

## 산삼부정근 추출물의 효능·효과에 관한 연구

유영근<sup>†</sup>·정민석·이윤희·최종완·김중희·백기엽\*

한국화장품(주) 기술개발연구소, \*충북대학교 첨단원예기술개발연구센터

### A Study on the Effect of Mountain Ginseng Adventitious Roots Extract

Yung-Geun Yoo<sup>†</sup>, Min-Seok Joung, Youn-Hee Lee, Jong-Wan Choi, Joong-Hoi Kim, and Kee-Yoep Paek\*

R&D Center, Hankook Cosmetics Co., Ltd., 36-1, Samjeong-dong, Ojong-gu Bucheon-si, Gyeonggi-do 421-808, Korea

\*Chungbuk National University

**요약:** 본 연구는 식물조직배양 기술을 이용하여 대량으로 배양된 산삼부정근의 추출물에 대한 화장품 원료로서의 응용 가능성을 검토하였다. 본 실험에서 사용된 산삼부정근은 강원도 평창에서 채취한 110년생 천종산삼으로부터 유래된 캘러스에서 부정근을 유도한 후 절취하여 생물 배양기에서 액체 현탁액으로 대량 배양시켰다. 약 5주간의 배양기간을 거쳐 증식된 산삼부정근을 세척하고 건조시킨 후 추출하여 산삼부정근 추출물을 얻었다. 조직 배양된 산삼 부정근 추출물의 *in vivo*에서의 미백 효과를 검증하기 위하여 조직배양된 산삼부정근 추출물을 함유한 제형을 이용한 미백 임상실험을 실시하였다. 그 결과 산삼부정근 추출물을 함유한 제형에서 두드러진 미백효과를 보여주었으며 통계적으로도 유의차( $p < 0.0001$ )를 보여주었다. 그러나 산삼의 주요 성분인 일부 saponin에 대한 tyrosinase 억제 실험 및 B-16 melanoma를 이용한 미백 실험을 실시한 결과 미백효과가 10% 이하로 낮게 나왔으며 인삼 및 홍삼 추출물의 경우에서도 산삼부정근 추출물과 같은 농도에서는 거의 미백 효과가 관찰되지 않았다. 또한 항산화 효과를 알아보기 위한 DPPH 실험에서는 산삼부정근 추출물이 0.05% 농도에서 85% hydroxyl radical 소거능을 보여주었다.

**Abstract:** This study reviewed the application of an extract from mountain ginseng adventitious roots which had been grown through tissue culture as a cosmetic ingredient. The mountain ginseng adventitious roots were derived from mountain ginseng callus that was induced from mountain ginseng root whose origin is estimated to date back about one hundred years ago. The adventitious roots were separated from callus and grown in a 20 L bioreactor. In order to proliferate the adventitious roots, they were cultured for 5 weeks in bioreactor. Then the harvested mountain ginseng adventitious roots were dried and extracted. For verifying skin whitening effect of an extract from the tissue-cultured mountain ginseng adventitious roots *in vivo*, we performed the clinical test of it. The research showed the significant skin whitening effect of a mountain ginseng adventitious roots extract and the statistical analysis showed a significant difference ( $p < 0.0001$ ) between sample (2% mountain ginseng adventitious roots extract) and placebo. But, some saponins showed below 10% inhibitory effect of tyrosinase and melanin synthesis in B-16 melanoma. The extracts of red ginseng and ginseng which were the same concentration as the tissue-cultured mountain ginseng adventitious roots extract's showed little inhibitory effect of tyrosinase and melanin synthesis in B-16 melanoma. In DPPH test, Anti-hydroxyl radical activity of 0.5% the tissue-cultured mountain ginseng adventitious roots extract was 86%.

**Keywords:** mountain ginseng adventitious roots, tissue culture, skin whitening effect, saponins, anti-hydroxyl radical activity

## 1. 서 론

사람의 피부색은 피부색을 결정하는 여러 요소 중 일반적으로 melanin에 의해 가장 큰 영향을 받는데, 이러한 melanin은 피부 기저층에 존재하는 melanocyte에 의해 만

들어져 각질 세포로 전이된다[1,2]. Melanocyte는 여러 가지 신호 전달물질이나 호르몬의 수용체를 가지고 있어 자외선 등의 외부조건이나  $\alpha$ -MSH 등의 호르몬, endothelin과 같은 cytokine 등의 여러 가지 인자에 영향을 받아 tyrosinase, TRP-1, TRP-2 등의 효소에 의해 melanin을 형성한다[3,4]. 이렇게 여러 경로로 형성된 melanin은 인종간의 피부색을 결정지을 뿐만 아니라 기미와 주근깨

<sup>†</sup> 주 저자 (e-mail: hancos@chol.com)

를 형성한다[5,6].

