

Charactrization of Biological Activities of *Rehmannia glutinosa* Extracts

Young-Je Cho\*

School of Food Science &amp; Biotechnology / Food &amp; Bio-Industry Research Institute, Kyungpook National University, Daegu 702-701, Korea

Received April 13, 2012 / Revised July 7, 2012 / Accepted July 14, 2012

The content phenolic compounds in extracts from *Rehmannia glutinosa* was the highest in 40% ethanol extracts as 5.1±0.2 mg/g. DPPH scavenging activity of *R. glutinosa* extracts was high in water extracts and 40% ethanol extracts as 85~93%, ABTS radical cation decolorization of water extracts and 40% ethanol extracts was about the same as 55~62%, antioxidant protection factor (PF) was confirmed in water extracts and 40% ethanol extracts as 1.6~1.9 PF, and TBARs of water extracts and 40% ethanol extracts were concluded to have the similar antioxidant effects. The hypertension inhibitory activity of water extracts and 40% ethanol extracts from *R. glutinosa* indicated the activities as 87.2% and 81.1%, anti-gout activity was determined very low in *R. glutinosa* extracts and antimicrobial activity against skin microorgasm was confirmed, and tyrosinase inhibitory activity was determined as 70.2% in 40% ethanol extracts, it was expected the whitening effects in 40% ethanol extracts. The elastase inhibitory activity which are related to the wrinkle cause was observed in water extracts and 40% ethanol extracts as 76.2% and 57.2%. The hyaluronidase inhibitory activity to *R. glutinosa* extracts was observed weakly in only 40% ethanol extracts of 200 µg/ml phenolic content as 5.1%.

**Key words** : Biological activities, functional food, functional cosmetic, *Rehmannia glutinosa*

## 서 론

현대의학의 발전과 더불어 동양의학에도 많은 관심을 가지게 되어 한의학 내지는 전통의학에서 주로 사용되던 약용식물 자원로부터 신약 성분들을 개발하려는 연구가 활발히 이루어지고 있다. 최근 약용작물의 2차 대사산물들이 생체에서 나타내는 생리활성들에 대한 연구가 활발히 진행되고 있고 [18,23,34], 약용식물자원에서 항알레르기, 항산화, 항균 및 항생활습관병 등의 약리성 물질 탐색과 이들 유용성분을 이용하려는 연구가 활발하게 진행되고 있다[3,36].

지황(*Rehmannia glutinosa* Liboschitz)은 현삼과에 속하는 다년생초이며, 생지황 (*R. Radix crude*)을 황주, 백주에 넣고 주침하여 증숙한 후 건조한 것을 숙지황(*R. Radix Preparata*)이라고 하는데 숙지황은 보약, 빈혈 위장병, 산후쇠약, 뇌빈혈 등에 쓰인다[8]. 숙지황에는 glucose, fructose, galactose 등의 단당류와 stachyose를 위시한 다양한 올리고당 및 다당류 들이 함유되어 있으며, catalpol, vitamin A, arginine, mannitol, β-sitosterol 등도 소량으로 함유되어 있다[5,30,31,32]. 숙지황에 대한 생리활성 연구로는 Jeong and Kim [16]은 숙지황이 streptozotocin 유발 고혈당 흰쥐의 혈당강하작용이 우수하였다고 보고하였으며, Park [25]은 지황류의 수침액이 고혈압의 원인인 혈장 rennin의 활성을 감소시킴으로써 혈압저하 효과가 있다고 보고하였다. 또한 숙지황의 제조방법에 따른 소화

작용에 관한 비교 연구[24], 흰쥐신장조직 손상에 대한 숙지황의 항산화효과[6], 숙지황이 남성생식세포 GC-1의 항산화에 미치는 영향 등의 연구[15]가 있으나 건강기능성 식품에 적용시키기 위한 생리활성의 검색은 미흡한 실정이다.

따라서 본 연구에서는 전통한약재로 사용되고 있는 숙지황의 생리활성을 검토하여 기능성 소재로 이용하기 위하여 숙지황 추출물의 항산화효과, 고혈압, 관절염 억제 등의 기능성 식품활성과 미백, 주름개선, 항염증 등의 기능성 미용식품활성 등을 살펴보았다.

## 재료 및 방법

## 추출물의 조제

숙지황 추출액은 숙지황 1 g을 물과 ethanol을 0~100%로 변화시키며 100 ml를 첨가하여 shaking incubator (SI-600R, Lab Companion, Korea)에서 24시간 동안 상온에서 150 rpm으로 용매별 추출을 시행하였으며, 추출 후 추출액은 10,000 rpm에서 15분간 원심분리(Himac CR-21E, Hitachi, Japan)하고 Whatman No. 1 filter paper로 여과하여 여액을 시료로 사용하였다[20].

