

## 토종다래(*Actinidia arguta*) 추출물의 Elastase 및 멜라닌 생합성 저해 효과

†김현영 · 김봉신 · 박여옥 · 하기정\* · 최재혁\*

경상남도농업기술원 농업연구사, \*경상남도농업기술원 농업연구관

### Anti-Elastase Activities, and Melanogenesis Inhibition Effects of Korean Traditional *Actinidia* (*Actinidia arguta*) Extracts

†Hyeon-Young Kim, Bong Sin Kim, Yeo Ok Park, Gi Jeong Ha\* and Jae-Hyeok Choi\*

Researcher, Gyeongsangnam-do Agricultural Research & Extension Services, Jinju 52733, Korea

\*Senior Researcher, Gyeongsangnam-do Agricultural Research & Extension Services, Jinju 52733, Korea

#### Abstract

The objective of this study is to evaluate the antioxidant components, elastase inhibition activities, and melanin synthesis rates of Korean traditional *Actinidia* (*Actinidia arguta*) fruits and leaves depending on the ethanol extraction concentrations. The total polyphenol content was the highest in the 50% ethanol extract of both fruits and leaves, with values of 634.1 mg GAE/100 g and 3,985.2 mg GAE/100 g, respectively. The total flavonoid content was the highest in the fruit 90% extract and leaf 50% extract at 191.9 mg/100 g and 2655.6 mg/100 g, respectively. The vitamin C content was the highest in the 50% extract of leaves at 2990.3 mg/100 g. Elastase inhibition was the highest at 56.9% in the leaf 50% extract at a concentration of 1,000 µg/mL. Melanin synthesis inhibition showed the highest melanin synthesis inhibitory effect among the extracts, as the leaf 50% extract showed an inhibitory rate of 65% or more. Therefore, the antioxidant components, elastase inhibition activities, and melanin synthesis inhibitory rate were better in leaves than in fruits. The leaf 50% extract was particularly the best among the extracts. Korean traditional *Actinidia* leaves can be considered as potential sources for new functional materials.

Key words: Korean traditional *Actinidia*, *Actinidia arguta*, antioxidant components, anti-elastase activities, melanogenesis inhibitory effect

#### 서 론

피부 노화는 시간이 흐르면서 자연스럽게 발생하는 내인성 노화(intrinsic aging)와 지속적인 자외선 노출로 인해 주름이 생기는 광노화(photoaging)로 구분되며, 특히 광노화는 내인성 노화에 비해 깊고 굵은 주름과 잔주름이 많이 발생한다. 자외선에 의해 세포가 손상되면 활성산소종(ROS)이 과다하게 생성되고, 멜라닌 형성세포(melanocyte)가 멜라닌을 형성함으로써 피부의 색소침착을 일으킨다(Jia 등 2015). 또한 엘라스틴 분해 효소인 엘라스타아제(elastase)는 엘라스틴 분해를 촉진하여 피부의 탄력을 감소시킴으로써 주름을 생

성한다. 따라서 elastase의 작용을 억제하고, 멜라닌 합성을 저해시키는 소재의 발굴이 중요하다(Lee 등 2014).

우리나라 산지 전역에 자생하는 토종다래(*Actinidia arguta*)는 다래나무과(Actinidiaceae)에 속하는 덩굴성 낙엽 활엽수로 일본과 중국 등에 분포한다(Kim 등 2015). 우리나라에는 다래(*Actinidia arguta*), 섬다래(*A. rufa* Planch), 개다래(*A. polygama* Planch), 쥐다래(*A. kolkmikta*) 등 4종이 주로 분포하고 있으며, 키위와 달리 내한성이 강하고, 크기가 작고, 표면에 털이 없어 껍질까지 식용이 가능한 과수이다(Kim 등 2015). 또한 우리나라 지리적 특성과 기후에 알맞아 전국 어디서나 재배할 수 있으며, 병해충에 강해 친환경적으로 재

† Corresponding author: Hyeon-Young Kim, Researcher, Gyeongsangnam-do Agricultural Research & Extension Services, Jinju 52733, Korea. Tel: +82-55-254-1344, Fax: +82-55-254-1319, E-mail: hyoung0215@korea.kr

배 가능한 작목 중의 하나이다(Park 등 2016).

다래는 한방에서 “미후도”라고도 불리며 열을 내려 갈증을 멎게 하고, 소화불량에도 효과적이다(Kim 등 2016). 특히 비타민 C가 풍부해서 미백뿐만 아니라 괴혈병 치료, 피로 회복에도 좋다고 알려져 있다. 다래는 열매, 잎, 그리고 줄기와 뿌리 등 모든 부위를 식용할 수 있으며, 모든 부위가 유효한 생리활성 성분을 함유하고 있다. 봄철에 나는 어린잎인 순은 채취하여 장아찌를 담거나 산나물로 데쳐서 먹기도 하고, 줄기에서 나오는 수액은 음료로 섭취할 수도 있다(Jin 등 2015).

