

<http://dx.doi.org/10.17703/JCCT.2023.9.6.993>

JCCT 2023-11-119

화장품 소재 개발을 위한 원지 (*Polygala tenuifolia*), 백지 (*Angelica dahurica*) 및 꽃향유 (*Elsholtzia splendens*) 추출물의 혼합 비율 최적화

Optimization of mixing ratio of *Polygala tenuifolia*, *Angelica dahurica* and *Elsholtzia splendens* extracts for cosmetic material development

정서아*, 송가현**, 박수인***, 정연옥****

Jung Seo A*, Song Ga Hyeon**, Su In Park, Jung Youn Ok****

요약 최근 화장품 소재로서 환경친화적인 식물성 유래 천연물질이 주목받고 있으며, 천연물의 다양한 생리활성에 대한 연구가 활발히 이루어지고 있다. 본 연구에서는 다양한 생리활성이 있다고 알려져 있는 약용식물 원지 (*Polygala tenuifolia*), 백지 (*Angelica dahurica*), 꽃향유 (*Elsholtzia splendens*) 3종 추출물의 배합 비율을 달리하여 항산화, 항염증, 보습 및 항균 효능을 조사하였다. 배합 비율은 7가지 조건 (M1, 1:1:1; M2, 0.5:1.5:1; M3, 1.5:0.5:1; M4, 0.1:0.95:0.95; M5, 0.5:0.5:2; M6, 0.95:1.95:0.1; M7, 1.45:0.1:1.45)으로 설정하여 추출하였고, 화장품 소재로 활용하기 위해 최적의 혼합 비율을 확인하였다. DPPH 및 ABTS radical 소거 활성은 M6 1,000 µg/mL에서 각각 75.37% 및 99.19%의 소거능을 나타냈다. M6 200 µg/mL 농도에서는 염증반응을 유도한 lipopolysaccharide 처리군 대비 50%의 Nitric oxide 생성 억제 효과를 보였다. M3와 M6은 50 µg/mL 농도에서 대조군에 비해 hyaluronic acid 생성량이 각각 1.47배, 1.49배 높은 것을 확인하였다. Disc diffusion 테스트에서는 M6 8 µg/mL에서 clear zone이 9.75 mm로 나타나 *Staphylococcus aureus* 균주의 성장 억제 효과를 확인하였다. 이상의 결과로 원지, 백지, 꽃향유 혼합 추출물은 화장품의 기능성 천연소재로 사용 가능할 것이라 판단된다.

주요어 : 화장품 소재, 천연물, 원지, 백지, 꽃향유

Abstract Recently, environmentally friendly natural substances derived from plants have been attracting attention as cosmetic materials, and research on various physiological activities of natural substances is being actively conducted. This study investigated the antioxidant, anti-inflammatory, moisturizing, and antibacterial effects of three types of extracts of mixtures containing different mixing ratios, *Polygala tenuifolia*, *Angelica dahurica*, and *Elsholtzia splendens*, known to have various physiological activities. The mixing ratio is 7 conditions (M1, 1:1:1; M2, 0.5:1.5:1; M3, 1.5:0.5:1; M4, 0.1:0.95:0.95; M5, 0.5:0.5:2; M6, 0.95:1.95:0.1; M7, 1.45:0.1:1.45), and the optimal mixing ratio was confirmed for use as a cosmetic material. DPPH and ABTS radical scavenging activities showed scavenging abilities of 75.37% and 99.19%, respectively, at 1,000 µg/mL of M6. At a concentration of 200 µg/mL of M6, it showed 50% of nitric oxide production inhibition compared to the lipopolysaccharide-treated that induced an inflammatory response. It was confirmed that M3 and M6 produced hyaluronic acid 1.47 and 1.49 times higher than the control at a concentration of 50 µg/mL, respectively. Through the disc diffusion test, the clear zone was 9.75 mm at 8 µg/mL of M6, confirming the inhibition of growth of *staphylococcus aureus* strain. Based on the above results, it is believed that the mixed extract of *Polygala tenuifolia*, *Angelica dahurica*, and *Elsholtzia splendens* can be used as a functional natural material for cosmetics.

Key words : Cosmetic materials, Natural products, *Polygala tenuifolia*, *Angelica dahurica*, *Elsholtzia splendens*

*정회원, (주)수이케이 연구원 (제1저자)

**정회원, (주)수이케이 연구원 (참여저자)

***정회원, 을지대학교

미용화장품과학과 연구교수 (공동교신저자)

