

국내산 식물 3종과 조합 오일의 화장품 소재로서의 생리활성 효과 연구

정숙희^{1,†} · 정희숙²

¹남부대학교 향장미용학과, 교수

²남부대학교 향장미용학과

(2022년 4월 8일 접수: 2022년 4월 26일 수정: 2022년 4월 28일 채택)

A study on the physiological activity effect as a cosmetic material using 3 kinds of domestic plants and combination oil

Sook Heui, Jung^{1,*†} · Heui-Sook Jung

¹Department of Cosmetology Science, Nambu University, Gwangju, 62271, Republic of Korea

²Department of Cosmetology Science, Nambu University, Gwangju, 62271, Republic of Korea

(Received April 8, 2022; Revised April 26, 2022; Accepted April 28, 2022)

요약 : 본 연구는 장흥지역에서 자생 및 재배한 총 3가지 식물을 수증기 증류 추출(편백, 석창포, 라벤더)을 통해 얻은 각 천연 에센셜 오일에 대한 GC-MSD 향기 성분 분석 후 추출된 오일들과 시판 오일(클라리세이지, 시나몬, 프랑킨센스)을 조합하여 세포독성, 항산화, 항염, 미백 효과를 확인하여 화장품 소재로서의 가능성을 확인하였다. 향기 성분 분석 결과 편백 오일의 주요 성분으로는 Sabinene, 석창포 오일은 Asarone, 라벤더 오일은 L-Linalool이 동정되었다. 6종 에센셜 조합 오일의 세포독성이 확인되지 않은 100 μ L/mL의 농도에서 NO 생성은 27.76% 억제, DPPH 라디칼 소거능은 99.69%, ABTS 라디칼 소거능은 94.66%, 티로시나아제 저해활성은 55.9%를 보여 기능성 화장품 원료로서 유용하게 활용할 수 있는 가능성을 제시하였다.

주제어 : 조합 오일, 향기 성분, 항산화, 항염, 미백

Abstract : In this study, the extracted oils and commercial oils (Clarisse) were analyzed after GC-MSD fragrance component analysis for each natural essential oil obtained through steam distillation extraction (cypress, seokchangpo, lavender) of a total of three plants grown and grown in Jangheung area. Easy, cinnamon, frankincense) was combined to confirm cytotoxicity, antioxidant, anti-inflammatory, and whitening effects, confirming its potential as a cosmetic material. As a result of the analysis of fragrance components, sabinene was identified as the main component of cypress oil, asarone in seokchangpo oil, and L-Linalool in lavender oil. At a concentration of 100 μ L/mL with

[†]Corresponding author

(E-mail: skin1004@nambu.ac.kr)

no cytotoxicity of 6 essential combination oils, NO production was inhibited by 27.76%, DPPH radical scavenging activity was 99.69%, ABTS radical scavenging activity was 94.66%, and tyrosinase inhibitory activity was 55.9%. Possibility of being useful as a raw material for functional cosmetics was presented.

Keywords : Blending oil, Aroma ingredient, antioxidant, anti-inflammatory, whitening

1. 서론

장홍군은 약초자생지의 북방 한계선과 남방 한계선에 위치하여 다양한 약초 생산은 물론 비옥한 토양 등의 영향으로 약리효능이 탁월하다. 이러한 강점을 최대한 활용하여 장홍지역의 특화된 생약초 및 식물을 대상으로 천연화장품 소재로서의 특성 및 활용 가능성을 분석하였다.

천연물 유래 향산화제에 대한 연구 중 약용식물은 예로부터 일상적으로 이용되어 안전성이 입증되어 있고 비타민, 무기질, 폴리페놀류 등 광합성 대사산물이 포함되어 있어 발암 및 노화를 예방한다고 알려짐에 따라 다양한 생리활성에 대한 관심이 증가됨과 동시에 근래에는 약용식물로부터 기능성 화장품 소재 개발(Jung *et al.*, 2016) 및 생물자원 유래 화장품 원료개발이 활발히 추진되고 있으며 화장품 원료의 안전성과 건강에 대한 소비자 의식 증가로 인해 친환경적인 천연 원료 화장품에 대한 소비자의 요구가 증가하고 있다. 하지만 아직까지 다양성이 떨어지고 생산성이 낮은 단점을 갖고 있으며(Lee *et al.*, 2021) 가장 큰 문제점으로는 출처를 알 수 없는 민간 처방식 재료혼합이나 원료물질의 안정성에 관한 자료 미흡, 유효 성분 함량의 일관성 부재 등이 나타나고 있다. 따라서 보다 우수한 천연물 유래의 소재 개발을 위해 피부활성 평가, 안전성 확보, 유효성을 고려한 원료와 기술 확보에 초점을 맞추어야 한다(Kim, 2007).

또한 나고야의정서가 발효됨에 따라 해외 자원 의존성이 높은 화장품 바이오소재 분야의 장기적 경쟁력 제고를 위하여 수입 의존도가 높은 화장품 기초소재의 국산화 및 나고야의정서 대응 국내 생물자원을 활용한 소재 확보 및 천연 생물자원 화장품 소재 국산화가 시급한 실정이다(Lee *et al.*, 2020).

편백(*Cupressus funebris*, CF)은 히노끼(hinoki) 나무로 일반적으로 알려져 있고, 측백나무과

(Cupressaceae)에 속하며 중국, 일본, 한국에서 자란다(Yang *et al.*, 2007). 편백나무 잎에서 분리한 정유의 주요 구성성분은 휘발성 오일로 sabinene, limonene, bornyl, acetate, borneol, α -terpineol, elemol 등이 있으며 이들의 효능은 살충, 살균, 방향, 향균 효과로 알려져 있다(Hong *et al.*, 2001).

