두충나무, 황벽나무 등을 포함하는 수목추출물의 항여드름 및 항이토피 효과

김기은* · 김진홍* · 홍슬기 · 김티곤 · 김동욱†

인제대학교 제약공학과 621-749 경남 김해시 어방동 607번지 *바이오메틱스 621-749 경남 김해시 어방동 인제대 성산관 F-310 (2010년 5월 31일 접수, 2010년 6월 14일 채택)

Anti-acne and Anti-atopic Dermatitis Effect of Plant Extracts Including Eucommia ulmoides Oliv and Phellodendron amurense

Gi Eun Kim*, Jin Hong Kim*, Seul Ki Hong, Tagon Kim and Donguk Kim†

Department of Pharmaceutical Engineering, Inje University, 607, Obang-dong, Gimhae-si, Gyeongnam 621-749, Korea *Biometics, F-310, Sungsan-building, Inje University, Gimhae-si, Gyeongnam 621-749, Korea (Received 31 May 2010; accepted 14 June 2010)

요 약

본 연구에서는 두충나무, 황벽나무 등을 포함하는 수목추출물의 소재특성을 시험하여 화장품 및 피부질환 치료소재로서의 응용 가능성을 조사하였다. 수목추출물의 항산화력은 DPPH 자유라디칼 소거법으로 측정되었으며 저농도에서는 항산화력이 낮았으나, 1,000 µg/ml의 고농도에서는 우수한 항산화제인 비타민 C와 유사하였다. 항균력은 원판확산법으로 측정되었으며, 수목추출물은 피부상재균인 Staphylococcus epidermidis에 대해서는 낮은 항균력을 보이지만, 여드름 유발균인 Propionibacterium acne에 대해서는 높은 항균력을 보여주는 선택성 항균력이 있어, 여드름소재로서 매우 우수한 특성을 나타내었다. 무모생쥐를 이용한 항아토피 시험결과, 수목추출물은 DNCB에 의해 유도된 피부염증을 14일 째 거의 정상상태로 회복시켰으며, 피부내 항체인 IgE의 농도도 대조군에 비해 16% 낮추어주어 항아토피 효과가 우수한 것으로 나타났다. 따라서 수목추출물은 항여드름효과 및 항아토피 효과가 뛰어나서 화장품 혹은 피부질환 치료소재로서 응용 가능성이 매우 높음을 알 수 있었다.

Abstract – In this study, plant extracts including *Eucommia ulmoides Oliv*. and *Phellodendron amurense* were studied to test possible application for cosmetics and skin related medicine. Anti-oxidation effect of plant extracts was measured by DPPH free radical scavenging activity and it was insignificant at low concentration, however, it was as good as vitamin C, excellent anti-oxidation agent, at 1,000 µg/ml. Anti-bacterial effect was tested by disc diffusion method, and plant extracts showed mild anti-bacterial effect for normal skin flora, *Staphylococcus epidermidis* while it indicated strong anti-bacterial effect for acne inducing *Propionibacterium acne*. Therefore it had powerful potential for anti-acne material because of selectivity. Anti-atopic dermatitis effect was tested by hairless mouse and plant extracts recovered damaged skin to near normal condition after 14 days of treatment. IgE concentration in treated mouse was decreased 16% compared with control. From the research, plant extracts indicated strong anti-acne and anti-atopic dermatitis effect, and showed strong potential for cosmetics and skin related medicine.

Key words: Eucommia ulmoides Oliv, Phellodendron amurense, Plant Extracts, Anti-acne, Anti-atopic Dermatitis

1. 서 론

국내에서 화장품은 2003년 제정된 화장품 법에 '일반화장품은 인체를 청결 미화하여 매력을 더하고 용모를 밝게 변화시키거나 피부모발의 건강을 유지 또는 증진하기 위하여 인체에 사용되는 물품으로서 인체에 대한 작용이 경미한 것'으로 정의되고 있다[1].

