

신선육자환 에탄올 추출물의 항산화 활성

김지윤^{1#}, 박해진², 김미려^{2*}

1 : 동남보건대학교 평생교육원 뷰티테크놀로지과정, 2 : 대구한의대학교 한의과대학 본초약리학교실

Antioxidant activities of ethanol extract of *Shinsun-yukza-hwan*, a Korean medicinal recipe

Ji Yoon Kim^{1#}, Hae-Jin Park², Mi Ryeo Kim^{2*}

1 : Course of Beautytechnology, Center for Continuing Education, Dongnam Health University, Suwon, Korea

2 : Department of Herbal Pharmacology, Daegu Hanny University, Daegu, Korea

ABSTRACT

Objective : The *Sinseon-yukza-hwan* (SSY), a Korean medicinal formula which includes Radix Rehmanniae Preparata and other medicinal herbs, has long been used for treatment of alopecia and gray hair through oral administration. This study is designed to enhance the utilization of natural materials in hair and scalp-related cosmetics. Possibility of SSY as an antioxidant was examined from its 50% ethanol extract.

Methods : The antioxidative capacities were evaluated by determining total phenolic and flavonoid contents, 1,1-diphenyl-2-picryl hydrazyl (DPPH), 2'-azino-bis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) (ABTS), reducing power and hydroxyl radical scavenging activity.

Results : Total polyphenol and flavonoid contents of SSY were 25.53 mg TE, tannic acid equivalent/g and 18.90 mg RE, rutin equivalent/g, respectively, which correlated strongly its antioxidative activity. The DPPH and ABTS free radical scavenging activities of SSY at 0.1 mg/ml ~ 5 mg/ml were ranged from 20% to 85% and 10% to 58%, respectively. Also the hydroxyl radical scavenger activity and reducing power increased in SSY-treated group, which were significantly lower in SSY-compared to BHA-treated group. But the highest reducing power was shown as 79% from SSY-treated group, which was higher value than 65% from BHA-treatment. These results showed that SSY extract effectively inhibited the generation of free radicals in the all assay system with dose-dependent manners.

Conclusions : Thus, the present study provide preclinical data to support the expanded application of SSY, which could be potential candidates for natural antioxidants.

Key words : *Sinsun-yukza-hwan*, antioxidation, DPPH, ABTS, polyphenol, flavonoid

I. 서 론

활성산소라 불리는 반응산소종(reactive oxygenspecies, ROS)은 호흡과정에서 체내에 유입된 산소가 산화과정에 이용되면서 여러 대사과정에서 생성되어 생체조직을 공격하고

세포를 손상시켜, 암·동맥경화·당뇨등 대부분의 질환들을 유발한다^{1,2)}. 항산화제는 이러한 ROS를 제거시킴으로써 생체 내산화성 스트레스로 인하여 생성되는 산화물질들을 억제 또는 중화시켜 ROS로부터의 세포손상을 방어하는 것들을 지칭하는데, 이미 다양한 합성 항산화제물질들이 개발되어 이용되고

*Corresponding author : Mi Ryeo Kim, Department of Herbal Pharmacology, College of Korean Medicine, Daegu Haany University, 136 Sincheondong-Ro, Suseong-Gu, Daegu, Korea.

· Tel : +82-53-770-2241 · Fax : +82-53-770-2312 · Cell : +82-10-3813-6085 · E-mail : mrkim@dhu.ac.kr

#First author : Ji Yoon Kim, Course of Beautytechnology, Center for Continuing Education, Dongnam Health University, 50-74 Choencheon-Ro, Jangan-Gu, Suwon, Korea.

· Tel : +82-31-249-6333 · Fax : +82-31-249-6334 · E-mail : birdrye@hanmail.net

· Received : 13 August 2017 · Revised : 31 August 2017 · Accepted : 15 September 2017

있다³⁾. 그러나, 합성 항산화제의 부작용의 가능성이 제시됨에 따라 천연물이나 한방제제 및 각종 식물성 소재로부터 더 안전하고 생체방어력을 증가시킬 수 있는 항산화 기능성 물질을 탐색하는 많은 연구들이 진행되고 있다⁴⁾. 천연 항산화제는 대부분 천연자원유래의 항산화성 화합물로 식물의 줄기, 잎, 뿌리, 꽃, 열매, 씨앗 등의 많은 부분에 존재하고 있다. 주로 페놀화합물 구조로 자유 라디칼 및 활성산소종의 생성억제나 활성을 저해하여 항산화 역할을 하는 것으로 보고되고 있는데⁵⁾, 연구 개발된 소재들은 건강 기능성과 관련된 생활필수품, 식품, 화장품 등으로 다양한 분야에서 응용되고 있다^{6~8)}.

한약의 항산화작용 연구도 활발하게 진행되어 왔으며, 처방에서는 대표적으로 공진흑원단⁹⁾, 청심연자탕¹⁰⁾, 녹용대보탕¹¹⁾, 향사양위탕¹²⁾, 승양이기탕¹³⁾ 등의 항산화를 포함한 노화 억제기능이 보고된 바 있다.

