

생약재 추출물로부터 주름 개선 소재의 발굴 및 이를 이용한 화장품의 안정성 시험

조은아* · 조은혜* · 최선주* · 박근형* · 김소영* · 정윤주** · 구창섭** · 하병집** · 장동일** · 채희정*†

*호서대학교 식품생물공학과 및 기초과학연구소, ** (주)코테 기업부설연구소

Screening of Anti-wrinkle Resource from Herbal Medicinal Extracts and Stability Test of Its Cosmetic Products

Eun Ah Cho*, Eun Hye Cho*, Sun Ju Choi*, Keun Hyoung Park*, So Young Kim*, Yoon Joo Jeong**, Chang Sub Ku**, Byung Jhip Ha**, Dong Il Jang** and Hee Jeong Chae*†

*Department of Food and Biotechnology and Institute of Basic Science, Hoseo University, Asan 336-795, Korea.

**R&D Center, Cotte Co., Ltd., Cheonan 330-858, Korea.

ABSTRACT: Various herbal medicinal extracts were examined for the development of cosmetic products with anti-oxidative and anti-wrinkle activity. First, total polyphenol contents and DPPH radical scavenging activities of herbal medicinal extracts were measured. Most herbal samples, except for DW extracts of *Portulaca oleracea*, *Caesalpinia sappan*, *Taraxacum platycarpum*, *Carthamus tinctorius*, and 70% EtOH extracts of *Taraxacum platycarpum* and *Carthamus tinctorius*, showed DPPH radical scavenging activity over 80% at a concentration of 400 µg/ml. SOD-like antioxidant activity of DW extracts of *Syzygium aromaticum*, DW extracts of *Eriobrya japonica* and 70% EtOH extracts of *Sophora japonica* was measured as 40%, 35% and 80%, respectively at a dry matter concentration of 50 µg/ml. In elastase inhibition assay, DW extracts of *Lycium chinense* (50 µg/ml) and 70% EtOH extracts of *Areca catechu* (50 µg/ml) showed 50% and 40% of inhibition, respectively. At a concentration of 1,250 µg/ml, DW extracts of *Lycium chinense* and 70% EtOH extracts of *Areca catechu* showed 10% and 30% of collagenase inhibition, respectively. Skin and lotion samples were prepared using the two herbal extracts of high anti-wrinkle activity: *Lycium chinense* extract and *Areca catechu* extract. The storage stability of skin and lotion containing each of the selected herbal extracts was evaluated. pH and viscosity were used as stability indicators for the stability test under different storage temperatures and freeze-thaw cycle conditions. The skin and lotion containing each of DW extract of *Lycium chinense* and 70% EtOH extract of *Areca catechu* was showed high pH and viscosity stability. The skin and lotion containing DW extracts of *Lycium chinense* showed relatively higher stability than the skin and lotion containing 70% EtOH extract of *Areca catechu*, at cycle chamber and freeze-thaw conditions. In summary, these results indicated that cosmetics containing DW extract of *Lycium chinense* were relatively stable, and this herbal extract could be used as a stable functional cosmetic material.

Key Words : Herbal Medicinal Extract, Antioxidant Activity, Antiwrinkle Activity, Elastase Inhibition, Stability Test

서 언

외부환경의 노출과 자연노화에 의해서 인체 내에 존재하는 항산화계의 역할만으로 산화적 스트레스에 의해 야기될 수 있는 손상을 적절히 방어하지 못하고 있으며, 활성산소종의 생성으로 인해 피부가 노화되기 시작한다. 그 중에서도 얼굴 피부는 자외선, 건조 외기 등에 직접적으로 노출되어 있어 그렇지 않은 피부보다 주름 등의 노화현상이 쉽게 발생하게 된다.

이러한 피부노화를 방지하거나 개선하고자 그에 부응하려는

노력으로 항산화 및 항노화 소재를 개발하고자 하는 연구들이 활발히 진행되고 있다 (Kim *et al.*, 2009; Lee *et al.*, 2002; Lee and Park, 2008; Park *et al.*, 2009; Xu *et al.*, 2010). 지금까지 활성산소와 free radical 생성을 방지하기 위해 사용되는 항산화제로는 이미 잘 알려진 ascorbic acid, α-tocopherol, carotenoid, flavonoid, butylated hydroxy toluene (BHT), butylated hydroxy anisole (BHA), propylene glycol (PG) 등이 있으며 (Dziezak, 1986), 화장품의 일반적인 소재로 이용되고 있다. 소재 개발에 있어 식·의약품 등의 모든 분야

†Corresponding author: (Phone) +82-41-533-5644 (E-mail) hjchae@hoseo.edu

Received 2011 March 15 / 1st Revised 2011 March 19 / 2nd Revised 2011 April 10 / Accepted 2011 April 22

에서 안정된 천연 항산화제의 개발은 산업계의 숙원이라 할 수 있다. 항산화제 중 항산화 효과가 가장 뛰어나다고 알려진 BHA 또는 BHT는 그 효과와 경제성 그리고 안정성 때문에 많이 사용해 왔지만 합성이라는 일반적인 기피 현상뿐만 아니라 변이원성 및 독성이 지적되고 있다. 따라서 최근 안전성과 관능상 문제가 되지 않고, 강한 활성을 지닌 천연 항산화제의 개발을 위한 많은 연구가 시도되고 있다 (Rim *et al.*, 2005; Branen, 1975; Jung *et al.*, 2004; Kang *et al.*, 2007).

기능성 화장품은 일반 화장품에 약리 효능이 첨가된 화장품으로 크게 미백 제품과 주름 개선 제품 및 자외선 보호 제품 등으로 분류할 수 있다. 미백 제품은 주로 멜라닌 생성 억제와 tyrosinase 저해, 피부 각질 제거, 피부 색소 침착 방지 등의 효과가 있는 것으로 알려져 있으며, 주름 개선 제품은 피부 탄력 강화, 콜라겐 합성 촉진, 표피 신진대사 촉진 및 섬유아세포 생성 촉진 등의 효능이 알려져 있다 (Park, 1997). 그러나 현재까지 개발되어 일부 이용되고 있는 주름 개선제는 그 효능과 부작용이 확실히 검증되지 않았고, 비교적 가격이 비싼 문제점이 있다 (Kwak *et al.*, 2005). 이러한 이유로 유해한 화학 성분을 대체할 수 있는 천연물을 이용한 기능성 화장품이 주목받고 있다. 기능성 화장품의 원료는 천연물 특히 약용 식물이나 허브를 중심으로 많이 개발되고 있으며 특히 부작용이 없는, 피부노화 억제와 관련된 천연 항산화 물질에 대한 연구들이 매우 활발하게 진행되고 있다 (Oliver *et al.*, 1990; Jeong *et al.*, 2009).