[†]To whom correspondence should be addressed. E-mail: pedkim@inje.ac.kr

화장품은 일반화장품으로 어린이용, 목욕용, 인체세정용, 눈화장용, 방향용, 염모용, 색조화장용, 두발용, 손발톱용, 면도용, 기초화장용 제품류 및 기능성화장품으로 세분되고 있다. 현재 국내에서 기능성화장품으로 인증되는 것은 미백, 주름개선 및 자외선 차단 화장품에 국한되어 있다. 그러나 전 세계적으로는 기능성화장품의 종류는 국가마다 다르며, 화장품 선진국이라고 할 수 있는 EU에서는 20종의 매우 방대한 화장품의 기능성을 인증하고 있어서 여드름, 아토피, 슬리밍 등과 관련하여 다양한 효능을 가진 화장품 소재가 개

발되고 있는 상황이다[2]. 따라서 국내에서도 화장품산업을 업그레이드하기 위해 이에 대한 대비가 어느 정도 필요한 실정이다.

바이오메틱스에서는 다년간의 양봉 경험을 바탕으로 꿀벌들이 프로폴리스를 제조하는데 닥나무, 두충나무 등 특별한 종류의 수목 만을 이용한다는 것을 관찰하였으며, 다년간의 연구를 바탕으로 닥나무, 두충나무 등에서 수목추출물을 개발하였다. 두충나무(Eucommia ulmoides Oliv.)는 한의학에 따르면 간과 신을 보하며, 힘줄과 뼈를 튼튼하게 하는 작용이 있으며, 한방에서 신경통, 류마티스관절염, 근무력증 등에 사용되었다[3]. 두충나무 껍질과 잎은 혈압을 낮추는 작용을 하므로 고혈압 치료에 좋다. 황벽나무(Phellodendron amurense)는 오장과 장위속에 몰린 열과 황달, 장치 등을 주로 없애며, 한방에서 옴과 버짐, 음식창 등에 사용되었다[4].

여드름은 모낭피지기관의 만성 염증성질환으로 면포, 농포, 결절, 낭종 등이 피지분비가 많은 얼굴, 목 등에 나타나는 주로 사춘기에 발생하는 질환이다[5]. 여드름의 발생병인은 모낭벽의 과각화, 피지분비의 증가, Propionibacterium acne의 증식, 염증유발 및 피부장벽(skin barrier) 이상 등이 제시되고 있다[6]. 기존의 여드름 치료제를 사용함으로서 부작용으로 발생하는 자극정상은 여드름 발생피부자체에서 이미 손상된 피부장벽을 가지고 있어서 이를 더욱 자극함으로서 발생한다.

아토피 피부염은 소양증, 특징적인 병변분포, 특정 알레르기원에 대한 알레르기 반원 등이 특징적인 만성 염증성 피부질환이다. 미국에서는 약 10~20%의 인구에서 발생하는 것으로 알려져 있으며, 아시아에서는 그 빈도가 더 증가하는 것으로 보고되었다[7]. 아토피 피부염의 원인으로는 크게 유전적요인, 면역학적 요인 외에 최근에는 피부장벽 이상이 중요한 원인으로 지목받고 있다. 아토피 피부염 환자의 경우 정상인에 비해 ceramide 함량이 감소되고, pH가 증가하며 filaggrin 유전자의 돌연변이가 보고되었다[8]. 아토피 피부치료제로는 steroid 제제, 국소 면역조절제 및 항히스타민제 등이 사용되고 있으나 완전한 치료는 어려운 실정이다[9].

본 연구에서는 두충나무, 황벽나무의 등을 포함하는 수목추출물에서 항산화효과시험, 항균력 및 항 아토피 효과시험을 실시하여 화장품 및 피부질환 치료제로서의 가능성을 조사하고자 하였다.

2. 실 험

본 연구에서 사용한 수목추출물은 바이오메틱스에 의해 제공되었으며 두충나무, 황벽나무 등의 껍질을 건조시킨 후, 분쇄, 열수추출 및 숙성의 과정을 거쳐 제조되었다. 항산화력 시험은 DPPH 자유라디칼 소거법을 사용하여 측정하였다[10]. 100 μ l의 0.2 μ l의 DPPH(α , α -diphenyl- β -picrylhydrazyl, Sigma, USA)와 200 μ l의 목초액(농도범위: 0~50 μ l/ μ l)을 37 μ C에서 30 분간 반응시킨 후 흡광도를 ELISA reader(Synergy HT, BIOTEK, USA)로 520 μ l에서 측정하였다.

