

작약꽃을 이용한 미백 및 항산화 효과 분석

정연옥 · 박노복 · 정숙진¹ · 곽준수^{2*} · 한종현³

영산대학교 약선연구소 & 한국농수산대학 화훼과, 1: 신지초등학교, 2: 영산대학교 한국식품조리학과,
3: 원광대학교 한의학과

Effect of Whitening, Anti-aging on Extract of *Paeonia lactiflora* Flower

Yen Ok Jung, Nou Bog Park, Suk Jin Jung¹, Joon Soo Kwak^{2*}, Jong Hyun Han³

*Institute of Yacksun, Youngsan University & Department of Floriculture, Korea National Agriculture & Marine College,
1: Sinji Elementary School, 2: Department of Korean-Food and Culinary Arts, Youngsan University,
3: Department of Oriental Medicines, Wonkwang University*

Paeony flowers to separate substances contained in the ETOH extract the polyphenol materials sympathetic to the HPLC, anti-aging and whitening used in the cosmetics extract and comparing the results follows. Extracted by a different way to keep the flowers found in the experiment, after 1 year when stored frozen material and did not show changes in appearance. Concentrated extract by HPLC, investigated the content of the type of polyphenol naringin, sinapic acid, methyl gallate, syringic acid were detected, including 11 kinds. Learn anti-aging effect in the experiment for the EtOH 80% extract showed excellent efficacy in the remaining conditions were low. The whitening effect Peony Flower extract higher than arbutin paeoniflorin was the main ingredient.

Key words : whitening, anti-aging, paeony flowers

서 론

작약은 아시아와 유럽에 33종 북미에 1종 34개종이 분포하고³⁾ 국내에는 “의성작약” “사곡작약”, “태백작약” 등 몇 가지 품종이 육성되었으며¹⁶⁾, 뿌리를 한약재와 식용으로 주로 이용하는 중요한 작물이지만 꽃을 이용한 연구보고는 전무하다¹⁹⁾.

작약의 효능은 시원하고 시고 쓴맛이 있으며 독성이 없어 생용하거나 볶아서 사용하는데, 열을 내리게 하고 어혈(瘀血)을 제거하며 혈액순환을 좋게 하며, 몸 안의 응축을 제거하는 등의 효능이 있고 염증, 진통, 진경작용, 무월경의 조절, 외상치료, 비출혈, 염증, 종기 및 상처 치료 등의 목적으로 처방 되어왔다⁸⁾.

작약의 생리활성에 관한 연구는 항 염증작용, 항 알러지작용, 진통작용 등과¹⁰⁾ 주성분인 paeoniflorin에 관한 활성도 등이 보고되었다⁴⁾. 최근에는 면역조절작용, 인지능력향상효과, 신경근, 저지활성, 항 혈전, 항 응고, 항 경련효과 등이 보고되고 있다¹³⁾

90년대 초반만 하더라도 미백 화장품은 주로 유기화합물에 의존하였으나 90년대 후반부터 천연물을 이용한 미백성분의 추

출이 집중적으로 연구되고 있고 이는 천연물 미백화장품 성분 연구가 세계적인 trend로 정착되고 있음을 의미한다¹⁷⁾.

천연물의 미백 및 항산화 효능연구는 바위취를 에타놀로 추출한 것과 물로 추출 한 것을 비교 실험하여 에타놀에서의 추출한 것이 물에서 추출 한 것보다 더 좋은 효능을 보였고²⁴⁾ 고삼에서 추출 한 성분 8종을 가지고 미백 실험을 하여 그 중 3종(SR-3, SR-6, SR-7)이 기존 화장품에 사용 중인 알부틴 보다 5~100배정도 강한 mushroom tyrosinase에 대한 저해 활성이 나타났다고 보고하였다¹⁵⁾. 알로에와 녹차, 꿀을 이용하여 실험한 결과 알로에에서는 농도가 높을수록 미백효과가 점차 높게 나타났지만 녹차에서는 자외선 차단효과만 조금 나타났고, 꿀은 전혀 효과가 없는 것으로 보고하였다²³⁾. 화장품의 미백효과에 관한 연구들은 kojic acid, arbutin, transforming growth factor-β1(Martinez-외), 뽕나무가지¹⁹⁾, 감초¹⁴⁾ 등이 있다. 피부 미백제는 우리나라, 일본, 중국의 여성들에게 기미, 주근깨 등을 예방하는 효능이 있어 급성장하고 있는 것 중의 하나이며¹²⁾, 그 주성분인 알부틴(hydroquinone-β-D-glucopyranoside)은 특이한 냄새가 있고 많은 식물체에 존재하는 천연물로 알려져 있으며 미백화장품의 주재료로 많이 사용되고 있다²²⁾.

