

초분자체 함유 화장품제의 항균 활성 효과

유 동 찬 · 조 현 남 · 김 경 란 · 변 혜 정 · 김 정 현 · 박 혜 빈 · 김 희 준 · 방 대 석* · 양 선 아** ·
강 공 원*** · 정 호 순*** · 지 광 환[†]

금오공과대학교 응용화학과, *금오공대 고분자공학과

계명대학교 전통미생물자원개발 및 산업화 연구(TMR) 센터, * (주)라티브

(2011년 10월 11일 접수, 2011년 10월 28일 수정, 2011년 11월 7일 채택)

The Anti-Bacterial Activity of Supramolecule Containing Cosmetic Materials

Dong-Chan Yoo, Hyun-Nam Cho, Kyoung-Ran Kim, Hae-Jung Byun, Jung-Hyun Kim,
Hye-Bin Park, Hee-Joon Kim, Dae-Suk Bang*, Seun-Ah Yang**, Gong-Won Khang***,
Ho-Soon Jeong***, and Kwang-Hwan Jhee[†]

Department of Applied Chemistry, Kumoh National Institute of Technology, 1 Yangho-dong, Gumi 730-701, Korea,

*Department of Polymer Science and Engineering, Kumoh National Institute of Technology,

**Center for Traditional Microorganism Resources (TMR), Keimyung University,

***LATIV CO., Ltd.

(Received October 11, 2011; Revised October 28, 2011; Accepted November 7, 2011)

요약: 약용식물은 피부와 모발을 보호하는 잠재적 기능을 가지고 있다고 알려져 있다. 약용식물의 유용 성분들은 대부분 비수용성 약용성분들이므로 수용성 분자 담지체인 β -cyclodextrin을 이용하여 초분자 복합체를 형성시켜 기능성의 변화를 살펴보았다. 약용식물의 유용 성분이 함유된 크림, 샴푸, 바디워시, 그리고 헤어토닉은 계면활성제, 방향제, 약용식물 추출물과 β -cyclodextrin을 혼합하여 제조하였다. 복합체를 함유한 샴푸 및 바디워시에서 그람 양성균들과 비듬균으로 알려져 있는 효모에 대한 항균활성과 균 성장억제 효과를 확인하였다. HDF (human dermal fibroblast)에 대한 초분자체의 독성실험결과, 초분자체의 함량이 1 mg/mL 이하의 경우에는 세포 독성이 나타나지 않았다. 본 연구결과는 약용식물 추출물과 약용성분 초분자 복합체에 대한 세포무독성을 확인하고 항균활성을 확인함으로써 향후 기능성 화장품 제조 시 안정성과 기능성의 과학적 근거를 확보하였다고 사료된다.

Abstract: In this report, we have investigated the functional properties change of phytochemicals by the encapsulation using water soluble host, β -cyclodextrin. The cream, shampoo, bodywash, and hair tonic containing phytochemical supramolecules were produced by mixing the surfactants, fragrances and the oriental herbal extracts encapsulated with β -cyclodextrin. Shampoo and bodywash including the encapsulated phytochemicals exhibited anti-growth activity against Gram (+) and *Malassezia furfur* which is known to cause dandruff. In cytotoxicity test against HDF (human dermal fibroblast), we could not detect any toxicity when the supramolecules content was less than 1 mg/mL. Our results suggest that the supramolecule of β -cyclodextrin with phytochemicals could be a safe anti-bacterial agent for cosmeceuticals.

Keywords: phytochemical, cyclodextrin, supramolecule, encapsulation, oriental herbs

[†] 주 저자 (e-mail: khjhee@kumoh.ac.kr)

1. 서 론

천연식물추출물은 높은 약리학적 활성과 약한 독성을 가져 오래 전부터 치료를 위한 목적으로 사용되어 왔다 [1,2]. 식물추출물에서 기능을 나타내는 약용성분(Phytochemicals)은 인간의 신진대사와 생리활성을 촉진하는 물질들이며, 현재 이들에 대한 연구가 활발히 이루어지고 있다[3]. 알려진 약용성분들의 기능으로는 살균효과 [4]와 미백효과[5], 항염증[6], 보습효과[7], 피부의 주름개선을 포함한 노화방지[8,9], 육모, 탈모방지[8,10] 등이 있다. 이에 따라 화장품 소재로서의 응용이 증가되고 있다. 천연식물추출물의 장점으로는 민간에서 수천 년 전부터 사용되어 인체에 대한 효능 및 부작용이 검증되어 있으며 다양한 효능을 갖는 성분들이 풍부하게 포함되어 있다는 점, 그리고 추출방법에 따라 효능을 달리 하는 다양한 유효성분을 얻을 수 있다는 점 등이다[1].

본 연구에서는 기능성 화장품 제조에 사용되는 식물에서 추출되는 많은 기능성 물질들이 상온, 수용액에서 불용성임에 착안하여, 수용성 분자 담지체와 비수용성 기능성 물질의 초분자체를 형성시켜, 수용액 내에서도 안정하게 존재하는 화장품 제재를 개발하고자 한다. 선택된 수용성 담지체는 cyclodextrin인데, 이는 인체에 무해하며, 환상의 고리구조로 인해 안쪽에 소수성의 공동을 가지고 있으며, 외부로 노출되어 있는 수산기가 친수성을 나타낸다(Figure 1). 따라서 외부에서 소수성의 물질이 첨가되면 cyclodextrin은 host로 작용하여 외부 물질을 공동으로 포접하여 초분자 복합체를 형성하게 되며, 이러한 특성에 따라 포접된 guest 물질을 보호하고 안정화시키는 역할을 한다[11-13]. 기존의 연구에서 pulegone이 cyclodextrin과 안정한 복합체를 형성함을 확인하여 보고한 바 있다[14,15].

