

식물 추출물을 이용한 천연 자외선 차단제 개발

문지선[†]

중원대학교 의료뷰티케어학과, 교수
(2020년 9월 15일 접수: 2020년 10월 13일 수정: 2020년 10월 16일 채택)

Development of natural sunscreen using plant extracts

Ji-Sun Moon[†]

*Professor Dept. of Medical Beauty Care Jungwon University
(Received September 15, 2020; Revised October 13, 2020; Accepted October 16, 2020)*

요약 : 본 연구는 다양한 식물 추출물들이 가지고 있는 항산화 능력과 자외선 차단 능력을 동시에 조사하여 추후, 항산화 효과가 있는 자외선 차단제를 개발하고자 실험을 실시하였다. 먼저 33종의 식물 추출물들의 자외선 차단 능력을 조사하기 위하여 자외선 파장 280~400nm 사이의 흡광도 스펙트럼을 조사하고, 이로부터 우수한 자외선 차단능력을 갖는 것으로 보이는 식물 추출물로 황금, 홉, 녹차, 감초, 방풍, 칩, 그라비올라, 밀싹, 상백피, 가시박, 옷, 등 11종을 선별하였다. 선별된 식물추출물의 총 폴리페놀 함량, 총 플라보노이드 함량, DPPH radical 소거 활성을 측정하여 항산화 활성 정도를 살펴보고, 이로부터 다시 자외선 차단 능력과 항산화 활성이 동시에 우수한 식물 추출물로 황금, 홉, 감초추출물 3종을 선정하였다. 선정된 황금, 홉, 감초추출물을 1:1:1로 혼합하여 겔 형태의 크림을 제조하고, 이 크림이 가지는 자외선 차단 효과를 배양된 세포에 자외선을 조사하였을 때 보여주는 세포 손상 방어 효과를 측정하는 방법으로 결정하였다. 연구 결과, 선정된 식물 추출물의 혼합물은 자외선 흡수 능력에서 상호 보완적이며, 세포 손상 방어 효과도 증가하였음을 확인하였다. 이와 같은 결과를 통하여 다양한 식물 추출물들이 가지고 있는 항산화 능력과 자외선 차단 능력을 동시에 결정할 경우 항산화 효과가 있는 자외선 차단제 개발이 가능함을 확인하였다.

주제어 : 항산화, 자외선차단, 황금, 홉, 감초

Abstract : In this study, an experiment was conducted to develop a sunscreen with antioxidant effects by simultaneously investigating the antioxidant and UV protection capabilities of various plant extracts. First, to investigate the UV-blocking ability of 33 kinds of plant extracts, the absorbance spectrum between the UV wavelength of 280 to 400 nm was investigated. Arrowroot, graviola, wheat sprout, sangbaek skin, thorn meal, lacquer, etc. 11 species were selected. The total polyphenol content, total flavonoid content, and DPPH radical scavenging activity of the selected plant extracts are measured to examine the degree of antioxidant activity, and from this, it is a

[†]Corresponding author
(E-mail:mjs@jwu.ac.kr)

plant extract that has excellent UV protection and antioxidant activity at the same time. The species was selected. A gel-shaped cream is prepared by mixing the selected gold, hops, and licorice extracts in a ratio of 1:1:1, and the UV protection effect of this cream is measured when the cultured cells are irradiated with UV rays. Determined by the method. As a result of the study, it was confirmed that the selected mixture of plant extracts complemented each other in terms of ultraviolet absorption ability and increased cell damage protection effect. Through these results, it was confirmed that it was possible to develop a sunscreen with an antioxidant effect if the antioxidant and sunscreen capabilities of various plant extracts were determined at the same time.

Keywords : Antioxidant, Sun Protection, *Scutellariae Radix*, *Humulus lupulus*, *Glycyrrhiza glabra*

1. 서론

피부는 최외각 보호기관으로, 외부의 화학적, 물리적 생물학적 장벽기능을 수행하고 있을 뿐만 아니라, 다양한 외부 요인과 접촉하고 있기 때문에 손상을 받기 쉽다. 주 손상 인자는 자외선, 미생물의 번식, 오염물질, 미세먼지 등으로 대표적인 예로 들 수 있다[1]. 대표적인 손상 인자로 자외선의 종류로 장파장 UVA(320-400 nm), 중파장 UVB(290-320 nm), 단파장 UVC(200-209 nm)로 나누어진다. 자외선으로 인한 광노화는 주로 UVB가 노화를 일으키는 주요 원인으로, 단백질분해효소인 matrix metalloproteinase (MMPs)의 생산을 유도하고[2], 피부 각질 세포 내 DNA 손상과 조직의 산화적 스트레스(oxidative stress)를 유발하는[3]광노화의 주요 원인이다[4, 5, 6]. UVA와 UVB는 일시적, 영구적인 유전자의 손상과 분화, 성장, 노화 및 결체조직 퇴행과 관계된 세포질 내에서 신호 전달 경로를 활성화시킨다[7, 8].

자외선은 피부병의 광선치료, 비타민 D의 피부 내 합성, 살균, 광합성 등 이로운 측면이 있는 반면[9], 일광화상, 색소침착, 피부암 등 각 중 피부 질환과 백내장을 유발하고 면역체계에 영향을 주는 등 여러 가지 문제를 일으킬 수 있다[10, 11]. 자외선에 대한 피부의 노출은 필수불가결한 부분이며 인간의 생활에 꼭 필요한 요소로 과도한 자외선의 노출은 피부에 여러 가지 악영향을 일으킨다. 자외선차단제는 피부를 자외선으로부터 보호하는 목적으로 자외선을 흡수하거나 피부 표면에서 자외선을 산란, 반사시켜 물리적, 화학적으로 차단하는 역할을 한다[12, 13, 14]. 자외선차단제의 효과는 자외선 조사 시 정상 건강인에게

나타나는 피부 홍반 반응, 즉 자외선차단제 도포 시에 대한 도포하지 않은 시의 최소홍반량의 비로 산출되는 자외선차단지수로 나타난다. 자외선에 의한 광노화 현상은 피부 노화의 주범으로 알려져 있다. 따라서 피부 노화를 막기 위해서는 외출 전 먼저 자외선 차단제를 사용해야 하고 이와 함께 항노화 화장품을 병행하여 사용하는 것이 일반적인 방법이다[14, 15].