## Phenolic compound의 정량

시료 1 ml에 95% ethanol 1 ml와 증류수 5 ml를 첨가하고 1 N Folin-ciocalteu reagent 0.5 ml를 넣어 잘 섞어주고, 5분간 방치한 후, 5% Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 1 ml를 가한 후, 흡광도 725 nm에서 1시간 이내에 측정하여 gallic acid를 이용한 표준곡선으로 양

## \*Corresponding author

Tel : +82-53-950-7755, Fax : +82-53-950-7762

E-mail : yjcho@knu.ac.kr

을 환산하였다[12].

#### 항산화 효과 측정

DPPH radical에 대한 소거활성은 Blies의 방법[2]에 준하여 측정하였으며, 전자공여능(%)은 1-(반응구의 흡광도/대조구의 흡광도) $\times 100$ 으로 나타내었다. ABTS radical cation decolorization (ABTS)의 측정은 Pellegrin 등의 방법[26]에 의해 측정하였고, 저해율(%)은 1-(반응구의 흡광도/대조구의 흡광도) $\times 100$ 으로 나타내었다. Antioxidant protection factor (PF)는 Andarwulan과 Shetty의 방법[1]으로 측정하였으며, PF는 반응구의 흡광도/대조구의 비로 나타내었다. Thiobarbituric acid reactive substance (TBARS) 측정은 Burge와 Aust의 방법[4]에 따라 측정하여 저해율(%)은 1-(반응구의 TBARS  $\mu\text{M}$ /대조구의 TBARS  $\mu\text{M}$ ) $\times 100$ 으로 나타내었다.

#### 항고혈압 효과 측정

Angiotensin converting enzyme (ACE) 저해효과 측정은 Cushman 등의 방법[10]에 의하여 행하였다. 즉, 반응구는 0.3 M NaCl을 함유하는 0.1 M potassium phosphate buffer (pH 8.3)에 기질로 2.5 mM hippuryl-histidyl-leucine 용액 0.15 ml를 혼합하였으며, 대조구는 추출액 대신 동일 buffer 0.1 ml를 첨가하여 37°C에서 30분간 반응시키고 1 N HCl 0.35 ml 첨가로 반응을 중지시킨 뒤 3 ml의 EtOAc를 첨가하였다. EtOAc층만을 취한 다음 용매를 증류시킨 잔사에 2 ml의 증류수를 첨가하여 효소에 의해 기질로부터 분리되어 추출된 hippuric acid를 280 nm에서 흡광도를 측정한 후 표준곡선에서 양을 환산하여 아래의 식에 의해 저해율을 계산하였다. 저해율(%)은 1-(반응구의 hippuric acid 생성량/대조구의 hippuric acid 생성량) $\times 100$ 으로 나타내었다.

#### 항관절염 효과 측정

Xanthine oxidase (XOase) 활성저해 측정법은 Stirpe와 Crote의 방법[29]에 준하여 측정하였다. 즉, 반응구는 0.1 M potassium phosphate buffer (pH 7.5)에 xanthine 2 mM을 녹인 기질액 3 ml에 효소액 0.1 ml와 시료 추출액 0.3 ml를 넣고 대조구에는 추출액 대신 증류수를 0.3 ml 첨가하여 37°C에서 30분간 반응시키고 20% TCA 1 ml를 가하여 반응을 종료시킨 다음 3,500 rpm에서 15분간 원심분리하여 단백질을 제거한 후 반응액 중에 생성된 요산(uric acid)의 함량을 292 nm에서 측정하여 다음 식으로 저해율을 구하였다. 저해율(%)은 1-(반응구의 uric acid 생성량/대조구의 uric acid 생성량) $\times 100$ 으로 나타내었다.

#### 항균활성 측정

항균활성 측정실험에 사용한 균주는 *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Streptococcus*

*mutans*, *Helicobacter pylori*를 사용하였다. *S. epidermidis*, *S. aureus*, *E. coli* 배양에는 nutrient medium (Difco, USA)을 사용하였으며, agar plate 상으로 37°C의 incubator에서 24~48시간 동안 실시하였다[9]. *Streptococcus mutans* 배양에는 brain heart medium을 *Helicobacter pylori*의 배양에는 최적배지 (special pepton 0.5 g, agar 0.75 g, NaCl 0.25 g, yeast extract 0.25 g, beef extract 0.2 g 및 pyruvic acid 0.025 g/50 ml)를 사용하여 미호기성 조건을 유지시켜주기 위해서 10% CO<sub>2</sub> incubator를 이용하였으며, incubator의 습도는 항상 95% 이상으로 유지하였고, agar plate 상에서 배양은 37°C로 48~72시간 동안 실시하였다[17]. 항균활성은 배양 후 생성된 clear zone의 크기(mm)로 항균활성을 나타내었다.

#### 미백효과 측정

Tyrosinase 저해활성 측정은 반응구는 0.175 M sodium phosphate buffer (pH 6.8) 0.5 ml에 10 mM L-DOPA를 녹인 기질액 0.2 ml 및 시료용액 0.1 ml의 혼합액에 mushroom tyrosinase (110 U/ml) 0.2 ml를 첨가하여 Yagi 등의 방법[35]에 따라 측정하였으며, 저해율(%)은 1-(반응구의 흡광도/대조구의 흡광도) $\times 100$ 으로 나타내었다.

