

생강나무 추출물의 광노화에 의한 주름형성 억제 효과

박 금 주[†] · 박 승 희 · 김 재 기

정산생명공학연구소

(2009년 11월 22일 접수, 2009년 12월 18일 수정, 2009년 12월 22일 채택)

Anti-wrinkle Activity of *Lindera obtusiloba* Extract

Keum Ju Park[†], Seung Hee Park, and Jae Ki Kim

R&D Center, Jung San Biotechnology Co., Ltd., 61, Dukjeul-ri, Jeongnam-myun, Hwasoung-city,
Kyunggi-do 445-964, Korea

(Received November 22, 2009; Revised December 18, 2009; Accepted December 22, 2009)

요약: 지속적인 자외선 노출은 사람의 피부에 주름 형성을 유발한다. 본 연구에서 생강나무 추출물이 광노화에 의한 피부 주름 형성의 개선에 미치는 효능을 검증해 보고자 하였다. 우선 사람 섬유아세포를 이용하여 생강나무 추출물의 세포증식과 타입 I 콜라겐의 생합성 활성을 측정하였다. 그 결과 생강나무 추출물에 의한 세포증식과 타입 I 콜라겐의 생합성능은 대조군과 비교하여 각각 33.8 %와 91.8 % 증식함을 보였다. 동물실험에서는 SKH-1 무모쥐에 일주일에 3번 UV를 조사하면서 5 % 생강나무 추출액을 국부적으로 도포하였다. 10주 후에는 각각의 무모쥐의 피부 모사판을 제작하여 관찰하였다. 광노화에 의한 주름형성에 미치는 영향을 알아보고자 UVB를 무모쥐의 피부조직에 조사한 후 생강나무 추출액을 도포하여 피부 상태를 관찰하였다. 모사판을 접사카메라를 이용하여 관찰한 결과 5 % 생강나무 추출액의 도포는 생강나무가 포함되지 않은 도포액을 도포한 대조군에 비해 UV에 의해 생성되는 주름 형성 억제에 영향을 주는 것으로 나타났다. 이러한 결과로 생강나무 추출액의 도포는 광노화에 의한 피부주름 생성을 억제하고 피부를 보호하는 효과가 있을 것으로 판단된다.

Abstract: Chronic exposure of solar ultraviolet (UV) light to human skin results in photoaging with wrinkle formation. This study was performed to investigate anti-wrinkle effects of *Lindera obtusiloba* extract (LO) on UVB-induced wrinkle formation. We first measured cell proliferation and type I pN collagen synthesis activities in normal human dermal fibroblasts. Cell proliferation and type I pN collagen synthesis were increased by 33.8 % and 91.8 %, respectively, compared with no treatment control. SKH-1 hairless mice were topically applied 5 % LO solution for 10 weeks with UVB irradiation three times a week. After 10 weeks, a visual assessment and replica assay were performed on each mouse. According to visual assessment of close-up photos and skin replica, application of 5 % LO solution inhibited UV-induced wrinkle formation in mouse skin as compared to the vehicle-applied control mice. These results indicated that LO could protect skin wrinkle formation caused by chronic photo-irradiation in hairless mice.

Keywords: *Lindera obtusiloba* extract, anti-wrinkle, ultra violet, free radical

1. 서 론

최근 의료기술의 발달로 평균수명이 연장되고 삶의 질 향상과 건강하고 아름다운 삶에 대한 욕구가 증가함에

따라 피부 미용 건강에 대한 관심이 확대되고 있다. 이에 건강한 피부를 유지하고자 하는 목적에 따라 많은 미용 기능성 화장품이 개발되었으며, 특히 피부 주름형성 예방 및 완화와 개선을 위한 연구가 활발히 진행되고 있다 [1,2].

