

국화류 추출물의 항산화 및 멜라닌 생성 억제 활성

강정란¹ · 이미경² · 강상모^{1,3*}¹건국대학교 대학원 생물공학과, ²우석대학교 제약공학과, ³건국대학교 미생물공학과Anti-oxidant Property and Tyrosinase Inhibition Activity of Various Extracts from plants in *Compositae* plantsJeong Ran Kang¹, Mi Kyung Lee², and Sang Mo Kang^{1,3,*}¹Department of Bioengineering at the Postgraduate School, Konkuk University, Seoul 143-701, Korea²Department of Pharmaceutical Engineering, Woosuk University, Wanju 565-701, Korea³Department of Microbial Engineering, Konkuk University, Seoul 143-701, Korea

Received September 16, 2008; Accepted October 7, 2008

The research was conducted to identify the antimicrobial effect, anti-oxidative effect and tyrosinase inhibitory effect of MeOH 80% extract and *n*-hexane, chloroform, ethyl acetate, *n*-butanol and water fractions from the extract of six kinds of *compositae* plants, which are naturally grown across the nation. In the antimicrobial effect, the extract and chloroform fraction of *Arctium lappa* and hexane/ethyl acetate fractions of *Taraxacum platycarpum* exhibited significant inhibition. In case of anti-oxidant effect, the extract of *Artemisia capillaries* showed the highest effect and ethyl acetate/butanol fractions of all plants showed about 90%, which fractions were more polar than the fractions that showed antimicrobial effect. In case of tyrosinase activity, only the MeOH 80% of *Arctium lappa* among the extracts showed a potent inhibition, and butanol fraction of *Chrysanthemum indicum*, as well as ethyl acetate/water fractions of *Artemisia capillaries* showed 48, 38, and 37% respectively, which were higher than control group (arbutin). These active fractions in tyrosinase inhibition also were higher polarity than those that showed antimicrobial effect. In MeOH 80% extracts, only *Arctium lappa* was found to have antimicrobial, anti-oxidant and tyrosinase inhibitory activity, however there was no fraction to show effects commonly in the three assay system.

Key words: Anti-microbial, Anti-oxidation, *Compositae*, Tyrosinase inhibitory activity

서 론

우리나라의 경우 약 900여 종의 이용가능한 약용식물이 분포하고 있으며, 특히 약용식물로부터 활성물질을 찾는 탐구가 한 분야로 인식되고 있다. 또한 대통령령에 의한 천연물 신약 연구 개발 촉진법 시행령이 공포(대통령령 제 16952호, 2000) 되면서 천연물로부터 활성 신물질 탐색연구는 더욱 활발히 진행되고 있다. 따라서 천연물을 생약으로 직접 이용하는 것보다 이들이 함유하고 있는 활성화합물을 탐색하여 신물질로서 개발 이용한다면 천연물의 이용가치는 더욱 높아지게 될 것이다.

현재 식품을 비롯한 화장품 첨가물에서 화학적으로 제조된 합성보존료의 안전성 문제와 이들 식품과化粧품을 계속 접함으로써 일어날 수 있는 건강상의 문제로 인해 인공 방부제의

첨가를 최소화하고 천연물 추출에서 얻는 천연방부제의 사용이 늘어나고 있는 추세이다.¹⁾ 그리고, 인간의 노화억제라는 관점에서 연구되어오던 항산화제 또한 합성 항산화제로부터의 변이원성 및 독성이 지적되어 합성항산화제를 대체할 수 있는 새로운 천연 항산화제를 얻고자 하는 노력이 지속적으로 진행되고 있다.²⁾ 인간의 노화중 피부노화를 살펴보면 우리 인체의 외각에 자리한 피부는 자외선에 의해 광노화가 진행된다. 피부가 자외선을 받으면 멜라닌 색소가 피부 표피의 기저층에 존재하는 멜라노사이트라는 세포에서 효소 및 비효소적 산화반응에 의해 tyrosinase로부터 생성되며 표피를 구성하고 있는 각질세포로 전이된다. 멜라노사이트는 표피세포 케라티노사이트 등과 서로 밀접한 세포간 정보망을 구성하고 있다. 멜라닌 합성은 아미노산의 하나인 tyrosine을 기질로서 tyrosinase에 의해 DOPA와 DOPA-quinone으로 대사된다. 이렇게 생성된 멜라닌은 일차적으로 피부에서 발생하는 활성산소와 프리라디칼(free radical)을 제거해 주고, 자외선을 흡수 차단시켜 피부를 보호하기도 하지만, 멜라닌 자체가 활성 산소를 발생시키기도 하며 피부노화 진행을 가속화시킨다.³⁾ 피부 광노화를 억제하기 위해 미백기능성

*Corresponding author

Phone: +82-2-450-3524, Fax: +82-2-3437-8360

E-mail: kangsm@konkuk.ac.kr

원료로서 고시원료들과 기타 기능성인증원료들이 사용되고 있으나, 우리나라의 경우 천연물과 그밖의 원료에 대한 수입 의존도가 높다고 보고하였다.⁴⁾ 따라서 우리나라에서 얻을 수 있는 원료를 대량생산화하기 위한 연구노력이 필요하다.

우리가 흔히 접하는 국화과의 경우 국내전역에서 서식하며 식용 가능한 특산 약용 식물로서 대량으로 얻을 수 있는 장점과 한방에서는 해열, 해독, 진통, 두통, 이뇨, 전염성감염, 담장염, 항진균작용, 항산화작용, 항염증 작용, 진정작용의 약리작용에 의해 오래전부터 사용되어 왔다.⁵⁾ 국화과에 관한 연구로는 감국(*Chrysanthemum indicum*)의 경우 항염증과 면역조절,⁶⁾ 화장품성분으로서의 자외선 차단효과⁷⁾ 등이 보고되었다. 구절초(*Chrysanthemum zawadskii*)의 경우는 꽃의 항균성 물질,⁸⁾ 구절초로부터 분리된 acacetin물질의 진립선암에 관한 연구,⁹⁾ 포공영(*Taraxaci platycarpum*)에 관한 연구로는 항위염작용,¹⁰⁾ 항염과 진통작용, 체내지질대사 개선효과 연구,¹¹⁾ 항암작용 등이 보고¹²⁾ 되었으며, 대계근(*Cirsium japonicum*)에 관한 연구로는 항암활성 효과 등¹³⁾ 이 있다. 인진호(*Artemisia capillaris*)추출물은 식중독 세균들에 대한 생육억제 효과,¹⁴⁾ 우방자(*Arctium lappa*)는 혈관 이완효과 및 작용기전에 대한 연구,¹⁵⁾ 아토피피부염에 미치는 영향 등¹⁶⁾ 이 있다. 이와 같은 보고들은 국화류 몇 종에 대한 연구이나, 대부분 수증과 에탄올 분획에 대한 실험에 국한되어 있다. 따라서 민간이나 한방에서 잘 알려지고 국내 전역에서 서식하여 채취하기가 용이한 국화류에 대하여 생리활성 탐색을 통한 국화류의 이용가치를 규명하고자 국화류 6종에 대한 항미생물, 항산화 그리고 tyrosinase 저해활성에 대한 실험을 진행하였다.