#### 주름개선 효과 측정

Porcine pancreatic elastase 저해활성 측정[33]은 기질로서 *N*-succinyl-(L-Ala)<sub>3</sub>-*p*-nitroanilide를 사용하여 37°C에서 20분간 *p*-nitroanilide의 생성량을 405 nm에서 흡광도를 측정하였으며, 저해율(%)은 1-(시료첨가군의 흡광도/대조구의 흡광도) $\times 100$ 으로 나타내었다.

#### Anti-inflammation 효과 측정

Hyaluronidase (HAase) 저해활성 측정은 sodium-hyaluronic acid (HA)로부터 형성된 N-acetylglucosamine을 glucoazoline 유도체로 변형시킨 후 *p*-dimethylaminobenzaldehyde (DMAB)로 발색시켜 흡광도를 측정하여 효소 활성을 측정하였다[7]. 저해율(%)은 1-(시료첨가군의 흡광도/대조구의 흡광도) $\times 100$ 으로 나타내었다.

## 결과 및 고찰

#### 숙지향으로부터 유용성분의 추출

시료로부터 유용성분 추출의 최적 조건을 확립하기 위해 ethanol 용매를 다양한 농도로 조제하고 이를 추출용매로 하여 시료추출의 최적농도를 찾아가 하였다. 그 결과 Fig. 1과 Table 1에서와 같이 40% ethanol 추출물에서 5.1 $\pm$ 0.2 mg/g으로 가장 높은 phenolic compound 함량을 나타내었으며, 물 추출물에서도 4.8 $\pm$ 1.7 mg/g으로 ethanol 추출과 비슷한 수준

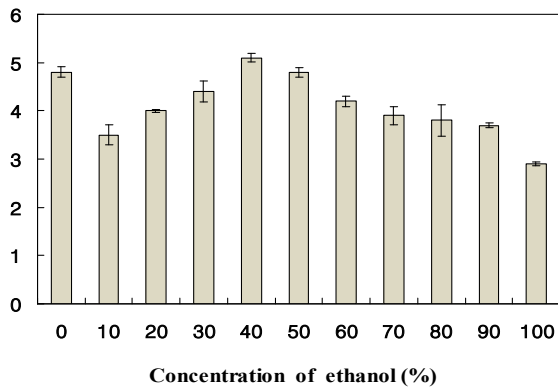


Fig. 1. The effect of ethanol concentration on extraction of phenolic from *Rehmannia glutinosa*. The data were expressed as the mean±SD (n=6).

Table 1. phenolic contents of extracts from *Rehmannia glutinosa*

Sample	Phenolic content (mg/g)	
	Water extracts	40% Ethanol extracts
<i>Rehmannia glutinosa</i>	4.8±1.7	5.1±0.2

The data were expressed as the mean±SD (n=6).

의 phenolic compound의 양이 용출되었다. 이는 허브의 경우 50~60%의 비교적 낮은 ethanol 농도에서 추출수율이 높게 나타난다는 Kim [19]의 연구 결과와 비슷하게 나타났다.

숙지황 추출물의 항산화활성

DPPH 라디칼 소거능 측정을 위하여 물과 40% ethanol을 용매로 추출한 숙지황 추출물의 전자공여능을 측정한 결과 Table 2에서와 같이 물 추출물과 40% ethanol 추출물 200 µg/ml phenolic의 농도에서 모두 85~93%의 높은 전자공여능이 확인되었으며, 물 추출물보다 ethanol 추출물의 효과가 더 높게 나타났으며, 에탄올 추출물의 경우 200 µg/ml phenolic의 농도에서 92.7%의 저해율을 나타내어 positive control인 BHT의 87.7% 보다 더 높은 전자공여능을 나타내었다. 또한 각 추출물마다 농도 의존적으로 첨가되는 phenolic compound의 농도가 높아질수록 전자공여능도 더 높아지는 것으로 확인되

