

갈근, 복령 및 황련의 항산화성 및 미백효과

김일출[†]

중부대학교 화장품과학과
(2008년 3월 14일 접수 ; 2008년 5월 28일 채택)

Antioxidative Property and Whitening Effect of the *Pueraria Radix*, *Poria Cocos* and *Coptidis Rhizoma*

Il-Chool Kim[†]

Department of Cosmetic Science, Joongbu University, 101 Chubu-Myeon, Kumsan-Gun,
Chungnam, Korea

(Received March 14, 2008 ; Accepted May 28, 2008)

Abstract : In order to find antioxidant and whitening agent source from nature, the comparisons of antioxidative activity and tyrosinase inhibitory activity were carried out for various ethanol extract on *Pueraria Radix*, *Poria Cocos*, and *Coptidis Rhizoma*. Comparing for three ethanol extracts, the highest electron donating ability was found at *Poria Cocos* (81.2%), but, the highest SOD-like ability, at the *Coptidis Rhizoma*(58%).

Xanthine oxidase experiment exhibited 23.3% of hindrance effect in *Pueraria Radix*, and 79.3% in *Poria Cocos*. To evaluate at the whitening effect, tyrosinase inhibitory activity was conducted. Tyrosinase inhibitory activity was detected at 17.9% in the *Pueraria Radix*, 5.2% in the *Poria Cocos* and 83.3% in the *Coptidis Rhizoma*. From these results, we suggest that the ethanol extracts from *Pueraria Radix*, *Poria Cocos*, and *Coptidis Rhizoma* can be used for cosmetic ingredients.

Keywords : antioxidant, whitening, *Pueraria Radix*, *Poria Cocos*, *Coptidis Rhizoma*.

1. 서론

인체 내에서도 주위환경적인 요소에 의해 서 자유라디칼이 생성되어 세포의 파괴, 주름 형성, 아토피성 피부염, 피부암등 다양한 형태로 노화를 촉진하고 질병을 유도하는 원인중의 하나로 알려져 있으며, 최근에는 기능성식품과 기능성화장품분야의 시장 규모의 확대로 천연

물을 활용한 이 분야의 연구가 활발히 진행되고 있다[1]. 특히 한약재로 검증되어 사용 중인 생약 추출물을 활용한 경우가 대부분을 차지하고 있다[2,3]. 천연물에서 얻을 수 있는 산화성 물질들은 대부분 flavonoid계통과 phenol계 화합물로 밝혀져 있다[4,5].

물론 합성 항산화제들 중에서 BHA, BHT 등은 가격도 저렴하고 우수한 항산화 효과도 나타내고 있지만 과잉 섭취시 다른 질병을 유발하는 등 안전성상의 문제점들이 있는 것으로 보고되어 있어[6] 사용량을 규제 하고 있는 실

[†] 주저자 (e-mail: ickim@joongbu.ac.kr)

정이다. 그러한 차원에서 볼 때 앞으로 더욱더 천연물을 이용한 항산화 효과의 검증을 통한 물질 개발 분야는 지속적인 연구가 필요하리라 사료된다.

본 연구에서는 콩과에 속한 다년생 칩의 뿌리를 건조한 갈근(*Puerariae Radix*)과 다공균과에 속하는 복령(*Poria Cocos*) 및 미나리 재비과에 속하는 황련(*Coptidis Rhizoma*)을 이용하여 식품 및 화장품 원료로 활용가능성을 재 연구 검토하고자 한다.

갈근에는 glucoside계열의 daidzin, daidzein, puerarin, 등 다량의 isoflavone류 및 flavone류와 sophoradiol, soyasapogenol A,B와 allantoin, starch등이 함유되어 있으며[7], 복령은 90% 정도가 β -glucan이며 나머지 10%가 terpene등으로 구성되어 있고[8], 황련은 여러종류의 alkaloid류와 berberine, ferulic acid, chlorogenic acid 등으로 구성되어 있다.