따라서 본 연구에서는 작약 꽃을 이용하여 천연물의 유용물

* 교신저자 : 곽준수, 부산시 해운대구 반송동 영산대학교 한국식품조리학과

· E-mail : kwakjs@ysu.ac.kr, · Tel : 051-540-7236

· 접수 : 2010/03/02 · 수정 : 2010/05/06 · 채택 : 2010/05/20

질 추출방법과 추출물의 미백기능을 구명하고자 본 실험을 실시하였다.

재료 및 방법

작약(*Paeonia lactiflora* Pallas)은 경남 산청에서 재배 한 3년 생 작약을 2006년 4월에 구입 후 전북 운봉과 한국농수산대학 포장에 식재하여 이듬해 5월에 만개 한 꽃을 대상으로 꽃에 물기가 없는 오전 10시~12시에 채취해 사용하였다.

꽃은 수확 후 바로, 냉장(2℃) 및 냉동(-50℃)으로 나누어 보관 후 50, 80, 90, 100% 농도의 에틸알코올에 48시간동안 침지하였고, 시료를 압 상태로 유지하기 위해 알루미늄 호일을 2겹으로 싸서 상온에 보관 후 미백효과 및 항산화 효과를 실험하였다.

공시재료의 polyphenol 성분 분석을 위해 각 표준물질의 calibration curve를 정한 후, 시료 면적을 환산하여 정량 분석하였으며 계산식은 다음과 같다.

표준농도 × (sample peak area/standard peak area) × 회석배수

분석에 사용된 페놀성 화합물의 표준물질로는 gallic acid, (+)-catechin, methyl gallate, caffeic acid, 4-hydroxy-3-methoxybenzoic acid, syringic acid, p-coumaric acid, sinapic acid, naringin (Sigma, Louis, USA)을 사용하였다. HPLC 분석 장비는 Waters alliance 2695 (Waters Co. Ltd., USA) system을 사용하였으며, 분석에 사용된 gradient는 A 용액이 초기에 80%에서 시작하여 30 min에 50%가 되도록 linear program을 사용하였으며, 60 min에 20%로 하였으며, 이때 injection volume은 10 μl 이었다(Table 1).

Table 1. Terms of polyphenol contained in the element analysis of Peony Flowers

	Analysis condition
Using equipment	Waters System (2695)
Column	ZORBAX SB-C18 (4.6 × 250 mm, 5 μm)
Solvent flow	1 μl/min
Awards solvent	A : 5% formic acid in water B : 100% methanol

실험에 사용된 폴리페놀의 표준물질에 대한 HPLC 크로마토그램과 머무름 값 (RT)의 내역은 Fig. 1과 Table 2와 같다.

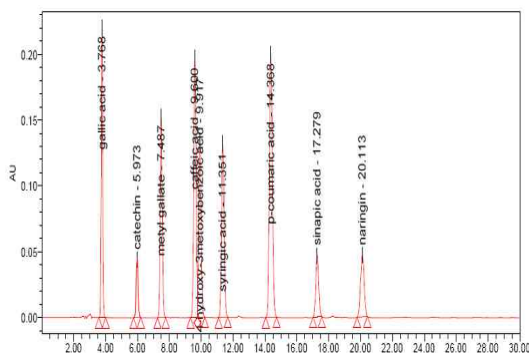


Fig. 1. The standard material via HPLC polyphenol chromatogram.

Table 2. Polyphenol stay value of standard materials

	Standard material	stay value(min)
1	Gallic acid	3.768
2	(+)-Catechin	5.973
3	Methyl gallate	7.487
4	Caffeic acid	9.600
5	4-Hydroxy-3-methoxybenzoic acid	9.917
6	Syringic acid	11.351
7	p-Coumaric acid	14.368
8	Sinapic acid	17.279
9	Naringin	20.113

Wako 사로부터 구입한 순도 98%의 paeoniflorin을 표준물질로 사용하였으며, HPLC 급 용매를 이용하여 HPLC 분석을 수행하였다. 검량선을 작성하기 위해 표준물질을 메탄올에 희석하여 20, 50, 70, 100 ppm으로 만들었다. 희석하여 특정 농도로 만든 각각의 샘플을 HPLC를 이용하여 30분간 전개한 후 230 nm에서 피크를 얻었다. 시료의 양에 따라 피크의 면적이 커지기 때문에 각 피크의 면적을 적분하여 검량에 사용하였고(Fig. 2), 방정식은 $y = 1.45 \times 10^4 x + 5.85 \times 10^3$ 와 같다. 검량식을 바탕으로 230 nm에서 시료를 분석했을 때 머무름 값이 6.883분을 나타내는 피크의 적분 값으로 시료 중 paeoniflorin의 양을 계산할 수 있었다.

