

감초, 연교, 황련, 울피 복합물의 항염증 효능 및 화장품의 안정성 평가

장영아 · 김보애¹ · 김동희² · 이진태*

대구한의대학교 화장품약리학과

¹목원대학교 테크노과학대학 생의학화장품학부

²한국한방산업진흥원 한방화장품팀

Anti-inflammatory Effects of *Glyrrhizia uralensis* FISCH, *Forsythia suspensa* Vahl, *Coptis chinensis* Franch and Chestnut Shells Mixture and stability Evaluation of Cosmetics

Young-Ah Jang*, Bo-Ae Kim¹, Dong-Hee Kim² and Jin-Tae Lee*

Department of Cosmeceutical Science, Daegu Haany University, Gyung-san, 712-749, Korea

¹Mokwon University, College of Sciences & Technology, Division of Biomedicinal & Cosmetics, Doanbuk-ro 88, Seo-gu, Daejeon 302-729, Korea

²Department of Horticulture, Yeungnam University, Gyeongsan 712-749, Korea

After verifying anti-inflammatory efficacy of herb mixture extract(HME) from *Glyrrhizia uralensis* FISCH, *Forsythia suspensa* Vahl, *Coptis chinensis* Franch and chestnut shells and adding HME to serum and cream, we finally has verified dosage form's pH and stability of viscosity in various conditions from this study. The experiment for verifying anti-inflammatory effect of HME was verified through Raw 264.7 cells induced by lipopolysaccharide(LPS). HME suppressed the production of inducible NO synthase (iNOS) in Raw 264.7 cells stimulated by LPS. HME also suppressed the level of iNOS over 94% at 50 µg/ml concentration and reduced Cyclooxygenase(Cox-2) in dose dependent manner. To check the stability of the cosmetics containing HME, we made cosmetics using HME and kept them at 0°C, 25°C, 40°C and in cycle chamber and sun light for 28 days. And then we measured pH and Viscosity and found that they were stable in dosage form and material with no great change in contrast with a control group. According to these results, HME were found excellent in anti-inflammatory effect and considered worth being used as cosmetic material of anti-inflammatory.

Key words: Anti-inflammatory, Cosmetic, Herb mixture extract, Stability

I. 서 론

화장품업계에서 식물성화장품은 물론 유기농화장품의 시장규모가 지속적으로 확대되고 있으며 사용되는 유효성분들도 식물유래의 천연물의 유용성을 기반으로 하여 여러 가지 형태로 화장품에 배합되고 있다(김기호 등, 2004; 박정미 등, 2008). 화장품은 피부에 일상적으로 사용되는 것으로 다양한 주위 환경인자와 스트레스로 인해 피부트러블을 일으킬 수 있으므로 최근에는 피부자극완화 물질이 함유된 제품이 인기이다(김현숙 등, 2012).

염증은 해로운 주위환경, 즉 세균과 같은 외부의 물리적, 화학적 자극에 의한 생체를 보호하는 생리적인 반응이다(김미진 등, 2009). 대식세포는 다양한 숙주반응에 관여하여 항

상성 유지를 하는 것으로 알려져 있으며 lipopolysaccharide (LPS)와 같은 자극을 받으면 염증 반응 전사 인자인 nuclear factor kappaB (NF-κB)를 활성화 시킨다(Shew *et al*, 1993; Kwqamata *et al*, 2000). 염증반응이 일어나면 inducible nitric oxide synthase (iNOS)에 의해서 만들어지는 nitric oxide (NO)와 cyclooxygenase-2 (COX-2)에 의해서 과량 만들어지는 prostaglandin E2(PGE2) 등과 같은 염증 촉진 인자들을 생성시켜 통증, 부종, 열 등의 염증반응을 유발하고, 염증 부위로 면역세포의 이동을 촉진 시킨다(이용석 등, 2004; Higuchi *et al*,

*Corresponding author: Jin-Tae Lee

Tel : +82-10-5594-8079

E-mail : yaviol@nate.com

접수일(2014년 7월 24일)/수정일(2014년 10월 6일)/채택일(2014년 10월 13일)

1990). Nitric oxide synthase (NOS)에는 neuronla NOS(nNOS), endothelia NOS(eNOS), inducible NOS(iNOS)가 있는데, 이중 iNOS가 염증반응에 관여한다(McCatney-Francis *et al.*, 1993; Hippeli & Elastner, 1999) NO는 정상적인 상태에서는 방어작용과 신경전달물질 및 혈관 조절 등의 기능을 하지만 염증과정에서 생성된 NO는 강한 독성을 갖고 있어 다양한 세포 및 조직에 손상을 일으켜 만성염증과 자가면역질환의 원인이 된다(Miyataka *et al.*, 2002; Kang, 2011). COX는 arachidonic acid를 prostaglandins로 전환하는 효소로 COX-1과 COX-2로 나뉘어 지는데, 이는 다양한 세포에서 다른 발현 경향을 나타낸다. COX-1은 정상적인 생체기능에 작용하지만, COX-2는 염증반응 부위에서 발현이 된다(Masferrer *et al.*, 1994). 이처럼 염증매개인자들을 효과적으로 조절하는 것이 염증성 질환 뿐만 아니라 여드름, 아토피 피부의 치료 및 완화를 시킬 수 있는 방법으로 제시되고 있다.

