

## 쇠뜨기 추출물의 성분 분석과 엘라스타제 활성 저해 효과 연구(II)

양희정·박수남<sup>†</sup>

서울산업대학교 정밀화학과  
(2007년 6월 25일 접수, 2007년 7월 13일 채택)

### Component Analysis and Study on Anti-elastase Activity of *Equisetum arvense* Extracts (II)

Hee Jung Yang and Soo Nam Park<sup>†</sup>

Department of Fine Chemistry, College of Nature and Life Science, Seoul National University of Technology, 172,  
Gongneung 2-dong, Nowon-gu, Seoul 139-743, Korea

(Received June 25, 2007; Accepted July 13, 2007)

**요약** 선구 연구로부터 저자들은 쇠뜨기 추출물의 항산화 작용에 대한 결과를 이미 보고하였으며, 본 연구에서는 이들의 성분 분석과 elastase 저해활성에 관한 조사를 수행하였다. 쇠뜨기 추출물 중 ethylacetate 분획의 당 제거 반응 후 얻어진 aglycone 분획은 TLC 및 HPLC 실험에서 각각 4개의 띠와 피이크로 분리되었으며, 분리된 4가지 성분은 luteolin, quercetin, apigenin 및 kaempferol이었다. 그리고, 그들의 성분비는 각각 19.12 %, 12.87 %, 15.81 %, 52.20 %로 kaempferol의 함량이 가장 큰 것으로 나타났다. 쇠뜨기 추출물의 ethylacetate 분획의 TLC 크로마토그램은 7개의 띠로 분리되었고, HPLC 크로마토그램은 8개의 피이크를 보여주었다. TLC와 HPLC의 띠와 피이크를 확인한 결과, HPLC의 8개의 피이크는 용리순서로 kaempferol-3,7-O-diglucoside (조성비, 15.74 %), luteolin-5-O-glucoside (galuteolin, 11.91), apigenin-5-O-glucoside (12.91), kaempferol-3-O-glucoside (astragalol, 27.94), quercetin-glycoside (10.81, 구조 미확인), kaempferol-glycoside (12.33, 구조 미확인), luteolin (3.72) 및 apigenin (4.62)으로 확인되었다. Aglycone 분획은 elastase 저해활성(IC<sub>50</sub>)이 9.8 µg/mL로 매우 큰 활성을 나타내었다. 이에 비해 ethylacetate 분획(플라보노이드 배당체)은 elastase 저해 활성이 거의 없었다. 이상의 결과들은 이미 보고된 쇠뜨기 추출물의 항산화 작용과 더불어 쇠뜨기 성분에 대한 분석과 ethylacetate 분획의 당 제거 실험 후 얻어진 aglycone 분획의 큰 elastase 저해활성으로부터 주름개선 기능성 화장품원료로서 응용 가능성이 있음을 시사한다.

**Abstract:** In the previous study, we reported the antioxidative activity of *Equisetum arvense* extracts. In this study, its inhibitory effect on elastase and components were investigated. Aglycone fractions obtained from the deglycosylation reaction of ethylacetate fraction among the *Equisetum arvense* extracts, showed 4 bands and 4 peaks in TLC and HPLC experiments, respectively. Four components were identified as luteolin (composition ratio, 19.12 %), quercetin (12.87), apigenin (15.81) and kaempferol (52.20). TLC chromatogram of ethylacetate fraction of *Equisetum arvense* extract revealed 7 bands and HPLC chromatogram showed 8 peaks, which were identified as kaempferol-3,7-O-diglucoside (composition ratio, 15.74 %), luteolin-5-O-glucoside (galuteolin, 11.91), apigenin-5-O-glucoside (12.91), kaempferol-3-O-glucoside (astragalol, 27.94), quercetin-glycoside (10.81, structure was not determined), kaempferol-glycoside (12.33, structure was not determined), luteolin (3.72) and apigenin (4.62) in the order of elution time. The inhibitory effect of aglycone fraction on elastase (IC<sub>50</sub>, 9.8 µg/mL) was very high. But ethylacetate fraction (flavonoid glycosides) rarely exhibited the inhibitory activity on elastase. Combined with the previous results of the antioxidative activity of *Equisetum arvense* extracts, it is concluded that the inhibitory activity on elastase of the aglycone fraction could be applicable to new functional cosmetics for smoothing wrinkles.

