

마가목 가지 추출물의 항산화 및 항노화에 관한 연구

임규남 · 박민아 · 박수남[†]

서울과학기술대학교 자연생명과학대학 정밀화학과
화장품종합기술연구소
(2011년 11월 23일 접수 ; 2011년 12월 10일 채택)

Antioxidative and Antiaging Effects of *Sorbus commixta* Twig Extracts

Gyu-Nam Lim · Min-a Park · Soo-Nam Park[†]

Department of Fine Chemistry, Cosmetic R&D Center, Seoul National University of
Science and Technology, 232, Gongreung-ro, Nowon-gu, Seoul 139-743, Korea
(Received November 23, 2011 ; Accepted December 10, 2011)

Abstract : In this study, the antioxidative effects and inhibitory effects on tyrosinase and elastase of *Sorbus commixta* (*S. commixta*) twig extracts were investigated. The aglycone fraction of *S. commixta* twig extract showed the prominent free radical (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl, DPPH) scavenging activity(FSC₅₀, 13 µg/mL). Reactive oxygen species (ROS) scavenging activities of *S. commixta* twig extracts on ROS generated in Fe³⁺-EDTA/H₂O₂ system were investigated by the luminol-dependent chemiluminescence assay. The 50 % ethanol extract among extracts showed the most prominent ROS scavenging activity (OSC₅₀, 0.189 µg/mL). The cellular protective effects of extract/fractions of *S. commixta* twig on the rose-bengal sensitized photohemolysis of human erythrocytes were investigated. The 50 % ethanol extract and ethyl acetate fraction showed the cellular protective effects against ROS in a concentration dependent manner (5 ~ 50 µg/mL). The inhibitory effect of *S. commixta* twig extract on tyrosinase was investigated to assess the whitening efficacy. The ethyl acetate (IC₅₀, 113.2 µg/mL) and aglycone fraction(IC₅₀, 105.3 µg/mL) on tyrosinase showed more remarkable inhibitory effect than arbutin(IC₅₀, 226.88 µg/mL), known as the whitening agent. The inhibitory effect of aglycone fraction (IC₅₀, 6.9 µg/mL) on elastase was similar to quercetin(IC₅₀, 6.1 µg/mL), flavonoid known as reference compound.

These results indicate that extract/fractions of *S. commixta* twig can function as antioxidants in biological systems, particularly skin exposed to UV radiation by scavenging ¹O₂ and other ROS, and protect cellular membranes against ROS. *S. commixta* twig extracts can be applicable to new functional cosmetics for anti-aging products.

Keywords: *Sorbus commixta* twig, antioxidative activity, anti-wrinkle, elastase, cosmetics

[†]주저자 (E-mail: snpark@seoultech.ac.kr)

1. 서론

고령화 인구의 증가추세에 따라 현대인은 건강과 미, 그리고 삶의 질 향상에 대한 관심이 증대하고 있다. 따라서 노화억제와 질병치료에 영향을 미치는 기능성 식품과 천연 기능성 화장품에 대한 수요 증가와 더불어 천연 항산화 물질에 대한 관심 또한 증가하고 있다. 피부는 다양한 환경적 요인(자외선, 공해, 산화제, 세균 등)에 빈번하게 접촉하고 있어서 산화적 스트레스에 민감하며 이는 피부 노화의 원인이 될 수 있다. 산화적 스트레스는 주원인이 태양 자외선(UVA 및 UVB)에의 노출이며, 이는 자외선에 의해 생성된 활성산소종(reactive oxygen species, ROS)이 피부에 존재하는 항산화제를 압도할 때 일어나는 현상이다. 활성산소종이란 반응성이 매우 큰 $^1\text{O}_2$ 및 $\cdot\text{OH}$ 를 비롯하여 $\text{O}_2^{\cdot-}$, H_2O_2 , $\text{ROO}\cdot$, $\text{RO}\cdot$, ROOH 및 HOCl 등을 포함한다[1,2]. 이들은 포르피린과 같은 광증감제에 의한 광증감 반응과 몇 가지 효소반응을 포함하는 다양한 과정을 거쳐서 세포 및 조직 중에서 생성될 수 있다[3]. $^1\text{O}_2$ 및 $\cdot\text{OH}$ 을 포함하는 활성산소는 DNA 산화, 결합조직 성분인 콜라겐, 히아루론산 등의 사슬절단 및 비정상적인 교차결합에 의한 주름생성, 멜라닌 생성 과정 등에 참여하는 등 피부노화를 가속시킨다[4-7].