80% Ethanol로 추출하여 농축한 작약 꽃 분말 30 mg을 methanol 10 ml에 녹인 후, 45 μm membrane filter로 여과한 후, 분석시료로 사용하였으며, HPLC (Waters 2695) 분석 조건으로는 다음 Table 3과 같다.

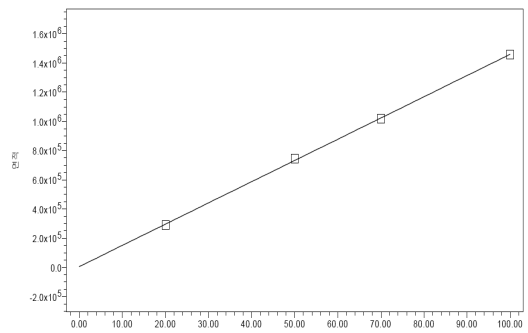


Fig. 2. Indicators of substance search volume for paeoniflorin.

Table 3. HPLC for analysis of extracts from Peony flowers conditions paeoniflorin

	Analysis conditions
Using equipment	Waters System (2695)
Column	SYMMETRY-C18 (4.6 × 250 mm I.D., 5 μm)
Solvent flow	1 μl/min
Solvent	Water : Acetonitrile= 85:15

결과 및 고찰

작약꽃을 추출하여 filtering 하는 과정에서 1차 filtering 했을 때는 전체적으로 화분이 묻어나오며 노란색이 전반적으로 나타났지만 2차 filtering 과정에서는 노란색은 뒤쪽으로 약하게 나타난 반면 전반적으로 화색인 붉은 빛이 들었다(Fig. 3). 화색은 붉은 색이었지만 추출 후 색은 연한 노란색이었고(Fig. 4) 농축이

완료된 후 분말은 약한 붉은색을 보였고(Fig. 5), 액기스 함량은 10.04%로 나타났다(Table 4).

Table 4. Using Peony Flowers for extract solvent color and content of concentrated.

color of extract solvent	color of concentrated	Content amount(%)
dark yellow	red	10.04

작약꽃을 저장방법에 따라 채취 후 바로, 냉장보관, 냉동 보관하여 실험 한 결과는 Table 5와 같다.

Table 5에서 보는 바와 같이 꽃은 채취 후 바로는 언제든지 이용할 수 있지만 상온에 보관 하였을 경우 2일이 지나면 꽃 색이 변하기 시작하면서 3일째가 되면 꽃 색이 완전히 변하여 재료로 사용하는 것이 불가능 하였고, 2℃ 냉장 보관의 경우는 7일이 경과 되면 물이 생기면서 화색이 변하였지만 -50℃와 냉동건조 두 처리 구에서는 1년이 지난 후까지도 성분의 변화가 일어나지 않아 오랫동안 성분을 유지하면서 보관하기 위한 방법은 냉동과 냉동 건조인 것으로 나타났다.

Table 5. Effect of keeping method on limit the use of materials in *Paeonia lactiflora* flower

After extraction	keeping method			
	room temp. (days)	Refrigeration	Frozen (-50℃)	Freeze-dried
Always available	Within 3 days	Within 7 days	Always available	Always available

After filtering, the first time pollen embedded After filtering, the 2nd of flower color



Fig. 3. Change the color of the filter paper.



Fig. 4. Change the solvent color of Paeony flowers after extracted.



Fig. 5. After completing concentrated of powder.

