

# 차전초 뿌리 추출물이 항산화 활성 및 피부미백 작용에 미치는 영향

윤미연\*, 한영숙

## Effect of Anti-oxidant Activity and the Skin Whitening Action on *Plantago asiatica* L. Root Extract

Yoon Mi Yun\* and Han Young Sook

접수: 2014년 5월 12일 / 게재승인: 2014년 6월 25일  
© 2014 The Korean Society for Biotechnology and Bioengineering

**Abstract:** To investigate the effect of *Plantago asiatica* L. Root extract on skin care, we measured anti-oxidant activity and whitening action. As a result of measuring DPPH radical scavenging activity to examine independent anti-oxidation of PRE, there was slight scavenging activity. Fluorescent materials DHE, DCF-DA and DHR were each used to measure superoxide anion, hydrogen peroxide, and hydroperoxide created in RAW 264.7 cells, all concentrations were found to dependently prevent ROS production. Tyrosinase activation was found to be blocked dose-dependant. Melanin production was also prevented dose-dependant, but the effects were slight. Therefore, it is expected to be used effectively in development of functional cosmetic materials.

**Keywords:** *Plantago asiatica* L., Anti-oxidant, ROS, Melanin, Whitening, Cosmetic

### 1. INTRODUCTION

차전초 (*Plantago asiatica* L.)는 한국, 일본, 타이완, 중국 등지에 분포하며 '생명력이 길기다' 하여 질경이라고도 불린다. 풀밭이나 길가 또는 빈터에서 잘 자라며 줄기는 없고, 잎은 뿌리에서 뭉쳐져 나오며 잎의 모양은 타원 또는 달걀 모양이고 길이가 4~15 cm, 폭이 3~8 cm이며 가장자리에 물결 모양

의 톱니가 있다. 한방에서는 잎을 차전(車前), 종자를 차전자(車前子)라는 약재로 쓰고, 차전자는 민간요법에서 이노 작용, 지사작용으로 사용되었으며 간 기능을 활성화하여 어지럼증과 두통에 효능이 있고, 폐열로 인한 해수에도 효능이 있다. 차전초는 flavonoid를 비롯하여 tannin, aucubin, plantagin, ursolic acid 등의 성분을 포함하고 있으며 이노작용이 있어 신우신염, 방광염, 요로염 등 염증성 질환에 사용된다 [1].

최근 노인 인구가 빠르게 증가하면서 고령화 사회가 현실화되고 있다 [2]. 이에 항노화 (anti-aging)와 웰니스 (Wellness)에 대한 관심이 높아지고 있으며 신체적, 정신적, 사회적으로 만족할 수 있는 노년기를 보내기 위한 각종 프로그램이 개발되고 있다. 노화는 복잡한 과정을 거쳐 유전적 요인과 환경적 요인이 주는 다양한 영향에 의해 진행되고 있으며 세포의 노화와 세포증식능력 감소 [3], 세포의 DNA 재생능력 감소 [4], 산화적 스트레스 증가 [5] 등의 원인으로 노화가 가속화되고 있다. 인체 세포노화는 세포의 산화를 의미하는데 인체의 호흡을 통해 발생하는 hydroxyl radical과 superoxide anion radical 등의 활성 산소종은 세포막 단백질 및 DNA를 손상시킬 뿐만 아니라 지질 과산화를 유발하는 것으로 알려져 있다 [6]. 이러한 활성산소를 억제시키는 항산화제는 superoxide dismutase, catalase, glutathione reductase 등의 효소계열의 항산화제와 phenol계 화합물, tocopherol류, flavone 유도체, phyllozucin류, gallic acid 유도체, catechin, nordihydroguaia-retic acid, gossypol, lignan 배당체 등의 천연 항산화제 (natural antioxidants), butylated hydroxyanisole (BHA)와 butylated hydroxytoluene (BHT), propyl gallate (PG) 등의 합성 항산화제가 널리 알려져 있다 [7]. 또한 피부노화로 나타나는 검버섯 등의 과색소 침착을 예방함으로써 피부를 맑고 건강하게 유지하기 위한 미백 기능성 화장품에 대한 관심이 높아짐에

동남보건대학교 피부미용과  
Department of Cosmetology, Dongnam Health College, Suwon 440-714, Korea  
Tel: +82-31-249-6576, Fax: +82-31-249-6570  
e-mail: ymy@dongnam.ac.kr

