

홍삼박추출물의 항산화활성 및 주름개선 효과

이미연* · 김보애* · 양재찬†

목원대학교 테크노과학대학 생의약화장품학부
(2016년 10월 17일 접수; 2016년 11월 25일 수정; 2016년 12월 9일 채택)

Effects of Extracts Derived from *Red Ginseng* Residue on Antioxidant Activity and Elastase Inhibition

Mi-Yeon Lee · Bo-Ae Kim · Jae-Chan Yang†

*Mokwon University, College of Sciences & Technology, Division of Biomedical & Cosmetics,
Doanbuk-ro 88, Seo-gu, Daejeon 302-729, Korea*

(Received October 17, 2016; Revised November 25, 2016; Accepted December 9, 2016)

요약 : 본 연구는 홍삼박 물추출물(RGW), 에탄올추출물(RGE), 1,3-B.G추출물(RGB)을 HPLC로 성분 분석과 B16F10에 대한 세포생존율, 항산화능 및 주름개선 효능 평가를 실시하여 홍삼박 추출물의 화장품 소재로서의 응용가능성을 알아보았다.

추출물의 HPLC 성분 분석 결과, 세 가지 추출물 모두 다양한 종류의 진세노사이드가 검출되었으며 그 중 RGB가 가장 많은 함량의 진세노사이드가 검출되었다. B16F10의 세포생존율 측정 결과, RGW와 RGB가 유사하며, RGE보다 높은 생존율을 보여주었다. DPPH radical 소거능 측정 결과 RGE>RGB>RGW 순으로 나타났으며 SOD유사활성능 측정 결과는 RGB>RGE>RGW순으로 활성능을 보여주었다. Elastase 저해능 측정 결과에서는 RGW>RGB>RGE 순으로 활성을 보였다. 위와 같은 결과를 종합하여 볼 때 피부안전성이 우수하며 항산화 및 주름개선 화장품소재로서 RGW와 RGB가 적합할 것으로 판단된다.

주제어 : 홍삼박, 세포생존율, 항산화, 주름개선효능

Abstract : We produced the *Red ginseng* residue water(RGW), ethanol(RGE), 1,3-butylene glycol(RGB) extract from *Red ginseng* residues, analyzed the components of the extracts by HPLC, and evaluated the cell viability on B16F10, antioxidant and anti-wrinkle effects for application of cosmetics.

As a result, RGW, RGE, RGB have various ginsenoside and its content of RGB were higher than RGW, RGE as component analysis by using high performance liquid chromatography(HPLC). RGW showed similar with RGB in cell viability on B16F10 which were higher than RGE. DPPH radical scavenging activity increased according to the RGE>RGB>RGW. SOD-like activity increased

†Corresponding author
(E-mail: rabbit@mokwon.ac.kr)

according to the RGB>RGE>RGW. Also, elastase inhibition effect increased according to the RGW>RGB>RGE. These results suggested that RGB and RGW may have potential for the application of antioxidant and anti-wrinkle effects for cosmetics.

Keywords : Red ginseng residue, cell viability, antioxidant effects, anti-wrinkle effects

1. 서론

고려인삼(*Panax ginseng*, C.A. Meyer)은 오갈피 나무과(Araliaceae) 인삼 속(*Panax*)에 속하는 다년생 초본류로서, 다양한 효능이 있어 예로부터 생약재로 널리 사용되어 왔다. 수삼 뿌리의 껍질을 살짝 벗겨서 건조한 것을 백삼, 수삼의 껍질을 벗기지 않은 상태에서 장시간 증기로 찌고 말리는 과정을 거쳐 만들어지는 담황색 또는 담적갈색을 띠는 인삼을 홍삼이라고 한다. 홍삼은 제조과정 중 열에 의해 주요 약리 성분인 사포닌의 변환과 아미노산 변화 및 갈변 작용 등 여러 화학 변화가 수반된다[1]. 백삼에 존재하는 사포닌인 malonyl-ginsenoside Rb1, Rb2, Rc, Rd는 홍삼을 제조하면서 C-20 위치에서 glycosyl 잔기가 이탈되거나 C-20 위치에서 수산기가 이성화되어 (R)-ginsenoside Rg2, Rg3, Rh1, Rh2 등이 생성된다[2]. 이러한 홍삼의 특이 사포닌은 암세포의 정상 세포 내 침윤과 혈관 신생 억제로 암세포 전이 억제와 혈압 저하 기능이 있다[3]. 그 뿐만 아니라 페놀성 성분의 항산화 활성[4], 항당뇨[5,6] 및 피부보습효과[7], 항암효과[8], 항고지혈증 효과[9] 등으로 널리 알려져 있다. 일반적으로 다양한 외부자극에 의해 생성된 ROS (reactive oxygen species)는 피부의 지질과산화의 원인이며, 피부 표면의 ROS 제거는 수분의 감소를 막고 피부의 탄력을 유지시켜주는 것으로 잘 알려져 있다. 홍삼의 저분자 진세노사이드 Rg3(R)은 대식세포에서 ROS의 생성량을 LPS(Lipopolysaccharide)와 Poly I:C (Polyinosinic:polycytidylic acid) 처리 전의 상태로 복귀시켜주고, Rg3(S)은 UV 자극에 의해 생성된 ROS 저해에 탁월한 효과를 보여주었다. 또한 Rg3(R), Rg3(S)를 처리한 군의 경우 항산화에 관여하는 유전자의 발현이 증가함을 알 수 있다[10].

