

율피 · 솔잎 · 호프의 수성 아세톤 추출물에 의한 Melanin 생성 억제 효과

양민진* · 김명길* · 임세진** · 안형수** · 안령미

동덕여자대학교 보건관리학과, *경기도 보건환경연구원, **동덕여자대학교 약학과

(Received May 6, 1999)

Inhibitory Effects of Water-Acetone Extracts of Chestnut inner shell, Pine needle and Hop on The Melanin Biosynthesis

Min-Jin Yang*, Myung-Gill Kim*, Sejin Lim**, Hyung-Soo Ann** and Ryoung-Me Ahn

Department. of Health Science, Dongduk Women's University, Seoul 136-714, Korea

*Public Health Environment Research, Kyonggi-do

**Department of Pharmacy, Dongduk Women's University, Seoul 136-714, Korea

Abstract — The skin whitening effects of pine needle extract, hop extract and chestnut inner shell extract were evaluated both *in vitro* and in B 16 mouse melanoma cell lines. Each extracts significantly inhibited tyrosinase activity, dopa auto-oxidation and melanin biosynthesis *in vitro* and in B 16 cell lines. *In vitro*, hop extract inhibited melanin biosynthesis 15 times stronger than kojic acid at 10 µg/ml concentration. Each extracts were stronger inhibitors of melanin biosynthesis than kojic acid in B 16 mouse melanoma cell at less than 4 µg/ml concentration. These results show that extracts of pine needle, hop and chestnut inner shell could be developed as skin whitening component of cosmetics.

Keywords □ Chestnut inner shell, pine needie, hop, tyrosinase, dopachrome, melanin.

파장이 200~400 nm인 자외선은 지구 대기를 투과한 태양광선 가운데 비록 1%에 불과하지만 일광화상, 면역 반응의 변화, 돌연변이, 광알레르기성 반응, 광과민성 질환, 백내장 발생의 증가등을 위시하여 인체 피부의 색소침착, 피부암의 발생과 피부 반점, 기미, 주근깨의 피부 흑화현상을 가져온다.¹⁾ 이런 피부 색소침착과 피부 흑화현상의 원인인 멜라닌은 자외선으로 생성된 radical을 둘러싸 포착제로써 피부의 광노화나 일광화상을 억제하는 역할을 하는 궁정적인 기능²⁾을 가지고 있기도 하지만, 미용적인 측면에서의 색소 침착 뿐만 아니라 멜라닌 전구 물질들에 의한 독성으로 세포 사멸 촉진등 부정적인 기능^{3,4)}을 가지고 있다. 따라서 자외선에 대한 방어 작용으로 합성되는 멜

라닌 색소에 대한 연구도 활발해지고 있는 추세이다.

멜라닌은 tyrosinase에 의하여 tyrosine에서 형성된 멜라닌이 멜라닌 소체에 침착하고 멜라닌 세포 내에서 멜라닌 소체의 수상돌기로의 이동 및 멜라닌 소체의 각질 세포로의 이동하는 세 과정을 거쳐 생성되므로 멜라닌 생성억제는 이중 한 과정을 차단시킴으로써 가능하다. 이와 같이 피부의 흑화를 억제하는 미백 작용(skin whitening effect)을 지닌 미백제로는 arbutin과 kojic acid⁵⁾가 있다.

이에 본 연구에서는 전보의 연구 결과, tyrosinase 활성억제와 멜라닌 생성억제 효과를 나타냈던 율피 추출물인 CIS-gel과 우리나라에 자생하고 있는 풍부한 식물 자원인 솔잎 및 호프의 추출물을 사용하여 미백 효과를 검증하고자 하였다. 솔잎, 호프, 율피의 수성 아세톤 추출물에 대한 미백효과를 비교 검증하기 위해 시험관내 실험과 세포 실험에서 tyrosinase 활성과

* 본 논문에 관한 문의는 이 저자에게로
(전화) 02-940-4481 (팩스) 02-940-4193

dopa 자동산화, 멜라닌 함량을 측정하였고 비교물질로는 kojic acid를 사용하였다.

실험방법

세포 및 배양액 – Mouse 피부암 세포인 B 16 melanoma를 Dulbecco's Modified Eagle Medium(Gibco Life technologies, Inc. USA) 배지에서 배양하였다.

시약 및 조제 – 본 연구에서 사용한 솔잎 추출물(PN), 호프 추출물(HOP), 율피 추출물(CIS-gel)은 200 µg/ml의 농도로 1/15 M의 Phosphate buffer solution에 녹여 단계별 희석하여 사용하였다. Tyrosinase(EC 1.14.18.1), L-3,4-Dihydroxyphenylalanine(L-DOPA), kojic acid, triton-X, MTT(3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)2,5-diphenyl tetrazolium bromide)등은 Sigma사(St. Louis, MO., U.S.A)에서 구입하였고, soluene 350은 Canberra사(Netherlands)에서 구입하였다.

