

## 금화규(*Abelmoschus manihot*) 꽃 추출물의 *In Vitro* 피부 미백 및 주름 개선 효능 연구

권 현 지<sup>†</sup> · 범 석 현<sup>\*</sup> · 현 진 아<sup>1</sup> · 강 은 빈<sup>\*</sup> · 박 하 은<sup>\*</sup> · 한 동 근<sup>\*</sup> · 김 현 정<sup>\*\*</sup> · 최 은 영<sup>\*\*\*</sup> · 안 봉 전<sup>††</sup>

<sup>\*</sup>대구한의대학교 일반대학원 화장품약리학과, 석사 대학원생

<sup>\*\*</sup>(주)허니스트

<sup>\*\*\*</sup>대구한의대학교 화장품약리학과, 교수

(2021년 12월 22일 접수, 2021년 12월 28일 수정, 2021년 12월 28일 채택)

### An *In Vitro* Study on the Activity of *Abelmoschus manihot* L. Flower Extract on Skin Anti-wrinkle and Skin Whitening

Hyun-Ji Kwon<sup>†</sup>, Seok-Hyun Beom<sup>1</sup>, Jin-A Hyun<sup>1</sup>, Eun-Bin Kang<sup>1</sup>, Ha-Eun Park<sup>1</sup>,  
Dong-Geun Han<sup>1</sup>, Hyun-Jeong Kim<sup>2</sup>, Eun-Young Choi<sup>1</sup>, and Bong-Jeon An<sup>††</sup>

<sup>1</sup>Department of Cosmeceutical Science, Daegu Hanny University, 285-10,  
Eobongji-gil, Gyeongsan-si, Gyeongsangbuk-do 38578, Korea

<sup>2</sup>R&D Center, HONEST.Co.,Ltd.

(Received December 22, 2021; Revised December 28, 2021; Accepted December 28, 2021)

**요약:** 본 연구는 화장품 소재로서 금화규(*Abelmoschus manihot*) 꽃의 미백 활성을 및 항주름 활성을 평가하기 위해 수행하였다. 금화규 꽃은 물과 70% 에탄올을 이용하여 추출하였다. Tyrosinase 억제 활성은 물과 70% 에탄올 추출물 모두 농도 의존적으로 억제 활성이 증가 된다고 평가되었으며, B16F10 세포주에서 생존율에 영향을 미치지 않은 농도인 10, 25, 50, 75, 100  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 에서 멜라닌 생합성을 저해하는 것으로 확인되었다. 금화규 꽃의 항주름 효능으로는 collagenase와 elastase의 활성 저해 능력을 측정한 결과 70% 에탄올 추출물이 물 추출물보다 높은 항주름 활성을 보였다. 본 연구 결과를 통하여 금화규 꽃 추출물은 미백 활성과 항주름 활성을 가지는 기능성 화장품 소재로 사용 가능할 것으로 사료된다.

**Abstract:** In this study, the skin whitening and anti-wrinkle activity of *Abelmoschus manihot* (*A. manihot*) flowers were evaluated as a cosmetic material. *A. manihot* flowers were extracted using water and 70% ethanol. Tyrosinase inhibitory activity was evaluated to increase concentration-dependent inhibitory activity in both water (AMW) and 70% ethanol extracts (AME), and was found to inhibit melanin biosynthesis at concentrations that did not affect survival in B16F10 cell lines at 10, 25, 50, 75, and 100  $\mu\text{g}/\text{mL}$ . As a result of measuring the anti-wrinkle effectiveness of *A. manihot* flowers, 70% ethanol extract (AME) showed higher anti-wrinkle activity than water extract (AMW). Through the results of this study, it is considered that the *A. manihot* flower extract can be used as a functional cosmetic material with whitening and anti-wrinkle activity.

**Keywords:** tyrosinase, elastase, collagenase, cosmetic, *Abelmoschus manihot* flower

† 주 저자 (e-mail: hyunje2701@naver.com)

call: 053-819-1435

†† 교신저자 (e-mail: anbj@dhu.ac.kr)

call: 053-819-1435

## 1. 서론

최근 생명공학과 의학 기술의 발달로 자연환경 악화와 외부 유해환경 인자들로부터 인체 고유의 보호 기능과 피부의 아름다움을 위해 자연 유래 천연물 원료가 기능성 화장품 소재로 주목받고 있다[1]. 기능성 화장품은 효능, 효과를 강조한 화장품을 말하며 화장품의 안전성과 의약품의 유효성을 모두 갖춘 제품으로 지금까지는 미백, 주름 개선, 자외선 차단제만 포함되었으나, 2017년 식품의약품 안전처는 기존 기능성 화장품에 염모제, 제모제, 탈염제, 아토피성 피부 건조함 개선, 탈모 증상 완화, 여드름성 피부 완화 등의 기능을 새롭게 추가하였다[2]. 화장품 시장에서는 코스메슈티컬(cosmetic과 pharmaceutical의 합성어)이라고 알려져 있으며 단순한 피부 보습, 피부보호 차원에서 한층 더 나아가 피부의 주름, 기미, 주근깨, 각질 등과 같은 문제점을 해결하는 데 도움을 주는 화장품을 의미한다[3]. 최근에는 화장품에 미백, 주름 개선 및 자외선 차단 등 여러 기능이 복합적으로 포함되는 다중 기능성 화장품이 폭발적으로 증가하고 있으며, 이러한 다중 기능성 화장품은 단독 기능성 화장품의 연평균 증가율인 28%에 비해 2배 이상으로 빠르게 증가하고 있어서 기능성 화장품 소재의 중요성이 강조되고 있다[4].

