

## 항산화 및 미백화장품 원료로서의 땅콩새싹 추출물에 관한 연구

윤미연\*

# A Study on Peanut Spouts Extract as the Anti-oxidant Activity and the Skin Whitening Cosmetic Ingredients

Mi Yun Yoon\*

Received: 15 February 2016 / Revised: 18 March 2016 / Accepted: 21 March 2016

© 2016 The Korean Society for Biotechnology and Bioengineering

**Abstract:** To investigate the effect of peanut sprout extract on skin care, we measured anti-oxidant activity and whitening action. As a result of measuring DPPH radical scavenging activity to examine independent anti-oxidation of peanut sprout extract, there was strongly scavenging activity. Fluorescent material DCF-DA was used to measure hydrogen peroxide created in RAW 264.7 cells, and all concentration dependently decreased ROS production. As a result of measuring nitric oxide to examine anti-inflammation of peanut sprout extract, there was strongly inhibited nitric oxide production in RAW 264.7 cells. Tyrosinase activation was found to inhibited dose-dependant. Melanin production was also prevented dose-dependant. Therefore, it is expected to be used effectively in development of functional cosmetic materials.

**Keywords:** Peanut spouts, Anti-oxidant, Anti-inflammatory, Whitening, Cosmetic

### 1. INTRODUCTION

최근 중국을 비롯하여 동남아시아 화장품 시장은 한류 열풍으로 인하여 한국 화장품의 선호도가 높아지면서 국내화장품 업체는 호황을 이루고 있다. 그동안 아시아 시장에서 외국 브랜드에 비해 인지도가 낮았던 한국 화장품 브랜드의 신뢰

도가 높아지면서 'K-뷰티'가 화제가 되고 있다. 이러한 현상은 이미 포화상태인 국내 화장품산업이 세계시장에 발돋움하기 위해 업계 간 선의의 경쟁과 발전을 하게 되는 원동력이 되고 있다. 화장품은 단순히 피부를 보호하기 위해 사용되는 기초적인 단계에서 피부를 보호하기 위한 기능성 화장품으로 발전해왔으며 기능성 화장품에 대한 이미지는 과거 희소성에서 점차적으로 보편화되고 있다. 또한 주술적, 종교적, 사회적 신분 또는 계급을 나타내기 위한 목적이나 동물이나 태양으로부터 보호를 위해 사용한 화장품의 목적에서 현대에 이르러서는 신체의 청결을 유지, 자신의 미화, 심리적 만족수단 그리고 더 나아가서는 피부의 생기기능 활성 등의 목적으로 화장품이 사용되고 있다 [1]. 특히 화장품 역사를 볼 때 공통적으로 추구했던 미적본능이 피부미백이다. 미백은 한국과 일본 등 특히 동양에서 많은 관심을 받고 있으며 주름방지와 더불어 가장 중요한 피부 연구의 한 분야이다.

땅콩은 콩과에 속하는 일년생의 초본식물로 고온에서 잘 자라고 우리나라, 중국, 인도, 미국 등 세계 각국에서 재배되며 단백질, 지방, 비타민, 무기질 등 다양한 영양성분을 함유한 양질의 유지작물이다 [2]. 새싹채소는 종자에서 싹이 나와 약 1~3개 달린 어린 채소를 말하며 종자에서 싹이 트는 시기에 자신의 성장을 위하여 영양소 등 이로운 물질을 생합성하므로, 새싹채소의 비타민·무기질 함량은 다 자란 채소의 3~4배에 이른다. 이처럼 땅콩의 싹이 발아할 때 외부의 자극으로부터 자신을 보호하기 위해 resveratrol (3,5,4'-trihydroxystilbene)을 생산하게 되는데 땅콩 종자 상태에서는 거의 없던 resveratrol 성분이 싹이 발아되면서 90배 이상 증가된 것으로 보고되었다 [3]. Resveratrol은 폴리페놀 (polyphenol)의 일종으로 박테리아나 균류 같은 외부 환경의 변화에 식물체 스스로를 보호하기 위해 자연적으로 생성되는 항

동남보건대학교 피부미용과  
Department of Cosmetology, Dongnam Health College, Suwon 440-714, Korea  
Tel: +82-31-249-6576, Fax: +82-31-249-6570  
e-mail: ymy@dongnam.ac.kr

독성 물질인 phytoalexin에 속한다 [4]. Resveratrol의 생리활성으로는 대식세포 (macrophage)의 염증 조절인자로 알려진 inducible nitric oxide synthase (iNOS)나 cyclooxygenase-2 (COX-2)발현을 억제하여 항염증 작용을 하며 [5], 항산화 및 항균작용 [6]이 대표적이다. 땅콩새싹은 알츠하이머(Alzheimer's disease), 암 (cancer), 심혈관 질환 같은 각종 질병을 예방하는 식물로 알려져 있으며, 최근 연구에선 당뇨병 예방 및 합병증의 일부를 감소시키는데 효능이 있고, 당뇨병 쥐에서 산화 스트레스 및 신장 기능 장애를 감소시켰다 [7].

