

## 화피(樺皮)의 항산화 효과 및 tyrosinase 저해활성

안봉전\* · 조영제<sup>1</sup> · 손준호 · 박정미 · 이진영 · 박태순

대구한의대학교 화장품약리학과, <sup>1</sup>상주대학교 식품공학과

### Antioxidant Effects and Tyrosinase Inhibition Activity of Extract of *Prunus sargentii* Rehder

Bong-Jeun An\*, Young-Je Cho<sup>1</sup>, Jun-Ho Son, Jung-Mi Park, Jin-Young Lee and Tae-Soon Park

Department of Cosmeceutical Science, Daegu Haany University, Kyungsan, 712-715, Korea

<sup>1</sup>Department of Food Engineering, Sangju National University, Sangju 742-711, Korea

Received February 16, 2006; Accepted April 13, 2006

Biological activities and application of *Prunus sargentii* Rehder were investigated. In the physiological activities, the electron donating ability (EDA) of ethanol extracts of *Prunus sargentii* Rehder was 85% in 100 ppm. SOD-like activity was inhibition about 50% in 1,000 ppm, it was gradual increased. As inhibitory effect of xanthine oxidase, it was more than 70% in 1,000 ppm and inhibitory effect of tyrosinase was a little low as 20% below 1,000 ppm.

**Key words:** *Prunus sargentii* SOD, cosmetic activity

#### 서 론

화피(樺皮)는 산벚나무의 껍질로써 앵피(櫻皮)<sup>1)</sup>라고도 한다. 산벚나무는 장미과(Labiatae)<sup>2)</sup>에 속하며 전국의 표고 1,600 m 이하에 자생하며 지리적으로는 일본에도 분포하는 낙엽활엽수목으로 수고 20 m, 직경 90 cm까지 자란다. 산벚나무는 내한성이 강하여 전국 어디서나 적용이 가능하며 바닷가에서도 잘 자란다. 변재는 황색이고 심재는 적갈색으로 무늬가 좋고 치밀하여 건설재, 기구재, 화장대, 약용재 등 고급 가구재로 사용한다. 또한 팔만대장경판의 수종을 목재를 조직학적으로 조사한 결과 경판의 64%가 산벚나무인 것으로 밝혀졌다.<sup>3)</sup> 벚나무 기원식물인 화피는 배당체 sakuranin을 함유하고 있으며, 가수분해하면 sakuranetin 및 당이 생성된다고 하였고 효능과 주치에 있어서는 해독, 청열, 작용등의 증상을 치유하는 것으로 검증 되었다.<sup>4)</sup> 지금까지 화피에 대해서는 대부분 임상학적 연구나 약리학적 연구, 약효성분에 대한 연구는 많이 진행되어 있으나 화피의 효소학적 측면의 생리활성 기능에 대해서는 많은 연구가 진행되어 있지 않았고, 화장품 산업의 응용에 대한 추출물의 안정성에 대한 연구가 진행되지 않았으므로, 본 연구에서는 한국산 화피의 생리활성 기능을 검증하여 식품 및 화장품산업에의 응용 시 제품의 안정성과 기능성을 가지는 천연소재로서의 역할을 검토하였다.

#### 재료 및 방법

**시료 제조.** 본 실험에 사용된 한국산 화피는 경북 영천 소재 옴니허브에서 구입하여 물로 세척하고 음건 후 사용하였으며 시료의 추출은 시료 300 g에 75% ethanol 10배의 양을 가하여 실온에서 24시간 침지시켜 추출하여 상등액과 침전물을 분리하여 상등액은 3회 반복 추출하여 분리된 상등액을 원심분리 및 여과, 농축하여 동결건조 후 냉동실에 보관하여 본 실험의 시료로 사용하였다(Fig. 1).

**전자공여능 측정(DPPH radical 소거능).** 추출물의 전자공여능(electron donating ability: EDA)은 Blois의 방법<sup>5)</sup>을 변형하여 실시하였다. 각 시료용액 2.0 ml에 2×10<sup>-4</sup> M의 α-diphenyl-β-picrylhydrazyl(DPPH) 1.0 ml 넣고 교반한 후 30분간 방치한 다음 517 nm에서 흡광도를 측정하였다. 전자공여능은 시료용액의 실험구와 대조구의 흡광도 감소율로 나타내었다.

