

비타민 나무(*Hippophae rhamnoides* L.) 열매 추출물의 항산화 활성 및 미백 효과

고민석¹ · 이해정² · 강명주^{2*}

¹건국대학교 대학원 생물공학과, ²명지전문대학 뷰티아트과

Antioxidant Activities and Whitening Effects of Extracts from *Hippophae rhamnoides* L.

Min-Seok Ko¹, Hye-Jeung Lee² and Myung-Ju Kang^{2*}

¹Dept. of Biotechnology & Bioengineering at the Postgraduate School, Konkuk University, Seoul 143-914, Korea

²Dept. of Beauty Art, Myongji College, Seoul 120-776, Korea

Abstract

This study was performed to investigate the antioxidant activities and the melanin inhibitory effects of *Hippophae rhamnoides* L. fruit extracts. Two *in vitro* methods were used; the 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) method to determine antioxidant activity and measurements of the inhibitory effects of tyrosinase activity to determine melanogenesis in B16/F10 melanoma cells. The radical scavenging activity of the extract was 56.0% at 700 $\mu\text{g/mL}$, similar to ascorbic acid (56.9%), in the DPPH assay. The tyrosinase inhibitory activity of the extract was 52.1% and 73.4% at 100 and 500 $\mu\text{g/mL}$, which is also similar to ascorbic acid. In B16/F10 mouse melanoma cells, the extract inhibited melanin synthesis by 56% at 500 $\mu\text{g/mL}$, a more prominent inhibition of melanin synthesis compared to extracts from arbutin. These results suggest that extracts from *H. rhamnoides* L. have antioxidant activity and skin-whitening effects; allowing their application in cosmetics as a natural product.

Key words : *Hippophae rhamnoides* L., antioxidative, whitening, tyrosinase, melanin.

서 론

세포의 미토콘드리아, 세포질에서 정상적인 대사와 산화 과정에서 생성되는 활성산소는 생체 내 항산화 제거 기작에 의해 소거되고 있지만 순간적인 다량의 활성산소 생성 또는 장기적으로 발생하는 활성 산소는 항산화 방어계의 균형을 깨지게 하는 유리 라디칼(free radical)로 세포와 조직에 해로운 반응을 일으켜 암 및 동맥경화 등의 질병을 유발하고 노화를 촉진시킨다(Halliwell & Gutteridge 1990). 그러나 인체는 산화적 손상을 예방하고 차단하기 위한 항산화 방어망을 구축하고 있는데 superoxide dismutase(SOD), glutathione peroxidase(GSHPx), glutathione S-transferase(GST), catalase(CAT) 등의 효소 중요 방어 역할을 하고 있다. 이러한 효소적 항산화제 외에 β -carotenes, flavonoids, L-ascorbic acid, α -tocopherol 등의 성분 역시 항산화제로 작용을 하게 된다. 이들은 reactive oxygen species(ROS)를 직접 소거하거나 또는 ROS에 의한 연쇄반응을 차단하여 세포 및 피부의 생리성분이 산화적 손상을 받는 것로부터 보호한다(Packer L 1994).

또한 피부는 산화적 스트레스로 인한 과잉의 ROS가 생성

될 때 콜라겐, 엘라스틴 그리고 히아루론산(hyaluronic acid) 등의 진피 내 기질 성분을 분해하는 효소인 matrix metalloproteinases(MMPs)의 발현을 증가시키고 멜라닌 생성반응을 촉진시킨다. 멜라닌의 생성은 표피의 기저층에 존재하는 멜라노솜(melanosome)에서 먼저 tyrosinase에 의해 tyrosine이 활성화 되고, dihydroxyphenylalanine(DOPA)과 DOPA quinone을 거치는 연속적인 산화 반응에 의해 흑갈색 공중합체의 멜라닌을 생성하게 된다. 특히, 피부색소 형성의 주요 원인인 자외선에 의해 발생된 활성산소가 피부 색소 형성을 촉진한다는 메커니즘이 밝혀지면서 이들 활성 산소를 제거하는 항산화 효과가 있는 물질이 멜라닌 색소 형성 억제에 효과적이라는 연구 보고가 있다(Tobin & Thody 1994, Eberlein-Konig *et al* 1998). 따라서 항산화 물질은 연속적인 산화 과정에 의해 생성되는 멜라닌 색소 형성을 막을 수 있을 뿐 아니라 활성산소 소거를 통해서도 멜라닌 색소 형성을 막을 수 있는 미백 물질로 인식하게 되었다. 최근 미백 효과 제품의 개발에 있어서 코지산(kojic acid), 알부틴(arbutin)과 같은 tyrosinase 활성 억제 물질과 하이드로퀴논(hydroquinone), 비타민 C 및 이들의 유도체 그리고 식물에 함유된 유효 물질을 개발하여 화장품 소재로 이용되어 제품화 되고 있는 실정이다(Yamakoshi *et al* 2003). 또한, 화장품 제품 개발 차원에서 보다

