

## 제주 자생 식물 추출물의 항산화 및 세포 보호작용에 관한 연구( I )

최정원·김소이·전소미·김진영·양희정·이근하·박수남<sup>†</sup>

서울산업대학교 정밀화학과  
(2006년 8월 1일 접수, 2006년 8월 14일 채택)

### Antioxidative and Cellular Protective Effects of Jeju Native Plant Extracts against Reactive Oxygen Species ( I )

Jung Won Choi, So I Kim, So Mi Jeon, Jin Young Kim, Hee Jung Yang, Keun Ha Lee, and Soo Nam Park<sup>†</sup>

Department of Fine Chemistry, Seoul National University of Technology, 172, Gongneung 2-dong, Nowon-gu,  
Seoul 139-743, Korea

(Received August 1, 2006; Accepted August 14, 2006)

**요약:** 본 연구에서는 제주도에서 자생하는 36종의 식물 추출물에 대한 항산화, 미백 그리고 주름억제 효능을 조사하였다. 항산화 효능은 DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl radical)을 이용한 free radical 소거 활성 측정, luminol-의존성 화학발광법을 이용한  $Fe^{3+}$ -EDTA/ $H_2O_2$  계에서 생성된 활성산소종(ROS)의 소거활성 측정, rose-bengal로 증감된 사람 적혈구의 광용혈법을 이용한 세포보호 효과를 측정하였다. 미백 효능 검색으로 tyrosinase 저해활성 측정과 주름개선 효능검색으로 elastase의 저해 활성을 측정하였다. 그 결과 DPPH의 free radical 소거활성은 소리쟁이 전초(*Rumex crispus* FSC<sub>50</sub>: 10  $\mu$ g/mL)에서 높게 나타났고, 활성산소 소거활성은 질경이 전초(*Plantago asiatica*, OSC<sub>50</sub>: 0.006  $\mu$ g/mL), 소리쟁이 전초(0.04  $\mu$ g/mL), 세포보호활성은 50  $\mu$ g/mL 농도에서 소리쟁이 전초( $\tau_{50}$ : 1,140 min), 후박나무 잎(*Machilus thunbergii*, 216 min) 및 노박덩굴 잎/줄기/꽃(*Celastrus orbiculatus*, 200 min)에서 크게 나타났다. 200  $\mu$ g/mL 농도에서 tyrosinase 저해활성은 뽕나무 줄기(*Morus alba*, 94.8%), elastase의 저해 작용은 소리쟁이 전초(81.8%), 뽕나무 줄기(74.6%), 노박덩굴 잎/줄기/꽃(63.1%)에서 큰 활성이 나타났다. 결론적으로 소리쟁이, 질경이, 후박나무 잎, 뽕나무 줄기 및 노박덩굴 잎/줄기/꽃 추출물은 기능성 화장품 제조를 위한 원료로 사용하기에 충분한 가능성이 있음을 확인할 수 있었다. 향후 제품화를 위하여 좀더 다양한 연구들이 필요하다고 사료된다.

**Abstract:** In this study, we investigated the anti-oxidative, anti-wrinkle and whitening effects of 36 plant extracts collected from self-growing plants in Jeju island. Their anti-oxidant activities were measured by free radical scavenging activity using DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl radical), reactive oxygen species (ROS) scavenging activities on ROS generated in  $Fe^{3+}$ -EDTA/ $H_2O_2$  system using the luminol-dependent chemiluminescence assay, and cell protecting activities using the rose-bengal sensitized photohemolysis of human erythrocytes. In addition, the inhibitory activities of tyrosinase for whitening effect and elastase for anti-wrinkle were investigated. The results showed that the *Rumex crispus* (all grass) extract has the most significant free radical scavenging activity (FSC<sub>50</sub>: 10  $\mu$ g/mL), *Plantago asiatica* and *Rumex crispus* extracts for the prominent ROS scavenging activity (OSC<sub>50</sub>: 0.006  $\mu$ g/mL, 0.04  $\mu$ g/mL respectively), *Rumex crispus* ( $\tau_{50}$ : 1,140 min at 50  $\mu$ g/mL), *Machilus thunbergii* leaf (216 min), and *Celastrus orbiculatus* (200 min) for cell protecting effects, *Morus alba* stem for the inhibitory activity on tyrosinase (94.8% at 200  $\mu$ g/mL), *Rumex crispus* (81.8% at 200  $\mu$ g/mL), *Morus alba* (74.6%), and *Celastrus orbiculatus* leaf/stem/flower (63.1%) for the activity on elastase. These results indicated that the extracts of *Rumex crispus*, *Plantago asiatica*, *Machilus thunbergii* leaf, *Morus alba* stem, *Celastrus orbiculatus* leaf/stem/flower could have the functional effects when they are added as ingredients in cosmetics. Thus, it is concluded that further experiments are needed to apply for cosmetic products.

**Keywords:** ROS, photohemolysis, Jeju island native plants, anti-oxidant, tyrosinase, elastase, cosmetics

<sup>†</sup> 주 저자 (e-mail: snpark@snut.ac.kr)

## 1. 서 론

피부는 항시 산소와 접촉하고 있고 또한 태양 자외선에 계속 노출되게 된다. 따라서 활성산소종(reactive oxygen species, ROS)으로 유도된 광산화적 손상 위험은 실질적으로 증가된다. 활성산소종이란 반응성이 매우 큰  $^1O_2$  및  $\cdot OH$ 를 비롯하여  $O_2^-$ ,  $H_2O_2$ ,  $ROO\cdot$ ,  $RO\cdot$ ,  $ROOH$  및  $HOCl$  등을 포함한다. 생체내에서 생성된  $O_2^-$ 는 생체내 효소인 superoxide dismutase (SOD)에 의해  $H_2O_2$ 로 전환된다. 이  $H_2O_2$ 는 비교적 수명이 길고 세포막들을 쉽게 통과하여 이동할 수 있다.  $O_2^-$ 와  $H_2O_2$ 는 반응성이 약하여 직접적으로 조직손상에 참여하는 경우는 드물지만  $\cdot OH$ 과 같은 반응성이 매우 큰 라디칼종의 생성에 참여한다. 즉,  $O_2^-$ 은  $Fe(III)$ 와 같은 전이금속을 환원시킬 수 있고, 환원된  $Fe(II)$ 은 과산화수소와 반응하여  $\cdot OH$ 을 생성시킨다(Fenton 반응)[1]. 태양 자외선에 피부가 노출되면 노출부위에 철 수준이 증가하고[2,3], 땀에도 라디칼 반응을 촉매할 수 있는 양의 철 및 구리와 같은 전이금속이 존재하는 것으로 알려져 있다[4]. 따라서 Fenton 반응에 의해 생성된  $\cdot OH$ 은 피부 손상 및 노화에 관여할 수 있다.  $\cdot OH$ 과 함께  $^1O_2$ 도 피부 광손상에 있어서 중요한 역할을 하는 것으로 알려져 있다. 이들은 피부 항산화제 파괴, 지질 과산화반응의 개시, 단백질의 산화, DNA 산화, 결합조직 성분인 콜라젠, 히아루론산 등의 사슬 절단 및 비정상적인 교차결합에 의한 주름생성, 멜라닌 생성 과정 등에 참여하는 등 피부노화를 가속화시킨다[5].

