

## 옥수수겨 유래 하이드록시신나믹애씨드 유도체의 멜라닌 생성 저해 효과

김 미 진<sup>†</sup> · 임 경 란 · 정 택 규 · 윤 경 섭 · 최 상 원\*

(주)사임당화장품 기술연구소, \*대구가톨릭대학교 식품영양학과  
(2009년 3월 24일 접수, 2009년 5월 25일 수정, 2009년 5월 27일 채택)

### The Inhibitory Effect of Hydroxycinnamic Acid Derivatives from Corn (*Zea may L.*) Bran on Melanogenesis

Mi Jin Kim<sup>†</sup>, Kyung Ran Im, Kyung Sup Yoon, and Sang Won Choi\*

R&D Center, Saimdang Cosmetics Co., Ltd., 493-1, Daeheung-dong, Jung-gu, Daejeon 301-803, Korea.

\*Department of Food Science and Nutrition, Catholic University of Daegu

(Received March 24, 2009; Revised May 25, 2009; Accepted May 27, 2009)

**요 약:** 옥수수겨로부터 분리·정제한 하이드록시신나믹애씨드 유도체(hydroxycinnamic acid derivatives)는 *p*-coumaric acid, ferulic acid, *N,N'*-dicoumaroylputrescine (DCP), *N-p*-coumaroyl-*N'*-feruloylputrescine (CFP), *N,N'*-diferuloylputrescine (DFP) 등으로 분석이 되었으며, 옥수수겨추출물은 이들을 각각 함유하고 있었다. 본 연구는 천연 미백 소재 개발을 위하여 옥수수겨에서 유래한 화합물인, 하이드록시신나믹애씨드유도체의 멜라닌 생성에 연관된 생리활성을 알아보았다. 하이드록시신나믹애씨드유도체들의 B16-F1 melanoma cells에서의 멜라닌 생합성 저해효과는 농도 의존적으로 저해하여 CFP, DFP 50  $\mu$ g/mL에서 각각 44.7  $\pm$  6.0 %, 58.5  $\pm$  3.1 %의 저해율을 보였다. 그리고 세포 내 tyrosinase의 활성은 각각 42.5  $\pm$  14.6 %, 9.0  $\pm$  4.4 %의 저해효과를 보였다. 이러한 결과를 볼 때, 옥수수겨 유래 하이드록시신나믹애씨드 유도체들은 세포 내 tyrosinase의 활성을 억제함으로써 멜라닌 생성을 감소시키는 것으로 사료되며, 미백 효능을 갖는 천연 화장품 소재로서의 개발 가능성이 클 것으로 기대된다.

**Abstract:** Several hydroxycinnamic acid derivatives, *p*-coumaric acid, ferulic acid, *N,N'*-dicoumaroylputrescine (DCP), *N-p*-coumaroyl-*N'*-feruloyl-putrescine (CFP), and *N,N'*-diferuloylputrescine (DFP) were isolated and purified from corn bran. To develop the skin whitening agent, we investigated the effects of hydroxycinnamic acid derivatives from corn bran, on melanogenesis. CFP and DFP inhibited melanin synthesis in a dose dependent manner up to 44.7  $\pm$  6.0 %, and 58.5  $\pm$  3.1 % at a concentration of 50  $\mu$ g/mL, respectively. The intracellular tyrosinase activity decreased about 42.5  $\pm$  14.6 %, and 9.0  $\pm$  4.4 % at a concentration of 50  $\mu$ g/mL of CFP and DFP, respectively. Our results suggest that inhibitory effects of hydroxycinnamic acid derivatives on melanogenesis are due to the inhibition of the intracellular tyrosinase activity. These results indicate that these hydroxycinnamic acid derivatives from corn bran may be potential natural skin whitening agents.

**Keywords:** corn bran extract, hydroxycinnamic acid derivatives, *N,N'*-diferuloylputrescine (DFP), *N-p*-coumaroyl-*N'*-feruloylputrescine (CFP), melanin

## 1. 서 론

피부에 대한 자외선의 작용으로 피부에서 프리 라디칼인 활성산소종이 생성된다. 피부가 계속적으로 자외선에

노출되게 되면 과잉의 활성산소가 생성되고 이들 활성산소종들은 피부 항산화방어계를 붕괴시키고 이어서 피부 세포 및 조직 손상 그리고 세포 사멸을 초래하게 된다. 이때, 멜라닌은 태양광선 중 유해한 자외선으로부터 생체를 보호하는 중요한 방어 수단으로 동물, 식물 및 미생물에 널리 존재하여, 자외선을 흡수 차단시켜 피부를 보

