

## 손바닥선인장(*Opuntia ficus-indica*)의 라디칼 소거 활성, Tyrosinase 억제 활성, 항알레르기 활성 검색

이남호\* · 윤진석 · 이봉호# · 최병욱# · 박관하†

제주대학교 화학과, \*대전산업대학교 공업화학과, †군산대학교 해양생명의학과

### Screening of the Radical Scavenging Effects, Tyrosinase Inhibition and Anti-allergic Activities Using *Opuntia ficus-indica*

Nam Ho Lee,\* Jin-Seok Yoon, Bong Ho Lee,# Byoung Wook Choi# and Kwan Ha Park†

Department of Chemistry, Cheju National University, Ara-1, Cheju 690-756, Korea

\*Department of Chemical Technology, Taejon National University of Technology,  
Duckmyung-dong, Yusong-gu, Taejon 305-719, Korea

†Department of Marine Biomedical Sciences, Kunsan National University,  
Kunsan, Soryong 1044-2, Chonbuk 573-400, Korea

**Abstract** – We have examined radical scavenging effects, tyrosinase inhibition activities and anti-allergic activities on the methanol extracts of *Opuntia ficus-indica* cultivated in Cheju island. By the comparison of the four samples, methanol and 50% methanol extracts of respective fruits and stems of *Opuntia*, the most desirable activities were obtained in the sample of the stem's methanol extracts. Based on this analysis, further study to identify the active components in this sample is warranted.

**Key words** – *Opuntia ficus-indica*: radical scavenging effects: tyrosinase inhibition: anti-allergy

선인장 중에서 *Opuntia* 속에 속하는 손바닥선인장 (*Opuntia ficus-indica*)은 멕시코가 원산지인 다년생 식물로, 국내에서는 제주도에서 자생 경작되고 있다. 예로부터 민간에서는 종기, 화상, 부종, 위장장애 및 늑막염, 기관지 천식 등의 치료 목적으로 사용되어 왔으며, 최근에는 여러 가지 형태의 기호식품으로 개발되어 시판되고 있다. 또한 비누 등의 미용제품에 첨가되어 판매되고 있다.

본 연구의 목적은 제주도 특산(제주도 지방기념물 제35호)인 손바닥선인장의 친피부적 성질을 조사하여 유효 성분 탐색 및 기능성 화장품 등의 원료 물질 개발을 위한 기초자료를 확보하는 데에 있다. 이를 위하여 라디칼 소거 활성, tyrosinase 저해 활성 및 항알레르기 활성을 조사하였다.

피부노화의 원인 중의 하나는 라디칼 인자인 유해

산소 등에 의한 피부 세포의 산화라고 여겨지고 있다. 본 연구에서는 손바닥 선인장의 항산화활성을 DPPH법<sup>1)</sup>을 이용한 라디칼 소거활성을 통하여 조사하여 보았다. 생체 내의 melanin은 tyrosine으로부터 중요한 초기 단계인 tyrosinase의 효소작용을 거쳐서 생성된다. 따라서 tyrosinase의 억제는 피부의 멜라닌 색소의 조절을 통하여 피부 미백 효과를 기대할 수 있다. 미백효과를 염두에 두어, 손바닥 선인장의 tyrosinase 억제 활성<sup>2)</sup>을 조사하였다. 산업화가 가속되면서 현대인들은 다양한 형태의 allergen에 노출되어 있어서, 알레르기에 의한 피부 질환의 가능성이 높아지고 있는 실정이다. 따라서, 손바닥 선인장의 항알레르기 효과를 조사하여 보았다. 알레르기 반응의 *in vivo* 모델인 rat homologous passive cutaneous anaphylaxis(PCA)<sup>3)</sup>을 이용하여 약효를 확인하였다.