$^1O_2$ 은 수명이 짧은 특히 해로운 분자이며, 주로 광증감 반응으로 피부에서 생성되고, 광노화에 있어서 핵심적 역할을 한다. 특히  $^1O_2$ 은  $\cdot OH$ 과 함께 ROS 중에서 반응성이 가장 큰 활성종으로 생체 내에는 이들 활성산소를 제거할 수 있는 효소가 존재하지 않으며 특히 피부노화를 주도하는 것으로 보고되고 있다. 사람 피부 세포에 있어서 지질과산화물의 생성, 단백질 및 DNA 산화 손상뿐만 아니라 UV-A (320~380 nm) 의존성 세포 사멸이나 유전자 활성화에도 활성산소종이 포함되는 것으로 기술되고 있다[6,7]. 콜라젠은 피부 진피층의 매트릭스를 이루는 성분 중 가장 많은 성분이기 때문에 콜라젠의 생합성과 분해의 조절은 피부노화 과정 중에서 핵심이 되고 있다[1,8,9]. 사람 피부 섬유아세포에서  $^1O_2$ 을 비롯한 ROS가 MMPs (matrix metalloproteinases)의 발현을 유발시키며, UVA로 유도된 MMP-1 (collagenase)의 합성을  $^1O_2$ 이 매개할 수 있다는 보고도 있다. 이는 광노화를 방어하고 자외선으로부터 보호제를 개발하는데 있어서  $^1O_2$ 을 비롯한 ROS의 중요한 역할을 시사하는 것이다. ROS가 광노화에 포함되기 때문에[10-12], 항산화제에 의한 자외선 노출 후 ROS의 감소는 피부 광노화를 예방하고 최소화시키기

위한 촉망되는 전략임은 분명하다.

본 연구에서는 제주 자생 식물들에 대한 자료조사에 근거하여 36종의 식물을 선택하고, 이들을 대상으로 피부노화에 가장 큰 영향을 미치는  $\cdot OH$ 과  $^1O_2$ 의 생체내 생성 시스템과 유사한 실험방법( $Fe^{3+}$ -EDTA/ $H_2O_2$ -luminol법, photohemolysis법)을 도입하여 항산화활성을 검색하였다. 또한 tyrosinase 저해활성 및 elastase 저해활성도 측정하여 활성산소에 의한 피부노화를 방지하는데 효과가 있는 기능성화장품소재를 개발하고자 하였다.

## 2. 재료 및 실험

### 2.1. 기기 및 시약

UV-visible spectrophotometer는 Varian (Australia)사의 Cary 50, 적혈구 광용혈에 사용한 Spectronic 20D는 Milton Roy Co. (USA) 제품, 화학발광기는 Berthold사의 6-channel LB9505 LT를 사용하였다. (+)- $\alpha$ -Tocopherol (1,000 IU vitamin E/g), L-ascorbic acid, EDTA, luminol, heparin, 기질로 사용된 L-tyrosine, N-succinyl-(Ala)<sub>3</sub>-p-nitroanilide, 효소로 사용된 tyrosinase (from Mushroom, Sigma, 50,000 units, 12.7 mg solid, 3,960 units/mg solid), elastase (25 mg protein, 72 mL, 0.35 mg protein/mL, 7.8 units/mg protein), 증감제로 사용된 rose-bengal, free radical 소거활성에 사용한 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH)는 Sigma Chemical Co.에서 구입하여 사용하였다. 기타  $FeCl_3 \cdot 6H_2O$ 는 Junsei Chemical Co. 제품을,  $H_2O_2$ 는 Dae Jung Chemicals & Metals 사 제품을 사용하였다. 적혈구 광용혈 실험의 완충용액 제조에 사용된  $Na_2HPO_4 \cdot 12H_2O$ ,  $NaH_2PO_4 \cdot 2H_2O$ , NaCl, tyrosinase 저해활성 측정시의 완충용액 제조에 사용된  $K_2HPO_4$ ,  $KH_2PO_4$ , elastase 저해활성 측정시의 완충용액 제조에 사용된 trizma base, HCl 그리고 에탄올, 메탄올 등 각종 용매는 시판 특급 시약을 사용하였다. 본 연구는 생명공학연구원 내 한국식물추출물은행에서 구입한 제주 자생식물추출물 중 36종에 대하여 실험을 수행하였다(Table 1). 이 식물추출물들은 메탄올(99.9% HPLC용)로 추출 농축한 것이다.

### 2.2. DPPH법을 이용한 Free Radical 소거 활성

프리 라디칼은 노화 특히 피부노화의 원인 물질로 간주되고 있다. 36종의 제주자생 식물 추출물에 대한 free radical 소거활성을 측정하였다. 측정에는 유기 자유 라디칼인 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH)을 이용하였다[13]. 실험방법은 0.2 mM DPPH 메탄올 용액 1 mL에 에탄올 1 mL를 첨가하고 여러 농도의 추출물 1 mL를 첨가하여 섞은 다음 실온에서 10 min 간 방치 후 517 nm에서 흡광도를 측정하였다. 그 활성의 크기는 DPPH (66.7

**Table 1.** 36 Plant Extracts Used for Experiments

No.	Botanical Names (region)	No.	Botanical Names
1	<i>Acalypha australis</i> (all grass)	19	<i>Morus alba</i> (stem)
2	<i>Achyranthes japonica</i> (all grass)	20	<i>Oxalis corniculata</i> (all grass)
3	<i>Angelica dahurica</i> (leaf/flower)	21	<i>Phragmites communis</i> (leaf/stem)
4	<i>Aucuba japonica</i> (leaf)	22	<i>Pittosporum tobira</i> (leaf)
5	<i>Artemisia princeps</i> var. <i>orientalis</i> (all grass)	23	<i>Plantago asiatica</i> (all grass)
6	<i>Celastrus orbiculatus</i> (leaf/stem/flower)	24	<i>Plantago depressa</i> (all grass)
7	<i>Cephaloplos segetum</i> (all grass)	25	<i>Prunus persica</i> (flower)
8	<i>Codonopsis lanceolata</i> (on the ground)	26	<i>Prunus persica</i> (leaf)
9	<i>Ficus carica</i> (leaf)	27	<i>Ranunculus japonicus</i> (all grass)
10	<i>Hedera rhombea</i> (stem)	28	<i>Rumex crispus</i> (all grass)
11	<i>Ilex cornuta</i> (leaf)	29	<i>Senecio vulgaris</i> (all grass)
12	<i>Ilex integra</i> (leaf)	30	<i>Sonchus oleraceus</i> (all grass)
13	<i>Kalopanax pictus</i> (leaf)	31	<i>Trichosanthes kirilowii</i> (leaf/stem)
14	<i>Lespedeza bicolor</i> (stem)	32	<i>Trichosanthes kirilowii</i> var. <i>japonica</i> (seed)
15	<i>Ligularia fischeri</i> (all grass)	33	<i>Trifolium pratense</i> (all grass)
16	<i>Liriope platyphylla</i> (seed)	34	<i>Typha orientalis</i> (leaf/stem)
17	<i>Machilus thunbergii</i> (leaf)	35	<i>Vitex rotundifolia</i> (leaf)
18	<i>Mirabilis jalapa</i> (leaf/stem)	36	<i>Xanthium strumarium</i> (on the ground)

μM)의 농도가 50% 감소되는데 필요한 시료의 농도(free radical scavenging activity, FSC<sub>50</sub>, μg/mL)로서 표기하였다.

**2.3. Luminol 발광법을 이용한 Fe<sup>3+</sup>-EDTA/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 계에 있어서 활성산소 소거 활성**

철이나 구리 같은 전이 금속은 반응성이 가장 큰 hydroxyl radical (·OH)을 생성시키는 촉매로 작용한다. 본 실험에서 사용한 Fe<sup>3+</sup>-EDTA/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 계는 각종 ROS (O<sub>2</sub><sup>-</sup>, ·OH, 그리고 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>)를 생성시킨다. 따라서 이 계를 이용하면 ROS에 대한 총항산화능을 측정할 수 있다. 이 총항산화능에는 활성산소의 생성을 막아주는 킬레이트 작용도 포함될 수 있다. Fe<sup>3+</sup>-EDTA/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 계에서 생성된 활성산소종(O<sub>2</sub><sup>-</sup>, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 및 ·OH)의 검출은 luminol과 ROS 간의 반응을 통한 화학발광을 측정함으로써 알 수 있다 [14-16].

