한국생물공학회지 제23권 제1호
Korean J. Biotechnol. Bioeng.
Vol. 23, No. 1, 77-82(2008)

제주도 자생 노루참나물 (*Pimpinella komarovii*) 추출물의 항산화 효과 및 멜라닌 억제 효과

강 민 철 · 이 주 엽 · 이 정 아 · 한 종 헌 · 김 봉 석 · †김 기 옥
(재)제주하이테크산업진흥원 생물자원산업화지원센터
(접수 : 2008. 1. 11., 게재승인 : 2008. 1. 31.)

Antioxidant Effects and Melanin Inhibitory Effect of Natural *Pimpinella komarovii* Extracts in Jeju Island

Min-Chul Kang, Ju-Yeop Lee, Jung-A Lee, Jong-Heon Han, Bong-Seok Kim, and Gi-Ok Kim†
Jeju Bio-Industry Development Center, Jeju Hi-Tech Industry Development Institute, Jeju 690-121, Korea
(Received : 2008. 1. 11., Accepted : 2008. 1. 31.)

We investigated several biological activities using the ethanol extract and its fractions from *Pimpinella komarovii* leaves to evaluate the usefulness of its extract as a functional biomaterial. The ethanol extract showed antioxidant activities, such as DPPH scavenging activity (IC_{50}= 231.8㎍/㎖), superoxide scavenging activity (IC_{50}= 23.6㎍/㎖), and xanthine oxidase inhibitory activity (IC_{50}= 587.8㎍/㎖). Its EtOAc fraction showed the strongest antioxidant activities among several fractions. The inhibitory effect of ethanol extract on tyrosinase activity was higher than water fraction. When 50㎍/㎖ of EtOAc fraction was applied, the inhibition ratio of tyrosinase activity was much higher (42%) than that of melasolv. The EtOAc fraction also showed higher inhibitory effect on melanogenesis in Melan-a cells. The n-hexane and EtOAc fractions dose-dependently inhibited the NO production in a RAW 264.7 cells. These results suggest that extract of *Pimpinella komarovii* could be used as functional biomaterial in developing a skin whitening agent having the antioxidant activity.

Key Words : *Pimpinella komarovii*, antioxidant activity, tyrosinase activity, melanogenesis

서 론

천연물로부터 생리활성 물질에 관한 연구가 활발히 진행되고 있으며, 질병에 대한 치료 및 예방제 또는 건강보조제로서 식물자원이 널리 이용되고 있다. 천연 항산화제로는 α-tocopherol, vitamin C, carotenoids, flavonoids 등이 알려져 있는데, 이러한 항산화 효과가 있는 물질들은 동식물에 널리 분포되어 있으며, 특히 많은 연구가 이루어진 분야는 식물 유래 물질이다. 식물 유래의 2차 대사산물들은 자유유리기(free radical)와 활성산소의 생성을 억제하거나 제거시켜서 산화에 의한 세포손상을 방지한다는 것이 생체 실험결과 밝혀졌다(1-2). 현재까지 보고 된 대부분의 천연 항산화제는 식물에서 유래된 것으로서 주로 폴리페놀 화합물인 것으로 알려져 있으며(3), 특히 flavonoids는 지질의 산화, 활성산소의 소거 및 산화적 스트레스를 막는 역할을 함으로써 노화방지, 암 및 심장질환 등을 예방하거나 지연하는 효과가 있어서 오늘날 식품, 의약품, 화장품 등 많은 분야에서 활용되고 있다(4). 또한 Melanin은 자외선으로부터 생체를 보호하는 중요한 방어 수단으로서 동물, 식물, 및 미생물에 널리 존재하는 페놀류의 고분자 천연 색소이다.

Melanin은 자외선, 건조, 극한 온도 등에 대한 생존능력을 높여주고, 커피, 차, 담배 등의 품질을 향상시키나(5-6), 과도한 melanin 합성은 인체에 기미, 주근깨, 피부반점을 형성하고 피부노화를 촉진하며 피부암 유발에 관여하는 것으로 알려져 있다(7-8). 멜라닌 색소의 생합성은 tyrosinase 효소를 비롯하여 여러 효소들에 의하여 조절되고 있으며, 그중 tyrosinase는 tyrosine을 기질로 하여 L-dopaquinone으로 전이되는 초기 생합성과정이후 dihydroxyindole의 산화에 작용한다(9-11). 따라서 tyrosinase 활성 억제제를 찾는 연구가 미백제의 개발에 있어서 중요한 부분을 차지하고 있으며, 현재 계속 알려지고 있는 tyrosinase 저해제로 hydroquinone, 4-hydroxyanisole, ascorbic

