

역미셀계를 이용한 지용성 식물체 추출물의 tyrosinase 저해효과 분석

신유정 · 한대석 · 김석중 · 김인호
한국식품개발연구원

Ability of Lipophilic Extract Obtained from Plants to Inhibit Tyrosinase Activity in Reverse Micelles

Yu Jung Shin, Daeseok Han, Seok Joong Kim and In Ho Kim
Korea Food Research Institute

Abstract

The abilities of petroleum ether-extracts prepared from 75 plants to inhibit tyrosinase activity were evaluated in reverse micelles composed of isooctane/AOT(100 mM)/phosphate buffer(20 mM, pH 8.0) containing tyrosinase(105.3 units/mL) and 3,4-dihydroxyphenylalanine(0.18 mM). Compared with control which has no plant extracts, garlic could completely inhibit *in vitro* melanogenesis by tyrosinase, and Chinese quince, sweet potato, onion, radish bud and apple did more than 60%. Lipophilic extracts of medicinal plants and herbs such as rosemary, coriander, cinnamomi ramulus, crataegii fructus, ramulus biotae folium, mume fructus, menthae herba, eucommiae cortex and clove also inhibited tyrosinase activity more than 60%. When the extraction yield of lipophilic materials was considered together with their inhibition effect on tyrosinase, it was possible to select plants of which tyrosinase inhibitors could be produced in high quantity from unit weight. Using reverse micelles, the analysis of the capacity of lipophilic materials to inhibit tyrosinase activity which was difficult up to present could be possible.

Key words : tyrosinase, inhibitor, reverse micelles, plant, lipophilic

서 론

멜라닌은 생물체에 매우 널리 분포되어 있는 색소로 인체에서는 표피층에 있는 melanocyte에서 합성된다. 이는 tyrosine을 시발물질로 하여 3,4-dihydroxyphenylalanine(DOPA), dopaquinone으로 전환된 후 비효소적 반응, 자발적 산화 과정을 거친 후 아미노산 혹은 단백질과의 중합 반응에 의해 합성된다^(1,2). 여기서 특이한 점은 멜라닌 합성의 주요 경로가 모두 tyrosinase (monophenol, dihydroxy-L-phenylalanine : oxygen oxidoreductase, EC 1.14.18.1)에 의해 반응이 촉매된다는 사실이다⁽³⁾. 그런데 melanocyte는 물리적 또는 화학적 손상을 받거나 특정 경로를 거쳐 melanoma로 전환되므로 피부는 비정상적으로 색소 침착이 심해져 기

미, 주근깨, 노인성 검버섯이 형성되며 이는 미용 측면에서 좋지 않은 결과를 초래한다.

과다한 멜라닌을 치유하기 위한 방법으로 약 20-30년 전에는 hydroquinone이나 hydroquinone mono-benzylether가 사용되었고, 최근에는 4-hydroxyanisole을 비롯하여, 4-hexylresorcinol, tropolone, thiourea, cinnamic acid, benzoic acid, kojic acid 등⁽⁴⁾도 알려져 있으며 실제 치료제로서 사용되어 왔는데 이들의 원리는 대개 멜라닌 합성에 관여하는 tyrosinase의 활성을 저해하여 멜라닌생성을 억제하는 것이다. 멜라닌은 화학적·물리적으로 매우 안정한 물질⁽⁵⁾이어서 가장 최근에 개발된 레이저 시술법으로도 피부세포를 손상하지 않고는 일단 생성된 색소를 파괴, 분해하여 제거하기란 거의 불가능하다고 알려져 있다⁽⁶⁾. 그리고 효소 저해제를 이용한 기존 제품은 의약품이든 화장품이든 모두가 피부에 바르는 외용의 제품으로 효능이 일시적이어서 근본적인 대책이 되기가 어려운 측면이 있다. 수많은 질병들이 식생활과 관련되어 있음을 고려해 볼 때 불필요한 과잉의 멜라닌 합성도 적절한 식

Corresponding author : Daeseok Han, Korea Food Research Institute, San 46-1, Baekhyun, Bundang, Songnam, Kyonggi 463-420, Korea
Tel : 82-342-780-9012
Fax : 82-342-780-9234
E-mail : imissu@kfri.re.kr

품이나 그 성분에 의해 예방 또는 치유가 가능하리라 생각된다⁷⁾.

