

사매추출물을 함유하는 화장품의 주름 개선 효과

양웅석* · 김용민** · 김이화** · 서영배*** · 양윤정 · 김현우 · 강세찬[†]

세명대학교 자연약재학과, *이수제약(주), **세명대학교 한방바이오산업 임상지원센터, ***경북대학교 생명과학부
(2010년 9월 13일 접수, 2010년 11월 8일 수정, 2010년 11월 11일 채택)

Anti-wrinkle Effect of Cosmetics Containing *Duchesnea indica* Extract

Woong-Suk Yang*, Young Min Kim**, Ee Hwa Kim**, Young-Bae Seu***, Yoon Jung Yang,
Hyun Woo Kim, and Se Chan Kang[†]

Department of Natural Medicine Resources, Semyung University, Semyung-Ro 117, Jecheon, Chungbuk 390-711, Korea

*Li Su Pharm Co., Ltd.

**Clinical Trial Center for Bio-Industry, Semyung University

***School of Life Sciences and Biotechnology, College of Natural sciences, Kyungpook National University

(Received September 13, 2010; Revised November 8, 2010; Accepted November 11, 2010)

요약: 본 연구는 에탄올 농도별(0, 30, 50, 70, 100 %)로 추출한 사매추출물의 항산화 효과를 Oxygen Radical Absorbance Capacity(ORAC)로 평가한 결과 30 % 에탄올 추출물에서 가장 우수하였다. 따라서 30 % 에탄올 추출물의 주름 완화에 관련한 효능 및 효과를 확인하기 위하여 마우스 유래 섬유아세포에 대한 세포 독성, MMP-8 collagenase 억제 활성 검사를 실시하였다. 그 결과 30 % 에탄올 사매추출물을 섬유아세포에 처리한 결과 세포 독성이 없었고, 20 %의 MMP-8 collagenase 억제 활성을 보였다. 사매 추출물 1 %가 함유된 Di-Wrinkle Free Cream (DWFC)으로부터 35 ~ 50세의 21명 여성을 대상으로 하루에 2번 도포하여 8주간 인체 안전성과 주름개선 임상평가를 수행하였다. 주름 평가 방법은 3차원 입체 측정기(PRIMOS)를 이용하여 평가를 하였다. DWFC에 대한 안전성 평가는 피험자 방문 시 마다 이상반응, 부종, 인설, 가려움, 자통, 작열감, 뻣뻣함, 따끔거림이나 다른 이상반응이 발생하는지 육안평가와 문진으로 평가하였다. PRIMOS(GFM, Germany)를 이용하여 눈 주변의 주름을 분석한 결과 시험제품 사용 8주 후 통계적으로 유의하게 주름이 13 % 감소하였으며, 시험기간 동안 특별한 피부 이상반응은 관찰되지 않았다. 이와 같은 결과로 보아 사매추출물은 인체에 부작용이 없는 주름개선에 효과 있는 화장품으로 개발이 가능할 것으로 사료된다.

Abstract: In this study, we investigated anti-oxidative effects of *Duchesnea indica* extracts by using Oxygen Radical Absorbance Capacity (ORAC). The extracts were prepared with 0 %, 30 %, 50 %, 70 % and 100 % aqueous ethanol respectively. The 30 % EtOH *D. indica* extract showed higher ORAC activity than the other extracts. Therefore, we performed in vitro studies on cytotoxicity of NIH-3T3 cells and MMP-8 collagenase inhibition using by the 30 % EtOH extract. The 30 % EtOH extract showed no cytotoxicity and significant inhibition on MMP-8 collagenase. And we performed clinical studies for the anti-wrinkle effect of the Di-Wrinkle Free Cream. The cream formula was prepared with 2 % arbutin and 1 % *D. indica* extract. Twenty one healthy women volunteers, ages of 35 and 50, applied the cream on their faces twice a day for 8 weeks. The skin was evaluated with PRIMOS (phaseshift rapid *in vivo* measuring of human skin) system and analyzed by the student's paired *t*-test. The wrinkles on the eye region were reduced by 13 % based on the PRIMOS system after 8 weeks. In the safety study of the Di-Wrinkle Free Cream, no symptoms were observed such as erythema, edema, scaling, itching, stinging, burning, tightness and prickling by visual observation and medical examination of volunteers for 8 weeks. Moreover, there was no noticeable skin disorder during experience period. These results suggested that *D. indica* extracts could be applied as cosmeceuticals effective for anti-wrinkle.

