

식물성 한약의 Tyrosinase 활성 저해 효과 검색 (1)

황형철¹ · 박종철² · 강민구³ · 강옥화^{1*} · 권동렬^{1*}

¹원광대학교 약학대학 한약학과, 원광한약연구소, ²국립순천대학교 한약자원학과
³우석대학교 약학대학 약학과

Screening of Tyrosinase Inhibitory Activity of Plant Oriental Medicines (1)

Hyeong-Chil Hwang¹, Jong-Cheol Park², Minku Kang³, Ok-Hwa Kang^{1*}, and Dong-Yeul Kwon^{1*}

¹Department of Oriental Pharmacy, College of Pharmacy, Wonkwang Oriental medicines Research Institute, Wonkwang University, Iksan, Jeonbuk 570-749, Korea

²Department of Oriental Medicine Resources, Suncheon National University, Suncheon, Jeonnam 540-742, Korea

³Department of Pharmacy, College of Pharmacy, Woosuk University, Wanju-Gun, Jeonbuk 565-701, Korea.

Abstract – Tyrosinase is a key enzyme to control the biosynthesis of melanin pigments and has two enzyme activities, namely of l-tyrosine hydroxylase and of l-dopa oxidase. Thus, tyrosinase is regarded as a target in skin-whitening and therapeutic intervention of local hyperpigmentation diseases. We have tested tyrosinase inhibitory activity on the water extracts of 50 species oriental medicinal plant. Among them, five medicinal plants, Linderæ Radix, Clematidis Radix, Cinnamomi Cortex Spissus, Fritillariæ Thunbergii Bulbus and Bulbus Fritillariæ Cirrhosæ were investigated strong inhibition effect. Five medicinal plants were fractionated using organic solvents (methylene chloride, ethyl acetate, *n*-butanol, water). Cinnamomi Cortex Spissus (ethyl acetate fraction) was investigated strong inhibition effect. Tyrosinase inhibitory activity below IC₅₀ 40 µg/ml is confirmed in five herbal plants that are Linderæ Radix, Clematidis Radix, Cinnamomi Cortex Spissus, Fritillariæ Thunbergii Bulbus and Bulbus Fritillariæ Cirrhosæ. Tyrosinase inhibitory levels (IC₅₀ µg/ml) of each plants were 15.56, 35.02, 25.14, 15.20 and 39.77. We also investigate the effect of effective plant's fraction. in dose of 100 µg/ml, Cinnamomi Cortex Spissus (P-36) EtOAc fraction significant inhibitory effect over 50%. Clematidis Radix (P-35) and Cinnamomi Cortex Spissus (P-36) MC fraction inhibit tyrosinase each 36.60% and 43.21%. inhibitory rates of Fritillariæ Thunbergii Bulbus (P-40) EtOAc and H₂O fraction are 31.40% and 31.51%. Bulbus Fritillariæ Cirrhosæ (P-45) BuOH fraction regulate tyrosinase activity to 37.71%. We examined tyrosinase inhibitory activity of natural products and these results suggest that several herbs have potential as a new whitening material.

Key words – Plant Oriental Medicine, Tyrosinase Inhibitory Activity, Whitening

모든 사람들이 맑고 투명한 하얀 피부를 원하지만 피부색은 인종, 성별, 연령, 건강상태와 스트레스 정도와 계절에 따라서도 다르다. 피부의 색은 멜라닌 세포에서 생성되는 멜라닌 색소의 양과 분포에 의해 결정된다. 진피의 혈관 속에 있는 헤모글로빈과 피하조직의 카로틴과 같은 색소의 양 그리고 피부의 두께 등에 의해서도 영향을 받는다. 멜라닌은 페놀류가 산화효소에 의해 산화되어 유도된 갈색 또는 흑색고분자색소의 총칭으로 동·식물계에 널리 분포하고 있으며 생체 안에서는 빛을 흡수하는 역할을 한다. 멜라닌은 일차적으로 피부에서 자외선을 흡수하거나 산란시켜 피

부내의 세포나 조직들이 자외선에 의해 손상되는 것을 방지해준다. 멜라닌은 모든 파장의 빛을 흡수하고 피부 내에서 활성 산소를 소거하는 기능이 탁월하나 때로는 멜라닌 자체가 활성산소를 발생시키기도 하여 멜라닌 구조내의 카테콜이나 퀴논에 의하여 다른 물질을 환원시키거나 산화시키기도 한다.

자외선으로부터 피부가 장시간 노출되면 표피세포인 keratinocyte에서 melanin의 생성을 촉진시키게 됨으로서 색소침착으로 인한 기미와 주근깨 등의 피부트러블을 발생시키게 된다. Melanin이란 피부의 색조를 결정하는 주요 인자로서 검은 색소와 단백질의 복합체로 존재한다. 주로 인체의 피부에 존재하며 자외선에 대응하여 피부를 보호하고,

*교신저자(E-mail): sssimi@wku.ac.kr, kangokhwa@hanmail.net
(Tel): +82-63-850-6802, +82-63-850-6802

아민, 유리기, 금속이온 등과 같은 세포독성물질을 제거하는 역할을 수행한다. 그러나 체내, 외적인 여러 요인으로 과도하게 melanin이 생성되면 각질형성세포에 전달되고 피부 상피 층에 축적되어 과색소침착을 일으키며 그로 인한 기미, 주근깨를 형성시키게 된다.¹⁾