재료 및 방법

추출재료. 연구에 사용된 실험재료는 국화과에 속하는 식물 소재 국화과(*Compositae* plants) 6종으로서, 감국(*Chrysanthemum indicum*)의 꽃, 구절초(*Chrysanthemum zawadskii*)의 전초, 포공영(*Taraxacum platycarpum*)의 전초, 대계근(*Cirsium japonicum*)의 전초, 인진호(*Artemisia capillaris*)의 지상부, 우방자(*Arctium lappa*)의 성숙한 씨로서 예로부터 민간이나 한방에서 사용하는 부위를 사용하였으며, 식물의 명칭은 판매되는 생약명칭을 따랐으며, 원산지 증명 및 검사를 필한 것들만 판매상으로부터 구입하여 사용하였다.

시료의 추출 및 분획. 시료의 추출 및 분획은 Fig. 1에서와 같이 건조된 국화류 식물 100 g을 달아 잘게 부순 후 여기에 메탄올:물 혼합액(8:2)을 800 ml을 가하여 65°C에서 가온하면서 24시간 동안 1차 추출후 다시 같은 방법으로 24시간 동안 2차 추출하여 감압 농축한 후 극성이 다른 용매 즉, 헥산, 클로로포름, 에틸아세테이트, 부탄올 및 물로 추출하여 각각의 분획으로 분획하였다. 총 추출액 80% MeOH 추출물 및 용매 추출 분획은 진공감압 농축기로 용매를 제거한 후 고형물의 무게를 측정하여, 이들 고형물에 메탄올을 가하여 고형물로서 10 mg/ml이 되도록 하여 이후의 모든 실험을 수행하였다.

사용균주 및 배양. Gram 음성과 양성세균인 *Staphylococcus aureus*(ATCC6538)와 *Escherichia coli*(ATCC8739), *Pseudomonas*

aeruginosa(ATCC9027)를 사용하였고, 효모로는 *Candida albicans*(ATCC10231), 사상형 균주는 *Aspergillus niger*(ATCC8642), *Aspergillus fumigatus*(Af237)를 사용하였다. 모든 미생물은 30°C에서 배양하였으며 진균의 경우에는 Potato dextrose agar 혹은 Potato dextrose broth에 접종하여 배양하였으며 세균의 경우에는 Tryptic soy agar에서 배양하였다. 항진균 실험은 각 균주의 단일 콜로니를 새로운 배지에 접종하여 3일간 키운 후 얻어진 포자를 이용하여 Potato dextrose agar배지에 도말하고 멸균된 10 mm filter paper disc를 편광배지에 올려놓은 다음 paper disc에 각각 분획별 추출물 50 µl(500 µg)를 흡수시켜 배지에 올려놓고 30°C에서 3일간 배양한 후 paper disc 주변의 성장억제환의 유무와 크기를 관찰하였다.¹⁷⁾

DPPH에 의한 free radical 소거능 실험. DPPH free radical 소거법에 의한 항산화 활성시험 Hatano 등¹⁸⁾의 방법에 의해 DPPH 200 µM농도의 에탄올 용액 1 ml에 메탄올에 녹인 시료(추출분획, 고형성분농도로서 10 mg/ml) 0.5 ml을 가하고 24°C에서 30분간 방치한 후 517 nm에서의 흡광도를 측정하여 소거된 DPPH의 농도를 정량하였다. 자유라디칼 소거활성(scavenging activity)는 다음 식에 의해 산출하였다. 양성대조용 시료로서는 동일 농도로 제조한 비타민 C를 사용하였다. Scavenging(%)은 $[1-(B-C)/A] \times 100(\%)$ 로서 A는 시료를 첨가하지 않은 채 반응한 후의 흡광도이고, B는 시료 첨가하여 반응한 후의 흡광도, C는 DPPH 대신 증류수로 대체하여 측정하였다.

DOPA oxidation inhibition assay. DOPA oxidation inhibition assay에 의한 미백 활성 실험으로 시료를 에탄올이나 적당한 용매에 녹이고 0.1 M 인산염완충액(pH 7.0) 등 완충액으로 희석하여 DOPA 산화반응에 대한 활성을 억제하기 위한 적당한 농도범위로 희석한 것을 시료액으로 하였다. 시험관에 0.1 M 인산염완충액(pH 7.0) 850 µl와 시료액 50 µl 그리고 mushroom tyrosinase(1,500~2,000 U/ml) 액 50 µl를 순서대로 넣고 37°C에서 6분 동안 반응시켰다. 이 용액에 0.06 µM L-DOPA(L-3,4-dihydroxy phenylalanine)액 50 µl를 넣은 다음 37°C에서 1분 동안 반응시킨 후 microplate reader를 이용하여 475 nm에서 흡광도를 측정하였다. 공 시료액으로 시료액 대신 0.1 M 인산염완충액(pH 7.0)을 사용하였으며, 양성대조용 시료로서는 기존에 이미 미백활성제로 시판중인 알부틴을 동일농도로 사용하였다. 그리고 DOPA산화활성 저해율은 $100 - \text{각 시료액의 반응 흡광도} / \text{공 시료액의 반응 흡광도} \times 100(\%)$ 로 산출하였다.¹⁹⁾

결과 및 고찰

활성물질 추출. Fig. 1의 경우 천연물로부터 추출 분리하기 위한 방법을 나타내었다. 분리시 성분의 극성도에 맞추어 추출 용매 및 분리용매를 선택하며 일반적으로 유기용매의 극성도에 따라 추출성분이 상이하다.²⁰⁾ Woo의 보고²¹⁾ 따르면, 알코올층에는 사포닌, 당, 배당체, 유기산성분이, 클로로포름층에는 탄성검, 테르펜류가, 에틸아세테이트층에는 알칼로이드, 배당체, 수지, 식물색소 성분이, 물층에서는 탄닌, 배당체, 당, 점액, 단백질, 염류 등의 성분이 통상적으로 추출 및 분리된다고 하였다. 따라서, 국화류 식물의 유효성분 추출 및 분리를 위한 목적