최근에 한방약재와 자연 친화적인 원료를 이용한 한방 화장품의 관심이 증가하고 있다. 한방화장품은 천연약재를 사용하기 때문에 화학 성분의 화장품에 비해 인체와 피부에 미치는 해가 적은 것이 큰 장점으로 부각되고 있다 (Kim, 2008). 천연물질인 식물성 오일, 종자류 약재, 여러 가지 한방 약재에서 collagen과 elastin을 분해하는 collagenase 및 elastase의 활성 억제, 항산화 효과가 있는 물질 등에 관해서 많이 보고되고 있다 (Cho *et al.*, 2000; Hwang *et al.*, 1997; Kim *et al.*, 1999; Lee *et al.*, 1998; Park *et al.*, 1999). 또한 다양한 한약재의 기능성에 관한 보고로, 118종의 한약재와 약용식물에 대한 항산화활성 검색 연구를 비롯하여 (Jung *et al.*, 2004), 130종의 한약재로부터 25종의 한약재에서 80% 이상의 항산화 활성이 있음을 보고하였다 (Nam and Kang, 2000; Park *et al.*, 2006).

본 연구는 천연물에서 주름개선 소재를 개발하고자 하는 목적에서 수행되었으며, 20가지 생약재 원료를 대상으로 1차 효능검색을 통하여 선정된 생약재들을 이용하여 안정성 평가를 진행하였다. 주름 개선 소재를 탐색하기 위하여 물과 에탄올 등의 용매로 추출하여 조제한 추출물에 대한 항산화 활성 및 주름개선 활성을 측정하여 우수 시료를 선정한 후 화장품을 제조하여 안정성을 검토하였다.

재료 및 방법

1. 재료 및 시약

본 연구에서 사용한 20가지 생약재는 한약재시장 (서울특별시 동대문구 소재)에서 구입하여 사용하였다 (Table 1). 생약재를 추출하기 위하여 사용된 용매는 증류수, 70% ethanol (Korea Alcohol Industrial Co., Korea)을 사용하였다. 생리활성 분석을 위해 사용된 시약들인 Folin-ciocalteu's phenol reagent 와 ursolic acid, ascorbic acid, 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH), N-Succinyl-Ala-Ala-Ala- ρ -nitroanilide (SANA), elastase, collagenase, 4-phenyl-lazobenzyl-oxycarbonyl-pro-leu-gly-pro-d-ar는 Sigma사 (MO, USA)의 제품을 구입하여 사용하였다. 생리활성 분석을 위하여 사용한 용매인 메탄올 (MeOH), 에탄올 (EtOH) 및 에틸아세테이트 (ethyl acetate)는 Burdick & Jackson사 (MI, USA)의 제품으로 모두 HPLC급을 사용하였으며, 그 밖의 모든 시약은 1급 이상의 것을 사용하였다.

2. 생약재 추출물의 제조

Table 1의 20가지 생약재를 분쇄한 후 40 mesh sieve로 생약재 분말의 입도를 균일하게 하였다. 생약재 분말을 진탕 항온수조에서 각각 distilled water (DW)와 70% (v/v) EtOH 을 추출용매로 70°C, 110 rpm에서 4시간 동안 추출한 후 여과지를 이용하여 여제를 분리하였다. 여과한 추출액을 동결건조기 (Model No. FD8512, Ilshin Lab, Korea)를 이용하여

Table 1. List of herbal medicinal plants.

Material name	Scientific name	Part used	Origin
Gaja	<i>Terminalia chebula</i>	seed	China
Golyangkang	<i>Alpinia officinarum</i>	root	China
Goehwa	<i>Sophora japonica</i>	bud	China
Dansam	<i>Salviae miltiorrhizae</i>	root	China
Magamok	<i>Sorbus commixta</i>	bark	China
Machihyeon	<i>Portulaca oleracea</i>	all	China
Baekjakyak	<i>Paeonia lactiflora</i>	root	China
Bipayeop	<i>Eriobrya japonica</i>	leaf	China
Binlangja	<i>Areca catechu</i>	seed	China
Sancho	<i>Zanthoxylum schinifolium</i>	seed/bark	China
Somok	<i>Caesalpinia sappan</i>	log	China
Eumyangkwak	<i>Epimedium koreanum</i>	leaf	China
Jeonghyang	<i>Syzygium aromaticum</i>	bud	China
Jigolpi	<i>Lycium chinense</i>	bark	China
Jiyu	<i>Sanguisorba officinalis</i>	root	China
Chokwa	<i>Amomum tsao-ko</i>	seed	China
Chodugu	<i>Alpinia katsumadai</i>	seed	China
Paemo	<i>Fritillaria ussuriensis</i>	root	China
Pogongyeong	<i>Taraxacum platycarpum</i>	all	China
Honghwa	<i>Carthamus tinctorius</i>	flower	China

건조를 통해 분말화한 후 기능성 평가 원료와 화장품 제조 원료로 사용하였다.

3. 총 폴리페놀 함량 측정

총 폴리페놀 함량은 Folin-Denis assay법 (Folin and Denis, 1915)으로 측정하였다. 추출하여 건조된 생약재 추출물을 농도 별로 희석하여 시료 희석액 0.1 ml에 folin-ciocalteu reagent 50 μ l를 첨가하여 혼합한 후 4분간 실온에서 반응시킨 다음, 20% sodium carbonate anhydrous 포화용액 1.5 ml를 첨가하여 2분간 반응시키고 microplate reader (VERSAmax, Molecular Device, CA, USA)를 이용하여 760 nm에서 흡광도를 측정하였다. 총 폴리페놀 함량은 chlorogenic acid를 이용하여 작성한 표준곡선으로부터 산출하였다. 실험결과는 3회 반복 측정하여 함량을 나타내었다.

4. DPPH radical 소거능 측정

DPPH radical 소거능은 Heo 등 (2006)의 방법 (Heo *et al.*, 2006)에 따라 메탄올에 0.4 mM의 농도로 용해한 DPPH 용액 160 μ l와 시료 40 μ l를 첨가하여 암소에서 30분간 방치하여 반응시킨 다음 microplate reader를 이용하여 515 nm에서 흡광도를 측정하였다. DPPH radical 소거능 (%)은 다음과 같이 시료용액의 첨가구와 무첨가구의 흡광도 감소율로 나타내었다.

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

5. SOD 유사활성 측정

SOD 유사활성 측정은 Lee 등 (2006)의 방법 (Lee *et al.*, 2006)에 따라 Tris-HCl 완충용액 (pH 8.5) 120 μ l에 40 μ l의 시료와 7.2 mM pyrogallol 40 μ l를 가하여 25°C에서 10분간 반응 후 420 nm에서 흡광도를 측정하였다. SOD 유사활성 (%)은 다음과 같이 시료용액의 첨가구와 무첨가구의 흡광도 감소율로 나타내었다.

$$\text{SOD-like activity (\%)} = \left(1 - \frac{\text{시료첨가구의 흡광도}}{\text{무첨가구의 흡광도}}\right) \times 100$$

6. Elastase 저해능 측정

Elastase 저해능 측정은 Hong 등의 방법 (Hong *et al.*, 2009)을 응용하여 Tris-HCl 완충용액 (pH 8) 140 μ l에 20 μ l의 시료와 2 mM SANA 20 μ l를 가하여 25°C에서 10분간 반응 후 20 μ l의 elastase (0.18 unit)을 가하여 다시 37°C에서 15분간 반응 후 410 nm에서 흡광도를 측정하였다. Elastase 저해능 (%)은 다음과 같이 시료용액의 첨가구와 무첨가구의 흡

광도 감소율로 나타내었다.