피부노화는 유전적인 요소, 자외선, 이물질과 역학적

[†] 주 저자 (e-mail: kjiungsan@jungsanbio.co.kr)

스트레스 등의 환경적인 노출, 호르몬변화, 물질대사 과정 등의 여러 가지 복합적인 요인에 의하여 영향을 받는다. 피부노화는 지속적인 자외선(ultraviolet radiation, UV) 노출에 의해 일어나는 광노화와 생리학적 노화에 의한 내인성 노화로 구분되며, 특히 자외선 노출에 의한 광노화가 주된 원인이 되고 있다[3]. 피부노화는 피부 탄력저하와 주름을 유발하는데, 이는 피부 진피 조직의 교원질 중 대부분을 차지하는 단백질인 콜라겐의 감소에 의해서라고 할 수 있다. 또한 콜라겐은 피부의 장력과 강도를 부여하기 때문에 콜라겐의 감소는 피부노화 및 주름생성과 매우 깊은 관계를 가지고 있다[4-7].

피부에 직접적으로 영향을 주는 자외선은 피부의 표피와 진피층에 깊숙하게 투과하며 몇 가지 효소반응을 포함하는 다양한 과정을 거쳐서 세포 및 조직에서 활성산소를 생성시키는데, 이렇게 내적, 외적 요인으로 인하여 생체 내에 과잉의 활성산소가 생성되면 돌연변이, 염증, 세포사상, 발암과 피부노화 등이 나타나게 된다[8-11]. 그래서 자외선으로부터 피부를 보호하기 위하여 UV차단제나 주름개선 기능성 화장품, 의약품 등이 널리 사용되고 있다. 이러한 피부보호제는 자외선이나 스트레스 등에 의해 발생하는 활성산소(oxygen free radical)의 세포 내 작용을 억제하고 콜라겐 분해효소(collagenase)의 피부 교원질 분해를 억제하는 작용을 이용한 제품들이다[12,13]. 피부노화에 있어서 활성산소는 세포막을 공격하여 이를 산화시키고 산화된 지질에 의해 세포막이 손상되면서 정상적인 피부세포의 기능을 잃게 된다. 또한 피부의 효소적, 비효소적 항산화 방어체계의 균형을 깨뜨리게 되어 피부가 지속적인 산화상태에서 회복되지 못하게 되면서 피부는 거칠고 윤기가 없어지게 되며 이러한 과정의 반복은 주름유발을 야기시키게 된다[14,15]. 또한 콜라겐 분해 효소의 증가는 콜라겐 섬유의 변성 및 파괴를 유발하는 중요한 원인 중의 하나로 생체 내에서 생성된 활성산소는 matrix metalloproteinase (MMPs)와 같은 콜라겐 분해 효소(collagenase)의 활성을 촉진시키고 콜라겐의 합성을 억제시킴으로써 피부의 탄력을 감소시키고 주름의 생성을 촉진시킨다. 그러므로 피부노화와 주름의 개선에 있어 reactive oxygen species (ROS)와 같은 활성산소를 제거하는 항산화 물질이나 콜라게네이즈의 작용을 억제하고 콜라겐의 합성을 촉진시키는 소재의 발굴이 중요하다고 할 수 있다.

생강나무(*Lindera obtusiloba* Blume)는 한반도와 일본, 중국 등의 숲속 그늘이나 산골짜기에서 자라는 녹나무과(Lauraceae)의 식물로 가지를 꺾으면 생강 냄새가

난다고 하여 생강나무라고 한다. 줄기껍질을 삼찬풍(三鑽風)이라고 하며, 활혈, 산어(散瘀), 소종(消腫), 서근(舒筋)의 효능이 있고, 타박상, 어혈종통을 치료한다. 줄기껍질, 잎, 가지에는 capric acid, lauric acid, myristic acid, linderic acid, oleic acid, linoleic acid 등이 함유되어 있다[16,17].

본 연구에서 생강나무 추출물의 항산화, 콜라겐 합성 및 콜라게네이즈 억제 활성을 확인하였으며 자외선으로 주름을 유발시킨 무모쥐에 도포하여 광노화에 의한 주름 형성 억제 효능이 있음을 확인하였다.

2. 재료 및 방법

2.1. 실험재료

실험에 사용된 생강나무는 경동시장(서울)에서 국내산을 구입하였다. 생강나무 200 g에 물 2 L를 넣어 100 °C에서 약탕기(COSMOS-660, Kyungseo, Korea)로 3 h 동안 추출하였다. 추출액을 여과한 다음 여액을 감압농축한 후 동결건조하여 21.2 g을 얻었으며 이를 실험에 사용하였다.