최근 건강한 제품을 찾는 소비자가 증가함에 따라 화장품 업계에서도 천연 성분을 담은 화장품이나 유기농 화장품 등이 관심을 받고 있다(Kim & Lee 2021). 토종다래의 기능성에 관한 연구는 토종다래 추출물이 NF-kappaB 경로의 억제에 의한 lipopolysaccharide로 활성화된 대식세포에 대한 항염증 효과를 입증했고(Kim 등 2018), 아토피 피부염 개선 효과(Ho 등 2009), 토종다래 열매의 영양성분 분석(Park 등 2017), 토종다래 순의 *in vitro* 항산화 활성(Jin 등 2015), 과열증기 건조에 따른 토종다래 순의 이화학적 및 미생물학적 특성에 미치는 영향(Kim 등 2017) 등 연구가 활발히 이루어지고 있으나, 토종다래의 미백 활성이나 주름 개선에 관한 기능성 연구는 미비한 실정이다.

따라서 본 연구는 우리나라에서 자생하는 토종다래 열매와 잎을 주정 추출물로 제조하여 항산화 활성, elastase 저해 활성 및 멜라닌 생합성 저해 효과를 확인함으로써 이너뷰티 소재로의 가능성을 알아보려고 하였다.

## 재료 및 방법

### 1. 실험재료

본 실험에서는 경남 사천 농가에서 재배한 토종다래 실생 열매와 잎을 이용했으며, 수확 시기는 2020년 4월 말~5월 초에 잎을 수확했고, 열매는 9월에 수확하여 농가로부터 구입하였다. 수확한 즉시  $-70^{\circ}\text{C}$  deep freezer에 냉동 보관하여 사용하였다. 2020년 경남 지역의 연평균 기온은  $14.4^{\circ}\text{C}$ 였고, 강수량은 1,874.4 mm로 보고되었다(KOSIS 2022). 추출용매는 주정(Ethanol supplies world Co., Ltd., Jeonju, Korea)을 사용하였다. 총 폴리페놀, 총 플라보노이드, DPPH 라디칼 소거활성 및 elastase 저해 활성 실험에 사용된 시약은 Sigma-Aldrich Chemical Co.(St. Louis, MO, USA) 제품을 구입하였으며, 그 외 시약은 특급 시약(J.T baker chemicals Co., Phillipsburg, NJ, USA)을 구입하여 사용하였다.

### 2. 토종다래 열매, 잎 추출물 제조

토종다래 열매와 잎을 흐르는 물에 깨끗이 세척하고 동결

건조 후에 분쇄한 다음 분말로 제조하였다. 추출용매인 주정을 이용하여 0, 20, 50, 70, 90%로 제조한 후 토종다래 열매와 잎 분말에 각각 20배의 주정을 넣어  $60^{\circ}\text{C}$ 에서 4시간 동안 환류 냉각 추출하였다. 여과 후 감압 농축하여 증류수로 회수하였다. 회수된 시료는 동결건조 후 추출 수율을 측정했으며, 추출물은 분쇄기(SHMF-3600TG, Hanil Co., Wonju, Korea)를 이용하여 분쇄하여 동결건조 분말로  $-70^{\circ}\text{C}$  deep freezer에 보관하며 항산화 성분, elastase 저해 활성 및 멜라닌 생합성 저해 실험에 사용하였다.

### 3. 총 폴리페놀 및 플라보노이드 함량

총 폴리페놀 함량은 Folin & Ciocalteu's 방법(Singleton & Rossi 1965; Choi 등 2007)을 변형하여 실험을 진행하였다. 토종다래 추출물 0.1 g에 증류수 100 mL를 넣어 희석하고 균질화하여 시험 시료로 사용하였다. 희석한 시료 1 mL에 증류수 2 mL, Folin-Ciocalteu 0.5 mL를 첨가하여 vortex mixer로 혼합하였다. 3분간 반응 후 10%  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  0.5 mL를 가하여 암소에서 1시간 반응시켰다. 반응물은 microplate reader(infinite M200 PRO, TECAN, Männedorf, Switzerland)를 사용하여 760 nm에서 흡광도를 측정하였으며, gallic acid(GAE)을 이용한 표준곡선으로 양을 환산하였다. 총 플라보노이드 함량은 Kim 등(2010)의 방법을 변형하여 실험하였다. 추출물 0.1 g에 증류수 10 mL를 넣어 희석하여 시험 시료로 사용하였다. 희석한 시료 0.5 mL에 10% sodium nitrite 100  $\mu\text{L}$ , 1 M potassium acetate 100  $\mu\text{L}$  및 80% ethanol 4.3 mL를 첨가하여 vortex mixer로 혼합 후 암소에 40분간 실온 방치시켰다. 반응 후 415 nm에서 흡광도를 측정하였다. 표준물질은 quercetin(QE)을 이용하여 표준곡선으로 나타낸 양을 환산하였다.

### 4. 비타민 C 함량 분석

토종다래 열매, 잎 추출물의 비타민 C 함량은 식품공전 방법(MFDS 2018)을 변형하여 측정하였다. 시료 0.25 g에 추출용매(Meta-phosphoric acid 50 g, Tris-2-carboxyethylphosphine 1.43 g, Ethylenediamine tetra acetic acid 10 mL, water 1L) 25 mL를 첨가하여 균질화 시킨 후 2,000 $\times$ g에서 10분간 원심분리하였다. 상층액은 50 mL 정용플라스크에 넣고, pellet에 다시 추출용매 10 mL를 가해 5분간 sonication하여 원심분리를 했으며, 이 과정을 총 3번 반복했다. 3번 반복하여 얻어진 상층액은 50 mL 정용 플라스크에 넣어 추출용매로 부피 정용하고 여과(0.45  $\mu\text{m}$  NYLON syringe filter)한 다음 HPLC(high performance liquid chromatography-UV/Vis)의 분석시료로 사용하였다. 분석조건은 Table 1과 같다.