화학발광 측정용 튜브에 증류수 1.78 mL를 넣고 다양한 농도의 추출물을 넣었다. 여기에 2.5 mM EDTA 40 μL 및 5 mM FeCl<sub>3</sub>·6H<sub>2</sub>O 10 μL를 가한 후 35 mM luminol 80 μL를 넣고 흔들어 섞어 주었다. 이어서 화학발광기의 cell holder에 튜브를 넣고 5 min간 항온시킨 후 150 mM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 40 μL 넣고 화학발광을 25 min 간 측정하였다. 대조군(control)은 시료 용액 대신에 증류수를 넣고, 공시험(blank)은 시료군과 조건이 동일하나 과산화수소와 철이온이 들어있지 않은 것으로 하였다. 반응용액 중의 각 시약의 농도는 다음과 같다. [FeCl<sub>3</sub>·6H<sub>2</sub>O] = 25 μM, [EDTA] = 50 μM, [H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>] = 3 mM, [luminol] = 1.4 mM 화학발광기 6-channel LB9505 LT의 각 채널은 실험전에

보정하여 채널간의 차이가 거의 없도록 하였다. 화학발광 측정 저해 정도는 아래의 식과 같이 나타내었고, 활성산소 소거활성의 크기는 화학발광의 세기가 50% 감소되는데 필요한 시료의 농도(reactive oxygen species scavenging activity, OSC<sub>50</sub>, μg/mL)로서 표기하였다.

$$\%저해율 = \frac{\text{Control의 cpm} - \text{sample의 cpm}}{\text{Control의 cpm} - \text{blank의 cpm}} \times 100$$

**2.4. Photohemolysis법을 이용한 세포보호효과 측정**

사람 적혈구를 대상으로 활성산소에 의한 세포막과 파괴 실험은 활성산소에 의한 세포손상 모델로 적합한 점이 많다. 이 실험법을 이용하여, 천연물을 대상으로 활성산소에 의한 세포 손상(또는 파괴)에 대한 보호 효과를 측정할 수 있다.

**2.4.1. 적혈구 현탁액 제조**

적혈구는 건강한 성인 남녀로부터 얻었다. 채혈 즉시 heparin이 첨가된 시험관에 넣은 후, 3,000 rpm에서 5 min간 원심분리하여 적혈구와 혈장을 분리하고, 분리한 적혈구는 0.9% saline phosphate buffer (pH 7.4, Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>·12H<sub>2</sub>O 9.6 mM, NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>·2H<sub>2</sub>O 1.6 mM)으로 세척하여 원심분리하고 흰색의 백혈구층은 제거하였다. 3회 반복하여 세척, 분리한 적혈구는 4℃의 냉장고에 보관하면서 사용하였고, 모든 실험은 채혈 후 12 h 이내에 행하였다. 광용혈 실험은 이미 확립된 방법에 따라 수행하였다. 실험에 사용된 적혈구 현탁액은 700 nm에서 O.D.가 0.6이

었으며 이 때 적혈구 수는  $1.5 \times 10^7$  cells/mL이었다 [5,17].

#### 2.4.2. 36종의 제주자생 식물추출물의 광용혈 억제효과

$1.5 \times 10^7$  cells/mL 적혈구 현탁액 3.5 mL를 파이렉스 시험관(No. 9820)에 넣은 후, 시료 용액을 첨가하였다. 추출물을 각각 50  $\mu$ L씩 첨가하였다. 암소에서 30 min간 pre-incubation시킨 후, 광증감제로 rose-bengal (12  $\mu$ M) 0.5 mL를 가하고 파라필름(Whatman laboratory sealing film)으로 입구를 봉한 후 15 min간 광조사 하였다.

광용혈에 필요한 광조사는 내부를 검게 칠한 50 cm  $\times$  20 cm  $\times$  25 cm 크기의 상자 안에 20 W 형광등을 장치하고, 형광등으로부터 5 cm 거리에 적혈구 현탁액이 담긴 파이렉스 시험관을 형광등과 평행이 되도록 배열한 후 15 min간 광을 조사하였다. 광조사가 끝난 후 암반응(post-incubation) 시간에 따른 적혈구의 파괴정도를 15 min 간격으로 700 nm에서 투광도(% transmittance)로부터 구하였다. 이 과정에서 적혈구 현탁액의 투광도의 증가는 적혈구의 용혈정도에 비례한다. 모든 실험은 20°C 항온실에서 행하였다. 천연추출물의 광용혈에 미치는 효과는 post-incubation 시간과 용혈 정도로 구성된 그래프로부터 적혈구의 50%가 용혈되는 시간인  $\tau_{50}$ 을 구하여 비교하였다.

대조군(control)은  $\tau_{50}$ 이 32 min으로 오차 범위  $\pm 1$  min 이내로 모든 경우의 실험에서 재현성이 양호하게 나타났다. Rose-bengal을 첨가하고 광조사를 안했을 경우와 rose-bengal을 첨가하지 않고 광조사만 했을 경우는 모두 암반응 120 min까지는 용혈이 거의 일어나지 않았다. 모든 실험은 3회 반복하여 평균하였다.

#### 2.5. Tyrosinase 저해활성 측정

L-Tyrosine으로부터 멜라닌 생성과정에는 tyrosinase가 핵심효소로 작용한다. 따라서 tyrosinase의 저해활성은 미백활성을 측정하는데 매우 중요하다. 다음의 용액을 혼합한 후 37°C에서 10 min간 항온 배양하였다.

L-Tyrosine (0.3 mg/mL) : 1.0 mL

Potassium phosphate buffer (0.1 M, pH 6.8) : 1.9 mL

Test solution (plant extract) : 0.1 mL

0.1 mL Tyrosinase 용액(1,250 units/mL)을 반응혼합물에 가하고 37°C에서 10 min간 항온 배양한 다음, 반응혼합물을 얼음 수조에 넣어 반응을 종결시키고, 475 nm에서 흡광도를 측정하였다. Tyrosinase를 첨가하지 않은 군을 공시험 군으로 하여 효소활성저해를 계산하였다. 활성의 크기는 0.1 mL tyrosinase (1,250 units/mL)의 활성을 50% 감소시키는데 필요한 시료의 농도(IC<sub>50</sub>,  $\mu$ g/mL)로 표기하였다.

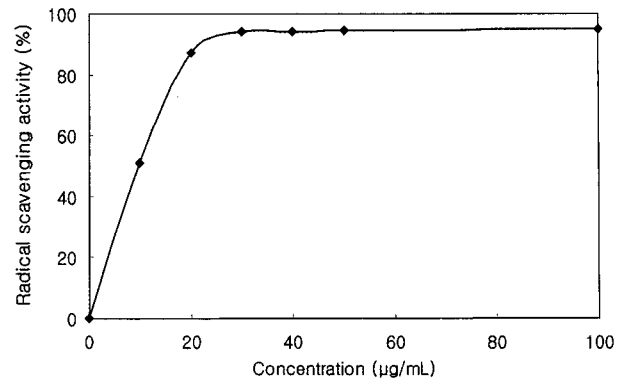


Figure 1. Free radical scavenging activity of extract of *Rumex crispus* (all grass).

#### 2.6. Elastase 저해활성 측정

피부노화 특히 주름생성에는 활성산소에 의한 작용과 matrix metalloproteinases (MMPs : collagenase, elastase 등)에 의한 결합조직 파괴가 원인이다. 따라서 MMPs의 저해활성 측정은 피부노화 억제에 대단히 중요하다.

Tris-Cl (pH 8.0) 0.12 M에 N-succinyl-(Ala)<sub>3</sub>-p-nitroanilide 1.0 mM이 용해된 buffer 1,300  $\mu$ L에, 측정 시료용액 100  $\mu$ L를 첨가하여 25°C에서 10 min간 pre-incubation한 뒤 여기에 elastase 용액을 100  $\mu$ L 첨가(최종 농도 0.0025 U/mL)하여 25°C 수욕 상에서 10 min간 항온배양 한 뒤 410 nm에서 흡광도를 측정하였다. 대조군은 시료 대신 시료용액으로 사용된 용매를 100  $\mu$ L 첨가하였다. Blank는 N-succinyl-(Ala)<sub>3</sub>-p-nitroanilide가 용해된 완충용액 대신 0.12 M tris-Cl buffer 1,300  $\mu$ L를 첨가하며, 실험군과 동일한 농도의 시료를 첨가하였다.

