

미역쇠(*Endarachne binghamiae*)추출물의 멜라닌 생성 억제 효과

전영식, 정유정, 염종경¹, 김용기², 김수남*

한국과학기술연구원 천연의약센터, ¹코스맥스㈜ R&I센터, ²숙명여자대학교 약학대학

Inhibitory Effect of *Endarachne binghamiae* Extract on Melanin Synthesis

Youngsic Jeon, Yujung Jung, Jong-Kyung Youm¹, Yong Kee Kim² and Su-Nam Kim*

Natural Medicine Center, KIST Gangneung Institute, Gangneung 210-340, Korea

¹Bioscience Research Team, Cosmax R&I Center, Seongnam 463-400, Korea

²College of Pharmacy, Sookmyung Women's University, Seoul 140-741, Korea

Abstract - In this study, we investigated the effect of 88 marine algae extracts on melanin synthesis to develop new whitening agents. Among varieties of marine algae tested, the ethyl acetate extracts from *Endarachne binghamiae* (EB), *Scytosiphon lomentaria*, *Sargassum yezoense*, *Ecklonia cava* and *Sargassum fusiforme* inhibited melanin synthesis in melan-a cells. EB treatment showed the strongest inhibitory activity in melanin synthesis, compared with that of other extracts. EB-mediated inhibition of melanin synthesis appeared to be associated with inhibition of α -glucosidase-dependent glycosylation of tyrosinase in melan-a cells. In addition, EB treatment did not affect mushroom tyrosinase or cell-extracted tyrosinase activity *in vitro*. Taken together, our findings suggest that anti-browning effect of EB on skin is mediated through regulation of α -glucosidase activity and subsequent inhibition of tyrosinase activity and melanin synthesis, and further development of EB as a potential agent for skin whitening.

Key words - *Endarachne binghamiae*, Melanin, Tyrosinase, α -glucosidase, Glycosylation

서 언

멜라닌은 검은색과 갈색계열의 eumelanin과 노란색과 붉은 계열의 pheomelanin으로 구분되며(Ito and Wakamatsu, 2003) 생물에 널리 분포되어 있는 색소로, 피부 내 기저층에 존재하는 melanocyte에서 생성되는 단백질 복합체이다. 자외선 노출 등의 외부 자극에 대한 방어 기작으로 세포 내 멜라닌 생성이 증가되면, 기미, 주근깨, 점, 검버섯 등의 색소침착이 일어나 피부 노화 및 손상을 초래하고, 심한 경우 흑색종까지도 유발시키는 것으로 알려져 있다(Ortonne and Nordlund, 1998). Tyrosinase는 멜라닌 생합성의 rate-limiting 효소로서 L-tyrosine을 3,4-dihydroxyphenylalanine (L-DOPA)으로, L-DOPA를 DOPA-quinone으로 변환하여 멜라닌을 생합성한다(Alaluf *et al.*, 2001; Cabanes *et al.*, 1994; del Marmol and Beermann, 1996). Tyrosinase는 533개의 아미노산으로 구성된 type 1 membrane

glycoprotein으로 7개의 N-glycosylation site와 2개의 copper-binding domain을 가지고 있다(Branza-Nichita *et al.*, 2000). 소포체내에서의 단백질의 N-glycosylation은 펩타이드의 합성 변역과 동시에 일어나며(Petrescu *et al.*, 1997), 이러한 합성과정은 올리고당의 말단에 존재하는 mannose에서 3개의 glucose를 α -glucosidase I과 II가 끊으면서 시작되게 된다(Winchester and Fleet, 1992). 이러한 tyrosinase의 glucose trimming 과정은 일반적으로 알려진 deoxynojirimycin (DNJ), N-butyldeoxynojirimycin (NB-DNJ)와 같은 α -glucosidase의 저해제로 인하여 억제되는데, 이때 tyrosinase는 급속하게 folding되어 copper가 없는 불활성 상태가 되어 피부에 melanosome으로 이동하게 된다(Banza *et al.*, 1999). 그러므로 α -glucosidase 저해제는 멜라닌의 생합성을 저해시킬수 있다고 알려져있다(Petrescu *et al.*, 1997).

피부의 흑화는 미용과 관련되어서는 극복해야 할 문제점으로 인식되므로, 장업계에서는 미백효과를 나타내는 원료를 찾기 위한 노력을 꾸준히 진행하고 있다. 미백효과를 나타내는 물

*교신저자(E-mail) : snkim@kist.re.kr

질들은 tyrosinase의 효소 활성 혹은 발현 양 증가 억제이다. 현재 미백제로 가장 많이 사용되는 알부틴은 L-tyrosine과 경쟁적으로 작용하는 저해제이며(Maeda and Fukuda, 1996), 코직산은 tyrosinase 활성 부위의 copper를 chelating하여 tyrosine에서 DOPA, DOPA-quinone으로 진행되는 과정을 저해한다(Battaini *et al.*, 2000). Tyrosinase glycosylation 저해제로는 glucosamine, tunicamycin, calcium D-pantetheine-S-sulphonate, 제니스타인 등이 알려져 있다(Imokawa and Mishima, 1984; Franchi, 2000; Yang *et al.*, 2008).

