

## 흰민들레 에탄올 추출물 및 분획물의 항산화 및 항균활성과 Tyrosinase 저해활성

임도연\* · 이경인\*\*.\*.\*.\*.\*†

\*광주여자대학교 미용과학과, \*\*동신대학교 생물자원산업화지원센터, \*\*\*조선대학교 바이오신약개발학과

### Antioxidative and Antibacterial Activity and Tyrosinase Inhibitory Activity of the Extract and Fractions from *Taraxacum coreanum* Nakai

Do Youn Im\* and Kyoung In Lee\*\*.\*.\*.\*.\*†

\*Department of Beauty Science, Kwangju Women's University, Gwangju 506-713, Korea.

\*\*Biotechnology Industrialization Center, Dongshin University, Naju 520-811, Korea.

\*\*\*Department of New Drug Development, Chosun University, Gwangju 501-759, Korea.

**ABSTRACT :** In this study, we investigated antioxidative activity, antibacterial activity against pathogenic strains including methicillin resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA), and tyrosinase inhibitory activity in 75% ethanol extract of *Taraxacum coreanum* and its fractions. The total polyphenol and flavonoid contents of the extract were 238.59 mg/g and 33.18 mg/g and the total polyphenol and flavonoid contents of the ethyl acetate fraction were 427.81 mg/g and 148.90 mg/g as the highest content of fractions. In DPPH radical scavenging ability, SC<sub>50</sub> values of the ethyl acetate and butanol fraction were 38.40 µg/ml and 82.28 µg/ml, respectively. In antibacterial activity by the disc diffusion assay against *S. aureus*, *S. epidermidis* and MRSA, the ethyl acetate fraction showed stronger antibacterial activity than other fractions and the extract. Especially, the ethyl acetate fraction was exhibited effective antibacterial activity against MRSA. In the cytotoxicity measurement by MTT assay, the extract and fractions were exhibited Raw 264.7 cell viabilities of 96.32~143.21% as nontoxic result in concentration of 5~100 µg/ml. As a result, the ethyl acetate fraction of the 75% ethanol extract from *T. coreanum* could be applicable to functional materials for related fields.

**Key Words :** *Taraxacum coreanum*, Antioxidative Activity, Tyrosinase Inhibitory Activity, Antibacterial Activity, Cytotoxicity

## 서 언

인간과 같은 생체에서는 호흡과 에너지 생성 등 다양한 생명유지 활동의 결과로 각종 radical을 포함한 다양한 활성산소종 (reactive oxygen species, ROS)이 생성된다. 이러한 활성산소종은 세포 구성 성분들인 지질이나 단백질, DNA 등을 비가역적으로 파괴함으로써 암이나 각종 염증, 심혈관계 질환 등의 원인으로 작용하는 물론 피부질환이나 노화의 직간접적인 원인으로 작용하게 된다 (Videla and Fernandez, 1988; Fridovich, 1989). 또한 최근 들어 중요도가 높아지는 분야 중의 하나가 바로 건강한 피부와 관련된 것인데, 그 중에서도 피부 미백에 대한 관심이 남녀노소를 가리지 않고 높아지고 있다. 특히 각질형성세포에 존재하는 melanin의 양상에 따라 피부색이나 색소침착여부가 좌우되므로 melanin 생성과정에

관여하는 효소인 tyrosinase를 저해하는 활성이 중요하게 다뤄지고 있으며, 약용식물 등 천연물에서 이와 관련된 활성을 가진 소재를 찾으려는 연구가 진행되고 있다 (Jung *et al.*, 1995).

이와 함께 다양한 병원성 미생물에 대한 항균력을 가지는 물질의 탐색 분야에서도 천연물이 주요한 연구 대상이 되고 있다 (Seo *et al.*, 2010; Lee *et al.*, 2011). 우리에게 잘 알려진 바와 같이 penicillin이 개발된 1940년 이후 수많은 감염성 질환의 완치가 가능해졌지만 항생제가 도입된 지 불과 60여년만인 2000년대 초부터 항생제 내성 균주에 의한 감염이 전 세계적으로 문제가 되면서 새로운 항생제 개발에 많은 노력이 이루어져 왔다. 그러나 세균의 내성 발현 속도에 비해 아직까지 신약의 개발 속도는 느린 편이며 또 개발되더라도 사용 후 짧은 시간 안에 약제 내성이 보고되고 있다 (Lee, 2009; Song, 2009). 따라서 효과적인 항생제의 개발 못지않게

†Corresponding author: (Phone) +82-61-336-3104 (E-mail) kilee@bic.re.kr

Received 2011 July 28 / 1st Revised 2011 August 11 / 2nd Revised 2011 August 12 / Accepted 2011 August 13

기존의 항생제의 적절한 활용과 내성을 최소화시키는 노력이 필요한 상황인데 이와 관련하여 생약재 등 약용식물에서 항균 활성을 가지거나 증가시켜 줄 수 있는 물질을 찾으려는 연구가 진행되고 있다 (Lee *et al.*, 2010).

