

자외선의 피부에 대한 유해성에 따른 경구용 화장품 개발에 대한 연구 - 칼라구알라(*Polypodium leucotomos*)의 임상연구를 중심으로 -

정 문 석 · 안 종 숙* · 이 정 만*.[†]

호서대학교 벤처전문대학원 패션뷰티비즈니스 전공, *호서대학교 문화복지상담대학원 뷰티디자인 전공
(2011년 11월 10일 접수, 2012년 3월 20일 수정, 2012년 3월 24일 채택)

Consideration of UVR's Skin Damage and Study on Development of Oral Cosmetic - Focusing on Clinical Results of Calaguala (*Polypodium leucotomos*) -

Moon Suk Chung, Jong Suk An*, and Jeong Man Lee*.[†]

Major of Fashion · Beauty Business, Hoseo Graduate School of Venture Banpodaero 9, Seochogu, Seoul 137-070, Korea

*Major of Beauty Design, Graduate School of Culture, Welfare & Counseling, Hoseo University

(Received November 10, 2011; Revised March 20, 2012; Accepted March 24, 2012)

요약: 본 연구는 중앙아메리카의 폴리페놀 화합물로 이루어진 선바위고사리과에 속하는 양치식물 칼라구알라(*Polypodium leucotomos*)가 자외선 유해성으로부터 피부를 보호할 수 있는 항산화력과 활성 산소 유리기 농도를 알아보는 데 그 목적을 두었다. 본 연구를 위하여 30대 이상 남녀 14명을 대상으로 4주 간 2개의 그룹으로 나누어 각각 칼라구알라와 위약을 섭취, 30 min 후 자외선에 노출되도록 하였다. 노출 후 3 h이 경과된 후에 각각 전완정맥에서 채혈하여 활성 산소 유리기(free oxygen radical) 농도와 총항산화능(total antioxidant capacity, TAC)을 비교 분석하여 다음과 같은 결과를 요약할 수 있었다. 첫째, 칼라구알라는 4주 후 활성 산소 유리기 농도를 유의하게 감소시켰고, 자외선 노출 30 min 후와 3 h 후의 활성 산소 유리기 농도는 위약군에 비해 유의하게 감소시키는 것으로 나타났다. 둘째, 칼라구알라는 4주 후 안정 시 총항산화능력을 유의하게 증가시키지 못하였지만, 자외선 노출 30 min 후와 3 h 후의 총항산화능력은 위약군에 비해 유의하게 감소시키는 것으로 나타났다. 사회가 급속도로 성장함에 따라 발생하는 대기오염, 각종 공해로 인하여 성층권에서 지속적으로 오존을 감소시켜 지상에 도달하는 유해 자외선량이 증가한다. 이는 활성화산소를 증가시켜 질병과 노화를 촉진시키는 요인이 된다. 기존의 반사와 산란작용으로 1차 피부를 차단하는 보호제외에도 칼라구알라와 같이 신체 내부에서 2차 차단을 할 수 있는 경구용 광항산화제의 연구가 계속적으로 이루어져야 할 것으로 사료된다.

Abstract: This study's purpose is to research the antioxidant power of Calaguala (*Polypodium leucotomos*, PL) as an oral supplement: Calaguala, a native of Central America, is a fern which belongs to the family polypodiaceae protecting the skin from the ultraviolet and active oxygen free radicals. The total 14 volunteers, each female 7 & male 7, were divided into 2 groups, then exposed to UV for 30 min after taking Calaguala and placebo. The total antioxidant capacity (TAC) was analyzed by taking the blood samples from anticubital vein 3 hours after UV exposure. First, Calaguala significantly decreased the concentration of active oxygen free radicals 4 weeks later. The concentration of active oxygen free radical in PL group declined more than placebo group, when measured 30 min and 3 hours after UV exposure. Second, Calaguala did not significantly increase TAC 4 weeks later, but significantly decreased TAC 3 hours after exposure, when compared with placebo group. Now days, the photo allergy and photo aging caused by air pollution and ozone destruction have drastically increased, and thus the amount of UV radiation reaching the earth's surface increased. The increase of active free oxygen radicals resulted in accelerating the diseases and aging. The first superficial protecting protection by reflection & dispersion and the second body internal protection by taking oral photo antioxidant such as Calaguala should be continuously researched.

Keywords: Calaguala (*Polypodium leucotomos*), UV, skin damage, oral supplement, antioxidant effect

[†] 주 저자 (e-mail: ecoee2001@yahoo.co.kr)

1. 서 론

현대 사회는 산업의 변화와 더불어 생활수준과 삶의 질이 향상되어 의식주가 풍요로워지면서 미에 대한 욕구를 추구하게 되었다. 삶의 질을 중요시 생각하는 '웰빙' 현상과 함께 미디어의 발달로 연령, 성별 구분할 것 없이 항노화에 대한 관심이 증가하는 추세이다. 피부노화에는 내적인 노화와 외적인 노화로 나눌 수 있다. 내적인 노화는 피부의 구조와 생리적 기능이 나이를 먹으면서 쇠퇴하는 현상이고, 외적인 노화는 자외선에 의한 광노화이다. 현대 사회에서 가장 관심이 높은 광노화의 원인은 만성 스트레스, 환경오염, 자외선 등으로 생성되는 활성 산소이다. 특히, 최근 산업 발달에 따른 환경오염으로 인한 오존층 파괴로 1987년 "오존층의(해체를 야기하는 소재에 관한 몬트리올 의정서"가 체결되어 오존층 유해 소재들에 대한 규제가 시작되었지만 이미 사용된 오존층 파괴물질과 사회가 급속도로 성장함에 따라 발생하는 대기 오염, 각종 공해로 인하여 성층권에서 지속적으로 오존을 감소시켜 지상에 도달하는 유해 자외선량이 증가하고 있다[1]. 이에 따라 피부 건강을 위협하는 요인 중의 하나로서 자외선은 장시간 노출 시 광노화 현상, 홍반, 수포 등의 갖가지 피부장애, 백내장과 같은 눈 관련 질환, 피부 내의 랑게르한스 세포에도 영향을 미쳐 면역 기능 장애를 유발시키는 등 피부 건강에 심각한 악영향을 미친다.

