

한방원료의 초임계 추출을 이용한 항노화 및 주름개선 효과

김 인 덕 · 권 룬 희 · 허 예 영 · ¹정 혜 진 · ¹강 환 열 · † 하 배 진
신라대학교 의생명과학대학 제약공학과, ¹아마란스 화장품
(접수 : 2008. 7. 21., 게재승인 : 2008. 11. 20.)

Supercritical Extraction of Oriental Herb : Anti-aging and Anti-wrinkle Effects

In Deok Kim, Ryun Hee Kwon, Ye Young Heo, Hye Jin Jung¹, Hwan Yul Kang¹, and Bae Jin Ha†
Department of Pharmaceutical Engineering, College of Medical Life Science, Silla University, 1-1 San, Gwaebup-dong,
Sasang-gu, Busan, 617-736, Korea, ¹Amaranth Cosmetics, 1534-2, Songjeong-dong, Gangseo-gu, Busan, Korea
(Received : 2008. 7. 21., Accepted : 2008. 11. 20.)

The reactive oxygen species generated by ultraviolet rays causes various types of cutaneous damage, such as lipid peroxidation and denaturation of the extra-cellular matrix. The accumulation of such damage contributes to skin aging, especially the formation of wrinkles. This study was carried out to develop functional cosmetic by using Oriental herb supercritical extracts (OHSE) for prevention of skin. Effects of OHSE on anti-oxidation, collagenase inhibition and collagen synthesis in normal human fibroblast were investigated. OHSE showed antioxidative activity as high as vitamin C, trolox and DL-penicillamine. Also OHSE showed promotive effect on collagen synthesis and inhibitory effect on collagenase activity. From this results, we conclude that OHSE may have the potential to be conveniently used as an additive in cosmetics for prevention and improvement of skin aging.

Key Words : Oriental Herb, supercritical extract, anti-wrinkle, anti-oxidation, collagen synthesis

서 론

사람의 피부는 노화가 진행됨에 따라 내적으로는 신진대사를 조절하는 각종 호르몬의 분비가 감소하고, 면역세포 및 피부세포의 기능과 활성이 저하되어 생체에 필요한 면역단백질 및 생체 구성단백질들의 생합성이 줄어들게 되어 생기는 내인성노화와 외적으로는 각종 오염물질과 자외선에 의한 광노화에 의해 주름 증가, 탄력감소, 피부건조의 증가가 나타날 뿐만 아니라 기미, 주근깨 및 건버섯 등이 생성되는 것으로 알려져 있다(1, 2).

피부는 각질아래 표피, 진피, 피하조직으로 구성되어 있다. 표피는 케라틴으로 되어있는 케라티노사이트, 멜라닌을 형성분비하는 멜라노사이트, 면역관련세포 (Langerhans cell) 및 지각관련세포 (Merkel's copuscles) 등의 여러 가지 세포로 이루어져 있어서 외부자극과 병원균의 침입을 방지하고 체온조절, 수분과 지질

성분 유지 작용을 한다. 진피는 섬유성과 기질성분으로 구성되어 있으며 섬유성분으로서 콜라겐은 피부에 강도와 장력을 주고, 피부를 보호하는 역할을 하며 진피층의 90%를 차지하고 있다. Elastin은 진피층의 3-4% 정도를 차지하며 피부의 탄력에 영향을 준다. 콜라겐은 섬유아세포의 작용에 의해 합성되며 collagenase와 elastinase에 의해 분해된다. 진피 층은 피부의 물리, 화학적 성질을 결정하는 중요한 역할을 하며 모세혈관과 신경이 표피에 영양분을 보충해 주므로 피부의 노화와 밀접한 관련이 있다(3). 나이가 증가하면 섬유아세포의 작용과 세포수가 감소하여 섬유성분 (콜라겐, 엘라스틴)의 합성량이 줄어들고 피부세포내 수분이 손실되며, 각질층의 구조가 변화된다. 또한 collagenase의 작용이 증가하여 콜라겐의 가교된 형태가 증가함으로써 매끄러움, 보습, 팽팽함이 감소된다. 피부노화를 일으키는 외부인자로는 공해, 바람, 온도, 자외선 등이 있으며, 특히 290-320 nm의 자외선B가 중요한 요인이 된다(4). 자외선은 피부에 활성산소종을 유발시키고 그 결과 피부세포의 손상, 색소 침착을 증가시키게 되며 이는 피부 주요성분들의 직접적인 기능의 손실을 초래하며 피부 노화로 이어진다. 활성산소는 인체 내에서 질병과 노화를 일으키는 원인으로서 활성산소의 항산화력 및 노화억제 작용의 척도로 평가 될 수 있다(5).