이전 연구에서 천연 폴리페놀 화합물 (polyphenol compound)인 resveratrol을 다량 함유하고 있는 땅콩새싹 추출물의 항산화 효과 및 항염증 작용 등이 보고되어 왔으나 티로시나제 (tyrosinase)와 관련한 미백작용에 대한 연구는 미비한 실정이다. 따라서 본 연구는 땅콩새싹을 에탄올 추출하여 항산화 및 티로시나제 활성 및 멜라닌 (melanin) 생성을 측정하여 피부 미백화장품 소재로서의 가능성을 검토하였다.

## 2. MATERIALS AND METHOD

### 2.1. 시약

3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyl tetrazolium bromide (MTT), Tyrosinase, L-DOPA, L-tyrosine은 Sigma Chemical Co. (St. Louis, Mo. USA)로부터 구입하였다. 2',7'-dichlorofluorescein diacetate (DCF-DA)는 Molecular Probe Co. (Eugene, OR, USA)에서 구입하였다. B16F10 melanin 세포, RAW 264.7 세포는 서울대학교 세포주 은행으로부터 구입하였다.

### 2.2. 실험 재료

본 연구의 실험재료로 사용한 땅콩새싹은 1 kg의 전초를 수제한 다음 시료에 95% ethanol 용액 4배를 가한 다음 실온에서 7 일 동안 침적시켜 얻어진 상층액을 3M filter paper를 이용하여 정제하고, 정제된 추출물을 rotary evaporator를 이용하여 농축한 뒤 heating block을 이용하여 남아있는 ethanol을 모두 날리고 최종 3.7 g의 추출물 (extract)을 얻어 시료로 사용하였다.

### 2.3. 세포배양

B16F10 melanin 세포와 RAW 264.7 세포는 10% fetal bovine serum과 penicillin/streptomycin (100 IU/ 50 µg/mL)을 함유한 Dulbecco's modified eagle's medium (DMEM) 용액으로 37°C로 유지되는 5% CO<sub>2</sub> incubator에서 배양하였다.

### 2.4. MTT를 이용한 세포독성 측정

땅콩새싹 추출물의 세포독성을 확인하기 위하여 MTT법을 하였다. B16F10 melanin 세포를 사용하였으며, 24 well plate에 well당 1×10<sup>4</sup>의 세포수로 분주하고 시료를 농도별로 가한 후 48시간 동안 37°C, CO<sub>2</sub> 배양기에서 배양하였다. 48시간 후 배양 용액을 버리고, Krebs 용액 (mM: NaCl 137, KCl 2.7, Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 0.4, MgCl<sub>2</sub> 0.5, HEPES [pH 7.4] 10, CaCl<sub>2</sub> 1.8, 포도

당 5)에 녹인 MTT 용액 500 µg/mL을 각 well에 1 mL씩 가하고 어두운 곳에서 4시간 배양 후 상층액을 버리고, DMSO를 각 well에 1 mL를 가하여 MTT formazan을 용해시켰다. 실온에서 15분간 MTT formazan을 완전히 용해 후 570 nm에서 흡광도를 측정하였다. 동일한 조건으로 4회 반복적으로 실험하여 평균값을 측정하였다.

### 2.5. DPPH radical 소거 정량

96 well plate에 에탄올에 녹인 0.1 mM 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH)용액 180 µL와 땅콩새싹 추출물을 농도별로 20 µL씩 가하고 어두운 상태로 37°C에서 30분간 배양한 후 FL 600 분광형광계 (BioTek, Winooski, VT, USA)를 이용하여 517 nm에서 흡광도를 측정하였다. 동일한 조건으로 4회 반복적으로 실험하여 평균값을 측정하였다.

### 2.6. 세포내 산화 스트레스 생성 측정

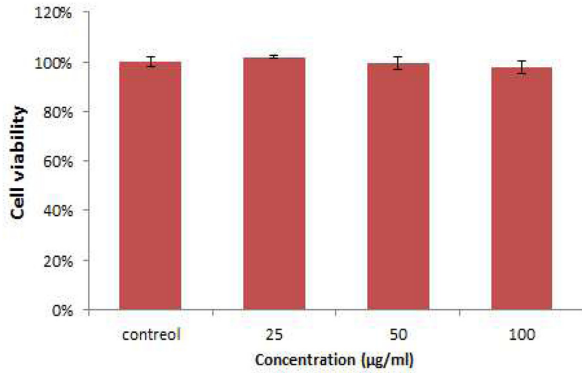
DCF-DA가 RAW 264.7 세포내로 들어가서 세포내에서 생성된 자유라디칼과 반응하여 형광물질인 DCF로 산화되는 원리를 이용하여 측정하였다. RAW 264.7세포를 10 mL의 Krebs buffer에 분산시킨 후, 20 µM DCF-DA를 가하고 30분간 어두운 곳에서 배양하였다. DCF-DA가 없는 Krebs buffer로 한번 세척한 후 원심분리하여 세포를 추출하였다. 1×10<sup>4</sup> cells/mL로 소분하고 시료를 농도별로 전처리한 후 silica 1 mg/mL를 가하여 30분간 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 생성을 유도하였다. 원심분리 후 cell pellet을 200 µL의 Krebs buffer에 재분산시켜 96 well plate에 옮긴 후 형광도 (Ex 485 nm, Em 535 nm)를 측정하였다. 동일한 조건으로 4회 반복적으로 실험하여 평균값을 측정하였다.