**Keywords:** *Equisetum arvense*, flavonoids, elastase, antioxidative activity, cosmetics

<sup>†</sup> 주 저자 (e-mail: snpark@snut.ac.kr)

## 1. 서 론

쇠뜨기(*Equisetum arvense*)는 양치식물, 속새과(equisetaceae)에 속하는 다년생 초본 식물로서 북반구의 온대지방을 중심으로 널리 분포하고 있으며[1], 우리나라에 자생하는 쇠뜨기는 7종이 알려져 있다[2]. 가을에 캐서 그늘에 말린 것을 한방에서는 문형이라 하며, 이뇨제나 지혈제로 사용되어 왔다. 쇠뜨기는 유럽, 아시아 및 아메리카에서는 피부 항염제로, 터키나 미국에서는 항균제로 이용되었다는 보고가 있다[3-5]. 본 논문에서 앞서 저자들은 쇠뜨기 추출물의 항산화작용에 대하여 이미 보고한 바 있다[6]. 보고된 논문에서 쇠뜨기 추출물의 free radical (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl, DPPH) 소거활성(FSC<sub>50</sub>)은 50 % 에탄올 추출물(182.04  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) < ethylacetate 분획(54.50) < 당을 제거시킨 aglycone 분획(14.13) 순으로 증가함을 알았다. Luminol-의존성 화학발광법을 이용한 Fe<sup>3+</sup>-EDTA/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 계에서 생성된 활성산소종(reactive oxygen species, ROS)에 대한 총항산화능은 aglycone 분획(OSC<sub>50</sub>, 3.54  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) < 50 % 에탄올 추출물(0.80) < ethylacetate 분획(0.006) 순으로 ethylacetate 분획에서 가장 큰 활성이 나타났다. 광증감제인 rose-bengal에 의해 생성된 <sup>1</sup>O<sub>2</sub>으로 유도된 사람 적혈구의 파괴에 대한 보호 효과를 조사하였을 때 ethylacetate 분획의 당 제거반응 후 생성된 aglycone 분획은 10  $\mu\text{g}/\text{mL}$  농도에서  $\tau_{50}$ 이 161.10 min으로 활성산소에 대하여 매우 큰 세포보호 활성을 나타냄을 알았다[6]. 이상 3가지 항산화 실험에서 쇠뜨기 추출물 중 ethylacetate 분획과 aglycone 분획의 항산화 활성이 커서 생체계, 특히 태양 자외선에 노출된 피부에서 항산화제로서 작용할 수 있을 것으로 판단하였다. 더욱이 쇠뜨기 추출물 중 ethylacetate 분획 혹은 aglycone 분획을 이용한 기능성화장품 소재개발이나 화장품에 응용한 예가 없었다. 한편 쇠뜨기의 aglycone 분획에도 들어 있는 플라보노이드인 kaempferol 및 quercetin은 사람 표피 세포주에서 hyaluronan synthase mRNA를 발현시켜 농도 의존적으로 hyaluronan (HA) 합성을 증가시킨다는 보고도 있다[7]. 일반적으로 HA의 양은 노화(또는 광노화)와 함께 감소되며, 피부 탄력저하 및 주름생성과 밀접한 관계가 있는 것으로 보고되고 있다[8-10]. 따라서 쇠뜨기 추출물을 대상으로 주름개선 작용이 있는 항노화 기능성 소재로서 가능성이 있는지 알아보기 위한 체계적인 연구가 필요하다고 생각된다.

본 연구에서는 국내 재생 쇠뜨기 추출물 중 ethylacetate 분획 또는 aglycone 분획을 기능성화장품 소재로서 가능성이 있는지 알아보기 위해 TLC 및 HPLC를 이용한 성분 분석과 elastase 저해 활성을 측정하였다.

## 2. 재료 및 방법

### 2.1. 기기 및 시약

UV-visible spectrophotometer는 Varian (Australia)사의 Cary 50, HPLC는 Dionex (Germany)사, pH meter는 Istek (Korea)사 제품을 사용하였다.