었다. 추출물들의 상대적인 항산화 측정은 hydrogen-donating antioxidant와 chain breaking antioxidant 모두를 측정할 수 있고 aqueous phase와 organic phase 모두에 적용이 가능하며 표준물질의 사용으로 추출물의 상대 비교가 가능하도록 potassium persulfate와의 반응에 의해 생성된 ABTS<sup>+</sup> free radical이 추출물속의 항산화 물질에 의해 제거되어 radical 특유의 색인 청록색이 탈색되는 것을 이용하여 ABTS radical cation decolorization을 측정한 결과 Table 2에서와 같이 물 추출물과 40% ethanol 추출물이 55~62%의 비슷한 수준의 항산화효과를 효과를 나타내는 것으로 측정되었다. 숙지황 추출물의 지용성 물질에 대한 항산화력을 측정하기 위하여 지질 산화과정에서 생성되는 peroxy radical과 반응하여 불활성물질(inactive products)을 형성하고 그로 인해 free radical에 의해 연쇄 반응을 중단시킨다는 β-carotene linoleate system을 이용하여 antioxidant protection factor (PF)를 측정하였다[37]. 그 결과 Table 2에서와 같이 200 µg/ml phenolic의 농도에서 물 추출물과 40% ethanol 추출물 모두에서 positive control인 BHT의 1.2 PF에 비하여 1.6~1.9 PF의 매우 높은 항산화력이 확인되었고, TBARS는 물 추출물과 40% ethanol 추출물이 비슷한 수준의 항산화 효과를 나타내는 것으로 측정되었다. Duval과 Shetty [11]는 완두에 함유되어있는 phenolic 성 물질의 PF가 1.1~1.3 정도였다고 보고하였으며 본 실험에 사용된 숙지황의 항산화력이 더 우수한 것으로 나타났다. 전반적으로 항산화효과는 ethanol 추출물이 물 추출물 보다 높게 나타났으며, 이는 산화 촉진인자와 binding 하는 phenolic compound가 물 추출물보다 ethanol 추출물에 더 많이 존재하기 때문인 것으로 생각되었으며, 향후 이들 phenolic compound의 profile에 대한 연구도 진행이 되어야 할 것으로 판단되었다.

고혈압 억제(angiotensin converting enzyme 저해) 효과

Angiotensin converting enzyme (ACE)은 renin에 의하여 생성된 angiotensin I 으로부터 C말단의 depeptide를 가수분해 시켜 혈관수축 작용을 갖는 angiotensin II를 합성하는데 관여하며, 혈관이완작용을 가진 bradykinin을 억제시킴으로써 혈압을 상승시키는 역할을 하는 효소이다[27]. 숙지황 추출

Table 2. Antioxidant activity of water and ethanol extracts from *Rehmannia glutinosa*

Antioxidant assay	Antioxidant activity (%)					
	Water extracts		40% Ethanol extracts		Positive control (BHT)	
	Phenolic content (µg/ml)		Phenolic content (µg/ml)		Phenolic content (µg/ml)	
	100	200	100	200	100	200
DPPH (%)	79.3±1.3	85.5±3.0	80.2±1.6	92.7±2.1	84.0±0.1	87.7±0.1
ABTS (%)	49.6±0.9	61.6±0.6	44.2±0.8	55.0±1.8	5.8±0.1	93.9±0.1
TBARS (%)	16.0±0.5	22.8±2.1	18.3±1.0	26.7±0.7	49.0±0.3	85.3±0.3
PF	1.1±1.1	1.6±0.6	1.1±0.2	1.9±1.1	1.0±0.1	1.2±0.1

The data were expressed as the mean±SD (n=6).

물의 ACE에 대한 저해효과를 측정함으로써 항고혈압 효과를 살펴본 결과 Table 3과 같이 200 µg/ml phenolic의 농도에서 positive control인 captopril의 68.4%에 비해 물 추출물군에서 더 우수한 87.2%의 고혈압억제력을 나타내었고, 40% ethanol 추출물에서도 81.1%의 높은 저해활성을 나타내어 고혈압억제제로서의 기능성 식품에 적용하기 위한 산업화 가능성을 확인시켜 주었다.

관절염(gout) 저해효과

Xanthine oxidase는 생체 내 퓨린대사에 관여하는 효소로 xanthine 혹은 hypoxanthine으로부터 요산을 생성하여 혈장 내 요산이 증가되면 낮은 용해성으로 인하여 관절에 축적되어 심한 통증을 유발하는 통풍(gout)을 일으킨다. 이러한 통풍의 치료에 사용되는 약물로는 hypoxanthine의 유사체인 allopurinol과 alloxanthine이 있는데 allopurinol은 xanthine oxidase에 강하게 결합하여 요산 생성의 최종단계에 관여하는 xanthine oxidase의 효소활성을 저해함으로써 요산의 생성을 억제하는 것으로 알려져 있다[28]. Table 4는 숙지황 추출물의 xanthine oxidase 저해작용을 나타낸 것으로 물 추출물은 저해효과를 나타내지 않았으며, 40% ethanol 추출물에서도 3.3%

의 극히 미약한 저해양상만 나타나 통풍(gout) 예방 및 치료를 위한 자원으로의 활용은 어려울 것으로 판단하였다.

항균활성 측정

숙지황 추출물의 항균효과를 측정하기 위하여 *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Escherichia coli*, *Streptococcus mutans* 및 *Helicobacter pylori*를 사용하여 생육억제 효과를 측정한 결과 Table 5에서와 같이 피부상재균인 *S. aureus*, *S. epidermidis*의 경우 200 µg/ml phenolic 농도에서만 9.1과 9.6 mm의 clear zone을 나타내어 항균력을 나타내었을 뿐 저 농도의 침가군에서는 항균효과를 관찰할 수 없었으며, 충치균인 *Streptococcus mutans*와 위염, 위궤양 원인균인 *Helicobacter pylori*의 경우 농도에 관계없이 항균효과가 검출되지 않았다. 따라서 숙지황 추출물은 피부상재균을 억제함으로써 피부 트러블을 완화시킬 수 있는 화장품료로 활용이 가능할 것으로 판단하였다.