본 시험에 사용된 '신선육자환(神仙六子丸, SSY)'은 '어약원방'에 기재된 처방으로 경구로 복용시 신을 자양하고, 정을 튼튼히 하며, 혈을 보하고 머리카락이 검게 하는 효능을 가지고 있다. 또한 남자의 기혈이 쇠약해졌거나, 수염이 일찍 하얗게 세거나 혹은 나이가 어린데도 머리카락이 누렇게나 희게 변하는 증상을 치료하는데 쓰인다¹⁴⁾고 하였다. 저자들은 문헌에 근거한 모발 성장에 대한 효과 외에도 임상에서 외용제로 응용시 두피 등에 대한 산화적 스트레스 억제 기능이 탈모방지 기능성에 도움이 될 것 같아 본 연구를 진행하였다. 본 연구에서는 신선육자환(SSY)의 총폴리페놀과 플라보노이드 함량을 측정하고, DPPH, ABTS, hydroxy radical 소거능, 환원력등의 항산화 활성을 *in vitro*로 분석하여 항후 기능성 화장품 소재로서의 개발 가능성을 확인하고자 하였다.

II. 재료 및 방법

1. 시료의 준비

'신선육자환(SSY)'을 구성하는 한약재 중 모과(영천산)를 제외한 11종 한약재는 중국산을 대원약업사(대구)에서 구입하여 사용하였다. 선별한 토사자(*Cuscutae Semen*), 금령자(*Toosendan Fructus*), 구기자(*Lycii Fructus*), 복분자(*Rubi Fructus*), 오미자(*Shizandrae Fructus*), 사상자(*Cnidii Fructus*), 모과(*Chaenomelis Fructus*), 하수오(*Poligoni Multiflori Radix*), 소회향(*Foeniculi Fructus*), 지골피(*Lycii Radicis Cortex*), 숙지황(*Rehmanniae Radix Preparata*), 우슬(*Achyranthis Radix*)을 각각 일정 비율로 배합하고(Table 1), 건재 중량의 10배량의 50% 에탄올을 가하고 100℃에서 10시간 1회 추출하였다. 추출 후 여과, 농축을 거쳐 얻은 동결 건조 분말(SSY)은 실험 전까지 -20℃에 보관하였으며, 수율은 16.2%였다.

2. 항산화 유효 화합물 분석

총페놀성 함량은 페놀성 물질이 phosphomolydic acid와 반응하여 청색으로 발색되는 것을 이용한 Folin-Denis방법에 따라 분석하였다¹⁵⁾. 각각의 시료 1 mg/ml로 조제한 추출물 1 ml에

Table 1. Composition of *Shinsun-yukza-hwan* (SSY)

SSY	Dose (g)
<i>Cuscutae Semen</i>	26.3
<i>Toosendan Fructus</i>	26.3
<i>Lycii Fructus</i>	26.3
<i>Rubi Fructus</i>	26.3
<i>Shizandrae Fructus</i>	26.3
<i>Cnidii Fructus</i>	26.3
<i>Chaenomelis Fructus</i>	26.3
<i>Poligoni Multiflori Radix</i>	26.3
<i>Foeniculi Fructus</i>	52.6
<i>Lycii Radicis Cortex</i>	78.9
<i>Rehmanniae Radix Preparata</i>	78.9
<i>Achyranthis Radix</i>	78.9
Total	500

Folin-Denis 시액 2 ml을 가한 후, 35%의 탄산나트륨(Na_2CO_3) 용액 2ml을 넣은 다음 잘 혼합하였다. 이후 실온에서 30 분간 반응 후, 분광도계를 이용하여 750 nm에서 흡광도를 측정하였다. 측정된 흡광도는 tannic acid의 표준곡선으로 검량선을 작성하여 총 페놀성 화합물의 함량을 계산하였다. 총 플라보노이드 화합물 함량은 20 mg/ml의 aluminum trichloride을 함유하는 100% 에탄올 용액을 잘 혼합하여 40분 동안 실온에서 반응시킨 후 415 nm에서 흡광도를 측정하였다¹⁶⁾. 이때 총 플라보노이드 함량은 루틴(Rutin)을 이용하여 작성한 표준곡선으로부터 함량을 구하였다.

3. DPPH (1,1-Diphenyl-2picrylgydrazyl)

소거활성 측정

시료의 1,1-diphenyl-2-picryl hydrazyl (DPPH)에 대한 전자공여 효과로써 시료의 환원력을 측정하는 것으로 양성 대조군인 0.1 mg/ml butylated hydroxyanisole (BHA)와 농도별로 제조한 각 추출물 시료 1 ml에 0.4 mM DPPH 용액 0.5 ml를 가하고, 10초간 vortex mixing 후 37℃에서 30분간 반응시킨 반응액을 microplate reader를 이용하여 517nm 에서 흡광도를 측정하였다.