† Corresponding Author : Department of Pharmaceutical Engineering, College of Medical Life Science, Silla University, 1-1 San, Gwaebup-dong, Sasang-gu, Busan, 617-736, Korea.

Tel : +82-51-999-5466, Fax : +82-51-999-5684

E-mail : bjha@silla.ac.kr

피부 노화의 특성으로는 탄력성의 감소, 주름살, 기미 또는 주근깨 등을 들 수 있고, 그 원인 중의 하나는 지질과산화에 의한 탄력섬유인 collagen과 elastin의 사슬 절단과 비정상적인 교차결합 및 hyaluronic acid의 사슬 절단이다. 지질과산화는 oxidative stress에 의해서 초래되며, 그 과정 중에서 ROS인 free radical (superoxide, hydroxyl radical, nitric oxide)이 생성된다. 이러한 free radical 생성과정은 피부에 유해한 대사적 활성화의 전 단계일 뿐만 아니라, 피부 세포 및 조직 손상을 일으킨다고 보고되었다(6, 7). 따라서 피부 세포를 보호할 수 있는 항산화제, 피부를 구성하는 물질인 콜라겐을 분해하는 MMPs 생합성을 억제할 수 있는 물질을 이용하여 피부노화를 완화할 수 있는 천연한방소재의 개발에 대한 관심이 고조되고 있다.

초임계 유체란 어떤 물질의 임계점 (critical point) 이상의 온도와 압력 조건에서 존재하는 유체로서 액체와 기체의 중간 특성을 보이며, 추출공정에 매우 적합한 열역학적 특성 (높은 용해도, 선택성, 압축성, 감압에 따른 자발적 분리성)과 이동 특성 (낮은 표면장력과 점도, 높은 확산계수)을 갖고 있어서 추출대상 물질의 복잡한 구조 속으로 빠르게 침투하여 원하는 성분을 효율적으로 추출해 낼 수 있다. 특히 초임계 이산화탄소의 경우 비교적 낮은 임계압력 (73.8 bar)과 상온 근처의 임계 온도 (31°C)를 지니고 있어 온화한 조건에서 추출을 수행할 수 있으며, 독성, 가연성, 추출대상물질과의 반응성 및 부식성이 없고, 고순도의 이산화탄소를 비교적 저렴한 가격으로 구할 수 있기 때문에 초임계 유체 공정에서 가장 주목받고 있다(8).

최근 초임계 이산화탄소를 추출용매로 이용해 천연물로부터 생리활성 성분을 추출하려는 많은 연구가 수행되었으나, 높은 극성을 갖는 유효성분 추출의 경우 초임계 이산화탄소의 비극성에 기인한 낮은 용해도로 인해 이들 성분의 추출이 용이하지 않은 것으로 알려져 있다. 이와 같은 극성 유효성분에 대한 초임계 이산화탄소 추출공정의 비효율성을 극복하기 위한 방법으로 알코올류와 같은 극성 보조용매 (cosolvent 또는 modifier)를 초임계 이산화탄소에 첨가하여 이산화탄소의 극성과 용해성을 증대시킴으로써 추출효율을 향상시킬 수 있다는 결과가 보고되었다(9, 10, 11). 따라서 본 연구에서는 7가지 한방원료 (음양곽, 복분자, 오미자, 구기자, 건지황, 사상자, 토사자)를 극성 보조용매에 의해 변형된 초임계 이산화탄소 추출공정과정을 유효성분을 추출하여서 항산화 효과, collagen 합성 촉진 효과, collagenase 활성 저해 효과를 비교 측정함으로써 항 노화 및 주름개선 효과를 검토하여 기능성 화장품 원료로서의 사용 가능성을 평가하였다.

재료 및 방법

실험재료

음양곽, 복분자, 오미자, 구기자, 건지황, 사상자, 토사자 초임계 추출물은 부산 강서구 송정동에 소재한 아마란스 화장품에서 제공받아서 사용하였다.

초임계 추출장치

Fig. 1와 같은 초임계 추출장치를 사용하였다. 액체상태의 이산화탄소를 pump로 가압하고 BPR (back pressure regulator)을 이용하여 압력을 조절하였다. 초임계 이산화탄소가 추출기

를 통과하며 추출이 일어나고 추출기 뒤쪽으로 압력을 조절하는 BPR을 통하여 감압된 후 separator에서 추출물과 이산화탄소로 분리된다. 이 때 이산화탄소는 기체 상태로 분리되어 chiller를 통과하면서 액체로 바뀌고 working tank에 저장되며 이는 다시 pump로 가압하여 추출기에서 다시 추출에 사용되어, 이산화탄소는 계속 recycle되어 사용된다.

