

베트남 후피향 추출물의 생리활성 검증에 대한 연구

정수현^{*,†} · 염현지^{*} · 오민정^{*} · 이진영^{**,††}

*호서대학교 화장품생명공학부, 박사과정생

**호서대학교 화장품생명공학부, 부교수

(2022년 1월 14일 접수, 2022년 3월 18일 수정, 2022년 3월 27일 채택)

A Study on the Verification of Physiological Activities of *Ternstroemia kwangtungensis* Merr. Extract

Su-Hyun Jung[†], Hyeon-Ji Yeom, Min-Jeong Oh, and Jin-Young Lee^{††}

Division of Cosmetics and Biotechnology, Hoseo University, 20, Hoseo-ro 79 beon-gil,
Baebang-eup, Asan 31499, Korea

(Received January 14, 2022; Revised March 18, 2022; Accepted March 27, 2022)

요약: 본 연구에서는 기능성 소재로서 베트남 후피향 추출물의 활용 가치를 알아보고자 하였다. 후피향 추출물의 Nrf2 발현 정도를 측정한 결과, 50% 에탄올을 이용하여 후피향 잎을 추출한 추출물 200 µg/mL 농도에서 가장 높은 licuferase의 활성도를 보였다. 상온에서 시간 경과에 따른 추출물의 안정성을 확인하고자 UPLC를 실시하였으며, 자외선 스펙트럼 패턴의 양상이 동일하여 안정성이 유지됨을 확인하였다. 후피향 추출물의 항산화 효능을 확인하기 위해 전자공여능 및 ABTS⁺ radical 소거능을 측정한 결과 농도가 증가함에 따라 활성이 증가했고 1,000 µg/mL에서 각각 94.6%, 90.8%의 높은 효과를 보였다. Tyrosinase 저해활성을 측정한 결과 1,000 µg/mL의 농도에서 24.4%의 저해능을 나타내었다. 또한 후피향 추출물의 elastase 저해활성을 알아본 결과, 농도 의존적으로 저해능이 증가하였으며 1,000 µg/mL에서 42.7%의 억제활성을 확인할 수 있었다. 이러한 결과를 통해 *Ternstroemia kwangtungensis* Merr. (TK) 추출물이 화장품 천연 소재로서의 이용가치가 있음을 확인하였다.

Abstract: In this study, we tried to find out the value of using Vietnamese *Ternstroemia kwangtungensis* Merr. (TK) extracts as a functional material. As a result of measuring the level of Nrf2 expression of TK, 50% ethanol extract TK leaf showed the highest activity at a concentration of 200 µg/mL. In order to confirm the stability of the extract over time at room temperature, UPLC was performed, and stability was maintained because the patterns of the UV spectrum pattern were the same. In order to confirm the antioxidant efficacy of TK, the activity increased as the concentration increased as a result of measuring electron donating and ABTS⁺ radical scavenging ability. At 1,000 µg/mL, they showed effects of 94.6% and 90.8%, respectively. As a result of measuring the tyrosinase inhibitory activity showed an inhibitory ability of 24.4% at a concentration of 1,000 µg/mL. In addition, as a result of examining the elastase inhibitory activity of the extract was increased in a concentration-dependent manner, and it was confirmed that the inhibitory activity was 42.7% at 1,000 µg/mL. From these results, it was confirmed that the TK extract was valuable as a natural material for cosmetics.

Keywords: *Ternstroemia kwangtungensis* Merr., antioxidant activity, whitening, anti-wrinkle

† 주 저자 (e-mail: mureai@naver.com)
call: 041-540-9559

†† 교신저자 (e-mail: jylee@hoseo.edu)
call: 041-540-9552

1. 서 론

현대 사회에서는 과학 기술 및 의학, 경제의 빠른 발달에 따라 심화되는 산업화, 도시화로 인해 생물학, 화학적 유해 인자들에 대한 노출이 야기된다[1]. 인체의 최외각층에 존재하는 기관으로 인체 내에서 가장 큰 면적을 차지하는 피부는 이러한 약물, 환경오염물질 및 자외선 등의 다양한 외부 환경으로부터 인체를 보호한다[2]. 피부는 개개 인마다 다른 생체적인 노화 정도를 쉽게 판단할 수 있는 가장 큰 지표가 되며, 피부의 노화는 내인성 노화와 외인성 노화로 분류된다. 인간이 성장하며 시간이 지남에 따라 자연적이고 유전적 요인으로 인해 발생하는 내인성 노화와 지속적으로 자외선, 외부자극 및 환경에 노출되어 있어 이로 인해 진행되는 외인성 노화가 있으며 외부 요인으로 인한 노화 현상이 피부 노화에 더 많은 영향을 미치고 있다[3]. 특히 피부의 가장 바깥쪽 층인 표피에 존재하는 각질세포(keratinocytes)는 지속적인 외부환경 및 자외선의 직접적인 노출을 통해 활성산소를 발생시키고 산화적 스트레스를 유발하여 염증, 피부 건조 및 노화 등의 질환을 촉진하는 중요한 요인으로 작용한다[4]. 또한 자외선으로 인한 피부 손상으로 피부 세포에 자유라디칼(free radical)과 활성산소종(reactive oxygen species, ROS)이 생성된다. 항산화 방어 메커니즘과 활성산소는 상호작용을 통해 균형을 유지하고 있으나 과생성되어 그 균형이 깨지게 되면 산화적 스트레스가 발생하게 되는데 이로 인해 피부암, 염증성 피부질환 및 주름 생성 등의 다양한 증상이 야기된다[5,6]. 산화적 스트레스는 노화의 원인이며 피부 노화를 촉진하기도 하고 다양한 질병의 원인으로 활성산소종과 염증성 cytokine 생성의 원인이기도 하다[7]. 이러한 산화적 스트레스에 반응하여 nuclear factor erythroid 2-related factor 2 (Nrf2), heme oxygenase-1 (HO-1) 및 NAD(P)H dehydrogenase [quinone]-1 (NQO1)의 신호전달 경로들은 세포 보호를 조절하며, 특히 Nrf2는 antioxidant response element (ARE)와 결합하여 주요한 항산화 효소와 세포 보호 유전자의 전사를 조절한다[6].

