

## 인간 항균펩타이드인 LL-37 유래의 FK-13의 화장품보존제로 활용에 대한 연구

윤효숙<sup>1,\*</sup> · 최용준<sup>2</sup> · 양재찬<sup>3,†</sup> · 민혜정<sup>4,†</sup>

<sup>1</sup>전남대학교 화학과, 연구원

<sup>2</sup>(주)롤루랩, 대표이사

<sup>3</sup>목원대학교 화장품뷰티학과, 교수

<sup>4</sup>광주여자대학교 화장품과학과, 교수

(2021년 11월 30일 접수: 2021년 12월 27일 수정: 2021년 12월 27일 채택)

### A Study on the Use of Human Antibacterial Peptide LL-37-derived FK-13 as a Cosmetic Preservative

Hyo-Suk Yun<sup>1,\*</sup> · Yong-Joon Choe<sup>2</sup> · Jae-Chan Yang<sup>3,†</sup> · Hye-Jung Min<sup>4,†</sup>

<sup>1</sup>*Dept. of Chemistry, Chonnam National University*

<sup>2</sup>*Lulu-Lab Co., Ltd.*

<sup>3</sup>*Dept. of Cosmetic&Beauty, Mokwon University*

<sup>4</sup>*Dept. of Cosmetic Science, Kwangju Women's University*

(Received November 30, 2021; Revised December 27, 2021; Accepted December 27, 2021)

**요 약** : 본 연구에서는 인체에 보다 안전한 천연 화장품보존제 발굴을 목표로 하여 인간유래 항균펩타이드 LL-37의 짧은 유사체인 FK-13을 화장품보존제로 사용하고자 연구를 진행하였다. 이를 위해 13개의 아미노산으로 구성된 FK-13 펩타이드를 고상 펩타이드 합성법으로 합성하였고 reversed phase-high performance liquid chromatography (RP-HPLC)로 정제 후 liquid chromatography-mass spectrometry (LC-MS)를 이용하여 순도와 분자량을 확인하였다. 합성된 FK-13을 이용하여 미생물에 대한 방부력을 검정하였고 화장품에 적용 가능성을 살펴보았다. FK-13은 3개의 그람-양성균 (*Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus epidermidis*)과 3개의 그람-음성균 (*Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium*, *Pseudomonas aeruginosa*), 그리고 진균인 *Candida glabrata* 에서도 높은 항균 활성을 보였으며 넓은 항균활성 스펙트럼을 나타내었다. 이를 바탕으로 화장품보존제로서의 적합성을 확인하였다. 또한 FK-13은 고온에서 분자의 열안정성을 보였으며 기존의 천연 한방화장품 방부제 및 화학보존제들과의 항균활성 비교 실험에서도 보다 월등한 항균활성 효능을 나타내었다. 따라서 FK-13 펩타이드는 인체 친화적이고 효과적인 항균활성을 나타내므로, 기존 화학보존제를 대체할 새로운 천연 화장품보존제로 적용이 가능할 것으로 판단된다.

<sup>†</sup>Corresponding author

(E-mail: rabbit@mokwon.ac.kr, sarock@kwu.ac.kr)

주제어 : FK-13 펩타이드, 화장품보존제, 항균활성, 화학보존제, 펩타이드천연화장품보존제

**Abstract** : Here, we conducted the study on the possibility of using FK-13, a short analog of human-derived antibacterial peptide LL-37, as a cosmetic preservative to discover a natural cosmetic preservative that is safe for human body. For the purpose, FK-13 composed of 13 amino acids was synthesized by solid-phase peptide synthesis, and purified using reversed phase-high performance liquid chromatography (RP-HPLC). The purity and molecular weight were confirmed by liquid chromatography-mass spectrometry (LC-MS) analysis. FK-13 showed high antimicrobial activity on the three gram-positive bacteria (*Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, and *Staphylococcus epidermidis*), the three gram-negative bacteria (*Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium*, and *Pseudomonas aeruginosa*), and also even the fungus *Candida glabrata*. FK-13 had a broad spectrum of antibacterial activity, showing a suitability as a cosmetic preservative. In addition, FK-13 showed high thermostability and higher antibacterial activity in a comparative test with existing natural herbal cosmetic and chemical preservatives. Therefore, as FK-13 is a safe material and has high antibacterial activity at a low concentration, it is likely to be applied as a peptide natural cosmetic preservative that can replace existing chemical preservatives.