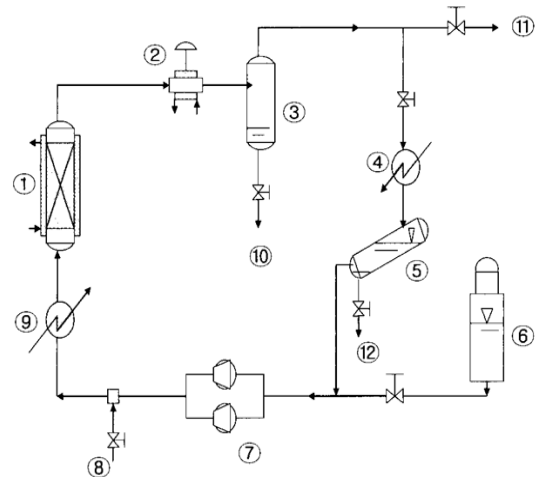


Figure 1. Process flow diagram for the supercritical extraction. (①) Extractor, (②) Back pressure regulator, (③) Separator, (④) Chiller, (⑤) Working tank, (⑥) CO₂ make-up tank, (⑦) CO₂ pump, (⑧) Modifier, (⑨) Heat exchanger, (⑩) Product, (⑪) CO₂ vent, (⑫) Drain.

추출방법

초임계추출에 사용할 원료를 24시간 동안 바람이 잘 통하는 곳에서 건조시킨 후 분쇄기의 분쇄망을 200 mesh로 하여 분쇄하고 분쇄된 원료를 초임계 추출공정에 사용한다. Extractor의 온도를 50°C로 하고 Separator의 온도를 45°C로 조절하여 온도를 유지 시키고, Chiller온도를 -1°C로 유지시킨다. Extractor의 원료주입 Basket에 원료를 300 g을 주입하여 Extractor의 온도를 다시 50°C가 되게 한다. HP Pump의 유속을 80%로 조정하여 Extractor로 유입되는 CO₂의 유속을 80%로 조절한다. 추출을 시작하면 Extractor의 압력이 100 bar가 되게 조절하고 100 bar에서부터 보조용매 (Butylene Glycol)를 1 ml/min의 유속으로 Extractor에 20 ml를 주입하고 Extractor의 압력이 200 bar이전에 투입되도록 BPR을 조절한다. Extractor의 압력이 300 bar가 될 때까지 조절한 후, 300bar의 조건에서 30분 간격으로 Separator로부터 원료를 추출하고, 4회 반복하여 총 2시간동안 추출을 한 후 종료를 한다. 추출이 끝난 원료를 정제수와 Butylene Glycol이 (7 : 3)으로 혼합되어 있는 액 200 ml를 넣어 교반 용해시킨 후, 24시간동안 40°C 항온기에 넣어 보관 후 충분히 용해된 혼합액을 0.45 μm Filter를 이용하여 filtering 하였다. 최종농도를 25 mg/ml로 한 뒤 이것을 희석하여 실험에 사용하였다.

Free radical 소거효과 측정

프리라디칼 소거활성 실험은 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl radical (DPPH, Sigma)을 사용하는 방법(12)으로 메탄올에 용해시킨 0.2 mM DPPH 용액 0.5 ml에 시료 각각의 농도를 메탄올에 녹여 혼합하고, 실온에서 10분간 반응시킨 후 UVIKON-XS (Bio-Tek instruments)로 517 nm에서 흡광도를 측정하였다.

지질과산화 억제활성 측정

자동산화가 잘되는 물질인 리놀산을 이용하여 자동산화를 억제하는 효과를 실험한 것으로 10 mM 리놀산 용액과 시료를 농도별로 첨가한 후 4℃에서 24시간 보관 후 지질 과산화 정도를 thiocyanate법에 의하여 실시하였다(13). 상기의 혼합액에 75% 에탄올을 첨가하여 교반한 후 30% 티오시안산암모늄 용액과 20 mM 염화 제1철을 첨가하여 3분간 방치한 후 발색시켜 UV/VIS spectrophotometer (UVIKON-XS)로 500 nm에서 흡광도를 측정하였다.

Superoxide radical 소거효과 측정

2',7'-dichlorodihydrofluorescein diacetate (DCFDA) (1 mM)와 esterase (600 unit/ml)를 혼합한 뒤 37℃에서 20분간 반응시켜 2',7'-dichlorodihydrofluorescein (DCFH) solution을 만든 후 DCF 측정법을 사용하여서 평가하였다(14). 96 well plate에 농도별 각 추출물을 넣고 50 mM 칼륨인산완충용액을 넣은 뒤 20 mM menadion과 칼륨인산완충용액으로 100배 희석한 DCFH solution을 넣고 5분간 섞어준다. Synergy HT로 485/530 nm에서 Fluorescence를 30분간 측정하였다.