기질로 사용된 *N*-succinyl-(Ala)<sub>3</sub>-*p*-nitroanilide, 효소로 사용된 elastase (0.35 mg protein/mL, 7.8 units/mg protein)는 Sigma Chemical Co. (USA)에서 구입하여 사용하였다. 기타 trizma base, HCl, 에탄올(EtOH), 메탄올(MeOH), 에틸아세테이트(EtOAc) 등 각종 용매는 시판 특급 시약을 사용하였다. 플라보노이드의 분석에 사용한 thin layer chromatography (TLC)는 aluminum sheet silica gel 60 F<sub>254</sub> (0.2 mm)로 Merck (USA)사에서 구입하였다. 플라보노이드 비교물질로 사용한 apigenin, kaempferol, luteolin, quercetin 그리고 발색시약으로 사용한 2-aminoethyl-diphenylborinate (NP)와 polyethylene glycol (PEG)은 Sigma (USA)사에서 구입하였다.

실험에 사용한 쇠뜨기는 2006년 6월경 청계산에서 채취한 것을 건조시켜 사용하였다.

### 2.2. 쇠뜨기의 플라보노이드 분획 추출

건조된 쇠뜨기 200 g을 잘게 자른 후 50 % 에탄올 4 L에 일주일 동안 침적시킨 후 여과하고, 이 여액을 감압 농축한 후, 그 일부는 물과 hexane을 이용하여 비극성 성분을 제거하고 이어 ethylacetate로 추출하여 감압 농축한 후 플라보노이드 분말을 에탄올에 용해하여 실험에 사용하였다.

Ethylacetate 분획으로부터 aglycone 제조: ethylacetate 분획에서 얻은 파우더 일부는 산 가수분해 반응을 이용하여 당을 제거시킨 후 플라보노이드 aglycone 분말을 만들고 이를 실험에 사용하였다. 실험 방법은 ethylacetate 분획 일정량에 H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 및 acetone 용액을 넣고, 4 h 동안 중탕 가열하면서 환류·냉각시켰다. 환류시킨 용액을 5 % KOH-MeOH 용액으로 중화하였다. 중화 후 다시 ethylacetate 분획을 얻어 이를 감압·농축하여 당이 제거된 aglycone 분말을 실험에 사용하였다.

### 2.3. TLC 및 HPLC를 이용한 쇠뜨기 추출물의 플라보노이드 분석

쇠뜨기 추출물 중 ethylacetate 분획과 aglycone 분획을 100 % 에탄올에 녹인 후, syringe filter (Millopore 0.45  $\mu\text{m}$ )를 이용하여 여과하고 이 여액을 TLC 및 HPLC 분석을 위한 시료로 이용하였다.

TLC 분석에서 전개용매는 ethylacetate 분획의 경우 ethylacetate : acetic acid : formic acid : water = 100 :

**Table 1.** HPLC Conditions for Separation of Ethylacetate and Deglycosylated Fraction from *Equisetum arvense* (EQ) Extract

Column	Luna 5 $\mu$ C18 (L; 250 nm, LD; 4.6 mm)
Detector	UVD 170 s DIONEX
Flow rate	1.0 mL/min
Mobile phase	2 % acetic acid : 0.5 % acetic acid in H <sub>2</sub> O in 50 % acetonitrile solution
	(70 : 30 ~ 10 : 90, Gradient) for ethylacetate fraction
	(50 : 50 ~ 0 : 100, Gradient) for aglycone fraction (deglycosylated)

11 : 11 : 10 (v/v)을 aglycone 분획은 n-hexane : ethylacetate : acetic acid = 21 : 14 : 5 (v/v)를 사용하였다. 성분 확인은 이미 보고된 분광학적 자료, 플라보노이드 표준물질의 R<sub>f</sub>치와 자외선, 황산 또는 NP/PEG 발색을 이용한 분리된 띠의 색상 등으로 확인하였다.

HPLC 분석은 2 % acetic acid 수용액과 0.5 % acetic acid를 함유한 50 % acetonitrile 수용액을 기울기 용리법으로 분리하였고, 이때 HPLC 분리조건은 Table 1에 나타내었다. 또한 쇠뜨기 추출물의 성분 분석을 위하여 TLC로 분리된 각각의 띠를 긁은 후 50 % 에탄올에 추출, 여과한 뒤 감압 농축하여 파우더를 얻었다. 이 때 얻어진 파우더 중 일부는 100 % 에탄올에 녹인 후, syringe filter (Millopore 0.45  $\mu$ m)를 이용하여 여과하고 그 여액을 HPLC 분석에, 나머지는 당 제거반응으로 aglycone을 제조하는데 사용하였다. 제조된 aglycone 분말은 100 % 에탄올에 녹이고, syringe filter (Millopore 0.45  $\mu$ m)로 여과한 후 HPLC 분석에 사용하였다.