멜라닌 색소 침착은 피부 표피에 있는 멜라닌 색소의 증가에 의해 일어나는데, 멜라닌(melanin)은 페놀류의 고분자 물질로서, 피부 외각층 표피 내 기저층에 존재하는 멜라닌 세포(melanocyte)에서 그 구성성분인 tyrosine이 tyrosinase라는 효소에 의해 합성된다. 멜라닌 형성에는 tyrosinase를 포함하여 TRP-1(DHICA oxidase)와 TRP-2(dopachrome tautomerase)와 같은 효소들이 관여한다고 알려져 있다. 이 세 가지 유전자는 유전자 구조가 유사하여 tyrosinase gene family라고 불리며 tyrosinase에 대한 항체를 사용하여 클로닝 되었으므로 유사한 epitope를 갖고 있을 것으로 추정할 수 있다. 현재까지 보고된 melanin 중합체의 생합성을 억제하는 미백제로는 arbutin,²⁾ kojic acid³⁾ 등과 같은 tyrosinase 활성 저해제, 활성 산소종(reactive oxygen species)을 소거하는 ascorbic acid 및 유도체, coenzyme Q10 등⁴⁾이 미백효과가 있는 것으로 알려져 있으나 피부 안전성, 제형 안정성 등의 문제로 사용되지 않거나 제한된 양만 사용되고 있다. 이러한 문제점을 개선시키기 위하여 최근에는 천연물로부터 미백연구가 활발히 진행되고 있으며 녹차로부터 delphinidin C-2-3,3'-di-O-gallate, procyanidin B-2-3,3'-

digallate 등⁵⁾이, 감초로부터 formononetin, glabrene, glabridin, glabrol 등⁶⁾이 tyrosinase의 활성을 억제하는 물질로 보고된 바 있다.

오래전부터 울무, 오이 등의 천연물이 피부미백을 목적으로 사용되었다. 비타민 유도체와 태반추출물 그리고 1990년대에 자외선이 피부노화를 촉진한다는 것이 밝혀지고 멜라닌 세포에서의 멜라닌 생성메커니즘이 일부 밝혀지고 또 새로운 미백원료로 아르부틴코지산, 아스코르빈산인산, 에스테르 마그네슘 등이 개발되어 UV-White라는 새로운 미백제가 사용되고 있다. 이와 같이 다양한 성분의 미백화장품 소재가 개발되고 있다.⁷⁾

본 논문은 현대인들의 관심이 높은 미백 효과와 관련된 tyrosinase 저해 효과를 50종의 식물성 한약재 추출물, 그리고 활성이 우수한 5종 한약 추출물의 분획물 20종을 대상으로 실험하여 천연물 유래 미백물질을 규명하고자 하였다.

재료 및 방법

재료 - 본 실험에 사용한 식물성 한약 50종은 2010년 3월 세화당 한약도매(광주 계림동)에서 구입하였고 순천대 한약자원학과(박종철 교수)에서 감정한 것을 사용하였으며, 표준품은 순천대학교 한약자원학과 약효분석학실험실의 표본실에 보관하였다(Table I).

시약 및 기기 - Tyrosinase(Sigma Chemical Co., St.

Table I. The list of plant oriental medicines

Type	No.	Korean name	Scientific name	Used part
Plant oriental medicines	P-1	갈근	<i>Pueraria lobata</i> Ohwi	Root
	P-2	결명자	<i>Cassia obtusifolia</i> Linné	Seed
	P-3	계피	<i>Cinnamomum cassia</i> Blume	Stem's cortex
	P-4	과루인	<i>Trichosanthes kirilowii</i> Maximowicz	Fruit
	P-5	국화	<i>Chrysanthemum morifolium</i> Ramat.	Flower
	P-6	내복자	<i>Raphanus sativus</i> Linné	Seed
	P-7	당삼	<i>Codonopsis pilosula</i> Nannfeldt	Root
	P-8	대조	<i>Zizyphus jujuba</i> Miller var. <i>inermis</i> Rehder	Fruit
	P-9	마황	<i>Ephedra sinica</i> Stapf.	Aerial part
	P-10	만형자	<i>Vitex rotundifolia</i> Linné fil.	Fruit
	P-11	맥아	<i>Hordeum vulgare</i> Linné	Germinatus
	P-12	목통	<i>Akebia quinata</i> Decaisne	Stem
	P-13	박하	<i>Mentha arvensis</i> Linné var. <i>piperascens</i> Malinvaud	Aerial part
	P-14	방풍	<i>Saposhnikovia divaricata</i> Schiskin	Root
	P-15	백두구	<i>Amomum cadamomum</i> Linné	Fruit
	P-16	백부자	<i>Acotinitum koreanum</i> Raymond	Tuber
	P-17	백자인	<i>Thuja orientalis</i> Linné	Seed
	P-18	백편두	<i>Dolichos lablab</i> Linné	Seed
	P-19	복분자	<i>Rubus coreanus</i> Miquel	Fruit