****정회원, (주)수이케이 연구소장 (교신저자)

접수일: 2023년 10월 5일, 수정완료일: 2023년 10월 25일

게재확정일: 2023년 11월 5일

Received: October 5, 2023 / Revised: October 25, 2023

Accepted: November 5, 2023

***Corresponding Author: suinpark@eulji.ac.kr

Dept. of Beauty and Cosmetic Science, Eulji University, Korea

****Corresponding Author: yenok@sooy-k.com

Dept. of Sooy-K Bio Lab, Sooy-K, Korea

I. 서 론

화학적 합성물의 부작용과 만성적인 사용에 대한 불안감으로 최근 화장품 소재로서 환경친화적인 식물성 유래 천연물질이 주목받고 있으며, 천연물의 다양한 생리활성 성분들에 관한 연구가 활발히 이루어지고 있다 [1]. 천연물은 다양한 생리활성 성분들인 비타민, 무기질, 폴리페놀류 등을 포함하고 있고, 우수한 효과를 지니고 있으며 안정성이 확보되었다 [2]. 현재 미용 목적으로 사용되는 약용식물들은 종류가 다양하며, 효능 및 효과를 가지는 이들에 관한 관심이 증가함에 따라 소재 개발 연구가 활발히 진행되고 있다 [3]. 이에 따라 건강 증진과 아름다운 피부를 유지하고자 하는 욕구에 부응하여 가려움증 완화, 발모 촉진, 주름 개선, 미백, 피부 보습, 각질 제거, 여드름, 잡티, 피부 개선 등의 효능을 가진 천연물이 화장품에 적용되고 있다 [4].

원지 (*Polygala tenuifolia*)는 원지과 (Polygalaceae)에 속한 다년생 초본으로 뿌리의 목심 부위를 제거하고 건조하여 사용한다 [5]. 원지는 신경 손상 보호, 항우울제, 진통제, 항진균제, 항암제 등으로의 개발 가능성이 보고된 바 있으며 [6, 7], 약리 활성 성분으로는 saponin 계열의 tenuifolin, tenuigenin 및 senegin, alkaloid 계열의 tenuidine, polygalitol을 주성분으로 함유하고 있다 [8]. 항산화 작용을 통해 H_2O_2 에 의해 유도된 산화적 스트레스 및 세포사멸을 효과적으로 감소시키는 효과가 있으며 [9], 염증 매개 물질인 ROS, NO, TNF- α , IL-1 등을 억제함으로써 대사증후군을 예방하는 효과가 있어 관심의 대상이 되고 있다 [10, 11, 12].

백지 (*Angelica dahurica*)는 산형과 (Umbeliferae)에 속하는 구릿대의 뿌리를 건조한 것으로 진정, 해열, 진통에 효과가 있으며 [13], 다량의 당과 무기질 [14], 정유 성분 [13] 그리고 20여 종 이상의 coumarin 성분을 함유하고 있다 [15, 16, 17]. 백지의 연구 결과로 약물대사 효소 억제 및 대사 저해 활성 [18], 항혈전 [19], 콜라겐 생성촉진 [17], 항균작용 [20] 등에 효과가 있다고 보고된 바 있다. byakangelicin, phellopterin, imperatorin, isoimperatorin 등의 coumarin 화합물들이 백지의 주요 생리활성성분으로 알려져 있으며 [18, 21], 최근에는 cyclooxygenase (COX-2)와 microsomalprostaglandinE synthase (mPGES)의 발현을 억제함으로써 lipopolysaccharide (LPS)로 유도되는

prostaglandinE2 (PGE2)의 합성을 억제하여 염증을 억제하는 작용을 한다고 밝혀졌다 [21].

꽃향유 (*Elsholtzia splendens*)는 꿀풀과 (Labiatae) 향유속에 속하는 1년생 초본류로 진초에서 특유의 향기가 발산되는 한국산 방향성 식용 식물이며 [22, 23], 기침, 발한, 통증, 염증, 발열 등에 효능이 있는 것으로 알려져 민간요법 성분으로 사용되어왔다 [24]. 꽃향유의 성분으로는 elsholtzia ketone, dehydro-elsholtzia ketone 및 monoterpenes 등의 향기성분 [25]과 apigenin, apigenin-7-O-glucoside, luteolin-7-O-glucoside 및 linarin 등의 플라보노이드 성분이 확인되었다 [26]. 꽃향유의 생리활성으로는 항산화 활성 및 멜라닌 생성 억제 활성 [27] 및 동물 모델 생체 내 항염증 및 통증 완화 등의 효능이 보고되었다 [28].

본 연구는 천연 재료를 추출 후 혼합조성을 달리하여 항산화, 항염증, 피부 보습 등에 대한 효과를 조사하여 건강 증진에 실용화할 목적으로 연구를 시행하였다.

II. 재료 및 방법

1. 시약 및 기기

본 실험에서 시약은 ascorbic acid (AA; Sigma-Aldrich, USA), 1,1-diphenyl-2-picryl-hydrazyl (DPPH; Sigma, USA), 2,2'-azino-bis-(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) (ABTS; Sigma, USA), Dulbecco's Modified Eagles Medium (DMEM; Welgene, Korea), fetal bovine serum (FBS; Gibco, USA), FBS(Samchun, Korea), penicillin/streptomycin (Lonza, Switzerland), water-soluble tetrazolium salt (WST)-8 (Biomax, Korea), lipopolysaccharide (LPS; SigmaAldrich, USA), Griess reagent system (Promega, USA), hyaluronic acid (HA) enzyme linked immunosorbent assay (ELISA) kit (Minneapolis, USA)를 사용하였다.

본 실험에서 기기는 분쇄기 (Hanil, Korea), 회전감압농축기 (BUCHI, Germany), incubator (Thermo, USA), microplate reader (BioTek, USA), pipette (Eppendorf, Germany)이 사용되었다.

