

굴피나무 추출물의 항산화, 항노화 효과 및 인체 시험

양희정·박수남[†]

서울산업대학교 자연생명과학대학 정밀화학과
(2008년 10월 22일 접수, 2008년 12월 10일 채택)

Antioxidative and Antiaging Effects of *Platycarya strobilacea* Extract and Clinical Trial

Hee Jung Yang and Soo Nam Park[†]

Department of Fine Chemistry, College of Nature and Life Science, Seoul National University
of Technology, 172, Gongneung 2-dong, Nowon-gu, Seoul 139-743, Korea
(Received October 22, 2008; Accepted December 10, 2008)

요약: 본 연구에서는 굴피나무 수피 추출물의 항산화, 미백 및 주름생성억제에 관한 효과를 측정하였다. 추출물의 free radical (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl, DPPH) 소거활성(FSC₅₀)은 50 % 에탄올 추출물(6.75 µg/mL) < 당을 제거시킨 aglycone 분획(6.62) < ethyl acetate 분획(4.15) 순으로 증가하였다. Luminol-의존성 화학발광법을 이용한 Fe³⁺-EDTA/H₂O₂ 계에서 생성된 활성산소종(reactive oxygen species, ROS)에 대한 총항산화능은 ethyl acetate 분획(OSC₅₀, 0.56 µg/mL) < 50 % 에탄올 추출물(0.02) < 당을 제거시킨 aglycone 분획(0.01) 순으로 당을 제거시킨 aglycone 분획에서 가장 큰 활성을 나타내었다. 굴피나무 추출물에 대하여 rose-bengal로 증감된 사람 적혈구의 광용혈에 대한 보호효과를 조사하였다. 50 % 에탄올 추출물의 경우 농도 의존적(1 ~ 50 µg/mL)으로 광용혈을 억제하였다. 특히 ethyl acetate 분획은 10 µg/mL 농도에서 τ₅₀이 717.27 min으로 매우 큰 세포보호 활성을 나타내었다. 미백 및 주름억제 효과측정으로 는 각각 tyrosinase와 elastase의 활성 저해 효과를 측정하였다. Tyrosinase의 활성 저해 효과(IC₅₀)는 50 % 에탄올 추출물(243.98 µg/mL) < ethyl acetate 분획(153.87) < 당을 제거시킨 aglycone 분획(137.53) 순으로 나타났고, elastase의 활성 저해 효과(IC₅₀)도 50 % 에탄올 추출물(31.01 µg/mL) < ethyl acetate 분획(14.42) < 당을 제거시킨 aglycone 분획(1.48) 순으로, aglycone 분획이 매우 큰 활성 저해 활성을 나타내었다. 또한 굴피나무 추출물 중 ethyl acetate 분획을 함유하는 크림을 제조하고, 이를 피부에 도포한 후, 피부 수분 보유량, 경표피 수분 손실량 그리고 미백효과를 측정하였다. 추출물 함유 크림은 대조군(placebo)보다 수분 보유량을 2 ~ 8 % 증가시켰고, 경표피 수분 손실량은 감소시켰다. 또한 추출물 함유 크림은 대조군에 비해 멜라닌 생성을 9.55 % 감소시켰다. 이상의 결과들은 굴피나무 추출물이 항산화 활성과 더불어 ROS에 대하여 세포막을 보호함으로써 생체계, 특히 태양 자외선에 노출된 피부에서 항산화제로서 작용할 수 있음을 가리키며, tyrosinase 및 elastase의 활성 저해 효과와 이를 통한 인체 시험의 결과로부터 미백 기능성 화장품 원료로서 응용 가능성이 있음을 시사한다.

Abstract: In this study, we investigated the anti-oxidative, anti-wrinkle and whitening effects of *Platycarya strobilacea* bark extracts. The free radical (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl, DPPH) scavenging activity (FSC₅₀) of extract / fractions of *Platycarya strobilacea* was in the order: 50 % ethanol extract (6.75 µg/mL) < deglycosylated aglycone fraction (6.62 µg/mL) < ethyl acetate fraction (4.15 µg/mL). Reactive oxygen species (ROS) scavenging activities (OSC₅₀) of some *Platycarya strobilacea* extracts on ROS generated in Fe³⁺-EDTA/H₂O₂ system were investigated using the luminol-dependent chemiluminescence assay. The order of ROS scavenging activity was ethyl acetate fraction (OSC₅₀, 0.56 µg/mL) < 50 % ethanol extract (0.02 µg/mL) < deglycosylated aglycone fraction (0.01 µg/mL). The deglycosylated aglycone fraction showed the most prominent scavenging activity. The protective effects of extract / fractions of *Platycarya strobilacea* on the rose-bengal sensitized photohemolysis of human erythrocytes were investigated. The ethanol extract (50 %) suppressed photohemolysis in a concentration dependent

[†] 주 저자 (e-mail: snpark@snut.ac.kr)

manner, particularly ethyl acetate fraction exhibited the most prominent cellular protective effect (τ_{50} , 717.27 min at 10 $\mu\text{g/mL}$). The inhibitory effect of *Platycarya strobilacea* extracts on tyrosinase were investigated to assess their whitening efficacy. Finally, their anti-elastase activities were measured to predict the anti-wrinkle efficacy in the human skin. The inhibitory effect (IC_{50}) on tyrosinase of some *Platycarya strobilacea* extracts was 50 % ethanol extract (243.98 $\mu\text{g/mL}$) < ethyl acetate fraction (153.87 $\mu\text{g/mL}$) < deglycosylated aglycone fraction (137.53 $\mu\text{g/mL}$). Also, The inhibitory effect of elastase (IC_{50}) of some *Platycarya strobilacea* extracts was 50 % ethanol extract (31.01 $\mu\text{g/mL}$) < ethyl acetate fraction (14.42 $\mu\text{g/mL}$) < deglycosylated aglycone fraction (1.48 $\mu\text{g/mL}$). The cream containing the ethyl acetate fraction of *Platycarya strobilacea* extracts was formulated. The skin hydration, transepidermal water loss, and the whitening effects were investigated after topical application of the cream. The skin hydration of cream containing extract was increased by 2 ~ 8 % than the placebo cream, transepidermal water loss was decreased. The cream containing extract suppressed the melanogenesis of skin by 9.55 % than the placebo cream. These results indicate that extract / fractions of *Platycarya strobilacea* can function as antioxidants in biological systems, particularly skin exposed to UV radiation by anti-oxidative activity and protect cellular membranes against ROS. The inhibitory effect on elastase and tyrosinase, and the increase of skin hydration and the whitening effect of the cream containing extract could be applicable to new functional cosmetics for antiaging.

Keywords: *Platycarya strobilacea*, flavonoid, antioxidative activity, tyrosinase, cosmetics

1. 서 론

피부는 항상 주위 환경과 접촉하고 있기 때문에 산화적 스트레스에 직접적으로 노출되어 있다. 이러한 산화적 스트레스의 요인으로는 공해, 태양 자외선, 화학 산화제 및 미생물 등이 있다. 특히 자외선에 의한 광산화적 피부 손상은 활성산소종(reactive oxygen species, ROS)에 의해서 매개되며, 항산화제 고갈, 지질 과산화, 단백질 산화 및 DNA의 산화적 손상의 결과를 가져온다. ROS란 반응성이 매우 큰 $^1\text{O}_2$ 및 $\cdot\text{OH}$ 을 비롯하여 $\text{O}_2^{\cdot-}$, H_2O_2 , $\text{ROO}\cdot$, $\text{RO}\cdot$, ROOH 및 HOCl 등을 말한다. ROS 중에서 특히 $^1\text{O}_2$ 및 $\cdot\text{OH}$ 은 피부 광손상에 있어서 중요한 역할을 하는 것으로 알려져 있다. 이들 ROS는 효소적 그리고 비효소적 항산화제로 이루어진 피부 항산화 방어망을 붕괴시키고 생체 분자의 산화적 변형, 피부 장벽의 손상과 결합조직 성분인 콜라겐, 히아루론산 등의 사슬절단 및 비정상적인 교차결합에 의한 주름생성 등 피부노화를 가속시킨다[1-7].

