

Porcine Placenta의 기능성 화장품소재 특성

김보영* · 김티곤 · 강환열* · 백 현* · 전해영* · 김동욱†

인제대학교 제약공학과
621-749 경남 김해시 어방동 607번지
*아마란스화장품
618-817 부산시 강서구 송정동 1534-2
(2010년 2월 17일 접수, 2010년 3월 10일 채택)

Functional Cosmetic Effect of Porcine Placenta

Bo Young Kim*, Tagon Kim, Whan Yul Kang*, Baek Hyun*, Hae Young Cheon* and Donguk Kim†

Department of Pharmaceutical Engineering, Inje University, 607, Obang-dong, Gimhae-si, Gyeongnam 621-749, Korea
*Amaranth Cosmetics, 1534-2, Songjeong-dong, Gangseo-gu, Busan 618-817, Korea
(Received 17 February 2010; accepted 10 March 2010)

요 약

돈 태반의 화장품소재로서의 응용가능성을 조사하기 위해 알칼리 가수분해, 효소처리 및 산처리 가수분해 방법을 이용하여 추출물을 얻었다. 돈 태반 추출물의 중금속함량을 측정한 결과 납, 비소, 수은 등이 매우 낮아서 화장품소재로서 적절하였다. 화장품소재의 안전성시험(MTT assay) 결과 돈 태반 추출물은 모두 50 µg/ml의 농도에서 80% 이상의 세포생존율을 보여주어서 독성이 비교적 낮은 것으로 나타났다. DPPH free radical scavenging assay를 사용한 항산화 시험 결과, 50 µg/ml의 농도에서 pH9로 알칼리 처리한 경우가 항산화율이 63%로 가장 높았다. Tyrosinase 활성저해 시험을 사용한 미백효과 측정 결과 50 µg/ml의 농도에서 알칼리처리한 추출물의 효과가 30% 정도의 tyrosinase 억제 효과를 보여주어서 가장 우수하였지만, 대조군인 arbutin이나 비타민 C에 비해 그 효과가 다소 낮았다. Elastase 활성 억제시험을 이용한 주름개선 효과 측정결과 50 µg/ml의 농도에서 5가지의 처리법에서 모두 20~30%의 elastase 저해 활성을 보여주어서, 대조군보다 우수하였으며, 특히 효소처리한 추출물의 효과가 가장 우수하였다. 돈 태반 추출물 1%를 함유한 스킨제형을 제조하여 온도, 시간에 따른 안정성 시험결과, 안정성 역시 매우 우수하였다. 따라서 돈 태반 추출물은 주름개선 기능성 화장품소재로서의 가능성이 높음을 알 수 있었다.

Abstract – Porcine placenta was treated with alkali, acid and enzyme treatment to obtain extracts. Heavy metal contents such as Pb, As, and Hg were low enough to satisfy cosmetic agent standard. As a result of safety test(MTT assay), porcine placenta extracts showed over 80% of cell viability at 50 µg/ml, and cell toxicity was relatively lower. From antioxidation test using DPPH free radical scavenging assay, antioxidation effect was highest as 63% at 50 µg/ml when porcine placenta was treated with alkali in pH 9. From whitening effect test using tyrosinase inhibition assay, tyrosinase inhibition effect was 30% at 50 µg/ml concentration in alkali treated porcine placenta, however, the efficiency was lower compared with arbutin or vitamin C. In anti-wrinkle effect test from elastase inhibition assay, elastase inhibition effects were 20~30% at 50 µg/ml for 5 kinds of porcine placenta treatments, which was superior to standard, and especially, protease treated extracts showed best results. Skin formulation including 1% porcine placenta was made and the formulation was very stable for temperature and storage period. From this research, porcine placenta extract showed high potential for anti-wrinkle functional cosmetic agent.

Key words: Porcine Placenta, Extraction, Whitening, Anti-wrinkle, Stability Test

1. 서 론

기능성화장품은 화장품법 제2조 2항에 “피부의 미백에 도움을 주는 제품, 피부의 주름개선에 도움을 주는 제품, 피부를 곱게 태워주거나 자외선으로부터 피부를 보호하는데 도움을 주는 제품”으로 정

의되고 있다. 식품의약품 안전청의 기능성화장품 고시 품목으로 미백 기능성화장품의 경우 다키나무추출물, 알부틴(arbutin), 에칠아스코빌에텔, 유용성감초추출물, 아스코빌글루코사이드와 마그네슘아스코빌포스페이트가 있으며, 주름개선 고시 품목으로는 레티놀, 레티닐팔미테이트, 아테노신, 폴리에톡실레이티드 레티나마이드가 있다[1].

