세테이트(ethyl acetate, EtOAc), 부탄올(*n*-butanol, *n*-BuOH), 물 분획물을 얻었다.

## 2.3. 활성 성분의 분리 및 동정

에틸아세테이트 분획물 2.7 g을 극성에 따라 분획하기 위하여 vacuum liquid chromatography (VLC)를 수행하였으며 *n*-Hex-EtOAc (0 ~ 100%), EtOAc-MeOH (0 ~ 60%)의 용매를 극성을 10%씩 높이는 방법으로 각 300 mL씩 용출하여 17개의 분획물을 얻었다(Fr. V1-17). VLC 분획물 중 Fr. V5 (123.1 mg)를 silica gel 컬럼(CHCl<sub>3</sub>: MeOH = 40 : 1)을 하여 화합물 1 (15.6 mg)을 얻었다. Fr. V7 (38.3 mg) 또한 silica gel 컬럼(CHCl<sub>3</sub>: MeOH = 14 : 1)을 하여 화합물 2 (4.8 mg)와 화합물 3 (8.8 mg)을 분리하였다. Fr. V8 (124.1 mg)은 silica gel 컬럼(CHCl<sub>3</sub>: MeOH = 3.5 : 1)을 하여 화합물 4 (8.0 mg) 및 화합물 5 (12.6 mg)를 분리하였다.

Monoolein (1) <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ<sub>H</sub>: 5.37 (4H, m, H-9', 10', 12', 13), 4.19 (2H, m, H-1), 3.94 (1H, m, H-2), 3.67 (1H, dd, *J* = 13.4, 3.9 Hz, H-3), 3.58 (1H, dd, *J* = 3.58 Hz, H-3), 2.80 (2H, m, H-11'), 2.06 (4H, m, H-8', 14'), 2.36 (2H, t, *J* = 7.6 Hz, H-2'), 1.63 (2H, m, H-3'), 1.35-1.24 (14H, m, H-4'-7', 15'-17'), 0.89 (3H, m, H-18'); <sup>13</sup>C NMR (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ<sub>C</sub>: 174.6 (C-1'), 130.5 (C-9'), 130.2 (C-10'), 128.3 (C-12'), 128.1 (C-13'), 70.5 (C-2), 65.4 (C-1), 63.5 (C-3), 34.4 (C-2'), 32.1 (C-16'), 29.9 (C-6'), 29.8 (C-7'), 29.6 (C-5'), 29.3 (C-4'), 29.3 (C-15'), 27.4 (C-8'), 27.4 (C-14'), 25.8 (C-11'), 25.1 (C-3'), 22.9 (C-17'), 14.3 (C-18')

Oleic acid (2) <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ<sub>H</sub>: 5.38

(2H, m, H-9, 10), 2.35 (2H, t, *J* = 7.4 Hz, H-2), 2.07 (4H, m, H-8, 11), 1.62 (2H, m, H-3), 1.31 (20H, m, H-4-7, 12-17), 0.87 (3H, m, H-18); <sup>13</sup>C NMR (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ<sub>C</sub>: 179.9 (C-1), 130.3 (C-10), 130.1 (C-9), 34.3 (C-2), 32.1 (C-16), 29.9 (C-7), 29.9 (C-12), 29.8 (C-14), 29.7 (C-13), 29.6 (C-15), 29.5 (C-6), 29.4 (C-5), 29.3 (C-4), 27.4 (C-8), 27.4 (C-11), 24.9 (C-3), 22.8 (C-17), 14.2 (C-18)

