

대나무 추출액의 항산화 작용과 미백작용

송호선 · 문효진 · 박병언 · 최방실 · 이동자 · 이지윤 · 김창중 · 심상수[#]

중앙대학교 약학대학

(Received November 14, 2007; Revised December 7, 2007)

Anti-oxidant Activity and Whitening Activity of Bamboo Extracts

Ho Sun Song, Hyo Jin Moon, Byoung Eun Park, Bang Sil Choi, Dong Ja Lee,
Ji Yun Lee, Chang Jong Kim and Sang Soo Sim[#]

College of Pharmacy, Chung-Ang University, 221 Huksuk-dong, Dongjak-gu, Seoul 156-756, Korea

Abstract — To investigate the possibility of development as a whitening agent using bamboo extracts (*Phyllostachys nigra* var. *henonis*), we measured DPPH assay, NBT/XO assay, intracellular ROS scavenging assay, tyrosinase assay and MSH-induced melanin production in B-16 cells. Bamboo extracts had dose-dependently anti-oxidant activity in DPPH, NBT/XO and intracellular ROS assay. Bamboo extracts appear to inhibit xanthine oxidase directly. Bamboo extracts inhibited not only purified tyrosinase activity but also inhibited tyrosinase activity and melanin production in B16 melanoma cells stimulated by 1 μ M α -MSH. Anti-oxidant activity and cytotoxicity of ethyl acetate fraction was more potent than those of water fraction, whereas whitening effect of water fraction was stronger than ethyl acetate fraction. Therefore, these results suggest that water fraction of bamboo extracts may be useful for the development as whitening agents reducing cytotoxicity.

Keywords □ bamboo extracts, anti-oxidant, tyrosinase, melanin

대나무는 벼과(Gramineae)에 속하는 식물로 한국, 일본, 중국 등 동남아시아에 주로 분포한다. 벼과 중 가장 키가 큰 식물로 높이가 30 m, 지름 30 cm 내외에 달한다. 줄기는 땅속을 옆으로 뻗어가는 근경으로부터 직립하며, 둥글며 속이 비어있다. 대나무 잎 추출물의 생리활성 물질과 다양한 약리작용에 대한 보고가 있다. 대나무 잎 추출물은 flavone glycosides, phenolic acids, coumarin lactones, anthraquinones, amino acids 등을 함유한다.¹⁻⁷⁾ Flavonoid가 많은 대나무 잎 추출물은 항산화, 항노화, 항피로, 항박테리아, 항바이러스 효과가 있으며, 심혈관질환의 예방 및 억제학적 중간물질, 식이 보조제, 미용 원료, 식품 첨가물 등으로 사용된다.^{2,8-15)}

사람의 피부색은 헤모글로빈, 카로틴, melanin에 의해 결정되며, 이중 melanin의 영향이 가장 크다. Melanocyte에는 lysosome-like organles인 melanosome이 있는데 여기에는 melanin의 합성에 관여하는 몇 가지 효소들을 포함하고 있다. 그 효소 중에

구리를 함유하고 있는 tyrosinase는 생체 내 tyrosine을 DOPA로, 나아가 DOPA quinone으로 산화되는 과정을 촉매하여 melanin 생합성에 관여한다. 또한 갈색과 흑색의 색소를 만들어 내는 eumelanogenesis에는 적어도 두 가지 이상의 효소가 관여하는데 그것은 TRP-1(DHICA oxidase)¹⁶⁾과 melanin 중간체인 DOPochrome으로부터 5,6-dihydroxy indole-2-carboxylic acid (DHICA)의 반응을 촉매하는 TRP-2(DOPA chrome tautomerase)이다¹⁷⁾. 또 적색 혹은 황색의 색소를 만들어 내는 pheomelanogenesis는 cysteine 또는 glutathione과 같은 황 함유 반응 물질이 관여하는 경로이다. 일반적으로 melanin polymer라고 하면 eumelanogenesis에 의해 생성된 eumelanin을 지칭 한다. 최근 들어 천연물질을 이용하여 미백제 및 항산화제 탐색이 활발히 진행되고 있다. 식물 추출물에서 가장 보편적인 미백제로 사용되는 hydroquinone은 phenol성 화합물로서 산화, 환원 반응에 민감한 구조적 특징으로 tyrosinase의 활성을 억제하고 melanocytes를 선택적으로 억제한다.¹⁸⁾

식물 추출물에 대한 관심은 화장품 영역에서도 고조되고 있으며 현재 시판되고 있는 천연물을 이용한 화장품이 늘어나고 있다. 특히 미백에 관련되어 식물 추출물을 이용한 화장품이 지속

[#]본 논문에 관한 문의는 저자에게로
(전화) 02-820-5615 (팩스) 02-816-7338
(E-mail) simss@cau.ac.kr

적으로 시판되고 있다. 대나무 잎 추출액에 대한 많은 연구에 비해 대나무 줄기 추출액을 이용한 항산화 작용과 미백작용에 대한 연구 결과는 없는 실정이다. 그러므로 이 실험에서는 대나무 추출액의 항산화 효과를 측정하고, B16 melanoma cell을 이용하여 tyrosinase activity와 melanin 생성을 관찰하였다.

