

Anti-wrinkle Effect of Chestnut Leaf

Min Jung Jang^{1*}, Dong Ha Jun², Sea Hyun Kim³, Sang Ik Han⁴ and Jin Tae Lee²

¹DermaTech Korea Co, Ltd, Gyeongsan 712-210, Korea

²Department of Cosmeceutical Science, Daegu Haany University, Gyungsan 712-749, Korea

³Division of Special purpose Trees, Korea Forest Research Institute, Suwon 441-847, Korea

⁴Department of Functional Crop, National Institute of Crop Science, RDA, Miryang 627-803, Korea

Received February 5, 2013 / Revised March 20, 2013 / Accepted June 17, 2013

This research old age chestnut tree that loss function chestnut leaf renewal efficiency enlargement and development of cosmeceutical product by purpose. Chestnut leaf (CL) exhibits numerous pharmacological effect including anti-allergy and anti-microbial properties. However, the anti-wrinkle effect of CL is not completely understood. In this study, to find a possible explanation for the anti-wrinkle effects of CL, we evaluated the effects of CL on radical scavenging activity, elastase inhibition activity and collagenase inhibition activity. CL was extracted with various solvents including water (CLW), 70% ethanol (CLE) and 70% acetone (CLA). The results showed that CLW, CLE, and CLA have the radical scavenging activity. In addition, we showed that CLW, CLE, and CLA have the elastase inhibition activity and collagenase inhibition activity. Consequently, the CL has a potent anti-wrinkle effect and it could be a useful cosmeceutical product for anti-aging purposes.

Key words : *Castanea crenata*, old-aged chestnut, Cosmeceutical, anti-wrinkle

서 론

피부는 나이가 들어감에 따라 피부의 두께가 감소하고, 주름이 증가하며, 탄력이 감소하게 된다. 이는 내적으로 신진대사를 조절하는 각종 호르몬의 분비가 감소하고, 피부 세포들의 활성이 저하되어 피부 구성 단백질들의 생합성이 줄어들게 되어 나타나는 현상이다. 또한 강한 주름과 두꺼운 피부로 특징지어지는 광노화 피부는 자외선에 의해 증가되는 자유 라디칼 및 유해 활성 산소종에 의한다. 이런 노화가 진행될수록 피부를 구성하는 물질인 collagen, elastin, hyaluronic acid 등 구조 단백질을 생성하는 능력이 감소하고, 신호전달체계가 불완전해 지면서 피부조직을 분해하는 효소인 matrix metalloproteinase (MMPs)의 생합성이 증가하고 콜라겐의 생합성이 감소하여 주름이 생성되며 탄력이 감소하는 것으로 알려져 있다. 또한 누적된 산화적 스트레스는 이런 피부노화를 더욱 촉진한다[25, 26].

피부노화와 같은 미용과 건강에 관한 관심이 생활수준 향상으로 급증하는 가운데 기능성 화장품을 개발하려는 연구가 활발해지고 있으며, 기존의 주름개선 소재로 대표적으로 사용

되는 레티놀(비타민 A), a-hydroxy acid (AHA), 아데노신 등은 콜라겐의 합성을 증가시키고 표피 각화 과정을 정상화시켜 피부재생에 기여하는 물질로 많이 사용되고 있지만 빛과 열에 불안정하고 피부에 자극이 있는 것으로 알려져 있다. 이에 많은 연구자들이 천연물에서 주름개선 소재 및 항노화 소재를 개발하고자 하지만 천연물 중에서는 효능효과는 우수하나 원료의 대량획득이 어렵거나 혹은 생산단가가 높은 경우가 상당히 빈번하다.

우리나라의 대표적 단기소득임산물인 밤나무(*Castanea crenata*)는 주로 열매의 주성분인 전분만을 식용하고 있으며, 실용적으로는 밤나무 잎으로부터 차를 제조한 경우가 있었지만 대중적인 인기를 얻지 못하고 있다. 연구된 바에 의하면 밤나무잎의 항균 효과와 활성물질[6], 밤나무 잎으로부터 항산화 활성물질의 분리[10], 밤잎차 물추출물의 항산화 및 항미생물 효과[8], 밤나무 잎차의 항알레르기 효과[7] 등의 연구가 진행되고 있지만 그 범위는 그리 폭넓게 이루어지고 있지 않은 실정이다.

