

Antioxidant and Anti-wrinkling Effects of *Aruncus dioicus* var. *kamtschaticus* extract

Jin-Suk Youn¹, Seung-Yong Shin¹, Yongxiang Wu¹, Ju-Young Hwang¹,
Jae-Ho Cho¹, Yong-Geun Ha¹, Jin-Ki Kim¹, Min-Jeong Park¹,
Seonho Lee¹, Tae Hoon Kim² and Taewan Kim^{1†}

¹Department of Food Science and Biotechnology, Andong National University, Andong 760-749, Korea

²Department of Herbal Medicinal Pharmacology, Daegu Haany University, Gyeongsan 712-715, Korea

눈개승마 추출물의 항산화 및 주름개선 효과

윤진숙¹ · 신승용¹ · 우용시양¹ · 황주영¹ · 조재호¹ · 하용근¹ · 김진기¹ · 박민정¹ ·
이선호¹ · 김태훈² · 김태완^{1†}

¹안동대학교 식품생명공학과, ²대구한의대학교 한약재약리학과

Abstract

In this study, the antioxidant and anti-wrinkling effects of extracts from *Aruncus dioicus* var. *kamtschaticus* (ADV) were investigated. According to the results, the ethanol extract has better antioxidant and anti-wrinkling effects than the water extract. The amounts of total polyphenol and flavonoid compounds in the ethanol extract were 122 and 36 mg/g, respectively, while those in the water extract were 87 and 26 mg/g. The antioxidant activities of the ethanol and water extracts were 395 and 4,682 $\mu\text{g/mL}$ as the RC_{50} values for the DPPH radical scavenging activity, and 227 and 366 $\mu\text{g/mL}$ for the ABTS^+ radical scavenging activity, respectively. The reducing power of the ethanol extract (1.58 at 2 mg/mL) was higher than that of the water extract (0.88 at 2 mg/mL). The astringent activities of the ethanol and water extracts were 91.27 and 16.35% at 10 mg/mL, respectively. Furthermore, the ADV ethanol extract treatment of the fibroblast cell after UV irradiation resulted in increased cell viability (10% at 100 $\mu\text{g/mL}$) and collagen biosynthesis (33% at 100 $\mu\text{g/mL}$), with a lowering in the MMP-1 expression level (16.8 % at 100 $\mu\text{g/mL}$). These results demonstrate that ADV provides a remarkable and significant tensor and anti-wrinkling effect on the skin, which could be of a great use in anti-aging skin care products.

Key words : *Aruncus dioicus* var. *kamtschaticus*, anti-oxidation, collagen synthesis, anti-wrinkle, cosmeceutical

서 론

노화의 원인이 되는 활성산소종(reactive oxygen species, ROS)은 산소에서 유래된 것으로 안정한 분자상태인 triplet oxygen ($^3\text{O}_2$)이 체내 효소계, 환원대사, 화학약품, 공해물질, 광화학 반응 등의 각종 물리, 화학 및 환경적 요인 등에 의하여 생성된다(1-4). 과량의 활성산소종은 DNA 분절과 단백질의 불활성화 및 세포 생체막의 구성 성분인 불포화 지방산을 공격하여 생체기능을 저하시킴으로써 노화를 유

발할 뿐만 아니라 류마티스성 관절염, 당뇨병, 심장병, 동맥 경화, 암 등과 같은 여러 질환의 원인으로 알려져 있다(5). 이러한 활성산소종을 제거하기 위해 BHA 및 BHT 등의 많은 합성 항산화제가 개발되어 기능성식품 및 화장품 등에 사용되어 왔으나, 안전성 문제로 인하여 식품 및 화장품에는 제한적으로 사용되어 왔다.

사람의 피부는 노화가 진행됨에 따라 내적으로는 신진대사를 조절하는 각종 호르몬의 분비가 감소하고, 면역세포 및 피부세포의 기능과 활성이 저하되어 생체에 필요한 면역 단백질 및 생체 구성단백질들의 생합성이 감소되어 생기는 내인성 노화와 외적으로는 각종 오염물질과 자외선에 의한 광 노화에 의해 주름 증가, 탄력감소, 피부건조의 증가가

[†]Corresponding author. E-mail : tk37@andong.ac.kr
Phone : 82-54-820-6157, Fax : 82-54-820-6264

나타날 뿐만 아니라 기미, 주근깨 및 검버섯 등이 생성되는 것으로 알려져 있다(7,8). 피부세포의 주요 구성분인 콜라겐은 진피건조중량의 70-80%를 차지하며, 이 중 type I 콜라겐이 총 콜라겐의 80%를, type III 콜라겐이 15%를 차지한다. 일반적으로 피부에서 type I 콜라겐의 합성과 그 분해 효소인 MMP-1의 활성은 적절한 균형을 유지하며 피부의 탄력을 유지하는데(9), 노화 및 외인적 요인에 의해 이 균형이 깨어질 경우, 피부주름생성의 원인이 된다.

