

黃連의 생리활성검증 및 화장품 소재로서의 이용 가능성

안봉전^{**}, 이진태, 이창언, 김준홍, 손준호, 광재훈, 이진영, 박태순, 배호정, 장민정, 조철훈¹

대구한의대학교 화장품약리학과, 1 : 한국원자력연구소 방사선연구원

A Study on Physiological Activities of Coptidis Rhizoma and Application for Cosmetic Ingredients.

Bong-Jeun An^{**}, Jin-Tae Lee, Chang-Eon Lee, Jun-Hong Kim, Jun-Ho Son, Jae-Hoon Kwak, Jin-Young Lee, Tae-Soon Park, Ho-Jung Bae, Min-Jung Jang, Cheol-hun Jo¹

Dept. of Cosmeceutical Science, Daegu Haany University,
1 : Advanced Radiation Technology Institute, Jeonbuk

ABSTRACT

Objectives : The physiological activities of Coptidis Rhizoma investigated for application as a cosmetic ingredients.

Methods : We were experimented anti-oxidation effect, growth inhibition ability on cancer cells, antibacterial activity on various kinds of bacteria of skin.

Results : The results were obtained as follows : Electron-donating ability(EDA) shows that Coptidis Rhizoma extracted with ethanol(94.51%) gives higher EDA in comparison to that extracted with water in 1000 ppm(63.24%). In the test of SOD-like activity, ethanol extract showed quite more activity with 81.01% in 1000 ppm, while water extract was low in 18.22%. In the inhibition activity of Xathine oxidase, ethanol extract showed higher inhibition activity compared to water extract. In measuring lipid oxidation inhibition ability using fish oil, ethanol extract in 100 ppm showed prominent ability. In the oxidation inhibition effect added with Cu²⁺ ion and Fe²⁺ ion as a oxidation promoter, ethanol extract in 1000 ppm, each in the proportion of 90% and 92%, showed high oxidation inhibition effect compared with water extract.

Conclusions : The results indicated that, ethanol extract which is superior in its anti-oxidation and antibacterial effect is useful to be applied in cosmetic industry.

Key words : Coptidis Rhizoma, Electron-donating ability(EDA)

^{**}제1저자, 교신저자 : 안봉전, 경북 경산시 유곡동 290번지 대구한의대학교 화장품약리학과
· Tel : 053-819-1429 · E-mail : anbj@dhu.ac.kr
· 접수 : 2005년 7월 26일 · 수정 : 2005년 9월 9일 · 채택 : 2005년 9월 20일

서 론

미나리아재비과의 여러해살이 초본식물인 황련(*Coptis Rhizoma*, 黃連)은 중국이 원산이며 생약용으로 한국, 일본, 중국 등지에서 재배하기도 한다. 산지의 수림 그늘의 습진 땅에 주로 서식하고, 땅속줄기는 굵고 옆으로 뻗어 많은 수염뿌리가 나고, 줄기 끝에 뿌리 잎 4~5개가 나며, 전체 길이는 10~27cm 정도이다¹⁾. 황련은 줄기와 땅속줄기의 단면이 짙은 황색인데서 붙여진 이름이며, 한방에서는 11월경에, 5~6년 된 황련·일황련의 뿌리를 채취하여 햇볕에 말린 것을 황련(黃連)이라 하며, 특이한 냄새를 가지고, 그 맛은 쓰며, 성질은 차다²⁾.

황련의 성분들로는 isoquinoline계 alkaloid인 berberin, jatrorrhizine, palmatine, coptisine, magnoflorine, epiberberin, berbestine, worenine, 및 ferulic acid 등이 함유되어 있으며³⁾, 그 중 주성분인 berberin은 용혈성연쇄구균, 흉막염균, 폐렴쌍구균, 콜레라균, 탄저병균 및 황색포도상구균에 대해 강한 억제효과를 나타내고, 적리균, 디프테리아균, 고초균, 녹색연쇄구균에 대해서는 억제효과를 나타내며, 폐렴간균, 백일해병균, 페스트균, 브루셀라균, 파상풍균 및 결핵균에 대해서도 유효할 정도의 억제효과가 알려져 있다. 그 외에도 항염증, 지혈, 혈압강하작용, 항암작용 등이 있는 것으로 알려져 있으며, 중추신경억제작용, 신장염의 치료효과 등이 보고된 바 있다^{4,5)}.

화장품 산업에 사용되는 항산화제의 경우 피부에 안전하며, 외부조건에 안정성이 확보되어야 하고, 화장품 원료들과의 상용성 또한 우수하여야 한다. 그러나 천연 항산화제들의 경우 자체 안정성이 떨어져 제형 이용에 어려움이 있으며, 합성 항산화제는 항산화 효과가 우수하고, 제형내 안정성 또한 좋으나 최근 그 변이원성 및 독성이 부각되면서 보다 안전하고 활성이 강한 천연물 유래 항산화제의 개발이 요구되고 있는 실정이다⁶⁻⁸⁾. 이에 본 연구에서는 한의학적으로 그 효능이 입증된 황련을 이용하여 항산화 활성을 검증하며, 더 나아가 화장품으로 이용가능성 및 그 생리활성 효과를 검토하였다.

재료 및 방법

1. 재료

1) 실험재료

본 실험에 사용된 황련(*Coptidis Rhizoma*)은 대구 약령시장에서 구입하여 물로 세척하고 음건 후 사용하였으며, 시료의 추출은 Fig. 1 과 같이 나타내었다. 열수 추출의 경우 시료에 10배 양의 증류수를 첨가하여 80°C에서 3시간 환류 냉각 추출하였으며, 에탄올 추출물의 경우 80% 에탄올에 침지하여 상온에서 24시간 방치하여 추출하였다. 각 추출물을 원심 분리하여 상층액을 취하는 과정을 3회 반복하였으며, 상층액을 감압 농축하여 동결 건조 후 본 실험의 시료로 사용하였다.

