

한방목초액의 항산화 및 항 아토피 효과

김타곤 · 노희정 · 전상희 · 김강배* · 김동욱†

인제대학교 제약공학과
621-749 경남 김해시 어방동 607번지
*놀란바이오
621-749 경남 김해시 어방동 인제대 성산관 F-1009
(2010년 5월 20일 접수, 2010년 6월 5일 채택)

Anti-oxidation and Anti-atopic Dermatitis Effect of Herbal Wood Vinegar

Tagon Kim, Hwa Jung Nho, Sang Hui Jun, Kang Bae Kim* and Donguk Kim†

Department of Pharmaceutical Engineering, Inje University, 607, Obang-dong, Gimhae-si, Gyeongnam 621-749, Korea
*Nollan Bio, F-1009, Sungsan-building, Inje University, Gimhae-si, Gyeongnam 621-749, Korea
(Received 20 May 2010; accepted 5 June 2010)

요 약

본 연구에서는 대나무, 계피, 생강 등 8종의 한약재를 포함한 한방목초액의 소재특성을 시험하여 화장품 및 피부질 환용 의약품에의 응용가능성을 조사하였다. 목초액의 항산화력은 DPPH 자유라디칼 소거법으로 측정되었으며 50 µg/ml의 농축목초액 농도에서 97%의 매우 높은 항산화능을 보여주었다. 목초액의 항균력은 원판확산법으로 시험되었으며, 피부상재균인 *Staphylococcus aureus*에 대해 우수한 항균력을 보여주었다. 목초액의 미백효과는 tyrosinase 활성억제시험법으로 측정되었으며 대조군인 비타민 C에 비해 매우 낮아서 미백효과는 미미하였다. 목초액의 안전성 시험은 MTT assay에 의해 측정되었으며, 세포 독성이 비교적 높은 것으로 나타났다. 목초액의 화장품소재 안정성 시험 결과 색, 향, 외관 및 pH에서 큰 변화가 없어서 매우 안정하였다. 무모생쥐를 이용한 항 아토피 시험결과, 목초액은 DNCB에 의해 유도된 피부염증을 9일 쯤 거의 정상상태로 회복시켰으며, 피부내 IgE의 농도도 대조군에 비해 30% 감소시켜 항 아토피 효과가 우수한 것으로 나타났다. 따라서 목초액은 항산화력, 항균력 및 항 아토피 효과가 우수하여 화장품소재나 피부질환치료제로서의 응용 가능성이 큼을 알 수 있었다.

Abstract – In this study, herbal wood vinegar including *Bambusoideae*, *Cinnamomi Cortex*, *Zingiberis Rhizoma* was tested to see possibility for cosmetic or skin related medicine. Anti-oxidation effect of herbal wood vinegar was tested by DPPH free radical scavenging activity, and showed 97% inhibition rate at 50 µg/ml. Anti-bacterial effect was tested by disc diffusion method, and it indicated strong anti-bacterial activity against normal skin flora *Staphylococcus aureus*. Whitening effect was measured by tyrosinase inhibition assay, and it was lower compared with vitamin C. Stability test was done by MTT assay, and cell toxicity was relatively high. Stability was also checked, and there was not significant change in color, aroma, appearance and pH during storage. Anti-atopic dermatitis test was done by hairless mouse and herbal wood vinegar recovered damaged skin to almost normal condition after 9 days of application. IgE concentration in herbal wood vinegar treated mouse was also reduced 30% compared with control. From the study, herbal wood vinegar showed good anti-oxidation, anti-bacterial and anti-atopic dermatitis effect, and had promising application in cosmetic or skin related medicine.