2. 재료

본 연구에서 추출에 이용한 원지, 백지, 꽃향유는 세척 및 건조한 것을 제천한방약초 (Jecheon, Korea)에서 구입하여 분쇄 후 사용하였다.

3. 시료추출 및 혼합

추출은 분쇄된 원지, 백지, 꽃향유 각각 100 g에 70% ethanol 400 mL을 첨가하여 상온에서 48 시간 동안 추출하였다. 추출액은 여과지로 여과하여 회전 감압 농축기로 45°C에서 농축하였으며, 농축 분말은 -50°C에 보관하여 실험에 사용하였다.

원지, 백지 및 꽃향유의 혼합비율은 원지 추출물, 백지 추출물 및 꽃향유 추출물의 함량 비율에 따라 혼합비를 7가지 조건 (표 1)으로 설정하고 혼합물을 제조하여 사용하였다.

표 1. 원지, 백지, 꽃향유 추출물의 혼합 비율
 Table 1. Mixture ratio of *Polygala teuifolia*, *Angelica dahurica*, *Elsholtzia splendens* extract

Sample ¹⁾	<i>Polygala teuifolia</i>	<i>Angelica dahurica</i>	<i>Elsholtzia splendens</i>
M1	1	1	1
M2	0.5	1.5	1
M3	1.5	0.5	1
M4	0.1	1.95	0.95
M5	0.5	0.5	2
M6	0.95	1.95	0.1
M7	1.45	0.1	1.45

¹⁾M1, A mixture of same ratio (*Polygala teuifolia* : *Angelica dahurica* : *Elsholtzia splendens* = 1 : 1 : 1); M2, A mixture of different ratio (*Polygala teuifolia* : *Angelica dahurica* : *Elsholtzia splendens* = 0.5 : 1.5 : 1); M3, A mixture of different ratio (*Polygala teuifolia* : *Angelica dahurica* : *Elsholtzia splendens* = 1.5 : 0.5 : 1); M4, A mixture of different ratio (*Polygala teuifolia* : *Angelica dahurica* : *Elsholtzia splendens* = 0.1 : 1.95 : 0.95); M5, A mixture of different ratio (*Polygala teuifolia* : *Angelica dahurica* : *Elsholtzia splendens* = 0.5 : 0.5 : 2); M6, A mixture of different ratio (*Polygala teuifolia* : *Angelica dahurica* : *Elsholtzia splendens* = 0.95 : 1.95 : 0.1); M7, A mixture of different ratio (*Polygala teuifolia* : *Angelica dahurica* : *Elsholtzia splendens* = 1.45 : 0.1 : 1.45)

4. 항산화 효능 평가

1) DPPH radical scavenging assay

항산화 측정은 DPPH radical 소거활성으로 Blois의 방법에 기반하여 측정하였다 [29]. 이 assay는 발생법 중 하나이며, DPPH는 radical 상태에서 보라색을 띠고, 전자를 받아 DPPH-H로 환원되면 노란색으로 변화한

다 [30]. 96 well plate에 0.2 mM DPPH 용액 100 µL와 농도별 시료 100 µL를 혼합하여 암소의 실온에서 30 분 반응시킨 후 517 nm에서 흡광도를 측정하여 계산하였다. 양성대조군으로는 항산화 물질인 ascorbic acid를 이용하였고, 음성대조군으로는 DPPH 용액에 시료를 처리하지 않은 군으로 진행하였다.

DPPH radical scavenging assay(%)

$$=(1-\text{시료 첨가군 흡광도}/\text{시료 무첨가군 흡광도}) \times 100$$

2) ABTS radical scavenging assay

2,2-azino-biazoline-6-sulphonic acid(ABTS) radical을 이용한 항산화력 측정은 Van den Berg에 의하여 측정하였다 [31]. 청록색을 띠는 ABTS+ radical이 항산화 물질과 반응하여 투명한 색이 되는 원리를 이용한 방법이다 [32]. 7 mM ABTS와 2.4 mM potassium persulfate를 혼합해 암소의 실온에서 24 시간 동안 방치하여 ABTS를 형성시킨 후, 734 nm 흡광도에서 0.7 ± 0.1이 되도록 맞춘 뒤 실험에 사용하였다.

ABTS working solution 100 µL과 농도별 시료 100 µL을 혼합하여 암실에서 10 분 동안 반응 후, 732 nm에서 흡광도를 측정하였다. 양성대조군으로는 항산화 물질인 ascorbic acid를 이용하였고, 음성대조군으로는 ABTS 용액에 시료를 처리하지 않은 군으로 진행하였다.

ABTS radical scavenging assay(%)

$$=(1-\text{시료 첨가군 흡광도}/\text{시료 무첨가군 흡광도}) \times 100$$

5. 세포배양

Raw 264.7 세포는 Korea cell line bank (KCLB; Seoul, Korea)에서 분양받았고, human keratinocyte cell line (HaCaT) 세포는 Amore Pacific (Korea)으로부터 제공받았다. 세포 배양을 위해 10% FBS와 1% penicillin/streptomycin을 함유한 DMEM을 사용하였고, 5% 이산화탄소 및 37°C를 유지하는 incubator에서 배양하였다.

