

## 한국산 겨우살이의 항산화, 항노화 및 미백 효과

홍창의<sup>\*,†</sup> · 유수연<sup>\*\*,††</sup>

\*순천대학교 약학과, 연구원

\*\*\*순천대학교 약학과 및 생명약학연구소, 교수

(2022년 9월 19일 접수, 2022년 10월 24일 수정, 2022년 10월 31일 채택)

### Anti-oxidant, Anti-aging, and Whitening Effects of *Viscum album var. coloratum* In Vitro

Chang-Eui Hong<sup>1,†</sup> and Su-Yun Lyu<sup>2,††</sup>

<sup>1</sup>College of Pharmacy, Sunchon National University, Suncheon 57922, Korea

<sup>2</sup>College of Pharmacy and Research Institute of Life and Pharmaceutical Sciences, Sunchon National University

(Received September 19, 2022; Revised October 24, 2022; Accepted October 31, 2022)

**요약:** 본 연구에서는 한국산 겨우살이(*Viscum album var. coloratum*)의 항산화, 항노화, 미백 효능을 알아보았다. 겨우살이 분획물은 hexane (HX), ethyl acetate (EA), butanol (BU), methylene chloride (MC) 총 4 가지를 사용하였다. 실험 결과 HX 분획물이 4 가지 분획물 중 가장 높은 페놀 함량을 보였다. 또한 EA 분획물이 가장 높은 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) 자유 라디칼 소거능 및 catalase-유사 활성을 나타내었으며, MC 분획물이 가장 높은 superoxide dismutase (SOD)-유사 활성을 나타냈다. MC 분획물은 또한 가장 우수한 hyaluronidase와 elastase 억제능을 보였다. 미백 효능을 알아보기 위하여 tyrosinase 억제능을 알아보았는데, HX 분획물이 가장 우수한 억제능을 보여주었다. 본 연구 결과를 통하여 한국산 겨우살이는 항산화, 항노화 및 미백 활성을 가지는 기능성 화장품 소재로 사용이 가능할 것으로 보인다.

**Abstract:** In this study, we investigated the anti-oxidant, anti-aging, and skin whitening effects of Korean mistletoe (*Viscum album var. coloratum*). The mistletoe fraction was composed of four types: hexane (HX), ethyl acetate (EA), butanol (BU), and methylene chloride (MC). In total phenol content assay, HX showed the highest phenol content among four fractions. In addition, EA significantly increased 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) radical scavenging and catalase-like activities, and MC significantly increased superoxide dismutase (SOD)-like activity. When we compared IC<sub>50</sub> value in the hyaluronidase and elastase inhibition assay, MC had the lowest IC<sub>50</sub>. In addition, we also performed tyrosinase inhibition assay to demonstrate the possibility of Korean mistletoe as a cosmetic component. HX showed the highest tyrosinase inhibition rate among the fractions.

**Keywords:** korean mistletoe, *viscum album var. coloratum*, anti-oxidant, anti-aging, whitening

†주 저자 (e-mail: gruni80@naver.com)  
call: 061-750-3759

†† 교신저자 (e-mail: suyun@scnu.ac.kr)  
call: 061-750-3759

## 1. 서 론

활성산소종(reactive oxygen species, ROS)은 많은 호기성 세포 대사 과정에서 생성되며, 여기에는 지질, 단백질, DNA를 포함한 다양한 세포 내 표적과 반응하는 superoxide, 과산화수소 등이 포함된다[1]. ROS는 정상적인 호기성 대사 중에도 생성되지만, 산화적 스트레스 동안에도 증가하며, 이는 세포 사멸, 돌연변이, 염색체 이상, 암 발생 등을 초래할 수 있다[2]. 세포 내 ROS의 농도는 항산화 효소의 영향을 받는데, 주요 항산화 효소 3 가지는 superoxide dismutase (SOD), catalase, 그리고 glutathione peroxidase (GPx)이다[3]. SOD는 superoxide 라디칼을 과산화수소와 O<sub>2</sub>로 변환시키는 반면, catalase는 과산화수소를 물과 O<sub>2</sub>로 변환시킨다[4]. 결과적으로 이러한 효소들은 유해한 종인 superoxide와 과산화수소를 물로 전환시키는 것이다. 세 가지 종류의 SOD가 존재하는데, 망간-함유 SOD (manganese-containing superoxide dismutase, MnSOD)는 미토콘드리아에 국한되어 있고, 구리 및 아연-함유 SOD (CuZnSOD)는 세포질과 핵에 존재하며, 세포의 SOD (extracellular SOD, ECSOD)는 세포 외 조직에서 발견된다. 이러한 다양한 형태의 효소들은 세포의 여러 부분에서 산화적 스트레스를 감소시킬 수 있다[2]. Catalase 활성은 주로 peroxisome으로 알려진 세포 내 소기관에서 담당한다. Galactosylation에 의해 catalase가 간으로 표적 전달하면 간암 전이를 억제할 수 있고, matrix metalloproteinase (MMP) 활성을 감소시킬 수 있으며, 반대로 catalase가 감소가 되면 마우스 각질형성세포(keratinocyte)에서 악성 표현형의 발암물질이 발생할 수 있다고 보고되어 있다[5].