엑스의 제조 – 건조한 율피(충남 공주산)는 경동한약재 시장에서 구입하였고, 감정한후 사용하였다. 율피 2 kg을 70% 수성 아세톤 용액 15 L로 실온에서 냉침, 추출하고 감압농축하여 수성 아세톤 엑스 110 g을 얻었다. 솔잎은 동국대학교 일산 농장에서 채집하여 사용하였고, 1 kg을 음건한 후 70% 수성 아세톤 8 L로 실온에서 냉침, 추출하고 감압농축하여 수성 아세톤 엑스 35 g을 얻었다. 호프밀은 (주)두산에서 공급받아 사용하였으며, 1 kg을 70% 수성 아세톤 용액 8 L로 실온에서 냉침, 추출하고 여과한후 감압농축하여 수성 아세톤 엑스 80 g을 얻었다.

시험관내 Tyrosinase 활성 억제 실험 – Mason(1947)⁹의 방법에 따라 기질은 tyrosine을 정제수로 용해시켜 사용하였으며 Lambda4A(Perkin Elmer)을 이용하여 475 nm에서 흡광도를 측정하였다. 각 물질의 tyrosinase 활성 억제 효과는 다음의 공식으로 구하였다.

$$\text{Tyrosinase 활성억제율}(\%) = 100 - \frac{B-B'}{A-A'} \times 100$$

A : blank 용액의 반응후의 흡광도

B : 시료용액의 반응후의 흡광도

A', B' : tyrosinase 대신 buffer로 대체하여 측정한 흡광도

시험관내 도파 자동산화 – Mason(1947)⁹의 방법에

따라 완충용액 Na₃PO₄(0.005 M, pH 6.8)와 Dopa(500 µM)를 준비하고 전체반응 부피를 2 ml로 하여 475 nm에서 흡광도를 측정하였다. 각 실험물질의 도파 자동산화 억제효과는 다음의 공식으로 구하였다.

DOPA 자동산화 억제율(%)

$$= 100 - \frac{\text{각 추출물의 반응 흡광도}}{\text{대조군의 반응 흡광도}} \times 100$$

시험관내 멜라닌 생성 억제 실험 – Mason(1947)⁹의 방법에 따라 tyrosinase는 135 unit/ml로 하여 37±1°C에서 10분간 반응시키고 0.03% dopa를 넣은후 실험물질을 전체반응 부피가 1.5 ml이 되게하여 37±1°C에서 60분간 반응시킨후 4000 rpm에서 15분간 원심분리하였다. 침전물을 6N HCl 1 ml과 distilled water로 wash 한후 soluene 350 2 ml를 넣어 vortex 하여 400 nm에서 흡광도를 측정하였다. 멜라닌 생성 억제율은 다음의 공식으로 구하였다.

Melanin 생성 억제율(%)

$$= 100 - \frac{\text{각 추출물의 반응 흡광도}}{\text{대조군의 반응 흡광도}} \times 100$$

UV 흡수실험 – Hideaki(1996)⁷의 방법에 의하여 CIS-gel, PN, HOP는 50 µg/ml의 농도로, kojic acid는 25 µg/ml의 농도로 200~400 nm에서 흡광도를 측정하였다.

MTT assay – Mosmann(1983)¹⁰의 방법에 의하여 흡광광도계 550 nm에서 흡광도를 측정하여 대조군과 비교하였다.

세포내 Tyrosinase 활성 억제 실험 – B 16 mouse melanoma 세포를 10⁴ 개/ml로 24 well에 심어서 37°C, 5%의 CO₂ 배양기에서 전배양하였다. Maeda(1992)¹¹의 방법에 따라 실험하였으며 475 nm에서 흡광도를 측정하였다.

세포내 멜라닌 생성 억제 실험 – B 16 melanoma 세포를 10⁴ 개/ml로 24 well에 심어서 37°C, 5%의 CO₂ 배양기에서 배양한후 Gordon(1991)¹²의 방법에 따라 실험하였으며 이것을 흡광광도계 파장 475 nm에서 흡광도를 측정하여 실험군의 멜라닌 양은 대조군의 멜라닌 양에 대한 백분율로 계산하였다.

통계처리 – 결과의 통계학적인 분석은 Factorial design analysis와 Anova분석을 사용하였다.

결 과

시험관내 tyrosinase 활성 억제 실험 – 율피 추출물, 솔잎 추출물, 호프 추출물 및 kojic acid의 tyrosinase 활성 억제 실험 결과는 Fig. 1과 같다. 각 실험 물질들의 농도가 증가함에 따라 tyrosinase 활성 억제율이 유의하게 증가하였다($f<0.01$). 또한 tyrosinase의 활성도의 IC_{50} (Inhibition concentration 50%)은 kojic acid가 $11.27 \mu\text{g}/\text{ml}$, CIS-gel이 $62 \mu\text{g}/\text{ml}$, PN $82 \mu\text{g}/\text{ml}$, HOP $174 \mu\text{g}/\text{ml}$ 순으로 추출물 중에서 CIS-gel의 억제능이 가장 높았다.