흰민들레 (*Taraxacum coreanum*)는 국화과 (Compositae)의 여러해살이 풀인 민들레의 한 품종으로써 오랫동안 약용식물로 사용되어 왔다. 포공영 (浦公英)이란 한약재로 알려진 민들레는 지상부를 건조한 것으로 열을 내리고 해독과 이뇨에 효과가 있으며, 염증이나 종기를 낮게 하며, 간과 담낭질환에 효과가 있다고 알려져 있다 (Kang and Kim, 2001). 흰민들레 (*T. coreanum*)는 우리나라 각 지역에 자라는 재래종으로 노랑민들레 (*T. mongolicum*)와 비슷하지만 꽃이 흰색인 것이 특징이다. 민들레는 부위별로 hydroxycinnamic acid, chlorogenic acid, caffeic acid 등과 같은 페놀성 화합물과 비타민류, taraxasterol 등 식물성 스테로이드 화합물 등을 함유하고 있는 것으로 보고되고 있다. 이러한 성분들과 함께 항균, 항염증, 항산화, 항암, 항당뇨, 면역 관련 활성, 위장보호 효과 등 다양한 생리활성을 나타내는 것으로 국내외에서 연구되어 왔다 (Akashi *et al.*, 1994; Katrin *et al.*, 2006; Kim and Kim, 2011; Han *et al.*, 2005; Yoon, 2008; Lee and Lee, 2008; Heo and Wang, 2008). 최근에 흰민들레의 피부관련 생리활성 연구에서 여러 가지 가능성을 확인하여 보고 한 바 있었으나 열수추출물과 그 분획물을 대상으로 한 결과로서 일반적으로 활성이 더 높다고 알려진 에탄올 추출물을 대상으로 한 추가적인 연구를 진행하였다 (Lee and Im, 2011). 본 연구에서는 흰민들레 75% 에탄올 추출물과 그 용매별 분획물의 항산화 활성을 비롯한 tyrosinase 저해활성과 일반 병원성 세균 및 항생제 내성균에 대한 항균 활성, 세포독성 등을 조사하여 약용 작물 유래의 기능성 소재로서의 가능성을 확인하고자 하였다.

## 재료 및 방법

### 1. 재료

본 실험에 사용한 흰민들레 (*T. coreanum*)는 2011년 5월 전라남도 영광 지역에 자생하는 것을 채집한 것으로 수세 후 50에서 건조시킨 다음 4°C 이하로 냉장보관하면서 실험에 사용하였다.

### 2. 추출 및 분획

건조된 흰민들레 시료 300 g을 blender를 사용하여 마쇄한 후 75% 에탄올 10 l 를 추출 용매로 하여 60°C에서 3시간씩 3회 반복하여 환류추출을 실시하였다. 추출액은 여과와 농축 및 동결건조를 실시하여 분말화된 추출물 88 g (수율 29.3%)을 얻었으며, 이 중 50 g을 증류수 1 l 에 분산시킨 후 동량의 hexane, chloroform (CHCl<sub>3</sub>), ethylacetate (EtOAc), butanol

(BuOH)을 사용하여 순차적으로 3회 반복하여 용매분획을 실시하였다. 분획된 시료는 여과와 농축 및 동결건조 후 추출물과 함께 4°C 이하로 냉장보관하면서 실험에 사용하였는데, hexane, chloroform, ethylacetate, butanol 및 aqueous 분획의 수율은 각각 10.54%, 2.29%, 1.62%, 10.37% 및 75.18%로 나타났다.

### 3. 세포주 배양

세포독성 실험에 사용된 Raw 264.7 세포주는 10% FBS와 1% penicillin-streptomycin을 혼합한 DMEM (Dulbecco's Modified Eagle Medium)배지를 사용하여 37°C, 5% CO<sub>2</sub> 조건에서 배양하였다.

### 4. 미생물 균주 배양

항균 실험에 사용된 *Staphylococcus aureus* (KCTC 3881), *Staphylococcus epidermidis* (KCTC 1917)와 항생제 내성균주인 MRSA (CCARM 3696)를 nutrient agar 및 broth 배지를 사용하여 37°C의 통기적 환경에서 배양하였다.

### 5. 총 polyphenol 함량 측정

Folin-Denis법을 이용하여 추출물 및 분획물의 페놀성 화합물 함량을 측정하였다. Methanol에 1 mg/ml 농도로 용해시킨 시료액 80 µl와 Folin-Denis reagent 80 µl를 혼합하여 3분간 반응시킨 뒤 10% Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 80 µl를 혼합하여 1시간동안 암실에서 반응시킨 후, 상등액 120 µl를 취하여 96-well plate에 옮겨 700 nm에서 흡광도를 측정하였다. 표준물질로 tannic acid를 0~500 µg/ml의 농도로 제조하여 시료와 동일한 방법으로 분석하여 표준 검량선을 작성하고 페놀성 화합물의 함량을 mg/g tannic acid로 나타내었다.

### 6. 총 flavonoid 함량 측정

페놀성 화합물중 특히 여러 가지 기능성을 나타내는 것으로 알려진 flavonoid 함량을 알아보기 위해 Moreno 등의 방법을 변형하여 다음과 같이 측정하였다 (Moreno *et al.*, 2000). 1 mg/ml 농도로 methanol에 용해시킨 시료액 100 µl와 10% aluminium nitrate 20 µl, 1 M potassium acetate 20 µl, methanol 860 µl를 차례로 혼합하여 40분간 반응시킨 후 415 nm에서 흡광도를 측정하였다. 표준물질로 rutin 0~500 µg/ml의 농도로 제조하여 시료와 동일한 방법으로 표준 검량선을 작성하고 총 flavonoid 함량을 mg/g으로 나타내었다.

### 7. DPPH radical 소거능 측정

추출물과 분획물의 항산화활성을 비교하기 위해 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH)을 사용하여 radical 소거능을 측정하였다 (Blois, 1958). Methanol에 농도별로 용해시킨

각 시료액 20  $\mu\text{l}$ 와 200  $\mu\text{M}$  DPPH 용액 180  $\mu\text{l}$ 를 혼합하여 15분간 암실에서 반응시킨 후 microplate reader를 사용하여 517 nm에서 흡광도를 측정하였다. 시료액 대신 methanol을 사용한 blank의 흡광도를 기준으로 소거능을 산출하였으며, 50%의 DPPH radical을 소거하는데 필요한 농도 ( $\text{SC}_{50}$ )를 추가적으로 계산하였다. Positive control로 ascorbic acid (vitamin C)를 사용하였다.