실험 방법

시약

대나무(*Phyllostachys nigra* var. *henonis*)의 지상부 줄기 추출액은 (주)죽림식품(담양군, 전남)에서 구입하였다. Mushroom tyrosinase, melanin, allopurinol, arbutin, xanthine oxidase (XO), ascorbic acid, 1-diphenyl-2-picrylhydrozyl(DPPH), 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyl-2H-tetrazolium bromide (MTT), nitroblue tetrazolium chloride(NBT)는 Sigma Chemical Co.(St. Louis, MO, USA)에서 구입하였으며, 2',7-dichlorofluorescein diacetate(DCF-DA)는 Molecular Probe Co.(Eugene, OR, USA)에서 구입하였다. RAW 264.7(macrophage)세포와 B16 melanoma cell는 서울대학교 세포주 은행에서 구입하였다.

세포배양

B16 melanoma 세포와 RAW 264.7 세포와 10% fetal bovine serum(FBS)과 penicillin(100 IU/ml)/ streptomycin(50 µg/ml)을 함유한 dulbecco's modified eagle's medium(DMEM) 용액으로 37°C로 유지되는 5% CO₂ 배양기에서 배양하였다.

대나무 추출액의 분획

죽림식품으로 구입한 대나무 추출액을 60~70°C로 가열하여 액성 물질은 모두 날려버리고 잔사만을 얻어 이를 BA로 간주하였다. BA를 증류수에 녹여 원심 분리하여 증류수에 용출된 잔사를 BB로 간주하였으며, 증류수에 녹지 않은 잔사를 다시 ethyl acetate에 녹여 얻은 잔사를 BC로 간주하였다.

세포독성 측정

B16 melanoma 세포(1×10^4 cells/ml) 200 µl를 96-well plate에 가하고 각각의 대나무 추출액을 처리하고 72시간 배양한 후 배양액을 모두 제거하였다. 사용하기 30분 전에 제조한 500 µg/ml MTT를 각 well에 200 µl씩 가하고, 어두운 곳에서 4시간 배양하였다. 배양이 끝난 후 상층액은 버리고, DMSO를 200 µl가 하여 생성된 MTT formazan을 완전히 용해시킨 후 570 nm에서 흡광도를 측정하였다.¹⁹⁾

DPPH 라디칼 소거작용 측정

96 well plate에 ethanol에 녹인 100 µM DPPH 용액 180 µl와

대나무 추출액을 최종 농도가 1, 3, 10, 30, 100, 300, 1000 µM 농도로 각각 20 µl씩 가하고 차광 상태에서 37°C에서 20분간 배양한 후 FL 600 spectrofluorometer(Bio-Tek, U.S.A.)를 이용하여 517 nm에서 흡광도를 측정하였다.²⁰⁾

Xanthine oxidase 활성

Xanthine oxidase 활성은 xanthine에서 uric acid로 전환되는 양을 290 nm에서 흡광도를 측정하였다. 50 µM xanthine과 0.1 mM EDTA를 함유하는 200 mM phosphate buffer(pH 7.5) 0.8 ml에 대나무 추출액을 가하여 잘 혼합하였다. 반응은 xanthine oxidase(10 mU/ml) 200 µl를 가하면서 시작하였다. 반응 혼합액을 37°C에서 30분간 배양한 후 0.58 M HCl 100 µl를 가하여 반응을 정지시키고 290 nm에서 흡광도를 측정하였다.

NBT/XO(superoxide 소거작용) 측정

Xanthine oxidase에 의해 hypoxanthine을 uric acid로 전환시키는 과정에서 생성되는 superoxide를 nitroblue tetrazolium (NBT)와 반응시켜 superoxide를 소거하는 작용으로서 항산화 작용을 측정하였다. 0.6 mM hypoxanthine, 1 mM EDTA, 0.2 mM NBT를 함유하는 50 mM potassium phosphate buffer(pH 7.4) 400 µl에 대나무 추출액을 5 µl를 가하여(최종 1, 3, 10, 30, 100 µg/ml의 농도) 잘 혼합하였다. 반응은 xanthine oxidase(100 mU/ml)를 100 µl를 가하면서 시작하였다. 반응 혼합액을 37°C에서 20분간 배양한 후 96 well plate에 200 µl씩 소분하고 FL 600 spectrofluorometer를 이용하여 590 nm에서 흡광도를 측정하였다.²¹⁾

DCF-DA를 이용한 세포 내 ROS 생성측정

Raw 264.7 세포내에서 생성되는 산소라디칼 reactive oxygen species(ROS)를 측정하기 위하여 2',7-dichlorofluorescein diacetate (DCF-DA)를 이용하였다. Raw 264.7 세포를 15 ml의 krebs buffer 용액(mM: NaCl 137, KCl 2.7, Na₂HPO₄ 0.4, MgCl₂ 0.5, HEPES[pH 7.4] 10, CaCl₂ 1.8, glucose 5)에 suspend 시킨 후 20 µM DCF-DA를 가하고 1시간 빛을 차단한 곳에서 배양하였다. DCF-DA가 없는 Krebs 용액으로 한번 세척한 후 10⁵ cells/ml로 분주하고 대나무 추출액을 전처리 한 후 silica 1 mg/ml을 가하여 30분간 H₂O₂ 생성을 유도하였다. 원심분리 후 cell pellet을 200 µl의 Krebs 용액에 분산시킨 후 형광(Ex: 485 nm; Em; 535 nm)을 측정하였다.

기질에 따른 tyrosinase 측정

Tyrosinase 활성 측정 시 기질은 L-tyrosine과 L-DOPA를 사용하였다. L-DOPA를 기질로 사용할 때 반응이 신속하게 일어나므로 효소의 양을 줄여서 실험하였다. 기질 농도로 L-tyrosine은

0.3 mg/ml, L-DOPA는 2 mg/ml를 potassium phosphate buffer (0.1 M, pH 6.8)로 완전히 녹이고 tyrosinase는 125 units/ml과 25 units/ml 두 농도로 준비하였다.