따라 미백에 효과가 있는 화장품소재 개발에 대한 연구가 활발하게 이루어지고 있다. 특히 인체에 부작용이 적은 천연식물을 이용한 항산화와 미백물질에 대한 연구가 활발하게 진행되고 있는 실정이다 [8,9]. 따라서 본 연구는 식물에 존재하며 생리적, 약리적 효능이 있는 flavonoid와 aucubin, tannin, plantaginin 등의 성분을 포함하고, 재배가 용이한 차전초 중 연구가 미미한 뿌리를 추출하여 항산화 및 미백작용에 미치는 영향을 관찰함으로써 추후 항산화, 미백과 관련된 기능성 화장품의 원료로의 활용방안을 모색하고자 한다.

## 2. MATERIALS AND METHOD

### 2.1. 시약

Arbutin, Silica, 1,1-diphenyl-2-picryl-hydrazyl (DPPH), L-DOPA, 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyl tetrazolium bromide (MTT), Dulbecco's modified Eagle's medium (DMEM)은 Sigma Chemical Co. (St Louis, MO, USA) 로부터 구입하였다. dihydroethidium (DHE), 2',7'-dichlorofluorescein diacetate (DCF-DA), dihydrorhodamine (DHR)는 Molecular Probe Co., (Eugene, OR, USA) 에서 구입하였다. RAW 264.7 cell, B16 F10 Melanoma cell은 서울대학교 세포주 은행으로부터 구입하였다.

### 2.2. 실험 재료

본 연구의 실험재료로 사용한 차전초는 서울시 서초동 농원에서 직접 재배하여 1 kg 정도의 전초를 수세한 다음 차전초의 잎, 뿌리, 씨를 각각 분리하여 각 시료에 95% ethanol 용액 4배량을 가한 다음 실온에서 일주일 동안 침적시킨 후 whatman No. 2 여과지로 여과시킨 후 멸균 필터지로 필터링한 다음 동결 건조하였다. Rotavapor (50~55 rpm)를 이용하여 에탄올을 제거하고 5.14 g의 추출액을 얻어 시료로 사용하였다.

### 2.3. 세포배양

B16 F10 melanoma 세포와 RAW 264.7 세포는 10% fetal bovine serum과 penicillin/streptomycin (100 IU/ 50 µg/mL)을 함유한 Dulbecco's modified Eagle's medium (DMEM) 용액으로 37°C로 유지되는 5% CO<sub>2</sub> 배양기에서 배양하였다.

### 2.4. MTT를 이용한 세포독성 측정

차전초 뿌리 추출물의 세포독성을 확인하기 위하여 MTT (3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide) assay를 하였다. 세포주는 B16 F10 melanoma를 사용하였으며, 96 well plate에 well당 1×10<sup>4</sup>의 세포수로 분주하고 시료를 농도별로 가한 후 48시간 동안 37°C, CO<sub>2</sub> 배양기에서 배양하였다. 48시간 후 배양 용액을 버리고, Krebs 용액 (mM : NaCl 137, KCl 2.7, Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 0.4, MgCl<sub>2</sub> 0.5, HEPES [pH 7.4] 10, CaCl<sub>2</sub> 1.8, glucose 5)에 녹인 MTT 용액 500 µg/mL을 각 well에 200 µL씩 가하고 어두운 곳에서 4시간 배양 후 상층액을

버리고, DMSO를 각 well에 200 µL를 가하여 MTT formazan을 용해시켰다. 실온에서 15분간 MTT formazan을 완전히 용해 후 570 nm에서 흡광도를 측정하였다.

### 2.5. DPPH radical 소거 정량

96 well plate에 에탄올에 녹인 0.1 mM 1,1-diphenyl-2-picryl-hydrazyl (DPPH) 용액 180 µL와 차전초 뿌리 추출물을 농도별로 20 µL씩 가하고 차광 상태로 37°C에서 30분간 배양한 후 FL 600 spectrofluorometer (Bio-Tek, U.S.A)를 이용하여 517 nm에서 흡광도를 측정하였다.

