이학석사 학위논문

기능성화장품 개발을 위한 천연물의 선별효과

이 논문을 [illegible] 제출함

2005년 2월

부경대학교 대학원

식품생명과학과

김 남 주

김남주의 이학석사 학위논문을 인준함

2004년 12월 13일

주 심 공학박사 류 홍 수

위 원 약학박사 최 재 수

위 원 이학박사 최 진 호

목 차

Abstract · 1

I. 서 론 · 5

II. 재료 및 방법 · 10

1. 실험재료 · 10

1-1. 시약 · 10

1-2. 시료 및 추출 · 10

1-3. 실험동물 및 피부균질액의 조제 · · · · · · · · · · · · · · 13

2. DPPH 라디칼의 제거작용의 측정 · · · · · · · · · · · · · · 13

3. 수퍼옥시드 디스무타아제의 활성 측정 · · · · · · · · · · · 14

4. 타이로시나아제의 활성 억제 측정 · · · · · · · · · · · · · 14

5. 수렴 활성 측정 실험 · · · · · · · · · · · · · · · · · · · 15

III. 결과 및 고찰 · 16

1. DPPH 라디칼의 제거작용의 평가 · · · · · · · · · · · · · · 16

2. 수퍼옥시드의 디스무타아제의 활성 평가 · · · · · · · · · · · 20

3. 타이로시나제의 활성억제 작용의 비교 · · · · · · · · · · · · 31

4. 수렴 활성의 비교 · 35

Ⅳ. 요　약 · 37

Ⅴ. 참고문헌 · 40

Screening Effect of Natural Materials for Development of Functional Cosmetic

Nam-ju Kim

Department of Food and Life Science, Graduate School, Pukyong National University

Abstract

Every product of life is getting old while time is passed. Process of aging is progressed in every our body's organ, eye, brain, heart etc. This aging's situation is really complex so it can't be explained simply through one method. Reactive oxygen species such as singlet oxygen($^1O_2$), superoxide radical($O_2^{\cdot -}$), hydrogen peroxide(H_2O_2), hydroxyl radical($\cdot OH$) are known to cause a number of oxidative injuries such as inflammation, cancer and ischemia. These oxidative damages generated by ultraviolet(UV) irradiation, heavy metals, pollutants and smoking. Moreover, the reactive oxygen species are generated by UV irradiation, and which occur the skin damages, such as skin

cancel, sunburn reaction, phototoxicity and photoallergy. Skin antioxidants as an ascorbic acid, α-tocopherol, glutathione and antioxidant enzymes as a superoxide dismutase(SOD), glutathtion peroxidase(GPx) and catalase(CAT) quench the free radicals. However, if the dose of radical induced factor is great enough, this antioxidant defense system in skin is overwhelmed and the inherent antioxidants are decreased or depleted. The reasult of the skin aging is and so on. The hyaluronic acid is decreased in the dermis. The sebum's products are decreased so the skin looks like tired. The damage of the moisture is increased the skin, so the winkles are maid. The cohesive power of the keratin cell is getting stronger so the epidermis is rough and the dandruff is made. The number of the mellanin cell is increased. The ultraviolet rays's protective power is decreased, so the skin's pigmentation is occured. The collagen is decreased in the dermis. The elastin is degenerated in the dermis, so skin's elasticity is decreased and then the winkles are deep. The fat is deficient in skin. Aging process of the skin is including wrinkles, dark spot, loss of firmness and slackening of facial skin. This is the study of the application to protect skin aging as the ingredients of cosmetics through the examination of the funtion for physical activity of 50 plants, which has been used for herb medicines and food since ancient times. Methanolic aqueous extracts of plants were examined for antioxidative activity using DPPH free radical generating system, in order to elucidate the whitening effects using in

vitro tyrosinase. Astrigent effect of skin was examined by the astrigent activity using hemoglobin.

The DPPH radical scavenging activity of the natural products's IC_{50}(inhibition concentration of 50%) were *Areca catechu* (2.52 ㎍/ml), *Vitis vinifera*(4.93 ㎍/ml), *Rheum palmatum*(12.83 ㎍/ml), *Lindera strychnifolia*(16.62 ㎍/ml), *Artemisia asiatica*(17.25 ㎍/ml), *Paeonia suffruticosa*(19.14 ㎍/ml), *Curcuma longa*(26.14 ㎍/ml), *Dendrobium monilifome* (26.37 ㎍/ml). So *Areca catechu's* IC_{50} (2.52 ㎍/ml) is highly.

SOD activity's control group was Ascorbic acid(163.6%), Kojic acid(143.7%), Arbutin(136.0%). SOD activity was *Rehmannia glutinosa* (132.0%), *Angelica gigas*(125.7%), *Areca catechu*(121.1%), *Cnidium officinale*(117.1%), *Corydalis ternata* (111.5%), *Poria cocos*(113.4%), *Cuscutae Semen*(112.7%), *Angelica dahurica*(111.7%), *Pinellia ternata*(110.7%), *Angelica koreana*(109.3%), *Rheum palmatum*(109.1%), *Astragalus membranaceus* (109.1%), *Artemisia asiatica*(108.4%), *Leonurus sibricus*(108.3%), *Rubus coreanus* (107.5%), *Cinnamoum cassia*(106.5%), *Curcuma longa* (105.6%), *Lindera strychnifolia* (103.6%), *Brassica alba* (103.3%), *Mentha arvensis* L.(102.0%) was good in medical herbs. And Chlorella (126.8%), *Cucurbita moschata*(121.2%), *Juglans sinensis* (120.4%), *Solanum tuberosum* (114.5%), *Oenothera laciniata* Hill(111.9%), *Castanea crenata* (111.0%), *Prunus mume* (109.8%), *Adrias tyrannus Guenee*(107.5%), *Morus alba* L.(106.2%), *Coix lacrymajobi var.*(104.6%) was highly effected in foods.

The inhibitory activites of tyrosinase(IC_{50}) were Kojic acid(0.04

mg/ml), *L*-ascorbic acid(0.23 mg/ml), *Curcum alonga*(0.23 mg/ml), *Rheum palmatum*(0.45 mg/ml), *Cnidium officinale* (0.95 mg/ml), *Cinnamoum cassia*(1.33 mg/ml), *Cuscutae Semen*(1.33 mg/ml), *Dendrobium monilifome*(1.35 mg/ml), *Angelica koreana*(1.41 mg/ml), *Glycyrrhiza gladra*(1.51 mg/ml), *Corydalis ternata*(1.63 mg/ml), *Artemisia asiatic*(1.73 mg/ml). *So Curcum alonga's* IC_{50}(0.225 mg/ml) is highly in medical herbs. The Chlorella(1.54 mg/ml), *Morus alba* L.(1.87 mg/ml), *Coix lacryma-jobi*(2.23 mg/ml), *Adrias tyrannus Guenee*(2.60 mg/ml), *Solanum tuberosum*(2.63 mg/ml), *Vigna rabiata*(3.20 mg/ml) in food. So the Chlorella's IC_{50}(1.54 mg/ml) was good at the inhibitory activites of tyrosinase in food.

Astrigent activity was good at *Vitis vinifera*(93.97%), *Leonurus sibricus*(91.35%), *Rheum palmatum*(83.28%), *Perilla frutescens var. japonica*(71.21%), *Areca catechu*(62.76%) and *Ginkgo biloba Linne*(53.10%) their astrigent activity was over the 50%.

Ⅰ. 서 론

21세기에 생명과학분야의 가장 큰 이슈중의 하나는 노화라고 할 수 있다. 근대에 노화현상에 대한 여러 가지 연구를 많이 하고 있는 동시에 노화방지 대책을 수립하고 있는 실정이다.

최근 의학의 발달과 생활환경의 개선에 의해 장수시대에 돌입하면서 가능하면 젊게 나이를 먹고 싶다는 사람들이 늘어나면서 피부 노화에 대한 관심이 집중되어지고 있다. 이와 함께 많은 노화 관련 연구가 이루어지고 있지만 노화현상은 매우 복잡하여 한 가지 기전으로 설명하기는 어렵다(Gilchrest, 1989). 또한 산업의 발달과 함께 그에 따른 부작용으로 오존층의 파괴에 의한 자외선(ultraviolet : UV) 광량의 증가, 여러 환경인자(공해, 중금속, 흡연 등)에 노출, 스트레스 등에 의하여 피부노화 과정은 내인성 인자에 의한 자연 노화(chronological aging process)와 외인성 인자로서 합성의약품, 중금속, 흡연 등과 햇빛에 의한 광노화(photo-aging process)로 크게 대별 할 수 있다(Cha *et al.*, 1991). 그 중에서도 자외선은 피부에 자유 라디칼을 유도하고(Black, 1987), 피부암, 광노화, 광 감각 증상 및 여러 광 관련 피부병 등을 일으키고 있다. 이들 라디칼들은 강력한 산화력을 가지고 있으며 생체의 모든 물질들과 반응할 수 있다. 지질을 공격하여 지질 과산화물을 생성시켜 세포막의 기능을 변형시키며, 단백질을 공격하여 변성시키거나 기능을 상실하게 하며, DNA를 공격한다(Witt *et al.*, 1993). 피부에는 이러한 외인성 인자로부터 방어하기 위한 수단으로서 비타민 E, 비타민C, 유비퀴논(ubiquinone)과 글루타치온(glutathione)과 같은 항산화제와 슈퍼옥시드 디스뮤타아제(superoxide dismutase : SOD), 글루타치온 퍼옥시다아제 (gluthathione peroxidase : GPx),