밤나무잎의 성분은 gallic acid, methyl gallate, catechin, epicatechin, epicatechin gallate, epigallocatechin, epigallocatechin gallate로 알려져 있다[9]. 밤나무는 모든 부위에 걸쳐 약리효과가 있는 것으로 한방에서는 알려져 있으며[21], 특히 밤나무 잎은 알레르기성 질환 및 천식에 치료효과가 있다고 알려져 있다[22, 28].

밤나무는 60년대 말부터 산림청에서 고소득 작목으로 적극 권장하면서 전국에 대대적으로 보급되기 시작하여 이후 생산비 절감 등을 통한 단기소득 수중에 대한 산림산업의 경쟁력

*Corresponding author

Tel : +82-070-7510-2369, Fax : +82-53-811-2385

E-mail : jjangmin7@nate.com

This is an Open-Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

상화 및 생산성 향상을 위한 각종 지원정책이 추진되고 있으나 재배자의 입업 경영 마인드나 생산성 및 효율성 측면 등에서 다소 미흡한 실정이다. 연구에 따르면 밤 재배농가의 연간 조수입은 ha당 2,103 천원의 조수입을 얻어 경영비로 66.4%를 지출하고 706천원의 농가소득을 올려 33.6%의 소득률을 나타내었다. 하지만 대대적으로 식재되었던 밤나무 재배단지가 급속히 노령화되면서 생산성이 크게 떨어지고 있기 때문에 노령목에 대해서는 대체수종 발굴 또는 노령목을 활용 산림의 경제적 가치를 증진하기 위한 고부가가치화가 필요하다[18].

본 연구에서는 밤나무 잎을 아세톤, 에탄올, 증류수를 용매로 사용하여 주름개선효과시험 및 항산화 효과시험을 통해 밤잎의 화장품원료로의 이용가치를 규명함으로써 산림자원을 이용한 고부가가치 소재 개발을 위한 기술 개발을 하고자 한다.

재료 및 방법

시료 제조

본 실험에 사용한 밤나무(*Castanea crenata*)잎은 전라도 장수군 일대 밤나무자생 야산에서 채취하여 실험재료로 사용하였다. 열수추출물의 경우 시료의 10배의 증류수를 첨가하여 85°C에서 3시간 환류냉각 추출하여 상등액과 침전물을 분리하여 3회 반복 추출하였으며, 에탄올추출물과 아세톤추출물의 경우 70% 에탄올 또는 아세톤을 시료 중량의 10배 양을 가하여 실온에서 24시간 침지하여 상정액과 침전물을 분리하여 동일한 방법으로 3회 반복 추출하였다. 각 추출물을 여과, 농축 및 동결건조 후 4°C 냉장실에 보관하여 본 실험의 시료로 사용하였다.

전자공여능 측정(Electron donating ability)

전자공여능은 Blois 방법[1]을 변형한 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) free radical 소거법으로 측정하였다. DPPH는 자신이 가지고 있는 홀수의 전자 때문에 517 nm에서 강한 흡수 스펙트럼을 보이나 페놀성 화합물과 같이 수소 전자를 제공해 주는 전자공여체와 반응하게 되면 전자를 제공하는 hydrogen radical을 받아 phenoxy radical을 생성하게 되며 흡수 band도 사라지게 되고 안정한 분자가 된다[2, 15]. 즉 농도별 시료액 0.1 ml와 99.9% ethanol에 용해 한 0.2 mM의 DPPH 0.05 ml를 넣고 교반한 후 암소에 30분 반응 후 517 nm에서 흡광도를 측정하였다. 대조군에 대한 흡광도 감소치를 DPPH 라디칼 소거활성으로 하여 항산화 활성도를 나타내었다. 이때 상대 활성의 비교를 위하여 양성대조군으로 BHA를 사용하였다.