해양천연물은 육식식물과는 다른 성분들을 많이 함유하고 있는 자원의 보고이며, 이로부터 다양한 화장품, 식품, 신약으로의 개발이 진행되어 왔다. 따라서, 본 연구에서는 동해안에서 채집된 해조류를 이용하여 미백효능이 있는 해조류를 검증하기 위하여 먼저 melan-a 세포를 사용하여 멜라닌 생성에 미치는 효과를 실험하여 미역식추출물이 멜라닌 생성 저해 효능이 가장 뛰어난지를 확인하였다.

이에 본 연구에서는 melan-a 세포에서 미역식추출물의 멜라닌생성 억제 효과의 유무, tyrosinase 활성의 저해정도, α -glucosidase 활성의 저해 정도를 실험하여 미역식추출물의 멜라닌 생성 억제 작용기전에 대해서 알아보고자 하였다.

재료 및 방법

해조류의 추출

본 실험에 사용한 해조류는 강원도 해변에서 채집하였으며, 관동대학교 박갑만 교수에 의해 정확히 동정된 후 추출하여 실험에 사용하였다(Kim *et al.*, 2008). 해조류를 물로 세척한 후 젖은 상태로 분쇄한 후 EP급 99.8% 메탄올로 60°C에서 3회 초음파 추출한 후 추출액은 여과지를 이용하여 여과하고, 45°C에서 감압 농축하여 메탄올추출물을 얻었으며, 이를 동량의 증류수에 현탁시키고 Ethyl acetate (EtOAc) 로 3회 추출하여 분획한 후 감압 농축하여 EtOAc 분획추출물을 얻어서 실험에 사용하였다.

Melan-a 세포를 이용한 melanin 생성 억제 효과 측정

Melan-a 세포는 C57BL/6 마우스에서 유래한 immortalized cell line (Bennett *et al.*, 1987)으로 런던대학교 Dr. Bennette 으로부터 분양 받아 사용하였다. Melan-a 세포는 10% FBS (Thermo, USA), 200 nM 12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetate (TPA; Sigma, USA), 1% penicillin/streptomycin (P/S) 이 함유된 RPMI-1640 (Thermo, USA) 배지를 사용하여 37°C,

10% CO₂조건에서 배양하였다. Melan-a 세포가 80~90% 자라면 12-well Plate에 well 당 1.5×10^5 개의 세포를 분주한 후 24 시간 동안 배양한 다음, 양성 대조군인 Arbutin (10, 30, 100 μ M) 또는 해조류 추출물을 농도별 (10, 30, 100 μ g/mL)로 배지에 희석시켜 세포에 가해 준 후 72 시간 동안 배양하였다. 배양이 끝난 후 멜라닌 양은 1 N NaOH용액으로 cell을 녹여 475 nm에서 흡광도를 측정하여 비교하였다.

세포 생존능(cell viability)측정

Melan-a 세포를 96-well plate에 1×10^4 cells/well 농도로 접종하고, 37°C, 10% CO₂ incubator에서 24시간 배양한 후, 해조류 추출물을 100 μ g/mL 농도로 처리하고 72시간 동안 동일 조건에서 배양하였다. 배양이 끝난 후 MTT 용액(EZ-cytox, Daeillab Service, Korea)을 배지에 1/10씩 첨가하고, 37°C에서 4시간 동안 추가 배양한 후 450 nm에서 흡광도를 측정하여 생존 여부를 아무 처리도 하지 않은 대조군에 대한 비율로 나타내었다.

Tyrosinase 활성저해능 측정

Tyrosinase 활성은 DOPA oxidase의 방법을 변형하여 측정하였다(Kim *et al.*, 2002). 96-well plate에 해조류 추출물 5 μ L, 2 unit/ml mushroom tyrosinase (Sigma, USA) 5 μ L, 0.1 M potassium phosphate buffer (PPB; pH 6.8) 50 μ L와 0.1 M PPB (pH 6.8)에 0.3%로 녹인 L-tyrosine (Sigma, USA) 50 μ L를 혼합하고, 상온에서 30분간 반응시킨 후 490 nm에서 흡광도를 측정하였다. Tyrosinase 저해활성은 시료용액의 첨가군과 무첨가군의 흡광도 감소율로 나타내었다.