<sup>†</sup> 주 저자 (e-mail: kimmj@saimdang.co.kr)

호한다. 그러나 멜라닌이 과도하게 합성되거나 노화 등에 의해 피부의 생리기능이 떨어지게 되면 멜라닌이 피부 표면에 침착되어 기미, 주근깨 및 다양한 색소 침착을 유발하게 된다[1]. 멜라닌 생성 과정은 비교적 안정한 물질은 L-tyrosine에서 출발하는 일련의 산화 중합 반응이다. 이 과정에서 tyrosinase가 중요한 역할을 하며, 이 효소의 작용으로 생성되는 중간체인 도파퀴논(DOPAquinone)은 불안정하여 도파크롬(DOPAchrome)을 거쳐 멜라닌 색소로 산화 중합되게 된다. 따라서 tyrosinase 효소를 저해하거나 그 중간체들의 산화 반응을 억제함으로써 멜라닌 생성을 감소시킬 수 있을 것으로 보아지고 있다. 실제로 코직산, 알부틴 등의 물질은 tyrosinase 활성 저해 작용과 항산화 작용에 의해 멜라닌 생성을 감소시킨다고 한다. 피부의 미백에 도움을 주는 기능성 화장품 소재를 찾아내기 위한 연구는 멜라닌 합성 전과 합성 중, 그리고 합성 이후 등 3단계로 나누어 진행되고 있다. 과거에는 멜라닌 합성 중에 관여하는 tyrosinase의 활성을 저해하는 물질에 대한 연구가 주를 이루었지만 최근에는 멜라닌 합성 전에 tyrosinase의 당화 및 전사체의 형성을 억제하는 물질에 대해서 보고되고 있다[2].

하이드록시신나믹에씨드 유도체(hydroxycinnamic acid derivatives, HCADs)는 많은 식물에 포함되어 있으며, *p*-coumaric acid (CA), ferulic acid (FA), caffeic acid (CaA)와 같은 HCADs는 항암, 항염증, 항균, 뿐만 아니라 강한 항산화 효과 등 다양한 생물학적 효과가 있는 것으로 알려져 있다[3-5]. Green coffee beans에서 유래한 HCADs는 항산화 효과와 tyrosinase 활성 저해 효과가 알려져 있으며, 옥수수겨 유래 HCADs 중 polyamine conjugates도 항산화 효과와 멜라닌 생합성 저해효과가 알려져 있다[6,7].

옥수수(*Zea mays* L.)는 초본과에 속하는 열대성작물로서 남미 안데스 일대가 원산지이며, 쌀·밀과 함께 세계 3대 작물 중의 하나로 전 세계에 널리 재배되고 있다. 옥수수겨에는 하이드록시신나믹에씨드에 속하는 FA, CA, 이들의 dimers, trimers 그리고 polyamine conjugates로 *N,N'*-dicoumaroylputrescine (DCP), *N-p*-coumaroyl-*N'*-feruloylputrescine (CFP), *N,N'*-diferuloylputrescine (DFP) 등 활성 성분들이 함유되어 있으며, 이들은 항이노작용, aflatoxin 생합성 저해작용, 항산화 작용, 멜라닌 생합성 저해효과 등의 생물학적 활성이 알려져 있다[7-10].

앞선 연구에서는 옥수수겨로부터 생리활성 물질인 HCADs를 분리하였다. 이에 HCADs 및 이를 함유하는

옥수수겨추출물의 멜라닌 생성과정에 미치는 영향에 대해서 알아보았다.

## 2. 재료 및 실험

### 2.1. 실험 재료 및 기기

본 실험에 사용한 옥수수겨는 경기도 곡산에서 구입하여 사용하였다. Ethyl acetate (EtOAc), trifluoroacetic acid (TFA) 등 HPLC 분석용 용매는 HPLC grade로 Fisher (USA)에서 구입하여 사용하였으며, silica gel 60은 Merck (USA)의 0.063 ~ 0.200 mm를 사용하였다. 실험에 사용한 시약으로는 1,1-diphenyl-2-picryl-hydrazyl (DPPH, Fluka, USA), xanthine, xanthine oxidase (Sigma, USA), L-tyrosine, tyrosinase (from mushroom, Fluka, USA), 3-(4,5-dimethyl-2-thiazolyl)-2,5-diphenyl-2H-tetrazoliumbromide (MTT, Sigma, USA), Dulbecco's modified Eagle's medium (DMEM, Hyclone, USA), fetal bovine serum (FBS, Hyclone, USA), trypsin-EDTA solution (GIBCO, USA), dimethyl sulfoxide (DMSO, Sigma, USA), forskolin (Sigma, USA) 등을 사용하였다. 마우스 흑색종 세포주인 B16-F1은 American Type Culture Collection (ATCC, USA)에서 분양받아 사용하였다. 기기로는 UV-VIS spectrophotometer (UV-1800, Shimadzu, Japan), ELISA reader (EL800, BIO-TEK Instrument, USA) 등을 사용하였다.

