

## 섬애약쭉 (*Artemisia argyi* H.) 추출물의 미백활성

이해진\* · 임미혜†

대전대학교 뷰티건강관리학과, 교수

대전대학교 뷰티건강관리학과, 교수

(2020년 3월 30일 접수: 2020년 4월 21일 수정: 2020년 4월 24일 채택)

### Whitening Activities of Extracts of Seomaeyakssuk (*Artemisia argyi* H.)

Hea-Jin Lee\* · Mi-Hye Lim†

*Department of Beauty Healthcare, Daejeon University*

*(Received March 30, 2020; Revised April 21, 2020; Accepted April 24, 2020)*

**요약** : 본 연구는 섬애약쭉(*Artemisia argyi* H.)의 미백활성을 평가하였다. 섬애약쭉은 증류수와 70% 에탄올로 추출하였으며, 세포에서의 독성평가로 안전함을 확인하였다. 미백활성은 세포내 티로시나아제, 세포외 티로시나아제, 멜라닌 합성저해 및 미백관련 전사인자 감소로 평가하였다. 그 결과 50, 100, 200  $\mu\text{g}/\text{ml}$ 에서 유의한 세포독성이 나타나지 않는 것을 확인하였다. 각 시료의 200  $\mu\text{g}/\text{ml}$  농도에서 세포 외 멜라닌 생성량의 경우 AAD 45.0%로 유의하게 감소되었으나 AAE는 1.3%로 미미하게 감소되었으며, 세포 내 멜라닌 생성량의 경우 AAD 37.2%, AAE 24.6% 감소되었다. 세포 내 tyrosinase 활성의 경우 200  $\mu\text{g}/\text{ml}$  농도에서 AAD 49.2%, AAE는 35.6% 감소되었다. 또한 tyrosinase, TRP-1, TRP-2 전사인자 각각은 AAD 63.0%/AAE 58.0%, AAD 60.0%/AAE 56.0%, AAD 59.0%/AAE 53.0%로 감소되었다. 추출물 모두 미백 활성에 효과가 있었으나 상대적으로 AAD가 AAE에 비하여 미백효능이 높은 것으로 확인되었다. 향 후 미백 기능성화장품의 원료로써 응용 가능성이 높을 것으로 사료된다.

**주제어** : 섬애약쭉, 미백활성, 멜라닌감소, 기능성화장품, 천연원료

**Abstract**: This study investigated the whitening activity using seomaeyakssuk (*Artemisia argyi* H.) extract. Seomaeyakssuk was extracted from hot DW (AAD) and 70% ethanol (AAE). And confirmed safety through assessment of cytotoxicity. Also, whitening activities were measured through changes in the levels of extracellular melanin, melanin synthesis, cellular tyrosinase activity and transcription factor. The results confirmed that significant cytotoxicity does not appear in the concentration range of 50, 100, and 200  $\mu\text{g}/\text{ml}$  of both extracts of this study. The production of extracellular melanin was slowed by AAD 45.0% and AAE 1.3% at 200  $\mu\text{g}/\text{ml}$  concentration. Also, production of intracellular melanin was decreased AAD 37.2% and AAE 24.6%. In the case of intra cellular tyrosinase activity was reduced to AAD 49.2% and AAE 35.6% at 200  $\mu\text{g}/\text{ml}$  concentration. The mRNA expression of

---

†Corresponding author  
(E-mail: beautyl@dju.kr)

tyrosinase, TRP-1 and TRP-2 significantly decreased by AAD 63.0%/AAE 58.0%, AAD 60.0%/AAE 56.0% and AAD 59.0%/AAE 53.0%, respectively, following the 200  $\mu\text{g}/\text{ml}$  sample treatment when compared to the control. Both extracts showed efficient changes of production of whitening-related factor and transcription factor. But AAD was found to have a higher inhibitory effect than AAE. In other words, seomaeyakssuk was showed significant biological activities showing whitening without cytotoxicity. These results will be provided as fundamental data for further development of the new material of functional cosmetics to the results above.

*Keywords* : Seomaeyakssuk, whitening activity, melanin reduction, functional cosmetics, natural material

