

여뀌 추출물의 항균 활성과 화장품소재로서의 응용

김정은 · 김은희 · 박수남*

서울산업대학교 자연생명과학대학 정밀화학과, 그린코스메틱연구개발센터

Antibacterial Activity of *Persicaria hydropiper* Extracts and Its Application for Cosmetic Material. Kim, Jung Eun, Eun Hee Kim, and Soo Nam Park*. Department of Fine Chemistry, Research Center for Development of Green Cosmetic, College of Nature and Life Science, Seoul National University of Technology, Seoul 139-743, Korea – In this study, the antibacterial activity and the moisturizing effect of cream containing *Persicaria hydropiper* L. extract were investigated by clinical trial. MIC values of ethyl acetate fraction from *Persicaria hydropiper* on *P. acnes*, *S. aureus*, *P. ovale* were 0.13~0.25%. The results showed that the antibacterial activity of the ethyl acetate fraction was higher than or equal to the methyl paraben and quercetin. The cream containing the ethyl acetate fraction of *Persicaria hydropiper* L. extracts was formulated for skin hydration effect. Also, the transepidermal water loss (TEWL) and the water contents in skin were measured. The cream containing *Persicaria hydropiper* L. extract was applied to the right lower arm. After 180 min, TEWL of parts was decreased as 6.5 g/m²h (experimental cream) and 7.5 g/m²h (placebo cream) respectively. And the water contents in skin were increased by 2~4% than the placebo cream. These results indicate that extract/fractions of *Persicaria hydropiper* L. can function as high potential as bactericide against the skin pathogenic bacteria and the increase of skin hydration of the cream containing extract could be applicable to new functional cosmetics for antiaging.

Keywords: *Persicaria hydropiper*, antibacterial activity, skin hydration, cosmetics, methyl paraben

서 론

피부는 피부 상재균에 의해서 많은 피부질환이 발생되며, 여드름균, 비듬균 등이 대표적이다[7]. 여드름균은 일반적으로 호르몬과 외부적 영향에 의해 피지가 모낭관 밖으로 배출되지 못하여 피부 모공이 막힌 경우 증식하여 여드름의 원인이 되며[6], 비듬균은 등, 목덜미와 같은 피부에서 이상적으로 증식하여 지루성 피부염을 유발한다[1]. 피부 상재균 이외에도 화장품을 변질시키는 세균이 피부에 악영향을 주고 있으며, 이를 사멸하기 위해 다양한 종류의 방부제나 항균제가 사용되고 있다. 화장품에 이용되는 방부제나 항균제는 필수적이지만 기존에 사용되고 있는 합성물질들은 피부에 알러지를 유발할 수 있으므로 비교적 인체에 무해한 물질을 사용하는 것이 중요하다[2].

여뀌(*Persicaria hydropiper*)는 마디풀목 마디풀과의 쌍떡잎 식물로, 원산지는 일본 및 중국이며, 주로 북반구의 열대 지방 및 온대지역의 냇가와 습지의 야생지역에 분포하고 있다[5]. 여뀌의 건조한 잎의 추출물의 주성분으로는 quercetin 3-O-β-L-rhamnoside(quercitrin), kaempferol-3-glucoside, 6-

hydroxyapigenin, galloyl kaempferol 3-glucoside, scutellarin, 6-hydroxyluteolin, 6-hydroxyluteolin-7-O-β-D-glucopyranoside, quercetin 3-O-β-D-glucuronide, galloyl quercetin, quercetin 등이 함유된 것으로 보고되었다[8]. 이러한 플라보노이드가 함유된 여뀌는 항산화 활성과 지질과산화 억제 작용을 하는 것으로 보고되고 있고[4] 지혈작용을 한다[5].

최근 저자들은 본 논문에 앞서 여뀌 추출물의 항산화, 항노화 효과에 대하여 보고한 바 있다[3]. 보고된 논문에서 여뀌 추출물은 free radical 소거활성, 총항산화능 및 활성산소에 대항한 세포보호 활성이 매우 크게 나타났고, 또한 피부 노화 및 주름생성에 관여하는 elastase에 대한 IC₅₀이 4.66 μg/mL(ethyl acetate 분획)으로써 이는 oleanolic acid보다 큰 효과를 확인하였다.

