

지유(地榆)의 화장품 소재로서의 약리활성에 관한 연구

장영아^{1#}, 김영훈², 신재천³, 한상익⁴, 이진태^{1*}

1 : 대구한의대학교 화장품약리학과, 2 : (주)제노랩,
3 : (재)포항테크노파크 바이오정보지원센터, 4 : 국립식량과학원

The study on pharmacologic activation as cosmetic material of *Sanguisorbae radix*

Young-Ah Jang^{1#}, Young-Hun Kim², Jae-Cheon Shin³, Sang-Ik Han⁴, Jin-Tae Lee^{1*}

1 : Department of Cosmeceutical Science, Daegu Haany University, Gyongsan 712-749, Korea
2 : Gennolab Co. Ltd., Gyongsan 712-160, Korea
3 : Pohang Center for Evaluation of Biomaterials, Pohang 790-834, Korea
4 : Functional Crop Resource Development Div., National Institute of Crop Science, Milyang 627-803, Korea

ABSTRACT

Objectives : This study was aimed at producing emulsion by using butanol fractions of *Sanguisorbae radix*(SRA-B) which have high antioxidative and anti-inflammatory actions, and then evaluating stabilities of the emulsion.

Methods : We measured antioxidant efficacy of SRA-B by using DPPH assay. Also, we checked the expressions of inducible nitric oxide synthase (iNOS) and cyclooxygenase-2 (COX-2) by using the Western blot to evaluate the anti-inflammatory effects of SRA-B3. We prepared emulsion containing SRA-B3(E-SRA-B3) and analysed its particle size distribution under a microscope. Also, we performed the test for stability of the emulsion.

Results : SRA-B3 showed the highest efficacy in electronic donating abilities' activity. The Western blot's results indicated that the protein expression's amount of iNOS and COX-2 in macrophage stimulated by LPS were reduced by SRA-B3 treatment. The average particle size of E-SRA-B3 was 5~6 μ m in diameter and was 6.7 μ m in a view of the particle distribution. For a period of a observation, E-SRA-B3 has not made particular changes with storage temperature. It was observed that E-SRA-B3 could preserve its stable condition without a particular difference of viscosity during 28 days.

Conclusions : From the above results, it was confirmed that SRA-B3 has potentiality enough to be applied to industrialization and could be utilized as antioxidative natural materials and anti-inflammatory cosmetics

Key words : *Sanguisorbae radix*, anti-inflammation, emulsion, stability

서론

현재 화장품(cosmetics)산업에는 약품(pharmaceuticals)의 기능이 첨가된 기능성화장품 혹은 약용화장품(cosmeceuticals)의 개념이 도입되어 세계적으로 폭넓게 이용되고 있다¹⁾. 최근에는 천연물을 이용한 화장품개발에 관한 연구가 활발히 진행되고 있으며 식물자원에서 항암, 항균, 미백, 여드름, 항알레

르기, 피부보습, 항산화, 항노화 등에 효과가 있는 천연 물질들을 약이나 식품첨가제, 화장품의 원료로 개발하려는 연구가 다양하게 진행중이다²⁾.

오이풀(*Sanguisorba officinalis* L.)은 중국, 일본, 우리나라 전지역에서 널리 분포하고 있는 장미과(*Rosaceae*)에 속하는 다년생 식물로 그 동속 식물의 뿌리를 생약에서 지유(地榆)라 하고, 예로부터 한의학에서 流血과 便血, 痔漏에 사용

*교신저자 : 이진태, 경북 경산시 여천동 240-3번지 대구한의대학교 오성캠퍼스 별관 205호
· Tel : 053-819-1430 · E-mail : jtlee@dhu.ac.kr
#제1저자 : 장영아, 경북 경산시 여천동 대구한의대학교 화장품약리학과
· Tel : 053-819-1749 · E-mail : yaviol@nate.com
· 접수 : 2013년 8월 15일 · 수정 : 2013년 9월 9일 · 채택 : 2013년 9월 17일

되어온 식물이다³⁾. 이외에도 화상, 염증 및 내부 출혈의 치료에 대해 중국의 전통 의학에 사용되어진 기록이 있다⁴⁻⁶⁾.

오이풀은 뿌리, 줄기가 길게 옆으로 자라며 타원형의 잎은 끝과 밑 부분이 둥근 모양인 잔잎 5~11개가 모여 깃털처럼 달려있고 가장자리는 3각형태의 톱니가 고르게 있다. 짙은 붉은색의 꽃은 7~9월경 긴 꽃대에 수상(穗狀)꽃 차례로 핀다. 꽃은 길이가 2.5cm정도이고, 꽃받침은 4장 수술은 4개이다. 4각형의 열매는 날개가 달린 수과(瘦果)로 10월에 익는다⁷⁾.