### 2.7. 세포내 NO 생성 측정

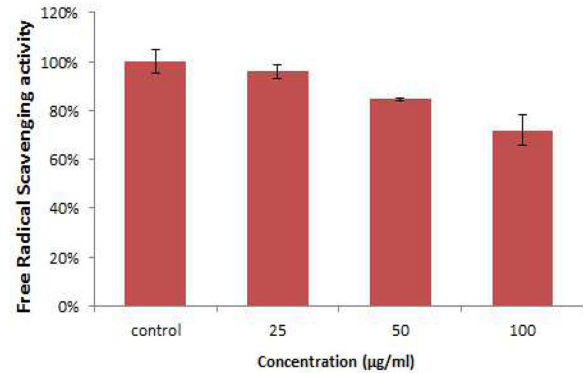
RAW 264.7 세포를 24 well plate에 1×10<sup>6</sup> cells/mL로 각 well당 1 mL씩 분주하였다. 96 well plate에 세포 배양 상등액 100 µL와 Griess시약 (1% sulfanilamide in 5% phosphoric acid + 1% α-naphthylamide in H<sub>2</sub>O) 150 µL를 혼합한 후, 5분 동안 반응시켜 ELISA microplate reader (MQX200R, BioTek, Winooski, VT, USA)를 이용하여 540 nm에서 흡광도를 측정하였다. 검량선 작성을 위해 sodium nitrite (NaNO<sub>2</sub>)를 표준품으로 사용하여 비교하였다. 동일한 조건으로 4회 반복적으로 실험하여 평균값을 측정하였다.

### 2.8. 실험관 내에서 tyrosinase 활성 측정

Tyrosinase 활성 기질은 L-DOPA를 사용하였다. L-DOPA는 2 mg/mL를 potassium phosphate buffer (0.1 M, pH 6.8)로 완전히 녹이고 tyrosinase는 3000 units/mL 농도로 준비하였다. Tyrosinase 90 µL에 농도별로 희석한 땅콩새싹 추출물 10 µL를 시험관에 넣고 잘 섞어준 뒤 96 well plate에 40 µL씩 분주하고 L-DOPA (2 mg/mL)를 200 µL를 넣고 37°C에서 1시간 반응시킨 후 475 nm에서 흡광도를 측정하였다. 동일한 조건으로 4회 반복적으로 실험하여 평균값을 측정하였다.



**Fig. 1.** The cytotoxicity of peanut sprout extract. Results are means  $\pm$ SD from 4 separate experiments.



**Fig. 2.** Anti-oxidant activities of peanut sprout extract in the DPPH radical scavenging activity assay. Results are means  $\pm$ SD from 4 separate experiments. \* $p$ <0.05: Significantly different from control.

### 2.9. B16F10 melanin 세포에서 melanin 생성 억제 측정

B16F10 melanin 세포를 6 well plate에 3 mL로 분주한 후 10% FBS이 함유된 phenol red-free DMEM 용액에서 12시간 동안 배양하였다. 그리고 시료를 각각의 농도로 37°C에서 10분간 배양하여 전처리한 후, 1  $\mu$ M의  $\alpha$ -MSH (melanocyte stimulating hormone)를 처리하여 37°C에서 72시간 동안 배양하였다. 배양이 끝나고 난 후 1% (w/v) Triton X-100을 함유한 10 mM sodium phosphate buffer (pH 6.8)를 100  $\mu$ L를 가하고 5분간 shaking한 후 시험관으로 옮기고 이를 10,000 rpm에서 5분간 원심분리하여 얻은 cell pellet에 1 N NaOH 100  $\mu$ L와 증류수 200  $\mu$ L를 가하고 60°C에서 1시간 배양하여 멜라닌을 완전히 녹인 후 96 well plate에 200  $\mu$ L를 옮기고 405 nm에서 흡광도를 측정하였다. 동일한 조건으로 4회 반복적으로 실험하여 평균값을 얻어 멜라닌 표준품으로 얻은 검량선을 이용하여 각 well에서 생성된 멜라닌 양을 산출하였다.

### 2.10. 자료분석 및 통계적 검증

실험 결과는 평균 $\pm$ 표준편차로 표기하였으며, 실험 성적은 non-paired student's t-test로 검증하였다.

