

Paeonia lactiflora palls flower 추출물의 항산화 활성과 멜라닌 생합성 억제 효과

이재남
건국대학교 산업대학원 향장학과

Inhibition of Antioxidant Activity and Melanin Biosynthesis of *Paeonia Lactiflora Pallas* Flower Extrac

Jae-Nam Lee

Division of Cosmetoiogy Graduate School of Engineering, Konkuk University

요약 본 연구는 *Paeonia lactiflora palls* flower 추출물의 항산화 활성과 멜라닌 생합성 억제 효과 측정을 통해 활성산소 억제 및 미백효과를 확인하고, 기능성 화장품 소재로서의 가능성을 확인하고자 하였다. 실험시료는 70% 에탄올로 추출한 *Paeonia lactiflora palls* flower 추출물을 사용하였으며, 실험 방법은 Total Polyphenol 함량, Total Flavonoid 함량, DPPH radical 소거능, 세포 생존율 및 세포 내 ROS 생성 억제, 멜라닌 생합성 억제 효과를 측정하였다. 실험 결과, *Paeonia lactiflora palls* flower 추출물의 Total Polyphenol 함량은 21.85 ± 2.86 mg/g, Total Flavonoid 함량은 34.05 ± 7.21 mg/g이었고, DPPH 라디칼 소거능은 농도 의존적으로 증가하여 항산화 활성을 나타냈다. 한편 세포 실험에서는 B16F10 melanoma 세포에 대한 세포 독성은 나타나지 않았으며, 농도 의존적으로 B16F10 melanoma 세포 내 ROS 생성 억제 효과 및 멜라닌 생합성 억제 효과를 나타냈다. 따라서 *Paeonia lactiflora palls* flower 추출물은 기미, 주근깨 등의 색소침착증과 각종 피부 질환을 유발하는 활성산소 억제와 미백 효과에 도움이 되는 기능성 화장품 소재로서의 활용이 가능할 것이다.

Abstract This study attempted to confirm the inhibition of the reactive oxygen species (ROS) and whitening effects of the *Paeonia lactiflora pallas* flower extract and examine its potential as a cosmeceutical ingredient by measuring its antioxidant activity and inhibition of melanin biosynthesis. For the experimental sample, the 70% ethanol extract of the *Paeonia lactiflora palls* flower was used. The total polyphenol content, total flavonoid content, DPPH radical scavenging activity, effects on cell viability, ROS inhibition, and inhibition of melanin biosynthesis were measured. The results showed the following: The total polyphenol content was 21.85 ± 2.86 mg/g, and the total flavonoid content was 34.05 ± 7.21 mg/g. The DPPH radical scavenging activity increased in a dose-dependent manner, indicating antioxidant activity. In a cell-based assay, no cytotoxicity was found with B16F10 melanoma cells. In addition, dose-dependent inhibition of ROS and melanin biosynthesis in B16F10 melanoma cells was observed. Therefore, it is reasonable to conclude that the *Paeonia lactiflora pallas* flower extract would help inhibit ROS which causes pigmentation such as freckles and diverse skin diseases, and also help skin whitening as a cosmeceutical ingredient.

Keywords : *Paeonia Lactiflora Pallas* Flower, Melanin, Antioxidant, Reactive Oxygen Species, Polyphenol.

*Corresponding Author : Jae-Nam Lee(Konkuk Univ.)

email: jn386@konkuk.ac.kr

Received April 4, 2022

Accepted July 7, 2022

Revised May 24, 2022

Published July 31, 2022

1. 서론

피부는 외부의 환경적 요인과의 많은 접촉으로 인하여 다양한 산화적 스트레스들의 공격에 직접적으로 노출되어 있다. 특히, 피부는 장시간 과량의 자외선에 노출되면 reactive oxygen species (ROS) 활성산소종이 과잉 생성되면서 세포 내 항산화 방어체계를 파괴하고, 산화적 스트레스에 의한 세포 손상[1,2], 색소침착증, 광노화(photoaging), 피부암, 백내장 증가, 면역기능저하, 압유발 등에 관련된 유전자들의 발현을[3,4] 가속화시킨다. 이러한 활성산소와 산화적 스트레스를 제거하기 위해서, 최근에는 독성이 적으면서도 다양한 세포활성을 지닌 천연물 유래 소재들로부터 유용성분의 추출, 식품 및 의료 소재의 개발, 노화억제 및 미백 기능성 화장품 성분 등에 대한 연구가 활발하게 진행되고 있다.