카탈라아제(catalase : CAT)와 같은 항산화 효소가 존재한다. 이러한 자유라디칼을 소거 할 수 있는 물질은 피부에 대한 산화적 스트레스를 제거하여 피부의 노화를 방지 또는 지연 할 수 있다. 이와 같은 이유로 보다 안전하면서 자유 라디칼 소거 효과가 높은 물질 개발은 화장품 분야에서 중요한 과제로 대두 되어 많은 연구가 진행되고 있다. 화장품, 특히 기능성 화장품은 의약품 개발에 비해 상대적으로 적은 시간과 비용으로도 경쟁력 있는 제품개발이 가능하여 저 자본으로 고 부가가치의 창출이 가능한 첨단 미래형 산업으로 떠오르고 있다. 따라서 삶의 질 향상과 인체를 아름답고 청결히 하기 위한 개념에서 피부를 건강하게 유지시키고 나아가서는 적극적으로 피부를 변화, 개선시킬 수 있는 기능성 화장품의 영역으로 미백효과와 노화기능을 겸비한 복합기능의 화장품의 출현이 기대되고 있다. 기능성 화장품은 화장품법 제2조 2항에 피부의 미백에 도움을 주는 제품, 피부의 주름개선에 도움을 주는 제품, 피부를 곱게 태워주거나 자외선으로부터 피부를 보호하는데 도움을 주는 제품으로 정의되어 있으며, 화장품법시행규칙 제2조에는 피부에 멜라닌 색소가 침착되는 것을 방지하여 기미, 주근깨 등의 생성을 억제함으로써 피부의 미백에 도움을 주는 기능을 가진 화장품, 피부에 탄력을 주어 피부의 주름을 완화 또는 개선하는 기능을 가진 화장품, 강한 햇볕을 방지하여 피부를 곱게 태워주는 기능을 가진 화장품, 자외선을 차단 또는 산란시켜 자외선으로부터 피부를 보호하는 기능을 가진 화장품으로 보다 구체적으로 그 범위가 규정되어 있다. 미백화장품의 원료개발에 있어 천연물에 대한 연구는 우리 전통 의학에 기반을 둔 원료개발이라는 점과 우리나라 소비자들의 식물성 화장품에 대한 선호도가 높다는 점이 맞물려 국내 화장품 개발의 주력분야가 되고 있으며 우리나라가

경쟁력을 확보 할 수 있는 부분이어서 이 분야에 대한 연구는 대단히 중요하다고 생각 되어진다. 미백제의 개발은 멜라노사이트내에서의 멜라닌 생성을 억제하는 것과 멜라노사이트 자극물질을 조절하는 것과 멜라닌 배설을 촉진 시키는 것으로 크게 3가지 방향으로 이루어지고 있다. 멜라닌 생성을 억제하는 것은 멜라닌 생성에 관여하는 효소인 타이로시나제 관련 단백질I (TRP-1) 및 II(TRP-2)의 필수요소인 Fe를 제어하여 효소활성을 불활성화시키거나 멜라닌 생성 중간체의 생성을 억제하는 물질을 개발하는 것으로, 상지(mullberin) 추출물, 닥나무(kazinol F) 추출물, 반하 추출물 등이 개발되어 제품에 이용되고 있으며, 상황버섯 등에서 유효성분을 추출하여 원료로 개발하는 연구가 진행되고 있다.현재 대표적인 미백제로는 코지산(kojic acid), 알부틴(albutin), 비타민 C 유도체, 루시놀(rucinol)등이 있으며, 식약청에 고시된 미백화장품의 원료는 닥나무 추출물, 알부틴, 에틸아스코르빌 에테르, 유용성 감초 추출물이다. 피부노화를 촉진시키는 자외선, 활성산소, 건조 등과 같은 환경요인들을 제거하여 피부노화 자체를 지연시키는 것, 피부주름의 생성 메카니즘에 대한 연구결과를 바탕으로 젤라티나제의 저해, 콜라겐의 합성 촉진 및 분해억제, 히아루론산을 주입하여 생성된 피부주름을 완화시키거나 감소된 피부 메트릭스 성분이나 세포를 보충하여 발생한 피부 주름을 개선하는 것 등, 3가지로 대별된다. 레티노이드(retinoids) 중 레티노인산(retinoic acid)은 피부에 강한 자극을 가지고 있어 현재는 피부 자극이 없는 레티놀, 팔미틴산 레티놀등의 비타민 A류가 배합된 피부주름 개선 화장품 개발이 주류를 이루며, 식약청에서 고시된 원료는 레티놀, 아데노신, 폴레에톡실화 레틴아마이드 등이다. 미국과 일본에서는 AHA(알파하록산)가 주름을 개선시키는데 응용되고 있는데, 이는

약제의 화학적인 작용에 의해 얇게 피부의 각질을 벗겨냄으로써 신생조직으로 피부를 새롭게 구성하여 피부주름을 개선하는 방법이다. 이외에도 살구씨에서 얻어진 DADA(diisopropylamine dichloroacetate), 합성 식물 호르몬(싸이토카인의 일종)의 일종인 카이네틴(kinetin), 생약을 포함한 식물체에 광범위하게 분포되어 있는 우루솔산(ursolic acid), 생체의 필수 미량성분인 규산, 동식물 또는 미생물에 널리 분포되어 있는 당지질의 일종인 스핑고신(Spingosine) 유도체, 합성물질인 NMS(n-metyl-L-serine), 보효소 Q_{10}, 미생물에 의해 생산되는 메발로놀락톤(mevalonolactone) 등이 피부주름 개선제로 관심을 끌고 있다.

태양광선과 피부와의 상호관계에 있어서 특히 중요한 부분은 자외선 영역이다. 자외선은 태양광선중 파장범위가 200~400 nm인 것으로 지표에 도달하는 태양광선의 약 6%를 차지하는데 파장범위에 따라 크게 단파장인 UVC(200~280 nm) 중파장인 UVB(280~320 nm) ,장파장인 UVA(320~400 nm)로 구분된다. 피부에 영향을 미치는 자외선은 290~400 nm, 즉 UVB, UVA이다. 자외선은 피부 표면의 살균작용, 구루병 치료 효과를 갖는 비타민D의 생합성에 중요한 역할을 담당하는 광선이지만 피부의 노화를 빠르게 진행시키는 요인으로 알려져 있다. 과도한 자외선의 피부에 대한 직접적인 노출은 인체 내에서 자유라디칼과 활성산소를 발생시켜 문제를 야기 하는데 피부는 항산화 방어 시스템을 통해 대응하게 되며 일차적으로 자외선 차단제를 이용한 인체에 대한 직접적인 피해를 최소화해야 한다. 현재 식물 추출물 성분이 자외선 흡수제나 차단제로서의 제반 조건을 모두 만족시킬 수 는 없지만 하나의 보조적인 역할로써 사용가능성이 제기되고 있다. 이러한 자외선에 의한 산소라디칼의 조절을 위하여 SOD(superoxide dismutase) 성

분이 화장품에 첨가되어 지고 있다. 현재 자외선 차단제로 등록되어 있는 것은 대부분 자외선 흡수제인데 벤조페논계, 계피산계, 살리신계, PABA(para-aminobenzoic acid)계 등과 같은 유기화합물계통이며 스틸벤 유도체의 사용성과 피부 안전성을 향상시킨 새로운 자외선 흡수물질의 개발이 연구되고 있다. 시판되고 있는 자외선 차단 화장품의 대부분은 자외선 흡수제나 자외선 산란제를 여러 가지로 혼합하여 피부의 외측에서 자외선을 차단함으로써 자외선에 의한 피부의 손상을 방지하는 개념이었지만 최근에는 피부 내부에서도 자외선을 방어 할 수 있는 새로운 기능이 부가된 자외선 차단 화장품 개발이 진행되고 있다. 화장품 산업은 기술적인 측면에서 화학, 생물학, 약학, 피부 과학 등의 기초기술과 응용기술이 복합되는 종합산업이며, 화장품에서 피부연구의 목적은 피부의 항상성을 유지하여, 건강하고 아름다운 피부를 가꾸는 방법과 물질을 찾는 것이라고 하겠다.

본 연구에 사용된 천연물들은 각각 항산화작용과 피부미용에 효능이 있다고 알려진 천연물들로 구릿대, 강활, 빈랑, 황기, 백겨자, 시호, 울금 등의 40여종의 한약재는 익히 항산화 효능이 알려진 것들이며, 오이, 알로에, 녹두, 감자, 살구, 매실, 나팔꽃씨 등의 10여종의 천연물들은 식품으로서 피부미용에 효능이 있다고 알려진 것들로 이미 미용재료나 화장품 원료로 사용되고 있는 것들이다. 본 연구는 이들 천연물들의 피부 노화를 억제하는 효능의 정도와 미백효과, 자외선 차단능력, SOD(superoxide dismutase)활성도, 수렴 활성도 등의 효과를 평가하였다.

Ⅱ. 재료 및 방법

1. 실험재료

1-1. 시약

DPPH 라디칼 제거능 측정을 위한 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH), *L*-tyrosine, sulfanilic acid, N-1-naphthylethene diamine acid는 Sigma Co.(USA)를 사용하였다.

1-2. 시료 및 추출

본 실험에 사용한 천연물들은 2004년 부산 자갈치 약재 건재상에서 구입하여 시약용 80% 메탄올을 2배의 양으로 추출한 후 감압, 농축하여 동결건조해서 사용하였다(Fig. 1, Table 1-1, 1-2).