특히 피부 미용측면에서 자외선에 의한 활성산소는 피부 노화를 비롯한 각종 질환을 일으키는 중요한 원인으로 입증되고 있다. 따라서 활성산소 소거 활동을 갖는 항산화제가 노화 및 질병 치료제의 기능성이 크게 부각되고 있다. 화장품에서 사용하고 있는 자외선(Ultraviolet) 차단제는, UVA 필터인 옥시벤존(Oxybenzone)이 자외선 A를 흡수하는 특성을 지녀 자외선 차단제에 널리 사용되고 있지만, 피부의 표피층 내부로 침투하면 인체에 유해한 활성산소(Free Radicals)의 생산량을 증가시킬 수 있고, 호르몬 교란, 세포손상 등의 알레르기 반응을 유발할 수 있음이 연구결과로 나타났다[2]. 또한, 무기물 질로써 피지에 녹지 않기 때문에 피부 내부로 침투하지는 않지만, 자외선에 활성화되어 독성을 나타낼 수 있다. 특히 이산화티탄은 자체로는 독성이 없지만 자외선을 받으면 활성산소를 발생시킨다[3]. 자외선 A 필터에 의해 조절되는 막 형성의 결여나 땀 흘림으로 인한 광보호제의 기능 저하와 광 과민증 환자에서 치료나 예방을 위하여 또는 정상인에서 광방어를 위하여 자외선 차단제를

도포한 후 오히려 피부염이 새로 생기거나 기존의 질병이 피부염으로 인하여 도리어 악화되는 경우와 같은 부작용을 유발하는 것으로 알려져 있다[4].

최근 "먹는 콜라겐"을 시작으로 바르는 보습제 대신 경구용 보습제의 시장이 급격히 성장하면서 경구용 화장품에 대한 연구가 유럽과 미국을 중심으로 진행되고 있다[5]. 바르는 자외선 차단제의 한계점을 보완할 수 있는 경구용 광 항산화제는 인체에 부작용이 적고 항산화력이 우수하기 때문에 자외선의 유해성으로부터 피부를 보호할 수 있는 방안으로 모색되어지고 있다.

최근 20 ~ 30대 여성들의 뷰티에 대한 지식과 관심이 매우 높아지고 있어 '경구용 화장품'과 같이 피부 고유의 근원적 힘을 기를 수 있는 먹는 화장품의 트렌드가 지속적으로 확산될 것이다. '경구용 화장품'은 히알루론산, 콜라겐 혹은 항산화 성분 등을 피부에 흡수시켜 피부 체질 자체를 건강하게 변화시키는 이너뷰티(Inner Beauty) 제품으로, 일본에서는 이미 시장규모가 1조5,000억원이 넘어섰다. 경구용 화장품은 피부보습부터 생기, 활력, 항산화, 피부주름 탄력 등 바르는 화장품의 기능을 그대로 갖고 있다. 2011년 경구용 화장품의 매출이 지난해 500억 ~ 600억원 규모에서 3배가량 성장할 것이라 분석하고 있다. CJ뉴트라의 '이너비'와 아리화장품의 '히알루론산수'로 국내 1,300억원 규모의 히알루론산 화장품 시장 경쟁이 더욱 가열되고 있다[6].

현재 경구용 화장품은 수분기능 제품이 주를 이루고 있지만 몸매 관리 기능의 먹는 슬리밍 제품까지 더한다면 전체 매출은 1조원으로 예상하고 있고, 2009년 기준 국내 화장품 생산 액수가 약 5조원이란 것을 볼 때 먹는 화장품의 비중은 앞으로 점점 더 성장할 것으로 예상된다[7].

경구용 항산화제는 혈류를 통하여 피부 전체를 보호한다는 장점이 있다. 유럽과 미국에서 진행되고 있는 동물과 인간 실험에서 비타민 E, C, 베타카로틴은 UVR에 의해 초래된 산화스트레스에 대한 반응에서 노출된 피부의 산화 스트레스가 감소되었음을 증명해왔다.

전신 광보호 오랄에 기대와 함께 연구된 첫 번째 접근은 항산화 비타민을 보충하는 식이요법이었다. 빛에 유발된 홍반출현에 이러한 비타민들이 예방효과가 있다는 평가가 많은 연구에서 있었다. 12주 동안 케라티노이드(25 mg/day)와 순수 자연 비타민 E (500 IU/day)의 투여는 20명의 밝은 피부색의 지원자들에게서 빛에 유발된 홍반뿐 아니라 UV 민감도의 감소를 가져왔다[8]. 홍반과 썬번의 예방을 넘어서 광보호 효과는 광노화, 광면역

억제와 광발암을 예방한다. 지난 20년간, 광면역 억제를 방어하는 카로티노이드의 역할에 관하여 연구되었고, 자외선을 조사한 이후 지연성 과민증 테스트에서는 하루 30 mg의 베타 카로틴을 복용한 그룹이 위약군을 복용한 그룹보다 광면역 억제를 방어능력이 훨씬 컸다[9].

칼라구알라(*Polypodium leucotomos*)의 광노화 예방 효과[10]와 다형성광발진 예방효과에 관한 연구가 있었고[11], 자외선에 의한 피부 산화방지 시스템 작용으로 돌연변이 또는 피부암세포의 형성을 억제효과에 관한 연구도 있었다[12,13].

다양한 성분의 추출물 및 화합물이 광 항산화제에 대한 논의가 있지만, 중앙아메리카의 폴리페놀 화합물로 이루어진 선바위고사리과에 속하는 양치식물인 칼라구알라가 선진국에서 보편으로 경구용 화장품에 이용되고 있다. 따라서 본 연구는 칼라구알라를 대상으로 자외선 유해성으로부터 피부를 보호할 수 있는 항산화력과 활성 산소 유리기 농도 변화를 알아보는데 그 목적을 두었다.

