大韓本草學會誌 제34권 제6호(2019년 11월)
Kor. J. Herbol. 2019 ; 34(6) : 109-115

ISSN 1229-1765(Print), ISSN 2288-7199(Online)
http://dx.doi.org/10.6116/kjh.2019.34.6.109.

# 백지를 포함하는 한약재 복합 에탄올 추출물이 피부 항노화 및 미백에 미치는 영향

윤석나[1#], 김유진[2], 이예지[2], 김미려[2], 유왕근[3*]

1 : 동주대학교 미용계열, 2 : 대구한의대학교 한의과대학, 3 : 대구한의대학교 보건학부

# Effect of ethanol extract from mixture including Angelicae Dahuricae Radix on Dermal Anti-aging and Whitening

Seok Na Youn[1#], Yoo Jin Kim[2], Ye Ji Lee[2], Mi Ryeo Kim[2], Wang Keun Yoo[3*]

1 : School of Cosmetology, Dongju College, Pusan, Korea
2 : School of Korean Medicine, Daegu Haany University, Gyeongsan, Gyeongbuk, Korea
3 : Department of Health Science, Daegu Haany University, Gyeongsan, Gyeongbuk, Korea

## ABSTRACT

**Objective** : Herbal medicinal mixture (JMB) are consisted of Caryophylli Flos, Aucklandiae Radix, and Angelicae Dahuricae Radix. Each of these herbal medicines has studied on anti-aging effect *in vitro*. So this study was conducted to investigate efficacy and potency of JMB extract on dermal anti-aging and whitening.

**Methods** : The JMB was extracted at room temperature by 80% ethanol. Collagenase and elastase inhibition activity in JMB ethanol extract were determined at 10, 50, 100, 500, 1000 mg/ml concentrations by colorimetric method. The toxic range of JMB ethanol extract was evaluated using MTT assay. Also, The inhibitory effect of JMB ethanol extract on tyrosinase activity and melanin contents in mouse melanoma cell line (B16F10 cell) was identified at 50, 100, 200 ㎍/㎖ levels by spectrometric assay. In each analysis, EGCG (epigallocatechin gallate) and Kojic acid were used as positive controls, respectively.

**Results** : The elastase and collagenase inhibitory activity of JMB ethanol extract increased dose dependently. Also, The MTT assay showed that JMB, up to 400 ㎍/㎖ concentration, exhibited no toxic effect to the B16F10 cell. And following the JMB ethanol extract treat, cellular melanin contents and tyrosinase activity were dose-dependently decreased compared to those of control.

**Conclusion** : These results suggest that JMB ethanol extract has effects to inhibitory activity on dermal wrinkle enzyme and melanogenesis. Therefore, JMB has applicable benefits for development of materials or products to have whitening and anti-aging functions on skin.

**Key words** : Anti-aging, herbal mixture, melanin, elastase, collagenase, tyrosinase

## Ⅰ. 서 론

오늘날 미용기능식품 산업이 전 세계적으로 크게 성장하고 있으며, 식이와 피부 및 건강에 대한 소비자들의 이해와 인식이 깊어짐에 따라 미용기능식품으로 활용 가능한 소재의 연구가 활발히 진행되고 있다[1)].

피부 노화현상은 생리적으로 노화되는 내인성 노화(intrinsic aging)와 외적인 요인으로부터 노화현상이 발생하는 외인성

*Corresponding author : Wang Keun Yoo, Department of Health Science, Daegu Haany University, 1 Haanydae-ro, Gyeongsan, Gyeongbuk.
· Tel : +82-53-819-1411 · E-mail : wkyoo@dhu.ac.kr
# First author : Seok Na Youn, School of Cosmetology, Dongju College, 55-gil, Sari-ro, Saha-gu, Pusan.
· Tel : +82-51-200-1529 · E-mail : seokna99@hanmail.net
· Received : 14 October 2019 · Revised : 18 November 2019 · Accepted : 30 November 2019

노화(photo-aging)로 나누어진다. 나이가 들어감에 따라 지질 형성 능력이 저하되고 피부 각질형성세포의 분열 능력이 떨어지면서 내인성 노화가 진행된다. 한편 오랜 시간 자외선 노출로 인해 일어나는 외인성 노화는 자외선이 표피를 투과해 진피층까지 깊게 침투함으로써 탄력을 유지시키는 진피 내의 콜라겐과 엘라스틴을 손상시켜 나타난다[2,3]. Elastase는 피부 각질층에 존재하는 elastin을 분해하여 피부 탄력을 저하시켜 주름 생성을 유발하는 유일한 효소이다[4]. 콜라겐과 엘라스틴은 자외선에 의해 세포 사이를 채우는 성분이므로, 이것들의 합성이 감소하면 다양한 기질 단백질 분해 효소의 발현이 촉진된다. 따라서 광노화에 있어서 중요한 인자 중 하나는 콜라겐과 엘라스틴과 같은 기질 단백질의 결핍이다[5-7].