미백효과

Tyrosinase는 피부의 표피 기저층에 존재하는 멜라노 사이트에서 tyrosine을 산화시켜 멜라닌의 생성을 촉진시키는 효

Table 3. Inhibition effect of water and ethanol extracts on angiotensin converting enzyme from *Rehmannia glutinosa*

Sample	Water extracts		40% Ethanol extracts		Positive control (Captopril)	
	Hippuric acid (µg/ml)	Inhibition activity (%)	Hippuric acid (µg/ml)	Inhibition activity (%)	Hippuric acid (µg/ml)	Inhibition activity (%)
Control	19.6±0.2	0	19.6±0.1	0	19.6±0.1	0
<i>Rehmannia glutinosa</i>	2.5±0.5	87.2±5.9	3.7±0.7	81.1±7.3	6.2±0.3	68.4±2.4

Phenolic content were 200 µg/ml. The data were expressed as the mean±SD (n=6).

Table 4. Inhibition effect of water and ethanol extracts on xanthin oxidase from *Rehmannia glutinosa*

Sample	Water extracts		40% Ethanol extracts		Positive control (Allopurinol)	
	Uric acid (µg/ml)	Inhibition activity(%)	Uric acid (µg/ml)	Inhibition activity(%)	Uric acid (µg/ml)	Inhibition activity(%)
Control	18.1±1.3	0	18.1±1.3	0	18.1±1.3	0
<i>Rehmannia glutinosa</i>	18.1±1.3	0	17.5±2.2	3.3	8.2±1.2	54.7±1.3

Phenolic content were 200 µg/ml. The data were expressed as the mean±SD (n=6).

Table 5. Inhibitory activity of *Rehmannia glutinosa* extracts on various microorganism

Strains	Clear zone (mm)									
	Water extracts					40% ethanol extracts				
	Phenolic content (µg/ml)					Phenolic content (µg/ml)				
	0	50	100	150	200	0	50	100	150	200
<i>Staphylococcus aureus</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	9.1±0.3
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	9.6±0.2
<i>Escherichia coli</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	trace
<i>Propionibacterium acnes</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Streptococcus mutans</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Helicobacter pylori</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

∴: no inhibition. The data were expressed as the mean±SD (n=6).

Table 6. Inhibition effect of water and ethanol extracts on tyrosinase from *Rehmannia glutinosa*

Sample	Inhibition activity (%)					
	Water extracts		40% Ethanol extracts		Positive control (Kojic acid)	
	Phenolic content ( $\mu\text{g/ml}$ )		Phenolic content ( $\mu\text{g/ml}$ )		Phenolic content ( $\mu\text{g/ml}$ )	
	100	200	100	200	100	200
<i>Rehmannia glutinosa</i>	0	0	38.4 $\pm$ 2.6	70.2 $\pm$ 5.7	53.2 $\pm$ 3.6	62.4 $\pm$ 5.2

The data were expressed as the mean $\pm$ SD (n=6).

Table 7. Inhibition effect of water and ethanol extracts on elastase from *Rehmannia glutinosa*

Sample	Inhibition activity (%)					
	Water extracts		40% Ethanol extracts		Positive control (Vitamin C)	
	Phenolic content ( $\mu\text{g/ml}$ )		Phenolic content ( $\mu\text{g/ml}$ )		Phenolic content ( $\mu\text{g/ml}$ )	
	100	200	100	200	100	200
<i>Rehmannia glutinosa</i>	58.4 $\pm$ 6.5	76.2 $\pm$ 2.3	43.3 $\pm$ 3.6	57.2 $\pm$ 5.7	3.2 $\pm$ 0.7	12.9 $\pm$ 0.5

The data were expressed as the mean $\pm$ SD (n=6).

Table 8. Inhibition effect of water and ethanol extracts on hyaluronidase from *Rehmannia glutinosa*

Sample	Inhibition activity (%)					
	Water extracts		40% Ethanol extracts		Positive control (Vitamin C)	
	Phenolic content ( $\mu\text{g/ml}$ )		Phenolic content ( $\mu\text{g/ml}$ )		Phenolic content ( $\mu\text{g/ml}$ )	
	100	200	100	200	100	200
<i>Rehmannia glutinosa</i>	0	0	0	5.1 $\pm$ 0.3	0	14.4 $\pm$ 1.5

The data were expressed as the mean $\pm$ SD (n=6).