Key words: Herbal Wood Vinegar, Anti-Oxidation, Antibiotic, Anti-Atopic Dermatitis, Safety

1. 서 론

아토피 피부염은 주로 영유아기에 시작하는 가려움을 동반하는 만성재발성 습진질환으로서 연령에 따라 특징적인 병변의 분포와 양상을 보인다[1]. 아토피 피부염은 전 세계적으로 증가추세에 있다. 국내의 정확한 발생빈도는 추정하기 어렵지만 유병률은 꾸준히 증

가하고 있으며, 대략 10~20% 정도로 본다. 발병원인은 유전, 알레르기, 피부장벽의 이상, 피부감염, 대기오염, 모유 수유감소, 생활방식의 서구화, 정신적 스트레스 등 매우 다양하다. 특히 아토피에는 세균, 바이러스, 진균 감염 등이 흔히 동반되며, 특히 피부상재균인 *Staphylococcus aureus*가 생산하는 독소가 피부염을 악화시키는 것으로 알려져 있다.

목초액은 나무로부터 숯을 만드는 과정에서 나오는 연기를 역회시켜 채취한 뒤, 6개월 이상 숙성시켜 독성과 유해물질을 제거한 수

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

용성의 액체를 말한다[2]. 목초액의 80~90%는 수분이고 나머지 10~20%가 유기화합물이다. 이중 초산이 주성분(3~7%)이며 200 여종의 다양한 성분을 함유하고 있는 것으로 밝혀졌다. 대략적인 목초액의 중요 구성 성분은 유기산류, 페놀류, 카르보닐 화합물, 알코올류, 중성 및 염기성 분획으로 구분할 수 있다. 목초액의 유기산은 pH에 직접적으로 영향을 미치는 성분들이며, 페놀류는 주로 목재의 구성 성분인 lignin이 열분해되어 생성되는 것으로 목초액의 자극적인 냄새의 주요원인이다. 목초액의 성분은 탄화법이나 원목의 종류, 가마의 종류에 따라 차이가 난다. 목초액은 농업, 식품보존제, 환경오염 처리 및 의약품 원료 등 다양한 용도로 사용되고 있으며, 무좀·아토피 피부염에 효과가 있는 것으로 알려져 있다[3-5].

놀란바이오에서는 다년간의 연구를 통하여 대나무, 계피, 생강 등 8종의 한약재를 사용하여 목초액을 개발하였다. 대나무(*Bambusoideae*)는 중의학인 신농 본초경에서 해소와 상기, 중앙, 해열에 효과가 있다고 전해져 내려오며, 동의보감에서는 뇌졸중과 심신안정에 효능이 있다고 전해져 내려온다[6]. 계피(*Cinnamomi Cortex*)는 혈액순환을 촉진시켜 흉복부의 냉증을 제거하며 식욕을 증진시키고 소화를 촉진하며, 위장의 경련성 통증을 억제하고 위장관의 운동을 촉진해 가스를 배출하고 흡수를 좋게 하기도 하며, 장내의 이상발효를 억제하는 방부효과도 있는 것으로 알려져 있다[7]. 생강(*Zingiberis Rhizoma*)은 한방에서 뿌리줄기 말린 것을 건강(乾薑)이라는 약재로 쓰는데, 소화불량·구토·설사에 효과가 있고, 혈액을 촉진하며, 항염증과 진통 효과가 있는 것으로 알려져 있다[6]. 이상의 문헌자료에서부터 목초액에는 항산화성분, 항균성분, 혈액순환촉진 등 피부에 유용한 성분이 다량 함유되어 있어 화장품 및 의약품 소재로서의 가능성이 매우 높다.

따라서 본 연구에서는 놀란바이오에 의해 개발된 목초액을 사용하여 항산화효과시험, 항균효과시험, 미백효과시험, 안전성 시험, 안정성 시험 및 항 아토피 효과시험을 실시하여 화장품 및 의약품소재로서의 이용가능성을 조사하였다.

2. 실험

2-1. 화장품 소재 시험

본 연구에서 사용한 목초액과 농축목초액은 놀란바이오에 의해 제공되었다. 농축목초액은 수증기추출기를 이용하여 목초원액을 정제, 타르, 메탄올, 페놀 등 유해 물질을 제거한 목초액을 의미한다.