시험관내 도파 자동산화 – CIS-gel, PN, HOP 및 kojic acid의 도파 자동산화 억제 실험 결과는 Fig. 2와 같다. 각 실험물질의 농도가 증가함에 따라 도파 자동산화 억제율이 유의하게 증가하였으며($f<0.01$), CIS-gel과 HOP은 $200 \mu\text{g}/\text{ml}$ 의 농도에서 억제능이 90% 정도로 kojic acid와 비슷한 억제효과를 나타내었다. 또한 도파 자동산화의 IC_{50} 은 kojic acid가 $32 \mu\text{g}/\text{ml}$, CIS-gel이 $124 \mu\text{g}/\text{ml}$, HOP가 $126 \mu\text{g}/\text{ml}$, PN이 $146 \mu\text{g}/\text{ml}$ 순으로 tyrosinase 활성 억제 실험에서와 마찬가지로 추출물 중에서 CIS-gel의 억제능이 가장 높았다.

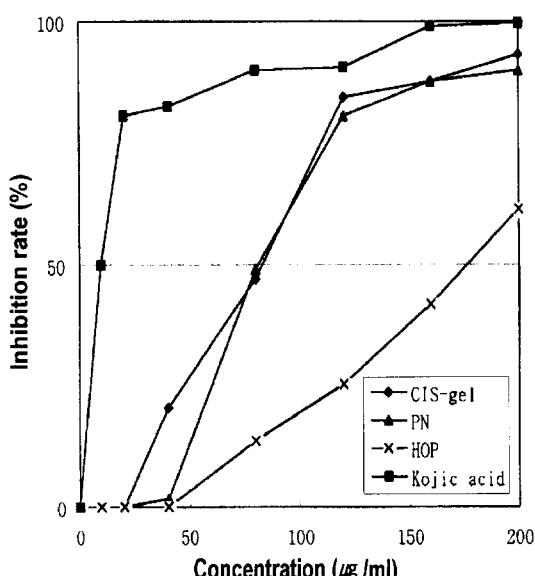


Fig. 1 – Inhibitory effects of chestnut inner shell extract, pine needle extract, hop extract and kojic acid on tyrosinase activity. ($f<0.01$; significantly different from concentration of test substances)

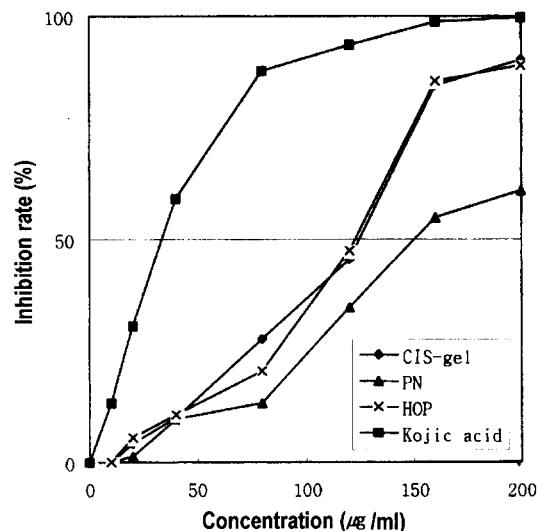


Fig. 2 – Inhibitory effects of chestnut inner shell extract, pine needle extract, hop extract and kojic acid on dopa auto-oxidation. ($f<0.01$; significantly different from concentration of test substances)

시험관내 멜라닌 생성 억제 실험 – CIS-gel, PN, HOP 및 kojic acid의 농도가 증가함에 따라 멜라닌 생성 억제율이 유의하게 증가하였으며($f<0.01$) 그 결과는 Fig. 3과 같다. 각 실험물질의 멜라닌 생성 억제율은 $10 \mu\text{g}/\text{ml}$ 의 농도에서 HOP이 59.06%, PN

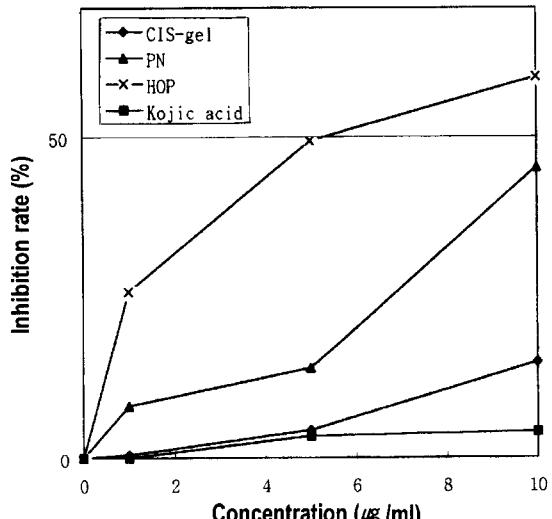


Fig. 3 – Inhibitory effects of chestnut inner shell extract, pine needle extract, hop extract and kojic acid on melanin biosynthesis. ($f<0.01$; significantly different from concentration of test substances)