Keywords: *Duchesnea indica*, clinical study, anti-wrinkle, MMP-8, ORAC

[†] 주 저자 (e-mail: sckang@semyung.ac.kr)

1. 서 론

피부는 인체의 약 16 %를 차지하고 있으며, 외부환경과 직접적으로 접해 있어 온도, 습도 및 자외선 등과 같은 외부 유해인자들로부터 인체를 보호하는 중요한 역할을 하고 있다. 그러나 나이가 들어감에 따라 각종 오염물질, 강한 자외선, 스트레스 및 영양결핍 등으로 인해 피부 세포들이 손상을 입게 되고, 세포 증식이 원활하게 되지 않아 피부에 주름, 탄력 손실 및 각질화 등이 발생한다[1]. 피부의 노화는 내인성 노화와 외인성 노화로 분류하고, 내인성 노화는 나이가 들어 피부의 생리적 기능이 저하되어 자연적으로 나타나는 노화 현상으로 탄력이 감소하고 피부 결이 거칠어지고 깊은 주름이 생기며 색소가 침착되는 특징이 있다[1]. 외인성 노화는 자외선, reactive oxygen 및 스트레스 등의 외부 요인에 의해 발생하는 노화를 말한다. 상기의 다양한 요인에 의하여 피부 노화 현상이 진행되면 각질형성세포 및 섬유아세포의 분열 감소, 콜라겐 합성 감소, MMP 생성의 증가, 멜라닌 생성의 신호 전달 증가 등이 발생하여 주름은 증가하고, 피부 탄력은 감소한다. 이러한 피부 노화 기작을 규명하기 위한 여러 연구들이 진행되어 여러 가지 피부 노화의 원인이 밝혀졌다. 피부는 외부 요인(온도, 습도, 건조)에 의한 피부 생리활성 저하 또는 유해 활성산소, 자유라디칼에 의한 체내의 산화 작용에 의하여 과산화 지질이 생성되어 피부를 구성하는 단백질들의 변형을 유발한다고 보고되어 있다[2]. 피부주름을 연구한 결과들을 보면 자외선이나 스트레스 등에 의해 발생한 활성산소의 세포내 작용과 콜라겐 분해효소의 증가가 주름의 유발에 중요한 역할을 하는 것을 알 수 있다[3,4]. 피부에서 활성산소가 세포막을 공격하여 산화시키게 되고 산화된 지질에 의해 세포막이 손상되어 정상적인 피부세포의 기능을 상실하게 된다. 또한, 피부의 효소적, 비효소적 항산화 방어체계의 균형이 유지되지 못해 피부가 지속적인 산화상태에서 회복 되지 못해 피부는 거칠고 윤기가 없어진다. 이러한 과정의 반복은 주름 유발을 야기하게 되는 주요 원인이 된다[5,6]. 피부 진피의 대부분을 차지하는 콜라겐과 신축성이 큰 엘라스틴 단백질은 섬유아세포에서 생성되는 주요 단백질로 피부의 기계적 견고성, 조직의 결합력 및 탄력성 등에 관여한다[7]. 콜라겐은 형태와 구조적 특징에 따라 분류하는데 이들 중에서 가장 잘 알려진 것은 타입 I, II, III, 그리고 IV이다. 콜라겐 타입 I 과 III은 진피층의 세포간질의 구성성분을 이루고 콜라겐 IV는 dermal epidermal junction (DEJ)의 주요 구성 물질이 된다.

이러한 콜라겐은 자연적 또는 외부 자극에 의한 구조 변형, 생합성량 감소, 콜라게네이즈의 발현량과 활성 역시 피부 노화를 가속화 시키는 주요 요인이다[8]. 생체 내에서 생성된 활성산소는 MMPs와 같은 콜라겐 분해 효소의 활성을 촉진시키고 콜라겐의 합성을 억제시킴으로써 피부의 탄력을 감소시키고 주름의 생성을 촉진시킨다. 따라서 피부 주름 개선에 있어 reactive oxygen species (ROS)와 같은 활성산소를 제거하는 항산화 물질이나 콜라게네이즈의 작용을 억제하고 콜라겐의 합성을 촉진시키는 소재의 발굴이 중요하다. 현재 주름 개선에 이용되고 있는 비타민 A, 비타민 C와 비타민 A, C 유도체 등 다양한 항산화제가 있지만, 피부에 대한 안전성 문제점이 있어 부작용이 적은 천연물에서 주름 개선에 효과가 있는 소재를 개발하고자 한다.