현재 tyrosinase 저해제를 탐색하기 위해서는 주로 효소 반응계⁸⁾를 이용하거나, 멜라닌을 생성하는 *Streptomyces bikiniensis*⁹⁾, 누에¹⁰⁾ 등을 이용하는 방법이 알려져 있으며 식품의 갈변억제나 인체의 멜라닌 생합성 억제 등 tyrosinase 저해제 활용의 최종목적에 부합되는 방법을 선택하여 사용하고 있다. 그런데 이 같은 반응계로는 모두 수용성(水溶性)물질을 조사한 것으로 지용성물질에 대한 연구는 이루어지지 못하고 있는 실정인데 그 이유 중에 하나는 지용성 물질을 적절하게 수용성 반응계에 용해시키는 것이 어렵기 때문이었다. 즉, 지용성 저해제가 수용성인 tyrosinase 활성을 저해하는 효과를 분석하기 위해서 먼저 중요한 것은 지용성 물질과 수용성인 효소를 단일 상(phase)에 용해시키는 것인데, 최근에 한 등¹⁰⁾은 역미셀제를 도입함으로써 유기용매에서 tyrosinase 저해활성을 분석할 수 있는 반응계를 고안하였다. 본 연구는 이 방법에 따라 유기용매/계면활성제/물로 구성된 역미셀제에서의 tyrosinase 반응을 이용하여, 식물체의 지용성 추출물이 동 효소를 저해하는 효과를 조사하여 비교한 결과이다.

재료 및 방법

실험재료

실험에 사용한 채소류, 과일류, 버섯류는 신선한 상태로, 다류, 약용식물, 초본류는 건조물의 상태로 시장에서 구입하여 사용하였다. 신선한 상태의 재료는 구입 후 즉시 사용하였고, 약용식물 및 초본류는 -20°C 냉동저장, 다류는 상온에 저장하면서 필요시 사용하였다.

시약

Mushroom tyrosinase(4,400 units/mg solid) 및 3,4-dihydroxyphenylalanine(DOPA), dioctyl sulfosuccinate(AOT), sodium phosphate, 4-hexylresorcinol, cinnamic acid는 Sigma사, isooctane은 Burdick & Jackson사(HPLC급), petroleum ether는 Showa Chemicals, sodium sulfate anhydrous는 Shinyo Pure Chemicals, absolute alcohol은 Hayman사로부터 구입하여 사용하였고 기타 시약은 analytical 등급을 이용하였다.

지용성 추출물의 조제¹¹⁾

채소, 과일 및 버섯류 등의 생물은 녹즙기(GPT-1201, Kempo, Korea)로 분쇄하여 얻은 즙액에 5배 부피의

petroleum ether를 첨가하고 Ultra Turrax(IKA-Labortechnik, Germany)로 2 분간 세차게 균질화시켰다. 이 균질액을 10,000×g에서 1 시간 동안 원심분리(J2-21M/E, Beckman, U.S.A.)하여 수용액층과 petroleum ether층으로 분리하였고, petroleum ether 층만을 분액 깔때기에 넣어 여분의 수용액층을 제거하였다. 여기서 얻어진 petroleum ether 층에 무수 sodium sulfate를 첨가하여 용매내 수분을 모두 제거하고 여과 후(Whatman No. 2 여과지) 얻어진 여과액을 40°C에서 감압농축(Büchi, Switzerland)시켜 petroleum ether를 제거한 다음, 얻어진 농축물을 지용성 추출물로 사용하였으며 그 수율은 아래의 식에 의해 계산하였다.

$$\text{수율(\%)} = \text{지용성 추출물 양(g)} \times 100 / \text{시료 양(g)}$$

얻어진 지용성 추출물에 isooctane을 가하여 시료의 농도가 2%(w/v)가 되도록 조정하였으며 tyrosinase 저해활성 분석 직전에 0.2 μm pore size의 유기용매용 membrane(Sartorius, Germany)으로 여과한 후 실험에 사용하였다.

약용식물류 등의 건조물은 중량대비 20배 부피의 petroleum ether를 가하여 3시간 동안 교반, 추출한 후 채소, 과일류와 같은 방법으로 원심분리, 여과, 농축을 통해 추출용매를 제거한 다음 isooctane에 용해시켜 분석에 사용하였다.

