

피부 주름 개선 소재인 페오니플로린의 에멀전 안정성

조완구[†] · 경기열* · 유상문**

전주대학교 대체의학대학 기초의과학과[†]

엘지 생활건강 기술원*

코그니스 코리아 연구소**

(2009년 4월 4일 접수 ; 2009년 6월 5일 채택)

Stability of Paeoniflorin used as Anti-wrinkle Agents in Emulsions

Wan-Goo Cho[†] · Kee-Youl Kyung* · Sang-Mun Yu**

[†]College of Alternative Medicine, Jeonju University,
Hyoja-dong, Wansan-gu, Jeonju, 560-759, Korea

*LG H&H Research Institute, Jang-dong, Yusong-gu, Taejon, 305-343, Korea

**Cognis Korea R&D Institute, Research Park II, Sung Gyun Gwan University,
Chunchun-dong, Jangan-gu, Suwon, 440-746, Korea
(Received April 4, 2009 ; Accepted June 5, 2009)

Abstract : We have tested the stability of paeoniflorin, a new cosmetic ingredient, extracted from the roots of *Paeoniae lactiflora*. The stability of aqueous paeoniflorin solution at pH 3, 5 and 7 varied by adding buffer solution was tested at 0 °C, 25 °C, 40 °C and 65 °C. The test was performed with or without UV light. The solution of paeoniflorin was stable at pH 3.0, however, the recovery rate of paeoniflorin was 40 % at pH 7.0. The stability of paeoniflorin solution was decreased as the pH of paeoniflorin solution was increased by pH 7.0. The effect of storage temperature of paeoniflorin solution shows that the stability of paeoniflorin solution was decreased as the temperature was increased. The stability of paeoniflorin was rather good under UV light than the condition given above 40 °C. The stability of paeoniflorin in W/O emulsions shows similar pattern to that of aqueous solution.

Keywords : paeoniflorin, stability, wrinkle, emulsions, UV light

1. 서론

피부노화를 일으키는 원인은 다양하며 이에 대한 이론도 다양하게 제시되고 있으나 그 요

인에 따라 크게 두 가지로 구분할 수 있다. 첫째는 나이가 들에 따라 나타나는 노화 즉, 피부의 구조적 변화와 생리적인 기능이 감소하는 자연노화(내적노화, intrinsic aging)이며 둘째는 자외선, 주변 환경의 누적된 외부자극에 의한 스트레스 등에 의한 외적노화(광노화, photo

[†]주저자 (e-mail: wgcho@jj.ac.kr)

aging)로 구분된다[1-5].

표피와 진피에서 일어나는 이러한 변화들은 전체적으로 거칠고 얇아진 피부, 탄력성의 소실, 수분 감소로 인한 피부 건조증을 유발하게 되고, 궁극적으로는 주름의 생성으로 이어지게 된다. 이와 함께 검버섯, 흑자, 피부암의 발생 빈도도 높아지게 된다.

노화의 현상을 세포생물학적 관점에서 접근한 최근의 연구결과들을 보면, 자외선, 흡연 등에 의해 발생한 유해산소와 콜라게네이즈가 중요한 역할을 하는 것을 알 수 있다. 유해산소는 세포막에 있는 지질을 공격하여 이를 산화시키게 되고, 산화된 지질에 의해 세포막은 손상되어 정상적인 피부세포의 역할이 제한된다. 콜라겐 분해효소의 증가로 인한 콜라겐 섬유소의 변성 및 파괴는 외적 노화에 의한 주름 발생에 매우 중요한 원인이다[2,3].