한편, 최근에 손바닥 선인장의 효능과 성분 등에 대한 다양한 연구 결과들이 보고되고 있다. 노화촉진 마우

\*교신저자 : Fax : 064-756-3561

스를 대상으로 한 항산화효과,<sup>4)</sup> 마우스를 대상으로 한 방사선 방호효과,<sup>5)</sup> 랫트를 대상으로 한 면역계 세포의 활성화에 대한 연구,<sup>6)</sup> 당뇨 모델 랫트를 이용한 혈당 강하 효과<sup>7)</sup> 등이 발표된 바 있다. 또한 성분에 대한 연구로서, 선인장의 메탄올 수용액 추출물을 조사한 바에 의하면, flavonoid 및 페놀성 물질의 함량이 시료 부위에 따라 최대 4.9%에 이르고 있음이 보고되어 있다.<sup>8)</sup> 이는 다른 식물에 비하여 매우 높은 함량 비율을 나타낸다. 단일 성분에 대한 연구로서 flavonoid 성분인 *t*-dihydrokaempferol 및 *t*-dihydroquercetin이 손바닥 선인장에서 분리되어 보고된 바 있다.<sup>9)</sup>

## 재료 및 방법

**손바닥선인장** - 선인장 줄기 및 열매는 제주도 한림읍 금능리 선인장마을에서 경작한 시료를 사용하였다. 수확기에 수확하여 잘게 절단한 선인장을 냉동 건조시킨 후, 분쇄하여 미세한 분말 상태로 freezer(-20°C)에 보관하면서 사용하였다.

**선인장의 메탄올 추출물 제조** - 메탄올 250 mL가 들어 있는 플라스크에 선인장 열매 혹은 줄기 분말(5 g)을 넣고 상온에서 24시간 교반하였다. 난용성 물질을 여과하여 분리한 후 메탄올 용액을 얻고, 여과액은 40°C에서 회전농축기를 이용하여 농축시켜 2.0 g 내외의 메탄올 추출물을 얻었다. 선인장 열매의 경우, 라디칼 소거활성 시험에 방해가 되는 붉은 보랏빛의 색소는 탄소 분말을 처리하여 탈색하였다. 메탄올 수용액(50% methanol) 추출물의 경우도 같은 방법을 이용하여 제조하였다. 그러나, 이 경우 점액성 물질이 과다 존재로 funnel을 이용한 여과과정이 용이하지 않아 원심분리를 이용하여 상층액을 취하여 추출액으로 사용하였다.

**라디칼 소거 활성 측정**<sup>1)</sup> - 1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl(DPPH, Aldrich) 20 mg을 에탄올 150 ml에 녹여 DPPH 용액을 제조하였다. 이 용액 60 µl에 DMSO 250 ml를 첨가시키고 적당량의 에탄올로 희석한 후 10초간 진탕시켰다. 이 때 518 nm의 파장에서 대조군의 UV-Vis. 분광기 흡광도가 0.94-0.97이 되도록 조정하였다. 용매 10 ml에 분말로 추출된 시료 0.100 g을 섞은 후 충분히 녹이고 준비된 DPPH 900 µl에 시료용액 100 µl를 넣고, 1 mM의 농도로 맞춘 후 흡광도를 측정하였다. 이 때 518 nm에서, 대조군에 대한 흡광도 감소치(ΔA)를 항산화활성도로 나타내었다.

**Tyrosinase 억제 활성 검색**<sup>2)</sup> - 150 µl의 mushroom tyrosinase(150 unit, Sigma), 225 µl(2.5 mM)의 L-tyrosine, 225 µl의 0.4 M HEPES buffer(pH 6.8), 그리고 300 µl의 ethanol 용액 혹은 시료(1 mg/ml) 용액을 섞은 후 배양 전 그리고 15분간 배양 한 후 475 nm에서 흡광도를 각각 측정하여 억제되는 정도를 관찰하였다. Tyrosinase 억제 정도는 다음과 같이 측정하였다.

$$\text{Tyrosinase inhibition(\%)} = \frac{[(D - C) - (B - A)]}{(D - C)} \times 100$$

A와 B는 각각 시료를 넣은 용액의 배양 전 및 후의 흡광도이며, C와 D는 각각 시료를 넣지 않은 용액의 배양 전 및 후의 흡광도이다.