Lutein (3) <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ<sub>H</sub>: 6.63 (4H, m, H-11, 15, 11', 15'), 6.36 (2H, d, *J* = 14.9 Hz, H-12, 12'), 6.26 (2H, d, *J* = 9.8 Hz, H-14, 14'), 6.15 (5H, m, H-7, 8, 10, 8', 10'), 5.55 (1H, s, H-4'), 5.43 (1H, m, H-7'), 4.02 (2H, m, H-3, 3'), 2.42 (1H, d, *J* = 8.5 Hz, H-6'), 2.36 (1H, m, H-4), 2.05 (1H, m, H-4), 1.97 (9H, s, H-19, 20, 20'), 1.92 (3H, s, H-19'), 1.84 (1H, m, H-2'), 1.78 (1H, m, H-2), 1.74 (3H, s, H-18), 1.65 (3H, s, H-18'), 1.48 (1H, m, H-2), 1.36 (1H, m, H-2'), 1.08 (6H, s, H-16, 17), 1.00 (3H, s, H-16'), 0.85 (3H, s, H-17'); <sup>13</sup>C NMR (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ<sub>C</sub>: 138.7 (C-8), 138.2 (C-5'), 138.0 (C-6), 137.9 (C-8'), 137.8 (C-12), 137.8 (C-12'), 136.7 (C-13'), 136.6 (C-13), 135.9 (C-9), 135.3 (C-9'), 132.8 (C-14), 132.8 (C-14'), 131.5 (C-10), 131.0 (C-10'), 130.3 (C-15), 130.3 (C-15'), 128.9 (C-7'), 126.4 (C-5), 125.8 (C-7), 125.1 (C-11), 125.0 (C-11'), 124.7 (C-4'), 66.2 (C-3'), 65.3 (C-3), 55.2 (C-6'), 48.6 (C-2), 44.9 (C-2'), 42.8 (C-4), 37.3 (C-1), 34.3 (C-1'), 30.4 (C-16), 29.7 (C-17'), 28.9 (C-17), 24.5 (C-16'), 23.1 (C-18'), 21.8 (C-18), 13.3 (C-19'), 13.0 (C-19), 13.0 (C-20), 13.0 (C-20')

Afzelechin (4) <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CD<sub>3</sub>OD) δ<sub>H</sub>: 7.22 (2H, d, *J* = 8.7 Hz, H-2', 6'), 6.79 (2H, d, *J* = 8.7 Hz, H-3', 5'), 5.92 (1H, d, *J* = 2.3 Hz, H-8), 5.84 (1H, d, *J* = 2.3 Hz, H-6), 4.58 (1H, d, *J* = 7.8 Hz, H-2), 3.97 (1H, m, H-3), 2.87 (1H, dd, *J* = 5.5, 16.1 Hz), 2.50 (1H, dd, *J* = 8.5, 16.0 Hz); <sup>13</sup>C NMR (100 MHz, CD<sub>3</sub>OD) δ<sub>C</sub>: 158.5 (C-4'), 158.0 (C-7), 157.7 (C-5), 157.1 (C-9), 131.6 (C-1'), 129.8 (C-2', 6'), 116.2 (C-3', 5'), 101.0 (C-10), 96.4 (C-8), 95.6 (C-6), 83.0 (C-2), 69.0 (C-3), 29.1 (C-4)

Catechin (5) <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CD<sub>3</sub>OD) δ<sub>H</sub>: 6.80 (1H, d, *J* = 2.0 Hz, H-2'), 6.72 (1H, d, *J* = 8.0 Hz, H-5'), 6.67 (1H, dd, *J* = 2.0, 8.0 Hz, H-6'), 5.89 (1H, d, *J* =

2.3 Hz, H-8), 5.82 (1H, d,  $J = 2.3$  Hz, H-6), 4.52 (1H, d,  $J = 7.3$  Hz, H-2), 3.94 (1H, m, H-3), 2.85 (1H, dd,  $J = 5.3, 16.1$  Hz, H-4), 2.50 (1H, dd,  $J = 8.2, 16.1$  Hz, H-4);  $^{13}\text{C}$  NMR (100 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta_{\text{C}}$ : 158.0 (C-9), 157.5 (C-5), 157.1 (C-7), 146.4 (C-3'), 146.4 (C-4'), 132.4 (C-1'), 120.2 (C-6'), 116.2 (C-5'), 115.4 (C-2'), 101.0 (C-10), 96.4 (C-6), 95.6 (C-8), 83.0 (C-2), 69.0 (C-3), 28.7 (C-4)

#### 2.4. DPPH 라디칼 소거 활성

2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) 라디칼 소거 활성 실험은 Blois 방법[10]을 응용하였고 96-well plate에 농도별로 희석한 시료 용액 20  $\mu\text{L}$ 와 0.2 mM DPPH 용액 180  $\mu\text{L}$ 를 혼합하여 상온에서 10 min 간 반응시킨 후, 515 nm에서 흡광도를 측정하였다. 각 시료의 소거 활성(scavenging activity) 백분율이 50%일 때의 농도( $\text{SC}_{50}$ )를 계산하였으며 양성 대조군으로는 vitamin C를 사용하였다.