2.2. DPPH법을 이용한 Free Radical 소거 활성

자유라디칼 소거활성 시험은 안정한 자유라디칼 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl radical (DPPH, Sigma, USA)을 사용하는 방법으로[18], 에탄올에 용해시킨 0.4 M DPPH 용액 0.1 mL에 70 % 에탄올에 희석시킨 시료 0.4 mL를 혼합하고 37 °C에서 30 min 동안 반응시킨 후 UV spectrophotometer (8452A, Hewlett packard, USA)로 520 nm에서 흡광도를 측정하였다. 대조군은 시료액 대신 70 % 에탄올을 넣었으며, DPPH 용액 대신 에탄올을 넣어 보정값을 얻었다. 자유라디칼 소거율은 하기의 식에 따라 계산하였다.

항산화력(%) =

$$100 - (\text{시료의 흡광도} / \text{대조군의 흡광도}) \times 100$$

2.3. 콜라게네이즈 효소 억제 활성

콜라겐 효소의 기질인 Azo dye-impregnated collagen (Azocoll, Sigma, USA) 1 mg에 완충용액인 0.1 M Tris-HCl (pH 7.0)을 900 mL 첨가하여 균질화 한 후 200 units/ml의 농도로 제조한 콜라게나아제 type I 효소(Sigma, USA) 액 100 μ L를 첨가하여 총 반응액이 1 mL가 되도록 하였다. 43 °C에서 1 h 동안 반응시킨 후 반응

이 완료되면 3000 rpm에서 10 min 동안 원심분리시켜 분해되지 않은 콜라겐은 침전시킨다. 분해된 콜라겐을 함유하는 상등액을 취하여 550 nm에서 흡광도를 측정하였으며 대조군으로서 효소액 대신 반응완충액을 효소와 동량 첨가하여 흡광도를 측정하였다. 시료자체의 값도 측정하여 효소 활성 계산시 보정하였다.

2.4. MTT 측정

CCD-986sk 사람의 섬유아세포를 한국세포주은행으로부터 분양받아 배양하고 1×10^4 cells/well씩 96 well plate에 분주한 후 생강나무 추출물을 200 μ g/mL 처리하여 CO₂ 배양기에서 48 h 동안 배양하였다. 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide (MTT, Sigma, USA)를 5 mg/mL의 농도로 PBS에 녹여 제조한 후 20 μ L를 첨가하였다. 4 h 후 상등액은 제거하고 dimethyl sulfoxide (DMSO, Sigma, USA)를 100 μ L 첨가한 후 595 nm에서 microplate reader (Model-550, Bio-rad, USA)로 흡광도를 측정하였다.

2.5. 콜라겐 생합성 측정

콜라겐 생합성능을 알아보기 위하여 사람 섬유아세포를 96 well-plate에 1×10^4 cells/well 씩 분주하여 10 % FBS/DMEM 배지로 24 h 동안 배양시킨 다음, 새로운 serum-free 배지와 희석하여 생강나무 추출물을 200 μ g/mL의 농도로 첨가하여, 다시 48 h 동안 CO₂ 배양기에서 배양하였다. 배양액을 가지고 procollagen Type I C-peptide EIA kit (Takara bio, Japan)를 이용하여 콜라겐 양을 측정하였다. 콜라겐 측정키트에 포함된 표준용액을 희석한 후 450 nm에서 흡광도를 측정하여 표준농도 곡선을 작성하고 콜라겐 생성량을 산정하였다.

2.6. 실험동물

6주령의 암컷 무모쥐(female SKH hairless mice)를 대한바이오파마(한국)로부터 구입하여 2주 동안 적응시킨 후 사용하였다. 실험동물은 습도 50 %, 온도 22 ± 1 °C로 유지되는 동물실험실에서 사육하였으며 물과 식이를 자유롭게 섭취할 수 있도록 공급하였다. 사료는 샘타코(한국)에서 판매하는 NIH #31 M를 공급하였다. 또한 본 실험은 IACUC 위원회의 동물실험허가 승인(승인번호: JS-2009-05)을 받고 진행하였다.