Hydroxyl radical 소거효과 측정

DCFDA (1 mM)와 esterase (600 unit/ml)를 혼합한 뒤 37℃에서 20분간 반응시켜 DCFH solution을 만들어 DCF 측정법을 이용하여 실시하였다(14). 96 well plate에 농도별 각 추출물을 넣고 10 mM FeSO₄와 1.35 mM H₂O₂를 섞은 혼합액을 넣어준다. 100배 희석한 DCFH solution을 넣고 5분간 섞어준 후 Synergy HT로 485/530 nm에서 Fluorescence를 40분간 측정하였다.

세포배양

실험에 사용한 사람의 섬유아세포인 CCD-986SK는 한국 세포주 은행에서 분양받았으며 10%의 FBS (fetal bovine serum, Hyclone)와 1%의 penicillin-streptomycin (Hyclone)이 첨가된 DMEM (dulbecco's modified eagle medium, Hyclone)으로 37℃, 5% CO₂ 조건에서 배양하였다.

Collagen 합성 촉진효과 측정

피부의 주름개선 효과를 검증하는 collagen 합성효과를 보기 위하여 사람 섬유아세포를 96 well plate에 1×10⁴ cells/well씩 분주하여 10% FBS/DMEM 배지로 24시간 배양시킨 다음 새로운 serum free 배지로 단계적으로 희석한 시료를 가하고 다시 24시간 동안 CO₂ incubator에서 배양하였다. 배양액을 가지고 Procollagen Type I C-peptide EIA kit (Takara Bio Inc. MK101)를 이용하여 콜라겐 양을 측정하였다. 450 nm에서 흡광도를 측정 한 후 표준 농도곡선을 작성하여 콜라겐 양을 산정하였다.

Collagenase 억제 효과 측정

MMP-1 활성 저해 효과를 측정하기 위하여 형광 분석법을 이용하였다. 실험에 사용한 기질은 형광물질이 표지된 DQ collagen, 효소 (collagenase)는 Molecular probe사 (Eugene, OR, USA)에서 시판중인 제품을 사용하였으며, 반응완충액 (0.5 M Tris-HCl, 1.5 M NaCl, 50 mM CaCl₂, 2 mM sodium azide, pH 7.6)은 10배 희석 후 사용하였다. 반응완충액에 용해한 DQ collagen과

시료를 첨가하고 0.5 Unit로 희석한 collagenase를 첨가하였다. 암소, 실온에서 20분 후 Synergy HT (Bio-Tek instruments)를 이용하여 흡수파장 495 nm, 방출파장 515 nm로 형광 값을 측정하였고, 대조군으로서 효소액 대신 반응완충액을 효소와 동량 첨가하여 형광 값을 측정하였다.

통계처리

본 실험에 대한 모든 실험 결과는 평균치와 표준편차로 나타내었고, 통계적 유의성은 SPSS를 이용한 ANOVA로 검정하였다.

결과 및 고찰

Free radical 소거효과 측정

DPPH는 화합물 내 질소 중심의 radical로 radical 전자의 비편재화에 의해 안정한 구조의 radical로 존재한다. DPPH는 517 nm에서 최대 흡수를 나타내며, 환원되면 517 nm에서 흡수가 없어진다. 따라서 DPPH의 환원정도는 환원제의 환원력에 달려 있다(15-17). DPPH 실험 결과는 Fig 2에 나타내었으며 복분자> 토사자> 구기자> 음양곽> 오미자> 사상자> 건지황 순으로 농도의존적인 DPPH 소거활성을 보였다. 표준물질인 Vit. C는 0.025 mg/ml, 0.25 mg/ml, 2.5 mg/ml에서 89%, 97% 98%의 자유라디칼 소거능을 보였다.

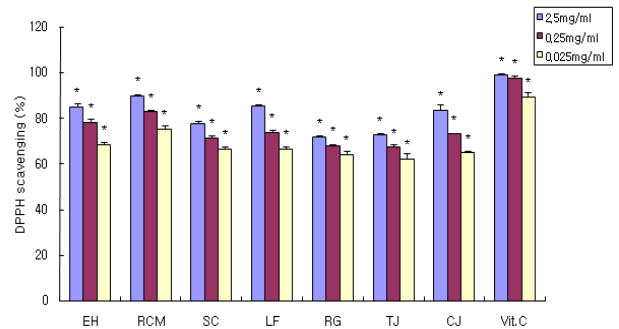


Figure 2. Scavenging effects of Oriental herb extracts on DPPH free radical. Vitamin C was used as the standard material. EH, *Epimedium Herba*; RCM, *Rubus coreanus* Miquel; SC, *Schizandra chinensis*; LF, *Lycii fructus*; RG, *Rehmannia glutinosa*; TJ, *Torilis japonica*; CJ, *Cuscuta japonica*. Significant value compared to control data, *p<0.01.