감초(*Glycyrrhiza uralensis* FISCH)는 단맛 성분인 glycyrrhizin을 함유하여 감미료로 사용되고 있으며(KO *et al.*, 2007) 알레르기(Kumagai *et al.*, 1967), 만성간염(Kiso *et al.*, 1984), 바이러스성 질환(Pompei *et al.*, 1979)등에 좋은 효과가 있는 것으로 보고되었다. 연교(*Forsythia suspensa* Vahl)는 물푸레나무과(Oleaceae)에 속하는 의성개나리(*Forsythia viridissima* Lindley)의 열매로 화학성분으로는 phillyrin(forsythine), phillygenin, (+)-pinorensinol, (+)-pinorensinol- β -d-glycosides등의 lignan를 주로 함유하고 있으며 한방에서는 종창, 임질, 이, 치질, 결핵등의 치료제로 알려져 있다 (김태정, 1996; Kim *et al.*, 2011). 황련(*Coptidis Rhizoma*)은 미나리아재비과에 속하는 다년생 본초인 황련과 동속식물의 뿌리줄기를 말린 것으로 항산화 효과(Kim *et al.*, 2000), 항균효과(Seo, 2006), 항염효과(Yamahara, 1976)를 가지고 있다. 율피(*Castanea crenata* inner shell)는 피부를 청결하고 아름답게 하며 노화를 방지하는 것으로 알려져 있으며(Yagi, 1986) 밤의 가공과정 중에 식품소재로서의 이용도가 개발되지 않아 대부분 폐기처분하고 있어 화장품소재로서의 그 이용가치가 높다고 할수 있다(최해연, 주신윤, 2012). 본 연구는 감초, 연교, 황련의 항산화 연구(장영아, 이진태, 2014) 및 율피 추출물의 활성연구(전동하 등, 2012)에 이은 후속연구로 화장품소재로 활용하기 위한 4가지 시료의 한방복합물(HME)을 이용하여 LPS로 염증을 유도하여 활성화된 Raw264.7 대식세포에서 NO의 생성 억제 및 염증관련 단백질인 iNOS 및 COX-2의 발현에 미치는 영향을 연구하여 염증성 여드름 및 아토피 완화제로 사용가능한 화장품 소재로서의 가능성을 알아보았다. 또한 한방복합물이 첨가된 화장품을 제조하여 제형에 추출물이 물리, 화학적으로 영향을 미치는지 알아보기 위해 다양한 조건하에 pH, 점도를 측정하여 제형의 안정성을 평가하였다.

II. 재료 및 방법

1. 재료 및 시료추출

실험에 사용한 감초, 연교, 황련은 음니허브에서 구입하였고 70%에탄올로 추출하였다. 율피는 (재)대구테크노파크 바이오 헬스융합센터에서 제공받아 70% 아세톤으로 추출하였다. 율피는 선행연구를 통해 활성 효능이 우수한 70% 아세톤 추출을 진행하였다.(김희영, 2012) 추출은 시료 중량의 10배 양을 가하여 실온에서 24시간 침지하여 상정액과 침전물을 분리하여 동일한 방법으로 3회 반복 추출하였다. 천연 복합물을 원심분리 및 여과, 농축(rotary vacuum evaporator, HS-10SP, Hanshin, Korea)하고 동결(FD5525, Ilshin, Korea) 건조해서 냉장실에 보관하였고 본 실험에 사용한 시료는 감초, 연교, 황련, 율피는 1:1:1:0.05 비율로 혼합하여 사용하였다.

2. 세포 배양

마우스의 대식세포주인 Raw264.7 cell은 한국세포주은행(KCLB)에서 분양받았으며 세포배양을 위해서 항생제(100 U/mL Penicillin, 100 U/mL Streptomycin)를 첨가하고 FBS가 10% 비율로 함유된 DMEM 배지에서 온도 37°C, 5% CO₂ 조건에서 배양하였다.

3. Nitric oxide(NO) 저해능 측정

Raw 264.7 cell을 6 well plate에 2×10^6 개 배양하여 confluence가 80%일 때, PBS로 2번 세척한 후 무혈청 배지를 사용하여 12시간 이상 배양한 다음 LPS 1 μ g/ml을 control 군을 뺀 모든 well에 넣어서 자극시켰다. 2시간 후에 HME를 농도별로 처리하고 NO 생성량은 24시간 후에 상등액을 모아 griess reagent로 10분간 반응시킨 후에 ELISA reader를 이용하여 540 nm에서 흡광도를 측정하였다.

