

## Comparison of Biological Activity between *Nelumbo nucifera* G. Extracts and Cosmetics Adding *Nelumbo nucifera* G.

Jin-Young Lee, Mi-Ra Yu<sup>1</sup> and Bong-Jeun An<sup>1\*</sup>

Department of Herbal Cosmetic Science, Hoseo University, Chungnam, 336-795, Korea

<sup>1</sup>Department of Cosmeceutical Science, Daegu Haany University, Gyeongbuk, 712-715, Korea

Received June 28, 2010 / Accepted July 21, 2010

The solvent extracts of *Nelumbo nucifera* G. were investigated for antioxidant activities, whitening and anti-wrinkle effects to apply as a functional ingredient in cosmetic products. For their industrial application, the cosmetic products were also prepared with advanced formulation techniques such as W/O/W multiple emulsion. Total phenolic and flavonoids contents increased in *Nelumbo nucifera* G.-Leaf (NN-L). The electron donating ability of *Nelumbo nucifera* G.-Flower (NN-F) or *Nelumbo nucifera* G.-Leaf (NN-L) extracts were above 85% at a concentration of 500 ppm. The superoxide dismutase (SOD)-like activity of *Nelumbo nucifera* G. (NN-L) extracts was about 60% at a concentration of 1,000 ppm. The xanthine oxidase inhibitory effect of NN-L extract was higher than that of NN-F and NN-S extracts. The tyrosinase inhibitory effect, which is related to skin-whitening, was 36% in NN-F at 1,000 ppm. For anti-wrinkle effect, the elastase inhibition activity of NN-L was about 30% at 1,000 ppm. The results of stability test showed that W/O/W multiple emulsion (ME) containing *Nelumbo nucifera* G. extracts. The electron donating ability of the ME containing NN-F and NN-L were about 60% at a concentration of 100 ppm. The superoxide dismutase (SOD)-like activity of the ME containing NN-L was 30% at 1,000 ppm. The tyrosinase inhibitory effect, which is related to skin-whitening, was 34% in the ME containing NN-F at 1,000 ppm. In anti-wrinkle effect, the elastase inhibition activity of the ME containing NN-L was about 55% at 1,000 ppm.

**Key words :** *Nelumbo nucifera* G., antioxidation, tyrosinase, elastase, cosmetics

### 서 론

연(蓮, *Nelumbo nucifera* Gaertner)은 수련과(水漣科, Nymphaeaceae)의 다년생수초(多年生 水草)로 중국에서는 연을 불로식(不老食)으로 취급하여 잎, 열매, 뿌리, 줄기의 모든 부분을 약재로 이용해 왔으나, 국내에서는 식용으로 주로 쓰이는 것은 밀반찬으로 사랑받는 연근이고, 연꽃, 씨앗(연밥)은 약용으로 주로 쓰이고 있다. 옛날부터 연은 염증을 없애고, 지혈 효과가 있으며, 해소·당뇨·위궤양·빈혈 등의 치료에도 효과가 있다고 보고되어 있다[5,14]. 중국에서 펴낸 <중약대사전>에서는 연의 종자를 연자(蓮子), 연의 가는 뿌리줄기를 우밀(藕密), 연의 비후된 뿌리줄기를 우(藕), 연의 근경의 마디 부분을 우절(藕節), 잎을 하엽(荷葉), 잎의 기부를 하엽체(荷葉蒂), 잎자루 혹은 꽃자루를 하경(荷梗), 꽃봉오리를 연화(蓮花), 꽃받침을 연방(蓮房), 수술을 연수(蓮鬚), 종피를 연의(蓮衣), 배아를 연자심(蓮子心)이라고 하여, 모두 약용으로 쓴다고 기록되어 있다[12,15]. 그 중 본 연구에 사용한 연의 꽃, 잎, 뿌리줄기에 대해 살펴보면 다음과 같다.

연꽃은 한방에서 '연화(蓮花)'라고 하여 벌어진 꽃 속에 진

한 차를 부어 꽃향기를 배어나게 하여 따로 보관해 두었다가 차에 조금씩 넣어서 향미를 즐기는 민속차가 전해져 내려오고 있다[9]. 연꽃의 성분은 quercetin, luteolin, isoquercetin, luteolinglucoside, kaempferol, kaempferol-3-glucorhamnoside, kaempferol-3-diglucoside 등 여러 가지 flavonoid를 함유한다. 효능은 면역성을 증가시켜 늙지 않게 하고 아름다운 머릿결을 유지시켜 주며, 말초 혈관의 혈액순환을 촉진하여 피부의 신진대사를 활발하게 함으로서 여드름이나 기미에 효과가 있고 신경과민이나 스트레스 등으로 인한 불면증이나 우울증을 진정시키는 효과가 있다[15]. <동의보감>에 의하면 '오래 마시면 인체의 온갖 병을 낮게 하고 몸을 보해준다' 하였으며, <본초강목>과 <명의별록>에는 '오래 마시면 늙지 않고 흰머리가 검어지며 마음과 몸에는 향기가 난다' 고 했다.

연잎은 한방에서 '하엽(荷葉)'이라 하며, 하엽은 여름철에 지친 심신을 안정시켜 식욕을 돋게 한다고 알려져 있다[9]. 연잎의 성분은 roemerine, nuciferine, nornuciferine, arnepavine, pronuciferine, N-nornuciferine, D-N-methylcoclaurine, anonaine, liriodenine, quercetin, isoquercitrin, nelumboside, tartaric acid, malic acid, gluconic acid, acetic acid, succinic acid, 탄닌, 구연산이 함유되어 있다[15]. 효능은 체내의 삼투압의 조절과 항체의 형성능력, 간 해독작용 등을 높이는 철분이 많아 유아, 사춘기소녀, 임신부 빈혈예방에 도움이 되

#### \*Corresponding author

Tel : +82-53-819-1429, Fax : +82-53-819-1429

E-mail : anbj@dhu.ac.kr

고 있으며, 비타민 E가 많아 천연항산화제로 노화방지에 효과가 있다. 또한 피를 맑게 하는 뛰어난 자정능력과 심장, 신장, 위장의 근육을 보호하는 기능과 더불어 연잎을 달여 목욕을 하면 건조성피부나 아토피성 피부개선에 도움을 준다. 그 밖에도 연잎은 지혈작용, 어혈 제거, 입 냄새 제거, 니코틴 제거, 버섯독 제거, 암 발생억제, 야뇨증, 출산 후 불순물 제거, 하혈을 멈추게 함, 기침가래해소, 천식, 진통 진정작용, 신경통, 관절염, 감기에방, 콜레스테롤 수치 감소 작용, 지방 분해 작용, 피부병 및 피부를 부드럽게 해주는 작용이 있다[12,15].