피부의 가장 바깥쪽에 있는 extracellular matrix (ECM)은 섬유아세포, 콜라겐, 엘라스틴 등의 단백질로 구성되어 있다[6]. 그 중 엘라스틴은 결합 조직에 위치한 섬유 네트워 크이며, 탄력, 반동 등의 특성을 담당한다[7]. 피부가 광노화 스트레스에 노출되면 축적된 ROS는 엘라스틴을 분해하는 elastase와 같은 진피 효소를 간접적으로 활성화시킬 수 있다[8]. 그러므로 elastase가 활성화되면 피부에서 주름, 주근깨, 창백함, 늘어짐 등의 피부 노화가 촉진될 수 있다 [9]. 포도당 기반 고분자 물질인 히알루론산(hyaluronic acid)은 신체의 조직과 체액에서 흔히 볼 수 있지만, 피부의 진 피 및 표피층에서 가장 풍부하게 존재하며 주로 피부의 항 노화를 촉진하고 보습을 시켜주며 세포 외액의 투과성을 감소시키는 역할을 한다[10]. 우수한 수분 보유력으로 히알루론산이 풍부한 부위는 주름이 개선되고 피부가 진정

되며 부드러워진다[11]. 불행히도 히알루론산은 노화 과정에서 자연적으로 감소되는 반면 hyaluronidase는 합성이 증가한다. Hyaluronidase는 히알루론산을 파괴시키는 효소로, 피부의 탄력, 유연성, 수분을 손실시키고 결과적으로 피부 노화를 촉진시킨다[12]. 따라서 주름을 개선시킬 수 있는 방법 중 하나는 hyaluronidase를 억제함으로써 히알루론산 함량을 보존하여 피부 수분을 유지하는 것이다.

흑색 또는 갈색 색소인 멜라닌은 멜라닌 세포에서 합성되며 피부, 모발, 눈 색깔 등의 주요 구성 요소이다. 멜라닌 색소는 주로 UV 방사선이나 호르몬 요인에 대한 방어 벽 역할을 한다[13]. 그러나 과다하게 멜라닌이 생성되면 주근깨, 기미, 검버섯, 노인성 흑색점 등으로 이어지는 조기 노화를 가져올 수 있다. Tyrosinase는 멜라닌 색소 침착에서 중요한 역할을 하는 멜라닌 생성 효소이다[14]. 따라서 색소 침착이나 미용 목적의 미백 효과를 보기 위해 tyrosinase 활성을 억제해야 한다[15].

한국산 겨우살이(*Viscum album* var. *coloratum*)은 반기생 속씨식물로 참나무 등 여러 기주 나무에서 수분, 미네랄, 유기물 등을 흡수하면서 생존한다. 겨우살이는 성분에는 lectin, viscotoxin, flavonoid, phenolic acid, terpenoid, sterol, phenylpropanoid, alkaloid 등이 있다[16]. 한국산 겨우살이는 항종양[17], 항염증[18] 뿐 아니라 면역 증강 및 조절[19], 동맥경화 및 저혈압 치료[20]에도 효과가 있는 것으로 보고되어 있다. 겨우살이는 또한 항산화 기능을 촉진하고[21], 증가된 미토콘드리아 활동을 통해 지구력을 증진시킬 수도 있다고 알려져 있으며[22], 인슐린 분비를 통해 항당뇨 효과 [23]도 있다고 보고되었다.

본 연구에서는 한국산 겨우살이의 항산화능을 규명하였으며, elastase와 hyaluronidase 억제능을 통한 항노화 효과를 알아보았다. 또한 tyrosinase를 이용하여 미백 효과도 규명하였다.

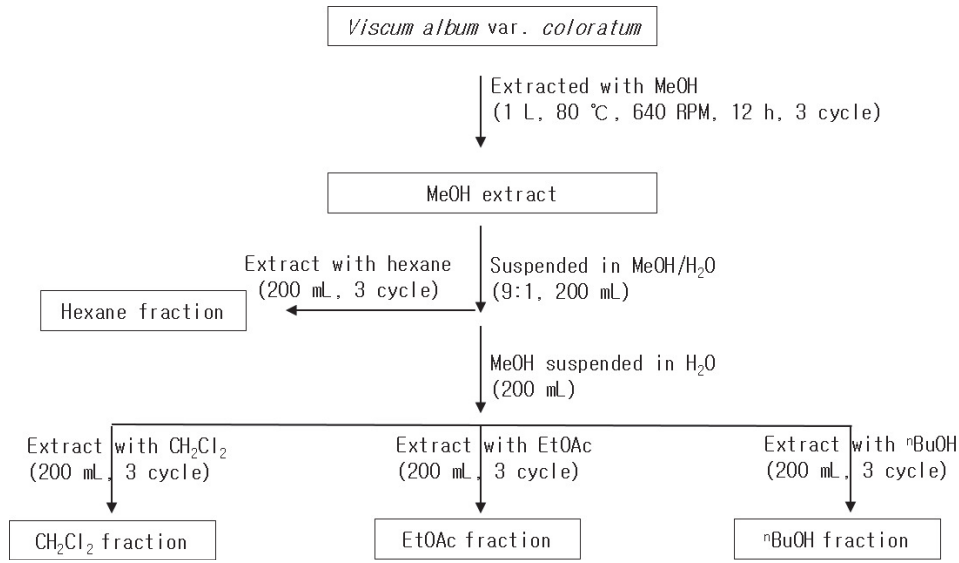
## 2. 재료 및 방법

### 2.1. 실험 재료

Folin-Denis reagent, tannic acid, 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH), ascorbic acid 및 pyrogallol은 모두 Sigma (USA)에서 구입하였다. Griess reagent는 Promega (USA)에서 구입하였다.

