

삼백초, 뽕나무 줄기, 닥나무 줄기 등을 함유한 복합수목추출물의 화장품소재 특성

정향리 · 김현우 · 김지혜* · 김진홍* · 김동욱†

인제대학교 제약공학과
621-749 경남 김해시 어방동 607번지
*바이오테크닉스
621-749 경남 김해시 어방동 인제대 성산관 F-1006
(2012년 1월 4일 접수, 2012년 2월 13일 채택)

Cosmetic Effect of Mixed Plant Extracts Including *Saururus Chinensis*, *Morus Bombycis* Stem and *Morus Papyrifera* Stem

Hyang Li Jeong, Hyun Woo Kim, Ji Hye Kim*, Jin Hong Kim* and Donguk Kim†

Department of Pharmaceutical Engineering, Inje University, 607 Eobang-dong, Gimhae-si, Gyongnam 621-749, Korea

*Biometrics, F-1006 Sungsan-building, Inje University, Eobang-dong, Gimhae-si, Gyongnam 621-749, Korea

(Received 4 January 2012; accepted 13 February 2012)

요 약

본 연구에서는 삼백초 추출물 25%, 뽕나무 줄기추출물 20%, 닥나무 줄기추출물 20% 등을 함유한 복합수목추출물의 화장품소재로서의 이용가능성을 검토하였다. 소재 시험으로는 세포독성시험, 엘라스타제 억제효과시험, 티로시나제 억제효과시험, 항산화효과시험 및 온도 안정성시험이 실시되었다. 복합수목추출물은 세포독성이 낮았으며, 우수한 엘라스타제 억제효과와 항산화효과를 보여주었으나 티로시나제 억제효과는 다소 낮았다. 추출물을 함유한 스킨, 로션 및 에센스 제형을 제조하여 온도 안정성시험 결과 스킨과 에센스 제형은 우수한 안정성을 보여주었으나 로션은 상분리가 관찰되고, 점도의 변화가 심하여 제형의 변경이 필요한 것으로 나타났다. 따라서 삼백초 추출물, 뽕나무 추출물 및 닥나무 추출물을 함유한 복합수목추출물은 화장품소재로서 응용 가능성이 높음을 알 수 있었다.

Abstract – In this study, plant extracts including 25% *Saururus chinensis*, 20% *Morus bombycis* stem and 20% *Morus papyrifera* stem were tested to use as possible cosmetic agent. As cosmetic effect test, cell toxicity test, elastase inhibition assay, tyrosinase inhibition assay, anti-oxidation assay and temperature stability test were done as cosmetic assays. Plant extract showed low cell toxicity, excellent elastase inhibition and anti-oxidation effect, however, tyrosinase inhibition effect was lower. Skin, lotion and essence formulation was made using plant extracts and temperature stability test was done. Skin and essence indicated good stability, however, lotion showed phase separation and severe viscosity variation, which means lotion formulation change. From the research, plant extracts including *Saururus chinensis*, *Morus bombycis* stem and *Morus papyrifera* stem were suitable for possible cosmetic agent.

Key words: *Saururus Chinensis*, *Morus Bombycis* Stem, *Morus Papyrifera* Stem, Cosmetic Effect, Safety Test

1. 서 론

국내 화장품시장은 2010년 말 기준으로 생산실적이 6조원으로 전년대비 16% 증가하였으며 수출은 약 6억 달러로 전년대비 44% 증가하는 등 매우 밝은 실적을 보여주고 있다[1]. 화장품 유형별로는 기초화장품류가 42%, 기능성화장품이 25%, 두발용제품류가 15%로서 큰 비중을 차지하고 있다. 국내 화장품법상 기능성화장품은 미백, 주름개선, 자외선차단 및 복합기능성만을 인정하고 있으며 10년 기

준으로 각각 2,900억원, 3,400억원, 4,700억원 및 4,200억원의 매우 큰 시장을 형성할 뿐만 아니라 전년 대비 매출액 증가율도 평균 22%로서 매우 급격한 성장세를 보이고 있다.

현재 한국 식품의약품안전청에서 고시된 주름개선 화장품소재는 아데노신, 레티놀, 레티닐팔미테이트 및 폴리에톡실레이티드레틴아마이드가 있으며, 이중 레티놀과 아데노신이 가장 많이 사용되고 있다[2]. 미백소재로 고시된 원료는 닥나무추출물, 알부틴, 에칠아스코빌에텔, 유용성감초추출물, 아스코빌글루코사이드, 마그네슘아스코빌포스페이드가 있으며, 알부틴이 가장 널리 사용되고 있다.