### 2.6. 세포내 superoxide 생성 측정

세포내에서 생성되는 superoxide를 측정하기 위하여 dihydroethidium (DHE)을 이용하였다. RAW 264.7 세포를 10 mL의 Krebs buffer (mM: NaCl 137, KCl 2.7, Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 0.4, MgCl<sub>2</sub> 0.5, HEPES [pH 7.4] 10, CaCl<sub>2</sub> 1.8, glucose 5)에 분산시킨 후 10 µM dihydroethidium을 가하고 1시간 빛을 차단한 곳에서 배양하였다. dihydroethidium이 없는 Krebs buffer로 한번 세척한 후 1×10<sup>4</sup> cells/mL로 분주하고 시료를 전처리한 후 silica 1 mg/mL을 가하여 30분간 superoxide 생성을 유도하였다. 원심분리 후 cell pellet을 200 µL의 Krebs 용액에 분산시킨 후 형광도 (Ex: 480 nm/ Em: 586 nm)를 측정하였다.

### 2.7. 세포내 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 생성 측정

2',7'-dichlorofluorescein diacetate (DCF-DA)가 RAW 264.7 세포내로 들어가서 세포내 생성된 산소라디칼 (ROS)에 의해 산화되어 deacetylation되면서 생성되는 DCF가 형광을 내는 물질로 전환되는 반응을 이용하여 형광도를 측정하였다. RAW 264.7 세포를 10 mL의 Krebs buffer에 suspend시킨 후, 20 µM DCF-DA를 가하고 30분간 차광상태에서 배양하였다. DCF-DA가 없는 Krebs buffer로 한번 세척한 후 원심분리 하여 세포를 추출하였다. 1×10<sup>4</sup> cells/mL로 소분하고 시료를 농도별로 전처리한 후 silica 1 mg/mL를 가하여 30분간 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 생성을 유도하였다. 원심분리 후 cell pellet을 200 µL의 Krebs buffer에 재분산시켜 96 well plate에 옮긴 후 형광도 (Ex: 485 nm/ Em: 535 nm)를 측정하였다.

### 2.8. 세포내 hydroperoxide 생성 측정

Dihydrorhodamine (DHR)이 RAW 264.7 세포내로 들어가서 세포내 생성된 hydroperoxide에 의해 산화되어 형광을 나타내는 물질인 rhodamine 123으로 전환되는 반응을 이용하여 형광도를 측정하였다. RAW 264.7 세포를 10 mL의 Krebs buffer 부유시킨 후, 10 µM DHR을 가하고 30분간 차광상태에서 배양하였다. DHR이 없는 Krebs buffer로 한번 세척한 후, 1×10<sup>4</sup> cells/mL로 소분하고 농도별로 전처리한 후 silica 1 mg/mL를 가하고 30분간 hydroperoxide의 생성을 유도하였다. 원심분리 후 cell pellet을 200 µL의 Krebs buffer에 재분산시켜 96 well plate에 옮긴 후 형광도 (Ex 488 nm/ Em 515 nm)를 측정하였다.

**2.9. B16 melanoma 세포에서 tyrosinase 활성 측정**

세포내 tyrosinase 활성에 미치는 영향을 관찰하기 위하여 B16 F10 melanoma 세포에 시료처리 후 배양이 끝나면 1% (w/v) Triton X-100을 함유한 10 mM sodium phosphate buffer (pH 6.8)를 100 µL를 가하고 5분간 shaking한 후에 세포와 용액을 모두 eppendorf tube로 옮긴 후 원심분리하여 상층액은 tyrosinase 활성에 이용하고, cell pellet은 멜라닌 정량에 사용하였다. 96 well plate에 약물 처리 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 1시간 동안 배양하였다. Tyrosinase에 의해 생성된 DOPA chrome은 475 nm에서 흡광도를 측정하였다.

**2.10. B16 F10 melanoma 세포에서 melanin 생성 억제 측정**

B16 F10 melanoma 세포를 6 well plate에 3 mL로 분주한 후 10% FBS이 함유된 phenol red-free DMEM 용액에서 12시간 동안 배양하였다. 그리고 시료를 각각의 농도로 37°C에서 10분간 배양하여 전처리한 후, 1 µM의 MSH를 처리하여 37°C에서 72시간 동안 배양하였다. 배양이 끝나고 난 후 1% (w/v) Triton X-100을 함유한 10 mM sodium phosphate buffer (pH 6.8)를 100 µL를 가하고 5분간 shaking한 후 eppendorf tube로 옮기고 이를 10,000 rpm에서 5분간 원심분리 하여 얻은 cell pellet에 1 N NaOH 100 µL와 증류수 200 µL를 가하고 60°C에서 1시간 배양하여 멜라닌을 완전히 녹인 후 96 well plate에 200 µL를 옮기고 405 nm에서 흡광도를 측정하였다. 멜라닌 표준 폼으로 얻은 검량선을 이용하여 각 well에서 생성된 멜라닌 양을 산출하였다.

