

추출용매에 따른 천궁(*Cnidium officinale* Makino) 추출물의 생리활성 평가

허상선[†]

중부대학교 식품생명과학과

(2015년 2월 10일 접수; 2015년 2월 23일 수정; 2015년 3월 25일 채택)

Evaluation of Physiological Activities of *Cnidium officinale* Makino Extracts with Different Solvents

Sang-Sun Hur[†]

[†]Department of Food Science and Biotechnology, Joongbu University,
Geumsan, Chungnam 312-702, Korea

(Received February 10, 2015; Revised February 23, 2015; Accepted March 25, 2015)

요약 : 본 연구는 추출용매에 따른 천궁(*Cnidium officinale* Makino) 추출물의 생리활성 평가를 통해 기능성 화장품으로써의 활용 가능 여부를 확인하였다. 추출수율은 에탄올, 열수, 메탄올 추출물 순으로 나타났다. Xanthine oxidase 저해활성 실험에서는 1,000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 이상의 농도에서 추출용매간의 유의적 차이가 나타났으며 에탄올 및 메탄올 추출물이 XO 저해활성능이 열수추출물에 비해 상대적으로 높았다. DPPH radical 소거활성을 분석한 결과 50 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 에서 2,000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 으로 농도가 증가함에 따라 에탄올 및 메탄올 추출물은 각각 19.96~89.01% 및 19.41~88.21%로 높은 활성을 나타내었다. 추출용매에 따른 SOD 유사활성능은 모든 시료에서 농도 의존적으로 증가함을 알 수 있었다. Elastase 및 collagenase 저해 활성능은 추출물 농도가 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 이상일 때 에탄올 및 메탄올 추출물의 활성이 유의적으로 증가함을 알 수 있었다. Tyrosinase 저해활성의 경우 추출농도가 500 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 이상의 경우 에탄올 및 메탄올 추출물의 경우 유의적으로 tyrosinase 저해활성이 급격하게 증가하였다. 되었다. 이상의 결과로부터 천궁추출물이 미백 및 주름개선의 효과가 있는 것으로 생각되며 향후 기능성 화장품 소재로서의 이용 가능성을 확인할 수 있었다.

주제어 : 천궁, 생리활성, 추출 용매, 주름 개선, 화장품 소재

Abstract : The objective of this study was to investigate the physiological activities of *Cnidium officinale* Makino extracts on extraction solvents. The yield of ethanol extract, 87.54%, was higher than that of the hot water extract(83.06%) and of the methanol extract(78.32%). In the inhibitory activity of xanthine oxidase, the ethanol extracts and methanol from *Cnidium officinale* Makino appeared to show significantly higher activity than hot water extract at 1,000 $\mu\text{g}/\text{mL}$. The DPPH

[†]Corresponding author
(E-mail: sshur@joongbu.ac.kr)

radical scavenging activities of the ethanol and the methanol extracts at 50–2,000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ were 19.96–89.01% and 19.41–88.21%, respectively. The SOD-like activities of all the extracts improved with an increase in the treatment concentration. Both collagenase and elastase inhibitory activities were shown higher from the ethanol and methanol extract compared to that of hot water extract. The tyrosinase inhibitory activity of ethanol extract, 12.04–73.85%(50–2,000 $\mu\text{g}/\text{mL}$), was higher than that of the other extracts. Taken together, these data suggest that *Cnidium officinale* Makino extract is effective in whitening and anti-wrinkle effect, thus it might strongly be considered as potential functional cosmetic components.

Keywords : *Cnidium officinale* Makino, physiological activities, extraction solvents, anti-wrinkle, cosmetic components

1. 서론

현대인들의 생활수준 향상은 아름다움에 대한 인간의 욕망을 바탕으로 건강과 삶의 행복을 추구하는 웰빙(Wellbeing) 생활방식으로 자리를 잡게 되었다. 이러한 트렌트 변화는 소비 형태를 자연스럽게 건강 그리고 아름다움을 가꿔주는 분야로 관심을 가지게 되었고 더욱 더 고급화, 다양화되어 단순한 아름다움이 아닌 효능과 효과를 중요시하는 기능성 화장품 수요가 크게 증가하고 있는 경향을 보이고 있다[1-2]. 특히 천연물에 함유된 유용성분의 질병예방 및 치료제로서의 효능이 알려지게 되면서, 고부가가치의 기능성 천연신소재로서 가능성에 대해 주목을 받고 있다. 이러한 식물자원들은 단순히 인간의 수명연장을 넘어 건강한 삶과 활동을 유지하려는 현대인에게 질병을 예방하고 노화 예방과 건강유지에 도움을 줄 수 있는 유용 천연자원으로 인식되고 있다[3]. 노화와 질병을 유발시키는 원인은 매우 다양하나, 이중 생체내 생성되는 활성산소종(reactive oxygen species, ROS)의 축적으로 피부의 항산화 방어계를 붕괴시키고 아울러 동반되어지는 산화적 스트레스는 세포손상을 야기 시킴으로써 결국 피부의 주름생성, 탄력저하, 색소침착과 더불어 피부노화를 가속화시키는 것으로 받아들여지고 있다[4]. 특히 피부노화에 있어 활성산소는 세포막을 공격하여 이를 산화시키고 산화된 지질에 의해 세포막이 손상되면서 정상적인 피부세포의 기능까지 마저 잃게 한다. 또한 피부의 효소적·비효소적 항산화 방어체계의 균형을 파괴하여 피부가 지속적인 산화상태에서 회복 불가능의 상태로 변화시켜 피부는 거칠고 윤기가 없어지게 되며

