

## 보습효과와 주름개선 효과에 기반한 한방원료 골쇄보 추출물의 코스메슈티컬 특성 연구

전영상<sup>1</sup>, 곽호석<sup>1</sup>, 소순영<sup>2</sup>, 전용진<sup>2\*</sup>

<sup>1</sup>동양미래대학교 바이오융합공학과, <sup>2</sup>청운대학교 화학공학과

### A Study of Cosmeceutical Characteristics of Oriental Herbs, Drynaria Rhizome Extracts Based on Moisturizing Effect

Young-Sang Chun<sup>1</sup>, Ho-Seok Kwak<sup>1</sup>, Soon-Young Soh<sup>2</sup>, Yong-Jin Chun<sup>2\*</sup>

<sup>1</sup>Dept. of Bio-Convergence Engineering, Dongyang mirae University

<sup>2</sup>Dept. of Chemical Engineering, Chungwoon University

**요약** 최근 화장품 업계에서는 천연물을 활용한 다양한 효과를 지닌 화장품 소재에 대한 연구가 활발히 진행되고 있다. 이에 따라 한방원료인 골쇄보 추출물(DRE)을 포함하여 후박나무 추출물(MTE)과 비자/초두구 혼합추출물(TNAKE)의 항산화 효과, 세포생존율, 보습효과를 평가하였다. 수분함량 개선의 경우 골쇄보 추출물은 36.63%의 개선율을 보임으로써 후박나무 추출물의 31.40% 및 비자/초두구 추출물의 19.18%에 비하여 보습효과가 양호하였다. 이를 바탕으로 골쇄보 추출물은 엘라스타제 활성 억제능이 1  $\mu\text{g}/\text{ml}$  부터 1000  $\mu\text{g}/\text{ml}$  범위까지 농도 의존적이며 통계적으로 유의한 수준의 엘라스타제 억제활성 ( $\text{IC}_{50}$  661.228  $\mu\text{g}/\text{ml}$ )을 나타내 주름개선에 효능이 있는 것을 확인하였다. 또한, 골쇄보 추출물 5%를 함유한 제형 안정성 평가에서도 시간에 따른 점도와 pH가 초기의 상태를 잘 유지함을 확인하였다. 따라서 3종류의 한방원료 중에서 골쇄보 추출물이 우수한 보습효과와 주름개선 효과를 기반으로 천연 화장품의 향장 소재로서 가장 뛰어날 것으로 판단되었다.

**Abstract** Recently, research for cosmetic materials with various effects from natural products has been active in the cosmetic industry. Accordingly, the antioxidant effect, cell viability evaluation, and moisturizing effect of oriental herbs, Drynariae rhizoma extract (DRE) and Machilus thunbergii extract (MTE), including Torreya nucifera/Alpinia katsumadai mixed extract (TNAKE), were evaluated. In the case of moisture content improvement, DRE showed an improvement rate of 36.63%, and the moisturizing effect was better than the 31.40% of the MTE extract and 19.18% of the TNAKE. Based on this, the elastase activity inhibitory ability of the DRE was concentration-dependent in the range of 1  $\mu\text{g}/\text{ml}$  to 1000  $\mu\text{g}/\text{ml}$  and showed a significant level of elastase inhibitory activity ( $\text{IC}_{50}$  661.228  $\mu\text{g}/\text{ml}$ ) to improve wrinkles, highlighting its effectiveness. In addition, with time, the viscosity and pH maintained the initial state well in the formulation stability evaluation containing DRE 5%. Therefore, among the three types of oriental herbal ingredients, DRE would be the most excellent cosmetic material for natural cosmetics based on its excellent moisturizing effect and anti-wrinkle effect.

**Keywords** : Cosmeceutical, Extracts, Moisturizing Effect, Anti-wrinkle, Drynaria Rhizome, Oriental Herbs

본 논문은 2022년도 청운대학교 학술연구조성비 지원에 의하여 수행되었음.

\*Corresponding Author : Yong-Jin Chun(Chungwoon Univ.)

email: yjchun@chungwoon.ac.kr

Received October 17, 2022

Revised November 8, 2022

Accepted December 7, 2022

Published December 31, 2022

## 1. 서론

산업의 발달과 함께 여러 환경 오염이나 스트레스 등으로 민감한 피부가 증가하고 있으며, 화장품으로 이런 민감성 피부를 건강하게 개선하려는 노력과 시도가 진행되고 있다. 특히 고령화 사회로의 진입 및 대외활동의 증가에 따라 인체의 건강과 아름다움을 드러내기를 원하는 여성들의 요구로 미용을 통해 우리 피부를 아름답고 건강하게 보이게 하는 기능을 지닌 새로운 기능성화장품의 개발이 활발하게 이루어지고 있다[1-3]. 최근 화장품 업계에서는 천연 한방성분 및 천연 미네랄 성분이 함유된 화장품이 꾸준히 수요가 상승함에 따라 이와 관련된 천연 화장품 개발을 위한 연구가 활발하다[4,5]. 특히 천연 식물에는 다양한 형태의 항산화 물질을 다량 함유하고 있어 활성산소를 제거하여 피부 세포를 보호하는 기능을 지니고 있으므로, 예로부터 피부에 활력을 부여하는 천연 화장품용으로 꾸준히 사용해왔다. 자연 상태 그대로 생활하는 자생식물의 경우 어떤 지역에서 원래부터 살고 있던 특성상 지역 환경에 대한 높은 적응성과 생물학적 다양성을 지니고 있어 천연물 소재로서 개발 가능성이 매우 크다. 그러나 천연물에는 다양한 유효성분이 존재하지만 성분 중에 미지의 화합물이 포함되어 있어 함유된 성분들의 상호작용에 따라 효능에 부정적인 영향을 미칠 수 있다. 따라서 가능하면 인체에 끼치는 부작용이 적은 천연식물을 이용하여 기능성을 부여한 화장품을 개발하고자 하는 시도가 증가하고 있다. 이에 따라 전통적으로 한방 약재로 사용해 온 약용식물을 대상으로 항산화능을 평가하고 이에 기반한 코스메슈티컬 특성에 관한 연구가 꾸준히 이루어지고 있다[6-10].

