

도화(桃花, *Prunus persica* Flos)의 항산화 및 항염증 활성

이진영¹ · 안봉전^{2*}¹호서대학교 한방화장품과학과, ²대구한의대학교 화장품약리학과

Anti-oxidant and Anti-inflammation Activities of *Prunus persica* Flos

Jin-Young Lee¹ and Bong-Jeun An^{2*}¹Department of Herbal Cosmetic Science, Hoseo University, Chungnam, 336-795, Korea²Department of Cosmeceutical Science, Daegu Haany University, Gyeongsan 712-715, Korea

Received June 21, 2010; Accepted July 28, 2010

The solvent extracts of *Prunus persica* Flos were investigated for the activities of anti-oxidant and anti-inflammation to apply as a functional ingredient for cosmetic products. The electron donating ability of both ethanol (PPE) or acetone (PPA) extracts of *P. persica* Flos was above 90.0% at the concentration of 500ppm. The superoxide dismutase (SOD)-like activity of *P. persica* Flos extracts (PPE, PPA) were approximately 40.0% at 1,000 ppm. The xanthine oxidase inhibitory effect of *P. persica* Flos extracts (PPE, PPA) was approximately 30.0% at 1,000 ppm and equivalent to that of ascorbic acid. Hyaluronidase inhibition activity related to the anti-inflammation effect was 35.0% with the treatment of *P. persica* Flos extracts (PPW, PPE, PPA) at 1,000 ppm, respectively. In the experiment of anti-inflammation effect, *P. persica* Flos extracts (PPW, PPE, PPA) inhibited the generation of nitric oxide. In the antimicrobial activity test against the human skin-resident microflora such as *Staphylococcus epidermidis* and *Propionibacterium acnes*, a clear zone was identified from 4mg/disc in *P. persica* Flos (PPE) extract.

Key words: anti-oxidant, anti-inflammation effect, anti-microbial activity, *Prunus persica* Flos

화장품(cosmetics) 산업에는 약품(pharmaceuticals)의 기능이 첨가된 기능성화장품 혹은 약용화장품(cosmeceuticals)의 개념이 도입되어, 세계적으로 폭넓게 이용되고 있다[Kligman, 2000]. 새로운 기능성화장품의 개발에는 원하는 활성을 보유한 원료물질의 개발이 우선되어야 하며, 관심의 대상이 되는 친피부적인 효과로 미백, 항염증, 항산화 효과 등이 있다. 이러한 효과를 보유한 물질을 천연 소재에서 찾으려는 연구가 활발하며, 특히 다양한 식물들이 연구 대상으로 검색되고 있다.

도화(桃花, *Prunus persica* Flos)는 복사꽃이라 하여, 복숭아 나무를 복사나무라고도 부른다. 장미목 장미과의 낙엽 소교목으로 높이가 3~5m까지 자라며, 원산지는 중국 황허강 유역의 고원지대와 만주 및 우리나라에 걸쳐 넓게 분포하고 있다. 도화 잎은 어긋나며 끝이 뾰족하고 가장자리에 톱니가 있는 넓은 타원형이며, 4~5월에 흰색 또는 담홍색의 꽃이 잎보다 먼저 피고, 열매는 핵과로 7~8월에 붉게 익는다. 열매는 식용하고 씨

앗과 꽃은 한방에서 약재로 사용되어 왔다. 도화의 성분은 정확히 밝혀지지 않았으나, 복숭아에는 단백질, 지질, 당질, 회분, 칼슘, 인, 철분, 나트륨, 칼륨, 비타민 A, B1, B2, C, E 등이 있어, 미용에 신경 쓰는 여성들에게 좋다[Park, 2004]. 고려도경이라는 한방서적에서는 “성질이 크르고 맛이 쓰며 독이 없고, 석림(石淋)을 깨뜨리고, 대소변을 이롭게 하며, 세 가지 벌레를 내리고 주(疰)와 악귀(惡鬼)를 죽이고 얼굴빛을 이롭게 한다” 하여 대장에 발생하는 병이나 얼굴에 나타나는 부스럼 등에 사용했다는 기록이 있다. 민간에서는 여성의 냉증 치료나 변비에 말린 도화를 끓여서 이용하기도 했으며, 건포, 습진에 복숭아 잎과 함께 달여 목욕물에 넣기도 하고 외용하기도 했다[Heo, 1994]. 또한 한약처방인 도화가망초탕의 경우 도화와 망초를 다려 수종각성기에 사용하기도 했다.

도화에는 flavonoids 유래의 kaempferol와 그 배당체, albamycin 등의 성분들이 함유되어 있으며[Kim 등, 1991], kaempferol의 경우 지질과산화와 콜레스테롤 억제 효과가 있는 것으로 보고되고 있으나[Hur 등, 1998; Lee 등, 2004], 도화의 항산화 및 항염증 효과에 대한 내용은 보고된 바 없어, 다음과 같은 실험을 실시하여 도화의 항산화 및 항염증 효과를 검토하여 하였다.

*Corresponding author

Phone: +82-53-819-1429; Fax: +82-53-819-1429

E-mail: anbj@dhu.ac.kr

doi:10.3839/jabc.2010.029

재료 및 방법

재료. 본 실험에 사용한 도화(桃花, *Prunus persica* Flos)는 4월 초순에 경북 경산에서 채집하여 이물질을 제거하고 세척한 후, 음건하여 실험재료로 사용하였다.

시료 제조. 시료의 추출은 Fig. 1과 같이 추출하였다. 열수 추출물의 경우 시료 100 g에 증류수 10배 양을 가하여 85°C에서 3시간 환류냉각 추출하여 상등액과 침전물을 분리하여 3회 반복 추출하였으며, 에탄올 및 아세톤 추출물의 경우 70% 에탄올과 아세톤을 시료 중량의 10배 양을 가하여 실온에서 24시간 침지하여 상등액과 침전물을 분리하여 동일한 방법으로 3회 반복 추출하였다. 각 추출물들은 원심분리 및 여과, 농축 후 동결 건조하여 냉장실에 보관하면서 본 실험의 시료로 사용하였다.