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

7. Collagenase 저해능 측정

Collagenase 저해능 측정은 Wünsch 등과 Lee의 방법을 응용하여 측정하였다 (Wünsch and Heindrich, 1963; Lee, 2007). 0.1 M Tris-HCl buffer (pH 7.5)에 2 mM의 4-phenylazobenzyloxycarbonyl-pro-leu-gly-pro-d-ar를 녹인 기질액 0.25 ml과 시료용액 0.1 ml의 혼합액에 collagenase (1 mg/ml) 0.15 ml를 첨가하여 37°C에서 20분간 반응한 후 6% citric acid 0.5 ml를 넣어 반응을 정지시켰다. Ethyl acetate 1.5 ml를 첨가하여 320 nm에서 UV-Visible Spectrophotometer (CARY 100 Conc, Varian, USA)를 이용하여 흡광도를 측정하였다. Collagenase 저해능 (%)은 다음과 같이 시료용액의 첨가구와 무첨가구의 흡광도 감소율로 나타내었다.

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

8. 생약재 추출물 함유 스킨 및 로션의 제조

지골피 (*Lycium chinense*) DW 추출물과 빈랑자 (*Areca catechu*) 70% EtOH 추출물을 첨가한 스킨과 로션은 각각 Table 2, 3의 처방에 따라 제조하였다. 지골피 DW 추출물과 빈랑자 70% EtOH 추출물은 1% (10,000 μ g/ml)를 첨가하였다. 보습제인 glycerin, 1,3-butylene glycol과 DL-panthenol을 사용하였으며, 점증제는 carbopol 940을, 중화제로는 triethanolamine (TEA)를 사용하였다. Homo mixer (T.K Auto Homomixer Mark II, Tokushukikakogyo, Japan)를 사용하여 3,000 rpm의 속도로 10분간 유폴시켜 스킨과 로션을 제조하였다.

9. 생약재 추출물 함유 스킨과 로션의 안정성 평가 실험

온도에 따른 안정성을 평가하기 위하여 스킨과 로션을 각각 25°C에서 1일에서 30일 동안 보관하면서 화학적 변화인 pH와 점도를 측정하였으며, 각각의 스킨과 로션을 5, 25, 40°C에 보관하면서 육안으로 변색, 변취, 분리, 침전 등의 물리적 변화를 관찰함으로써 안정성을 종합적으로 검토하였다.

1) pH 측정법

화장품의 pH 측정은 Corning (pH meter 440, Corning, NY, USA)사의 pH meter를 이용하였으며, 25°C에서 보관한 생약재 추출물이 첨가된 스킨과 로션의 pH를 측정하였다. 측정하기 전에 유리전극은 미리 pH 4와 7인 완충액으로 보정한 후

Table 2. The experimental formulation of the skin containing herbal medicinal extracts.

Ingredients	Contents % (W/W)		
	Control	Water extract	70% EtOH extract
LC-D	–	1	–
AC-E	–	–	1
Ethyl Alcohol	3.00	S.A.L	S.A.L*
Glycerin	1.00	S.A.L	S.A.L
1,3-butylene glycol	4.00	S.A.L	S.A.L
DL-Panthenol	0.10	S.A.L	S.A.L
Carbopol 940	0.12	S.A.L	S.A.L
Triethanolamine (TEA)	0.12	S.A.L	S.A.L
Distilled water	to make 100.00	S.A.L	S.A.L

*S.A.L : Sample As Left

Table 3. The experimental formulation of the lotion containing herbal medicinal extracts.

Ingredients	Contents % (W/W)		
	Control	Water extract	70% EtOH extract
LC-D	–	1	–
AC-E	–	–	1
Glycerin	3.50	S.A.L	S.A.L*
1,3-butylene glycol	5.00	S.A.L	S.A.L
DL-Panthenol	0.30	S.A.L	S.A.L
Disodium EDTA	0.02	S.A.L	S.A.L
Carbopol 940	0.04	S.A.L	S.A.L
Triethanolamine (TEA)	0.04	S.A.L	S.A.L
Distilled water	to make 100.00	S.A.L	S.A.L

*S.A.L : Sample As Left

검출부를 증류수로 잘 씻어 가볍게 닦아 낸 다음 측정하였다.

2) 점도 측정법

화장품의 점도 측정은 Brookfield viscometer (Brookfield LV, Brookfield Engineering Laboratories, Inc., MA, USA)를 사용하여 측정하였다. 실험에 사용된 로션은 유동적 점성 액체이므로 T-bar spindle을 사용하였으며 No. 64를 택하여 6 rpm에서 30초간 측정하였다. 기포의 영향을 줄이기 위해 제조 시 탈포하였다. 25°C에서 보관한 생약재 추출물이 함유된 로션의 점도를 측정하였다. 3회 반복하여 결과값을 얻었으며, 30 일 동안 보관하여 측정한 값을 나타내었다.

3) 온도 안정성 시험법

온도에 따른 안정성 시험법 (Lee, 2007)은 소정의 온도조건

(5, 25, 40°C)에서 보관하였다. 1일부터 30일까지의 경시적 변화에 따른 상태변화를 물리적 특성 (분리, 침전 형성 등)을 파악하였으며, 변취 및 변색을 관찰함으로써 안정성을 종합 평가하였다. 또한 온도순환에 따른 안정성 시험법 (Carlo *et al.*, 2001; Gallarate *et al.*, 1999)은 -15, -10, 5, 10, 25, 40°C에서 각각 24시간 보관한 후 상태변화를 관찰하였다. 냉·해동 순환에 따른 안정성 시험법 (Carlo *et al.*, 2001; Gallarate *et al.*, 1999)은 -10°C와 25°C에 각각 24시간 보관하여 이를 1 cycle로 하여 3, 7일 동안의 안정성을 육안으로 관찰하였다.

결과 및 고찰

1. 총 폴리페놀 함량

추출용매에 따른 생약재 추출물의 항산화력에 미치는 영향을 조사하기 위하여, DW와 70% EtOH로 추출한 생약재 추출물의 총 폴리페놀 함량을 분석하여 Fig. 1에 나타내었다. 실험결과, 총 폴리페놀 함량은 DW 추출물의 경우 소목 (*Caesalpinia sappan*) > 마가목 (*Sorbus commixta*) > 초두구 (*Alpinia katsumadai*) > 고량강 (*Alpinia officinarum*) > 산초 (*Zanthoxylum schinifolium*) > 빈랑자 (*Areca catechu*) 등의 순으로 존재하였으며, 그 함량은 각각 23.23 mg/g, 13.62 mg/g, 11.96 mg/g, 11.38 mg/g, 9.71 mg/g 및 9.66 mg/g로 나타났다. 70% EtOH 추출물의 경우 소목 (*Caesalpinia sappan*) > 백작약 (*Paeonia lactiflora*) > 괴화 (*Sophora japonica*) > 지골피 (*Lycium chinense*) > 마가목 (*Sorbus commixta*) > 고량강 (*Alpinia officinarum*) 등의 순으로 측정되었으며, 각각의 함량은 25.23 mg/g, 22.57 mg/g, 20.59 mg/g, 19.94 mg/g, 17.03 mg/g 및 16.21 mg/g로 나타났다. 연구에 따르면 백삼의 총 폴리페놀 함량은 3.79 mg/g이라고 보고하였으며 (Choi *et al.*, 2006), 이러한 페놀화합물은 활성산소의 소거나 히드록시 라디칼 (hydroxyl radical)의 소거작용을 한다고 보고하였다 (Choe *et al.*, 2008). 본 연구에서 사용한 재료에서도 각각의 추출물의 총 폴리페놀 함량을 알 수 있었으며, 폴리페놀류에 의한 항산화 활성을 기대할 수 있음을 확인하였다.