최근 본 연구진은 항산화력이 있는 비자(*Torreya nucifera*, TN), 초두구(*Alpinia katsumadai*, AK)의 추출물에 대해 항장소재로서의 특성을 평가하고 마스크 팩 제형에 적용하여 천연 마스크 팩 원료로서의 가능성을 보고한 바 있다[11]. 이와 연계하여 본 연구에서는 기 보고한 2종의 천연물 이외에 추가로 2종의 천연물을 선정하여 기존의 비자/초두구 혼합 추출물의 항장소재 특성과 비교하여 보다 효능있는 코스메슈티컬 원료를 선정하고자 하였다. 실험에 사용된 2종의 한방원료는 우수한 항산화력이 보고되어 질병치료를 목적으로 사용되는 약용식물인 후박나무(*Machilus thunbergii*, MT)와 골쇄보(*Drynariae rhizoma*, DR)이다[12,13]. 골쇄보(骨碎補)는 고란초과에 속하는 여러해살이풀인 넉줄고사리(*Davallia mariesii*)의 뿌리줄기를 말린 것으로, 한자의

이름이 암시하듯 부서진 뼈를 이어준다는 뜻을 가진다. 최근 골쇄보 추출물이 멜라닌 생성을 억제함으로써 미백 효과의 기능이 있다는 연구가 보고되었다[14]. 한편 후박나무는 녹나무과의 늘푸른 넓은 잎 큰키나무로서 동아시아인 한국, 일본, 중국 등에서 특히 많이 자생한다. 위와 장을 따뜻하게 해주어 위장병 예방에 좋으며, 항균작용이 있어 구토나 설사 복통 등 증상에 도움을 준다고 하여 예로부터 사용되어왔다. 근래에 후박나무에서 분리한 meso-dihydroguaiaretic acid가 피부 질환 치료를 위한 후보가 될 수 있을 것이라는 연구가 보고되었다[15].

본 연구에서는 기존의 비자 및 초두구 혼합 추출물을 포함하여 3가지 한방원료의 항산화능 평가, 세포생존율 평가, 피부 안전성 평가 및 보습력을 평가하여 비교하였다. 이를 바탕으로 피부에서 안티에이징 효과를 나타내는 기능성 화장품 원료로 사용할 가능성을 검토하였다.

## 2. 실험

### 2.1 추출 및 시료 제조

본 실험에서 사용된 비자와 초두구 혼합 추출물(비자 : 초두구 = 3 : 7)은 시료의 10배에 해당되는 70% 에탄올을 넣고 실온에서 3시간씩 3회 반복하여 추출한 추출물을 여과지로 여과한 다음 회전증발농축기로 감압 농축시킨 후 동결건조기로 동결건조하여 제조하였다. 후박나무와 골쇄보는 열수 추출(Water Extraction) 방법 사용하여 추출하였다. 이하 골쇄보의 열수 추출법을 수록하였으며 후박나무의 열수 추출도 동일하게 수행하였다. 골쇄보를 물로 3회 세척하고 건조시켜 70 g을 칭량하여 추출 대상으로 하였다. 1 L 히팅멘틀과 환류 냉각기가 달린 1 L 둥근 플라스크에 골쇄보를 잘게 썰어 넣고, 정제수 700 mL를 가하였다. 히팅멘틀로 열을 가하여 85~95°C에서 하룻밤 환류시켰다. 상온으로 식힌 후, 감압여과하고 회전증발농축기로 추출물을 농축하였다. 상기의 여과하고 남은 골쇄보를 건조시킨 후 정제수 700 mL를 넣고 환류/감압여과/농축시키는 동일한 방법을 2회 더 진행하였다. 3회 열수 추출을 진행하여 얻은 진한 갈색의 농축물을 동결건조기로 5일간 동결건조하였다. 동결 건조된 시료량은 골쇄보는 17.3 g(수득율 24.7%) 후박나무는 8.4 g(수득율 12.0%)이었다.

### 2.2 항산화능 평가

DPPH(2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) radical을 이용한 항산화 활성은 Wang 등[16]의 방법을 일부 변형하여 각 시료의 DPPH radical에 대한 소거 효과를 측정하였다. 시료를 99% 메탄올에 녹여 4 µg/ml의 농도를 갖는 시료용액 800 ml를 제조하고 메탄올에 녹인 0.15 mM DPPH 용액 200 µl를 가하여 실온에서 30분 방치한 후 Epoch Microplate Spectrophotometer(Biotek, USA)를 사용하여 517 nm에서 흡광도(Abs.)를 측정하였다. 항산화능을 평가하기 위하여 대조군으로 Vitamin C 또는 Ascorbic acid를 사용하였다.