인체의 피부는 외부에 노출되어 항상 주위 환경과 접촉되어 있으므로 미세먼지, 태양 자외선, 화학물질 및 미생물 등의 위협을 받고 있다[5]. Melanin은 표피의 기저층에 존재하는 melanin 세포에서 분비되는 검은색 또는 갈색의 색소로 피부, 눈동자, 머리카락 색을 결정한다[6,7]. 멜라닌 생합성 경로의 주요 효소인 tyrosinase는 melanosome 내부에서 tyrosine을 산화시켜 DOPA를 생성하는 tyrosine hydroxylase의 기능[8,9]과 또한, DOPA를 산화시켜 DOPA quinone을 만드는 DOPA oxidase로서 작용하여 멜라닌 중합체를 합성하는 핵심 효소로 작용한다[10]. 현재까지 티로시나아제 관련 단백질을 저해해 멜라닌 생성을 억제하는 방법은 피부 미백제 개발을 위해 화장품 연구에서 널리 사용되고 있다[11,12]. 그러나 기존에 사용되던 피부 미백 성분인 kojic acid, azelaic acid, hydroquinone은 피부 독성과 암을 유발할 뿐만 아니라 알레르기를 유발한다는 알려져 있다[13]. 주름은 피부 노화의 주요 증상 중의 하나이며 활성산소종(reactive oxygen species, ROS)은 주름 형성에 중요한 인자 중 하나로 알려져 있다[14,15]. 이러한 ROS에 의해 유도된 산화적 스트레스는 염증성 tumor necrosis factor

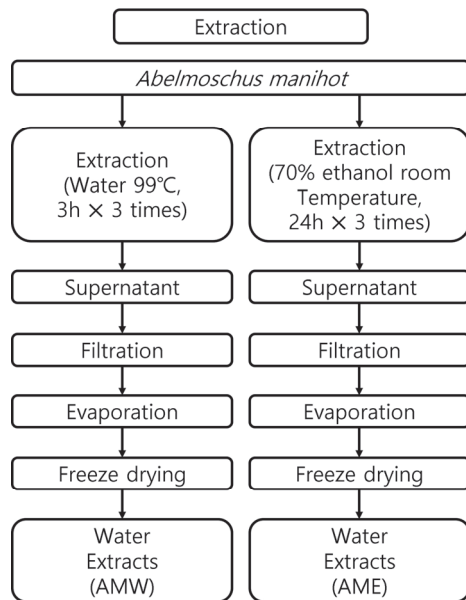
(TNF)- $\alpha$ 와 interleukins (ILs)의 생성을 촉진한다. 피부의 염증 매개체는 matrix metalloproteinase (MMP) 활성화를 일으키며, MMP는 세포외기질을 분해하여 분해된 기질과 사이토카인의 증가를 일으키게 되어 피부 탄력과 수분의 손실을 가져오고 최종적으로 주름이 생성되게 된다[16,17]. 그래서 주름 개선 연구는 항산화, 항염증, MMPs와 ILs의 mRNA 발현 억제 연구를 통해 이루어지고 있으며, 대표적인 주름 개선 성분은 retinol, retinyl palmitate, adenosine, polyethoxylated retinamide 등이 있다[18]. 따라서 천연 성분을 기반으로 더욱 안전하고 효과적인 피부 미백 및 주름 개선제의 개발이 요구되고 있다.

금화규(金花葵, *Abelmoschus manihot* L. *A. manihot*)는 아욱과(Malvaceae)의 일년생 초본식물로 국내에서는 골든히비스커스, 황촉규(黃蜀葵), 황금해바라기 등으로 알려져 있으며[19], 전통적으로 이뇨, 해독, 부종 억제 등의 효능이 있어 동아시아 지역에서 사구체신염 치료에 많이 사용되고 있다[20,21]. 주요 성분으로는 flavonoids[22], organic acids[23], nucleosides, and amino acids[24,25] 화합물이 함유되어 있는데 여기에는 quercetin-3-O-robinobioside, gossypetin-3-O-glucoside, quercetin-3'-O-glucoside, isoquercetin, hyperoside, myricetin, gossypetin, quercetin 등이 있으며 중국에서 전통적으로 황달과 만성 간염 치료에 사용되고 있을 뿐 아니라 이외에도 항산화[26], 항균[27], 항염증[28], 항암[29], 신경보호[30] 효과와 같은 약리작용이 있다고 알려져 있다. 그러나 금화규의 미백 및 주름 개선 효과에 대해서는 지금까지 연구되어 있지 않으며, 이에 본 연구에서는 금화규 추출물이 세포 독성에 미치는 영향과 피부 미백에 관여하는 melanin contents, tyrosinase 활성 저해 효과 및 주름 생성에 관여하는 elastase, collagenase 억제에 대한 효과와 작용기전 연구를 통하여 천연 기능성 화장품 소재로의 활용 가능성을 알아보고자 하였다.