## 3. RESULTS AND DISCUSSION

### 3.1. 세포독성 측정

땅콩새싹 추출물의 세포 독성을 알아보기 위하여 MTT를 통해 관찰하였다. B16F10 melanin 세포에 땅콩새싹 추출물 25, 50, 100  $\mu$ g/mL 농도로 처리하여 관찰한 결과 농도에 따라 세포독성이 나타나지 않았으며 (Fig. 1), 최고 농도인 100  $\mu$ g/mL에서 98% 세포생존율을 나타냄으로써 인체에 적용하였을 때 안전성에 있어 효과적인 물질이라 사료된다.

### 3.2. 시험관 내에서의 항산화 작용

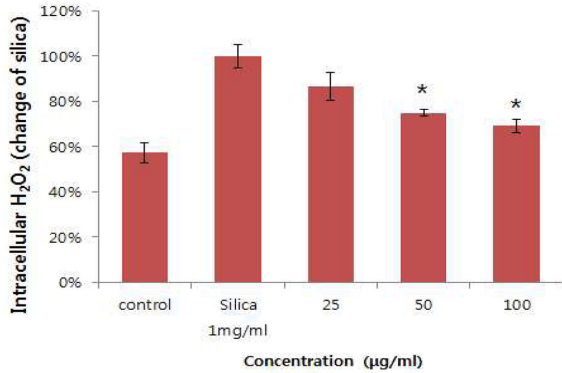
천연 식물에 다량 함유되어 있는 페놀성 화합물 (phenolic compounds)은 항산화, 항균, 항암 등 다양한 생리활성 효과가

있다고 보고되고 있으며, 특히 항산화제로 많이 응용되고 있다 [8]. 이러한 페놀성 화합물의 항산화제는 과산화지질 (lipid peroxide radical)에 수소공여체로 작용하여 연쇄반응을 종결 시키게 된다. 이와 같이 생체막에서 수소공여체로써 작용하는 항산화활성은 DPPH를 이용한 자유라디칼 소거활성을 통해 확인할 수 있다 [9]. 항산화, 항암 작용에 우수한 resveratrol을 다량 함유하고 있는 땅콩새싹 추출물의 자체적인 항산화 작용을 알아보기 위하여 DPPH radical 소거 활성을 측정하였다. 땅콩새싹 추출물 25  $\mu$ g/mL에서는 미미한 소거활성을 나타내었으나 50  $\mu$ g/mL에서는 15%, 100  $\mu$ g/mL에서는 28% 항산화 활성을 나타내었다 (Fig. 2). 식물 추출물의 DPPH radical 소거에 의한 전자공여능력 (electron donating ability)이 페놀류나 플라보노이드 물질에 의하여 항산화 활성을 나타내는 것으로 볼 때 [10], 땅콩새싹 추출물에서 항산화 활성을 나타낸 것이 땅콩새싹 구성 성분인 페놀화합물 등의 항산화 물질의 상호작용에 의한 것으로 사료되며 땅콩새싹 추출물 자체의 항산화 효능이 있는 것으로 사료된다.

### 3.3. RAW 264.7 세포에서 reactive oxygen species (ROS) 소거 활성

시험관내에서 땅콩새싹 추출물 자체가 자유라디칼 소거 활성을 나타내고 있는 것을 확인하였고, 이 실험에서는 DCF-DA 형광물질을 이용하여 세포내에서 생성되는 자유라디칼을 측정하였다. ROS는 슈퍼옥사이드 (superoxide), 하이드록시라디칼 (hydroxyl radical), 과산화수소를 포함한 활성 산소종 (reactive oxygen species)으로써 인체는 호흡과정을 통해 끊임없이 활성산소가 생성되고 있다. 또한 ROS는 세포내 DNA의 변형, 단백질 산화 (protein oxidation), 지질과산화 (lipid peroxidation)등의 손상을 나타내어 암, 당뇨병, 동맥경화, 염증 등의 다양한 질병을 유발하고 [11,12], 염증 및 노화의 진행을 가속화 시킨다. 최근연구에서 ROS가 피부경화증과 밀접한 관련이 있다고 보고되고 있다 [13].

Stimulant로 사용한 silica 1 mg/mL은 43% 자유라디칼을 생



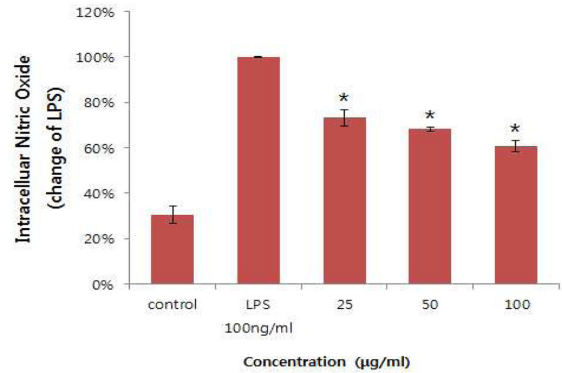
**Fig. 3.** Effect of peanut sprout extract on intracellular free radical generation in RAW 264.7 cells. Results are means±SD from 4 separate experiments. \**p*<0.05: Significantly different from silica.