석창포는(*Acorus gramineus*, AG) 천남성과(Araceae)에 속하는 다년생 초본으로 한국, 중국, 일본 등지에 자생하고 있으며, 향기성분을 약 0.5-0.8% 함유하며, 주성분은 asarone(86%)와 palmitic acid, phenol 화합물로 진정, 향경련, 건위 및 구충 등의 목적으로 사용되고 있으며, 석창포의 황색포도상구균(*Streptococcus aureus*)에 대한 항균력과 진정 및 진통효과에 대한 보고가 있다(Kim *et al.*, 2004).

라벤더(*Lavandula angustifolia*, LA)는 가장 가치 있는 아로마테라피 오일 중 하나로 linalool, linalyl acetate, lavandulol 및 geraniol과 같은 주요성분이 향진균성 성분으로 알려져 있고(Bialon *et al.*, 2019), eucalyptol, linalool, terpinene-4-ol 및 α -terpineol 등은 향균성분으로 eucalyptol, thymol 및 carvacrol은 광범위한 항염 효능이 있다(Andrei *et al.*, 2018).

본 연구는 장홍의 자생 및 재배 식물인 편백, 석창포, 라벤더 3종을 수증기 증류 추출법으로 추출한 후 GC-MS를 이용하여 주요 구성 물질을 확인하고 화장품 산업 소재로서의 개발과 향기 조향 및 경제성분석을 고려하여 에센셜 오일을 혼합하여 다양한 방면으로 진행되었던 선행연구들을(Kim *et al.*, 2015, Kim *et al.*, 2004, Jung *et al.*, 2004)참고하여 높은 수렴작용과 향균, 항염 효과가 검증된 시판 오일 중 가장 적합한 클라리세이지(Clarissage)(Kim *et al.*, 2010, You *et al.*, 2011), 시나몬(Cinnamon)(Song *et al.*, 2014, Lee *et al.*, 2020), 프랑킨센스(Frankincense)(Choi *et al.*, 2008) 3종을 선별하

여 장홍산 3종 오일과 조합 후 혼합 오일의 세포 독성 및 항산화, 항염, 미백효과를 통해 화장품산업에 응용 시 활용가능성과 제품의 안정성과 효과성을 가지는 천연소재로서의 역할을 검토하고자 한다.

2. 실험

2.1. 재료

2.1.1. 원물

본 연구에서 사용한 편백, 석창포, 라벤더는 전라남도 장흥군(Korea)에서 원물 수확 시기 별로 건조한 상태의 시료를 구입하였고 클라리세이지, 시나몬, 프랑킨센스 오일은 전문 테라피 제품 브랜드인 오도라타(Korea)에서 구입하여 사용하였다.

2.1.2. 시약 및 기기

마우스 대식세포인 RAW 264.7 cell은 한국세포주은행(KCLB, Korea)으로부터 분양받아 사용하였고, Dulbecco's Modified Eagle Medium (DMEM, Gibco®, Thermo Fisher Scientific, USA), Fetal Bovine Serum (FBS, Atlas Biologicals, USA), Dulbecco's Phosphate Buffered Saline(PBS, Without Calcium or Magnesium (Lonza, Switzerland), lipopolysaccharide (LPS, Sigma-Aldrich, USA), 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH, Sigma-Aldrich, USA), Nitric Oxide Detection Kit (iNtRon Biotechnology, Korea), CellTiter96® Aqueous One Solution Cell Proliferation Assay Promega(Madison, USA)를 구입하여 실험에 사용하였다.

본 실험에 사용된 기기는 수증기 증류 추출기 (EssenLab-Plus, Hanil Lab Tech, Gyeonggi, Korea), ISQ LT single quadrupole Mass Spectrometer (Thermo scientific, USA), CO₂ incubator (Panasonic, USA), filter paper (Advantec No.2, Japan), rotary vacuum evaporator (Eyela, Japan), microplate reader (Molecular Devices EMax Plus, USA) 등이다.

2.2. 방법

2.2.1. 지용성 향기성분 추출

수증기 증류 추출은 시료 500 g과 증류수 3 L을 혼합하여 정유 추출 장치에 투입 후 4 °C의 냉각수가 지속적으로 흘러 수증기에 모이도록 하여 100 °C로 6 h 동안 유지시키면서 정유층으로 분류하였다.

2.2.2. 향기 성분 분석

추출한 시료의 성분 분석은 DB-5MS column (60 m x 0.25 mm, 0.25 μm)이 장착된 Trace 1310을 사용하여 실시하였다. 50 °C에서 분당 5 °C로 승온하여 300 °C에서 15 min 유지하였다. 시료 주입구 온도와 검출기 온도는 각각 200 °C로 하였고 carrier 가스는 헬륨을 사용하여 1 mL/min 속도로 흘려보냈다. Electron impact/mass spectrometer (EI/MS)의 조건으로 ionization energy를 70 eV, MS source와 MS quad 온도는 각각 230 °C와 150 °C로 하여 진행하였으며, EM voltage는 200으로 설정하였다. 시료는 splitless mode로 1 μL를 주입하여 분석을 실시하였다. GC-MSD로 각 peak의 total ion chromatography(TIC)를 얻은 후 Wiley/NBS library와 비교하고 문헌상에 보고된 데이터와 비교하여 각각의 향기성분을 동정하였다.

