

Note

부산 연안 해조류 추출물의 항산화 활성 및 Tyrosinase 저해 활성 스크리닝

서영완* · 유종수¹

한국해양대학교 해양과학부
(606-791) 부산광역시 영도구 동삼동 1번지
¹한국해양대학교 해양과학기술연구소
(606-791) 부산광역시 영도구 동삼동 1번지

Screening for Antioxidizing and Tyrosinase-inhibitory Activities of the Extracts of Marine Algae from Busan Coastal Area

Youngwan Seo* and Jong-Su Yoo¹

Division of Ocean Science, Korea Maritime University,
Busan 606-791, Korea

¹Research Institute of Marine Science and Technology, Korea Maritime University,
Busan 606-791, Korea

Abstract : The crude extracts of marine algae were screened for tyrosinase-inhibitory and radical scavenging effects. Among the samples tested, *Symphyclocladia latiuscula* and *Gloiopeltis furcata* were found to be the most effective in DPPH radical scavenging test while *Gigatina tenella*, *Sargassum thunbergii*, and *Sargassum* sp. were moderately active. For the inhibition against mushroom tyrosinase, *Symphyclocladia latiuscula* and *Sargassum confusum* showed the strongest inhibition. *Codium adhaerens*, *Corallina pilulifera*, *Carpopeltis cornea*, *Halymenia acuminata*, *Hizikia fuziformis*, *Porphyra suborbiculata*, and *Enteromorpha linza* exhibited mild inhibitory potency.

Key words : 해조류 (Marine algae), 항산화활성 (antioxidizing activity), 라디칼소거 효과 (radical scavenging effect), 티로시나아제 억제 (tyrosinase inhibition).

1. 서 론

해양생물들 중에서도 우리에게 매우 친숙한 해조류는 다양한 응용성이 있음에도 불구하고 주로 인간의 식량으로만 사용되어 왔다. 하지만 해양생물이 새로운 생리활성 물질의 보고로 알려지면서 해조류 또한 새로운 기능성 물질의 장으로 새롭게 인식되고 있다. 해조류는 비타민과 미네랄을 포함해서 요오드, 아연 등의 필수미량원소가 풍부

할 뿐만 아니라 그 생육환경의 특이성 때문에 같은 식물에 속하지만 육상에 생육하는 식물과는 크게 다른 성분을 함유하고 있어 고부가가치 신기능성 제품개발의 좋은 소재라 할 수 있다. 특히 최근에 광우병에 의한 동물유래원료의 배제와 환경호르몬 문제 등은 전세계적으로 자연지향, 천연지향, 식물지향의 상품이 호평 받게 하고, 이들에 대응하는 신소재를 요구하게 되었다(이 2001).

singlet oxygen, hydroxyl radical, superoxide anion과 같은 산소종은 일반적으로 매우 활성이 높고, 신진대사의 부산물로서 세포내에서 계속적으로 생산되거나 환경으로부터

*Corresponding author. E-mail : ywseo@kmaritime.ac.kr

터 유입 된다. 이와 같이 세포내에서 형성된 반응성이 강한 free radical은 생체분자를 산화시키고, 세포의 치사나 조직상해를 유발하여 노화를 촉진시킨다고 알려져 있다 (Singh 1989). 활성산소와 주요 세포 구성요소들 사이의 반응에 의해, 산화적 스트레스를 받는 세포가 치명적인 손상을 받을 수도 있으나 효율적인 항산화제는 이러한 유해한 영향을 제한할 수 있고 산화로부터 세포를 보호한다 (Halliwell and Gutteridge 1989).

멜라닌은 생합성의 결과 만들어 지는 색소물질이다. 표피의 멜라닌은 UV에 의한 피부손상을 막는 중요한 역할을 한다. 그러나 멜라닌의 과잉생성은 얼굴의 탈색, 점, 주근깨, 과색소 침착과 같은 많은 종류의 피부질환 뿐만 아니라 빠른 피부노화를 가져 온다. Tyrosinase는 멜라닌 생성세포에서 멜라닌의 생성을 가속화시키는 것으로 알려져 있다(Korner and Pawelek 1982). 이외에도 tyrosinase는 식품의 갈변, 곤충의 탈피, 피부암의 일종인 흑색종등과도 밀접한 관련이 있다(Chen *et al.* 1991; Neville 1975). 따라서 효과적인 tyrosinase 억제제의 개발은 피부의 색소침착을 막는 효과적인 미백제로서, 혹은 식품 보존제 및 항암제로서 많은 관심의 대상이 되어 왔다.

