



Skin Whitening Effects of *Sanguisorba officinalis* and *Stichopus japonicus*

Min-Ok Lee¹, Hong-Geun Oh², Sang-Ho Park³, Hyun-A Lee⁴, Jeong-Dug Sul⁵,
Jeho Song^{1*} and Okjin Kim^{4*}

¹Division of Beauty Design & Institute for Better Living, Wonkwang University, Iksan, Korea

²Huvet Co. Ltd, Iksan, Korea

³Korea DNA Valley Co. Ltd, Iksan, Korea

⁴Center for Animal Resources Development, Wonkwang University, Iksan, Korea

⁵College of Sport Science, Chung-Ang University, Anseong, Korea

This study is aimed to evaluate skin whitening effects of *Sanguisorba officinalis* and *Stichopus japonicus* for cosmeceutical ingredients. The extract of *Stichopus japonicus* showed 61.78% inhibition of tyrosinase activity, and the mixture of *Sanguisorba officinalis* extract and *Stichopus japonicus* extract showed 59.14% inhibition of tyrosinase activity. On the clone M-3 cell melanoocyte, the mixture of *Sanguisorba officinalis* extract and *Stichopus japonicus* extract showed remarkable inhibition of melanogenesis. Also, those extracts were not irritable in ocular irritation test. It is concluded from these results that *Sanguisorba officinalis* and *Stichopus japonicus* have skin whitening effect. It could be used as natural depigment material in cosmeceutical ingredients.

Key words: *Sanguisorba officinalis*, *Stichopus japonicus*, herb, skin whitening, depigment, cosmeceutical ingredient

Received 24 February 2010; Revised version received 9 March 2010; Accepted 27 April 2010

평균수명이 연장되고 소득 수준이 향상됨에 따라 건강에 대한 관심이 증대되고 있는 가운데 식품, 영양학적인 접근, 천연추출물을 이용한 화장품 원료 구현을 통해 피부의 노화를 억제하려는 노력이 증대되고 있다(Park et al., 2004b; Cutler, 2006; Lintner et al., 2009). 최근 피부미용 분야에 대한 사회적 관심이 증가하고 있으며 이를 바탕으로 피부미용을 위한 기기나 제품의 연구와 임상실험이 증가되고 있는 추세이다(Cutler, 2006; Lintner et al., 2009). 피부 미백(skin whitening)을 위한 의약부의 품과 기능성 화장품의 원료로는 arbutin 및 ascorbic acid와 이들 유도체가 주로 사용되고 있다(Ikeda and Tsutsumi, 1990; Lim et al., 2009). 그러나 arbutin 및 ascorbic acid와 이들 유도체들은 피부 투과 문제와 세포독성 및

체내에서의 안전성 등과 같은 문제점들이 있어 보다 경제적이고 효율적인 천연물 유래 미백 소재 개발에 대한 관심이 높아지고 있다(Qui et al., 1996). 본 연구자들은 기능성 화장품 분야에서 관심이 증가되고 있는 천연물 유래 미백 소재 개발을 위하여 안전하고 우수한 효과를 지닌 천연물을 탐색하기 위한 연구의 일환으로 오이풀과 해삼의 미백 효과를 확인하고자 하였다.

오이풀(*Sanguisorba officinalis* L.)은 장미과(Rosaceae)에 속하는 다년생초로 전국의 산과 들 초원에서 흔히 볼 수 있는 여러 해 살이 풀이다. 뿌리줄기가 길게 옆으로 자라며, 줄기는 곧게 자라 키가 1.5m에 이르는 것도 있다. 잎을 자르면 상큼한 오이 냄새가 나기 때문에 오이풀이라고 하며 타원형의 잎은 끝과 밑 부분이 둥근 모양인 잔 잎 5~11개가 모여 깃털처럼 달려있고, 가장자리는 3각 형태의 톱니가 고르게 있다. 짙은 붉은색의 꽃은 7~9월경 긴 꽃대에 핀다. 꽃은 길이가 2.5 cm 정도이고, 꽃받침 4장, 수술은 4개이다. 4각형의 열매는 날개가 달린 형태로 10월에 익는다(Park et al., 2004a). 뿌리는 한방에서 지혈과 해독에 사용하며 각혈, 월경 과다, 산후 복통, 동상의 치료에 쓰이며(Park et al., 2004a), 피고름을 멎게 하고 제반 부스럼을 치료하며, 손상된 조직을 보충하고 칼 등에 손상된 상처를 치료하는 연고를 만들 수 있다.

