

전통 생약재에서의 항노화와 주름 개선 활성 신소재 탐색

이 상 은[†] · 손 동 옥* · 윤 여 필 · 임 태 형 · 조 자 운 · 김 현 수

풀무원 식문화 연구원, *KT&G 중앙연구원 인삼연구소
(2005년 4월 28일 접수, 2005년 6월 15일 채택)

Screening of Traditional Herbal Medicines to Develop New Materials for Anti-aging and Anti-wrinkle in the Skin

Sang Eun Lee[†], Dong Wook Son*, Year Pill Yoon, Tae Young Lim, Ja Wun Cho, and Haen Su Kim

Institute of Food & Culture Research & Development Center for Functional Food, Pulmuone Corporation,
Yeonsei University, Shinchon-dong, Seodaemun-Gu, Seoul 120-600, Korea

*KT&G Central Research Institute

(Received April 28, 2005; Accepted June 15, 2005)

요약: 본 연구는 화장품 소재개발에 있어 보다 안전하고 우수한 활성을 나타내는 천연 소재를 개발하고자 하였다. 본초학과 식품 공전에 수재되어 있는 전통생약재에 대한 연구는 국내 화장품 원료개발의 중요한 부분으로써 우리나라가 경쟁력을 가질 수 있는 부분으로 사료되며, 본 연구에서는 폐와 피부 질환에 사용되는 전통생약재 121종을 선별하였다. 이들 전통생약재 추출물들을 대상으로 DPPH free radical 소거법과 SOD 활성 측정법에 의한 항산화 활성과 주름 생성의 주 기전에 관련된 elastase 효소 억제 활성을 관찰하였다. 항산화 활성을 보이면서도 주름 형성관련 효소인 엘라스타제에 대한 억제 활성을 지니는 전통생약재 9종을 선별하였다. 항주름/피부탄력 활성을 나타내리라 사료되는 9종의 생약재에 대한 각각의 정상 세포에 대한 세포독성을 측정할 결과, 효과를 나타내리라 여겨지는 0.1 g/mL 이하의 농도에서 세포 독성이 없는 것으로 확인되었다. 또한 인체피부 일차 자극 실험을 통해 피부자극 유무를 측정할 결과 피부자극이 없음을 확인하였다. 본 연구를 통해 식품공전과 동의보감 자료에 의거, 폐와 피부 질환에 관련된 전통생약재 121종 중 9종에 대해 항주름과 피부탄력에 관련한 항장 소재로서의 개발 가능성을 확인하였다.

Abstract: As a part of searching for the natural components which inhibit the skin aging and wrinkle formation, the 80% methanolic extracts of 121 species of traditional herbal medicines used to treat lung and skin disease were investigated for their in vitro anti-oxidative activity against 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) and superoxide radicals, and inhibitory activity against elastase. We selected 9 kinds of the traditional herbal medicines showing inhibitory activities of wrinkle formation. The effective concentrations of 9 candidates for anti-wrinkle/skin firming activity was less than 0.1 mg/mL, and there is no toxicity to cell viability at these concentrations. Through analysis of human skin primary patch test data, the traditional herbal medicines represented non-irritant materials. We suggest that these 9 candidates with ability to help anti-wrinkle/skin firming may be useful for functional cosmetic materials.

Keywords: anti-wrinkle/anti-aging elastase inhibitory activity, traditional herbal medicines, anti-oxidative activity

1. 서 론

피부노화에 관하여서는 여러 이론이 제시되고 있으나, 크게 연령의 증가에 따라 나타나는 자연노화와 자외선에 의한 광노화로 나눌 수 있다[1]. 원인과 증상을 표피와 진피로 나누어 살펴보면 표피의 경우 먼지와 오염물, 공해,

자외선, 바람, 기온의 변화, 화학물질 등에 의해 새로운 세포의 생성 수가 줄어들고 각질형성세포의 교체율이 감소되며, 피부표면의 최외층에 있는 각질세포가 잘 떨어져 나가지 않아서 각질이 많이 쌓이게 되고 두터워져서 건조하고 거칠어진다. 진피의 경우 진피에 존재하는 결합 섬유인 콜라겐(진피의 섬유상 고체)과 점액성의 뮤코-다당류가 물과 결합하는 능력을 잃게 되는 것과 엘라스틴(탄력섬유)의 파괴 및 진피의 기질인 히아루론산이 감소