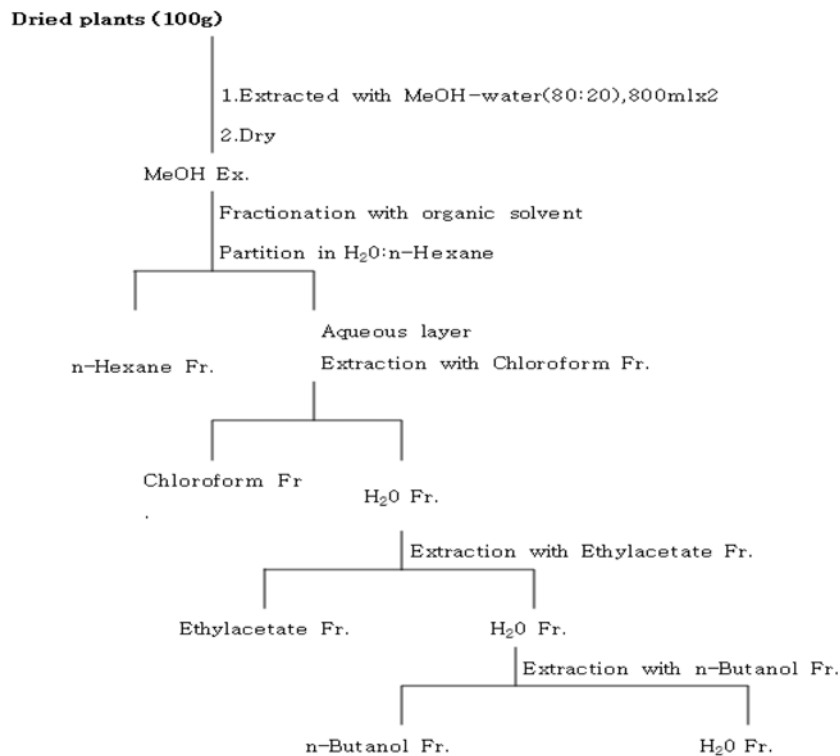


Fig. 1. The procedure for the solvent fractionation of methanol 80% extract from *compositae* plants using *n*-hexane, chloroform, ethylacetate and *n*-butanol.

으로 유기용매의 극성도에 따른 Lee 등²²⁾과 Kim 등²³⁾의 방법으로 국화류식물의 생리활성물질의 정제방법에 있어서 유효하다고 보았다. 본 연구에서는 국화류 6종 식물의 MeOH 80% 추출물 및 유기용매분획물 즉 헥산, 클로로포름, 에틸아세테이트, 부탄올 및 물로 분획하여 각종 활성 측정에 사용하였다.

항미생물 활성. 항미생물 활성에 사용된 균주는 피부상재균으로서 공기, 토양 등의 자연계에 광범위하게 분포하는 원인균인 *Staphylococcus aureus*와 *Pseudomonas aeruginosa*, 병원성 대장균인 *Escherichia coli*, 피부질환을 야기하는 *Candida albicans*, 사람의 진균증을 나타내는 기회감염균인 *Aspergillus fumigatus*, 화장품의 주요 오염원 중의 하나인 *Aspergillus niger*를 사용하였다.¹⁷⁾

Table 1은 국화류 6종의 MeOH 80% 추출물 및 유기용매분획의 항균실험의 결과를 표로 작성한 것으로 감국 MeOH 80% 추출물 및 유기용매분획 항균실험의 경우 *P. aeruginosa*와 *E. coli*에 대해서는 MeOH 80% 추출물과 용매분획에서는 클로로포름, 에틸아세테이트, 부탄올분획의 항균력이 나타났고, *C. albicans*에 대해서는 용매분획 중 헥산분획만이 항균력을 나타내었다. Lee²⁴⁾는 감국의 잎, 꽃 ethanol 추출물의 항균력 검색 결과 항균성 검색에 사용된 대부분의 세균에서 항균활성이 나타났는데 그람양성보다 그람음성에서 더 감수성을 보인다는 보고하였다. Aridoan BC 등²⁵⁾은 감국이 *E. coli*에 대해서 항균력이 있다고 보고하여 이들은 본 실험결과와 같은 결과를 나타내었다.

구절초 MeOH 80% 추출물 및 유기용매분획 항균실험의 경우 *S. aureus*에 대해서는 MeOH 80% 추출물과 용매분획에서

는 헥산, 클로로포름, 에틸아세테이트, 부탄올분획이 항균력을 보였고, *E. coli*에 대해서는 용매분획 중 에틸아세테이트 분획만이 활성을 보였다. *P. aeruginosa*에 대해서는 용매분획 중 헥산, 클로로포름, 에틸아세테이트, 부탄올분획이 항균력을 보였으며, *C. albicans*에 대해서는 전 용매분획 헥산, 클로로포름, 에틸아세테이트, 부탄올 및 물분획에서 항균력을 나타내었다. Lee²⁶⁾에 의하면 비듬균인 *Malassezia furfur*에 구절초 물추출물의 항균활성을 보고하였고, Nam 등¹⁰⁾은 구절초 꽃의 클로로포름 분획이 *S. aureus*에 대해 항균력을 나타낸다고 보고하여, 이들은 본 실험과 같은 결과를 나타내었다.

포공영 MeOH 80% 추출물 및 유기용매분획 항균실험의 경우 *P. aeruginosa*에는 용매분획 중 에틸아세테이트, 부탄올 분획이 항균력을 보였으며, *C. albicans*에 대해서는 MeOH 80% 추출물과 용매분획 중 헥산, 에틸아세테이트, 물분획이 항균력을 보였다. 그리고 *S. aureus*와 *E. coli*에 대해서 MeOH 80% 추출물과 용매분획 중에서는 헥산, 클로로포름, 에틸아세테이트, 부탄올분획에서 항균력을 보였고, *A. niger*에 대해서는 용매분획 중 헥산과 에틸아세테이트 분획만이 약한 항균력을 나타내었다. Yu²⁷⁾와 Lee 등²⁸⁾은 포공영의 각 용매추출물이 높은 항균활성을 나타낸다고 보고하였다. 본 실험에서도 포공영추출물이 MeOH 80% 추출물 및 분획물에 고른 항균력을 가지고 있어 비슷한 결과를 나타내었다.

