

## 추출용매에 따른 단삼 추출물의 항노화 활성

곽 남<sup>1</sup>, 이지안<sup>2\*</sup>

<sup>1</sup>서경대학교 일반대학원 미용예술학과 학생, <sup>2</sup>서경대학교 미용예술대학 뷰티테라피&메이크업학과 교수

### Effects of solvents on the anti-aging activity of *Salvia miltiorrhiza* extract

Guonan<sup>1</sup>, Ji-An Lee<sup>2\*</sup>

<sup>1</sup>Student, Dept. of Beauty Art, Graduate School, Seokyeong University

<sup>2</sup>Professor, Dept. of Beauty Therapy & Make-up, College of Beauty Art Seokyeong University

**요약** 본 연구에서는 단삼 뿌리 추출물의 세포 안정성, 수렴 활성, NO 소거능, iNOS 단백질 발현량, 염증성 cytokine 분비, elastase 효소 저해능, type I pro-collagen 합성능 등을 조사하여 기능성 화장품 소재로서의 가능성을 평가하고자 하였다. 단삼 80% 에탄올추출물(SE)과 열수추출물(SW)을 대상으로 NHDF 및 RAW264.7 세포에서 0.05~0.5 mg/mL 농도 처리에 따른 독성을 보이지 않아 수렴, 염증, 주름 개선 효능을 진행하였다. 그 결과 수렴활성 측정 결과 SE는 10 mg/mL에서 74.6%의 활성을 나타냈다. SE는 농도 의존적으로 LPS에 의해 유도된 NO, iNOS 단백질, TNF- $\alpha$  및 IL-6 cytokine의 생성을 유의미하게 감소시켰다. 게다가 SE와 SW는 elastase 효소 활성을 억제할 뿐만 아니라 TNF- $\alpha$ 에 의해 감소된 pro-collagen의 생성을 증가시켰다. 따라서 단삼 에탄올추출물은 수렴제, 염증 관련 피부 질환, 주름 생성을 효과적으로 예방할 수 있는 천연 화장품 소재로서의 활용 가능성이 높을 것으로 기대된다.

**주제어** : 단삼, 항염, 수렴활성, 항주름, 항노화

**Abstract** This study was conducted to determine the cell cytotoxicity, astringency, nitrite oxide scavenging, iNOS protein expression level, pro-inflammatory cytokine, elastase inhibition, and type I pro-collagen synthesis as a functional cosmetics material of *Salvia miltiorrhiza* root. We prepared the 80% ethanol(SE) and hot-distilled water(SW), respectively. Both SE and SW showed no toxicity from 0.05 to 0.5 mg/mL concentration as a result of MTT assay in NHDF or RAW264.7 cells. In the measurement of astringent effect, SE revealed 74.6% of astringent activity in 10 mg/mL. SE showed that LPS-induced nitric oxide production, iNOS protein expression, and cytokines were inhibited in a dose-dependent manner. Furthermore, two extracts significantly inhibited elastase activity and increased the type I pro-collagen production. Therefore, it is expected that *Salvia miltiorrhiza* extract is used as a natural material for functional cosmetics that can effectively prevent skin-related inflammation and wrinkles, and aging.

**Key Words** : *Salvia miltiorrhiza*, Anti-inflammation, Astringency, Anti-wrinkle, Anti-aging

## 1 서론

현대 사회는 갈수록 심각해지는 환경오염과 코로나 19의 영향 등으로 인해 외부로부터 유입되는 위해요소들로부터 나를 보호하는 신체의 기능인 '면역'에 대한 관심이 그 어느 때보다 더욱 높아지고 있는 실정이다. 특히 피부는 병원체의 침입, 독성 물질, 자외선 등과 같

은 유해물질로부터 신체를 보호하는 주요 기관으로 이러한 피부면역의 중요성이 더욱 높아지고 있다.

최근 천연 자원을 이용한 화장품 소재 개발 연구들은 전통적으로 질병 치료에 사용되어온 약용식물들의 안전성을 기반으로 새로운 기능성 화장품으로서의 가능성 연구가 활발히 이루어지고 있으며[1], 이는 화장품

\*Corresponding Author : Ji-An Lee(jianlee@skuniv.ac.kr)

Received March 20, 2022

Accepted May 20, 2022

Revised April 20, 2022

Published May 28, 2022

시장에서 개인이 지닌 본연의 피부면역력 향상 및 기능성 효능을 충족시키기 위한 세럼, 앰플 등의 특정 제품 유형의 구매 급증으로 잘 반영되고 있다.

단삼(*Salvia miltiorrhiza*)은 꿀풀과(Labiatae)에 속하는 약용식물로서 오랜 동안 중국 전통의약에서 혈액순환 질환에 주로 사용되어져 왔다[2-3]. 단삼의 약리적 효능에 관한 화합물은 salvianolic acids와 같은 친수성 caffeic acid 유도체와 tanshinone 등의 지용성 화합물이 잘 알려져 있다[4]. 단삼의 유용성분은 퇴행성 골 질환, 심장 질환, 뇌세포 보호 작용, 간세포 보호 작용, 항암, 신장질환 등의 효능으로 식품, 의약품 등의 외용제 및 건강식품, 과립차 및 음료 개발 연구가 활발히 진행되고 있다[5-8].