4. Reducing Power(환원력) 측정

각각의 농도별로 조제한 시료 0.1 ml에 0.2M 인산 완충액(pH 6.8) 0.25 ml와 1% potassium ferricyanide ($\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$) 0.25 ml를 각각 혼합하고, 50℃에서 20 분간 반응 시켰다. 추가로 0.25 ml의 10% trichloroacetic acid를 첨가하고 3000 rpm에서 10 분간의 원심분리를 통하여 얻어진 상등액에 0.1% ferric chloride 0.05 ml을 넣어서 발색반응을 유도시킨 다음, 700 nm에서 흡광도를 측정하였다.

5. ABTS 라디칼 소거능 측정

ABTS+ 소거활성은 2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid; ABTS+)의 색을 띤 양이온 라디칼의 감소에 근거하여 측정하였다. 즉, 증류수에 용해한 ABTS+ 7.0 mM에 증류수에 용해한 potassium persulfate 2.45 mM을 가하여 12~16시간 동안 암소에 방치하고 734 nm에서 흡광도가 0.700±0.02가 되도록 ethanol로 희석한 다음 ABTS+ solution 900 µl에 농도별 샘플 100 µl을 첨가하여 734 nm 흡광도 변화를 측정하였다. 각 시료 추출물의 라디칼 소거활성능은 시료용액의 첨가구와 무첨가구의 흡광도감소율을 %로 나타내었다.

6. ·OH (Hydroxyl radical) 소거능

·OH 소거능 측정은 Fenton 반응으로 생성된 ·OH에 의해 핵산의 구성당인 deoxyribose가 분해되는 정도를 TBA 발색법을 이용하여 측정한다. 시험관에 각 부위별 추출물 0.2 ml에 10 mM FeSO₄/EDTA 용액 0.2 ml, 10 mM 2-deoxyribose 0.2 ml, 0.1M phosphate buffer (pH 7.4) 1 ml를 잘 혼합하였다. 연이어 10 mM H₂O₂ 0.2 ml를 가하고 37°C에서 4시간 반응시킨 후 2.8% TCA (trichloroacetic acid)용액 1 ml와 1.0% TBA (thiobabituric acid)를 첨가하여 100°C에서 10분간 가열한 후 급속 냉각시켜 532 nm에서 UV/VIS 분광도계로 흡광도를 측정하였다.

7. 통계방법

실험결과와 통계 처리는 SPSS 11.5 (SPSS Inc, USA)를 이용하였으며 one-way-ANOVA를 실시, 분석결과에 대한 p<0.05의 수준에서 LSD 다중 검정법으로 사후 검정을 실시하여 각 처리구간의 평균치에 대한 유의성을 분석하였다.

III. 결 과

1. 신선육자환 추출물의 총 폴리페놀 및 총 플라보노이드 함량 분석

총 페놀성 물질은 2차 대사산물의 하나로 식물계에 널리 분포되어 있다. 다양한 구조와 분자량을 가지며 phenolic hydroxyl기를 가지므로 단백질 및 거대분자와의 결합이 용이하여 항산화 등과 같은 생리활성 기능을 나타내게 된다. 따라서 본 실험에서 SSY 추출물의 항산화 활성 물질인 총페놀성 함량 및 총 플라보노이드 화합물 함량을 측정하였다. 추출물에 함유된 총 폴리페놀화합물 및 플라보노이드는 g 건조 시료당 tannic acid 및 rutin으로 표현했을 때 각각 25.53 mg, 18.9 mg이었다(Table 2).

Table 2. Polyphenol and flavonoid contents of ethanol extract from *Shinsun-yukza-hwan*.

Total Phenolic compound (Tannin mg/g)	Total Flavonoid contents (Rutin mg/g)
25.53±2.97	18.90±0.47

Data are presented as meas ± SE of triplicate tests.

2. 신선육자환 추출물의 DPPH (1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl) 소거 활성능 측정

전자공여능은 활성 라디칼에 전자를 공여하여 식품중의 지방질 산화를 억제하거나, 인체 내에서는 활성 라디칼에 의한 노화를 억제시킬 수 있는 능력을 의미한다. SSY 추출물의 농도별 DPPH 라디칼 소거활성을 측정한 결과 농도의존적으로 증가하였으며, SSY 0.5 mg/ml, 1 mg/ml, 5 mg/ml 처리군에서 각각 72% 및 76%, 85%의 라디칼 소거능을 나타내었다. 특히 5 mg/ml 처리군에서는 87%의 저해 활성을 나타낸 BHA 처리군과 유사한 소거 활성을 보였다(Figure 1).