*Corresponding authors: Jeho Song, Division of Beauty Design & Institute for Better Living, Wonkwang University, 344-2 Shinyoung-dong, Iksan 570-749, Korea
Tel: +82-63-850-6895
Fax: +82-63-850-7128
E-mail: sjhao@wku.ac.kr
Okjin Kim, Center for Animal Resources Development, Wonkwang University, 344-2 Shinyoung-dong, Iksan 570-749, Korea
Tel: +82-63-850-6668
Fax: +82-63-850-7308
E-mail: kimoj@wku.ac.kr

주성분은 사포닌 배당체, pomolic acid, 비타민 A이며 tannin 성분을 무려 17%나 함유하고 있다(Nguyen et al., 2008). 한편 오이풀의 잎은 탄수화물, 단백질, 지방, 무기질이 풍부하게 함유되어 있으며 8종의 필수 아미노산도 골고루 들어있다(Nguyen et al., 2008). 오이풀을 이용한 연구는 항균실험에서의 피부 상재균인 *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermis* 균에 대해 뚜렷한 항균 효과가 있음을 증명하였으며, 다양한 생리활성 조사를 통해 화장품 소재로서의 가능성을 확인하였다(Park et al., 2004^b). 또한 본 연구에 사용한 해양 천연물인 해삼(*Stichopus japonicus*)은 극피동물 문(Phylum Echinodermata)의 분류로 해삼강(Class Holothuroidea)에 속하며, 해삼, 자삼 및 광삼으로 부른다. 몸은 원통형을 하고 있으며 주축은 지면과 평행하다. 몸은 비교적 기다랗고 두부와 미부로 나누어지고 또 등과 배로 나누어진단(Zhang et al., 2010). 민간요법에서는 인체의 단핵세포와 거식세포의 탐식 능력을 제고시켜 면역기능을 왕성하게 하고 상처치료에 효과가 있는 것으로 권장되고 있으며, 특히 칼슘과 철분이 풍부하여 치아와 골격의 형성, 근육의 정상적 수축과 이완 작용을 고르게 조절하는데 효과가 있으며, 출혈과다로 오는 빈혈 등의 증상에 대단히 좋기 때문에 성장과 발육기의 어린이에게 양호하며, 콘드로이틴 성분은 임신부의 태아가 불안하거나 임신 중 하혈이 있을 때 좋다(Zhang et al., 2010). 신장의 기능을 왕성하게 해주며 해삼의 부드럽고 윤한 성질이 장관의 유동운동을 촉진시켜 배변을 용이하게 유도해 변비에 좋다. 그러나 해삼에 대한 식품 영양학적 연구는 비교적 활발하게 이루어져 있으나 두족류 및 극피동물 등 이용도가 낮은 해양 식량자원 중에 존재하는 미백효과와 같은 생리활성에 관한 연구는 거의 찾아보기 힘들다(Bulgakov et al., 2007).

본 연구는 천연물 유래 미백 소재 개발을 위한 연구로서 오이풀과 해삼의 미백효과를 확인하고자 Tyrosinase 활성억제와 Melanin 생합성억제 연구를 수행하고 이들 물질의 자극성 여부를 확인하고자 안점막자극 시험이 수행되었다.

재료 및 방법

오이풀과 해삼 추출물 조제

본 실험에 사용한 오이풀(*Sanguisorba officinalis* L.)은 2009년 2~5월에 지리산에 자생하는 뿌리를 이용하였다. 채집 시 오이풀의 균일을 유지하기 위해 뿌리의 무게가 5~10 g 정도인 것을 이용하였다. 이렇게 채집한 오이풀 뿌리는 3주간 음건 후 안에 있는 수분을 완전히 제거하기 위해 dry oven에 40°C, 24시간 건조 후 시료로 이용하였다. 해삼(*Stichopus japonicus*)은 2009년 2~5월까지 전라남도 해안 산지에서 잡은 것을 생체로 운반하여 내