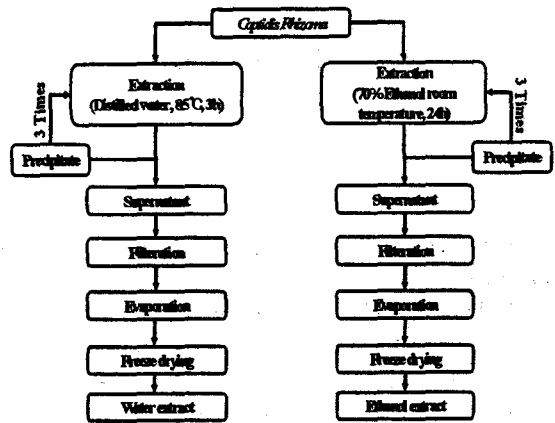


Fig. 1. A procedure for extraction from medical plants.

2. 실험방법

1) 전자공여능 측정

추출물의 전자공여능(electron donating ability: EDA)은 Blois의 방법⁹⁾을 변형하여 실시하였다. 각 시료용액 2.0 ml에 2×10^{-4} M의 α - α -diphenyl- β -picrylhydrazyl(DPPH) 1.0 ml 넣고 교반한 후 30분간 방치한 다음 517 nm에서 흡광도를 측정하였다. 전자공여능은 시료용액의 실험구와 대조구의 흡광도 감소율로 나타내었다.

$$\text{전자공여능(\%)} = \left(1 - \frac{\text{시료첨가구의 흡광도}}{\text{무첨가구의 흡광도}} \right) \times 100$$

2) Superoxide dismutase(SOD) 유사활성 측정

SOD 유사활성은 Marklund의 방법¹⁰⁾에 따라 실시하였다. 각 시료용액 0.2 ml에 Tris-HCl의 완충용액(50 mM Tris + 10mM EDTA, pH 8.5) 2.6 ml와 7.2mM pyrogallol 0.2 ml 가하여 25 °C에서 10분간 반응시킨 후 1.0N HCl 0.1 ml를 가하여 반응을 정지시키고 반응액 중 산화된 pyrogallol의 양을 420 nm에서 측정하였다. SOD 유사활성은 시료용액의 실험구와 대조구의 흡광도 감소율로 나타내었다.

$$\text{SOD 유사활성능(\%)} = \left(1 - \frac{\text{시료첨가구의 흡광도}}{\text{무첨가구의 흡광도}} \right) \times 100$$

3) Xanthine oxidase 저해활성 측정

Xanthine oxidase 저해활성 측정은 Stirpe와 Corte의 방법¹¹⁾에 따라 반응구는 0.1 M potassium phosphate buffer(pH 7.5) 0.6 ml에 xanthine(2mM)을 녹인 기질액 0.2 ml에 시료용액 0.1 ml과 xanthine oxidase(40 mU/ml) 0.1 ml를 가하고 37°C에서 5분간 반응시킨 후 1N HCl 1.0 ml를 가하여 반응을 종료시킨 다음 반응액 중에 생성된 uric acid를 흡광도 292 nm에서 측정하여 다음의 식으로 저해율을 구하였다.

$$\text{저해율(\%)} = \left(1 - \frac{\text{반응구의 uric acid}}{\text{대조구의 uric acid}} \right) \times 100$$

4) Tiobarbituric acid reactive substances (TBARS) 측정

Tiobarbituric acid reactive substances(TBARS)는 Buege와 Aust의 방법¹²⁾에 따라 측정하였다. pH 6.5로 보정한 0.1M maleic acid buffer 8.0 ml를 넣은 다음 0.05ml의 Tween-20과 0.25 ml의 fish oil을 넣고 15분간 교반 후 KOH 2~3조각을 넣고 150 ml까지 물을 가한 후 교반 하면서 2 M HCl로 pH 6.5가 되도록 조절하여 사용한 oil emulsion 용액 1.0 ml을 37°C 수욕상에서 1시간 동안 반응시켰다. 반응이 끝나자마자 0.05 ml dibutylhydroxytoluens(BHT) 7.2%를 시료에 가하여 산화반응을 정지 시켰다. 반응 혼합물을 잘 섞은 다음

2.0ml TCA/TBA 시약을 가하고 다시 혼합한 후 끓는 물에서 15분간 끓인 다음 원심분리 시켜 상청액을 흡광도 531 nm 에서 측정하였고, 대조군은 시료대신 증류수를 가하여 같은 방법으로 측정하였다.

$$\text{저해율(\%)} = \left(1 - \frac{\text{시료첨가구의 흡광도}}{\text{무첨가구의 흡광도}} \right) \times 100$$

5) Base skin softener의 응용 및 안정성 실험

Base skin softener의 기본처방은 Table 1,2의 방법으로 시중에 널리 사용되는 보습제 3종류를 사용하여 조제하였다. 각 Base skin softener에 대한 보습제의 양은 전체 volume의 2%가 되게 하였고, 황련추출물의 양은 생리활성 실험에 필요한 농도를 맞추기 위해 전체 양에서 적절한 양만큼 녹여서 제조하였으며, D.I.-water의 양은 전체 volume에서 잔량을 사용하였고, Base skin softener의 pH는 5~6을 유지하였다.

(1) Base skin softener의 전자공여능 실험

황련추출물의 항산화력에 대한 Base skin softener의 안정성에 관한 실험으로 추출물이 함유된 Base skin softener의 전자공여능 비교측정은 생리활성 측정실험 방법과 동일하게 측정하였다.

Table 1. Experimental formulation-1 for base skin-softener

Ingredients	Contents(% W/W)
1,3-Butylene glycol	2.0
Alcohol	20.0
Citric acid	0.04
Sodium citrate	0.10
Extracts	1.0
Distilled water	Fill to 100

Table 2. Experimental formulation-2 for base skin-softener

Ingredients	Contents(% W/W)
Glycerin	2.0
Alcohol	20.0
Citric acid	0.04
Sodium citrate	0.10
Extracts	1.0
Distilled water	Fill to 100

(2) Base skin softner의 SOD 유사활성 실험

황련추출물의 항산화력에 대한 Base skin softner의 안정성에 관한 실험으로 추출물이 함유된 Base skin softner의 SOD 유사활성 비교측정은 생리활성 측정실험 방법과 동일하게 측정하였다.