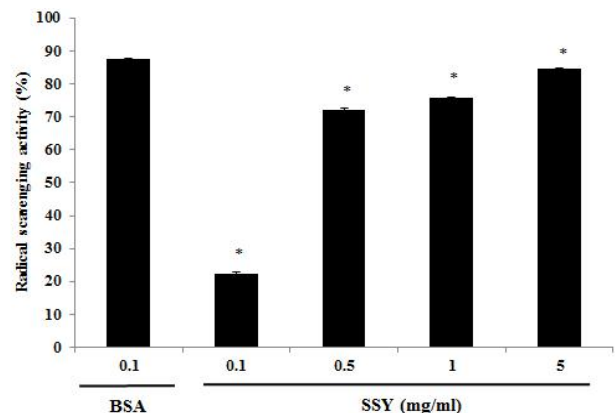


Figure 1. DPPH radical scavenging activity (%) of *Shinsun-yukza-hwan* ethanol extract. Data are presented as meas ± SE of triplicate tests. *p < 0.05 SSY¹⁾ vs BHA²⁾ group. 1) *Shinsun-yukza-hwan*, 2) butylated hydroxyanisole

3. 신선육자환 추출물의 환원력 (Reducing power) 측정

환원력은 산화된 물질을 환원시키는 능력을 측정하는 것으로 시료가 항산화제로서 사용될 수 있음을 나타내는 대표적인 지표이다. SSY 추출물의 농도별 환원력을 측정한 결과, 농도의존적으로 증가하였는데, SSY 1 mg/ml 처리군은 합성항산화제인 BHA처리군에 비해 72%의 환원력을 보였으며, SSY 5 mg/ml 처리군에서는 합성항산화제인 BHA보다 유의적으로 증가하였다(Figure 2).

4. 신선육자환 추출물의 ABTS 라디칼 소거 효과 측정

ABTS는 비교적 안정한 자유라디칼로 DPPH 방법과 함께 항산화활성을 탐색하는데 주로 이용된다. DPPH 결과와 마찬가지로

가지로 농도 의존적으로 자유라디칼 소거활성이 증가하는 것으로 나타났다. SSY 추출물의 0.5 mg/ml, 1 mg/ml 처리군에서는 양성대조군인 BHA 처리군의 80% 이상의 라디칼 저해율을 보였고, SSY 추출물 5 mg/ml 처리군에서는 양성대조군인 BHA 처리군보다 ABTS 라디칼 저해율이 유의하게 증가하였다(Figure 3).

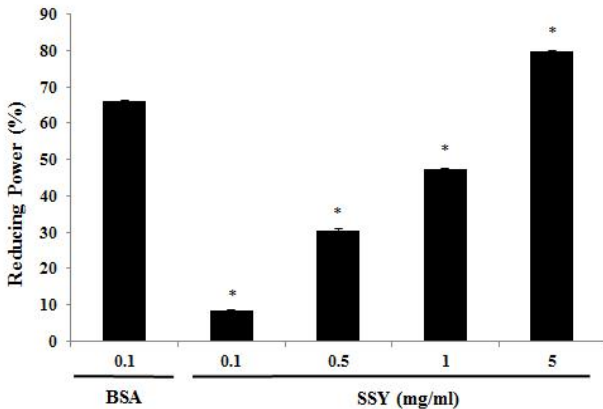


Figure 2. Reducing power (%) of *Shinsun-yukza-hwan* ethanol extract. Data are presented as meas ± SE of triplicate tests. * $p < 0.05$ SSY¹⁾ vs BHA²⁾ group. 1) SSY: *Shinsun-yukza-hwan*, 2) BHA: butylated hydroxyanisole

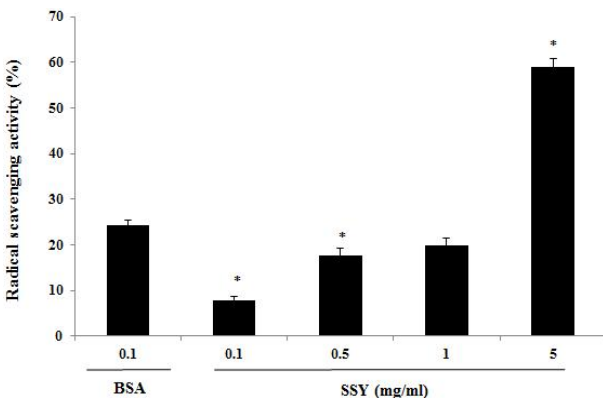


Figure 3. ABTS radical scavenging activity (%) of *Shinsun-yukza-hwan* ethanol extract. Data are presented as meas ± SE of triplicate tests. * $p < 0.05$ SSY¹⁾ vs BHA²⁾ group. 1) SSY: *Shinsun-yukza-hwan*, 2) BHA: butylated hydroxyanisole

5. 신선육자환 추출물의 ·OH (Hydroxyl radical) 소거능 측정

Hydroxyl radical은 세포에 손상을 주는 강력한 free radical로서, 활성산소 중 반응성이 매우 강한 물질로, 피부 세포막의 지질의 과산화반응을 일으키고, DNA의 핵산과 결합하여 발암성, 돌연변이 및 세포독성을 유발하는 등 생체 산화에 주된 역할을 한다. SSY 추출물의 농도별 hydroxyl radical 소거활성을 측정할 결과, 전반적으로 양성대조군인 BHA처리군보다 낮은 hydroxyl radical 소거활성을 보였는데, 5 mg/ml 처리군에서 BHA 처리군에 비하여 40% 정도의 소거활성능이 측정되었다(Figure 4).