**Table 1. HPLC operating condition for vitamin C analysis**

Instrument	Shimadzu SPD-20A (Shimadzu Co., Kyoto, Japan)
Column	Mightysil RP-18 GP (250×4.6 mm, 5 μm; Kanto chemical, Tokyo, Japan)
Column temp.	40°C
Detector	UV/Vis 254 nm
Flow rate	0.7 mL/min
Injection volumn	10 μL
Mobile phase	50 mM KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> : acetonitrile (6:4, v/v)

### 5. Elastase 저해 활성 측정

Elastase 저해 활성 측정은 Kraunsoe 등(1996)의 방법을 변형하여 측정하였다. 50 mM Tris-HCl(pH 8.0) buffer 40 μL에 1 unit/mL elastase(pancreatic from porcine pancreas, 6.8 units/mg, Sigma-Aldrich Co.) 40 μL와 시료 40 μL를 첨가한 후 상온에서 5분간 반응시킨다. 반응물에 2.5 mM N-succinyl-(Ala)3-p-nitroanilide 80 μL를 가하여 상온에서 5분간 반응시킨 후 445 nm에서 흡광도를 측정하였다(infinite M200 PRO, TECAN, Männedorf, Switzerland). Elastase 저해 활성은 다음의 환산식에 의해 계산했으며, 양성대조군은 epigallocatechin gallate (EGCG)를 사용하여 비교하였다.

$$\text{Elastase inhibition ability (\%)} = \{1 - (A/B)\} \times 100$$

A: Absorbance at 445 nm determined with sample

B: Absorbance at 445 nm determined with buffer instead of enzyme

### 6. 세포배양

멜라닌 합성 실험에 사용된 악성 흑색종(melanoma) 세포주인 B16F10 cell은 한국세포주은행(Korean Cell Line Bank, Korea)으로부터 분양받아 사용하였다. B16F10 세포주 배양은 생육 배지인 DMEM(Gibco Inc., NY, USA)에 10% fetal bovine serum(Gibco Inc., NY, USA)과 1% Antibiotic-Antimycotic (Gibco Inc., NY, USA)을 첨가하여 5% CO<sub>2</sub> incubator를 이용하여 37°C에서 배양하였다.

### 7. B16F10 melanoma 내의 melanin 함량 분석

α-MSH와 IBMX에 유도되는 B16F10 세포의 멜라닌 합성에 대한 추출물의 저해 활성을 측정하기 위해서 B16F10 melanoma를 12-well 세포배양 플레이트에서 배양하였다. B16F10 melanoma의 멜라닌 축적은 1 μM α-MSH(α-melanocyte stimulating hormone), 200 μM IBMX와 추출물을 첨가하여 72 시간 동안 처리하여 진행했다. PBS로 세포 세척 후 세포는

200 μL trypsin-EDTA로 배양하였다. 세포 내 멜라닌 함량을 측정하기 위하여 수거한 세포는 27,237×g에서 5분간 원심분리하였다. 또한 세포 펠렛은 1 N NaOH와 10% DMSO 200 μL에 100°C에서 10분간 녹였다. 세포 내-외 멜라닌 함량의 흡광도는 microplate reader로 405 nm에서 측정하였다. 멜라닌 함량은 α-MSH 처리군에 대한 %로 계산하였다.

### 8. 통계처리

본 실험의 모든 결과는 3회 반복 분석하였으며, 각 시료간의 유의성( $p < 0.05$ )은 XLSTAT 통계 프로그램(Addinsoft, Paris, France)을 이용하여 ANOVA로 검증한 후 Duncan's multiple range test로 유의성을 검정하였고, 유효성분과 생리활성의 상관관계 분석은 Pearson's correlation coefficient( $r$ )를  $p < 0.01$ ,  $p < 0.05$  수준에서 유의성 검정하였다.

## 결과 및 고찰

### 1. 추출물의 수율

토종다래 열매, 잎 주정 추출물의 수율은 Table 2에 나타내었다. 추출 수율은 환류 냉각 추출한 추출액을 동결건조하여 나온 건물 중량을 측정한 다음 추출물 제조에 사용한 원료 건물량에 대한 백분율로 나타낸 값이다. 토종다래 열매의 수율은 33.5~40.7%의 범위를 나타냈고, 그 중 50% 주정 추출물이 가장 높은 수율을 나타냈다( $p < 0.05$ ). 토종다래 잎의 추출 수율은 21.5~28.1%의 범위로 50% 추출물이 가장 높았으나 0% 및 70% 주정 추출물과 유의적인 차이가 없었다( $p < 0.05$ ).

