



Research Article

Anti-oxidation, anti-inflammation, anti-wrinkle, and pore-tightening effects of phenolic compounds from *Aeonium sedifolium* leaves

소인제(*Aeonium sedifolium*) 잎 유래 phenolic 성분의 항산화, 피부주름생성 억제, 항염증 및 모공 수축 효과

Jung-In Kim, Min-Jae Kim, Ha-Gyeong Jo, Da-Eun Jeong, Hye-Jin Park, Young-Je Cho*

김정인 · 김민재 · 조하경 · 정다운 · 박혜진 · 조영제*

School of Food Science & Biotechnology/Research Institute of Tailored Food Technology, Kyungpook National University, Daegu 41566, Korea

경북대학교 식품공학부/특수식품연구소

Abstract The succulent plant *Aeonium sedifolium* leaves contain several compounds that are of interest for their cosmetic uses on the skin. This study measured the inhibitory effects of enzyme production and antioxidant, astringent effects and skin wrinkles using *Aeonium sedifolium* leaves (ASL). The total phenolics compounds (TPC) content of ASL under optimal extraction conditions was 34.49 mg/g for hot water extract (ASLW) and 61.64 mg/g for 50% ethanol extract (ASLE). The ASLW and ASLE extracts were freeze-dried, powdered, and used as solids. TPC content, 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) radical scavenging activity, and 2,2'-azinobis(3-ethylbenzothiazoline 6-sulfonate) (ABTS) radical inhibition of the ASL phenolics were tested. The DPPH radical scavenging activities of ASLW and ASLE were tested at a TPC of 100 µg/mL. ABTS radical inhibition showed antioxidant activity of 100.00% in ASLW and ASLE, and the antioxidant protection factor of ASLW and ASLE was 1.07 and 1.22, respectively. The thiobarbituric acid-reactive substance (TBARS) inhibitory activity of ASLW and ASLE was 77.00%. The elastase inhibitory activity of ASLE was 69.03%, and collagenase inhibition activity for ASLW and ASLE was 29.82% and 54.76%, respectively. The astringent effect of ASLE was 89.82% at a TPC of 200 µg/mL. Thus, we concluded that ASL has the potential as a functional cosmetic ingredient with anti-aging effects on the skin.

Keywords *Aeonium sedifolium*, anti-oxidation, anti-inflammation, anti-wrinkle, phenolics



OPEN ACCESS

Citation: Kim JI, Kim MJ, Jo HG, Jeong DE, Park HJ, Cho YJ. Anti-oxidation, anti-inflammation, anti-wrinkle, and pore-tightening effects of phenolic compounds from *Aeonium sedifolium* leaves. Korean J Food Preserv, 30(2), 347-357 (2023)

Received: February 28, 2023

Revised: April 03, 2023

Accepted: April 06, 2023

*Corresponding author

Young-Je Cho

Tel: +82-53-950-7755

E-mail: yjcho@knu.ac.kr

Copyright © 2023 The Korean Society of Food Preservation. This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

1. 서론

최근 경제성장에 따라 소득수준이 향상되면서 정신적, 신체적 건강을 위한 자연주의적 열풍이 강해지고 있으며, 이로 인해 식품을 비롯하여 화장품, 제약, 의료 분야에서도 천연물에 대한 관심이 높아지고 있다. 그중에서도 K-뷰티 시대의 도래로 인한 기능성 화장품에 대한 시장이 활성화되면서 화학적인 성분에서 유래되는 피부에 대한 부작용을 최소화할 수 있는 새로운 천

연물 유래의 기능성 물질을 찾으려는 관심이 증대되고, 천연물 추출물에 대한 효능과 안정성에 대한 연구와 노력이 활발하게 진행되고 있다(Kim과 Kim, 2007; Youn과 Lim, 2010). 하지만 현대인들의 생활환경은 좋아지고 있지만, 환경오염을 비롯하여 극심한 스트레스, 강한 자외선, 피부 관리의 소홀 등은 피부노화뿐만 아니라 피부질환을 일으키는 주원인이 되고 있다. 이에 피부 질환 개선을 위해 천연물 유래의 항산화 물질인 폴리페놀 물질은 생체 내의 활성산소의 반응성을 감소시켜 피부질환을 예방하고, 지연시키는 효과가 있다고 알려져 있어, 화장품 분야에 활용하기 위해 식물소재의 천연 항산화 물질에 대한 많은 연구가 진행되고 있다(Choi 등, 2012; Kim 등, 2001). 또한, 항노화에 대한 관심이 높아지면서 미용을 목적으로 식물체에서 유래된 천연 기능성 소재에 대한 연구도 활발하게 이루어져, 천연물질을 이용한 항산화, 주름개선, 미백, 보습, 피부노화 억제 효과 등이 과학적으로 입증되고 있다. 이러한 천연물 소재는 화학 성분이 갖는 문제점이나 부작용을 보완할 수 있기 때문에 기능성 화장품 연구에서 새로운 소재로서 주목을 받고 있다(Yang 등, 2009).

항산화 활성이란 생체 내에 활성산소가 생성되는 것을 방지하고, 세포의 손상을 야기하는 산화 현상을 방지하는 것을 의미한다. 안정한 상태의 산소(triplet-2-oxygen)는 환원대사, 효소계, 공해물질, 광화학 반응과 같은 생화학적 및 환경적 요인 등에 의해 슈퍼옥사이드 radical, 과산화수소, 하이드록시 radical과 같은 반응성이 큰 활성산소(reactive oxygen species, ROS)로 전환되어 세포 구성성분을 비가역적으로 파괴한다(Cross 등, 1987; Han, 2006; Kim 등, 2011). 이러한 활성산소의 작용은 체내 방어 기구인 슈퍼옥사이드디스무타제(superoxide dismutase), 퍼옥시다아제(peroxidase), 카탈라아제(catalase) 등의 항산화 효소와 비타민 E, 비타민 C, glutathione 등의 항산화 물질들의 작용에 의해 최소화될 수 있다. 하지만, 이러한 생체 방어력에 이상이 생기거나 과도한 활성산소에 노출될 경우, 이 균형이 무너지게 되면서 활성산소는 지질, DNA, 단백질 등을 비가역적으로 파괴하여 손상시키고, 그 결과로 노화, 암, 복합성 동맥경화, 관절염 및 파킨슨병 등과 같은 각종 질병이 발생할 수 있다(Kim 등, 2011a). 천연 항산화제는 합성 항산화제와 비교했을 때 생체에 안전하다는 장점이 있으나, 그 효과가

약하다는 문제점이 있다. 따라서, 항산화 활성이 우수하고 보다 인체에 안전한 새로운 천연 항산화제의 개발과 연구가 절실히 요구되고 있다(Han, 2006b; Kim, 2016).