눈개승마(*Aruncus dioicus* var. *kamtschaticus*)는 쌍떡잎식물 장미목 장미과의 다년생 초본식물로 높은 영양가와 독특한 향기는 물론 상큼한 맛으로 인하여 울릉도의 대표적인 산채자원으로 삼나무이란 이름으로 널리 알려져 있다. 눈개승마는 한국, 일본, 중국에 분포하며, 주성분은 사포닌이 들어 있어 성인병에 탁월한 효능을 지니는 것으로 알려져 있고, 전초는 해독, 편도선염에 효과가 있어 약용으로 쓰이며 어린순은 탄수화물과 무기물함량이 풍부하다. 울릉도에서는 눈개승마가 해독 및 정력보강 효과가 있는 것으로 알려져 예로부터 명절에 쇠고기 국을 끓일 때 많이 이용하고 있다(10). 현재 눈개승마의 항산화 효과에 대한 연구는 보고되어 있지만(11,12) 항노화 화장품 소재로서의 생리활성과 피부효능을 규명한 연구는 없다.

본 연구에서는 눈개승마 추출물의 피부노화를 억제시키는 항산화 효과와 피부탄력 및 주름개선에 관련된 콜라겐 생합성 촉진 및 분해억제효능을 평가하여 기능성 화장품 원료로서의 사용 가능성을 검토하고자 하였다.

재료 및 방법

시료 추출

본 실험에 사용한 눈개승마 시료는 경북 울릉군에서 2010년 봄에 생산된 생체를 구입하여 세척 후 물기를 제거하고 열풍건조 시킨 후 추출시료로 사용하였다. 눈개승마의 물 추출물과 에탄올 추출물은 삼각플라스크에 시료 당 10배에 해당되는 증류수 및 70% 에탄올을 넣고 각각 95℃와 25℃의 수욕조(Labtech, Korea)에서 교반하며 10시간씩 3회 반복 추출하였다. 추출액은 여과지(Whatman No 1)로 여과한 다음, 회전감압농축기(Buchi, Switzerland)로 감압농축하여 동결건조기(Samwon, Korea)로 동결건조한 후 분말로 제조하였으며, 일정농도로 희석한 후 본 실험의 시료로 사용하였다.

폴리페놀 화합물 측정

페놀화합물의 함량은 Folin-Denis법(13)에 준하여 측정하였다. 각 시료를 100 µL씩 넣고 10% Folin 시약 500 µL를 첨가하였다. 이 용액을 잘 혼합한 후 3분 동안 실온에 방치하였다. 여기에 7.5% Na₂CO₃ 400 µL를 첨가하고 이 혼합액

을 40℃에서 30분 동안 반응한 후 765 nm에서 흡광도를 측정하였으며 총 페놀성화합물의 함량은 tannic acid (Sigma Co, St. Louis, MO, USA)에 대한 동일 양으로 계산하고 blank는 동일시약에 시료 대신 물을 첨가한 것을 사용하였다.

총 플라보노이드 함량

총 플라보노이드 함량은 Zhuang 등(14)의 방법을 변형하여 측정하였다. 즉, 추출물 0.5 mL에 2% aluminum nitrate 0.5 mL과 ethyl alcohol 0.5 mL를 혼합하여 실온에서 1시간 방치한 후 분광광도계를 이용하여 420 nm에서 흡광도를 측정하였다. 표준물질로는 quercetin (Sigma Co, St. Louis, MO, USA)을 사용하였으며, 표준물질의 검량선과 비교하여 총 플라보노이드 함량(mg/g)을 구하였다. 실험은 3회 반복수행하여 평균값을 사용하였다.

전자공여능 측정

전자공여능(EDA: electron donating ability)은 Blois의 방법(15)을 변형하여 측정하였다. 각 시료용액 100 µL에 0.2 mM의 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) 50 µL를 넣고 교반한 후 10분간 방치한 다음 517 nm에서 흡광도를 측정한다. 전자공여능은 시료용액의 첨가구와 무첨가구의 흡광도 감소율로 나타낸다.

$$\text{전자공여능(\%)} = (1 - \text{시료 첨가구의 흡광도} / \text{무첨가구의 흡광도}) \times 100$$

ABTS free radical 소거활성

ABTS radical을 이용한 항산화력 측정은 ABTS^{•+} cation decolourisation 방법(16)에 의하여 시행하였다. 7 mM 2,2'-azino-bis(3-ethylbenzthiazoline-6-sulfonic acid)와 2.45 mM potassium persulfate를 최종농도로 혼합하여 실온인 암소에서 24시간 동안 방치하여 ABTS^{•+}을 형성시킨 후 732 nm에서 흡광도 값이 0.70(±0.02)이 되게 ethanol로 희석하였다. 희석된 용액 100 µL에 시료 50 µL를 가하여 6분 동안 방치한 후 734 nm에서 흡광도를 측정하였다. 각 시료 추출물의 유리 라디칼 소거활성은 시료를 첨가하지 않은 대조구의 흡광도를 1/2로 환원시키는데 필요한 시료의 농도인 RC₅₀ 값으로 나타내었다.

$$\text{ABTS free radical 소거활성(\%)} = (1 - \text{시료 첨가구의 흡광도} / \text{무첨가구의 흡광도}) \times 100$$

환원력 측정

환원력 측정은 Oyaizu의 방법(17)을 변형하여 실시하였다. 추출된 시료 1.0 mL에 0.2 M phosphate buffer (pH 6.6) 1.0 mL과 1% potassium ferricyanide 1.0 mL를 첨가한 후

50℃에서 20분간 반응시켰다. 반응이 끝난 후 10% trichloroacetic acid 1.0 mL를 첨가하고, 10분간 12,000 rpm으로 원심분리 하였다. 얻어진 상층액 1.0 mL에 증류수 1.0 mL와 0.1% ferric chloride 1.0 mL를 가해 10분간 발색시킨 후 700 nm에서 흡광도를 측정하였다.

