

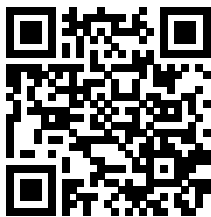
Prunus persica L., *Nelumbo nucifera*, *Hibiscus mutabilis* L., *Agastache rugosa*, *Wolfiporia extensa* Extracts to Improve Skin Wrinkles

Mi Jeong Choi

Biomedical Biotechnology Research Institute Co., Ltd., Goyang-si, Gyeonggi-do, Korea

Corresponding author: Mi Jeong Choi,
Biomedical Biotechnology Research
Institute Co., Ltd., 847, Dongguk University
cluster center, 32, Dongguk-ro, Ilsandong-
gu, Goyang-si, Gyeonggi-do 10326, Korea
Tel.: +82 31 811 9323
Fax: +82 70 7469 9326
Email: mijung7582@gmail.com

Received September 24, 2021
Revised January 10, 2022
Accepted January 14, 2022
Published March 30, 2022



Abstract

Purpose: In this study, mixed extracts of *Prunus persica* L., BATSCH, *Nelumbo nucifera*, *Hibiscus mutabilis* L., *Agastache rugosa*, and *Wolfiporia extensa* (PNHAW), which are effective in improving skin wrinkles, was prepared. The purpose of this study is to evaluate the cosmetic functionality of this extracts through a mouse animal model. **Methods:** In this study, skin wrinkle width evaluation, skin moisture content, erythema amount, melanin content measurement, matrix metalloproteinase-1 (*MMP-1*) gene expression level in skin tissue, and safety evaluation were performed to evaluate the wrinkle improvement cosmetic function of the experimental sample. **Results:** As a result of this study, the experimental sample PNHAW-4 showed the best efficacy. As a result of evaluating the skin wrinkle width, the experimental group showed 19.3% less than the control group, and the skin moisture content, erythema amount, and melanin content showed superior efficacy compared to the control group. In particular, the amount of erythema of PNHAW-4 (224.5) was inhibited by 43.2% compared to the control group (395.7), and melanin was decreased by 45.9% compared to the control group. In addition, PNHAW-4 inhibited the increase in *MMP-1* activity by 38% compared to the control group. As a result of the experiment, the experimental sample showed an excellent skin wrinkle improvement effect. **Conclusion:** The results of this study suggest that the mask pack prepared from the experimental sample has an excellent collagen production promoting effect and can be applied as a safe natural wrinkle-improving cosmetic material that does not cause skin irritation.

Keywords: Skin wrinkle improvement, *Prunus persica* L.(BATSCH), *Nelumbo nucifera*, *Hibiscus mutabilis* L., *Agastache rugosa*, *Wolfiporia extensa*

Introduction

피부노화는 인체에서 가장 먼저 보여지는 물리적 노화의 신호 중 하나로 대표적인 증상으로는 주름을 들 수 있다(Draelos & Pugliese, 2011). 인간의 피부는 산소와 자외선에 노출과 산소로 인한 활성산소종(reactive oxygen species, ROS)이 유도되어 산화적 스트레스를 받게 되고, 자외선으로 인한 피부 손상의 중요한 인자인 hydroxy 및 superoxy radical이 피부에 존재하는 지질과 산화반응의 개시, 항산화 물질의 파괴, DNA 산화, 단백질의 산화, 결합조직 성분인 히아루론산, 콜라겐 및 엘라스틴 등의 비정상적인 교차결합과 결

합사슬 절단에 의한 피부노화를 가속화되는 주름 생성과 멜라닌 생성이 촉진된다(Fantone *et al.*, 1928; Park, 2003). 자외선 노출의 결과로 발생하는 지질의 과산화, DNA손상, 단백질산화 등은 노화 및 성인병질환을 유발하고 산화적 스트레스로 인해 세포 성분들은 손상이 진행된다(Fisher *et al.*, 1997; Gilchrist, 1990; Ha, 2006). 또한 진피의 기질성분들인 히아루론산, 콜라겐, 엘라스틴을 분해하는 효소인 matrix metalloproteinases (MMPs)의 발현이 증가되어 멜라닌 생성이 촉진되는데, 결과적으로 주근깨 및 기미 생성, 피부의 탄력 감소, 주름 생성 등 피부 노화 가속화가 된다(Ma *et al.*, 2002; Jang *et al.*, 2010).

이에 피부노화 억제에 효능이 있는 화장품 개발을 위해서 피부 주름 연구분야에서는 전통적으로 주름과 관련성이 높은 콜라겐에 집중해 왔다(Kim *et al.*, 2018; Aguirre-Cruz *et al.*, 2020; Kwatra, 2020; Jhavar *et al.*, 2020; Jeong, 2018). 즉 콜라겐 생성의 촉진, 활성산소종(reactive oxygen species), 염증성 인자 등과 같이 콜라겐 저해에 영향을 미치는 물질의 제거, 세포외기질 금속단백분해효소(matrix metalloproteinase-1, MMP-1)와 같은 콜라겐 분해를 촉진하는 효소의 작용억제 등을 중점적으로 연구해 왔다(Yasmeen *et al.*, 2019; Emy *et al.*, 2021; El-Domyati *et al.*, 2002).