대계근 MeOH 80% 추출물 및 유기용매분획 항균실험의 경우 *P. aeruginosa*에 대해서는 용매분획 중 헥산, 클로로포름, 에틸아세테이트, 부탄올 분획이, *C. albicans*에 대해서는 MeOH 80% 추출물과 용매분획 중 헥산, 클로로포름, 물분획이 항균력

Table 1. Antimicrobial effect of each *compositae* plants extracts on various microbial strains

Sample/Fraction strain	Clear zone on plate					
	Methanol 80%	Hexane Fr.	Chloroform Fr.	Ethylacetate Fr.	Butanol Fr.	Water Fr.
<i>Chrysanthemum indicum</i>	<i>S. aureus</i>	-	-	-	-	-
	<i>E. coli</i>	+	-	+	+	++
	<i>P. aeruginosa</i>	++	-	+	++	++
	<i>C. albicans</i>	-	+	-	-	-
	<i>A. niger</i>	-	-	-	-	-
	<i>A. fumigatus</i>	-	-	-	-	-
<i>Chrysanthemum zawadskii</i>	<i>S. aureus</i>	+	+	+	+	++
	<i>E. coli</i>	-	-	-	++	-
	<i>P. aeruginosa</i>	-	+	++	++	++
	<i>C. albicans</i>	-	+	++	+	++
	<i>A. niger</i>	-	-	-	-	-
	<i>A. fumigatus</i>	-	-	-	-	-
<i>Taraxacum platycarpum</i>	<i>S. aureus</i>	+	+	++	++	++
	<i>E. coli</i>	++	+	++	++	++
	<i>P. aeruginosa</i>	-	++	-	++	+
	<i>C. albicans</i>	+	+	-	++	-
	<i>A. niger</i>	-	+	-	+	-
	<i>A. fumigatus</i>	-	-	-	-	-
<i>Cirsium japonicum</i>	<i>S. aureus</i>	+	++	++	++	+
	<i>E. coli</i>	+	-	-	+	-
	<i>P. aeruginosa</i>	-	++	++	+	+
	<i>C. albicans</i>	++	++	+++	-	-
	<i>A. niger</i>	-	-	-	-	+
	<i>A. fumigatus</i>	-	-	-	-	-
<i>Artemisia capillaris</i>	<i>S. aureus</i>	-	-	-	-	-
	<i>E. coli</i>	++	++	++	++	+
	<i>P. aeruginosa</i>	++	++	++	++	++
	<i>C. albicans</i>	++	++	++	-	-
	<i>A. niger</i>	-	-	-	-	-
	<i>A. fumigatus</i>	-	-	+	-	-
<i>Arctium lappa</i>	<i>S. aureus</i>	+	+++	++	++	++
	<i>E. coli</i>	+	+	++	++	-
	<i>P. aeruginosa</i>	++	++	+	++	-
	<i>C. albicans</i>	++	++	++	-	+
	<i>A. niger</i>	-	-	++	-	-
	<i>A. fumigatus</i>	-	-	-	-	-

Symbols: +++, very strong; ++, medium; +, weak; -, none.

을 나타내었다. 그리고 MeOH 80% 추출물과 hexan, 클로로포름, 에틸아세테이트, 부탄올, 물 분획에서 *S. aureus*에 대해서 항균력을 보였으며, *E. coli*에 대해서는 MeOH 80% 추출물과 용매분획 중 에틸아세테이트, 물분획이 항균력을 나타내었다. 또한 부탄올 분획만이 *A. niger*에 항균력을 보였다. Kim 등이 보고²⁹⁾에 의하면 큰 엉겅퀴(대계근)의 메탄올 추출물이 높은 활성을 나타낸다고 보고하였고, 본 실험에서는 MeOH 80% 추출물 외에도 hexan과 클로로포름분획을 중심으로 *S. aureus*, *P. aeruginosa*, *C. albicans*에 대해서 우수한 항균력을 나타내었다.

인진호 MeOH 80% 추출물 및 유기용매분획 항균실험의 경우 *P. aeruginosa*와 *E. coli*에 대해서 MeOH 80% 추출물과 유기용매 분획 중 hexan, 클로로포름, 에틸아세테이트, 부탄올분획이 항균력을 나타내었고, *C. albicans*에 대해서는 MeOH 80% 추출물과 용매분획 중 hexan, 클로로포름 분획이 항균력을

나타내었다. 그리고 *A. fumigatus*에 대해 국화류 6종의 분획 중 유일하게 인진호의 클로로포름 분획이 항균력을 보인 것으로 나타났다. Lee 등³⁰⁾과 Cho 등³¹⁾은 인진쑥, 사자발쑥의 정유성분이 치아우식증(dental caries)의 원인균인 *Streptococcus mutans*와 *Streptococcus sanguis*에 대해 정유성분이 항균효과를 나타낸다고 보고하였는데 이는 용매추출물과 정유성분 모두 항균효과를 나타내는 것으로 생각되었으며, 국화류 식물중 항균력이 우수한 식물로 생각되었다.

우방자 MeOH 80% 추출물 및 유기용매분획 항균실험의 경우 MeOH 80% 추출물과 용매분획 중 hexan, 클로로포름, 에틸아세테이트, 부탄올분획이 *S. aureus*에 대해서 항균력을 보였고, *E. coli*와 *P. aeruginosa*에 대해서는 MeOH 80% 추출물과 용매분획 중 hexan, 클로로포름, 에틸아세테이트분획에서 항균력을 나타내었다. *C. albicans*에 대해서는 MeOH 80% 추출물과 용