* Corresponding author : Myung-Ju Kang, Tel : +82-2-323-4402, Fax : +82-2-323-5497, E-mail : mail4love@hanmail.net

안전하고 강한 효과를 나타내는 천연 항산화제의 연구가 많아지고 있으며, 천연물 내의 기능성 물질을 탐색하는 것이 중요한 연구 과제가 되고 있다(Zhu *et al* 2004, Bajpai *et al* 2009).

본 연구에서 사용한 비타민 나무(*Hippophae rhamnoides* L.)는 보리수과(Elaeagnaceae)에 속하는 낙엽성 관목으로 중국, 유럽, 러시아, 몽골, 히말라야 산맥 주변 국가 등에서 자생하고 있고 최근에는 국내 농가에서도 재배를 하고 있다. 오랜 지색 또는 노란색과 유사한 작은 열매를 맺고 내한성이 매우 강한 식물로 한국과 북한에서는 비타민 나무 또는 산자나무로 불리고, 그 외 sea buckthorn, 시베리아 과인애플, 사극, 짜지(sajee) 등의 여러 이름으로 불려왔다. 비타민 나무 열매에는 탄수화물, 단백질, 유기산 및 비타민 B군과 비타민 C가 풍부하며, 일반적으로 열매 100 g 당 최고 2,500 mg 정도 함유되어 비타민 C가 고함량인 딸기, 키위, 오렌지, 토마토, 당근 등의 과채류보다 더 많이 함유되어 있다고 보고되었다(Bermath & Foldesi 1992). 또한 열매에는 필수아미노산 함유량이 높고 globulin, albumin과 같은 단백질과 linoleic acids, linolenic acids와 같은 지방산의 함량이 매우 높으며, 잎과 종자 추출물에는 폴리페놀류(polyphenolics), 토코페롤(tocopherol), 카로테노이드(carotenoids), 플라보노이드(flavonoids) 등의 항산화성 생리활성물질이 풍부하게 함유되어 있는 것으로 알려져 있고(Yang & Kallio 2002), 종자에는 생리활성지방산의 함량이 특이적으로 높아 아토피피부염의 치료를 연구하여 보고된 바 있다(Yang *et al* 2000).

비타민 나무의 활용에 있어서는 열매, 잎, 가지, 뿌리 등을 활용하여 구내염, 질염 등의 염증과 화상, 궤양, 치질 등의 치료에 전통생약으로 활용되어 왔을 뿐만 아니라 열매 및 종자로부터 추출한 오일류는 여러 피부질환 및 모발 손상 예방용 제품의 첨가물로 이용되어 왔다(Geetha *et al* 2002, Chauhan *et al* 2007). 잎에는 quercetin, gallic acid, tannin 등의 생리활성물질이 함유되어 피부질환과 상처, 화상, 염증 치료의 효과와 세포보호 효과, 항노화, 항산화, 항암 등에 효과적인 연구 결과가 보고되었다(Kim *et al* 2009a, Kim *et al* 2009b, Guan *et al* 2005).

본 연구에서는 비타민 나무 열매 추출물의 활성산소와 멜라닌 세포의 생리활성과의 연관성을 분석하여 기능성 화장품 분야와 기능성 식품의 소재로서 활용 가능성을 검토하였으며 더 나아가 본 연구 자료들이 선행 연구 결과가 많지 않은 열매추출물의 항산화 소재와 관련된 분야의 기초 자료로서 활용될 수 있도록 하기 위해 본 연구를 수행하였다.

재료 및 방법

1. 시료의 제조

중국 및 몽골 중앙도 줌모트시 지역에서 수집한 비타민

나무(*Hippophae rhamnoides* L.) 열매를 선별하여 세척한 다음 씨를 분리한 과육을 압착하였다. 이렇게 얻은 과즙은 filter paper(Whatman No 2, Maidstone, England)로 여과한 다음, rotary vacuum evaporator(N-1N, Eyela Co., Japan)로 감압 농축한 후에 동결건조(FD SFDSM12, Samwon, Korea)하여 분말로 제조하였다.