**Keywords** : FK-13 peptide, cosmetic preservative, antibacterial activity, chemical preservative, peptide natural cosmetic preservative

## 1. 서론

화장품은 물, 오일을 포함하여 수많은 유기 영양성분들로 구성되어 있고, 장기간 사용 시 공기 및 사용자의 접촉 때문에 미생물에 의한 오염에 취약하다. 따라서 미생물의 증식을 억제하여 화장품의 변질을 막기 위해서 보존제는 필수적이다. 화장품에는 파라벤류 보존제가 항균스펙트럼이 넓고 낮은 함량으로도 방부효과가 높아 가장 보편적으로 사용되고 있지만 피부염을 일으키거나 체내 축적등으로 인체 유해성 논란이 계속되고 있다. 또한 파라벤류 보존제를 대체하기 위해 사용되는 이소프로필 알콜, 이미다졸리디닐 우레아, 페녹시에탄올 등의 기존 방부제들도 부작용과 안전성 문제가 대두되고 있다 [1-4]. 예를 들어, 화장품에 범용적으로 사용되는 파라벤류가 대표적인 수 있는데 최근 연구에 의하면 유방암 세포에서 파라벤 농도가 정상인들에 비해 월등히 높게 관찰이 되어 체내의 세포조직에 파라벤이 축적될 수 있다고 보고되었다 [5]. 또한 파라벤은 여성호르몬의 일종인 에스트로겐과 유사한 작용을 할 수 있어 내분비계를 교란하는 장애물질로 작용할 수도 있다는 의견도 있다 [6-9]. 생활수준의 향상과 건강에 대한 높은 관심은 화학원료

의 비중을 최소화한 친환경 및 유기농 화장품에 대한 소비자들의 수요를 증가시켜 왔고, 바이오기술의 발전과 함께 인체에 무해한 천연원료 및 기능성 화장품원료의 개발과 화학적 방부제를 대체하기 위해 천연항균물질을 보존제로 사용하기 위한 많은 연구가 진행되고 있다. 현재까지 향신료, 유기산, 저급지방산, 라이소자임, 락토페린, 박테리옌, 폴리라이신, 한방약재등 천연에서 추출한 보존제의 개발도 진행되고 있으나 색, 향, 좁은 항균 스펙트럼, 제형 내에서 함량 및 온도 안정성, 방부효과의 지속성 문제와 원료 확보의 높은 비용적 단점으로 인해 상용성이 떨어진다 [10-11]. 따라서 인체에 안전하고 제형에 영향을 주지 않는 대체 보존제로 항균 펩타이드(antimicrobial peptide(AMP))에 대한 관심이 높아지고 있다.

항균 펩타이드는 인체구성성분인 아미노산으로 이루어져 있으며, 낮은 농도에서 높은 항균효능을 보이고 내성 및 인체 잔류의 문제가 없다. 따라서 화장품에 적용되었을 때, 낮은 농도에서 넓은 미생물 스펙트럼에 높은 방부효능을 보이며 지속성이 우수하고, 다양한 온도 및 pH에서 보존력이 유지되어 화장품제조 중에도 안정하며 피부에 부작용이 없어야 한다는 보존제의 요건을 만족시키

는 항균펩타이드의 발굴은 화장품보존제 개발의 중요한 전환점이 될 것이다 [12-14]. 본 연구에서는 펩타이드 천연화장품 보존제 개발을 목표로 인간 카텔리시딘 펩타이드(LL-37) 유래의 아미노산 13개로 이루어진 FK-13 (FKRIVQRIKDFLR-NH<sub>2</sub>) 펩타이드의 화장품보존제로서의 효능과 활용성에 대한 실험을 수행하였다. 카텔리시딘(cathelicidin)은 광범위한 항균작용을 나타내며 다양한 면역조절작용 기능을 한다. 인간 유래 카텔리시딘(cathelicidin)의 분해 산물 중 하나인 LL-37은  $\alpha$ -헬릭스 구조를 가지고 있으며, 광범위한 항균 활성과 함께 생체 내 염증 조절 기능을 갖는다. 즉, LL-37은 박테리아와 진균, 바이러스 등에 대한 직접적인 항균 활성과 함께 호중구(eosinophil), 단핵세포, T 세포에 대한 주화성을 나타내며 내피세포의 증식을 유도한다. 특히 피부에 존재하는 LL-37은 외래 항원의 침투 시 즉각적인 방어 역할을 함으로써 항원 억제 기능을 담당한다 [15-18]. FK-13는 LL-37 유래의 짧은  $\alpha$ -나선형 펩타이드이며 LL-37에 비해 항염 활성의 손실 없이 개선된 세포 선택성을 갖고 독성이 거의 없다고 알려져 있다 [19]. 본 연구에서는 고상펩타이드합성법을 이용하여 FK-13를 합성하였고, reversed phase-high performance liquid chromatography (RP-HPLC)를 이용해 순수하게 정제하였다. 정제된 FK-13는 다양한 미생물에서 높은 항균활성을 보였고, 열안정성을 나타내었다. 또한 화장품제형에서의 방부효능 평가를 통해 새로운 화장품보존제로의 가능성을 살펴보았다.