L-tyrosine(0.3 mg/ml)과 L-DOPA(2 mg/ml)를 eppendorf tube 에 450 µl를 가하고 대나무 추출액을 5 µl를 가하여 최종 농도를 조절하였다. Tyrosinase(기질이 L-tyrosine일 경우 125 units/ml, 기질이 L-DOPA일 경우 25 units/ml) 50 µl를 처치한 후 37°C에서 각각 30분, 1시간 반응시킨 후 475 nm에서 흡광도를 측정하였다.

B16 melanoma 세포 내에서 tyrosinase 활성과 melanin 생성 측정

B16 세포에 약물 처치 후 배양이 끝나면 1%(w/v) triton X-100을 함유한 10 mM phosphate buffer(pH 6.8)를 100 µl를 가하고 5분간 shaking 한 후에 세포와 용액을 모두 eppendorf tube 로 이전시키고 원심 분리하여 상층액은 tyrosinase 활성과 단백질 정량에 이용하고, cell pellet은 멜라닌 정량에 사용하였다.

96 well plate에 약물 처치 후 얻은 상층액 40 µl를 분주하고 0.1 M sodium phosphate buffer(pH 7.2)에 녹인 2 mg/ml L-DOPA 200 µl를 가하여 37°C에서 30분 동안 배양하였다. Tyrosinase 에 의해 생성된 DOPA chrome은 475 nm에서 흡광도를 측정하였다.²²⁾ Cell pellet은 1 N NaOH 100 µl와 증류수 200 µl를 가하고 60°C에서 1시간 방치하여 melanin을 완전히 녹인 후 96 well plate에 200 µl를 옮긴 후 405 nm에서 흡광도를 측정하였다. Melanin 표준품으로 얻은 표준 검량 선을 이용하여 각 well에서 생성된 melanin 양을 산출하였다.

자료 분석 및 통계적 검정

실험 결과는 평균±표준편차로 표기하였으며, 실험 성적은 non-paired Student's t test로 검정하였고 P 값이 5% 미만일 때 통계적으로 유의하다고 간주하였다.

실험결과 및 고찰

대나무 추출액의 TLC 양상

TLC 분석에 있어서 대나무 추출액은 3개의 spot을 나타내고 있다. 대나무 추출액을 건조시킨 후 증류수로 추출한 BB는 a와 b spot이 모두 나타나는 반면 나머지 잔사를 ethyl acetate로 추출한 BC는 b spot은 거의 없고 a spot 만이 나타나고 있다(Fig. 1). 이들은 FeCl₃ 용액으로 발색되는 것으로 보아 phenol성 화합물로 사료된다.

대나무 추출액의 세포독성

대나무 추출액을 장시간 세포에 노출하는 실험에서 세포 독성

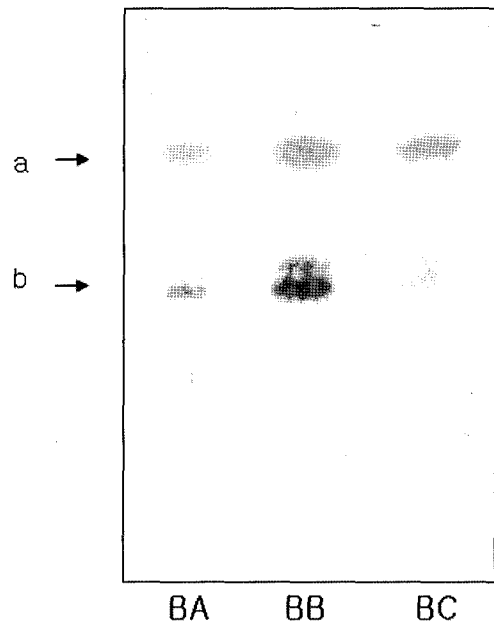


Fig. 1 - Thin layer chromatography of bamboo extracts. TLC plate was developed in mixed solvent (CHCl₃ : Methanol : H₂O= 90 : 20 : 2) and stained with FeCl₃.

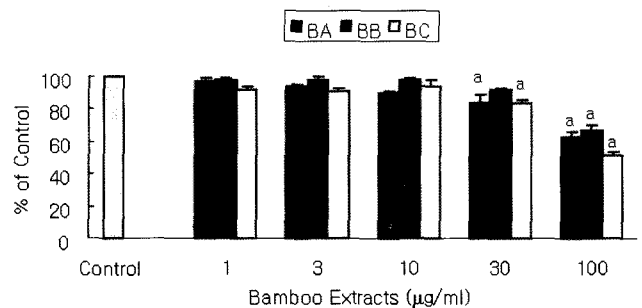


Fig. 2 - Effects of bamboo extracts on cell proliferation in B16 melanoma cells. The cells were incubated with bamboo extracts for 72 hrs in 5% CO₂ incubator at 37°C. The amount of living cells was measured using MTT. Results are means±SD from 3 separate experiments. a: significantly different from control (P<0.05).

