

골담초(*Caragana sinica*) 추출물의 생리활성 탐색

전영숙¹ · 조분성¹ · 박혜진² · 강선애² · 조영제^{3*}

¹경북대학교 식품과학부

²경북대학교 응용생명과학부

³경북대학교 식품공학부/식품생물산업연구소

Screening of Biological Activity of *Caragana sinica* Extracts

Young-Suk Jeon¹, Bun-Sung Jo¹, Hye-Jin Park², Sun-Ae Kang², and Young-Je Cho^{3*}

¹School of Food Science, Kyungpook National University, Gyeongbuk 742-711, Korea

²School of Applied Bioscience and ³School of Food Science & Biotechnology/ Food & Bio-Industry Research Institute, Kyungpook National University, Daegu 702-701, Korea

Abstract

In this study, extracts from *Caragana sinica* flowers and leaves were tested for antioxidant and angiotensin converting enzyme inhibitory activities, along with xanthine oxidase, tyrosinase, elastase, and astringent effects. Total phenolic compounds of acetone extracts from *Caragana sinica* flowers and leaves were the highest at 3.42 and 2.98 mg/g, respectively, when various extraction solvents were used. Optimal conditions for extraction of phenolic compounds from *Caragana sinica* leaves and flowers were 70% ethanol for 18 hr. DPPH scavenging activities were the highest in 70% ethanol extracts of *Caragana sinica*. ABTS radical cation decolorization values of 70% ethanol extracts were higher than those 60% ethanol extracts at 74%. Antioxidant protection factor was 1.2 PF in 70% ethanol extracts from *Caragana sinica* flowers and leaves. TBARS was lower than that of control (0.54 μ M) in all sections. Angiotensin converting enzyme inhibitory activity of *Caragana sinica* flower extract was 80~90% at a phenolic concentration of 0.2~1.0 mg/mL, whereas xanthin oxidase inhibitory activity of *Caragana sinica* leaf extract was higher than that of flower extract. Tyrosinase inhibitory activity, which is related to skin-whitening, was above 20%, whereas elastase inhibitory activity related to anti-wrinkle effect was above 50% at a phenolic concentration of 0.8 mg/mL. Astringent effects of *Caragana sinica* flower and leaf extracts were higher than tannic acid as a control at an equivalent concentration. This result suggests that extracts from *Caragana sinica* flowers and leaves are suitable as functional foods having anti-hypertension, anti-gout, and medicinal cosmetic activities, including whitening and anti-wrinkle effects.

Key words: biological activity, *Caragana sinica*, extracts, functional foods, medicinal cosmetics

서 론

급격한 경제성장으로 인해 서구화된 식생활과 같은 생활양식에 의해 비만, 당뇨병, 고혈압, 동맥경화 등과 같은 성인병이 만연하게 되었다. 이와 같은 심혈관 질환은 고콜레스테롤증과 고중성지방혈증, 음주, 운동부족, 스트레스, 흡연 등 인자로 인하여 생체 내 산화적 손상이 촉진되어 항산화 영양소나 항산화 효소의 활성도가 낮아지게 된다(1). 생리활성 효과를 지닌 물질은 동식물에 널리 분포하며, 식물체는 자외선에 의한 산화나 자동산화로부터 자신을 보호하기 위하여 폴리페놀류의 항산화 물질을 세포내 함유하며, 플라보노이드류와 산성의 페놀화합물은 항산화, 항알레르기, 항암성 등 다양한 생리활성을 지닌 것으로 알려져 있다(2). 최근에는 효능이 검증된 약용식물자원 유래의 생리활성이 우수한 기

능성 물질에 대해 기능성식품 및 기능성화장품 분야에서 많은 연구가 이루어지고 있으며(3), 약용식물이나 한약재의 약용부위의 물질을 탐색하여 식품이나 식품부재료로 개발하는 것은 자원의 효율적인 이용 측면과 새로운 식품자원 개발에 기여할 수 있다는 측면에서도 매우 의미 있는 일이라 할 수 있다(4).

골담초(*Caragana sinica*)는 다년생의 낙엽, 활엽의 관목 식물로서 금작목(金雀木), 금작화(金雀花), 은계아(銀鷄兒), 강남금봉(江南金鳳), 파치화(霸齒花), 장판자(醬瓣子) 등으로도 부르며 수직적으로는 표고 400 m 이하, 수평적으로는 전북, 경남, 충남, 경기 등 우리나라 각지에 야생한다. 우리나라에는 골담초 이외에도 좁골담초(*Caragana microphylla* f. *mandshurica*)와 참골담초(*Caragana koreana*)가 야생하며 골담초와 같이 그 뿌리를 민간요법으로서 신경계통 질환의

*Corresponding author. E-mail: yjcho@knu.ac.kr
Phone: 82-53-950-7755, Fax: 82-53-950-7762

치료에 사용되어 왔다. 골담초는 우리나라 식품공전에는 등재되어 있지 않으나, 식품의약품안전청 식품 원재료명에 식용 가능한 품목으로 등재되어 있고, 경북 김천지역 주민들은 지금까지 민간요법으로 골담초 뿌리와 다른 한약재 등을 이용하여 약단술(식혜)을 만들어 신경통, 관절염, 여성 질환의 치료제로 이용하고 있으며, 명절이나 각종 행사 때뿐만 아니라 평소 음료로 즐겨 먹어 왔다. 또한 우리나라에 자생하는 골담초에 대한 연구를 보면 뿌리에서 β -sitosterol, campesterol, brassicasterol 및 cholesterol을 분리 동정한 바 있으며(5), butanol fraction에서 kalopanax saponin F와 chikusetsu saponin IV 2종의 saponin을 분리·동정하였다(6). 또한 골담초의 생리활성에 대한 연구에서 골담초 뿌리의 betulinic acid와 physcion 등이 항염작용이 있다는 것을 보고하였다(7-9).

이와 같이 골담초에 대한 연구가 뿌리를 대상으로 이루어졌을 뿐 지상부의 꽃과 잎에 대한 연구가 거의 없음에 착안하여 야생 골담초의 꽃과 잎에 대한 생리활성 기능을 밝혀 기능성식품과 기능성화장품으로서의 개발가능성을 제시하고자 하였다.

재료 및 방법

실험재료

본 실험에 사용한 골담초는 2011년 봄에 김천지역 야산에서 꽃과 잎을 채취하여 50°C dry oven에서 건조한 후 40 mesh로 분쇄하여 4°C에서 저온저장하며 시료로 사용하였다.

