Journal of Oil & Applied Science Vol. 34, No. 3. September, 2017. 536~544 ISSN 1225-9098 (Print) ISSN 2288-1069 (Online) http://dx.doi.org/10.12925/jkocs.2017.34.3.536

가시박 추출물의 항산화 및 항염증 효과

김윤아* · 유선희^{b†}

건국대학교 생물공학과^a, 연성대학교 뷰티스타일리스트과^{b†} (2017년 8월 5일 접수: 2017년 8월 28일 수정: 2017년 9월 4일 채택)

Antioxidant Activity and Anti-inflammatory effects of Sicyos angulatus L. extract

Yooun-A Kim^a · Seon-hee You^{b†}

^aDepartment of Bioengineering, Konkuk University, 120, Neungdong-ro, Gwangjin-gu, Seoul, 05029, Korea

b[†]Department of Beauty Stylist-Major in Skin Care, Yeonsung University, 37, Yanghwa-ro, Manan-go, Anyang-si, Gyeonggi-do, 14011, Korea

요 약: 생태계 교란 식물로 알려진 가시박 추출물을 활용하여 생리 활성 효과를 알아보고, 기능성화장품 소재로써의 활용 가능성을 확인하고자 하였다. 본 실험 방법으로는, 총 폴리페놀 함량, 총 플라보노이드 함량을 측정하고, DPPH radical 소거능, 세포 내 ROS 생성 억제, NO 및 COX-2 발현 억제효과를 평가하고자 하였다. 본 실험 결과, 가시박 추출물의 21 mg/g, 0.72 mg/g의 총 폴리페놀과 총플라보노이드 함량을 확인하였으며, 높은 라디칼 소거 활성을 통한 항산화 활성을 확인 하였다. RAW 264.7세포와 HDF세포에서 100 μ g/mL 농도까지 유의한 세포 독성은 확인되지 않았으며, HDF세포에서의 농도 의존적인 ROS 생성 억제와 RAW 264.7 세포에서의 높은 NO 생성 억제와 COX-2 단백질 발현 억제 효과를 확인 하였다. 이와 같은 결과를 통하여 항산화 효과가 우수하고, 세포 내 ROS 생성 억제와 NO 생성 억제, COX-2 단백질 발현 억제 활성을 통하여 항산화 및 항염증의 효과를 가진 기능성 화장품 소재로써의 활용 가능성을 확인 하였다.

주제어 : 항산화, 항염증, 외래종, 활성산소, 가시박

Abstract: This study was carried out to find out the physiological activity effect of *Sicyos angulatus* L. extract which is known as an ecosystem disturbance plant and confirm the availability as a functional cosmetic material. Total polyphenol and flavonoid contents were measured, and DPPH radical scavenging, intracellular ROS, and its inhibitory effect on the expression Nitric oxide of and COX-2 were evaluated. The content of polyphenol and flavonoid was found to be 3.079 mg(CA)/100g and 72 mg(Q)/100g of *Sicyos angulatus* L. extract and antioxidant activity through high radical scavenging activity was confirmed. ~Significant cytotoxicity was not observed up to a

(E-mail: voush4843@naver.com)

[†]Corresponding author

concentration of 100 μ g / mL in RAW 264.7 cells and HDF cells and concentration-dependent inhibition of ROS production in HDF cells, inhibition of high NO production and inhibition of COX-2 protein expression in RAW 264.7 cells were confirmed. Through these results, we found the possibility of use as a functional cosmetic material with excellent antioxidant effect and antioxidant and anti-inflammatory effects through inhibition of intracellular ROS generation, inhibition of NO generation, and inhibition of COX-2 protein expression.

Keywords: Anti-oxidant, Anti-inflammatory, Exotic species, Reactive Oxygen Species(ROS), Sicyos angulatus L.