본 연구에서는 천연식물 중에서 인체에 무해하고 다량의 기능성 성분을 함유하고 있는 4가지의 약용식물, 홍삼(Korean red ginseng), 인진쑥(*Artemisia capillaries* Thunb), 형개(*Schizonepeta tenuifolia* Briq), 회향(*Foeniculum vulgare* Mill)을 선택하였다. 이들은 한국에서 널리 자생하고 있으며, 기존 연구에서 maltol, adenosine, limonene, menthone, pulegone, fenchone, estragole, β -pinene, anethole과 같은 기능성 성분을 다량 함유하고 있음을 확인한 바 있다[16]. 홍삼에서는 maltol[17]이, 인진쑥에는 pulegone[16]이, 형개에는 limonene과 menthone[18]이, 회향에는 anethol[19]가 주목되는 성분으로 알려져 있다. 선정된 4가지 약용식물의 추출물과 β -

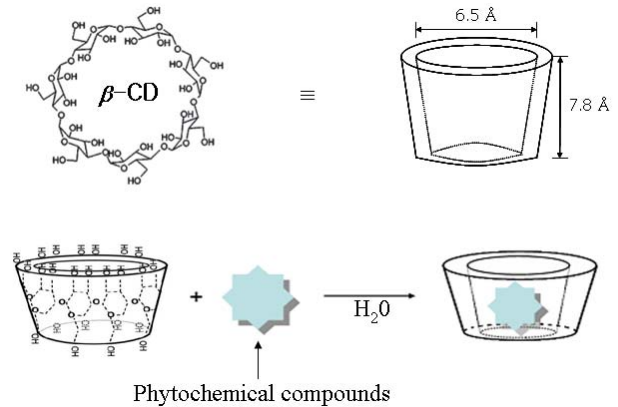


Figure 1. Schematic illustration of encapsulation of phytochemicals by β -cyclodextrin.

cyclodextrin과의 초분자체를 함유한 화장품의 안정성을 독성실험을 통하여 확인하고자 하였다. 또한 항균활성과 미생물의 성장억제력에 미치는 영향을 알아보려고 하였다.

2. 재료 및 실험

2.1. 시약 및 기기

본 연구에 사용한 홍삼(Korean red ginseng), 인진쑥(*Artemisia capillaries* Thunb), 회향(*Foeniculum vulgare* Mill), 형개(*Schizonepeta tenuifolia* Briq)는 금산 재래시장에서 구입하였다. 표준물질인 maltol, adenosine, anethole, estragole, fenchone은 Sigma-Aldrich (USA)사에서 구입하였고 *b*-pinene, menthone, pulegone, limonene은 Fluka (Switzerland)사에서 구입하였다. β -cyclodextrin은 Aldrich (USA)사 제품을 이용하였다.

2.2. 담지체와 식물 기능성 물질의 복합체 형성

홍삼, 인진쑥, 형개, 그리고 회향에서의 기능성 성분을 함유한 추출방법은 전보와 같다[14]. 4가지 식물의 추출물에 포함되어 있는 기능성 물질의 함유량은 전보에서 보고하였다[16]. 선정된 기능성 성분과 β -cyclodextrin을 이용한 초분자 복합체 제조는 전보와 같은 방법으로 수행하였다[15]. 간단히 요약하면 다음과 같다. 1 mM의 농도인 β -cyclodextrin 수용액 10 mL에 각 기능성 성분들을 직접 0.1 mmol 씩 첨가하였다. 이는 호스트인 β -cyclodextrin에 기능성 성분들을 몰비율로 10배 더 넣어준 것이 된다. 이 혼합용액을 1 h 동안 상온에서 교반시킨 후, 감압 농축기로 용매인 물을 모두 증발시키고, 남은 고체를 diethyl ether로 씻어주어 포접되지 않은 약

Table 1. Compositions and Abbreviations of Used Samples

Contents	Name	Sample composition
Herb extracts	D	Distilled water
	Ex1	Herb extracts
	Ex2	Herb extracts + 1.5 % β -cyclodextrin
Cream	CC	Cream (base material)
	C1	Cream + 1.5 % herb extracts
	C2	Cream + 1.5 % herb extracts + 0.045 % β -cyclodextrin
	C3	Commercial one
Shampoo	SC	Shampoo (base material) contained 0.5 % zinc pyrithion
	S1	Shampoo + 25 % herb extracts
	S2	Shampoo + 25 % herb extracts + 0.25 % β -cyclodextrin
	S3	Commercial one (contained climbazole)
Bodywash	BC	Bodywash (base material)
	B1	Bodywash + 2 % herb extracts + 0.3 % phytoncide
	B2	Bodywash + 2 % herb extracts + 0.3 % phytoncide + 0.02 % β -cyclodextrin
	B3	Commercial one
	G	Gentamycin
Hair Tonic	TC	Hair Tonic (base material)
	T1	Hair Tonic + 15 % herb extracts
	T2	Hair Tonic + 15 % herb extracts + 0.045 % β -cyclodextrin
	T3	Commercial one

용 성분들을 제거하였다. 최종 초분자 복합체는 상온에서 진공으로 건조하였다. Bruker 사의 AVANCE III 400 Micro Bay 분광기의 ^1H NMR 데이터를 복합체 분석에 사용하였다.