### 2.2. 겨우살이 분획물

겨우살이 분획물은 강원대학교 이구연 교수에게서 제공



**Figure 1.** Flow diagram of extraction procedure for different Korean mistletoe fractions (*Viscum album var. coloratum*).

받았다. 자연 건조된 겨우살이(100 g 강원도 정선 채취 (Korea), 기주목; 참나무)의 전초(잎, 줄기, 열매)에 메탄올을 500 mL 가하고, 80 °C, 12 h 3 회 환류 추출하였다. 이렇게 얻은 에탄올 추출액을 모아 여과한 후, 감압 농축하였고, 메탄올 추출물 18 g을 얻었다. 이렇게 얻은 메탄올 추출물(18 g 수율 18%)을 메탄올/물 9 : 1 비율의 용액(200 mL)에 현탁한 후, 헥산(hexane, 200 mL)을 가하여 3 회 용매분획을 실시하였다. 헥산 분획 용액을 감압 농축하여 짙은 회색의 고체(HA, 1.67 g 수율 1.7%)를 얻었다. 이후 메탄올/물 용액에서 메탄올을 감압 농축하여 메탄올을 제거한 후, 물(200 mL)에 현탁시켰다. 현탁한 용액에 메틸렌클로라이드(CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, 200 mL × 3), 에틸아세테이트(EtOAc, 200 mL × 3), *n*-부탄올(*n*-BuOH, 200 mL × 3)의 순으로 용매분획을 실시하였다. 이렇게 얻은 추출액들을 감압 농축하여 메틸렌클로라이드(MC) 분획물(1.74 g 수율 1.7%), 에틸아세테이트(EA) 분획물(512.1 mg, 수율 0.5%), *n*-부탄올(BU) 분획물(3.39 g 수율 3.4%)을 얻었다(Figure 1).

### 2.3. 총 페놀 함량 측정

한국산 겨우살이 분획물(5 mg/mL) 40 μL를 40 μL의 Folin-Denis 시약과 섞은 후 3 min 반응시켰다. 이후 40 μL의 10% sodium carbonate solution (w/v)을 가했다. 시약을 섞은 후 상온에서 1 h 반응시켰다. Tannic acid는 양성 대조군으로 사용하였으며, 700 nm에서 흡광도를 측정하여 계산하였다.

### 2.4. DPPH 자유 라디칼 소거 활성

1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) 자유라디칼 활성을 측정하기 위하여 Brand-Willims 등이 제시한 방법을 사용하였다[24]. 겨우살이 분획물 10 μL를 메탄올에 녹인 180 μL의 DPPH (0.2M)에 혼합한 후 상온에서 30 min 차광하여 반응시켰다. 배양 후 519 nm에서 흡광도를 측정하였다. 대조군으로는 아스코르브산을 사용하였다. 소거활성능은 대조군과 비교하여 감소율로 나타내었다.

### 2.5. SOD 유사 활성도 측정

Superoxide dismutase (SOD) 유사 활성은 pyrogallol의 자기 산화를 저해하는 정도로 확인하였다. 겨우살이 분획물을 50 mM tris-HCl buffer (pH 8.2)와 섞은 다음 diethylenetriamine pentaacetic acid에 녹인 25 mM pyrogallol을 100 μL를 가한 다음 10 min 상온에 방치하였다. 이후 흡광도를 405 nm에서 3 min 간 측정하였다.

### 2.6. Catalase 활성 측정

Catalase stock solution은 10 mg의 효소를 1 mL의 potassium phosphate buffer (50 mM, pH 7.0)에 용해하여 만들었다. 기질은 22.6 μL의 hydrogen peroxide를 9.989 mL phosphate buffer에 용해하여 만들었다. 본 실험에서는 50 mM potassium phosphate buffer (pH 7.0)에 녹인 2 mM hydrogen peroxide를 50 μL를 50 μL의 catalase 용액 또는 한국산 겨우살이 분획물에 가했다. 이후 25 °C에서 5 min

동안 10 s 간격으로 240 nm에서 흡광도를 측정하였다.

### 2.7. Hyaluronidase 저해능

20 mM sodium phosphate buffer (pH 7.0, 77 mM sodium chloride, 0.1% BSA) 안에 있는 hyaluronidase 용액(8 unit/mL)을 50  $\mu$ L의 겨우살이 분획물과 섞은 후 37  $^{\circ}$ C에서 1 h 방치하였다. 이후 300 mM sodium phosphate (pH 5.35) 안에 있는 hyaluronic acid solution 100  $\mu$ L를 가한 후 37  $^{\circ}$ C에서 45 min 간 방치하였다. 소화되지 않은 hyaluronic acid는 1 mL acid albumin solution (0.1% BSA in 24 mM sodium acetate, 79 mM acetic acid, pH 3.7)을 가해 침전시켰다. 혼합물을 10 min 간 상온에서 방치 후 570 nm에서 흡광도를 측정하였다. Apigenin을 양성대조군으로 이용하였다.