Dried natural materials

- Smashed up dried materials
- Added with 2 times of 80% MeOH
- Extracted in shaking water bath at 65℃

Extract

- Filtered through gauze and filter paper
- Evaporated with rotary vacuum evaporator

Freeze-drying

Fig. 1. Extraction procedure of natural materials

Table 1-1. List of natural materials(medical herbs)

Natural materials	Source
Angelica dahurica(구릿대)	roots
Angelica koreana(강활)	roots
Areca catechu(빈랑)	reed
Astragalus membranaceus(황기)	roots
Brassica alba(백겨자)	reed
Bupleurum falcatum L.(시호)	roots
Commiphora molmol(몰약)	resin
Coptis japonica(황련)	rhizoma
Corydalis ternata(들현호색)	tuber
Curcuma longa(울금)	rhizoma
Dendrobium monilifome(석곡)	rhizoma
Eugenia caryophyllata(정향)	flower
Gastrodia ellata(천마)	rhizoma
Glycyrrhiza gladra(감초)	roots
Leonurus sibricus(익모초)	leaves
Lindera strychnifolia(오약)	roots
Paeonia suffruticosa(목단피)	bark
Phellodendron amurense(황백나무)	bark
Rehmannia glutinosa(지황)	roots
Rheum palmatum(대황)	rhizoma
Angelica gigas(당귀)	roots
Artemisia asiatica(애엽)	leaves
Cnidium officinale(천궁)	rhizoma
Cuscutae Semen(토사자)	seed
Rubus coreanus(복분자)	seed
Pinellia ternata(반하)	roots
Ginkgo biloba L.(은행나무)	seed
Phellinus Linteus(상황버섯)	fungi
Mentha arvensis L.(박하)	leave
Cinnamoum cassia(계지계피)	seed
Poria cocos(복령)	fungi

Table 1-2. List of natural materials(foods)

Natural materials	Source
Vigna rabiata(녹두)	seed
Vitis vinifera(포도씨)	seed
Cucumis sativa L.(오이)	seed
Solanum tuberosum(감자)	roots
Adrias tyrannus Guenee(복숭아)	seed
Prunus armeniaca(살구)	seed
Cormus offcinalis (산수유)	seed
Prunus mume(매실)	seed
Arborescens(알로에)	leave
Morus alba L.(뽕나무)	leave
Perilla frutescens var. japonica(들깨)	seed
Oenothera laciniata Hill (나팔꽃씨)	seed
Juglans sinensis(호도)	seed
Chlorella(클로레라)	
Castanea crenata(율피)	bark
Platicodon grandiflorum(도라지)	roots
Angelica makino(신선초)	leaves
Coix lacryma-jobi var.(율무)	seed
Cucurbita moschata(호박)	seed

1-3. 실험동물 및 피부균질액의 조제

한국바이오제노믹스에서 개발한 ICR mouse(female, 20±2 g)를 구입하여 실험하기 전까지 항온 항습 (22±2℃, 65±2% RH)하에서 12시간 싸이클(06:00~18:00)로 명암이 자동 조절되는 동물사육실에서 사육하였다. 피부 조직 균질액은 김의 방법에 따라 만들었다 (Kim *et al.*, 1987). 피부조직을 떼어낸 후 피하 지방을 제거한 다음 방법은 마우스 배부의 털을 제모기로 제거 후 제모제(Evaclin : calcium thioglychoate)를 1~2 mm 두께로 바르고 5분 후 가볍게 물로 씻어 털을 제거 하였다. 피부조직을 떼어낸 후 피하지방을 제거한 다음 4℃의 완충용액(1.15% KCl/10 mM phosphate buffer + 5 mM EDTA, pH 7.4)을 사용하여 피부조직 무게당 10배(w/v)의 완충용액으로 조직 균질기를 이용하여 균질화한 다음 700 × g에서 10분간 원심 분리하여 얻은 상층액을 피부조직 균질액으로 사용하였다.

2. DPPH 라디칼의 제거작용의 측정

항산화 효과 측정방법으로 프리라디칼의 제거 작용의 실험은 Yoshida 등(1989)이 사용한 방법에 따라 각 시료의 1.1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) 라디칼에 대한 제거 효과를 측정하였다. 각 농도별 시료(2.5~120 $\mu\ell$ /ml)를 메탄올에 녹인 뒤 1 ml씩 취하여 5.059 mg/100 ml 농도로 메탄올에 용해시킨 DPPH용액 0.25 ml와 잘 혼합하여 실온에서 30분간 방치한 후, 520 nm에서 흡광도를 측정하였다. 시료를 첨가하지 않은 대조그룹과 비교하여 프리라디칼의 제거 활성을 백분율로 나타내었다. 또한 시료를 첨가하지 않은 대조군과 비교하여 프리라디칼의 제거활성을 50% 저해농도(IC_{50})로 계산하였다.

3. 수퍼옥시드 디스무타아제의 활성 측정

Oyanagui 등(1984)의 방법에 따라 수퍼옥시드 디스무타아제(superoxide dismutase: SOD)의 활성은 피부조직 균질액 100 ㎕에 각 시료(0.1%)를 100 ㎕씩 넣고 37℃에서 15분간 배양한 후 증류수 0.5 ㎖, A시약(52.125 mg hydroxylamine + 102.1 mg hypoxanthine/250 ml(D.W)) 0.2ml를 첨가, B시약(20 ㎕ xanthine oxidase + 0.9939 ㎎ ethylene diaminetetraacetic acid/26.7 ㎖ phosphate buffer, pH 8.2) 0.2 ㎖를 첨가, 혼합하여 37℃ 항온 수조에서 40분간 가온한 후 C시약(300 ㎎ sulfanilic acid + N-1-naphthylethene diamine acid /500 ㎖ 16.7 acetic acid) 2.0 ㎖를 첨가·혼합하여 실온에서 20분간 방치한 후 분광광도계를 사용, 550 nm에서 흡광도를 측정하여 표준 검량선에 의해 수퍼옥시드 디스무타아제(unit/㎎ protein)의 활성을 측정하였다.

4. 타이로시나아제의 활성 억제 측정

Vanni 등(1990)이 사용한 방법에 따라 각 천연물 시료들의 타이로시나아제(tyrosinase) 활성 억제효과를 측정하였다. 0.05 M sodium phosphate buffer(pH 6.8) 500 ㎕에 기질로서 L-tyrosine(0.1 mg/ 1ml)을 500 ㎕와 증류수 500 ㎕를 첨가한 후, 각 농도별 시료(0.015625~1 mg/ml)를 증류수에 녹인 것을 50 ㎕을 첨가한 후 혼합한다. 여기에 tyrosinase(2 unit/ ㎕ buffer)을 100 ㎕을 첨가하여 10분간 37℃에서 반응시킨 다음, 즉시 ice bath 에 넣어 반응을 중지시킨다. 이 반응액을 분광광도계를 이용하여 475 nm에서 흡광도를 측정하였다. 시료를 첨가하지 않은 대조그룹과 비교하여 타이로시나제의 활성억제를 백분율로 산출하였고 50%

저해농도(IC_{50})을 계산하였다.

5. 수렴 활성 측정 실험

수렴작용의 원리는 피부 단백질이 고분자 폴라보노이드와 결합하여 가교결합을 형성하여 피부가 수축되는 현상을 말한다(Jin. 2002). 수렴 효과가 높다는 것은 모공 수축용 화장수 또는 소염제로의 응용이 가능하다는 의미가 된다. 수렴 활성 측정 실험은 피부 단백질과 유사하고 시료를 쉽게 구할 수 있는 혈액의 단백질(hemoglobin from bovine, Sigma Co. USA)을 사용하여 수렴작용을 조사하였다. 수렴 활성의 측정은 0.01% 헤모글로빈 용액 1 ml와 증류수 1 ml를 섞은 것을 대조군으로 하여 0.01% 헤모글로빈 용액 1 ml와 10, 100, 1000, 5000ppm의 추출물 용액 1 ml를 섞은 것을 백분율로 하여 수렴 효과를 측정하였다. 즉, 원심 분리관 용기에 각각의 추출물 용액과 헤모글로빈 용액을 1:1로 넣어서 진탕 혼합한 다음 원심분리 후 405 nm에서 흡광도를 측정하였다.

Ⅲ. 결과 및 고찰

1. DPPH 라디칼의 제거작용의 평가

활성산소에 의한 피부노화 과정은 지질 과산화, 단백질 산화, DNA 산화, 멜라닌 생성, 결합조직의 변성들을 포함한다. 이들 반응들은 거의 대부분 라디칼에 의한 반응으로서 자동산화반응과정을 거쳐 진행된다. 자동산화반응은 연쇄반응으로 이 반응이 진행되는 동안 많은 생체구성성분들이 산화적 손상들을 받게 된다. 따라서 자동산화반응을 되도록 빨리 차단시켜야 하고, 생체 내에서 이러한 것을 차단시키는 역할이 바로 항산화제가 담당하고 있다. 이것은 항산화제가 수소원자를 자동산화반응 중에 생성되는 과산화 라디칼에 공여함으로써 자동산화반응이 종결된다. 이렇게 수소원자를 주는 능력을 환원력이라 하고 환원력이 클수록 강력한 항산화제가 된다. 이러한 환원력을 측정할 수 있는 방법으로 DPPH 라디칼 제거 측정법이 있다.