2. 재료 및 실험

2.1. 칼라구알라의 특성

칼라구알라는 중앙아메리카의 700 ~ 1,300 m 고도에서 자생하는 선바위고사리과에 속하는 양치식물이다. 온두라스대학의(Universidad Autónoma de Honduras) 교수인 Dr. Molina에 의해 처음 밝혀졌다. 현재까지 미국 일리노이 자연박물관 식물과(the Dept. of Botany, Field Museum of Natural History, Illinois- USA)의 Dr. R. Stolze에 의해 분류된 *P. leucotomos*와 *P. aureum*으로 두 가지 종이 알려져 있다[14, 15]. 오래전부터 토속적으로 소염제와 항암제로 쓰여졌던 칼라구알라는 최근에 건선(psoriasis), 아토피(atopic dermatitis), 백반증(vitiligo)과 같은 난치 피부병에 임상적 효과가 밝혀졌다[16]. 칼라구알라는 땅에서 자라는 매우 드문 착생 양치식물이다. 붉은 껍질로 덮여 높게 가지를 뻗고 덩굴을 이루며 두껍다. 줄기는 길쭉하고 짧은 뿌리줄기로 연결된다. 잎은 30 ~ 150 cm 길이이고 18 ~ 50 cm 넓이로, 10 ~ 40 cm 길이의 잎자루와 둔각, 둥근 또는 뾰족한 견고한 성장점을 가지고 있다. 잎맥은 좁은 주맥 그물눈을 형성하고 포자낭군은 주맥의 작은 잎맥사이에서 찾아볼 수 있다.

2.2. 칼라구알라의 구성 성분

페놀성 화합물은 커피 혹은 차 잎과 같은 야채나 과일

에서 발견된 식물 2차 대사물이다[17]. 1차 대사물과 달리, 2차 대사물은 식물의 생장에 필수적이지 않으나, 생물학적 기능의 넓은 범주에서 필요로 하기 때문에 특히 빛과 열에 대한 스트레스로부터 방어하기 위한 기능적 요인을 보여준다.

육상식물의 진화는 성층권에 발달한 오존층의 태양빛(UVR)을 흡수할 수 있어야 가능하다. 높은 UV레벨에 육상식물이 적응 할 수 있었던 페놀성 화합물의 역할이 최근에 알려지고 있다. 페놀성 화합물은 UVB를 흡수하는 내부 태양필터 역할을 한다. 육상식물은 물속 부유물을 여과함으로써 보호되는 수생식물에 반해 태양빛(UVR)에 직접적으로 노출되어 성장하기 때문에 보다 복잡한 구조의 페놀성 화합물로 되어있고, 동시에 새로운 생물적 기능을 얻게 된다. 최근에 밝혀지고 있듯이 21%의 산소 함유율을 보이는 산화 대기권의 발달에서 식물의 핵심적 역할을 수행했다는 것이다. 즉 산소는 광합성 동안에 H₂O를 광분해하고 CO₂를 흡수하는 식물의 능력에 의해 생성된다. 그러므로 산소를 발생시키는 식물은 자체 대사에서 생성하는 효과적인 항산화 메커니즘을 발전시켜 외부 공격으로부터 그들 자신을 보호한다. 식물 추출물 칼라구알라는 활성 비활성 합성물, 알려지지 않은 분자들과, 식이요소를 포함한 복합 구성요소를 가지고 있다. 칼라구알라는 주로 과당, 1 ~ 2 % (p/p) 차지하는 mannose와 포도당과 같은 당류와 최근 밝혀진 항산화 작용의 핵심이 되는 페놀화합물인 4-hydroxycinnamic acid (p-coumaric), 3-methoxy-4-hydroxycinnamic acid (ferulic), 4-dihydroxycinnamic acid (caffeic), 3-methoxy-4-hydroxy benzoic acid (vanillic) and 3-caffeoylquinic acid (chlorogenic)로 구성되어 있다[18].

칼라구알라를 포함하는 분자타입의 관점에서, 화학요법 분석 양식은 UV검출과 함께 고성능 액체 크로마토그래피 단계 반전에 의해 얻어지고, 색층분석법을 통해 PLE의 특성을 보여줌으로써 추출물 복합체들이 항산화와 광보호 활동을 한다는 것을 알 수 있다. 즉, 칼라구알라는 페놀성 화합물에서 파생한 항산화 성분이다. 본 연구에 사용한 칼라구알라도 위에 언급한 성분들로 구성되어 있다.

2.3. 시약 및 기기

칼라구알라 240 mg이 포함되어 있는 Heliocare Oral제품을(Cantabria, Spain) 사용하였고 위약은 1 g의 설탕을 캡슐에 넣어 복용하도록 하였다. 칼라구알라와 위약

Table 1. Technical Statistics

	N	Scope	Min	Max	Mean	Standard deviation	Variance
Age	14	9	36	45	39.86	3.085	9.516
Weight	14	44	45	89	63.50	14.575	212.423
Height	14	25	156	181	169.79	8.229	67.720
Effective number	14						

은 4주의 실험기간 동안에 1일 1회 2정씩 복용되도록 하였고, 매일 외출하기 전 30 min 전에 복용하도록 하였다.

혈중 활성 산소 유리기 농도는 FORMOX (Callegari, Italy) 장비로 Fort test kit를 이용하여 측정하였다. 분석 원리는 Fe이온에 의해 과산화물과 과산화수소가산화/환원됨으로써 발생하는 alkoxy radical이 CrNH₂와 결합하여 발색제를 형성하게 되는데 발색정도에 따라 활성 산소 유리기 농도를 측정하는 비색법을 이용하여 확인하는 것이다. 단위는 FORT unit (F.U.)으로 나타내었다.

혈중 총항산화능은 FORMOX장비로 Ford test kit를 이용하여 측정하였다. 분석원리는 Ford chromogen에 의해 발생된 free radical이 혈액 내 항산화 물질들에 의해 제거되게 되는데 혈액 내 항산화 물질에 비례하여 발색 정도가 억제되는 비색법을 이용하여 확인하는 것이다. TAC의 단위는 mmol/L로 나타내었다.

2.4. 실험방법

본 연구의 대상자는 30 ~ 40대 연령의 일반 남성 및 여성 14명의 지원자를 피험자로 선정하였다. 피험자들은 실험 전 최소 6주 동안 특정 약물 및 보조식품 섭취의 경험이 없는 사람으로 하였으며, 실험기간 동안에도 피험자들로 하여금 이들의 섭취를 피하도록 하였다. 대상자 선별 후 집단구성은 무선배정에 의해 칼라구알라를 섭취하는 PL군(7명), 위약을 섭취하는 위약군(7명)으로 구성하였다. 피험자에게는 실험에 앞서 본 연구에 대한 내용과 절차에 대해 충분히 설명하였으며 이에 동의하는 자들을 대상으로 실험에 참여시켰다. 실험은 2회에 걸쳐 4주 간격으로 동일한 방법으로 하였다.