(3) Base skin softner의 Xanthine oxidase 저해활성 실험

황련추출물의 항산화력에 대한 Base skin softner의 안정성에 관한 실험으로 추출물이 함유된 Base skin softner의 xanthine oxidase 저해활성 비교측정은 생리활성 측정실험 방법과 동일하게 측정하였다.

3. 통계처리

본 연구의 통계처리는 SPSS 10.0 for windows program을 사용하였으며, 유의차 검출은 분산분석(ANOVA: analysis of variance)을 한 후 $p=0.05$ 수준에서 Duncan의 다중검증법(DMRT: Duncan's multiple range test)에 따라 분석하였다.

실험결과 및 고찰

1. 전자공여능 측정

황련 추출물에 대한 전자공여능을 측정한 결과는 Fig. 2과 같이 나타났다. 황련 열수 및 에탄올 추출물 모두 시료 농도가 증가함에 따라 전자공여능이 높게 나타났으며, 시료 농도 모두 에탄올 추출물이 열수 추출물에 비하여 유의적으로 높은 결과를 나타내었다 ($p<0.05$). 시료농도 100 ppm의 경우, 열수 추출물이 15.1%를 나타내었으며, 에탄올 추출물이 27.25%로 나타내었다. 시료농도 1000 ppm의 경우, 에탄올 추출물이 94.51%로 열수 추출물의 63.25% 비하여 높게 나타났다. 이는 황련의 에탄올 추출물이 열수 추출물에 비하여 산화 억제 효과가 높은 것으로 나타났다.

이러한 전자공여능 측정에 사용된 1,1-diphenyl-2-picryl-hydrazyl (DPPH)는 안정한 자유 라디칼로서 그것의 비공유전자로 인해 517 nm 부근에서 최대 흡수치를 나타내며, 전자 또는 수소를 받으면 517 nm 부근에서 흡광도가 감소하며 각 추출물에서 이러한 라디칼을 환원시키거나 상쇄시키는 능력이 크면 높은 항산화 활성 및 활성 산소를 비롯한 다른 라디칼에 대한 소거 활

성을 기대할 수 있으며 인체 내에서 활성 라디칼에 의한 노화를 억제하는 척도로도 이용할 수 있다¹³⁾. 따라서 본 실험에 사용한 황련 추출물 역시 라디칼 소거 기능을 가짐을 알 수 있었으며, Kang 등¹⁴⁾의 술잎 열수 추출물의 전자공여능 값 80.9%에 비하여 황련 열수 추출물이 다소 낮은 값을 나타내었으며, 에탄올 추출물의 경우, Kim 등¹⁵⁾이 보고한 술잎 에탄올 추출물의 74.4%의 전자공여능 값에 비하여 높은 결과를 나타내었다. 이러한 결과로 보아 황련의 열수 추출물 및 에탄올 추출물이 항산화 효과가 있음을 알 수 있었다.

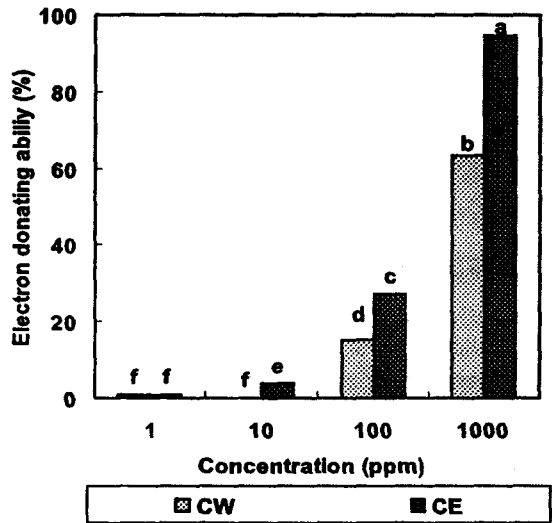


Fig. 2. Electron donating ability of Coptidis Rhizoma extracts. Values are means of 3 replicates and those with different alphabet letters are significantly different at $p < 0.05$. □: Coptidis Rhizoma water extract, ■: Coptidis Rhizoma ethanol extract.

2. SOD 유사활성 확인

황련 추출물의 농도별 SOD 유사활성은 각 추출물 모두 Fig. 3와 같이 100 ppm에서는 활성이 미비하였으나, 1000 ppm의 경우 열수 추출물의 경우 18.22%로 나타내었으며, 에탄올 추출물의 경우 81.01%로 매우 높은 결과를 나타내었다. 이는 열수 추출물에 비하여 에탄올 추출물의 항산화 효과가 뛰어난 것을 알 수 있었으며, 에탄올 추출물의 경우 Hong 등¹⁶⁾의 과실, 과채류의 착즙액의 SOD 유사활성에서 사과 착즙액에 대하여 14.6%, 케일 농축액에 대하여 26.7%, 키위 착즙액에 대하여 27.6%, 무 착즙액에 대하여 24.1%의 활성을 나타내었으며, 열수 추출물의 경우에도 비슷한 결과를 나타내는

반면, 에탄올 추출물의 경우 매우 높은 SOD-유사활성을 나타냄을 알 수 있었다.