## 2. 재료 및 방법

### 2.1. 시료의 추출

본 실험에 사용한 금화규(*A. manihot*) 꽃은 영주시 풍기읍(Korea)에서 공급받아 꽃 부위만 따로 분리하여 -20 °C 냉동실에 보관하면서 본 실험의 시료로 사용하였으며, Figure 1과 같은 방법으로 추출하였다. 금화규 꽃 열수 추출물(*A. manihot* water extract, AMW)은 시료 200 g 중량의 30 배 증류수를 가하여 99 °C에서 3 h 동안 총 3회 반복하



**Figure 1.** The procedure for water and organic solvent extraction of *Abelmoschus manihot*.

여 추출하였으며, 70% 에탄올 추출물(*A. manihot* ethanol extract, AME)은 시료 400 g 중량의 20 배 70% 에탄올을 가하여 실온에서 24 h 동안 총 3 회 반복하여 추출하였다. 각각의 추출액을 여과지(Whatman No.2, Sigma-Aldrich, USA)로 여과한 뒤 rotary vacuum evaporator (HS-10SP, Hahnshin S&T, Korea)를 사용하여 농축한 후 동결건조기(FD5525, Ilshin BioBase, Korea)로 동결 건조하여 냉동실에 보관하며 사용하였다.

## 2.2. Tyrosinase 저해 활성

Tyrosinase 저해 활성 측정은 Yagi 등의 방법[31]에 따라 측정하였다. 반응구는 0.1 M sodium phosphate buffer (pH 6.8) 0.5 mL에 10 mM L-DOPA를 녹인 기질액 0.2 mL 및 시료 용액 0.1 mL의 혼합액에 mushroom tyrosinase (110 U/mL) 0.2 mL을 첨가하여 37 °C에서 10 min 반응시켜 반응액 중에 생성된 DOPA chrome을 475 nm에서 측정하였다. Tyrosinase 저해 활성은 시료 용액의 첨가구와 무첨가구의 흡광도 감소율로 나타내었다. 이때 tyrosinase 저해 활성은 양성대조군 ascorbic acid (Sigma, USA)와 비교하여 나타내었다.

## 2.3. B16F10 세포 생존율 측정

B16F10 세포는 american type culture collection (ATCC,

CRL-6475)로부터 분양받아 사용하였으며, 10% fetal bovine serum (FBS, Thermo Fisher Scientific, Korea)과 1% penicillin/steptomycin (Thermo Fisher, Korea)이 포함된 dulbecco's modified eagle's medium (Thermo Fisher Scientific, Korea)으로 37 °C (5% CO<sub>2</sub>)에서 배양하여 사용하였다. 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2-5-diphenyltetrazolium bormide (MTT) 분석을 위해 96 well plate에 100 μL씩(5 × 10<sup>4</sup> cells/mL) 분주하여 24 h 동안 37 °C, 5% CO<sub>2</sub>에서 배양하였다. 새로운 배지 90 μL씩 교체 후 금화규 꽃 추출물의 최종 농도가 10, 25, 50, 75, 100 μg/mL가 되도록 각각 10 μL씩 첨가한 후 48 h 동안 37 °C, 5% CO<sub>2</sub>에서 배양하였다. 배양 후 각 well에 5 mg/mL 농도로 제조한 MTT 용액 10 μL를 첨가하여 2 h 동안 배양한 후, 배양액을 제거하고 dimethyl sulfoxide (DMSO, Duksan, Korea)를 각 well당 100 μL씩 첨가하여 실온에서 30 min 동안 반응시킨 뒤 ELISA reader로 540 nm에서 흡광도를 측정하였다. 세포 생존율 측정은 시료 용액의 첨가구와 무첨가구의 흡광도 감소율로 나타내었다.

## 2.4. Melanin Contents 측정

B16F10 세포를 6 well plate에 3mL (8 × 10<sup>4</sup> cells/mL)이 되도록 접종하고 37 °C, 5% CO<sub>2</sub>에서 24 h 배양하였다. 새로운 배지 2.7 mL로 교환된 세포에 금화규 꽃 추출물의 최종 농도가 50, 75, 100 μg/mL가 되도록 각각 0.3 mL과 100 nM의 α-MSH를 처리하여 37 °C, 5% CO<sub>2</sub>에서 48 h 배양하였다. 처리 후 PBS로 2 회 세척 한 후 12,000 rpm, 4 °C, 30 min 원심 분리하여 상층액을 버리고 침전물에 10% DMSO가 첨가된 1 N NaOH 용액 220 μL를 첨가하고 95 °C에서 20 min 동안 용해하였으며 405 nm에서 흡광도를 측정 후 실험군의 멜라닌 양은 대조군의 멜라닌양에 대한 백분율로 계산하여 나타내었다.

## 2.5. Collagenase 저해활성 측정

Collagenase 저해 활성 측정은 Wunsch 등[32]의 방법을 변형하여 다음과 같이 측정하였다. 즉 반응구는 0.1 M tris-HCl buffer (pH7.5)에 4 mM CaCl<sub>2</sub>를 첨가하여, 4-phenylazobenzoyloxycarbonyl-Pro-Leu-Gly-Pro-D-Arg (Sigma, USA) 0.3 mg/mL을 녹인 기질액 0.25 mL 및 시료 용액 0.1 mL의 혼합액에 0.2 mg/mL의 collagenase (Sigma, USA) 0.15 mL을 첨가하여 실온에서 20 min 동안 정치한 후 6% citric acid 0.5 mL을 넣어 반응을 정지시킨 후, ethyl acetate 1.5 mL을 첨가하여 320 nm에서 흡광도를 측정하였다. Collagenase 저해 활성은 시료 용액의 첨가구와 무첨가구의 흡광도 감

소율로 나타내었다. 이때 collagenase 저해 활성은 양성대조군 epigallocatechin gallate (EGCG, Sigma, USA)와 비교하여 나타내었다.