단삼 추출물의 화장품 소재로서의 생리활성 평가 연구는 단삼 무수메탄올추출물의 항산화 활성[9-10], 추출조건에 따른 단삼 추출물의 항균[11], 미백 효능[12] 등이 알려져 있으나, 단삼 추출물의 항염, 수렴 및 주름개선 등의 기능성 화장품 소재로서의 연구 결과는 미비한 실정이다.

따라서 본 연구에서는 자연 유래 소재로 안전하면서도 항산화 활성이 입증된 단삼을 선택하여 80% 에탄올과 60℃ 열수 두 용매에 따른 단삼 추출물을 획득하고 이를 대상으로 염증 개선, 피부 수렴제와 주름 억제 기능을 평가하여 항노화 화장품 산업에서의 유용 가능성을 확인하고자 하였다.

## 2. 실험방법

### 2.1. 단삼 추출

단삼(뿌리)은 2020년 2월 중국 산둥성에서 재배된 것을 구매하여 수세 및 건조 후 분말화하여 추출에 사용하였다. 분말시료 각 150 g에 80% 에탄올 또는 증류수를 첨가하여 60℃에서 3시간 동안 추출하였으며 이 과정을 3회 반복 실시하였다. 추출액을 여과, 감압농축, 동결건조하였다. 단삼 80% 에탄올추출물(*S. miltiorrhiza* ethanol extract, SE)과 열수 추출물(*S. miltiorrhiza* hot-water extract, SW)은 100 mg/mL의 농도로 제조하여 초저온 냉동고에 보관하면서 각 실험에 사용하였다.

### 2.2. 세포독성 측정

세포 실험을 위해 배양된 정상 인간 피부 섬유아세포(Normal human dermal fibroblast, NHDF)와 마

우스 대식세포주(Murine macrophage cell line, RAW264.7)는 10% FBS와 1% antibiotic-antimycotic (100 units/mL penicillin, 100 µg/mL streptomycin, 0.25 µg/mL amphotenicin B)가 함유된 DMEM(Dulbecco's modified Eagle's medium)으로 37℃, 5% CO<sub>2</sub> 조건에서 배양하였다.

단삼 추출물 SE와 SW의 세포 안정성을 평가하고자 NHDF cell 또는 RAW264.7 cell을 대상으로 MTT assay를 수행하였다. 세포를 계수하여 96 well plate(0.5x10<sup>5</sup> cells/well)에 100 µl씩 분주하여 24 시간 배양하였다. 두 추출물을 희석하여 제조한 시료(20, 50, 100 및 200 µg/mL)100 µl를 세포에 24 시간 처리하였다. 5 mg/mL의 MTT를 최종농도 0.5 mg/mL로 세포에 첨가하여 4시간 처리 후 세포 배양액을 제거한 후, 각 well에 동일한 양의 DMSO를 넣어 570 nm 파장에서 흡광도를 측정하였다[13].

### 2.3. NO (nitric oxide) 소거능

RAW264.7 세포를 24 well plate(1x10<sup>5</sup> cells/well)에 분주하여 24시간 배양한 후, LPS와 단삼 각 추출물을 희석하여 제조한 시료를 처리하였다. 24시간 후 세포 배양액을 griess reagent와 동일한 양으로 10분간 암소에서 반응시킨 후 550 nm 파장에서 흡광도를 측정하였다[14].

### 2.4. 염증성 사이토카인 분비량 측정

RAW264.7 세포를 24 well(1x10<sup>5</sup> cells/well)에 분주하여 24시간 배양한 후, LPS와 단삼 추출물을 희석하여 제조한 시료를 처리하였다. 24시간 후, 세포 배양액으로부터 분비된 TNF- $\alpha$  와 IL-6의 생성 변화를 각각 mouse TNF- $\alpha$  ELISA Set II, mouse IL-6 ELISA Set kit로 측정하였다. 세포 배양을 희석한 시료를 kit 제조사의 protocol에 따라 수행하였다[15].

### 2.5. 염증 매개 단백질 발현 측정

RAW264.7 세포를 60 mm-dish(1x10<sup>6</sup> cells/dish)에 분주하여 24시간 배양한 후, LPS와 단삼 각 추출물을 희석하여 제조한 시료를 세포에 처리하였다. 24시간 후, 세포를 차가운 PBS로 씻은 후 RIPA buffer로 용해시키고 원심 분리하여 얻은 상층액을 대상으로 단백질을 정량하였다. 정량된 총 단백질 시료를

10% SDS-PAGE에 전기영동 시킨 후, PVDF membrane으로 이송시켰다. 1차 항체는 anti-iNOS(Novus Biologicals, Gilbert, AZ, USA), anti-COX2(Cell Signaling, Beverly, MA, USA)와 anti- $\beta$ -actin(Santa Cruz, OR, USA), 2차 항체는 anti-rabbit IgG-HRP (Cell Signaling)와 m-IgG BP-HRP (Santa Cruz)를 이용하였다[16].