연의 뿌리줄기를 한방에서 '연우(蓮藕)'라고 하며[9], 성분은 살찐 줄기는 전분, 단백질, asparagine, 비타민 C를 함유하고 있으며, catechol, d-galliccatechol, neochlorogenic acid, leucocyanidin, leucodelphinidin 등 polyphenol 화합물을 모두 0.3% 함유하는 외에 peroxydase를 함유하고 있다[15]. 연우는 생것을 그대로 쓰면 열을 내리고 혈을 시원하게 하고 어혈을 제거하는 효능이 있으며, 열병빈갈, 토혈, 코피를 치료한다. 썬 익힌 다음에 복용하면 비장을 튼튼히 하고 식욕을 돋우며 혈을 보익하고 새살이 돌아나게 하며 설사를 멎게 하는 효능이 있다. 그 외에도 항산화 작용, 항바이러스 작용, 항암 작용, 항스트레스 작용 등이 있으며 피부를 곱게 하고, 여드름이나 주근깨를 없애는 등 여성미용에도 효과가 있다[12]. 따라서 본 연구에서는 백련을 기능성화장품 소재로 활용하기 위하여 옛 문헌들을 바탕으로 꽃, 잎, 뿌리줄기의 3가지 추출물을 이용하여 생리활성을 검증한 후, 화장품제형에 첨가하여 추출물과의 활성을 비교 검토하였다.

**재료 및 방법**

**시료재료**

본 실험에 사용한 백련은 전북 정읍시 정읍백련(주)에서 생산된 것을 구입하여 사용하였으며, 시료의 추출은 백련의 각 부위 꽃, 잎, 뿌리줄기를 건조무게의 10배에 해당하는 70% 에탄올을 가하여 실온에서 24시간 침지하여 상등액과 침전물을 분리하였으며, 동일한 방법으로 3회 반복 추출하여 본 실험에 사용하였다. 백련의 각 부위별 추출물을 원심분리, 여과 및 농축하여 동결건조 후 냉장실에 보관하면서 본 실험의 시료로 사용하였다.

**백련 부위별 추출물을 첨가한 W/O/W multiple emulsion 제조처방 및 방법**

백련 부위별 추출물을 첨가한 W/O/W multiple emulsion은 Table 1의 처방에 따라 Fig. 1과 같이 제조하였다. 먼저 유상에 emulsifier를 첨가한 후 수상을 넣어 3,000 rpm에서 10분간 homo mixer(T.K. Homo Mixer Mark II, Tokushu kika kogyo Co. Ltd. Japan)를 이용하여 1차 유화 후, 점증제를 넣고 2차 유화하였다. 다음 백련 부위별(꽃, 잎, 뿌리줄기) 추출물을 넣

Table 1. The experimental formulation of the W/O/W multiple emulsion containing *Nelumbo nucifera* G. extracts

No.	INCI <sup>1</sup> Name	Contents % (W/W <sup>2</sup> )
1	Oil Component	20~50%
2	Emulsifier	1~10%
3	Water Component	30~60%
4	Thickener	1~10%
5	<i>Nelumbo nucifera</i> G. extracts & Stabilizer	1~10%

<sup>1</sup>INCI: International nomenclature of cosmetic ingredient

<sup>2</sup>W/W: weight/weight %

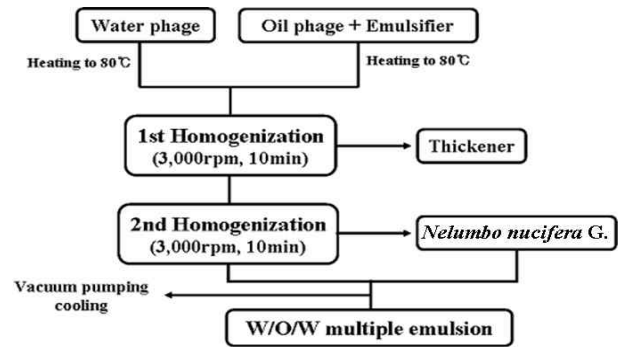


Fig. 1. Preparation of the W/O/W multiple emulsion containing *Nelumbo nucifera* G. extracts.

고 3,000 rpm에서 3분간 3차 유화 후 30°C까지 냉각시켜 W/O/W multiple emulsion을 제조하여 본 실험에 사용하였다.

**총 폴리페놀 함량 측정**

폴리페놀 정량은 AOAC 분석방법[2]에 준하여 정량하였다. 즉, 100배 희석한 시료용액 3 ml에 Folin-Ciocalteu phenol reagent 시약 1 ml를 가하고, 1 N HCl 0.2 ml을 넣은 후, 포화용액 Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 1 ml를 가하여 혼합한 후 1시간 실온에서 방치하고, 640 nm에서 흡광도를 측정한다. 표준물질인 tannic acid로 미리 작성한 표준곡선의 흡광도 값과 비교하여 폴리페놀 함량을 산출하였다.

**총 플라보노이드 함량 측정**

총 플라보노이드 함량은 Jia 등의 방법[11]을 응용하여 측정하였다. 각 시료 0.5 ml를 sodium nitrite solution 75 µl과 혼합하여 5분간 반응시키고 aluminum chloride solution 150 µl를 첨가하여 다시 5분간 반응시킨 후 1 M NaOH 0.5 ml와 섞어 510 nm에서 흡광도를 측정하였다. 이때 총 플라보노이드 함량은 catechin을 이용하여 작성한 표준곡선의 흡광도 값과 비교하여 플라보노이드 함량을 산출하였다.

**전자공여능 측정**

전자공여능(electron donating ability, EDA)은 Blois의 방법

[3]을 변형하여 측정하였다. 각 시료용액 2 ml에 0.2 mM의 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl(DPPH) 1 ml 넣고 교반한 후 30 분간 방치한 다음 517 nm에서 흡광도를 측정하였다. 전자공여능은 시료용액의 첨가군과 무첨가군의 흡광도 감소율로 나타내었다.

$$\text{전자공여능(\%)} = \left(1 - \frac{\text{시료첨가군의 흡광도}}{\text{무첨가군의 흡광도}}\right) \times 100$$

#### Superoxide dismutase (SOD) 유사활성 측정

SOD 유사활성은 Marklund의 방법[27]에 준하여 측정하였다. 각 시료용액 0.2 ml에 tris-HCl 완충용액(50 mM tris + 10 mM EDTA, pH 8.5) 2.6 ml와 7.2 mM pyrogallol 0.2 ml를 가하여 25°C에서 10분간 반응시킨 후 1 M HCl 0.1 ml를 가하여 반응을 정지시키고 반응액 중 산화된 pyrogallol의 양을 420 nm에서 흡광도를 측정하였다. SOD 유사활성은 시료용액의 첨가군과 무첨가군의 흡광도 감소율로 나타내었다.

