

코스모스 부위별 추출물의 항산화 활성과 미백효능평가

김선영 · 이민혜 · 박수남[†]

서울과학기술대학교 자연생명과학대학 정밀화학과, 그린코스메틱연구개발센터
(2010년 11월 10일 접수 ; 2010년 12월 20일 채택)

Evaluations of Antioxidative Activity and Whitening Effect of Extracts from Different Parts of *Cosmos bipinnatus*

Sun-Young Kim · Min-Hye Lee · Soo-Nam Park[†]

Department of Fine Chemistry, College of Nature and Life Science, Seoul National University
of Science and Technology, 172, Gongneung 2-dong, Nowon-gu, Seoul 139-743, Korea,
Research Center for Development of Green Cosmetic
(Received November 10, 2010 ; Accepted December 20, 2010)

Abstract : In this study, the antioxidative effect, cellular protective effect and inhibitory effect on tyrosinase of *Cosmos bipinnatus* extracts were investigated. The ethyl acetate fraction of *Cosmos bipinnatus* flower extract (11.48 µg/mL) showed more excellent free radical (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl radical, DPPH) scavenging activity (FSC50) than those of leaf and stem extracts (17.45 µg/mL). Reactive oxygen species (ROS) scavenging activity (OSC50) of *Cosmos bipinnatus* extracts on ROS generated in Fe³⁺-EDTA/H₂O₂ system were investigated using the luminol-dependent chemiluminescence assay. The ethyl acetate fraction of *Cosmos bipinnatus* flower extract (0.56 µg/mL) showed 3 times more excellent ROS scavenging activity than L-ascorbic acid (1.50 µg/mL). The protective effects of the ethyl acetate fractions of extracts from different parts of *Cosmos bipinnatus* on the rose-bengal sensitized photohemolysis of human erythrocytes were investigated. The ethyl acetate fractions of leaf and stem extract and flower extracts suppressed photohemolysis in a concentration dependent manner (10 ~ 50 µg/mL). The inhibitory effect of ethyl acetate fraction of *Cosmos bipinnatus* flower extract (62.75 µg/mL) on tyrosinase was investigated to assess the whitening efficacy. The ethyl acetate fraction of *Cosmos bipinnatus* flower extract showed 3.5 times higher tyrosinase inhibitory effect than arbutin (226.88 µg/mL) known as an effective whitening agent. These results indicate that fractions of *Cosmos bipinnatus* extracts can function as antioxidants in biological systems, particularly skin exposed to UV radiation by scavenging ¹O₂ and other ROS, and protect cellular membranes against ROS. Fractions of *Cosmos bipinnatus* extracts can be applicable to new functional cosmetics for antioxidant and whitening.

Keywords : *Cosmos bipinnatus*, antioxidative activity, whitening effect, flavonoids, cosmetics

[†]주저자 (E-mail : snpark@snut.ac.kr)

1. 서론

노화란 세포와 신체조직 전 기관에 걸쳐 일어나는 기능적, 구조적, 생화학적 변화로 체내의 항상성이 붕괴되어 궁극적으로 죽음에 이르는 일련의 과정을 말한다[1-2]. 노화의 원인으로 여러 가지 학설이 제시되고 있지만 크게 두 가지로 구분이 가능하다. 한 가지는 시간의 흐름에 따른 자연적 노화(intrinsic aging) 즉, 피부의 구조적 변화와 생리적 기능이 감소하여 나타나는 노화이고, 다른 한 가지는 자외선, 외부 자극 등 산화적 스트레스에 의한 광노화(photoaging)이다[3-4].

산화적 스트레스는 superoxide, hydrogen peroxide, hydroxyl radical 등과 같은 free radical의 일종인 활성산소종(reactive oxygen species, ROS)에 의해 발생된다[5]. 이들은 세포생체막의 구성 성분인 불포화지방산에 작용해서 과산화반응을 통해 체내에 과산화지질을 축적하고 DNA 손상을 유도해서 노화 및 성인병 질환을 유발한다. 그리고 collagen 및 elastin을 파괴함으로써 주름을 생성하고, 멜라닌 생성 과정에 참여해서 피부 노화를 가속화시킨다[6-7]. 세포는 그러한 ROS에 맞서 대항하고 세포의 산화 환원 항상성을 유지하기 위한 다양한 종류의 메커니즘을 가지고 있다. 그 예로 체내 효소적 항산화제인 superoxide dismutase (SOD), catalase, glutathione peroxidase (GSH-Px), glutathione S-transferase (GST) 등과 비효소적 항산화제인 vitamin C, vitamin E, β -carotene, flavonoids 등이 체내 유해물질과 반응하여 활성산소에 의한 연쇄 반응을 막고 세포를 보호하는 역할을 한다[8-9].