4. Western Blot을 이용한 iNOS, COX-2 활성측정

세포를 1×10^6 cells/ml의 농도로 2 ml을 6 well plate에 접종하고 cell의 confluence가 80%때에 무혈청 배지로 교환한 후 일정 시간동안 cell을 안정화 시키고 HME와 LPS(1 g/ml) 처리하여 24시간 배양하였다. 그 후 상등액은 제거한 후 PBS로 2회 세척한 후에 scrapper로 cell을 수확한 후에 lysis buffer를 넣어서 세포를 용출시켰다. 수확된 단백질은 BSA(bovine serum albumin)으로 작성한 standard curve에 OD값을 대입시켜서 단백질량을 보정하였다. 그 후에 coomassie blue로 염색하여 재보정한 후에 western 시료로 사용하였다. SDS-polyacrylamide gel을 이용하

Table 1. Ingredients used to prepare the serum and cream

serum			cream		
INCI Name	Content (%)		INCI Name	Content (%)	
	S-Control	S-HME		C-Control	C-HME
Water	Up to 100	Up to 100	Water	Up to 100	Up to 100
Disodium edta	0.02	0.02	Arachidyl behenyl alcohol	0.86	0.86
Glycerin	3.00	3.00	Glyceryl stearate	0.15	0.15
Butylene glycol	5.00	5.00	C14-22 alcohols	0.86	0.86
Sodium hyaluronate	1.00	1.00	Cetearyl alcohol	0.86	0.86
Xanthan gum	0.15	0.15	Polyoxyethylene sorbitan monostearate	0.31	0.31
Dipotassium glycyrrhizate	0.10	0.10	Sorbitan sesquioleate	0.12	0.12
Biosaccharide gum	0.50	0.50	Sorbitan stearate	1.84	1.84
Albutin	0.10	0.10	Hydrogenated lecithin	0.12	0.12
Ascorbic acid	0.005	0.005	Sodium stearyl glutamate	0.12	0.12
Betaine	3.00	3.00	Phytosphingosine	0.06	0.06
Carbopol	0.20	0.20	Popylparaben	0.05	0.05
Triethanolamine	0.20	0.20	Cetyl alcohol	1.00	1.00
Alcohol	2.00	2.00	Triethylhexanoin	2.00	2.00
Methyl paraben	0.20	0.20	Stearic triglyceride	2.00	2.00
Propyl paraben	0.01	0.01	Squalane	3.00	3.00
Phenoxyethanol	0.15	0.15	Stearic triglyceride	3.68	3.68
Paradise 400	0.04	0.04	Tocopheryl acetate	1.00	1.00
Retinyl palmitate	0.005	0.005	Dimethicone	0.20	0.20
Tocopheryl acetate	0.01	0.01	Behenylalcohol(and)glycerylstearate(and)phospho lipids(and)glycinedoja)soybean)sterols	0.61	0.61
Peg-60 Hydrogenated Castor oil	0.60	0.60	Sorbitan olivate	0.25	0.25
Beta glucan	0.20	0.20	Disodium edta	0.02	0.02
Aloe liquid	0.20	0.20	Betaine	3.00	3.00
Centella asiatica extract	0.50	0.50	Methylparaben	0.20	0.20
Phiellinus linteus extract	0.10	0.10	Panthenol	0.50	0.50
Glycyrrhiza uralensis extract	0.10	0.10	Dipotassium glycyrrhizate	0.05	0.05
Epigallocatechin gallate	0.01	0.01	Butylene glycol	3.00	3.00
HME extract		0.10	Glycerin	4.00	4.00
			Xanthan gum	0.30	0.30
			Beta glucan	1.00	1.00
			Centella asiatica extract	3.00	3.00
			Phenoxyethanol	0.20	0.20
			Aloe barbadensis leaf juice	2.00	2.00
			HME extract		0.10

여 전기영동한 후에 gel를 떼어내어서 transfer buffer에 10~15 분 정도 담근 후 transfer buffer에 스펀지 2장을 깔고 그 위에 여과지 1장을 올려놓았다. 3 mm 종이와 nitrocellulose filter도 buffer에 담근 후 양쪽 스펀지와 3 mm 종이 사이에 nitrocellulose 종이 그리고 gel를 잘 밀착시킨 후에 전극을 꽂아서 transfer 하였다. 190 mA에서 2시간 이상 transfer한 후에 ponceau S에 2분

정도 담근 후에 band를 확인하였다. PBS로 2회 씻은 후 꺼내서 blocking buffer로 overnight시켜 background는 제거시키고 2번 씻은 후에 1:1,000으로 1차 antibody를 붙인 후 2차 antibody를 1:1,000 으로 희석하여 반응하였다. 2차 antibody를 붙인 후, PBS tween으로 수차례 세척한 후에 ECL kit(Amersham Pharmacia, England)를 사용하여 필름에 옮긴 후, 단백질을 발현

량을 확인하였다.