건강하고 탄력 있는 부드러운 피부를 위해서는 각질층의 충분한 수분함유가 요구되며 이를 위해 외부의 건조한 환경에서도 수분손실이 늦게 진행되도록 하는 장벽이 존재하여야 한다. 임상적으로 건성피부는 피부 표면이 건조하여 탄력이 떨어지며, 각질 박리가 일어나기 쉽고 거칠다. 가려운 증상이 나타나기도 하고 경우에 따라서는 건조증, 갈라짐, 각질 박리 등의 증상이 동반되기도 한다. 어떤 연구자들은 건성피부를 각질층의 손상(거칠음, 비늘 같은 표면), 피지의 부족, 또는 각질층의 수분함량의 이상으로 보기도 한다[3,4]. 수분 함량에 영향을 주는 인자로는 외부 환경 요인, 피부대사, 지질층, 천연 보습인자, 피부 보습막 등이 있다. 일반적으로 보습제는 피부 표면에 도포되며, 건조한 피부의 증상들을 완화, 방지하기 위한 수분 공급 및 유지를 위해 사용된다. 다양한 보습제 중 다당체 형태로 피부에 수분 보호막을 형성하고 친화력이 우수한 보습제가 많이 사용되고 있다. 보습제는 피부 표면의 수분을 유지시켜 건조한 피부를 특징으로 하는 피부염이나 아토피 피부염의 피부건조 증세를 호전시키는 역할을 한다[6].

노화의 징후로 현저하게 눈에 띄는 증상 중 하나는 주름으로서 주름의 예방과 관리에 많은 관심이 집중되고 있다. 주름의 예방과 관리는 미용적 측면에서 이루어져 왔으나 최근에는 화장품과학과 피부과학의 발달에 힘입어 과학적 개념의 화장품이 개발되고 있다. 객관적이고 과

학적인 주름의 측정 기술 및 정량화 방법이 요구되고 있으며, 주름의 측정 기술은 제품 및 서비스의 품질을 평가하는데 필요할 뿐만 아니라 피부의 특성 연구에도 필수적이다.

피부노화를 억제, 치료하는 약물들을 대략 살펴보면, 자외선차단제, 비타민 A 유도제, 천연 유기산인 α -hydroxy acid (AHA), 천연 항산화제, 보습제 등이 있으며 피부 보습력을 유지하는 것이 주름 생성 억제에 중요하다고 최근 연구 결과에서 발표 하고 있다[7].

페오니플로린 (Paeoniflorin)은 작약 또는 모란 등 목단과의 뿌리에 존재하는 주요성분 중 하나로 작약 사포닌이라 불리는 무색의 정형 물질이다[8]. 이것은 혈관확장, 항염, 항과민 및 면역촉진 효과가 있는 것으로 알려져 있으며, 세포막의 보호 경련 치료에도 사용되고 있다[8].

이처럼 다양한 종류, 농도, 성상의 노화방지 소재들이 주름의 생성을 억제, 예방하기 위하여 개발되고 있으나 효능 및 안정성의 측면에서 개선되어야 할 사항이 아직 많은 편이며, 무한한 시장 잠재력에 비하여 체계적인 생리활성 기능의 증명과 인체실험과 과학적인 결과 분석에 근거한 노화의 지연 및 예방의 기능을 가진 화장품의 개발이 더욱 필요하다. 특히 유효성분들의 제형 내 안정성 확보는 효능을 유지시키기 위한 전제조건이며, 기능성화장품에서는 보존기간동안 유효성분의 잔존량이 엄격히 관리됨으로 이에 많은 연구가 진행되고 있다[9-14].

본 연구는 페오니플로린의 주름 개선 유효성분으로써의 안정성 검증에 관한 것이다. 안정성은 각 pH 조건을 달리한 완충 용액에 페오니플로린을 용해시켜 시간 경과에 따른 잔존량을 HPLC로써 측정하여 확인 하였고, 또한 각 온도별 (0°C, 25°C, 40°C, 65°C) 시간에 따른 안정성과 자외선을 조사한 후의 잔존률을 확인함으로써 안정성을 확인하였다.

2. 실험

2.1. 시약

페오니플로린은 중국산 작약으로부터 추출하였으며 처리 과정은 이전 연구보고와 같은 방법으로 제조하였으며 평균 분자량은 480.48이다[8]. 구조식은 Fig. 1에 나타내었다. 에멀전 제조

의 원료는 Table 1에 나타난 것과 같은 화장품용 등급의 원료를 사용하였다. 증류수는 Milli Q(Millipore Co., Milford, MA, USA) 장치를 통과시킨 것을 사용하였다. 구연산, 구연산나트륨 및 트리에탄올아민은 미국의 Sigma사로부터 구입하여 사용하였다. HPLC급의 트리플로로아세트산과 메탄올은 미국의 J. T. Baker Chemical사의 것을 이용하였다. 이외 다른 모든 원료들은 시약 또는 화장품급으로 사용하였다.