지용성 추출물의 tyrosinase 저해효과 분석

200 mM의 AOT 함유 isooctane 용액 1.5 mL에 지용성 추출물 2% 함유 isooctane 용액 1.5 mL를 혼합한 후, 인산완충액(20 mM, pH 8.0)에 20 mM 농도로 용해된 DOPA 용액 27 μL와 tyrosinase 용액 27 μL(3,900 units/mL)를 차례로 첨가하여 isooctane/AOT/인산완충액으로 구성된 광학적으로 투명한 역미셀제를 형성하였다. 이때 유기용매를 포함한 전체 반응계에서 AOT 농도는 100 mM, DOPA 농도는 0.18 mM, tyrosinase는 105.3 units, 추출물 농도는 1%였다. 이 반응계에서 지용성 추출물이 tyrosinase 활성을 저해하는 효과를 분석하기 위해 분광광도계(Beckman, DU-7, U.S.A.)를 이용하여 반응시간에 따른 475 nm에서의 흡광도 변화(S_{Abs})를 분석하였다. 그리고 효소액 대신에 증류수 27 μL를 첨가하여 측정한 흡광도 변화값(B_{Abs}) 및 지용성 추출물을 함유하지 않는 isooctane 1.5 mL를 첨가하여 측정한 흡광도 변화값(C_{Abs})을 구하여 아래의 식에 의해 지용성 추출물의 tyrosinase 저해효과를 계산하였으며 모든 반응은 35°C에서 수행하였다. 흡광도변화 조

사시 흡광도가 0.1~0.6 범위에서 정밀도가 높았고, 1 분간의 변화가 0.05~0.5 범위일 때 재현성이 좋았다⁽¹²⁾.

$$\text{Inhibition effect(\%)} = \left\{ 1 - \left(\frac{S_{\text{Abs}} - B_{\text{Abs}}}{C_{\text{Abs}}} \right) \right\} \times 100$$

결과 및 고찰

채소, 과일류, 다류 및 버섯류 지용성 추출물의 tyrosinase 저해효과

기존의 수용액 효소 반응계를 이용하면 지용성 물질은 물에 용해되지 않아 이 물질의 특정효과를 평가하기가 어려운데 한 등⁽¹⁰⁾은 수용성인 효소(tyrosinase)와 기질(DOPA), 그리고 지용성인 저해제를 모두 하나의 상(phase)에 용해시킬 수 있으며 또한 광학적으로도 투명하여 수용액 효소 반응계에서와 마찬가지로 분광학적 측정이 가능한 역미셀계를 도입하였고 여기서 수용성 효소 반응계와 마찬가지로 tyrosinase가 작용하여 DOPA의 갈변화가 일어남을 확인하였다. 본 연구에서는 한 등이 제시한 역미셀계 형성 조건을 활용하여 petroleum ether로 추출한 지용성 물질의 tyrosinase에 대한 저해효과를 분석하였다.

저해효과의 평가기준 물질로서 tyrosinase에 대한 저해효과가 알려진 4-hexylresorcinol과 cinnamic acid⁽⁴⁾를 각각 0.5 mM 농도로 역미셀 반응계에 첨가한 결과 tyrosinase 활성을 각각 46%와 93%까지 억제할 수 있었다(Table 1).

조사대상 채소류를 가식부위에 따라 엽경채류, 근채류, 과채류로 분류하여 효능을 비교한 결과, 엽경채류에서는 무순이 69%로 가장 높은 저해활성을 나타냈으며 양상치 41%, 알팔파 40%, 브로콜리 32% 순이었다(Table 1). 그러나 쪽파, 파슬리, 썬갓, 셀러리, 시금치는 자체의 chlorophyll 색소에 기인한 색이 너무 짙어서, 레드치커리는 반응이 안정적으로 일어나지 않아서 측정이 어려웠으며, 다류에서 녹차와 홍차도 추출물 자체의 색이 너무 짙어 측정이 곤란하였다. 근채류 중에서는 마늘이 tyrosinase 활성을 완전히 저해(100%)하였으며 고구마 70%, 양파 69%, 도라지 56% 순으로 효과가 높았다. 고구마와 도라지의 수용성 추출물은 수용성 분석계에서 추출물자체의 갈변화가 빠르게 진행되어 멜라닌생성 분석 파장인 475 nm의 흡광도 측정을 방해함으로써 효능평가가 어려웠지만⁽¹³⁾, 지용성추출물을 역미셀계에서 분석하는 경우 이 같은 문제가 발생하지 않아 효능평가가 가능하였다. 과채류에서도 청고추가 고구마, 도라지 등과 마찬가지로 수용성 추