ABTS radical cation 소거능 측정

ABTS radical을 이용한 항산화력 측정은 ABTS+• cation decolorization assay 방법[27]에 의하여 측정하였다. 7 mM

2,2-azino-bis (3-ethylbenzthiazoline- 6-sulfonic acid) diammonium salt (ABTS)와 2.4mM potassium persulfate를 혼합하여 실온인 암소에서 24시간 동안 방치하여 ABTS+•을 형성시킨 후 ethanol로 희석 하여 ABTS+• 0.1 ml에 시료0.1 ml를 가하여 1분 동안 방치한 후 732 nm에서 흡광도를 측정하였다.

Elastase 저해활성 측정

Elastase 저해활성 측정은 Cannell 등[3]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 (2.5 U/ml)용액 0.5 ml를 가한 후 50 mM Tris-HCl buffer (pH 8.6)에 녹인 기질 N-succinyl-(L-Ala)3-p-nitroanilide (0.5 mg/ml)을 첨가하여 20분간 반응시켜 기질로부터 생성되는 p-nitroanilide의 생성량을 405 nm에서 측정하였다. Elastase 저해 활성은 시료용액의 첨가구와 무첨가구의 흡광도 감소율로 나타내었다.

Collagenase 저해활성 측정

Collagenase 저해활성 측정은 Wünsch 등[33] 방법에 따라 측정하였다. 즉 반응구는 0.1M Tris-HCl buffer (pH 7.5)에 4 mM CaCl₂를 첨가하여, 4-phenylazobenzoyloxycarbonyl-Pro-Leu-Gly-Pro-D-Arg (0.3 mg/ml)를 녹인 기질액 0.25 ml 및 시료용액 0.1 ml의 혼합액에 collagenase (0.2 mg/ml) 0.15 ml를 첨가하여 실온에서 20분간 방치한 후 6% citric acid 0.5 ml를 넣어 반응을 정지시킨 후, ethyl acetate 1.5 ml를 첨가하여 320 nm에서 흡광도를 측정하였다. Collagenase 저해활성은 시료용액의 첨가구와 무첨가구의 흡광도 감소율로 나타내었다.

통계처리

실험 결과는 3회 반복 측정 후 평균 ± SD로 나타내었다. 통계분석은 SAS program (SAS Institute, Cary, NC, USA)을 이용하여 분산분석한 후 Duncan의 다중검정을 실시하였으며, 상관관계를 분석하였다.

결과 및 고찰

전자 공여능

안정한 free radical을 함유하는 DPPH분자는 항산화제의 radical 소거능을 평가하기 위해 일반적으로 많이 이용된다[1]. 생체내의 유해 활성 산소, 유리기 등은 생체막의 구성성분인 불포화 지방산을 공격하여 과산화물을 축적시키는데, 이로 인해 생체 기능의 저하 또는 노화를 유발시킨다[4, 16]. 이러한 원인물질의 생성을 억제하기 위하여 연쇄반응차단 항산화제로 산패의 기본 물질인 lipid radical과 반응하여 안정한 물질

로 전환시키거나 연쇄반응 개시 속도를 연장시킨다.

밤잎의 각 용매 추출물의 DPPH radical 소거능을 농도에 따라 측정한 결과는 Fig. 1에 나타낸 바와 같이 농도가 증가할수록 활성이 높게 나타났다. 대조군으로 사용한 BHA는 21.53~84.79%의 활성을 나타내었으며 열수 추출물의 경우 10 ug/ml의 농도에서 50%의 소거활성을 나타내었다. 아세톤 추출물의 경우 시료 농도에 따라 DPPH의 증가 정도가 컸으며, 10 ug/ml에서는 에탄올 추출물에 비해 더 높은 항산화 활성을 나타내었다. 3가지 용매 추출물은 5 ug/ml의 낮은 농도에서도 3가지 추출물은 20% 이상의 DPPH radical 소거능을 나타내었다.

ABTS cation radical 소거능 확인

ABTS cation radical 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 decolorization되는 것을 측정하는 방법으로 hydrogen donating antioxidant와 chain breaking antioxidant 모두를 측정 할 수 있다[31].