### 2.2. 옥수수겨 유래 HCADs의 제조 및 분석

#### 2.2.1. 옥수수겨추출물 제조

분말 옥수수겨를 *n*-헥산으로 상온에서 교반하면서 탈지하였다. 얻어진 탈지박을 80 % 에탄올수용액을 가하여 초음파기에서 연속적으로 추출한 후 여과 및 농축하여 에탄올추출물을 얻었다. 에탄올추출물을 다시 80 % 메탄올수용액으로 용해한 후 *n*-헥산으로 분획하여 탈지하였다. 얻어진 하층을 부분 감압·농축하여 CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> 용매를 가하여 분획하여 옥수수겨추출물(corn bran extract, Corn BE)을 얻었다.

#### 2.2.2. HCADs의 분리 및 정제

CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> 분획물을 silica gel 60을 이용하여 Hexane-EtOAc-MeOH-TFA (200 : 200 : 100 : 0.1, v/v) 혼합 용매로 flash column chromatography를 실시하였다. 이때 얻어진 분획을 60 % 메탄올수용액으로 녹인 후 60 %

**Table 1.** Gradient Elution Condition for HPLC Analysis

Time (min)	Solvent A <sup>a)</sup>	Solvent B <sup>b)</sup>
0	80	20
5	80	20
10	60	40
15	60	40
20	40	60
25	40	60
30	20	80
35	20	80
40	0	100
45	0	100
50	80	20
60	80	20

a) Solvent A: 0.05 % H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> in 20 % MeOH

b) Solvent B: 80 % MeOH

80 % 메탄올수용액을 각각 이동상으로 하여 ODS-A column chromatography와 Sephadex LH-20 column chromatography를 실시하였다.

2.2.3. Corn BE의 자외선 흡수스펙트럼 및 HPLC 분석

Corn BE 및 옥수수겨 유래 HCADs의 UV-B (290 ~ 320 nm) 및 UV-A (320 ~ 400 nm) 영역에서 자외선 흡수스펙트럼을 UV-VIS spectrophotometer를 이용하여 측정하였다.

Corn BE의 CFP와 DFP의 함량 분석을 위해서는 고속 액체크로마토그래피를 행하였다. HPLC 분석 조건으로 Agilent Technologies의 1200 series HPLC, 칼럼은 YMC-Pack Pro C<sub>18</sub> (5 μm, 46 mm LD × 250 mm), 검출기는 자외부흡광도계로 측정파장은 310 nm로 하였다. 유속은 0.8 mL/min이며, 이동상은 용매 A (0.05 % H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>를 포함한 20 % MeOH 수용액)와 용매 B (80 % MeOH 수용액) 기울기용리로 하여 Table 1의 조건에 따라 실시하였다.

2.3. 항산화효과

2.3.1. 자유라디칼 소거효과 측정

자유라디칼 소거활성 시험은 안정한 자유라디칼 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl radical (DPPH)을 사용하는 방법으로[11] 메탄올에 용해시킨 0.2 mM의 DPPH 용액 1 mL에 시료 각각의 농도를 메탄올에 녹여 2 mL로 하여 혼합하고, 실온에서 10 min 동안 반응시킨 후 UV-VIS

spectrophotometer로 517 nm에서 흡광도를 측정하였다. 대조군은 시료액 대신 메탄올을 넣었으며, DPPH 용액 대신 메탄올을 넣어 보정값을 얻었다. 자유라디칼 소거율은 하기의 식에 따라 계산하였다.

$$\text{소거율 (\%)} = \frac{\text{대조군의 흡광도} - \text{시료 첨가군의 흡광도}}{\text{대조군의 흡광도}} \times 100$$