장을 채집하였다. 내장 채집시 안에 들어있는 불순물은 제거한 후 바로 알코올에 침지하였다. 알코올 농도는 80%로 하여 해삼 내장과 알코올의 비율은 ethanol 100 mL: 해삼 내장 20 g의 비율로 사용 하였다. 오이풀의 뿌리 부분을 건조 분쇄한 0.01 g에 99.9%의 에탄올(Dae-Jung Co., Siheung, Korea) 1 mL를 가하여 65°C에서 24시간 교반한 다음, homogenizer로 용해시켜 에탄올 추출물을 얻었다. 추출물은 냉동 보관하여 본 실험의 시료로 사용하였다. 해삼의 내장을 건조 분쇄한 해삼 0.01 g에 99.9%의 에탄올 1 mL를 가하여 65°C에서 24시간 교반한 다음 homogenizer로 용해시켜 에탄올 추출물을 얻었다. 에탄올 추출물은 냉동 보관하여 본 실험의 시료로 사용하였다.

Tyrosinase 활성억제 효과 시험

Tyrosinase 활성억제능 시험은 Busca 등(1996)의 방법을 응용하여 실험하였다. 96 well plate의 각 well에 phosphate buffer (pH 6.8)에 녹인 시료를 500, 1,000, 1,500, 2,000 µg/mL의 농도에 따라 조제하여 각각 70 µL에 넣고, mushroom tyrosinase (2,000 unit/mg) 20 µL와 10 mM L-DOPA 10 µL를 첨가한 후, 37°C에서 30분 간 incubation한 다음 microplate Reader (Infinite 200, Tecan Group Ltd., Switzerland)를 이용해 475 nm에서 흡광도를 측정하여 비교하였다.

Melanin 생합성억제 효과 시험

Clone M-3 세포(Cloudman S91 melanoma, Mouse, KCLB, Korea)를 10% fetal bovine serum (FBS, Gibco Co., USA), 100 µg/mL penicillin이 첨가된 RPMI-1640 배지를 사용하여 37°C, 5% CO₂ 조건에서 배양하였다. Cell은 T75 cm² flask (Falcon, USA)에서 충분히 증식시킨 후 배양세포 표면을 phosphate buffer saline (PBS) 용액으로 씻어 준 후 0.25% trypsin-EDTA 용액을 넣고 incubator에서 37°C, 1분 간 처리 후 1,500 rpm, 5분 간 원심분리하여 상층액인 trypsin-EDTA 용액을 버린 후 배양된 세포를 얻었다. 탈착된 세포는 10% FBS가 포함된 RPMI-1640 5 mL를 새로운 배양용기에 계대하여 37°C, 5% CO₂의 조건의 배양기에서 배양하였다. Melanin 성분의 측정은 Tsuboi 등(1998)의 방법을 응용하여 실험하였다. Clone M-3 cell을 6 well plate에 3×10⁵ cells/well의 밀도가 되도록 분주 한 후 37°C, 5%의 CO₂ incubator에서 24시간 배양한 후 배지를 버리고 PBS로 씻어 준 다음 배양액을 모두 제거하고, 같은 양의 배지와 PBS에 녹인 시료를 2.5, 5, 10, 25, 50 µg/mL의 다양한 농도에 따라 각 well에 100 µL씩 가하고 72시간 동안 배양하였다. 배양이 끝난 후 배양액을 제거하고 1×PBS로 2회 세척한 다음 1 N NaOH 500 µL를 가하고 CO₂ incubator에 넣어서 2시간 동안 반응시켜 melanin이 완전히 녹게

한 다음 96 well로 옮겨서 Microplate Reader (Infinite 200, Tecan Group Ltd., Switzerland)를 이용하여 490 nm 파장의 흡광도를 측정하여 세포 일정 수당 멜라닌의 함량을 구하였다.