항산화력 시험은 DPPH 자유라디칼 소거법(DPPH free radical scavenging assay)을 사용하여 측정하였다[8]. 100 μ l의 0.2 mM DPPH(α, α -diphenyl- β -picrylhydrazyl, Sigma, USA)와 200 μ l의 목초액(농도범위: 0-50 μ l/ml)을 37 °C에서 30분간 반응시킨 후 흡광도를 ELISA reader(Synergy HT, BIOTEK, USA)로 520 nm에서 측정하였다. DPPH 자유라디칼 소거율(%)은 다음과 같이 계산하였다.

$$\text{DPPH inhibition(\%)} = [1 - (\text{Exp.} - \text{Blank}) / \text{Control}] \times 100 \quad (1)$$

항균력 시험은 피부상재균인 *Staphylococcus aureus*를 이용하여 원판확산법(disc diffusion method)을 사용하였다[9]. Tryptic soy agar(TSA, Sigma, USA) 배지에 *Staphylococcus aureus*(한국생명공학연구원 생물자원센터)균을 1.2×10^6 cfu 개 분주하였다. 각 시료는 1 M NaOH를 사용하여 pH를 7로 맞춘 뒤 121 °C에서 15 분간 멸균하였다. 균을 도말한 TSA 배지에 각 시료를 50 μ l씩 종이원판

(paper disc)에 흡수시키고, 용매를 완전히 증발시킨 후 표면에 놓아 밀착시킨 후, 37 °C에서 24시간 호기성 배양하였다. 균의 증식이 억제된 종이원판의 투명영역을 조사하여 항균활성을 측정하였다.

미백효과 시험은 tyrosinase 활성억제시험법(tyrosinase inhibition assay)을 사용하였다[10,11]. 0.1 M sodium phosphate buffer(pH 6.8) 220 μ l, 1.5 mM mushroom tyrosinase(5,244 U/mg, Sigma, USA) 20 μ l와 500~8,000 μ g/ml의 농도로 희석시킨 목초액 20 μ l를 더하고, L-tyrosine(2,000 U/ml, Sigma, USA) 40 μ l를 혼합한 후 37 °C에서 10분간 반응시키고 ELISA reader로 490 nm에서 흡광도를 측정하였다.

목초액의 안전성 시험은 사람섬유아세포를 이용한 MTT assay를 사용하여 실시하였다[12]. 96-well plate에 사람섬유아세포(human fibroblast cell) CCD-986sk를 2×10^4 cell/ml 씩 분주하여 24시간 배양 후, 3.1~100 μ g/ml의 농도로 희석한 목초액이 첨가된 새 배지로 교체하고 다시 24시간 동안 배양하였다. 여기에 5 mg/ml의 MTT((4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide, Sigma, USA)를 첨가한 후 37 °C, 5% CO₂ 배양기에서 배양 2시간 후 형성된 fomazan을 DMSO로 녹이고, 595 nm에서 ELISA reader로 흡광도를 측정하였다.

소재의 온도 안정성시험은 목초액을 사용하여 16일 동안 상온과 45 °C의 온도 조건에서 색, 향, 외관 및 pH의 변화를 관찰하였다.