[†] 주 저자 (e-mail: selee@pulmuone.co.kr)

되면서 탄력이 없어지고 단단해짐으로써 주름이 생기고 피부가 늘어지게 되는 것이며[2], 이러한 변화는 대개 활성산소(reactive oxygen species, ROS)에 의해 일어나는 것이다[3].

2000년 7월 기능성 화장품이 명문화된 「화장품법」의 시행으로 화장품의 연구 및 기술개발의 발전에 박차가 가해지고 있으며, 특히 기능성 화장품 중에서도 특히 주름 개선을 포함한 항노화 화장품의 개발은 의료기술의 진보에 따른 고령화 사회로의 진입과 더불어 젊고 탄력 있는 피부를 갈구하는 여성들의 욕구 증대와 맞물려 화장품업체의 초미의 관심분야가 되고 있다. 기존 항노화 원료의 대부분은 화장품 제형 내에서 불안정성과 생체 이용률의 한계를 지니고 있으며 피부 부작용, 낮은 피부 흡수성질 등에 의해 그 실질적인 사용이 매우 제한되고 있다.

이러한 시대 흐름에 부합하여 본 연구에서는 보다 안전하고 우수한 활성을 나타내는 천연 소재를 개발하고자 하였다. 전통 생약재에 대한 연구는 국내 화장품 원료개발의 중요한 부분으로써 우리나라가 경쟁력을 가질 수 있는 부분이다.

‘폐와 배합되는 것은 피부이고 폐의 상태가 겉에 나타나는 곳은 털이다. 또한 폐는 피부와 털을 주관한다’라는 동의보감 자료에 의거하여 폐와 피부질환에 관련된 생약재가 본초학과 식품공전에 수재되어 있으며, 현재 한방에서 널리 이용되고 있는 121종을 선별하였다. 이들 전통재를 대상으로 항산화 활성을 가진 천연물들이 노화 피부에 좋은 영향을 주는 항장 원료로 쓰이고 있다는 점에 착안하여 DPPH free radical 소거법[4]과 SOD 활성 측정법[5]에 의한 항산화 활성과 주름 생성의 주 기전에 관련된 elastase 효소 억제 활성[6]을 관찰하였다. 또한 이들 추출물을 정상세포에서의 세포독성 및 인체피부 일차 자극 실험을 통해 피부자극 유무를 측정하였으며 인체 도포를 통한 효능 실험을 통해 새로운 항장 소재로서의 가능성을 모색하고자 하였다.

2. 실험방법

2.1. 실험재료

생약재는 경동시장에서 구입하였으며 DPPH (1,1-diphenyl-2-picryl-hydrazyl), xantine, xantine oxidase, Elastase, STANA (N-succinyl-ALA-ALA-ALA p-nitroanilide), MTT [3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyl tetrazolium bromide], DMSO, N-acetyl-L-cysteine 등은 시그마사의 제품을, 기타 용매는 덕산과학의 제품을 사용하였고, 세포 배양시 사용된 DMEM, FBS, antibiotics는 Gibco사의 제품을 사용하였다. 쥐의 정상 섬유아세포는 본 실험실에서 SD계 rat의 등을 제모, 조직을 적출하여

세포를 분리하여 사용하였다. 기타 세포배양에 필요한 기구는 Falcon사의 제품을 사용하였다.

2.2. 생약재 추출

생약재 10 g을 마쇄하여 100 mL의 80% MeOH로 7일간 암소에 정치하여 추출하였고 이를 3번 반복하였다. 여과지로 거른 후 이 용액을 농축하여 생약재 MeOH 엑스를 얻어 시료로 사용하였다.