밤잎의 각 용매별 ABTS radical cation 소거활성을 수행한 결과 Fig. 2와 같이 나타내었다. 각 추출시료를 5, 10, 50 ug/ml 최종 농도가 되게 처리하였을 때 농도 의존적으로 ABTS radical cation 소거능이 증가함을 볼 수 있었다. 또한 이 결과에서도 DPPH radical 소거능과 마찬가지로 아세톤 추출물의 경우 시료 농도에 따라 ABTS radical cation 소거활성의 증가 정도

가 컸으며, 10 ug/ml에서 아세톤 추출물은 35.0%, 에탄올 추출물 26.6%, 열수 추출물 57.3%를 각각 나타내었으며, 대조군으로 사용한 BHA에서는 76.8%를 나타내었다. 50 ug/ml 농도에서는 열수 추출물이 96.2%의 소거능을 나타내었으며 BHA는 99.9%의 소거능을 나타내었다. 밤잎 추출시료가 혼합물임을 고려한다면 BHA 만큼 항산화력이 높은 화합물이 존재할 수 있는 가능성을 보여주었다.

Elastase 저해활성 측정

Elastase는 단백질인 엘라스틴을 분해하는 효소로 다른 중요한 기질 단백질인 콜라겐을 분해할 수 있는 비특이적 가수분해 효소이다. 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[25]. Elastase 저해제는 피부 주름을 개선하는 작용을 나타내고, ursolic acid 등이 elastase 저해제로 이용되고 있다[30]. 그리고 체내의 elastin을 분해하는 백혈구 과립 효소 중의 하나로 이상조직에서는 효소의 활성이 극히 높아 조직 파괴에 직접적인 원인이 되어 피부의 주름 및 탄력성 소실을 유발한다[12, 29]. 이러한 주름 생성과 관련된 elastase 저해 능을 측정할 결과 Fig. 3과 같이 나타내었다. 밤잎 아세톤 추출물에서는 elastase 저해능이 없었으며, 열수 추출물의 경우 100ug/ml에서 5%의 elastase 저해능을 나타내었으나, 에탄올 추출물은 10, 50, 100 ug/ml에서 각각 20.0%, 58.0%, 64.6%로 대조군으로 사용한 ursolic acid와 유사한 elastase 저해능을 나타내어

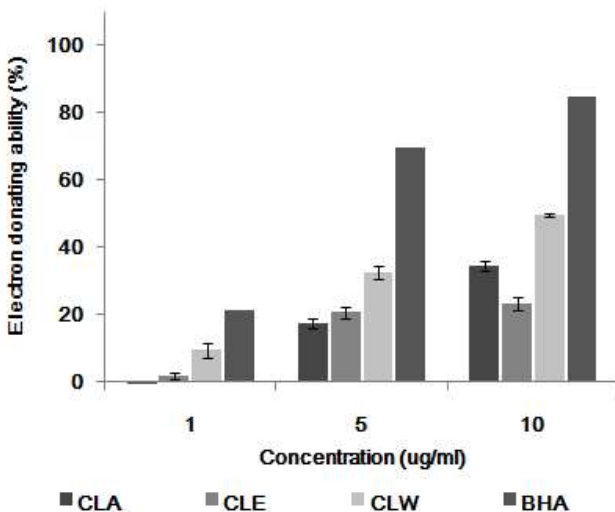


Fig. 1. Electron donating ability of *Castanea crenata* leaf extracts. CLA: *Castanea crenata* leaf extracted with acetone. CLE: *Castanea crenata* leaf extracted with ethanol. CLW: *Castanea crenata* leaf extracted with water. BHA: Butylated hydroxyanisole. Results are means±S.D. of triplicate data.