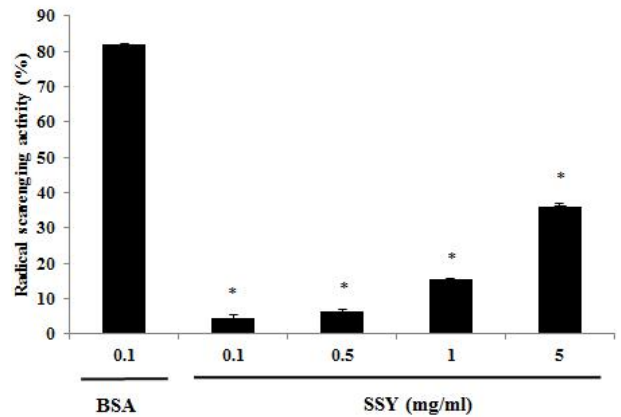


Figure 4. Hydroxyl radical scavenging activity (%) of *Shinsun-yukza-hwan* ethanol extract. Data are presented as meas ± SE of triplicate tests. * $p < 0.05$ SSY¹⁾ vs BHA²⁾ group. 1) SSY: *Shinsun-yukza-hwan*, 2) BHA: butylated hydroxyanisole

IV. 고찰

최근 biomedical science 분야에서 항노화 및 다양한 질병에 자유라디칼들의 관련성이 대두되고 있다. 우리들은 생체막의 불포화 지방산 산화를 유도하고 막의 유동성을 저하시키며, 각종 효소와 수용체의 활성을 저하시킴으로써 막 단백질이 손상을 함께 유도함으로써 세포를 불활성화시켜 결론적으로 세포의 노화 및 각종 질병의 원인이 되는 것으로 알려져 있다¹⁷⁾. 따라서 이러한 자유라디칼의 발생을 억제하여 연속적인 산화 반응으로부터 생체를 보호하고 노화를 억제할 수 있는 항산화능은 화장품원료로서의 필수항목이라 할 수 있다.

산화로 야기되는 노화현상에 대한 한의학적 연구역시 지속적으로 보고되고 있는데, 본 한약처방전에 포함된 약재들은 토사자, 금령자, 구기자, 복분자, 오미자, 사상자, 모과, 하수오, 소회향, 지골피, 숙지황, 우슬 등이 포함된 신선육자환 처방으로 대부분은 강력한 항산화 및 항염증 효능이 입증된 바 있다^{4,18~27)}. 각각의 유효성분들과 이에 대한 효능들을 보고한 연구는 많이 진행 되었지만, 신선육자환에 관련된 연구결과는 전무한 실정이다. 이에 본 연구에서는 신선육자환의 항산화능 기초 연구로서 총 폴리페놀 및 플라보노이드 함량을 측정하였고, DPPH 라디칼소거능, hydroxy radical 소거능, ABTS, 환원력 등의 항산화 활성을 분석하였다.

신선육자환 구성 한약물 각각의 폴리페놀 및 플라보노이드 함량을 분석한 연구^{5,22,28~32)}를 각각 살펴보면, 폴리페놀 함량은 오미자 12.69 mg/ml, 하수오 6.49 mg/ml, 토사자 에탄올 추출물 20.1 mg/ml, 구기자 에탄올 추출물의 경우 수확시기별로 4 ~ 6 mg/ml 었다. 또한 회향 메탄올 추출물(16.5 mg/ml), 복분자 열수 추출물(11.4 mg/ml), 숙지황 추출물(12.5 mg/ml)에서 다양한 분석치가 있었으며, 핵산·에탄올·열수 등 용매에 따른 모과 추출물(0.1 ~ 0.7 mg/ml)과 토우슬(2~4 mg/ml)의 보고가 있다. 각각의 플라보노이드 함량 연구는 오미자(2.94 mg/ml), 하수오(1.02 mg/ml), 토사자 에탄올 추출물(1.9 mg/ml), 구기자 열수추출물(1.15 mg/ml), 소회향 메탄올 추출물(9.3 mg/ml), 복분자 열수 추출물(0.03 ~ 0.14 mg/ml), 숙지황 (18