피부 진피 층에 있는 콜라겐 및 엘라스틴 등은 세포외 매트릭스를 이루는 성분 중 가장 중요한 성분들이기 때문에, 이들 성분들의 생합성과 분해의 조절은 피부노화 과정 중에서 핵심이 되고 있다. 사람 피부에서 산화적 손상뿐만 아니라 UVA (320 ~ 380 nm) 의존성 세포사멸이나 유전자 활성화에도 ROS가 포함되는 것으로 보고되고 있다. 사람 피부 섬유아세포에서 $^1\text{O}_2$ 이 matrix metalloproteinases (MMPs)의 발현을 유발시키며, UVA로 유도된 MMP-1 (collagenase)의 합성을 $^1\text{O}_2$ 이 매개할 수

있다는 보고도 있다[8-11]. 또한, 사람 피부 표면 지질인 squalene은 α -토코페롤과 같이 자외선에 의한 ROS의 첫번째 공격 표적이며, UVA (320 ~ 400 nm)에 노출시킬 때 squalene monohydroperoxide (SqOOH)가 생성된다고 보고되고 있다. Squalene은 $^1\text{O}_2$ 의 좋은 소광제로 피부 각질층의 항산화 방어의 최전선을 형성하는 중요한 역할을 담당하는 것으로 생각되고 있다[12,13]. 이와 같은 사실은 광노화를 방어하고 자외선으로부터 피부 보호제를 개발하는데 있어서 $^1\text{O}_2$ 을 비롯한 ROS가 중요한 역할을 할 수 있음을 시사한다. $^1\text{O}_2$ 을 비롯한 ROS가 광노화에 포함되기 때문에 항산화제에 의한 자외선 노출 후 ROS의 감소는 광노화를 예방하고 최소화시키기 위한 촉망되는 전략임은 분명하다[14-23].

굴피나무(*Platycarya strobilacea*)는 가래나무과에 속하는 낙엽수목으로, 열매와 뿌리는 약용으로 이용되어 왔으며, 뿌리 껍질은 소염작용이 있는 것으로 알려져 있다. 굴피나무 지상부 추출물의 항진균 활성 및 잎 추출물의 항암활성들이 보고되고 있고[24-28], 항산화 작용으로 free radical 소거활성(DPPH), 항염증 작용으로 NF- κ B의 활성 억제와 IL-8 mRNA 발현 억제작용 등이 알려져 있다[29]. 굴피나무 수피 추출물 성분으로는 quercetin, morin, quercitrin 및 그 배당체들이 함유되어 있는 것으로 보고되었다[30,31].

그러나 피부 노화 과정에 깊이 관여하는 활성산소인 $^1\text{O}_2$ 으로 유도된 세포손상에 대한 항산화적 보호 작용이나 생체에서와 같이 각종 활성산소종(H_2O_2 , $\text{O}_2^{\cdot-}$, $\cdot\text{OH}$ 등)이 생성되는 계(Fe^{3+} -EDTA/ H_2O_2 계)에서의 각종

ROS에 대한 총항산화능에 관한 연구는 아직 되어 있지 않다. 따라서 본 연구에서는 화장품 원료로서 사용 가능한 굴피나무 수피 추출물(혹은 분획)을 제조하고 이들 추출물(혹은 분획)의 1O_2 으로 유도된 세포손상에 대한 보호활성, Fe^{3+} -EDTA/ H_2O_2 계에서의 총 항산화능, 피부 미백에 관여하는 tyrosinase 활성 저해 효과 및 피부 주름 생성에서 중요한 역할을 하는 elastase 활성 저해 효과를 알아보하고자 하였다. 또한 몇 가지 다른 항산화제들을 대조군으로 하여 굴피나무의 항산화능을 비교 평가하고 위의 결과를 통하여 기능성 미백 화장품 소재로서 가능성이 있는지를 인체 시험을 통하여 미백효과 및 보습효과를 측정하였다.

2. 재료 및 실험

2.1. 기기 및 시약

UV-visible spectrophotometer는 Varian (Australia)사의 Cary 50, 적혈구 광용혈에 사용한 Spectronic 20D는 Milton Roy Co. (USA) 제품, 화학발광기는 Berthold (Germany)사의 6-channel LB9505 LT를, pH meter는 Istek (Korea)사 제품을 사용하였다. 또한 인체 시험을 위해 CK electronic (Germany)사 제품의 Corneometer CM820, Tewameter TM210, Mexameter MX16를 사용하였으며, Solar Light Co. (USA) 제품의 Multiport 601 150W Solar Light Simulator를 사용하였다.

(+)- α -Tocopherol (1,000 IU vitamin E/g), L-ascorbic acid, EDTA, luminol, heparin, 증감제로 사용된 rosebengal, free radical 소거활성에 사용한 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) radical은 Sigma Chemical Co. (USA)에서 구입하여 사용하였다. 기타 $FeCl_3 \cdot 6H_2O$ 는 Junsei Chemical Co. (Japan) 제품을, H_2O_2 는 Dae Jung Chemical & Metals (Korea)사 제품을 사용하였다.

완충용액제조에 사용된 $Na_2HPO_4 \cdot 12H_2O$, $NaH_2PO_4 \cdot 2H_2O$, NaCl, K_2HPO_4 , KH_2PO_4 , trizma base 그리고 에탄올(EtOH), 메탄올(MeOH), ethyl acetate (EtOAc), HCl 등 각종 용매는 시판 특급 시약을 사용하였다. 기질로 사용된 L-tyrosine, N-succinyl-(Ala) $_3$ -p-nitroanilide, 효소로 사용된 tyrosinase (12.7 mg solid, 3,960 units/mg solid), elastase (0.35 mg protein/mL, 7.8 units/mg protein)는 Sigma Chemical Co. (USA)에서 구입하여 사용하였다. 플라보노이드의 분석에 사용한 thin layer chromatography (TLC)는 aluminum sheet silica gel 60 F $_{254}$ (0.2 mm)로 Merck (USA)사에서 구입하였다. 실험 재

료인 굴피나무는 2006년 3월경 경동시장에서 구매하여 사용하였다.

2.2. 굴피나무의 분획 추출

건조된 굴피나무 수피 50 g을 잘게 자른 후 50 % 에탄올 500 mL를 이용하여 일주일 동안 침적시킨 후 여과하였다. 이 여액을 감압 건조하여 파우더를 얻고 이를 실험에 사용하였다. 또한 50 % 에탄올 추출물은 감압 농축한 후 물과 hexane을 이용하여 비극성 성분을 제거하고 이후 ethyl acetate 분획을 감압·농축하여 파우더를 얻었다.

Ethyl acetate 분획으로부터 aglycone 제조: ethyl acetate 분획에서 얻은 파우더 일부는 산 가수분해 반응을 이용해서 당을 제거시킨 후 얻은 aglycone 파우더를 실험에 사용하였다. 실험 방법은 ethyl acetate 가용분 일정량에 H_2SO_4 및 acetone 용액을 넣고, 4 h 동안 중탕 가열하면서 환류·냉각시킨다. 환류시킨 용액을 5 % KOH-MeOH 용액으로 중화 적정한다. 중화 적정 후 다시 ethyl acetate 층을 분획하고 이를 감압·농축하여 실험에 사용하였다.