2.2.3. 혼합 오일(BO)

추출한 편백, 석창포, 라벤더 오일과 테라피 전문 브랜드에서 구매한 클라리세이지, 시나몬, 프랑킨센스 오일을 동일 비율로 조합(blending oil, BO)하여 사용하였다.

2.2.4. 세포독성

Mitochondrial NADH-dehydrogenase는 MTT, MTS등과 같은 테트라졸륨염을 환원시켜 색상을 갖는 포르마잔을 형성한다. 따라서 살아있는 세포 즉 탈수소효소를 발현하고 있는 세포의 수와 포르마잔의 생성은 비례하여 살아있는 세포를 정량화 할 수 있다. 시료의 세포에 대한 독성은 Desai등의 방법(Desai et al., 2008)에 준하여 측정하였다.

Mitochondrial dehydrogenases에 의하여 MTS가 formazan으로 전환되는 것을 측정하는 것으로 96 well plate에 1×10⁴ cells/well의 RAW264.7 세포를 분주하고 18 h 배양한 후 시료를 농도별로 처리하고 24 h 배양하였다. 20 μL의 MTS solution을 첨가한 후 CO₂ 배양기(37 °C, 5%)에

서 4 h 반응시킨 후 Microplate reader를 이용하여 490 nm에서 흡광도의 변화를 측정하여 대조군에 대한 세포 생존율을 백분율로 표시하였다 (Park et al., 2013).

Cell viability(%)=

$$\text{시료 처리 군의 흡광도/대조군의 흡광도} \times 100$$

2.2.5. DPPH 라디칼 소거능 측정

항산화 측정은 DPPH 라디칼 소거 활성으로 Blois(Blois, 1958)의 방법을 변형하여 DPPH에 대한 수소 전자 공여 효과로 측정하였다. 96 well plate에 0.4 mM DPPH 용액 100 μ L와 농도별 시료 100 μ L을 1:1로 혼합하여 실온에서 30 min 반응시킨 후 517 nm에서 흡광도를 측정하여 계산하였다. 대조군은 ascorbic acid로 1000 μ g/mL 처리하고 음성대조군은 DPPH 용액에 시료를 처리하지 않은 군으로 진행하였다. 3회 반복 실험을 통해 얻은 결과를 전자 공여능 (electron donating ability, EDA) 백분율로 나타내었다.

EDA(%)=(1-시료 처리 군 흡광도)/

$$\text{시료 무 처리 군 흡광도} \times 100$$

2.2.6. ABTS 라디칼 소거능 측정

2,2'-azinobis-(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) (ABTS) 라디칼을 이용한 항산화력 측정은 ABTS cationdecolorization assay 방법 (Pellegrini et al., 1999)에 의하여 측정하였다. 7 mM ABTS와 2.4 mM potassium persulfate를 혼합하여 암소의 실온에서 24 h 동안 방치하여 ABTS를 형성시킨 후 에탄올과 1:9로 희석하여 ABTS와 추출물을 8:2로 혼합하여 1 min 동안 반응 후, 655 nm에서 흡광도를 측정하였다. 실험 결과는 3번 반복 측정치의 평균값으로 표시하였다.

EDA(%)=(1-시료 처리 군 흡광도)/

$$\text{시료 무 처리 군 흡광도} \times 100$$

2.2.7. NO 생성 억제효과

RAW 264.7 세포에서의 항염 효과를 확인하기 위하여, NO 생산의 지표로서 배양 상층액 내에

안정된 NO 산화물인 이산화질소(nitrogen dioxide, NO₂)를 Griess reagent system을 이용하여 측정하였다(Murakami et al., 2000). RAW 264.7 세포를 10% FBS를 포함한 DMEM에 현탁시킨 후 96 well plate에 1×10⁴ cells/mL의 세포를 120 μ L씩 분주하여 37 ° C, 5% CO₂ incubator에서 24 h 배양하였다. 그런 다음, 시료를 농도별로 세포배양배지로 희석하여 분주하고, 1 h 후 10 μ g/mL LPS를 시료 처리군에 첨가하여 18 h 동안 반응을 유도하였다. 새로운 96 well plate에 배양액을 100 μ L을 옮겨 담아, Nitric Oxide Detection Kit를 이용하여 Substrate Solution Buffer 1 50 μ L을 분주하고 10 min, Substrate Solution Buffer 2를 분주하여 20 min 반응시킨 후 540 nm에서 흡광도를 측정 한 다음 LPS만 처리한 대조군과 비교하여 나타내었다.

NO synthesis(%)=시료 처리 군의 흡광도/

$$\text{대조군의 흡광도} \times 100$$

2.2.8. 티로시나아제 저해 활성 측정

티로시나아제 저해활성 측정은 Yagi 등의 방법 (Yagi et al., 1987)에 따라 실험을 진행하였다. 반응구는 67 mM sodium phosphate buffer(pH 6.8) 80 μ L에 10 mM L-DOPA (Sigma, USA)를 녹인 기질액 40 μ L와 시료용액 40 μ L의 혼합액에 200 U/mL mushroom tyrosinase (Sigma, USA) 40 μ L을 첨가하여 37 °C에서 10 min간 반응시킨다. 반응 후 생성된 DOPA chrome을 492 nm에서 측정하였다. 티로시나아제 저해활성은 시료용액의 첨가군과 무첨가군의 흡광도 감소율로 나타내었다.

