생 약 학 회 지
Kor. J. Pharmacogn.
41(1) : 26 ~ 30 (2010)

인삼열매의 피부노화 억제 효과

염명훈* · 이진영 · 김지성 · 박찬웅 · 김덕희 · 김한곤
아모레퍼시픽 기술연구원 피부과학연구소 한방과학연구팀

The Anti-aging effects of Korean Ginseng Berry in the Skin

Myeong Hun Yeom*, Jin Young Lee, Ji Seong Kim, Chan Woong Park, Duck Hee Kim and Han Kon Kim
Hanbang application research team, Skin Research Institute, R&D center, Amorepacific corporation, Yongin 446-729, Korea

Abstract – The root of Korean ginseng (*Panax ginseng* C.A. Meyer) is a commonly used herbal medicine in China, Korea, Japan. However, the compositions and effects of Korean ginseng berry are not clear to date. In order to investigate the anti-aging effects in the skin, Korean ginseng berry was extracted with 70% ethanol and tested the biological effects. In the results, Korean ginseng berry extract showed an excellent anti-oxidant effect against oxidative stress and decreased MMP-1 over-expression induced by UV irradiation. Especially the main component of Korean ginseng berry extract, ginsenoside Re, increased hyaluronic acid in HaCaT keratinocytes. We improved Korean ginseng berry could be a good material for the anti-aging effect of skin.

Key words – *Panax ginseng*, berry, anti-aging, ginsenoside Re, hyaluronic acid

인삼 (*Panax ginseng* C.A. meyer) 은 오가피과 인삼 속에 속하는 식물로 질병을 예방하고 수명을 연장시키기 위해서 한국, 중국 및 일본 등지에서 2,000여 년 전부터 사용되어 온 생약이다.

인삼의 대표적 약효 성분인 사포닌(혹은 ginsenoside)는 항암,[1] 면역증강,[2] 혈압강화,[3] 혈당강화,[4] 항염증[5] 및 항산화[6] 효과 등 매우 다양한 효능을 가지는 것으로 알려져 있다. 또한 최근에는 인삼 다당류의 항암, 저혈당 효과,[7] 단백질의 항바이러스 및 항진균,[8] oligopeptide의 antilipolytic activity,[9] 페놀성 성분의 항산화 활성[10-12] 등이 밝혀지고 있다.

그러나 이와 같은 대부분의 효능은 인삼 근에 대한 것이다. 인삼 열매에 대한 연구는 거의 이루어지지 않은 상태로 최근 인삼 열매의 성분 함량 차이에 대한 연구가 시작되었다. 인삼의 대표적 생리활성 성분인 ginsenoside는 인삼의 지상 및 지하부에 고르게 분포되어 있으나, 인삼 근(뿌리), 인삼 엽 및 인삼 열매 등 부위에 따라 ginsenoside 함량이 다른 것으로 알려져 있다.[13] 특히 인삼 열매는 ginsenoside의 함량이 인삼 근과 다르다. 이런 성분 차이는 항당뇨 효능에서 인삼 근보다 우수한 효과를 나타내는 것으로 보고되었다.[14]

피부는 나이가 들어감에 따라 피부의 두께가 감소하고, 주름이 증가하며, 탄력이 감소하게 된다. 이는 내적으로 신진대사를 조절하는 각종 호르몬의 분비가 감소하고, 피부세포들의 활성이 저하되어 피부 구성 단백질들의 생합성이 줄어들게 되어서 나타나는 현상이다. 또한 강한 주름과 두꺼운 피부로 특징지어지는 광노화 피부는 자외선에 의해 증가되는 자유 라디칼 및 유해 활성 산소종에 의한다. 이런 노화들이 진행될수록 피부를 구성하는 물질인 collagen, ellastin, hyaluronic acid 등 구조 단백질을 생성하는 능력이 감소하고 타입1 콜라게나아제(MMP, Matrix metalloproteinase)의 생합성이 증가하여 피부 구조 단백질을 더 많이 분해하게 된다. 또한 누적되는 산화적 스트레스는 이런 피부 노화를 더 촉진하게 된다.[15-17]

인삼 근 추출물은 피부 노화를 지연시키기 위하여 효과적인 한방 소재로 사용되고 있다. 인삼의 주요 활성 성분인 ginsenoside에 대한 연구가 주로 수행되고 있으며, 자외선(UVB)으로 인한 피부노화 억제,[18] 피부 내의 hyaluronic acid 생성을 통한 피부노화 억제[19] 등이 보고되고 있다. 그러나 인삼 열매에 대한 피부 효능 연구는 이루어진 바가 없다.

*교신저자(E-mail) : mhyeom@amorepacific.com
(Tel) : +82-31-280-5809

따라서 본 연구에서는 인삼 열매 추출물이 피부노화 억제에 효과가 있는지를 확인하고자 하였다. 인삼 열매 추출물의 항산화 효능과 피부 구성 단백질을 분해하는 타입1 콜라게나아제 (MMP-1) 저해 효과를 평가하였고, 피부 노화 방지에 중요한 hyaluronic acid의 생성능을 평가하였다. 또한 인삼 근 추출물과 인삼 열매 추출물의 성분 분포를 비교하여 인삼 열매의 피부노화 억제 주성분을 확인하고자 하였다.

재료 및 방법

실험 재료 – 본 실험에서 사용한 인삼 근은 충청남도 금산에서 재배한 6년근을 경동시장에서 구입하여 사용하였고, 인삼 열매는 강원도 정선에서 재배한 4년근 인삼에서 수확한 것을 농가로부터 구입하여 사용하였다.