**2.4. Elastase 저해활성 측정**

피부노화, 특히 주름생성에는 활성산소에 의한 작용과 matrix metalloproteinases (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)<sub>3</sub>-p-nitroanilide 1.0 mM이 용해된 buffer 1,300  $\mu$ L에 측정시료용액 100  $\mu$ L를 첨가하여 25  $^{\circ}$ C에서 10 min 동안 pre-incubation 한 뒤 여기에 elastase 용액을 100  $\mu$ L 첨가(최종농도 0.0025 U/mL)하여 25  $^{\circ}$ C 수욕상에서 10 min 동안 항온배양한 후 410 nm에서 흡광도를 측정하였다. 대조군(control)은 시료대신 시료용액으로 사용된 용매를 100  $\mu$ L 첨가하였다. Blank는 N-succinyl-(Ala)<sub>3</sub>-p-nitroanilide가 용해된 완충용액 대신 0.12 M tris-

Cl buffer 1,300  $\mu$ L를 첨가하였으며, 농도는 실험군과 동일하였다.

**2.5. 통계처리**

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

**3. 결과 및 고찰**

**3.1. 쇠뜨기 추출물의 TLC 및 HPLC 성분 분석**

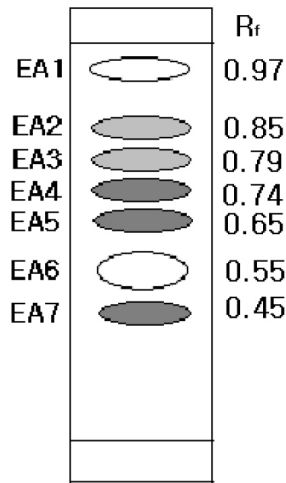
**3.1.1. 쇠뜨기 추출물의 TLC 성분 분석**

쇠뜨기 추출물의 TLC 크로마토그램은 Figure 1 및 Figure 2에 나타내었다. Figure 1은 50 % 에탄올로 추출한 쇠뜨기 추출물로부터 얻은 ethylacetate 분획으로 7개의 띠(EA1, EA2, EA3, EA4, EA5, EA6, EA7)로 분리되었다. 그 중 R<sub>f</sub> 0.74인 EA4는 자외선 및 발색법으로 확인한 결과 농도가 가장 진한 것으로 나타났다. 본 TLC 조건에서 플라보노이드 aglycone은 EA1과 동일한 위치에서 나타났고, EA2 ~ EA7 띠들은 플라보노이드 배당체 (flavonoid glycosides)로 간주되었다.

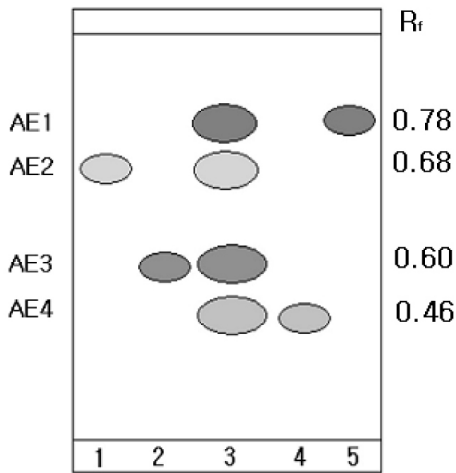
NP/PEG 발색 시약 사용 시 EA2, EA4 및 EA7 띠는 노란색을, EA3 및 EA5는 주황색을 나타내었다. 일반적으로 kaempferol 및 apigenin과 같은 플라보노이드류는 NP/PEG 발색에서 노란색을, quercetin, luteolin 및 그 배당체들은 주황색을 나타내었다. Figure 2는 쇠뜨기 추출물 중 ethylacetate 분획으로부터 얻어진 aglycone 분획의 TLC 크로마토그램이다. 이 aglycone 분획은 4개의 띠(AE1 ~ AE4)로 분리되었고, 표준물질을 이용하여 확인한 결과 AE1은 kaempferol, AE2는 apigenin, AE3는 quercetin 그리고 AE4는 luteolin임을 알 수 있었다.