## 2.6. Elastase 저해활성 측정

Elastase 저해 활성 측정은 Cannell 등[33]의 방법에 따라 측정하였다. 금화규 꽃 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 mL을 가한 후 50 mM tris-HCl buffer에 녹인 기질 N-succinyl-(L-Ala)3-p-nitroanilide (0.5 mg/mL)을 첨가하여 20 min 반응시켜 기질로부터 생성되는 p-nitroanilide의 생성량을 405 nm에서 측정하였다. Elastase 저해 활성은 시료 용액의 첨가군과 무첨가군의 흡광도 감소율로 나타내었다.

## 2.7. 통계처리

모든 실험은 3 회 반복하여 측정하였다. 결과는 평균값  $\text{mean} \pm \text{SD}$ 로 나타내었다. 시험군 간의 유의성을 검정하기 위하여 statistical package for the social sciences (SPSS) software package (Version 22.0; IBM, USA)을 사용하였으며 각 처리군 간의 유의성에 대한 검증은 분산분석(analysis of variance, ANOVA)를 이용하여 유의성을 확인한 후,  $p < 0.05$  수준에서 duncan's multiple test를 이용하여 분석하였다.

## 3. 결과 및 고찰

### 3.1. 금화규 꽃의 수득률

금화규 꽃 열수 추출물(AMW)의 수득률은 36.94%이며, 금화규 꽃 70% 에탄올 추출물(AME)의 수득률은 41.46%이었다.

### 3.2. Tyrosinase 저해 활성

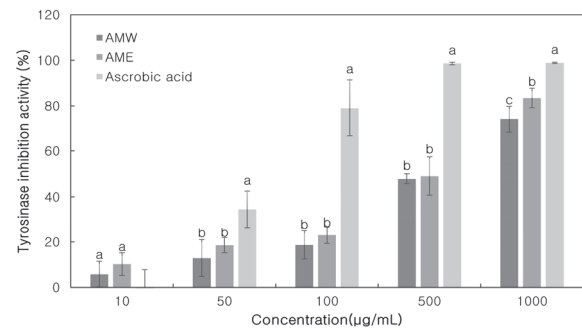
사람의 피부색을 결정하는데 가장 중요한 요인인 멜라닌(melanin)은 자연계에 널리 분포하는 페놀류의 고분자 물질로 검은 색소와 단백질의 복합체로 알려져 있고, 사람의 피부에는 자외선에 대항하는 기작으로 생합성이 촉진된다 [34]. 따라서 tyrosinase 효소는 멜라닌 생합성과 관련된 효소이며, 멜라닌 생합성 경로를 조절하는 중요한 역할은 하며 tyrosinase 활성 억제능을 평가함으로써 다양한 잠재적 미백 소재의 발굴이 가능하다[35].

금화규 꽃의 열수 추출물(AMW)과 70% 에탄올 추출물

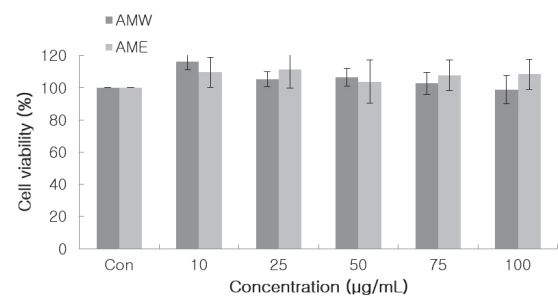
(AME)의 tyrosinase 저해 활성을 평가하기 위하여 양성대조군으로 ascorbic acid를 사용하여 측정하였다(Figure 2). 금화규 꽃 열수 추출물과 70% 에탄올 추출물은 10  $\mu\text{g/mL}$ 의 농도에서 ascorbic acid보다 높은 활성을 보였으며, 1,000  $\mu\text{g/mL}$ 의 농도에서는 열수 추출물 73.9%, 70% 에탄올 추출물 83.5%의 활성을 나타내었다. 따라서 금화규 70% 에탄올 추출물은 ascorbic acid와 유사한 억제 활성을 나타내 미백 소재로서 개발 가능성이 있음을 입증하였다.

### 3.3. B16F10 세포 생존율 측정

금화규 꽃 추출물이 멜라노마 세포 B16F10 세포 생존율에 미치는 영향을 확인하기 위하여 MTT assay를 수행하였다(Figure 3). MTT assay에 대한 결과 금화규 꽃 추출물 농



**Figure 2.** Tyrosinase inhibition activities of *A. manihot* flower extracts (AMW : *A. manihot* flower water extract, AME : *A. manihot* flower 70% ethanol extract) The different letters indicate statistical differences at the  $p < 0.05$  by Duncan's multiple range test. Each value represents the mean  $\pm$  SD of triplicates.