실험은 3회 수행하여 평균값±표준편차로 표시하였으며, 항산화능 측정 시험 결과 측정된 흡광도 값은 각각 Kruskal-Wallis test 후 Mann-whitney U test를 이용하여 Bonferroni correction 보정을 실시하였다 (p<0.0125).

### 2.3 세포 생존율 평가

#### 2.3.1 세포주 선택 및 세포 배양

시료의 세포 생존에 대한 효과를 평가하기 위해 HaCaT (Human, Adult, low Calcium, High Temperature) 세포를 사용하였다. 세포를 100 mm<sup>2</sup> culture dish에 1.5 X 10<sup>6</sup> cells/dish로 접종한 후 페니실린(100 IU/ml), 스트렙토마이신(100 µg/ml), 10% Fetal bovine serum(FBS)를 함유하는 DMEM(Dulbecco's Modified Eagle's Medium) 배지를 넣고 37°C, 5% 이산화탄소를 포함하는 배양기(Sanyo, Japan)내에서 배양하였다. 세포는 매 2일 간격으로 계대 배양하였으며, 8 ~ 15 passage에 해당하는 세포를 본 실험에 사용하였다.

#### 2.3.2 MTT(Thiazolyl Blue Tetrazolium Bromide) assay법을 이용한 세포 생존 시험

MTT assay법은 세포의 탈수소 효소 작용에 의하여 노란색을 띠는 수용성 기질인 MTT tetrazolium을 적자색을 띠는 formazan으로 환원시키는 미토콘드리아의 능력을 측정하는 검사법이다. MTT의 환원은 대사가 활발한 세포에서만 일어나므로 시료의 세포 생존을 평가하는데 널리 사용되고 있다. MTT assay법을 이용한 세포 생존 시험은 본 연구자들이 기 보고한 문헌[11]에서 수행한 방법을 따랐으며, 그 결과값은 Eq. (1)으로 계산하여 무처리군(untreated) 대비 세포 생존율로 나타내었다. 실험은 3회 수행하여 평균값±표준편차로 표시하였다.

$$Cell\ viability\ (\%) = \frac{Abs_{treated}}{Abs_{untreated}} \times 100 \quad (1)$$

### 2.4 피부 안전성 평가

임상시험에 참여한 30명 이상 성인을 대상으로 항온 항습 조건(온도 20~24°C, 습도 40~60%)의 공간에서 약 30분간 피부 안정을 취하였다. 척추를 제외한 등의 평평한 부위에 착색이나 피부손상이 없는 부위를 선정해 70% 에탄올로 닦아낸 뒤 건조시킨 다음, 시험제품을 25 µl씩 IQ Ultra에 적하시킨 후 패치를 부착한 후 24시간 동안 폐쇄 첩포하였다. 패치 제거 1시간, 24시간 및 48시간 후에 시험제품 적용 부위를 촬영하고, 피부 반응을 피부과 전문의가 확인하여 피부자극지수를 판정하였다. 판정은 국제 접촉 피부염 연구회(International Contact Dermatitis Research Group : ICDRG)의 판정기준에 따라 자극이 전혀 없을 경우(0점)부터 심한 부종 및 수포를 동반한 홍진(erythma)이 발생할 경우(4점)까지 피부의 상태에 따라 순차적으로 점수를 부여하였다[11].

Table 1. Classification by Skin Irritation Index

Skin Irritation Index	Classification
0.00 - 0.25	Non-irritant
0.26 - 1.00	Slight Irritation
1.01 - 2.50	Moderate Irritation
2.51 - 4.00	Intense Irritation

피부자극지수(Skin Irritation Index, S.I.I.) 계산 방법은 Eq. (2)로 계산하였으며, 피부자극지수의 계산된 값에 따라 Table 1과 같이 비자극성 부터 강한자극성 까지 4단계로 분류하였다.

$$S.I.I. = \frac{Skin\ response}{No.\ of\ test} \quad (2)$$

Skin response =

$$\left[ \frac{\sum_{i=1}^n grade}{n(value\ of\ test)} \right]_{1hr} + \left[ \frac{\sum_{i=1}^n grade}{n(value\ of\ test)} \right]_{24hrs}$$

### 2.5 보습력(수분함량) 평가

평균 연령 40세 전후의 여성 20명을 선정하여 30분간 항온항습 조건(온도 20 ~ 24°C, 습도 40 ~ 60%)에서 안정을 취한 뒤 인체적용 실험을 진행하였다. 먼저 세안을 실시하고 지급받은 시료를 안면부에 적당량 도포한 후 15분을 경과시켜 피부에 흡수되도록 하였다. 보습량을 Corneometer® CM825(Courage and Khazaka,

Germany)로 3회 측정된 후 평균값을 구하여 평가하였다. 측정값은 피측정자의 피부 보습상태에 대한 상대단위로서 최저 0부터 130까지이다. 측정값이 높으면 보습량이 많음을 의미하고 측정값이 낮으면 보습량이 적음을 의미한다. Corneometer를 이용한 피부 보습량 증가율 (Increasing rate of moisturizing effect, I.R.M.)은 다음의 Eq. (3)을 이용하였다.

$$I.R.M. (\%) = \frac{(Test_{after} - Test_{before})}{Test_{before}} \times 100 \quad (3)$$

시료의 사용감과 효능성에 관한 평가, 시료에 대한 호감도 및 안전성 등에 대한 사항은 대상자에 의한 주관적 설문평가를 실시하여 조사하였다.