#### 8. Superoxide dismutase (SOD) 유사 활성

SOD 유사활성 측정은 Marklund와 Marklund (1975)의 방법에 따라 pyrogallol의 생성량을 측정하여 나타내었다. 각 농도별 시료액 40  $\mu\text{l}$ 에 pH 8.5로 보정한 Tris-HCl buffer 120  $\mu\text{l}$ 와 7.2 mM pyrogallol 20  $\mu\text{l}$ 를 가하고 25°C에서 10분간 반응시켰다. 그 후 1N HCl 20  $\mu\text{l}$ 을 가하여 반응을 정지시키고 420 nm에서 흡광도를 측정하였다. Positive control로 ascorbic acid (vitamin C)를 사용하였으며, 시료액 대신 증류수를 사용한 대조군의 결과를 기준으로 소거능을 계산하였다.

#### 9. Nitric oxide 소거능 측정

Nitric oxide 소거능은 Marocci 등의 방법을 변형하여 다음과 같이 측정하였다 (Marocci *et al.*, 1994). 10mM sodium nitroferricyanide (III) dihydrate 50  $\mu\text{l}$ 와 증류수에 일정농도로 용해시킨 시료액 30  $\mu\text{l}$ 를 혼합한 후 25°C에서 150분 동안 반응시켰다. 1% sulfanilamide (in 30% acetic acid) 60  $\mu\text{l}$ 를 혼합하고 5분 후 다시 0.1% N-(naphthyl)ethylenediamine dihydrochloride (in 60% acetic acid) 60  $\mu\text{l}$ 를 혼합하여 30분간 실온에서 반응시킨 후 520 nm에서 흡광도를 측정하였다. Positive control로 ascorbic acid (vitamin C)를 사용하였으며, 시료액 대신 증류수를 사용한 대조군의 결과를 기준으로 소거능을 계산하였다.

#### 10. Tyrosinase 저해 활성 측정

Tyrosinase의 작용 결과 생성되는 DOPA chrome을 비색법에 의해 측정하는 방법을 변형하여 측정하였다 (Jung *et al.*, 1995). 0.1 M phosphate buffer 100  $\mu\text{l}$ 와 농도별 시료액 20  $\mu\text{l}$ 를 혼합하여 5분간 실온에서 반응시켰다. 반응액에 0.1 M phosphate buffer에 용해시킨 tyrosinase (1 K unit/ml) 30  $\mu\text{l}$ 와 1.5 mM tyrosine 30  $\mu\text{l}$ 를 혼합하여 37°C에서 10분간 반응시켰다. 반응이 완료되면 490 nm에서 흡광도를 측정하였으며, 시료액 대신 buffer 용액을 사용한 blank의 흡광도를 기준으로 저해 활성을 산출하였고, positive control로 ascorbic acid (vitamin C)를 사용하였다.

#### 11. Disc diffusion assay에 의한 항균활성 측정

추출물 및 분획물의 항균활성은 각 균주를 대상으로 disc

diffusion assay를 이용하여 측정하였다. 항균시험용 평판배지는 계대 배양된 각 균주를 멸균 면봉을 이용하여 100  $\mu\text{l}$ 씩 도말하여 준비하였고, 시료를 disc당 0.5, 1, 3 mg이 되도록 paper disc (직경 6 mm)에 천천히 흡수시킨 뒤 건조과정을 거쳐 용매를 휘발시킨 후 평판배지 위에 밀착시킨 상태로 37°C에서 24시간 배양한 후 disc 주변에 생성된 저해환 (clear zone, mm)을 측정하여 항균활성을 비교하였다.

#### 12. MTT assay에 의한 세포독성 측정

추출물 및 분획물의 세포독성은 MTT assay 방법에 의해 측정하였다 (Shin *et al.*, 2003). 배양된 Raw 264.7 세포를 96-well plate에  $1 \times 10^4$  cells/well의 농도로 분주하여 24시간 배양하여 부착 및 안정화시킨 후, 농도별로 희석한 시료를 처리하여 24시간 동안 배양하였다. PBS에 5 mg/ml의 농도로 용해시켜 제조한 MTT용액을 각 well에 10  $\mu\text{l}$ 씩 가하고, 37°C, 5%  $\text{CO}_2$  조건에서 4시간 동안 반응시켜 MTT가 환원되도록 하였다. 배지를 제거한 후, 각 well에 100  $\mu\text{l}$ 의 DMSO를 첨가하여 생성된 formazan 결정을 용해시켜 540 nm에서 흡광도를 측정하였으며, 시료액 대신 PBS를 사용한 blank의 흡광도를 기준으로 세포 생존을 산출하였다.

#### 13. 통계분석

모든 측정값은 3회 이상 반복 실험한 결과의 평균값과 표준편차 (mean  $\pm$  SD)로 표시하였고, 각 실험군 간의 통계학적 분석은 windows용 SPSS 12.0 (SPSS Inc, Chicago, IL, USA)을 이용하였다. 각 군 간의 측정치 비교는 one-way analysis of variance (ANOVA)를 시행하였으며, 유의성은 신뢰구간  $p < 0.05$ 에서 의미를 부여하였다.

### 결과 및 고찰

#### 1. 총 polyphenol 및 flavonoid 함량

Polyphenol은 식물의 대표적인 2차 대사산물로 hydroxyl기를 가지는 방향족 화합물로서 다양한 생리활성에 관여하는 것으로 알려져 있으며, 강력한 항산화 활성을 기반으로 여러 가지 관련 활성을 가지는 것으로 알려져 있다. 한편, polyphenol류의 한 종류인 플라보노이드는 superoxide, hydroxy radical과 같은 세포손상을 초래하는 free radical을 없애주는 항산화 활성을 비롯하여 항암, 항균 등 다양한 생리활성을 가지는 것으로 알려져 있다 (Liu, 2004; Manach *et al.*, 2005; Ryu *et al.*, 2010).