자외선의 영향을 가장 받기 쉬운 기관 중 하나인 피부에서는 머리카락, 눈동자의 색을 결정하는 멜라닌 증식에 의한 피부 노화가 쉽게 진행된다. 이러한 멜라닌 합성은 tyrosinase 효소의 산화 작용에 의해 나타나며 유전적인 원인이나 질병, 과도한 자외선 등에 의해 발생된다.

정향(Syzygii Flos)은 정향나무과(Myrtaceae)에 속한 상록교목인 정향수(Syzygium aromaticum)의 꽃봉우리를 채취한 것으로[8] 한의학에서는 곽란(霍亂), 분돈기(奔豚氣)와 냉기로 배가 아프고 음낭이 아픈 것을 치료하고, 비위(脾胃)를 따뜻하게 하는 등 주로 약재로 사용되었다[9]. 최근 논문에 따르면 항균, 항진균, 항산화 작용 등의 다양한 약리적 활성을 나타낸다고 보고되었다[10-13].

목향(Aucklandiae Radix)은 국화과(Compositae)에 속한 다년생 식물인 운목향(*Aucklandia lappa Decne.*)의 뿌리로서 한의학에서는 구토, 설사 및 염증치료 등에 사용되고 있으며 대표적인 이기제이다[14]. 목향의 주성분은 항균, 항염증, 혈관생성 억제 효능 등의 많은 약리학적 효능을 가진다고 보고되었다[15-17].

백지(Angelicae Dahuricae Radix)는 산형과(Umbelliferae)에 속한 다년생 초본으로 꽃대가 올라오기 전 채취한 구릿대(Angelica dahurica)의 뿌리를 건조한 것으로 항균작용[18], 항혈전[19], 약물대사효소 억제 및 대사 저해 활성[20], acetylcholinesterase 저해 활성[21], 콜라겐 생성 촉진[22], 백혈병[23], 항산화[24] 등의 약리학적 효능을 가진다.

따라서 본 연구에서는 위 한약재 혼합물(정향, 목향, 백지)의 피부 탄력과 관련된 효소, 멜라닌 형성에 대한 영향을 관찰, 분석하였고, 이를 통해 항노화 및 미백 효능을 평가하고자 한다.

# Ⅱ. 재료 및 방법

## 1. 시료 추출

3가지 소재인 정향, 목향, 백지(중국산, 조은제약(안양, 한국))에 재료의 10배수에 해당하는 80% ethanol을 첨가하여 24시간 실온 추출한 후 12시간 초음파 추출하였다. 여과지(Adcantec filter paper NO.2)를 사용하여 여과한 후 50℃에서 Rotavapor R-210을 이용하여 15 brix로 감압 농축하였다. 농축 후 deep freezer에서 -70℃로 냉동보관 후 Freeze Dryer FDB-5503을 이용하여 동결건조 하였다(Table 1).

Table 1. Composition of herbal medicinal mixture (JMB).

| Component of mixture | Dose (g) |
|---|---|
| Caryophylli Flos | 25 |
| Aucklandiae Radix | 25 |
| Angelicae Dahuricae Radix | 50 |
| Total | 100 |

## 2. Elastase 저해 활성 측정

JMB 에탄올 추출물을 각각의 농도별로 조제한 후 0.5 ㎖씩 시험관에 분주한 후 porcine pancreas elastase (2.5 U/㎖) 용액을 50 mM tris-HCl buffer (pH 8.6)에 녹여 0.5 ㎖을 가하였다. 기질 N-succinyl-(L-Ala)3- p-nitroanilide (0.5 ㎎/㎖)을 50 mM tris-HCl buffer (pH 8.6)에 녹인 후 첨가하여 20분 간 반응 시켜 얼음에서 5분간 방치해 반응을 중지시킨 뒤 410 ㎚에서 흡광도를 측정하였다. Elastase 저해 활성은 시료용액의 첨가구와 무첨가구의 흡광도 감소율(%)로 나타냈다.

## 3. Collagenase 저해 활성 측정

0.1 M tris-HCl buffer (pH 7.5)에 4 mM $CaCl_2$를 첨가하여, 4-phenyl azobenzyloxycarbonyl-Pro-Leu-Gly-Pro-D-Arg (0.3 ㎎/㎖)를 녹인 기질액 0.25 ml 및 시료용액 0.1 ㎖의 혼합액에 collagenase (0.2 ㎎/㎖) 0.15 ㎖를 첨가하였다. 실온에서 20분간 방치한 후 6% citric acid 0.5 ㎖을 넣어 반응을 중지시킨 뒤, ethyl acetate 1.5 ㎖을 첨가하여 320 ㎚에서 흡광도를 측정하였다. Collagenase 저해 활성은 시료용액의 첨가구와 무첨가구의 흡광도 감소율로 나타냈다.

## 4. 세포 배양

본 실험에 이용한 mouse melanoma cell (B16F10)은 ATCC (Manassas, VA, USA) 세포주 은행으로부터 분양받아 10% FBS (Hyclone, Victoria, Australia)와 1% penicillin (Hyclone, Logan, Utah, USA)을 첨가한 DMEM (Hyclone, Logan, Utah, USA) 배지를 배양액으로 배양하였다. 37℃, 5% $CO_2$ 조건에서 cell confluence가 80-85% 될 때 계대배양 하였으며 계대배양 시 trypsin-EDTA (Gibco, Burlington, Canada)을 처리 후 25℃, 1,300 rpm에서 5분간 원심분리 하여 세포를 얻었다. 세포 확인 시 microscope를 사용하였으며 세포는 2일 주기로 배양하였다.