2. 세포 배양

실험에 사용한 세포주(B16/F10)는 한국 세포주 은행에서 구입한 murine melanocyte이며, 멜라닌을 합성하는 세포주이다. B16/F10 cell은 각각 10%의 fetal bovine serum과 100 units/mL penicillin, 50 μ g/mL streptomycin을 함유한 DMEM(Dulbecco's Modified Eagle's Medium) 배지에서 37°C로 유지되는 5% CO₂ 배양기로 배양하여 실험에 사용하였다.

3. 시약

본 연구에 사용된 DPBS(Dulbecco's phosphate-buffered saline), mushroom tyrosinase, potassium phosphate buffer, CCK-8 (Cell Counting Kit-8) solution, FBS(fetal bovine serum), DMEM (Dulbecco's modified Eagles medium), streptomycin/penicillin, DPPH(1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl), methanol, L-ascorbic acid, NaOH, DMSO(dimethyl sulfoxide), arbutin의 시약들은 Sigma Chemical Co.에서 구입하였다. B16/F10 murine melanoma cell은 한국 세포주 은행으로부터 구입하였다.

4. 세포 독성

시료를 DPBS buffer로 녹여(4°C에서 rotation하면서 충분히 녹임) 0.2 μ m filter로 filtering한 후 각각 다른 농도의 시료를 5 μ g/mL, 10 μ g/mL, 20 μ g/mL, 50 μ g/mL, 100 μ g/mL, 500 μ g/mL, 1,000 μ g/mL, 1,500 μ g/mL, 2,000 μ g/mL의 농도로 B16/F10 세포에 처리하였다. 37°C CO₂ incubator에서 48시간 경과 후 CCK-8 assay solution을 50 μ L씩 넣은 후 5% CO₂에서 37°C로 배양하여 1시간 반응시킨 후 480 nm에서 값을 측정하였다. 살아있는 세포의 경우 NAD-NADH 합성을 통해 CCK-8 solution과 반응하여 orange color로 변색이 되며, 450 nm에서 본 값을 읽게 된다. 죽은 세포의 경우 NAD-NADH의 양이 적게 나오며, 450 nm의 값도 적어지게 된다. 또한 negative control로 세포와 CCK-8 solution과 반응시킨 OD값과 시료 및 CCK-8 assay solution이 들어간 OD값을 blank값으로 cell viability assay를 실시하였다.

5. DPPH radical 소거능 측정

DPPH 라디칼 소거하는 정도를 측정하기 위하여 Blois MS (1958)의 방법을 이용하여 측정하였다.

메탄올로 희석한 각각 다른 농도 별로 준비하여 DPPH solution(0.2 mM DPPH in methanol)과 1:1(100 μ L) 비율로 vortex로 균일하게 혼합한 다음 실온에서 15분간 반응 후 517 nm 흡광도에서 측정하였다. 시료의 농도는 100, 300, 500, 700, 1,000 μ g/mL로 하였고 대조군으로는 메탄올을 첨가하였으며, 비교를 위해 대표적인 항산화제인 ascorbic acid를 사용하였다.

DPPH radical 소거능의 정도는 다음과 같은 계산식에 따라 계산하였다.

$$\text{DPPH scavenging activity (\%)} = [1 - (S - B1) / (C - B2)] \times 100$$

S : 시료와 DPPH solution의 흡광도 값

B1 : 시료와 메탄올의 흡광도 값

C : 메탄올과 DPPH solution의 흡광도 값

B2 : 메탄올의 흡광도 값

6. Mushroom tyrosinase 활성 저해 효과

멜라닌 세포 형성에 필요한 tyrosinase의 활성을 측정하여 미백효과를 측정하는 활성 실험의 하나로 96 well plate에 0.1 M phosphate buffer(pH 6.5) 220 μ L와 에탄올로 희석한 각각 다른 농도의 시료액 20 μ L 그리고 머쉬룸 티로시나제(1,500 U/mL~2,000 U/mL)액 20 μ L를 순서대로 넣는다. 이 용액에 1.5 mM 티로신 액(2,000 U/mL) 40 μ L를 넣고 37°C에서 10 분간 반응시킨 후 490 nm에서 흡광도를 측정하였다.

대조액은 phosphate buffer로 하고 비교를 위하여 ascorbic acid를 사용하였다.