그러나 자외선 차단제에는 피부에 자극적인 인공합성 자외선 차단성분이 많이 들어감으로 매일 사용하기에는 다소 문제가 있다[16, 17]. 이러한 단점을 극복하는 방법의 하나로 피부에 비교적 자극이 적은 식물 추출물로부터 자외선 차단성분을 개발하고, 또 동시에 이들이 가지고 있는 항산화 능력을 이용할 수 있다면 효과적인 천연 소재의 자외선 차단제를 개발할 수 있을 것이다[18]. 지금까지 식물이 가지고 있는 자외선 차단 능력을 찾기 위해서 많은 식물성 오일이나 식물 추출물에서 분리한 폴리페놀들을 이용한 천연 자외선차단제 개발이 시도 되었다[19-24]. 그러나 자외선에 노출된 피부 세포는 많은 양의 활성산소종을 만들게 되는데, 이렇게 단시간에 다량으로 만들어진 활성산소들은 세포 내 단백질과 DNA를 공격하여 산화적 스트레스를 유발함으로써 세포 노화를 촉진하게 된다. 따라서 효과적인 항노화 화장품 성분은 자외선 차단 효과와 항산화 효과를 동시에 가지고 있는 것들이 더 바람직 할 것이다. 본 연구에서는 다양한 식물 추출물들이 가지고 있는 항산화 능력과 자외선 차단 능력을 동시에 조사하여 항산화 효과가 있는 자외선 차단제 개발을 시도하였다.

2. 실험

2.1. 실험 재료

2.1.1. 시약 및 기기

본 실험에서 사용된 시약은 다음과 같다. 세포 실험에 사용된 시약 ascorbic acid, Folin-Denis reagent, caffeic acid, potassium acetate, aluminum nitrate, 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl, PBS (phosphate buffered saline solution) 등 Sigma Chemical (USA)로부터 구입하여 사용하였으며, 그 외의 기타 시약은 특급 시약을 사용하였다.

2.1.2. 시료 준비

본 실험에 사용된 식물은 비교적 항산화력 높다고 알려진, 황금, 고삼, 홉, 황기, 녹차, 귀리(알곡, 겨), 감초, 영경귀, 오미자, 도라지, 잣잎, 으름열매, 노니, 유근피, 뽕나무, 강황, 방풍, 감초, 쇠비름, 토과근, 칩, 그라비올라, 밀싹, 알로에베라, 더덕, 상백피, 천년초, 가시박, 쌀겨, 발효옷 등 모두 33종이다. 이들 중 고삼, 녹차, 귀리알곡, 토과근, 유근피, 밀싹, 발효옷은 100 g에 100% 증류수를 이용해 열수 추출을 하였으며 나머지는 30% 에탄올 5배 무게의 용매를 이용하여 추출하고 37°C, 100 rpm 인큐베이터 안에서 72시간 추출하였다. 추출액 분리를 위해 원심분리한 후 여과지로(whatman No.2) 여과하였으며, 추출용매인 에탄올 제거를 위해 감압농축기(EYELA, Japan)를 이용한 농축 진행을 하였다. 농축 진행 후 48시간 동결건조를 실시하였고 냉장고에 보관하면서 본 실험에 사용하였다.

2.1.3. 세포주 및 세포 배양

본 실험에 사용한 세포주인 HDF(human dermal fibroblast) 세포는 한국세포주은행(Korean Cell Line Bank, Korea)에서 구입하여 사용하였으며, 배양 시에는 High glucose Dulbecco's modified Eagle's medium (DMEM, Hyclone, USA)에 사용하였으며, 배지에 10% fetal bovine serum (FBS; Sigma-Aldrich, USA) 과 1% penicillin (100 IU/mL, GE Healthcare Life Sciences, USA), 1% penicillin/streptomycin (100 IU/ 50 mg/mL)이 첨가하여 37°C로 유지되는 5% CO₂ 습윤 incubator에서 배양하였다.

2.2. 실험방법

2.2.1. 총 Polyphenol 측정

Polyphenol 함량 측정은 Folin-Denis 방법[25]을 변형 및 수정하여 비색 정량하였다. 추출물을 각 농도별로 희석한 후 시료 400 μ L와 Folin-Denis reagent (Sigma-Aldrich, USA) 400 μ L를 혼합하여 3분간 실온에서 반응시켰다. 반응 시킨 후 10% Na₂CO₃ (Samchun, Korea)를 400 μ L를 혼합하여 암실에서 60분 반응시킨 후 상등액 200 μ L씩 96 well plate에 분주하여 760 nm에서 흡광도를 측정하였다. 동일한 조건으로 3회 반복적으로 실험하여 평균값을 측정하였다.

2.2.2. 총 Flavonoid 측정

Flavonoid 함량 측정은 Moreno방법 수정 및 변형하여 측정하였다[26]. 추출물을 각 1, 2.5, 5, 10 mg/mL로 희석한 후 시료 100 μ L 와 10% aluminum nitrate (Sigma-Aldrich, USA) 20 μ L, 1M potassium acetate (Sigma-Aldrich, USA) 20 μ L, ethanol (Duksan, Korea) 860 μ L를 차례로 혼합하여 실온에서 40분간 방치 후 원심분리기로 부유물을 가라앉힌 후 96 well plate에 200 μ L씩 분주하여 415 nm에서 흡광도를 측정하였다. 동일한 조건으로 3회 반복적으로 실험하여 평균값을 측정하였다.

2.2.3. DPPH radical scavenging activity 측정

DPPH (1,1-diphenyl-2-picryl-hydrazyl) radical 소거 활성은 blois의 방법[27]을 수정하여 항산화 측정을 시행하였다. 추출물을 농도별로 희석한 후 96 well plate에 10 mM DPPH (1,1-diphenyl-2-picryl-hydrazyl, Sigma-Aldrich, USA)용액 180 μ L와 시료액 20 μ L를 혼합하여 차광 상태에서 37°C, 30분간 반응시킨 후 517 nm에서 흡광도를 측정하였다. 동일한 조건으로 3회 반복적으로 실험하여 평균값을 측정하였다.

2.2.4. 자외선 차단 능력 측정

추출물들의 자외선 영역의 흡수 스펙트럼을 조사하고, 자외선 차단기능이 우수한 식물추출물들을 선별하기 위하여 Synergy HT (BioTek Instruments, USA)를 이용하여 280 ~ 400 nm에서 흡광도를 측정하였다.