mg/ml), 모과(0.3 ~ 0.6 mg/ml), 토우슬(0.06 ~ 2.61 mg/ml)의 추출물 중에서 보고된 바 있다. 특히, 폐놀성 화합물들의 경우 식물의 대사적 2차 대사산물로서 hydroxyl기를 가지는 방향족화합물로 항산화 뿐 만 아니라 항암, 항고혈압, 항에이즈 등의 다양한 생리활성을 보이는데, 식물성 추출물의 경우 추출 부위나 조건·추출 방법이나 용매에 따라 이러한 유효물질 함량 및 양상에 차이가 있을 뿐 아니라 추출 성분들이 달라지기 때문에^{33,34)} 본 실험에서 사용된 각각의 소재들의 폐놀성 화합물과 처방의 수율이 다른 것으로 사료된다. 따라서 추출 조건, 추출용매 등은 본 연구와 동일하지 않아 직접적인 함량 비교는 어렵지만, 처방 구성 한약재의 각각의 폴리페놀 및 플라보노이드 함량보다 본 연구의 시료인 추출물에서 높게 측정됨으로써, 복합 처방시 시너지 효과로 인한 강력한 항산화 능력이 나타날 것으로 생각된다.

신선육자환 추출물의 경우 ABTS 라디칼 소거활성이 DPPH 라디칼 소거 활성에 비하여 높은 활성을 보였다. 대부분의 항산화 연구에서 ABTS 라디칼 소거활성의 경우 DPPH 소거활성보다 높은 활성을 나타낸다고 보고하였으며, 이는 일반적으로 ABTS 라디칼 소거활성의 경우 수소공여 항산화 물질 및 chain-breaking 항산화 물질이 함께 측정되기 때문이다. 환원력의 경우 수소전자를 제공함으로써 자유라디칼의 연쇄 반응을 변형시키고, 과산화과정에서 일정한 전구물질과 반응하여 과산화의 형성을 방해하는데, 플라보노이드 물질들은 안정된 생성물로 전환시키기 위하여 자유라디칼과 반응하거나 전자를 제공함으로써 환원과 유사한 형태로 작용함으로써 자유라디칼의 연쇄반응을 종료시킨다고 보고된다³⁵⁾. 즉 항산화 기전에 작용하는 다양한 기작 중 활성 산소종이나 유리기에 전자를 공여함으로써 항산화 활성을 검정할 때 측정된다. 신선육자환의 환원력은 농도 의존적으로 10 ~ 80% 까지 증가하였으며, 특히, 5 mg/ml 농도에서 80% 이상의 환원력을 나타내었다. 이는 양성대조군으로 사용한 0.1 mg/ml BHA의 68% 환원력보다 높은 수치로서 추출물 중 비교적 다량 함유된 총 폴리페놀 및 플라보노이드 함량과 기타 항산화 성분들의 복합 효과의 결과로 여겨진다.

Hydroxyl radical은 활성산소 라디칼 중 가장 반응성이 크고 독성이 강하며 이는 생체 내에서 세포구성 요소인 지질, 단백질, 당 뿐만 아니라 DNA 의 핵산과 결합하여 비선택적·비가역적 산화 작용을 촉진시켜 발암, 돌연변이 및 세포독성을 유발 한다³⁶⁾. 신선육자환의 Hydroxyl radical 소거 활성의 경우 농도 의존적으로 증가하는 경향을 보였으나, 그 정도가 양성대조군인 BHA의 제거능에 미치지 못하는 못하였으며, 전자공여능이나 ABTS 소거활성도 전반적으로 낮게 나타났다. 이는 천연소재들의 항산화효능 연구결과에서 보고된 바와 같이 다른 라디칼 소거능에 비해 hydroxyl radical 소거능이 비교적 낮게 측정되는 연구^{37,38)}와 유사한 결과이며, 김³⁹⁾등의 다양한 약용식물 관련 연구에서 Hydroxyl radical 소거능의 상관관계가 가장 낮다고 보고한 것과 일치하는 결과이다.

이상의 결과 신선육자환은 여러 항목의 항산화 활성 분석에서 일관된 결과를 보여 주어 항산화 소재로서 응용 가능성이 있을 것으로 사료된다. 그러나 본 연구는 시험관 수준에서의 연구로서 향후 신선육자환 장기도포 또는 복용이 동물이나 인체의 항산화능에 미치는 영향에 대한 연구 및 인체적용시험

등의 추가 연구를 통해 화장품로서의 활용을 위한 검증이 요구되는 바이다.

V. 결 론

산화와 관련된 피부 노화 예방 및 개선을 위한 기능성 화장품 소재로 신선육자환 추출물의 이용가능성을 타진하기 위한 항산화 활성 연구 결과는 다음과 같다.

1. 총 폴리페놀 및 플라보노이드 함량은 각각 25.53 ± 2.97 , 18.90 ± 0.47 mg/ml로 함량을 감안한 각각의 처방구성 단위 한약재보다 높은 함량을 나타내었다.
2. 항산화 활성 (DPPH, ABTS)에서는 농도 의존적으로 높은 활성을 나타내었으며 (10~85%), 특히 5 mg/ml 농도에서는 합성항산화제인 0.1 mg/ml BHA 보다 유의적으로 높은 활성을 나타내었다.
3. 환원력 및 hydroxyl radical 소거능의 경우 0.1 mg/ml ~ 5 mg/ml 농도군에서 각각 8~80%, 4~36%로 농도 의존적으로 소거활성이 증가하였다. 특히 환원력의 경우, 5 mg/ml 농도에서는 합성항산화제인 0.1 mg/ml BHA 보다 유의적으로 높은 활성을 나타내었다.