2.7. 도포액의 제조

도포액의 구성은 에탄올, 프로필렌글리콜과 증류수를

각각 30 : 50 : 20의 비율로 혼합하여 조제하였다. 대조군은 기본 도포액을, 실험군은 도포액에 생강나무 추출물 5 %를 녹여 조제한 후 60 μ L씩 10주 동안 매일 1회씩 무모쥐의 등 부위에 도포하였다.

2.8. UVB 조사

Ultraviolet B (UVB)는 주 3회 무모쥐의 등 부분에 조사하였으며 자외선 조사량은 처음 1주간은 30 mJ/cm², 2주는 60 mJ/cm², 3주는 90 mJ/cm², 4주는 120 mJ/cm², 5주부터 10주까지는 150 mJ/cm² 로 10주 동안 조사 하였다.

2.9. 피부주름측정

10주 동안 자외선 조사를 실시한 무모쥐의 피부를 실리콘 고무로 모사판을 제작하여 주름의 형성정도를 측정하였다. 무모쥐의 등 부분에 지름이 1 cm가 되는 원모양의 구멍이 있는 디스크를 부착하고 모사판 제작용 시약을 혼합하여 무모쥐의 등부분에 얇게 펴 바르고 완전히 말린 다음 디스크를 조심스럽게 떼어내어 모사판을 제작하였다. 모사판 제작의 온도는 20 ~ 23 °C, 습도 45 ~ 50 %의 항온 항습 상태에서 실시하였으며 모사판 제작용 실리콘 고무 인상재(Heraeus kulzer, Germany)를 사용하였다. 디스크는 습도 50 %, 온도 18 ~ 20 °C에서 보관하였다.

2.10. 조직 콜라겐 염색

무모쥐의 등 피부 조직을 적출하고 10 % formalin 용액에 하루 동안 고정된 후 0.1 M phosphate buffer에 녹인 30 % sucrose에 담궈 하루 동안 당침시켰다. 조직이 가라앉으면 냉동절편기를 이용하여 10 μ M 두께로 자른 다음 Trichrome Stain Kit (Sigma, USA)로 염색하였다.

2.11. 통계처리

모든 실험 결과는 평균 \pm 오차(mean \pm SE)로 나타내었다. 통계처리는 Student's t-test로 검정하였고 당뇨 대조군과 비교하여 P < 0.05 이하의 경우 유의적인 차이가 있다고 판정하였다.

3. 결과 및 고찰

3.1. 항산화 및 콜라게네이즈 효소 억제 효능

본 실험에서는 생강나무 추출물의 항산화 효과를 알아보기 위해 DPPH를 이용하여 항산화 효과를 측정하였다.

Table 1. DPPH Radical Scavenging Activity and Collagenase Inhibition Concentration (IC₅₀) of *Lindera obtusiloba* Extract

SAMPLE	DPPH ¹⁾ Radical scavenging concentration	Collagenase inhibition concentration
<i>Lindera obtusiloba</i> Blume	0.030	0.56
Ascorbic acid	0.003	2.17

1) DPPH: 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl radical.

2) IC₅₀: Inhibitory concentration for 50 % reduction of DPPH and collagenase.

생강나무 추출물과 대표적인 항산화제 물질인 ascorbic acid (이하 AA로 표기)의 free radical 소거 활성을 측정 한 결과는 Table 1과 같다. 두 가지 물질 모두 라디칼 소거 활성능을 보였으며 AA는 3 µg/mL, 생강나무 추출물은 30 µg/mL의 농도에서 50 %의 radical 소거 활성능을 보이는 것을 확인하였다. 또한 생강나무 추출물의 collagenase 효소 활성 억제능을 측정한 결과는 Table 1과 같다. 생강나무 추출물과 AA 모두 collagenase 효소 활성 억제능을 보였으며 생강나무는 IC₅₀ 농도 값이 0.56 mg/mL로 AA의 IC₅₀ 농도값인 2.17 mg/mL 보다 더 뛰어난 collagenase 효소 활성 억제능을 보였다. 그러므로 위와 같은 결과는 생강나무 추출물이 피부주름에 영향을 미치는 2가지 요인인 활성산소 및 콜라게네이즈의 활성을 억제하는 효과가 있음을 증명하였다.