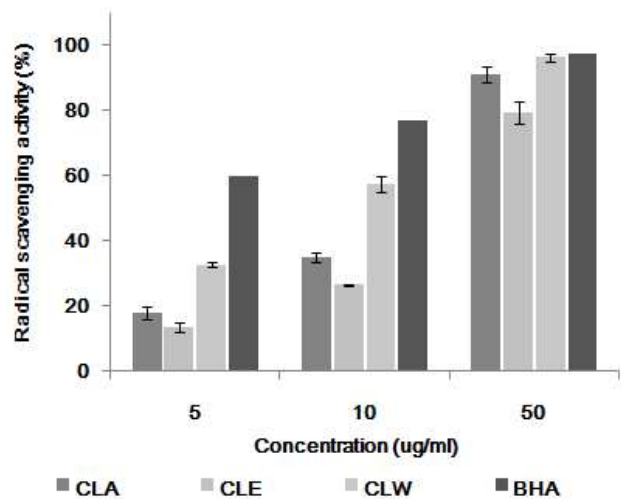


Fig. 2. ABTS radical scavenging activity of *Castanea crenata* leaf extracts. CLA: *Castanea crenata* leaf extracted with acetone. CLE: *Castanea crenata* leaf extracted with ethanol. CLW: *Castanea crenata* leaf extracted with water. BHA: Butylated hydroxyanisole. Results are means±S.D. of triplicate data.

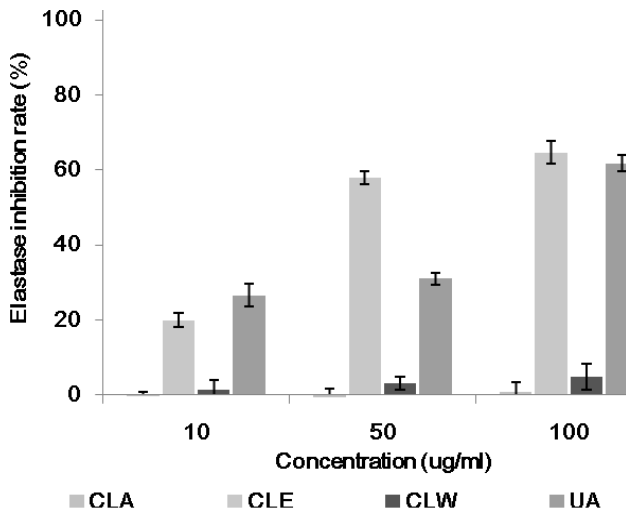


Fig. 3. Inhibition rate of *Castanea crenata* leaf extracts on elastase. CLA: *Castanea crenata* leaf extracted with acetone. CLE: *Castanea crenata* leaf extracted with ethanol. CLW: *Castanea crenata* leaf extracted with water. UA: ursolic acid. Results are means±S.D. of triplicate data.

우수한 elastase 저해활성을 나타내었다. 이는 Kwak 등[20]은 각종 약용식물로부터 elastase저해활성을 측정 한 결과, 대부분이 1,000 ug/ml 농도에서 30.0% 미만의 저해활성을, Kim 등 [17]은 홍화씨 추출물에서 500 ug/ml의 농도에서 31.7%의 저해율을 나타낸다고 보고한 것과 비교 시, 밤잎 에탄올 추출물의 elastase 저해활성이 우수함을 확인할 수 있었다. 따라서 밤잎 추출물은 외용화장품에 적용함으로써 피부의 엘라스틴 분해를 억제하여 진피 내 피부탄력을 유지하는 역할을 수행함으로써 피부탄력을 유지할 수 있어, 피부탄력유지 화장품 소재로서 개발이 가능할 것으로 판단하였다.

Collagenase 저해활성 측정

콜라겐은 대부분 피부의 진피층에 존재하며, 피부 전체 건조중량의 약 70~80%를 차지하고 있어, 세포외 기질의 대부분을 차지하면서 피부를 지지하는 역할을 한다. 그러나 자연 노화에 따른 세포 활성의 감소와 같은 내적 요인에 의해 콜라겐의 생합성이 감소되고, 여러 가지 유해 환경에 의한 스트레스의 증가 및 태양 광선에 의한 활성 산소종의 증가와 같은 외적 요인에 의해 분해가 가속화되어 피부 기질이 파괴되면서 주름이 생성된다[19]. 이러한 collagen은 연령 및 자외선 조사에 의한 광노화에 의해 감소하며, 이는 피부의 주름 형성과 밀접한 연관이 있다고 알려져 있다[13, 14, 32]. 또한 collagen은 트립신 등의 단백질 분해효소의 작용을 받지 않으나, collagenase에 의해 분해된다는 보고가 있어[11, 15] 밤잎 추출물의 collagenase 저해 활성을 Fig. 4와 같이 측정하였다.