최근 피부에 안전한 소재에 대한 복합물의 개발에 관심이 집중되면서 자극이 적은 천연물에 대해 연구가 활발히 진행되고 있으며(Jesumani *et al.*, 2019; Chowjarean *et al.*, 2019; Koo *et al.*, 2017), 꽃이나 약재 성분에서 추출한 원료로 제조된 천연 화장품에 대한 수요가 증대하고 있다(Sharmeen, 2021). 이는 피부질환 환자 급증과 대기오염이 심화됨에 따라 민간처방에 의해 오랫동안 약재로 사용되어 피부에 자극이 없고, 다양한 효능을 갖는 성분들이 풍부하게 존재하는(Kim *et al.*, 2004; Jin *et al.*, 2004) 천연 화장품에 대한 관심이 증대하였기 때문이다. 천연물에 포함되어있는 수많은 phenolic compounds 및 flavonoids 성분들은 항산화, 미백, 주름, 보습에 효과가 있다고 알려져 있다(Kim, 2006; Garg *et al.*, 2017; Panzella & Napolitano, 2019). 따라서, 다양한 천연물들을 대상으로 화장품 소재로서의 활용 가능성에 관한 연구들이 필요하다.

한편 복사꽃으로도 알려져 있는 도화(*Prunus persica* Flos)는 미백 및 주름개선 효과가 보고되었고(Lee & An, 2010), 연꽃(*Nelumbo nucifera*)은 주름생성에 작용하는 주요 효소인 elastase 활성 억제와 항산화 효능이 보고되었다(Lee *et al.*, 2020). 또한 배초향으로도 불리는 곱향(*Agastache rugosa*)은 항노화와 주름개선에 대한 효능이(Kim *et al.*, 2015), 복령(*Wolfiporia extensa*)의 껍질은 껍질 및 내피 추출물은 elastase와 collagenase 활성을 저해하여 주름 개선에 효능(Smriga *et al.*, 1995)이 보고되었다.

이에 본 연구에서는 피부주름 개선에 효과를 나타내는 도화(*Prunus persica* (L.) BATSCH), 연꽃(*Nelumbo nucifera*), 부용화(*Hibiscus mutabilis* L.), 곱향(*Agastache rugosa*), 복령(*Wolfiporia extensa*) 혼합추출물의 주름개선 기능을 마우스 동물 모델을 통해 평가하였다. 그 결과, 본 연구에서 사용한 천연물의 혼합추출물은 새로운 피부 주름 개선 원료로써 가능성이 확인되었다.

Methods and Materials

1. 실험 샘플 제조

본 연구에서는 천연 추출물의 주름개선 효능 평가를 위해 혼합 추출물 실험 샘플을 아래와 같이 제조하였다.

먼저 도화(*Prunus persica* (L.) BATSCH), 연꽃(*Nelumbo nucifera*), 부용화(*Hibiscus mutabilis* L.), 곱향(*Agastache rugosa*), 복령(*Wolfiporia extensa*)을 깨끗이 세척한 후 완전히 건조시켜 분쇄하였다. 이후 분쇄한 원료를 일정한 중량 비율(2.5:2.5:2.5:1.5:1.5)로 혼합하고 중량 대비 20배의 물을 넣고 120 kHz의 주파수에서 15 min간 초음파 처리(AUG-R; Asia ultrasonic, Korea) 한 후 121°C에서 고압열수로 추출하였다. 이 추출액에 락토바실러스 람노서스(*Lactobacillus rhamnosus*, KCCM 32405)를 109 CFU/mL의 농도로 추출물에 접종하여 30°C에서 3일간 발효시킨 후 발효액을 원심분리로 여과하고 초음파유산균고압도화혼합추출물(PNHAW-4)을 제조하였다. 마지막으로 이 추출물에 점증제 및 향을 0.5~2% 범위로 첨가하고 60~70°C에서 1500 rpm으로 교반하여 마스크팩 용액을 제조하고 얼굴모양의 부직포를 침지하여 피부 주름방지 또는 개선용 마스크팩을 제조하였다.

본 연구에서는 혼합추출물 실험 샘플의 주름개선 효능을 평가하기 위해 주요 단계에서 초음파 처리와 락토바실러스 람노서스(*Lactobacillus rhamnosus*) (KCCM 32405) 발효 등의 처리여부를 달리하면서 실험 샘플을 제조하였으며, 대조군 샘플은 순수 증류수만을 이용하여 제조하였다. 이러한 제조 조건을 정리하면 Table 1과 같다.

2. 실험방법

a. 피부주름 동물모델

6주령의 SKH-1 hairless 마우스를 구입하여 물과 고형사료를 충분히 공급시켜 실험실 환경(온도 22±2°C, 습도 55±5% 12 h 명암주기)에 적응시켜 관리하였다. 각 군당 5마리씩 5개 군으로 나누어 사육하였으며, hairless 마우스는 트레이에 고정하고, UV (TL20W/120RS; Philips, Netherlan)를 조사하였다. UV 조사 장치의 광원은 302 nm 파장의 UV-B이며, 초기 2주 동안에는 1 minimal erythema dose (MED)를 조사하고 이후 2주 동안은 2 MED를 조사하였다. 1주일에 3번 UV 조사를 총 4주간 실시하였으

Table 1. Experimental sample preparation conditions

	Experimental group				Control group
	PNHAW-1	PNHAW-2	PNHAW-3	PNHAW-4	
Ultrasonic treatment*	×	○	×	○	Distilled water
<i>Lactobacillus rhamnosus</i> fermentation**	×	×	○	○	

*Sonication for 15 min at a frequency of 2450 MHz.