6. 세포생존율 검사

세포를 96 well plate에 1 × 10⁴ cell/well로 분주한 뒤에 incubator에서 24시간 동안 배양하면서 세포를 완

전히 부착시키고, 시료를 48 시간 동안 처리하였다. WST-8을 10% 농도로 첨가하여 2 시간 동안 반응시킨 후 microplate reader로 450 nm에서 흡광도를 측정하였다.

7. Nitric oxide (NO) 저해활성 측정

Raw 264.7 세포를 96 well plate에 1×10^4 cell/well로 분주한 뒤에 incubator에서 24시간 동안 배양하면서 세포를 완전히 부착시키고, 시료를 48시간 동안 처리하였다. 자극원은 10 ng/mL 농도의 LPS로 하였다. 배양 상층액을 취해 Griess reagent system으로 제조사의 매뉴얼에 따라 NO 생성량을 정량하였다.

8. Hyaluronic acid(HA) 측정

HaCaT 세포를 96 well plate에 1×10^4 cell/well로 분주한 뒤에 incubator에서 24시간 동안 배양하면서 세포를 완전히 부착시키고, 시료를 48시간 동안 처리하였다. 양성대조군으로 retinoic acid를 사용하였다. 배양된 세포의 상층액을 회수한 후 제조사의 매뉴얼에 따라 ELISA assay를 수행하여 hyaluronic acid의 생성량을 측정하였다.

9. 항균 활성

항균 효과는 *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*)에 대하여 측정하였다. 시료의 항균력 측정을 위하여 Paper disc 측정법을 이용하였다. 고체 평판배지에 배양된 각 균주를 1 백금이 취하여 액체배지 4 mL 접종한 것을 20 시간 배양하여 활성화시킨 후, 액체배지 3 mL에 균주 500 μ L 접종하여 4 시간 동안 배양하였다. 균 수가 1×10^6 - 5×10^6 /mL이 되도록 고체 평판배지에 균주를 접종한 후 spreader를 이용해 고르게 도말하였다. 각 시료를 농도별로 제조하여 지름 8 mm의 paper disc (Toyo, Japan)에 50 μ L를 흡수시킨 후 균주가 도말된 고체 평판배지에 올려놓고, 37°C에서 20 시간 배양하여 disc 주위의 clear zone (mm)의 지름을 측정하였다.

10. 통계처리

모든 실험은 3회 반복하여 평균 \pm 표준편차로 나타내었다. SPSS 18.0 프로그램을 이용하여 독립표본 t-test와 one-way ANOVA 분석으로 p 값이 0.05 미만

일 때 통계적으로 유의하다고 판단하였다.

III. 실험 및 결과

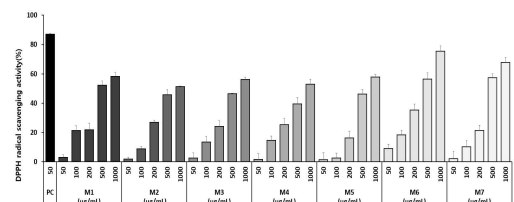
1. DPPH 및 ABTS radical 소거 활성

Radical은 불안정하여 세포 구성 성분들과 쉽게 반응하여 비선택적이고 비가역적인 손상을 일으킨다. 보라 빛을 나타내는 DPPH radical은 비교적 안정한 화합물로 항산화제와의 반응으로 radical 활성을 검정하는 데 사용된다 [33]. 추출물의 DPPH 및 ABTS radical 소거 활성은 그림 1과 같다.

DPPH radical 소거 활성은 원지와 꽃향유의 혼합비율이 높은 M6이 50-1,000 μ g/mL 농도에서 9.05-75.37%로 가장 높은 활성을 나타냈다. 양성대조군(PC)으로 사용한 ascorbic acid는 50 μ g/mL 농도에서 87.21%의 항산화 활성을 나타내었다. 다른 혼합 추출물은 50-1,000 μ g/mL 농도에서 M7 2.10-67.83%, M1 2.96-58.21%, M5 1.34-57.74%, M3 2.48-56.21%, M4 47-52.95% 및 M2 1.73-51.35% 순으로 DPPH radical 소거 활성이 높았으며, 모든 시료에서 농도 의존적으로 증가하였다.

ABTS radical 소거 활성은 모든 혼합 추출물에서 농도가 증가함에 따라 소거 활성이 증가하였으며, 특히 50-1,000 μ g/mL 농도에서 M6는 22.32-99.19%로 가장 높은 활성을 나타내어 DPPH radical 소거 활성과 유사한 경향을 나타내었다. 모든 혼합 추출물에서 ABTS radical 소거 활성이 농도 의존적으로 증가하였으며, 양성대조군(PC)으로 사용한 ascorbic acid는 50 μ g/mL 농도에서 99.68%의 항산화 활성을 나타내었다. 500 μ g/mL 농도에서 M6는 94.61%로 유의적으로 높은 활성이 나타났고, M1 92.30%, M3 87.87%, M2 80.42%, M4 80.31%, M5 76.27%, M7 70.59% 순으로 ABTS radical 소거 활성이 높았다.