2-2. 항 아토피 효과 시험

항 아토피효과 시험은 동물을 사용하여 다음과 같이 실시하였다[13]. 생후 7주된 암컷 무모생쥐(hairless mouse, 중앙실험동물) 21마리를 구입 후 1주일간 사육실에서 안정시켰다. DNCB(1-Chloro-2,4-dinitrobenzene, Sigma, USA) 무처리군, DNCB 처리군, DNCB 처리 후 목초액 처리군으로 각각 7마리씩 나누어서 1% DNCB 용액 100 μ l를 등 부위에 도포하여 감각 유도하였다. 7일 후 0.5% DNCB 용액 50 μ l를 다시 도포하였으며(day 0) 이후 2일 간격으로 0.5% DNCB용액 100 μ l를 36일간 도포하여 피부염을 유발하였다. 피부염이 유발된 실험군에 목초액을 100 μ l 씩 21일간 도포하고, 대조군에는 기체를 동량 도포하여 육안적인 변화를 관찰하였다. 목초액 처리 21일 경과 후 실험동물을 ethyl ether로 마취한 후 복부 대동맥에서 채혈하여 혈청을 분리하고, Mouse IgE ELISA KIT(SHIBAYAGI, Japan)를 이용하여 혈청 내 IgE의 농도를 측정하였다.

3. 결과 및 고찰

3-1. 목초액의 화장품 효능효과

목초액, 농축목초액의 항산화력은 DPPH 자유라디칼 소거법으로 실험되었으며, 그 시험결과가 Fig. 1에 나타나 있다. 목초액의 농도가 증가하면 항산화효과가 증가하였으며 50 μ g/ml의 농도에서 목초액은 93%, 농축목초액은 97%의 매우 높은 항산화능을 보여주었다. 실험결과는 항산화활성이 매우 우수한 비타민 C와 비교되었으며, 25 μ g/ml 이상의 농도 영역에서는 항산화활성이 대조군이 비타민 C와 유사하였다. 목초액의 항산화활성은 한방 식물 추출물과 비교해 볼 때도 매우 우수하였다[8,14,15].

목초액과 농축목초액의 *Staphylococcus aureus*에 대한 항균력 실험결과가 Table 1에 나타나 있다. 목초액은 clear zone이 7.6 mm, 농축목초액은 8.9 mm로 농축목초액의 항균활성이 보다 뛰어났다.

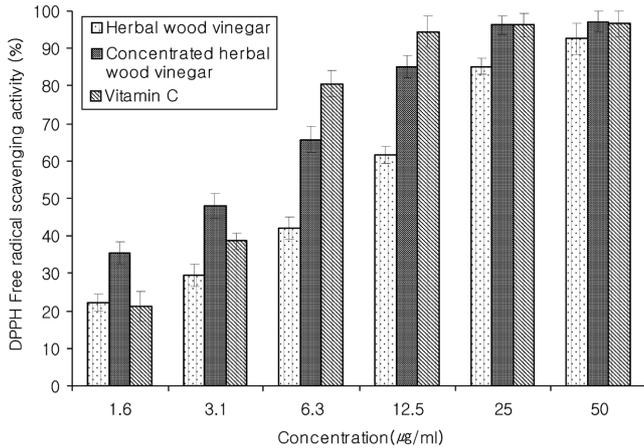


Fig. 1. Anti-oxidation effect of herbal wood vinegar measured by DPPH free radical scavenging assay.

Table 1. Antibiotic activity of herbal wood vinegar. Paper disc diameter: 6 mm

Item	Clear zone(mm)
herbal wood vinegar	7.6
Concentrated herbal wood vinegar	8.9
Penicillin	50
Distilled water	6

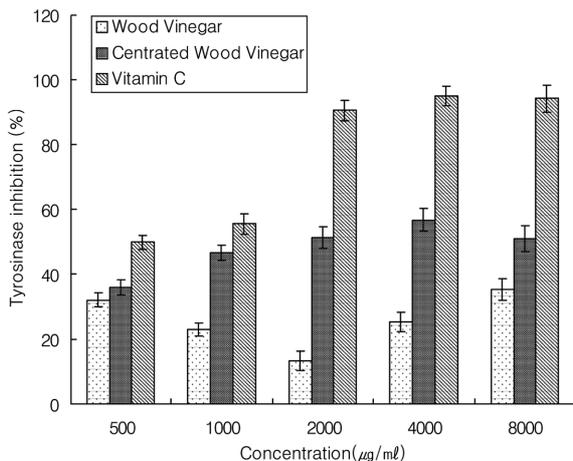


Fig. 2. Whitening effect of herbal wood vinegar measured by tyrosinase inhibition assay.