*Paeonia lactiflora palls*는 50~80 cm 높이 정도로 자라고 뿌리가 붉은 빛이 도는 모간과에 속하는 품종이다. 뿌리는 열과 어혈 등에 효능이 있어 한방에서는 발열, 두통, 요통, 오한, 관절염, 비출혈, 피부염 등의 약재로[5] 이용된다. 특히, *Paeonia lactiflora palls* flower는 적작약꽃, 함박꽃, 메 함박꽃으로 불린다. 꽃은 주로 건조하여 차로 마시며, 보혈보신 기능이 있어 해열, 진통, 조혈작용에 효과적이다[6]. 주요성분으로는 꽃잎에 주로 함유되어 항염증 작용을 하는 methyl gallate[7], 항산화 작용을 하는 gallic acid, 주요 플라보노이드로 항산화와 항암, 항바이러스 등 다양한 생리활성을 보이는 astragalins 성분 등이 함유되어 있다[8]. 또한 성분 별 분포를 보면 paeoniflorin, methyl gallate, astragalins, kaempferol 순으로 높고, 식물체 부위별 함량 분포는 methyl gallate[7]의 경우 꽃잎 1.79%, 잎 0.56%, 뿌리 0.01%로 분포되어 있으며, Astragalins는 꽃잎과 잎에 높게 분포되어 있다[9]. 현재까지 *Paeonia lactiflora palls*의 효능에 대한 국내 연구 동향을 살펴보면, Yun[10]의 연구에서 지실과 적작약은 다제내성 *P. aeruginosa*에 효과가 있어 새로운 천연 항균제의 개발이 가능할 것으로 보고하였으며, Han[11]의 적작약 추출물이 대식세포에서 NO 및 PGE2 생성에 미치는 영향에서는 LPS로 염증이 유도된 RAW 264.7 대식세포에서 적작약 열수 추출물과 에탄올 추출물이 세포독성, NO 생성량 억제, PGE2 생성억제에 효과가 있음을 보고하였다. 또한 Lee와 Kim[6]은 적작약꽃 추출물의 ROS 억제와 항염증 및 MMP-1 발현 억제 능 효과를 보고하였으며, Kim 등[13]은 백작약 에탄올 추출물의 화장품 약리활성 검증 연

구에서 DPPH 라디칼 소거능의 증가 효과와 NO 생성량 감소효과를 보고하였다. 이와 같이 선행 연구들에서는 주로 적작약 및 백작약의 뿌리 추출물에 대한 생리활성을 살펴보았으나, 본 연구의 *Paeonia lactiflora palls* flower에서 추출한 추출물에 대한 항산화 활성 및 피부 미백효과에 대한 연구는 매우 미비한 실정으로 연구의 필요성이 있다.

따라서 본 연구에서는 Total Polyphenol 함량 측정, Total Flavonoid 함량 측정, DPPH radical 소거능 측정, B16F10 melanoma 세포 내 활성산소종을 측정하여 항산화 활성을 알아보고자 하였다. 또한 NR assay를 이용한 세포 생존율을 측정한 후, 멜라닌 생합성 억제 효과를 알아보기 위해 B16F10 melanoma 세포에서 멜라닌 생합성 억제 효과를 측정하였으며, 이를 바탕으로 기능성 화장품 소재로서의 이용 가능성을 검토하고자 하였다.

2. 재료 및 방법

2.1 실험재료

본 실험에 사용된 *Paeonia lactiflora palls* flower 추출물은 전라도 함양에서 채취하여 건조시킨 것을 구입하였다. 시료의 추출은 *Paeonia lactiflora palls* flower 100 g에 70% 에탄올 용액에 중량의 10배의 양을 가하여 72시간 후 추출하였다. 이후 추출액만 분리하기 위해 원심분리기(FinePCR, Korea)를 이용 8000 rpm에서 20분간 시행하였다. 그런 다음 여과지(Whatman®No.2filter papers; GE Healthcare Life Sciences, UK)를 이용 상층액을 여과하고 에탄올을 제거하였다. 감압 농축 후 동결건조 하여 분말형태의 *Paeonia lactiflora palls* flower 추출물을 얻었으며 본 실험의 시료로 사용하였다.

2.2 실험 방법

2.2.1 Total Polyphenol 함량 측정

본 실험 *Paeonia lactiflora palls* flower 추출물의 Total Polyphenol 함량 측정은 Folin-Denis 방법[15]을 응용하여 측정하였다. 시료인 추출물을 각 농도별로 희석한 후 시료 400 µL와 Folin Ciocalteu's phenol reagent (Sigma-Aldric, USA) 시약 400 µL를 혼합하였으며, 3분간 실온에서 반응시켰다. 이후 10% Na₂CO₃ (Sigma-Aldrich, USA) 용액 400 µL를 혼합 60분 동안

차광 상태로 반응시켰고, 96 well plate에 상등액을 200 μ L씩 분주한 후 760 nm에서 흡광도를 측정하였다. Caffeic acid (Sigma-Aldrich, USA)를 표준물질로 사용하였다.

2.2.2 Total Flavonoid 함량 측정

Paeonia lactiflora palls flower 추출물의 Total Flavonoid 함량은 Moreno 방법[16]을 이용하여 측정하였다. 시료인 *Paeonia lactiflora palls* flower 추출물을 각 농도별로 희석한 후 시료 100 μ L과 에탄올 80 μ L, 10% aluminum nitrate (Sigma-Aldrich, USA) 20 μ L, 1M potassium acetate (Sigma-Aldrich, USA) 20 μ L를 혼합하여 40분간 방치하였다. 이후 96 well plate에 200 μ L씩 분주하고 415 nm에서 흡광도를 측정하였고, quercetin (Sigma-Aldrich, USA)을 표준물질로 사용하였다.