1.1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH)는 보라색을 띄는 일종의 염료로서, 페놀(phenol)과 아로마틱 아민(aromatic amines) 의 항산화 활성을 측정할 때 많이 이용하는 방법이다(Blois, 1958). 디페닐 피크릴 하이드라진(diphenyl picryl hydrazine)은 520nm에서 자신이 가지는 홀수의 전자 때문에 강한 흡수 밴드를 보이나 ,페놀(phenol)과 같이 수소나 전자공여체와 반응을 하게 되면 공여체로부터 전자나 하이드로겐 라디칼(hydrogen radical)을 받아 페녹시 라디칼(phenoxy radical)을 생성하게 되다. 이때 홉수는 사라지고 안정화 되어 본래의 진보라색에서 노란색으로 변화하여 흡광도가 감소하게 된다. 즉, 반응액의 흡광도의 감소를 측정하여 라디칼 소

거 활성을 알 수 있다(Yokozawa *et al.*, 1998; Hatano *et al.*, 1989). 따라서 본 연구에서는 각 시료의 DPPH 라디칼 제거활성을 평가하여 보면 Table 2-1, 2-2와 같다. 대조군으로서는 *L*-ascorbic acid의 50% 제거효과를 나타내는 농도는 3.53 ㎍/㎖이었다.

천연물들의 DPPH 라디칼 제거활성을 비교하여 보면 항산화 활성은 빈랑의 IC_{50}은 2.52 ㎍/㎖으로 천연물 중 가장 높았으며 대조군으로 사용한 *L*-ascorbic acid의 IC_{50}인 3.53 ㎍/㎖보다도 더 높았다. 한약재료들 중에서 IC_{50}은 대황(12.83 ㎍/㎖), 오약(16.62 ㎍/㎖), 애엽(17.25 ㎍/㎖), 목단피(19.14 ㎍/㎖), 계지계피(19.7 ㎍/㎖), 울금(26.14 ㎍/㎖), 석곡(26.37 ㎍/㎖), 은행나무(30.36 ㎍/㎖), 천궁(39.34 ㎍/㎖), 들깨(45.381 ㎍/㎖), 강활(50.62 ㎍/㎖), 황백나무(63.31 ㎍/㎖), 백겨자(69.35 ㎍/㎖), 박하(73.77 ㎍/㎖), 익모초(78.13 ㎍/㎖), 토사자(79.89 ㎍/㎖), 복분자(91.67 ㎍/㎖), 정향(99.56 ㎍/㎖), 산수유(113.13 ㎍/㎖) 등의 순서로 높게 나타났으며, 식품 중에서는 포도씨의 IC_{50}이 4.93 ㎍/㎖으로 가장 높았으며, 그 다음으로 율피(14.88 ㎍/㎖), 석곡(26.37 ㎍/㎖), 은행나무(30.36 ㎍/㎖), 들깨(45.381 ㎍/㎖), 나팔꽃씨(46.81 ㎍/㎖)의 순서로 높게 나타났다. 따라서 이들 천연물들 중에서 DPPH라디칼 제거능은 빈랑의 IC_{50}이 2.52 ㎍/㎖으로 추출물 중에서 가장 좋은 것으로 나타났다. 그 외 구릿대, 황기, 시호, 몰약, 황련, 들현호색, 천마, 감초, 도라지, 지황, 당귀, 신선초, 율무, 호박, 복령, 오이, 감자, 복숭아, 살구, 매실, 알로에, 뽕나무, 상황버섯, 반하, 클로렐라, kojic acid 등에서는 제거활성이 거의 나타나지 않았다.

Table 2-1. The radical scavenging effect of natural materials on DPPH radical(medical herbs)

Natural materials	IC_{50}^{*}(μg/ml)
L-ascorbic acid	3.53
Areca catechu(빈랑)	2.52
Rheum palmatum(대황)	12.83
Lindera strychnifolia(오약)	16.62
Artemisia asiatica(애엽)	17.25
Paeonia suffruticosa(목단피)	19.14
Cinnamoum cassia(계지계피)	19.70
Curcuma longa(울금)	26.14
Dendrobium monilifome(석곡)	26.37
Ginkgo biloba L.(은행나무)	30.36
Cnidium officinale(천궁)	39.34
Angelica koreana(강활)	50.62
Phellodendron amurense(황백나무)	63.31
Brassica alba(백겨자)	69.35
Mentha arvensis L.(박하)	73.77
Leonurus sibricus(익모초)	78.13
Cuscutae Semen(토사자)	79.89
Rubus coreanus(복분자)	91.67
Eugenia caryophyllata(정향)	99.56
Glycyrrhiza gladra(감초)	>120.00
Astragalus membranaceus(황기)	>120.00
Angelica dahurica(구릿대)	>120.00
Gastrodia ellata(천마)	>120.00
Coptis japonica(황련)	>120.00
Rehmannia glutinosa(지황)	>120.00
Angelica gigas(당귀)	>120.00
Pinellia ternata(반하)	>120.00
Commiphora molmol(몰약)	>120.00
Phellinus Linteus(상황버섯)	>120.00
Corydalis ternata(들현호색)	>120.00
Poria cocos(복령)	>120.00
Bupleurum falcatum L.(시호)	>120.00

*IC_{50} : Inhibition concentration of 50%

Table 2-2. The radical scavenging effect of natural materials on DPPH radical(foods)

Natural materials	IC_{50}^{*}(μg/ml)
L-ascorbic acid	3.53
Vitis vinifera(포도씨)	4.93
Castanea crenata(율피)	14.88
Juglans sinensis(호도)	18.06
Perilla frutescens var. japonica(들깨)	45.38
Oenothera laciniata Hill(나팔꽃씨)	46.81
Cormus offcinalis(산수유)	113.13
Prunus mume(매실)	>120.00
Arborescens(알로에)	>120.00
Prunus armeniaca(살구)	>120.00
Adrias tyrannus Guenee(복숭아)	>120.00
Solanum tuberosum(감자)	>120.00
Cucumis sativa L.(오이)	>120.00
Chlorella(클로레라)	>120.00
Vigna rabiata(녹두)	>120.00
Platicodon grandiflorum(도라지)	>120.00
Angelica makino(신선초)	>120.00
Coix lacryma-jobi var.(율무)	>120.00
Cucurbita moschata(호박)	>120.00
Morus alba L.(뽕나무)	>120.00

*IC_{50} : Inhibition concentration of 50%

2. 수퍼옥시드 디스무타아제의 활성 평가

Superoxide dismutase(SOD)는 산소대사의 유해 작용에 대하여 가장 중요한 방어효소의 하나로 생각하고 있다. 이 효소는 초기에 생성되는 superoxide radical을 제거하기 때문에 산소를 사용하는 생물들은 SOD 및 그에 상응하는 방어 기구 없이 살아갈 수 없다. 피부는 여러 활성산소 유발인자들에 노출되어 있고, 이러한 SOD의 활성은 피부를 보호하는데 매우 중요하다. 따라서 피부 균질액에 각 시료를 첨가하여 37℃에서 배양한 후의 SOD 활성의 변화를 비교하여 보면 Table 3-1, 3-2와 같다. 각 시료의 농도를 0.1%로 희석한 실험그룹의 SOD 활성은 대조그룹 (D.W; 100.0%) 과 비교 하였을때 활성의 증가 및 감소를 볼 수 있었다.

증가된 결과는 각 시료의 처리가 활성을 증가 시켜 SOD 측정에서 산화효소로 사용되는 xanthine oxidase의 활성을 저해시킴으로서 SOD의 기질의 감소에 기인할 것이라 사료되며, 이것은 플라보노이드가 활성산소를 생성시키는 생체 내 산화효소의 작용을 저해시킴으로써 활성산소의 생성을 막아주는 작용이 있다는 보고와 부합된다고 하겠다. 또한 자외선이나 활성산소종을 제거함으로서 효소의 파괴를 억제하여 대조군보다 활성이 높게 나타났을 것으로 사료된다(Pa *et al.*, 1990a, 1990b : Boo *et al.*, 1993). 감소된 결과는 각 시료가 배양시간 동안에 SOD의 변성을 초래하여 활성이 감소되었을 것이라 사료된다. 대조군(100.0%)에 대비하여 SOD 활성의 결과가 가장 좋았던 것은 Ascorbic acid(163.6%), Kojic acid(143.7%), Arbutin(136.0%)였으며, 천연물의 SOD활성은 한약재료 중에서는 지황(132.0%), 당귀(125.7%), 빈랑(121.1%), 천궁(117.1%), 들현호색(111.5%), 복령(113.4%), 토사자(112.7%), 구릿대(111.7%), 반하(110.7%), 강활(109.3%), 대황(109.1%), 황기

(109.1%), 애엽(108.4%), 익모초(108.3%), 복분자(107.5%), 계지계피(106.5%), 울금(105.6%), 오약(103.6%), 백겨자(103.3%), 박하(102.0%)의 순으로 지황과 당귀가 가장 좋은 것으로 나왔으며, Table 3-1, 3-2에 나타내었다. 식품 중에서는 클로렐라 (126.8%), 호박(121.2%), 호도(120.4%), 감자(114.5%), 나팔꽃씨(111.9%), 율피(111.0%), 매실(109.8%), 복숭아(107.5%), 뽕나무(106.2%), 율무(104.6%)의 순으로 클로렐라와 호박 이 제일 좋은 것으로 나타났다.(Fig. 2-1, 2-2, 2-3, 2-4, 2-5, 2-6 및 2-7).