3.2. 세포증식을 및 콜라겐 생합성 촉진 효능

섬유아세포에서 생강나무 추출물의 처리가 세포증식에 미치는 영향을 확인하기 위하여 MTT assay를 이용한 세포생존율을 측정하였다. Figure 1에서 생강나무 추출물 처리군은 세포생존율이 133.8 %로 비처리 대조군 (100 %)에 비해 세포 증식이 유의적으로 증가된 것으로 나타났으며, 증가한 섬유아세포는 Figure 2에서와 같이 콜라겐 생성 증가에도 영향을 미치는 것을 알 수 있다. 피부를 구성하는 주단백질인 콜라겐은 피부진피에 존재하는 섬유아세포에서 합성된다. 세포외 기질로 분비된 procollagen은 세포표면에 존재하는 procollagen peptidase에 의해 C-peptide가 분해되고 활성 collagen으로 형성된다[19]. 이러한 원리를 이용하여 콜라겐 생성량의 변화를 확인하기 위해 사람 섬유아세포에 약물을 처리하여 C-peptide의 함량을 ELISA kit를 이용하여 측정하였다. Figure 2에서와 같이 대조군의 콜라겐 생성량을 100 %로 볼 때 AA 처리군은 대조군에 비해 144.5 %의 콜라겐 생성 증가율을 보였으며 생강나무 추출물 처리군은

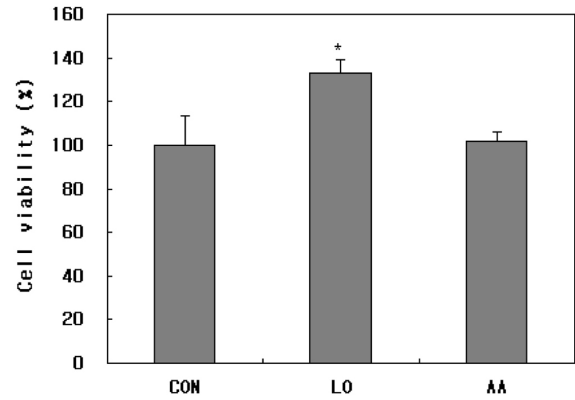


Figure 1. Cell viability of *Lindera obtusiloba* extract against human fibroblast cells. CON, non-treated cells; LO, *Lindera obtusiloba* extract 200 µg/mL; AA, ascorbic acid 20 µg/mL treated cells. Data are expressed as the mean value (± standard deviation) of three experiments.

대조군에 비해 191.8 %의 증가율로 유의적인 콜라겐 생성을 나타내어 AA처리군 보다 콜라겐 생성 촉진 효과가 더 큰 것으로 나타났다. 생강나무 추출물의 콜라겐 합성 촉진 작용은 Table 1의 항산화 효과 및 콜라게네이즈 억제 효과와 관련해 볼 때 AA에 비해 생강나무 추출물의 항산화 활성은 낮으나 콜라겐 분해효소의 억제 효과가 높은 것으로 나타나 free radical 생성억제 효과보다는 콜라게네이즈(MMPs)의 발현을 억제하는 작용이 콜라겐 생성 촉진 효과에 간접적인 영향을 주었을 것으로 사료된다.

3.3. 자외선 조사 무모쥐에서 주름생성 억제 효능

생강나무 추출물의 도포가 피부주름의 형성정도에 미치는 영향을 알아보기 위하여 무모쥐에 10주 동안 UVB를 조사한 뒤 UV 대조군과 생강나무 추출물 도포군의 주름 생성 억제 효능을 비교하였다. 그 결과 Figure 3과 같이 UV 대조군은 정상군에 비해 굵고 깊게 패인 주름과 함께 잔주름이 형성된 것을 관찰할 수 있었으며, 같은 세기의 UV가 조사 되었음에도 불구하고 생강나무 추출물 도포군은 UV 대조군에 비해 주름의 굵기와 깊이가 개선된 것을 확인하였다.