### 3. 결 과

#### 3.1. DPPH법을 이용한 Free Radical 소거 활성

본 실험에 사용한 36가지 제주자생 식물추출물의 프리라디칼 소거활성(FSC<sub>50</sub>)은 Figure 1에서의 *Rumex crispus* (소리쟁이 전초)추출물의 경우에서 알 수 있듯이, 시료 농도에 따른 라디칼 소거활성 도표로부터 구하였다.

측정된 36개의 추출물에 대한 프리라디칼 소거활성을 Table 2에 정리하였다. 비교적 프리라디칼 소거활성이 큰 추출물(FSC<sub>50</sub>: 50  $\mu$ g/mL이하)은 소리쟁이 전초(*Rumex crispus*), 털질경이 전초(*Plantago depressa*), 깨풀 전초(*Acalypha australis*) 등 6종이었고, 특히 소리쟁이전초 추출물은 프리라디칼 소거활성이 크게 나타났다(FSC<sub>50</sub>: 10  $\mu$ g/mL). 비교물질로 사용한 항산화제인 (+)- $\alpha$ -tocopherol 및 L-ascorbic acid의 FSC<sub>50</sub>은 각각 5.8 및 1.5  $\mu$ g/mL이었다.

**Table 2.** Free Radical Scavenging Activities of 36 Jeju Native Plant Extracts

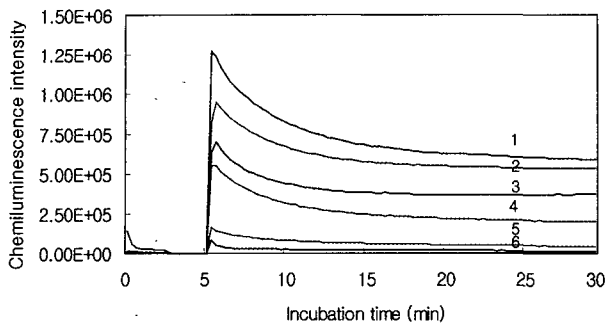
No.	Botanical Names	DPPH (FSC <sub>50</sub> , µg/mL)
1	<i>Acalypha australis</i> (all grass)	22
2	<i>Achyranthes japonica</i> (all grass)	> 400
3	<i>Angelica dahurica</i> (leaf/flower)	-
4	<i>Aucuba japonica</i> (leaf)	430
5	<i>Artemisia princeps</i> var. <i>orientalis</i> (all grass)	40
6	<i>Celastrus orbiculatus</i> (leaf/stem/flower)	54
7	<i>Cephalanoplos segetum</i> (all grass)	64
8	<i>Codonopsis lanceolata</i> (on the ground)	48
9	<i>Ficus carica</i> (leaf)	290
10	<i>Hedera rhombea</i> (stem)	128
11	<i>Ilex cornuta</i> (leaf)	100
12	<i>Ilex integra</i> (leaf)	131
13	<i>Kalopanax pictus</i> (leaf)	54
14	<i>Lepedeza bicolor</i> (stem)	88
15	<i>Ligularia fischeri</i> (all grass)	177
16	<i>Liriope platyphylla</i> (fruit)	135
17	<i>Machilus thunbergii</i> (leaf)	34
18	<i>Mirabilis jalapa</i> (leaf/stem)	150
19	<i>Morus alba</i> (stem)	120
20	<i>Oxalis corniculata</i> (all grass)	108
21	<i>Phragmites communis</i> (leaf/stem)	215
22	<i>Pittosporum tobira</i> (leaf)	> 250
23	<i>Plantago asiatica</i> (all grass)	62
24	<i>Plantago depressa</i> (all grass)	19
25	<i>Prunus persica</i> (flower)	77
26	<i>Prunus persica</i> (leaf)	189
27	<i>Ranunculus japonicus</i> (all grass)	242
28	<i>Rumex crispus</i> (all grass)	10
29	<i>Senecio vulgaris</i> (all grass)	141
30	<i>Sonchus oleraceus</i> (all grass)	348
31	<i>Trichosanthes kirilowii</i> (leaf/stem)	181
32	<i>Trichosanthes kirilowii</i> var. <i>japonica</i> (seed)	250
33	<i>Trifolium pratense</i> (all grass)	398
34	<i>Typha orientalis</i> (leaf/stem)	90
35	<i>Vitex rotundifolia</i> (leaf)	91
36	<i>Xanthium strumarium</i> (on the ground)	76
Standard	(+)- $\alpha$ -Tocopherol	5.8
Standard	L-Ascorbic acid	1.5

3.2. Luminol 발광법을 이용한 Fe<sup>3+</sup>-EDTA/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 계에 있어서 활성산소 소거활성

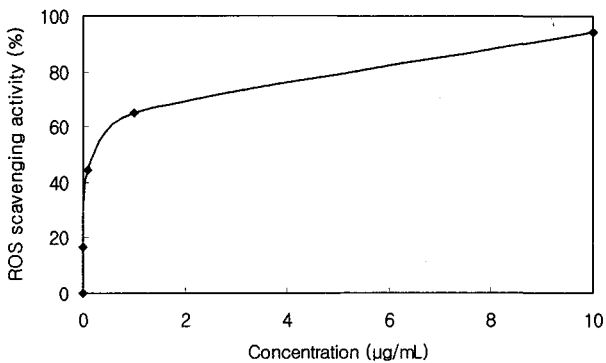
Figure 2 및 Figure 3은 Luminol-화학발광법을 이용하여, 후박나무 잎(*Machilus thunbergii*) 추출물의 농도에 따른 Fe<sup>3+</sup>-EDTA/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 계에서 생성된 ROS의 소거작용 즉 총항산화능(활성산소 소거활성, OSC<sub>50</sub>)을 보여주고 있다. 즉 후박나무 잎 추출물은 0.01 µg/mL, 0.1 µg/mL, 1 µg/mL, 10 µg/mL의 농도범위에서 농도-의존적으로 화학발광을 감소시켰다(Figure 2). 이로부터 활성산소종을 소거하는데 필요한 시료의 농도(OSC<sub>50</sub>)는 0.3 µg/mL로 구해졌다(Figure 3). 이와 같은 방법으로 36종의 식물 추출물을 대상으로 실험한 결과가 Table 3에 나와 있다. 36종의 식물 추출물들의 총항산화능은 DPPH법에서의 프리라디칼 소거활성보다도 훨씬 큰 활성을 나타내었다. 특히 비교군으로 사용한 비타민 C (ascorbic acid)보다도 총항산화능 효과가 크면서 OSC<sub>50</sub>가 0.1 µg/mL 이하인 것이 5개나 되었다(*Pittosporum tobira*, *Aucuba japonica*, *Plantago asiatica*, *Oxalis corniculata*, *Rumex crispus*). 이 중에서 질경이 전초(OSC<sub>50</sub> : 0.006 µg/mL) 및 소리쟁이 전초(OSC<sub>50</sub> : 0.04 µg/mL)는 특히 총항산화능이 매우 큼을 알 수 있다. 비교 물질로 사용한 천연항산화제인 (+)- $\alpha$ -tocopherol과 L-ascorbic acid의 OSC<sub>50</sub>는 각각 3.9 및 0.9 µg/mL이었다.