***Lactobacillus rhamnosus* was inoculated into the extract at a concentration of 109 CFU/mL and fermented at 30°C for 3 days.

PNHAW, mixed extracts of *Prunus persica* L., BATSCH, *Nelumbo nucifera*, *Hibiscus mutabilis* L., *Agastache rugosa*, and *Wolfiporia extensa*.

며, 조사 직후 실험군 샘플(PNHAW-1-4)을 20 min간 처리하였다. 이상의 동물모델 관련 모든 실험은 실험윤리위원회의 원칙을 준수하고 동물보호법의 3R 및 윤리적인 측면을 고려하여 실시하였다.

b. 피부주름 넓이 평가

동물 모델을 통하여 자외선 조사 후, 실험군과 대조군에 대한 피부주름 넓이를 비교하였다. 평가는 피부주름 동물모델 실험이 끝나고 에테르(ether, Duksan, Korea)로 가볍게 마취한 뒤, 실리콘 폴리머를 등 부위에 도포한다. 이후 균도록 방지하고 모사판을 떼서 visioline (VL650; Courage and Khazaka electronic GmbH, Germany)을 사용하여 주름지표를 분석하였다.

c. 피부 수분량, 홍반량, 멜라닌 함량 측정

피부 수분량은 Corneometer CM825 (Courage and Khazaka Electronics electronic GmbH)를 이용하여 실험이 끝나는 4주차에 측정하였고, 홍반량과 멜라닌 함량은 Multiprobe MPA 5 (MPA 5; Courage and Khazaka electronic GmbH)를 이용하여 매주 측정하였다.

d. 피부조직의 MMP-1 유전자 발현량 측정

실험동물에서 피부조직을 채취하여 PRO-PREP protein Extraction Solution (PRO-PREP protein Extraction Solution, iNtRON Biotechnology, Korea)을 첨가하여 분쇄하였다. 이후 15,000 rpm, 4°C, 15 min간 원심분리 후 분리된 단백질의 농도를 SMARTTM BCA Protein Assay Kit (SMARTTM BCA Protein Assay Kit, iNtRON Biotechnology, Korea)을 이용하여 정량하고 Western blot을 분석에 사용하였다. 추출된 단백질을 10% SDS-PAGE gel에 전기영동한 후, PVDF membrane에 transfer하였으며, 5% skim milk에서 1 h 동안 blocking하였다. Transfer Membrane은 anti-MMP-1/8 antibody (anti-MMP-1/8 antibody, SantaCruz Biotechnology, USA), anti-tyrosinase antibody (Anti-Tyrosinase antibody, abcam, UK), anti- β -actin antibody (anti- β -actin antibody, Sigma-Aldrich, USA)를 4°C에서 조건에서 overnight 한 후, 12 h 배양한 후, TBST solution (Trix-Buffered Saline 0.1% Tween, Sigma-Aldrich, USA)을 이용하여 3회 washing하였다. 이후, HRP-conjugated secondary antibody (HRP-conjugated secondary antibody, Cell Signaling Technology, USA)을 첨가하여 상온에서 1 h 동안 반응시켰으며, TBST solution으로 5회 washing 하였다. Enhanced chemiluminescence detection reagent (Amersham™ ECL, Amersham Bioscience, USA)를 사용하여 target protein의 발색을 유도하고, 이미지 분석 시스템 (Eastman Kodak 2000MM; Kodak, USA)을 이용하여 단백질 발현을 정량하였다.

e. 안전성 평가

실험샘플(PNHAW-1-4)의 안전성을 확인하기 위하여 피부주

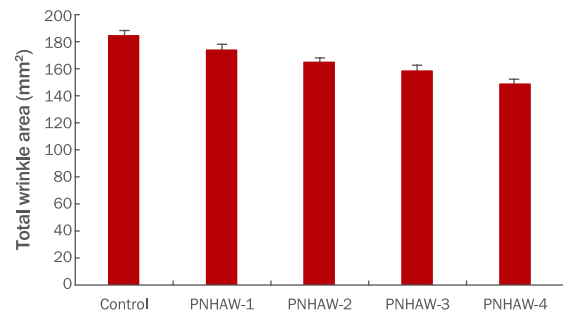


Figure 1. Skin wrinkle area evaluation.

Compared to the control group (184.2 mm²), the area of skin wrinkles in the experimental group treated with all the experimental samples was smaller than that of the control group. Results are expressed as mean±SD of data obtained from three independent experiments. PNHAW, mixed extracts of *Prunus persica* L., *BATSCH*, *Nelumbo nucifera*, *Hibiscus mutabilis* L., *Agastache rugosa*, and *Wolfiporia extensa*.

름 동물모델 실험 후, 각 실험군과 대조군을 에테르(ether, Duksan, Korea)로 마취하여 비장과 흉선을 적출한 다음 생리식염수로 씻어 수분을 여과지로 제거하였다. 이후 실험군과 대조군의 비장과 흉선의 무게를 측정된 절대무게와 체중에서 비장과 흉선의 무게를 측정된 상대 무게를 구하여 비교하였다.