2. DPPH radical 소거능

DPPH radical은 안정한 free radical로 다른 원자 및 분자로부터 전자나 양성자를 받아들여 안정한 분자로 변하는 성질이 있다. 이러한 DPPH radical을 이용하여 생약재 추출물의 DPPH에 대한 소거 활성을 여러 농도에서 실험하고 산출된 활성을 Fig. 2에 나타내었다. 대조군인 ascorbic acid는 25 µg/ml의 농도에서 98%의 활성을 나타내었다. 시료는 400 µg/ml의 농도에서 분석하였으며, 실험결과 마치현 (*Portulaca oleracea*)의 DW 추출물과 소목 (*Caesalpinia sappan*)의 DW 추출물과 폐모 (*Fritillaria ussuriensis*)의 DW 추출물, 홍화 (*Carthamus*

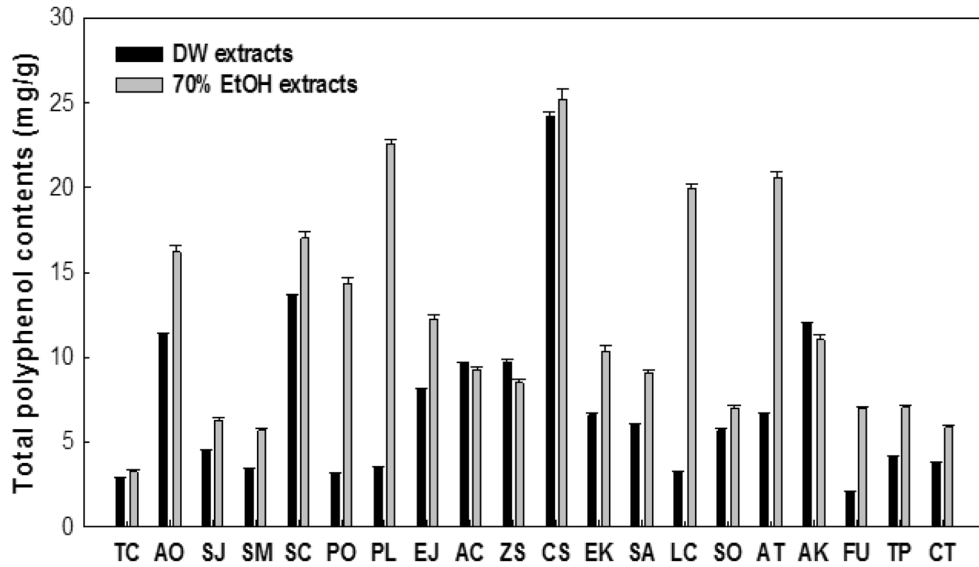


Fig. 1. Total polyphenol contents of herbal medicinal extracts.

[†]Value are mean \pm SE, n = 4.

[‡]TC : *Terminalia chebula*, AO : *Alpinia officinarum*, SJ : *Sophora japonica*, SM : *Salviae Miltiorrhizae*, SC : *Sorbus commixta*, PO : *Portulaca oleracea*, PL : *Paeonia lactiflora*, EJ : *Eriobrya japonica*, AC : *Areca catechu*, ZS : *Zanthoxylum schinifolium*, CS : *Caesalpinia sappan*, EK : *Epimedium koreanum*, SA : *Syzygium aromaticum*, LC : *Lycium chinense*, SO : *Sanguisorba officinalis*, AT : *Amomum tsao-ko*, AK : *Alpinia katsumadai*, FU : *Fritillaria ussuriensis*, TP : *Taraxacum platycarpum*, CT : *Carthamus tinctorius*

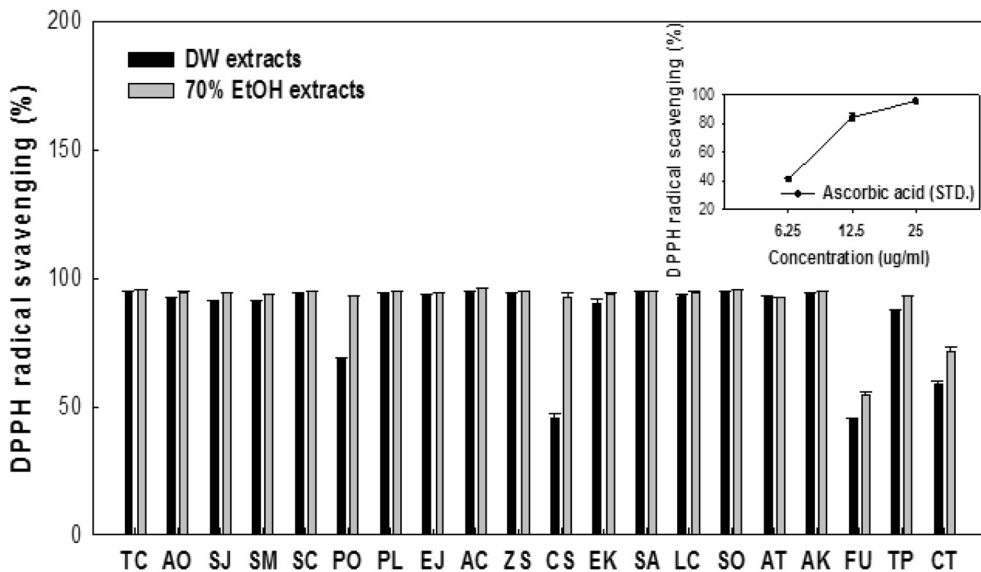


Fig. 2. DPPH free radical scavenging activities of herbal medicinal extracts (sample concentration : 400 μ g/ml).

[†]Value are mean \pm SE, n = 4.