이상의 결과 *in vitro* 에서 신선육자환 추출물은 우수한 항산화 활성이 측정되었으나, 이는 신선육자환 추출물의 다양한 기능성 원료로서의 이용가능성을 확인하기 위한 시험관 수준의 항산화 실험이므로 추후 사람을 대상으로 하는 임상시험 등의 추가 연구를 통해 탈모방지를 포함하는 항노화 및 항산화 화장품의 소재로의 활용을 위한 연구가 뒷받침 되어야 할 것이다.

References

1. Halliwell B, Gutteridge M.C., Biologically relevant metal ion-dependent hydroxyl radical generation an update. FEBS Letters, 1992 ; 307 : 108-112.
2. Thannickal VJ, Fanburg BL, Reactive oxygen species in cell signaling. Am Physiological Soc, 2000 ; 279 : 1005-1028.
3. Choi JI, Kim YJ, Kim JH, Song BS, Yoon Y, Byun MW, Kwon JH, Chun SS, U Lee JW. Antioxidant activities of the extract fractions from Suaeda japonica. J Korean Soc Food Sci Nutr. 2009 ; 38 : 131-35.
4. Park BH, Yang HH, Cho HS. Quality characteristics and antioxidative effect of Yukwa prepared with Lycii Fructus powder. J Kor Soc Food Sci Nutr, 2012 ; 41, 745-51.
5. Anita D, Gaurav G, Ritu M. Polyphenols, flavonoids