주름 개선에 관련된 인삼의 효능 연구에서 진세노사이드 함량이 14%인 인삼 추출물을 피부에

도포 시 보습과 탄력을 증진시켰으며[11], Rd와 이를 증속하여 얻어진 희귀 진세노사이드 Rk1 및 Rg5가 주름 개선에 효과적임을 알 수 있다[12].

현재 우리나라에서는 인삼을 건강기능식품의 원료로 고시하고 있으며, 인삼과 홍삼제품들을 제조할 경우 추출 및 농축을 통해서 농축액을 제조한 후, 필요한 제품의 유형에 따라 농축액, 농축액 분말 그리고 음료 등으로 사용하고 있다. 이때, 홍삼 농축액을 제조하기 위하여 추출용매로 열수 또는 주정을 사용하고 있으며 대부분 홍삼의 원형 그대로 열수 또는 주정에 침지하여 유효성분을 추출해내고 있다[13]. 이러한 추출액은 홍삼에 대하여 약 65%가 얻어지고, 상당한 양의 다당체가 용출되지 않고 함유되어 있으나 산업적으로 동물 사료나 퇴비로 이용되거나 대부분은 폐기되고 있는 실정이다. 홍삼박이 닭의 사료로 사용되었을 때 산란률과 면역력이 상승하였다[14]. 수입의존도가 높은 면실박을 대체하여 버섯 재배를 위한 배지로 이용하였을 때, 느타리 버섯의 수량이 증가하고 품질에는 차이가 없는 것으로 알려져 있다[15].

따라서 본 연구에서는 홍삼박의 이용가치를 높이고 화장품 소재로서의 활용가능성을 평가하기 위해 다양한 용매를 이용하여 홍삼박을 추출하였다. 홍삼박 추출물에 함유된 성분을 분석을 위해 HPLC를 사용하였으며 B16F10에 대한 세포독성, DPPH 라디칼 소거 활성과 SOD 유사활성 평가를 통해 항산화능을 측정하였다. 또한 엘라스타아제 저해능을 통해 주름개선효능을 측정하였다.

2. 실험

2.1. 실험 재료

2.1.1. 홍삼박 원료

본 실험에 사용된 홍삼박(*Red ginseng residue*)

은 70°C에서 열수추출을 거친 홍삼을 25°C 조건 하에 3일간 자연 건조한 것으로 (주)천부홍삼에서 구입하여 이물질을 제거하고, 300 μm 입자 크기로 분쇄하여 실험에 사용하였다.

2.1.2. 홍삼박 추출물의 제조

물, 30% EtOH, 30% 1,3-Buthylene glycol를 용매로 하여 시료 중량의 10배 양을 가하여 75°C에서 24시간 침지 추출하였다. 100mesh, 1 μm 필터로 1차 여과 후 3일 동안 상온에서 방치하였다. 0.80 μm , 0.45 μm 필터로 2차 여과를 진행하고 0.20 μm 필터로 제균 여과를 실시하였다. 여과액을 4°C Chamber에 보관하여 실험에 사용하였으며 물 추출물은 RGW(*Red ginseng* residue extracted used to water), EtOH (Ethanol)추출물은 RGE(*Red ginseng* residue extracted used to EtOH), 1,3-B.G추출물은 RGB(*Red ginseng* residue extracted used to 1,3-B.G)로 명시한다.

2.2. 실험 방법

2.2.1. 추출물의 화학적 특성 측정

홍삼박 추출물의 pH, 비중을 측정하였다. pH는 pH 측정기(pH/Ion meter S220, Mettler Co, Switzerland)로 실온에서 추출물을 취해 같은 방법으로 3회 반복하여 측정하였다. 비중은 표준비중계(200-DK-5, DEAKWANG Co., Korea)를 이용하여 각각 3회 측정하여 평균값을 계산하였다.