**3.1.2. 쇠뜨기 추출물의 HPLC 성분 분석**

쇠뜨기 추출물 중 ethylacetate 분획의 HPLC 크로마토그램은 Figure 3에 나타내었다. 크로마토그램은 8개의 피이크를 나타내었다. 각각의 피이크를 동정하기 위하여, Figure 1에 있는 TLC 크로마토그램에서 분리된 띠를 긁어서 추출·여과하고 용매를 감압·건조시킨 후 얻은 파우더를 에탄올 용액으로 하여 HPLC 분석을 위한 시료로 사용하였다. Figure 1의 TLC (normal phase) 크로마토그램에서 R<sub>f</sub>치가 가장 작은 띠인 EA7 (R<sub>f</sub> 0.45)은 Figure 3의 HPLC (reverse phase) peak 1으로, EA6는 peak 3, EA5는 peak 2, EA4는 peak 4, EA3는 peak 5, EA2는 peak 6와 일치함을 확인하였다. 또한 Figure 2와 함께 표준 물질을 사용하여 peak 7 및 peak 8은 각각 luteolin 및 apigenin임을 확인하였다. 이 피이크들은 또한 Figure 1



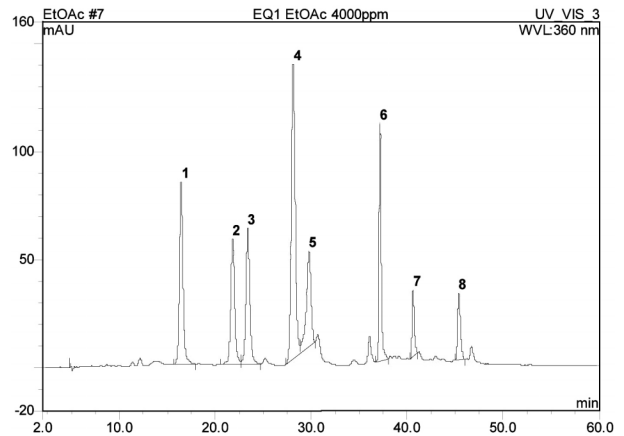
**Figure 1.** TLC chromatogram of ethylacetate fraction from *Equisetum arvense* (EQ). Eluent system; ethylacetate : acetic acid : formic acid : water = 100 : 11 : 11 : 10(v/v).



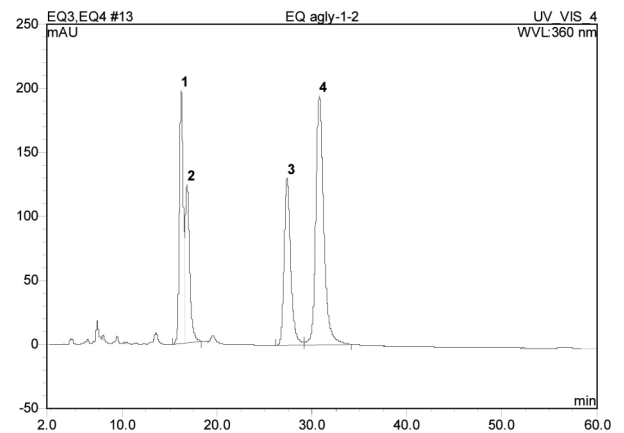
**Figure 2.** TLC chromatogram of deglycosylated extract from *Equisetum arvense* (EtOAc fraction) and references. 1: apigenin, 2: quercetin, 3: deglycosylated extract (EtOAc fraction), 4: luteolin, 5: kaempferol. Eluent system; n-hexane : ethylacetate : acetic acid = 21 : 14 : 5 (v/v).

에서 EA1 띠에 함께 존재함을 알 수 있었다. EA6와 EA5 띠가 HPLC에서 순서가 바뀐 것 이외에는 정상(TLC)과 역상(HPLC) 크로마토그래피에서 용리된 순서가 예측한 대로 거의 일치하였다.

최저기 추출물 중 ethylacetate 분획으로부터 얻어진 aglycone 분획에 대한 HPLC 크로마토그램은 Figure 4에 나타내었다. 표준물질을 이용하여 확인한 Figure 2의 TLC 크로마토그램과 Table 2 및 Figure 5의 검량곡선,



**Figure 3.** HPLC chromatogram of ethylacetate fraction from *Equisetum arvense*. 1: kaempferol-3,7-O-diglucoside, 2: galuteolin, 3: apigenin-5-O-glucoside, 4: astragalol, 5: quercetin glycoside, 6: kaempferol glycoside, 7: luteolin, 8: apigenin.