소로서 이들의 활성 억제는 피부 미백과 노화 방지에 매우 중요하다. 본 연구에서는 숙지황 추출물의 tyrosinase 저해 활성을 측정된 결과 Table 6에서와 같이 물 추출물에서는 tyrosinase 억제효과가 관찰되지 않았으나, 40% ethanol 추출물에서는 200  $\mu\text{g/ml}$  phenolic의 농도에서 positive control인 kojic acid의 62.4%보다 더 높은 70%의 저해효과가 확인되어 우수한 미백효과를 기대할 수 있었다. 저해양상은 농도의존적인 양상을 나타내었으며 첨가되는 phenolic compound의 양에 따라 저해효과는 결정될 것으로 판단하였다. Han 등[14]은 민속주의 발효과정에서 tyrosinase 저해 활성이 높았으며, 이는 첨가되는 재료의 플라보노이드 화합물과 같은 phenolic compound에 의한 것으로 판단하였다고 보고한 것과 유사한 결과를 얻을 수 있었다. Lee 등[22]은 제주산 식물을 이용한 tyrosinase 억제 활성을 측정된 결과 1,000 ppm의 농도에서 10.0% 미만의 효과를 나타낸 결과와 비교하여 천연자원으로서의 숙지황은 미백 활성이 우수함을 확인할 수 있었다.

#### 주름개선 효과 측정

인체의 중성구 과립구내에 존재하는 elastase는 진피 내 피부탄력을 유지하는데 중요한 기질 단백질인 엘라스틴을 분해하는 효소이며, 다른 중요한 기질 단백질인 콜라겐을 분해할 수 있는 비특이적 가수분해 효소이다. 따라서 elastase 저해제는 피부 주름을 개선하는 작용을 나타내며[33], elastase 저해

제로 인하여 주름개선의 효과를 기대할 수 있을 것이다. 이러한 주름 생성과 관련된 elastase 저해 활성 측정 결과를 Table 7에서와 같이 200  $\mu\text{g/ml}$  phenolic의 농도에서 대조구인 vitamin C가 12.9%인데 비하여 물 추출물에서 76%, 40% ethanol 추출물에서 57%의 높은 elastase 억제효과를 관찰할 수 있었으며, Kwak 등[21]은 각종 약용식물의 elastase 저해효과가 1 mg/ml의 농도에서 30.0% 미만의 저해활성을 나타낸다고 보고한 것과 비교하면, 숙지황 추출물의 elastase 저해활성이 매우 높은 것을 알 수 있었다. 따라서 숙지황 추출물은 주름개선을 위한 미용식품이나 주름개선 기능성화장품에 적용이 가능할 것으로 판단하였다.

#### Anti-inflammation 효과 측정

고분자 다당인 히아루론산(hyaluronic acid, HA)은 진피층의 섬유아세포로부터 산출되어, 표피, 진피에 있어서 주요한 세포외 매트릭스로서 glucuronic acid와 glucosamine이 반복해서 연결된 점액성 mucopolysaccharide이다. 또한 HA는 염증 형성의 중요 요소인 macrophage의 phagocytic ability를 저해하는 한편, HA 분해 산물 혹은 저분자 HA는 상처 치유 과정에서 inflammation, fibrosis collagen deposition을 증가시키는 것으로 알려져 있으며, 이는 결국 고분자 HA의 분해효소인 hyaluronidase (HAase)의 저해에 의해 HA의 고분자 형태를 유지하게 함으로서 항염증 효과를 기대할 수 있다[13].

숙지황 추출물에 대한 HAase 저해활성을 측정 결과 Table 8에서와 같이 숙지황 물 추출물에서는 HAase 저해활성을 전혀 나타내지 않았으며, 40% ethanol 추출물에서도 200 µg/ml phenolic의 농도에서만 약 5%의 매우 낮은 HAase 저해활성을 나타내어 항염증 효과나 아토피 억제효과를 기대하기는 어려울 것이라 판단되었다.

이상의 연구 결과에서와 같이 숙지황 추출물은 우수한 항산화 및 항고혈압 활성을 이용한 생활습관병 예방 건강 기능성 식품으로의 활용이 가능하리라 생각되며, 피부상재균 억제효과, 미백 및 주름개선효과 등도 우수하여 복합 기능성 화장품 원료로 산업화에 적용할 수 있을 것이라 판단되었다.

### 감사의 글

이 논문은 2010년 경북대학교 학술연구지원금에 의하여 연구되었으며 이에 감사드립니다.