5. 화장품의 제조

Serum과 Cream을 제조하기 위해 사용한 원료들은 Table 1과 Table 2와 같다. Serum을 제조하기 위해서 수상과 유상을 각각 85°C까지 가열한 후 agi-mixer를 이용하여 2,500 rpm 5분간 유화, Carbopol을 첨가 후 2,500 rpm 10분간 유화시켜 제조하였다. 45°C까지 냉각시킨 후 추출물을 첨가하고 마지막으로 agi-mixer를 이용하여 2,000 rpm 5분간 믹싱하였다. Serum에 추출물이 첨가된 군을 S-HME으로 표기하기로 하였고 첨가되지 않은 군을 S-Control로 표기하였다. Cream을 제조하기 위해서 수상과 유상을 80도 이상 가열한 후 수상에 유상을 첨가하여 Homo mixer를 이용하여 2,500 rpm 5분간 교반한 후 냉각하면서 미리 교반해둔 Xanthan Gum을 첨가하면서 충분히 유화시켜 제조하였다. 45°C 이하로 냉각시킨 후 추출물을 첨가하고 마지막으로 Silkem 1650 와 Phenoxyethanol 그리고 DS-Cerix 5를 첨가 후 agi-mixer를 이용하여 2,500 rpm 5분간 믹싱하였다. Cream에 추출물이 첨가된 군을 C-HME으로 표기하기로 하였고 첨가되지 않은 군을 C-Control로 표기하였다.

6. 화장품의 안정성 평가실험

안정성을 평가하기 위하여 Serum과 Cream을 각각 pH, 점도 측정 하였다. pH 측정은 pH meter(Hanna Co., Romania)사의 pH meter를 이용하여 다양한 조건(0°C, 25°C, 40°C, cycle chamber, sun light)에 보관한 S-HME, S-Control, C-HME, C-Control의 pH를 3회 반복 측정한 후 평균을 구하였다. 측정하기 전에 유리전극은 미리 염기성 완충액이나 증류수에 수 시간 담그어 두고 pH meter는 전원에 연결하고 10분 이상 두었으며 검출부는 증류수로 잘 씻어 가볍게 닦아 낸 다음 사용하였다. 점도 측정은 Viscometer(Brookfield LV, Brookfield Engineering Laboratories, Inc., MA, USA)를 이용하여 측정하였다. 다양한 조건(0°C, 25°C, 40°C, cycle chamber, sun light)에 보관한 Serum과 Cream을 스피들(spindle) No.4으로 6 rpm에서 1분간 측정하였으며, 기포의 영향을 줄이기 위해 제조 시 탈포를 하였고 3회 반복하여 평균값을 얻었으며, 1회 측정 후 3시간 뒤에 다시 측정하여 3주 동안 측정된 값을 나타내었다. 즉 점도 값에 영향을 줄 수 있는 요인을 최소화하여 측정하였다.

7. 통계처리

결과는 3회 반복실험에 대한 평균±표준편차(standard deviation; SD)로 나타내었으며, 통계학적 분석은 SPSS19.0 프로그램을 이용하여 p값이 0.05, 0.01 미만일 때 유의한 것으로 판정하였

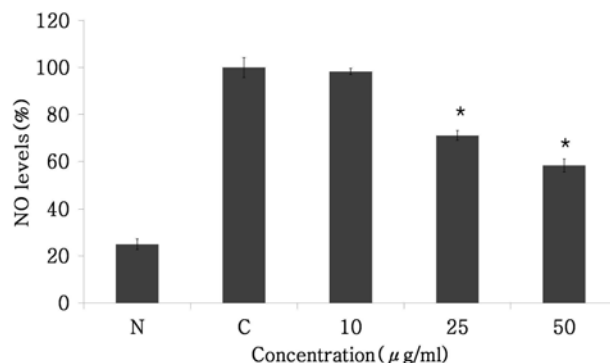


Fig. 1. Inhibitory effects of HME on the production of nitric oxide Raw 264.7 cells. Raw 264.7 cells were cultured with LPS (1 μg/ml) in the presence or absence of HME for 24 h to determine the level of NO. N: LPS not induced group, C: LPS induced group. The data represent the mean±SD of three separate experiments (significant as compared to control. *p<0.05).

다. 분산분석(analysis of variance, ANOVA)후 tukey test로 다중 비교를 실시하였다.