Tyrosinase 활성 억제 정도는 다음과 같이 계산하였다.

$$\text{Tyrosinase inhibition rate(\%)} = 100 - (b - b') / (a - a') \times 100$$

a : 공시료액의 반응 후의 흡광도 값

b : 시료액의 반응 후의 흡광도 값

a' : 공시료액과 완충액의 흡광도 값

b' : 시료액과 완충액의 흡광도 값

7. 세포 내 멜라닌 생합성 억제 효과

멜라닌을 합성하는 세포주인 murine melanocyte(B16/F10)를 이용하여 시료의 멜라닌 생성 억제능을 측정하였다. B16/F10 세포를 3×10^5 cells/well로 접종한 후 약 16시간을 배양하여 80% 이상의 멜라닌세포가 부착 확인 후 시료를 농도 별로 처리 후 48시간 배양하였다. 배양이 끝난 후 배지를 제거하고 PBS(phosphate-buffered saline)로 세척하고 트립신을 처리하여 세포를 회수한 후 60°C에서 건조한 후 1N NaOH (10% DMSO 포함) 200 μ L를 첨가 후 80°C 항온조에서 1시간 방치하여 멜라닌을 완전히 녹였다. 405 nm에서 흡광도 값을 구한 후 멜라닌 단위세포(1×10^3)에서 멜라닌 생성량을 비교하였다. 시료의 농도는 5, 10, 20, 50, 100 μ g/mL로 처리하

였고, 비교를 위하여 arbutin을 시료와 동일한 농도로 처리하여 사용하였다.

8. 통계분석

모든 실험은 3회 반복으로 측정하여 실험값의 통계는 SPSS 12.0(SPSS Inc., USA)를 사용하였고 측정치를 평균 \pm 표준편차로 나타내었으며, 실험결과와 통계적 유의성은 student's t-test로 하였으며 p 값이 0.05 미만일 때 통계적으로 유의성이 있다고 판단하였다.

결과 및 고찰

1. 세포독성

세포독성 실험은 살아있는 세포에서 탈수소 효소 작용에 의하여 NAD-NADH 합성을 통해 CCK-8 solution과 반응하여 orange color로 변색이 되는 미토콘드리아의 능력을 이용하는 검사법으로 비타민 나무 열매 추출물의 세포 생존율에 미치는 영향을 B16/F10(melanoma cell) 세포에 처리한 실험 결과는 Fig. 1과 같다. 비타민 나무 열매 추출물 50 μ g/mL 농도에서 86.8%의 가장 높은 세포 생존율을 보였고, 5 μ g/mL에서 100 μ g/mL 농도까지는 80% 이상의 세포생존율을 나타냈다. 그 이상의 농도에서는 생존율이 감소하여 65~75% 생존율을 보였으나 고농도인 500 μ g/mL에서 75%의 생존율의 결과를 나타내었다. 식물 추출물의 세포생존율 선행 연구를 보면 소리쟁이 뿌리 추출물의 경우, 400 μ g/mL의 농도에서 44.44%의 생존율을 보였고(Park & Jeong 2011) 맨

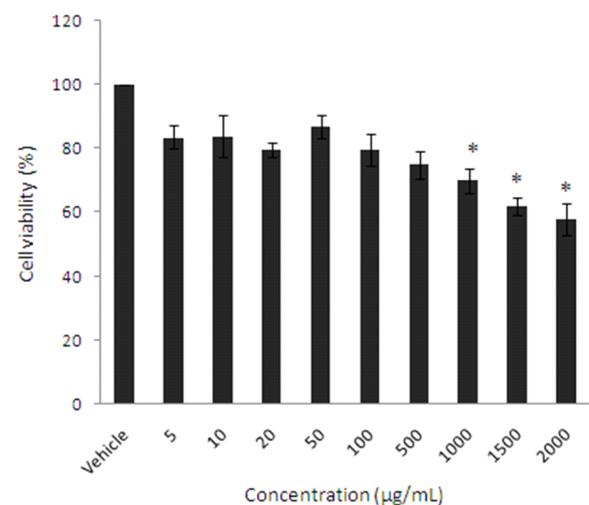


Fig. 1. Effect of *Hippophae rhamnoides* L. fruit extracts on cell viability of murine melanocyte (B16/F10).

Results are expressed as mean \pm S.D. of data obtained from three independent experiments. * $p < 0.05$, significantly different from the vehicle.

드라마 추출물의 경우에는 100 $\mu\text{g/mL}$ 농도에서 89.5%의 생존율을 나타내어(Pyo *et al* 2008) 화장품 및 원료 개발의 가능성을 보여주었는데, 비타민 나무 열매 추출물의 세포독성은 선행 연구의 결과와 비교해 세포생존율이 높거나 유사하여 화장품 원료 개발 및 응용에 있어 피부 안전성이 우수할 것으로 사료된다.