흰민들레 75% 에탄올 추출물과 분획물의 총 polyphenol과 flavonoid 함량 측정 결과를 Table 1에 나타내었다. 추출물의 polyphenol과 flavonoid 함량이 238.59 mg/g과 33.18 mg/g으로 나타났는데 polyphenol의 함량은 항산화 활성 등이 알려진 토

**Table 1.** Total polyphenol and flavonoid content in the extract and fractions from *T. coreanum*.

	Extract	Fractions				
		Hexane	CHCl <sub>3</sub>	EtOAc	BuOH	Aqueous
Polyphenol (mg/g TAE <sup>†</sup> )	238.59±11.74 <sup>b</sup>	46.66±6.79 <sup>d</sup>	89.91±2.94 <sup>c</sup>	427.81±16.08 <sup>a</sup>	223.81±3.08 <sup>b</sup>	60.83±5.99 <sup>d*</sup>
Flavonoid (mg/g RE <sup>‡</sup> )	33.18±1.36 <sup>c</sup>	9.89±5.42 <sup>d</sup>	39.32±1.65 <sup>c</sup>	148.90±9.85 <sup>a</sup>	56.83±6.59 <sup>b</sup>	14.95±1.13 <sup>d</sup>

<sup>†</sup>TAE : tannic acid equivalent. <sup>‡</sup>RE : rutin equivalent. \*Values are mean±SD (n = 6). Different superscript letters in the same line show significant differences at p < 0.05 by one-way ANOVA.

**Table 2.** DPPH radical scavenging ability of the extract and fractions from *T. coreanum*.

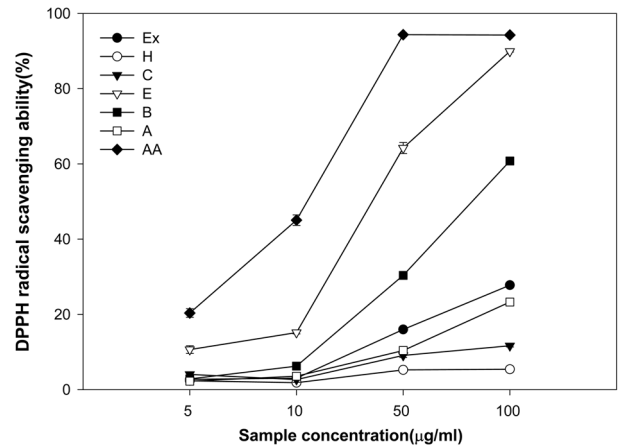
	Extract	Fractions					Ascorbic acid
		Hexane	CHCl <sub>3</sub>	EtOAc	BuOH	Aqueous	
SC <sub>50</sub> <sup>†</sup> (μg/ml)	> 100	> 100	> 100	38.40	82.28	> 100	14.02
Relative <sup>‡</sup> activity (%)	-	-	-	36.51	17.04	-	100.00

<sup>†</sup>SC<sub>50</sub>: concentration of each samples for scavenging 50% of radical. <sup>‡</sup>Relative activity: ratio of SC<sub>50</sub> value compared to positive control (Ascorbic acid). Ascorbic acid was used as a positive control.

후박 추출물보다는 높은 수준이었고 천궁 지상부의 추출물을 대상으로 한 연구에서 밝힌 함량과 유사할 정도로 높은 수준임을 알 수 있었다 (Xu *et al.*, 2010; Oh *et al.*, 2010). 분획물 중에서는 ethyl acetate 분획에서 polyphenol과 flavonoid 함량이 각각 427.81 mg/g과 148.90 mg/g으로 나타나 가장 높은 함량을 보였다. 또한 butanol 분획의 polyphenol과 flavonoid 함량이 각각 223.81 mg/g과 56.83 mg/g으로 나타나 ethyl acetate 분획 다음으로 높은 함량을 가지는 분획으로 나타났다. 한편, hexane 분획이나 aqueous 분획의 경우 활성을 나타낼 수 있는 polyphenol과 flavonoid 함량이 추출물의 함량보다 현저히 낮아 생리활성이 낮을 것으로 추측되었다.

2. DPPH radical 소거능

흰민들레 75% 에탄올 추출물과 분획물의 항산화활성을 비교하기 위해 실시한 DPPH radical 소거능 측정 결과를 Fig. 1에 나타내었다. 100 μg/ml의 시료 농도에서 추출물의 DPPH radical 소거능은 27.76%로 나타났으나 ethyl acetate 분획의 경우 89.90%의 소거능을 보였으며, butanol 분획에서도 60.77%의 DPPH radical 소거능을 가지는 것으로 나타났다. 한편, hexane이나 chloroform, aqueous 분획의 경우 추출물보다 낮은 소거능을 가지는 것으로 나타났다. Table 2에 나타낸 바와 같이 50%의 DPPH radical을 소거하는데 필요한 시료 농도를 나타내는 SC<sub>50</sub>에서 추출물과 hexane, chloroform 및 aqueous 분획은 실험이 실시된 농도 범위에서 산출할 수 없을 정도로 낮은 소거능을 가진 것으로 나타났으나 ethyl acetate와 butanol 분획은 각각 38.40 μg/ml와 82.28 μg/ml의 SC<sub>50</sub>을 가지는 것으로 나타났다. 이와 같은 DPPH radical 소거능은 positive control로 사용된 ascorbic acid의 SC<sub>50</sub>인 14.02 μg/ml를 100.00%로 하여 환산한 relative activity에서 각각