## 1. 서론

멜라닌(Melanin)은 자연계에 널리 분포하는 페놀류의 생체 고분자 물질로 검은 색소와 단백질의 복합체로서 피부보호 기능이 있으나 과잉되면 피부에 기미 및 주근깨와 같은 과색소 침착이 형성되며, melanin 전구물질은 세포사멸, 피부 노화 촉진 및 피부암을 유발하는 것으로 알려져 있다 [1]. 멜라닌합성(Melanogenesis)은 자외선을 비롯하여 외부의 자극에 의해 표피 기저층의 멜라닌 형성세포(melanocyte)의 활성화로 시작되며, melanin의 생합성에 필요한 tyrosinase, tyrosianse related protein (TRP-1), dopachrome tautomerase (TRP-2) 등의 합성이 촉진되어 최종적으로 색소침착이 유발된다[2]. 이때 tyrosinase는 세포내의 melanosome에서 tyrosine을 DOPA로 산화시키고, DOPA를 DOPAchrome으로 산화시키며 dopaquinon을 거쳐 흑갈색의 eumelanin, 적갈색의 pheomelanin으로 나뉘게 되고 생성된 melanin은 melanosome의 형태로 dendrite를 통해 keratinocyte로 전달된다[2]. 현재 tyrosinase의 생성과 작용 억제, DOPA의 tyrosinase의 길항제 개발, melanocyte의 기능 저하, melanin 환원 및 분해, 피부의 turn-over 촉진, 자외선의 차단 등 Melanogenesis를 저해하기 위한 여러 가지 시도들이 이루어지고 있다[3]. 다양한 기관에서 tyrosinase 활성 억제제를 찾기 위한 연구가 활발하게 진행되고 있으며, 현재 tyrosinase 저해제로는 hydroquinone, 4-hydroxylanisole, kojic acid, azelaic acid 등이 있으나, 안전성 및 경제성 에 대한 문제점이 있어 사용에 어려움이 있다[4-7]. 따라서 미백활성을 위한 원

료의 발굴이 시급하며 수요에 대비하여 보다 안전한 원료의 발굴은 더욱 필요하다.

쑥은 DNA 손상억제[8], 항암[9], 항당뇨[10], 항균[11], 면역증강[12]에 높은 효과를 나타내는 것으로 알려져 있고 플라보노이드와 페놀화합물 등 항산화성분을 다량 함유 하고 있다. 이러한 이유로 품종별 쑥의 다양한 생리활성과 관련한 연구 결과들이 보고되고 있는데 주로 사자발쑥, 인진쑥, 개똥쑥, 황해쑥 등을 중심으로 연구가 진행되어 왔다[13]. 섬애약쑥(*Artemisia argyi* H.)은 경남 남해군에서 자생 되고 있는 황해쑥의 한 종류로 산림청 품종보호등록(산림청 품종보호 제42호, 2013.9.27.)이 되어 있으며, 최근 생리활성 규명을 위한 연구가 진행되고 있다[14].

섬애약쑥에는 기능성 성분으로 알려진 jaceosidin과 eupatilin이 풍부하게 함유되어져 있는데 이는 국내 다른 약쑥에 비해 eupatilin은 약 2배, jaceosidin은 약 20% 높은 것으로 보고되어져 있다[15]. 또한 jaceosidin과 eupatilin은 항염증, 항산화, 항암 효과 등을 가지는 것으로 알려져 있으며[16-18], 섬애약쑥에 함유되어 있는 페놀 화합물은 높은 라디칼 소거 활성을 가지는 것으로 보고되어 있다[9]. 섬애약쑥은 생리활성 및 산업적 활용을 위한 연구가 미진한 실정이며 기초자료를 토대로 한 다양한 연구를 필요로 하고 있다. 따라서 본 연구에서는 섬애약쑥을 증류수와 70% 에탄올로 각각 추출하여 생리활성 중 미백활성을 확인하였으며, 추출 용매에 따른 효능을 비교하였다. 본 연구에서는 결과를 바탕으로 다양한 기능성 원료로서 활용될 수 있는 가능성에 대해 평가하고자 하였다.

## 2. 재료 및 방법

### 2.1. 시료 추출

본 실험에 사용한 섬애약썩(*Artemisia argyi* H.)은 경상남도 남해군 고현면 화방로 93-50에 위치한 남해섬애약썩 영농조합법인으로부터 2019년 5월 2kg의 섬애썩을 구입하여 대전대학교 TBRC-RIC에서 정선 후 실험에 사용하였다. 추출방법으로는 다음과 같다. 섬애약썩 100 g에 각각 증류수와 70% 에탄올을 1 L씩 넣고 3시간 동안 환류추출 한 후, 여과액을 rotary vacuum evaporator (EYELA FDU-540, Japan)로 감압 농축하였으며, 농축된 용액을 freeze dryer (Ilshinbiobase, Korea)로 동결 건조하였다. 증류수 추출물(*Artemisia argyi* distilled water extract 이하, AAD)은 11.77 g (수율 11.77%), 70% 에탄올 추출물(*Artemisia argyi* ethanol extract 이하, AAE)은 9.20 g (수율 9.20%)의 분말을 획득하여 초저온 냉동고(-80°C)에서 보관하면서 실험에 필요한 농도로 증류수에 희석해 사용하였다.