2. DPPH 라디칼 소거능

전자공여능은 항산화 작용의 지표로 사용되고 있으며, 식물 추출물의 항산화능 측정에는 DPPH 라디칼 소거능 측정법을 많이 이용하고 있다. 인체 내에서 생성된 활성 산소는 세포막을 공격하여 노화 및 질병을 유발하는 것으로 보고되고 있으며, 전자공여작용은 인체 내에서 생성되는 프리라디칼에 의한 노화와 질병을 억제하는 작용으로 이용되고 있다(Lim *et al* 2007). DPPH는 비교적 안정한 자유라디칼을 가지고 있는 화합물로서 항산화력이 있는 물질과 만나게 되면 환원 작용에 의해 라디칼이 소거되어 탈색이 되는데 이점을 이용하여 항산화 효과를 측정하게 된다(Blios MS 1958).

비타민 나무 열매 추출물의 DPPH 라디칼 소거능을 농도 별로 측정한 결과, 전반적으로 항산화 작용이 높은 ascorbic acid와 유사한 결과를 보였다(Fig. 2). 700 $\mu\text{g/mL}$ 농도에서의 라디칼 소거능을 보면 비타민 나무 열매 추출물은 56.0%, ascorbic acid는 56.9%로 가장 높은 라디칼 소거능을 보였다. 비타민 나무 열매 추출물 1,000 $\mu\text{g/mL}$ 에서 45.89%로 약간 감소하는 경향을 보였는데, 비교군인 ascorbic acid 역시 53.6%로 다른 농도보다는 약간 감소 경향을 보여 라디칼 소거능은 있었지만 두 군간의 유의적 차이를 보여 1,000 $\mu\text{g/mL}$ 농도

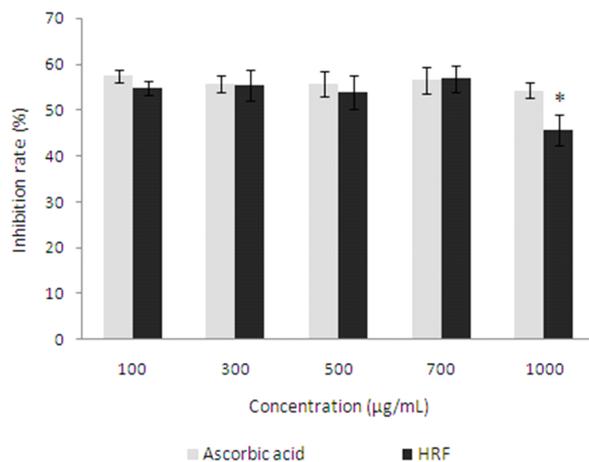


Fig. 2. DPPH radical scavenging effect of *Hippophae rhamnoides* L. fruit extracts.

HRF : *Hippophae rhamnoides* L. fruit. Results are expressed as mean \pm S.D. of data obtained from three independent experiments. (* $p<0.05$).

에서는 비타민 나무 추출물이 ascorbic acid의 라디칼 소거능보다 낮은 결과를 얻었다($p<0.05$). 또한, 100 $\mu\text{g/mL}$ 에서 700 $\mu\text{g/mL}$ 사이의 농도에서는 항산화 작용이 강한 ascorbic acid와 유사한 결과를 나타내어 두 군간의 유의적 차이를 보이지 않았다. 이는 비타민 나무 열매의 추출물의 DPPH 라디칼 소거능이 ascorbic acid와 유사하게 높은 항산화 작용이 있는 것으로 사료된다.

이러한 결과는 항산화 효과가 잘 알려진 인삼, 갈근, 창출, 약쑥 그리고 느타리버섯의 70% 에탄올 추출물의 100 $\mu\text{g/mL}$ 를 처리한 결과(Shin JY 2001)와 비교하였을 때 비타민 나무 열매 추출물이 항산화 작용이 높다는 결과를 얻게 되었다.

3. Tyrosinase 활성 저해 효과

Tyrosinase는 멜라닌 생성에 중요한 역할을 하는 효소이다. 기질인 L-tyrosin이 효소인 mushroom tyrosinase에 의해 산화되어 생성되는 멜라닌의 흡광도를 측정함으로써 추출물의 tyrosinase 억제 활성 효과를 검토하는 방법으로 미백 효과 연구에 사용된다. 비타민 나무 열매 추출물의 미백 기능성 화장품 소재로 활용하기 위한 tyrosinase 활성 억제 효과 실험결과는 Fig. 3과 같다.

