大韓本草學會誌 제26권 제2호(2011년 6월)
Kor. J. Herbology 2011 ; 26(2) : 67-73

청정해역 울릉도자생약초를 이용한 화장품 약리활성 연구

배해병[1], 김진철[2], 이진태[1*]

1 : 대구한의대학교 화장품약리학과, 2 : (주) 튜링겐코리아

Cosmeceutical effect from native medicinal plants of blue belt Ulleung islands

Hae-Byoung Bae[1], Jin-Chul Kim[2], Jin-Tae Lee[1*]

1 : Department of Cosmeceutical Science, Daegu Hanny University
2 : THURINGEN COSMETIC CO., Ltd

ABSTRACT

Objectives : The purpose of this research was total polyphenol contents, anti-oxidant activities, anti-inflammatory activities and anti-wrinkle activities of Ulleung islands plants for application as a cosmeceutical ingredients

Methods : We were experimented total polyphenol contents, anti-oxidant activities, anti-inflammatory activity and anti-wrinkle activities.

Results : In the physiological activities, most Ulleung islands plants is showed the highest anti-oxidant, anti-inflammatory activity in ABTS+ radical cation scavenging activity, hydrogen peroxide(H_2O_2) scavenging activity, nitric oxide scavenging activity. All experiment of the water and ethanol extract from the Ulleung islands plants ingredients were gradually increased as well.

Conclusions : These results suggest that extracts from Ulleung islands plants can be used in natural ingredient in food or cosmetic industry.

Key words : anti-oxidant, anti-inflammatory, anti-wrinkle, plants of blue belt Ulleung, *Aruncus dioicus* var. *kamtschaticus* Hara, *Athyrium acutipinnulum*, *Solidago virga-aurea* var. Gigaatea

서 론

울릉도는 본토에서 최단 137 ㎞ 거리인 동해상 동경 130° 54 ‘, 북위 37° 29’ 지점에 위치에 있으며, 지질은 화산암이고 기후는 해양성이어서 식물분포가 국내외 다른 지역과는 달리 해양식물에서 고산식물에 이르기까지 다양하며 산채류가 특산물로 유명하다[1]. 산채류 중 울릉미역취, 삼나물(눈개승마), 참고비 등이 대표적이며 식품학적으로는 연구가 활발하나, 화장품원료 연구는 아직 미흡하다. 참고비(*Athyrium acutipinnulum*)는 울릉도, 태백산 및 제천에 나는 다년초로 중산간지부터 고산지대까지 널러 분포되어 있으며, 한방에서는 고비라고도 하며, 고비(*Osmunda japonica* Thunb.)의 지상부를 건조한 것을 전통의학과 민간에서는 임질, 각기, 수종, 풍한, 마비증, 허리등의 동통에 사용되고 민간에는 고비뿌리를 허리와 무릎이 저리고 아프며, 다리에 힘이 없고 오줌을 참지 못하는데 달여서 마신다고 전해진다. 삼나물(눈개승마, *Aruncus dioicus* var. *kamtschaticus* Hara)는 울릉도에서 자생하는 장미과(Rosaceae)에 속하는 다년생 식물[2]로 어린순을 수확하여 식용으로 유통한다. 주성분은 사포닌이 들어있어 성인병에 탁월한 효능을 지니는 것으로 열려져 있다. 울릉미역취(*Solidago virga-aurea* var. Gigaatea)는 국화과(Asteraceae)에 속하는 취나물의 일종이며 봄철의 잎과 잎자루를 식용으로 활용하고 있다. 한방에서는 일지황화(一枝黃花)라는 약재로 쓰는데, 감기로 인한 두통과 인후염, 편도선염에 효과가 있고, 황달과 타박상에도 쓰며, 종기 초기에 즙액을 붙인다[3].

이 연구는 울릉도 특산물(참고비, 삼나물, 울릉미역취)의 문헌상의 효능을 바탕으로 하여 화장품 약리 활성을 검증하고, 화장품 천연소재로서의 적용 가능성을 확인하였다.

*교신저자 : 이진태. 경상북도 경산시 유곡동 290 대구한의대학교 화장품약리학과.
· Tel : 053-819-1430. · E-mail : jtlee@dhu.ac.kr.
· 접수 : 2011년 4월 26일 · 수정 : 2011년 6월 8일 · 채택 : 2011년 6월 10일

재료 및 방법

1. 재료

1) 시료의 제조

본 실험에 사용된 시료는 경북 울릉군 자생하는 울릉미역취(*Solidago virgaurea* var. Gigantea)와 삼나물(눈개승마, A*runcus dioicus* var. *kamtschaticus* Hara), 참고비(*Athyrium acutipinnulum*)를 채취 후 건조하여 사용하였다.