이상과 같이 여뀌 추출물에 대한 항산화, 항노화 효과 연구에 이어, 저자들은 화장품에 이용할 목적으로 피부 상재균에 대하여 여뀌 분획물에 항균작용이 있는지와 조사하였고, ethyl acetate 분획 추출물 함유 크림을 이용한 인체 시험에서, 분획물 함유 크림의 수분과 수분 손실량을 확인하였다. 따라서 여뀌 추출물 ethyl acetate 분획은 자외선에 노출된 피부에서 항산화제로서 뿐만 아니라 항노화 기능성 화장품원료로서 응용 가능성이 있는지를 검토하였다.

*Corresponding author

Tel: 82-2-970-6451, Fax: 82-2-972-9585

E-mail: snpark@snut.ac.kr

재료 및 방법

기기 및 시약

피부 보습 효능 평가를 위해 CK electronic(Germany)사 제품의 Corneometer CM820, Tewameter TM210, Mexameter MX16를 사용하였다. 에탄올(EtOH), 메탄올(MeOH), ethyl acetate(EtOAc) 등 각종 용매는 시판 특급 시약을 사용하였다. 플라보노이드 비교물질로 사용한 quercetin은 Sigma(USA)사에서 구입하였다. 실험 재료인 여뀌는 강원도 홍천군에서 채취한 것을 2008년 6월경 경동시장에서 구입하여 사용하였다.

여뀌의 플라보노이드 분획 추출

건조된 여뀌 200 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 hexane을 이용하여 비극성 성분을 제거하고 이후 ethyl acetate 분획을 감압농축하여 파우더를 얻었다.

Ethyl acetate 분획으로부터 aglycone 제조: ethyl acetate 분획에서 얻은 파우더 일부는 산 가수분해 반응을 이용해서 당을 제거시킨 후 얻은 aglycone 파우더를 실험에 사용하였다. 실험 방법은 ethyl acetate 가용분 일정량에 H₂SO₄ 및 acetone 용액을 넣고, 4 h 동안 중탕 가열하면서 환류냉각시킨다. 환류시킨 용액을 5% KOH-MeOH 용액으로 중화 적정한다. 중화 적정 후 다시 ethyl acetate 층을 분획하고 이를 감압농축하여 실험에 사용하였다.

여뀌 추출물의 항균 활성 측정

사용균주: 본 실험에 사용된 균주는 여드름의 원인균인 *Propionibacterium acnes*(*P. acnes*) ATCC6919와 비듬균인 *Pityrosporum ovale*(*P. ovale*) ATCC12078, 호기성 Gram (+) 균주인 *Staphylococcus aureus*(*S. aureus*) ATCC6538는 한국 미생물 보존센터에서 분양 받아 사용하였다.

배지 및 배양조건: *P. acnes*의 배양 배지는 Reinforced clostridial(RC) 배지(Merck, Germany)를 사용하였으며 *P. acnes*는 4°C에서 보관하면서 실험 72 h 전에 활성화 시켰으며, 균을 배양 배지에 접종한 후 anaerobic jar에서 Gaspak system(Merck Anaerocult Gaspak system, Germany)을 이용하여 밀봉하여 37°C에서 72 h 동안 혐기성 배양하였다. 호기성 균주인 *S. aureus*는 Mueller-Hinton 배지(Merck, Germany)를 사용하였으며 균을 접종한 후 37°C incubator에서 24 h 배양하면서 사용하였다. 또한 비듬균인 *P. ovale*는 Pityrosporum 배지(Malt extract agar 6%, ox-bile 2%, tween 40 1%, glycerol mono-oleate 0.25%)를 사용하였으며 균을 접종한 뒤 30°C에서 24 h 동안 배양하여 사용하였다.

최소억제농도(Minimum Inhibitory Concentration: MIC): 최소억제농도(MIC)는 한천배지 확산법을 이용하여 다음과 같이 측정하였다. 즉, 각각의 분획물들을 2 mL씩 함유한 배지 20 mL를 petri dish에 주입하였고, 시험균을 평판 배지 위에 0.1 mL 접종하였다. *P. acnes*는 37°C에서 72 h 후에, *S. aureus*는 37°C에서 24 h 후에, *P. ovale*는 30°C에서 48 h 후에 육안으로 관찰하였을 때, 각각의 균들이 증식되지 않는 농도를 MIC로 결정하였다.