III. 결과 및 고찰

1. Nitric oxide(NO) 저해능

HME의 항염증 효과를 확인하기 위해 NO생성 저해활성을 측정한 결과는 Fig. 1과 같다. NO는 아질산염을 측정하는 griess reagent를 이용해 간접적으로 측정할 수 있으며, 염증반응 부위에서 NO의 과다발현은 많은 염증과 자가 면역 질환의 매개물질로 작용한다(Southan, Szabo, 1996). 또한 NO는 농도에 따라 세포기능 유지에 중요한 작용을 하기도 하고 세포독성을 일으키기도 한다. (Kim *et al.*, 2004) 생성된 NO량을 Control로 하여 LPS를 1 μg/ml 농도로 처리한 군을 100%로 두고 LPS를 처리하지 않은 대조군과 비교했을 때 LPS 처리 군에서 NO량이 상당히 증가했음을 알 수 있었고, HME를 농도별로 처리했을 때 농도가 증가할수록 NO생성량은 감소하였다. HME를 처리한 군은 LPS 단독군에 비해 25 g/mL 농도에서 약 30%, 50 g/mL 농도에서 약 40% 감소하였음을 알 수 있었다. 따라서 항염증 효능을 입증하기 위해 NO생성과 관련이 있는 iNOS, COX-2 단백질 발현을 알아보기 위한 Western Blot 실험을 진행하였다.

2. Western Blot

iNOS, COX-2 단백질 발현을 알아보기 위한 Western Blot 실험결과는 다음과 같다.(Fig. 2.) Raw 264.7 cell만 단독 배양한 무처리군에서는 iNOS, COX-2 단백질의 발현이 약하나 LPS를 1 μg/ml 농도로 처리한 군은 무처리군에 비해 현저히 증가

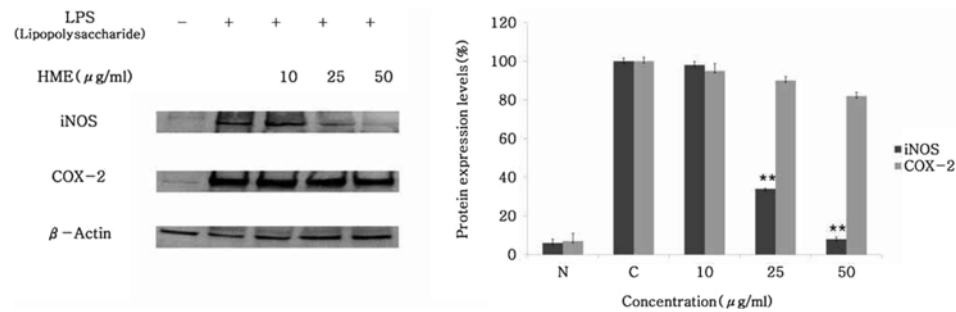


Fig. 2. Inhibitory effects of HME on the protein levels of iNOS and COX-2 in Raw 264.7 cells. Raw 264.7 cells(1×10^6 cells/ml) were pre-incubated for 24 h, and the cells were stimulated with LPS($1 \mu\text{g/ml}$) in the presence of HME (10, 25, 50 $\mu\text{g/ml}$) for 24 hr. N: LPS not induced group, C: LPS induced group. Data represent the mean \pm S.D. with three separate experiments. One-way ANOVA was used for comparisons of multiple group means followed by t-test (significant as compared to control. * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$).

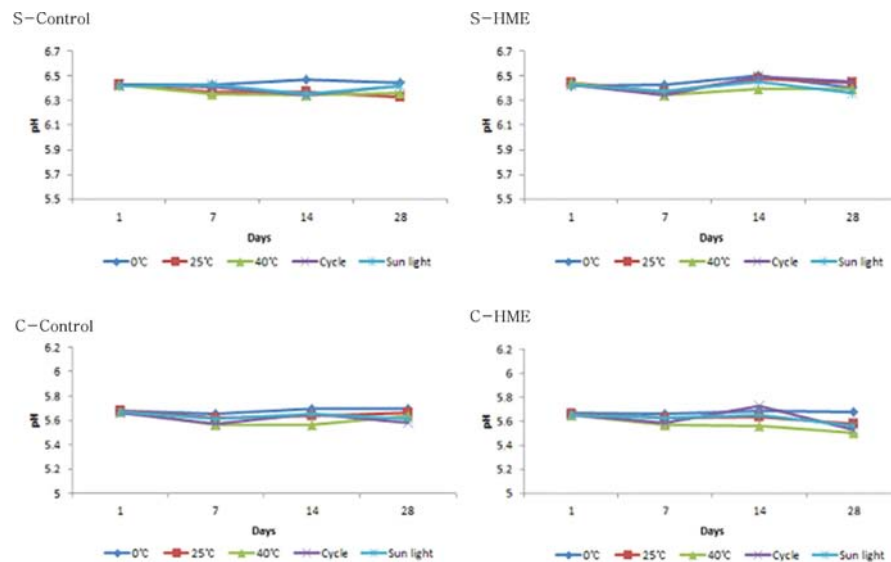


Fig. 3. pH change of the cosmetics at different conditions. (S-Control: Serum not containing HME, S-HME: Serum containing HME, C-Control: Cream not containing HME, C-HME: Cream containing HME)