† Corresponding Author : Jeju Bio-Industry Development Center, Hi-Tech Industry Development Institute, Jeju 690-121, Korea
Tel : +82-64-720-2333, Fax : +82-64-720-2331
E-mail : Kimgk350@jejuhidi.or.kr

acid 유도체, kojic acid, azelaic acid, corticosteroid, retinoids, arbutin, catechin, 3,4,5-trimethoxy cinnamate thymol ester등이 있으나, 이들의 안전성과 경제성 등에 문제가 많아 사용에 있어서 어려움이 있다(12-15). 한편 nitric oxide (NO)는 작고 비교적 불안정하며 독성이 있는 무기 저분자 라디칼로서 NO를 생성하는 효소 (NOS: nitric oxide synthase)에는 constitutive NOS (c-NOS)와 inducible NOS (iNOS)가 보고되어 있다. cNOS에 의한 NO생성은 생체 내 항상성 조절에 중요한 역할을 하지만(16), iNOS는 cNOS와는 달리 lipopolysaccharide (LPS), interferon-γ (IFN-γ), interleukin-1β (IL-1β) 및 tumor necrosis factor-α (TNF-α) 등의 자극에 의해 대식세포, 혈관평활근세포, 내피세포, 간세포와 심근세포 등에서 발현된다(17). 이들 조직에서 발현되는 iNOS는 장시간 동안 많은 양의 NO를 생성하게 되어 염증과 종양을 유발하며, 조직의 손상과 유전자 변이 및 신경 등의 손상을 초래한다(18-20). 따라서 최근에는 염증성 질환 등 다양한 질병을 예방 및 치료하기 위해 기능성 식품, 기능성 화장료 및 치료제제 등 각 분야에서 인공물질이 아닌 천연물질을 이용한 연구가 활발히 진행되어지고 있다(21-23).

노루참나물 (*Pimpinella komarovii*)은 산형과 (Umbelliferae)에 속하는 다년생초본으로서 제주도를 비롯하여 우리나라 북부, 함경남도, 동부시베리아 등지에 자생하고 있다. 꽃은 8월에 백색으로 피며, 잎은 호생하고 2회 3출 복엽이며, 근엽은 성장 후 고사한다(24). 현재 노루참나물 (*Pimpinella komarovii*)에 대한 연구 결과 보고는 없으며, 참나물속 (*Pimpinella*) 중 몇몇 종들에서 기관지 천식 및 위장장애 치료제, 구풍제, 진경제, 거담제, 진위제 등 약재로서의 유용성에 대한 보고가 있으며, 향신료 및 식용으로 현재 사용되어지고 있다(25).

본 연구는 제주도의 자생식물인 노루참나물 (*Pimpinella komarovii*)을 이용하여 에탄올 추출물 및 순차적 용매분획물을 얻어 항산화 활성 및 항염효과를 검색하고자 하였으며, 마우스 유래의 Melan-a 세포에 처리하여 멜라닌 생합성 및 tyrosinase 억제활성을 통한 미백 및 기능성 화장료와 염증질환치료제의 유용자원으로서 활용가능성이 있는지 알아보고자 본 연구를 시행하였다.

재료 및 방법

재료 및 시료의 추출

본 연구에 사용된 식물 시료인 노루참나물 (*Pimpinella komarovii*)은 (재)제주하이테크 산업진흥원 추출물은행에서 분양 받아 사용하였다. 노루참나물 전초 100 g을 흐르는 물에 세척 후 3일 동안 40℃ 열풍건조 하여 분쇄기로 분쇄하고, 이 분쇄물을 70% 에탄올에 침적시키고 2~3일 동안 실온에서 교반하여 침출하였다. 이 침출물을 여과기로 여과하고, 이 침출. 여과과정을 2~3회 더 반복한 다음, 이 여과액을 감압농축하고, 동결건조하여 분말형태로 10 g의 에탄올 추출물을 수득하였다.

용매분획은 노루참나물 에탄올 추출물을 증류수 0.5 L에 현탁시킨 후에, 각각 헥산 (*n*-hexane, 0.5 L × 2), 에틸아세테이트 (ethylacetate, 0.5 L × 3), 부탄올 (Butanol, 0.5 L × 3), 물 (H_2O)의 극성이 낮은 용매부터 극성이 높은 용매 순으로 순차적으로 용매 분획하여 4개의 분획물을 얻었고, 각각의 분획물을 동결 건조하여 시료로 사용하였다(Fig. 1).

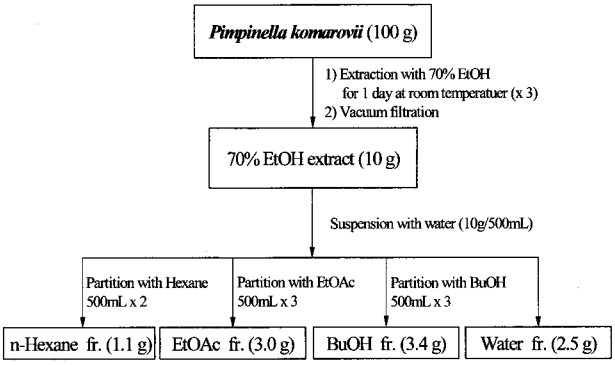

Figure. 1. The fractionation using solvent partition from the ethanol extract of *Pimpinella komarovii*.