현재 화장품 소재 중 많은 부분이 천연물, 특히 한방생약에서 추출되고 있다. 한방 생약은 과거 수백 년 동안 동양에서 오랫동안 사

†To whom correspondence should be addressed.
E-mail: pedkim@inje.ac.kr

용되어졌던 것이 대부분으로 어느 정도 약효가 인정된 것들이 많다 [2,3]. 국내 대부분의 화장품회사에서 유행처럼 비슷한 성상의 한방 화장품을 출시하고 있다 보니 차별성이 없어지고 있는 실정이다. 이에 다른 각도에서 기능성 화장품 소재를 개발하고자 돼지태반에서의 화장품 소재를 검색하고자 하였다.

태반은 임신 중의 태아를 감싸는 양막과 자궁을 연결하는 곳에 위치하고 있는 원반형태의 장기로서 잔주름, 깊은 주름, 기미, 노화방지, 색소침착, 피부재생 등의 피부미용에 탁월한 효과가 알려져 있다 [4]. 또한 태반은 보습작용과 함께 피부 재생주기를 정상으로 돌려주는 작용을 하고 진피 층의 섬유아세포(fibroblast)를 활성화시켜 피부의 탄력과 긴장을 되찾아주고 재생을 활발하게 도와주는 것으로 알려져 있다. 인체 태반에 대한 효능은 연구자들에 의해 의학적, 화장품적 효과가 널리 알려져 있으나 윤리성에 문제가 있어서 현재 화장품의 배합금지소재로 되어 있다[1]. 또한 소 태반은 광우병의 오염가능성이 있어서 사용상 문제가 있다. 반면 돈(돼지) 태반(porcine placenta)은 비교적 안전한 것으로 알려져 있고 인간과 면역효과가 유사한 점이 보고되고 있다[5]. 일본에서는 일찍이 돼지 태반을 오랫동안 연구하여 식음료, 의약품 및 화장품 등 다양한 분야에 활용하고 있다[6,7]. 현재 국내에 시판되는 한국 및 외국의 유명 화장품 회사도 돼지 태반 추출물을 사용하고 있으나 전량 일본에서 원료를 수입하고 있는 실정이다.

돈 태반의 주성분은 매우 다양해서 라이신, 발린, 이소라이신, 트레오닌 등의 필수아미노산 외에 글라이신, 알리닌, 아르기닌 등 수십 종류의 아미노산과 각종 활성 펩타이드, 비타민 B₁, B₂, B₁₂, C, D, E 등, 당류, 핵산, 칼슘, 나트륨, 칼륨, 인, 마그네슘, 아연, 철 등의 미네랄, 그리고 수백 종의 효소 및 각종 성장인자가 포함된 것으로 알려져 있다[5].

따라서 본 연구에서는 돈 태반으로부터 산, 알칼리 및 효소처리의 방법을 사용하여 유효성분을 추출하고 화장품소재의 안전성시험, 안정성시험 및 효능효과시험(항산화, 미백, 주름개선)을 통하여 돈 태반 추출물의 기능성 화장품소재로서의 응용가능성을 탐색하고자 하였다.

2. 실험

2-1. 시료의 추출

본 실험에 사용한 돈 태반(Porcine placenta)은 경남 함양의 지리산양돈조합에서 수거하여 세척한 후 실험재료로 사용하였다. 돈 태반은 크게 알칼리가수분해, 효소처리 및 산처리의 3가지 방법으로 추출물을 얻었다[8]. 알칼리가수분해는 3차 증류수 300 ml에 조분쇄한 돈태반 10 g을 녹인 후 3 N NaOH로 알칼리 가수분해를 한 뒤 HCl로 pH를 8.9로 조절하였으며, 원심 분리하여 상청액을 수확하여 0.22 µm membrane filter로 여과, 멸균하였다.

효소처리는 2시간 반응과 16시간 반응의 2가지 방법으로 진행되었다. 2시간 반응법은 태반과 물을 1:2로 한 후 잘게 썬 다음 단백질분해효소(protease, novozymes, Denmark)를 태반의 1%를 사용하여 2시간 동안 55 °C에서 shaking한 후 고속 원심분리기에서 10,000 rpm으로 2시간 동안 원심 침전시킨 후 상청액을 수확하였다. 상청액을 알칼리 처리를 위해 pH를 6으로 보정한 후 원심 분리하여 상청액을 회수하여 0.22 µm membrane filter(Whatman, Germany)로 여과, 멸균하였다. 16시간 반응법은 세척된 태반 240 g에 단백질분해

효소 12 g 및 물 228 g을 첨가하여 50 °C에서 16시간 반응한 뒤 85 °C에서 30분간 반응시켜 효소반응을 정지시켜 여과한 뒤 감압농축하였다. 산처리법은 세척된 태반 240 g에 단백질분해효소 12 g 및 물 228 g을 첨가하여 50 °C에서 16시간 반응한 뒤 3 N HCl을 전체량의 5%를 첨가하여 반응을 정지시킨 후 NaOH로 중화한 뒤 여과 후 감압농축하였다.