- and antimicrobial properties of methanolic extract of fennel (*Foeniculum vulgare* Miller). *Euro J Exp Bio* ; 2013 ; 3(4) : 203–08.
6. Choi H, Lee J, Shin HJ, Lee BG, Chang I, Hwang JS. Deoxypodophyllotoxin reduces skin pigmentation of brown Guinea pigs. *Planta Medica*, 2004 ; 70: 378–80.
 7. Park SN. Effect of natural products on skin cells: action and suppression of reactive oxygen species. *J. Soc. Cosmet. Scientists Korea*. 1999 ; 25 : 77–127.
 8. Cha JY, Kim HJ, Chung CH, Cho YS. Antioxidative activities and contents of polyphenolic compound of *Cudrania tricuspidata*. *J Korean Soc Food Sci Nutr*, 1999 ; 28 : 1310–15.
 9. Lee HS, Ahn TW. Anti-aging and Anti-oxidative Effect of Gongjinhugwon-dan in early stages of aging rats. *J Sasang Constitutional Med*, 2007 ; 19(3) : 242–56.
 10. Lim JP, Ahn TW. The anti-oxidative and immune-regulatory effect of Chungsimyeonja-tang in aged rat. *J Sasang Constitutional Med*. 2007 ; 19(3) : 227–41.
 11. Lee AL, Chung HY. Biological activities of a Korean traditional prescription, Nogyongdaebotang. *J Korean Soc Food Sci Nutr*. 2004 ; 33(1) :28–33.
 12. Choi BC, Ahn TW. Anti-oxidant effect of Hyangsayangyi-tang decoction in stomach, spleen and pancreas cell of SD rats. *J Sasang Constitutional Med*. 2008 ; 20(2) : 72 – 84.
 13. Lee JY, Ahn TW, Anti-Oxidative Effect of Seungyangikki-tang decoction in spleen, pancreas and stomach cells of SD rats. *J Sasang Constitutional Med*, 2010 ; 22(2) : 82–92.
 14. Jo YS, Kim KY, Jang SH. *Beauty donguibogam*, Seoul : seongbosa, 2004 ; 319–20.
 15. Gutfinger T. Polyphenols in olive oil. *J Am Oil Chem, Soc*. 1958 ; 58 : 966–68.
 16. Singleton VL, Orthofer R, Lamuela RM. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of folin-ciocaleau reagent. *Meth. Enzymol*. 1999 ; 299 : 152–78.
 17. Halliwell B. Antioxidants in human health and disease. *Ann Rev Nutr*. 1996 ; 16 : 33–50.
 18. Bo MH, Seo HS. The comparative study of anti-inflammatory, antioxidant and antibacterial effects with regard to the extraction solvents of *Cuscutae Semen*. *J Pharmacopuncture*. 2011 ; 14(1) : 79–86.
 19. Jang TS, Yang JC, Lim SY, Kim BA. Antioxidant and antihemolytic activity of ethanol extracts of *Rubus coreanus* Miquel. *J Kor Oil Chemists' Soc*. 2014 ; 31(1) : 130–135.
 20. Nam SY, Lee JY, Ko JS, Kim JB, Jang HH, Kim HR, Lee YM. Changes in antioxidant and antimicrobial activities of *Schizandra chinensis* Baillon under different solvent extraction. *Kor J Int Agric*. 2014 ; 26(4): 513–18.
 21. Oh JH, Kim DR, Park SY, Chang MS, Park SK. The antioxidant activity of *Cnidii Fructus* and *Torilis Fructus* in Leydig cells. *Kor J Herbology*. 2014 ; 29(6) : 111–116.
 22. Lee YM, Shin HD, Lee JJ, Lee MY. Antioxidative effect of *Chaenomelis Fructus* ethanol extract. *Kor J Food Preserv*. 2007 ; 14(2) : 177–82.
 23. Choi HK, Jang YY, Oh JH. Antioxidant and antimicrobial activities of Jeok Hasuo (*Polygonum multiflorum* Thunb.) and Baek Hasuo (*Cynanchi wilfordii Radix*) root extracts. *Kor J Food Preserv*. 2016 ; 23(3) : 432–37.
 24. Lee EJ, Jang KH, Hussain M, Lee DJ. Estimation of antioxidant and trosinase inhibition activities in different species of Apiaceae family. *Kor J Intl Agri*. 2011 ; 23(4) : 382–88.
 25. Lee G. Monitoring of antioxidant activities with dried Gugija (*Lycium chinensis* Mill) extraction. *Korean J. Food Preserv*. 2016 ; 23(6) : 859–65.
 26. Kim HJ, Lee JY, You BR, Soo DE, Kim MR. *Kor J Medicinal Crop sci*. 2011 ; 19(5) : 341–46.
 27. Kang MY, Lee SH, Lee SW, Cha SW, Song JL, Lee SC. Effect of *Achyranthis Radix* and *Drynariae Rhizoma* extracts on antioxidant activity and antioxidant enzymes. *Kor J Plant Res*. 2015 ; 28(5) : 600–07.
 28. Park SJ, Park WJ, Lee BC, Kim SD, Kang MH. Antioxidative activity of different species *Lycium chinensis* Miller extracts by harvest time. *J Kor Soc Food Sci Nutr*. 2006 ; 35(9) : 1146–50.
 29. Jun HI, Kim YA, Kim YS. Antioxidant activities of *Rubus coreanus* Miquel and *Morus alba* L. Fruits. *J Kor Soc Food Sci Nutr*. 2014 ; 43(3) : 381–88.
 30. Lee YS, Kim MS, Kim DJ, Sohn HY. A comparison of the components and biological activities of the ethanol extracts of *Achyranthes japonica* Nakai and *Achyranthes bidentata* Blume. *Kor J Microbiol. Biotechnol*. 2013 ; 41(4) : 416–24.
 31. Rhim JW, Xi Y, Jeong WC, Ham KS, Chung HS, Kim ES. Effect of drying method on antioxidant activity of Jiwhang (*Rehmannia glutinosa*). *Food Sci. Biotechnol*. 2009 ; 18(6) : 1464–69.
 32. Ewelina P, Izabela GK, Halina WZ., Micropropagation of *Rehmannia glutinosa* Libosch.: production of phenolics and flavonoids and evaluation of antioxidant activity. *Acta Physiol Plant*. 2014 ; 36 : 1693–702.
 33. Kim YC, Chung SK. Reactive oxygen radical species scavenging effects of Kor medicinal plant leaves. *Food Sci Biotechnol*. 2002 ; 11 : 407–11.

34. Wettasinghe M, Shahdi F. Antioxidant and free radical-scavenging properties of ethanolic extracts of defatted borage (*Borago officinalis* L.) seeds. *Food Chem.* 1999 ; 67 : 399-414.
35. Bloknina O, Virolainen E, Fagerstedt KV. Antioxidants, oxidative damage and oxygen deprivation stress. *Ann Bot.* 2003 ; 90 : 179-94.
36. Casa CL, Villegas I, Alarcon de la Lasta, C Motilva V, Martin Calero MJ. Evidence for protective and antioxidant properties of rutin, a natural flavone, against ethanol induced gastric lesions. *J Ethnopharmacology.* 2000 ; 71 : 45-53.
37. Shin JH, Lee SJ, Seo JK, Jeon EW, Sung NJ. Antioxidant activity of hot-water extract from Yuza (*Citrus junos* SIEB ex TANAKA) Peel. *J life Science.* 2008 ; 18(12) : 1745-51.
38. Hyon JS, Kang SM, Senevirathne M, Koh WJ, Yang TS, Oh MC, CK Oh, Jeon YJ, Kim SH. Antioxidative activities of dried and fresh Citrus Peels in Jeju. *Kor J. Food cookery Sci.* 2010 ; 26(1) : 88-94.
39. Kim SM, Cho YS, Sung SK. The antioxidant ability and nitrite scavenging ability of plant extracts. *Kor J Food Technol.* 2001; 33 : 626-32.