2.3. 굴피나무 추출물의 항산화 효과 측정

2.3.1. DPPH법을 이용한 Free Radical 소거 활성

Free radical은 노화, 특히 피부노화의 원인 물질로 간주되고 있다. 굴피나무 추출물에 대한 free radical 소거활성 측정은 DPPH를 이용하였다. 실험방법은 메탄올에 용해시킨 0.2 mM DPPH 용액 1 mL에 에탄올 1 mL를 첨가하고 여러 농도의 추출물 1 mL을 첨가하여 섞은 다음 실온에서 10 min 동안 방치 후 spectrophotometer로 517 nm에서 흡광도를 측정하였다. 그 활성의 크기는 시료를 넣지 않은 경우를 대조군(control)으로 하고 시료를 넣은 것을 실험군(experiment)으로 하여 다음 식에 의해 DPPH의 활성 저해율을 나타내었다. 소거 활성은 DPPH의 농도가 50 % 감소되는데 필요한 시료의 농도(free radical scavenging activity, FSC $_{50}$, $\mu g/mL$)로서 표기하였다.

$$\text{Inhibition (\%)} = \left\{ 1 - \left[\frac{A_{\text{Experiment}} - A_{\text{Blank}}}{A_{\text{Control}}} \right] \right\} \times 100$$

2.3.2. Luminol 발광법을 이용한 Fe^{3+} -EDTA/ H_2O_2 계에 있어서 활성산소 소거 활성(총항산화능)

철이나 구리 같은 전이금속은 반응성이 가장 큰 hydroxyl radical ($\cdot OH$)을 생성시키는 촉매로 작용한다.

본 실험에서 사용한 Fe^{3+} -EDTA/ H_2O_2 계는 각종 ROS ($\text{O}_2^{\cdot-}$, $\cdot\text{OH}$ 그리고 H_2O_2)를 생성시킨다. 따라서 이 계를 이용하면 ROS에 대한 총 항산화능을 측정할 수 있다. 이 총 항산화능에는 활성산소의 생성을 막아주는 킬레이트작용도 포함될 수 있다. Fe^{3+} -EDTA/ H_2O_2 계에서 생성된 ROS의 검출은 luminol과 ROS 간의 반응을 통한 화학발광을 측정함으로써 알 수 있다.

화학발광 측정용 튜브에 증류수 1.78 mL를 넣고 다양한 농도의 추출물을 넣었다. 여기에 2.5 mM EDTA 40 μL 및 5 mM $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 10 μL 를 가한 후 35 mM luminol 80 μL 를 넣고 흔들어 섞어 주었다. 이어서 화학발광기의 cell holder에 튜브를 넣고 5 min 동안 항온시킨 후 150 mM H_2O_2 40 μL 를 넣고 화학발광을 25 min 동안 측정하였다. 대조군(control)은 시료용액 대신에 증류수를 넣고, 공시험(blank)은 시료군과 조건이 동일하나 H_2O_2 와 $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 을 첨가하지 않은 것으로 하였다. 화학발광기 6-channel LB9505 LT의 각 채널은 실험 전에 보정하여 채널간의 차이가 거의 없도록 하였다. 화학발광으로 측정된 저해율을 다음 식과 같이 나타내었고, 활성산소 소거활성의 크기는 화학발광의 세기가 50 % 감소되는데 필요한 시료의 농도(reactive oxygen species scavenging activity, OSC_{50} , $\mu\text{g}/\text{mL}$)로서 표기하였다.

$$\text{Inhibition (\%)} = \frac{(\text{Control의 cpm} - \text{Sample의 cpm})}{(\text{Control의 cpm} - \text{Blank의 cpm})} \times 100$$

2.4. Photohemolysis법을 이용한 세포보호 효과 측정

사람 적혈구를 대상으로 활성산소에 의한 세포손상 및 파괴 실험은 활성산소에 의한 세포손상 모델로 적합한 점이 많다. 이 실험법을 이용하여 천연물을 대상으로 활성산소에 대한 세포보호 효과를 측정할 수 있다.

2.4.1. 적혈구 현탁액 제조

적혈구는 건강한 성인 남녀로부터 얻었다. 채혈 즉시 heparin이 첨가된 시험관에 넣은 후, 3,000 rpm으로 5 min 동안 원심분리하여 적혈구와 혈장을 분리하고, 분리한 적혈구는 0.9 % saline phosphate buffer로 세척하여 원심분리하고 흰색의 백혈구 층은 제거하였다. 3회 반복하여 세척, 분리한 적혈구는 4 °C의 냉장고에 보관하면서 사용하였고, 모든 실험은 채혈 후 12 h 이내에 행하였다. 광용혈 실험은 이미 확립된 방법에 따라 수행하였다. 실험에 사용된 적혈구 현탁액은 700 nm에서 O.D.가 0.6이었으며 이때 적혈구 수는 1.5×10^7 cells/mL이었다.

2.4.2. 굴피나무 추출물의 광용혈 억제 효과

적혈구 현탁액 3.5 mL를 파이렉스 시험관(No. 9820)에 넣은 후, 시료용액을 첨가하였다. 추출물을 농도별로 각각 50 μL 씩 첨가하였다. 암소에서 30 min 동안 pre-incubation 시킨 후, 광증감제 rose-bengal (10 μM) 0.5 mL를 가하고 파라필름(Whatman laboratory sealing film, UK)으로 입구를 막은 후 15 min 동안 광조사 하였다.

광용혈에 필요한 광조사는 내부를 검게 칠한 50 cm × 20 cm × 25 cm 크기의 상자 안에 20 W 형광등을 장치하고, 형광등으로부터 5 cm 거리에 적혈구 현탁액이 담긴 파이렉스 시험관을 형광등과 평행이 되도록 배열한 후 15 min 동안 광조사 하였다. 광조사가 끝난 후 암반응(post-incubation) 시간에 따른 적혈구의 파괴정도를 15 min 간격으로 700 nm에서 투광도(transmittance, %)로부터 구하였다. 이 파장에서 적혈구 현탁액의 투광도의 증가는 적혈구의 용혈정도에 비례한다. 모든 실험은 20 °C 항온실에서 행하였다. 굴피나무 추출물의 광용혈에 미치는 효과는 post-incubation 시간과 용혈정도로 구성된 그래프로부터 적혈구의 50 %가 용혈되는 시간인 τ_{50} 을 구하여 비교하였다.

대조군(control)은 τ_{50} 이 31 min으로 오차범위 ± 1 min 이내로 모든 경우의 실험에서 재현성이 양호하게 나타났다. Rose-bengal을 첨가하고 광조사를 안 했을 경우와 rose-bengal을 첨가하지 않고 광조사만 했을 경우는 모두 암반응 120 min까지는 용혈이 거의 일어나지 않았다. 모든 실험은 3회 반복하여 평균하였다.

2.5. Tyrosinase 저해활성 측정

L-Tyrosine으로부터 멜라닌 생성과정에는 tyrosinase가 핵심효소로 작용한다. 따라서 tyrosinase의 저해활성은 미백활성을 측정하는데 매우 중요하다. L-Tyrosine (0.3 mg/mL) 1.0 mL, potassium phosphate buffer (0.1 M, pH 6.8) 1.8 mL, 시료 0.1 mL를 혼합한 후 37 °C에서 10 min 동안 항온 배양한 다음, 반응혼합물을 얼음수조에 넣어 반응을 종결시키고, 475 nm에서 흡광도를 측정하였다. Tyrosinase를 첨가하지 않은 것을 공시험(blank)으로 하여 효소활성 저해를 계산하였다. 활성의 크기는 0.1 mL tyrosinase의 활성을 50 % 감소시키는데 필요한 시료의 농도(IC_{50} , $\mu\text{g}/\text{mL}$)로 표기하였다.

2.6. Elastase 저해활성 측정

피부노화, 특히 주름생성에는 활성산소에 의한 작용과 matrix metalloproteinases (MMPs: collagenase, elas-

tase 등)에 의한 세포외 매트릭스의 파괴가 주원인으로 간주되고 있다. 따라서 MMPs의 저해활성 측정은 피부 노화 억제 평가에 대단히 중요하다.