2.2.2. 진세노사이드 성분 분석

각 추출액 시료의 화학적 조성을 분석하기 위하여 HPLC 분석을 하였다. 본 실험에 사용된 정량분석용 크로마토그래피 기기는 Shimadzu HPLC system으로서 LC-10AT vp Pump, SCL-10A vp System controller, SPD-10AV vp UV/vis Detector, FCV-10AL Low Pressure Gradient Unit를 사용하였다. 이동상으로 사용된 유기용매로 Acetonitrile은 J.T. Baker (Phillipsburg, NJ, USA)에서 구입하여 사용하였다. 증류수는 Mili-Q system(Millipore, Bedford, MA, USA)으로 증류한 18M Ω 이상의 탈이온수를 사용하였고, 이동상은 10% Acetonitrile과 90% Acetonitrile을 용매로 하여 기울기 용리조건을 사용하여 분석하였다. Column은 SunFire C8 3.5 μm 4.6 \times 27 mm을 사용하였고, column 온도는 30°C로 하였다. HPLC/UV는 203nm에서 검출하였으며, 유속은 1.6 mL/min을 사용하였고 시료의 주입량은 10 μL 로 하였다(Table. 1).

2.2.3. 세포배양

본 실험에서 사용한 B16F10 cell (CRL-6475M, ATCC, USA)는 10% Fetal bovine serum(Welgene Co., USA)과 1% penicillin/streptomycin (100U/ml)을 첨가한 DMEM 배지를 배양액으로 하여 37°C, 5% CO₂ 조건의 배양기에서 배양하였다.

Table 1. HPLC analysis conditions for *Red ginseng* residue extracts.

Column	SunFire C8 3.5 μm 4.6 \times 27 mm	
Solvent	10% ACN(Acetonitrile 10 : Water 90) 90% ACN(Acetonitrile 90 : Water 10)	
Column Temperature	30°C	
Detection wavelength	203nm	
Flow rate	1.6 ml/min	
Injection volume	10 μL	
Time(min)	10% ACN(%)	90%ACN(%)
0	95	5
10	85	15
15	80	20
27	77	23
35	65	35
45	50	50
50	45	55

2.2.4. WST-1 assay에 의한 세포 독성 평가

추출물의 세포 독성은 Cytotoxicity assay kit(Dogenbio Co. Korea.)를 사용하여 측정하였다. 96 well plate에 세포주 B16F10 cell을 세포 수 5×10^3 농도로 각 well에 첨가하고 1개의 well에는 세포 부유액 대신 배지만 넣어 흡광도 측정시 blank로 사용하였다. Plate를 CO₂ incubator에서 24시간 배양한 후 각 well에 시료를 20, 10, 5.0, 2.5 μ l/ml 농도로 100 μ L씩 분주하였다. 세포부유액을 넣은 well 중 마지막 well에는 시료 대신 DMEM(-)를 첨가하여 100% 생존군(control)으로 하였다. 시료를 첨가한 plate를 37°C, 5% CO₂ 배양기에서 24시간 배양한 후 각 Well에 분주된 추출물 시료 100 μ L를 제거하고, 10% WST-1 reagent 100 μ L씩을 첨가한 후 1시간 동안 37°C, 5% CO₂ 조건에서 배양하였다. 배양 종료 후 ELISA reader(Bio Rad Co., Japan)로 450nm에서 흡광도를 측정하였다. 실험은 3회 실시하여 평균값을 사용하였으며, 실험군의 세포 생존율은 대조군에 대한 생존율로 나타내었다.

2.2.5. DPPH radical 소거능 측정

각 시료용액 50 μ l에 0.2mM의 1,1-diphenyl-2-picryl hydrazyl(DPPH) 150 μ l를 넣고 교반한 후 25°C에서 30분간 방치한 다음 492nm에서 흡

광도를 측정하였다. 전자공여능은 시료용액의 첨가군과 무첨가군의 흡광도 감소율로 나타내었다. BHT(Dibutyl hydroxy toluene)를 대조군으로 사용하였다.

2.2.6. SOD(Superoxide anion radical)유사활성 측정

SOD 유사활성은 EZ-SOD assay kit(Dogenbio Co., Korea)를 사용하여 측정하였다. 희석한 sample을 각 sample well과 Blank2의 well에 20 μ L씩 넣어주고 Blank1와 Blank3 well에는 증류수를 각각 20 μ L씩 넣어주었다. 각 well에 WST working solution 200 μ L를 Blank2와 Blank3의 well에 Dilution buffer를 20 μ L씩 넣어주었다. Enzyme working solution을 Blank1과 sample well에 각각 20 μ L씩 넣어준 후 Plate를 37°C에서 20분간 반응시켰다. Plate reader를 이용하여 450nm에서 흡광도를 측정하였다.

2.2.7. 엘라스타아제 저해능 측정

엘라스타아제 저해능은 10mM Tris-HCl buffer (pH 8.0)에 녹인 N-succinyl-(Ala)3-p-nitroanilide(S4760, Sigma-Aldrich Co.,USA) 1.1 mM 농도의 기질 100 μ L를 가한 후, 10mM Tris-HCl buffer(pH 8.0)에 녹인 Elastase from porcine pancreas Type IV (E0258, Sigma)