(A)



(B)

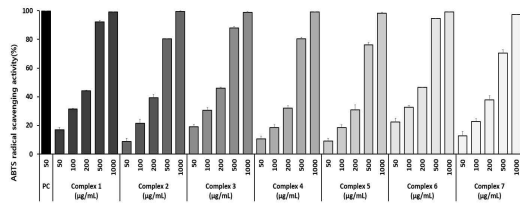


그림 1. 추출물 혼합 비율에 따른 DPPH (A) and ABTS(B) radical 소거 활성
 Figure 1. DPPH (A) and ABTS(B) radical scavenging activity according to extracts mixture ratio.

2. Raw 264.7 세포 생존율

원지, 백지, 꽃향유 혼합 추출물이 Raw 264.7 세포의 생존율에 미치는 영향을 확인하고자 WST-8 assay를 진행하였고, 그 결과를 그림 2에 제시하였다. 혼합 추출물 모두 농도를 50, 100, 200 µg/mL로 설정하였으며 모든 농도에서 독성을 나타내지 않아 최대 농도를 200 µg/mL로 설정하여 NO 생성량을 측정하였다.

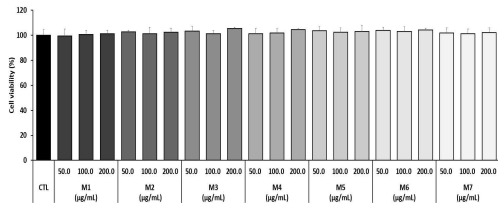


그림 2. Raw 264.7 세포 생존율(%)
 Figure 2. Raw 264.7 cell viability treated with Mixture extract of Polygala teuifolia, Angelica dahurica, Elsholtzia splendens

3. Raw 264.7 세포의 NO 생성량

다양한 비율별 혼합 추출물이 NO 생성량에 미치는 영향을 비교하기 위해 LPS로 염증반응을 유도한 Raw 264.7 세포에 혼합 추출물을 50, 100, 200 µg/mL 농도로 처리하여 Griess assay를 진행하였다. 그림 3에 제시된 바와 같이 NO 생성억제능은 M4와 M6에서 농도의존적으로 높았으며, 특히 M6는 200 µg/mL의 농도에서 LPS 처리 군에 비해 50% 정도의 통계적으로 유의한 생성억제능을 보였다.

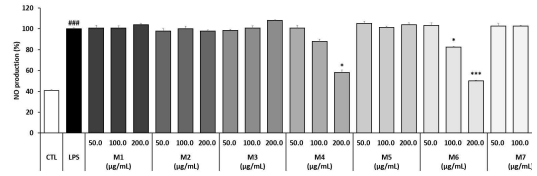


그림 3. Raw 264.7 세포의 NO 생성량(%)
 Figure 3. The inhibitory effect Mixture extract of *Polygala teuifolia*, *Angelica dahurica*, *Elsholtzia splendens* on NO production in LPS treated Raw 267.7 cell, ### $P < 0.001$ vs. CTL, * $P < 0.1$ and *** $P < 0.001$ vs. LPS, CTL: non-treated control, LPS: LPS treated control.

4. HaCaT 세포 생존율

원지, 백지, 꽃향유 혼합 추출물이 HaCaT 세포의 생존율에 미치는 영향을 확인하고자, WST-8 assay를 진행하였다. 농도를 12.5, 25.0, 50.0 µg/mL로 설정하였고, 그림 4에 나타난 바와 같이 모든 혼합 추출물은 12.5-50.0 µg/mL의 농도 범위에서 독성을 나타내지 않아 최대 농도를 50.0 µg/mL로 설정하여 hyaluronic acid 생성량을 측정하였다.

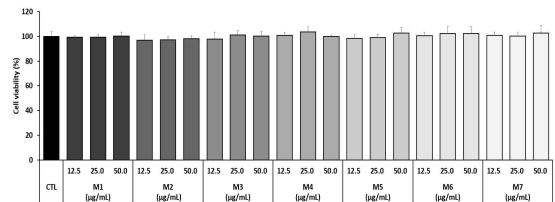


그림 4. HaCaT 세포 생존율(%)
 Figure 4. HaCaT cell viability treated with Mixture extract of *Polygala teuifolia*, *Angelica dahurica*, *Elsholtzia splendens*.

5. HaCaT 세포의 hyaluronic acid 생성량

다양한 비율별 혼합 추출물이 보습 효과에 미치는 영향을 알아보기 위하여 HaCaT 세포에 각 혼합 추출물을 12.5, 25.0, 50.0 µg/mL씩 처리하고, 48시간 배양한 후 회수한 배양액은 ELISA kit를 이용하여 hyaluronic acid (HA)의 생성량을 측정하여 그림 5에 나타났다. 피부조직에 포함된 HA의 함량은 인체 총 HA의 50% 정도이며, 다양한 요인으로 HA가 감소하고 이는 피부 노화 등의 문제와 직결되게 된다. 이러한 HA는 다양한 *in vitro* 모델에서 피부 보습 소재 탐색의 지표로 널리 활용되고 있다 [34]. 세포 독성을 나타내지 않았던 농도

범위에서 혼합 추출물을 HaCaT에 처리한 뒤 HA 생성량을 평가한 결과, 모든 혼합 추출물은 12.5-50.0 µg/mL의 농도 범위에서 농도 의존적으로 HA 생성 증진 활성을 보여주었으며, M3과 M6는 50 µg/mL 농도에서 대조군에 비해 통계적으로 유의하게 증가한 HA 생성능(1.47배, 1.49배)이 나타났다.