Table 3-1. Effects of natural materials on superoxide dismutase activity in skin homogenate(medical herbs)

Natural materials	SOD activity (unit/mg protein)	%
Control	68.74±7.51[a]	-
L-Ascorbic acid	112.45±9.23***	(163.6%)[b]
Kojic acid	98.78±7.67***	(143.7%)
Arbutin	93.48±8.46***	(136.0%)
Rehmannia glutinosa(지황)	90.74±6.48***	(132.0%)
Angelica gigas(당귀)	86.38±7.30***	(125.7%)
Areca catechu(빈랑)	83.29±6.20***	(121.1%)
Cnidium officinale(천궁)	80.47±4.13**	(117.1%)
Corydalis ternata(들현호색)	79.12±7.13**	(115.1%)
Poria cocos(복령)	77.97±5.47*	(113.4%)
Cuscutae Semen(토사자)	77.53±5.90*	(112.7%)
Angelica dahurica(구릿대)	76.77±7.12*	(111.7%)
Pinellia ternata(반하)	76.08±6.45	(110.7%)
Angelica koreana(강활)	75.14±5.50	(109.3%)
Rheum palmatum(대황)	75.02±3.47	(109.1%)
Astragalus membranaceus(황기)	74.98±5.76	(109.1%)
Artemisia asiatica(애엽)	74.50±7.03	(108.4%)
Leonurus sibricus(익모초)	74.47±6.54	(108.3%)
Rubus coreanus(복분자)	73.89±1.50	(107.5%)
Cinnamoum cassia(계지계피)	73.22±5.30	(106.5%)
Curcuma longa(울금)	72.65±6.49	(105.6%)
Lindera strychnifolia(오약)	71.24±7.10	(103.6%)
Brassica alba(백겨자)	71.01±5.64	(103.3%)
Mentha arvensis L.(박하)	70.13±3.79	(102.0%)
Bupleurum falcatum L.(시호)	68.75±2.03	(100.0%)
Ginkgo biloba L.(은행나무)	66.0±5.64	(96.0%)
Dendrobium monilifome(석곡)	65.67±6.13	(95.5%)
Phellodendron amurense(황백나무)	63.01±4.56	(91.7%)
Angelica gigas(당귀)	62.98±6.13	(91.6%)
Commiphora molmol(몰약)	60.78±5.90	(88.4%)
Coptis japonica(황련)	58.65±5.79	(86.2%)
Paeonia suffruticosa(목단피)	56.41±6.64	(82.1%)

[a]Mean±SD; [b]Percent of control values; *P<0.05, **P<0.01, ***P<0.001 compared with control group

Table 3-2. Effects of natural materials on superoxide dismutase activity in skin homogenate(foods)

Natural materials	SOD activity (unit/mg protein)	%
Control	68.74±7.51[a]	-
L-Ascorbic acid	112.45±9.23***	(163.6%)[b]
Kojic acid	98.78±7.67***	(143.7%)
Arbutin	93.48±8.46***	(136.0%)
Chlorella(클로레라)	87.14±5.47***	(126.8%)
Cucurbita moschata(호박)	83.28±3.76***	(121.2%)
Juglans sinensis(호도)	82.79±7.54**	(120.4%)
Solanum tuberosum(감자)	78.70±5.57*	(114.5%)
Oenothera laciniata Hill(나팔꽃씨)	76.94±3.79*	(111.9%)
Castanea crenata(율피)	76.29±5.30*	(111.0%)
Prunus mume(매실)	75.49±6.49	(109.8%)
Adrias tyrannus Guenee(복숭아)	73.89±7.10	(107.5%)
Morus alba L.(뽕나무)	73.00±5.64	(106.2%)
Coix lacryma jobi var.(율무)	71.93±3.50	(104.6%)
Cormus offcinalis(산수유)	71.14±2.78	(103.5%)
Prunus armeniaca(살구)	69.75±5.64	(101.5%)
Angelica makino(신선초)	66.00±6.13	(96.0%)
Oenothera laciniata Hill(나팔꽃씨)	65.01±5.94	(94.6%)
Perilla frutescens var. japonica(들깨)	61.78±6.60	(89.9%)
Platicodon grandiflorum(도라지)	61.62±4.13	(89.6%)
Vigna rabiata(녹두)	60.00±5.94	(87.3%)
Vitis vinifera(포도씨)	57.43±6.64	(83.5%)
Arborescens(알로에)	55.25±4.85	(80.4%)

[a]Mean±SD; [b]Percent of control values; *P<0.05, **P<0.01, ***P<0.001 compared with control group

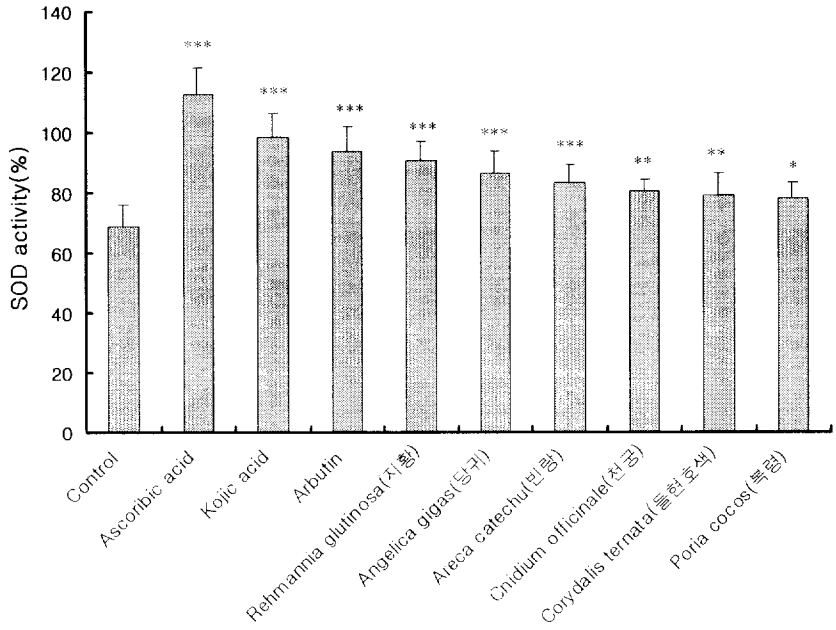

Fig. 2-1. Effects of natural materials on superoxide dismutase activity(medical herbs I)

[a]Mean±SD; [b]Percent of control values; *P<0.05, **P<0.01, ***P<0.001 compared with control group

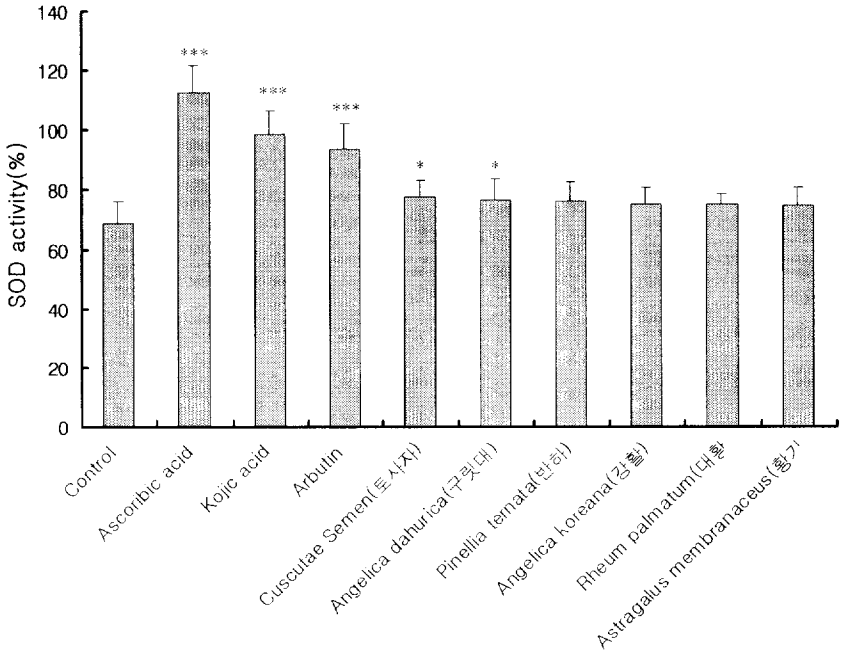

Fig. 2-2. Effects of natural materials on superoxide dismutase activity(medical herbs Ⅱ)

[a]Mean±SD; [b]Percent of control values; *P<0.05, **P<0.01, ***P<0.001 compared with control group