3.4. 무모쥐 피부 조직의 콜라겐 함량 증가 효능

주기적인 UVB의 조사는 피부수분 보유능을 감소시키고 조직 파괴를 유발하여 각질층의 두께는 증가시키고 피부 탄력 섬유인 콜라겐 섬유가 포함된 진피층은 감소시킴으로써 주름형성을 유발한다[20,21]. 이러한 UV에

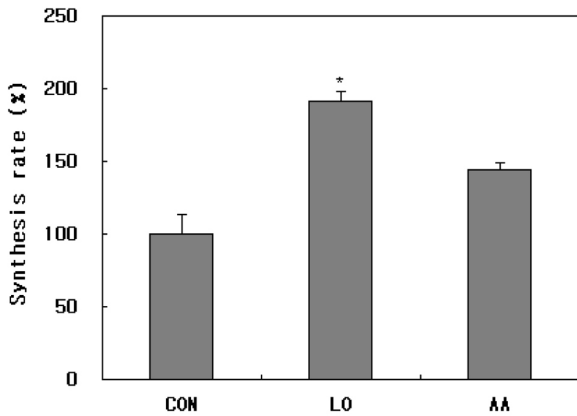


Figure 2. Type I collagen synthesis assay of *Lindera obtusiloba* extract against human fibroblast cells using the EIA kit. CON, non-treated cells; LO, *Lindera obtusiloba* extract 200 $\mu\text{g}/\text{mL}$; AA, ascorbic acid 20 $\mu\text{g}/\text{mL}$ treated cells. Data are expressed as the mean values (\pm standard deviation) of three experiments.

의한 주름 형성의 결과가 직접적으로 콜라겐 섬유의 함량에도 영향을 미치는지 관찰하기 위하여 무모쥐의 등조직을 적출하여 진피층의 콜라겐 섬유 부위를 masson's trichrome staining 방법으로 염색하여 관찰하였다. Figure 4에서 나타난 바와 같이 정상군의 경우 각질층이 거의 관찰되지 않고 표피층 또한 두껍지 않으며 조직의 대부분은 진피층으로 콜라겐 섬유 부위가 넓게 퍼져있는 것이 관찰되었다. 그에 비해 UV 대조군은 조직의 맨 윗부분에서 굵은 각질층을 형성하고 그 아래 광범위하게 표피층이 분포하고 있으며 콜라겐이 포함되어 있는 진피층에서 염색된 콜라겐 섬유는 거의 관찰되지 않았다. UV 대

조군과의 비교 결과 생강나무 추출물을 도포한 그룹에서는 UV 조사에 의한 표피층의 증가는 감소하였고, 특히 생강나무 추출물 도포군에서는 염색된 콜라겐 섬유가 증가되었음이 관찰되었다. 이는 생강나무 추출물의 도포가 UV에 의해 파괴되는 진피층의 콜라겐 섬유를 보호하는 작용이 있으며 이로 인해 Figure 3과 같이 주름의 형성을 억제 시켜주는 것으로 사료된다.

4. 결 론

본 연구는 생강나무 추출물이 피부 주름 형성에 미치는 효능을 검증해 보고자 실시 되었다. 생강나무를 열수 추출하여 항산화 및 콜라게네이즈 효소 억제 효과 측정 결과 라디칼 소거능의 IC₅₀은 30 $\mu\text{g}/\text{mL}$, 콜라게네이즈 효소의 억제 IC₅₀은 0.56 mg/mL의 농도로 나타났다. CCD-986sk 사람섬유아세포에서 콜라겐 생성을 유의적으로 91.8 % 증가시키는 것으로 나타났다. 또한 이러한 결과들이 실제적인 주름형성에 미치는 영향을 알아보기 위하여 무모쥐에 지속적인 UVB를 조사하여 피부조직에서 주름을 유발시키고 5 % 생강나무 추출액이 포함된 도포액을 매일 도포하여 그 결과를 확인하였다. 조직 모사판 제작의 결과 생강나무 추출액은 UV대조군에 비해 주름의 굵기와 깊이가 현저히 완화된 것으로 관찰되었으며, masson's trichrome 염색으로 피부 콜라겐 섬유를 염색한 결과 자외선이 조사된 대조군의 피하조직에 비해 생강나무 추출물군은 조직의 밀도가 높고 콜라겐 섬유가 대조군보다 많이 존재하는 것으로 나타났다. 생강나무 추출물은 피하조직의 콜라겐 섬유의 분해를 저해함으로