화장품 분야의 최신 트렌드는 전세계적인 천연유기농화장품의 열

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

기에서 보듯이 가급적이면 합성원료를 최소화하고 이를 천연물 특히 식물성 성분으로 대체하는 것이다. 화장품은 수성성분, 유성성분, 계면활성제 및 기타 성분들을 중심으로 20종 이상의 성분들이 혼합되어 있다[3]. 화학합성성분으로는 계면활성제, 방부제, 기능성화장품소재 등을 포함하여 다양한 성분들이 사용되고 있어서 전 세계의 대부분 화장품회사들이 위 성분들을 천연성분으로 대체하는 노력을 경주하고 있다. 특히 기능성화장품 분야는 매출 신장이 가장 크므로 더욱이 새로운 기능성화장품소재의 개발을 위해 화장품회사의 연구자들이 전세계의 식물, 해양, 미생물 등을 대상으로 시험하고 있다.

현재 미백소재로는 국화, 상백피, 어성초 등이 연구되었고, 주름개선 소재로서는 알로에, 녹차, 산사자, 연근, 태반 등이 주목을 받고 있다[4-6]. 일부 식물소재의 경우 효과는 좋으나 가격이 고가이거나, 소재의 대량획득에 문제가 있는 경우도 종종 있다. 우수한 화장품소재로서 이용되기 위해서는 효능이 우수할 뿐만 아니라 상업화를 위해 소재의 다량 구입이 용이하고 가격이 저렴할 필요가 있다.

본 연구에서는 새로운 화장품소재의 개발을 위해 삼백초, 뽕나무 줄기, 닥나무 줄기 등을 함유한 복합수목추출물의 화장품소재로서의 가능성을 검토하였다. 삼백초는 삼백초과에 속하는 다년생 초본식물로서 학명은 *Saururus chinensis*으로, 한방에서는 식물 전체를 말려 몸이 붓고 소변이 잘 안 나올 때 쓰고, 각기·황달·간염 등에도 사용되고 있다. 뽕나무는 뽕나무과에 속하는 낙엽교목의 식물로 학명은 *Morus bombycis*이며, 뽕나무의 잎은 누에를 기르는 데 이용되며, 열매는 술을 담그거나 식용으로 사용되고 있고, 뿌리껍질은 한방에서 해열·진해 및 이뇨제로 사용되고 있다. 닥나무는 뽕나무과의 낙엽활엽관목으로서 학명은 *Morus papyrifera*이며, 닥나무 줄기는 전통적으로 한지의 제조에 사용되어 왔고, 한방에서는 열매를 양기부족수종의 치료제로 사용한다. 닥나무 추출물은 식품의약품안전청에서 고시한 미백 기능성화장품소재이다.

본 연구에서는 삼백초, 뽕나무 줄기, 닥나무 줄기 등을 함유한 복합수목추출물로부터 소재의 안전성시험(세포독성시험), 효능효과시험 및 온도 안정성시험을 실시하여 화장품소재로서의 이용가능성을 검토하고자 하였다.

2. 실험

본 연구에서 화장품효과를 시험하고자 하는 복합수목추출물은 삼백초 추출물 25%, 뽕나무 줄기추출물 20%, 닥나무 줄기추출물 20%를 함유하고 있다. 복합 추출물은 시료를 추출 후 25~30 °C의 온도 조건에서 30일간의 숙성기간을 거치며, 본 연구에서 사용한 복합추출물은 바이오메딕스에 의해 제공되었다.

소재의 안전성시험을 위해 MTT assay가 사용되었다[8]. 96-well plate에 B16F10 mouse melanoma cell(한국세포주은행)을 1×10^4 cell/ml 씩 분주하여 24시간 배양 후 100~1,000 µg/ml의 농도로 희석한 추출물의 시료가 첨가된 새 배지로 교체하고 다시 24시간 동안 배양하였다. 여기에 MTT(3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide, Sigma) 5 mg/ml를 첨가한 후 37 °C, 5% CO₂ incubator(Sanyo, Japan)에서 배양 2시간 후 형성된 formazan을 DMSO로 녹이고, 490 nm에서 ELISA reader(PowerWave XS2, BioTek, USA)로 흡광도를 측정하였다. 세포생존율(cell viability)은 아래의 식으로 계산되었다.