Results and Discussion

1. 피부주름 넓이 평가

피부주름의 넓이를 비교한 결과, Figure 1과 같이 대조군 대비 (184.2 mm²) 모든 실험샘플을 처리한 실험군에서 피부주름의 넓이가 대조군에 비해 작은 것으로 확인되었다. 특히 피부주름의 넓이가 가장 작은 실험군은 PNHAW-4 샘플로 148.7 mm²로 확인되었다. 그 다음으로는 PNHAW-3가 158.4 mm², PNHAW-2 및 PNHAW-1가 각각 164.7 mm², 173.6 mm²로 분석되었다(Figure 1). 선행연구에 의하면 자외선은 피부조직 내에 물리적 생화학적 변화를 주며, 상피세포의 증식, 색소침착뿐만 아니라 활성산소 형성을 통한 DNA 및 단백질 손상에 영향을 주는 것으로 보고되고 있다(Gentile *et al.*, 2021). 하지만 본 연구결과 실험군의 피부주름 넓이가 대조군에 비해 작은 것으로 나타남에 따라 실험샘플이 자외선에 의한 정상 피부장벽 기능의 손상을 최소화 하고 피부두께 증가나 진피층 구조 손상을 최소화하여 피부주름 유발을 방지하는데 효과적임을 확인할 수 있었다.

2. 피부 수분량, 홍반량, 멜라닌 함량

a. 피부 수분량 평가

동물모델을 통하여 자외선 조사 후, 실험물질과 증류수 처리군에 대한

Skin Wrinkle Improvement Effect of PNHAW Extracts

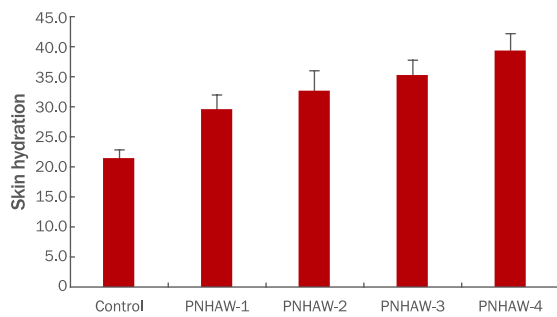


Figure 2. Evaluation of skin moisture content.

As a result of the skin moisture content evaluation, it was found that the moisture content was higher in all test substances compared to the control group (21.6 ± 1.3). Results are expressed as mean \pm SD of data obtained from three independent experiments. PNHAW, mixed extracts of *Prunus persica* L., *BATSCH*, *Nelumbo nucifera*, *Hibiscus mutabilis* L., *Agastache rugosa*, and *Wolfiporia extensa*.

피부 수분량을 비교하였다. 피부 수분량 평가결과, Figure 2와 같이 대조군 대비(21.6 ± 1.3) 모든 실험물질에서 수분량이 높은 것으로 확인되었다. 실험군의 경우를 보면, PNHAW-4 샘플의 수분량이 39.6 ± 2.4 로 확인되었다. 그 다음으로는 PNHAW-3 샘플이 35.5 ± 2.2 , PNHAW-2 및 PNHAW-1 샘플이 각각 32.9 ± 3.1 , 29.8 ± 2.2 로 분석되었다(Figure 2).

피부는 자외선으로 인한 피부 장벽 손상은 피부 수분량이 감소로 이어지게 되는데(Lee *et al.*, 2018), 본 연구결과, 실험샘플은 자외선에 의한 피부장벽 손상을 최소화하여 피부 수분량 감소를 완화하는데 기여하는 것으로 나타났다.

b. 홍반지수 평가

세포실험의 세포독성 및 사이토카인 평가로 실험물질의 농도를

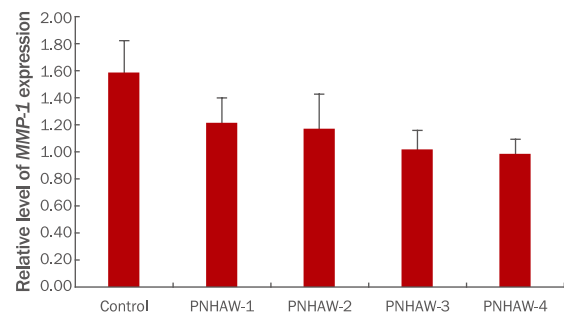


Figure 3. MMP-1 gene expression level measurement result.

Compared to the control group (1.58 ± 0.24), the expression level of *MMP-1* in all test substances was lower than that of the control group. Results are expressed as mean \pm SD of data obtained from three independent experiments. PNHAW, mixed extracts of *Prunus persica* L., *BATSCH*, *Nelumbo nucifera*, *Hibiscus mutabilis* L., *Agastache rugosa*, and *Wolfiporia extensa*; *MMP-1*, matrix metalloproteinase-1.

500 μ g/mL로 설정하고 대조군대비 실험물질의 홍반지수를 평가하여 세포손상억제를 확인하였다. 피부홍반지수를 28일간 평가결과, 증류수를 도포한 대조군의 홍반지수가 가장 높은 것으로 분석되었다(Table 2). 실험군은 모두 대조군보다 홍반지수(395.7 ± 27.5)가 낮았으며, 그중 PNHAW-4의 홍반지수가 224.5 ± 12.6 으로 가장 낮게 분석되었다. 그 다음으로 PNHAW-3, PNHAW-2, PNHAW-1의 홍반지수가 각각 239.4 ± 16.6 , 253.1 ± 17.6 , 269.4 ± 12.7 로 확인되었다. 피부는 자외선에 노출되면 홍반과 부종을 동반하여 피부를 손상시키는데(Khosrowpour *et al.*, 2019), 본 연구의 실험샘플은 이러한 자외선에 노출된 피부의 홍반과 부종을 최소화하는 효능이 확인되었다.