수렴 효과 측정(Astringent activity 측정)

수렴효과의 측정은 Lee 등의 방법(18)에 따라 측정하였다. 피부단백질과 유사한 혈액단백질(hemoglobin)을 사용하여, 원심분리관 용기에 각각의 시료용액과 헤모글로빈 용액을 1:1로 넣어서 진탕 혼합한 다음 8,000 rpm에서 3분간 원심분리 후 576 nm에서 흡광도를 측정하였다. 수렴효과의 측정은 시료용액의 첨가군과 무첨가군의 흡광도 감소율로 나타내었다.

$$\text{수렴효과}(\%) = (1 - \text{시료첨가군의 흡광도} / \text{무첨가군의 흡광도}) \times 100$$

세포배양

본 실험에 이용한 세포는 사람의 정상 섬유아세포(HS68)로 American Type Culture Collection (ATCC, CRL-1635)으로부터 구입하였다. 배양은 10% fetal bovine serum (FBS)과 1% penicillin/streptomycin (100 U/mL)을 첨가한 Dulbecco's modified eagle's medium (DMEM, Gibco Co, Gaithersburg, MD, USA) 배지를 사용하였으며, CO₂ 배양기(37℃, 5% CO₂, Sanyo, Japan)에 적응시켜 계대배양 하였다.

자외선 조사에 의한 세포보호 효과

HS68 세포를 1×10⁵ cells/mL 농도로 24-well plate에 넣고 배양기에서 24시간 동안 배양하였다. 배양된 HS68 세포에서 배양배지를 제거하고 인산완충액(phosphate buffered saline, PBS)으로 세척하였다. 인산완충액을 500 µL 첨가한 다음 자외선을 30 mJ/cm²로 조사 후 신선한 세포배양배지로 교체하였다. 실험원료를 농도별로 처리하여 자외선 조사 후 시료를 처리하지 않은 대조군과 세포생존율을 비교하였다.

콜라겐 생합성 측정

사람의 정상 섬유아세포(HS68 cell)를 24-well plate에 1×10⁵ cells/mL 되게 접종하고 24 시간 배양하였다. 인산완충액을 500 µL 첨가한 다음 자외선을 조사 후 시료를 혈청 무첨가 DMEM 배지에 농도별로 첨가하여 교체한 후 24시간 동안 더 배양하여 세포 배양액을 취하였다. 세포 배양액 내 콜라겐 양은 procollagen type I C-peptide (PIP) EIA kit (Takara Bio, Japan)을 사용하여 정량하였다.

MMP-1 합성 저해 효과 측정

사람의 정상 섬유아세포(HS68 cell)를 24-well plate에

1×10⁵ cells/mL 되게 접종하고 24 시간 배양하였다. 인산완충액을 500 µL 첨가한 다음 자외선을 조사 후 시료를 혈청 무첨가 DMEM 배지에 농도별로 첨가하여 교체한 후 24시간 동안 더 배양하여 세포 배양액을 취하였다. 세포 배양액 내 MMP-1 양은 배양액을 취하여 MMP-1 assay kit (Life Science Inc. China)를 사용하여 정량하였다.

통계처리

본 연구의 실험 결과는 평균과 표준오차로 나타냈으며, SPSS software (11.1, SPSS Inc., Chicago, IL, USA)을 이용하여 실험군간의 유의차를 검증한 후 p<0.05 수준에서 상호 비교하였다.

결과 및 고찰

눈개승마 추출물의 추출수율, 폴리페놀 및 플라보노이드 함량

눈개승마 추출물의 추출수율, 폴리페놀 및 플라보노이드 화합물의 함량을 분석한 결과는 Table 1과 같다. 눈개승마 에탄올 추출물과 물 추출물은 각각 34.5%, 36%의 수율을 나타냈다. 에탄올 추출물과 물 추출물의 총 폴리페놀 함량은 각각 122.60 µg/mg과 87.31 µg/mg으로 물 추출물에 비해 에탄올 추출물이 높은 것으로 나타났다. 총 플라보노이드 함량은 에탄올 추출물이 36.80 µg/mg, 물 추출물이 26.45 µg/mg으로 에탄올 추출물이 높은 함량을 나타내었다. 그리고 Lee 등(11)의 눈개승마 80% 메탄올 추출물의 폴리페놀 함량과 플라보노이드 함량이 각각 66.48, 16.47 mg/g 이었다는 보고와 비교하면 눈개승마 에탄올 추출물과 물 추출물이 메탄올 추출물보다 총 폴리페놀함량과 총 플라보노이드 함량이 더 높은 것으로 나타났다. 이와 같이 폴리페놀 화합물은 식물계에 널리 분포하는 2차 대사산물로서 수산기를 가지는 방향성 화합물을 총칭하는 것으로, hydroxycinnamic acid를 비롯한 대부분의 폴리페놀 화합물은 세포벽, 다당류, 리그닌 등과 에스테르 결합되어 있거나 중합체로 존재하며, 수산기를 통한 수소공여와 페놀고리구조의 공명안정화에 의해 항산화 능력을 나타낸다고 보고되어 있다(19,20).