반면, 물과 같이 항균활성이 전혀 없는 경우에는 clear zone이 종이 원판 직경과 동일한 6 mm로 변화가 없었다. 따라서 목초액은 피부 상재균인 *Staphylococcus aureus*에 대해 상당한 항균력을 보여주어서 보다 많은 자료가 축적될 경우 화장품용 방부제/항균제로서 사용 가능성이 있다. 목초액에는 매우 다양한 성분이 함유되어 있으나 목초액의 항균, 향미생물 효과는 주로 산류와 페놀 화합물에 기인한 것으로 알려져 있다[2,3].

목초액과 농축목초액의 미백효과는 tyrosinase 활성억제효과를 이용하여 측정되었으며, 그 결과가 Fig. 2에 나타나 있다. 농축목초액이 목초액 원액보다 미백효과는 우수하였으나, 대조군인 비타민 C에 비해 매우 낮았다. 따라서 목초액의 미백효과는 약한 것으로 판단된다.

목초액의 안전성 시험은 MTT assay를 사용하였으며 그 실험결

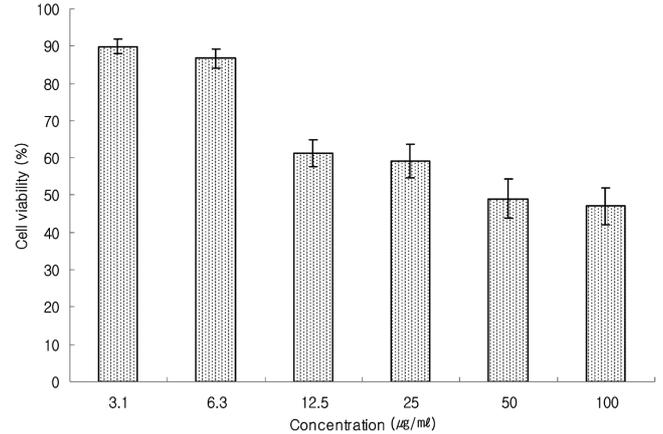


Fig. 3. Safety test of herbal wood vinegar measured by MTT assay.

Table 2. Stability test for herbal wood vinegar

item	room temperature	45 °C
0 day		
color	light brown	light brown
aroma	plant extract aroma	plant extract aroma
appearance	transparent liquid	transparent liquid
pH	2.86	2.86
4 day		
color	light brown	light brown
aroma	plant extract aroma	plant extract aroma
appearance	transparent liquid	transparent liquid
pH	2.74	2.63
8 day		
color	light brown	light brown
aroma	plant extract aroma	plant extract aroma
appearance	transparent liquid	transparent liquid
pH	2.72	2.61
12 day		
color	light brown	dark brown
aroma	plant extract aroma	plant extract aroma
appearance	transparent liquid	transparent liquid
pH	2.72	2.59
16 day		
color	light brown	dark brown
aroma	plant extract aroma	plant extract aroma
appearance	transparent liquid	transparent liquid
pH	2.78	2.65

과가 Fig. 3에 나타나 있다. 목초액의 농도 6.3 µg/ml에서 세포 생존율은 87%를 보여주었으며, 세포 생존율은 저 농도 범위에서는 양호하였으나, 농도가 증가함에 따라 크게 감소하였다. 타 천연물의 시험결과와 비교시 목초액은 독성이 비교적 높은 것으로 나타났다 [8]. 따라서 목초액을 화장품 소재로 이용할 경우 일정한 농도 이하로 사용하는 것이 바람직하다.

목초액에 대해 16일 동안 실온과 45 °C의 온도에 노출하여 색, 향, 외관 및 pH의 변화를 관찰하였으며 그 결과가 Table 2에 나타나 있다. 목초액은 16일간 pH 2.6~2.9의 상태를 유지하였으며 색, 향, 외관 및 pH에서 큰 변화가 없었다. 따라서 목초액은 화장품소재로서 우수한 안정성을 보여주었다.