Cell-extracted tyrosinase 활성 저해능

직경이 60 mm인 세포배양접시에 melan-a 세포를 4×10^5 cells/well로 분주하고 37°C, 10% CO₂ incubator에서 96시간 배양한 후, Phosphate-Buffered Saline (PBS)로 2회 세척하고, 1% triton X-100 용액을 200 μ L 넣어 용해하였다. 이 후 eppendorff tube에 옮겨 얼음에 고정시킨 후 10분 간격으로 vortex하면서 1시간 동안 방치한 다음 4°C, 14,000 rpm에서 20분간 원심분리한 상등액을 tyrosinase 활성 측정용액으로 사용하였고, BCA법으로 단백질 양을 정량하였다. 단백질 40 μ g을 포함한 cell lysate와 시험물질을 0.1 M PPB (pH 6.8) 에 가하여 최종부피가 100 μ L가 되게 섞은 후 L-DOPA (20 mM in PPB) 용액을 100 μ L씩 가하고, 상온에서 1시간 동안 반응시킨 후 490 nm에서 흡광도를 측정하였다. Tyrosinase 저해활성은 시료용액

의 첨가군과 무첨가군의 흡광도 감소율로 나타내었다.

Intracellular tyrosinase 활성 저해능

직경이 60 mm인 세포배양접시에 melan-a 세포를 4×10^5 cells/well로 분주하고 37°C, 10% CO₂ incubator에서 24시간 배양한 후, 미역식추출물을 농도별(10, 30, 100 µg/mL)로 희석하여 가한 후 동일조건에서 72시간 동안 배양하였다. 배양이 끝난 후 PBS로 2회 세척하고, 1% triton X-100 용액을 200 µl 넣어 용해하고 eppendorff tube에 옮겨 얼음에 고정시킨 후 10분 간격으로 vortex하면서 1시간 동안 방치한 다음 4°C, 14,000 rpm에서 20분간 원심분리한 상등액을 tyrosinase 활성 측정용액으로 사용하였고, BCA법으로 단백질 양을 정량하였다. 단백질 40 µg을 포함한 cell lysate를 0.1 M PPB (pH 6.8)에 가하여 최종부피가 100 µl가 되게 섞은 후 L-DOPA (20 mM in PPB) 용액을 100 µl씩 가하고, 상온에서 1시간 동안 반응시킨 후 490 nm에서 흡광도를 측정하였다. Tyrosinase 저해활성은 시료용액의 첨가군과 무첨가군의 흡광도 감소율로 나타내었다.

α-glucosidase 저해활성

α-glucosidase의 저해활성은 기존에 보고된 방법을 일부 수정하여서 진행하였다(Lam et al., 2008). 96-well plate에 추출물 2 µl, 3 mM glutathione용액 8 µl, 0.3 U/ml α-glucosidase 효소액 8 µl를 완충용액(67 mM Potassium Phosphate buffer, pH 6.8)에 가하여 반응액의 최종부피가 180 µl가 되도록 하여 37°C에서 15분간 예비 배양한 후, 기질인 1 mM p-Nitrophenyl α-D-Glucoside (PNP-Gluc, Sigma, USA) 20 µl를 가하여 37°C에서 20분간 반응시켰다. 0.1 M Na₂CO₃ 800 µl로 반응을 정지시키고, 405 nm에서 흡광도를 측정하였다. α-glucosidase 저해활성은 시료용액의 첨가군과 무첨가군의 흡광도 감소율로 나타내었다.

통계분석

실험 결과는 3회 반복하였으며, 가장 대표적인 실험 결과를 평균 ± 표준편차 (mean ± SD)로 나타내었다. 대조군과 실험군 사이의 평균값의 차이는 one-way analysis of variance (ANOVA) 방법으로 분석하였으며, 유의성 수준은 *P < 0.05로 표시하였다.