뱀딸기는 장미과에 속하는 다년생 초본으로, 꽃은 4 ~ 5월에 황색으로 피고, 열매는 붉은색으로 식용할 수 있으며, 특히 반음지에서 군락을 이루며, 우리나라 전역에 야생하고 있다. 전초를 사매, 사과초, 야양매, 정창초, 용토주라 한다[9-12]. 뱀딸기의 생약명은 사매이며, 학명은 *Duchesnea indica* (Andr.) Focke, *D. collichiana* (Seringe) Nakai, 및 *D. chrysantha* (Zoll, et Morr.) Miq. 등으로 표기한다[13,14]. 뱀딸기는 청혈, 해독, 소염, 지혈, 항종양, 외과창상 등에 사용되어왔다. 민간에서는 태열, 치통에 사용되며, 임상적으로는 백후, 세균성 이질에 치유 효과를 나타낸다고 보고되었다[15-20]. 뱀딸기 수용성 및 에탄올 추출물 내에 존재하는 성분으로는 linoleic acid, β -sitosterol, triacontanol, lupeol, friendlin, β -amyrin, quercitrin 및 ellagic acid glycoside인 ducheside A 및 B가 보고되어 있다[21-23]. 최근에 뱀딸기의 hexane과 ether 추출물이 *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis* 및 *Aspergillus niger*에 대한 항균 효과를 보이며, 수용성과 Aceton 분획은 *S. aureus*, *Salmonella paratyphi*, *Shigella dysenteriae*에 대한 현저한 항균성을 보인다는 보고와 수용성 분획이 Sarcoma 180 세포에 대해 항암 효과를 가진다는 보고가 있다[22,24-27]. 또한 최근 본 연구팀에서는 사매의 에탄올 추출물에 대한 항산화 효능에 관한 연구를 보고한 바 있다[28].

이에 본 연구에서는 에탄올 농도별 사매추출물의 항산화, 콜라게네이즈 억제 활성 여부를 관찰하였으며, 이중 항산화 활성 및 콜라게네이즈 억제활성이 우수한 30 % 에탄올 추출물이 1 % 함유되어 있는 Di-Wrinkle Free Cream을 제조하여 인체적용시험을 통해서 주름 개선 효능을 확인하고자 하였다.

Table 1. Anti-Oxidative Effect of *D. indica* Extracts

EtOH (%)	ORACPE	Yield (%)
0	0.98 ± 0.009	10
30	1.47 ± 0.010	15
50	1.21 ± 0.007	12
70	1.11 ± 0.012	14
100	1.01 ± 0.005	12
Trolox	1.00 ± 0.007	-

2. 실험방법

2.1. 실험재료

실험에 사용한 사매는 서울 경동시장에서 국내산을 구입하였다. 사매 20 g를 에탄올 농도별(0, 30, 50, 70, 100 %) 200 mL로 70 °C에서 18 h 동안 추출하여 Filter paper No. 2로 여과한 다음 여액은 rotary evaporator (N-1000, EYELA, Japan)를 이용하여 40 ± 5 °C 범위 내에서 감압 농축 및 동결건조 후 갈색의 powder를 얻어 -80 °C에 보관, 본 실험의 재료로 사용하였다.

2.2. ORAC법을 이용한 항산화 측정

항산화력 측정기법 중에서 radical 소거기능 측정법에는, TEAC, ABTS, TRAP, DPPH, DCFH-Method 등이 있는데, 이들 중 최근 해외서 항산화 기능을 갖는 식품원료 인증을 받기 위하여, U. S. Dept. of Agriculture에서 표준화한 실험기법으로 oxygen radical absorbance capacity (ORAC)를 선택하고 있는 추세이다[29].

따라서, 다양한 항산화 활성 측정방법 중 ORAC assay를 사용하였으며, phosphate buffer와 시료를 fluorescent solution에 mix후, radical generator인 AAPH를 첨가하여 산화반응 유발 후 fluorescence의 증가 또는 감소에 대한 kinetic 반응을 확인하였다. 본 실험에서 검액 및 표준액의 농도별 희석과 실험용 시액들의 제조에는 중성 phosphate buffer를 사용하였다. 검량곡선을 작성하기 위하여 항산화 활성 비교 표준액으로 Trolox (water soluble analogue of vitamin E, 6-hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchrman-2-carboxylic acid, Aldrich Chem, Inc, Milw. WI)를 인산 완충용액을 가하여 각각 0.0, 1.65, 3.125, 6.25, 12.5, 25.0, 50.0 μM 농도로 희석하여 표준 곡선을 작성하였다.

Fluorescent 표준 용액은 fluorescent stock (Sigma Chem, Co., St. Louis, MO, USA) 10 μL를 phosphate buffer 50 mL에 용해하여 제조하였고, 측정기기는 fluo-

rescent microplate reader (VICTOR³, PerkinElmer, USA)를 사용하여 535 nm에서 전자가 여기(excitation)되고 590 nm에서 방출(emission)되게 조절하여 60 min 동안 2 min 간격으로 측정하였다.

