



### 저작자표시-비영리-동일조건변경허락 2.0 대한민국

이용자는 아래의 조건을 따르는 경우에 한하여 자유롭게

- 이 저작물을 복제, 배포, 전송, 전시, 공연 및 방송할 수 있습니다.
- 이차적 저작물을 작성할 수 있습니다.

다음과 같은 조건을 따라야 합니다:



저작자표시. 귀하는 원저작자를 표시하여야 합니다.



비영리. 귀하는 이 저작물을 영리 목적으로 이용할 수 없습니다.



동일조건변경허락. 귀하가 이 저작물을 개작, 변형 또는 가공했을 경우에는, 이 저작물과 동일한 이용허락조건하에서만 배포할 수 있습니다.

- 귀하는, 이 저작물의 재이용이나 배포의 경우, 이 저작물에 적용된 이용허락조건을 명확하게 나타내어야 합니다.
- 저작권자로부터 별도의 허가를 받으면 이러한 조건들은 적용되지 않습니다.

저작권법에 따른 이용자의 권리는 위의 내용에 의하여 영향을 받지 않습니다.

이것은 [이용허락규약\(Legal Code\)](#)을 이해하기 쉽게 요약한 것입니다.

[Disclaimer](#)

김 주 덕 교수 지도  
석사학위 청구논문

화장품소재로서의 하늘마(*Dioscorea  
bulbifera*)추출물에 대한 생리활성 연구

2024

성신여자대학교 뷰티융합대학원  
뷰티융합학과 화장품학전공  
김 지 연

화장품소재로서의 하늘마(Dioscorea  
bulbifera)추출물에 대한 생리활성 연구

김 주 덕 교수 지도

이 논문을 석사학위 논문으로 제출함

2024년 5월

성신여자대학교 뷰티융합대학원


뷰티융합학과 화장품학전공


김 지 연


# 인준서

김지연의 석사학위 논문으로 인준함

2024년 6월

심사위원장 한 지수 (서명 또는 인) 

심사위원 백 제 연 (서명 또는 인) 

심사위원 김 주 력 (서명 또는 인) 

성신여자대학교 뷰티융합대학원

## 논문개요

현대인들은 성별, 나이와 상관없이 건강하고 아름다운 피부를 가꾸기 위해 화장품을 사용하는 소비자들이 늘어나고 있으며, 화장품 성분에 대한 지식의 수준 또한 높아지고 있다. 이러한 영향으로 화장품 시장에서는 화학성분보다 천연성분에 초점을 맞추어 과학적 근거를 기반한 소재 개발 연구가 활발히 진행되고 있으며, 소비자의 인식과 요구로 화장품의 범위는 더 세분화되고 있다. 이러한 화장품 시장 트렌드에 맞추어 천연 소재를 개발하기 위해 우리나라의 토착화된 하늘마를 이용하여 생리활성 연구를 통해 새로운 화장품 기능성 소재로서 효능을 확인하였다.

본 연구에서는 하늘마의 껍질을 제거한 속열매를 물과 70% EtOH를 사용하여 추출을 진행하였으며, 얻어진 추출물을 이용해 항산화, 항염증, 보습 개선, 미백, 주름 개선에 대한 효능 검증을 진행하였다.

첫째, 총 폴리페놀 함량 측정 결과는 하늘마 속열매 열수 및 70% EtOH 추출물에서 각각  $114.35 \pm 0.82$  mg TAE /100 g,  $107.76 \pm 0.80$  mg TAE /100 g의 함량이 나타났다. 하늘마 속열매 추출물의 항산화 효능에 대해 검증하였으며, 하늘마 속열매 열수 및 70% EtOH 추출물의 DPPH radical 소거능은 1,000  $\mu$ g/ml 농도에서 각각 66.15%, 71.78%의 소거능을 보였고 ABTS radical 소거능은 500  $\mu$ g/ml 농도에서 두 추출물 모두 90% 이상의 소거능을 보이는 것을 확인하였다. 따라서 하늘마 속열매 열수 및 70% EtOH 추출물이 항산화력을 가진 것을 확인하였다.

둘째, 항염증 활성을 측정하기 위해 RAW 264.7 세포에 lipopolysaccharide (LPS)를 처리하여 Nitric Oxide (NO) 생성을 유도한 후 저해 활성 실험을 진행하였다. 그 결과, 하늘마 속열매 70% EtOH 추출물은 LPS 단독 처리군

대비 500 µg/ml 농도에서 23.63%의 저해 효과를 확인하였다. 반면 하늘마 속열매 열수 추출물은 NO 생성 저해 효과가 나타나지 않는 것을 확인하였다. 따라서, 하늘마 속열매 70% EtOH 추출물의 활용 가치가 더 높은 것을 확인하였다.

셋째, 각질형성세포인 HaCaT 세포에 하늘마 속열매 열수 및 70% EtOH 추출물을 처리하여 보습 개선을 확인하기 위해 hyaluronic acid (HA) 생성량을 확인하였다. 그 결과, HA 생성량은 무처리군 대비 하늘마 속열매 열수 및 70% EtOH 추출물을 처리하였을 때 최종농도인 1,000 µg/ml 농도에서 각각 10.59%, 15.66%의 생성량을 확인하였다.

넷째, 미백 활성을 확인하고자 tyrosinase 저해 활성을 측정한 결과, 하늘마 속열매 열수 및 70% EtOH 추출물은 1,000 µg/ml 농도에서 각각 11.30%, 17.02%의 저해능을 확인하였다. 이후 melanoma 세포인 B16-F10을 사용하여 멜라닌 함량 측정 실험을 진행하였으며, α-MSH 단독 처리군 대비 하늘마 속열매 열수 및 70% EtOH 추출물은 1,000 µg/ml 농도에서 각각 17.64%, 7.48%의 멜라닌 생성 저해 활성을 보여주었다.

다섯째, 주름 개선 효능을 확인하기 위해 elastase와 collagenase 저해 활성을 측정하였다. Elastase 저해 활성 측정 결과, 1,000 µg/ml 농도에서 하늘마 속열매 열수 및 70% EtOH 추출물은 각각 13.13%, 11.48%의 저해율을 보여주었으며, collagenase 저해 활성 또한 1,000 g/ml 농도에서 각각 12.11%와 12.82%의 저해 활성을 확인하였다.

본 연구논문은 항산화, 항염증, 보습, 미백, 주름 개선의 피부의 생리활성을 측정하여 하늘마 추출물의 새로운 천연 소재로서 활용 가능성을 확인하였으며, 이 결과를 토대로 화장품, 식품 등의 다양한 분야에서 하늘마를 응용하는데 기초 자료가 될 것으로 사료된다.

# 목 차

## 논문 개요

I. 서론 .....	1
II. 이론적 배경 .....	4
화장품 시장 동향 .....	4
피부 약리활성 .....	7
하늘마 .....	20
III. 재료 및 방법 .....	23
용어의 정의 .....	23
실험재료 .....	24
시약 및 기기 .....	25
실험 방법 .....	27
IV. 연구 결과 및 고찰 .....	36
추출 수율 .....	36
총 폴리페놀 함량 측정 결과 .....	37
항산화 활성 측정 결과 .....	39
항염증 활성 측정 결과 .....	43

보습 개선 측정 결과 .....	47
미백 활성 측정 결과 .....	51
주름 개선 측정 결과 .....	57
V. 결론 및 제언 .....	61

참고문헌

ABSTRACT (영문 초록)

## 표 목 차

Table 1. Definition of abbreviation .....	23
Table 2. Yield of extracts in hot distilled water and 70% EtOH extra- cts from <i>Dioscorea bulbifera</i> fruit .....	36
Table 3. Total polyphenol contents on hot distilled water and 70% EtOH extracts from <i>Dioscorea bulbifera</i> fruit .....	38

## 그림 목 차

Figure 1. Mechanism of Inflammation .....	9
Figure 2. Mechanism of moisturizing related factors .....	13
Figure 3. Mechanism of melanin synthesis in melanosomes .....	16
Figure 4. Mechanism of wrinkle-related factors .....	19
Figure 5. 하늘마 속열매 건조 사진 .....	22
Figure 6. Schematic diagram of extraction from <i>Dioscorea bulbifera</i> fruit .....	28
Figure 7. Electron donating ability of <i>Dioscorea bulbifera</i> fruit extracts .....	40
Figure 8. ABTS radical scavenging ability of <i>Dioscorea bulbifera</i> fruit extracts .....	42
Figure 9. Cell viability of hot water and 70% EtOH extracts from <i>Di- oscorea bulbifera</i> fruit on RAW 264.7 cells .....	44
Figure 10. Inhibitory effects of extracts from <i>Dioscorea bulbifera</i> fruit on NO production in LPS-induced RAW 264.7 cells .....	46
Figure 11. Cell viability of hot water and 70% EtOH extracts from <i>Dioscorea bulbifera</i> fruit on HaCaT cells .....	48
Figure 12. Effects of extracts from <i>Dioscorea bulbifera</i> fruit on HA production in HaCaT cells .....	50
Figure 13. Tyrosinase inhibition activity of <i>Dioscorea bulbifera</i> fruit extracts .....	52

Figure 14. Cell viability of hot water and 70% EtOH extracts from <i>Dioscorea bulbifera</i> fruit on B16-F10 cells .....	54
Figure 15. Inhibitory effects of extracts from <i>Dioscorea bulbifera</i> fruit on melanin contents in $\alpha$ -MSH induced B16-F10 cells .....	56
Figure 16. Elastase inhibition activity of <i>Dioscorea bulbifera</i> fruit extracts .....	58
Figure 17. Collagenase inhibition activity of <i>Dioscorea bulbifera</i> fruit extracts .....	60

# I. 서론

## 1. 연구의 목적과 필요성

최근 산업의 고도성장으로 국내외에서는 성별, 나이와 상관없이 건강하고 아름다운 외모를 유지하기 위한 사람들의 관심이 높아지고 있으며, 아름다운 외모의 기준으로 깨끗하고 맑은 피부가 미의 척도로 여겨져 피부 미용에 대한 관심도가 증가하고 있다<sup>1)</sup>. 특히, 얼굴은 사람과 마주할 때 가장 처음 인식되는 부위로 사람의 개성과 특징을 표현할 수 있어 외부적으로 중요한 신체 부위 중 한 곳이며, 얼굴의 피부는 다른 곳보다 외부에 직접 노출되어 있으므로 현대인들의 피부 관리가 다양한 방법으로 이뤄지고 있다. 이렇게 건강하고 아름다운 피부를 가꾸기 위해서 화장품을 사용하여 관리하는 소비자들이 늘고 있으며, 이 소비자들의 요구가 다양해짐에 따라 화장품 시장도 변화하고 있다<sup>2)3)</sup>.

화장품 시장은 현대인들의 소비, 문화, 트렌드와 개인의 개성에 초점을 맞춰 마케팅 전략이 변화하고 있고, 화장품을 구매하고 사용하는 소비자들은 화장품을 만드는 성분에 대해서도 정보와 안전이 보장된 성분을 찾으려는 지식의 수준이 높아지고 있다. 이러한 영향으로 화학성분보다는 천연성분에 대한 긍정적 소비 인식이 확산됨에 따라 기능성 효능과 과학적 근거에 대한 연구가 활발히 진행되고 있다<sup>4)5)</sup>. 화장품에 사용되는 화학성분은 합성 단계

- 1) 조혜진, 김경은 (2020). 맞춤형화장품에 대한 베이비붐 세대의 인식도 및 구매행동 연구. *한국미용학회지*, 26(3), pp.646~653.
- 2) 이광원, 박신성, 박수인, 신문삼 (2021). 초임계 대마종자 추출물의 화장품 효능과 경피흡수증진 효과. *문화기술의 융합*, 7(4), pp.683~691.
- 3) 이정정, 김경희, 육홍선(2023), 발효 여정실의 건강기능성 식품 및 화장품 소재로써 사용 가능성 평가, *한국식품영양과학회지*, 52(7), pp.691~700.
- 4) 오세원, 정종필, 박정수(2021), 화장품 제조업을 위한 제조데이터 기반의 스마트팩토리 시스템의 설계 및 구현, *한국인터넷방송통신학회*, 21(1), pp.149~162.
- 5) 양성민, 조규석, 방민지, 김규봉, 이병무, 신찬영(2015), 화장품 안전성 자료조사법 및 국내외 화장품성분 안전성 평가 동향, *FDC 법제연구*, 10(2), pp.131~139.

에서 구조와 기능을 조절할 수 있어 화장품의 사용 목적에 맞게 선택과 조합이 가능하고 물성을 조절하기에도 용이하다는 장점이 있지만, 생리 및 면역체계가 민감한 사람들에게 화학성분은 알레르기와 다양한 부작용을 유발할 수 있어 피부 안전성에 문제를 일으킬 수 있다고 밝혀졌다<sup>6)7)8)</sup>. 최근에는 천연성분을 기초로 한 화장품 시장이 소비자들의 안전한 성분에 대한 인식과 피부 개선에 대한 요구와 함께 급속도로 성장하고 있어 식물 유래 성분을 활용한 화장품 개발이 다양하게 이뤄지고 있다<sup>9)10)</sup>. 많은 식물에는 다양한 효능을 가진 활성 성분이 함유되어 있는데, 식물이 하는 활동 중의 하나인 광합성 과정에서 발생하는 활성산소를 제거하기 위해 식물 내에서는 항산화 물질을 생산하며 다양한 외부 자극에 대해 저항하기 위해 다양한 활성 성분을 함유하고 있다. 이러한 물질은 피부 질환 및 노화 등을 완화하고 예방하기 위해 사용되고 있다<sup>11)</sup>. 이와 같이 식물 유래 성분은 화장품에서 미백, 보습, 항염증, 항산화제 등 다양한 효능을 목적으로 사용되며, 화장품 트렌드는 환경오염과 독성 및 부작용을 갖는 화학성분에 비해 경쟁력 있는 환경친화적인 천연성분을 사용하고자 하는 인식이 증가하였으며, 자생식물을 활용한 화장품 소재 개발뿐만 아니라 이를 이용한 화장품 개발이 확대되었다.<sup>12)</sup> 화장품을 구매하고 사용하는 소비자들의 인식 변화에 따라 천연성분을 추구하고 이를 활용하여 화장품의 기능성 소재를 개발하고자 하는 연

- 
- 6) Roger. L. M, Giorgio. D(2023), History of Natural Ingredients in Cosmetics, *Cosmetics*, 10(3), p.71.
  - 7) 임선형, 이은희, 박두현(2016), 기능성 성분과 생리활성 기반의 천연화장품의 재료로서 식용 식물의 수용성 추출물의 유용성 평가, *한국미용학회지*, 22(4), pp.653~659.
  - 8) 김다미, 김경희, 김영식, 고종호, 이경행, 육홍선(2012), 복숭아 유과 씨 추출물을 이용한 화장품 소재 개발에 관한 연구, *한국식품영양과학회지*, 41(1), pp.110~115.
  - 9) Ngoc. L. T. N, Moon. J. Y and Lee. Y. C(2023), Insights into Bioactive Peptides in Cosmetics, *Cosmetics*, 10(4), p.111.
  - 10) Srisuksomwong. P, Kaenhin. L and Mungmai. L(2023), Collagenase and Tyrosinase Inhibitory Activities and Stability of Facial Cream Formulation Containing Cashew Leaf Extract, *Cosmetics*, 10(1), p.17.
  - 11) 강복희, 유민정(2021), 님과 킴프리 추출물의 화장품 소재로써 생리활성 연구, *아시아뷰티화장품학술지*, 19(2), pp.223~234.
  - 12) Ahendra. C. K, Goh. K. W, Ming. L. C, Zengin. G, Low. L. E, Ser. H. L and Goh. B. H(2022), The Prospects of Swietenia macrophylla King in Skin Care, *Antioxidants*, 11(5), p.913.

구가 활발히 진행되고 있다.

본 연구는 환경친화적 천연성분을 사용하려는 트렌드에 맞춰 마과의 식물인 하늘마에 대한 연구를 진행하였다. 하늘마는 여러해살이 덩굴식물로 아열대 지방에서 재배되기 시작하여 현재는 우리나라에서도 재배되고 있다. 하늘마는 다른 종류의 마와 달리 공중에 열린 마를 수확하여 비교적 재배와 수확이 쉬운 편이다. 마과에는 점액질 성분인 당단백질(glycoprotein)의 종류인 뮤신(mucin)이 존재하여 점성이 있으며<sup>13)</sup>, 이 성분은 면역기능 강화, 뇌기능 활성화, 신경통 완화에 도움을 준다고 알려져 있다. 또한 베트남에서는 하늘마 구근을 끓여서 식재료로 사용하고, 전통 의학에서는 갑상선 및 림프절의 염증을 치료하는 데 사용하였다. 이 외에도 백일해, 두통, 종기, 광견병 물림을 치료하는 외용제로 사용되기도 하였다.<sup>14)</sup> 위와 같은 효능들 외에도 하늘마에 대한 선행연구로는 항균<sup>15)</sup>, 항암<sup>16)</sup>, 항당뇨병<sup>17)</sup> 등 치료제로서의 효능에 관한 연구가 진행되어 있지만, 화장품 소재로 활용하기 위한 피부의 생리 활성화에 관한 연구는 미비한 실정이다. 이런 선행연구를 토대로 본 연구에서는 우리나라의 토착화된 하늘마에 대한 생리활성 연구를 진행하여 기능성 소재로서 과학적 근거를 마련하여 활용 가능성을 확인하고 화장품 산업에 기초적인 자료를 제공하고자 한다.

13) 김명현(2022), 열매마 분말을 첨가한 증편의 품질 특성, *Culinary Science & Hospitality Research*, 28(8), pp.1~8.

14) Ngan. N. T. T, Hoang. N. H, Truong. V. V, Hien. N. T, Lan. N. N, Tung. N. V, Huong. P. T. M, Oh. H and Quang. T. H(2021), Anti-inflammatory norclerodane diterpenoids and tetrahydrophenanthrene from the leaves and stems of *Dioscorea bulbifera*, *Fitoterapia*, 153, pp.1~7.

15) Teponno. R. B, Taponjdjou. A. L, Gatsing. D., Djoukeng, J. D, Abou-Mansour. E, Tabacchi. R, Tane. P, Stoekli-Evans. H and Lontsi, D(2006), Bafoudiosbulbins A, and B, two anti-salmonellal clerodane diterpenoids from *dioscorea bulbifera* L. var sativa, *Phytochemistry (Oxford)*, 67(17), pp.1957~1963.

16) Wang. J, Ji. L, Branford-White. C. J, Wang. Z, Shen. K, Liu. H and Wang. Z(2012), Antitumor activity of *dioscorea bulbifera* L. rhizome in vivo, *Fitoterapia*, 83(2), pp.388~394.

17) Ghosh. S, Ahire. M, Patil. S, Jabgunde. A, Bhat Dusane. M, Joshi. B. N, Pardesi. K, Jachak. S, Dhavale. D. D and Chopade. B. A(2012), Antidiabetic Activity of *Gnidia glauca* and *Dioscorea bulbifera*: Potent Amylase and Glucosidase Inhibitors, *Evidence-based complementary and alternative medicine*, 2012, pp.1~10.

## II. 이론적 배경

### 1. 화장품 시장 동향

현대사회에는 환경파괴, 기후변화와 그로 인한 자원고갈 현상이 심각한 문제로 지목되면서, 인간의 생존을 위협하고 있는 상황으로 변화하고 있으며 이를 해결하기 위해 여러 분야에서는 위기 대응을 위해 대기 보전, 수질 보호, 폐기물 관리 등 다양한 친환경 정책을 추진하고 있는 추세이다<sup>18)</sup>. 화장품 업계에서도 환경 문제와 관련하여 환경과 사람을 생각하여 인체에 무해한 성분, 피부에 안전한 물질을 사용하기 위해 노력하고, 동물실험을 배제하여 동물에 피해를 줄이며, 재활용이 가능한 포장 패키지 사용을 비롯한 다양한 노력을 하고 있으며, 새로운 트렌드인 클린뷰티 화장품을 선보이고 있다<sup>19)</sup>. 2021년부터 클린뷰티 및 비건화장품 시장 규모는 전 세계적으로 확대되고 있는 전망을 보여왔으며, 2021년에는 65억 달러의 시장 규모를 가졌지만 2024년에는 93억 달러를 달성하여 점차 더욱 성장할 것이라고 보고된다.<sup>20)</sup> 클린뷰티란 국가, 브랜드, 유통채널별로 정의하는 의미는 상이하나 일반적으로 EU의 화장품 산업에서 제시한 것을 보면, 원료의 윤리적인 생산과 유통, 유해 화학성분의 최소화, 안전한 성분, 유기농·비건 원료, 제품의 패키징 친환경 소재 사용 및 최소화 등의 요건이 충족되는 화장품을 말한다. 이러한 개념으로 클린뷰티는 환경을 생각하고자 하는 소비자들에게 각광받게 되었으며, 새로운 트렌드로 자리잡고 있다. 또한 클린뷰티 개념 중에 친환경 소재를 사용하고 화장품 제조 과정 중에 동물성 원료를 사용하지 않

18) 차유미, 이인희(2023), 클린뷰티 화장품 소비자의 환경적가치가 소비효능감과 소비행동에 미치는 영향, *한국미용학회지*, 29(4), pp.862~872.

19) 박현아, 이인희(2022), 클린뷰티 화장품 소비자의 인게이지먼트가 소비자 규범 및 소비행동에 미치는 영향, *한국미용학회지*, 28(1), pp.153~164.