노화와 성인병 질환의 원인이 활성산소라는 학설이 인정되면서 butylated hydroxyanisole (BHA), butylated hydroxytoluene (BHT) 등과 같은 합성 항산화제의 개발을 위한 연구가 꾸준히 진행되어왔다[10-13]. BHA, BHT의 경우 항산화능이 우수하지만 독성이 있다는 연구가 보고되면서[14-16], 인체에 보다 안전하고 효능이 좋은 천연 항산화제의 개발이 요구되는 실정이다. 따라서 본 연구에서는 가을철 주위에서 흔히 볼 수 있으나 관상 목적 외에 그 활용도가 낮은 코스모스를 이용해서 생리활성을 부위별로 비교하고자 하였다.

코스모스(*Cosmos bipinnatus*)는 국화과에 속하는 한해살이풀로 관상용으로 널리 이용되고 있다. 원산지는 멕시코이고, 높이는 1 ~ 2 m로 윗부분에서 가지가 갈라지며 털이 없는 것이 특징이다. 꽃은 6~10월 사이에 피고 가지와 줄기 끝에 두상화가 1개씩 달린다. 한방에서는 추영(秋英)이라는 약재로 뿌리를 제외한 전초를 사용하는데 눈의 충혈과 종기를 치료하는 데 쓰이고, 민간에서는 황달, 간혈적 열병, 비장 비대증에 사용되어 왔다[17-19].

코스모스에 함유된 성분으로 cyanidin 3-O-rutinoside, butein, coreopsin, sulfuretin, sulfurein, butin, luteolin glycoside, quercetin glycoside 등이 알려져 있고[20], helianol과 같은 triterpene alcohols 성분이 항염 효과를 나타낸다고 보고되었다[21]. 현재 코스모스 추출 부위 및 추출 방법에 따른 항산화 활성 및 유전 독성에 관한 연구가 보고되어 있지만[22], 피부 노화 과정에 관여하는 각종 ROS에 대한 총 항산화능 및 세포 보호 활성에 관한 연구는 그 수준이 미미한 실정이다[23-24].

따라서 본 연구에서는 산화적 스트레스가 노화에 미치는 영향에 주안점을 두고, 코스모스의 부위별 추출물을 제조해서 세포 보호 활성과 free radical 소거 활성, 활성산소에 대한 총 항산화능 그리고 tyrosinase 저해 활성을 측정함으로써 항노화 및 미백 기능성 화장품 소재로서의 가능성을 검토하여 그 활용가치를 높이고자 한다.

2. 재료 및 실험

2.1. 기기 및 시약

UV-visible spectrophotometer는 Varian (Australia)사의 Cary 50, 적혈구 광용혈에 사용한 Spectronic 20D는 Milton Roy Co. (USA) 제품, 화학발광기는 Berthold (Germany)사의 6-channel LB9505 LT를, pH meter는 Istek (Korea)사 제품을 사용하였다.

(+)- α -Tocopherol, L-ascorbic acid, arbutin, EDTA (ethylenediamine tetraacetic acid), luminol, 증감제로 사용된 rose-bengal, free radical 소거 활성에 사용한 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) radical은 Sigma (USA)에서 구입하여 사용하였다.

$\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 는 Junsei Chemical Co. (Japan) 제품을, H_2O_2 는 Dae Jung Chemical & Metals (Korea)사 제품을 사용하였다. 완충용액제조에 사용된 $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$, $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, NaCl , 그리고 에탄올(EtOH), 메탄올(MeOH), 에틸아세테이트(EtOAc), 헥산 등 각종 용매는 시판 특급 시약을 사용하였다. 기질로 사용된 L-tyrosine과 효소로 사용된 tyrosinase (9.3 mg solid, 5,370 units/mg solid)는 Sigma Chemical Co. (USA)에서 구입하여 사용하였다.

2.2. 코스모스 부위별 플라보노이드 분획 제조

본 연구에서 사용한 코스모스(*C. bipinnatus*)는 2010년 9월 서울시 노원구 공릉동 서울과학기술대학교 교내에서 채취한 것을 음건하여 사용하였다. 코스모스(*C. bipinnatus*)는 Fig. 1과 같은 방법으로 추출하였다. 코스모스의 잎·줄기 부분과 꽃 부분을 분리하여 건조하였으며 각각 100 g을 잘게 자른 후 50 % 에탄올 1 L를 이용하여 일주일 동안 침적시킨 후 여과하였다. 50 % 에탄올 추출물은 감압·농축한 후 헥산을 이용하여 엽록소 등의 비극성 성분을 제거하였고, 이후 에틸아세테이트로 flavonoid를 추출한 분획을 감압·농축하여 파우더를 얻은 다음 이를 실험에 사용하였다.