AUC 및 Value_{PE}의 산출 방법은 다음과 같다.

$$\text{AUC (Area under the curve)} = 1 + f1/f0 + f2/f0 + f3/f0 + \dots + f19/f0 + f20/f0$$

<Relative ORAC value>

$$= [(AUC_{\text{sample}} - AUC_{\text{blank}}) / (AUC_{\text{Trolox}} - AUC_{\text{blank}})] \times (\text{molarity of Trolox} / \text{molarity of sample})$$

2.3. 콜라게네이즈 효소 억제 활성

항산화 활성이 가장 우수한 30 % 에탄올 사매추출물의 콜라게네이즈 효소 활성 측정은 NIH-3T3 cells line을 이용하여 세포 배양액으로부터 human MMP-8 immunoassay kit (Quantikine[®], DMP800, USA)를 사용하여 사매추출물의 콜라게네이즈 억제 효과를 측정하였다.

2.4. MTT 측정

30 % 에탄올 (EtOH) 사매 추출물의 NIH-3T3 cells에 대한 세포독성은 아래와 같은 방법으로 측정을 하였다. 96 well plate에 세포를 분주하고 24 h 되면, 배지를 suction system으로 제거해 주고, 배지를 100 μL 넣어 준 후 시료를 농도(1000, 200, 40, 8, 1.6, 0 μg/mL)별로 10 μL씩 처리한다.

세포는 5 % CO₂가 공급되고, 90 % 이상 습도가 유지되는 37 °C CO₂ incubator에 넣어 24 ~ 48 h 배양 후 배지를 제거하고 5 mg/mL MTT solution이 10 % 포함된 배지를 100 μL씩 넣어 37 °C CO₂ incubator에 넣어 2 ~ 4 h 배양 후 MTT 시약을 suction system을 이용하여 제거하고, 각 well 당 DMSO를 100 μL씩 넣는다.

Shaker에서 15 min 간 용해시키고, ELISA reader를 이용해 540 nm에서 흡광도를 측정하여 사매 추출물의 NIH-3T3 cell에 대한 세포 독성을 측정하였다.

2.5. 주름개선 임상 화장품 생산

항산화 및 콜라게네이즈 활성이 우수한 30 % 에탄올 사매추출물을 이용하여 임상용 시제품인 Di-Wrinkle Free Cream (이하 DWFC로 표기, 50 g)을 Table 2와 같은 조성으로 생산하여 세명대학교 한방바이오 임상지원센터에서 주름 개선 임상 평가를 실시하였다.

Table 2. The Composition of Di-Wrinkle Free Cream

No	INCI Name ^{a)}	Contents % (W/W ^{b)})
1	DI-Water	73.16
2	Allantoin	0.10
3	Arbutin	2.00
4	1,3-B,G	5.00
5	Plucan S-20	5.00
6	<i>D. indica</i> extracts	1.00
7	Carbopol Ultrez 21	0.20
8	Dow Corning®7-3101	2.00
9	Simulgel EG	1.00
10	Ethanol	3.00
11	Emulgin HPS	1.00
12	Methyl Paraban	0.20
13	pf-22112	0.10
14	Witch hazel Extract BG	4.00
15	Chamomille Extract	1.00
17	TEA (90%)	0.20
Total		100

a) INCI : International nomenclature of cosmetic ingredient

b) W/W : weight/weight %

2.6. 주름 개선 임상 평가

2.6.1. 대상

본 인체적용시험은 세명대학교 임상윤리위원회의 승인 후에 실시하였으며, 본 실험에 참가한 사람은 건강하고 병력이 없는 피부를 가진 한국인 여성 21명을 대상으로 8주간 사용하게 하였다. 실험에 참여한 피험자의 평균 연령은 45세, 표준 편차는 3.28이었다. 시험 도중 다음과 같은 이상반응 및 그 밖의 이유로 탈락한 피험자는 없었으며 최종 피험자 수는 21명이었다. 피험자 방문 시 마다 이상반응(홍반, erythema), 부종(edema), 인설(scaling), 가려움(itching), 자통(stinging), 작열감(burning), 뻣뻣함(tightness), 따끔거림(pricking)이나 다른 이상반응이 발생하는지 육안평가와 문진으로 평가하였으며, 자극 증세 혹은 증상이 없었는지, 약한 정도인지, 중간 정도인지, 심한 정도인지를 구분하여 기록하였다. 그리고 시험 중지 또는 탈락사항이 발생하는지 점검하여 case report form에 기입하였다. 방문하는 날이 아니더라도 시험에 더 이상 참가 할 수 없게 되는 경우는 본인의 서명이 첨부된 '시험참가 포기동의서'를 쓰도록 하였다.