여뀌 추출물 함유 크림의 피부 도포에 의한 보습 효능

여뀌 추출물을 함유한 크림의 보습 효능 평가를 위해 추출물 중 ethyl acetate 분획 0.25%를 함유하는 크림을 제조하고(Table 1), 이를 20대의 피시험자 10명을 선정하여 항온 항습조건(온도: 25±2°C, 상대습도: 43±2%)에서 평가를 실시하였다. 추출물 함유 크림을 팔 안쪽에 도포한 후, 수분보유량과 경표피 수분 손실량을 각각 30 min, 60 min 간격으로 180 min 동안 측정하였다. 수분보유량과 경표피 수분 손실량의 측정은 Corneometer CM820, Tewameter TM210를 사용하였다. 측정된 capacitance value는 0~120 사이의 arbitrary capacitance units(A.U.)으로 전환하였으며, 경표피 수분 손실량은 g/h·m²로 표기하였다. 평가를 실시하기 전에 피시험자들에게 주의 사항을 숙지시켰으며, 시험 동의를 받았다.

통계처리

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

Table 1. A formula of cream containing *P. hydropiper* L. extract.

Component	Content (%)	
	Placebo	Experimental
D ² W	Up to 100	Up to 100
Glycerine	7.0	7.0
1,3-B ² G	5.2	5.0
Xanthan gum (Keltrol-F)	0.1	0.1
T ² EA	0.2	0.2
Methyl-paraben	0.1	0.1
Ceto-stearyl alcohol (Lanette-o)	2.0	2.0
Stearic acid	1.0	1.0
Glyceryl-stearate/PEG-100 stearate (Alracel #165)	1.5	1.5
Bees wax	1.0	1.0
Glyceryl monostearate (GMS-205)	1.0	1.0
Squalane (Pripure R 3759)	8.0	8.0
Caprylic capric tri-glyceride	5.0	5.0
Paraffin wax	2.5	2.5
Dimethicone (Si-200/100 CS)	0.3	0.3
<i>Persicaria hydropiper</i> L. extract (EtOAc fraction)	-	0.2

Table 2. Minimum inhibitory concentration (MIC, w/v%) of ethyl acetate fraction from *P. hydropiper* against various bacteria.

Strains	<i>P. hydropiper</i> extract (50% EtOH)	<i>P. hydropiper</i> extract (EtOAc fraction)	Methyl paraben	Quercetin
<i>P. acnes</i>	0.50	0.25	0.25	0.30
<i>S. aureus</i>	0.13	0.13	0.25	0.15
<i>P. ovale</i>	0.50	0.25	0.13	0.15

결과 및 고찰

여뀌 추출물의 항균 활성

여뀌 추출물의 피부 상재균에 대한 항균 활성을 측정된 결과는 Table 2와 같이 나타났다. 여드름균인 *P. acnes*에 대한 여뀌 분획물 중 ethyl acetate 분획의 MIC는 0.25%로 나타났으며, Methyl paraben(0.25%)과 비교하여 동일한 항여드름균 활성을 나타내었고, 천연 플라보노이드 성분인 quercetin(0.3%)과 비교하였을 경우에는 보다 큰 항여드름균 활성을 나타내었다. Gram(+)*S. aureus*에서는 50% EtOH 추출물과 ethyl acetate 분획의 MIC가 0.13%로 비교물질인 methyl paraben(0.25%)과 quercetin(0.15%)과 비교하였을 경우 보다 낮은 농도에서 MIC가 나타났다. 비듬균인 *P. ovale*에 대한 여뀌 분획물 중 ethyl acetate 분획의 MIC는 0.25%로 비교물질에 비하여 낮은 활성을 나타내었지만, 현재 사용되고 있는 방부제나 항균제가 평균적으로 0.2~0.4% 정도의 농도 범위 내에서 사용하고 있는 것을 감안하면 여뀌 분획물은 낮은 농도에서도 천연 방부제, 항균제로서 역할이 충분히 기대된다.

여뀌 추출물 함유 크림의 피부 도포에 의한 보습 효능

수분보유량: 여뀌 추출물 함유 크림의 피부 보습 효능 평가를 위해 추출물 중 ethyl acetate 분획 0.25%를 함유하는

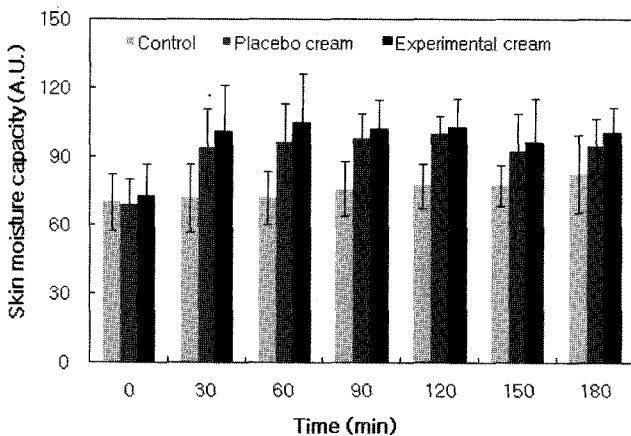


Fig. 1. Representation of skin hydration by Corneometer (CM820) measurement. The measurement was tried out at normal room condition with 10 volunteers during 180 min. The zero point is before the use of cream containing *P. hydropiper* L. extract.