1. 서 론

가시박은 박과에 속하는 식물이며, '안동대목' 또는 '안동오이'라고 불리고 있다. 가시박의 학명 Sicyos angulatus L.이며, 영어로는 burcucumber, star-burcucumer, one-seededburcucumer으로 알려져 있다[1]. 가시박은 4월 초, 중순에 출현하여 6월 중순 이후부터 불균일 하게 발생되고, 서리가 내리기 전까지 급격하게 확산되어 방제시기의 선택이 어렵다[2,3]. 잎은 어긋나기 잎차례, 잎 자루는 3~12m, 모양은 5~ 7개의 원형으로, 줄기는 4~8개로 다른 물체를 감아 올라가서 끝이 3~4갈래로 갈라진 덩굴손이 다[1]. 가시박은 덩굴이라는 생태적인 특성을 가 지고 있어 나무나 풀, 작물 등을 덮어 다른 식물 들의 광합성을 막아 식물을 고사시키고, 열매가 붙어있는 가시가 매우 위협적이며, 날카롭기 때문 에 걷어내기 어려운 문제점을 가지고 있어서, 식 물계의 황소개구리, 식물계의 공룡이라고도 불리 고 있다[4]. 이렇듯 가시박은 현재 생태계 교란 야생식물로 지정되어 있으며[5], 생태계의 교란은 외래종들의 유입과 빠른 확산에 의하여 자생종의 생존과 주변 다양한 생물들을 훼손시키고, 인간의 건강과 활동을 제한하는 요인이 되기도 한다[6]. 현재까지 가시박의 연구로는 가시박의 생육특성 및 분포[7], 가시박의 제초 활성[8], 가시박 출현 및 초기 생육 특성[9], 외래잡초 가시박 및 가시 비름에 대한 약제방제 효과[10], 가시박 군락지의 잡초 발생 특성 및 분포[11], 가시박 방제를 위한 천연 Chrysophanic acid의 개발[4], 가시박 추출 물의 잡초종자 발아 및 유묘 생육 억제 효과[12], 가시박의 생태와 제어에 관한 연구[13] 등 생태 및 방제에 관한 연구가 보고되고 있다. 하지만 국내에서 흔히 볼 수 있는 식물로서 생명력이 강

하고, 풍부한 식물 자원임에도 불구하고, 제거 대 상으로만 인식되어 있으며, 이와 관련한 연구 또 한 미비한 실정이다. 이에 따라 본 연구에서는 제거나 퇴치 대상으로 인식된 가시박을 활용하여 70% 에탄올로 추출한 가시박 추출물의 총 폴리 페놀과 총 플라보노이드의 함량 측정과 DPPH radical 소거 활성, 세포내 ROS를 측정을 통한 항산화 효과를 확인하고, 대식 세포인 RAW 264.7 세포에 대한 세포 생존율, 염증과 관련한 oxide (NO)생성 억제능, Nitric Western blotting을 활용한 COX-2 단백질 발현 억제능을 측정하여, 항산화 및 항염증의 효과를 가진 기능 성 화장품 소재로써의 활용 가능성을 확인하고자 하였다.

2. 준비 및 방법

2.1. 시료 준비

본 실험에 사용된 가시박 추출물은 무게 100g에 70% ethanol용액에 10배의 무게를 가한 후 37℃ 인큐베이터안에서 72 h 추출하였다. 추출물을 분리하기 위하여 72 h 후 침전물을 여과하고, Rotary evaporator (EYELA, Japan)를 사용하여 감압 농축한 후 남아있는 동결 건조하여, 액상의 추출물을 분말 형태로 얻어 본 실험에 사용하였다.

2.2. 실험 방법

2.2.1 Total phenolic compound 함량 측정

Folin-Denis 방법으로 정량하여[14], 가시박 추출물의 총 폴리페놀 함량을 측정하였다. 시료를 0.5, 1, 2.5, 5 μg/mg가 되도록 농도별로 희석한

후, 시료 400 µL와 Folin-Denis reagent 400 µ L를 혼합하여 3 min 반응시킨 후, 10% Na₂CO₃ 를 400 μL를 혼합하여, 암실에서 반응시켰다. 60 min 후 96 well plate에 상등액 200 µL를 취하여 760 nm에서 흡광도를 측정하였다. 표준 물질은 caffeic acid (0~100 μg/mL)의 만들어 진 곡선에 시료값을 대입하여 총 폴리페놀 값을 구하였으며, 각 폴리페놀 성분에 대해서는 작성된 검량선식이 나타내는 상관계수(R²)값이 0.9797의 직선성을 나타내어 표준 곡선으로 사용이 가능하 였다.