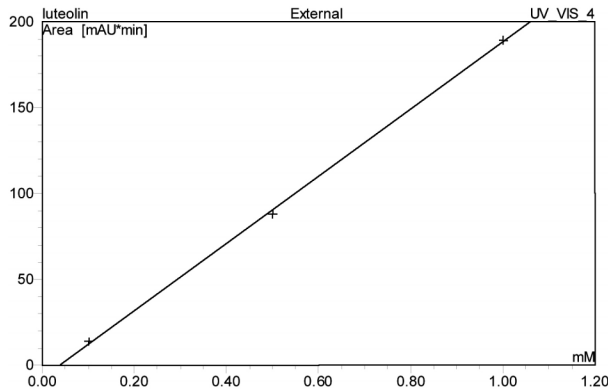
**Figure 4.** HPLC chromatogram of deglycosylated *Equisetum arvense* (EQ) extract (EtOAc fraction). 1: luteolin, 2: quercetin, 3: apigenin, 4: kaempferol.

그리고 Figure 4에서 확인한 바와 같이 Figure 4의 peak 1은 luteolin, peak 2는 quercetin, peak 3는 apigenin, peak 4는 kaempferol임을 확인하였고, 4가지 플라보노이드의 조성비는 luteolin (peak 1) 19.12 %, quercetin (peak 2) 12.87 % apigenin (peak 3) 15.81 % 및 kaempferol (peak 4) 52.20 %로 나타났다(Table 3).

Figure 1에 있는 TLC 크로마토그램에서 분리된 띠를 각각 끊어서 추출·여과하고 용매를 감압·건조시켜 얻은 띠별 파우더를 당 제거반응 시킨 후 에탄올 용액으로 만들고 이들을 HPLC 분석에 사용함으로써 Figure 3에 있는 피이크들이 어떤 플라보노이드인가를 알아보고자 하였다. 또한 분리된 TLC 띠 성분과 HPLC 피이크 확인

**Table 2.** Equations of Calibration Curves Obtained for Flavonoid Standards ( $\lambda = 360 \text{ nm}$ )

Standard	Calibration curves	R <sup>2</sup>
Luteolin	$y = 195.352x - 7.248$	99.967
Quercetin	$y = 236.813x - 15.826$	99.405
Apigenin	$y = 239.772x + 4.898$	99.995
Kaempferol	$y = 132.253x + 1.583$	99.376



**Figure 5.** Calibration curve of the apigenin standard, injected in the range from 0.5 to 1.0  $\mu\text{g/mL}$  ( $\lambda = 360 \text{ nm}$ ).

에는 UV-Visible 흡수스펙트럼, IR 스펙트럼 등의 분광학적 데이터들도 이용하였다. Figure 3에서 제일 먼저 용출된 peak 1 (조성비, 15.74 %)과 피크 크기가 가장 큰 peak 4 (27.94 %)는 당 제거반응에서 kaempferol로 확인되었다. 따라서 peak 1은 kaempferol-3,7-O-diglucoside으로 Graefe 등(1999)에 의해[11], peak 4는 kaempferol-3-O-glucoside (astragaline)로 Kim 등(2004)에 의해서 보고된 바 있다[12]. 이어 peak 2 (11.91 %)는 luteolin의 배당체인 luteolin-5-O-glucoside (galuteolin), peak 3 (12.91 %)는 apigenin-5-O-glucoside[13], peak 5 (10.81 %)는 quercetin의 배당체 그리고 peak 6 (12.33 %)는 kaempferol 배당체로 확인되었다(구조는 미정). 나머지 peak 7 및 8은 각각 luteolin (3.72 %)과 apigenin (4.62 %)임을 확인하였다.

**3.2. Elastase 저해 활성**

자외선 및 활성산소 등에 의해 유발되는 피부 진피층에 존재하는 matrix-metalloproteinases (MMPs)는 피부 노화, 특히 주름생성과 밀접한 관계가 있다. MMPs를 이루는 주요성분으로 collagenase, gelatinase 및 elastase 등이 있으며, 피부의 탄력감소 및 주름생성에 있어서 elastase의 활성 감소는 매우 중요하다.