사람 피부세포에 있어서 지질, 단백질 및 DNA 등 구성 성분의 산화적 손상뿐만 아니라 UVA (320 ~ 380nm) 의존성 세포사멸이나 유전자의 활성화에도 활성산소종이 영향을 주는 것으로 알려져 있다. 콜라겐은 피부 진피층의 매트릭스를 이루는 성분 중 가장 많은 성분이기 때문에 콜라겐의 생합성과 분해의 조절은 피부노화 과정 중에서 핵심이라고 할 수 있다. 사람 피부 섬유아세포에서 $^1\text{O}_2$ 을 비롯한 활성산소가 matrix metalloproteinases (MMPs)의 발현을 유발시키며, UVA로 유도된 MMP-1 (collagenase)의 합성을 $^1\text{O}_2$ 이 매개할 수 있다는 보고도 있다[8-12]. $^1\text{O}_2$ 을 비롯한 활성산소종의 영향은 피부 광노화의 원인이 되기 때문에 자외선 노출 후 항산화제에 의한 활성산소종의 감소[13-16]는 광노화를 예방하고 최소화시키기 위한 촉망되는 전략임은 분명하다[17-21]. 마가목(*Sorbus commixta* HEDL)은 장미과, 마가목속에 속한 낙엽활엽수로 소교목에 속하며 대체

로 북반구 온대 지역이 중심지로 높은 고산지에서 자생한다. 동일명으로 잡화추, 일본화추, 마아목이라고도 불리며 우리나라에서는 제주도, 남부지방, 지리산, 덕유산, 속리산, 설악산로 분포하고 있다[22]. 마가목 가지는 민간적으로 기침, 신경통, 천식, 기관지의 치료에 사용하거나 강장제로서 이용되었다[23-26]. 마가목 가지에 함유된 성분으로 catechin-7-O- β -D-xylopyranoside, catechin-7-O- β -D-apiofuranoside, prunasin, lupenone, lupeol 등이 알려져 있으며 혈중 알코올 농도를 유의성 있게 감소시키며 혈관계 염증성 질환 예방, 항동맥경화, 항염증 효과가 있는 것으로 보고되고 있다.[27,28] 마가목의 활성 성분 중에서 catechin-7-O- β -D-xylopyranoside과 catechin-7-O- β -D-apiofuranoside은 강한 항산화 효과를 가진 성분이라고 보고하고 있다[28]. 상기에 언급한 바와 같이 마가목은 항산화 및 항염증 분야에서 다방면으로 연구되고 있지만 마가목 가지는 멜감으로 사용되거나 버려지고 있다. 따라서 본 연구에서는 마가목 가지의 활용가치를 높이고자 이를 이용하여 피부노화 과정에 깊이 관여하여 활성산소인 $^1\text{O}_2$ 으로 유도된 세포손상에 대한 항산화적 보호 작용과 각종 활성산소종 (H_2O_2 , $\text{O}_2^{\cdot-}$, $\cdot\text{OH}$ 등)이 생성되는 계(Fe^{3+} -EDTA/ H_2O_2)에서의 활성산소에 대한 총항산화능에 관한 연구를 진행하였다. 또한, 미백과 관련된 tyrosinase와 주름생성의 핵심적 효소인 elastase의 저해활성을 평가하여 마가목 가지 추출물의 기능성 화장품 원료로서의 응용 가능성을 확인 하고자하였다.

2. 실험

2.1. 기기 및 시약

UV-visible spectrophotometer는 Varian (Australia)사의 Cary 50, 적혈구 광용혈에 사용한 Spectronic 20D는 Milton Roy Co. (USA) 제품, 화학발광기는 Berthold (Germany)사의 6-channel LB9505 LT를, pH meter는 Istek (Korea)사 제품을 사용하였다.

(+)- α -Tocopherol, L-ascorbic acid, arbutin, EDTA (ethylenediamine tetraacetic acid), luminol, 증감제로 사용된 rose-bengal, free radical 소거활성에 사용한 1,1-diphenyl-2-

picrylhydrazyl (DPPH) radical은 Sigma (USA)에서 구입하여 사용하였다. $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 는 Junsei Chemical Co. (Japan) 제품을, H_2O_2 는 Dae Jung Chemical & Metals (Korea)사 제품을 사용하였다. 완충용액제조에 사용된 $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$, $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, NaCl , 그리고 ethanol (EtOH), methanol (MeOH), ethyl acetate (EtOAc), hexane 등 각종 용매는 시판 특급 시약을 사용하였다. 기질로 사용된 L-tyrosine과 N-succinyl-(Ala)₃-p-nitroanilthano, 효소로 사용된 tyrosinase (9.3 mg solid, 5,370 units/mg solid)와 elastase (4.5 mg protein/mL, 6.5 units/mg protein)는 Sigma Chemical Co. (USA)에서 구입하여 사용하였다.

2.2. 마가목 가지의 플라보노이드 분획 제조

실험에 사용한 마가목 가지는 2011년 3월 경 동시장에서 구입하여 사용하였다. 건조된 마가목 가지 100 g을 잘게 자른 후 50 % 에탄올 2 L를 이용하여 일주일 동안 침적시킨 후 여과하였다. 이 여액을 감압 건조하여 파우더를 얻고 이를 실험에 사용하였다. 또한 50 % 에탄올 추출물은 감압 농축한 후 물과 핵산을 이용하여 비극성 성분을 제거하고 이후 에틸아세테이트 분획을 감압·농축하여 파우더를 얻었다.

에틸아세테이트 분획으로부터 아글리콘 (aglycone) 분획 제조: 에틸아세테이트 분획에서 얻은 파우더 일부는 산 가수분해 반응을 이용하여 당을 제거시킨 후 얻은 aglycone 파우더를 실험에 사용하였다. 실험 방법은 에틸아세테이트 가용분 일정량에 H_2SO_4 및 아세톤 용액을 넣고, 4 h 동안 중탕 가열하면서 환류·냉각시킨다. 환류시킨 용액을 5 % KOH-MeOH 용액으로 중화 적정한다. 중화 적정 후 다시 에틸아세테이트 층을 분획하고 이를 감압·농축하여 실험에 사용하였다.