2.2.2. Total flavonoid 함량 측정

가시박 추출물의 총 플라보노이드 함량은 Moreno방법을 이용하여 측정하였다[15]. 시료를 0.5, 1, 2.5, 5 μ g/mg가 되도록 희석한 후 시료 100 µL 와 10% aluminum nitrate 20 µL, 1M pottassium acetate 20 μL, ethanol 860 μL를 혼합하여, 40 min 후 원심분리기로 부유물을 가 라앉힌 다음 96 well plate에 200 μL씩 분주하 여 415 nm에서 흡광도를 측정하였다. 표준 물질 은 quercetin $(0\sim100~\mu\,\mathrm{g/mL})$ 의 만들어진 곡선 에 시료값을 대입하여 총 플라보노이드 값을 구 하였으며, 각 플라보노이드 성분에 대해서는 작성 검량선식이 나타내는 상관계수(R²)값이 0.9793의 직선성을 나타내어 표준곡선으로 사용 이 가능하였다.

2.2.3. DPPH radical 소거 활성 측정

가시박 추출물의 항산화 활성은 1,1-diphenyl -2-picryl-hydrazyl (DPPH; Sigma-Aldrich, USA)용액을 사용하여 라디칼 소거 활성을 측정 하는 blois의 방법[16]으로 측정하였다. 시료를 각 농도별로 희석한 다음 96 well plate에 10 mM DPPH 용액 180 μ L와 시료액 20 μ L를 혼합하여 차광 상태에서 37℃, 30 min 동안 반 응시킨 후 517 nm에서 흡광도를 측정하였다. 본 실험은 동일한 조건으로 3회 반복적으로 실험하 여 평균값을 측정하였으며, 양성 대조군으로는 Ascorbic acid (Sigma-Aldrich, USA)을 실험군과 동일하게 사용하였다.

DPPH radical 소거 활성(%) = 100 -{(첨가군 흡광도 / 무첨가군 흡광도) × 100}

2.3. 세포 배양

한국세포주은행(Korean Cell Line Bank. Korea)에서 RAW 264.7. HDF Cell을 구입하여. 10% fetal bovine serum (FBS; Sigma-Aldrich, USA)과 1% penicillin (100 IU/mL, Healthcare Life Sciences, USA). streptomycin (50 µg/mL, GE Healthcare Life Sciences)를 High glucose Dulbecco's modified Eagle's medium (DMEM; Sigma-Aldrich, USA) 배지에 첨가하여 37℃, 5%의 CO2 인큐베이터 안에서 배양하였으며, 세포 주기는 36~48 h으로 유지하며 계대배양 하였다.

2.4. 세포내 Reactive oxygen species (ROS) 측정

Dichlorofluorescein diacetate (DCF-DA) 방법 을 이용하여 세포 내 ROS 농도 변화를 측정하였 다. HDF 세포를 이용하여 2 × 10⁵ cells/well의 농도로 분주 한 후 24 h 배양하였다. 세포에 시 료를 농도별로 분주하여 24 h 추가 배양을 진행 하였다. 24 h 후 DCF-DA 10 μM 첨가하여 30 min 어두운 곳에서 배양 한 후 Flow Cytometer (BD Biosciences, USA)을 이용하여 excitation 530 nm emission 485 nm wavelength에서 ROS의 변화량을 측정하였다.

2.5. 세포 생존율 측정

Moon & you (2016)의 방법[17]에 따라 neutral red (NR) assay를 이용하여 RAW 264.7, HDF Cell 세포에 대한 세포 생존율 측정 하고자 96 well plate에 well 당 3 × 10⁴ cells/well의 세포를 24 h 동안 배양기에서 부착 하였다. 24 h 후 가시박 추출물을 농도별로 처리 한 다음 37℃에서 CO2 배양기에서 48 h 동안 배양하였다. 48 h 후 NR (Sigma-Aldrich, USA)이 1% 포함된 무 혈청배 지로 교환하여 3 h 동안 배양한 다음 10% formaldehyde 용액이 첨가된 phosphate buffered saline (PBS)을 각 well에 100 mL로 20 min 처 리하여 고정하였다. NR desorb solution (1% glacial acetic acid, 49% ethanol, 50% distilled water)을 각 well에 100 mL을 가하여 세포 내의 NR을 추출하고 microplate reader (Synergy HT; BioTek Instruments, USA)를 이용하여 540 nm에서 흡광도를 측정하였다. 동일한 조건으로 3회 반복적으로 실험하여 평균값을 측정하였다.

