

주름개선 자외선 차단효과를 갖는 다기능성 천연 자외선 차단제(BHC-S) 개발

김 철·정새별·임경현·강명환·안준혁·김진희*·이 호[†]

(주)비에스티

*대구한의대

(2017년 11월 6일 접수, 2017년 12월 19일 수정, 2017년 12월 26일 채택)

Development of Multifunctional Natural Sunscreen (BHC-S) Having Sunscreening and Anti-wrinkle

Chul Kim, Sae Byeol Jeong, Gyeong Hyeon Im, Myeong Hwan Gang, Jun Hyuk An, Jin Hee Kim*, and Ho Lee[†]

BST, B101 Woolimlions's Valley II B-Line, 14, Sagimakgol-ro 45beon-gil,
Jungwon-gu, Seongnam-si, Gyeonggi-do 13209, Korea

*College of Herbal Bio-industry, Daegu Haany University, Gyeongbuk-do 38610, Korea

(Received November 6, 2017; Revised December 19, 2017; Accepted December 26, 2017)

요약: 본 연구는 기존의 인공적으로 합성된 유기 자외선 차단제를 대체하는 안정적인 식물유래 천연 자외선 차단제(BHC-S)를 개발하기 위하여 수행하였다. 땅콩씨추출물, 병충추출물 및 곰피추출물로 구성된 천연 자외선 차단제(BHC-S)는 합성 자외선 차단제인 Parsol MCX-XR (OMC)와 동등 수준의 자외선 차단 효과를 가질 뿐만 아니라, 피부에 대한 안전성을 가지며, 주름개선 등 다기능성 효과를 가지는 것으로 확인되었다. 이로써, 자외선 차단 및 항노화를 위한 천연 화장품 원료로서의 이용이 가능할 것으로 판단된다.

Abstract: This study was carried out to develop a stable plant-derived natural sunscreen (BHC-S) that replaces the artificially synthesized organic sunscreen agents. The natural sunscreen (BHC-S), which is composed of peanut extract, *Centella asiatica* extract, and *Ecklonia stolonifera* extract, has the same level of ultraviolet shielding effect as PARSOL MCX-XR (OMC), which is a synthetic sunscreen. and has safety against skin. MultiFunctional effect such as and anti-wrinkle improvement. Thus, it can be used as raw material for natural cosmetics for ultraviolet ray blocking, and anti-aging

Keywords: natural sunscreen, UV-B sensitive yeast, anti-wrinkle, *Centella asiatica*, *Ecklonia stolonifera*

1. 서 론

자외선(UV)은 그 파장영역에 따라서 UV-A (320-400 nm)와 UV-B (280-320 nm) 그리고 UV-C (200-280 nm)로 구분되어 있는데, UV-C는 대부분 성층권에서 흡수되어 지표에 도달하지 못하기 때문에 생활에 영향을 미치는 대기 중의 자외선은 UV-A와 UV-B로 구성되어

진다.

자외선은 살균작용과 비타민 D₂ 생성 등 인체에 유익한 기능을 가지고 있지만, 피부건강에 나쁜 영향을 미치고 있다. 특히 UV-B는 DNA 손상, 광노화 및 피부암을 일으키는 주요 요인으로 작용하는데, 피부 각질 세포 내에 침투하여 세포에 손상을 입히거나, 다양한 경로를 통해 활성산소종(reactive oxygen species, ROS)의 생성을 유도하며, 급성 노출 시에 피부홍반, 열, 부종, 통증이 일어나고 그 후에 피부 색소침착이 일어나며 표피가 비후되는 현상이 일어나기도 하여, 만

[†] 주 저자 (e-mail: lakelee@ibst.kr)
call: 031)057-8575

성적으로 노출되면 피부의 노화와 육종 형성을 유발한다[1,2].

광노화를 유발하는 주된 요소 중 하나는 콜라겐의 분해인데 자외선은 피부세포에서 콜라겐의 합성을 억제하고 콜라겐을 분해하는 효소인 matrix metallo proteinase (MMP)의 합성을 촉진시키는 것으로 알려져 있다. 따라서 자외선에 노출되면 콜라겐의 합성은 줄고, MMP에 의한 콜라겐의 분해는 늘기 때문에 자외선에 노출되어진 피부에서 콜라겐의 양이 줄어들게 된다.