Table 2. Erythema index evaluation of experimental samples through animal models

Days	Control	PNHAW-1	PNHAW-2	PNHAW-3	PNHAW-4
7	290.1 \pm 20.1	274.5 \pm 17.1	260.2 \pm 18.1	249.5 \pm 17.3	224.8 \pm 15.6
14	328.6 \pm 22.8	290.1 \pm 20.1	273.9 \pm 15.0	255.9 \pm 17.8	244.7 \pm 17.0
21	349.9 \pm 24.3	275.9 \pm 19.2	285.5 \pm 19.8	267.7 \pm 18.6	243.6 \pm 16.9
28	395.7 \pm 27.5	269.4 \pm 12.7	253.1 \pm 17.6	239.4 \pm 16.6	224.5 \pm 12.6

PNHAW, mixed extracts of *Prunus persica* L., *BATSCH*, *Nelumbo nucifera*, *Hibiscus mutabilis* L., *Agastache rugosa*, and *Wolfiporia extensa*.

Table 3. Evaluation of melanin index of experimental samples through animal models

Days	Control	PNHAW-1	PNHAW-2	PNHAW-3	PNHAW-4
7	112.4 \pm 9.6	103.5 \pm 9.6	101.1 \pm 7.2	97.7 \pm 8.2	96.3 \pm 8.5
14	124.5 \pm 8.2	106.3 \pm 6.8	94.3 \pm 6.9	97.8 \pm 6.7	97.0 \pm 5.2
21	137.6 \pm 6.8	102.9 \pm 6.7	94.1 \pm 7.8	86.1 \pm 5.9	84.1 \pm 6.0
28	144.3 \pm 8.5	94.1 \pm 6.4	89.9 \pm 6.4	84.3 \pm 6.6	79.4 \pm 5.7

PNHAW, mixed extracts of *Prunus persica* L., *BATSCH*, *Nelumbo nucifera*, *Hibiscus mutabilis* L., *Agastache rugosa*, and *Wolfiporia extensa*.

Table 4. Safety evaluation of experimental samples through animal models

		Control	PNHAW-1	PNHAW-2	PNHAW-3	PNHAW-4
Spleen	Absolute weight (g)	0.12±0.03	0.11±0.03	0.12±0.02	0.12±0.03	0.12±0.03
	Relative weight (%)	0.42±0.10	0.40±0.11	0.42±0.11	0.43±0.10	0.42±0.10
Thymus	Absolute weight (g)	0.03±0.007	0.03±0.006	0.03±0.008	0.03±0.007	0.03±0.006
	Relative weight (%)	0.10±0.02	0.10±0.03	0.10±0.02	0.10±0.02	0.10±0.03

PNHAW, mixed extracts of *Prunus persica* L., BATSCH, *Nelumbo nucifera*, *Hibiscus mutabilis* L., *Agastache rugosa*, and *Wolfiporia extensa*.

c. 멜라닌지수 평가

멜라닌지수를 28일간 평가한 결과, Table 3과 같이 증류수를 포함한 대조군의 멜라닌지수가 가장 높은 것으로 분석되었다. 실험군은 모두 대조군 멜라닌지수(144.3±8.5) 보다 낮았으며, 그중 PNHAW-4의 멜라닌지수가 79.4±5.7로 가장 낮게 분석되었으며, PNHAW-3 (84.3±6.6), PNHAW-2 (89.9±6.4), PNHAW-1 (94.1±6.4)의 순으로 확인되었다(Table 3). 피부의 색소침착은 자외선에 과다 노출될 경우 피부를 보호하기 위하여 다량의 멜라닌 색소가 만들어짐에 따라 발생하게 되는데(Solano, 2020), 본 연구의 실험 샘플은 이러한 멜라닌 색소의 멍침 현상을 최소화하여 기미, 주근깨 잡티 등의 발생을 예방하는 효능이 확인되었다.

3. 피부조직의 MMP-1 유전자 발현량 측정

MMP-1의 발현량을 비교하는 것으로 피부주름 개선 효능 확인이 가능한데 MMP-1 발현량을 비교한 결과, 대조군 대비(1.58±0.24) 모든 실험물질에서 MMP-1 발현량이 대조군 대비 낮은 것으로 확인되었다(Figure 3). 그중 MMP-1 발현량이 가장 낮은 실험군은 PNHAW-4 (0.98±0.11)로 확인되었고 그 다음으로는 PNHAW-3 (1.01±0.15), PNHAW-2 (1.16±0.27), PNHAW-1 (1.21±0.19)의 순으로 분석되었다. MMP는 세포 외 기질을 분해하는 중요한 효소로, 그 중 MMP-1은 collagen을 분해하는 효소로 알려져 있다(Jang et al., 2010). 본 연구결과, 실험샘플은 자외선 노출에 따른 MMP-1 활성 증가를 최소화함으로써 피부 탄력 감소 및 주름생성을 최소화 하는 효능이 확인되었다.