돈 태반 추출물의 단백질 함유량은 BCA protein assay kit(Pierce, Rockford, IL., USA)를 이용하여 측정하였다. 농도별로 희석한 standard와 sample을 1.5 ml tube에 25 µl 첨가한 후 compatibility reagent stock solution을 각각의 tube에 25 µl 첨가한 후 혼합하였다. 이 후 항온조에서 37 °C, 15분간 반응 후 1 ml의 BCA working reagent를 첨가 후 항온조에서 37 °C, 30분간 반응시켰다. 그 뒤 실온에서 5~10분간 방치시킨 후 562 nm에서 흡광도를 측정하였고, bovine serum albumin standard를 이용하여 표준곡선을 작성하였다. 돈 태반 추출물의 Hg, Pb, As 등의 중금속 함량은 원자흡수광도계(Atomic absorption spectrometer, Simadzu AA-6701)를 사용하여 (주)한국생명건강에 의해 측정되었다.

2-2. 화장품소재 시험

소재의 안전성시험(stability test)은 MTT assay로 측정되었다[9]. MTT(3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide, Sigma) 정량은 Mosmann 방법을 변형하여 측정하였다. 96-well plate에 human fibroblast cell CCD-986sk를 1×10⁴ cell/ml씩 분주하여 24시간 배양 후 10, 20, 40, 50, 100 µg/ml의 농도로 희석한 추출물의 시료가 첨가된 새 배지로 교체하고 다시 24시간 동안 배양하였다. 여기에 MTT(5 mg/ml)을 첨가 한 후 37 °C, 5% CO₂ incubator(Sanyo, Japan)에서 배양 2시간 후 형성된 fomazan을 DMSO로 녹이고, 570 nm에서 ELISA reader(PowerWave XS2, BioTek, USA)로 흡광도를 측정하였다. 세포생존율(cell viability)은 아래의 식으로 계산되었다:

$$\text{Cell viability(\%)} = [(\text{Exp.} - \text{Blank}) / \text{Control}] \times 100 \quad (1)$$

항산화 활성은 DPPH(2, 2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl free radical, Sigma)를 이용하여 시료의 라디칼 소거효과를 측정하였다[10]. 0.2 mM DPPH 에탄올 용액을 제조하여 조제한 액을 여과지(Whatman No. 2, Germany)에 여과한 후 추출물을 6, 10, 25, 50, 100, 200 µg/ml 사이의 농도로 제조 후 37 °C에서 30 min간 반응시켜 517 nm에서 흡광도를 측정하였다.

미백효과시험은 tyrosinase 활성저해시험(tyrosinase inhibition assay)과 DOPA 산화활성저해시험(DOPA oxidation inhibition assay)을 사용하였다. Tyrosinase 활성저해시험은 다음과 같이 실시하였다 [11]; 0.1 M sodium phosphate buffer(pH 6.8) 220 µl, 추출물의 농도를 10, 25, 50, 100, 200 µg/ml로 희석시킨 20 µl과 2,000 U mushroom tyrosinase(5,370 U/mg, Sigma) 20 µl를 1.5 mM L-Tyrosine 40 µl를 혼합한 후 37 °C에서 15분간 반응 후 ELISA reader로 490 nm에서 흡광도를 측정하였다. DOPA 산화활성저해시험은 다음과 같이 시험되었다; 0.1 M potassium phosphate buffer(pH 7.0) 170 µl, 추출물의 농도를 10, 25, 50, 100, 200 µg/ml로 희석시킨 20 µl와 2,000 U mushroom tyrosinase(5,370 U/mg) 20 µl를 혼합한 후 37에서 6분간 반응 후 0.06 mM L-DOPA(3, 4 - Dihydroxy -L-phenylalanine, Sigma) 20 µl를 혼합하여 25 °C에서 1분간 반응 후 ELISA reader로 475 nm에서 흡광도를 측정하였다.