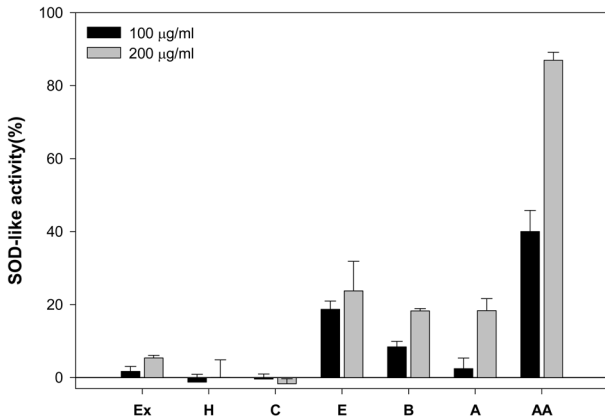


**Fig. 1.** DPPH radical scavenging ability of the extract and fractions from *T. coreanum*. Values are mean±SD (n = 3). Ex: 75% ethanol extract, H: hexane fraction, C: chloroform fraction, E: ethyl acetate fraction, B: butanol fraction, A: aqueous fraction, AA: ascorbic acid. Ascorbic acid was used as a positive control.

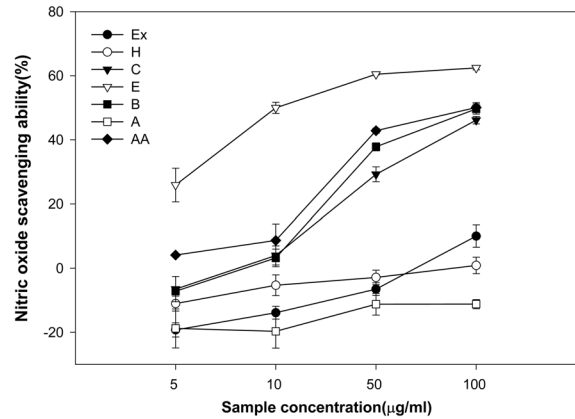
36.51%와 17.4%에 해당하는 항산화 활성을 보이는 것으로 평가할 수 있었다.

3. Superoxide dismutase (SOD) 유사활성

SOD (superoxide dismutase)는 생체에 매우 유해한 superoxide anion radical (O<sub>2</sub><sup>-</sup>)과 반응하여 과산화수소를 생성하는 효소로 알려져 있으며 산소를 소비하는 모든 생물 종에 존재하여 생체 내에서 활성산소 장해에 대한 방어 작용을 하는 대표적인 활성산소 저해제로 알려져 있다. 흰민들레 75% 에탄올 추출물과 분획물의 SOD 유사활성 측정 결과를 Fig. 2에 나타내었다. 200 μg/ml의 시료 농도에서 ethyl acetate 분획이 23.73%의 유사활성을 나타냄으로써 추출물과 분획물들 중 가



**Fig. 2. Superoxide dismutase(SOD)-like activity of the extract and fractions from *T. coreanum*.** Values are mean±SD (n = 3). Ex: 75% ethanol extract, H: hexane fraction, C: chloroform fraction, E: ethyl acetate fraction, B: butanol fraction, A: aqueous fraction, AA: ascorbic acid. Ascorbic acid was used as a positive control.



**Fig. 3. Nitric oxide scavenging ability of the extract and fractions from *T. coreanum*.** Values are mean±SD (n = 3). Ex: 75% ethanol extract, H: hexane fraction, C: chloroform fraction, E: ethyl acetate fraction, B: butanol fraction, A: aqueous fraction, AA: ascorbic acid. Ascorbic acid was used as a positive control.

장 높은 활성을 보였다. 이와 같은 SOD 유사활성은 positive control로 사용된 ascorbic acid에 비해서는 낮았지만 꾸지뽕나무 추출물이나 매자나무 수피 추출물을 대상으로 한 연구에서 보고한 SOD 유사활성 결과보다는 높은 수준임을 알 수 있었다 (Ling *et al.*, 2011; Choi *et al.*, 2009).

**4. Nitric oxide (NO) 소거능**

NO (nitric oxide)는 혈액응고 및 혈압조절 기능, 암세포에 대한 면역기능 등이 있지만, 과량이 존재하면 인체에 유해한 영향을 미치게 되어 세포손상뿐만 아니라 염증 반응을 비롯한 뇌막염, 알츠하이머병과 파킨슨병 같은 퇴행성 질환에 중요한 요인으로 작용한다 (Chung *et al.*, 2001). 또한 superoxide 음이온 (O<sub>2</sub><sup>-</sup>)과 쉽게 반응하여 매우 반응성이 높고 독성이 강한 산화제인 peroxynitrite (ONOO<sup>-</sup>)를 생성한다 (Radi *et al.*, 1991). Peroxynitrite는 단백질 및 지질의 과산화를 유도하고 세포독성을 일으키는 것으로 알려져 있고 반응 속도는 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>의 수천 배에 이르며 신경세포에서 짧은 시간 동안 급속한 손상을 유발하는 것으로 보고되고 있다 (Haenen *et al.*, 1997). 흰민들레 75% 에탄올 추출물과 분획물의 NO 소거능을 측정 한 결과를 Fig. 3에 나타내었다. 100 µg/ml의 시료 농도에서 추출물의 소거능은 10.04%에 불과했지만 ethyl acetate 분획과 butanol 분획, chloroform 분획의 소거능은 각각 62.45%, 49.61%, 46.13%로 나타났다. 특히 ethyl acetate 분획은 실험이 실시된 모든 농도에서 positive control로 사용된 ascorbic acid 보다 높은 NO 소거능을 보여주었다.