2) 시료의 추출

각 시료의 추출은 Fig. 1과 같이 열수와 에탄올 추출을 하였다. 각 시료에 정제수와 70% 에탄올을 각각 시료의 10배의 양으로 가하였으며 실온에서 열수추출물의 경우 85℃에서 3시간 환류냉각 추출하여 침전물을 분리하여 3회 반복 추출하였으며, 에탄올 추출의 경우에는 70% 에탄올을 가하여 24시간동안 침지한 상등액만을 여과하였다. 이를 3회 반복한 추출액을 농축하여 동결 건조 후 사용하였다.

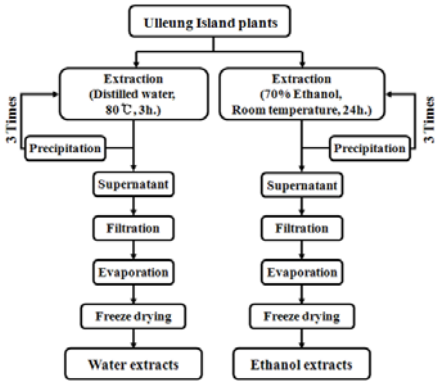

Fig. 1. Procedure for extraction from three kinds of Ulleung Island plants extract.

3) 시약 및 기기

총 폴리페놀 함량 측정에는 Phenol reagent (Folin-Ciocalteu reagent, Junsei chemical Co., Japan)을 사용하였다.

항산화 관련 실험에는 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH, Sigma chemical Co., USA), 2,2'-Azino-bis(3-ethylbenzo-thiazoline-6sulfonic acid)diammonium salt (Sigma chmical Co., USA), potassium peroxodisulfate (Sigma chemical Co., USA), xantine oxidase (Sigma chemical Co., USA), xanthine (Sigma chemical Co., USA), Nitro Blue Tetrazolium Tablet (Sigma chemical Co., USA), hydrogen peroxide (Junsei chemical Co., Japan), pyrogallol (Sigma chemical Co., USA), 2,6-Di-tert-butyl-4-methylphenol (BHA, Junsei chemical co., Japan) 등을 사용하였다.

항염증 관련 실험에는 sodium nitroferricyanide (Ⅲ)digydrate (Sigma chemical Co., USA), sulanilamide (Sigma chemical Co., USA), N-(1-aphthyl) ethylenendiamine dihydro chloride (Sigma chemical Co., USA) 등을 사용하였다.

주름 관련 실험에서는 Elastase (Sigma chemical Co., USA), N-Succinyl-Ala-Ala-Ala-P-nitroanilide (Sigma chemical Co., USA), Ursolic acid (Sigma chemical Co., USA), Collagenase From clostridium histolyticum (Sigma chemical Co., USA), 4-Phenylazobenzyloxy-carbonyl-Pro-Leu-Gly-Pro-D-Arg (Sigma chemical Co., USA) 등을 사용하였다.

본 실험에 사용된 기기 및 기구는 다음과 같다. UV/vis spectrophotometer (Hitachi 200-10, Japan), ELISA reader (Bio rad, Co., Japan), pH meter (Metrohm, Switzerland), B.O.D Incubator (Hanbaek Co., Korea), Autoclave (Hanbaek Co., Korea) 등을 사용하였다.

2. 실험방법

1) 총 폴리페놀 함량 측정

(1) 총 폴리페놀 함량 측정

폴리페놀의 정량은 Dorman[4]에 의한 Folin-Ciocalteu colorimetric method로 정량하였다. 시료 1.5 ㎖에 phenol reagent 0.5 ㎖을 넣고 5분 동안 반응 시킨 후 1N-HCl 0.1 ㎖과 10% Na_2CO_3 0.5 ㎖을 넣어 1시간 정치한 다음 640 ㎚에서 흡광도를 측정하고, 표준물질인 tannic acid로 미리 작성한 표준곡선의 흡광도 값과 비교하여 폴리페놀 함량을 산출하였다.

2) 항산화 효과 측정

(1) 전자공여능 측정

전자공여능(EDA : electron donating abilities)은 Blois[5]의 방법으로 다음과 같이 측정하였다. 각 시료용액 100 ㎕에 0.2 mM의 1,1-diphenyl- 2-picrylhydrazyl (DPPH) 50 ㎕ 넣고 교반한 후 30분간 반응시킨 다음 517 ㎚에서 흡광도를 측정하였다.