소인제(*Aeonium sedifolium*)는 다육 식물에 속하고 가을에서 봄에 성장하며 잎 길이는 2 cm 정도로 끈적거린다. 줄기는 얇고 진한 갈색을 띠며 잘 부러지며, 잎은 원통형이며 생육온도는 3-35℃로 충분히 광을 받아야 웃자람이 없고 잎의 무늬가 선명해진다. 원산지는 카나리제도 에오니움(*Aeonium*)속으로 돌나무과다. 아프리카 북부와 인근 섬에 자생하고 있는 에오니움속 다육식물은 노출된 줄기 끝에 로제트 형상인 납빛의 잎이 있는데, 이 잎들은 꽃이 진 후 낙엽이 되어 떨어지는 습성을 가지고 있다. 에오니움속 대부분은 중앙에 줄기가 있고 줄기 끝에 잎들이 달린 모양이다. 줄기는 목질화되어 있고 통상 기근(氣根)을 낸다(Kim과 Shin, 2011). 현재까지 소인제에 대한 연구는 다육 식물로서의 식물학적 특성에 대한 연구(Cristini, 2020) 이외에는 소인제 잎 추출물을 이용한 생리활성 및 기능성 검증에 관한 연구는 거의 없는 실정이다.

따라서 본 연구에서는 소인제 잎에서 유래된 phenolics 성분을 이용하여 항산화 활성을 비롯한 주름개선 항염증 및 모공축소 등의 피부 미용에 관여하는 효소에 대한 저해효과를 검증하여 피부 미용 기능성 소재로 적용 가능성을 확인하고자 하였다. 또한, 이 연구를 통하여 대한 화장품 원료 사전에 등록하고자 한다.

2. 재료 및 방법

2.1. 실험재료

본 연구에서 사용된 소인제(*A. sedifolium*)는 심폴(Simpol Co., www.simpol.co.kr)에서 2021년 3월에 구매하여 줄기를 제거한 후 잎을 dry oven(FO600M, Jeiotech, Daejeon, Korea) 45℃에서 건조시킨 후 40 mesh로 분쇄하여 시료로 사용하였다.

2.2. 추출물의 제조

실험에 사용할 추출물 중 열수 추출물은 증류수 200 mL에 소인제 잎 분말 1 g을 가하고 용액을 100 mL가 될 때까지 가열하고 증발시킨 후 냉각하여 상온에서 24시간 동안

교반 추출하였다. Ethanol 추출물은 50% ethanol 100 mL에 소인제 잎 분말 1 g을 첨가하여 24시간 동안 상온에서 교반 추출하였다. 추출물은 Whatman No.1 filter paper (Whatman Inc., Piscataway, NJ, USA)로 각 여과한 후 필요에 따라 rotary vacuum evaporator(Eyela NE, Tokyo, Japan)를 사용해 농축한 후 total phenolic compounds (TPC) 함량을 조절하여 phenolics 시료로 사용하였다(Jo 등, 2016; Lee 등, 2017). 이후 동결 건조물은 추출물을 동결 건조기(FD8518, Ilshinbiobase Co., Dong-Ducheon, Korea)를 사용하여 동결 건조한 분말물을 solid 시료로 사용하였다.

2.3. Total phenolic compounds (TPC) 함량 측정

TPC 측정은 Folin-Denis(1912)의 방법에 준하여 측정하였다. 95% ethanol 1 mL와 증류수 5 mL에 시료 추출물 1 mL를 첨가하고 1 N folin-ciocalteu reagent 0.5 mL를 넣은 후 vortexing 하고 5분간 방치하였다. 5% Na₂CO₃ 1 mL를 가하고 1시간 동안 암실에 방치 후 725 nm의 파장으로 흡광도를 UV-vis photospectrometer(Optizen 3220 UV, Merasys Co. Ltd., Seoul, Korea)를 이용하여 측정하여, gallic acid를 이용한 표준 곡선으로부터 양을 환산하여 소인제 잎 추출물의 TPC양을 측정하였다.

2.4. 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) radical scavenging activity 측정

DPPH radical 소거효과는 Blies(1958)의 방법에 준하여 측정하였다. 반응구는 각 시료 1 mL에 100 μM DPPH 3 mL를 넣고, 대조구에는 증류수 1 mL를 시료 대신 첨가하여 vortexing한 후, 실온에서 15분 동안 반응시킨 다음 517 nm에서 흡광도를 측정하였다. Positive control은 butylated hydroxytoluene(BHT, Sigma Aldrich Co., St Louis, MO, USA)을 사용하였으며, DPPH radical 소거활성(%)은 (대조구의 흡광도 - 반응구의 흡광도 / 대조구의 흡광도) × 100으로 나타내었다.

2.5. 2,2'-azino-bis (3-ethylbenzothiazoline 6-sulphonic acid) (ABTS) radical cation decolorization 측정

ABTS radical 저해효과는 Fellegrini 등(1999)의 방법에 준하여 측정하였다. 7 mM ABTS 50 mL와 140 mM

K₂S₂O₈ 0.88 mL를 섞어 암실에서 약 15시간 이상 반응시켜 radical을 형성시켰다. 이를 50% ethanol과 약 1:88 비율로 섞어 734 nm에서 흡광도값이 약 0.7±0.02가 되도록 조절한 다음 ABTS solution으로 사용하였다. 반응구는 시료용액 200 μL와 ABTS solution 4 mL를 혼합하였으며, 대조구에는 시료 대신 증류수 200 μL를 첨가하여 vortexing한 후 2분간 반응시키고 734 nm에서 흡광도를 측정하였다. Positive control로 BHT를 사용하였으며, ABTS radical 저해효과(%)는 (대조구의 흡광도 - 반응구의 흡광도 / 대조구의 흡광도) × 100으로 나타내었다.

2.6. Antioxidant protection factor (PF) 측정

PF는 Andarwulan과 Shetty(1999)의 방법에 준하여 측정하였다. 먼저 chloroform 50 mL에 β-carotene 50 mg을 녹인 용액 1 mL를, 빛을 차단하고 농축시킨 후 50 mL H₂O₂ solution, 20 μL linoleic acid, 184 μL Tween 40을 첨가하여 emulsion을 제조하였다. 이후 시료 100 μL에 emulsion 5 mL를 넣고 vortexing하고 50°C water bath에서 30분간 빛을 차단하여 반응시킨 다음, ice water에서 5분간 냉각시키고 470 nm에서 흡광도를 측정하였다. Positive control로 BHT를 사용하였으며, PF값(PF)은 (반응구의 흡광도 / 대조구의 흡광도)로 나타내었다.

2.7. Thiobarbituric acid reactive substance (TBARS) 측정

TBARS 저해 효과 측정은 Buege와 Aust(1978)의 방법에 준하여 측정하였다. 우선 시료 0.2 mL에 1% tween 40과 5% linoleic acid를 등량 넣어 hand mixer로 잘 섞어준 emulsion 용액 0.8 mL를 넣고, 50°C water bath에서 16시간 이상 반응시켰다. 그 다음 trichloroacetic acid (TCA), thiobarbituric acid(TBA), HCl을 혼합하여 제조한 TBA stock solution 100 mL와 2% BHT 3 mL를 섞어서 제조한 TBA reagent 4 mL를 첨가하고, 잘 혼합하여 끓는 물에 증탕으로 15분간 가열한 후 ice water에서 10분간 냉각시켰다. 2,000 rpm에서 20분간 원심분리(Vision Scientific, Daejeon, Korea)한 후 10분간 방치한 다음 532 nm에서 흡광도를 측정하였다. TBARS 저해활성(%)은 (대조구의 흡광도 - 반응구의 흡광도 / 대조구의 흡광도) × 100으로 나타내었다.