시료의 제조

분말로 된 헥산과 에틸아세테이트 분획물은 100% 에탄올로 녹였고, 부탄올과 물 분획물은 100% 에탄올과 1 × Phosphate Buffered Saline (PBS, pH 7.4)가 1:1로 혼합된 용매를 가하여 완전히 용해시킨 후 여과하여 사용하였다.

Diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) 자유유리기 소거활성 측정

전자공여능 (electron donating ability) 측정은 Blosis 방법에 의한 DPPH 자유유리기 소거법에 따라 측정하였다(26). 즉, 에탄올에 녹인 여러 농도의 시료를 96well plate에 100 ㎕씩 분주 하고 0.4 mM DPPH 용액을 동량 첨가하여 실온에서 10분간 방치한 후 517 nm에서 흡광도를 측정하였다. 이때 양성 대조군으로는 butylated hydroxy anisole (BHA)를 사용하였다. DPPH 자유유리기 소거활성은 아래의 식으로부터 산출하였고 DPPH의 흡광도가 50% 감소할 때 나타나는 시료의 농도(IC_{50})로 표시하였다.

DPPH 자유유리기 소거활성(%) = $(A_{control}-A_{sample})/A_{control}\times 100$

A_{sample} = 시료를 첨가한 반응액의 흡광도

$A_{control}$ = 시료대신 에탄올을 첨가한 반응액의 흡광도

Xanthine oxidase 억제 및 superoxide 소거 활성 측정

Xanthine oxidase에 의한 uric acid 생성은 290 nm에서 증가된 흡광도에 의해 측정하였고(27), 대조군으로 allopurinol (Sigma)을 사용하였다. superoxide의 양은 nitroblue tetrazolium (NBT) 환원방법으로 560 nm에서 측정하였다(28). 반응액은 각 시료의 여러 농도와 0.5 mM xanthine와 1 mM EDTA를 200 mM phosphate buffer (pH 7.5) 100 μl에서 준비하였고 50 mU/ml xanthine oxidase를 첨가하여 uric acid의 생성을 유도하였다. Superoxide 소거활성은 위 반응액에 0.5 mM NBT를 첨가하여 반응시켰다. Xanthine oxidase 억제 및 superoxide 소거 활성은 각각 생성된 uric acid와 superoxide의 흡광도가 50% 감소할 때 나타나는 시료의 농도 (IC_{50})로 표시하였으며, 각 시료는 3회 반복 실험 후 평균값을 구하였다.

세포배양

본 연구에 사용된 melan-a 세포는 (주)태평양에서 분양받은 non-tumorigmic mouse melanocyte cell line으로 C57BL의 embryo 로부터 유래한 세포이다. Melan-a 세포를 10% fetal bovine serum (FBS, Gibco), 1% Antibiotic-Antimycotic (Gibco), 100 nM 12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetate (TPA), L-glutamine와 sodium bicarbonate가 함유된 PRMI 1640 배지 (Gibco)를 사용하여 37℃, 10% CO_2 세포배양기에서 배양하였다. 또한 RAW 264.7 세포는 murine macrophage cell line으로 KCLB (Korean Cell Line Bank)로부터 분양받아 10% FBS와 100 unit/㎖ penicillin, 100 ㎍/㎖ streptomycin이 포함된 DMEM 배지(Gibco)를 사용하여 37℃, 5% CO_2 세포배양기에서 배양하였다.

MTT assay를 이용한 세포독성 측정

Melan-a 세포를 24 well plate에 well당 1×10^5개의 세포를 접종하고 24시간동안 37℃, 10% CO_2 세포배양기에서 배양한 후 시료를 각각의 well에 12.5 ㎍/㎖, 25 ㎍/㎖, 50 ㎍/㎖ 그리고 100 ㎍/㎖의 농도로 처리하여 48시간 배양하였다. 여기에 2 ㎎/㎖의 농도로 제조한 MTT 용액 200 ㎕를 첨가하고 동일한 배양 조건으로 4시간을 배양하여 배지를 제거하고 세포를 PBS로 2회 세척하였다. 각 well당 DMSO 200 ㎕를 가하여 ELISA reader (μQuant, USA)로 570 ㎚에서 흡광도를 측정하였다.