오이풀의 약리성분으로는 뿌리에 ziguglycoside I, II와 pomolic acid등이 함유되어 있고 가지에는 quercetin과 kaempferol의 배당체와 ursolic acid 등 triterpenoids계 saponin이 함유되어 있으며 잎에는 vitamin C, 꽃에는 chrysanthemin, cyanin이 함유되어 있다⁸⁾.

오이풀은 항산화, 항염증에 관한 분자생물학적 검증에 관한 연구 및 치아우식증의 원인이 되고 있는 *mutans streptococci*의 항균 활성효능에 대한 긍정적인 연구결과를 가지고 있다.

저자는 선연구에서 오이풀 뿌리의 아세톤추출물로 부터 chloroform, ethyl acetate, n-butanol, water층의 항염증 실험을 진행하여 n-butanol층이 가장 우수하다는 것을 확인하였고 이에 n-butanol(SRA-B) 분획물을 chromatography 실시하여 분리한 용매분획물의 항염증 활성을 알아보고 유효성 물질을 O/W emulsion에 첨가, 안정화 시켜 화장품 소재로서의 개발과 응용가능성을 검토하였다.

재료 및 방법

1. 시약 및 기기

세포 생존율 측정에 사용된 세포주는 macrophage 세포인 Raw 264.7을 Korean Cell Line Bank(KCLB)에서 구입하여 사용하였다. 시약은 DMEM(Dulbecco's Modified Eagle Medium), fetal bovine serum(FBS), penicillin/streptomycin, trypsin 250, 0.4% trypan blue stain은 Gibco BRL Co.(Grand Island, USA) 및 Haemocytometer(Mariefeld, Germany)를 사용하였으며, 3-[4,5-dimethylthiazol-2-yl]-2,5-diphenyl-tetrazoliumbromide(MTT)는 Sigma Chemical Co.(St. Louis, MO, USA)를 사용하였다. 실험에 사용된 1차 항체인 iNOS BD Bioscience (Sanjose, CA, USA) COX-2 Cayman (Ann Arbor, MI, USA), β -actin (Santa Cruz, CA, USA)에서 구입하였고 2차 항체인 anti-rabbit Ig-G horseradish peroxidase(HRP)-conjugated antibody는 Santa Cruz에서 구입하여 사용하였다.

실험에 사용된 기기는 ELISA reader(Biotek Co., USA), Viscometer(Brookfield Co., USA), pH meter(Hanna Co., Romania), Homomixer(Tokushu Kika Kogyo Co., Japan), Agimixer (Young hanna Tech., Korea), Hotplate(Young hanna Tech., Korea)를 사용하였다.

2. 추출물의 제조

본 실험에 사용된 오이풀뿌리 지유(地榆)는 경북 안동시 북후면에서 2009년 4월 채취한 것을 구입하여 뿌리를 건조하여 이물질 제거하고 세척, 건조 후 실험재료로 사용하였다. 오이풀 아세톤 추출물의 제조는 오이풀 3 kg에 70% acetone을 10배 양을 가하여 상온에서 3회 추출한 다음 filter paper로 여과하였고, 얻어진 여액은 감압농축하여 아세톤 추출물 423 g을 얻었다. 오이풀 아세톤 추출물을 분별깔대기에 넣고 chloroform을 첨가하여 chloroform 층과 water 층을 분획하였고, chloroform 층 5.4 g을 얻었다. 동일한 과정을 통해 ethyl acetate 분획물 127 g 및 n-butanol 분획물 116 g을 순차적으로 얻었고, 최종 남은 용액은 물 분획물 150 g 이라 하였다. 분획물 중 n-butanol 분획물 40g을 Dianion HP-20 column chromatography를 H₂O→MeOH(0:100%)로 실시하여 5개의 시료를 획득하였다(Fig. 1). 이들 추출물을 감압, 농축 후 동결건조하여 용매를 제거한 후 4℃에서 보관하였다.

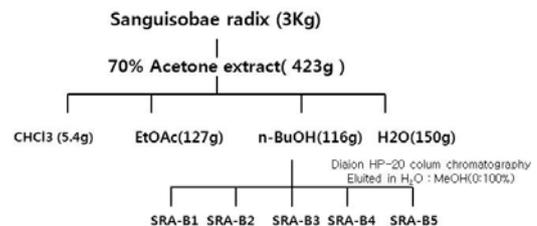


Fig. 1. The procedure for extraction from Sanguisorbae radix.