공시 동물

본 연구에서는 4개월령의 New Zealand white 계통의 토끼(수컷)를 (주)썬타코에서 2마리를 구입하여 원광대학교 동물자원개발연구센터 실험동물 사육실에서 1주일 간 순화 및 검역을 거친 후 시험에 공시하였다. 본 계통의 토끼는 피부자극시험에 일반적으로 사용되는 종으로써, 동일한 조건하에서 사람 피부보다 예민하게 반응하며 또한 비교적 풍부한 실험 기초자료가 있어 시험결과의 해석 및 평가가 용이하여 선택되었다. 사육조건은 온도 $23 \pm 3^\circ\text{C}$, 상대습도 $50 \pm 20\%$ 로 하였으며, 시험기간 동안 3단 2열의 사육장에 개별 수용하였다. 시험기간 중 사료는 토끼용 고형사료(Purina, Korea)를 자유 급식하였고 음수는 급수병을 이용하여 자유 급여하였다.

안점막 자극 시험

식품의약품안전청 고시 제 2005-60호 ‘의약품 등의 독성시험 기준(2005)’의 제10조 국소독성 시험법을 변형하여 건강한 수컷 New Zealand white 토끼 2마리를 택하여 시험개시 24시간 전에 생리 식염수로 세정을 한 후 안구의 각막, 결막, 홍채 등의 병변 상태를 검안하였다. 시험 사용에 적합한 좌우 양안을 1, 2, 3 및 4군으로 정하여 표시 한 후 아래 눈꺼풀을 안구로부터 잡아 당겨 꺾 모양을 형성한 후 시험물질 0.1 mL를 점안하여 약 1 초 간 눈을 감은 상태로 유지시켜서 검체의 손실을 방지하였다. 1군에는 대조군으로 PBS를 적용하였고, 2군에는 오이풀 추출물, 3군에는 해삼 추출물, 4군에는 오이풀 추출물과 해삼추출물의 혼합물을 적용하였다. 시험물질은 $250 \mu\text{g/mL}$ 으로 PBS에 희석하여 사용하였다. 5분 간격으로 2회에 걸쳐 시험물질을 점안하였다. 시험물질 투여 후 1, 2, 3, 4일 및 7 일에 각막의 혼탁 및 혼탁 된 각막의 범위, 홍채의 반응, 결막의 발적과 부종, 배출물의 유무 등을 ‘의약품 등의 독성시험 기준(2005)’의 안구병변등급 표에 의거하여 시험물질을 투여하지 않은 대조군과 비교하여 판정하였다. 실험은 수행 전에 원광대학교 동물실험 윤리위원회에 시험계획서 사전 심의를 거쳐 승인 후 수행하였으며 실험수행 과정 동안에 원광대학교 동물실험 윤리규정을 준수하며 수행되었다(Approval No.: WKU09-51).

통계 처리

결과는 Mean \pm SD 값으로 표기하였다. 자료를 통계학적으로 유의한 수준으로 분석하기 위하여 SPSS system을 이

용하였으며, 같은 실험을 최소 4번 이상 시행하여 그 결과를 처리하였다. 자료 상호 간 유의할 만한 차이를 판가름하는 P 값은 0.05 미만으로 설정하였다.

결 과

Tyrosinase 활성억제 효과 시험 결과

오이풀 에탄올 추출물과 해삼 추출물의 tyrosinase 활성 억제 효과 시험결과는 Table 1과 같았다. 오이풀 에탄올 추출물은 $500 \mu\text{g/mL}$ 에서 $17.48 \pm 2.56\%$, $1,000 \mu\text{g/mL}$ 에서 $30.61 \pm 4.81\%$, $1,500 \mu\text{g/mL}$ 에서 $49.11 \pm 3.67\%$, $2,000 \mu\text{g/mL}$ 에서 $48.24 \pm 1.21\%$ 로 나타나 농도가 증가할수록 높은 tyrosinase 활성억제 효과를 보였다. 해삼 에탄올 추출물은 $500 \mu\text{g/mL}$ 에서 $32.63 \pm 4.11\%$, $1,000 \mu\text{g/mL}$ 에서 $52.31 \pm 0.71\%$, $1,500 \mu\text{g/mL}$ 에서 $48.87 \pm 3.61\%$, $2,500 \mu\text{g/mL}$ 에서 $61.78 \pm 5.89\%$ 로 나타나 농도가 증가할수록 높은 tyrosinase 활성억제 효과를 보였다. 오이풀과 해삼 에탄올 추출복합물은 농도가 500, 1,000, 1,500, 2,000 $\mu\text{g/mL}$ 로 증가함에 따라 $38.57 \pm 0.79\%$, $56.11 \pm 4.62\%$, $54.27 \pm 3.51\%$, $59.14 \pm 2.68\%$ 의 tyrosinase 활성억제 효과를 나타내었고, 오이풀 에탄올 추출물보다 높은 억제효과를 보였지만 해삼 에탄올 추출물보다 낮은 억제효과를 보였다 (Table 1).