### 2.2. 세포 배양 및 세포생존율 측정

B16F10 세포는 10% fetal bovine serum (FBS : Welgene, Korea)와 1% penicillin-streptomycin (Sigma, U.S.A.)으로 구성된 dulbecco's modified eagle's medium (DMEM : Welgene, Korea) 배지를 사용하였다. 모든 세포들은 37°C, 5% CO<sub>2</sub> 조건이 유지되는 세포배양기(Sanyo, Japan)에서 배양하였으며, 2-3일 주기로 계대 배양하여 실험을 진행하였다. 세포독성 측정은 Lee et al. (2014)의 방법을 실험실 환경에 맞게 응용하여 측정하였다. B16F10 세포는 24 well plate에 2×10<sup>4</sup> cells/well로 분주하여 24시간 동안 배양하였다. 24시간 후, AAD와 AAE를 50, 100, 200, 400 µg/ml의 농도로 처리하여 48시간 동안 배양하였다. 모든 배양이 끝난 후, 배양액 100 µl당 10 µl의 EZ-cytox (Daeilab, Korea) 용액을 첨가하여 세포배양기에서 40분간 반응시켰다. 반응 후, micro plate reader (Molecular Devices, U.S.A.) 450 nm에서 흡광도의 변화를 측정하여 대조군에 대한 세포생존율을 백분율로 나타내었다.

### 2.3. 세포 외 멜라닌 생성량 측정

세포 외 멜라닌 생성량을 측정하기 위해 Ando et al. (2015)의 방법을 실험실 환경에 맞게 응용

하여 측정하였다. 100 mm cell culture dish에 B16F10 세포를 1×10<sup>5</sup> cells/well로 분주하여 24시간 동안 배양하였다. 배양 후, 50, 100, 200 µg/ml 농도의 시료와 10 nM α-melanocyte stimulating hormone (α-MSH : Sigma, U.S.A.)를 함께 처리하여 다시 60시간 동안 배양하였다. 세포의 배지를 육안으로 평가한 후 490 nm에서 흡광도를 측정하고 대조군에 대한 백분율로 나타내었다.

### 2.4. 세포 내 멜라닌 생성량 측정

세포 내 멜라닌 생성량을 측정하기 위해 Hwang et al. (2015)의 방법을 실험실 환경에 맞게 응용하여 측정하였다. 100 mm cell culture dish에 B16F10 세포를 1×10<sup>5</sup> cells/well로 분주하여 24시간 동안 배양하였다. 배양 후, 50, 100, 200 µg/ml 농도의 시료와 10 nM α-MSH를 함께 처리하여 다시 60시간 동안 배양하였다. 배지를 제거하고 세포를 dulbecco's phosphate buffered saline (D-PBS : Welgene, Korea)로 세척한 후 1200 rpm에서 5분 동안 원심분리하여 상등액을 제거하고 pellet을 얻는다. 이 pellet을 통해 육안평가를 진행하였으며, 평가 후 pellet을 건조 시키고 10% dimethyl sulfoxide (DMSO : Sigma, U.S.A.)를 포함하는 1 N NaOH (Sigma, U.S.A.) 1 ml를 넣어 80°C에서 1시간 동안 용해하여 490 nm에서 흡광도를 측정하고 대조군에 대한 백분율로 나타내었다.

### 2.5. 세포 내 tyrosinase 활성 측정

세포 내 tyrosinase 활성을 측정하기 위해 Yoon et al. (2014)의 방법을 실험실 환경에 맞게 응용하여 측정하였다. 6 well plate에 B16F10 세포를 1×10<sup>5</sup> cells/well로 분주하여 24시간 동안 배양하였다. 배양 후, 50, 100, 200 µg/ml 농도의 시료와 10 nM α-MSH를 함께 처리하여 다시 48시간 동안 배양하였다. 배양 후, PBS로 2회 세척하고 1% triton X-100과 0.1 mM phenylmethyl sulfonylfluoride를 포함하는 67 mM sodium phosphate buffer를 500 µl를 첨가하여 얼음에 방치한 후 13000 rpm에서 15분간 원심분리 하여 얻어진 상등액을 효소용액으로 사용하였다. 67 mM phosphate buffer (pH 6.8)에 녹인 8.0 mM의 levodopa 160 µl를 기질로 하여 세포 상등액 40 µl를 첨가하여 37°C에서 60분 동안 반응시켰다. 반응 후, 생성된 DOPA

chrome의 양을 490 nm 파장에서 흡광도를 측정 한 뒤 대조군에 대한 백분율로 나타내었다.

## 2.6. 유전자 발현량 측정

유전자 발현량을 측정하기 위해 Kang et al. (2015)의 방법을 실험실 환경에 맞게 응용하여 측정하였다. B16F10 세포는 6 well plate에  $1 \times 10^5$  cells/well로 분주하여 24시간 동안 배양하였다. 배양 후, 50, 100, 200  $\mu\text{g/ml}$  농도의 시료와 10 nM  $\alpha$ -MSH를 함께 처리하여 다시 48시간 동안 배양하였다. CCD-986Sk 세포는 6 well plate에  $2 \times 10^5$  cells/well로 분주하여 24시간 동안 배양하였다. 배양 후, 배지를 제거하고 PBS로 교체하여 UVB ( $20 \text{ mJ/cm}^2$ )를 조사한 뒤 50, 100, 200  $\mu\text{g/ml}$  농도의 시료와 10 ng/ml TNF- $\alpha$ 를 함께 처리하여 다시 48시간 동안 배양하였다. 이 후 total RNA prep kit (Intronbio, Korea)의 매뉴얼에 따라 RNA를 추출하였으며, accupower cyclescript RT premix (Bioneer, Korea)의 매뉴얼에 따라 역전사 반응을 수행 하였으며, 합성이 완료된 cDNA를 polymerase chain reaction (PCR)에 사용하였다. 합성이 완료된 cDNA를 증폭시키기 위하여 real-time PCR을 진행하였으며, real-time 전용 tube에 cDNA 1  $\mu\text{l}$ , 각 primer 2  $\mu\text{l}$ , SYBR Green (Qiagen, Germany) 10  $\mu\text{l}$ , DEPC-DW (Bioneer Co., Korea) 5  $\mu\text{l}$ 씩 넣어 95 $^\circ\text{C}$ 에서 2분 동안 반응한 다음 95 $^\circ\text{C}$ 에서 5초, 62.5 $^\circ\text{C}$ 에서 30초를 40회 반복하여 진행하였고 이후, 유전자 발현량은 대조군에 비하여 계산하였다. 사용된 primer의 sequence는 Table 1과 같다.