3. Xanthine oxidase 저해활성 측정

황련 추출물의 xanthine oxidase 저해 활성을 살펴본 결과 Fig. 4과 같이 나타났다. 시료 농도 모두 열수 추출물에 비하여 에탄올 추출물이 유의적으로 높은 결과를 나타내었으며, 100 ppm의 경우 에탄올 추출물은 9.14%로 열수 추출물의 5.29%에 비하여 유의적으로 높은 결과를 나타내었다($p < 0.05$). 시료 농도 1000 ppm의 경우 에탄올 추출물이 18.89%로 열수 추출물의 6.95%에 비하여 유의적으로 높은 결과를 나타내었으며 ($p < 0.05$), 이는 김 등¹⁷⁾의 해조류 추출물의 xanthine oxidase 저해율과 비교하여, 감태 및 곰피의 76.1%, 63.9%에 비하여 다소 낮은 결과를 나타내었다. Xanthine oxidase는 purine 대사에 관여하는 효소로서 xanthine 또는 hypoxanthine으로부터 urate를 형성하며 urate가 혈장 내에 증가되면 골절에 축적되므로 통증을 동반하는 통풍을 일으키는 효소로 알려져 왔다^{18,19)}.

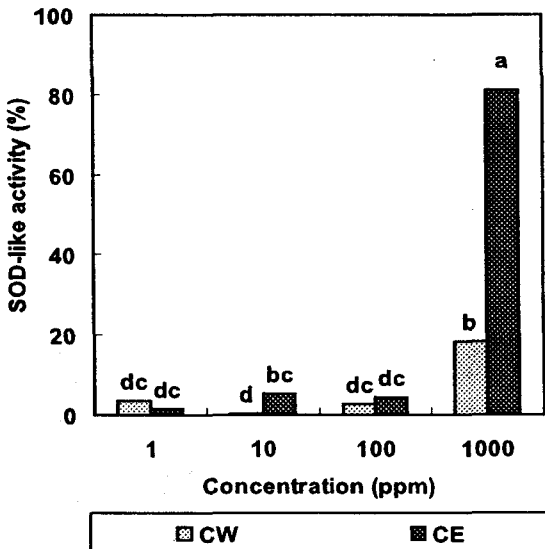


Fig. 3. SOD-like activity of *Coptidis Rhizoma* extracts. Values are means of 3 replicates and those with different alphabet letters are significantly different at $p < 0.05$. [hatched]: *Coptidis Rhizoma* water extract, [solid black]: *Coptidis Rhizoma* ethanol extract.

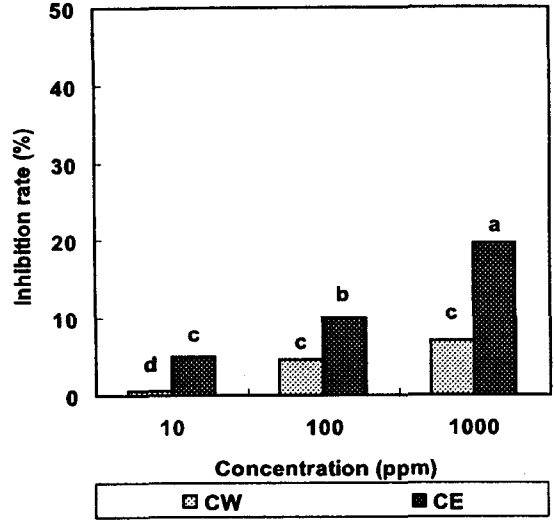


Fig. 4. Inhibition rate of *Coptidis Rhizoma* extracts on xanthine oxidase. Values are means of 3 replicates and those with different alphabet letters are significantly different at $p < 0.05$. [hatched]: *Coptidis Rhizoma* water extract, [solid black]: *Coptidis Rhizoma* ethanol extract.

4. 경시적 지방산패 억제능 확인

황련 추출물의 fish oil에 대한 지방산패 억제능을 측정한 결과 대조구의 경우 경시적으로 지방 산패가 증가하였으며, 황련 물 및 에탄올 추출물 모두 1 ppm을 제외한 모든 농도에서 Fig. 5와 같이 저장기간이 경과할수록 대조구에 비하여 낮은 흡광도를 나타냈다. 저장기간 24시간에서 열수추출물의 경우, 대조구의 1.83의 흡광도에 비하여 1000 ppm에서 0.16의 흡광도로 높은 지방산패 억제능을 나타내었으며, 에탄올 추출물의 경우, 100 ppm에서 대조구의 1.51의 흡광도에 비하여 0.08의 흡광도로 열수 추출물에 비하여 더 낮은 농도에서 지방 산패 억제능을 나타내었다. 저장기간 48시간에서 물 및 에탄올 추출물 모두 시료 농도 1000 ppm에서 대조구인 2.68, 2.78의 흡광도에 비하여 0.3 이하의 흡광도로 높은 지방산패 억제를 나타내었으며, 100 ppm의 경우 에탄올 추출물이 0.29로 열수 추출물의 2.02에 비하여 더 높은 지방 산패 억제능을 나타냈다.

천연물에 대한 항산화 연구로는 주로 천연향신료에 대한 연구가 많아 rosemary, sage, thyme 등이 다른 향신료들에 비하여 높은 항산화 활성을 갖는 것으로 보고²⁰⁾ 되고 있으며, 오레가노에 존재하는 flavonoid는 BHT와 비슷한 항산화 효과가 있다고 보고²¹⁾ 되었으며, 붉나무²²⁾ propolis²³⁾, 소목 추출물²⁴⁾이 다른 식물자원보다 항

산화 활성이 높다고 보고 되고 있다. 여러 종류의 천연물이 항산화성이 있음이 보고 되었고, 황련 추출물 또한 지방 산패에 대하여 항산화 효과가 있음이 확인되었다.