2.6. Nitric oxide (NO) 생성 저해능 측정

가시박 추출물의 항염증 효과를 확인하기 위하여 RAW 264.7세포를 96 well plate에 well당 5×10^4 cell/well의 농도로 분주한 후 24 h 동안 37°C, 5% CO₂ 배양기에서 배양하였다. 배양 후 배지를 제거하고 LPS (lipopolysaccharide) 1 μ g/mL 농도로 처리된 배지에 시료를 10, 25, 50, 100 μ g/mL의 농도별로 가하여 48 h 동안 배양하였다. 새로운 96 well plate에 griess reagent 100 μ L와 배양된 세포 배양 상층액 100 μ L을 가하여 차광된 상태에서 10 min 반응시킨 후 540 nm에서 흡광도를 측정하였다.

NO 생성 저해능(%) =

시료첨가군의 O.D. at 540 nm 시료무취가군의 O.D. at 540 nm

2.7. Western blotting

가시박 추출물의 COX-2 단백질 발현 억제 효 과를 확인하기 위하여 RAW 264.7 세포에 LPS 로 염증을 유도한 뒤 western blotting을 수행하 였다. 가시박 추출물 25, 50 mg/mL의 농도와 LPS를 처리한 후 24 h 배양한 세포를 수확하여 PBS로 세척 후 RIPA buffer (50 mM Tris-Cl (pH 7.5), 50 mM NaCl, 1% NP-40, 0.5% sodium deoxycholate, 0.1% SDS, protease inhibitor cocktail (Roche, Switzerland))로 첨가 하여 세포를 용해하고, 상등액을 회수한 후, SDS sample buffer (14.4 mM 2-mercaptoethanol, 60 mM Tris (pH 6.8), 25% glycerol, 2% SDS, 0.1% bromophenol blue)를 첨가하고 단백질을 변성시킨 후 SDS-PAGE를 이용하여 단백질을 분자량별로 분리하였다. 분리된 단백질은 100 V 조건에서 nitrocellulose membrane (Whatman, UK)으로 transfer한 다음 membrane 에 옮겨진 단백질은 5% skim milk 용액에서 blocking 처리한 후 membrane은 primary antibody (Sigma-Aldrich, USA)에서 24 h 교반 후 다시 secondary antibody (Santa Cruz Biotechnology, Inc., USA)용액에서 교반하 였으며, 교반이 완료된 membrane은 TBS-T (150 mM NaCl, 10 mM Tris-Cl (0.2% Tween pH 7.5))로 세척하였다. 세척이 된 membrane을 상온에서 secondary antibody 용액 에 35 min 처리한 후, 실험용 필름(Konica, Japan)에서 Super Signal West Pico solution

(Pierce, USA)을 처리하여 필름에 감광을 유도한다음 암실에서 자동현상기(QX-130II, Konica, Japanese)를 이용하여 현상하였다. 현상된 필름상의 단백질양은 Image J (National Institute of Mental Health, USA)를 이용하여 band 농도 차이를 비교하였다.

2.8. 통계 처리

본 실험은 동일한 조건하에 독립적으로 3회 이상 측정하여, 본 실험 결과를 얻어 분석하였다. 평균 ± 표준편차(Mean±Standard Deviation)로 표기하였으며, 통계 처리는 SPSS Window Version 17.0 (SPSS Inc., USA)을 이용하여 분석하였고, 유의성 검증은 Student t-test로 실시하였다. 실험 결과는 p값이 0.05 미만을 때 통계적으로 유의한 차이가 있는 것으로 판정하였다.

3. 결과 및 고찰

3.1. 총 폴리페놀 함량

총 폴리페놀의 함량이 증가할수록 항산화 활성이 우수하다고 알려져 있으며, 항산화 활성을 확인하기 위하여 가시박 추출물의 총 폴리페놀 함량을 측정하였다(Fig. 1). 본 실험 결과, 가시박추출물을 0.5, 1, 2.5, 5 mg/g 농도로 처리 하였을 때 농도 의존적인 총 폴리페놀 함량이 확인되었으며, 실험에 사용된 표준 물질에 가시박추출물의 총 폴리페놀 함량을 환산한 결과 총 폴리페놀 함량이 확인되놀 함량은 21 mg/g으로 총 폴리페놀 함량이 확인되었다.

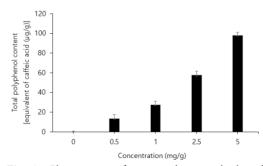


Fig. 1. Change of total polyphenol concentration of *Sicyos angulatus* L. extract. The results are presented as the mean ± S.D. of three independent experiments.