콜라겐 섬유는 피부의 정상적인 구조와 형태를 유지하는데 중요한 역할을 하고 있으며, 피부조직에 장력을 주고 조직을 튼튼히 만드는 역할을 하기 때문에 콜라겐의 합성이 줄고 분해가 늘어나면 피부 노화가 진행되는 것으로 알려져 있다[3]. 이에 자외선 차단제를 바름으로써 자외선으로부터 피부를 보호하고 피부 노화를 예방하려는 노력이 계속되어져 왔다.

현재 자외선 차단제는 유기 자외선 차단제와 무기 자외선 산란제가 많이 사용되고 있는데, 적은 양으로도 효과가 높은 유기 자외선 차단제는 피부 안전성 즉 피부 자극성, 알레르기성, 광독성 등을 유발하는 물질로 알려져 국가별로 사용량과 사용 여부에 대하여 규제를 하고 있으며 이를 대체하기 위해 천연 자외선 차단 물질로서 식물추출물에 대하여 많은 연구가 진행되고 있다.

그러나 이러한 천연 자외선 차단제 연구는 직접적인 자외선 차단 효능 물질에 대한 연구보다는 자외선으로 손상된 피부세포에 대한 항산화, 항염, 세포 재생 등의 효능을 가지는 천연물에 대한 연구가 대부분을 차지하는 한계를 가진다.

본 연구에서 직접적인 자외선차단 효과를 가지는 천연 자외선 차단제를 개발하기 위하여 천연물 라이브러리로부터 UV spectrum 분석과 자체개발한 자외선 감수성 효모균주를 이용한 UV-B 감수성 bioassay 등을 통하여 유기계 자외선 차단제인 Parsol MCX-XR (OMC)와 유사한 자외선 차단효과를 가지는 땅콩깍, 병풀, 곰피 추출물을 선정하게 되었고, 이들 식물체에 존재하는 플라보노이드, 카테킨 복합체로서 UV-B 자외선을 직접 흡수할 수 있는 천연 복합물(상품명 BHC-S)을 개발하였고 *in vitro* SPF 측정 평가를 통하여 다양한 기능을 가지는 새로운 천연 자외선차단 소재를 개발하였다.

2. 재료 및 방법

2.1. 기기 및 시약

UV-VIS spectrophotometer으로 Shimazu (Japan)사의 기기를 사용하였다. 1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) Sigma (USA)제품을 mushroom tyrosinase는 Sigma (mushroom tyrosinase (Sigma T7755, EC 1.14.18.1))를 사용하였고, tyrosine도 Sigma (USA)사의 제품을 사용하였다. Octyl methoxycinnamate (OMC; PARSOL MCX-XR)는 DSM (Netherlands)사의 것을 사용하였고 땅콩깍, 병풀, 곰피는 지유본초(Korea)사로부터 구입하여 사용하였다.

2.2. 천연 자외선 차단 복합물 제조

땅콩깍, 병풀, 곰피 시료를 구입 후, 세척하고 세절하여 추출에 사용하였다. 세척, 세절된 원료를 70 °C에서 12 h 열수추출 하고 추출 잔여물은 여과지 또는 여과포(Advatec, pore size 1-10 μ m)를 사용하여 분리하였다. 여과된 상등액은 감압농축기(Eyela, Japan)로 농축하고 동결 건조하여 고형성분을 획득하였다.

2.3. UV 흡광 Spectrum 측정

BHC-S의 UV-B 영역 흡수파장을 측정하기 위하여 UV-VIS spectrophotometer (Shimadzu, Japan)을 사용하여 250 nm에서 400 nm 범위에서 흡광도를 스캔하였다. 양성대조군으로 자외선 차단제에 많이 쓰이는 유기계 자외선 차단물질인 Parsol MCX-XR (OMC) (DSM, Netherlands) 사용하였다.

2.4. DPPH Assay

자외선 차단제에 함유된 항산화 물질은 항산화 활성을 통해 자외선으로 인한 염증, 홍반 등의 세포 손상으로부터 피부를 보호해 줄 수 있고, 임상평가에서 SPF 상승의 병용 효과를 가지는 것으로 평가되고 있다. 이러한 이유로 BHC-S의 항산화 활성을 DPPH를 이용하여 라디칼이 감소하는 정도를 평가하였다. 양성대조군으로 vitamin C (DSM, Netherlands)와 황금(*Scutellaria baicalensis*) (지유본초, Korea)을 열수추출 및 감압 농축하여 획득한 40 brix 이상의 추출액을 선택하여 실험을 진행하였다.