#### 2.5. ABTS<sup>+</sup> 라디칼 소거 활성

2,2'-azino-bis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) (ABTS) 양이온 라디칼 소거 활성은 Re 등의 방법[11]을 응용하였고, 7.4 mM ABTS와 2.6 mM potassium persulfate를 혼합하여 실온 및 암소에서 16 h 동안 반응시켜 ABTS<sup>+</sup> 라디칼을 형성시켰다. 이 용액을 에탄올로 희석하여 700 nm에서 흡광도가  $0.78 \pm 0.02$ 가 되도록 희석하여 실험에 사용하였다. 96-well plate에 농도별로 희석한 시료 용액 20  $\mu\text{L}$ 와 ABTS<sup>+</sup> 용액 180  $\mu\text{L}$ 를 혼합하여 상온에서 15 min 반응시킨 후, 700 nm에서 흡광도를 측정하였다. 각 시료의 소거 활성(scavenging activity) 백분율이 50%일 때의 농도( $\text{SC}_{50}$ )를 계산하였으며 양성 대조군으로는 vitamin C를 사용하였다.

#### 2.6. Catechin의 함량 분석

좁은잎천선과 잎에서 분리된 화합물인 catechin (5)의 함량을 확인하기 위해 HPLC (Waters 2695, Waters Co., USA), capcell pak UG120 C18 column (5  $\mu\text{m}$ , 4.6  $\times$  250 mm, Shiseido, Japan)을 사용하여 정량 분석하였다. 이동상은 0.05% 아세트산이 함유된 증류수(용매 A)와 acetonitrile (용매 B)를 사용하였으며 유속은 1 mL/min, 주입량은 10  $\mu\text{L}$ 로 하였고 검출기는 UV de-

tector (280 nm)를 사용하였다. 용출조건은 gradient mode로 20 min 동안 용매 B를 10 ~ 20%의 비율로 변화시켰다. Standard로는 catechin (Sigma, USA)을 사용하였으며 농도별로 제조한 catechin의 peak 면적을 구하여 회귀 방정식을 이용한 검량선을 작성하여 정량하였으며 검량선의  $r^2$  값은 0.999 이상이었다.

### 3. 결과 및 고찰

#### 3.1. 좁은잎천선과 잎 추출물 및 용매 분획물의 항산화 활성

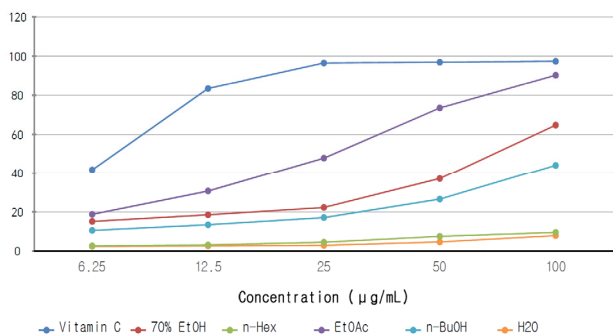
좁은잎천선과 잎의 항산화 활성을 확인하기 위해 DPPH 및 ABTS<sup>+</sup> 라디칼 소거 활성을 측정하였다. 인체에 유해한 활성산소(ROS) 중에서 가장 강력한 유해인자는 hydroxyl radical ( $\text{HO}\cdot$ )로 알려져 있다. 따라서, 체내에서 진행되는 유해한 과산화작용을 제어하기 위해서는 라디칼 인자를 제어하는 것이 효과적이다. DPPH는 비교적 안정한 hydrazyl 라디칼 화합물로서, 항산화 기질과 반응하여 중성인 hydrazin으로 변환되며 DPPH 용액의 변색이 수반된다. 식물 추출물의 라디칼 소거 활성 측정법으로서 DPPH 용액의 흡광도 변화를 추적하는 방법이 매우 효과적으로 이용되고 있다. 또한 ABTS<sup>+</sup>를 이용한 항산화능의 측정은 potassium persulfate와의 반응에 의해 생성된 ABTS<sup>+</sup> 유리 라디칼이 항산화 물질에 의해 제거되어 라디칼 특유의 색인 청록색이 탈색되는 것을 이용한 방법이다. DPPH assay와 마찬가지로 인위적인 라디칼을 제거하는 작용 기작이 공통적이며, DPPH 라디칼 제거능과 유의적인 상관성을 보이는 것으로 알려져 있다.