멜라닌 생성 저해 활성 측정

24 well plate에 well당 1×10^5개의 melan-a 세포를 접종하고 24시간동안 37℃, 10% CO_2 세포배양기에서 배양한 후 시료를 각각의 well에 12.5 ㎍/㎖, 25 ㎍/㎖, 50 ㎍/㎖ 그리고 100 ㎍/㎖의 농도로 처리하여 3일간 시료 처리 후 배지를 제거하고 세포를 PBS로 2회 세척하였다. 각 well당 500 ㎕의 1N NaOH를 가하고 56℃에서 30분 용해한 후 ELISA reader (μQuant, USA)로 405 ㎚에서 흡광도를 측정하였다.

Tyrosinase 저해 활성 측정

Melan-a 세포를 24 well plate에 위의 기술한 방법과 동일하게 처리한 후, well의 세포를 원심분리하여 세포 침전물을 만들고, lysis buffer (0.1 M sodinm phosphate buffer, 0.2 mM phenylmethylsulfonyl fluoride (PMSF), 1% Triton X-100)를 가하였다. 얼음에 방치하여 세포를 파괴시키고 원심분리한 후 상층액을 취하여 효소활성측정에 사용하였다. 각 시료를 반응액에 (12.5 mM L-Dopa, 1.5 mM L-tyrosine, 67 mM sodium phosphate buffer (pH6.8))넣고 37℃에서 1시간동안 반응시킨 후 ELISA reader (μQuant, USA)를 이용하여 405 nm에서 흡광도를 측정하였다.

Nitric oxide (NO) 측정

RAW 264.7세포에서 lipopolysaccharide (LPS)에 의해 생성된 NO의 양은 Griess reagent로 측정하였다. 48 well plate에 2×10^5 cell/㎖의 RAW 264.7 세포를 접종하고 24시간 전 배양 하였다. 그 후 배지를 제거하고, 시료가 함유된 배지를 처리하고 1시간 후 LPS (1 ㎍/㎖) 처리하였다. 전 배양과 동일 조건에서 24시간 동안 배양하여 100 ㎕의 배양액을 96 well plate에 넣고 동량의 Griess reagent [1% (W/V) sulfanilamide, 0.1% N-1-naphylethylen diamine in 2.5% (V/V) H_3PO_4]를 첨가하고 10분간 실온에서 배양한 후 ELISA reader (μQuant, USA)를 이용하여 540 nm에서 정량하였다.

결과 및 고찰

노루참나물 추출물의 항산화 활성

노루참나물의 에탄올 추출물과 순차적 분획물의 항산화 활성에 대한 결과를 Table 1에 나타내었다. DPPH의 자유유리기 소거 활성은 에탄올 추출물과 순차적 분획물 모두에서 처리농도에 따라 농도 의존적으로 증가하였다. 순차적 분획물 중 에틸아세테이트 분획물은 DPPH의 자유유리기 소거 활성의 대조군인 BHA 보다 약간 떨어지는 활성을 보였으나 다른 분획물보다는 현저히 좋은 활성을 갖고 있으며, 이때의 IC_{50} 값은 96.99 ㎍/㎖로 나타났다(Table 1). 노루참나물 에탄올 추출물 및 순차적 분획물의 xanthine oxidase 억제활성 및 superoxide radical 소거활성에 대한 결과 또한 Table 1에 나타내었다. 노루참나물 에탄올 추출물 및 순차적 분획물 모두 농도 의존적으로 xanthine oxidase 억제활성을 보였으며, 에틸아세테이트 분획물이 분획물중 IC_{50} 값이 179.06 ㎍/㎖으로 높은 억제활성을 보였다(Table 1). 특히 노루참나물 에탄올 추출물 및 에틸아세테이트와 부탄올 분획물의 superoxide radical 소거활성 IC_{50} 값이 각각 23.57 ㎍/㎖과 9.74 ㎍/㎖, 17.68 ㎍/㎖로 나타나 대조군 allopurinol (IC_{50}=6.80 ㎍/㎖) 에 비교하여 전혀 뒤떨어지지 않는 높은 억제활성을 보였다 (Table 1). 이와 같은 효과는 이미 보고 된 바와 같이 지질의 산화, 활성산소의 소거 및 산화적 스트레스를 막는 역할을 함으로써 노화방지, 암 및 심장질환 등을 예방하거나 지연하는 효과로 오늘날 식품, 의약품, 화장품 등 많은 분야에서 이들 효과를 활용하고 있다. 따라서 노루참나물은 항산화 효과를 기초로 하여 판단하면 생체 내에서 일어나는 많은 산화적인 스트레스 및 손상의 예방에 유용한 자원식물로 사료되어진다.