Melanin 생합성억제 효과 시험 결과

오이풀과 해삼 추출물을 Clone M-3 (Cloudman S91 melanoma, Mouse, KCLB, KOREA)에 2.5, 5, 10, 25, 50 $\mu\text{g/mL}$ 의 농도로 처리했을 때, 오이풀 에탄올 추출물은 농도가 2.5, 5, 10, 25, 50 $\mu\text{g/mL}$ 로 증가함에 따라 대조군에 비해 melanin 생합성억제 효과는 $34.11 \pm 0.46\%$, $36.19 \pm 3.48\%$, $35.41 \pm 2.96\%$, $44.69 \pm 0.96\%$, $49.28 \pm 1.82\%$ 로 나타나 melanin 생합성억제 효과가 저농도에서는 다소 약하게 나타났으나 고농도로 증가 할수록 높은 melanin 생합성억제 효과가 확인되었다. 해삼 에탄올 추출물은 농도가 2.5, 5, 10, 25, 50 $\mu\text{g/mL}$ 로 증가함에 따라 대조군

Table 1. Effects of *Sanguisorba officinalis* and *Stichopus japonicus* extracts on the tyrosinase activity

Concentration (mg/mL)	ESL	ESS	MESS
500	17.48 ± 2.56	32.63 ± 4.11	38.57 ± 0.79
1,000	30.61 ± 4.81	52.31 ± 0.71	56.11 ± 4.62
1,500	49.11 ± 3.67	48.87 ± 3.61	54.27 ± 3.51
2,000	48.24 ± 1.21	61.78 ± 5.89	59.14 ± 2.68

Unit: %.

C: Control.

ESL: Ethanol extract of *Sanguisorba officinalis*.

ESS: Ethanol extract of *Stichopus japonicus*.

MESS: A mixture of *Sanguisorba officinalis* extract and *Stichopus japonicus* extract.

Table 2. Melanin inhibitory activity of *Sanguisorba officinalis* and *Stichopus japonicus* extracts in Clone M-3 cells

Concentration (mg/mL)	ESL	ESS	MESS
C	100	100	100
2.5	34.11±0.46	44.89±1.76	52.90±3.69
5	36.19±3.48	48.23±5.76	55.99±2.41
10	35.41±2.96	49.41±4.21	58.17±3.66
25	44.69±0.96	47.69±3.75	63.80±3.43
50	49.28±1.82	51.34±4.11	68.70±3.87

Unit: %.

C: Control.

ESL: Ethanol extract of *Sanguisorba officinalis*.ESS: Ethanol extract of *Stichopus japonicus*.MESS: A mixture of *Sanguisorba officinalis* extract and *Stichopus japonicus* extract.

에 비해 melanin 생합성억제 효과가 농도별로 각각 44.89±1.76%, 48.23±5.76%, 49.41±4.21%, 47.69±3.75% 및 51.34±4.11%의 melanin 생합성억제 효과가 확인되었다. 오이풀과 해삼 에탄올 추출복합물은 농도가 2.5, 5, 10, 25, 50 µg/mL로 증가함에 따라 대조군에 비해 melanin 생합성억제 효과가 52.90±3.69%, 55.99±2.41%, 58.17±3.66%, 63.80±3.43%, 68.70±3.87%로 나타나 오이풀 에탄올 추출물, 해삼 에탄올 추출물보다 우수한 melanin 생합성억제 효과를 보였으며 저농도부터 뚜렷한 melanin 생합성억제 효과가 확인되었다. 이상의 실험 결과 오이풀과 해삼 에탄올 추출복합물 50 µg/mL의 농도에서 대조군에 비교하여 68.70±3.87%의 가장 우수한 생합성억제 효과가 나타났으며, 해삼 에탄올 추출물 50 µg/mL의 농도에서는 51.34%의 억제능을 나타내어 Clone M-3 흑색종 세포에서 최종적인 산물인 멜라닌 생성을 억제하는 것을 확인할 수 있었다(Table 2).