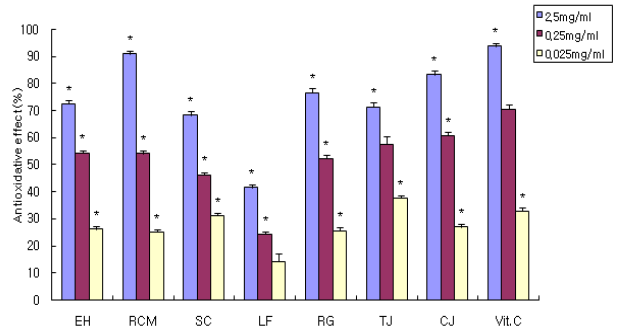


Figure 3. Inhibitory effects of Oriental herb extracts on linoleic acid autoxidation. Vitamin C was used as the standard material. EH, *Epimedium Herba*; RCM, *Rubus coreanus* Miquel; SC, *Schizandra chinensis*; LF, *Lycii fructus*; RG, *Rehmannia glutinosa*; TJ, *Torilis japonica*; CJ, *Cuscuta japonica*. Significant value compared to control data, *p<0.01.

지질과산화 억제효과

리놀산은 콩기름과 해바라기 오일 등 다양한 식물성 오일에서 발견되는 필수지방산으로 유화제로 사용되며, 건조와 거칠음을 방지한다. 리놀산은 자동 산화 쉽게 된다는 점을 감안하여 항산화 물질의 효능을 이용하여 자동산화를 억제하는 정도를 실험 결과(Fig. 3)에서 나타내었다. 복분자에서 90% 정도의 자동산화 억제 효능을 보였으며 그 뒤를 이어 토사자, 건지황, 음양곽, 사상자, 오미자, 구기자 순으로 유의성 있게 7개의 한방재료의 자동산화 억제능을 볼 수 있었다.

Superoxide radical 소거효과 측정

활성산소는 생물학적 반응에서 세포내 효소 또는 대부분의 전자 운반과정에서 만들어지며 안정되지 못하여 강한 활성을 가진다. 활성산소는 분자나 이온과 다르게 1개 이상의 짝 없는 전자를 갖는 화학물질로서 여러 가지 물질대사를 영위하는데 이용되지만 자외선, 생화학적 반응 등으로 1O_2 , $\cdot O_2^-$, OH, hydrogen peroxide 등 free radical의 생산이 과잉되면 생체에 대하여 독성을 나타내어 여러 가지 질환의 발생기전에 관여한다고 한다(18-22). Superoxide radical 소거 실험에서는 trolox를 표준물질로 사용하였으며 실험 결과는 Fig 4에서 나타난 바와 같이 복분자> 구기자> 음양곽> 건지황> 오미자> 토사자> 사상자 순으로 각각 79%, 65%, 59%, 58%, 48%, 45%, 36%의 활성을 보였다. 또한 농도 의존적인 효능을 보였으나 표준물질 보다는 다소 소거능이 떨어지는 것으로 나타났다.

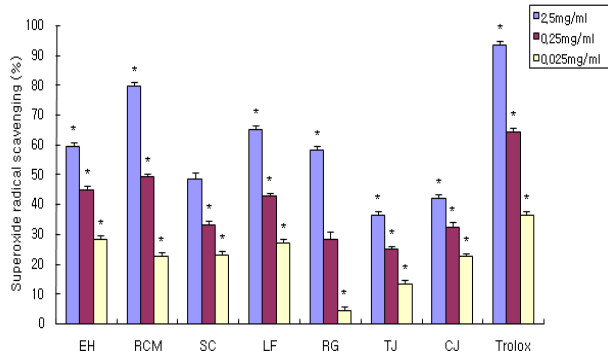


Figure 4. Scavenging effects of Oriental herb extracts on superoxide radical. Trolox was used as the standard material. EH, *Epimedii Herba*; RCM, *Rubus coreanus* Miquel; SC, *Schizandra chinensis*; LF, *Lycii fructus*; RG, *Rehmannia glutinosa*; TJ, *Torilis japonica*; CJ, *Cuscuta japonica*. Significant value compared to control data, *p<0.01.

Hydroxyl radical 소거효과 측정

Hydroxyl radical ($\cdot OH$)은 활성산소 중 반응성이 매우 강하여 생체 산화에 주된 역할을 하는 것으로 알려져 있다(23). 초임계 한방원료 시료의 처리에 따른 Hydroxyl radical 소거 실험의 경우 Fig 5와 같다. 복분자가 다른물질에 비해 뛰어난 활성을 나타냈으며 그 다음으로는 오미자> 음양곽> 사상자> 토사자> 구기자> 건지황 순으로 활성을 나타내었으며 항산화 물질로서의 가능성을 확인할 수 있었다. Heo(24)의 연구에서는 hydroxyl radical 활성과 DPPH 활성이 유사하게 나타내었다고 보고하였고, 본 연구에서도 활성을 가지는 경우는 유사하나 초임계 한방 추출물의 hydroxyl radical 소거 실험의 경우 오미자의 효능이 좋은 것으로 나타났다.