2.3. DPPH 활성

Hatanó 등의 방법을 변용[7]하여 시료를 각 농도별로 조제한 용액 20 μ L (99.5% methanol)에 0.2 mM DPPH 용액(99.5% methanol) 180 μ L을 가하였다. Voltex mixer로 10 sec간 진탕 후 37°C에서 30 min 동안 반응시킨 후 spectrophotometer를 이용하여 520 nm에서 흡광도를 측정하였다. 양성 대조물로는 ascorbic acid를 조제하여 측정하였다. 각 시료의 항산화작용은 IC₅₀ 치(DPPH 래디칼 형성을 50%로 억제하는 데 필요한 μ L농도)로 나타내었다.

2.4. Superoxide-scavenging Activity (5)

시료를 각 농도별로 조제한 용액(3 mM EDTA 용액) 60 μ L에 3 mM의 xanthine 40 μ L, 56.1 Units/mL xanthine oxidase 60 μ L를 섞어준 후 0.75 mM XTT를 40 μ L 넣어 30 min간 실온에서 반응시킨 후 spectrophotometer를 이용하여 520 nm에서 흡광도를 측정하였다. 양성 대조물로는 ascorbic acid를 조제하여 측정하였다. 각 시료의 항산화작용은 IC₅₀ 치(xanthine과 xanthine oxidase에 의해 형성되는 superoxide 형성을 50%로 억제하는 데 필요한 μ g/mL 농도)로 나타내었다.

2.5. Elastase Inhibition Assay

시료를 각 농도별로 조제한 용액(100 mM Tris HCl 용액, pH 8.0) 60 μ L과 0.6 units/mL elastase 효소 용액 100 μ L를 30 min간 37°C에서 반응시키고 4 mM sucAla3-PNA 용액(SucAla3-PNA) 40 μ L를 첨가한 후 30 min간 37°C에서 반응시킨 후 spectrophotometer를 이용하여 405 nm에서 흡광도를 측정하였다. 양성 대조물로는 methoxy succinyl-Ala-Ala-Pro-Val-chloromethyl ketoneB와 ursolic acid를 조제하여 측정하였다. 각 시료의 억제작용은 IC₅₀ 치(N-succinyl-ALA-ALA-ALA p-nitroanilide를 N-succinyl-ALA-ALA-ALA와 p-nitroanilide로 분해되는 것을 50%로 억제하는 데 필요한 μ g/mL농도)로 나타내었다.

2.6. Rat 섬유아세포의 일차 세포배양

(주)바이오 제노믹스에서 구입한 SD계 rat (4주령)을

마취 후 등을 제모한 후 조직을 적출하였다. 적출한 조직을 표피와 진피를 분리한 후, 진피에서 섬유아세포를 분리하여 형태를 확인하였다. 확인된 섬유아세포를 DMEM 배지에 10% FBS (fetal bovine serum), 1% penicillin-streptomycin 가하여 25 cm² 조직 배양 flask 내에서 배양기 내부 공기 5% CO₂ 농도로 37°C에서 3~5 일간 안정화하였다. 안정화 후 trypsin-EDTA 용액을 처리하여 계대 배양하였으며 초기 계대 세포(passage 3)를 사용하였다.

2.7. 정상 섬유아세포 생존율

96-well plate에 대수증식기 정상 섬유아세포 4×10⁴ cells/well씩 접종하여 24 h 배양한 후, 생약 추출물의 최종 농도가 각각 0.01, 0.1, 1 mg/mL이 되도록 가하여 5% 혈청이 포함된 DMEM 배지에서 72 h 배양하였다. MTT 용액 50 μL (5 mg/mL)씩 첨가하고 4 h 후 원심분리하여 상등액을 제거하고 DMSO 100 μL씩 첨가한 후 570 nm에서 ELISA reader로 흡광도를 측정하였다. 세포생존율(%)은 다음과 같은 식으로 계산하여 나타내었다.

$$\text{세포생존율(\%)} = 100 - \left(\frac{\text{대조군의 흡광도} - \text{발효액처리시의 흡광도}}{\text{대조군의 흡광도}} \times 100 \right)$$