Tris-Cl (pH 8.0) 0.04 M에 elastase 기질인 *N*-succinyl-(Ala)₃-*p*-nitroanilide 1.0 mM이 용해된 buffer 1,300 μL에 측정시료용액 7.5 μL와 buffer 92.5 μL를 첨가하여 25 °C에서 10 min 동안 pre-incubation 한 뒤 여기에 elastase 용액을 100 μL 첨가(최종농도 0.0025 U/mL)하여 25 °C 수욕상에서 10 min 동안 항온배양한 후 410 nm에서 흡광도를 측정하였다. 대조군(control)은 시료대신 시료용액으로 사용된 용매를 100 μL 첨가하였다. Blank는 *N*-succinyl-(Ala)₃-*p*-nitroanilide가 용해된 완충용액 대신 0.04 M tris-Cl buffer 1,300 μL를 첨가하였으며, 농도는 실험군과 동일하였다.

2.7. 인체 시험

굴피나무 추출물 중 ethyl acetate 분획을 포함하여 제조된 크림의 효능 시험을 위하여 20대의 피시험자 10명을 선정하여 6주 동안 평가를 실시하였다. 평가를 위해 Corneometer CM820, Tewameter TM210 를 사용하여 수분보유량, 경표피 수분 손실량을 측정하였으며, Mexameter MX16 (CK electronic, Germany)에 의한 melanin Index 및 erythema Index 측정과 설문지를 통한 주관적인 평가 및 육안평가로 미백에 대한 효능과 안전성, 사용감을 평가하였다.

보습 및 미백 효능평가에는 굴피나무 추출물 중 ethyl acetate 분획 0.2 %를 함유하는 크림을 제조하고 이를 인체 시험에 사용하였다(Table 1). 추출물 함유 크림을 팔 안쪽 도포한 후, 수분보유량과 경표피 수분 손실량은 각각 30 min, 60 min 간격으로 180 min 동안 측정하였으며, 미백 평가는 자외선 조사 후 3일, 7일, 1주, 2주, 4주, 6주 후 측정하였다. 미백에 대한 효능 평가에서는 6주 동안 매일 아침, 저녁으로 도포하도록 하였으며, 시험 기간에는 다른 제품의 사용을 금하였다.

평가를 실시하기 전에 피시험자들에게 주의 사항과 사용방법을 설명하여 숙지시켰으며, 시험 동의서를 받았다. 6주의 인체 시험이 완료된 후, 배포된 설문지를 수집하고 평가를 완료했다. 설문지에 기재된 결과를 분석하여 도표화 하였다.

2.8. 통계처리

모든 실험은 3회 반복하였고 통계분석은 5 % 유의수준에서 Student's *t*-test를 행하였다.

Table 1. A Formula of Cream Containing *Platycarya strobilacea* Extract

Component	Content (%)	
	Placebo	Experimental
D · W	Up to 100	Up to 100
Glycerine	7.0	7.0
1,3-B · G	5.0	5.0
Xanthan gum (Keltrol-F)	0.1	0.1
T · E · A	0.2	0.2
Methyl-paraben	0.1	0.1
Ceto-stearyl alcohol (Lanette-o)	2.0	2.0
Stearic acid	1.0	1.0
Glyceryl-stearate / PEG-100 stearate (Alracel #165)	1.5	1.5
Bees wax	1.0	1.0
Glyceryl monostearate (GMS-205)	1.0	1.0
Squalane (Pripure R 3759)	8.0	8.0
Caprylic capric tri-glyceride	5.0	5.0
Paraffin wax	2.5	2.5
Dimethicone (Si-200 / 100 CS)	0.3	0.3
<i>Platycarya strobilacea</i> extract (EtOAc fraction)	-	0.2

3. 결과 및 고찰

3.1. 굴피나무 추출물의 수득율

3.1.1. 굴피나무(*Platycarya strobilacea*) 추출물

건조한 굴피나무 50 g을 잘게 잘라 50 % 에탄올 500 L에 일주일 동안 침적시킨 후 여과 · 감압하여 파우더를 얻었다. 이 때 수득률은 9.08 %이었다. Ethyl acetate 분획은 50 % 에탄올로 추출한 것을 1차 hexane으로 비극성 물질을 제거한 뒤 ethyl acetate 분획을 추출하여 감압·농축하였고 수득률이 약 1.88 %이었으며, ethyl acetate 분획을 산 가수분해시켜서 당을 제거한 aglycone의 수득률은 33.81 %였다. 본 연구에서는 50 % 에탄올 추출물, ethyl acetate 분획, aglycone 분획을 실험에 사용하였다.

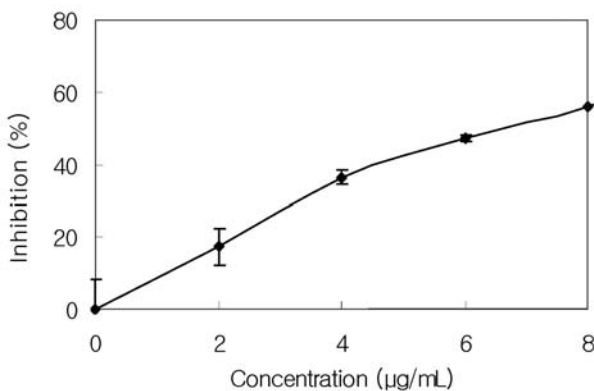
3.2. 굴피나무 추출물의 항산화 활성

3.2.1. DPPH법을 이용한 Free Radical 소거활성

생체막에 있어 활성산소 또는 지질 라디칼에 의해 개시된 지질과산화 반응은 자동산화 과정을 경유한 연쇄반

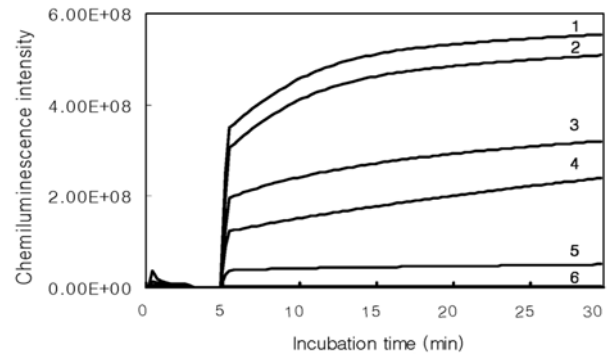
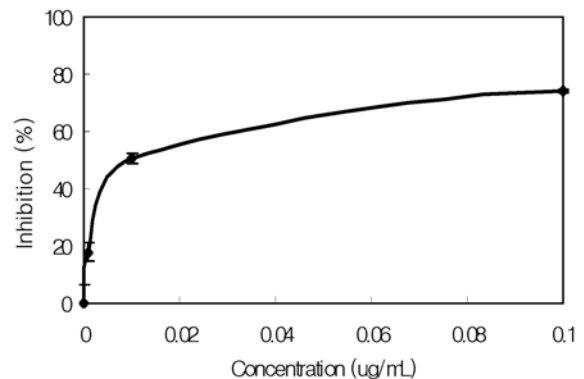
Table 2. Free Radical Scavenging Activities of Extracts from *Platycarya strobilacea* (PS) and References

Compounds	Scavenging activity (FSC ₅₀ , µg/mL)
<i>Platycarya strobilacea</i> extract (50 % EtOH)	6.75 (± 0.50)
<i>Platycarya strobilacea</i> extract (EtOAc fraction)	4.15 (± 1.06)
Deglycosylated fraction of <i>Platycarya strobilacea</i> extract (EtOAc fraction)	6.62 (± 1.02)
(+)- α -Tocopherol	8.98 (± 2.93)
L-Ascorbic acid	3.79 (± 0.83)

**Figure 1.** Free radical scavenging activity of deglycosylated fraction from *Platycarya strobilacea* extract (EtOAc fraction).

응이다. (+)- α -Tocopherol 등의 항산화제는 연쇄반응에서 지질 과산화라디칼에 수소 주개로 작용하여 연쇄반응을 종결시킨다. 이때 수소주개로 작용하는 항산화제의 능력은 안정한 free radical인 DPPH와의 반응을 통하여 알아 볼 수 있다.