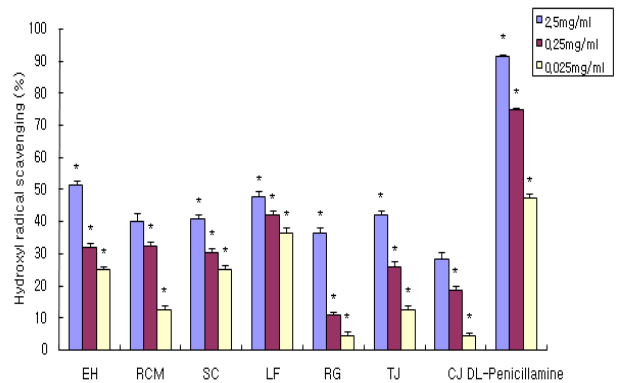


Figure 5. Scavenging effects of Oriental herb extracts on hydroxyl radical DL-penicillamine was used as the standard material. EH, *Epimedii Herba*; RCM, *Rubus coreanus* Miquel; SC, *Schizandra chinensis*; LF, *Lycii fructus*; RG, *Rehmannia glutinosa*; TJ, *Torilis japonica*; CJ, *Cuscuta japonica*. Significant value compared to control data, *p<0.01.

Collagen 합성 촉진효과 측정

세포외기질의 주요 구성 성분인 collagen은 피부의 섬유아세포에서 생성되는 주요 기질 단백질로 피부, 건 (tendon), 뼈 및 치아의 유기 물질의 대부분을 형성하며, 피부의 기계적 견고성, 결합 조직의 저항력과 조직의 결합력, 세포 접착의 지탱, 세포 분할과 분화의 유도 등의 기능을 가지고 있다. 콜라겐 (type I, II, III, IV and V)들은 프로콜라겐이라는 전구물질의 형태로 합성된다. 프로콜라겐은 아미노 말단과 카복시 말단에 프로펩티드라는 펩티드 염기서열을 포함한다. 프로펩티드의 기능은 소포체내에서 프로콜라겐 분자의 folding을 도와줌과 동시에 콜라겐 중합반응이 일어날 때 콜라겐 분자로부터 절단, 분리된다고 알려져 있다. 따라서 프로펩타이드의 양을 측정함으로써, 세포내에서의 콜라겐 생합성정도를 파악할 수 있다(25). 콜라겐은 피부의 주름형성과 밀접한 연관이 있으며 콜라겐이 부족할 경우 주름이 유발될 수 있다. 따라서 콜라겐의 합성을 촉진시킬 수 있는 소재는 탄력 있는 피부를 만들어주는 화장품 원료로서 사용 가능하다고 생각하여 음양곽 외 6가지 물질로 collagen 합성 실험을 하였다. 실험결과 Fig 6에서 나타난 바와 같이 구기자, 사상자, 건지황 에서 50% 이상의 콜라겐 생합성이 촉진되었고 그 외 토사자, 복분자, 오미자, 음양곽의 순서로 유의성 있게 콜라겐 생합성능을 볼 수 있었다.

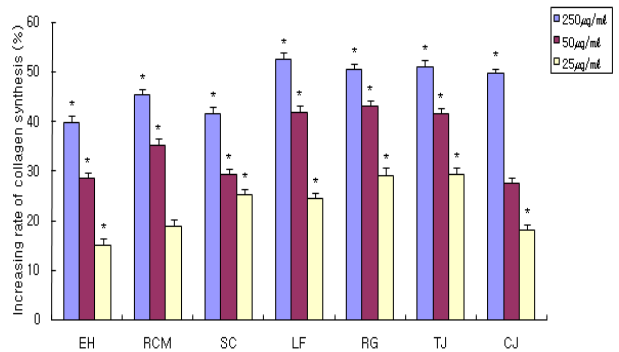


Figure 6. Increasing effects of Oriental herb extracts on collagen synthesis. EH, *Epimedii Herba*; RCM, *Rubus coreanus* Miquel; SC, *Schizandra chinensis*; LF, *Lycii fructus*; RG, *Rehmannia glutinosa*; TJ, *Torilis japonica*; CJ, *Cuscuta japonica*. Significant value compared to control data, *p<0.01.