Table 1. Antioxidant activities of the ethanol extract and its fractions of *Pimpinella komarovii*

Treatment	IC_{50} (㎍/㎖)[1]		
	DPPH radical scavenging activity	Xanthine oxidase inhibitory activity	Superoxide radical scavenging activity
70% EtOH extract	231.86 ± 0.35	587.81 ± 20.65	23.57 ± 0.38
n-hexane fraction	>1000	435.61 ± 7.09	38.37 ± 1.14
EtOAc fraction	96.99 ± 2.44	179.06 ± 5.91	9.74 ± 0.99
BuOH fraction	169.40 ± 7.49	282.13 ± 0.14	17.68 ± 1.69
Water fraction	603.88 ± 17.20	553.82 ± 1.23	46.65 ± 14.64
BHA[2]	6.94 ± 0.48	N/A	N/A
Allopurinol	N/A[3]	3.80 ± 0.15	6.80 ± 0.65

[1] IC_{50} values were calculated from regression lines using different concentration in triplicate experiments.
[2] Butylated hydroxyl anisole.
[3] N/A : Not assay.

세포 생존률에 미치는 영향

노루참나물 (*Pimpinella komarovii*) 에탄올 추출물 및 순차적 분획물이 melan-a 세포주의 세포 생존률에 미치는 영향을 알아보기 위하여 12.5 ㎍/㎖, 25 ㎍/㎖, 50 ㎍/㎖ 그리고 100 ㎍/㎖까지 다양한 농도로 3일 동안 처리하고 배양한 후에 MTT 방법으로 세포의 생존률을 관찰하였다. Fig. 2에서 보는 바와 같이 대조군의 세포 생존률을 100%로 하였을 때, 노루참나물 에탄올 추출물 및 각각의 순차적 분획물 농도들 중 12.5, 25, 50 ㎍/㎖ 농도에서는 거의 95 ~ 103%로 대조군에 비해 약간 감소하거나 증가하였으며, 100 ㎍/㎖ 농도에서 헥산과 에틸아세테이트 분획물에서만 63~66%로 세포가 감소되는 경향을 보였다. 이처럼 대조군에 비해 12.5 ㎍/㎖, 25 ㎍/㎖, 50 ㎍/㎖의 농도들은 약간의 차이가 있으나 유의할만한 변화를 나타내지 않았으며 100 ㎍/㎖이상에서 헥산과 에틸아세테이트 분획물에서만 세포독성이 나타남으로서 세포독성이 낮아야하는 미백제로서의 기준에 50 ㎍/㎖이하의 노루참나물 에탄올 추출물 및 순차적 분획물이 부합하는 것으로 사료되어진다.

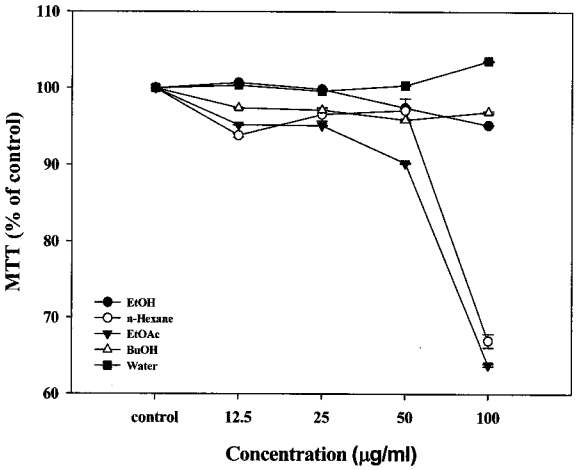

Figure 2. Cell viability rates of the ethanol extract and its fractions of *Pimpinella komarovii* in Melan-a cells. The data represent the mean ± SD of three determinations.

멜라닌 생성 저해 활성에 미치는 영향

Melan-a 세포주는 마우스 유래의 멜라닌 생성세포로서 멜라닌을 생합성 한다(26). 위의 실험결과 50 ㎍/㎖이하에서는 세포독성이 없는 것으로 관찰된 노루참나물 에탄올 추출물 및 순차적 분획물을 12.5 ㎍/㎖, 25 ㎍/㎖, 50 ㎍/㎖까지 다양한 농도로 3일 동안 처리한 후, 멜라닌생성 저해활성을 측정하였다. Fig. 3에서 보는 바와 같이 대조군으로서 미백제로 알려진 합성물질인 melasolv (15) 처리시 54%의 멜라닌 생성 억제활성을 보였으며, 각각 12.5 ㎍/㎖, 25 ㎍/㎖, 50 ㎍/㎖ 농도까지 처리시 노루참나물 에탄올 추출물은 8.2%, 10.1%, 26.8% 저해 활성을 보였다. 또한 각각의 순차적 분획물들의 50 ㎍/㎖ 농도에서 35.8%, 49.3%, 32.8%, 37.9%로 대조군 보다 낮은 멜라닌 저해 활성을 보였으나, 천연식물에서의 미백제로서 매우 탁월한 결과를 보여주었다. 따라서 이러한 결과로 보면 멜라닌 생성을 줄이면서 세포독성은 낮아야 하는 미백제로서의 기준에 노루참나물 에탄올 추출물 및 순차적 분획물이 부합하는 것으로 사료되어진다.