안점막 자극시험 결과

오이풀과 해삼 추출물의 자극성 여부를 확인하기 위하여 토끼를 이용한 안점막 자극시험을 수행하였다. 시험결과에 있어서 시험 기간을 통하여 폐사 예는 물론 본 검체투여에 의한 어떠한 임상증상도 관찰되지 않았다. 또한 모든 토끼에서 시험물질 적용 후 7일째의 체중은 점안 개시일의 체중과 비교하여 시험물질과 관련된 체중 증가 또는 감소와 같은 변화는 관찰되지 않았다. 검체 투여 후 1, 2, 3, 4 및 7일에 각각 홍채, 결막에 대한 안구병변 등급의 점수는 Table 3에 나타난 바와 같다. 투여 1, 2, 3, 4 및 7일에 오이풀과 해삼 추출물을 점안 한 후 관찰한 결과 대조군에 비하여 특이할 만한 이상은 관찰되지 않았다. 이상의 결과로 보아 토끼의 안점막에 어떠한 안구 병변도 유발하지 않는 무독성, 무자극 물질로 판단되었다.

고 찰

단순한 미적 기능을 중시한 화장품의 소비패턴에도 자연주의, 친환경 등 자연 친화적인 관심의 영향으로 미용과 화장품 산업에 영향을 미쳐 최근 천연추출물을 이용한 화장품 소재 개발에 대한 연구가 활발히 수행되고 있다(Park *et al.*, 2004b; Lintner *et al.*, 2009). 천연 화장품과 달리 일반 화장품은 비교적 화학 성분이 다량으로 함유되어 있어 홍반과 발진, 여드름 악화, 피부염 등의 부작용을 유발 가능성이 보고되고 있다(Berne *et al.*, 1994). 화학성분을 다량 함유한 화장품들의 부작용 가능성 때문에 건강한 피부와 부작용 경감을 위한 천연물 소재 기능성 화장품 개발 필요성이 대두되고 있으며, 최근 필요성이 증가되고 있는 기능성 화장품으로서 피부 미백

Table 3. Eye irritation score of New Zealand White male rabbit treated with *Sanguisorba officinalis* and *Stichopus japonicus* extracts

Group	Tissue Scores	Days					Total Score	M.O.I.
		1	2	3	4	7		
1	Cornea	A×B×5	0	0	0	0	0/80	0
	Iris	A×5	0	0	0	0	0/10	
	Conjunctiva	(A+B+C)×2	(0+0+0)×2	0	0	0	0/20	
2	Cornea	A×B×5	0	0	0	0	0/80	0
	Iris	A×5	0	0	0	0	0/10	
	Conjunctiva	(A+B+C)×2	(0+0+0)×2	0	0	0	0/20	
3	Cornea	A×B×5	0	0	0	0	0/80	0
	Iris	A×5	0	0	0	0	0/10	
	Conjunctiva	(A+B+C)×2	(0+0+0)×2	0	0	0	0/20	
4	Cornea	A×B×5	0	0	0	0	0/80	0
	Iris	A×5	0	0	0	0	0/10	
	Conjunctiva	(A+B+C)×2	(0+0+0)×2	0	0	0	0/20	

A: Redness, B: Chemosis, C: Discharge.

Group 1: control, 2: treated with *Sanguisorba officinalis* extract, 3: treated with *Stichopus japonicus* extract, 4: treated with the mixture of *Sanguisorba officinalis* extract and *Stichopus japonicus* extract.

(skin whitening) 효과를 얻을 수 있는 미백 화장품이 있다(Chen et al., 2009).