### 2.8. Elastase 저해능

0.33 M Tris-HCl buffer (pH 8.0) 170  $\mu$ L에 한국산 겨우살이 분획물 20  $\mu$ L를 혼합한 후 20 min 간 상온에 방치하였다. 그 후 0.4 unit/mL elastase를 20  $\mu$ L 가하고 섞은 후 다시 20 min 간 상온에 방치한 후 405 nm에서 흡광도를 측정하였다. Ursolic acid를 양성대조군으로 사용하였다.

### 2.9. Tyrosinase 저해능

Mushroom tyrosinase (Sigma, USA) 1 mg (3,130 unit/mg)을 2 mL phosphate buffered saline (PBS)에 용해시켜 mushroom tyrosinase solution을 만들었다. 기질은 tyrosine 3 mg을 11 mL PBS에 녹여 만들었다. 1.5 mL tube에 60  $\mu$ L의 겨우살이 분획물 또는 양성대조군을 넣고 각각의 tube에 mushroom tyrosinase solution 60  $\mu$ L를 가하였다. 상온에서 10 min 방치 후, tyrosine solution을 120  $\mu$ L 가하고 15 min 37  $^{\circ}$ C에서 반응시켰다. 이후 492 nm에서 흡광도를 측정하였다. 양성대조군은 ascorbic acid를 사용하였다.

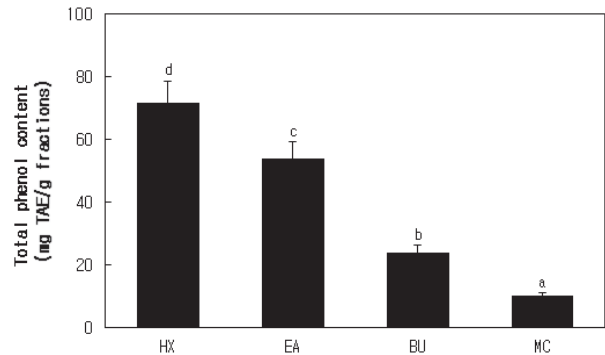
### 2.10. 통계처리

결과 통계 처리는 GraphPad Prism (version 7.04)을 사용하였으며, 유의차 검증은 One-way analysis of variance (ANOVA) test와 Tukey multiple test에 따라 분석하였다.

## 3. 결과 및 고찰

### 3.1. 총 페놀 함량 측정

항산화 효과를 규명할 수 있는 한 가지 방법은 페놀, 플



**Figure 2.** Total phenol content of different fractions of Korean mistletoe (*Viscum album* var. *coloratum*). Folin-Denis method was used to determine the total phenol content of Korean mistletoe and tannic acid was used as a positive control. Each bar represents the mean  $\pm$  SD (N = 3). Different letters mean significant difference according to ANOVA, Tukey test ( $p < 0.05$ ). (TAE; tannic acid equivalent, HX; hexane fraction, EA; ethylene acetate fraction, BU; butanol fraction, MC; methylene chloride fraction).

라보노이드, 카로틴과 같은 항산화 능력이 있는 성분의 함량을 측정하는 것이다[25,26]. 방향족 고리에 직접 결합된 hydroxyl 그룹을 가진 페놀 화합물은 다양한 종류의 식물에서 발견된다. 페놀 화합물은 다양한 생리 활성을 갖는 것으로 알려져 있으며, 그 중 항산화 효과는 여러 연구를 통해 이미 입증되었다[27,28]. 따라서 총 페놀 함량을 측정하는 것은 한국산 겨우살이의 항산화 효과를 예측할 수 있는 한 가지 방법이 될 것이다. 총 페놀 함량은 분획물마다 달랐으며, HX 분획물이 가장 많은 페놀 화합물을 함유하였고, EA, BU, MC 분획물들이 그 뒤를 이었다(Figure 2).

### 3.2. DPPH 자유 라디칼 활성 및 SOD-와

#### Catalase-유사 활성

항산화능을 측정할 수 있는 또 하나의 방법은 자유 라디칼을 이용하여 환원력을 측정하거나 항산화 효과를 항산화 효소와 비교하는 것이다[29].

본 연구에서는 DPPH 라디칼 소거능, SOD 및 catalase assay를 이용하였다. 우선 한국산 겨우살이의 항산화능을 DPPH 자유라디칼 활성 측정을 통해 알아보았다. 그 결과, 겨우살이 분획물들은 농도의존적으로 자유 라디칼을 소거할 수 있었다. 또한 10 mg/mL의 분획물에서 총 페놀 함량과 DPPH 라디칼 소거능의 연관성을 찾을 수 있었다(Figure 3A). 겨우살이 분획물의 DPPH 자유 라디칼 활성(EC<sub>50</sub>)은