2.3. 마가목 가지 추출물의 항산화 효능 평가

2.3.1. DPPH법을 이용한 Free Radical 소거 활성

1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl radical [DPPH] 법은 피부노화의 원인으로 알려져 있는 free radical에 대하여 식물 추출물의 항산화 효능을 간단히 확인하기 위한 경우나 항산화

화장품 원료들의 활성을 비교하기 위한 실험방법이다. 따라서 DPPH를 이용하여 마가목 가지 추출물의 free radical 소거활성을 측정하였다. 실험방법은 methanol에 용해시킨 0.2 mM DPPH 용액 1 mL에 에탄올 1 mL를 첨가하고 여러 농도의 추출물 1 mL를 첨가하여 섞은 다음 실온에서 10 min 동안 방치 후 spectrophotometer로 517 nm에서 흡광도를 측정하였다. 그 활성의 크기는 시료를 넣지 않은 경우를 대조군(control)으로 하고 시료를 넣은 것을 실험군(experiment)으로 하여 다음 식에 의해 DPPH의 활성 저해율을 나타내었다. 소거활성은 DPPH의 농도가 50 % 감소되는데 필요한 시료의 농도(free radical scavenging activity, FSC_{50} , $\mu\text{g}/\text{mL}$)로서 표기하였다.

Inhibition (%) =

$$\left\{ 1 - \left[\frac{(A_{\text{Experiment}} - A_{\text{Blank}})}{A_{\text{Control}}} \right] \right\} \times 100$$

2.3.2. Luminol 발광법을 이용한

Fe^{3+} -EDTA/ H_2O_2 계에 있어서 활성산소 소거 활성(총항산화능)

Fe^{3+} -EDTA/ H_2O_2 계는 각종 활성산소 ($\text{O}_2^{\cdot-}$, $\cdot\text{OH}$ 그리고 H_2O_2)를 생성시키고, 철은 이 반응에서 촉매로 작용한다. 따라서 이 계를 이용하면 활성산소종에 대한 총 항산화능을 측정할 수 있는데 이 총 항산화능에는 활성산소의 생성을 막아주는 킬레이트 작용도 포함될 수 있다. 생성된 활성산소종의 검출은 이들과 luminol의 반응을 통한 화학발광을 측정함으로써 알 수 있다.

화학발광 측정용 튜브에 증류수 1.78 mL를 넣고 다양한 농도의 마가목 가지 추출물을 넣었다. 여기에 25 mM EDTA 40 μL 및 5 mM $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 10 μL 를 가한 후 35 mM luminol 80 μL 를 넣고 흔들어서 섞어 주었다. 이어서 화학발광기의 cell holder에 튜브를 넣고 5 min 동안 항은 시킨 후 150 mM H_2O_2 40 μL 를 넣고 화학발광을 25 min 동안 측정하였다. 대조군(control)은 시료용액 대신에 증류수를 넣고, 공시험(blank)은 시료군과 조건이 동일하나 H_2O_2 와 $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 를 첨가하지 않은 것으로 하였다. 화학발광기 6-channel LB9505 LT의 각 채널은 실험 전에 보정하여 채널 간의 차이가 거의 없도록 하였다. 화학발광으로 측정한

저해율을 다음 식과 같이 나타내었고, 활성산소 소거활성의 크기는 화학발광의 세기가 50 % 감소되는데 필요한 시료의 농도(reactive oxygen species scavenging activity, OSC₅₀, $\mu\text{g/mL}$)로서 표기하였다.

Inhibition (%) =

$$\frac{(\text{Control의 cpm} - \text{Sample의 cpm})}{(\text{Control의 cpm} - \text{Blank의 cpm})} \times 100$$

2.4. Photohemolysis법을 이용한 세포보호

효과 측정

사람 적혈구를 대상으로 활성산소에 의한 세포손상 및 파괴 실험은 활성산소에 의한 세포손상 모델로 적합한 점이 많다. 따라서 이 실험법을 이용하여 천연물을 대상으로 활성산소에 대한 세포보호 효과를 측정할 수 있다.

2.4.1. 적혈구 현탁액 제조

적혈구는 건강한 성인 남녀로부터 얻었다. 채혈 즉시 heparin이 첨가된 시험관에 넣은 후, 3,000 rpm으로 5 min 동안 원심분리하여 적혈구와 혈장을 분리하고, 분리한 적혈구는 0.9 % saline phosphate buffer (pH 7.4, $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ 9.6 mM, $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 1.6 mM)로 세척하여 원심분리하고 흰색의 백혈구 층은 제거하였다. 3회 반복하여 세척, 분리한 적혈구는 4 °C의 냉장고에 보관하면서 사용하였고, 모든 실험은 채혈 후 12 h 이내에 행하였다. 광용혈 실험은 이미 확립된 방법에 따라 수행하였다. 실험에 사용된 적혈구 현탁액은 700 nm에서 O.D (optical density)가 0.6이었으며 이때 적혈구 수는 1.5×10^7 cells/mL이었다.