2.2.5. 세포 손상 방어 효과 측정

인간섬유아세포 HDF(Human dermal fibroblast)를 35 Φ petri dish에 1.5×10^5 cell/ml이 되게 분주한 후 24시간 동안 전 배양하고 혈청이 없는 배지로 세척한다. Table 1과 같은 조성으로 제조된 식물추출물 자외선차단제로 볼 수 있는 겔타입 크림 0.4 mL를 취하고 어플리케이터로 석영판위에 0.04 mm의 두께로 도포한다. 이 석영판 아래에 배양한 HDF를 놓고 자외선 50 mJ/cm²의 강도로 10분간 조사하여 자외선차단제의 세포방어 효과를 조사한다. 대조군은 자외선차단제를 도포하지 않고 위와 동일한 방법으로 HDF 세포 생존율을 ELISA reader로 540 nm에서 흡광도를 측정하여 대조군과 세포생존율을 비교하였다.

2.2.6. 세포 생존율 측정

NR assay를 이용하여 HDF(human dermal fibroblast) 세포에 대한 추출물의 세포 생존율을 측정하였다. 96 well plate에 well 당 3×10^4 cells/well의 농도별로 분주하여 24시간 동안 37°C, 5% CO₂가 공급되는 배양기에서 배양하였다. 24시간 후 시료를 농도별로 희석하여 각 well plate에 처리한 후 48시간 동안 배양하였다. 배양된 세포 배양액을 NR solution (Sigma-Aldrich, USA)용액이 1% 포함된 무 혈청배지로 교환하여, 3시간 동안 배양한 다음 phosphate buffered saline (PBS)에 10% formaldehyde 용액을 첨가하여 각 well에 100 μ L씩 분주하여 20

분 고정하였다. NR desorb solution (1% glacial acetic acid, 49% ethanol, 50% distilled water)을 각 well에 100 μ L로 분주하여 세포 내의 NR을 추출하고 microplate reader를 이용하여 540 nm에서 흡광도를 측정하였다. 본 실험의 세포 생존율은 다음의 식에 따라 산출하였다.

$$\text{세포 생존율(\%)} = \frac{\text{시료첨가군의 O.D. at 540 nm}}{\text{시료무첨가군의 O.D. at 540 nm}} \times 100$$

2.3. 통계처리

본 연구의 모든 실험은 동일한 조건하에 독립적으로 3회 이상 실시하여 실험 결과를 얻었으며, 모든 실험 결과는 평균 \pm 표준편차(Mean \pm Standard Deviation)로 표기하였다. 통계 처리는 SPSS Window Version 17.0 (SPSS Inc., Illinois, USA)을 사용하여 통계 분석 처리하였다.

3. 결과 및 고찰

3.1. 식물 추출물의 자외선 차단 능력 조사

총 33종의 식물 추출물들의 자외선 영역의 흡수 스펙트럼을 조사하여 자외선 차단기능이 우수한 식물 추출물들을 선별하였다. 이를 위하여 아래 Fig. 1 에서 볼 수 있듯이 280 ~ 400 nm 파장에서 자외선 흡광도를 조사하였다. Fig. 1 으로부터 자외선 파장 340 nm에서의 자외선 흡광도

Table 1. Formula for development of photoprotective cream formulation

Ingredient	Formula 1	Formula 2	Formula 3
Cetostearyl alcohol	5	5	5
Stearic acid	2	2	2
PEG-200	2	2	2
Cetyl alcohol	1	1	1
Methyl paraben	0.3	0.3	0.3
Propyl paraben	0.06	0.06	0.06
Carbopol 940	0.5	0.5	0.5
Disodium EDTA	0.05	0.05	0.05
Triethanolamine	0.5	0.5	0.5
Benzophenone 3	3	-	-
Plant extracts	-	3	5
Distilled water		q.s. to 100	

를 조사하면 Table 2와 같다. 자외선 파장 340 nm는 자외선차단제의 broad spectrum UV protection을 결정하는 중요한 파장이다. 이와 같은 결과로 340 nm에서 우수한 자외선 차단능력을 갖는 식물 추출물은 황금, 홉, 녹차, 감초, 방풍, 칩, 그라비올라, 밀싹, 상백피, 가시박, 발효 옷, 등 11종을 선별하였다. 이 중에서 자외선 파장 280 ~ 320 nm의 UVB에 대해 차단력이 우수한 추출물로는 황금, 칩, 옷이 높은 편이었고, 자외선 파장 320 ~ 400 nm의 UVA에 대해 차단력

이 우수한 추출물로는 감초, 홉, 가시박이 높게 나타났다. 이와 같은 결과로 자연친화적 천연물로서 식물추출물성분을 활용하여 자외선 차단 능력을 여러 문헌에서 확인하였다[20-22, 28,-30]. 이 외에도 식물추출물들의 자외선 차단능력에 대한 조사한 결과를 보면 자외선으로부터 피부를 보호하는 식물추출물의 능력[31], 자외선 흡수제로서의 식물추출물성의 안정성과 효과 등으로 확인할 수 있었다[32].

Table 2. UV Absorption of various plant extract at 340 nm

Plant Extracts	UV Absorption
<i>Scutellariae Radix</i>	3.055
<i>Sophorae Radix</i>	0.251
<i>Humulus Lupulus</i>	1.316
<i>Astragalus Membranaceus</i>	0.076
<i>Green Tea</i>	0.688
<i>Avena Sativa</i>	0.152
<i>Glycyrrhiza Glabra</i>	1.6
<i>Portulaca Oleracea</i>	0.38
<i>Sea Cucumber</i>	0.035
<i>Trichosanthes Cucumeroides(DW)</i>	0.083
<i>Ueraria Thunbergiana</i>	0.872
<i>Annona Muricata</i>	1.488
<i>Wheat Sprout</i>	0.937
<i>Aloes</i>	0.013
<i>Codonopsis Lanceolata</i>	0.032
<i>Morus alba Linne</i>	1.151
<i>Trichosanthes Cucumeroides</i>	0.064
<i>Eastern Prickly pear</i>	0.311
<i>Sicyos Angulatus</i>	2.011
<i>Rice Bran</i>	0.177
<i>Fermented Rhus Verniciflua</i>	0.984
<i>Cirsium Japonicum</i>	0.432
<i>Schizandra Chinensis Baillon</i>	0.132
<i>Avena Sativa</i>	0.129
<i>Platycodon Grandiflorum</i>	0.053
<i>Pinus Koraiensis</i>	0.243
<i>Akebia Quinata</i>	0.139
<i>Morinda Citrifolia</i>	0.289
<i>Ulmi Pumila Cortex</i>	0.608
<i>Spirulina</i>	0.530
<i>Ramulus Mori</i>	0.380
<i>Curcuma longa</i>	0.328
<i>Saposhnikovia Divaricata</i>	1.275