2.2.3 DPPH radical 소거능 측정

Paeonia lactiflora palls flower 추출물의 DPP 라디칼 소거능 측정은 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (Sigma-Aldrich, USA) 용액을 사용 Blois의 방법[14]을 응용하여 측정하였다. 시료인 *Paeonia lactiflora palls* flower 추출물을 농도별로 희석한 후 96 well plate에 10 mM DPPH용액 180 μ L와 시료액 20 μ L를 혼합하여 37°C에서 30분 반응시키고, microplate reader (Synergy-HT; BIO-TEK instruments, USA)로 517 nm에서 흡광도를 측정하였다. 표준물질로는 ascorbic acid (Sigma-Aldrich, USA)를 사용하였으며, Eq. (1)과 같이 산출하였다.

$$\text{DPPH radical 소거 활성(\%)} = 100 - \left(\frac{\text{첨가군 흡광도}}{\text{무첨가군 흡광도}} \times 100 \right) \quad (1)$$

2.2.4 NR assay를 이용한 세포 생존율 측정

Paeonia lactiflora palls flower 추출물의 세포 생존율 측정은 Moon과 You[17]의 방법에 따라 neutral red assay를 이용하였다. B16F10 melanoma 세포를 96 well plate에 well 당 3×10^4 cells/well 농도로 분주한 후 *Paeonia lactiflora palls* flower 추출물을 5, 10, 25, 50, 100 μ g/mL의 농도별로 처리하고, 37°C, CO₂ 배양기에서 48시간 동안 배양하였다. 이후 1% NR solution (Sigma-Aldrich, USA)이 포함된 무 혈청배지에

3시간 동안 반응, NR의 변화를 확인하였다. formaldehyde 10% 첨가된 PBS를 각 well에 100 mL로 20분 동안 처리하고, NR desorb solution 100 mL을 각 well에 가하여 세포 내의 NR을 추출하였으며, 540 nm에서 흡광도를 측정하였다. 세포 독성 평가를 위한 세포 생존율은 Eq. (2)와 같이 산출하였다.

$$\text{세포 생존율(100\%)} = \frac{\text{시료첨가군의 O.D. at 540 nm}}{\text{시료무첨가군의 O.D. at 540 nm}} \times 100 \quad (2)$$

2.2.5 B16F10 melanoma 세포 내 활성산소종

Paeonia lactiflora palls flower 추출물의 세포 내 ROS 농도 변화 측정은 Eruslanov과 Kusmartsev 방법을 이용하였다[18]. B16F10 melanoma 세포를 2×10^5 cells/well의 농도로 분주한 후, 추출물 시료를 농도별로 처리 24시간 배양하였다. DCF-DA 시약을 10 μ M 첨가 30분 동안 배양 후, Flow Cytometer (BD Biosciences, USA)를 이용하여 485 nm / 530 nm (excitation / emission)에서 ROS의 변화량을 측정하였으며, Eq. (3)과 같이 산출하였다.

$$\text{ROS 생성량(\%)} = \frac{\text{시료의 흡광도}}{\text{대조군의 흡광도}} \times 100 \quad (3)$$

2.2.6 B16F10 melanoma 세포에서의 멜라닌 생합성 억제

Paeonia lactiflora palls flower 추출물의 멜라닌 생합성 억제 효과는 Hosoi 등[19]의 방법을 이용하여 측정하였다. B16F10 melanoma 세포를 96 well plate에 well 당 2×10^5 cells/well의 농도로 분주하고 배양기 (37°C, 5% CO)에서 24시간 동안 배양하였다. 이후 멜라닌 생합성 측진을 위하여 혈청 5%와 α -MSH 100 nM 포함된 배지로 교체하고, *Paeonia lactiflora palls* flower 추출물을 농도별로 처리한 후 72시간 배양하였다. 합성된 멜라닌의 양은 405 nm에서 흡광도를 측정하였으며, 멜라닌 생합성 억제율은 α -MSH 100 nM 처리한 대조군과 비교하여 다음 Eq. (4)와 같이 산출하였다.

$$\text{멜라닌 생합성 억제율(\%)} = 100 - \frac{\text{시료첨가군의 O.D. at 405 nm}}{\text{시료무첨가군의 O.D. at 405 nm}} \times 100 \quad (4)$$

2.3 통계 처리

본 실험은 모두 3회 반복하여 수치화 하였다. 통계 처리는 SPSS window version 17.0 프로그램(IBM, USA)을 이용하여 분석하였고, Student's t-test를 실시하여 유의성 검증을 하였으며, p값이 0.05 미만일 때 통계적으로 유의한 차이가 있는 것으로 판정하였다.

3. 결과 및 고찰

3.1 Total Polyphenol 함량 측정

폴리페놀계 물질은 1분자 내에 3개 이상의 phenolic hydroxyl (OH)기를 가진 방향족 화합물로 플라보노이드와 탄닌이 주요 성분으로 항산화, 항암 등 다양한 생리활성을 가지고 있다[20,21].

본 실험은 *Paeonia lactiflora palls* flower 추출물에 존재하는 Total Polyphenol 함량을 측정하기 위해 caffeic acid를 표준물질로 검량선을 측정하여 총 폴리페놀 함량을 환산하였다. 그 결과, *Paeonia lactiflora palls* flower 추출물의 폴리페놀 함량은 21.85 ± 2.86 mg/g로 나타났다. Seo과 Choi [22]의 선행 연구에서도 목단피 추출물 농도가 증가함에 따라 플라보노이드 함량도 비례적으로 증가한 것으로 보고하였다. 한편, Hwang 등[23]의 연구에서는 작약뿌리 에탄올 추출물의 폴리페놀 함량을 47.51 ± 1.38 mg/g로 보고하였다. 이러한 결과 본 연구의 *Paeonia lactiflora palls* flower 추출물은 작약뿌리 에탄올 추출물보다 폴리페놀 함량은 상대적으로 낮게 함유하고 있지만 항산화 소재로 활용하는데 기여할 수 있을 것이다.