추출물의 제조

추출조건 검색을 위한 시료 추출은 건조 골담초 1 g에 각종 용매(H₂O, methanol, ethanol, acetone, *n*-butanol)를 100 mL씩 가하여 24시간 동안 상온에서 교반 추출하였으며, 추출시간에 의한 용출량의 변화는 30시간 동안 3시간 간격으로 추출 수율의 변화를 살펴보았다. 생리활성 측정을 위한 시료 추출은 물(열수)추출물의 경우 건조 골담초 1 g을 500 mL 삼각플라스크에 담고 증류수 200 mL를 가하여 액이 100 mL가 될 때까지 가열, 증발시킨 후 실온으로 냉각하고 24시간 동안 상온에서 교반 추출하였다. Ethanol 추출물은 시료에 100 mL의 각 농도별(10~100%) ethanol을 가하여 24시간 동안 상온 교반 추출하였으며, 추출액은 Whatman No.1 filter paper로 여과한 후 필요에 따라 rotary vacuum evaporator(Eyela NE, Tokyo, Japan)에서 농축하여 시료로 사용하였다.

Total phenolic compound의 정량

총 페놀성 화합물의 정량은 Folin-Denis 방법(10)으로 측정하였으며, 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% Na₂CO₃ 1 mL를 가한 다음

흡광도 725 nm에서 1시간 이내에 측정하여 gallic acid를 이용한 표준곡선으로부터 양을 환산하였다.

Electron donation ability 측정

DPPH(α, α -diphenyl- β -picrylhydrazyl) radical에 대한 소거활성은 Blois의 방법(11)에 준하여 측정하였다. 각 시료 0.5 mL에 60 μ M DPPH 3 mL를 넣고 vortex한 후 15분 동안 방치한 다음 517 nm에서 흡광도를 측정하였다. 전자공여능은 다음의 식으로 나타내었다.

$$\text{Electron donation ability (\%)} = \left(1 - \frac{\text{Absorbance of control}}{\text{Absorbance of sample}}\right) \times 100$$

ABTS radical cation decolorization의 측정

ABTS[2,2'-azinobis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid)] radical cation decolorization의 측정은 Pellegrin 등의 방법(12)으로 측정하였다. 즉, 7 mM ABTS 5 mL와 140 mM K₂S₂O₈ 88 μ L를 섞어 어두운 곳에 16시간 정도 방치한 용액 1 mL와 ethanol 88 mL를 혼합한 ABTS solution 1 mL와 시료용액 50 μ L를 혼합하여 30초간 진탕한 후 2분 30초간 incubation하고 734 nm에서 흡광도를 측정하였다. ABTS radical cation decolorization 효과는 percentage inhibition(%)으로 나타내었다.

$$\text{Inhibition rate (\%)} = \left(1 - \frac{\text{Absorbance of control}}{\text{Absorbance of sample}}\right) \times 100$$

Antioxidant protection factor(PF) 측정

PF는 Andarwulan과 Shetty의 방법(13)으로 측정하였다. 10 mg의 β -carotene/50 mL chloroform 용액 1 mL를 evaporator용 수기에 넣고 40°C water bath에서 chloroform을 증발시킨 후, 20 μ L linoleic acid, 184 μ L Tween 40과 50 mL H₂O₂를 가하여 emulsion을 만들고, 5 mL의 emulsion을 시료용액 100 μ L에 혼합하여 잘 섞어준 뒤 50°C에서 30분간 반응시켜 냉각시킨 다음, 470 nm에서 흡광도를 측정하였고 PF는 다음의 식으로 계산하였다.

$$\text{Antioxidant protection factor} = \frac{\text{Absorbance of control}}{\text{Absorbance of sample}}$$

Thiobarbituric acid reactive substances(TBARS) 측정

TBARS는 Burge와 Aust의 방법(14)에 따라 측정하였다. 1% linoleic acid와 1% Tween 40으로 emulsion을 만들고 emulsion 0.8 mL와 시료 0.2 mL를 섞은 후 50°C water bath에서 10시간 반응시켰다. 반응 후 반응액 1 mL에 TBA/TCA 시약 2 mL를 가하고 15분간 boiling한 다음 10분간 냉각시킨 후 15분간 1,000 rpm으로 원심분리 하여 실온에서 10분간 방치 후 상정액을 532 nm에서 흡광도를 측정하였다. TBARS 값은 1 mL 반응혼합물에 대해서 생성된 1,1,3,3-tetraethoxypropane(TEP)의 μ g으로 표시하였다.

Inhibition rate (%) =

$$\left(1 - \frac{1,1,3,3\text{-tetraethoxypropane } (\mu\text{g}) \text{ of control}}{1,1,3,3\text{-tetraethoxypropane } (\mu\text{g}) \text{ of sample}}\right) \times 100$$

항고혈압(angiotensin converting enzyme(ACE) 저해) 효과 측정

ACE 저해효과 측정은 Cushman과 Cheung의 방법(15)으로 행하였다. 즉, 반응구는 0.3 M NaCl을 함유하는 0.1 M potassium phosphate buffer(pH 8.3)에 기질인 hippuryl-L-histidyl-L-leucine(HHL, Sigma, St. Louis, MO, USA) 2.5 mM을 녹인 액 0.15 mL, ACE(0.25 unit/mL, Sigma) 0.1 mL와 각 추출시료 용액 0.1 mL를 혼합하였으며, 대조구는 추출시료 대신 증류수 0.1 mL를 첨가하여 37°C에서 30분간 반응시키고, 1 N HCl 0.25 mL 첨가로 반응을 중지시킨 뒤 3 mL의 ethyl acetate를 첨가하였다. Ethyl acetate 층으로부터 용매를 증류시킨 잔사에 2 mL의 증류수를 첨가하여 추출된 hippuric acid를 spectrophotometer를 사용하여 흡광도 280 nm에서 측정된 후 다음 식에 따라 저해율(%)을 구하였다.

Inhibition rate (%) =

$$\left(1 - \frac{\text{Content of hippuric acid in sample}}{\text{Content of hippuric acid in control}}\right) \times 100$$

항관절염(xanthin oxidase 저해) 효과 측정

Xanthin oxidase(Xoase) 활성저해 측정법은 Stirpe와 Corte의 방법(16)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 추출용액 0.3 mL를 넣고 대조구에는 추출용액 대신 증류수를 0.3 mL 첨가하여 37°C에서 30분간 반응시키고 20% trichloroacetic acid (TCA) 1 mL를 가하여 반응을 종료시킨 다음 원심분리 하여 단백질을 제거한 후 반응액 중에 생성된 uric acid를 흡광도 292 nm에서 측정하여 다음 식으로 저해율을 구하였다.