20) KOTRA(2023), 글로벌 클린뷰티 화장품 동향 및 진출전략, 2023.07.21.

으며, 동물 실험을 배제한 비건 뷰티(Vegan Beauty)도 포함하고 있다.<sup>21)</sup> 클린뷰티 시장 성장과 함께 비건 화장품 시장도 규모가 확대되었으며, 전 세계의 비건 화장품 시장 규모는 연평균 6.3%씩 2010년 중반 이후부터 증가하는 추세를 보이며 2022년에는 약 20조원 이상의 규모로 성장한 것을 확인하여 2025년에는 23조 이상의 규모가 될 것으로 전망된다. 국내 비건 화장품 시장 또한 매년 성장세를 나타내고 있으며, 2013년에는 약 1600억원 정도 시장 규모에서 2022년에는 약 4배 정도 늘어난 약 5700억원의 시장 규모로 확대되었다.<sup>22)</sup> 비건이라는 단어는 베지테리언(Vegetarian) 철자에서 ‘veg’와 ‘an’의 단어를 조합해 만들어졌으며, 채식주의자를 말한다. 비건은 동물성 식품 및 동물성 원료가 포함된 식품을 섭취하지 않으며, 동물실험이 행해진 식품 및 제품을 사용하지 않는 채식주의자를 의미한다<sup>23)</sup>. 화장품에서의 비건 뷰티는 동물실험을 배제하고, 동물성 화장품을 사용하지 않으며, 또한 합성 방부제, 인공향료, 인공색소, 합성 계면활성제, 미네랄 오일 등 인체에 트러블을 유발하는 합성 원료를 사용하지 않는다. 이러한 성분을 제외하고 천연에서 얻을 수 있는 식물성 천연 재료를 사용하여 안전한 제품으로 제작한다. 이러한 화장품 시장 트렌드로 인해 세계 화장품 원료 시장 규모는 연평균 3.7%의 성장률을 보이고 있으며, 2021년에 약 2억 달러 이상의 시장 규모를 나타내어 2031년에는 약 3,680억 달러의 시장 규모를 가질 것으로 예상되어 진다.<sup>24)</sup>

화장품 시장은 산업발달과 인식 개선으로 소비자들은 건강과 웰빙에 관심이 높아지면서 클린뷰티, 비건뷰티에 대한 관심이 증가하고 제품에 대한 소

21) 이영화(2021), 클린뷰티 화장품에 나타난 통합 브랜드 커뮤니케이션 연구, *한국융합학회논문지*, 12(4), pp.161~169.

22) 글로벌이코노믹, 최양수(2023) 뷰티업계, 新먹거리 ‘비건화장품’...‘가치소비 확대’로 시장 규모 확대, 2023.03.29.

23) 신태현, 신동화(2022), 비건 화장품 소비자의 구매의도와 구매행동에 관한 연구: 확장된 계획행동이론을 중심으로, *차세대융합기술학회논문지*, 6(11), pp. 2255~2264.

24) Business Research insights(2024), 글로벌 화장품 원료 시장 성장의 세부 TOC - 2031, 2024.03.13.

비가 증가하고 있다<sup>25)26)</sup>. 이처럼 트렌드의 변화는 소비자들이 더욱더 친환경적이고 안전한 성분에 대해 알고 싶어 하며, 화장품의 구매 시 윤리의식을 상기시켜 도덕적인 소비가 증가하였다. 이러한 인식 변화는 제품의 품질 향상과 과학적인 근거에 관한 연구 증가로 이어지고 더 나아가 화장품을 제조하는 기업도 윤리적인 방식으로 제품을 만드는데 더욱 힘쓰고 있는 추세이다<sup>27)</sup>.

- 
- 25) 황제이, 김금란(2021), 비건 뷰티와 뷰티산업의 연관성에 관한 연구, *디지털융복합연구*, 19(1), pp.45~49
- 26) 허윤정(2021), 비건 화장품 매칭 서비스 애플리케이션의 GUI디자인 연구, *한국디자인문화학회지*, 27(3), pp. 490~501.
- 27) 류재연, 박초희(2021), 비건 브랜드에 대한 인식과 제품 만족도 연구, *한국화장품미용학회*, 11(1), pp.153~163.

## 2. 피부 약리활성

### 1) 항산화 및 항염증

인체 내에는 안정한 상태의 산소가 화학품, 광화학 반응 등의 환경적 요인과 효소, 신진대사 등의 생화학적 요인 등에 의하여 초과산화물 음이온기 (superoxide anion radical), 하이드록실라디칼(hydroxyl radical) 등 반응성이 큰 활성산소종(ROS; reactive oxygen species)로 전환된다<sup>28)</sup>. ROS란, 산소 분자가 전자의 수용성으로 인해 반응성이 매우 높은 분자를 뜻한다. ROS는 적당한 양이 있을 때 신체의 항상성을 유지하는 도움을 주지만 과도한 ROS는 산화 반응을 통해 다른 정상 세포의 전자를 뺏아 세포사멸을 유도하고 전자를 빼앗긴 세포는 유전적으로 파괴되거나 DNA 변형이 일어나 유전인자까지도 파괴될 수 있고<sup>29)</sup>, 노화 촉진, 암, 뇌 질환, 심혈관계 질환 등 각종 질병의 원인이 된다<sup>30)</sup>. ROS를 조절하기 위해 사용되는 많은 방법으로 항산화제를 사용하는 것이 가장 효과적이며 편리한 방법이다. 항산화제는 기질의 산화를 지연시키거나 억제하는 물질로 ROS를 소거하여 억제하는 물질들을 말한다<sup>31)</sup>. 대표적인 항산화제로는 Vitamin C (ascorbic acid), Vitamin E ( $\alpha$ -tocopherol), 플라보노이드(flavonoid) 등이 있고 이러한 항산화제를 이용하여 다양한 원인으로 생성되는 ROS의 화학적 성질, 생체 내에서 생성 과정, 항산화제의 작용기작 등을 고려하여 ROS의 생성을 억제하여야 한다<sup>32)</sup>.

28) 김용덕, 마헌다, 고경수, 전유진, 김수현(2009), 수확시기별 제주재래종 감귤과피의 활성산소종 소거활성, *한국식품영양과학회지*, 38(4), pp.462~469.

29) Dunnill. C, Patton. T, Brennan. J, Barrett. J, Dryden. M, Cooke. J, Leaper. D and Georgopoulos. N(2017), Reactive oxygen species (ROS) and wound healing: the functional role of ROS and emerging ROS-modulating technologies for augmentation of the healing process, *International Wound Journal*, 14(1), pp.89~96.

30) 정경환, 김태훈(2016), 재배 삼나무 뿌리 추출물의 자유 라디칼소거 및  $\alpha$ -glucosidase 저해 활성, *한국식품저장유통학회지*, 23(7), pp.989~994.

31) 박수남(1997), 피부노화와 항산화제, *대한화장품학회지*, 23(1), pp.75~132.

32) 박재현, 안근재, 이선령(2020), 열처리 불가사리 추출물의 항염 활성, *생명과학회지*, 30(7), pp.634~639.

염증은 모든 유형의 신체 손상에 대한 반응으로 발생하는 비특이적 면역 반응의 일종으로, 혈류 증가, 세포 대사 증가, 혈관 확장, 세포 유입 등의 증상이 대표적인 염증반응이다. 염증 발생에 관한 메커니즘을 Figure 1과 같이 나타내었다. ROS의 종류 중 하나인 산화질소(NO; nitric oxide)가 염증 반응을 조절하는 중요한 매개체로 알려져 있다<sup>33)</sup>. 생체 내에서 NO의 전구 물질은 L-아르기닌(L-arginine)으로서 산화질소 합성효소(NOS; nitric oxide synthase)의 작용으로 L-arginine이 산화되면서 L-시트룰린(L-citrulline)과 NO를 생성하게 된다. NOS는 일종의 산화효소로서 endothelial NOS (eNOS), neuronal NOS (nNOS), inducible NOS (iNOS)의 세 가지 아형이 존재하며 이 중 iNOS는 염증성 사이토카인이나 지질다당류(LPS; lipopolysaccharides) 등과 같은 특정한 자극이 있어야만 전사되어 발현된다. iNOS는 다른 NOS의 종류와는 달리 일단 발현하면 많은 양의 NO를 생성하게 되고 iNOS에서 생성된 NO는 면역반응 조절 및 세포 독성에 관여하게 된다<sup>34)35)</sup>. 또한, 이러한 NO는 신체의 다양한 생리활성에 관여하는데 일반적으로는 면역기능, 혈관 및 혈소판 응집 조절, 신경 전달 및 기억조절을 포함하는 항상성 작용과 관련되어 있지만, 과도한 NO의 생성은 염증, 신경 질환, 동맥경화증 및 암과 관련되어 있다고 알려져 있다. 이러한 이유로 최근에는 염증반응 조절제로서 NO 생성 저해 활성을 가지는 물질에 대한 연구가 활발하게 이루어지고 있다<sup>36)37)</sup>.

- 
- 33) 김정환(2014), 둥근마(Dioscorea bulbifera) 추출물의 항염증 활성 기전에 관한 실험적 연구, *호서대학교 박사학위논문*.
- 34) 지병철, 문신용(2002), Nitric Oxide가 인간 황체화 과립막세포의 아포프토시스에 미치는 영향, *대한산부인과학회*, 45(5), p.5.
- 35) 임창열(2010), Nitric Oxide와 종양, *대한내과학회지*, 78(4), pp.430~436.
- 36) Cataldi. A, Amoroso. R, Giacomo. V. D, Zara. S, Maccallini. C and Gallorini. M(2022), The Inhibition of the Inducible Nitric Oxide Synthase Enhances the DPSCMineralization under LPS-Induced Inflammation, *International Journal of Molecular Science*, 23(23), p.14560.
- 37) 이영선, 한옥경, 신상우, 박종현, 권영규(2003), 향부자 열수추출물의 Nitric oxide 생성 및 iNOS 유전자 발현에 미치는 영향, *동의생리병리학회지*, 17(3), pp.771~776.

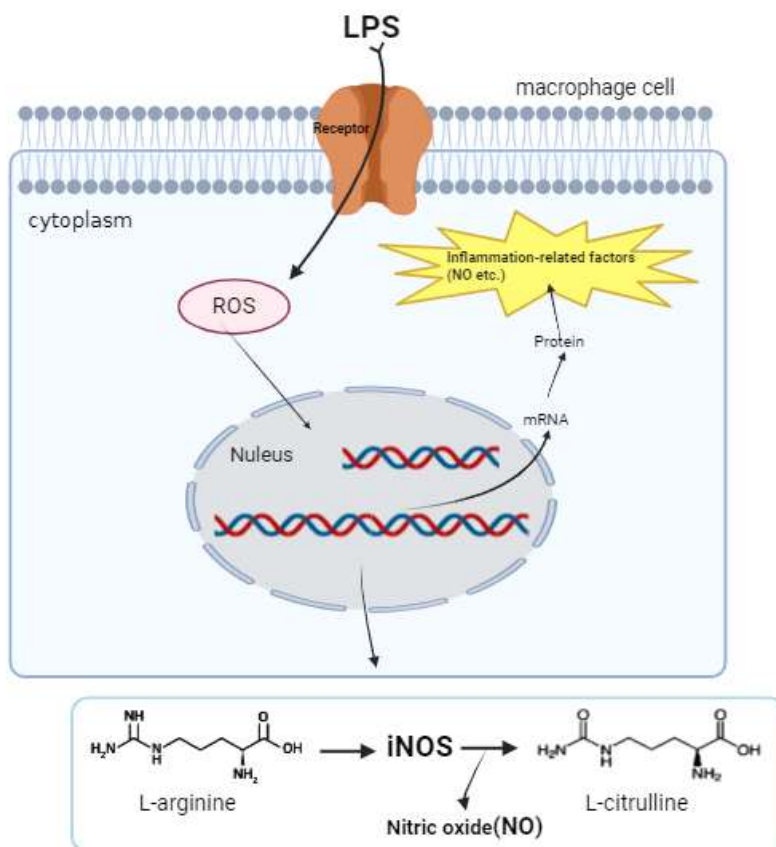


Figure 1. Mechanism of Inflammation.

## 2) 보습

피부 보습과 관련된 메커니즘을 Figure 2와 같이 나타내었다. 피부는 유기체의 외부와 내부를 분리하는 기관이며, 우리 몸을 외부 환경으로부터 보호하는 주요 장벽이다. 외부 자극으로부터 신체를 보호하고, 피부의 가장 바깥층에 있는 각질층의 지질과 단백질은 수분을 매개로 하여 정상적인 상태를 유지한다<sup>38)</sup>. 그러나 각질층의 수분이 부족해진 상태로 피부장벽에 이상이 발생해 경피수분손실(TWEL; transepidermal water loss)이 증가하여<sup>39)</sup>, 피부의 수분함량이 감소하면 천연보습인자(NMF; natural moisturizing factor) 형성에 영향을 주게 되어 피부에서 건조한 피부 및 아토피 등이 나타나게 된다<sup>40)</sup>. 피부의 고유 성질 외에도 피부를 부드럽게 해주는 역할은 각질층에 존재하는 수분에 의해 좌우되며, 히알루로닉애씨드(HA; hyaluronic acid), NMF, 콜라겐(collagen) 등 이러한 성분들은 피부의 수분함유량에 영향을 준다. 건강한 피부로 유지하려면 각질 세포 간 지질성분과 유기산, 요소, 아미노산 등의 NMF와 피지가 관여한다. 이러한 성분들은 건조한 환경에서도 피부의 수분을 유지시킨다<sup>41)42)</sup>. 피부의 건조는 표피 상층부인 각질층에서 일어나는 변화와 보습인자들의 균형이 결핍되는 것이 주된 원인이라고 볼 수 있다<sup>43)</sup>. HA는 글리코사미노글리칸(glycosaminoglycan) 고분자로서 면역조절, 세포의 증식 및 이동에 관여하며 수분증발을 차단하는 장벽 역할을 하며<sup>44)</sup>, 엘라스틴(elastin) 및 콜라겐과 함께 피부 3대 요소로 친수성이 강해

38) 최은영(2006), 피부측정기구를 이용한 피부표면상태의 비교측정, *아시아뷰티화장품학술지*, 4(2), pp.1~10.

39) 권승빈, 이강태, 최성진, 이나경, 박현우, 이광식, 이진국, 안규중, 안인숙(2013), 글리세린, 히알루론산, 실리콘 오일이 피부의 보습 및 경피수분손실량에 미치는 효과, *아시아뷰티화장품학술지*, 11(4), pp.761~768.

40) 서은경, 이주연(2009), 해양심층수 함유 화장품의 피부보습 효과, *한국인체미용예술학회지*, 10(2), pp.153~164.

41) 이새롬, 김영삼(2018), 천연성분 Ectoin이 피부 보습 및 수분에 미치는 영향, *아시아뷰티화장품학술지*, 16(3), pp.437~447.

42) 주경미, 한지연, 손의동, 남개원, 정혜진, 임경민, 조준철(2012), 아미노산 동시분석을 통한 피부 보습능과 각질 중 아미노산 함량과의 상관관계 연구, *한국화장품학회지*, 38(1), pp.75~82.

43) 박장서(2008), 표피항상성과 건조피부의 관리, *한국화장품학회지*, 34(1), pp.1~8.

물과 결합하여 피부 수분 유지에 매우 중요한 역할을 하는 천연 보습제로 널리 알려져 있다<sup>45)</sup>. HA는 피부 보습과 관련이 깊으며, 진피의 섬유아세포와 각질형성세포에서 히알루로난 합성효소(HAS; hyaluronan synthase)에 의해 합성되며<sup>46)</sup>, 고분자의 HA는 HAS-1과 HAS-2가 합성하고, 저분자의 HA는 HAS-3가 합성한다고 알려져 있다. HAS-2는 각질형성세포에서 가장 많이 형성되고 Akt signaling pathway와 미토겐활성화단백질키나아제(mitogen-activated protein kinase)에 의해 발현량이 조절된다<sup>47)</sup>. HA의 감소는 수분 함유량 감소 및 피부 탄력 저하의 원인 중 하나이다<sup>48)</sup>. 또한, 각질형성세포에서 세포 내로 글리세롤과 수분을 수송하는 역할을 하는 아쿠아포린(AQP; aquaporins)가 존재하는데 이중 AQP3가 발현되어 있다<sup>49)</sup>. AQP3의 정상적인 발현은 세포 내의 정상적인 피부 장벽을 보호해주고, 피부 각질세포에서 주로 발견되며 세포증식 및 세포 이동에 관여해 각질세포의 이동과 증식을 향상시켜 상처 치유를 촉진하는 것으로 여겨진다<sup>50)</sup>. NMF는 필라그린이 분해되어 아미노산을 생성해 그 대사산물로 구성되는데<sup>51)</sup>, 피부조직 내 필라그린은 과립층에서 케라토히알린과립(kerato-hyalin granule)을 형성하는 프로필라그린의 형태로 존재한다. 이후, 각질형성세포의 최종분화 과정에서

- 
- 44) 이주연(2020), 시호(*Bupleurum falcatum* L.) 뿌리 추출물의 피부 보습, 장벽 기능 강화 및 피부상태 개선 효과, *건국대학교 박사학위논문*.
- 45) 홍인립, 김영진(2008), 히알루론산에 결합된 리포산 자기조립체의 제조 및 특성, *Polymer (Korea)*, 32(6), pp.561~656.
- 46) 김진, 이창문, 황은주, 김춘성, 문성용, 이숙영(2022), 미역 추출물의 피부 보습 효능에 대한 연구, *한국키티탄키토산학회*, 27(4), pp.223~230.
- 47) 정재우(2020), 염생식물 추출물의 피부 보습 및 장벽 기능 강화 효과, *인천대학교 석사학위논문*.
- 48) 송혜진, 진무현, 이상화(2013), 천궁으로부터 분리된 ferulic acid의 히알루론산 생성에 미치는 효과, *한국화장품학회지*, 39(4), pp.281~288.
- 49) 안세연, 길소연, 권오선, 장윤희, 진무현(2017), 순채 점액질 다당체 추출물의 피부 보습 효과 연구, *한국화장품학회지*, 43(3), pp.223~230.
- 50) Wang. Z, Wang. Q, Zhong. W, Liang. F, Guo. Y, Wang. Y and Wang. Z(2023), Moisturizing and Antioxidant Effects of *Artemisia argyi* Essence Liquid in HaCaT Keratinocytes, *International journal of molecular sciences*, 24(7), pp.1~14.
- 51) 민지현, 조윤희, 이윤주, 한상미(2013), 자외선 조사와 병행된 로얄제리 식이 공급이 무모 생쥐의 표피 보습과 필라그린, 유리아니모산 함량 및 관련 대사 효소의 발현 변화에 미치는 영향, *한국영양학회지*, 46(2), pp.109~118.

필라그린으로 분해된 후 각질세포막을 형성할 때 케라틴 필라멘트를 응집하여 각질세포의 단단하고 평평한 구조를 만듦으로써 피부 장벽의 벽돌 역할을 수행한다<sup>52)</sup>. 또한, NMF가 필라그린에서 분해되는 과정은 환경 습도와 연관되어 있으며, 외부의 습도가 높으면 필라그린의 가수분해가 피부의 가장 바깥쪽 표면에서 발생하여 NMF가 피부 건조를 방지한다고 알려져 있다<sup>53)</sup>. NMF 분해 과정을 통해 2-피롤리돈-5-카르복실산(2-pyrrolidone-5-carboxylic acid)나 트랜스 우로카닉 애씨드(trans-urocanic acid) 등과 같은 NMF를 생성하여 각질층 pH의 정상화, 항염 작용, 피부 보습 등에 중요한 역할을 수행하고 있다<sup>54)</sup>.

---

52) 박소은, 백명선, 양지혜(2019), 장미 허브 (*Plectranthus tomentosus*) 물추출물과 에탄올추출물의 주름 개선, 보습 및 피부 장벽 보호 효과에 대한 비교연구, *한국미용학회지*, 25(5), pp.1061~1067.

53) 김예지(2013), 흰쥐 폐경기 노화 모델에서의 로얄제리 식이공급이 표피의 필라그린과 유리아미노산 함량 및 관련 대사 효소의 단백질 발현 변화에 미치는 영향, *경희대학교 석사학위논문*.

54) Cork. M. J, Danby. S. G, Vasilopoulos. Y, Hadgraft. J, Lane. M. E, Moustafa. M, Guy. R. H, Macgowan. A. L, Tazi-Ahnini. R and Ward. S. J(2009), Epidermal Barrier Dysfunction in Atopic Dermatitis, *Journal of Investigative Dermatology*, 129(8), pp.1892~1908.