밤잎의 각 용매별 1, 50, 100 ug/ml의 농도로 collagenase 저해활성을 측정한 결과 3가지 추출물은 100 ug/ml에서 열수

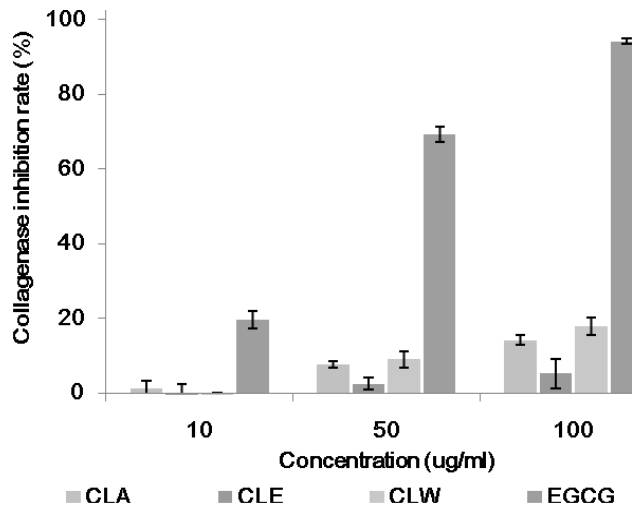


Fig. 4. Inhibition rate of *Castanea crenata* leaf extracts on collagenase. CLA: *Castanea crenata* leaf extracted with acetone. CLE: *Castanea crenata* leaf extracted with ethanol. CLW: *Castanea crenata* leaf extracted with water. EGCG: epigallocatechin-3-gallate. Results are means±S.D. of triplicate data.

추출물 18.0%, 아세톤 추출물 14.3%, 에탄올 추출물 5.3%의 순으로 collagenase 저해활성을 나타내었다. 이는 Cho 등[5]의 지골피 및 빈랑자 에탄올 추출물의 collagenase 저해활성 측정 결과 1,250 ug/ml에서 각각 10%, 30%의 저해율을 나타낸다고 보고한 것과 비교시 밤잎 추출물의 elastase 저해활성이 우수함을 확인할 수 있었다. 이러한 결과로 밤잎 추출물이 collagenase 활성을 저해함으로써 collagen의 분해를 막아 피부의 주름을 개선할 것으로 판단되며, 기능성 화장품 소재로서 이용 가능성이 높을 것으로 사료된다.

감사의 글

본 연구는 중소기업청에서 지원하는 2012년도 산학연협력 기업부설연구소 지원사업(No. C0019259), 산림청에서 지원하는 2012년도 임업기술연구개발사업(No.S121012L060100), 농촌진흥청 공동연구사업(과제번호:SA00004524)의 연구수행으로 인한 결과물임을 밝힙니다.

References

1. Blois, M. S. 1958. Antioxidant determination by the use of a stable free radical. *Nature* **26**, 1199-1204.
2. Brand-Wiliams, W., Cuvelier, M. E and Berset, C. 1995. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *Technology* **28**, 25-30.
3. Cannell, R. J., Kellam, S. J., Owsianka, A. M. and Walker, J. M. 1987. Results of a large scale screen of microalgae for the production of protease inhibitors. *Planta Med* **54**, 4-10.