작약꽃에 함유된 폴리페놀성분을 분석한 결과는 Fig. 6에서와 같이 주요 물질로는 naringin의 성분이 가장 많은 83.624 ppm으로 나타났고, 다음으로 sinapic acid가 44.751 ppm이었으며, methyl gallate는 12.333 ppm, syringic acid가 3.917 ppm의 함유량을 나타냈다. 꽃잎에서 pyrethrin, 안토시아닌 색소인 paeonin과 flavonoid인 kampferid, kampferol 등 10종이 동정되었다고 보고하였는데^{5,7,11,21} 본 실험에서는 폴리페놀을 중심으로 물질을 분석하였기 때문에 이와 같은 물질은 동정되지 않았지만 총 폴리페놀 성분은 11종으로 동정되었다. 가장 많이 함유된 naringin은 천연보존제와 항산화제로 이용되는데 감귤에서는 340 µg/ml을 함유하고 있지만 시간이 지남에 따라 감소한다고 보고¹⁸)하여 작약 꽃의 경우도 시들어가는 시기에 따른 naringin의 변화를 살펴 가장 함유량이 높은 시기를 선정하여 채취하여야 할 것으로 사료된다.

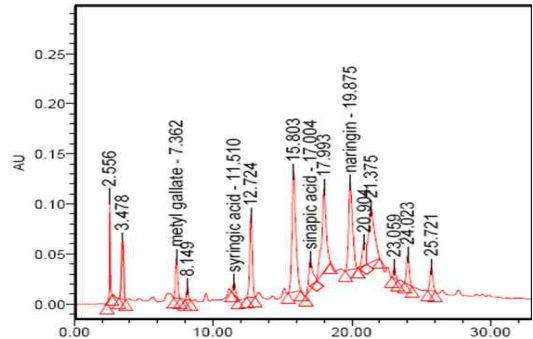


Fig. 6. The chromatogram of extract from flower of *Paeoniae radix* by HPLC.

작약꽃을 에틸알코올 농도별로 추출 하여 항산화실험을 해본 결과 DPPH 유기화합물은 85%정도의 활성도를 보였고 50~100%의 에틸알코올은 80%에서 추출한 결과물이 95.7%의 활성도로 가장 높게 나타난 반면 50, 90, 100%에서 추출한 결과물의 활성도는 68~78%의 활성도로 대조구인 DPPH보다 낮게 나타났다(Fig. 7). 이는 바위취를 에타놀을 이용 추출하여 추출물을 10~50 µg/ml농도에서 DPPH radical 소거작용이 강하게 나타났다고 보고²⁴)한 것을 유추하였을 때 물 층에서 분리한 것보다는 알콜로 추출한 추출물에서 항산화작용이 좋은 것으로 나타난 결과와 유사 하였다.

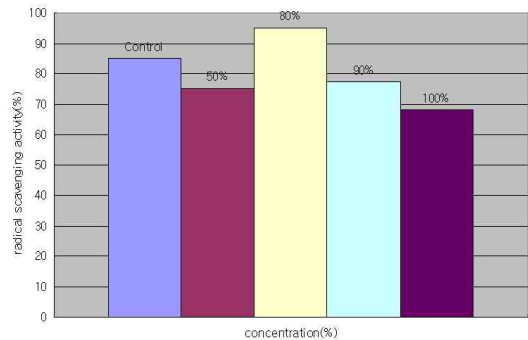


Fig. 7. Concentration condition of Peony Flowers anti-aging effect.

작약 꽃 미백효능을 알아보기 위해 80%의 에탄올에 24, 48 시간 침지하여 tyrosinase inhibition assay를 실험한 결과는 Fig. 8과 같다. 미백효능을 비교하기 위해 미백화장품의 원료로 이용되는 arbutin을 대조구로 사용하였다. 추출물을 낮은 농도에서 미백효과를 알아보기 위해 실험을 한 결과 50ppm에서는 arbutin의 경우 1.2ppm으로 아주 저조하게 나타났고 24시간 추출물에서는 23.4%로 대조구 보다는 높았으나 48시간 처리구에서는 101.2%로 아주 높게 나타났다. 또한 100ppm에서도 arbutin은 아주 낮게 나타났으나 24, 48시간 처리구에서는 100.2~101.2%로 아주 높게 나타났다. 이는 200ppm에서도 동일한 효과를 나타냈고 arbutin에서는 50, 100ppm에서와는 달리 28.1%로 아주 저조하게 나타났다. 이 결과로 봤을 때 48시간 처리구는 50~200ppm에서 동일하고 안정된 효능을 보였지만 24시간 처리 구는 100ppm부터 안정된 형태를 보여 작약 꽃 추출은 48시간 추출했을 때가 가장 좋은 것으로 나타났다.