결과 및 고찰

본 연구에서는 세포수준에서 동해안에서 채집된 88종의 해

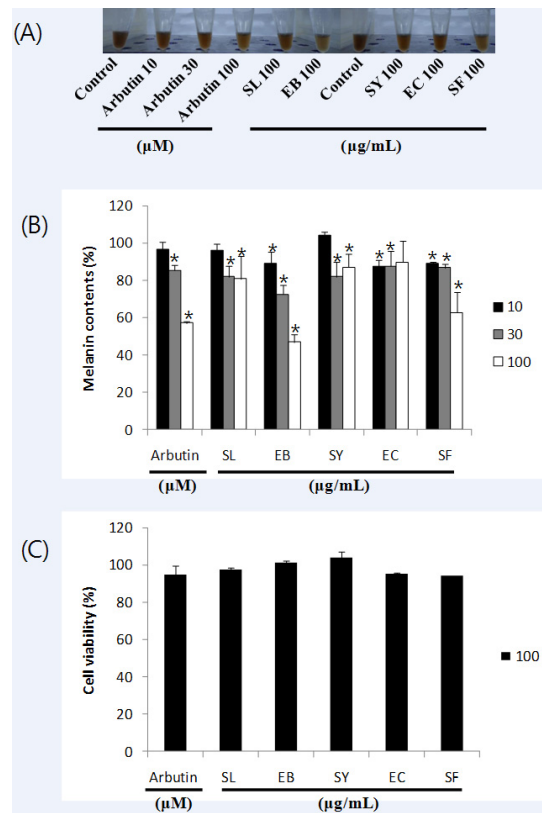


Fig. 1. Photograph, melanin content and cell viability of melan-a cells treated with Arbutin, *Scytosiphon lomentaria* (SL), *Enderachne binghamiae* (EB), *Sargassum yezoense* (SY), *Ecklonia cava* (EC) or *Sargassum fusiforme* (SF). Suspensions of melan-a cells in a tube were photographed (A) and analyzed to determine the melanin content (B) as described in materials and methods. The viability of melanocytes was measured using MTT method (C). Relative melanin synthesis and viability value were expressed compared with control as 100%. Each bar represents mean ± SD of 3 experiments. *P < 0.05 vs. control.

조류에 대하여 멜라닌 생성 억제 효과를 측정하고자 하였다. Melan-a 세포에 해조류 추출물을 10, 30, 100 µg/mL 농도로 3일간 처리한 후 멜라닌 생성량을 측정하고, 멜라닌 생성 저해 효과가 우수한 해조류 추출물에 대하여서는 100 µg/mL 농도에서 세포에 대한 생존능을 확인하였다. 88종의 해조류 중 멜라닌 생성 저해 효과가 확인된 5종에 대해서만 그 결과를 나타내었다 (Fig. 1). 고리매(*Scytosiphon lomentaria*; SL), 미역쇠(*Enderachne binghamiae*; EB), 왜모자반(*Sargassum yezoense*; SY), 감태(*Ecklonia cava*; EC), 툯(*Sargassum fusiforme*; SF) 5가지 해조류 추출물이 멜라닌 생성 저해 효과를 보였으며, 100 µg/mL의 농도에서 각각 19.1, 52.9, 12.9, 10.0, 37.0%의 저해율을 보였

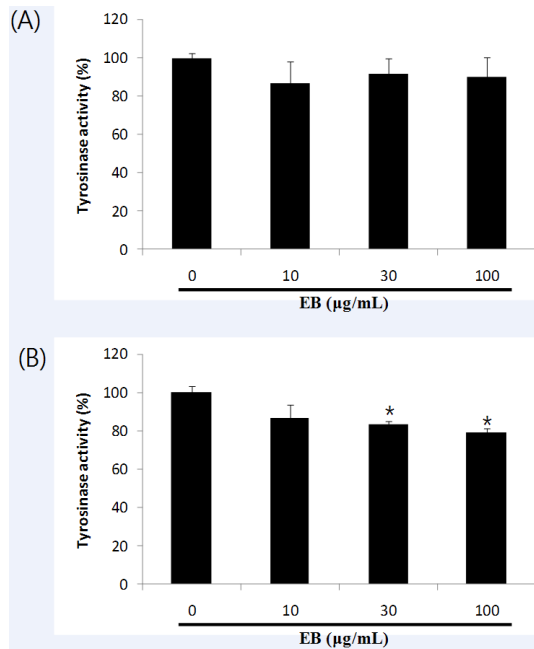


Fig. 2. The effects of EB extract on tyrosinase activity isolated from mushroom (A) and from melanocytes (B). Relative tyrosinase activity was expressed compared with control as 100%. Each bar represents mean \pm SD of 3 experiments. *P < 0.05 vs. control.

고(Fig. 1(A) and (B)), 세포 생존율 실험 결과 세포 독성에 의한 것이 아님을 확인하였다(Fig. 1(C)). 미역쇠추출물 100 µg/mL 농도로 처리 시, 양성대조군인 Arbutin(Battaini *et al.*, 2000; Maeda and Fukuda, 1996)을 100 µM 처리(42.7%)했을 때보다 멜라닌생성 저해효능이 통계학적으로 유의성 있게 우수함을 확인할 수 있었다. 그러므로 이후 실험에서는 해조류 추출물 중 가장 멜라닌생성 저해효능이 우수한 미역쇠추출물의 피부미백 효과를 나타내는 기전 연구를 수행하였다.