저해율(%)=(1-시료 첨가군의 흡광도) × 100

2.2.9. 통계 처리

본 연구의 실험 결과는 3회 반복하여 얻은 값을 평균±표준편차로 나타내었고, 통계학적 분석은 Statistical Package for the Social Sciences (SPSS ver. 24.0; IBM, Korea) 프로그램을 이용하여 대조군에 관한 실험군의 유의성은 Student's t-test를 이용하여 p < 0.05 일 때 유의한 것으로 판단하였다.

3. 결과 및 고찰

3.1. 지용성 성분 추출

편백, 석창포, 라벤더 추출의 정유 수율은 각각 1.33%, 0.36%, 1.20%를 나타내었다.

Table 1. Yields of steam distillation extracts from CF, AG, LA

Sample	Dry weight of sample (g)	Oils extractable content (g)	Yield (%)
CF	500	6.65	1.33
AG	500	1.8	0.36
LA	500	6	1.20

CF: *Cupressus funebris*, AG: *Acorus gramineus*, LA: *Lavandula angustifolia*

Yield(%)= Oils extractable content(g)/ Dry weight of sample(g) × 100

3.2. 정유 향기 성분 분석

3.2.1. 편백 정유 분석

편백 정유의 향기 성분은 Table 2와 같다. 검출 성분으로는 Sabinene(26.83%), α -Terpineol (20.78%), DL-Limonene(8.73%), Borneol (7.95%) 등이 동정되었으며, 이는 선행연구(Kim et al., 2018)와 비슷한 결과를 나타내었다. 이외에도 많은 연구자들이 편백 에센셜 오일의 항균, 항염에 효과를 연구하였으며(Ahn et al., 2004), Sabinene 성분의 미백효과(Lee, 2019), borneol 성분의 항산화 효과를 보고하였다(Kodikonda et al., 2017).

3.2.2. 석창포 정유 분석

석창포 정유의 향기 성분은 Table 3과 같다. 가장 많이 함유된 성분은 Asarone(73.47%)로 동정되었으며 석창포는 신경독성 억제효과가 있어 신경세포 보호작용(Cho et al., 2000)과 강력한 항진균 활성 및 향기성분을 나타낸다고 보고되었다(Oh et al., 2021).

Table 2. Chemical composition of the volatile oil constituents of CF determined by GC-MSD analysis

No	Time (min)	Content (%)*	Compound name
1	3.91	2.51	α -Pinene
2	30.03	26.83	Sabinene
3	33.16	5.66	α -Myrcene
4	40.44	8.73	DL-Limonene
5	43.56	4.07	ζ -Terpinene
6	52.4	4.31	Terpinen-4-ol
7	60.74	7.95	Bornyl acetate
8	64.38	20.78	α -Terpineol
9	-	19.16	unknown
		100	

* Content (%) = peak area of each compound/ peak area of internal standard × 100

Table 3. Chemical composition of the volatile oil constituents of AG determined by GC-MSD analysis

No	Time (min)	Content (%)*	Compound name
1	65.53	3.36	(+)-Longicyclene
2	67.52	2.84	Caryophyllene
3	68.64	5.24	Methyl-cis-isoeugenol
4	70.20	2.91	ζ -Gurjunene
5	73.81	73.47	Asarone
6	75.38	1.64	methyl ester
7	-	10.54	unknown
		100	

* Content (%) = peak area of each compound/ peak area of internal standard × 100

3.2.3. 라벤더 정유 분석

라벤더 정유의 향기 성분은 Table 4와 같다. L-Linalool(50.84%), Eucalyptol(26.53%), 1,3,6-Octatriene, 3,7-dimethyl-(8.16%) 등이 동정되었으며, 선행연구의(Hong et al., 2001) L-Linalool(18.60%) 보다 함유량이 높았으며 라벤더는 많은 연구를 통해 강한 항산화 활동을 가진다고 알려져 있고(Marulanda et al., 2007, Lu

et al., 2010), 피부암, 빛에 의한 피부손상 및 노화를 억제한다고 보고되었다(Monica et al., 2013).

Table 4. Chemical composition of the volatile oil constituents of LA determined by GC-MSD analysis

No	Time (min)	Content (%) [*]	Compound name
1	33.01	1.92	α-Myrcene
2	39.74	1.26	Benzene, 1-methyl-3-(1-methylethyl)-
3	40.65	26.53	Eucalyptol
4	41.28	8.16	1,3,6-Octatriene, 3,7-dimethyl-
5	46.85	50.84	L-Linalool
6	49.95	1.84	Camphor
7	-	9.45	unknown
		100	

* Content (%) = peak area of each compound/peak area of internal standard × 100

3.3. 세포독성

MTS assay를 이용하여 세포독성 효과를 평가할 때 염증 모델로 많이 사용하는 RAW 264.7 대식세포(Park, 2011)를 사용하였으며 BO에 대한 실험결과 200 μL/mL에서 80.64%, 100 μL/mL에서 88.03%, 50 μL/mL에서 85.25%, 25 μL/mL에서 90.17%, 10 μL/mL에서 92.18%로 농도가 낮을수록 세포 생존율이 증가한 것으로 확인되었다. 따라서 추후 실험의 농도 기준을 독성에 안전한 100 μL/mL로 처리하여 항산화 및 항염, 미백 효과를 확인하였다.