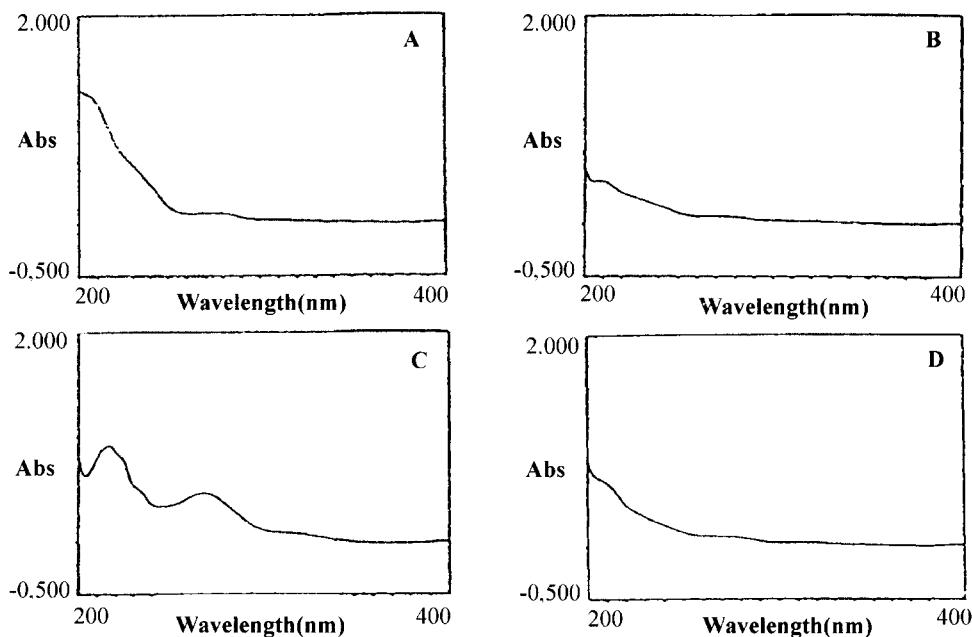


Fig. 4 – Absorption in the UV spectrum.

(A : PN (50 $\mu\text{g}/\text{ml}$), B : CIS-gel (50 $\mu\text{g}/\text{ml}$), C : Kojic acid (25 $\mu\text{g}/\text{ml}$), D : HOP (50 $\mu\text{g}/\text{ml}$))

45.13%, CIS-gel^o 14.86%, kojic acid가 3.96% 순으로 추출물이 단일물질인 kojic acid에 비해 멜라닌 생성 억제 효과가 높았다. 특히, 추출물중 HOP는 kojic acid 보다 억제율이 15배나 높았는데 이것은 호프 추출물이 현재 가장 많이 사용되고 효과가 인정되는 미백제인 kojic acid보다 높은 멜라닌 생성 억제능을 나타내어 상당히 높은 미백 효과를 보여주는 것이라 할수 있다.

UV 흡수 실험 – CIS-gel, PN, HOP는 50 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 의 농도로, kojic acid는 25 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 의 농도로 200~400 nm에서 UV 흡수 실험을 한 결과는 Fig. 4와 같다. CIS-gel, HOP는 200~400 nm에서 UV를 흡수하지 않고, PN은 200~50 nm에서 약한 흡수를 보이는데 반해 kojic acid는 200~290 nm에서 흡수를 하는 것으로 나타났다.

MTT assay – B 16 mouse melanoma cell에서 CIS-gel, PN, HOP 및 kojic acid에 대한 생존률을 조사한 결과는 Fig. 5와 같다. 각 실험 물질을 10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 농도로 투여한 치치군은 정상군에 비해 생존률이 86.1%, 89.63%, 89.05%, 87.92%이었으며, 각 실험 물질별로 8 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 이하의 농도에서는 정상군과 비교했을 때 세포 생존률에 영향이 없었다. 따라서 각 실험 물질에 의한 세포 독성은 없는 것으로 나타났다.

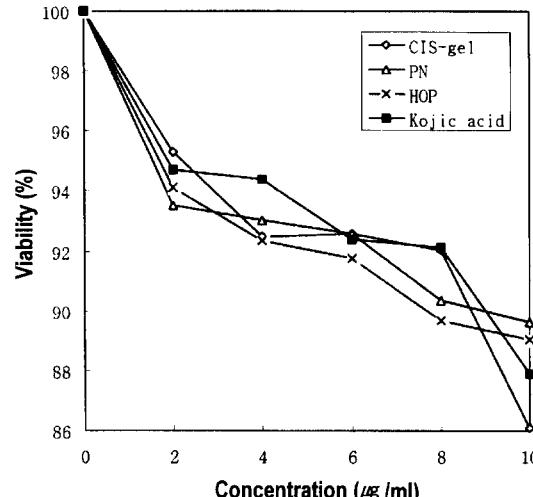


Fig. 5 – The effects of chestnut inner shell extract, pine needle extract, hop extract and kojic acid on viability of B 16 melanoma cell

