

## Depigmentation activity of plant extracts (*Okyong-san*)

Sung-Chul Han<sup>1</sup>, Young-Jin Lee<sup>1,4</sup>, Ki-Young Lee<sup>2</sup>, Yeon-Zu Kim<sup>3</sup>, Sang-Hyeop Jin<sup>4</sup>

Department of Material & Biochemical Engineering<sup>1</sup>,

Faculty of Applied Chemical Engineering<sup>2</sup>,

Chonnam National University, Department of Skin and Beauty<sup>3</sup>,

Kwangju Health College & Polymer Engineering, Chonnam National University, Nanobiomed.

Inc. Korea<sup>4</sup>

TEL : +82-62-530-0327, FAX : +82-62-530-1869

### Abstract

The reactive oxygen species (or free radicals) generated by ultraviolet radiation cause damage on cellular components and pigment of skin. The aim of this study was to investigate the skin-whitenig effect of *Okyong-san*. Inhibitory effects of okyong-san extracts on melanin synthesis were studied. Namely, UV-absorbing ability, free radical scavenging activity and tyrosinase inhibitory activity of okyong-san extracts were investigated. As a result, the extracts of okyong-san were found to inhibit the activity of tyrosinase and they showed an absorbance in the UV-B region and UV-C region. We also observed that extracts of okyong-san had free radical scavenging activity.

### 서 론

보다 안정적이고 효과적인 미백 소재를 발견하고자 하는 연구가 활발히 진행되고 있으며 미백소재에 대한 연구는 tyrosinase 활성억제 소재 연구, 피부각질층의 제거 촉진효능을 가진 소재에 대한 연구, 자외선 차단소재 연구, 세포독성억제 소재 연구, 활성산소 제거 소재에 대한 연구 등으로 이루어지고 있다<sup>1,2)</sup>. 그러나 한약복합제제에 대한 연구로서 마황(麻黃) 및 마풍고(麻風膏)의 미백효과에 관한 연구와 사백산(瀉白散), 옥용서시산(玉容西施散)<sup>1,2,3)</sup>의 미백효과 검정에 관한 연구 등이 있으나 그 외에 한약복합제제에 대한 연구는 미진한 상태이다. 이에 본 연구에서는 동의보감 의감, 외형편(東醫寶鑑 醫鑿, 外形編) 등에 “얼굴에 생긴 기미·작은 부스럼·뽀루지·땀띠, 분가시로 생기는 뽀루지와 피부가 가려운 것을 치료하며 기름때를 없앤다”라고 수록되어 있으나 그 이용에 비해서 미백효과 검정에 관한 연구가 미흡한 옥용산(玉容散)의 미백효과를 *in vitro* 실험을 통하여 연구하였다.

구체적으로, 옥용산 추출물에 대하여 피부 melanin 생성 억제효과를 tyrosinase 저해활성과 free radical 소거능을 통하여 검증하였으며 자외선 차단효과 여부는 UV scanning 방법을 통하여 연구하였다.

### 재료 및 방법

**재료:** 실험에 사용한 11종의 생약은 시중에서 구입, 정선하여 사용하였고 실험에 사용된 처방은 동의보감 외형편에 의거하였으며 그 구성약물의 내용은 Table 1과 같다. 프리 라디칼 소거활성 및 효소 저해활성 측정에 사용한 DPPH (1,1-diphenyl -2-picrylhydrazyl), tyrosinase, L-tyrosine 등은 Sigma Chemical Co. (USA)에서 구입하여 사용하였으며 기타 시약은 특급시약을 사용하였다.

Table 1. Composition and dosage of *okyong-san*

Chinese medicine name	Botanical name	weight (g)
皂莢	<i>Gleditsia sinensis lam.</i>	600
升麻	<i>Cinicifuga foetida L.</i>	106
楮實子	<i>Broussonetia papyrifera Vent.</i>	66
白芷	<i>Angelica dahurica(Fisch, ex Hoffm.) Benth. et Hook. f. ex Franch. Sav</i>	13.4
白芨	<i>Bletilla striata (Thunb.) Reichb. f.</i>	13.4
天花粉	<i>Rhizosonthe Japonica Regel</i>	13.4
綠豆粉	<i>Phaseolus radiatus L.</i>	13.4
甘松	<i>Nardostachys chinensis Batal.</i>	6.6
砂仁	<i>Amomum villosum Lour.</i>	6.6
白丁香	Feces of <i>Passer montanus</i> etc.	6.6
糯米	<i>Oryza sativa L.</i>	504
Total amount		1349.4

**추출물의 제조:** 옥용산 1350g의 10%에 해당하는 135g을 증류수 1L를 가하여 감압하에서 70~80 °C로 3시간 정도 농축하며 끓인 후 거즈로 여과하고 3200 rpm으로 30분 원심분리하여 상등액을 취하였다. 얻어진 추출액은 동결건조하여 실험에 사용하였다.