## 5. 세포 생존율 측정

세포 생존율 측정은 B16F10를 24 well plate에 $2.5\times10^5$ cells/well이 되게 500 ㎕씩 분주하고 48시간 동안 37℃, 5% CO2 incubator에서 적응시켰다. 이후 농도별로 조제한 시료를 처리하였고, 시료를 용해한 증류수를 대조군으로 사용하여 48시간 더 배양하였다. 1 ㎎/㎖의 농도인 MTT 용액(Sigma, st.

Louis, MO, USA)을 250 ㎕씩 첨가하여 4시간동안 처리하였다. MTT 용액을 제거하고 DMSO (Sigma, st. Louis, MO, USA) 500 ㎕를 가하여 침전물과 혼합시킨 후, 96 well plate에 옮겨 흡광도값을 540 ㎚에서 ELISA plate reader로 측정하였다.

### 6. 멜라닌 함량 측정

Melanin contents는 Hosoi 등[25]의 방법을 참고하여 사용하였다. 100 ㎜에서 80% 자란 mouse melanoma cell (B16F10)을 $2.5\times10^6$ cells/well으로 60 ㎜에 분주한 후 24시간 동안 배양하였다. 24시간 후 농도별로 조제한 시료를 각각 처리한 후 48시간 동안 배양한 뒤, PBS로 2번 washing 한 후 ripa buffer (50 mM Tris pH 7.8, 120 mM NaCl, 2 mM EDTA, 1% Triton X-100, Thermo, Rockford, USA)을 300 ㎕씩 첨가하여 cell을 1.5 ㎖ tube에 scraper (Sarstedt, USA)로 긁어 옮겨 담았다. 옮긴 cell을 1,500 rpm에서 30분 원심 분리하여 상층액을 제거한 후 세포침전물을 10% DMSO (Junsei, Japan)가 첨가된 1 N NaOH (Sodium hydroxide, Generay biotech, China) 200 ㎕을 첨가하여 85℃에서 1시간 용해시킨 후 흡광도를 405 ㎚에서 측정하였다.

### 7. Tyrosinase 활성 측정

Tyrosinase activation은 Choi 등[26]의 방법을 참고하여 진행하였다. 농도별로 처리한 시료를 48시간 동안 배양한 후 300 ㎕의 ripa buffer를 분주하여 scraper (Sarstedt, USA)로 긁어 cell을 얻었다. 1,500 rpm에서 30분 원심 분리한 후의 상층액을 bradford assay를 사용하여 단백질 정량하여 pH 6.8의 0.1 M sodium phosphate buffer (Sigma, Lower Saxony, Germany)와 혼합한 효소시액을 만들었다. 2 ㎎/㎖ L-DOPA (Sigma, Shanghai, China)를 0.1 M Sodium phosphate buffer에 녹여 L-DOPA buffer 150 ㎕과 효소시액 50 ㎕을 96 well plate에 분주하여 1시간 동안 37℃ incubator에 가온하여 생성된 DOPA chrome의 양을 흡광도로 475 ㎚에서 측정하였다.

### 8. 통계처리

실험결과 통계 처리는 SPSS 11.5 (SPSS Inc., USA)를 사용하여 분석하였다. one-way-ANOVA를 실시하여, 분석결과에 대한 $p<0.05$ 수준에서 Duncan 사후 검정을 통하여 각 군간의 평균값에 대한 유의성을 나타내었다.

## Ⅲ. 결 과

### 1. Elastase 저해 활성 측정

엘라스틴은 피부 세포외 기질을 구성하는 성분 중 하나로 피부 탄력성 저하와 주름 형성에 콜라겐의 감소뿐 아니라 피부 탄력섬유의 구성성분인 엘라스틴 저하에도 관여한다. 여기서 elastase는 엘라스틴을 분해할 수 있는 효소로 콜라겐과 엘라스틴과 같은 모든 단백질들을 가수분해하므로 elastase의 저해는 피부주름을 개선하여 항노화 지표로 널리 쓰인다. JMB 에탄올 추출물의 elastase의 저해 활성을 측정한 결과, 10 ㎍/㎖에서 1.76%, 50 ㎍/㎖에서 4.63%, 100 ㎍/㎖에서 28.40%, 500 ㎍/㎖에서 35.47%, 1000 ㎍/㎖에서 45.92%로 측정되었다. 또한 양성대조군인 EGCG는 1 ㎍/㎖에서 6.94%, 5 ㎍/㎖에서 27.90%, 10 ㎍/㎖에서 45.75%, 50 ㎍/㎖에서 57.47%, 100 ㎍/㎖에서 58.57%로 측정되었다.