(2) ABTS 라디칼 소거능 측정

ABTS 라디칼 소거능 측정은 Roberta[6]의 방법으로 측정하였다. 시료 0.1 ㎖에 7 mM 2,2'-Azino-bis (3-ethylbenzoline-6-sulfonic acid) diammonium salt와 2.4 mm potassium persulfate의 1 : 1 혼합시약 0.1 ㎖을 넣고 차광하여 7분 동안 상온에 반응시킨 다음 734 ㎚에서 측정하였다.

(3) Superoxide anion radical 소거능 측정

Superoxide anion radical 소거능은 Siddhurajun와 Becker[7]의 방법으로 측정하였다. 시료 0.1 ㎖에 0.1 M potassium Buffer (pH 7.5) 0.6 ㎖, 0.4 mM xanthine과 0.24 mM nitro blue tetrazolium을 1 : 1로 섞은 기질 0.1 ㎖, xanthine oxide (0.2 U/ml) 1 ㎖을 넣고 37℃에서 20분간 반응 시킨다. 1 N-HCl 1 ㎖ 넣어 반응 정지 시킨 후 560 ㎚에서 흡광도를 측정하였다.

(4) Hydrogen peroxide 소거 활성 측정

Hydrogen peroxide 소거 활성은 Jayaprakasha[8]의 방법으로 측정하였다. 시료 0.5 ㎖에 40mM hydrogen peroxide 0.5 ㎖을 넣고 37℃에서 10분간 반응시킨 다음 230 ㎚에서 측정하였다.

(5) Superoxide dismutase 유사활성 측정

Superoxide dismutase 유사활성은 Marklund[9]의 방법에 따라 측정하였다. 시료 0.2 ㎖에 0.05 M Tris-HCl Buffer 2.6 ㎖과 pyrogallol 0.2 ㎖을 넣고 37℃에서 10분간 반응을 시킨 다음 1N HCl 0.1 ㎖를 넣어 반응 정지 시키고 420 ㎚에서 흡광도를 측정하였다.

3) 항염증 효과 측정

(1) Nitro oxide radical 저해 활성 측정

Nitro oxide radical 저해 활성은 Marcocci[10]등의 방법에 따라 측정하였다. 시료 50 ㎕에 10 mM Sodium nitroprusside 50 ㎕를 넣어 25℃에서 150분간 반응시킨다.

이 반응액 0.1 ㎖에 Griess reagent 시약 0.1 ㎖을 가해 540 ㎚에서 흡광도를 측정하였다.

4) 주름개선효과 측정

(1) Collagenase 저해 활성 측정

Collagenase 저해 활성은 Gisslow[11]등의 방법으로 측정하였다. 시료 0.1 ㎖에 기질 0.25 ㎖과 collagenase 0.15 ㎖을 넣고 27℃에서 20분 동안 반응시키고 6% citric acid 0.5 ㎖ 넣어 반응을 정지시켰다. 그 다음 ethyl acetate 1.5 ㎖ 넣은 다음 원심분리기를 이용하여 3000 × *g* 에서 10분간 원심분리를 한 다음 상층액만 덜어서 320 ㎚에서 흡광도를 측정하였다.

(2) Elastase 저해활성 측정

Elastase 저해활성 측정은 Cannell 등[12]의 방법에 따라 측정하였다. 추출물을 일정 농도가 되도록 조제하여 0.5 mL씩 시험관에 취하고, 50 mM Tris-HCl buffer (pH 8.6)에 녹인 porcine pancreas elastase(2.5U/mL)용액 0.5mL을 가한 후 50 mM Tris-HCl buffer (pH 8.6)에 녹인 기질 N-succinyl-(L-Ala)3-p-nitroanilide (0.5mg/mL)을 첨가하여 20분간 반응시켜 기질로부터 생성되는 p-nitroanilide의 생성량을 405nm에서 측정하였다. Elastase 저해 활성은 시료 용액의 첨가 군와 무 첨가 군의 흡광도 감소율로 나타내었다.

결 과

1. 시료의 수율결과

참고비 70% 에탄올, 열수추출물은 각각 21.5 g, 28.6 g의 수율을 나타내었고, 삼나물 70% 에탄올, 열수추출물의 수율은 각각 31.9 g, 41.9 g로 나타났으며, 울릉 미역취 70% 에탄올, 열수 추출물의 수율은 각각 42.1 g, 35.1 g으로, 울릉 미역취의 70% 에탄올 추출물의 수율이 제일 높았다.