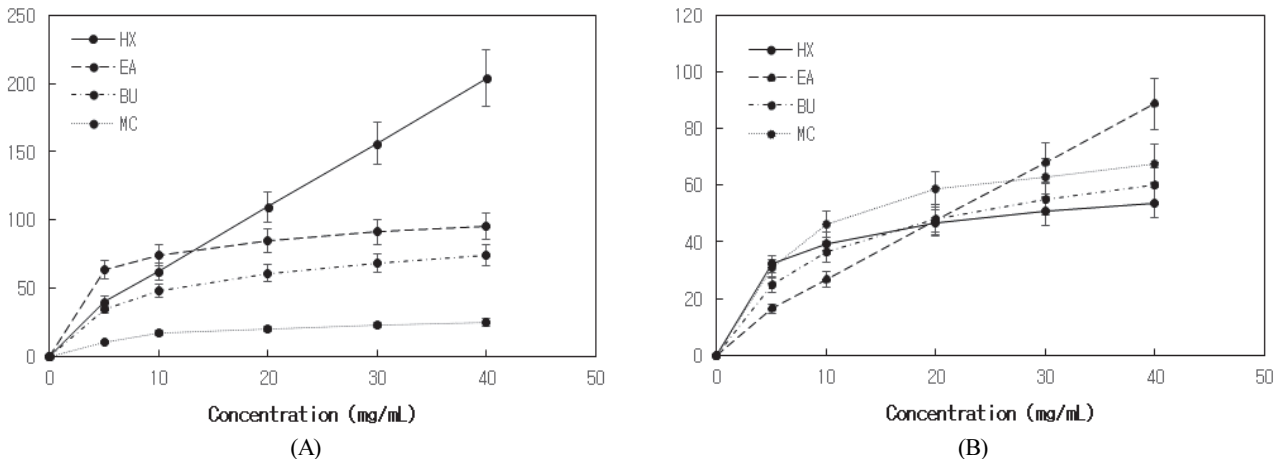
**Table 1.** EC<sub>50</sub> of Different Fractions of Korean Mistletoe (*Viscum album* var. *coloratum*)

Mistletoe fraction	EC <sub>50</sub> (mg/mL) ± SD	
	DPPH radical scavenging	SOD-like activity
HX	7.45 ± 0.37 <sup>b</sup>	25.30 ± 1.27 <sup>c</sup>
EA	2.09 ± 0.11 <sup>a</sup>	21.24 ± 1.06 <sup>b</sup>
BU	11.15 ± 0.56 <sup>c</sup>	21.98 ± 1.09 <sup>b</sup>
MC	50.01 ± 2.50 <sup>d</sup>	12.81 ± 0.64 <sup>a</sup>

The values are expressed as the means ± SD (N = 3). Different letters at same column mean significant difference according to ANOVA, Tukey test (*p* < 0.05). Different letters next to the data indicate significant differences between mean values. (HX; hexane fraction, EA; ethylene acetate fraction, BU; butanol fraction, MC; methylene chloride fraction).

Table 1에 나타냈는데, EA 분획물이 가장 낮은 EC<sub>50</sub> 값을 나타냈으며, MC 분획물이 가장 높은 EC<sub>50</sub> 값을 나타냈다. Figure 3B는 겨우살이 분획물의 SOD-유사활성(%)을 나타낸다. DPPH 자유 라디칼 소거능 결과와 유사하게, 겨우살이 분획물들은 농도의존적으로 SOD-유사 활성을 증가시켰다. MC 분획물이 가장 낮은 EC<sub>50</sub> 값을 보였으며, EA와 BU 분획물은 큰 변화를 보이지 못했다(Table 1). EC<sub>50</sub> 값에 기초하여 결과를 살펴보면, 총 페놀 함량과 SOD-유사 활성 간에는 상관 관계가 보이지 않았다.

겨우살이 분획물의 catalase-유사 활성(μmol/min)은 Table 2에 나타냈다. 결과는 농도의존적이지 않았고, 모든 농도에서 MC 분획물이 가장 낮은 catalase 유사 활성(μmol/min)을 보였으며 겨우살이 분획물 중 EA 분획물이 가장 좋은 활성을 보였다. 페놀 화합물 뿐 아니라 다른 많은 화합물



**Figure 3.** (A) DPPH free radical scavenging activity and (B) SOD-like activity of different fractions of Korean mistletoe (*Viscum album* var. *coloratum*). Vitamin C was used as a positive control. The values are expressed as the means ± SD (N = 3). (HX; hexane fraction, EA; ethylene acetate fraction, BU; butanol fraction, MC; methylene chloride fraction).

**Table 2.** Catalase-like Activity (μmol/min) of Different Fractions of Korean Mistletoe (*Viscum album* var. *coloratum*)

Concentration (mg/mL)	Catalase-like activity (μmol/min) ± SD			
	HX	EA	BU	MC
3.0	0.27 ± 0.01 <sup>a</sup>	2.87 ± 0.14 <sup>c</sup>	1.94 ± 0.09 <sup>b</sup>	0.23 ± 0.01 <sup>a</sup>
6.3	6.6 ± 0.33 <sup>b</sup>	5.81 ± 0.29 <sup>b</sup>	6.66 ± 0.33 <sup>b</sup>	0.41 ± 0.02 <sup>a</sup>
12.5	N/A	8.01 ± 0.40 <sup>c</sup>	4.42 ± 0.22 <sup>b</sup>	0.16 ± 0.08 <sup>a</sup>
25.0	N/A	5.18 ± 0.29 <sup>b</sup>	17.79 ± 0.89 <sup>c</sup>	0.15 ± 0.08 <sup>a</sup>

The values are expressed as the means ± SD (N = 3). Different letters at same row mean significant difference according to ANOVA, Tukey test (*p* < 0.05). Different letters next to the data indicate significant differences between mean values. Not applicable (N/A) means the fraction did not show any activity. (HX: hexane fraction of Korean mistletoe, EA: ethylene acetate fraction of Korean mistletoe, BU: butanol fraction of Korean mistletoe, MC: methylene chloride fraction of Korean mistletoe).