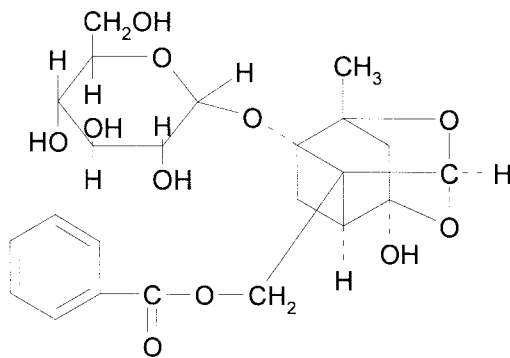


Fig. 1. Chemical structure of paeoniflorin.

2.2. 실험장치

에멀전을 제조하기 위한 장치로는 일반 유화기로 Robomics(Tokushu Kika, Japan), 잔존율 확인을 위한 HPLC (Hewlett Packard 1100 Series, USA), 자외선을 조사하기 위한 장치로는 광가속 시험기(SUNTEST XLS+, ATLAS ELECTRIC DEVICES Co., USA)를 각각 사용하였다. 또한 HPLC 컬럼은 Alltech C18(250*4.6 mm, 5 μm)을 이용하였다.

2.3. 완충용액의 제조

완충용액의 제조는 식 [1]에 의거 구연산과 구연산나트륨 이용하여 pH가 3.0, 5.0, 그리고 트리에탄올아민을 사용하여 pH 7.0의 조건을 가지는 용액을 만들었다.

$$pH = pK_a - \log[(acid)/(base)] \quad [1]$$

2.4. 안정성 평가

안정성 평가는 pH 조건별로 맞춘 완충용액에 페오니플로린을 0.5 %(w/w) 완전히 용해시켜 시간이 경과함에 따라 잔존율을 확인하였다. 시료는 0 °C, 25 °C, 40 °C, 그리고 65 °C 항온조에 넣고 5 주간에 걸쳐 확인하였다. 또한, 자외선에 대한 안정성을 확인하기 위해 광가속 시험기로 각각 4시간, 8시간 조사 후 잔존율을 확

Table 1. Materials for Experiments.

INCI name	Product name	Producer/distributor
Glycerine	ELOGLYN R980	LG H&H(Korea)
Dipropyleneglycol	DPG FC	Asahi Glass(Japan)
Beteine	Prodew 400	Ajinimoto(Japan)
Magnesium Sulfate	Magnesium Sulfate	Sigma-Aldrich(USA)
Methyl Paraben	Methyl Paraben	Nipa(Japan)
Propyl Paraben	Propyl Paraben	Nipa(Japan)
Cyclomethicone	DC 344	Dow Corning(USA)
Cyclomethicone	DC 345	Dow Corning(USA)
Dimethicone/vinyl Dimethicone Crosspolymer	Dimethicone/vinyl Dimethicone Crosspolymer	Dow Corning(USA)
PEG-10 Dimethicone	KF-6017	Shin Etsu(Japan)
Macadamia Ternifolia Seed Oil	Macadamia Nut Oil	Nikko Chem.(Japan)
Cholesteryl Isostearate	Nokkol CS	Nikko Chem.(Japan)
Dimethiconol	DC 1401	Dow Corning(USA)
Sorbitan Sesquioleate	Arlacel 83	Uniqema(Netherlands)
Fragrance	Fragrance	Seoul Fragrance(Korea)

Table 2. Ingredients of a Cosmetic Formulation.