이 있는 지를 확인하기 위하여 MTT를 이용한 세포 독성을 측정하였다. 대나무 추출액은 30 µg/ml 이하에서는 세포 독성을 나타내지 않았지만 100 µg/ml에서 세포의 생존율이 대조군에 비하여 60%로 감소하였다(Fig. 2). 대나무 추출액은 pH가 2.54로서 강한 산성을 나타내는 것으로서 세포 독성은 아마도 pH에 의한 것으로 사료된다. 그러나 증류수로 추출한 BB군은 세포 독성이 가장 낮게 나타나고 있는 것으로 보아 지용성 물질 중에 세포 독성을 일으키는 물질이 있는 것으로 사료된다. 대나무 추출액을 장기간 세포에 노출시키는 melanin 생성에 미치는 영향을 관찰하는 실험에서는 대나무 추출액을 30 µg/ml 이하의 농도를 사용하였다.

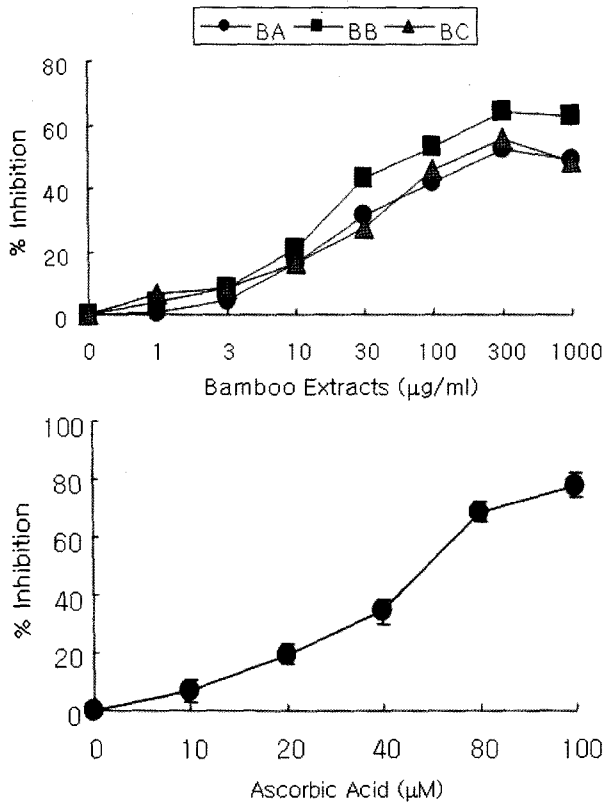


Fig. 3 – Anti-oxidant activities of bamboo extracts in the DPPH radical scavenging activity assay. A solution of 180 µl of 100 µM DPPH solution in ethanol was gently mixed with 20 µl of bamboo extracts for 20 min and the absorbance was measured at 517 nm. Results are means±SD from 4 separate experiments.

DPPH 라디칼 소거작용

DPPH(1-diphenyl-2-picrylhydroazyl)를 이용한 유리 라디칼 소거 반응으로 대나무 추출액의 항산화 작용을 측정한 결과, 1~1000 µg/ml의 농도에서 농도 의존적인 항산화 작용을 보였다. BB가 BA나 BC보다 항산화 작용이 강하게 나타났으나 대조 약물인 ascorbic acid 보다는 항산화 작용이 낮게 나타났다(Fig. 3). 이러한 결과는 대나무 잎으로부터 추출한 chlorogenic acid 유도체들이 DPPH를 이용한 항산화 실험에서 유의한 항산화 작용이 있다는 것이 보고와 잘 일치하고 있다.^{23,24)}

Xanthine oxidase(XO) 억제 작용

Xanthine oxidase에 의해 생성된 superoxide를 NBT(nitroblue tetrazolium chloride)와 반응시켜 항산화 정도를 측정하는 NBT/XO superoxide scavenging assay에서 대나무 추출액은 농도 의존적으로 superoxide의 소거반응을 보였다(Fig. 4). 대나무 추출액 중 30 µg/ml 이하의 농도에서 BC가 BB보다 더 크게 억제하였다. 이러한 대나무 추출액의 항산화 작용은 대조약물로 사용한 XO 억제제인 100 µM allopurinol의 억제 작용보다는 작게

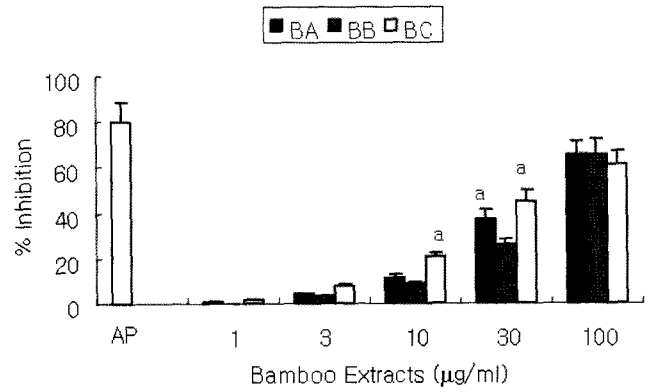


Fig. 4 – Anti-oxidant activities of bamboo extracts in NBT/Xanthine oxidase assay. The scavenging potential for superoxide radicals was analyzed via a hypoxanthine/xanthine oxidase generating system coupled with nitroblue tetrazolium. Results are means±SD from 4 separate experiments. AP: allopurinol 100 µM. a: significantly different from BB at the same concentrations (P<0.05).

나타났다.