우선 좁은잎천선과 잎을 70% 에탄올을 이용해 추출하였으며 얻어진 추출물을 용매 극성에 따라 순차적으로 분획하여 hexan, 에틸아세테이트, 부탄올, 물 분획물을 얻었다. 추출물 및 용매 분획물에 대한 DPPH 라디칼 소거 활성 실험 결과 시료의 농도가 100  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 일 때 추출물, 에틸아세테이트, 부탄올 분획물에서 각각 64.7%, 90.3%, 44.1%의 활성을 보였다(Figure 1). 각 농도별로 라디칼 소거 활성을 측정하여 시료 각각의  $\text{SC}_{50}$  값을 계산한 결과 좁은잎천선과 에틸아세테이트 분획물의  $\text{SC}_{50}$  값이 26.1  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 로 우수한 라디칼 소거 활성이 있음을 확인하였다(Table 1).

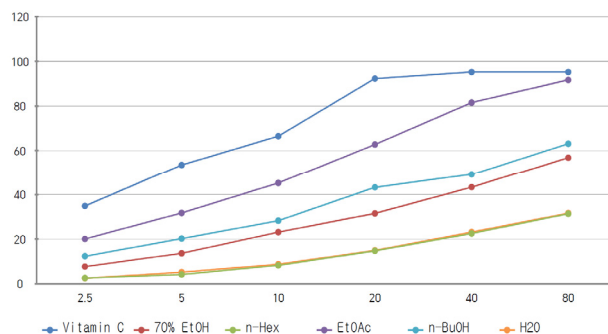
또한 ABTS<sup>+</sup> 라디칼 소거 활성 결과 시료의 농도가

**Table 1.** SC<sub>50</sub> Values of Extract and Solvent Fractions from *F. electa* on DPPH and ABTS<sup>+</sup> Radical Scavenging Activities

Fractions	70% EtOH	<i>n</i> -Hex	EtOAc	<i>n</i> -BuOH	H <sub>2</sub> O	Vitamin C
DPPH radical (μg/mL)	73.6	> 100	26.1	> 100	> 100	7.5
ABTS <sup>+</sup> radical (μg/mL)	61.6	> 80	13.4	41.1	> 80	5.4



**Figure 1.** DPPH radical scavenging activities of extract and solvent fractions from *F. electa*.



**Figure 2.** ABTS<sup>+</sup> radical scavenging activities of extract and solvent fractions from *F. electa*.

80 μg/mL일 때 추출물, 에틸아세테이트, 부탄올 분획물에서 각각 56.8%, 91.7%, 63.1%의 활성을 보였다 (Figure 2). 시료 각각의 S<sub>50</sub> 값을 계산한 결과 좁은잎천선과 에틸아세테이트 분획물의 SC<sub>50</sub> 값이 13.4 μg/mL로 DPPH 라디칼 소거 활성과 마찬가지로 우수한 라디칼 소거 활성이 있음을 확인하였다(Table 1).