## 2. 실험

### 2.1. FK-13 펩타이드의 합성

FK-13 펩타이드는 아미드 4-MBHA-레진(Rink Amide 4-methylbenzhydrylamine Resin; Novagiochem, 0.54 mmol/g)을 사용하여 표준 fluorenylmethoxycarbonyl (Fmoc) 고체상 펩타이드 합성법에 의해 합성되었다. Dicyclohexyl carbodiimide (DCC) 및 1-hydroxybenzotriazole (HOBt)를 커플링 시약으로 사용하였고, 모든 커플링 사이클 동안 10배 과량의 Fmoc-아미노산을 첨가하였다. 합성 후, 실온에서 2시간 동안 trifluoroacetic acid (TFA)/물/티오아니솔/페놀/에탄디티올/트라이소프로필실란(83:5:5:5:1:1:

v/v/v/v/v/v)의 혼합물로 레진절단 및 탈보호한 후, 미정제 펩타이드를 디에틸 에테르로 반복적으로 추출하고, 0.05% TFA의 존재하에서 0-90% 물/acetonitrile (ACN) 구배를 사용하여 정제용 Shimpack C18 컬럼 (20mm x 250mm, 300Å, 15mm 입자 크기)을 이용하여 RP-HPLC로 정제하였다.

### 2.2. RP-HPLC 및 LC-MS 분석

HPLC 분석을 위해 RP-HPLC (Shimadzu 10AD, Japan)에 Sunfire(4.6 x 250 mm, 5  $\mu$ m, C18, Waters) 컬럼을 사용하였다. 0.05% TFA가 포함된 5% ACN을 초기 농도로 시작하여 30분 동안 65% ACN 까지 농도구배를 주고 용출되는 물질을 자외선 검출기 (230 nm)를 이용해 분석하였다. 분석결과 순도는 >95% 이상 확인되었다. RP-HPLC 통해 정제된 펩타이드는 동시에 electrospray ionization mass spectrometer (ESI-MS) (API2000, USA)로 주입하여 실시간으로 물질의 분자량을 확인하였다.

### 2.3. FK-13 펩타이드의 항균 활성 측정

#### 2.3.1. 균주의 strain 및 배양조건

가장 널리 사용되고 주변에서 쉽게 오염될 수 있는 대표적인 그람 음성균인 *Escherichia coli* (*E. coli*) (KCTC 1682), *Salmonella typhimurium* (*S. typhimurium*) (KCTC 1926), *Pseudomonas aeruginosa* (*P. aeruginosa*) (KCTC 1637)와 대표적인 그람 양성균인 *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) (KCTC 1621), *Bacillus subtilis* (*B. subtilis*) (KCTC 3068), *Staphylococcus epidermidis* (*S. epidermidis*) (KCTC 1917), 그리고 진균류인 *Candida glabrata* (*C. glabrata*) (KCTC 7219)를 한국생명공학연구원으로부터 분양받아 사용하였다. 고체배양을 위해 최종 10<sup>6</sup> colony-forming unit (CFU)/mL 균수가 함유된 Mueller Hinton (MH) agar (Difco, USA) 한천 평판을 준비하였다. 액체배양을 위해 진균인 *C. glabrata*는 GPY배지(글루코스 4%, 펩톤 0.5%, 효모추출물 0.05%)에 배양하였고, 그 외 균주는 Luria-Bertani (LB)배지에서 배양하였다.

2.3.2. Minimal Inhibitory Concentration 측정  
합성된 FK-13 펩타이드의 항균 효과를 측정하기 위하여, 상기 7종의 균주에 대하여 minimal

inhibitory concentration (MIC)를 측정하였다. 상기 균주를 각각 액체 배양하고, 배양한 균주를 1% 펩톤에  $4 \times 10^6$  CFU/mL로 희석하여 준비하였다. FK-13 펩타이드를 1% 펩톤 용액에 농도가 409.6  $\mu\text{g/mL}$ 가 되도록 용해시킨 후, 96-well plate에 100  $\mu\text{L}$ 를 첨가한 후 100  $\mu\text{L}$ 의 1% 펩톤 용액으로 연속적으로 희석하였다. 균주 7종을 100  $\mu\text{L}$ 씩 분주 후 37°C 배양기에서 16시간 동안 배양하여 MIC 값을 확인하였다. UV 흡광도(600nm) 측정을 통해 세균이 자라지 않은 추출물의 최저농도를 MIC 값으로 나타내었다. 비교 대조군으로 일반적으로 사용되고 있는 화장품 방부제 성분인 메틸 파라벤(methyl paraben), 1,2-헥산디올(1,2-hexanediol) 및 페녹시 에탄올(phenoxy ethanol)을 사용하였으며, 상기 실험과 동일한 조건에서 MIC를 측정하였다.

#### 2.4. 열안정성 평가

합성된 FK-13 펩타이드의 열안정성을 평가하기 위해, 펩타이드를 1 mg/mL 농도로 물에 용해시킨 후 25, 50, 75, 100 °C 에서 30, 60, 90, 120분 동안 incubation 시켰다. Incubation 후 HPLC Sunfire(4.6 x 250 mm, 5  $\mu\text{m}$ , C18, Waters) 컬럼을 이용하여 ACN 10%에서 30% 농도구배를 사용하여 분석을 통해 물질의 변화를 관측하였다.