3.3. <sup>1</sup>O<sub>2</sub>으로 유도된 사람 적혈구의 용혈에 대한 세포보호활성

활성산소에 대한 추출물의 세포보호활성은 rose-bengal 존재 하에서 사람 적혈구 현탁액에 15 min 광조사후, <sup>1</sup>O<sub>2</sub> 등 활성산소종으로 유도된 용혈 정도를 암반응 시간에 따라 측정함으로써 구할 수 있었다. 대조군의 경우 적혈구 세포가 50% 용혈되는데 걸리는 시간( $\tau_{50}$ )은 32 min으로 나타났다. Rose-bengal 없이 광조사만 한 경우나 광조사 없이 rose-bengal만 현탁액에 넣은 경우는 암반응 120 min까지 용혈 현상을 거의 볼 수 없었다. 식물 추출물은 세포보호활성이 클수록  $\tau_{50}$ 이 크게 나타났다. <sup>1</sup>O<sub>2</sub>으로 유도된 사람 적혈구의 광용혈에 대한 식물 추출물들의 세포보호효과 측정 결과가 Figure 4에 나와 있다. 추출물 50 µg/mL의 농도에서 소리쟁이 전초(*Rumex crispus*) > 후박나무 잎(*Machilus thunbergii*) > 노박덩굴 잎/줄기/꽃(*Celastrus orbiculatus*) > 뽕나무 줄기(*Morus alba*) > 싸리 줄기(*Lepedeza bicolor*) > 부들 잎/줄기(*Typha orientalis*) > 붉은토끼풀 전초(*Trifolium pratense*) 추출물 순으로 광용혈에 대한 세포보호효과가 큼을 보여주고 있다. 이와 같이 50 µg/mL의 농도에서 측정된 36개 식물 추출물의 활성산소에 대한 세포보호효과( $\tau_{50}$ )가 Table 4에 나와 있다. Table 4에서 볼 수 있듯이, 소리쟁이 전초



**Figure 2.** Reactive oxygen species scavenging activity of *Machilus thunbergii* (leaf) in Fe<sup>3+</sup>-EDTA/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> system by luminol-dependent chemiluminescence assay. [FeCl<sub>3</sub> · 6H<sub>2</sub>O] = 25 μM, [EDTA] = 50 μM, [H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>] = 3 mM, [luminol] = 1.4 mM, concentrations of *Machilus thunbergii* (leaf) ; 1 : control, 2 : 0.01 μg/mL, 3 : 0.1 μg/mL, 4 : 1 μg/mL, 5 : 10 μg/mL, 6 : blank.



**Figure 3.** Reactive oxygen species scavenging activity of *Machilus thunbergii* (leaf) in Fe<sup>3+</sup>-EDTA/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> system by luminol-dependent chemiluminescence assay.

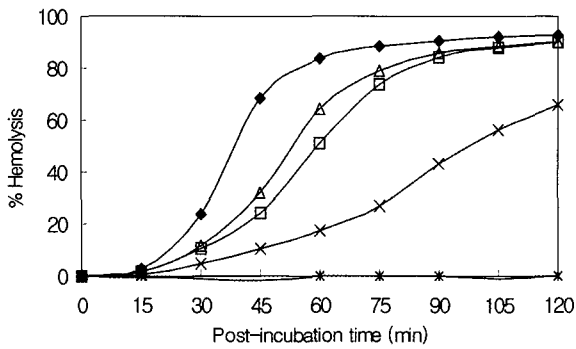
(*Rumex crispus*), 후박나무 잎(*Machilus thunbergii*)은 세포보호활성이 매우 크게 나타났다. 비교 물질로 사용한 천연 항산화제인 (+)-α-tocopherol의 τ<sub>50</sub>은 79 min이었다.

**3.4. Tyrosinase 저해 활성**

멜라닌 생성에 있어서 핵심효소는 tyrosinase이다. 이 효소는 타이로신으로부터 시작되는 멜라닌 생합성 과정 중, 티로신에서 DOPA, DOPA에서 DOPAquinone, 그리고 DHI로부터 eumelanin으로의 전환을 촉매 하는데 관여한다. 따라서 tyrosinase의 활성 억제작용은 미백용 화장품 원료로서 필히 갖추어야할 항목이 되고 있다. Table 5와 Figure 5는 36개 식물 추출물들의 tyrosinase 활성 저해 효과를 보여주고 있다. 이들 36개 추출물 중에서 6가지 즉, 뽕나무 줄기(*Morus alba*), 더덕 지상부(*Codonopsis lanceolata*), 노박덩굴 잎/줄기/꽃(*Celastrus orbiculatus*),

**Table 3.** Reactive Oxygen Species Scavenging Activities of 36 Jeju Native Plant Extracts

No.	Botanical Names (region)	Chemiluminescence (OSC <sub>50</sub> , μg/mL × 10 <sup>-2</sup> )
1	<i>Acalypha australis</i> (all grass)	30
2	<i>Achyranthes japonica</i> (all grass)	1,000
3	<i>Angelica dahurica</i> (leaf/flower)	500
4	<i>Aucuba japonica</i> (leaf)	10
5	<i>Artemisia princeps</i> var. orientalis (all grass)	50
6	<i>Celastrus orbiculatus</i> (leaf/stem/flower)	65
7	<i>Cephalanoplos segetum</i> (all grass)	400
8	<i>Codonopsis lanceolata</i> (on the ground)	32
9	<i>Ficus carica</i> (leaf)	220
10	<i>Hedera rhombea</i> (stem)	45
11	<i>Ilex cornuta</i> (leaf)	35
12	<i>Ilex integra</i> (leaf)	400
13	<i>Kalopanax pictus</i> (leaf)	30
14	<i>Lespedeza bicolor</i> (stem)	260
15	<i>Ligularia fischeri</i> (all grass)	70
16	<i>Liriope platyphylla</i> (fruit)	300
17	<i>Machilus thunbergii</i> (leaf)	30
18	<i>Mirabilis jalapa</i> (leaf/stem)	60
19	<i>Morus alba</i> (stem)	14
20	<i>Oxalis corniculata</i> (all grass)	10
21	<i>Phragmites communis</i> (leaf/stem)	350
22	<i>Pittosporum tobira</i> (leaf)	8
23	<i>Plantago asiatica</i> (all grass)	0.6
24	<i>Plantago depressa</i> (all grass)	65
25	<i>Prunus persica</i> (flower)	200
26	<i>Prunus persica</i> (leaf)	50
27	<i>Ranunculus japonicus</i> (all grass)	60
28	<i>Rumex crispus</i> (all grass)	4
29	<i>Senecio vulgaris</i> (all grass)	70
30	<i>Sonchus oleraceus</i> (all grass)	80
31	<i>Trichosanthes kirilowii</i> (leaf/stem)	95
32	<i>Trichosanthes kirilowii</i> var. japonica (seed)	80
33	<i>Trifolium pratense</i> (all grass)	20
34	<i>Typha orientalis</i> (leaf/stem)	70
35	<i>Vitex rotundifolia</i> (leaf)	40
36	<i>Xanthium strumarium</i> (on the ground)	80
Standard	(+)-α-Tocopherol	390
Standard	L-Ascorbic acid	90



**Figure 4.** Effect of 4 plant extracts on the rose-bengal sensitized photohemolysis of human erythrocytes. Irradiation time: 15 min, preincubation time: 30 min, [rose-bengal] = 12  $\mu$ M, concentration of extract: 50  $\mu$ g/mL, ◆-◆: control,  $\Delta$ - $\Delta$ : *Prunus persica* (flower),  $\square$ - $\square$ : *Xanthium strumarium* (on the ground),  $\times$ - $\times$ : *Oxalis corniculata* (all grass), ※-※: *Rumex crispus* (all grass).

싸리 줄기(*Lespedeza bicolor*), 부들 잎/줄기(*Typha orientalis*), 소리쟁이 전초(*Rumex crispus*)는 200  $\mu$ g/mL 농도에서 비교적 큰 저해 활성을 보여주었다. 특히 이 중에서 뽕나무 줄기(94.8%), 더덕 지상부(50.3%), 추출물에서 tyrosinase 저해활성이 크게 나타났다. 하지만 식나무 잎, 읍나무 잎 및 팽이밥 전초(*Aucuba japonica*, *Kalopanax pictus*, *Oxalis corniculata*)에서는 저해활성이 전혀 나타나지 않았다.

기능성화장품의 미백제로 잘 알려진 arbutin을 비교 물질로 사용한 경우, 100  $\mu$ g/mL 및 200  $\mu$ g/mL의 농도에서 tyrosinase 저해활성은 각각 20 및 70%를 나타내었다.