시약 및 기기. 항산화능과 항염증 측정 실험에 사용된 시약인 1,1-diphenyl-2-picryl-hydrazyl(DPPH), xanthine, xanthine oxidase, pyrogallol, hyaluronidase, hyaluronic acid, *p*-dimethylaminobenzaldehyde, sodium nitrite 및 griess reagent 등은 Sigma Chemical Co.(St. Louis, MO, USA)에서 구입하여 사용하였으며, 세포 생존을 측정에 사용된 macrophage 세포인 Raw 264.7을 Korean Cell Line Bank(KCLB)에서 구입하여 사용하였다. 세포 생존을 측정 시약은 DMEM(Dulbecco's Modified Eagle Medium), fetal bovine serum(FBS), penicillin/streptomycin, trypsin 250, 0.4% trypan blue stain은 Gibco BRL Co.(Grand Island, USA) 및 Haemocytometer(Marienfeld, Germany)에서 구입하여 사용하였으며, 3-[4,5-dimethylthiazol-2-yl]-2,5-diphenyl-tetrazoliumbromide(MTT)는 Sigma Chemical Co.(St. Louis, MO, USA)에서 구입하여 사용하였다. 항균력 검색 실험에서 사용한 공시 균주는 피부상재균으로서 *Staphylococcus epidermidis* KCTC 1917과 여드름균으로서 *Propionibacterium acnes* KCTC 3314를 계대 배양하여 사용하였다. 전 배양 및 분 배양을 위한 액체 배지는 nutrient broth(NB)를 Difco Lab.(Sparks, USA) 및 Gifu anaerobic medium(GAM, Nissui Co. Japan)에서 구입하여 사용하였다. 생육 저해환 측정을 위한 고체 배지로는 nutrient agar(NA)와 GAM agar를 Difco Lab.(Sparks, USA)에서 구입하여 사용하였다.

총 폴리페놀 함량 측정. 폴리페놀 정량은 AOAC[1984]에 준하여 정량하였다. 즉, 100배 희석한 시료용액 3 mL에 Folin-Ciocalteu phenol reagent 시약 1 mL를 가하고, 1 N HCl 0.2 mL을 넣은 후, 포화용액 Na₂CO₃ 1 mL를 가하여 혼합한 후 1시간 실온에서 방치하고, 640 nm에서 흡광도를 측정한 후, 표준물질인 tannic acid로 미리 작성한 표준곡선의 흡광도 값과 비교하여 폴리페놀 함량을 산출하였다.

항산화 효과 측정

전자공여능 측정. 전자공여능(EDA: electron donating ability)은 Blois의 방법[1958]을 변형하여 측정하였다. 각 시료용액 2 mL에 0.2 mM의 1,1-diphenyl-2-picryl hydrazyl(DPPH) 1 mL 넣고 교반한 후 30분간 방치한 다음 517 nm에서 흡광도를 측정하였다. 전자공여능은 시료용액의 첨가군과 무첨가군의 흡광도 감소율로 나타내었다.

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

Superoxide dismutase (SOD) 유사활성 측정. SOD 유사활성은 Marklund의 방법[1974]에 따라 측정하였다. 각 시료용액 0.2 mL에 tris-HCl 완충용액(50 mM tris+10mM EDTA, pH 8.5) 2.6 mL와 7.2 mM pyrogallol 0.2 mL를 가하여 25°C에서 10분간 반응시킨 후 1 M HCl 0.1 mL를 가하여 반응을 정지시키고 반응액 중 산화된 pyrogallol의 양을 420 nm에서 흡광도를 측정하였다. SOD 유사활성은 시료용액의 첨가군과 무첨가군의 흡광도 감소율로 나타내었다.

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

Xanthine oxidase 저해활성 측정. Xanthine oxidase 저해활성은 Stirpe와 Corte의 방법[1969]에 따라 측정하였다. 각 시료용액 0.1 mL와 0.1 M potassium phosphate buffer(pH 7.5) 0.6 mL에 xanthine(2 mM)을 녹인 기질액 0.2 mL를 첨가하고 xanthine oxidase(0.2 U/mL) 0.1 mL를 가하여 37°C에서 15분간 반응시킨 후 1 N HCl 1 mL를 가하여 반응을 종료시킨 다음, 반응액 중에 생성된 uric acid의 양을 292 nm에서 흡광도를 측정하였다. Xanthine oxidase 저해활성은 시료용액의 첨가군과 무첨가군의 흡광도 감소율로 나타내었다.

$$\text{저해율(\%)} = \left(1 - \frac{\text{시료첨가군의 uric acid 생성량}}{\text{무첨가군의 uric acid 생성량}} \right) \times 100$$

수렴 효과 측정

Astringent 활성 측정. Astringent 활성 측정은 Lee 등[2002]의 방법에 따라 측정하였다. 피부 단백질과 유사한 혈액 단백질(hemoglobin)을 사용하여, 원심분리관 용기에 각각의 시료용액과 헤모글로빈 용액(500 ppm)을 1:1로 넣어서 진탕 혼합한 다음 1,500 rpm에서 3분간 원심분리 후 576 nm에서 흡광도를 측정하였다. Astringent 활성 측정은 시료용액의 첨가군과 무첨가군의 흡광도 감소율로 나타내었다.

항염증 효과 측정

Hyaluronidase 저해활성 측정. Hyaluronidase(HAase) 저해활성 측정은 sodium-hyaluronic acid(HA)로부터 형성된 N-acetylglucosamine을 glucoxazoline 유도체로 변형시킨 후 *p*-dimethylaminobenzaldehyde (DMAB)로 발색시켜 흡광도를 측정하여 효소 활성을 측정하였다[Reissig 등, 1995]. 0.1 M acetate buffer(pH 3.5)에 녹인 HAase(7,900 U/mL) 0.05 mL와 시료용액 0.1 mL를 혼합하여 37°C에서 20분간 배양한 다음 12.5 mM CaCl₂ 0.1 mL를 가하고 혼합 후 다시 20분간 배양하였다. 기질로서 0.1 M acetate buffer(pH 3.5)에 녹인 HA (12 mg/mL)를 첨가하여 다시 40분간 배양하여 0.4 N potassiumtetraborate 0.1 mL 및 0.4 N NaOH 용액을 0.1 mL 반응 혼합물에 첨가하여 3분 동안 수욕상에서 가열한 후 완전히 냉각시켰다. 냉각 시킨 반응물에 발색제로 DMAB 시약 3 mL를 가

하여 37°C에서 20분간 배양한 다음 585 nm에서 흡광도를 측정하여 저해활성을 산출 하였다.