2.8. Elastase 저해효과 측정

Elastase 저해 효과는 Kraunsoe 등(1996)의 방법을 준하여 측정하였다. 시료 0.1 mL에 0.2 M Tris-HCl buffer (pH 8.0)로 녹인 기질 0.8 mM N-succinyl-(Ala)³-p-nitroanilide(Sigma Aldrich Co.) 0.1 mL를 넣고 buffer (pH 8.0) 1 mL를 추가하였다. 그 다음 buffer에 녹인 1.0 U/mL porcine pancreatic elastase(Sigma Aldrich Co.) 0.1 mL를 넣고, vortexing 후 water bath에서 37°C에서 20분간 반응시키고 ice water에서 5분간 식힌 다음 410 nm의 파장으로 흡광도를 측정하였다. Positive control로 ursolic acid를 사용하였으며, elastase 저해효과(%)는 (대조구의 흡광도 - 반응구의 흡광도 / 대조구의 흡광도) × 100으로 나타내었다.

2.9. Collagenase 저해효과 측정

Collagenase 저해 효과는 Wunsch과 Heindrich(1963)의 방법을 준하여 측정하였다. 시료 0.1 mL에 0.1 M tris-HCl에 4 mM CaCl₂가 추가된 buffer(pH 7.5)를 이용하여 녹인 기질 0.4 mM 4-phenylazobenzoyloxycarbonyl-pro-Leu-Gly-Pro-D-Arg(Sigma Aldrich Co.) 0.25 mL를 넣었다. 그 다음 buffer(pH 7.5) 0.15 mL를 넣고 buffer(pH 7.5)를 이용하여 제조한 100 U/mL collagenase from *Clostridium histolyticum*(Sigma Aldrich Co.)을 0.15 mL 첨가하였다. Water bath 25°C에서 20분간 반응시킨 후 종료 시약 6% citric acid 0.5 mL를 넣고, ethyl acetate를 2 mL를 넣은 후, vortexing하고 320 nm의 파장으로 흡광도를 측정하였다. Positive control로 (-) epigallocatechin-3-O-gallate(EGCG)를 사용하였으며, collagenase 저해효과(%)는 (대조구의 흡광도 - 반응구의 흡광도 / 대조구의 흡광도) × 100으로 나타내었다.

2.10. Astringent 효과 측정

Astringent 효과는 Lee 등(2002)의 방법에 준하여 측정하였다. 피부 단백질과 유사한 혈액 단백질인 hemoglobin을 기질로 사용하여 e-tube에 시료 0.7 mL에 0.2 M sodium phosphate buffer(pH 7.5)에 녹인 0.5% hemoglobin 용액(Sigma Aldrich Co.)을 0.35 mL를 넣은 후, buffer(pH 7.5) 0.35 mL를 추가하였다. Vortexing한 다음 원심분리

기(CF-10, Daihan Sci. Co. Ltd., Wonju, Korea)로 5분 동안 13,500 rpm으로 응고된 혈액 단백질을 가라앉히고 576 nm에서 흡광도를 측정하였다. Positive control로 tannic acid를 사용하였으며, astringent 효과(%)는 (대조구의 흡광도 - 반응구의 흡광도 / 대조구의 흡광도) × 100으로 나타내었다.

2.11. Hyaluronidase (HAase) 저해효과 측정

Hyaluronidase 저해 효과는 Dorfman와 Ott(1948)의 방법을 준하여 측정하였다. 시료 0.5 mL에 20 mM sodium phosphate phosphate buffer(pH 6.9)로 녹인 200 U/mL HAase 0.5 mL를 첨가한 뒤 water bath 38°C에서 5분간 반응시킨 후 0.3 M phosphate buffer(pH 5.3)로 녹인 기질을 0.4% hyaluronic acid 0.5 mL 넣고 다시 water bath 38°C에서 45분 동안 반응시킨다. 이후 종료시약으로 0.04 M acetate buffer(pH 3.7)로 녹인 알부민 용액 5 mL를 첨가하여 반응을 종료시키고 5분간 방치한 후 600 nm에서 투과율(%)을 측정하였다. Positive control로 pyrrolidone dithiocarbamate(PDTC)를 사용하였으며, HAase 저해효과(%)는 (1 - 반응구의 투과율 / 대조구의 투과율) × 100으로 나타내었다.

2.12. 통계처리

본 연구의 실험 결과는 평균과 표준오차로 나타냈으며, SPSS software 25(SPSS Inc., Chicago, IL, USA)를 이용하여 실험군 간의 유의차를 검증하고자 일원 배치 분산분석(one-way ANOVA)을 실시하였고, Duncan의 방법으로 사후검정을 실시하여 p<0.05 수준에서 상호 비교하였다.

3. 결과 및 고찰

3.1. 소인제 추출물의 TPC 함량 측정

페놀성 화합물은 식물에 존재하는 2차 대사산물이다. 대표적으로 flavonoid가 있으며, 그 외에도 1,000여 종류가 존재한다(Dreosti, 2000). 또한, 페놀성 화합물들은 라디칼에게 수소를 공여함과 동시에 라디칼을 소거함으로써 산화를 방지해 주는 역할을 한다(Thomas, 2000). 본 연구에서는 소인제 잎 추출물에서 생리활성 효과가 있는 total phenolic

compounds 함량을 정량하였다. 열수 추출물과 10-100% ethanol 추출물 등의 총페놀 함량을 비교한 결과, Fig. 1에 서와 같이 50% ethanol 추출물에서 1 g당 페놀 함량이 61.64 mg으로 가장 높게 나타났으며, 열수 추출물은 1 g당 34.49 mg으로 두 번째로 높게 나타났다.