2.4.2. 마가목 가지 추출물의 광용혈 억제 효과

적혈구 현탁액 3.5 mL를 파이렉스 시험관 (No. 9820)에 넣은 후, 시료용액을 첨가하였다. 추출물을 농도별로 각각 50 μL 씩 첨가하고 암소에서 30 min 동안 pre-incubation 시킨 후, 광증감제 rose-bengal (12 μM) 0.5 mL를 가하고 파라필름(Whatman laboratory sealing film, UK)으로 입구를 막은 후 15 min 동안 광조사하였다. 광용혈에 필요한 광조사는 내부를 겹겹히 칠한 50 cm \times 20 cm \times 25 cm 크기의 상자 안

에 20 W 형광등을 장치하고, 형광등으로부터 5 cm 거리에 적혈구 현탁액이 담긴 파이렉스 시험관을 형광등과 평행이 되도록 배열한 후 15 min 동안 광조사 하였다. 광조사가 끝난 후 암반응(post-incubation) 시간에 따른 적혈구의 파괴정도를 15 min 간격으로 700 nm에서 투광도(transmittance, %)로부터 구하였다. 이 과정에서 적혈구 현탁액의 투광도 증가는 적혈구의 용혈정도에 비례한다. 모든 실험은 20 °C 항온실에서 행하였다. 마가목 가지 추출물의 광용혈에 미치는 효과는 post-incubation 시간과 용혈정도로 구성된 그래프로부터 적혈구의 50 % 용혈되는 시간인 τ_{50} 을 구하여 비교하였다. 대조군(control)은 τ_{50} 이 32 min으로 오차범위 \pm 1 min 이내로 모든 경우의 실험에서 재현성이 양호하게 나타났다. Rose-bengal을 첨가하고 광조사를 안 했을 경우와 rose-bengal을 첨가하지 않고 광조사만 했을 경우는 모두 암반응 120 min까지는 용혈이 거의 일어나지 않았다. 모든 실험은 4회 반복하여 평균하였다.

2.5. Tyrosinase 저해활성 측정

Tyrosinase는 L-tyrosine으로부터 멜라닌 생성과정의 핵심효소이며 tyrosinase 저해 활성 평가법은 L-tyrosine이 L-3,4-dihydroxyphenylalanine (L-DOPA)를 걸쳐 DOPA quinone으로 산화되는 과정의 전체 반응 속도를 결정하는 tyrosinase 효소의 효능을 억제하는 정도를 측정하는 방법이기 때문에 이는 미백활성을 평가하는데 매우 유용하다. L-Tyrosine (0.3 mg/mL) 1.0 mL, potassium phosphate buffer (0.1 M, pH 6.8) 1.85 mL, 시료 0.05 mL를 혼합한 후 37 °C에서 10 min 동안 항온 배양한 다음, 반응혼합물을 얼음수조에 넣어 반응을 종결시키고, 475 nm에서 흡광도를 측정하였다. Tyrosinase 저해 활성은 tyrosinase의 활성을 50 % 감소시키는데 필요한 시료의 농도(inhibition concentration, IC₅₀, $\mu\text{g/mL}$)로 표기하였다.

2.6. Elastase 저해활성 측정

피부노화, 특히 주름 생성은 활성산소에 의한 작용과 matrix metalloproteinase (MMPs : collagenase, elastase 등)에 의한 세포외 매트릭스의 파괴가 주원인으로 간주되고 있다. 따라서 MMPs의 저해활성 측정은 피부노화 억제

평가에 대단히 중요하다.

Tris-Cl (pH 8.0) 0.12 M에 elastase 기질인 *N*-succinyl-(Ala)₃-*p*-nitroanilide 1.0 mM이 용해된 buffer 1,300 μ L에 측정시료용액 7.5 μ L와 buffer 92.5 μ L를 첨가하여 25 $^{\circ}$ C에서 10 min 동안 pre-incubation 한 뒤 여기에 elastase 용액을 100 μ L 첨가(최종농도 0.0025 U/mL)하여 25 $^{\circ}$ C 수용상에서 10 min 동안 항온배양한 후 410 nm에서 흡광도를 측정하였다. 대조군은 시료대신 시료용액으로 사용된 용매를 100 μ L 첨가하였다. 공시험군은 *N*-succinyl-(Ala)₃-*p*-nitroanilide가 용해된 완충용액 대신 0.12 M tris-Cl buffer 1,300 μ L를 첨가하였으며, 농도는 실험군과 동일하였다. Elastase 저해 활성 또한 효소의 활성을 50 % 감소시키는데 필요한 시료의 농도(inhibition concentration, IC₅₀, μ g/mL)로 표기하였다.

2.7. 통계처리

모든 실험은 3회 반복하였고 통계분석은 5 % 유의수준에서 Student's *t*-test를 행하였다.