Inhibition rate (%) =

$$\left(1 - \frac{\text{Content of uric acid in sample}}{\text{Content of uric acid in control}}\right) \times 100$$

미백(tyrosinase 억제) 효과 측정

Tyrosinase 저해활성 측정은 Imokawa와 Mishima의 방법(17)에 따라 측정하였다. 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 25°C에서 2분간 반응시켜 반응액 중에 생성된 DOPA chrome을 475 nm에서 측정하였다. Tyrosinase 저해활성은 시료용액의 첨가구와 무첨가구의 흡광도 감소율로 다음의 식에 의해 계산하였다.

$$\text{Inhibition rate } (\%) = \left(1 - \frac{\text{Absorbance of sample}}{\text{Absorbance of control}}\right) \times 100$$

주름개선(elastase 저해) 효과 측정

Elastase 저해활성 측정은 Lee 등의 방법(18)에 따라 측정하였다. 기질로서 N-succinyl-(L-Ala)₃-p-nitroanilide를 사용하여 37°C에서 20분간 기질로부터 생성되는 p-nitroanilide의 생성량을 445 nm에서 측정하였다. 즉, 각 시험용액을 일정 농도가 되도록 조제하여 0.5 mL씩 시험관에 취하고, 50 mM tris-HCl buffer(pH 8.6)에 녹인 porcine pancreas elastase(2.5 U/mL) 용액 0.5 mL를 가한 후 기질로 50 mM tris-HCl buffer(pH 8.6)에 녹인 N-succinyl-(L-Ala)₃-p-nitroanilide(0.5 mg/mL)를 첨가하여 20분간 반응시켜 측정하였다. Elastase 저해활성은 시료용액의 첨가구와 무첨가구의 흡광도 감소율로 나타내었다.

$$\text{Inhibition rate } (\%) = \left(1 - \frac{\text{Absorbance of sample}}{\text{Absorbance of control}}\right) \times 100$$

수렴효과(astringent effect) 측정

Astringent 활성 측정은 Lee 등의 방법(19)에 따라 측정하였다. 피부 단백질과 유사한 혈액 단백질(hemoglobin)을 사용하여, 원심분리관 용기에 각각의 시료용액과 헤모글로빈 용액을 1:1로 넣어서 진탕 혼합한 다음 1,500 rpm에서 3분간 원심분리 후 576 nm에서 흡광도를 측정하였다. Astringent 활성 측정은 시료용액의 첨가구와 무첨가구의 흡광도 감소율로 나타내었다.

$$\text{Astringent effect } (\%) = \left(1 - \frac{\text{Absorbance of sample}}{\text{Absorbance of control}}\right) \times 100$$

결과 및 고찰

Phenol성 물질의 최적추출 조건

식물계에 널리 분포되어 있는 phenolic compounds는 식물의 2차 대사산물의 한 종류이며, phenolic hydroxyl기를 가지고 있기 때문에 단백질 등의 거대 분자들과 결합하는 성질이 있어 항산화, 항균활성 등과 같은 여러 생리기능을 가진다고 보고되어 있다(20). 따라서 골담초 잎과 꽃으로부터 생리활성에 관여하는 phenolic compounds를 추출하기 위하여 추출용매를 달리하여 phenolic compounds의 용출량을 알아보았다. 그 결과 Fig. 1A와 같이 acetone을 이용하여 추출하였을 때 꽃과 잎으로부터 phenolic compounds가 가장 많이 용출되는 것을 알 수 있었으며, ethanol과 methanol을 용매로 하였을 때 꽃의 경우 각각 3.41, 3.34 mg/g, 잎은 2.32, 2.02 mg/g으로 꽃이 잎보다 높은 함량을 나타내었으나, 용매에 따른 함량 차이는 크지 않았다. 유기용매로 추출하는 것이 물을 용매로 하여 추출하였을 때보다 높은 추출률을 나타내어 골담초 잎과 꽃의 phenolic compounds가 극성용매에서 용해도가 높은 것으로 확인되어 유기용매에서 phenolic compounds의 추출수율이 높다는 Shin의 결과(21)와 유사하였다. 골담초 추출물의 추출 조건을 확립하기 위하여

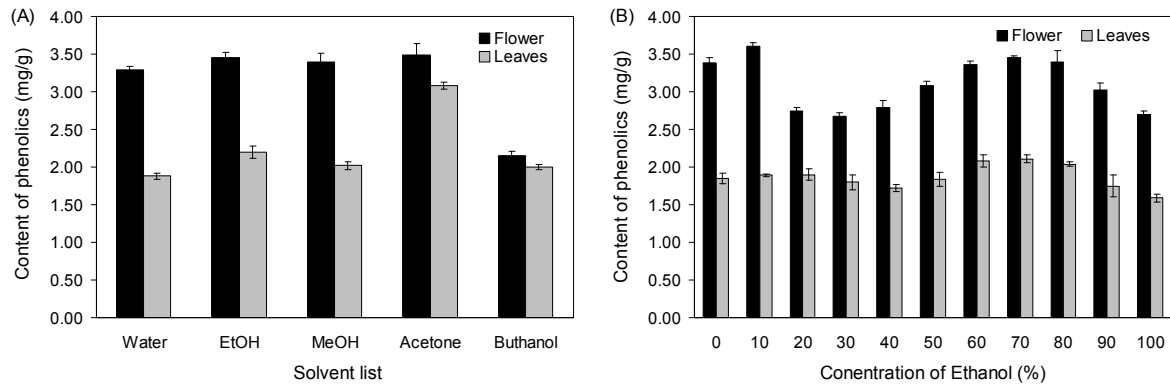


Fig. 1. Effect of different solvent and ethanol concentration on extraction of phenolics from *Caragana sinica*. The data were expressed as the mean \pm SD (n=6).