Table 1. Prescription of Base Formulation for Sun Cream

Phase	Ingredients	% by weight
Lipid	Dicaprylyl Carbonate	3.500
	Cetyl Alcohol	1.000
	Octyldodecanol	3.000
	Sorbitan sesquioleate	2.000
	Sorbitan Stearate	2.000
	Polysorbate 60	2.000
	Cyclopentasiloxane	10.000
	Srearcic acid	1.000
Aqueous	Water	62.000
	Butylene Glycol	3.000
	Glycerin	2.000
	Water	5.000
	<i>Scutellaria baicalensis</i> Root Extract/ <i>Glycyrrhiza glabra</i> (Licorice) Root Extract/Lactobacillus Ferment/Glycerin	2.000
	Polyacrylamid/C13-14Isoparaffin/Laureth-7	1.500
	Total	100.00

2.5. UV Sensitive Yeast Bioassay

UV-B 영역의 자외선 차단 여부를 판단하기 위해 (주)비에스티에서 자체 개발한 UV-B 감수성 효모 (*Saccharomyces cerevisiae* spp.; 특정조건에서 UV-B 조사 시 사멸하는 균주)를 이용하여 *in vitro* bioassay를 시행하였다. 실험 방법은 다음과 같다. 배지에 UV-B 감수성 효모 균액을 PDA 배지(Difco USA)에 도말한 후 페트리디시의 뚜껑에 구역을 나누어 기본 선크림 base (Table 1)에 Parsol MCX-XR (OMC)과 BHC-S를 0.2% 첨가한 시험 base를 일정량 도포해 주었다. 대조군은 선크림 base에 유·무기계 자외선 차단제를 첨가하지 않은 것으로 하였다. 페트리디시 뚜껑에 선크림 base 시료를 바른 배지를 UV-B 램프(GE20SE, Sanyo Denki Japan)에 2 min 40 s 동안 30 cm 거리에서 조사시킨 후 35 °C 인큐베이터(IB-450M, Jeio Tech, Korea)에서 48 h 배양하여 효모균이 자란 정도를 육안 평가하여 자외선 차단효과를 확인하였다.

2.6. *In vitro* SPF

자외선 차단제의 효과는 자외선 조사 시 정상 건강 인에서 나타나는 피부 홍반 반응 즉, 자외선 차단제 도포 시에 대한 도포하지 않을 시의 최소홍반량(minimal

erythema dose, MED)의 비로 산출되는 자외선차단지수(sun protection factor, SPF)로 나타내는데 주로 UV-B 차단 효과를 의미한다. 자외선 차단제로서의 기능이 있는지 객관적인 평가를 시험 방법은 다음과 같다. Sample holder에 transpore tape (55.5 cm²)를 부착시킨 후 측정시료(10% BHC-S와 10% Parsol MCX-XR (OMC))를 2 mg/cm²를 취하여 transpore tape 위(비접착면)에 골고루 펴 발라준다. 도포 후 15 min 후에 SPF-290 Analyzer를 이용하여 SPF 수치를 측정한다.

2.7. Gelatin Zymography in HaCaT Cell (Human Keratinocyte)

이 시험은 gelatinase인 MMP-2 (matrix metalloproteinase-2)와 MMP-9의 발현량을 확인하는 시험이다. Human keratinocyte (HaCaT)를 1 × 10⁵ cells/well의 농도로 24-well plate에 분주하여 하룻밤 배양하여 실험에 사용한다. Serum free media로 배지를 교환하고 MMPs의 발현을 유발시키는 tetradecanoylphorbol-13-acetate (TPA)와 각 샘플을 농도별로 배지에 처리하여 하루 동안 배양한 후 각각의 conditioned media를 harvest하여 centrifuge (8,000 rpm)한 다음 상층액을 획득하여 1.5% gelatin이 포함된 10% SDS-polyacrilamide gel을 이용하여 전기영동을 한다. 전기영동을 수행한 gel은 MMPs의 cofactor 등이 함유

Table 2. DPPH Activity Inhibition Rate of Vitamin C, *Scutellaria baicalensis* Eextract and BHC-S

Concentration (ppm)	Inhibition of DPPH activity (%)		
	Vit C	황금	BHC-S
500	94.40	68.87	99.81
100	97.42	38.52	97.13
50	76.55	26.30	93.67
10	67.81	18.26	68.40
2	43.09	16.77	42.90

* Vit C IC_{50} = 4.236246, 황금 IC_{50} = 251.212, BHC-S IC_{50} = 4.800215

**Figure 1.** BHC-S.

된 incubation buffer에 반응시켜 MMP가 위치한 부위의 gelatin이 분해되면 coomassie blue staining solution으로 gel을 염색시킨 후 분해되어 투명하게 남게 되는 MMP 부위의 투명한 정도와 넓이를 확인한다.