자외선 노출 시 모든 피험자들은 UV차단제를 바르지 않게 하였으며 체혈 후 PL군 과 위약군 모두 칼라구알라와 위약을 섭취, 30 min 후부터 30 min 동안 실외에서 자외선에 노출되도록 하였다. 미누스 자외선 측정기 Sun-timer로 이용하여 UV수치가 6 ~ 7일 때 30 min 동안 같은 양의 자외선에 모든 피험자들이 노출되도록 하였다.

모든 피험자를 대상으로 4주 동안의 실험 전후에 각각 체혈을 실시하였다. 두 시기 모두, 자외선 노출 전 안정 시와 30 min 자외선 노출 후, 노출 후 3 h 후에 각각 전완 정맥에서 채혈하였다. 안정 시 혈액 채취는 피험자가 12 h 공복 후 실험실에 도착하여 10 min 이상의 안정을 취한 후 하도록 하였다. 생화학적 혈액 변인에 미치는 식이의 영향을 최소화하기 위해 피험자 모두 3 h까지 같은 내용의 식사를 하도록 하였다.

2.5. 통계처리

얻어진 자료분석을 위해 윈도우용 SAS 9.2버전의 통계 프로그램을 사용하였고, 각 변인은 평균과 표준편차로 나타내었으며, 통계적 유의성은 $p < .05$ 로 설정하였다. 각 변인에 있어서 집단별 기간별 측정시기별 차이검증을 위해 *t*-test를 실시하였다. 분석결과 통계적 유의성이 발견된 경우 Duncan 방법에 의한 사후검정을 실시하였다.

3. 결과 및 고찰

3.1. 실험집단 통계적 특성

표본 수를 성별로 나누어보면 남성과 여성을 각각 7명씩 50 : 50의 비율로 하여 총 14명의 표본을 가지고 실험하였다. 성별에 따른 남, 녀의 수가 홀수이기 때문에 PL군에는 남성 4명 여성 3명으로 하였고 위약군 그룹에는 남성 3명, 여성 4명으로 분류하였다.

Table 1에서 임상자들을 대상으로 기본적인 통계량을 살펴본 결과 나이는 36 ~ 45세를 표본으로 선택하였고 평균적인 나이는 39.86세이다. 체중은 45 ~ 89 kg을 대상으로 하였고 평균적인 체중은 63.50 kg이다. 또한 신장은 156 ~ 181 cm를 기준으로 평균신장은 169.79 cm임을 살펴볼 수 있다. 이와 같은 그룹에 대해서 PL군과 위약군으로서 분류를 하는데 나이, 체중 혹은 신장의 부분에 대해서 어느 한 그룹으로 치우쳐지지 않았는지에 대해서 살펴보고자 다음과 같이 통계적으로 분석하였다.

Table 2는 PL군과 위약군에 대해서 나이와 체중, 신장을 구분하여 조사한 결과이다. 여기서 그래프의 해석을 살펴보면 Levene의 등분산 검정이라는 가정이 나온다. 이는 PL과 위약의 그룹 간의 나이, 체중, 신장에 대해서 분산의 차이점을 알아보는 실험이다.

T-test를 통한 형태를 통해서 각각의 *t*값을 살펴보면 나이는 0.334, 체중은 0.444, 신장은 0.282인 점을 살펴볼 수 있다. 이 또한 *t*값이 작은 점으로 보아 유의확률이 낮은 값이라고 추측할 수 있는데 이를 살펴보면 나이는

Table 2. Independent Samples Test Regarding Age, Weight and Height (X: Equal Variance Assumed, Y: Equal Variance Not Assumed)

		Levene's equivariance test		Homogeneity <i>t</i> -test of mean					
		F	P Value	<i>t</i>	P Value (two sides)	Mean difference	Standard error	95 % Confidence interval	
								Lower limit	Upper limit
Age	Y	0.396	0.541	0.334	0.744	0.571	1.708	- 3.151	4.294
	X			0.334				0.744	- 3.178
Weight	Y	0.092	0.766	0.444	0.665	3.571	8.043	- 13.952	21.095
	X			0.444				0.665	- 14.06
Height	Y	0.12	0.735	0.282	0.783	1.286	4.563	- 8.657	11.228
	X			0.282				0.783	- 8.658

Table 3. Comparison of TAC before Clinical Test (X: Equal Variance Assumed, Y: Equal Variance Not Assumed)

	Levene's equivariance test		Homogeneity <i>t</i> -test of mean					
	F	Significance probability	<i>t</i>	Significance probability (two sides)	Mean difference	Standard error	95 % Confidence interval	
							Lower limit	Upper limit
Y	0.688	0.423	0.211	0.837	0.01714	0.08144	- 0.16029	0.19458
X			0.211				0.837	0.01714

0.744, 체중은 0.665, 신장은 0.783의 유의확률의 값이 나온 결과로 모두 귀무가설을 기각시키지 못한다는 뚜렷한 근거가 있음을 살펴볼 수 있다. 이를 통해서 PL군과 위약군 간 표본을 추출하는데 있어서 나이, 체중, 신장에 대해 차이가 없다는 근거가 뚜렷하다는 점을 살펴볼 수 있다. 이를 통해 PL군과 위약군의 표본을 추출하는데 나이, 체중, 신장에 대한 외부적인 요인은 같다 라는 근거로, 실험그룹이 잘 분류가 되었다는 것을 알 수 있다.

3.2. 총항산화능력 비교

3.2.1. 임상 전 그룹 간 총항산화 비교

위와 같은 부분을 살펴볼 때, 총항산화능력에 대한 *t*-test를 살펴보면 가설이 다음과 같다.

- * 귀무가설 : PL군과 위약군의 총항산화능력에 차이가 없다.
- * 대립가설 : PL군과 위약군의 총항산화능력에 차이가 있다.

등분산이 가정된 값에서 *t*-test값을 살펴보면 *t*값이 0.211로서 유의확률이 양측검정으로 0.837값이 나왔다. 여기서 유의수준 $\alpha = 0.5$ 하에 귀무가설을 기각할 수 없는 근거가 뚜렷하므로 실험 전 대상에 대해서 총항산화능력에 대해서 차이가 없다는 점을 살펴볼 수 있다. 즉, 실험대상에 대해서 총항산화능력의 농도가 차이가 없도록 뽑았다는 점을 살펴볼 수 있다.