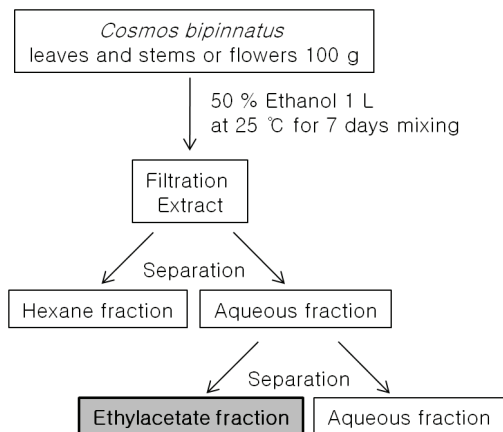


Fig. 1. Scheme for preparation of compounds (ethyl acetate fraction) from *Cosmos bipinnatus*.

2.3. 코스모스 부위별 추출물의 항산화능 측정

2.3.1. DPPH법을 이용한 라디칼 소거 활성

라디칼(free radical) 소거 활성은 식물 추출물의 항산화 효능을 간단히 확인하기 위한 경우나 항산화 화장품 원료들을 비교하기에 적합한 실험법이며 비교적 짧은 시간에 결과를 알 수 있고 실험 방법 또한 간단하다. 코스모스 추출물의 부위별 라디칼 소거 활성을 DPPH법을 통하여 확인하였다. 실험방법을 요약하면 다음과 같다. 메탄올에 용해시킨 0.2 mM DPPH 용액 1 mL에 에탄올과 시료를 각각 1 mL을 첨가하여 섞은 다음 실온에서 10 min 동안 방치 후 spectrophotometer로 517 nm에서 흡광도를 측정하였고 시료를 넣지 않은 경우를 대조군(control)으로 하고 시료를 넣은 것을 실험군(experiment)으로 하였다. DPPH 소거 활성은 아래의 식에 의하여 계산되었으며, DPPH 소거 활성에 따른 추출물의 항산화능은 DPPH의 농도가 50 % 감소되는데 필요한 시료의 농도(free radical scavenging activity concentration, FSC_{50} , $\mu\text{g/mL}$)로서 표기하였다.

$$\text{Inhibition(\%)} = \left\{ 1 - \left[\frac{A_{\text{Experiment}} - A_{\text{Blank}}}{A_{\text{Control}}} \right] \right\} \times 100$$

2.3.2. Luminol 발광법을 이용한

Fe^{3+} -EDTA/ H_2O_2 계에 있어서 활성 산소 소거 활성(총 항산화능)

Luminol 발광법은 선정한 식물 추출물의 총 항산화능을 평가하기에 적절하다. 철을 촉매로 하는 Fe^{3+} -EDTA/ H_2O_2 계에 의해 각종 활성산소종($\text{O}_2^{\cdot -}$, $\cdot\text{OH}$ 그리고 H_2O_2)이 생성되며 이 계를 이용하면 각종 활성산소종의 소거 활성을 측정할 수 있기 때문이다. 추출물의 총 항산화능은 luminol이 활성산소종에 의해 산화되어 나타나는 빛을 화학발광기로 검출하여 측정하였다. 먼저 화학발광 측정용 튜브에 증류수 1.78 mL를 넣고 코스모스 부위별 추출물을 농도별로 넣었다. 여기에 2.5 mM EDTA 40 μL 및 5 mM $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 10 μL 를 가한 후 35 mM luminol 80 μL 를 넣고 흔들어 섞어 주었다. 이어서 화학발광기의 각 채널의 holder에 튜브를 넣고 5 min 동안 항온시킨 후 150 mM H_2O_2 40 μL 를 넣고 화학발광을 25 min 동안 측정하였다. 대조군(control)은 추출물 대신에 증류수를 넣고, 공시험(blank)은 시료군과 조건이 동일하나 H_2O_2 와 $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 대신에 증류수를 넣은 것으로 하였다. 화학발광기 6-channel

LB9505 LT의 각 채널은 실험 전에 보정하여 채널 간의 차이가 거의 없도록 하였다. 화학발광으로 측정된 소거 활성은 다음 식에 의해 계산되었고, 각종 활성산소 소거 활성에 의한 총항산화능은 화학발광의 세기가 50 % 감소되는데 필요한 시료의 농도(reactive oxygen species scavenging activity concentration, OSC₅₀, µg/mL)로서 표기하였다.

Inhibition (%) =

$$\frac{(\text{Control의 cpm} - \text{Sample의 cpm})}{(\text{Control의 cpm} - \text{Blank의 cpm})} \times 100$$

2.4. Photohemolysis법을 이용한 세포 보호 효과 측정

활성산소(특히 ¹O₂)에 의한 세포 손상(또는 파괴)을 모델로 한 적혈구 광용혈 실험은 사람 적혈구를 대상으로 세포 보호 효과를 측정하는 실험이다. 광증감제인 rose-bengal과 빛에 의해 유도된 사람 적혈구의 실제 용혈정도를 측정하여 세포 보호 활성을 확인하기 때문에 선정된 식물 추출물이 자외선에 의한 피부 보호 물질로서 적합한 지에 대한 가능성을 판단하기에 유익할 것이라고 사료된다.