$$\text{SOD 유사활성능(\%)} = \left(1 - \frac{\text{시료첨가군의 흡광도}}{\text{무첨가군의 흡광도}}\right) \times 100$$

#### Xanthine oxidase 저해활성 측정

Xanthine oxidase 저해활성은 Stirpe와 Corte의 방법[28]에 따라 측정하였다. 각 시료용액 0.1 ml와 0.1 M potassium phosphate buffer (pH 7.5) 0.6 ml에 xanthine (2 mM)을 녹인 기질액 0.2 ml를 첨가하고 xanthine oxidase (0.2 U/ml) 0.1 ml를 가하여 37°C에서 15분간 반응시킨 후 1 N HCl 1 ml를 가하여 반응을 종료시킨 다음, 반응액 중에 생성된 uric acid의 양을 292 nm에서 흡광도를 측정하였다. Xanthine oxidase 저해활성은 시료용액의 첨가군과 무첨가군의 흡광도 감소율로 나타내었다.

$$\text{저해율(\%)} = \left(1 - \frac{\text{시료첨가군의 uric acid 생성량}}{\text{무첨가군의 uric acid 생성량}}\right) \times 100$$

#### Tyrosinase 저해활성 측정

Tyrosinase 저해활성 측정은 Yagi 등의 방법[30]에 따라 측정하였다. 반응구는 0.175 M sodium phosphate buffer (pH 6.8) 0.5 ml에 10 mM L-DOPA를 녹인 기질액 0.2 ml 및 시료용액 0.1 ml의 혼합액에 mushroom tyrosinase (110 U/ml) 0.2 ml를 첨가하여 25°C에서 2분간 반응시켜 반응액 중에 생성된 DOPA chrome을 475 nm에서 측정하였다. Tyrosinase 저해활성은 시료용액의 첨가군과 무첨가군의 흡광도 감소율로 나타내었다.

$$\text{저해율(\%)} = \left(1 - \frac{\text{시료첨가군의 흡광도}}{\text{무첨가군의 흡광도}}\right) \times 100$$

#### Elastase 저해활성 측정

Elastase 저해활성 측정은 Cannell 등[4]의 방법에 따라 측정하였다. 기질로서 N-succinyl-(L-Ala)<sub>3</sub>-p-nitroanilide를 사

용하여 37°C에서 20분간 기질로부터 생성되는 p-nitroanilide의 생성량을 445 nm에서 측정하였다. 즉, 각 시료용액을 일정 농도가 되도록 조제하여 0.5 ml 씩 시험관에 취하고, 50 mM tris-HCl buffer (pH 8.6)에 녹인 porcine pancreas elastase(2.5 U/ml)용액 0.5 ml를 가한 후 기질로 50 mM tris-HCl buffer(pH 8.6)에 녹인 N-succinyl-(L-Ala)<sub>3</sub>-p-nitroanilide (0.5 mg/ml)을 첨가하여 20분간 반응시켜 측정하였다. Elastase 저해활성은 시료용액의 첨가군과 무첨가군의 흡광도 감소율로 나타내었다.

$$\text{저해율(\%)} = \left(1 - \frac{\text{시료첨가군의 흡광도}}{\text{무첨가군의 흡광도}}\right) \times 100$$

#### 통계처리

결과 통계처리는 SPSS 10.0을 사용하였으며, 유의차 검증은 분산분석(analysis of variance, ANOVA)을 한 후  $\alpha=0.05$  수준에서 Duncan의 다중검증법(Duncan's multiple range test, DMRT)에 따라 분석하였다.

## 결과 및 고찰

### 백련 부위별 추출물의 수율

백련을 70% 에탄올에 추출하여 각 부위별 수율을 측정한다. 결과, 백련 뿌리줄기의 경우 2 kg을 추출하여 56.08 g를 얻어 2.8%의 수율을 나타내었으며, 백련 잎의 경우 2.5 kg을 추출하여 99.11 g를 얻어 4.0%의 수율을 나타내었고, 백련 꽃의 경우 2 kg을 추출하여 62.12 g를 얻어 3.1%의 수율을 나타내었다. 백련 부위 중 백련 잎의 수율이 4.0%로 가장 높았다.

### 총 폴리페놀 함량 확인

폴리페놀계 물질들은 식물체에 특수한 색깔을 부여하고 산화환원반응에서 기질로 작용하여, 한 분자 내에 2개 이상의 phenolic hydroxyl (OH)기를 가진 방향족 화합물들을 가리키며, 플라보노이드와 탄닌이 주성분으로 총치예방, 고혈압 억제, 항산화, 항암 등의 다양한 생리활성을 가진다[31]. 본 실험에 사용한 백련의 부위별 총 폴리페놀 함량을 tannic acid를 표준 곡선으로 하여 측정한 결과 Table 2와 같이 백련 꽃이 182.7 mg/g, 잎이 213.5 mg/g, 뿌리줄기가 49.6 mg/g로 백련 부위 중 백련 잎의 폴리페놀 함량이 가장 높았다. 이는 Lee 등[22]의 식물성 식품 중 총 폴리페놀 함량을 분석한 결과, 차로 이용되는 감잎이 57.6 mg/g, 시금치는 7.2 mg/g 함량을 가진다고 보고한 결과와 비교할 때 백련 부위별 추출물의 총 폴리페놀 함량이 높음을 확인할 수 있었다.

### 총 플라보노이드 함량 확인

플라보노이드는 C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub>의 기본 골격을 가지는 페놀계 화합물의 총칭으로, 채소류와 유관부 식물의 꽃, 가실, 줄기, 뿌

Table 2. The contents of total polyphenol & flavonoids from *Nelumbo nucifera* G. extracts

Samples	Polyphenol contents (mg/g)	Flavonoids contents (mg/g)
<sup>1</sup> NN-F	182.7	32.3
<sup>2</sup> NN-L	213.5	76.1
<sup>3</sup> NN-S	49.6	9.4

<sup>1</sup>NN-F: *Nelumbo nucifera* G.-Flower extract

<sup>2</sup>NN-L: *Nelumbo nucifera* G.-Leaf extract

<sup>3</sup>NN-S: *Nelumbo nucifera* G.-Stem extract

리 등 거의 모든 부위에 분포하고 있는 것으로 알려져 있다[6]. 백련 부위별 추출물의 총 플라보노이드 함량을 측정한 결과 Table 2와 같이 나타내었다. 백련 꽃 추출물의 경우 32.3 mg/g, 백련 잎 추출물의 경우 76.1 mg/g, 백련 뿌리줄기 추출물의 경우 9.4 mg/g로 백련 잎 추출물의 플라보노이드 함량이 가장 높았다. 이는 Hong 등[10]의 식물성 식품으로부터 총 플라보노이드 함량을 분석한 결과, 엽경채류와 차류 중에서 녹차가 44.7 mg/g로 가장 높았으며, 시금치는 7.51 mg/g, 근대는 10.7 mg/g의 총 플라보노이드 함량을 가지고 있음을 보고한 결과와 비교하여 백련 잎 추출물의 플라보노이드 함량이 높음을 확인할 수 있었다.