3.4. DPPH 라디칼 소거능

DPPH는 짙은 자색을 띠는 비교적 안정한 free 라디칼로 함황 아미노산과 항산화 물질에 의해 환원되어 탈색되므로 지방질 항산화 및 노화에 대한 항산화 효과를 평가하는 척도로 이용하고 있다(Choi et al., 1985). BO에 대한 실험결과 100 μL/mL에서 99.69±0.36%, 50 μL/mL에서 99.27±0.8%, 25 μL/mL에서 99.04±1.03%, 10 μL/mL에서 98±0.93%로 나타났다. 이는

BO 오일에 함유된 에센셜 오일을 고려하여 결과와 선행 연구 중 에센셜 실험 결과와 비교하였을 때 파출리(Patchouli)오일 200 μg/mL에서 26.7±0.8%, 레몬글라스(Lemon Grass)오일 200 μg/mL에서 48.8±2.7%, 미르(Myrrh)오일 200 μg/mL에서 62.8±1.8% 보다 높은 활성도를 나타냈다(Lee et al., 2017).

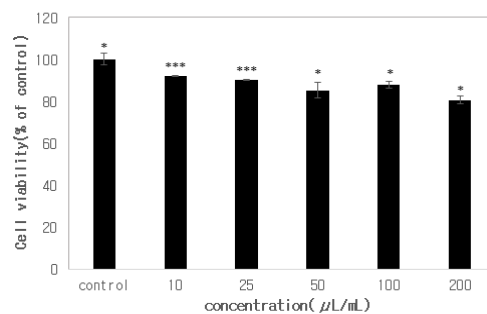


Fig. 1. Effect of viability of cells treated with BO in Raw 264.7 cell.

Data are presented as mean±SD.

*p<0.05 compared with the negative control

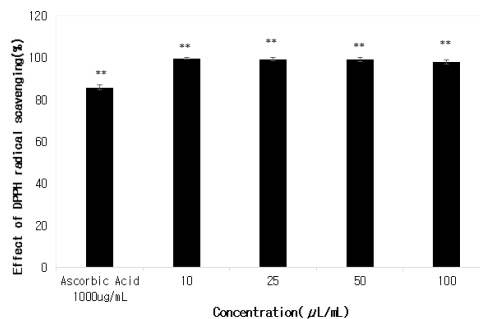


Fig. 2. Effect of anti-oxidant effects of BO by DPPH radical scavenging.

Data are presented as mean±SD.

*p<0.05 compared with the negative control

3.5. ABTS 라디칼 소거능

ABTS 라디칼 소거능은 과황산칼륨(potassium persulfate)과 ABTS의 산화에 의해 생성된 라디칼이 황산화 물질에 의해 제거되어 청록색이 탈색되는 실험으로서 친수성과 소수성 물질의 항산화 효과를 측정할 수 있다(Arnao, 2000). 폐놀성 물질의 함량이 높을수록 ABTS 라디칼 소거활성

이 높아지는 것으로 알려져 있다(Jeong et al., 2007). BO에 대한 실험결과 100 $\mu\text{L}/\text{mL}$ 에서 $94.66 \pm 1.29\%$, 50 $\mu\text{L}/\text{mL}$ 에서 $94.47 \pm 1.45\%$, 25 $\mu\text{L}/\text{mL}$ 에서 $93.86 \pm 0.38\%$, 10 $\mu\text{L}/\text{mL}$ 에서 $93.39 \pm 0.74\%$ 로 나타났다. 마찬가지로 선행 연구 중 에센셜 오일 결과와 비교하였을 때 페퍼민트 (Peppermint)오일 200 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 에서 $56.7 \pm 1.1\%$, 베가못(Bergamot)오일 200 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 에서 $45.7 \pm 0.1\%$, 팔마로사(Palmarosa)오일 200 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 에서 $58.5 \pm 0.9\%$, 카모마일(Chamomile)저면 오일 200 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 에서 $65.4 \pm 0.1\%$ 보다 높은 활성도를 나타냈다(Lee et al., 2017).

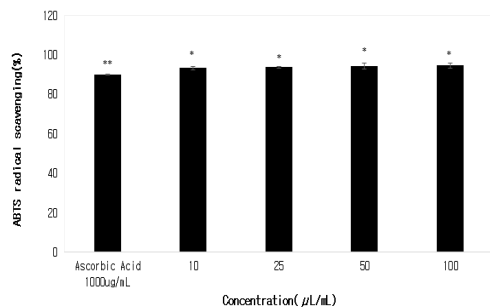


Fig. 3. Effect of anti-oxidant effects of BO by ABTS radical scavenging.

Data are presented as mean \pm SD.

* $p < 0.05$ compared with the negative control

3.6. NO생성 억제

LPS에 의해 유도된 염증 반응에서 대식세포로부터 생성 및 분비되는 NO, PGE2, leukotriene, 전염증성 사이토카인과 같은 2차 매개물들은 선천성, 후천성 면역을 조절하는데 중요한 역할을 하는 것으로 알려져 있다(Gilroy, 2010). 그 중에서 특히 iNOS에 의해 생성된 NO는 병리학적으로 중요한 의미를 가지는데, 높은 농도의 NO는 염증매개체의 생합성을 촉진하여 염증 반응을 촉진할 뿐만 아니라 DNA의 손상, 염증 증폭, 패혈성 쇼크 및 세포의 괴사를 유발하는 등 다양한 면역 질환의 원인으로 보고된 바 있다(Kawamata et al., 2000). 이러한 이유로 통상 피부용제제에서 수행하는 세포독성시험용 세포는 피부 유래 세포이나 식품이나 의약품등 폭넓은 활용의 가능

성을 위해 대식세포인 RAW 264.7를 선택하였다. LPS로 유도된 NO 생성량을 무처리군과 NO 생성 억제를 확인하였다. BO에 대한 실험결과 100 $\mu\text{L}/\text{mL}$ 에서 $27.76 \pm 0.90\%$, 50 $\mu\text{L}/\text{mL}$ 에서 $28.54 \pm 0.82\%$, 25 $\mu\text{L}/\text{mL}$ 에서 $28.79 \pm 24.48\%$, 10 $\mu\text{L}/\text{mL}$ 에서 $56.03 \pm 0.74\%$ 로 나타났다.