3. Electron donating abilities

전자공여능 (EDA: electron donating abilities)은 Blois⁹⁾으로 다음과 같이 측정하였다. 각 시료용액 100 μ L에 0.2 mM의 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH)를 50 μ L 넣고 교반한 후 30분간 방치한 다음 517 nm에서 흡광도를 측정하였다. 전자공여능은 시료용액의 첨가군과 무첨가군의 흡광도 감소율로 나타내었다.

4. 세포독성 평가

세포 생존율을 확인하기 위하여 적정 세포수 측정은 96 well plate에 5 \times 10⁵ cells/ml이 되게 0.2 mL 분주한 후 접종한 후 37℃, 5% CO₂ incubator에서 24h 배양 후 무혈청 배지 0.18 mL로 교체한 뒤 SRA-B3를 농도별로 처리하고 24h 배양하였다. 여기에 5 mg/mL의 농도로 제조한 MTT(3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyl-tetrazolium bromide) 용액 0.02 mL를 첨가하여 4시간 배양한 후 배양액을 제거하고, 각 well당 DMSO : Ethanol(1 : 1)용액 0.15 mL를 가하여 30분간 교반한 뒤 ELISA reader로 550 nm에서 흡광도를 측정하였다.

5. Western blot

세포를 1 \times 10⁶ cells/ml의 농도로 2ml을 6 well plate에 접종하고 cell의 confluence가 80%때에 무혈청 배지로 교환한 후 일정시간동안 cell을 안정화 시키고 SRA-B3와

LPS(1 μ g/ml) 처리하여 24h 배양하였다. 그 후 상등액은 제거한 후 PBS로 2회 세척한 후에 scrapper로 cell을 수확한 후에 lysis buffer를 넣어서 세포를 용출시킨다. 수확된 protein은 BSA(bovine serum albumin)으로 작성한 standard curve에 OD값을 대입시켜서 protein량을 보정하였다. 그 후에 coomassie blue로 염색하여 재보정한 후에 western sample로 사용하였다.

SDS-polyacrylamide gel을 이용하여 electrophoresis한 후에 gel를 떼어내어서 transfer buffer에 10~15분 정도 담근 후 transfer buffer에 스펀지 2장을 깔고 그 위에 filter paper 1장 올려놓는다. 3mm paper와 nitrocellulose filter도 buffer에 살짝 담근다. 양쪽 스펀지와 3mm paper 사이에 nitrocellulose paper 그리고 gel를 잘 밀착시킨 후에 전극을 꽂아서 transfer시킨다. 190 mA에서 2시간 이상 transfer한 후에 ponceau S에 2분 정도 담근 후에 band를 확인한다. PBS로 2회 씻은 후 꺼내서 blocking buffer로 overnight시켜 background는 제거시킨다. 2번 씻은 후에 1:1,000으로 1차 antibody를 붙인 후 2차 antibody를 1:1,000 으로 희석하여 반응시킨다. 2차 antibody를 붙인 후, PBS tween으로 수차례 세척한 후에 ECL kit(Amersham Pharmacia, England)를 사용하여 film에 옮긴 후, iNOS, COX-2 단백질 발현량을 확인하였다.

6. Emulsion의 제조

Emulsion을 제조하기 위해 사용한 원료들은 Table 1과 같다. emulsion을 제조하기 위해서 Water phase 와 Oil phase를 각각 85 $^{\circ}$ C까지 가열한 후 Homo mixer를 이용하여 2,500 rpm 5분간 유화시켜 제조하였다. 45 $^{\circ}$ C까지 냉각시킨 후 추출물을 첨가하고 마지막으로 Silkem 1650 and Phenoxyethanol and DS-Cerix 5를 첨가하고 agi-mixer를 이용하여 1,700 rpm 5분간 믹싱하였다. 추출물에 emulsion이 첨가된 균을 E-SRA-B3로 표기하기로 하였다.

Table 1. Ingredients used to prepare the emulsion

INCI Name
Water
Butylene Glycol
Glycerin
Carpylic
Betaine
Butylene Glycol
Sorbitan Stearate
Cetyl Alcohol
Triethylhexanoin
Squalane
Tocopheryl Acetate
Panthenol
SRA-B3

7. Emulsion입자관찰

E-SRA-B3의 입자를 관찰하기 위하여 현미경(Eclipse 80i/100X, Nikon, Japan)을 이용하여 내상의 입자의 분포를 확인하였고 입도분석을 위한 장비로 (N5, Beckman Coulter, USA)을 사용하여 평균 입자사이즈를 확인하였다.