다양한 농도의 ethanol을 추출용매로 하여 골담초 잎과 꽃의 phenolic compounds의 용출량을 측정하였다. 그 결과 Fig. 1B와 같이 골담초 꽃으로부터 물 추출물의 phenolic compounds 함량보다 70% ethanol 추출물의 함량이 약간 높았으며, 에탄올 농도별로는 70% ethanol 추출물에서 3.41 mg/g으로 가장 높은 함량을 나타내었다. 또한 골담초 잎의 경우 꽃보다 낮은 함량을 나타내었으며, 1.92 mg/g의 함량을 나타낸 물 추출물보다 70% ethanol 추출물이 2.32 mg/g으로 더 높게 측정되었다. 이러한 결과로 볼 때 ethanol 농도와 추출 부위에 따라 용출되어 나오는 phenolic compounds 함량의 차이가 있는 것으로 판단되었다. 골담초 추출물을 식품 및 화장품에 적용하고자 추출 용매를 물과 인체에 유해하지 않으며 phenolic compounds의 용해도가 높은 ethanol을 이용하여 시간별 phenolic compounds의 용출량을 측정한 결과 Fig. 2와 같이 물 추출물과 ethanol 추출물 모두 6시간까지 용출량이 급격히 증가하였으며, 물과 ethanol 추출물 모두 6시간에서 18시간까지 용출량이 서서히 증가하다가 18시간 이후 용출량의 변화가 거의 없음을 알 수 있었다. 이상의 결과를 분석한 결과 물 추출물보다 70% ethanol 추출물에서 높은 phenolic compounds의 용출량을 나타내었고, 18시간 추출하였을 때 용출량이 가장 높은 것으로 나타났으나, 추출 수율의 효율 면에서 판단한다면 6시간의 추출로도 대부분의

유용성분이 용출되어 나오는 것으로 판단되어 최적추출시간은 6시간으로 정하였으며, 생리기능성 탐색을 위하여 골담초 잎과 꽃을 물과 70% ethanol을 이용하여 6시간 추출한 후 시료로 사용하기로 하였다.

골담초 추출물의 항산화 효과

전자공여능 측정에 사용된 DPPH는 자신이 가지고 있는 흡수 스펙트럼을 보이나, phenolic compounds와 같이 수소에 전자를 제공해 주는 전자공여체와 반응하게 되면 전자 hydrogen radical을 받아 phenoxy radical을 생성하게 되며, 흡수 band도 사라지게 되고 안정한 분자가 된다. 또한 공여된 전자는 비가역적으로 결합하여 그 수에 비례하여 진보라색의 DPPH의 색깔이 점점 없어지게 된다(22). 골담초 잎과 꽃의 추출물을 이용하여 전자공여능을 측정한 결과 Fig. 3A와 같이 꽃의 경우 모든 추출물에서 80~95%의 전자공여능을, 잎 추출물의 경우 70% ethanol 추출물에서 약 90%의 전자공여능을 나타내었다. Phenolic compounds의 함량이 꽃 추출물이 잎 추출물보다 높게 나타난 결과와 같이 전자공여능 또한 꽃 추출물이 비교적 높게 나타나, 이는 phenolic compounds의 함량에 따른 차이로 판단되었다. Cho 등(23)은 본 실험과 유사한 재료인 진달래 꽃 추출물의 항산화 측정 결과, 열수 추출물과 ethanol 추출물에서 각각 83.2, 89.7%의

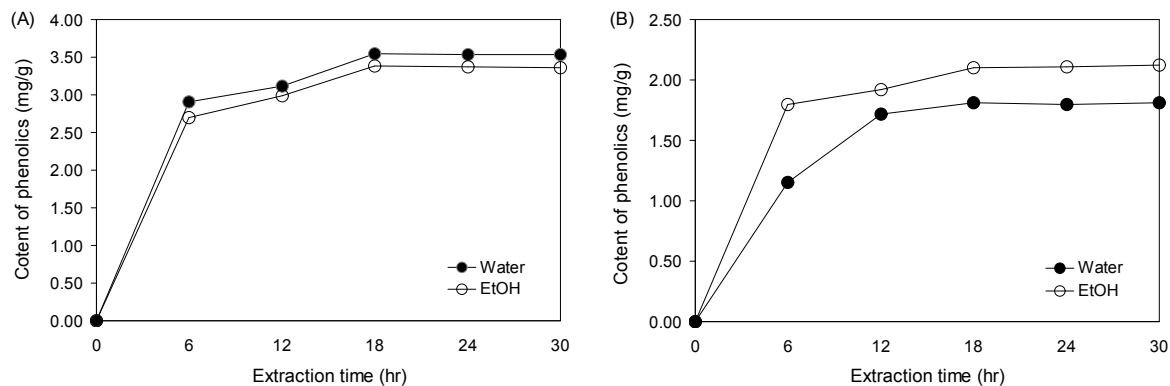


Fig. 2. Effect of time on extraction of phenolics from *Caragana sinica*. The data were expressed as the mean \pm SD (n=6). A: leaves, B: flowers.

전자공여능을 나타낸다고 보고한 것과 비교하면 골담초 꽃과 잎 추출물의 항산화 활성이 약간 더 우수함을 알 수 있었다. 추출물들의 상대적인 항산화 측정은 hydrogen-donating antioxidant와 chain breaking antioxidant 모두를 측정할 수 있으며, 표준물질의 사용으로 추출물의 상대 비교가 가능하도록 potassium persulfate와의 반응에 의해 생성된 ABTS⁺ free radical이 추출물 속의 항산화 물질에 의해 제거되어 radical 특유의 색인 청록색이 탈색되는 것을 이용하여 측정하였다(12). 그 결과 Fig. 3B와 같이 골담초 잎은 70% 이상의 고농도 ethanol 추출물에서만 70% 이상의 항산화활성을 나타내었으나, 꽃의 경우 10, 20 그리고 100% ethanol 추출물을 제외하고 모두 65% 이상의 항산화활성을 나타내어 꽃 추출물이 잎 추출물보다 친수성 및 lipophilic 물질에 대한 항산화력이 우수한 것을 알 수 있었다. 추출용매인 ethanol 농도에 따른 antioxidant protection factor의 차이를 측정한 결과 Fig. 3C에서와 같이 골담초 잎과 꽃 모두 70% ethanol로 추출하였을 때 1.2 이상의 PF값을 나타내었고, 꽃 추출물이 잎 추출물보다 상대적으로 대부분 높은 PF값을 나타내었다. 진달래 꽃 추출물의 지용성 물질에 대한 antioxidant protection factor 측정에서 물과 60% ethanol 추출물에서 각각 1.55와 1.43 PF라는 Cho 등(23)의 연구 결과와 비교하면 골담초 꽃과 잎 추출물의 항산화 활성이 약간 낮게 측정되었으나 1.2 PF 이상의 항산화력을 나타내어, 골담초 추출물의 지용성물질에 대한 항산화력도 비교적 우수하다

고 판단되었다. 지질과산화물인 malondialdehyde의 함량은 Burge와 Aust의 방법(14)을 이용하여 측정하였다. Ethanol 농도별 골담초 추출물의 TBARS를 측정한 결과 Fig. 3D에서와 같이 대조구(0.54 μM)보다 꽃의 물 추출물과 70% ethanol 추출물에서 0.25 μM 이하의 TBARS 값을 나타내었고 TBARS 값 또한 잎보다 꽃 추출물이 낮은 값을 나타내어 꽃 추출물이 잎 추출물보다 항산화력이 높음을 알 수 있었다.