2.6.2. 측정 방법

제품 도포 전(0주), 제품 도포 후 4주, 제품 도포 후 8

주에 한방바이오산업임상지원 센터에 방문하여 측정 및 평가를 실시하였다. 피시험자 평가는 공기의 이동이 없고 직사광선이 없으며 항온 항습 조건(22 ± 2 °C, 40 ~ 60 %)을 만족하고 있는 밀폐된 방에서 최소 30 min 간 피부 안정을 취한 다음 시험하였다. 주름 측정 부위는 눈 꼬리 부위에서 평가하였다.

2.6.3. Phaseshift Rapid *in vivo* Measuring of Human Skin (PRIMOS)를 이용한 피부주름 측정

피험자의 눈가 주름 정도를 PRIMOS를 이용하여 평가하였다. 제품 도포 전(0주), 제품 도포 후 4주, 제품 도포 후 8주 경과 후에 임상센터에 방문한 피험자들을 대상으로 눈가의 주름 정도를 PRIMOS 전용 software를 사용하여 평가하였다. 측정 부위의 동일성을 유지하기 위하여 이미지 overlay 기능을 사용하였다. PRIMOS는 인공 광원에서 방출된 빛이 피부에 투영될 때 생기는 fringe friction을 이용하여 피부 주름 개선 정도를 평가하는 기기이다[30].

PRIMOS의 분석 시 변수로 R3z의 값을 선정하였으며, R3z의 값이 작아질수록 피부 주름이 개선되어 주름의 깊이가 낮아짐을 의미하며 단위는 임의의 단위(arbitrary unit)이다.

2.6.4. 사진 촬영

주름 생성 부위를 디지털 카메라(Nikon D200 digital camera, Japan)로 사진을 촬영하였으며, 방문 시 마다 동일한 품질의 사진을 얻기 위하여 촬영 조건을 고정하고 촬영하였다.

2.7. 통계 분석 방법

통계적 분석은 SPSS 등 통계처리 software를 이용하여 기술적 통계분석을 실시하며 통계적 유의수준 $p < 0.05$ 로 정하는 것을 원칙으로 하였다.

3. 결과 및 고찰

3.1. 에탄올 농도별 사매 추출물의 항산화 활성

본 실험에서 에탄올 농도별로 추출한 사매추출물의 항산화 활성을 알아보기 위하여 ORAC법으로 항산화 효과를 측정할 결과 물 추출물을 제외한 추출물에서 모두 대조군인 trolox 보다 항산화 효과가 우수하였지만, 특히 30 % 에탄올 사매추출물에서 가장 우수한 효과를 나타내었다(Table 1). ORAC_{PE} 수치는 실험방법에 표기한

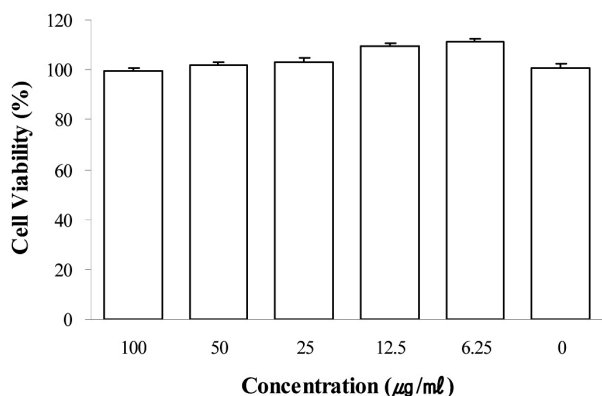


Figure 1. Proliferation of NIH-3T3 cells from 30 % EtOH *D. indica* extracts. Data represented mean ± S.D. of three experiments.

수식을 이용하여 계상하였다. 대조군인 비타민 C 유도체인 trolox의 ORAC_{PE} 수치를 1로 볼 때 30 % 에탄올 사매추출물의 ORAC_{PE} 값은 trolox 수치 보다 월등히 우수함을 확인하였다. 따라서 30 % 에탄올 사매추출물을 실험 대상으로 선정하여 차후 실험 시료로 사용하였다.