3.2 Total Flavonoid 함량 측정

플라보노이드는 활성 산소종(ROS)을 효과적으로 제거하는 항산화능을 가지고 있으며, 대부분의 식물에서는 폴리페놀 함량이 높을 경우 플라보노이드 함량도 높게 나타나는 것으로[24,25] 알려져 있다.

본 실험은 *Paeonia lactiflora palls* flower 추출물에 존재하는 Total flavonoid 함량을 측정하기 위해 caffeic acid를 표준물질로 검량선을 측정하여 총 플라보노이드 함량을 환산하였다. 그 결과, *Paeonia lactiflora palls* flower 추출물의 총 플라보노이드 함량은 34.05 ± 7.21 mg/g로 나타났다. Chung[26]의 연구에서 항산화 효능이 우수한 것으로 보고된 블루베리 함량은 26.39

mg/g, 블랙초크베리의 플라보노이드 함량은 32.50 mg/g으로 나타났다. 이는 본 연구의 *Paeonia lactiflora palls* flower 추출물에 함유된 플라보노이드 함량보다 낮은 수치임을 알 수 있다. 따라서 본 연구의 *Paeonia lactiflora palls* flower 추출물은 활성산소를 제거하는 항산화 소재로 활용이 가능할 것이다.

3.3 DPPH radical 소거능 측정

DPPH assay에 따른 free radical 소거능은 안정한 상태의 활성산소 종을 이용하여 항산화력을 검증하는데 널리 이용하고 있다[27]. 다른 조직에 비해 우수한 항산화능을 가지고 있는 인체의 표피층은 미생물이나 allergen 등의 외부 침입으로부터 방어하는 역할을 하며, 항산화능의 감소는 색소침착 및 피부 노화의 원인으로 제시되어져 왔다[28,29].

본 실험에서는 DPPH radical 소거능을 통한 *Paeonia lactiflora palls* flower 추출물의 항산화 활성을 측정하였으며, 그 결과는 Fig. 1에서 보는 바와 같다. 양성 대조군으로 사용된 ascorbic acid는 0.1% 농도에서 97.01%의 우수한 라디칼 소거능을 나타냈고, *Paeonia lactiflora palls* flower 추출물 0.5, 1, 2.5, 5, 10 mg/mL의 각 농도에서 44.83, 73.80, 82.33, 84.51, 87.24%로 라디칼을 소거하였다. Bae[30]의 연구에서는 적작약 뿌리 추출물의 DPPH radical 소거능은 농도의존적인 활성화 활성을 보였으며, ascorbic acid 보다는 낮고 BHT와는 유사한 항산화 활성을 보이는 것으로 보고하였다. 따라서 *Paeonia lactiflora palls* flower 추출물의 농도가 증가할수록 DPPH radical의 라디칼 소거 증가도 확인되어 색소침착 및 피부노화 등을 방지하기 위한 항산화 소재로 활용할 수 있을 것이다.

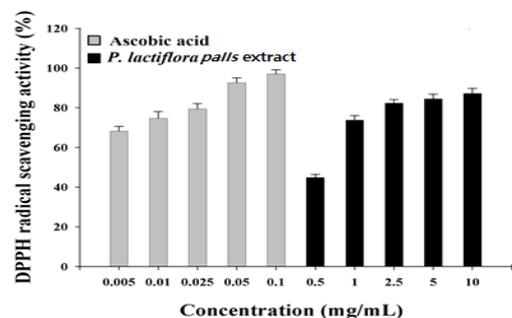


Fig. 1. DPPH radical scavenging activity of *paeonia lactiflora palls* flower extract

3.4 NR assay를 이용한 세포 생존율 측정

본 실험에서는 B16F10 melanoma 세포를 이용하여 *Paeonia lactiflora palls* flower 추출물의 세포 생존율을 측정하고자 NR assay를 수행하였으며, 그 결과는 Fig. 2에서 보는 바와 같다. *Paeonia lactiflora palls* flower 추출물 5, 10, 25, 50, 100 µg/mL 각 농도별에 대한 세포 생존율은 control 100% 대비 96.01, 94.55, 95.79, 91.18, 92.35%로 모든 농도에서 90% 이상의 세포 생존율을 보여 B16F10 melanoma 세포에 대한 독성은 없는 것으로 판단하였다. 따라서 이후 실험인 B16F10 melanoma 세포를 이용한 활성산소종(ROS) 억제 및 멜라닌 생합성 억제는 *Paeonia lactiflora palls* flower 추출물 100 µg/mL 이하의 농도에서 실험을 진행하였다.

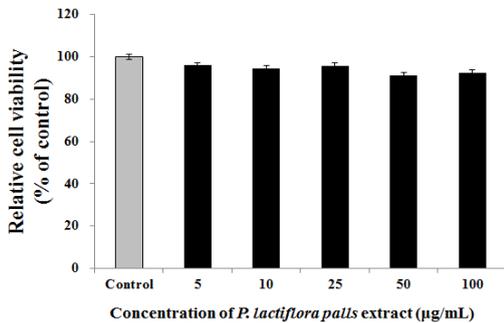


Fig. 2. The Cytotoxicity of *paeonia lactiflora palls* flower extract was measured in B16F10 melanoma cell. The results are presented as the mean ± S.D.