세포내 tyrosinase 활성 억제 실험 – B 16 melanoma cell의 tyrosinase 활성 억제 실험에서는 CIS-gel, PN, HOP 및 kojic acid의 농도가 증가함에 따라 tyrosinase 활성 억제율이 농도 의존적으로 유의하게 증가하였으며($p < 0.01$) 그 결과는 Fig. 6과 같다. 각 실험

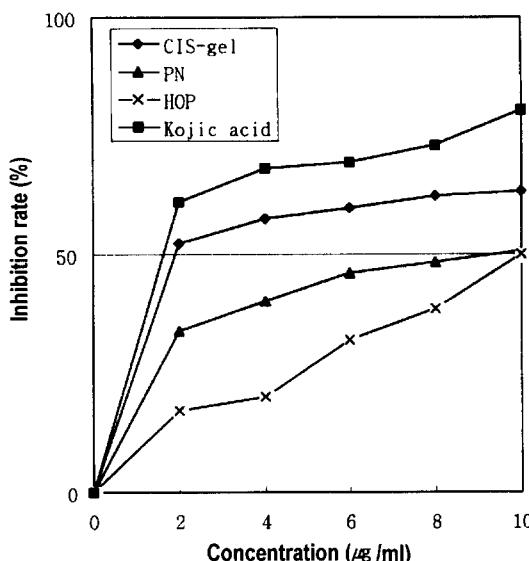


Fig. 6 – Inhibitory effects of chestnut inner shell extract, pine needle extract, hop extract and kojic acid on tyrosinase activity in B 16 melanoma cell. ($f<0.01$; significantly different from concentration of test substances)

물질들의 tyrosinase 활성 억제율은 $10 \mu\text{g}/\text{ml}$ 의 농도에서 kojic acid가 80.48%, CIS-gel이 63.41%, PN이 50.71%, HOP가 49.97%이었다. 또한 tyrosinase 활성도의 IC_{50} 은 CIS-gel이 $1.9 \mu\text{g}/\text{ml}$ 로 kojic acid $1 \mu\text{g}/\text{ml}$ 와 유사한 효과를 나타냈으며, CIS-gel이 시험관내 실험에서와 동일하게 tyrosinase의 활성 억제 효과가 가장 높았다.

세포내 멜라닌 생성 억제 실험 – B 16 melanoma cell에서 CIS-gel, PN, HOP 및 kojic acid에 의한 멜라닌 생성 억제 실험 결과는 Fig. 7과 같다. 각 실험 물질에 대한 멜라닌 생성 억제율은 농도가 증가함에 따라 유의하게 증가하였다($f<0.01$). 특히 CIS-gel, PN, HOP는 $4 \mu\text{g}/\text{ml}$ 이하의 농도에서 kojic acid보다 멜라닌 생성 저해능이 높았다. 또한 멜라닌 생성 IC_{50} (Inhibition concentration 50%)은 kojic acid의 $5.2 \mu\text{g}/\text{ml}$ 과 유사한 결과를 나타낸 CIS-gel이 $6 \mu\text{g}/\text{ml}$, PN이 $8 \mu\text{g}/\text{ml}$, HOP가 $8.1 \mu\text{g}/\text{ml}$ 순으로 추출물 중에서 CIS-gel의 억제능의 가장 높았다.

고 찰

피부색은 카로틴, 멜라닌, 헬색소 등에 의해 결정되

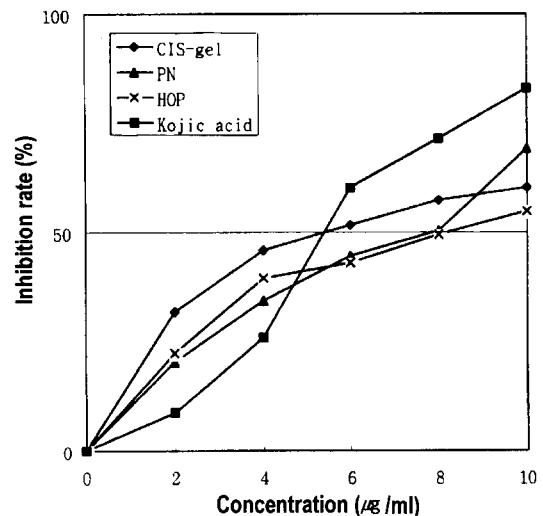


Fig. 7 – Inhibitory effects of chestnut inner shell extract, pine needle extract, hop extract and kojic acid on melanin biosynthesis in B 16 melanoma cell. ($f<0.01$; significantly different from concentration of test substances)

며 이 중 가장 중요한 역할을 하는 것은 멜라닌이다. 멜라닌은 멜라닌 세포에서 melanogenesis에 의해서 만들어지는데 건강인의 피부는 단위면적당 약 1,500개의 멜라닌 세포가 존재하며¹¹⁾, 멜라닌 세포의 크기, 모양 및 수는 유전적으로 결정된다.¹²⁾