이와 같은 배경하에 부산 인근 연안에 서식하는 많은 해산식물들로부터 유효 활성성분 탐색과 기능성 식품 및 화장품등의 원료물질 개발을 위한 기초자료를 얻기 위하여 해조류 추출물들에 대한 항산화 및 tyrosinase 저해활성을 탐색하여 그 결과를 보고한다.

2. 재료 및 방법

기기 및 시약

UV-Vis 분광 스펙트럼은 Shimadzu사의 UV 1201 분광기로 측정하였으며 mushroom tyrosinase는 Sigma사에서 DPPH, L-tyrosine, DMSO, ethanol은 Aldrich사에서 구입하였으며 methanol과 methylene chloride는 Junsei사의 일급시약을 증류하여 사용하였다.

해조류 채집과 동정

해조류는 2001년도 12월에서 2002년 2월 사이에 영도, 동백섬 및 기장 등 부산 연안에서 채집하였다. 실험에 사용된 시료는 해수로 씻은 후 종류별로 분류하고 냉장 보관되어 졌으며 각 종에 대한 표본은 한국해양대학교 해양과학기술연구소 표본실에 보관하고 있다.

해조 추출물의 제조

채집한 시료들은 사용하기 전에 -25°C 의 냉동고에 보관하였다가 해빙하여 짧게 자른 후에 먼저 acetone과 dichloromethane의 1:1 용액에 해조류가 충분히 잠기도록

한 후 2일 동안 방치해 둔 후 여과 과정을 2회 반복하여 이에 대한 조추출물을 얻었다. 다시 이 해조류들에 methanol 용매를 사용하여 위와 동일한 과정을 반복하고 methanol 조추출물을 얻음으로써 2종류의 해조 추출물 시료를 제조하였다.

라디칼 소거 활성 측정

DPPH(1,1-diphenyl-2-picryl-hydrazyl) 2 mg을 에탄올 15 ml에 녹인 용액 1.2 ml에 다시 EtOH 3 ml와 DMSO 0.5 ml를 혼합하였다. 그리고 시료 100 μg 을 1 ml에 녹인 용액 50 μl 와 제조한 DPPH 용액을 혼합하여 10분간 상온에서 반응시킨 후 518 nm에서 흡광도를 측정하였다. 시료를 첨가하지 않은 대조군과 비교하여 유리 라디칼 소거활성을 백분율로 나타내었으며 대조군의 UV-Vis 흡광도는 0.94~0.97이 되도록 조정하였다(Blois 1958).

EDA(electron density ability)(%) =

$$\frac{\text{대조군의 흡광도} - \text{실험군의 흡광도}}{\text{대조군의 흡광도}} \times 100$$

Tyrosinase 억제 활성 측정

0.1 M sodium phosphate(pH 6.8)를 용매로 사용한 다음과 같은 용액을 사용하였다. 0.35 mM L-tyrosine 용액 300 μl , tyrosinase 용액 300 μl (250~300 unit), 시료(1 mg/ml) 300 μl 를 섞은 후 배양하기 전과 15분간 배양한 후 각각 475 nm에서 흡광도를 조사하여 억제되는 정도를 측정하였다. 이 때 사용한 UV-Vis spectrophotometer는 Shimadzu사의 UV 1201 Model이었다. Tyrosinase의 억제정도는 다음과 같이 측정하였다(Hearing 1987).

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

여기서 A와 B는 시료를 넣은 용액의 반응전 흡광도와 반응후 흡광도이며 C와 D는 각각 시료를 넣지 않은 용액의 반응전과 반응후의 흡광도이다.