**2.11. 자료분석 및 통계적 검정**

실험 결과는 평균±표준편차로 표기하였으며, 실험 성적은 non-paired Student's t-test로 검정하였다.

**3. RESULTS AND DISCUSSION**

**3.1. 세포독성 측정**

차전초 뿌리 추출물이 세포독성에 미치는 영향을 알아보기 위하여 MTT assay를 통해 세포 독성을 관찰하였다. B16 F10 melanoma cell에 차전초 뿌리 추출물 1, 10, 100 µg/mL 농도로 처리하여 관찰한 결과 농도에 따라 세포독성이 미미하게 나타났으며 (Fig. 1), 최고 농도인 100 µg/mL에서 71.1% 세포생존율을 나타냄으로써 인체에 적용하였을 때 안전성에 있어 효과적인 물질이라 사료된다.

**3.2. 시험관내에서의 항산화 작용**

식물 화학물 연구조사에 의하면 차전초에는 iridoid glycosides, phenylpropanoid glycosides, flavonoids 및 phenylcarboxylic acid 등의 항산화 및 항염증작용이 있는 성분을 함유하고

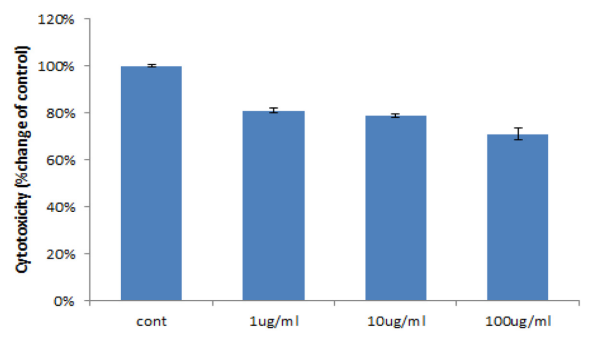


Fig. 1. The cytotoxicity of *Plantago asiatica* L. Root extract. Results are means±SD from 4 separate experiments.

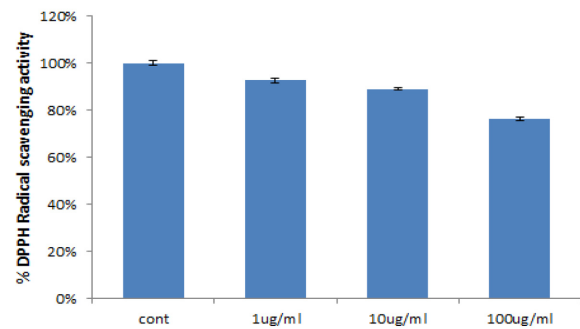
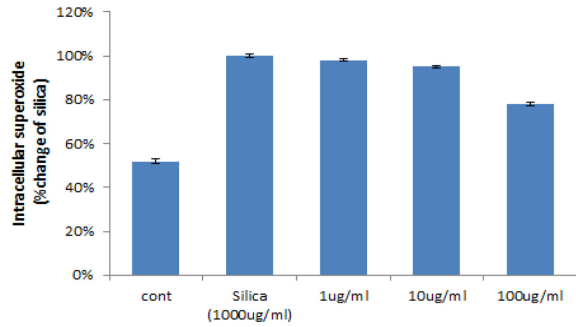


Fig. 2. Anti-oxidant activities of *Plantago asiatica* L. Root extract in the DPPH radical scavenging activity assay. Results are means±SD from 4 separate experiments.