차나무과 식물은 전 세계적으로 온대, 아열대 지방에 분포하며 그 중 후피향 나무(*Ternstroemia japonica*)는 우리나라 남해안 제주도, 중국, 일본, 베트남 등에 자생하는 상록 활엽수로 민간에서 약재로 사용되기도 하며 관상 및 조경 식물로 국한되어 사용되고 있다[8]. 많은 지역에 분포하여 자생하고 있는 후피향 나무 중 베트남 후피향(*Ternstroemia*

kwangtungensis Merr., TK)은 베트남 자생식물 100 여종 중의 활성 screening에서 가장 높은 효능을 보였으며 이에 대한 연구는 이루어지지 않았으므로 본 연구에서는 새로운 기능성 소재로 활용하고자 베트남 후피향(TK)의 항산화, 미백 및 주름개선에 대한 생리활성 검증을 통해 활용가치를 확인하고자 한다.

2. 실험재료 및 방법

2.1. 시료 및 시료의 추출

본 실험에 사용된 소재인 후피향(TK)은 한국생명공학연구원(Korea)에서 제공받아 다음의 공정으로 추출하였다. 건조 후 파쇄한 후피향의 잎과 줄기에 중량 기준으로 15 배의 정제수 또는 50% ethanol을 첨가하고 50 °C에서 3 h 동안 추출한 후, 0.3 µm 필터를 이용하여 여과하였다. EYELA evaporator (N-1100, Japan)을 이용하여 60 °C에서 감압 농축하여 용매인 정제수와 50% ethanol을 완전히 제거한 후 동결 건조를 통해 수분을 제거하여 얻은 고형분 형태를 -20 °C에 보관하며 이하 실험의 시료로 사용하였다.

2.2. 시약 및 기기

추출물의 항산화능을 확인하기 위한 전자공여능 및 ABTS⁺ radical 소거능 측정 실험에 사용된 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH)과 2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) diammonium salt 및 potassium persulfate는 Sigma-Aldrich Corp. (USA)에서 구입하여 실험에 사용하였다. 미백 및 주름개선 활성 측정에 사용된 시약인 tyrosinase from mushroom, 3,4-dihydroxy-L-phenylalanine (L-DOPA) 등은 Sigma Chemical Co. (USA)에서 구입하여 실험에 사용하였으며, elastase from porcine pancreas, N-succinyl-L-ala-ala-p-nitroanilide는 Sigma-Aldrich Corp. (USA)에서 구입하였다.

본 연구에서 사용된 세포주인 human keratinocyte cell인 HaCaT는 German Cancer Research Center (DKFZ, Germany)로부터 구입하였으며, 세포 배양에 사용된 RPMI, fetal bovine serum (FBS), penicillin/streptomycin, trypsin, phosphate buffered saline (PBS)는 Thermo Fisher Scientific (HyCloneTM, USA) 및 Welgene (Korea)에서 구입하였다.

본 연구에서 autoclave (JSAC-60, JS Research Inc., Korea), rotary vacuum evaporator (N-1100, EYELA, Japan), CO₂ incubator (vs-9160c, Vision Scientific, Korea), microscope (CKX31, Olympus, Japan), GLOMAX Multi-system (Promega,

Madison, USA), Water ACQUITY UPLC (Milford, MA, USA), pH meter (S220, Mettler-Toledo AG, Switzerland), microplate reader (TECAN, Austria), vortex (G560E, Scientific Inc., USA), centrifuge (1730R, Hanil Science Inc., Korea), C2 confocal microscope (Nikon, Korea)를 사용하였다.