본 실험에서 멜라닌 생성 억제제로 사용한 율피, 솔잎, 호프는 폴리 페놀류로 우리나라의 대표적인 탄닌 함유 자원 식물이다. 농림부 식물자원의 폴리페놀류 분류와 기능성 신소재 기술개발의 보고서¹³⁾에 따르면 소나무(*Pinus tabulaeformis Carr.*) 잎은 ellagic acid와 catechin이 탄닌의 주요성분으로 탄닌을 포함한 폴리페놀류의 함량이 100 g^{-1} 1.995 g 정도로 분석되었으며, 비타민 C를 다량 함유하고 있고 특히 독성이 염려되는 물질인 알칼로이드가 들어 있지 않은 것이 특징이라고 할수 있다. 솔잎의 효과로는 항산화 효과와 항변이원성 효과를 나타내며, 클로로필은 고약 형태로 만들어 피부병에 이용되기도 한다. 맥주의 주원료인 호프(*Humulus Lupulus*)는 ellagic acid와 gallic acid가 주성분으로 폴리페놀류 함량은 100 g^{-1} 1.305 g 이며, polyphenol 화합물과 탄닌 계열의 화합물이 존재하여 뛰어난 항산화 효과를 나타낼 것은 물론 항돌연변이 효과와 암세포 증식억제 효과도 지닐것으로 기대되는 물질이다. Ellagic acid가 탄닌의 주요성분인 율피는

밤나무(*Castanea mollissima* Bl.) 열매인 밤의 내과피로서 밤을 이용한 가공식품 제조시 제거되어 폐기 처리 되던 일종의 산업 부산물이었으나 최근에 율피가 민간에서 피부 미용팩의 한 성분으로 널리 사용되고 있으며 그 수렴 효과 및 피부 보호 효과도 유¹⁴에 의해 검증받아 있다. 또한 전보¹⁵에서도 율피추출물의 시험관내 실험과 B 16 melanoma 세포 실험에서 미백효과를 측정하여 그 가능성을 제시한바 있다.

멜라닌 합성 과정중 tyrosine이 멜라닌으로 합성되는 처음 두 단계에서의 산화 작용이 tyrosine이 tyrosinase의 작용에 의하여 이루어지므로 어떤 물질의 미백효과를 측정하기 위해서는 tyrosinase 활성의 억제 여부를 측정하는 것이 가장 많이 알려져 있다. 따라서 본 연구에서는 시험관내 실험과 세포 실험에서 솔잎 추출물, 호프 추출물, 율피 추출물에 대한 tyrosinase 활성 억제 실험을 하였는데 그 결과 시험관내 실험에서는 tyrosinase 활성도의 IC₅₀이 CIS-gel이 62 µg/ml, PN^o 82 µg/ml, HOP가 174 µg/ml로 나타났다.

Hideaki¹⁶등은 시험관내 실험에서 *Myrica rubra*의 잎과 bark의 추출물과 kojic acid의 tyrosinase 활성을 측정하였는데 그 결과 tyrosinase 활성도 IC₅₀이 *Myrica rubra*의 잎과 bark 모두 약 200 µg/ml으로 나타났다. 두 연구의 tyrosinase 활성 억제 실험 결과를 비교해보면 솔잎 추출물, 호프 추출물, 율피 추출물이 *Myrica rubra*의 잎과 bark의 추출물보다 tyrosinase 활성 억제 효과가 더 뛰어난 것을 알수 있었다. 또한 B 16 세포 실험에서도 시험관내 실험에서와 마찬가지로 실험 물질의 농도 의존적으로 tyrosinase의 활성을 억제시켰다.

Dopa는 tyrosinase의 작용에 의해 tyrosin으로부터 생성되며 도파자동산화(dopa auto-oxidation)과정을 거쳐 멜라닌을 생성하는데 작용하는 중간대사 물질로 멜라닌 합성에 중요한 역할을 한다.¹⁷⁾ 최근 들어 미백 물질을 개발하는 과정에서 도파 자동산화를 억제 할수 있는 물질에 대한 연구가 많이 진행되고 있다. 본 연구에서는 솔잎 추출물, 호프 추출물, 율피 추출물, kojic acid를 10 µg/ml 농도에서 200 µg/ml 농도로 처리하여 시험관내 실험에서 도파 자동산화를 측정한 결과 농도 의존적으로 도파 자동산화 억제율이 증가하였으며, 전보¹⁵의 연구 결과에서도 율피 추출물의 농도가 증가할수록 도파 자동산화 억제율이 증가하였다.

솔잎 추출물, 호프 추출물, 율피 추출물, kojic acid

에 대한 UV흡수 실험을 한 결과 kojic acid를 제외한 실험물질은 UV를 흡수하지 않은 것으로 나타나 각 실험물질에 의한 미백효과는 UV 흡수에 의한것이라기보다는 멜라닌 생성에 관여하는 효소들의 활성을 억제함으로써 나타나는것이라 생각할 수 있다.