2.4.1. 적혈구 현탁액 제조

적혈구는 건강한 성인 남녀로부터 얻었다. 체혈 즉시 항응고제인 heparin이 첨가된 튜브에 넣은 후, 3,000 rpm으로 5 min 동안 원심 분리하여 적혈구와 혈장을 분리하고, 분리한 적혈구는 0.9 % phosphate buffered saline (pH 7.4, Na₂HPO₄ · 12H₂O 9.6 mM, NaH₂PO₄ · 2H₂O 1.6 mM)으로 세척하여 원심분리한 후 백혈구 층을 제거하였다. 3회 반복하여 세척, 분리한 적혈구는 4 °C의 냉장고에 보관하면서 사용하였고, 모든 실험은 채혈 후 12 h 이내에 행하였다. 광용혈 실험은 이미 확립된 방법에 따라 수행하였고, 실험에 사용된 적혈구 현탁액은 700 nm에서 optical density는 0.6이었으며 이때 적혈구 수는 1.5 × 10⁷ cells/mL이었다.

2.4.2. 코스모스 부위별 추출물의 광용혈 억제 효과

적혈구 현탁액 3.5 mL를 파이렉스 시험관(No. 9820)에 넣은 후, 추출물을 농도별로 각각

50 µL씩 첨가하였다. 암소에서 30 min 동안 사전반응(pre-incubation)시킨 후, 광증감제 rose-bengal (12 µM) 0.5 mL를 가하고 15 min 동안 광조사를 하였다.

광용혈에 필요한 광조사는 내부를 검게 칠한 50 cm × 20 cm × 25 cm 크기의 상자 안에 20 W 형광등을 장치하고, 형광등으로부터 5 cm 거리에 적혈구 현탁액이 담긴 파이렉스 시험관을 형광등과 평행이 되도록 배열한 후 15 min 동안 광조사를 하였다. 광조사가 끝난 후 암반응(post-incubation) 시간에 따른 적혈구의 용혈정도는 15 min 간격으로 700 nm에서 투광도(transmittance, %)를 측정하여 구하였다. 시간에 따른 적혈구의 파괴 즉, 용혈정도는 700 nm의 파장에서 적혈구 현탁액의 투광도의 증가에 비례한다. 코스모스 부위별 추출물의 활성산소종에 대항한 세포 보호 효과는 암반응 시간과 용혈정도로 구성된 그래프로부터 적혈구의 50 %가 용혈되는 시간인 τ₅₀을 구하여 비교하였다. 대조군(control)은 τ₅₀이 31 min으로 오차 범위 ± 1 min 이내로 모든 경우의 실험에서 재현성이 양호하게 나타났다. Rose-bengal을 첨가하고 광조사를 안 했을 경우와 rose-bengal을 첨가하지 않고 광조사만 했을 경우는 모두 암반응 120 min까지는 용혈이 거의 일어나지 않았다. 모든 실험은 4회 반복하여 평균하였다.

2.5. Tyrosinase 저해 활성 측정

멜라닌의 체내 생성 과정은 매우 복잡적이기 때문에 멜라닌 함량을 감소시키거나 표피로 전달되는 과정을 차단하기 위한 미백 효능 평가는 다양한 방법으로 연구되고 있다. Tyrosinase 활성 억제 효능 평가, tyrosinase glycosylation 억제 효능 평가, c-kit 저해 효능 평가 그리고 melanosome transfer 저해 효능 평가 등을 예로 들 수 있으며 그 중 tyrosinase 저해 활성 평가법은 L-tyrosine이 L-3,4-dihydroxyphenylalanine (L-DOPA)를 걸쳐 DOPA quinone으로 산화되는 과정의 전체 반응 속도를 결정하는 tyrosinase 효소의 효능을 억제하는 정도를 측정하는 방법이기 때문에 이는 미백 활성을 평가하는데 매우 유용하다. L-tyrosine (0.3 mg/mL) 1.0 mL, potassium phosphate buffer (0.1 M, pH 6.8) 1.85 mL, 시료 0.05 mL, 그리고 tyrosinase (5,370 units/mL) 0.1 mL를 혼합한 후 37 °C에서 10

min 동안 항은 배양한 다음, 반응혼합물을 얼음수조에 넣어 반응을 종결시키고, 475 nm에서 흡광도를 측정하였다. 추출물의 tyrosinase 저해 활성은 tyrosinase 활성을 50 % 감소시키는데 필요한 시료의 농도(inhibition concentration, IC₅₀, µg/mL)로 표기하였다.

2.6. 통계처리

모든 실험은 3회 반복하였고 통계분석은 5 % 유의수준에서 Student's *t*-test를 행하였다.