3.2.2. 자외선 노출 30 min 후 그룹 간 총항산화 비교

위와 같은 부분을 살펴볼 때, 총항산화능력에 대한 *t*-test를 살펴보면 가설이 다음과 같다.

- * 귀무가설 : PL군과 위약군의 30 min 후 총항산화능력에 차이 없다.
- * 대립가설 : PL군이 위약군보다 30 min 후 총항산화능력이 더 높다.

등분산성이 가정되는 부분에서 *t*값을 살펴보면 이는 2.213으로 위의 가설은 단측검정이므로 $0.047/2 = 0.0235$ 이므로 유의수준 $\alpha = 0.05$ 하에 귀무가설을 기각

Table 4. Comparison of TAC after 30 min. UV Expose (X: Equal Variance Assumed, Y: Equal Avriance Not Assumed)

	Levene's equivariance test		Homogeneity <i>t</i> -test of mean					
	F	Significance probability	t	Significance probability (two sides)	Mean difference	Standard error	95 % Confidence interval	
							Lower limit	Upper limit
Y	0.124	0.73	2.213	0.047	0.06	0.02712	0.00092	0.11908
X			2.213	0.049	0.06	0.02712	0.00045	0.11955

Table 5. Compariosn of TAC after 3 hours UV Expose (X: Equal Variance Assumed, Y: Equal Avriance Not Assumed)

	Levene's equivariance test		Homogeneity <i>t</i> -test of mean					
	F	Significance probability	t	Significance probability (two sides)	Mean difference	Standard error	95 % Confidence interval	
							Lower limit	Upper limit
Y	0.174	0.684	4.682	0.001	0.10143	0.02167	0.05422	0.14863
X			4.682	0.001	0.10143	0.02167	0.05407	0.14879

시킬 근거가 뚜렷하다. 이는 PL군이 위약군보다 총항산화능력이 더욱 높아졌다는 점을 살펴볼 수 있다.

* 귀무가설 : PL군의 4주 후 총항산화능력에 차이 없다.
* 대립가설 : PL군의 4주 후 총항산화능력이 더 높다.

3.2.3. 자외선 노출 3 h 후 그룹 간 총항산화 비교

위와 같은 부분을 살펴볼 때, 총항산화능력에 대한 *t*-test를 살펴보면 가설이 다음과 같다.

- * 귀무가설 : PL군과 위약군의 3 h 후 총항산화 능력에 차이 없다.
- * 대립가설 : PL군이 위약군보다 3 h 후 총항산화 능력이 더 높다.

등분산성이 가정된 하에서 *t*값을 살펴보면 4.682로서 매우 높은 값을 가지고 있다. 이의 유의확률의 값이 0.001보다 작음으로써 매우 유의하다는 점을 살펴볼 수 있다. 즉 PL군이 위약 그룹보다 3 h 후에 총항산화능력이 더욱 높아졌다는 점을 살펴볼 수 있다. 이는 30 min 후에 측정했을 때보다 3 h 후에 측정했을 때, 총항산화능력의 변화에 대한 근거가 훨씬 뚜렷하다는 점을 살펴볼 수 있다.

3.2.4. 4주 후 PL군의 총항산화능력 비교

임상 전과 4주 후 임상 전, 총 항산화 반응이 다른지에 대해 다음과 같은 테스트를 하였다.

위와 같은 부분을 살펴볼 때, 총항산화반응에 대한 *t*-test를 살펴보면 가설이 다음과 같다.

Table 6을 살펴보면 서로의 값에 대한 평균값의 차이는 0.0057143으로서 처음에 나온 총항산화반응의 값이 4주 후에 기록한 총항산화반응의 값보다 더 큰 것을 알 수 있다. 이는 즉, 애초부터 대립가설과 반대되는 개념이므로 대립가설이 성립되지 않는다. 또한, *t*값에서 0.233으로 유의확률의 값이 0.831이기 때문에 단측으로 2를 나누어도 유의확률이 유의수준 $\alpha = 0.05$ 보다 훨씬 크기 때문에 귀무가설을 기각시킬 근거가 없으므로 총항산화능력에는 차이 없다.

3.2.5. PL과 위약군의 총항산화능력(TAC)에 대한 결과 비교

Figure 1에서 살펴 본 바와 같이 PL군과 위약군 간의 1주와 4주의 복용 전 총항산화력에 있어서는 거의 비슷하다는 것을 볼 수 있다. 하지만 실험 첫째 주 자외선 노출 전과 30 min 후의 항산화력 차이가 PL군이 1.42와 위약군이 1.34으로 0.08의 차이를 보였으며, 실험 넷째 주에는 자외선 노출 전과 30 min 후의 항산화력 차이가 PL군이 1.44와 위약군이 1.32으로 0.12의 차이를 보였다. 또한, 실험 첫째 주 자외선 노출 전과 3 h 후의 항산화력 차이가 PL군이 1.36와 위약군이 1.25으로 0.11의 차이를 보였으며, 실험 넷째 주 자외선 노출 전과 3 h 후의 항산화력 차이가 PL군이 1.39와 위약군이 1.23로 0.16의 차이

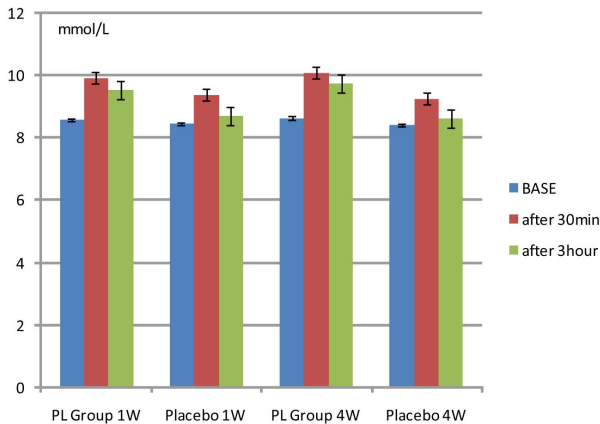


Figure 1. Comparison of TAC between PL and Placebo Group after 30 min and 3 hours.

를 보였다.