Table 1. Contents of yield, total polyphenol and total flavonoid in *Aruncus dioicus* var. *kamtschaticus* extracts

Sample	Extraction yield (%)	Total phenolics ¹⁾ (mg/g)	Total flavonoids ²⁾ (mg/g)
Ethanol extract	34.5	122.60±1.17	36.80±3.00
Water extract	36.0	87.31±2.41	26.45±1.79

¹⁾Milligrams of total phenolic content/g of plant based on tannic acid as standard.

²⁾Milligrams of total flavonoid content/g of plant based on quercetin as standard.

DPPH free radical 소거활성

DPPH는 짙은 자색을 띄는 비교적 안정한 free radical로서 항산화제, 방향족 아민류 등에 의해 환원되어 색이 탈색되는데 이것은 다양한 천연소재로부터 항산화 물질을 탐색하는데 많이 이용되고 있다(21,22). 눈개승마 추출물의 전자공여능을 측정된 결과는 Table 2에 나타난 바와 같이 에탄올 추출물과 물 추출물의 RC₅₀ 값은 각각 394.97 µg/mL, 4,682.48 µg/mL로 물 추출물에 비해 에탄올 추출물에서 높은 전자공여능을 보였다. 이러한 결과는 폴리페놀 함량과 DPPH radical 소거능이 서로 상관관계가 있다는 보고와 일치하였다(23). Lee 등(11)의 눈개승마 80% 메탄올 추출물의 RC₅₀ 값이 48.27 µg/mL로 보고한 결과와 비교하면 눈개승마 에탄올 추출물보다 메탄올 추출물에서 전자공여능이 높게 나타났는데 이는 시료의 용매별 추출조건에 따른 차이인 것으로 사료된다. Kim 등(24)은 더덕 에탄올 추출물의 전자공여능이 300 µg/mL 농도에서 18.59%라고 보고하였다. 이와 비교하면 눈개승마 에탄올 추출물의 DPPH 라디칼 소거능이 더 높다는 것을 알 수 있었다.

Table 2. DPPH and ABTS radical scavenging activity of *A. dioicus* var. *kamtschaticus* extracts

Sample	RC ₅₀ (µg/mL)	
	DPPH	ABTS
Ethanol extract	394.97±7.84 ^{b1)}	226.75±5.77 ^b
Water extract	4,682.48±103.13 ^a	366.15±10.44 ^a
BHA ²⁾	16.92±0.27 ^c	39.25±4.53 ^c

¹⁾Values are mean±S.D.(n=3). Means with the different letters are significantly different (p<0.05) by Duncan's multiple range test.

²⁾β-Hydroxy Acid.

ABTS free radical 소거활성

ABTS와 potassium persulfate를 암소에 방치하면 ABTS⁺이 생성되는데 추출물의 항산화력에 의해 ABTS⁺이 제거되어 radical 특유의 색인 청록색이 탈색된다. 이와 같이 ABTS⁺ 탈색반응은 이미 생성된 free radical의 제거 정도를 흡광도 값으로 나타낸다. ABTS⁺ 탈색반응은 단시간에 측정할 수 있고, 소수성과 친수성 모두에 적용 가능하다. ABTS free radical을 이용하여 눈개승마 추출물의 ABTS 소거활성을 측정된 결과(Table 2), 에탄올 추출물과 물 추출물의 RC₅₀ 값은 각각 226.75 µg/mL, 366.15 µg/mL로 물 추출물에 비해 에탄올 추출물에서 높은 ABTS 소거활성을 나타냈다. 하지만 양성 대조물질로 사용한 ascorbic acid보다는 현저히 낮은 ABTS 소거활성을 나타냈다. Lee 등(11)의 눈개승마 80% 메탄올 추출물의 RC₅₀ 값이 40.65 µg/mL로 보고한 결과와 비교하면 눈개승마 에탄올 추출물보다 메탄올 추출물에서 ABTS 소거활성이 높게 나타났는데 이는 시료의 용매별 추출조건에 따른 차이인 것으로 사료된다.

다. Woo 등(25)은 80% 에탄올로 추출한 울릉미역취 어린잎의 RC₅₀ 값이 407 µg/mL 이었다고 보고한 바 있다. 이와 비교하면 눈개승마 에탄올 추출물과 물 추출물의 ABTS 라디칼 소거능이 더 우수함을 알 수 있었다.