2.3. 기능성 화장품 제형 제조

실험에 사용한 화장제제(크림, 샴푸, 바디워시, 헤어토닉)의 성분 조성은 Table 1에 나타내었다. 화장품 시료의 경우, (1) 아무것도 첨가하지 않은 대조군과, (2) 식물추출물 성분만을 함유하는 화장제제군, (3) 식물추출물 성분과 β -cyclodextrin을 함유하는 화장제제군, (4) 시판중인 화장제제군 등 4개의 처리군으로 제조하였으며, 명명은 각 시료의 영어단어 첫 자와 아라비아 숫자로 표시하였다. 즉, 추출물은 Ex1로, 추출물과 β -cyclodextrin의 복합체는 Ex2로 나타내었고, 크림은 크림

재료를 CC, 크림 재료에 식물추출물을 섞은 것을 C1, C1에 β -cyclodextrin을 섞은 것을 C2, 시판대조군을 C3로 나타내었다. 같은 방법으로 샴푸는 SC, S1, S2, S3로 바디워시는 BC, B1, B2, B3로, 헤어 토닉은 TC, T1, T2, T3로 나타내었다.

2.4. 세포주 및 배양

본 실험에 사용된 세포주는 인간의 피부 섬유아세포 (HDF, human dermal fibroblast)로써 한국 세포주 은행 (Seoul, Korea)에서 분양받아 사용하였다. 배지는 DMEM medium에 10 % FBS, 1 % penicillin/streptomycin을 첨가하여 사용하였고, 37 °C, 5 % CO₂ 조건의 배양기에서 2 ~ 3일간 배양한 후 사용하였다.

2.5. 실험균주

항균효과를 측정하기 위하여 그람 양성균으로 *Listeria monocytogenes* (*L. monocytogenes*) (3710, KCTC), *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) (3881, KCTC), *Streptococcus mutans* (*S. mutans*) (3065, KCTC)와 그람 음성균으로 *Acinetobacter baumannii* (*A. baumannii*) (2771, KCTC), *Vibrio parahaemolyticus* (*V. parahaemolyticus*) (2471, KCTC), 그리고 비듬균으로 알려진 효모인 *Malassezia furfur* (7743, KCTC)를 생물자원센터(Daejeon, Korea)에서 구입하였고, 그람 음성균인 *Escherichia coli* (*E. coli*) O157 : H7 (35150 ATCC)는 America type culture collection (USA)으로부터 분양받아 사용하였다.

2.6. 독성 평가

약용식물 추출물과 약용 성분 초분자 복합체의 사람 피부 섬유아세포(HDF)에 대한 세포독성을 측정하기 위하여 MTT assay를 실시하였다. 세포주를 1×10^5 cells/mL로 96-well plate에 각각 100 μ L씩 분취한 다음 24 h 동안 37 $^{\circ}$ C, 5 % CO₂ 배양기에서 배양하고, 이 세포에 다양한 농도의 시료(20 μ L)를 처리하였다. 그리고 37 $^{\circ}$ C, 5 % CO₂배양기에서 24 h 배양한 후, 각 well에 PBS 완충용액에 녹인 5 mg/mL MTT 용액을 10 μ L씩 첨가하여 4 h 동안 다시 배양하였다. 반응 후 상등액을 제거하고 DMSO 100 μ L를 첨가하여 바닥에 형성된 formazan 결정을 용해시켜 ELISA reader (multi-well microplate reader, DYNEX, USA)를 이용하여 540 nm에서 흡광도를 측정하였다. 이때 세포 생존율은 다음과 같이 계산하여 나타내었다.

세포 생존력 (%) =

$$100 - \left(\frac{\text{대조군의 흡광도} - \text{시료처리군의 흡광도}}{\text{대조군의 흡광도}} \right) \times 100$$

2.7. 항균활성 측정

2.7.1. 종이 디스크 확산법

비듬균 및 병원성균에 대한 식물추출물, 기능성성분 초분자 복합체가 함유된 바디워시 및 샴푸 시료들의 항균활성은 paper disc 법을 이용하여 측정하였다. 각 균들을 평판배지에 도말 접종한 후, 직경 8 mm의 멸균된 paper disk (Advantec Filter Paper, Toyo Roshi Kaisha Ltd, Japan)에 2배 희석한 시료와 양성대조균으로 gen-

tamycin을 각각 25 μ L씩 흡수하게 하고 용매를 휘발시킨 후 평판배지의 표면에 밀착시켜 37 $^{\circ}$ C에서 24 h 배양하여 나타난 clear zone의 크기를 측정하였다[4].

2.7.2. 액체 배지 실험

약용식물 추출물 또는 기능성성분 초분자 복합체가 함유된 바디워시 시료들의 미생물 성장에 대한 억제력은 시료를 포함한 배지에서 미생물들의 생육속도를 측정하여 나타내었다. 각각의 액체 배지 5 mL에 1 % 시료와 함께 625 nm에서 광학 밀도가 0.2를 나타내도록 희석한 각각의 균들을 0.5 % (25 μ L)를 접종하고 37 $^{\circ}$ C에서 배양하면서 성장속도를 625 nm에서의 탁도 변화로 측정하였다.

2.8. 통계

모든 실험은 3 ~ 5회 반복 시행되었으며, 결과는 평균 \pm SEM 또는 SD로 나타냈으며, 두 그룹 사이의 유의차는 unpaired Student's *t*-test에 의하여 $p \pm 0.05$ 수준에서 검정하였다.