이러한 과정의 계속적인 반복은 주름유발을 초래한다[5]. 따라서 노화와 질병 예방을 위해 생체내 항산화 시스템을 정상적으로 유지하고 과다 생성된 ROS를 제거하는 것이 매우 중요하다. 일반적으로 생체내에서는 catalase, superoxide dismutase(SOD), glutathione peroxidase 등의 효소적 방어시스템[6-7], 혹은 비타민 E, 비타민 C 등의 비타민류와 Se, Cu, Mn 등의 무기질 및 타우린 등 섭취 가능한 식품을 통해 항산화 영양물질 등을 활용한 비효소적 방어체계를 통하여 효과적으로 ROS를 제거할 수 있다. 최근에는 탁월한 항산화 효과와 상업적인 경제성으로 butylated hydroxytoluene(BHT)와 propyl gallate(PG), butylated hydroxyanisole(BHA) 등의 합성 항산화제가 개발·사용되고 있으나 인체에 독성을 나타내거나[8-9], 흡수도가 낮다는 문제점으로 인해서 실제로 화장품에 적용하기가 어려워 매우 제한적으로 사용되고 있는 단점 때문이다[10]. 따라서 이러한 문제점들을 해결하기 위하여 최근 친환경적인 소비추세에 따라 다양한 천연소재를 이용한 자외선 차단제 등과 항산화·항균·항염·항멜라닌·항노화 기능 등 치유개념이 도입된 기능성 화장품의 개발이 활발히 이루어지고 있다.

우리나라와 중국에서 재배되는 천궁은 미나리과(Umbeliferae)에 속하는 다년생 초본으로 약용식물자원으로서 진경작용, 혈압강하작용, 혈관확장작용, 항균작용, 항진균 작용 및 비타민 E 결핍증 치료 등의 약리작용이 뛰어난 것으로 전해지고 있다[11]. 지금까지 천궁에 관한 연구로는 향기성분[12] 및 생리 활성 성분[13-14]과 세포 배양에 의한 정유 생산[15] 및 각종 생리활성에 대한 연구가 활발하게 이루어져 다양한 생리활성을

지니고 있는 것으로 보고되고 있다. 이외에도 소염 진통 진통작용[16], 피부노화 개선효과[17] 및 멜라닌 생성 억제 효과[18] 등이 보고되었다.

따라서 본 연구에서 국내에서 많이 재배되고, 중유가 풍부하며 부인과 질환에 상용되어지고 있는 천궁의 피부 기능성 화장품 소재로서의 잠재적 가능성을 확인하고자 하였다. 이에 천궁의 추출용매에 따른 항산화효과, 피부노화 방지 효과 및 주름방지 효과 등 다양한 생리활성을 분석하였다. 이를 통해 천궁 추출물의 화장품약리활성을 검증하는데 그 목적이 있다.

2. 실험

2.1. 재료 및 추출

본 연구에 사용된 천궁은 2014년 5월에 금산 인삼약령시장에서 구입하여 이물질을 제거하고 세척한 후 건조하여 실험재료로 사용하였다. 시료의 추출은 열수추출물의 경우 시료 100g에 증류수 10배 양을 가하여 80°C에서 4시간 환류냉각 추출하여 상등액과 침전물을 분리하여 3회 반복 추출하였다. 한편, 에탄올 및 메탄올 추출물의 경우 99% 에탄올과 메탄올을 시료 중량의 10배 양을 가하여 실온에서 48시간 방치한 후 상등액과 침전물을 분리하여 동일한 방법으로 3회 반복 추출하였다. 각 추출물은 원심분리, 여과 및 농축 후 동결 건조하여 냉동실에 보관한 후 실험에 사용하였다. 각 추출용매에 따른 추출수율은 건물중량을 구한 다음 추출물 제조에 사용한 원료 건물량에 대한 백분율로 나타내었다. 그 결과 에탄올 추출물에서 87.54%로 가장 높은 수율을 나타내었으며, 열수추출물 및 메탄올 추출물에서 각각 83.06%와 78.32%순으로 나타났다.

2.2. Xanthin oxidase 저해활성 측정

Xanthine oxidase 저해활성은 측정은 Stripe & Corte[19]의 방법에 따라 측정하였다. 각 시료용액 0.1mL와 0.1M potassium phosphate buffer(pH7.5) 0.6mL에 xanthine을 가하여 37°C에서 5분간 반응시킨 후 1N HCl 1.0mL를 가하여 반응을 종료시킨 다음, 반응액 중에 생성된 uric acid의 양을 292nm에서 흡광도를 측정하였다. xanthin oxidase 저해활동은 시료용액의 첨가군과 무첨가군의 흡광도 감소율로 나타내었다.

$$\text{저해율(\%)} = (1 - \text{시료첨가군의 uric acid 생성량} / \text{무 첨가군의 uric acid 생성량}) \times 100$$

2.3. DPPH 전자공여능 측정

천궁의 물, 에탄올 및 메탄올 추출물에 대한 전자공여능(EDA: electron donating ability)은 Blois[20]의 방법을 변형하여 측정하였다. 즉, 시료 용액 120 μ L에 0.2mM의 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl(DPPH) 60 μ L을 넣고 교반한 후 15분간 실온에 방치한 다음 517nm에서 흡광도를 측정한다. 다음 시료 첨가군과 무첨가군 사이의 흡광도의 차이를 백분율(%)로 나타내었다.

$$\text{전자공여능(\%)} = (1 - \text{시료첨가군의 흡광도} / \text{무첨가군의 흡광도}) \times 100$$

2.4 Superoxide dismutase(SOD) 유사활성 측정

SOD 유사활성은 Marklund & Marklund[21]의 방법에 따라 측정하였다. 즉 각 시료 용액 20 μ L에 Tris-HCl 완충용액(50mM tri + 10mM EDTA, pH8.5) 2.6mL와 7.2mM pyrogallol 20 μ L를 가하여 25°C에서 10분간 반응시킨 후 반응액 중 산화된 pyrogallol의 양을 420nm에서 흡광도를 측정하였다. SOD 유사활성은 시료용액의 첨가군과 무첨가군의 흡광도 감소율로 나타내었다.