### 2.6. 수렴 활성 측정

단삼 추출물의 수렴활성은 피부 단백질과 유사한 혈액 단백질(1 mg/mL, bovine blood hemoglobin)을 사용하였다. 각 추출물을 희석하여 제조한 시료와 혈액 단백질을 1:1로 혼합하여 5분 동안 shaking한 후 3,000 rpm에서 15분간 원심 분리한 다음 407 nm 파장에서 흡광도를 측정하였다. 최종 활성도는 시료 용액의 첨가군과 무첨가군의 흡광도 감소율로 나타내었다[17].

### 2.7. Elastase 효소 저해 측정

단삼 추출물의 elastase 효소 저해 활성을 측정하기 위해 neutrophil elastase colorimetric drug discovery kit (Enzo Life Science, NY, USA)를 사용하였다. 추출물을 농도별로 희석한 시료를 kit 제조사의 protocol에 따라 수행하였으며, 양성대조물질은 elastatinal(최종농도 51.25  $\mu$ g/mL)을 사용하였다[18].

### 2.8. Collagen 합성 측정

NHDF 세포에서 추출물에 의한 pro-collagen 합성 변화를 조사하고자 세포를 24 well( $1 \times 10^5$  cells/well)에 분주하여 24 시간 배양하였다. 24 시간 후, 세포를 1XPBS (phosphate buffered saline)로 2번 씻고, 무혈청 배지를 첨가하였다. TNF- $\alpha$  (10 ng/mL)와 각 추출물을 희석하여 제조한 시료를 세포에 처리하고 24시간 후 세포 배양액을 대상으로 procollagen type I C-peptide(PIP) enzyme immunoassay(EIA) kit(TaKaRa Bio Inc., Shiga, Japan) 제조사의 protocol에 따라 수행하였다[19].

### 2.9. 통계분석

단삼 용매에 따른 2종 추출물의 모든 실험결과는 독립적으로 3회 이상 반복 수행하였으며, unpaired student's t를 이용하여 평균 (mean)  $\pm$  표준편차

(standard deviation)로 표시하였다. 평균치의 통계적 유의성 검정은 Student's t-test법을 사용하여 \* $p < 0.05$  이하 수준에서 판정하였다.

## 3. 연구결과 및 고찰

### 3.1 추출 수율

단삼 분말 150 g씩에 각 80% 에탄올 또는 열수 용매를 10배수로 첨가하여 추출, 여과, 농축 및 동결 건조한 후 최종적으로 얻어진 건조중량은 에탄올추출물(SE)이 39.5 g, 열수추출물(SW)이 61 g이었다. 각 추출물의 수율을 추출 전 시료의 건조중량에 대한 추출 후 시료의 중량을 백분율(%)로 환산한 결과 Table 1과 같다. 그 결과 유기용매인 에탄올을 사용한 SE의 수율이 26.33%, 60°C의 정제수를 사용한 SW가 40.66%로 나타났다. 이는 무수에탄올(99% ethanol) 용매를 이용하여 국내산 단삼을 추출한 결과 22.4%의 수율을 보고한 김윤화 등(2003)의 결과와 유사하며, 단삼 뿌리의 경우 에탄올 보다 열수 용매 사용에 의한 수율이 더 효율적임을 알 수 있었다[20].

Table 1. Extraction yield of *S. miltiorrhiza* by 80% ethanol and hot-water

Sample	Solvent	Yield(%)
SE	80% ethanol	26.33
SW	60°C hot-water	40.66

### 3.2 세포 생존율

단삼 추출물 SE와 SW의 성분 안전성을 세포 수준에서 평가하기 위해 정상 인간 피부 섬유아세포에 추출물을 농도별로 처리한 결과 Fig. 4A와 같다. 각 추출물 농도 20  $\mu$ g/mL, 50  $\mu$ g/mL, 100  $\mu$ g/mL 및 200  $\mu$ g/mL에 따른 세포독성은 SE의 경우 96.18%, 94.36%, 94.04, 85.01%로 SW는 99.89%, 97.63%, 96.35%, 92.37%로 나타났다. 또한 RAW264.7 세포를 이용한 염증 효능 실험에 적절한 추출물 농도를 결정하고자 세포 생존율을 확인한 결과 Fig. 4B와 같다. 세포만 배양한 대조군을 100%로 가정하였을 때 SE 추출물에 의한 세포 생존율은 7~9% 증가하였으며, SW는 대조군과 유사한 것으로 나타났다.곽정숙 등(2003)은 쥐의 정상 섬유아세포(NIH3T3)에 대한 단삼 용매별 추출물의 세

포독성 결과 메탄올추출물이 에탄올추출물보다 2배 더 높은 독성을 나타낸다고 보고하여[21], 동일한 유기용매일지라도 용매 선택에 따른 추출물의 세포 안전성 차이가 있음을 알 수 있었다.