3. 결과 및 고찰

3.1. 초분자 복합체 형성 확인

약용 식물에서 추출한 pulegone을 β -cyclodextrin과 γ -cyclodextrin에 첨가하여 제조한 초분자 복합체형성은 이미 보고하였다[14,15]. 그리고 나머지 소수성 유용 성분들인 limonene, menthone, fenchone, estragole, β -pinene, anethole 확인하기 위해 ¹H NMR 분광법을 이용하여 확인하였다. 결과 pulegone의 경우와 같이 limonene, menthone, fenchone, estragole, β -pinene, anethole 모두에서 β -cyclodextrin에 의한 공명신호뿐만 아니라 각 약용물질에 의한 공명신호도 관찰되었는데 이는 비수용성 약용 성분들이 β -cyclodextrin에 포접되어 초분자 복합체로 수용액 상에 존재하고 있다는 증거이다.

그리고 기능성 성분들(Figure 2)과 β -cyclodextrin의 초분자 상호작용은 IR (Infra Red)로도 확인이 되었다. 즉 기능성 물질들과 β -cyclodextrin 초분자체가 수용액 상에서 β -cyclodextrin과 기능성 물질들과의 포접에 의해 나타나는 새로운 피크를 확인할 수 있었다.

수용액 상에서 응집되어 형성된 초분자 복합체의 성분과 안정성의 파악하기 위하여 열 중량 분석법(TGA)도 활용하였다. 결과 β -cyclodextrin만의 열중량 분석에서 β -cyclodextrin만의 데이터와 기능성 물질들과 포접한 후의 결과가 달랐다. 즉 기능성물질의 녹는점이 β -cy-

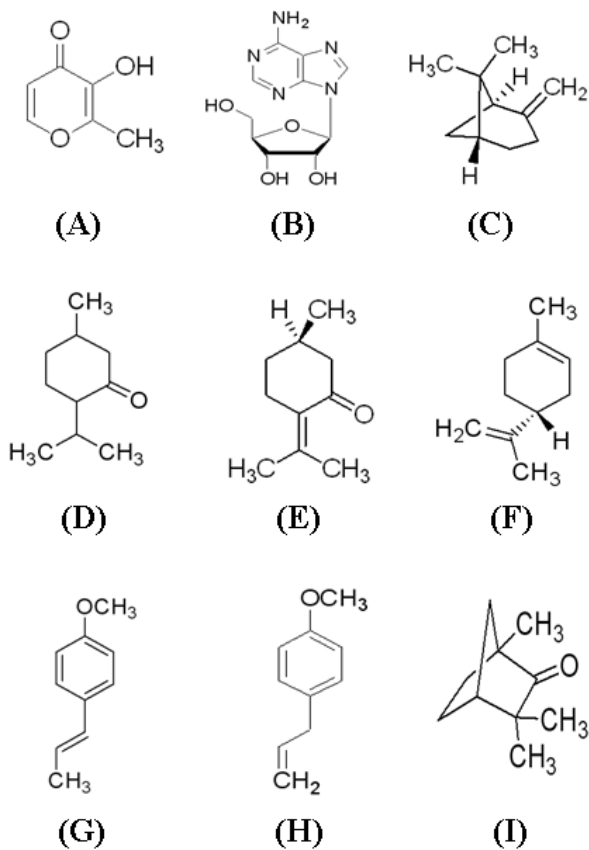


Figure 2. Chemical structures of phytochemicals that were confirmed supramolecule formation with β -cyclodextrin. Each structure indicates maltol (A), adenosine (B), β -pinene (C), menthone (D), pulegone (E), limonene (F), anethole (G), estragole (H), and fenchone (I).

clodextrin과의 포접으로 기능성 물질들의 열적안정성이 증가됨을 확인할 수 있었다. 이러한 모든 결과는 γ -clodextrin와의 작용에서도 확인할 수 있었다.

또한 마지막으로 응집되어 얻어진 초분자 복합체를 물에 다시 분산시켜 나노 크기의 입자 형태로 얻을 수 있는지에 대해 조사하였다. 조사 방법은 Dynamic Light Scattering (DLS)을 활용하였고, 수용액 농도는 10^{-4} M 정도로 하여 콜로이드 상태를 유지하도록 한 시료에 대해 조사하였다. Figure 3의 히스토그램에서 볼 수 있듯이 pulegone 경우, 수백 나노미터 크기의 입자들이 형성됨을 확인할 수 있었고, 그 평균 사이즈는 약 550 nm 정도로 검출되었는데, 이는 β -cyclodextrin의 cavity 사이즈가 650 nm인 것을 감안하면 포접 가능한 크기이다.

기존 연구에서 선택한 네 종류의 국내자생 약용식물에서 9가지의 기능성 물질을 검출하였고 본 연구에서 각

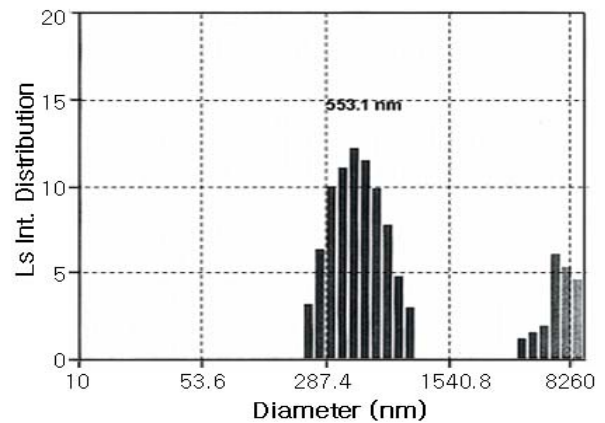


Figure 3. DLS (Dynamic Light Scattering) analysis of supramolecule formation β -cyclodextrin with pulegone.