$$\text{SOD 유사활성능(\%)} = (1 - \text{시료첨가군의 흡광도} / \text{무첨가군의 흡광도}) \times 100$$

2.5 Elastase 저해활성 측정

Elastase 저해활성측정은 Cannell et al.[22]의 방법에 따라 측정하였다. 즉 각 시험용액에 일정 농도가 되도록 조제하여 40 μ L씩 취하고 50mM Tris-HCl buffer(pH8.6)에 녹인 porcine pancreas elastase(2.5 U/mL)용액 40 μ L를 가한 후 기질로 50mM Tris-HCl buffer(pH8.6)에 녹인 N-succinyl-(L-Ala)3-p-nitroanilide(0.5 mg/mL)을 80 μ L첨가하여 25°C에서 20분간 반응시켜 기질로부터 생성되는 p-nitroanilide의 생성량을 410nm에서 측정하였다. Elastase 저해활성은 시료용액의 첨가군과 무첨가군의 흡광도 감소율로 나타내었다.

$$\text{저해율(\%)} = (1 - \text{시료첨가군의 흡광도} / \text{무첨가군의 흡광도}) \times 100$$

2.6. Collagenase 저해활성 측정

Collagenase 저해활성 측정은 Jones & Grainge[23]의 방법에 준하여 측정하였다. 즉 반응구는 0.05M tricine buffer(pH7.5) 0.8ml에 FALGPA(0.2mM)을 녹인 기질 0.05ml 및 시료용액 0.05ml의 혼합액에 collagenase(3mg/ml) 0.05ml 첨가하여 20°C에서 18시간 방치한 후 1N acetic acid 10 μ l를 넣어 반응 정지 시킨 후 324nm에서 흡광도를 측정하여 저해율을 측정하였다. Collagenase 저해활성은 시료용액의 첨가군과 무첨가군의 흡광도 감소율로 나타내었다.

$$\text{저해율(\%)} = (1 - \text{시료첨가군의 흡광도} / \text{무첨가군의 흡광도}) \times 100$$

2.7. Tyrosinase 저해활성 측정

Tyrosinase 저해활성 측정은 tyrosinase의 작용결과 생성되는 DOPA chrome을 비색법에 의해 측정하는 Yagi et al.[24]의 방법에 따라 측정하였다. 즉, 반응구는 0.175M sodium phosphate buffer(pH6.8) 0.5ml에 L-DOPA(10mM)를 녹인 기질액 0.2ml 및 시료용액 0.1ml의 혼합액에 mushroom tyrosinase(110 U/ml) 0.2ml를 첨가하여 35°C에서 2분간 반응시켜 반응액 중에 생성된 DOPA chrome을 475nm에서 측정하였다. Tyrosinase 저해활성은 시료용액의 첨가군과 무첨가군의 흡광도 감소율로 나타내었다.

$$\text{저해율(\%)} = (1 - \text{시료첨가군의 흡광도} / \text{무첨가군의 흡광도}) \times 100$$

2.8. 통계처리

모든 실험 결과는 3회 반복 측정하였으며 평균 \pm 표준편차로 표시하였다. 각 실험결과에 통계처리는 SAS for windows program 7.2를 이용하여 ANOVA분산분석을 실시하였고, 시료간의 유의적 차이를 검증하기 위해 Duncan's multiple range test를 실시하였다($p < 0.05$).

3. 결과 및 고찰

3.1. Xanthine oxidase 저해활성

생명체 내의 유리기 생성계의 하나인 xanthine oxidase(XO)는 purine 대사에 관여하는 효소로서 xanthine 또는 hypoxanthine으로부터 uric acid

를 형성하며 요소가 혈장 내에 증가되면 골절에 축적되어 통증을 동반하여 통풍을 일으키는 효소로 알려져 왔다[25]. XO는 분자상의 산소를 전자수용체로 이용하여 이를 저해하면 활성산소의 생성이 억제되어 항산화, 노화 및 항암 등의 생리활성을 기대할 수 있다[26]. 천궁 추출물의 XO 저해활성을 측정하여 그 결과를 Fig 1에 나타내었다. Fig 1에서 보는 바와 같이 XO 저해활성능은 농도 500 μ g/mL 범위까지는 추출용매에 큰 영향을 받지 않는 것으로 나타났다. 하지만 1,000 μ g/mL 농도 이상부터 XO 저해활성능은 열수 추출물 보다 에탄올 및 메탄올 추출물이 약 30% 이상 높게 나타남을 알 수 있었다. 추출농도에 따른 XO 저해활성능은 추출농도 500ppm까지는 유의적인 차이는 나타나지 않았으나 추출농도 1,000ppm이상의 경우 추출방법간의 유의적 차이는 뚜렷하게 나타났다($p < 0.05$).

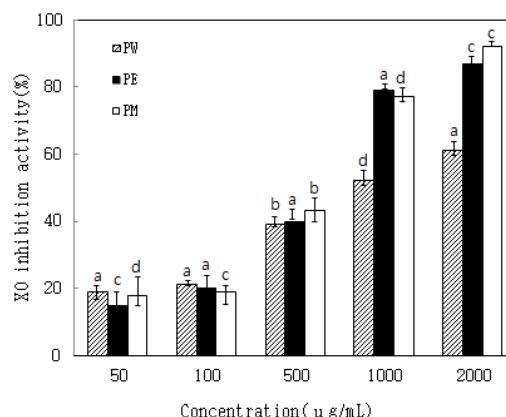


Fig. 1. XO inhibition activity of *cnidium officinale* Makino extracts with different solvents. PW: water extract from *cnidium officinale* Makino, PE: ethanol extract from *cnidium officinale* Makino. PM: methanol extract from *cnidium officinale* Makino. Values represent mean \pm SD of three measurements. Different superscripts indicate significant differences at $p < 0.05$ by Duncan's multiple range test.