3. 결과 및 고찰

해조류 추출물의 항산화 활성

부산 연안에서 채집한 32종의 해조류들을 dichloromethane과 acetone의 1:1 혼합용매와 methanol 용매를 사용하여 각각의 추출물을 제조한 후에 그 추출물에 대한 항산화 활성을 측정하였다. 이중에 보라색우무(*Symphocladia latiuscula*)의 2가지 용매 추출물과 불등풀가사리(*Gloiopeltis fuziformis*)의 혼합용매 추출물이 좋은 항산화 활성을 보여 주었으며, 돌가사리(*Gigartina tenella*), 지층이

Table 1. Antioxidizing and tyrosinase-inhibitory activities of the extracts of marine algae.

| No. | Division | Species | A + M ^a (%) | | MeOH(%) | | |
|-----|--|--------------------------------------|---|-----------------|-------------------|-----------------|---|
| | | | DPPH ^b | Ty ^c | DPPH ^b | Ty ^c | |
| 1 | 녹조류 | 구멍갈파래(<i>Ulva pertusa</i>) | 27 | 0 | 17 | 0 | |
| 2 | | 떡청각(<i>Codium adhaerens</i>) | 17 | 55 | 14 | 24 | |
| 3 | | 앞파래(<i>Enteromorpha linza</i>) | 21 | 42 | 19 | 36 | |
| 4 | 갈조류 | 고리매(<i>Scytosiphon lomentaria</i>) | 18 | 24 | 15 | 24 | |
| 5 | | 팽생이모자반(<i>Sargassum hornerii</i>) | 22 | 0 | 19 | 0 | |
| 6 | | 긴불레기말(<i>Colpomenia bullosa</i>) | 27 | 0 | 21 | 0 | |
| 7 | | 테르베시아(<i>Derbersia marina</i>) | 20 | 0 | 17 | 13 | |
| 8 | | 모자반(<i>Sargassum</i> sp.) | 21 | 58 | 63 | 21 | |
| 9 | | 불레기말(<i>Colpomenia sinuosa</i>) | 22 | 0 | 21 | 0 | |
| 10 | | 알송이모자반(<i>Sargassum confusum</i>) | 22 | 48 | 6 | 86 | |
| 11 | | 지층이(<i>Sargassum thunbergii</i>) | 64 | 0 | 24 | 0 | |
| 12 | | 참그물바탕말(<i>Dictyota dichotoma</i>) | 20 | 26 | 17 | 32 | |
| 13 | | 툇(<i>Hizikia fuziformis</i>) | 15 | 37 | 18 | 52 | |
| 14 | | 홍조류 | 개도박(<i>Pachymeniopsis lanceolata</i>) | 23 | 0 | 25 | 0 |
| 15 | | | 개서실(<i>Chondria crassicaulis</i>) | 27 | 0 | 24 | 0 |
| 16 | | | 까막살(<i>Carpopeltis affinis</i>) | 22 | 21 | 12 | 3 |
| 17 | 돌가사리(<i>Gigatina tenella</i>) | | 53 | 0 | 23 | 0 | |
| 18 | 등근돌김(<i>Porphyra suborbiculata</i>) | | 21 | 25 | 19 | 49 | |
| 19 | 마디잘록이(<i>Lomentaria catenata</i>) | | 32 | 33 | 17 | 2 | |
| 20 | 미끌도박(<i>Grateloupia turuturu</i>) | | 19 | 6 | 20 | 11 | |
| 21 | 보라색우무(<i>Symphyclocladia latiuscula</i>) | | 90 | 60 | 88 | 84 | |
| 22 | 부챗살(<i>Gymnogongrus flabelliformis</i>) | | 23 | 4 | 20 | 0 | |
| 23 | 불등풀가사리(<i>Gloiopeltis furcata</i>) | | 83 | 35 | 20 | 26 | |
| 24 | 붉은부챗살(<i>Carpopeltis cornea</i>) | | 20 | 45 | 17 | 28 | |
| 25 | 산호말(<i>Corallina</i> sp.) | | 19 | 8 | 19 | 17 | |
| 26 | 애기돌가사리(<i>Gigatina intermedia</i>) | | 17 | 27 | 12 | 3 | |
| 27 | 애기마디잘록이(<i>Lomentaria hakodatensis</i>) | | 18 | 31 | 11 | 18 | |
| 28 | 우뭇가사리(<i>Gelidium amansii</i>) | | 27 | 15 | 20 | 12 | |
| 29 | 지누아리사촌(<i>Halymenia acuminata</i>) | | 21 | 42 | 20 | 32 | |
| 30 | 작은구슬산호말(<i>Corallina pilulifera</i>) | | 21 | 48 | 22 | 32 | |
| 31 | 진두말(<i>Chondrus ocellatus</i>) | | 23 | 3 | 23 | 0 | |
| 32 | 참곱술이(<i>Plocamium telfairiae</i>) | | 31 | 10 | 22 | 26 | |