주름개선효과 시험법으로는 elastase 활성억제시험(elastase inhibition assay)과 collagen 생성시험(collagen synthesis assay)을 실시하였다. Elastase 활성억제시험은 다음과 같이 실행하였다[8]; 0.2 M Tris-Cl buffer(pH 8.0) 170 µl에 시료 20 µl를 가한 다음, 기질 1.0 mM N-succinyl-(Ala)₃-p-nitroanilide(Sigma) 50 µl를 가하였고, 25 °C에서 10분간 배양한 다음, 2.5 U/ml porcine pancreas elastase(PPE, Sigma)을 20 µl 씩 첨가하였다. 반응혼합물은 다시 25 °C에서 20분간 배양한 후, 냉침으로 반응을 정지시키고 405 nm에서 흡광도를 측정하였다. 추출물 25, 50, 100, 200, 400 µg/ml로 희석시킨 시료용액 20 µl와 2.5 U elastase(porcine pancreas solution) 10 µl를 첨가하여 25 °C에서 10 min 동안 반응한 후 ELISA reader로 410 nm에서 흡광도를 측정하였다.

Collagen 생성시험은 다음과 같이 측정하였다[8]; 사람 섬유아세포(Human CCD-986sk, human fibroblast cell)를 96 well plate에 1×10⁴ cells/well 씩 분주하여 10% FBS/DMEM 배지로 24시간 배양시킨 다음 serum free 배지로 단계적으로 희석한 시료를 가하고 다시 24시간 동안 CO₂ incubator에서 배양하였다. 세포 배양액을 가지고 Procollagen Type C-peptide EIA kit(Takara, Japan)를 이용하여 콜라겐의 양을 측정하였다. 먼저 antibody-POD conjugate solution 100 µl를 각 well에 첨가하고, sample이나 standard를 20 µl씩 넣은 뒤 shaking 후 37 °C에서 3시간 반응시킨 후 반응이 끝나면 내용물을 제거한 뒤 PBS 400 µl로 4번 세척하였다. 제거 후 기질용액 100 µl를 넣고 20~30 °C에서 15분간 반응시킨 후 1 N H₂SO₄ 100 µl를 첨가하여 발색을 증진시킨 후 shaking하였다. 450 nm에서 흡광도를 측정 후 표준농도곡선을 작성하여 콜라겐 양을 산정하였다.

돈 태반 추출물이 화장품으로서 첨가물에 들어 갈 수 있는지의 여부를 확인하기 위해 아미란스화장품에서 제공한 처방전에 따라 로션을 제조하였다. 수상과 유상을 교반한 후 점증제를 넣었으며 돈 태반추출물은 전체의 1%를 사용하였다. 제조한 로션을 안정성 시험을 거쳐 제형으로 안정한지를 판단하였다. 온도는 4 °C, 실온, 40 °C의 3조건을 사용하였고, 측정기간은 28일이었다. 위의 조건에서 화장품의 외관성상의 물리적인 변화, pH 및 점도를 측정하여 안정성을 평가하였다. pH측정은 3 g의 로션제제와 27 g의 D.I water를 섞은 후 실온에서 측정하였고, 점도측정은 Brookfield 점도계(USA)를 사용하여 돈태반 추출물을 함유한 로션제형에서 Spindle 4, 100 rpm, 30 sec의 조건으로 측정하였다. 안정성시험, 항산화시험, 미백효과시험 및 주름개선효과시험은 3회 반복 실행되었으며, 통계적 유의성에 대한 검증은 Student's t-test를 사용하여 95%의 신뢰도 구간으로 계산하였다.

3. 결과 및 고찰

돈 태반 추출물에 대해 BCA protein assay kit(Pierce, Rockford, IL., U.S.A.)를 이용하여 총 단백질 함량을 측정된 결과가 Table 1에 나타나 있다. 돈 태반 추출물은 pH8의 알칼리처리(PPH8), pH9의 알칼리처리(PPH9), 2시간 효소처리(PPP2), 16시간 효소처리(PPP16) 및 산처리(PPA)의 5가지 방법으로 얻어졌다. BCA protein assay kit는 산, 알칼리 및 효소처리 후 잔류한 단백질의 함량을 측정하는 것이므로 그 값이 낮을 수록 아미노산으로 분해가 잘 진행되었다는 것을 의미한다. 실험결과 산처리가 5.5 mg/ml로 가장 단백질의 함량이 낮았고, 알칼리처리가 그 다음이었으며, 효소처리의 경우 단백질 함

Table 1. Protein contents in porcine placenta extracts by different treatments (mg/ml)