또한, $IC_{50}$값은 JMB 에탄올 추출물에서 383.40 ㎍/㎖, EGCG처리군에서는 13.22 ㎍/㎖로 나타났다. 따라서 JMB 에탄올 추출물은 농도 의존적으로 elastase 저해 활성이 증가하였으며, 고농도로 처리 시 유의한 elastase 저해 활성을 확인하였다(Fig. 1, Table 2).

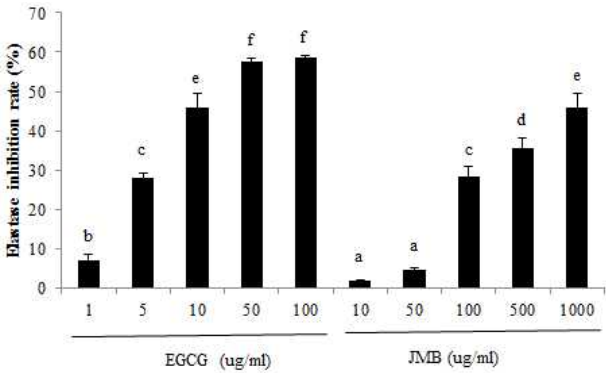


Fig. 1. Effect of ethanol extract from mixed herbal medicine (JMB) on elastase inhibitory activity .
The data were expressed as the mean ± S.E. (n=3). [abcdef]Means not sharing a common letter are significantly different among the BHA group at $p<0.05$.
Control ; 5% Dimethyl sulfoxide-treated group,
EGCG ; Epigallocatechin gallate-treated group
JMB ; JMB 80% ethanol extract-treated group.

Table 2. Effect of ethanol extract from mixed herbal medicine (JMB) on elastase inhibitory activity.

| | Elastase inhibitory activity ($IC_{50}$) |
|---|---|
| JMB (㎍/㎖) | 383.40 |
| EGCG (㎍/㎖) | 13.22 |

The data were expressed as the mean (n=3).
EGCG ; Epigallocatechin gallate-treated group,
JMB ; JMB 80% ethanol extract-treated group.
$IC_{50}$ ; Concentration required for 50% inhibition of elastase activity.

### 2. Collagenase 저해 활성 측정

콜라겐은 진피층의 90% 이상으로 구성되어 있으면서 피부의 장력과 강도를 부여하여 외부로부터의 자극에 대해 피부를 유지시키고 보호한다. 노화된 피부의 대표적 증상은 잔주름 및 주름의 발생이며, 이는 콜라겐의 현저한 감소가 큰 원인으로 작용한다. 따라서 collagenase 활성도의 증가는 피부 탄력을 유지하는 결합조직의 파괴로 주름 및 탄력저하, 피부처짐 등 피부노화의 주원인이 된다. 본 실험에서 collagenase 저해 활성을 측정한 결과, JMB에탄올 추출물의 10 ㎍/㎖에서 48.19%, 50 ㎍/㎖에서 53.35%, 100 ㎍/㎖에서 59.51%, 500 ㎍/㎖에서 75.60%, 1000 ㎍/㎖에서 100.00%로 측정되었다. 또한

양성대조군인 EGCG는 1 ㎍/㎖에서 44.00%, 5 ㎍/㎖에서 57.39%, 10 ㎍/㎖에서 62.76%, 50 ㎍/㎖에서 64.92%, 100 ㎍/㎖에서 71.37%로 측정되었다. 또한, $IC_{50}$값은 JMB 에탄올 추출물에서 24.03 ㎍/㎖, BHA처리군에서는 2.36 ㎍/㎖로 나타났다. JMB 에탄올 추출물 500 ㎍/㎖, 1000 ㎍/㎖의 처리농도에서는 양성대조군인 EGCG의 고농도 처리군(50 ㎍/㎖, 100 ㎍/㎖)과 비교하였을 때 통계적으로 유의하게 증가함을 확인하였다. 따라서 JMB에탄올 추출물 처리 시 농도 의존적으로 collagenase 저해 활성이 증가함을 보였으며, JMB 에탄올 추출물의 고농도 처리군에서 EGCG와 유사한 저해능을 보였다(Fig. 2, Table 3).

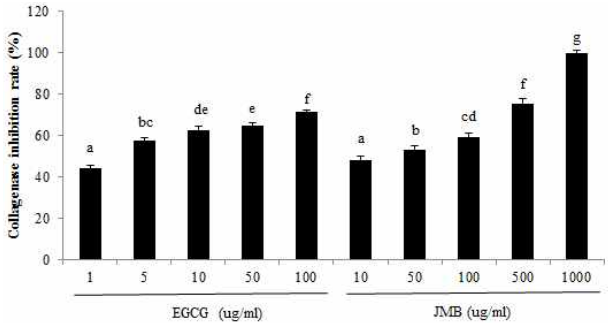


Fig. 2. Effect of ethanol extract from mixed herbal medicine (JMB) on collagenase inhibitory activity.
The data were expressed as the mean ± S.E. (n=3). $^{abcdefg}$Means not sharing a common letter are significantly different among the BHA group at $p < 0.05$.
Control ; 5% Dimethyl sulfoxide-treated group,
EGCG ; Epigallocatechin gallate-treated group,
JMB ; JMB 80% ethanol extract-treated group.