환원력

일반적으로 활성 산소는 자동산화 반응으로 연쇄적으로 발생하기 때문에 체내에서는 항산화제가 자동산화 반응 중에 생성되는 자유라디칼에 수소 원자를 공여함으로써 그 반응을 종결시킨다. 이와 같이 전자를 주는 환원력이 클수록 강력한 항산화제가 되는데 높은 환원력을 가지는 물질은 흡광도가 높게 나타난다. 눈개승마 추출물의 환원력을 측정된 결과(Fig. 1), 에탄올 추출물과 물 추출물의 농도가 증가할수록 환원력이 높게 나타났다. 특히 2,000 µg/mL의 농도에서 에탄올 추출물과 물 추출물의 환원력은 각각 1.58, 0.88로 물 추출물에 비해 에탄올 추출물에서 유의적으로 높게 나타났다. Lee 등(26)은 포도 주스의 페놀 함량과 항산화 활성 측정결과 환원력과 페놀함량 간에는 상관관계가 높다고 보고하였는데, 이는 본 실험의 결과와도 일치하였다. 따라서 눈개승마에 들어있는 페놀 성분이 활성산소에 수소 및 전자를 공여함으로써 활성산소 사슬을 파괴하여 높은 환원력을 나타내는 것으로 사료된다(27, 28). 하지만 에탄올 추출물 및 물 추출물 모두 양성 대조물질로 사용된 ascorbic acid 보다 낮은 환원력을 나타냈다.

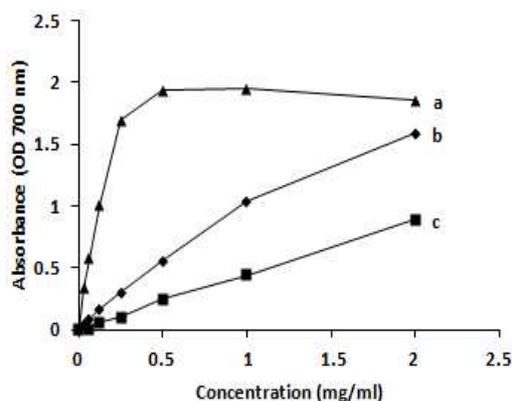


Fig. 1. Reducing power of *Aruncus dioicus* var. *kamtschaticus* extract.

Symbols: ▲, Vit. C; ◆, Ethanol extract; ■, Water extract. Values are mean±S.E. (n=3). Means in the same concentration bearing different superscript are significantly different (p<0.05) by Duncan's multiple range test.

수렴 효과 측정(Astringent activity 측정)

수렴이란 뜻에는 기본적으로 주름이 지고 혹은 움츠러드는 의미가 있으며, 수렴제는 강한 단백질 결합성질을 나타낸다(18). 이러한 수렴작용에는 외용 혹은 내용에 의해서 피부와 점막의 표면에 난용성의 피막을 형성하고 그 결과 국소를 보호하거나, 혹은 조직을 조밀하게 하여 세포막의

투과성을 감소시키는 효과가 있다. 수렴제는 강한 단백질 결합 성질을 나타내는데 그 원리는 피부 단백질이 고분자 flavonoids와 결합하여 가교결합을 형성하여 피부가 수축되는 현상을 말한다. 피부에 작용하여 상처를 보호하고 진통 효과 및 세균감염을 방지하는 효과를 가지며 모세혈관 벽의 투과성을 감소시키므로 혈장이 안에서 밖으로 유출되거나 백혈구가 소실되는 것을 억제하여 염증 및 지혈작용을 한다. 따라서 수렴작용의 실험에서 hemoglobin의 단백질이 시료와 결합하는 정도에 따라서 수렴효과를 판단하였다(29).

수렴 효과를 측정하기 위한 bovine hemoglobin의 침전효과를 Fig. 2와 같이 나타냈다. 10 mg/mL 농도에서 눈개승마 에탄올 추출물과 물 추출물의 수렴효과는 각각 91.27, 16.35%로 물 추출물에 비해 에탄올 추출물에서 수렴효과가 더 높게 나타났다. 이는 Lee 등(18)의 함초 추출물이 10 mg/mL 농도에서 50%의 수렴효과가 나타났다는 보고와 비교할 때 눈개승마 에탄올 추출물의 수렴효과가 더 우수하다는 것을 나타낸다.

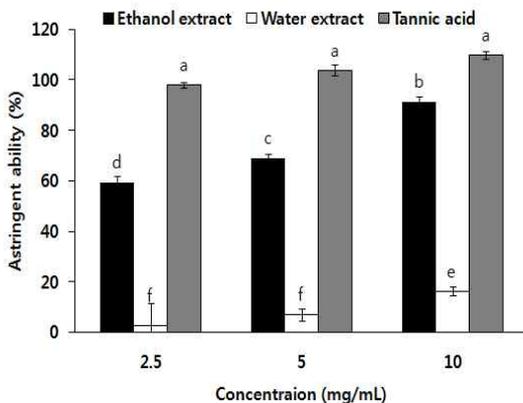


Fig. 2. Comparison of astringent activities of *Aruncus dioicus* var. *kamtschaticus* extract.

Values are mean±S.E.(n=3). Means in the same concentration bearing different superscript are significantly different ($p<0.05$) by Duncan's multiple range test.