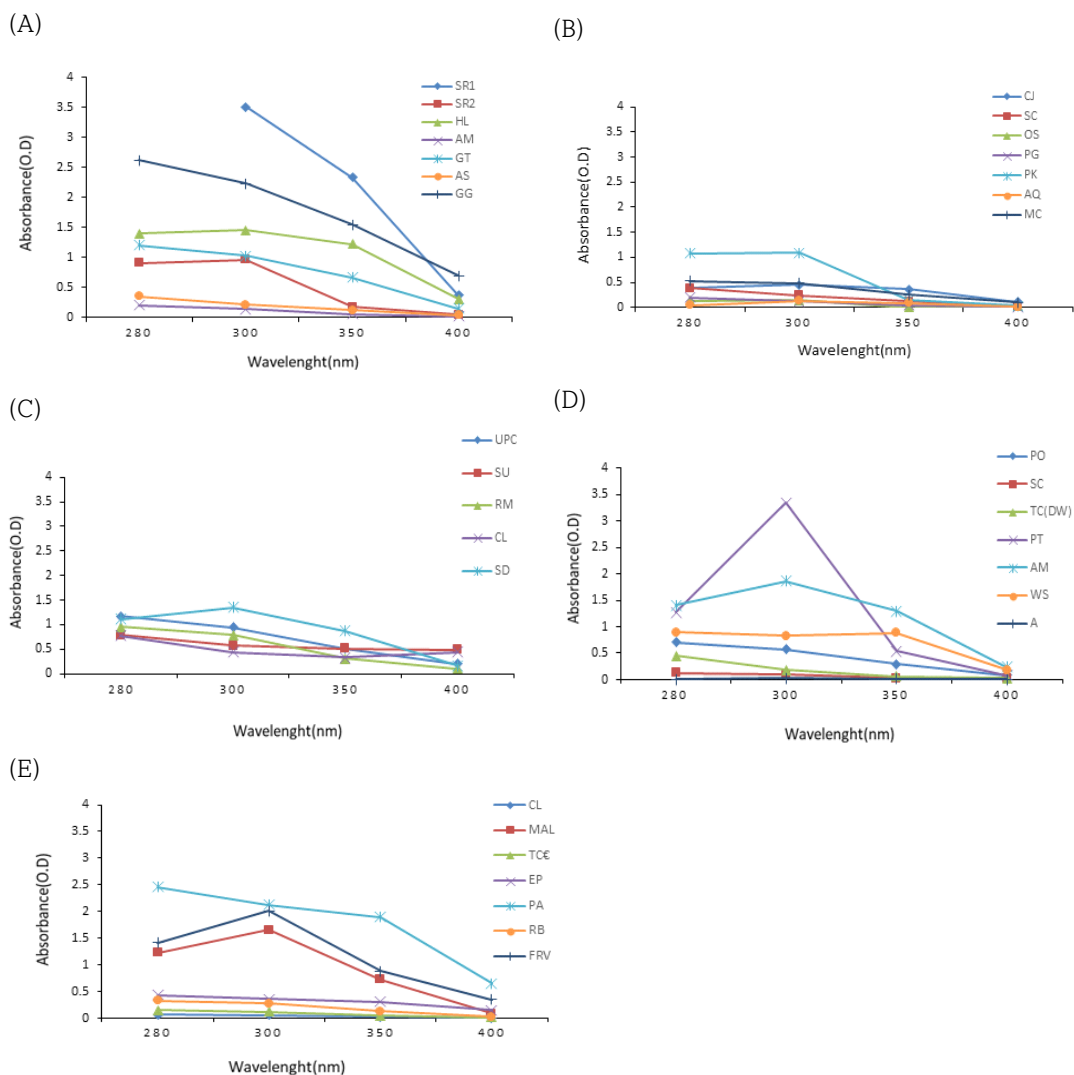


Fig. 1. Ultraviolet absorbance was investigated at a wavelength of 280 to 400 nm. Extracts with excellent UVB blocking power were identified as *Scutellariae Radix*, *Pueraria thunbergiana*, and *Fermented Rhus verniciflua*, and extracts with excellent UVA blocking power were identified as *Glycyrrhiza glabra*, *Humulus lupulus*, and *Sicyos angulatus*. SR: *Scutellariae Radix*, HL: *Humulus Lupulus*, GT: *Green Tea*, GG: *Glycyrrhiza Glabra*, SD: *Saposhnikovia Divaricata*, PT: *Pueraria Thunbergiana*, AM: *Annona muricata*, WS: *Wheat Sprout*, MAL: *Morus alba Linne*, SA: *Sicyos angulatus*, FRV: *Fermented Rhus verniciflua*, SR: *Sophorae Radix*, AM: *Astragalus membranaceus*, UPC: *Ulmi Pumila Cortex*, CJ: *Cirsium Japonicum*, SCB: *Schizandra chinensis Baillon*, PG: *Platycodon Grandiflorum*, OS: *Oryza Sativa*, AS: *Avena Sativa*, MC: *Morinda Citrifolia*, AQ: *Akebia quinata*, PK: *Pinus koraiensis*, CL: *Curcuma longa*, S: *Spirulina*, A: *Aloes*, TC: *Trichosanthes cucumeroides*, PO: *Portulaca oleracea*, SC: *Sea cucumber*, EPP: *Eastern prickly pear*, CL: *Codonopsis lanceolata*, RB: *Rice bran*, RM: *Ramulus Mori*