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

MTT assay에 의한 세포 생존율 측정. 세포 생존율 측정은 Carmichael 등의 방법[1987]에 따라 측정하였다. 세포주 macrophage(Raw 264.7) cell을 96 well plate에 $0.6 \sim 8 \times 10^3$ cells/well이 되게 0.18mL 분주하고, 시료를 농도 별로 조제하여 0.02mL 첨가한 후 37°C, 5% CO₂ incubator에서 24시간 배양하였다. 대조군은 시료와 동량의 증류수를 첨가하여 동일한 조건으로 배양하였다. 여기에 5mg/mL 농도로 제조한 MTT 용액 0.02mL를 첨가하여 4시간 배양한 후 배양액을 제거하고 각 well당 DMSO:Ethanol(1:1) 0.15mL를 가하여 실온에서 30분간 반응 시킨 뒤 ELISA reader로 550nm에서 흡광도를 측정하였다. 세포 생존율 측정은 시료용액의 첨가군과 무첨가군의 흡광도 감소율로 나타내었다.

$$\text{세포 생존율(\%)} = \left(1 - \frac{\text{시료첨가군의 흡광도}}{\text{무첨가군의 흡광도}} \right) \times 100$$

Nitric oxide 저해활성 측정. Nitric oxide(NO) 측정은 세포의 상등액에서 nitric oxide(NO)의 양을 nitrite와 nitrate로서 측정을 하였다. Nitrite에 대한 nitrate로 환원된 후의 안전한 형태인 griess 시약(Sigma, USA)를 사용하였으며, 6 well plate에 2×10^6 개의 cell을 confluence가 80%일 때, PBS로 2번 세척한 후에 무혈청 배지를 사용하여 12시간 이상 배양시킨 후에 lipopolysacchride(LPS) 10 µg/mL을 대조군을 뺀 모든 well에 다 넣어서 자극시켰다. 2시간 후에 시료를 농도별로 처리하여 실험하였다. NO 생성량은 시간별로 상등액을 모아 griess 시약으로 10분간 반응시킨 후에 540 nm에서 흡광도로 측정하였다.

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

항균력 측정

균배양. 전 배양 및 본 배양을 위한 액체 배지로는 *Staphylococcus epidermidis*의 액체 배지는 nutrient broth(NB)를 사용하였고, *Propioni- bacterium acnes*의 액체 배지는 gifu anaerobic medium(GAM)을 사용하였다. 고체배지는 상기 액체 배지에 agar를 첨가하여 본 실험에 사용하였다. *S. epidermidis*는 BOD 배양기, *P. acnes*균은 CO₂ 배양기에서 37°C로 배양하였다.

생육 저해환(Clear zone) 측정. 항균력 측정은 paper disc법 [Conner 와 Beuchat 등, 2001]을 이용하여 측정하였다. 즉, 평판 배지에 배양된 각 균주를 1 백금이 취해서 액체 배지 10 mL에서 18~24시간 배양하여 활성화시킨 후 다시 액체 배지 10 mL에 균액을 0.1 mL 접종하여 3~6시간 본 배양한 후 평판 배지 1개당 균수가 약 1×10^7 cells이 되게 접종하여 멸균 면봉으로 균일하게 도말하였다. 멸균된 filter paper disc(8 mm, Tokyo, Japan)를 고체 평판배지에 올려놓은 다음 0.05 mL/disc가 되도록 시료를 농도별로 흡수시켜 37°C에서 18~24시간 배양하여 disc 주위의 clear zone(mm)의 직경을 측정하였다.

결과 및 고찰

총 폴리페놀 함량 측정 결과. 페놀성 화합물은 식물체에 널리 분포되어 있는 2차 대사산물의 하나로서 다양한 분자구조와 분자량을 가진다. 이들은 phenolic hydroxyl(OH)기를 가지기 때문에 단백질 및 기타 거대 분자들과 쉽게 결합하여, 항산화, 항암 등의 다양한 생리활성을 가진다[Jung 등, 2004]. 본 실험에서는 도화 추출물에 존재하는 총 폴리페놀 함량을 tannic acid를 기준물질로 하여 도화 추출물의 폴리페놀 함량을 측정한 결

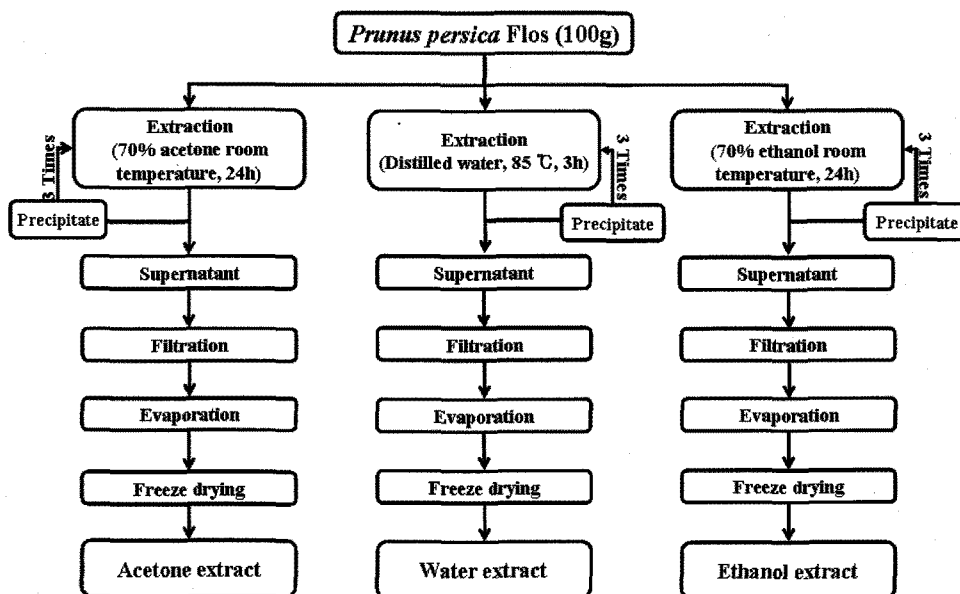


Fig. 1. The procedure for extraction from *Prunus persica* Flos.

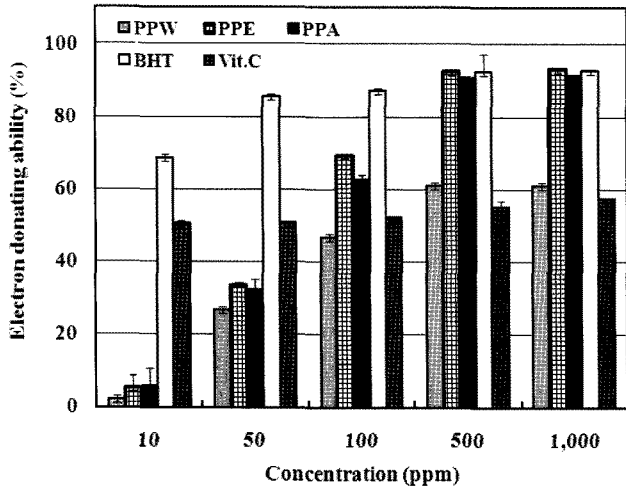


Fig. 2. Electron donating ability of *Prunus persica* Flos extracts.
 □ PPW: *Prunus persica* Flos extracted with water
 ▨ PPE: *Prunus persica* Flos extracted with ethanol
 ▩ PPA: *Prunus persica* Flos extracted with acetone
 ▤ BHT: butylhydroxytoluene
 ■ Vit. C: ascorbic acid
 Result are means±SD of triplicate data.