2.3.2. 활성산소 소거효과 측정

활성산소(superoxide anion radical) 소거활성 평가는 Noro 등의 방법을[12] 활용하여 xanthine/xanthine oxidase 효소반응에 의한 활성산소 발생계를 이용하여 활성산소에 의한 nitroblue tetrazolium (NBT)의 산화에 의한 흡광도 변화를 측정하였다. 0.05 M Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, 3 mM xanthine, 3 mM EDTA, bovine serum albumin (BSA), 0.75 mM NBT 및 시료를 넣고 잘 혼합하여 25 °C에서 10 min 동안 정치하였다. Xanthine oxidase를 넣고 25 °C에서 20 min 동안 반응시킨 후에 6 mM CuCl<sub>2</sub>를 넣어 반응을 정지시키고 UV-VIS spectrophotometer로 517 nm에서 흡광도를 측정하였다. 대조군은 시료 대신 정제수를 넣으며, xanthine oxidase 대신에 정제수를 넣어 색 보정값을 얻었다. 소거율은 DPPH radical 소거율에 사용된 식에 따라 계산하였다.

2.4. 옥수수겨 유래 성분들의 미백효과

2.4.1. 세포배양

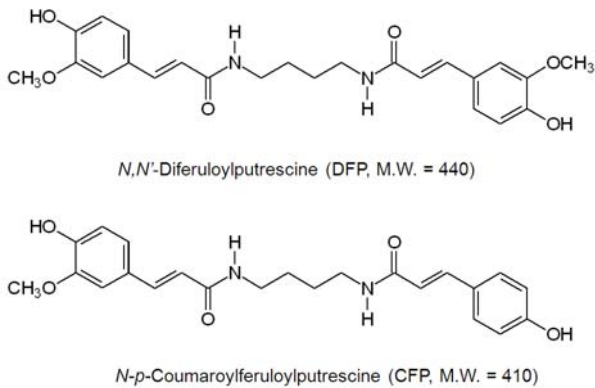
마우스 흑색종 세포주인 B16-F1은 ATCC에서 구입하였으며, DMEM에 10 % FBS를 혼합한 배지를 사용하여 37 °C, 5 % CO<sub>2</sub> incubator에서 배양하였다. 실험과정의 세포는 70 ~ 80 %의 단층배양에서 실시하였다.

2.4.2. 흑색종 세포주의 생존력에 미치는 영향

B16-F1 흑색종 세포를 10 % FBS가 함유된 DMEM으로 96-well plates에 5 × 10<sup>3</sup> cells/well이 되도록 분주하여 5 % CO<sub>2</sub>, 37 °C 조건하에서 24 h 동안 배양하였다. 배양 후 배양액을 제거하고 시료를 농도별로 배지에 희석하여 교체한 후, 최종 10 μM forskolin이 되도록 첨가하여 48 h 동안 더 배양하였다. 이 때, 대조군은 HCADs는 첨가하지 않고 forskolin만 첨가한 것으로 하였다. 배양 후 MTT assay를 통하여 세포 생존율을 확인하였다.

2.4.3. 멜라닌 생성 억제 효과

멜라닌 함량 측정은 Meyskens의 방법[13]을 변형하

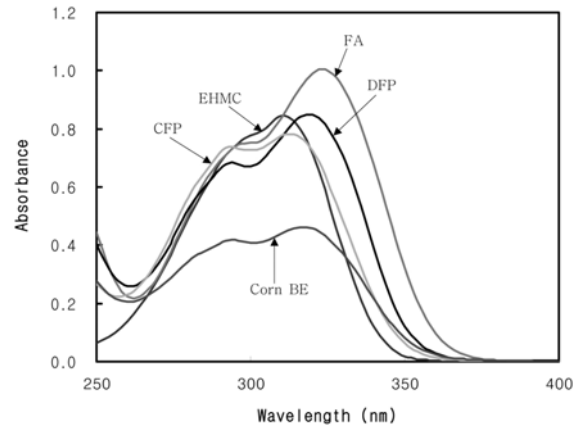


**Figure 1.** Chemical structures of CFP and DFP from corn bran.

여 사용하였다. B16-F1 흑색종 세포를 10 % FBS가 함유된 DMEM으로 6-well plates에  $1 \times 10^5$  cells/well이 되도록 분주하여 5 % CO<sub>2</sub>, 37 °C 조건하에서 24 h 동안 배양하였다. 배양액을 제거하고 시료를 농도별로 배지에 희석하여 교체한 후, 최종 10 μM forskolin이 되도록 첨가하여 48 h 동안 더 배양하였다. 이 대조군은 시료를 첨가하지 않고 forskolin만 첨가한 것으로 하였다. 배양 후 배양액을 제거하고 PBS로 세척한 후, 10 % DMSO가 함유된 1 N NaOH를 첨가한 후 50 °C 항온조에서 세포 내 멜라닌을 용해시켰다. 이 액을 ELISA reader를 이용하여 490 nm에서 흡광도를 측정하였다. 멜라닌 표준 정량 곡선을 이용하여 멜라닌 양을 구하였으며, 총 단백질로 보정하였다.