성하였으며, 땅콩새싹 추출물은 각각 농도 의존적으로 억제하였다. 특히 최고 농도인 100 µg/mL에서 31%로 강하게 억제하였다 (Fig. 3). 이러한 결과는 땅콩나물 뿌리 추출물의 에틸아세테이트 분획의 경우 L-ascorbic acid와 유사한 활성산소 소거활성을 나타낸 연구 [9]를 뒷받침할 수 있다. 또한 resveratrol이 농도에 따라 ROS생성을 감소시킨 연구 [14]에 의거하여 땅콩새싹이 함유하고 있는 다양한 성분 중에 resveratrol에 의해 활성산소를 억제하는 결과를 나타낸 것을 알 수 있었으며 땅콩새싹 추출물을 이용한 항산화 및 항노화 화장품 소재로서 가능성이 있는 것으로 사료된다.

**3.4. RAW 264.7 세포에서 Nitric Oxide (NO) 생성 억제활성**

NO는 일종의 자유라디칼로서 많은 세포에서 중요한 2차 전달자 역할을 담당하고 있으며 [15], 세포막을 쉽게 통과할 수 있는 성질이 있어 생체 내에서 매우 다양한 작용을 한다 [16]. 또한 생체 내에서 L-arginine으로부터 nitric oxide synthase (NOS)에 의해 합성된다. 염증반응은 숙주 방어 시스템에서, interferon-γ와 세균성 lipopolysaccharide (LPS)와 같은 염증성 물질에 의해 활성화된 대식세포가 염증성 사이토카인의 주요 매개체를 대량으로 생산하는 것으로 알려져 있다 [17]. 이러한 염증반응은 감염으로부터 몸을 보호해주는 역할을 하지만 과도한 염증반응은 피부 노화 및 주름에 직접적인 영향을 주게 되며, 자가 면역 질환의 주요 메커니즘과 대부분의 염증성 질병의 공통적인 특징을 가지고 있다. 따라서 염증반응을 억제하는 것이 질환을 치료하는 중요한 열쇠가 되고 있다 [18].

NOS는 NG-monomethyl-L-arginine (NGMMA)과 같은 기질 유사체에 의해 경쟁적으로 억제될 수 있으며 cNOS (constitutive nitric oxide synthase)와 iNOS로 나눌 수 있다. cNOS는 칼슘과 칼모듈린 (calmodulin)이 의존성으로 지속적으로 NO를 분비해 항상성을 유지하고, iNOS는 LPS와 염증성 사이토카인의 자극으로 인해 장시간 대량의 NO를 생성한다. 이 때 생성된 NO는 염증 반응을 심화시키기 때문에 NO 생성 저해



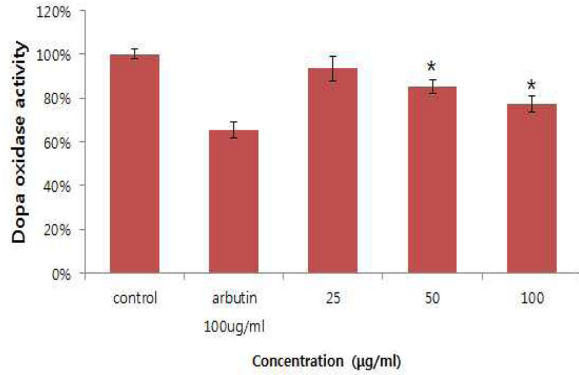
**Fig. 4.** Effect of peanut sprout extract on intracellular NO generation in RAW 264.7 cells. Results are means±SD from 4 separate experiments. \**p*<0.05: Significantly different from LPS.

능을 측정하는 것이 대표적인 항염증 연구에 사용되고 있다. 땅콩새싹 추출물을 25, 50, 100 µg/mL 농도별로 LPS로 자극받은 RAW 264.7 세포에 첨가하여 NO 생성 저해를 관찰하였으며, 농도 의존적으로 NO 생성이 감소되는 것을 볼 수 있다 (Fig. 4). 이러한 결과는 땅콩새싹의 주성분으로 알려진 resveratrol이 폴리페놀계 파이토알렉신 (phytoalexins)의 작용으로 항염증 작용이 우수한 것으로 알려져 있고 [19], 특히 포도, 땅콩의 열매에서 발견되는 resveratrol은 대식세포, 지방세포와 기질 혈관 세포에서 항염증 효과를 나타내고 있는 기존 연구와 유사하다 [20]. 따라서 땅콩새싹 추출물에 포함되어 있는 다수의 성분 중 resveratrol의 작용에 의해 NO의 생성을 억제한 것으로 사료되며 NO에 의한 염증반응으로 나타나는 피부 노화 및 주름생성을 지연시킬 수 있는 화장품 소재로서의 가능성이 있는 것으로 사료된다.