출물이 갈변도가 높아 효능분석이 어려웠으나⁽¹³⁾ 지용성 추출물은 역미셀계의 이용으로 효능평가가 가능하였고 45%의 저해효과를 나타냈다. 즉 이 같은 품목들의 경우에 수용성 부분이 tyrosinase 저해효과를 지니는지 기존 방법으로는 알 수가 없었으나 역미셀계를 이용한 분석을 통해 지용성 부분이 높은 tyrosinase 저해효과를 지니고 있음을 확인할 수 있었다. 이는 현재 일반적으로 활용되고 있는 수용성 분석계에 의한 조사에 의해 특정소재의 수용성 성분이 효과가 없는 것으로 분석되거나 또는 분석상의 어려움으로 그 효과를 밝히기 어렵더라도⁽¹³⁾ 지용성 부분에 대해서는 역미셀계를 이용하여 효능평가가 가능함을 의미하는 것이다. 그러나, 수용성 추출물이 100%의 저해활성을 보인 무와 홍고추⁽¹³⁾의 경우에서, 무의 지용성 추출물은 tyrosinase 저해효과가 13% 수준으로 낮은 편이었고, 홍고추의 지용성 추출물은 분석시 흡광도가 안정되지 않아 측정이 불가능한 경우도 있어 기존의 수용성 분석법과 역미셀 분석법은 특정 소재의 tyrosinase 저해효과 분석시 상호 보완적으로 이용하는 것이 필요하다고 판단되었다. 한편, 전통적인 민간요법에서 피부미백효과가 있다고 알려진 오이의 지용성 추출물은 38%의 효과를 나타냈으나 토마토는 자체 색이 진해 측정이 어려웠다. 과일류의 경우 모과와 사과와 지용성 추출물이 각각 77%와 66%의 높은 저해효과를 보였으며 포도, 아보카도, 레몬은 각각 32%, 14%, 7%의 저해능을 나타냈으나 감은 자체의 색으로 인해 효능평가가 어려웠다. 버섯류에서는 양송이 버섯이 44%로 tyrosinase 저해효과가 가장 높았고, 느타리버섯 33%, 표고버섯 21%, 팽이버섯 9% 순으로 나타났다. 팽이버섯, 표고버섯, 느타리버섯의 수용성 추출물이 50% 이상의 높은 저해능을 보인데 비하여⁽¹³⁾ 지용성 추출물은 비교적 낮은 저해활성을 나타내었다.

추출수율면에서는 엽경채 및 다류에서 녹차의 수율이 0.89%로 가장 높았으며 다음으로 무순, 쪽파, 꽃양배추 등의 수율이 높게 나타났고 근채류에서는 생강이 0.61%, 마늘이 0.35%로 비교적 높게 나타났다. 과채류에서는 홍고추가 0.66%, 늙은 호박이 0.52%였으며, 아보카도는 12.97%로 과일류 뿐 아니라 조사대상 전 채소, 과일, 다류 및 버섯류 중에서 가장 높은 추출수율을 보였다. 식물체로부터 tyrosinase 저해효과를 지닌 지용성 추출물의 경제적인 생산을 고려한다면 저해효과와 추출수율이 모두 높은 원료가 최적일 것으로 여겨지는데 엽경채류에서는 무순, 근채류에서는 마늘, 과일류에서는 아보카도가 최적인 것으로 나타났다. 특히 아보카도의 경우 저해효과 자체는 높지 않지

만 추출수율이 월등히 높아 단위 원재료로부터 가장 많은 tyrosinase 저해제를 생산할 수 있는 원료로 평가되었다. 버섯류에서는 느타리버섯이 0.21%의 추출수율로 다소 높게 나타났다.