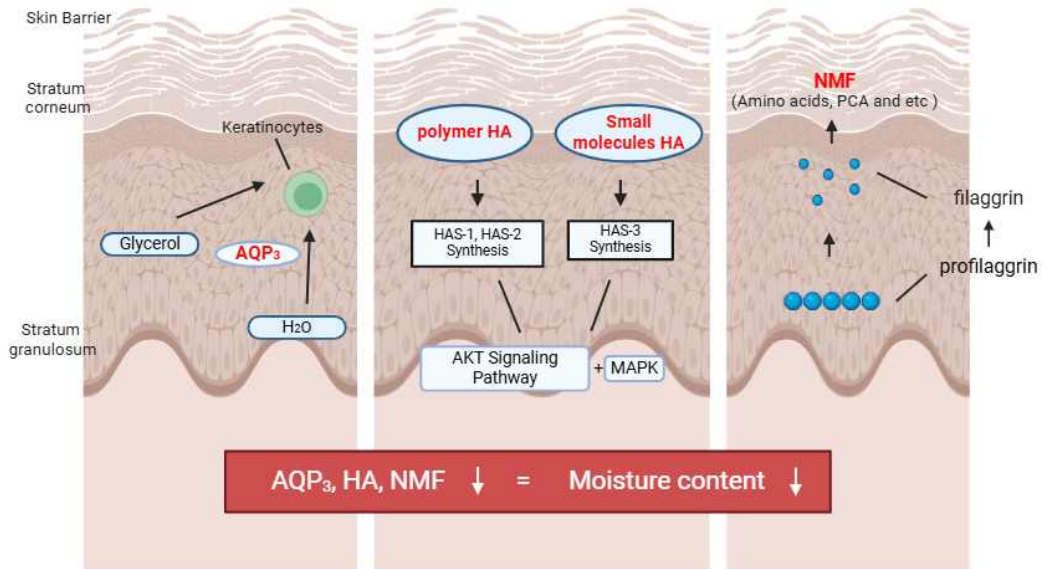


Figure 2. Mechanism of moisturizing related factors.

### 3) 미백

피부의 최외각에 존재하는 표피는 외부 자극이 인체 내로 침투되는 것을 방어하는 역할을 갖고 있으며, 각질층, 기저층, 유극층, 과립층의 총 4개의 세포층으로 나누어져 있다. 이 중, 기저층에는 멜라노사이트(melanocyte)가 존재하는데, 이는 사람의 피부색을 결정하는데 중요한 역할인 멜라닌을 생성한다. 멜라닌 생성에 대한 메커니즘을 Figure 3과 같이 나타내었다. 멜라닌은 사람의 피부색 뿐만 아니라 머리카락 등 신체 부위들의 색을 결정하는데 중요한 요소로 작용하며, 외부 자극에 의한 조직 또는 세포의 손상을 방어하여 피부를 보호한다<sup>55)56)</sup>. 하지만 과도하게 멜라닌 생성이 이루어질 경우 다양한 피부 질환의 원인으로 작용해 기미, 색소침착, 주근깨, 검버섯 등의 생성을 일으킨다<sup>57)</sup>. 자외선에 피부가 노출되면 멜라닌 세포에서 알파 멜라닌 세포 자극 호르몬( $\alpha$ -MSH; alpha-melanocyte stimulating hormone) 생성이 촉진되어 멜라닌 색소를 생성하는 멜라닌 생합성 반응이 일어난다<sup>58)59)</sup>. 멜라닌 생합성 과정 중 초기에 작용하는 효소인 티로시나아제(tyrosinase)는 멜라닌 합성을 촉진시킨다. 티로시나아제에 의해 생성되는 멜라닌 종류는 짙은 갈색이나 검정색으로 나타나는 유멜라닌(eumelanin), 적색이나 황색으로 나타나는 페오멜라닌(pheomelanin)으로 구분된다<sup>60)</sup>. 이 중 유멜라닌은 L-3,4-다이하이록시페닐알라닌(L-DOPA; L-3,4-di-hydroxyphenylalanine)에서 티로시나아제에 의해 산화 반응이 일어나 도파퀴논(DOPA quinone)을 거쳐 5,6-디히드록시인돌(5,6-

55) 최소영, 김영철, 장병수(2011), 멜라닌 세포에서 홍차 열수추출물의 멜라닌 합성저해능과 작용기전, *한국현미경학회지*, 41(3), pp.169~177.

56) 송아람(2017), 효소 처리 방법에 따른 굴 가수분해물을 이용한 미백 활성 및 주름 개선, *신라대학교 석사학위논문*.

57) 정지연, 모은진, 황방연, 이미경(2015), 연자육의 페놀성 성분 및 Tyrosinase 저해 활성, *생약학회지*, 46(1), pp.1~5.

58) D'Mello. S. A, Finlay. G. J, Baguley. B. C and Askarian-Amiri. M. E(2016), Signaling Pathways in Melanogenesis, *International Journal of Molecular Sciences*, 17(7), p.1144.

59) 양서진, 최태부(2011), 연교 추출물의 항산화활성 및 미백 효과, *한국약용작물학회지*, 19(6), pp.472~477.

60) 김효민, 유단희, 이인철(2022), Melanin 생성 인자 억제 효과를 통한 *Mangifera indica* L. Peel의 미백효과 연구, *한국미생물·생명공학회지*, 50(1), pp.31~39.

dihydroxy- indole), 류코크롬(leucochrome), 도파크롬(DOPA chrome)으로 전환되어지며 합성과정에서 일어난다<sup>61)</sup>. 또한, 티로시나아제 외에도 멜라닌 생성에 관련된 인자로 티로시나아제 관련 단백질(TRP-1; tyrosinase-related protein-1), TRP-2 및 마이크로프탈미아 관련 전사인자(MITF; micro-phthalmia-associated transcription factor) 등이 있다<sup>62)</sup>. MITF는 멜라닌 형성의 주요 조절인자로, TRP-1과 TRP-2의 발현을 조절하기 위해 이들의 프로모터(promoter)에 결합하여 멜라닌 생성을 유도한다고 알려져 있다<sup>63)</sup>. TRP-1과 TRP-2는 도파크롬을 5,6-디하이드록시인돌-2-카르복실에씨드(5,6-dihydroxyindole-2-carboxylic acid)로 전환시킨 후 인돌-5,6-퀴논-2-카르복실릭에씨드(indole-5,6-quinone-2-carboxylic acid)로 산화시켜 멜라닌을 합성시킨다<sup>64)</sup>. 이로 인해, 멜라닌 생성 뿐만 아니라 합성 후 각질형성세포로 전달되는 것이 과정을 저해 및 차단하는 연구가 피부 미백제 개발에 있어 중요시 여겨지며, 현재 미백 관련 인자에 대한 연구가 활발하게 이루어지고 있다<sup>65)</sup>.

- 
- 61) 한나경, 박창민, 권주찬, 정민석, 최종완(2014), 쓴메밀 추출물의 미백 개선 효과, *대한화장품학회*, 40(2), pp.179~186.
- 62) 유단희, 이인철(2021), B16F10 세포에서의 오크라 추출물의 미백 활성 검증, *한국미생물·생명공학회지*, 49(4), pp.485~492.
- 63) 이현상, 석지현, Ting. CW, 김윤정(2018), 용담화 추출물의 미백 활성 연구, *대한화장품학회*, 44(1), pp.9~14.
- 64) Hida. T, Kamiya. T, Kawakami. A, Ogino. J, Sohma. H, Uhara. H and Jimbow. K(2020), Elucidation of Melanogenesis Cascade for Identifying Pathophysiology and Therapeutic Approach of Pigmentary Disorders and Melanoma, *International Journal of Molecular Sciences*, 21(17), p.6129.
- 65) 김경연, 이나경(2014), 멜라닌 생성과 제어에 영향을 미치는 한방추출물 연구 동향, *아시안 뷰티화장품학회지*, 12(4), pp.453~461.

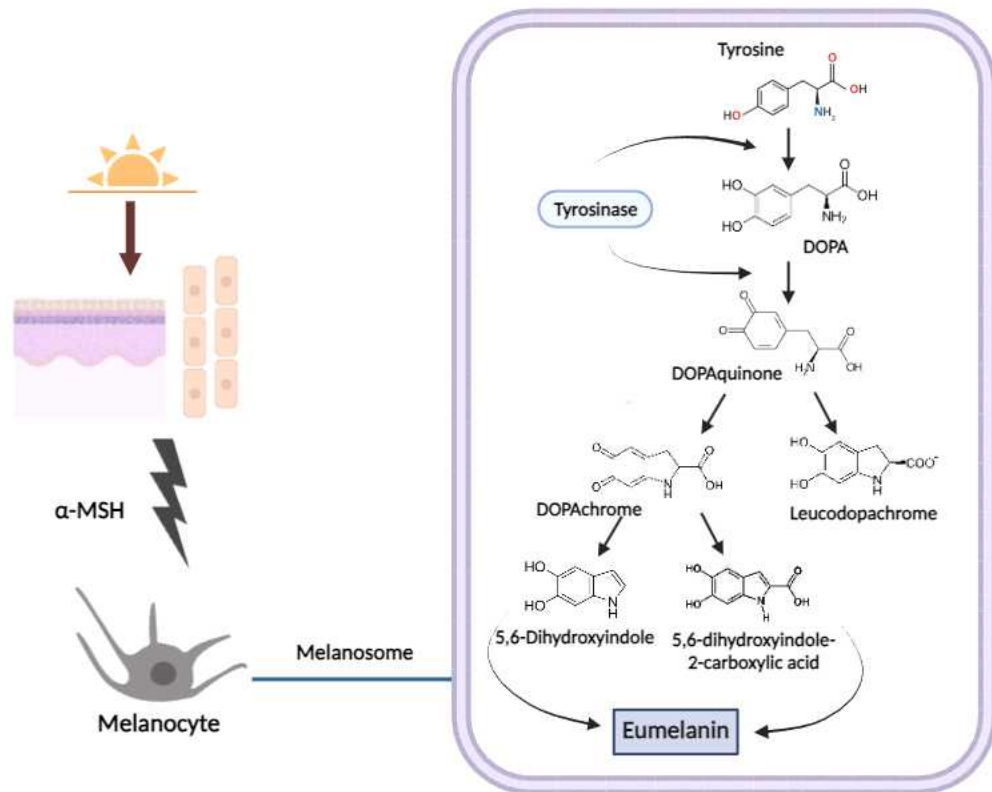


Figure 3. Mechanism of melanin synthesis in melanosomes.

#### 4) 주름 개선

신체의 노화가 진행되면서 피부의 각질층에서는 장벽기능이 약화 되어 유해 물질 및 알레르겐(allergen)에 쉽게 노출되어 피부 민감도 증가 등의 피부 변화로 인해 피부 노화가 발생한다<sup>66)67)</sup>. 피부 노화는 크게 내인성 노화와 외인성 노화로 나누어진다. 내인성 노화는 외부 자극 및 자외선 등에 노출되지 않은 피부에서 주로 관찰되고 나이가 들어가며 유전적 요인으로 인해 발생한다. 외인성 노화는 자외선이 주된 요인으로 작용하며, 자외선(ultra violet, UV)은 파장의 길이로 구분되어 UV-A, UV-B 및 UV-C로 나누어진다. 이때 UV-B는 피부의 각질층을 투과한 후 표피의 하부층까지 도달하여 피부 탄력 소실, 색소침착, 피부 주름 및 피부 건조와 같은 노화 과정을 촉진시킨다<sup>68)69)70)</sup>. 피부의 노화 발생에 관한 메커니즘을 Figure 4와 같이 나타내었다. 피부의 진피층에 존재하는 세포외 기질(ECM; extracellular matrix)은 피부세포의 이동, 성장 및 분화에 관여하고, 세포와 세포 사이의 상호작용뿐만 아니라 신호전달 역할을 갖고 있다. 이러한 ECM은 피부의 기계적 구조를 유지하는 데 중요한 역할을 하며, 구성 단백질로는 엘라스틴, 콜라겐, 프로테오글리칸, 피브로넥틴 등이 알려져 있다<sup>71)</sup>. 콜라겐은 피부에서 가장 풍부한 단백질로 진피의 90%를 차지하고 있으며, 엘라스틴은 3~4%를 차지하

66) Langton. A. K, Sherratt. M. J, Griffiths. C. E. M and Watson. R. E. B(2010), A new wrinkle of old skin: the role of elastic fibres in skin ageing, *International Journal of Cosmetic Science*, 32(5), pp.330~339.

67) 김희진, 김타곤, 강환열, 백현, 전해영, 김보영, 김동욱(2010), 연근 추출물에서 주름개선 소재의 개발, *한국화공학회지*, 48(4), pp.413~416.

68) Ganceviciene. R, Liakou. A. I, Theodoridis. A, Makrantonaki. E and Zouboulis. C. C(2012), Skin anti-aging strategies, *Dermato Endocrinology*, 4(3), pp.308~319.

69) 전해숙, 이창현, 안홍석(2014), UVB 조사에 의한 육미지황탕의 광노화 피부 억제에 관한 실험적 연구, *동의생리병리학회지*, 28(5), pp.520~529.

70) 하창우, 김성혁, 장소희, 최정훈, 김경인, 윤보섭, 최영훈, 이진우, 김수남, 손은화(2023), 인간 섬유아세포 및 인간 각질형성세포에 대한 코브라 오일의 주름개선 및 노화 방지 효과, *한국산학기술학회논문지*, 24(6), pp.281~293.

71) Panwar. P, Butler. G. S, Jamroz. A, Azizi. P, Overall. C. M and Bromme. D(2018), Aging-associated modifications of collagen affect its degradation by matrix metalloproteinases, *Matrix Biology*, 65, pp.30~44.

고 있다. 이렇게 진피의 많은 부분을 차지하는 콜라겐과 엘라스틴은 피부의 상처회복, 기관형성, 피부 탄력 등에 관여한다. 이로 인해 콜라겐과 엘라스틴의 감소는 피부 노화와 밀접한 관련이 있는데 이들은 콜라게네이즈와 엘라스테이즈에 의해 분해 작용이 일어나 감소하는 반응이 일어난다<sup>72)73)74)</sup>. 나이가 들어가는 자연적인 요인뿐만 아니라 공해, 온도, 바람, 자외선, 활성산소 등에 의해 콜라게네이즈와 엘라스테이즈가 증가하게 되는데, 특히 자외선에 의해 발생하는 분해효소는 기질단백질분해효소(MMPs; matrix metalloproteinase)의 과발현과 연관성이 있다고 보고된다<sup>75)76)</sup>. MMP는 사람 피부 내에 19종이 존재한다고 알려져 있으며, 그 중 MMP-1, MMP-3, MMP-9은 자외선에 의해 증가되며, 특히, MMP-1은 주요 콜라게네이즈로서 과도하게 생성되면 세포 사이에 존재하는 콜라겐을 절단시키며 이후 MMP-3와 MMP-9에 의해 더 작은 입자로 분해된다. MMP-3는 엘라스테이즈로서도 알려져 있어 활성이 증가하게 되면 엘라스틴이 감소하여 피부 섬유 결합이 저해된다<sup>77)78)</sup>. 이러한 MMP-1과 MMP-3의 과도한 활성은 피부노화를 유발하여 이를 억제시킨다면 피부노화 지연 및 방지가 가능할 것으로 보고되어진다<sup>79)</sup>.

- 
- 72) 이미경, 김동희, 박태순, 손준호(2015), 만형자 추출물의 항산화 및 주름개선 효과, *한국응용생명화학회*, 58(2), pp.125~129.
- 73) 김창수, 리순화(2012), 솔잎 추출물이 진피섬유아세포에서 콜라겐 발현 및 생성에 미치는 영향, *아시아뷰티화장품학회지*, 10(4), pp.817~822.
- 74) 김인덕, 권륜희, 허예영, 정혜진, 강환열, 하배진(2008), 한방원료의 초임계 추출을 이용한 항노화 및 주름개선 효과, *한국생물공학회지*, 23(6), pp.529~534.
- 75) 김나미, 구분석, 이성계, 황의일, 소승호, 도재호(2007), 홍삼성분이 섬유아세포의 콜라겐 생합성과 MMP-1 활성에 미치는 영향, *한국자원식물학회지*, 31(2), pp.86~92.
- 76) 은봉기(2019), 구절초와 발효옷 복합물의 미백 및 주름개선 효과, *중원대학교 석사학위논문*.
- 77) Quan. T, Qin. Z, Xia. W, Shao. Y, Voorhees. J. J and Fisher. G. J(2009), Matrix-Degrading Metalloproteinases in Photoaging, *Journal of Investigative Dermatology Symposium Proceedings*, 14(1), pp.20~24.
- 78) 광충실, 양지원(2016), 인간피부세포에서 복숭아꽃 추출물의 투여가 자외선 B 조사에 의한 활성산소와 Matrix Metalloproteinases 생성 유도를 억제하는 효과, *아시아뷰티화장품학회지*, 14(2), pp.179~190.
- 79) 신용하(2018), 야관문 추출물의 주름, 미백 활성 평가, *제주대학교 석사학위논문*.

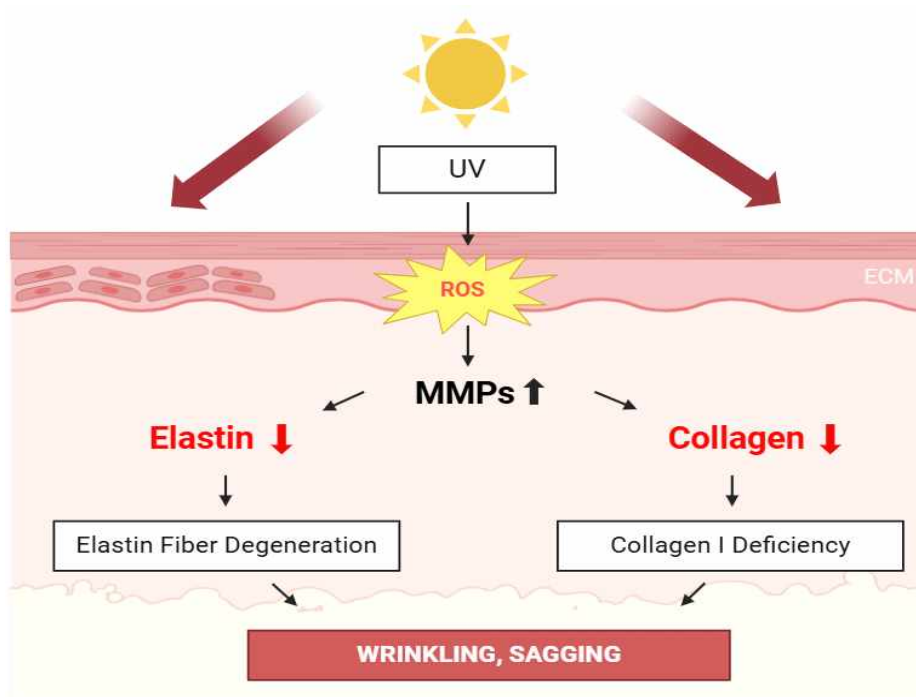


Figure 4. Mechanism of wrinkle-related factors.

### 3. 하늘마(*Dioscorea bulbifera*)

하늘마는 마과(*Dioscoreaceae*)에 속한 여러 품종 중 한 종으로 열매마, 우주마 등의 이름으로도 알려져 있다. 원산지는 호주, 아프리카, 인도, 미얀마, 중국, 캄보디아, 베트남 등 주로 아열대 및 아시아 등에 널리 분포되어있으며<sup>80)</sup>, 우리나라에서는 2017년부터 청양군, 진안군, 정읍시, 화성시 등 국내에서 시험 재배되기 시작해 소득 작물로 주목받고 있다<sup>81)</sup>. 하늘마의 특성은 땅속에서 캐는 마와 달리 열매처럼 열리는 마를 수확하여 재배가 쉬우며, ningul성 줄기에 열린 마를 따서 수확하므로 재배가 쉽고 병해에도 강해 친환경 재배가 가능하여 비교적 수확량이 많다<sup>13)</sup>. (Figure 5)

하늘마가 속해있는 품종인 마과는 다년생의 덩굴 식물로써, 국내에서는 약용과 식용으로 주로 사용되며 잎과 덩이뿌리의 모양에 따라 단마 장마, 부채마 등으로 다양하게 분류되어 있으며 현재까지 약 650여 종의 마과 식물이 발견되었다. 약용으로 주로 사용되는 마는 참마(*Dioscorea japonica* Thunb), 잉여자(마의 씨앗) 등이며 식용으로는 재배 품종인 장마(*D. polystachya* Turcz), 둥근마(*D. bulbifera* L.) 등이 주로 재배되고 있다<sup>82)</sup>. 마과 식물에는 공통적으로 아밀로스(amylose), 콜린(cholin), 사포닌(saponin), 뮤신(mucin), 아르지닌(arginine), 디오스게닌(diosgenin)등의 약용성분을 함유하고 있다. 뮤신은 점질 성분인 당단백(glycoprotein) 일종으로 점성이 높으며 면역기능 강화와 뇌기능 활성화, 신경통 완화 등에 효과가 있다고 알려져 있으며<sup>83)</sup>, 마의 약용 성분 중 하나인 아르지닌(arginine)은 신체에 많은 도움이 되는

80) Mainasara. M. M, Abu Baker. M. F, Md Akim. A, Linatoc. A. C, Abu Baker. F. I and Ranneh. Y. K(2021), Secondary Metabolites, Antioxidant, and Antiproliferative Activities of *Dioscorea bulbifera* Leaf Collected from Endau Rompin, Johor, Malaysia, *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, pp.1~10.

81) 김명현(2022), 열매마(*Dioscorea bulbifera*) 분말을 첨가한 스펀지케이크의 품질특성, *한국식품생활문화학회지*, 37(4), pp.354~362.

82) 남동건, 임정연, 황경아, 최정숙, 임푸름(2022), 장마 잉여자 효소·주정 복합처리 추출물의 이화학적 특성 및 생리활성, *한국식품저장유통학회지*, 29(1), pp.116~128.

83) 최원석(2012), 둥근마를 이용한 기능성 건강음료 개발에 관한 연구, *Food industry and Nutrition*, 17(2), pp.20~22.