## 2.7. 통계처리

모든 실험결과는 3회 반복 측정하였으며 평균 값  $\pm$  표준편차(mean  $\pm$  S.D)로 표시하였다. 대조군 대비 실험군간의 비교는 one-way analysis of variance (ANOVA) 방법을 이용하였고, Student's t-test를 사용하여 통계적 유의성을 검증하였다(\*\* $p < 0.001$ , \*\* $p < 0.01$ , \* $p < 0.05$ ).

## 3. 결과 및 고찰

### 3.1. B16F10 세포의 생존율에 미치는 영향

실험 진행에 앞서 B16F10 세포에서 AAD와 AAE의 독성여부를 평가하였다. AAD의 경우 50  $\mu\text{g/ml}$  99.4 $\pm$ 0.7%, 100  $\mu\text{g/ml}$  99.4 $\pm$ 0.5%, 200  $\mu\text{g/ml}$  98.2 $\pm$ 1.3%, 400  $\mu\text{g/ml}$  83.1 $\pm$ 2.2%fh 나타났고, AAE의 경우 50  $\mu\text{g/ml}$  100.1 $\pm$ 1.8%, 100  $\mu\text{g/ml}$  99.6 $\pm$ 2.5%, 200  $\mu\text{g/ml}$  99.5 $\pm$ 1.9%, 400  $\mu\text{g/ml}$  78.1 $\pm$ 2.0%로 나타났다(Fig. 1). AAD와 AAE 모두 400  $\mu\text{g/ml}$ 에서 세포 독성이 나타났으므로 본 연구에서는 50  $\mu\text{g/ml}$ , 100  $\mu\text{g/ml}$ , 200  $\mu\text{g/ml}$ 의 농도에서 세포실험을 진행하였다.

### 3.2. 세포 외 멜라닌 생성량에 미치는 영향

세포 외 방출된 멜라닌 양을 측정하였다. 대조군인 AAD의 경우 50  $\mu\text{g/ml}$  79.9 $\pm$ 1.0%, 100  $\mu\text{g/ml}$  56.6 $\pm$ 1.1%, 200  $\mu\text{g/ml}$  55.0 $\pm$ 1.5%로 측정되었으며, AAE의 경우 50  $\mu\text{g/ml}$  99.9 $\pm$ 0.4%, 100  $\mu\text{g/ml}$  99.3 $\pm$ 0.8%, 200  $\mu\text{g/ml}$  98.7 $\pm$ 0.1%로 측정되었다(Fig. 2-A). AAE는 미미한 감소를 나타낸 반면에 AAE는 농도에 따라 유의하게 감소

Table 1. The Sequences of Primers

Primer	F/R*	Sequences
Tyrosinase	F	GCACTGGTGGGAGCTGTTAT
	R	AGCAAGCTGTGGTAGTCGTC
TRP-1	F	TTGGGCTCAGTTTCCACGAGAG
	R	GTCGGGAGTCTGCAATCACA
TRP-2	F	AGGCAACCAACATCTGTGGA
	R	CCATTGCTCACGGTCATCCT
GAPDH	F	CATCACTGCCACCCAGAAGACTG
	R	ATGCCAGTGAGCTTCCCGTTCAG

\* F/R : forward/reverse

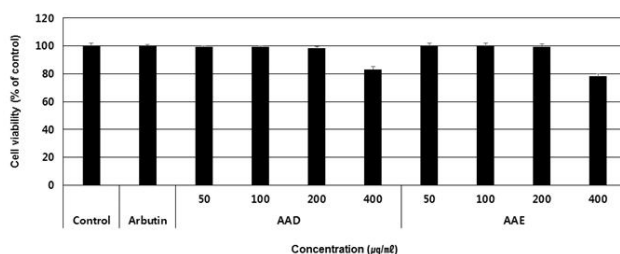


Fig. 1. Cell viability effect of seomaeyakssuk extracts from DW (AAD) and 80% EtOH (AAE) on cell viability in B16F10 cells.