3.2. DPPH radical 소거 활성

추출용매에 따른 천궁 추출물의 DPPH 소거활성은 Fig. 2와 같다. 일반적으로 전자공여능 측정

에 사용된 환원성 물질의 분석시약인 DPPH (1,1-diphenyl-2-picryl-hydrazyl)를 이용한 전자공여 측정은 항산화 활성을 갖는 물질이 DPPH의 radical을 소거시켜 보라색이 탈색되는 특성을 이용하여 쉽게 항산화 활성을 측정할 수 있으며 이는 인체 내에서 활성 라디칼에 의한 노화를 억제하는 척도로 이용할 수 있다[27-28]. DPPH radical 소거활성을 분석한 결과 50 $\mu\text{g/mL}$ 에서 2,000 $\mu\text{g/mL}$ 으로 농도가 증가함에 따라 열수추출물의 경우 10.17 ~62.78%로 다소 낮은 활성을 나타내었으며, 에탄올 및 메탄올 추출물은 각각 19.96~89.01% 및 19.41~88.21%로 유의적으로 높은 활성을 나타내었다. 모든 구산에서 시료처리 농도가 증가함에 따라 DHHP 소거활성이 증가하였으며 열수 추출물보다 에탄올 및 메탄올 추출물의 활성이 우수함을 확인하였다($p < 0.05$).

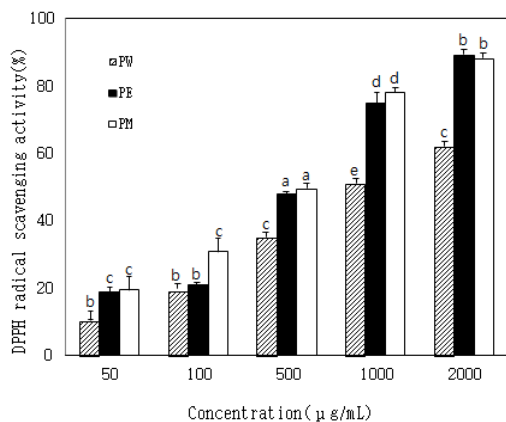


Fig. 2. DPPH radical scavenging activities (%) of *Cnidium officinale* Makino extracts with different solvents. PW: water extract from *Cnidium officinale* Makino, PE: ethanol extract from *Cnidium officinale* Makino, PM: methanol extract from *Cnidium officinale* Makino. Values represent mean \pm SD of three measurements. Different superscripts indicate significant differences at $p < 0.05$ by Duncan's multiple range test.

이는 국내산 생약추출물의 전자공여능의 분석에서 자색고구마 추출물이 5,000ppm일 때 46,85%의 효과를 나타낸 것[29]과 제비꽃의 열수 추출물과 에탄올 추출물이 1,000ppm에서 각

각 14.43%와 12.74%의 효과를 나타낸다는 결과 [30]와 비교해 볼 때 천궁의 산화 억제력은 매우 탁월하여 천연 항산화제로서의 이용 가능성을 확인할 수 있었다.

3.3. SOD 유사활성능

Superoxide dismutase(SOD)는 호기성 생물체에 존재하는 효소로서 peroxidase나 catalase에 의하여 무해한 물분자와 산소분자로 전환시켜 외부에서 침입하는 세균 등에 대한 방어와 신호전달효과로 생체를 보호하는 역할[31]을 통해 다른 종류의 항산화제보다 우수한 효과를 나타냈다. 이로 인해 관절염이나 류머티즘 등과 같은 각종 퇴행성 질병 치료를 위한 항염증 혹은 피부 노화방지를 위한 제재로 이용된다[32]. 이러한 피부 노화방지와 밀접한 관련이 있는 SOD 유사활성능을 천궁 추출물을 이용하여 측정한 결과는 Fig 3에서 보는 바와 같다. 천궁 추출물의 SOD 유사활성능은 에탄올 및 메탄올 추출물보다 열수추출이 더 높은 유사활성능을 나타내고 있었다. 한편, 추출용매에 따른 SOD 유사활성능의 차이는 유의적으로 나타나지 않았으나($p < 0.05$), 모든 시료에서 농도 의존적으로 증가함을 알 수 있었다. 50 $\mu\text{g/mL}$ 에서 2,000 $\mu\text{g/mL}$ 의 농도에서 열수 추출물이 22.14~94.13%, 에탄올 추출물에서 19.38~90.71% 및 메탄올 추출물이 18.13~88.72%의 높은 활성을 나타내었다. 지금까지 보고된 약용식물의 SOD 유사활성능의 경우 백편두, 결명자, 의인에서 각각 47.87%, 17.73%, 5.53%의 유사활성능을 나타낸 결과[33]와 산사자의 물과 에탄올 추출물에서 12% 미만의 유사활성능을 나타낸 결과[34]와 비교해 볼 때, 천궁 추출물의 SOD 유사활성이 우수한 것으로 나타났다. 일반적으로 SOD 정제시 열 안정성이 뛰어나고 SOD와 유사한 활성을 나타내는 물질을 함께 정제되는데, 이는 SOD와 결합된 phenol류 물질인 것으로 보고한 바 본 실험에서의 천궁 경우 polyphenol성분의 함량에 따라 SOD 유사활성에 효과가 있는 것으로 사료된다[35].