2.3. 세포주 및 세포 배양

본 실험에 사용된 세포인 HaCaT-ARE-GFP-luciferase는 human keratinocyte cell line인 HaCaT cell에 Nrf2 protein이 결합하는 anti-oxidant response element (ARE)가 삽입되어 있는 세포로 제공받아 사용하였다. 시료 용액에 의해 ARE가 활성화되면 GFP, luciferase를 동시에 발현한다. 10%의 FBS와 penicillin/streptomycin (100 U/mL)이 첨가된 RPMI 배지를 사용하였으며, 세포를 배양한 incubator는 37 °C, 5% CO₂의 조건을 유지하였다.

2.4. Luciferase Assay를 통한 Nrf2 전사인자 발현 측정

후피향의 부위별 및 농도별 추출물A의 Nrf2 발현 정도를 알아보기 위해 luciferase assay를 진행하였다. 24 well plate에 HaCaT-ARE-GFP-luciferase cell을 1×10^5 cells/well이 되도록 seeding한 후 24 h 동안 37 °C, 5% CO₂ incubator에서 배양하였으며, 후피향의 부위별(줄기, 잎)의 정제수 또는 50% ethanol 추출물을 20 또는 200 µg/mL의 농도로 처리하고 24 h 동안 동일 조건에서 배양하였다. 세포를 PBS로 3 회 세척한 후 0.1 M potassium phosphate buffer (pH 7.8), 1% Triton X-100, 1 mM DTT 및 2 mM EDTA로 제조된 luciferase lysis buffer 100 µL로 세포를 4 °C에서 30 min 동안 용해하였다. 용해하여 얻은 lysate는 GLOMAX Multi-system (Promega, USA)를 이용하여 luciferase를 측정하여 Nrf2 활성도를 각각 시험하였고 sulforaphane (SFN)은 브로콜리순 추출물로 양성 대조군으로 사용하였으며, 측정된 luciferase 값은 단백질 농도로 보정하였다.

2.5. UPLC를 이용한 추출물의 안정성 확인

후피향 추출물의 상온 보관 조건에서의 시간 경과에 따른 안정성을 ultra performance liquid chromatography (UPLC) 분석을 통해 확인하고자 하였다. Acquity UPLC BEH C18 column (2.1 × 150 mm, 1.7 µm)을 사용하였으며, sample의 농도는 10 mg/mL in 50% MeOH (MeOH : Water = 1 : 1 (v/v)), 이동상은 0.1% formic acid in water (A)와 0.1% formic acid in acetonitrile (B)를 사용하였다. 시간에 따른 이동상 0.1%

formic acid in acetonitrile (B) 농도는 0 ~ 1 min: 10%, 1 ~ 20 min: 10→25%, 20 ~ 30 min: 25→50%, 30 ~ 35 min: 50→100%, 35 ~ 37 min: 100%, 37 ~ 37.5 min: 100→10%, 37.5 ~ 40 min: 10%로 조절하였다. 이동상의 유속은 0.3 mL/min이며, column의 온도는 45 °C, 총 분석 시간은 40 min, 시료 주입량은 3 µL로 설정하여 진행하였다.

2.6. 전자공여능 측정

전자공여능(electron donation abilities, EDA)은 Blois의 방법을 응용하여 측정하였다. 농도별 시료용액 120 µL와 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) 용액 60 µL를 각각 넣고 혼합하여 15 min 동안 실온의 암실 조건에서 반응시킨 후 microplate reader의 흡광도를 517 nm로 설정하여 측정하였다. 전자공여능은 시료용액의 첨가군과 무첨가군의 흡광도 감소율로 나타내었다.

전자공여능(%) =

$$(1 - \text{시료첨가군의 흡광도/무첨가군의 흡광도}) \times 100$$

2.7. ABTS⁺ Radical Scavenging Activity 측정

항산화 활성을 알아보기 위해 ABTS⁺ radical의 흡광도가 시료에 의해 탈색되는 변화를 측정하는 시험법인 ABTS⁺ radical decolorization assay의 방법[10]을 이용하여 측정하였다. 7 mM의 2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) diammonium salt (ABTS)와 2.45 mM의 potassium persulfate 용액을 혼합하여 암실 조건에서 24 h 동안의 충분한 화학 반응으로 ABTS⁺ radical을 형성시켰다. ABTS⁺ 용액은 ethyl alcohol로 희석하여 사용하였으며, ABTS⁺ 100 µL에 동량의 농도별 시료용액을 넣어 혼합한 후 700 nm에서 흡광도를 측정하였다.