Pigmentation에 영향을 주는 인자는 mouse 실험으로 수없이 많이 보고되었으며 이것은 최근 tyrosinase와 관련된 proteins family[7,8]가 알려지면서 빠르게 발전하였다. 이 melanin은 hydroxylation과 oxidation 두 가지 과정[9]을 거쳐 생성되는 것으로 eumelanin pigment는 black을 나타내며 indoles에서 dopaquinone의 산화로 합성되며 pheomelanin은 cysteinyl-dopa의 산화로부터 생성되어 brown [10,11]을 나타내는데 tyrosinase는 이러한 과정에 관여하는 효소이다.

대표적인 미백성분으로 ascorbic acid, kojic acid, arbutin, hydroquinone, 유용성 감초산 추출물(licorice extract)이 있으며 이외에도 각종 식물 추출물[12] 등이 사용되고 있다.

그밖에 천연물 특히 식물 중에서 미백 활성 성분을 찾기 위한 연구가 계속 이루어져 왔고, 그 중 상백피, 감초, 작약, 계피, 고삼, 갈근, 당귀, 목단피, 반하, 알로에 등 다수의 식물 추출물[13,14] 및 생약제 추출물 등이 tyrosinase 억제 활성이 있다는 사실은 밝혀졌으나, 이들 역시 안전성, 변색 가능성 등의 측면에서 화장품이나 의약품에 유효농도 이상으로 사용하는 데는 많은 문제점을 갖고 있으며, 미백에 있어 그 효과가 명백하지 않다는 한계가 있었다.

따라서, 피부에 대한 자극이 거의 없으면서 미백 효과가 우수한 천연 원료에 대한 연구가 지속되어 왔다. 이에 본 연구는 종래의 미백 원료들이 가지고 있는 문제점을 해결하고 보다 미백 효과가 뛰어난 원료를 찾기 위하여 식물 조직배양으로부터 얻어진 산삼부정근을 그 대상으로 삼았다.

일반적으로 산삼을 식물학적으로 분류하자면 오가피과, 현화식물, 피자식물에 속하여 기원은 거의 일억년 전으로 추정되고 있다. 산삼은 그 자생조건이 매우 까다롭고 환경조건에 많은 영향을 받기 때문에 환경조건이 적절하지 않은 장소에서는 땅속에 묻힌 채로 오랜 세월을 보내다가 시간이 지나 그 씨앗의 발아조건이 조성되면 비로소 그 싹을 틔운다. 이와 같은 산삼에 대한 희귀성 때문에 고서를 토대로 한 효능과 약간의 형태학적 자료들만이 있을 뿐이다.

삼의 종류는 많이 있지만 천연산삼은 그 모양새나 약효에 있어서 다른 삼과는 전혀 다른 특징과 약효를 지니고 있다. 또한 타 식물이 전혀 가지고 있지 않은 saponin 등 생리활성 물질을 다량함유하고 있어서 면역기능 항진, 암세포 성장억제, 항당뇨작용, 심장강화 및 혈압조절, 간기능 강화, 위장기능 강화, 강장효과, 뇌기능 강화, 노화억제, 허약체질 개선 등의 약리적인 효능이 매우 뛰어나 오랫동안 동양의 신비한 영약으로 알려져 왔다. 그러나 산

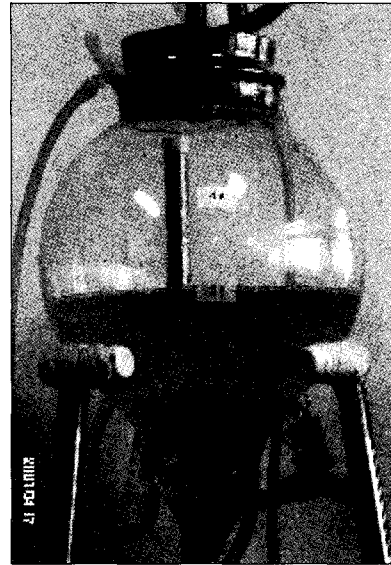


Figure 1. Mountain *Panax Ginseng* C.A. Meyer adventitious roots culture.

삼자체를 실험재료로 그 효능을 연구하는 것이 현실적으로 불가능하다. 식물 뿌리의 경우 발생학적으로 뿌리 이외의 기관인 줄기나 잎에서 생긴 뿌리와 오래된 뿌리에서 나온 뿌리를 부정근이라 하며 정상적인 발생과정에서 생성된 곁뿌리를 정근이라 한다. 최근에 조직 배양을 이용한 산삼부정근의 생산이 가능해짐에 따라 본 연구는 천연산삼의 부정근을 인공적으로 조직 배양하여 얻은 산삼부정근 추출물에 대한 화장품 원료로서의 효능·효과를 살펴보고자 한다.