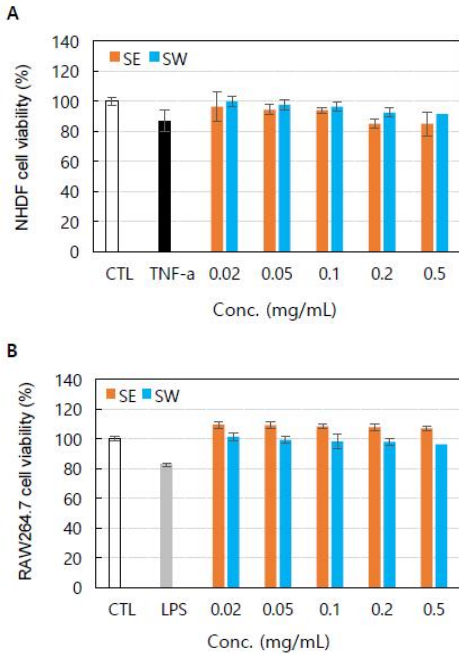


Fig. 1. Effect of *S. miltiorrhiza* on the cell viability: (A) NHDF and (B) RAW264.7 cells. Values are expressed as mean±S.D.

### 3.3 수렴 활성능

수렴제(astringent)는 모공 수축, 피부의 과도한 유분 및 화장 잔여물을 제거하는 기능으로 지성 또는 여드름 피부에 사용한다. 단삼 추출물의 수렴활성은 혈액 단백질과의 결합정도에 따른 단백질의 침전도를 측정하였으며[22] 그 결과는 Fig. 4와 같다. 양성대조군 ascorbic acid(AA, 10 mg/mL)와 gallic acid(GA, 10 mg/mL)의 수렴능이 각각 56.6%, 65.9%일 때, SE 추출물은 1 mg/mL과 10 mg/mL 조건에서 각각 24.3%, 74.6%로 증가하여 GA보다 우수하였으며, SW 추출물은 수렴 효능이 없음을 확인하였다. 단삼 추출물의 수렴 효능 연구는 본 연구에서 처음 보고하였으며, 본 결과를 통하여 단삼 에탄올 추출물은 새로운 수렴 원료 후보물질로서의 가능성이 검증되었다.

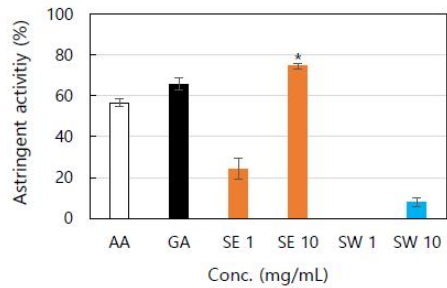


Fig. 2. Effect of astringent activity of two extracts from *S. miltiorrhiza*. Values are expressed as mean±S.D. Statistically significant from the control. (\*p<0.05).

### 3.4 항염 효능

그람 음성균의 내독소(endotoxin)로 알려진 LPS를 RAW264.7 세포에 처리한 다음 NO, 염증성 cytokine 및 염증 관련 유전자의 단백질 발현을 조사하였다.

#### 3.4.1 NO 생성 및 염증

활성산소의 일원으로 염증 반응에서 과잉으로 생성되어 발열, 부종, 주변 조직 손상 등을 일으키는 NO는 염증성 피부 질환의 주요 원인으로 작용한다[23]. 단삼 두 용매 추출물이 NO 생성에 미치는 영향을 griess 시약을 이용한 결과 Fig. 3과 같다. LPS 처리 후 증가한 NO를 100%로 기준하였을 때, 각 추출물 농도별(0.05, 0.1, 0.2, 0.5 mg/mL) NO 측정량은 SE의 경우 53.1%, 73.6%, 95.2%, 95.3%, SW는 12.4%, 16.3%, 19.0%, 22.0%로 억제되었으며, 이는 양은주 등(2017)이 국내산 3종과 중국산 단삼의 75% 에탄올 또는 95℃ 열수추출물로 NO 소거능을 측정한 결과와 동일하게 에탄올 추출물이 열수보다 우수한 것으로 확인되었다[24].

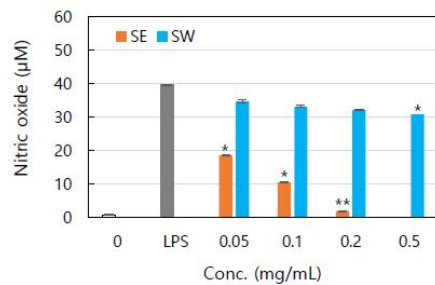


Fig. 3. Effect of nitric oxide production of two extracts from *S. miltiorrhiza*. Values are expressed as mean±S.D. Statistically significant from the control. (\*p<0.05, \*\*p<0.01).

### 3.4.2 염증 매개 효소 단백질 발현 감소

LPS로 자극한 RAW264.7 세포 내 NO 생성은 iNOS에 의해 이루어진다. 따라서 NO 생성의 직접적인 효소의 발현을 단백질 수준에서 확인한 결과 Fig. 4와 같다. LPS에 의해 유도된 iNOS의 단백질 수준이 SE 추출물 농도에 비례하여 감소하였으며, SW의 경우 NO 생성결과와 마찬가지로 iNOS 발현 및 NO 생성에 거의 영향을 미치지 않음을 알 수 있다. 이러한 결과는 이세은 등(2015)이 중국산 단삼을 유기용매인 메탄올로 추출하여 5  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 의 LPS로 처리한 RAW264.7 세포에서 iNOS 단백질 발현 수준이 줄었다고 보고한 결과와 맥을 같이 한다[25].