ABTS⁺ radical 소거능(%) =

$$(1 - \text{시료첨가군의 흡광도/무첨가군의 흡광도}) \times 100$$

2.8. Tyrosinase 저해활성 측정

멜라닌(melanin) 생합성에 중요한 역할을 하는 효소인 tyrosinase 저해활성을 측정하기 위해 Yagi 등[11]의 방법에 의하여 실험을 진행하였다. 시료용액 40 µL에 67 mM sodium phosphate buffer (pH 6.8) 80 µL과 40 µL의 10 mM 3,4-dihydroxy-L-phenylalanine (L-DOPA) 기질 용액을 첨가한 혼합액에 200 U/mL tyrosinase from mushroom 40 µL를

첨가하여 37 °C 조건에서 10 min 반응시켰다. 이후 생성된 DOPA chrome을 492 nm의 흡광도에서 측정하였으며 tyrosinase 저해활성은 시료용액의 첨가군과 무첨가군의 흡광도 감소율로 나타내었다.

$$\text{저해율(\%)} = (1 - \text{시료첨가군의 흡광도/무첨가군의 흡광도}) \times 100$$

2.9. Elastase 저해활성 측정

피부 조직에서 탄력을 유지하는데 중요한 단백질인 elastin을 분해하는 효소로 피부 주름 유발의 주요 원인으로 작용하는 elastase의 저해활성을 측정하기 위해 Cannell 등[12]의 방법에 따라 실험하였다. 농도별로 희석한 40 μL 의 시료 용액에 50 mM의 tris-HCl buffer (pH 8.6)에 녹인 2.5 U/mL elastase from porcine pancreas 용액 40 μL 씩 가하여 37 °C에서 2 min 간 반응시킨 후 N-succinyl-L-alala-ala-p-nitroanilide (0.5 mg/mL)을 50 mM tris-HCl buffer (pH 8.6)에 녹여 제조한 기질 용액 80 μL 를 첨가하여 이전과 동일한 조건에서 30 min 간 반응시켜 흡광도 445 nm에서 생성된 p-nitroanilide의 양을 측정하였다. Elastase 저해활성은 시료용액의 첨가군과 무첨가군의 흡광도 감소율로 나타내었다.

$$\text{저해율(\%)} = (1 - \text{시료첨가군의 흡광도/무첨가군의 흡광도}) \times 100$$

3. 결과 및 고찰

3.1. Luciferase Assay를 통한 Nrf2 전사인자 발현 측정

Nrf2의 발현 증가는 외인성 활성산소 및 피부 내에서 생성된 내인성 활성산소를 phase II 효소의 전사를 조절함으로써 활성 산소의 제거를 돕는다. 이러한 작용을 통해 산화적 스트레스 제거함으로써 피부를 보호하고 다양한 질병에 대한 예방 효과가 있을 것으로 기대된다[13].

후피향의 부위별(줄기, 잎) 및 용매별(정제수, 50% ethanol (50% EtOH)) 추출물에 대한 Nrf2 발현 정도를 luciferase assay를 통해 측정한 결과(Figure 1), 후피향의 잎을 50% EtOH 용매를 사용하여 추출한 추출물이 200 $\mu\text{g/mL}$ 농도에서 positive control로 사용된 브로콜리산 추출물인 sulforaphane (SFN)과 비교하여 70% 이상의 활성 유도 효과를 보였으며 가장 높은 반응이 나타나는 것을 확인할 수 있었다.

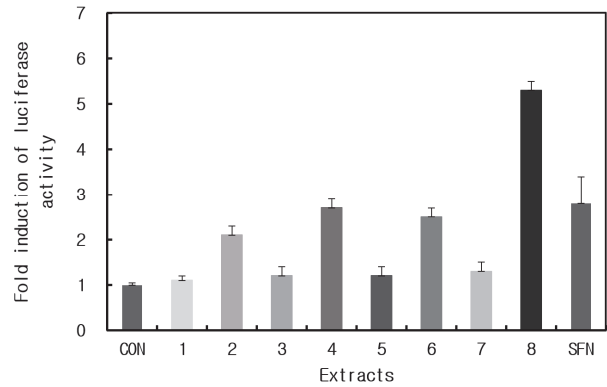


Figure 1. Level of Nrf2 expression on *Ternstroemia kwangtungensis* Merr. (TK) extracts.

■ CON: Control □ 1: Water extract of TK stem 20 $\mu\text{g/mL}$ ■ 2: Water extract of TK stem 200 $\mu\text{g/mL}$ ■ 3: Water extract of TK leaf 20 $\mu\text{g/mL}$ ■ 4: Water extract of TK leaf 200 $\mu\text{g/mL}$ ■ 5: 50% ethanol extract of TK stem 20 $\mu\text{g/mL}$ ■ 6: 50% ethanol extract of TK stem 200 $\mu\text{g/mL}$ ■ 7: 50% ethanol extract of TK leaf 20 $\mu\text{g/mL}$ ■ 8: 50% ethanol extract of TK leaf 200 $\mu\text{g/mL}$ ■ SFN: Sulforaphane, Positive control. Result are means \pm SD of triplicate data (** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$).

3.2. UPLC를 이용한 추출물의 안정성 확인

High-performance liquid chromatography (HPLC)와 비교하였을 때 UPLC는 충전 입자의 크기가 2 μm 내외의 작은 직경을 가진 column을 사용하여 최대 15,000 psi 정도의 고압에서 분석이 가능하므로 증가된 분리능 및 감도로 분석 속도가 빨라져 분석 시간이 단축됨으로써 높은 효율성을 가진다[14]. 이러한 UPLC 분석을 통해 상온 조건에서 처음에 추출한 후피향 추출물(old)과 6 개월 경과한 추출물(new)의 안정성을 확인하고자 하였다. 그 결과, retention time (머무름 시간)의 차이는 있었으나, UV spectrum의 pattern은 그 양상이 동일하였으므로 같은 성분의 화합물임을 확인할 수 있었다(Figure 2).