## 2.6 주름 개선 효과

엘라스타제 활성억제능 평가시험을 통해 주름개선 효과를 평가하였다. 계대 배양한 HDF (Human dermal fibroblast)세포에서 엘라스타제를 포함하는 효소액을 취하여 96 well plate의 각 well 당 엘라스타제 100  $\mu\text{g}$ 에 해당하도록 효소액을 넣고 0.2 M Tris-HCl 완충액을 넣어 총 볼륨이 88  $\mu\text{l}$ 가 되도록 하였다. 이후 각농도별로 희석한 시료 10  $\mu\text{l}$  및 엘라스타제 기질인 STANA(N-succinyl-tri-alanyl-p-nitroanilide, 50 mM)액을 2  $\mu\text{l}$ 씩 각 well에 넣어 90분 동안 37°C에서 반응시키고 microplate reader를 이용하여 405 nm에서 반응액의 흡광도를 측정하여 아래의 Eq. (4)를 통해 엘라스타제 활성 억제능을 평가하였다.

$$\text{Anti-elastase activity (\%)} = \left[ 1 - \frac{(Abs_{treated} - Abs_{sample})}{Abs_{untreated}} \right] \times 100 \quad (4)$$

## 2.7 제형안정성 평가

시중에 유통할 제품과 동일한 제형을 5%의 액상 추출물과 혼합하여 크림 형태의 제형으로 제조한 후 유통 포장용기에 준비하였다.

### 2.7.1 점도 평가

시간(30일)에 따른 제형의 점도를 측정하기 위하여 점도측정기(Spindle RVHV #6 Teflon Coat TVHV-6T, Brookfield Ametek)를 20 rpm으로 고정하여 평가하였다.

### 2.7.2 pH 평가

시간(30일)에 따른 제형의 pH 변화를 측정하기 위하여 pH 미터(A211, Thermo)를 이용하여 평가하였다.

## 3. 결과 및 고찰

### 3.1 항산화 효능

Free radical을 가지는 활성산소는 피부 노화의 주요 원인으로 피부 세포 및 조직의 손상을 일으킨다. 따라서 Free radical을 소거시키면 피부의 노화를 억제할 수 있는데, 측정 시료의 이 같은 항산화능은 DPPH assay를 통해 평가할 수 있다. 비교적 안정한 free radical인 DPPH가 시료와 반응하여 환원되면 보라색에서 노란색으로 탈색 변화가 일어나며 이를 통해 시료의 항산화능을 확인할 수 있다. 본 실험에서는 96 well plate의 각 well에 메탄올을 이용하여 조제한 0.15 mM DPPH 용액 100  $\mu\text{l}$ 와 초순수를 이용하여 최종농도가 1  $\mu\text{g}/\text{ml}$ , 10  $\mu\text{g}/\text{ml}$ , 100,  $\mu\text{g}/\text{ml}$ , 1000  $\mu\text{g}/\text{ml}$ 가 되도록 희석한 시료 100  $\mu\text{l}$ 를 넣고 30분 동안 상온에서 차광 반응 후 microplate reader를 이용하여 540 nm에서 반응액의 흡광도를 측정하여 아래의 Eq. (5)를 이용하여 항산화능을 평가하였다. 여기에서 무처리군은 메탄올과 초순수를 사용한 경우이며, 음성대조군(negative control group, N.C.G.)은 0.15 mM DPPH 용액과 초순수를, 시료처리군은 0.15 mM DPPH 용액에 각 농도별 희석한 시료액 첨가하여 분석한 것을 의미한다.

$$\text{Anti-oxidant activity (\%)} = \frac{Abs_{treated} - Abs_{untreated}}{Abs_{N.C.G.} - Abs_{untreated}} \times 100 \quad (5)$$

3종의 천연 추출물에 대한 항산화능을 측정한 결과 Fig. 1에서 보는 바와 같이 농도가 증가할수록 추출물의 전자공여능이 증가하는 경향을 나타내었다.

특히, 골쇄보 추출물의 경우 100  $\mu\text{g}/\text{ml}$  에서 96.94%의 높은 항산화율을 나타냈다. 이는 동일 조건의 양성대조군으로 사용한 Ascorbic acid 처리군의 경우 95.89%의 항산화능을 나타낸 것과 비교할 때 동등 이상으로서 천연 기능성 화장품 소재로서의 활용가능성이 있음을 의미한다. 아울러 100  $\mu\text{g}/\text{ml}$  에서 비자/초두구 혼합 추출물 처리군의 94.55%, 후박나무 추출물 처리군의 92.54%보다 높은 항산화능을 보였다.

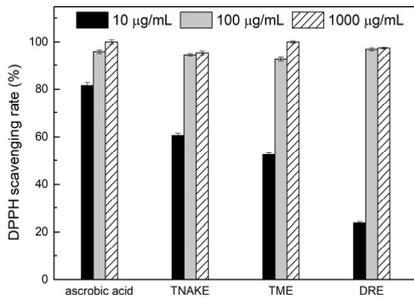


Fig. 1. DPPH antioxidation effect of 4 different samples. Probability p (Wilcoxon signed rank test, significant; \*\*p<0.05)

### 3.2 세포 생존율

3종 시료의 세포 생존율 시험을 MTT assay 법을 이용하여 실시한 후 결과값을 분석하였다. 모든 시험은 3회 반복하여 실시하고 평균값을 계산하였고, 결과값을 평균±표준편차로 표기하였다. 세포 생존 시험 결과 측정된 흡광도 값을 각각 정규 분포 검정을 수행하였다. Wilcoxon signed rank test를 통해 유의성 여부를 가설평균 차 5% (p<0.05)로 확인하였다. 이때 사용한 통계 분석 프로그램은 IBM SPSS statistics version 21.0이다.