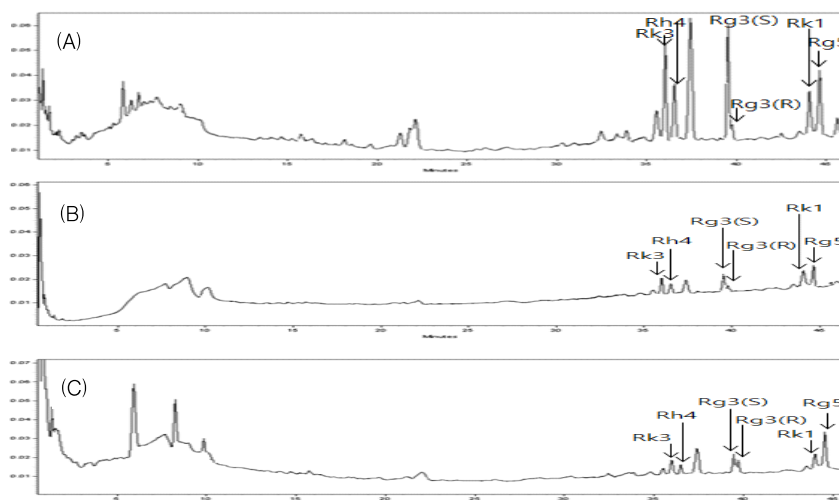


Fig. 1. The HPLC chromatogram of the ginsenosides (A): RGB, (B): RGE, (C): RGW.

0.4U/ml의 효소를 15 μ L를 첨가하여 37°C에서 20분 동안 반응한 후 Multi-reader를 이용하여 450nm에서 흡광도를 측정하였다.

3. 결과 및 고찰

3.1. 홍삼박 추출물의 pH

25°C 조건 하에서 RGW의 pH는 4.67로 가장 낮은 값을 나타내었고, RGB는 5.01, RGE는 5.06의 값을 나타내었다. 비중은 1.000, 1.012, 0.960의 값을 나타내었다. 세가지 추출물 모두 피부와 유사한 약산성의 pH 값을 나타내는 것을 확인하였으며 이는 추출물 자체를 화장품에 첨가하기에 용이한 pH라고 할 수 있다.

3.2. 진세노사이드 성분 분석 결과

추출 용매에 따른 홍삼박 추출물과 Rk3, Rh4, Rg3(S), Rg3(R)의 진세노사이드 표준물질 4종에 대해서 정성과 정량 분석하였으며 Rk1, Rg5는 표준물질을 구하는데 어려움이 있어 정성 분석만을 실시하였다. 그 결과, 세 가지 추출물에서 protopanaxdiol(PPD)계열 진세노사이드 Rg3(S), Rg3(R), Rg5, Rk1와 protopanaxtriol(PPT)계열 진세노사이드 Rk3, Rh4가 모두 존재하는 것을 확인하였다. 그 중 진세노사이드 Rg3 성분은 암 세포 전이억제작용, 혈관 이완작용, 항 혈전작용 등의 생리활성이 뛰어난 것으로 알려져 있다. RGB에서 Rg3(S)의 함량은 112.981 μ g/ml 으로 가장 높은 함량을 나타냈으며 RGB>RGW>RGE 순으로 높았다. RGW에서 Rg3(R)의 함량은 15.751 μ g/ml으로 나타났으며 RGW>RGB>RGE 순으로 높았다(Table. 2).

본 연구는 분자 구조상 하이드록시기(-OH)를 2 개 가지고 있어 물 또는 에탄올보다 극성이 낮은 폴리올계열인 1,3-부틸렌글라이콜을 용매로 하여 홍삼박을 추출할 경우, 보다 높은 함량의 진세노사이드가 용출된 것으로 판단된다.

3.3. Cell viability 측정

홍삼박 추출물을 B16F10 cell에 처리하여 세포의 성장 및 증식 혹은 독성에 미치는 영향을 확인하기 위해 WST-1 assay를 이용하여 시험하였다. B16F10 cell은 피부의 색소를 형성하는 세포로써 melanin이 과잉 생산되면 피부에 색소 침착을 발생시키며 B16F10 cell의 성장을 억제하면 tyrosinase 활성과 tyrosinase protein 발현을 억제하여 melanin 생성을 저해한다[16,17].

홍삼의 진세노사이드는 자외선에 의한 각질세포 사멸을 감소시키고, epidermal cell 증식효과가 있다고 보고되어지고 있다[18]. 그 중 Rg3는 인삼의 주요 활성 성분으로서 기존 연구들에서 피부암 등의 세포 사멸을 유도하여 침투뿐만 아니라 전이 억제 효과를 가지고 있으며 쥐의 면역기능을 향상시킨다는 것으로 알려져 있다[19].

가장 낮은 농도인 2.5 μ l/ml에서 RGW, RGB, RGE는 106.42, 100.0, 123.04%로 세가지 추출물 모두 100% 이상의 세포생존율을 보였다. 가장 높은 농도인 20.0 μ l/ml에서 RGW, RGB는 100.36, 100.0%로 100.0% 이상의 높은 생존율을 보였으나 RGE는 1.22%로 낮은 세포생존율을 보였다. 이러한 결과는 홍삼박의 추출 용매로 사용한 물과 1,3-B.G보다 에탄올을 사용할 경우, 에탄올의 농도가 높아질수록, 세포에 처리한 시간이 증가할수록 세포의 사멸과 증식에 직접적인 영향을 미치기 때문이라고 볼 수 있다[20]. 본 실험

Table 2. Comparison of saponin contents of RGE, RGW and RGB.