5. Fe²⁺, Cu²⁺의 첨가에 따른 지방 산패 억제능 확인.

산화촉진제 인 Fe²⁺, Cu²⁺ 이온첨가에 따른 지방 산패 억제능 측정 결과 Fig. 6, 7과 같이 나타내었다. 전반적으로 Fe²⁺보다 Cu²⁺이온의 포집 능력이 뛰어나고, 시료농도가 증가함에 따라 금속이온 포집능이 유의적으로 증가하였다(p<0.05). Fe²⁺이온의 경우 시료농도 100 ppm에서 에탄올 추출물에 대하여 37.89%, 열수 추출물에 대해서 21.85%를 나타내었으며, 1000 ppm에서는 에탄올 추출물이 88.8%로 열수 추출물의 73.2%에 비하여 유의적으로 높은 결과를 나타내었다(p<0.05). Cu²⁺의 경우 시료농도 100 ppm에서 에탄올 추출물에 대하여 48.7%, 열수 추출물에 대하여 11.78%를 나타내었으며, 1000 ppm에서는 에탄올 추출물이 90.92%로 열수 추출물의 81.37%에 비하여 유의적으로 높은 결과를 나타내었다(p<0.05). 항산화제의 역할은 크게 금속이온의 착염화 기능, superoxide dismutase(SOD) 활성과 superoxide dismutase(SOD) 유사활성 물질에 의한 자유 라디칼 포집력으로 라디칼 반응을 종결시키는 것으로 보고 되고 있다²⁵. 또한, Fe²⁺이온 의존성 유리 라디칼 형성 반응계에는 Fe²⁺이온에 의해 생성된 산소라디칼이 수소이온과 과산화수소를 생성하는데²⁶, 이 반응에서 유발된 라디칼 및 H₂O₂가 모두 지질의 산화에 작용할 수 있으며, 특히 hydroxyl radical에 의해 주로 산화가 진행될 것으로 사료된다.

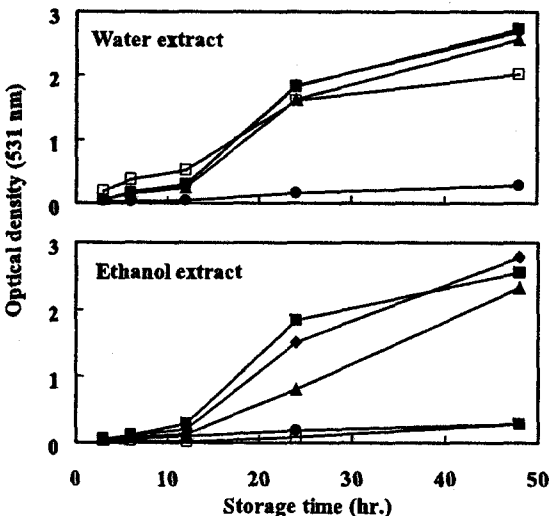


Fig. 5. Effect of Coptidis Rhizoma extracts on lipid oxidation in fish oil emulsion. ◆ : control, ■ : 1 ppm, ▲ : 10 ppm, □ : 100 ppm, ● : 1000 ppm.

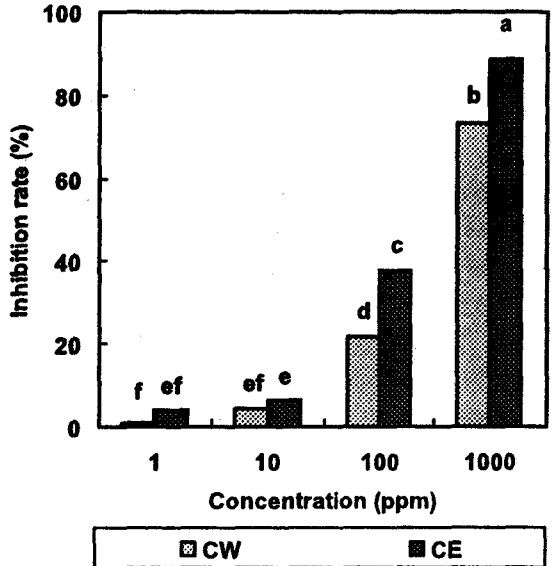


Fig. 6. Effect of Coptidis Rhizoma extracts reacted with Fe²⁺ ion on lipid oxidation in fish oil emulsion. Values are means of 3 replicates and those with different alphabet letters are significantly different at p<0.05. □ : Coptidis Rhizoma water extract, ■ : Coptidis Rhizoma ethanol extract.

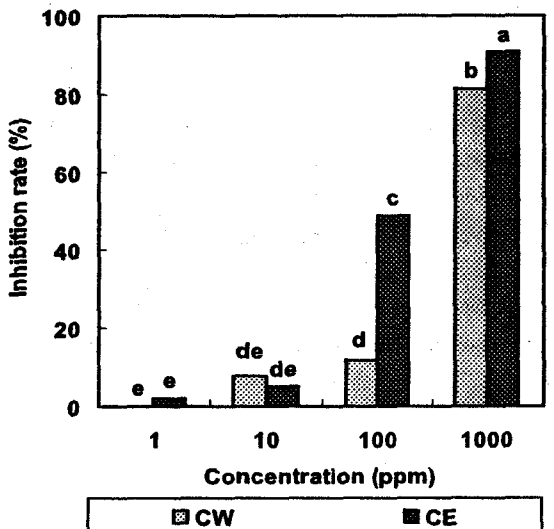


Fig. 7. Effect of Coptidis Rhizoma extracts reacted with Cu²⁺ ion on lipid oxidation in fish oil

emulsion. Values are means of 3 replicates and those with different alphabet letters are significantly different at $p < 0.05$. □: Coptidis Rhizoma water extract, ■: Coptidis Rhizoma ethanol extract.