### References

- Andarwulan, N. and Shetty, K. 1999. Phenolic content in differentiated tissue cultures of untransformed and *Agrobacterium*-transformed roots of anise(*Pimpinella anisum* L.). *J. Agric. Food Chem.* **47**, 1776-1780.
- Blios, M. S. 1958. Antioxidant determination by the use of a stable free radical. *Nature* **26**, 1199-1200.
- Boo, H. O., Hwang, S. J., Bae, C. S., Park, S. H. and Song, W. S. 2011. Antioxidant activity according to each kind of natural plant pigment. *Kor. J. Plant Res.* **24**, 105-112.
- Buege, J. A. and Aust, S. D. 1978. Microsomal lipid peroxidation. *Method Enzymol.* **105**, 302-310.
- Chen, L. Z., Feng, X. W. and Zhou, J. H. 1995. Effects of *Rehmannia glutinosa* polysaccharide b on T-lymphocytes in mice bearing sarcoma 180. *Chung. Kuo. Yao. Li. Hsueh. Pao* **16**, 337-340.
- Cho, S. I. 2003. Antioxidative effects of *Rehmannia Radix* Preparata on toxic agent induced kidney cell injury. *Kor. J. Herbology* **18**, 119-126.
- Choi, S. I., Lee, Y. M. and Heo, T. R. 2003. Screening of hyaluronidase inhibitory and free radical scavenging activity *in vitro* of traditional herbal medicine extracts. *Kor. J. Biotech. Bioeng.* **18**, 282-288.
- Chung, H. J. 1989. Studies on variation of constituents and enzyme activities of *Rehmannia Radix* by processing. *Department of Pharmacy, Graduate school of Sookmyung Woman's University, Korea.* pp. 1-12.
- Conner, D. E. and Beuchat, L. R. 1984. Sensitivity of heat-stressed yeasts to essential oils of plants. *Appl. Environ. Microbiol.* **47**, 229-233.
- Cushman, D. W., Cheung, H. S., Sabo, E. F. and Ondetti, M. A. 1977. Design of potent competitive inhibitors of angiotensin-converting enzyme. Carboxylalkanoyl and mercaptoalka noyl amino acids. *Biochemistry* **16**, 5484-5491.
- Duval, B. and Shetty, K. 2001. The stimulation of phenolics and antioxidant activity in pea (*Pisum sativum*) elicited by genetically transformed anise root extract. *J. Food Biochem.* **25**, 361-377.
- Folin, O. and Denis, W. 1912. On phosphotungstic-phosphomolybdic compounds as color reagents. *J. Biol. Chem.* **12**, 239-249.
- Ghosh, P. 1994. The role of hyaluronic acid (hyaluronan) in health and disease: interactions with cells, cartilage and components of synovial fluid. *Clin. Exp. Rheumatol.* **12**, 75-82.
- Han, K. H., Lee, J. C., Kim, J. H. and Lee, J. S. 2002. Manufacture and physiological functionality of Korean traditional liquor by using purple-fleshed sweet potato. *Kor. J. Food Sci. Technol.* **34**, 673-677.
- Jang, M. S., Yang, W. M., Yu, T. W., Kim, D. R., Park, E. H., Ko, E. B., Choi, M. J., Kim, H. Y., Oh, J. H., Shin, K. J., Yoon, J. W. and Park, S. K. 2007. Antioxidant effects of *Rehmannia Radix* Preparat in GC-1 cell. *Kor. J. Herbology* **22**, 81-86.
- Jeong, H. J. and Kim, I. H. 1990. Comparative studies on the antidiabetic activities of *Rehmannia Radix*. *J. Pharm. Sci.* **4**, 22-31.
- Ju, I. S. and Cho, Y. J. 2009. Purification and identification of phenol compounds with inhibitory activity on *Helicobacter pylori* from *Rhododendron mucronulatum* Flos. extracts. *J. Life Sci.* **19**, 1125-1131.
- Kim, E. Y., Baik, I. H., Kim, J. H., Kim, S. R. and Rhyu, M. R. 2004. Screening of the antioxidant activity of some medicinal plants. *Kor. J. Food Sci. Technol.* **36**, 333-338.
- Kim, J. H. 2006. Biological activity of phenolic compound from Herb and Oriental medicinal resource. *Kyungpook national university MS thesis, Korea,* p. 17-22.
- Kim, S. J., Lim, J. H., Lee, R. S. and Lee, J. S. 1996. Extraction and a characteristics of a purple sweet potato pigment. *Kor. J. Food Sci.* **28**, 345-347.
- Kwak, Y. J., Lee, D. H., Kim, N. M. and Lee, J. S. 2005. Screening and extraction condition of anti-skin aging elastase inhibitor from medicinal plants. *Kor. J. Med. Crop. Sci.* **13**, 213-216.
- Lee, N. H., Yang, H. C., Bu, H. J., Jung, D. S., Lee, S. J. and Riu, K. Z. 2001. Screening of the tyrosinase inhibition and hyaluronidase inhibition activities and radical scavenging effects using plants in Cheju. *Kor. J. Pharmaco.* **32**, 175-180.
- Lee, H. 2011. Effects of *Lxeris dentata* extracts on lowering lipid and antioxidation. *Kor. J. Plant Res.* **24**, 55-60.
- Moon, S. H. and Lee, Y. J. 2001. Studies on the digestive function of *Rehmannia Radix* produced by different processes. *Kor. J. Herbology* **16**, 65-77.
- Park, J. B. 1993. Effects of *Rehmannia Radix* aqua-acupuncture at the meridian point BL 23 on the renal function in two-kidney one goldblatt hypertensive rats. *Department of oriental medicine, graduate school of Wonkang University, Korea,* pp. 2-9.
- Pellegrin, N., Roberta, R., Min, Y. and Catherine, R. E. 1998. Screening of diatry carotenoids and carotenoid-rich fruit ex-