크림을 제조하였다(Table 1). 추출물 함유 크림을 팔 인쪽에 도포한 후, 수분보유량을 180 min 동안 30 min 간격으로 측정하였다. Fig. 1은 추출물 함유 크림을 도포하기 30 min 전부터 30 min 간격으로 180 min 동안 측정된 결과이다. 그 결과, 무도포(control)한 부분과 placebo 크림에 비하여 여뀌 추출물 함유 크림의 수분 보유량이 더 증가하였으며, placebo 크림에 비하여 여뀌 추출물 함유 크림은 2~4%의 증가율을 보였다.

경표피 수분 손실량: 경표피 수분 손실량은 추출물 함유 크림 도포 후 60 min 간격으로 180 min 동안 측정하였다(Fig. 2). 그 결과 180 min이 지난 후 무도포한 부분의 수분 손실량은 7.5 g/m²h, 여뀌 추출물 함유 크림은 6.5 g/m²h으로, 여뀌 추출물을 함유한 크림이 경표피 수분 손실량을 감소시킴을 알 수 있었다.

결론

피부 상재균에 대한 항균 활성

화장품에 이용되고 있는 방부제나 항균제들은 제품의 변질이나 오염을 막기 위해 필요하며, 피부질환을 야기시키는 특정 세균의 기능 및 생리활동을 약화 또는 억제시키거나 세균 자체를 사멸시키기 위한 목적으로 사용되고 있다. 실제로 화장품에 응용되는 방부제나 항균제들은 본질적으로 인체에 무해하나 다량의 방부제가 함유될 경우, 인체 피부와 직접적으로 접촉하여 반응하게 되므로 피부를 자극하고,

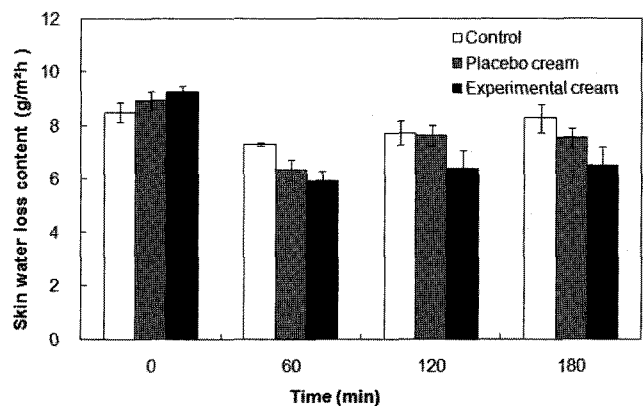


Fig. 2. Representation of TEWL by Tewameter (TM300) measurement. The zero is before the use given cosmetic cream and at intervals of 2 weeks was measured after use of cream containing *P. hydropiper* L. ethyl acetate fraction.

알레르기과 같은 부작용을 유발할 수 있다. 그러므로 인체 피부에 영향을 주지 않는 가능한 한 최소량을 사용하여 최대의 효과를 얻을 수 있는 물질을 선택 사용하는 것이 중요하다. 본 연구에서 여뀌 분획물 중 ethyl acetate 분획의 *P. acnes*, *S. aureus*, *P. ovale*에 대한 MIC를 측정된 결과 0.13~0.25%로 비교물질인 methyl paraben, quercetin과 비슷하거나 낮은 MIC를 나타내었고, 현재 사용되고 있는 방부제나 향균제가 평균적으로 0.2~0.4% 정도의 농도 범위 내에서 사용하고 있는 것을 감안하면 여뀌 분획물은 낮은 농도에서도 천연 방부제, 향균제로서 역할이 충분히 기대된다. 이러한 결과는 여뀌 분획물의 현저한 항산화 및 세포보호 효과와 함께 향균 및 방부 소재로서 화장품 개발에 응용가능성이 높음을 시사한다.

피부 도포에 의한 보습 효능

여뀌 추출물 함유 크림의 피부 보습 효능 평가 결과 무도포(control)한 부분과 placebo 크림에 비하여 여뀌 추출물 함유 크림의 수분 보유량이 더 증가하였으며, placebo 크림에 비하여 여뀌 추출물 함유 크림은 2~4%의 증가율을 보였다. 경표피 수분 손실량은 무도포한 부분의 수분 손실량은 7.5 g/m²h, 여뀌 추출물 함유 크림은 6.5 g/m²h으로, 여뀌 추출물을 함유한 크림이 경표피 수분 손실량을 감소시킴을 알 수 있었다.