6. Base skin-softener에의 응용 및 안정성 실험

황련이 항산화효과와 지방산화 억제효과를 나타냄에 따라 황련의 열수 및 에탄올 추출물을 1% 첨가하여 화장품 응용 시 항산화능에 미치는 영향을 관찰하기 위하여 화장수를 제조하였다. 보습제를 달리한 base skin-softener에 황련을 첨가하여 그 항산화능을 측정하였다. 먼저 보습제로 첨가된 1,3-butylene glycol(BG)는 Dow corning (Dow Chemical Co., Ltd. Midland, MI, USA) 및 glycerin(G)는 LG Chemical (LG Chem, Ltd. Dae-Jeon, Korea) 에 대한 특성을 살펴보면, 1,3-BG의 구조는 $CH_3CHCH_2CH_2OH$ 이며 아세트 알데히드의 알돌 축합물을 수소첨가해서 얻어지는 물질이다. 적절한 습윤성, 양호한 용해성 및 항균성을 가지며 피부에 대하여 자극이 없고 독성이 대단히 낮기 때문에 화장품 원료로서 사용되고 있다. 1,3-BG는 G보다도 상대적으로 가벼운 사용감과 끈적임도 적기 때문에 각종 크림, 유액, 에어졸 제품, 치약 등에서 보습제, 용제, 향료의 보류제 등으로 널리 사용되고 있다. 또 담배, 셀로판, 비닐론 필름등의 습윤제로도 사용되고 있다. 1,3-BG의 성상은 무색 투명의 끈끈한 액체이고 냄새는 거의 없으며 맛은 약간 달고 흡습성이 있다. G는 $C_3H_8O_3$ 의 구조를 가지며 글리세린 함유량 95% 이상을 진한 글리세린이라 하고 함유량 84~87%를 보통 글리세린이라고 한다. 주로 보습제로서 제품의 경화, 점도를 장기간 보정시키는 목적이 있고 또는 피부에 대하여 유연제, 제품의 퍼짐성, 미끄러짐을 좋게 하는 목적으로 화장품에 대부분 사용되어진다. 무색의 점성이 있는 맑은 액으로 냄새는 없고 맛은 달며 물과 알콜에는 용해되지만 에테르, 탄화수소에는 용해되지 않는다.

1) base skin-softener의 전자공여능 확인

황련의 화장품 응용시 항산화능에 미치는 영향을 관찰하기 위하여 보습제를 달리하여 사용한 황련 추출물의 전자공여능 측정 결과를 Fig. 8과 같이 나타내었다. 보습제를 달리한 황련의 전자공여능은 농도가 증가함에 따라 전자공여능이 증가 하였으며, 시료 농도 1000 ppm의 경우 시료 모두 80%이상의 전자공여능을 나타내었

다. 에탄올 추출물의 경우 보습제를 달리하여 전자공여능을 측정 한 결과 보습제에 대한 유의 적인 차이는 나타내지 않았으며, 열수 추출물의 경우 100 ppm에서 보습제에 대한 유의적인 차이는 나타내지 않았다($p < 0.05$). 이는 앞서 실험한 황련의 전자공여능과 비슷한 결과를 나타내어 base skin-softener에 황련 추출물을 이용시 모든 보습제에 대하여 전자공여능에 미치는 영향이 적으며 비교적 안정적인 결과로 나타내었다

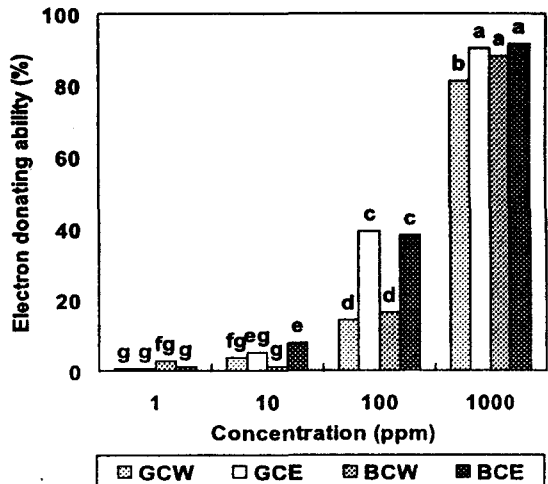


Fig. 8. Stability of electron donating ability of Coptidis Rhizoma extracts in base skin softener. Values are means of 3 replicates and those with different alphabet letters are significantly different at $p < 0.05$. □: Coptidis Rhizoma water extract solved glycerin, □: Coptidis Rhizoma ethanol extract solved glycerin, ■: Coptidis Rhizoma water extract solved butylene glycol, ■: Coptidis Rhizoma ethanol extract solved butylene glycol.

2) base skin-softener의 SOD-유사활성 검증

황련의 화장품 응용시 항산화능에 미치는 영향을 관찰하기 위하여 보습제를 달리하여 사용한 황련 추출물의 SOD-유사활성 측정 결과를 Fig. 9과 같이 나타내었다. 보습제를 달리한 황련의 SOD-유사 활성은 농도가 증가함에 따라 SOD-유사활성이 증가하였고, 시료 모두 보습제에 따른 유의적인 차이는 나타내지 않았다 ($p < 0.05$). 시료 농도 1000 ppm의 경우 에탄올 추출물이 모든 보습제에 대하여 약 80% 이상의 SOD-유사활성을 나타내었으며, 열수 추출물은 모든 보습제에 대하여 약 12% 이상의 효과를 나타내었다. 이는 황련을 이용한

base skin-softener의 SOD-유사활성이 모든 시료 농도에서 BG 및 G에 대해 비교적 안정적인 것으로 나타내었다.

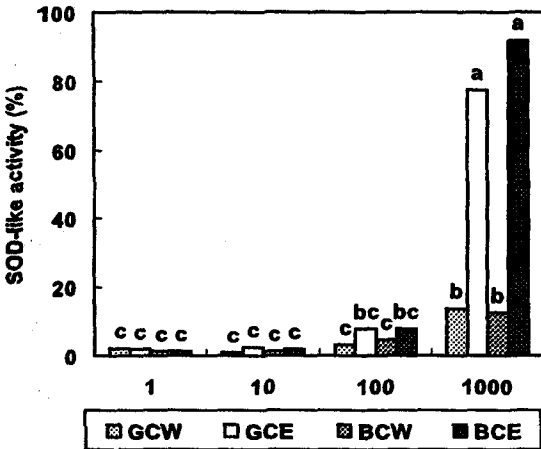


Fig. 9. Stability of SOD-like activity of Coptidis Rhizoma extracts in base skin softener. Values are means of 3 replicates and those with different alphabet letters are significantly different at $p < 0.05$.
 □: Coptidis Rhizoma water extract solved glycerin,
 □: Coptidis Rhizoma ethanol extract solved glycerin,
 ■: Coptidis Rhizoma water extract solved butylene glycol,
 ■: Coptidis Rhizoma ethanol extract solved butylene glycol.