약용 식물류와 초본류 지용성 추출물의 tyrosinase 저해효과

조사된 약용식물류 중에서는 계피가 84%로 가장 높은 저해능을 보였고 산사자 76%, 측백엽 73%, 오매

71%, 두충 64%, 영지 57%, 산약 51%의 순서로 높은 저해효과를 보였다(Table 2). 특히, 이들 중에서 오매, 계피, 측백엽은 수용성 추출물도 각각 81%, 81%, 63%의 높은 저해효과가 있음이 보고된 바 있어⁽¹³⁾ tyrosinase 저해소재로의 이용측면에서 유리한 것으로 나타났다. 초본류 중에서는 예로부터 자체의 정유성분에서 살균, 소독, 방충작용 및 항산화, 방부효과가 알려진 로즈마리가 96%로 가장 높은 저해능을 보였고, 고수 84%, 박하 64%, 정향 63% 순서로 tyrosinase 저

Table 1. Effect of lipophilic extract obtained from some vegetables, fruits, teas and mushrooms to inhibit tyrosinase activity in reverse micelles

Scientific name ¹⁾	Korean name	English name	Extraction yield(%)	Inhibition effect(%)
<i>Raphanus sativus</i>	무순	Radish bud	0.65	69
<i>Lactuca sativa</i>	양상치	Western lettuce	0.08	41
<i>Medicago sativa</i>	알팔파	Alfalfa	0.18	40
<i>Brassica oleracea var. italica</i>	브로콜리	Broccoli	0.30	32
<i>Brassica oleracea</i>	적채	Cabbage, red	0.07	26
<i>Brassica oleracea var. botrylis</i>	꽃양배추	Cauliflower	0.43	19
<i>Glycine max</i>	콩나물	Soybean sprout	0.14	8
<i>Allium sativum</i>	마늘	Garlic	0.35	100
<i>Ipomoea batatas</i>	고구마	Sweet potato	0.08	70
<i>Allium cepa</i>	양파	Onion	0.28	69
<i>Platycodon grandiflorum</i>	도라지	Broad bellflower	0.06	56
<i>Solanum tuberosum</i>	감자	Potato	0.07	45
<i>Codonopsis lanceolata</i>	더덕	Wild plant	0.17	40
<i>Beta vulgaris</i>	레드비트	Red beet	0.13	36
<i>Arctium lappa</i>	우엉	Burdock	0.06	34
<i>Nelumbo nucifera</i>	연근	Lotus root	0.13	33
<i>Zingiber officinale</i>	생강	Ginger	0.61	14
<i>Raphanus sativus</i>	무	Chinese radish	0.04	13
<i>Capsicum annuum</i>	청고추	Green pepper	0.27	45
<i>Cucumis sativus</i>	오이	Cucumber	0.12	38
<i>Capsicum annuum var.</i>	피망	Green pimento	0.19	30
<i>Solanum melongena</i>	가지	Eggplant	0.23	1
<i>Chaenomeles sinensis</i>	모과	Chinese quince	0.90	77
<i>Malus pumila</i>	사과	Apple	0.04	66
<i>Vitis vinifera</i>	포도	Grape	0.18	32
<i>Persea americana</i>	아보카도	Avocado	12.97	14
<i>Citrus limon</i>	레몬	Lemon	0.29	7
<i>Agaricus campestris</i>	양송이버섯	Champignon	0.12	44
<i>Auricularia polytricha</i>	목이버섯	Black mushroom	0.74	36
<i>Pleurotus ostreatus</i>	느타리버섯	Oyster mushroom	0.21	33
<i>Lentinus edodes</i>	표고버섯	Shiitake	0.18	21
<i>Flamm velutipes</i>	팽이버섯	Nameko	0.13	9
4-Hexylresorcinol(0.5 mM) ²⁾				46
Cinnamic acid(0.5mM) ²⁾				93

¹⁾Spectrophotometrical assay to evaluate the inhibition effect of lipophilic extracts obtained from some plants such as red chicory(*Cichorium intybus*), small green onion(*Allium fistulosum*), parsley(*Petroselinum sativum*), crown daisy(*Chrysanthemum coronarium*), celery(*Apium graveolens*), spinach(*Spinacia oleracea*), green tea(*Camellia sinensis*), black tea(*Camellia sinensis*), carrot(*Daucus carota*), red pepper(*Capsicum annuum*), pumpkin overgrown(*Cucurbita maxima*), squash pumpkin(*Cucurbita mosch*), persimmon(*Diospyros kaki*) and tomato(*Solanum lycopersicum*) was difficult due to dense color of extracts which prevent the accurate measurement of absorbance change at 475nm.