전자공여능 확인

백련 부위별 추출물의 전자공여능 측정 결과 Fig. 2와 같이 나타내었다. 백련 꽃, 잎 및 뿌리줄기 추출물 500 ppm에서 각각 86, 88, 20%의 활성을 나타내어 백련 뿌리줄기 추출물을 제외한 나머지 추출물의 활성이 대조군인 Vit. C와 유사한 활성을 나타내었다. 백련 부위별 추출물을 W/O/W multiple

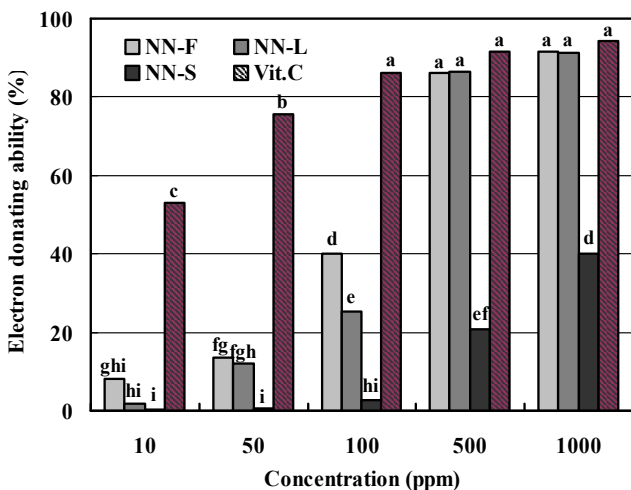


Fig. 2. Electron donating ability of *Nelumbo nucifera* G. extracts. ■ NN-F: *Nelumbo nucifera* G.-Flower extract. ■ NN-L: *Nelumbo nucifera* G.-Leaf extract. ■ NN-S: *Nelumbo nucifera* G.-Stem extract. □ Vit. C: ascorbic acid. Values are means of 3 replicates and those with different alphabet letters are significantly different at  $p < 0.05$ .

emulsion에 첨가하여 전자공여능을 측정한 결과 Fig. 3에 나타난 결과와 같이 500 ppm에서 백련 꽃과 잎 추출물의 경우 60%의 활성을 나타내어 추출물 자체보다는 다소 낮은 활성을 나타내었다. 이는 Mahoney와 Graf 등[26]이 보고한 결과에서 항산화 물질의 전자공여능을 측정할 때는 DPPH법이 편리하다고 알려져 있으나, 색소가 함유된 추출물의 경우 DPPH법의 적용에는 많은 경험이 요구되고 있다는 보고와 같이 화장품에 백련 추출물을 첨가 시 색소가 진하게 되어 정확한 UV 값의 측정이 어려운 것으로 판단된다. 위의 결과는 Kim 등[16]의 율무 추출물의 전자공여능 측정에서 메탄올 추출물이 795 ppm에서 50%의 저해능을 나타낸 결과와, Koh 등[19]의 석류씨 열수, 에탄올 추출물 및 석류씨 오일 1,000 ppm의 농도에서 각각 19, 29, 10%의 결과와 비교하여 백련 부위별 추출물의 항산화능이 유의한 결과를 나타냄을 확인할 수 있었다.

Superoxide dismutase (SOD) 유사활성 확인

백련 부위별 추출물의 SOD 유사활성을 측정한 결과 백련 꽃 추출물의 경우 1,000 ppm에서 34%, 백련 잎 추출물의 경우 61%, 백련 뿌리줄기 추출물의 경우 2%로 백련 잎 추출물의 SOD 유사활성이 가장 높게 나타났다(Fig. 4). 또한 백련 부위별 추출물을 W/O/W multiple emulsion에 첨가하여 SOD 유사활성을 측정한 결과 추출물 자체보다 다소 낮은 활성을 나타내었으며, 백련 잎 추출물 1,000 ppm에서 30%의 활성을 나타내어, 백련 부위별 추출물 중 활성이 가장 높았다(Fig. 5). 이 결과는 유화타입의 W/O/W multiple emulsion의 제형 특

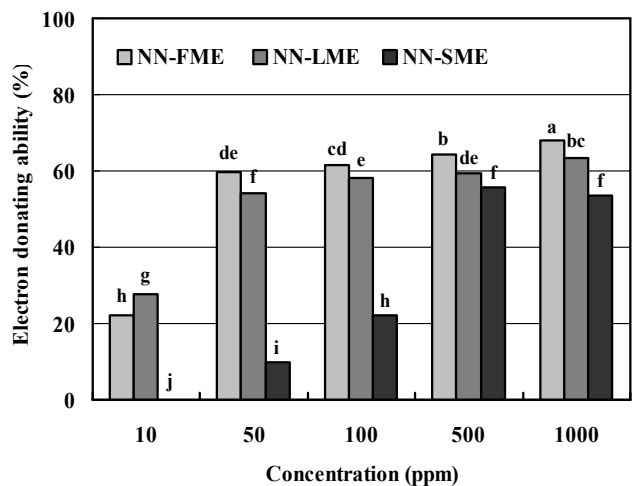


Fig. 3. Electron donating ability of the W/O/W multiple emulsion containing *Nelumbo nucifera* G. extracts. ■ NN-FME: W/O/W multiple emulsion containing *Nelumbo nucifera* G.-Flower extract. ■ NN-LME: W/O/W multiple emulsion containing *Nelumbo nucifera* G.-Leaf extract. ■ NN-SME: W/O/W multiple emulsion containing *Nelumbo nucifera* G.-Stem extract. Values are means of 3 replicates and those with different alphabet letters are significantly different at  $p < 0.05$ .