Table 3. Effect of ethanol extract from mixed herbal medicine (JMB) on collagenase inhibitory activity.

| | Collagenase inhibitory activity ($IC_{50}$) |
|---|---|
| JMB (㎍/㎖) | 24.03 |
| EGCG (㎍/㎖) | 2.36 |

The data were expressed as the mean (n=3).
EGCG ; Epigallocatechin gallate-treated group,
JMB ; JMB 80% ethanol extract-treated group.
$IC_{50}$ ; Concentration required for 50% inhibition of collagenase activity.

## 3. 세포 생존율 측정

B16F10 melanoma cell에서 JMB의 세포 생존율을 확인하기 위해 MTT assay를 실시하였다. 대조군을 기준으로 JMB는 각각 25 ㎍/㎖에서 108.10%, 50 ㎍/㎖에서 105.95%, 100 ㎍/㎖에서 98.90%, 200 ㎍/㎖에서 99.02%, 400 ㎍/㎖에서 96.44%로 나타났다. B16F10 melanoma cell에서 JMB를 처리한 모든 농도에서 80% 이상의 생존율을 나타내어 세포에 대한 독성이 나타나지 않았다는 것을 확인하였다(Fig. 3).

## 4. 멜라닌 함량 측정

멜라닌은 피부를 검게 하는 주원인으로 멜라닌의 함량이 낮을수록 미백의 효과를 나타내는 것이다. JMB의 미백 효능을 측정하기 위해 50 ㎍/㎖, 100 ㎍/㎖, 200 ㎍/㎖의 농도로 처리하여 멜라닌의 함량을 확인하였다. 그 결과 JMB 에탄올 추출물 처리군은 각각 79.87%, 71.59%, 64.81%로 측정되었으며, 양성대조군인 kojic acid 처리군은 97.65%, 96.68%, 95.14%로 측정되었다. JMB처리군은 대조군에 비해 농도 의존적으로 감소하였으며 같은 농도인 양성대조군과 비교하였을 때 유의한 차이를 나타냈다. 따라서 JMB 에탄올 추출물이 멜라닌 함량 감소에 효과가 있음을 확인하였다(Fig. 4).

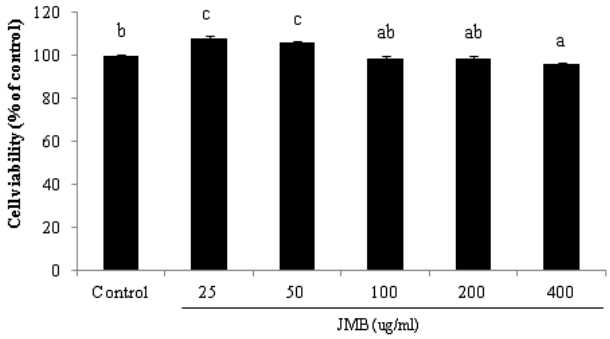


Fig. 3. Cell viability of ethanol extract from mixed herbal medicine (JMB) in B16F10 melanoma cell.
The data were expressed as the mean ± S.E. (n=3). $^{abc}$Means not sharing a common letter are significantly different among the Control group at $p < 0.05$.
Control ; Dimethyl sulfoxide-treated group,
JMB ; JMB 80% ethanol extract-treated group.

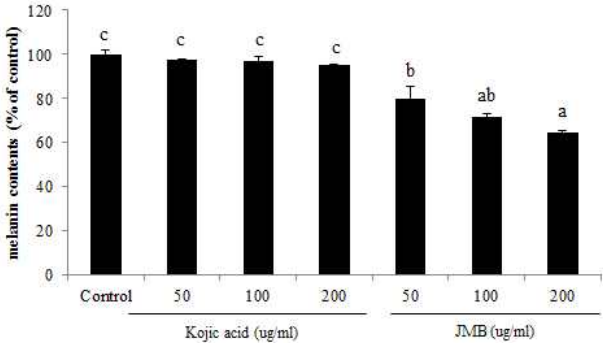


Fig. 4. Effect of ethanol extract from mixed herbal medicine (JMB) on melanin contents in B16F10 melanoma cell.
The data were expressed as the mean ± S.E. (n=3). $^{abc}$Means not sharing a common letter are significantly different among the Control group at $p < 0.05$.
Control ; Dimethyl sulfoxide-treated group,
Kojic acid ; Kojic acid -treated group,
JMB ; JMB 80% ethanol extract-treated group.

## 5. Tyrosinase 활성 측정

멜라닌 생성 단계에 관여하는 tyrosinase에 미치는 영향을 관찰하기 위하여 tyrosinase 활성을 측정한 결과, JMB 에탄올 추출물 50 ㎍/㎖, 100 ㎍/㎖, 200 ㎍/㎖의 처리농도에서 대조군에 비해 각각 69.63%, 63.72%, 60.93%로 감소하였으며, 양성대조군인 kojic acid 처리군은 97.07%, 95.87%, 94.89%로 감소하였다. 즉, JMB처리군은 농도 의존적으로 tyrosinase 활성이 감소하였으며 대조군 및 동일 농도의 양성대조군에 비해 유의한 활성 감소를 보였다. 따라서 JMB 에탄올

추출물은 melanin 생성과 관련이 있는 tyrosinase 활성 감소에 효과가 있음을 확인하였다(Fig. 5).