[‡]TC : *Terminalia chebula*, AO : *Alpinia officinarum*, SJ : *Sophora japonica*, SM : *Salviae Miltiorrhizae*, SC : *Sorbus commixta*, PO : *Portulaca oleracea*, PL : *Paeonia lactiflora*, EJ : *Eriobrya japonica*, AC : *Areca catechu*, ZS : *Zanthoxylum schinifolium*, CS : *Caesalpinia sappan*, EK : *Epimedium koreanum*, SA : *Syzygium aromaticum*, LC : *Lycium chinense*, SO : *Sanguisorba officinalis*, AT : *Amomum tsao-ko*, AK : *Alpinia katsumadai*, FU : *Fritillaria ussuriensis*, TP : *Taraxacum platycarpum*, CT : *Carthamus tinctorius*

tinctorius)의 DW추출물, 패모 (*Fritillaria ussuriensis*)의 70% EtOH 추출물과 홍화 (*Carthamus tinctorius*)의 70% EtOH

추출물을 제외하고 모든 시료에서 80% 이상의 DPPH radical 소거능을 나타내었다. 특히 빈랑자 (*Areca catechu*) 70%

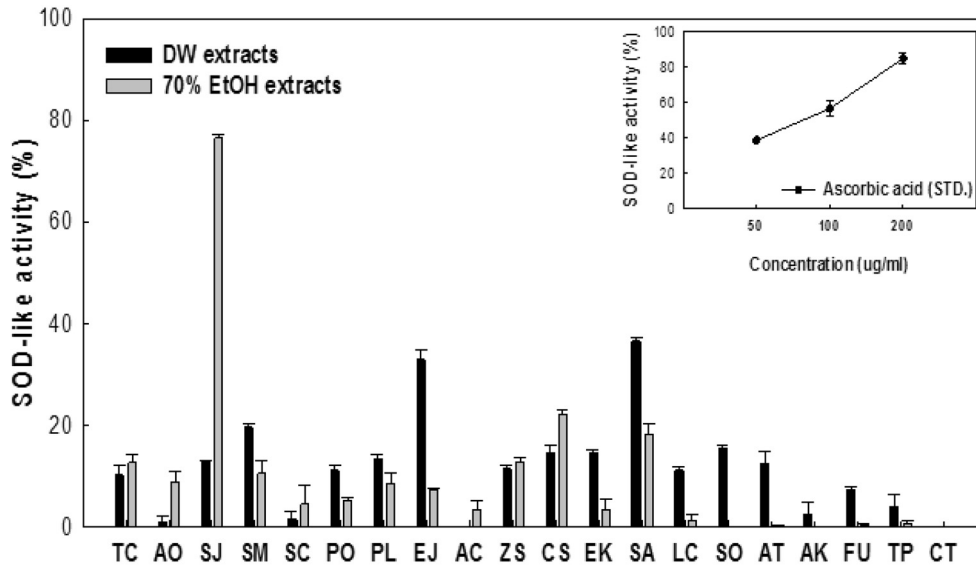


Fig. 3. SOD-like activity of herbal medicinal extracts (sample concentration : 50 µg/ml).

[†]Value are mean ± SE, n = 4.

[‡]TC : *Terminalia chebula*, AO : *Alpinia officinarum*, SJ : *Sophora japonica*, SM : *Salviae Miltiorrhizae*, SC : *Sorbus commixta*, PO : *Portulaca oleracea*, PL : *Paeonia lactiflora*, EJ : *Eriobrya japonica*, AC : *Areca catechu*, ZS : *Zanthoxylum schinifolium*, CS : *Caesalpinia sappan*, EK : *Epimedium koreanum*, SA : *Syzygium aromaticum*, LC : *Lycium chinense*, SO : *Sanguisorba officinalis*, AT : *Amomum tsao-ko*, AK : *Alpinia katsumadai*, FU : *Fritillaria ussuriensis*, TP : *Taraxacum platycarpum*, CT : *Carthamus tinctorius*

EtOH 추출물에서 96% 이상의 높은 DPPH radical 소거능을 나타내었다. 이러한 결과는 Lee 등 (2002)이 보고한 초두구, 초과, 괴화의 70% MeOH 추출물에서 DPPH radical 활성이 80%인 것에 비해 높은 항산화활성을 보인 결과로서 본 연구에서 사용한 20가지 생약재 추출물이 DPPH radical 소거능에서 우수함을 확인하였다.

3. SOD (superoxide dismutase) 유사활성

SOD와 유사한 활성을 가지면서 산화억제작용을 알아보기 위해 superoxide와 반응하여 갈변물질을 나타내는 pyrogallol 자동산화반응을 측정하여 SOD 유사활성을 측정하였다 (Lim *et al.*, 2004; An *et al.*, 2004). 실험 결과, 정향 (*Syzygium aromaticum*)과 비파엽 (*Eriobrya japonica*)의 DW 추출물은 50 µg/ml의 농도에서 40%의 활성으로, 대조군인 ascorbic acid와 유사한 활성을 나타내었다. 또한 괴화 (*Sophora japonica*)의 70% EtOH 추출물은 80%의 높은 SOD 유사활성을 나타내었다 (Fig. 3). Jung 등 (2004)의 연구결과에서는 괴화 (*Sophora japonica*)의 80% MeOH 추출물에서의 SOD 유사활성이 70% 정도의 활성을 나타내었으며, Choi 등 (2006)의 연구에 따르면 백삼 추출물은 10,000 µg/ml의 농도에서 10%의 활성을 나타내었다. 본 연구결과와 비교하였을 때 괴화 추출물이 가장 우수한 SOD 유사활성을 보였으며, 대부분의 생약재 추출물은 다른 연구 결과에서와 유사한 활성을 나타내었다.

4. Elastase 저해능

피부노화, 특히 주름생성에는 활성산소에 의한 작용과 matrix metalloproteinases (MMP's: collagenase, elastase 등)에 의한 세포외 매트릭스의 파괴가 주원인으로 간주되고 있다 (Yang and Park, 2007). Elastase는 진피 내 피부탄력을 유지하는 기질 단백질인 elastin, fibroectin을 포함한 다양한 단백질을 분해하며, collagen을 분해할 수 있는 비특이적 가수분해 효소이다 (Cho *et al.*, 2000). 또한 피부의 주름 및 탄력성 소실 등을 유발한다. 따라서 elastase 저해능 측정은 피부의 주름을 개선하는 효과 평가에 대단히 중요하다. 생약재 추출물의 elastase 저해능을 실험한 결과, DW 추출물의 경우 50 µg/ml의 농도인 지골피 (*Lycium chinense*)에서 50%의 elastase 저해활성을 보였으며 대조군인 ursolic acid와 비교하였을 때 비슷한 결과를 나타내었다. 70% EtOH 추출물의 경우 50 µg/ml의 농도인 빈랑자 (*Areca catechu*)에서 40%의 주름개선 활성을 나타내었다 (Fig. 4). Kwak 등 (2005)의 연구결과에 따르면 10,000 µg/ml의 농도에서 지골피의 DW 추출물, EtOH 추출물, MeOH 추출물은 각각 56%, 0% 및 0%의 elastase 저해능을 보였다. 또한 Hong 등 (2009)의 하고초 추출물의 elastase 측정결과, 2,000 µg/ml의 농도에서 43%의 활성을 보였다. 결과적으로 지골피 DW 추출물의 elastase 저해능이 20~40배 정도 높다는 것을 확인할 수 있었다. 또한 Cho 등 (2000)의 연구결과에 따르면 빈랑자 90% EtOH 추출물이