Figure 2와 같이 항산화능력의 뚜렷한 변화는 PL그룹에서 볼 수 있다. 1주 보다 4주에서 30 min과 3 h 자외선 노출 모두 다 증가하였다. PL그룹과 위약군의 1주 실험 결과를 비교하면, 30 min 자외선 노출보다는 3 h 노출에서 차이가 더 크다. 4주와 1주의 PL그룹과 위약그룹의 차이를 비교해 보면 4 week의 그룹 간(30 min, 3 h 모두의) 결과차이가 1주의 그룹 간 결과차이보다 크다. 따라서 PL그룹 4주의 3 h 자외선 노출과 위약그룹 4주의 3 h 자외선 노출의 항산화능력 차이가 가장 큰 것임을 알 수 있다.

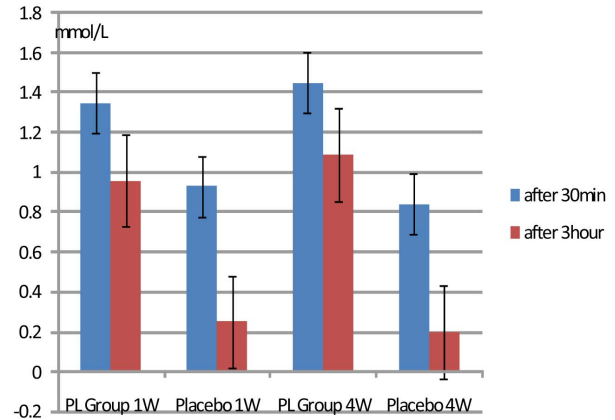


Figure 2. TAC's Difference between PL and Placebo Group in Before and After Comparison.

3.3. 활성 산소 유리기 변화

3.3.1. 임상 전 그룹 간 활성 산소 유리기 변화 비교

임상 전 총 활성산소의 양이 다른지에 대해 다음과 같은 테스트를 하였다.

위와 같은 부분을 살펴볼 때, 활성산소에 대한 *t*-test를 살펴보면 가설이 다음과 같다.

* 귀무가설 : PL군과 위약군의 활성산소 유리기에 차이가 없다.

* 대립가설 : PL군과 위약군의 활성산소 유리기에 차이가 있다.

Table 6. Comparison of TAC after 4 Weeks

Homogeneity <i>t</i> -test of mean							
	<i>t</i>	Significance probability (two sides)	Mean	Mean difference	Standard error	95 % Confidence interval	
						Lower limit	Upper limit
Paired	0.223	0.831	0.005714	0.0677882	0.0256215	- 0.0569793	0.0684079

Table 7. Comparison of Free Oxygen Radicals Change before Clinical Test (X: Equal Variance Assumed, Y: Equal Avriance Not Assumed)

Levene's equivariance test			Homogeneity <i>t</i> -T test of mean					
	F	Significance probability	<i>t</i>	Significance probability (two sides)	Mean difference	Standard error	95 % Confidence interval	
							Lower limit	Upper limit
Y	0.007	0.934	- 0.042	0.967	- 0.857	20.284	- 45.052	43.338
X			- 0.042	0.967	- 0.857	20.284	- 45.053	43.338

Table 8. Comparison of Free Oxygen Radicals after 30 min. UV Expose (X: Equal Variance Assumed, Y: Equal Avriance Not Assumed)

	Levene's equivariance test		Homogeneity <i>t</i> -T test of mean					
	F	Significance probability	<i>t</i>	Significance probability (two sides)	Mean difference	Standard error	95 % Confidence interval	
							Lower limit	Upper limit
Y	0.896	0.363	- 2.52	0.027	- 21.714	8,617	- 40.489	- 2.94
X			- 2.52	0.032	- 21.714	8,617	- 41.165	- 2.263

Table 9. Comparison of Free Oxygen Radicals after 3 hours UV Expose (X: Equal Variance Assumed, Y: Equal Avriance Not Assumed)

	Levene's equivariance test		Homogeneity <i>t</i> -T test of mean					
	F	Significance probability	<i>t</i>	Significance probability (two sides)	Mean difference	Standard error	95 % Confidence interval	
							Lower limit	Upper limit
Y	4.265	0.061	- 2.734	0.018	- 24.286	8,882	- 43.639	- 4.933
X			- 2.734	0.029	- 24.286	8,882	- 45.238	- 3.333

Table 7에서 나타난 것과 같이 등분산을 가정한 부분을 살펴보면 -0.042로 *t*값이 매우 낮음을 살펴볼 수 있다. 유의확률을 살펴보면 0.967의 값으로 유의확률이 매우 높은 값을 알 수 있다. 이는 귀무가설을 기각시킬 근거가 뚜렷하지 않으므로 실험 전에 PL과 위약군 간에 활성산소 유리기에 대한 차이가 거의 없음이 확실한 뚜렷한 근거가 있다. 이를 통해서 실험 전에 활성산소의 농도에 대해서 차이가 거의 없음을 통해 실험하는데 활성산소의 농도의 측면에서 동등한 조건이라는 사실을 알 수 있다.

3.3.2. 자외선 노출 30 min 후 PL과 위약 그룹 간 활성 산소 유리기 변화 비교

위와 같은 부분을 살펴볼 때, 활성산소에 대한 *t*-test를 살펴보면 가설이 다음과 같다.

- * 귀무가설 : PL군과 위약군의 30 min 후에 활성산소의 변화는 없다
- * 대립가설 : PL군이 위약군보다 30 min 후에 활성산소의 변화가 낮다.

등분산 가정 하에서 *t*값은 -2.520임을 살펴볼 수 있다. 이를 통해 유의확률을 살펴보면 0.027인데 단측 검정이므로 $0.027/2 = 0.0135$ 임을 살펴볼 수 있다. 이를 통해서 유의수준 $\alpha = 0.05$ 하에 귀무가설을 기각시킬 근거가 뚜

렷함을 살펴볼 수 있다. 이를 통해서 그룹 간 차이에서 30 min 후 활성산소 유리기 변화에 차이가 PL군이 위약군보다 활성산소 유리기의 변화가 더 낮아졌음을 알 수 있다.

3.3.3. 자외선 노출 3 h 후 PL과 위약 그룹 간 활성 산소 유리기 변화 비교

위와 같은 부분을 살펴볼 때, 활성산소에 대한 *t*-test를 살펴보면 가설이 다음과 같다.