갈근의 약리작용에 대한 연구도 매우 활발하게 진행되어 오고 있다. 그동안의 연구를 보면 심혈관계에 대한 작용으로 혈관 평활근의 이완에 의한 혈압 저하작용, 혈소판 응집억제 작용, 길항작용 및 항부정맥 작용[9,10]등과 알코올 흡수억제 작용[11] 호르몬 및 대사기능에 대한 작용[12], 항암작용[13], 그 외에도 갈근의 추출물을 이용한 연구결과들은 활발히 진행되고 있다.

또한, 복령은 이뇨, 진정효과, 강장효과가 있으며[14], 황련은 항균작용, 항염증작용 및 혈압강화작용 등이 있음이 밝혀져 있다[15]. 본 연구는 갈근, 복령, 황련의 에탄올 추출물의 자외선 차단효과, 항산화효과 및 미백효과를 측정하여 기능성화장품 분야와 기능성 식품소재로서 활용가능성을 검토하였다.

2. 실험

2.1. 시약 및 시료

본 실험에 사용한 건조한 갈근(*Pueraria Radix*), 복령(*Poria Cocos*) 및 황련(*Coptidis Rhizoma*)은 금산 인삼 센터의 A약엽사에서 2007년 11월에 구입하여 물로 세척하고 음건하여 사용하였으며, 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl(DPPH), Pyrogallol, Xanthine, Xanthine oxidase, mushroom tyrosi nase 등은

Sigma제를 그 외 추출용매 및 완충용액에 사용되는 시약은 Aldrich사 및 국산 시약을 사용하였다. 실험에 사용된 시료처리는 갈근, 복령 및 황련시료를 300ml 삼각플라스크에 각각 20g을 취하고 80% ethanol 200ml를 가한 후 60℃ 항온수조(Samheung, SH- GWB 22)에서 24시간 동안 가열 추출한 후 감압 증류장치(Eyela, Rotary evaporator N- 1000)에서 4배 농축하고, 3,000rpm으로 10분간 원심분리한 후 Whatman No.1 여과지로 여과하여 실험에 사용하였다.

2.2. 자외선 차단효과 측정

자외선 차단 효과는 농축한 시료의 흡광도가 너무 높아 농축 원액을 갈근과 황련은 100배, 복령은 20배 묽힌 후 UV-Visible Spectrophotometer(Shimadzu, UV-1601)를 사용하여 자외선영역(400nm-200nm)에서 측정하였다.

2.3. 전자공여능 측정

전자공여능(electron donating ability)은 Blois의 방법을 이용하였다[16].

시료용액 2ml에 0.2mM의 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl(DPPH) 1ml를 넣고 10초간 vortex mix후 25℃에서 30분간 반응시킨 후 517nm에서 흡광도를 측정하였다.

전자 공여능은 시료 첨가군과 무 첨가군의 흡광도 차이를 백분율로 나타내었다.

$$\text{전자공여능(\%)} = (1 - \text{시료첨가군 흡광도} / \text{무첨가군 흡광도}) \times 100$$

2.4. Superoxide dismutase(SOD)

유사활성 측정

SOD유사활성은 Marklund등의 방법[17, 18]에 따라 시료용액 0.2ml에 Tris-HCl 완충용액(pH 8.5) 3ml와 7.2mM pyrogallol 0.2ml를 가하고 10초간 vortex mix후 25℃에서 10분간 반응시킨 후 1M HCl 1ml를 가하여 반응을 정지시키고 420nm에서 흡광도로 산화된 pyrogallol 양을 측정하였다. SOD유사활성은 시료 첨가군과 무 첨가군의 흡광도차이로 나타내었다.