골담초 추출물의 항고혈압(ACE 저해) 효과

고혈압은 우리나라에서 암 다음으로 많이 발생하는 대표적인 질환의 하나로 그 원인은 renin-angiotensin계가 중요한 역할을 하고 있는 것으로 여겨지고 있으며, 여기에는 ACE라는 효소가 관여하고 있는 것으로 알려져 있다. 생체 중에 존재하는 불활성형의 angiotensin I은 ACE에 의해 dipeptide가 떨어져 나감으로써 혈관벽 수축작용이 있는 angiotensin II로 전환된다. 이 물질은 강력한 혈관수축작용을 가지고 aldosterone의 분비를 촉진함으로써 물과 sodium의 배설을 억제하며, 또한 혈관이완작용을 갖는 bradykinin을 불활성화 시켜 혈압을 상승시키는 역할을 한다(24). 본 연구에서는 골담초의 꽃과 잎 추출물의 ACE 저해활성을 측정하였다. 그 결과 Table 1과 같이 잎의 경우 물 추출물에서 0.2~1.0 mg/mL phenolics의 농도를 처리하였을 때 82~99%의 저해활성을 나타내었으나, 70% ethanol 추출물에서는 1.0 mg/mL phenolics 농도로 처리하였을 때 90%의 저해활성을

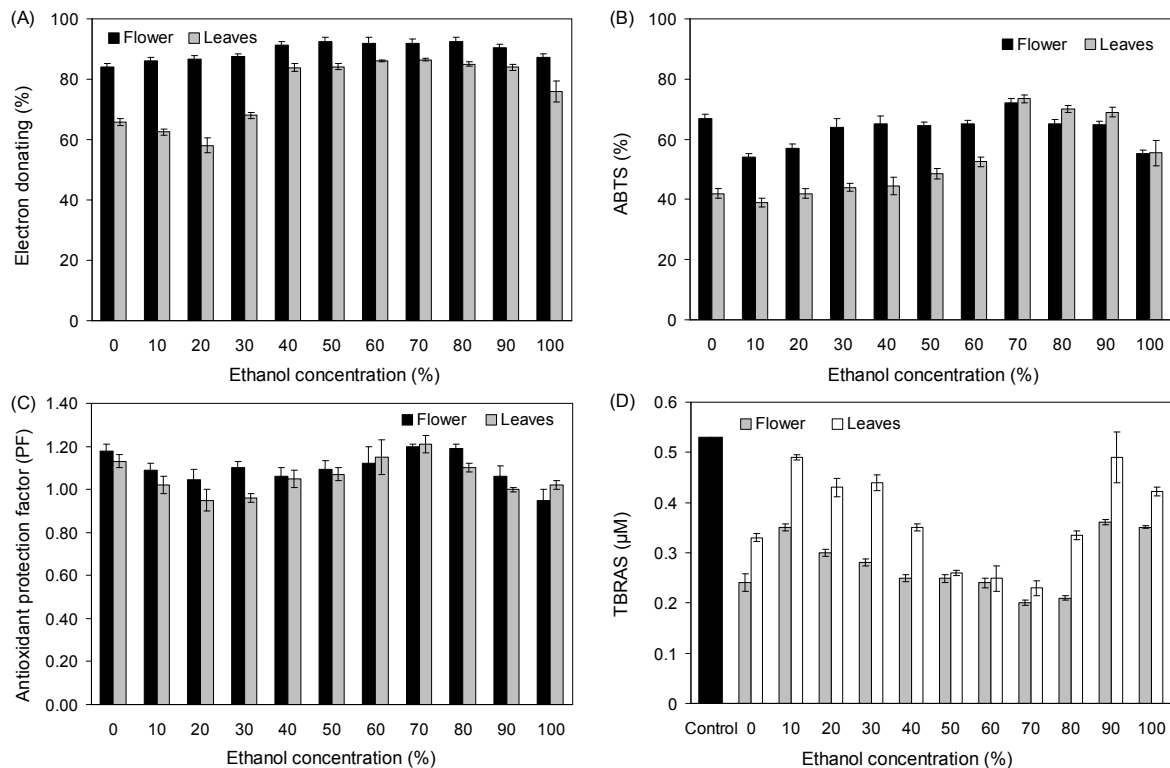


Fig. 3. Effect of ethanol concentration on antioxidative activity of *Caragana sinica* extracts. The data were expressed as the mean±SD (n=6). A: electron donating ability, B: ABTS cation decolorization, C: antioxidant protection factor, D: TBARS.

Table 1. Inhibition effect of water and 70% ethanol extracts from *Caragana sinica* on angiotensin converting enzyme

Phenolics content (mg/mL)	Inhibition activity (%)					
	Positive control	Leaves			Flower	
	Captopril	Water extracts	70% ethanol extracts	Water extracts	70% ethanol extracts	
Control	0	0	0	0	0	0
0.2	64.9±2.2	82.2±6.0	15.6±0.8	86.5±8.2	81.1±4.9	
0.4	70.7±1.1	84.6±3.1	24.4±1.6	95.4±5.6	93.3±1.2	
0.6	76.4±2.7	95.9±6.2	37.4±1.7	99.7±6.7	99.1±0.3	
0.8	85.3±2.8	97.0±2.3	60.3±3.7	99.7±6.6	99.6±0.3	
1.0	96.8±1.0	99.4±2.2	90.6±3.8	99.7±3.1	99.7±0.9	

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

나타내었을 뿐 그 이하의 농도로 처리하였을 때에는 60% 이하의 저해활성을 나타내었다. 꽃의 경우 물과 70% ethanol 추출물 모두 0.2~1.0 mg/mL phenolics의 농도로 처리하였을 때 81~99%의 저해활성을 나타내어 잎 추출물보다 효과가 우수한 것으로 확인되었다. 이는 positive control로 사용한 captopril에 비해서도 우수한 효과를 나타내는 것으로 확인되었다. 일반적으로 phenol 유래의 화합물 페놀성 수산기에 의해 수소결합에 의한 반응으로 단백질과 복합체의 침전물을 형성하여 비경쟁적으로 효소를 저해함으로써 효소의 용해성 및 안정성을 저하, 효소 불활성화를 일으키는 것으로 보고(25)된 후 ACE 저해작용을 갖는 nonapeptide인 tetrotide가 고 renin증 환자에서 뿐만 아니라 정상인에서도 현저한 혈압강하 작용을 가지며, ACE 억제제들이 고혈압 치료제로서의 연구(26)가 있었다. Kameda 등(27), Funayama와 Hikono(25)는 감나무잎에서 분리한 phenolic 물질 중 flavonoid가 ACE 저해활성을 가진다고 보고하였다. 이러한 연구 결과와 같이 골담초 추출물의 ACE 저해활성이 높게 나타나 고혈압 억제를 위한 기능성식품 소재로의 활용 가능성이 높다고 판단하였다.