**Superoxide dismutase(SOD) 유사활성 측정.** SOD 유사활성은 Marklund의 방법<sup>6)</sup>에 따라 실시하였다. 각 시료용액 0.2 ml에 Tris-HCl의 완충용액(50 mM Tris + 10 mM EDTA, pH 8.5) 2.6 ml와 7.2 mM pyrogallol 0.2 ml 가하여 25°C에서 10분간 반응시킨 후 1.0 N HCl 0.1 ml를 가하여 반응을 정지시키고 반응액 중 산화된 pyrogallol의 양을 420 nm에서 측정하였다. SOD 유사활성은 시료용액의 실험구와 대조구의 흡광도 감소율로 나타내었다.

**Xanthine oxidase 저해활성 측정.** Xanthine oxidase 저해활성 측정은 Stirpe와 Corte의 방법<sup>7)</sup>에 따라 반응구는 0.1 M potassium phosphate buffer(pH 7.5) 0.6 ml에 xanthine(2 mM)

\*Corresponding author  
Phone: 82-53-819-1429; Fax: 82-53-819-1429  
E-mail: anbj@dhu.ac.kr

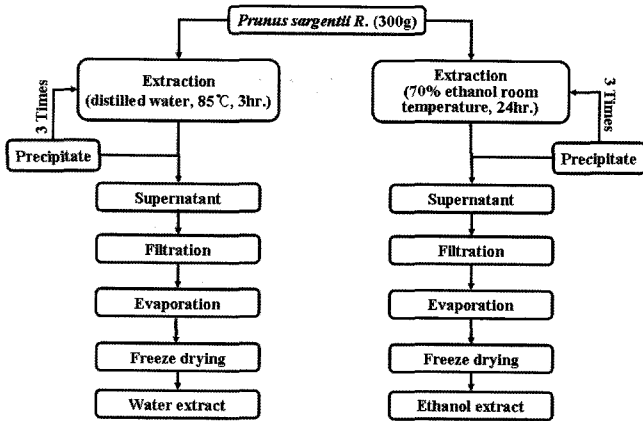


Fig. 1. A procedure for extraction from *Prunus sargentii* Rehder.

을 녹인 기질액 0.2 ml에 시료용액 0.1 ml과 xanthine oxidase (40 mU/ml) 0.1 ml를 가하고 37°C에서 5분간 반응시킨 후 1N HCl 1.0 ml를 가하여 반응을 종료시킨 다음 반응액 중에 생성된 uric acid를 흡광도 292 nm에서 측정하여 다음의 식으로 저해율을 구하였다.

**Tyrosinase 저해활성 측정.** Tyrosinase 저해활성 측정은 tyrosinase의 작용 결과 생성되는 DOPA chrome을 비색법에 의해 측정하는 Yagi 등의 방법<sup>8)</sup>에 준하여 실시하였다. 즉, 반응구는 0.175 M phosphate buffer(pH 6.8) 0.2 ml에 L-DOPA (10 mM)을 녹인 기질액 0.2 ml 및 시료용액 0.5 ml의 혼합액에 mushroom tyrosinase(110 unit/ml) 0.1 ml 첨가하여 35°C에서 2분간 반응시켜 반응액 중에 생성된 DOPA chrome을 475 nm에서 측정하여 저해율을 구하였다.

**통계처리.** 본 연구의 통계처리는 SPSS 10.0 for windows program을 사용하였으며, 유의차 검증은 분산분석(ANOVA: analysis of variance)을 한 후  $p=0.05$  수준에서 Duncan의 다중검증법(DMRT: Duncan's multiple range test)에 따라 분석하였다.