준필수아미노산으로 혈관 내피세포에서 만들어지는 혈관 반응성 조절물질을 생성하여 혈소판과 혈관조직을 증식한다고 알려져 있다<sup>84)</sup>. 마과에 속한 참마의 사포닌 성분은 동맥경화증, 고혈압, 혈중 콜레스테롤 함량을 감소시킨다고 알려져 있고 그 중 부채마(teroidal saponin)인 디오스신(dioscin)과 디오스게닌은 항산화, 항균, 항진균, 혈당 하강 작용, 소화 촉진 작용, 자양 효과가 있는 것으로 알려져 있다<sup>85)</sup>. 현재 마과 식물 효능에 대한 선행연구로는 참마의 열수 및 70% 에탄올 추출물에 대한 전자공여능 측정 결과로 인한 항산화력과 티로시나아제 저해 활성으로 인한 미백 활성을 가진 것을 확인하였으며, 대장균, 황색포도상구균, 고초균 및 살모넬라 균에 대한 생육 저해를 통해 항균 활성을 확인하였다. 또한 참마 열수 및 70% 에탄올에서의 사포닌을 함유한 것을 확인하여 화장품 원료로서 항산화제, 미백제로 활용 가능성이 높을 것으로 사료되어 진다고 보고되어져 있다<sup>86)</sup>. 참마뿐만 아니라 장마 메탄올 추출물에 대한 전자공여능 및 초과산화물 불균등화효소 유사 활성 평가를 통해 항산화력을 가진 것이 보고되어져 있다<sup>87)</sup>.

84) 김경미, 강문경, 김진숙, 김기창, 최송이(2015), 국내산 마 품종별 이화학적 성분 및 항산화 활성, *동아시아식생활학회지*, 25(5), pp.880~886.

85) 김신애, 최수철, 윤영한, 고창인, 하영순, 이인아(2017), 참마와 명아주의 항산화 및 항염증 효과, *대한화장품학회지*, 43(4), pp.337~347.

86) 김명곤, 이근광(2013), 참마(*Dioscorea japonica*) 추출물의 생리활성 비교, *한국미용학회지*, 19(3), pp.509~515.

87) 김지인, 장한수, 김종식, 손호용(2009), 마(*Dioscorea batatas Decne*)의 항균, 항산화 및 항혈전 활성 평가, *한국미생물·생명공학회지*, 37(2), pp.133~139.



Figure 5. 하늘마 속열매 건조 사진

### Ⅲ. 재료 및 방법

#### 1. 용어의 정의

본 연구에서 사용한 시약 및 성분 등의 약어와 용어를 설명하기 위해 Table 1과 같이 나타내었다.

**Table 1. Definition of abbreviation.**

Terms	English	content
Air potato	Dioscorea bulbifera fruit	하늘마
DFD	Discorea bulbifera fruit hot distilled water extract	하늘마 열수 추출물
DFE	Discorea bulbifera fruit 70% EtOH extract	하늘마 70% 에탄올 추출물
TA	Tannic acid	탄닌의 특정 형태
Folin reagent	Folin-ciocalteu reagent	폴린 시약
DPPH	1-1 - diphenyl - 2-picryl hydrazyl	전자공여능 측정에 사용하는 시약
ABTS	2,2'-Azino-bis (3 - ethylbenzothiazolin e - 6-sulfonic acid)	ABTS 측정에 사용하는 시약
Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub>	Sodium carbonate	탄산나트륨
K <sub>2</sub> S <sub>2</sub> O <sub>8</sub>	Potassium peroxodisulfate	과산화이황산칼슘
EGCG	(-)-Epigallocatechin gallate	에피갈로카테킨 갈레이트, 녹차추출물의 폴리페놀 일종
L-DOPA	L-3,4-dihydroxy-phenyl-alanine	멜라닌 생합성 경로에서 tyrosinase의 tyrosinase로 축매되어 산화되는 물질
DMEM	dulbecco's modified eagle medium	배지
FBS	Fetal bovine serum	세포 성장 및 유지
P/S	Penicillin/streptomycin	세포벽의 구성 성분인 펩티도글리칸의 합성 억제 및 그람음성균, 그람양성균 억제
Trypsin	Trypsin	이차액에서 분비되는 단백질 분해효소
DPBS	dulbecco's Phosphate-Buffered Saline	세포 내외의 삼투 평형 유지 및 세척

MTT	3-[4,5-dimethylthiazol-2-yl]-2,5-diphenyltetrazolium bromide	
DMSO	Dimethyl Sulfoxide	세포 손상 낮춰주는 역할
LPS	lipopolysaccharide	지질다당류
$\alpha$ -MSH	alpha-melanocyte stimulating hormone	알파 멜라닌 세포 자극 호르몬
HA	hyaluronic acid	히알루로닉애씨드
DPPH assay	Electron donating abilities	전자공여능
RAW 264.7	mouse macrophage cell	대식세포
B16-F10	melanoma cell	멜라노마 세포
HaCaT	Human, Adult, low Calcium, High Temperature (human keratinocyte)	인간유래 각질형성 세포
formazan	formazan	탈수소효소와 환원효소에 의해 테트라졸륨 염을 환원시켜 얻은 인공 발색 생성물
NO	nitric oxide	산화질소
NaNO <sub>2</sub>	Sodium nitrite	아질산나트륨
RA	retinoic acid	비타민 A1의 대사산물
elastase	elastase	엘라스틴 단백질을 분해하는 효소
collagenase	collagenase	콜라겐의 펩타이드 결합을 끊는 효소
CaCl <sub>2</sub>	Calcium chloride	염화칼슘
TAE	tannic acid equivalent	탄닌산 당량
Con	control	대조군
SD	standard deviation	표준편차

## 2. 실험 재료

### 1) 시료

본 연구에 사용한 하늘마(*Dioscorea bulbifera* fruit)는 충청남도 청양군에서 재배한 것을 청양미소농원(원산지:국산)에서 구입하였으며, 세척 후 껍질을 제외한 과육 부위를 본 실험에서 사용하였다.

### 3. 시약 및 기기

#### 1) 시약

폴리페놀 함량 측정을 위해 사용한 Tannic acid 및 Folin-ciocalteu reagent (Folin)시약과 항산화 측정을 위해 사용한 ascorbic acid, 1-1 - diphenyl - 2-picrylhydrazyl (DPPH), 2,2'-Azino-bis (3 - ethylbenzothiazoline - 6-sulfonic acid) (ABTS) 등은 Sigma Chemical Co. (St. Louis, MO, USA)에서 구입하였으며, Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (Sodium carbonate), K<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>8</sub> (Potassium Peroxodisulfate)는 Kantō Chemical CO. (Chuo-ku, Tokyo, Japan)에서 구입하여 실험에 사용하였다. 또한, 주름 관련 효소 저해 활성 측정에 대조군으로 사용한 (-)-Epigallocatechin gallate (EGCG)와 Elastase from *porcine pancreas*, N - Succinyl - Ala - Ala - Ala - p-nitroanilide, Collagenase from *Clostridium histolyticum*, 4 - Phenylazobenzoyloxycarbonyl - Pro - Leu - Gly - Pro-D - Arg-trifluoroacetate salt, 미백 관련 효소 저해 활성 측정에 사용한 Tyrosinase from mushroom, L-3,4 - dihydroxy-phenyl-alanine (L-DOPA) 등은 Sigma Chemical Co. (St. Louis, MO, USA)에서 구입하여 사용하였다.

항염증 측정을 위해 사용된 대식세포 RAW 264.7 (KCLB40071)은 한국세포주은행(Jongno-gu, Seoul, Korea)에서, 미백 측정을 위해 사용된 melanoma 세포인 B16-F10 (TIB-71)은 ATCC (Manassas, Virginia, USA)에서, Human keratinocyte인 HaCaT은 서원대학교(Seowon-gu, Chungju, Korea)에서 분양 받아 사용하였다. 각 세포 배양에 필요한 dulbecco's modified eagle medium (DMEM), Fetal bovine serum (FBS), Penicillin/streptomycin은 Thermo scientific hyclone™ (Logan, UT, USA)을 사용하였고, Trypsin과 dulbecco's Phosphate-Buffered Saline (DPBS)은 GenDEPOT (Barker, TX, USA)을 이용하였다. 세포 독성 평가를 위해 사용한 3-[4,5-dimethylthiazol-2-yl]-2,5-diphenyltetrazolium bromide (MTT) 및 Dimethyl Sulfoxide (DMSO), LPS, Griess

reagent,  $\alpha$ -MSH 등은 Sigma Chemical Co. (St. Louis, MO, USA)에서 구입하여 사용하였다. 또한 hyaluronic acid 생성량을 측정하기 위해 Hyaluronan Quantikine ELISA kit (DHYAL0)는 R&D Systems, Inc. (Minneapolis, MN, USA)을 이용하여 분석하였다.

## 2) 기기

실험에 사용된 기기는 Vortex (Scientific Industries Inc., USA), Rotary vacuum evaporator (EYELA, Japan), Freeze drier (ILShin BioBase Co., Korea), CO<sub>2</sub> incubator (Pantasonic Healthcare Co, Japan), Centrifuge (Hanil Scientific Inc., Korea), Micro refrigerated centrifuge (Hanil Scientific Inc., Korea), Microplate reader (BMG LABTECH, USA)를 사용하였다.

## 5. 실험 방법

### 1) 시료 추출

본 연구에 사용한 하늘마는 깨끗하게 세척 후 껍질을 모두 제거하여 160 g의 속열매를 수득하였으며, 60℃에서 14시간 이상 열풍건조 시킨 뒤 파쇄해서 가루를 사용하였다. 하늘마 추출물을 화장품의 원료로서 사용하기 위해 화장품의 원료로 사용되는 용매인 물과 에탄올을 용매로 선정하여 본 실험에서 용매 추출하여 진행하였다. 하늘마 속열매 열수 추출을 위해 시료(80 g)에 10배량의 증류수를 가하였고, 100℃에서 3시간 동안 환류 냉각 추출을 거쳐 실온(25 ℃)에 24시간 침지시켰다. 이후 1차 여과로 부직포를 사용하여 침전물과 상등액을 분리하고, 위 과정을 3회 반복 추출하였다. 에탄올 추출은 시료(80 g)에 10배량의 70% EtOH을 가하여 24시간 교반 추출을 진행하였고, 침전물과 상등액은 부직포를 이용해 1차 분리를 거친 후 위 과정을 3번 반복하였다. 하늘마 속열매 열수 및 70% EtOH 추출물의 상등액은 여과지(Whatman NO. 4, NO. 2, NO. 5)와 진공펌프를 사용해 2차 여과를 실시하였다. 이후, rotary vacuum evaporator를 이용하여 추출에 사용한 용매를 감압 농축시켜 제거하였다. 농축된 추출물은 동결건조를 진행해 열수 추출물(8.7 g)과 70% EtOH 추출물(12.05 g)을 powder 형태로 얻어, -20℃에 보관하였으며, 이를 본 실험의 시료로 사용하였다. (Figure 6)

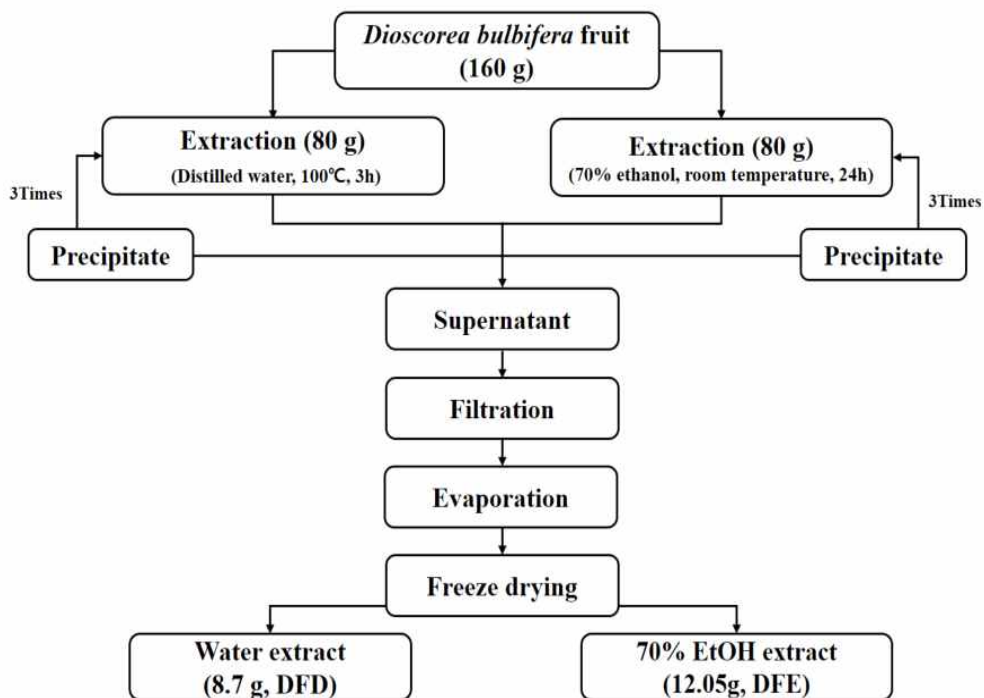


Figure 6. Schematic diagram of extraction from *Dioscorea bulbifera* fruit.

DFD : *Dioscorea bulbifera* fruit hot distilled water extract

DFE : *Dioscorea bulbifera* fruit 70% EtOH extract

## 2) 총 폴리페놀 함량 측정

총 폴리페놀 함량은 Folin-Denis법<sup>88)</sup>을 변형해 실험을 진행하였다. 추출물을 용매에 희석하여 1 ml 제조한 다음 50% Folin reagent 1 ml을 첨가한 후 실온에서 3분간 반응시켰고, 10% Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 1 ml을 첨가 후 vortex하여 1 시간 동안 실온에서 반응시켰다. 표준물질은 tannic acid를 농도가 10~1,000 µg/ml이 되도록 희석한 후 사용하였고, 표준곡선을 작성해 위와 같은 방법으로 흡광도를 측정하였다. 흡광도 측정은 반응이 완료된 용액을 microplate reader를 사용하여 700 nm에서 측정하였으며 100 g당 mg tannic acid로 환산해 결과값을 나타내었다.

## 3) 항산화 활성 측정

### 가. 전자공여능 (DPPH assay) 측정

전자공여능 (electron donating abilities) 측정은 Blois의 방법<sup>89)</sup>을 변형하여 실험을 진행하였다. 추출물의 농도가 10~1,000 µg/ml이 되도록 희석한 용액 30 µl와 DPPH 시약 180 µl씩 넣고 혼합하였다. 혼합한 용액을 15분간 실온에서 암실 반응시킨 후, microplate reader를 사용해 517 nm에서 흡광도를 측정하였다. 전자공여능은 시료용액의 첨가군에서 무첨가군을 제외하여 흡광도 감소율로 나타내었다.

$$\text{전자공여능 (\%)} = \left(1 - \frac{\text{시료첨가군의 흡광도}}{\text{무첨가군의 흡광도}}\right) \times 100$$

88) Singleton. V. L, Orthofer. R, Lamuela-Raventos. R. M(1999), Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent, *Methods Enzymol*, 299, pp.152~178.

89) Blois. M. S(1958), Antioxidant determinations by the use of a stable free radical, *Nature*, 181, pp.1199~1200.

#### 나. ABTS radical 소거능 측정

ABTS radical을 이용한 측정은 Re 등의 방법<sup>90)</sup>의 방법을 변형하여 실험을 진행하였다. 7 mM K<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>8</sub> 시약과 2.45 mM을 혼합하여 암실에서 12시간 동안 보관한 다음 95% EtOH로 희석한 후 실험에 사용하였다. 추출물은 농도가 10~1,000 µg/ml이 되도록 희석한 후 추출물 100 µl와 희석된 ABTS 시약 100 µl을 1:1로 혼합하여 반응시켰다. 흡광도를 측정하기 위해 microplate reader를 사용해 734 nm에서 측정하였다. ABTS radical 소거능에 대한 결과값은 시료용액의 첨가군에서 무첨가군을 제외하여 흡광도 감소율로 나타내었다.

$$ABTS소거능(\%) = \left(1 - \frac{\text{시료첨가군의 흡광도}}{\text{무첨가군의 흡광도}}\right) \times 100$$

#### 4) 세포주 및 세포 배양

본 실험에 사용한 세포주는 mouse macrophage-like 세포 라인인 RAW 264.7, 흑색종 melanoma인 B16-F10, human keratinocyte인 HaCaT 세포를 사용하였다. 세포 배양은 10% FBS, 1% penicillin/streptomycin (100 U/ml)을 첨가한 DMEM 배양액을 사용하였다. 37°C, 5% CO<sub>2</sub> incubator에서 배양하였으며, 세포 성장 속도에 따라 계대 배양을 진행하였다.

#### 5) 세포 생존율(MTT assay) 측정

세포 생존율 측정은 Carmichael의 방법<sup>91)</sup>을 변형하여 실험을 진행하였다.

---

90) Roberta. R, Nicoletta. P, Anna. P, Ananth. P, Min. Y and Catherine. R. E(1999), Anti-oxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay, *Free Raddical Biology & Medicine*, 26(9-10), pp.1231~1237.

91) Carmichael. J, DeGraff. W. G, Gazdar. A. F, Minna. J. D and Mitchell. J. B(1987), Evaluation of a Tetrazolium-based Semiautomated Colorimetric Assay: Assessment of Chemosensitivity Testing, *Cancer Research*, 47(4), pp.936~942.

RAW 264.7 세포는 96 well plate에  $1.5 \times 10^4$  cells/well, B16-F10 세포 및 HaCaT 세포는  $1 \times 10^4$  cells/well이 되도록 100  $\mu$ l씩 분주하였고, 37°C, 5% CO<sub>2</sub> incubator에서 22~24시간 배양하였다. 이후 시료를 농도별(5, 10, 50, 100, 500, 1,000  $\mu$ g/ml)로 처리한 후, 37°C, 5% CO<sub>2</sub> incubator에서 22~24시간 배양하였다. MTT 시약을 2.5 mg/ml 농도로 제조해 40  $\mu$ l씩 첨가한 후 3시간 30분 반응시켰다. 반응한 뒤 상층액을 제거하고 비수용성인 formazan에 각 well당 DMSO를 100  $\mu$ l를 첨가하여 10분간 용해시켰다. microplate reader를 통해 540 nm에서 흡광도를 측정하였으며, 세포 생존율은 시료용액의 첨가군에서 무첨가군을 제외하여 흡광도를 비교해 백분율(%)로 표시하였다.

$$\text{세포 생존율 (\%)} = \left(1 - \frac{\text{시료첨가군의 흡광도}}{\text{무첨가군의 흡광도}}\right) \times 100$$

## 6) 항염증 활성 측정

### 가. NO 생성 저해 활성 측정

RAW 264.7 세포주로부터 생성되어지는 NO의 양은 Green 등의 방법<sup>92)</sup>을 변형하여 실험을 진행하였다. 6 well plate에 RAW 264.7 세포를  $4 \times 10^5$  cells/well로 세포를 분주하고, 22~24시간동안 37°C, 5% CO<sub>2</sub> incubator에서 배양하였다. 자극제인 LPS를 무처리군을 제외한 well에 10  $\mu$ g/ml 농도로 처리하여 염증을 유도하였고, 2시간 이후 시료를 농도별(50, 100, 500  $\mu$ g/ml)로 처리해 18시간동안 37°C, 5% CO<sub>2</sub> incubator에서 배양하였다. 96 well plate에 세포배양액 100  $\mu$ l, griess reagent 100  $\mu$ l를 혼합하여 10분간 상온 반응을 거친 후, microplate reader를 이용하여 540 nm에서 흡광도를

92) Green. L. C, Wagner. D. A, Glogowski. J, Skipper. P. L, Wishnok. J. S and Tannenbaum. S. R(1982), Analysis of Nitrate, Nitrite, and [15N] Nitrate in Biological Fluids, *Analytical Biochemistry*, 126(1), pp.131~138.

측정하였다. NaNO<sub>2</sub> (Sodium nitrite)로 표준곡선을 작성하였고 NO 억제 활성 측정은 무첨가군과 첨가군을 비교하여 백분율(%)로 표시하였다.

$$NO\text{억제능}(\%) = \left(1 - \frac{\text{시료첨가군의 흡광도}}{\text{무첨가군의 흡광도}}\right) \times 100$$

## 7) 보습 개선 측정

### 가. HA 생성량 측정

Keratinocyte인 HaCaT 세포를 2x10<sup>5</sup> cells/well 씩 6 well plate에 분주시켜 세포 배양 조건 환경(37°C, 5% CO<sub>2</sub>) incubator에서 하루 동안 부착시켰다. 양성 대조군으로는 retinoic acid (RA)를 사용하였으며, 시료를 농도별(50, 100, 500, 1,000 µg/ml)로 처리하여 24시간 추가 배양하였다. 1.5 ml의 상층액을 취하여 원심분리(13,200 rpm, 5분)하고 1 ml을 재수거하여 실험에 사용하였다. 실험은 Hyaluronan Quantikine ELISA Kit를 제조사의 manual에 따라 수행하였으며, 흡광도는 450 nm에서 HA 생성량을 측정하였다.