3.3. 전자공여능 측정

항산화 작용의 지표로 사용되고 있는 전자공여능은 페놀성 화합물, 방향족 아민류(aromatic amine) 및 L-ascorbic acid 등에 의해 수소나 전자를 받아 환원되면서 radical이 소거되어 보라색의 diphenyl-picrylhydrazyl이 탈색되는 원리를 이용하여 항산화 활성을 측정하게 된다. 이는 free radical 제거능을 측정함으로써 인체 내에서 노화와 각종 질병을 억제하는 척도로 이용되고 있으며 항산화 물질을 탐색하

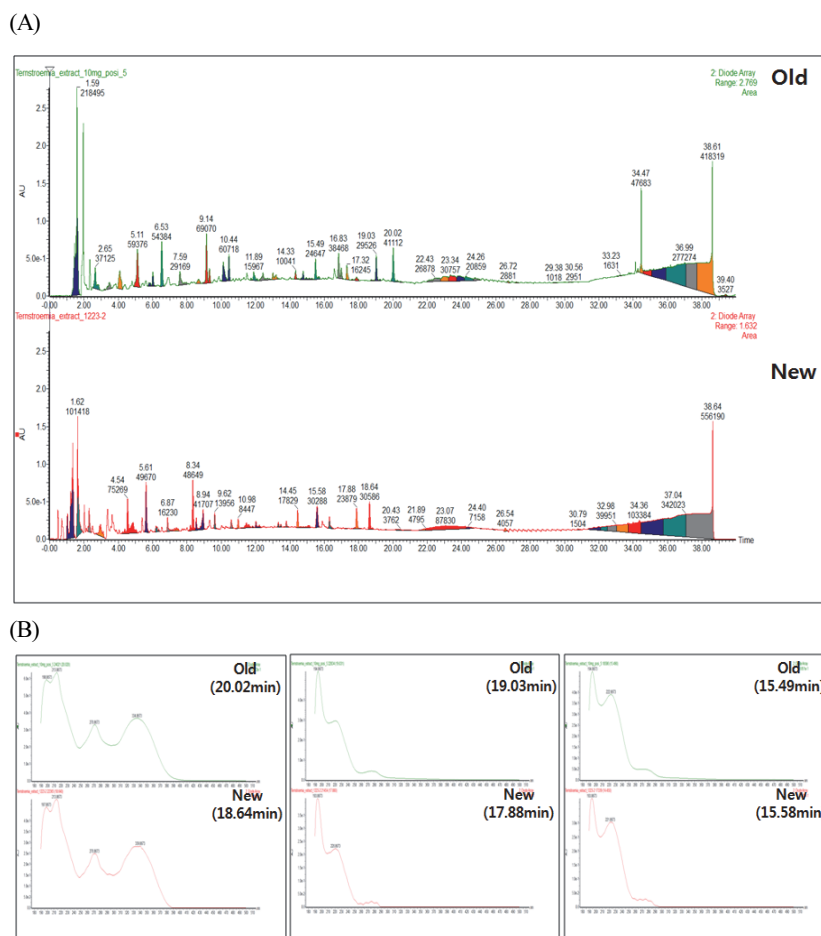


Figure 2. UPLC chromatogram with UV spectrum pattern of TK extracts.

Old: Initial TK extract, New: Six-month-old TK extract. (A): UV chromatogram-area, (B): UV spectrum.

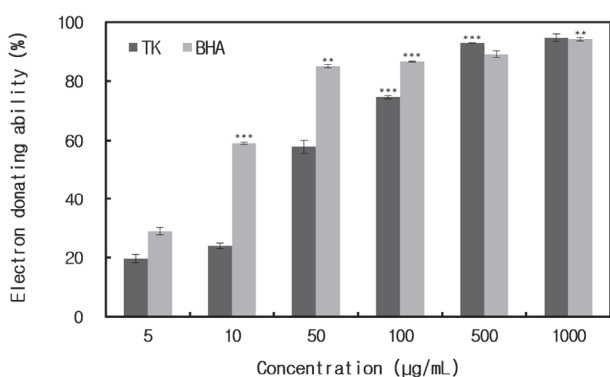


Figure 3. Electron donating ability of extract from TK.

Electron donating ability for TK extract and butylated hydroxy anisole from various concentration were determined with 0.2 mM DPPH ethanolic solution. ■ TK: *Ternstroemia kwangtungensis* Merr. □ BHA: Butylated hydroxy anisole. Result are means ± SD of triplicate data (** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$).

기 위한 시험법으로 폭넓게 사용되어지고 있다[15-17].