2.8. 인체 피부 일차 자극 시험

상기 시험은 인체 피부 일차 자극 시험으로 인체 첩포 시험(human patch test)을 CTFA 가이드라인(The Cosmetic Toiletry and Fragrance association, Safety testing guidelines)에 따라 실시하였다. 평소 피부 질환 및 알러지가 없는 15명의 피험자(전원 여성)를 대상으로 연령 분포는 26~35세, 평균연령은 29.3세였다. 핀 챔버(Finn Chamber)에 준비된 화장품 조성물 1 g을 각각 적하 시킨 후 시험부위인 우측 상완 내측에 첩포 검사를 실시하였다. 첩포는 24 h 폐첩포하여 첩포를 제거한 후 펜으로 시험부위를 마킹하여 1 h, 24 h 후에 각 시험 부위의 피부반응을 관찰하여 국제 접촉 피부염 연구회(International Contact Dermatitis Research Group; ICDRG)의 규정에 따라 판정하였으며 평가는 다음 식으로 계산되었다.

$$\text{Mean Score} = \frac{\text{Grade} \times \text{No. of responses} \times 100 \times 1/2}{3(\text{Maximum grade}) \times N(\text{Total subjects})}$$

Grade Score

- 0 No reaction
- ± 0.5 Weak positive reaction (erythema)
- + 1 Moderate positive reaction (erythema)

- ++ 2 Strong positive reaction (erythema, edema)
- +++ 3 Severe positive reaction (erythema, edema, vesicles)

Grade of the mean score

- 0~0.75 Grade I No irritation
- 0.76~1.50 Grade II Slight irritation
- 1.51~2.50 Grade III Moderate irritation
- 2.51~5.00 Grade IV Strong irritation
- 5.00~ Grade V Severe irritation

Data 분석 - 실험은 3회 이상 실시하여 그 평균값을 기초로 mean ± S.E.로 표시하였으며, Student's t-test를 시행하여 p < 0.05인 경우 유의성이 있는 것으로 판단하였다.

3. 실험 결과 및 고찰

생약추출물의 항산화 활성에 대한 연구는 기존에 많은 연구가 수행되었으며 이들의 강한 활성이 보고되어 왔다 [8]. 본 연구는 노화의 주원인인 활성산소의 소거와 주름 생성에 관여하는 효소인 elastase 효소 억제에 효과를 나타내는 생약제 검색을 위하여 동의보감에 의거하여 폐와 피부질환에 관련된 생약제 121종을 대상으로 그들의 MeOH 엑스에 대하여 항산화 활성과 elastase 억제 활성을 검토하였다. 항산화 활성 실험의 양성 대조물로는 ascorbic acid를, elastase 억제 활성 실험의 양성 대조물로는 methoxy succinyl-Ala-Ala-Pro-Val-chloromethyl ketoneB와 ursolic acid를 사용하였다.

항산화 활성 실험인 SOSA와 DPPH 래디칼 소거작용을 측정된 결과를 Table 1에 나타내었다. SOSA 결과 오배자(*Rhus chinensis*), 가자(*Terminalia chebula*), 자소엽(*Perilla frutescens*)과 대황(*Rheum palmatum*) 등 총 14종에서 IC₅₀ 수치가 100 μg/mL 이하로 양성대조군(L-ascorbic acid IC₅₀ 51.13 ± 2.93 μg/mL)과 비교시 비교적 높은 활성을 나타내었으며, DPPH 래디칼 소거능은 마황(*Ephedra sinica*), 비자(*Torreya nucifera*), 상백피(*Morus alba*)와 오배자(*Rhus chinensis*) 4종에서 양성대조군(L-ascorbic acid IC₅₀ 5 μg/mL)보다 높은 활성을 나타내었다.