3. 결과 및 고찰

3.1. 마가목 가지 추출물의 항산화 활성

3.1.1. DPPH법을 이용한 Free Radical 소거활성

(+)- α -Tocopherol, L-ascorbic acid 등의 항산화제는 활성산소종에 의해 개시된 연쇄반응을 종결시키는데, 이때의 전자 공여능이 환원력이며 환원력이 클수록 강력한 항산화제라고 할 수 있으며 수소주개로 작용하는 항산화제의 능력은 안정한 free radical인 DPPH와의 반응을 통하여 알아볼 수 있다. 마가목 가지(*S. commixta* twig) 추출물과 비교물질인 (+)- α -tocopherol의 free radical 소거활성(FSC₅₀) 측정 결과는 Fig. 1에 나타내었다. 마가목 가지 추출물의 50 % EtOH extract 분획의 FSC₅₀은 33.10 μ g/mL, 에틸아세테이트 분획인 경우 23.43 μ g/mL, 아글리콘 분획은 13.00 μ g/mL으로 나타났다. 비교 물질로 사용한 (+)- α -tocopherol은 free radical 소거활성이 8.98 μ g/mL이다. 아글리콘 분획의 free radical 소거활성을 (+)- α -tocopherol과 비교했을 때 비슷한

소거활성을 나타내임을 확인하였다.

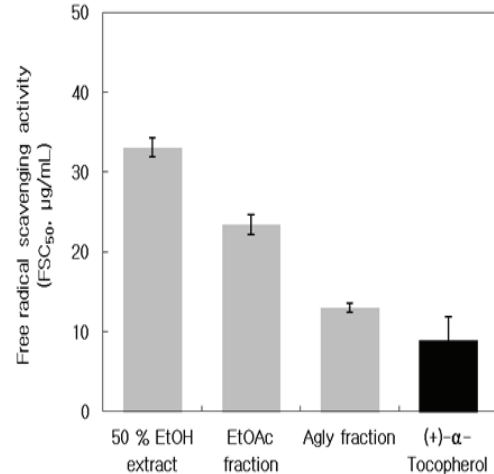


Fig. 1. Free radical scavenging activity of extracts and fraction of *S. commixta* twig and references.

3.1.2. Luminol 발광법을 이용한

Fe³⁺-EDTA/H₂O₂ 계에 있어서 활성 산소 소거 활성(총항산화능)

Luminol은 Fe³⁺-EDTA/H₂O₂ 계에서 생성된 활성산소종에 의해 산화되어 들뜬 상태의 아미노프탈산이 된 후 발광(420 ~ 450 nm)을 하는 것으로 알려져 있다. 마가목 가지 추출물의 활성산소 소거활성(총 항산화능, OSC₅₀)을 Fig. 2에 나타내었다. 마가목 가지 추출물의 50% EtOH extract 분획의 활성산소 소거활성은 0.189 μ g/mL, 에틸아세테이트 분획은 0.35 μ g/mL이고 아글리콘 분획은 0.23 μ g/mL으로 나타났다. 이 추출물들은 비교물질로 사용한 L-ascorbic acid (1.50 μ g/mL)의 소거활성보다 큼을 알 수 있다.

3.2. ¹O₂으로 유도된 사람 적혈구의 파괴에 대한 세포보호 효과

생체막에 있어 활성산소 또는 지질 라디칼에 의해 개시된 지질과산화 반응은 자동산화 과정을 경유한 연쇄반응이다. (+)- α -Tocopherol 등의 항산화제는 연쇄반응에서 지질 과산화라디칼에 수소 주개로 작용하여 연쇄반응을 종결시킴으로써 세포막을 보호한다. 마가목 가지 추출물의 활성산소에 의한 세포 손상에 대한 보

호 효과를 Fig. 3, 4에 나타내었다.

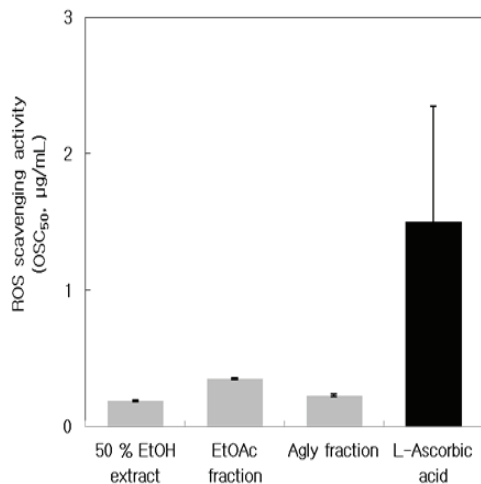


Fig. 2. Reactive oxygen species scavenging activities of *S. commixta* twig extracts and reference in Fe^{3+} -EDTA/ H_2O_2 system by luminol-dependent chemiluminescence assay.

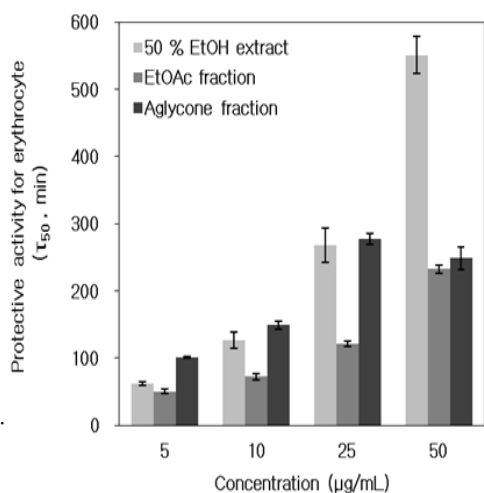


Fig. 3. Cellular protective effects of *S. commixta* twig extracts against $^1\text{O}_2$ -induced photohemolysis of human erythrocytes (Control = 31.0 ± 1.0 min).