3. 결과 및 고찰

3.1. 코스모스 부위별 추출물의 항산화 활성

3.1.1. DPPH법을 이용한 Free Radical 소거활성

(+)-α-Tocopherol, L-ascorbic acid 등의 항산화제는 활성산소종에 의해 개시된 연쇄반응을 종결시키는데, 이때의 전자 공여능이 환원력이며 환원력이 클수록 강력한 항산화제라고 할 수 있다. 코스모스의 항산화능을 DPPH와의 반응을 통하여 알아보았다.

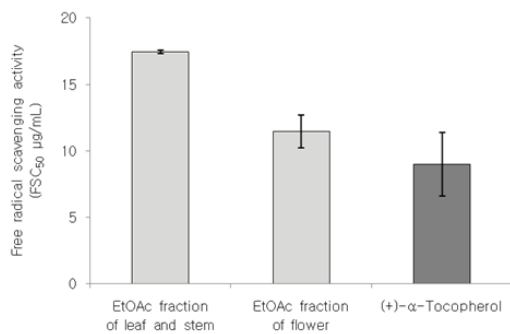


Fig. 2. Free radical scavenging activity of ethyl acetate fraction of extracts from *C. bipinnatus* and reference.

코스모스(*C. bipinnatus*) 부위별 추출물들의 라디칼 소거 활성(FSC₅₀) 측정 결과를 측정하였을 때 코스모스 잎·줄기의 에틸아세테이트 분획인 경우는 17.45 µg/mL, 꽃 추출물의 에틸아세테이트 분획(Fig. 2)은 11.48 µg/mL로 나타났으며, 비교물질로 사용한 (+)-α-tocopherol의 FSC₅₀는 8.98 µg/mL로 나타났다(Fig. 2). 코

스모스의 두 가지 부위별 추출물 모두 지용성 항산화제인 (+)-α-tocopherol보다 라디칼 소거 활성이 우수하지는 않지만, 코스모스 꽃 추출물은 잎·줄기의 추출물보다 우수한 DPPH 소거 활성을 나타냄을 확인할 수 있다.

3.1.2. Luminol 발광법을 이용한

Fe³⁺-EDTA/H₂O₂ 계에 있어서 활성 산소 소거 활성(총 항산화능)

Luminol은 Fe³⁺-EDTA/H₂O₂ 계에서 생성된 활성산소종에 의해 산화되어 들뜬 상태의 아미노프탈산이 된 후 420 ~ 450 nm에서 발광한다. 코스모스 잎·줄기 추출물 그리고 꽃 추출물의 농도에 따른 활성산소 소거율을 Fig. 3에 나타내었으며 에틸아세테이트 분획의 활성산소 소거 활성(총 항산화능, OSC₅₀)은 0.72 µg/mL으로, 코스모스 꽃 추출물의 에틸아세테이트 분획의 활성산소 소거 활성은 0.56 µg/mL로 나타났다. 비교물질은 대표적인 수용성 항산화제인 L-ascorbic acid를 사용하였으며 L-ascorbic acid의 총 항산화능은 1.50 µg/mL로 나타났다. 코스모스 꽃 추출물의 에틸아세테이트 분획의 경우 L-ascorbic acid보다 약 3배 정도의 뛰어난 활성산소 소거 활성을 나타내었다(Fig. 4).

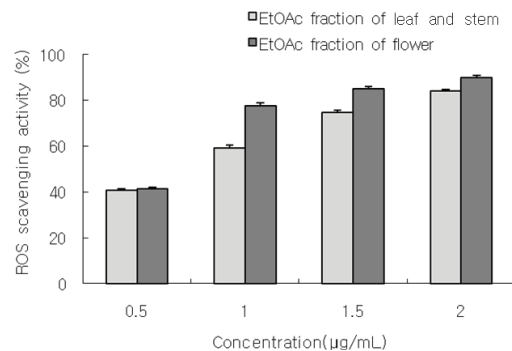


Fig. 3. Reactive oxygen species scavenging activity of ethyl acetate fraction of extracts from *C. bipinnatus*.

3.2. ¹O₂으로 유도된 사람 적혈구의 파괴에 대한 세포 보호 효과

코스모스 부위별 추출물의 에틸아세테이트 분획의 활성산소에 의한 세포 손상에 대한 보호 효과를 적혈구 광용혈법으로 측정하였고, 코스모스 꽃 추출물의 에틸아세테이트 분획의

농도에 따른 세포 보호 효과를 Fig. 5에 나타내었다.