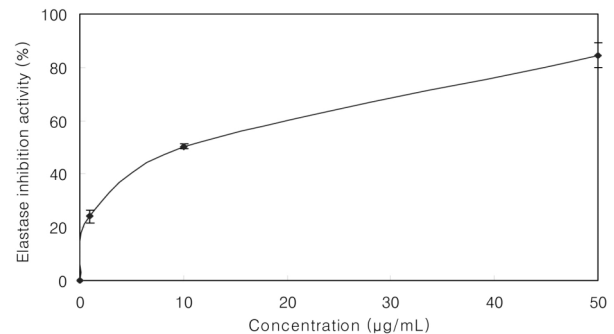
쇠뜨기 추출물 중 ethylacetate 분획으로부터 얻은

**Table 3.** HPLC Quantitative Analysis Data of Deglycosylated *Equisetum arvense* (EQ) Extract (Aglycones of Ethylacetate Fraction)

Peak No.	Identified compound	Ret. time (min)	Rel. area (%)	Amount (mM)	Rel. ratio (%)
1	Luteolin	16.25	20.56	0.52	19.12
2	Quercetin	16.87	14.83	0.35	12.87
3	Apigenin	27.34	23.32	0.43	15.81
4	Kaempferol	30.88	41.29	1.42	52.20
Total			100.00	2.72	100.00

**Table 4.** Inhibitory Activity of Deglycosylated Fraction, Ethylacetate Fraction of *Equisetum arvense* Extract and Reference Compounds on Elastase

Compounds	Inhibition
	(IC <sub>50</sub> , $\mu\text{g/mL}$ )
Deglycosylated <i>Equisetum arvense</i> extract obtained from EtOAc fraction	$9.8 \pm 1.1$
EtOAc fraction of <i>Equisetum arvense</i> extract	> 500
Kaempferol	$13.6 \pm 2.4$
Quercetin	$6.1 \pm 0.9$



**Figure 6.** Inhibitory activity of deglycosylated fraction obtained from EtOAc fraction of *Equisetum arvense* extract on elastase.

aglycone 분획은 elastase 저해활성(IC<sub>50</sub>)이 9.8  $\mu\text{g/mL}$ 로 매우 큰 활성을 나타내었다(Table 4). 이에 비해 ethylacetate 분획(플라보노이드 배당체)은 elastase 저해 활성이 거의 보이지 않았다. 비교물질로 사용한 kaempferol과 quercetin은 각각 IC<sub>50</sub>이 13.6  $\mu\text{g/mL}$  및 6.1  $\mu\text{g/mL}$ 이었다. 이는 Table 3에 있는 쇠뜨기 추출물 중 ethylacetate 분획에서 당을 제거한 플라보노이드 aglycones인 luteolin, quercetin, apigenin 및 kaempferol에 기인된 것으로 판단된다.

한편, 쇠뜨기에도 함유되어 있는 kaempferol 및 quercetin은 사람 표피 세포주에서 hyaluronan synthase mRNA를 발현시켜 농도 의존적으로 hyaluronan (HA) 합성을 증가시키는 것으로 보고되고 있다[6]. 일반적으로 HA는 collagen 및 elastin 등과 같이 노화와 더불어 피부 내 함량도 감소되며, 피부 탄력저하 및 주름생성과 밀접한 관계가 있는 것으로 보고되고 있다[7-9]. 따라서 쇠뜨기 추출물을 대상으로 주름개선 작용이 있는 항노화 기능성 소재로서 가능성이 있는지 알아보기 위한 체계적인 연구가 필요하다고 생각된다.

#### 4. 결 론

1) 쇠뜨기 추출물 중 ethylacetate 분획의 TLC는 7개의 띠(EA1 ~ EA7)로 분리되었고, 그 중에서 R<sub>f</sub> 0.74인 EA4의 농도가 가장 진한 것으로 나타났다.

2) 쇠뜨기 추출물 중 ethylacetate 분획에 대하여 당 제거 실험 후 얻어진 aglycone 분획의 TLC는 4개의 띠(AE1 ~ AE4)를 나타내었고, 이 때 AE1, AE2, AE3 및 AE4는 각각 kaempferol, apigenin, quercetin, luteolin으로 확인하였다.

3) Aglycone 분획에 대한 HPLC 크로마토그램은 4개의 피크를 나타냈고, 그 용리 순서는 luteolin, quercetin, apigenin, kaempferol이었으며 조성비는 luteolin 19.12 %, quercetin 12.87 %, apigenin 15.81 % 및 kaempferol 52.20 %로 kaempferol 함량이 가장 큰 것으로 나타났다.