**5. Tyrosinase 저해 활성**

Tyrosinase는 피부 색소인 melanin 형성의 중요한 단계에

작용하여 결과적으로 tyrosine을 산화시켜 DOPA quinone을 만드는 DOPA oxidase로서 작용한다. 따라서 tyrosinase의 작용을 억제할 수 있다면 긍정적인 피부 미백효과를 기대할 수 있게 된다 (Jung *et al.*, 1995). 흰민들레 75% 에탄올 추출물과 분획물의 tyrosinase 저해 활성을 Table 3에 나타내었다. 실험이 실시된 모든 농도에서 ethyl acetate 분획의 저해 활성이 가장 높게 나타났는데, 500 µg/ml 농도에서는 97.07%의 저해 활성을 보여주었다. 50%의 tyrosinase 저해 활성을 가지는데 필요한 시료 농도를 나타내는 IC<sub>50</sub>에서 positive control로 사용된 ascorbic acid의 148.97 µg/ml와 유사한 수준인 153.11 µg/ml의 수치를 나타내 ethyl acetate 분획이 tyrosinase의 저해제로서 작용이 강력함을 알 수 있었다. 반면 ethyl acetate와 butanol 분획을 제외한 추출물과 다른 분획들은 tyrosinase에 대해 저해 활성을 거의 나타내지 못하거나 낮은 수준의 활성을 가지는 것을 확인할 수 있었으며 positive control로 사용된 ascorbic acid의 경우 농도에 따라 급격한 활성의 변화가 나타나는 것을 확인할 수 있었다. 특히 실험이 실시된 가장 낮은 농도에서는 ascorbic acid의 활성보다 ethyl acetate와 butanol 분획의 저해활성이 통계적으로도 유의한 수준으로 높게 나타난 것을 볼 수 있는데, 이는 낮은 농도를 적용하는 단계에서 ascorbic acid와 같은 단일 물질과는 다르게 여러 성분이 복합적으로 혼재되어 있는 분획물이나 추출물이 생리활성 측면에서 유리하게 작용할 수 있음을 시사하는 결과라고 판단된다. 한편, tyrosinase 저해 활성 결과는 DPPH radical 소거능이나 SOD 유사활성 등의 결과와도 비슷한 양상을 알 수 있는데, Table 1에 나타난 polyphenol이나 flavonoid 함량의 차이가 다양한 생리 활성에도 영향을 준 결과라고 판단된다.

**Table 3.** Tyrosinase inhibitory activity of the extract and fractions from *T. coreanum*. (unit : %)

$\mu\text{g/ml}$	Extract	Fractions					Ascorbic acid
		Hexane	$\text{CHCl}_3$	EtOAc	BuOH	Aqueous	
500	$20.30 \pm 2.61^{\text{td}}$	$2.93 \pm 0.68^{\text{g}}$	$11.07 \pm 1.05^{\text{f}}$	$97.07 \pm 1.00^{\text{b}}$	$60.37 \pm 1.32^{\text{c}}$	$14.77 \pm 0.50^{\text{e}}$	$99.67 \pm 0.00^{\text{a*}}$
200	$2.82 \pm 2.73^{\text{d}}$	$2.28 \pm 1.36^{\text{d}}$	$3.15 \pm 1.79^{\text{d}}$	$67.10 \pm 0.98^{\text{b}}$	$23.89 \pm 3.89^{\text{c}}$	$4.89 \pm 3.40^{\text{d}}$	$96.31 \pm 1.14^{\text{a}}$
100	$4.26 \pm 4.33^{\text{cd}}$	$1.56 \pm 2.47^{\text{cd}}$	— <sup>†d</sup>	$30.63 \pm 5.31^{\text{a}}$	$12.98 \pm 1.89^{\text{b}}$	— <sup>d</sup>	$5.56 \pm 0.83^{\text{c}}$
$\text{IC}_{50}$ ( $\mu\text{g/ml}$ )	> 500	> 500	> 500	153.11	414.72	> 500	148.97

<sup>†</sup>Values are mean  $\pm$  SD (n = 3) without  $\text{IC}_{50}$ . <sup>‡</sup>No inhibitory activity. Ascorbic acid was used as a positive control. <sup>\*</sup>Different superscript letters in the same concentration show significant differences at  $p < 0.05$  by one-way ANOVA.

**Table 4.** Antimicrobial activities of the extract and fractions from *T. coreanum* by disc diffusion assay. (unit : mm)

	mg/disc	Bacterial strains		
		<i>S. aureus</i>	<i>S. epidermidis</i>	
Extract	3.0	— <sup>1)</sup>	—	
	1.0	—	—	
	0.5	—	—	
Fractions	Hexane	3.0	—	—
		1.0	—	—
		0.5	—	—
	$\text{CHCl}_3$	3.0	$8.95 \pm 0.55^{\text{2)}$	$10.65 \pm 0.75$
		1.0	$6.77 \pm 0.31$	$7.30 \pm 0.10$
		0.5	—	—
	EtOAc	3.0	$16.45 \pm 1.25$	$22.70 \pm 0.30$
		1.0	$11.33 \pm 0.35$	$16.17 \pm 1.32$
		0.5	$9.40 \pm 0.20$	$12.55 \pm 0.55$
BuOH	3.0	$6.00 \pm 0.00$	$11.10 \pm 0.80$	
	1.0	—	—	
	0.5	—	—	
Aqueous	3.0	—	—	
	1.0	—	—	
	0.5	—	—	
Negative control <sup>3)</sup>		—	—	
Gentamycin <sup>4)</sup> (0.2 mg/disc)		$20.05 \pm 0.05$	$24.40 \pm 0.40$	

<sup>1)</sup>No inhibition. <sup>2)</sup>Values are mean  $\pm$  SD(n=3). <sup>3)</sup>Negative control : 50% methanol(solvent). <sup>4)</sup>Gentamycin was used as a positive control.