## 2. 실험재료 및 방법

### 2.1. 조직배양 및 추출

#### 2.1.1. 산삼부정근 배양

110년산 천중산삼(강원도 평창에서 채취)의 식물체로부터 유래된 캘러스에서 유도한 부정근을 발근에 적합한 성장 호르몬 IBA (Indole-3-butyric acid) 5.0 mg/L (Duchefa), 5% sucrose가 함유한 Murashige & Skoog medium (Duchefa)에서 현탁 배양하였다(Figure 1).

#### 2.1.2. 산삼부정근 추출

건조시킨 조직배양된 산삼부정근 1 kg에 70% 에탄올 30 kg 및 1,3-butylene glycol 3 kg을 넣어 혼합한다. 그 다음 충분히 숙성시킨 후 여과지(Toyoroshi Kaicha, Ltd. 5°C, 185 mm)로 여과시킨다. 60 mmHg, 55°C~60°C에서 에탄올을 제거하여 농축시킨 다음 다시 한번 여과시켜 추출물을 얻는다.

2.2. 미백효과

2.2.1. B-16 Melanoma 내의 멜라닌 생성 억제 실험

조직배양된 산삼부정근 추출물에 대하여 B-16 melanoma를 이용하여 미백효과를 측정하였다. Black mouse 에서 유래된 B-16 melanoma를 10% FBS (Gibco)가 함유된 DMEM (Gibco)으로 6 well에 세포 수  $2 \times 10^4$  cells/well의 농도로 각 well에 2 mL씩 첨가하고 5% CO<sub>2</sub>, 37 °C 조건 하에서 24 h 배양하였다. 배양 후 배지를 제거하고 10% FBS, 0.2 mM  $\alpha$ -MSH (Sigma)와 2 mM theophylline (Sigma)이 함유된 DMEM으로 교체한 후 조직배양한 산삼부정근 추출물을 동일 배지로 적당량 희석한 후 각각 첨가하고 나서, 5% CO<sub>2</sub>, 37°C 조건 하에서 세포가 약 90% 이상 될 때까지 배양하였다. 배양 후 배지를 제거한 다음 PBS로 세척하고 trypsin으로 처리하여 세포 pellet을 회수하였다. 회수된 pellet을 1.5 mL eppendorf tube로 옮겨 5,000 rpm으로 10 min간 원심분리한 후 상등액을 제거하였다. 상등액이 제거된 pellet을 60°C 항온기에서 24 h 건조시킨 후 1 N NaOH를 첨가하여 세포 내의 melanin을 용해시켰다. 용해된 melanin을 PBS로 적당량 희석하여 ELISA reader로 475 nm에서 흡광도를 측정하여 melanin 저해율을 측정하였다. 그리고 video microscope를 이용하여 사진촬영 후 미백 활성을 육안으로 확인하였다(Figure 2)[15].

2.2.2. 타이로시나제 억제 활성

Test tube에 0.1 M phosphate buffer (pH 6.5) 2.2 mL 와 1.5 mM tyrosine solution 400  $\mu$ L 첨가한 후 농도별로 희석한 산삼부정근 추출물을 200  $\mu$ L 넣는다. 여기에 2,000 U/mL mushroom tyrosinase 200  $\mu$ L을 첨가한다. ELISA reader를 이용하여 25°C에서 enzyme kinetic과 흡광도를 475 nm에서 측정하였다[16](kinetic의 run time은 20 min, 간격은 40 sec).

$$\text{Inhibition(\%)} = \{(A-B)/A\} \times 100$$

A: Absorbance at 475 nm without test samples after incubation

B: Absorbance at 475 nm with test samples after incubation

2.3. 미백의 임상평가

2.3.1. 시료도포방법 및 최소홍반량측정

피시험자 20~40대 여성 29명을 대상으로 placebo와 sample (2% 산삼부정근추출물 함유)를 8주 동안 1일 2회

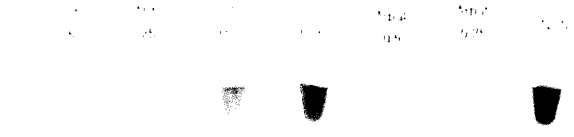


Figure 2. The melanin contents assay.

Table 1. Grade of Visual Assessment

Bright & Clear			←	→	Dark & Dull				
0	1	2	3	4	5	6	7	8	9

도포하도록 하였다. 피시험자의 등 부위에 UVB를 조사하고 16~24 h 후에 최소홍반량(minimal erythema dose: MED)을 구하였다[17,18].