하였다. HME 처리 군은 염증발현 유도물질인 LPS 처리군과 비교해 보았을 때 iNOS의 경우 25 $\mu\text{g/ml}$ 농도에서 65% 이상, 50 $\mu\text{g/ml}$ 농도에서 94% 이상의 높은 발현 억제효과를 나타냄을 확인할 수 있었으며, COX-2의 경우 50 $\mu\text{g/ml}$ 농도에서 15%의 발현 억제효과를 나타냄을 확인할 수 있었다. HME에 의한 iNOS 단백질발현 억제는 NO형성 억제와 유사한 경향을 나타내어 NO형성 억제가 iNOS 단백질 발현 저해를 경유한 것임을 알 수 있었다.

3. 화장품의 안정성 평가

화장품은 식품과 달리 그 사용기간이 긴 품목으로 식약청에서는 화장품을 저장기간에 따른 안정성을 검사하도록 하고 있다. Fig. 3는 다양한 조건(0°C, 25°C, 40°C, cycle chamber, sun light)에서의 저장기간에 따른 pH변화를 나타낸 결과이다. S-

Control군은 pH $6.33 \pm 0.05 \sim 6.43 \pm 0.03$ 과 S-HME군은 pH $6.34 \pm 0.08 \sim 6.50 \pm 0.04$ 로 나타났으며 C-Control군은 pH $5.56 \pm 0.02 \sim 5.70 \pm 0.05$ 과 C-HME군은 pH $5.53 \pm 0.02 \sim 5.73 \pm 0.03$ 로 나타나 비교적 좁은 구간 내에서 변화하여 모두 안정함을 나타내었다. 이는 화장품 중의 액상 제품류(파운데이션 포함), 눈화장용 제품류, 크림류(크린싱 및 셰이빙은 제외) 및 립스틱류에 대한 pH는 3~9이어야 한다는 식품의약품 안전청(화장품의 대한 pH 기준법, 1999)에 부합된다. pH와 함께 화장품의 물리, 화학적으로 품질의 특성을 알아보기 위해 시행되는 안정성 평가항목에는 점도측정이 있다. 점도는 액체가 일정방향으로 운동할 때 그 흐름에 평행한 평면의 양측에 내부 마찰력으로서 온도 및 유체의 종류에 따라 다르며 시간, 기포 등에 따라 달라질 수 있다(최선주 등, 2011). Fig. 4는 pH 측정과 동일한 조건에서의 점도의 변화를 나타낸 결과이다. S-Control의 초기점도는 20,000 cPs 전후로 온도가 높아짐에 따라 점도가 조금씩 증가

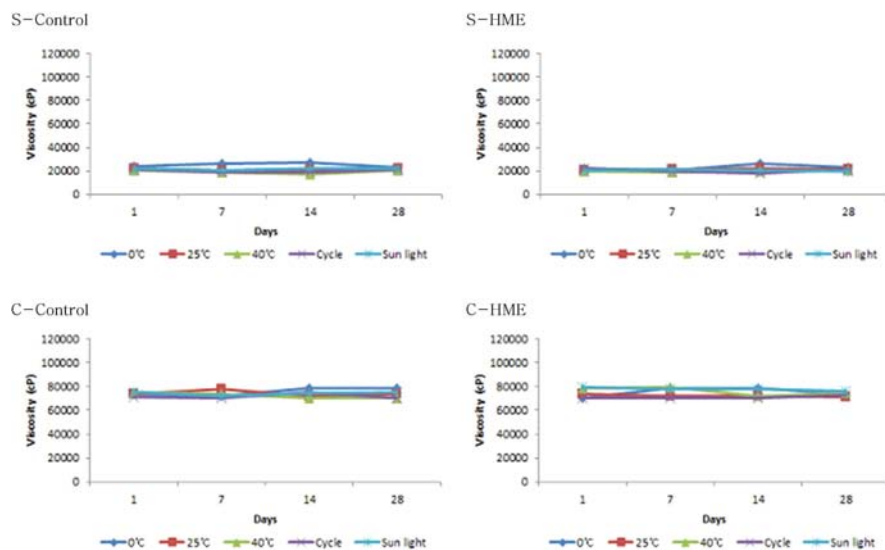


Fig. 4. Viscosity change of the cosmetics at different conditions. (S-Control: Serum not containing HME, S-HME: Serum containing HME, C-Control: Cream not containing HME, C-HME: Cream containing HME)

하는 것을 볼 수 있으나 시간이 경과함에 따라서는 큰 차이가 나지 않았다. 추출물을 첨가한 S-HME군도 S-Control과 비교했을 때 점도의 큰 차이가 나타나지 않아 추출물이 점도에 큰 영향을 주지 않은 것으로 확인되었다. C-Control의 점도는 71,000~76,000cPs C-HME의 점도는 72,000~79,000 cPs로 비교적 높은 안정성을 나타내었다.