	PPH8	PPH9	PPP2	PPP16	PPA
Total protein concentration	6	6.5	13.5	8	5.5

PPH8 : Porcine placenta extracts by hydrolysis pH8
 PPH9 : Porcine placenta extracts by hydrolysis pH9
 PPP2 : Porcine placenta extracts by Protease for 2 hours
 PPP16: Porcine placenta extracts by Protein for 16 hours
 PPA : Porcine placenta extracts by acidolysis

Table 2. Heavy metal and mineral contents in porcine placenta

Category	Results
Hg(mg/kg)	0.01
Pb(mg/kg)	0.01
As(mg/kg)	0.05
Cd(mg/kg)	0.00
Fe(mg/100 g)	28.0
Zn(mg/100 g)	11.7
Ca(mg/100 g)	681.2
Na(mg/100 g)	932.0

량이 상대적으로 높았다.

돈 태반 추출물의 중금속 함량을 측정된 결과가 Table 2에 나타나 있다. 화장품 중금속 검사에서 중요한 수은, 납 및 비소가 모두 매우 낮아서 본 연구에서 사용한 돈 태반은 화장품소재로서 적절함을 알 수 있었다.

돈 태반 추출물의 안전성을 시험하기 위해 MTT assay를 실시하였으며 그 결과가 Fig. 1에 나타나 있다. Fig. 1의 X축은 돈 태반 추출물의 농도를 나타내며 Y축은 세포 생존율을 의미한다. Human CCD-986sk 세포에 대한 돈 태반추출물의 세포 독성을 측정된 결과, 5가지의 추출법 모두에서 50 µg/ml의 돈 태반 추출물농도의 경우 80%이상의 세포생존율을 보여주어서 돈 태반 추출물의 세포독성은 매우 낮은 것으로 나타났다.

돈 태반 추출물의 항산화 효과를 알아보기 위해 DPPH free radical scavenging assay를 이용하여 측정하였으며 그 결과가 Fig. 2에 나타나 있다. 항산화시험 결과 돈 태반 추출물은 대조군인 비타민 C에 비해서는 모두 낮았으나, 저농도 범위에서 pH9의 알칼리처리한 추출물의 항산화효과가 비교적 우수하였다. 50 µg/ml의 돈 태반 추출물농도에서 pH9로 알칼리 처리한 경우가 항산화율이 63%로 가장 높았고 나머지의 처리법에서는 45% 내외의 항산화율을 보여주었으며, 비타민 C에 비해서는 그 효과가 저조하였다.

멜라닌 생성에 있어 핵심효소는 tyrosinase이다. Tyrosine은 멜라닌

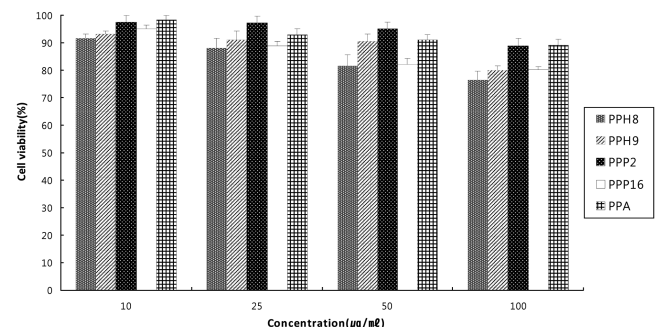


Fig. 1. Cell viability test(MTT assay) of porcine placenta extracts.

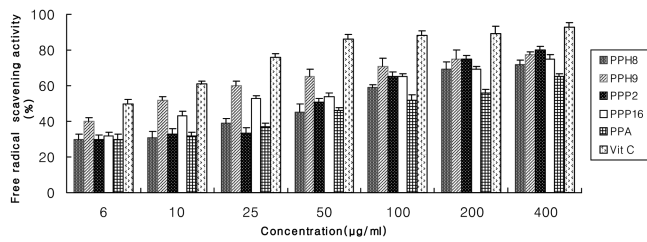


Fig. 2. DPPH free radical scavenging activity of porcine placenta extracts.

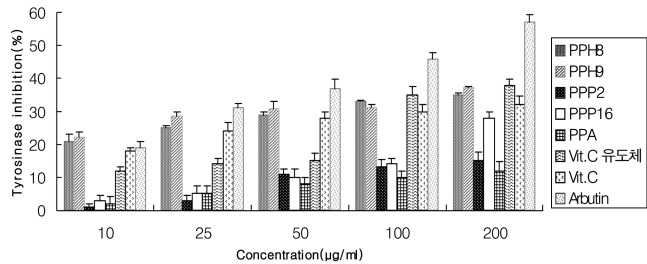


Fig. 3. Tyrosinase inhibition effect of porcine placenta extracts.