$$\text{SOD유사활성도(\%)} = (1 - \text{시료첨가군 흡광도} / \text{무첨가군 흡광도}) \times 100$$

2.5. Xanthine oxidase 활성 저해 측정

Xanthine oxidase 활성 저해 측정은 Stirpe의 방법[19]에 따라 시료용액 0.1ml와 0.1M Sodium phosphate buffer (pH 7.5) 0.6ml에 xanthine(2mM)을 녹인 기질액 0.2ml를 가하고 xanthine oxidase(0.2U/ml) 0.1ml를 가하고 10초간 vortex mix후 37℃에서 15분간 반응시킨 후 1M HCl 1ml를 가하여 반응을 정지시킨 후 생성된 uric acid의 양을 292nm에서 흡광도로 측정하였다. Xanthine oxidase 활성 저해율은 시료용액 첨가군과 무첨가군의 흡광도 감소율로 나타내었다.

$$\text{Xanthine oxidase 활성 저해율(\%)} = (1 - \text{시료첨가군의 흡광도} / \text{무첨가군의 흡광도}) \times 100$$

2.6. Tyrosinase 저해 활성 측정

Tyrosinase 저해 활성 측정은 Yagi등[20,21]의 방법에 따라 측정하였다. 반응은 Sodium phosphate buffer(pH 6.8) 0.5ml에 10mM L-DOPA 기질액 0.2ml와 시료용액 0.1ml의 혼합액에 mushroom tyrosinase(110U/ml) 0.2ml를 첨가하고 10초간 vortex mix후 25℃에서 2분간 반응시킨 후 생성된 DOPA chrome을 475nm에서 측정하였다.

Tyrosinase 저해 활성율은 시료용액 첨가군과 무첨가군의 흡광도 감소율로 나타내었다.

$$\text{Tyrosinase 저해 활성율(\%)} = (1 - \text{시료첨가군의 흡광도} / \text{무첨가군의 흡광도}) \times 100$$

3. 결과 및 고찰

3.1. 자외선 차단효과

추출물들의 UV - Visible Spectrum은 Fig. 1에 나타내었다. 농축한 추출물 원액으로 측정된 값은 흡광도 값이 너무 크기 때문에 묽힌 용액으로 측정하였으며, 자외선을 일반적으로 UV-A(400-320nm), UV-B(320-290nm), UV-C(290-200nm) 나누어 볼 수 있다. 갈근 추출물의 경우에는 250nm와 210nm에서 흡수 피이크를, 복령은 300-210nm에서 나타내는 것으로 보아 자외선 차단용화장품 원료로 사용시 UV-C영역의 자외선을 흡수하는 목적으로 사용할 수 있을 것이며, 황련은 자외선 파장의 전

영역에서 흡수를 나타내어 좋은 자외선차단용 원료로 사용할 수 있을 것이다. 일반적으로 광범위하게 사용되고 있는 자외선 차단용화장품은 멜라닌 세포를 활성화 시키는 UV-B 영역의 자외선을 차단하는 물질들이 화장품원료로 많이 사용되고 있다.

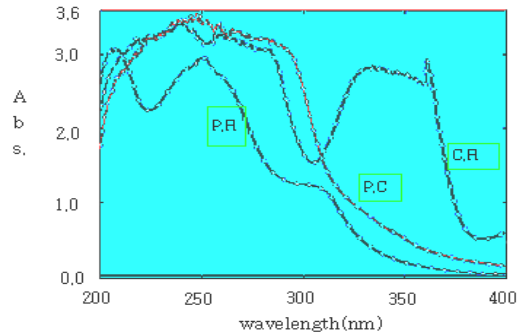


Fig. 1. UV Spectra of *Puerariae Radix*, *Poria Cocos* and *Coptidis Rhizoma*. P.R:*Puerariae Radix*. P.C : *Poria Cocos* C.R:*Coptidis Rhizoma*.

3.2. 전자공여능

갈근, 복령 및 황련추출물들의 전자공여능을 측정한 결과는 Fig. 2에 나타내었다.