#### 2.5. 화장품제형에서의 방부력 평가

사용한 균주는 대표적인 그람 음성균인 *E. coli*

와 그람 양성균인 *S. aureus*를 사용하였고 각 균주는 LB 한천 배지에서 전배양 후 콜로니를 LB 액체배지에 접종하여 37°C에서 계대배양을 2번 수행한 다음 LB 배지에  $4 \times 10^8$  CFU/mL이 되도록 희석하였다. 각각 균주 2종의 희석액을 최종  $1 \times 10^7$  CFU/mL이 되도록 접종하고, 화장수 제형에 합성된 FK-13 펩타이드를 최종 농도가 0, 25, 50, 10 및 200  $\mu\text{g/mL}$ 가 되도록 첨가하였다. 이후 37 °C 배양기에서 24시간 동안 배양하고, 각 균주 시료는 100  $\mu\text{L}$ 를 취해 phosphate-buffered saline (PBS) 완충용액에 희석하여 10배 및 100배씩 희석계열을 만들고 단계별 희석계열을 100  $\mu\text{L}$ 씩 LB 한천배지에 도말하여 37°C 배양기에서 16시간 동안 배양한 후에 균수를 측정하였다. 화장품제형은 Table 1에 있는 것처럼 FK-13이나 화학 방부제가 포함된 형태로 제작되었다. 비교 대조군으로 일반적으로 사용되고 있는 화장품 방부제 성분인 methyl paraben, 1,2-hexanediol 및 phenoxy ethanol을 사용하여, 위와 동일한 조건에서 실험을 수행하였다.

### 3. 결과 및 고찰

#### 3.1. FK-13 펩타이드의 합성 및 분리·정제

Fmoc 고상 펩타이드 합성법을 사용하여 합성된 FK-13 펩타이드는 정제용 RP-HPLC를 이용하여 ACN 13%부터 28% 농도구배를 이용하여

Table 1. Cosmetic ingredients and contents of toner formulation

INCI NAME	WT%
D.I.WATER	89.243
GLYCERIN	7.000
BETAINE	3.000
TRISODIUM EDTA	0.020
CITRIC ACID	0.020
SODIUM CITRATE	0.040
PEG-40 HYDROGENATED CASTER OIL	0.20
OCTYLDODECETH-16	0.100
XANTHANGUM	0.300
FRAGRANCE	0.070
FK-13 or chemical preservatives	0.007

정제되었으며, 분석용 RP-HPLC 분석결과 14 min의 retention time을 가지며 최종 95% 이상의 순도로 확인되었다 (Fig. 1a). 13개의 아미노산으로 이루어진 FK-13 펩타이드는 이론적으로  $[M+H]^+ = 1719.1$ 과  $[M+2H]^{2+} = 860.06$ 의 분자량을 가지고 있다. ESI-MS 분석결과  $[M+H]^+$ 과  $[M+2H]^{2+}$ 에 해당하는 분자량으로 관측되어 이론적인 FK-13의 분자량과 잘 일치하는 것을 확인하였다 (Fig. 1b).

### 3.2. FK-13 펩타이드와 화학방부제의 항균 활성 검정

MIC 실험 결과, 합성된 FK-13 펩타이드는 그람 음성균에 16-32 ug/mL의 MIC 값을 가지며 그람 양성균에는 32-64 ug/mL의 MIC값을 나타내었고, 진균인 Candida에 대해서는 64 ug/mL의 MIC 값을 나타내었다 (Table 2). 7종의 세균과 진균에 대해서 넓은 항균활성을 나타내고 있으며 특히 그람 음성균에 2배 정도의 높은 항균활성을 나타내는 것으로 확인되었다.

반면, 기존 화학 방부제인 메틸 파라벤, 1,2-헥산디올, 페녹시 에탄올의 MIC 측정결과 204.8 ug/mL 이상의 농도에서도 미생물 성장저해활성을

보여주지 못했다. 이러한 결과는 FK-13 펩타이드가 기존 3개의 화학 방부제에 비해 최소 6배 이상 항균활성이 높다는 것을 나타낸다. 항균 펩타이드는 많은 경우 미생물의 세포막에 작용하여 항균 활성을 나타내는 것으로 알려져 있다. 이러한 작용기작은 크게 'barrel-stave', 'carpet', 그리고 'toroidal-pore'의 3가지의 모델로 설명할 수 있다 [20]. 항균 펩타이드의 소수성과 양전하 성질의 아미노산 잔기들이 선택적으로 미생물 세포막의 인지질과 정전기적 인력과 소수성 결합에 의해 결합하게 되고 세포막 안으로 들어가 세포막의 구조를 파괴하여 항균작용을 나타내게 된다. 이렇게 선택적으로 미생물에 작용하여 인체에는 독성을 줄일 수 있게 된다. 반면, 화학방부제는 서론에서 언급하였듯이 인체에 부작용을 나타낼 수 있고 항균 펩타이드 보다 높은 농도에서 항균 효과를 보여주고 있다.