3) base skin-softener의 Fe^{2+} , Cu^{2+} 의 첨가에 따른 지방 산패 억제능 확인

황련의 화장품 응용 시 항산화능에 미치는 영향을 관찰하기 위하여 보습제를 달리하여 사용한 황련 추출물의 Fe^{2+} , Cu^{2+} 이온첨가에 따른 지방 산패 억제능 측정 결과 Fig. 10, 11과 같이 나타났다. 보습제를 달리한 황련의 Fe^{2+} , Cu^{2+} 이온첨가에 따른 지방 산패 억제능은 Cu^{2+} 의 경우 보습제 G를 이용한 열수 추출물 및 에탄올 추출물이 각각 39.03% 및 60.82%로 보습제 BG를 이용한 66.95% 및 80.57%로 유의적으로 낮은 결과를 나타내었으나, 황련 추출물만을 이용한 Cu^{2+} 이온 봉쇄 작용과 큰 차이를 나타내지 않았다($p < 0.05$). Fe^{2+} 의 경우 1000 ppm에서 시료 모두 보습제에 따른 유의적인 차이는 나타내지 않았으며, 100 ppm에서 황련 추출물만을 이용한 Fe^{2+} 이온 봉쇄 작용과 차이를 나타내지 않았다($p < 0.05$).

이에 앞선 전자공여능 및 SOD-유사활성능에서도 황

련 추출물을 base skin-softener에 응용 시 항산화능에 대한 큰 영향력은 나타내지 않았으며, 금속이온에 대한 포집능에도 차이를 나타내지 않았다.

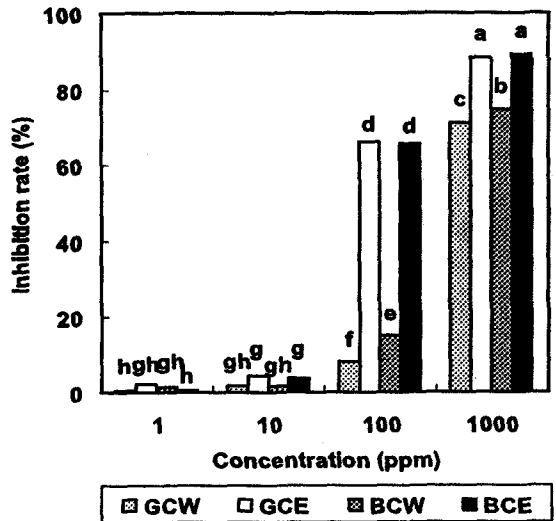


Fig. 10. Effect of Coptidis Rhizoma extracts in base skin softener reacted with Fe^{2+} ion on lipid oxidation in fish oil emulsion. Values are means of 3 replicates and those with different alphabet letters are significantly different at $p < 0.05$.
 □: Coptidis Rhizoma water extract solved glycerin,
 □: Coptidis Rhizoma ethanol extract solved glycerin,
 ■: Coptidis Rhizoma water extract solved butylene glycol,
 ■: Coptidis Rhizoma ethanol extract solved butylene glycol.

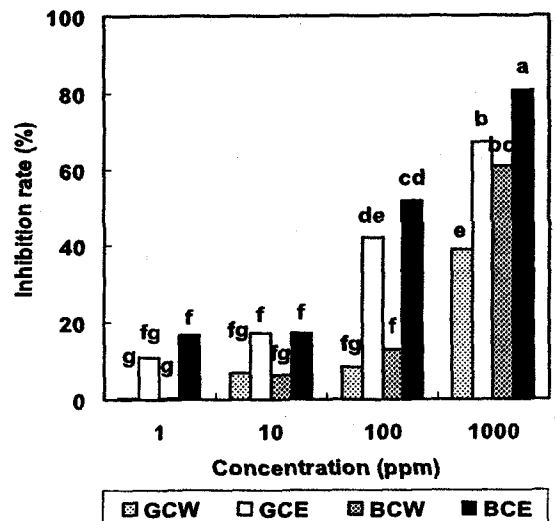






Fig. 11. Effect of Coptidis Rhizoma extracts in base skin softener reacted with Cu²⁺ ion on lipid oxidation in fish oil emulsion. Values are means of 3 replicates and those with different alphabet letters are significantly different at p<0.05. : Coptidis Rhizoma water extract solved glycerin, : Coptidis Rhizoma ethanol extract solved glycerin, : Coptidis Rhizoma water extract solved butylene glycol, : Coptidis Rhizoma ethanol extract solved butylene glycol.

결 론

황련의 각종 생리활성효과 및 화장품 소재로 이용한 황련의 항산화 효과에 관하여 검증한 결과 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 황련의 기능성실험을 실시한 결과, 열수 추출물에 비하여 에탄올 추출물의 생리활성효과가 대체로 큰 것으로 나타내었다.
2. 황련의 전자 공여능은 1000 ppm에서 에탄올 추출물이 94.51%로 나타나 높은 자유 라디칼 소거능을 나타내었다.
3. 황련의 SOD 유사활성 측정 결과는 1000 ppm에서 에탄올 추출물이 81.01%로 매우 높은 활성을 나타내었다.
4. 황련의 xathine oxidase 저해 활성 실험에서는 에탄올 추출물의 경우 열수 추출물보다 비교적 높은 저해 활성을 나타내었다.
5. 황련의 fish oil을 이용한 지방 산화 억제능 측정에서는 에탄올 추출물 100 ppm에서 매우 높은 지방 산화 억제능을 나타냈고, 산화촉진제인 Cu²⁺이온과 Fe²⁺이온을 첨가한 산화억제 작용은 1000 ppm에서 에탄올 추출물이 각각 90% 와 92% 로 열수추출물에 비해 높은 산화억제 효과를 나타내었다.
6. 황련의 에탄올 추출물과 열수 추출물을 함유하는 base skin softener를 제조하여 항산화능을 실험한 결과 1,3-butylene glycol과 glycerine에 의한 영향은 나타나지 않았으며 황련 추출물을 이용한 항산화능과 비교시 차이가 크지 않았다.