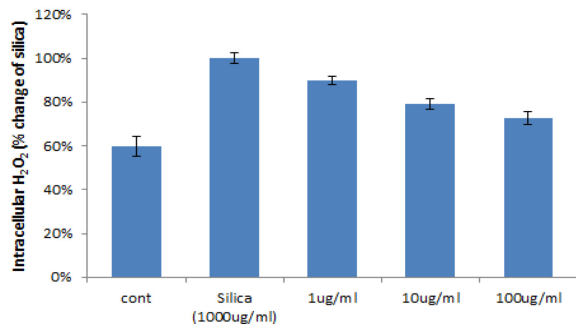
있으며 [10], 차전초에 다량 함유하고 있는 iridoid glycosides인 aucubin은 항산화, 항염증작용에 우수한 성분으로 알려져 있다 [11]. 따라서 다양한 항산화 물질을 함유하고 있는 차전초 뿌리 추출물의 자체적인 항산화 작용을 알아보기 위하여 DPPH radical 소거 활성을 측정하였다. 차전초 뿌리 추출물 적용 농도인 1 µg/mL와 10 µg/mL에서는 미미한 소거활성을 나타내었으나 100 µg/mL에서는 23.6% 항산화 활성을 나타내었다 (Fig. 2). 이러한 결과는 홍충의 등의 연구에서 Fe-NTA에 의해 신장이 손상된 랫드에 차전초 추출물을 투여한 결과 농도 의존적으로 산화스트레스를 감소시킨 연구결과와 유사하다 [12]. 따라서 차전초 구성 성분인 Phenylpropanoid glycoside 등의 항산화 물질의 상호작용에 의해 활성산소에 대한 방어 작용을 나타내는 것으로 사료되며 차전초 뿌리 추출물 자체의 항산화 효능이 있는 것으로 사료된다.

**3.3. RAW 264.7 세포에서 reactive oxygen species (ROS) 소거 활성**

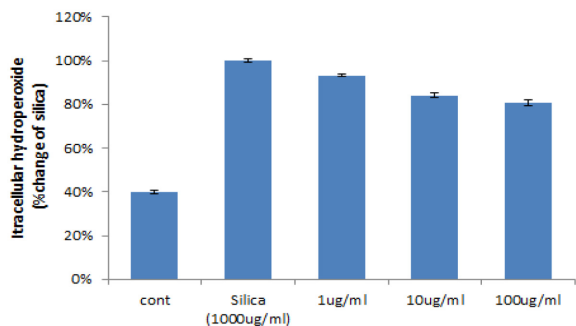
시험관 내에서 차전초 뿌리 추출물 자체가 항산화 작용을 나타내고 있는 것을 확인하였고, 이 실험에서는 DHE, DCF-DA, DHR 각각의 형광물질을 이용하여 세포 내에서 생성되는 superoxide anion, hydrogen peroxide, hydroperoxide를 측



**Fig. 3.** Effect of *Plantago asiatica* L. Root extract on intracellular superoxide generation in RAW 264.7 cells. Results are means $\pm$ SD from 4 separate experiments.



**Fig. 4.** Effect of *Plantago asiatica* L. Root extract on intracellular H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> generation in RAW 264.7 cells. Results are means $\pm$ SD from 4 separate experiments.



**Fig. 5.** Effect of *Plantago asiatica* L. Root extract on intracellular hydroperoxide generation in RAW 264.7 cells. Results are means $\pm$ SD from 4 separate experiments.

정하였다. 인체는 호흡과정을 통해 끊임없이 활성산소가 생성되고 있으며 활성산소에 의해 염증 및 노화의 진행이 가속화되고 있다. 또한 ROS는 세포내 DNA의 변형, protein oxidation, lipid peroxidation 등의 손상을 나타내어 암, 당뇨병, 동맥경화, 염증 등의 다양한 질병을 유발하고 [13,14] 최근 연구에서 ROS가 비만과 같은 대사성 질환에 밀접한 관계를 갖

는 것으로 보고하였다 [15].

DHE는 superoxide anion과 반응하여 형광을 내는 물질로 전환되는 것을 이용하여 세포내 생성되는 superoxide anion을 측정하였다. Silica에 의해 생성된 ROS는 차전초 뿌리 추출물에 의해 농도 의존적으로 미약하게 억제하는 효과를 나타내었으며 최고농도에서 superoxide는 22.1% 억제하였고 (Fig. 3), DCF-DA를 이용한 세포내 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 생성은 최고 농도에서 27.2% 억제하였다 (Fig. 4). 세포의 기능변화를 촉진시키는 hydroperoxide의 생성 억제는 세포기능 유지에 있어서 매우 중요하다. DHR을 이용하여 세포내에 생성된 hydroperoxide를 측정된 결과 최고 농도인 100  $\mu$ g/mL에서 19.1% 억제하였다 (Fig. 5). 이러한 결과는 차전초 씨앗 추출물에서 얻어낸 polysaccharide의 항산화능을 실험한 연구에서 농도 의존적으로 강한 radical scavenging rate를 나타내며 특히 79.7%의 superoxide 소거능을 밝힌 Ye 등 [16]의 연구를 뒷받침할 수 있다. 또한 유민정 등 [17]의 연구에서 밝힌 질경이 추출물이 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>에 의해 발생하는 산화적 스트레스로부터 세포보호 효과를 나타낸 연구결과와 유사하다. 따라서 차전초가 함유하고 있는 다양한 성분 중에 항산화 효능이 있는 aucubin, phenylpropanoide 등 유효한 성분에 의해 활성산소를 억제하는 결과를 나타낸 것을 알 수 있었으며 차전초 뿌리 추출물을 응용한 항산화, 항노화 화장품 소재로써 가능성이 있는 것으로 사료된다.