#### 2.4.4. 세포 내 Tyrosinase 활성 저해능 측정

세포 내 tyrosinase 활성은 Pawelek 등의 방법[14]를 변형하여 사용하였다. 시료첨가 후 48 h 동안 배양된 세포를 PBS로 3회 세척하고 PRO-PREP Solution (iNtRON Biotechnology, Korea)을 첨가한 다음 얼음상에서 30 min 동안 흔들면서 세포를 용해한 다음, 원심분리하고 얻어진 세포용액을 사용하여 tyrosinase 활성을 측정하였다. 세포 내 tyrosinase 활성 분석은 세포 내에 존재하는 tyrosinase의 작용결과 생성되는 도파퀸논의 비색법에 의해 측정하였다. 동량의 단백질 각각에 0.1 M potassium phosphate buffer (pH 6.8)와 10 mM L-DOPA를 혼합한 후, 37 °C 항온기에서 30 min 동안 반응시켰다. 반응액 중에 생성된 도파퀸논을 490 nm에서 흡광도를 측정하였다. Tyrosinase의 활성 저해율은 하기의 식에 따라 계산하였다.



**Figure 2.** UV absorbance spectra of Corn BE and HCADs from corn bran ( $1.0 \times 10^{-3}$  %).

**Table 2.** UV Absorbance Spectra of Corn BE and HCADs from Corn Bran

Material	$\lambda_{\max}$ (nm)
Corn BE	319.0
CFP	312.0
DFP	318.0
CA	313.5
FA	323.0
EPMC	310.5

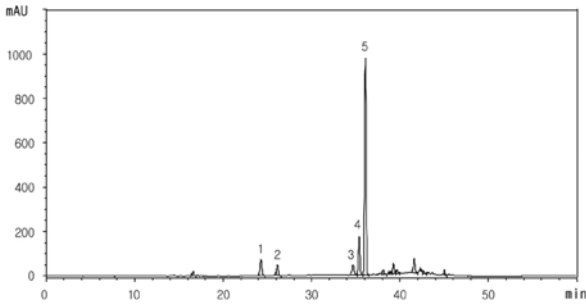
$$\text{저해율 (\%)} = \frac{\text{시료 첨가군의 흡광도} - \text{대조군의 흡광도}}{\text{대조군의 흡광도}} \times 100$$

### 3. 결과 및 고찰

#### 3.1. Corn BE, HCADs의 자외선 흡수 스펙트럼 및 HPLC 분석

앞선 연구에서, 탈지 옥수수겨를 에탄올수용액으로 추출하고 CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>로 분획한 옥수수겨추출물로부터 화합물들을 분리·정제하여 옥수수겨로부터 얻어진 화합물(HCADs) CFP, DFP는 Niwa 등[8]의 보고를 참고하여 UV, IR, NMR, FABMS spectral data를 통하여 분석하였다(Figure 1)[7].

Figure 2와 Table 2는 Corn BE 및 옥수수겨 유래 HCADs의 자외선 흡수 스펙트럼 및 자외선 흡수 최대파장을 나타내었다. Ethylhexyl methoxycinnamate (EHMC)는 대표적인 유기자외선차단제로서 290 ~ 320 nm의 UV-B 영역에서 자외선 흡수효과를 갖는 성분이다. Corn BE 및 HCADs는 EHMC와 동일한 농도조건에서



**Figure 3.** HPLC chromatogram of CA (1), FA (2), DCP (3), CFP (4) and DFP (5) in Corn BE.

**Table 3.** DPPH Scavenging Effect of HCADs from Corn Bran

Material	*IC <sub>50</sub> (μg/mL)
Corn BE	35.0 ± 0.3
CFP	34.3 ± 1.0
DFP	30.5 ± 1.0
CA	-
FA	8.2 ± 0.1
DL-α-tocopherol	18.3 ± 0.1
BHT	388.9 ± 0.0

\*IC<sub>50</sub> : Concentration of the sample required for 50 % the radical or the reactive oxygen to be scavenged.