굴피나무(*Platycarya strobilacea*) 추출물 그리고 비교 물질인 L-ascorbic acid와 (+)- α -tocopherol의 free radical 소거활성(FSC₅₀) 측정 결과는 Table 2 및 Figure 1과 같다. 굴피나무 추출물은 50 % 에탄올 추출물인 경우 FSC₅₀가 6.75 µg/mL, ethyl acetate 분획은 4.15 µg/mL, aglycone 분획은 6.62 µg/mL을 나타냈다. 3가지 추출물 모두 free radical 소거활성이 크게 나타났으며 그 중에서 ethyl acetate 분획이 보다 큰 활성을 나타내었으며, 이는 비교 물질인 (+)- α -Tocopherol보다도 큼을 보여주고 있다. 그 외에 비교 물질로 사용한 수용성의 L-ascorbic acid의 free radical 소거활성은 3.79 µg/mL이었다.

**Figure 2.** Reactive oxygen species scavenging activity of deglycosylated fraction from *Platycarya strobilacea* extract (EtOAc fraction) in Fe³⁺-EDTA/H₂O₂ system by luminol-dependent chemiluminescence assay. [FeCl₃ · 6H₂O] = 25 µM, [EDTA] = 50 µM, [H₂O₂] = 3 mM, [luminol] = 1.4 mM, concentrations of deglycosylated extract from *Platycarya strobilacea* EtOAc fraction: 1: control, 2: 0.001 µg/mL, 3: 0.01 µg/mL, 4: 0.1 µg/mL, 5: 1 µg/mL, 6: blank.**Figure 3.** Reactive oxygen species scavenging activity of deglycosylated fraction from *Platycarya strobilacea* extract (EtOAc fraction).

3.2.2. Luminol 발광법을 이용한 Fe³⁺-EDTA/H₂O₂ 계에 있어서 활성산소 소거 활성(총항산화능)

Luminol은 Fe³⁺-EDTA/H₂O₂ 계에서 생성된 ROS에 의해 산화되어 들뜬 상태의 아미노프탈산이 된 후 발광(420 ~ 450 nm)을 하는 것으로 알려져 있다. Figure 2 및 Figure 3에서 보는 바와 같이 굴피나무 추출물의 ethyl acetate 분획에서 당을 제거시킨 분획물은 0.001, 0.01, 0.1 및 1 µg/mL에서 농도 의존적으로 화학발광을 감소시켰다. 이로부터 당이 제거된 분획(deglycosylated fraction)의 활성산소 소거활성(총항산화능, OSC₅₀)은 Table 3에서와 같이 0.01 µg/mL이었다. Table 3에서 굴피나무 50

Table 3. Reactive Oxygen Species Scavenging Activities of Extracts from *Platycarya strobilacea* and Reference

Compounds	Scavenging activity
	(OSC ₅₀ , µg/mL)
<i>Platycarya strobilacea</i> extract (50 % EtOH)	0.02 (± 0.56)
<i>Platycarya strobilacea</i> extract (EtOAc fraction)	0.56 (± 3.27)
Deglycosylated fraction of <i>Platycarya strobilacea</i> extract (EtOAc fraction)	0.01 (± 1.52)
L-Ascorbic acid	1.50 (± 0.85)

% 에탄올 추출물은 0.02 µg/mL, ethyl acetate 분획 0.56 µg/mL로 나타났다. 따라서 총항산화능은 당을 제거시킨 분획이 50 % 에탄올 추출물보다 활성산소 소거활성이 보다 큼을 보여주었다. 50 % 에탄올 추출물, ethyl acetate 분획, 당을 제거시킨 분획 모두 비교물질로 사용한 L-ascorbic acid (1.50 µg/mL)보다도 큰 활성을 보였다.

3.3. ¹O₂으로 유도된 사람 적혈구의 파괴에 대한 세포보호 효과

굴피나무 추출물의 활성산소에 의한 세포손상에 있어서 보호 효과를 측정할 결과가 Figure 4 및 Table 4에 나와 있다.

적혈구 세포가 50 % 파괴되는데 걸리는 시간 (τ_{50})은 세포보호활성이 클수록 크게 나타난다. 굴피나무 50 % 에탄올 추출물은 1, 5, 10, 50 µg/mL의 농도에서 거의 농도 의존적 (τ_{50} 이 각각 50.13, 238.00, 460.00, 510.24 min)으로 세포 파괴를 억제하였다. 위의 결과에서 보듯이 50 % 에탄올 추출물은 50 µg/mL의 농도에서 가장 큰 세포보호 효과(510.24 min)를 보여주었다. 굴피나무 ethyl acetate 분획은 1, 5, 10, 50 µg/mL의 농도에서 거의 농도 의존적 (τ_{50} 이 각각 73.00, 538.50, 717.27, 95.53 min)으로 세포 파괴를 억제하였다. 위의 결과에서 보듯이 ethyl acetate 분획은 10 µg/mL의 농도에서 가장 큰 세포보호 효과(717.27 min)를 보여주었고, 농도가 50 µg/mL에서 95.53 min으로 감소하는 경향을 나타내었다. 이는 당을 제거시킨 분획의 세포보호 효과가 1, 5, 10 µg/mL에서 각각 122.27, 335.00, 302.00 min으로 농도가 10 µg/mL에서 감소하는 경향을 나타낸 것과 동일하다. 이는 아마도 추출물의 농도가 클 때는 세포막에 대한 교란작용(계면활성제로서의 작용)을 나타낼 수 있는 물질

Table 4. Effects of Extracts from *Platycarya strobilacea* and Reference Compounds on the Rose-bengal Sensitized Photohemolysis of Human Erythrocytes

Concentration (µg/mL)	τ_{50} (half time of hemolysis ¹⁾)			
	1	5	10	50
<i>Platycarya strobilacea</i> extract (50 % EtOH)	50.13 (± 5.31)	238.00 (± 6.01)	460.00 (± 2.45)	510.24 (± 4.21)
<i>Platycarya strobilacea</i> extract (EtOAc fraction)	73.00 (± 5.03)	538.50 (± 1.52)	717.27 (± 6.45)	95.53 (± 9.87)
Deglycosylated fraction from <i>Platycarya strobilacea</i> extract (EtOAc fraction)	122.27 (± 0.79)	335.00 (± 9.09)	302.00 (± 12.02)	-
Rutin	35.20 (± 1.40)	-	40.50 (± 10.44)	-
Quercetin	51.01 (± 3.03)	-	147.00 (± 15.01)	-
(+)- α -Tocopherol	-	-	38.00 (± 1.80)	74.33 (± 6.35)

¹⁾Control, τ_{50} = 31 ± 1.0 min

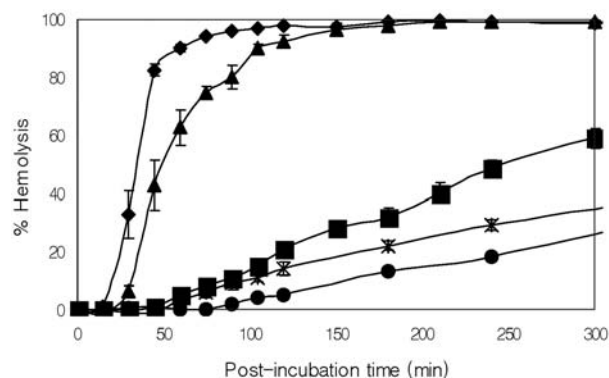


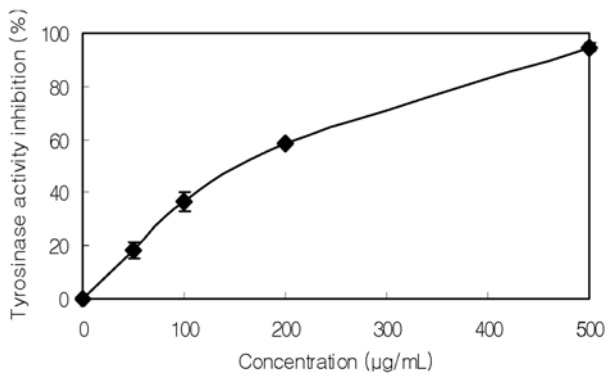
Figure 4. Effects of ethyl acetate fraction from *Platycarya strobilacea* on the rose-bengal sensitized photohemolysis of human erythrocytes. Irradiation time: 15 min, pre-incubation time: 30 min, [rose-bengal] = 1.5 µM, concentrations of ethyl acetate fraction from *Platycarya strobilacea* : ◆-◆: control, ▲-▲: 1 µg/mL, ■-■: 5 µg/mL, *-*: 10 µg/mL, ●-●: 50 µg/mL.