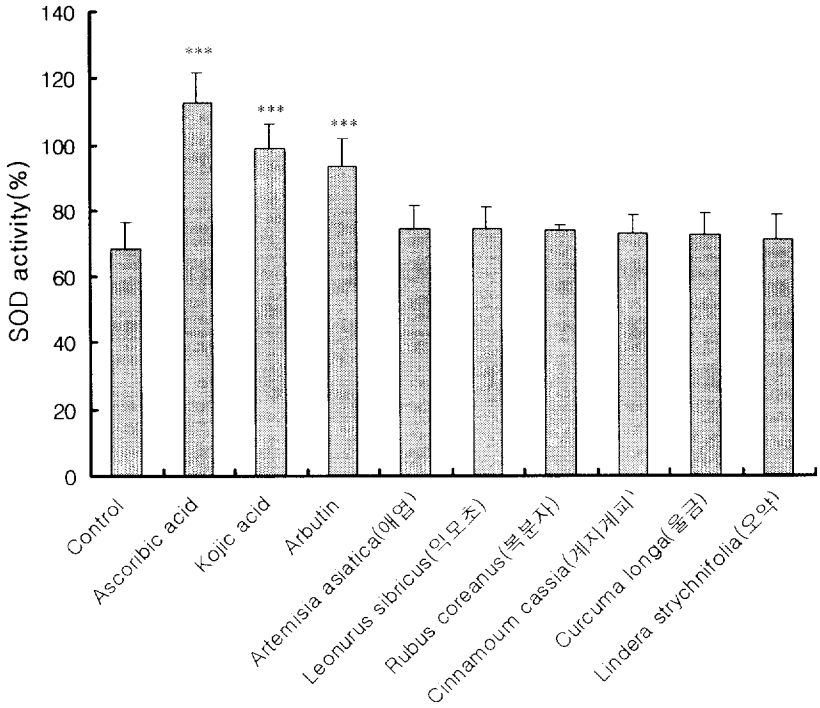

Fig. 2-3. Effects of natural materials on superoxide dismutase activity(medical herbs Ⅲ)

[a]Mean±SD; [b]Percent of control values; [***]P<0.001 compared with control group

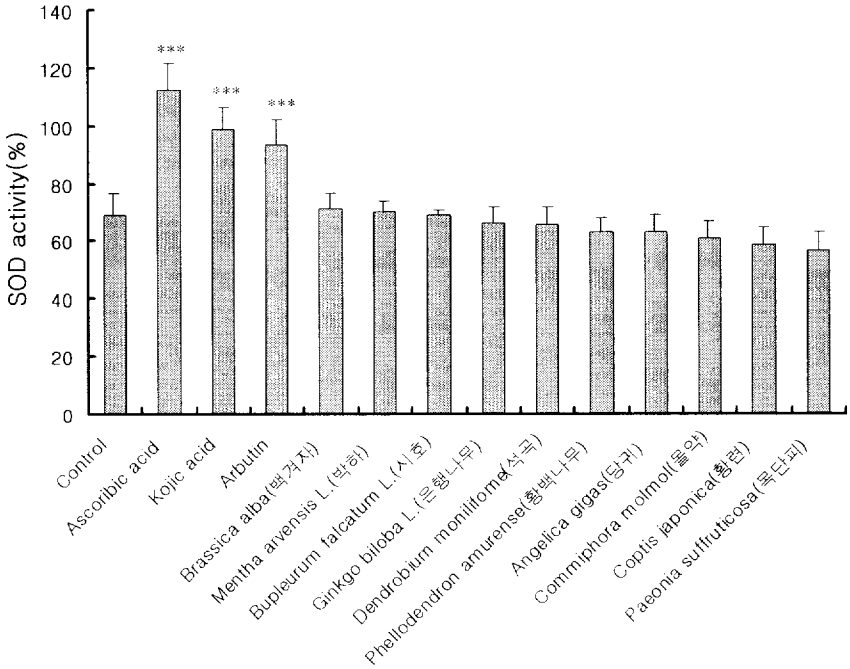

Fig. 2-4. Effects of natural materials on superoxide dismutase activity(medical herbs Ⅳ)

[a]Mean±SD; [b]Percent of control values; [***]P<0.001 compared with control group

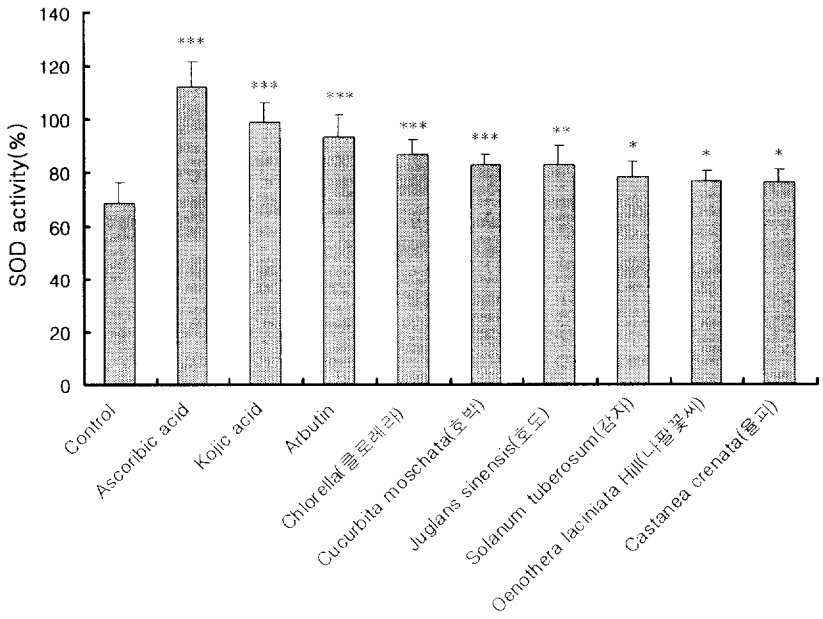

Fig. 2-5. Effects of natural materials on superoxide dismutase activity(foods I)

[a]Mean±SD; [b]Percent of control values; *P<0.05, **P<0.01, ***P<0.001 compared with control group

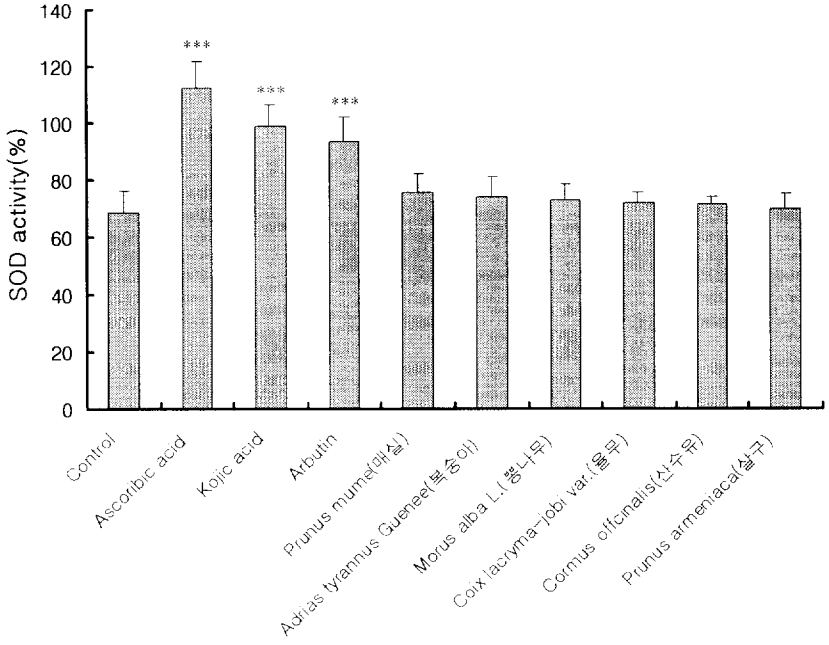

Fig. 2-6. Effects of natural materials on superoxide dismutase activity(foods Ⅱ)

[a]Mean±SD; [b]Percent of control values; [***]P<0.001 compared with control group

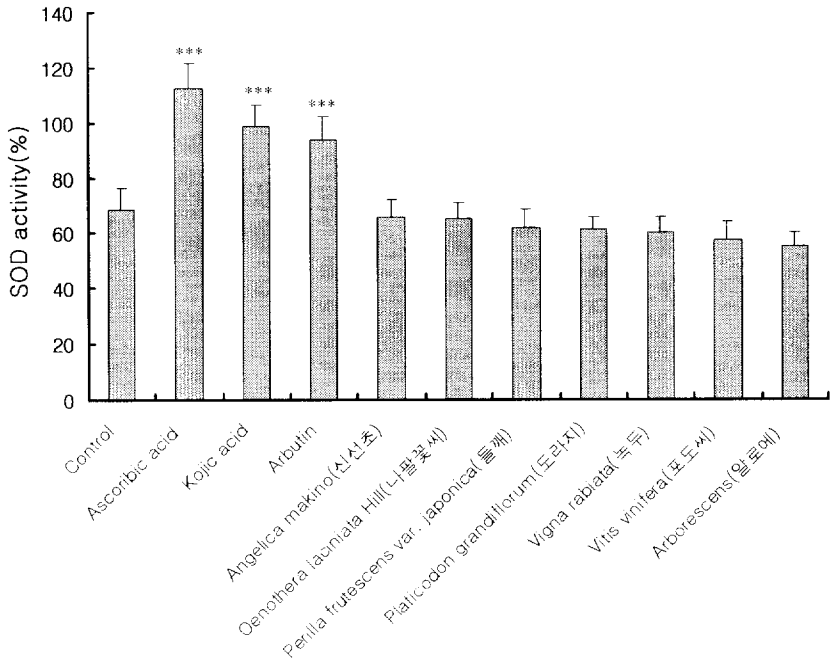

Fig. 2-7. Effects of natural materials on superoxide dismutase activity(foodsⅢ)

[a]Mean±SD; [b]Percent of control values; ***P<0.001 compared with control group

3. 타이로시나제의 활성억제 작용의 비교

이 실험은 시험관 내에서 타이로시나제는 인체내의 멜라닌 생합성 경로를 가장 중요한 초기속도 결정단계에 관여하는 타이로시나제 효소의 활성을 저해하는 정도를 평가하는 방법이다. 현재 피부 미백제에 대한 많은 연구가 melanocyte의 성장을 억제하거나 타이로시나제의 활성을 억제하여 멜라닌의 합성을 억제하는 물질들에 대해서 이루어지고 있다.