3.2. 소인제 유래의 고형분(solid)과 phenolics의 생리활성 비교

소인제 잎으로부터 분리한 고형분(solid)과 phenolics가 생리활성에 미치는 영향을 확인하기 위해 소인제 잎의 추출물의 solid와 phenolics에 대해서 DPPH radical scavenging activity, ABTS radical decolorization activity 등 생리활성 정도를 비교하였다. 25와 50 $\mu\text{g}/\text{mL}$ phenolics 농도에서, Fig. 2(A)와 (B)에서와 같이 열수와 50% ethanol 모두 DPPH radical scavenging activity가 80.00% 이상으로 나타났으며, ABTS radical cation decolorization activity 또한 농도 의존적으로 증가하여 50 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 농도에서는 90.00%에 가까운 효과를 나타내었다. 반면 solid의 경우, phenolic과 동량의 무게로 처리하였으며, 25 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 농도의 열수와 50% ethanol에서 DPPH와 ABTS radical cation scavenging activity가 phenolics를 처리한 실험구에 비해 5배 이상 낮은 것으로 확인되었다. 이러한 결과는 소인제가 나타내는 생리활성이 phenolic에 기인한 것이라는 것을 추측할 수 있다. 소인제 잎 추출물의 solid에 함유된 TPC 함량을 측정된 결과, Table 1에서와 같이 열수 추출물 solid는 10.05 $\mu\text{g}/\text{mL}$, 50% ethanol 추출물 solid는

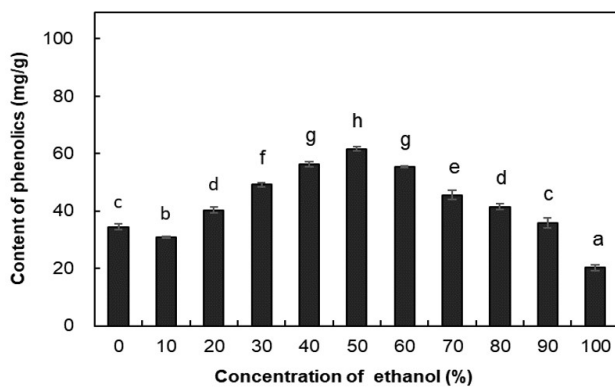


Fig. 1. Total phenolics content of *Aeonium sedifolium*. Values are presented as mean \pm standard deviation (n=6). Means with the letters (a-h) above the bars are significantly different at $p < 0.05$, as determined by Duncan's multiple range test.

15.30 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 를 나타내어 solid 내에 존재하는 phenolics의 농도가 높지 않음을 보여주었다. 따라서 소인제 잎 추출물에서 나타난 생리활성은 추출물에서 용출된 phenolics에 의해 효과가 좌우될 것으로 판단되었으며(Lee 등, 2016), 생리활성에 관여하는 물질이 phenolics에서 기인하는 것으로 확인되어 이후 phenolics에 초점을 맞추어 실험을 진행하였다.

3.3. 소인제 추출물의 항산화(DPPH, ABTS, PF, TBARS) 효과

항산화제의 대표적인 역할로는 radical scavenger가 있는데, 이는 항산화제가 유지의 peroxy radical이나 각종 free radical에서 수소 또는 전자의 공여체로 작용하여 비 radical 화합물을 상쇄시켜 산패를 억제하는 것이다. 이 외에도 항산화제는 금속제거제, 과산화물 분해나 상승제 등으로 사용된다(Kim 등, 2009).

DPPH radical scavenging activity 측정은 hydrazyl의 불안정한 질소원자가 쉽게 항산화성 물질과 반응해서 수소원자를 받아들이는 성질을 이용하여 자체의 정색성을 잃게 되는 정도를 측정하여 확인할 수 있다(Kim 등, 2004). 소인제 잎 추출물의 항산화 효능을 확인하기 위한 DPPH radical scavenging activity를 측정된 결과, Fig. 3(A)에서와 같이 열수 추출물 25, 50, 75, 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ phenolics 농도에서 각각 86.35, 87.54, 89.10, 89.24%의 소거 활성을 나타내었고, 50% ethanol 추출물 25, 50, 75, 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ phenolics 농도에서는 각각 89.86, 90.31, 91.92, 92.95%의 소거 활성을 나타내었다. 이는 소인제 잎 추출물에 함유된 phenolic의 농도에 비례하여 DPPH radical scavenging activity가 유의적으로 증가했음을 나타내었다. 또한, positive control로 사용된 BHT는 같은 농도에서 5.09, 17.43, 24.82, 36.47%로 나타나, 상대적으로 소인제 잎 추출물이 DPPH radical에 대한 항산화 활성이 매우 우수한 것으로 판단되었다.

ABTS radical cation decolorization activity 측정은 과황산칼륨(potassium persulfate)과의 반응에 의해 생성되는 ABTS radical을 추출물에 함유된 phenolics 화합물의 항산화성에 의해 제거되고, radical 특유의 청록색이 phenolics 화합물의 radical 저해활성으로 인해 연한 녹색으로 탈색되는 것을 이용한 항산화 활성 측정 방법이다