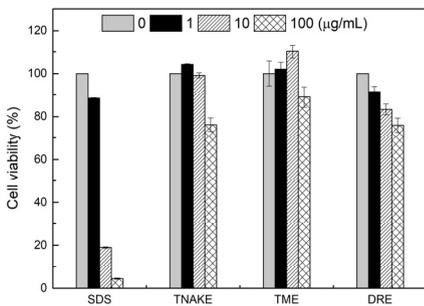


Fig. 2. Cell viability by concentration of sample. Probability p (Wilcoxon signed rank test, significant; \*\*p<0.05)

Fig. 2에서 보듯 비자/초두구 혼합추출물의 경우 세포 생존율은 무처리군의 경우와 비교하여 1 µg/mL에서 104.25%, 10 µg/mL에서 99.17%로 높은 세포생존율을 나타냈다. 후박나무의 경우 세포 생존율이 1 µg/mL에서 102.00%, 10 µg/mL에서 110.23%로 높게 나타났으나, 100 µg/mL에서 89.06%의 세포 생존율을 나타내었다.

골쇄보의 경우 세포 생존율은 무처리군의 경우와 비교하여 1 µg/mL에서 91.67%, 10 µg/mL에서 83.28%, 100 µg/mL에서 75.99%의 세포 생존율을 나타내었다.

양성대조군으로 사용한 SDS 처리군에서는 무처리군의 경우와 비교하여 1 µg/mL에서 88.48%, 10 µg/mL에서 18.97%, 100 µg/mL에서 4.39%의 세포 생존율을 나타내었으며, 모든 처리농도에서 무처리군의 경우와 비교하여 통계적으로 유의한 차이 (p<0.05)를 나타내었다.

### 3.3 피부 안전성

시험제품의 안전성을 평가하기 위하여 골쇄보의 경우 31명(남자 1명/여자 30명)을, 비자/초두구 혼합물의 경우 여자 33명을, 후박나무의 경우 31명(남자 4명/여자 27명)을 대상으로 평가를 수행하였다. 시험제품을 등 부위에 24시간 동안 철폐하고, 패치 제거 1시간, 24시간, 48시간 후에 피부 자극지수 판정을 진행하였다. 피부 반응 판정은 피부과 전문의가 ICDRG 기준에 의거하였으며, 각 피험자들의 피부 반응 점수를 평가하여 Table 1의 피부 자극지수를 산출하였다. 골쇄보의 경우 전원 자극이 관찰되지 않았으므로 피부자극지수 0점, 후박나무의 경우 패치 제거 24시간 후 1명이 경미한 반응(slight reaction)이 나타나 0.5점으로 판정되었으나 패치 제거 48시간 후 자극이 관찰되지 않았으므로 피부자극지수 0.011점, 비자/초두구 혼합물의 경우 패치 제거 1시간 후 1명이 경미한 홍진 반응을 나타내어 1점으로 판정되었고 마찬가지로 패치 제거 24시간 후 자극이 관찰되지 않았으므로 피부자극지수 0.02점으로 나타나 3종 모두 비자극 물질로 판정되었다. 또한 3종 모두 시험제품을 사용하는 동안 시험대상자의 피부에 홍반, 부종, 가려움, 자통, 작열감, 벗벗함, 및 따끔거림등의 부작용에 의한 이상 반응은 나타나지 않았다.

### 3.4 보습력(수분함량) 개선

피부보습을 평가하기 위하여 Corneometer® CM825를 이용하여 상부 피부층의 상대 유전율을 측정하여 수분에 대한 의존성을 평가하였다. 실험 결과는 도포 전후의 수분 흡수량의 변화를 비교한 것으로서 Corneometer의 측정값이 증가한 경우 피부의 수분함량이 증가하여 보습력이 증가한 것으로 평가할 수 있다. 볼 부위의 피부 보습값을 paired t-test를 이용하여 분석하였다. 시료에 의한 피부 보습량의 변화를 측정된 결과 Fig. 3에 나타난 것처럼 골쇄보 추출물의 경우 Corneometer 측정값

(A.U.)이 도포 전에 41.61에서 도포 후 56.85로 수분함량 개선율은 36.63%로 가장 뛰어난 개선 효과를 나타내었다.

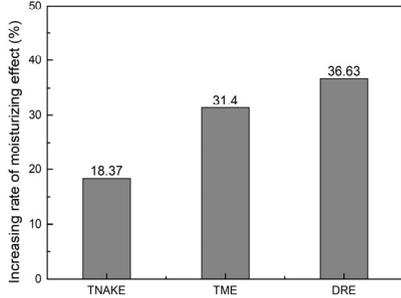


Fig. 3. Increasing rate of moisturizing effect of 3 different samples.