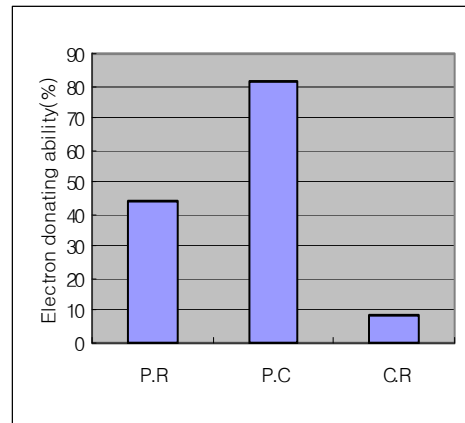


Fig. 2. Electron donating ability of *Puerariae Radix*, *Poria Cocos* and *Coptidis Rhizoma*. P.R:*Puerariae Radix*. P.C : *Poria Cocos* C.R:*Coptidis Rhizoma*.

갈근 추출물은 44.2%, 복령 추출물은 81.2%를 황련 추출물은 9.0%의 저해율을 나타내었다. Lee 등은 느릅나무와 시무나무의 근, 수피의 80% 에탄올 추출물의 전자공여능 91.6, 90.0, 24.6, 56.5%를 열수 추출물의 경우 64.0, 19.8, 14.0, 12.5%를 나타내는 것으로 보고하였고[22], Koh등은 석류씨의 열수추출물, 에탄올 추출물 및 석류씨oil의 전자공여능 연구에서 18.8, 28.5, 9.70%를 나타낸다고 보고되어있다[23]. 이와 비교하여 볼 때 본 실험에 사용한 황련이나 갈근 추출물은 전자공여능이 우수하여 항산화제로 활용이 가능할 것으로 여겨진다.

3.3. Superoxide dismutase(SOD) 유사활성도

갈근, 복령 및 황련추출물들의 Superoxide dismutase(SOD) 유사활성을 측정된 결과는 Fig. 3에 나타내었다.

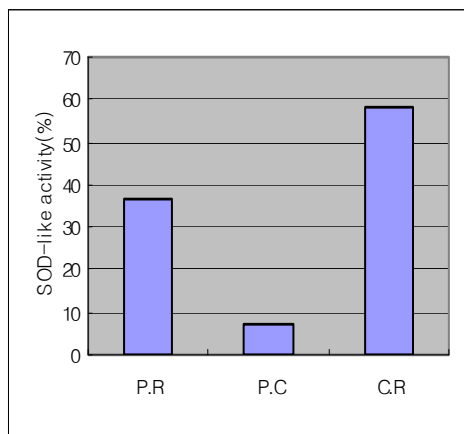


Fig. 3. SOD- like ability of *Puerariae Radix*, *Poria Cocos* and *Coptidis Rhizoma*.
P.R: *Puerariae Radix*.
P.C : *Poria Cocos*
C.R : *Coptidis Rhizoma*.

갈근 추출물은 36.6%, 복령 추출물은 7.5%를 황련 추출물은 58.0%의 나타내었다. Kim등은 단 호박과 늙은 호박 동결건조 분말의 SOD 유사활성이 60.4, 12.6%를 나타낸다고 보고하였고[24], Lee등은 싸리나무의 열수, 에탄올 및 압력 열수 추출물의 SOD 유사활성이 20.0, 44.1, 29.9%의 효과를 나타내는 것으로 보고되어 있

다[25].

이들 결과와 비교하여 볼 때 갈근 추출물과 황련 추출물의 SOD 유사활성도는 높은 것임을 알 수 있다.

3.4. Xanthine oxidase 저해활성도

갈근추출물과 복령추출물들의 Xanthine oxidase 저해활성을 측정된 결과는 Fig. 4에 나타내었다. 갈근 추출물은 23.3%, 복령 추출물은 79.3%를 나타내었으나 황련 추출물의 경우에는 음(-)값을 나타내었는데 이는 황련추출물과 효소나 기질이 반응하여 292nm에서 흡광도가 큰 다른 물질이 생성되기 때문으로 사료된다. 다른 추출물들의Xanthine oxidase 저해활성을 측정된 연구결과를 보면 미역(10.8%), 파래(14.8%), 김(8.6%), 다시마(27.9%), 청각(33.0%)의 저해능이 있는 것으로 보고되어 있다[26].