**수동 피부 감각 시험(passive cutaneous anaphylaxis, PCA)**<sup>3)</sup> - Ovalbumin(Grade IV, Sigma) 1 mg/rat와 Pertussis antigen(Difco) 0.7 mg을 250-300 g의 웅성 Wistar rat의 근육 내와 복강으로 각각 투여하고 12일 후 복대동맥으로 채혈하여 혈청을 분리하여 사용하였다. 이 혈청의 PCA 역가를 측정하고 Evans blue의 확산 직경이 10-20 mm가 되는 농도로 희석하여 사용하였다. Wistar rat에서 제조된 혈청은 Wistar rat(180-230 g, 일본 B&K)의 등부위 털을 깎고 4부위에 2배 계열 희석한 혈청(인산 완충 생리식염수에 희석, pH 7.4) 0.1 ml씩 피내 투여하고 48시간 후 ovalbumin 5 mg을 0.5 ml의 saline에 용해한 Evans blue(0.25%)와 혼합하여 꼬리 정맥으로 투여하였다. Ovalbumin 투여 30분 후 피부를 박리하고 Evans blue의 확산 직경을 측정하였다. 시험물질을 ovalbumin을 정맥투여하기 30분전에 투여하였다.

**적출 기관지 시험**<sup>10)</sup> - Guinea pig를 ether로 흡입 마취하고 복대동맥을 통해 방열 치사한 후 경부의 피부를 일직선으로 절개하여 기관지를 노출시켰다. 기관지를 주의 깊게 길이를 따라 열고 표본 당 기관지의 4-5개 연골 링이 포함되도록 잘라 링을 개환하여 silk로 2개의 표본을 연결하였다. 표본 양측을 cell pin으로 고정하고 Krebs-Henseleit 용액(pH 7.4, 37°C)이 포함된 13 ml의 organ bath에 현수하였다. 기본 장력을 1 g으로 유지하여 안정화 시킨 뒤 iodomethacin을 5 µM의 농도로 가하여 cyclooxygenase를 차단한 후 histamine 10 µM 또는 leukotriene D<sub>4</sub> 5 nM로 수축을 유도하였다. 수축작용이 안정화 된 후 시료를 가하여 시험물질이 수축력을 감소시키는 정도를 측정하였

다. 장력의 변화를 isometric transducer로 측정하였다.

## 결과 및 고찰

**라디칼 소거 활성** - 손바닥선인장 줄기 및 열매의 메탄올, 그리고 50% 메탄올 수용액의 DPPH의 라디칼 소거활성을 조사하였다(Table I). 본 실험에 사용된 DPPH는 안정한 형태로 존재하는 라디칼 화합물로서, 시료에 의하여 라디칼이 제거되면 UV 분광기에서 518 nm의 흡수파장이 사라지게 된다. 따라서, 라디칼 소거활성  $\Delta A$ 는 대조군과의 흡광도 차이를 나타낸 것이므로, 값이 클수록 활성이 높다.

생체 내 산화물질로 작용하는 활성 산소 등은 대표적인 라디칼 물질로서, 라디칼 소거 활성 물질은 항산화제로 인식되고 있다. 항산화효과는 피부의 노화와 관련이 있으며, 효과적인 피부 항산화활성은 피부 노화를 억제할 가능성이 있다. Table I의 실험 결과를 보면, 선인장 줄기의 메탄올 추출물에서 가장 강한 항산화활성이 나타나고 있다. 따라서, 화장품 등의 첨가제로 줄기의 메탄올 추출물이 적합하리라 판단된다. 라디칼 소거 활성을 나타내는 유효 성분은 아직 규명되지 않은 상태이나, 선인장에 포함되어 있는 페놀계 물질일 가능성이 있다. 메탄올 수용액 추출물의 경우,

**Table I.** DPPH radical scavenging effects and tyrosinase inhibition effects of *Oportia ficus-indica* extracts

시료 종류 (mg/ml)	소거활성 ( $\Delta A$ )	Tyrosinase inhibition %
선인장 줄기	메탄올 추출물 0.803	68
	50% 메탄올 추출물 0.759	7.1
선인장 열매	메탄올 추출물 0.640	56
	50% 메탄올 추출물 0.309	-11

**Table II.** Inhibitory activity of *Oportia ficus-indica* extracts on PCA response in rats

선인장 시료	용량	n	PCA response, Mean $\pm$ SD (diameter, mm)	비고
control	saline, 0.9 ml/rat, ip	10	15.4 $\pm$ 0.6	
줄기	메탄올 추출물 450 mg/kg, ip	3	9.0 $\pm$ 1.1	p < 0.01
	650 mg/kg, ip	5	3.3 $\pm$ 0.7	p < 0.01
	50% 메탄올 추출물 720 mg/kg, ip	4	14.8 $\pm$ 0.8	
열매	메탄올 추출물 450 mg/kg, ip	4	13.3 $\pm$ 0.5	p = 0.04
	50% 메탄올 추출물 700 mg/kg, ip	4	16.0 $\pm$ 0.5	

P values indicate significant statistical difference from control (Student's *t*-test)

다당류 점액질 물질이 다량 포함되어 있어서, 페놀성 물질의 함량이 상대적으로 적은 것으로 추측된다.