## 8) 미백 활성 측정

### 가. Tyrosinase 저해 활성 측정

미백 활성을 측정하기 위해 mushroom 유래 tyrosinase 저해 활성을 Yagi 등의 방법<sup>93)</sup>에 의거하여 실험하였다. 96 well plate에 pH 6.8의 sodium phosphate buffer (67 mM) 80 µl, L-DOPA (10 mM) 40 µl, 농도별로 희석한 시료 용액 40 µl 및 tyrosinase from mushroom (200 U/ml) 40 µl를 넣고 37°C에서 10분간 반응시켰다. 반응이 끝난 뒤 생성된 DOPA chrome은 492 nm의 흡광도에서 측정하였으며, tyrosinase 저해 활성도는 시료 용액의 첨가군 및 무첨가군의 흡광도 백분율(%)로 결과값을 나타내었다.

93) Yagi. A, Kanbara. T and Morinobu. N(1987), Inhibition of Mushroom-Tyrosinase by Aloe extract, *Planta Medica*, 53(6), pp.515~517.

$$\text{저해율}(\%) = \left(1 - \frac{\text{시료첨가군의 흡광도}}{\text{무첨가군의 흡광도}}\right) \times 100$$

#### 나. Melanin 함량 측정

Melanin 함량 측정은 Hosoi 등의 방법<sup>94)</sup>을 변형하여 실험을 진행하였다. 100 mm cell culture dish에  $1 \times 10^6$  cells/well로 흑색종 melanoma cell인 B16-F10 세포를 분주한 후 안정화 및 부착을 위해 37°C, 5% CO<sub>2</sub> incubator에서 24시간 동안 배양하였다,  $\alpha$ -MSH는 무처리군을 제외하고 1  $\mu$ g/ml 농도로 처리하고 2시간 뒤, 농도별(100, 500, 1,000  $\mu$ g/ml)로 희석한 추출물을 처리하여 24시간 재배양하였다. 이후, 배양액을 제거한 뒤 washing 하였으며, pellet을 harvest 하기 위해 lysis buffer 80  $\mu$ l 첨가하여 세포를 파괴하고 4°C, 13,200 rpm에서 20분간 원심분리하여 얻어진 pellet을 사용하였다.

Pellet은 10% DMSO가 포함된 1 N NaOH 용액을 500  $\mu$ l 첨가하고 vortex를 이용해 풀어준 뒤, 90°C에서 1시간 반응시켜 생성된 melanin 양을 405 nm에서 흡광도를 측정하였다. Melanin 생성량은 첨가군 및 무첨가군을 비교하여 백분율로 계산하여 결과값을 나타내었다.

$$\text{Melanin 생성량}(\%) = \left(1 - \frac{\text{시료첨가군의 흡광도}}{\text{무첨가군의 흡광도}}\right) \times 100$$

#### 9) 주름 개선 측정

##### 가. Elastase 저해 활성 측정

주름 발생을 유발시키는 elastase를 억제시켜 주름 개선 효과를 확인하기

94) Hosoi. J, Abe. E, Suda. T and Kuroki. T(1985), Regulation of Melanin Synthesis of B16 Mouse Melanoma Cells by 1 $\alpha$ , 25-dihydroxyvitamin D3 and Retinoic Acid, *Cancer Research*, 45(4), pp.1474~1478.

위해 Cannell<sup>95)</sup> 등의 방법에 의거하여 elastase 저해 활성을 측정하였다. pH 8.6의 50 M tris-HCl buffer, 각 농도별 시료 및 0.5 unit elastase from porcine pancreas 효소액을 40  $\mu$ l씩 첨가하고 2분 동안 37°C에서 반응시켰다. 이후 3.2 mM N-Succinyl-Ala-Ala-Ala-p- nitroanilide를 녹인 80  $\mu$ l의 기질액을 첨가한 뒤 30분 동안 37°C에서 추가 반응을 거친 뒤 445 nm에서 흡광도 측정을 실시하였다. Elastase 저해 활성도는 시료 용액의 첨가군 및 무첨가군의 흡광도 백분율(%)로 결과값을 나타내었다.

$$\text{저해율(\%)} = \left(1 - \frac{\text{시료첨가군의 흡광도}}{\text{무첨가군의 흡광도}}\right) \times 100$$

#### 나. Collagenase 저해 활성 측정

주름 개선 효과를 알아보기 위하여 Wunsch E 및 Heidrich HG의 방법<sup>96)</sup>에 의거하여 collagenase 저해 활성을 측정하였다. pH 7.5의 0.1 M tris-HCl buffer에 4 mM의 CaCl<sub>2</sub>를 가하여 buffer solution을 제조해 실험에 사용하였다. 시료 50  $\mu$ l와 0.1 M tris-HCl buffer 250  $\mu$ l, 4-phenylazobenzoyloxycarbonyl-Pro-Leu-Gly-Pro-D-Arg (0.3 mg/ml)를 녹인 250  $\mu$ l의 기질액, Collagenase from Clostridium histolyticum (0.2 mg/ml)를 녹인 75  $\mu$ l의 효소를 순서대로 첨가하고 20분 동안 상온에서 반응시켰다. 이후 반응을 정지시키기 위해 6% citric acid 250  $\mu$ l를 첨가하였으며 1.5 ml의 ethyl acetate를 가한 뒤 320 nm에서 흡광도 측정을 실시하였다. Collagenase 저해 활성도는 시료 용액의 첨가군 및 무첨가군의 흡광도 백분율(%)로 결과값을 나타내었다.

95) Cannell. R. J, Kellam. S. J, Owasianka. A. M and Walker. J. M(1988), Results of a Large Scale Screen of Microalgae for the Production of Protease Inhibitors, *Planta Medica*, 54(1), pp.10~14.

96) Wunsch. E and Heidrich H. G(1963), Zur quantitativen bestimmung der kollagenase, *Hoppe-Seylers Z. Physiol. Biological Chemistry*, 333, pp.149~151.

$$\text{저해율(\%)} = \left(1 - \frac{\text{시료첨가군의 흡광도}}{\text{무첨가군의 흡광도}}\right) \times 100$$

#### 10) 통계처리

본 연구에 사용한 실험은 모두 3회 반복으로 진행하였고, 평균치와 표준편차를 나타냈다. 통계처리 결과는 SPSS Statistics 23을 사용하여 t-test를 실시한 후, 유의값을 표시하였다. 유의값은 \*<.05, \*\*p<.01, \*\*\*p<.001로 표기하였고, One-way ANOVA를 이용해 p<.05 수준에서 Ducan's multi range test로 유의성을 나타내었다.

## IV. 연구결과 및 고찰

### 1. 추출 수율

수율은 Table 2와 같이 나타났으며, 열수 추출물의 수율은 10.88%로 확인하였으며, 70% EtOH 추출물의 수율은 15.06%로 나타나는 것을 확인하였다.

Table 2. Yield of extracts in hot distilled water and 70% EtOH extracts from *Dioscorea bulbifera* fruit

Sample	Weight (g)	Powder (g)	Yield (%)
DFD	80	8.7	10.88
DFE	80	12.05	15.06

DFD: *Dioscorea bulbifera* fruit extracted with hot distilled water at 100°C

DFE: *Dioscorea bulbifera* fruit extracted with 70% EtOH

## 2. 총 폴리페놀 함량 측정 결과

페놀성 화합물은 자유라디칼 소거로 인한 항산화, 항암, 항균 등의 여러 생리기능을 가진 것으로 알려져 있다. 이러한 페놀성 화합물 중 폴리페놀 함량은 포스포몰리브데이트(phosphomolybdate)와 반응하였을 때, 노란색이 청색으로 변색되는 원리를 이용하여 함량을 확인한다<sup>97)98)</sup>. 하늘마 속열매 열수 및 70% EtOH 추출물의 총 폴리페놀 함량을 측정하기 위해 tannic acid를 표준물질로 사용하였고<sup>99)</sup>, 추출물 100 g당 함유하고 있는 tannic acid 양 (TAE; tannic acid equivalent)으로 환산하여 표시하였다.

하늘마 속열매의 열수 및 70% EtOH 추출물의 총 폴리페놀 함량을 측정한 결과는 Table 2과 같이 나타났다. 하늘마 속열매 열수 추출물은  $114.35 \pm 0.82$  mg TAE/100 g, 70% EtOH 추출물은  $107.76 \pm 0.80$  mg TAE/100 g으로 하늘마 속열매 열수 추출물의 폴리페놀 함량이 6.59 mg TAE/100 g 더 함유되어 있음을 확인하였다. 유단희, 이인철(2020)<sup>100)</sup>의 패션프루츠 껍질 열수 추출물은 95.88 mg/100 g의 총 폴리페놀 함량을 확인하여 하늘마 속열매 추출물이 더 높은 폴리페놀 함량을 가진 것을 확인하였다.

97) 박영기, 김재희(2016), 대추(*Zyziphus jujuba*) 품종별 성숙정도에 따른 항산화 활성, *한국자원식물학회지*, 29(5), pp.539~546.

98) 박규리, 이지안(2020), 동과자 추출물의 항산화, 항염 및 미백 효능, *융합정보논문지*, 10(7), pp.249~256.

99) 유단희, 이인철(2024), 오크라 추출물의 항염증 및 보습 효과 연구, *한국미생물·생명공학회지*, 52(1), pp.15~23.

100) 유단희, 이인철 (2020), 패션프루트 껍질의 생리활성에 대한 연구, *한국인체미용예술학회지*, 21(2), pp. 143~154.

Table 3. Total polyphenol contents on hot distilled water and 70% EtOH extracts from *Dioscorea bulbifera* fruit

Sample	Total phenolic content (mg TAE/100 g)
DFD	114.35 ± 0.82
DFE	107.76 ± 0.80

DFD: *Dioscorea bulbifera* fruit extracted with hot distilled water at 100°C

DFE: *Dioscorea bulbifera* fruit extracted with 70% EtOH

### 3. 항산화 활성 측정 결과

#### 1) DPPH radical 소거능

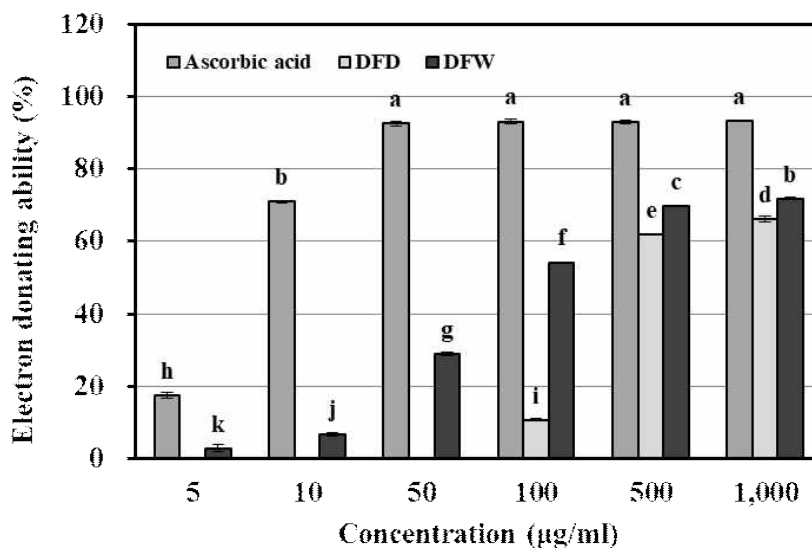
DPPH는 비교적 안정한 자유라디칼(free radical)로써 수소원자가 환원되어 짙은 보라색이 노란색으로 변화하는 원리를 이용하였고, 간단한 항산화 활성 측정과 동시에 다양한 천연물질의 자유 라디칼 소거능 측정에 널리 사용되고 있다<sup>101)</sup>.

하늘마 속열매의 열수 추출물과 70% EtOH 추출물의 DPPH radical 소거능을 측정하기 위해 대조군으로 ascorbic acid를 사용하였으며, 결과는 Figure 7에 나타내었다. DPPH radical 소거능 측정 결과, 하늘마 속열매 열수 및 70% EtOH 추출물에서는 농도 의존적인 증가함을 확인하였다. 최종 농도인 1,000 µg/ml 농도에서 하늘마 속열매 열수 및 70% EtOH 추출물은 각각 66.15%, 71.78%의 소거능을 확인하였으며, 전 농도구간에서 하늘마 속열매 70% EtOH 추출물이 열수 추출물보다 더 우수한 소거활성을 가졌음을 보여주었다. 채정우 외(2021)<sup>102)</sup>의 8월에 채취한 환삼덩굴 추출물이 1,000 µg/ml 농도에서 열수 및 70% EtOH 추출물이 각각 36.65%, 8.91%의 소거능을 보여, 따라서 하늘마 속열매 열수 및 70% EtOH 추출물의 DPPH radical 소거활성이 더 높다는 것을 확인하였다.

---

101) 이영숙, 유민정(2019), 계피 추출물의 항산화 효과 및 화장품소재의 응용, *아시아뷰티화장품학술지*, 17(1), pp.69~80.

102) 채정우, 조희선, 엄현지, 이진영(2021), 채취 시기 및 추출 용매에 따른 환삼덩굴의 항산화 및 기능성 화장품 활성, *한국산림과학회지*, 110(2), pp.254~265.



**Figure 7. Electron donating ability of *Dioscorea bulbifera* fruit extracts.**

Results of data were mean  $\pm$  SD of three independent measurement and expressed in different alphabet letters by one-way ANOVA ( $p < .05$ ), (a>b>c>d>e>f>g>h>i>j>k).

■ Ascorbic acid

□ DFD: *Dioscorea bulbifera* fruit extracted with hot distilled water at 100°C

■ DFE: *Dioscorea bulbifera* fruit extracted with 70% EtOH

## 2) ABTS radical 소거능

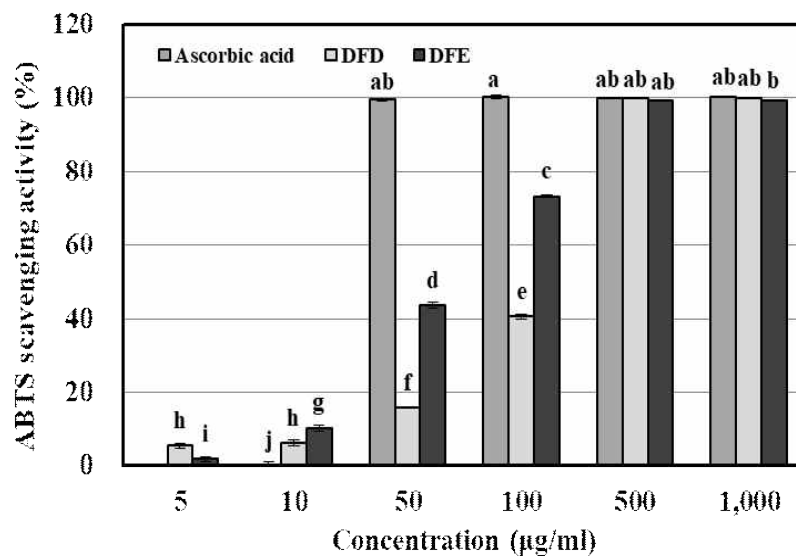
ABTS radical은 극성 시료뿐 아니라 비극성 시료의 항산화력 측정에 모두 사용가능하므로 DPPH radical에 비해 다양한 시료의 항산화력 측정에 사용된다. ABTS는 과황산칼륨(potassium persulfate)과 반응하여 청색의 ABTS radical을 형성하고, 생성된 ABTS radical은 항산화력을 가진 물질에서 전자를 받아 무색으로 환원된다<sup>103)</sup>.

하늘마 속열매의 열수 추출물과 70% EtOH 추출물의 ABTS radical 소거능 결과를 Figure 8에 나타내었다. 하늘마 속열매 열수 및 70% EtOH 추출물에서는 농도 의존적인 증가함을 확인하였고, 전 농도구간에서 70% EtOH 추출물이 열수 추출물보다 우수한 소거 활성을 보여주었다. 오희경(2022)<sup>104)</sup>의 개똥쑥 추출물이 500 µg/ml 농도에서 열수 및 70% EtOH 추출물이 각각 79.59%, 88.25%의 소거활성을 보인 결과와 비교하였을 때, 하늘마 속열매 열수 및 70% EtOH 추출물은 500 µg/ml 농도에서 99% 이상의 소거활성을 나타내어 개똥쑥 추출물보다 우수한 결과인 것을 확인하였다. 또한 ABTS radical 소거능 측정에 대조군으로 사용한 ascorbic acid와도 유사한 활성을 나타내었다. 이로 인해, 하늘마 속열매 열수 및 70% EtOH 추출물은 DPPH radical 소거활성과 ABTS radical 소거활성이 나타나 두 추출물 모두 항산화력을 가진 것을 확인하였다.

---

103) 김민정, 박은주(2011), In Vitro 항산화능 측정법에 대한 특징 분석과 채소·과일 시료에 대한 적용 사례 고찰, *한국식품영양과학회지*, 40(7), pp.1053~1062.

104) 오희경(2022), 개똥쑥 용매추출 방법에 따른 항산화 활성 및 항염증 효과, *한국응용과학기술학회지*, 39(6), pp.875~883.



**Figure 8.** ABTS radical scavenging ability of *Dioscorea bulbifera* fruit extracts.

Results of data were mean  $\pm$  SD of three independent measurement and expressed in different alphabet letters by one-way ANOVA ( $p < .05$ ), ( $a > b > c > d > e > f > g > h > i > j$ ).

■ Ascorbic acid

▒ DFD: *Dioscorea bulbifera* fruit extracted with hot distilled water at 100°C

■ DFE: *Dioscorea bulbifera* fruit extracted with 70% EtOH

#### 4. 항염증 활성 측정 결과

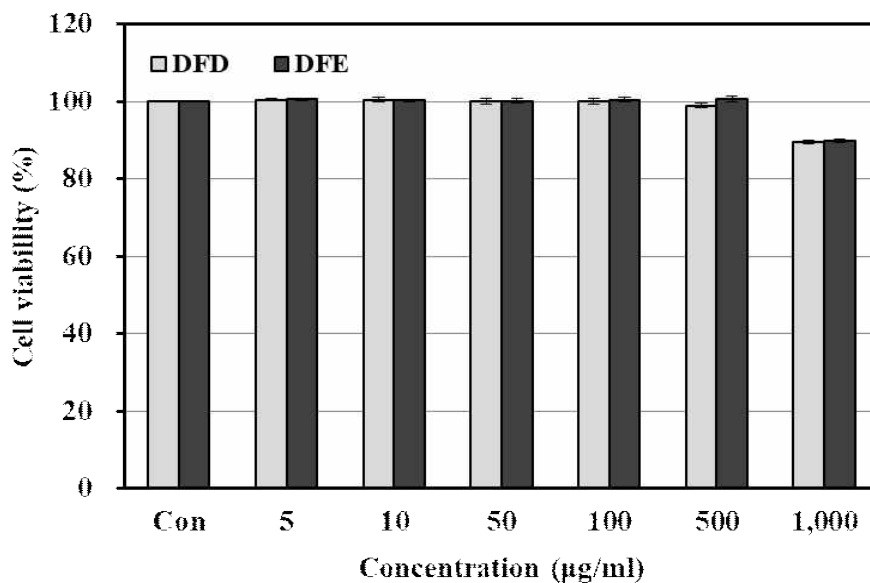
##### 1) 세포 생존율(MTT assay) 측정

MTT assay는 살아있는 세포 내 미토콘드리아에서 탈수소 효소 작용에 의하여 노란색 수용성 기질인 MTT가 보라색의 불용성 포르마잔(formazan)으로 환원되는 원리를 이용하여 측정하는 방법이다<sup>105)</sup>.

하늘마 속열매 열수 및 70% EtOH 추출물의 항염증 효과를 확인하기 위하여 먼저 농도별(5, 10, 50, 100, 500, 1,000 µg/ml) 각 추출물을 대식세포인 RAW 264.7 세포에 처리하여 독성을 미치지 않는 농도를 결정하기 위하여 MTT assay를 수행하였다. 하늘마 속열매 열수 및 70% EtOH 추출물에 대한 MTT assay 측정 결과는 Figure 9와 같이 나타났다. 하늘마 속열매 열수 및 70% EtOH 추출물은 500 µg/ml 농도에서 각각 98.96%, 100.68%의 세포 생존율을 확인하였지만 1,000 µg/ml 농도에서는 각각 89.55%, 89.88%로 90% 이하의 세포 생존율을 보여주었다. 따라서 이후 진행한 세포 실험에서는 90% 이상의 세포 생존율로 독성을 거의 보이지 않은 50, 100, 500 µg/ml 농도 구간을 선택하여 실험을 진행하였다.

---

105) 허지원, 유단희, 이인철(2024), LPS로 유도된 대식세포에서 루모라고사리(*Rumohra adiantiformis*) 추출물의 항염증 활성 검증, *한국식품영양과학회지*, 53(1), pp.14~23.



**Figure 9.** Cell viability of hot water and 70% EtOH extracts from *Dioscorea bulbifera* fruit on RAW 264.7 cells.

Culturing the RAW 264.7 cells ( $1.5 \times 10^4$  cells/well) for 24 h, they were treated with 5, 10, 50, 100, 500, 1,000 µg/ml of extracted DFD and DFE for 24 h. Then, it was performed using the MTT assay. Results of all experiments are mean±SD from triplicate experiments (Significant as compared to control).