**Table 2. Extraction yield of Korea traditional *Actinidia* fruits and leaves according to ethanol concentration**

Contents	Ethanol concentration (%)	Yield (%)
Fruits	0	40.7±0.9 <sup>1)bc</sup>
	20	33.5±1.3 <sup>d</sup>
	50	46.3±1.2 <sup>a</sup>
	70	42.6±1.3 <sup>b</sup>
	90	39.7±1.1 <sup>c</sup>
Leaves	0	28.1±1.4 <sup>a</sup>
	20	21.5±1.2 <sup>b</sup>
	50	26.1±1.4 <sup>a</sup>
	70	25.9±1.4 <sup>a</sup>
	90	22.5±1.2 <sup>b</sup>

<sup>1)</sup> Mean±S.D. (n=3). Means with different small letters (ethanol concentration) in the same column are significantly different between groups at  $p < 0.05$  level by Duncan's multiple range test.

## 2. 총 폴리페놀 및 플라보노이드 함량

페놀 화합물은 식물체에 널리 분포되어 있는 2차 대사산물의 하나로써 다양한 구조를 가지며, 이중 페놀성 수산기(phenolic hydroxyl)가 단백질뿐만 아니라 기타 거대분자들과 결합하는 특성이 강하여 항산화 및 항암 등과 같은 다양한 생리활성을 나타낸다(Lee 등 2005). 토종다래 열매, 잎 주정 추출물의 총 폴리페놀 및 플라보노이드 함량의 결과는 Table 3과 같다. 토종다래 열매 추출물의 총 폴리페놀 함량은 Distilled water, 20, 50, 70 및 90% 주정 추출물에서 각각 371.7, 509.8, 634.1, 533.7 및 490.7 mg GAE/100 g으로 50% 주정 추출물에서 가장 높은 함량을 나타내었다. 토종다래 잎 또한 50% 주정 추출물에서 3,985.2 mg GAE/100 g으로 가장 높은 총 폴리페놀 함량을 보였다.

토종다래 열매 추출물의 총 플라보노이드 함량은 Distilled water, 20, 50, 70 및 90% 주정 추출물에서 각각 91.9, 77.8, 80.1, 83.1 및 191.9 mg/100 g으로 90% 주정 추출물에서 가장 높은 총 플라보노이드 함량을 나타내었다. 토종다래 잎 추출물의 총 플라보노이드 함량은 50% 주정 추출물에서 2,655.6 mg/100 g으로 가장 높은 함량을 보였다. Chung 등(2015)은 국내산 키위를 70% 에탄올로 환류 냉각 추출 후 색상에 따라 키위의 총 폴리페놀 함량을 본 결과 2.71~4.59 mg GAE/g으로 보고하였고, Kim 등(2021a)은 더덕순을 크기별로 수확하여 70% 에탄올로 추출하여 총 폴리페놀 함량과 총 플라보노이드 함량을 본 결과 각각 최대 719.56 mg GAE/100 g 및 398.52 mg CE/100 g을 나타내었다고 보고하였다. 따라서 본 연구 결과는 토종다래 열매와 잎을 50% 주정으로 추출했을 때 선행 연구보다 더 높은 총 폴리페놀 및 플라보노이드 함량을 가진

것을 확인할 수 있었고, 특히 토종다래 열매보다는 잎에서 더 높은 phenolic 화합물을 함유하는 것으로 나타났다. 따라서 토종다래 잎은 50% 주정으로 추출 시 더 높은 폴리페놀 성분을 추출할 수 있을 것으로 판단된다.

## 3. 비타민 C 함량

비타민 C는 대표적인 천연 항산화제로 생체 내 활성산소 발생을 억제하여 피부 내에 있는 진피의 탄력섬유 손상을 저해하고, 색소침착 생성을 억제하는 것으로 보고되었다(Cha 등 2007). 토종다래 열매, 잎 주정 추출물의 비타민 C 함량은 Table 3과 같다. 토종다래 열매 추출물의 비타민 C 함량은 236.8~364.3 mg/100 g의 값을 나타내었고, 토종다래 잎 추출물의 비타민 C 함량은 1,445.7~2,990.3 mg/100 g의 값을 나타내었다. 토종다래 열매보다는 잎 추출물에서 비타민 C 함량이 더 높았고, 특히 잎 50% 주정 추출물이 2,990.3 mg/100 g으로 가장 높은 함량을 나타냈다. 아로니아 열매의 에탄올 추출물의 비타민 C 함량은 71.19 mg/100 g을 나타냈고(Kim 등 2021b), 품종별 단감잎 추출물의 비타민 C 함량은 241.5~1,456.92 mg/100 g을 나타내었다(Son 등 2020). 이와 비교하였을 때 토종다래 잎 주정 추출물이 상당히 높은 비타민 C 함유량을 나타낸 것을 확인할 수 있었으며, 토종다래 열매와 잎에 함유된 비타민 C가 항산화 및 생리활성 효과에 우수한 영향을 미칠 것으로 생각된다.