세포 내에서의 tyrosinase에 의해 L - 3,4 - dihydroxyl phenylalanine (DOPA), DOPA quinone으로 산화된다. 그 후 DOPA quinone이 DOPA chrome, 5,6 - quinone이 되고, 이어서 indole - 5,6 - quinone으로의 중합에 의해 melanin을 생성하는 것으로 알려져 있다. 미백 효과시험으로 tyrosinase 활성저해를 측정한 결과가 Fig. 3에 나타나 있다. 대조군으로는 화장품용 미백소재로서 가장 많이 사용되고 있는 arbutin과 비타민 C, 비타민 C 유도체가 사용되었다. 50 µg/ml의 농도에서 pH 8, 9로 알칼리 처리한 경우가 30% 정도의 tyrosinase 억제효과를 보여주었으나, 효소처리 및 산 처리한 경우에는 억제효과가 10%로 매우 저조하였다. 전반적으로 tyrosinase 저해효과는 대조군에 비해 다소 낮았으나, 알칼리처리한 추출물(PPH8, PPH9)에서 비교적 우수하게 나타났다.

미백효과시험으로 DOPA 산화활성저해시험을 실시하였으며 그 결과가 Fig. 4에 나타나 있다. 대조군은 위의 실험과 동일하게 arbutin, 비타민 C, 비타민 C 유도체를 사용하였다. 50 µg/ml의 농도에서 pH9의 효소처리한 경우가 DOPA-oxidase 억제율이 50%로 가장 높았으며, 나머지의 경우 처리효율은 10~30% 정도를 보여주었다. 전체적으로 DOPA 산화활성저해효과는 역시 대조군에 비해 낮았으며, 그 중에서도 고 농도 범위에서 알칼리 처리한 추출물(PPH8, PPH9)의 효과가 비교적 높았다. 미백효과 시험 결과를 종합하면 돈 태반 추출물은 대조군에 비해 그 효과가 다소 낮았으나, 그 중에서도 알칼리처리한 추출물의 효과가 비교적 우수하였다.

Elastase는 피부진피에 존재하여 피부의 탄력을 유지하는 elastin을

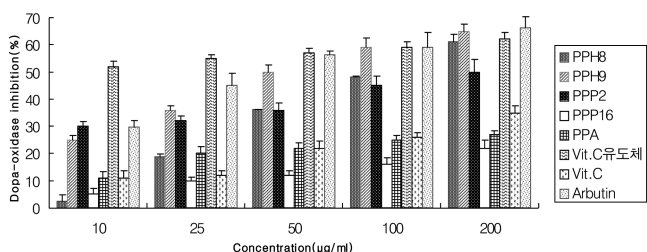


Fig. 4. DOPA-Oxidase inhibition assay of porcine placenta extracts.

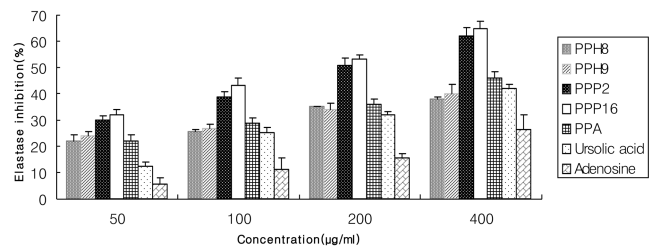


Fig. 5. Elastase inhibition assay of porcine placenta extracts.

분해하는 효소이다. Elastase의 활성을 저해시켜 주름 생성을 억제시킴으로써 피부노화를 방지시키는 것이 주름개선소재의 역할이다. 태반추출물의 피부주름 개선 물질로서의 사용 가능성을 알아보기 위하여 elastase 저해 물질로 알려진 ursolic acid, adenosine을 대조군으로 하여 elastase 저해활성을 측정하였으며, 그 결과 Fig. 5에 나타나 있다. 50 µg/ml의 농도에서 5가지의 처리법에서 모두 20~30%의 elastase 저해활성을 보여주었으며, 이는 대조군인 ursolic acid와 adenosine이 모두 10% 내외의 저해율을 보여준 것에 비하면 높은 수준이다. 측정범위의 농도영역에서 elastase 활성저해는 대조군에 비해 매우 우수하였으며 특히 효소처리한 추출물(PPP2, PPP16)의 효과가 가장 높았다.