- * 귀무가설 : PL군과 위약군의 3 h 후 활성산소의 변화 없다.
- * 대립가설 : PL군이 위약군보다 3 h 후 활성산소의 변화가 낮다.

위의 부분에서 등분산 가정 하에 *t*값을 살펴보면 -2.734이고 단측검정을 하고 있으므로 $0.018/2 = 0.009$ 의 유의확률이 나옴을 알 수 있으므로 유의수준 $\alpha = 0.05$ 하에서 귀무가설을 기각시킬 근거가 뚜렷하다. 이를 통해서 3 h 자외선 노출 후 PL군이 위약군보다 활성산소 유리기에 대한 변화 값이 낮다는 점을 알 수 있다.

3.3.4. 4주 후 PL군의 활성 산소 유리기 변화 비교

임상 전과 4주 후 임상, 총 활성산소 유리기가 다른지에 대해 다음과 같은 테스트를 하였다.

위와 같은 부분을 살펴볼 때, 활성산소에 대한 *t*-test

Table 10. Comparison of Free Oxygen Radicals Change for PL Group after 4 Weeks

Homogeneity <i>t</i> -T test of mean							
	<i>t</i>	Significance probability (two sides)	Mean	Mean difference	Standard error	95 % Confidence interval	
						Lower limit	Upper limit
Match	2.2	0.07	13,57143	16,31826	6,16772	- 1,52045	28,6633

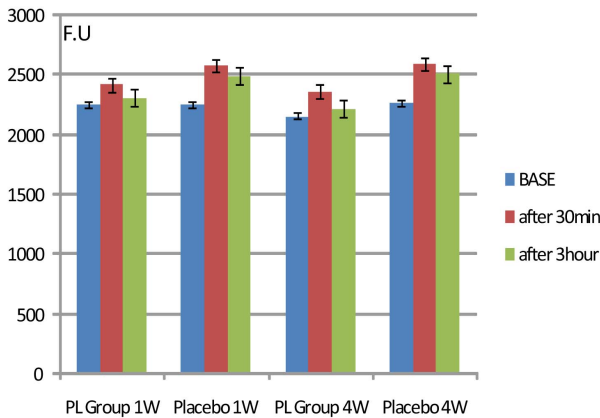


Figure 3. Comparison of free oxygen radical between PL and placebo group after 30 min and 3 hours.

를 살펴보면 가설이 다음과 같다.

- * 귀무가설 : PL군에서 4주 후 활성산소 유리에 차이가 없다.
- * 대립가설 : PL군에서 4주 후 활성산소 유리가 더 낮다.

Table 10에서 나타난 것과 같이 처음에 측정된 활성산소의 값에서 4주 후에 체크한 활성산소의 차이가 13.57143이다. 이를 *t*값을 통해 살펴보면 *t*는 2.200의 값으로 유의확률이 0.070이다. 그러나 이는 단측 검정이므로 2를 나누면 0.035의 값이 나온다. 이는 유의수준 $\alpha = 0.05$ 에 의해 귀무가설을 기각시킬 근거가 뚜렷하므로 대립가설을 채택한다. 이는 즉 PL그룹에서 4주 후가 초기보다 활성산소 유리가 더 떨어졌다는 점을 알 수 있다.

3.3.5. PL과 위약군의 활성산소 유리기 변화에 대한 결과 비교

Figure 3에서 살펴 본 바와 같이 PL과 위약 그룹간의 1주와 4주의 복용 전 활성산소 유리에 있어서는 거의 비슷하다는 것을 볼 수 있다. 하지만 실험 첫째 주 자외선에 노출된 후 30 min 후에는 PL군의 활성산소 유리기

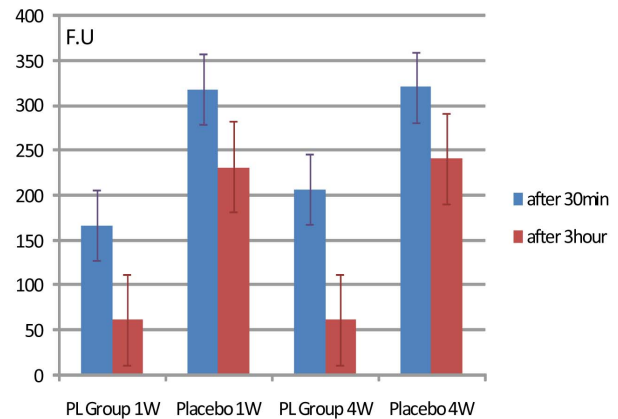


Figure 4. Free oxygen radical between PL and placebo group in before and after comparison.

가 2420와 위약군이 2578으로 158의 차이를 보였으며, 실험 넷째 주 자외선 노출 30 min 후에는 PL군이 2365와 위약군이 2591으로 226의 차이를 보였다. 또한, 실험 첫째 주 자외선에 노출된 후 3 h 후에는 PL군의 활성산소 유리가 2315와 위약군이 2491으로 176의 차이를 보였으며, 실험 넷째 주 자외선 노출 3 h 후에는 PL군이 2220와 위약군이 2512으로 292의 차이를 보였다.

요약해보면 Figure 4에서 두 그룹 간의 비교에서 PL그룹이 위약 그룹 보다 자외선 노출에 의한 활성산소 유리기 농도에서 낮은 변화를 보였고 특히, 첫째 주보다 넷째 주에 PL그룹과 위약 그룹간의 활성산소 유리기 변화율의 차이가 큰 것으로 나타났다. 또한 PL 그룹과 위약 그룹간의 활성산소 유리기 변화율의 차이는 자외선 노출 30 min 후 보다 3 h 후에서 훨씬 큰 차이를 보였다.

30 min 자외선 노출 후 측정된 활성산소 유리기 값 경우, PL 1주가 2420(F.U.)이었고 PL 4주는 2365(F.U.)으로 차이가 55(F.U.)였다. 3h 자외선 노출 후 측정된 활성산소 유리기 값 경우, PL 1주가 2315(F.U.)이었고 PL 4주는 2220(F.U.)으로 차이가 95(F.U.)였다. 따라서 PL그룹 1주와 4주 비교에 있어서 3 h 자외선 노출 값 차이가 30 min 노출 값 차이 보다 크다. 즉, 칼라구알라효과는 장시간 자외선노출 되었을 때 상대적으로 크다고 말

할 수 있다.