3.2. 식물 추출물의 항산화 활성 측정

위에서 결정한 자외선 차단능력이 우수한 식물 추출물 11종을 0.5% 농도에서 총 폴리페놀 함량과 총 플라보노이드 함량 그리고 DPPH를 이용한 항산화능력을 측정한 결과는 Fig. 2 와 같다. 총 폴리페놀의 경우(Fig. 2A), 옷과 흙의 추출물이 각각 3.5와 3.1(O.D.)로 가장 높은 함량을 포함하는 것으로 확인되었고, 총 플라보노이드의 경우(Fig. 2B)에는 황금 추출물이 2.27(O.D.)로 가장 높은 함량을 나타냈다. 페놀성 화합물은 식물체에 널리 분포되어 있는 2차 대사산물의 하나로서 다양한 구조와 분자량을 가진다. 이들은 phenolic hydroxyl(OH)기를 가지기 때문에 단백질 및 기타 거대 분자들과 쉽게 결합하며, 항산화, 합암 등인 다양한 생리활성을 가진다[33]. 또 플라보노이드는 주로 anthocyanidins, flavonols, flavones, catechins 및 flavanones 등으로 구성되어 있고, 구조에 따라 특정 플라보노이드는 항산화 및 항균성을 갖고 있는 것으로 보고되고 있다[34]. Fig. 2C는 DPPH radical 소거 활성을 측정한 결과로, 옷 추출물이 0.01(O.D.)로 가장 낮은 잔여 DPPH 농도를 나타내어 반대로 가장 높은 항산화 활성을 갖는 것으로 확인되었다. DPPH는 안정된 free radical을 가지며 수소 공여를 통해 산화되어 소거되며 잔여 농도가 낮을수록 수소 공여물질의 항산화 활성이 높음을 알 수 있다[35].

3.2.1. 식물 추출물의 항산화 활성의 상관관계 측정

Fig. 3은 추출물들의 총 폴리페놀 양과 항산화 활성과의 관계(Fig. 3A), 총 플라보노이드 양과 항산화 활성과의 관계(Fig. 3B), 340 nm에서의 흡광도와 항산화 활성과의 관계(Fig. 3C), 그리고 340nm에서의 흡광도와 총 폴리페놀과의 관계(Fig. 3D)를 조사한 그림이다. 실험결과, 어느 정도 상관관계를 나타내는 것으로는 총 폴리페놀 양과 항산화 활성과의 관계(Fig. 3A)로 총 폴리페놀 양이 증가함에 따라 항산화 활성 능력도 증가함을 알 수 있었다[36-39]. 그러나 항산화능의 증가가 총 플라보노이드 양의 증가나 340 nm에서의 흡광도 증가와는 별다른 상관관계를 나타내지 않았다. 이러한 결과들을 종합하고 재료의 안

전성 면 등을 고려하여 본 연구에서는 최종적으로 항산화력이 높고 자외선 차단능력이 동시에 우수한 식물 추출물로 황금, 흙, 감초추출물을 선정하였다.

3.3. 선정된 식물 추출물의 자외선 흡수능 측정

위와 같은 결과로, 선정된 황금, 흙, 감초추출물을 1:1:1로 혼합하여 다시 280 ~ 400 nm에서 UV 스펙트럼을 구한 결과는 아래 Fig. 4와 같다. 340 nm에서 황금, 흙, 감초 추출물의 흡광도는 각각 3.055, 1.316, 1.6이며(Table 2) 세 가지 혼합물의 흡광도는 1.76으로 황금의 흡광도에 비해서는 낮아졌으나 흙이나 감초 추출물에 비해서는 다소 증가하였음을 알 수 있다. 만약 자외선차단제 제조에 황금 추출물 단독으로 사용할 경우 380 ~ 400 nm 구간에서의 흡광도가 급격히 낮아지게 되고, 또 흙과 감초 추출물을 단독으로 사용할 경우 280 ~ 300 nm 구간에서의 흡광도가 낮아지게 된다. 따라서 자외선 차단 성분으로 각각의 추출물을 사용하는 것보다는 세 가지 혼합물을 사용하게 되면 좀 더 폭넓은 자외선 흡수 스펙트럼을 얻을 수 있으며 이것이 자외선 차단제의 조성으로는 더 적합할 것으로 판단하였다.

3.4. 자외선 조사에 의한 세포 손상 방어 효과

자외선 조사에 따른 자외선차단제의 세포 손상 방어 효과를 알아보기 위하여 위의 추출물을 포함하는 겔 형태의 자외선차단제 크림을 제조하고 이를 이용하여 자외선차단제가 세포 생존율에 미치는 영향을 조사하였다(Fig. 5.). UVB 50 mJ/cm²을 처리한 후 세포생존율을 측정한 결과, 세포를 자외선 조사로부터 보호하지 않을 경우 세포 생존율은 44.9%로 감소하였고, 반면에 벤조페논3이 3% 처방된 크림으로 보호할 경우 세포 생존율은 74%까지 증가하였다. 세 가지 식물 추출물을 3%와 5%로 처방된 크림으로 보호할 경우에는 세포 생존율이 각각 52.7%와 66.4%로 증가하여 자외선으로부터 세포 보호 효과를 확인하였다. 이와 같은 결과로부터 항산화력과 자외선차단 능력을 가진 식물 추출물을 이용할 경우 천연 성분의 자외선 차단제를 제조할 수 있다는 가능성을 확인하였다.