항균력 시험은 피부상재균인 Staphylococcus epidermidis와 여드름 유발균인 Propionibacterium acne를 이용한 원판확산법(disc diffusion method)을 사용하였다[11]. 실험 균주인 Staphylococcus epidermidis와 Propionibacterium acne(한국생명공학연구원 생물자원센터)를 1백금이 취하여 P. acne는 혐기성 단지(GasPak Jar, Sigma)를 이용한 GAM 당분해용 반유동배지(Sigma, USA)에, S. epidermidis는 TSB (Tryptic Soy Agar, Sigma, USA) 배지에 접종하여 배양하였다. 배

양이 끝난 배지를 1/10, 1/20, 1/50, 1/100으로 희석하여 평판 배지에 각각 도말하고 배양한 후 균의 배양 정도를 육안 판정하여 배양 농도를 결정하였다. 결정된 농도의 접종된 배지를 500 μl씩 평판 배지에 도말한 후 표면을 건조시키고, 멸균한 paper disc(Φ 6 mm, Whatman, England)에 수목추출물 30 μl 씩을 분주하여 용매를 말린 후 평판 배지 위에 고착시켰다. 37 °C에서 24시간 배양한 후 디스크 주변에 형성된 억제 환(clear zone) 지름을 측정하여 항균활성을 확인하였다. 대조군으로는 80% 에탄올을 사용하였다.

항 아토피효과 시험은 동물을 사용하여 다음과 같이 실시하였다 [12]. 생후 5주령의 무모생쥐(hairless mouse, 중앙실험동물) 40마리 를 구입하여 무처리군, 대조군, 실험군 각각 3군으로 분류하고 아토 피 유발 시약의 기제인 아세톤을 사용했을 시 실험값을 보정하기 위 해 아세톤 처리군을 4마리 분류하였다. 모든 무모생쥐는 실험 환경 에 적응하도록 1주일간 적응시켰다. 실험군과 대조군 총 24마리의 무모생쥐의 피부에 1% DNCB(2,4-dinitrochlorobenzene) 용액 200 μl 를 도포하여 일주일간 감작시켰다. 아세톤 처리군은 유발군과 대조 군에 적용한 물질과 동량으로 아세톤 만을 처리하였다. 그 후 실험 군과 대조군의 피부에 200 μl의 0.5% DNCB 용액을 매일 4주간 도 포하여 피부염증을 유발하였다. 유발 물질 도포 29일부터 실험군에 수목 추출물을 200 μl 씩 매일 14일간 도포하였고, 대조군은 기제 (물)를 동량 도포하였다. 수목추출물 도포 시작일과 도포 14일에 실 험군과 대조군, 무처리군을 에틸에테르로 마취한 후 복부 대동맥에서 채혈하여 혈청을 분리하고, Mouse IgE ELISA KIT(SHIBAYAGI, Japan)를 이용하여 혈청 내 항체 IgE의 농도를 측정하였다.

3. 결과 및 고찰

수목추출물의 항산화효과는 DPPH 자유라디칼 소거법으로 측정 되었으며 그 결과가 Fig. 1에 나타나 있다. 추출물의 농도는 전체 부피 중 수목추출물의 건조질량으로 계산되었다. 저 농도 범위에서는 수목추출물의 항산화효과가 대조군인 비타민 C나 다른 식물계 천연물에 비해 낮았으나, 농도가 1,000 μg/ml의 고농도에서는 우수한 항산화제인 비타민 C와 유사하였다[10-13].