후피향 추출물의 전자공여능을 측정된 결과, 추출물의 농도가 증가함에 따라 전자공여능이 높아지는 것을 확인할 수 있었다. 대조군으로 사용된 BHA와 비교하였을 때 500 µg/mL의 농도에서 92.9%로 대조군에 비해 우수한 효과를 나타내었으며 최고 농도인 1,000 µg/mL의 농도에서는 94.6%의 유의한 결과를 확인할 수 있었다(Figure 3).

3.4. ABTS⁺ Radical 소거능 측정

ABTS⁺ radical 소거능 측정은 ABTS와 potassium persulfate의 반응으로 생성된 양이온 radical이 항산화성 물질에 의해 소거되어 특유의 청록색이 탈색되는 원리를 이용한 항산화능 측정 방법으로 이 측정법은 체내에서 생성되는 radical을 대체한 인위적인 radical을 제거하는 작용기작이 DPPH assay와 공통적이며 유의적인 상관성을 나타내는 것

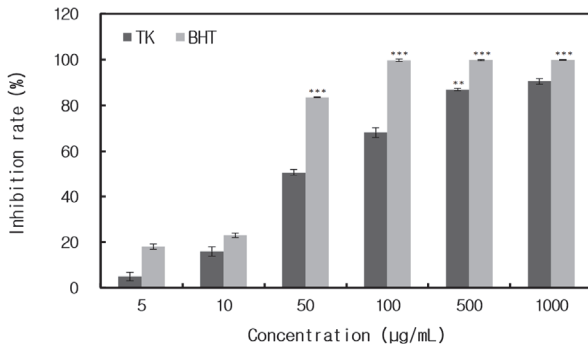


Figure 4. ABTS⁺ radical scavenging ability of TK extract. ABTS⁺ radical scavenging ability for TK extract and butylated hydroxy toluene from various concentration were determined with ABTS⁺ radical solution. ■ TK: *Ternstroemia kwangtungensis* Merr. □ BHT: Butylated hydroxy toluene. Result are means ± SD of triplicate data (** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$).

으로 알려져 있다[18,19].

후피향 추출물의 ABTS⁺ radical 소거능 측정 결과, 농도 의존적으로 소거능이 증가하였다. 최고 농도인 1,000 µg/mL에서는 90% 이상의 소거 활성으로 대조군과 비교하였을 때 유의한 결과를 확인할 수 있었다(Figure 4).

3.5. Tyrosinase 저해활성 측정

피부의 표피 기저층에서 melanin의 생성 경로에 주요하게 관여하며 Cu²⁺와 결합한 효소인 tyrosinase는 tyrosin을 산화시켜 melanin을 형성한다. Melanin은 자외선이나 외부 자극 물질로부터 피부 세포를 보호하지만 과도하게 생성되면 색소침착을 일으켜 피부에 주근깨, 기미 및 검버섯 등을 형성하고 피부 노화를 촉진하게 된다. Tyrosinase 합성을 억제하거나 활성 정도를 저해함으로써 생성되는 melanin의 양을 감소시켜 미백 효능을 확인할 수 있다[20-22].

후피향 추출물의 tyrosinase 저해활성 측정 결과에서 저해활성이 추출물의 농도 의존적으로 증가함을 확인할 수 있었으며 최고 농도인 1,000 µg/mL에서 24.4%의 억제활성을 나타내었다(Figure 5).

3.6. Elastase 저해활성 측정

피부의 진피 내에서 교원질과 피부 탄력에 중요한 역할을 하는 기질 단백질인 elastin을 분해하는 효소인 elastase는 비특이적 가수분해 효소로 피부의 탄력 손실 유발 및 주름 생성으로 인한 피부 노화의 주원인으로 작용한다. 이를 저해하는 것은 피부 주름을 개선하는 작용을 하며 vitamin

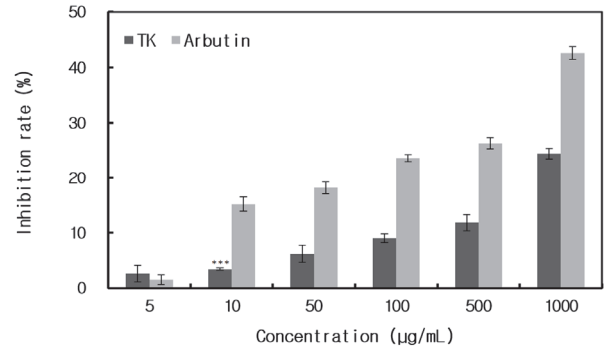


Figure 5. Inhibition rate of extract from TK on tyrosinase. Inhibition rate of tyrosinase for TK extract and arbutin were determined with 200 U/mL mushroom tyrosinase solution. ■ TK: *Ternstroemia kwangtungensis* Merr. □ Arbutin: Arbutin. Result are means ± SD of triplicate data (** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$).