**결과 및 고찰**

**전자공여능 확인.** DPPH 분자내 질소는 쉽게 전자를 받아들임으로써 본래의 짙은 자색을 잃어버리는 성질을 갖는다. 이러한 전자 공여 작용은 지질과산화의 연쇄반응에 관여하는 산화성 활성 free radical에 전자를 공여하여 산화를 억제시키는 척도가 된다. 이러한 활성 free radical은 인체 내에서 각종 질병과 노화를 일으키기 때문에 이들과 반응하여 그 활성을 소거시키는 능력을 지닌 항산화제로 작용할 수 있는 물질을 탐색할 필요성이 있다.<sup>9)</sup> 화피의 추출물의 항산화 효과를 탐색하기 위하여, 안정한 유리 라디칼로 알려져 있는  $\alpha, \alpha$ -diphenyl- $\beta$ -picrylhydrazyl(DPPH)에 대한 radical 소거 활성을 측정한 결과는 Fig. 2와 같다. 추출물의 농도가 증가할수록 전자공여능은 증가하는 경향을 나타내었으며, 화피 열수추출물 100 ppm의 농도에서는 60% 이상의 전자공여능을 나타내었고, 에탄올 추출물의 경우, 100 ppm에서 85% 이상의 높은 전자 공여능을 나타내었다.

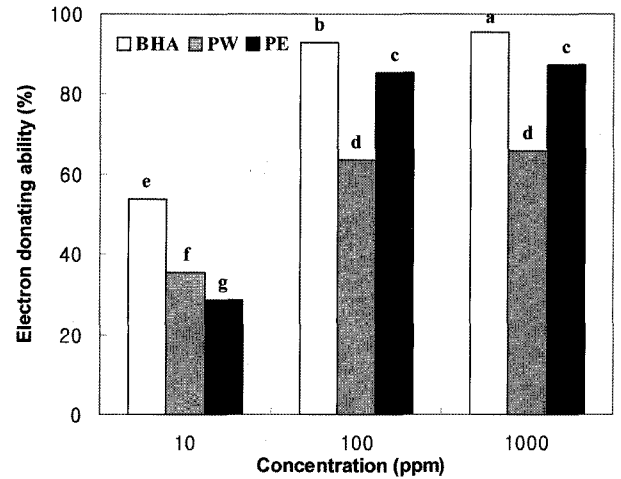


Fig. 2. Electron donating ability of *Prunus sargentii* Rehder. extract. Values are means of 3 replicates and those with different alphabet letters are significantly different at  $p < 0.05$ . PW: water extract of *Prunus sargentii* Rehder, PE: ethanol extract of *Prunus sargentii* Rehder.

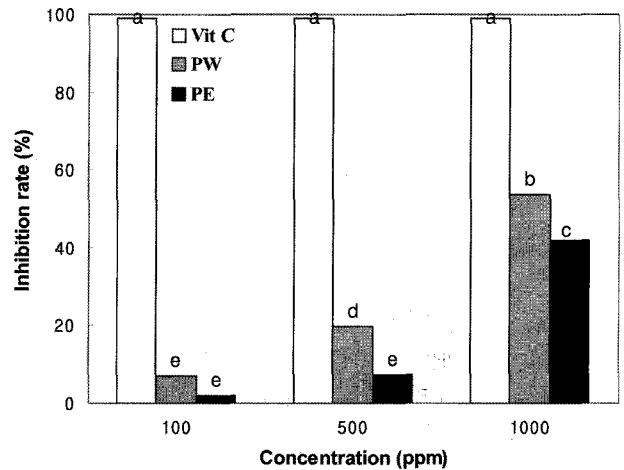
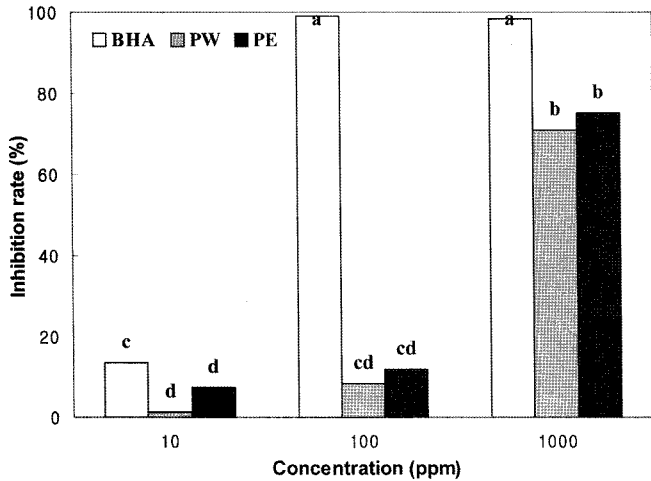