이러한 결과는 항균 펩타이드인 FK-13이 새로운 화학방부제를 대체할 새로운 천연 방부제로서 사용될 가능성을 높여주고 있다. 따라서, 화장품 제형에서 FK-13과 3종의 화학 방부제와의 항균활성 비교실험을 통해 확인하였다.

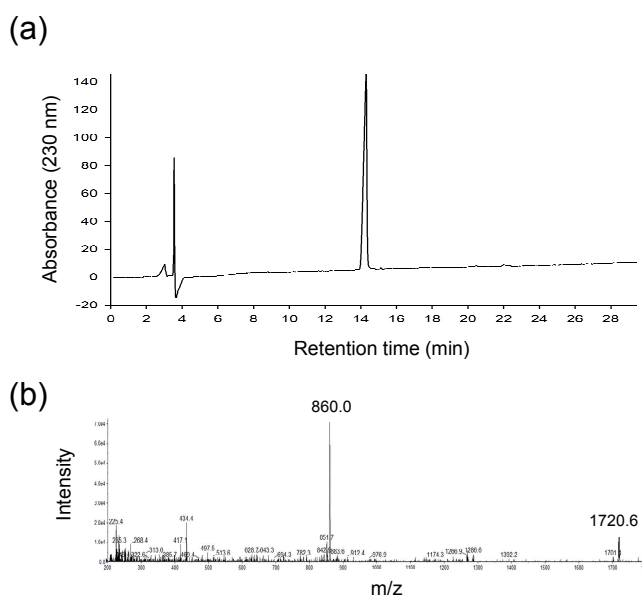
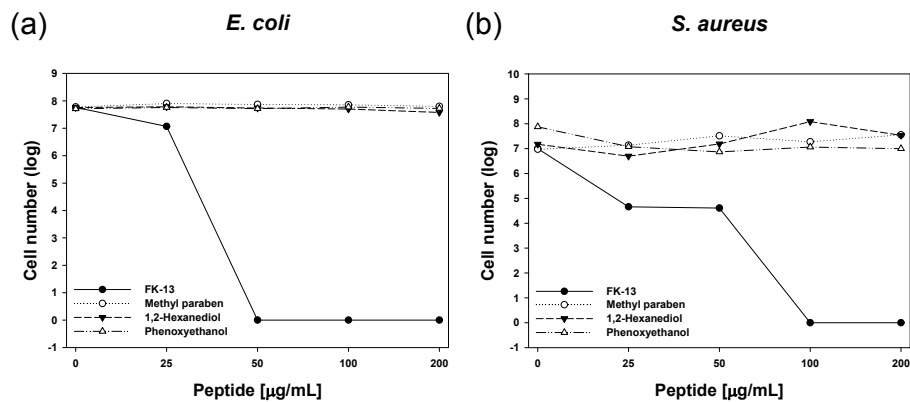


Table 2. Minimal inhibitory concentration (MIC) of FK-13 and cosmetic preservatives

Strain	MIC ( $\mu\text{g/mL}$ )			
	FK-13	Methyl paraben	1,2-Hexane diol	Phenoxy ethanol
<b>Gram-negative</b>				
<i>E. coli</i> (KCTC 1682)	16	>204.8	>204.8	>204.8
<i>S. typhimurium</i> (KCTC1926)	32	>204.8	>204.8	>204.8
<i>P. aeruginosa</i> (KCTC1637)	16	>204.8	>204.8	>204.8
<b>Gram-positive</b>				
<i>S. aureus</i> (KCTC1621)	64	>204.8	>204.8	>204.8
<i>B. subtilis</i> (KCTC 3068)	32	>204.8	>204.8	>204.8
<i>S. epidermidis</i> (KCTC 1917)	32	>204.8	>204.8	>204.8
<b>Yeast</b>				
<i>C. glabrata</i> (KTCT 7219)	64	>204.8	>204.8	>204.8

Fig. 2. Bactericidal activity of FK-13 and chemical preservatives in cosmetic formulation. (a) *E. coli*, (b) *S. aureus*

### 3.3. FK-13 펩타이드와 화학방부제의 화장품 제형에서의 항균 효능 비교

FK-13 펩타이드와 메틸 파라벤, 1,2-헥산디올, 페녹시에탄올 등 화학 방부제와의 화장품 제형에서의 방부효능을 비교하기 위해 그람 음성균인 *E. coli*와 그람 양성균인 *S. aureus*를 대상으로 실험을 진행하였다. Fig. 2a는 화장수 제형 하에서 *E. coli*에 대한 FK-13 펩타이드의 항균 효과의 결과를 나타내며, Fig. 2b는 *S. aureus*에 대한 항균 효과의 결과를 나타낸다.