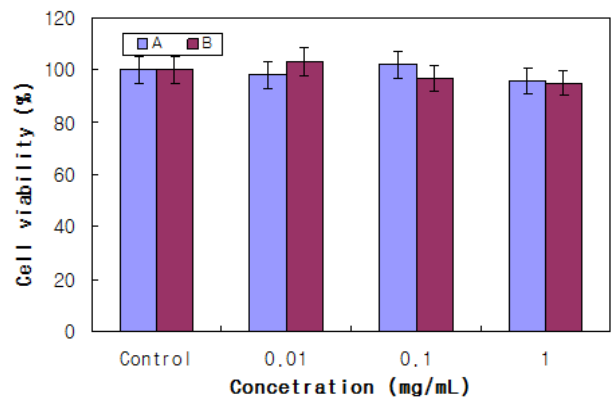


Figure 4. Effect of oriental herbs extract (Ex1, A) and extract with 1.5 % cyclodextrin supramolecules (Ex2, B) against HDF (human dermal fibroblast) cells viability. The cells were treated for 24 hours with various concentrations (0, 0.01, 0.1, 1 mg/mL) of samples. After MTT assay, the MTT reduction rates (mean \pm SD of triplicate determination) were calculated by each of control survival rate.

기능성 물질들이 담지체 β -cyclodextrin과 초분자체를 형성하였음을 확인하였기에, 식물추출물에 다량의 β -cyclodextrin을 첨가하면 기능성 물질들과의 포접에 의한 부가기능성을 확인할 수 있다고 사료된다.

3.2. 독성 평가

기능성 화장제제의 경우 불특정 다수 사람의 피부에 장기간 반복적으로 사용될 수 있는 것이므로 안정성 확보가 필수적이다. 따라서 MTT assay를 이용하여 약용식물 추출물(Ex1)과 기능성 성분 초분자 복합체(Ex2)의 HDF에 대한 독성을 확인하였다. 측정에 사용된 시료

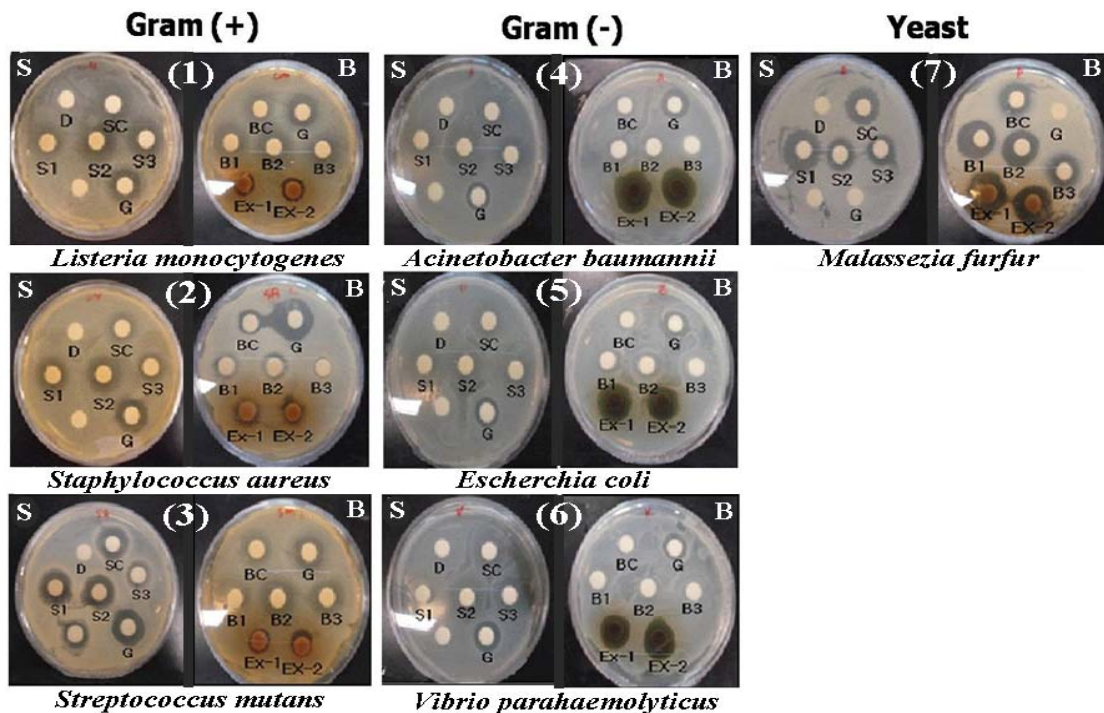


Figure 5. Anti-bacterial activity of shampoo (S) and bodywash (B) against *L. monocytogenes* (1), *S. aureus* (2), *S. mutans* (3), *A. baumannii* (4), *E. coli* (5), *V. parahaemolyticus* (6) and *Malassezia furfur* (7). The samples' abbreviation inside of each petri dish represent as follows: distilled water, D; 25 mg/disc gentamycin, G; commercial shampoo contained zinc pyrithion, SC; shampoo contained 25 % herb extract, S1; shampoo contained 25 % herb extract + 0.25 % cyclodextrin, S2; commercial shampoo contained climbazole, S3; herb extract, Ex1; herb extract contained 1.5 % cyclodextrin, Ex2; bodywash, BC; bodywash contained 2 % herb extract + 0.3 % phytoncide, B1; bodywash contained 2 % herb extract + 0.02 % cyclodextrin + 0.3 % phytoncide, B2; commercial bodywash, B3.