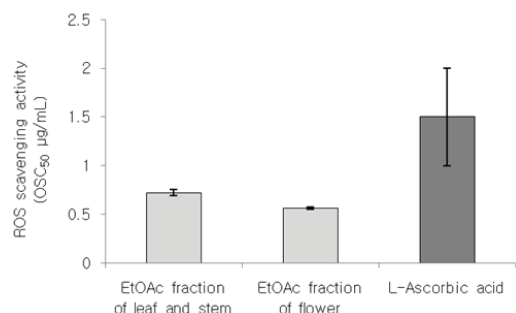


Fig. 4. Reactive oxygen species scavenging activity of ethyl acetate fraction of extracts from *C. bipinnatus* and reference in Fe³⁺-EDTA/H₂O₂ system by luminol-dependent chemiluminescence assay.

적혈구 세포가 50 % 파괴되는데 걸리는 시간(τ_{50})은 세포 보호 활성이 클수록 크게 나타난다. 코스모스 잎·줄기 추출물의 에틸아세테이트 분획의 경우는 적혈구 세포가 50 % 파괴되는데 걸리는 시간(τ_{50})이 농도 범위 10 µg/mL, 25 µg/mL, 50 µg/mL에서 각각 33.80 min, 44.90 min, 76.70 min, 코스모스 꽃 추출물의 에틸아세테이트 분획의 경우 같은 농도 범위에서 각각 41.40 min, 64.30 min, 124.70 min으로 농도-의존적인 세포 보호 효과를 나타내었다. 코스모스 추출물들의 세포 보호 효과는 각 농도에서 코스모스 잎·줄기 추출물에 비해

여 꽃 추출물이 우수하게 나타났고, 비교물질로 사용한 지용성 항산화제 (+)- α -tocopherol의 세포 보호 효과는 10 µg/mL, 25 µg/mL, 50 µg/mL에서 각각 34.00 min, 40.00 min, 58.00 min으로 나타났으며, 동일 농도 50 µg/mL에서 (+)- α -tocopherol (58.00 min)과 코스모스 꽃 추출물(124.70 min)을 비교하였을 때, 코스모스 꽃 추출물의 세포 보호 효과가 더 크음을 알 수 있다.

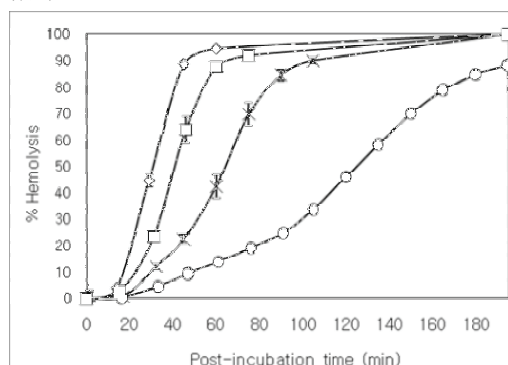


Fig. 5. Cellular protective effects of *C. bipinnatus* flower extracts (ethyl acetate fraction) against ¹O₂-induced photohemolysis of human erythrocytes (Control = 31 ± 1.0). Irradiation time: 15 min, pre-incubation time: 30 min, [rose-bengal] = 12 µM, concentrations of ethyl acetate fraction from *C. bipinnatus* extract; ◆-◆: control, ■-■: 10 µg/mL, X-X: 25 µg/mL, ●-●: 50 µg/mL.

Table 1. Effects of ethyl acetate fractions of extracts from different parts of *Cosmos bipinnatus* and reference compounds on the Rose-bengal sensitized photohemolysis of human erythrocytes

	τ_{50} (half time of hemolysis ¹⁾)		
Concentration (µg/mL)	10	25	50
<i>Cosmos bipinnatus</i> leaf and stem extract (ethyl acetate fraction)	33.80 ± 1.14	44.90 ± 0.42	76.70 ± 3.40
<i>Cosmos bipinnatus</i> flower extract (ethyl acetate fraction)	41.40 ± 1.38	64.30 ± 2.48	124.70 ± 3.43
(+)- α -Tocopherol	34.00 ± 1.80	40.00 ± 1.30	58.00 ± 1.50

¹⁾Control, τ_{50} = 31.00 ± 1.00 min

3.3. Tyrosinase 저해 활성

Tyrosinase는 멜라닌 생성에 관여하는 효소이다. Tyrosinase는 L-tyrosine의 멜라닌 생합성 과정에서 L-tyrosine에서 DOPA로의 산화, DOPA에서 DOPA quinone으로의 산화 그리고 5,6-dihydroxyindole (DHI)로부터 eumelanin으로의 전환을 촉매하는 핵심적인 효소이다. 따라서 tyrosinase 저해 활성을 측정함으로써 미백 효능을 확인할 수 있다.

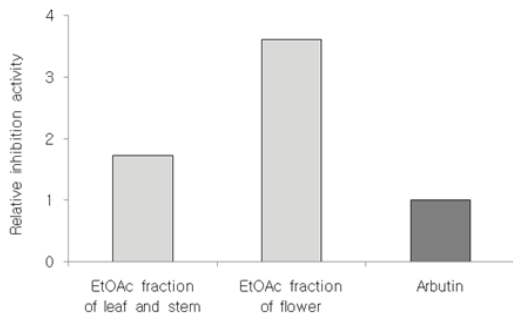


Fig. 6. Relative inhibition activity of ethyl acetate fractions of extracts from different parts of *Cosmos bipinnatus* and arbutin on tyrosinase.