4. 안전성 평가

실험 샘플의 독성 여부를 확인하기 위하여 실험이 끝난 후 마우스의 비장(spleen)과 흉선(thymus)의 무게를 측정하여 비교하였다. 무게는 장기의 무게를 그대로 측정한 절대무게와 체중의 무게비로 장기의 무게를 측정된 상대무게로 측정하였다. 장기의 무게를 측정된 결과, Table 4와 같이 대조군과 실험군(PNHAW-1-4)의 비장과 흉선의 절대무게와 상대무게 차이는 없는 것으로 확인되었으며, 따라서 실험군 샘플은 독성이 없는 것으로 판단된다.

Conclusion

본 연구에서는 동물모델을 통해 피부 주름개선 효과가 있는 천연 혼합물을 제조하였으며, 천연혼합물중에서도 초음파유산균과압도화 혼합추출물(PNHAW-4)이 가장 우수한 효능을 나타냄을 확인하였다. 피부주름 넓이를 평가한 결과 모든 실험군의 피부주름이 대조군에 비해 19.3% 적게 나타나고 있었으며, 피부 수분량과 홍반량, 그리고 멜라닌 함량 역시 대조군에 비해 월등하게 우수한 효능을 보여주었다. 특히 PNHAW-4 (224.5)의 홍반량은 대조군(395.7)에 비해 43.2% 억제되는 우수한 효능을 보여주었고 멜라닌도 대조군이 28.4% 증가한 반면에 PNHAW-4는 17.5% 감소하는 것으로 나타났다. 또한 PNHAW-4는 collagen을 분해하는 효소인 MMP-1의 활성 증가를 대조군 대비 38% 억제시키는 것으로 나타나 실험 샘플의 피부주름 개선 효능이 확인되었다.

본 연구결과는 도화(*Prunus persica* (L.) BATSCH), 연꽃(*Nelumbo nucifera*), 부용화(*Hibiscus mutabilis* L.), 괄향(*Agastache rugosa*), 복령(*Wolfiporia extensa*)의 추출물이 우수한 콜라겐 생성 촉진 효능을 가지며, 피부자극이 발견되지 않는 안전한 천연 주름개선 화장품 소재로 적용 가능하다는 것을 시사한다.

Author's contribution

MJC designed all experimental investigations, oversaw the project, and contributed to all aspects of analysis and experimental design.

Author details

Mi Jeong Choi (CEO), Biomedical Biotechnology Research Institute Co., Ltd., 847, Dongguk University cluster center, 32, Dongguk-ro, Ilsandong-gu, Goyang-si, Gyeonggi-do 10326, Korea.

References

- Aguirre-Cruz G, León-López A, Cruz-Gómez V, Jiménez-Alvarado R, Aguirre-Álvarez G. Collagen hydrolysates for skin protection: oral administration and topical formulation. *Antioxidants*, 9: 181, 2020.
- Gilchrest BA. Skin aging and photoaging. *Journal of the American Academy of Dermatology*, 2: 79-82, 1990.
- Chowjarean V, Phiboonchaiyanan PP, Harikarnpakdee S, Tengamnuay P. Natural skin anti-ageing serum containing pseudobulb ethanolic extract of *Grammatophyllum speciosum*: a randomized double-blind, placebo-controlled trial. *International Journal of Cosmetic science*, 41: 548-557, 2019.
- Draelos Z, Pugliese PT. Physiology of the skin (third edition). Allured Publishing Corporation, IL, USA, pp121-185, 2011.
- El-Domyati M, Attia S, Saleh F, Brown D, Birk DE, Gasparro F, Ahmad H, Uitto J. Intrinsic aging vs. photoaging: a comparative histopathological, immunohistochemical, and ultrastructural study of skin. *Experimental Dermatology*, 11: 398-405, 2002.
- Emy S, Iswari IS, Winarti NW. *Terminalia ferdinandiana* inhibited the increased of matrix metalloproteinase-1 and prevent collagen decreased in mice skin exposed to UV-B. *Neurologico Spinale Medico Chirurgico*, 4: 11-14, 2021.
- Fisher GJ, Wang ZQ, Datta SC, Varani J, Kang S, Voorhees, JJ. Pathophysiology of premature skin aging induced by ultraviolet light. *The New England Journal of Medicine*, 337: 1419-1428, 1997.
- Garg C, Khurana P, Garg M. Molecular mechanisms of skin photoaging and plant inhibitors. *International Journal of Green Pharmacy*, 11: 217-232, 2017.
- Gentile P, Garcovich S. Adipose-derived mesenchymal stem cells (AD-MSCs) against ultraviolet (UV) radiation effects and the skin photoaging. *Biomedicines*, 9: 532, 2021.
- Fantone JC, Ward P. Role of oxygen-derived free radicals and metabolites in leukocyte-dependent inflammatory reactions. *The American Journal of Pathology*, 107: 395-418, 1982.
- Ha TY. Development of functional food materials for healthy life. *Proceedings of the Korean Society of Crop Science Conference*, 2006: 26-39, 2006.
- Jang JH, Lee C, Kim SC, Chung JW, Park CI. Protective effect of marine natural products against UVB-induced damages in human skin fibroblast via antioxidant mechanism. *Journal of the Society of Cosmetic Scientists Korea*, 36: 79-87, 2010.
- Jeong SH. A review of current research on natural skin whitening products. *Asian Journal of Beauty and Cosmetology*, 16: 599-607, 2018.
- Jesumani V, Du H, Pei P, Zheng C, Cheong KL, Huang N. Unravelling property of polysaccharides from *Sargassum* sp. as an anti-wrinkle and skin whitening property. *International Journal of Biological Macromolecules*, 140: 216-224, 2019.
- Jhavar N, Wang JV, Saedi N. Oral collagen supplementation for skin aging: a fad or the future? *Journal of Cosmetic Dermatology*, 19: 910-912, 2020.
- Jin YZ, An SY, Hong ES, Lee GH, Kim EK, Row KH. Extraction of whitening agents from natural plants and whitening effect. *Applied Chemistry for Engineering*, 16: 348-353, 2004.
- Khosrowpour Z, Ahmad Nasrollahi S, Ayatollahi A, Samadi A, Firooz A. Effects of four soaps on skin trans-epidermal water loss and erythema index. *Journal of Cosmetic Dermatology*, 18: 857-861, 2019.
- Kim NY, Park DS, Lee HY. Effect of anti-skin wrinkle and antioxidant of *Agastache rugosa* Kentz through fermentation process of the lactic acid. *Korean Journal Medicinal Crop Science*, 23: 37-42, 2015.
- Kim EH. A study of whitening cosmetics from natural products. *Asian Journal of Beauty and Cosmetology*, 4: 195-203, 2006.
- Kim KH, Ko KI, Kang EJ, Yang KE, Park SN. A research trend of natural product on well-being industry. *Journal of the Society of Cosmetic Scientists of Korea*, 30: 329-343, 2004.
- Kim DU, Chung HC, Choi J, Sakai Y, Lee BY. Oral intake of low-molecular-weight collagen peptide improves hydration, elasticity, and wrinkling in human skin: a randomized, double-blind, placebo-controlled study. *Nutrients*, 10: 826, 2018.
- Koo HJ, Lee S, Kang SC, Kwon JE, Lee DE, Choung ES, Sohn EH. The suppressive effect of *Pueraria lobata* root extract and its biotransformed preparation against skin wrinkle formation. *Korean Journal of Plant Resources*, 30: 272-279, 2017.