대나무 추출액이 XO를 직접 억제하는 지를 확인하기 위하여 XO에 의해서 생성되는 uric acid를 측정하였다. 대나무 추출액을 처리한 군은 XO만을 처리한 대조군 보다 290 nm에서 흡광도가 증가하는 현상이 나타났다. 이는 대나무 추출액의 성분 중 290 nm에서 흡광도에 영향을 주는 물질이 존재할 가능성이 있는 것으로 사료되어 대나무 추출액만을 이용하여 같은 농도와 조건에서 흡광도를 측정하였다. 그림에서 보는 바와 같이 대나무 추출액은 290 nm에서 농도 의존적으로 흡광도가 증가하였다(Fig. 5). 290 nm에서 대나무 추출액의 흡광도를 제거한 후 XO의 억제 효과를 산출하여 볼 때 BC가 BB 보다 XO를 더 많이 억제하는 것으로 나타났다. 이러한 결과는 대나무 잎으로부터 추출한 chlorogenic acid 유도체가 xanthine oxidase를 억제한다는 보고로²⁴⁾ 미루어 볼 때 대나무 추출액의 자체 흡광도 때문에 XO의 직접적인 억제 효과를 보이지는 못했지만 대나무 추출액은 superoxide를 제거하는 활성뿐만 아니라 XO를 직접 억제하는 효과도 있는 것으로 사료된다.

세포내 reactive oxygen species(ROS) 생성에 미치는 대나무 추출액의 효과

대나무 추출액의 항산화 작용이 세포내에서 발생하는 ROS (reactive oxygen species)생성에서도 항산화 작용이 있는 지를 확인하기 위하여 생쥐의 대식세포인 Raw 264.7 세포를 이용하여 측정하였다. Raw 264.7 세포를 자극하는 물질을 투여 시 세포내 ROS의 생성은 증가하는데 silica는 macrophage에서 ROS 생성을 증가시키는 물질로 알려져 있다.²⁵⁾ 1 mg/ml의 silica는 Raw 264.7 macrophage 세포에서 superoxide 생성을 3배 정도

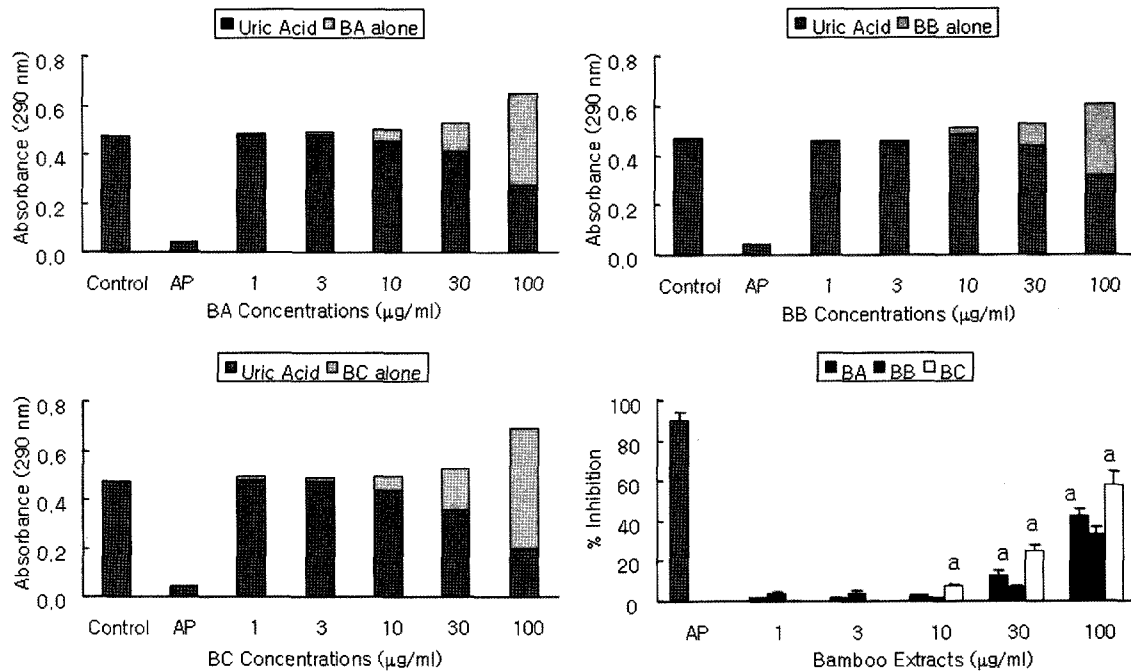


Fig. 5 – Effects of bamboo extracts on XO activity. Absorbance of uric acid produced by XO was measured at 290 nm. Results are means±SD from 3 separate experiments. AP: allopurinol 100 μM. a: significantly different from BB at the same concentrations (P<0.05).

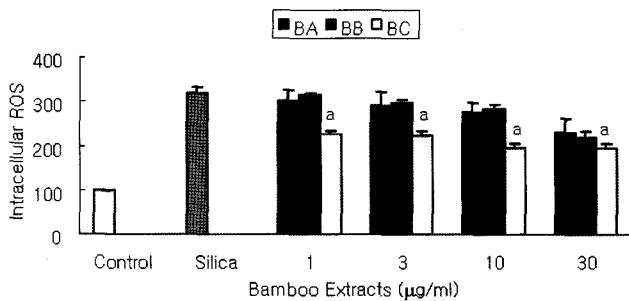


Fig. 6 – Inhibitory activity of bamboo extracts on silica-induced intracellular ROS generation in Raw 264.7 cells. Results are means±SD from 4 separate experiments. a: significantly different from BB at the same concentrations (P<0.05).