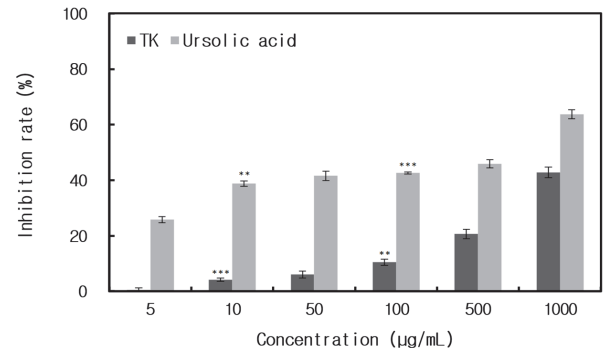


Figure 6. Inhibition rate of extract from TK on elastase. Inhibition rate of elastase for TK extract and arbutin were determined with 2.5 U/mL elastase solution. ■ TK: *Ternstroemia kwangtungensis* Merr. □ Ursolic acid: Ursolic acid. Result are means ± SD of triplicate data (** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$).

C, ursolic acid 등이 대표적인 elastase 저해제로 사용되고 있다[23,24].

Elastase 활성에 후피향 추출물이 미치는 영향을 측정한 결과, elastase 저해활성이 추출물의 농도가 증가함에 따라 증가하는 것을 확인할 수 있었다. 최고 농도인 1,000 µg/mL에서 42.7%의 저해능을 보였으며, 대조군으로 사용된 ursolic acid와 유의한 결과를 나타내었다(Figure 6).

4. 결 론

최근 과학 기술 및 의학, 경제의 발달에 따른 심화된 산업화 및 도시화에 의해 생물학적, 화학적 유해 인자들에

대한 노출 및 자외선으로 인한 피부 손상으로 활성산소종이 생성된다. 활성산소가 과생성되면 산화적 스트레스가 발생하며 이로 인해 피부암, 염증성 피부질환 및 주름 생성 등의 다양한 증상이 야기된다. 상록수인 후피향은 차나무과 후피향 나무속에 속하며 주로 아시아와 미국의 난대 및 아열대 지역에 분포하고 있는데 민간에서는 약재로 사용되거나 관상 및 조경 식물로 국한되어 사용되고 있다. 이러한 후피향의 생리활성 검증을 통하여 기능성 천연 소재로서의 활용가치를 확인해보고자 하였다.

후피향 추출물의 기초 효능평가를 위해 luciferase assay를 진행하여 Nrf2 활성도를 측정한 결과 후피향의 부위별 및 용매별 추출물 중 50% EtOH를 이용하여 후피향 잎을 추출한 추출물 200 $\mu\text{g/mL}$ 농도에서 가장 높은 활성도를 확인할 수 있었다. 상온에서 시간 경과에 따른 추출물의 안정성을 확인하고자 UPLC를 실시한 결과 UV spectrum pattern의 양상이 동일하게 나타났으며 안정성이 유지됨을 확인하였다. 후피향 추출물의 항산화 효능을 확인하기 위해 전자공여능 및 ABTS⁺ radical 소거능 측정 결과 농도가 증가함에 따라 활성이 증가했고 1,000 $\mu\text{g/mL}$ 에서 각각 94.6%, 90.8%의 높은 효과를 보였으며 특히 전자공여능에서 대조군에 비해 높은 항산화능을 확인할 수 있었다. 미백 효능을 알아보기 위해 tyrosinase 저해활성을 측정한 결과 1,000 $\mu\text{g/mL}$ 의 농도에서 24.4%의 저해능을 나타내었다. 또한 후피향 추출물의 elastase 저해활성을 알아본 결과, 농도 의존적으로 활성이 저해능이 증가하였으며 1,000 $\mu\text{g/mL}$ 에서 42.7%의 억제활성을 확인할 수 있었다.

본 연구의 결과로 베트남 후피향 추출물은 장기보존에도 안정성이 유지되며 Nrf2, 항산화, 미백 및 주름개선 활성을 가진 천연물 소재로서의 이용가치가 있다고 판단되었으며, 이와 관련된 추가적인 실험을 통한 기능성 활성 검증이 필요할 것으로 사료된다.

