

회화나무 꽃, 열매, 가지 추출물의 피부개선 효과에 관한 연구

송 행 선 · 장 혜 인[†]

세명대학교 한방화장품과학과
(2016년 9월 16일 접수, 2016년 10월 28일 수정, 2016년 11월 10일 채택)

Study on the Effects of the Extracts from *Sophora Japonica* L. Flowers, Fruits and Branches on Improvements in Skin Condition

Hang Sun Song and Hye In Jang[†]

Department of Oriental Medical and Herbal Cosmetic Sciences, Semyung University, 65 Semyeong-ro,
Jecheon-si, Chungcheongbuk-do 27136, Korea

(Received September 16, 2016; Revised October 28, 2016; Accepted November 10, 2016)

요약: 본 연구에서는 *Sophora japonica* L. (*S. japonica*)학명의 콩과 식물 낙엽교목인 회화나무의 꽃, 열매, 가지 에탄올 추출물의 총 폴리페놀 함량 및 1,1-diphenyl-2-picryl-hydrazyl (DPPH) 라디칼 소거능 측정, 티로시나제 활성 저해력 측정 및 porcine pancreatic elastase (PPE) 저해력 측정을 통하여 기능성 화장품 소재로서의 활용 가능성을 확인하였다. 그 결과 총 폴리페놀 함량은 평균 각각 261.37 mg/g, 187.49 mg/g, 81.26 mg/g이며, DPPH 라디칼 소거능을 조사한 결과 50 ~ 1,000 mg/L 농도에서 회화나무 꽃 추출물은 $17.68 \pm 1.59 \sim 51.40 \pm 1.04\%$, 열매 추출물은 $27.48 \pm 0.22 \sim 50.89 \pm 0.13\%$, 가지 추출물은 $30.79 \pm 0.55 \sim 45.17 \pm 0.83\%$ 범위의 소거 활성을 나타내었다. 또한 같은 농도에서 티로시나제 저해능과 PPE 저해능을 실험한 결과 회화나무 꽃 추출물은 $0.27 \pm 0.12 \sim 11.38 \pm 0.57\%$, $3.70 \pm 1.23 \sim 7.28 \pm 1.01\%$ 열매 추출물은 $0.27 \pm 0.02 \sim 0.82 \pm 0.27\%$, $3.06 \pm 2.13 \sim 13.03 \pm 2.99\%$, 가지 추출물은 $0.09 \pm 0.16 \sim 0.55 \pm 0.27\%$, $6.00 \pm 0.96 \sim 9.71 \pm 0.44\%$ 범위로 티로시나제 저해능은 꽃 추출물이 높게 나타났다. 본 연구에서 회화나무의 피부개선에 미치는 효능, 효과를 살펴본 결과 꽃, 열매, 가지 추출물이 각 부위별로 효과가 상이하게 나타남을 알 수 있었다.

Abstract: The purpose of this research was to examine the effect of the ethanol extracts of *Sophora japonica* L. (*S. japonica*) flowers, fruits and branches on skin enhancement with assessing anti-oxidative, whitening, and wrinkle enhancement effects. Results showed that 1,1-diphenyl-2-picryl-hydrazyl (DPPH) radical scavenging activities were $17.68 \pm 1.59 \sim 51.40 \pm 1.04$, $27.48 \pm 0.22 \sim 50.89 \pm 0.13$ and $30.79 \pm 0.55 \sim 45.17 \pm 0.83\%$, respectively, in 50 ~ 1,000 mg/L of concentrations. The capacities of inhibiting tyrosinase of ethanol extracts from *S. japonica* flowers, fruits and branches were $0.27 \pm 0.12 \sim 11.38 \pm 0.57$, $0.27 \pm 0.02 \sim 0.82 \pm 0.27$ and $0.09 \pm 0.16 \sim 0.55 \pm 0.27\%$, respectively. The capacities of preventing porcine pancreatic elastase (PPE) were $3.70 \pm 1.23 \sim 7.28 \pm 1.01$, $3.06 \pm 2.13 \sim 13.03 \pm 2.99$ and $6.00 \pm 0.96 \sim 9.71 \pm 0.44\%$, respectively, in the case of 50 ~ 1,000 mg/L of concentrations. It is concluded that the effects of *S. japonica* flowers, fruits and branches on skin improvement are varied significantly.

Keywords: japonica L., japonica L. flowers, japonica L. fruits, japonica L. branches, skin improvement

[†] 주 저자 (e-mail: inijjang7@naver.com)
call: 043)649-1617

1. 서 론

최근 의학의 발달로 수명이 길어지면서 웰빙 생활에 관심이 높아지고 내적 건강관리와 함께 외적으로 젊음과 아름다움을 유지하기 위해 여성 뿐 아니라 남성들까지 피부 관리에 많은 시간과 비용을 투자하고 있다. 이에 따라 최근 노화 방지와 질병으로부터의 예방에 탁월한 건강 보조 식품들이 물밀 듯이 출시되고 있으며 화장품들 또한 단순한 미용 개념을 넘어서 항산화, 자외선 차단, 미백, 보습, 주름개선과 같은 기능성 화장품에 대한 소재 개발 연구가 활발히 진행되고 있다. 이러한 기능성 화장품의 개발에 대한 요구는 생명공학 등을 이용한 기술 발전과 함께 한방약재와 천연물 원료를 이용한 한방 화장품의 관심을 증가시키고 있는데, 한방 화장품은 화학 성분의 화장품에 비해 인체와 피부에 미치는 해가 적은 것이 큰 장점이다[1].