### 3.4. B16 F10 melanoma 세포에서 tyrosinase 활성

차전초 전초에는 다량의 flavonoid를 비롯하여 phenylpropanoid glycoside acteoside 등의 tyrosinase inhibitor를 포함하고 있으며 [18], 식물로부터 분리된 acteoside는 tyrosinase inhibitor로 알려져 있는 arbutin과 유사하게 tyrosinase 효소활성을 억제한다 [19]. 피부의 과색소 침착은 과도한 멜라닌 합성에 의해 발생하며 tyrosinase는 멜라닌의 형성에 사용되는 효소로써 tyrosinase inhibitor는 비정상적으로 침착된 색소 관리 및 피부 미백화장품 소재로 사용되고 있다. 차전초 뿌리 추출물이 멜라닌 합성에 관여하는 tyrosinase 활성에 미치는 영향을 알아보기 위해 L-DOPA를 이용하여 정제한 tyrosinase 활성을 측정하였다. 대조약물로 사용한 arbutin 100  $\mu$ M에서 42.2% 효소활성을 억제하였으며 차전초 뿌리 추출물 농도 의존적으로 tyrosinase 효소활성을 억제하는 경향을 나타내었으며 최고 농도인 100  $\mu$ g/mL에서는 31.7% 활성을 억제하였다 (Fig. 6). 따라서 차전초 뿌리 추출물을 활용한 피부 미백제 개발이 가능할 것으로 사료된다.

### 3.5. 멜라닌 생성 저해

멜라닌은 멜라닌 세포에 의해 생성되며 피부색을 결정하는 색소이다 [20,21]. 멜라닌은 자외선으로부터 피부를 보호하는 중요한 기능을 갖고 있지만 색소가 과도하게 생성하게 되면 기미, 주근깨 등 과색소 침착이 나타나게 된다. 피부가 자외선에 노출되면 ROS가 생성되는데 이러한 활성 산소는 멜라닌 생합성을 촉진할 뿐만 아니라 DNA를 파괴하고 멜라닌

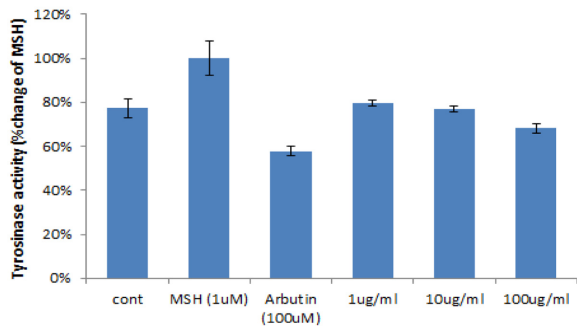


Fig. 6. Effect of *Plantago asiatica* L. Root extract on L-dopa induced tyrosinase activity in MSH-stimulated in B16 F10 melanoma cells. Results are means±SD from 4 separate experiments.

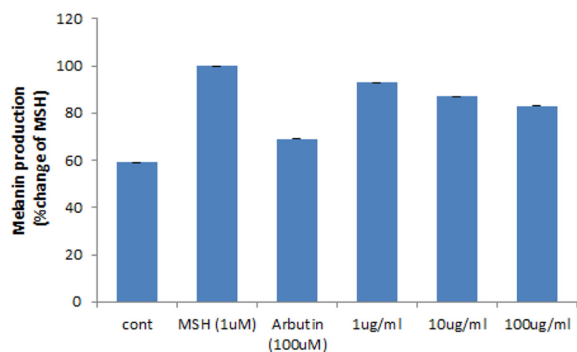


Fig. 7. Inhibitory activity of *Plantago asiatica* L. Root extract on melanin synthesis in MSH-stimulated in B16 melanoma cells. Results are means±SD from 4 separate experiments.