3.5 B16F10 melanoma 세포 내 활성산소종 억제 효과

피부의 노화를 이끄는 주요 요인 중에는 collagen의 감소 및 색소침착과 관련하여 자외선이나 스트레스에 의한 활성 산소의 생성을 들 수 있다[31]. 한편, 피부 착색에서 주요 역할을 하는 tyrosinase는 tyrosine을 활성 산소에 의해 산화시켜 melanin을 생성하는데, 이때 항산화제를 통해 멜라닌 생성을 억제할 수 있다[32,33].

본 실험에서는 *Paeonia lactiflora palls* flower 추출물의 B16F10 melanoma 세포 내 활성산소 억제 효과를 측정하였으며, 결과는 Fig. 3에서 보는 바와 같다. *Paeonia lactiflora palls* flower 추출물의 ROS 생성 억제 효과는 농도 의존적으로 확인되었으며, 특히 25, 50, 100 µg/mL 각 농도에서는 85.87, 77.02, 67.07%로 나타나 유의한 수준으로 억제함을 확인하였다($p < 0.01$, $p < 0.001$).

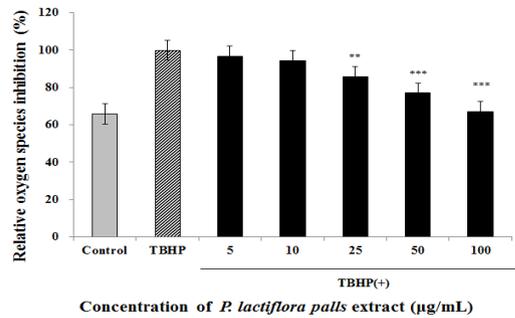


Fig. 3. Reactive Oxygen Species (ROS) inhibition of *paeonia lactiflora palls* flower extract. The results are presented as the mean ± S.D. (** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$)

Jeong 등[34] 연구에서는 백작약 추출물(뿌리)이 과산화물 생성억제효과로 산화적 스트레스 경감제로서의 기능이 있다고 보고하였다. 또한 Lee와 Kim[12]의 연구에서는 적작약꽃 추출물의 HDF 세포내 활성산소종과 RAW 264.7 세포내 활성산소종이 농도 의존적으로 유의하게 억제됨을 보고하여 본 연구결과를 지지한다. 이와 같이 *Paeonia lactiflora palls* flower 추출물이 피부 탄력 감소나 기미, 주근깨 등의 색소침착과 노화를 유발하는 활성산소를 억제함으로써 미백 기능성 화장품 소재로서의 활용이 가능할 것이다.

3.6 B16F10 melanoma 세포에서의 멜라닌 생합성 억제 효과

멜라닌 생성은 대부분 생체 내 tyrosine의 산화적 반응에 의해 이루어진다. ultraviolet B (UVB), α -melanocyte stimulating hormone (α -MSH) 등에 의해 microphthalmia-associated transcription factor (MITF) 전사인자가 자극되면 멜라닌 관련 효소인 tyrosinase, tyrosinase related protein 1 (TRP1), tyrosinase related protein 2 (TRP2)의 발현이 증가하여 멜라닌의 생성이 증가되며[35,36], 색소침착이 발생한다.

본 실험에서는 *Paeonia lactiflora palls* flower 추출물의 멜라닌 생합성 억제 효과를 알아보기 위해 α -MSH에 의해 유도된 B16F10 melanoma 세포를 사용하여 멜라닌 생합성 억제 효과를 측정하였으며, 그 결과는 Fig. 4에서 보는 바와 같다. *Paeonia lactiflora palls* flower 추출물은 5, 10, 25, 50, 100 µg/mL의 각 농도에서 92.95, 88.84, 82.15, 79.72, 78.50 %로 나타나 농도 의존적인 멜라닌 생합성 억제 효과를 확인

할 수 있었다($p < 0.05$, $p < 0.01$, $p < 0.001$). 한편, 합성 미백 성분인 양성 대조군인 arbutin은 100 $\mu\text{g/mL}$ 의 농도에서 72.87%로 멜라닌 생합성이 감소하였으며($p < 0.001$), *Paeonia lactiflora palls flower* 추출물이 양성대조군 arbutin 수준의 melanin 생성 억제율을 보였다. Lee 등 [37]의 선행연구에서는 백작약(부리) 추출물이 melanin 합성을 유의한 수준으로 억제 하였고, 이는 백작약의 피부 미백 기능을 지지하는 중요한 단서가 되는 것으로 보고하였다. 또한 Kim 등[38]의 연구에서는 어리연꽃 추출물은 10 $\mu\text{g/mL}$, 25 $\mu\text{g/mL}$ 의 농도로 처리한 결과 각각 18%, 35%의 억제효과, Ryu 등[39]의 연구인 싸리꽃 에탄올 추출물은 25 $\mu\text{g/mL}$ 의 농도에서 16.2%의 멜라닌 생합성 억제 효과를 보고하였다. 따라서 *Paeonia lactiflora palls flower* 추출물은 B16F10 melanoma 세포 내에서의 tyrosinase 활성을 저해시킴으로써 색소 침착 개선에 도움이 되는 미백 화장품 소재로서의 활용이 가능할 것이다.