3.2. 총 플라보노이드 함량

가시박 추출물의 총 플라보노이드 함량을 Fig. 2에 나타내었다. 본 실험 결과, 가시박 추출물을 0.5, 1, 2.5, 5 mg/g 농도로 처리 하였을 때 농도 의존적인 총 플라보노이드 함량이 확인되었으며, 실험에 사용된 표준 물질에 가시박 추출물의 총 플라보노이드 함량을 환산한 결과 총 플라보노이드 함량은 0.72 mg/g으로 확인 되었다.

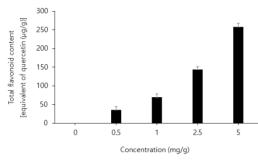


Fig. 2. Change of total flavonoid concentration of *Sicyos angulatus* L. extract. The results are presented as the mean \pm S.D. of three independent experiments.

3.3. DPPH radical 소거 활성 측정

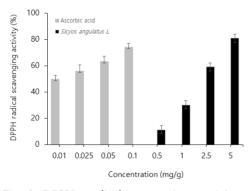


Fig. 3. DPPH radical scavenging activity of *Sicyos angulatus* L. extract. The results are presented as the mean ± S.D. of three independent experiments.

DPPH radical 소거 활성을 통하여 가시박 추출물의 항산화 활성을 확인 하였다(Fig. 3). 본실험 결과, 가시박 추출물을 0.5, 1, 2.5, 5 mg/mL 농도로 처리하였을 때 DPPH radical 소거능을 확인한 결과 11.3%, 30.2%, 59.01%,

80.8%의 소거 활성을 나타내었으며, 항산화제의 대표적인 물질로 알려진 ascorbic acid은 0.1% 농도에서 74%의 우수한 라디칼 소거 활성을 확인 하였다.

3.4. RAW 264.7 세포 생존율

가시박 추출물이 대식세포인 RAW 264.7 세포에 대한 세포 생존율을 확인하고자 5, 10, 25, 50, 100 μg/mL의 각 농도별로 처리하여 세포생존율을 확인 하였다(Fig. 4). 본 실험 결과, 세포 생존율은 control 100% 대비 93.07%, 89.49%, 82.24%, 81.99%, 84.03%의 생존율로 RAW 264.7에 대한 세포에 대한 유의한 독성이나타나지 않은 것을 확인할 수 있었다. 이와 같은 결과를 통해 세포 생존율이 높은 100 μg/mL 농도에서 다음 시험을 진행을 진행하였다.

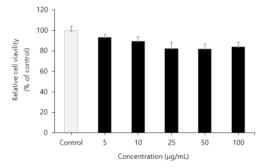


Fig. 4. Cytotoxicity in RAW 264.7 cells. The results are presented as the mean ± S.D. of three independent experiments.

3.5. HDF 세포 생존율

가시박 추출물이 섬유아 세포인 HDF 세포에 대한 세포 생존율을 확인하고자 5, 10, 25, 50, $100~\mu g/m$ L의 각 농도별로 처리하여 세포 생존율을 확인 하였다(Fig. 5). 본 실험 결과, 세포 생존율은 control 100% 대비 98.21%, 101.8%, 97.77%, 88.84%, 83.04%의 생존율로 HDF 세포에서 유의한 독성이 확인되지 않았으나, 85%의 생존율이 확인된 $50~\mu g/m$ L 농도에서 다음시험을 진행을 진행하였다.

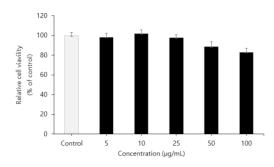


Fig. 5. Cytotoxicity in HDF cells. The results are presented as the mean ± S.D. of three independent experiments.