Table I. Continued

Type	No.	Korean name	Scientific name	Used part
Plant oriental medicines	P-20	부자	<i>Aconitum carmichaeli</i> Debeaux	Root
	P-21	비해	<i>Dioscorea tokora</i> Makino	Rhizome
	P-22	산두근	<i>Sophora tonkinensis</i> Gapnep.	Root
	P-23	산수유	<i>Cornus officinalis</i> Siebold et Zuccarini	Fruit
	P-24	산조인	<i>Zizyphus jujuba</i> Miller	Seed
	P-25	삼백초	<i>Saururus chinensis</i> (Lour.) Baill	Aerial part
	P-26	생강	<i>Zingiber officinale</i> Roscoe	Rhizome
	P-27	세신	<i>Asiasarum sieboldi</i> F. Maekawa	Root
	P-28	소회향	<i>Foeniculum vulgare</i> Miller	Fruit
	P-29	시호	<i>Bupleurum falcatum</i> Linné	Root
	P-30	아출	<i>Curcuma zedoaria</i> Roscoe	Rhizome
	P-31	영지	<i>Ganoderma lucidum</i> Karsten	Fungi
	P-32	오약	<i>Lindera strichnifolia</i> Villars	Root
	P-33	용안육	<i>Dimocarpus longan</i> Lour.	Fruit
	P-34	우슬	<i>Achyranthes japonica</i> Nakai	Root
	P-35	위령선	<i>Clematis mandshurica</i> Maximowicz	Root
	P-36	육계	<i>Cinnamomum cassia</i> Blume	Cortex
	P-37	육종용	<i>Cistanche deserticola</i> Y. C. Ma	Aerial part
	P-38	인진호	<i>Artemisia capillaris</i> Thunberg	Aerial part
	P-39	자완	<i>Aster tataricus</i> Linné fil.	Root
	P-40	전호	<i>Anthriscus sylvestris</i> (L.) Hoffm.	Radix
	P-41	죽여	<i>Phyllostachys nigra</i> Munro var. <i>henonis</i> Stapf.	Stem's Cortex
	P-42	지실	<i>Poncirus trifoliata</i> Rafinescul	Fruit
	P-43	진피	<i>Citrus unshiu</i> Marcow.	Pericarpium
	P-44	천마	<i>Gastrodia elata</i> Blume	Tuber
	P-45	천패모	<i>Fritillaria cirrhosa</i> D. Don	Bulb
	P-46	초과	<i>Amomum tsao-ko</i> Crevost et Lemaire	Fruit
	P-47	통초	<i>Tetrapanax papyriferus</i> K. Koch	Stem
	P-48	하고초	<i>Prunella vulgaris</i> Linné var. <i>lilacina</i> Nakai	Flower Stem
	P-49	향부자	<i>Cyperus rotundus</i> Linné	Root
P-50	황백	<i>Phellodendron amurense</i> Ruprecht	Cortex	

Louis, U.S.A.)와 tyrosin(Sigma Chemical Co., St. Louis, U.S.A.)을 사용하였으며, 기타 추출 및 활성 측정 시약은 1급 시약을 사용하였다. 동결건조기(Eyela, Japan)와 microplate reader(Emax, U.S.A.)을 사용하였다.

추출물 제조 및 분획 - 한약재 각 5g을 적당히 세절한 후 증류수로 3시간 열탕한 후 추출하였다. 증류수 추출액을 여과한 후 농축하여 동결 건조하였다. 1차 실험에서 tyrosinase 저해 효과가 100 µg/ml 농도에서 70% 이상의 우수한 효과를 보인 5종 한약을 이용하여 각 1.2 kg을 메탄올(MeOH) 3 kg으로 추출하여 회전식감압농축기를 이용하여 농축하였다. 각각의 MeOH 농축물을 10% MeOH에 현탁시

킨 후 분획여두에 넣고 메틸렌클로라이드(MC), 에틸아세테이트(EtOAc), 부탄올(*n*-BuOH) 순으로 계통분획을 실시하였다(Fig. 1).

Tyrosinase 저해 효과 측정 - 50종의 식물성 한약의 물 추출물을 대상으로 각각 한약 추출물 3~4 mg에 50 mM K-phosphate Buffer를 1.5~2 ml 넣고 완전 용해시킨 후 각각의 농도별(1000, 500, 250, 100, 50 µg/ml) 시료로 준비하였다. 기질 농도로 L-tyrosine(100 unit, Sigma, U.S.A) 0.3 mg/ml를 potassium phosphate buffer(0.1 M, pH 6.8)로 완전히 녹이고 tyrosinase는 125 unit/ml 농도로 준비하였다. 96 well plate에 0.1 M 인산염완충액(pH 6.5) 220 µl와 시료액 20 µl

그리고 tyrosinase(150 U/mL~200 U/mL)액 20 μ l를 순서대로 넣었다. 이 용액에 1.5 mM tyrosin 액 40 μ l를 넣고 37°C에서 10~15분 동안 반응시켰다. 그리고 이것을 ELISA reader를 이용하여 490 nm에서 흡광도를 측정하였다. 공시료액으로 시료액 대신 0.1 M인산염완충액(pH 6.5)을 넣었다. 양성대조군은 kojic acid를 사용하였다.⁸⁾

$$\text{Inhibition activity (\%)} = \left\{ 1 - \frac{\text{시료첨가구의 흡광도}}{\text{비첨가구의 흡광도}} \right\} \times 100$$

결과 및 고찰

식물성 한약 물 추출물의 Tyrosinase 저해 효과 - Tyrosinase는 인체 내의 멜라닌 생합성 경로에서 가장 중요한 초기 속도결정단계에 관여하는 효소로서 많은 미백 성분이 이 효소를 억제하는 작용기전을 가지고 있다. 이 시험은 시험관내에서 tyrosinase의 활성을 저해하는 정도를 평가

하는 방법이다.⁹⁾ 현재까지 천연물로부터 분리된 tyrosinase 활성 억제물질로는 감초에서 분리된 formononetin, glabrene, glabridin, glabrol, 우바우르시의 arbutin, 상백피의 oxyresveratrol, dihydromorin, artocarbene, 4-prenyloxyresveratrol, 누룩곰팡이의 secondary metabolite인 kojic acid 등이 있으며, 이중 arbutin과 kojic acid는 현재 미백을 목표로 한 기능성 화장품에 첨가제로 이용되고 있다.¹⁰⁾ 또 대표적인 화합물로 phenolic compound, flavonoid, glycolic acid, ferulic acid, isoflavonoids 등이 알려져 있다.^{3,11)}