들도 항산화 효능을 나타낸다. 따라서 항산화 활성을 나타내는데 페놀 화합물이 반드시 필요한 것은 아니다[30]. 즉, 본 연구의 실험 결과에서 페놀 함량과 SOD-유사활성 효능 간의 상관관계를 확인하기 어려웠는데, 이것이 그 이유일 수도 있다. 또한 항산화 활성은 용매 및 추출 기술에 의해 변할 수 있다[29,31]. 우리는 총 4 가지의 다른 용매를 사용했기 때문에 항산화물들이 용매에 따라 다른 수율로 추출되었을 수도 있다.

### 3.3. Hyaluronidase와 Elastase 저해능

Hyaluronic acid와 elastin은 결합 조직 및 상피 조직 전반에 걸쳐 널리 분포되어 있으며 피부를 구성하는데 중요한 역할을 한다[31]. 노화 과정에서 hyaluronic acid와 elastin은 hyaluronidase와 elastase에 의해 분해된다. 따라서 이 두 효

**Table 3.** Hyaluronidase and Elastase Inhibition of Different Fractions of Korean Mistletoe (*Viscum album* var. *coloratum*)

Fractions	IC <sub>50</sub> (mg/mL) ± SD	
	Hyaluronidase inhibition	Elastase inhibition
HX	2.11 ± 0.11 <sup>b</sup>	6.18 ± 0.31 <sup>c</sup>
EA	11.97 ± 0.59 <sup>c</sup>	3.47 ± 0.17 <sup>b</sup>
BU	62.36 ± 3.12 <sup>d</sup>	5.91 ± 0.29 <sup>c</sup>
MC	0.99 ± 0.05 <sup>a</sup>	1.77 ± 0.08 <sup>a</sup>

The values are expressed as the means ± SD (N = 3). Different letters at same column mean significant difference according to ANOVA, Tukey test ( $p < 0.05$ ). Different letters next to the data indicate significant differences between mean values. (HX: hexane fraction of Korean mistletoe, EA: ethylene acetate fraction of Korean mistletoe, BU: butanol fraction of Korean mistletoe, MC: methylene chloride fraction of Korean mistletoe).

**Table 4.** Tyrosinase Inhibition of Different Fractions of Korean Mistletoe (*Viscum album* var. *coloratum*)

Concentration ( $\mu\text{g/mL}$ )	Tyrosinase inhibition (%) ± SD			
	HX	EA	BU	MC
50	37.58 ± 1.88 <sup>b</sup>	19.21 ± 0.96 <sup>a</sup>	18.54 ± 0.93 <sup>a</sup>	N/A
250	37.75 ± 1.88 <sup>c</sup>	17.28 ± 0.86 <sup>a</sup>	17.28 ± 0.86 <sup>a</sup>	31.70 ± 1.58 <sup>b</sup>
500	46.64 ± 2.33 <sup>c</sup>	16.75 ± 0.84 <sup>a</sup>	N/A	28.10 ± 1.45 <sup>b</sup>
1,000	54.28 ± 2.71 <sup>b</sup>	33.98 ± 1.69 <sup>a</sup>	N/A	34.47 ± 1.72 <sup>a</sup>

The values are expressed as the means ± SD (N = 3). Different letters at same row mean significant difference according to ANOVA, Tukey test ( $p < 0.05$ ). Different letters next to the data indicate significant differences between mean values. Not applicable (N/A) means the fraction did not show any activity. (HX: hexane fraction of Korean mistletoe, EA: ethylene acetate fraction of Korean mistletoe, BU: butanol fraction of Korean mistletoe, MC: methylene chloride fraction of Korean mistletoe).

소에 대한 억제 효과를 측정함으로써 피부 구조에 대한 효능이나 화장품 성분으로서의 가능성 등을 입증할 수 있다 [32]. 한국산 겨우살이 분획물의 hyaluronidase와 elastase 억제 효능을 살펴보았는데, 분획물 중 MC 분획물이 가장 낮은 IC<sub>50</sub>를 나타내었다(Table 3). Hyaluronidase 억제 assay의 양성 대조군인 apigenin의 IC<sub>50</sub>는 600  $\mu\text{g/mL}$ 이었고, elastase 억제 assay의 양성 대조군인 ursolic acid의 IC<sub>50</sub>는 924.8  $\mu\text{g/mL}$ 이었다는 것을 고려해보면, MC 분획물이 hyaluronidase와 elastase를 억제할 수 있는 잠재적인 후보물질이 될 수 있을 것이라 사료된다.