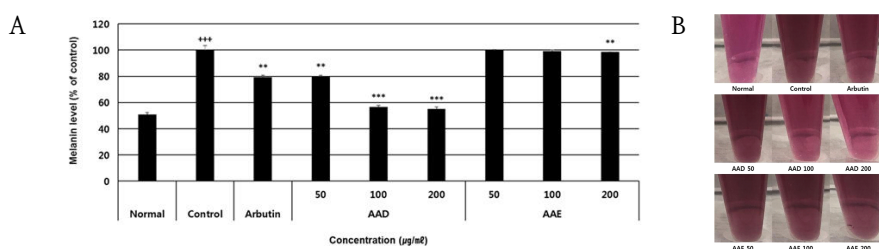


Fig. 2. Effect of AAD and AAE on melanin levels in B16F10 cells. The results were expressed as mean±S.D. (Significance of results, \*\*\* $p$ <0.001, \*\* $p$ <0.01, \* $p$ <0.05 compare to control).

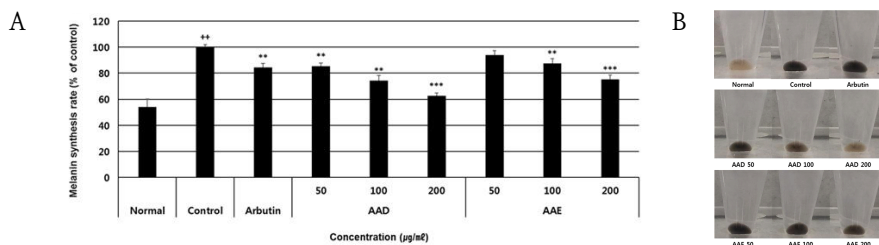


Fig. 3. Effect of AAD and AAE on melanin synthesis rate in B16F10 cells. The results were expressed as mean±S.D. (Significance of results, \*\*\* $p$ <0.001, \*\* $p$ <0.01, \* $p$ <0.05 compare to control).

되는 것을 육안평가로도 확인할 수 있었으며 대조군인 arbutin  $79.2 \pm 1.6\%$ 와 비교 하여도 멜라닌 감소의 영향이 크게 작용했다고 판단되어 진다(Fig. 2-B). 세포외 멜라닌 감소는 확인 하였으나 멜라닌의 생성을 감소시키는 것인지, 멜라닌의 이동을 억제하는 것인지는 세포내 멜라닌 생성을 함께 확인하여 평가해야 할 것으로 사료되어지며, 이 후 결과에서 확인할 수 있었다.

### 3.3. 세포 내 멜라닌 생성량에 미치는 영향

세포 내 멜라닌 생성에 미치는 영향을 측정하였다. AAD의 경우  $50 \mu\text{g/ml}$   $85.3 \pm 2.4\%$ ,  $100$

$\mu\text{g/ml}$   $74.2 \pm 4.1\%$ ,  $200 \mu\text{g/ml}$   $62.8 \pm 2.0\%$ 로 농도에 따라 유의한 감소 경향을 나타냈고, AAE의 경우  $50 \mu\text{g/ml}$   $93.9 \pm 3.4\%$ ,  $100 \mu\text{g/ml}$   $87.6 \pm 3.5\%$ ,  $200 \mu\text{g/ml}$   $75.4 \pm 3.2\%$ 로  $100 \mu\text{g/ml}$ 와  $200 \mu\text{g/ml}$ 에서 유의한 감소를 나타냈다(Fig. 3-A). 육안평가를 통해서 확인 결과에서와 서로 부합되는 것을 확인하였다(Fig. 3-B). 이 결과로서 섬에약쭉 추출물의 작용은 세포 내 멜라닌 생성에 영향을 미치는 것으로 확인되었다.

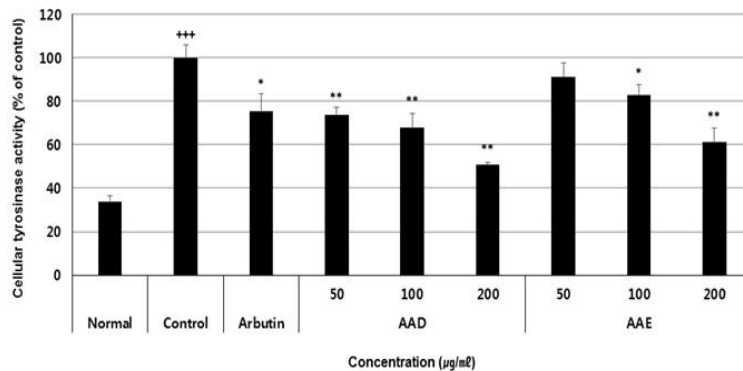


Fig. 4. Effect of AAD and AAE on cellular tyrosinase activity in B16F10 cells. The results were expressed as mean±S.D. (Significance of results, \*\*\**p*<0.001, \*\**p*<0.01, \**p*<0.05 compare to control).