Table 2는 elastase 억제 활성이 있는 생약재를 기준으로 항산화 활성을 비교하여 작성하였다. 그 결과 항노화와 주름개선 효능을 지닐 것으로 사료되는 생약재로 총 9개를 선별하였다. 총 9개의 생약재가 양성대조군인 methoxy succinyl-Ala-Ala-Pro-Val-chloromethyl ketoneB (IC₅₀ 187.6 ± 12.84 μg/mL)에 비해 높은 활성을 나타내었다. 또한 일부 생약제에선 추출물인 MeOH 엑스 상태

Table 1. Anti-oxidative Activity of Traditional Herbal Medicines

Plants	Against superoxide IC ₅₀ (μg/mL)	Against DPPH IC ₅₀ (μg/mL)	Plants	Against superoxide IC ₅₀ (μg/mL)	Against DPPH IC ₅₀ (μg/mL)
<i>Terminalia chebula</i>	34.43	30	<i>Adenophora triphylla</i>	2103.21	266
<i>Euphorbia kansui</i>	1277.71	432	<i>Cornus officinalis</i>	125.16	50
<i>Glycyrrhiza uralensis</i>	265.75	103	<i>Dioscorea japonica</i>	1008.96	86
<i>Zingiberis officinale</i>	683.99	45	<i>Sparganium stoloniferum</i>	1435.46	171
<i>Pharbitis nil</i>	158.03	56	<i>Saururus chinensis</i>	218.7	40
<i>Tussilago farfara</i>	140.95	37	<i>Phytolacca esculenta</i>	660.53	172
<i>Lycium chinensis</i>	376.27	144	<i>Morus alba</i>	142.27	3.4
<i>Lonicera japonica</i>	643.28	73	<i>Morus alba</i>	312.9	90
<i>Platycodon grandiflorum</i>	3112.01	4442	<i>Rehmannia glutinosa</i>	634.81	181
<i>Phragmites communis</i>	551.36	75	<i>Panicum miliaceum</i>	649.87	1048
<i>Aloe ferox</i>	627.14	89	<i>Pyrrosia Lingua</i>	134.58	34
<i>Camellia sinensis</i>	78.14	3	<i>Inula britannica var. chinensis</i>	99.03	14
<i>Salvia miltiorrhiza</i>	142.31	25	<i>Agrimonia pilosa</i>	85.91	23
<i>Angelicagigas nakai</i>	325.2	103	<i>Asarum sieboldii</i>	323.82	141
<i>Euphorbia pekinensis</i>	109.03	25	<i>Perilla frutescens</i>	573.81	80
<i>Rheum palmatum</i>	72.32	17	<i>Diospyros kaki</i>	74.58	8.5
<i>Prunus persica</i>	925.95	2010	<i>Bupleurum falcatum</i>	280.6	137
<i>Benincasa hispida cognon</i>	817.42	137	<i>Hottuynic cordata</i>	186.78	61
<i>Aristolochia contorta</i>	397.15	96	<i>Forsythia koreana</i>	121.97	24
<i>Ephedra sinica</i>	91.33	20	<i>glechoma hederacea</i>	100.39	47
<i>Liriope platyphylla</i>	3412.63	2453	<i>Ganoderma lucidum</i>	420.02	88
<i>Paeonia suffruticosa</i>	60.63	30	<i>Prunus mume</i>	233.63	157
<i>Aucklandia lappa</i>	438.36	86	<i>Schizandra chinensis</i>	217.42	136
<i>Mentha arvensis</i>	143.12	81	<i>Rhus chinensis</i>	23.25	3
<i>Pinellia ternata</i>	1047.67	312	<i>Polygonatum odoratum</i>	460.82	324
<i>Ledebouriella seseloides</i>	1220.86	178	<i>Arctium lappa</i>	83.25	62.28
<i>Sinapis alba</i>	7989.03	62	<i>Curcuma aromatica</i>	202.53	68.99
<i>Ginkgo biloba</i>	1423.47	870	<i>Polygala tenuifolia</i>	251.74	13.1
<i>Bletilla striata</i>	3955.25	76	<i>Daphne genkwa</i>	95.27	20
<i>Amomum kravanh</i>	260.67	68	<i>Castanea crenata</i>	77.12	282
<i>Imperata cylindrica</i>	768.57	129	<i>Coix lachrymajobi</i>	556.63	103
<i>Stemona sessilifolia</i>	707.56	88	<i>Lonicera japonica</i>	191.88	16
<i>Panax ginseng</i>	-	384	<i>Perilla frutescens</i>	69.81	10
<i>Sesamum indicum</i>	245.4	116	<i>Aster tataricus</i>	278.94	100
<i>Angelica dahurica</i>	584.76	142	<i>Paeonia lbouata</i>	136.97	15
<i>Lilium lancifolium</i>	663.1	353	<i>Peucedanum decursivum</i>	1092.9	209
<i>Oldenlandia diffusa</i>	303.2	73	<i>Fritillaria thunbergii</i>	2036.23	380
<i>Poria cocos</i>	400.76	1033	<i>Lepidium apetalum</i>	-	16
<i>Torreya nucifera</i>	99.13	1.5	<i>Gleditsia sinensis</i>	222.06	31
<i>Eriobotrya japonica</i>	95.96	13	<i>Phyllostachys nigra</i>	471.31	31
<i>Belamcanda chinensis</i>	626.42	158	<i>Citrus aurantium</i>	198.71	90
<i>Luffa cylindrica</i>	369.12	94	<i>Lycium chinensis</i>	126.72	115
<i>Anemarrhena asphodeloides</i>	721.02	123	<i>Prunella vulgaris</i>	371.57	25
<i>Citrus aurantium</i>	161.91	109	<i>Albizia julibrissin</i>	534.52	174
<i>Citrus unshiu</i>	114.15	35	<i>Pinus koraiensis</i>	-	853
<i>Atractylodes japonica</i>	168.45	127	<i>Prunus armeniaca</i>	1610.53	3980
<i>Cnidium officinale</i>	174.44	115	<i>Cyperus rotundus</i>	406.4	197
<i>Arisaema amurense</i>	22.54	1292	<i>Scrophularia buergeriana</i>	357.77	2980
<i>Asparagus cochinchinensis</i>	1361.4	4256	<i>Schizonepeta tenuifolia</i>	155.11	87
<i>Aconitium carmichaeli</i>	363.94	4578	<i>Junglans sinensis</i>	94.3	15
<i>Ruibi akene</i>	156.65	147	<i>Polygonum cuspidatum</i>	80.83	22
<i>Fritillaria cirrhosa</i>	812.69	1630	<i>Picrorrhiza kurroa</i>	231.18	102
<i>Trichosanthes kirilowii</i>	1366.81	192	<i>Carthamus tinctorius</i>	387.14	172
<i>Persicaria tinctoria</i>	2014.4	240	<i>Prunus serrulata</i>	105.03	21
<i>Cytrus unshiu</i>	552.59	163	<i>Scutellaria baicalnensis</i>	215.2	96
<i>Biota orientalis</i>	174.51	87	<i>Astragalus membranaceus</i>	420.76	193
<i>Gardenia jasminoides</i>	289.4	132	<i>Cortis chinensis</i>	-	114
<i>Alisma plantago aquatica</i>	1335.6	281	<i>Polygonatum stenophyllum</i>	1029.76	6482
<i>Terapanax papiriferus</i>	757.95	143	<i>Magnolia officinalis</i>	93.4	6.9
<i>Taraxaci mongolicum</i>	156.52	111	<i>Trichosanthes kirilowii</i>	296.93	96
<i>Typha orientalis</i>	918.45	5437			