의 내역과 조성은 Table 1에 나타내었다. Ex1과 Ex2를 0.01, 0.1, 1 mg/mL의 농도로 HDF에 처리한 결과 Ex2를 1 mg/mL의 농도로 처리한 군에서 대조군과 비교하였을 때 약 5 % 정도의 세포 사멸을 관찰할 수 있었고, 두 시료 모두 1 mg/mL 이하의 농도에서는 세포 독성의 효과가 없는 것을 확인할 수 있었다(Figure 4). 본 결과에서 기능성 화장품제를 위해 선정된 약용식물 추출물과 약용 성분 초분자 복합체가 세포무독성임이 확인되었다. 따라서 향후 기능성 화장품 제조 시 안정성에 관한 과학적 근거를 확보하였다고 사료된다.

3.3. 항균활성 측정

항균활성 측정을 위한 시료들의 조성은 Table 1에 나타내었다. 약용식물 추출물(Ex1), 기능성 성분 초분자 복합체(Ex2)들은 실험에 사용한 모든 균주에 대해 항균 효과가 있음을 확인할 수 있었지만, 샴푸 및 바디워시로 가공을 한 시료는 그람 음성균에 대한 항균효과를 관찰

할 수 없었다(Figure 5). 항균활성의 정도는 clear zone의 직경을 측정하여 Table 3에 나타내었다. 약용식물 추출물(S1) 및 기능성 성분 초분자 복합체(S2)를 함유하여 가공한 샴푸에서 합성 항비듬 성분인 zinc pyrithione (ZPT)이 첨가된 대조군(SC)과 또 다른 합성 항비듬 성분인 climbazole를 포함한 시판 중에 있는 샴푸(S3)보다 높거나 유사한 항균활성이 관찰되었다. 약용식물 추출물(B1) 및 기능성 성분 초분자 복합체(B2)를 함유한 바디워시에서도 상승효과를 확인하였다. 하지만 약용식물 추출물을 함유한 가공품(S1, B1)과 기능성 성분 초분자 복합체를 함유한 가공품(S2, B2)과의 큰 차이는 관찰되지 않았다. 이로써 cyclodextrin에 의한 초분자체의 형성이 항균활성에는 크게 영향을 미치지 않음을 알 수 있었다. 또한 추출물이 25 %인 S1과 S2에 비해 추출물의 함유량이 크게 적은 2 %의 시료인 B1과 B2에서 항균효과의 큰 차이점을 관찰할 수 없었으며(Figure 5, Gram+ and Yeast), *L. monocytogenes*와 *S. mutans*의 경우, 오히려

Table 2. Anti-microorganism Effects against 7 Microorganisms

Sample	Microorganism							
	Gram (+)			Gram (-)			Yeast	
	<i>L. monocytogenes</i>	<i>S. aureus</i>	<i>S. mutans</i>	<i>A. baumannii</i>	<i>E. coli</i> O157:H7	<i>V. parahae-molyticus</i>	<i>Malassezia furfur</i>	
D ¹⁾	N.E ²⁾	N.E	N.E	N.E	N.E	N.E	N.E	
Herb extract	Ex1	11 ± 0.6 ³⁾	10 ± 1.5	13 ± 1.0	14 ± 1.0	16 ± 1.0	14 ± 1.0	20 ± 0.7
	Ex2	12 ± 0.6	10 ± 1.0	12 ± 0.9	16 ± 1.0	16 ± 0.3	14 ± 1.2	19 ± 1.1
Shampoo	SC	15 ± 1.3	15 ± 0.6	13 ± 1.9	N.E	N.E	N.E	21 ± 0.8
	S1	16 ± 1.5	18 ± 1.7	15 ± 1.2	N.E	N.E	N.E	22 ± 1.0
	S2	16 ± 1.8	18 ± 0.6	16 ± 1.0	N.E	N.E	N.E	17 ± 1.3
	S3	15 ± 1.8	13 ± 0.4	13 ± 1.3	N.E	N.E	N.E	17 ± 1.2
Body wash	BC	17 ± 1.8	12 ± 0.1	15 ± 0.1	N.E	N.E	N.E	17 ± 0.7
	B1	20 ± 1.0	10 ± 1.3	20 ± 0.7	N.E	N.E	N.E	19 ± 0.4
	B2	20 ± 1.3	12 ± 0.7	18 ± 0.6	N.E	N.E	N.E	19 ± 0.4
	B3	15 ± 1.2	9 ± 0.6	18 ± 0.5	N.E	N.E	N.E	17 ± 0.4
Gentamycin	G	15 ± 0.7	19 ± 0.3	15 ± 0.4	16 ± 0.3	14 ± 0.5	13 ± 0.8	N.E

¹⁾Distilled water, ²⁾No effect, ³⁾Inhibition zone in diameter (mm)

추출물 함량이 적은 B1, B2의 항균효과가 다소 좋았는데, 이는 B1과 B2에 첨가된 천연 살균 식물 영양소로 알려진 phytoncide에 의한 것으로 판단된다[20]. 본 실험에 사용한 약용식물 추출물 중에는 이러한 항균활성을 갖는 물질성분의 비중이 상대적으로 적어 나타난 결과로 판단된다. 따라서 추출물을 분리 정제하여 성분들의 기능을 규명하는 연구를 통하여 항균기능을 증진시킬 수 있을 것으로 기대된다.