이상의 결과에서 본 것처럼 고삼에서의 추출물이 대조구인 arbutin보다 약 5~200배의 효능을 보였다¹⁵⁾고 한 것과 같이 천연물에서 추출하여 정제한 것이 미백효능이 훨씬 우수한 것으로 나타나 앞으로 천연물에서 추출 한 원료가 안정성을 띠게 만들어 이를 이용한 화장품원료를 만드는 것이 국제 경쟁력이 있을 것으로 사료된다.

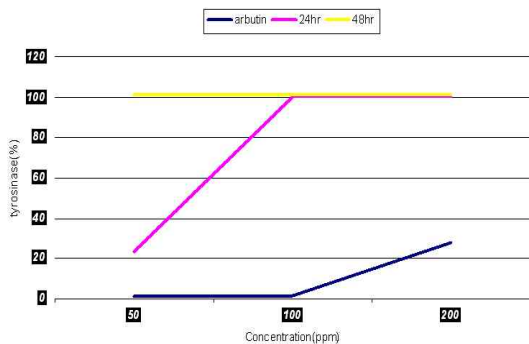


Fig. 8. Extract of Peony Flower for whitening effect over time

작약꽃 48시간 추출물에 대한 지표물질 분석 결과 Fig. 9와 같은 크로마토그램을 얻을 수 있었으며, 이를 정량적으로 환산하면, 작약 꽃 농축 분말 1 kg당 20,731 mg paeoniflorin이 들어 있음을 확인하였다. 이는 작약 꽃 1송이 (약 7 g)로부터 paeoniflorin 10.3 mg을 얻을 수 있다는 것이다. 작약은 뿌리와 잎, 줄기에서는 paeoniflorin과 albiflorin이 검출되었다고 보고하였으나²⁰⁾ 아직까지 꽃에서 paeoniflorin에 대한 검출이 되었다는 보고는 없었고 작약의 주성분으로 알려진 paeoniflorin이 꽃에도 있다는 것을 이번 연구결과로 밝혀냈다. 또한 albiflorin은 여러 가지 추출 조건에서도 꽃에서는 검출이 되지 않아 꽃에서는 albiflorin이 없는 것으로 사료된다. Paeoniflorin은 중추억제작용과 혈관확장 작용, 항알지 작용등을 나타낸다고 보고하였고⁶⁾, Goto 등도 혈관확장 작용이 있다고 보고하였다²⁾. 이는 paeoniflorin이 피부에 침투하여 혈관을 확장시킴으로써 빨리 스며들어 미백효과가 월등한 것이 아닌가 하고 사료된다.

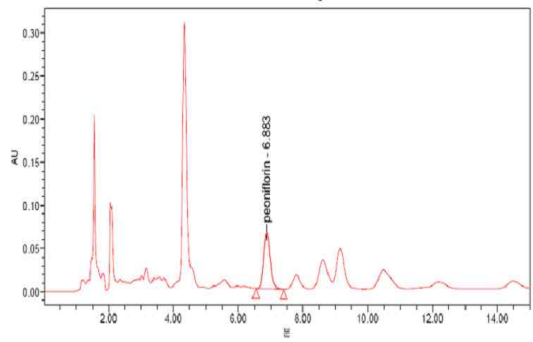


Fig. 9. Paeoniflorin by HPLC analysis of extracts chromatogram for Peony Flowers.

결론

작약 꽃을 이용하여 천연물의 유용물질과 추출물의 미백기능을 구명하기 위하여 작약 꽃에 함유된 물질을 분리하기 위해 EtOH로 추출하여 HPLC로 폴리페놀 물질을 동정하고 기존 화장품에 사용되는 항산화제와 미백제를 추출물과 비교한 결과는 다음과 같다.

채취한 꽃을 보관 방법을 달리하여 추출한 실험에서는 냉동 보관 하였을 때 1년이 지나도 물질과 외형상의 변화를 보이지 않았다. 추출물을 농축해 HPLC를 이용하여 폴리페놀의 종류와 함량을 동정한 결과는 naringin, sinapic acid, methyl gallate, syringic acid 등 11종이 검출되었다. 항산화효과는 EtOH 80% 추출물에서 가장 우수한 효능을 보였고 나머지 조건에서는 낮게 나타났다. 작약꽃 추출물의 미백효과는 기존의 arbutin보다 월등히 높게 나타났으며 주성분은 paeoniflorin이었다.