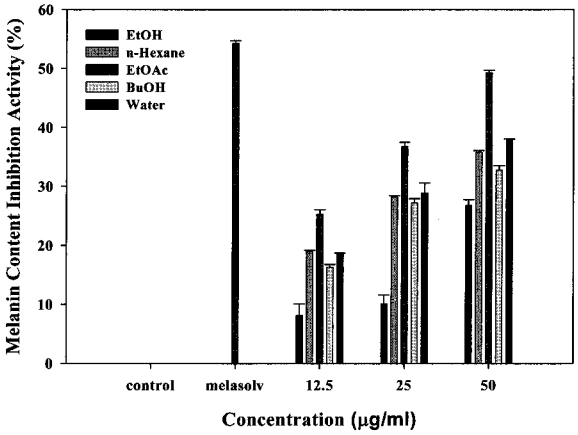

Figure 3. Melanin contents inhibitory activity of the ethanol extract and its fractions *Pimpinella komarovii* in Melan-a cells. The data represent the mean ± SD of three determinations.

세포내 tyrosinase 저해 활성에 미치는 영향

노루참나물 에탄올 추출물 및 순차적 분획물 처리 후 최종 멜라닌양이 저해된 것은 멜라닌 합성에 관여하는 효소들의 활성과 관련이 있음을 나타내므로 melan-a 세포에서 tyrosinase 활성을 각각 12.5 ㎍/㎖, 25 ㎍/㎖, 50 ㎍/㎖로 다양한 농도로 3일 동안 처리하여 측정한 결과, Fig. 4와 같이 대조군인 melazove 처리시 40%의 tyrosinase 저해 활성을 보였으며, 노루참나물 에탄올 추출물 및 순차적 분획물을 각각 12.5 ㎍/㎖, 25 ㎍/㎖, 50 ㎍/㎖ 농도 처리시 에탄올 추출물은 0.7%, 2.5%, 12.5%로 낮은 저해 활성을 보였다. 또한 각각의 분획물들 중 부탄올과 물 분획물을 제외한 헥산과 에틸아세테이트 분획물이 50 ㎍/㎖ 농도에서 43%, 42% 저해활성을 나타내어 대조군 보다 다소 높은 tyrosinase 저해 활성을 보였다. 이러한 결과로 볼 때 melan-a 세포주에서의 노루참나물 에탄올 추출물 및 순차적 분획물들에 의한 멜라닌 생성 감소는 tyrosinase 저해 활성에 의한 것이 주요한 원인중의 하나로 판단된다.

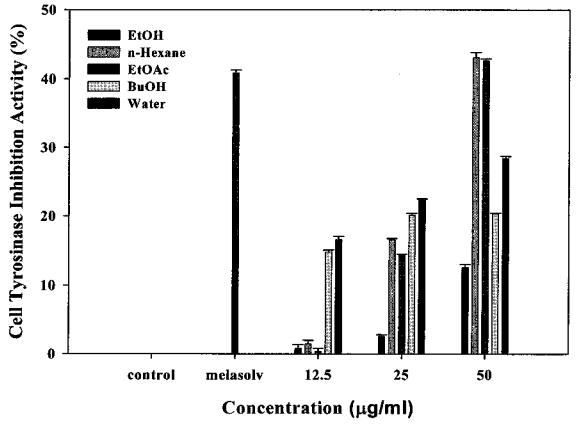

Figure 4. Cell tyrosinase inhibitory activity of the ethanol extract and its fractions of *Pimpinella komarovii* in Melan-a cells. The data represent the mean ± SD of three determinations.

Nitric oxide (NO) 생성에 미치는 영향

항산화 기능을 가지고 있는 녹차의 폴리페놀 (polyphenol) 성분, 상황추출물 (curcumin), 로즈마리 (rosemary: *Rosmarinus officinalis Linn*)등이 염증반응을 억제하는 항염증제로 사용되고, 이들 항염증제는 염증반응을 일으키는 활성산소를 소거시키기도 한다(30). 따라서 항산화 활성이 좋은 노루참나물 에탄올 추출물 및 순차적 분획물에 대하여 항염증 효과를 탐색하기 위하여 LPS로 자극한 마우스 대식세포인 RAW 264.7 세포에서의 NO 생성 억제 활성을 분석하여 IC_{50}을 산출하였으며, 그 결과를 Table 2에 나타내었다. 헥산 분획물과 에틸아세테이트 분획물의 NO 생성 억제율에 대한 IC_{50} 값이 각각 6.27 ㎍/㎖, 7.14 ㎍/㎖로 가장 높은 억제활성을 나타났다. 이러한 결과는 노루참나물의 유효성분 추출을 통한 항염증 물질 연구개발에 있어서 중요한 기초 자료가 될 것이라 사료된다.