또한 시험관내 실험과 세포 실험에서 솔잎 추출물, 호프 추출물, 율피 추출물, kojic acid에 대한 멜라닌 함량을 측정하였는데 그 결과 각각의 추출물과 kojic acid는 농도 의존적으로 멜라닌 생성을 억제하였다. 시험관내 실험에서 솔잎 추출물, 호프 추출물, 율피 추출물은 tyrosinase의 활성 억제율이 가장 높았던 단일 물질인 kojic acid에 비해 멜라닌 생성 억제율이 더 높게 나타났는데 이러한 결과는 다음과 같은 사실로 이해할 수 있다. 멜라닌은 tyrosinase에 의해 tyrosine으로부터 생산된 여러 종류의 중간체들이 모여 형성된 복합체지만 이들 유도체들이 어떻게 진행중인 반응으로부터 벗어나 멜라닌 색소의 한 구성 성분이 되는지에 대해서는 아직까지 정확한 기전이 밝혀져 있지 않다. 뿐만 아니라 현재까지도 멜라닌의 정확한 성분과 구조에 대해서 완전하게 알려져 있지 않다.¹⁸⁻¹⁹⁾ 따라서 본 연구의 시험관내 실험에서 kojic acid보다 호프 추출물이 멜라닌 생성억제에서 15배나 높은 효과를 나타낸 것은 호프 추출물이 멜라닌 생성 초기 단계를 조절하는 tyrosinase의 활성 억제 효과 뿐만 아니라 그 이후 단계인 dopchrome에서 5,6-dihydroxy-indole-2-carboxylic acid(DHICA)으로 가는 step에 관여하는 TRP-2(tyrosinase related protein-2)의 활성 억제²⁰⁾에 효과가 있는 것으로 추측할 수 있다.

멜라닌 생성 억제는 크게 두가지로 세포 독성에 의한 세포 사멸과 멜라닌 생성 단계에서 효소 활성 억제로 나눌수 있는데, B 16 cell에서 솔잎 추출물, 호프 추출물, 율피 추출물, kojic acid에 의한 MTT 결과 세포 독성이 없는 것으로 보아 멜라닌 생성 억제는 세포 독성에 의한 세포 사멸에 의해서 보다는 멜라닌 생성 단계중 추출물에 의한 tyrosinase의 활성 억제, dopa 자동산화 억제와 같은 효소 활성 억제에 의한 것으로 생각할 수 있으며, 아직 밝혀내지 못한 dopa 이후 여러 단계에서 멜라닌 생성 억제 작용이 일어나는 것으로 짐작할 수 있다. 또한 탄닌 성분을 다량 함유한 추출물들이 superoxide anion radical를 scavenging하여 tyrosinase 활성을 억제하여 결국 멜라닌 생성 억제 효과를 나타내는 것으로 추측할수 있다. 이

려한 가능성을 증명하기 위하여 솔잎 추출물, 호프 추출물, 율피 추출물에 의한 자유라디칼 소거작용에 대한 중점적인 연구가 앞으로 더 진행되어야 할것이다.

결론적으로 솔잎 추출물, 호프 추출물, 율피 추출물, kojic acid에 의한 미백효과는 UV 흡수 실험을 한 결과 kojic acid를 제외한 실험물질이 UV를 흡수하지 않은 것으로 보아 각 추출물에 의한 UV 흡수에 의한 것이라기 보다는 멜라닌 생성에 관여하는 효소의 활성을 억제함으로써 나타나는것이라 생각할수 있다.

우리는 시험관내 실험과 B 16 mouse melanoma 세포 실험을 통하여 솔잎 추출물, 호프 추출물, 율피 추출물이 tyrosinase 활성 억제와 dopa 자동산화 억제, 멜라닌의 생성억제에 미치는 효과를 확인하였는데 이러한 결과는 전보의 율피 추출물 뿐만 아니라 솔잎 추출물, 호프 추출물이 저가의 새로운 미백 화장품 원료로서의 개발 가능성이 높음을 보여준다고 할수 있다.

결 론

본 연구에서 율피(Cis-gel), 솔잎(PN), 호프(HOP)의 수성 아세톤 추출물을 이용하여 시험관내 실험과 B 16 mouse melanoma 세포 실험에서 kojic acid를 비교물질로 사용하여 tyrosinase 활성 억제, dopa 자동산화 억제, 멜라닌 생성 억제 효과를 측정한 결과는 다음과 같다.

1. 시험관내 실험과 B 16 세포실험에서 율피 추출물, 솔잎 추출물, 호프 추출물은 농도가 증가함에 따라 tyrosinase 활성 억제율이 유의하게 증가하였으며, 각각의 IC₅₀은 62 µg/ml, 82 µg/ml, 174 µg/ml 이었다.