3-2. 목초액의 항 아토피 효과

DNCB를 무모생쥐에 도포하여 피부의 염증을 유발하였으며, 36일 경과 후 피부의 상태는 Fig. 4(a) 보여지는 것처럼 염증이 매우 심하였다. 36일째 부터농축목초액과 기제인 증류수를 무모생쥐 피



Fig. 4. Skin condition (a) after DNCB treatment, (b) after 9 days of concentrated herbal wood vinegar and water treatment.

부에 도포하였으며 피부 상태의 변화가 Fig. 4(b)에 나타나 있다. 목초액 도포 후 9일 째는 무모생쥐의 피부상태가 거의 정상상태로 회복되었으나, 증류수 만을 도포한 경우에는 아직도 상당한 염증이 남아있었다.

많은 피부염에서 피부의 상태가 악화될수록 항체인 IgE의 농도가 증가하고, 상태가 호전되면 IgE가 감소된다. 따라서 피부내 IgE의 농도를 측정하면 피부의 개선상태에 대한 좋은 지표가 될 수 있다. 목초액 도포 후 21일 째 날 무모생쥐를 ethyl ether로 마취한 후 복부 대동맥에서 채혈하여 혈청을 분리하고, Mouse IgE ELISA KIT(SHIBAYAGI, Japan)를 이용하여 혈청내 IgE를 측정하였으며 그 결과가 Fig. 5에 나타나 있다.

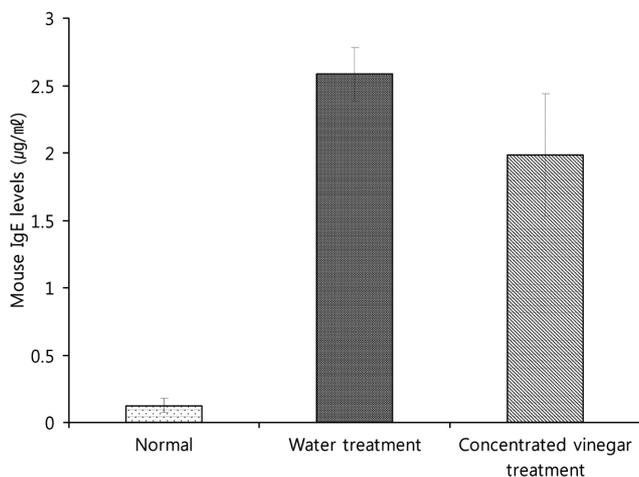


Fig. 5. IgE concentration for each group of hairless mouse measured by IgE ELISA KIT.

처음부터 피부염증을 유도하지 않은 무모생쥐의 IgE 농도는 0.126 µg/ml 이었으며, DNCB를 도포하여 피부염증을 유도한 후 기재인 증류수만 염증부위에 바른 경우 IgE의 농도는 2.582 µg/ml, 상처부위에 목초액을 도포한 경우 IgE의 농도는 1.982 µg/ml로 나타났다. 목초액을 사용한 경우에는 기재 만을 도포한 경우에 비해 IgE가 30% 감소하였다. 따라서 목초액은 피부의 염증을 신속하게 회복시킬 뿐만 아니라, 아토피 등 피부염과 밀접한 관련이 있는 IgE의 농도도 낮추어주는 효과가 있다.