3.6. 세포내 ROS 측정

피부 세포의 유전적 변형에 중요한 병리적 작 용을 하는 것으로 알려진 산화적 스트레스에 대 해 가시박 추출물이 세포 내 활성산소 억제에 영 향을 미치는지 확인하기 위하여, 세포 대사 과정 중에서 발생하는 세포 내 ROS를 측정하여 Fig. 6에 나타내었다. 본 실험 결과, 가시박 추출물을 처리하였을 때 농도 의존적인 ROS 생성 억제 효 과가 확인되었으며, 특히 50 $\mu \, \mathrm{g/mL}$ 농도에서 30.63%의 ROS 생성 억제 효과를 확인 하였다. 항산화제로 알려진 대표적인 양성 대조군 ascorbic acid은 control군에 비해 억제하는 것을 확인 할 수 있었다. ROS는 세포 또는 조직의 손 상과 염증, 노화와 관련한 변성, 종양 생성등과 관련이 있는 것으로 보고되고 있으며, ROS를 소 거하는 방어기작으로 항산화 효소들이 존재하여

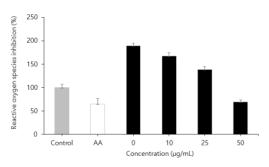


Fig. 6. Reactive oxygen species (ROS) inhibition of *Sicyos angulatus* L. extract. The results are presented as the mean \pm S.D. of three independent experiments (*p<.05, **p<.01, ***p<.001).

이들 사이의 항상성이 깨지게 되면 질병의 발생이 증가하게 되는데[18,19], 이와 관련하여 가시박 추출물이 항산화 활성과 세포 내 ROS 활성억제 효과로 인하여 기능성 소재로써의 활용 가능성이 있을 것으로 사료되어 진다.

3.7. NO 생성 억제능

일반적인 NO의 생성은 박테리아나 종양을 제 거하는 면역반응의 역할을 하는 것으로 알려져 있으나[20], LPS 또는 염증성 cytokine 등에 의 해 발현이 유도되어 iNOS에 의한 과다 NO 생 성은 염증 반응을 심화시켜, 유전자 변이나 신경 손상을 일으키는 것으로 알려져 있다[21-24]. 본 연구에서는 염증 반응에 중요한 역할을 하는 NO 생성을 억제하는 물질로써 항염증 효과를 확인하 고자 가시박 추출물을 RAW 264.7세포에 염증 매개 물질인 LPS로 염증을 유도한 뒤 가시박 추 출물 5, 10, 25, 50, 100 μg/mL의 농도로 처리 하여, 면역 질환 및 염증성 질환을 초래하는 NO 에 대한 생성 억제 효과를 확인 하였다(Fig. 7). 본 실험 결과, 가시박 추출물은 모든 농도에서 농도 의존적인 NO 생성 억제 효과를 확인하였으 며, 특히 100 μg/mL 농도에서 58.27%의 높은 NO 생성 억제 효과를 확인하였다.

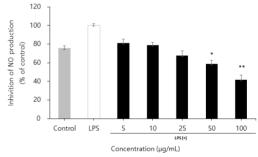
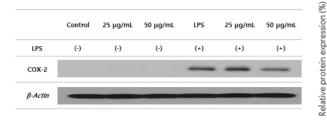


Fig. 7. Inhibition of nitric oxide production in RAW 264.7 cell treated with *Sicyos angulatus* L. extract. The results are presented as the mean±S.D. of three independent experiments (*p<.05, **p<.01).

3.8. COX-2 생성 억제능 측정

본 연구에서는 NO 생성 억제에 효과적인 가시박 추출물을 NO와 PGE2의 합성에 중요한 역할을 하는 COX-2의 단백질 발현 억제에 기인한 것인지 확인하기 위하여 western blot을 통하여



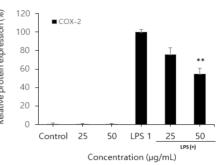


Fig. 8. Inhibitory effect of *Sicyos angulatus* L. extract on COX-2 protein production in RAW 264.7 cells. The results are presented as the mean ± S.D. of three independent experiments (**p<.01).

확인 하였다. RAW 264.7 세포 LPS를 처리하여 염증을 유도하였으며, 가시박 추출물을 25, 50 μ g/mL 농도로 사용하여 COX-2 생성 억제 효과를 Fig. 8에 나타내었다. 본 실험결과, 가시박 추출물을 처리 하였을 때 농도 의존적인 COX-2 생성 억제 효과를 확인하였으며, 특히 50 μ g/mL 농도에서 45%의 높은 COX-2 억제 효과를 나타내었다. 이와 같은 결과는 가시박 추출물이 염증 생성에 관련이 있는 NO생성과 COX-2 를 효과적으로 억제시킴으로써 항염증 활성이 우수한 기능성 소재로써의 개발 가능성이 있음이 사료된다.