2.3.2. 연구자에 의한 육안평가(Visual Assessment)

2명의 시험자가 주관적으로 모든 피시험자들을 4주, 8주 후의 피부의 흑화도를 관찰하였으며 시료도포 전과 비교하여 9개 등급으로 나누어 점수를 기록하였다.

2.3.3. Mexameter를 이용한 기기 평가

시험자가 Mexameter (Courage+Khazaka Electronic GmbH, Germany)를 이용하여 시료도포 전과 도포 후의 흑화도 변화정도를 측정하였다. 시료도포 부위에 3회 반복측정하여 그 평균값을 구하고 비교하였다[19,20].

2.3.4. 통계분석 방법

각 시료간의 미백효과의 차이를 확인하기 위하여 SAS system으로 mixed procedure를 시행하였고 시간을 고려한 미백효과의 전체적인 차이에 대한 유의성을 확인하기 위해 repeated measure ANOVA를 시행하였다. 그리고 각 측정시기마다 대조군과 처리군 사이의 미백효과 차이를 확인하기 위하여 unpaired t-test를 시행하였다.

2.4. DPPH Radical 소거효과

DPPH (diphenyl-picryl-hydrazyl, sigma)를 methanol에 녹인다. 이 때 methanol이 원액인 경우 증발될 가능성이 있으므로 증류수와 6:4의 비율로 stock solution을 만들어 녹인다. 이렇게 녹인 DPPH solution을 513 nm에서 흡광도가 0.6 정도 되게 맞춘다. DPPH solution 2 mL를 농도에 따라 희석한 시료 1 mL에 각각 첨가하여 혼합한다. 상온에서 약 1 h 동안 방치한 뒤 513 nm에서 흡광도를 측정한다[21].

**Table 2.** Inhibitory Activity of Melanin Synthesis in B-16 Melanoma for Mountain Ginseng Adventitious Roots Extract, Ginseng Extract and Red Ginseng Extract

Sample	Treated Conc. (%)	Inhibition of melanin synthesis (%)
Mountain ginseng adventitious roots ext.	0.5	91
Concentrated Mountain ginseng adventitious roots ext.	0.05	93
Ginseng ext.	0.5	13
Concentrated ginseng ext.	0.05	17
Concentrated red ginseng ext.	0.05	25
Arbutin	0.5	78

Conc.: Concentration, Ext.: Extract

**Table 3.** Inhibitory Activity of Melanin Synthesis in B-16 Melanoma for Ginsenoside Rb1, Ginsenoside Rg1 and Ginsenoside Rd

Sample	Treated Conc. (%)	Inhibition of melanin synthesis (%)
Ginsenoside Rb1	0.02	6
Ginsenoside Rg1	0.02	5
Ginsenoside Rd	0.02	7

### 3. 결 과

#### 3.1. 미백효과

##### 3.1.1. B-16 Melanoma 내의 멜라닌 생성 억제율

이전 실험 결과에서 산삼부정근 추출물 및 인삼 추출물을 이용하여 B-16 melanoma 내의 melanin 생성 억제율을 측정된 결과는 산삼부정근 추출액 0.5% 농도에서 91%의 melanin 생성 억제율을 나타냈으며 이는 arbutin의 0.5% 농도에서 보다 높은 수치이다. 0.5% 인삼 추출물의 경우에는 13%의 낮은 억제율을 보여주었으며 인삼 및 홍삼을 농축한 경우에도 각각 17% 및 25%으로 산삼부정근 추출물 및 농축액과는 현저한 차이를 보여주었다(Table 2) [22,23]. 그리고 산삼, 인삼, 장뇌삼의 saponin 3종을 0.02% 농도로 처리한 후 B-16 melanoma 내의 melanin 생성 억제율을 측정된 결과 melanin 생성 억제효과를 보여주지 못하였다(Table 3).

##### 3.1.2. 타이로시나제 활성 억제

Table 4에서 보는 바와 같이 산삼부정근 추출물은 인삼 추출물과 비교해 높은 tyrosinase inhibition 효과를 나타내었다. 산삼부정근 농축액은 1% 농도에서 45%의

**Table 4.** Inhibition of Tyrosinase for Mountain Ginseng Adventitious Roots Extract, Ginseng Extract and Red Ginseng Extract

Sample	Treated Conc. (%)	Inhibition of tyrosinase (%)
Mountain ginseng adventitious roots ext.	1	35
Concentrated Mountain ginseng adventitious roots ext.	1	45
Ginseng ext.	1	5
Concentrated ginseng ext.	1	7
Concentrated red ginseng ext.	1	12