증가시켰다. 이러한 silica에 의한 ROS 증가는 대나무 추출액에 의해 농도 의존적으로 억제되었으며(Fig. 6), 이러한 억제 효과는 BC가 BB 보다 더 강하게 작용하였다. 한편 최근 대나무 잎에서 BuOH 추출액은 HepG2 세포의 산화성 손상으로부터 세포를 보호한다는 결과로²³⁾ 미루어 볼 때 대나무 추출액은 시험관 수준 뿐만 아니라 세포 수준에서도 항산화 작용이 있는 것으로 생각된다.

대나무 추출액이 mushroom tyrosinase 활성에 미치는 영향

대나무 추출액의 미백 작용을 확인하기 위하여 먼저 melanin 생성에 중요한 작용을 하는 tyrosinase에 직접적인 작용이 관찰하였다. Tyrosinase는 L-tyrosine을 L-DOPA로 전화시키고 이어

서 L-DOPA를 L-DOPA quinone으로 산화시킨다. 이때 cysteine 이나 thiol기를 갖는 물질이 없을 때 자발적으로 L-DOPA chrome 이 형성된다.^{26,27)} 이 실험에서는 tyrosinase의 기질을 L-tyrosine 과 L-DOPA를 이용하여 purified mushroom tyrosinase의 활성을 측정하였다.

대나무 추출액은 L-DOPA를 기질로 사용하였을 때는 억제효과를 나타내지 않았으나 L-tyrosine을 기질로 사용하였을 때는 tyrosinase를 억제하였다. 이러한 억제 효과는 BC보다 BB가 더 강하게 억제하였다(Fig. 7). Tyrosinase 억제제로 알려진 1 mM arbutin은 L-tyrosine을 기질로 사용한 실험에서는 tyrosinase 활성을 90% 억제하였으나 L-DOPA를 기질로 사용한 실험에서는 억제하지 않았다(Fig. 7). Arbutin은 tyrosinase에 기질이 결합하는 부위에서 작용하여 기질이 tyrosinase에 결합하는 것을 방해하는 것으로 알려져 있는데,²⁸⁾ 이 실험 결과로 볼 때 arbutin은 tyrosinase 작용 중 tyrosine hydroxylase 작용을 억제하는 것으로 생각된다. 이러한 결과로 미루어 볼 때 대나무 추출액은 tyrosinase 활성을 직접적으로 억제하는 것으로 사료되며, 미백제로 사용 중인 arbutin의 억제효과보다는 미약한 것으로 사료된다.

B-16 melanoma 세포에서 대나무 추출액이 MSH에 의한 melanin 합성에 미치는 영향

대나무 추출액이 melanin을 생성하는 세포 수준에서 미백효과가 있는지를 확인하기 위하여 α-melanocyte stimulating hormone (α-MSH)로 자극한 B16 melanoma 세포에서 tyrosinase 활성과

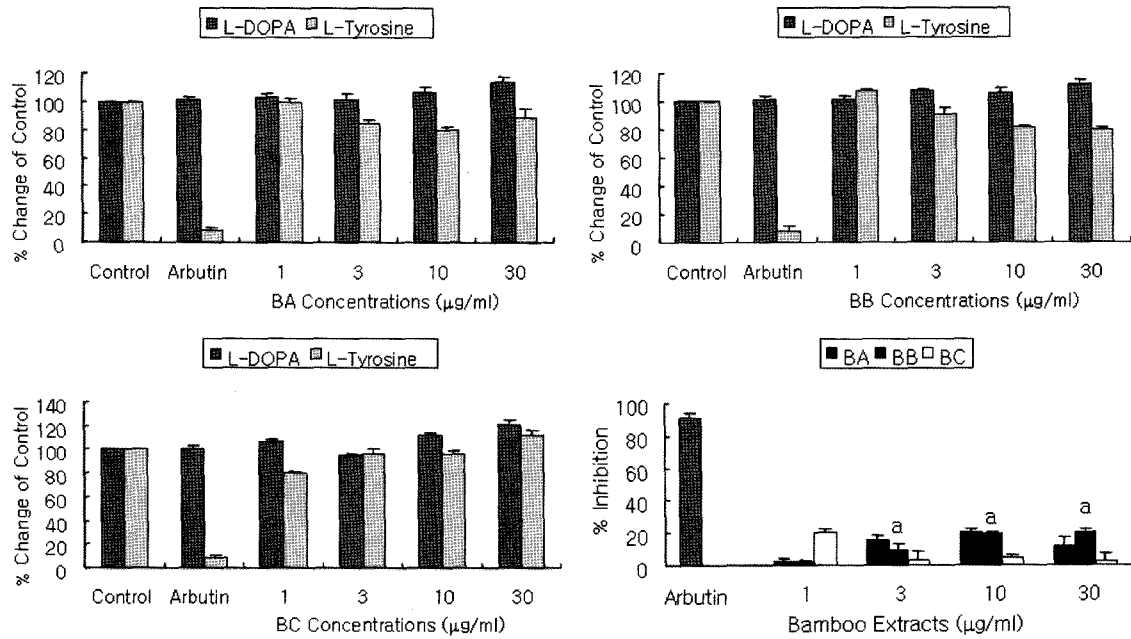


Fig. 7 – Effects of bamboo extracts on mushroom tyrosinase activity. Purified tyrosinase was mixed with bamboo extracts and incubated with 0.3 mg/ml L-tyrosine or 2 mg/ml L-DOPA for 1 hr and 30 min at 37°C, respectively. Results are means±SD from 4 separate experiments. a: significantly different from BC at the same concentrations ($P<0.05$).