이 존재할 가능성도 생각할 수 있다.

굴피나무 추출물 및 분획에 따른 효과를 보면 1 µg/mL에서 보면 세포보호 효과는 50 % 에탄올 추출물 (τ_{50} , 50.13 min) < ethyl acetate 분획(73.00) < 당이 제

Table 5. Inhibitory Activity of Extracts from *Platycarya strobilacea* and Reference Compound on Tyrosinase

Compounds	Inhibition (IC ₅₀ , µg/mL)
<i>Platycarya strobilacea</i> extract (50 % EtOH)	243.98 (± 2.00)
<i>Platycarya strobilacea</i> extract (EtOAc fraction)	153.87 (± 1.73)
Deglycosylated fraction from <i>Platycarya strobilacea</i> extract (EtOAc fraction)	137.53 (± 1.06)
Arbutin	226.88 (± 1.55)

**Figure 5.** Inhibition activity of ethyl acetate fraction from *Platycarya strobilacea* on tyrosinase.

거된 분획 (122.27) 순으로 증가하였다. 이는 비교 물질로 사용한 동일 농도의 플라보노이드 배당체인 rutin (τ_{50} , 35.20 min) 보다도 세포보호 효과가 훨씬 큼을 보여주고 있다. 10 µg/mL 농도에서 굴피나무 50 % 에탄올 추출물, ethyl acetate 분획과 당이 제거된 분획(aglycone) 모두 비교물질로 사용한 지용성 항산화제이며 비타민 E 성분인 (+)- α -tocopherol보다도 세포보호 효과가 큼을 알 수 있었다.

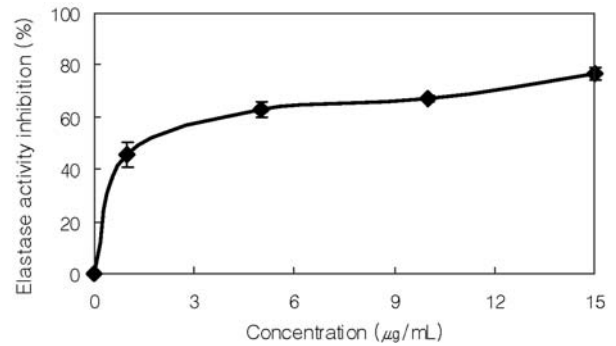
3.4. Tyrosinase 저해 활성

멜라닌 생성에 있어서 핵심효소는 tyrosinase이다. 이 효소는 tyrosine으로부터 시작되는 멜라닌 생합성 과정에서, tyrosine에서 DOPA, DOPA에서 DOPAquinone, 그리고 dihydroxyindol (DHI)로부터 eumelanin으로의 전환을 촉매하는데 관여한다.

굴피나무 추출물 중 ethyl acetate 분획에서 당을 제거한 추출물은 tyrosinase 저해활성(IC₅₀)이 137.53 µg/mL로 나타났다. Ethyl acetate 분획의 경우에도 tyrosinase

Table 6. Inhibitory Activity of Extracts from *Platycarya strobilacea* and Reference Compounds on Elastase

Compounds	Inhibition (IC ₅₀ , µg/mL)
<i>Platycarya strobilacea</i> extract (50 % EtOH)	31.02 (± 2.79)
<i>Platycarya strobilacea</i> extract (EtOAc fraction)	14.42 (± 2.88)
Deglycosylated fraction from <i>Platycarya strobilacea</i> extract (EtOAc fraction)	1.48 (± 2.88)
Oleanolic acid	13.70 (± 0.9)

**Figure 6.** Inhibitory activity of deglycosylated fraction from *Platycarya strobilacea* extract (EtOAc fraction) on elastase.

저해활성(IC₅₀)이 153.87 µg/mL로 비교 물질로 사용한 기능성 화장품의 미백제로 잘 알려진 arbutin의 저해 활성 226.88 µg/mL에 비해서도 훨씬 큰 tyrosinase 저해활성을 보였다. 따라서 당이 제거된 추출물과 ethyl acetate 분획 등을 화장품에 응용할 경우 미백효과가 있을 것으로 사료된다(Figure 5).

3.5. Elastase 저해 활성

자외선 및 활성산소 등에 의해 유발되는 피부 진피층에 존재하는 matrix-metalloproteinases (MMPs)는 피부노화, 특히 주름생성과 밀접한 관계가 있다. MMPs를 이루는 주요성분으로 collagenase, gelatinase 및 elastase 등이 있으며, 피부의 탄력감소 및 주름생성에 있어서 elastase의 활성 감소는 매우 중요하다.

굴피나무 추출물 중 ethyl acetate 분획으로부터 얻은 aglycone 분획은 elastase 저해활성(IC₅₀)이 1.48 µg/mL로 매우 큰 활성을 나타내었다(Table 6, Figure 6). 이는 비교물질로 사용한 kaempferol과 oleanolic acid (IC₅₀: 13.60 µg/mL, 13.70 µg/mL)에 비해 매우 큰 활성을 나타내며, ethyl acetate 분획은 IC₅₀이 14.42 µg/mL로써 이는 oleanolic acid와 거의 비슷한 효과를 보였다.

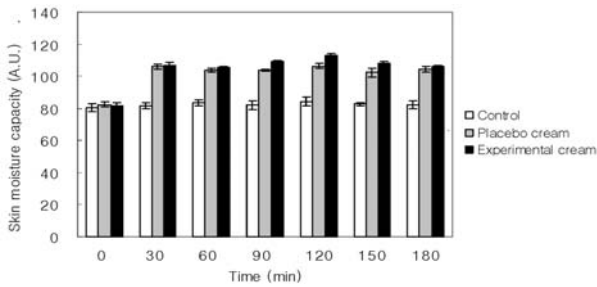


Figure 7. Representation of skin hydration by Corneometer CM820 measurement. The measurement was tried out at normal room condition with 10 volunteers during 180 min. The zero point is before the use of cream containing *Platycarya strobilacea* extract.

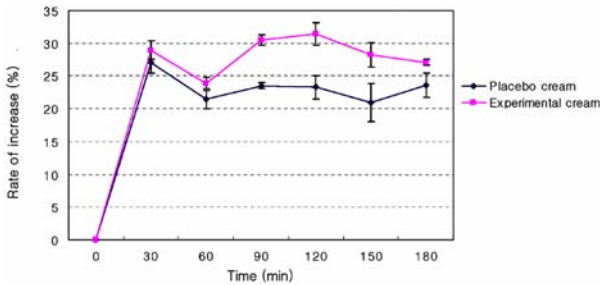


Figure 8. Rate of increase in skin moisture content.

3.6. 굴피나무 추출물 함유 크림의 피부 도포에 의한 보습효과

3.6.1. 수분보유량

피부 보습 평가를 위해 굴피나무 추출물 중 ethyl acetate 분획 0.2 %를 함유하는 크림을 제조하였다(Table 1). 추출물 함유 크림을 팔 안쪽(상완부)에 도포한 후, 수분보유량과 경표피 수분 손실량은 각각 30 min, 60 min 간격으로 180 min 동안 측정하였다.

Figure 7은 추출물 함유 크림을 사용하기 직전부터 시작하여 30 min 간격으로 3 h 동안 수분 보유량을 측정한 결과이다. 그 결과 무도포한 부분과 placebo 크림에 비하여 굴피나무 함유 크림의 수분 보유량이 더 증가함을 알 수 있었으며, placebo 크림에 비하여 굴피나무 함유 크림의 경우 수분 보유량 증가율(2 ~ 8 %)이 더 큼을 알 수 있었다(Figure 8).