3.2. 30 % 에탄올 사매추출물의 세포증식을 및 콜라게네이즈 효소 억제 효능

섬유아세포에서 사매추출물의 처리가 세포 증식에 미치는 영향을 확인하기 위하여 MTT assay를 이용한 세포 생존율을 측정하였다(Figure 1). 피부를 구성하는 주단백질인 콜라겐은 피부진피에 존재하는 섬유아세포에서 합성이 되는데, 30 % 에탄올 사매추출물은 피부 섬유아세포에 대한 세포독성이 없는 것을 확인하였다. 일반적으로 피부 주름을 형성하는 원인 중 하나로 피부교원질(콜라겐)의 결핍 또는 콜라겐 분해 활성 증가로 주름이 형성된다. 콜라겐은 피부 진피를 구성하는 주요 단백질로서 피부구조 지지와 탄력증가의 역할을 하며, 콜라겐은 나이가 들면서 생성의 감소 및 분해율이 증가되어 피부 진피층의 함몰을 초래하며 collagenase의 활성이 감소하는 것으로 알려져 있다[5,6]. 본 실험은 30 % 에탄올 사매추출물의 콜라겐 분해 활성(collagenase activity)에 대한 것으로 collagenase (MMP-8) activity를 조사한 결과 농도 의존적으로 감소하는 경향을 보였으며, 사매추출물이 콜라겐 분해 활성을 감소시켜 분해도 증가되는 형성을 억제하는 효과가 있는 것을 확인하였다(Figure 2). Table 1의 항산화 효과 및 콜라게네이즈 억제 효과와 관련해 볼 때 30 % 사매추출물은 free radical 생성 억제뿐만 아니라, 콜라게네이즈의 발현

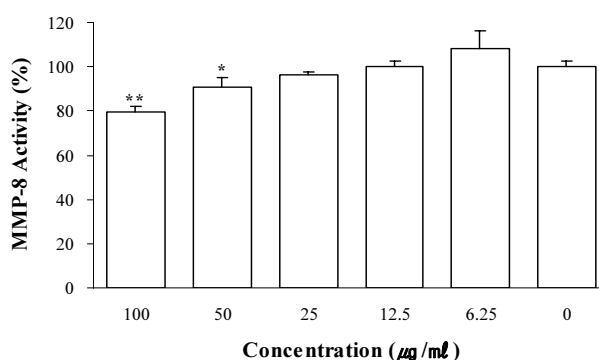


Figure 2. Type I collagenase (MMP-8) activity of 30 % EtOH *D. indica* extracts by using MMP-8 assay ELISA kit. Data represented mean ± S.D. of three experiments. Statistical significance between untreated and treated values was determined by paired Student's *t*-test and is given as a *P* value: * *P* value < 0.05, ** *P* value < 0.001.

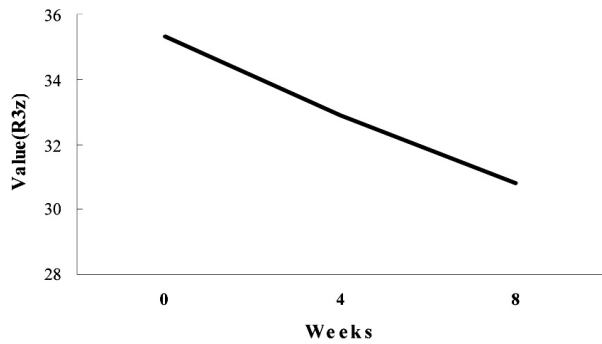
을 억제하므로 콜라겐 생성 촉진 효과에 영향을 줄 것으로 사료된다.

3.3. PRIMOS를 이용한 피부 주름 측정 및 3D 피부 주름 이미지 분석

In vitro 실험에서 사매추출물의 항산화 및 콜라게네이즈를 억제시키는 효과를 확인하였으며, 이는 간접적으로 콜라겐 생성 촉진 효과가 있는 것으로 판단된다. 따라서 실제적으로 사람의 피부 주름 개선에 영향을 주는지 확인하기 위하여 사매추출물을 1 % 함유한 DWFC에 대하여 인체 적용 시험을 실시하였다. PRIMOS를 이용하여 피부 주름 측정 및 3D 이미지 분석을 이용하여 DWFC의 주름 개선 효과를 측정하였다. PRIMOS를 이용한 주름 parameter인 R3z 값 전체를 paired *t*-test를 통해 DWFC 제품 전후간의 유의성 여부를 가설 평균 차 5 % (* *p* < 0.05)로 확인한 결과 DWFC 제품 사용 8주 후 약 13.0 %가 개선되었으며 이는 시험 제품 사용 후 통계적으로 유의한 차이를 나타내었다(Figure 3A). 또한 PRIMOS를 이용한 피부 주름 사진과 3D 이미지 분석 사진에서도 주름개선 효과의 우수함을 보여주었다(Figure 3B).