3.2. 좁은잎천선과 잎으로부터 분리된 화합물의 구조 동정

항산화 활성이 좋았던 좁은잎천선과 에틸아세테이트 분획물에 대해 VCL, silica gel column chromatography를 수행하여 총 5개의 화합물을 분리하였으며, <sup>1</sup>H 및 <sup>13</sup>C NMR을 이용하여 화합물의 구조를 동정하였다. 화합물 1은 δ<sub>H</sub> 5.37 (4H, m) 및 δ<sub>C</sub> 130.5, 130.3, 128.5, 128.1의 피크를 통해 2개의 이중결합이 존재함을 확인할 수 있으며, 문헌[12,13]과 비교하여 monoolein으로 동정하였다. 화합물 2는 δ<sub>H</sub> 5.37 (2H, m) 및 δ<sub>C</sub> 130.3, 130.1의 피크를 통해 1개의 이중결합이 존재함을 확인할 수 있으며, 문헌[14]과 비교하여 oleic acid로 동정하였다. 화합물 3 또한 문헌[15, 16]과 비교하여 lutein으로 확인하였다. 화합물 4는 <sup>13</sup>C NMR에서 13개의 탄소 피크와 δ<sub>H</sub> 7.22 (2H, d, J = 8.7 Hz) 및 δ<sub>H</sub> 6.79 (2H, d, J = 8.7 Hz)의 피크로 보아 flavonoid의 B ring이 대칭 구조인 것을 예상할 수 있으며 <sup>1</sup>H 및 <sup>13</sup>C NMR 데이터를 종합하여 문헌[17]을 통해 afzelechin으로 동정하였

다. 화합물 5는 <sup>13</sup>C NMR spectrum에서 15개의 탄소 피크가 확인되었으며 그중 δ<sub>C</sub> 95.6 ~ 158.0에 해당하는 12개의 피크로 보아 2개의 aromatic ring이 있음을 알 수 있고 이를 바탕으로 flavonoid일 것이라 예상하였다. <sup>1</sup>H 및 <sup>13</sup>C NMR 데이터를 종합하여 문헌[18]을 통해 화합물 5는 catechin으로 동정하였다(Figure 3).

3.3. 좁은잎천선과 잎으로부터 분리된 화합물의 항산화 활성

좁은잎천선과 잎에서 분리된 화합물의 항산화 활성을 확인하기 위해 기존에 널리 알려진 천연 항산화제인 vitamin C를 대조군으로 하여 DPPH 및 ABTS<sup>+</sup> 라디칼 소거 활성 실험을 진행하였다. 그 결과 DPPH 라디칼 소거 활성에서 화합물 4, 5의 SC<sub>50</sub> 값이 각각 143.7 μM, 35.5 μM로 라디칼 소거 활성이 우수하였으며 ABTS<sup>+</sup> 라디칼 소거 활성에서도 화합물 4, 5의 SC<sub>50</sub> 값이 각각 52.9 μM, 10.6 μM로 활성이 우수함을 확인하였다. 특히 화합물 5는 대조군인 vitamin C 보다 더 좋은 라디칼 소거 활성이 있음을 확인할 수 있었다(Table 2, 3).

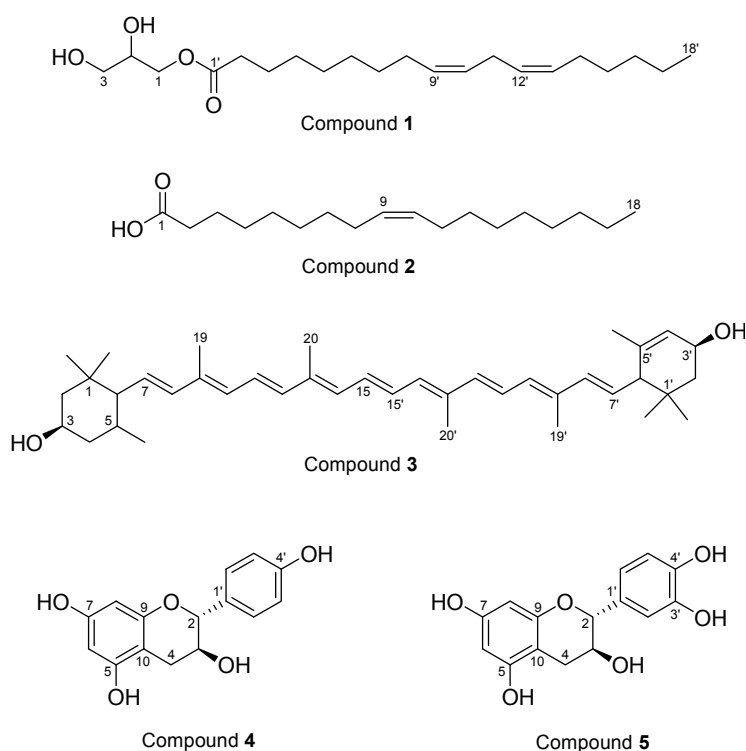
화합물의 라디칼 소거활성이란 DPPH의 hydrazyl 라디칼(R<sub>1</sub>R<sub>2</sub>N·)에 수소를 제공하여 중성인 hydrazine (R<sub>1</sub>R<sub>2</sub>NH)으로 변환하는 능력을 의미한다. 라디칼 인자에 수소를 제공할 수 있는 물질은 페놀 성분이 가장 잘 알려져 있다. 페놀은 라디칼에 수소를 제공하고 비교