과거 미백기능과 관련한 연구는 아스코르빈산 유도체, 알부틴류와 기타 다른 합성 미백제 등과 같은 자외선 흡수제의 합성에 대한 연구가 주를 이루었으나 최근 들어서는 전 세계적으로 바이올로지 기술을 이용하여 천연 추출물로부터 추출한 미백 및 주름개선의 기능성 성분에 대한 연구가 진행되고 있으며, 천연추출물을 이용한 항산화 및 주름개선 화장품은 한국 및 아시아 화장품 시장에서 매우 비중 있는 제품으로서 제형보다 효능중심에 의한 차별화 시도가 뚜렷하여 안정성이 우수하고 효과가 뛰어난 천연물 유래 소재 개발이 절실히 요구되고 있다. 천연에서 유래한 기능성 화장품의 원료는 천연물이나 약용 식물, 허브를 중심으로 많이 개발되고 있으며, 피부노화 억제와 관련된 부작용 없는 천연 항산화 물질에 대한 연구들이 활발히 진행되고 있다[2,3].

이런 천연소재가 피부개선에 도움을 준다는 많은 연구들이 보고되고 있다. 천연물질인 식물성 오일과 종자류 약재 등의 한방 약재에서 콜라겐과 엘라스틴을 분해하는 콜라게나아제 및 엘라스타제의 활성억제 효과와 항산화 효과가 있는 물질 등에 관한 보고들이 있다[4-7]. 회화나무는 *S. japonica*이라는 학명을 지닌 나무이고, 꽃과 열매가 한약재로 쓰이고 있으며, 콩과 식물에 속하는 낙엽교목으로 높이는 25 m에 이르며 한국과 중국, 일본 등지에 널리 분포한다. 회화나무는 민간 및 한방에서 항염, 지혈, 고혈압, 치질, 습진 치료에 탁

월한 효능을 지닌 나무로 잘 알려져 있다[8]. 또한 회화나무는 예로부터 장기간 복용 시 눈이 밝아지고, 수염과 머리카락이 희어지지 않고 장수한다고 할 만큼 훌륭한 약성을 지닌 나무로 알려져 있다[9].

회화나무는 콩과식물에 속하며, 20종 콩과식물에 대한 선행연구 결과를 보면 콩잎에서 분리한 플라보노이드 화합물인 apigenin은 L-ascorbic acid 보다 항산화 작용 및 티로시나제 저해 효과가 높다고 보고되고 있다[10]. 목화, 산딸나무, 싸리나무 등 부위별 실험한 선행논문의 결과[11-13] 추출방법이나 부위에 따라 각기 다른 결과를 나타내었고, 플라보노이드류가 다량 함유되어 있어 항산화능이 우수하다고 알려져 있는 회화나무[14,15]에 대하여도 각기 부위에 따라 결과가 다를 것으로 사료된다. 따라서 회화나무의 꽃, 열매, 가지 추출물에 대한 항산화 활성을 비교해보고 티로시나아제 활성 저해력, porcine pancreatic elastase (PPE) 저해력 시험을 통해 기능성 화장품으로서의 가능성을 확인하기 위하여 미백, 주름개선 등의 피부개선에 미치는 효과를 알아보려고 하였다.

2. 재료 및 방법

2.1. 재료 및 시약

2.1.1. 기기

폴리페놀 정량을 확인하기 위해 사용된 실험 기기는 UV/vis spectrophotometer (Optizen 2120 UV, Mecasys, Korea), water bath, timer (SVAS 003, Seiko Co., Japan) 등이었다. 항산화 생리활성도를 알아보기 위한 실험에 사용된 실험기기는 37 °C incubator (vs-1203p1-L, Vision Science, Korea), water bath, microplate reader (Molecular device, Spectramax, USA), timer를 이용하였으며 티로시나아제 저해력 실험기기는 test tubes, micro-pipette and tip, water bath (37 °C) or incubator, spectrophotometer (Amersham Pharmacia Biotech Co., USA) or microplate reader, timer를 이용하였다. 또 PPE 저해력 실험기기는 water bath, spectrophotometer를 이용하여 실험하였다.

2.1.2. 재료 및 시약

폴리페놀 정량 확인을 위한 실험재료로 700 mM so-

dium carbonate (S7795, Sigma, USA) solution in water, gallic acid solutions in 95% 메탄올(48630, Sigma, USA), Folin-Ciocalteu reagent (F9252, Sigma, USA), 96-well plate, 라디칼 소거능(항산화능) 측정을 위한 실험 재료로는 1,1-diphenyl-2-picryl-hydrazyl (DPPH, Sigma, USA) 와 메탄올(purity: > 99%), 에탄올(purity: > 99%), dimethyl sulfoxide (DMSO, Sigma, USA), 증류수, 96-well plate, micropipette, tip을 사용하였다.