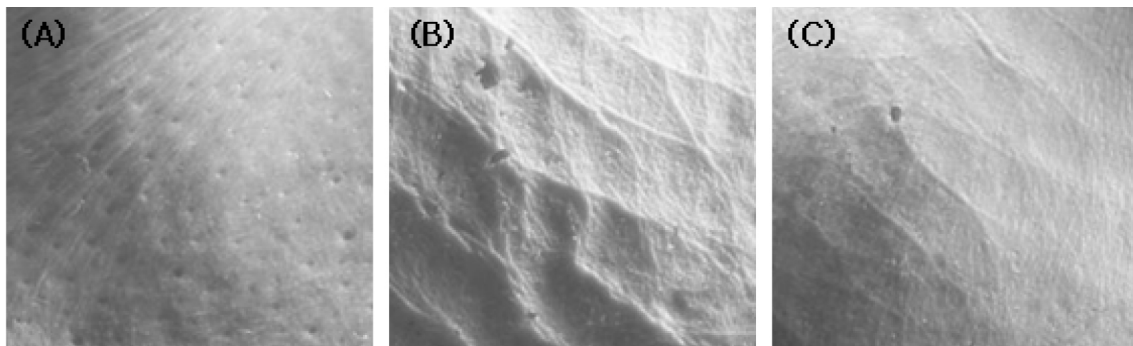


Figure 3. Effects of *Lindera obtusiloba* on UVB-induced wrinkle formation on the back of hairless mice skin at the end of week 10. Mice were divided into four groups and topically applied a vehicle or an *Lindera obtusiloba* 400 mg/kg for 10 weeks. Except for normal group, three groups were irradiated by UVB three times a week for 10 weeks. (A), non-UVB exposed+vehicle; (B), UVB+vehicle; (C), UVB+5 % *Lindera obtusiloba* extract. Photographs of replica taken from the central dorsum of the mice. Each photograph is representative of at least four animals.

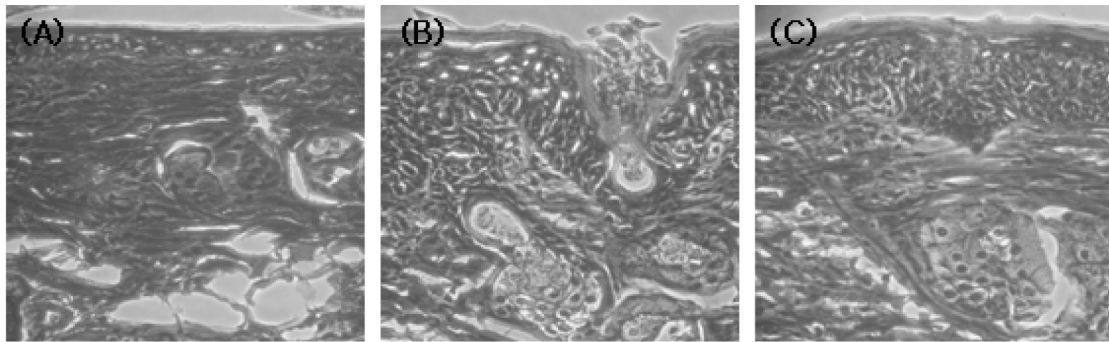


Figure 4. Histological sections of hairless mice skin at the end of week 10. (A), non-UVB exposed+vehicle; (B), UVB + vehicle; (C), UVB + 5 % *Lindera obtusiloba* extract. Each photograph is representative of at least four animals. Masson's trichrome staining. Magnification $\times 200$. Each photograph is representative of at least four animals.

써 외형적으로 주름형성을 완화한 것으로 사료된다. 이러한 결과는 생강나무 추출물이 자외선에 의한 피부주름을 예방하거나 완화 할 수 있는 효과가 있다는 것으로 향후 기능성화장품의 소재로 활용될 수 있을 것으로 사료된다.