정상 pyrogallol과 결합 시 뿌연 백탁으로 변하여 UV/vis spectrophotometer 측정 시 흡광도 값이 높게 나타나 정확한 활성을 측정하기 힘들었으며, 이에 추출물 자체보다 활성이 낮게 나타난 것으로 판단된다. 이는 Lee 등[25]의 싸리 추출물의 SOD 유사활성 측정에서 1,000 ppm의 열수, 에탄올 및 압력 열수 추출물에서 각각 20, 44, 30%의 효과를 나타낸 결과와,

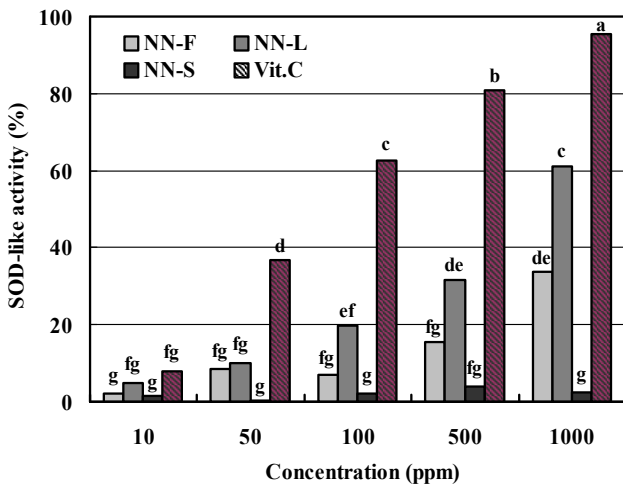


Fig. 4. SOD-like activity of *Nelumbo nucifera* G. extracts. □ NN-F: *Nelumbo nucifera* G.-Flower extract. ▒ NN-L: *Nelumbo nucifera* G.-Leaf extract. ■ NN-S: *Nelumbo nucifera* G.-Stem extract. ▨ Vit. C: ascorbic acid. Values are means of 3 replicates and those with different alphabet letters are significantly different at  $p < 0.05$ .

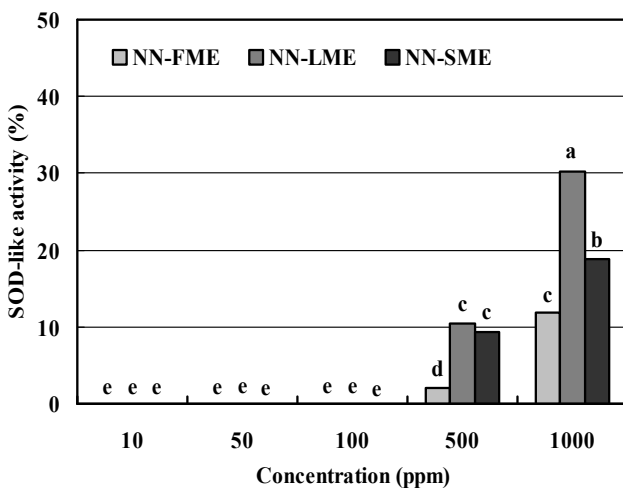


Fig. 5. SOD-like activity of the W/O/W multiple emulsion containing *Nelumbo nucifera* G. extracts. □ NN-FME: W/O/W multiple emulsion containing *Nelumbo nucifera* G.-Flower extract. ▒ NN-LME: W/O/W multiple emulsion containing *Nelumbo nucifera* G.-Leaf extract. ■ NN-SME: W/O/W multiple emulsion containing *Nelumbo nucifera* G.-Stem extract. Values are means of 3 replicates and those with different alphabet letters are significantly different at  $p < 0.05$ .

Lim 등[21]의 한국산 약용식물의 SOD 유사활성에서 20% 미만의 활성과 비교할 때 백련 잎 추출물의 SOD 유사활성능을 확인할 수 있었다.

Xanthine oxidase 저해활성 확인

Xanthine oxidase는 분자상의 산소를 수소 수용체로 이용하여 xanthine을 uric acid형으로 산화하는 반응을 촉매 한다 [7]. 따라서 xanthine oxidase의 저해효과는 유리 라디칼의 생성을 억제하여 항노화 및 항암 등과 연관되므로 생물학적으로 중요한 의미를 가진다고 할 수 있다[8,24]. 백련 부위별 추출물의 xanthine oxidase 저해활성을 측정한 결과 Fig. 6과 같이 나타내었다. 전반적으로 20% 미만의 낮은 저해활성을 나타내었으나, 백련 부위 중 백련 잎 추출물의 활성이 1,000 ppm에서 13%로 가장 높은 활성을 나타내었다. 백련 부위별 추출물을 W/O/W multiple emulsion에 첨가하여 xanthine oxidase 저해활성을 측정한 결과도 백련 추출물과 유사하게 20% 미만의 낮은 활성을 나타내었다(Fig. 7). 이는 Kim 등[18]의 미역, 모자반, 파래, 김 추출물의 xanthine oxidase 저해활성을 측정한 결과, 시료 농도 500 ppm에서 11, 11, 15, 9%의 저해활성을 나타내었다고 보고하였으며, An 등[1]의 산사자 추출물의 xanthine oxidase 저해활성을 측정한 결과, 시료 농도 1,000 ppm에서 10% 미만의 저해활성을 나타낸 결과와 유사한 효능을 나타내었다.

Tyrosinase 저해활성 확인

백련 부위별 추출물과 화장품에 첨가시의 tyrosinase 저해 활성을 측정한 결과 Fig. 8, 9와 같이 나타내었다. 백련 부위별

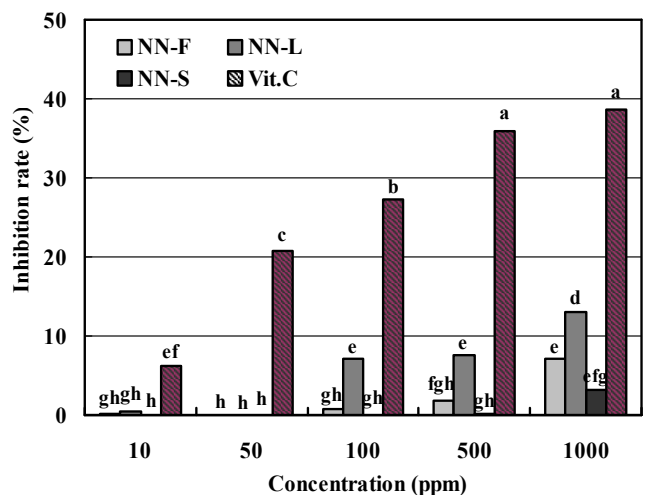


Fig. 6. Inhibition rate of *Nelumbo nucifera* G. extracts on xanthine oxidase. □ NN-F: *Nelumbo nucifera* G.-Flower extract. ▒ NN-L: *Nelumbo nucifera* G.-Leaf extract. ■ NN-S: *Nelumbo nucifera* G.-Stem extract. ▨ Vit. C: ascorbic acid. Values are means of 3 replicates and those with different alphabet letters are significantly different at  $p < 0.05$ .