4. 결 론

본 연구에서는 생태계 교란 식물은 가시박 추출물을 활용하여 생리 활성 효과를 알아보고, 기능성 화장품 소재로써의 활용 가능을 확인해 보고자 하였다. 가시박 추출물의 총 폴리페놀 함량과 총 플라보노이드 함량을 확인하고, DPPH radical 소거 활성을 통하여 항산화 활성 효과를확인 하였다. 가시박 추출물의 총 폴리페놀 함량과 총 플라보노이드 함량은 21 mg/g, 0.72 mg/g으로 확인되었으며, 5 mg/mL농도에서 80.8%의 radical 소거 활성을 확인 하였다. 가시박 추출물은 RAW 264.7 세포와 HDF 세포에서 100 μ g/mL농도까지 유의한 세포 독성이 확인되지 않았으나, 각 세포에서의 세포 생존율이 높았던 RAW 264.7 세포에서는 100 μ g/mL농도에서, HDF 세포에서는 50 μ g/mL 농도에서 다음 실

험을 진행하였다. 세포 내 ROS 생성 억제효과를 측정한 결과 농도 의존적인 ROS 생성 억제 효과를 확인하였으며, 특히 50 μg/mL농도에서 30.63%의 ROS 생성 억제 효과를 확인 하였다. 항염증 효과를 확인하기 위하여 NO와 COX-2 생성 억제 효과를 확인한 결과, 100 μg/mL농도에서 58.27%의 높은 NO 생성 억제 효과와 50 μg/mL농도에서 45%의 높은 COX-2 생성 억제 효과를 확인 하였다. 이와 같은 결과를 종합하여볼 때 항산화 활성을 나타내는 총 폴리페놀의 함량으로 인한 항산화 효과와, 세포 내 ROS 생성억제, 염증 반응 시 생성되는 NO와 COX-2 단백질 발현을 유의하게 억제함으로써 항산화 및항염증의 효과를 가진 기능성 화장품 소재로써의활용 가능성을 확인 하였다.

References

- B. H. Kang, "burcucumber (*Sicyos angulatus*L.) and Ecological Disturbance plant", *Kor. J. Weed Sci*, Vol.29, No.2 pp. 3–10,
 (2009).
- 2. W. R. Esbenshasde, W. S. Curran, G. W. Roth, M. D. Orzolek, "Effect of establishment date and crop competition on burcucumber fecundity", *Weed Sci*, Vol.49, No.4 pp. 524–527, (2001).
- 3. B. C. Moon, T. S. Park, J. R. Cho, S. M. Oh, I. Y. Lee, C. K. Kang, Y. I. Kuk, "Characteristics on Emergence and Early

- Growth of Burcucumber(*Sicyos angulatus*)", *Kor. J. Weed Sci*, Vol.27, No.1 pp. 36–40, (2007).
- J. G. Gang, H. S. Nam, S. B. Lee, B. M. Lee, Y. J. Oh, K. J. Choi, M. K. Hong, J. S. Choi, "Development of Naturally Chrysophanic Acid with Different Concentrations and Application Timing for the Control of Sicyos angulatus L." Kor. J. Weed Sci, Vol.30, No.1 pp. 99–100, (2010).
- 5. J. Y. Gil, K. S. KO, J. M. Kim, J. Y. Lee, H. Y. Kong, "The Effects of Ecosystem Disturbance Wildplants on Ecosystem and Their Management(I)", *National Institute of Environmental*, pp. 1–79, (2005).
- D. A. Andow, "Proc., of international seminar on biological invasions environmental impacts and the development of a database for the Asian-pacific region", *Tsukuba*, Japan. pp. 1–28, (2003).
- B. C. Moon, S. M. Oh, I. Y. LEE, C. S. Kim, J, R. Cho, S. C. Kim, "Change of Weed Species in Burcucumber (Sicyos angulatus L.)Community and Domestic Distribution Aspect", Kor. J. Weed Sci., Vol.28, No.2 pp. 117–125, (2008).
- 8. S. J. Heo, S. B. Kwon, K. H. Kim, S. H. Im, H, J. Choi, H. Y. Kim, S. M. Kim, "Accipitation of burcucumber(*Sicyos ang*)", *The Korean journal of pesticide science*, pp. 77–77, (2006).
- B. C. Moon, T. S. Park, J. R. Cho, S. M. Oh, I. Y. Lee, C. G. Kang, Y. I. Kook, "Characteristics on Emergence and Early Growth of Burcucumber(*Sicyos angulatus*)", *Kor. J. Weed Sci*, Vol.27, No.1 pp. 36–40, (2007).
- I. Y. Lee, S. M. Oh, B. C. Moon, C. S. Kim, J. S. So, J. W. Park, N. I. Park, J. B. Oh, O. S. Kwon, Y. G. Lee, "Weeding Effect of Troublesome Exotic Weeds, Sicyos angulatus and Amaranthus spinousus, by Several Herbicides", Kor. J. Weed Sci., Vol.27, No.3 pp. 195–201,