반면에 비자/초두구 혼합 추출물의 경우 Corneometer 측정값(A.U.)이 도포전 63.31에서 도포 후 74.94로 나타나 18.37%의 수분함량 개선율을 보였으며, 후박나무 추출물은 Corneometer 측정값(A.U.)이 도포 전 38.16에서 도포 후 50.15로 나타나 개선율은 31.40%였다. 각 시료를 1회 도포 후 각질층 수분함량이 통계적으로 유의한 수준으로 ( $p < 0.05$ ) 증가하여, 피부수분 함량개선 효과를 가지고 있는 것으로 확인되었다. 평가기간 동안 연구 대상자들을 대상으로 설문조사하였을 때 가려움 등의 환자가 호소하는 이상 반응 증상이 나타나지 않았다. 아울러 피부과 전문의에 의한 관찰 결과에서도 수포 등의 특별한 피부 이상 현상이 관찰되지 않았다.

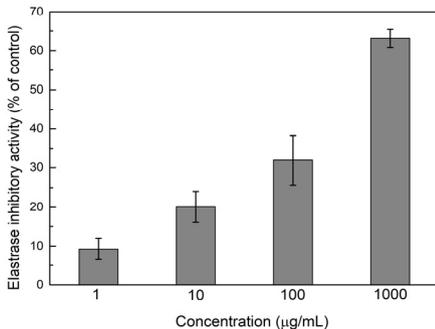


Fig. 4. Elastase inhibitory activity of DRE with increasing concentration. Probability  $p$ (Wilcoxon signed rank test, significant; \*\*  $p < 0.05$ )

### 3.5 주름개선 효과

3종의 시료 중 항산화 효과, 세포 생존율, 피부 안정성, 그리고 보습력 개선능을 바탕으로 골쇄보 추출물을 천연 한방화장품 원료의 우수 후보군으로 선정하여 주름개선 효과를 추가적으로 평가하였다. 엘라스틴은 피부 진피 구성물 중 피부의 탄력을 유지하는 핵심 단백질이다. 자외선 피폭 후 활성이 증가된 엘라스타제에 의한 엘라스틴의 구조 변형은 피부탄성을 저하시켜 주름살의 주요 원인으로 평가된다. 따라서 엘라스타제 기질인 STANA가 nitroanilide로 분해되면서 일어나는 변화를 측정하여 엘라스타제 활성억제 능력을 확인할 수 있다.

시험은 3 회 반복 실시한 후 각각의 결과값을 평균  $\pm$  표준편차로 나타내었으며, 엘라스타제 활성억제능 시험 결과 측정된 값은 각각 Kruskal Wallis test 후 Mann whitney U test 를 이용하여 Holm Bonferroni correction 보정을 실시하였다. 그 결과 Fig. 4에 나타난 것처럼 골쇄보 추출물의 엘라스타제 활성 억제능은 무처리군 대비 1  $\mu\text{g}/\text{mL}$  농도에서 5.47%, 10  $\mu\text{g}/\text{mL}$  농도에서 20.07%, 100  $\mu\text{g}/\text{mL}$  농도에서 31.94%, 1000  $\mu\text{g}/\text{mL}$  농도에서 63.13%였다. 처리농도 1  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 부터 1000  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 까지 범위에서 농도 의존적이며 통계적으로 유의미한 수준( $p < 0.05$ )을 나타내었으며, 골쇄보 추출물의 엘라스타제 활성억제( $\text{IC}_{50}$  661.228  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) 능력이 있음을 확인하였다.

### 3.6 제형안정성

골쇄보 추출물을 안정적이고 피부 흡수율을 최대화할 수 있는 제형을 찾기 위하여 유효법을 적용하여 화장품을 제조하였다. 피부 침투력과 생체내 전달력이 뛰어난 특성으로 원료의 흡수율을 높이는 데 효과적인 크림 형태의 제형으로 제조하여 점도와 pH의 변화를 평가하였다.

#### 3.6.1 점도 평가

Fig. 5에 나타난 것처럼 골쇄보 추출물 5%를 함유한 제형에서는 시료를 포함하지 않은 컨트롤에 비하여 제형을 제조한 시점에는 점도가 약간 낮게 나타났다. 이렇게 제조한 제형의 점도 변화를 30일 동안 측정한 결과 점도에 큰 변화가 발생하지 않았다. 아울러 컨트롤 제품과의 점도 차이도 거의 발생하지 않아 제형적으로 안정하다고 판단하였다.

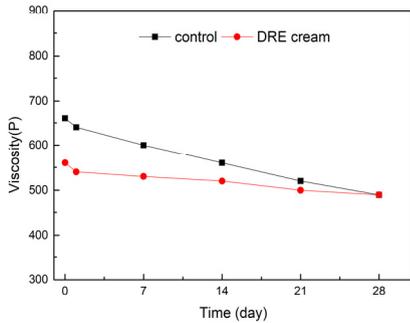


Fig. 5. Viscosity change on storage time.

### 3.6.2 pH 평가

30일 동안의 골쇄보 추출물 5%를 함유한 제형의 pH 변화를 측정된 결과 Fig. 6에 나타난 것처럼 pH 변화가 없는 것으로 나타나서 제형적으로 안정한 것으로 판단되었다.

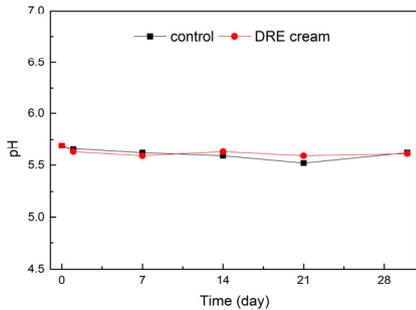


Fig. 6. pH change on storage time.