추출물 중 백련 꽃 추출물 1,000 ppm에서 35% 이상의 저해활성을 나타내었으며, 백련 잎과 뿌리줄기 추출물의 경우 20% 미만의 활성을 나타내었다(Fig. 8). 백련 부위별 추출물을 W/O/W multiple emulsion에 첨가하여 tyrosinase 저해활성을 측정된 결과 백련 꽃 추출물을 첨가한 경우 34%의 활성을 나타내었으며, 백련 잎 추출물을 첨가한 경우 17%의 활성을

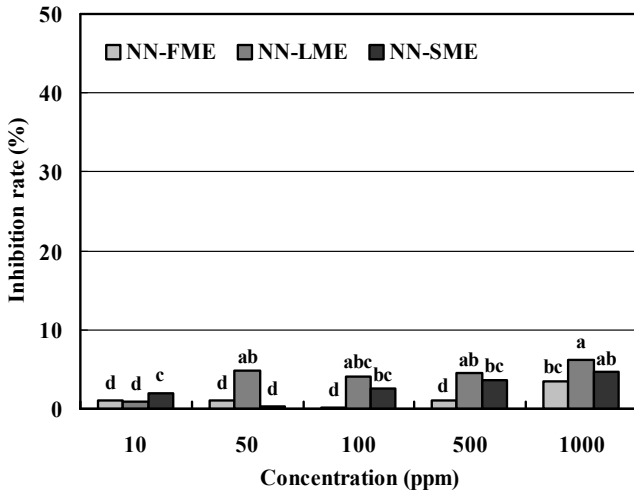


Fig. 7. Inhibition rate of the W/O/W multiple emulsion containing *Nelumbo nucifera* G. extracts on xanthine oxidase. ■ NN-FME: W/O/W multiple emulsion containing *Nelumbo nucifera* G.-Flower extract. ■ NN-LME: W/O/W multiple emulsion containing *Nelumbo nucifera* G.-Leaf extract. ■ NN-SME: W/O/W multiple emulsion containing *Nelumbo nucifera* G.-Stem extract. Values are means of 3 replicates and those with different alphabet letters are significantly different at  $p < 0.05$ .

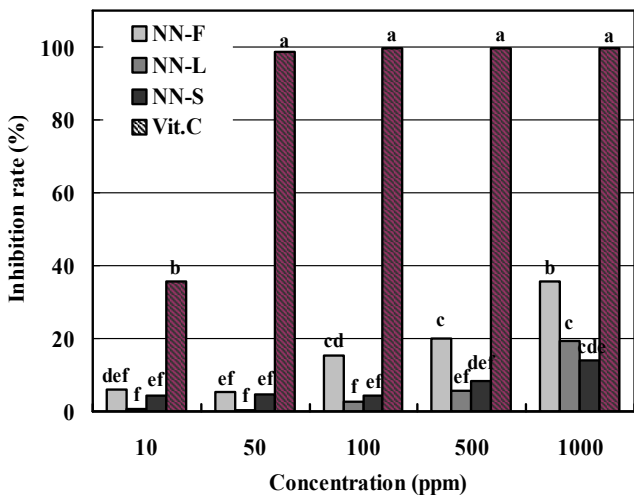


Fig. 8. Inhibition rate of *Nelumbo nucifera* G. extracts on tyrosinase. ■ NN-F: *Nelumbo nucifera* G.-Flower extract. ■ NN-L: *Nelumbo nucifera* G.-Leaf extract. ■ NN-S: *Nelumbo nucifera* G.-Stem extract. ■ Vit. C: ascorbic acid. Values are means of 3 replicates and those with different alphabet letters are significantly different at  $p < 0.05$ .

나타내어 백련 꽃 추출물을 첨가한 화장품의 활성이 가장 높았다(Fig. 9). 이는 백련 추출물의 항산화능 효과 및 elastase 저해활성 측정에서 백련 잎 추출물의 효능이 가장 높게 나타난 결과와 다르게, 미백효과에서는 백련 꽃 추출물의 활성이 가장 높음을 확인할 수 있었다. Lee 등[23]의 제주산 식물을 이용한 tyrosinase 억제 활성을 측정된 결과 1,000 ppm의 농도에서 10% 미만의 효과가 나타났으며, Jung 등[13]의 토사자, 숙식황, 오가피 추출물 1,000 ppm에서 30% 미만의 저해능을 나타낸 결과와 비교하여 백련 꽃 추출물의 활성이 유의한 결과를 나타내었다.

Elastase 저해활성 확인

인체의 중성구 과립구내에 존재하는 elastase는 진피 내 피부탄력을 유지하는데 중요한 기질 단백질인 엘라스틴을 분해하는 효소이며, 다른 중요한 기질 단백질인 콜라겐을 분해할 수 있는 비특이적 가수분해 효소이다. 따라서 elastase 저해제는 피부 주름을 개선하는 작용을 한다[29]. 이러한 주름 생성과 관련된 elastase 저해활성을 측정된 결과 Fig. 10, 11과 같이 나타내었다. 백련 부위별 추출물의 elastase 저해활성을 측정된 결과 백련 잎 추출물 1,000 ppm에서 30% 이상의 저해활성을 나타내었으며, 백련 꽃과 뿌리줄기 추출물의 경우 20% 미만의 낮은 활성을 나타내었다(Fig. 10). 백련 부위별 추출물을 W/O/W multiple emulsion에 첨가하여 elastase 저해활성을 측정된 결과 백련 잎 추출물을 첨가한 경우 1,000 ppm에서 55%, 백련 뿌리줄기 추출물을 첨가한 경우 32%의 저해활성을

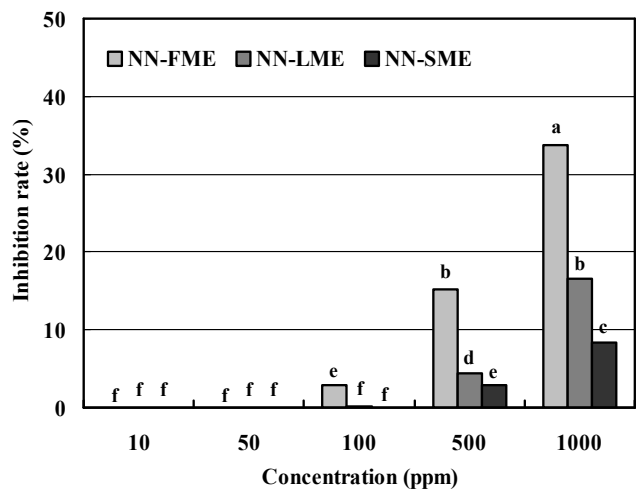


Fig. 9. Inhibition rate of the W/O/W multiple emulsion containing *Nelumbo nucifera* G. extracts on tyrosinase. ■ NN-FME: W/O/W multiple emulsion containing *Nelumbo nucifera* G.-Flower extract. ■ NN-LME: W/O/W multiple emulsion containing *Nelumbo nucifera* G.-Leaf extract. ■ NN-SME: W/O/W multiple emulsion containing *Nelumbo nucifera* G.-Stem extract. Values are means of 3 replicates and those with different alphabet letters are significantly different at  $p < 0.05$ .