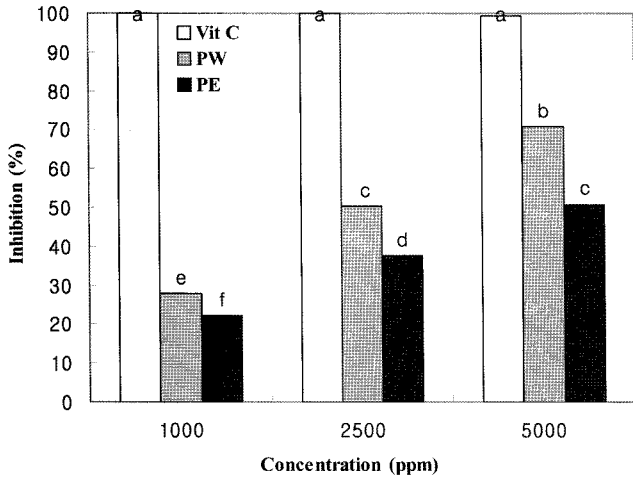
Fig. 3. SOD-like activity of *Prunus sargentii* Rehder. extract. Values are means of 3 replicates and those with different alphabet letters are significantly different at  $p < 0.05$ . PW: water extract of *Prunus sargentii* Rehder, PE: ethanol extract of *Prunus sargentii* Rehder.

**SOD 유사활성 검증.** Superoxide dismutase(SOD)는 산화방지는 물론 노화억제와도 밀접한 관계가 있는 것으로 알려져 있는 SOD 유사활성 측정을 pyrogallol의 자동산화 반응을 이용하여 조사하였다. 화피 추출물의 농도별 SOD 유사활성은 Fig. 3과 같이 열수 추출물 농도 1,000 ppm에서 50% 이상의 활성이 나타났으며, 에탄올 추출물의 경우 40% 이상의 효능을 나타내어 화피 열수 추출물에서 SOD 유사활성이 더 높게 나타났다. 이는 Hong 등<sup>10)</sup>의 과실, 과채류의 착즙의 SOD 유사활성에서 사과 착즙액의 경우 14.6%, 케일농축액의 경우 26.7%, 키위 착즙액의 경우 27.6%, 무착즙액의 경우 24.1%의 활성에 비하여 비교적 높은 SOD 유사활성을 나타내었다.

**Xanthine oxidase 저해활성.** 화피 추출물의 농도별 xanthine oxidase의 저해활성을 관찰한 결과 Fig. 4와 같이 나타났다. 화피 추출물 열수 추출물의 경우 100 ppm의 농도에서 8%, 1,000 ppm에서는 71%의 저해효과를 나타내었으며, 에탄올 추



**Fig. 4. Inhibition rate of *Prunus sargentii* Rehder. extract on xanthine oxidase.** Values are means of 3 replicates and those with different alphabet letters are significantly different at  $p < 0.05$ . PW: water extract of *Prunus sargentii* Rehder, PE: ethanol extract of *Prunus sargentii* Rehder.



**Fig. 5. Inhibition rate of *Prunus sargentii* Rehder. extract on tyrosinase.** Values are means of 3 replicates and those with different alphabet letters are significantly different at  $p < 0.05$ . PW: water extract of *Prunus sargentii* Rehder, PE: ethanol extract of *Prunus sargentii* Rehder.

출물의 경우 100 ppm의 농도에서 10%, 1000 ppm에서 75%의 저해효능을 나타내었다. 농도증가에 따라서 효능이 7배 이상 증가하였으며, 에탄올 추출물의 저해효율이 열수 추출물에 비하여 높게 나타났다. 이는 An 등<sup>11)</sup>의 황련 추출물의 xanthine oxidase 저해능에서 에탄올 추출물의 경우 18.89%, 열수 추출물의 경우 6.95%와 비교하여 높은 저해능을 나타내었다.