적혈구 세포가 50 % 파괴되는데 걸리는 시간(τ_{50})은 세포보호활성이 클수록 크게 나타난다.

다. 마가목 가지의 아글리콘 분획은 5, 10, 25, 50 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 의 농도 범위에서 τ_{50} 이 각각 101.60, 149.1, 277.5, 248.6 min으로 세포보호 효과를 나타냈고, 농도가 50 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 에서 감소하는 경향을 나타내었다. 이는 아마도 추출물의 농도가 클 때는 세포막에 대한 교란작용(계면활성제로서의 작용)을 나타낼 수 있는 물질이 존재할 가능성이 생각할 수 있다. 에틸아세테이트 분획의 경우 50.2, 72.5, 121.2, 232.6 min, 50 % EtOH extract 분획의 경우 62.1, 126.8, 268.1, 551.1 min으로 농도 의존적으로 세포보호 효과를 나타내었다. 10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 에서 이 추출물들은 비교물질로 사용한 (+)- α -tocopherol보다 세포 보호 효과가 뛰어나다는 것을 알 수 있다.

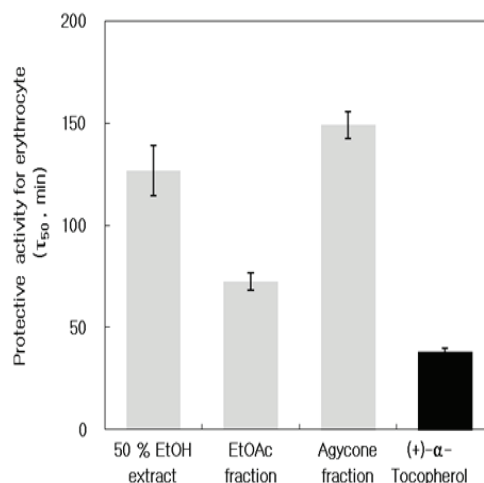


Fig. 4. Cellular protective effects of extract and fractions obtained from *S. commixta* twig and references at 10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ on the rose-bengal sensitized photohemolysis of human erythrocytes.

3.3. Tyrosinase 저해 활성

멜라닌 생성에 있어서 핵심효소는 tyrosinase이다. 이 효소는 tyrosine으로부터 시작되는 멜라닌 생합성 과정 중, tyrosine에서 3,4-dihydroxy-L-phenylalanine (DOPA), DOPA에서 DOPAquinone, 그리고 dihydroxyindole (DHI)로부터 eumelanin으로의 전환을 촉매하는데 관여한다. 마가목 가지 추출물 중 에틸아세테이트 분획과 아글리콘 분획

의 경우에 tyrosinase 저해활성(IC₅₀)이 각각 113.20 µg/mL, 105.3 µg/mL으로 비교 물질로 사용한 기능성 화장품의 미백제로 잘 알려진 arbutin의 저해 활성 226.88 µg/mL에 비해 더 높은 tyrosinase 저해활성을 보였다(Fig 5). 따라서 에틸아세테이트 분획 및 아글리콘 분획을 화장품에 응용할 경우 미백효과가 클 것으로 사료된다.

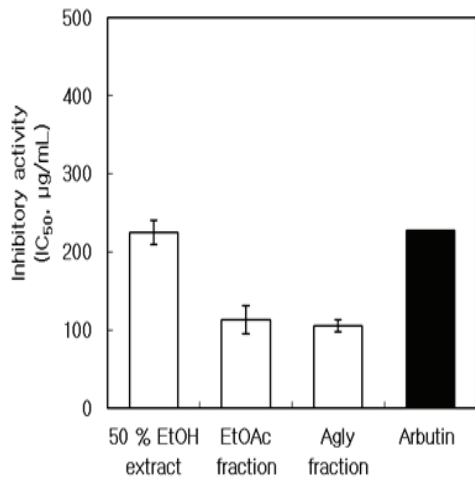


Fig. 5. The inhibitory effects of extract and fractions obtained from *S. commixta* twig and reference on tyrosinase.

3.4. Elastase 저해 활성

자외선 및 활성산소 등에 의해 유발되어 피부 진피층에 존재하는 matrix-metalloproteinases (MMPs)는 피부노화, 특히 주름생성과 밀접한 관계가 있다. MMPs를 이루는 주요성분으로는 collagenase, gelatinase 및 elastase 등이 있으며, 피부의 탄력감소 및 주름생성에 있어서 elastase의 활성 감소는 매우 중요하다. 마가목 가지 추출물의 50 % EtOH extract 분획은 94.1 µg/mL, 에틸아세테이트 분획은 48.90 µg/mL 에서 elastase 저해활성(IC₅₀)을 나타내었고, 특히 아글리콘 분획은 6.90 µg/mL에서 비교물질로 사용한 강력한 항산화제이자 elastase 저해활성이 큰 것으로 알려진 quercetin (6.10 µg/mL)과 비슷한 elastase 저해활성을 보였다(Fig 6).

따라서아글리콘 분획을 화장품에 응용할 경우 주름개선 효과가 클 것으로 사료된다.