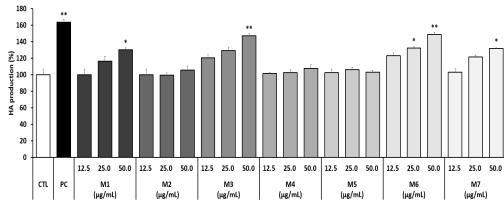


그림 5. 원지, 백지, 꽃향유 혼합 추출물이 히알루론산 생성에 미치는 영향
Figure 5. Effect of Mixture extract of Polygala teuifolia, Angelica dahurica, Elsholtzia splendens on production of hyaluronic acid, *P<0.1 and **P<0.01 vs. CTL.

6. 항균 실험 결과

Disc diffusion test는 균을 도말한 agar plate medium 위에 시료를 흡수시킨 disc를 올려 배양한 후, disc 주변 inhibition zone (clear zone)의 지름을 측정하여 균의 성장 억제능을 확인하는 방법이다 [35].

Staphylococcus aureus 균주에 대한 실험 결과를 표 2에 나타냈다. 양성대조군으로 사용한 methylparaben은 4 mg/mL에서 8.5 mm이었고, M4와 M6는 8 mg/mL에서 8.75, 9.75 mm로 나타나 *Staphylococcus aureus* 균주의 성장을 억제하는 효과를 보였다.

표 2. 원지, 백지, 꽃향유 혼합 추출물의 *Staphylococcus aureus*에 대한 clear zone 직경 측정 결과
Table 2. Clear zone diameter measurement results for *Staphylococcus aureus* of Mixture extract ratio of Polygala teuifolia, Angelica dahurica, Elsholtzia splendens

Sample	Concentration (mg/mL)	Clear zone(mm)
Methyl Paraben	4	8.5
M1	8	-
M2	8	-
M3	8	-
M4	8	8.75±0.25
M5	8	-
M6	8	9.75±0.25
M7	8	-

IV. 토 론

본 연구에서는 약용식물인 원지, 백지, 꽃향유 추출물의 배합 비율을 달리하여 항산화, 항염증, 보습 및 항균 효능을 평가하여 최적의 배합 비율을 확인하고자 하였다.

DPPH 및 ABTS radical 소거 활성 결과, 모든 혼합 추출물이 50-1,000 µg/mL 농도에서 농도 의존적으로 소거능이 증가하는 결과를 보였으며 1,000 µg/mL에서 M6가 75.37%, 99.19%로 혼합 추출물 중 가장 높은 소거능을 나타냈다. 염증 매개 인자인 NO 생성을 측정된 결과, M4와 M6에서 농도 의존적으로 생성량이 감소하였고 M6는 50%까지 감소하여 가장 높은 NO 생성억제능을 보였다. 피부 보습 소재 탐색의 지표인 HA의 생성을 측정된 결과, 모든 혼합 추출물이 12.5-50.0 µg/mL에서 농도 의존적으로 생성량이 증가하는 결과를 보였으며 50.0 µg/mL에서 M3와 M7이 대조군에 비해 1.47배, 1.49배 높은 HA 생성을 나타냈다. 항균 실험에서는 M4와 M6에서 *Staphylococcus aureus* 균주에 대한 clear zone이 나타났고, M6에서 9.75 mm로 가장 큰 clear zone을 확인하였다.

V. 결 론

본 연구에서는 원지, 백지, 꽃향유 추출물의 혼합 추출물을 대상으로 피부세포의 산화를 방지하기 위해 DPPH, ABTS 라디칼 소거능을 통한 항산화 효능을 평가하고, nitric oxide (NO) 생성량 분석을 통해 염증 억제능을 확인하였다. hyaluronic acid (HA) 생성량을 측정하여 피부 보습 효능을 평가하였으며 *Staphylococcus aureus* 균주에 대한 항균 효과를 확인할 수 있었다. 이로써 백지의 함량보다 원지와 꽃향유의 혼합 비율이 높은 혼합 추출물은 다른 혼합 조건보다 여러 생리활성 물질이 함유되어 있어 화장품의 기능성 천연물 소재로 사용 가능할 것으로 판단된다.