**Table 2.** DPPH and ABTS<sup>+</sup> Radical Scavenging Activities of Isolated Compounds 1 ~ 5 from *F. electa*

Compounds (100 $\mu\text{g/mL}$ )	Radical scavenging activity (%)					Vitamin C
	1	2	3	4	5	
DPPH radical	< 5.0	< 5.0	< 5.0	68.6	92.7	98.5
ABTS <sup>+</sup> radical	< 5.0	< 5.0	< 5.0	86.5	97.3	97.9

**Table 3.** SC<sub>50</sub> Values of Isolated Compounds 1 ~ 5 from *F. electa* on DPPH and ABTS<sup>+</sup> Radical Scavenging Activities

Compounds	1	2	3	4	5	Vitamin C
DPPH radical ( $\mu\text{M}$ )	> 200	> 200	> 200	143.7	35.5	41.1
ABTS <sup>+</sup> radical ( $\mu\text{M}$ )	> 160	> 160	> 160	52.9	10.6	33.5

**Figure 3.** Structures of isolated compounds 1 ~ 5 from *F. electa*.

적 안정한 페녹시 라디칼( $\text{PhO}\cdot$ )로 변환되어 분해되거나 다른 유도체로 변환된다. 화합물 1과 2는 지질 및 불포화지방산으로서 페놀 작용기를 갖고 있지 않다. 화합물 3은 탄소수 40인 카로테노이드(carotenoid) 성분으로서 페놀 작용기가 없는 구조를 하고 있다. 따라서, 화합물 1 ~ 3에서는 구조적으로 DPPH 라디칼 소거활성을 기대할 수 없다. 화합물 4와 5는 대표적인 페놀성 화합물로서 우수한 라디칼 소거 활성이 확인되었다. 따라서, 에틸아세테이트에서 나타났던 항산화 활성은

afzelechin (4) 및 catechin (5) 성분에 기인한 것으로 판단된다.

### 3.4. 좁은잎천선과 잎 추출물의 Catechin 함량 분석

좁은잎천선과 잎에서 분리된 화합물인 catechin (5)은 플라보노이드 화합물로서 뛰어난 항산화 효과를 가지며 식물에 널리 분포하는 것으로 알려져 있다. HPLC를 이용하여 좁은잎천선과 추출물에 대한 catechin의 함량 분석 결과 추출물 1 g당 catechin이 3.8 mg

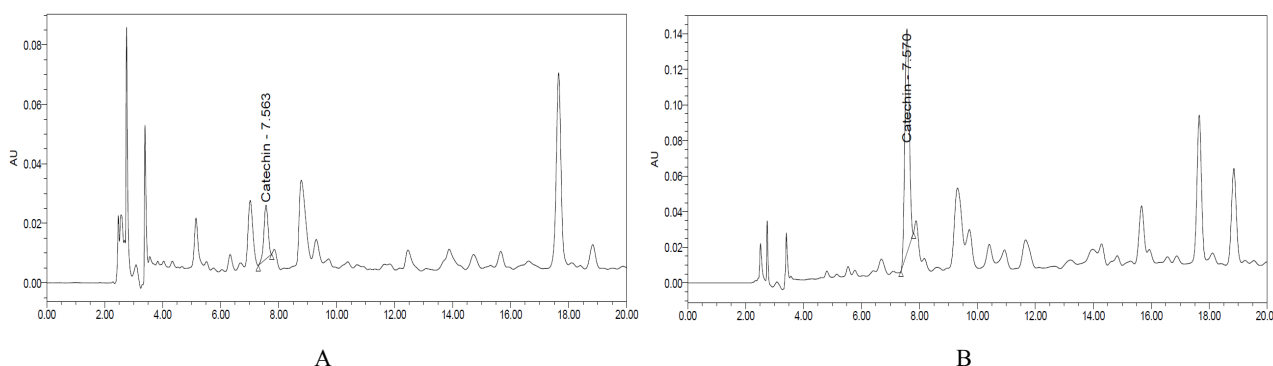


Figure 4. HPLC chromatogram of 70% EtOH extract (A) and EtOAc fraction (B) from *F. erecta* at 280 nm.