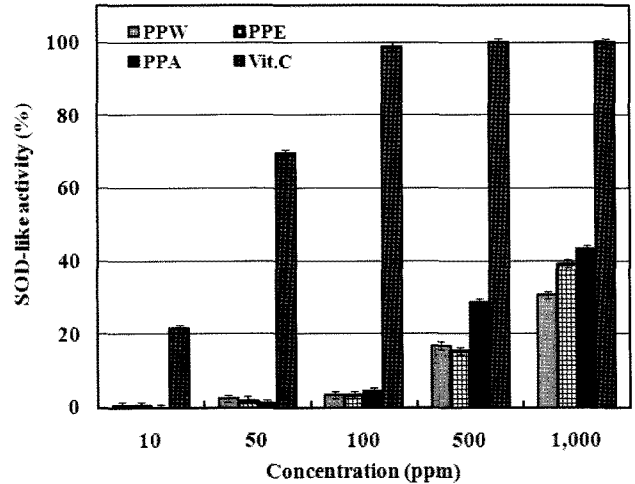


Fig. 3. SOD-like activity of *Prunus persica* Flos extracts.
 □ PPW: *Prunus persica* Flos extracted with water
 ▨ PPE: *Prunus persica* Flos extracted with ethanol
 ▩ PPA: *Prunus persica* Flos extracted with acetone
 ■ Vit. C: ascorbic acid
 Result are means±SD of triplicate data.

과 다음과 같이 나타내었다. 도화 열수, 에탄올 및 아세톤 추출물의 폴리페놀 함량은 각각 623, 1,088, 886 mg/100 g를 나타내었으며, 특히 도화 에탄올 추출물의 폴리페놀 함량이 가장 높게 나타났다.

항산화 효과 측정 결과

전자공여능 확인. 도화 추출물을 천연 항산화제로서의 이용 가능성을 확인하기 위하여 전자공여능을 측정된 결과 Fig. 2와 같이 나타내었다. 도화 열수 추출물의 경우, 500 ppm에서 60.0% 이상의 효과를 나타내었으며, 도화 에탄올 및 아세톤 추출물의 경우, 500 ppm에서 90.0% 이상의 효과를 나타내었다. 이는 대조군인 vitamin C와 합성항산화제인 BHT보다는 효과가 미비하였으나, 농도가 증가할수록 유의한 결과를 나타내었다. 이 결과는 Kim 등[2000]의 울무의 전자공여능 측정에서 메탄올 추출물이 795 ppm에서 50.0%의 저해능을 나타낸 결과와, Koh 등[2005]의 석류씨 열수, 에탄올 추출물 및 석류씨 오일 1,000 ppm의 농도에서 각각 18.8, 28.5, 9.7%의 효과를 나타낸 결과와 비교하여 높은 활성을 나타내었다. 또한 Lee 등[2004]의 느릅나무와 시무나무의 근, 수피 추출물의 전자공여능 측정에서 80.0% 에탄올 추출물의 경우 100 ppm에서 각각 91.6, 90.0, 24.6, 56.5%의 효과를 나타내었고, 열수 추출물의 경우 64.0, 19.8, 14.0, 12.5%의 효과를 나타내어 도화 추출물의 전자공여능과 유사한 효과를 나타내었으며, 천연 항산화제로서의 이용 가능성을 확인할 수 있었다.

Superoxide dismutase(SOD) 유사활성 확인. 항산화 효소 중의 하나인 superoxide dismutase(SOD)는 생체에 매우 유해한 superoxide anion radical(O₂⁻)과 반응하여 hydrogen peroxide(H₂O₂)를 생성하는 효소로, 산소를 소비하는 모든 생물 종에 존재하여 생체 내에서 활성산소 장애에 대한 방어 작용을 하는 대표적인 활성산소 저해제이다. 또한 산소분자가 환원되어 생

기는 superoxide anion radical(O₂⁻·2O₂+2e⁻→2O₂⁻)을 제거하는 첫 번째 방어 메커니즘에 관여하는 중요한 효소(2O₂⁻+2H⁺→H₂O₂+O₂)이며, 가장 독성이 강한 hydroxy radical의 생성을 예방하는 작용을 하여 현재 항염증소제나 피부 노화방지를 위한 미용소재로 화장품 등의 첨가제로서 사용되어지고 있다[Bryan 등, 2000; Grasbon 등, 1999]. 이러한 피부 노화방지와 밀접한 관련이 있는 SOD 유사활성을 측정된 결과 Fig. 3과 같이 나타내었다. 도화 열수 추출물의 경우 1,000 ppm에서 30.0% 이상의 유사활성을 나타내었으며, 도화 에탄올 및 아세톤 추출물의 경우 1,000 ppm에서 40.0, 43.0%의 유사활성을 나타내었다. 이는 대조군인 vitamin C와 비교하여 낮은 결과지만 농도 의존적으로 증가하는 경향을 보여 유의적인 결과를 나타내었다. 이 결과는 Hong 등[1998]의 과실, 과채류 착즙의 SOD 유사활성에서 사과 착즙액 1.000 ppm에 대하여 14.6%, 케일 농축액에 대하여 26.7%, 키위 착즙액에 대하여 27.6%, 무 착즙액에 대하여 24.1%의 유사활성보다 높은 결과이며, Lee 등[2005]의 싸리 추출물의 SOD 유사활성 측정에서 1,000 ppm의 열수, 에탄올 및 압력 열수 추출물에서 각각 20.0, 44.1, 29.9%의 효과를 나타낸 결과와, Lim 등[2004]의 한국산 약용식물의 SOD 유사활성에서 20.0% 미만의 활성과 비교할 때 도화 추출물의 SOD 유사활성이 우수함을 확인할 수 있었다.

Xanthine oxidase 저해활성 확인. Xanthine oxidase는 xanthine을 기질로 하여 uric acid를 생성하는 과정에서 superoxide radical을 생성하는(free radical generation) 효소이다 [Ziegler 등, 1971]. 도화 추출물의 xanthine oxidase 저해 활성을 측정된 결과 Fig. 4에 나타낸 바와 같이 도화 열수 추출물의 경우 모든 농도에서 10.0% 미만의 효과를 나타낸 반면, 도화 에탄올 및 아세톤 추출물의 경우 1,000 ppm에서 vitamin C와 유사한 30.0% 정도의 xanthine oxidase 저해활성을 나타내었다. 이는 Kim 등[1996]의 미역, 모자반, 파래, 김 추출물의

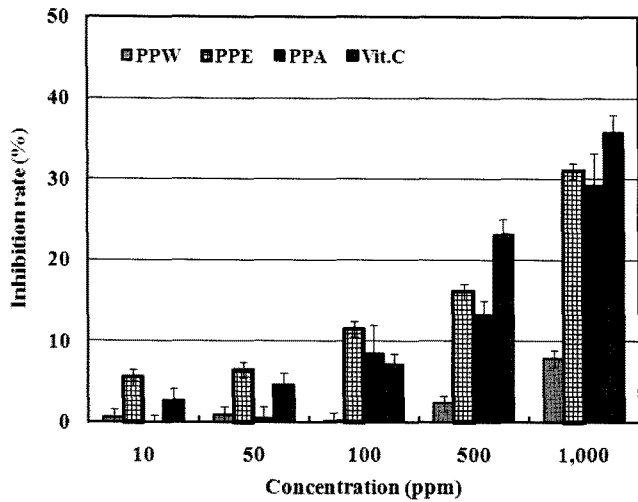


Fig. 4. Inhibition rate of *Prunus persica* Flos extracts on xanthine oxidase.