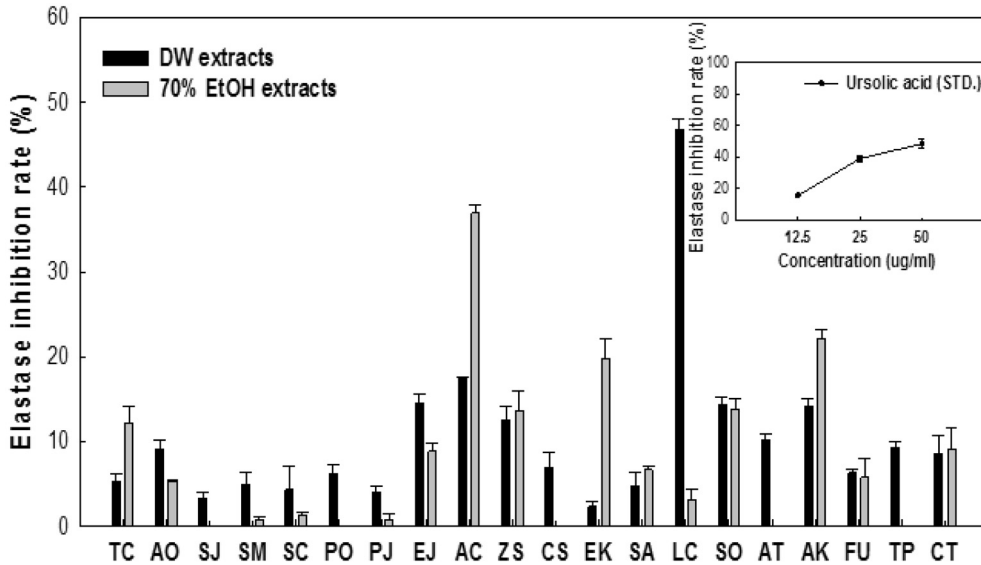


Fig. 4. Elastase inhibition activity of herbal medicinal extracts (sample concentration : 50 µg/ml).

[†]Value are mean ± SE, n = 4.

[‡]TC : *Terminalia chebula*, AO : *Alpinia officinarum*, SJ : *Sophora japonica*, SM : *Salviae Miltiorrhizae*, SC : *Sorbus commixta*, PO : *Portulaca oleracea*, PL : *Paeonia lactiflora*, EJ : *Eriobrya japonica*, AC : *Areca catechu*, ZS : *Zanthoxylum schinifolium*, CS : *Caesalpinia sappan*, EK : *Epimedium koreanum*, SA : *Syzygium aromaticum*, LC : *Lycium chinense*, SO : *Sanguisorba officinalis*, AT : *Amomum tsao-ko*, AK : *Alpinia katsumadai*, FU : *Fritillaria ussuriensis*, TP : *Taraxacum platycarpum*, CT : *Carthamus tinctorius*

26.9 µg/ml의 농도에서 50%의 elastase 저해능으로 나타내었다. 본 실험결과에서 지골피와 빈랑자의 추출물이 우수한 elastase 저해능을 보임으로써 주름개선 효과의 가능성을 확인할 수 있었다.

Elastase 저해능이 우수한 것으로 나타난 지골피는 기능성 물질로서 betaine, rutin, kukoamine A, β-sitosterol 등의 성분이 다량 함유되어 있으며, 항균효과, 항암효과, 면역 증진 효과, 간기능 개선, 혈압강화 및 항당뇨 효과, 항산화 효과, 혈중 콜레스테롤 저하효과가 있음이 보고되어 있다 (Cho *et al.*, 2003). 본 연구에서는 지골피 DW 추출물과 빈랑자 70% EtOH 추출물을 주름개선 소재로서 선별하였으며, 이 두 가지 시료를 이용하여 collagenase 저해능을 측정하였다.

5. Collagenase 저해능

세포 외 기질 (extracellular matrix)의 주요 구성 성분인 collagen은 피부의 섬유아세포에서 생성되는 주요 기질 단백질이다. collagen의 주된 기능으로는 피부의 기계적 견고성, 결합조직의 저항력과 조직의 결합력, 세포 접착의 지탱, 세포 분할과 분화의 유도 등이 알려져 있다. 진피의 노화가 진행될 경우 collagen의 양이 심하게 감소되며, collagenase의 발현이 더욱 증가되어 있다. 그 결과 피부주름살, 탄력감소 등이 심하게 나타난다 (Kim, 2009). 이러한 이유로 생약재 추출물의 주름개선 활성 지표가 될 수 있는 collagenase 저해 활성을 측정하였다.

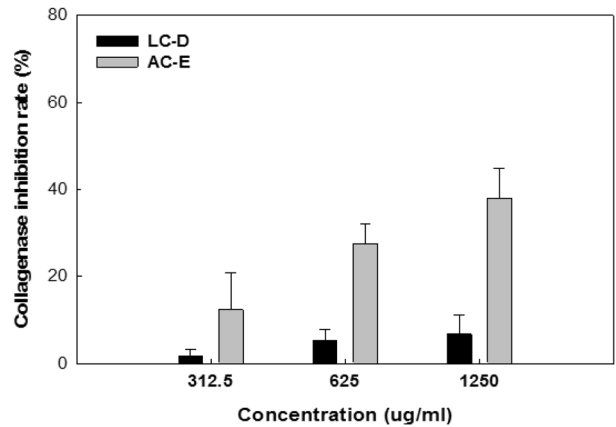


Fig. 5. Collagenase inhibition activity of DW extract of *Lycium chinense* and 70% EtOH extract of *Areca catechu*.

[†]Value are mean ± SE, n = 4.

[‡]LC-D : DW extract of *Lycium chinense*

AC-E : 70% EtOH extract of *Areca catechu*

Collagenase 실험결과 1,250 µg/ml 농도에서 지골피 DW 추출물 (LC-D)과 빈랑자 70% EtOH 추출물 (AC-E)은 각각 10%, 30%의 collagenase 저해능을 나타내었다 (Fig. 5). Lee 등 (2004)의 유백피 추출물의 collagenase 저해활성 측정결과, 100 µg/ml에서 27.6%의 collagenase 저해능을 나타내어, 빈랑자 70% EtOH 추출물과 유사한 활성을 나타내었다. 이러한 결과로 빈랑자 70% EtOH 추출물이 collagenase의 활성을 저

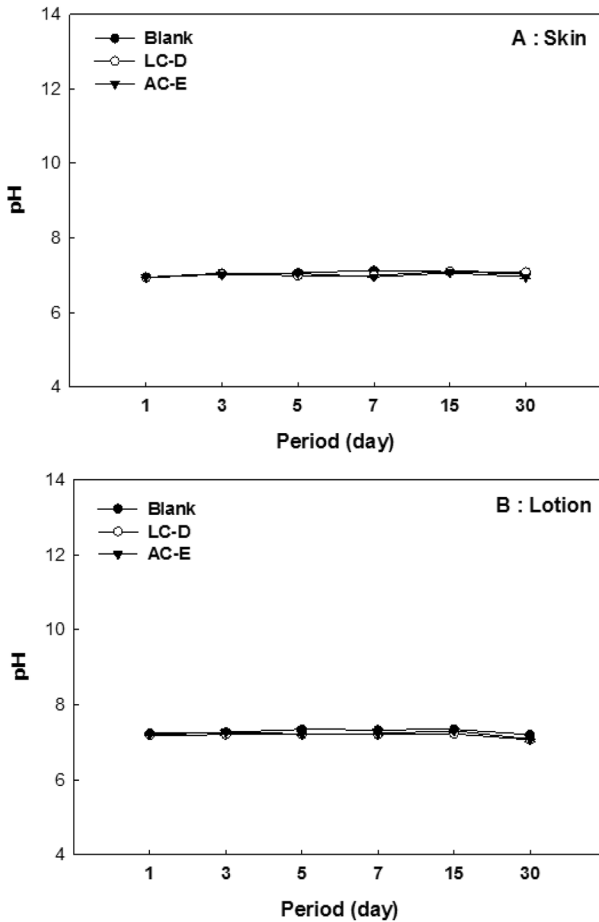


Fig. 6. pH change of the cosmetics containing DW extract of *Lycium chinense* and 70% EtOH extract of *Areca catechu*.
[†]Value are mean \pm SE, n = 4.
[‡]LC-D : DW extract of *Lycium chinense*
[§]AC-E : 70% EtOH extract of *Areca catechu*

해함으로써 collagen의 분해를 막아 피부의 주름을 개선할 것으로 판단되며, 기능성 화장품 소재로서 이용 가능성이 높을 것으로 사료된다.