3.4. 미생물 성장 억제력 측정

본 실험에서는 액체배지를 이용하여 항균활성의 결과를 시간의 경과에 따른 성장속도를 살펴봄으로써 검증하고자 하였다. 약용식물 추출물(B1), 기능성 성분 초분자 복합체(B2)를 함유한 가공 바디워시, 그리고 시판 중에 있는 바디워시(B3)를 이용하여 3종류의 그람 양성균과 효모균에 대한 성장 억제력을 비교 분석하였다(Figure 6). *S. mutans*를 제외한 나머지 균주에서 B1과 B2 시료에서 효과적인 미생물 성장 억제력을 관찰할 수 있었다. *L. monocytogenes*의 경우, B1과 B2에 의해 50 ~ 60 %의 성장억제 효과가 나타났다(Figure 6A). *S. aureus*의

경우, B1, B2, BC의 순으로 비슷한 효과를 나타냈지만, B3의 샘플에 대해서는 억제효과가 없었다(Figure 6B). 그리고 비듬균인 *Malassezia furfur*에 대해서는 B2, B1, B3의 순서대로 균 성장억제 활성이 나타났다(Figure 6D). 이에 비해 *S. mutans*의 경우, 나머지 균주와 달리 B1, B2가 B3에 비해 성장억제 효과가 적었다(Figure 6C).

결과를 통해 B1, B2는 대조군(BC)에 비해 우수한 항균효과를 가지는 것을 확인할 수 있었고, 이는 식물영양소의 항균 활성 이외의 또 다른 형태의 식물영양소인 phytoncide에 의한 동반 상승작용인 것으로 사료된다. 또한, B1과 B2 시료 처리군의 미생물 성장 곡선이 유사한 것으로 확인됨으로써, 항균활성 측정 실험에서와 동일하게 초분자체의 형성 그 자체가 미생물 성장 억제에 기여를 하지 않는 것으로 나타났다. 항균활성과 시간에 따른 미생물의 성장곡선 실험으로 초분자체의 형성이 항균기능에 중요하지는 않지만, 초분자체의 형성이 항균활성에 나쁜 영향을 미치는 것도 관찰되지 않았다. 따라서 약용식물의 기능성 성분의 항균활성은 초분자체를 형성하여도 유지된다고 사료되며, 장기간의 실험을 통하여 항균활성의 지속성을 확인할 필요가 있다고 생각된다.

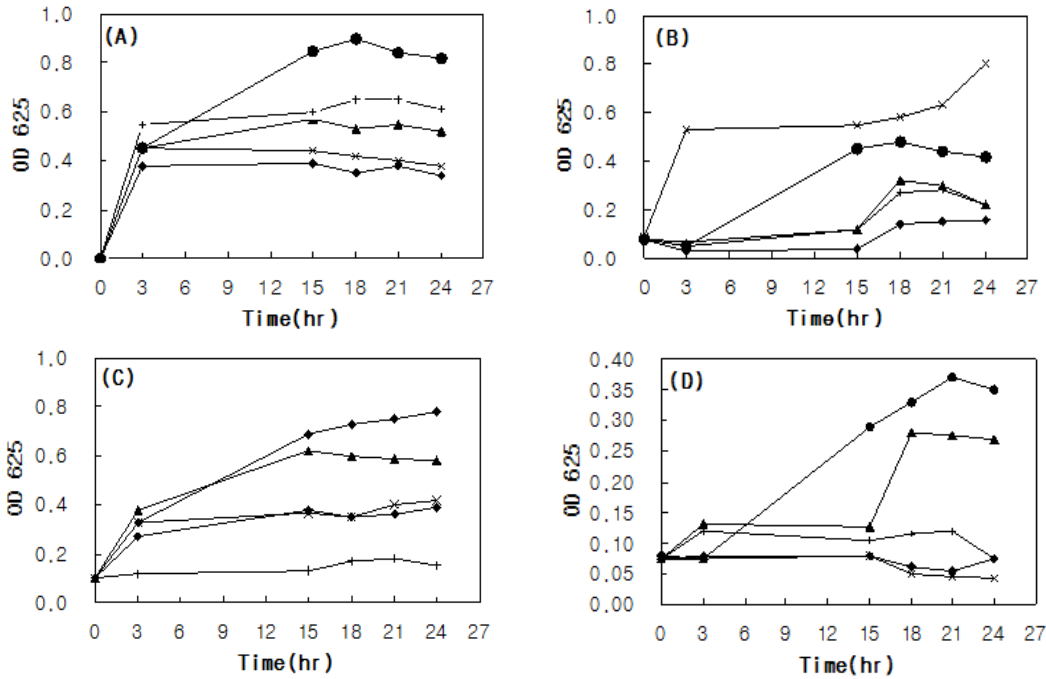


Figure 6. Growth inhibition effects of bodywash samples against *L. monocytogenes* (A), *S. aureus* (B), *S. mutans* (C) and *Malassezia furfur* (D). Each symbol indicate: ●, distilled water; ▲, BC; ◆, B1; ×, B2; +, B3).

4. 결 론

약용식물은 여러 기능성 물질을 함유하고 있어 다양한 기능을 가지고 있다고 알려져 있다. 본 연구에서는 기능성 물질들의 함량이 알려져 있는 약용 추출물을 수용성 분자 담지체인 β -cyclodextrin에 포접하여 초분자 복합체를 형성시켜, 기능성의 변화를 살펴봄과 동시에 안정성과 세척제에 필요한 향균기능에 대하여 살펴보았다. 초분자 혼합체는 약용식물의 기능성 성분이 함유된 크림, 샴푸, 바디워시 그리고 헤어토닉 제제에 β -cyclodextrin을 혼합하여 제조하였다. 복합체를 함유한 샴푸 및 바디워시에서 그람 양성균들과 비듬균으로 알려져 있는 효모에 대한 향균활성과 균 성장억제 효과를 확인하였다. HDF에 대한 독성실험결과에서는 사용가능한 범위에서 세포 독성이 나타나지 않음을 확인하였다. 본 연구 결과 향후 기능성 화장품제 제조 시 안정성을 확보하였다. 추후 본 연구에서 제조한 화장품제제가 피부와 육모 등에 미치는 부가기능성 연구를 진행하고자 한다.