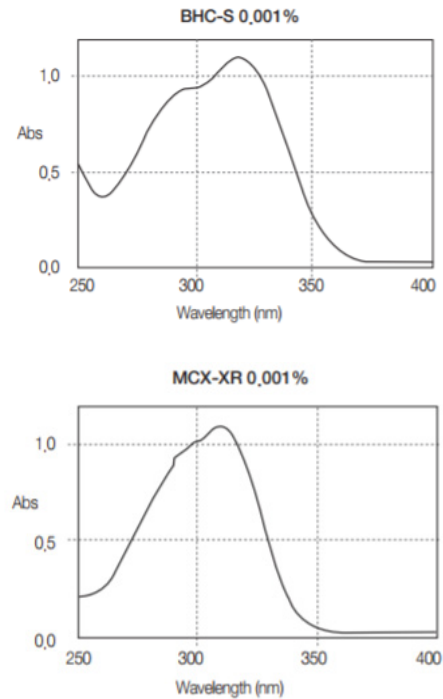
3. 결과 및 고찰

3.1. 천연 자외선 차단 복합물 제조

땅콩쌈, 병풀, 곰피로부터 열수추출하고 감압 농축하여 동결건조한 자외선 차단 유효성분은 Figure 1 같은 미백색의 분말 BHC-S를 획득하였다. BHC-S는 프로필렌글리콜, 프로판디올 등의 폴리올에 가온 용해하여 자외선 화장료 처방에 첨가하거나 수분산 원료로 만들어서 사용할 수 있다.

3.2. UV 흡광 Spectrum 측정 결과

BHC-S의 UV-B 영역 흡수과장을 측정하기 위하여 UV-VIS spectrophotometer (Shimadzu, Japan)를 이용하여 250 nm에서 400 nm 범위에서 흡광도를 스캔한 결과 BHC-S는 Parsol MCX-XR (DSM, Netherlands)와 비교 시 UV-B영역에서 유사한 흡수 Peak를 보이며 우수

**Figure 2.** Comparison of absorption spectra of UV-B regions of BHC-S and Parsol MCX-XR.

한 자외선 흡수효능을 보였다(Figure 2). 그러나 UV-A 흡수 스펙트럼은 관찰되지 않았다.

3.3. DPPH Assay

DPPH assay 실험 결과 vitamin C와 BHC-S는 약 6 ppm의 농도일 때 50%의 DPPH 저해율을 보였으며 황금추출물과 비교했을 때 약 45배 이상의 항산화 활성을 보였다.

이러한 결과에서 BHC-S는 *in vitro* SPF 결과보다 임상에서 높은 SPF 값을 나타낼 것으로 기대된다(Table 2).

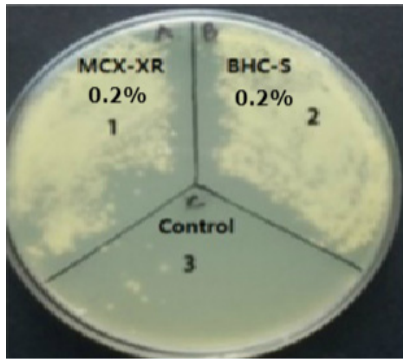


Figure 3. *In vitro* bioassay of 0.2% MCX-XR and BHC-S with suncream base.

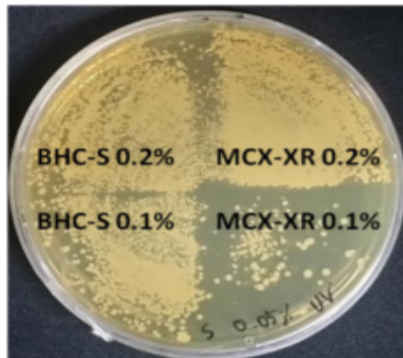


Figure 4. *In vitro* bioassay of 0.1% & 0.2% with MCX-XR and BHC-S with suncream base.