8. 제형의 안정성 평가

E-SRA-B3의 pH 측정은 pH meter(Hanna Co., Romania)사의 pH meter를 이용하여 25 $^{\circ}$ C에 보관한 SRA-B3 가 첨가된 O/W형 로션의 pH를 3회 반복 측정 후 평균을 구하였다. 측정 하기 전에 유리전극은 미리 염기성 완충액이나 증류수에 수시간 담가두고 pH meter는 전원에 연결하고 10분 이상 두었다가 사용하였다. 검출부는 증류수로 잘 씻어 가볍게 닦아 낸 다음 사용하였다.

점도 측정은 Viscometer(Brookfield Co., USA)를 이용하여 측정하였다. 다양한 조건에 보관한 O/W형 로션을 스펀들(spindle) No.4으로 6rpm에서 1분간 측정하였으며, 기포의 영향을 줄이기 위해 제조 시 탈포를 하였고 3회 반복하여 평균값을 얻었으며, 1회 측정 후 3시간 뒤에 다시 측정하여 3주 동안 측정한 값을 나타내었다. 즉 점도 값에 영향을 줄 수 있는 요인을 최소화하여 측정하였다.

결 과

1. Electron donating abilities

전자공여능 측정에 사용된 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH)는 자체가 매우 안정한 free radical로서 517 nm에서 특징적인 광흡수를 나타내는 보라색 화합물이다. DPPH는 알코올 등의 유기용매에 매우 안정하며 항산화 기작 중 proton-radical scavenger에 의하여 탈색되기 때문에 항산화 활성을 육안으로 쉽게 관찰할 수 있는 장점이 있어 다양한 천연소재로부터 항산화 물질을 검색하는데 많이 이용되고 있다¹⁰⁾. SRA-B fraction의 전자공여능 측정을 Fig. 2에 나타내었다.

SRA-B의 fraction 5층 모두 100 μ g/ml에서 80%이상의 활성을 나타냈으며 그 중 SRA-B3층은 50 μ g/ml 농도에서 85.2%, 대조군 BHA가 동일농도에서 88.2%로 대조군에 대비하여 유사한 높은활성을 나타내어 항산화 효능이 높음을 알수 있었다.

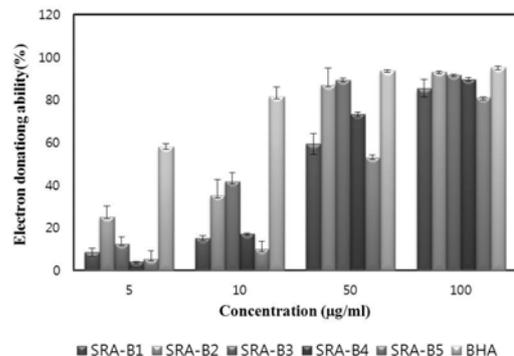


Fig. 2. Electron donating ability of fractions isolated from SRA-B. SRA-B1 : H₂O 100% isolated from SRA-B. SRA-B2 : MeOH 20% isolated from SRA-B. SRA-B3 : MeOH 40% isolated from SRA-B. SRA-B4 : MeOH 60% isolated from SRA-B. SRA-B5 : MeOH 100% isolated from SRA-B. BHA : Butylated hydroxyanisole(positive control). Results are means \pm S.D. of triplicate data.

2. 세포독성 평가

MTT assay를 이용하여 10~100µg/ml의 농도에서 SRA-B3의 세포독성실험을 수행하였다. 그 결과 cell viability가 10, 25, 50, 100 농도에서 각각 86.8%, 87.8%, 83.2%, 61.8%로 100µg/ml 농도를 제외하고는 세포독성을 보이지 않아 Western blot 실험 최고 농도를 50µg/ml로 정하였다(Fig. 3).

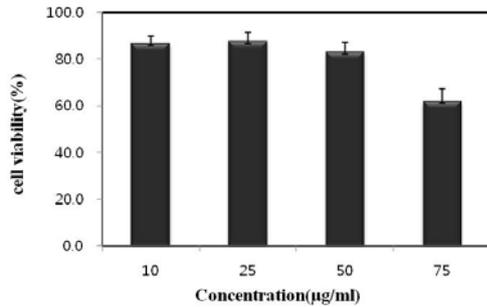


Fig. 3. Cell viability of SRA-B3 on Raw264 cells. Mouse macrophage were cultured with various concentrations of SRA-B3 extract for 24h. Results are means ± S.D. of triplicate data. 0µg/ml: control cells