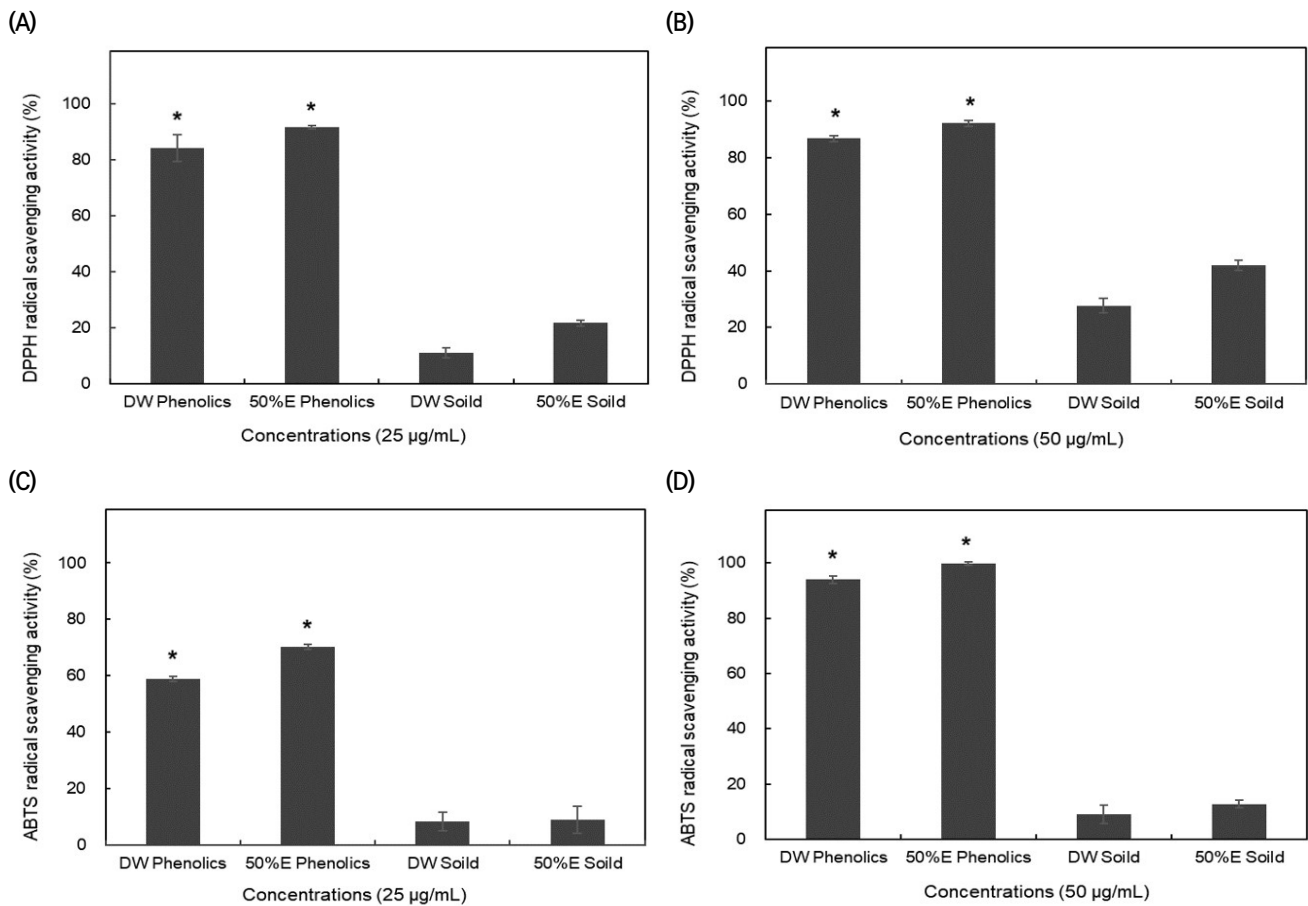


Fig. 2. Comparison of radical scavenging activity by concentration of phenolics and solid from *Aeonium sedifolium*. (A) DPPH radical scavenging activity (25 µg/mL), (B) DPPH radical scavenging activity (50 µg/mL), (C) ABTS radical scavenging activity (25 µg/mL), (D) ABTS radical scavenging activity (50 µg/mL). Values are presented as mean±standard deviation (n=6). Means with marks above the bars are significantly different at p<0.05, as determined by Duncan’s multiple range test.

Table 1. Contents of total phenolics in solids from *Aeonium sedifolium*

| Sample | Contents of total phenolics (µg/100 µg solid) |
|---------------------------|---|
| Water soluble solid | 10.50±0.09 |
| 50% ethanol soluble solid | 15.30±0.03 |

(Hong 등, 2010). DPPH radical scavenging activity 측정 실험과 동일한 원리를 가지고, ABTS 시약의 경우 유기용매와 물에 대한 용해도가 높아, 극성과 비극성 시료의 상관 없이 항산화 활성 측정에 사용할 수 있다(Van den Berg 등, 1999). 소인제 잎 추출물의 ABTS radical cation decolorization activity를 측정한 결과는 Fig. 3(B)에서와 같이, 열수 추출물은 25, 50, 75, 100 µg/mL TPC 농도에

서 62.04, 95.86, 99.81, 100.03%의 항산화 활성을 나타내었고, 50% ethanol 추출물은 25, 50, 75, 100 µg/mL TPC 농도에서 75.74, 99.66, 100, 100%의 항산화 활성을 나타내었다. Positive control로 사용한 BHT도 동일한 농도로 실험을 진행하였을 때 0.22, 5.03, 2.75, 10.44%로 소인제 잎 추출물이 BHT보다 월등히 높은 항산화 활성을 나타내었다. 따라서 소인제 잎 추출물의 ABTS radical cation decolorization 활성이 월등히 높아 우수한 항산화력을 나타내는 것을 확인하였다.

Antioxidant protection factor의 경우 Fig. 3(C)에서와 같이 25, 50, 75, 100 µg/mL TPC 농도에서 열수 추출물은 0.95-1.08 PF를 나타내었고, 50% ethanol 추출물에서는 0.92-1.22 PF를 나타내었다. 열수 추출물과 50% ethanol

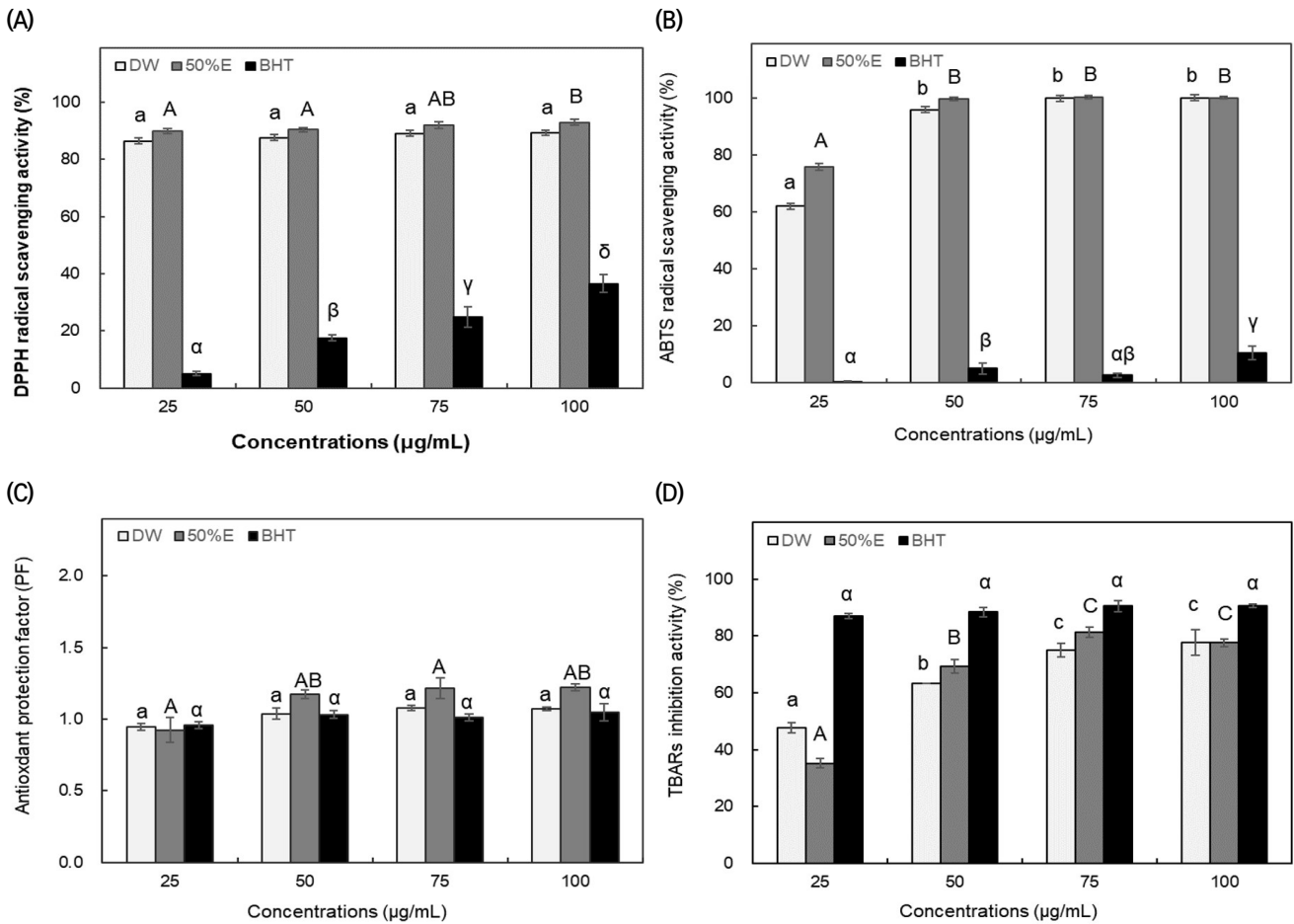


Fig. 3. DPPH radical scavenging activity (A), ABTS radical scavenging activity (B), antioxidant protection factor (C), and TBARS inhibition activity (D) of *Aeonium sedifolium*. Values are presented as mean±standard deviation (n=6). Means with the letters (a-c), (A-C), (α-δ) above the bars are significantly different at p<0.05, as determined by Duncan's multiple range test.