Contents	Saponin Items	PPT		PPD			
		Rk3	Rh4	Rg3(S)	Rg3(R)	Rk1	Rg5
Concentrations (μ g/ml)	RGE	2.369	3.861	17.066	5.672	-	-
	RGW	2.737	4.473	23.539	15.751	-	-
	RGB	13.523	19.014	112.981	12.898	-	-
Retention time	RGE	36.000	36.533	39.525	39.750	44.100	44.658
	RGW	35.992	36.517	39.467	39.700	44.008	44.558
	RGB	36.017	36.542	39.533	39.750	44.058	44.625

험을 통해 RGW, RGB는 20 μ l/ml, RGE는 5 μ l/ml 이하의 농도에서 100% 이상의 세포생존율을 나타내어 일정 농도 이하로 사용할 경우 세포생존율에 영향을 미치지 않으며 이는 세포 안전성이 있는 것으로 판단된다.

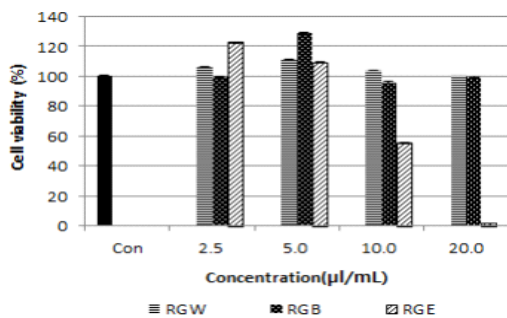


Fig. 2. Cell viability(%) of various extracts from *Red ginseng* residue.

3.4. DPPH 라디칼 소거능 측정 결과

DPPH 라디칼(radical) 소거 활성법은 비교적 간단하면서도 대량으로 측정이 가능한 항산화 활성 측정 방법이다. 이 물질은 라디칼을 갖는 물질 중에서 비교적 안정한 화합물로 항산화 활성을 갖는 물질을 만나면 항산화 활성물질이 DPPH의 라디칼을 소거시켜 탈색된다. 이에 따른 변화를 흡광도로 측정하여 항산화 활성을 알 수 있다. 전자공여 작용은 활성 라디칼에 전자를 공여하여 인체 내에서 활성 라디칼에 의한 노화를 억제하는 작용의 척도로 이용되고 있다[21]. 홍삼 에탄올 추출물이 물 추출물에 비해 DPPH 소거능과 폴리페놀 함량이 높은 것으로 나타났다[22]. 또한 홍삼 에탄올 추출물의 항산화효능이 증가할수록 총 폴리페놀과 플라보노이드 함량이 증가하였다[23].

홍삼박 추출물의 DPPH 라디칼 소거능을 측정한 결과, 2.5, 5.0, 10, 20, 40 μ l/ml에서 RGW은 20.54, 20.54, 22.41, 22.58, 22.66%의 소거능을 나타내었다. RGB은 22.40, 23.44, 24.97, 26.30, 29.12% 이고, RGE은 25.15, 27.31, 28.72, 33.20 34.66%로 농도의존적으로 활성을 보였다.

RGE>RGB>RGW 순으로 DPPH 소거능을 나타내는 것은 홍삼에 함유되어져 있으며 항산화 효능이 있는 것으로 널리 알려진 폴리페놀과 총 플라보노이드 등 유효한 성분이 남아있어 기존 연구와 유사한 경향을 보이는 것으로 판단되어진다.

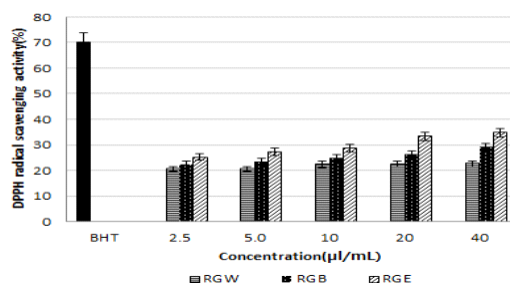


Fig. 3. DPPH radical scavenging activity of various extracts from *Red ginseng* residue.

3.5. SOD 유사활성능 측정 결과

피부 노화에 중요한 영향인자는 자외선에 의해 비정상적으로 생성량이 증가하는 활성 산소종(Reactive Oxygen Species, ROS)과 자유라디칼(Free radical)이다. SOD(Superoxide Dismutase)는 Superoxide anion을 산소와 과산화수소로 전환시키는 반응을 촉매하는 중요한 항산화 효소로서 Xanthine oxidase에 의해 발생한 Superoxide anion이 사용된 시료에 의해 제거된 비율을 관찰함으로써 항산화 효능을 평가하게 된다[24]. 즉 효소의 활성이 높아지면 일반적으로 항산화능이 있다고 볼 수 있다.