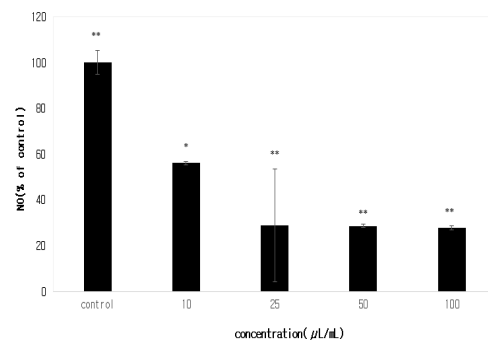


Fig. 4. Effect of inhibition of NO production of BO.

Data are presented as mean \pm SD.

* $p < 0.05$ compared with the negative control

3.7. 티로시나아제 활성 억제

티로시나아제 저해활성 측정 결과 멜라닌 합성은 티로시나아제의 일련의 효소 반응에 의해 조절되며, melanosome 내의 tyrosine을 산화시켜 DOPA, DOPA quinone으로 바뀌고, 이들은 효소의 작용 및 자동 산화반응에 의하여 DOPA chrome, indole carboxylic acid, indolequinone 등으로 대사되어 멜라닌 합성에 관여하게 된다. 티로시나아제 활성 억제제는 피부 내에서의 melanin polymer 합성을 효과적으로 저해할 수 있어 피부 미백제의 개발에 있어서 티로시나아제 활성억제 실험은 유용한 평가법으로 인정되고 있다(Imokawa et al., 1981, Lin et al., 2002). BO에 대한 실험결과 100 $\mu\text{L}/\text{mL}$ 에서 $55.9 \pm 4.67\%$, 50 $\mu\text{L}/\text{mL}$ 에서 $63.56 \pm 6.75\%$, 25 $\mu\text{L}/\text{mL}$ 에서 $71.6 \pm 6.12\%$, 10 $\mu\text{L}/\text{mL}$ 에서 $74.46 \pm 3.55\%$ 의 저해활성을 나타내었다.

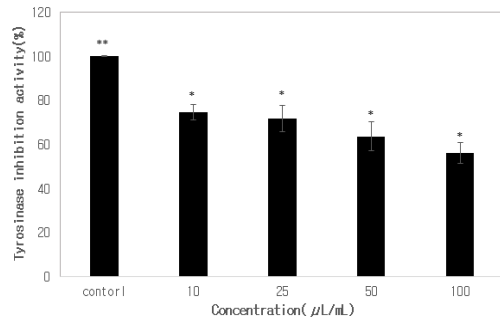


Fig. 10. Effect of inhibition of tyrosinase production of BO.

Data are presented as mean \pm SD.

* $p < 0.05$ compared with the negative control

4. 결론

본 연구는 장홍산 편백, 석창포, 라벤더의 개별 수증기 증류 추출법을 통한 3종 오일의 향기 성분 확인과 시판 오일인 클라리세이지, 시나몬, 프랑킨센스 3종을 조합하여 세포독성, 항산화, 항염, 미백 효능을 확인함으로써 화장품 및 의약품 소재로서의 활용 가능성을 알아보기 위하여 수행하였다. 6종 조합 오일의 세포독성 실험 결과 안전성이 판단된 100 μ L/mL의 농도를 기준으로 RAW 264.7세포에 처리하였을 때 27.76%의 억제력을 확인하였다. 또한 항산화 활성 결과 DPPH 라디칼 소거활성은 99.69%, ABTS 라디칼 소거능은 94.66%의 활성도를 보였다. 또한 티로시나아제 활성은 55.9% 수준으로 억제하였다. 이를 통하여 화장품 산업적 목적으로 조합한 오일이 저농도에서 고효능적으로 최대의 시너지 효과를 내는 원료로서 연구한 바 조합 오일의 지속적인 연구 수행은 화장품 소재 및 피부 관리 임상분야에 기여하는 기초자료로 활용할 수 있을 것으로 사료된다.

감사의 글

이 학술지는 정부 재원(농림부)으로 장홍군신활력플러스사회적협동조합의 지원을 받아 수행되었음에 감사드립니다.