$$\text{Cell viability}(\%) = \frac{(\text{Exp.} - \text{Blank})}{\text{Control}} \times 100 \quad (1)$$

주름개선효과 시험법으로는 엘라스타제 활성억제시험(elastase inhibition assay)을 실시하였다[9]; 0.2 M Tris-Cl buffer (pH 8.0) 170 µl에 시료 20 µl를 가한 다음, 기질 1.0 mM N-succinyl-(Ala)₃-p-nitroanilide (Sigma) 50 µl를 가하였고, 25 °C에서 10분간 배양한 후, 100~1,000 µg/ml로 희석시킨 추출물용액 20 µl와 2.5 U elastase (porcine pancreas solution) 10 µl를 첨가하여 25 °C에서 10분 동안 반응한 후 ELISA reader로 410 nm에서 흡광도를 측정하였다.

미백효과시험은 티로시나제 활성저해시험(tyrosinase inhibition assay)을 사용하였다[10]; 0.1 M sodium phosphate buffer (pH 6.8) 220 µl, 100~1,000 µg/ml의 농도로 희석시킨 추출물 20 µl와 2,000 U mushroom tyrosinase (5,370 U/mg, Sigma) 20 µl를 1.5 mM L-Tyrosine 40 µl와 혼합하고 37 °C에서 10분간 반응시킨 후 ELISA reader로 490 nm에서 흡광도를 측정하였다.

항산화효과 시험은 DPPH 자유라디칼 제거시험(DPPH free radical scavenging assay)이 사용되었다; 200 µl의 DPPH(α, α -diphenyl-*b*-picrylhydrazyl, Sigma, USA)에 100 µl 추출물을 실온에서 빛을 차단한 상태에서 10분간 반응시켰다. 그 후 ELISA reader (Synergy HT, BIOTEK, USA)로 517 nm 파장에서 흡광도를 측정하였다.

복합수목추출물을 함유한 스킨, 로션 및 에센스 제형의 화장품 시제품을 제작하여 온도 안정성 시험을 실시하였다. 스킨과 에센스는 추출물 원액 함량이 90%이었으며, 나머지는 각종 식물성 오일 및 다양한 추출물 등이 사용되었고, 로션은 추출물 원액함량이 15%였다. 온도는 4 °C, 실온 및 47 °C의 3 조건을 사용하였고, 측정기간은 28일이었다. 위의 조건에서 화장품의 외관상상의 물리적인 변화, pH 및 점도를 측정하여 안정성을 평가하였다. pH측정은 1 g의 화장품 제제와 9 g의 탈이온증류수를 섞은 후 실온에서 측정하였고, 점도측정은 Brookfield 점도계(LVDVI+, Brookfield, USA)를 사용하여 수목 추출물을 함유한 화장품 제형에서 Spindle 64, 30 rpm, 30 sec의 조건으로 측정하였다.

3. 결과 및 고찰

삼백초 추출물 25%, 뽕나무 줄기추출물 20%, 닥나무 줄기추출물 20%를 함유한 복합수목추출물의 안전성이 MTT assay를 이용하여

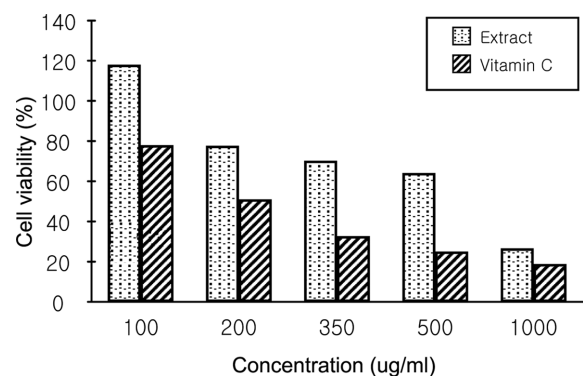


Fig. 1. Cell viability test (MTT assay) of mixed plant extracts including 25% *Saururus chinensis* extract, 20% *Morus bombycis* stem extract and 20% *Morus papyrifera* stem extract.