Number	Phase	Product name	content (wt%)
1		Water	61.48
2		Glycerine	10.0
3		Dipropyleneglycol	4.0
4	Water phase	Beteine	2.0
5		Magnesium Sulfate	1.0
6		Methyl Paraben	0.25
7		Peoniflorin	0.50
8		Propyl Paraben	0.07
9		Cyclomethicone 344	10.0
10		Cyclomethicone 345	5.0
11		Dimethicone/vinyl dimethicone crosspolymer	1.0
12	Oil phase	PEG-10 Dimethicone	1.0
13		Macadamia Seed Oil	1.0
14		Cholesteryl Isostearate	0.2
15		Dimethiconol	1.8
16		Sorbitan Sesquioleate	0.5
17		Fragrance	0.2

인하였다. 잔존률은 Hewlett Packard 1100 Series HPLC를 이용하였다. 에멀전 제형에서의 잔존율 평가도 완충 용액에서의 실험과 같은 방법으로 진행하였다.

2.5. Water-in-oil(W/O) 타입 에멀전의 제조

에멀전은 Table 2와 같은 혼합 비율로 사용하였으며 교반속도는 5,000 rpm으로 50 mLmin⁻¹의 속도로 오일상에 수용액상을 첨가하였다. 이때 유화는 80 °C 실온에서 실시하였으며 5 분간 실시하였다.

3. 결과 및 고찰

기능성 화장품의 유효성분은 기능성 화장품법에 의해서 관리되고 있으며 특히 유효성분의 시간에 따른 함량의 잔존율도 중요한 관리 항목 중하나이다.

페오니플로린은 주름 개선에 효과가 있음을 보고한 연구자들은 페오니플로린의 다양한 조건하에서의 시간 경과에 따른 안정성을 조사하

였다[3]. Fig. 2와 Fig. 3에서는 각각 25 °C 와 40 °C에서 서로 다른 pH 조건에서의 시간에 따른 안정성을 나타내었다. 25 °C에서 페오니플로린은 6주 후에도 90 % 이상의 회수율을 나타냈으며 pH 7.0보다 pH 3.0인 산성조건에서 훨씬 안정한 것을 확인할 수 있었다. 즉 Fig. 2에서 보는바와 같이 pH 3.0에서는 5주 후에도 거의 100 %에 가까운 회수율을 보였다. 그러나 Fig. 3에서와 같이 40 °C에서는 pH가 낮은 영역에서는 90 % 이상을 회수율을 보였으나 pH 7.0에서는 5주 후에 회수율이 60 % 정도로 안정성이 많이 떨어졌다.

일반적으로 화장품의 유효성분은 온도가 상승할수록 안정성이 떨어지는데 페오니플로린의 온도에 대한 영향은 Fig. 4에서 확인할 수 있다. 저온인 0 °C에서 보관한 시료의 경우 96 %의 잔존율을 보인다. 그러나 65 °C에서 보관한 시료의 경우 5주차에 잔존율은 43 %로 급격히 떨어지고 있다. 온도에 따른 불안정성은 페오니플로린의 구조에서 기인하는 것으로 생각되는데 에스테르 결합이 고온에서 약한 특성이 반영된 것으로 사료된다. 이는 비타민 A 에스테르 유도체의 온도에 따른 안정성 결과와도

일치한다[15].

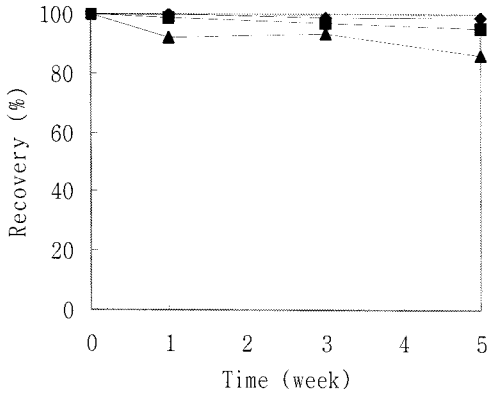


Fig. 2. Remained amount of paeoniflorin in buffer: pH 3(◆), 0.05 M citrate buffer; pH 5(■), 0.05 M citrate buffer; pH 7(▲), 0.05 M sodium citrate buffer with 0.67M triethanolamine. Samples were stored at 25 °C and determined by HPLC assay.