또한 미백 능력을 평가하기 위한 티로시나아제 효소에 대한 저해력 측정은 냉동 보관되어있는 mushroom tyrosinase (Sigma, USA), 0.1 M potassium phosphate buffer (pH 6.8), 3 mM L-tyrosine solution을 사용했다.

피부노화 방지 측면의 *in vitro* 측정의 한 방법으로 엘라스틴을 분해하는 효소인 PPE 저해력 실험을 위해 buffer: 0.2 M Tris-HCl buffer (pH 8.0), 기질(substrates) 로써 0.5 mM N-succ-(Ala)₃-p-nitro-a-nilide (Sigma, USA), porcine pancreatic elastase: 3.5 unit/mL in 0.2 M Tris-HCl buffer (pH 8.0)를 사용하였으며, inhibitor는 여러 농도에서 DMSO나 Tris-buffer에 녹여 사용하였다.

2.1.3. 시료 및 추출법

본 실험에 사용한 회화나무의 꽃인 괴화과 열매인 괴각은 중국 수입산으로 대창생약(Korea)에서 구입하여 사용하였고, 가지인 괴지는 역시 중국산으로 덕현당(Korea)에서 구입하여 사용하였다.

믹서로 분쇄한 건조 회화나무 꽃과 열매, 가지를 각각 20 g에 75% 에탄올 200 mL를 가한 다음 냉각기를 부착시켜 3 h 동안 3회 환류 추출하였고, 여과지(Whatman No.2)로 여과 후 여과액을 회전식 진공 증발기로 감압 후 농축기(Eyela Co. Japan)를 사용하여 농축한 다음 동결건조기(FD5508, IIShinBioBase, Korea)로 동결건조 후 냉동 보관하며 DMSO에 녹여 본 연구의 시료로 사용하였다.

2.2. 총 폴리페놀 함량 측정

총 폴리페놀 함량은 Folin-Denis방법[16]을 변형하여 실험하였다. 75% 에탄올 추출물 각 시료를 농도별로 정제수에 희석하여 준비하고, 정제수에 각 시료 74.2 µg/mL 희석하여 700 mM sodium carbonate (Na₂CO₃) solution을 만들었다. × 1,000 농도로 DMSO에 녹인 뒤 정제수로 희석한 후 sample 또는 gallic acid 100 µL와

10% Folin-Ciocalteu's phenol reagent 200 µL를 microtube에 혼합 후 원심분리하였다. 다음으로 5 min 정도 경과 후 microtube에 700 mM Na₂CO₃ 700 µL를 혼합 후 상온에서 1 h 동안 반응시킨 후 96-well plate 에 200 µL씩 분주하여 gallic acid를 이용한 표준곡선의 최종농도가 50, 100, 250, 500, 1,000 mg/L이 되도록 작성하여 microplate reader로 765 nm 파장에서 흡광도를 측정하여 작성하였다. 결과는 추출물 1 g 내 포함된 폴리페놀 mg을 gallic acid equivalent (GAE) mg/g으로 표시 하였다.

2.3. DPPH법에 의한 항산화능 시험

DPPH에 의한 라디칼 소거능 측정은 메탄올에 용해되면서 비교적 안정된 청남색 DPPH의 라디칼을 소거시키면 옅은 노란색으로 변하게 되며 Fujita[17] 등의 방법을 변형하여 측정하였고, 용매는 증류수, 메탄올, 에탄올, DMSO 순으로 사용하였으며, 추출물을 녹이는 용매는 DMSO를 사용하였다. DPPH 용액은 0.1 mM 농도로 메탄올(4 mg / 100 mL)에 녹였고 잘 녹지 않아 10 min 정도 교반시킨 후 호일에 싸 두었다가 실험 직전에 제조하여 사용하였다. 각 시료를 농도별 조제한 후 각 시료 90 µL에 0.1 mM DPPH 용액을 90 µL가한 후 96-well plate를 37 °C incubator에 30 min 방치한 다음 microplate reader로 516 nm에서 흡광도를 측정하였다. 시료는 농도별로 조제하였으며, 각 시료의 농도는 50, 100, 250, 500, 1,000 µg/mL이 되도록 5가지 농도로 조제하였다. 각각 96-well plate에 시료를 시험군 3개 대조군 1개를 90 µL씩 넣고, 용매만 넣는 standard와 DPPH 대신 메탄올만 넣는 blank도 같이 실험하여 보정하였고, 효력은 DPPH 소거능이 50% 되는데 필요한 시료의 농도를 IC₅₀으로 나타내었다. 양성 대조군으로는 ascorbic acid를 위와 같은 방법으로 5가지 농도로 조제하여 측정하였다. 시료의 DPPH 소거능은 아래와 같이 계산하였다.