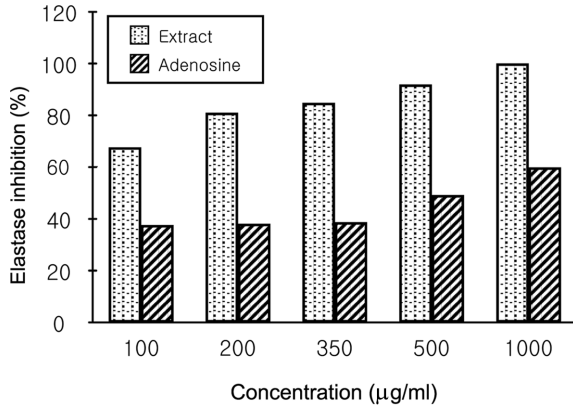


Fig. 2. Elastase inhibition effect of mixed plant extracts including 25% *Saururus chinensis* extract, 20% *Morus bombycis* stem extract and 20% *Morus papyrifera* stem extract.

시험되었으며 그 결과가 Fig. 1에 나타나 있다. 원액의 농도는 시료를 동결건조한 후 질량을 측정하여 결정하였다. 350 μg/ml 이하의 저농도 영역에서는 세포독성이 낮았으나 농도가 500 μg/ml 이상의 영역에서는 비교적 강한 세포독성을 나타내었다. 따라서 수목추출물을 이용하여 화장품제조에 사용할 경우 원액보다는 희석액을 사용하는 것이 바람직하다.

복합수목추출물에 대한 주름개선 효과를 엘라스타제 억제시험 (elastase inhibition assay)을 통하여 평가하였으며, 그 결과가 Fig. 2에 나타나 있다. 복합수목추출물의 엘라스타제 억제효과는 대조군인 아데노신과 비교시 매우 우수하였다. 100 μg/ml의 동일 농도에서 복합수목추출물은 68%의 억제효과를 나타낸 반면, 비교 대상으로 주름개선 소재로 널리 사용되는 연근, 돈 태반 추출물 들은 30~50% 정도의 엘라스타제 억제효과를 가진 것으로 보고되어 복합수목추출물의 주름개선효과가 매우 우수한 것으로 나타났다[9,11].

복합수목추출물의 미백효과가 티로시나제 억제시험(tyrosinase inhibition assay)으로 평가되었으며 그 결과가 Fig. 3에 나타나 있다. 추출물의 미백효과는 대조군인 알부틴 보다는 다소 낮았지만, 통상 천연 미백소재의 경우 200 μg/ml의 농도범위에서 티로시나제 억제효율이 대략 40~70% 정도인 점을 고려할 때 비교적 양호한 미백효과를 나타내었다[5,9,11].

복합수목추출물의 항산화효과가 DPPH 자유라디칼 소거실험을 통하여 측정되었다. 실험결과 복합수목추출물은 실험농도범위에서

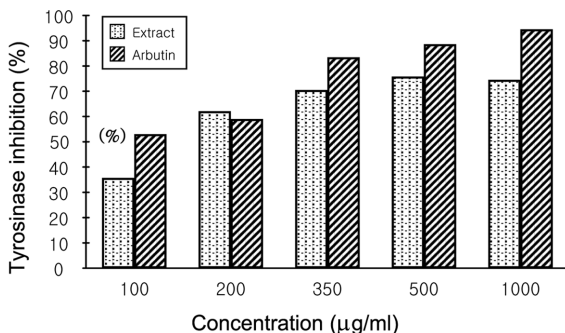


Fig. 3. Tyrosinase inhibition effect of mixed plant extracts including 25% *Saururus chinensis* extract, 20% *Morus bombycis* stem extract and 20% *Morus papyrifera* stem extract.

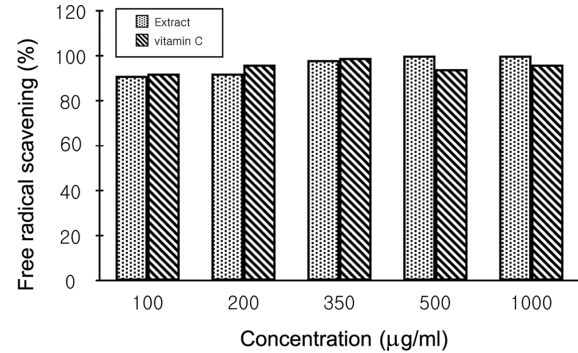


Fig. 4. Anti-oxidation effect of mixed plant extracts including 25% *Saururus chinensis* extract, 20% *Morus bombycis* stem extract and 20% *Morus papyrifera* stem extract.