References

[1] Y.K. Choi and B.J. Ha, "Comparison of the Physicochemical Characteristics and Antibacterial

- Efficiencies of the Extracts Obtained from *Artemisia princeps var. orientalis*,” Asian Journal of Beauty & Cosmetology, Vol. 12, No. 5, pp. 685–692, October 2014.
- [2] H.S. Kim, J.M. Cheon, D.H. Kwon, E.O. Choi, M.J. Kim, Y.H. Choi, B.W. Kim and H.J. Hwang, “Inhibitory Effects of *Myelophycus simplex* Papenfuss Methanol Extract on Melanogenesis in B16F10 Melanoma Cells,” Journal of The Korean Society of Food Science and Nutrition, Vol. 46, No. 1, pp. 34–38, January 2017. DOI: <https://doi.org/10.3746/jkfn.2017.46.1.034>
- [3] K.D. Kim, “Research of Efficacy & Stability about Mixed Medicinal Plants Extracts,” Journal of The Korean Society of cosmetology, Vol. 13, No. 2, pp. 601–608, July 2007.
- [4] Ahn, J.H., the Antioxidant, Antimicrobial and Anti-Inflammatory Effect of Natural Extract Mixtures, Ph.D. Thesis. University of Kosin, Busan, Korea., 2018.
- [5] B.H. May, C. Lu, Y. Lu, A.L. Zhang and C.C. Xue, “Chinese Herbs for Memory Disorders: A Review and Systematic Analysis of Classical Herbal Literature,” Journal of Acupuncture & Meridian Studies, Vol. 6, No. 1, pp. 2–11, February 2013. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jams.2012.11.009>
- [6] R.O. de Campos, A.R. Santos, Z.R. Vaz, T.R. Pinheiro, M.G. Pizzolatti and V. Cechinel Filho, “Antinociceptive Properties of the Hydroalcoholic Extract and Preliminary Study of a Xanthone Isolated from *Polygala cyparissias*(Polygalaceae),” Life Sciences, Vol. 61, No. 16, pp. 1619–1630, September 1997. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0024-3205\(97\)00741-8](https://doi.org/10.1016/S0024-3205(97)00741-8)
- [7] J.Y. Hwang, Y.X. Wu, D.I. Hwang, S.J. Bae and T. Kim, “Anti-obesity Effect of *Polygala tenuifolia*,” Korean Journal of Food Preservation, Vol. 21, No. 1, pp. 97–106, February 2014. DOI: <https://doi.org/10.11002/kjfp.2014.21.1.97>
- [8] K.C. Huang, The Pharmacology of Chinese herbs, CRC press LLC Florida, pp. 286–287, 1999.
- [9] H.Y. Kim, C. Park, Y.H. Choi and W.D. Hwang, “The Protective Effect of Ethanol Extract of *Polygalae Radix* against Oxidative Stress-Induced DNA Damage and Apoptosis in Chang Liver Cells,” Journal of Korean Medicine for Obesity Research, Vol. 19, No. 1, pp. 1–11, May 2019. DOI: <https://doi.org/10.15429/jkomor.2019.19.1.1>
- [10] H.S. Oh and B.W. Kim, “Anti-inflammatory activity of the Water Extract of Root of *Polygala tenuifolia* Willd.,” The Journal of Internal Korean Medicine, Vol. 34, No. 2, pp. 204–214, June 2013.
- [11] D.S. Lee, H.G. Choi, B. Li, K.S. Kim, S.A. Kim, S.K. Chon, J.M. Rho, K.M. Kim, J.H. Han, G.S. Jeong and Y.C. Kim, “Neuroprotective Effect of the Acid Hydrolysis Fraction of the Root of *Polygala tenuifolia*,” Korean J Oriental Physiology & Pathology, Vol. 25, No. 4, pp. 628–634, August 2013.
- [12] S.H. Kim and D.K. Chung, “Nootropic and Anti-amnestic Effect of PPA on Scopolamine-induced Cognitive Impairment in Mice”. J of Oriental Neuropsychiatry. Vol. 22, No. 4, pp. 185–199, October 2011.
- [13] H.S. Kim, and H.J. Choi, “Studies on Essential Oils of Plants of *Angelica genus* in Korea(III),” Korean Journal of Pharmacognosy, Vol. 21, No. 2, pp. 121–125, June 1990.
- [14] E.Y. Joo and W.J. Kang, “Analysis on the Components of the *Angelica dahurica* Root,” the Korean Society of Food Preservation, Vol. 12, No. 5, pp. 476–481, October 2005.
- [15] S.H. Kim, S.S. Kang and C.M. Kim, “Coumarin Glycosides from the Roots of *Angelica dahurica*,” Archives of Pharmacal Research, Vol. 15, No. 1, pp. 73–77, March 1992.
- [16] Y.S. Kwon and C.M. Kim, “Coumarin Glycosides from the Roots of *Angelica dahurica*,” Korean Journal of Pharmacognosy, Vol. 24, No. 4, pp. 221–224, December 1992.
- [17] M.H. Jin, M.H. Jung, Y.H. Lim, S.H. Lee, S.J. Kang and W.G. Cho, “Promoting Synthesis of Collagen from *Angelica dahurica* Root,” Korean Journal of Pharmacognosy, Vol. 35, No. 4, pp. 315–319, December 2004.
- [18] D.K. Kim, J.P. Lim, J.H. Yang, D.O. Eom, J.S. Eun and K.H. Leem, “Acetylcholinesterase Inhibitors from the Roots of *Angelica dahurica*,” Archives of Pharmacal Research, Vol. 25, No. 6, pp. 856–859, December 2002.
- [19] C.M. Kim, Y.S. Kwon and S.Y. Choi, “Antithrombotic Effect of the BuOH Soluble Fraction of *Angelica dahurica* Root,” Korean Journal of Pharmacognosy, Vol. 26, No. 1, pp. 74–77, March 1995.
- [20] S.Y. Ryu, J.C. Kim, Y.S. Kim, H.T. Kim, W.K. Kim, G.J. Choi, J.S. Kim, S.W. Lee, J.H. Heor and K.Y. Cho, “Antifungal Activities of Coumarins Isolated from *Angelica gigas* and *Angelica dahurica* Against Plant Pathogenic