이와 같은 결과로 황련의 에탄올 추출물은 자유라디칼 소거능 뿐만 아니라 각종 생리활성효과에도 우수하여 화장품 산업에 이용 시 유용할 것으로 여겨진다.

감사의 글

본 연구는 산업자원부 기초과학연구(R12-2003-002-05001-0) 지원으로 수행되었으며, 이에 감사드립니다.

참고문헌

1. An DK. A Pictorial Book of the Korean Flora. Kyohak Publishing Co. Ltd. Seoul. 2000:1239.
2. Kim CM. A color pictorial book of the chinese medicine. Academy Publishing Co. Ltd. Seoul. 2001:116.
3. Chung IM. and Paik SB. Separation and Activity Test of Antifungal substance from *C. japonica* Extract. Analytical & Science & Technology. 1997:10:2.
4. Yamahara J. Central depressive action of Coptidis rhizoma and its constituents. Nipp. Yaku. Zas. 1976:72(7):899-908.
5. Hattori T, Furuta K, Nagao T, Nagamatsu T, Ito T. and Suzuki Y. Studies on the antinephritic effect of plant components(4): Reduction of protein excretion by berberine and Coptisine in rats with original-type anti-GMB nephritis. Jpn J. Pharmacol. 1992:59(2):156-169.
6. Colr MM. Antioxidant activity of tocopherols and ascorbyl palmitate and their mode of action. JAACS. 1974:51(7):321-325.
7. Haumann BF. Antioxidants: Firms seeking products they can label as 'natural'. Inform. 1990:1:1002.
8. Branen AL. Toxicological and biochemistry of butylated hydroxyanisole and butylated hydroxytoluene. JAACS 1975:52:59-63.
9. Blois MS. Antioxidant determination by the use of a stable free radical. Nature 1958:181:1199-1200.
10. Marklund S. and Marklund G. Involvement of superoxide anion radical in the oxidation of pyrogallol and a convenient assay for superoxide dismutase. Eur. J. Bioche. 1974:47(3):469-474.
11. Stirpe F, Della Corte E. The Regulation of rat liver Xanthine Oxidase conversion in vitro of the enzyme activity from dehydrogenase (Type D) to oxidase

- (Type O). *J. Biol. Chem.* 1969;244:3855-3861.
12. Buege JA, Aust SD. Microsomal lipid peroxidation. *Methods Enzymol.* 1978;52:302-310.
 13. Kim HK, Kim YE, Do JR, Lee YC, and Lee BY. Antioxidative activity and physiological activity of some Korean medicinal plants. *Korean J. Food Sci. Technol.* 1995;27:80-85.
 14. Kang YH, Park YK, Oh SR, and Moon KD. Studies on the physiological functionality of pine needle and mugwort extracts. *Korean J. Food Sci. Technol.* 1995;27:978-984.
 15. Kim SM, Cho YS, Sung SK, Lee IG, Lee SH, and Kim DG. Antioxidative and nitrite scavenging activity of pine needle and green tea extracts. *Korean J. Food Sci. Ani. Resour.* 2002;22:13-19.
 16. Hong HD, Kang NK, and Kim SS. Superoxide dismutase-like activity of apple juice mixed with some fruits and vegetables. *Korean J. Food Sci. Technol.* 1998;30(6):1484-1487.
 17. Kim OK, Lee TG, Park YB, Park DC, Lee YW, Yeo SG, Kim IS, Park YH, and Kim SB. Inhibition of xanthine oxidase by seaweed extracts. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 1996;25:1069-1073.
 18. Storch H, and Ferber E. Detergent-amplified chemiluminescence of lucigenin for determination of superoxide anion production by NADPH oxidase and xanthine oxidase. *Anal. Biochem.* 1988;169(7):262-267.
 19. Hatano T, Yasuhara T, Fukuda T, Noro T, Okuda T. Phenolic constituents of Licorice. II. Structures of Licopyranocoumarin, Licoaryl-coumarin and Glisoflavone, and inhibitory effects of Licorice phenolics on xanthine oxidase. *Chem. Pharm. Bull.* 1989;37(11):3005-3009.
 20. Farag RS, Badei AZ, M. A., Hawedi FM, and Elbaroty GSA. Antioxidant activity of some spice essential oils on linoleic acid oxidation in aqueous media. *JAOCS.* 1989;66:792-799.
 21. Vekari SA, Oreopoulou V, and Tiz C, Thomopoulos CD. Oregano flavonoids as lipid antioxidants. *JAOCS.* 1993;70:483-487.
 22. Choi U, Shin DH, Chang YS, and Shin JI. Antioxidant activity of ethanol extract from *Rhus javanica* Linne on edible oil. *Korean J. Food Sci. Technol.* 1992;24:320-325.
 23. Lim DK, Choi U, Shin DH, and Jeong YS. Antioxidative effect of propolis extract on palm oil and lard. *Korean J. Food Sci. Technol.* 1994;26:622-626.
 24. Lim DK, Choi U, and Shin DH. Antioxidative activity of ethanol extract from Korean medicinal plants. *Korean J. Food Sci. Technol.* 1996;28:83-89.
 25. Makinodan T, Albright JF, Perkins EH, and Nettesheim P. Suppression of immunologic responses. *Med. Clin. N. Am.* 49. 1969:1569.
 26. Spreafico F, and Anaclerio A. Immunosuppressive agents. In *Immunopharmacology*. Edited by J.W. Haden RG, Coffey F, Spreafico. New York Plenum Publishing Co. 1977:254.