비타민 C와 비교시 항산화효과가 매우 우수하였다. 비타민 C는 우수한 항산화효과를 보여 과거에는 화장품소재로 사용되었으나 현재는 안정성이 결여되어 그대로 사용되지는 않고 가지의 구조를 다소 바꾼 형태로 이용되고 있다[2,12].

복합수목추출물의 원료규격설정을 위해 원액의 pH, 점도, 비중의 물성을 측정하였으며 그 값이 각각 pH 5.1, 2 cP, 0.96을 나타내었다. 프로폴리스를 함유한 스킨(화장수), 로션 및 에센스를 제조하여 4, 25, 47 °C의 온도에서 28일간 저장하면서 제품의 온도 안정성시험을 실시하였으며 그 결과가 Fig. 5와 6에 나타나 있다. 25 °C의 온도에서 28일간 pH와 점도의 변화를 관찰한 결과 pH는 거의 안정적이었으나, 점도는 화장수와 에센스에서는 일정한 값을 유지하였으나 로션의 경우 그 변화가 심하였다(Fig. 5). 또한 47 °C의 온도에서 실시한 안정성 시험 결과 스킨과 에센스 제형에서는 안정한 단일상을 유

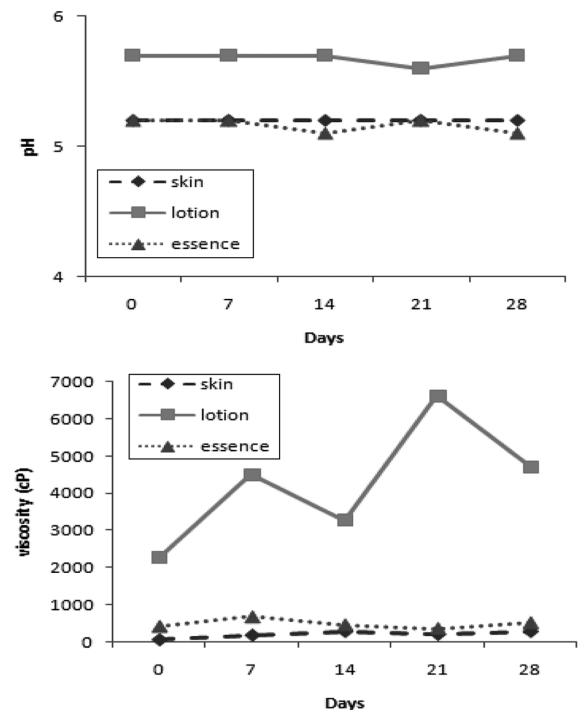


Fig. 5. (a) pH variation, (b) viscosity variation for skin, lotion and essence including 25% *Saururus chinensis* extract, 20% *Morus bombycis* stem extract and 20% *Morus papyrifera* stem extract during 28 days at 25 °C.

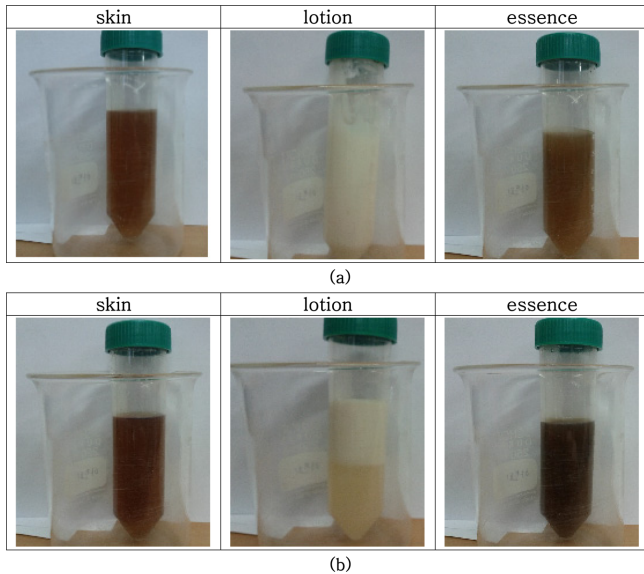


Fig. 6. Skin, lotion and essence formulation before (a), after (b) 28 days of temperature stability test.

지하였으나 로션제형에서 상분리가 관찰되었다(Fig. 6). 따라서 수목 추출물을 함유한 로션제형은 처방전의 변경이 필요한 것으로 보인다.