2. 시험관내 실험에서 율피 추출물, 솔잎 추출물, 호프 추출물에 의한 dopa auto-oxidation 억제율은 농도가 증가함에 따라 유의하게 증가하였으며, 각각의 IC₅₀은 124 µg/ml, 146 µg/ml, 126 µg/ml 이었다.

3. 시험관내 실험과 B 16 세포 실험에서 율피 추출물, 솔잎 추출물, 호프 추출물에 의한 멜라닌 생성 억제율은 농도가 증가함에 따라 유의하게 증가하였으며, 특히 시험관내 실험에서 호프 추출물은 10 µg/ml 농도에서 단일 물질인 kojic acid보다 멜라닌 생성 억제율이 15배나 높게 나타났다.

4. 각각의 추출물에 대한 B 16 세포의 생존률은 정상군과 유사하게 나타나는 것으로 보아 세포독성이 없는 것으로 고려된다.

감사의 글

본 연구는 농림수산부 특성과제 연구비 지원에 의하여 이루어졌으며 연구비 지원에 감사드립니다.

문 헌

- Iwata M., Corn T., Iwata S., Evertte M. and Fuller B. B. : The relationship between tyrosinase activity and skin color in human foreskins. *J. Invest. Dermatol.* **195**, 9 (1990).
- Weixiong Li and Helene Z Hill : Induced melanin reduces mutations and cell killing in mouse melanoma. *Photochem. Photobiol.* **65**(3), 480 (1997).
- Kaufman R. J.: Vectors used for expression in mammalian cells. *Meth. In. Enzymol.* **205**, 87 (1991).
- Kameyama K., Takemura T., Hamada Y., Sakai C., Kondoh S. and Nishiyama S. : Pigment production in murine melanoma cells is regulated by tyrosinase, tyrosinase-related protein 1(TRP 1), dopachrome tautomerase(TRP 2) and a melanogenic inhibitor. *J. Invest. Dermatol.* **100**, 126 (1993).
- Maeda K. and Fukuda M. : In vitro effectiveness of several whitening cosmetic components in human melanocyte. *J. Soc. Cosmet. Chem.* **42**, 361 (1991).
- Mason H. S. : The chemistry of melanin. *J. Biol. Chem.* **172**, 83 (1947).
- Hideaki M., Masayuki H., Weizhong C., Hideki T., Munekazu I. and Michinori K. : Studies of cuticle drugs from natural sources. IV. Inhibitory effect of some arctostaphylos plants on melanin biosynthesis. *Biol. Pharm. Bull.* **19**(1), 153 (1996).
- Mosmann T. : Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival ; Application to proliferation and cytotoxicity assays. *J. Immunol. Methods.* **65**, 55 (1983).
- Maeda K., Tomita Y., Fukuda M. and Tagami H. : Effects of staurosporine, PMA and A23187 on human melanocyte cultures with dibutyryl cyclic AMP. *Br. J. Dermatol.* **126**, 118 (1992).
- Gordon P. R., Naeyaert J. M. Eller M., Park H. Y. and Gilchrest B. A. : Pigment content of cultured human melanocyte dose not correlate with tyrosinase messeage level. *J. Invest. Dermatol.* **125**, 297 (1991).
- Rosdahl IK. and Lindstrom S. : Morphology of

- epidermal melanocytes in different stages of mitosis. *Acta-Derm-Venereol.* **60**(3), 209 (1980).
- 12) Prieto J. C. and Quevedo M. : Hypotensive effect of dopaminergic agonists in the rat. *Arch. Inst. Cardiol. Mex.* **57**(4), 279 (1987).
- 13) 식물자원의 폴리페놀류 분류와 기능성 신소재 기술개발 보고서. 농림부, (1997).
- 14) 윤원자 : 율피를 꾹으로 이용한 재절별 피부보습효과에 대한 연구. 동덕여자대학교, (1997).
- 15) 양민진 : 율피 추출물에 의한 tyrosinase 활성억제 및 벨라닌 생성억제 효과. 동덕여자대학교, (1998).
- 16) Hideaki M., Masayuki H., Weizhong C., Hideki T., Munekazu I. and Michinori K. : Studies of cuticle drugs from natural sources. III. Inhibitory effect of myrica rubra on melanin biosynthesis. *Biol. Pharm. Bull.* **18**(8), 1148 (1995).
- 17) Ando H., Horikawa T. and Oka M : Linoleic acid can induce depigmentation in cultured normal human melanocytes during activity proliferating state. *J. Dermatol. Sci.* **2**, 248 (1991).
- 18) Reuben Lotan and Dafna Lotan : Stimulation of melanogenesis in human melanoma cell line by retinoids. *Cancer Res.* **40**, 3345 (1980).
- 19) Prota G. : Regulation mechanism of melanogenesis beyond the tyrosinase concept. *J. Invest. Dermatol.* **100**, 156S (1993).
- 20) Ashok K., Yoko funasaka. and Mari Komoto. : Effect of arbutin on melanogenic proteins in human melanocytes. *Pigment Cell Res.* **11**, 206 (1998).