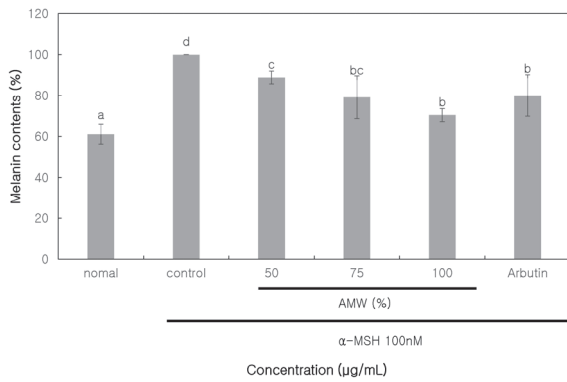
**Figure 3.** Effect of *A. manihot* flower extracts on B16F10 cell viability (AMW : *A. manihot* flower water extract, AME : *A. manihot* flower 70% ethanol extract) Results are expressed as means  $\pm$  SD of triplicate data.



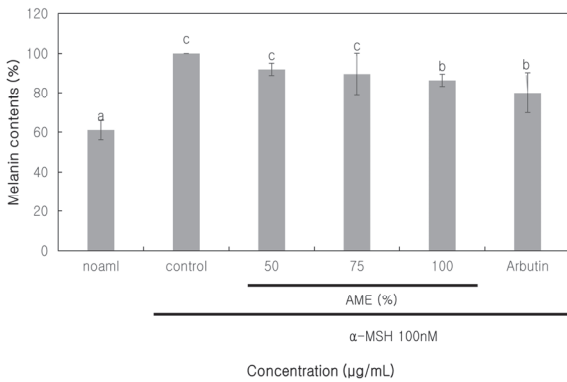
도 10, 25, 50, 75, 100  $\mu\text{g/mL}$ 로 처리하였을 때 금화규 열수 추출물은 세포 생존율이 다소 감소하는 경향이 나타났지만, B16F10 멜라노마 세포주에서 90% 이상의 세포 생존율을 확인할 수 있었다. 이 결과 모든 처리 농도에서 세포 생존율에 영향을 미치지 않는 것으로 확인되어 안전한 화장품 소재로서 사용 가능할 것으로 사료된다.

3.4. Melanin Contents 측정

금화규 꽃 추출물이 멜라닌 생성에 미치는 효과를 확인하기 위해서 독성이 나타나지 않은 농도인 50, 75, 100  $\mu\text{g/mL}$ 를 B16F10 멜라노마 세포에 처리하였으며, 멜라닌 생성을 증가시키기 위해  $\alpha\text{-MSH}$ 를 100 nM을 처리하여 멜라닌 생성률을 확인하였다(Figure 4). 금화규 꽃 추출물은 최고 처리 농도 100  $\mu\text{g/mL}$ 에서 열수 추출물은 70.3%의 멜라닌 생성량으로 29.7%의 억제 효과가 관찰되었으며, 70% 에탄올 추출물은 86.3%의 멜라닌 생성량으로 13.7%의 억제 효과가 관찰되었다. 금화규 꽃 물 추출물은 100  $\mu\text{g/mL}$ 에서 대조군으로 사용된 arbutin 보다 멜라닌 억제 효과가 뛰어남이 확인되었다. 따라서 금화규 꽃 열수 추출물은 금화규 70% 에탄올 추출물보다 높은 멜라닌 생성 억제율을 보여 더 효과적인 미백 활성을 보임을 확인하였다.



(A)



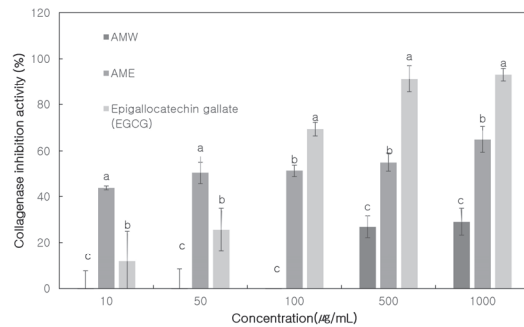
(B)

**Figure 4.** Effect of *A. manihot* flower extracts on melanin production of B16F10 cells (AMW : *A. manihot* flower water extract, AME : *A. manihot* flower 70% ethanol extract) The different letters indicate statistical differences at the  $p < 0.05$  by Duncan's multiple range test. Each value represents the mean  $\pm$  SD of triplicates.

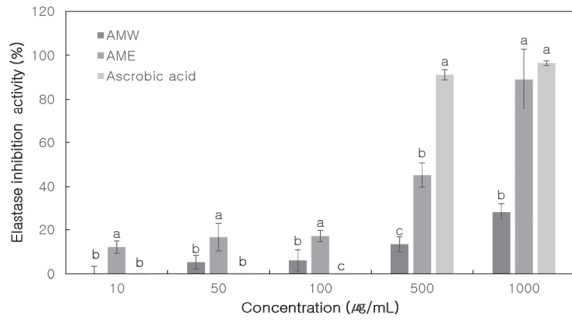
라닌 생성률을 확인하였다(Figure 4). 금화규 꽃 추출물은 최고 처리 농도 100  $\mu\text{g/mL}$ 에서 열수 추출물은 70.3%의 멜라닌 생성량으로 29.7%의 억제 효과가 관찰되었으며, 70% 에탄올 추출물은 86.3%의 멜라닌 생성량으로 13.7%의 억제 효과가 관찰되었다. 금화규 꽃 물 추출물은 100  $\mu\text{g/mL}$ 에서 대조군으로 사용된 arbutin 보다 멜라닌 억제 효과가 뛰어남이 확인되었다. 따라서 금화규 꽃 열수 추출물은 금화규 70% 에탄올 추출물보다 높은 멜라닌 생성 억제율을 보여 더 효과적인 미백 활성을 보임을 확인하였다.