Tyrosinase 저해제는 미백화장품의 주요 기능성 성분으로서 임상적으로 피부암과 과색소 침착에 관련되는 피부병 치료에 유효한 것으로 알려져 있다(Yang *et al.*, 2008). 그러므로, 본 실험에서는 먼저 tyrosinase 저해 활성측정을 위해 일반적으로 사용하는 mushroom tyrosinase를 사용하여 10, 30, 100 µg/mL의 미역쇠추출물을 처리한 후 효소의 활성을 측정할 결과, Fig. 2의 (A)에서 보는 바와 같이 3가지 농도 모두에서 tyrosinase 저해활성을 보이지 않았다. Mushroom tyrosinase와 세포를 사용했을 때의 결과가 다른 경우도 있을 것으로 예측되어(Briganti *et al.*, 2003), melan-a 세포의 tyrosinase에 직접 작용하여 활성을 억제하는지 측정해 보았다. Fig. 2의 (B)에서 melan-a 세

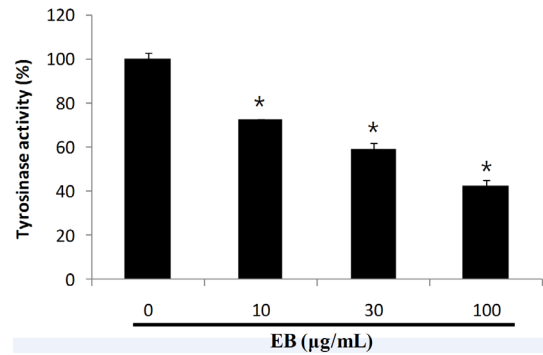


Fig. 3. The effects of EB extract on melanin synthesis in melan-a melanocytes. Relative melanin synthesis was expressed compared with control as 100%. Each bar represents mean \pm SD of 3 experiments. *P < 0.05 vs. control.

포의 추출물을 tyrosinase의 source로 사용하여, 10, 30, 100 µg/mL의 미역쇠추출물을 처리한 후 효소의 활성을 측정할 결과, 30, 100 µg/mL 미역쇠추출물을 처리한 경우, 저해 활성이 약하지만 유의성있게 나타남을 확인할 수 있었다. 그러나, 이는 미역쇠추출물이 tyrosinase에 직접적으로 작용하여 저해하는 코직산이나 알부틴과는 달리 저해활성을 가지긴 하지만 그 저해활성 정도가 매우 약하므로, 직접적인 저해제는 아닌 것을 의미한다.

한편, 미역쇠추출물이 세포수준에서 tyrosinase 활성을 억제하는지 알아보기 위하여, melan-a 세포를 배양하면서 배지에 미역쇠추출물을 10, 30, 100 µg/mL의 농도로 72시간 처리한 후 intra-cellular tyrosinase 활성을 측정할 결과, Fig. 3에 보이는 것처럼 10, 30, 100 µg/mL에서 농도의존적으로 tyrosinase 활성이 각각 27.5, 40.6, 57.7% 저해되었다. 이 결과에서 미역쇠추출물의 멜라닌 합성 억제 효과는 미역쇠추출물이 melan-a 세포에 작용하여 tyrosinase의 활성을 억제하는 것에 기인하는 것을 알 수 있었다. 이는 멜라닌 생성 억제물(Fig. 1(B))과 비교 시 농도에 따른 저해율과 tyrosinase 활성 억제율이 멜라닌 생성 억제율과 매우 유사하여 높은 상관도를 보였다. 이 2가지의 결과에서 미역쇠추출물이 세포 내에서 tyrosinase가 작용하는 단계의 전이나 후의 어떤 과정에 영향을 미쳐 활성을 억제하는 것이라 추정할 수 있었다.

미역쇠추출물은 tyrosinase 발현 이후의 과정을 저해할 가능성이 높았으므로, post-translational modification 단계에서 작용하는 α -glucosidase의 활성 억제효과가 있는지 확인하였다. 미역쇠추출물과 효모의 α -glucosidase에 기질인 PNP-Gluc를 넣고 효소반응을 시킨 결과, Fig. 4에서 보이는 것처럼 농도의존적으로 α -glucosidase의 활성이 억제되었다. 미역쇠

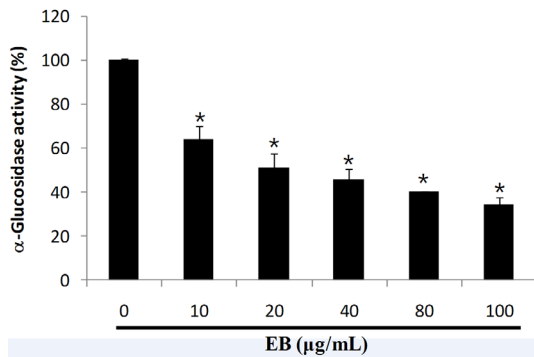


Fig. 4. The effects of EB extract on α -glucosidase activity. Relative α -glucosidase activity was expressed compared with control as 100%. Each bar represents mean \pm SD of 3 experiments. *P < 0.05 vs. control.