**Table 5.** Inhibition of Tyrosinase for Ginsenoside Rb1, Ginsenoside Rg1, Ginsenoside Rd, Ginsenoside Re and Ginsenoside Rc

Sample	Treated Conc. (%)	Inhibition of tyrosinase (%)
Ginsenoside Rb1	0.5	5
Ginsenoside Rg1	0.5	6
Ginsenoside Rd	0.5	6
Ginsenoside Re	0.5	4
Ginsenoside Rc	0.5	5

tyrosinase 억제효과를 보였다. 반면에 인삼 추출물 및 농축액은 각각 5% 및 7%로 매우 낮은 억제 효과를 보여주었다. 홍삼 농축액의 경우에도 산삼부정근 추출물 및 농축액보다 상대적으로 매우 낮은 억제효과를 보여주었다. 산삼, 인삼, 장뇌삼의 saponin 5종을 0.5% 농도로 처리한 결과 6% 이하의 낮은 억제효과를 보여주었다(Table 5).

#### 3.2. 미백의 임상평가

##### 3.2.1. 육안 평가

2명의 시험자가 주관적으로 모든 피시험자들을 4주, 8주 후의 피부의 흑화도를 관찰한 값은 placebo 및 sample (2% 산삼부정근추출물 함유) 모두 사용 전에 비하여 4주, 8주째 통계학적으로 유의있는 차이를 보이고 있으며 두 제품 간의 4주, 8주 후의 미백효과 차이를 비교했을 때 sample이 placebo에 비하여 미백효과가 더 좋은 것으로 나타났다. 또한 통계학적으로도 유의있는 차이를 보여주었다(Table 6).

##### 3.2.2. Mexameter를 이용한 기기 평가

Placebo 및 sample 모두 각각 도포 전에 비교하여 4주, 8주 후 미백효과가 통계학적으로 유의있는 차이를 보여

**Table 6.** Evaluation of Pigmentation by Visual Assessment for Placebo and Sample (2% Mountain Ginseng Adventitious Roots Extract)

Period	Treatment	Visual assessment	p-value	Comparison between groups	Ref.
After 4 weeks	Placebo	5.8(△-3.2)	< 0.0001	p = 0.0004	0 week: 9 (n = 29)
	Sample	4.6(△-5.3)	< 0.0001		
After 8 weeks	Placebo	2.6(△-6.4)	< 0.0001	p = 0.0005	
	Sample	1.2(△-8.8)	< 0.0001		

Ref.: Reference

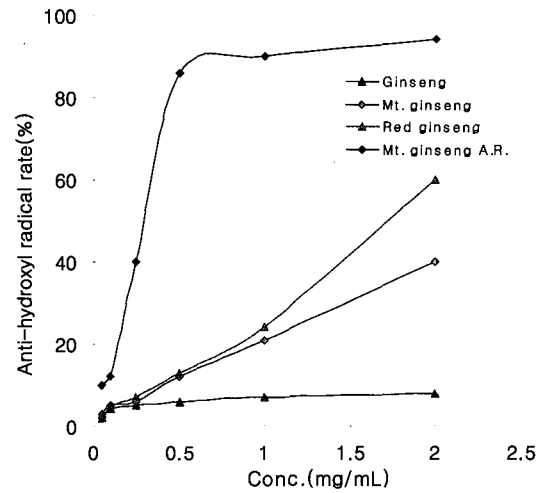
주었다. Placebo와 sample의 시료 도포 4주와 8주 후 미백효과의 차이를 비교했을 때 sample이 placebo에 비하여 미백효과가 더욱 좋은 것으로 나타났으며 이는 통계학적으로 유의있는 차이를 보였다. 이러한 통계 수치는 시료 도포 4주 이후 시간이 지날수록 placebo와 비교하였을 때 더욱 큰 차이를 보였으며 sample의 미백 효과가 좋은 것으로 나타났다(Table 7).

**3.3. DPPH (diphenyl-picryl-hydrazyl) 소거효과**

산삼부정근 및 산삼, 인삼, 홍삼 추출물에 대한 hydroxyl radical 억제효과를 알아보기 위하여 DPPH assay를 실시하였다. 산삼부정근 추출물의 경우 0.05%, 0.1% 및 0.2% 농도에서 각각 86%, 90%, 94%의 높은 hydroxyl radical에 대한 활성 억제효과를 보여주었다. 반면에 인삼 추출물의 경우에는 0.2% 농도에서도 8%의 매우 낮은 억제효과를 보여주었으며 산삼의 경우에도 0.05%, 0.1% 및 0.2% 농도에서 각각 12%, 24%, 60%으로 산삼부정근에 비하여 상대적으로 낮은 억제효과를 보여주었으며 홍삼 추출물은 산삼과 유사한 효과를 보여주었다(Figure 3).