3.5. 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 외적요인에 의해 분해가 가속화되어 피부 기질이 파괴되면서 주름이 생성된다[36]. 금화규 꽃 추출물은 가장 높은 농도인 1,000  $\mu\text{g/mL}$ 에서 각각 열수 추출물 29%, 70% 에탄올 추출물 64.9%의 억제 활성율을 보였다. 금화규 꽃 70% 에탄올 추출물은 저농도인 10, 50  $\mu\text{g/mL}$ 농도에서 대조군으로 사용된 EGCG보다 높은 저해 collagenase 활성능을 나타냈다(Figure 5). 따라서 금화규 꽃 70% 에탄올 추출물은 효과적으로 collagenase 활성을 저해하여 피부 주름 개선에 효과적일 것으로 판단되며, 기능성 화장품 소재로서 개발 가능성이 높을 것으로 사료된다.



**Figure 5.** Collagenase inhibition activities of *A. manihot* flower extracts (AMW : *A. manihot* flower water extract, AME : *A. manihot* flower 70% ethanol extract) The different letters indicate statistical differences at the  $p < 0.05$  by Duncan's multiple range test. Each value represents the mean  $\pm$  SD of triplicates.



**Figure 6.** Elastase inhibition activities of *A. manihot* flower extracts (AMW : *A. manihot* flower water extract, AME : *A. manihot* flower 70% ethanol extract) The different letters indicate statistical differences at the  $p < 0.05$  by Duncan's multiple range test. Each value represents the mean  $\pm$  SD of triplicates.

### 3.6. Elastase 저해활성 측정

Elastin은 피부 진피와 피부 탄력섬유를 구성하는 중요한 성분으로 elastin의 감소는 피부 주름을 생성하고 탄력을 저하시켜 피부노화를 촉진시킨다. Elastin을 분해하는 효소로 알려진 elastase는 collagen과 함께 결합조직의 기계적 성질을 결정하는 elastin을 분해하는데, 동물의 결합조직에서 불용성 탄력섬유 elastin을 분해하는 유일한 효소이며, elastase 저해제는 피부 주름 및 피부 노화를 개선하는 효과를 기대할 수 있다[37]. 금화규 꽃 추출물의 elastase 저해 활성 측정 결과는 Figure 6에 나타나 있다. Elastin 분해 효소인 elastase의 활성을 억제시켜 피부 노화를 예방할 수 있다. 따라서 금화규 꽃 추출물은 가장 높은 농도인 1,000 µg/mL에서 각각 열수 추출물 28.4%, 70% 에탄올 추출물 89.1%의 억제 활성을 보였다. 금화규 꽃 70% 에탄올 추출물은 저농도인 10, 50, 100 µg/mL 농도에서 대조군으로 사용된 ascorbic acid보다 높은 저해 활성능을 확인할 수 있었다. 따라서 금화규 꽃 70% 에탄올 추출물은 효과적인 elastase 저해제로서 작용하여 효과적인 항 주름 활성이 있다는 것을 알 수 있다.

## 4. 결 론

본 연구에서는 금화규 꽃 추출물의 화장품 소재로서의 활용 가능성을 확인하고자 열수와 70% 에탄올을 용매로 사용하여 미백 및 항주름 활성을 확인하였다.

금화규 꽃 열수 추출물과 70% 에탄올 추출물 각각 tyrosinase 저해활성능 1,000 µg/mL에서 73.9%, 83.5%의 활

성을 보였다. 멜라노마 B16F10 세포에서 100 µg/mL까지 독성을 나타내지 않았으며, 멜라닌 생성 억제 활성을 확인하였을 때 독성이 나타나지 않는 구간인 100 µg/mL에서 열수 추출물, 70% 에탄올 추출물 각각 29.7%, 13.7%의 억제 효과가 나타났다. 이 연구를 통해 금화규 꽃 추출물은 세포 외에서 진행된 실험과 세포 내에서 진행된 미백 실험의 결과에 차이가 있음이 보였다. 따라서 세포 내와 외에서 일어나는 메커니즘에대하여 지속적인 연구를 진행한다면 보다 효과적인 활성을 갖는 기능성 화장품 소재로서 활용이 가능하다는 것으로 시사한다.

또한, 피부 항주름 효과를 확인 하기 위해 collagenase, elastase 저해 활성능 측정 결과 금화규 꽃 70% 에탄올 추출물이 열수 추출물보다 모두 높은 항주름 효능을 보였다.

결론적으로 금화규 꽃 추출물은 멜라닌 생성을 억제하며 콜라겐 분해 효소를 저해시켜 미백 및 항주름 활성을 갖는 기능성 화장품 소재로 활용 가능성이 있음을 시사하였다.