3.6.2. 경표피 수분 손실량

경표피 수분 손실량은 추출물 함유 크림 도포 후, 60 min

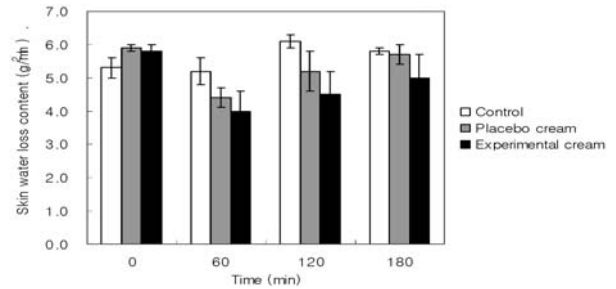


Figure 9. Representation of TEWL by Tewameter (TM300) measurement. The zero is before the use given cosmetic cream and at intervals of 2 weeks was measured after use of cream containing *Platycarya strobilacea* ethyl acetate fraction.

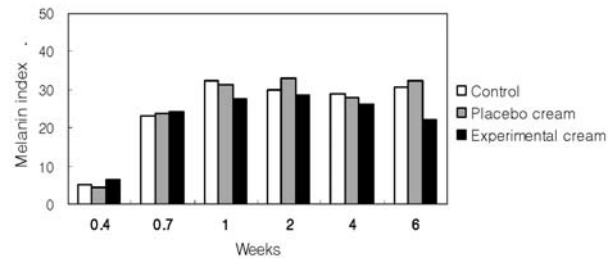


Figure 10. Representation of melanin index by Mexameter measurement.

간격으로 180 min 동안 측정하였다(Figure 9). 그 결과 180 min이 지난 후 무도포한 부분의 수분 손실량은 $5.8 \text{ g/m}^2\text{h}$, placebo 크림은 $5.7 \text{ g/m}^2\text{h}$, 굴피나무 추출물 함유한 크림은 $5.0 \text{ g/m}^2\text{h}$ 으로, 굴피나무 추출물을 함유한 크림이 경표피 수분 손실량을 유의적으로 감소시켰음을 알 수 있었다.

3.7. 굴피나무 추출물 함유 크림의 미백 효과

3.7.1. 멜라닌 지수 평가

미백 효능 인체시험은 피시험자에게 solar Simulator (Solar light, Co., USA)를 이용하여 팔 안쪽에 UVA와 UVB를 조사한 후 6주 동안 3일, 7일, 1주, 2주, 4주, 6주에 멜라닌 지수를 측정하였다. 그 결과 4주가 지난 후 무도포한 부분에 비해 placebo 크림은 멜라닌을 3.97 %, 굴피나무 함유 크림은 9.55 % 감소시켰으며, 이를 통하여 굴피나무 함유 크림이 멜라닌 지수를 더 감소시키는 미백효과가 있음을 확인하였다(Figure 10).

3.7.2. 설문지 평가

미백 효능에 관한 설문지는 4개의 문항을 준비하였다. 이

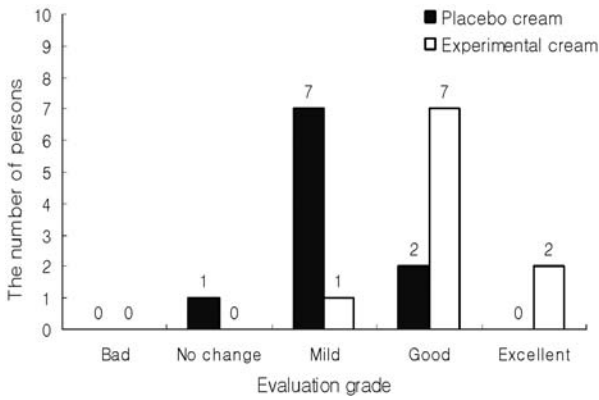


Figure 11. Reduced effect of facial skin melanin by sensory evaluation.

들 문항에 대해, “나빠짐(bad)”, “변화없음(no change)”, “약간 좋아짐(mild)”, “좋아짐(good)”, “매우 좋아짐(excellent)”의 5가지 중에서 택일하도록 하였다. 조사 결과, 피부 색 변화 문항 중 굴피나무 함유 크림의 “약간 좋아짐(mild)” 항목이 10%, “좋아짐(good)” 항목이 70%로 placebo 크림의 “약간 좋아짐(mild)” 항목이 70%, “좋아짐(good)” 항목이 20%인 것에 비해 피부색을 더 얇게 변화시켰다고 평가하였다(Figures 11, 12).

4. 결 론

1) 굴피나무 추출물의 수득율의 경우 50% 에탄올 추출물은 9.08%, ethyl acetate 분획의 경우 1.88%, ethyl acetate 분획을 산 가수분해시켜서 당을 제거한 aglycone의 경우 33.81%였다.

2) 굴피나무 추출물의 free radical 소거능력(FSC₅₀)은 50% 에탄올 추출물 6.75 µg/mL, ethyl acetate 분획 4.15 µg/mL, ethyl acetate 분획에서 당 제거시킨 aglycone은 6.62 µg/mL로, 3가지 추출물 모두 큰 활성을 나타내었다.

3) 굴피나무 추출물의 활성산소 소거활성(OSC₅₀)은 굴피나무 에탄올 추출물이 0.02 µg/mL, ethyl acetate 분획, 0.56 µg/mL, ethyl acetate 분획에서 당 제거시킨 aglycone은 0.01 µg/mL로 굴피나무 ethyl acetate 분획의 당 제거한 aglycone이 가장 큰 활성을 나타냈다.

4) ¹O₂으로 유도된 적혈구의 광용혈 현상에 있어서, 굴피나무 추출물은 µg/mL의 농도 범위(1 ~ 50 µg/mL)에서 농도-의존적으로 ¹O₂으로 유도된 용혈에서 세포보호 활성을 나타내었다. 특히 굴피나무 ethyl acetate 분획

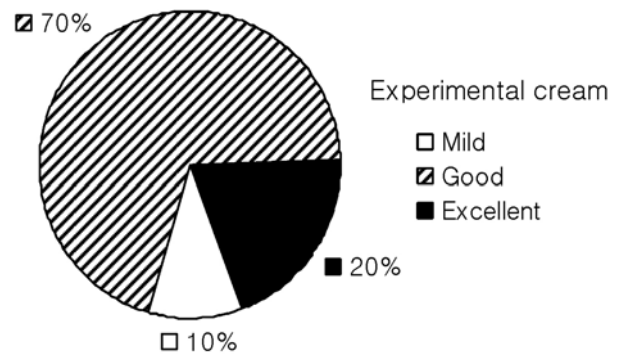


Figure 12. The whitening effect of cream containing *Platycarya strobilacea* extract by sensory evaluation.

은 10 µg/mL 농도에서 717.27 min으로 매우 큰 세포보호 활성을 나타내었다.

5) 굴피나무 추출물 중 ethyl acetate 분획과 aglycone 분획은 tyrosinase 저해활성(IC₅₀)이 각각 153.87 µg/mL, 137.53 µg/mL로 arbutin (IC₅₀: 226.88 µg/mL)에 비하여 매우 큰 활성을 나타내었다.

6) 굴피나무 추출물 중 aglycone 분획은 elastase 저해활성(IC₅₀)이 1.48 µg/mL로 매우 큰 활성을 나타내었다.

7) 굴피나무 추출물 중 ethyl acetate 분획을 함유하고 있는 크림은 placebo 크림에 비해 수분 보유량을 2~8% 증가시켰으며, 유의적인 경표피의 수분 손실량을 감소시켰다.

8) 인체실험의 결과, 굴피나무 추출물(ethyl acetate 분획) 함유 크림은 placebo 크림이 비해 멜라닌을 9.55% 감소시켰으며, 피시험자들의 설문지 평가에서도 추출물 함유 크림이 피부색을 더 얇게 변화시키는 미백효과가 있다는 결과를 얻을 수 있었다.