(0.38%) 함유되어 있으며, 에틸아세테이트 분획물에서는 20.8 mg/g (2.08%)이 함유되어 있는 것으로 확인되었다(Figure 4).

#### 4. 결 론

제주 자생 식물인 좁은잎천선과 잎에 대해서는 알려진 생리활성이 없으며 성분에 대한 연구 또한 보고된 바가 없다. 따라서 본 연구에서는 좁은잎천선과 잎 추출물 및 극성별 용매 분획물의 항산화 활성을 검색하고 좁은잎천선과 잎의 활성 성분을 확인하기 위해 추가적인 단일물질 분리 과정을 진행하여 화합물의 구조를 동정하였다. 또한 분리된 화합물의 항산화 활성도 확인하여 천연 항산화 소재로서의 이용 가능성을 알아보고자 하였다.

좁은잎천선과 잎 70% 에탄올 추출물을 용매의 극성에 따라 순차적으로 분획하여 hexan, 에틸아세테이트, 부탄올, 물 분획물을 얻었으며 DPPH 라디칼 소거 활성 실험 결과 좁은잎천선과 에틸아세테이트 분획물의 라디칼 소거 활성이 우수함을 확인하였다. 이를 바탕으로 에틸아세테이트 분획물의 항산화 활성 성분을 찾자 VLC 및 silica gel column chromatography를 수행하여 단일물질을 분리하고 <sup>1</sup>H, <sup>13</sup>C NMR 등을 이용해 화합물의 구조를 확인하였으며 문헌과 비교하여 총 5개의 화합물을 분리, 동정하였다.

분리된 화합물은 monoolein (1), oleic acid (2), lutein (3), afzelechin (4), catechin (5)으로 확인되었다. 이들 화합물은 모두 좁은잎천선과에서 처음으로 분리되었다.

또한 분리된 화합물에 대한 DPPH 및 ABTS<sup>+</sup> 라디칼

소거 활성 실험 결과 화합물 4 (SC<sub>50</sub> = 143.6 μM) 및 화합물 5 (SC<sub>50</sub> = 35.5 μM)가 우수한 DPPH 라디칼 소거 활성이 있음을 확인할 수 있었으며, ABTS<sup>+</sup> 라디칼 소거 활성에서도 화합물 4 (SC<sub>50</sub> = 52.9 μM) 및 화합물 5 (SC<sub>50</sub> = 10.6 μM)가 우수한 ABTS<sup>+</sup> 라디칼 소거 활성이 있음을 확인할 수 있었다. 분리된 화합물 중 좁은잎천선과 잎에 많이 함유되어 있으며 항산화 효과가 우수한 catechin (5)의 함량을 분석한 결과 추출물에서 3.8 mg/g, 에틸아세테이트 분획물에서 20.8 mg/g이 함유되어 있는 것으로 확인되었다. 이상의 연구결과를 바탕으로 좁은잎천선과 잎은 천연 항산화제로써 향후 화장품 소재로의 개발이 가능할 것이라 사료된다.

#### Acknowledgement

본 연구는 산업통산자원부와 한국산업기술평화원의 “R&D재발견프로젝트”의 지원을 받아 수행된 연구결과임(N0001547, 2015).

이 논문의 일부는 박성환의 석사학위논문(좁은잎천선과로부터 항산화 및 티로시나아제 저해 활성성분 연구, 제주대학교, 2011)의 연구 결과를 포함하고 있음.