**Tyrosinase 저해활성.** Mushroom tyrosinase 효소를 사용하여 각 추출물의 농도별 tyrosinase 효소활성의 저해효과를 측정할 결과 Fig. 5와 같이 열수 추출물의 경우 1,000 ppm에서 농도에서 27% 이상의 효능을 보였으며, 에탄올 추출물의 경우 1,000 ppm의 농도에서 22% 이상의 효능을 나타내어 비교적 낮은 저해효과를 나타내었다. 이는 Jung 등<sup>12)</sup>의 콩나물, 케일, 취나물의 10% 이하의 낮은 저해능과 비교할 때 비교적 높은 저해활성을 나타내었다. 이러한 미미한 저해효과를 보이는 화피

추출물은 분획이 되지 않은 crude한 상태의 용액으로 tyrosinase 저해활성에 대한 실험은 성분을 분리하여 측정할 필요가 있는 것으로 생각되어진다.

### 초 록

본 연구는 화피의 효소학적 생리활성을 검토하였다. 효소학적 생리활성 실험에서의 전자 공여능은 100 ppm에서 에탄올추출물은 85% 이상의 효능을 나타냈으며, SOD-유사활성능은 1,000 ppm에서 50%의 활성을 나타내었으며, 농도가 증가함에 따라 유의적인 차이를 나타내었다. Xanthine oxidase의 저해활성을 관찰한 결과 1,000 ppm에서는 70% 이상으로 저해효과를 나타내었다. 피부 미백과 관련 있는 tyrosinase 저해효과를 측정할 결과 1,000 ppm 이하의 농도에서 20%의 저해효과를 나타내었다.

**Key words:** 화피, SOD, 화장품

### 감사의 글

본 연구는 농림기술관리센터 농림기술개발사업(106014-02-1-SB010)의 지원으로 수행되어짐.

### 참고문헌

- Kim, J. O. (2005) In *Illustrated Natural Drugs Encyclopedia* (Color Edition). Yeokang Press, Korea. Vol. 1, p. 437.
- Lee, H. J., Lee, S. S., Choi, D. H. and Kato Atsushi. (2001) Studies on biological activity of Wood Extractives, *Mokchae Konghak*, **29**, 133-139.
- Park, S. J. and Kang, Y. K. (1996) Species identification of Tripitaka Koreana, *Mokchae Konghak*, **24**, 80-89.
- Park, E. S., Shin, M. K. and Song, H. J. (1998) A study on the antiallergin effect of *Cortex Betula Platyphyllae* or *Cortex Pruni Serrulatae* extract. *Kor. J. Herbology* **13**, 57-68.
- Blois, M. S. (1958) Antioxidant determination by the use of a stable free radical. *Nature* **26**, 1198-1202.
- Marklund, S. and Marklund, G. (1974) Involvement of superoxide anion radical in the oxidation of pyrogallol and a convenient assay for superoxide dismutase. *Eur. J. Biochem.* **47**, 468-474.
- Stirpe, F. and Corte, E. D. (1969) The regulation of rat liver xanthine oxidase. *J. Biol. Chem.* **244**, 3855-3861.
- Yagi, A., Kanbara, T. and Morinobu, N. (1986) The effect of tyrosinase inhibition for Aloe. *Planta Med.* **39**, 517-519.
- Jeong, J. H., Wee, J. J., Shin, J. Y., Cho, J. H. and Jung, D. H. (2005) Antioxidative effect of crude saponin fraction prepared from culture product of basidiomycota cultured with fresh ginseng as substrate, *Korean J. Food Sci. Technol.* **37**, 67-72.
- Hong, H. D., Kang, N. K. and Kim, S. S. (1998) Superoxide dismutase-like activity of apple juice mixed with some fruits and vegetables. *Korean J. Food Sci. Technol.* **30**, 1484-1487.
- An, B. J., Lee, J. T., Lee, C. E., Kim, J. H., Son, J. H., Kwak, J. H., Lee, J. Y., Park, T. S., Bae, H. J. Jang, M. J. and Jo, C. (2005) A study on physiological activities of *Coptidis Rhizoma*

- and application for cosmetic ingredients. *Kor. J. Herbology* **20**, 83-92.
12. Jung, S. W., Lee, N. K., Kim, S. J. and Han, D. S. (1995) Screening of tyrosinase inhibitor from plants. *Korean J. Food Sci. Technol.* **27**, 891-896.