**Tyrosinase 억제 활성 검색** - Tyrosinase 저해 활성을 검사함으로써 손바닥선인장의 미백효과와 가능성을 검토하였다(Table I). 본 실험에서도 선인장 줄기의 메탄올 추출물에서 가장 좋은 활성 데이터를 얻었다. 용매 분획을 통하여 활성인자를 추적하고자 시도하였다. 우선 메탄올 추출물을 hexane과 80% 메탄올로 분획화한 결과, 메탄올 층에 성분이 존재함을 확인하였다. 이 수용성 메탄올 층을 감압 휘발한 후 chloroform과 30% 메탄올로 분획화하였다. 그 결과 30% 메탄올 층 잔액(저해효과: 14%)에 비하여 클로로포름 층 잔액(저해효과: 96%)에서 매우 높은 활성을 보임을 확인하였다. 이 층에 존재하는 유효 성분은 현재 추적 분리 중에 있다.

**수동 피부 감각 시험** - Table II에서 보이는 것처럼 rat PCA 시험에서 선인장 줄기의 메탄올 추출물은 현저한 알레르기 저해작용이 있음을 확인하였다. 반면, 열매의 메탄올 추출물은 미약한 효능을 보였으며, 50% 메탄올 수용액 추출물의 경우 줄기와 열매 모두 항알레르기 활성이 나타나지 않았다. 따라서, 화장품 등의 첨가제로서 선인장 줄기의 메탄올 추출물은 활성 성분에 대한 연구가 필요하리라 생각한다.

**적출 기관지 시험** - 위의 *in vivo* 실험인 PCA에서 선인장 줄기의 메탄올 추출물이 유효하였기 때문에, 이 시료가 알레르기 주요 매개물인 histamine이나 leukotriene D<sub>4</sub>에 직접적으로 길항작용을 하는지의 여부를 guinea pig의 적출 기관지를 이용하여 시험하였다. 그 결과, 80-240  $\mu$ g/ml의 농도에서 유의성 있는 이완작용이 관찰되지 않았다(Table III). 이 결과는, 이들 두 종류의 주요 매개물에 대한 직접적인 저해작용이 없음을 시사한다. 그러므로 선인장 줄기의 항알레르기 작용은 유리된 매개물질의 작용을 저해하기보다

**Table III.** Effects of *Oputia ficus-indica* extracts on isolated tracheal contraction of guinea pigs induced by histamine and leukotriene D<sub>4</sub>

시험물질 농도	수축유발물질	% change
80 µg/ml	histamine	-6.5
	leukotriene D <sub>4</sub>	0
240 µg/ml	histamine	-3.0
	leukotriene D <sub>4</sub>	0

Mean values from three determinations; (-): relaxation

는 mast cell 등에서 매개물질의 유리를 억제하였을 가능성을 시사한다. 그러나, 아직도 검증되지 않은 작용, 예를 들어 cAMP의 분해 억제 작용이나 bradykinin, serotonin, PAF 등의 매개물질에 대한 길항작용에 관해서는 추가적인 연구가 필요하다.

## 결 론

제주도 자생식물인 손바닥선인장 시료를 대상으로 라디칼 소거 활성, tyrosinase 저해 활성, 항알레르기 활성을 조사하였다. 그 결과 손바닥 선인장의 줄기 부분의 메탄올 추출물에서 가장 우수한 활성들이 나타남을 확인하였다. DPPH 용액을 이용한 라디칼 소거 활성 시험의 경우, 1 mg/ml 농도에서 대조군과의 흡광도차(ΔA)가 0.803을 나타내었다. 이 수치는 비교적 우수한 항산화활성을 갖고 있음을 나타낸다. 이러한 항산화 작용은 선인장 내 페놀성 물질에 의한 영향을 받았을 가능성이 있다. 선인장 내 페놀류의 존재는 정성적으로 제시된 바 있으며, 페놀류의 라디칼 소거에 의한 항산화활성은 잘 알려져 있다.