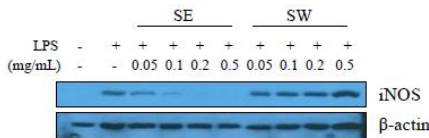


Fig. 4. Effect of iNOS protein expression of two extracts from *S. miltiorrhiza*. Values are expressed as mean $\pm$ S.D.

### 3.4.3 염증성 사이토카인 분비 저해

염증 반응 시 생성되는 염증성 사이토카인은 주변 세포를 자극해 염증 반응을 증폭시켜 염증성 질환을 악화시킨다. 따라서 SE와 SW 추출물에 의한 TNF- $\alpha$ , IL-6의 분비량 변화를 확인한 결과 Fig. 5와 같다. 그 결과 SE 추출물은 LPS로 증가된 TNF- $\alpha$ 와 IL-6의 분비를 저해하였으며 특히 IL-6의 분비가 저농도에서도 급격히 감소하였다. 그러나 SW는 LPS에 의한 TNF- $\alpha$ , IL-6 생성에 영향을 주지 않았다. 이는 국내산 단삼 물 추출물이 500 ng/mL의 LPS로 자극한 RAW264.7 세포와 생쥐 염증모델에서 IL-1 $\beta$ 의 생성은 억제하는 반면 TNF- $\alpha$ 와 IL-6에는 영향을 미치지 않은 연구결과와 동일하여, 용매에 따른 단삼 각 추출물 내 성분차에 기인한 것으로 사료된다[26].

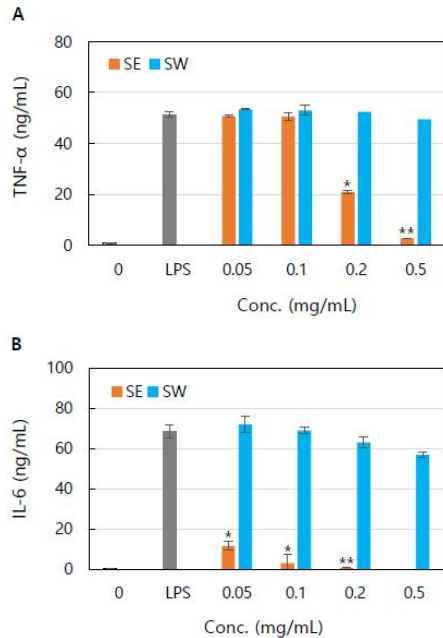


Fig. 5. Effect of pro-inflammatory cytokines of two extracts from *S. miltiorrhiza*. : (A) TNF- $\alpha$  and (B) IL-6, in LPS-induced RAW264.7 cells. Values are expressed as mean $\pm$ S.D. Statistically significant from the control. (\* $p < 0.05$ , \*\* $p < 0.01$ ).

## 3.5 항주름 효과

### 3.5.1 Elastase 효소 활성 억제

피부 진피층에서 탄력을 유지하는 기질 단백질인 elastin을 분해하는 elastase는 백혈구 과립효소의 일종으로 기저층의 망상 조직을 파괴함으로써 피부의 주름 유발과 탄력성 소실의 주요 원인으로 작용한다[27]. 단삼 두 추출물이 elastase 효소 활성에 미치는 영향을 조사한 결과 Fig. 6과 같다. 그 결과 SE에 의한 elastase 활성은 거의 변화가 없었으나, SW 처리 농도에 따른 효소 활성이 감소하였다. 또한 elastase 저해제(inhibitor)로 사용된 elastatinal의 효소 저해능이 31.7%일 때, SE(100  $\mu\text{g}/\text{mL}$ )에 의한 저해는 15.8%로 나타났다. 이는 crude extract인 단삼 에탄올추출물 내 elastase 저해에 기여하는 단일성분을 분리 정제 시 elastatinal(51.25  $\mu\text{g}/\text{mL}$ )과 SE(100  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) 두 시료의 농도 차는 충분히 극복할 수 있으리라 판단된다.

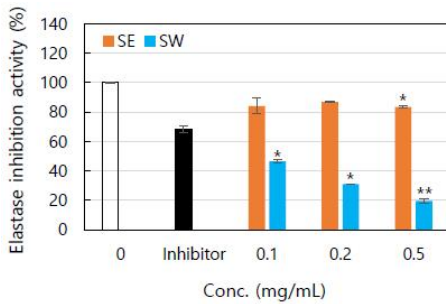


Fig. 6. Inhibitory effect of elastase activity of two extracts from *S. miltiorrhiza*. Values are expressed as mean $\pm$ SD. Statistically significant from the control. (\* $p < 0.05$ , \*\* $p < 0.01$ ).