Con (Control): Extract-free group to RAW 264.7 cells

□ DFD: *Dioscorea bulbifera* fruit extracted with hot distilled water at 100°C

■ DFE: *Dioscorea bulbifera* fruit extracted with 70% EtOH

## 2) NO 생성 저해 활성 측정

염증반응에 대한 방어작용을 담당하는 조직 세포 중 대식세포가 가장 대표적이며, 염증 유도제로는 LPS가 많이 사용된다. LPS는 반응성이 매우 크다고 알려진 NO 및 다양한 염증성 사이토카인(cytokine)을 유도하는데, 이렇게 발생된 염증은 부종, 발열, 통증 및 조직 파괴 등의 복합적인 생리 반응을 일으킨다. 따라서 염증 유발 사이토카인(cytokine)과 NO 생성 억제 물질에 대한 연구는 항염증제 개발에 유용하게 활용될 수 있다<sup>106)</sup>. 추출 용매에 따른 활성화된 세포에서 발생되는 염증 매개 조절 인자인 NO의 저해 활성을 알아보기 위해 RAW 264.7 세포를 이용하여 griess assay를 통해 확인하였다.

하늘마 속열매의 열수 추출물 및 70% EtOH 추출물의 항염증 효과 실험을 위해 LPS로 염증을 유도하였으며, NO 생성이 증가된 RAW 264.7 세포에 두 추출물을 농도별(50, 100 and 500 µg/ml)로 처리하였을 때, 결과는 Figure 10과 같이 나타났다. 무처리군 대비, LPS 단독처리군에서 NO 생성이 유도되었음을 확인하였고 하늘마 속열매 70% EtOH 추출물은 LPS 단독처리군 대비 농도 의존적으로 100 µg/ml 및 500 µg/ml 농도에서 각각 15.22%, 23.63%의 NO 생성 저해 효과가 나타남을 확인할 수 있었다. 반면 하늘마 속열매 열수 추출물은 LPS 단독처리군 대비, 전 농도구간에서 NO 생성 저해 효과를 보이지 않는 것을 확인하였다. 유단희, 이인철(2024)<sup>107)</sup>의 대추나무 새순 추출물의 NO 생성량은 500 µg/ml 농도에서 11.74%가 저해율을 나타내어 이와 비교하였을 때, 하늘마 속열매 70% EtOH 추출물의 NO 생성 억제 활성이 우수함을 확인하였다.

106) 장영아, 이정민, 최윤식(2020), 정향(*Syzygium aromaticum*) 에탄올 추출물의 항염 효과, *한국응용과학기술학회지*, 37(3), pp.429~437.

107) 유단희, 이인철(2024), 대추나무 새순 추출물의 보습 및 항염증 효능, *대한미용학회지*, 20(1), pp.35~44.

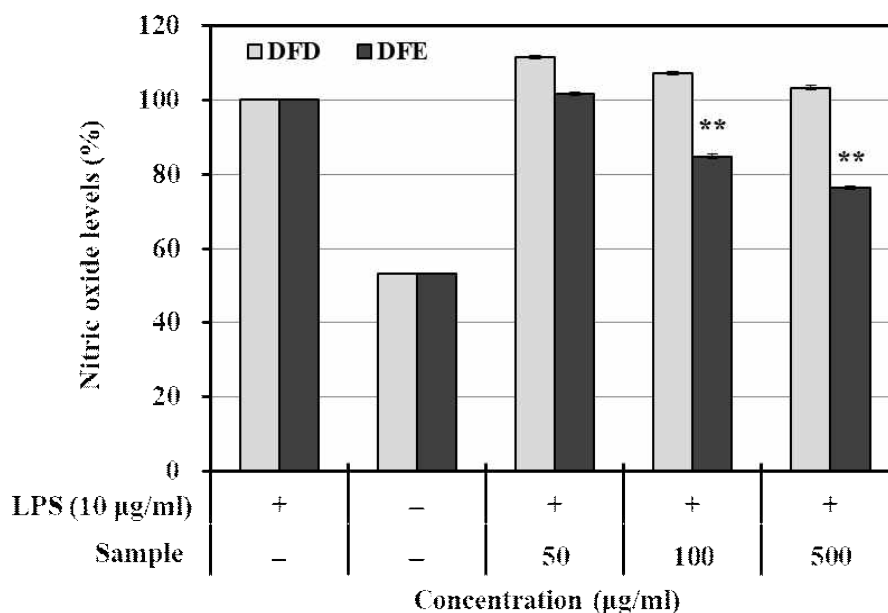


Figure 10. Inhibitory effects of extracts from *Dioscorea bulbifera* fruit on NO production in LPS-induced RAW 264.7 cells.

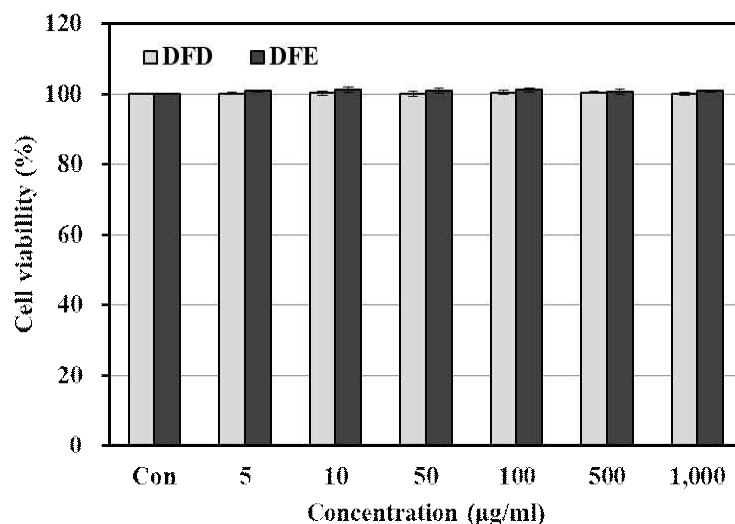
RAW 264.7 cells ( $4 \times 10^5$  cells/well) were pretreated with LPS (10 µg/ml) for 2 h. *Dioscorea bulbifera* at an appropriate concentration (50, 100 and 500 µg/ml) for 24 h. NO production was determined in culture supernatant by griess reagent. Results are means  $\pm$  SD from triplicate experiments. (\*\* $p < .01$  vs LPS alone-treated group).

- DFD: *Dioscorea bulbifera* fruit extracted with hot distilled water at 100°C
- DFE: *Dioscorea bulbifera* fruit extracted with 70% EtOH

## 5. 보습 개선 측정 결과

### 1) 세포 생존율(MTT assay) 측정

하늘마 속열매 열수 및 70% EtOH 추출물의 보습 효과를 측정하기 위해 앞서 먼저 항염증 측정과 동일하게 농도별로(5, 10, 50, 100, 500, 1,000  $\mu\text{g/ml}$ ) 시료를 제조하였으며, 두 추출물을 각직형성세포(keratinocyte)인 HaCaT 세포에 처리하여 MTT assay로 독성이 미치지 않는 구간을 확인하였다. 하늘마 속열매 열수 및 70% EtOH 추출물에 대한 MTT assay 측정 결과는 Figure 11와 같이 나타났다. 하늘마 속열매 열수 및 70% EtOH 추출물은 1,000  $\mu\text{g/ml}$  인 최종 농도 구간에서 각각 100.12%, 100.84%로 확인하였으며, 농도로 설정한 모든 구간에서 세포의 독성은 보이지 않았음을 확인하였다. 따라서 이후 진행한 보습 개선 측정에서는 최종농도를 포함한 50, 100, 500, 1,000  $\mu\text{g/ml}$  농도 구간을 선택하여 실험을 진행하였다.



**Figure 11.** Cell viability of hot water and 70% EtOH extracts from *Dioscorea bulbifera* fruit on HaCaT cells.

Culturing the HaCaT cells ( $1 \times 10^4$  cells/well) for 24 h, they were treated with 5, 10, 50, 100, 500, 1,000 µg/ml of extracted DFD and DFE for 24 h. Then, it was performed using the MTT assay. Results of all experiments are means±SD from triplicate experiments (Significant as compared to control).

Con (Control): Extract-free group to HaCaT cells

□ DFD: *Dioscorea bulbifera* fruit extracted with hot distilled water at 100°C

■ DFE: *Dioscorea bulbifera* fruit extracted with 70% EtOH

□ RA : Retinoic acid

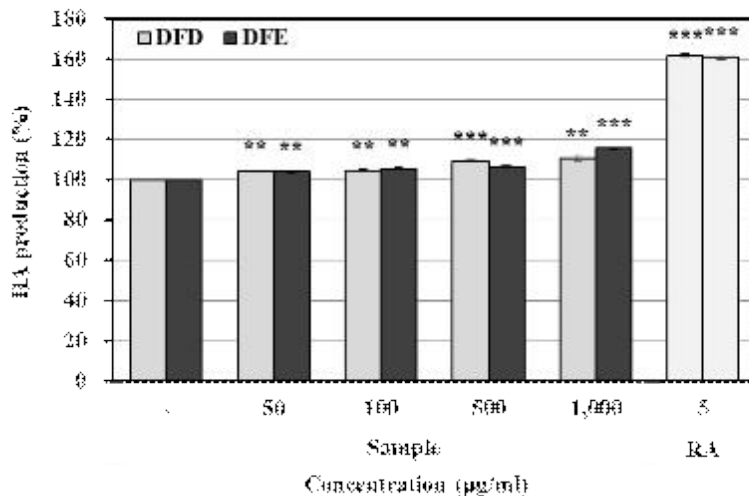
## 2) HA 생성량 측정

피부의 진피층에는 노화와 관련된 다양한 영양 성분 등이 존재하며, 수분 등의 원활한 공급이 이루어지지 않을 경우, 탄력성이 줄어들어 노화의 원인이 된다. 노화의 진행 속도를 좌우하는 피부 보습에 있어서 중요한 성분인 HA는 친수성 고분자 물질로써 많은 양의 물과 결합하여 탄력 및 수분을 증폭시켜 보습 효과가 뛰어나다고 알려져 있다<sup>108)</sup>.

하늘마 속열매의 열수 추출물 및 70% EtOH 추출물이 피부 보습에 미치는 영향을 확인하기 위하여 HA ELISA Kit를 사용하여 HA 생성량을 관찰한 결과를 Figure 12에 나타내었다. 양성 대조군으로는 RA를 사용하였으며, RA는 5 µg/ml 농도에서 161.36%로 무처리군 대비 61.36%의 HA 생성량을 확인하였다. 하늘마 속열매 열수 추출물 및 70% EtOH 추출물은 농도 의존적으로 HA 생성량이 증가하는 것을 확인하였으며, 무처리군 대비 하늘마 열수 추출물은 50~1,000 µg/ml 각각의 농도에서 4.34%, 4.75%, 9.40%, 10.59%의 HA 생성량을 확인하였다. 또한 하늘마 70% EtOH 추출물은 4.13%, 5.59%, 6.57%, 15.66%의 HA 생성 효과를 나타내었다. 최종적으로, 열수 및 70% EtOH 추출물 모두 최종 농도에서 10% 이상의 HA 생성능이 있음을 확인하였으며, 1,000 µg/ml 농도에서 하늘마 속열매 70% EtOH 추출물이 열수 추출물보다 HA 생성 효능이 5.07% 더 높은 것으로 나타났다.

---

108) 강영기(2015), 수련추출물을 함유한 수분크림의 피부 보습 효과, *아주대학교 석사학위논문*.



**Figure 12. Effects of extracts from *Dioscorea bulbifera* fruit on HA production in HaCaT cells.**

After culturing HaCaT cells ( $2 \times 10^5$  cells/well) for 24 h, RA and *Dioscorea bulbifera* at an appropriate concentration (50, 100, 500 and 1,000 µg/ml) for 24 h. HA production was determined in culture supernatant by HA ELISA Kit. Results are means  $\pm$  SD from triplicate experiments. (\*\* $p < .01$ , \*\*\* $p < .001$  vs Non treated group).

- DFD: *Dioscorea bulbifera* fruit extracted with hot distilled water at 100°C
- DFE: *Dioscorea bulbifera* fruit extracted with 70% EtOH
- RA : Retinoic acid

## 6. 미백 활성 측정 결과

### 1) Tyrosinase 저해 활성 측정

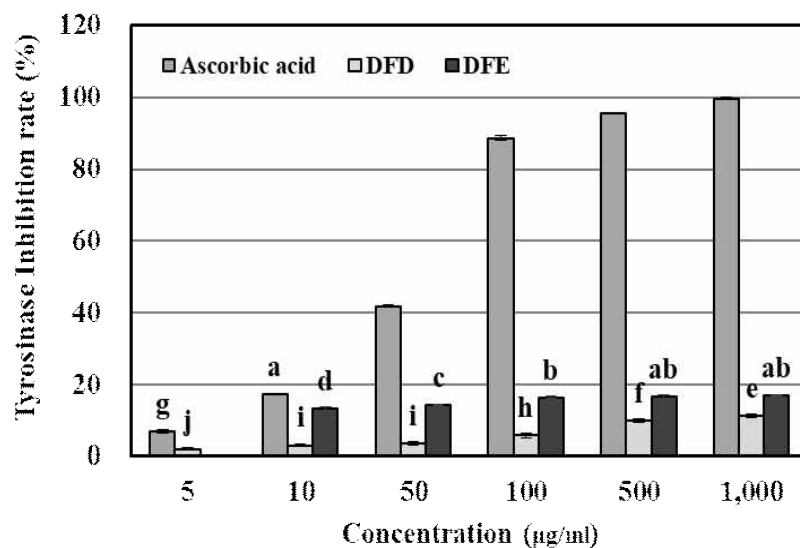
티로신(tyrosine)은 아미노산의 일종으로 멜라닌 합성의 초기 물질로 작용하며, 티로시나아제의 작용으로 인해 연속적인 산화반응이 일어나 DOPA로 변하고 이는 더욱 산화되어 도파퀴논으로 전환된다. 이렇게 티로시나아제에 의한 연속적인 산화반응으로 인해 최종적으로 멜라닌 합성이 발생한다<sup>109)</sup>.

하늘마 속열매의 열수 추출물 및 70% EtOH 추출물이 melanin 생성에 중요한 역할을 하는 tyrosinase의 저해 활성을 측정한 결과를 Figure 13에 나타내었다. 하늘마 속열매 열수 추출물 및 70% EtOH 추출물을 농도별(5, 10, 50, 100, 500, 1,000 µg/ml)로 측정하였을 때, 하늘마 속열매 열수 추출물은 미비하지만, 최저부터 최고 농도까지 모든 구간에서 tyrosinase의 저해 활성을 나타내었으며, 최고 농도인 1,000 µg/ml에서는 11.3%의 저해 활성을 나타내었다. 하늘마 속열매 70% EtOH 추출물은 5 µg/ml 농도에서는 tyrosinase 저해 활성이 나타나지 않았지만, 10 µg/ml 농도 이상에서는 tyrosinase 저해 활성을 보였으며, 최고 농도인 1,000 µg/ml 에서는 17.02%의 활성을 나타내었으며, 두 추출물을 전 농도 구간 별 비교했을 때 열수 추출물 보다 70% EtOH 추출물에서 모든 구간에서 높은 tyrosinase 저해 활성 정도를 나타내어 70% EtOH 추출물이 더 우수함을 확인하였다. 한은경 외(2011)<sup>110)</sup>의 민들레 꽃 에탄올 추출물의 tyrosinase 저해 활성은 1,000 µg/ml에서 15.06%의 저해 활성이 나타나는 것을 확인하여 이와 비교하였을 때, 하늘마 속열매 70% EtOH 추출물이 더 높은 tyrosinase 저해 활성을 가진 것을 확인하였다.

---

109) 김주덕, 김상진, 김한식, 박경환, 이화순, 진종언(2008), 『신화장품학』, 동화기술.

110) 한은경, 정의진, 이지영, 김영섭, 정차권(2011), 민들레의 부위별 에탄올 추출물의 항산화 활성, *한국식품영양과학회지*, 40(1), pp.56~62.



**Figure 13. Tyrosinase inhibition activity of *Dioscorea bulbifera* fruit extracts.**

Results of data were mean  $\pm$  SD of three independent measurement and expressed in different alphabet letters by one-way ANOVA ( $p < .05$ ), (a>b>c>d>e>f>g>h>i>j).

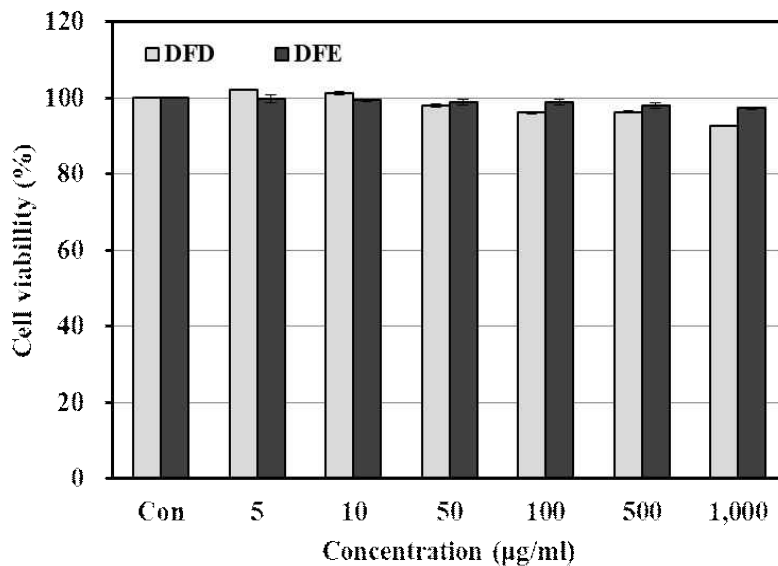
■ Ascorbic acid

□ DFD: *Dioscorea bulbifera* fruit extracted with hot distilled water at 100°C

■ DFE: *Dioscorea bulbifera* fruit extracted with 70% EtOH

## 2) 세포 생존율(MTT assay) 측정

하늘마 속열매 열수 및 70% EtOH 추출물의 미백 효과를 세포 수준에서 측정하기 위해 농도별(5, 10, 50, 100, 500, 1,000  $\mu\text{g/ml}$ )로 각 추출물을 흑색종 melanoma B16-F10 세포에 처리하여 MTT assay로 독성이 미치지 않는 구간을 확인하였다. 하늘마 속열매 열수 및 70% EtOH 추출물에 대한 MTT assay 측정 결과는 Figure 14와 같이 나타났다. 하늘마 속열매 열수 및 70% EtOH 추출물은 B16-F10 세포에서의 1,000  $\mu\text{g/ml}$  농도에서 각각 92.59%, 97.36%로 모든 농도 구간에서 두 추출물 모두 90% 이상의 세포 생존율을 보여주었으므로, 하늘마 속열매 추출물은 세포 독성이 없음을 나타내었다. 따라서 이후 진행한 세포 실험에서는 100, 500, 1,000  $\mu\text{g/ml}$  농도 구간을 선택하여 실험을 진행하였다.



**Figure 14. Cell viability of hot water and 70% EtOH extracts from *Dioscorea bulbifera* fruit on B16-F10 cells**

Culturing the B16-F10 cells ( $1 \times 10^4$  cells/well) for 24 h, they were treated with 5, 10, 50, 100, 500, 1,000 µg/ml of extracted DFD and DFE for 24 h. Then, it was performed using the MTT assay. Results of all experiments are means±SD from triplicate experiments (Significant as compared to control).

Con (Control): Extract-free group to B16-F10 cells

□ DFD: *Dioscorea bulbifera* fruit extracted with hot distilled water at 100°C

■ DFE: *Dioscorea bulbifera* fruit extracted with 70% EtOH

### 3) 멜라닌 함량 측정

UV 등의 외부자극을 받게되면 신체 내의 멜라노사이트가 증식하여 멜라닌 합성이 활성화되는데, 이때 각질형성세포에서 만들어지는  $\alpha$ -MSH, 엔도세린 등의 다양한 인자가 관여한다. 이러한 멜라노사이트 내의 멜라노솜에서 합성되는 멜라닌 색소는 사람의 피부색을 결정하는데 가장 주요한 인자로 작용한다<sup>111)</sup>.

하늘마 속열매 추출물의 멜라닌 함량을 측정한 결과는 Figure 15에 나타내었다. B16-F10 세포에  $\alpha$ -MSH를 처리하여 멜라닌 생성을 유도하였고,  $\alpha$ -MSH 단독 처리군 대비 무처리군은 81.26%로 멜라닌 생성 경로가 활성화되었음을 확인하였다.  $\alpha$ -MSH 단독 처리군 대비 하늘마 속열매 열수 및 70% EtOH 추출물 모두 100  $\mu$ g/ml 농도에서는 멜라닌 생합성 저해 효과가 나타나지 않았다. 반면 하늘마 속열매 열수 및 70% EtOH 추출물은  $\alpha$ -MSH 단독 처리군 대비 500  $\mu$ g/ml 농도에서 각각 2.74%, 4.24%의 저해 활성을 보여주었고, 최종 농도인 1,000  $\mu$ g/ml 농도에서 각각 17.64%, 7.48%의 멜라닌 저해 활성을 확인하였다. 따라서 하늘마 속열매 열수 추출물은 무처리군과 비슷한 멜라닌 합성 저해 효과를 나타내었고, 70% EtOH 추출물보다 우수한 멜라닌 함량을 확인할 수 있었다. 이는 김보애(2017)<sup>112)</sup>의 약콩 추출물에 대한 멜라닌 함량은 BuOH, H<sub>2</sub>O 분획 추출물에서 2.0 mg/ml로 처리한 결과, 각각 12.6%, 15.02%의 멜라닌 저해를 나타낸 결과와 비교하였을 때, 하늘마 열수 추출물이 더 우수한 저해능을 확인할 수 있었다. 이에 하늘마 추출물의 미백 기능성 소재로서 활용 가능성을 확인하였다.