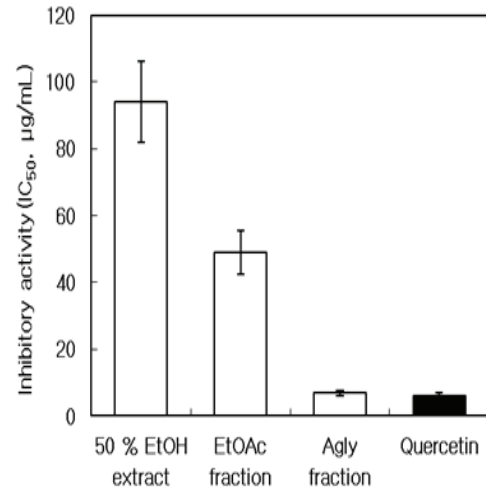


Fig. 6. The inhibitory effects of extract and fractions obtained from *S. commixta* twig and references compound on elastase

4. 결 론

1. 마가목 가지 추출물의 free radical 소거능력(FSC₅₀)은 50 % EtOH extract의 경우 33.10 µg/mL, 에틸아세테이트 분획의 경우 23.43 µg/mL, 에틸아세테이트 분획에서 당을 제거시킨 아글리콘의 경우 13.00 µg/mL로 나타났다.
2. 마가목 가지 추출물의 활성산소 소거활성(OSC₅₀)은 50 % EtOH extract 분획에서 0.189 µg/mL, 에틸아세테이트 분획에서 0.35 µg/mL, aglycone 분획에서 0.23 µg/mL로 나타났으며 이들 모두 수용성 항산화제인 L-ascorbic acid(OSC₅₀, 1.5 µg/mL) 보다 우수한 활성산소 소거활성을 나타냈다.
3. ¹O₂으로 유도된 적혈구의 광용혈 현상에 있어서 마가목 가지 추출물중 50 % EtOH extract와 에틸아세테이트 분획은 농도 범위(5 ~ 50 µg/mL)에서 농도-의존적으로 ¹O₂으로 유도된 적혈구 세포의 용혈을 억제하였다. 특히, 아글리콘 분획(τ₅₀, 149.10 min)은 10 µg/mL에서 지용성 항산화제인 (+)-α-tocopherol (τ₅₀, 38.00 min) 보다 약 3 배 더 우수한 세포막 보호 활

성을 나타내었다.

4. 마가목 가지 추출물 중 에틸아세테이트 분획과 아글리콘 분획은 tyrosinase 저해활성이 각각 113.20 $\mu\text{g}/\text{mL}$, 105.3 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 으로 미백제인 arbutin (IC_{50} , 226.9 $\mu\text{g}/\text{mL}$)보다도 우수한 tyrosinase 저해 활성을 나타냈다.
5. 마가목 가지 추출물의 elastase 저해 활성은 에틸아세테이트 분획에서 48.90 $\mu\text{g}/\text{mL}$, 아글리콘 분획에서는 6.90 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 으로 나타났으며 특히 아글리콘 분획은 elastase 활성 저해 효능이 우수한 quercetin(IC_{50} , 6.10 $\mu\text{g}/\text{mL}$)과 유사한 효능을 나타내었다.

이상의 결과들은 마가목 가지 추출물이 큰 항산화 활성을 나타내고, 주름개선 관련된 elastase 효소의 활성을 저해함으로써 마가목 가지 추출물의 화장품 응용 가능성이 큼을 시사한다.

참고문헌

1. E. H. Witt, P. Motchnik, and L. Packer, Evidence for UV light as an oxidative stressor in skin, "Oxidative Stress in Dermatology", p. 29, Dekker, New York (1993).
2. I. Emerit, Free radicals and aging of the skin, "Free radicals and aging", p. 328, Birkhauser, Basel (1992).
3. C. S. Foote, Photosensitized oxidation and singlet oxygen, "Consequences in biological systems", vol. 2, p. 85, Academic press, New York (1976).
4. S. N. Park, Ph. D. Dissertation, Seoul National Univ., Seoul, Korea (1989).
5. S. N. Park, Skin aging and antioxidant, *J. Soc Cosmet. Scientists Korea*, **23**, 75 (1997).
6. S. N. Park, Protective effect of isoflavone, genistein from soybean on singlet oxygen induced photohemolysis of human erythrocytes, *Korean J. Food Sci. Technol.*, **35**(3), 510(2003).
7. S. N. Park, Antioxidative properties of baicalein, component from *Scutellaria baicalensis* Georgi and its application to cosmetics (I), *J. Korean Ind. Eng. Chem.*, **14** (5), 657 (2003).
8. M. H. Gordon, Dietary antioxidants in disease prevention, *Nat Prod Rev* **13**, 265 (1996).
9. R. M. Tyrrell and M. Pidoux, Singlet oxygen involvement in the inactivation of cultured human fibroblast by UVA and near visible radiations, *Photochem. Photobiol.*, **49**, 407 (1989).
10. G. F. Vile and R. M. Tyrrell, UVA radiation-induced oxidative damage to lipid and protein in vitro and in human skin fibroblasts is dependent on iron and singlet oxygen, *Free Radical Biology & Medicine*, **18**, 721(1995).
11. K. Scharffetter-Kochanek, M. Wlaschek, K. Briviba, and H. Sies, Singlet oxygen induces collagenase expression in human skin fibroblasts, *FEBS Lett.*, **331**, 304 (1993).
12. M. Wlaschek, K. Briviba, G. P. Stricklin, H. Sies, and K. Scharffetter-Kochanek, Singlet oxygen may mediate the ultraviolet A in induced synthesis of interstitial collagenase, *J. Invest. Dermatol.*, **104**, 194 (1995).
13. A. Oikarinen, J. Karvonen, L. Uitto, and M. Hannuksela, Connective tissue alterations in skin exposed to natural and therapeutic UV-radiation, *Photodermatology*, **2**, 15 (1995).
14. A. Oikarinen and M. Kallioinen, A biochemical and immunohistochemical study of collagen in sun-exposed and protected skin, *Photodermatology*, **6**, 24(1989).
15. L. H. Kligman, UVA induced biochemical changes in hairless mouse skin collagen: a contrast to UVB effects, p. 209, Valdemar, Overland Park (1992).
16. J. W. Choi, S. I. Kim, J. Y. Kim, H. J. Yang, K. H. Lee, and S. N. Park, Antioxidative and cellular protective