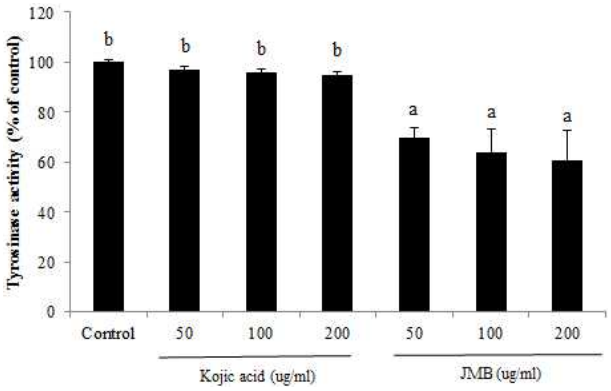


Fig. 5. Effect of ethanol extract from mixed herbal medicine (JMB) on tyrosinase activity in B16F10 melanoma cell.
The data were expressed as the mean ± S.E. (n=3). [ab]Means not sharing a common letter are significantly different among the Control group at $p < 0.05$.
Control ; Dimethyl sulfoxide-treated group,
Kojic acid ; Kojic acid -treated group,
JMB ; JMB 80% ethanol extract-treated group.

## Ⅳ. 고 찰

최근 서구화된 식생활과 급속한 경제성장으로 인해 생활습관병이 발병하여 여러 합병증이 유발된다고 보고되었다[27]. 이러한 식습관과 스트레스로 인한 활성산소의 증가는 각종 질병의 발병률을 높일 뿐 아니라 피부노화의 원인이 된다. 평균수명이 늘어나고 인구 고령화가 급증함에 따라 소비자들의 건강과 생활수준 향상에 대한 관심이 높아지고 있으며[28], 만성질환, 성인병뿐만 아니라 피부 노화 등을 예방할 수 있는 기능성 식품 및 화장품에 대한 관심이 증가하고 있다. 따라서 약리학적 기능을 가진 천연물을 이용한 기능성 식품 및 화장품 개발에 따른 연구가 활발히 진행되고 있다[29].

본 연구에서 사용된 복합 한약재의 조성은 '체인휘편'에서 유래된 세면여옥고(洗面如玉膏)의 처방을 참고하였다[30]. 구성 한약재인 정향 및 목향은 방향이 있는 이기약이며, 백지는 해표약으로서 풍한사를 없애고 혈액순환을 원활히 하여 통규, 지통시킨다[31-33]. 그러므로 항산화, 항염, 항혈전 등 활성산소와 관련된 스트레스나 생활습관병, 면역관련 질환의 개선을 포함하는 항노화에도 의미가 있으며, 이전 연구에서 항산화 효과가 입증되었으므로[34] 주름과 탄력 등 피부 항노화 및 미백에도 영향이 있을 것으로 사료되어 *in vitro* 실험을 진행하였다.

콜라겐은 피부 섬유아세포에서 생성되는 주요 기질 단백질로, 세포외기질의 주요 성분이다. 콜라겐 분해에 따른 감소는 피부 탄력을 유지하는 결합조직이 파괴되어 피부 처짐, 피부의 탄력저하, 주름의 원인으로 나타난다[35]. 본 연구에서 JMB 에탄올 추출물의 collagenase 저해 활성을 측정한 결과, 10 ㎍/㎖에서 1.76%, 50 ㎍/㎖에서 4.63%, 100 ㎍/㎖에서 28.40%, 500 ㎍/㎖에서 35.47%, 1000 ㎍/㎖에서 45.92%로 저해 활성이 측정되었으며 농도 의존적으로 유의한 증가를 보였다.

엘라스틴은 피부 탄력성 저하와 주름 형성에 콜라겐의 감소 뿐 아니라 피부탄력섬유의 구성 성분인 엘라스틴 저하도 관여한다. Elastase는 동물 결합 조직의 불용성 탄성 섬유 경단백질인 엘라스틴을 분해할 수 있는 유일한 효소이며, 콜라겐과 엘라스틴 같은 결합조직을 구성하고 지지하는 모든 단백질들을 가수분해 한다[36]. 또한, urosolic acid 등의 elastase 저해제는 피부 주름을 개선시킨다. 본 연구에서 JMB 에탄올 추출물의 elastase 저해 활성을 측정한 결과, JMB 에탄올 추출물의 10 ㎍/㎖에서 48.19%, 50 ㎍/㎖에서 53.35%, 100 ㎍/㎖에서 59.51%, 500 ㎍/㎖에서 75.60%, 1000 ㎍/㎖에서 100.00%로 나타났으며 농도 의존적으로 유의한 증가를 보였다.