자외선에 대한 피부보호 작용

자외선에 대한 피부보호 작용을 평가하기 위하여 세포재생 효과 실험을 실시하였다. 즉, 자외선조사 후 시료를 농도별로 처리하여 자외선을 조사한 후 시료를 처리하지 않은 대조군과 세포생존율을 비교하였다. 눈개승마 에탄올 추출물과 물 추출물을 농도별로 처리한 후 HS68 세포를 48시간 배양하여 세포생존율을 측정된 결과 물 추출물에서는 세포생존율의 변화가 없어 피부세포 보호 효과가 없는 것으로 나타났다지만 에탄올 추출물에서는 50, 100 µg/mL 농도에서 각각 12%, 10% 정도 세포생존율이 유의적으로 증가하여 자외선 조사에 대한 피부세포 보호 효과가 나타났다(Fig. 3). 사람의 정상 섬유아세포(HS68 cell)에 대한 눈개승마 추출물의 세포독성을 평가한 결과, 25~200 µg/mL의 농도

범위에서 세포독성이 없는 것으로 나타났다. Kim 등(30)은 12.5 µg/mL 농도에서 향나물 추출물의 세포생존율이 시료를 처리하지 않은 대조군보다 35% 정도 증가하였다고 보고하였다.

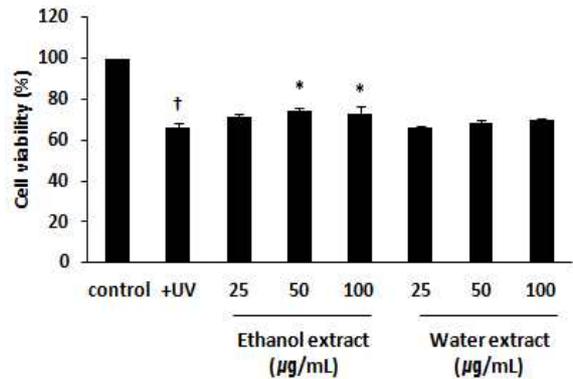


Fig. 3. Protection of cell viability after UV irradiation.

Data represent the mean±S.E.(n=3). Cruciform indicates a significant difference compared with non-UV-irradiated control at $p<0.05$. Asterisk indicates a significant difference compared with UV-irradiated control at $p<0.05$.

Collagen 생합성 측정

피부상피세포 건조중량의 약 70-80%를 차지하는 주요구성분인 콜라겐은 엘라스틴 및 하이알루론산과 함께 피부탄력 및 주름 관련 주요지표물질로 알려져 있다. 보통 피부에서 type I 콜라겐의 합성과 그 분해 효소인 MMP-1의 활성이 균형을 이루고 있지만, 내외인적인 원인으로 노화가 진행되는 피부조직에서는 type I, III 콜라겐의 합성이 저하되고, MMP-1의 활성이 증가되는 것으로 알려져 있다(9). 따라서 기능성 화장품 소재의 섬유아세포 증식 효과와 콜라겐의 생성촉진은 주름을 예방할 수 있는 하나의 방법이라 사료된다. 피부 섬유아세포에 자외선 조사처리를 한 후, 눈개승마

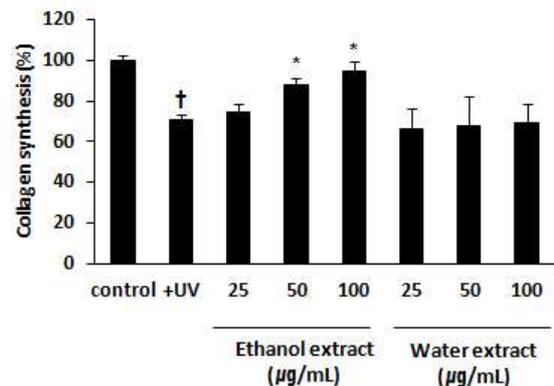


Fig. 4. The effect of *Aruncus dioicus* var. *kamtschaticus* extracts on collagen synthesis in HS68 cells.

Data represent the mean±S.E.(n=3). Cruciform indicates a significant difference compared with non-UV-irradiated control at $p<0.05$. Asterisk indicates a significant difference compared with UV-irradiated control at $p<0.05$.

추출물의 처리농도에 따른 콜라겐 type I 생합성 정도 결과는 Fig. 4와 같다. 눈개승마 물 추출물에서는 콜라겐 생합성이 전혀 증가하지 않은 반면에 에탄올 추출물에서는 50, 100 $\mu\text{g/mL}$ 농도에서 콜라겐 생합성이 각각 시료를 처리하지 않은 대조군 비해서 23%, 33% 정도 유의적으로 증가하였다. Hong 등(31)은 하고초 에탄올추출물 농도가 150 $\mu\text{g/mL}$ 일 때 69.3%의 콜라겐 생합성 촉진효과를 나타낸다고 보고하였으며, Choi 등(32)의 연구에 따르면 바이오 미네랄 활성수는 100 $\mu\text{g/mL}$ 농도에서 콜라겐 생합성이 증가되는 것으로 나타났다. 눈개승마 에탄올 추출물의 경우 하고초 추출물보다는 활성이 낮지만, 현재까지 보고 된 여러 천연물들의 콜라겐 생합성 촉진효과와 비교할 때 상대적으로 우수한 활성을 나타내는 것을 알 수 있었다.