본 연구는 현재 국내에서 유통되고 있는 한약 중에서 빈용되는 식물성 한약 50종을 물 추출한 후 각각의 추출물에 대하여 tyrosinase 저해 효과를 검색하여 부작용이 없는 천연물에서 유래한 미백물질을 규명하고자 하였다. 50종의 식물성 한약은 물 추출물로 tyrosinase 저해 효과를 검색한 결과를 Table II에 요약 하였다. 또 5종의 활성이 강한 한약의 유기용매 분획물을 대상으로 하여 tyrosinase 저해 효과

Table II. The tyrosinase inhibitory effect of aqueous extracts of plant oriental medicines

No.	Korean name	Crude drug name	Inhibitory rate (%)			
			10(μ g/ml)	25(μ g/ml)	50(μ g/ml)	100(μ g/ml)
P-1	갈근	Puerariae Radix	10.20	24.08	31.46	56.01
P-2	결명자	Cassiae Semen	1.62	1.71	2.29	4.55
P-3	계피	Cinnamomi Cortex	-6.83	-20.37	-22.19	-20.58
P-4	과루인	Trichosanthis Semen	-5.24	-9.67	-8.95	-1.60
P-5	국화	Chrysanthemum indicum Flos	-1.36	4.60	5.46	7.46
P-6	내복자	Raphani Semen	-0.96	-8.88	1.07	1.99
P-7	당삼	Codonopsis pilosulae Radix	0.62	-1.77	-2.25	4.00
P-8	대조	Zizyphi Fructus	-1.42	-2.92	10.13	10.46
P-9	마황	Ephedrae Herba	-6.28	-8.60	13.22	32.73
P-10	만형자	Vitis Fructus	-10.99	-35.81	-24.19	-23.04
P-11	맥아	Hordeum Fructus Germinatum	-8.25	-11.59	-31.11	-71.19
P-12	목통	Akebiae Caulis	-4.85	-11.34	-23.03	-39.83
P-13	박하	Menthae Herba	1.12	1.71	6.32	7.92
P-14	방풍	Saposhnikovia Radix	-3.49	-3.54	-1.45	0.55
P-15	백두구	Amomum Cardamomum Fructus	8.93	-1.81	8.40	5.76
P-16	백부자	Aconitum Koreanum Tuber	1.45	4.65	5.53	6.67
P-17	백자인	Thuja Semen	-19.23	-22.42	-38.57	-68.57
P-18	백편두	Dolichos Semen	2.71	5.97	7.56	10.15
P-19	복분자	Rubi Fructus	-1.61	0.50	3.16	9.02
P-20	부자	Aconitum Lateralis Radix Preparata	-34.03	-36.31	-19.32	-10.08
P-21	비해	Tokoro Rhizoma	-29.44	-23.61	-40.18	-11.56
P-22	산두근	Sophora subprostrata Radix et Rhizom	14.76	38.35	52.82	59.90
P-23	산수유	Corni Fructus	0.84	-6.91	6.13	-8.49
P-24	산조인	Zizyphi Semen	-29.44	-41.01	-59.89	-110.22
P-25	삼백초	Saururus Herba	21.25	19.42	6.59	3.31

Table II. Continued

No.	Korean name	Crude drug name	Inhibitory rate (%)			
			10($\mu\text{g/ml}$)	25($\mu\text{g/ml}$)	50($\mu\text{g/ml}$)	100($\mu\text{g/ml}$)
P-26	생강	Zingiberis Rhizoma Crudus	-4.34	-2.52	5.40	7.32
P-27	세신	Asiasari Radix	-10.54	-21.79	-7.68	-6.79
P-28	소회향	Foeniculi Fructus	-19.41	-39.50	-79.70	-146.24
P-29	시호	Bupleuri Radix	-11.29	-25.41	-16.20	-10.39
P-30	아출	Zedoariae Rhizoma	-21.10	-21.99	-17.44	-25.12
P-31	영지	Ganoderma	29.94	30.90	31.71	21.18
P-32	오약	Linderae Radix	51.46	76.61	92.05	91.81
P-33	용안육	Longanae Arillus	-0.22	2.16	-0.75	1.35
P-34	우슬	Achyranthis Radix	11.77	14.14	5.65	3.12
P-35	위령선	Clematidis Radix	7.65	23.53	56.47	84.47
P-36	육계	Cinnamomi Cortex Spissus	20.72	33.98	75.02	90.28
P-37	육종용	Cistanchis Herba	-17.31	-30.78	-60.83	-103.94
P-38	인진호	Artemisiae Capillaris Herba	7.68	10.08	11.88	22.18
P-39	자완	Asteris Radix	0.08	2.57	3.57	8.68
P-40	절패모	Fritillariae Thunbergii Bulbus	40.21	68.21	94.05	98.21
P-41	죽여	Bambusae Caulis In Taeniam	5.28	-1.35	-15.85	-35.65
P-42	지실	Aurantii Fructus Immaturus	15.04	15.42	23.38	34.88
P-43	진피	Citri Unshii Pericarpium	4.42	7.24	9.63	12.85
P-44	천마	Gastrodiae Rhizoma	0.49	2.15	5.91	6.23
P-45	천패모	Bulbus Fritillariae Cirrhosae	0.68	14.66	57.54	78.47
P-46	초과	Amomi Tsao-Ko Fructus	0.35	0.10	5.14	9.08
P-47	통초	Tetrapanacis Medulla	-23.16	-25.61	-46.43	-88.54
P-48	하고초	Prunellae Spica	12.99	10.48	4.76	-9.26
P-49	향부자	Cyperis Rhizoma	4.64	9.61	7.88	7.48
P-50	황백	Phellodendri Cortex	1.70	-1.62	2.33	8.56

를 측정하였다.