추출물에 의한 α -glucosidase의 활성은 10 μ g/mL에서 36.1%, 20 μ g/mL에서 49.0%, 40 μ g/mL에서 54.1%, 80 μ g/mL에서 59.7%, 100 μ g/mL에서 65.5% 저해되었다(IC₅₀=23.1 μ g/mL).

최근, α -glucosidase 저해제인 DNJ와 α -mannosidase의 저해제인 deoxymannojirimycin이 tyrosinase의 glycosylation을 차단하여 멜라노솜으로의 이동을 억제하며, 이 2가지 물질을 동시에 사용하였을 때 효과가 상승된다는 것을 보고하였다(Choi *et al.*, 2007). 본 실험에서 미역쇠추출물은 tyrosinase 효소 자체는 매우 약하게 활성을 억제하는데 비해, 세포에 직접 처리시 tyrosinase 활성을 억제하여 멜라닌 생성을 억제하며, 효모 유래 α -glucosidase 활성을 농도의존적으로 저해한 것으로 나타났으므로, 미역쇠추출물이 tyrosinase의 glycosylation을 억제할 가능성이 있는 것으로 판단된다.

현재까지 다양한 천연물들이 피부 흑화 현상을 치료하기 위한 약 또는 화장품 소재로 개발되어 왔다. 천연물 중 미백기능성 성분으로는 닥나무추출물, 유용성 감초추출물이 고시되어 있고, 천연물로도 많은 소재들이 연구되었지만 그 중 대표적인 것으로는 항산화 및 tyrosinase 저해활성을 가지는 상백피 추출물, B16 세포에서 멜라닌 생성억제효과를 가지는 머루포도 씨 추출물, tyrosinase 저해 활성을 가지는 삼릉추출물 등이 있다(Jee, 2009; Lee, 2009; Ko and Kim, 2010).

제주 연안에서 채집한 해조류에 대한 미백효능 실험에서, 70 °C에서 추출한 미역쇠 물추출물이 100 μ g/mL의 농도에서 mushroom tyrosinase 활성을 약 81% 저해한다고 보고되었지만, 소재의 확보 면에서 수월한 감태와 파배기모자반추출물로 *in vivo* 실험을 진행하였으며 미역쇠추출물에 대한 추가연구는 진행하지 않았다(Cha *et al.*, 2011). 본 연구에 사용된 미역쇠추

출물은 EtOAc 분획추출물로, 전초 습중량 1 kg으로부터 13.6 g의 메탄올추출물을 얻었으며, 이를 Ethyl acetate로 분획하여 10 g의 EtOAc 분획추출물로 제조되었다. 본 연구에서 사용된 에틸아세테이트 분획추출물인 미역쇠는 mushroom tyrosinase에 대해 전혀 저해활성이 없었으며, 감태는 멜라닌 생합성 저해효능이 100 μ g/mL농도에서 10%로 매우 약하였으며, 파배기모자반은 전혀 없는 것으로 나타났다. 이는 물과 에틸아세테이트라는 추출용매 차이에 의한 성분 차이 때문일 수도 있고, 제주도 와 강원도 동해 서식지 차이에 의한 성분의 차이, 또는 채집시기의 차이 때문일 수도 있다고 사료된다.

미역쇠에는 항산화 효과가 큰 페놀성 화합물과 갈조류에 많은 수용성 다당류인 fucoidan등이 주요성분으로 함유되어 있는데, 페놀성 화합물은 tyrosinase에 의한 가역적 산화반응의 결과물 즉, DOPA나 DOPA-quinone을 환원시켜 멜라닌 형성을 억제 시키며, tyrosinase의 목표 기질인 tyrosine과 구조적 동일성을 갖기에 기질-유사체의 역할을 함으로 tyrosinase의 활성 억제 효과를 갖는다고 알려져 있다(Biossy and Manga, 2004; Kim and Uyama, 2005). 그리고 생리활성성분으로 천연 미백물질로 각광 받고 있는 Fucoidan또한 해조류 특히 갈조류에 많이 포함되어 있으며, 멜라닌 생성을 억제한다고 알려져 있다(Kwon *et al.*, 2006). 그러나, 본 연구에서 보인 미역쇠추출물의 우수한 멜라닌 생성 저해효능은 위 두 화합물에 의한 것은 아닌 것으로 사료된다. 왜냐하면, DPPH assay로 라디칼 소거능을 측정하였을 때 전혀 활성을 보이지 않았기 때문에(data not shown) 페놀성화합물이 많이 함유되어 있다고 볼 수 없고, 수용성인 fucoidan의 경우, 에틸아세테이트로 분획할 때 이 층으로 많이 이동해 오지 않기 때문에 또 다른 성분에 의한 효과일 수 있다고 사료된다.