멜라닌 형성의 주 역활을 하는 효소인 tyrosinase의 활성을 억제하여 멜라닌의 합성을 억제하는 피부 미백 물질에 관한 실험으로 타이로시나제 효소의 활성을 저해하는 실험 결과는 Table 4-1, 4-2에 나타내었다. Tyrosinase의 활성도의 IC_{50}(Inhibition rate 50%)은 kojic acid(0.036 ㎎/㎖), 울금(0.225 ㎎/㎖), *L*-ascorbic acid(0.226 ㎎/㎖), 대황(0.447 ㎎/㎖), 천궁 (0.949 ㎎/㎖) 순이었으며, 식품에서는 타이로시나제 활성이 잘 나타나지 않았으나 한약재료 중에서 울금이 비교구로 사용한 *L*-ascorbic acid 보다 더 좋은 것으로 나타났다(Fig. 3).

Table 4-1. Effects of natural materials on inhibition of tyrosinase activity(medical herbs)

Natural materials	IC_{50}^{*}(mg/ml)
Kojic acid	0.04
L-ascorbic acid	0.23
Curcuma longa(울금)	0.23
Rheum palmatum(대황)	0.45
Cnidium officinale(천궁)	0.95
Cinnamoum cassia(계지계피)	1.33
Cuscutae Semen(토사자)	1.33
Dendrobium monilifome(석곡)	1.35
Angelica koreana(강활)	1.41
Glycyrrhiza gladra(감초)	1.51
Corydalis ternata(들현호색)	1.63
Artemisia asiatica(애엽)	1.73
Phellodendron amurense(황백나무)	1.79
Coptis japonica(황련)	1.89
Angelica dahurica(구릿대)	1.96
Angelica gigas(당귀)	2.33
Lindera strychnifolia(오약)	2.40
Paeonia suffruticosa(목단피)	2.40
Mentha arvensis L.(박하)	2.43
Eugenia caryophyllata(정향)	2.45
Astragalus membranaceus(황기)	3.19
Ginkgo biloba L.(은행나무)	3.43
Brassica alba(백겨자)	3.94
Poria cocos(복령)	4.60
Bupleurum falcatum L.(시호)	4.64
Gastrodia ellata(천마)	5.25
Rehmannia glutinosa(지황)	6.09
Phellinus Linteus(상황버섯)	7.15
Commiphora molmol(몰약)	>10.00
Leonurus sibricus(익모초)	>10.00
Pinellia ternata(반하)	>10.00
Rubus coreanus(복분자)	>10.00
Areca catechu(빈랑)	>10.00

*IC_{50} : Inhibition concentration of 50%

Table 4-2. Effects of natural materials on inhibition of tyrosinase activity(foods)

Natural materials	IC_{50}^{*}(mg/ml)
Kojic acid	0.04
L-ascorbic acid	0.23
Chlorella(클로레라)	1.54
Morus alba L.(뽕나무)	1.87
Coix lacryma-jobi var.(율무)	2.23
Adrias tyrannus Guenee(복숭아)	2.60
Solanum tuberosum(감자)	2.63
Vigna rabiata(녹두)	3.20
Perilla frutescens var. japonica(들깨)	3.86
Cucurbita moschata(호박)	3.93
Prunus mume(매실)	4.00
Prunus armeniaca(살구)	4.00
Cucumis sativa L.(오이)	4.16
Angelica makino(신선초)	4.41
Juglans sinensis(호도)	4.73
Platicodon grandiflorum(도라지)	4.80
Arborescens(알로에)	5.78
Oenothera laciniata Hill(나팔꽃씨)	8.67
Castanea crenata(율피)	>10.00
Cormus offcinalis(산수유)	>10.00
Vitis vinifera(포도씨)	>10.00

*IC_{50} : Inhibition concentration of 50%

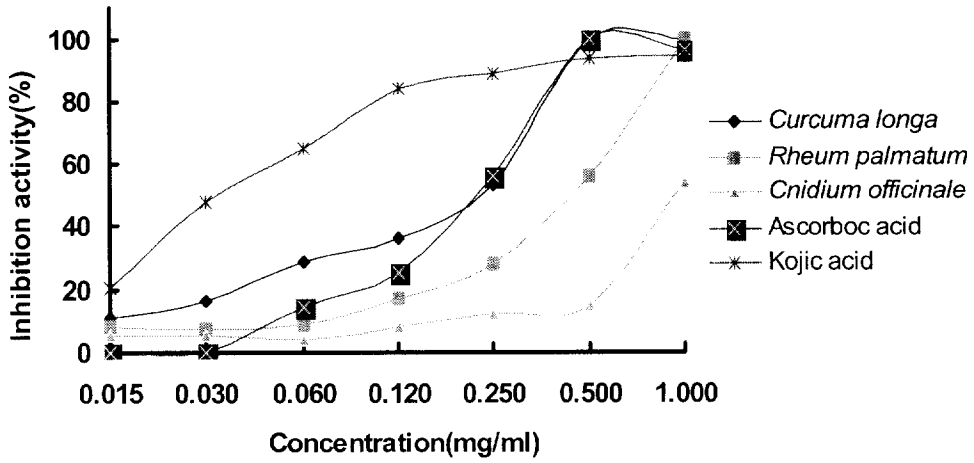

Fig. 3. Effects of natural materials on inhibition of tyrosinase activity

4. 수렴 활성의 비교

수렴작용의 원리는 피부 단백질이 고분자 폴라보노이드와 결합하여 가교결합을 형성하여 피부가 수축 되는 현상을 말한다.

수렴효과 측정에서는 DPPH라디칼의 제거 능력이 좋으면서 타이로시나제 활성 억제능이 높게 나온 천연물들을 중심으로 수렴작용의 능력을 측정하였다. 헤모글로빈과 천연물 추출물을 섞은 것을 백분율로 하여 수렴작용 효과를 비교하여 보면 Table 5와 같다. 헤모글로빈과 천연물 추출물을 섞은 것을 백분율로 하여 수렴효과를 비교하여 보면 포도씨, 익모초, 대황, 들깨, 빈랑, 은행나무, 애엽, 율피의 수렴효과가 5000 ppm에서 50%이상의 수렴효과를 보였으며, 농도가 높아질수록 수렴효과가 더 높게 나타났다. 특히, 5000 ppm에서는 포도씨 93.97%, 익모초 91.35%, 대황 83.28%, 들깨 71.21%, 빈랑 62.76%로서 아주 높은 수렴 효과를 보였다. 이 중 포도씨와 빈랑은 1000ppm과 5000ppm에서 모두 50%이상의 높은 수렴효과가 나타났다.

Table 5. Comparison of natural materials on astringent activity

(%)

Natural materials	ppm			
	10	100	1000	5000
Kojic acid	0.56	1.53	1.55	2.56
L ascorbic acid	1.29	3.28	18.45	67.93
Vitis vinifera(포도씨)	7.59	10.35	72.86	93.97
Leonurus sibricus(익모초)	1.55	4.48	44.66	91.35
Rheum palmatum(대황)	3.17	3.06	13.45	83.28
Perilla frutescens var. japonica(들깨)	3.17	10.38	20.37	71.21
Areca catechu(빈랑)	14.14	13.10	60.86	62.76
Ginkgo biloba L.(은행나무)	1.04	0.53	2.07	53.10
Artemisia asiatica(애엽)	8.28	5.00	8.62	52.07
Castanea crenata(율피)	1.91	3.97	14.48	45.52
Oenothera laciniata Hill(나팔꽃씨)	0.52	2.39	13.97	36.03
Juglans sinensis(호도)	1.55	3.79	12.08	27.93
Curcuma longa(울금)	1.38	5.45	10.52	24.83
Cnidium officinale(천궁)	0.88	2.24	13.62	24.83

Ⅳ. 요 약

산업이 발달함에 따라 그에 따를 부작용으로 오존층의 파괴에 의한 자외선 광량의 증가, 여러 환경오염인자(공해, 중금속, 흡연 등)에 노출, 스트레스 등에 의하여 피부노화에 대한 관심이 더욱 증가하고 있다. 그 중에서도 자외선은 피부에 프리라디칼을 유도하고, 피부암, 광노화, 광 감작증상 및 여러 광 관련 피부 병변을 일으키고 있다고 한다. 피부에는 이러한 외인성 인자로부터 방어하기 위한 수단으로써 항산화제와 항 산화효소가 존재하지만 계속적인 UV와 같은 외인성 인자의 노출은 피부의 방어시스템인 항산화제의 감소와 항 산화효소를 파괴하여 결과적으로 산화적 스트레스를 일으키게 된다. 최근에는 이러한 외인성 인자들로부터 피부를 보호하기 위한 기능성 화장품을 개발의 연구가 활발하게 이루어지고 있으며 특히 자외선 차단제 및 항산화제의 연구가 활발하게 이루어지고 있다. 따라서 본 연구에서는 피부노화를 억제시키기 위해 여러 천연물들을 이용하여 활성 산소종에 대한 항 산화효과와 피부의 항 산화효소 활성 및 산화적 스트레스에 미치는 영향을 알아보았다.

본 실험에서 얻어진 결과를 요약하면 다음과 같다.