코스모스 부위별 추출물 중 잎·줄기의 에틸아세테이트 분획의 경우에 tyrosinase 저해 활성(IC₅₀)은 131.00 µg/mL, 코스모스 꽃 추출물의 에틸아세테이트 분획의 tyrosinase 저해 활성은 62.75 µg/mL으로 나타났으며, 비교 물질로는 기능성 미백 원료로 잘 알려진 arbutin을 사용하였다. Arbutin의 tyrosinase 저해 활성은 226.88 µg/mL로 나타났으며(Table 2), arbutin과 비교하여 볼 때 코스모스 잎·줄기 추출물은 약 1.7배, 코스모스 꽃 추출물은 약 3.5배 더 우수한 저해 활성을 나타냄을 알 수 있다(Fig.

6). 코스모스 꽃 추출물의 에틸아세테이트 분획은 미백 기능성 화장품 원료로서 사용하기에 충분한 가능성이 있다고 사료된다.

4. 결 론

1. 코스모스 부위별 추출물의 라디칼 소거 능력(FSC₅₀)을 비교하였을 때 잎·줄기 추출물의 에틸아세테이트 분획은 FSC₅₀이 17.45 µg/mL로 나타났고, 꽃 추출물의 에틸아세테이트 분획은 11.48 µg/mL로 꽃 추출물이 잎·줄기 추출물보다 더 우수한 라디칼 소거 능력을 나타냈다.
2. 코스모스 부위별 추출물의 활성산소 소거 활성(OSC₅₀)을 비교하였을 때 잎·줄기 추출물의 에틸아세테이트 분획은 OSC₅₀이 0.72 µg/mL, 꽃 추출물의 에틸아세테이트 분획은 0.56 µg/mL로 나타났으며 꽃 추출물의 경우 L-ascorbic acid (1.50 µg/mL)에 비하여 약 4.5배 더 우수한 활성산소 소거 능력을 나타냈다.
3. ¹O₂으로 유도된 적혈구의 광용혈에 대한 적혈구 세포 보호 효과를 측정하였을 때, 코스모스 잎·줄기, 꽃 추출물 에틸아세테이트 분획은 각각 농도 범위(10 ~ 50 µg/mL)에서 농도-의존적으로 ¹O₂에 의해 유도된 적혈구의 용혈을 크게 억제하였다. 특히, 코스모스 꽃 추출물(τ₅₀, 41.40 min)은 같은 농도에서 지용성 항산화제인 (+)-α-tocopherol (τ₅₀, 38.00 min)과 비슷한 세포 보호 효과를 나타내었다.
4. 코스모스 부위별 추출물 중 잎·줄기 추출물의 에틸아세테이트 분획과 꽃 추출물의 에틸아세테이트 분획의 tyrosinase 저해활

Table 2. Inhibitory activity of ethyl acetate fractions of extracts from different parts of *Cosmos bipinnatus* and reference on tyrosinase

Compounds	Inhibition
	(IC ₅₀ , µg/mL)
<i>Cosmos bipinnatus</i> leaf and stem extract	131.00 ± 2.49
<i>Cosmos bipinnatus</i> flower extract	62.75 ± 3.37
Arbutin	226.88 ± 1.03

성(IC₅₀)은 각각 131.00 µg/mL, 62.75 µg/mL로 나타났고, 꽃 추출물의 경우 arbutin (226.88 µg/mL)에 비해 약 3.5배 더 우수한 tyrosinase 저해 활성을 나타내었다.

이상의 결과들로 미루어 볼 때 코스모스의 부위별 추출물 중에서 꽃 추출물의 경우 항산화능, 세포 보호 효과 및 tyrosinase 저해 활성이 잎·줄기 추출물보다 더 우수하게 나타났으며, 이는 항산화제 그리고 기능성 미백 화장품 원료로서 코스모스 꽃 추출물의 응용 가능성을 시사하며 이에 대한 보다 광범위한 연구가 필요할 것으로 사료된다.

감사의 글

본 연구는 보건복지부 보건의료연구개발사업의 지원에 의하여 이루어진 것으로 이에 감사드립니다(과제 고유번호 : A092055).