멜라닌을 형성하는 연속적인 효소적 산화 반응에 의해서 L-tyrosine이 tyrosinase로 인해 DOPA로 전환되고 다시 tyrosinase에 의해 dopaquinone으로 전환되어 최종적으로 멜라닌이 형성된다. Tyrosinase는 L-tyrosine을 L-dopa로 변화하는 hydroxylase의 활성과 L-dopa를 dopaquinone으로 변환하는 dopa oxidase의 활성을 모두 가지고 있는 두 가지 단계의 반응을 촉진하는 대표 효소로 작용한다[37]. 그러므로 tyrosine 활성 억제제는 피부 내에서 멜라닌 합성을 효과적으로 저해할 수 있어 피부 미백제 개발에 있어서 tyrosinase 활성 저해 실험은 유용한 일차평가방법으로 인정되고 있다[38]. 따라서 본 연구에서 미백 효능을 관찰하기 위하여 멜라닌의 함량과 tyrosinase활성을 측정하였다. 멜라닌 함량은 JMB 에탄올 추출물의 50 ㎍/㎖, 100 ㎍/㎖, 200 ㎍/㎖ 처리농도에서 각각 79.87%, 71.59%, 64.81%로 대조군에 비해 유의하게 감소하였으며, 양성대조군인 kojic acid 처리군은 97.65%, 96.68%, 95.14%로 감소하였다. 그리고 Tyrosinase 활성을 측정한 결과, 50 ㎍/㎖, 100 ㎍/㎖, 200 ㎍/㎖의 JMB 에탄올 추출물 처리농도에서 각각 대조군에 비해 69.63%, 63.72%, 60.93%로 유의하게 감소하였으며, 양성대조군인 kojic acid의 동일 농도 처리군에 비해서도 유의하게 tyrosinase 활성이 감소하였다.

따라서 추후 JMB 에탄올 추출물의 유효 성분 분석 및 항노화, 미백 작용기전에 대한 심도 있는 연구가 뒷받침되어야 할 것으로 생각되며, JMB 에탄올 추출물은 주름개선, 탄력개선, 미백 등에 효능을 보임으로써, 노화를 예방 또는 억제하는 건강기능 식품, 화장품 및 의약품 등의 기능성 소재로 활용될 가능성이 있을 것으로 사료된다.

## Ⅴ. 결 론

본 연구는 JMB 80% 에탄올 추출물의 효능에 관한 기초연구로서, 항노화 및 미백 활성을 실험한 결과 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. JMB에탄올 추출물의 항노화 효과를 측정한 결과, collagenase 및 elastase 저해 활성 모두 농도 의존적으로 유의하게 증가하였다.

2. 미백 효능 검증을 위해 JMB 에탄올 추출물의 멜라닌 함량 및 tyrosinase의 활성을 측정한 결과 대조군에 비해 멜라닌 함량 및 tyrosinase 활성이 농도 의존적으로 유의하게 감소하였다.

따라서 실험 결과 천연 약재 복합물인 JMB 에탄올 추출물의 항노화 및 미백 효능이 탁월하였으므로, 천연 미백 및 항노화를 위한 식품, 화장품 및 의약품 소재로서의 활용 가능성이 기대된다.