4. 결 론

1) 칼라구알라는 4주 후 활성 산소 유리기 농도를 유의하게 감소시켰고, 자외선 노출 30 min 후와 3 h 후의 활성 산소 유리기 농도는 위약군에 비해 유의하게 감소시키는 것으로 나타났다.

2) 칼라구알라는 4주 후 안정 시 총항산화능력을 유의하게 증가시키지 못하였지만, 자외선 노출 30 min 후와 3 h 후의 총항산화능력은 위약군에 비해 유의하게 감소시키는 것으로 나타났다.

3) 4주 동안의 칼라구알라는 자외선 노출 시에 산화적 스트레스 지표인 활성 산소 유리기를 감소시키고 총항산화능을 증가시키는 것을 확인하였다. 따라서 자외선 차단 기능을 가지고 있음을 확인하였다.

4) 경제성장과 도시화로 발생하는 대기오염, 각종 공해로 인하여 성층권에서는 지속적으로 오존이 감소되고 지상에 도달해 유해 자외선 량이 증가하는데, 이는 활성 산소 증가의 결과를 가져와 인체의 질환과 노화를 빠르게 진행시킨다. 기존의 바르는 화장품은 보호기능에 있어서 한계가 있기 때문에 경구용 화장품의 도입과 상품화가 필요한 시점이다. 칼라구알라는 본 실험을 통하여 적절한 경구용 항산화제의 소재로 이용될 수 있음을 확인하였다.

5) 기존의 반사와 산란작용의 1차 차단 피부보호제 외에도 칼라구알라와 같이 신체 내부에서 2적 차단을 할 수 있는 경구용 광항산화제의 연구가 계속적으로 이루어져야 할 것으로 사료된다.

참 고 문 헌

1. M. J. Jang, Consideration of the impact on skin health by ozon layer's destruction, Master's Thesis Dissertation, Graduate School of Yonsei University (1995).
2. K. H. Kim, Nano-sunscreen: Issue continues to be controversially discussed, *Nanotechnology Policy Brief*, **12**, 8 (2009).
3. Daco, Trends & perspective of cosmetic market, D&C (2007).
4. T. S. Lee, Study on harmfulness recognition degree and block way of ultraviolet ray, Master's Thesis Dissertation, Major in Cosmetics Graduate School of Cyber Cosmetics Industry, Sookmyung Women's University (2005).
5. S. Savado, La mitad de los Espanoles se pone mal protector solar, *El MUMDO / ANO* (2004.06.12).
6. J. H. Bae, CJ Jeiljedang, KW 40 billion as sales goal for oral cosmetic 'Inner By', *Monthly Poly News*, (2011.04.26).
7. J. H. Huh, KW 100 billion sales just after 4 years apperance of 'Oral Cosmetic', *Maeil Kyoungje* (2011.05.24).
8. W. Stahl, U. Heinrich, H. Jungmann, H. Sies, and H. Tronnier, Carotenoids and carotenoidsplus vitamin E protect against ultraviolet light-induced erythema in humans, *Am. J. Clin. Nutr.*, **71**(3), 795 (2000).
9. C. J. Fuller, H. Faulkner, A. Bendich, R. S. Parker, and D. Roe, Effect of beta-carotenesupplementation on photosuppression of delayed-type hypersensitivity in normal young men, *Am. J. Clin. Nutr.*, **56**(4), 684 (1992).
10. N. Philips, J. Smith, T. Keller, and S. Gonzalez, Predominant effects of *Polypodium leucotomos* on membrane integrity, lipid peroxidation, and expression of elastin and matrixmetalloproteinase-1 in ultraviolet radiation exposed fibroblasts, and keratinocytes, *J. Dermatol. Science.*, **32**, 1 (2003).
11. A. Tanew, S. Radakovic, S. Gonzalez, M. Venturini, and P. Calzavara-Pinton, Oral administration of a hydrophilic extract of *Polypodium leucotomos* for the prevention of polymorphic light eruption, *J. Am. Acad. Dermatol.*, **66**(1), 58 (2012).
12. A. Horvath, F. Alvarado, J. Szocs, Z. N. de Alvarado, and G. Padilla, Metabolic effects of calagualine, an antitumoral saponine of *Polypodium leucotomos*, *Nature*, **214**, 1256 (1967).
13. A. Maritza, M. A. Middelkamp-Hup, T. Garcia-Caballero, F. Rius-Díaz, T. B. Fitzpatrick, and G. Salvador, Orally administered *Polypodium leucotomos* extract decreases psoralen-UVA-induced phototoxicity, pigmentation, and damage of human skin, *Official Review of the American Academy of Dermatology*, **50**(1), 41 (2004).

14. J. L. Alonso-Lebreroa, C. Domínguez-Jiménezb, R. Tejedora, A. Brievaa, and J. P. Pivela, Photoprotective properties of a hydrophilic extract of the fern *Polypodium leucotomos* on human skin cells, *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, **70**, 31 (2003).
15. F. García, J. P. Pivell, A. Guerrero, A. Brieva, M. P. Martínez-Alcázar, M. Caamañ-Somoza, and S. González, Phenolic components and antioxidant activity of fernblock, an aqueous extract of the aerial parts of the fern *Polypodium leucotomos*, *Methods Find Exp Clin Pharmacol*, **28**(3), 1 (2006).
16. B. Stavric, Role of chemopreventers in human diet, *Clin. Biochem.*, **27**, 319 (1994).
17. G. Williamson, A. J. Day, G. W. Plumb, and D. Couteau, Human metabolic pathways of dietary flavonoids and cinnamates, *Biochem. Soc. Trans.*, **28** (part 2), 16 (2000).
18. L. Gombau, L. A. Gombau, F. Garcia, A. Lahoz, A. Myriam-Fabre, P. Roda-Navarro, P. Majano, J. L. Alonso-Lebrero, J. P. Pivel, J. V. Castell, M. J. Gómez-Lechon, and S. González, *Polypodium leucotomos* extract: antioxidant activity and disposition, *Toxicology in Vitro*, **20**, 464 (2006).
19. S. J. Jang, UV in daily life, *Cosmetic Newspaper*, 27 (2002).