수목추출물의 항여드름효과에 대한 실험 결과가 Fig. 2와 Table 1에 나타나 있다. 추출물이 우수한 항여드름소재가 되기 위해서는 일반 피부상재균에는 항균력이 적은 반면, 여드름 균인 Propionibacterium acne에 대한 선택적 향균성이 특히 중요하다[9]. 수목추출은 피부상 재균인 Staphylococcus epidermidis에 대해서는 낮은 항균력을 보이지만, 여드름 유발균인 Propionibacterium acne에 대해서는 높은 항균력을 보여주어, 항여드름소재로서 매우 우수한 특성을 보여주었다.

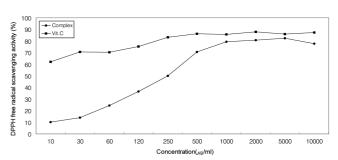


Fig. 1. Antioxidation effect of plant extracts measured by DPPH free radical scavenging assay.

Korean Chem. Eng. Res., Vol. 48, No. 6, December, 2010

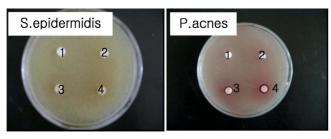


Fig. 2. Antibacterial effect of plant extracts(1. Ethanol, 2. 10 µg/ml, 3. 50 μ g/ml, 4. 80 μ g/ml).

Table 1. Antibacterial effect of plant extracts (paper disc diameter: 6

				(dilit: lillil)
Concentration	10 μg/ml	50 μg/ml	80 μg/ml	80% Ethanol
S. epidermidis	6.5	7	7	6
P. acnes	8	11	12	6



Fig. 3. Skin condition of hairless mouse before and after plant extracts treatment.

수목추출물의 항 아토피 효과를 측정하기 위해, DNCB 희석액을 무모생쥐의 피부에 29일간 도포하여 염증을 유발하였다. 29일째 (Day 0)부터 무모생쥐의 피부에 수목추출물을 도포하였으며, 도포 14일에는 외관상 거의 정상적인 피부상태를 회복하였다(Fig. 3).

무모생쥐의 항체 IgE의 농도변화는 무처리군의 경우 농도가 0.02 ug/ml로 수목추출물의 도포전과 거의 변화가 없었으며, 염증 유발 후 기제(물) 만을 14일 바른 대조군의 경우 IgE의 농도가 1.47 μg/ml인 반면 수목추출물을 바른 실험군의 경우 IgE의 농도가 1.24 μg/ml로 나타났다(Fig. 4). 수목추출물을 사용한 경우에는 기제 만을 바른 경

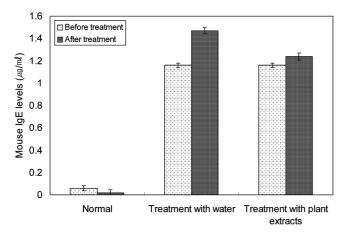


Fig. 4. IgE concentration of hairless mouse blood for normal, control and plant extracts treatment group.

Korean Chem. Eng. Res., Vol. 48, No. 6, December, 2010

우에 비해 IgE가 16% 감소하였으며, t-test 결과 유의성이 있는 것 으로 나타났다.

아토피 증상이 피부에서 심해지면 항체의 생성도 동시에 증가한 다. 따라서 수목추출물을 도포한 경우 항체의 농도가 감소했다는 사 실은 항 아토피 효과가 있음을 의미한다. 본 실험 결과수목추출물 을 도포한 무모생쥐는 14일 경에는 피부의 상태가 거의 정상상태를 회복하였고, IgE의 농도 또한 대조군에 비해 낮아져서, 수목추출물 은 항 아토피 소재로서 가능성이 높음을 알 수 있었다.

두충나무 껍질에는 혈압을 낮추는 배당체 성분인 pinoresinol glucoside가 들어 있으며, 잎에는 고무질과 chlorogenic acid이 들어 있는 것으로 알려져 있다[14]. 또한 황벽나무 속껍질에 0.6~2.5% 함 유된 berberine은 현대의학에서도 생약으로 폐렴균, 결핵균, 포도상 구균에까지 발육저지작용과 살균작용이 있을 뿐 아니라 식욕을 촉 진하는 효과까지 있다고 알려져 있다[15]. 따라서 수목추출물의 이 러한 약리성분이 본 연구에서 항여드름 및 항아토피 효과를 발휘하 는 것으로 추측된다.