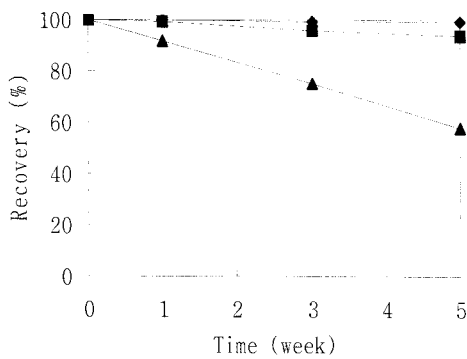


Fig. 3. Remained amount of paeony root extract solution in buffer: pH 3(◆), 0.05 M sodium citrate buffer; pH 5 (■), 0.05M citrate buffer; pH 7(▲), 0.05 M citrate buffer with 0.67 M triethanolamine. Samples were stored at 40 °C and determined by HPLC assay.

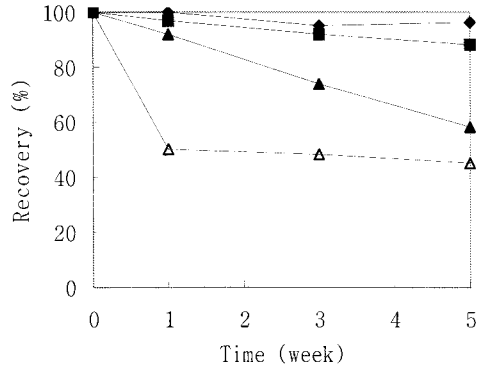


Fig. 4. Thermal stability of paeoniflorin at pH 7. ◆; 0 °C, ■; 25 °C, ▲; 40 °C, △; 65 °C. Samples were determined by HPLC assay.

일반적으로 이중 결합을 포함한 구조를 가진 유효성분의 경우 자외선에 의해 파괴되는 취약 점을 보이는데 페오니플로린의 자외선에 대한 안정성을 확인하기 위해 광가속 시험기로 각각 4시간, 8시간 조사 후 잔존율을 확인하였다. Fig. 5에 나타낸 바와 같이 25 °C에서 pH에 따른 자외선 조사에 따른 안정성은 pH에 크게 영향을 받지 않으면서 8시간 조사 후에도 90 % 이상의 잔존율을 확인할 수 있었다. 이는 자외선에 대한 안정성은 열에 대한 안정성 보다 상대적으로 우수한 것을 알 수 있었다.

화장품은 다양한 항산화제가 사용되는데, 비타민 E와 코엔자임 Q-10 등이 과산화지질을 제거하기 위해 화장품에 사용되고 있다[16]. Fig. 6에 보인바와 같이 온도에 불안정한 페오니플로린은 아스코르빌 글루코사이드나, 에틸 아스코르베이트와 같은 항산화제와 혼합 사용함으로써 안정성을 향상 시킬 수 있음을 확인할 수 있었다.

일반적으로 유효성분은 수용액상 보다 화장품 제형에서의 안정성이 일반적으로 우수한 것으로 알려지고 있다[17]. 본 연구에서는 내수성이 우수한 W/O 제형에서 페오니플로린의 안정성을 검토하였다. 0.5 wt%의 페오니플로린을 함유한 W/O 제형에서 Fig. 7과 같이 25 °C에서 8시간까지 자외선을 조사 후 잔존율은 99.0 % 정도를 보였으며 같은 견본을 0 °C, 25 °C, 40 °C에 각각 8주간 보관한 후 잔존율도 Fig. 8

과 같이 높은 회수율을 보였다. 이때 Fig. 7과 8의 예멸전 pH는 6.0이었다.