- tracts for antioxidant activities applying 2,2'-azinobis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) radical cation decolorization assay. *Method Enzymol.* **299**, 379-389.
27. Soffer, R. L. 1976. Angiotensin-converting enzyme and the regulation of vasoactive peptides. *Ann. Rev. Biochem.* **45**, 73-78.
  28. Storch, J. and Feber, E. 1988. Detergent-amplified chemiluminescence of lucigenin for determination of superoxide anion production by NADPH oxidase and xanthine oxidase. *Anal. Biochem.* **169**, 262-267.
  29. Stirpe, F. and Crote, E. D. 1969. The regulation of rat liver xanthine oxidase. *J. Biol. Chem.* **244**, 3855-3858.
  30. Tomoda, M., Miyamoto, H. and Shimizu, N. 1994. Structural features and anti-complementary activity of rehmanna SA, a polysaccharide from the root of *Rehmannia glutinosa*. *Chem Pharm Bull.* **42**, 1666-1668.
  31. Tomoda, M., Miyamoto, H., Shimizu, N., Gonoda, R. and Ohara, N. 1994. Characterization of two polysaccharides having activity on the reticuloendothelial system from the root of *Rehmannia glutinosa*. *Chem Pharm Bull.* **42**, 625-629.
  32. Tomoda, M., Miyamoto, M., Shimizu, N., Gonoda, R. and Ohara, N. 1994. Two acidic polysaccharides having reticuloendothelial system-potentiating activity from the raw root of *Rehmannia glutinosa*. *Biol. Pharm Bull.* **17**, 1456-1459.
  33. Tsuji, N., Moriwaki, S., Suzuki, Y., Takema, Y. and Imokawa, G. 2001. The role of elastases secreted by fibroblasts in wrinkle formation: implication through selective inhibition of elastase activity. *Phytochem Photobiol.* **74**, 283-290.
  34. Xu, M. L., Wang, L. and Wang, M. H. 2011. The antioxidant and anticancer effects of MeOH extract of *Liriodendron tulipifera*. *Kor. J. Plant Res.* **24**, 23-29.
  35. Yagi, A., Kanbara, T. and Morinobu, N. 1986. The effect of tyrosinase inhibition for aloe. *Planta Medica.* **3981**, 517-519.
  36. Yang, Y. J., Kim, H. J., Kang, S. H. and Kang, S. C. 2011. Screening of natural herb resources for antioxidative effects in Korea. *Kor. J. Plant Res.* **24**, 1-9.
  37. Zielinski, H. and Kozłowska, H. 2000. Antioxidant activity and total phenolics in selected cereal grains and their different morphological fractions. *J. Agric. Food Chem.* **48**, 2008-2016.

#### 초록 : 숙지황(*Rehmannia glutinosa*) 추출물의 생리활성

조영제\*

(경북대학교 식품공학부/식품생물산업연구소)

숙지황(*Rehmannia glutinosa*)으로부터 유용성분 추출은 40% 에탄올 추출물에서 5.1±0.2 mg/g으로 가장 높은 phenolic compound 함량을 나타내었다. 숙지황 추출물의 항산화활성은 전자공여능의 경우 물 추출물과 40% ethanol 추출물 모두에서 85~93%의 높은 전자공여능이 확인되었으며, ABTS radical cation decolorization의 경우 물 추출물과 40% ethanol 추출물이 55~62%의 비슷한 수준의 항산화효과를 효과를 나타내었고, antioxidant protection factor (PF)는 200 µg/ml의 농도에서 물 추출물과 40% ethanol 추출물 모두에서 1.6~1.9 PF의 높은 항산화력이 확인되었고, TBARs는 물 추출물과 40% ethanol 추출물이 비슷한 수준의 항산화효과를 효과를 나타내는 것으로 측정되었다. 숙지황 추출물의 고혈압억제효과는 물 추출물에서 87.2%, 40% ethanol 추출물에서 81.1%의 저해활성을 나타내었다. 관절염억제효과는 매우 낮게 측정 되었으며, 피부상재균에 대한 항균효과는 확인되었다. 숙지황 추출물의 tyrosinase 저해 활성은 40% ethanol 추출물에서 70%의 높은 저해효과가 확인되어 미백효과를 기대할 수 있었다. 주름 생성과 관련된 elastase 저해 효과는 물 추출물에서 76%, ethanol 추출물 57%의 높은 elastase 억제효과를 관찰할 수 있었다. 숙지황 추출물에 대한 hyaluronidase 저해활성은 40% ethanol 추출물에서만 200 µg/ml phenolic의 농도에서 약 5%의 매우 낮은 hyaluronidase 저해활성을 나타내었다.