### 3.5.2 Type I pro-collagen 합성 증가

진피 섬유아세포에서 생성되는 collagen은 염증성 cytokine에 의해 생성이 감소한다[28]. 따라서 TNF- $\alpha$ 를 처리하여 염증 반응을 모방한 후 각 단삼 추출물에 의한 collagen 생성 변화를 확인한 결과 Fig. 7과 같다. 그 결과 대조군에서 collagen의 양이 307.9 ng/mL일 때, 10 ng/mL의 TNF- $\alpha$  처리 시 251.4 ng/mL으로 감소하였다. TNF- $\alpha$ 에 의해 감소된 collagen은 SW 0.5 mg/mL 조건에서 통계학적으로 유의하게 증가하였다. 게다가 선행연구 결과에 따르면 단삼 에탄올 추출물의 collagenase 활성 억제능이 43.1%로 양성대조군(minocycline) 45.5%와 유사한 수준으로 확인되었다[29]. 본 결과와 종합해 볼 때, 단삼 추출물은 collagenase 효소 억제뿐만 아니라 collagen 형성을 촉진시킴으로써 주름 개선 관련 화장품 원료로서 활용도가 높을 것으로 기대된다.

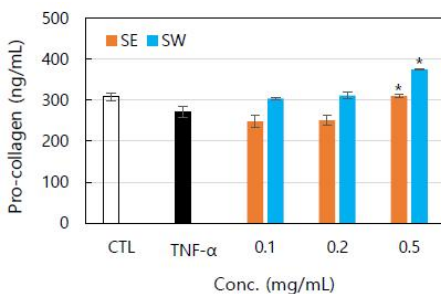


Fig. 7. Type I pro-collagen synthesis rate in NHDF cells. Values are expressed as mean $\pm$ S.D. Statistically significant from the control. (\* $p < 0.05$ ).

## 4. 결론

본 연구에서는 단삼 뿌리 소재를 대상으로 80% 에탄올과 정제수를 사용하여 각각 단삼 에탄올추출물(SE) 또는 열수추출물(SW)을 최종적으로 얻었다. 두 가지 용매에 따른 추출물의 항노화 화장품 원료로서의 가능성을 조사하고자 피부 세포 독성, NO 소거능, iNOS 단백질 발현, 염증성 cytokine 분비, 수렴 활성, elastase 활성 저해능, 콜라겐 생성능 등을 평가하였다.

유기용매인 80% 에탄올과 60 $^{\circ}$ C의 정제수에 의한 최종 수율(yield)은 SE가 26.33%, SW는 40.66%로 정제수에 의한 추출 수율이 1.5배 더 높았다.

단삼 추출물의 미용 제품 적용 가능성을 세포수준에서 알아보려 인간 피부 섬유아세포를 대상으로 조사한 결과, 본 연구에서 사용된 각 추출물의 농도 범위에서 세포 독성이 거의 없어 동일한 농도조건에서 추후 효능 연구를 수행하였다.

단삼 에탄올추출물(SE)의 수렴 활성은 추출물 농도 증가에 따른 수렴도가 증가하였으며, 동일한 농도(10 mg/mL) 조건에서 양성대조군 GA의 65.9%보다 더 높은 74.6%로 나타났다.

피부 염증 관련 평가는 LPS 처리 후 RAW264.7 세포에서 분비되는 여러 가지 염증 매개 물질들의 생성 변화를 조사하였으며 그 결과, LPS에 의해 증가한 세포 배양액 내 NO 양은 SE 농도에 의존적으로 뚜렷하게 감소하였다. 이러한 NO 생성량 저하는 NO 생성을 위해 필수적인 효소 iNOS 단백질 발현 수준 감소에 의한 결과로 western blot 방법을 통해 확인하였다. 또한 염증성 사이토카인 TNF- $\alpha$ 와 IL-6의 분비량이 단삼 추출물 처리에 의해 감소하여 단삼 추출물의 염증 조절 기능을 확인하였다.

마지막으로 항주름 효능을 위해 단삼 두 종류 추출물의 elastase 효소 억제능과 type I pro-collagen 합성 양을 측정된 결과 SW의 elastase 효소 억제능은 저농도(0.1 mg/mL)에서부터 elastase 억제제(elastatinal)보다 2배 뛰어난 효소 활성 억제를 보였다. 인간 진피 섬유아세포에서 TNF- $\alpha$ 로 염증반응을 유도한 후 감소된 type I pro-collagen은 단삼 추출물 농도 증가에 의해 회복되었다. 따라서 단삼 추출물은 피부 염증과 노화를 억제시키는 항노화 화장품 원료로서의 활용가치가 높을 것으로 판단된다.

이상을 종합해 볼 때, 면역력을 위해 건강식품으로

잘 알려진 단삼을 소재로 용매에 따른 추출물의 항염, 수렴 활성 및 항주름 활성 등을 비교 평가하여 단삼 추출물의 새로운 항노화 화장품 원료로서의 기능을 제안하고자 한다.