3.4. UV Sensitive Yeast Bioassay 결과

BHC-S가 Parsol MCX-XR (DSM, Netherlands)와 유사한 자외선 차단효과를 가질 것으로 예측되어지는데 이러한 사실을 확인하고자 Figure 3에서 선크림 base에 BHC-S와 Parsol MCX-XR을 각각 0.2%로 첨가하였고, Figure 4에서는 BHC-S와 Parsol MCX-XR을 각각 0.1%와 0.2% 첨가한 선크림 베이스를 페트리디시 뚜껑에 도말 후 상기 실험방법으로 *in vitro* bioassay를 실시하였다. 그 결과 BHC-S는 Parsol MCX-XR과 비교하여 동등 이상의 자외선 차단효과를 가지는 것으로 판단되었다.

이러한 자외선 감수성 균주와 BHC-S의 비접촉 시험법을 통한 자외선 차단효과 평가 결과는 유기계 차단제인 Parsol MCX-XR과 유사하게 BHC-S도 직접적으로 자외선 에너지를 흡수하는 기작을 가지는 것으로 사료되어진다.

Table 3. Results of *In Vitro* SPF Analysis

	BHC-S 10%	MCX-XR 10%
SPF	12	12

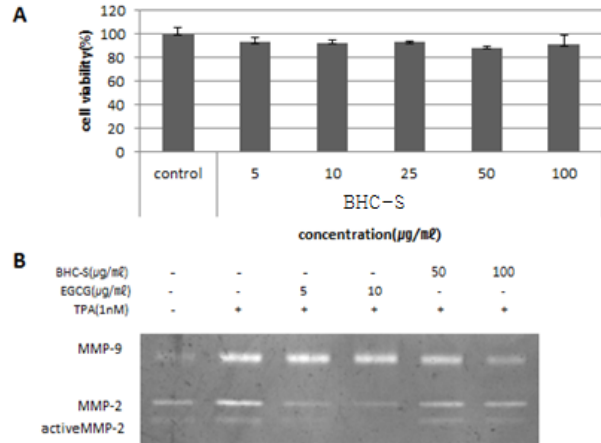


Figure 5. (A) Effects of BHC-S on viability in HaCaT cells. The cells were cultured BHC-S for 1 days, and cell cytotoxicity was determined by CCK-8 cell counting kit. (B) Inhibitory effect of BHC-S on MMP-9, MMP-2 expression in TPA-stimulated HaCaT cells. The cells were stimulated with TPA to induce MMPs expression and then treated with the indicated amount of BHC-S under serum-free conditions for 24 h and Conditioned media were analyzed by gelatin zymography for MMP-9, MMP-2 activity.

3.5. *In Vitro* SPF

분석 결과 BHC-S 10%와 Parsol MCX-XR (OMC) 10%는 SPF 12로 유사한 결과를 얻었다(Table 3).

3.6. HaCaT Cell (Human Keratinocyte) Cytotoxicity & Gelatin Zymography)

시료를 농도별로 HaCaT cell에 처리하여 1일 동안 배양하고 세포독성을 측정된 conditioned media로 gelatin zymography를 진행한 결과, BHC-S의 농도가 50, 100 µg/mL으로 증가할수록 gelatinase인 MMP-9의 활성이 감소되었다.

3.7. 수용성 처방

기존의 유기계 자외선 차단제들은 피부 독성에 의한 처방 함량의 제한이 있을 뿐만 아니라 고지용성물질로서 선크림 제형에서의 오일 사용감을 나타내는 주원료

Table 4. Natural Sunscreen Formulation Containing Esting Natural Sunscreen (SPF 23/PA 2+) Formulation and BHC-S

No.	Materials	Content (%)	Impovemental Content (%)
1	Cetiol CC	3.5	3.5
2	Lanette 16	1	1
3	Eutanol G	3	3
4	Rheodol AO-15V	2	2
5	Arlacel60 (Crill3)	2	2
6	Rheodol TW-S120V	2	2
7	SF0015Z	10	10
8	T-Lite SF-S	5	2.5
9	MT100TV	5	2.5
10	Z-cote HP-1	2	1
11	BHC-S	-	5
12	1,3-BG	3	3
13	Glycerin	2	2
14	chemfree	1.5	1.5
15	D.I. Water	58.8	58.8
16	Srpigel	0.2	0.2
Total		100	100

**Figure 6.** BHC-S 5% water soluble prescription toner.

이기도 하다. 반면 천연 자외선 차단제인 BHC-S는 토너와 같은 수용성 처방이 가능하며 산뜻한 사용감을 나타낼 수 있다. Figure 6에서와 같이 토너에 BHC-S를 5%를 가용화 처방으로 하여 투명한 제형을 제조할 수 있다.