참고문헌

1. R. L. Bowen, C. S. Atwood, Living and dying for sex. A theory of aging based on the modulation of cell cycle signaling by reproductive hormones, *Gerontology*, **50**(5), 265 (2004).
2. D. N. J. Aubrey, de Grey, Life span extension research and public debate: societal considerations, *Studies in Ethics, Law, and Technology*, 1(1, Article 5), (2007).
3. W. Meinhard, T. B. Iiana, N. Lale, M. Wenjian, A. S. Lars, R. W. Ziba, S. Jutta, and S. K. Karin, Solar UV irradiation and dermal photoaging, *Journal of Photochemistry and Photobiology*, **63**, 41 (2001).
4. W. G. Cho, Anti-oxidative activity and trace component of a sprout serum, *J. of the Korean Oil Chemists' Soc.*, **27**(1), 14 (2010).
5. M. H. Gordon, Dietary antioxidants in disease prevention, *Nat Prod Red*, **13**, 265 (1996).
6. W. Ma, M. Wlaschek, P. Brenneisen, L. A. Schneider, C. Hommel, C. Hellweg, H. Sauer, M. Wartenberg, G. Herrmann, C. Meewes, P. Boukamp, and K. S. Kochanek, Human dermal fibroblasts escape from the long-term phenocopy of senescence induced by psoralen photoactivation, *Experimental Cell Research*, **274**, 299 (2002).
7. S. N. Park, Skin aging and antioxidant, *J. Soc. Cos. Sci. Kor.*, **23**(1), 75 (1997).
8. R. G. Allen, M. Tresini, Oxidative stress and gene regulation, *Free Radic Biol Med.*, **28**, 463 (2000).
9. J. H. Kim, Y. J. Ahn, and S. N. Park, Antioxidative activity of securinoga suffruticosa extract, *J. of the Korean Oil Chemists' Soc.*, **26**(3), 269 (2009)
10. H. Wefers, T. Komai, P. Talalay, and H. Sies, Protection against reactive oxygen species by NAD(P)H: quinone reductase induced by the dietary antioxidant butylated hydroxyanisole(BHA). Decreased hepatic low-level chemiluminescence during quinone redox cycling, *FEBS Letters*, **169**, 63 (1984).
11. F. Iverson, *In vivo* studies on butylated hydroxyanisole, *Food and Chemical Toxicology*, **37**(10), 993 (1999).
12. H. Ahmad, R. Sharma, A. Mansour, Y. C. Awasthi, t-Butylated hydroxytoluene enhances intracellular levels of glutathione and related enzymes of rat lens in vitro organ culture, *Exp. Eye Res.*, **54**, 41 (1992).
13. C. R. Lambert, H. S. Black, and T. G. Truscott, Reactivity of butylated hydroxytoluene, *Free Radical Biology & Medicine*, **21**(3), 395 (1996).
14. I. C. Kim, S. S. Hur, Antioxidative properties and whitening effects of the *Astragali Radix*, *Atractylodis Rhizoma Alba* and *Acanthopanax Cortex*, *J. of the Korean Oil Chemists' Soc.*, **26**(2), 110

- (2009)
15. A. L. Branen, Toxicological and biochemistry of butylated hydroxytoluene, butylated hydroxyanisole, *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **52**, 59 (1975).
 16. S. Fujisawa, T. Atsumib, Y. Kadomac, and H. Sakagamid, Antioxidant and prooxidant action of eugenol-related compounds and their cytotoxicity, *Toxicology*, **177**(1), 39 (2002)
 17. M. Molder, J. N. Owens, Cosmos. In: Halevy AH (ed) CRC handbook of flowering, CRC, Boca Raton, FL (1985).
 18. C. B. Lee, Illustrated flora of Korea, Hyangmoons., Seoul (1999).
 19. S. B. Alexandros, Plants used traditionally to treat malaria in Brazil, *J. Ethnobiol Ethnomed*, **3**, 18 (2007).
 20. A. B. Bohm, and T. F. Stuessy, Flavonoids of the sunflower family (Asteraceae), Springer-Verlag Wien New York, Austria (2001).
 21. T. Akihisa, K. Yasukawa, H. Oinuma, Y. Kasahara, S. Yamanouchi, M. Takido, K. Kumaki, and T. Tamura, Triterpene alcohols from the flowers of compositae and their anti-inflammatory effects. *Phytochemistry*, **43**, 1255 (1996).
 22. I. C. Jang, J. H. Park, E. J. Park, H. R. Park, and S. C. Lee, Antioxidative and antigenotoxic activity of extracts from cosmos (*Cosmos bipinnatus*) flowers, *Plant Foods Hum Nutr.*, **63**, 205 (2008).
 23. J. H. Woo, S. L. Shin, and C. H. Lee, Antioxidant effects of ethanol extracts from flower species of compositae plant, *J Kor. Soc. Food Sci. Nutr.*, **39**(2), 159 (2010).
 24. J. H. Woo, S. L. Shin, Y. D. Chang, and C. H. Lee, Antioxidant effect according to extraction method in extracts of *Dendranthema zawadskii* var. *yezoense* and *Cosmos bipinnatus*, *Kor. J. Hort. Sci. Technol.*, **28**(3), 462 (2010)