References

1. D. J. Jung, and T. B. Choe. "Antioxidant Activities and Anti-aging Effects of *Orostachys japonicus* A. Berger Extracts". *Journal of Oil & Applied Science*. Vol. 33, No. 2, pp. 361-373, (2016).
2. H. J. Lee, and S. H. Ohk, S. H. "Physiological Study of the Extract of *Junglans nigra* Shells for the Cosmeceutical Application". *Journal of the Korean Applied Science and Technology*. Vol. 38, No. 1, pp. 29-36, (2021).
3. J. D. Kim. "The Prospects and Current Situation of Oriental Herbal Cosmetics". *Journal of the Korean Society of Fashion & Beauty*. Vol. 5, No. 1, pp. 1-7, (2007).
4. T. B. Lee, So, Y. K. So, S. Y. Kim, and J. Y. Hwang. "Biological activities of cosmetic material from ten kinds of flower ethanol extracts". *Korean Journal of Medicinal Crop Science*. Vol. 28, No. 4, pp. 260-275, (2020).
5. J. K. Yang, M. S. Choi, W. T. Seo, D. L. Rinker, S. W. Han, and G. W. Cheong. "Chemical composition and antimicrobial activity of *Chamaecyparis obtusa* leaf essential oil". *Fitoterapia*. Vol. 78, No. 2, pp. 149-152, (2007).
6. C. U. Hong, C. S. Kim, N. G. Kim, and Y. H. Kim. "Composition of Essential Oils from the Leaves and the Fruits of *Chamaecyparis obtusa* and *Chamaecyparis pisifera*". *Applied Biological Chemistry*. Vol. 44, No. 2, pp. 116-121, (2001).
7. K. Y. Kim, B. R. Yoon, and Y. H. Lee. "A Study on Synergy Effect of Antimicrobial Activity on Aroma essential oil". *Journal of the Korean Society of Fashion & Beauty*. Vol. 2, No. 3, pp. 19-26, (2004).
8. M. Bialon, T. Krzyśko-Łupicka, E. Nowakowska-Bogdan, and P. P. Wiczorek. "Chemical composition of two different Lavender essential oils and their effect on facial skin microbiota".

- Molecules*. Vol. 24, No. 18, pp. 3270, (2019).
9. F. Andrei, A. Ersilia, C. Tulcan and A. Dragomirescu. "Chemical composition and the potential of *Lavandula angustifolia* L. oil as a skin depigmentant. *Rec. Nat. Prod.* Vol. 12, No. 4, pp. 340, (2018).
 10. J. Kim. S. Y. Kim, and I. S. No. "Effects of Meatal Care with Essential Oil on the Meatal Status of Elderly Women Patients". *J Korean Acad Fundam Nurs.* Vol. 22, No. 2, pp. 139-148, (2015).
 11. K. Y. Kim, B. R. Yoon, and Y. H. Lee. "A study on Synergy Effect of Antimicrobial Acitivity on Aroma essential oil". *Journal of the Korean Fashion Beauty Society.* Vol. 2, No. 3, pp. 19-26, (2004).
 12. H. M. Jung, Y. S. Jeon. "Aroma Massage Is a Patient's Sight, Depression and effects on sleep disorders". *Korean J Rehabil Nurs.* Vol. 7, No. 2, pp. 231-237(2004).
 13. J. Kim and C. J. Han. "The Effect of Decreasing on Stress, Depression and Climacteric symptoms Using the Rose and Clarysage Essential oil Body Massage in Korean Middle-aged women". *Asian J Beauty Cosmetol.* Vol. 8, No. 4, pp. 1-10, (2010).
 14. J. H. You, M. Y. Kim, H. K. Moon, S. S. Min, and G. H. Seol. "Effect of clary sage-inhalation on pain and stress during the treatment of periodontitis". *Journal of Korean Academy of Oral Health.* Vol. 35, No. 1, pp. 32-40, (2011).
 15. J. H. Song, J. A. Lim, and J. H. Lee. "Quality and Antioxidant Properties of Cookies Supplemented with Cinnamon Powder". *Journal of the Korean Society of Food Science and Nutrition.* Vol. 43, No. 9, pp. 1457-1461, (2014).
 16. H. J. Lee, H. J. Lim, and M. H. Lim. "The Activity of Anti-oxidation of Cinnamomum loureiroi Extract". *Journal of the Korean Applied Science and Technology.* Vol. 37, No. 6, pp. 1583-1590, (2020).
 17. W. S. Choi, M. H. Kwon, and Y. C. Kim. "Inhibition Effects of Frankincense Oil on Skin Aging (I) : Focussed on Gross Examination". *Journal of environmental toxicology.* Vol. 23, No. 2, pp. 119-127, (2008).
 18. A. Desai, T. Vyas, and M. Amiji. "Cyrorotoxicity and apoptosis enhancement in brain tumor cells upon coadministrati on of paclitaxel and ceramide in nanoemulsion formulations". *J. Pharm. Sci.* Vol. 97, No. 7, pp.2745, (2008).
 19. J. S. Park and S. H. Jung. "Effects of Sandalwood Essential Oil on the iNOS Expression and Proinflammatory Cytokine Production". *Yakhak Hoeji.* Vol. 57, No. 1, pp. 70-75, (2013).
 20. M. S. Blois. "Antioxidant determi nation by the use of a stable free radical". *Nature.* Vol. 181, pp. 1199-1200, (1958).
 21. Re. R. Pellegrini, N. Proteggente, A. Pannala, M. Yang & C. Rice-Evans. "Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay". *Free Radical Biology and Medicine.* Vol. 26, No. 9-10, pp. 1231-1237, (1999).
 22. A. Murakami, M. Nakashima, T. Koshiba, T. Maoka, H. Nishino, M. Yano, T. Sumida, O. K. Kim, K. Koshimizu, and H. Ohigashi. "Modifying effects of carotenoids on superoxide and nitric oxide generation from stimulated leukocytes". *Cancer Letter.* Vol. 149, No. 1-2, pp. 115-123, (2000).
 23. A. Yagi, T. Kanbara, and N. Morinobu. "Inhibition of mushroom-tyrosinase by aloe extract". *Planta Med.* Vol. 53, pp. 515-517, (1987).
 24. J. H. Kim, S. O. Lee, K. B. Do, W. D. Ji, S. G. Kim, Y. D. Back, and K. J. Kim. "Analysis of the Component and Immunological Efficacy of *Chamaecyparis obtusa* Leaf Extract". *Korean Journal of Clinical Laboratory Science.* Vol. 50, No. 1, pp. 37-43, (2018).
 25. J. Y. Ahn, S. S. Lee, and H. Y. Kang. "Biological activities of essential oil from