DPPH free radical scavenging (%) =

$$\left(1 - \frac{A_{\text{experiment}}}{A_{\text{control}}}\right) \times 100$$

2.4. 티로시나아제 저해력 실험

멜라닌 합성에 관여하는 티로시나아제 효소에 대한 저해력을 측정하여, 미백 능력을 평가하기 위한 시험

은 Tomita K[18] 등의 방법에 의하여 측정하였다. L-dopa 산화 효소의 활성 측정은 L-dopa를 기질로 하여 티로시나아제에 의하여 생성되는 반응산물인 L-dopa가 475 nm에서 흡광도를 나타내는 점을 이용하여 효소 저해 정도를 평가하였다. 양성 대조군으로는 kojic acid를 사용하였다.

시료는 가능한 증류수에 녹이고 녹지 않을 경우 에탄올과 DMSO에 녹였으며 에탄올 사용 시는 전체 에탄올 농도 2 ~ 3% 이내가 되도록 녹이고, DMSO 사용 시는 전체 DMSO 농도 1% 이하가 되도록 녹였다. 0.1 m potassium phosphate buffer (PH 6.8) 120 μ L에 3 mM L-tyrosine을 녹인 기질액 10 μ L와 DMSO와 증류수에 희석하여 농도별 준비한 후 시료를 15 μ L씩 혼합하여 만든 혼합액에 mushroom tyrosinase 2000 unit/mL가 되도록 0.1 m potassium phosphate buffer (pH 6.8)에 녹여 5 μ L를 첨가하여 전체 150 μ L가 되게 해서 잘 저어 준 다음 96-well plate에 분주하고 37 $^{\circ}$ C에서 10 min 반응시킨 후 475 nm 파장에서 흡광도를 측정하였다.

양성 대조군으로는 티로시나아제 활성 억제제로 알려진 kojic acid를 냉동보관 하였다가 증류수에 녹여서 사용하였다. 단계적으로 농도를 희석하여 첨가하였으며, 시료용액의 첨가군과 무첨가군의 흡광도 감소율로 나타내었다. 이들 활성 평가는 대조군을 기준으로 티로시나아제 저해력이 50% 감소하는 것을 IC₅₀로 나타내었다. 이때 티로시나아제 활성 저해율(%)은 다음의 공식을 사용하여 시료 첨가군과 무첨가군의 흡광도차를 백분율(%)로 표시하였다.

Tyrosinase inhibition rate (%) =

$$\left(1 - \frac{A_{\text{experiment}}}{A_{\text{control}}}\right) \times 100$$

2.5. Porcine Pancreatic Elastase (PPE) 저해력 시험

PPE 저해력 시험은 피부 노화 방지 측면의 *in vitro* 측정 방법으로 피부 탄력 유지에 중요한 역할을 하는 elastin을 분해하는 효소인 엘라스타제 저해력 시험이다. PPE 저해활성 측정은 Facino[19] 등의 방법에 의하여 진행하였다. 실험 방법은 PPE (3.5 unit/mL in 0.2 M Tris-HCl buffer, PH 8.0)와 DMSO나 0.2 m Tris-HCl buffer (pH 8.0)에 녹인 inhibitor를 test tube에 넣고 15 min 37 $^{\circ}$ C preincubate하고 15 min 후 기질로서 0.5 mM

Table 1. Total Polyphenol Contents of Each Fraction (GAE mg/g)

	S	SF	SB
1 st	255.88	184.74	81.26
2 rd	258.97	186.80	81.78
3 nd	269.28	190.93	81.26
Avg	261.38 \pm 7.02	187.49 \pm 3.15	81.43 \pm 0.30

values are expressed as mean \pm S.E.,

S: *S. japonica* flowers, SF: *S. japonica* fruits, SB: *S. japonica* branches

N-succinyl-(L-Ala)-p-nitroanilide (Sigma, USA)을 사용하여 37 $^{\circ}$ C에서 20 min 반응시켰다.

각 sample test tube마다 1 min 간격으로 반응시켰으며, 20 min 후 기질로부터 생성되는 p-nitroanilide의 생성량을 spectrophotometer로 400 nm에서 측정하였다. 엘라스타제 저해 활성은 다음의 공식을 사용하여 시료 첨가군과 무첨가군의 흡광도차를 백분율(%)로 표시하였다.

PPE inhibition rate (%) =

$$\left(1 - \frac{A_{\text{experiment}}}{A_{\text{control}}}\right) \times 100$$

2.6. 자료 분석

본 연구에서 측정된 모든 자료 분석은 SPSS PC for windows (version 17.0)의 상위 통계 프로그램을 이용하여 각 항목별 측정치를 기술통계량(mean \pm standard error)으로 나타내었다.