## REFERENCES

- [1] J. Y. Lee & J. M. Lee. (2021). Analysis of recent research trends in development of functional cosmetic materials for wrinkle improvement. *Journal of Convergence for Information Technology*, 11(6), 181-187.
- [2] W. S. Han. (2004). "Isolation of antimicrobial compounds from *Salvia Miltiorrhiza Bunge*", *Korean Journal of Medicinal Crop Science*, 12(3), 179-182.
- [3] J. R. Dean, B. Liu & R. Price. (1998). "Extraction of Tanshinone IIA from *Salvia Miltiorrhiza Bunge* using supercritical fluid extraction and a new extraction technique, phytosol solvent extraction", *Journal of Chromatography A*, 799(1-2), 43-348.
- [4] M. Liu, Y. G. Li, F. Zhang, L. Yang, G. X. Chou & Z. T. Wang. (2007). Chromatographic fingerprinting analysis of Danshen root(*Salvia miltiorrhiza Radix et Rhizoma*) and its preparations using high performance liquid chromatography with diode array detection and electrospray mass spectrometry(HPLC-DAD-ESI/MS), *Journal of Separation Science*, 30(14), 2256-2267. DOI : 10.1002/jssc.200700149
- [5] F. Zhang, W. Zheng, R. Pi, Z. Mei, Y. Bao, J. Gao, W. Tang, S. Chen & P. Liu. (2009). Cryptotanshinone protects primary rat cortical neurons from glutamate induced neurotoxicity via the activation of the phosphatidylinositol 3-kinase/Akt signaling pathway. *Experimental Brain Research*, 193(1), 109-118. DOI : 10.1007/s00221-008-1600-9
- [6] H. Q. Yin et al. (2009). *Salvia miltiorrhiza Bunge* and its active acomponent cryptotanshinone protects primary cultured rat hepatocytes from acute ethanol induced cytotoxicity and fatty infiltration. *Food and Chemical Toxicology*, 47(1), 98-103. DOI: 10.1016/j.fct.2008.10.018
- [7] W. H. Yang, T. S. Jung & C. W. Choi. (2014). Antiproliferative effect of the *Salvia miltiorrhiza Radix* extracts on the cancer cell lines. *Herbal Formula Science*, 22(2), 35-43. DOI : 10.14374/HFS.2014.22.2.035
- [8] L. Zhou, Z. Zuo & M. S. S. Chow. (2005). Danshen: an overview of its chemistry, pharmacology, pharmacokinetics, and clinical use, *Journal of Clinical Pharmacology*, 45(12), 1345-1359. DOI : 10.1177/0091270005282630
- [9] H. S. Kim, J. J. Ahn, T. H. Choi & T. Y. Hwang. (2014). Screening of DPPH radical scavenging and antimicrobial activity of extracts from local some native plants, *The Korean Society of Food Preservation*, 21(4), 593-599. DOI : https://doi.org/10.11002/kjfp.2014.21.4.593
- [10] K. J. Jeon, K. H. Park & A. J. Pyo. (2015). A research on cell proliferation effect and antioxidant activity of extracts based on different extraction methods of *Salvia miltiorrhiza Bunge* and *Scutellaria baicalensis*. *Korean Journal of Aesthetics and Cosmetology*, 13(4), 495-502.
- [11] J. S. Mok, U. Y. Par, Y. M. Kim & D. S. Chang. (1994). Effects of solvents and extracting condition on the antimicrobial activity of *Salvia miltiorrhiza Radix(Salvia miltiorrhiza)* extract, *Journal of the Korean Society of Food Science and Nutrition*, 23(6), 100-1007.
- [12] T. S. Par, D. H. Kim & J. H. Son. (2015). Whitening effect of *Salvia miltiorrhiza Bunge* water extract in human epidermal melanocyte, *Journal of Applied Biological Chemistry*, 58(4), 333-338. DOI : 10.3839/jabc.2015.052
- [13] T. Mosmann. (1983). Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays. *Journal of Immunological Methods*, 65(1-2), 55-63. DOI : 10.1016/0022-1759(83)90303-4
- [14] J. Sun, X. Zhang, M. Broderick & H. Fein. (2003). Measurement of nitric oxide production in biological systems by using griess reaction assay. *Sensors*, 3(8), 276-284. DOI : 10.3390/s30800276
- [15] S. Song & Lee J. A. (2022). A study on functional cosmetic ingredients of the invasive plant *Spartina anglica*. *Journal of Convergence for Information Technology*, 12(1), 144-152. DOI : 10.22156/CS4SMB.2022.12.01.144
- [16] D. H. Yoon, C. W. Han, Y. Y. Fang, S. Gundeti, I. S. Han, W. O. Song, K. C. Hwang, T. W. Kim, G. H. Sung & H. Park. (2017). Inhibitory Activity of *Cordyceps bassiana* Extract on LPS-induced Inflammation in RAW 264.7 Cells by Suppressing NF- $\kappa$ B Activation. *Natural Product Sciences*, 23(3), 162-168. DOI : 10.20307/nps.2017.23.3.162