향후, 본 미역쇠추출물에 대해서 추가적으로 tyrosinase 발현을 조절하는 MITF, TRP-1, TRP-2에 미치는 영향 또는 tyrosinase분해를 촉진하거나, Akt 신호를 억제하는지, Endo H 효소에 의한 분해여부를 확인하여 추가적인 미백 기전이 존재하는지를 밝힐 필요가 있다. 또한, 미역쇠 에틸아세테이트 분획을 중심으로 멜라닌 생합성을 저해하는 유효한 화합물을 분리하여 활성성분을 밝히는 연구를 추진할 계획이다. 그리고, 멜라닌 생합성 과정에 영향을 미치는 활성 성분들을 더욱 상세하게 규명하여 각 성분들 간의 구조와 활성관계를 연구함으로써 미역쇠추출물의 미백 활성 성분에 대한 명확한 규명과 함께, 멜라닌 생합성을 저해하여 미백효능을 나타내는 *in vivo*효능 평가를 통해 임상에서도 유효하게 미백효능이 나타나는지가 확인된다

면, 미역쇠추출물은 새로운 미백 기능성소재로 개발될 가치가 매우 높은 것으로 사료된다.

적 요

본 연구에서는 동해안에서 채집된 88종의 해조류에 대하여 미백제로서 응용 가능성을 알아보기 위해 멜라닌 생성에 미치는 영향을 *in vitro* 실험을 통해 알아보았다. Melan-a 세포에 해조류 추출물을 처리하여 멜라닌 양을 측정된 결과, 고리매, 미역쇠, 왜모자반, 감태, 툫추출물에서 멜라닌 생성이 감소되었으며, 특히 미역쇠추출물을 처리하였을 때 가장 유효하게 농도의존적으로 멜라닌 생성이 감소되었다. 멜라닌 생성 억제 효과가 tyrosinase 활성 저해와 관련 있는지를 확인한 결과, 약한 활성을 가지지만 직접 작용하여 활성을 저해하지는 않으면서, 세포 내의 tyrosinase 활성을 농도의존적으로 저해하였다. 이는 세포 내 tyrosinase 활성저해가 직접적이 아닌 다른 기전에 의해 일어난다는 것을 의미하며, 그 기전 중의 하나인 α -glucosidase 활성을 측정된 결과 농도의존적으로 활성을 저해하였으며, 세포 내 tyrosinase 활성 저해와 높은 상관도를 보임을 확인하였다. 즉 미역쇠추출물은 N-linked glycoprotein인 tyrosinase의 glycosylation을 억제하여 tyrosinase의 세포 내 이동이나 활성을 억제할 수 있음을 알 수 있었다. 결론적으로, 미역쇠추출물은 피부 미백에 유효한 활성을 나타내는 천연 유용자원으로 활용할 가치가 있는 것으로 사료된다.

사 사

본 연구는 보건복지부 보건의료연구개발사업의 지원에 의하여 이루어진 것임. (과제고유번호 : A103017)

인용문헌

Alaluf, S., A. Heath, N. Carter, D. Atkins, H. Mahalingam, K. Barrett, R. Kolb and N. Smit. 2001. Variation in melanin content and composition in type V and VI photoexposed and photoprotected human skin: the dominant role of DHI. *Pigment Cell Res.* 14:337-347.

Battaini, G., E. Monzani, L. Santagostini and R. Pagliarin. 2000. Inhibition of the catecholase activity of biomimetic dinuclear copper complexes by kojic acid. *J. Biol. Inorg. Chem.* 5:262-268.

Bennett, D.C., P.J. Cooper and I.R. Hart. 1987. A line of non-tumorigenic mouse melanocytes, syngeneic with the B16 melanoma and requiring a tumour promoter for growth. *Int. J. Cancer.* 39:414-418.

Boissy, R.E. and P. Manga. 2004. On the etiology of contact occupational vitiligo. *Pigment Cell Res.* 17:208-214.

Branza-Nichita, N., A.J. Petrescu, R.A. Dwek, M.R. Wormald, F.M. Platt and S.M. Petrescu. 1999. Tyrosinase folding and copper loading *in vivo*: a crucial role for calnexin and alpha-glucosidase II. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 261:720-725.

Briganti, S., E. Camera and M. Picardo. 2003. Chemical and instrumental approaches to treat hyperpigmentation. *Pigment Cell Res.* 16:101-110.

Cabanes, J., S. Chazarra and F. Garcia-Carmona. 1997. Kojic acid, a cosmetic skin whitening agent, is a slow-binding inhibitor of catecholase activity of tyrosinase. *J. Pharm. Pharmacol.* 46:982-985.