□ PPW: *Prunus persica* Flos extracted with water
 ▨ PPE: *Prunus persica* Flos extracted with ethanol
 ■ PPA: *Prunus persica* Flos extracted with acetone
 ■ Vit. C: ascorbic acid
 Result are means±SD of triplicate data.

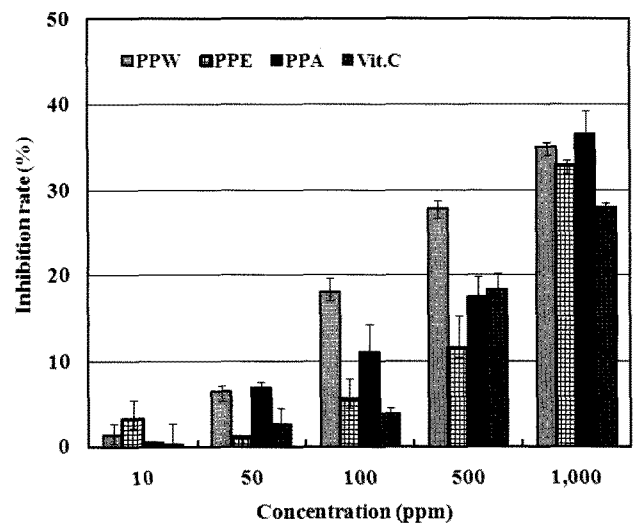


Fig. 6. Inhibition rate of *Prunus persica* Flos extracts on hyaluronidase.

□ PPW: *Prunus persica* Flos extracted with water
 ▨ PPE: *Prunus persica* Flos extracted with ethanol
 ■ PPA: *Prunus persica* Flos extracted with acetone
 ■ Vit. C: ascorbic acid
 Result are means±SD of triplicate data.

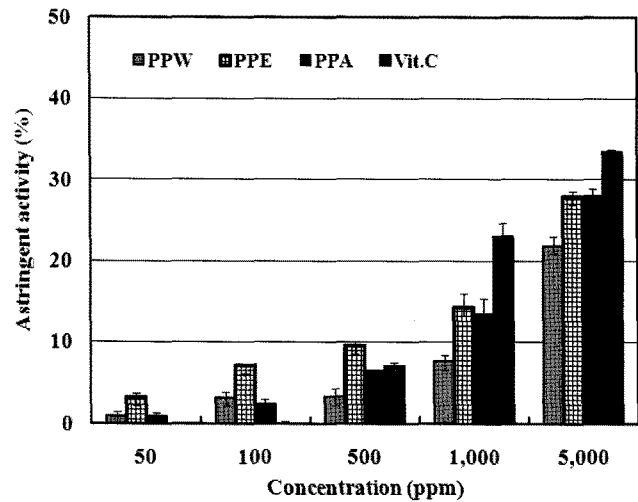


Fig. 5. Comparison of astringent activity of *Prunus persica* Flos extracts.

□ PPW: *Prunus persica* Flos extracted with water
 ▨ PPE: *Prunus persica* Flos extracted with ethanol
 ■ PPA: *Prunus persica* Flos extracted with acetone
 ■ Vit. C: ascorbic acid
 Result are means±SD of triplicate data.

xanthine oxidase 저해활성을 측정한 결과, 시료 농도 500 ppm에서 10.8, 10.7, 14.8, 8.6%의 저해활성을, 다시마, 청각의 경우 27.9, 33.0%의 저해활성이 나타났다고 보고한 결과와, Moon 등[2001]의 용매별 값임 추출물의 xanthine oxidase 저해활성에서 부탄올 및 물 분획물 1,000 ppm에서 33.0, 23.0%의 저해활성을 나타내어 도화 추출물과 유사한 결과를 나타내었다.

수렴 효과 측정 결과

Astringent 활성 확인. 수렴작용의 원리는 피부 단백질의 고분자 flavonoids와 결합하여 가교결합을 형성하여 피부가 수축

되는 현상을 말한다[Lodetti 등, 2004]. 수렴이란 뜻에는 기본적으로 주름이 지고 혹은 움츠린다는 의미가 있으며, 수렴제는 피부와 점막 혈관 등을 수축시키는 작용이 있고, 세포간극 및 림프관극을 가로막아 점액의 분비를 억제시키는 효과가 있다[Lee 등, 2002]. 또한 수렴제는 단백질과 결합하는 성질을 가지기 때문에 일반적으로 헤모글로빈의 단백질이 추출물과 결합하는 정도에 따라서 수렴효과 정도를 판단할 수 있다. 이러한 수렴작용에는 외용 혹은 내용에 의해서 피부와 점막의 표면에 난용성의 피막을 형성하고 그 결과 국소를 보호하거나, 혹은 조직을 조밀하게 하여 세포막의 투과성을 감소시키는 효과가 있다고 할 수 있다. 도화 추출물의 수렴 효과를 측정된 결과 Fig. 5와 같이 나타내었다. 도화 에탄올 및 아세톤 추출물의 경우 5,000 ppm에서 30.0%의 활성을 나타내어 vitamin C와 유사한 효과를 나타내었다. 이는 Lee 등[2002]의 함초 추출물 10,000 ppm에서 50.0%의 효과를 나타냈다는 보고와 비교하여 도화 추출물의 활성이 더 우수함을 확인할 수 있었다.

항염증 효과 측정 결과

Hyaluronidase 저해활성 확인. 고분자 다당인 히아루론산(hyaluronic acid, HA)은 진피층의 섬유아세포로부터 산출되어, 표피, 진피에 있어서 주요한 세포의 매트릭스로서 glucuronic acid와 glucosamine이 반복해서 연결된 점액성 mucopolysaccharide다. 또한 HA는 염증 형성의 중요 요소인 대식세포의 활성을 저해하는 한편, HA 분해 산물 혹은 저분자 HA는 상처 치유 과정에서 염증을 증가시키는 것으로 알려져 있다. 이는 결국 고분자 HA의 분해효소인 hyaluronidase(HAase)의 저해에 의해 HA의 고분자 형태를 유지하게 함으로서 항염증 효과를 기대할 수 있다[Ghosh, 1994]. 도화 추출물이 HA를 분해하는 HAase를 저해할 수 있는지 알아보하고자 다양한 농도에서 효소

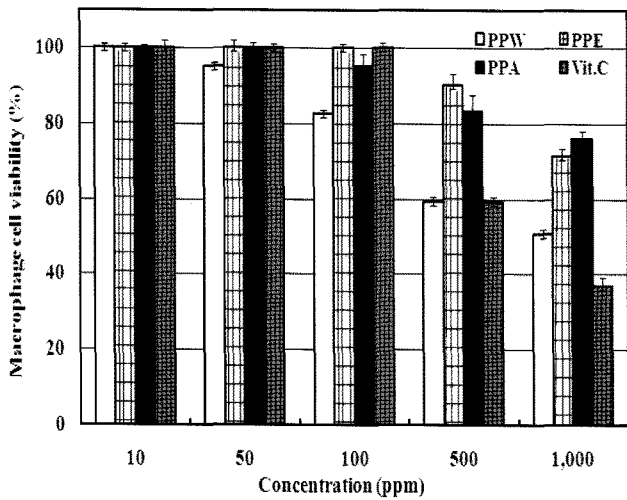


Fig. 7. Cell viability of *Prunus persica* Flos extracts on macrophage cell (Raw 264.7).