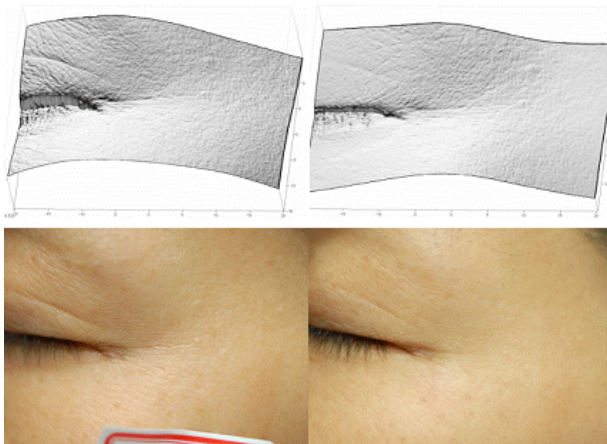
4. 결 론

본 연구는 사매추출물의 기능성 화장품 원료 및 화장품 개발의 이용 가능성과 관련하여 주름개선에 대한 효능 및 효과를 평가하였고, DWFC에 대한 인체적용시험을 세명대학교 한방바이오 임상지원센터와 공동으로 연



Di-Wrinkle Free Cream	R3z-value	p-value
After 4 weeks	32.90	0.058
After 8 weeks	30.81	0.013*

(A)



Before (0-week)

After (8-week)

(B)

Figure 3. Analysis for anti-wrinkle effects. (A) Skin analysis with PRIMOS software. (B) Photography on wrinkle analysis. The results are expressed as * $p < 0.05$ versus control.

구한 결과 다음과 같은 결론을 얻었다.

에탄올 농도별로 추출한 사매추출물의 항산화 평가는 ORAC 기법을 이용하여 항산화 활성을 조사한 결과 물 추출물 또는 100 % 에탄올 추출물에서 대조군인 비타민 E의 유도체 trolox에 비해 낮은 항산화 효과를 보였지만, 30 %, 50 %, 70 % 에탄올 추출물에서는 우수한 항산화 활성을 보였다. 특히 항산화 활성이 가장 우수한 30 % 에탄올 사매추출물을 이용하여 피부 섬유아세포에 대한 세포 독성을 조사한 결과 세포 독성은 나타나지 않았다. 또한 사매추출물의 콜라게네이즈 억제 활성을 조사한 결과 농도 의존적으로 억제시키는 것을 확인하였다. 사매

추출물은 항산화 활성뿐만 아니라, 피부 섬유아세포에 대한 무독성 및 collagenase을 억제함으로써 피부 내 콜라겐 생합성을 촉진하여 피부 주름 개선에 효과가 있음을 확인하였다.

In vitro assay를 통하여 사매추출물의 주름 개선 효과를 확인하였으나, 실제 사람의 피부 주름 개선에 영향을 주는지 확인하기 위하여 사매추출물 1 %를 함유한 DWFC을 이용하여 인체적용시험을 실시한 결과 DWFC는 피부 자극이 없으면서, 피부 기기평가와 피험자 자가진단 평가를 통하여 매우 우수한 주름 개선 효과를 보였다.

결론적으로 사매추출물은 주름개선에 탁월한 효과를 보이는 천연 소재로 판단되며, 향후 기능성 화장품 원료로 응용될 수 있을 것으로 사료된다.

감사의 글

본 연구는 지식경제부의 지역혁신센터사업으로 수행되었음(RIC-07-06-01).

참고 문헌

1. B. A. Gilchrest, Skin aging and photoaging : an overview, *J. Am. Acad. Dermatol.*, **21**, 610 (1989).
2. Y. M. Janssen, B. Van Houten, P. J. Borm, and B. T. Mossman, Cell and tissue responses to oxidative damage, *Lab. Invest.*, **69**, 261 (1993).
3. M. Wlaschek, I. Tantcheva-Poor, L. Naderi, W. Ma, L. A. Schneider, Z. Razi-Wolf, J. Schuller, and K. Scharffetter-Kochanek, Solar UV irradiation and dermal photoaging, *J. Photochem. Photobiol. B. Biol.*, **63**, 41 (2001).
4. S. K. Karin, P. Brenneisen, and J. Wenk, Photoaging of the skin from phenotype to mechanism, *Exp. Gerontol.*, **35**, 307 (2000).
5. M. Yaa and B. A. Gilchrest, Photoaging: mechanism, prevention and therapy, *Br. J. Dermatol.*, **157**, 874 (2007).
6. J. Y. Seo, H. R. Choi, G. E. Rhie, C. S. Youn, W. W. Choi, J. A. Kim, J. H. Chung, K. H. Kim, 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. Dermatol.*, **8**, 23 (2001).