- Kwatra B. Collagen supplementation: therapy for skin disorders: a review. *World Journal of Pharmaceutical Research*, 9: 2504-2518, 2020.
- Lee JY, An BJ. Whitening and anti-wrinkle effects of *Prunuspersica* Flos. *Microbiology and Biotechnology Letters*, 40: 364-370, 20
- Lee TB, So YK, Kim SY, Hwang JY. Biological activities of cosmetic material from ten kinds of flower ethanol extracts. *Korean Journal of Medicinal Crop Science*, 28: 260-275, 2020.
- Lee SR, Kim YS, Lee SR, Kim YS. Effect of ectoin a natural ingredient on skin hydration and skin moisture content. *Asian Journal of Beauty and Cosmetology*, 16: 437-447, 2018.
- Ma W, Wlaschek M, Brenneisen P, Schneider LA, Hommel C, Hellweg C, Sauer H, Wartenberg M, Herrmann G, Meewes C, Boukamp P, Scharffetter-Kochanek K. Human dermal fibroblasts escape from the long-term phenocopy of senescence induced by psoralen photoactivation. *Experimental Cell Research*, 274: 299-309, 2002.
- Panzella L, Napolitano A. Natural and bioinspired phenolic compounds as tyrosinase inhibitors for the treatment of skin hyperpigmentation: recent advances. *Cosmetics*, 6: 57, 2019.
- Park S. Protective effect of Isoflavone, genistein from soybean on singlet oxygen induced photohemolysis of human erythrocytes. *Korean Journal of Food Science and Technology*, 35: 510-518, 2003.
- Sharmeen JB, Mahomoodally FM, Zengin G, Maggi F. Essential oils as natural sources of fragrance compounds for cosmetics and cosmeceuticals. *Molecules*, 26: 666, 2021.
- Smriga M, Saito H, Nishiyama N. Hoelen (*Poria Cocos* Wolf) and ginseng (*Panax ginseng* C. A. Meyer), the ingredients of a Chinese prescription DX-9386, individually promote hippocampal long-term potentiation *in vivo*. *Biol Pharm Bull*, 18: 518-522, 1995.
- Solano F. Photoprotection and skin pigmentation: melanin-related molecules and some other new agents obtained from natural sources. *Molecules*, 25: 1537, 2020.
- Yasmeen S, Gupta P. Interaction of selected terpenoids from *Dalbergia sissoo* with catalytic domain of matrix metalloproteinase-1: an *in silico* assessment of their anti-wrinkling potential. *Bioinformatics and Biology Insights*, 13: 1177932219896538, 2019.