**4. 고 찰**

이전의 연구결과에서 산삼부정근 추출물은 미백효과 실험에서 가장 두드러진 효과를 보여 주었다[22]. B-16 melanoma을 이용한 세포 내 melanin 생성 억제를 실험에



**Figure 3.** Free radical scavenging activity against DPPH for mountain ginseng adventitious roots (A.R.) extract, mountain ginseng extract, ginseng extract and red ginseng extract.

서 같은 농도의 다른 인삼 추출물 및 농축액 그리고 홍삼 농축액에 비해서도 현저한 미백효과를 보여주고 있다. 또한 같은 농도의 arbutin보다도 13% 더 높은 melanin 생성 억제 효과를 보여주었다(Table 2). 반면에 산삼, 인삼, 장뇌삼의 saponin 3종에 대한 B-16 melanoma 내의 melanin 생성억제 효과가 7% 이내로 매우 낮게 나타났다(Table 3). 이것은 산삼부정근 추출물의 미백 효과가 saponin 계통에 의한 것이기 보다는 다른 성분에 의해 특히 인삼이나 홍삼 내에는 많이 존재하지 않는 성분에 의한 것임을 암시해 주고 있다.

마찬가지로 tyrosinase inhibition test에서도 같은 농도의 인삼 추출물 및 농축액의 경우 7% 이내로 거의 tyrosinase inhibition 효과가 없는 것으로 나왔으며 홍삼 농축액의 경우에도 12%로 매우 낮은 억제율을 보여준 반면에 산삼부정근 추출물 및 농축액의 경우 35% 및 45%의 억제효과를 보여주고 있다. 또한 B-16 melanoma 내의 melanin 생성억제 실험결과에서와 같이 saponin 5종에서 모두 7% 이내의 매우 낮은 억제효과를 보여주었다. 위에

**Table 7.** Evaluation of Pigmentation by Mexameter for Placebo and Sample

Period	Treatment	Mexameter's assessment	p-value	Comparison between groups	Ref.
After 4 weeks	Placebo	482.17(△-6.78)	< 0.0001	p = 0.0044	Initial value Placebo: 488.95 Sample: 492.6 (n = 29)
	Sample	481.94(△-10.7)	< 0.0001		
After 8 weeks	Placebo	477.52(△-11.43)	< 0.0001	p = 0.0028	
	Sample	474.47(△-18.13)	< 0.0001		

서도 언급했듯이 산삼부정근 추출물의 미백 효과가 saponin 계통에 의한 것이기 보다는 다른 성분에 의해 특히 인삼이나 홍삼 내에는 많이 존재하지 않는 성분에 의한 것임을 다시 한번 보여주는 결과이다.

이전에 실시한 실험과 비교해 보면 산삼부정근 추출물은 tyrosinase inhibition 효과보다 dopa auto-oxidation에서의 억제 효과가 보다 현저하였다[22]. 1% 산삼부정근 추출물 및 농축액의 경우 각각 62% 및 95%의 dopa auto-oxidation 억제효과를 보여주었으나 인삼 추출물 및 농축액의 경우 7% 이내로 dopa auto-oxidation 억제효과가 거의 나타나지 않았다[22,23]. 위의 결과를 토대로 산삼부정근 추출물은 적어도 tyrosinase 뿐만 아니라 melanin을 형성하는 생합성 과정 중 oxidation이나 hydroxylation에 영향을 주는 것을 알 수 있다.

2% 산삼부정근 추출물을 함유한 sample과 산삼부정근 추출물을 함유하지 않은 placebo를 이용한 임상실험 결과에서도 각각의 제품사용 전과 사용 후 4주 및 8주 경과 후 결과치가 통계적으로 유의한 차이를 보여주었으며 두 group간의 차이도 통계적으로 유의한 차이를 보여주었다. Visual assessment (육안평가)에서 4주 경과 후 두 group간의 향상도 차이는 66%로 나왔으며 신뢰도 99.9% 수준에서 통계적 유의차( $p = 0.0004$ )를 보여주었다. 그리고 8주 경과 후에는 38%의 차이가 발생하였으며 신뢰도 99.9% 수준에서 통계적 유의차( $p = 0.0005$ )를 보여주었다(Table 6). 기기평가에서도 4주 경과 후 두 group간의 향상도 차이는 58%로 나왔으며 신뢰도 99% 수준에서 통계적 유의차( $p = 0.0044$ )를 보여주었다. 또한 8주 경과 후에는 59%의 차이가 발생하였으며 신뢰도 99% 수준에서 통계적 유의차( $p = 0.0028$ )를 보여주었다(Table 7). 위의 결과로 산삼부정근 추출물이 임상에서도 현저한 미백효과가 있음을 보여주었다.