비타민 나무 열매 추출물의 tyrosinase 활성 억제 효과는 기존에 미백 효과가 있다고 알려진 ascorbic acid와 비교할 때 100 $\mu\text{g/mL}$ 와 500 $\mu\text{g/mL}$ 에서는 52.1%와 73.4%로 5 $\mu\text{g/mL}$ 농도를 제외한 모든 농도에서 통계학적으로 유의적 차이가 나타나 ascorbic acid보다 tyrosinase 활성 저해 효과가 낮은 결과를 얻었다($p<0.05$). 그러나 Jung *et al*(1995)의 연구에서 계피, 상백피, 갈근 추출물이 20,000 $\mu\text{g/mL}$ 의 높은 농도에서 각각 81%, 63%, 59%의 tyrosinase 억제 활성을 나타내었고

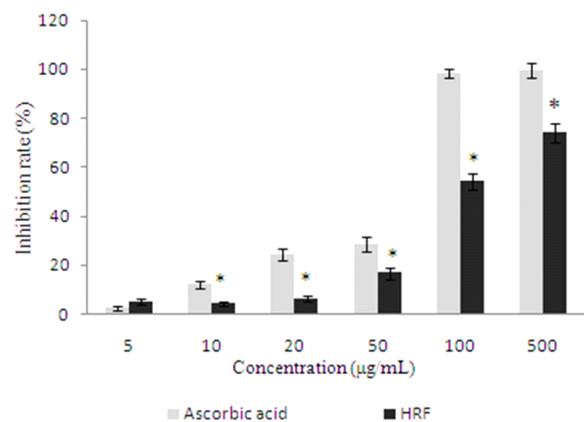


Fig. 3. Inhibitory effect of *Hippophae rhamnoides* L. fruit extracts against tyrosinase.

HRF : *Hippophae rhamnoides* L. fruit. Results are expressed as mean \pm S.D. of data obtained from three independent experiments. (* $p<0.05$).

황기, 백출 및 오가피의 항산화 및 미백효과에 관한 연구(Kim & Heo 2009)에서 1,000 $\mu\text{g/mL}$ 농도로 실험한 결과 6.0%, 31.2%, 42.1%를 나타내었다. 따라서 이러한 식물 추출물의 tyrosinase 활성 억제 효과와 비교해 볼 때 비타민 나무 열매 추출물은 보다 낮은 농도에서 tyrosinase 억제 활성이 유사하거나 높은 결과를 나타냈다. 이는 비타민 나무 열매 성분이 멜라닌 합성을 저해하여 피부의 색소 침착을 방지하는 기능성 소재로 활용 가능성이 높을 것으로 판단되었다.

4. 세포 내 멜라닌 생합성 억제 효과

멜라닌은 자외선으로부터 피부를 보호하는 역할을 하지만 활성 산소에 의해 자극을 받으면 tyrosinase가 활성화 되고 단계적인 변화를 거쳐 흑갈색의 공중합체인 멜라닌이 생성 되는데 코지산, arbutin 등은 tyrosinase의 활성을 억제하여 멜라닌 색소 생성을 감소시킴으로써 미백 성분으로 사용하고 있다(Iwata *et al* 1990).

멜라닌 생성 억제 효과를 확인하기 위해 멜라닌 생성 세포인 멜라노사이트(B16/F10) 세포에 비타민 나무 열매 추출물을 농도 별로 첨가하여 배양한 후 세포 내 멜라닌 생성량을 측정하였다. 시료와 비교군인 arbutin의 멜라닌 억제 효과를 측정 한 결과는 Fig. 4와 같다. 비타민 나무 열매 추출물의 멜라닌 생합성 억제 효과는 농도 5, 10, 20, 50, 100, 500 $\mu\text{g/mL}$ 에서 각각 48, 43, 45, 47, 47, 56%로 5~100 $\mu\text{g/mL}$ 사이에서는 멜라닌 생합성 억제 효과가 arbutin과 마찬가지로 농도 의존적인 효과는 나타나지 않았다. 미백 효과가 우수한 arbutin의 효과와 비교할 때 농도 10 $\mu\text{g/mL}$ 와 100 $\mu\text{g/mL}$ 에