Table 2. Effect of AAD and AAE on tyrosinase, TRP-1 and TRP-2 mRNA Expression Level in B16F10 Cells

Conc. (µg/ml)	Fold change (Tyrosinase/GAPDH)		Fold change (TRP-1/GAPDH)		Fold change (TRP-2/GAPDH)	
	AAD	AAE	AAD	AAE	AAD	AAE
Normal	0.22±0.01		0.28±0.01		0.44±0.01	
Control	1.00±0.01 <sup>+++</sup>		1.00±0.03 <sup>+++</sup>		1.00±0.03 <sup>+++</sup>	
Arbutin	0.55±0.03 <sup>***</sup>		0.51±0.03 <sup>***</sup>		0.72±0.06 <sup>**</sup>	
50	0.58±0.04 <sup>**</sup>	0.68±0.05 <sup>**</sup>	0.92±0.06 <sup>**</sup>	0.94±0.04	0.83±0.10	0.89±0.01 <sup>*</sup>
100	0.47±0.02 <sup>***</sup>	0.51±0.03 <sup>***</sup>	0.53±0.02 <sup>**</sup>	0.50±0.01 <sup>***</sup>	0.57±0.05 <sup>***</sup>	0.53±0.02 <sup>***</sup>
200	0.37±0.02 <sup>***</sup>	0.42±0.02 <sup>***</sup>	0.40±0.02 <sup>**</sup>	0.44±0.01 <sup>***</sup>	0.41±0.03 <sup>***</sup>	0.47±0.02 <sup>***</sup>

\*Significance of results, \*\*\**p*<0.001, \*\**p*<0.01, \**p*<0.05 compare to control

### 3.4. 세포 내 tyrosinase 활성 저해능에 미치는 영향

세포 내 tyrosinase 활성 저해능을 측정하였다. AAD의 경우 50 µg/ml 73.6±3.5%, 100 µg/ml 67.8±6.6%, 200 µg/ml 50.8±0.9%로 농도에 따라 유의한 감소 경향을 나타냈고, AAE의 경우 50 µg/ml 91.2±6.2%, 100 µg/ml 83.0±4.7%, 200 µg/ml 61.4±6.1%로 100 µg/ml와 200 µg/ml에서 유의한 감소를 나타냈다. AAD의 경우 대조군인 arbutin 75.3±8.1%에 비해 현저히 저해 효능이 높게 나타났다. Tyrosinase는 tyrosine를 melanin으로 전환시키는 효소로 알려져 있으며 [24], tyrosinase inhibitors들은 피부의 과색소침착을 개선하기 위해 사용되어 피부 미백제

(skin-lightening agents)로써 중요한 역할을 한다 [25]. 본 연구에서 AAD와 AAE는 이러한 tyrosinase를 유의하게 감소시켰으며 멜라닌 감소와 부합되는 결과로서 미백 효능을 나타내는 후보물질로서의 가치가 있다고 판단된다.

### 3.5. 세포 내 유전자 발현량에 미치는 영향

세포 내 유전자 발현량을 측정한 결과 tyrosinase의 경우 AAD는 50 µg/ml 42%, 100 µg/ml 53%, 200 µg/ml 63% 농도에 따라 유의하게 감소하였고, AAE는 50 µg/ml 32%, 100 µg/ml 49%, 200 µg/ml 58% 유의한 감소를 나타냈다. TRP-1의 경우 AAD는 50 µg/ml 8%, 100 µg/ml 47%, 200 µg/ml 60% 농도에 따라 감소하

였고, AAE는 50  $\mu\text{g/ml}$  6%, 100  $\mu\text{g/ml}$  50%, 200  $\mu\text{g/ml}$  56% 유의한 감소를 나타냈으며, TRP-2의 경우 AAD는 50  $\mu\text{g/ml}$  17%, 100  $\mu\text{g/ml}$  43%, 200  $\mu\text{g/ml}$  59% 농도에 따라 유의하게 감소하였고, AAE는 50  $\mu\text{g/ml}$  11%, 100  $\mu\text{g/ml}$  47%, 200  $\mu\text{g/ml}$  53% 유의한 감소를 나타냈다. 자외선과 같은 외부의 자극에 의해 멜라닌형성세포(melanocyte)가 활성화 되면서 tyrosinase는 tyrosine을 DOPA로 산화시키고, DOPA를 DOPA chrome으로 산화시키며 이때, TRP1과 TRP2가 영향을 미치게 되는데 최종적으로 흑갈색의 eumelanin, 적갈색의 pheomelanin이 생성된다[2]. 즉 멜라닌 생성의 주요한 역할을 하는 전사인자로 tyrosinase, TRP1 및 TRP2를 감소시키는 효능을 가진 천연물 중심으로 많은 후보물질이 발굴되고 있다[2]. 본 연구에서 AAD와 AAE는 tyrosinase, TRP1 및 TRP2를 효과적으로 억제하였으며, 이 결과는 미백효능을 나타내는 원료로서의 가능성을 크게 나타내는 바라고 사료된다.

#### 4. 결론

본 연구는 열수(AAD) 및 70% 에탄올(AAE)로 추출한 섬애약쭉 추출물을 이용하여 세포독성 및 미백활성에 관하여 비교 연구한 것으로 결과는 다음과 같다.