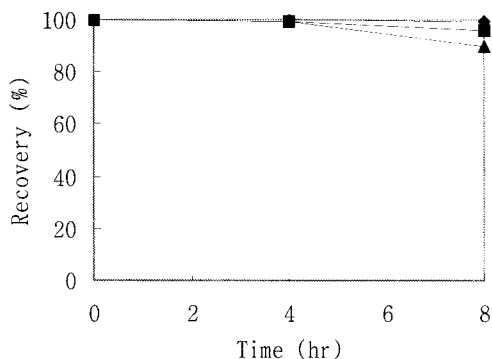


Fig. 5. Photo-stability of paeoniflorin in buffers: pH 3(◆), 0.05 M sodium citrate buffer; pH 5(■), 0.05 M citrate buffer; pH 7(▲), 0.05 M sodium citrate buffer with 0.67M triethanolamine. UV-Visible light was illuminated to the samples by artificial light generator for 8 hours. Samples were determined by HPLC assay.

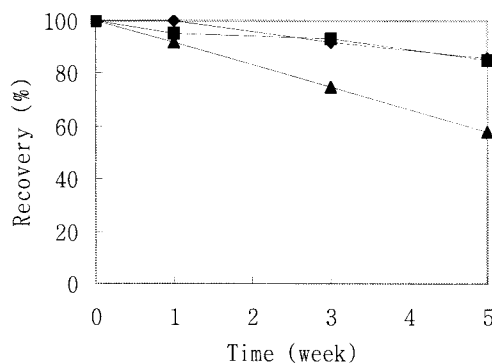


Fig. 6. Remained amount of paeoniflorin compared with typical anti-oxidants in buffer of pH 7 at 40 °C. ▲; with 0.5 % w/v aqueous solution of paeoniflorin alone, ■; with 0.1 % w/v aqueous solution of ethyl ascorbate, ◆; with 0.1 % w/v aqueous solution of ascorbyl glucoside.

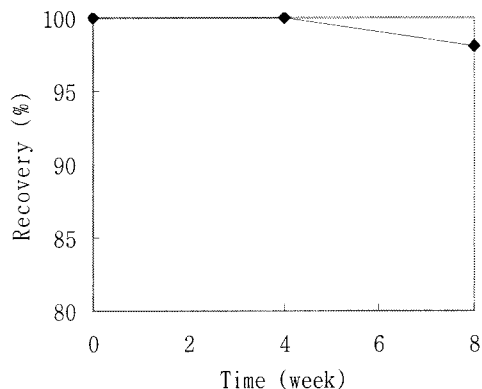


Fig. 7. Photo-stability of paeoniflorin in the product. UV-Visible light was illuminated to the samples by artificial light generator for 8 hours. Samples were determined by HPLC assay.

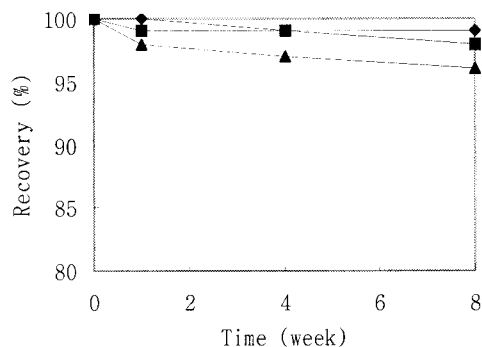


Fig. 8. Thermal stability of paeoniflorin in the product. ◆; 0 °C, ■; 25 °C, ▲; 40 °C. Samples were determined by HPLC assay.

4. 결론

페오니플로린은 pH 3.0인 산성 조건에서 안정하며, pH 7.0 부근에서는 산성 조건 대비 약 40 % 정도의 안정성이 낮아지는 것을 확인 하였다. 또한, 고온(40 °C 이상)으로 갈수록 안정성은 낮아지게 되지만, 광 안정성은 우수함을 확인 하였다. 이와 같은 열 및 pH에 대한 안정성 저하는 벤젠 고리의 에스테르 결합이 알칼

리 및 열에서의 불안정성에서 기인되는 것으로 사료된다. 하지만, 이러한 불안정성은 다른 항산화제를 혼합 사용함으로써 그 안정성을 향상시킬 수 있음을 확인 하였으며, 완충액의 수용액보다는 W/O의 에멀전 제형 내에서 보다 안정하였다.