이들 결과와 Xanthine oxidase 저해활성도를 비교해 볼 때 갈근 추출물은 높은 편에 속하지만 복령 추출물은 매우 높음을 알 수 있다.

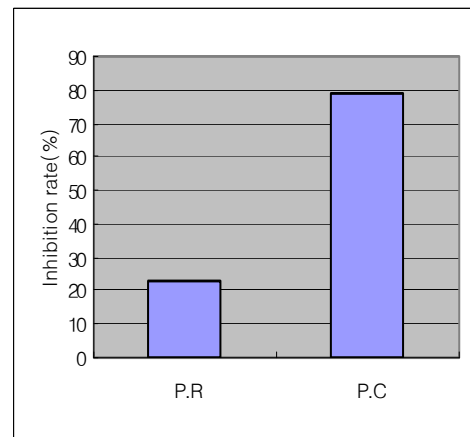


Fig. 4. Inhibition rate of *Puerariae Radix* and *Poria Cocos* extracts on xanthine oxidase.
P.R: *Puerariae Radix*
C.R : *Coptidis Rhizoma*

3.5. Tyrosinase 저해 활성

갈근, 복령 및 황련추출물들의 Tyrosinase 저해활성을 측정된 결과는 Fig. 5에 나타내었다. 갈근 추출물은 17.9%, 복령 추출물은 5.2%를 황련 추출물은 83.3%의 나타내었다. 다른 연구

의 결과와 비교하여 보면, 진달래꽃의 열수추출물이 24.0%, 에탄올 추출물이 48.0%를 나타내는 것으로 보고되어 있으며[27], 토사자, 숙지황 등은 30%미만으로 보고되어 있다[28]. 이러한 결과와 비교하여 볼 때 갈근 추출물과 복령 추출물은 다른 연구 결과물들과 유사한 Tyrosinase 저해활성을 가지지만 황련 추출물은 높은 저해활성을 나타내므로 미백화장품의 기능성 재료로 활용가능성이 높음을 알 수 있다.

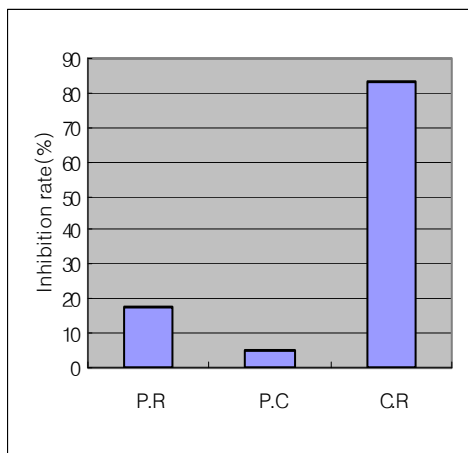


Fig. 5. Inhibition rate of *Puerariae Radix*, *Poria Cocos* and *Coptidis Rhizoma* extracts on tyrosinase.

P.R: *Puerariae Radix*.
 P.C : *Poria Cocos*
 C.R : *Coptidis Rhizoma*

4. 결론

기능성화장품 및 기능성식품으로 활용 가능한 소재를 개발하기 위한 목적으로 자외선차단 효과, 항산화효과, 미백효과 등을 측정한 결과는 다음과 같다.

1. 자외선 차단효과는 갈근 추출물은 250nm 와 210nm에서 복령은 300-210nm에서 흡광도가 크기 때문에 UV-C영역의 자외선 흡수용으로 활용 가능하며, 황련은 거의 자외선 전 영역 370-210nm에서 높은 흡

광도를 나타내므로 좋은 자외선차단용 원료로 사용할 수 있을 것이다.