3. Western blot

Western blotting를 통해 SRA-B3가 Raw 264.7cell에서 iNOS와 COX-2 단백질의 발현에 미치는 영향을 확인하였다. iNOS는 평소에는 세포 내에 존재하지 않으나 일단 유도되면 장 시간 동안 다량의 NO를 생성하며, 생성된 NO는 혈관 투과성, 부종 등의 염증반응을 촉진시킬 뿐만 아니라 염증 매개체의 생합성을 촉진하여 염증을 심화시키는 것으로 알려져 있다¹¹⁻¹³. 실험결과 세포내 LPS 자극은 iNOS, COX-2 단백질 발현을 증가시켰으며 SRA-B3를 10, 25, 50µg/ml처리하였을 때 iNOS 단백질은 25, 50µg/ml에서, COX-2 단백질은 고농도인 50µg/ml에서 발현이 저해되는 것을 확인할 수 있었다(Fig. 4).

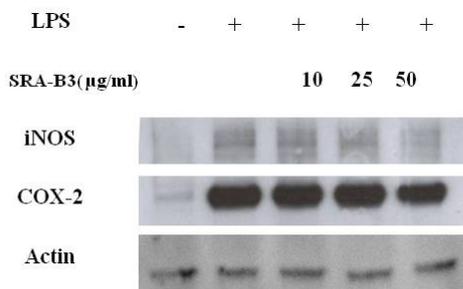


Fig. 4. iNOS and COX-2 expression rate of SRA-B3 on Raw264 cells. The cell were pre-treated with SRA-B3 for 1 hour, and then incubated with LPS (1µg/ml) for 24 hours.

4. Emulsion 입자 관찰

E-SRA-B3의 입자의 형태, 크기, 분포도를 관찰하기 위하여 현미경과 입도분석 실시하였다. emulsion은 25℃에 보관한 것을 사용하였고 현미경 400배 배율로 관찰한 결과 Fig. 5 에서 보듯이 입자 형태가 다양하며, 불균일한 분포를

가지며 입자의 분산 또는 분리가 없음을 확인하였다. 최소 입자 크기는 3µ m, 최대 입자 크기는 9µ m, 평균 입자 크기는 5~6µ m로 나타났다. 입도분석은 화장품 제형의 물리적, 화학적 특성을 이해하는데 매우 중요하다. E-SRA-B3의 평균 입도는 6.7 µm로 나타났다(Fig. 6).

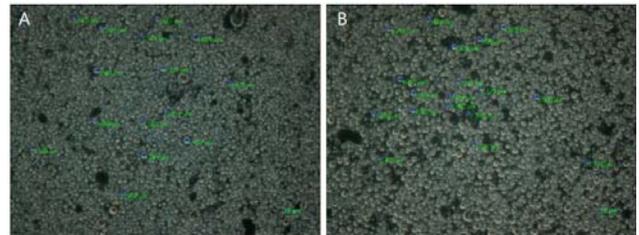


Fig. 5. Microscopic aspect of emulsion
A : the emulsion not containing SRA-B3
B : the emulsion containing SRA-B3

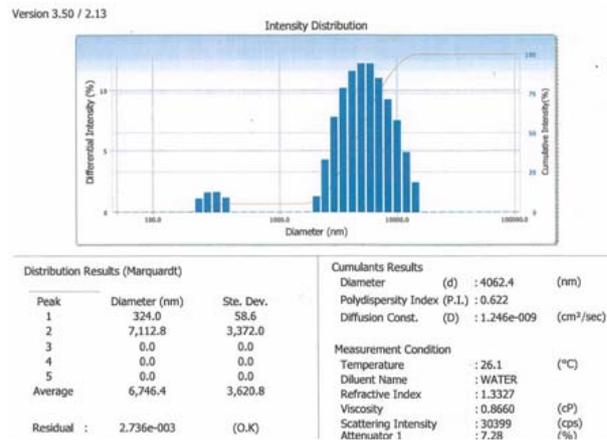


Fig. 6. Particle size analysis of E-SRA-B3.

5. 제형의 안정성 평가 결과

1) pH 측정

실온 (25℃), 0℃, 40℃, cycle chamber, sun light(자연광) 및 artificial light(인공광)에서 보관한 L-SRA-B3의 pH를 28일 동안 측정된 결과(Fig. 7) 같이 나타내었다. 40℃에 보관한 L-SRA-B3의 pH가 다른조건에 비해 pH값이 조금 낮게 나타났으나 전체적으로 SRA-B3를 함유한 로션은 관찰기간 및 보관온도에 대한 특별한 변화가 없었다.