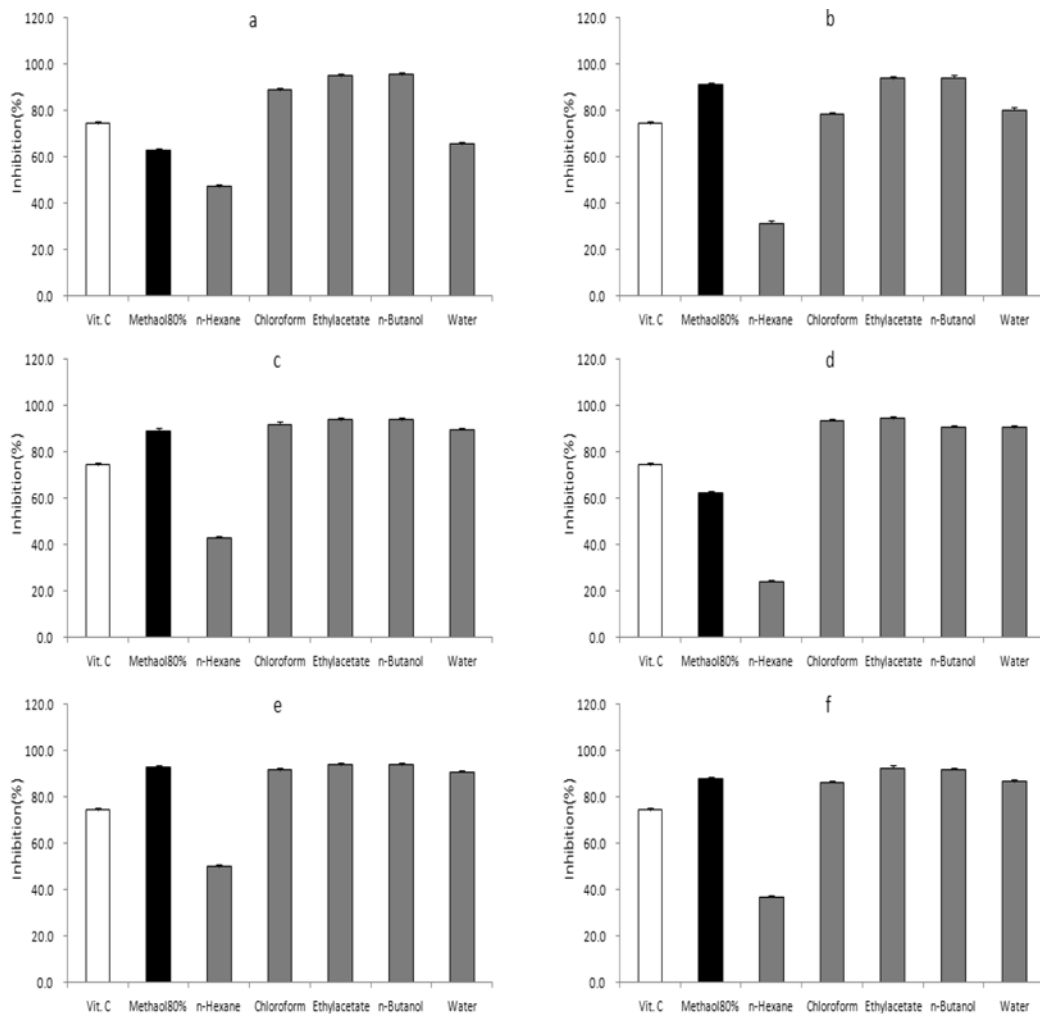


Fig. 2. DPPH radical-scavenging activities of *Compositae* plants. Alphabets: a, *Chrysanthemum indicum*; b, *Chrysanthemum zawadskii*; c, *Taraxacum platycarpum*; d, *Cirsium japonicum*; e, *Artemisia capillaris*; f, *Arctium lappa*.

매분획 중 클로로포름, 부탄올분획이 항균력을 나타내었으며, *A. niger*에 대해서는 용매 분획 중 클로로포름 분획만이 항균력을 보였다. Kim 등³²⁾은 *Helicobacter pylori*에 대해 우방자 추출물의 항균활성을 보고하였고, Kim 등¹⁾은 *Bacillus cereus*에 대해 항균력을 나타낸다고 보고하였다. 우방자의 본 실험에서의 MeOH 80% 추출물과 용매분획물에 대한 우수한 항균효과로 보아 항균성 물질중 수용성인 물질이 있거나, 친수성과 친유성을 동시에 가지고 있는 물질이 있는 것으로 생각되었으며, 인진호와 마찬가지로 국화류 식물중 항균력이 우수한 식물로 생각되었다.

이상과 같이 국화류 6종의 항균활성의 결과를 보면, 국화류 6종 중 MeOH 80% 추출물에서는 우방자가 우수한 항균력을 나타내었고, 용매분획의 경우 포공영의 헥산, 에틸아세테이트 분획, 우방자의 헥산, 클로로포름 분획이 *E. coli*, *P. aeruginosa*, *C. albicans*, *A. niger*에 우수한 항균력을 나타내었다. 따라서 천연항균소재로서는 국화류 6종 중 우방자와 포공영의 가능성이 높다고 생각되었다.

항산화 활성측정. Fig. 2는 국화류 6종의 MeOH 80% 추출물 및 추출물로부터 헥산, 클로로포름, 에틸아세테이트, 부탄올,

물 분획에 대해 DPPH를 이용하여 항산화활성을 측정한 결과이다. MeOH 80% 추출물에서는 인진호가 93%로 가장 높은 활성을 나타내었으며, 포공영, 구절초, 우방자가 비교대조시료인 비타민 C보다 높은 활성을 나타내었다. 용매별 분획에서는 감국, 구절초 및 포공영의 경우 부탄올 분획이 가장 높은 활성을 나타내었고, 대계근, 인진호 및 우방자의 경우 에틸아세테이트 분획이 가장 높은 활성을 나타내었다. 대조시료인 비타민 C는 76% 정도의 활성을 보였는데, 이에 반하여 국화과에 속하는 6종 모두 용매분획 중 에틸아세테이트, 부탄올 분획에서 90% 이상의 항산화활성을 나타내었으며, 반면, 헥산 분획에서는 6종 모두 50%에 미치지 못하는 활성을 나타내었다.

식물추출물 및 용매분획의 항산화효과에 대해서는 해당화추출물,²²⁾ 신나무추출물,²³⁾ 톱풀추출물²⁷⁾ 등이 보고되었는데, 해당화 추출물²²⁾의 경우 각 용매별 항산화 측정결과 에틸아세테이트 분획과 부탄올분획에서 우수한 항산화효과를 나타낸 반면 헥산이나 15% 메탄올추출물에 대한 항산화 효과는 낮은 것으로 보고되었다. 신나무추출물²³⁾의 경우도 에틸아세테이트 분획에서 우수한 항산화효과를 확인하였고, 이 분획을 이용한 단일 물질의 분리를 시도한 바 있다. 톱풀추출물²⁷⁾의 경우 에틸아세