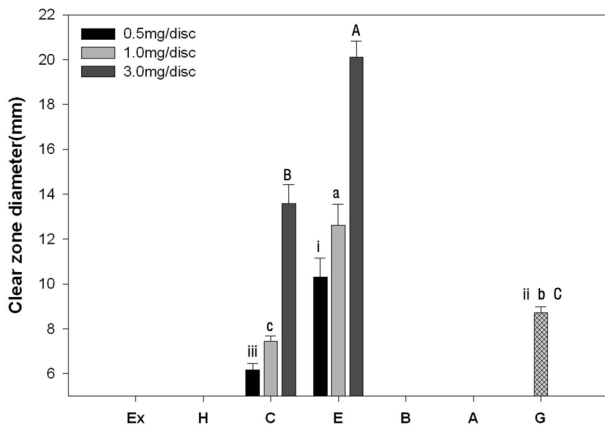
## 6. 항균활성

*S. aureus*, *S. epidermidis*와 항생제 내성균주인 MRSA에 대한 흰민들레 75% 에탄올 추출물 및 분획물의 항균활성 결과를 각각 Table 4와 Fig. 4에 나타내었다. 모든 균주에 대해 가장 높은 항균활성을 나타낸 것은 ethyl acetate 분획이었는데 실험이 실시된 모든 농도에서 항균 활성을 보여주었으며, 항균 작용의 결과로 생성되는 저해환 역시 농도 의존적인 증가를 나타냈다. Chloroform과 butanol 분획이 일부 농도에서 항균 활성을 보였으나 ethyl acetate 분획의 활성보다 현저히 낮은 수준이었다. 또한 실험이 실시된 모든 균주 및 농도 조건에서 추출물과 hexane 및 aqueous 분획은 항균 활성을 전혀

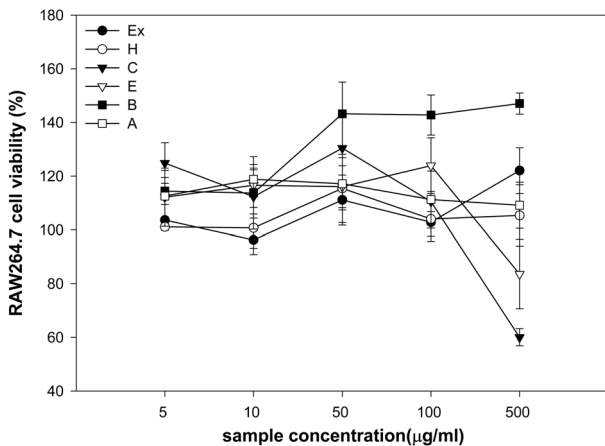
나타내지 못했다. 한편, ethyl acetate 분획이 항생제 내성균주인 MRSA에 대해 positive control 사용된 gentamycin과 비교해서 통계적으로 유의한 정도로 높은 수준의 항균 활성을 나타낸 것은 천연물 유래 항생제 개발과 관련해서 주목할 만한 것으로 판단되었다.

## 7. MTT assay에 의한 세포독성

흰민들레 75% 에탄올 추출물과 분획물의 Raw 264.7 세포에 대한 세포독성을 측정된 결과를 Fig. 5에 나타내었다. 전반적으로 100% 전후의 양호한 세포생존율을 보였으나 실험이 실시된 가장 높은 농도인 500  $\mu\text{g/ml}$ 에서 chloroform 분획과



**Fig. 4. Antibacterial activity of the extract and fractions from *T. coreanum* against MRSA.** Values are mean±SD (n = 3). Ex: 75% ethanol extract, H : hexane fraction, C: chloroform fraction, E: ethyl acetate fraction, B: butanol fraction, A: aqueous fraction, G: gentamycin(antibiotic, 0.2 mg/disc). Gentamycin was used as a positive control. \*Different superscript letters in the same concentration without gentamycin show significant differences at  $p < 0.05$  by one-way ANOVA.



**Fig. 5. Raw 264.7 cell viability of the extract and fractions from *T. coreanum*.** Values are mean±SD (n = 3). Ex: 75% ethanol extract, H : hexane fraction, C: chloroform fraction, E: ethyl acetate fraction, B: butanol fraction, A: aqueous fraction.

ethyl acetate 분획의 세포생존율이 다소 낮은 수준인 60.04%와 82.60%로 나타났다. 그러나 그보다 낮은 농도 조건에서는 모든 시료에서 96.32-143.21%의 세포생존율을 가지는 것으로 나타나 세포독성의 우려는 낮은 것으로 판단되었다.

이상의 결과로부터 국내에 자생하고 있으며 쉽게 재배할 수 있는 것으로 알려진 흰민들레의 75% 에탄올 추출물과 용매별 분획물 중 ethyl acetate 분획이 높은 polyphenol 및 flavonoid 함량을 바탕으로 하여 항산화 및 항균 활성, tyrosinase 저해 활성 등에서 우수한 활성을 가지는 것을 확인

할 수 있었다. 따라서 이와 같은 자료를 바탕으로 추가적인 연구를 실시한다면 흰민들레 추출물 및 분획물이 관련 분야의 기능성 소재 개발에 유용한 자원으로 활용될 수 있을 것으로 판단된다.