3.8. 백탁개선

자외선 차단제는 피부의 안전을 목적으로 사용하는 기능성 화장품이지만 미용적인 측면도 고려되어야 한다. 피부에 바를 때 자외선 차단제에 널리 쓰이는 무기

**Figure 7.** Comparison of prescription with BHC-S (left) and conventional prescription (right).

계 자외선 차단 소재인 TiO_2 성분으로 인해 하얗게 되는 백탁현상과 높은 점도, 끈적거리는 사용감으로 인해 소비자들은 백탁현상이 적은 제품, 산뜻한 사용감을 갖는 제품을 선호한다. 백탁현상 및 사용감을 개선하기 위해서는 TiO_2 의 함량을 줄여야 하는 데 TiO_2 의 함량을 감소시키고 이를 대체하여 BHC-S를 첨가 후 백탁도 및 사용감 개선 여부와 자외선차단 효과의 변화가 있는지 살펴보았다. Table 4과 같이 BHC-S를 처방한 시제품을 비교한 결과 Figure 7에서와 같이 백탁 현상이 현저하게 감소되었다.

4. 결 론

식물 추출물로 이루어진 수용성의 항산화 플라보노이드 complex 처방(BHC-S)은 *in vitro* bioassay와 *in vitro* SPF 결과를 통해 유기계 자외선 차단제인 Pasol MCX-XR 만큼의 자외선차단 효과가 있는 것을 확인하였다. 또한 gelatin zymography를 통해 50, 100 $\mu\text{g/mL}$ 농도의 BHC-S에서 콜라겐 분해효소인 MMP의 활성이 감소된 것으로 보아 콜라겐 분해가 억제되어 항노화 효과 또한 기대된다.

피부 안전성에 대한 관심이 높아짐에 따라 합성 화장품 원료를 기피하는 추세인데 식물성 추출물로 처방된 BHC-S는 피부 안전성과 피부에 대한 친화성이 우수하고 높은 자외선 차단효과를 나타내므로 일상의 자외선에 의한 피부 손상을 예방할 수 있는 효과를 기대할 수 있으며 천연 자외선 차단제로써 유기계 차단제의 대체가 가능하리라 판단되어 진다.

또한 수용성 처방이 가능하여 토너 등의 화장품 제형에 적용할 수 있고 백탁현상을 일으키는 TiO_2 를 대체할 수 있기 때문에 선크림 제형의 끈적이는 질감을 감소시키고 보다 촉촉한 사용감을 가질 수 있을 것이라 기대할 수 있다.

Acknowledgement

이 논문은 산업통상자원부 산업현장핵심기술수시기술개발사업의 지원을 받아 수행하였습니다(주관기관: (주)비에스티).

Reference

1. H. Mukhtar and C. A. Elmet, Photocarcinogenesis: mechanisms, models and human health implications. *J. Photochem. Photobiol. B.*, **63**(4), 355 (1996).
2. F. Urbach, Welcome and introduction: evidence and epidemiology of ultraviolet-induced cancers in man. *Nat. Cancer Inst. Monographs*, **50**, 5 (1978).
3. H. J. Lee, The effect of red ginseng on ultraviolet b-induced skin damages in mouse. *J. of Ginseng Research*, **30**(4), 194 (2006).
4. M. Podda and M. G. Kollmann, Low molecular weight antioxidants and their role in skin ageing, *Clin. Exp. Dermatol.*, **26**(7), 578 (2001).
5. S. Brown, The effect of applied thickness on sunscreen protection : *in vivo* and *in vitro* studies, *J. Photochem. Photobiol.*, **44**(4), 509 (1986).
6. C. Lee, Anti-aging effects of marine natural extracts against uvb-induced damages in human skin cells, *J. Soc. Cosmet. Sci. Korea*, **38**(3), 255 (2012).
7. B. J. Ha, Cosmedical, Shinkwang Pub Seoul, Korea (2001).
8. C. R. Taylor, Photoaging/photodamage and photo-protection, *J. American Academy of Dermato.*, **22**(1) (1990).
9. Y. H. Kim, Master of cosmetology, konkuk univ., seoul, korea (2008).
10. S. H. Mo, Evaluation of sun protection factor (spf) and protection factor of uva (pfa) of the sunscreen containing microalgal extracts and maas. *J. korea academia-industrial cooperation society*, **15**(5), 3312 (2014).