## References


1. Royer et al, Study of nutraceutical, nutricosmetics and cosmeceutical potentials of polyphenolic bark extracts from Canadian forest species. PharmaNutr. 2013 ; 1 : 158-167.
2. Fisher et al, Molecular mechanisms of photoaging in human skin *in vivo* and their prevention by all-trans retinoic acid. Photochem. Photobiol.. 1999 ; 69(2) : 154-7.
3. Shim et al, The effects of panduratin A isolated from Kaempferia pandurata on the expression of matrix metalloproteinase-1 and type-1 procollagen in human skin fibroblasts. Planta medica. 2008 ; 74(3) : 239-44.
4. Kraunsoe et al. Inhibition of human leukocyte and porcine pancreatic elastase by homologues of bovine pancreatic trypsin inhibitor. Biochem. 1996 ; 35 : 9090-6.
5. Shin et al, H2O2 accumulation by catalase reduction changes MAP kinase signaling in aged human skin *in vivo*. J Invest. Dermatol., 2005 ; 125(2), 221.
6. Fisher et al, Molecular mechanisms of photoaging and its prevention by retinoic acid: ultraviolet irradiation induces MAP kinase signal transduction cascades that AP-1 regulated matrix metalloproteinases that degrade human skin *in vivo*. J. Incestig. Dermatol. Symp. Proc., 1998; 3(1), 61.
7. Fisher et al, Phatophysiology of premature skin aging induced by ultraviolet light. N. Engl. J. Med., 1997 ; 337(20), 1419.
8. Textbook compilation committee of herbal pharmacology. Herbal pharmacology. Shinilbooks. 2006 ; 2 : 608-10.
9. Heo J. Donguibogam. Bubinbooks. 2005 ; 1 : 3588.
10. Prasad et al. Spice phenolics inhibit human PMNL 5-lipoxygenase. Prostaglandins leukot essent fatty acids. 2004 ; 70 : 521-8.
11. Mytle et al. Antimicrobial activity of clove (Syzgium aromaticum) oil in inhibiting Listeria monocytogenes on chicken frankfurters. Food Control. 2006 ; 17 : 102-7.
12. Gowda et al. Effect of some chemical and herbal compounds on growth of Aspergillus parasiticus and aflatoxin production. Anim Feed Sci Technol. 2004 ; 116 : 281-91.
13. Kim et al. Acaricidal activity of plant essential oils against Dermanyssus gallinae (Acari: Dermanyssidae). Vet Parasitol. 2004 ; 120 : 297-304.
14. Jeon et al. Inhibitory effect of dehydrocostuslactone isolated from *Sussureae Radix* on CDK2 activity. Kor J Pharmacogn. 2005 ; 36 : 97-101.
15. Wedge et al. Fungcidal activity of natural and synthetic sesquiterpene lactone analogs. Phytochem. 2000 ; 53: 747-57.
16. Park et al. Syringin 4-O-beta glucoside, a new phenylpropanoid glycoside, and costunolide, a nitric oxide synthase inhibitor, from the stem bark of Magnolia sieboldii. J Nat Prod. 1996 ; 59: 1128-30.
17. Jeong et al. Costunolide, a sesquiterpene lactone from *Saussurea lappa*, inhibits the VEGFR KDR/Flk-1 signaling pathway. Cancer Lett. 2002 ; 187 : 129-33.
18. Baek et al. Furanocoumarins from the root of *Angelica dahurica*. Arch Charm Res. 2000 ; 23 : 467-70.
19. Jin et al. Promoting synthesis of collagen from *Angelica dahurica* root. J Kor Pharmacogn. 2004 ; 35 : 315-9.
20. Kim et al. Antithrombotic effect of the BuOH soluble fraction of *Angelica dahurica* root. J Kor Pharmacogn. 1995 ; 26 : 74-7.
21. Shin et al. Effect of the constituents of *Angelica dahurica* Radix on hepatic drug metabolizing enzyme activity. J Kor Pharmacogn. 1988 ; 19 : 19-27.
22. Wang et al. Seven new bifuranocoumarins, dahuribirin A-G, from Japanese Bai Zh. Chem Pharm Bull. 2001 ; 49 : 1085-88.
23. Kim et al. Acetylcholinesterase inhibitors from the roots of *Angelica dahurica*. Arch Pharm Res 2002 ; 25 : 856-9.
24. Pae et al. Imperatorin, a furanocoumarin from *Angelica dahurica* (Umbelliferae), induces cytochrome c-dependent apoptosis in human promyelocytic leukaemia, HL-60 cells. Pharmacol Toxicol. 2002 ; 91 : 40-8.
25. Hosoi et al, Regulation of melanin synthesis of B16 melanoma cell by 1 alpha, 25-dihydroxyvitamin D3 and retinoic acid. Cancer Res., 1985; 45 : 1474-8.
26. Choi et al, Screening of the tyrosinase inhibitors from marine algae and medicinal plants. Kor. J. Pharmacogn., 1998 ; 29 : 237-42.
27. Jang et al, Effects of phyto-extract mixture on adiposity and serum lipid levels in obese mice induced by high fat diet. J Kor Soc Food Sci Nutr, 2010 ; 39 : 1439-45.
28. Ku et al, Anti-aging and antioxidant activity of ultrasonification ethanolic extract from Portulaca

oleracea. J Invest Cosmetol, 2015 ; 11(2) : 97-106.
29. Kim et al, Antioxidant activity of Hwangki and Beni-Koji extracts and mixture. J Kor Soc Food Sci Nutr, 2011 ; 40 : 1-6.
30. Joo et al. Miyong-dongeuibogam. seongbosa. Seoul. 2004 ; 265-6.
31. Professor committee of herbal medicine in Korea. Herbal medicine. The Korean pharmaceutical association. Seoul. 1995 ; 409-11.
32. Kim et al, Acaricidal activity of plant essential oils against Dermanyssus gallinae (Acari: Dermanyssidae). Vet Parasitol, 2004 ; 120 : 297-304.
33. Park et al, Syringin 4-O-beta glucoside, a new phenylpropanoid glycoside, and costunolide, a nitric oxide synthase inhibitor, from the stem bark of Magnolia sieboldii. J Nat Prod, 1996 ; 59 : 1128-30.
34. Youn et al, Anti-oxidant effect of ethanol extract from mixture including Caryophylli Flos, Aucklandiae Radix and Angelicae Dahuricae Radix. Kor. J. Herbol. 2018 ; 33(6) : 1-8
35. Nagase & Woessner. Matrix metalloproteinases. J Biol Chem, 1999 ; 274 : 21491-4.
36. Balo & Banga, The elastolytic activity of pancreatic extracts. J. Biochem., 1950 ; 46 : 380-7.
37. Park & Sim, Effect of hot-water extract from Laminnaria japonicus on production of melanine and inflammatory mediators. The Graduate School of Food & Drug Administration, Chung-Ang University. 2004.
38. Prota, Recent advances in the chemistry of melanogenesis in mammals. J. Invest. Dermatol, 1990 ; 75 : 122-7.