국문초록

도화(桃花), 연꽃, 부용화(芙蓉花), 괄향 및 복령 혼합추출물의 피부주름 개선 효능

최미정

바이오의생명공학연구소, 경기도 고양시, 한국

목적: 본 연구에서는 피부주름 개선에 효과를 나타내는 도화(*Prunus persica* (L.) BATSCH), 연꽃(*Nelumbo nucifera*), 부용화(*Hibiscus mutabilis* L.), 괄향(*Agastache rugosa*), 복령(*Wolfiporia extensa*) 혼합추출물의 주름개선 효능을 마우스 동물 모델을 통해 평가하는데 그 목적이 있다. **방법:** 본 연구에서는 동물모델 평가를 통한 주름개선 효능을 평가하기 위해 피부주름 깊이 평가, 피부 수분량, 홍반량, 멜라닌 함량 측정, 피부조직의 matrix metalloproteinase-1 (MMP-1) 유전자 발현량 측정, 안전성 평가를 실시하였다. **결과:** 연구결과, 초음파유산균고압도화혼합추출물(PNHAW-4)이 가장 우수한 효능을 나타냄을 확인하였다. 실험군의 피부주름이 대조군에 비해 19.3% 적게 나타났으며, 피부 수분량과 홍반량, 그리고 멜라닌 함량 역시 대조군에 비해 월등하게 우수한 효능을 보여주었다. 특히 PNHAW-4 (224.5)의 홍반량은 대조군(395.7)에 비해 43.2% 억제되는 우수한 효능을 보여주었고 멜라닌은 대조군 대비 45.9% 적게 생성되었다. 또한 PNHAW-4는 MMP-1의 활성 증가를 대조군 대비 38% 억제시키는 것으로 나타나 혼합추출물의 피부주름 개선 효능이 확인되었다. **결론:** 본 연구결과는 도화(*Prunus persica* (L.) BATSCH), 연꽃(*Nelumbo nucifera*), 부용화(*Hibiscus mutabilis* L.), 괄향(*Agastache rugosa*), 복령(*Wolfiporia extensa*) 혼합추출물이 우수한 콜라겐 생성 촉진 효능을 가지며, 피부자극이 발견되지 않는 안전한 천연 주름개선 화장품 소재로 적용 가능하다는 것을 시사한다.

핵심어: 피부주름 개선, 도화, 연꽃, 부용화, 괄향

참고문헌

- 김기호, 고강일, 강은정, 양은경, 박수남. 웰빙산업에서의 천연물 연구 동향. *대한화장품학회지*, 30: 329-343, 2004.
- 김남영, 박대수, 이현용. 유산균 발효 배초향 추출물의 항산화 활성과 주름개선 효능. *한국약용작물학회지*, 23: 37-42, 2015.
- 김은철, 안소영, 홍은숙, 이광화, 김은기, 노경호. 천연물에 포함된 미백성분의 추출 및 미백효과. *한국공업화학학회지*, 16: 348-353, 2004.
- 김은화. 천연 추출물을 이용한 미백화장품 개발 동향에 관한 연구. *아시아뷰티화장품학술지*, 4: 195-203, 2006.
- 박수남. 'O₂'로 유도된 사람 적혈구의 광용혈에 있어서 대두의 아이소플라본인 제니스테인의 보호작용. *한국식품과학회지*, 35: 510-518, 2003.
- 이새름, 김영삼. 천연성분 Ectoin이 피부 보습 및 수분에 미치는 영향. *아시아뷰티화장품학술지*, 16: 437-447, 2018.
- 이진영, 안봉전. 도화(*Prunus Persia* Flos) 분획물의 미백 및 주름개선 효과. *한국미생물생명공학회지*, 40: 364-370, 2010.
- 이태범, 소양강, 김세울, 황지영. 화장품 소재로서의 꽃 10종 에탄올추출물 생리활성 특성연구. *한국약용작물학회지*, 28: 260-275, 2020.
- 장정희, 이찬, 김상찬, 정지욱, 박찬익. 자외선으로 유도된 섬유아세포 손상에 대한 해양소재 추출물의 항산화 보호효과. *대한화장품학회지*, 36: 79-87, 2010.
- 정선희. 천연미백원료의 최신 동향. *아시아뷰티화장품학술지*, 16: 599-607, 2018.
- 하태열. 건강수명 연장을 위한 기능성 식품소재의 개발. *한국작물학회: 학술대회논문집*, 2006: 26-39, 2006.

中文摘要

桃花、荷花、芙蓉花、藿香、茯苓混合提取物的皮肤皱纹改善效果

崔婊淨

生物医学生命工学研究所, 京畿道高阳市, 韩国

目的: 本通过小鼠动物模型评估桃花(*Prunus persica* L.)、荷花(*Nelumbo nucifera*)、芙蓉花(*Hibiscus mutabilis* L.)、藿香(*Agastache rugosa*)、茯苓(*Wolfiporia extensa*)等混合提取物(PNHAW)对皮肤皱纹改善功效。**方法:** 通过皮肤皱纹宽度评价、皮肤水分含量、红斑量、黑色素含量测定、皮肤组织中基质金属蛋白酶-1 (*MMP-1*)基因表达水平、安全性评价来评价混合提取物(PNHAW)的皱纹改善美容功能。**结果:** 研究结果证实, 超声波乳酸菌高压混合提取物(PNHAW-4)显示出最佳功效。皮肤皱纹宽度评价结果显示, 实验组比对照组减少19.3%, 皮肤含水量、红斑量、黑色素含量均优于对照组。特别是PNHAW-4的红斑量(224.5)与对照组(395.7)相比减少了43.2%, 黑色素比对照组减少了45.9%。此外, 与对照组相比, PNHAW-4抑制*MMP-1*活性增加38%, 证实了混合提取物的皮肤皱纹改善效果。**结论:** 结果表明, 由实验样品制备的面膜具有优异的胶原蛋白生成促进作用, 可作为一种安全的、不会引起皮肤刺激的天然改善皱纹的化妆品原料。

关键词: 改善皮肤皱纹, 桃花, 荷花, 芙蓉花, 藿香