**자외선 흡수스펙트럼의 측정:** 0.1 % (w/v) 농도로 녹인 옥용산 추출물과 구성 성분 각각의 자외-가시부 흡수스펙트럼을 200 nm~600 nm 영역에서 측정함 (Spectra View 2000, Ocean Optics, USA)으로서 멜라닌 생성에 영향을 미치는 UV 영역과 가시광선 영역에서의 흡수 패턴을 관찰하였다<sup>2)</sup>.

**Tyrosinase 저해활성 측정:** 0.9 ml의 0.1 % (w/v) test solution(옥용산 및 구성성분

의 추출물)과 1 ml L-Tyrosine(0.3 mg/ml), 그리고 1 ml potassium phosphate buffer(0.1 M, pH 6.8)를 잘 혼합한 후 0.1 ml tyrosinase용액 (1250 unit/ml)을 반응 혼합물에 가하고 37 °C에서 10분간 항온배양하였다. 반응 혼합물은 얼음 수조에 넣어 반응을 종결시키고, 475 nm에서 흡광도를 측정하였으며 tyrosinase를 첨가하지 않은 균을 공시험균으로 하여 효소 저해 활성을 계산하였다.

**Free radical 소거활성 측정:** 옥용산 추출액을 20 mg/ml ~ 40µg/ml의 양이 되게 DMSO(methyl sulfoxide)에 녹이고 96-well microtitre plate에 각각 가한 후 200 µl의 100 µM DPPH(in methanol) 용액을 첨가하였다. 혼합물은 37 °C에서 30분간 반응시키고 Elisa microtitre plate reader(Bio Rad Laboratories Inc., CA)를 이용하여 490 nm에서 각각 용액의 흡광도 감소를 측정하였다. 활성의 크기(Scavenging activity : SC<sub>50</sub>)는 100 µM DPPH의 농도가 50 % 감소되는 데 필요한 시료의 농도 (SC<sub>50</sub>, mg/ml)로 표기하였다<sup>4)</sup>.

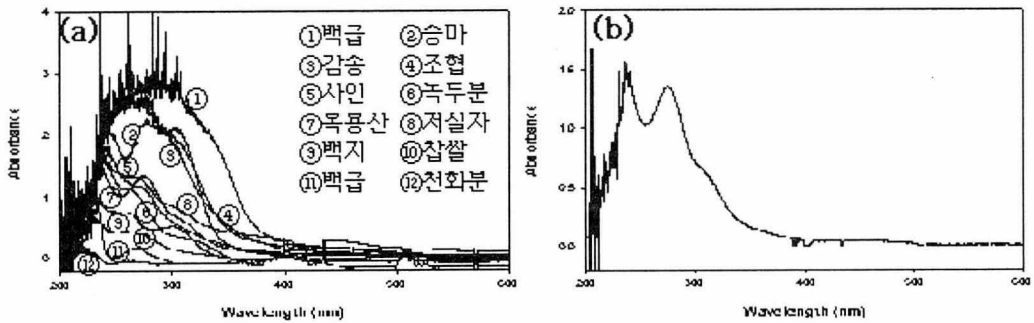


Figure. 1. UV-vis scan of 0.1 % okyong-san components(a) and okyong-san extracts(b).

### 결과 및 고찰

**추출물의 UV 흡수능:** 옥용산의 추출물과 그 구성성분의 추출물을 0.1 %(w/v)가 되게 녹여 200 nm ~ 600 nm에서 UV scanning을 수행하였고, 그 대조군으로 증류수를 사용하였다. UV spectrum을 분석한 결과 옥용산 및 그 구성성분은 대부분 UV 영역에서의 흡수능을 가지고 있는 것으로 확인이 되었으며 옥용산은 흡수능이 우수한 백급, 승마, 감송, 조협과 흡수능이 상대적으로 약한 백지, 참쌀분, 백급, 천화분의 중간정도에 해당하는 UV 흡수능을 가지는 것으로 확인되었다. 옥용산 추출물의 경우 대조군과 비교해 볼 때 UV-C와(200~290nm) UV-B(290~320nm)에 걸쳐서 특징적인 흡수 peak를 보이고 있으며 UV-A (320~400nm)영역에

서는 약한 흡수를 보이는 것으로 확인되었다(Figure 1, a, b).