눈개승마 추출물의 MMP-1 생성 억제 효과

피부세포의 결합 조직을 구성하는 성분 중 collagen은 피부건조증량의 70-80% 정도를 차지하는 주요 구성 단백질이다. 따라서 collagen의 분해는 결합조직의 탄력저하와 주름생성 등에 직접적인 영향을 미친다. 체내에서 생성되는 수종의 matrix metalloprotease (MMP)들 가운데 MMP-1은 collagen에 특이적으로 작용하는 protease로서 MMP-1 활성을 억제하면 collagen의 분해를 감소시키며 피부조직의 탄력을 유지하고 주름 생성을 예방할 수 있는 것으로 알려져 있다(33). 본 연구에서 눈개승마 추출물이 MMP-1 생성에 미치는 영향을 평가한 결과, 눈개승마의 에탄올추출물은 100 $\mu\text{g/mL}$ 의 농도에서 MMP-1 발현을 16.8% 정도 억제하는 것으로 나타났다(Fig. 5). 이러한 결과는 눈개승마 에탄올 추출물의 콜라겐생합성 촉진효과와 함께 피부의 탄력 및 주름개선 효능에 기여할 것으로 판단 된다.

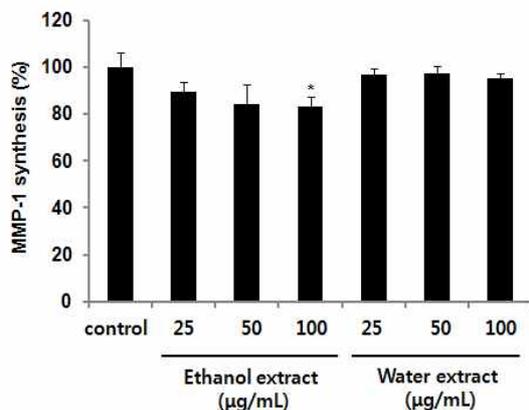


Fig. 5. The effect of *Aruncus dioicus* var. *kamschaticus* extracts on the reduction of MMP-1 by UV-irradiated HS68 cells.

The cells were treated with various concentration of extracts for 24 hr. The contents of MMP-1 in culture media were determined by the MMP-1 ELISA kit as detailed under the Materials and Methods. The results were expressed as the average of triplicate samples with SE. * $p < 0.05$ compared with UV-irradiated control.

요약

본 연구는 눈개승마의 에탄올 추출물과 물 추출물의 항산화 및 주름개선 효과에 대하여 알아보려고 하였다. 실험 결과, 눈개승마의 폴리페놀 함량과 플라보노이드 함량은 에탄올 추출물이 122 $\mu\text{g/g}$, 36 $\mu\text{g/g}$ 이고 물 추출물이 87 $\mu\text{g/g}$, 26 $\mu\text{g/g}$ 으로 나타났다. 눈개승마 에탄올 및 물 추출물의 DPPH 활성에 대한 RC_{50} 값은 각각 395 μg 와 4,682 $\mu\text{g/mL}$ 이었고 ABTS 활성에 대한 RC_{50} 값은 227 $\mu\text{g/mL}$ 과 336 $\mu\text{g/mL}$ 로 나타났다. 에탄올 추출물의 환원력은 2 mg/mL 에서 1.58을 보였고 물 추출물에서는 2 mg/mL 에서 0.88로 나타났다. 에탄올 추출물과 물 추출물의 수렴효과는 10,000 $\mu\text{g/mL}$ 에서 각각 91.27, 16.35%로 나타났다. 또한 자외선을 조사하여 세포사멸을 유도한 실험에서 눈개승마 에탄올 추출물을 100 $\mu\text{g/mL}$ 의 농도로 처리한 실험군에서는 세포 생존율이 10% 정도 개선되었으며, 세포내 콜라겐 생합성량은 33% 정도가 증가하였다. 반면 콜라겐 분해와 관련된 MMP-1의 발현은 동일농도에서 16.8% 감소하였다. 이러한 결과를 종합하면 눈개승마 에탄올 추출물은 항산화 및 주름개선을 효과적으로 개선함으로써, 천연화장품 소재로 유용하게 이용될 수 있을 것으로 기대된다.

참고문헌

- Fridovich I (1978) The biology of oxygen radicals. Science, 201, 875-880
- Bodaness RS, Chan PC (1977) Singlet oxygen as a mediator in the hematoporphyrin-catalyzed photooxidation of NADPH to NADP^+ in deuterium oxide. J Biol Chem, 252, 8554-8560
- Aust SD, Morehouse LA, Thomas CE (1985) Role of metals in oxygen radical reactions. J Free Radic Biol Chem, 1, 3-25
- Trush MA, Mimnaugh EG, Gram TE (1982) Activation of pharmacologic agents to radical intermediates. Implications for the role of free radicals in drug action and toxicity. Biochem Pharmacol, 31, 3335-3346
- Valko M, Leibfritz D, Monocol J, Cronin MT, Mazur M, Telser J (2007) Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. Int J Biochem Cell Biol, 39, 44-84
- Choe SY, Yang KH (1982) Toxicological studies of antioxidants, butylated hydroxytoluene (BHT) and butylated hydroxyanisole (BHA). Korean J Food Sci Technol, 12, 283-288
- Bernstein EF, Chen YQ, Tamai K, Shepley KJ, Rensik