6. pH에 대한 안정성

지골피 DW 추출물 (LC-D)과 빈랑자 70% EtOH 추출물 (AC-E)이 첨가된 스킨과 로션을 25°C에서 보관하면서 1일, 3일, 5일, 7일, 15일, 30일 동안의 pH를 측정된 결과, 스킨의 경우 추출물이 무첨가된 Blank, 지골피 DW 추출물과 빈랑자 70% EtOH 추출물에서 각각 pH 7.03 ± 0.03 , 7.09 ± 0.04 , 6.96 ± 0.07 로 나타났으며, 로션의 경우 추출물이 무첨가된 Blank, 지골피 DW 추출물과 빈랑자 70% EtOH 추출물에서 각각 pH 7.20 ± 0.03 , 7.07 ± 0.08 , 7.08 ± 0.02 로 나타났으며 pH 6.9~7.2의 좁은 구간 내에서 변화하여 모두 안정함을 나타내었다 (Fig. 6).

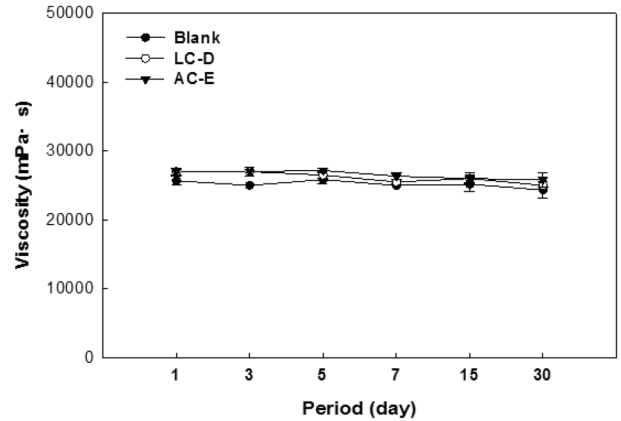


Fig. 7. Viscosity change of the cosmetics containing DW extract of *Lycium chinense* and 70% EtOH extract of *Areca catechu*.

[†]Value are mean \pm SE, n = 4.

[‡]LC-D : DW extract of *Lycium chinense*

[§]AC-E : 70% EtOH extract of *Areca catechu*

7. 점도에 대한 안정성

지골피 DW 추출물 (LC-D)과 빈랑자 70% EtOH 추출물 (AC-E)이 첨가된 스킨과 로션을 25°C에서 보관하면서 1일, 3일, 5일, 7일, 15일, 30일 동안의 점도를 측정된 결과, 추출물이 무첨가된 Blank, 지골피 DW 추출물과 빈랑자 70% EtOH 추출물의 경우 각각 22,000~26,000 mPa·s, 22,000~26,000 mPa·s, 24,000~27,000 mPa·s로 나타났으며 높은 안정성을 나타내었다 (Fig. 7).

8. 온도에 따른 안정성

화장품의 열화 (劣化) 현상으로 인한 화학적·물리적 변화를 알아보기 위해서 온도 안정성 평가한 결과, 저온 (5°C)에서는 외관의 응고, 침전, 탁도 (투명도), 분리 등을 관찰하였고, 고온 (40°C)에서는 외관의 산패, 변색, 변취, 점도, 침전 등을 관찰하였다. 5, 25, 40°C에서 실시한 정온실험에서는 지골피 DW 추출물(LC-D)의 스킨과 로션, 빈랑자 70% EtOH 추출물 (AC-E)의 스킨과 로션 모두 30일 동안 아무런 변화없이 높은 안정성을 나타내었다. 온도순환에 따른 안정성 시험결과 지골피 DW 추출물을 이용한 스킨과 로션 및 빈랑자 70% EtOH 추출물로 만든 로션에서 모두 높은 안정성을 나타냈고 빈랑자 70% EtOH 추출물로 만든 스킨에서만 불안정성을 보였다. 냉·해동 순환에 따른 안정성 시험결과 지골피 추출물을 함유한 로션은 안정함을 나타내었지만, 스킨에서 불안정함을 보여 10,000 $\mu\text{g/ml}$ 의 농도에서 10배 낮은 1,000 $\mu\text{g/ml}$ 의 농도로 다시 스킨을 제조하여 안정성을 평가한 결과 높은 안정함을 나타내었다. 빈랑자 추출물을 함유한 스킨에서는 불안정함을 보였지만, 로션은 안정함을 나타내었다. 안정성 시험결과를 종합

하면, 지골피 추출물은 대체로 스킨과 로션으로 제조하였을 때 높은 안정성을 보인 반면, 빈랑자 추출물은 스킨으로 제조할 경우 불안정함을 나타내었다.

이상의 결과로부터 20가지 생약재 추출물의 항산화 활성과 주름개선 활성을 통해 생리활성이 우수한 지골피 추출물과 빈랑자 추출물을 선별할 수 있었으며, 두가지 추출물을 함유한 화장품을 제조하여 안정성 평가를 통해 일부 소재(지골피 추출물)에 대한 기능성 화장품으로의 활용 가능성을 확인할 수 있었다.

감사의 글

본 연구는 교육과학기술부와 한국산업기술진흥원의 지역혁신인력양성사업으로 수행된 연구결과이므로 이에 감사드립니다.