^aA mixture of acetone and methylene chloride (1:1), ^bElectron donation ability, ^cTyrosinase inhibition.

(*Sargassum thunbergii*)의 혼합용매 추출물과 모자반(*Sargassum* sp.)의 메탄올 추출물이 약간의 항산화 활성을 보여 주었다. 이들 이외의 해조류 추출물들은 활성을 크게 보여 주지 못하였다. 각 해조류에 대한 항산화 활성 측정 결과는 Table 1에 나타내었다.

해조류 추출물의 tyrosinase 억제 효과

동일한 시료들에 대한 tyrosinase 억제 활성을 측정하였다. Table 1에서 보여 주는 것 처럼 보라색우무(*Symphyclocladia latiuscula*)와 알송이모자반(*Sargassum confusum*)의 MeOH 추출물이 가장 강한 억제활성을 나타내었으며 보라색우무(*Symphyclocladia latiuscula*), 모자반(*Sargassum* sp.), 떡청각(*Codium adhaerens*), 작은구슬산호말(*Corallina*

pilulifera), 알송이모자반(*Sargassum confusum*), 붉은부챗살(*Carpopeltis cornea*), 및 지누아리사촌(*Halymenia acuminata*)의 혼합용매 추출물, 그리고 툇(*Hizikia fuziformis*), 등근돌김(*Porphyra suborbiculata*) 및 앞파래(*Enteromorpha linza*)의 MeOH 추출물이 비교적 좋은 억제활성을 나타내었다.

4. 결 론

해조류를 대상으로 한 항산화 활성검색 결과 보라색우무(*Symphyclocladia latiuscula*)와 불등풀가사리(*Gloiopeltis fuziformis*)의 혼합용매 추출물이 가장 강한 활성을 보여 주었으며 돌가사리(*Gigatina tenella*)와 지층이(*Sargassum*

thunbergii)의 혼합용매 추출물, 모자반(*Sargassum* sp.)의 MeOH 추출물도 상당한 항산화 활성을 보여 주었다. 보라색우무의 항산화활성은 이미 이전에 보고되었으며 여기로부터 3개의 화합물이 발표되었다(Choi *et al.* 1993; 2000; Chung *et al.* 2001). 지층이의 유기용매 추출물에 대한 항산화 활성효과도 이전에 알려진 바가 있으나 불등풀가사리와 돌가사리의 MeOH 추출물의 항산화 활성은 지금까지 거의 없는 것으로 보고되고 있다. 그러나 본 연구진이 수행한 연구결과에 의하면 혼합용매 추출물이 항산화 활성을 보여 주고 있어 이것은 추출용매의 차이에 기인한 것으로 판단된다(Choi *et al.* 1993; 이 등 2000). 툫 역시 기존의 연구에 의하면 항산화 활성이 좋은 것으로 알려졌으나 본 연구에서는 유의할 만한 항산화 활성을 나타내지 않았는데, 이것 역시 추출방법의 차이나 추출물의 농도, 혹은 계절적, 서식 환경의 영향에 의하여 만드는 대사물질의 종류 및 농도가 달라져서 생기는 현상으로 여겨진다(Choi *et al.* 1993).