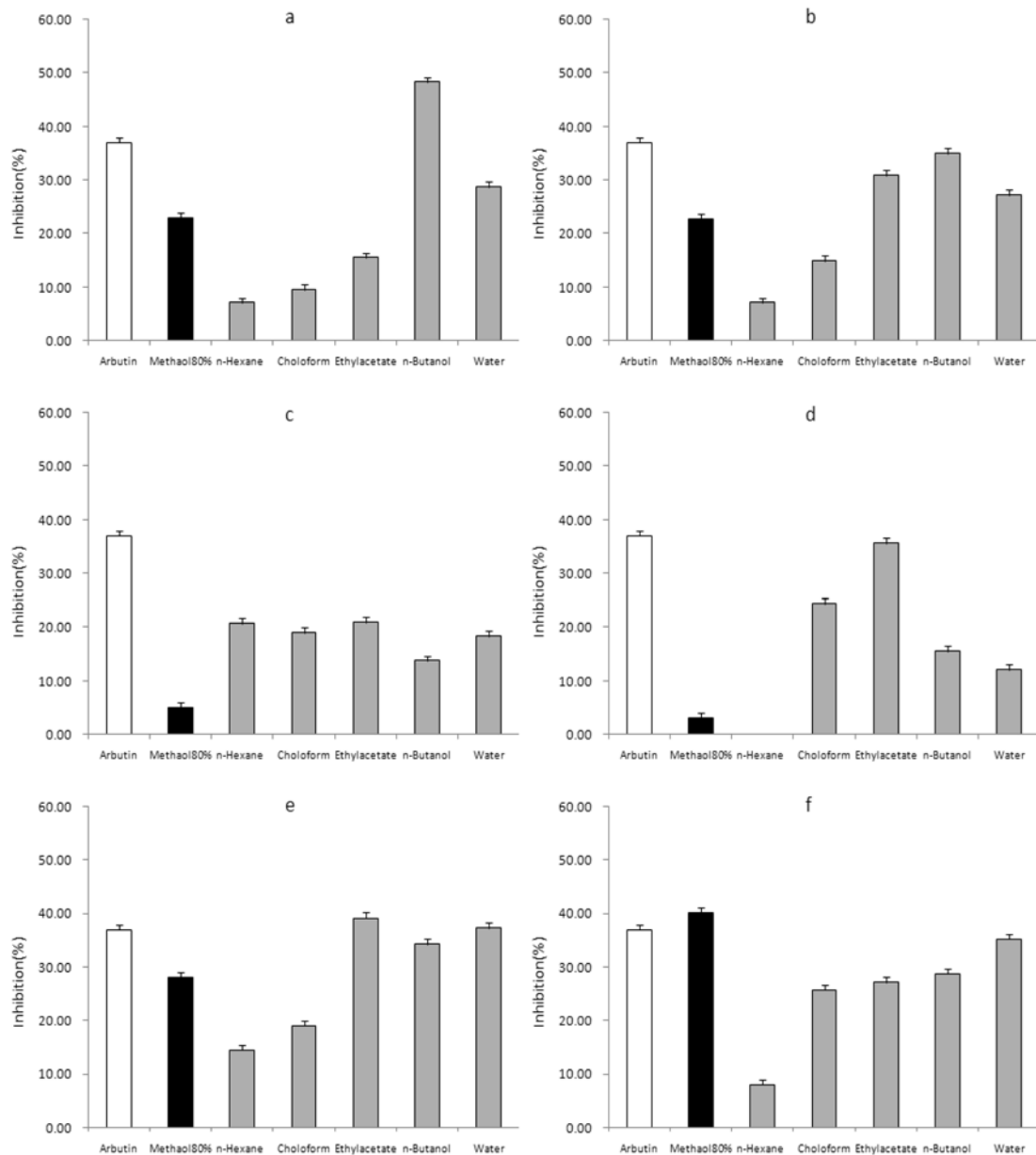


Fig. 3. Effect of fraction tyrosinase inhibition activity from *Compositae* plants. Alphabets: a, *Chrysanthemum indicum*; b, *Chrysanthemum zawadskii*; c, *Taraxacum platycarpum*; d, *Cirsium japonicum* (n-hexane: data not detected in experimental range); e, *Artemisia capillaris*; f, *Arctium lappa*.

테이트 분획의 우수한 항산화측정결과를 바탕으로 단일물질을 분리하였으며, flavonoid 등의 항산화물질임을 확인하였다. Woo의 보고²¹⁾에 의하면 항산화 효과를 가진 대표적 물질인 flavonoid 등은 Fig. 1에서 수층을 에틸아세테이트 또는 부탄올 분획으로 추출하면 극성이 큰 flavonoid 등이 이들 용매로 이행된다고 보고하였다.

따라서 에틸아세테이트, 부탄올 분획에서 비타민 C보다 높은 활성을 보인 것은 감국 및 구절초 등 국화류의 전초나 지상부 등에 함유된 flavonoid 성분 등이 극성용매에 상당부분 추출되었을 가능성이 높다. 이런 항산화력을 가지는 국화과 6종의 성분들은 체내에서 활성산소를 제거할 수 있는 물질일 가능성이 높으므로 기능성식품과 기능성화장품을 위한 천연물로 개발할

수 있겠다. 이렇게 천연물에서 얻는 것이므로 보다 안정성을 갖는 천연항산화제의 개발로 이어질 가능성이 높다고 사료된다.

Tyrosinase 저해활성. Fig. 3은 국화류 6종의 MeOH 80% 추출물 및 추출물로부터 핵산, 클로로포름, 에틸아세테이트, 부탄올, 물 분획에 대해 DOPA oxidase 활성저해에 의한 tyrosinase 저해효과를 나타낸 것이다. 양성대조군으로 사용한 알부틴이 약 37% 정도의 억제활성을 나타낸 반면, MeOH 80% 추출물에서 국화류 6종중 우방자만이 40.2%로 알부틴보다 더 높은 활성을 나타내었다. 용매별 분획에서는 감국과 구절초의 부탄올 분획에서 각각 48%와 35%의 활성을 나타내었으며, 포공영의 경우 에틸아세테이트 분획에서 20%의 저해활성을, 대계근의 경우 에틸아세테이트 분획에서 35%, 인진호의

경우 에틸아세테이트와 물 분획에서 각각 39%와 37% 그리고, 우방자의 경우 물 분획에서 35%로 알부틴보다 유사하거나 더 나은 활성을 보였다. Jung 등의 보고³⁴⁾에 의하면 tyrosinase 저해활성으로는 국화류 중에는 치커리(*Cichorium intybus*)가 65%의 저해율을, 그 외 다른 식물로는 도인 에틸아세테이트추출물이 50% 이상의 tyrosinase 활성저해 효과를 나타내었고, 백강잠 에틸아세테이트추출물과 원화 에틸아세테이트추출물이 약 20%의 tyrosinase 활성저해효과를 보였다고 보고³⁾하였으며, 이러한 결과는 Pruidze 등이 보고³⁵⁾한 바와 같이 각 식물의 잎에서 추출된 페놀화합물 성분이 효소활성을 저해한다는 결과로 추정된다고 하였다.

따라서 본 실험에서는 국화류의 유효성분 중 극성과 비극성 용매에 걸쳐 추출된 페놀화합물 등이 tyrosinase를 비교적 강하게 저해하였을 것으로 생각되었다. 이러한 각각의 용매별 분획물은 여러 가지 물질이 혼합되어 있으나 알부틴은 순수한 단일 물질이다. 따라서 각 분획물을 단일물질로 분리할 경우 미백활성효과는 용매별 분획물보다 더 강하게 나타날 것으로 사료된다.