2. 울릉도 나물 3종 추출물의 총 폴리페놀 함량 측정결과

페놀성 화합물은 식물계에 널리 분포되어 있는 2차 대사산물의 하나로서 다양한 분자구조와 분자량을 가진다. 이들은 phenolic hydroxyl(OH)기를 가지기 때문에 단백질 및 기타 거대 분자들과 쉽게 결합하여, 항산화, 항암 등의 다양한 생리활성을 가지며[13], 이들 대부분은 식물기원으로 나무, 수피, 줄기, 잎, 과일, 뿌리, 꽃, 씨앗 등의 식물 모든 부분에 존재하고 있다[14)15)]. 현재까지 페놀화합물 및 플라보노이드의 구조에 따른 항산화 활성과의 상관성에 대한 연구도 보고되었다[16]. 폴리페놀계 물질들은 식물체에 특수한 색깔을 부여하고 산화환원반응에서 기질로 작용하며, 한 분자 내에 2개 이상의 phenolic hydroxyl(OH)기를 가진 방향족 화합물들을 가리키며 플라보노이드와 탄닌이 주성분으로 충치 예방, 고혈압 억제, 항에이즈, 항산화, 항암 등의 다양한 생리활성을 가진다[17]. 본 실험에서는 녹두 추출물에 존재하는 총 폴리페놀 함량을 tannic acid를 기준물질로 하여 녹두 추출물의 폴리페놀 함량을 측정한 결과를 Table 1과 같이 나타내었다.

Table 1. The contents of total polyphenol from Ulleng island three plants extracts.

Samples	Contents of polyphenol (mg TAE/ g)
[1]AAE	181.51
[2]AAW	125.71
[3]ADE	61.805
[4]ADW	45.8325
[5]SAE	37.47
[6]SAW	54.55

[1]AAE : *Athyrium acutipinnulum* extracted with ethanol.
[2]AAW : *Athyrium acutipinnulum* extracted with water.
[3]ADE : *Aruncus dioicus* var extracted with ethanol.
[4]ADW : *Aruncus dioicus* var extracted with water.
[5]SAE : *Solidago virga-aurea* extracted with ethanol.
[6]SAW : *Solidago virga-aurea* extracted with water.

3. 울릉도 나물 3종 추출물의 항산화효과 측정

(1) 전자공여능 측정

전자공여능 측정에 사용된 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH)는 안정한 자유 라디칼로서, 만일 시료가 항산화 활성을 갖고 있다면, DPPH가 갖고 있는 지질산화에 관여하는 자유 라디칼의 비공유 결합을 소거하여 DPPH의 환원성을 높일 것이고, 보라색의 DPPH가 환원이 많이 될 수록 보라색을 잃게 되어 UV 측정 시 그 수치도 낮아진다[18].

전자 또는 수소를 받으면 517 nm부근에서 흡광도가 감소하며 각 추출물에서 이러한 라디칼을 환원시키거나 상쇄시키는 능력이 크면 높은 항산화 활성 및 활성 산소를 비롯한 다른 라디칼에 대한 소거 활성을 기대할 수 있다[19]. 울릉도산 참고비, 산나물, 미역취의 열수 및 에탄올 추출물에 대한 전자공여능을 살펴본 결과는 Fig. 3과 같이 참고비 에탄올 열수추출물과, 삼나물에탄올 추출물의 활성이 높았으며, 각각 100㎍/㎖의 농도에서 50.73%, 55.33%, 57.26%의 활성을 나타내었으며, 그중 삼나물의 에탄올추출물이 활성이 가장 효과가 좋았다.

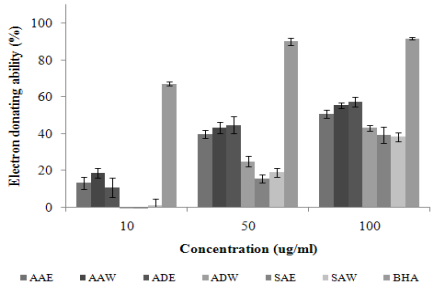

Fig. 3. Electron donating ability of Ulleung Island plants extract.
BHA : Butylated hydroxyanisole(positive control).
Results are means ± S.D. of triplicate data.

(2) ABTS 라디칼 소거능 측정

ABTS radical의 소거활성과 같이 일반적으로 많이 사용되는 ABTS radical cation 소거능은 2,2'-Azino-bis (3 -ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) diammonium salt (ABTS)와 potassium persulfate와의 반응으로 ABTS+ radical이 생성되면 특유의 색인 청록색을 띄게 되는데, 시료를 첨가함에 따라 연한녹색으로 decolorization 되는 것을 측정하는 방법이며, hydrogen-donating antioxidant와 chain breaking antioxidant 모두를 측정 할 수 있다. 울릉도산 참고비, 산나물, 미역취의 열수 및 에탄올 추출물에 대한 $ABTS^+$ radical cation 소거활성을 살펴본 결과는 Fig. 4와 같으며, 다른 추출물과 비교하여 참고비추출물이 가장 효가가 좋았으며, 참고비의 에탄올 열수추출물의 100 ㎍/㎖의 농도에서 80.2%, 87.28%의 활성을 나타내었으며 대조군 BHA와 유사한 높은 활성을 나타내었다.