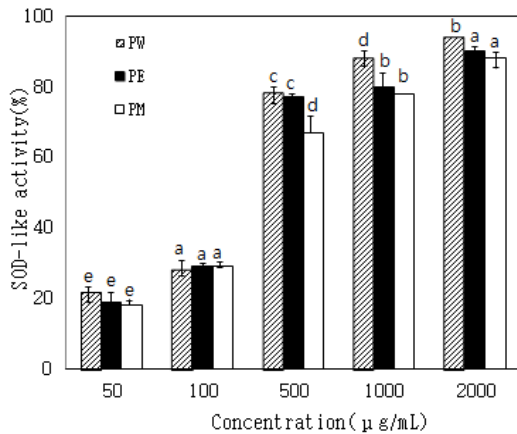


Fig. 3. Superoxide dismutase(SOD) like activities(%) of *cnidium officinale* Makino extracts with different solvents. PW: water extract from *cnidium officinale* Makino, PE: ethanol extract from *cnidium officinale* Makino. PM: methanol extract from *cnidium officinale* Makino. Values represent mean \pm SD of three measurements. Different superscripts indicate significant differences at $p < 0.05$ by Duncan's multiple range test.

3.4. Elastase 저해 활성

체내 중성백혈구의 과립구내에 존재하는 elastase는 동물결합 조직의 불용성 탄성 섬유로서 피부 탄력섬유의 3차원적 뒤틀림에 중요한 역할을 하고 있는 것으로 보고되고 있다. 즉 과다 생성된 elastase는 피부 진피 elastase의 그물망 구조를 절단하여[36], 피부의 탄력섬유를 감소시킴으로써 피부 주름 형성에 기여한다고 알려져 있다[37] 따라서 elastase 저해제는 피부의 주름을 개선하여 피부의 노화를 지연할 수 있다. 피부의 주름개선에 효과가 있는 elastase 저해능은 부주름 개선과 관련된 elastase 저해활성을 측정 한 결과 Fig. 4와 같이 나타내었다. Fig. 4에서 보는 바와 같이 농도 500 $\mu\text{g/mL}$ 이상에서부터 열수 추출물에 비해 에탄올 및 메탄올 추출물의 elastase 저해 활성이 높게 나타남을 알 수 있었다. Fig 4에서 보는 바와 같이 농도가 증가할수록 elastase 저해활성은 증가하는 경향을 보이고

있었으며, 에탄올 추출물이 열수 추출물보다 elastase 저해활성이 우수한 것으로 나타났다. 추출방법에 따른 elastase 저해활성은 추출농도 50 $\mu\text{g/mL}$, 100 $\mu\text{g/mL}$ 첨가군은 유의적 차이가 나타나지 않았지만 500 $\mu\text{g/mL}$ 이상 첨가했을 때는 유의적으로 에탄올 및 메탄올 추출물의 elastase 저해활성이 증가되었다($p < 0.05$). 천궁 에탄올 및 메탄올 추출물의 경우 500 $\mu\text{g/mL}$ 에서부터 elastase 저해활성이 평균 50%이상으로 이는 사과 과피의 elastase 저해활성이 500ppm에서 46.40%임을 감안할 때 [38] 천궁 에탄올 및 메탄올 추출물의 경우 주름개선효과가 매우 뛰어나 것으로 기대된다.

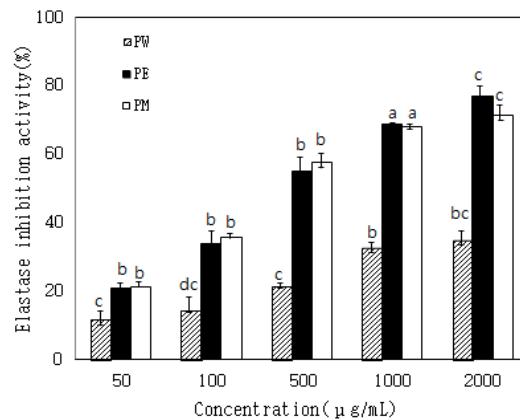


Fig. 4. Elastase inhibition activities(%) of *cnidium officinale* Makino extracts with different solvents. PW: water extract from *cnidium officinale* Makino, PE: ethanol extract from *cnidium officinale* Makino. PM: methanol extract from *cnidium officinale* Makino. Values represent mean \pm SD of three measurements. Different superscripts indicate significant differences at $p < 0.05$ by Duncan's multiple range test.

3.5. Collagenase 저해활성

Collagen은 자연노화에 따른 세포 활성 감소와 같은 내적요인과, 여러 유해환경에 의한 스트레스 증가, 자외선 조사에 의한 광노화와 같은 외적요인에 의해 collagen이 분해된다. 따라서 피부 진피의 노화가 진행됨에 따라 collagenase의 발현이 증가하고 이로 인해 collagen이 감소됨으로

써 피부의 탄력 저하 및 주름과 처짐이 발생한다 [39]. 천궁 추출물의 collagenase 저해활성을 측정한 결과 농도 50 $\mu\text{g/mL}$ 의 경우 10% 미만의 매우 낮은 활성을 나타냈으나, 500 $\mu\text{g/mL}$ 농도에서부터는 약 30%이상의 높은 저해활성을 나타내었다(Fig 5). 추출농도 100 $\mu\text{g/mL}$, 500 $\mu\text{g/mL}$, 1,000 $\mu\text{g/mL}$ 및 2,000 $\mu\text{g/mL}$ 구간에서 추출방법에 따른 collagenase 저해활성이 유의적으로 증가함을 알 수 있었다($p < 0.05$).