**3.5. Elastase 저해 활성**

자외선 및 활성산소 등에 의해 유발되는 피부 진피층에 존재하는 matrix-metalloproteinase (MMPs)는 피부노화 특히 주름생성과 밀접한 관계가 있다. MMPs를 이루는 주요 성분으로 collagenase, gelatinase 및 elastase 등이 있다. 피부의 탄력감소 및 주름생성에서의 elastase의 활성은 매우 중요하다. Table 6과 Figure 6은 36개의 식물 추출물들의 elastase 활성 억제효과를 보여주고 있다. Elastase 저해활성은 소리쟁이 전초(*Rumex crispus*) > 뽕나무 줄기(*Morus alba*) > 노박덩굴 잎/줄기/꽃(*Celastrus orbiculatus*) > 부들 잎/줄기(*Typha orientalis*) 순서로 다른 추출물에 비해 큰 저해활성이 크게 나타났다. 특히 소리쟁이 전초 추출물은 200  $\mu$ g/mL 농도에서 81.8%의 elastase 저해활성을 나타내었다.

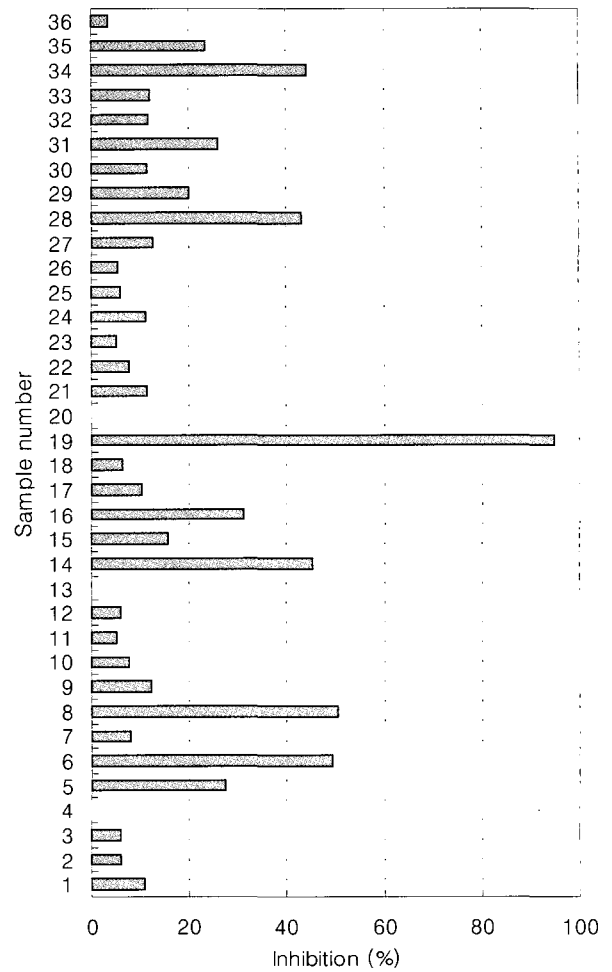
기능성화장품의 주름개선제로 잘 알려진 빈랑자(*Areca catechu* L.) 추출물을 비교 물질로 사용한 경우, 50  $\mu$ g/mL의 농도에서 elastase 저해활성은 약 84%를 나타내었다.

**Table 4.** Effects of 36 Jeju Native Plant Extracts and Reference Compounds on the Rose-bengal Sensitized Photohemolysis of Human Erythrocytes (Concentration : 50  $\mu$ g/mL)

No.	Botanical Names	Photohemolysis $t_{50}$ (min)
1	<i>Acalypha australis</i> (all grass)	56
2	<i>Achyranthes japonica</i> (all grass)	41
3	<i>Angelica dahurica</i> (leaf/flower)	52
4	<i>Aucuba japonica</i> (leaf)	28
5	<i>Artemisia princeps</i> var. <i>orientalis</i> (all grass)	75
6	<i>Celastrus orbiculatus</i> (leaf/stem/flower)	200
7	<i>Cephalonoplos segetum</i> (all grass)	38
8	<i>Codonopsis lanceolata</i> (on the ground)	52
9	<i>Ficus carica</i> (leaf)	75
10	<i>Hedera rhombea</i> (stem)	68
11	<i>Ilex cornuta</i> (leaf)	71
12	<i>Ilex integra</i> (leaf)	36
13	<i>Kalopanax pictus</i> (leaf)	39
14	<i>Lespedeza bicolor</i> (stem)	160
15	<i>Ligularia fischeri</i> (all grass)	72
16	<i>Liriope platyphylla</i> (fruit)	34
17	<i>Machilus thunbergii</i> (leaf)	216
18	<i>Mirabilis jalapa</i> (leaf/stem)	34
19	<i>Morus alba</i> (stem)	180
20	<i>Oxalis corniculata</i> (all grass)	98
21	<i>Phragmites communis</i> (leaf/stem)	43
22	<i>Pittosporum tobira</i> (leaf)	8
23	<i>Plantago asiatica</i> (all grass)	26
24	<i>Plantago depressa</i> (all grass)	39
25	<i>Prunus persica</i> (flower)	55
26	<i>Prunus persica</i> (leaf)	30
27	<i>Ranunculus japonicus</i> (all grass)	24
28	<i>Rumex crispus</i> (all grass)	1,140
29	<i>Senecio vulgaris</i> (all grass)	39
30	<i>Sonchus oleraceus</i> (all grass)	25
31	<i>Trichosanthes kirilowii</i> (leaf/stem)	69
32	<i>Trichosanthes kirilowii</i> var. <i>japonica</i> (seed)	62
33	<i>Trifolium pratense</i> (all grass)	118
34	<i>Typha orientalis</i> (leaf/stem)	144
35	<i>Vitex rotundifolia</i> (leaf)	31
36	<i>Xanthium strumarium</i> (on the ground)	60
Standard	(+)- $\alpha$ -Tocopherol	79
Control		32

**Table 5.** Inhibitory Activities of 36 Jeju Native Plant Extracts on Tyrosinase (Concentration : 200 µg/mL)

No.	Botanical Names	Inhibition (%)
1	<i>Acalypha australis</i> (all grass)	10.7
2	<i>Achyranthes japonica</i> (all grass)	6.0
3	<i>Angelica dahurica</i> (leaf/flower)	6.0
4	<i>Aucuba japonica</i> (leaf)	-7.6
5	<i>Artemisia princeps</i> var. <i>orientalis</i> (all grass)	27.2
6	<i>Celastrus orbiculatus</i> (leaf/stem/flower)	49.2
7	<i>Cephalonoplos segetum</i> (all grass)	8.0
8	<i>Codonopsis lanceolata</i> (on the ground)	50.3
9	<i>Ficus carica</i> (leaf)	12.2
10	<i>Hedera rhombea</i> (stem)	7.8
11	<i>Ilex cornuta</i> (leaf)	5.2
12	<i>Ilex integra</i> (leaf)	6.1
13	<i>Kalopanax pictus</i> (leaf)	-1.0
14	<i>Lespedeza bicolor</i> (stem)	45.4
15	<i>Ligularia fischeri</i> (all grass)	15.6
16	<i>Liriope platyphylla</i> (fruit)	31.0
17	<i>Machilus thunbergii</i> (leaf)	10.2
18	<i>Mirabilis jalapa</i> (leaf/stem)	6.2
19	<i>Morus alba</i> (stem)	94.8
20	<i>Oxalis corniculata</i> (all grass)	-6.0
21	<i>Phragmites communis</i> (leaf/stem)	11.4
22	<i>Pittosporum tobira</i> (leaf)	7.6
23	<i>Plantago asiatica</i> (all grass)	5.2
24	<i>Plantago depressa</i> (all grass)	11.2
25	<i>Prunus persica</i> (flower)	6.0
26	<i>Prunus persica</i> (leaf)	5.5
27	<i>Ranunculus japonicus</i> (all grass)	12.6
28	<i>Rumex crispus</i> (all grass)	42.9
29	<i>Senecio vulgaris</i> (all grass)	20.0
30	<i>Sonchus oleraceus</i> (all grass)	11.5
31	<i>Trichosanthes kirilowii</i> (leaf/stem)	26.0
32	<i>Trichosanthes kirilowii</i> var. <i>japonica</i> (seed)	11.7
33	<i>Trifolium pratense</i> (all grass)	11.9
34	<i>Typha orientalis</i> (leaf/stem)	44.3
35	<i>Vitex rotundifolia</i> (leaf)	23.3
36	<i>Xanthium strumarium</i> (on the ground)	3.5
Standard	Arbutin (100 µg/mL)	20.0
Standard	Arbutin (200 µg/mL)	70.0