콜라겐 생합성 증가를 확인할 수 있는 Procollagen Type C-peptide EIA kit를 이용하여 collagen 생합성량을 측정하였으며, 그 결과가 Fig. 6에 나타나 있다. 50 µg/ml의 농도에서 collagen 생합성량은 30% 정도의 증가율을 보여주어서, 20% 정도의 대조군인 비타민 C 보다 높았다. 콜라겐의 생합성 증가는 저농도에서는 알칼리 처리한 추출물(PPH8, PPH9)의 효과가 높았으며, 고농도에서는 효소처리한 추출물(PPP2, PPP16)의 효과가 우수하였다. 주름개선 효과를 정리하면 돈 태반 추출물은 주름개선 효과가 대조군에 비해 우수하였고 그

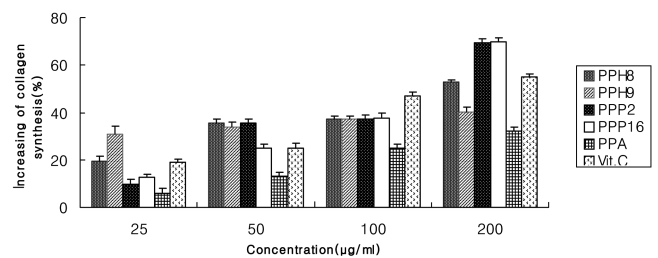


Fig. 6. Collagen synthesis assay of porcine placenta extracts.

Table 3. Lotion formulation containing 1% porcine placenta extracts

Components		%
Water phase	D.I water	68.65
	Methylparaben	0.2
	Ethylparaben	0.1
	etc	6.80
Oil phase	Macadamia nut oil	2.00
	Olivem1000	1.50
	Arlacel 165 VEG	0.50
	Kalcohol 6870	1.50
	Lipex 102 Shea butter	0.50
	Myritol 318	5.00
etc	4.25	
Thickening agent	Carbopol 941(1%)	8.00
Extract	Porcine placenta	1.00

Table 4. Stability test of lotion containing 1% porcine placenta extracts by protease for 16 hours

		4 °C	room temperature	40 °C
Day 0	appearance	White	White	White
	viscosity(cP)	3714	3714	3714
	pH	7.24	7.24	7.24
Day 7	appearance	White	White	White
	viscosity(cP)	4308	3762	3348
	pH	6.52	7.20	7.08
Day 14	appearance	White	White	White
	viscosity(cP)	4267	3773	3420
	pH	6.59	7.12	7.09
Day 21	appearance	White	White	White
	viscosity(cP)	4295	3792	3421
	pH	6.63	7.15	7.12
Day 28	appearance	White	White	White
	viscosity(cP)	4312	3810	3465
	pH	6.71	7.21	7.16

중에서도 효소처리한 추출물(PPP2, PPP16)의 효과가 매우 우수하였다.

아마란스화장품에서 제공한 처방전(Table 3)에 따라 효소처리한 1% Porcine placenta 추출물을 함유한 로션제제를 제조하였다. 4, 실온, 40의 온도에서 28일간 외관성상, 점도 및 pH의 변화를 측정하였으며 그 결과가 Table 4에 나타나 있다. 28일간의 실험결과 온도 및 시간의 변화에 따른 외관성상, 점도 및 pH의 뚜렷한 변화가 관찰되지 않아서 돈 태반 추출물은 화장품제형에서 매우 안정함을 알 수 있었다.

본 연구의 결과 돈 태반 추출물은 중금속 함량이 매우 낮았으며, 세포독성 또한 적었다. 돈 태반 추출물의 항산화효과와 미백효과는 대조군에 비해 다소 약했지만, 주름개선 효과는 대조군에 비해 매우 우수하였다. 그리고 돈 태반 추출물 1%가 함유된 로션 제형의 안정성 시험에서도 우수한 결과를 보여주었다. 따라서 돈 태반 추출물은 주름개선 기능성화장품소재로서 가능성이 높음을 알 수 있었다.

4. 결 론

돈 태반으로부터 알칼리 가수분해, 효소처리 및 산처리 가수분해 방법을 이용하여 추출물을 획득하였으며, 본 연구결과 다음의 결론을 얻었다.

(1) 추출물의 단백질함량 측정결과 산처리한 경우가 단백질 함량이 5.5 mg/ml로 가장 낮아서 아미노산으로 분해가 가장 잘 된 것으로 나타났다.

(2) 돈 태반 추출물의 중금속 함량 시험결과 모두 매우 낮은 수준이어서 화장품소재로서 적절한 것으로 나타났다.