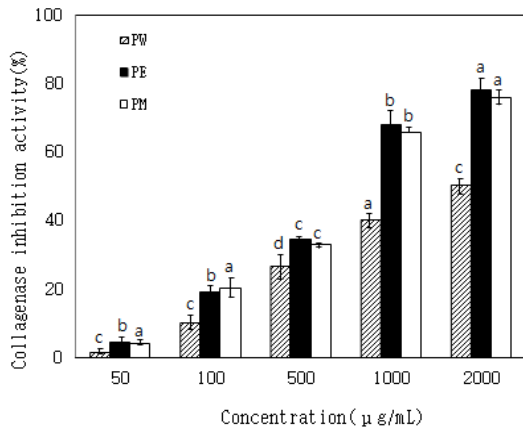


Fig. 5. Collagenase inhibition activities(%) of *cnidium officinale* Makino extracts with different solvents. PW: water extract from *cnidium officinale* Makino, PE: ethanol extract from *cnidium officinale* Makino. PM: methanol extract from *cnidium officinale* Makino. Values represent mean \pm SD of three measurements. Different superscripts indicate significant differences at $p < 0.05$ by Duncan's multiple range test.

3.6. Tyrosinase 저해활성

피부 멜라닌 생성에 있어 중요한 역할을 하고 있는 tyrosinase는 생체 내에서 tyrosine을 기질로 하여 L-3-4-dihydroxy phenylalanine을 생성시키고 이를 다시 L-dopaquinone으로 전이시키는 연속된 효소적 산화가 진행된 후 각 생성물의 중합반응 등에 의해 melanin을 합성시킨다[40]. 따라서 tyrosinase 저해활성에 대한 기작은 화장품 산업에 있어서 미백효과에 있어 가장 중요한 부분으로 인식되고 있다. 이는 피부의 멜라닌 색소를 생성하는 효소인 tyrosinase의 저해활성을 측

정함으로써 추출물의 미백효과를 알아볼 수 있기 때문이다. 천궁 추출물을 이용한 멜라닌 합성을 저해하는 tyrosinase 저해활성을 분석하여 그 결과를 Fig 6에 나타내었다. 각 추출방법에 따른 추출물의 농도가 100 $\mu\text{g/mL}$ 까지는 tyrosinase 저해활성은 매우 낮게 나타나 추출방법에 따라 유의적인 차이는 보이지 않았다. 하지만 추출농도가 500 $\mu\text{g/mL}$ 이상의 경우 에탄올 및 메탄올 추출물의 경우 유의적으로 tyrosinase 저해활성이 급격하게 증가되었다($p < 0.05$). 이는 음나무 수피 추출물을 100~2,000 $\mu\text{g/mL}$ 의 농도로 희석하여 tyrosinase 저해효과를 측정한 결과 추출물의 농도가 증가함에 따라 tyrosinase 저해율도 증가한다는 보고와 일치함을 보였다[41]. 일반적으로 에탄올 추출물이 열수 추출물에 비해 tyrosinase 저해활성이 높게 나타나는 경향을 보이고 있었는데, 이는 판란근의 에탄올 추출물과 열수 추출물이 1,000ppm에서 52.9%, 41.2%의 결과와 상호 비교하였을 때 천궁의 에탄올 추출물과 유사함을 확인할 수 있었다[42].

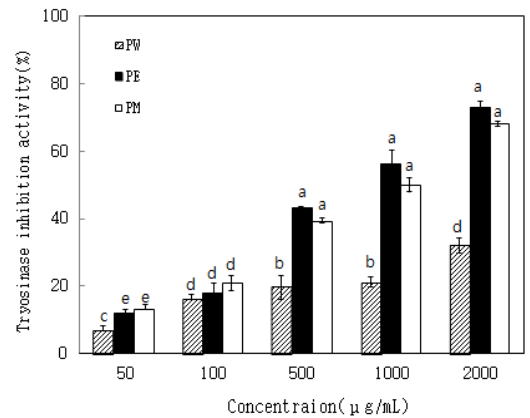


Fig. 6. Tyrosinase inhibition activities(%) of *cnidium officinale* Makino extracts with different solvents. PW: water extract from *cnidium officinale* Makino, PE: ethanol extract from *cnidium officinale* Makino. PM: methanol extract from *cnidium officinale* Makino. Values represent mean \pm SD of three measurements. Different superscripts indicate significant differences at $p < 0.05$ by Duncan's multiple range test.

4. 결론

추출용매에 따른 천궁(*Diospyros kaki* Thunb) 추출물의 생리활성 평가를 한 결과 다음과 같았다. 추출수율은 에탄올 추출물이 87.54%로 가장 높은 수율을 나타내었으며, 열수추출물 및 메탄올 추출물에서 각각 83.06%와 78.32%순으로 나타났다. XO 저해활성능은 농도 500 $\mu\text{g/mL}$ 범위까지는 추출용매에 큰 영향을 받지 않는 것으로 나타났으나 1,000 $\mu\text{g/mL}$ 농도 이상부터 XO 저해활성능은 열수 추출물 보다 에탄올 및 메탄올 추출물이 약 30% 이상 높게 나타남을 알 수 있었다. 추출농도에 따른 XO 저해활성능은 추출농도 500 $\mu\text{g/mL}$ 까지는 유의적인 차이는 나타나지 않았으나 추출농도 1,000 $\mu\text{g/mL}$ 이상의 경우 추출방법간의 유의적 차이는 뚜렷하게 나타났다. DPPH radical 소거활성을 분석한 결과 50 $\mu\text{g/mL}$ 에서 2,000 $\mu\text{g/mL}$ 으로 농도가 증가함에 따라 열수추출물의 경우 10.17 ~62.78%로 다소 낮은 활성을 나타내었으며, 에탄올 및 메탄올 추출물은 각각 19.96~89.01% 및 19.41~88.21%로 유의적으로 높은 활성을 나타남을 알 수 있었다. 천궁 추출물의 SOD 유사활성능은 에탄올 및 메탄올 추출물보다 열수추출이 더 높은 유사활성능을 나타냈으며, 추출용매에 따른 SOD 유사활성능의 차이는 유의적으로 나타나지 않았으나, 모든 시료에서 농도 의존적으로 증가함을 알 수 있었다. elastase 저해활성능은 추출 농도 500 $\mu\text{g/mL}$ 이상에서부터 열수 추출물에 비해 에탄올 및 메탄올 추출물이 높게 나타났다. 천궁 추출물의 collagenase 저해활성을 측정 한 결과 농도 50 $\mu\text{g/mL}$ 의 경우 10% 미만의 매우 낮은 활성을 나타냈으나, 500 $\mu\text{g/mL}$ 농도 에서부터는 약 30%이상의 높은 저해활성을 나타내었다. 아울러 추출농도 100 $\mu\text{g/mL}$, 500 $\mu\text{g/mL}$, 1,000 $\mu\text{g/mL}$ 및 2,000 $\mu\text{g/mL}$ 구간에서 추출방법에 따른 collagenase 저해활성능이 유의적으로 증가함을 알 수 있었다 천궁 추출물을 이용한 멜라닌 합성을 저해하는 tyrosinase 저해활성을 분석한 결과 각 추출용매에 따른 추출물의 농도가 100 $\mu\text{g/mL}$ 까지는 tyrosinase 저해활성은 매우 낮게 나타나 추출용매에 따른 유의적인 차이는 보이지 않았다. 하지만 추출농도가 500 $\mu\text{g/mL}$ 이상의 경우 에탄올 및 메탄올 추출물의 경우 유의적으로 tyrosinase 저해활성이 급격하게 증가되었다. 이상의 결과로부터 천궁추출물이 미백 및 주름개선