산삼부정근 추출물 및 산삼, 인삼, 홍삼 추출물에 대한 hydroxyl radical 억제효과를 알아보기 위하여 DPPH assay를 실시하였다. 산삼부정근 추출물의 경우 0.05%, 0.1% 및 0.2%에서 각각 86%, 90% 및 94%의 높은 hydroxyl radical에 대한 활성 억제효과를 보여주었다. 반면에 인삼의 경우에도 동일한 농도에서 8% 이내로 hydroxyl radical에 대한 활성 억제 효과가 매우 낮았으며 산삼 및 홍삼의 경우에도 25% 이내의 다소 낮은 hydroxyl radical에 대한 활성 억제효과를 보여주었다. 그러나 0.2% 농도의 산삼 및 홍삼의 경우에는 각각 40% 및 60%의 hydroxyl radical에 대한 활성 억제효과를 보여주었으나 상대적으로 산삼부정근 추출물보다는 낮은 hydroxyl radical에 대한 활성 억제효과를 보여주었다(Figure 3). 산삼부정근이 산삼 및 홍삼보다 낮은 농도에서 현저한 효과를 보여주는 것은 산삼부정근이 산삼, 홍삼 및 인삼 내에는 존재하

지 않거나 많이 존재하지 않는 성분을 가지고 있음을 암시해 주고 있다. 위에서 살펴본 미백효과 실험에도 산삼부정근이 인삼 및 홍삼보다 현저한 효과를 보여주었다.

산삼부정근이 산삼, 인삼 및 홍삼에 비하여 효과상에서 현저한 차이를 보여주는 것은 발생학적인 차이에 기인한 것으로 생각된다. 따라서 산삼을 조직배양하여 얻은 산삼부정근은 이와같은 발생학적인 차이로 인하여 성분상 차이를 가질 것으로 생각된다. 이와같은 성분상의 차이가 미백효과 및 항산화 효과의 차이를 유도한 것으로 보인다. 산삼부정근 추출물은 이전의 안전성 실험에서 나타나는 것과 같이 무해 할 뿐만 아니라 기존에 쓰이고 있는 화학물질과는 전혀 다른 천연물질의 추출물로 인체에 유익한 것으로 생각된다[22]. 따라서 화장품 원료로서 피부에 대한 자극이 거의 없으면서 미백 효과가 현저한 천연 원료인 산삼부정근에 대한 연구는 경제적이면서도 종래의 미백 원료들이 가지고 있는 문제점을 해결하여 보다 미백 효과가 뛰어난 원료임을 보여준다.

## 5. 결 론

(1) 산삼부정근 추출물은 미백효과 실험에서 가장 두드러진 효과를 보여주었다.

B-16 melanoma를 이용한 세포 내 melanin 생성 억제 및 tyrosinase inhibition test에서 인삼, 홍삼 추출물 및 농축액보다 현저한 효과를 보여주었다.

(2) 산삼, 인삼, 장뇌삼의 saponin류에 대한 B-16 melanoma 내 melanin 생성억제 효과 및 tyrosinase inhibition 효과가 없는 것으로 나타났다.

(3) 2% 산삼부정근 추출물의 임상실험 결과에서도 4주 및 8주 경과 후 visual assessment (육안평가)에서 4주 경과 후 두 group간의 비교치가 신뢰도 99.9% 수준에서 통계적 유의차( $p = 0.0004$ )를 보여주었으며 8주 경과 후에는 신뢰도 99.9% 통계적 유의차( $p = 0.0005$ )를 보여주었다. 기기평가에서도 4주 경과 후 두 group간의 비교치가 신뢰도 99% 수준에서 통계적 유의차( $p = 0.0044$ )를 보여주었으며 8주 경과 후에는 신뢰도 99% 수준에서 통계적 유의차( $p = 0.0028$ )를 보여주었다.

(4) 산삼부정근 추출물의 DPPH assay 결과, 높은 hydroxyl radical에 대한 활성 억제효과를 확인하였다. 반면에 산삼, 인삼 및 홍삼의 경우 낮은 hydroxyl radical에 대한 활성 억제효과를 보여주었다. 특히 낮은 농도에서 현저한 효과의 차이를 보여주는 것은 산삼부정근이 산삼, 홍삼 및 인삼 내에 존재하지 않는 미지의 성분을 함유하고 있거나 산삼, 홍삼 및 인삼보다 어느 특정성분을 현저하게 많이 함유하고 있음을 암시해 주고 있다.