**3.5. Tyrosinase 활성**

땅콩새싹은 폴리페놀 화합물인 resveratrol을 함유하고 있는 대표적인 식물이다 [9]. 이미 많은 연구에서 resveratrol의 항멜라닌 생성에 대한 효과를 입증하였으며 [21], 특히 tyrosinase-related protein (TPR-1, TPR-2) 그리고 microphthalmia-associated transcription factor(MITF)에 관여하는 tyrosinase 활성을 강하게 억제하는 것으로 보고되었다 [22]. 표피의 과색소 침착은 과도한 멜라닌 합성에 의해 발생하며 tyrosinase는 멜라닌 생성의 결정적인 역할을 하는 효소로서 L-DOPA에 의해 멜라닌을 합성한다 [23]. 따라서 티로시나제 억제제는 피부 색소침착을 미연에 예방할 수 있는 피부 미백화장품 소재로서 사용이 가능하다. 땅콩새싹 추출물이 tyrosinase 활성에 어떠한 영향을 미치는지 알아보기 위해 L-DOPA를 이용하여 정제된 tyrosinase 활성을 측정하였다. 대조약물로 사용한 알부틴은 대표적인 tyrosinase 억제로 알려져 있으며 100 µg/mL에서 35% 효소활성을 억제하였으며, 땅콩새싹 추출물은 각각 6%, 15%, 23%로 농도 의존적으로 tyrosinase 활성을 억제하였다 (Fig. 5). 이러한 결과는 땅콩새싹 식물에 함유되



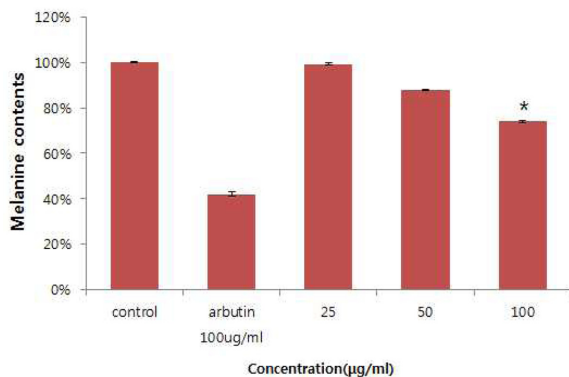


**Fig. 5.** Effect of peanut sprout extract on purified tyrosinase activity in mushroom tyrosinase. Results are means±SD from 4 separate experiments. \* $p < 0.05$ : Significantly different from arbutin.

어 있으며, tyrosinase 활성을 억제하는 것으로 입증된 resveratrol 및 다량의 폴리페놀 화합물에 의한 것으로 사료되며, 땅콩새싹 추출물을 활용한 tyrosinase 억제제로써 피부 미백제 개발이 가능할 것으로 사료된다.

### 3.6. 멜라닌 생성 저해

멜라닌은 표피의 기저층에서 멜라닌 세포에 의해 생성되며 피부의 색을 결정짓는 중요한 역할을 한다. 멜라닌을 형성하는 멜라닌 세포는 세포질 내에서 멜라노솜을 형성하며, 멜라노솜은 각질형성세포의 각화 현상에 의해 색소가 과립형태로 운반된다 [24]. 또한 멜라닌은 자외선으로부터 피부를 보호하는 기능을 갖고 있지만 비정상적인 생성은 피부에 과색소 침착을 유발하게 된다 [25]. 이렇듯 멜라닌 합성은 효소반응과 화학적 반응에 의해 복잡하게 생합성 되는데, 피부가 자외선에 노출되면  $\alpha$ -MSH를 분비하는 각질형성세포가 자극을 받아 멜라닌 생성을 유도한다. 최근 연구에서 resveratrol이 멜라닌 생성을 억제하는 결과가 나타났으며 [26], resvera-



**Fig. 6.** Inhibitory activity of peanut sprout extract on melanin synthesis in  $\alpha$ -MSH stimulated in B16F10 melanin cells. Results are means±SD from 4 separate experiments. \* $p < 0.05$ : Significantly different from arbutin.