□ PPW: *Prunus persica* Flos extracted with water
 ▤ PPE: *Prunus persica* Flos extracted with ethanol
 ■ PPA: *Prunus persica* Flos extracted with acetone
 ● Vit. C: ascorbic acid
 Result are means±SD of triplicate data.

저해 효과를 측정하여 Fig. 6과 같이 나타내었다. 도화 열수, 에탄올 및 아세톤 추출물의 경우 1,000 ppm의 농도에서 각각 35.0, 32.8, 36.5%의 저해율을 나타내어 같은 농도의 vitamin C의 27.9%에 비해 높은 HAase 저해효과를 나타내었다. 이는 Lee 등[2001]의 제주산 식물을 이용하여 ethyl acetate, chloroform, methanol로 분획한 자리공 뿌리의 ethyl acetate 및 닭의장풀 chloroform 분획에서 10% 정도의 저해활성을 나타낸 결과와, Cha 등[2004]의 야생 복숭아나무 추출물의 항염증 효과를 측정한 결과 125 µg/mL에서 열수 추출물의 경우 4.06%, hexane 추출물의 경우 2.90%를 나타내는 것으로 보아, 도화 추출물의 농도 증가에 따른 HAase 저해활성을 확인할 수 있었다.

도화 추출물에 의한 macrophage cell(Raw 264.7)의 생존율 확인. 도화 추출물에 의한 macrophage 세포의 생존율을 MTT assay에 의해 확인한 결과 Fig. 7과 같이 나타내었다. 즉 도화 추출물이 lipopolysaccharide(LPS)로 유도된 nitric oxide의 생성을 감소시킨 것인지, 추출물의 세포독성으로 인한 cell population의 저하에서 기인하는 것인지를 측정된 결과, 도화 에탄올 및 아세톤 추출물의 경우 500 ppm 이하에서 80.0% 이상의 세포 생존율을 나타내었으며, 도화 열수 추출물의 경우 약간의 독성을 나타내었으나, 대조군인 vitamin C 보다는 적은 독성을 나타내었다. 그러나 도화 에탄올 및 아세톤 추출물의 경우 그 수준이 미비해 추출물의 nitric oxide 생성 저해는 세포 독성에 영향을 적게 받음을 확인할 수 있었다. 이에 도화 추출물의 nitric oxide 생성저해는 도화 추출물의 세포독성에 의한 것이 아니라 nitric oxide 생성자체를 저해한 것임을 확인할 수 있었다.

Nitric oxide 저해활성 확인. 체내 염증과정에서는 과량의 nitric oxide(NO) 및 prostaglandin E2(PGE2) 등의 염증인자가 유도형 NO synthase(iNOS) 및 cyclooxygenase(COX)-2에 의해

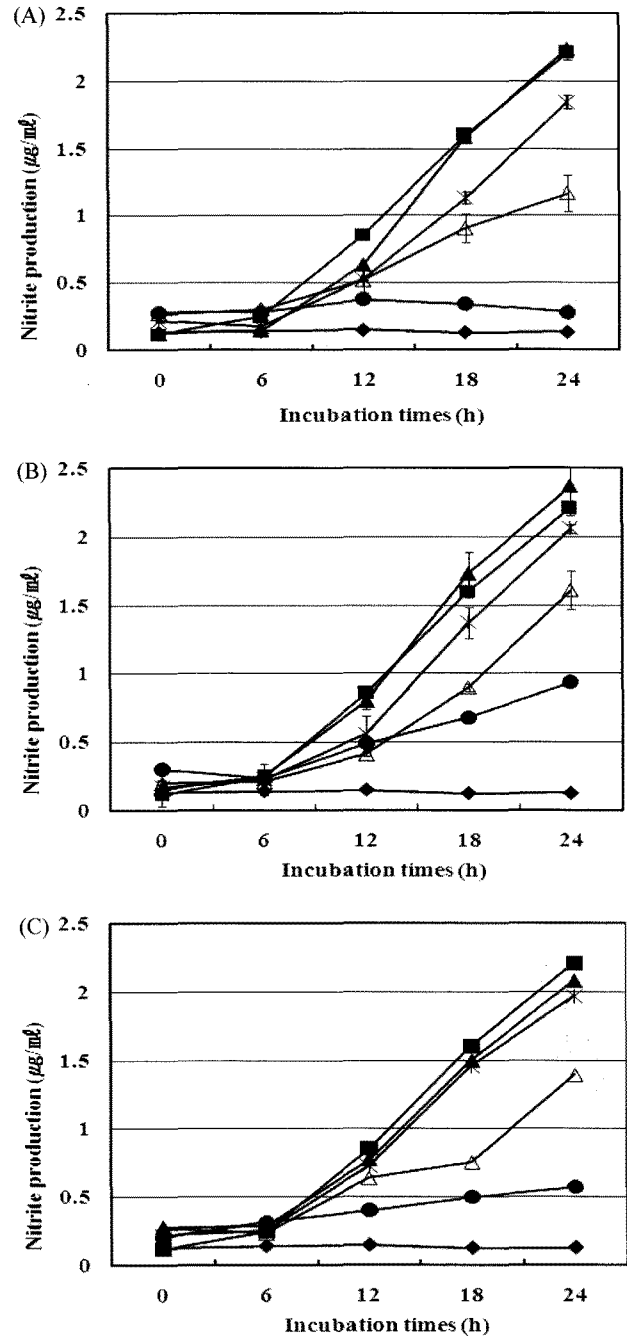


Fig. 8. Effects of *Prunus persica* Flos water extracts on the production of nitric oxide in Raw 264.7 cells.