## 4. Elastase 저해 활성

피부는 표피, 진피 및 피하 조직으로 크게 3가지 주요 층으로 구성된다. Elastin은 진피의 구성 요소 중 하나로 탄성섬

**Table 3. The antioxidant components of Korea traditional *Actinidia* fruits and leaves according to ethanol concentration**

Contents	Concentration (%) <sup>1)</sup>	Total polyphenol contents (mg GAE/100 g)	Total flavonoid contents (mg/100 g)	Vitamin C contents (mg/100 g)
Fruits	0	371.7±2.5 <sup>le2)</sup>	91.9±2.6 <sup>Eb</sup>	257.2±0.5 <sup>ld</sup>
	20	509.8±20.9 <sup>Gc</sup>	77.8±1.4 <sup>Hc</sup>	236.8±1.2 <sup>Je</sup>
	50	634.1±8.1 <sup>Ea</sup>	80.1±2.6 <sup>Gc</sup>	304.8±2.3 <sup>Hc</sup>
	70	533.7±3.9 <sup>Fb</sup>	83.1±5.0 <sup>FGbc</sup>	317.3±3.1 <sup>Gb</sup>
	90	490.7±2.9 <sup>Hd</sup>	191.9±11.4 <sup>Da</sup>	364.3±0.6 <sup>Fa</sup>
Leaves	0	2,945.7±10.6 <sup>Cc</sup>	1,626.4±24.6 <sup>Bb</sup>	1,960.6±35.7 <sup>Dd</sup>
	20	2,614.6±36.8 <sup>Dd</sup>	1,681.6±46.4 <sup>Bb</sup>	2,621.0±38.2 <sup>Bb</sup>
	50	3,985.2±70.8 <sup>Aa</sup>	2,655.6±234.8 <sup>Aa</sup>	2,990.3±13.7 <sup>Aa</sup>
	70	3,607.0±17.0 <sup>Bb</sup>	1,211.3±26.8 <sup>Cc</sup>	2,297.5±9.7 <sup>Cc</sup>
	90	3,010.1±34.2 <sup>Cc</sup>	1,586.0±25.1 <sup>Bb</sup>	1,445.7±8.0 <sup>Ec</sup>

<sup>1)</sup> Ethanol concentration.

<sup>2)</sup> Mean±S.D. (n=3). Means with different capital letters (fruits and leaves) and small letters (ethanol concentration) in the same column are significantly different between groups at  $p < 0.05$  level by Duncan's multiple range test.

유로 형성된 경단백질이다. 피부가 처지고 주름이 생기기 시작하는 주된 원인은 elastin과 collagen의 분해로 인해 발생하며, elastin의 감소는 피부의 주름 생성으로 이어진다. Elastase는 세포외 기질(extracellular matrix)의 다양한 성분, 즉 엘라스틴을 분해하는 효소이다. Elastin은 피부가 유연하고 탄력 있게 유지되도록 도와주는 단백질로써, 피부가 늙어지면 elastin이 피부를 정상 위치로 돌려주는 역할을 한다. 따라서 elastase 저해 활성이 높을수록 피부의 주름을 개선시킨다 (Apraj & Pandita 2016; Lee 등 2020a).

앞서 총 폴리페놀, 총 플라보노이드 및 비타민 C 함량 분석 결과에서 주정 50%와 90%에서 활성이 높게 나타내어 50%, 90% 주정 추출물을 이용하여 토종다래 열매 및 잎의 elastase 저해 활성을 측정한 결과는 Fig. 1과 같다. Elastase 저해 활성은 1,000 µg/mL의 최종농도에서 토종다래 잎 50% 추출물이 56.9%로 가장 높은 저해 활성을 나타냈으며, 다음으로 열매 90% 추출물 43.7%, 잎 90% 추출물 43.3%로 두 처리간의 유의적인 차이는 없었고( $p < 0.05$ ), 그 다음으로 열매 50% 추출물이 13.3%로 가장 낮은 저해 활성을 나타냈다. 양성대조군인 EGCG는 83.5%의 저해율을 보였으며, 토종다래 열매, 잎 추출물은 농도 의존적으로 elastase 저해 활성을 나타내었다.

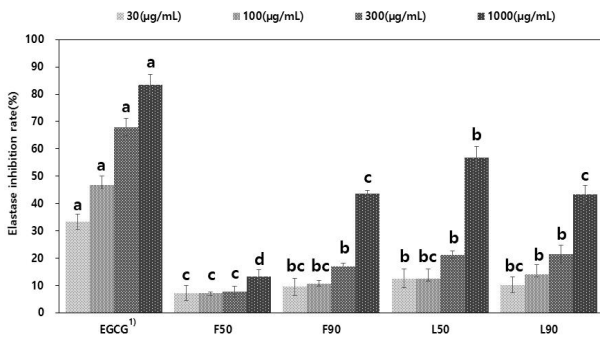
Chae 등(2021)은 잣구과피를 추출 방법에 따라 elastase 저해 활성을 본 결과 1 mg/mL의 농도에서 잣구과피 70% 에탄올 추출물은 22.56%의 저해 활성을 보였고, 초임계 추출물은

15.62%, 추출물 혼합물은 26.64%의 저해 활성을 나타냈다. Kim 등(2021a)은 더덕순에 70% 에탄올을 가하여 초음파 추출 후 elastase 저해율을 본 결과 1.25, 2.5, 5 mg/mL 농도로 처리시 약 13, 20, 46%의 저해 활성을 보였다. Choi 등(2018)은 흑생강으로 알려진 끄라차이담을 발효 균주를 넣고 발효시켜 미생물별 elastase 저해활성을 본 결과 5 mg/mL의 농도에서 발효균 및 무발효균의 elastase 저해능은 39.9~56.4%로 나타났고, 이중 *Bacillus cereus* 발효물이 가장 높은 저해 활성을 보였다. 따라서 본 실험 결과 잎 50% 주정 추출물이 주름 개선에 대한 기능성 소재로써 활용 가능성이 있다고 판단된다.