항관절염(Xoase 저해) 효과

Xoase는 purine 대사에 관여하는 효소로서 xanthine 또는 hypoxanthine으로부터 urate를 형성하여 urate가 관절에 축적되어 심한 통증을 동반하는 관절염인 통풍을 유발하는 효소로 알려져 왔다(28). Xoase는 분자상의 산소를 수소 수용체로 이용하여 xanthine을 uric acid형으로 산화하는 반응을 촉매하는 작용을 하므로 Xoase의 저해 효과는 유리 라디칼의 생성 억제와 더불어 생물학적으로 중요한 의미를 가진다

고 할 수 있다. 골담초 잎과 꽃 추출물의 Xoase 저해활성을 측정한 결과 Table 2와 같이 잎 추출물의 경우 70% ethanol 추출물이 물 추출물에 비해 저해율이 비교적 높게 나타났으며 1.0 mg/mL phenolics의 농도로 처리하였을 때 56%의 저해활성을 나타내었고, 꽃 추출물의 경우도 물 추출물보다 70% ethanol로 추출하였을 때 더 높은 Xoase 저해활성을 나타내었으며, 1.0 mg/mL phenolics의 농도로 처리하였을 때 49%의 저해활성을 나타내어 꽃이 잎보다 비교적 낮은 저해활성을 나타내어 ACE 저해활성 결과와 상이한 결과를 나타내었다. 이는 추출물 속의 함유되어 있는 생리활성 성분이 가지는 phenolic compounds의 profile의 차이에 기인한다고 보고한 Chun 등(29)의 연구결과와 유사한 결과를 나타내기 때문인 것으로 판단되었다.

미백(tyrosinase 저해) 효과

Tyrosinase는 melanin 합성의 초기단계인 L-tyrosine에서 3,4-dihydroxyphenylalanine(DOPA), DOPA에서 L-dopaquinone으로 전환되어 최종적으로 멜라닌 형성에 관여하는 단계의 반응을 촉진하는 key enzyme으로 작용한다. 따라서 tyrosinase는 melanin 생합성 과정에서 중요한 역할을 하므로 tyrosinase 억제제를 피부의 melanin 색소생성을 조절할 수 있는 물질로 사용할 수 있다(30). 본 연구에서 골담초 잎과 꽃 추출물의 tyrosinase 저해활성을 측정한 결과 Table 3과 같이 0.8 mg/mL phenolics 이상의 농도를 처리하였을 때 모든 추출물에서 20% 이상의 저해활성을 나타내었으며, 꽃 추출물을 1.0 mg/mL phenolics의 농도로 처리하였을 때 40.2%로 가장 높게 나타나 한약재 추출물을 1.0 mg/mL phenolics의 농도로 처리했을 때 34%의 tyrosinase 저해

Table 2. Inhibition effect of water and 70% ethanol extracts from *Caragana sinica* leaves on xanthin oxidase

Phenolic content (mg/mL)	Inhibition activity (%)					
	Positive control	Leaves			Flower	
	Allopurinol	Water extracts	70% Ethanol extracts	Water extracts	70% Ethanol extracts	
Control	0	0	0	0	0	0
0.2	62.6±2.9	2.9±6.1	6.4±1.1	1.3±1.3	4.2±1.5	
0.4	72.7±0.8	5.4±5.2	15.3±1.9	2.8±1.1	10.0±1.2	
0.6	75.7±1.3	10.5±8.2	20.7±1.4	5.7±0.9	21.5±1.3	
0.8	79.1±0.8	14.3±6.0	37.2±1.9	12.5±0.8	24.4±1.7	
1.0	84.1±1.5	20.0±2.1	56.0±3.9	17.2±0.7	49.1±1.0	

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

Table 3. Inhibition effect of water and 70% ethanol extracts from *Caragana sinica* on tyrosinase

Phenolics content (mg/mL)	Inhibition activity (%)					
	Positive control	Leaves			Flower	
	Kojic acid	Water extracts	70% Ethanol extracts	Water extracts	70% Ethanol extracts	
0.2	21.5±1.4	ND	ND	3.2±0.7	6.1±2.1	
0.4	46.4±3.6	12.0±1.2	8.3±1.6	9.4±0.6	10.0±1.0	
0.6	61.3±3.2	19.4±4.5	16.6±3.8	16.8±0.8	19.4±6.1	
0.8	80.3±6.2	23.2±2.4	26.2±1.2	23.5±0.6	28.2±2.0	
1.0	97.1±3.3	29.9±4.4	35.4±3.3	32.3±0.3	40.2±3.4	

The data were expressed as the mean±SD (n=6). ND: Not detected.

활성이 나타난다고 보고한 Kim 등(31)의 결과보다 우수하였으나, positive control로 사용된 kojic acid와 비교하였을 때 저해활성은 미약하였으나 골담초 추출물의 처리 농도를 더 높인다면 농도 의존적으로 저해활성이 나타날 것으로 판단되어진다. 또한 골담초 추출물은 기존 미백제와 같이 mushroom tyrosinase에 직접적인 저해활성이 있는 것으로 판단되었다.