서는 두 군간이 통계학적으로 유의적 차이가 없는 것으로 보아 arbutin과 유사한 효과가 있음을 알 수 있다. 그러나 농도 20, 100 $\mu\text{g/mL}$ 에서는 45%, 47%로 대조군인 arbutin보다 다소 감소하였지만 그 외의 농도에서는 arbutin보다 효과가 높게 나타났고, 농도 5 $\mu\text{g/mL}$ 와 500 $\mu\text{g/mL}$ 에서는 arbutin과 유의적 차이를 나타내어 비타민 나무 열매 추출물의 세포 내 멜라닌 생합성 억제 효과가 더 높은 결과를 보였다. 하지만 농도가 증가함에 따라 억제 효과가 상승하는 농도 의존적인 효과는 나타나지 않았다($p < 0.05$). 이는 농도에 따른 멜라닌 생성 억제 효과를 알아보기 위한 더 많은 연구가 필요하다고 보여진다. 선행 연구의 소리쟁이 추출물의 경우 100 $\mu\text{g/mL}$ 이하 농도에서 14%의 억제 결과(Park & Jeong 2011)와 비교하면 비타민 나무 열매 추출물의 멜라닌 생합성 억제 효과는 우수하다고 볼 수 있다.

이러한 결과, 비타민 나무열매 추출물이 tyrosinase 억제 효과와 동시에 멜라닌 생합성 억제 효과가 있는 것으로 보아 미백 효과에 중요한 역할을 하는 것을 확인할 수 있었다.

요 약

본 연구는 비타민 나무(*Hippophae rhamnoides* L.) 열매 추출물의 약리 활성 효과인 항산화 활성과 미백 효과의 유효성을 알아보기 위해 DPPH 소거능, tyrosinase 활성 억제 효과 및 세포 내 멜라닌 생합성 억제 효과를 연구하였다. 비타민 나무 열매 추출물의 DPPH 소거능은 비교군인 ascorbic acid와 유사하게 높은 항산화 효과를 보여주었다. 또한 tyrosinase 활성 억제 효과는 100 $\mu\text{g/mL}$ 와 500 $\mu\text{g/mL}$ 에서 52.1%와 73.4%로 나타나 비타민 나무 열매 추출물의 미백 작용에 있어 tyrosinase 활성 억제와 항산화 작용이 관련이 있다고 사료된다. 세포 내 멜라닌 생성 억제 효과를 측정 한 결과는 멜라닌 생성 억제 효과가 시료농도 5, 10, 50, 500 $\mu\text{g/mL}$ 에서 48, 43, 47, 56%를 나타내 미백 효과가 우수한 arbutin보다 효과가 높게 나타났다. 활성산소를 제거하는 것이 멜라닌 색소 형성 억제에 효과적이라는 연구 보고(Miyazawa & Tamura 2007)에 근거하여 볼 때 본 실험 결과에서 항산화 효과가 우수한 ascorbic acid과 유사한 항산화 효과를 나타내었는데 이는 피부 내 활성산소를 제거하여 멜라닌 색소 형성 억제 작용에 의한 미백 효과를 추측할 수 있었다. 그리고 tyrosinase 억제 효과의 실험 결과 역시 멜라닌 색소 형성을 억제시키고 여러 단계의 기작으로 인하여 미백 작용을 나타내는데 중요한 역할을 하게 될 것이라는 결론을 얻었다.

이상의 결과에서 비타민, 미네랄, 아미노산 성분이 풍부한 비타민 나무 열매 추출물은 미백 효과와 항산화 효과에 의한 멜라닌 색소 형성 억제 작용이 우수한 기능성 천연 원료로써 미백 화장품으로 이용이 가능할 것으로 사료된다.

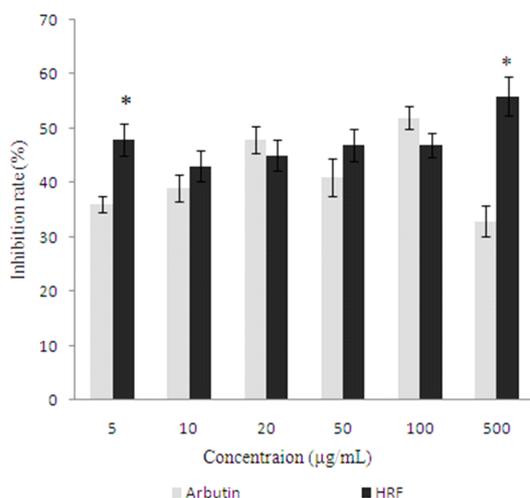


Fig. 4. Melanogenesis inhibition of *Hippophae rhamnoides* L. extract on melanin synthesis in B16/F10 melanoma cells. HRF : *Hippophae rhamnoides* L. fruit. Results are expressed as mean \pm S.D. of data obtained from three independent experiments. (* $p < 0.05$).