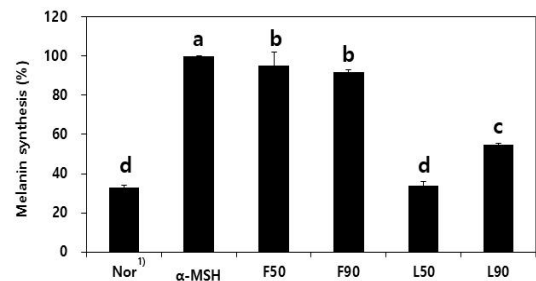
### 5. 멜라닌 생합성 저해 효과

Melanin은 피부의 표피 내에 있는 멜라닌세포(melanocyte)에 의해 생성되는 주요 색소이며, eumelanin(흑색)과 pheomelanin(적황색)과 같은 고유한 색상으로 인해 피부색을 결정한다. 이 melanin은 자외선(UV)으로부터 피부를 보호하는 생리적 방어에 중요한 역할을 한다. 하지만 반복적인 UV 조사는 멜라닌 축적을 증가시키고, 피부 과색소침착을 유발한다. 멜라닌의 생합성은 자외선, 염증, 호르몬 또는 기타 피부 손상과 같은 여러 자극에 의해 유도된다(Bae 등 2016). 따라서 멜라닌이 과도하게 생성되면 기미, 주근깨 등의 색소 침착을 일으켜 미관상도 안 좋을 뿐만 아니라 피부 질환도 유발할 수 있다(Kim 등 2014).

토종다래 열매, 잎 50, 90% 주정 추출물을 B16F10 mouse melanoma cell을 이용하여 *in vivo* 멜라닌 생합성 저해 효과를 본 결과는 Fig. 2와 같다. 멜라닌 생성 촉진을 위해  $\alpha$ -MSH를



**Fig. 1.** Effects of Korea traditional *Actinidia* fruits and leaves (KT AFL) according to ethanol concentration on elastase inhibition. <sup>1)</sup> EGCG: Epigallocatechin gallate (positive control). F50: Fruits 50% ethanol extract. F90: Fruits 90% ethanol extract. L50: Leaves 50% ethanol extract. L90: Leaves 90% ethanol extract. Means with different small letters (treatment concentration; 30 µg/mL, 100 µg/mL, 300 µg/mL, and 1,000 µg/mL) are significantly different between groups at  $p < 0.05$  level by Duncan's multiple range test.



**Fig. 2.** Effects of Korea traditional *Actinidia* fruits and leaves by ethanol extraction on melanin synthesis in B16F10 cell. <sup>1)</sup> Nor:  $\alpha$ -MSH not treatment (control).  $\alpha$ -MSH:  $\alpha$ -MSH treatment. F50: Fruits 50% ethanol extract. F90: Fruits 90% ethanol extract. L50: Leaves 50% ethanol extract. L90: Leaves 90% ethanol extract. Data are given as means of values  $\pm$  S.D. from three independent experiments. Level of significance was identified statistically ( $p < 0.05$ ) using Duncan's multiple range test.

**Table 4. Linear correlation coefficients (*r*) between effective components and physiological activities of Korea traditional *Actinidia* fruits and leaves extracts**

Factor	TPC <sup>1)</sup>	TFC <sup>2)</sup>	Vitamin C	Elastase inhibition	Melanin synthesis
TPC	1	0.985**	0.955**	0.696*	-0.992**
TFC	-	1	0.983**	0.756**	-0.992**
Vitamin C	-	-	1	0.740**	-0.969**
Elastase inhibition	-	-	-	1	-0.749**
Melanin synthesis	-	-	-	-	1

<sup>1)</sup> TPC: Total polyphenol contents.

<sup>2)</sup> TFC: Total flavonoid contents.

\* $p < 0.05$ , \*\* $p < 0.01$ .

처리하여 1 mg/mL 최종농도에서 본 결과,  $\alpha$ -MSH 처리군의 멜라닌 합성을 100% 대비 열매 50%, 90% 주정 추출물이 각각 5%, 8%의 멜라닌 합성 저해율을 보였고, 잎 90% 주정 추출물은 약 46%의 멜라닌 합성 저해율을 나타냈다. Control군 ( $\alpha$ -MSH 무처리군)과 잎 50% 주정 추출물은 약 65% 이상의 멜라닌 합성 저해율을 보였으며, 두 처리군간의 유의적인 차이는 없었다( $p < 0.05$ ). 본 연구 결과 열매보다는 잎이 더 높은 멜라닌 합성 저해 효과를 보였고, 모든 처리군 중에서 잎 50% 주정 추출물이 가장 높은 멜라닌 합성 저해 효과를 보였다. 따라서 잎 50% 주정 추출물은 흑색종 및 색소침착을 유발하는 멜라닌의 합성을 억제하는 효과가 있음을 확인할 수 있었다.