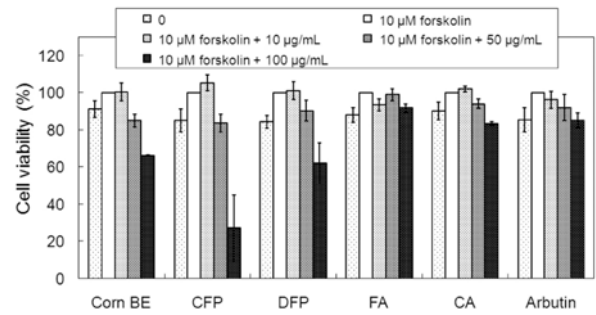
유사한 UV-B 영역에서 유사한 흡광도 값을 나타내고 일부 UV-A 영역에서 자외선을 흡수하는 특성을 갖는 것을 확인하였다. 이러한 결과는 Corn BE 및 옥수수겨 유래 HCADs가 천연 자외선차단 소재로서의 활용 가능성도 가지고 있음을 보여 주었다.

옥수수겨로부터 추출한 Corn BE는 HPLC 결과, CA, FA, DCP, CFP, DFP를 각각 1.81 ± 0.13 %, 1.56 ± 0.05 %, 1.32 ± 0.17 %, 5.84 ± 0.06 %, 25.11 ± 0.81 % 함유하였다. 추출물이 함유한 HCADs의 HPLC 크로마토그램을 Figure 3에 나타내었다.

### 3.2. 항산화 효과

DPPH는 화합물 내 질소 중심의 라디칼로 프리라디칼의 안정된 모델이다. 따라서 반응 중 DPPH의 감소는 프리라디칼의 소거반응이 진행됨을 알 수 있고 지질과산화의 초기반응의 억제정도를 예측할 수 있다.

옥수수겨 유래 HCADs의 항산화 효과를 알아보기 위해 DPPH를 이용하여 항산화 효과를 측정하였다. 양성 대조군으로는 항산화 효과가 알려진 DL-α-tocopherol



**Figure 4.** Cell viability of HCADs and forskolin on B16-F1 melanoma cells by MTT assay. The cells were treated with various concentration of HCADs for 48 h. The cell viability was measured by the MTT method. Results were means ± S.D. from 3 separate experiments.

(1000 IU/g), 합성 산화방지제인 butylated hydroxytoluene (BHT)를 이용하여 항산화 효과를 비교하였다. 그 결과 CFP, DFP의 자유라디칼을 50 % 소거할 수 있는 농도(IC<sub>50</sub>)가 각각 34.3 ± 1.0 μg/mL, 30.5 ± 0.7 μg/mL로 DL-α-tocopherol보다는 상대적으로는 낮은 항산화효과를 나타내었으나, BHT에 비해 10배 이상의 자유라디칼 소거 효과를 나타내었다(Table 3). 그러나 xanthine/xanthine oxidase 효소반응에 의한 활성산소 발생계를 이용하여 활성산소에 의한 NBT의 산화에 의한 흡광도 변화를 측정하는 superoxide radical 소거활성 효과에서는 그 활성이 거의 나타나지 않았다.

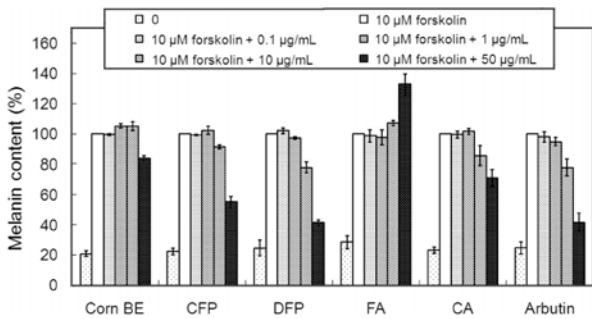
### 3.3. 옥수수겨 유래 성분들의 미백효과

#### 3.3.1. HCADs의 세포 생존에 미치는 영향

HCADs의 실험에 사용할 농도범위를 결정하기 위해 MTT assay를 시행하였다. 세포독성을 측정한 결과 forskolin을 처리한 Corn BE, CFP, DFP는 50 μg/mL, FA, CA는 100 μg/mL의 농도까지 B16-F1 흑색종 세포에서 80 % 이상의 세포 생존력을 확인하였다. 이 후 실험에서는 50 μg/mL 이하의 농도로 실험을 진행하였다(Figure 4).