FK-13 펩타이드 50  $\mu\text{g/mL}$  이상의 농도에서 *E. coli*가 전혀 증식하지 못하고 모두 사멸하였으나, 3종의 모든 화학 방부제는 200  $\mu\text{g/mL}$ 의

농도까지 증가시켜도 항균 효과를 전혀 나타내지 못했다. 또한 FK-13 펩타이드가 25  $\mu\text{g/mL}$  이상의 농도에서 *S. aureus*에 대하여 항균 활성을 나타내기 시작하였으며, 100  $\mu\text{g/mL}$  이상의 농도에서 *S. aureus*를 완전히 사멸하는 것을 확인하였다. 그러나 메틸 파라벤, 1,2-헥산디올, 페녹시에탄올은 200  $\mu\text{g/mL}$ 까지도 전혀 항균효과를 나타내지 않았다. 이러한 결과는 동일한 화장품 제형에서 FK-13 펩타이드는 그람 음성균과 양성균 모두를 사멸하는 살균 효능을 보여주는 반면, 기존 화학방부제는 같은 농도 실험에서 전혀 항균 효능을 보여주지 못하고 있는 것을 알 수 있다. 따라서 FK-13 펩타이드가 새로운 화장품보

존제로서 사용 가능성을 나타내고 있음을 알 수 있다.

### 3.4. FK-13 펩타이드의 열안정성 검증

FK-13 펩타이드의 보존제로서의 응용을 위해 다양한 온도에서의 물질 안정성을 확인하였다. 그림 3과 같이 FK-13 펩타이드는 HPLC 분석조건에서 23분에 단일물질 용출되는 것을 알 수 있다. 온도는 75 °C 까지 올려 120분 동안 incubation을 하여도 FK-13 peak의 변화는 일어나지 않았다 (Fig. 3a-c). 온도를 100 °C 까지 올렸을 때 9.5분과 13분에 작은 peak가 관측되었다 (Fig. 3d). 작은 peak들은 전체 물질중에서 5% 미만으로 관측되며 FK-13은 100 °C에서 120분 이상 가열해도 95% 이상 남아있는 것을 확인하였다. 화장품의 안정성 평가법을 기준으로 높은 온도에서 제형이나 성분의 변화가 없어야 한다. 내온도의 가속시험법을 토대로한 실험에서 75 °C 까지도 FK-13 펩타이드의 물질 변화가 거의 없는 것으로 확인 되었다. 일반적으로 온도가 10

°C 이상 변화하면 2배의 가속에 해당 된다고 할 수 있다. 이러한 결과는 FK-13 펩타이드의 열안정성이 매우 우수하여 화장품 방부소재로서의 응용 가능성이 높을 것으로 예상된다.

### 3.5. FK-13 펩타이드의 화장품보존제로 활용 가능성

화장품에는 많은 수분이 포함되어 있어 세균이나 진균에 의한 오염이 발생하기 쉽다. 이러한 오염은 화장품의 품질 저하 및 인체에 유해한 질병을 일으킬 수도 있다 [21]. 인체에 무해한 화장품 성분만을 함유한 친환경적이고 인체친화적인 화장품개발에 필수적인 요소 중 하나는 화장품의 변질을 막기 위해 함유시키는 화장품보존제의 무해성이다. 최근 바이오기술의 발전과 함께 화장품 원료개발 수준이 높아지면서 코스메슈티컬의 중요성이 부각되고 있으며, 그 중심에 있는 바이오소재들 중의 하나가 인체친화적인 기능성 펩타이드이며 다양한 효능의 펩타이드 화장품 소재들이 화장품원료로 이용되고 있다 [22-23]. 그러나 현