이상 우리나라 전역에서 자생하는 국화류 6종을 대상으로 MeOH 80% 추출물 및 추출물로부터 핵산, 클로로포름, 에틸아세테이트, 부탄올 및 물 분획물에 대하여 항미생물, 항산화 및 tyrosinase 저해활성의 효과를 고찰하면 다음과 같다. 항미생물의 경우, 국화류 6종의 MeOH 80% 추출물에서는 우방자가 항균력이 우수하였고, 용매분획에서는 포공영의 핵산, 에틸아세테이트 분획, 우방자의 클로로포름 분획이 우수한 항균력을 나타내나 비극성이거나 비극성에 가까운 용매로 추출가능한 물질들이 높은 항균력을 나타내는 것을 알 수 있었다. 이러한 비극성 물질들은 미생물 세포벽 및 세포막에 흡착되어 손상을 입히고 이로 인해 미생물 세포내 성분이 세포외 유출로 촉진되어 균주의 생육을 억제하는 것³⁶⁾으로 생각된다.

항산화 활성을 보면 국화류 6종 중 MeOH 80%추출물의 경우 인진호가 가장 높은 활성을 나타내었으며, 포공영, 구절초, 우방자가 비교대조시료인 비타민 C보다 높은 활성을 나타내었다. 분획용매 중에서는 6종 모두 에틸아세테이트와 부탄올분획에서 높은 활성을 나타낸 반면 핵산 분획에서는 활성이 매우 낮아 극성도가 약간 있는 물질인 것을 알 수 있으며, 이는 항미생물 활성을 나타내는 분획물보다는 극성도가 높은 물질인 것을 알 수 있다.

Tyrosinase 저해활성에서는 6종의 MeOH 80% 추출물중에서 우방자만이 알부틴보다 높은 활성을 나타내었으며, 분획용매에서는 감국의 부탄올 분획, 인진호의 에틸아세테이트, 물분획이 알부틴보다 높은 활성을 나타내었다. 이 분획물들은 항미생물, 항산화 활성을 나타내는 분획물보다 좀 더 극성도가 높은 용매에서 추출되는 분획물들로 볼 수 있겠다.

국화류 6종 중 MeOH 80%추출물에서는 우방자만이 항균, 항산화, tyrosinase 저해활성에 고른 활성을 가지고 있으며 용매 분획중에서는 3가지 모두에 고른 활성을 나타내는 분획은 없었다. MeOH 80% 추출물중 항산화와 tyrosinase 저해활성을 동시에 갖는 추출물은 없었으며, 용매분획중에서는 감국의 부탄올 분획과 인진호의 에틸아세테이트, 물 분획정도가 항산화와 tyrosinase 저해활성을 동시에 갖는 것으로 나타났다.

위에서 밝힌 국화류 6종의 MeOH 80% 추출물 및 용매분획물의 결과로서 우리나라 전역에 자생하는 국화류추출물의 우수하고 경제적이며 다양한 기능성의 천연보존제, 미백제로서의 보충연구와 개발여하에 따라서 사용가능성이 기대될 것으로 사료된다.

초 록

우리나라 전역에서 자생하는 국화류 6종을 대상으로 MeOH 80% 추출물 및 추출물로부터 핵산, 클로로포름, 에틸아세테이트, 부탄올 및 물분획을 이용한 항미생물, 항산화 및 tyrosinase 저해활성효과를 보고자 연구를 진행하였다. 항균활성의 경우 MeOH 80% 추출물에서는 우방자와 용매분획 중에서는 포공영의 핵산, 에틸아세테이트 분획, 우방자의 클로로포름 분획을 중심으로 비극성용매에서 항균력을 나타내었다. 항산화 활성의 경우 MeOH 80% 추출물에서는 인진호가 93%로 가장 높은 활성을 나타내었으며, 용매분획에서는 국화류 6종 모두 에틸아세테이트, 부탄올 분획에서 약 90%에 가까운 항산화효과를 나타내었으며, 이들의 용매는 항균활성을 나타내었던 용매보다는 극성이 높은 것으로 나타났다. Tyrosinase 저해활성의 경우 MeOH 80% 추출물에서는 우방자만이 40%로 높은 활성을 보였으며, 용매별 분획에서는 감국의 부탄올 분획에서 48%, 인진호의 에틸아세테이트, 물분획에서 각각 39%와 37%로, 대조군인 알부틴보다 높은 활성을 나타내었다. 이들 용매 역시 항균활성보다는 극성이 높은 용매에서 활성을 나타내었다. 국화류 6종의 MeOH 80% 추출물 중 우방자만이 항균, 항산화, tyrosinase 저해활성에 고른 활성을 나타내었으며, 용매분획 중에서는 3가지에 고른 활성을 나타내는 공통적 용매분획은 없었다.

Key words: 국화과, 항미생물, 항산화, tyrosinase 저해활성

참고문헌

1. Kim, M. S., Shin, D. W. and Han G. S. (1997) Antimicrobial Effect of Ethanol Extracts from Some Medicinal Herbs and Their Fractions against Food-Born Bacteria. *Korean J. Food Sci. Technol.* **29**, 808-816.
2. Song, J. Ch., P, N. K. and Baek, N. I. (2000) Examination and Isolation of Natural Antioxidants from Korean Medicinal Plants. *Korean J. Medicinal Corp Sci.* **8**, 94-101.
3. Choi, S. S. 2001. A study on the whitening substrate of natural products. Ph. D. Thesis, Chung-Ang University Seoul, Korea.
4. Kim, Y. C., Kim, D. J. and Lee, C. M. (2004) Cosmetics Industry Develop Strategy. *Korea Health Industry Development Institute.* **18**, 140-143.
5. Blumenthal, M. *et al.* (1998) The Complete German Commission& Monographs: Therapeutic Guide to Herbal Medicines, American Botanical Council, Austin, USA.
6. Cheng, W., Li, J., You, T. and Hu, C. (2005) Anti-inflammatory and immunomodulatory activities of the extracts from the inflorescence of *Chrysanthemum indicum* Linn. Department of Chemistry, University of Science and Technology of China,