tol을 함유하고 있는 땅콩새싹 식물에 대한 연구는 미미한 실정이다. 따라서  $\alpha$ -MSH로 유도된 B16F10 melanin 세포에서 땅콩새싹 추출물이 멜라닌 생성에 어떠한 영향을 미치는지 관찰하였다. 대조군으로 사용한 알부틴 100  $\mu$ g/mL에서 58% 멜라닌 생성을 억제하였으며, 땅콩새싹 추출물은 25  $\mu$ g/mL 농도에서는 이렇다 할 결과를 나타내지 않았으나 50, 100  $\mu$ g/mL에서는 농도 의존적으로 멜라닌 생성을 억제하는 경향을 나타내었으며, 최고 농도인 100  $\mu$ g/mL에서 26% 억제하는 것으로 나타났다 (Fig. 6). 이러한 결과는 멜라닌 생성에 관여하는 tyrosinase 활성 억제효과와 유사한 결과를 나타내었으며, 땅콩새싹 추출물이 멜라닌 세포에도 직접적으로 영향을 미치는 것을 알 수 있다. 또한 Lee 등 [22]의 연구에서 밝힌 resveratrol의 멜라닌 생성 저해효과를 뒷받침할 수 있으며 땅콩새싹 추출물에 함유되어 있는 다량의 페놀 화합물을 비롯한 resveratrol의 작용에 의한 것으로 판단되어진다. 따라서 땅콩새싹 추출물이 천연물을 이용한 피부 미백 화장품 소재로써의 개발 가능성이 있는 것으로 사료된다.

## 4. CONCLUSION

본 연구는 폴리페놀 화합물을 포함하고 있고 특히 항산화 및 항염, tyrosinase 활성 억제에 효능이 있는 것으로 알려진 resveratrol 성분을 포함하고 있는 땅콩새싹 식물을 에탄올 추출하여 항산화, 항염 및 미백작용에 미치는 영향을 관찰함으로써 추후 항노화, 미백과 관련된 기능성 화장품의 원료로써의 활용 방안을 모색하고자 하였다. 연구의 결과는 다음과 같다. B16F10 melanin 세포를 이용하여 세포독성을 실험한 결과 최고 농도인 100  $\mu$ g/mL에 98% 세포생존율을 나타냄으로써 안전성에 있어 효과적인 물질이라 사료된다. 땅콩새싹 추출물의 자체적인 항산화 작용을 알아보기 위하여 DPPH radical 소거 활성을 측정한 결과 땅콩새싹 추출물 25  $\mu$ g/mL에서는 미미한 소거활성을 나타내었으나 50  $\mu$ g/mL에서는 15%, 100  $\mu$ g/mL에서는 28% 항산화 활성을 나타내었다. DCF-DA 형광물질을 이용하여 세포내에서 생성되는 자유라디칼을 측정된 결과, 농도 의존적으로 억제하였으며 특히 최고 농도인 100  $\mu$ g/mL에서 31%로 강하게 억제하였다. 대표적인 염증 매개 물질인 LPS를 이용하여 NO 생성을 관찰한 결과, 농도 의존적으로 NO 생성을 억제하였다. 땅콩새싹 추출물이 멜라닌 합성 과정에 관여하는 tyrosinase 활성에 어떠한 영향을 미치는지 알아보기 위해 정제한 tyrosinase 활성을 관찰한 결과 땅콩새싹 추출물에서 농도 의존적으로 효소 활성을 억제하였으며 최고 농도인 100  $\mu$ g/mL에서는 23% 억제하였다. 땅콩새싹 추출물의 멜라닌 세포에 의한 멜라닌 생성을 관찰한 결과 농도 의존적으로 멜라닌 생성을 억제하였다. 이상의 결과를 종합해 볼 때 땅콩새싹 추출물은 항산화 및 항염, 미백 작용이 우수하므로 기능성 화장품 소재 개발에 있어서 효과적으로 활용이 가능할 것으로 사료된다.