참고문헌

- Coit, J.E. The peony. Cornell Univ., Agricultural Experiment Station of the College of Agriculture. Bulletin 259. Ithaca. New York. pp 1-145, 1908.
- Goto, H., Shimada, Y., Akechi, Y., Kohta K., Hattori, M., Terasawa, K. Endothelium-dependent vasodilator effect of extract prepared from the root of *Paeonia lactiflora* on isolated rat aorta. *Planta Med.* 62: 436-439, 1996.
- Goulandris, N. The ponies of Greece. *House & Garden.* 156(May):252-256, 1984.
- Cheng, J.T., Wang, C.J. and Hsu, F.L. Paeoniflorin Reverses Guanethidine-Induced Hypotension Via Activation Of Central Adenosine A1 Receptors In Wistar Rats, *Clin. Exp. Pharmacol. Physiol.* 26: 815-816, 1999.
- Kim, S.J., Park, J.H., Kim, B.G., Park, S.D. and Choi, B.S. Effects of vinyl mulching on growth and quality of peony(*Paeonia lactiflora* P.) RDA. *J. Indus. Crop Sci.* 40(1):23-28, 1998.
- Kitagawa, I., Sankawa, O.M., Tomoda, M. and Nishioka, I.

- Pharmacognosy, 2nd Ed. Tokyo, Japan, pp 234-236, 1982.
7. Moon, T.C., Murakami, M., Kudo, I. and Chang, H.W. Diverse regulation of cyclo-oxygenase and endogenous cytokine expression by bacterial lipopolysaccharide that acts in synergy with several exogenous cytokine and Fc receptor crosslinking in cultured mast cell. *Cellular Immunol.* p 185, 1998.
 8. Nishida, S., S. Kikuichi, S. Yoshioka, M. Tsubaki, Y. Fujii, H. Matsuda, M. Kubo, K. Irimajiri. Induction of Apoptosis in HL-60 Cells Treated with Medicinal Herbs, *Amer. J. Chin. Med.* 31: 551-562, 2003.
 9. Preston, D.J. Queen of all herbs. *Natural history* 93(5):78-80, 1984.
 10. Prieto, J.M., Recio, M.C., Giner, R.M., Máñez, S., Giner-Larza, E.M., Ríos, J.L. Influence of traditional Chinese anti-inflammatory medicinal plants on leukocyte and platelet functions, *J. Pharm. Pharmacol.* 55(9):1275-1282, 2003.
 11. Soka, T. *Encyclopedia of Chines Medicine*, Tokyo, Japan, 3: 2066-2070, 1985.
 12. SPC Asia, p 9-10, 17, 1996.
 13. Tomoda, M., Matsumoto, K., Shimizu, N., Gonda, R, Ohara, N., Hirabayashi, K. An acidic polysaccharide with immunological activities from the root of *Paeonia lactiflora*. *Biol. Pharm. Bull.* 17: 1161-1164, 1994.
 14. Yokota, T., Nishio, H., Kubota, Y., Mizoguchi, M. The inhibitory effect of glabridin from licorice extracts on melanogenesis and inflammation. *Pigment Cell Research.* 11(6):55-61, 1998.
 15. 강남숙. 고삼으로부터 미백 물질의 분리에 관한 연구, 경상대학교 석사학위 논문, 2002.
 16. 신현규, 광준수, 서영배, 김호경. 한약품질인증및 유통구조개선 사업 연구보고서, 보건복지부, pp 68-97, 2005.
 17. 윤규형. 식물성 미백소재를 이용한 기능성 화장품의 개발동향 분석 및 제품화연구, 중앙대학교 의약식품대학원, 2003.
 18. 이영철. 영골의 가공이용 및 산업화 기술개발, 한국식품개발연구원, 농림부, 2000.
 19. 이정훈, 박준홍, 이종석, 황규왕. 뽕나무가지 추출물의 melanin 생성 억제효과. *대한피부연구회지* 8(2):86-90, 2001.
 20. 장일무. 전통동양약물데이터베이스, 서울대학교 천연물과학연구소, 1996.
 21. 정보섭, 신민교. 도해향약(생약)대사전(식물편). 도서출판영림사, pp 523-527, 1998.
 22. 한덕희. 미백화장품의 만족도. 한남대학교 석사학위논문, 2005.
 23. 한은정. 알로에, 녹차, 꿀의 미백효과에 관한 연구. 경희대학교 대학원, 2003.
 24. 허선정. 바위취 추출물의 항산화 및 미백효과, 중앙대학교 의약식품대학원 석사학위논문, 2005.