Tyrosinase는 멜라닌 생성 과정에 있어서 melanine 생합성을 촉진시키는 핵심적인 효소이다. 현재 화장품에서 미백제로 사용되는 대부분의 원료들은 이 효소에 대한 저해 활성이 큰 것들이다. 따라서 tyrosinase 저해활성 검색은 매우 중요하다(Kang et al., 2008). Kim 등(2009)은 오배자의 에틸아세테이트 분획에서 약 94%의 tyrosinase 활성억제율을 보고한 바 있으며 Kang 등(2008)은 국화류 6종 중 우방자 메탄올 80% 추출물에서 40.2%의 tyrosinase 활성 억제율을 보고한 바 있다. 본 연구에서는 천연물 소재인 오이풀과 해삼 에탄올 추출물의 tyrosinase 활성억제율을 확인한 결과 해삼 에탄올 추출물, 오이풀과 해삼 에탄올 추출복합물 및 오이풀 에탄올 추출물 순으로 61.78%, 59.14% 및 48.24%의 tyrosinase 활성 억제율을 확인하였다.

피부색 및 피부색소침착은 각질형성세포에 있는 멜라닌의 양과 분포에 의해 대부분이 결정되므로 미백소재의 미백효과를 검증하기 위해서는 멜라닌 생성을 억제하는지 여부가 중요하다(Jeong et al., 2008). Park 등(2009)은 밀몽화 추출물이 50% 멜라닌 생합성억제 효과를 보이는 것으로 보고하였으며, Jeong 등(2008)은 복분자 추출물로 55.23%, Chang 등(2007)은 연꽃 수술의 물 추출물로 83.7%의 멜라닌 생합성억제 효과를 보고한 바 있다. 본 연구에서는 오이풀과 해삼 에탄올 추출물의 멜라닌 생합성 억제 효과를 확인한 결과 오이풀과 해삼 에탄올 추출복합물, 해삼 에탄올 추출물 및 오이풀 에탄올 추출물 순으로 각각 68.7%, 51.34% 및 49.28%의 멜라닌 생합성 억제 효과를 확인할 수 있었다.

현재까지 오이풀과 해삼의 미백 효과에 대한 연구는 수행된 바가 없다. 본 연구자들은 천연물소재인 오이풀과 해삼의 미백효과 유무를 검증하고자 tyrosinase 활성 억제 효과와 melanoma cell에서의 멜라닌 생합성 억제 효과를 확인하였다. 또한 안점막 자극 실험을 통해 인체에 직접적인 자극성 유무에 대한 연구를 수행하여 천연물소재인 오이풀과 해삼 추출물이 자극성이 없음을 확인하였다. 이러한 결과를 종합하면 오이풀과 해삼 에탄올 추출물은 tyrosinase 활성과 멜라닌 생성을 감소시킴으로써 미백효능에 상당히 효과적이며 자극성 또한 없는 것으로 판단되었다. 오이풀과 해삼은 미백 효과를 나타내는 생리활성 기능이 있으며 향후 피부미백 기능성 화장품 개발 소재로서 활용가치와 가능성이 높은 것으로 사료된다.

감사의 글

본 연구는 2009년 원광대학교 교비 연구비를 지원받아 수행되었으며, 이에 감사 드립니다.