A: *P. persica* Flos water extracts, B: *P. persica* Flos ethanol extracts
 C: *P. persica* Flos acetone extracts

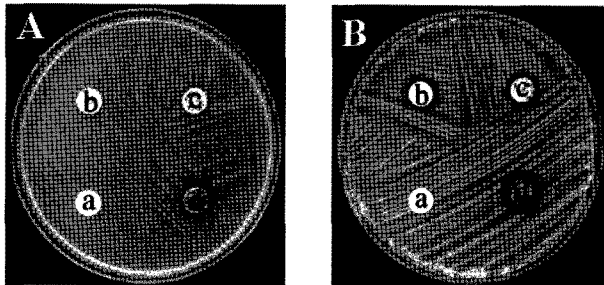
◆: control
 ■: lipopolysaccharide (LPS)
 ▲: LPS+*Prunus persica* Flos extracts 10 ppm
 ✱: LPS+*Prunus persica* Flos extracts 50 ppm
 △: LPS+*Prunus persica* Flos extracts 100 ppm
 ●: LPS+*Prunus persica* Flos extracts 500 ppm

형성된다. 이 중 NO는 체내 방어기능, 신호전달기능, 신경독성, 혈관 확장 등의 다양한 생리기능을 가지고 있다[Moncada 등, 1991]. 일반적으로 NO의 형성은 박테리아를 죽이거나 증양을 제거시키는 중요한 역할을 하지만 병리학적인 원인에 의한 과도

Table 1. Anti-microbial activity of *Prunus persica* Flos extracted with ethanol on several microorganisms

Strains	Concentration(mg/disc)		
	1	2	4
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	- ^a	-	10.0±0.2 ^b
<i>Propionibacterium acnes</i>	9.3±0.29	11.0±0.3	13.0±0.53

a: no inhibition, b: inhibition zone diameter (mm).



a : 0 mg/disc, b : 1 mg/disc, c : 2 mg/disc, d : 4 mg/disc

Fig. 9. Antimicrobial activity of *Prunus persica* Flos extracted with ethanol on several microorganisms.

A: *Staphylococcus epidermidis* KCTC 1917

B: *Propionibacterium acnes* KCTC 3314

한 NO의 형성은 염증을 유발시키게 되며, 조직의 손상, 유전자 변이 및 신경 손상 등을 유발 한다[McCartney-Francis 등, 1993]. Raw 264.7 cell의 NO 생성억제정도를 측정하기 위하여 도화 추출물을 세포에 처리하여 생성되는 NO량을 측정 한 결과 Fig. 8과 같이 나타내었다. LPS군에서는 12시간 후부터 대조군에 비교하여 NO의 생성량이 증가하였으며, 도화 열수 및 에탄올 추출물의 경우 50 ppm 이상의 농도에서 NO 생성량이 억제되었으며, 아세톤 추출물의 경우 100 ppm 이상의 농도에서 NO 생성량이 억제 되었다. 특히 도화 열수 추출물의 NO 생성 억제능이 가장 우수함을 확인할 수 있었다. 그러나 500 ppm의 도화 열수 추출물의 경우 앞의 Fig. 7에서 보듯이 세포독성의 영향을 약간 받은 것으로 사료된다. 이는 Byun 등[2005]의 현삼 메탄올 추출물과 Kim 등[2004]의 상향 H₂O 추출물의 LPS로 유도된 Raw cell의 NO 생성 억제능에 미치는 결과와 비교하여 보면 도화 추출물이 NO 생성량을 억제 한 것과 유사한 결과를 나타내어, 도화 추출물이 농도 의존적으로 NO에 대한 면역 활성을 나타냄을 확인할 수 있었다.

항균 효과 측정 결과

생육 저해환(Clear zone) 확인. 피부 상재균 중 피부에 염증을 유발할 수 있는 세균으로는 *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes* 등이 보고되어 있으며, 특히 피부 여드름 유발 원인균으로는 *Propionibacterium acnes*가 알려져 있다[Chomnawang 등, 2005; Jain와 Basal, 2003]. 도화 추출물의 피부염증유발균인 *S. epidermidis*와 여드름균인 *P. acnes*에 대한 clear zone 형성을 관찰한 결과 Table 1 및 Fig. 9와 같이 나타내었다. 도화 열수 및 아세톤 추출물의 항균효과는 나타나지 않았으나, 도화 에탄올 추출물에 대해 *S.*

*epidermidis*는 4 mg/disc에서 10.0 mm의 항균효과를 나타내었으며, *P. acnes*는 4 mg/disc에서 13.0 mm의 항균효과를 나타내어, 안정성이 확보된 천연물 유래의 피부여드름 치료 및 염증 치료제의 개발이 가능할 것으로 사료된다.

초 록

도화 추출물의 항산화능 및 항염증 효과를 검증하여 기능성 화장품 소재로서의 가능성을 검증하였다. 도화의 항산화능 측정으로 전자공여능을 측정 한 결과 도화 에탄올 및 아세톤 추출물 500 ppm에서 90.0% 이상의 효과를 나타내어, 합성 항산화제로 알려진 BHT와 유사한 효과를 나타내었으며, SOD 유사 활성능 측정 결과 도화 에탄올 및 아세톤 추출물 1,000 ppm에서 40.0% 이상의 활성을 나타내었다. Xanthine oxidase 저해활성능 측정 결과 도화 에탄올 및 아세톤 추출물 1,000 ppm에서 vitamin C와 유사한 30.0%의 효과를 나타내어, 도화 열수 추출물에 비해 도화 에탄올 및 아세톤 추출물의 효과가 높게 나타났다. 항염증 효과 측정으로 hyaluronidase 저해활성능을 측정 한 결과 도화 열수, 에탄올 및 아세톤 추출물에서 35.0%의 저해활성능을 나타내었으며, macrophage 세포를 이용한 nitric oxide (NO) 저해활성능을 측정 한 결과 도화 추출물 모든 농도에서 12시간 이후부터 NO 생성량이 억제됨을 확인할 수 있었다. 또한 피부염증 유발균인 *Staphylococcus epidermidis*와 *Propionibacterium acnes*의 항균효과를 측정 한 결과 도화 에탄올 추출물에서 항균효과를 나타내었다.