7. R. W. Moskowitz, Role of collagen hydrolyzate in bone and joint disease, *Semin Arthritis Rheu.*, **30**(2), 87 (2000).
8. M. Pei, C. Yu, and M. Qu, Expression of collagen type I, II and III in loose body of osteoarthritis, *J. Orthop. Sci.*, **5**, 288 (2000).
9. X. Li and X. Yin, Seed dispersal by birds in Nanjing botanical garden mem, *Acta. Ecological Sinica.*, **24**, 142 (2004).
10. X. Luo and M. Dong, Architectural plasticity of the stoloniferous herb, *Duchesnea indica* in response to different elevation, *Chin. J. Appl. Ecol.*, **13**, 399 (2002).
11. S. Wilkes and H. Glasl, Isolation, characterization, and systematic significance of 2-pyrone-4,6-dicarboxylic acid in rosaceae, *Phytochem*, **58**, 441 (2001).
12. H. J. Xue, M. Egas, and X. K. Yang, Development of a positive preference-performance relationship in an oligophagous beetle: adaptive learning, *Entomol. Experiment Appl.*, **125**, 119 (2007).
13. A. E. Marta, E. L. Camadro, J. C. Diaz-Ricci, and A. P. Castagnaro, Breeding barriers between the cultivated strawberry, *fragaria x ananassa*, and related wild germplasm, *Euphytica. Neth. J. Plant. Breeding*, **136**(2), 139 (2004).
14. J. S. Chen, N. F. Lei, D. Yu, and M. Dong, Differential effects of clonal integration on performance in the stoloniferous herb *Duchesnea indica*, as growing at two sites with different altitude, *Plant. Eco.*, **183**, 147 (2006).
15. H. Lee and J. Y. Lin, Antimutagenic activity of extracts from anticancer drugs in Chinese medicine, *Muta Res.*, **204**, 229 (1998).
16. Y. Liu, X. Nie, and L. Xu, The investigation and evaluation of three wild and shade tolerant ground cover plants, *Prata. Cul. Sci.*, **21**, 77 (2004).
17. C. P. Osborne, B. G. Drake, and J. LaRoche, Dose long-term elevation of CO₂ concentration increase photosynthesis in forest floor vegetation (indiana strawberry in maryland forest), *Plant. Physiol.*, **114**, 337 (1997).
18. M. Shoemaker, B. Hamilton, and S. H. Dairkee, *In vitro* anticancer activity of twelve chinese medicinal herbs, *Phytothera Res.*, **19**, 649 (2005).
19. W. D. Xu, H. W. Lin, and F. Qiu, Studies on chemical constituents of *Duchesnea indica Focke*, *Chin. Pharm. J.*, **42**, 981 (2007).
20. L. Ye and J. S. Yang, New ellagic glycosides and triterpenoids from *Duchesnea indica Focke*, *Acta. Pharm. Sinica.*, **31**, 844 (1996).
21. I. R. Lee and Y. H. Kim, Studies on the antitumor activity of *Duchesnea indicae herba*, *Arch. Pharm. Res.*, **9**, 1 (1986).
22. B. Peng, Q. Chang, and L. Wang, Suppression of human ovarian SKOV-3 cancer cell growth by *Duchesnea* phenolic fraction is associated with cell cycle arrest and apoptosis, *Gynecologic oncology*, **108**, 173 (2008).
23. Y. Q. Wang, J. Y. Si, and X. M. Liu, Isolation, identification and quantitative determination of ellagic acid and brevifolincarboxylic acid in *Duchesnea indica* by RP-HPLC, *Natural product R & D*, **20**, 667 (2008).
24. Z. Jianzhong, Physiological response of *Duchesnea indica* to aluminum stress, *Journal of Anhui agricultural sciences*, **36**, 426 (2008).
25. G. Lan, R. Lei, and F. An, Study on community dynamic of *Pinus armandii* in the Qinling mountains, *Journal of Northwestern College of Forestry*, **20**, 48 (2005).
26. Z. X. Zhang and X. S. Bo, Effect of *Duchesnea indica* on extracorporeal esophageal cancer cells, *Chinese journal of modern developments in traditional medicine*, **8**, 221 (1988).
27. L. Zhao, S. L. Zhang, and J. Y. Tao, Anti-inflammatory mechanism of a folk herbal medicine, *Duchesnea indica (Andr.) Focke* at RAW264.7 cell line, *Immunological investigations*, **37**, 339 (2008).
28. W. S. Yang, H. W. Kim, Y. J. Jeong, W. C. Lim, and S. C. Kang, A study on the anti-oxidative effects of *Duchesnea indica (Andr.) Focke* Extract, *J. Food Nat. Pro. Sci.*, **1**, 44 (2010).
29. S. C. Kang and M. G. Choung, Comparative study on biological activities of colored potatoes, Hongyoung and Jayoung cultivar, *Korean J. Crop Sci.*, **53**, 233 (2008).

30. N. S. Kim and Y. M. Kim, Development of non-contact image measuring technique are evaluating micro-relief, *J. Soc. Cosmet. ScientisM. Korea*, **31**, 25 (2005).