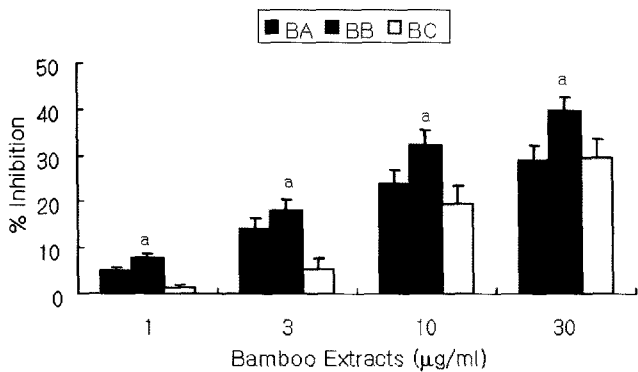


Fig. 8 – Effects of bamboo extracts on tyrosinase in B16 melanoma cells stimulated by 1 μM α -melanocyte stimulating hormone (MSH). Results are means±SD from 4 separate experiments. a: significantly different from BC at the same concentrations ($P<0.05$).

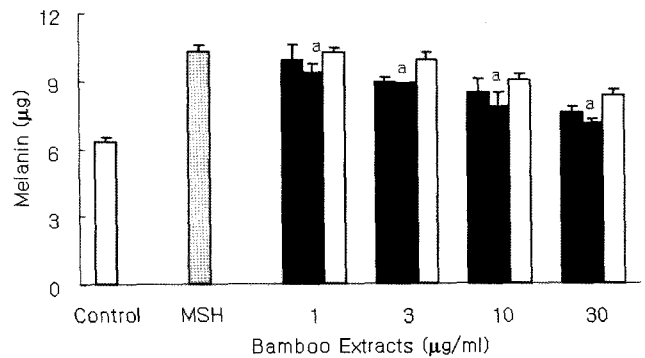


Fig. 9 – Effects of bamboo extracts on melanin synthesis in B16 melanoma cells stimulated by 1 μM α -melanocyte stimulating hormone (MSH). Results are means±SD from 4 separate experiments. a: significantly different from BC at the same concentrations ($P<0.05$).

앞으로 미백제로서의 개발 가능성이 있는 것으로 사료된다.

결론

대나무 추출액이 미백제로 개발 가능성 여부를 관찰하기 위하여 항산화작용과 melanin 생성에 미치는 영향을 관찰하였다. 대나무 추출액은 DPPH radical 소거작용과 xanthine oxidase에 의한 superoxide 소거작용 뿐만 아니라 Raw 264.7 세포에서 silica에 의해 생성된 세포내 ROS 생성을 유의하게 억제하였다. 이러한 결과로 보아 대나무 추출액은 free radical을 소거하는 항산화

melanin 생성을 관찰하였다. B16 melanoma 세포에서 MSH는 tyrosinase 활성과 melanin 생성을 유의하게 증가시켰다(Figs. 8 & 9). 이러한 MSH에 의한 tyrosinase 활성과 melanin 생성 증가는 대나무 추출액에 의해 농도 의존적으로 억제되었다(Figs. 8 & 9). 이러한 미백 억제 효과는 BC보다는 BB가 더 강하게 미백 작용을 나타내었다. 정제된 tyrosinase 억제 효과에서는 arbutin 보다는 미약했지만 melanin 생성을 억제하는 세포 수준에서는 1 mM arbutin에 의한 미백효과와 유사한 정도로 나타나는 것으로 볼 때 대나무 추출액의 미백 효과는 우수한 것으로 사료되며

작용뿐만 아니라 세포내에서 free radical이 생성되는 것을 억제하는 작용도 있는 것으로 여겨진다. 또한 대나무 추출액은 xanthine oxidase를 직접적으로 억제하는 것으로 사료되며, 항산화 작용에 있어서 수용성 물질보다는 지용성 물질이 항산화 작용이 큰 것으로 생각된다.

대나무 추출액의 미백 작용은 tyrosinase의 활성을 직접적으로 억제하며, B16 melanoma 세포에서 MSH에 의한 tyrosinase 활성화와 melanin 생성 증가를 농도 의존적으로 억제하였다. 이러한 미백 효과는 지용성 물질보다는 수용성 물질이 더 강한 미백 효과를 나타내었다. 한편 세포 독성 실험에 있어서도 수용성 물질의 세포 독성이 지용성 물질보다 적게 나타났다. 이러한 결과를 고려하여 볼 때 대나무 추출액을 미백제로 개발 시 지용성 성분을 제거한다면 세포 독성을 감소시키며 미백 효과를 증가시킬 수 있을 것으로 사료된다.