세포의 과도한 증식과 세포 자멸사를 유도한다 [22]. 따라서 산화 방지제와 같은 ROS 소거와 ROS 생산 억제는 멜라닌 색소에 의한 과색소 침착을 감소시키거나 자외선에 의한 멜라닌 생성을 억제할 수 있다 [23]. 최근 연구에서 천연물을 이용한 멜라닌 생성 저해 물질 개발이 활발하게 진행되고 있으며 멜라닌 생성 저해 효능이 있는 flavonoid를 함유하고 있는 차전초 뿌리 추출물이 멜라닌 생성에 미치는 영향에 대해 관찰하였다. 대조군으로 사용한 arbutin 100 uM에서는 31% 멜라닌 생성을 억제하였으며, 차전초 뿌리 추출물은 농도 의존적으로 멜라닌 생성을 억제하는 경향을 나타내었으나 최고 농도인 100 µg/mL에서 7%로 미미하게 억제하는 것으로 나타났다 (Fig. 7). 이러한 결과는 멜라닌 생성에 관여하는 tyrosinase 활성 억제반응에서는 효소활성이 활발하게 이루어지고 있는 반면 멜라닌 세포에는 직접적으로 영향을 미치지 않는 것으로 사료된다.

#### 4. CONCLUSION

본 연구는 식물에 존재하며 생리적, 약리적 효능이 있는 fla-

vonoid와 aucubin, tannin, plantaginin 등의 성분을 포함하고, 재배가 용이한 차전초 중 연구가 미미한 뿌리를 추출하여 항산화 및 미백작용에 미치는 영향을 관찰함으로써 추후 항산화, 미백과 관련된 기능성 화장품의 원료로서의 활용방안을 모색하고자 하였다. 연구의 결과는 다음과 같다. B16 F10 melanoma cell을 이용하여 세포독성을 실험한 결과최고 농도인 100 µg/mL에서 71.1% 세포생존율을 나타냄으로써 인체에 적용하였을 때 안전성에 있어 효과적인 물질이라 사료된다. 다양한 항산화물질을 함유하고 있는 차전초 뿌리 추출물의 자체적인 항산화 작용을 알아보기 위하여 DPPH radical 소거 활성을 측정한 결과 적용 농도인 1 µg/mL와 10 µg/mL에서는 미미한 소거활성을 나타내었으나 100 µg/mL에서는 23.6% 항산화 활성을 나타내었다. DHE, DCF-DA, DHR 각각의 형광물질을 이용하여 세포내에서 생성되는 superoxide anion, hydrogen peroxide, hydroperoxide를 측정한 결과 모두 농도 의존적으로 ROS 생성을 억제하는 것으로 나타났다. 차전초 뿌리 추출물이 멜라닌 합성에 관여하는 tyrosinase 활성에 어떠한 영향을 미치는지 알아보기 위해 L-DOPA를 이용하여 정제한 tyrosinase 활성에 미치는 영향을 관찰한 결과 차전초 뿌리 추출물 농도 의존적으로 tyrosinase 효소활성을 억제하는 경향을 나타내었으며 최고 농도인 100 µg/mL에서는 31.7% 억제하였다. 차전초 뿌리 추출물이 멜라닌 생성에 미치는 영향에 대해 관찰한 결과 농도 의존적으로 멜라닌 생성을 억제하는 경향을 나타내었으나 미미하게 억제하는 것으로 나타났다. 이상의 결과를 종합해 볼 때 차전초 뿌리 추출물은 항산화와 tyrosinase inhibitor로써 기능이 우수하므로 기능성 화장품 소재 개발에 있어서 효과적으로 활용이 가능할 것으로 사료된다.

#### REFERENCES

- Sung, H. K., M. H. Park, and K. J. Jang (2008) *Medicinal plants native to wild*. 2nd de., p. 86. munyei press. Seoul. Korea.
- Cha, N. H., E. J. Seo, and S. R. Sok (2012) Factors influencing the successful aging of older korean adults. *Contemporary Nurse* 41: 78-87.
- Smith, J. R. and O. M. Pereira-Smith (1996) Replicative senescence: implications for in vivo aging and tumor suppression. *Science* 5: 63-67.
- Allsopp, R. C., H. Vaziri, C. Patterson, S. Goldstein, and E. V. Younglai (1992) Telomere length predicts replicative capacity of human fibroblasts. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 89: 10114-10118.
- Miquel, J. (1998) An update on the oxygen stress-mitochondrial mutation theory of aging: genetic and evolutionary implications. *Exp. Gerontol.* 33: 113-126.
- Takahashi, H., M. Kosaka, Y. Watanabe, K. Nakade, and Y. Fukuyama (2003) Synthesis and Neuroprotective activity of bergenin derivatives with antioxidant activity. *Bioorganic & Medicinal Chemistry* 11: 1781-1788.
- Shin, Y. S., J. E. Lee, I. K. Yeon, H. W. Do, J. D. Cheung, C. K.