감사의 글

본 연구는 금오공과대학교 연구비에 의하여 연구된 논

문이므로 이에 감사합니다.

참 고 문 헌

1. H. H. Kang, Anti-aging in cosmetics, *J. Soc. Cosmet. Scientists Korea*, **23**, 57 (1997).
2. K. C. Wen, C. Y. Huang, and F. S. Liu, Determination of cinnamic acid and paeoniflorin in traditional Chinese medicinal preparations by high-performance liquid chromatography, *J. Chromatogr.*, **593**, 191 (1992).
3. L. Fang, M. Qi, T. Li, Q. Shao, and R. Fu, Head-space solvent microextraction-gas chromatography-mass spectrometry for the analysis of volatile compounds from *Foeniculum vulgare* Mill, *J. Pharm. Biomed. Anal.*, **41**, 791 (2006).
4. M. T. Chomnawang, S. Surassmo, V. S. Nukoolkarn, and W. Gritsanapan, Antimicrobial effects of Thai medicinal plants against acne-inducing bacteria, *J. Ethnopharm.*, **101**, 330 (2005).
5. E. T. Joo, Y. S. Lee, and N. W. Nam, Polyphenol compound contents and physiological activities in

- various extracts of the *Vitex rotundifolia* stems, *Korean J. Food Sci. Technol.*, **36**(7), 813 (2007).
6. J. H. Ju, H. H. Cho, and Y. S. Lee, Progress on phytochemical and atopic dermatitis-related study of the root of *Lithospermum erythrorhizon*, *Kor. J. Pgarmacogn.*, **41**(2), 73 (2010).
 7. M. Vaid, S. D. Sharma, and S. K. Katiyar, Honokiol, a phytochemical from the *Magnolia* plant, inhibits photocarcinogenesis by targeting UVB-induced inflammatory mediators and cell cycle regulators: development of topical formulation, *Carcinogenesis*, **31**(11), 2004 (2010).
 8. L. X. Shao, Effects of the extract from bergamot and boxthorn on the delay of skin aging and hair growth in mice, *Zhongguo Zhong Yao Za Zhi*, **28**, 766 (2003).
 9. B. C. Lee, J. J. Lee, S. M. Park, C. B. Kim, G. S. Sim, J. H. Kim, G. S. Lee, C. I. Lee, and H. B. Pyo, 3,9-Diferuloyl-6-oxopterocarpen: a novel anti-wrinkle agent for cosmeceuticals, *J. Soc. Cosmet. Sci. Kor.*, **30**, 7 (2004).
 10. J. Y. Oh, Hair Growth Effect of Hair Tonic from Herbal Extracts, *The Korean Society of Beauty and Art.*, **7**, 281 (2004).
 11. G. Horvath, T. Premkumar, A. Boztas, E. Lee, S. Jon, and K. E. Geckeler, *Mol. Pharm.*, **5**, 358 (2008).
 12. S. M. Botella, M. A. Martin, B. Castillo, J. C. Menendez, L. Vazquez, and D. A. Lerner, *Pharm. Biomed. Anal.*, **14**, 909 (1996).
 13. M. E. Brewster and T. Loftsson, *Adv. Drug Deliv. Rev.*, **59**, 645 (2007).
 14. H. J. Cho, D. C. Yoo, H. J. Kim, K. W. Khang, H. S. Jeong, S. A. Yang, I. S. Lee, and K. H. Jhee, Efficient, High-yield purification of pulegone from the oriental herb, *Schizonepeta tenuifolia* Briquet, and demonstration of supramolecule formation by cyclodextrins, *Asian J. Chem.*, **21**, 6536 (2009).
 15. T. W. Moon, J. W. Lee, K. H. Jhee, K. W. Khang, H. S. Jeong, S. A. Yang, and H. J. Kim, Supramolecular encapsulation of pulegone from oriental herb, *Schizonepeta tenuifolia* Briquet by β - and γ -Cyclodextrins, *Bull. Korean Chem. Soc.*, **29**, 1579 (2008).
 16. H. J. Cho, D. C. Yoo, H. N. Cho, L. A. Fan, H. J. Kim, K. W. Khang, H. S. Jeong, S. A. Yang, I. S. Lee, and K. H. Jhee, Analysis of phytochemicals in popular medicinal herbs of HPLC and GC-MS, *Korean J. Food Sci. Technol.*, **40**, 277 (2008).
 17. D. Y. Suh, Y. N. Han, and B. H. Han, Maltol, An antioxidant component of Korean red ginseng, shows little prooxidant activity, *Arch. of Pharm. Res.*, **19**(2), 112 (1996).
 18. S. M. Lee, Y. S. Lee, J. P. Lee, C. S. Yook, and J. H. Lee, Content of limonene, menthone, pulegone from different parts of *Schizonepeta tenuifolia* Briquet, *Kor. J. Herbology.*, **21**(3), 83 (2006).
 19. M. Tanira, A. Shah, A. Mohsin, A. Ageel, and S. Qureshi, Pharmacological and toxicological investigations of *Foeniculum vulgare* dried fruit extract in experimental animals, *Phytother. Res.*, **10**(1), 33 (1996).
 20. S. Q. Kim, M. K. Shin, Q. S. Auh, J. Y. Lee, J. P. Hong, and Y. H. Chun, Effect of phytoncide on porphyromonas gingivalis, *Korean Academy of Oral Medicine*, **32**, 137 (2007).