참고문헌

- Zhou, Z. X. : The studies on the chemical constituents of bamboo leaves. *Res. Develop. Nat. Prod.* **4**, 44 (1992).
- Zhang, Y. and Ding, X. L. : Studies on anti-oxidative fraction in bamboo leaves and its capacity to scavenge active oxygen radicals. *J. Bamboo Res.* **15**, 17 (1996).
- Chen, Q., Wu, L. J. and Ruan, L. J. : Chemical studies on the constituents of lophatherum gracile brongn. *J. Shenyang Pharmaceut. Univ.* **19**, 257 (2002).
- Meng, D. L., Li, X., Xiong, Y. H. and Wang, J. H. : Study on the chemical constituents of Achyranthes bidentata Bl. *J. Shenyang Pharmaceut. Univ.* **19**, 23 (2002).
- Li, H. Y., Sun, J. W. and Dai, S. W. : Study on chemical components of bamboo leaf. *Chin. Med. Mat.* **26**, 562 (2003).
- Luo, J. Y. and Chen, X. Y. : Study on extracting tea polyphenols from leaf of Indocalamus. *Chem. Ind. Forest Prod.* **37**, 15 (2003).
- Lu, Z. K. and Liao, W. : Preliminary determination of chemical components for leaves of Phyllostachys pubescens. *J. Shenyang Pharmaceut. Univ.* **26**, 46 (2003).
- Zhang, Y. and Ding, X. L. : Existence of specific amino acid in bamboo leaves and its biological significance. *J. Wuxi Univ. Light Ind.* **16**, 29 (1997).
- Tang, L. L. and Ding, X. L. : Extraction of bamboo amylase and its biological functions. *Devel. Res. Food* **21**, 8 (2000).
- Xu, G., Zhang, H. and Dong, J. H. : Studies on superoxide and hydroxyl radical scavenging capacity of bamboo leaves extracts. *J. Nutr.* **23**, 79 (2001).
- Xu, G. and Zhang, H. : A comparison of the antimicrobial function of both extracts to bacterium between bamboo leaves and Artemisia anomala s. moore. *Food Sci. Techn.* **6**, 38 (2001).
- Huang, W., Wang, Y., Hu, X. B. and Yin, J. T. : Study on antimicrobial characteristics of bamboo leaf extracts. *Chem. Ind. Forest Prod.* **22**, 68 (2002).
- Li, Y. H., Liu, H. M., Yan, Y. F., Luo, D. S., Zheng, H. H., Wang, M. J. and Yao, S. Q. : The inhibitory effect of bamboo leaves extract on implanted Sarcomal 80 tumor. *J. Hubei Coll. TCM.* **4**, 17 (2002).
- Zhang, Y., Shen, J. F., Yu, Z. Y., Lu, B. Y. and Lou, D. D. : Primary studies on bamboo leaf flavonoids used as anti-aging factor for skin protection. *Chem. Ind. Forest Prod.* **24**, 95 (2004).
- Fu, X. C., Wang, M. W., Li, S. P., Zhou, Q. and Li, Y. Q. : Effect of bamboo leaf extracts on cardiac function and hemodynamic anesthetized dogs. *Chin. Trad. Herbal Drugs.* **35**, 141 (2004).
- Jimbow, K., Chen, H., Park, J. S. and Thomas, P. D. : Increased sensitivity of melanocytes to oxidative stress and abnormal expression of tyrosinase-related protein in vitiligo. *Br. J. Dermatol.* **144**, 55 (2001).
- Jackson, I. J., Chambers, D. M., Tsukamoto, K., Copeland, N. G., Gilbert, D. J., Jenkins, N. A. and Hearing, V. A. : Second tyrosinase-related protein, TRP-2, maps to and is mutated at the mouse slaty locus. *EMBO J.* **11**, 527 (1992).
- Sakuma, K., Ogawa, M., Sugibayashi, K., Yamada, K. and Yamamoto, K. : Relationship between tyrosinase inhibitory action and oxidation-reduction potential of cosmetic whitening ingredients and phenol derivatives. *Arch. Pharm. Res.* **22**, 335 (1999).
- Mosmann, T. : Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays. *J. Immunol. Methods* **65**, 55 (1983).
- Perez, G. R. M., Vargas, S. R., Martinez, M. F. J. and Cordova, R. I. I. : Antioxidant and free radical scavenging activities of 5,7,3'-trihydroxy-3,6,4'-trimethoxy flavone from Brickellia veronicaefolia. *Phytother. Res.* **18**, 428 (2004).
- Parejo, I., Viladomat, E., Bastida, J., Rosas-Romero, A., Flerlage, N., Burillo, J. and Codina, C. : Comparison between the radical scavenging activity and antioxidant activity of six distilled and nondistilled mediterranean herbs and aromatic plants. *J. Agric. Food Chem.* **50**, 6882 (2002).
- Ohkura, T., Yamashita, K., Mishima, Y. and Kobata, A. : Purification of hamster melanoma tyrosinase and structural studies of their asparagine-linked sugar chains. *Arch. Biochem. Biophys.* **235**, 63 (1984).
- Park, H. S., Lim, J. H., Kim, H. J., Choi, H. J. and Lee, I. S. : Antioxidant flavone glycosides from the leaves of Sasa borealis. *Arch. Pharm. Res.* **30**, 161 (2007).
- Kweon, M. H., Hwang, H. J. and Sung, H. C. : Identification and antioxidant activity of novel chlorogenic acid derivatives from bamboo (Phyllostachys edulis). *J. Agric. Food Chem.* **49**,

- 4646 (2001).
- 25) Cho, Y. J., Seo, M. S., Kim, J. K., Lim, Y., Chae, G., Ha, K. S. and Lee, K. H. : Silica-induced generation of reactive oxygen species in Rat2 fibroblast: role in activation of mitogen-activated protein kinase. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **262**, 708 (1999).
- 26) Hearing, V. J. and Jimenez, M. : Mammalian tyrosinase-the critical regulatory control point in melanocyte pigmentation. *Int. J. Biochem.* **19**, 1141 (1987).
- 27) Hearing, V. J. and Jimenez, M. : Analysis of mammalian pigmentation at the molecular level. *Pigment Cell Res.* **2**, 75 (1989).
- 28) Maeda, K. and Fukuda, M. : Arbutin: mechanism of its depigmenting action in human melanocyte culture. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **276**, 765 (1996).