Collagenase 억제 효과 측정

피부세포의 결합 조직을 구성하는 성분 중 Collagen은 피부 건조증량의 90%정도를 차지하는 주요 구성 단백질이다. 따라서 Collagen의 분해는 결합조직의 탄력저하와 주름생성 등에 직접적인 영향을 미친다. 체내에서 생성되는 수종의 MMPs 가운데 MMP-1 (Matrix metalloproteinase 1)은 Collagen에 특이적으로 작용하는 Protease로서 MMP-1 활성을 억제하면 Collagen의 분해를 감소시키며 피부조직의 탄력을 유지하고 주름 생성을 예방할 수 있는 것으로 알려져 있다(26). 그 결과 MMP-1 저해 효과가 있는 소재는 주름을 개선하고 탄력 있는 피부를 위한 화장품 개발에 유용하게 사용될 수 있다는 생각으로 7가지 물질로 MMP-1의 효소활성에 대한 저해 효과를 확인하였다. Fig 7에서 나타난 것처럼 구기자가 가장 저해율이 높게 나타났으며 그 뒤로 사상자> 건지황> 복분자> 토사자> 음양곽> 오미자 순으로 collagenase를 저해하였다. 이는 피부노화 예방에 효과를 기대할 수 있는 것으로 예상되며 초임계 추출을 이용한 MMP-1의 활성을 억제하는 성분에 관한 연구는 앞으로 진행되어야 할 과제라고 판단된다.

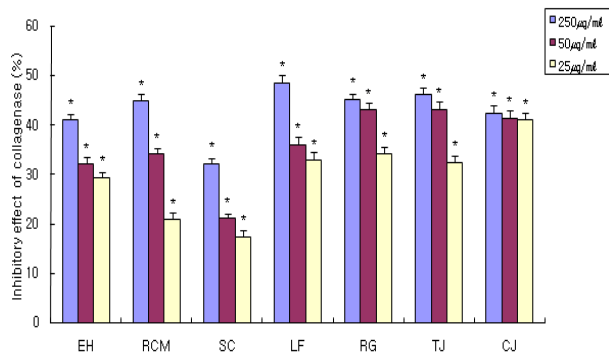


Figure 7. Inhibitory effects of Oriental herb extracts on collagenase activity. EH, *Epimedii Herba*; RCM, *Rubus coreanus* Miquel; SC, *Schizandra chinensis*; LF, *Lycii fructus*; RG, *Rehmannia glutinosa*; TJ, *Torilis japonica*; CJ, *Cuscuta japonica*. Significant value compared to control data, *p<0.01.

요 약

본 연구에서는 초임계 추출방법을 이용한 7가지 한방원료 (음양곽, 복분자, 오미자, 구기자, 건지황, 사상자, 토사자)의 유효성분을 추출하였으며, 각 추출물의 항산화 효과, collagen 합성 촉진 효과, collagenase 활성 저해 효과를 비교 평가함으로써 주름 개선 기능성 화장품 원료로서의 사용 가능성을 검토하였다.

실험결과 초임계 추출물의 항산화 활성측정시 DPPH 소거 효과, 리놀산 자동산화, superoxide radical, Hydroxyl radical 소거 작용의 경우 복분자 추출물이 뛰어난 항산화 능력을 볼 수 있었으며, 주름개선효과의 경우 초임계 추출물의 콜라겐 합성과 MMP-1 저해 효과는 구기자 추출물이 주름개선에 탁월한 효과를 확인 할 수 있었다. 이를 기초로 하여 초임계 복분자 추출물과 구기자 추출물을 이용시 항산화 활성과 주름개선 효능에 우수한 화장품의 소재로서 이용이 될 수 있다고 사료된다. 이러한 결과를 바탕으로 초임계 추출을 이용한 7가지 한방원료가 가지는 항산화 및 주름개선 효능을 효율적인 배합시

기능성 화장품 소재로 활용될 수 있을 것으로 사료된다.

이 후 실험으로는 melanocyte 배양을 통한 직접적인 세포실험을 하여 초임계 한방원료 추출물의 tyrosinase inhibition 활성, 피부의 주름개선 효과를 in vivo 실험상에서 현재 진행 중에 있다.

감 사

본 연구는 2007년도 중소기업기술혁신개발사업의 지원 (과제 번호 : S1001900)으로 수행된 것으로 이에 감사드립니다.