Table 2. The effects on LPS-induced NO production of the ethanol extract and its fractions of *Pimpinella komarovii* in RAW 264.7 cells

Pimpinella komarovii	IC_{50}[1] (㎍/㎖)
70% EtOH extract	>100
n-hexane fraction	6.27 ± 2.9
EtOAc fraction	7.14 ± 0.8
BuOH fraction	>100
Water fraction	>100

[1] IC_{50} is the concentration producing 50% inhibition of NO production in RAW 264.7 cells.

요 약

본 연구는 제주도의 자생식물인 노루참나물 (*Pimpinella komarovii*)의 산업적 활용 가능성을 평가하기 위하여 에탄올 추출물 및 순차적 용매분획물을 얻어 항산화 활성 및 항염증 효과를 검색하고자 하였으며, 마우스 유래의 melan-a 세포에 처리하여 멜라닌 생합성 및 tyrosinas 억제활성을 통하여 유용자원으로서 미백 및 기능성 화장료로 활용가능성이 있는지 알아보고자 연구를 시행하였다. 노루참나물 에탄올 추출물은 높은 항산화 활성 (DPPH 소거활성 IC_{50} 값, 231.8 ㎍/㎖; superoxide 소거활성 및 xanthine oxidase 억제활성 IC_{50} 값, 각각 23.6 ㎍/㎖, 587.8 ㎍/㎖)을 나타내었으며, 순차적 분획물중에서는 에틸아세테이트 분획물이 가장 높은 항산화 활성을 나타내었다. 그리고 멜라닌 생성 세포인 melan-a 세포에서 노루참나물 에탄올 추출물과 에틸아세테이트 분획물이 tyrosinase와 멜라닌 합성을 농도 의존적으로 억제하였다. 또한 LPS로 자극한 RAW 264.7 세포에서 노루참나물의 헥산 분획물과 에틸아세테이트 분획물이 가장 높은 NO 생성 억제 활성을 보였다. 본 연구 결과는 노루참나물 추출물이 항산화 및 항염증 활성을 가지는 미백 관련 기능성 소재로서의 활용가치가 있음을 보여준다.

REFERENCES

1. Jeong, S. J., J. H. Lee, H. N. Song, N. S. Seong, S. E. Lee, and N. I. Baeg (2004), Screening for antioxidant activity of plant medicinal extracts, *J. Kor. Soc. Appl. Biol. Chem.* **47**, 135-140.
2. Kang, I. H., J. H. Cha, J. H. Han, S. W. Lee, H. J. Kim, S. H. Kwon, I. H. Han, B. S. Hwang, and W. K. Whang (2005), Isolation of anti-oxidant from domestic *Crataegus pinnatifida* Bunge leaves, *Kor. J. Pharmacogn.* **36**, 121-128.
3. Whang, H. J., W. S. Han, K. R. Yoon (2001), Quantitative analysis of total phenolic content in apple, *Anal. Sci. Technol.* **14**, 377-383.
4. Kim, E. C., S. Y. Ahn, E. S. Hong, G. H. Li, E. K. Kim, and K. H. Row (2005), Extraction of whitening agents from natural plants and whitening effect, *J. Kor. Ind. Eng. Chem.* **16**, 348-353.
5. Bell, A. A. and M. H. Weeler (1986), Biosynthesis and function of fungal melanin, *Ann. Rev. Phtophathol.* **24**, 411-451.
6. Lerner, A. B. and T. B. Fitzpatrick (1950), Biochemistry of melanin formation, *Physiol. Rev.* **30**, 91-126.
7. Chen, J. S., C. Wei, and M. R. Marshall (1991), Inhibition mechannism of Koji acid on polyphenol oxidase, *J. Agric. Food Chem.* **39**, 1897-1901.
8. Urabe, K., P. Aroca, K. Tsukamoto, D. Mascagna, A. Paulumbo, G. Prota, and V. J. Hearing (1994), The inherent cytotoxicty of melanin precursors, *Biochim. Biophys. Acta.* **1221**, 272-278.
9. Aroca, P., K. Urabe, K. Kobayashi, K. Taskamoto, and V. J. Hearing (1993), Melanin biosynthesis patterns of following hormonal stimulation, *J. Biol. Chem.* **268**, 25650-25655.
10. Iozumi, K., G. E. Hoganson, R. Pemella, M. A. Everett, and B. B. Fuller (1993), Role of tyrosinase as the determinant of pigmentation in cultured human melanocytes, *J. Invest. Dermatol.* **100**, 806-811.
11. Jimenez-Cervantes, C., F. Solano, T. Kobayashi, K. Urabe, V. J. Hearing, J. Lozano, and C. Garcia-Borron (1994), Anew enzymatic function in the melanogenic pathway, *J. Biol. Chem.* **269**, 17993-18001.
12. Tomita, K., N. Oda, M. Kamel, T. MiyaKi, and T. Oki (1990), Anew screening method for melanin biosynthesis inhibitors using *Streptomyces bikiniensis*, *J. Antibiotics.* **12**, 1601-1605.
13. Cabanes, J., S. Chazara, and C. F. Garcia (1994), Kojic acid, a cosmetic skin whitening agent, is a slow-binding inhibitor of catecholase activity of tyrosinase, *J. Pharm. Pharmacol.* **46**, 982-985.
14. Jung, S. W., N. K. Lee, S. J. Kim, and D. Han (1995), Screening of tyrosinase inhibitior from plants, *Kor. J. Food Sci. Technol.* **27**, 891-896.
15. Hwang, J. S., H. J. Shin, H. S. Noh, H. J Choi, S. M. Ahn, D. S. Park, D. H. Kim, B. G. Lee, I. S. Chang, and H. H. Kang (2002), The inhibitory effects of 3,4,5- Trimethoxy cinnamate thymol ester(TCTE, Melasolv®) on Melanogenesis, *J. Soc. Cosmet. Sci. Kor.* **28(1)**, 135-149.
16. Kawamata, H., H. Ochiai, N. Mantani, and K. Terasawa (2000), Enhanced Expression of Inducible Nitric oxide Synthase by Junen-taiho-to in LPS-activated RAW 264.7 cells, a murine macrophage cell line, *Am. J. Chin. Med.* **28**, 217-226.
17. Lee, B. G., S. H. Kim, O. P. Zee, K. R. Lee, K. Y. Lee, and H. W. Lee (2000), Suppression of inducible nitric oxide synthase expression in RAW 264.7 macrophages by two-carboline alkaloids extracted from *Melia azedarach*, *Eur J Pharmacol.* **406**, 301-309.
18. Nathan, C. (1992), Nitric oxide as a secretory product of mammalian cells, *FASEB J.* **6**, 3051-3064.
19. Stuehr, H. J, N. S. Kwon, M. Weise, and C. Nathan (1991), Purification of the cytokine-induced macrophage nitric oxide synthase : and FAD- and FMN-containing flavoprotein, *Proc. Natl. Aca. Sci U.S.A.* **88**, 7773-7777.