### 3.4. Tyrosinase 저해능

한국산 겨우살이의 미백 효능을 알아보기 위하여 tyrosinase inhibition assay를 수행하였다. 피부의 색조를 결정하는 중요한 인자인 melanin은 표피 기저층의 melanocyte라고 불리는 색소 세포의 melanosome에서 생합성되며, 멜라닌을 합성하는데 있어서의 출발물질은 아미노산의 일종인 tyrosine이다 [33]. 겨우살이 분획물이 피부 내에서 멜라닌 중합체 생합성을 효과적으로 저해할 수 있는지 알아보기 위하여 tyrosinase 저해 활성을 측정하였다. 실험 결과, HX 분획물은 500  $\mu\text{g/mL}$ 에서 46.64 ± 2.33%, 그리고 1,000  $\mu\text{g/mL}$ 에서 54.28 ± 2.71%의 tyrosinase 억제능을 보여주어, 겨우살이 추출물 중 가장 뛰어난 미백 효과를 나타내었다(Table 4). 그 뒤를 이어 MC 분획물이 뛰어난 tyrosinase 억제능을 보여주었으나 EA와 BU 분획물은 대조군에 비해 큰 효과가 없었다.

## 4. 결 론

한국산 겨우살이의 항산화 효과, hyaluronidase 및 elastase 저해 효과를 통한 항노화 효과, 그리고 tyrosinase 저해 활

성을 통한 미백 효과를 알아본 결과, 겨우살이 분획물에서 우수한 효과를 확인할 수 있었다. 이러한 연구 결과를 통하여 겨우살이 추출물은 미백 활성과 항노화 활성을 가지는 기능성화장품 소재로 사용이 가능할 것이라 생각된다.

## Acknowledgement

순천대학교 교연비 사업에 의하여 연구되었음.

## References

1. P. A. Cerutti, Prooxidant states and tumor promotion, *Science*, **227**(4685), 375 (1985).
2. C. J. Weydert and J. J. Cullen, Measurement of superoxide dismutase, catalase and glutathione peroxidase in cultured cells and tissue, *Nat. Protoc.*, **5**(1), 51 (2010).
3. J. M. McCord, B. B. Keele, Jr., and I. Fridovich, An enzyme-based theory of obligate anaerobiosis: the physiological function of superoxide dismutase, *Proc Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **68**(5), 1024 (1971).
4. J. Liu, M. M. Hinkhouse, W. Sun, C. J. Weydert, J. M. Ritchie, L. W. Oberley, and J. J. Cullen, Redox regulation of pancreatic cancer cell growth: role of glutathione peroxidase in the suppression of the malignant phenotype, *Hum. Gene Ther.*, **15**(3), 239 (2004).
5. M. Nishikawa, A. Tamada, H. Kumai, F. Yamashita, and M. Hashida, Inhibition of experimental pulmonary metastasis by controlling biodistribution of catalase in mice, *Int. J. Cancer*, **99**(3), 474 (2002).
6. T. Fulop, A. Khalil, and A. Larbi, The role of elastin peptides in modulating the immune response in aging and age-related diseases, *Pathol. Biol.*, **60**(1), 28 (2012).
7. B. Siedle, S. Cisielski, R. Murillo, B. Loser, V. Castro, C. A. Klaas, O. Hucke, A. Labahn, M. F. Melzig, and I. Merfort, Sesquiterpene lactones as inhibitors of human neutrophil elastase, *Bioorg. Med. Chem.*, **10**(9), 2855 (2002).
8. O. K. Popoola, J. L. Marnewick, F. Rautenbach, F. Ameer, E. I. Iwuoha, and A. A. Hussein, Inhibition of oxidative stress and skin aging-related enzymes by prenylated chalcones and other flavonoids from *Helichrysum teretifolium*, *Molecules*, **20**(4), 7143 (2015).
9. P. S. Peres, V. A. Terra, F. A. Guarnier, R. Cecchini, and A. L. Cecchini, Photoaging and chronological aging profile: Understanding oxidation of the skin, *J. Photochem Photobiol. B*, **103**(2), 93 (2011).
10. J. B. Leach, K. A. Bivens, C. W. Patrick, Jr., and C. E. Schmidt, Photocrosslinked hyaluronic acid hydrogels: natural, biodegradable tissue engineering scaffolds, *Biotechnol. Bioeng.*, **82**(5), 578 (2003).
11. S. M. Jegasothy, V. Zabolotniaia, and S. Bielfeldt, Efficacy of a new topical nano-hyaluronic acid in humans, *J. Clin. Aesthet. Dermatol.*, **7**(3), 27 (2014).
12. G. Ndlovu, G. Fouche, M. Tselanyane, W. Cordier, and V. Steenkamp, *In vitro* determination of the anti-aging potential of four southern African medicinal plants, *BMC Complement. Altern. Med.*, **13**, 304 (2013).
13. P. T. Tu and S. Tawata, Anti-oxidant, anti-aging, and anti-melanogenic properties of the essential oils from two Varieties of *Alpinia zerumbet*, *Molecules*, **20**(9), 16723 (2015).
14. M. Chatatikun, T. Yamauchi, K. Yamasaki, S. Aiba, and A. Chiabchalard, Anti melanogenic effect of *Croton roxburghii* and *Croton sublyratus* leaves in  $\alpha$ -MSH stimulated B16F10 cells, *J. Tradit. Complement. Med.*, **9**(1), 66 (2019).
15. M. Kang, S. H. Park, S. W. Oh, S. E. Lee, J. A. Yoo, Y. H. Nho, S. Lee, B. S. Han, J. Y. Cho, and J. Lee, Anti-melanogenic effects of resorcinol are mediated by suppression of cAMP signaling and activation of p38 MAPK signaling, *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **82**(7), 1188 (2018).
16. A. Szurpnicka, J. K. Zjawiony, and A. Szerk, Therapeutic potential of mistletoe in CNS-related neurological disorders and the chemical composition of *Viscum* species, *J. Ethnopharmacol.*, **231**, 241 (2019).
17. G. S. Kienle and H. Kiene, Complementary cancer therapy: a systematic review of prospective clinical trials on anthroposophic mistletoe extracts, *Eur. J. Med. Res.*, **12**(3), 103 (2007).
18. P. Hegde, M. S. Maddur, A. Friboulet, J. Bayry, and S. V. Kaveri, *Viscum album* exerts anti-inflammatory effect