문헌

- Bajpai VK, Yoon JI, Kang SC (2009) Antioxidant and anti-dermatophytic activities of essential oil and extracts of *Magnolia liliflora* Desr. *Food Chem Toxicol* 47: 2606-2612.
- Bermath J, Foldesi D (1992) Sea buckthorn (*Hippophae rhamnoides* L): A promising new medicinal and food crop. *J Herb Spices Med Plant* 1: 27-35.
- Blios MS (1958) Antioxidant determination by the use of a stable free radical. *Nature* 18: 1199-1200.
- Chauhan AT, Negi PS, Ramteke RS (2007) Antioxidant and antibacterial activities of aqueous extract of sea buckthorn (*Hippophae rhamnoides* L.) seed. *Fitoterapia* 78: 590-592.
- Eberlein-Konig B, Placzek M, Przybilla B (1998) Protective effect against sunburn of combined systemic ascorbic acid (vitamin C) and d- α -tocopherol(vitamin E). *J Am Acad Dermatol* 38: 45-48.
- Geetha S, Sai Ram M, V. Singh, Ilavashagan G, Sawhney RC (2002) Antioxidant and immunomodulatory properties of sea buckthorn (*Hippophae rhamnoides*)-an *in vitro* study. *Journal of Ethnopharmacology* 79: 373-378.
- Guan TT, Cenkowski YS, Hydamaka AA (2005) Effect of drying on the nutraceutical quality of sea buckthorn (*Hippophae rhamnoides* L. ssp. *sinesis*) leaves. *J Food Sci* 70: 514-518.
- Halliwell B, Gutteridge JM (1990) Role of free radicals and catalytic metal ions in human disease: an overview. *Methods Enzymol* 186: 1-85.
- Iwata M, Corn T, Iwata S, Everett MA, Fuller BB (1990) The relationship between tyrosinase activity and skin color in human foreskins. *J Invest Dermatol* 95: 9-15.
- Jung SW, Lee NK, Kim SJ, Han D (1995) Screening of tyrosinase inhibitor from plants. *Korean J Food Sci Technol* 27: 891-896.
- Kim IC, Heo SS (2009) Antioxidative properties and whitening effects of the *Astragali Radix*, *Atractylodis Rhizoma Alba* and *Acanthopanax Cortex*. *J of the Korean Oil Chemists' Soc* 26: 110-116.
- Kim JE, Chae KY, Park SN (2009a) Antioxidative and inhibitory activity on tyrosinase of *Hippophae rhamnoides* Leaf extracts. *J Soc Cosmet Sci Kor* 374: 265-273.
- Kim YN, Kim KM, Park MH, Kim KH, Im SH, Park YH (2009b) Analysis of chemical composition and anti-oxidant properties of extracts from sea buckthorn (*Hippophae rhamnoides*). *J Appl Biol Chem* 52: 58-64.
- Lim SY, Leem JY, Lee CS, Jang YJ, Park JW, Yoon S (2007) Antioxidant and cell proliferation effects of *Acanthopanax senticosus* extract in human osteoblast-like MG-63 cell line. *Korean J Food Sci Technol* 39: 694-700.
- Miyazawa M, Tamura N (2007) Inhibitory compound of tyrosinase activity from the sprout of *Polygonum hydropiper* L.(Benitade). *Biol Pharm Bull* 30: 595-597.
- Packer L (1994) New comprehensive biochemistry, In CA. Rice-Evans & RH. Burdon (Eds.). Free radical damage and its control. Elsevier Science, Amsterdam. p 239.
- Park JA, Jeong SH (2012) Melanin Inhibitory Activity and changes in melanin and erythema values of *Rumex crispus* L. extracts. *Kor J Aesthet Cosmetol* 10: 291-297.
- Pyo YH, Yoon MY, Son JH, Choe TB (2008) The effect of *Celosia cristata* L. ethanol extract on anti-oxidant and anti-aging activity. *Korean J Biotechnol Bioeng* 23: 431-438.
- Scharffeetter-Kochanek K (1997) Photoaging of the connective tissue of skin, In H. Sies (Ed.). Its prevention and therapy in antioxidants disease mechanism and therapy. Academic Press, London. pp 639-655.
- Shin JY (2001) Screening of natural products that have activities against skin-aging. *Korean J Food & Nutr* 14: 568-572.

접 수: 2012년 9월 24일
 최종수정: 2012년 12월 26일
 채 택: 2012년 12월 29일