LITERATURE CITED

- An BJ, Lee JT, Lee SA, Kwak JH, Park JM, Lee JY and Son JH. (2004). Antioxidant effects and application as natural ingredients of Korean *Sanguisorbae officinalis* L.. Journal of Korean Society for Applied Biological Chemistry. 47:244-250.
- Branen AL. (1975). Toxicological and biochemistry of butylated hydroxyanisole and butylated hydroxytoluene. Journal of the American Oil Chemists' Society. 52:59-63.
- Carlo A, Anna MM, Chiara S and Donatella V. (2001). Stability studies of new cosmetic formulations with vegetables extracts as functional agents. Farmaco. 56:427-431.
- Cho IS, Bae HC and Nam MS. (2003). Fermentation properties of yogurt added by *Lycii fructus*, *Lycii folium* and *Lycii cortex*. Korean Journal for Food Science of Animal Resources. 23:250-261.
- Cho JJ, Lee KK, Jo BK and Choi JD. (2000). Isolation and characterization of elastase inhibitor from *Areca catechu*. Journal of the Society of Cosmetic Scientists of Korea. 35:163-185.
- Choe JH, Jang AR, Lee BD, Lie XD, Song HP and Jo CH. (2008). Antioxidant and antimicrobial effects of medicinal herb extract mix in pork patties during cold storage. Korean Journal for Food Science of Animal Resources. 28:122-129.
- Choi CS, Kim KI, Hong HD, Choi SY, Lee YC, Kim KT, Rho JH, Kim SS and Kim YC. (2006). Phenolic acid composition and antioxidative activity of white ginseng (*Panax ginseng* C. A. Meyer). Journal of Ginseng Research. 30:22-30.
- Dziedzic JD. (1986). Preservatives: antioxidants. The ultimate answer to oxidation. Food Technology. 40:94-102.
- Folin AD and Denis W. (1915). A colorimetric method for the determination of phenols (and phenol derivatives) in urine. Journal of Biological Chemistry. 22:305-308.
- Gallarate M, Carlotti ME, Trota M and Bovo S. (1999). On the stability of ascorbic acid in emulsified system for topical and cosmetic use. International Journal of Pharmaceutics. 188:233-241.
- Heo JC, Park JY, An SM, Lee JM, Yun CY, Shin HM, Kwon TK and Lee SH. (2006). Anti-oxidant and anti-tumor activities of crude extracts by *Gastrodia elata* blume. Korean Journal of Food Preservation. 13:83-87.
- Hong ES, Ahn GW and Jo BK. (2009). The Study on the potential anti-aging properties of *Prunella vulgaris* extract *in vitro* and *in vivo*. Journal of the Society of Cosmetic Scientists of Korea. 34:129-135.
- Hwang JS, Cho YK, Kim JI, Park WJ and Lee JS. (1997). The effects of retinoids on Crabp II mRNA induction and collagen synthesis in human dermal fibroblast. Journal of the Society of Cosmetic Scientists of Korea. 23:9-23.
- Jeong HS, Han JG, Ha JH, Kim Y, Oh SH, Kim SS, Jeong MH, Choi GP, Park UY and Lee HY. (2009). Antioxidant activities and skin-whitening effects of nano-encapsulated water extract from *Rubus coreanus* Miquel. Korean Journal of Medicinal Crop Science. 17:83-89.
- Jung SJ, Lee JH, Song HN, Seong NS, Lee SE and Baek NI. (2004). Screening for antioxidant activity of plant medicinal extracts. Journal of the Korean Society for Applied Biological Chemistry. 47:135-140.
- Kang KS, Kim ID, Kwon RH, Heo YY, Oh SH, Kim MA, Jung HJ, Kang HY and Ha BJ. (2007). The evaluation of anti-wrinkle effects in oriental herb extract. Life Science. 17:1147-1151.
- Kim BJ, Jo BK and Kim JH. (1999). A promising new anti-wrinkle ingredient : pericarpium castaneae extracts. Journal of the Society of Cosmetic Scientists of Korea. 25:57-63.
- Kim EH, Kim JE and Park SN. (2009). Antioxidative and antiaging effects of *Persicaria hydropiper* L. extracts. Journal of the Society of Cosmetic Scientists of Korea. 35:293-300.
- Kim GS. (2008). The effect of brand image on the satisfaction and brand loyalty of the korean herbal cosmetics. Ph.D. Dissertation. Seoul University of Venture & Information. Seoul, Korea.
- Kim YH. (2009). Skin whitening and anti-wrinkle activities of *Vaccinium uliginosm* L. and its action mechanism. Ph.D. Thesis, Kyunghee University. Seoul, Korea.
- Kwak YJ, Lee DH, Kim NM and Lee JS. (2005). Screening and extraction condition of anti-skin aging elastase inhibitor from medicinal plants. Korean Journal of Medicinal Crop Science. 13:213-216.
- Lee CW, Pyo HB, Cho YH and Park SM. (1998). Effect of Korean black soybean seed on the cellular proliferation and the production of type III collagen in skin fibroblast. Journal of the Society of Cosmetic Scientists of Korea. 30:31-37.
- Lee JY. (2007). Anti-wrinkle, whitening constituents of *Prunus persica* Flos and an application for functional cosmetics. Ph.D. Thesis. Daegu Haany University. Gyeongbuk, Korea.
- Lee KH and Park SN. (2008). Antioxidative activities and antiaging effects of *Geranium nepalense* extracts. Journal of the Society of Cosmetic Scientists of Korea. 34:25-35.
- Lee SB, Lee YK and Kim SD. (2006). Solubility, antioxidative and antimicrobial activity of chitosan-ascorbate. Journal of Medicinal Food. 35:973-978.
- Lee SE, Seong NS, Park CG and Seong JS. (2002). Screening for antioxidative activity of oriental medicinal plant materials. Korean Journal of Medicinal Crop Science. 10:171-176.
- Lee TW, Kim SN, Jee UK and Hwang SJ. (2004). Anti-wrinkle

- effect of pressure sensitive adhesive hydrogel patches containing *Ulm cortex* extract. Journal of Pharmaceutical Investigation. 34:193-199.
- Lim JA, Na YS and Beak SH.** (2004). Antioxidative activity and nitrite scavenging ability of ethanol extract from *Phyllostachys bambusoides*. Korean Journal of Food Science and Technology. 36:306-310.
- Nam SH and Kang MY.** (2000). Screening of antioxidative activity of hot-water extracts from medicinal plants. Journal of the Korean Society for Applied Biological Chemistry. 43:141-147.
- Oliver WJ, Schroder M, Gregory H, Young JA and Christophers E.** (1990). Elafin: An elastase specific inhibition of human skin. The Journal of Biological Chemistry. 265: 14791-14795.
- Park CS, Yang KM and Kim ML.** (2006). Functional properties of medicinal plant extracts. Korea Journal of Food and Cookery Science. 22:720-727.
- Park KJ, Park SH and Kim JK.** (2009). Anti-wrinkle activity of *Lindera obtusiloba* extract. Journal of the Society of Cosmetic Scientists of Korea. 35:317-323.
- Park SK, Chang MY, Kim YD, Jeong BY, Won YH, Kim JJ and Kang SH.** (1999). Changes of facial wrinkle after topical application of an emulsion containing medimin A. Journal of the Society of Cosmetic Scientists of Korea. 25:23-36.
- Park SN.** (1997). Skin aging and antioxidants. Journal of the Society of Cosmetic Scientists of Korea. 23:75-132.
- Rim AR, Jung ES, Jo SC and Lee SC.** (2005). Effect of far-infrared irradiation and heat treatment on the antioxidant activity of extracts from peanut (*Arachis hypogaea*) shell. Journal of Medicinal Food. 34:1114-1117.
- Wünsch E and Heindrich HG.** (1963). Zur quantitativen bestimmung der kollagenase. Fresenius' Journal of Analytical Chemistry. 203:397-398.
- Xu ML, Hu JH, Wang L, Kim HS, Jin CW and Cho DH.** (2010). Antioxidant and anti-diabetes activity of extracts from *Machilus thunbergii* S. et Z. Korean Journal of Medicinal Crop Science. 18:34-39.
- Yang HJ and Park SN.** (2007). Component analysis and study on anti-elastase activity of *Equisetum arvense* extracts (II). Journal of the Society of Cosmetic Scientists of Korea. 33:1226-2587.