참고문헌

- Berne, B., Lundin, A. and Malmros, P. E. (1994) Side effects of cosmetics and toiletries in relation to use: a retrospective study in a Swedish population. *Eur. J. Dermatol.* 4(3), 189-193.
- Bulgakov, A.A., Eliseikina, M.G., Petrova, I.Y., Nazarenko, E.L., Kovalchuk, S.N., Kozhemyako, V.B. and Rasskazov, V.A. (2007) Molecular and biological characterization of a mannan-binding lectin from the holothurian *Apostichopus japonicus*. *Glycobiology* 17(12), 1284-1298.
- Busca, R., Bertolotto, C., Ortonne, J.P. and Ballotti, R. (1996) Inhibition of the Phosphatidylinositol 3-Kinase/p70S6-kinase Pathway Induces B16 Melanoma Cell Differentiation. *J. Biol. Chem.* 271(50), 31824-31830.
- Chang, M.S., Kim, M.H., Yang, W.M., Kim, D.R., Park, E.H., Ko, E.B., Choi, M.J., Kim, H.Y., Oh, J.H., Shim, K.J. and Yoon, J.W. (2007). Inhibitory effects of nelumbo nucifera on tyrosinase activity and melanogenesis in Clone M-3 melanocyte cells. *Kor. J. Herbolology* 22(4), 87-94.
- Chen, L.G., Chang, W.L., Lee, C.J., Lee, L.T., Shih, C.M. and Wang, C.C. (2009) Melanogenesis inhibition by gallotannins from Chinese galls in B16 mouse melanoma cells. *Biol. Pharm. Bull.* 32(8), 1447-1452.
- Cutler, R.G. (2006) Antioxidants, aging and longevity, free radical in biology. *Academic Press.*, 6, 371-424.
- Ikedo, T. and Tsutsumi, T. (1990) Function and depigmental activity of crude drugs. *Fragrance J.* 6, 56.
- Jeong, H.S., Han, J.H., Ha, J.H., Kim, Y., Oh, S.H., Kim, S.S., Jeong, M.H., Choi, G.P., Park, U.Y. and Lee, H.Y. (2009) Antioxidant activities and skin-whitening effects of nano-encapsulated water extract from *Rubus coreanus* miquel. *The Korean Society of Medicinal Crop Science* 17(2), 83-89
- Kang, J.R., Lee, M.K. and Kang, S.M. (2008) Anti-oxidant property and tyrosinase inhibition activity of various extracts from plants in composite plants. *Kor. J. Med. Crop. Sci.* 51(4), 321-328.
- Kim, K.Y., Lee, S.J., Bak, E.Y., Jang, G.S. and Hwang, W.G. (2009) Effects of *Galla rhois* extracts and fractions on anti-oxidative activity and inhibition of melanin synthesis by melanoma cell. *J. Kor. Soc. Cosm.* 15(3), 1051-1058.
- Lim, Y.J., Lee, E.H., Kang, T.H., Ha, S.K., Oh, M.S., Kim, S.M., Yoon, T.J., Kang, C., Park, J.H. and Kim, S.Y. (2009) Inhibitory effects of arbutin on melanin biosynthesis of alpha-melanocyte stimulating hormone-induced hyperpigmentation in cultured brownish guinea pig skin tissues. *Arch. Pharm. Res.* 32(3), 367-373.
- Lintner, K., Mas-Chamberlin, C., Mondon, P., Peschard, O. and Lamy, L. (2009) Cosmeceuticals and active ingredients. *Clin. Dermatol.* 27(5), 461-468.
- Nguyen, T.T., Cho, S.O., Ban, J.Y., Kim, J.Y., Ju, H.S., Koh, S.B., Song, K.S. and Seong, Y.H. (2008) Neuroprotective effect of *Sanguisorbae radix* against oxidative stress-induced brain damage: *in vitro* and *in vivo*. *Biol. Pharm. Bull.* 31(11), 2028-2035.
- Park, K.H., Koh, D., Kim, K., Park, J. and Lim, Y. (2004a) Antiallergic activity of a disaccharide isolated from *Sanguisorba officinalis*. *Phytother. Res.* 18(8), 658-662.
- Park, S.Y., Lee, K.J. and Yi, T.H. (2009) Effect of *Buddleja officinalis* MAXIM, on melanin biosynthesis and anti-oxidative activity. *J. Beau. Tricho.* 5(1), 1-7.
- Park, S.G., Kim, S.N., Lee, J.C., Kim, H.S., Kim, Y.J., Lee, B.G. and Jang, I.S. (2004b) Anti-aging effect on skin with Jaeum-Dan (JED). *Kor. J. Herbolology* 19(1), 67-76.
- Qui, F., Komatsu, K.I., Satio, K.I., Kawasaki, X. and Yao, Y. (1996) Kano Pharmacological properties of traditional medicine. XII. Pharmacokinetic study of mulberroside A and its metabolites

- in rat, *Biol. Pharm. Bull.* 19(11), 1463.
- Tsuboi, T., Kondoh, H., Hiratsuka, J. and Mishima, Y. (1998) Enhanced melanogenesis induced by tyrosinase gene-transfer increases boron-uptake and killing effect of boron neutron capture therapy for amelanotic melanoma. *Pigment Cell Res.* 11(5), 275-282.
- Zhang, Y., Song, S., Song, D., Liang, H. and Wang, W. and Ji, A. (2010) Proliferative effects on neural stem/progenitor cells of a sulfated polysaccharide purified from the sea cucumber *Stichopus japonicus*. *J. Biosci. Bioeng.* 109(1), 67-72.