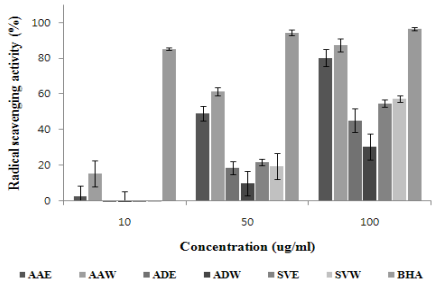

Fig. 4. ABTS radical scavenging activity of Ulleung Island plants extract.
BHA : Butylated hydroxyanisole(positive control).
Results are means ± S.D. of triplicate data.

(3) Superoxide anion radical(O_2^-) 소거능 측정

NBT(superoxide anion radical) 소거능 측정은 xanthine oxidase가 xanthine을 기질로 하여 uric acid를 생성하는 과정에 생성되는 superoxide anion radical을 울릉도 나물 3종 추출물과 반응시켜 nitro blue tetrazolium로 superoxide anion radical 소거 능을 확인하는 방법이다[22)23)]. 울릉도산 참고비, 산나물, 미역취의 열수 및 에탄올 추출물에 대한 superoxide anion radical 소거능을 살펴본 결과를 Fig. 5와 같이 100 ㎍/㎖의 농도에서 모든 추출물이 대조군 BHA보다 높은 활성을 나타내었으며, 미역취 열수추출물과 참고비 에탄올추출물, 열수추출물이 각각 82.36%, 89.04%, 90.16%의 활성을 나타내었으며, 그 중 참고비 열수추출물이 가장 높은 활성을 나타내었다.

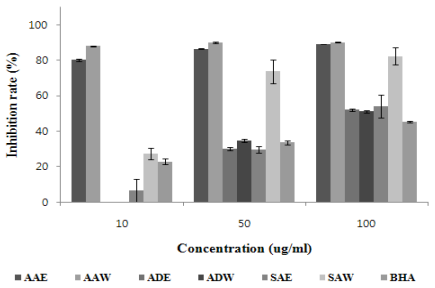

Fig. 5. Superoxide anion radical scavenging activity of Ulleung Island plants extract.
BHA : Butylated hydroxyanisole(positive control).
Results are means ± S.D. of triplicate data.

(4) Hydrogen peroxide 소거 활성 측정

인체의 신진대사 과정 중 부산물로 생성되는 활성산소는 생체 내 여러 가지 병태생리적인 반응에 관여하게 된다. 그 중 Hydrogen peroxide(H_2O_2)는 superoxide (O_2^-), hydroxy radical (OH^-) 등을 포함하는 활성 산소종(reactive oxygen species)의 하나로 심혈관계나 노화 등 각종 질환의 발병인자로 인식되고 있다[18)]. 활성산소는 세포에 손상을 줌으로서 세포의 퇴화나 사멸을 초래하는데[19)] 이 현상의 하나는 활성산소가 세포의 항산화계에 손상을 주어 그 결과 항산화 효소의 활성저해 내지는 방해함으로서 그 결과 불필요한 산소 라디칼이 누적되어 세포손상을 유도한다[21,22)]고 알려져 있다.

울릉도산 참고비, 산나물, 미역취의 열수 및 에탄올 추출물에 대한 Hydrogen peroxide 소거 활성을 살펴본 결과는 Fig. 6과 같이 500 ㎍/㎖의 농도에서 삼나물의 열수추출물과 미역취의 열추추물을 제외한 모든 추출물에서 높은 활성을 나타내었으며, 참고비의 에탄올추출물과 열수추출물, 삼나물의 에탄올 추출물, 미역취의 에탄올추출물에서 각각 88.66%, 84.97%, 74.52%, 81.27%의 효과를 보였고, 특히 참고비의 에탄올추출물이 대조군과 유사한 높은 활성을 나타내었다.

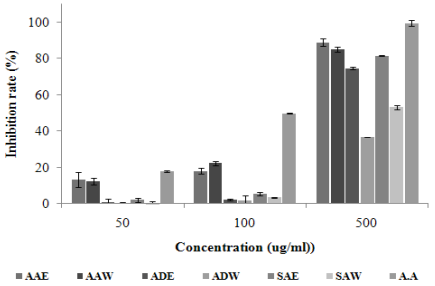

Fig. 6. Hydrogen peroxide scavenging activity of Ulleung Island plants extract.
A.A : L-ascorbic acid
Results are means ± S.D. of triplicate data.