이상의 결과들은 여뀌 추출물 ethyl acetate 분획이 피부 상재균인 *P. acnes*, *S. aureus*, *P. ovale*에 대하여 큰 항균활성이 있고, 분획물 함유 크림을 제조하여 피부 보습 효능 평가를 실시함으로써 항노화 활성을 확인하였다. 이미 보고된 분획물의 항산화 특성과 함께 기능성 화장품 소재로서 화장품에의 응용가능성이 큼을 시사한다.

요 약

본 연구에서는 여뀌 추출물의 항균 작용과 여뀌 추출물을 함유한 크림을 제조하여 인체 피부에서의 보습 효능을 측정하였다. 여뀌 추출물의 *P. acnes*, *S. aureus*, *P. ovale*에 대한 MIC를 측정된 결과 0.13~0.25%로 비교물질인 methyl paraben, quercetin과 비슷하거나 낮은 MIC로 큰 항균 활성을 나타내었다. 또한 여뀌 추출물의 ethyl acetate 분획 함유 크림을 피부에 도포한 후 180 min 동안 경표피 수분 손실량과 피부 수분 함량의 변화를 측정된 결과 여뀌 추출물의 ethyl acetate 분획 함유 크림이 피부에 우수한 보습 효과를 나타냄을 확인하였다. 경표피 수분 손실량은 무도포한 부분

의 수분 손실량은 7.5 g/m²h, 여뀌 추출물 함유 크림은 6.5 g/m²h으로, 여뀌 추출물을 함유한 크림이 경표피 수분 손실량을 감소시킴을 알 수 있었다. 또한 피부 수분 보유량은 placebo 크림에 비하여 여뀌 추출물 함유 크림은 2~4%의 증가율을 보였다. 여뀌 추출물 중 ethyl acetate 분획과 aglycone 분획에 대한 실험 결과로부터 향균, 항노화 화장품 원료로서의 가능성을 확인하였다.

감사의 글

본 연구는 보건복지가족부 보건의료연구개발사업의 지원에 의하여 이루어진 것으로 이에 감사드립니다(과제 고유번호 : A092055).

REFERENCES

- Gemmer, C. M., Y. M. DeAngelis, B. Theelen, T. Boekhout, and T. L. Dawson. 2002. Fast, non-invasive method for molecular detection and differentiation of *Malassezia* yeast species on human skin and application of the method to dandruff microbiology, *J. Clin. Microbiol.*, **40**: 3350-3357.
- Ha, Y. M., B. B. Lee, H. J. Bae, K. M. Je, S. R. Kim, J. S. Choi, and I. S. Choi. 2009. Anti-microbial activity of grapefruit seed extract and processed sulfur solution against human skin pathogens, *J. Life Science*, **19**: 956-962.
- Haraguchi, H., I. Ohmi, S. Sakai, and A. Fukuda. 1996. Effect of *Polygonum hydropiper* sulfated flavonoids on lens aldose reductase and related enzymes, *J. Nat. Prod.*, **59**: 443-445.
- Kim, E. H., J. E. Kim, and S. N. Park. 2009. Antioxidative and antiaging effects of *Persicaria hydropiper* L. Extracts, *J. Soc. Cosmetic, Scientist Korea*, **35**: 293-300.
- Marples, R. R. 1974. The microflora of the face and acne lesions, *J. Invest. Dermatol.*, **62**: 326-331.
- Miyazawa, M. and N. Tamura. 2007. Inhibitory compound of tyrosinase activity from the sprout of *Polygonum hydropiper* L. (Benitade), *Biol. Pharm. Bull.*, **30**: 595-597.
- Peng, Z. F., D. Strack, A. Baumert, R. Subramaniam, N. K. Goh, T. F. Chia, S. N. Tan, and L. S. Chia. 2003. Antioxidant flavonoids from leaves of *Polygonum hydropiper* L., *Phytochemistry*, **62**: 219-228.
- Zhoh, C. K., B. N. Kim, S. H. Hong, and C. G. Han. 2002. The antimicrobial effects of natural aromas for substitution of parabens, *J. Soc. Cosmetic, Scientist Korea*, **28**: 166-185.

(Received Feb. 22, 2010/Accepted March 18, 2010)