본 연구결과 삼백초 추출물 25%, 뽕나무 줄기추출물 20%, 닥나무 줄기추출물 20%를 함유한 복합수목추출물은 세포독성이 낮았고, 엘라스타제 억제효과와 항산화 효과가 매우 우수하였으나 티로시나제 억제효과는 다소 작았다. 또한 온도안정성 시험결과 스킨, 에센스 제형은 상분리가 없고, pH, 점도가 안정적이었으나, 로션 제형의 경우 상분리가 관찰되고, 점도의 변화가 심하여 제형의 변경이 필요한 것으로 나타났다. 따라서 삼백초, 뽕나무 및 닥나무 등을 함유한 복합 수목추출물은 화장품소재로서 응용가능성이 높음을 알 수 있었다.

4. 결 론

본 연구에서는 삼백초 추출물, 뽕나무 줄기추출물, 닥나무 줄기추출물 등을 함유한 복합수목추출물에서 안전성시험, 주름개선효과시험, 미백효과시험, 항산화효과시험 및 온도안정성 시험을 실시하여 화장품소재로의 이용가능성을 검토하였다. 세포독성시험(MTT assay) 결과 복합수목추출물의 독성이 적었다. 엘라스타제 억제효과는 100 µg/ml의 농도에서 68%로 상당히 우수하였고, 항산화효과 역시 매우 높았으나, 미백효과는 다소 낮았다. 복합수목추출물의 온도 안정성 시험결과 스킨과 에센스는 안정성이 우수하였으나 로션의 경우 상분리가 관찰되고 점도의 변화가 심하여 제형의 변경이 필요함을 보여주었다.

감 사

본 연구는 2010년도 중소기업기술혁신개발사업의 연구비지원으로 수행되었습니다.

참고문헌

1. Korea Health Industry Development Institute, <http://www.khidi.or.kr/www/run.do>(2011).
2. Korea Food and Drug Administration, <http://www.kfda.go.kr/index.html>(2011).
3. Elsner, P. and Mailbach, H. I., *Cosmeceuticals and Active Cosmetics*, 2nd ed., Taylor & Francis, New York, NY(2005).
4. Rudolph, T., Buhle, P., Beck, J., Plucker, F., Reiffen, K.-A. and Buchholz, H., "Hydroxy Dimethoxybenzyl Malonate: A Novel Anti-(photo)aging Concept," *IFSCC*, **9**, 227-234(2006).
5. Kim, H. S., Lee, C. W., Kim, D. H., Kim, G. O., Kim, S. J. and Chang, I. S., "The Study on the Whitening Effects and Antioxidant Activity of Various Citrus Fruits," *J. Soc. Cosmet. Scientists Korea*, **33**, 69-77(2007).
6. Kim, T., Kim, H. J., Cho, S. K., Kang, W. Y., Baek, H., Jeon, H. Y., Kim, B. and Kim, D., "Nelumbo Nucifera Extracts as Whitening and Anti-Wrinkle Cosmetic Agent," *Korean J. Chem. Eng.*, **28**(1), 424-427(2011).
7. Roh, W. S. and Hu, S. H., *Functional Foods*, Hyoil, Seoul(2000).
8. Mosmann, T., "Rapid Colorimetric Assay for the Cellular Growth and Survival Application to Proliferation and Cytotoxic Assay," *J. Immun. Method*, **65**, 55-65(1983).
9. 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**, 165-173(2007).
10. Ishihara, Y., Oka, M., Tsunakawa, M., Tomita, K., Hatori, M., Yamamoto, H., Kamei, H., Miyaki, T., Konishi, M. and Oki, T., "Melanostatin, A New Melanin Synthesis Inhibitor. Production, Isolation, Chemical Properties, Structure and Biological Activity," *J. Antibiotics*, **44**, 25-43(1991).
11. Kim, B., Kim, T., Kang, S., Baek, H., Cheon, H. Y. and Kim, D., "Functional Cosmetic Effect of Porcine Placenta," *Korean Chem. Eng. Res. (HWAHAK KONGHAK)*, **48**(3), 327-331(2010).
12. Lee, K. H. and Park, S. N., "Antioxidative Activities and Anti-aging Effects of Geranium Nepalense Extracts," *J. Soc. Cosmet. Scientists Korea*, **34**(1), 25-35(2008).