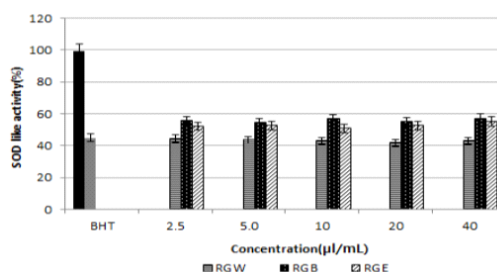


Fig. 4. SOD like-activity of various extracts from *Red ginseng* residue.

홍삼박 추출물의 SOD 유사활성능을 측정한 결과, 2.5, 5.0, 10, 20, 40 μ l/ml에서 RGW은 44.36, 43.37, 42.81, 41.82, 42.81%로 모든 농도 조건에서 40% 이상의 소거능을 나타내었으며 이는 0.0312mg/ml에서 43%의 활성을 나타내는 BHT와 유사한 것을 확인할 수 있었다. RGB는 55.60, 54.20, 56.82, 54.95, 56.91% 이고, RGE은 52.16, 52.45, 50.66, 52.35, 55.18%를 나타

내었다. RGB>RGE>RGW순으로 SOD소거능을 나타내는 것은 홍삼박의 PPD 계열 진세노사이드 성분이 SOD 유사활성능에 영향을 주는 것으로 판단되어진다. PPD계열 진세노사이드 성분을 4 주령 생쥐에 1,3,7일간 경구 투여한 경우 높은 SOD소거능을 보여주었다[25]. 이는 홍삼 에탄올 추출물과 홍삼 물 추출물에 대해서 실험한 선행연구 결과와 유사한 것으로 나타났다[26].

본 연구에서는 DPPH 소거능과 SOD 유사활성능 시험을 통해 세가지 추출물 모두 항산화능이 있음을 확인하였으며 두가지 시험결과 모두 RGW가 가장 낮은 항산화능을 보였다. 그러나 RGE는 DPPH 소거능과 SOD 유사활성능 결과에 차이가 있었다. 이는 홍삼에 함유되어있는 폴리페놀과 플라보노이드, 진세노사이드 등의 다양한 유효 성분들이 시험법에 따라 다른 결과를 보여주기 때문이라고 생각한다. 앞으로 본 연구의 추출물에 대한 항산화능 실험을 목적에 맞게 다양하게 살펴보아야 할 것으로 사료되어진다.

3.6. 엘라스타아제(Elastase) 저해능 측정 결과

피부노화 중에서도 특히 주름 생성에서는 활성산소에 의한 작용과 matrix metalloproteinases (MMP'S : collagenase, elastase 등) 에 의한 세포 외 매트릭스의 파괴가 주원인으로 간주되고 있다. 피부의 진피조직 속에는 콜라겐(collagen)과 엘라스틴(elastin)이 그물망 구조를 형성하면서 피부의 탄력성을 유지시켜 주는데 나이, 자외선과 같은 내, 외적 요인들로 인하여 피부의 탄력이 감소하고 과다 발현되어진 엘라스타아제에 의해서 엘라스틴의 그물망 구조가 깨지게 되면 피부가 처지고 주름이 생성되어 노화가 발생하게 된다[27]. 엘라스타아제는 진피 내 피부탄력을 유지하는 기질 단백질인 엘라스틴을 포함하는 다양한 단백질을 분해하며 콜라겐을 분해할 수 있는 비특이적 가수분해 효소이다[28]. 추출물의 엘라스타아제 저해능 측정은 피부의 주름개선 효능을 평가하는데 중요하다. ginsenoside F4, Rg6, Rk3, Rh4가 주성분인 트리올 전환 사포닌 분획에서 MMPs 억제에 의한 피부 주름 개선 효능이 있는 것으로 보고되어지고 있다[29].

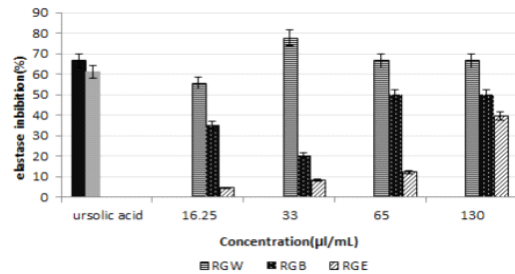


Fig. 5. Elastase inhibition(%) of various extracts from *Red ginseng* residue.

홍삼박 추출물의 elastase 저해능 측정 결과, RGW는 16.25, 33.0, 65.0, 130.0 µl/ml에서 55.66, 77.66, 66.66, 66.66%의 저해능을 보였다. 이는 500 µg/ml 농도의 ursolic acid와 유사한 결과를 보여주었다. RGB는 35.29, 20.58, 49.99, 66.66%이고, RGE는 4.72, 8.49, 12.26, 39.62%의 저해능을 보여주었다. RGW>RGB>RGE 순으로 elastase 저해능을 나타내는 것은 추출물에 함유된 Rk1, Rg5, Rh4, Rk3에 의한 복합적인 결과로 사료되어진다.