IV. 결 론

한방 복합추출물의 항염증 검증을 위한 연구를 토대로 추출물을 첨가한 화장품을 제조하였고 제형의 안정성 테스트를 통해 화장품 소재로서의 가능성을 알아보았으며 다음과 같은 결론을 얻었다. 세포 내 HME를 처리한 후 NO생성량을 확인한 결과 추출물을 농도별로 처리했을 때 농도 의존적으로 NO생성이 감소하였다. 추출물을 처리한 군은 LPS 단독 군에 비해 25 µg/ml 농도에서 약 30%, 50 µg/mL 농도에서 약 40% 감소하였다. NO생성량과 관계가 있는 iNOS단백질의 발현량을 Western blot 실험을 통해 알아본 결과 25 µg/ml 농도에서 65% 이상, 50 µg/ml 농도에서 94% 이상의 높은 항염증 효능을 나타내었고 COX-2의 경우 50 µg/ml 농도에서 15%의 효능을 나타내었다.

HME를 첨가한 Serum, Cream의 안정성 테스트 결과 다양한 조건(0°C, 25°C, 40°C, cycle chamber, sun light)에서의 저장기간에 따른 pH, 점도 변화에 HME 무첨가 군에 대비해 큰 변화가 없어 제형 및 소재의 안정함을 확인하였다. 이상 화장품에 한 가지 이상의 추출물이 혼합되어 사용되고 있는 점에서 볼 때 본 연구에서 사용한 감초, 연교, 황련, 율피의 한방 복합추출

물은 Raw264.7 cell에 적용하여 세포독성이 없는 범위 내 NO 생성 및 iNOS, COX-2 염증관련 단백질을 저해하여 항염 효능이 우수함을 확인할 수 있었고 추출물이 첨가된 화장품의 제형에서 pH, 점도가 안정함을 나타내어 항염증 화장품소재로 활용이 가능함을 시사한다.

감사의 글

본 연구는 산업통상자원부에서 수행하는 연구(과제번호: R0002972)의 일환으로 수행된 논문입니다.

참고문헌

- 김기호, 고강일, 강은정, 양은경, 박수남. (2004). 웰빙산업에서의 천연물 연구 동향. **대한화장품학회지**, **30**, 329-343
- 김미진, 임경란, 윤경섭. (2009). 연교를 함유한 처방단 추출물들의 항염증 효과. **대한화장품학회지**, **35**(4), 277-285
- 김태정. (1996). 한국의 자원식물. 서울, 서울대학교 출판부, p. 262
- 김현숙, 정은영, 이혜영. (2012). 마누카 꿀의 보습효과와 피부 손상 회복 효과. **한국미용학회지**, **18**(2), 397-403
- 김희영 (2012). 율피의 항염증 효과에 관한연구. 대구한의대학교 석사학위논문, pp. 22-34.
- 박정미, 이진영, 박태순, 현석준, 김한희, 조영제, 권오준, 손애량, 김동석, 안봉전, 조영제, 권오준, 손애량, 김동석. (2008). 산벚나무(*Prunus sargentii* R.) 수피의 화장품활성에 관한 연구. **한국응용생명화학회**, **51**, 70-78
- 식품의약품 안전청.(1999). 화장품 제조업 및 제조(수입) 품목허가 등 처리지침. 식약청 고시, 제 99-24호
- 이웅석, 주혜경, 문태철, 이은경, 장영동, 이승호, 손종근, 백석환, 장현욱. (2004). 프로페논 화합 물의 배양 대식세포에서 NFκ-