4. Chance, B., Sies, H. and Boveris, A. 1979. Hydroperoxide metabolism in mammalian organs. *Physiol Res* **59**, 527-605.
5. Cho, E. A., Cho, E. H., Choi, S. J., Park, K. H., Kim, S. Y., Jeong, Y. J., Ku, C. S., Ha, B. J., Jang, D. I. and Chae, H. J. 2011. Screening of anti-wrinkle resource from herbal medicinal extracts and stability test of its cosmetic products. *Korean J Medicinal Crop Sci* **19**, 126-135.
6. Choi, O. B. 2005. Active compounds and antimicrobial effects from castanea crenata leaf. *Korean J Food Nutr* **18**, 367-372.
7. Choi, Y. H., Kim, J. H., Kim, M. J., Han, S. S. and Rim, Y. S. 2000. Antioxidative compounds in leaves of castanea crenata s. et z. *Korean J Med Crop Sci* **8**, 373-377.
8. Choi, O. B., Kim, K. M., Yo, G. S. o and Park, K. H. 1998. Anti-allergic effects of castanea crenata leaf tea. *Korean J Food Sci Technol* **30**, 468-471.
9. Choi, S. W. and Kim, H. J. 1998. Inhibition of tyrosinase activity by polyphenols of chestnut leaf. *HSJAS* **6**, 321-327.
10. Choi, O. B., Yoo, G. S. and Park, K. H. 1999. Antioxidative and antimicrobial effects of water extracts with castanea crenata leaf tea. *Korean J Food Sci Technol* **31**, 1128-1131.
11. Demina, N. S. and Lysenko, S. V. 1996. Collagenolytic enzymes synthesized by microorganisms. *Mikrobiologija* **65**, 293-304.
12. DeWitt, D. L., Rollins, T. E., Day, J. S., Gauger, J. A. and Smith, W. L. 1981. Orientation of the active site, and antigenic determinants of prostaglandin endoperoxide synthase in the endoplasmic reticulum. *J Bio Chem* **256**, 10375-10382.
13. El-Domyati, M., Attia, S., Saleh, F., Brown, D., Birk, D. E., Gasparro, Ahmad, F., H. and Uitto, J. 2002. Intrinsic aging vs. photoaging: a comparative histopathological, immunohistochemical, and ultrastructural study of skin. *Exp Dermatol* **11**, 398-405.
14. Giacomoni, P. U. and Rein, G. 2001. Factors of skin ageing share common mechanisms. *Biogerontology* **2**, 219-229.
15. Grant, N. H. and Album, H. E. 1959. Studies on the collagenases of *Clostridium histolyticum*. *Arch Biochem Biophys* **82**, 245-255.
16. Jayat, C. and Ratinaun, M. H. 1993. Cell cycle analysis by flow cytometry: principles and applications. *Biol Cell* **78**, 15-25.
17. Kwak, Y. J., Lee, D. H., Kim, N. M. and Lee, J. S. 2005. Screening and extraction condition of anti-skin aging elastase inhibitor from medicinal plants. *Korean J Med Crop Sci* **13**, 213-216.
18. Kim, J. S. and Lee, U. 2009. Survey of costs for chestnut production in main cultivation oregon. *J Korean For Soc* **98**, 504-511.
19. Kim, S. N., Lee, S. H., Lee, B. K. and Jang, I. S. 2002. A compositions containing *Anthriscus sylvestris* Hoffmann extract or *Petroselinum sativum* Miller extract for external application having effects of improving skin wrinkle. *Korea Patent* 10-2002-0079594.
20. Kim, M. J., Kim, J. Y., Choi, S. W., Hong, J. T. and Yoon, K. S. 2004. Anti-wrinkle effect of safflower (*Cathamus tinctorius*) seed extract. *J Soc Cosmet Sci Korean* **30**, 15-22.
21. Kwan, S. B. 1990. In *atlas of pharmacognogy encyclophedia (plants)*, pp. 806-808, Yonglim Press, Seoul.
22. Lee, T. B. 1994. In *illustrated flora of Korea*, pp. 274, Hyangmiin Press, Seoul.
23. Lee, S. Y., An, J. H. and Cho, H. Y. 2003. Isolation and characterization of MMP-1 inhibitor Peptide from *Crataegus pinnatifida* bunge in fibroblast cell line HS68cells. *J Korean Soc Agric Chem Biotechnol* **46**, 60-65.
24. Lee, S. Y., Hwang, E. J., Kim, G. H., Choi, Y. B., Lim, C. Y. and Kim, S. M. 2005. Antifungal and antioxidant activities of extracts from leaves and flowers of *Camellia japonica* L. *Korea J Med Crop Sci* **13**, 93-100.
25. Mauviel, A., Halcin, C., Vasiloudes, P., Parks, W. C., Kurkinen, M. and Uitto, J. 1994. Uncoordinate regulation of collagenase, stromelysin, and tissue inhibitor of metalloproteinase genes by prostaglandin E2: selective enhancement of collagenase gene expression in human dermal fibroblasts in culture. *J Cell Biochem* **54**, 465-472.
26. Pentland, A. P., Shapiro, S. D. and Welgus, H. G. 1995. Agonist-induced expression of tissue inhibitor of metalloproteinase and metalloproteinase by human macrophages is regulated by endogenous prostaglandin E2 synthesis. *J Invest Dermatol* **104**, 52-57.
27. Roberta, R., Nicoletta, P., Anna, P., Ananth, P., Min, Y. and Catherine, R. E. 1999. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biol Med* **26**, 1231-1237.
28. Roberto, C. 1984. In *the macdonald encyclopedia of medical plants*, pp. 72, Macdonald press. Britain.
29. Roth, G. J., Siok, C. J. and Ozols, J. 1980. Structural characteristics of prostaglandin synthetase from sheep vesicular gland. *J Biol Chem* **255**, 1301-1304.
30. Tsuji, N., Moriwaki, S., Suzuki, Y., Takema, Y. and Imokawa, G. 2001. The role of elastases secreted by fibroblasts in wrinkle formation: implication through selective inhibition of elastase activity. *Photochem Photobiol* **74**, 283-290.
31. Wang, M. F., Shao, Y., Li, J. G. and Zhu, N. Q. 1999. Antioxidative phenolic glycosides from sage (*Salvia officinalis*). *J Nat Prod* **62**, 454-456.
32. Wlaschek, M., Tanchcheva-Poor, I., Naderi, L., Ma, W., Schneider, L. A., Razi-Wolf, Z., Schuller, J. and Scharffetter-Kochanek, K. 2001. Solar UV irradiation and dermal photoaging. *J Photochem Photobiol B* **63**, 41-51.
33. Wünsch, E. and Heindrich, H. G. 1963. Zur quantitativen Bestimmung der Kollagenase. *Biol Chem* **333**, 149-151.