Key words: anti-oxidant, anti-inflammation effect, anti-microbial activity, *Prunus persica* Flos

참고문헌

- Association of Analytical Chemists (1984) Official methods of analysis of the AOAC. 14th ed. Washington (DC): Association of Analytical Chemists INC.
- Blois MS (1958) Antioxidant determination by the use of a stable free radical. *Nature* **26**, 1199-1120.
- Bryan DM, Murnaghan J, Jones KS, and Bowley SR (2000) Iron superoxide dismutase expression in transgenic alfalfa increases winter survival without a detectable increase in photosynthetic oxidative stress tolerance. *Plant Physiol* **122**, 1427-1438.
- Byun SH, Yang CH, and Kim SC (2005) Inhibitory effect of Scrophulariae Radix extract on TNF- α , IL-1 β , IL-6 and nitric oxide production in lipopolysaccharide activated Raw 164.7 cells. *Kor J Herbology* **20**, 7-16.
- Carmichael J, DeGraff WG, Gazdar AF, Minna JD, and Mitchell JB (1987) Evaluation of a tetrazolium based semiautomated colorimetric assay: assessment of chemosensitivity testing. *Cancer Res* **47**, 936-942.
- Cha BC, and Lee EH (2004) Antioxidant and anti-inflammation activities of *Prunus persica* tree extracts. *Korean J Medicinal Crop Sci* **12**, 289-294.
- Chomnawang MT, Surassmo S, Nukoolkam VS, and Gritsanapan W (2005) Antimicrobial effects of thai medicinal plants against

- acne-inducing bacteria. *J Ethnopharmacol* **101**, 330-333.
- Conner DE, and Beuchat LR (1984) Sensitivity of heat-stressed yeasts to essential oils of plants. *Appl Environ Microbiol* **47**, 229-233.
- Ghosh P (1994) The role of hyaluronic acid (hyaluronan) in health and disease: interactions with cells, cartilage and components of synovial fluid. *Clin Exp Rheumatol* **12**, 75-82.
- Grasbon T, Grasbon-Frodl EM, Juliusson B, Epstein C, Brundin P, Kampik A, and Ehinger B (1999) CuZn superoxide dismutase transgenic retinal transplants. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* **237**, 336-341.
- Heo J (1994) Donguibogam, pp. 173, 301, 1386. Daejoongseokwan Press, Seoul, Korea.
- Hong HD, Kang NK, and Kim SS (1998) Superoxide dismutase-like activity of apple juice mixed with some fruits and vegetables. *Korean J Food Sci Technol* **30**, 1484-1487.
- Hur JM, Lee JH, Choi JW, Hwang GW, Chung SK, Kim MS, and Park JC (1998) Effect of methanol extract and kaempferol glycosides from *armoracia rusticana* on the formation of lipid peroxide in bromo benzene-treated rats in vitro. *Kor J Pharmacogn* **29**, 231-236.
- Jain A, and Basal E (2003) Inhibition of *Propionibacterium acnes* induced mediators of inflammation by indian herbs. *Phytomedicine* **10**, 34-38.
- Jung MS, Lee GS, and Chae HJ (2004) *In vitro* biological activity assay of ethanol extract of Radish. *J Korean Soc Appl Biol Chem* **47**, 67-71.
- Kim IH etc (1991) Yakyong Sikmulhak[New], pp. 279. Hakchangsa Press, Seoul, Korea.
- Koh JH, Hwang MO, Moon JS, Hwang SY, and Son JY (2005) Antioxidative and antimicrobial activities of pomegranate seed extracts. *Korean J Food Cookery Sci* **21**, 171-179.
- Kim JK, and Lee HS (2000) Tyrosinase inhibitory and radical scavenging activities from the seeds of Coix. *Korea J Food Sci Technol* **32**, 1409-1413.
- Kim OK, Lee TG, Park YB, Park DC, Lee YW, Yeo SG, Kim IS, Park YH, and Kim SB (1996) Inhibition of xanthine oxidase by seaweed extracts. *J Korean Soc Food Sci Nutr* **25**, 1069-1073.
- Kim SC, Jung YS, Lee JR, Kim YW, Byun BH, Kwon TK, Suh SI, Byun SH, and Kwon YK (2004) Inhibition effect of *Phellinus igniarius* water extract on TNF- α , IL-1 β , IL-6 and nitric oxide production in lipopolysaccharide activated Raw 164.7 cells. *Korean J Oriental Physiology & Pathology* **18**, 880-886.
- Kligman D (2000) Cosmeceuticals. *Dermatol Clin* **18**, 609-615.
- Lee JT, Jeong YS, and An BJ (2002) Physiological activity of *Salicornia herbacea* and its application for cosmetic materials. *Kor J Herbology* **17**, 51-60.
- Lee NH, Yang HC, Bu HJ, Jung DS, Lee SJ, and Riu KZ (2001) Screening of the tyrosinase inhibition and hyaluronidase inhibition activities and radical scavenging effects using plants in Cheju. *Kor J Pharmacogn* **32**, 175-180.
- Lee SE, Kim YS, Kim JE, Bang JK, and Seong NS (2004) Antioxidant activity of *Ulmus davidiana* var. japonica N. and *Hemipteleae davidii* P. *Korea J Medicinal Crop Sci* **12**, 321-327.
- Lee SS, Mun SH, Lee HJ, Choe DH, and Jo MH (2004) Cholesterol inhibitory activities of kaempferol and quercetin isolated from *Allium victorialis* var. platyphyllum. *Mokchae Konghak* **32**, 17-27.
- Lee YS, Joo EY, and Kim NW (2005) Antioxidant activity of extracts from the lespedeza bicolor. *Korea J Food Sci Technol* **12**, 75-79.
- Lim JD, Yu CY, Kim MJ, Yun SJ, Lee SJ, Kim NY, and Chung IM (2004) Comparison of SOD activity and phenolic compound contents in various Korean medicinal plants. *Korean J Medicinal Crop Sci* **12**, 191-202.
- Lodetti G, D'Ambrosia F, Fontana P, Pavoni E, and Gigola P (2004) Set up of in vitro methods able to detect the safety of astringent liquids. *Minerva Stomatol* **53**, 361-367.
- Marklund S, and Marklund G (1974) Involvement of the superoxide anion radical in the autoxidation of pyrogallol and a convenient assay for superoxide dismutase. *Eur J Biochem* **47**, 469-474.
- McCartney-Francis N, Allen JB, Mizel DE, Albina JE, Xie QW, Nathan CF, and Wahl SM (1993) Suppression of arthritis by an inhibitor of nitric oxide synthase. *J Exp Med* **178**, 749-754.
- Moncada S, Palmer RM, and Higgs EA (1991) Nitric oxide: physiology, pathophysiology, and pharmacology. *Pharmacol Rev* **43**, 109-142.
- Moon SH, Lee MK, and Chae KS. (2001) Inhibitory effects of the solvent fractions from persimmon leaves on xanthine oxidase activity. *Korean J Food & Nutr* **14**, 120-125.
- Park YH (2004) Woorinara Namu Yiyagi. pp. 308-309. eBeecom Press, Seoul, Korea.
- Reissig JL, Storminger JL, and Leloir LF (1995) A modified colorimetric method for the estimation of N-acetylamino sugars. *J Biol Chem* **217**, 959-966.
- Stirpe F, and Della Corte E (1969) The regulation of rat liver xanthine oxidase. Conversion in vitro of the enzyme activity from dehydrogenase (type D) to oxidase (type O). *J Biol Chem* **244**, 3855-3863.
- Ziegler DW, Hutchinson HD, and Kissling RE (1971) Induction of xanthine oxidase by virus infections in newborn mice. *Infect Immun* **3**, 237-242.