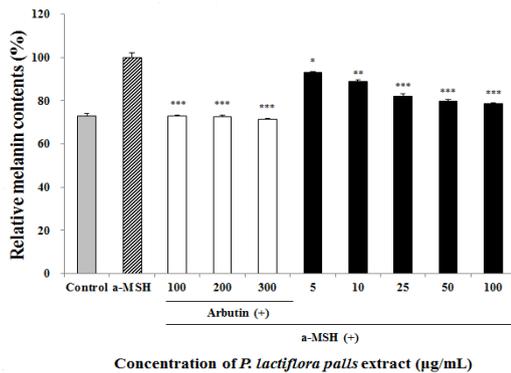


Fig. 4. inhibition of melanin synthesis in B16F10 melanoma cell treated with *paeonia lactiflora palls flower* extract. The results are presented as the mean \pm S.D.

(* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$)

4. 결론

최근에는 친환경 기능성 화장품에 대한 소비자의 관심이 증가함에 따라 독성이 적으면서도 다양한 천연물 유래 소재의 개발 및 생리활성 물질들에 대한 연구가 증가하고 있다.

본 연구에서는 *Paeonia lactiflora palls flower* 추출물의 항산화 활성과 멜라닌 생합성 억제 효과 측정을 통해 활성산소 억제 및 미백효과를 확인하고, 기능성 화장품 소재로서의 가능성을 검토하고자 하였다. 이를 위

한 실험 방법으로는 Total Polyphenol 함량, Total Flavonoid 함량, DPPH radical 소거능, 세포 생존율 및 세포내 ROS 생성 억제, 멜라닌 생합성 억제 효과를 측정하였다.

본 실험 결과, caffeic acid를 표준물질로 검량선을 측정하여 환산한 *Paeonia lactiflora palls flower* 추출물의 총 폴리페놀 함량은 21.85 ± 2.86 mg/g로 나타났고, Total Polyphenol 함량은 34.05 ± 7.21 mg/g로 나타났다. 또한 DPPH radical 소거능은 *Paeonia lactiflora palls flower* 추출물의 농도가 증가할수록 증가됨을 확인하였다. 따라서 *Paeonia lactiflora palls flower* 추출물은 활성산소를 제거하는 항산화 소재로 활용이 가능할 것으로 판단된다. 세포 생존율은 *Paeonia lactiflora palls flower* 추출물의 모든 농도(5, 10, 25, 50, 100 $\mu\text{g/mL}$)에서 90% 이상의 세포 생존율을 보여 B16F10 melanoma 세포에 대한 세포 독성은 없는 것으로 확인되었다. 또한 활성산소종(ROS)은 *Paeonia lactiflora palls flower* 추출물의 농도가 높아질수록 ROS 생성 억제 효과가 증가하는 것으로 확인되었으며, *Paeonia lactiflora palls flower* 추출물의 멜라닌 생합성 억제 효과 역시 농도 의존적으로 확인 되었다.

이상의 결과를 종합해 볼 때, 독성이 없는 천연물 소재인 *Paeonia lactiflora palls flower* 추출물은 항산화 활성 및 B16F10 melanoma 세포에서의 멜라닌 생합성 억제 효과가 확인됨에 따라 기미, 주근깨 등의 피부 색소 질환 개선에 긍정적인 영향을 미칠 것으로 판단된다. 따라서 합성 미백성분을 대체할 수 있는 안전한 미백 기능성 화장품 소재로서의 활용이 가능할 것이다. 추후 연구에서는 본 연구 결과를 바탕으로 다양한 추출방법을 이용한 연구가 진행될 수 있기를 기대한다.

References

- [1] D. L. Black, R. Chatterjee, D. P. Hannon, "Chronic ultraviolet radiation-induced increase in skin iron and the photo protective effect of topically applied iron chelators", *Photochemistry and Photobiology*, Vol.54, No.2, pp.215-223, 2008.
DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1751-1097.1991.tb02009.x>
- [2] M. Kubo, H. Matsuda, "Development studies of cuticle and medicinal drugs from natural sources on melanin biosynthesis", *Fragrance Journal*, Vol.8, pp.48-55, 1995.
- [3] D. E. Cadenas, "Biochemistry of oxygen toxicity", *Annual review of biochemistr*, Vol.58, pp.79-110, 1989.