## References

1. I. Dini and S. Laneri, Nutricosmetics: a brief overview, *Phytother Res.*, **33**(12) 3054 (2019)
2. J. Y. Lee and J. M. Lee, Analysis of recent research trends in development of functional cosmetic materials for wrinkle improvement, *J. Con. Inf Tech.*, **11**(6), 181 (2021).
3. M. A. Jang and J. M. Lee, Research on domestic and international industrial trends of functional cosmetics, *Journal of the Korean Applied Science and Technology*, **38**(2), 618 (2021).
4. Y. Ma and K. H. Kwon, Changes in purchasing patterns in the beauty market due to Post-COVID-19: Literature review, *J. Cosmet. Dermatol.*, **20**(10), 3074 (2021).
5. I. P. S. Fernando, M. K. H. Dias, D. M. D. Madusanka, H. S. Kim, E. J. Han, M. J. Kim, M. J. Seo, and G. Ahn, Effects of (-)-loliolide against fine dust preconditioned keratinocyte media-induced dermal fibroblast inflammation, *Antioxidants(Basel).*, **10**(5), 675 (2021).
6. M. H. Kang, G. Y. Jang, Y. J. Ji, J. H. Lee, S. J. Choi, T. K. Hyun, and H. D. Kim, Antioxidant and anti-melanogenic activities of heat-treated licorice (*Wongam, Glycyrrhiza glabra* × *G. uralensis*) extract, *Curr. Issues Mol. Biol.*, **43**(2), 1171 (2021).

7. K. B Shim and N. Y. Yoon, Inhibitory effect of fucufuroeckol-A from *Eisenia bicyclis* on tyrosinase activity and melanin biosynthesis in murine melanoma B16F10 cells, *Fish. Aquat. Sci.*, **21**(4), 1 (2018).
8. H. S. Yoon, K. W. Yang, J. E. Kim, J. M. Kim, N. H. Lee, and C. G. Hyun, Hypopigmenting effects of extracts from bulbs of *Lilium* oriental hybrid 'Siberia' in murine B16/F10 melanoma cells, *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.*, **43**(5), 705 (2014).
9. W. Promden, W. Viriyabancha, O. Monthakantirat, K. Umehara, H. Noguchi, and W. De-Eknamkul, Correlation between the potency of flavonoids on mushroom tyrosinase inhibitory activity and melanin synthesis in melanocytes, *Molecules*, **23**(6), 1403 (2018).
10. H. J. Park, S. H. Ahn, W. Y. Choi, G. W. Lee, M. J. Kwon, and Y. H. Cho, Changes in whitening activity of *Codonopsis pilosula* extracts according to extraction solvents, *Korean Soc. Biotechnol. Bioeng. J.*, **34**(1), 1 (2019).
11. M. J. Kim, S. Y. Kim, K. H. Hyun, D. S. Kim, S. Y. Kim, and C. G. Hyun, Effects of *Rumex acetosella*, *Sonchus oleraceus* and *Euphorbia jolkinin* extracts on melanin synthesis in melanoma cells, *Korean Soc. Biotechnol. Bioeng. J.* **32**(3), 187 (2017).
12. J. Y. Hwang, T. S. Park, and J. H. Son, Whitening effect of extracts and fractions from *Diospyros kaki* calyx, *J. Life Sci.* **23**(3), 283 (2013).
13. S. J. Heo, K. Y. Kim, E. Y. Park, A. R. Jang, K. S. Yang, and W. K. Whang, Antioxidation activity and inhibition of B16F10 melanoma cell from Moutan cortex from ethanol extracts, *Asian J. Beauty Cosmetol.* **8**(1), 1 (2010).
14. H. Y. Lim, D. Jeong, S. H. Park, K. K. Shin, Y. H. Hong, E. Kim, Y. G. Yu, T. R. Kim, H. Kim, J. Lee, and J. Y. Cho, Antiwrinkle and antimelanogenesis effects of tyndallized *Lactobacillus acidophilus* KCCM12625P, *Int. J. Mol. Sci.* **21**(5), 1620 (2020).
15. E. Hwang, H. T. T. Ngo, S. A. Seo, B. Park, M. Zhang, and T. H. Yi, Protective effect of dietary *Alchemilla mollis* on UVB-irradiated premature skin aging through regulation of transcription factor NFATc1 and Nrf2/ARE pathways, *Phytomedicine.* **39**, 125 (2018).
16. J. W. Yoon, S. I. Ahn, J. W. Jhoo, and G. Y. Kim, Antioxidant activity of yogurt fermented at low temperature and its anti-inflammatory effect on DSS-induced colitis in mice, *Food Sci. Anim. Resour.* **39**(1), 162 (2019).
17. H. J. Kim, D. Kim, N. Y. Kim, J. S. Kim, and A. Jang, Anti-wrinkle and anti-inflammatory effects of a combination of topically applied horse oil and dietary enzyme hydrolysates from horse bone, *Process Biochem.* **90**, 257 (2020).
18. M. Feng, X. Zheng, J. Wan, W. Pan, X Xie X, B Hu, Y Wang, H Wen, S. Cai, Research progress on the potential delaying skin aging effect and mechanism of tea for oral and external use, *Food Funct.* **12**(7), 2814 (2021).
19. J. H. Yu, N.G. Geum, J. H. Ye, and J. B. Jeong, Immuno-enhancing and anti-obesity effect of *Abelmoschus manihot* root extracts, *Korean J. Plant Res.* **34**(5), 411 (2021).
20. Y. R. Jiang, Z. Y. Zhang, J. Wen, Q. Li, C. L. Zhang, X. S. Xie, and J. M. Fan, Effects of okra capsule for IgA nephropathy: a systematic review, *Chin. J. Evid-Based Med.*, **12**(9), 1135 (2012).
21. Y. Q. Shen, S. H. Liao, Y. Sun, Y. F. Jiang, and L. Q. He, Clinical research of Huangkui capsule in treating chronic kidney disease III phase of chronic nephritis in 37 cases, *Chin. J. Exp. Trad. Med. Form.*, **20**, 205 (2014).
22. X. Pan, L. Du, J. Tao, S. Jiang, D. Qian, and J. Duan, Dynamic changes of flavonoids in *Abelmoschus manihot* different organs at different growth periods by UPLC-MS/MS, *J. Chromatogr. B Anal. Technol. Biomed. Life Sci.*, **1059**, 21 (2017).
23. K. Y. Xia, C. L. Zhang, Z. Y. Cao, H. T. Ge, and H. T. Tang, Chemical constituents from *Corolla abelmoschi*, *Strait Pharm. J.*, **31**, 58 (2019).
24. L. Y. Due, D. W. Qian, S. Jiang, E. X. Shang, J. M. Guo, P. Liu, S. L. Su, J. A. Duan and M. Zhao, Comparative characterization of nucleotides, nucleosides and nucleobases in *Abelmoschus manihot* roots, stems, leaves and flowers during different growth periods by UPLC-TQ-MS/MS, *J. Chromatogr. B Anal. Technol. Biomed. Life Sci.*, **1006**, 130 (2015).