1. 항산화성을 알아보기 위하여 측정한 IC_{50} 에서의 DPPH 라디칼의 제거활성을 비교하여 보면 대조군인 *L*-ascorbic acid의 IC_{50}인 3.53 ㎍/㎖에 대비하여 빈랑의 IC_{50}은 2.52 ㎍/㎖으로 천연물 중 가장 높았으며, 그 다음으로 포도씨(4.93 ㎍/㎖), 대황(12.83 ㎍/㎖),

애엽(17.25 ㎍/㎖), 율피(14.88 ㎍/㎖) 오약(16.62 ㎍/㎖), 호도(18.06 ㎍/㎖), 목단피(19.14 ㎍/㎖), 계지계피(19.7 ㎍/㎖), 울금(26.14 ㎍/㎖), 석곡(26.37 ㎍/㎖), 은행나무(30.36 ㎍/㎖) 등의 순서로 활성이 나타났다.

2. 활성산소의 제거효소로서 수퍼옥시드 디스무타아제 활성의 감소 및 증가 나타났다.

대조군(100.0%)에 대비하여 SOD 활성의 결과가 가장 좋았던 것은 Ascorbic acid(163.6%), Kojic acid(143.7%), Arbutin(136.0%)였으며, 천연물의 SOD활성은 한약재료 중에서는 지황(132.0%), 당귀(125.7%), 빈랑(121.1%), 천궁(117.1%), 들현호색(111.5%), 복령(113.4%), 토사자(112.7%), 구릿대(111.7%), 반하(110.7%), 강활(109.3%), 대황(109.1%), 황기(109.1%), 애엽(108.4%), 익모초(108.3%), 복분자(107.5%), 계지계피(106.5%), 울금(105.6%), 오약(103.6%), 백겨자(103.3%), 박하(102.0%)의 순으로 지황과 당귀가 가장 좋은 것으로 나왔으며, 식품 중에서는 클로렐라 (126.8%), 호박(121.2%), 호도(120.4%), 감자(114.5%), 나팔꽃씨(111.9%), 율피(111.0%), 매실(109.8%), 복숭아(107.5%), 뽕나무(106.2%), 율무(104.6%)의 순으로 클로렐라와 호박 이 제일 좋은 것으로 나타났다.

3. 미백효과에 대한 측정으로 타이로시나제의 활성억제에 대한 측정의 결과는 다음과 같다.

Tyrosinase의 활성도의 IC_{50}(inhibition concentration 50%)은 울금(0.225 ㎎/㎖), *L*-ascorbic acid (0.226 ㎎/㎖), kojic acid(0.036 ㎎/㎖), 대황(0.447 ㎎/㎖), 천궁 (0.949 ㎎/㎖) 순이었으며 이 중 울금

의 저해능이 가장 높았다.

4. Astringent(수렴)활성의 평가

헤모글로빈과 천연물 추출물을 섞은 것을 백분율로 하여 수렴효과를 비교하여 보면 포도씨, 익모초, 대황, 들깨, 빈랑, 은행나무, 애엽, 율피의 수렴효과가 5000 ppm에서 50%이상의 수렴효과를 보였으며, 농도가 높아질수록 수렴효과가 더 높게 나타났다. 특히, 5000 ppm에서는 포도씨 93.97%, 익모초 91.35%, 대황 83.28%, 들깨 71.21%, 빈랑 62.76%로서 아주 높은 수렴 효과를 보였다. 이 중 포도씨와 빈랑은 1000ppm과 5000ppm에서 모두 50%이상의 높은 수렴효과가 나타났다.

V. 참고문헌

Black, H, S. (1993) The defensive role of antioxidants in skin carcinogenesis. *Oxidative in Dermatology*. 243-269.

Black. H. (1987) Potential involvement of free radical reactions in ultraviolet light-mediated cutaneous damage. *Photochem, Photobiol.* 46, 213-221.

Boo, Y. C., Jeon, C. O., Kim, J. S. and Park, S. N. (1993) Effects of tea catechins on the hydroxyl radical-induced degradation of DNA components. *1st Scientific Conference of the Asian Soc. Cosm. Sci., Dobe, Japan.* 143-149.

Cha, S. H. Jung, Y. D., Lee, S. C., Ahn, B. W., Kim, T. P. and Lee, M. W. (1991) Oxidation of skin tissue proteins by ultraviolet-B irradiation. *Kor. J. Gerontol.* 1(1), 82-86.

Chen, K., Takano, R., Sebata, T., Hirabayashi, K. (1992) Studies on the application of waste crepe yarn and coagulated liquid silk in gland as food materials. *J. Seric. Sci. Jpn.* 61(1), 80-81.

Choi, J. H. and Yu, B. P. (1990) Unsuitability of TBA test as a lipid peroxidation marker due to prostaglandin synthesis in the aging kideny. *AGE.* 13, 61-64..

Choi, J. H., Kim, I. S., Kim, J. I. and Yoon, T. H. (1991) Studies on anti-aging action of brown algae (*Undaria pinnatifida*). 1. Dose effect of alginic acid as a modulator of anti aging action in serum lipids. *Kor J. Gerontol.* 1(2),

173-178.

Choi, J. H., Kim, I. S., Kim, J. I. and Yoon, T. H. (1992) Studies on anti-aging action of brown algae (*Undaria pinnatifida*). 2. Dose effect of alginic acid as a modulator of anti-aging action in liver membranes. *Bull. Korean Fish. Soc.* 25(3), 181-188.

Choi, J. H., Rhim, C. H., Kim, J. Y., Yang, J. S., Choi, J. S., Byun, D. S. (1986) Basic studies on the development of diet for the treatment of obesity I. The inhibitory effect of alginic acid as a dietary fiber on obesity. *Bull. Korean Fish. Soc.* 19(4), 303-311.

Darr, D. and Fridovich, I. (1994) Free radicals in cutaneous biology. *J. Invest. Dermatol.* 102, 671-675.

Halliwell, B. and Gutteridge, J. M. C. (1981) Formation of a thiobarbituric acid-reactive substance from deoxyribose in the persence of iron salts. *FEBS. Lett.* 128, 347-350.

Harman D. (1956) Aging; A theory base on free radical and radical chemistry. *J. Gerontol.* 11, 299-300.

Kim, Y. P., Lee, S. C. (1987) Superoxide dismutase activites in the human skin. The biological role of reactive oxygen species in skin. *University of Tokyo Press.* 225-320.

Lawrence, R. A., Burk, R. F. (1976) Glutathione peroxidase activity in selinium-deficient rat liver. *Biochem. Diophys. Res. Commun.* 71(4), 952-958.

Lebel, C. P., Odunze, I. N., Jr. A. and Bondy, S. C. (1989) Perturbations in cerebral oxygen radical formation and

membrane order following vitamin E deficiency. *Biochem. & Biophysic, Res.* Com. 163(2), 860-866.

Lowry, O. H., Roseborough, N. J., Farr, L. A., and Randall, R. J. (1951) Protein measurement with the Folin-Phenol reagent. *J. Biol. Chem.* 193, 265-275.

Min Jin Yang, Se Jin Lim, Hyung Soo Ahn, Myoung Ae Kim and Ryung Me Ahn(1999)

Inhibitory Effects of Chestnut Bark Extracts on Tyrosinase Activity and Melanin Biosynthesis Kor. J. Env. Hlth. Soc., Vol. 25, No. 1, pp 37~43

Mori. B., K. Kusima, T. Iwasaki and H. Omiya (1981) Dietary fiber content of seaweed. *Nippon Nogeikagaku.* 55(9), 767-791.

Oyanagui, Y. (1984) Reevaluation of assay methods and establishment of Kit for superoxide dismutase activity. *Anal Biochem.* 42, 290-296.

Park, S. N., Choi, S. W., BOO, T. C., Kim, C. K. and Lee, T. Y. (1990a) Effects of flavonoids of Ginseng leaves on erythrocyte membranes against singlet oxygen caused damage. *Korean J. Ginseng Sci.* 14(2), 191-199.

Park, S. N., Choi, S. W., BOO, T. C., Kim, C. K. and Lee, T. Y. (1990b) Cellular membrane protective effects of plant flavonoids against active oxygen species. *The 16th IFFSCC congress, Preprints poster Presentations, N.Y., U.S.A.* 2, 364-378.

Player T. J., Mills D. J. and Horton A. A. (1977)

Age-dependent changes in rat liver microsomal and mitochondrial NADPH dependent lipid peroxidation. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 78, 1397-1402.

Sies, H. (1986) Biochemistry of oxidative stress. *Angewandte Chem.* 25 1058-1071.

Sies, H. (1991) Oxidative stress: Oxidants and antioxidants. *Academic Press, N. Y.*

Vanni, A., D. Gastaldi, and G. Giunata (1990) Kinetic investigations on the double enzymic activity of the tyrosinase mushroom. Annali Di Chimica. 80, 35-60.

Witt, E. H., Motchnik, P. and Packer, L. (1993) Evidence for UV light as an oxidative stressor in skin. *Oxidative Stress in Dermatology.* 29-47.

Yoshida, T., Mori, K., Hatano, T., Okumura, T., Uehara, I., Komagoe, K., Fujita, T. and Okuda, T. (1989) Studies on inhibition mechanism of autoxidation by tannins and flavonoids V. Radical-scavuenging effects of tannins and related polyphenol on DPPH radical, *Chem. Pharm. Bull.* 37(7), 1919-1921.

김태정 (1996) 한국의 자원식물. 서울대학교 출판부. II, 142, 160.