- DOI: <https://doi.org/10.1146/annurev.bi.58.070189.000455>
- [4] M. H. Kwon, S. Y. Choi, Y. C. Kim, "Inhibitory Effects of Peonia japonica Water Extract on Skin Aging (II) -Focussed on Inhibitory Effects of Wrinkle Formation", *Journal of Environmental Toxicology*, Vol.24, No.2, pp.169-178, 2009.
- [5] S. G. Yun, *Study on antibacterial effect of the extracts From Poncirus trifoliata and Paeonia lacti flora*, Kangwon National University Ph.D dissertation, p.5, 2015.
- [6] J. N. Lee, Y. S Kim, "The Effects of Paeonia Lactiflora Pallas on Inhibition of Oxygen Free Radical, Anti-inflammation and MMP-1 Inhibitory Activity", *Journal of Oil & Applied Science*, Vol.5, No.3, p.798, 2018.
DOI: <https://doi.org/10.12925/jkocs.2018.35.3.797>
- [7] S. J. Kim, J. H. Park, G. W. Kim, "Change of Medicinal Components by Different Species, Plant Parts and Growth Stage of Paeonia spp", *Korean Journal of Crop Science*, Vol.51, No.3, pp.215-219, 2006.
- [8] W. J. Choung, S. H. Hwang, D. S. Ko, S. B. Kim, S. H. Kim, H. D. Choi, S. S. Lim, J. H. Shim, "Enzymatic Synthesis of a Novel Kaempferol-3-O-β-d-glucopyranosyl-(1→4)-O-α-d-glucopyranoside Using Cyclodextrin Glucanotransferase and Its Inhibitory Effects on Aldose Reductase, Inflammation, and Oxidative Stress", *Journal of Agricultural and Food Chemistr*, Vol.65, No.13, pp.2760-2767, 2017.
DOI: <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.7b00501>
- [9] S. J. Kim, J. H. Park, G. W. Kim, "Change of Medicinal Components by Different Species, Plant Parts and Growth Stage of Paeonia spp", *Korean Journal of Crop Science*, Vol.51, No.3, pp.215-219, 2006.
- [10] S. G. Yun, *Study on antibacterial effect of the extracts From Poncirus trifoliata and Paeonia lacti flora*, Kangwon National University Ph.D dissertation, pp.1-29, 2015.
- [11] S. Y. Han, "Effect of Paeoniae Radix Rubra Extract on the Production of NO and Prostaglandin E2 in LPS-stimulated RAW264.7 Macrophages", *The Journal of Korean Acupuncture & Moxibustion Society*, Vol.28, No.1, pp.77-84, 2011.
- [12] J. N. Lee, Y. S Kim, "The Effects of Paeonia Lactiflora Pallas on Inhibition of Oxygen Free Radical, Anti-inflammation and MMP-1 Inhibitory Activity", *Journal of Oil & Applied Science*, Vol.5, No.3, pp.797-806, 2018.
DOI: <https://doi.org/10.12925/jkocs.2018.35.3.797>
- [13] M. Y. Kim, B. Y. Yoon, K. S. Ko, "Study on Cosmeceutical Activities of Paeonia japonica Ethanol Extracts", *Journal of the Korean Society*, Vol.22, No.4, pp.818-823, 2016.
- [14] M. S. Blois, "Antioxidant determination by the use of a stable free radical", *Nature*, Vol.181, No.4617, pp.1199-1200, 1958.
DOI: <https://doi.org/10.1038/1811199a0>
- [15] O. Folin, W. Denis, "On phosphotungstic- phosphomolybdic compounds as color reagents", *The Journal of Biological Chemistry*, Vol.12, No.2, pp.239-243, 1912.
DOI: [https://doi.org/10.1016/S0021-9258\(18\)88697-5](https://doi.org/10.1016/S0021-9258(18)88697-5)
- [16] M. I. Moreno, M. I. Isla, A. R. Sampietro, M. A. Vattuone, "Comparison of the free radical scavenging activity of propolis from several region of argentina", *Journal of Ethnopharmacology*, Vol.71, No.1-2, pp.109-114, 2000.
DOI: [https://doi.org/10.1016/S0378-8741\(99\)00189-0](https://doi.org/10.1016/S0378-8741(99)00189-0)
- [17] J. S. Moon, S. H. You, "A Study on Anti-oxidative, Anti-inflammatory, and Melanin Inhibitory Effects of Chrysanthemum Sibiricum Extract", *Journal of the Korean oil chemists society*, Vol.3, No.4, pp.762-770, 2016.
DOI: <https://doi.org/10.12925/jkocs.2016.33.4.762>
- [18] E. Eruslanov, S. Kusmartsev, "Identification of ROS using oxidized DCFDA and flow-cytometry", *Humana Press*, Vol.594, pp.57-72, 2010.
DOI: https://doi.org/10.1007/978-1-60761-411-1_4
- [19] J. Hosoi, E. Abe, T. Suda, T. Kuroki, "Regulation of melanin synthesis of B16 mouse melanoma cells by 1 alpha, 25-dihydroxyvitamin D3 and retinoic acid", *Cancer Research*, Vol.45, No.4, pp.1474-1478, 1985.
- [20] S. Yoshizawa, T. Horiuchi, T. Yoshida, T. Okuda, "Antitumor promoting activity of (-)- epigallocatechin gallate, the main constituent of tannin in green tea", *Phytotherapy Research*, Vol.1, pp.44-47, 1987.
DOI: <https://doi.org/10.1002/ptr.2650010110>
- [21] M. Y. Kim, B. Y. Yoon, K. S. Ko, "Study on Cosmeceutical Activities of Paeonia japonica Ethanol Extracts", *Journal of the Korean Society*, Vol.22, No.4, pp.818-823, 2016.
- [22] S. H. Seo, M. O. Choi, "The Protective Effects of Paeonia suffruticosa Water Extracts Against UVB or Hydrogen Peroxide-induced Oxidative Damage on Human Keratinocyte HaCaT Cells", *Journal of the Korean Society*, Vol.22, No.3, pp.593-602, 2016.
- [23] E. Y. Hwang, D. H. Kim, H. J. Kim, J. Y. Hwang, T. S. Park, I. S. Lee, J. H. Son, "Antioxidant Activities and Nitric Oxide Production of Medicine Plants in Gyeongsangbukdo (Carthamus tinctorius seed, Cyperus rotundus, Schizonepeta tenuifolia, Polygonatum odoratum var. pluriflorum, Paeonia lactiflora)", *Journal of Applied Biological Chemistry*, Vol.54, No.3, pp.171-177, 2011.
DOI: <https://doi.org/10.3839/jabc.2011.029>
- [24] H. S. Choi, S. H. Yeo, S. T. Jeong, J. H. Choi, H. S. Park, M. K. Kim, "Preparation and characterization of urushiol free fermented Rhus verniciflua stem bark (FRVSB) extracts", *Korean Journal of Food Science and Technology*, Vol.44, No.2, pp.173-178, 2012.
DOI: <https://doi.org/10.9721/KJFST.2012.44.2.173>
- [25] I. S. Kim, *Physicochemical Properties and Antioxidant Activity of Soybean Curd, Doenjang and Kanjang processed from Lipoxxygenase Free Soybeans Lipoxxygenase*, Gyeongsang National University Master