2. DPPH 라디칼에 대한 소거능은 복령 추출물은 81.2%, 갈근 추출물은 44.2%, 황련 추출물은 9.0%의 저해율 순서로 복령 추출물이 가장 높은 전자공여능을 나타내었다.
3. Superoxide dismutase(SOD) 유사활성율은 황련 추출물 58.0%, 갈근 추출물 36.6%, 복령 추출물은 7.5% 순으로 황련 추출물이 가장 높은 SOD 유사활성을 나타내었다.
4. Xanthine oxidase 저해활성을 측정한 결과 갈근 추출물 23.3%, 복령 추출물 79.3%를 나타내었으나 황련 추출물의 경우에는 음(-)값을 나타내었는데 이는 황련추출물이 효소나 기질과 반응하여 292nm에서 흡광도가 큰 다른 물질이 생성되기 때문으로 생각되며, 복령 추출물은 Xanthine oxidase 저해활성도가 매우 높은 것으로 나타났다.
5. Tyrosinase 저해 활성도는 황련 추출물 83.3%, 갈근 추출물 17.9%, 복령 추출물 5.2% 순으로 측정되었으며, 황련 추출물은 높은 tyrosinase 저해 활성을 나타내었다.

이상의 결과를 보면 자외선 차단효과는 황련 추출물, 항산화 효과는 세 가지 추출물을 적당히 혼합한 혼합물, 미백효과는 황련추출물을 사용하면 좋은 기능성 화장품원료로 사용가능한 것으로 사료된다.

참고문헌

1. W. G. Cho. Comparision of Drug Delivery Using Hairless and Pig Skin. *J. of Korean Oil Chemists Soc.*, **24(4)** 410(2007).
2. O. K. Kim. Antidiabetic and Antioxidative Effects of *Coni fructus* in Streptozotocin-Induced Diabetic Rats. *J. of Korean Oil Chemists Soc.*, **22(2)** 91(2005).
3. D. L. Compton, J. A. Kenar, J. A. Laszlo, F. C. Felker., Starch-encapsul ated, soy-