4. 결 론

본 연구에서는 황벽나무, 두충나무 등이 함유된 수목추출물의 화 장품 및 피부질환 치료용 소재로서의 사용가능성을 검토하였다. DPPH 자유라디칼 소거법으로 측정한 항산화력 시험결과, 복합추출 물의 항산화력은 저농도에서는 비교적 낮았으나 1,000 μg/ml의 고 농도에서는 비타민 C와 유사한 활성을 보여주었다. 수목추출물은 피부상재균인 Staphylococcus epidermidis에 대해서는 항균력이 적 은 반면, 여드름 유발균인 Propionibacterium acne에 대해 특히 우 수한 항균력을 보여주는 선택적 항균력을 보유하여 항여드름소재로 서 매우 뛰어난 특성을 나타내었다. 무모생쥐를 이용한 항아토피 시 험결과, DNCB에 의해 유도된 피부염증을 수목추출물 도포 14일에 거의 정상적인 피부상태를 회복하게 하였으며, 혈액의 IgE 측정결 과 IgE의 농도는 1.24 μg/ml로 대조군에 비해 16%가 낮았다. 따라 서 수목추출물은 우수한 항여드름효과 및 항아토피 효과를 나타내어, 화장품 및 피부질환 치료용 소재로서 높은 가능성을 보여주었다.

감 사

본 연구는 2009년 경남생물산업 기술지원사업의 지원에 의한 것 입니다.

참고문헌

- 1. Korea Food and Drug Administration, http://www.kfda.go.kr/index.
- 2. Choi, H. J., Hwang, S. W., Min, K. M. and Jung, M.-J., Cosmetics Industry Analytical Report, Korea Health Industry Development Institute(2008).
- 3. Pharmacognosy Researchers, Modern pharmacognosy, Hak Chan Publishing, Seoul(2000).
- 4. Park, J. C., Functional Food and Oriental Medicine, Hyoilbooks, Seoul(2007).
- 5. Choi, E. H., "Acne and Skin Barrier," J. Skin Barrier Research, 8, 42-46(2006).

- 6. Ahn, B. K., Choi, E. H. and Lee, S. H., "The Pathogenesis of Acne," J. Skin Barrier Res., 4, 62-70(2002).
- 7. Ahn, S. Y., Ahn, S. K. and Lee, S. H., "Atopic Dermatitis and Skin Barrier," *J. Skin Barrier Res.*, **8**, 47-51(2006).
- 8. Yamato, A., Serizawa, S., Ito, M. and Sato, Y., "Stratum Corneum Lipid Abnormalities in Atopic Dermatitis," *Arch. Dermatol. Res.*, **283**, 219-223(1991).
- KDA Textbook Editing Board, *Dermatology*, 5th ed., Ryo Mook Gak, Seoul(2008).
- Kim, J. Y., Yang, H. J., Lee, K. H., Jeon, S. M., Ahn, Y. J., Won,
 B. R. and Park, S. N., "Antioxidative and Antiaging Effects of Jeju Native Plant Extracts (II)," J. Soc. Cosmet. Scientists Korea,

- 33(3), 165-173(2007).
- 11. Association of Official Analytical Chemists, A.O.A.C., *Official Methods of Analysis*, 15th ed., Washington DC.(1990).
- 12. Kang, K. J., "Anti-atopic Dermatitis Effect of *Prunus Yedoensis Matsum* Bark Extract," Master's thesis, College of Medicine, Jeju University(2006).
- 13. Kim, M. J., Lim, K. R., Jung, T. K. and Yoon, K.-S., "Anti-aging Effect of Astragalus Membranaceus Root Extract," *J. Soc. Cosmet. Scientist Korea*, **33**, 33-40(2007).
- 14. http://en.wikipedia.org/wiki/Traditional_Chinese_medicine.
- 15. http://en.wikipedia.org/wiki/Berberine.