25. L. Y. Du, D. W. Qian, S. Jiang, J. M. Guo, S. L. Su, and J. A. Duan, Comparative characterization of amino acids in *Abelmoschus manihot* roots, stems and leaves during different growth periods by UPLC-TQ-MS/MS, *Anal. Methods.*, **7**, 10280 (2015).
26. M. Serafini, I. Peluso, and A. Raguzzini, Flavonoids as anti-inflammatory agents, *Proc. Nutr. Soc.*, **69**(3), 273 (2010).
27. H. Parhiz, A. Roohbakhsh, F. Soltani, R. Rezaee, and M. Iranshahi, Antioxidant and anti-inflammatory properties of the citrus flavonoids hesperidin and hesperetin: An updated review of their molecular mechanisms and experimental models, *Phytother. Res.*, **29**(3), 323 (2015).
28. F. Hosseini, A. Mahdian-Shakib, F. Jadidi-Niaragh, S. E. Enderami, H. Mohammadi, M. Hemmatzadeh, H. A. Mohammed, A. Anissian, P. Kokhaei, A. Mirshafiey and H. Hassannia, Anti-inflammatory and anti-tumor effects of  $\alpha$ -L-guluronic acid (G2013) on cancer-related inflammation in a murine breast cancer model, *Biomed. Pharmacother.*, **98**, 793 (2018).
29. E. Heitman, and D. K. Ingram, Cognitive and neuroprotective effects of chlorogenic acid, *Nutr. Neurosci.*, **20**(1), 32 (2017).
30. J. T. Zhu, R. C. Choi, H. Q. Xie, K. Y. Zheng, A. J. Guo, C. W. Bi, D. T. Lau, J. Li, T. T. Dong, and B. W. Lau, Hibifolin, a flavonol glycoside, prevents beta-amyloid-induced neurotoxicity in cultured cortical neurons, *Neurosci. Lett.*, **461**(2), 172 (2009).
31. A. Yagi, T. Kanbara and N. Morinobu, Inhibition of mushroom-tyrosinase by alone extract, *Plant Medica.*, **53**(6), 515 (1987).
32. E. Wünsch and H. G. Heindrich, Zur quantitativen bestimmung der collagenase, *Hoppe-Seyler's Physiol Chem.*, 333, 149 (1963).
33. R. J. Cannell, S. J. Kellam, A. M. Owsianka, and J. M. Walker, Results of a large scale screen of microalgae for the production of protease inhibitors, *Plant Medica.*, **54**(1), 10 (1988).
34. S. H. Kim, D. H. Jun, M. J. Jang, J. T. Lee, C. E. Lee, J. G. Han, J. C. Kim and D. H. Lee, Study of cosmeceutical activities of *Hovenia dulcis* var. *koreana* Nakai extracts, *J. Korean Soc. For. Sci.*, **99**(6), 836 (2010).
35. A. Slonimski, D. J. Tobin, S. Shibahara, and J. Wortsman, Melanin pigmentation in mammalian skin and its hormonal regulation, *Physiol. Rev.*, **84**, 1155 (2004).
36. M. J. Jang, S. J. Cheon, H. Y. Kim, D. J. Kweon, H. Y. Kim, S. H. Kim and J. T. Lee, The anti-wrinkle and whitening effect of extracts of *Castanea crenata* inner shell, *Journal of Life Science*, **21**(5), 734 (2011).
37. J. E. Lee and A. J. Kim, Antioxidant activity, whitening and anti-wrinkle effects of leaf and seed extracts of *Brassica juncea* L. Czern. *Asian J Beauty Cosmetol.*, **18**(3), 283 (2020).