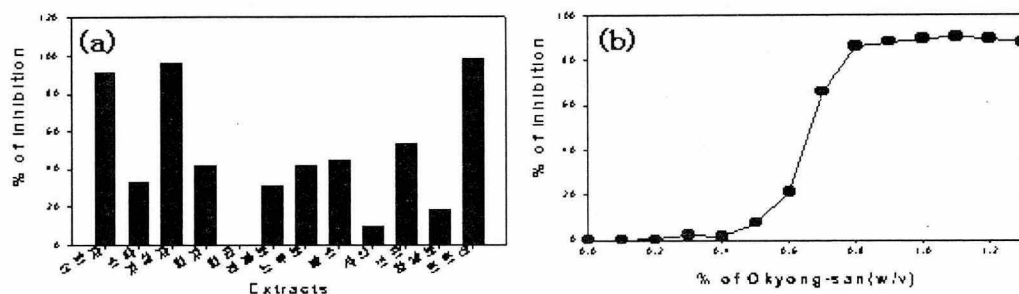


Figure 2. Inhibitory effect of 0.1 % extracts of okyong-san components(a) and various concentration of okyong-san(b) on tyrosinase activity.

**Tyrosinase 저해활성:** 본 실험에서는 기질로서 L- tyrosine을 사용하여 11가지 옥용산 구성성분의 추출물을 대상으로 색소형성 억제 정도를 측정함으로써 tyrosinase 저해활성을 평가하였으며, 옥용산에 추출물에 대해서는 각 농도별로 tyrosinase 저해활성을 측정하여 보았다. 실험 결과, 옥용산과 옥용산 구성성분 중 조합과 저실자가 높은 tyrosinase 저해활성을 나타내었으며 백급, 사인 찹쌀분은 상대적으로 낮은 활성을 나타내었다(Figure 2, a). 옥용산은 0.5 % (w/v) 농도에서부터 저해 활성을 나타내기 시작하여 0.8 % 이상의 농도에서는 80 % 이상의 높은 저해활성을 나타냄을 알 수 있었다(Figure 2, b).

**Free radical 소거능:** DPPH 방법을 이용하여 11가지 생약과 옥용산에 대해 free radical 소거활성을 측정하였고 결과를 Table 2에 나타내었다. 소거활성 측정결과 조합, 승마, 감송, 정향, 찹쌀분이 높은 소거능을 보였으며 옥용산 추출액 또한 높은 소거활성을 나타내는 것으로 관찰되었다.

### 요 약

천연추출물로서 미백 재료로 널리 쓰이고 있는 옥용산에 대해서 in vitro 미백활성을 UV 흡수능, tyrosinase 저해활성 그리고 free radical 소거활성을 측정함으로써 검정해 보았다. 옥용산은 UV-B와 C 영역에 걸쳐서 높은 자외선 흡수능을 보이는 것으로 관찰이 되었으며 0.8 % 이상의 농도에서 80% 이상의 tyrosinase 저해활성을 가지는 것을 관찰하였다. 또한 조합, 승마, 감송, 정향, 찹쌀분과 옥용산의 추출물은 높은 free radical 소거능을 가지는 것으로 확인되었다.

Table. 2. Free radical scavenging activity of okyong-san extracts

Plants	SC <sub>50</sub> (mg/ml)
<i>Gleditsia sinensis lam.</i>	0.015
<i>Cinicyfuga foetida L.</i>	0.160
<i>Broussonetia papyrifera Vent.</i>	3.852
<i>Angelica dahurica(Fisch, ex Hoffm.) Bentr. et Hook. f. ex Franch. Sav</i>	2.121
<i>Bletilla striata (Thunb.) Reichb. f.</i>	4.151
<i>Rrichosonthes Japonica Regel</i>	6.125
<i>Phaseolus radiatus L.</i>	6.321
<i>Nardostachys chinensis Batal.</i>	0.550
<i>Amomum villosum Lour.</i>	4.567
feces of <i>Passer montanus</i> etc.	0.015
<i>Oryza sativa L.</i>	0.478
okyong-san extracts	0.366

### 참고문헌

1. Park, S. N., Koh, J. A., Park, Y. J., Application of Plant Extracts for Whitening Cosmetics (Cosmeceuticals) (2001), Graduate school of technology, Seoul National University of Technology, Seoul, 52, 205-220.
2. Son, D. S., Depigmentation activity of Kakamseosiokyong-san(2002), Graduate School of Kyung Hee University, Seoul.
3. Park, J. S., Nam, W. Y., Moon, Y. J., Kim, K. H., Yeon. B. H., Woo, W. H., Effect of Seosiokyongsan on the Melanogenesis of B16 Melanoma Cell line(2000), *Kor. J. Oriental Medical Pathology* **14**(1) : 160-170
4. Shrishailappa Badami, Mahesh Kumar Gupta, B. Suresh, Antioxidant activity of the ethanolic extract of *Striga orobanchioides*(2002), *J. Ethnopharmacology* **85** : 227-230