- thesis, pp.1-77, 2014.
- [26] H. J. Chung, "Comparison of Total Polyphenols, Total Flavonoids, and Biological Activities of Black Chokeberry and Blueberry Cultivated in Korea", *Journal of the Korean Society of Food Science and Nutrition*, Vol.43, No.9, pp.1349-1356, 2014.
DOI: <https://doi.org/10.3746/jkfn.2014.43.9.1349>
- [27] M. H. Lee, S. M. Kan, "The Antioxidation Effect of Passiflora edulis f. edulis Rind Extract and Its Influence on Cell Bioactivity", *Journal of Investigative Cosmetology*, Vol.14, No.4, pp.429-439, 2018.
DOI: <https://doi.org/10.15810/jic.2018.14.4.004>
- [28] Y. Y. Yuan, S. M. Park, J. N. Lee, H. J. Choi, J. H. Lee, M. Y. Yun, "Efficacy Evaluation of Deramal Bioactive Properties of the Chealbakgo Extract", *Journal of the Korean Society*, Vol.21, No.6, pp.1158-1164, 2015.
- [29] M. H. Kwon, S. Y. Choi, Y. C. Kim, "Inhibitory Effects of Peonia japonica Water Extract on Skin Aging (II) -Focussed on Inhibitory Effects of Wrinkle Formation", *Journal of Environmental Toxicology*, Vol.24, No.2, pp.169-178, 2009.
- [30] J. Y. Bae, Origin of several crude drugs from Korea and biological evaluation of paeonia species, Pusan National University Ph.D dissertation, pp.130-131, 2012.
- [31] D. H. Kim, T. S. Park, J. H. Son, "Original Article: Bioactive Materials: Anti-wrinkle Activities Verification of Buplerum falcatum Extracts on CCD-986sk", *Journal of Applied Biological Chemistry*, Vol.58, No.2, pp.183-187, 2015.
DOI: <https://doi.org/10.3839/iabc.2015.029>
- [32] J. P. Ebanks, R. R. Wickett, R. E. Boissy, "fall Mechanisms regulating skin pigmentation: the rise and of complexion coloration", *International Journal of Molecular Sciences*, Vol.10, No.9, pp.4066-4087, 2009. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijms10094066>
- [33] Y. J. Cho, S. H. Kim, J. Y. Choi & J. B. Lee, "Antioxidant and Anti-inflammatory activity of Colpomnia sinuosa extract", *Journal of Convergence for Information Technolog*, Vol.12, No.1, pp.135-143, 2022.
DOI: <https://doi.org/10.22156/CS4SMB.2022.12.01.135>
- [34] I. Y. Jeong, J. S. Lee, H. Oh, U. Jung, H. R. Park, S. K. Jo, "Inhibitory Effect of Hot-Water Extract of Paeonia japonica on Oxidative Stress and Identification of Its Active Components", *Journal of the Korean Society of Food Science and Nutrition*, Vol.32 No.5, 2003.
- [35] E. Lalli, P. S. Corsi, "Signal transduction and gene regulation: the nuclear response to cAMP", *The Journal of Biological Chemistry*, Vol.269, No.26, pp.17359-17362, 1994.
- [36] M. J. Ha, S. H. You, "Bioactive Characteristics of Extracts of Opuntia humifusa Fruit as Functional Cosmetic Ingredients", *Asian Journal of Beauty and Cosmetology*, Vol.14, No.4, pp.463-472, 2016.
DOI: <https://doi.org/10.20402/ajbc.2016.0080>
- [37] J. C. Lee, S. Y. Park, J. H. Choi, J. H. Kim, "Effects of Paeoniae radix alba(PRA) on Skin whitening and Elasticity using Melanoma cells", *Journal of Korean Medicine Ophthalmology and Otolaryngology and Dermatology*, Vol.25, No.1, pp.1-11, 2012.
DOI: <https://doi.org/10.6114/jkood.2012.25.1.001>
- [38] D. H. Kim, Y. A. Kim, J. M. Yu, C. B. Park, B. J. Park, T. S. Park, "Inhibitory effect of Nymphoides indica extract on α -MSH induced melanin synthesis", *Journal of Applied Biological Chemistry*, Vol.60, No.4, pp.327-332, 2017.
DOI: <https://doi.org/10.3839/iabc.2017.051>
- [39] I. S. Ryu, S. J. Park, Y. J. Mun, J. S. Ko, K. D. Shin, J. C. Lee, H. W. Woo, K. S. Lim, "Inhibitory effects of Flowers of Lespedeza bicolor on Tyrosinase Activity and Melanin Synthesis", *Korean Journal of Oriental Physiology & Pathology*, Vol.21, No.5, pp. 1142-147, 2007.

이 재 남(Jae-Nam Lee)

[정회원]



- 2011년 8월 : 건국대학교 대학원 미생물공학과 (이학박사)
- 2017년 3월 ~ 현재 : 건국대학교 산업대학원 향장학과 조교수

<관심분야>

향장미용학, 화장품, 메디컬, 기능성화장품 소재