1. 열수 및 70% 에탄올로 추출한 섬애약쭉 추출물은 B16F10 세포 50, 100, 200 ( $\mu\text{g/ml}$ ) 농도에서 세포 생존율에 영향을 미치지 않았고, 400  $\mu\text{g/ml}$ 의 농도에서는 세포독성을 나타냈다.
2. 세포 외 멜라닌 생성량에 대해 AAD의 경우 50, 100, 200 ( $\mu\text{g/ml}$ )의 농도에서 대조군 대비 유의성 있는 감소가 확인되었으며, AAE의 경우 200  $\mu\text{g/ml}$ 의 농도에서 유의한 감소가 확인되었다.
3. 세포 내 멜라닌 생성량에 대해 AAD의 경우 50, 100, 200 ( $\mu\text{g/ml}$ ) 모든 농도에서 대조군 대비 유의성 있는 감소가 확인되었으며, AAE의 경우 100, 200 ( $\mu\text{g/ml}$ )의 농도에서 유의한 감소가 확인되었다.

4. 세포 내 tyrosinase 활성화에 대해 AAD의 경우 50, 100, 200 ( $\mu\text{g/ml}$ ) 모든 농도에서 대조군 대비 유의성 있는 감소가 확인되었으며, AAE의 경우 100, 200 ( $\mu\text{g/ml}$ )의 농도에서 유의한 감소가 확인되었다.

5. Tyrosinase 발현양은 AAD와 AAE 50, 100, 200 ( $\mu\text{g/ml}$ )의 농도에서 모두 유의한 감소를 나타냈으며, TRP-1 발현양은 AAD 50, 100, 200 ( $\mu\text{g/ml}$ )의 농도에서 AAE 100, 200 ( $\mu\text{g/ml}$ )의 농도에서 감소를 나타냈고, TRP-2 발현양은 AAD 100, 200 ( $\mu\text{g/ml}$ )의 농도에서 AAE 50, 100, 200 ( $\mu\text{g/ml}$ )의 농도에서 감소를 나타냈다.

결과적으로 AAD와 AAE 모두 미백활성이 확인 되었으며 향후 더 세밀한 효능 연구를 통해 미백 기능성화장품의 원료로써 응용 가능성이 높을 것으로 사료된다.

#### 감사의 글

이 논문은 2019년 대전대학교 교내연구비 지원에 의해 연구되었습니다.

#### References

1. H. J. Chun, S. G. Hwang, J. S. Lee, S. H. Baek, B. H. Jeon, W. H. Woo, "Inhibitory Effects of Butyl Alcohol Extract from *Caesalpinia sappan* L. on Melanogenesis in Melan-a Cells", *Kor. J. Pharmacogn.*, Vol.33, No.2 130-136, (2002).
2. K. Tsukamoto, I. J. Jackson, K. Urabe, P. M. Montague, V. J. Hearing, "A second tyrosinase-related protein, TRP-2, is a melanogenic enzyme termed DOPACHROME tautomerase", *European Molecular Biology Organization*, Vol.11, 519-526, (1992).
3. S. Ando, O. Ando, Y. Suemoto, Y. Mishima, "Tyrosinase gene transcription and its control by melanogenic inhibitors", *J. Invest. Dermatol.*, Vol.100, No.2