추출물의 PF 측정 결과는 100 µg/mL에서 모두 positive control인 BHT보다 우수하였고, 특히 50% ethanol 추출물에서 다소 높은 것으로 확인되었다.

TBARS 저해효과는 Fig. 3(D)에서와 같이 100 µg/mL phenolic 농도에서 열수 추출물과 50% ethanol 추출물에서 77.00% 이상의 지용성물질에 대한 항산화 활성을 나타내었으며 농도의존적인 양상을 보여주었다. 이상의 결과로 소인제 잎 추출물은 수용성 및 지용성 물질에 대한 항산화 효과가 우수한 것으로 확인되었다(Buege와 Aust, 1978c).

3.4. 소인제 추출물의 elastase 억제 효과

피부층 중 진피에는 피부진피층을 메꾸어 주는 탄력성을 가진 elastin이라는 물질이 존재한다. 주름이 생기는 과정에

서 elastase라는 효소에 의해 elastin이 분해되면서 피부의 탄력이 감소하고 주름이 생성되는데, 주름 유발 원인인 elastase의 활성을 억제함으로써 노화를 방지하는 효과를 기대할 수 있다(Lee 등, 2003). 따라서, 주름 방지에 대한 효과를 알아보기 위해 소인제 잎 추출물로 elastase 활성 저해 실험을 실시한 결과는 Fig. 4(A)와 같다. 열수 추출물에서는 효소 저해 효과가 나타나지 않았고, 50% ethanol 추출물 25, 50, 75, 100 µg/mL에서 각각 7.96, 37.36, 54.59, 69.03%의 저해 활성을 나타내었다. Positive control인 ursolic acid는 동일 농도에서 각각 9.84, 12.60, 19.07, 35.83%의 저해효과는 나타나 소인제 잎 50% ethanol 추출물이 elastase 저해 효과가 상대적으로 매우 높은 것을 확인할 수 있다.

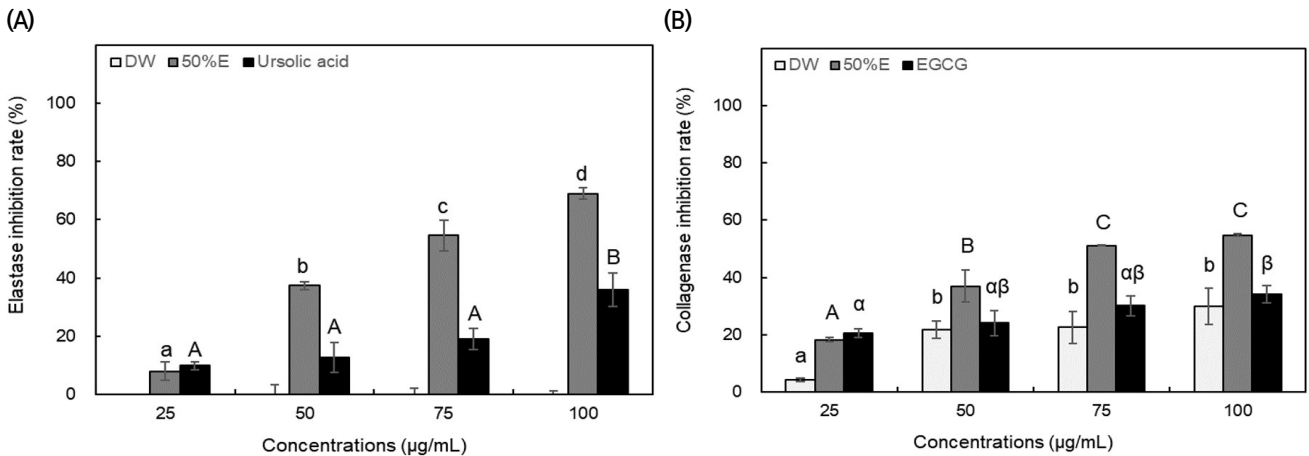


Fig. 4. Elastase (A) and collagenase (B) inhibition activity of *Aeonium sedifolium*. Values are presented as mean±standard deviation (n=6). Means with the letters (a-d), (A-C), (α - β) above the bars are significantly different at $p<0.05$, as determined by Duncan's multiple range test.

3.5. 소인제 추출물의 collagenase 억제효과

Collagen은 elastin과 함께 피부의 진피층을 구성하는 결합조직이다. 광노화의 원인인 자외선으로 인해 collagenase의 활성이 증가하고 그에 따라 collagen도 분해가 되는데, 이는 주름을 유발할 수 있다(Giacomoni와 Rein, 2001). 이러한 메커니즘을 억제하기 위해 소인제 잎 추출물의 collagenase 억제효과를 알아보았다. 그 결과는 Fig. 4(B)에서와 같이, 25, 50, 75, 100 µg/mL에서 열수 추출물은 각각 4.26, 21.64, 22.50, 29.82%의 저해 활성을 내었고, 50% ethanol 추출물은 18.21, 36.95, 51.12, 54.76%의 저해활성을 나타내었다. 또한, positive control로 사용한 EGCG는 동일 농도에서 20.62, 24.10, 30.10, 34.11%의 저해활성으로 소인제 50% ethanol 추출물보다 낮은 저해활성을 나타내어 소인제 잎의 ethanol 추출물이 collagenase 효소 저해활성이 매우 뛰어나 주름발생 억제제로서의 역할을 수행할 수 있을 것으로 판단하였다. 따라서 소인제 추출물이 elastase와 collagenase에 대한 저해 효과가 우수한 것으로 확인되어 주름개선을 위한 기능성 화장품에 적용이 가능할 것이라 판단되었다.