Table II의 결과 식물성 한약 50종의 물 추출물 중 tyrosinase 저해 효과가 같은(P-1) 56%, 마황(P-9) 33%, 산두근(P-22) 56%, 오약(P-32) 92%, 위령선(P-35), 육계(P-36) 90%, 절패모(P-40) 98%, 지실(P-42) 35%, 천패모(P-45) 79%로 tyrosinase 활성 저해효과를 나타내었다. 특히, 가장 좋은 효과를 보인 절패모는 이전의 연구에서 절패모 에탄올 추출물에서 세포독성이 아주 적게 나타났으며, 세포수준의 실험결과 멜라닌 생성에 대하여 우수한 억제효과를 나타내었다.¹²⁾ 그러나 절패모 에탄올 추출물은 일반적으로 멜라닌 합성의 주효소로 알려진 tyrosinase의 활성은 억제하지 않았으며, 멜라닌 합성관련효소인 tyrosinase, TRP-1과 TRP-2의 단백질 발현에도 영향을 미치지 않은 것으로 나타났다.¹²⁾ 따라서 절패모 에탄올 추출물의 멜라닌 생성 억제 작용은 일반적인 경로인 tyrosinase 효소 억제 기전을 경유하지 않는 또 다른 경로를 통하여 멜라닌 합성이 조절되고 있음을 시

사해 주고 있다. 추후 멜라닌 합성의 과정에 관여하는 다른 기전에 대한 자세한 연구가 필요할 것으로 사료된다. 또한, IC₅₀ 40 $\mu\text{g/ml}$ 이하 억제활성을 보이는 식물성 한약은 오약(P-32), 위령선(P-35), 육계(P-36), 절패모(P-40), 천패모(P-45) 등 5종으로 확인되었다(Table III).

5종 한약 중 tyrosinase 저해 효과가 강한 한약인 오약(烏藥)은 기(氣)를 소통시키고 기체(氣滯)를 소제(消除)하는 효능이 있는 이기약(理氣藥)에 속하며,¹³⁾ 녹나무과에 속한 상록관목인 오약의 근경을 건조한 것으로, 동의보감에는 성질은 따뜻하며 맛이 맵고 독이 없다. 모든 기병(氣病)과 냉병(冷病)을 낮게 하며 중약(中惡)으로 명치 아래가 아픈 것, 주오(主忤)와 헛것에 들린 것을 낮게 하고 방광과 신(腎)의 냉기(冷氣)가 등심으로 치미는 것을 낮게 한다. 객란(癥亂)과 반위(反胃), 구토, 설사, 이질, 옹종(癰腫), 음, 문둥병을 낮게 하고 오줌이 술술 자주 나가는 것, 부인의 혈, 기로 오는 통증 등을 낮게 하며 어린이 뱃속의 여러 가지 충을 죽인다

Table III. The tyrosinase inhibitory effect (IC_{50} 40 $\mu\text{g/ml}$)of aqueous extracts of plant oriental medicines

No.	Korean name	Crude drug name	IC_{50} ($\mu\text{g/ml}$)
P-62	오약	Linderæ Radix	15.56±0.47
P-35	위령선	Clematidis Radix	35.02±1.13
P-36	육계	Cinnamomi Cortex Spissus	25.14±1.27
P-40	절파모	Fritillariæ Thunbergii Bulbus	15.20±0.27
P-45	천패모	Bulbus Fritillariæ Cirrhosæ	39.77±0.78

하였다.¹⁴⁾ 성분으로는 linderenol, linderene, linderenone, bilindestenolide, higenamine, magnoflorine 등이 있으며, 약리작용으로 건위정장(健胃整腸), 장관평활근의 운동을 촉진시킨다.¹⁵⁾ 임상응용으로는 배꼽주위의 동통, 장명 등의 한통(寒痛) 증상(신경성위장염, 장관유착으로 인한 경도의 통과 장애 등에서 볼 수 있다)에 적용되며, 소장 hernia, 부고환염 등으로 통증이 배꼽주변까지 방산(放散)하는 경우에 사용하고, 허한(虛寒)으로 인한 빈뇨, 기체로 인한 월경통에 사용한다.¹⁶⁾ 오약(P-32)의 tyrosinase 저해효과를 나타내는 IC_{50} $\mu\text{g/ml}$ 값은 15.56이었다(Table III).

위령선(葳靈仙)은 미나리아재비과에 속한 다년생 낙엽성 만경식물인 으아리와 위령선의 근과 근경을 건조한 것으로, 동의보감에서는 여러 가지 풀을 없애며 5장의 작용을 잘하게 하며 뱃속에 냉으로 생긴 체기, 가슴에 있는 담수(痰水), 징가(癥瘕), 현벽(痲癬), 방광에 있는 오랜 고름과 굳은 물, 허리와 무릎이 시리고 아픈 것을 낮게 한다. 오래 먹으면 온역과 학질에 걸리지 않는다 하였다.¹⁴⁾ 성분으로는 anemonin, anemol 등이 있으며, 약리작용으로 목구멍에 걸린 뼈를 내려가게 해 주며, 식초 추출물은 생선뼈에 대하여 연화작용을 나타낸다. 또한 피부진균의 성장을 억제하고, 해열 진통 작용이 있으며 항 이노작용과 요산을 녹이는 작용으로 통풍에 효과가 있다.¹⁵⁾

임상응용으로는 사지관절통 · 관절의 운동장애 · 수족마비 등의 증상을 수반하는 만성관절 류머티즘에 사용한다.¹⁶⁾ 위령선(P-35)의 tyrosinase 저해효과를 나타내는 IC_{50} $\mu\text{g/ml}$ 값은 35.02이었다(Table III).