- Kang, S. Y. Choi, S. J. Youn, J. G. Cho, and D. J. Kwoen (2008) Antioxidant and antimicrobial effect with water and ethanol of oriental melon (*Cucumis melo L. var. makuwa Makino*). *J. Korean Soc. Appl. Biol. Chem.* 51: 194-199.
8. Kwon, J. W., E. J. Lee, Y. C. Kim, H. S. Lee, and T. O. Kwon (2008) Screening of antioxidant activity from medicinal plant extracts. *Korean J. Pharmacogn.* 39: 155-163.
9. Han, J. H., J. H. Kim, S. G. Kim, S. H. Jung, D. H. Kim, G. E. Kim, and W. K. Whang (2007) Anti-oxidative compounds from the aerial parts of *Atractylodes macrocephala* koidzumii. *Yakhak Hoeji* 51: 88-95.
10. Ronsted, N., E. Gobel, H. Franzky, S. R. Jensen, and C. E. Olsen (2000) Chemotaxonomy of plantago. Iridoid glucosides and caffeoyl phenylethanoid glycosides. *Phytochemistry* 55: 337-348.
11. Recio, M. C., R. M. Giner, S. Manez, and J. L. Rios (1993) Structural considerations on the iridoids as anti-inflammatory agents. *Planta. Med.* 60: 232-234.
12. Hong, C. O., S. T. Hong, Y. C. Koo, S. Y. Yang, J. Y. Lee, Y. Lee, Y. M. Ha, and K. W. Lee (2011) Protective Effect of *Plantago asiatica* L. Extract Against Ferric Nitrilotriacetate (Fe-NTA) Induced Renal Oxidative Stress in Wistar Rats. *J. Fd. Hyg. Safety* 26: 107-113.
13. Ames, B. N., M. K. shingenaga, and T. M. Hagen (1993) Oxidants, antioxidants, and the degenerative diseases of aging. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 90: 7915-7922.
14. Beckman, K. B. and B. N. Ames (1979) The free radical theory of aging matures. *Physiol. Rev.* 59: 527-605.
15. Furukawa, S. and T. Fujita (2004) Increased oxidative stress in obesity and its impact on metabolic syndrome. *J. Clin. Invest.* 114: 1752-1761.
16. Ye, C. L., W. L. Hu, D. H. Dai (2011) Extraction of polysaccharides and the antioxidant activity from the seeds of *Plantago asiatica* L. *J. Biological Macromolecules* 49: 466-470.
17. Ryu, M. J. and S. K. Lee (2010) Antioxidant effects of *Plantago asiatica* and protective effects on Human HaCaT keratinocyte. *J. Korea Soc. Beauty and Art* 11: 15-25.
18. Taskova, R., L. J. Evstatieva, N. Handjieva, and S. Popov (2002) Iridoid patterns of genus *Plantago* L. and their systematic significance. *Z. Naturforsch.* 57: 42-50.
19. Yoon, M. Y., S. S. Sim, W. K. Whang, and B. C. Choi (2009) Antioxidant Activity and Whitening Effects of Acteoside and Isoacteoside. *Yakhak Hoeji* 53: 1-5.
20. Ma, X. P. and X. X. Sun (2012) *Melanin: biosynthesis, Functions and Health Effect*. pp. 1-70. Nova Science Publishers.
21. Riley, P. A. (1997) Melanin. *Int. J. Biochem. Cell Biol.* 29: 1235-1239.
22. Wenczl, E., G. P. Schans, L. Roza, R. M. Kolb, A. J. Timmerman, N. P. Smit, S. Pavel, and A. A. Schothorst (1998) (Pheo) melanin photosensitizes UVA induced DNA damage in cultured human melanocytes. *J. Invest. Dermatol.* 111: 678-682.
23. Yamakoshi, J., F. Otsuka, A. Sano, S. Tokutake, M. Saito, M. Kikuchi, and Y. Kubota (2003) Lightening effect on ultraviolet-induced pigmentation of guinea pig skin by oral administration of a proanthocyanidin-rich extract from grape seeds. *Pigment Cell Res.* 16: 629-638.