2) 점도측정

화장품은 외부환경요인 등에 의한 변질, 변색, 변취, 미생물 오염 등이 없어야 한다. 점도는 직접 또는 간접적으로 태양광선이나 주위환경의 온도에 의해 물리·화학적으로 품질의 특성이 변할 가능성이 있기 때문에 이를 파악하기 위한 점도측정은 중요하다. 실온 (25℃), 0℃, 40℃, cycle chamber, sun light(자연광) 및 artificial light(인공광)에서 보관한 E-SRA-B3의 점도측정을 28일 동안 측정된 결과(Fig. 8) 같이 나타내었다. 측정결과 각 온도별 조건에서 28일 동안 큰 변화없이 점도가 안정한 상태를 유지함을 나타내었다.

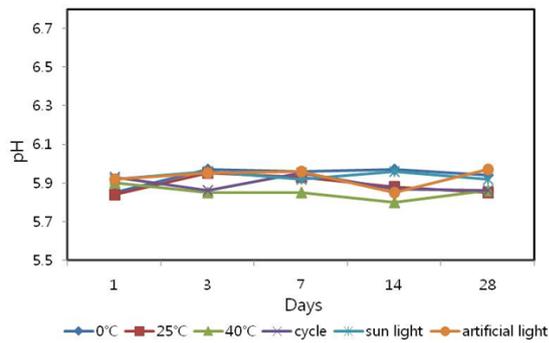


Fig. 7. pH measurement of E-SRA-B3.

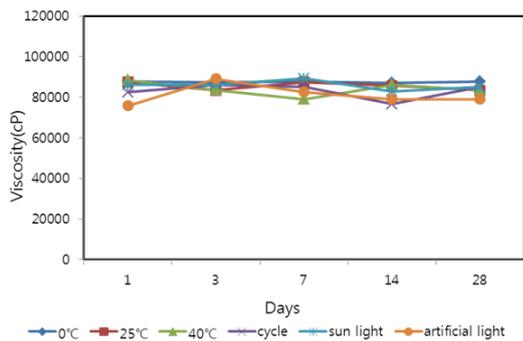


Fig. 8. Viscosity measurement of E-SRA-B3.

고찰

화장품의 개발에는 생리활성을 가지는 원료물질의 개발이 선결과제이며, 검토하여야 할 기능성으로는 미백, 항염증, 주름개선, 항노화, 항산화 효과 등이 있고, 이러한 효과를 보유한 물질을 한약재소재 등 다양한 식물자원에서 찾으려는 연구가 시도되고 있다¹⁴⁾. 또한 천연물에 대한 관심이 집중되면서 천연물이 함유하는 특정성분이나 2차 대사산물에서의 생리활성 물질이 현저한 활성을 나타내는 고부가가치의 물질로서 계속 발굴되고 있다¹⁵⁾. 오이풀 뿌리의 항염증에 관한 활성 연구¹⁶⁾ 및 항균효과¹⁷⁾에 관한 연구는 활발히 진행중이며 화장품 소재로서 활용한 바가 없어 본 연구에서는 오이풀 뿌리 분획물을 Electron donating abilities를 통하여 항산화활성을 확인하였고 Western blot을 통해 iNOS, COX-2 단백질의 발현량을 알아보았다. 본 실험에서 사용된 Raw 264.7 cell은 murine macrophage로서 박테리아의 세포벽 성분인 LPS에 의해 세포의 NOS 효소가 활성화 되면 세포의 염증반응의 중요한 인자인 NO 농도가 증가하게 된다. 이러한 특성에 의해 세포독성을 갖는 물질들의 독성검정을 위해 유용하게 사용되고 있다¹⁸⁾. NO는 iNOS에 의해 발생되는데 iNOS는 외부 자극에 반응하여 생체를 방어하려는 목적으로 단시간에 다량의 NO를 생성하며, 급, 만성 염증에 관여하여 숙주세포의 파괴와 염증조직의 상해를 초래하지만, 관절염과 같은 질환에서는 과잉 분비된 NO가 괴사, 통증 등의 이차적인 부작용을 일으키게 된다. 그러므로 이러한 NO를 발생시키는 iNOS의 활성을 억제하거나 단백질 발현을 억제하는 것은 많은 염증성 질병에서 치료의 중요한 관건이 되고 있다¹⁹⁾. COX에 대해서는 1990년대 초반에 주로 연구되었는데, 유사형태가 2가지 존재