Cha, S.H., S.C. Ko, D. Kim and Y.J. Jeon. 2011. Screening of marine algae for potential tyrosinase inhibitor: those inhibitors reduced tyrosinase activity and melanin synthesis in zebrafish. *J. Dermatol.* 38:354-363.

Choi, H., S. Ahn, H. Chang, N.S. Cho, K. Joo, B.G. Lee, I. Chang and J.S. Hwang. 2007. Influence of N-glycan processing disruption on tyrosinase and melanin synthesis in HM3KO melanoma cells. *Exp. Dermatol.* 16:110-117.

del Marmol, V. and F. Beermann. 1996. Tyrosinase and related proteins in mammalian pigmentation. *FEBS Lett.* 381:165-8.

Franchi, J., M.C. Coutadeur, C. Marteau, M. Mersel and A. Kupferberg. 2000. Depigmenting effects of calcium D-pantetheine-S-sulfonate on human melanocytes. *Pigment Cell Res.* 13:165-171.

Imokawa, G. and Y. Mishima. 1984. Functional analysis of tyrosinase isozymes of cultured malignant melanoma cells during the recovery period following interrupted melanogenesis induced by glycosylation inhibitors. *J. Invest. Dermatol.* 83:196-201.

Ito, S. and K. Wakamatsu. 2003. Quantitative analysis of eumelanin and pheomelanin in humans, mice, and other animals: a comparative review. *Pigment Cell Res.* 16:523-531.

Jee, S.O. 2009. Antioxidant activities and whitening effect of the mulberry (*Morus alba* L.) root bark extracts. *Korean J. Plant Res.* 22:145-151 (in Korean).

Kim, S.N., H.Y. Choi, W. Lee, G.M. Park, W.S. Shin and Y.K. Kim. 2008. Sargaquinoic acid and sargahydroquinoic acid from *Sargassum yezoense* stimulate adipocyte differentiation

- through PPARalpha/gamma activation in 3T3-L1 cells. FEBS Lett. 582:3465-3472.
- Kim, Y.J. and H. Uyama. 2005. Tyrosinase inhibitors from natural and synthetic sources: structure, inhibition mechanism and perspective for the future. Cell. Mol. Life Sci. 62:1707-1723.
- Kim, Y.M., J. Yun, C.K. Lee, H. Lee, K.R. Min and Y. Kim. 2002. Oxyresveratrol and hydroxystilbene compounds. Inhibitory effect on tyrosinase and mechanism of action. J. Biol. Chem. 277:16340-16344.
- Ko, J.Y. and Y.C. Kim. 2010. Effectiveness of *Scirpi rhizome* ethanol extract on skin whitening using *in vitro* test. J. Environ. Toxicol. 25:69-77 (in Korean).
- Kwon, D.J., S.T. Lim, Y.J. Chung, S.H. Park and D.K. Kweon. 2006. Comprehension and practical use of fucoidan extracted from brown sea weeds. Food Sci. Ind. 39:73-80.
- Lam, S.H., J.M. Chen, C.J. Kang, C.H. Chen and S.S. Lee. 2008. α -Glucosidase inhibitors from the seeds of *Syagrus romanzoffiana*. Phytochemistry 69:1173-1178.
- Lee, P. 2009. Inhibitory effect of muscat bailey a seed extract on melanin production in α -melanin stimulating hormone-stimulated B16 cell. Korean J. Plant Res. 22:477-482 (in Korean).
- Maeda, K. and M. Fukuda. 1996. Arbutin: Mechanism of its depigmenting action in human melanocyte culture. J. Pharmacol. Exp. Ther. 276:765-769.
- Ortonne, J.P. and J.J. Nordlund. 1998. The pigmentary system: physiology and pathophysiology. Oxford University Press. New York, USA.
- Petrescu, A.J., T.D. Butters, G. Reinkensmeier, S. Petrescu, F.M. Platt, R.A. Dwek and M.R. Wormald. 1997. The solution NMR structure of glucosylated N-glycans involved in the early stages of glycoprotein biosynthesis and folding. EMBO J. 16:4302-4310.
- Winchester, B. and G.W. Fleet. 1992. Amino-sugar glycosidase inhibitor: versatile tools for glycobiologists. Glycobiology 2:199-210.
- Yang, E.S., J.S. Hwang, H.J. Choi, R.H. Hong and S.M. Kang. 2008. The effect of genistein on melanin synthesis and *in vivo* whitening. Korean J. Microbiol. Biotechnol. 36:72-81 (in Korean).

(Received 25 July 2013 ; Revised 23 September 2013 ; Accepted 8 October 2013)