(5) Superoxide dismutase 유사활성 측정

자연에 존재하는 항산화 효소 중의 하나인 superoxide dismutase (SOD)는 세포에 유해한 환원 산소 종을 과산화수소로 전환시키는 반응 ($2O_2 + 2H+ \rightarrow H_2O_2 + O_2$)을 촉매하는 효소이며, SOD에 의해 생성된 H_2O_2는 peroxidase나 catalase에 의하여 무해한 물 분자와 산소분자로 전환된다.

이러한 SOD는 아니지만 superoxide anion의 활성을 억제시킬 수 있는 물질의 SOD 유사활성능을 측정한 결과는 Fig.

6에 나타나있다. SOD 유사활성 물질은 효소는 아니지만 SOD와 유사한 역할을 하는 저분자 물질로 주로 phytochemicals에 속하며 superoxide의 반응성을 억제하여 산화적 장애를 방어할 수 있다. SOD 정제시 열안정성이 뛰어나고 SOD와 유사한 활성을 나타내는 물질을 함께 정제하여 이를 SOD와 결합된 phenol류 물질인 것으로 보고한 바 있으며, Vitamin C 그 자체가 높은 SOD 유사활성을 나타낸다고 보고한 바 있다[23]. 울릉도산 참고비, 산나물, 미역취의 열수 및 에탄올 추출물에 대한 superoxide dismutase 유사활성을 살펴본 결과는 Fig. 7과 같이 활성이 높지 않았지만 10 ㎍/㎖의 저농도에서 참고비의 에탄올추출물과 열수추출물이 각각 27.09%, 26.68%의 활성을 나타내었다.

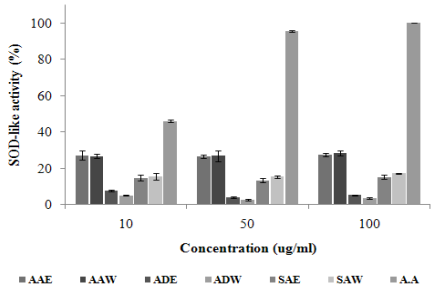

Fig. 7. SOD-like activity of Ulleung Island plants extract.
A.A : L-ascorbic acid
Results are means ± S.D. of triplicate data.

4. 울릉도 나물 3종 추출물의 항염증효과 측정

(1) Nitro oxide radical 저해 활성 측정

Nitric oxide는 Reactive Oxygen Species (ROS)의 하나로서 세포독성이 강하며 염증, 암 그리고 다른 병리학적 조건을 유발하는 것으로 알려져 있으며, 다량의 NO는 nitrozation, nitration과 같은 간접적 영향 및 산화반응을 야기하여 유해한 효과를 나타내게 된다. 넓은 뜻으로 활성산소 (reactive oxygen species)의 하나인 nitric oxide radical(NO)저해활성을 울릉도산 참고비, 산나물, 미역취의 열수 및 에탄올 추출물에 대한 측정한 결과는 Fig 8과 같이 모든 추출물에서 높은 활성을 나타내었다. 특히 참고비 열수추출물, 에탄올추출물과 삼나물 에탄올추출물, 열수추출물이 높은 항염증 효과를 나타내었으며, 50 ㎍/㎖의 농도에서 각각 45.3%, 38.88%, 48.05%, 53.91%의 높은 항염증효과는 매우 우수한 항염증물질로 볼 수 있다.

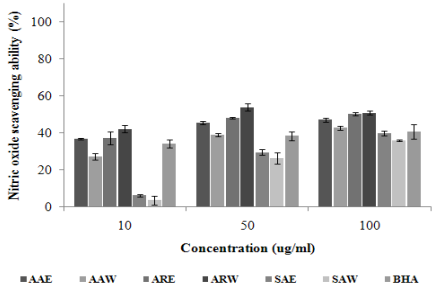

Fig. 8. Nitric oxide scavenging ability of Ulleung Island plants extracts.
BHA : Butylated hydroxyanisole(positive control).
Results are means ± S.D. of triplicate data.

5. 울릉도 나물 3종 추출물의 주름개선효과 측정

1) Collagenase 저해활성 측정

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[11]. 이러한 collagen은 연령 및 자외선 조사에 의한 광노화에 의해 감소하며, 이는 피부의 주름 형성과 밀접한 연관이 있다고 알려져 있다.