## LITERATURE CITED

- Akashi T, Furuno T, Takahashi T and Ayabe SI. (1994). Biosynthesis of triterpenoids in cultured cells, and regenerated and wild plant organs of *Taraxacum officinale*. *Phytochemistry*. 36:303-308.
- Blois MS. (1958). Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature*. 181:1199-1200.
- Choi SR, You DH, Kim JY, Park CB, Kim DH and Ryu J. (2009). Antioxidant activity of methanol extracts from *Cudrania tricuspidata* Bureau according to harvesting parts and time. *Korean Journal of Medicinal Crop Science*. 17:115-120.
- Chung HT, Pae HO, Choi BM, Billiar TR and Kim YM. (2001). Nitric oxide as a bioregulator of apoptosis. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. 282:1075-1079.
- Fridovich I. (1989). Superoxide dismutase an adaption to paramagnetic gas. *Journal of Biological Chemistry*. 264:7761-7762.
- Haenen GR, Paquay JB, Korthhouwer RE and Bast A. (1997). Peroxynitrite scavenging by flavonoids. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. 236:591-593.
- Han SH, Hwang JK, Park SN, Lee KH, Ko KI, Kim KS and Kim KH. (2005). Potential effect of solvent fractions of *Taraxacum mongolicum* H. on protection of gastric mucosa. *Korean Journal of Food Science and Technology*. 37:84-89.
- Heo SI and Wang MH. (2008). Antioxidant activity and cytotoxicity effect of extracts from *Taraxacum mongolicum* H. *Korean Journal of Pharmacognosy*. 39:255-259.
- Jung SW, Lee NK, Kim SJ and Han DS. (1995). Screening of tyrosinase inhibitor from plants. *Korean Journal of Food Science and Technology* 27:891-896.
- Kang MJ and Kim KS. (2001). Current trends of research and biological activities of dandelion. *Food Industry and Nutrition*. 6:60-67.
- Katrin S, Carles R and Schieber A. (2006). *Taraxacum*-A review on its phytochemical and pharmacological profile. *Journal of Ethnopharmacology*. 107:313-323.
- Kim TW and Kim TH. (2011). Pancreatic lipase inhibitors in the roots of *Taraxacum ohwianum*, a herb used in korean traditional medicine. *Korean Journal of Food Preservation*. 18:53-58.
- Lee HH and Lee SY. (2008). Cytotoxic and antioxidant effects of *Taraxacum coreanum* Nakai. and *T. officinale* WEB. extracts. *Korean Journal of Medicinal Crop Science*. 16:79-85.
- Lee KI, Choi CH, Kim SM and Pyo BS. (2010). Antibacterial activity and enhancing antibiotic effect of extract and fractions from *Curcuma longa* against MRSA strain. *Korean Journal of Pharmacognosy*. 41:38-42.
- Lee KI and Im DY. (2011). Biological activities of the water extract and its fractions from *Taraxacum coreanum* Nakai.

- Korean Journal of Pharmacognosy. 42:195-200.
- Lee KI, Yang SA, Pyo BS and Kim SM.** (2011). Antibacterial activity against pathogens of acne and tyrosinase inhibitory activity of extract and fractions from bark of *Prunus sargentii*. Korean Journal of Pharmacognosy. 42:155-160.
- Lee MS.** (2009). New antimicrobials on the horizon. Korean Journal of Medicine. 77:35-51.
- Ling J, Ha JH, Choi YY, Seo YC, Kim JS, Kim YO, Cha SW, Kim JC and Lee HY.** (2011). Enhancement of cosmeceutical activities of *Berberis koreana* bark by high pressure and ultrasonification extraction processes. Korean Journal of Medicinal Crop Science. 19:54-65.
- Liu RH.** (2004). Potential synergy of phytochemicals in cancer prevention : mechanism of action. The Journal of Nutrition. 134:3479S-3485S.
- Manach C, Williamson G, Morand C, Scalbert A and Remesy C.** (2005). Bioavailability and bioefficacy of polyphenols in humans. The American Journal of Clinical Nutrition. 81:230S-242S.
- Marcocci L, Maguire JJ, Droy-Lefaix MT and Packer L.** (1994). The nitric oxide-scavenging properties of *Ginkgo biloba* extract EGb 761. Biochemical and Biophysical Research Communications. 201:748-755.
- Marklund S and Marklund G.** (1975). Involvement of superoxide anion radical in the oxidation of pyrogallol and a convenient assay for superoxide dismutase. European Journal of Biochemistry. 47:468-474.
- Moreno MIN, Isla MIN, Sampietro AR and Vattuone MA.** (2000). Comparison of the free radical-scavenging activity of propolis from several region of Argentina. Journal of Ethnopharmacology. 71:109-114.
- Oh YJ, Seo HR, Choi YM and Jung DS.** (2010). Evaluation of antioxidant activity of the extracts from the aerial parts of *Cnidium officinale* Makino. Korean Journal of Medicinal Crop Science. 18:373-378.
- Radi R, Beckman JS, Bush KM and Freeman BA.** (1991). Peroxynitrite oxidation of sulfhydryls, the cytotoxic potential of superoxide and nitric oxide. Journal of Biological Chemistry. 266:4244-4250.
- Ryu MJ, Lee SY, Park Y and Yang YK.** (2010). Antioxidative activities and antifungal effect against *Malassezia furfur* in the extracts from 6 spp. medicinal plants. Journal of Korean Society of Cosmetology. 16:120-128.
- Seo YC, Choi WY, Kim JS, Zou YY, Lee CG, Ahn JH, Shin IS and Lee HY.** (2010). Enhancement of antimicrobial activity of nano-encapsulated horseradish aqueous extracts against food-borne pathogens. Korean Journal of Medicinal Crop Science. 18:389-397.
- Shin KM, Park YM, Kim IT, Hong SP, Hong JP and Lee KT.** (2003). *In vitro* antiinflammatory activity of amygdalin in murine macrophage Raw264.7 cells. Korean Journal of Pharmacognosy. 34:223-227.
- Song JH.** (2009). Current status and future strategies of antimicrobial resistance. Korean Journal of Medicine. 77:143-151.
- Videla LA and Fernandez V.** (1988). Biochemical aspects of cellular oxidative stress. Archivos De Biología y Medicina Experimentales. 21:85-92.
- Xu ML, Hu JH, Wang L, Kim HS, Jin CW and Cho DH.** (2010). Antioxidant and anti-diabetes activity of extracts from *Machilus thunbergii* S. et Z. Korean Journal of Medicinal Crop Science. 18:34-39.
- Yoon TJ.** (2008). Effect of water extracts from root of *Taraxacum officinale* in innate and adaptive immune responses in mice. Korean Journal of Food and Nutrition. 21:275-282.