## 4. 결론

신규 기능성화장품 원료 발굴을 위해 3가지 한방원료의 특성을 평가하였다. 기존에 개발된 비자/초두구 혼합 추출물(TNAKE)을 포함하여 후박나무 추출물(MTE)과 골쇄보 추출물(DRE)을 평가하였다. 3종 추출물의 기능성 평가는 항산화 효과, 세포 생존율, 피부 안전성 및 보습 효과를 비교하였다. DPPH 항산화능의 경우 골쇄보 추출물은 100  $\mu\text{g/ml}$  에서 96.94%의 높은 항산화율을 나타내어 후박나무 추출물의 92.54%과 비자/초두구 혼합 추출물의 94.55% 보다 양호한 결과를 나타냈다. 세포 생존율은 골쇄보의 경우 10  $\mu\text{g/ml}$ 의 83.28%의 세포 생존율을 보임으로서, 후박나무의 10  $\mu\text{g/ml}$ 에서 109.34% 비

자/초두구 혼합물의 10  $\mu\text{g/ml}$ 에서 99.17%보다 낮았으나, 골쇄보의 피부 안전성을 측정한 결과 시험한 31명 전 원 자극이 관찰되지 않아 비자극 물질로 판정되었다. 수분함량 개선의 경우 골쇄보 추출물은 36.63%의 개선율을 나타내어 후박나무 추출물의 31.40% 및 비자/초두구 추출물의 19.18%에 비하여 보습 효과가 양호하였다. 이를 바탕으로 골쇄보 추출물은 엘라스타제 활성 억제능이 1  $\mu\text{g/ml}$  에서 1000  $\mu\text{g/ml}$  범위에서 농도 의존적이며 통계적으로 유의한 수준의 엘라스타제 억제활성(IC50 661.228  $\mu\text{g/ml}$ )을 나타내 주름개선에 효능이 있는 것을 확인하였다. 또한, 골쇄보 추출물 5%를 함유한 크림으로 제조하였을 때 시간에 따른 점도와 pH가 초기의 상태를 잘 유지함을 확인하여 제형적으로 안정하다고 평가되었다. 따라서 3종류의 한방원료 중에서 골쇄보 추출물이 향장 소재로서 가장 뛰어날 것으로 판단되었다.

## References

- [1] M. S. Gwak, "Analysis of Research Trends in Development of Functional Cosmetic Materials for Wrinkle Improvement", *J. of Beauty Art Management*, Vol. 11, No. 2, pp. 1-19, 2017. <https://papersearch.net/thesis/article.asp?key=3762310>
- [2] M. A. Jang, and J. M. Lee, "Research on domestic and international industrial trends of functional cosmetics," *J. of the Korean Applied Science and Technology*, Vol. 38, No. 2, pp. 618-627, 2021. <https://scholar.kyobobook.co.kr/article/detail/4010028273807>
- [3] S. Y. Nam, M. Y. Yun, and H. J. Choi, "Study on Recognition of Functional Cosmetics between Subjects of Major in Beauty and Non-beauty", *J. Kor. Soc. Cosmetol.*, Vol. 27, No. 2, pp. 506-512, 2021. DOI: <https://doi.org/10.52660/JKSC.2021.27.2.506>
- [4] S. J. Huh, W. K. Whang, and S. G. Kim, "A Study on Application for Cosmeceutical Ingredient of Nine Crude Drugs", *Asian J. of Beauty and Cosmetol.*, Vol. 7, No. 3, pp. 85-94, 2009. <http://www.dbpia.co.kr/journal/articleDetail?nodeId=NODE09016376>
- [5] K. S. Kang, I. D. Kim, R. H. Kwon, Y. Y. Heo, S. H. Oh, M. A. Kim, H. J. Jung, H. Y. Kang, and B. J. Ha, "The Evaluation of Anti-wrinkle Effects in Oriental Herb Extract", *J. of Life Science*, Vol. 17, No. 8, pp. 1147-1151, 2007. <http://koreascience.or.kr/article/JAKO200736038130780.page>
- [6] H. S. Kim, and K. S. Ko, "Antioxidant and Anti-inflammatory Effects of Ginseng Berry Ethanol