**Figure 5.** Inhibitory activities of 36 Jeju native plant extracts on tyrosinase (concentration : 200 µg/mL).

#### 4. 결 론

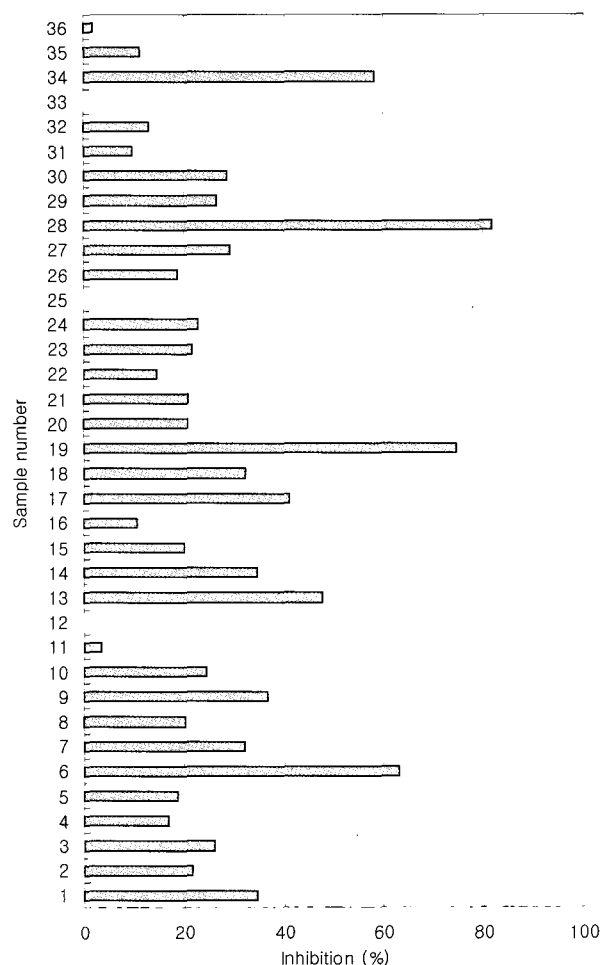
제주 자생식물 추출물에 대한 항산화 활성, 세포보호작용, tyrosinase 저해활성, elastase 저해활성을 측정하였다. - 식물 추출물의 프리라디칼 소거활성(FSC<sub>50</sub>) 측정 결과, 비교적 프리라디칼 소거활성이 큰 추출물(FSC<sub>50</sub>: 50 µg/mL이하)로는 소리쟁이 전초(*Rumex crispus*), 털질경이 전초(*Plantago depressa*), 깨풀 전초(*Acalypha australis*) 등 6종이었고, 그 중 소리쟁이 전초 추출물에서 큰 프리라디칼 소거활성을 보여주었다(FSC<sub>50</sub>: 10 µg/mL). 비교물질로 사용한 항산화제인 (+)- $\alpha$ -tocopherol 및 L-ascorbic acid의 FSC<sub>50</sub>은 각각 5.8 및 1.5 µg/mL이었다.

(1) Fe<sup>3+</sup>-EDTA/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 계를 이용한 총항산화능 측정결과 비교군으로 사용한 비타민 C (ascorbic acid)보다도 총항산화능 효과가 크고 OSC<sub>50</sub>가 0.1 µg/mL 이하인 것이 5개나 되었다(*Pittosporum tobira*(돈나무 잎), *Aucuba*



**Table 6.** Inhibitory Activity of 36 Jeju Native Plant Extracts on Elastase (Concentration : 200 µg/mL)

No.	Botanical Names	Inhibition (%)
1	<i>Acalypha australis</i> (all grass)	34.6
2	<i>Achyranthes japonica</i> (all grass)	21.7
3	<i>Angelica dahurica</i> (leaf/flower)	25.9
4	<i>Aucuba japonica</i> (leaf)	16.9
5	<i>Artemisia princeps</i> var. <i>orientalis</i> (all grass)	18.7
6	<i>Celastrus orbiculatus</i> (leaf/stem/flower)	63.1
7	<i>Cephalonoplos segetum</i> (all grass)	32.0
8	<i>Codonopsis lanceolata</i> (on the ground)	20.3
9	<i>Ficus carica</i> (leaf)	36.6
10	<i>Hedera rhombea</i> (stem)	24.4
11	<i>Ilex cornuta</i> (leaf)	3.5
12	<i>Ilex integra</i> (leaf)	-1.7
13	<i>Kalopanax pictus</i> (leaf)	47.7
14	<i>Lespedeza bicolor</i> (stem)	34.6
15	<i>Ligularia fischeri</i> (all grass)	20.0
16	<i>Liriope platyphylla</i> (fruit)	10.6
17	<i>Machilus thunbergii</i> (leaf)	41.2
18	<i>Mirabilis jalapa</i> (leaf/stem)	32.2
19	<i>Morus alba</i> (stem)	74.6
20	<i>Oxalis corniculata</i> (all grass)	20.8
21	<i>Phragmites communis</i> (leaf/stem)	20.8
22	<i>Pittosporum tobira</i> (leaf)	14.6
23	<i>Plantago asiatica</i> (all grass)	21.6
24	<i>Plantago depressa</i> (all grass)	23.0
25	<i>Prunus persica</i> (flower)	0.3
26	<i>Prunus persica</i> (leaf)	18.7
27	<i>Ranunculus japonicus</i> (all grass)	29.2
28	<i>Rumex crispus</i> (all grass)	81.8
29	<i>Senecio vulgaris</i> (all grass)	26.5
30	<i>Sonchus oleraceus</i> (all grass)	28.7
31	<i>Trichosanthes kirilowii</i> (leaf/stem)	9.6
32	<i>Trichosanthes kirilowii</i> var. <i>japonica</i> (seed)	13.1
33	<i>Trifolium pratense</i> (all grass)	-
34	<i>Typha orientalis</i> (leaf/stem)	58.0
35	<i>Vitex rotundifolia</i> (leaf)	11.3
36	<i>Xanthium strumarium</i> (on the ground)	1.7
Standard	<i>Areca catechu</i> L.(50 µg/mL)	83.9



**Figure 6.** Inhibitory activities of 36 Jeju native plant extracts on elastase (concentration : 200 µg/mL).

*japonica* (식나무 잎), *Plantago asiatica* (질경이 전초), *Oxalis corniculata* (괘이밥 전초), *Rumex crispus* (소리쟁이 전초)). 이 중에서 질경이 전초(OSC<sub>50</sub> : 0.006 µg/mL) 및 소리쟁이 전초(OSC<sub>50</sub> : 0.04 µg/mL)는 특히 총항산화능이 매우 큼을 알 수 있다. 비교 물질로 사용한 천연항산화제인 (+)- $\alpha$ -tocopherol과 L-ascorbic acid의 OSC<sub>50</sub>는 각각 3.9 및 0.9 µg/mL이었다.