4) 쇠뜨기 추출물 중 ethylacetate 분획의 HPLC 크로마토그램은 검출 파장 360 nm에서 8개의 피크를 나타내었고, peak 1 (조성비 15.74 %)은 kaempferol-3,7-O-diglucoside, peak 2 (11.91 %)는 galuteolin, peak 3 (12.91 %)은 apigenin-5-O-glucoside, peak 4 (27.94 %)는 astragalol, peak 5 (10.81 %)는 quercetin 배당체, peak 6 (12.33 %)은 kaempferol 배당체, peak 7 (3.72 %)는 luteolin 및 peak 8 (4.62 %)은 apigenin으로 확인되었다.

5) 쇠뜨기 추출물 중 aglycone 분획은 elastase 저해활성(IC<sub>50</sub>)이 9.8 µg/mL로 매우 큰 활성을 나타내었다. 이에 비해 ethylacetate 분획은 elastase 저해 활성이 거의 없었다.

이상의 결과들은 이미 보고된 쇠뜨기 추출물의 항산화 작용[6]과 더불어 쇠뜨기 성분에 대한 분석과 ethylacetate 분획의 당 제거 실험 후 얻어진 aglycone 분획의 큰 elastase 저해활성으로부터 주름개선 기능성 화장품원료로서 응용 가능성이 큼을 시사한다.

#### 참 고 문 헌

1. D. J. Mabberly, A portable dictionary of the higher

- plants, Cambridge Univ., Cambridge, England (1990).
2. H. K. Park, Y. S. Lim, H. O. Jin, and H. C. Shin, Taxonomy of genus *Equisetum* L. (equisetaceae) in Korea, *Kor. J. Plant Tax.*, **33**, 17 (2003).
3. P. Ody and D. Kindersley, In the complete medicinal herbal, DK Publishing, New York (1993).
4. D. Hoffman, In the new holistic herbal, Element, Shaftesbury (1990).
5. S. Mineo, M. Takayasu, H. Kaori, T. Yoshiro, S. Taisuke, and M. Masaaki, Studies on bathing agent: antiinflammatory effect of bathing agent which used for skin disease, *Shoyakugaku Zasshi*, **47**, 1 (1993).
6. S. N. Park and H. J. Yang, Evaluation of antioxidant potential of extract/fractions of *Equisetum arvense* (I), *J. Soc. Cosmet. Scientists Korea*, **33**(2), 61 (2007).
7. S. H. Kim, G. W. Nam, B. Y. Kang, H. K. Lee, S. J. Moon, and I. S. Chang, The effect of kaempferol, quercetin on hyaluronan synthesis stimulation in human keratinocytes (HaCaT), *J. Soc. Cosmet. Scientists Korea*, **33**(1), 97 (2005).
8. R. Fleischmajor, J. S. Perlish, and R. I. Bashey, Human dermal glucosaminoglycans and aging, *Biochem. Biophys. Acta*, **279**(2), 265 (1972).
9. M. O. Longas, C. S. Russell, and X. Y. He, Evidence for structural changes in dermatan sulfate and hyaluronic acid with aging, *Carbohydr. Res.*, **159**(1), 127 (1987).
10. I. Ghersetich, T. Lotti, G. Campanile, C. Grappone, and G. Dini, Hyaluronic acid in cutaneous intrinsic aging, *Int. J. Dermatol.*, **33**(2), 119 (1994).
11. E. U. Graefe and M. Veit, Urinary metabolites of flavonoids and hydroxycinnamic acids in humans after application of a crude extract from *Equisetum arvense*, *Phytomedicine*, **6**(4), 239 (1999).
12. H. Oh, D. H. Kim, J. H. Cho, and Y. C. Kim, Hepatoprotective and free radical scavenging activities of phenolic petrosins and flavonoids isolated from *Equisetum arvense*, *J. Ethnopharmacology*, **95**, 421 (2004).
13. A. I. Syrchina, V. G. Gorokhova, N. A. Trukavkina, V. A. Babkin, and M. G. Voronkov, Flavonoid glycosides from sporogenous stems of *Equisetum arvense*, *Khim. Pror. Soedin.*, **3**, 334 (1980).