(3) MTT assay를 사용한 화장품소재 안전성 시험결과 돈 태반 추출물은 모두 50 µg/ml의 돈 태반 추출물농도의 경우 80% 이상의 세포생존율을 보여주어서 독성이 비교적 낮은 것으로 측정되었다.

(4) DPPH free radical scavenging assay를 사용한 항산화시험 결과, 50 µg/ml의 농도에서 pH9로 알칼리 처리한 경우가 항산화율이 63%로 가장 높았다. 돈태반 추출물은 전반적으로 대조군인 비타민 C에 비해서는 모두 낮았다.

(5) Tyrosinase 활성저해시험과 DOPA 산화활성저해시험을 사용한 미백효과 측정 결과 돈 태반 추출물은 대조군인 arbutin이나 비타민

C에 비해 그 효과가 다소 낮았다. 그 중 알칼리처리한 추출물의 효과가 50 µg/ml의 농도에서 30% 정도의 tyrosinase 억제효과를 보여 주어서 상대적으로 우수하였다.

(6) Elastase 활성억제시험과 Collagen 생성시험을 이용한 주름개선 효과 측정결과 돈 태반 추출물은 주름개선 효과가 대조군인 adenosine나 비타민 C에 비해 우수하였다. 50 µg/ml의 농도에서 5가지의 처리법에서 모두 20~30%의 elastase 저해활성을 보여주어서, 대조군보다 우수하였으며, 특히 효소처리한 추출물의 효과가 가장 우수하였다.

(7) 돈 태반 추출물 1%를 함유한 로션제제의 화장품을 제조하여 4 °C, 실온, 40 °C의 온도 변화에 대해 28일간 외관성상, 점도 및 pH의 변화에 대한 안정성 시험결과 모두 뚜렷한 변화가 관찰되지 않아서 돈 태반 추출물은 화장품제형에서 매우 안정함을 알 수 있었다.

따라서 본 연구결과 돈 태반 추출물은 주름개선 기능성 화장품소재로서의 가능성이 높음을 알 수 있었다.

감 사

본 연구는 2009년도 교육과학기술부와 한국산업기술진흥원의 지역혁신인력양성사업으로 수행된 연구결과입니다.

참고문헌

1. <http://www.kfda.go.kr/index.jsp>.
2. Yang, H. J., Ahn, Y. J., Kim, J. H. and Park, S. N., "Antioxidative Activity and Component Analysis of *Quercusglauca* Leaf Extracts," *J. Cosmet. Sci.*, **34**, 189-200(2008).
3. Hong, E. S., Ahn, G. W. and Jo, B. K., "The Study on the Potential Anti-aging Properties of *Prunella vulgaris* extracts In Vitro and In Vivo," *J. Cosmet. Sci.*, **34**, 129-135(2008).
4. Wu, C.-H., Chang, G.-Y., Chang, W.-C., Hsu, C.-T. and Chen, R.-S., "Wound Healing Effects of Porcine Placental Extracts on Rats with Thermal Injury," *British J. Dermatol.*, **148**, 236-245(2003).
5. Friess, A. E., Sinowatz, F., Skolek-Winnisch, R. and Träutner, W., *The placenta of the pig*, Springer, Berlin(1981).
6. Yabiki, T. and Namoika, S., "Immunoglobulins in Porcine Umbilical Cord Blood and Material Placenta," *Am. J. Vet. Res.*, **37**, 535-540(1976).
7. Kenichi, N., Miki, H. and Takashi, K., "The Trend of Alternative to Bovine Origin Ingredients. Development and the Characteristic of Porcine Water Solubility Placental Extract," *Fragr. J.* **29**, 34-41(2001).
8. Kim, B. Y., "Development of Functional Cosmetic Agent from Porcine Placenta," Master Thesis, Inje University, Gimhae, Gyeongnam(2010).
9. Kim, J. H., Sim, G. S., Lee, D. H., Lee, G. S., Lee, B. C. and Pyo, H. B., "New Whitening Agent from *Pimpinella brachycarpa*," *J. Cosmet. Sci.*, **33**, 203-208(2007).
10. Park, S. K., Hong, S.-K., Kim, H. J., Kim, B. Y., Kim, T. G., Kang, J. S. and Kim, D., "Cosmetic Effect of *Angelica gigas* Nakai Root Extracts," *Korean Chem. Eng. Res.*, **47**, 553-557(2009).
11. Kim, J. Y., Yang, H. J., Lee, K. H., Jeon, S. M., Ahn, Y. J., Won, B. R. and Park, S. N., "Antioxidative and Antiaging Effects of Jeju Native Plant Extracts(II)," *J. Cosmet. Sci.*, **33**, 165-173(2007).