4. 결론

본 연구는 홍삼박을 화장품소재로서 활용하고자 HPLC 성분 분석과 B16F10 cell에 대한 세포 생존율, 항산화능, 주름개선효능을 실험하였으며 아래와 같은 결과를 확인하였다.

1. 홍삼박 추출물의 HPLC를 분석한 결과 RGW, RGE, RGB에서 protopanaxdiol (PPD)계열 진세노사이드인 Rg3(S), Rg3(R), Rg5, Rk1와 protopanaxtriol(PPT)계열 진세노사이드인 Rk3, Rh4가 모두 존재하였다. 그 중 RGB가 가장 높은 진세노사이드 함량을 보여주었다.
2. B16F10 Cell에 대한 세포생존율을 확인한 결과, RGW, RGB는 20µl/ml, RGE는 5µl/ml 이하의 농도에서 100% 이상의 세포생존율을 보였다.

3. DPPH 라디칼 소거능을 측정한 결과, 20 μ l/ml에서 RGE (33.20%) > RGB (26.30%) > RGW (22.58%) 순으로 라디칼 소거능을 보여주었다.
4. SOD 유사활성능을 측정한 결과, 20 μ l/ml에서 RGB (54.95%) > RGE (52.35%) > RGW (41.82%) 순으로 유사활성능을 보여주었다.
5. Elastase 저해능을 측정한 결과, 16.25 μ l/ml에서 RGW (55.66%) > RGB (35.29%) > RGE (4.72%) 순으로 저해능을 보여주었다.

위와 같은 결과로 살펴볼 때, 세 종류의 용매에 따른 홍삼박 추출물의 진세노사이드 함량이 차이를 보였으며 항산화능 및 주름개선효능이 다르게 나타났다. 따라서 20 μ l/ml 이하의 농도로 사용할 경우, 홍삼박 물 추출물과 홍삼박 1,3-B.G추출물은 높은 안전성을 나타냄으로 항산화능 및 주름개선 효능을 나타내는 화장품 소재로서 적합할 것으로 판단된다.

감사의 글

이 논문은 2015년 중소기업청 첫걸음 기술개발사업의 지원에 의하여 수행된 것으로 이에 감사드립니다.

References

1. J. W. Lee, J. H. Do, Current studies on browning reaction products and acidic polysaccharide in korean red ginseng, *J. Ginseng Res*, **30**(1), 41(2006).
2. J. D. Park, Recent studies on the chemical constituents of Korean ginseng (Panax ginseng C.A. Meyer). *Korean J. Ginseng Sci*, **20**(4), 389(1996).
3. L. i. Gang, W. Zhenhua, S. Yaxuan, L. Ke, W. Ziren, Ginsenoside 20(S)-protopanaxadiol inhibits the proliferation and invasion of human fibrosarcoma HT1080 cell. *Basic Clin Pharmacol Toxicol* **98**(6), 588(2006).
4. J. W. Lee, Sohn Ho, J. H. Do, Function of the water soluble browning reaction products isolated from Korean red ginseng, *J. Ginseng Res*, **24**(1), 35(2000).
5. H. J. Lee, Y. H. Lee, S. K. Park, et al. Korean red ginseng (Panax ginseng) improves insulin sensitivity and attenuates the development of diabetes in Otsuka Long-Evans Tokushima fattyrats. *Metabolism*, **58**(8), 1170 (2009).
6. V. Vuksan, M. K. Sung, J. L. Sievenpiper, et al. Korean red ginseng (Panax ginseng) improves glucose and insulin regulation in well-controlled, type 2 diabetes: results of a randomized, double-blind, placebo-controlled study of efficacy and safety, *Nutr Metab Cardiovasc Dis*, **18**(1), 46(2008).
7. H. A. Kim, I. G. Oh, K. H. Park, N. M. Kim, J. H. Do, et al, Stimulatory effect of dietary red ginseng on epidermal hydration and ceramide levels in ultraviolet-irradiated hairless mice, *J. Med Food*, **12**(4), 746(2009)
8. A. B Fishbein, C. Z. Wang, X. L. Li et al, Asian ginseng enhances the anti-proliferative effect of 5-fluorouracil on human colorectal cancer: comparison between white and red ginseng, *Arch Pharm Res*, **32**(4), 505(2009).
9. S. Y. Hwang, D. J. Son, I. W. Kim et al, Korean red ginseng attenuates hypercholesterolemia enhanced platelet aggregation through suppression of diacylglycerol liberation in high cholesterol-diet-fed rabbits, *Phytother Res*, **22**(6), 778(2008).
10. S. Y. Yoon, J. Y. Park, J. B. Lee et al, Ginsenoside Rg3 regulates S-nitrosylation of the NLRP3 inflammasome via suppression of iNOS, *Biochemical and biophysical Res*, **463**(4), 1184(2015).
11. S.B. Curri et al, "Dermocosmetic Activity of Ginsenosides. Note III: Long-Term Evaluation of the Moisturizing and Tonifying Effect on the Face Skin",