#### Reference

1. S. H. Kim, Antioxidative properties and whitening effects of the *Eucommiae cortex*, *Salviae miltiorrhizae radix*, *aurantii nobilis pericarpium* and *Cnidii rhizome*, *J. East Asian Soc. Dietary Life*, **18**, 618 (2008).

2. L. L. Zwart, J. H. N. Meerman, N. M. Commandeur, and N. P. E. Verneulen, Biomarkers of free radical damage applications in experimental animals and in humans, *Free Radic. Biol. Med.*, **26**(1), 202 (1999).
3. S. O. Jae, Antioxidant activities and whitening effects of the Mulberry (*Morus alba* L.) root bark Extracts, *Korean J. Plant Res.*, **22**(2), 145 (2009).
4. Y. S. Lee, E. Y. Joo, and N. W. Kim, Antioxidant activity of extracts from the *Lespedeza bicolor*, *Korean J. Food Preserv.*, **12**(1), 75 (2005).
5. A. L. Branen, Toxicological and biochemistry of butylated hydroxytoluene, butylated hydroxyanisole, *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **52**(2), 59 (1975).
6. I. Yoon, J. H. Wee, J. H. Moon, T. H. Ahn, and K. H. Park, Isolation and identification of quercetin with antioxidative activity from the fruits of *Rubus coreanum* Miquel, *Korean J. Food Sci. Technol.*, **35**(3), 499 (2003).
7. M. B. Kim, S. H. Hyun, J. S. Park, M. A. Kang, Y. H. Ko, and S. B. Lim, Integral antioxidative capacity of extracts by pressurized organic solvent from natural plants in Jeju, *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.*, **37**(11), 1491 (2008).
8. E. C. Kim, S. Y. Ahn, E. S. Hong, G. H. Li, E. K. Kim, and K. H. Row, Extraction of whitening agents from natural plants and whitening effect, *J. Korean Ind. Eng. Chem.*, **16**(3), 348 (2005).
9. S. H. Park, T. H. Oh, S. S. Kim, J. E. Kim, S. J. Lee, and N. H. Lee, Constituents with tyrosinase inhibitory activities from branches of *Ficus erecta* var. *sieboldii* King, *J. Enzyme Inhib. Med. Chem.*, **27**(3), 390 (2012).
10. M. S. Blois, Antioxidant determination by the use of a stable free radical, *Nature*, **181**, 1199 (1983).
11. R. Re, N. Pellegrin, R. A. Proteggente, A. Pannala, M. Yang, and R. E. Catherine, Antioxidant activities applying an approved ABTS radical caution decolorization assay, *Free Radic. Biol. Med.*, **26**(9), 1231 (1999).
12. E. Okuyama, T. Hasegawa, and T. Matsushita, Analgesic components of saposchnikovia root (*Saposhnikovia divaricata*), *Chem. Pharm. Bull.*, **49**(2), 154 (2001).
13. L. J. Harrison, G. L. Sia, K. Y. Sim, and H. T. W. Tan, A ferulic acid ester of sucrose and other constituents of *Bhesa paniculata*, *Phytochemistry*, **38**(6), 1497 (1995).
14. G. Knothe and J. A. Kenar, Determination of the fatty acid profile by <sup>1</sup>H-NMR spectroscopy, *Eur. J. Lipid Sci. Technol.*, **106**(2), 88 (2004).
15. D. Arigoni, W. Eisenreich, and C. Latzel, Dimethylallyl pyrophosphate is not the committed precursor of isopentenyl pyrophosphate during terpenoid biosynthesis from 1-deoxyxylulose in higher plants, *Proc. Natl. Acad. Sci.*, **96**(4), 1309 (1999).
16. N. Sultana and N. H. Lee, A new alkene glycoside from the Leaves of *Sasa quelpaertensis* Nakai, *Bull. Korean Chem. Soc.*, **31**(4), 1088 (2010).
17. J. Saijyo, Y. Suzuki, and Y. Okuno,  $\alpha$ -glucosidase Inhibitor from *Bergenia ligulata*, *J. Oleo Sci.*, **57**(8), 431 (2008).
18. J. H. Kim and N. H. Lee, Compounds with elastase inhibition and free radical scavenging activities from *Callistemon lanceolats*, *J. Med. Plant Res.*, **3**(11), 914 (2009).