- based, ultraviolet-absorbing composites with feruloylated monoacyl- and diacylglycerol lipids. *Industrial Crops and Products.*, **25**, 17 (2007).
4. Pratt, D. E. and Birac, P.M., Source of antioxidant activity of Soybeans and soy products. *J. Food Sci.*, **44**, 1720 (1979).
 5. P. A. Hammerschmidt and D. E. Pratt, Phenolic antioxidants of dried Soybeans, *J. Food Sci.*, **43**, 556 (1978).
 6. M. Waldrop. Firm takes new approach to food additives. *Chem. Eng. News*, **58**. 22 (1980).
 7. T. Arao, J. Kinjo, T. Nohara, Oleanene-type glycosides from puerariae radix, IV. Six new saponins from Pueraria lobata. *Chem Pharm Bull(Tokyo)* **45**, 362 (1997).
 8. L. Luo, J. Nong Wang, L. D. Kong, Q. C. Jiang, R. X. Tan. Antidepressant effects of Banxia Houpu decoction, a traditional Chinese medicinal empirical formula. *J. Ethnopharmacol.* **73**, 277 (2000).
 9. Y. P. Zhu. Chinese Materia Medica Chemistry, Pharmacology and Applications. *Hawood Academic Publishers, The Netherlands*, 92 (1998).
 10. M. K. Choo, E. K. Park, H. K. Yoon, D. H. Kim. Antithrombotic and antiallergic activities of daidzein, a metabolite of puerarin and daidzin produced by human intestinal microflora. *Biol Pharm Bull.* **25**, 1328 (2002).
 11. W. K. Keung, B. L. Vallee. Daidzin and daidzein suppress free-choice ethanol intake by Syrian golden hamster. *Proc Natl Acad Sci USA.* **90**, 10008 (1993)
 12. X. Wang, J. Wu, H. Chiba. K. Umegaki, K. Yamada, Ishimi .Y. Puerariae radix prevents bone loss in ovariectomized mice. *J. Bone Miner Metab.* **21**, 268 (2003).
 13. C. Gercel-Taylor, A. K. Feitelson, D. D. Taylor. Inhibitory effect of genistein and daidzein on ovarian cancer cell growth. *Anticancer Res.* **20**, 574 (2004).
 14. T. Hattori, K. Hayashi, T. Nagao. Studies on antinephritic effects of plant components(3). *Jpn. J. Pharmacol.* **59**, 89 (1992).
 15. J. Y. Cho, K. U. Baik, E. S. Yoo, K. Yoshikawa, M. H. Park. In vitro antiinflammatory effects of neolignan woorenosides from the rhizomes of *Coptis japonica*. *J. Nat. Prod.* **63**, 1205 (2000).
 16. M. S. Blois. Antioxidant determination by the use of a stable free radical. *Nature.* **26**, 1199 (1958).
 17. S. Marklund, G. Marklund. Involvement of the superoxide anion radical in the autoxidation of pyrogallol and a convenient assay for superoxide dismutase. *Eur. J. Biochem.* **47**, 469 (1974).
 18. S. J. Kim, D. Han, K. D. Moon, J. S. Rhee. Measurement of superoxide dismutase-like activity of natural antioxidants. *Biosci. Biochem.* **59**, 822 (1995).
 19. F. Stirpe, C. E. Della. The regulation of rat liver xanthine oxidase. Conversion in vitro of the enzyme activity from dehydrogenase (type D) to oxidase (type O). *J. Biol. Chem.* **244**, 3855 (1969).
 20. K. Yagi, Lipid peroxidase and human disease. *Chem. Phys. Lipids.*, **45**, 337 (1987).
 21. H. W. Duckworth, and J. E. Coleman, Physicochemical and kinetic properties of mushroom tyrosinase. *J. Biol. Chem. Phys. Lipids.*, **245**, 1613 (1970).
 22. S. E. Lee, J. E. Kim, J. K. Bang, N. S. Seong. Antioxidant activity of *Ulmus davidiana* var. *japonica* N. and *Hemipteleae davidii* P. *Korea J. Medicinal Crop. Sci.* **12**, 321 (2004).
 23. J. H. Koh, M. O. Hwang, J. S. Moon, S. Y. Hwang, J. Y. Son. Antioxidative and antimicrobial activities of pomegranate seed extracts. *Korea J. Food Cookery Sci.* **21**, 171 (2005).
 24. S. R. Kim, T. Y. Ha, H. N. Song, Y. S. Kim, Y. K. Park. Comparison of

- nutritional composition and antioxidative activity for kabocha squash and pumpkin. *Korean J. Food Sci. Technol.* **37(2)**, 171 (2005).
25. Y. S. Lee, E. Y. Joo, N. W. Kim. Antioxidant activity of extracts from the lespedeza bicolor. *Korean J. Food Sci. Technol.* **37(1)**, 75 (2005).
26. O. K. Kim, T. G. Lee, Y. B. Park, D. C. Park. Inhibition of xanthine oxidase by seaweed extracts. *J. Korea Soc. Food Sci. Nutr.* **25**, 1069 (1996).
27. B. J. An, C. E. Lee, J. H. Son, J. Y. Lee, G. H. Choi, T. S. Park. Antioxidant, anticancer and tyrosinase inhibition activities of *Rhododendron mucronulatum* T. *J. Korean Soc. Appl. Biol. Chem.* **48**, 280 (2005).
28. S. W. Jung, N. K. Lee, S. J. Kim, D. S. Han. Screening of tyrosinase inhibitor from Plants. *Korean J. Food Sci. Technol.* **27**, 891 (1995).