---

111) 양재찬 (2019), 『화장품학의 이해』, 라이프사이언스.

112) 김보애(2017), B16F10 멜라닌 세포에서 약콩(Glycine soja Siebold et Zucc.) 분획 추출물의 멜라닌 생성 저해 효과, 대한화장품학회지, 43(3), pp.231~237.

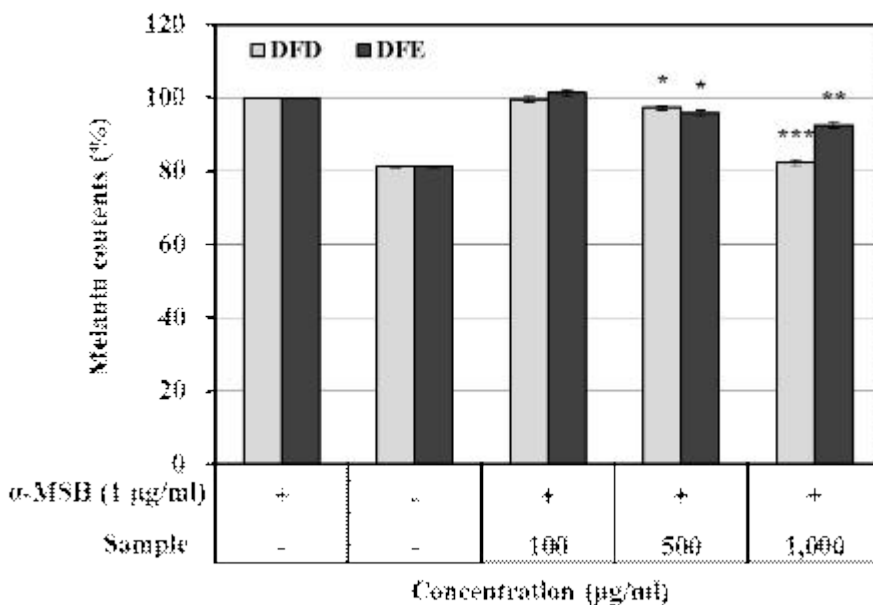


Figure 15. Inhibitory effects of extracts from *Dioscorea bulbifera* fruit on melanin contents in  $\alpha$ -MSH induced B16-F10 cells.

B16-F10 cells ( $1 \times 10^6$  cells/well) were pretreated with  $\alpha$ -MSH (1  $\mu$ g/ml) for 2 h. *Dioscorea bulbifera* at an appropriate concentration (100, 500 and 1,000  $\mu$ g/ml) for 24 h. Melanin contents was measured using a pellet by 1 N NaOH solution including 10% DMSO. Results are means  $\pm$  SD from triplicate experiments. (\* $p < .05$ , \*\* $p < .01$ , \*\*\* $p < .001$  vs  $\alpha$ -MSH alone-treated group).

- DFD: *Dioscorea bulbifera* fruit extracted with hot distilled water at 100°C
- DFE: *Dioscorea bulbifera* fruit extracted with 70% EtOH

## 7. 주름 개선 측정 결과

### 1) Elastase 저해 활성 측정

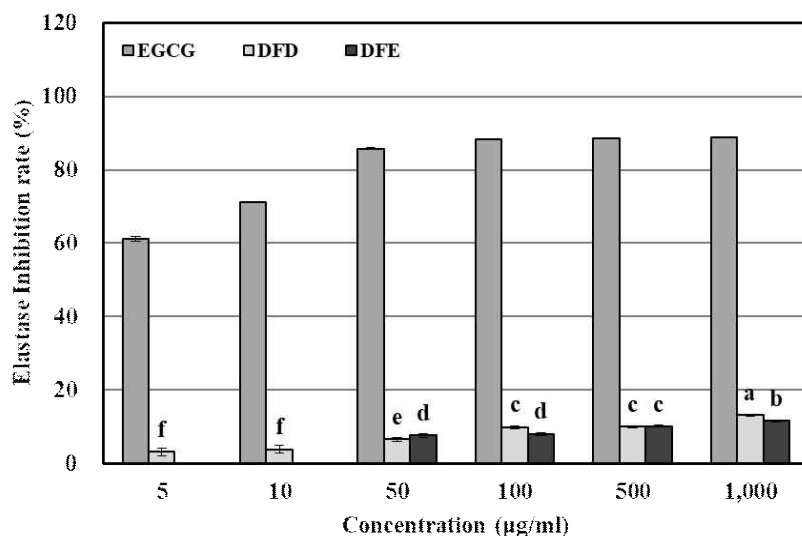
과도한 자외선 노출은 세포 내 ROS를 생성시켜 산화적 스트레스를 유발시키는데, 이는 엘라스테이스(elastase) 효소가 엘라스틴(elastin)을 분해시켜 피부 탄력 감소 및 주름 생성으로 피부의 노화를 촉진시킨다<sup>113)114)</sup>.

이러한 elastase의 저해 활성을 확인하기 위해 하늘마 속열매 열수 및 70% EtOH 추출물을 각 농도별(5, 10, 50, 100, 500, 1,000 µg/ml)로 측정 한 결과는 Figure 16에 나타내었다. 그 결과, 하늘마 속열매의 열수 추출물은 5 µg/ml 및 1,000 µg/ml 농도에서 각각 3.09%, 13.13%로 전 농도구간에서 elastase 저해 효과를 보여주었다. 하늘마 속열매 70% EtOH 추출물은 50 µg/ml 및 1,000 µg/ml 각각 7.56%, 11.48%의 저해 활성이 나타났고, 하늘마 속열매 열수 추출물 및 70% EtOH 추출물은 비슷한 elastase 저해 활성을 가지는 것으로 확인하였다.

---

113) 손유리, 박소진, 박연주, 박혜진, 김종석, 조영제(2024), 이팝나무(*Chionanthus retusa*) 잎 추출물의 항산화 및 Elastase, Collagenase 억제 활성 효과와 이를 첨가한 화장품의 품질 평가, *한국식품영양과학회지*, 53(1), pp.105~114.

114) 하병조 (2016), 『기능성화장품학』, *신광출판사*.



**Figure 16. Elastase inhibition activity of *Dioscorea bulbifera* fruit extracts.**

Results of data were mean  $\pm$  SD of three independent measurement and expressed in different alphabet letters by one-way ANOVA ( $p < .05$ ), ( $a > b > c > d > e > f$ ).

■ EGCG: Epigallocatechin Gallate

□ DFD: *Dioscorea bulbifera* fruit extracted with hot distilled water at 100°C

■ DFE: *Dioscorea bulbifera* fruit extracted with 70% EtOH

## 2) Collagenase 저해 활성 측정

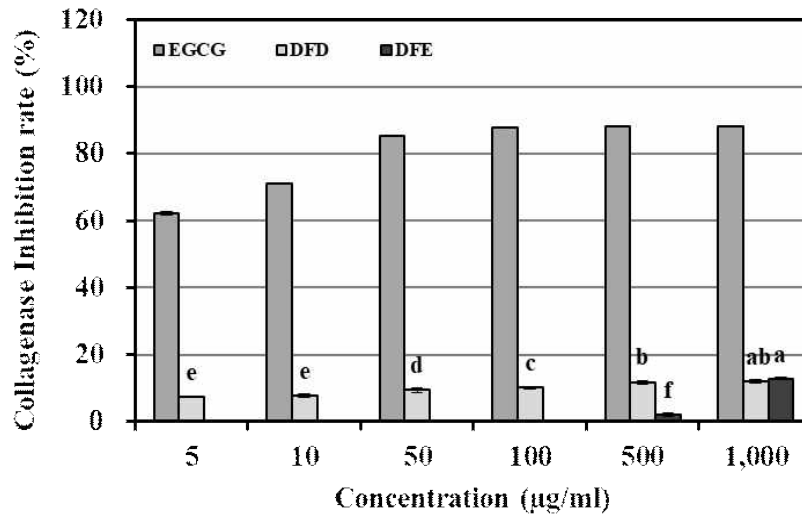
노화의 대표적인 원인인 자외선은 ROS를 발생시켜 주름을 생성시키는 콜라게네이즈 효소의 발현을 촉진시키고, 피부의 구조단백질인 콜라겐을 분해시켜 탄력성 저하 및 피부 구조 변성을 야기한다. 따라서 피부 노화를 방지하기 위해서는 콜라겐과 엘라스틴 같은 피부 구성 물질을 증가시키거나 이를 분해시키는 콜라게네이즈와 엘라스테이즈의 발생을 억제하는 것이 중요하다<sup>115)116)</sup>.

하늘마 속열매의 열수 및 70% EtOH 추출물을 각 농도별(5, 10, 50, 100, 500, 1,000 µg/ml)로 측정한 결과는 Figure 17에 나타내었다. 그 결과, 하늘마 속열매 열수 추출물을 처리하였을 때, 모든 농도 구간에서 collagenase 저해 활성을 보였으며, 최저 농도인 5 µg/ml에서는 7.41%를 나타내었으며, 크게 증가하는 추세 없이 최고 농도 구간인 1,000 µg/ml에서 12.11%의 효과를 나타내어 모든 구간이 비슷한 활성을 가진 것으로 확인되었다. 하늘마 속열매 70% EtOH 추출물은 500 µg/ml 이하의 농도에서는 활성을 보이지 않았으며, 500 µg/ml 및 1,000 µg/ml 농도에서 각각 2.10%, 12.82%의 저해 활성을 확인하였다. 이를 통해 하늘마 속낮은 농도 구간부터 하늘마 속열매 열수 추출물은 저해 효과를 가졌으며, 70% EtOH 추출물은 고농도에서 저해효과가 나타나는 것을 확인하였다.

---

115) 김주덕, 신정은(2011), 『최신화장품학』, 광문각.

116) 김다현, 김유경, 김희연, 김희인, 김종석, 박혜진, 조영제(2023), 제비고깔(*Delphinium grandiflorum*)꽃 추출물의 항산화, 항염증, 피부 주름 생성 억제 및 모공축소 효과, *한국식품영양과학회지*, 52(8), pp.788~797.



**Figure 17. Collagenase inhibition activity of *Dioscorea bulbifera* fruit extracts**

Results of data were mean  $\pm$  SD of three independent measurement and expressed in different alphabet letters by one-way ANOVA ( $p < 0.05$ ), (a>b>c>d>e>f).

■ EGCG: Epigallocatechin Gallate

□ DFD: *Dioscorea bulbifera* fruit extracted with hot distilled water at 100°C

■ DFE: *Dioscorea bulbifera* fruit extracted with 70% EtOH

## V. 결론 및 제언

2000년대 이후 소비자 인식의 변화로 인해 클린뷰티 및 비건 뷰티 트렌드가 자리잡고 있어, 화장품 시장에서도 안전성과 기능성 효과에 초점을 맞추고 있으며, 식물 유래 성분을 활용하여 과학적 근거를 위한 연구 개발이 활발하게 이루어지고 있다. 본 연구에서는 우리나라에서 재배되는 하늘마를 이용하여 생리 활성 검증을 통해 새로운 화장품 기능성 소재로서 활용하고자 항산화, 항염증, 보습 개선, 미백, 주름 개선 효능을 확인하였다.

첫째, 항산화 활성을 측정하기 위해 먼저 DPPH radical 소거능을 측정한 결과, 1,000 µg/ml 농도에서 하늘마 속열매 열수 및 70% EtOH 추출물은 각각 66.15%, 71.78%로 70% EtOH 추출물에서 더 우수한 소거능을 확인하였다. ABTS radical 소거 활성은 500 µg/ml 농도에서 두 추출물 모두 99% 이상의 우수한 소거 활성을 보여주었고, 70% EtOH 추출물은 전 농도구간에서 열수 추출물보다 우수한 소거능을 보여주었다. 이를 바탕으로 하늘마 속열매 열수 및 70% EtOH 추출물은 모두 항산화력을 가진 것을 확인하였다.

둘째, 항염증 활성을 확인하기 위해 NO 생성량 측정을 진행하였다. LPS를 자극한 대식세포에서 염증 매개 물질인 NO 생성량에 대한 하늘마 속열매 70% EtOH 추출물을 처리하였을 때, LPS 단독 처리군 대비 500 µg/ml 농도에서 23.63%의 NO 생성 저해 활성을 확인하였다. 반면 하늘마 속열매 열수 추출물은 NO 생성 저해 효과를 보이지 않아 70% EtOH 추출물이 항염증제로서 활용가치가 더 높은 것을 확인하였다.

셋째, 보습 개선 활성을 확인하기 위해 HA 생성량을 ELISA Kit를 사용해 측정하였다. 양성대조군으로 RA를 사용하였고, 무처리군 대비 하늘마 속열매 열수 및 70% EtOH 추출물은 최종농도인 1,000 µg/ml 농도에서 각각 10.59%, 15.66%로 HA 생성능은 70% EtOH 추출물이 더 높은 것으로 나타났다.

넷째, 하늘마 속열매 열수 및 70% EtOH 추출물의 tyrosinase 저해 활성을 측정한 결과, 1,000 µg/ml 농도에서 열수 추출물 보다 70% EtOH 추출물이 5.72% 더 높은 저해활성을 확인하였다. 이후 세포 내의 멜라닌 함량을 측정한 결과, α-MSH 단독 처리군 대비 1,000 µg/ml 농도에서 하늘마 속열매 70% EtOH 추출물 보다 열수 추출물이 10.16%의 더 높은 멜라닌 생성 저해 활성이 나타나는 것을 확인하였다.

다섯째, 하늘마 속열매 열수 및 70% EtOH 추출물의 주름 개선 효능을 확인하기 위하여 elastase와 collagenase 저해 활성을 측정한 결과, 두 추출물 모두 1,000 µg/ml 농도에서 11% 이상의 주름 생성 억제 활성을 확인하였다.

본 연구 결과를 바탕으로 하늘마 속열매 열수 및 70% EtOH 추출물은 항산화 및 항염증, 보습, 미백, 주름 활성을 확인하였다. 하늘마 속열매 추출물은 항산화 및 항염증 효능에서 우수한 활성을 나타내었으며, 이를 통해 피부의 염증 작용을 완화할 수 있는 기능성 화장품 소재로 활용할 수 있을 것으로 사료된다. 이후 하늘마 추출물의 인공피부모형을 활용하여 피부 안전성 평가를 진행하고자 하며, 화장품 개발 및 임상 실험을 수행하여 본 연구의 소재에서 임상적으로 유효성이 있는지 확인하는 실험을 진행한다면, 하늘마 속열매 추출물이 더 우수한 과학적 근거를 마련할 수 있을 것으로 사료된다.

## 참고 문헌

### 1. 국내문헌

강복희, 유민정(2021), 님과 컴프리 추출물의 화장품 소재로써 생리활성 연구, *아시안뷰티화장품학술지*, 19(2), pp.223~234.

강영기(2015), 수련추출물을 함유한 수분크림의 피부 보습 효과, *아주대학교 석사학위논문*.

곽충실, 양지원(2016), 인간피부세포에서 복숭아꽃 추출물의 투여가 자외선 B 조사에 의한 활성산소와 Matrix Metalloproteinases 생성 유도를 억제하는 효과, *아시안뷰티화장품학술지*, 14(2), pp.179~190.

권승빈, 이강태, 최성진, 이나경, 박현우, 이광식, 이건국, 안규중, 안인숙(2013), 글리세린, 히알루론산, 실리콘 오일이 피부의 보습 및 경피수분손실량에 미치는 효과, *아시안뷰티화장품학술지*, 11(4), pp.761~768.

김경미, 강문경, 김진숙, 김기창, 최송이(2015), 국내산 마 품종별 이화학적 성분 및 항산화 활성, *동아시아식생활학회지*, 25(5), pp.880~886.

김경연, 이나경(2014), 멜라닌 생성과 제어에 영향을 미치는 한방추출물 연구 동향, *아시안뷰티화장품학회지*, 12(4), pp.453~461.

김나미, 구분석, 이성계, 황의일, 소승호, 도재호(2007), 홍삼성분이 섬유아세포의 콜라겐 생합성과 MMP-1 활성에 미치는 영향, *한국자원식물학회지*, 31(2), pp.86~92.

김다미, 김경희, 김영식, 고종호, 이경행, 육홍선(2012), 복숭아 유과 씨 추출물을 이용한 화장품 소재 개발에 관한 연구, *한국식품영양과학회지*, 41(1), pp.110~115.

김다현, 김유경, 김희연, 김희인, 김종석, 박혜진, 조영제(2023), 제비고깔 (*Delphinium grandiflorum*)꽃 추출물의 항산화, 항염증, 피부 주름 생성 억제

및 모공축소 효과, *한국식품영양과학회지*, 52(8), pp.788~797.

김명근, 이근광(2013), 참마(*Dioscorea japonica*) 추출물의 생리활성 비교, *한국미용학회지*, 19(3), pp.509~515.

김명현(2022), 열매마 분말을 첨가한 증편의 품질 특성, *Culinary Science & Hospitality Research*, 28(8), pp.1~8.

김명현(2022), 열매마(*Dioscorea bulbifera*) 분말을 첨가한 스펀지케이크의 품질특성, *한국식생활문화학회지*, 37(4), pp.354~362.

김민정, 박은주(2011), In Vitro 항산화능 측정법에 대한 특징 분석과 채소·과일 시료에 대한 적용 사례 고찰, *한국식품영양과학회지*, 40(7), pp.1053~1062.

김신애, 최수철, 윤영한, 고창인, 하영순, 이인아(2017), 참마와 명아주의 항산화 및 항염증 효과, *대한화장품학회지*, 43(4), pp.337~347.

김용덕, 마힌다, 고경수, 전유진, 김수현(2009), 수확시기별 제주재래종 감귤 과피의 활성산소종 소거활성, *한국식품영양과학회지*, 38(4), pp.462~469.

김인덕, 권륜희, 허예영, 정혜진, 강환열, 하배진(2008), 한방원료의 초임계 추출을 이용한 항노화 및 주름개선 효과, *한국생물공학회지*, 23(6), pp.529~534.

김정환(2014), 둥근마(*Dioscorea bulbifera*) 추출물의 항염증 활성 기전에 관한 실험적 연구, *호서대학교 박사학위논문*.

김지인, 장한수, 김종식, 손호용(2009), 마(*Dioscorea batatas Decne*)의 항균, 항산화 및 항혈전 활성 평가, *한국미생물·생명공학회지*, 37(2), pp.133~139.

김진, 이창문, 황은주, 김춘성, 문성용, 이숙영(2022), 미역 추출물의 피부 보습 효능에 대한 연구, *한국키티탄키토산학회*, 27(4), pp.223~230.

김창수, 리순화(2012), 솔잎 추출물이 진피섬유아세포에서 콜라겐 발현 및 생성에 미치는 영향, *아시아뷰티화장품학회지*, 10(4), pp.817~822.

김효민, 유단희, 이인철(2022), LPS에 의해 활성화된 대식세포에서 애플망고 껍질(*Mangifera indica* L. Peel)의 항염증 효능 검증, *한국미생물·생명공학회*

지, 50(3), pp.337~346.

김효민, 유단희, 이인철(2022), Melanin 생성 인자 억제 효과를 통한 *Mangifera indica* L. Peel의 미백효과 연구, *한국미생물·생명공학회지*, 50(1), pp.31~39.

김희진, 김타곤, 강환열, 백현, 전해영, 김보영, 김동욱(2010), 연근 추출물에서 주름개선 소재의 개발, *한국화학공학회지*, 48(4), pp.413~416.

남동건, 임정연, 황경아, 최정숙, 임푸름(2022), 장마 영여자 효소·주정 복합 처리 추출물의 이화학적 특성 및 생리활성, *한국식품저장유통학회지*, 29(1), pp.116~128.

류재언, 박초희(2021), 비건 브랜드에 대한 인식과 제품 만족도 연구, *한국화장품미용학회지*, 11(1), pp.153~163.

민지현, 조윤희, 이윤주, 한상미(2013), 자외선 조사와 병행된 로얄제리 식이 공급이 무모 생쥐의 표피 보습과 필라그린, 유리아니모산 한량 및 관련 대사 효소의 발현 변화에 미치는 영향, *한국영양학회지*, 46(2), pp.109~118.

박규리, 이지안(2020), 동과자 추출물의 항산화, 항염 및 미백 효능, *융합정보논문지*, 10(7), pp.249~256.

박소은, 백명선, 양지혜(2019), 장미 허브 (*Plectranthus tomentosa*) 물추출물과 에탄올추출물의 주름 개선, 보습 및 피부 장벽 보호 효과에 대한 비교연구, *한국미용학회지*, 25(5), pp.1061~1067.

박수남(1997), 피부노화와 항산화제, *대한화장품학회지*, 23(1), pp.75~132.

박영기, 김재희(2016), 대추(*Zyziphus jujuba*) 품종별 성숙정도에 따른 항산화 활성, *한국자원식물학회지*, 29(5), pp.539~546.

박장서(2008), 표피항상성과 건조피부의 관리, *한국화장품학회지*, 34(1), pp.1~8.

박재현, 안근재, 이선령(2020), 열처리 불가사리 추출물의 항염 활성, *생명과학회지*, 30(7), pp.634~639.

박현아, 이인희(2022), 클린뷰티 화장품 소비자의 인게이지먼트가 소비자

규범 및 소비행동에 미치는 영향, *한국미용학회지*, 28(1), pp. 153~164.

서은경, 이주연(2009), 해양심층수 함유 화장품의 피부보습 효과, *한국인체미용예술학회지*, 10(2), pp.153~164.