#### 6. 유효성분 및 생리활성의 상관관계

토종다래 열매와 잎 추출물의 유효성분(총 폴리페놀, 총 플라보노이드, 비타민 C 함량)과 생리활성(elastase 저해 활성, 멜라닌 합성량) 간의 상관관계를 알아보기 위해 Pearson 상관 분석하여 Table 4에 나타내었다. 유효성분(총 폴리페놀, 총 플라보노이드 및 비타민 C 함량)과 elastase 저해 활성은 모두 유의적으로 높은 상관관계( $r=0.696^*$ ,  $r=0.756^{**}$ ,  $r=0.740^{**}$ )를 나타냈고, 유효성분과 멜라닌 합성량 간의 상관관계 또한 모두 유의적으로 높게 나타났( $p < 0.01$ ). Kim 등(2022)은 유효성분(총 폴리페놀, 총 플라보노이드 함량)과 elastase 저해 활성 간의 상관관계를 본 결과 각각 0.9849( $p < 0.01$ ), 0.9989( $p < 0.01$ )로 모두 높은 상관관계를 나타냈으며( $p < 0.01$ ), Lee 등(2020b)의 결과에서도 유효성분(총 폴리페놀, 총 플라보노이드)과 생리활성(elastase 저해 활성, 멜라닌 합성량)간의 상관관계 또한 모두 유의적으로 나타났( $p < 0.05$ ). 따라서 이상의 결과로 유효성분과 생리활성에는 유의적인 상관관계를 가지고 있으며( $p < 0.01$ ), elastase 저해 활성과 멜라닌 생합성의 생리활성은 유효성분에 따라 높은 의존성을 보였다.

#### 요약 및 결론

본 연구는 우리나라에서 자생하는 토종다래 열매와 잎을 주정 추출물로 제조하여 항산화 성분(총 폴리페놀, 플라보노이드, 비타민 C 함량), elastin 저해 활성 및 멜라닌 생합성 저해 효과를 조사하였다. 토종다래 열매 추출물의 수율은 33.5~40.7%의 범위를 보였고, 잎 추출물은 21.5~28.1%의 범위를 나타냈다. 총 폴리페놀 함량은 토종다래 열매, 잎 모두 50% 주정 추출물에서 가장 높았으며, 각각 634.1, 3,985.2 mg GAE/100 g을 나타냈다. 총 플라보노이드 함량은 토종다래 열매의 경우 90% 주정 추출물에서 191.9 mg/100 g, 토종다래 잎은 50% 주정 추출물에서 2,655.6 mg/100 g으로 가장 높았다. 비타민 C 함량은 토종다래 잎 50% 추출물이 2,990.3 mg/100 g으로 가장 높았다. Elastase 저해 활성은 시료의 최종 농도 1,000  $\mu$ g/mL에서 측정한 결과 토종다래 잎 50% 추출물이 56.9%로 가장 높은 저해 활성을 나타내었다. 멜라닌 합성 저해 효과는 잎 50% 추출물이 약 65% 이상의 저해율을 나타내어 추출물 중 가장 높은 멜라닌 합성 저해 효과를 확인하였다. Elastase 저해 활성과 멜라닌 생합성은 유효성분과 유의적인 상관관계를 나타내었다( $p < 0.05$ ). 이상의 연구 결과에서 토종다래 열매보다는 잎에서 더 높은 항산화 성분과 elastin 저해 활성 및 멜라닌 합성 저해 효과를 확인하였고, 특히 잎 50% 주정 추출물이 가장 우수하여 주름개선이나 미백 효과에 대한 이너뷰티 소재 개발로 가능성이 있음을 확인하였다.

#### References

- Apraj VD, Pandita NS. 2016. Evaluation of skin anti-aging potential of *Citrus reticulata blanco* peel. *Pharmacogn Res* 8:160-168