효과가 있는 것으로 생각되며 향후 기능성 화장품 소재로서의 이용 가능성을 확인할 수 있었다.

References

1. T. H. Youm and H. B. Lim, Antimicrobial activities of organic extracts from fruit of *thuja orientalis* L. *Korean J. Medicinal Crop Sci.* **18**(5), 315-322(2010)
2. E. J. Kim, J. Y. Choi, M. Y. Yu, M. Y. Kim, S. H. Kim and B. H. Lee, Total polyphenols, total flavonoid contents and antioxidant activity of Korean natural and medicinal plants. *Korean J. Food Sci. Technol.* **44**(3), 337-342(2012)
3. J. W. Kim, J. K. Kim, I. S. Song, E. S. Kwon and K. S. Youn, Comparison of antioxidant and physiological properties of jerusalem artichoke leaves with different extraction processes. *J. Korean Soc. Food. Sci. Nutr.*, **42**(1), 68-75(2013)
4. E. J. Roh, S. H. Park, S. M Hwang, H. S. Ro and B. K. Kim, Antioxidative activity and antiaging effects of *dchesnea indica* (Andr.) focke extract. *J. of the Korean Oil Chemists' Soc.*, **27**(4), 539-544(2010)
5. M. Yaar and B. A. Gilchrest, Photoageing: mechanism, prevention and therapy. *Br J Dermatol* **157**(5), 874-887(2007)
6. A. Favier, Oxidative stress in human disease. *Ann.Pharm.Fr.*, **64**(6), 390-396 (2006)
7. V. Srinivasan, Melatonin oxidative stress and neurodegenerative diseases. *Indian J. Exp. Biol.*, **40**(6), 668-679(2002)
8. S. Y. Choe and K. H. Yang, Toxicological studies of antioxidants butylated hydroxy anisole(BHA) and butylated hydroxy toluene(BHT). *Korean J. FoodSci. Technol.*, **14**, 283-288(1982).
9. S. T. Omaye, K. A. Reddy and C. E. Cross, Effect of butylated hydroxytoluene and other antioxidants on mouse lung metabolism. *J. Toxicol. Environ. Health*, **3**, 829-836(1997)

10. H. S. Lee and S. H. Kim, Safety evaluation of black garlic extract for development of cosmeceutical ingredients – Skin irritation and sensitization studies – *J Korean Soc Food Sci Nutr.*, **39**(8), 1213–1219(2010).
11. J. H. Lee, H. S. Choi, M. S. Chung and M. S. Lee, Volatile flavour components and free radical scavenging activity of *Cnidium officinale*. *K. J. Food Sci. Technol.* 34, 330–338(2002)
12. S. K. Kim, Y. H. Kim, D. K. Kang, S. H. Jung, S. P. Lee and S. C. Lee, Essential oil content and composition of aromatic constituents leaf of saururus, angelica dahurica and *Cnidium officinale*. *Kor. J. Medical Crop Sci.* 6, 299–304(1998)
13. M. Kobayashi, M. Fujita and Mitsuhashi, Components of *Cnidium officinale* Makino; occurrence of pregnenolone, coniferylferulate, ferulate and hydroxylphthalides. *Chem. Pharm. Bull.* 32, 3770–3773(1984)
14. H. S. Choi, M. S. Kim, and S. Masayoshi, Constituents of the essential oil of *Cnidium officinale* Makino, a korean medicinal plant. *Flavour and Fragrance J.* 17, 49–53(2002)
15. S. W. Shin and B. M. Park, The production of essential oils by tissue culture of *Cnidium officinale*. *Yakhak Hoeji.* 38, 179–183(1994)
16. S. K. Cho, O. J. Kang and C. J. Kim, Antiinflammatory and analgesic activities of the extracts and fractions of *Cnidii rhizoma*. *Kor. J. Pharmacogn.* 27, 282–287(1996)
17. S. H. Kim and I. C. Kim, Antioxidative properties and whitening effects of the *Eucommiae cortex*, *Salviae miltiorrhizae*, *Aurantii nobilis pericarpium* and *Cnidii rhizoma*. *J. East Asian Soc Dietary Life.* **18**(4), 618–623(2008)
18. J. H. Park, J. H. Kim, Y. J. Mun, Y. J. Lee, Y. C. W. H. Woo, 2005. Inhibitory effect of methanolic extract of *Cnidii rhizoma* on the melanogenesis. *Kor. J. Oriental Physiol Pathol.* 19, 938–944(2005)
19. F. Stirpe, E. Della Corte, The regulation of rat liver xanthine oxidase. Conversion in vitro of the enzyme activity from dehydrogenase(typeD)to oxidase(typeO). *J Biol Chem.*, **244**(14), 3855–3863(1969)
20. M. S. Blois. Antioxidant determination by the use of a stable free radical. *Nature* 26, 1199–1120(1958)
21. S. Marklund and G. Marklund, Involvement of the superoxide anion radical in the antioxidation of pyrogallol and a convenient assay for superoxide dismutase. *Eur J Biochem.*, 47, 468–474(1974)
22. R. J. P. Cannell, S. J. Kellan, A. M. Owsianski and J. M. Walker, Results of a large scale screen of microalgae for the production of protease inhibitors. *Planta Med.*, **54**(1), 10–14(1988)
23. K. L. Jones and J. M. Grainger, The application of enzyme activity measurements to a study of factors affecting protein, starch and cellulose fermentation in domestic refuse. *Eur J Microbiol Biotechnol.*, 18, 181–185(1983)
24. A. Yagi, T. Kanbara and N. Morinobu, Inhibition of mushroom-tyrosinase by aloe extract. *Planta Medica.*, 53, 517–519(1987)
25. J. Storch and E. Ferber, Detergent-amplified chemiluminescence of lucigenin for determination of superoxide anion production by NADPH oxidase and xanthine oxidase. *Anal Biochem.*, **169**(2), 262–267(1988)
26. F. F. Morpeth and R. C. Bray, Inhibition of xanthine oxidase by various aldehydes. *Biochemistry.* 23(6), 1332–1338(1984)
27. H. S. Cha, R. R. Youn, P. J. Park, H. R. Choi and B. S. Kim, Comparison of physiological activities of *Rubus coreanus* Miquel during maturation. *J Korean Soc Food Sci Nutr.*, 26(6), 683–688(2007)
28. S. J. Yoon, J. H. Kim, K. H. Lee, H. J. Kwon, S. S. Chun and Y. J. Cho. Antimicrobial effects and antioxidative