3. 결과 및 고찰

3.1. 회화나무 꽃, 열매, 가지 추출물의 총 폴리페놀 함량

회화나무 꽃, 열매, 가지 추출물에 함유된 총 폴리페놀 함량은 3차시기에 거쳐 실험한 후 나온 값의 평균 값을 계산하여 추출물 1 g 내 포함된 폴리페놀 mg을 GAE mg/g 으로 표시하였다(Table 1). 회화나무 꽃, 열매, 가지 추출물의 총 폴리페놀 함량은 꽃 추출물에서 가장 많은 폴리페놀 함량을 나타내었고, 다음으로 열매, 가지 추출물 순이었다. 꽃 추출물이 평균 261.38 \pm 7.02 mg/g, 열매 추출물이 187.49 \pm 3.15 mg/g, 가지 추

Table 2. DPPH Free Radical Scavenging Activity of *S. Japonica*. Extract at Various Concentration

(%)

$\mu\text{g/mL}$	Vit-C	Type		
		S	SF	SB
50	31.30 \pm 0.45	17.68 \pm 1.59	27.48 \pm 0.22	30.79 \pm 0.55
100	39.31 \pm 1.09	18.19 \pm 2.04	28.50 \pm 0.34	31.04 \pm 0.13
250	49.61 \pm 0.97	28.88 \pm 1.25	36.77 \pm 1.11	33.72 \pm 0.77
500	85.49 \pm 0.67	46.95 \pm 0.88	46.31 \pm 0.83	41.35 \pm 1.04
1000	95.80 \pm 2.12	51.40 \pm 1.04	50.89 \pm 0.13	45.17 \pm 0.83
IC ₅₀	286.54 \pm 6.89	840.16 \pm 12.78	855.33 \pm 18.54	1224.8 \pm 21.25

values are expressed as mean \pm S.E.,S: *S. Japonica* flowers, SF: *S. Japonica* fruits, SB: *S. Japonica* branches

출물이 81.43 \pm 0.30 mg/g으로 나타났다. 이는 기존 회화나무 메탄올 추출물의 폴리페놀 함량 38.9 mg/g보다 높은 함량을 나타내었다[20]. 총 폴리페놀 함량은 261.38 mg/g을 나타낸 회화나무 꽃 추출물이 134.71 mg/g로 나타난 홍화 추출물[21]이나 29 ~ 66 mg GAE/g의 비타민 나무 잎차와 33 ~ 118 mg GAE/g의 녹차 추출물에서 보다 높은 함량을 나타내었다[22].

3.2. 회화나무 꽃, 열매, 가지 추출물의 DPPH 라디칼 소거능

회화나무 꽃, 열매, 가지 추출물의 라디칼 소거능력을 측정된 결과는 Table 2와 같다. 꽃, 열매, 가지추출물을 50, 100, 250, 500, 1,000 $\mu\text{g/mL}$ 농도에서 DPPH 라디칼 소거능을 시험한 결과 각각 17.68 \pm 1.59 ~ 51.40 \pm 1.04%, 27.48 \pm 0.22 ~ 50.89 \pm 0.13%, 30.79 \pm 0.55 ~ 45.17 \pm 0.83% 범위의 소거활성을 나타내었으며 50, 100 $\mu\text{g/mL}$ 농도에서는 가지 추출물이 꽃과 열매 추출물보다 높은 항산화능을 나타내었으며, 다음으로 열매, 꽃 추출물 순이었다. 500, 1,000 $\mu\text{g/mL}$ 농도에서는 꽃 추출물이 열매와 가지 추출물보다 높은 라디칼 소거능을 나타내었으며, 특히 가지 추출물의 경우 50 $\mu\text{g/mL}$ 농도에서 30.79%의 라디칼 소거능을 나타내 vit C 31.30%와 유사한 라디칼 소거능을 보였고 IC₅₀ 값은 Table 2와 같다. 하지만 양성 대조군인 vit C에 비해서는 50, 100, 250, 500, 1,000 $\mu\text{g/mL}$ 전 농도에서 회화나무 꽃, 열매, 가지 추출물의 라디칼 소거능에 있어서 유의하게 작은 효과를 보임을 알 수 있었다($p < 0.05$).

3.3. 회화나무 꽃, 열매, 가지 추출물의 티로시나아제 활성 저해능

회화나무 꽃, 열매, 가지 추출물의 티로시나아제 활성 저해력은 멜라닌 세포로부터 분리한 티로시나아제 분획을 첨가하여 일정시간 반응시킨 후 반응 생성물인 dopa chrome의 흡수 파장인 475 nm에서 흡광도를 측정하여 티로시나아제에 대한 저해력을 측정하였으며 결과는 Table 3과 같다. 꽃, 열매, 가지 추출물 50, 100, 250, 500, 1,000 $\mu\text{g/mL}$ 농도에서 티로시나아제 저해능을 시험한 결과 꽃 추출물 0.27 \pm 0.12 ~ 11.38 \pm 0.57%, 열매 추출물은 0.27 \pm 0.02 ~ 0.82 \pm 0.27%, 가지 추출물은 0.09 \pm 0.16 ~ 0.55 \pm 0.27% 범위의 저해능을 나타내 세 가지 추출물 중에서는 꽃 추출물이 높게 나타났으며, 다음 열매, 가지 추출물 순이었다. 하지만 양성 대조군인 kojic acid에 비해서는 50, 100, 250, 500, 1,000 $\mu\text{g/mL}$ 전 농도에서 회화나무 꽃, 열매, 가지 추출물 모두 유의하게 작은 효과를 보임을 알 수 있었다 ($p < 0.05$).