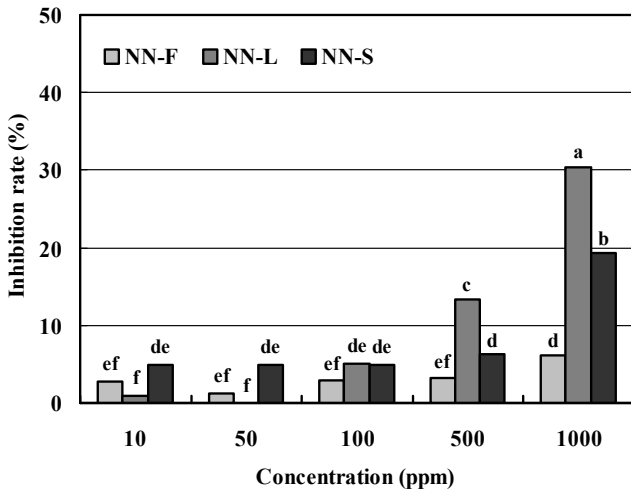


Fig. 10. Inhibition rate of *Nelumbo nucifera* G. extracts on elastase. □ NN-F: *Nelumbo nucifera* G.-Flower extract. ▒ NN-L: *Nelumbo nucifera* G.-Leaf extract. ■ NN-S: *Nelumbo nucifera* G.-Stem extract. Values are means of 3 replicates and those with different alphabet letters are significantly different at  $p < 0.05$ .

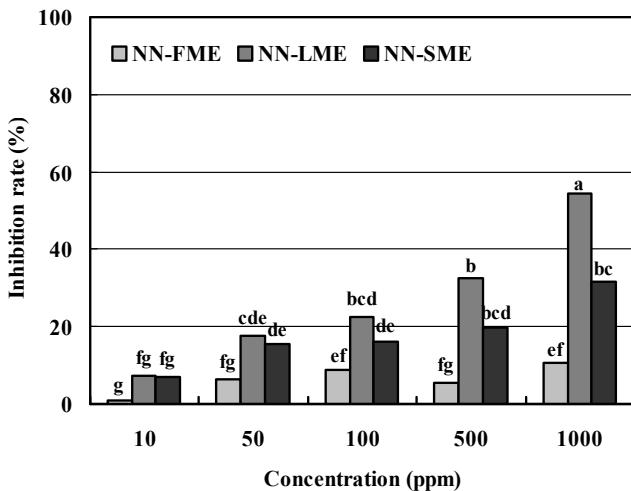


Fig. 11. Inhibition rate of the W/O/W multiple emulsion containing *Nelumbo nucifera* G. extracts on elastase. □ NN-FME: W/O/W multiple emulsion containing *Nelumbo nucifera* G.-Flower extract. ▒ NN-LME: W/O/W multiple emulsion containing *Nelumbo nucifera* G.-Leaf extract. ■ NN-SME: W/O/W multiple emulsion containing *Nelumbo nucifera* G.-Stem extract. Values are means of 3 replicates and those with different alphabet letters are significantly different at  $p < 0.05$ .

나타내어 추출물보다 화장품에 첨가 시 활성이 높아짐을 확인할 수 있었다(Fig. 11).

이는 화장품의 여러 원료성분과 백련 부위별 추출물의 첨가로 추출물 자체보다 더 높은 시너지 효과를 얻은 것으로 판단된다. Kwak 등[20]의 각종 약용 식물로부터 elastase 저해활성을 측정된 결과, 대부분이 1 mg/ml의 농도에서 30% 미만의

저해활성을 나타내었으며, Kim 등[17]의 genistein 및 ursolic acid는 각각 0.5 mg/ml에서 32%, 1 mg/ml에서 41%의 저해율을 나타내어, 백련 잎 추출물과 화장품에 첨가시의 백련 부위별 추출물과 유사한 elastase 저해활성을 나타내었다.

### References

- An, B. J., B. Y. Kang, and J. T. Lee. 2002. Development of cosmetic material from Korea *Crataegi Fructus* extract. *Kor. J. Herbology* **17**, 39-50.
- AOAC. 1975. Official methods of analysis. 14th eds., Association of Analytical Chemists. Washington, D.C., USA.
- Blois, M. S. 1958. Antioxidant determination by the use of a stable free radical. *Nature* **26**, 1199-1120.
- Cannell, R. J. P., S. J. Kellan, A. M. Owsiansks, and J. M. Walker. 1988. Results of a large scale screen of microalgae for the production of protease inhibitors. *Planta Med* **54**, 10-14.
- Chung, B. S. and M. K. Shin. 1990. Illustration great encyclopedia of herb medicine. pp. 208, 514, 1010. Younglim Book centre, Seoul, Korea.
- Decker, E. A. 1995. The role of phenolics, conjugated linoleic acid, carnosine and pyrrolquinone as nonessential dietary antioxidants. *Nutri. Rev.* **53**, 49-58.
- Duke, E. J., P. Joyce, and J. P. Ryan. 1973. Characterization of alternative molecular forms of xanthine oxidase in the mouse. *Biochem. J.* **131**, 187-190.
- Hatano, T., T. Yasuhara, R. Yoshihara, Y. Ikegami, M. Matsuda, K. Yazaki, I. Agata, S. Nishibe, T. Noro, and M. Yoshizaki. 1991. Inhibitory effects of galloylated flavonoids on xanthine oxidase. *Planta Med* **57**, 83-84.
- Heo, J. 2002. Dongguioam. pp. 1883-1884, Bubin publishes.
- Hong, J. J. and T. H. Ahn. 2005. Change in total flavonoid and total polyphenol contents of leafy vegetables (Spinach, Chard and Whorled Mallow) by blanching time. *Korean J. Food Cookery Sci.* **21**, 190-194.
- Jia, Z., M. Tang, and J. Wu. 1999. The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effect on superoxide radicals. *Food Chem* **64**, 555-559.
- Jung, B. S. and M. K. Shin. 1998. Hyang-yak jipseongbang, pp. 514-517. Younglim Book centre.
- Jung, S. W., N. K. Lee, S. J. Kim, and D. S. Han. 1995. Screening of tyrosinase inhibitor from plants. *Korean J. Food Sci. Technol.* **27**, 891-896.
- Kim, I. H. 1981. Drug phytochemistry. pp. 152, 440. Jinmyong publishing Inc., Seoul, Korea.
- Kim, C. M., M. K. Shin, K. S. Lee, and D. K. An. 1999. JoongYakDaSaJeon [10th]. pp. 4623, JungDam publishes, Seoul, Korea.
- Kim, J. K. and H. S. Lee. 2000. Tyrosinase inhibitory and radical scavenging activities from the seeds of Coix. *Korea J. Food Sci. Technol.* **32**, 1409-1413.
- Kim, M. J., J. Y. Kim, S. W. Choi, J. T. Hong, and K. S. Yoon. 2004. Anti-wrinkle effect of safflower(*Cathamus tinctorius*) extract on elastase activity in cultured skin fibroblasts.