- (2007).
- B. C. Moon, S. M. Oh., I. Y. Lee, C. S. Kim, J. R. Cho, S. C. Kim, "Change of Weed Species in Burcucumber (Sicyos angulatus L.) Community and Domestic Distribution Aspect", Kor. J. Weed Sci, Vol.28, No.2 pp. 117–125, (2008).
- 12. Y. K. Park, S. M. Kang, A. Y. Kim, C. W. Seo, H, R, Ryu, W. H. Lee, E. J. Jung, I. J. Lee, "Inhibitory Effect of Burcucumber (Sicyos angulatus L.) Extraction on Weed's Seed Germination and Seedling Growth", Kor. J. Weed Sci, Vol.36, No.1 pp. 67–68, (2016).
- 13. K. Y. Yoon, "Studies on ecology and control of *sicyos angulatus*", *Kyungpook National University doctoral thesis*, (2016).
- 14. T. Gutfinger, "Polyphenols in olive oils", *J. Am. Oil Chem. Soc,* Vol,58, No.11, pp.966–968 (1981).
- M. I. Moreno, M. I. Isla, A. R. Sampietro, M. A. Vattuone, "Comparison of the free radical scavenging activity of propolis from several region of argentina", J. Enthrophamacol, Vol,71, No.1–2, pp. 109–114, (2000).
- 16. M. S. Blois, "Antioxidant determination by the use of a stable free radical", *Nature*, Vol, 181, pp. 1199–1200, (1958).
- 17. J. S. Moon, S. H. You, "A Study on Anti-oxidative, Anti-inflammatory, and Melanin Inhibitory Effects of Chrysanthemum Sibiricum Extract", *Journal of the Korean oil chemists' society*, Vol.33, No.4 pp. 762–770, (2016).
- 18. B. R. Yoon, B. J. Cho, H. K. Lee, D. J. Kim, S. K. Rhee, H. D. Hong, K. T. Kim, C.W. Cho, H. S. Choi, B. Y. Lee, O. H. Lee, "Antioxidant and anti-adipogenic effects of ethanolic extracts from Tartary and Common buckwheats", *Korean J Food Preserv*, Vol.19, No1. pp. 123–130, (2012).
- 19. S. S. Kim, S. M. Son, "Oxidative stress and cell dysfunction in diabetes: Role of ROS produced by mitochondria and

- NAD(P)H Oxidase", Korean Diabetes J, Vol.32, No.5. pp. 1976-9180, (2008).
- 20. S. Moncada, R. M. Palmer, E. A. Higgs, "Nitric oxide: Physiology, pathophysiology, and pharmacology", Pharmacol. Vol,43, No.2, pp. 109-151, (1991).
- 21. H. Y. Yun, V. L. Dawson, T. M. Dawson, "Neurobiology of nitric oxide", Crit. Rev. Neurobiol, Vol.10, No.3-4, pp. 291-316, (2008).
- 22. D. J. Stuehr, H. J. Cho, N. S. Kwon, M. F. Weise, C. F. Nathan, "Purification and characterization of the cytokine-induced macrophage nitric oxide synthase: An FAD- and FMN-containing flavoprotein", Proc. Natl. Acad. Sci, Vol.88, No.17, pp. 7773-7777, (1991).
- 23. N. McCartney-Francis, J. B. Allen, D. E. Mizel, J. E. Albina, Q. W. Xie, C. F. Nathan, S. M. Wahl, "Suppression of arthritis by an inhibitor of nitric oxide synthase", J. Exp. Med. Vol.178, No.2, pp. 749, (1993).
- 24. A. Weisz, L. Cicatiello, H. Esumi, "Regulation of the mouse inducible-type nitric oxide synthase gene promoter by interferon γ , bacterial lipopolysaccharide, and NG-monomethyl-L-arginine", Biochem. J, Vol,316, No.1 pp. 209-215, (1996).