(2) 사람 적혈구를 대상으로 한 활성산소에 대한 세포 보호활성 측정결과, 추출물 50 µg/mL의 농도에서 소리쟁이 전초(*Rumex crispus*) > 후박나무 잎(*Machilus thunbergii*) > 노박덩굴 잎/줄기/꽃(*Celastrus orbiculatus*) > 뽕나무 줄기(*Morus alba*) > 싸리 줄기(*Lespedeza bicolor*) > 부들 잎/줄기(*Typha orientalis*) > 붉은토끼풀 전초(*Trifolium pratense*) 추출물 순으로 광용혈에 대한 세포보호효과가 큼을 보여주고 있다. 특히 소리쟁이 전초(*Rumex crispus*,  $\tau_{50}$  : 1,140 min), 후박나무 잎(*Machilus thun-*

*bergii*,  $\tau_{50}$  : 216 min)는 세포보호활성이 매우 크게 나타났다. 비교 물질로 사용한 천연 항산화제인 (+)- $\alpha$ -tocopherol의  $\tau_{50}$ 은 79 min이었다.

(3) Tyrosinase 저해 활성은 뽕나무 줄기(*Morus alba*), 더덕 지상부(*Codonopsis lanceolata*), 노박덩굴 잎/줄기/꽃(*Celastrus orbiculatus*), 싸리 줄기(*Lespedeza bicolor*), 부들 잎/줄기(*Typha orientalis*), 소리쟁이 전초(*Rumex crispus*)은 200  $\mu\text{g}/\text{mL}$  농도에서 40% 이상의 억제효과를 보여주었다. 특히 이중에서 뽕나무 줄기(*Morus alba*, 94.8%), 더덕 지상부(*Codonopsis lanceolata*, 50.3%) 추출물에서 tyrosinase 저해활성이 크게 나타났다. 기능성화장품의 미백제로 잘 알려진 arbutin을 비교 물질로 사용한 경우, 200  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 의 농도에서 tyrosinase 저해활성은 70%를 나타내었다.

(4) Elastase 저해 활성은 소리쟁이 전초(*Rumex crispus*, 81.8%) > 뽕나무 줄기(*Morus alba*, 74.6%) > 노박덩굴 잎/줄기/꽃(*Celastrus orbiculatus*, 63.1%) > 부들 잎/줄기(*Typha orientalis*, 58.0%) 순서로 다른 추출물에 비해 큰 저해활성이 크게 나타났다. 특히 소리쟁이전초 추출물은 빈랑자(*Areca catechu* L.) 50  $\mu\text{g}/\text{mL}$  농도에서와 비슷한 효과(elastase 저해활성; 84%)를 나타냈다.

항산화능 평가결과를 종합하면, 프리라디칼 소거활성; 소리쟁이 전초(*Rumex crispus*,  $\text{FSC}_{50}$ : 10  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ), 총항산화 능력; 질경이 전초( $\text{OSC}_{50}$  : 0.006  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) 및 소리쟁이 전초( $\text{OSC}_{50}$  : 0.04  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ), 세포보호활성; 소리쟁이 전초(*Rumex crispus*,  $\tau_{50}$  : 1,140 min), 후박나무 잎(*Machilus thunbergii*,  $\tau_{50}$  : 216 min) 추출물에서 큰 활성이 나타났고, tyrosinase의 저해활성은 뽕나무 줄기(*Morus alba*, 94.8%), 더덕 지상부(*Codonopsis lanceolata*, 50.3%) 추출물, elastase의 저해활성은 소리쟁이 전초(*Rumex crispus*, 81.8%), 뽕나무 줄기(*Morus alba*, 74.6%), 노박덩굴 잎/줄기/꽃(*Celastrus orbiculatus*, 63.1%), 부들 잎/줄기(*Typha orientalis*, 58.0%) 추출물에 큰 활성을 나타냈다.

상기의 7종의 식물 추출물(소리쟁이 전초, 질경이 전초, 후박나무 잎, 뽕나무 줄기, 더덕 지상부, 노박덩굴 잎/줄기/꽃, 부들 잎/줄기)을 대상으로 화장품 원료로의 가능성을 검토하고, 그 중 3종을 선택하여 성분 분리, 활성 검색, 안전성 실험, 제형연구 등을 통하여 기능성화장품 개발에 응용할 수 있도록 연구를 수행할 예정이다.

## 감 사

본 연구 논문은 산업자원부 “2005년도 제주생물자원공동연구개발사업”에 의하여 수행된 연구 결과의 일부이며, 지원에 감사드립니다.

## 참 고 문 헌

1. K. Scharffetter-Kochanek, Photoaging of the connective tissue of skin: Its prevention and therapy, antioxidants in disease mechanism and therapy, *Advances in Pharmacology*, ed. H. Sies, **38**, 639 (1997).
2. D. L. Bissett, R. Chatterjee, and D. P. Hannon, Chronic ultraviolet radiation-induced increase in skin iron and the photoprotective effect of topically applied iron chelators, *Photochem Photobiol.*, **54**, 215~223 (1991).
3. D. L. Bissett and J. F. McBride, Iron content of human epidermis from sun-exposed and non-exposed body sites, *J. Soc. Cosmet. Chem.*, **43**, 215 (1992).
4. J. M. C. Gutteridge, D. A. Rowley, B. Halliwell, D. F. Cooper, and D. M. Heeley, Copper and iron complexes catalytic for oxygen radical reactions in sweat from human athletes, *Clinica Chimica Acta*, **145**, 267 (1985).
5. S. N. Park, Skin aging and antioxidant, *J. Soc. Cos. Sci. Kor.*, **23**(1), 75 (1997).
6. R. M. Tyrrell and M. Pidoux, Singlet oxygen involvement in the inactivation of cultured human fibroblast by UVA and near visible radiations, *Photochem Photobiol.*, **49**(4), 407 (1989).
7. G. F. Vile and R. M. Tyrrell, UVA radiation-induced oxidative damage to lipid and protein *in vitro* and in human skin fibroblasts is dependent on iron and singlet oxygen, *Free Radical Biology & Medicine*, **18**(4), 721 (1995).
8. K. Scharffetter-Kochanek, M. Wlaschek, K. Briviba, and H. Sies, Singlet oxygen induces collagenase expression in human skin fibroblasts, *FEBS Lett.*, **331**, 304 (1993).
9. M. Wlaschek, K. Briviba, G. P. Stricklin, H. Sies, and K. Scharffetter-Kochanek, Singlet oxygen may mediate the ultraviolet A induced synthesis of interstitial collagenase, *J. Invest. Dermatol.*, **104**, 194 (1995).
10. A. Oikarinen, J. Karvonen, J. Uitto, and M. Hannuksela, Connective tissue alterations in skin exposed to natural and therapeutic UV-radiation, *Photodermatology*, **2**, 15 (1985).
11. A. Oikarinen and M. Kallioinen, A Biochemical and

- immunohistochemical study of collagen in sun-exposed and protected skin, *Photodermatology*, **6**, 24 (1989).
12. L. H. Kligman, UVA induced biochemical changes in hairless mouse skin collagen: A contrast to UVB effects. In "Biological Responses to Ultraviolet A radiation", ed. F. Urbach, 209 Valdemar, Overland Park (1992).
  13. Y. Fujita, I. Uehara, Y. Morimoto, M. Nakashima, T. Hatano, and T. Okuda, Studies on inhibition mechanism of autoxidation by tannins and flavonoids, *Yakugaku Zasshi*, **108**(2), 129 (1988).
  14. O. I. Aruoma, B. Halliwell, E. Gajewski, and M. Dizdaroglu, Damage to the bases in DNA induced by hydrogen peroxide and ferric ion chelates, *J. Biol. Chem.*, **264**(34), 20509 (1989).
  15. V. S. Sharov, V. A. Kazamanov, and Y. A. Vladimirov, Selective sensitization of chemiluminescence resulted from lipid and oxygen radical reactions, *Free Radical Biology & Medicine*, **7**, 237 (1989).
  16. M. E. Murphy and H. Sies, Visible-range low-level chemiluminescence in biological systems, In "Oxygen radicals in biological systems, oxygen radicals and antioxidants", eds. L. Packer and A. N. Glazer, Academic Press, INC. 595 (1993).
  17. S. N. Park, Effects of flavonoids and other phenolic compound on reactive oxygen-mediated biochemical reactions, Ph.D. Dissertation, Seoul National Univ., Seoul, Korea (1989).