20. Weisz, A., L. Cicatielio, and H. Esumi (1996), Regulation of the mouse inducible-type nitric oxide sythase gene promoter by inferferon-gamma Bacterial lipopolysaccharide and NG-monomethyl-L-arginine, *Biochem. J.* **316**, 209-215.
21. Kim, S. J., M. Y. Heo, K. H. Son, and Kim Hp (2003), Tyrosinase inhibitory activity of 80 plant extracts (II), *J. Appl. Pharmacol.* **11**, 5-7.
22. Suk, K. D., S. J. Lee, and J. M. Bae (2004), Inhibitory Effects of *Cuscuta japonica* Extract and *C. australis* Extract on Mushroom tyrosinase Activity, *Kor. J. Pharmacogn.* **35**(4), 380-383.
23. Lee, H. B., S. Bai, and J. E. Chin (2005), Inhibitory Effect of *Lithospermum erythrorhizon* Extracts on Melanin Biosynthesis, *J. Kor. Soc. Food. Sci Nutr.* **34**(9), 1325-1329.
24. Jang, G. J., W. K. Paik, and W. T. Lee (1999), Taxonomy of the genus *Pimpinella* (Umbelliferae) in Korea, *Kor. J. Plant Tax.* **29**(2), 151-167.
25. Santos, P. M., A. C. Figueiredo, M. M. Oliveira, J. G. Barroso, L. G. Pedro, S. G. Deans, A. K. M. Younus, and J. J. C. Scheffer (1998), Essential oils from hairy root cultures and from fruits and roots of *Pimpinella anisum*, *Phytochemistry.* **48**(3), 455-460.
26. Blois, M. S. (1958), Antioxidant determinations by the use of a stable free radical, *Nature* **181**, 1198-1200.
27. Noro, T., Y. Oda, T. Miyase, A. Ueno, and S. Fukushima (1983), Inhibitories of xanthine oxidase from the flowers and buds of *Dafne genkwa*, *Chem. Pharm. Bulletin.* **31**, 3984-3987.
28. Cheng, Z. J., S. C. Kuo , S. C. Chan, F. N. Ko, and C. M. Teng (1998), Antioxidant properties of butein isolated from *Dalbergia odorifera*, *Biochem. Biophys. Acta.* **1392**, 291-199.
29. Bennett, D., P. Cooper, and I. Hart (1987), A line of non-tumorigenic mouse melanocytes, syngeneic with the B16 melanoma and requiring a tumor promoter for growth, *Int. J. Cancer* **39**, 414-418.
30. Parahad, R. and K. K. Sanford (1998), Protective action of plant polyphenols on radiation-induced chromatid breaks in cultured human cells, *Anticancer Res.* **18**, 3263-3266.