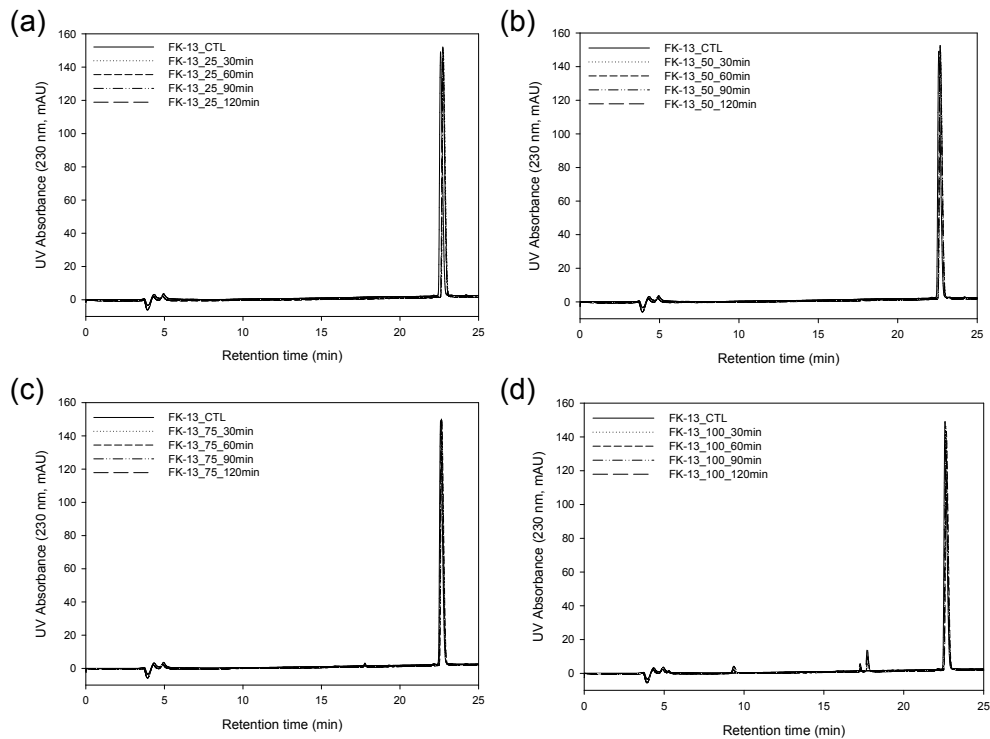


Fig. 3. RP-HPLC analysis of the thermostability of FK-13 peptide at 25, 50, 75, and 100 °C for 120 min. (a) 25 °C, (b) 50 °C, (c) 75 °C, and (d) 100 °C.

재까지 화장품보존제로 상용화되고 있는 펩타이드는 거의 없는 실정이다. 본 연구에서는 인간 유래 항균펩타이드인 LL-37 유래의 아미노산 13개로 구성된 FK-13 펩타이드를 화장품보존제로의 활용 가능성을 확인하였다.

FK-13 펩타이드가 *E. coli*, *S. typhimurium*, *P. aeruginosa*, *S. aureus*, *B. subtilis*, *S. epidermidis* 및 *C. glabrata*로 이루어진 균에서 선택된 하나 이상의 균주에 대하여 항균 활성을 나타내는 것을 확인하였으며, 더욱이 FK-13 펩타이드는 현재 상업적으로 주로 사용되는 보존제인 메틸 파라벤, 1,2-헥산디올, 페녹시 에탄올에 비교하였을 때에도 보다 강한 항균 활성을 나타내는 것을 확인할 수 있었다. 이러한 결과는 극소량의 FK-13 펩타이드로 방부효능을 가지므로 펩타이드는 합성 및 분리·정제 비용에 있어서의 단점을 극복할 수 있을 것이다. 또한 FK-13 펩타이드를 다른 보존제와 병행 사용할 경우의 방부력 상승효과에 대한 연구가 수행된다면 상용화의 조건을 만족시킬 수 있을 것이다. 화장수 등의 가용화 화장품제형에 적용하였을 때에도 방부효능이 유지가 되며, FK-13 펩타이드의 열안정성은 유화화장품제조 공정에서 일어나는 가온에도 안정적으로 효능이 유지 될 것으로 보여 다양한 화장품 제형에 적용이 가능할 것이다. 따라서 인체유해성논란이 있는 파라벤류 및 페녹시에탄올등을 대체하여 FK-13 펩타이드의 인체친화적 화장품 보존제로 활용의 가능성을 확인하였다.

#### 4. 결론

FK-13 펩타이드는 세균 및 진균을 대상으로 나타나는 넓은 항균 스펙트럼을 나타내고 화장품 제형에서의 항균활성 유지와 열적안정성을 고려하였을 때 화장품보존제로 사용가능성이 매우 높다. 또한 항균용 화장료 조성물은 현재 상업적으로 주로 사용되는 방부제 조성물인 메틸 파라벤, 1,2-헥산디올, 페녹시 에탄올에 비하여 더 강한 항균 활성을 나타내는 것을 확인하였으므로, 다양한 화장품 제형에서 기존 화학보존제를 대체할 화장품 방부제로 적용 가능할 것이다.

#### References

1. E. J. Routledge, J. Parker, J. Odum, J.

- Ashby, and J. P. Sumpter, "Some alkyl hydroxy benzoate preservatives(parabens) are estrogenic", *Toxicology and Applied Pharmacology*, Vol. 153, pp. 12-19, (1998).
2. J. Garcia-Gavin, R. Lissens, A. Timmermans, A. Goossens, "Allergic contact dermatitis caused by isopropyl alcohol: a missed allergen?", *Contact Dermatitis*, Vol. 65, pp. 101-106, (2011).
3. D. Lujan, B. Hernandez-Machin, Y. Penate, L. Borrego, "Contact urticaria due to phenoxy ethanol in an after shave", *Dermatitis*, Vol. 20, E10, (2009).
4. S. H. Mandy, "Contact dermatitis to substituted imidazolidinyl urea—a common preservative in cosmetics", *Archives of Dermatology*, Vol. 110, 463, (1974).
5. P. D. Darbre, A. Aljarrah, W. R. Miller, N. G. Coldham, M. J. Sauer, G. S. Pope, "Concentrations of parabens in human breast tumours", *Journal of Applied Toxicology*, Vol. 24, pp. 5-13, (2004).
6. Andersen. "Final report on the safety assessment of isobutylparaben and isopropylparaben", *Journal of the American College of Toxicology*, Vol. 14, pp. 364-372, (1995).
7. T. Nishihara, J. Nishikawa, T. Kanayama, F. Dakeyama, K. Saito, M. Imagawa, "Estrogenic activities of 517 chemicals by yeast two-hybrid assay", *Journal of Health Science*, Vol. 46, pp. 282-298, (2000).
8. T. T. B. Vo, Y.-M. Yoo, K.-C. Choi, E.-B. Jeung, "Potential estrogenic effect(s) of parabens at the prepubertal stage of a postnatal female rat model", *Reproductive Toxicology*, Vol. 29. No. 3, pp. 306-316, (2010).
9. T. Okubo, Y. Yokoyama, K. Kano, I. Kano, "ER-dependent estrogenic activity of parabens assessed by proliferation of human breast cancer MCF-7 cells and expression of ER $\alpha$  and ER $\beta$  and PR", *Food and Chemical Toxicology*, Vol. 39,