3.4. 회화나무 꽃, 열매, 가지 추출물의 PPE 저해능

피부 탄력 유지에 중요한 역할을 하는 엘라스틴을 분해하는 체내 효소 엘라스타제를 저해하는 inhibitor를 screening 하기 위해 PPE 저해능을 측정하였으며 결과는 Table 4와 같다. 회화나무 꽃, 열매, 가지 추출물을 50, 100, 250, 500, 1,000 $\mu\text{g/mL}$ 농도에서 PPE 저해능을 시험한 결과 각각 3.70 \pm 1.23 ~ 7.28 \pm 1.01%, 3.06 \pm 2.13 ~ 13.03 \pm 2.99%, 6.00 \pm 0.96 ~ 9.71 \pm 0.44% 범위의 저해능을 나타내었다. 50 ~ 500 $\mu\text{g/mL}$ 농도에서는 가지 추출물이 꽃, 열매 추출물에 비해 높

Table 3. Tyrosinase Inhibition Activity

(%)

$\mu\text{g/mL}$	Kojic acid	Type		
		S	SF	SB
50	6.01 \pm 0.19	0.27 \pm 0.12	0.27 \pm 0.02	0.09 \pm 0.16
100	39.89 \pm 0.89	1.55 \pm 1.03	0.36 \pm 0.32	0.36 \pm 0.16
250	97.27 \pm 1.56	3.73 \pm 0.63	0.55 \pm 0.27	0.27 \pm 0.00
500	98.63 \pm 2.12	10.66 \pm 0.82	0.64 \pm 0.42	0.46 \pm 0.16
1000	99.73 \pm 1.90	11.38 \pm 0.57	0.82 \pm 0.27	0.55 \pm 0.27
IC ₅₀	89.13 \pm 3.24	-	-	-

values are expressed as mean \pm S.E.,S: *S. Japonica* flowers, SF: *S. Japonica* fruits, SB: *S. Japonica* branches

Table 4. PPE Inhibition Rate

(%)

$\mu\text{g/mL}$	Ursolic acid	Type		
		S	SF	SB
50	15.54 \pm 0.70	3.70 \pm 1.23	3.06 \pm 2.13	6.00 \pm 0.96
100	16.22 \pm 0.25	3.58 \pm 1.73	3.58 \pm 1.17	5.36 \pm 1.01
250	17.18 \pm 0.19	5.49 \pm 0.96	5.36 \pm 1.67	7.15 \pm 0.88
500	23.06 \pm 1.69	8.43 \pm 0.77	8.68 \pm 0.44	9.07 \pm 0.80
1000	69.30 \pm 0.43	7.28 \pm 1.01	13.03 \pm 2.99	9.71 \pm 0.44
IC ₅₀	772.15 \pm 1.07	-	-	-

values are expressed as mean \pm S.E.,S: *S. Japonica* flowers, SF: *S. Japonica* fruits, SB: *S. Japonica* branches

은 수치를 나타내었다. 1,000 $\mu\text{g/mL}$ 농도에서는 열매 추출물이 높은 수치를 나타내었고 다음 가지, 꽃 추출물 순으로 나타났다.

양성대조군인 ursolic acid 15.33 ~ 68.97%의 PPE 저해능의 결과에 비해 우수하진 않았다. 이는 회화나무 꽃, 열매, 가지 추출물 50, 100, 250, 500, 1,000 $\mu\text{g/mL}$ 전 농도에서 모두 유의하게 작은 효과를 보임을 알 수 있었다($p < 0.05$). 또한 회화나무 열매 추출물의 1,000 $\mu\text{g/mL}$ 농도에서 13.02%로 나타났는데, 지금까지 연구되어온 노간주나무 열수추출물의 1,000 $\mu\text{g/mL}$ 농도에서 10% 이하[23], 곤달비 추출물의 1,000 $\mu\text{g/mL}$ 농도에서 4-hydroxy acetophenone 8.72 \pm 0.61%, caffeic acid 9.63 \pm 0.90%[24]에 비해 좋은 결과를 나타내었으나 노간주나무 에탄올 추출물의 1,000 $\mu\text{g/mL}$ 농도에서 68.5%[23], 모과나무, 계피차, 마, 조각자, 저령의 열수추출물의 1,000 $\mu\text{g/mL}$ 농도에서 54%, 52%, 51%, 45%, 57%의 결과[25]에 비추어 낮은 수치를 나타내어 주름

개선 효과가 우수하지 않음을 알 수 있었다.