- 217(1986).
12. J. H. Lee, S. H. Cho, M. Y. Yun, S. k. An, H. H. Jang, S. N. Lee, G. Y. Song, Anti-wrinkle effect of rare ginsenosides, produced from ginsenoside Rd, *J. Aesthet Cosmetol*, **13**(6), 909(2015).
 13. H. S. Sung, S. K. Yoon, W. J. Kim, C. B. Yang, Relationship between chemical components and theirields of red ginseng extract by various extracting conditions. *Korean J. Ginseng Res*, **9**(2), 170(1988).
 14. J. H. Choi, C. M Kim, I. H. Choi, A Study on Improving Egg Freshness Using Red Ginseng Marc Powder to Laying Hens., *J. Environmental Science International*, **24**(9), 1233 (2015).
 15. C. J. Lee, H. S. Han, C. S. Jhune, J. C. Cheong, J. A et al, Development of new substrate using redginseng marc for bottle culture of oyster mushroom (*Pleurotus ostreatus*), *J. Mushroom science and production*, **9**(4), 139(2011).
 16. Y. Y. Kim, I. S. Kim, O. J. Park, Y. M. Kim, EGEg induces apoprosis under hypoxic state in B16F10 melanoma cancer cells, *J. llife science*, **21**(2), 250(2010).
 17. W. K. Oh, K. B Kim, J. Y. Lim, K. K. Lee, Y. D. Kwon, S. R. Yeom, Y. S. Song, Effects of dokhwalkisaeng-tang on melanin synthesis inhibition and gene expression in B16f10 malnoma cells, *J. pysology & pathology*, **23**(1), 63(2009).
 18. E. H. Lee, S. Y. Cho, S. J. Kim, E, S, Shin, H, K. Chang, T. R. Lee, Ginsenoside F1 protects human HaCaT keratinocytes from ultraviolet-B-induced apoptosis by maintaining constant levels of Bcl-2. *J. invset. Dermatol*. **121**(3), 607(2003).
 19. J. Chen, H. Peng, Xi. Ou-Yang, X. He, Research on the antitumor effect of ginsenoside Rg3 in B16 melanoma cells. *Melanoma Res*, **18**(5), 322(2008).
 20. E. Tapani, M. Taavitsainen et al, Toxicity of ethanol in low concentrations. Experimental evaluation in cell culture, *Acta radiol*, **37**(6), 923 1996).
 21. J. J. Cho, K. K. Lee, B. K. Jo, J. D. Choi, Isolation and characterization of elastase inhibitor from *Areca catechu*, *J. Society of Cosmetic Scientists of Korea*. **26**(1), 163(2000).
 22. Y. H. Choi, S. E. Kim, J. H, Y. H. Han, M. J. Lee, Antibacterial and antioxidative activity of roasted coffee and red ginseng mixture extracts, *J. Korean society of food science and nutrition*, **41**(3), 320(2012).
 23. S. Y. Hwang, S. H. Ahn. Biological activities and cell proliferation effects of red ginseng ethanol extracts, *J. Phamacopuncture*, 55(2011).
 24. J. M. McCord, I. Fridovich, The utility of superoxide dismutase in studying free radical reactions. I. Radicals generated by the interaction of sulfite, dimethyl sulfoxide, and oxygen, *J. Biol. Chem*, **244**(22), 6053(1963).
 25. H. J. Lee, D. Y. Kim, C. C. Chang, Antioxidant effects of korean red ginseng components on the antioxidant enzymes activity and lipid peroxidation in the liver of mouse treated with paraquat, *J. Ginseng Res*, **23**(3), 182(1999).
 26. K..S. Sung, C Chun, Y. H. Kwon, K. H. Kim, C. C. Chang, Effects of red ginseng component on the antioxidative enzymes activities and lipid peroxidation in the liver of mice, *J. Ginseng Res*, **24**(1), 29(2000).
 27. K. S. Kang, I. D. Kim, R. H. Kwon, Y. Y. Heo, S. H. Oh, M. A. Kim, H. J. Jung, H. Y. Kang, B. J. Ha, The evaluation of anti-wrinkle effects in oriental herb extract, *J. Life Science*, **17**(8), 1147(2007).
 28. R. Voegeli et al, Elastase and tryptase determination on human skin surface. *Cosmetic & Toiletries* **111**, 51(1996).
 29. S. M Lee, Y. H Im, S. C. Kim, J. H. Choi, J. H. Kim, Anti-wrinkle effects of converted protopanaxatriol prepared from Korean Red Ginseng, *Kor J Aesthet Cosmetol*, **11**(5), 877 (2013).