²⁾4-Hexylresorcinol and cinnamic acid were used as standard materials with ability to inhibit tyrosinase activity in reverse micelles composed of isoctane/AOT/phosphate buffer⁽⁴⁾.

Table 2. Effect of lipophilic extract obtained from some medicinal plants and herbs to inhibit tyrosinase activity in reverse micelles

Scientific name ¹⁾	Korean name	English name	Extraction yield(%)	Inhibition effect(%)
<i>Cinnamomum cassia</i> PRESL	계피	Cinnamomi Ramulus	1.74	84
<i>Crataegus pinnatifida</i>	산사자	Crataegi Fructus	0.62	76
<i>Biota orientalis</i>	측백엽	Ramulus Biotae Folium	3.30	73
<i>Prunus mume</i>	오매	Mume Fructus	9.33	71
<i>Eucommia ulmoides</i>	두충	Eucommiae Cortex	2.36	64
<i>Ganoderma lucidum</i> KARST.	영지	Ganoderma	0.91	57
<i>Dioscorea japonica</i> THUNB.	산약	Dioscoreae Rhizoma	0.67	51
<i>Atractylodes japonica</i>	삼주	Atractylodis Rhizoma	4.42	44
<i>Polygala tenuifolia</i> WILLD.	원지	Polygalae Fructus	6.88	44
<i>Cassia tora</i> L.	결명자	Cassiae Semen	2.64	44
<i>Commelina communis</i>	달개비	Commelinae Herba	1.16	43
<i>Schizandra chinensis</i>	오미자	Schizandrae Fructus	12.01	42
<i>Pueraria thunbergiana</i>	갈근	Puerariae Radix	0.39	39
<i>Rubus coreanus</i> MIQ.	복분자	Rubi Fructus	2.75	35
<i>Cuscuta japonica</i>	토사자	Cuscutae Semen	2.05	28
<i>Ligusticum officinale</i>	천궁	Ligustici Rhizoma	2.64	28
<i>Amomum xanthioides</i>	사인	Amomi xanthioidis Fructus	1.03	28
<i>Cynanchum wilfordii</i>	하수오	Cynanchi Wilfordii Radix	0.89	28
<i>Cnidium monnieri</i>	사상자	Cnidii Fructus	2.80	24
<i>Acorus gramineus</i> SOLAND.	석창포	Acori graminei Rhizoma	1.77	23
<i>Morus alba</i>	상백피	Mori daricis Cortex	2.24	19
<i>Saururus chinensis</i>	삼백초	Saururi herba seu Rhizoma	1.78	18
<i>Glycyrrhiza uralensis</i>	감초	Glycyrrhizae Radix(Licorice)	1.59	18
<i>Acanthopanax sessiliflorum</i>	오가피	Acanthopanax Cortex	1.57	18
<i>Rosemarinus officinalis</i>	로즈마리	Rosemary	6.87	96
<i>Coriandrum sativum</i>	고수	Coriandri Herba	9.83	84
<i>Mentha arvensis</i> L. var. <i>piperascens</i> MALINV.	박하	Menthae Herba	2.78	64
<i>Eugenia caryophyllate</i> THUNB.	정향	Flos caryophylli(Clove)	12.48	63

¹⁾Laurel(*Cinnamomum camphora*) and sage(*Salvia officinalis*) showed negative value in inhibition effect(%).

해효과가 있었으며(Table 2), 정향은 수용성 추출물도 83%의 높은 저해효능이 알려져 있다⁽¹³⁾.

각 식물체들의 추출수율을 비교하여 보았을 때 약용식물에서는 오미자 12.01%, 오매 9.33%, 원지 6.88%가 높은 추출수율을 보였고, 초본류에서는 정향 12.48%, 고수 9.83% 등이 수율이 높았다. 약용식물 및 초본류에서 추출수율과 tyrosinase 저해효과를 함께 고려했을 때 고수, 정향, 로즈마리, 오매, 오미자 등이 단위 원재료당 tyrosinase 저해제 생산량이 높은 것으로 판단되었다. 한편, 조사된 식물체중에서 약용식물 및 초본류 등 건조된 상태의 식물체가 채소, 과일류 등의 생물에 비해 전반적으로 추출수율이 높게 나타났는데, 이는 생물에 존재하는 수분이 petroleum ether로 추출 중에 추출용매제의 극성에 영향을 주어 지용성 물질의 추출에 영향을 주기 때문으로 여겨졌다.