한다. COX-1은 거의 모든 조직에 발현되어 있고, prostaglandin을 생성하여 신장의 혈액흐름을 조절하거나 위장의 세포를 보호하는 등의 생리적인 기능을 조절한다. 반대로 COX-2의 경우는 미생물에 의한 감염이나 손상 혹은 여러요인의 스트레스에 반응한 대식세포(macrophage)에서 발현된다²⁰⁾. 본 실험에서 LPS에 의해 Raw 264.7 세포로부터 SRA-B3의 항염증 활성을 Western blot을 통해 알아본 결과 LPS 단독 처리한 군에 비해 샘플을 함께 처리하였을 때 iNOS 단백질은 25, 50 μ g/ml에서, COX-2 단백질은 고농도인 50 μ g/ml에서 발현이 저해되는 것을 확인할 수 있었다. 이로써 항염증 효능이 우수한 SRA-B3를 첨가한 nano emulsion을 제조하고 입자분석, 입도분석 및 안정성 테스트를 진행하였다. Nano emulsion은 입자 크기가 작고 균일하여 침전이나 크리밍 현상에 대하여 우수한 안정성을 나타내기 때문에^{21,22)} 화장품, 식품 및 의약품 등에 실질적으로 응용하고자 하는 시도가 계속되고 있다^{23,24)}. Nano emulsion의 안정성 평가 지표로 다양한 온도 조건과 태양광선의 노출 조건하에 pH 및 점도의 변화를 측정하여 변화되는 조건에 대해 28일 동안 안정함을 나타내어 화장품 소재로서의 적합성을 확인하였다. 결론적으로 오이풀 아세톤 추출물의 분획물은 항산화, 항염증 활성이 높고 화장품 개발시 민감성피부, 아토피 등의 항염증 화장품소재로 사용이 가능함을 시사한다.

결론

본 연구에서 SRA-B의 Electron donating abilities 항산화 실험결과 효능이 우수한 SRA-B3층의 Western blot 실험결과와 SRA-B3가 첨가된 emulsion의 안정성 평가를 분석한 결과 아래와 같은 결론을 얻었다.

1. SRA-B의 Electron donating abilities 결과 SRA-B3 fraction이 가장 높은 항산화능을 보였으며 SRA-B3와 대조군 BHA가 50 μ g/ml 농도에서 각각 85.2%, 88.2%의 항산화능을 나타내었다.
2. SRA-B3의 세포독성 실험결과 최고 50 μ g/ml에서 독성이 나타나지 않았다.
3. Raw 264.7 cell을 이용한 SRA-B3의 iNOS, COX-2 단백질 발현은 LPS 군에 대비해 50 μ g/ml에서 iNOS, COX-2 단백질 발현이 현저히 줄어드는 것을 확인하였다.
4. SRA-B3를 함유한 emulsion의 현미경 관찰 결과 평균 입자 크기는 5~6 μ m로 나타났으며 입도분석 결과 평균 입도는 6.7 μ m로 나타났다.
5. SRA-B3를 함유한 emulsion은 관찰기간 및 보관온도에 대해 pH, 점도에 특별한 변화가 없었다.

이러한 실험결과로 보아 오이풀 아세톤추출물의 butanol층의 iNOS, COX-2 단백질 발현억제는 emulsion에 첨가되어 항염증에 효능이 우수한 한방화장품 제품의 천연물 소재로 적

용가능함을 제시한다.

감사의 글

본 연구는 산업통상자원부·한국산업기술진흥원에서 수행하는 광역경제권 연계협력사업(과제번호 : R0000451), 농촌진흥청 공동연구사업(과제번호 : SA00004524), 중소기업청에서 지원하는 2012년도 산학연공동기술개발사업(과제번호 : C0020768)의 일환으로 수행된 논문입니다.