REFERENCES

1. Song, J. S. and Y. A. Kim (2009) A study on the future market prospect of domestic functional cosmetics industry focused on the cosmeceutical Products. *J. Korean Soc. Design Cult.* 15: 258-271.
2. Kang, H. I., S. J. Kim, K. W. Park, J. S. Kang, and K. I. Seo (2010) Antioxidative effects of peanut sprout extracts. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 39: 941-946.
3. Lee, M. J., Y. K. Cheong, H. S. Kim, K. H. Park, H. S. Doo, and D. Y. Suh (2003) *trans*-Resveratrol content of varieties and growth period in peanut. *J. Korean Crop. Sci.* 48: 429-433.
4. Kim, Y. A., S. Y. Lim, S. H. Lee, K. Y. Park, W. H. Lee, and Y. H. Choi (2004) Induction of Cdk inhibitor p21 and inhibition of cyclooxygenase-2 by resveratrol in human lung carcinoma A549 cells. *J. Life Sci.* 14: 800-808.
5. Bhat, K. P. and J. M. Pezzuto (2002) Cancer chemopreventive activity of resveratrol. *Ann. NY Acad. Sci.* 957: 210-229.
6. Filip, V., M. Plockova, J. Smidrkal, Z. Spickova, K. Melzoch, and S. Schmidt (2003) Resveratrol and its antioxidant and antimicrobial effectiveness. *Food Chem.* 83: 585-593.
7. Sharma, S., M. Anjaneyulu, S. K. Kulkarni, and K. Chopra (2006) Resveratrol, a polyphenolic phytoalexin attenuates diabetic nephropathy in rats. *Pharmacology* 76: 69-75.
8. Azuma, K., M. Nakayama, M. Koshica, K. Lppoushi, Y. Yamaguchi, K. Kohata, Y. Yamaguchi, H. Ito, and H. Higashio (1999) Phenolic antioxidants from the leaves of *Corchorus olitorius* L. *J. Agric. Food Chem.* 47: 3963-3966.
9. Jo, N. R., C. I. Park, C. W. Park, D. H. Shin, Y. C. Hwang, Y. H. Kim, and S. N. Park (2012) Cellular protective effects of peanut sprout root extracts. *Chem. Eng.* 23: 183-189.
10. Kang, Y. H., Y. K. Park, and G. D. Lee (1996) The nitrite scavenging and electron donating ability of phenolic compounds. *Korean J. Food Sci. Technol.* 28: 624-630.
11. Ames, B. N., M. K. Shingenaga, and T. M. Hagen (1993) Oxidants, antioxidants, and the degenerative diseases of aging. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 90: 7915-7922.
12. Beckman, K. B. and B. N. Ames (1979) The free radical theory of aging matures. *Physiol. Rev.* 59: 527-605.
13. Bourji, K., A. Meyer, E. Chatelus, J. Pincemail, E. Pigatto, J. O. Defraigne, F. Singh, C. Charlier, B. Geny, J. E. Gottenberg, L. Punzi, F. Cozzi, and J. Sibilia (2015) High reactive oxygen species in fibrotic and nonfibrotic skin of patients with diffuse cutaneous systemic sclerosis. *Free Radic. Biol. Med.* 87: 282-289.
14. Hong, S. H., H. J. Lee, E. J. Sohn, H. S. Ko, B. S. Shim, K. S. Ahn, and S. H. Kim (2013) Anti-nephrolithic potential of resveratrol via inhibition of ROS, MCP-1, hyaluronan and osteopontin *in vitro* and *in vivo*. *Pharmacol. Rep.* 65: 970-979.
15. Lowenstein, C. J. and S. H. Snyder (1992) Nitric oxide, a novel biologic messenger. *Cell* 70: 705-707.
16. Lee, S. C., D. H. Kim, and H. W. Lee (1998) Roles of nitric oxide in the ultraviolet B-induced inflammatory response of the mouse skin. *Korean J. Invest. Dermatol.* 5: 127-132.
17. Hwang, S. M., C. H. Chen, S. S. Chen, and J. C. Chen (2000) Chitinous materials inhibit nitric oxide production by activated RAW 264.7 macrophages. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 271: 229-233.
18. Zhu X, Q. Liu, M. Wang, M. Liang, X. Yang, X. Xu, H. Zou, and J. Qiu (2011) Activation of Sirt1 by resveratrol inhibits TNF- $\alpha$  induced inflammation in fibroblasts. *PLoS One* 6: e27081.
19. Zhang, X., A. Jiang, B. Qi, Z. Ma, Y. Xiong, J. Dou, and J. Wang (2015) Resveratrol protects against *Helicobacter pylori*-associated gastritis by combating oxidative stress. *Int. J. Mol. Sci.* 16: 27757-27769.
20. Kjær, T. N., K. Thorsen, N. Jessen, K. Stenderup, and S. B. Pedersen (2015) Resveratrol ameliorates imiquimod-induced psoriasis-like skin inflammation in mice. *PLoS One* 10: e0126599.
21. Ohguchi, K., T. Tanaka, T. Ito, M. Iinuma, K. Matsumoto, Y. Akao Y. Nozawa (2003) Inhibitory effects of resveratrol derivatives from dipterocarpaceae plants on tyrosinase activity. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 67: 1587-1589.
22. Lee, T. H., J. O. Seo, S. H. Baek, and S. Y. Kim (2014) Inhibitory effects of resveratrol on melanin synthesis in ultraviolet B-induced pigmentation in guinea pig skin. *Biomol. Ther.* 22: 35-40.
23. Peng, L. H., S. Liu, S. Y. Xu, L. Chen, Y. H. Shan, W. Wei, W. Q. Liang, and J. Q. Gao (2013) Inhibitory effects of salidroside and paeonol on tyrosinase activity and melanin synthesis in mouse B16F10 melanoma cells and ultraviolet B-induced pigmentation in guinea pig skin. *Phytomedicine* 20: 1082-1087.
24. Riley, P. A. (1997) Melanin. *Int. J. Biochem. Cell Biol.* 29: 1235-1239.
25. Rees, J. L. (2003) Genetics of hair and skin color. *Annu. Rev. Genet.* 37: 67-90.
26. Liu Q., C. T. Kim, Y. H. Jo, S. B. Kim, B. Y. Hwang, and M. K. Lee (2015) Synthesis and biological evaluation of resveratrol derivatives as melanogenesis inhibitors. *Molecules* 20: 16933-16945.