주름개선(elastase 저해) 효과

Elastase는 진피 내 피부탄력을 유지하는데 중요한 기질 단백질인 엘라스틴을 분해하는 효소이고 다른 중요한 기질 단백질인 콜라겐을 분해할 수 있는 비 특이적 가수분해 효소이며, 체내의 엘라스틴을 분해하는 백혈구 과립 효소 중의 하나로 이상조직에서는 그 효소의 활성이 극히 높아 조직 파괴에 직접적인 원인이 되어 피부 주름 및 탄력성 손실을 유발한다(32). 따라서 ursolic acid 등의 elastase 저해제는 피부 주름을 개선하는 작용을 나타낸다. 이러한 주름 생성과 관련된 elastase 저해활성을 측정한 결과 Table 4와 같이, 골담초 잎과 꽃 추출물 모두 0.8 mg/mL phenolics 이상의 농도를 처리하였을 때 50% 이상의 저해활성을 나타내었고, 물 추출물보다 70% ethanol 추출물이 상대적으로 높은 저해활

성을 나타내었으며, 꽃의 70% ethanol 추출물은 1.0 mg/mL phenolics 농도로 처리하였을 때 74.6%로 가장 높은 저해율을 나타내었다. Kawak 등(33)은 각종 약용 식물로부터 elastase 저해활성을 측정한 결과 대부분이 1.0 mg/mL 농도에서 30% 미만의 저해활성을 나타내었으며, Kim 등(34)은 한약재 복합 추출물 1.0 mg/mL 농도에서 64% 이상의 저해활성을 나타내었다고 보고하였으며, 5.0 mg/mL 농도에서는 71% 이상의 활성저해를 나타내어 농도 의존적으로 저해활성이 나타난다고 보고하였다. 식물성 유사 호르몬으로 알려진 ursolic acid와 골담초 추출물의 elastase 저해활성을 비교하였을 때 골담초 추출물이 상대적으로 다소 낮은 저해활성을 나타내었으나 농도에 따라 저해활성이 증가하는 것이 확인되어, 골담초 추출물도 식물성 유사 호르몬과 같이 elastase 저해활성이 있음을 알 수 있었다.

수렴 효과(astringent effect)

수렴작용의 원리는 피부 단백질이 고분자 flavonoids와 결합하여 가교결합을 형성하여 피부가 수축되는 현상을 말한다. 수렴제는 피부와 점막 혈관 등을 수축시키는 작용이 있고, 세포간극 및 림프간극을 가로막아 점액의 분비를 억제시키는 효과가 있다. 이러한 수렴작용에는 외용 작용에 의해

Table 4. Inhibition effect of water and 70% ethanol extracts from *Caragana sinica* on elastase

Phenolics content (mg/mL)	Inhibition activity (%)					
	Positive control	Leaves			Flower	
	Ursolic acid	Water extracts	70% Ethanol extracts	Water extracts	70% Ethanol extracts	
0.2	64.2±1.8	12.2±0.2	24.2±0.1	14.3±2.2	21.1±0.4	
0.4	78.2±0.1	12.2±1.2	29.0±1.2	25.2±5.2	32.0±2.4	
0.6	99.4±0.1	42.2±0.2	43.3±0.1	44.4±2.0	47.4±2.4	
0.8	99.9±0.1	51.3±2.1	57.3±1.6	54.2±3.1	58.3±0.7	
1.0	99.9±0.1	58.7±2.2	64.4±2.0	61.2±3.0	74.6±6.7	

The data were expressed as the mean±SD (n=6). ND: Not detected.

Table 5. Astringent effect of water and 70% ethanol extracts from *Caragana sinica*

Phenolics content (mg/mL)	Astringent effect (%)					
	Positive control	Leaves			Flower	
	Tannic acid	Water extracts	70% Ethanol extracts	Water extracts	70% Ethanol extracts	
0.2	4.2±0.6	ND	ND	ND	ND	
0.4	10.6±2.1	ND	ND	ND	ND	
0.6	18.9±2.1	ND	15.3±1.9	ND	17.1±6.1	
0.8	42.6±0.9	6.1±1.1	27.1±1.3	8.1±1.1	45.6±0.2	
1.0	99.2±1.3	11.9±1.0	96.1±2.4	12.3±1.5	98.3±0.4	

The data were expressed as the mean±SD (n=6). ND: Not detected.

서 피부와 점막의 표면에 난용성의 피막을 형성하거나 조직을 조밀하게 하여 세포막의 투과성을 감소시키는 효과가 있다고 할 수 있다(35). 골담초 추출물의 astringent 활성을 측정한 결과 Table 5와 같이 70% ethanol을 용매로 한 잎 추출물 1.0 mg/mL phenolics를 첨가하였을 때 96.1%로 나타나 positive control로 사용한 tannic acid 1.0 mg/mL를 첨가한 대조구와 비슷한 효과를 나타내었으며, 꽃의 경우 0.8 mg/mL phenolics와 1.0 mg/mL phenolics를 첨가한 70% ethanol 추출물에서는 대조구보다 높거나 비슷한 결과를 나타내었다. 이는 Lee 등(18)의 함초 추출물 10,000 ppm에서 50%의 효과를 나타냈다고 보고한 것과 도화 에탄올 및 아세톤 추출물의 경우 5,000 ppm에서 30%의 활성을 나타낸다고 보고한 결과보다 높아 골담초 추출물의 astringent 효과가 우수함을 확인할 수 있었다.

요 약

골담초에 함유된 페놀성 물질은 70% 에탄올을 용매로 하여 18시간 추출하였을 때 가장 많이 용출되었다. 항산화 효과 중 전자공여능을 측정한 결과는 꽃과 잎 모두 70% 에탄올 추출물에서 74%로 가장 높은 항산화 활성을 나타내었으며, ABTS radical cation decolorization을 측정한 결과, 꽃의 경우 70~90% 에탄올 추출물에서 60% 이상의 항산화 활성을 나타내었다. 지용성 물질에 대한 항산화력으로 anti-oxidant protection factor(PF)를 측정한 결과, 70% 에탄올 추출물에서 1.2 이상의 PF를 나타내었다. 활성산소 중 지방산화를 일으키는 hydroxyl radical에 대한 골담초 추출물의 영향은 꽃의 물 추출물과 70% 에탄올 추출물에서 대조구보다 낮은 TBARS 값을 나타내었다. ACE에 대한 골담초 추출물의 저해활성은 꽃의 경우 물과 70% 에탄올 추출물 모두 80~99%의 높은 저해활성을 나타내었고, Xoase 대한 저해활성은 꽃보다 잎 추출물의 저해활성이 높았다. 골담초 추출물의 주름개선과 미백효과를 확인한 결과 꽃과 잎 추출물 모두 페놀성 물질을 0.8 mg/mL의 농도로 처리하였을 때 50% 이상의 elastase 저해활성과 70% 에탄올 추출물에서 40.24%로 가장 높은 tyrosinase 저해활성을 나타내었고, 수렴효과는 같은 농도의 tannic acid보다 높은 수렴효과를 나타내었다.