육계(肉桂)는 녹나무과에 속한 상록교목인 육계의 수피를 건조한 것으로, 동의보감에는 성질은 몹시 열하며 맛은 달고 매우며 조금 독이 있다. 신(腎)을 잘 보하므로 5장이나 하초에 생긴 병을 치료하는 약으로 쓴다. 수족소음경에 들어간다. 빛이 자주빛이면서 두터운 것이 좋다. 겉질집을 끊어 버리고 쓴다 하였다.¹⁴⁾ 성분으로는 cinnamaldehyde, cinnamyl acetate, phenylpropyl acetate, cinnamic acid, cinnzeylanine, cinnzeylanol 등이 있으며, 약리작용으로 cinnamaldehyde는 부신에 직접 작용하여 혈중 catecholamine의 농도를 상승시키며, 혈압강하, 심박수 감소, 혈당상승을 유발한다.¹⁵⁾ 임상응용으로는 양허(陽虛), 내한(內寒), 신기허약(腎氣虛弱)을 치(治)한다. 허한(虛寒)으로 인한 복통, 식욕

부진, 상복부팽만, 구토, 설사 등에 건위작용을 이용한다. 월경지연(月經遲延), 하복부냉통 등의 부인과 증상에 활혈통경진통(活血通經鎮痛)의 효능을 이용해서 쓴다.¹⁶⁾ 육계(P-36)의 tyrosinase 저해효과를 나타내는 IC_{50} $\mu\text{g/ml}$ 값은 25.14이었다(Table III).

천패모(川貝母)는 백합과에 속한 다년생 초본인 천패모, 암자패모, 감숙패모 또는 능사패모의 인경을 건조한 것으로, 동의보감에는 성질은 평하고 맛은 맵고 쓰며 독이 없다. 담을 삭게 하고 심과 폐를 녹여준다. 폐위(肺痿)로 기침하고 폐옹(肺癰)으로 피고름을 뱉는 것을 낮게 하며 속이 답답한 것을 없애고 갈증을 멎게 하며 쇠붙이에 다친 것과 악창을 낮게 한다. 연교와 같이 쓰면 목에 생긴 영류(癭瘤)를 낮게 한다 하였다.¹⁴⁾ 성분으로는 nerticine, verticinone, verticilline, apoverticine, fritilline, fritillarine, peimisine, peimiphine, peiminoside, dongbeinine, dongberine 등이 있으며, 약리작용으로 물추출물은 기관지 확장작용과 함께 기관지점막의 분비를 억제한다.¹⁵⁾ 임상응용으로는 주로 만성

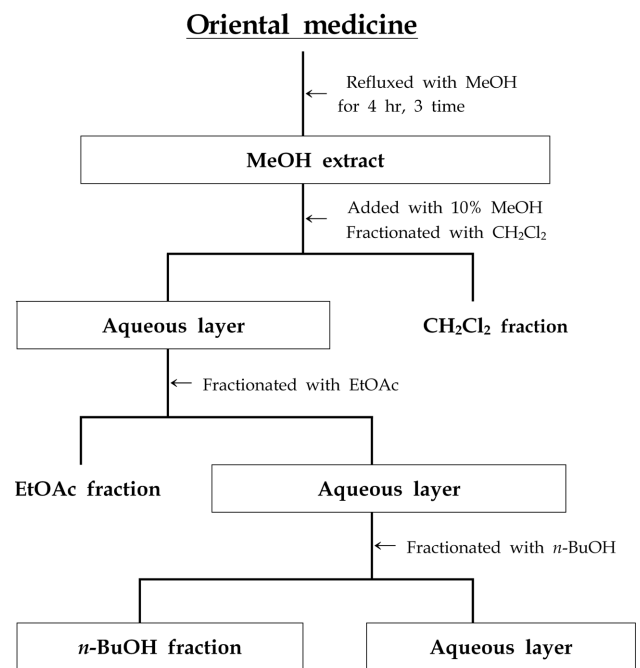


Fig. 1. Procedures of fraction of the extracts of oriental medicines.

해수로써 인건·번열·담소·혈담·식욕부진 등의 폐음허(肺陰虛)의 증상이 있을 때 쓰인다. 폐결핵·만성기관지염 등의 해수에 잘 쓰인다.¹⁶⁾ 절패모(P-40)와 천패모(P-45)의 tyrosinase 저해효과를 나타내는 IC₅₀ µg/ml 값은 각각 15.20, 39.77이었다(Table III).

5종 한약 추출물의 분획물을 이용한 Tyrosinase 저해 효과 - 50종의 한약 물 추출물에 대한 tyrosinase 저해 효과를 측정된 결과에서 오약(P-32), 위령선(P-35), 육계(P-36), 절패모(P-40), 천패모(P-45) 등 5종이 우수한 효과를 보였다

(Table III). 이 한약들에 대해서 MeOH을 용매로 하여 다시 추출하여 분획을 실시하였다(Fig. 1). 그 분획물 들을 이용하여 tyrosinase 저해 효과를 측정하였다(Table IV-VIII).