#### 3.3.2. Forskolin에 의해 유도된 B16-F1 흑색종 세포 내 멜라닌 생성 억제 효과

HCADs에 대한 forskolin을 처리한 B16-F1 흑색종 세포에서의 멜라닌 생성 억제 효과를 측정한 결과를 Figure 5에 나타내었다. 옥수수겨에서 유래한 HCADs인 CFP, DFP는 각각 50 μg/mL의 농도를 처리하였을 때, 44.7 ± 6.0 %, 58.5 ± 3.1 %의 멜라닌 생성 억제 효과를 나타내



**Figure 5.** The effect of HCADs on melanin synthesis in murine B16-F1 melanoma cells treated with forskolin. The cells were treated with forskolin and HCADs at indicated concentration for 48 h. The absorbance was measured at 490 nm and the corresponding total protein content was used to normalize absorbance. The data was expressed as mean values ( $\pm$  S.D.) of the three independent experiments.

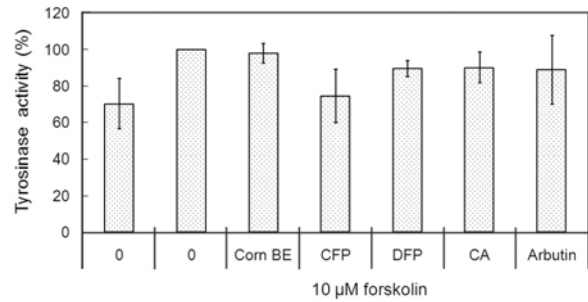
어  $58.2 \pm 10.8$  %의 멜라닌 생성 억제 효과를 나타낸 알부틴과 유사한 효과를 보였다.

### 3.3.3. Forskolin에 의해 유도된 B16-F1 흑색종 세포 내 Tyrosinase 활성 저해 효과

Forskolin 10  $\mu$ M로 멜라닌 생성과정을 촉진시켜준 B16-F1 흑색종 세포에 옥수수겨에서 유래한 HCADs 50  $\mu$ g/mL 농도로 처리하여 세포 내 tyrosinase 저해활성을 분석하였다(Figure 6). 알부틴은 세포 내 tyrosinase 활성 저해율이  $11.1 \pm 18.9$  %로 위 실험 농도에서는 거의 활성 저해효과를 보이지 않았다. 반면, CFP, DFP는 각각  $42.5 \pm 14.6$  %,  $9.0 \pm 4.4$  %의 세포 내 tyrosinase 활성 저해효과로 알부틴보다 우수한 효과를 보였다.

## 4. 결 론

하이드록시신나믹에씨드 유도체(hydroxycinnamic acid derivatives, HCADs)는 많은 식물에 포함되어 있으며, *p*-coumaric acid (CA), ferulic acid (FA), caffeic acid (CaA)와 같은 HCADs는 강한 항산화 효과와 같은 다양한 생물학적 효과가 있는 것으로 알려져 있다. 이에 본 연구자들의 앞선 연구에서, 옥수수겨 유래 CFP, DFP를 분리·정제하였다. 이에 본 연구에서는 HCADs인 FA, CaA, 옥수수겨 유래 CFP, DFP, 그리고 이를 함유한 옥수수겨추출물의 항산화 및 미백효과에 대해 알아보았다. 옥수수겨추출물은 HCADs를 함유하고 있었으며, 옥수수겨 유래 HCADs는 대표적인 유기자외선차단제로 알려진



**Figure 6.** The effect of HCADs on tyrosinase activity in murin B16-F1 melanoma cells treated with forskolin. The cells were cultured with forskolin and HCADs at indicated concentration for 48 h. The data was expressed as mean values ( $\pm$  S.D.) of the three independent experiments.