- KS, Zhang H, Tuan R, Mauviel A, Uitto J (1994) Enhanced elastin and fibrillin gene expression in chronically photodamaged skin. *J Invest Dermatol*, 103, 182-186
8. Gilchrist BA (1989) Skin aging and photoaging: an overview. *J Am Acad Dermatol*, 21, 160-613
 9. Talwar JS, Griffiths CE, Fisher GJ, Hamilton TA, Vorhees JJ (1995) Reduced type I and type III procollagens in photodamaged adult human skin. *J Invest Dermatol*, 105, 285-290
 10. Lee CB (2003) Coloured flora of Korea. Hyangmoonsa, Seoul, Korea, p 515-516
 11. Lee SO, Lee HJ, Yu MH, Im HG, Lee IS (2005) Total polyphenol contents and antioxidant activities of methanol extracts from vegetables produced in Ullung Island. *Korean J Food Sci Technol*, 37, 233-240
 12. Kim MS, Kim KH, Jo JE, Choi JJ, Kim YJ, Kim JH, Jang SA, Yook HS (2011) Antioxidative and antimicrobial activities of *Aruncus dioicus* var. *kamtschaticus* Hara extracts. *J Korean Soc Food Sci Nutr*, 40, 47-55
 13. Folin O, Denis W (1912) On phosphotungstic-phosphomolybdic compounds as color reagents. *J Biol Chem*, 12, 239-249
 14. Zhuang XP, Lu YY, Yang GS (1992) Extraction and determination of flavonoid in ginkgo. *Chinese Herb Med*, 23, 122-124
 15. Molyneux P (2004) The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Songklanakaraj J Sci Technol*, 26, 211-219
 16. Roberta R, Nicoletta P, Ananth P, Min Y, Catherine RE (1999) Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biol Med*, 26, 1231 - 1237
 17. Oyaizu M (1986) Studies on products of browning reactions: antioxidative activities of products of browning reaction prepared from glucosamine. *Jpn J Nutr*, 44, 307-318
 18. Lee JT, Jeong YS, An BJ (2002) Physiological activity of *Salicornia herbacea* and its application for cosmetic materials. *Kor J Herbology*, 17, 51-60
 19. Yusof S, Ghazali HM, King GS (1990) Naringin content in local citrus fruits. *Food Chem*, 37, 113-121
 20. Hermann K (1989) Occurrence and content of hydroxycinnamic and hydroxyl-benzoic acid compounds in foods. *Crit Rev Food Sci Nutr*, 28, 315-347
 21. Aoshima H, Tsunoue H, Koda H, Kiso Y (2004) Aging of whiskey increases 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl radical scavenging activity. *J Agric Food Chem*, 52, 5240-5244
 22. Kim HK, Kim YE, Do JR, Lee YC, Lee BY (1995) Antioxidative activity and physiological activity of some Korean medicinal plants. *Korean J Food Sci Technol*, 27, 80-85
 23. Kim MJ (2009) Polyphenol and phytat contents and their relationship to antioxidative activity in soybeans. *J East Asian Soc Dietary Life*, 19, 975-980
 24. Kim SH, Chung MJ, Jang HD, Ham SS (2010) Antioxidative activities of the *Codonopsis lanceolata* extract *in vitro* and *in vivo*. *J Korean Soc Food Sci Nutr*, 39, 193-202
 25. Woo JH, Shin SL, Jeong HS, Lee CH (2010) Influence of applied pressure and heat treatment on antioxidant activities of young leaves from *Achillea alpine* and *Solidago virgaurea* subsp. *Gigantea*. *Korean J Plant Res*, 23, 123-130
 26. Lee HR, Jung BR, Park JY, Hwang IW, Kim SK, Choi JU, Lee SH, Chung SK (2008) Antioxidant activity and total phenolic contents of grape juice products in the Korean market. *Korean J Food Preserv*, 15, 445-449
 27. Gordon MH (1990) The mechanism of antioxidant action *in vitro*. In *Food antioxidants*, Hudson BJE(Editor), Elsevier Applied Science, London, England, p 1-18
 28. Arabshahi-Delouee S, Urooj A (2007) Antioxidant properties of various solvent extracts of mulberry (*Morus indica* L) leaves. *Food Chem*, 102, 1233-1240
 29. Roberts EA, Sarma SN (1940) Tannins as hydrogen carriers in biological oxidation. *Biochem J*, 34, 1517-1523
 30. Kim JH, Park SM, Sim GS, Lee BC, Pyo HB (2004) Protection of UV-derived skin cell damage and anti-irritation effect of *Juniperus chinensis* xylem extract. *J Soc Cosmet Scientists Korea*, 30, 63-71
 31. Hong ES, Ahn GW, Jo BK (2008) The study on the potential anti-aging properties of *Prunella vulgaris* extract *in vitro* and *in vivo*. *J Soc Cosmet Scientists Korea*, 34, 129-135
 32. Choi HK, Oh MJ, Her MJ, Kyeong KH, Park CS (2009) Anti-aging and anti-melanogenesis efficacy by antioxidative mineral-bio water. *J Soc Cosmet Scientists Korea*, 35, 57-63
 33. Nagase H, Woessner JF (1999) Matrix metalloproteinases. *J Biol Chem*, 274, 21491-21494