그 결과 100 µg/ml 농도에서 50% 이상의 tyrosinase 저해 효과를 나타낸 육계(P-36)는 물추출물에서 90.28%의 강한 저해효과를 나타냈으며, EtOAc 분획물에서 51.43%의 활성을 보여 다른 분획층에 비해 유의적인 활성을 나타내 지용성 분획층에 활성이 있는 것으로 보여진다.

또한 100 µg/ml 농도에서 30% 이상 50% 이하의

Table IV. The tyrosinase inhibitory effect of organic solvents fractions of *Linderae Radix*

Crude name	Fractions	Inhibitory rate (%)			
		10(µg/ml)	25(µg/ml)	50(µg/ml)	100(µg/ml)
<i>Linderae Radix</i>	MeOH ext.	4.12	5.07	7.56	8.89
	MC fr.	1.24	3.10	10.46	12.00
	EtOAc fr.	2.36	14.56	17.36	22.45
	Bu-OH fr.	1.02	4.27	10.26	12.36
	H ₂ O fr.	1.25	5.32	8.95	11.39

Table V. The tyrosinase inhibitory effect of organic solvents fractions of *Clematidis Radix*

Crude name	Fractions	Inhibitory rate (%)			
		10(µg/ml)	25(µg/ml)	50(µg/ml)	100(µg/ml)
<i>Clematidis Radix</i>	MeOH ext.	1.41	5.26	8.23	10.19
	MC fr.	9.68	13.96	21.75	36.60
	EtOAc fr.	5.25	10.27	14.36	18.06
	Bu-OH fr.	8.32	15.94	20.88	24.13
	H ₂ O fr.	1.89	3.26	9.97	10.19

Table VI. The tyrosinase inhibitory effect of organic solvents fractions of *Cinnamomi Cortex Spissus*

Crude name	Fractions	Inhibitory rate (%)			
		10(µg/ml)	25(µg/ml)	50(µg/ml)	100(µg/ml)
<i>Cinnamomi Cortex Spissus</i>	MeOH ext.	7.94	8.25	9.78	24.13
	MC fr.	5.17	14.20	33.17	43.21
	EtOAc fr.	3.14	17.36	29.18	51.43
	Bu-OH fr.	9.56	10.06	14.46	23.61
	H ₂ O fr.	3.40	5.53	10.43	22.77

Table VII. The tyrosinase inhibitory effect of organic solvents fractions of *Fritillariae Thunbergii Bulbus*

Crude name	Fractions	Inhibitory rate (%)			
		10(µg/ml)	25(µg/ml)	50(µg/ml)	100(µg/ml)
<i>Fritillariae Thunbergii Bulbus</i>	MeOH ext.	11.11	15.40	17.56	21.68
	MC fr.	2.67	5.58	7.31	8.33
	EtOAc fr.	14.03	17.92	22.86	31.40
	Bu-OH fr.	4.28	6.39	15.60	18.41
	H ₂ O fr.	2.75	6.43	15.45	31.51

Table VIII. The tyrosinase inhibitory effect of organic solvents fractions of *Bulbus Fritillariae Cirrhosae*

Crude name	Fractions	Inhibitory rate (%)			
		10($\mu\text{g/ml}$)	25($\mu\text{g/ml}$)	50($\mu\text{g/ml}$)	100($\mu\text{g/ml}$)
Bulbus Fritillariae Cirrhosae	MeOH ext.	7.50	14.23	19.50	28.20
	MC fr.	-6.98	-3.97	-2.92	2.77
	EtOAc fr.	2.77	6.95	12.32	15.74
	Bu-OH fr.	1.57	4.82	30.91	37.71
	H ₂ O fr.	-22.53	-27.27	-28.11	-30.42

tyrosinase 저해 효과를 나타낸 한약은 위령선(P-35)은 물추출물에서 84.47%, MC 분획물에서 36.60%를, 육계(P-36)는 물추출물에서 90.28%의 강한 저해활성을, MC 분획물에서는 43.21%를 나타냈다. 절패모(P-40)는 물추출물에서 98.21%로 식물성 한약재 중 가장 강한 활성을 나타냈는데, EtOAc 분획물에서 31.40%, H₂O 분획물에서 31.51%로 물추출물에 비해 분획물에서 약한 활성을 보인 것은 절패모에 함유된 성분 상호간의 작용에 의한 것으로 사료된다. 천패모(P-45)는 물추출물에서 78.47%, BuOH 분획물에서 37.71%의 tyrosinase 저해효과를 보였다.

결 론

본 논문은 현대인들의 관심이 높은 미백 효과와 관련된 tyrosinase 저해 효과를 50종의 식물성 한약재를 대상으로 실험하였다. 50종의 식물성 한약은 물 추출물과 5종의 활성이 강한 한약의 유기용매 분획물을 대상으로 하여 tyrosinase 저해 효과를 측정하였다.

1. 식물성 한약 50종을 물 추출한 후 각각의 추출물에 대하여 tyrosinase 저해 효과를 검색하였다. IC₅₀ 40 $\mu\text{g/ml}$ 이하 억제활성을 보이는 식물성 한약은 오약, 위령선, 육계, 절패모, 천패모 등 5종이었다.