손유리, 박소진, 박연주, 박혜진, 김종석, 조영제(2024), 이팝나무(*Chionanthus retusa*) 잎 추출물의 항산화 및 Elastase, Collagenase 억제 활성 효과와 이를 첨가한 화장품의 품질평가, *한국식품영양과학회지*, 53(1), pp.105~114.

송아람(2017), 효소 처리 방법에 따른 굴 가수분해물을 이용한 미백 활성 및 주름 개선, *신라대학교 석사학위논문*.

송혜진, 진무현, 이상화(2013), 천궁으로부터 분리된 ferulic acid의 히알루론산 생성에 미치는 효과, *한국화장품학회지*, 39(4), pp.281~288.

신용하(2018), 아관문 추출물의 주름, 미백 활성 평가, *제주대학교 석사학위논문*.

신태현, 신동화(2022), 비건 화장품 소비자의 구매의도와 구매행동에 관한 연구: 확장된 계획행동이론을 중심으로, *차세대융합기술학회논문지*, 6(11), pp.2255~2264.

안세연, 길소연, 권오선, 장윤희, 진무현(2017), 순채 점액질 다당체 추출물의 피부 보습 효과 연구, *한국화장품학회지*, 43(3), pp.223~230.

양서진, 최태부(2011), 연교 추출물의 항산화활성 및 미백 효과, *한국약용작물학회지*, 19(6), pp.472~477.

양성민, 조규석, 방민지, 김규봉, 이병무, 신찬영(2015), 화장품 안전성 자료 조사법 및 국내외 화장품성분 안전성 평가 동향, *FDC 법제연구*, 10(2), pp.131~139.

오세원, 정종필, 박정수(2021), 화장품 제조업을 위한 제조데이터 기반의 스마트 팩토리 시스템의 설계 및 구현, *한국인터넷방송통신학회*, 21(1), pp.149~162.

오희경(2022), 개똥썩 용매추출 방법에 따른 항산화 활성 및 항염증 효과, *한국응용과학기술학회지*, 39(6), pp.875~883.

유단희, 이인철(2020), 패션프루트 껍질의 생리활성에 대한 연구, *한국인체 미용예술학회지*, 21(2), pp.143~154.

유단희, 이인철(2021), B16F10 세포에서의 오크라 추출물의 미백 활성 검증, *한국미생물·생명공학회지*, 49(4), pp.485~492.

유단희, 이인철(2024), 대추나무 새순 추출물의 보습 및 항염증 효능, *대한미용학회지*, 20(1), pp.35~44.

유단희, 이인철(2024), 오크라 추출물의 항염증 및 보습 효과 연구, *한국미생물·생명공학회지*, 52(1), pp.15~23.

윤영민, 배승희, 안성관, 최용범, 안규중, 안인숙(2013), 자외선(Ultraviolet)이 피부 및 피부세포 내 신호전달체계에 미치는 영향, *대한피부미용학회지*, 11(3), pp.417~426.

이광원, 박신성, 박수인, 신문삼(2021), 초임계 대마종자 추출물의 화장품 효능과 경피흡수증진 효과, *문화기술의 융합*, 7(4), pp.683~691.

이미경, 김동희, 박태순, 손준호(2015), 만형자 추출물의 항산화 및 주름개선 효과, *한국응용생명화학회*, 58(2), pp.125~129.

이새롬, 김영삼(2018), 천연성분 Ectoin이 피부 보습 및 수분에 미치는 영향, *아시아뷰티화장품학술지*, 16(3), pp.437~447.

이영숙, 유민정(2019), 계피 추출물의 항산화 효과 및 화장품소재의 응용, *아시아뷰티화장품학술지*, 17(1), pp.69~80.

이영화(2021), 클린뷰티 화장품에 나타난 통합 브랜드 커뮤니케이션 연구, *한국융합학회논문지*, 12(4), pp. 161~169.

이정정, 김경희, 육홍선(2023), 발효 여정실의 건강기능성 식품 및 화장품 소재로써 사용 가능성 평가, *한국식품영양과학회지*, 52(7), pp.691~700.

이종두, 현호봉, 현혜진, 장은비, 고민희, 윤원종, 함영민, 정용환, 최훤, 오유진, 오대주(2022), 생물반응기를 이용한 황근 부정근의 대량증식과 추출물의

항산화 및 미백 활성 평가, *한국자원식물학회지*, 35(4), pp. 435~444.

이주연(2020), 시호(*Bupleurum falcatum* L.) 뿌리 추출물의 피부 보습, 장벽 기능 강화 및 피부상태 개선 효과, *건국대학교 박사학위논문*.

임선형, 이은희, 박두현(2016), 기능성 성분과 생리활성 기반의 천연화장품의 재료로서 식용 식물의 수용성 추출물의 유용성 평가, *한국미용학회지*, 22(4), pp.653~659.

임창열(2010), Nitric Oxide와 종양, *대한내과학회지*, 78(4), pp.430~436.

장영아, 이정민, 최윤식(2020), 정향(*Syzygium aromaticum*) 에탄올 추출물의 항염 효과, *한국응용과학기술학회지*, 37(3), pp.429~437.

전혜숙, 이창현, 안홍석(2014), UVB 조사에 의한 육미지황탕의 광노화 피부 억제에 관한 실험적 연구, *동의생리병리학회지*, 28(5), pp.520~529.

정경한, 김태훈(2016), 재배 삼나무 뿌리 추출물의 자유 라디칼소거 및  $\alpha$ -glucosidase 저해활성, *한국식품저장유통학회*, 23(7), pp.989~994.

정재우(2020), 염생식물 추출물의 피부 보습 및 장벽 기능 강화 효과, *인천대학교 석사학위논문*.

정지연, 모은진, 황방연, 이미경(2015), 연자육의 페놀성 성분 및 Tyrosinase 저해 활성, *생약학회지*, 46(1), pp.1~5.

조혜진, 김경은 (2020). 맞춤형화장품에 대한 베이비붐 세대의 인식도 및 구매행동 연구. *한국미용학회지*, 26(3), pp.646~653.

주경미, 한지연, 손의동, 남개원, 정혜진, 임경민, 조준철(2012), 아미노산 동시분석을 통한 피부보습능과 각질 중 아미노산 함량과의 상관관계 연구, *한국화장품학회지*, 38(1), pp.75~82.

지병철, 문신용(2002), Nitric Oxide가 인간 황체화 과립막세포의 아포프토시스에 미치는 영향, *대한산부인과학회*, 45(5), p.5.

차유미, 이인희(2023), 클린뷰티 화장품 소비자의 환경적가치가 소비효능

감과 소비행동에 미치는 영향, *한국미용학회지*, 29(4), pp.862~872.

채정우, 조희선, 엄현지, 이진영(2021), 채취 시기 및 추출 용매에 따른 환삼덩굴의 항산화 및 기능성 화장품 활성, *한국산림과학회지*, 110(2), pp.254~265.

최소영, 김영철, 장병수(2011), 멜라닌 세포에서 홍차 열수추출물의 멜라닌 합성저해능과 작용기전, *한국현미경학회지*, 41(3), pp.169~177.

최원석(2012), 등근마를 이용한 기능성 건강음료 개발에 관한 연구, *Food industry and Nutrition*, 17(2), pp.20~22.

최은영(2006), 피부측정기구를 이용한 피부표면상태의 비교측정, *아시아뷰티 화장품학술지*, 4(2), pp.1~10.

하창우, 김성혁, 장소희, 최정훈, 김경인, 윤보섭, 최영훈, 이진우, 김수남, 손은화(2023), 인간 섬유아세포 및 인간 각질형성세포에 대한 코브라 오일의 주름개선 및 노화 방지 효과, *한국산학기술학회논문지*, 24(6), pp.281~293.

한나경, 박창민, 권주찬, 정민석, 최종완(2014), 쓴메밀 추출물의 미백 개선 효과, *대한화장품학회*, 40(2), pp.179~186.

한은경, 정의진, 이지영, 김영섭, 정차권(2011), 민들레의 부위별 에탄올 추출물의 항산화 활성, *한국식품영양과학회지*, 40(1), pp.56~62.

허윤정(2021), 비건 화장품 매칭 서비스 애플리케이션의 GUI디자인 연구, *한국디자인문화학회지*, 27(3), pp.490~501.

허지원, 유단희, 이인철(2024), LPS로 유도된 대식세포에서 루모라고사리 (*Rumohra adiantiformis*) 추출물의 항염증 활성 검증, *한국식품영양과학회지*, 53(1), pp.14~23.

홍인림, 김영진(2008), 히알루론산에 결합된 리포산 자기조립체의 제조 및 특성, *Polymer (Korea)*, 32(6), pp.561~656.

황제이, 김금란(2021), 비건 뷰티와 뷰티산업의 연관성에 관한 연구, *디지털융복합연구*, 19(1), pp.45~49.

## 2. 국외문헌

Ahendra. C. K, Goh. K. W, Ming. L. C, Zengin. G, Low. L. E, Ser. H. L, Goh. B. H(2022), The Prospects of *Swietenia macrophylla* King in Skin Care, *Antioxidants*, 11(5), p.913.

Blois. M. S(1958), Antioxidant determinations by the use of a stable free radical, *Nature*, 181, pp.1199~1200.

Cannell. R. J, Kellam. S. J, Owasianka. A. M and Walker. J. M(1988), Results of a Large Scale Screen of Microalgae for the Production of Protease Inhibitors, *Planta Medica*, 54(1), pp.10~14.

Carmichael. J, DeGraff. W. G, Gazdar. A. F, Minna. J. D and Mitchell. J. B(1987), Evaluation of a Tetrazolium-based Semiautomated Colorimetric Assay: Assessment of Chemosensitivity Testing, *Cancer Research*, 47(4), pp.936~942.

Cataldi. A, Amoroso. R, Giacomo. V. D, Zara. S, Maccallini. C and Gallorini. M(2022), The Inhibition of the Inducible Nitric Oxide Synthase Enhances the DPSC Mineralization under LPS-Induced Inflammation, *International Journal of Molecular Science*, 23(23), p.14560.

Cork. M. J, Danby. S. G, Vasilopoulos. Y, Hadgraft. J, Lane. M. E, Moustafa. M, Guy. R. H, Macgowan. A. L, Tazi-Ahnini. R and Ward. S. J(2009), Epidermal Barrier Dysfunction in Atopic Dermatitis, *Journal of Investigative Dermatology*, 129(8), pp.1892~1908.

D'Mello. S. A, Finlay. G. J, Baguley. B. C and Askarian-Amiri. M. E(2016), Signaling Pathways in Melanogenesis, *International Journal of Molecular Sciences*, 17(7), p.1144.

Dunnill. C, Patton. T, Brennan. J, Barrett. J, Dryden. M, Cooke. J,

Leaper. D and Georgopoulos. N(2017), Reactive oxygen species (ROS) and wound healing: the functional role of ROS and emerging ROS-modulating technologies for augmentation of the healing process, *International Wound Journal*, 14(1), pp.89~96.

Fallacara. A, Baldini. E, Manfredini. S and Vertuani. S(2018), Hyaluronic Acid in the Third Millennium, *Polymers*, 10(7), p.701.

Ganceviciene. R, Liakou. A. I, Theodoridis. A, Makrantonaki. E and Zouboulis. C. C(2012), Skin anti-aging strategies, *Dermato Endocrinology*, 4(3), pp.308~319.

Ghosh. S, Ahire. M, Patil. S, Jabgunde. A, Bhat Dusane. M, Joshi. B. N, Pardesi. K, Jachak. S, Dhavale. D. D and Chopade. B. A(2012), Antidiabetic Activity of *Gnidia glauca* and *Dioscorea bulbifera*: Potent Amylase and Glucosidase Inhibitors, *Evidence-based complementary and alternative medicine*, pp.1~10.

Green. L. C, Wagner. D. A, Glogowski. J, Skipper. P. L, Wishnok. J. S and Tannenbaum. S. R(1982), Analysis of Nitrate, Nitrite, and [15N] Nitrate in Biological Fluids, *Analytical Biochemistry*, 126(1), pp.131~138.

Hida. T, Kamiya. T, Kawakami. A, Ogino. J, Sohma. H, Uhara. H and Jimbow. K(2020), Elucidation of Melanogenesis Cascade for Identifying Pathophysiology and Therapeutic Approach of Pigmentary Disorders and Melanoma, *International Journal of Molecular Sciences*, 21(17), p.6129.

Hosoi. J, Abe. E, Suda. T and Kuroki. T(1985), Regulation of Melanin Synthesis of B16 Mouse Melanoma Cells by 1 $\alpha$ , 25-dihydroxyvitamin D<sub>3</sub> and Retinoic Acid, *Cancer Research*, 45(4), pp.1474~1478.

Huschcha. Y, Blo. I, Oton-Gonzalez. L, Mauro. G. D, Martini. F, Tognon. M

and Mattei. M. D(2021), MicroRNAs in the Regulation of Melanogenesis, *International Journal of Molecular Sciences*, 22(11), p.6104.

Langton. A. K, Sherratt. M. J, Griffiths. C. E. M and Watson. R. E. B(2010), A new wrinkle of old skin: the role of elastic fibres in skin ageing, *International Journal of Cosmetic Science*, 32(5), pp.330~339.

Mainasara. M. M, Abu Baker. M. F, Md Akim. A, Linatoc. A. C, Abu Baker. F. I and Ranneh. Y. K(2021), Secondary Metabolites, Antioxidant, and Antiproliferative Activities of *Dioscorea bulbifera* Leaf Collected from Endau Rompin, Johor, Malaysia, *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, pp.1~10.

Ngan. N. T. T, Hoang. N. H, Truong. V. V, Hien. N. T, Lan. N. N, Tung. N. V, Huong. P. T. M, Oh. H and Quang. T. H(2021), Anti-inflammatory norclerodane diterpenoids and tetrahydrophenanthrene from the leaves and stems of *Dioscorea bulbifera*, *Fitoterapia*, 153, pp.1~7.

Ngoc. L. T. N, Moon. J. Y and Lee. Y. C(2023), Insights into Bioactive Peptides in Cosmetics, *Cosmetics*, 10(4), p.111.

Panwar. P, Butler. G. S, Jamroz. A, Azizi. P, Overall. C. M and Brömme. D(2018), Aging-associated modifications of collagen affect its degradation by matrix metalloproteinases, *Matrix Biology*, 65, pp.30~44.

Quan. T, Qin. Z, Xia. W, Shao. Y, Voorhees. J. J and Fisher. G. J(2009), Matrix-Degrading Metalloproteinases in Photoaging, *Journal of Investigative Dermatology Symposium Proceedings*, 14(1), pp.20~24.

Roberta. R, Nicoletta. P, Anna. P, Ananth. P, Min. Y and Catherine. R. E(1999), Anti-oxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay, *Free Radical Biology & Medicine*, 26(9-10), pp.1231~1237.

Roger. L. M and Giorgio. D(2023), History of Natural Ingredients in Cosmetics, *Cosmetics*, 10(3), p.71.

Singleton. V. L, Orthofer. R and Lamuela-Raventos. R. M(1999), Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent, *Methods Enzymol*, 299, pp.152~178.

Srisuksomwong. P, Kaenhin. L and Mungmai. L(2023), Collagenase and Tyrosinase Inhibitory Activities and Stability of Facial Cream Formulation Containing Cashew Leaf Extract, *Cosmetics*, 10(1), p.17.

Teponno. R. B, Tapondjou. A. L, Gatsing. D., Djoukeng, J. D, Abou-Mansour. E, Tabacchi. R, Tane. P, Stoekli-Evans. H and Lontsi, D(2006), Bafoudiosbulbins A, and B, two anti-salmonellal clerodane diterpenoids from *dioscorea bulbifera* L. var sativa, *Phytochemistry (Oxford)*, 67(17), pp.1957~1963.

Wang. J, Ji. L, Branford-White. C. J, Wang. Z, Shen. K, Liu. H and Wang. Z(2012), Antitumor activity of *dioscorea bulbifera* L. rhizome in vivo, *Fitoterapia*, 83(2), pp.388~394.

Wang. Z, Wang. Q, Zhong. W, Liang. F, Guo. Y, Wang. Y and Wang. Z(2023), Moisturizing and Antioxidant Effects of Artemisia argyi Essence Liquid in HaCaT Keratinocytes, *International journal of molecular sciences*, 24(7), pp.1~14.

Wünsch. E and Heidrich H. G(1963), Zur quantitativen bestimmung der kollagenase, *Biological Chemistry*, 333, pp.149~151.

Yagi. A, Kanbara. T and Morinobu. N(1987), Inhibition of Mushroom-Tyrosinase by *Aloe* extract, *Planta Medica*, 53(6), pp.515~517.

### 3. 기타자료

글로벌이코노믹, 최양수(2023.03.29.) 뷰티업계, 新먹거리 ‘비건 화장품’...‘가치소비 확대’로 시장 규모 확대

김주덕, 김상진, 김한식, 박경환, 이화순, 진종언(2008), 『신화장품학』, 동화기술.

김주덕, 신정은(2011), 『최신화장품학』, 광문각.

Buisness Research insights(2024), 글로벌 화장품 원료 시장 성장의 세부 TOC- 2031, 2024.03.13.

KOTRA(2023), 글로벌 클린뷰티 화장품 동향 및 진출전략, 2023.07.21.

# ABSTRACT

## Study on the physiological activity of *Dioscorea bulbifera* extract as a cosmetic material

Ji Yeun Kim

Department of Beauty Industry

Graduate School of Sungshin University

Recently, the number of modern consumers using cosmetics to maintain healthy and beautiful skin is increasing regardless of gender and age, and the level of knowledge about cosmetic ingredients is also increasing. Due to this influence, research on material development based on scientific evidence is being actively conducted in the cosmetics market, focusing on natural ingredients rather than chemical ingredients. A physiological activity study was conducted using Korea's indigenous *Dioscorea bulbifera* to confirm its efficacy as a new cosmetic functional material.

In this study, the peeled fruit of *Dioscorea bulbifera* was extracted using hot distilled water (DFD) and 70% EtOH (DFE), and the efficacy of antioxidant, anti-inflammatory, moisturizing improvement, whitening, and wrinkle improvement was verified using the extract obtained in this

way.

First, the results of measurement showed that the total polyphenol contents DFD and DFE was  $114.35 \pm 0.82$  mg TAE /100 g and  $107.76 \pm 0.80$  mg TAE /100 g, respectively. To verify the antioxidant efficacy of DFD and DFE, 1-1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) radical scavenging activity and 2,2'-azino-bis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) (ABTS) radical scavenging activity were confirmed. As a result, the DPPH radical scavenging activity of DFD and DFE was 66.15% and 71.78%, respectively, at a concentration of 1,000  $\mu\text{g/ml}$ , and the ABTS radical scavenging activity of both extracts was more than 90% at a concentration of 500  $\mu\text{g/ml}$ . Therefore, it was confirmed that DFD and DFE have antioxidant power.

Second, an experiment was conducted to check cell viability by treating RAW 264.7 cells, which are macrophages, with DFD and DFE. As a result, a cell viability over 90% was confirmed at a concentration of 500  $\mu\text{g/ml}$ . Based on these results, the subsequent anti-inflammatory experiment using RAW 264.7 cells was conducted in a section where the cell viability was over 90%. To measure anti-inflammatory activity, RAW 264.7 cells were treated with lipopolysaccharide (LPS) to induce nitric oxide (NO) production and then an inhibitory activity experiment was performed. As a result, the DFE was confirmed to have an inhibitory effect of 23.63% at a concentration of 500  $\mu\text{g/ml}$  compared to the LPS-only treatment group. On the other hand, DFD did not have an NO production inhibition effect. Therefore, it was confirmed that the DFE has higher utility value.

Third, as a result of checking the cell viability by treating HaCaT cells, which are keratinocytes, with DFD and DFE, a cell viability over 90% was confirmed at a concentration of 1,000 µg/ml. Afterwards, the moisturizing improvement experiment using HaCaT cells was conducted in the section where the cell viability was over 90%. To confirm the improvement in moisturizing, the amount of hyaluronic acid (HA) production was checked. As a result, the amount of HA production was confirmed to be 10.59% and 15.66%, respectively, at the final concentration of 1,000 µg/ml when treated with DFD and DFE compared to the untreated group.

Fourth, as a result of measuring tyrosinase inhibitory activity to confirm whitening activity, DFD and DFE showed inhibitory activities of 11.30% and 17.02%, respectively, at a concentration of 1,000 µg/ml. Afterwards, the cell viability was confirmed through MTT assay using melanoma cells B16-F10, and the cell viability was shown to be over 90% at a concentration of 1,000 µg/ml, so after the melanin content experiments were conducted in the section where the cell viability was over 90%. DFD and DFE showed 17.64% and 7.48% melanin production inhibitory activity at a concentration of 1,000 µg/ml, respectively, compared to the α-MSH -only treatment group.

Fifth, to confirm the wrinkle improvement efficacy, elastase and collagenase inhibitory activities were measured. As a result of measuring elastase inhibitory activity, DFD and DFE at a concentration of 1,000 µg/ml showed inhibition 13.13% and 11.48%, respectively, and the collagenase inhibitory activity was also 12.11% and 12.82%, respectively,

at a same concentration.

Based on these results, *Dioscorea bulbifera* extract was confirmed to have anti-inflammatory, moisturizing, whitening, and wrinkle-improving activities, confirming its potential for use in developing new natural materials, and these results are expected to serve as basic data for application in various fields using *Dioscorea bulbifera* material.