4. 결 론

회화나무 꽃, 열매, 가지의 추출물에 대한 폴리페놀 함량, DPPH 라디칼 소거법에 의한 항산화 기능과 티로시나아제 활성 저해 효과를 통한 미백기능 그리고 PPE 저해력을 통한 주름개선 기능을 측정하여 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 회화나무 꽃, 열매, 가지 추출물의 시료 총 폴리페놀 함량은 평균 각각 261.38 \pm 7.02 mg/g, 187.49 \pm 3.15 mg/g, 81.43 \pm 0.30 mg/g을 기록하였으며, 회화나무 꽃 추출물에서 폴리페놀 함량이 높게 나타났다.
2. 회화나무 꽃, 열매, 가지 추출물을 50 ~ 1,000 $\mu\text{g/mL}$ 농도에서 DPPH 라디칼 소거능을 조사한

결과 회화나무 꽃 추출물은 $17.68 \pm 1.59 \sim 51.40 \pm 1.04\%$, 열매 추출물은 $27.48 \pm 0.22 \sim 50.89 \pm 0.13\%$, 가지 추출물은 $30.79 \pm 0.55 \sim 45.17 \pm 0.83\%$ 범위의 소거 활성을 나타내었다. 50, 100 $\mu\text{g/mL}$ 농도에서는 가지 추출물이 꽃과 열매 추출물에 비해 높은 DPPH 라디칼 소거능을 나타내었으나, 500, 1000 $\mu\text{g/mL}$ 에서는 꽃 추출물에서 열매와 가지 추출물보다 더 높은 DPPH 라디칼 소거능을 나타내었다.

하지만 양성 대조군인 vit C에 비해서는 전 농도에서 회화나무 꽃, 열매, 가지 추출물 모두 유의하게 작은 효과를 보임을 알 수 있었다($p < 0.05$).

- 회화나무 꽃, 열매, 가지 추출물을 50~1,000 $\mu\text{g/mL}$ 농도에서 티로시나아제 저해능을 조사한 결과 회화나무 꽃 추출물은 $0.27 \pm 0.12 \sim 11.38 \pm 0.57\%$, 열매 추출물은 $0.27 \pm 0.02 \sim 0.82 \pm 0.27\%$, 가지 추출물은 $0.09 \pm 0.16 \sim 0.55 \pm 0.27\%$ 범위의 저해능을 나타내 티로시나아제 저해능은 꽃 추출물에서 높게 나타났으며, 다음 열매, 가지 순으로 나타났지만 티로시나아제 저해능은 거의 없는 것으로 보인다. 이는 오히려 멜라닌 합성 촉진에 도움이 된다는 강철호의 선행연구의 결과와 유사한 것으로 사료된다[20]. 티로시나아제 저해능에 있어서 회화나무 꽃, 열매, 가지 추출물의 경우 양성대조군인 kojic acid에 비해서는 전 농도에서 모두 유의하게 작은 효과를 보임을 알 수 있었다($p < 0.05$).
- 회화나무 꽃, 열매, 가지 추출물을 50~1,000 $\mu\text{g/mL}$ 농도에서 PPE 저해능을 조사한 결과 각각 $3.70 \pm 1.23 \sim 7.28 \pm 1.01\%$, $3.06 \pm 2.13 \sim 13.03 \pm 2.99\%$, $6.00 \pm 0.96 \sim 9.71 \pm 0.44\%$ 범위의 저해능을 나타내었다. 또한 50~500 $\mu\text{g/mL}$ 농도에서는 가지 추출물이 높은 수치를 나타내었고 그 다음 꽃, 열매 추출물 순이었다. 또한 1,000 $\mu\text{g/mL}$ 농도에서는 열매 추출물이 꽃과 가지 추출물보다 높은 결과를 나타냈지만 PPE 저해능 역시 크게 효과적인 결과를 보여주지는 않았다. 양성대조군인 ursolic acid에 비해서 모두 유의하게 작은 효과를 보임을 확인할 수 있었다($p < 0.05$).

본 연구에서 살펴본 바와 같이 회화나무 꽃, 열매,

가지 추출물의 피부개선과 관련한 미백, 주름개선의 효능, 효과가 있는지를 알아보기 위해 항산화 활성, 티로시나아제 저해 활성, PPE 저해능을 실험한 결과 각 부위별 추출물의 효능, 효과가 다르게 나타남을 알 수 있었다. 선행 연구 결과 메탄올 회화나무 꽃 추출물의 폴리페놀 함량이 38.9 mg/g임에 비해 이번 연구에서 수행한 75% 에탄올 환류 추출법에 의해 추출한 회화나무 꽃 추출물의 폴리페놀 함량이 평균 $261.38 \pm 7.02 \text{ mg/g}$ 으로 보다 좋은 결과를 나타냄을 알 수 있었다 [20]. 이러한 결과는 앞으로 농도별 또는 용매와 추출법 등을 다르게 하여 시험해보는 것이 의미가 있을 것으로 보여 진다. 또한 대부분의 천연물들이 자생하는 지역의 기후환경 및 채취시기에 따라서도 효과의 차이를 보이므로, 지역별 환경과 채취시기에 따른 성분의 효과에 대해서도 좀 더 연구되어야 할 것으로 사료되는 바이다.