- Hefei China. **101**, 334-7.
7. Huang, C., Ouyang, Y. D., Fang, Y. W., Yu, Y. P. and Lin, S. H. (2004) Study on spectral properties of Chinese herbal medicines additives in cosmetic, Department of Physics, Shantou University, Shantou 515063, China. **24**, 1649-1651.
 8. Nam, S. H., Ch, S. W., Yang, M. S., Jang, D. S. and Park, G. H. (1997) Antibacterial Substances of the Flower of *Chrysanthemum zawadsRii* Herbich var. *Iatilobum* Kitamurs. *Korean J. Agricultural Chemical Society*. **40**, 85-88.
 9. Singh, R. P., Agrawal, P., Yim, D., Agarwal, C. and Agarwal, R. (2005) Acacetin inhibits cell growth and cell cycle progression, and induces apoptosis in human prostate cancer cells: structure-activity relationship with linarin and linarin acetate. Department of Pharmaceutical Sciences, School of Pharmacy, Sahm Yook University, Seoul, Korea. **26**, 845-54.
 10. Lee, Y. B. and Kim, J. K. (1993) The Antigastric Effect of *taraxaci* Herba. *Korean J. Pharmacognosy*. **24**, 313-318.
 11. Lee, B. H., Moon, G., Won, J. H. and Kim, T. G. (2001) Apoptosis Induction Effect of Hepatoblastoma by *Taraxacum officinale*. *Korea J. Oriental Medicinal Physiology & Pathology*. **15**, 350-355.
 12. Jeong, J. Y., Chung, Y. B., Lee, C. C., Park, S. W. and Lee, C. K. (1991) Studies on immunopotentiating activities of antitumor polysaccharide from aerial parts of *Taraxacum platycarpum*. College of Pharmacy, Kyung Sung University, Pusan, Korea. **14**, 68-72.
 13. Lee, H. K., Kim, J. S., Kim, N. Y., Park, S.Y., Kim, M. J. and Yoo, C. Y. (2003) Antioxidant, Antimutagenicity and Anticancer Activities of Extracts from *Cirsium japonicum* var. *ussuriense* KITAMURA. *Korea J. Medicinal Crop Sci.* **11**, 53-61.
 14. Lee, J. K. and Seo, J. J. (2003) Antimicrobial Activity of the Aerial Part of *Artemisia capillaris* Extracts on the Food-Borne Pathogens. *Korea J. Food Science and Nutrition*. **32**, 1227-1232.
 15. Jung, H. A. (2001) Study on the Mechanism of Vascular Relaxation Induced by *Arctii Fructus*. Ph.D. Thesis, Wonkwang University, Korea.
 16. Han, K. C. (2004) Effects of *Arctii Fructus* on the Atopic dermatitis. Kung Hee University Seoul, Korea.
 17. Han, K. H. (2007) Antifungal activity of essential oil from *Asarum sieboldii* against epidermal opportunistic pathogenic fungi. *Kor. J. Mycology*. **35**, 58-60.
 18. Hatano, T., Kagawa, H. and Okawa, T. (1988) Two new flavonoids and other constituents in licorice wet: their relative astringency and radical scavenging effects. *Chem, Pharm, Bull.*, **36**, 2090-2097.
 19. Kong, K. H., Park, S. Y., Hong M. P. and Cho, S. H. (2000) Expression and characterization of human tyrosinase from a bacterial expression system. *Comp. Biochem. Physiol.* **125**, 563-564.
 20. Natural Products Research in Korea (1996) Natural Products Research Institute Seoul National University. Seoul National University.
 21. Woo, W. S. (1996) A Natural Substance Chemistry Research. Natural Products Research Institute Seoul National University. Seoul National University.
 22. Lee, H. J., An, J. Y., LEE, B. J., Moon, S. G. and Seo, Y. W. (2004) Antioxidant Activity of *Rosa rugosa*. *Korean J. biotechnology and bioengineering*. **19**, 67-71.
 23. Kim, Y. J., Kim, C. G. and Geun, Y. J. (1997) Antioxidative Compounds in Extracts of *Acer ginnala* Max. *Korean J. Medicinal Corp Sci.* **7**, 51-57.
 24. Lee, S. E. (1998) study on the flavor components and antibiosis of winter *chrysanthemum* (*chrysanthemum indicum*). Ph. D. Thesis, Chon Nam University, Korea.
 25. Aridoğan, B. C., Baydar, H., Kaya, S., Demirci, M., Ozbaar, D. and Mumcu, E. (2002) Antimicrobial activity and chemical composition of some essential oils. Arch Pharm Res. Microbiology and Clinical Microbiology Department, Faculty of Medicine, Sleyman Demirel University, Isparta, Turkey. **25**, 860-864.
 26. Lee, S. H. (2007) Production and Characterization of a Potent Antidandruff Compound from Phytochemicals. Pai Chai University.
 27. Yu, H. K. (1999) Effects of Allelochemicals from *Taraxacum mongolicum* and *Taraxacum officinale* on Seed Germination, Seedling Growth and Antimicrobial Activities Konkuk University. Seoul, Korea.
 28. Lee, B. W. (1990) Screening of Natural Antimicrobial Plant Extract and Its Effect On Microorganisms. Chonbuk National University, Korea.
 29. Kim, C. J., Kang, B. W., Yoo, I. J., Park, D. J., Lee, H. S., Kim, Y. H. and Yoo, I. D. (1996) Screening of Biologically Active Compounds from various weeds. *Korean J. Agricultural Chemical Society*. **39**, 409-413.
 30. Lee, K. K., Kim, Y. K. and No, B. J. (1994) Antimicrobial activity of *Artemisia princeps* var. *orientalis* essential oil against fish pathogenic bacteria. *Korean J. Fish Pathol.* **7**, 113-117.
 31. Cho, Y. H. and Jang, M. H. (2001) Essential Oil Composition and Antibacterial Activity of *Artemisia capillaris*, *Artemisia argyi*, and *Artemisia princeps*. **13**, 313-320.
 32. Kim, S. H., Kin, T. J., Back, Y. J., Lee, J. J., Hue, C. S., Lee, J. B. and Jang, B. S. (1999) The Antimicrobial Activity of Medicinal Plants Extracts against *Helicobacter Pylori*. *Korean J. Food Sci. Technol.* **31**, 764-770.
 33. Jung, I. C., PARK, S., PARK, K. S. and Ha, H. C. (1996) Antioxidative Effect of Fruit Body and Mycelia Extracts of *Pleurotus ostreatus*. **28**, 464-469.
 34. Jung, J. K., Chung, J.Y. and La, S. M. (1974) Quantitative analysis of protein amino acid in *agaricus bisporus* by GLC. *Korean J. Nutr.* **7**, 12-20.
 35. Pruidze, Gulua, L., G, Mchedlishvili, N., Omiadze, and Pruidze, N. (2002) A novel catechol reductase catalytic activity of tea leaf phenol oxidase. *J. Biologocal Physics and Chemistry*. **2**, 3-4.
 36. Woo, S. M., Jang, S. Y., Kim, Y. M., Yun, K. S. and Jung, Y. J. (2004) Antimicrobial Effects of Vinegar on the Harmful Food-Born Organisms. *Korean J. Food Preservation*. **11**, 117-121.