References

- Kligman D. Cosmeceuticals. *Dermatol Clin*. 2000 ; 18(4) : 609-15.
- Kreydiyyeh SI, Usta J. Diuretic effect and mechanism of action of parsley. *J Ethnopharmacology*. 2002 ; 79(3) : 353-7.
- Ryu MJ, Rim YS, Choi DI, Lee SY. Anti-fungal Activity Against *Malassezia furfur* and Anti-inflammatory Activity in RAW264.7 Cells of the *Sanguisorba officinalis* Extracts. *J Korean Beauty Soc*. 2011 ; 23(57) : 225-32.
- East J. The effect of certain plant preparations on the fertility of laboratory mammals. *J Endocrinology*. 1955 ; 12 : 273-6.
- Kindt TJ, Goldsby RA, Osborne BA. Innate immunity: Tenney S, Kuby Immunology. 6th ed. New York : Freeman Press, 2007 : 52-73.
- Guzik TJ, Korbout R, Adamek-Guzik T. Nitric oxide and superoxide in inflammation and immune regulation. *J Physiol Pharmacol*. 2003 ; 54 : 469-87.
- Im RJ. *Flora medica coreana*. Seoul : Hankookmunhwasa, 1997 : 192-8.
- Kang BS, Ko UC, Kim SH, No SH, Shin YB, Song HJ, Shin MG, Ann DG, Lee YJ, Lee TH, Ju YS. Collaboration with a national college of oriental medicine herbology professor association. In *Herbology*. Seoul : Yonglim Press, 1994 : 392-3.
- Blois MS. Antioxidant determination by the use of a stable free radical. *J Nature*. 1958 ; 181 : 1199-200.
- Heo JC, Park JY, An SM, Lee JM, Yun CY, Shin HM, Kwon TK, Lee SH. Antioxidant and antitumor activities of crude extracts by *Gastrodia elata* Blume. *Korean J Food Preserv*. 2006 ; 13(1) : 83-7.
- Funk CD, Frunk LB, Kennedy ME, Pong AS, Fitzgerald GA. Human platelet/erythrocyte cell postaglandin G/H synthase: cDNA cloning, expression, and gene chromosomal assignment. *FASEB J*. 1991 ; 5 : 2304-12.
- Willeaume V, Krusys V, Mijatovic T, Huez G. Tumor necrosis factor- α production induced by viruses and by lipopolysaccharides in macrophages: similarities and differences. *J Inflamm*. 1995-1996 ; 46(1) : 1-12.
- Nathan C, Xie QW. Nitric oxide synthases: roles, tolls and controls. *Cell*. 1994 ; 78 : 915-8.
- Cho YJ. Characteristics of Cosmetic with Whitening Compounds from *Phellodendron amurense*. *J Agricultural Chem Biotechnol*. 2011 ; 54(2) : 108-13.
- Kim J, Lee JA, Yoon WJ, Oh DJ, Jung YH, Lee WJ, Park SY. Antioxidative and antimicrobial activities of *Euphorbia jolkini* extracts. *Kor J Food Sci Technol*. 2006 ; 38 : 699-706.
- Tao YU, Lee YJ, Yang HM, Soryu H, Kim, JH, Lee YS, Kim CG, Han MH, Kim MY, Lee JH, Cho JY. Inhibitory effect of *Sanguisorba officinalis* ethanol extract on NO and PGE₂ production is mediated by suppression of NF- κ B and AP-1 activation signaling cascade. *J Ethnopharmacology*. 2011 ; 134(1) : 11-7.
- Son KJ, Lee SA, Lee GD, Kim YS, Jeon JG, Chang KW. Effects of crude *Sanguisorba officinalis* L. extract on the growth and the adherence to hydroxyapatite beads of mutans streptococci. *J the Korean Acad Dent Health*. 2004 ; 28(1) : 97-104.
- Dray A, Urban L. New pharmacological strategies for pain relief. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*. 1996 ; 36 : 253-80.
- Barnadas-Rodriguez R, Sabes M. Factors involved in the production of liposomes with a high-pressure homogenizer. *Int J Pharm*. 2001 ; 213 : 175-86.
- Yun HJ, Heo SK, Yi HS, Kim CH, Kim BW, Park SD. Anti-inflammatory effect of injincho-tang in Raw 264.7 cells. *Kor J Herbology*. 2008 ; 23(2) : 169-78.
- Towata A, Sivakumar K, Yasui T, Tuziuti T, Kozuka T, Lida Y. Experimental and theoretical characterisation of sonochemical cells. Part 2: cell disruptors (Ultrasonic horns) and cavity cluster collapse. *J Ultrason Sonochem*. 2007 ; 11(14) : 2697-705.
- Izquierdo P, Feng J, Esquena J, Tadros TF, Dederen JC, Garcia MJ, Azemar M, Solans C. Formation and stability of oil-in-water nanoemulsions containing rice bran oil: in vitro and in vivo assessments. *J Colloid Interface Sci*. 2011 ; 9(4) : 388-94.
- Tagne JB, Kakumanu S, Nicolosi R. A Self Assembling Nanoemulsion of Lovastatin (SANEL) Decreases Cholesterol Accumulation and Apob-100

Secretion Greater than Lovastatin alone a Hepg2 Cell Line. *J Mol Pharm*, 2008 ; 5(6) : 1055-63.

24. Calderilla-Fajardo SB, Cazares-Delgadillo J, Villalobos-Garcia R, Quintanar-Guerrero D, Ganem-Quintanar A, Robles R. Influence of Sucrose Esters on the In Vivo Percutaneous Penetration of Octyl Methoxycinnamate Formulated in Nanocapsules, Nanoemulsion, and Emulsion. *Drug Dev Ind Pharm*, 2006 ; 32(1) : 107-13.