## 참고문헌

1. C. B. Denton, A. B. Letter, and T. B. Fitzpatrick, Inhibition of melanin formation by chemical agent, *J. Invest. Dermatol.*, **18**, 119 (1952).
2. M. Cooper and Y. Mishima, Substrate limiting melanogenic inhibitor in malignant melanomas, *Nature*, **216**, 189 (1967).
3. Urbach and Frederick, The Biologic effects of ultraviolet radiation emphasis on skin, 1st international conference on skin & cancer, hospital temple university health science, Pergamon, N.Y. (1969).
4. A. Libert, Use of alpha-melanocyte-stimulating-hormone analogue to improve alpha-melanocyte-stimulating-hormone receptor binding assay in human melanoma, *Pigment cell Res.*, **2**, 510 (1989).
5. G. Prota, Melanins and melanogenesis, Academic Press, N.Y. (1992).
6. V. J. Hearing and M. Jimenez, Analysis of pigmentation at the molecular level, *Pigment cell Res.*, **2**, 95 (1989).
7. V. J. Hearing and K. Jsumamoto, Enzymatic control of pigmentation in mammals, *FASEB J.*, **5**, 2902 (1991).
8. H. S. Mason, The chemistry of melanin III. mechanism of the oxidation of dihydroxyphenylalanine and tyrosinase, *J. Biol. Chem.*, **172**, 83 (1948).
9. I. J. Jackson, A cDNA encoding tyrosinase-related protein maps to the brown locus in mouse, *Proc. Nat. Acad. Sci.*, **85**, 4392 (1988).
10. D. Prota, Recent advances in the chemistry of melanogenesis in mammals, *J. Invest. Dermatol.*, **75**, 122 (1980).
11. K. Maeda and M. Fukuda, *In vitro* effectiveness of several whitening cosmetic components in human melanocyte, *J. Soc. Cosmet. Chem.*, **42**, 361 (1991).
12. T. Ikeda and T. Tsutsumi, Function and skin depigment activity of crude drugs, *Fragrance J.*, **6**, 59 (1990).
13. H. S. Mason and E. W. Peterson, Melanoproteins reactions between enzyme-generated quinones and amino acids, *Biochem. Biophys. Acta.*, **111**, 134 (1965).
14. P. R. Gorden, C. P. Mansur, and B. A. Gilchrest, Regulation of human melanocyte growth, dendricity and melanization by keratinocyte derived factors, *J. Invest Dermatol.*, **92**, 565 (1989).
15. Y. Ishihara, M. Oka, M. Tsunakawa, K. Tomita, M. Hatori, H. Yamamoto, H. Kamei, T. Miyaki, and T. Oki, Melanostatin, a new melanin synthesis inhibitor, Production, isolation, chemical properties, structure and biological activity, *J. Antibiotics*, **44**, 25 (1991).
16. S. Nakagawa, P. Pawelek, and F. Grinnell, Long-term culture of fibroblasts in contracted collagen gels: effects on cell growth and biosynthetic activity, *J. Invest. Dermatol.*, **93**, 792 (1989).
17. A. Garcia and J. E. Fulton, The combination of glycolic acid and hydroquinone or kojic acid for the treatment of melasma and related conditions, *Dermatologic Surgery*, **22**(5), 443 (1996).
18. C. Cotellessa, K. Peris, M. T. Onorati, M. C. Fargnoli, and S. Chimenti, The use of chemical peelings in the treatment of different cutaneous hyperpigmentations, *Dermatol. Surg.*, **25**(6), 450 (1999).
19. 김상태, 서기석, 채영수, 엄상철, Arbutin, glycolic acid, kojic acid 및 pentadecenoic acid가 *in vitro* 및 *in vivo*에서 UVB 조사에 의한 색소형성에 미치는 영향, *대한 피부과학 회지*, **32**(6), 29 (1994).
20. J. H. Ha, N. S. Jo, H. K. Kim, B. G. Lee, and W. J. Park, The depigmentation effect of a new material extracted from paper Mulberry and its comparison by three colorimetric instruments, *J. Soc. Cosmet. Scientists Korea*, **22**(2), 9 (1996).
21. T. P. Krishnakantha and B. R. Lokesh, Scavenging of superoxide anions by spice principles, *J. Biol. Chem.*, **30**, 133 (1993).
22. M. H. Sin, 산삼의 배양 및 그 응용에 관한 연구, *J. Soc. Cosmet. Scientists Korea*, **27**(2), 45 (2001).
23. E. J. Jung, J. W. Choi, J. H. Kim, and K. Y. Paek, The study on tissue cultured wild mountain ginseng (*Panax Ginseng* C. A. Meyer) adventitious roots extract as cosmetic ingredient, *IFSCC, Proceeding Book Part I*, 611 (2003).