울릉도산 참고비, 산나물, 미역취의 열수 및 에탄올 추출물에 대한 Collagenase 저해활성 측정은 Fig. 9과 같이 삼나물의 에탄올추출물과 열수추출물을 제외한 모든 추출물에서 collagenase저해활성을 나타내었고, 참고비의 에탄올추출물과 열수추출물, 미역취의 에탄올추출물과 열수추출물은 각각 1000㎍/㎖의 농도에서 56.55%, 69.19%, 76.81%, 70.93%로 나타내었다. 특히 미역취의 에탄올추출물과 열수추출물에서 모두70%이상의 활성을 나타내었으며 기능성화장품의 소재로서 개발가능성을 확인 할 수 있었다.

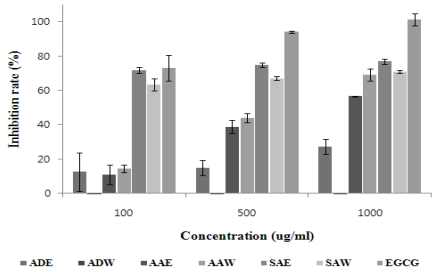

Fig. 9. Inhibition rate of Ulleung Island plants extracts on collagenase.
EGCG : (-)-epigallocatechin-3-gallate(positive control).
Results are means ± S.D. of triplicate data.

2) Elastase 저해활성 측정

피부의 진피조직 속에는 collagen과 피부의 탄력성에 관련된 elastin이 그물망 구조를 형성하고 있는데, elastin이 elastase에 의해 분해되어 피부의 그물망 구조 결합이 끊어짐으로, elastase가 주름생성의 주원인 효소로 알려져 있다. Elastase 저해제는 피부 주름을 개선하는 작용을 나타내고, ursolic acid등이 elastase 저해제로 이용되고 있다[12]. 이러한 주름 생성과 관련된 울릉도산 참고비, 산나물, 미역취의 열수 및 에탄올 추출물에 대한 elastase 저해 능을 측정결과는 Fig. 10과 같이 미역취와 삼나물추출물 모두 효과가 없었으며, 참고비의 에탄올추출물과 열수추출물은 각각 10 ㎍/㎖의 농도에서 39.63%, 37.94%로 가장 효과가 높게 나타내었다.

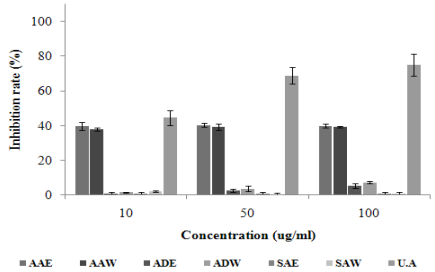

Fig. 10. Inhibition rate of Ulleung Island plants extracts on elastase.
U.A : Ursolic acid(positive control).
Results are means ± S.D. of triplicate data.

고찰 및 결론

울릉도는 산채류 중 울릉미역취, 삼나물(눈개승마), 참고비 등이 대표적이며 식품학적으로는 연구가 활발하나, 화장품원료 연구는 아직 미흡하다. 본 연구는 참고비(*Athyrium acutipinnulum*), 삼나물(눈개승마, *Aruncus dioicus* var. *kamtschaticus* Hara), 울릉미역취(*Solidago virga-aurea* var. Gigaatea) 3종의 특산물은 한방에서 이뇨와 건위 효과 및 기침, 부종, 식체, 신장염의 치료효과가 있는 것으로 알려져 있다. 화장품 약리활성 연구를 통하여 elastase, Collagenase 저해능 평가법으로 피부의 주름을 저해할 수 있음을 확인 할 수 있었으며, 항산화 실험에서는 특히 대표적인 항산화 지표물질인 BHA(butylated hydroxyanisole)보다 높은 항산화 활성이 있었으며, 특히 ABTS radical 소거능에서는 높은 효능이 있음을 발견 할 수 있었으며, 항염증 효과 실험에서는 낮은농도 10 ug/ml에서도 BHA보다 높은 항염증효과가 있는 것을 발견 할 수 있었다.

위 실험결과로 화장품을 합성원료가 아닌 천연의 소재로 안정성을 높이며, 천연 화장품 첨가제으로서의 가능성을 알 수 있었다.

이 연구는 울릉도 특산물(참고비, 삼나물, 울릉미역취)의 화장품 약리 활성을 검증을 통해, 천연소재를 이용한 기능성 화장품의 천연소재로서 개발이 가능할 것으로 사료된다.