Table 2. Screened Plants and Their Elastase Inhibitory Activity and Anti-oxidative Activity

Plants	Elastase Inhibitory Activity IC ₅₀ (μg/mL)	Antioxidant Activity against Superoxide IC ₅₀ (μg/mL)	Antioxidant Activity against DPPH IC ₅₀ (μg/mL)
<i>Diospyros kaki</i> *	24.8	74.58	8.5
<i>Torreya nucifera</i>	30.2	99.13	1.5
<i>Polygonum cuspidatum</i>	30.4	80.83	22
<i>Agrimonia pilosa</i>	44.0	85.91	23
<i>Eriobotrya japonica</i>	47.0	95.96	13
<i>Ephedra sinica</i>	72	91.33	20
<i>Magnolia officinalis</i>	76.5	93.4	6.9
<i>Castanea crenata</i> **	41.8	77.12	282
<i>Pyrrosia Lingua</i> **	48.0	134.58	34
L-Ascorbic acid ^A	-	51.13	-
Methoxy succinyl-Ala-Ala-Pro-Val-chloromethyl ketone ^B	187.6	-	5
Ursolic acid	27.2	-	-

*Most Potent candidate which may possibly ameliorates aged skin.
 **High Elastase inhibitory activity with relatively low antioxidative activity.
^A Standard antioxidant. ^B Standard elastase inhibitor.