참 고 문 헌

1. M. Yaar and B. A. Gilchrist, Aging versus photo aging : postulated mechanisms and effectors, *J. Investing Dermatol. Symp. Proc.*, **3**, 47 (1998).
2. H. B. Lee, C. Y. Lee, and E. K. Kim, Trend of Depigmenting Research Based on Patent Analysis, *J. Soc. Cosmet. Scientists Korea*, **33**, 209 (2007).
3. L. Rittie and G. J. Fisher, UV-light-induce signal cascades and skin aging, *Ageing Research Reviews*, **1**, 705 (2002).
4. J. J. Li, Z. Dong, M. I. Dawson, and N. H. Colburn, Inhibition of tumor promoter-induced transformation by retinoids the transrepress AP-1 without transactivation retinoic acid response element, *Cancer Research*, **56**, 483 (1996).
5. J. C. Fantone and P. A. Ward, Role of oxygen-derived free radicals and metabolites in leukocyte dependent inflammatory reaction, *Ann J. Path.*, **107**, 397 (1982).
6. K. J. A. Davies, Protein damage and degradation by oxygen radical, *J. Biol. Chem.*, **262**, 9895 (1987).
7. C. S. Foote, Photosensitized oxidation and singlet oxygen: consequences in biological systems, *Pryor. WA.* (1976).
8. S. N. Park, Ph. D. Dissertation, *Seoul National Univ.* (1989).
9. S. N. Park, Skin aging and antioxidant, *J. Soc. Cosmet. Scientists Korea*, **50**, 329 (1997).
10. S. N. Park, Protective effect of isoflavone, genistein from soybean on singlet oxygen induced photo-hemolysis of human erythrocytes, *Korean J. Food Sci. Technol.*, **35**, 510 (2003).
11. S. N. Park, Antioxidative properties of baicalein, component from *Scutellaria baicalensis Georgi* and its application to cosmetics (I), *J. Korean Ind. Eng. Chem.*, **14**, 657 (2003).
12. W. Meinhard, T. P. Iliana, N. Lale, M. Wenjian, A. S. Lars, R. W. Ziba, S. I. Jutta, and S. K. Karin, Solar UV irradiation and dermal photoaging, *J. Photochem. Photobiol. B. Biol.*, **63**, 41 (2001).
13. S. K. Karin, B. Peter, W. Jutta, H. Gernot, M. Weijan, N. Lale, M. Christian, and W. Meinhard, Photoaging of the skin from phenotype to mechanisms, *Exp. Gerontol.*, **35**, 307 (2000).
14. M. Yaar and B. A. Gilchrist, Photoageing: mechanism, prevention and therapy, *Br. J. Dermatol.*, **157**, 874 (2007).
15. J. Y. Seo, H. R. Choi, G. E. Rhie, C. S. Youn, W. W. Choi, J. A. Kim, J. H. Chung, K. H. Cho, and H. C. Eun, The effect of retinoic acid and vitamin C on the expression of the procollagen a1(I), tropoelastin, and MMP-1 in human dermal fibroblast, *Kor. J. Invest. Dermtaol.*, **8**, 23 (2001).
16. K. H. Bae, Korean medicinal plant, 87, Gyohak Co., Seoul (2008).
17. C. Y. Bang, E. K. Won, W. K. Park, G. W. Lee,

- and S. Y. Choung, Antioxidant activities and whitening effect from *Lindera obtusiloba* BL. Extract, *Yakhak Hoeji*, **52**, 355 (2008).
18. M. S. Blois, Antioxidant determinations by the use of a stable free radical, *Nature*, **181**, 1199 (1958).
19. C. J. Han and S. M. Kang, The Effect of collagen supplementation from pork skin on serum collagen, serum sex steroid hormone, serum lipid and skin crack in Korean middle-aged women, *Korean J. Community Nutrition*, **13**, 912 (2008).
20. J. P. Kim, D. H. Kim, G. E. Kim, J. H. Kim, S. H. Chung, S. G. Kim, and W. K. Whang, Active compounds from The Aerial Parts of *Polygonum multiflorum* Thunberg, *Yakhak Hoeji*, **50**, 351 (2006).
21. Y. G. Kim, M. Sumiyoshi, M. Sakanaka, and Y. Kimura, Effects of ginseng saponins isolated from red ginseng on ultraviolet B-induced skin aging in hairless mice, *Er. J. Pharmacol.*, **602**, 148 (2009).