References

1. E. J. Na, H. H. Jang, and G. R. Kim, Review of recent studies and research analysis for anti-oxidant and anti-aging materials, *Asian J. Beauty Cosmetol.*, **14**(4), 481 (2016).
2. C. E. Hong, Y. H. Chun, and S. Y. Lyu, Anti-inflammatory and antioxidant effects of *Zizyphus jujuba* Miller var. *inermis* extracts, *Korean J. Pharmacogn.*, **50**(2), 86 (2019).
3. J. K. Hong, A study on skin aging caused by free-radical and on efficacy of antioxidant vitamins, *Asian J. Beauty Cosmetol.*, **7**(2): 51 (2009).
4. J. Lee, K. S. Kim, H. G. Lee, C. Park, M. Ku, and Y. S. Keum, Skin protective effect of methylated marliolide through induction of NRF2/ARE, *J. Soc. Cosmet. Sci. Korea*, **44**(4), 375 (2018).
5. J. H. Kim, S. M. Park, G. S. Sim, B. C. Lee, and H. B. Pyo, Protection of UV-derived skin cell damage and anti-irritation effect of *Juniperus chinensis* Xylem extract, *J. Soc. Cosmet. Sci. Korea*, **30**(1), 63 (2004).
6. M. J. Kim, E. J. Han, K. H. Lee, H. S. Kim, and G. N. Ahn, Effect of *Sargassum horneri* chloroform fraction against skin barrier damage and skin moisture reduction in ultraviolet B-irradiated keratinocytes, *J. Chitin Chitosan*, **25**(2), 85 (2020).
7. J. H. Jang, K. H. Noh, J. N. Choi, K. S. Jin, J. H. Shin, J. H. On, C. W. Cho, W. S. Jeong, M. J. Kim, and Y. S. Song, Effect of *Hericium erinaceus* mycelia supplementation on the oxidative stress and inflammation processes stimulated by LPS and their mechanisms in BALB/C mice, *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.*, **39**(2), 227 (2010).
8. S. J. Oh, J. H. Lee, K. S. Ko, D. B. Shin, and S. C. Koh, Antioxidative activity, including inhibitory activities of ACE, APN and α -amylase, in theaceae plants native to Jeju island, *Korean J. Plant Res.*, **23**(5), 406 (2010).
9. M. S. Blois, Antioxidant determinations by the use of a stable free radical, *Nature*, **181**, 1199 (1958).
10. R. Re, N. Pellegrini, A. Proteggente, A. Pannala, M. Yang, and C. Rice-Evans, Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay, *Free Radical Biol. Med.*, **26**(9-10), 1231 (1999).
11. A. Yagi, T. Kanbara, and N. Morinobu, Inhibition of mushroom-tyrosinase by *Aloe* extract, *Planta Med.*, **53**(6), 515 (1987).
12. R. J. Cannell, S. J. Kellan, A. M. Owsianski, and J. M. Walker, Results of a large scale screen of microalgae for the production of protease inhibitors, *Planta Med.*, **54**(1), 10 (1988).
13. J. Choi, K. H. Kim, J. Y. Choi, C. W. Han, K. T. Ha, H. S. Jeong, and M. Joo, Identification of the plant part

- of *Gleditsia sinensis* that activates Nrf2, an anti-oxidative transcription factor, *J. Physiol. Pathol. Korean Med.*, **28**(3), 303 (2014).
14. D. Yoo, K. H. Jung, and S. J. Choi, Analytical validation of Silymarin in milk thistle extract as a functional health ingredient using the UPLC system, *Food Eng. Prog.*, **22**(2) 145 (2018).
 15. M. S. Ko, H. J. Lee, and M. J. Kang, Antioxidant activities and whitening effects of extracts from *Hippophae rhamnoides* L., *J. East Asian Soc. Diet. Life*, **22**(6), 812 (2012).
 16. T. W. Jang and J. H. Park, Antioxidant activities and inhibitory effects on oxidative DNA damage of leaf from *Zelkova serrata* with ethyl acetate fractions and hot water extracts, *J. Appl. Biol. Chem.*, **59**(3), 255 (2016).
 17. E. J. Roh, B. K. Kim, and D. S. Kim, Antioxidative activity and antiaging effects of *Tetrapanax papyriferum* extract, *J. Korean Oil Chem. Soc.*, **28**(2), 219 (2011).
 18. B. R. Yoo, J. M. Kim, J. S. Choi, B. O. Jung, and S. J. Chung, Effect of antioxidant activity of *Cornus Officinalis* flower with chitosan, *J. Chitin Chitosan*, **19**(2), 143 (2014).
 19. J. E. Kim, S. M. Jo, and N. H. Lee, Anti-oxidative and anti-bacterial constituents from the extracts of *Rhododendron weyrichii* leaves, *J. Soc. Cosmet. Sci. Korea*, **45**(4), 341 (2019).
 20. D. H. Kim, B. J. Ahn, and J. Y. Lee, Whitening activities of the *Agrimonia pilosa* L. extracts, *J. appl. Biol. Chem.*, **54**(4), 284 (2011).
 21. J. P. Ortonne, Photoprotective properties of skin melanin, *Brit. J. Dermatol.*, **146**(61), 7 (2002).
 22. S. H. Jung, M. J. Ku, H. J. Moon, B. C. Yu, M. J. Jeon, and Y. H. Lee, Inhibitory effects of fucoidan on melanin synthesis and tyrosinase activity, *J. Life Sci.*, **19**(1), 75 (2009).
 23. H. Kang, S. G. Lee, G. J. Song, and M. S. Jung, Antioxidant and anti-aging activities of ethanol extracts from defatted *Perilla frutescens*, *J. Naturopathy*, **7**(2), 70 (2018).
 24. S. M. Lim, H. J. Park, and Y. J. Cho, Antioxidative and biological activity of extracts from *Orostachys japonicus*, *J. Appl. Biol. Chem.*, **60**(4), 293 (2017).