- B활성화 억제제를 통한 NO 및 TNF- α 생성억제. 영남대학교 약품개발연구소 연구업적집 14(0), 139-143
- 장영아, 이진태. (2014). 감초, 연교 황련의 항산화 및 피부상재균에 대한 항균력 조사. **한국미용학회지**, 20(2), 247-252
- 전동하, 장영아, 김희영, 김수진, 김진철, 김세현, 권대준, 한상익, 이진태. (2013). 울피추출물의 사람 비만세포주 사이토카인 발현 억제 효과. **대한본초학회지**, 28(2), 55-60
- 최선주, 김소영, 정윤주, 구창섭, 하병집, 채희정. (2011). 연잎 추출물을 함유한 화장품의 안정성 평가. **한국생물공학회지**, 26, 83-86
- 최해연, 주신윤. (2012). 울피 분말을 첨가한 쿠키의 항산화 활성 및 품질 특성. **한국식품영양학회지**, 25(2), 224-232
- Higuchi M, Hisgahi N, Taku H and Osaea T. (1990). Cytolytic mechanisms of activated macrophages. Tumor necrosis factor and L-arginine-dependent mechanisms act synergistically as the major cytolytic mechanisms of activated macrophage. **J. Immunol.**, 144, 1425-1431.
- Hippeli S and Elastner EF. (1999). Inhibition of biochemical model reactions for inflammatory processes by plant extracts; A review on recent developments. **Free Radic. Res.**, 31, 81-87
- Kang CH, Choi YH, Choi IW, Lee JD and Kim GY. (2011). Inhibition of lipopolysaccharide-induced iNOS, COX-2, and TNF- α expression by aqueous extract of *Orixa Japonica* in RAW 264.7 cells via suppression of NF- κ B activity. **Trop. J. Pharm Res.**, 10, 161-168
- Kim DT, Kim JS, Choe YU and Kim YK. (2011). The Combined anti-apoptotic effect from tamiflu and pinorelinol of forsythia fructus extract against influenza virus infection. **Kor. J. Pharmacogn.**, 42(1), 9-14
- Kim JY, Jung KS and Jeong HG. (2004). Suppressive effects of the kahweol and cafestol on cyclooxygenase-2 expression in macrophages. **FEBS Lett.**, 569, 321-326.
- Kim YJ, Lee MJ, Park JW, Kim JK, Choi DY and Kim CH. (2000). Antioxidant Activity of water-Extract from *Coptis chinensis* Franch. **Kor. J. life science**, 10(3), 241-246
- Kiso Y, Tohkin M, Hikino H, Hattori M, Sakamoto T and Namba T. (1984). Mechanism of antihepatotoxic activity of glycyrrhizin I: Effect on free radical generation and lipid peroxidation. **Planta. Med.**, 50, 298-302
- KO BS, JANG JS, HONG SM, SUNG SR, LEE JE, LEE MY, JEON WK and PARK SM. (2007). Changes in components, glycyrrhizin and glycyrrhetic acid, in Raw *Glycyrrhiza uralensis* Fisch, modify insulin sensitizing and Insulinotropic Actions. **Biosci. Biotechnol. and Biochem.**, 71(6), 1452-1461
- Kumagai A, Nanaboshi M, Asanuma Y, Yagura T and Nishino K. (1967). Effect of glycyrrhizin on thymolytic and immunosuppressive action of cortisone. **Endocrinol. Jpn.**, 14, 39-42
- Kwqamata H, Ochiai H, Mantani N and Terasawa K. (2000). Enhanced expression of inducible nitric oxide synthase by Juzen-taiho-to in LPS activated RAW 264.7 cells, a murine macrophage cell line. **Am. J. Chin. Med.**, 28, 217-226
- Masferrer JL, Zweifel BS, Manning PT, Hauser SD, Leahy KM, Smith WG, Isakson PC and Seibert K. (1994). Selective inhibition of inducible cyclooxygenase 2 in vivo is antiinflammatory and nonulcerogenic. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA.**, 91, 3228-3232.
- McCatney-Francis N, Allen JB, Mizel DF, Albina JE, Xie QW, Nathan CF and Wahl SM. (1993). Suppression of arthritis by an inhibitor of nitric oxide synthase. **J. Exp. Med.**, 178, 749-754
- Miyataka M, Rich KA, Ingram M, Yamamoto T and Bing RJ. (2002). Nitric oxide, anti-inflammatory drugs on renal prostaglandins and cyclooxygenase-2. **Hyperten.**, 39, 785-789.
- Pompei R, Flore O, Marcialis MA and Pani A. (1979). Loddo B. Glycyrrhizic acid inhibits virus growth and inactivates virus particles. **Nature**, 281, 689-690
- Santos-Gomes PC, Seabra RM, Andrade PB and Fernandes-Ferreira M. (2003) Determination of phenolic antioxidant compounds produced by calli and cell suspensions of sage(*Salvia officinalis* L.). **J. Plant. Physiol.**, 160, 1025-1032
- Seo HS. (2006). The Experimental Study on Antibacterial Potency of Coptidis rhizoma extract on Staphylococcus aureus & Staphylococcus epidermidis. **J. Kor. Orien. Med. I Ophthalmol. and Otolaryngo. and Dermato.**, 19(2), 71-76
- Shew RL, Papka RE, McNeill DL and Yee JA. (1993). NADPH-diaphorase-positive nerves and the role of nitric oxide in CGRP relaxation of uterine contraction. **Peptides**, 14, 637-641
- Southan, G.J and Szabo, C. (1996). Selective pharmacological inhibition of distinct nitric oxide synthase isoforms. **Biochem. Pharmacol.**, 51, 383-394
- Yagi A, Kanbara T and Morinobu N. (1986). The effect of tyrosinase inhibition for aloe extract. **Planta Medica.**, 53, 517-9.
- Yamahara J. (1976). Central depressive action of Coptidis rhizoma and its constituents. **Nipp. Yaku. Zas.**, 72(7), 899-908