Tyrosinase 억제 활성검색 결과는 보라색우무(*Symphyclocladia latiuscula*)와 알송이모자반(*Sargassum confusum*)의 추출물이 가장 강한 억제 효과를 보여 주었으며 모자반(*Sargassum* sp.), 떡청각(*Codium adhaerens*), 작은구슬산호말(*Corallina pilulifera*), 붉은부챗살(*Carpopeltis cornea*), 지누아리사촌(*Halymenia acuminata*), 툫(*Hizikia fuziformis*), 둥근돌김(*Porphyra suborbiculata*) 및 잎과래(*Enteromorpha linza*)가 비교적 좋은 억제활성을 나타내었다. 이러한 억제활성 결과는 아직까지 보고된 바 없으며 따라서 현재 보라색우무와 알송이모자반으로부터 tyrosinase 억제 활성 물질을 분리하기 위한 연구가 진행중에 있다.

사 사

이 논문은 2001년도 한국학술진흥재단의 지원에 의하여 연구되었습니다(KRF-2001-002-D00176). 본 연구 수행을 위한 실험방법에 대해 많은 도움을 주신 한밭대학교의 이봉호 교수님과 최병욱 교수님께 깊이 감사 드리며 특별히 실험과정을 도운 김유아, 박기의, 김민영, 정현인, 김현미, 허윤정에게도 감사 드립니다.

참고문헌

이홍금. 2001. 보건산업기술동향, 겨울호, 42-47.

- 이봉호, 최병욱. 2000. 해조류로부터 항산화제 및 치매치료제 성분의 추출 및 기능성 제품의 개발. 한밭대 연구보고서, 123 p.
- Blois, M.S. 1958. Antioxidant determination by the use of a stable free radical. *Nature*, 181, 1199-1200.
- Chen, J.S., C. Wei, and M.R. Marshall. 1991. Inhibition mechanism of kojic acid on polyphenol oxidase. *J. Agric. Food. Chem.*, 39, 1897-1901.
- Choi, J.S., H.J. Park, H.A. Jung, H.Y. Chung, J.H. Jung, and W.C. Choi. 2000. A Cyclohexanonyl Bromophenol from the Red Alga *Symphyclocladia latiuscula*. *J. Nat. Prod.*, 63(12), 1705-1706.
- Choi, J.S., J.H. Lee, H.J. Park, H.G. Kim, H.S. Young, and S.I. Mun. 1993. Screening for antioxidant activity of plants and marine algae and its active principles *Prunus davidiana*. *Kor. J. Pharmacogn.*, 24(4), 299-303.
- Chung, H.Y., H.R. Choi, H.J. Park, J.S. Choi, and W.C. Choi. 2001. Peroxynitrite Scavenging and Cytoprotective Activity of 2,3,6-Tribromo-4,5-dihydroxybenzyl Methyl Ether from the Marine Alga *Symphyclocladia latiuscula*. *J. Agric. Food Chem.*, 49(8), 3614-3621.
- Halliwell, B. and J.M.C. Gutteridge. 1989. Protection against oxidants in biological systems: the superoxide theory of toxicity. In: *Free radicals in biology and medicine*. 2nd ed., Clarendon Press, Oxford, 187 p.
- Hearing Jr., V.J. 1987. Mammalian monophenol monooxygenase(Tyrosinase): purification, properties, and reaction catalyzed. *Method in Enzymology*, 142, 154-165.
- Korner, A. and J. Pawelek. 1982. Mammalian tyrosinase catalyzes three reactions in the biosynthesis of melanin. *Science*, 217, 1163-1165.
- Neville, A.C. 1975. In *Zoophysiology and Ecology*, Springer, New York Vol. 4/5.
- Singh, A. 1989. Chemical and biochemical aspects of activated oxygen: singlet oxygen, superoxide anion, and related species. p. 17-24. In: *Handbook of free radicals and antioxidants in biomedicine*, Vol. 1. eds. by J. Miquel, A.T. Quintaanilha, and H. Weber. CRC Press, Boca Raton, Florida.

Received Feb. 6, 2003

Accepted Mar. 5, 2003