

Inhibition Effect of *Gleditsia Sinensis Lam* on T tyrosinase Activity and Reactive Oxygen Species related to Melanin Biosynthesis

Yeon Zu Kim¹, Jin Kim², Hee-Jung Park³, Chang-Moon Lee⁴, Ki-Young Lee⁵

¹Department of Gwangju Health College

²Interdisciplinary Program of Perfume and Cosmetic, Chonnam National University,

³Department of Material & Biochemical Engineering, Chonnam National University,

⁴Interdisciplinary Program of Biomedical Engineering, Chonnam National University,

⁵Faculty of Applied Chemical Engineering, Chonnam National University

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

Abstract

Recently many efforts have been made to develop new therapeutic agents against skin pigmentation abnormalities. The aim of this study is to investigate the skin-whitening effect of *Gleditsia Sinensis Lam* and to develop new drug delivery carrier. Inhibitory effects of *Gleditsia Sinensis Lam* extracts on melanin synthesis were studied. Namely, UV-absorbing ability, free radical scavenging activity and tyrosinase inhibitory of *Gleditsia Sinensis Lam* extracts were investigated. As a result, the extracts of *Gleditsia Sinensis Lam* were found to inhibit the activity of tyrosinase. Moreover they absorbed wavelength in the UV-B and UV-C region, and extracts of *Gleditsia Sinensis Lam* had free radical scavenging activity. In this study, in order to administer these ingredient effectively, the shape of liposome observed by TEM was spherical and uniform.

Introduction

콩과에 속하는 쥐엄나무 열매 껍질인 조협은 성질이 따뜻하고, 맛은 시고 짜다. 조협은 옥용산 추출물중의 하나로서, 옥용산의 실험에서 가장 높은 tyrosinase 저해활성을 나타내었고, UV 흡수능이 우수하였으며, DPPH방법을 이용한 free radical 소거활성 측정에서도 높은 활성을 나타내었다.

본 연구에서는 조협의 tyrosinase 저해활성과 UV 흡수파장을 살펴보고, liposome을 제조하여 drug delivery system 으로 사용가능성을 알아보고 기능성 화장품의 응용 가능성을 살펴보았다.

Materials and Methods

Materials 콩과(Leguminosea)에 속하는 주엽나무의 열매(조협)는 가을에 익은 열매를 따서 햇볕에 말린 약재이다. 실험에 사용한 생약은 한약 재료상에서 구입하였고, tyrosinase, L-tyrosin, potassium phosphate, DPPH 는 Sigma Chemical Co. (USA)에서 구입하였으며, 기타 실험에 필요한 시약들은 1급 시약을 더 이상을 정제과정 없이 사용하였다.

Preparation of *Gleditsia sinensis lam* extracts 조협 27g을 200 mL 증류수를 가하여 감압 하에서 70~80℃로 3시간 정도 농축하며 끓인 후 거즈로 여과하고, 18000 rpm으로 40분 동안 원심분리하여 상등액을 취하였다. 얻어진 추출액은 동결건조한 후 적량을 증류수에 녹여 실험에 사용하였다.

UV adsorption activity 0.1%(w/v) 조협을 200~600nm의 파장에서 UV-spectrophotometer를 이용하여 측정하였다.

Inhibitory activity on tyrosinase 0.1~2%(w/v) 조협에 L-tyrosin을 첨가하고 여기에 tyrosinase를 첨가하여 37℃에서 반응시킨 후 얼음물에 넣어 반응을 종결시켜 저해 정도를 475nm에서 흡광도를 측정해 계산하였다.

Free radical scavenging activity of *Gleditsia sinensis lam* extracts 조협 추출액을 0.04~20 mg/mL의 양이 되게 증류수에 녹이고 각 시료에 10 µL씩 가한 후 200 µL의 100 µM DPPH(in methanol)용액을 첨가하였다. 혼합물은 37℃에서 30분간 반응시키고 spectrophotometer(Spectra View 2000, Ocean Optics, USA)를 이용하여 517nm에서 각각 용액의 흡광도 감소를 측정하였다. 활성의 크기는(Scavenging activity :SC₅₀)는 100 µL DPPH의 흡광도가 50% 감소되는 데 필요한 시료의 농도(SC₅₀ .mg/mL)로서 표기하였다.

Morphology liposome의 형태를 관찰한 결과, 균일한 구형의 형태를 확인할 수 있었다.

Results and discussion

UV adsorption activity 0.1%(w/v) 조협을 200~600nm의 파장에서 UV-spectro- photometer를 이용하여 측정한 결과 220-230nm정도 파장에서 최대 흡수 파장을 나타냈고 250-550nm 파장에서 고르게 흡수능을 보였다.

Inhibitory activity on tyrosinase 0.1~2%(w/v) 조협에 L-tyrosin을 첨가하고 여기에 tyrosinase를 첨가하여 저해 정도를 475nm에서 흡광도를 측정한 결과 1.9%(w/v) 이상의 농도에서 70% 이상의 저해활성을 나타내었다.

Free radical Scavenging activity of *Gleditsia sinensis lam* extracts 활성산소에 의한 피부 노화 과정의 대부분 반응은 라디칼 반응으로, DPPH는 천연물 중의 항산화 물질을 검색하

거나 항노화 화장품 원료를 비교 평가하는 것으로, 조합은 활성산소종의 형성을 억제하여 멜라닌 생성을 저해함으로써 피부미백 효과를 나타낸다. SC₅₀값은 0.019 mg/mL 으로 나타났다.

Summary

조합은 tyrosinase 저해 활성 실험 결과 1.9%(w/v) 이상의 농도에서 70%이상의 저해를 나타내고, UV 흡수능에서는 220-230nm 에서 최대 흡수 파장이 나타나고 250-550nm 에서 고르게 흡수되는 경향을 보인다. 조합은 자외선 차단효과와 활성산소종 형성 억제 및 멜라닌 생성을 저해함으로써 피부미백 효과에 기여한다. 따라서 조합을 이용한 liposome을 제조하여 미백화장품에의 응용 가능성을 높여 줄 수 있다.

References

1. Leiv, O., Erik, P., Dag, I. V., Stig, W. O. (2001), The Regulatory Basis of Melanogenic Switching, *J. theor. Biol.* 215, 449-468.
2. Paak, J. S., Nam, W. Y., Moon, Y. J., Kim, K. H., Jeon, B. H., Woo, W. H. (2002), Effect of Seosikyongsan on the Melanogenesis of B16 Melanoma Cell line, *Korean J. Oriental Medical Pathology* 14(1):160-170.
3. P. Perugini, I. Genta, F. Pavanetto, B. Conti, S. Scalia, A. Baruffini (1999), Study on glycolic acid delivery by liposomes and microspheres, *International Journal of Pharmaceutics* 196 (2000): 51-61.
4. Lee, Y. S. (1970), Studies on side effects of various soaps, cosmetics, and topical medicaments; I. Patch tests with some materials, *Kor. J. Dermatol.* 8, 17 - 21.
5. Son, D. S. (2002), Dipigmentation Activity of Kakamseosikyong - san, M. S. Thesis, Dept. of Oriental Medicine, Kyung Hee University, Seoul.