- pp. 1225-1232, (2001).
10. S.-H. Hwang, C.-H. Park, "Preservation of cosmetics by ethanol extract of *Scutellaria baicalensis* GEORGE", *Korean Society of Biological Engineering*, Vol. 24, No. 4, pp. 347-352, (2009).
  11. G. W. Ahn, M. H. Choi, Y. T. Woo, B. K. Jo, "A Study on the antimicrobial effect of glyceryl caprylate in cosmetics", *Journal of Society of Cosmetic Scientists of Korea*, Vol. 33, No. 1, pp. 47-52, (2007).
  12. N.-Y. Choi, "Assessment on antimicrobial activity of natural preservatives added to natural cosmetics", *Inje University Master's Thesis*, (2009).
  13. S.-H. Hwang, "Preservation of scutellariae radix extract for cosmetics", *Kyung Hee University Master's Thesis*, (2008).
  14. J.-E. Ku, H.-S. Han, J.-H. Song "The recent trend of the natural preservative used in cosmetics", *Korean Journal of Aesthetics and Cosmetology*, Vol. 11, No. 5, pp. 835-844, (2013).
  15. G. Rajasekaran, E. Y. Kim, S. Y. Shin, "LL-37-derived membrane-active FK-13 analogs possessing cell selectivity, anti-biofilm activity and synergy with chloramphenicol and Anti-inflammatory activity", *Biochimica et Biophysica Acta, Biomembranes*, Vol. 1859, No. 5, pp. 722-733, (2017).
  16. X. Zhang, G. Bajic, G. R. Andersen, S. H. Christiansen, T. Vorup-Jensen, "The cationic peptide LL-37 binds Mac-1 (CD11b/CD18) with a low dissociation rate and promotes phagocytosis", *Biochimica et Biophysica Acta. Proteins and Proteomics*, Vol. 1864 No. 5 ,pp. 471-478, (2016).
  17. J. M. Kahlenberg, M. J. Kaplan, "Little peptide, big effects: the role of LL-37 in inflammation and autoimmune disease", *Journal of Immunology*, Vol. 191. No. 10, pp. 4895-4901, (2013).
  18. U. H. N. Dürr, U. S. Sudheendra, A. Ramamoorthy, "LL-37, the only human member of the cathelicidin family of antimicrobial peptides", *Biochimica et Biophysica Acta - Biomembranes*, Vol. 1758, No. 9, pp. 1408-1425, (2006).
  19. Ganesan Rajasekaran, Eun Young Kim, Song Yub Shin, "LL-37-derived membrane-active FK-13 analogs possessing cell selectivity, anti-biofilm activity and synergy with chloramphenicol and anti-inflammatory activity", *Biochimica et Biophysica Acta - Biomembranes*, Vol 1859 No. 5, pp. 722-733, (2017).
  20. S. Galdiero, A. Falanga, R. Berisio, P. Grieco, G. Morelli, M. Galdiero, "Antimicrobial peptides as an opportunity against bacterial diseases", *Current Medicinal Chemistry*, Vol. 22, No. 14, pp. 1665-1677, (2015).
  21. J. R. Edwin, P. Joanne, O. Jenny, A. John, P. S. John. "Some alkyl hydroxy benzoate preservatives (Parabens) are estrogenic", *Toxicology and Applied Pharmacology*, Vol. 153, pp. 12-19, (1998).
  22. A. A. Abdulghani, A. Gottlieb, A. Abdulghani, A. Sherr, S. Shirin, G. Solodkina, E. TAPIA, B. Wolf, A. B. Gottlieb, J. Abdulghani, V. Sherr "Effects of topical creams containing vitamin C, a copper-binding peptide cream and melatonin compared with tretinoin on the ultrastructure of normal skin", *Disease Management and Clinical Outcomes*, Vol. 1 No. 4, pp. 136-141, (1998).
  23. K. Sakamoto, "Feature: Trends of peptides and applications to cosmetics World R&D trend for peptide in cosmetics." *Fragrance journal*, Vol. 36 No. 3, pp. 33-40, (2008).