참고문헌

1. Park HD. The physical geography of Ulreungdo island. Geographical J. Korea. 1997 ; 31 : 27-40.
2. Kim YG. Korea's 599 kinds of flawers. Korean wild plants association. 2004 ; 86-87.
3. Ulleung-Gun Agriculture Technology Center. Cultivation of Ulleungdo wild vegetales. 2002 ; 135-141.
4. Dorman HJ D., Peltoketo A., Hiltunen R., & Tikkanen MJ. Characterisation of the antioxidant properties of de-odourised aqueous extracts from selected Lamiaceae herbs. Food Chemistry. 2003 ; 83 : 255-262.
5. Blois MS. Antioxidant determination by the use of a stable free radical. Nature. 1958 ; 26 : 1199-1200.
6. Roberta R., Nicoletta P., Anna P., Ananth P., Min Y., and Catherine RE. Antioxidant Activity Applying an Improved ABTS Radical Cation Decolorization Assay. Free Radical Biology & Medicine. 1999 ; 26 : 1231-1237.
7. Siddhuraju P., Becker K. The antioxidant and free radical scavenging activities of processed cowpea (Vigna unguiculata (L.) Walp.) seed extracts. Food Chemistry. 2007 ; 101 : 10-19.
8. Jayaprakasha GK., Jaganmohan Rao, L., Sakariah KK. Antioxidant activities of flavidin in different in vitro moder systems. Bioorganic & Medicinal Chemistry. 2004 ; 12 : 5141-5146.
9. Marklund S. and Marklund G. Involvement of superoxide anion radical in the oxidation of pyrogallol and a convenient assay for superoxide dismutase. Eur. J. Biochemistry. 1974 ; 47 : 468.
10. Marcocci L., Maguire JJ., Droylefaix MT., Packer L. The nitric oxide-scavenging properties of Ginkgo biloba extract EGb 761. Biochemical and Biophysical Research Communications. 1994 ; 201 : 748-755.
11. Gisslow MT, McBride BC. A rapid sensivite collagenase assay. Analytical Biochemistry. 1975 ; 68, 70-78.
12. Cannell R. J., Kellam S. J., Owsianka A.M., Walker J. M. Results of a large scale screen of micoalgae for the production of protease inhibitors. Planta Medica. 1987 ; 54 : 4-10.
13. Jung MS, Lee GS, Chae HJ. *In vitro* biological activity assay of ethalol extract of Radish. J. Korean Soc. Appl. Biol Chem. 2004 ; 47(1) : 67-71.
14. Choi YM, Kim MH, Shin JJ, Park JM, Lee JS. The antioxidant activities of the some commercial teas. J. Korean Soc. Food Sci. Nutr. 2003 ; 32(5) : 723-727.
15. Kim HJ, Jun BS, KimSK, Cha JY, Cho YS. Polyphenolic compound content and flower of Safflower(Carthamus tinctorius L.). J. Korean Soc. Food Sci. Nutr. 2000 ; 29(6) : 1127-1132.
16. Matsuda H, Ishikado A, Nishida N, Ninomiya K, Fujiwara H, Kobayashi Y, Yoshikawa M. Hepatoprotective, superoxide scavenging, and antioxidative activities of aromatic constituents from the Bark of Betula platyphyllavar. japonica. Bioorg. Med. Chem. Lett. 1998 ; 8(21) : 2939-2944.
17. Kim JK, Lee HS. Tyrosinase inhibitory and radical scavenging activities form the seeds of Coix. Korea J. Food Sci. Technol. 2000 ; 32 : 1409-1413.
18. Ancerewicz JE, Migliavacca PA, Carrupt B, Testa F, Bree R, Zini JP, Tillernent S, Labidalle D. and Guyot AM, Chauvent-Monges, Crevat A. and Ridant AL. Structure property relationships of trimetazidine derivatives and model compounds as potential antioxidants. Free radical Biology Medicine. 1998 ; 25 : 113-120.
19. Aoshima H, Tsunoue H, Koda H, Kiso Y. Aging of whiskey increases 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl radical scavenging activity. J. Agric. Food Chem. 2004 ; 52 : 5240-5244.
20. Okamura H, Mimura A, Yakou Y, Niwano M,

Takahashi Y. Antioxidant activity of tannins and flavonoids in Eucalyptus rostrata. phytochemistry. 1993 ; 33(3) : 557-561.

21. Amakura Y, Umono Y, Tsuji S, Ito H, Hatano T, Yoshida T, tonogai Y. Constituents and their antioxidative effect in *eucalyptus* leaf extract used as a natural food additive. Food chemistry. 200 2 ; 77 : 47-56.
22. Nice DJ, Robinson DS, Jolden MA, Characterisation of a heat-stable antioxidant co-purified with the superoxide dismutase activity from dried peas. Food Chem. 1995 ; 52 : 393-397.
23. Kim JS, Han D, Park MH, Rhee JS, Measurement of superoxide dismutase-like activity of natural antioxidants. Biosci. Biotech. Biochem. 1995 ; 59 : 822-826.