- Extracts as a Cosmetic Ingredient”, *Asian J. of Beauty and Cosmetol.*, Vol. 18, No. 3, pp. 389-397, Sept. 2020.  
DOI: <https://doi.org/10.20402/ajbc.2020.0052>
- [7] B. H. Kang, and M. J. Ryu, “Physiological Activities of the Neem and the Comfrey Extracts as Cosmetic Ingredients”, *Asian J. of Beauty and Cosmetol.*, Vol. 19, No. 2, pp. 223-234, June 2021.  
DOI: <https://doi.org/10.20402/ajbc.2021.0165>
- [8] H. W. Kim, D. S. Kim, N. Y. Sung, I. J. Han, B. S. Lee, S. Y. Park, J. E. J. Y. Suh, J. H. Park, A. R. Yu, and J. S. Kim, “Development of Functional Cosmetic Material Using a Combination of Hippophae rhamnoides Fruit, Rubus fruticosus Leaf and Perillae folium Leaf Extracts”, *Asian J. of Beauty and Cosmetol.*, Vol. 17, No. 4, pp. 477-488, 2019.  
<https://www.e-ajbc.org/journal/view.php?doi=10.20402/ajbc.2019.0319>
- [9] H. S. Kim, and K. S. Ko, “Antioxidant and Anti-inflammatory Effects of Ginseng Berry Ethanol Extracts as a Cosmetic Ingredient”, *Asian J. of Beauty and Cosmetol.*, Vol. 18, No. 3, pp. 389-397, 2020  
<https://www.e-ajbc.org/upload/pdf/ajbc-18-3-389.pdf>
- [10] M. S. Seo, Y. A. Jang1, and J. T. Lee, “The Study of Cosmeceutical Activities from Lentinula edodes extracts and Application a Natural Cosmetic Material”, *J. of Oil & Applied Science*, Vol.35, No. 4, pp. 1003-1012, Dec. 2018.  
DOI: <https://doi.org/10.12925/jkocs.2018.35.4.1003>
- [11] S. Y. Soh, and Y. J. Chun, “Cosmeceutical Properties of Extracts of Torreya nucifera and Alpinia henryi and Formulation Characteristics of Mask Pack Containing Extracts of These”, *J. of the Kor. Academia-Industrial cooperation Soc.*, Vol. 21, No. 8, pp. 36-43, Aug. 2020.  
DOI: <https://dx.doi.org/10.5762/KAIS.2020.21.8.36>
- [12] M. Y. Kang, S. H. Lee, S. W. Lee, S. W. Cha, J. L. Song, S. C. Lee, “Effect of Achyranthis Radix and Drynariae Rhizoma Extracts on Antioxidant Activity and Antioxidant Enzymes”, *Korean Journal of Plant Resources*, Vol.28, No. 5, pp. 600-607, 2015.  
DOI: <https://doi.org/10.7732/kjpr.2015.28.5.600>
- [13] N. I. Kim, M. H. Choi, H. J. Shin, “Antioxidant and Anti-inflammatory Effects of Machilus thunbergii Leaves and Branch Extracts with Different Extraction Methods”, *Korean Society for Biotechnology and Bioengineering*, Vol. 35 No. 4, pp.310-318, 2020.  
[https://www.dbpia.co.kr/journal/articleDetail?nodeId=NODE10518474&language=ko\\_KR&hasTopBanner=true](https://www.dbpia.co.kr/journal/articleDetail?nodeId=NODE10518474&language=ko_KR&hasTopBanner=true)
- [14] H. W. Sim, and Y. W. Cho, “Melanogenesis Inhibitory Effect of the Drynaria fortunei Rhizome Extract”, *Kor. Soc. of Cosmetics and Cosmetology*, Vol. 08, No.3, pp.367-378, Dec. 2018.  
<https://www.kci.go.kr/kciportal/ci/sereArticleSearch/ciSereArtiView.kci?sereArticleSearchBean.artiId=ARTO02429557>
- [15] H. S. Kwon, K. D. Lee, S. C. Kim and S. J. Cho, “Tyrosinase Inhibitory Activities of Meso-dihydroguaiaretic Acid from Machilus thunbergii”, *J. of Life Science*, Vol. 25, No. 11, pp. 1298-1303, 2015.  
DOI: <http://dx.doi.org/10.5352/JLS.2015.25.11.1298>
- [16] K. J. Wang, Y. J. Zhang, and C. R. Yang, “Antioxidant phenolic compounds from rhizomes of Polygonum paleaceum”. *J. Ethnopharmacology*, Vol. 96, No. 3, pp. 483-487, Jan., 2005.  
DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jep.2004.09.036>

전 영 상(Young-Sang Chun)

[중신회원]



- 2022년 2월 : 고려대학교 바이오 마이크로시스템 (공학박사)
- 2022년 3월 ~ 현재 : 동양미래대학교 바이오융합공학과 조교수

<관심분야>

바이오매스, 기능성소재, 효소공정, 화장품

곽 호 석(Ho-Seok Kwak)

[정회원]



- 2017년 2월 : 고려대학교 화공생명공학과 (공학박사)
- 2017년 3월 ~ 2017년 8월 : 고려대학교 융합화공시스템연구소 연구교수
- 2017년 9월 ~ 현재 : 동양미래대학교 바이오융합공학과 조교수

<관심분야>

미세조류, 미세유체 시스템, 배양공정, CO2 저감

소 순 영(Soon-Young Soh)

[정회원]



- 1999년 2월 : 충남대학교 공업화학  
학과 (공학박사)
- 1985년 3월 ~ 2012년 3월 : 한화  
케미칼 연구임원
- 2012년 12월 ~ 2014년 2월 :  
Univ. of Dar es Salaam  
(Tanzania) Advisor
- 2015년 4월 ~ 현재 : 청운대학교 화학공학과 부교수

<관심분야>

화학제품 개발, 공정최적화, 화장품

---

전 용 진(Yong-Jin Chun)

[중신회원]



- 1994년 2월 : 고려대학교 화학공  
학과 (공학박사)
- 1986년 7월 ~ 1994년 2월 :  
KIST 화학부, TBC
- 1994년 3월 ~ 1997년 2월 : 해전  
대학 공업화학학과 조교수

- 2009년 7월 ~ 2010년 7월 : Dept. of Biomol. &  
Chem. Eng., Clemson Univ. 방문교수
- 1997년 3월 ~ 현재 : 청운대학교 화학공학과 교수

<관심분야>

유기합성, 친환경소재, 화장품