- S150-S155, (1993).
4. K. Tomita, N. Oda, M. Kamel, T. Miyaki, T. Oki, "A new screening method for melanin biosynthesis inhibitor using *Streptomyces bikiniensis*", *J. Antibiot.*, Vol.12, 1601-1605, (1990).
  5. J. Cabane, S. Chazara, C. F. Garcia, "Kojic acid, a cosmetic skin whitening agent, is a slow-binding inhibitor of catecholase activity of tyrosinase", *J. Pharm. Pharmacol.*, Vol.46, 982-985, (1994).
  6. S. W. Jeong, N. K/ Lee, S. J. Kim, D. S. Han, "Screening of tyrosinase inhibitor from plants", *J. Korean Soc. Food. Sci. Nutr.*, Vol.27, 891-896, (1995).
  7. J. S. Hwang, H. J. Shin, H. S. Noh, H. J. Choi, S. M. Ahn, D. S. Park, D. H. Kim, B. G. Lee, I. S. Chang, H. H. Kang, "The inhibitory effects of 3,4,5-Trimethoxy cinamate thymol ester(TCTE, Melsolv®) on Melanogenesis", *Soc. Cosmet. Sci. Korea.*, Vol.28, 135-149, (2002).
  8. H. J. Lee, Y. I. Hwang, E. J. Park, S. U. Choi, "Antihepatotoxic and antigenotoxic effects of herb tea composed of *Chrysanthemum morifolium* Ramat", *J. Kor. Soc. Food Sci. Nutr.*, Vol.40, 78-83, (2011).
  9. R. J. Kim, M. J. Kang, C. R. Hwang, W. J. Jung, J. H. Shin, "Antioxidant and cancer cell growth inhibition activity of five different varieties of *Artemisia* cultivars in Korea", *J. Life Sci.*, Vol.22, 844-851, (2012).
  10. A. H. Al-Mustafa, O. Y. Al-Thunib, "Antioxidant activity of some Jordanian medicinal plants used traditionally for treatment of diabetes", *Pak. J. Biol. Sci.*, Vol.11, 351-358, (2008).
  11. C. K. Lee, J. J. Seo, "Antimicrobial activity of the aerial part of *Artemisia capillaries* extracts on the food-borne pathogens", *J. Kor. Soc. Food Sci. Nutr.*, Vol.32, 1227-1232, (2003).
  12. S. Ntutela, P. Smiyh, L. Matika, J. Mukinda, H. Arendse, N. Allie, D. M. Estes, M. Mabusela, P. Folb, M. Steyn, Q. Johnson, W. R. Folk, J. Syce, M. Jacobsb, "Efficacy of *Artemisia afra* phytotherapy in experimental tuberculosis", *Tuberculosis (Edinb)*, Vol.89, S33-S40, (2009).
  13. J. Y. Shin, J. R. Kang, J. H. Shin, W. T. Seo, H. U. Byun, J. S. Choi, M. J. Kang, "Effects of Seomaeyakssuk (*Artemisia argyi* H.) Vinegar on Lipid Metabolism in Rats Fed a High-Fat and High-Cholesterol Diet", *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.*, Vol.46, No7 779-789, (2017).
  14. D. G. Kim, J. R. Kang, J. H. Shin, M.-J. Kang, "Biological Activities of Various Solvent Extracts of Seomaeyakssuk (*Artemisia argyi* H.)", *J. Life Sci.*, Vol.29, No.11 1241-1250, (2019).
  15. C. R. Hwang, W. T. Seo, W. Y. Bae, M. J. Kang, J. H. Shin, "Physicochemical Characteristics and Biological Activities of *Artemisia Argyi* H.", *J. Life Sci.*, Vol.24, No.4 377-385, (2014).
  16. G. J. Ha, D. S. Lee, T. W. Seung, C. H. Park, S. K. Park, D. E. Jin, N. K. Kim, H. Y. Shin, H. J. Heo, "Anti-amnesic and neuroprotective effects of *Artemisia argyi* H. (*seomae* mugwort) extracts", *Kor. J. Food Sci. Technol.*, Vol.47, 380-387, (2005).
  17. S. W. Min, N. J. Kim, N. I. Baek, D. H. Kim, "Inhibitory effect of eupatilin and jaceosidin isolated from *Artemisia princeps* on carrageenan-induced inflammation in mice", *J. Ethnopharmacol.*, Vol.125, 497-500, (2009).
  18. E. K. Park, B. M. Kwon, I. K. Jung, J. H. Kim, "Hypoglycemic and antioxidant effects of jaceosidin in streptozotocin-induced diabetic mice", *J. Nutr. Health*, Vol.10, 313-320, (2014).
  19. H. J. Lee, B. Y. Sim, J. W. Bak, D. H. Kim, "Effect of Gami-sopungsan on Inflammation and DNCB-induced Dermatitis in NC/Nga in Mice", *J. Physiol. & Pathol. Korean Med.*, Vol.28, No.2 pp



- 146-153, (2014).
20. H. Ando, Y. Niki, M. Ito, K. Akiyama, M. S. Matsui, D. B. Yarosh, M. Ichihashi, "Melanosomes Are Transferred from Melanocytes to Keratinocytes through the Processes of Packaging, Release, Uptake, and Dispersion", *J. Invest. Dermatol.*, Vol.132, No4 1222-1229 (2012).
  21. J. Y. Hwang, T. S. Park, J. H. Son, "Whitening Effect of Extracts and Fractions from Diospyros kaki calyx", *Journal of Life Science*, Vol.23, No.3 383-388, (2013).
  22. H. S. Yoon, K. W. Yang, J. E. Kim, J. M. Kim, N. H. Lee, C. G. Hyun, "Hypopigmenting Effects of Extracts from Bulbs of Liliium Oriental Hybrid 'Siberia' in Murine B16/F10 Melanoma Cells", *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.*, Vol.43, No5 705-711, (2014).
  23. K. S. Kang, H. J. Lee, B. Y. Sim, J. W. Bak, H. J. Choi, D. H. Kim, "Anti-inflammatory Effect of Cornus officinalis Fruit Extract for Potential of Cosmetic Ingredient", *Kor. J. Aesthet. Cosmetol.*, Vol.13, No.4 461-468, (2015).
  24. Y. S. C. Bae-Harboe, H. Y. Park, "Tyrosinase: a central regulatory protein for cutaneous pigmentation", *J. Invest. Dermatol.*, Vol.132, No.12 2678-8260, (2012).
  25. A. Slominski, D. J. Tobin, S. Shibahara, J. Wortsman, "Melanin pigmentation in mammalian skin and its hormonal regulation", *Physiol. Rev.*, Vol.84, No.4 1155-1228, (2004)