- by selectively inhibiting cytokine-induced expression of cyclooxygenase-2, *PLoS one*, **6**(10), e26312 (2011).
19. I. Fidan, S. Ozkan, I. Gurbuz, E. Yesilyurt, B. Erdal, S. Yolbakan, and T. Imir, The efficiency of *Viscum album ssp. album* and *Hypericum perforatum* on human immune cells *in vitro*, *Immunopharmacol. Immunotoxicol.*, **30**(3), 519 (2008).
  20. J. A. Ojewole and S. O. Adewole, Hypoglycaemic and hypotensive effects of *Globimetula cupulata* (DC) *Van Tieghem* (Loranthaceae) aqueous leaf extract in rats, *Cardiovasc. J. S. Afr.*, **18**(1), 9 (2007).
  21. B. K. Kim, M. J. Choi, K. Y. Park, and E. J. Cho, Protective effects of Korean mistletoe lectin on radical-induced oxidative stress, *Biol. Pharm. Bull.*, **33**(7), 1152 (2010).
  22. H. Y. Jung, A. N. Lee, T. J. Song, H. S. An, Y. H. Kim, K. D. Kim, I. B. Kim, K. S. Kim, B. S. Han, C. H. Kim, K. S. Kim, and J. B. Kim, Korean mistletoe (*Viscum album coloratum*) extract improves endurance capacity in mice by stimulating mitochondrial activity, *J. Med. Food*, **15**(7), 621 (2012).
  23. K. W. Kim, S. H. Yang, and J. B. Kim, Protein fractions from Korean mistletoe (*Viscum Album coloratum*) extract induce insulin secretion from pancreatic beta cells, *Evid. Based Complement. Alternat. Med.*, **2014**, 703624 (2014).
  24. W. Brand-Williams, M. E. Cuvelier, and C. Berset, Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity, *LWT-Food Sci. Technol.*, **28**(1), 25 (1995).
  25. C. Chang, M. H. Yang, H. M. Wen, and J. C. Chen, Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colometric methods, *J. Food Drug Anal.*, **10**, 178 (2020).
  26. B. Vimala, B. Nambisan, and B. Hariprakash, Retention of carotenoids in orange-fleshed sweet potato during processing, *J. Food Sci. Technol.*, **48**(4), 520 (2011).
  27. M. Luczkiewicz, W. Cisowski, P. Kaiser, R. Ochocka, and A. Piotrowski, Comparative analysis of phenolic acids in mistletoe plants from various hosts, *Acta Pol. Pharm.*, **58**(5), 373 (2001).
  28. K. J. Yun, J. Y. Kim, J. B. Kim, K. W. Lee, S. Y. Jeong, H. J. Park, H. J. Jung, Y. W. Cho, K. Yun, and K. T. Lee, Inhibition of LPS-induced NO and PGE<sub>2</sub> production by asiatic acid via NF-kappa B inactivation in RAW 264.7 macrophages: possible involvement of the IKK and MAPK pathways, *Int. Immunopharmacol.*, **8**(3), 431 (2008).
  29. B. Sultana, F. Anwar, and M. Ashraf, Effect of extraction solvent/technique on the antioxidant activity of selected medicinal plant extracts, *Molecules*, **14**(6), 2167 (2009).
  30. B. J. Xu and S. K. Chang, A comparative study on phenolic profiles and antioxidant activities of legumes as affected by extraction solvents, *J. Food Sci.*, **72**(2), S159 (2007).
  31. J. Fore, A review of skin and the effects of aging on skin structure and function, *Ostomy Wound Manage.*, **52**(9), 24 (2006).
  32. K. K. Lee, J. J. Cho, E. J. Park, and J. D. Choi, Anti-elastase and anti-hyaluronidase of phenolic substance from *Areca catechu* as a new anti-ageing agent, *Int. J. Cosmet. Sci.*, **23**(6), 341 (2001).
  33. S. K. Hyun, W. H. Lee, D. M. Jeong, Y. Kim, and J. S. Choi, Inhibitory effects of kurarinol, kuraridinol, and trifolirhizin from *Sophora flavescens* on tyrosinase and melanin synthesis, *Biol. Pharm. Bull.*, **31**(1), 154 (2008).