- [17] E. Wunsch & H. G. Heidrich. (1963). Zur quantitativen bestimmung der kollagenase. *Hoppe-Seyler's Zeitschrift Für Physiologische Chemie*, 333(Jahresband), 149-151.  
DOI : 10.1515/bchm2.1963.333.1.149
- [18] R. Vijayakumar, S. S. Abd Gani & N. F. Mohd Mokhtar. (2017). Anti-elastase, anti-collagenase and antimicrobial activities of the underutilized red pitaya peel: an in vitro study fro anti-aging applications. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*, 10(8), 251-255.  
DOI : 10.22159/AJPCR.2017.V10I8.19048
- [19] J. S. Kim & Lee J. A. (2021). A study on anti-oxidant and anti-wrinkle effect of supercritical fluid extraction of black carrot as a functional cosmetic material, *Journal of Convergence for Information Technology*, 11(12), 236-243.  
DOI : 10.22156/CS4SMB.2022.12.01.144
- [20] Y. H. Kim, Y. S. Han, J. E. Paik & T. H. Song. (2003). Screening of antioxidant activity in Dansam(*Salvia miltiorrhiza*) and additional effect on the shelf-life and the characteristics of yakgwa. *Korean Journal of Food and Cookery Science*, 19(4), 463-469.
- [21] J. S. Kwag & S. H. Baek. (2003). Cytotoxicity and antimicrobial effects of extracts from *Salvia miltiorrhiza*. *Korean Journal of Pharmacognosy*, 34(4), 293-396.
- [22] J. H. Park & J. A. Lee. (2021). Evaluation of the cosmeceutical activity of *Apocynum lancifolium* Russanov extracts. *Journal of Convergence for Information Technology*, 11(1), 236-243.  
DOI : 10.22156/CS4SMB.2021.11.01.236
- [23] J. Tang, P. Diao, X. Shu, L. Li & L. Xiong. (2019). Quercetin and Quercitrin Attenuates the Inflammatory Response and Oxidative Stress in LPS-Induced RAW264.7 Cells: In Vitro Assessment and a Theoretical Model. *BioMed Research International*, 2019, 1-8.  
DOI : 10.1155/2019/7039802
- [24] E. J. Yang, Y. K. Seon, Y. S. Seo & B. Y. Shin. (2017). Component analysis and comparison of biological activities of *Salvia miltiorrhiza* bunge from different cultivation regions. *Journal of the Korean Society of Food Science and Nutrition*, 46(8), 929-936.  
DOI : 10.3746/jkfn.2017.46.8.929
- [25] S. E. Lee & S. I. Cho. (2015). Anti-inflammatory effects of *Salviae Miltiorrhizae Radix* extract on RAW264.7 cells via anti-oxidatvie activities. *The Korea Journal of Herbology*, 30(4), 89-94.  
DOI : 10.6116/kjh.2015.30.4.89.
- [26] G. H. Kim, K. K. Hong, H. B. Cho, C. M. Choi & S. B. Kim. (2019). Anti-inflammatory effects of *Salvia miltiorrhizae Radix* water extract in RAW264.7 cells and mouse induced by lipopolysaccharide. *The Journal of Korean Obstetrics and Gynecology*, 32(2), 001-007.  
DOI : 10.15204/jkobjgy.2019.32.2.001
- [27] H. Takeuchi, T. Gomi, M. Shishido, H. Watanabe & N. Suenobu (2010). Neutrophil elastase contributes to extracellular matrix damage induced by chronic low-dose UV irradiation in a hairless mouse photoaging model. *Journal of Dermatological Science*, 60(3), 151-158.  
DOI : 10.1016/j.jdermsci.2010.09.001
- [28] A. Mauviel, J. Heino, V. M. Kahari, D. J. Hartmann, G. Loyau, J. P. Pujol & E. vuorio. (1991). Comparative effects of interleukin-1 and tumor necrosis factor- $\alpha$  on collagen production and corresponding procollagen mRNA levels in human dermal fibroblasts. *The Journal of Investigative Dermatology*, 96(2), 245-249.  
DOI : 10.1111/1523-1747.ep12462185
- [29] E. G. Min, Y. H. Kim, S. I. Kum & Y. H. Han. (2004). Inhibition of growth and collagenease acitivity of the extract from *Salvia miltiorrhiza* against microorganisms causing periodontal diseases. *The Korean Journal of Microbiology*, 40(2), 111-114.

#### 곽 남(GUO NAN)

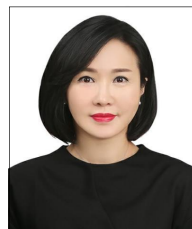
[학생회원]



- 2020년 2월 ~ 현재 : 서경대학교 대학원 미용예술학석사
- 2022년 3월 ~ 현재 : 서경대학교 미용예술대학 뷰티테라피 & 메이크업학과 시간강사
- 관심분야 : 피부미용, 화장품, 미용교육
- E-Mail : guonan@skuniv.ac.kr

#### 이 지 안(Ji-An Lee)

[정회원]



- 2007년 2월 : 서경대학교 대학원 미용예술학석사
- 2012년 2월 : 원광대학교 대학원 미용학박사
- 2013년 9월 ~ 현재 : 서경대학교 미용예술대학 뷰티테라피 & 메이크업학과 교수
- 관심분야 : 뷰티테라피, 화장품, K-Beauty, 미용교육
- E-Mail : jianlee@skuniv.ac.kr