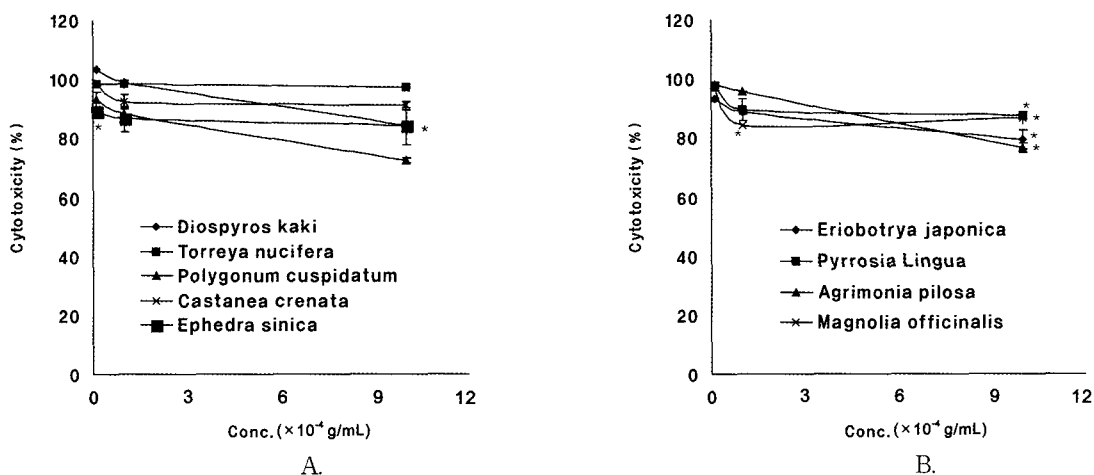


Figure 1. Effects of traditional herbal medicines on proliferation of fibroblasts. The cells were treated with 0.01, 0.1 and 1 mg/mL concentrations of traditional herbal medicines for 72 hrs. The results were expressed as the average of triplicate samples with S.D. **p < 0.01, *p < 0.005 compared with control. The cells of the control was treated with only media and not treated with traditional herbal medicines for 72 hrs.

에서 기존 주름개선에 탁월한 활성을 지닌 단일 물질로 알려진 ursolic acid (IC₅₀ 27.2 μg/mL)에 버금가는 활성을 나타내었다. 이는 효능은 탁월하나 제형 적용 및 세포 독성이란 문제점을 지니는 ursolic acid가 가지는 화장품 원료로서의 한계를 새로운 유효성 원료로 교체 극복할 수 있음을 나타낸다. Elastase 억제 활성이 높은 것으로 시체(*Diospyros kaki*), 비자(*Torreya nucifera*), 호장(*Polygonum cuspidatum*), 울자피(*Castanea crenata*), 선학초(*Agrimonia pilosa*), 비파엽(*Eriobotrya japonica*), 석위(*Pyrrosia Lingua*), 마황(*Ephedra sinica*), 후박(*Magnolia*

officinalis)의 순으로 총 9종이 선별되었으며, 이 중 2종 즉, 울자피와 석위는 elastase 억제 활성은 있으나 항산화 활성이 다소 낮은 반면 7종은 높은 항산화 활성을 나타내어 항노화와 주름개선에 새로운 항장 소재로서의 가능성을 시사하였다.