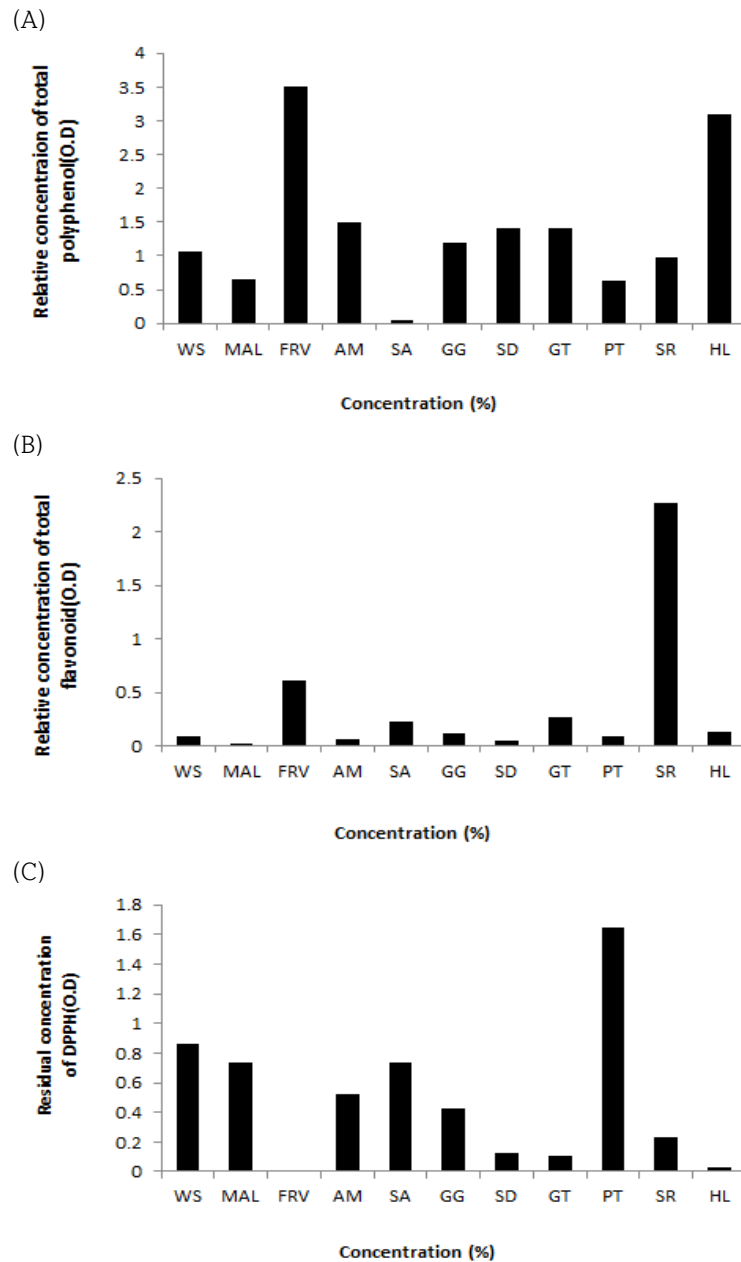


Fig. 2. As a result of measuring antioxidant activity, extracts with excellent antioxidant power were identified as *Fermented Rhus verniciflua*, *Humulus Lupulus*, *Scutellariae Radix*, *Pueraria Thunbergiana* extracts. (A) Polyphenol (B) Flavonoid (C) DPPH, WS: *Wheat Sprout* extract, MAL: *Morus alba Linne* extract, FRV: *Fermented Rhus verniciflua* extract, AM: *Annona Muricata* extract, GG: *Glycyrrhiza Glabra* extract, SD: *Saposhnikovia Divaricata* extract, GT: *Green Tea* extract, PT: *Pueraria Thunbergiana* extract, SR: *Scutellariae Radix* extract, HL: *Humulus Lupulus* extract

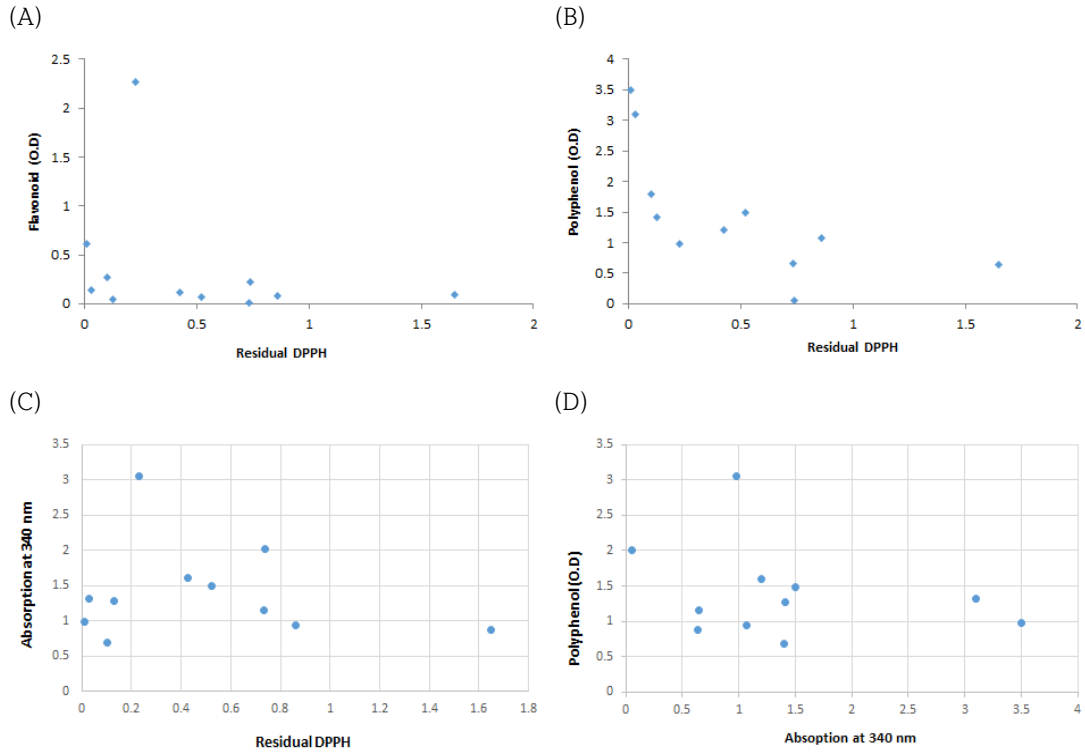


Fig. 3. Measurement of correlation of antioxidant activity. As a result of the experiment, it was confirmed that the antioxidant capacity increased as the total amount of polyphenol increased. (A) Polyphenol vs DPPH, (B) Flavonoid vs DPPH, (C) 340 nm Absorption vs DPPH, (D) 340 nm Absorption vs Polyphenol

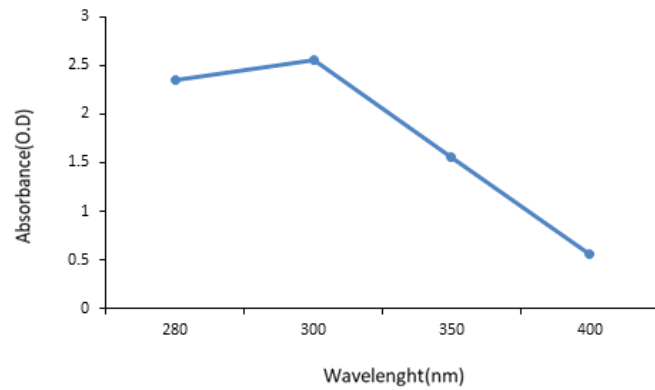


Fig. 4. Result of obtaining a UV spectrum at 220 ~ 400 nm by mixing the selected *Scutellariae Radix*, *Fermented Rhus verniciflua* and *Glycyrrhiza glabra* extracts 1:1:1.