REFERENCES

- Bernstein, E. F., Y. Q. Chen, K. Tamai, K. J. Shepley, K. S. Resnik, H. Zhang, R. Tuan, A. Mauviel, and J. Uitto (1994), Enhanced elastin and fibrillin gene expression in chronically photodamaged skin, *J. Invest. Dermatol.* **103**(2), 182-186.
- Gilchrist, B. A. (1989), Skin aging and photoaging : an overview, *J. Am. Acad Dermatol.* **21**, 610-613.
- Chung, J. H. (2003), Photoaging in Asians, *Photodermatol. Photoimmunol. Photomed.* **19**, 109-121.
- Matsumura, Y. and H. N. Ananthaswamy (2004), Toxic effects of ultraviolet radiation on the skin, *Toxicol. Appl. Pharmacol.* **195**, 298-308.
- Harman, D. (1987), The free radical theory of aging. In modern biological theories of aging, H. R. Warner, R. N. Butler, R. L. Sprott and E. L. Schneider, eds., p89, Raven Press NY.
- Janssen, Y. M., B. V. Houten, P. J. Borm, and B. T. Mossman (1993), Cell and tissue responses to oxidative damage, *Lab. Invest.* **69**, 261-274.
- Park, S. K., M. Y. Chang, Y. D. Kim, B. Y. Jeong, Y. H. Won, J. J. Kim, and S. H. Kang (1999), Changes of facial wrinkle after topical application of an emulsion containing medimin A, *J. Soc. Cos. Sci. Kor.* **25**(1), 23-36.
- Palmer, M. V. and S. S. T. Ting (1995), Applications of supercritical fluid technology in food processing, *Food chem.* **52**, 345-352.
- Chiu, K. L., Y. C. Cheng, L. H. Chang, and P. W. Yang (2002), Supercritical fluids extraction of Ginkgo ginkgolides and flavonoids, *J. Supercrit. Fluids* **24**, 77-87.
- Lang, Q. and C. M. Wai (2001), Supercritical fluid extraction in herbal and natural product studies- a practical review, *Talanta* **53**, 771-782.
- Lin, M. C., M. J. Tsai, and K. C. Wen (1999), Supercritical fluid extraction of flavonoids from *Scutellariae radix*, *J. Chromatogr. A* **830**, 387-395.
- Fugita, Y., I. Urea, Y. Morimoto, M. Nakajima, C. Hatano, and T. Okuda (1998), Studies on inhibition mechanism of autoxidation by tannins and flavonoids, *Yakugaku Zasshi.* **108**, 129-135.
- Osawa, T. and M. Namiki (1981), A novel type antioxidant isolated from leaf wax Eucalyptus leaves, *Agric. Biol. Chem.* **45**, 735-740.
- Kang, H. S., H. Y. Chung, K. H. Son, S. S. Kang, and J. S. Choi (2003), Scavenging effect of Korean medicinal plants on the peroxynitrite and total ROS, *Natural Product Sci.* **9**(2), 73-79.
- Lee, H. J. (2003), DPPH radical scavenging effect and in vitro Lipid peroxidation inhibition by *Portulaca oleraceae*, *Kor. J. Biotechnol. Bioeng.* **18**, 165-169.
- Kim, Y. K. (2002), Free radical scavenging activity of red ginseng aqueous extracts, *Toxicol.* **172**, 149-156.
- Wang, L. F. (2003), A theoretical investigation on DPPH radical scavenging Mechanism of Edaravone, *Bioorganic & Med. Chem. Lett.* **13**, 3789-3792.

18. Bulkley, G. B. (1983), The role of oxygen free radicals in human disease processes, *Surgery* **94**, 407-411.
19. Cross, C. E., B. Halliwell, and E. T. Borish (1987), Oxygen radicals and human disease, *Ann Intern Med* **107**, 526-545.
20. Dormandy, T. L. (1983), An approach to free radicals, *lancet*, **2**, 1010-1014.
21. Halliwell, B. (1987), Oxidants and human disease: some new concepts, *FASEB. J.* **1**(5), 358-364.
22. Halliwell, B. J. and M. C. Gutteridge (1989), Free radicals in biology and medicine, *2nd ed.*, p267, *Oxford Clarendon Press*.
23. Chung, S. K. (1997), Hydroxy radical scavenging effects of species and scavengers from brown mustard, *Biosci. Biotech. Biochem.* **61**, 118-123.
24. Heo, J. C., J. Y. Park, S. M. An, J. M. Lee, C. Y. Yun, H. M. Shin, T. K. Kwon, and S. H. Lee (2006), Anti-oxidant and anti-tumor activities of crude extracts by *Gastrodia elata blume*, *Kor. Soc. Food Preser.* **13**, 83-87.
25. Parfitt, A. M., L. S. Simon, A. R. Villanueva, and S. M. Krane (1987), Procollagen type I carboxy-terminal extension peptide in serum as a marker of collagen biosynthesis in bone. Correlation with iliac bone formation Rates and comparison with total alkaline phosphatase, *J. Bone. Miner. Res.* **2**(5), 427-436.
26. Nagase, H. and J. F. Woessner (1999), Jn. : Matrix metalloproteinases, *J. Biol. Chem.* **274**, 21491-21494.