- activity of Baek-bu-ja (*Aconiti koreani Rhizoma*) by extraction solvent ratio. *J. Korean Soc. Appl. Biol. Chem.* **48**(3), 258-262(2005)
29. J. H. Kwak, D. N. Choi, J. H. Park, J. H. Kim, H. R. Jeong, C. H. Jeong and H. J. Heo, Antioxidant and neuronal cell protective effect of purple sweet potato extract. *J. Agri & Life Sci.*, **44**(2), 57-66(2010)
 30. B. B. Lee, S. R. Park, C. S. Han, D. Y. Han, E. J. Park, H. R. Park and S. C. Lee, Antioxidant Activity and Inhibition Activity against α -Amylase and α -Glucosidase of *Viola mandshurica* Extracts. *J. Korean Soc. Food. Sci. Nutr.*, **37**(4), 405-409(2008).
 31. C. H. Foyer, H. Lopez-Delgado, J. F. Dat and I. M. Scott, Hydrogen peroxide and glutathione-associated mechanisms of acclimatory stress tolerance and signalling. *Physiol Plant* **100**(2), 241-254(1997)
 32. J. K. Donnelly, K. M. McLellan, J. K. Walker and D. S. Robinson, Superoxide dismutase in foods. *A Review Food Chem* **33**, 243-270(1989)
 33. J. D. Lim, C. Y. Yu, M. J. Kim, S. J. Yun, S. J. Lee, N. Y. Kim and I. M. Chung, Comparison of SOD activity and phenolic compound contents in various korean medicinal plants. *Korean J. Medicin., Crop Sci.*, **12**(3), 191-202(2004)
 34. B. J. An, B. Y. Kang and J. T. Lee, Development of cosmetic material from korean *Crataegi Fructus* extract. *Kor. J. Herbology.* **17**(2), 39-50(2002)
 35. D. J. Nice, D. S. Robinson and M. A. Jolden, Characterisation of a heat-stable antioxidant co-purified with the superoxide dismutase activity from dried peas. *Food Chem.*, **52**(4), 393-397(1995)
 36. D. Kligman, Cosmeveuticals. *Dermatol Clin.*, **18**(4), 609-615(2000)
 37. K. K. Lee, J. H. Kim, J. J. Cho and J. D. Choi, Inhibitory effects of 150 plant extracts on elastase activity, and their anti-inflammatory effects. *Int J Cosmet Sci* **21**(2), 71-82(1999)
 38. H. R. Jeong, Y. N. Jo, J. H. Jeong, D. E. Jin, B. G. Song and H. J. Heo, Whitening and anti-wrinkle effects of apple extracts. *Kor. J. Food Preserv.*, **18**(4), 597-603(2011)
 39. P. U. Giacomoni and G. Rein, Factors of skin ageing share common mechanism. *Biogerontology* **2**, 219-229(2001)
 40. P. Aroca, F. Solano, C. Salinas, J. C. Garcia-Borron and J. A. Lozano, Regulation of the final phase of mammalian melanogenesis. *Eur J Biochem* **208**(1), 155-163(1992)
 41. J. D. Hwang, J. S. Choi, J. B. Kim and Y. S. Lee, Antioxidant activities of bark extracts from *Kalopanax pictus*. *J. Investigative Cosmetology.* **7**(4), 329-337(2011)
 42. Y. H. Kim, W. A. Cho, S. J. Cheon, M. J. Jang, J. Y. Sung, S. H. Jung, H. J. Choi, A. I. Kim, J. O. Kim, C. E. Lee, B. J. An and J. T. Lee, Study on anti-oxidant and cosmeceutical activities of *Isatis tinctoria* L. *Kor. J. Herbology.* **22**(3), 85-91(2007)