이상의 결과들은 굴피나무 추출물의 항산화 작용과 더불어 ethyl acetate 분획과 당 제거 실험 후 얻어진 aglycone 분획의 큰 tyrosinase, elastase 저해활성을 확인하였으며, ethyl acetate 분획을 함유하는 크림을 이용한 인체 시험의 결과로부터 미백 기능성 화장품원료로서 응용 가능성이 큼을 알 수 있었다.

감사의 글

본 논문은 (주)바이오랜드 지원을 받아 수행된 연구 결과의 일부이며, 지원에 감사드립니다.

참 고 문 헌

1. J. J. Thiele, C. O. Barland, R. Ghadially, and P. M. Elias, Skin aging, eds. B. A. Gilchrest and J. Krutmann, 65, Springer, Berlin Heidelberg, Germany (2006).
2. J. J. Threle, C. Schroeter, S. N. Hsieh, M. Podda, and L. Packer, The antioxidant network of the stratum corneum, *Curr. Probl. Dermatol.*, **29**, 26 (2001).
3. S. N. Park and Ph. D. Dissertation, Seoul National Univ., Seoul, Korea (1989).
4. S. N. Park, Skin aging and antioxidant, *J. Soc. Cosmet. Scientists Korea*, **23**, 75 (1997).
5. S. N. Park, Protective effect of isoflavone, genistein from soybean on singlet oxygen induced photo-hemolysis of human erythrocytes, *Korean J. Food Sci. Technol.*, **35**(3), 510 (2003).
6. S. N. Park, Antioxidative properties of baicalein, component from *Scutellaria baicalensis* Georgi and its application to cosmetics (I), *J. Korean Ind. Eng. Chem.*, **14**(5), 657 (2003).
7. K. Scharffetter-Kochanek, Photoaging of the connective tissue of skin: its prevention and therapy, antioxidants in disease mechanism and therapy, ed. H. Sies, **38**, 639 (1997).
8. R. M. Tyrrell and M. Pidoux, Singlet oxygen involvement in the inactivation of cultured human fibroblast by UVA and near visible radiations, *Photochem. Photobiol.*, **49**, 407 (1989).
9. G. F. Vile and R. M. Tyrrell, UVA radiation-induced oxidative damage to lipid and protein *in vitro* and in human skin fibroblasts is dependent on iron and singlet oxygen, *Free Radical Biology & Medicine*, **18**, 721 (1995).
10. K. Scharffetter-Kochanek, M. Wlaschek, K. Briviba, and H. Sies, Singlet oxygen induces collagenase expression in human skin fibroblasts, *FEBS Lett.*, **331**, 304 (1993).
11. M. Wlaschek, K. Briviba, G. P. Stricklin, H. Sies, and K. Scharffetter-Kochanek, Singlet oxygen may mediate the ultraviolet A in induced synthesis of interstitial collagenase, *J. Invest. Dermatol.*, **104**, 194 (1995).
12. Y. Kohno, Y. Egawa, S. Itoh, S. Nagaoka, M. Takahashi, and K. Mukai, Kinetic study of quenching reaction of singlet oxygen and scavenging reaction of free radical by squalene in *n*-butanol, *Biochimica et Biophysica Acta*, 1256, 52 (1995).
13. S. E. Mudiyansele, M. Hamburger, P. Elsner, and J. J. Thiele, Ultraviolet A induces generation of squalene monohydroperoxide isomers in human sebum and skin surface lipids *in vitro* and *in vivo*, *J. Invest. Dermatol.*, **120**(6), 915 (2003).
14. L. H. Kligman, UVA induced biochemical changes in hairless mouse skin collagen: a contrast to UVB effects, ed. F. Urbach, **209**, Valdemar, Overland Park (1992).
15. J. W. Choi, S. I. Kim, S. M. Jeon, J. Y. Kim, H. J. Yang, K. H. Lee, and S. N. Park, Antioxidative and cellular protective effects of Jeju native plant extracts against reactive oxygen species (I), *J. Soc. Cosmet. Scientists Korea*, **32**(3), 181 (2006).
16. H. J. Yang and S. N. Park, Evaluation of antioxidant potential of extract / fractions of *Equisetum areense* (I), *J. Soc. Cosmet. Scientists Korea*, **33**(2), 61 (2007).
17. H. J. Yang and S. N. Park, Component analysis and study on anti-elastase activity of *Equisetum areense* (II), *J. Soc. Cosmet. Scientists Korea*, **33**(3), 139 (2007).
18. S. M. Jeon, S. I. Kim, J. Y. Ahn, and S. N. Park, Antioxidative potencies of extract / fractions of *Suaeda asparagoides* and *Salicornia herbacea* extracts (I), *J. Soc. Cosmet. Scientists Korea*, **33**(3), 145 (2007).
19. J. Y. Kim, H. J. Yang, K. H. Lee, S. M. Jeon, Y. J. Ahn, B. R. Won, and S. N. Park, Antioxidative and antiaging effect of Jeju native plant extracts (II), *J. Soc. Cosmet. Scientists Korea*, **33**(3), 165 (2007).
20. H. J. Yang, B. R. Won, Y. J. Lim, S. K. Yoon, D. H. Ji, J. Y. Choi, S. J. Han, C. W. Lee, and S. N. Park, Antioxidative activity, component analysis, and anti-elastase effect of *Aspalathus linearis* extract, *J. Soc. Cosmet. Scientists Korea*, **33**(4), 251 (2007).

- (2007).
21. K. H. Lee and S. N. Park, Antioxidant activities and antiaging effect of *Geranium nepalense* extract, *J. Soc. Cosmet. Scientists Korea*, **34**(1), 25 (2008).
 22. J. Y. Kim and S. N. Park, A study on application for cosmeceutical of *Fagopyrum esculentum* extract, *J. Soc. Cosmet. Scientists Korea*, **34**(2), 83 (2008).
 23. H. J. Yang, E. H. Kim, and S. N. Park, Antioxidant activity and component analysis of *Cayratia japonica* extract, *J. Soc. Cosmet. Scientists Korea*, **34**(2), 117 (2008).
 24. J. H. Park, Medical plants of Korea, 313, Shinil (2004).
 25. C. S. Yook, Coloured medical plants of Korea, 117, Academybook, Seoul, Korea (1990).
 26. M. K. Kim, B. M. Kwon, K. H. Bae, D. H. Choi, H. J. Lee, H. E. Kim, and Y. K. Kim, Screening of Acyl-CoA: Cholesterol Acyltransferase (ACAT) inhibitors from natural sources, *Kor. J. Pharmacogn.*, **30**(4), 384 (1999).
 27. Y. H. Choi, S. G. Chae, J. H. Kim, S. J. Gang, N. I. Baeg, and J. T. Han, Isolation of an antifungal compound from aerial parts of *Platycarya strobilacea*, *J. Korea Soc. Agric. Chem. Biotechnol.*, **46**(3), 268 (2003).
 28. K. H. Kim, K. S. Kim, Y. H. Kim, K. T. Kim, H. C. Yang, and B. Y. Lee, A composition comprising the fruit extract of *Platycarya strobilacea* having anti-aging activity, 10-0805386-0000 (2008).
 29. D. Babu, J. S. Lee, S. Y. Park, D. Thapa, M. K. Choi, A. R. Kim, Y. J. Park, and J. A. Kim, Involvement of NF- κ B in the inhibitory actions of *Platycarya strobilacea* on the TNF- α -induced monocyte adhesion to colon epithelial cells and chemokine expression, *Arch. Pharm. Res.*, **31**(6), 727 (2008).
 30. J. H. Lee, Y. S. Kwon, and C. M. Kim, Flavonoids from the stem bark of *Platycarya strobilacea*, *Kor. J. Pharmacogn.*, **29**(4), 353 (1998)
 31. H. J. Lee, S. K. Lee, Y. J. Choi, H. J. Jo, H. Y. Kang, and D. H. Choi, Extractives from the bark of *Platycarya strobilacea*, *J. Korean For. Soc.*, **96**(4), 408 (2007).