- effects of jeju native plant extracts against reactive oxygen species(I), *J. Soc. Cosmet. Scientists Korea*, **32**(3), 181(2006).
17. H. J. Yang and S. N. Park, Evaluation of antioxidant potential of extract/fractions of *Equisetum areense* (I), *J. Soc. Cosmet. Scientists Korea*, **33**(2), 61 (2007).
 18. H. J. Yang and S. N. Park, Component analysis and study on anti-elastase activity of *Equisetum areense*(II), *J. Soc. Cosmet. Scientists Korea*, **33**(3), 139 (2007).
 19. S. M. Jeon, S. I. Kim, J. Y. Ahn, and S. N. Park, Antioxidative potencies of extract/fractions of *Suaeda asparagoides* and *Salicornia herbacea* extracts (I), *J. Soc. Cosmet. Scientists Korea*, **33**(3), 145 (2007).
 20. J. Y. Kin, H. J. Yang, K. H. Le, S. M. Jeon, Y. J. Ahn, B. R. Won, and S. N. Park, Antioxidative and antiangiogenic effect of jeju native plant extracts (II), *J. Soc. Cosmet. Scientists Korea*, **32**(3), 181 (2006).
 21. M. Miyazawa and N. Tamura, Inhibitory compound of tyrosinase activity from the sprout of *Polygonum hydropiper* L. (Benitade), *Biol. Pharm. Bull.*, **30**(3), 595 (2007).
 22. D. G. Kang, J. K. Lee, D. H. Chol, E. J. Sohn, M. K. Moon, and H. S. Lee, Vascular Relaxation by the Methanol Extract of *Sorbus* Cortex via NO-cGMP Pathway, *Biol. Pharm. Bull.* **28**(5) 860 (2005).
 23. E. J. Sohn, D. G. Kang, Y. J. Mun, W. H. Woo, and H. S. Lee, Anti-atherogenic Effects of the Methanol Extract of *Sorbus* Cortex in Atherogenic-Diet Rats, *Bio. Pharm. Bull.* **28**(8) 1444 (2005).
 24. T. Yu, Y. J. Lee, H. J. Jang, A. R. Kim, S. Y. Hong, T. W. Kim, M. Y. K, J. H. Lee, Y. G. Lee, J. Y. Cho, Anti-inflammatory activity of *Sorbus commixta* water extract and its molecular inhibitory mechanism, *Journal of Ethnopharmacology*, **134**, 493 (2011).
 25. M. K. L, H. Y. Lee, J. H. Lee, and J. S. Oh, Anticancer Effect of *Sorbus Commixta* Hedl Extracts, *Korean J. Medicinal Crop Sci.* **10**(5), 403 (2002).
 26. S. H. Kim, Y. S. Jang, H. G. Chung, M. S. Choi, and S. C. Kim, Selection of Superior Trees for Larger Fruit and High productivity in *Sorbus commixta* Hedl. *Korean J. Plant. Res.* **6**(2), 120 (2003).
 27. L. R. Bhatt, M. S. Bae, B. M. Kim, G. S. Oh and K. Y. Chai, A Chalcone Glycoside from the Fruits of *Sorbus commixta* Hedl. *Molecules*, **14**, 5323 (2009)
 28. M. K. Na, R. B. An, S. M. Lee, B. S. Min, Y. H. Kim, K. H. Bae, and S. S. Kang, Antioxidant Compounds from the stem bark of *Sorbus commixta*, *Natural Product Science* **8**(1), 26 (2002).
 29. S. Y. Kim, M. H. Lee, S. N. Park, Evaluations of antioxidative activity and whitening effect of extracts from different parts of *Cosmos bipinnatus*, *J. of the Korean Oil Chemists' Soc.*, **27**(4), 559 (2010).
 30. S. N. Park, Skin aging and antioxidant, *J. of the Korean Oil Chemists' Soc.*, **23**(1), 75 (1997).
 31. J. H. Kim, Y. J. Ahn, and S. N. Park, Antioxidative of *securinaga suffruticosa* extract, *J. of the Korean Oil Chemists' Soc.*, **26**(3), 269 (2009).