문 헌

1. Position of the American Dietetic Association: nutrition, aging, and the continuum of care. 2000. *J Am Diet Assoc* 100: 580-595.
2. Rice-Evans CA, Miller NJ, Paganga G. 1996. Structure-antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids. *Free Rad Biol Med* 20: 933-956.
3. Kinsella JE, Frankel E, German B, Kanner J. 1993. Possible mechanism for the protective role of antioxidants in wine and plant foods. *Food Technol* 478: 85-89.
4. Lee YS, Yoon HK, Kim NW. 2010. The physiological activities of ripe fruit of *Poncirus trifoliata*. *Kor J Food Preserv* 17: 698-705.
5. Seung HK, Kim IH. 1978. Sterol composition of *Caragana sinica* study. *Kor J Pharmacog Soc* 22: 219-223.
6. Lee YB, Kang SS. 1990. Saponins from the roots *Caragana sinica*. *Kor J Pharmacog* 21: 193-199.
7. Lee SD, Kim IH. 1992. Studies on the active ingredient *Caragana sinica* roots. *Chungang Univ Thesis* 35: 1-29.
8. Gwak JH, Kim IH. 1974. The studies on the anti-inflammatory activity of *Caragana sinica* root. *Kor J Pharmacog* 5: 179-185.
9. Hwang GJ, Kim UH. 1983. Anti-inflammatory and analgesic activities of the root of *Caragana koreana*. *Kor J Pharmacog* 14: 140-146.
10. Folin O, Denis W. 1912. On phosphotungstic-phosphomolybdic compounds as color reagents. *J Biol Chem* 12: 239-249.
11. Blois MS. 1958. Antioxidant determination by the use of a stable free radical. *Nature* 181: 1199-1200.
12. Pellegrin N, Roberta R, Min Y, Catherine RE. 1998. Screening of dietary carotenoids and carotenoid-rich fruit extracts for antioxidant activities applying 2,2'-azinobis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) radical cation decolorization assay. *Method Enzymol* 299: 379-389.
13. Andarwulan N, Shetty K. 1999. Phenolic content in differentiated tissue cultures of untransformed and *Ahrobacterium*-transformed roots of anise (*Pimpinella anisum* L.). *J Agric Food Chem* 47: 1776-1780.
14. Buege JA, Aust SD. 1978. Microsomal lipid peroxidation. *Method Enzymol* 105: 302-310.
15. Cushman DW, Cheung HS. 1971. Spectrophotometric assay and properties of the angiotensin-converting enzyme of rabbit lung. *Biochem Pharmacol* 20: 1637-1648.
16. Stirpe F, Corte ED. 1969. The regulation of rat liver xanthin oxidase. *J Biol Chem* 244: 3855-3862.
17. Imokawa G, Mishima Y. 1981. Isolation and characterization of tyrosinase inhibitors using tyrosinase binding affinity chromatography. *Br J Dermatol* 104: 531-539.
18. Lee JT, Jeong YS, An BJ. 2002. Physiological activity of *Salicornia herbacea* and its application for cosmetic materials. *Kor J Herbology* 17: 51-60.
19. Lee KT, Lee SY, Jeong JH, Jo BK. 1999. *New anti-wrinkle cosmetics*. Coreana Cosmetics Co., Ltd, Sungnam, Korea.
20. Choi HS, Kim MG, Shin JJ, Pack JM, Lee JS. 2003. The antioxidant activities of the some commercial teas. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 32: 723-727.
21. Shin HL. 2003. Biological activity of phenol compound from mulberry fruits. *MS Thesis*. Sangju National University, Sangju, Korea.
22. Aoshima H, Tsumoue H, Koda H, Kiso Y. 2004. Aging of whiskey increases 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl radical scavenging activity. *J Agric Food Chem* 52: 5240-5244.
23. Cho YJ, Ju IS, Chun SS, An BJ, Kim JH, Kim MU, Kwon OJ. 2008. Screening of biological activities of extracts from *Rhododendron mucronulatum* Turcz. flowers. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 37: 276-281.
24. Miyoshi D, Richard LS. 1975. Pulmonary angiotensin converting enzyme. *J Biol Chem* 250: 6762-6768.
25. Funayama S, Hikono H. 1979. Hypotensive principles of *Diospyros kaki* leaves. *Chem Pharm Bull* 27: 2865-2871.
26. Stewart JM, Ferreira SH, Greene LJ. 1971. An inhibitors of the pulmonary inactivation of bradykinin and conversion of angiotensin I to II. *Biochem Pharmacol* 20: 157-163.

27. Kameda K, Takaku T, Okyada H, Kimyra S. 1987. Inhibitory effects of various flavonoids isolated from leaves of persimmon on angiotensin-converting enzyme activity. *J Nat Prod* 50: 680-683.
28. Noro T, Fukushima S. 1988. Inhibitors of xanthine oxidase from the flowers and buds of *Daphne genkwa*. *Chem Pharm Bull* 31: 3984-3988.
29. Chun SS, Vatter DA, Lin YT, Shetty K. 2005. Phenolic antioxidants from clonal oregano (*Origanum vulgare*) with antimicrobial activity against *Helicobacter pylori*. *Process Biochem* 40: 809-816.
30. Laskin JD, Piccinini LA. 1986. Tyrosinase isozyme heterogeneity in differentiating B-16/C3 melanoma. *J Biol Chem* 261: 16626-16635.
31. Kim MR, Hwang JH, Yun JK, Han KH, Do EJ, Lee JS, Lee EJ, Kim JB. 2011. Antioxidation and anti-aging effect of mixed extract from Korean medicinal herbs. *Kor J Herbology* 26: 111-117.
32. Dewitt DL, Rollins TE, Day JS, Gauger JA, Smith WL. 1981. Orientation of the active site and antigenic determinants of prostaglandin endoperoxide synthase in the endoplasmic reticulum. *J Biol Chem* 256: 10375-10382.
33. Kawak YJ, Lee DH, Kim NM, Lee JS. 2005. Screening and extraction condition of anti-skin aging elastase inhibitor from medicinal plants. *Kor J Med Crop Sci* 3: 213-216.
34. Kim MJ, Kim JY, Choi SW, Hong JT, Yoon KS. 2004. Anti-wrinkle effect of safflower (*Cathamus tinctorius*) seed extract. *J Kor Soc Cosmetic Sci* 30: 15-22.
35. Tsuji N, Moriwaki S, Suzuki Y, Takema Y, Imokawa G. 2001. The role of elastases secreted by fibroblasts in wrinkle formation: implication through selective inhibition of elastase activity. *Photochem Photobiol* 74: 283-290.

(2012년 5월 7일 접수; 2012년 7월 18일 채택)