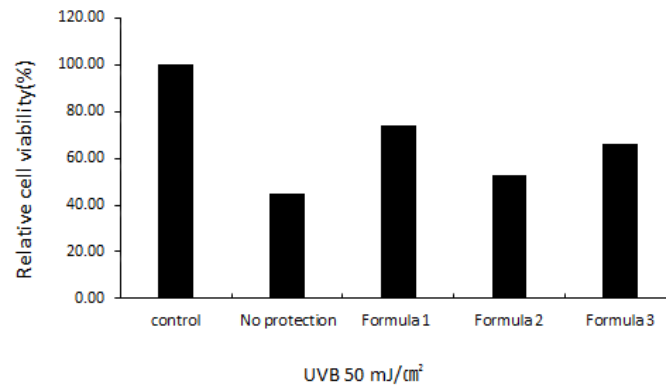


Fig. 5. Protective effect of Benzophenone and Plant extracts in UVB irradiated Human dermal fibroblast. Formula1 : Benzophenone 3%, Formula2 : Plant extracts 3%, Formula3 : Plant extracts 5%

4. 결론

본 연구는 다양한 식물 추출물들이 가지고 있는 항산화 능력과 자외선 차단 능력을 동시에 조사하여 추후 항산화 효과가 있는 천연 자외선 차단제 개발을 목표로 하였다. 식물 추출물의 자외선 차단 능력을 조사하기 위하여 280 ~ 400 nm 영역의 자외선 흡수 스펙트럼을 조사하였고, 그 결과 우수한 자외선 차단능력을 갖는 식물 추출물로 황금, 홉, 녹차, 감초, 방풍, 칩, 그라비올라, 밀싹, 상백피, 가시박, 옷, 등 11종의 식물 추출물을 선별하였다. 이렇게 선별된 식물 추출물의 총 폴리페놀 함량, 총 플라보노이드 함량, 그리고 DPPH radical 소거 활성을 측정하여 이 추출물들의 항산화 활성을 조사하였다. 그 결과 총 폴리페놀 양이 증가함에 따라 항산화능력도 증가한다는 것을 확인하였으며 이러한 결과로부터 폴리페놀 함량이 높고 340nm에서 흡광도가 높은 황금, 홉, 감초 추출물을 자외선 차단 성분으로 선정하였다. 이들 추출물이 3 ~ 5% 포함된 겔 형태의 자외선차단 크림을 만들고 이를 이용하여 자외선 조사에 대한 세포 손상 방어 효과를 측정할 결과, 식물 추출물을 포함하는 자외선차단 크림은 세포 손상 방어 효과를 증가시켰다. 이상의 결과를 통하여, 다양한 식물 추출물들이 가지고 있는 항산화 능력과 자외선 차단 능력을 동시에 측정할 경우 추후 항산화 효과가 있는 천연 자외선 차단제 개발 가능성을 확인하였다.

감사의 글

본 연구는 중원대학교 교내학술연구비 지원에 의해 수행되었습니다.
(과제관리번호: 2018-005)

References

1. B. L. Differy, "When should sunscreen be reapplied", *J. Am. Acad. Dermatol.*, Vol.45, No.6, pp.882, (2001).
2. H. Mukhtar and C. A. Elmet, "Photocarcinogenesis: mechanisms, models and human health implications". *J. Photochem. Photobiol. B.*, Vol.63, No.4, pp.355, (1996).
3. D. D. Villa, A. R. S. Nagatomi, K. Paese, S. Guterres, and T. F. Cestari, "Reapplication improves the amount of sunscreen, not its regularity, under real life conditions", *Photochem. Photobiol.*, Vol.87, No.2, pp.457, (2011).
4. Y.M. Yoon, S.H. Bae, S.K. An, Y. B. Choe, K. J. Ahn, I. S. An, "Effects of Ultraviolet Radiation on the Skin and Skin Cell Signaling Pathways". *Kor. J. Aesthet. Cosmetol.* Vol.11, No.3. pp.417-426,

- (2016).
5. H. J. Lee, "The effect of red ginseng on ultraviolet b-induced skin damages in mouse". *J. of Ginseng Research*, Vol.30, No.4, pp.194, (2006).
 6. H. Masaki, "Role of antioxidants in the skin: antiaging effects", *J. Dermatol. Sci.*, Vol.58, No.2, pp.85, (2010).
 7. I. P. Kaur, M. Kapila, and R. "Agrawal, Role of novel delivery systems in developing topical antioxidants as therapeutics to combat photoageing", *Ageing. Res. Rev.*, Vol.6, No.4, pp.271, (2007).
 8. J. Krutmann and P. Schroeder, "Role of mitochondria in photoaging of human skin: the defective powerhouse model", *J. Investig. Dermatol. Symp. Proc.*, Vol.14, No.4, pp.301, (2009).
 9. M. Brennan, H. Bhatti, K. C. Nerusu, N. Bhagavathula, S. Kang, G. J. Fisher, J. Varani, and J. J. Voorhees, "Matrix metalloproteinase-1 is the major collagenolytic enzyme responsible for collagen damage in UV-irradiated human skin", *Photochem. Photobiol.*, Vol.78, No.1, pp.43, (2003).
 10. Z. Gao, K. Huang, X. Yang, and H. Xu, "Free radical scavenging and antioxidant activities of flavonoids extracted from the radix of *Scutellaria baicalensis* Georgi", *Biochim. Biophys. Acta.*, Vol.1472, No.3, pp.643, (1999).
 11. H. J. Kim, K. S. Kim, and D. I. Kim, "Inhibitory effects of *Lespedeza cuneata* ethanol extract on ultraviolet- induced photo aging", *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.*, Vol.41, No.11, pp.1540, (2012).
 12. M. F. Naylor and K. C. Farmer, "The case for sunscreens. A review of their use in preventing actinic damage and neoplasia", *Arch. Dermatol.*, Vol.133, No.9, pp.1146, (1997).
 13. C. Kim, S. B. Jung, K. H. Lim, M. H. Kang, J. H. Ahn, J. H. Kim, H. Lee, "Development of Multifunctional Natural Sunscreen (BHC-S) Having Sun Screening and Anti-Wrinkle", *The Society of Cosmetic Scientists of Korea*, Vol.43, No.4 pp. 321-327, (2017).
 14. R. P. Stokesa and B. L. Diffey, "in vitro assay of high SPF sunscreens", *J. Soc. Cosmet. Chem.*, Vol.48, No.4, pp.289, (1997).
 15. D. L. Damian, G. M. Halliday, and R. Stc Barnetson, "Sun protection factor measurement of sunscreens is dependent on minimal erythema dose", *Br. J. Dermatol.*, Vol.14, No.3, pp. 502, (1999).
 16. I. K. "sato A mechanism of UVA induced pigmentation and UVA protection", *SOFW J.*, Vol.133, No.7, pp.12, (2007).
 17. Ichihashi M, Ueda M, Budiyanto A, Bito T, Oka M, Fukunaga M, Tsuru K and Horikawa T, "UV-induced skin damage". *Toxicol.* Vol.189, No.1, pp.21-39, (2003).
 18. C. I. Park, T. J. Kang, S. J. Lee, "Process System Engineering, Transport Phenomena, Process Safety : Effects of Rheological Properties of Emulsions Having Sun Screening Agent on Sun Protection Efficacy", *The Korean journal of chemical engineering*, Vol.41, No.5 pp.598-603, (2003).
 19. Radava R. Korać, Kapil M. Khambholja, "Potential of herbs in skin protection from ultraviolet radiation". *Pharmacognosy Reviews*. Vol.5, No.10 pp.164-173, (2011).
 20. Buso, Piergiacomo, et al. "Guidelines for the development of herbal-based sunscreen." *Herbal Medicine*. IntechOpen, (2017).
 21. Priyanka, S., et al, "A pilot study on sun protection factor of plant extracts: an observational study." *Asian. J. Pharm. Clin. Res.*, Vol.11 pp.67-71, (2018).
 22. Ahmady, A., Amini, M. H., Zhakfar, A. M., Babak, G., & Sediqi, M. N, "Sun Protective Potential and Physical Stability of Herbal Sunscreen Developed from Afghan Medicinal Plants". *Turkish Journal of Pharmaceutical Sciences*, Vol.17, No.3,