- tarius) seed extract. *J. Soc. Cosmet. Sci. Korea* **30**, 15-22.
18. Kim, O. K., T. G. Lee, Y. B. Park, D. C. Park, Y. W. Lee, S. G. Yeo, I. S. Kim, Y. H. Park, and S. B. Kim. 1996. Inhibition of xanthine oxidase by seaweed extracts. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* **25**, 1069-1073.
  19. Koh, J. H., M. O. Hwang, J. S. Moon, S. Y. Hwang, and J. Y. Son. 2005. Antioxidative and antimicrobial activities of pomegranate seed extracts. *Korean J. Food Cookery Sci.* **21**, 171-179.
  20. Kwak, Y. J., D. H. Lee, N. M. Kim, and J. S. Lee. 2005. Screening and extraction condition of anti-skin aging elastase inhibitor from medicinal plants. *Korean J. Medicinal Crop Sci.* **13**, 213-216.
  21. Lim, J. D., C. Y. Yu, M. J. Kim, S. J. Yun, S. J. Lee, N. Y. Kim, and I. M. Chung. 2004. Comparison of SOD activity and phenolic compound contents in various Korean medicinal plants. *Korean J. Medicinal Crop Sci.* **12**, 191-202.
  22. Lee, J. M., E. S. Son, S. S. Oh, and D. S. Han. 2001. Contents of total flavonoid and biological activities of edible plants. *Kor. J. Dietary Culture* **16**, 504-514.
  23. Lee, N. H., H. C. Yang, H. J. Bu, D. S. Jung, S. J. Lee, and K. Z. Riu. 2001. Screening of the tyrosinase inhibition and hyaluronidase inhibition activities and radical scavenging effects using plants in Cheju. *Kor. J. Pharmacogn.* **32**, 175-180.
  24. Lee, Y. S. 2007. Antioxidative and physiological activity of extracts of *Angelica leaves*. *Korean J. Food Preserv.* **14**, 78-86.
  25. Lee, Y. S., E. Y. Joo, and N. W. Kim. 2005. Antioxidant activity of extracts from the *lespedeza bicolor*. *Korea J. Food Sci. Technol.* **12**, 75-79.
  26. Mahoney, J. R., E. Graf, R. G. Bryant, and J. W. Eaton. 1984. Iron-catalyzed hydroxyl radical formation stringent requirement for free iron coordination site. *J. Biol. Chem.* **259**, 3620-3624.
  27. Marklund, S. and G. Marklund. 1974. Involvement of the superoxide anion radical in the autoxidation of pyrogallol and a convenient assay for superoxide dismutase. *Eur. J. Biochem.* **47**, 469-474.
  28. Stirpe, F. and E. Della Corte. 1969. The regulation of rat liver xanthine oxidase. Conversion in vitro of the enzyme activity from dehydrogenase (type D) to oxidase (type O). *J. Biol. Chem.* **244**, 3855-3863.
  29. Tsuji, N., S. Moriwaki, Y. Suzuki, Y. Takema, and G. Imokawa. 2001. The role of elastases secreted by fibroblasts in wrinkle formation: implication through selective inhibition of elastase activity. *Photochem. Photobiol.* **74**, 283-290.
  30. Yagi, A., T. Kanbara, and N. Morinobu. 1986. The effect of tyrosinase inhibition for aloe. *Planta Medica.* **39**, 517-519.
  31. Yoshizawa, S., T. Horiuchi, T. Yoshida, and T. Okuda. 1987. Antitumor promoting activity of (-)-epigallocatechin gallate, the main constituent of tannin in green tea. *Phytother. Res.* **1**, 44-47.

#### 초록 : 백련(*Nelumbo nucifera* G.) 추출물 및 화장품에 첨가 시 생리활성 비교

이진영 · 유미라<sup>1</sup> · 안봉진<sup>1\*</sup>

(호서대학교 한방화장품학과, <sup>1</sup>대구한의대학교 화장품약리학과)

백련을 기능성 화장품 소재로 활용하기 위하여 항산화능, 미백 및 주름개선 효과를 검증한 후 W/O/W multiple emulsion에 첨가하여 기능성 화장품 소재로서의 가능성을 검증하였다. 백련 부위별 추출물의 총 폴리페놀 및 플라보노이드 함량을 측정된 결과 백련 잎 추출물이 213.5 mg/g 및 76.1 mg/g로 가장 높은 함량을 나타내었다. 백련 부위별 추출물의 전자공여능 측정 결과 백련 꽃과 잎 추출물 500 ppm에서 85% 이상의 효과를 나타내었으며, SOD 유사활성능 측정 결과 백련 잎 추출물 1,000 ppm에서 60%로 가장 높은 유사활성능을 나타내었다. 백련 부위별 추출물의 xanthine oxidase 저해활성 측정 결과 전반적으로 낮은 활성을 나타내었으나 백련 잎 추출물이 백련 꽃과 뿌리줄기 추출물에 비해 저해능이 높았다. 미백효과 검증으로 tyrosinase 저해활성을 측정된 결과 백련 꽃 추출물 1,000 ppm에서 36%의 저해능을 나타내었다. 주름억제 효과 측정 결과 백련 잎 추출물 1,000 ppm에서 30%의 elastase 저해활성을 나타내었다. 백련 부위별 추출물을 W/O/W multiple emulsion에 첨가하여 활성을 검증한 결과 전자공여능 측정 결과 백련 꽃과 잎 추출물 100 ppm에서 60% 이상의 활성을 나타내었다. 백련 부위별 추출물을 첨가한 W/O/W multiple emulsion의 SOD 유사활성능 측정 결과 백련 잎 추출물 1,000 ppm에서 30%의 활성을 나타내었으며, xanthine oxidase 저해활성 측정 결과 백련 부위별 추출물 모두 비교적 낮은 저해능을 나타내었다. 백련 부위별 추출물을 첨가한 W/O/W multiple emulsion의 tyrosinase 저해활성 측정 결과 백련 꽃 추출물 1,000 ppm에서 34%의 활성을 나타내어 추출물과 유사한 효능을 나타내었으며, elastase 저해활성 측정 결과 백련 잎 추출물 1,000 ppm에서 55%의 활성을 나타내었다.