- Bae JS, Han M, Yao C, Chung JH. 2016. Chaetocin inhibits IBMX-induced melanogenesis in B16F10 mouse melanoma cells through activation of ERK. *Chem Biol Interact* 245: 66-71
- Cha HS, Youn AR, Kim SH, Kwon KH, Kim BS. 2007. Evaluation of quality and analysis of hazard management at different seasons of lettuce. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 36:932-937
- Chae J, Kim J, Jo H, Lee J. 2021. Comparison of antioxidant, wrinkle improvement, and whitening efficacies of extracts from *Pinus koraiensis* cone scale using extraction methods. *J Korean Soc For Sci* 110:431-439
- Choi MH, Kim KH, Yook HS. 2018. Antioxidant activity of fermented *Kaempferia parviflora* and inhibitory action against tyrosinase and elastase. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 47:1076-1084
- Choi Y, Jeong HS, Lee J. 2007. Antioxidant activity of methanolic extracts from some grains consumed in Korea. *Food Chem* 103:130-138
- Chung HJ, Kim CJ, Choi YS. 2015. Comparison of antioxidant and nitrite scavenging activities of different colored kiwis cultivated in Korea. *J Korean Soc Food Cult* 30:220-226
- Ho SH, Park EJ, Choi JH, Eo HK, Hong ES, Kim SY, Kim SH. 2009. Effect of PG102, a water-soluble extract from *Actinidia arguta* on canine atopic dermatitis. *Korean J Pharmacogn* 40:59-64
- Jia Y, Yang M, Park I. 2015. Antioxidative activities and inhibitory effects on tyrosinase and elastase by water extracts of *Allium* sp. *Korean J Food Nutr* 28:247-252
- Jin DE, Park SK, Park CH, Seung TW, Choi SG, Heo HJ. 2015. Nutritional components of Korean traditional actinidia (*Actinidia arguta*) sprout and *in vitro* antioxidant effect. *Korean J Food Sci Technol* 47:37-43
- Kim A, Kang SW, Heo HJ, Chun JY, Choi SG. 2015. Effect of heat treatment on quality characteristics and antioxidant activity of Korean traditional actinidia (*Actinidia arguta*) cultivars puree. *Korean J Food Preserv* 22:408-420
- Kim AN, Ko HS, Lee KY, Shafiur Rahman MS, Heo HJ, Choi SG. 2017. The effect of superheated steam drying on physicochemical and microbial characteristics of Korean traditional actinidia (*Actinidia arguta*) leaves. *Korean J Food Preserv* 24:464-471
- Kim DI, Kin HJ, Lee JH, Han SJ, Kim HE, Park KS, Kim HJ, Nam JH, Chi GY, An BJ. 2018. Anti-inflammation effect of hardy kiwifruit (*Actinidia arguta*) extract in lipopolysaccharide-stimulated macrophages by suppressing NF-kappaB pathway. *Korean J Food Preserv* 25:564-573
- Kim D, Park M, Kim M. 2021b. Study on antioxidant activity and cytotoxicity to A549 cells of Korean aronia fruit extracts. *J East Asian Diet Soc* 31:163-171
- Kim IH, Lee JH. 2021. Skin whitening and anti-wrinkle effects of *Pleurotus nebrodensis* extracts. *Korean Soc Biotechnol Bioeng J* 36:209-215
- Kim IW, Lee JH, Kwon YN, Kim SH, Yun EY, Nam SH, Ahn MY, Hwang JS. 2014. Inhibitory effect of melanin synthesis using organic solvent extracts from *Scolopendra subspinipes mutilans*. *J Seric Entomol Sci* 52:1-5
- Kim J, Park Y, Kim S. 2016. Flowering time, amount of pollen and characteristics of pollen germination of *Actinidia arguta* male flower. *J Apic* 31:373-378
- Kim JS, Kwon YS, Chun WJ, Kim TY, Sun J, Yu CY, Kim MJ. 2010. *Rhus verniciflua* Stokes flavonoid extracts have anti-oxidant, anti-microbial and  $\alpha$ -glucosidase inhibitory effect. *Food Chem* 120:539-543
- Kim JY, Hwang BS, Kwon SH, Jang M, Kim GC, Kang HJ, Hwang IG. 2021a. Various biological activities of extracts from *Deodeok* (*Codonopsis lanceolata* Trautv.) buds. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 50:10-15
- Kim YR, Park JM, Lee HJ, Kim AJ. 2022. Evaluation of the biological activities of different parts of dragon fruit. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 51:1215-1222
- Korean Statistical Information Service [KOSIS]. 2022. Weather overview statistical reports. *Korean Statistical Information Service*. Report 1
- Kraunsoe JAE, Claridge TDW, Lowe G. 1996. Inhibition of human leukocyte and porcine pancreatic elastase by homologues of bovine pancreatic trypsin inhibitor. *Biochemistry* 35:9090-9096
- Lee HG, Choi OY, Choi DB, Choi HS. 2020a. Effect of *deodeok* extract on the skin function improvement. *Korean J Food Nutr* 33:505-511
- Lee JH, Kim JI, Choi HJ, Lee JH. 2014. Anti-wrinkle effect of *Schizandra chinensis* baillon fermented with *Lactobacillus plantarum*. *J Soc Cosmet Sci Korea* 40:365-371
- Lee SO, Lee HJ, Yu MH, Im HG, Lee IS. 2005. Total polyphenol contents and antioxidant activities of methanolic extracts from vegetables produced in Ullung island. *Korean J Food Sci Technol* 37:233-240

- Lee TB, So YK, Kim SY, Hwang JY. 2020b. Biological activities of cosmetic material from ten kinds of flower ethanol extracts. *Korean J Med Crop Sci* 28:260-275
- Ministry of Food and Drug Safety [MFDS]. 2018. Korea food standards codex. Available from [https://www.foodsafetykorea.go.kr/foodcode/01\\_03.jsp?idx=317](https://www.foodsafetykorea.go.kr/foodcode/01_03.jsp?idx=317) [cited 17 November, 2022]
- Park Y, Kim JH, Kim SH. 2017. Nutritional compositions of hybrid kiwi (*Actinidia deliciosa*×*A. arguta*) as honey plant. *J Apic* 32:247-252
- Park YK, Kim SH, Kim CW, Kim JH. 2016. *Actinidia arguta* cultivation technology report. *National Institute of Forest Science*. Report 1 16-4
- Singleton VL, Rossi JA. 1965. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *Am J Enol Vitic* 16:144-158
- Son JY, Ahn GH, Kim EG, Choi ST, Lee DU, Park HW, Lee SC. 2020. Physiological activities of water extracts from sweet persimmon leaves. *Korean J Food Sci Technol* 52: 363-368
- 
- Received 8 December, 2022  
Revised 22 February, 2023  
Accepted 2 March, 2023