- Ffungi,” The Korean Society of Pesticide Science, Vol. 5, No. 3, pp. 26-35, September 2001.
- [21] H.S. Han, S.S. Lim, K. Suzuki, S.H. Jung, S. Lee, Y.S. Lee, K.H. Shin and K. Ohuchi, “Inhibitory Effects of Furanocoumarins Isolated from the Roots of *Angelica dahurica* on Prostaglandin E2 Production,” *Planta Medica*, Vol. 69, No. 5, pp. 408-412, May 2003. DOI: <https://doi.org/10.1055/s-2003-39702>.
- [22] C.B. Lee, *Korean Dictionary of Plant*, Hyangmunsa, pp. 660, 1999.
- [23] M.S. Chung and M.S. Lee, “Development of *Elsholtzia splendens*-Flavored Oils and Analysis of Flavor Pattern Using Electronic Nose,” *Korean Journal of Food and Cookery Science*, Vol. 18, No. 4, pp. 455-460, August 2002.
- [24] K. Bae, *the medicinal plants of Korea*, Kyohaksa Co., pp. 435, 2000.
- [25] K.H. Sohn, J.S. Song, Y.A. Chae and K.S. Kim, “The Growth and Analysis of Essential oil Of *Elsholtzia splendens* Nakai,” *Korean Society for Horticultural Science*, Vol. 40, No. 2, pp. 271-275, April 1999.
- [26] S.J. Kim and G.H. Kim, “Identification for Flavones in Different Parts of *Cirsium japonicum*,” *Preventive Nutrition and Food Science*, Vol. 8, No. 4, pp. 330-335, December 2003. DOI: <https://doi.org/10.3746/jfn.2003.8.4.330>
- [27] Kang, J.R., *Antioxidant Activity and Tyrosinase Inhibitory Activity of *Elsholtziae* Herba*, Ph.D. thesis. Chung-Ang University, Seoul, Korea, 2004
- [28] D.W. Kim, K.H. Son, H.W. Chang, K.H. Bae, S.S. Kang and H.P. Kim, “Anti-inflammatory Activity of *Elsholtzia splendens*,” *Archives of Pharmacal Research*, Vol. 26, No. 3, pp. 232-236, March 2003.
- [29] M.S. Blois, “Antioxidant Determinations by the Use of a Stable Free Radical,” *Nature*, Vol. 181, No. 4617, pp. 1199 - 1200, April 1958. DOI: <https://doi.org/10.1038/1811199a0>
- [30] S.H. Heo, S.I. Park, G.M. An and M.S. Shin, “Physiological Activity of *Robinia pseudo acacia* Leaf Extracts and Enhancement of Skin Permeation Using Polymer Micelles and Cell Penetrating Peptide,” *The Journal of the Convergence on Culture Technology*, Vol. 5, No. 3, pp. 271-282, August 2019. DOI: <https://doi.org/10.17703/JCCT.2019.5.3.271>
- [31] R. Re, N. Pellegrini, A. Proteggente, A. Pannala, M. Yang and C. Riceevans, “Antioxidant Activity Applying an Improved ABTS Radical Cation Decolorization Assay,” *Free Radical Biology & Medicine*, Vol. 26, No. 9-10, pp. 1231-1237, May 1999. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0891-5849\(98\)0315-3](https://doi.org/10.1016/S0891-5849(98)0315-3)
- [32] M.O. Ko, H.J. Kang, J.H. Hwang and K.W. Yang, “Screening of the Antibacterial Effects by Ethanol Extracts from Natural Plant in Jeju Against *Propionibacterium Acnes*,” *Journal of Society of Cosmetic Scientists of Korea*. Vol. 44, No. 1, pp. 59-66, March 2018. DOI: <https://doi.org/10.15230/SCSK.2018.44.1.59>
- [33] V. Bondet, W. Brand-Williams and C. Berset, “Kinetics and Mechanisms of Antioxidant Activity Using the DPPH Free Radical Method,” *Lebensm Wiss Technol*, Vol. 30, No. 6, pp. 609-615, September 1997. DOI: <https://doi.org/10.1006/fstl.1997.0240>
- [34] E. Papakonstantinou, M. Roth and G. Karakiulakis, “Hyaluronic acid: A Key Molecule in Skin Aging,” *Dermato Endocrinology*, Vol. 4, No. 3, pp. 253-258, July 2012. DOI: <https://doi.org/10.4161/derm.21923>
- [35] J.J. Biemer, “Antimicrobial Susceptibility Testing by the Kirby-Bauer Disc Diffusion Method,” *Annals of Clinical & Laboratory Science*, Vol. 3, No. 2, pp. 135-140, April 1973.

※ 본 연구는 “중소기업기술혁신개발사업-시
장대응형(과제번호: S3289410)” 에 지원에
의해 수행되었으며, 이에 감사드립니다.