3.6. 소인제 추출물의 astringent 효과

Astringent는 기본적으로 피부가 움츠린다는 수렴의 의미가 있으며(Lee 등, 2002d), astringent activity(수렴효과)는 표면 조직을 조밀하게 만들어 세포막의 투과성을 감소

시키는 효과가 있다고 알려져 있다(Jang 등, 2008). 수렴효과를 확인하기 위한 소인제 잎 추출물의 astringent activity를 측정된 결과 Fig. 5에서와 같이 열수 추출물의 경우, phenolic 농도 200 µg/mL에서 20.83%, 400 µg/mL에서 28.79%의 수렴효과를 나타내었다. 반면 50% ethanol 추출물의 경우, phenolic 농도 200 µg/mL에서 89.82%, 400 µg/mL에서 100%에 도달하는 매우 높은 수렴효과를 나타내었다. Positive control로 사용한 tannic acid의 경우, 200과 400 µg/mL의 처리농도에서 각각 53.45, 81.32%의 수렴 효과를 나타내어 결과적으로 tannic acid보다 소인제 잎 50% ethanol 추출물의 수렴효과가 훨씬 더 우수한 것으

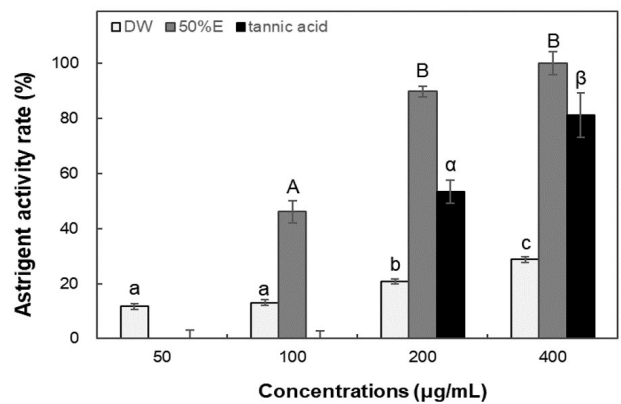


Fig. 5. Astringent activity of *Aeonium sedifolium*. Values are presented as mean±standard deviation (n=6). Means with the letters (a-c), (A-B), (α - β) above the bars are significantly different at $p<0.05$, as determined by Duncan's multiple range test.

로 판단되어 모공 축소용 화장품에 적용이 가능할 것으로 판단되었다(Youn 등, 2012).

3.7. 소인제 추출물의 hyaluronidase (HAase) 억제효과

고분자 물질인 hyaluronic acid(HA)는 염증반응에서 hAase에 의해 HA의 분해산물 혹은 저분자 HA가 생성되어 상처 치유 과정에서 inflammation 발생, fibrosis 및 collagen 분해 등을 증가시킨다. 또한, HAase는 보통 체내에서 불활성 형태로 리소좀 등에 존재하지만, 염증성 질환이 발병하였을 때 활성화되어 혈관계 투과성 및 염증반응에 관여하는 염증 유발 물질로 알려져 있으며, 알레르기 반응 등에도 관여하는 것으로 보고되었다.

소인제 잎 추출물의 HAase 저해활성을 측정한 결과 Fig. 6에서와 같이 50, 100, 200, 400 µg/mL phenolic 농도에서 열수 추출물은 16.91-85.00%, 50% ethanol 추출물은 9.30-99.12%의 높은 저해활성을 나타내었다. Positive control로 사용한 PDTC의 경우 동일 농도구간에서 9.80-89.72%를 나타내었으며, 소인제 잎 열수 및 50% ethanol 추출물은 모두 염증반응에 관여하는 주요 효소인 HAase의 활성을 저해시키는 우수한 항염증 agent로 활용이 가능할 것으로 판단되었다.

4. 요약

소인제(*Aeonium sedifolium*) 잎의 total phenolics

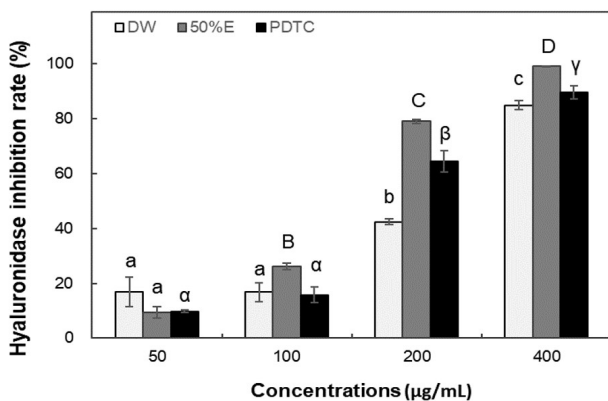


Fig. 6. Hyaluronidase inhibition activity of *Aeonium sedifolium*. Values are presented as mean±standard deviation (n=6). Means with the letters (a-d) above the bars are significantly different at p<0.05, as determined by Duncan's multiple range test.

compounds 함량은 열수 및 ethanol 추출물에서 각각 34.49 mg/g, 61.64 mg/g으로 나타났다. 소인제 잎의 solid에 비해 phenolics의 DPPH, ABTS 효과가 더 우수한 결과를 나타내어 생리활성은 phenolic에 의해 발생하는 것으로 확인되었다. 소인제 잎의 항산화 효과는 DPPH가 100 µg/mL TPC 농도에서 85% 이상의 높은 소거 활성을 나타내었고, ABTS radical cation decolorization은 열수와 ethanol 추출물에서 모두 100%에 근접한 항산화 활성을 나타내었다. Antioxidant protection factor는 100 µg/mL phenolic 농도에서 열수와 ethanol 추출물에서 각각 1.07 PF와 1.22 PF를 나타내었으며, TBARs 저해 효과는 열수와 ethanol 추출물 모두 77% 이상의 활성을 나타내었다. 소인제 잎 추출물의 elastase 저해 활성은 phenolic 100 µg/mL의 ethanol 추출물에서 69.03%로, positive control인 ursolic acid의 35.83%보다 2배의 억제효과를 나타내었다. Collagenase 저해활성은 phenolic 농도 100 µg/mL에서 열수추출물이 29.82%, ethanol 추출물이 54.76%의 저해 효과를 나타내어 주름개선효과가 우수한 것으로 확인되었다. 소인제 잎의 HAase 저해활성은 400 µg/mL phenolic 농도의 열수 및 에탄올 추출물에서 각각 85%, 99.12%의 높은 저해활성을 나타내었다. 소인제 잎 추출물의 모공수축 효과는 phenolic 농도 400 µg/mL에서 100% 가까운 매우 우수한 효과를 나타내었다. 이상의 결과를 종합해보면 소인제 잎 추출물은 항노화에 관여하는 높은 항산화 활성을 나타내었으며, 피부 주름 생성에 관여하는 elastase와 collagenase 저해활성과 염증반응에 관여하는 hyaluronidase 저해활성이 우수하였으며, 모공수축 효과 또한 매우 우수한 것으로 확인되었다.

Conflict of interests

The authors declare no potential conflicts of interest.

Author contributions

Conceptualization: Kim JI, Kim MJ, Jo HG, Cho YJ. Methodology: Kim JI, Kim MJ, Jo HG, Cho YJ. Formal analysis: Jeong DE, Park HJ, Cho YJ. Validation: Jeong DE, Park HJ, Cho YJ. Writing - original draft: Kim JI, Kim MJ, Jo HG, Park HJ, Cho YJ. Writing - review &

editing: Jeong DE, Cho YJ.

Ethics approval

This article does not require IRB/IACUC approval because there are no human and animal participants.