- Chamaecyparis obtusa". *J Soc Cosmet Scientists Korea*. Vol. 30, No. 4, pp. 503–507, (2004).
26. S. M. Lee. "A Study on Volatile Flavor Component Analysis of Ginger Essential oil, and its Whitening and Antibacterial Effects". *Korean Society of Cosmetics and Cosmetology*. Vol. 9, No. 3, pp. 429–439, (2019).
 27. M. Kodikonda and R. N. Prakash. "Ameliorative effect of borneol, a natural bicyclic monoterpene against hyperglycemia, hyperlipidemia and oxidative stress in streptozotocin-induced diabetic Wistar rats". *Biomed Pharmacother*. Vol. 96, pp. 336–347, (2017).
 28. J. S. Cho, C. H. Yang, C. G. Park, H. S. Lee, and Y. H. Kim. "Inhibition of Excitotoxic Neuronal Cell Death By Total Extracts From Oriental Medicines Used For Stroke Treatment". *Yakhak Hoeji*, Vol. 44, No. 1, pp. 29–35, (2000).
 29. K. Y. Oh, D. K. Jeong, Y. H. Song, D. Y. Lee, D. Y. Lee, and J. H. Kim. "Antifungal Activities of the Crude Extracts and Their Fractions from Medicinal Herbs Against Plant Pathogenic Fungi". *The Korean Journal of Pesticide Science*. Vol. 25, No. 4, pp. 263–275, (2021).
 30. C. U. Hong, C. S. Kim, N. G. Kim, and Y. H. Kim. "Composition of Essential Oils from the Leaves and the Fruits of Chamaecyparis obtusa and Chamaecyparis pisifera". *Applied Biological Chemistry*. Vol. 44, No. 2, pp. 116–121, (2001).
 31. A. Marulanda, R. Porcel, J. M. Barea, and R. Azcón. "Drought tolerance and antioxidant activities in lavender plants colonized by native drought-tolerant or drought-sensitive Glomus Species". *Microbial Ecology* Vol. 54, pp. 543–552, (2007).
 32. H. Lu, H. Li, H. Lu, X. L. Li, and A. G. Zhou. "Chemical composition of lavender essential oil and its antioxidant activity and inhibition against rhinitis-related bacteria". *Afr J Microbiol Res*. Vol. 4, pp. 309–313, (2010).
 33. H. Monica, C. Oana, M. Marius, and H. Lucian. "Neuroprotective effects of inhaled lavender oil on scopolamine-induced dementia via antioxidative activities in rats". *Phytomedicine*. Vol. 20, pp. 446–52, (2013).
 34. J. S. Park. "Cytokine Production Inhibitory Effects of Lavender Essential Oil in RAW 264.7 Cells". *Nambu University Papers*. Vol. 11, pp. 55–60, (2011).
 35. J. H. Choi and S. K. Oh. "Studies on the Anti-aging Action of Korean Ginseng". *Korean Society of Food Science and Technology*. Vol. 17, No. 6, pp. 506–515, (1985).
 36. M. R. Lee and H. J. Bu. "Antioxidant, Antimicrobial and Melanogenesis Inhibition Effects of 35 species Essential Oil". *Journal of The Korean Society of cosmetology*, Vol. 23, No. 4, pp. 677–687, (2017).
 37. M. B. Arnao. "Some methodological problems in the determination of antioxidant activity using chromogen radicals: a practical case". *Trends in Food Science & Technology*, Vol. 11, No. 11, pp. 419–421, (2000).
 38. J. A. Jeong, S. H. Kwon, and C. H. Lee. "Screening for Antioxidative Activities of Extracts from Aerial and Underground Parts of Some Edible and Medicinal Ferns". *Korean Journal of Plant Resources*. Vol. 20, No. 2, pp. 185–192, (2007).
 39. D. W. Gilroy. "Eicosanoids and the endogenous control of acute inflammatory resolution". *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*. Vol. 42, No. 4, pp. 524–528, (2010).
 40. H. Kawamata, H. Ochiai, N. Mantani, and K. Terasawa. "Enhanced expression of inducible nitric oxide synthase by Juzen-taiho-to in LPS-activated RAW264.7 cells, a murine macrophage cell line". *The*

- American Journal of Chinese Medicine*. Vol. 28, No. 2, pp. 217–226, (2000).
41. G. Imokawa, and Y. Mishima. “Biochemical characterization of tyrosinase inhibitors using tyrosinase binding affinity chromatography”. *Br. J. Dermatology*. Vol. 104, pp. 513–540, (1981).
42. C. B. Lin, L. Babiarz, F. Liebel, E. Roydon-Price, M. Kizoulis, G. J. Gendimenico, D. E. Fisher, and M. Seiberg, “Modulation of microphthalmia-associated transcription factor gene expression alters skin pigmentation”. *J. Invest. Dermatol.* Vol. 119, pp. 1330–1340, (2002).