EHMC와 유사한 UV-B 영역에서 자외선 흡수 효과를 나타낼 뿐만 아니라 UV-A 영역에서도 자외선을 흡수하는 특성을 갖는 것을 확인하였다. 항산화 효과 평가에서 옥수수겨 유래 CFP, DFP는 합성 산화방지제로 알려진 BHT에 비해 10배 이상의 자유라디칼 소거효과를 나타내었다. 그러나 xanthine/xanthine oxidase 효소반응에 의한 활성산소 발생계를 이용한 superoxide radical 소거 활성 효과에서는 그 활성이 거의 나타나지 않았다. B16-F1 흑색종 세포 배양을 통한 CFP와 DFP의 멜라닌 생합성 저해 효과에서는 농도 의존적으로 멜라닌 생성을 억제하였다. 50  $\mu$ g/mL의 농도를 처리하였을 때,  $44.7 \pm 6.0$  %,  $58.5 \pm 3.1$  %의 멜라닌 생성 억제 효과를 나타내었다. B16-F1 흑색종 세포 내에 존재하는 tyrosinase의 활성은 50  $\mu$ g/mL 농도에서 CFP와 DFP 각각  $42.5 \pm 14.6$  %,  $9.0 \pm 4.4$  %의 저해활성을 나타내어 대조물질인 알부틴( $11.1 \pm 18.9$  %)보다 높은 저해율을 나타내었다. 이는, HCADs는 멜라닌 생성을 유도하는 forskolin에 의해 유도되어진 세포 내 tyrosinase 활성을 저해함으로써 결과적으로 생성되는 멜라닌의 함량이 감소시켰음을 의미한다. 이상의 결과로 볼 때, 옥수수겨 유래 HCADs는 이미 알려진 항산화 효과 더불어 UV-A 및 UV-B 영역에서 자외선을 흡수하는 천연 자외선차단 및 미백 소재로서의 큰 가능성을 가지고 있는 것으로 판단된다.

## 감사의 글

본 연구는 2008년 농림수산식품부 농림기술개발사업(107096-3)의 연구비 일부에 의하여 이루어진 것으로 지원에 감사드립니다.

## 참 고 문 헌

1. H. Z. Hill, W. Li, P. Xin, and D. L. Michell, Melanin: a two edged swords, *Pigment Cell Res.*, **10**, 158 (1997).
2. S. Briganti, E. Camera, and M. Picardo, Chemical and instrumental approaches to treat hyperpigmentation, *Pigment Cell Res.*, **16**, 101 (2003).
3. L. P. Zhang and Z. Z. Ji, Synthesis, antiinflammatory and anticancer activity of cinnamic acids, their derivatives and analogues, *Yao Xue Xue Bao*, **27**, 817 (1992).
4. L. R. Ferguson, I. F. Lim, A. E. Pearson, J. Ralph, and P. J. Harris, Bacterial antimutagenesis by hydroxycinnamic acids from plant cell walls, *Mutat. Res.*, **542**, 49 (2003).
5. F. Natella, M. Nardini, M. D. Felice, and C. Scaccini, Benzoic and cinnamic acid derivatives as antioxidants: structure-activity relation, *J. Agric. Food Chem.*, **47**, 1453 (1999).
6. K. Iwai, N. Kishimoto, Y. Kakino, K. Mochida, and T. Fujita, *In vitro* antioxidative effects and tyrosinase inhibitory activities of seven hydroxycinnamoyl derivatives in green coffee beans, *J. Agric. Food Chem.*, **52**(15), 4893 (2004).
7. S. W. Choi, S. K. Lee, E. O. Kim, J. H. Oh, K. S. Yoon, N. Parris, K. B. Hicks, and R. A. Moreau, Antioxidant and antimelanogenic activities of polyamine conjugates from corn bran and related hydroxycinnamic acids, *J. Agric. Food Chem.*, **55**, 3920 (2007).
8. R. A. Moreau, A. Nunez, and V. Singh, Diferuloylputrescine and *p*-coumaroyl-feruloylputrescine, abundant polyamine conjugates in lipid extracts of maize kernels, *Lipids*, **36**, 839 (2002).
9. T. Niwa, U. Doi, and T. Osawa, Inhibitory activity of corn-derived bisamide compounds against  $\alpha$ -glucosidase, *J. Agric. Food Chem.*, **51**, 90 (2003).
10. J. E. Mellon and R. A. Moreau, Inhibition of aflatoxin biosynthesis in *Aspergillus flavus* by diferuloylputrescine and *p*-coumaroylferuloylputrescine, *J. Agric. Food Chem.*, **52**, 6660 (2004).
11. M. S. Blois, Antioxidant determinations by the use of a stable free radical, *Nature*, **181**, 1199 (1958).
12. T. Noro, O. Yasushi, M. Toshio, U. Akira, and S. ukushima, Inhibition of xanthine oxidase from the flowers and buds of *Daphne genkwa*, *Chem. Pharm. Bull.*, **31**, 3984 (1983).
13. P. R. Gordon, C. P. Mansur, and B. A. Gilcrest, Regulation of human melanocyte growth, dendricity and melanization by keratinocyte derived factors, *J. Invest. Dermatol.*, **92**(4), 565 (1989).
14. J. Pawelek, Melanoma cells in culture, *Methods Enzymol.*, **58**, 564 (1978).