ORCID

Jung-In Kim (First author)

<https://orcid.org/0000-0001-6238-5848>

Min-Jae Kim

<https://orcid.org/0000-0001-9398-531X>

Ha-Gyeong Jo

<https://orcid.org/0000-0001-9172-997X>

Da-Eun Jeong

<https://orcid.org/0000-0001-9738-508X>

Hye-Jin Park

<https://orcid.org/0000-0001-5682-6539>

Young-Je Cho (Corresponding author)

<https://orcid.org/0000-0002-2365-6294>

References

- Andarwulan N, Shetty K. Phenolic content in differentiated tissue cultures of untransformed and *Ahrobacterium*-transformed roots of anise (*Pimpinella anisum* L). *J Agric Food Chem*, 47, 1776-1780 (1999)
- Bios MS. Antioxidant determination by the use of a stable free radical. *Nature*, 181, 1199-1200 (1958)
- Buege JA, Aust SD. Microsomal lipid peroxidation. *Methods Enzymol*, 52, 302-310 (1978)
- Choi MH, Ryu EM, Oh DS, Shin HJ. Improvement of acne condition in skin care using *Camellia japonica* L. extracts. *Kor J Aesthet Cosmetol*, 10, 661-672 (2012)
- Cristini M. A note on the chorology of *Aeonium sedifolium* according to Pitard & Proust. *Bradleya*, 2020, 30-34 (2020)
- Cross CE, Halliwell B, Borish ET, Pryor WA, Ames BN, Saul RL, McCord JM, Harman D. Oxygen radicals and human disease. *Ann Intern Med*, 107, 526-545 (1987)
- Dorfman A, Ott ML. A turbidimetric method for the assay of hyaluronidase. *J Biol Chem*, 172, 367-375 (1948)
- Dreosti IE. Antioxidant polyphenols in tea, cocoa, and wine. *Nutrition*, 7, 692-694 (2000)
- Fellegrini N, Roberta K, Min Y, Catherine RE. Screening of dietary carotenoids and carotenoid-rich fruit extracts for antioxidant activities applying 2,2'-azinobis (3-ethylenebenzothiazoline-6-sulfonic acid) radical cation decolorization assay. *Method Enzymol*, 299, 379-389 (1999)
- Folin O, Denis W. On phosphotungstic-phosphomolybdic compounds as color reagents. *J Biol Chem*, 12, 239-243 (1912)
- Giacomini PU, Rein G. Factors of skin ageing share common mechanisms. *Biogerontology*, 2, 219-229 (2001)
- Han JT. Development of functional material using the root of *Rosa multiflora*. *Food Ind Nutr*, 11, 59-65 (2006)
- Hong S, Jeong D, Kim K, Hwang E. The composition of the root of *Ixeris dentata* var. albiflora Nakai. and cell viability and DPPH radical scavenging activities of its extract. *Korean J Nutr*, 43, 105-113 (2010)
- Jang MJ, An BJ, Lee CE, Lee, JT, Lee BG, Lee DH. Study on the anti-oxidant effect of *Pinus rigida* Mill. inner bark extracts. *J Korean Soc For Sci*, 97, 88-94 (2008)
- Jo JB, Lee EH, Cho YJ. Beauty food activities of isolated phenolic compounds from *Tetragonia tetragonioides*. *J Korean Soc Food Sci Nutr*, 45, 333-341 (2016)
- Kim DK, Kim SJ. The study on the efficacy of herbal plant extracts by the part and solvent extraction. *J Soc Cosmet Sci Korea*, 33, 127-135 (2007)
- Kim JS, Jeong MH, Choi WY, Seo YC, Cho JS, Lee HY. Enhancement of anticancer activity of acer mono aqueous extracts by nano-encapsulation

- process. J Korean Soc For Sci, 100, 14-24 (2011)
- Kim MJ. The development of cosmetical ingredient from *Saururus chinensi* & *Cinnamomum camphora* (L.) extract. MS Thesis, Graduate School of Nambu University, Korea (2016)
- Kim SJ, Kim HJ, Park JC. DPPH radical scavenging effect of the aerial parts of *Fagopyrum esculentum* and isolation of bioactive flavonoids. Herb Formula Sci, 12, 255-262 (2004)
- Kim SM, Cho YS, Sung SK. The antioxidant ability and nitrite scavenging ability of plant extracts. Korean J Food Sci Technol, 33, 626-632 (2001)
- Kim YD, Shin HC. Plant Systematics (Part 2). World Science Pub, Korea (2011)
- Kim YH, Paek JY, Kwon HJ, Lee JW, Yoon OH, Han MD. Antioxidant and anti-bacterial activities of ethyl acetate extract from *Scutellaria baicalensis*. Korean J Food Nutr, 22, 367-376 (2009)
- Kraunsoe JA, Claridge TD, Lowe G. Inhibition of human leukocyte and porcine pancreatic elastase by homologues of bovine pancreatic trypsin inhibitor. Biochemistry, 35, 9090-9096 (1996)
- Lee EH, Kim BO, Cho YJ. Inhibitory activities on biological enzymes of extracts from *Oplismenus undulatifolius*. J Appl Biol Chem, 60, 101-108 (2017)
- Lee EH, Park HJ, Kim NH, Hong EJ, Park MJ, Lee SH, Kim MU, An BJ, Cho YJ. Biological activities of *Aster scaber* extracts. Korean J Food Preserv, 23, 393-401 (2016)
- Lee JT, Jeong YS, An BJ. Physiological activity of *Salicornia herbacea* and its application for cosmetic materials. Kor J Herbol, 17, 51-60 (2002)
- Lee SY, Chun H, Cho HY, An JH. Isolation and characterization of MMP-1 inhibitor peptide from *Crataegus pinnatifida* bunge in fibroblast cell line HS68 cells. J Korean Soc Agric chem Biotechol, 46, 60-65 (2003)
- Thomas MJ. The role of free radicals and antioxidants. Nutrition, 7, 716-718 (2000)
- Van den Berg R, Haenen GR, van den Berg H, Bast AALT. Applicability of an improved Trolox equivalent antioxidant capacity (TEAC) assay for evaluation of antioxidant capacity measurements of mixtures. Food Chem, 66, 511-517 (1999)
- Wunsch E, Heindrich HG. Zur quantitative bestimmung der collagenase. Hoppe-Seyler's Physiol Chem, 333, 149-151 (1963)
- Yang HJ, Kim EH, Kang ST, Park SN. Antibacterial activity of *Platycarya strobilacea* extract and stability of the extract-containing cream. Microbiol Biotechnol Lett, 37, 170-175 (2009)
- Youm TH, Lim HB. Antimicrobial activities of organic extracts from fruit of *Thuja orientalis* L. Korean J Med Crop Sci, 18, 315-322 (2010)
- Youn JS, Shin SY, Wu Y, Hwang JY, Cho JH, Ha YG, Kim JK, Park MJ, Lee SH, Kim TH, Kim TW. Antioxidant and anti-wrinkling effects of *Aruncus dioicus* var. kamtschaticus extract. Korean J Food Preserv, 19, 393-399 (2012)