요 약

체내에서 멜라닌 생합성을 촉매하는 tyrosinase에 대한 천연의 지용성 저해제 발굴을 위하여, isoctane/AOT(100 mM)/인산완충용액(20 mM, pH 8.0)으로 구성되고 tyrosinase(105.3 units/mL)와 3,4-dihydroxyphenylalanine(0.18 mM)을 함유한 역미셀계에서 식물체 75종의 petroleum ether 추출물이 tyrosinase 반응을 억제하는 효과를 분석하였다. 조사대상 식물체중에서 마늘이 *in vitro* 멜라닌 합성 반응을 완전히 저해하였고(100%), 모과, 고구마, 양파, 무순, 사과,의 저해활성이 60% 이상이었다. 한약재와 향신료 중에서는 로즈마리, 고수, 계피, 산사자, 측백엽, 오매, 두충, 박하, 정향이 60% 이상의 저해능을 보였다. 그리고 각 식물체의 tyrosinase 저해효과와 더불어 추출수율을 함께 고려했을 때, 단위 원재료로부터 tyrosinase 저해제 생산을 많이 할 수 있는 소재를 선정할 수 있었다. 본 연구에서는 역미셀계를 이용함으로써 기존에는 분석이 어려웠던 지용성 물질의 tyrosinase 저해효과를 측정할 수 있었다.

문 헌

1. Pawelek, J.M. and Körner, A.M. The biosynthesis of mammalian melanin. *Am. Sci.* 70: 136-145 (1982)
2. Lerner, A.B. and Fitzpatrick, T.B. Biochemistry of melanin formation. *Physiol. Rev.* 30: 91-126 (1950)
3. Prota, G. and Thompson, R.H. Melanin pigmentation in mammals. *Endeavor.* 35: 32-38 (1976)
4. Vámos-Vigyázó, L. Polyphenol oxidase and peroxidase in fruits and vegetables. *CRC Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 15: 49-127 (1981)
5. Blois, M.S. The melanins: Their synthesis and structure, Vol. 3, In: *Photochemical and Photobiological Reviews.* Smith, K.C. (Ed.), Plenum Press, New York/London, p. 115-134 (1979)
6. Lim, J.T. and Goh, C.L. Lasers used in dermatology. *Ann. Acad. Med. Singapore.* 23: 52-59 (1994)
7. Han, D., Jung, S.-W., Kim, S.J., Kim, S.H. and Ahn, B.-H. Effect of tyrosinase inhibitors on the melanogenesis of Gold Fish(Jet Black Color)(in Korean). *Korean J. Food Sci. Technol.* 28: 1089-1094 (1996)
8. Tomita, K., Oda, N., Ohbayashi, M. and Kamei, H. A new screening method for melanin biosynthesis inhibitors using *Streptomyces bikiniensis*. *J. Antibiotics.* 43: 1601-1605 (1990)
9. Hashimoto, R., Takahashi, S., Hamano, K., Mori, T. and Nakagawa, A. New method for screening the melanin biosynthesis by using the larval haemolymph of the silkworm, *Bombyx mori*, and the inhibitory activity of Trichoviridin. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 58: 1725-1726 (1994)
10. Han, D, Shin, Y.J., Jung S.-W. and Song, H.N. Tyrosinase reaction in organic solvent/surfactant/water reverse micelles. *Korean J. Food Sci. Technol.* In press(2000)
11. Shin, Y.J. Tyrosinase reaction in reverse micelles and its use to screen for water-insoluble tyrosinase inhibitor. M.S. thesis, Korea Univ., Seoul, Korea (1996)
12. 香月裕産, 泉井桂, 吉永侃夫: 酵素研究法 - 上 (生化学実験講座 5) (in Japanese), 日本生化学會編, 東京化学同人, p. 52 (1975)
13. Jung, S.-W., Lee, N.-K., Kim, S.J. and Han, D. Screening of tyrosinase inhibitor from plants. *Korean J. Food. Sci. Technol.* 27: 891-896 (1995)

(2000년 2월 21일 접수)