더 나아가 보다 안전하고 우수한 활성을 나타내는 천연 소재 개발을 위해 세포독성 유무를 관찰하였다(Figure 1). Primary cell culture 방법을 통해 분리된 정상 섬유아 세포를 대상으로 5%의 serum을 함유한 배지에서 72 h 배양하여 세포 생존율을 비교한 결과 항노화와 elastase

Table 3. Human Skin Primary Irritation Test of Traditional Herbal Medicines

Plants	Prsevatives	No. of responses						Mean score (n = 15)	Grade
		1 hr			24 hr				
		±	+	++	±	+	++		
<i>Diospyros kaki</i>	0.10%	-	-	-	-	-	-	0	Grade I
<i>Torrelya nucifera</i>	0.10%	-	-	-	-	-	-	0	Grade I
<i>Polygonum cuspidatum</i>	0.10%	-	-	-	-	-	-	0	Grade I
<i>Castanea crenata</i>	0.10%	-	-	-	-	-	-	0	Grade I
<i>Ephedra sinica</i>	0.10%	-	-	-	-	-	-	0	Grade I
<i>Eriobotrya japonica</i>	0.10%	-	-	-	-	-	-	0	Grade I
<i>Pyrosia Lingua</i>	0.10%	-	-	-	-	-	-	0	Grade I
<i>Agrimonia pilosa</i>	0.10%	-	-	-	-	-	-	0	Grade I
<i>Magnolia officinalis</i>	0.10%	-	-	-	-	-	-	0	Grade I

억제 활성을 지니는 농도인 0.1 mg/mL 이하 농도에서는 뚜렷한 독성을 나타내지 않았다.

또한, 피부자극 유무를 관찰하는 방법인 인체 피부 일차 자극 시험법을 수행하였다. 일반적으로 인체 첩포시험은 피부 일차자극을 평가하는 방법으로 통상 홍반, 부종, 수포 등의 유발 정도를 평가하며 피부 일차 자극 정도를 크게 5 grade로 나누어 평가한 결과 접촉성 피부염을 유발할 확률이 없음을 확인하였다. 따라서 이를 이용하여 성분 규명 등 더 많은 연구가 뒷받침된다면 새로운 화장품 소재로써 이용될 가능성이 있을 것으로 사료된다.

참 고 문 헌

1. M. Wlaschek, I. Tantcheva-Poor, L. Naderi, W. Ma, L. A. Schneider, Z. Razi-Wolf, J. Schuller, and K. Scharffetter-Kochanek, Solar UV irradiation and dermal photoaging, *J. Photochem Photobiol. B. Biology*, **63**, 41 (2001).
2. S. J. Moloney, S. H. Edmonds, L. D. Giddens, and D. B. Learn, The Hairless mouse model of photoaging: evaluation of the relationship between dermal elastin, collagen, skin thickness and wrinkles, *Photochem Photobiol.*, **56**(4), 505 (1992).
3. Y. Miyaki, Photoaging from an oxidative standpoint, *J. Dermatol. Sci.*, **9**, 79 (1995).
4. J. H. Kim, Y. H. Cho, S. M. Park, K. E. Lee, J. J. Lee, B. C. Lee, H. B. Pyo, K. S. Song, H. D. Park, and Y. P. Yun. Antioxidants and inhibitor of matrix metalloproteinase-1 expression from leaves of *Zostera marina* L., *Arch Pharm. Res.*, **27**(2), 177 (2004).
5. J. M. McCord and I. Fridovich, Superoxide dismutase. An Enzymic function for erythrocyte hemocuprein, *J. Biol. Chem.*, **244**(22), 6049 (1969).
6. N. Tsuji, S. Moriwaki, Y. Suzuki, Y. Takema, and G. Imokawa, The Role of elastases secreted by fibroblasts in wrinkle formation; implication through selective inhibition of elastase activity, *Photochem and Photobiol.*, **74**(2), 283 (2001).
7. J. S. Choi, Screening on radical scavenging activity of marine microalgae. *Kor. J. Pharmacogn.*, **21**(2), 252 (2000).
8. T. Yokozawa, C. P. Chen, E. Dong, T. Tanaka, G. I. Nonaka, and I. Nishioka, Study on the inhibitory effect of tannins and flavonoids against the 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl radical, *Biochemical Pharmacology*, **56**(2), 213 (1998).