Tyrosinase 저해 활성인자의 경우, 1 mg/ml의 농도로 68%의 저해활성을 나타내었다. 비교적 우수한 저해 활성을 나타낸다고 판단된다. 용매 분획을 통하여 활성인자를 추적한 바에 의하면, chloroform 가용성 물질이라고 판단된다. 클로로포름 가용성 물질일 경우, 비교적 작은 분자량의 유기화합물일 가능성이 크므로, 활성성분의 분리 및 구조 동정의 가능성이 높다고 하겠다.

*In vivo* 모델인 rat PCA 실험에서, 줄기의 메탄올 추출물 450-650 mg/kg에서 유의성 있는 항알레르기 효과를 확인하였다. 항알레르기 작용기전을 추적하기 위한 적출 기관지실험 결과, 최소한 알레르기 주요 매개물인 histamine 혹은 leukotriene D<sub>4</sub>의 직접적인 길항에 의한 효과는 아닌 것으로 판단되었다. 이에 대한 연구는 앞으로 추가 실험이 요구되어 지고 있다.

이상의 연구 결과는 손바닥 선인장의 친피부적인 효과를 나타내어 주고 있다. 따라서, 본 연구 결과는 화장품 첨가제 등 관련 분야에의 활용 및 유효 성분의 분리, 동정의 기초 자료로서 이용되리라 생각한다.

## 사 사

본 논문은 1999년도 제주대학교 발전기금 학술연구비에 의하여 연구되었으며, 이에 감사드립니다.

## 인용문헌

- Blois, M. S. (1958) Antioxidant determination by the use of a stable free radical *Nature* 181: 1199-1200.
- Hearing Jr., V. J. (1987) Mammalian monophenol monooxygenase (Tyrosinase): Purification, properties, and reaction catalyzed. *Method in Enzymology* 142: 154-165.
- Lievier, J., Duval D., Prouteau, M., Voltz, C., Berry, C. N., Lloyd, K. G., Scatton, B. (1995) Antianaphylactic activity of the novel selective histamin H1 receptor antagonist Mizolastatine in the rodent. *Arzneim-Forsch.* 45: 559-568.
- 백승규, 김희연, 양승돈, 송창우, 신태균, 한상섭 (1999) 손바닥선인장(*Opuntia ficus-indica*) 열매가 노화촉진 마우스(Senescence-accelerated mouse)의 항산화능에 미치는 영향. *한국노화학회지* 9: 70-77.
- 신태균, 김성호 (1998) 손바닥선인장의 방사선 방호 효과. *제주생명과학연구* 1: 25-32.
- 신태균, 이선주, 김세재 (1998) 손바닥선인장 추출물이 면역계 세포의 활성화에 미치는 영향. *한국수의병리학회지* 2: 31-35.
- 신태균, 김승준, 문창중, 위명복, 현병화 (1999) Streptozotocin 유발 당뇨병에 대한 손바닥선인장 추출물의 혈당강하 효과. *한국노화학회지* 9: 78-83.
- 이영철, 김홍만, 김영언, 황금희, 안채경 (1997) 선인장의 성분 분석 및 가공식품의 품질개선 시험. *한국식품개발연구원 보고서*.
- Jeong, S. J., Jun, K. Y., Kang, T. H., Ko, E. B., Kim, Y. C. (1999) Flavonoids from the Fruits of *Opuntia ficus-indica* var. saboten. *Kor. J. Pharmacogn.* 30: 84-86.
- Robert, D. K., Aharony, D., Buckner, C. K., Keith, R. A., Kusner, E. J., Snyder, D. W., Bernstein, P. R., Matassa, V. G., Yee, Y. K., Brown, F. J., Heps, B., Giles, R. E. (1990) The preclinical pharmacology of ICI 204,219. *Am. Rev. Respir. Dis.* 141: 978-987.

(2000년 10월 6일 접수)