초록 : 밤나무잎의 항주름 효과장민정^{1*} · 전동하² · 김세현³ · 한상익⁴ · 이진태²(¹더마텍코리아(주), ²대구한의대학교 화장품약리학과, ³국립산림과학원, ⁴농촌진흥청)

본 연구는 노령목의 산림의 경제적 가치를 증진하고자 밤나무 잎에 함유된 물질의 기능성화장품 원료로의 기능을 규명하여 화장품 산업에 적용하기 위하여 천연소재로써의 이용 가능성을 살펴보았다. 항산화능 측정을 위한 실험으로 DPPH radical 소거능과 ABTS cation radical 소거능을 실시하였으며, 양성 대조군으로는 항산화 작용이 있는 것으로 알려진 BHA를 이용하여 밤잎 추출물의 항산화 효과를 비교하였다. 그 결과 아세톤 추출물의 경우 시료 농도에 따라 DPPH radical 및 ABTS radical 소거 증가 정도가 컸으며, 열수 추출물은 10 ug/ml의 농도에서 50% 이상의 소거활성을 나타내었다. 이러한 결과로 미루어 볼 때 밤잎 추출물은 항산화 작용이 높고 피부에서 흔히 일어나는 활성산소에 대한 노화 방지에 도움이 될 것으로 사료된다. 주름개선 효과 측정으로 elastase 저해활성을 측정한 결과 아세톤과 열수 추출물에서는 그 효과가 없었으나 에탄올 추출물 100 ug/ml에서 64.6%의 우수한 elastase 저해활성을 나타내었으며, collagenase 저해활성을 측정한 결과 3가지 추출물은 100 ug/ml에서 열수 추출물 18.0%, 아세톤 추출물 14.3%, 에탄올 추출물 5.3%의 순으로 collagenase 저해활성능을 나타내었으며, 다른 천연물질을 이용한 연구결과와 비교 시 밤잎 추출물은 주름개선에 우수함을 확인 할 수 있었다. 주름개선 원료로의 이용가치가 있을 것으로 보인다. 이상의 연구 결과로 보아 밤잎은 항산화 및 항노화 효소 활성을 갖는 천연소재로서 주름개선 소재로 활용 될 수 있을 것으로 사료되며, 임상 효능 평가 등의 지속적인 연구를 통해 기능성 화장품 소재로 개발된 가능성이 매우 높다고 사료된다.