4. 결 론

대나무, 계피, 생강 등 8종의 한약재를 포함한 한방목초액을 다양한 시험을 실시하여 화장품소재 및 항 아토피 소재로서의 응용가능성을 조사하였다. 목초액의 항산화력은 농축목초액의 경우 50 µg/ml의 농도에서 97%의 매우 높은 항산화능을 보여주었다. 목초액은 항균력 시험결과 피부상재균인 *Staphylococcus aureus*에 대해 우수한 항균력을 보여주었다. 미백효과는 대조군인 비타민 C에 비해 매우 낮아서, 목초액의 미백효과는 미미하였다. 목초액의 안전성 시험은 MTT assay에 의해 측정되었으며, 타 천연물과 비교시 독성이 비교적 높은 것으로 나타났다. 목초액의 안정성 시험은 목초액에 대해 16일 동안 실온과 45°C의 온도에 노출하여 색, 향, 외관 및 pH의 변화를 관찰하였으며 색, 향, 외관 및 pH에서 큰 변화가 없어서 매우 안정하였다. 무모생쥐를 이용한 항 아토피 시험결과, 목초액은 DNCB에 의해 유도된 피부염증을 9일 째 거의 정상상태로 회복시켰으며, 피부내 IgE의 농도도 대조군에 비해 30% 낮추어주어 항 아토피 효과가 높은 것으로 나타났다. 따라서 목초액은 항산화력, 항균력 및 항 아토피 효과가 우수하여 화장품소재나 피부질환치료제로서의 응용 가능성이 높음을 알 수 있었다.

감 사

본 연구는 2008년 인제대 산학 공동기술개발지원사업의 지원에 의한 것입니다.

참고문헌

1. KDA Textbook Editing Board, *Dermatology*, 5th ed., Ryo Mook Gak, Seoul(2008).
2. Jung, I.-S., Kim, Y.-J., Gal, S.-W. and Choi, Y.-J., "Antimicrobial and Antioxidant Activities and Inhibition of Nitric Oxide Synthesis of Oak Wood Vinegar," *J. Life Science*, **17**(1), 105-109 (2007).
3. Lee, K.-M., Jeong, G.-T. and Park, D.-H., "Study of Antimicrobial and DPPH Radical Scavenger Activity of Wood Vinegar," *Korean J. Biotechnol. Bioeng.*, **19**(5), 381-384(2004).
4. Byun, M. W., "Atopic Dermatitis Improving Wood Vinegar," Korea Patent No. 10-2007-0042868.
5. Kim, S. W., Choi, D. H., Lee, S. M., Nam, J. J., Kim, H. M., Shon, S. Y. and Song, B. H., "Effect of Wood Vinegar on Tomato Seedling Growth and Nutrient Uptake," *Korean J. Organic Agriculture*, **11**(2), 103-113(2003).
6. Park, J. C., *Functional Food and Oriental Medicine*, Hyoilbooks, Seoul(2007).

7. Pharmacognosy Researchers, *Modern pharmacognosy*, Hak Chan Publishing, Seoul(2000).
8. Park, S. K., Hong, S.-K., Kim, H. J., Kim, B. Y., Kim, T. G., Kang, J. S. and Kim, D., "Cosmetic Effect of *Angelica gigas* Nakai Root Extracts," *Korean Chem. Eng. Res.(HWAHAK KONGHAK)*, **47**, 553-557(2009).
9. Association of Official Analytical Chemists, A.O.A.C., *Official Methods of Analysis*, 15th ed., Washington DC.(1990).
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. Korea Food and Drug Administration, <http://www.kfda.go.kr/index.html>.
12. Mosmann, T., "Rapid Colorimetric Assay for the Cellular Growth and Survival Application to Proliferation and Cytotoxic Assay," *J. Immun Method*, **65**, 55-62(1983).
13. Kang, K. J., "Anti-Atopic Dermatitis Effect of *Prunus Yedoensis* Matsum Bark Extract," Master's thesis, College of Medicine, Jeju University(2006).
14. 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).
15. Kim, D. H., Choi, H. K., Cho, S. C., Kook, M. C. and Park, C. S., "Enhancement of Antioxidation and Anti-aging Activities of Spirulina Extracts by Fermentation," *J. Soc. Cosmet. Scientists Korea*, **34**(3), 225-231(2008).