- pp.285, (2020).
23. Jangde, R., & Daharwal, S. J, "Herbal sunscreen: An overview. Research Journal of Topical and Cosmetic". *Sciences*, Vol.2, No.2, pp.35-39, (2011).
 24. Mohammad AE, Reza E, Masoumeh K, Mahdih Ghaffarloo MS, Jamshid Yazdani C, "Correlation between Sun Protection Factor and Antioxidant Activity, Phenol and Flavonoid Contents of some Medicinal Plants". *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*, Vol.13, No.3, pp1041-1047, (2014).
 25. Folin O, Denis W, "On phosphotungstic-phosphomolybdic compounds as color reagents". *The Journal of Biological Chemistry*, Vol.12, No.2, pp.239-243 (1912).
 26. Moreno MI, Isla MI, Sampietro AR, Vattuone MA, "Comparison of the free radical-scavenging activity of propolis from several regions of Argentina." *Journal of Ethnopharmacology*, Vol.71, No.1, pp.109-114, (2000).
 27. Blois MS, "Antioxidant determinations by the use of a stable free radical". *Nature*, Vol.181, No.4617, pp.1199-1200, (1958).
 28. Sébastien C, Calliste CA, Mazeron MC, Hantz S, Duroux JL, Rawlison WD, Poly MC, Alain S. Eight "flavonoids and their potential as inhibitors of human cytomegalovirus replication". *Antiviral Research*, Vol.96, No.2, pp.181-186, (2012).
 29. Kyung-dong Kim, Yong-doo Lee, Seong-soon Park, Sung-hwa Youn, Seok-hyun Lee, "The effect and stability of plant extract ingredient as uv absorber". *J. Soc. Cosmet. Scientists Korea*, Vol.26, No.1, pp.41-58, (2000).
 30. Sang Mi An, Seung Jin Lee, Kwon Moo Park, Jae Sook Koh, Yong Chool Boo, "Effects of Plant Extract containing Creams on UVB Radiation-induced Inflammatory Responses in Mice". *J. Soc. Cosmet. Scientists Korea*, Vol.36, No.4, pp.271-280, (2010).
 31. Kyung-dong Kim, Yong-doo Lee, Seong-soon Park, Sung-hwa Youn, Seok-hyun Lee, "The effect and stability of plant extract ingredient as uv absorber." *J. Soc. Cosmet. Scientists Korea*, Vol.26, No.1, pp.41-58, (2000).
 32. Korać, R. R., & Khambholja, K. M, "Potential of herbs in skin protection from ultraviolet radiation". *Pharmacognosy reviews*, Vol.5, No.10, pp.164, (2011).
 33. Yoon, Y. Bae, S. An, S. Choe, Y. B. Ahn, K. J. & An, I. S, "Effects of ultraviolet radiation on the skin and skin cell signaling pathways". *Kor. J. Aesthet Cosmetol*, Vol.11, No.3, pp.417-426, (2013).
 34. Choi, S. Y., Cho, H. S., & Sung, N. J, "The antioxidative and nitrite scavenging ability of solvent extracts from wild grape (*Vitis coignetia*) skin". *Journal of the Korean Society of Food Science and Nutrition*, Vol.35, No.8, pp.961-966, (2006).
 35. Cho EK, Gal SW, Choi YJ, "Antioxidative activity and angiotensin converting enzyme inhibitory activity of fermented medical plants(DeulBit) and its modulatory effects of nitric oxide production". *J. Appl. Biol. Chem*, Vol.53, No.2, pp.91-98, (2010).
 36. V. Bondet, W. Brand-Williams and C. Berset, "Kinetics and mechanisms of antioxidant activity using the DPPH free radical method", *LWT-Food Sci. Technol.*, Vol.30, pp.609-615, (1997).
 37. Hupel, M., Poupart, N., & Gall, E. A, "Development of a new in vitro method to evaluate the photoprotective sunscreen activity of plant extracts against high UV-B radiation". *Talanta*, Vol.86, pp.362-371, (2011).
 38. Radice, M., Manfredini, S., Ziosi, P., Dissette, V., Buso, P., Fallacara, A., & Vertuani, S, "Herbal extracts, lichens and biomolecules as natural photo-protection alternatives to synthetic UV filters". *A*

- systematic review. Fitoterapia*, Vol.114, pp.144-162, (2016).
39. Donglikar, M. M., & Deore, S. L, "Development and evaluation of herbal sunscreen". *Pharmacognosy Journal*, Vol.9, No.1, (2017).