2. Tyrosinase 저해 효과가 우수한 식물성 한약 5종에 대하여 MeOH 추출물을 대상으로 유기용매 분획을 진행하였고, 그 분획물을 실험재료로 하여 각각의 tyrosinase 저해 효과를 검색하였다. 그 결과 100 $\mu\text{g/ml}$ 농도에서 50% 이상의 tyrosinase 저해 효과를 나타낸 한약은 육계의 EtOAc 분획물이었다. 또한 100 $\mu\text{g/ml}$ 농도에서 30% 이상 50% 이하의 tyrosinase 저해 효과를 나타낸 한약은 위령선의 MC 분획물, 육계의 MC 분획물, 절패모의 EtOAc 분획물과 H₂O 분획물, 천패모의 BuOH 분획물 등이었다.

이상의 결과를 토대로 tyrosinase 저해 활성이 우수한 식물성 한약을 밝혔으며, 계속적 연구로써 활성 성분 연구가 이루어진다면 새로운 천연 미백제를 개발 할 수 있으리라 기대된다.

인용문헌

- Chen, J., Wei, S. C. and Marshall, M. R. (1991) Inhibition mechanism of kojic acid on polyphenol oxidase. *J. Agric. Food Chem.* **39**: 1897-1901.
- Chakraborty, A. K., Funasaka, Y., Komoto, M. and Tehihasi, M. (1998) Effect of arbutin on melanogenic proteins in human. *Pigment Cell Res.* **11**: 206-212.
- Cabanes, J. S., Chazarra, S. and Garcia-Carmona, F. (1994) Kojic acid, a cosmetic skin whitening agent, is a slow binding inhibitor of catecholase activity of tyrosinase. *J. Pharm. Pharmacol.* **46**: 982-985.
- Fujiware, Y., Sahashi, Y., Artro, M., Hasegawa, S., Akimoto, K., Ninomiya, S., Sakaguchi, Y. and Seyama, Y. (2004) Effect of simultaneous administration of vitamin C, L-cysteine and vitamin E on the melanogenesis. *Biofactors* **21**: 415-419.
- Woo, H. S., Choi, H. J., Han, H. S., Park, J. H., Son, J. H., An, B. J., Son, G. M. and Choi, C. (2009) Isolation of Polyphenol from Green Tea by HPLC and Its Physiological Activities. *Korean J. Food Sci. Technol.* **35**: 1199-1203.
- No, J. K., Soung, D. Y., Kim, Y. J., Shim, K. H., Jun, Y. S., Rhee, S. H., Yokozawa, T. and Chung, H. Y. (1999) Inhibition of tyrosinase by green tea components. *J. Life Sci.* **65**: 241-246.
- Park, S. K., Park, S. J., Jin, T. Y., Kim, K. R. and Jang, M. Y. (2009) *Cosmetology* 121-122, daekyung, Daejeon.
- Ishihara, Y., Oka, M., Tsunakawa, M., Tomita, K., Hatori, M., Yamamoto, H., Kamei, H., Miyaki, T., Konishi, M. and Oki, T. (1991) Melanostatin, a new melanin synthesis inhibitor. Production, isolation, chemical properties, structure and biological activity. *J. Antibiotics* **44**: 25-27.
- Prota, G. (1990) Recent advances in the chemistry of melanogenesis in mammals. *J. Invest. Dermatol.* **75**: 122-128.
- Kim, J. J., Lee, J. S., Kim, S. Y., Kim, J. A., Chung, S. R., Jang, T. S. and Lee, S. H. (2001) Inhibitory effect of hydrolysable tannins isolated from the *Euphorbia helioscopia* on mushroom tyrosinase activity in vitro. *Yakhak Hoeji* **45**: 214-219.
- Jung, S. W., Lee, N. K., Kwun, M. J. and Han, D. S. (1995)

- Screening of tyrosinase inhibitor from plants. *Kor. J. Food Sci. Technol.* **27**: 891-896.
12. Ha, T. K., Lee, B. K., Yoon, J. R., Mun, Y. J., Woo, W. H., Park, S. H. and Lee, J. C. (2011) Inhibitory effect of *Fritillaria verticillata* Willd. var. *thunbergii* Bak ethanol extract on melanin biosynthesis. *Kor. J. Orient. Physiol. & Pathol.* **25**: 510-515.
 13. Kang, B. S., Go, W. C., Kim, S. H., No, S. H., Seo, Y. B., Song, C. J., Shin, M. K., An, D. K., Lee, S. I., Lee, J., Lee, T. H. and Ju, Y. S. (1994) *Herbology*, 121-638, Younglimsa, Seoul.
 14. Cho, S. M., Kim, J. H. and Lee, M. W. (2001) Inhibitory effects of tannins on tyrosinase activity. *Kor. J. Pharmacogn.* **32**: 68-71.
 15. Han, D. S., Kwon, Y. S., Kim, D. G., Kim, Y. J., Kim, Y. H., Kim, Y. C., Kim, J. W., Kim, J. W., Kim, C. M., No, J. S., Mun, Y. H., Min, B. S., Park, J. H., Bea, G. H., Seo, U. K., Sung, S. H., Sung, C. K., Shin, S. W., Yang, K. S., Wo, U. R., Lee, K. N., Lee, M. W., Lee, S. G., Lee, S. Y., Lee, S. H., Lee, I. S., Lee, J. K., Lim, D. S., Jung, S. R., Jung, J. H., Ji, O. P., Choi, H. K., Han, Y. M., Hwang, B. Y. and Hwang, W. K. (2008) *Pharmacognosy*, 173-692, Dong myeong publishers, Paju.
 16. Lee, S. I., An, D. K., Shin, M. K., No, S. H., Lee, Y. J. and Kim, S. H. (1993) *Oriental Pharmacology clinical application*, 55-448, Korea Bio Medical Science Institute, Seoul.
- (2015. 1. 26 접수; 2015. 2. 6 심사; 2015. 3. 24 게재확정)