참고문헌

1. A. M. Klingman and R. M. Laver, Cutaneous aging: The differences between intrinsic aging and photo-aging, *J. Cutan. Aging Cosmet. Dermatol.*, 1, 5 (1988).
2. W. Meinhard, T.B. Iliana, N. Lale, M. Wenjian, A. S. Lars, R. W. Ziba, S. Jutta and S. K. Karin, Solar UV irritation and dermal photo-aging, *J. Photochem. Photobio. B*, 63, 41 (2001).
3. J. M. Lim, M. E. Park, S. H. Lee, S. J. Kang, W. G. Cho and M. J. Rang, The level of UVB-induced DNA damage and chemo-prevention effect of Paeoniflorin in normal human epidermal keratinocytes, *Mol. Cell. Toxicol.*, 1(2) 111 (2005).
4. N. G. Kang, J. M. Lim, M. Y. Chang, S. G. Park, W. G. Cho and S. Y. Choi, Modified Superoxide Dismutase for Cosmeceuticals, *IFSCC Magazine*, 8(2), 87 (2005).
5. H. S. Cho, M. H. Lee, J. W. Lee, K. O. No, S. K. Park, H. S. Lee, S. J. Kang, W. G. Cho, H. J. Park, K. W. Oh and J. T. Hong, Anti-wrinkling effects of the mixture of vitamin C, vitamin E, pycnogenol and evening primrose oil and mechanism on hairless mouse skin, *J. Photoderm. Photoimmu. & Photomedicine*, 23, 155 (2007).
6. M. H. Jin, M. H. Jung, Y. H. Lim, S. H. Lee, S. J. Kang and W. G. Cho, Effect of Angelica against skin photo-aging, *J. Cosmet. Sci. Kor.*, 31(3), 227 (2005).
7. W. G. Cho, S. K. Han, J. H. Sin and J. W. Lee, Antioxidant of heating pork and anti-oxidative activities of *Rubus coreanus* Miq. extracts, *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.*, 37(7), 820 (2008).
8. S. Lee, J. M. Lim, M. H. Jin, H. K. Park, E. J. Lee, S. J. Kang, Y. S. Kim and W. G. Cho, Partially purified paeoniflorin exerts protective effects on UV-induced DNA damage and reduces facial wrinkles in human skin, *J. Cosmet. Sci.*, 57, 57 (2006).
9. K. H. Sung, Pharmaceutical Characteristics and analysis of garlic extract, *J. Kor. Oil Chem. Soc.*, 24(3), 301 (2007).
10. K. H. Sung, A Study on the pharmaceutical characteristics & analysis of glycyrrhizin extract, *J. Kor. Oil Chem. Soc.*, 23(3), 215 (2006).
11. O. K. Kim, Antidiabetic and antioxidative effects of corni fructus in streptozotocin-induced diabetic rats *J. Kor Oil Chem. Soc.* 22(2), 157 (2005).
12. N. H. Jeong, Y. J. Mun, H. W. Lee and K. D. Nam, The evaluation for stabilization and application of microemulsion containing isoflavone *J. Kor. Oil Chem. Soc.* 19(3), 167 (2002).
13. S. Al-Edresi and S. Baie, Formulation and stability of whitening VCO-in-water nano-cream, *Int. J. Pharm.*, 373(1,2), 174 (2009).
14. P. Piclin, M. Gaperlin and V. Kmetec, Stability of ascorbyl palmitate in topical microemulsions, *Int. J. Pharm.*, 222(2), 271 (2001).
15. A. Akhavan and J. Levitt, Assessing retinol stability in a hydroquinone 4%/retinol 0.3% cream in the presence of antioxidants and sunscreen under simulated-use conditions: a pilot study, *Clin. Ther.*, 30(3), 543 (2008).
16. E. M. Paliakov, B. S. Crow, M. J. Bishop, D. Norton, J. George and J. A. Bralley, Rapid quantitative determination of fat-soluble vitamins and coenzyme Q-10 in human serum by reversed phase

ultra-high pressure liquid chromatography with UV detection, *J. Chromatogr., B*, 877(1-2), 89 (2009).

17. S. A. Wissing and R. H. Muller, Cosmetic applications for solid lipid nanoparticles (SLN), *Int. J. Pharm.*, 254(1), 65 (2003).