Reference

- K. S. Kim, Ph. D. Dissertation, Seoul Venture Univ., Seoul, Korea (2009).
- O. Wiedow, J. M. Schroder, H. Gregory, J. A. Young, and E. Christophers, An elastase specific inhibition of human skin, *J. Biol. Chem.*, **265**(25), 14791 (1990).
- H. Y. Jung, J. K. Han, J. H. Ha, Y. Kim, S. H. Oh, S. S. Kim, M. H. Jung, K. P. Choi, U. Y. Park, and H. Y. Lee, Antioxidant activities and skin-whitening effects of nano-encapsulated water extract from *Rubus coreanus* Miquel, *Korean J. Med. Crop Sci.*, **17**(2), 83 (2009).
- J. S. Hwang, Y. K. Cho, J. I. Kim, W. J. Park, and J. S. Lee, The effect of retinoids on crabp II mRNA induction and collagen synthesis in human dermal fibroblast, *J. Soc. Cosmet. Sci. Korea*, **23**(3), 9 (1997).
- C. W. Lee, H. B. Pyo, Y. H. Cho, and S. M. Park, Effect of Korean black soybean seed on the cellular proliferation and the production of type III collagen in skin fibroblast, *J. Soc. Cosmet. Sci. Korea*, **24**(3), 31 (1998).
- B. J. Kim, B. K. Jo, and J. H. Kim, A promising new

- antiwrinkle ingredient: pericarpium castaneae extracts, *J. Soc. Cosmet. Sci. Korea*, **25**(4), 57 (1999).
7. J. J. Cho, K. K. Lee, B. K. Cho, and J. D. Choi, Isolation and characterization of elastase inhibitor from *Areca catechu*, *J. Soc. Cosmet. Sci. Korea*, **35**(1), 163 (2000).
 8. 생활한방민속약, 한국자연의학연구회, 36, 동부문화사, 대전 (1985).
 9. 동의보감, 동의보감국역위원회, 136, 법인문화사, 서울 (1999).
 10. K. J. Jung, Master's Thesis Dissertation, Suncheon Univ., Suncheon, Korea (2012).
 11. Y. J. Kim, J. A. Jung, S. H. Kwon, and H. W. Cho, 27th International Horticultural Congress & Exhibition, Seoul, 97 (2006).
 12. K. I. Moon, Master's Thesis Dissertation, Donshin Univ., Busan, Korea (2006).
 13. J. H. Lee, Master's Thesis Dissertation, Kangwon Univ., Chuncheon, Korea (2013).
 14. S. J. Park, E. S. Kim, Y. S. Choi, and J. D. Kim, Effects of sophorae fructus on antioxidative activities and lipid levels in rats, *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.*, **37**(9), 1120 (2008).
 15. S. Y. Choi, S. H. Youn, and B. K. Min, Rexflavone (sophorae fructus extract) for menopausal symptoms in postmenopausal women and new aspects of isoflavones, *Food Industry and Nutrition*, **18**(2), 17 (2013).
 16. O. Folin and W. Denis, On phosphotungstic phosphomolybdic compounds as color reagents, *J. Biol. Chem.*, **12**(2), 239 (1912).
 17. Y. Fujita, I. Uehara, Y. Morimoto, M. Nakashima, and T. Hatano, Studies on inhibition mechanism of autoxidation by tannins and flavonoids. II. Inhibition mechanism of caffeetannins isolated from leaves of *Artemisia* species on lipoxygenase dependent lipid peroxidation, *Yakugaku Zasshi*, **108**(2), 129 (1988).
 18. K. Tomita, N. Oda, M. Ohbayashi, H. Kamei, T. Miyaki, and T. Oki, A new screening method for melanin biosynthesis inhibitors using *Streptomyces bikiniensis*, *J. Antibiot.*, **43**(12), 1601 (1990).
 19. R. M. Facino, M. Carini, R. Stefani, G. Aldini, and L. Saibene, Anti-elastase and anti-hyaluronidase activities of saponins and sapogenins from *Hedera helix*, *Aesculus hippocastanum*, and *Ruscus aculeatus*: factors contributing to their efficacy in the treatment of venous insufficiency, *Arch. Pharm.*, **328**(10), 720 (1995).
 20. C. H. Kang, Master's Thesis Dissertation, Kyemyung Univ., Daegu, Korea (2011).
 21. M. R. Han, N. W. Kim, and Y. S. Lee, Regular articles : anti-wrinkle and antioxidative effects of ethanolic extracts of inula flos, chrysanthemi flos and carthami flos, *Journal of Investigative Cosmetology*, **9**(4), 361 (2013).
 22. E. A. Cho, Master's Thesis Dissertation, Seoul Univ., Seoul, Korea (2012).
 23. J. H. Jung and K. J. Kim, Experimental studies about the inhibitory effect on tyrosinase and elastase activities by various herb medicines, *J. Korean Orient. Med. Ophthalmol. Otolaryngol. Dermatol.*, **22**(2), 82 (2009).
 24. E. J. Noh, Y. S. Kim, and B. K. Kim, Anti-wrinkle effect of *Ligularia stenocephala*, *J. Korean Oil Chem. Soc.*, **26**(2), 186 (2009).
 25. J. S. Lee, Y. J. Kwak, D. H. Lee, and N. M. Kim, Screening and extraction condition of anti-skin aging elastase inhibitor from medicinal plants, *Korean J. Med. Crop Sci.*, **13**(6), 213 (2005).