시약 및 기기 – Trolox™ ((±)-6-Hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchromane-2-carboxylic acid, 238813), DMSO (Dimethyl Sulfoxide, D2650)은 Sigma (St. Louis. MO. USA) 제품을 사용하였고, DCFH-DA(2',7-dichlorodihydro-fluorescein diacetate, D399)는 Molecular Probes (Eugene. OR. USA). 제품을 사용하였으며, TGF-beta(Transforming Growth Factor-beta, 1.412272)는 Roche(indianapolis.IN.USA) 제품이다. HA-ELISA (Hyaluronan Enzyme-linked Immuno-sorbent assay kit, K-1200)은 Echelon bioscience (Salt Lake, UT, USA)에서 구입하여 사용하였다. MMP-1 ELISA (Matrix metalloproteinase-1 human Biotrak ELISA system, RPN2610)은 GE Healthcare (Buckinghamshire, HP7 9NA, UK) 제품이다. DMEM (Dulbecco's modified eagle's medium), HCSS (HEPES-buffered control salt solution), fetal bovine serum, penicillin-streptomycin soluton 등의 시약은 Lonza (Walkeisuville. MD. USA) 제품을 사용하였다. Ginsenoside Re(072-05241)는 Waco사(OSAKA 540-8605. JAPAN)로부터 표준품을 구입하여 사용하였다. AcCN, MeOH 등의 분석시약은 모두 HPLC용 시약을 사용하여 측정하였으며, 추출 및 분획용 용매는 모두 특급시약을 사용하여 실험하였다.

기기는 ELISA reader (Molecular Devices, SpectraMax 190), 광학 현미경 (Olmpus, CKX41), 자외선 조사등 (Sankyo Denki, G15T8E ultraviolet 9K UVB), The Kodacel filter (Eastman Kodak) 등을 사용하였다. 분석용 HPLC는 Waters 2996, 검출기는 Waters Photodiode Array Detector를 사용하였다.

세포는 독일암연구센터의 Dr. Fusenig로부터 분양받은 해캣 세포주 (Human keratinocyte HaCaT cell line)와 연구용으로 제공된 생검 조직에서 일차 배양된 사람의 정상 섬유아 세포를 사용하였다. 각 세포들은 10% (v/v) FBS, 페니실린 100 U/ml 및 스트렙토마이신 100 μg/ml의 항생제를 포함하는 DMEM 배지를 사용하여 실험실에서 37°C, 5% CO_2 공급조건을 갖춘 동물세포배양기에서 배양하였다.

추출

1) 인삼 열매 추출물(Ginseng Berry Extract, GB) 제조

4년근 인삼으로부터 생(生)인삼 열매를 수확하여 종자를 분리하여 제거한 후 인삼 열매의 과육과 과피를 일광건조 또는 열풍건조를 통하여 인삼 열매 건조원료를 제조하였다. 그리고 인삼 열매 건조물 1 kg에 70%에탄올 5L를 가하여 환류 추출한 다음 여과한 후 40~45°C에서 감압 농축하여 인삼 열매 추출물 70 g을 얻었다. 이 시료를 이용하여 실험을 진행하였다.

2) 인삼 근 추출물(Ginseng Root Extract, GR) 제조

건조된 6년근 인삼 1 kg에 70% 에탄올 5 L를 가하여 환류 추출한 다음 여과한 후 40~45°C에서 감압 농축하여 인삼 근 추출물 85 g을 얻었다. 이 시료를 이용하여 실험을 진행하였다.

자외선에 의한 활성산소종(reactive oxygen species, ROS) 생성 억제 효능 측정 – 해캣 세포주(Human keratinocyte HaCaT cell line)로 형광 측정용 96공 평판배양기에 한 공당 2×10^4개의 농도로 1일간 배양하였다. 인삼 열매 추출물과 인삼 근 추출물을 24시간 처리하였다. HCSS(HEPES-buffered control salt solution)에 20 μM로 준비된 DCFH-DA(2',7-dichlorodihydro-fluorescein diacetate, Molecular Probes, Inc)를 100 μl 가하고 37, 5% CO_2 조건에서 20분간 배양하고 다시 HCSS로 세척하였다. 24시간 전처리 했던 각 추출물을 포함하는 HCSS를 100 μl 가한 후 초기에 활성산소종(ROS)으로 산화된 DCF(dichlorofluorescein)의 형광 강도를 형광플레이트 리더(Ex=485 nm, Em=530 nm)로 측정하였다. UVB(30 mJ/cm^2)를 처리하고 처리직후 및 처리 3시간까지의 형광 강도를 형광플레이트 리더(Ex=485 nm, Em=530 nm)로 측정하였다. 그 결과를 자외선으로 ROS 생성을 유도한 대조군(자외선 대조군)을 100으로 하여 각 시료의 효능 차이를 평가하였다.

자외선에 의한 타입 I 콜라게나제(MMP-1)의 생합성 억제 효능 측정 – 인체 섬유아세포를 한 공당 10^4개의 농도로 48공 평판배양기에 배양하고, 24시간 후에 자외선 B를 30 mJ/cm^{2}로 조사한 다음, 인삼 열매 추출물을 포함한 배지로 교체하였다. TGF-beta를 양성 대조군으로 사용하였다. 배양 2일째 상등액을 수확해서 ELISA 방법을 사용하여 생성된 타입 I 콜라게나제의 양을 정량하였다. 그 결과는 자외선 대조군을 100으로 하여 비교하였다.

조 사포닌의 제조 및 ginsenoside 분석 – 제조된 인삼 열매와 인삼 근 추출물에 에테르(ether)를 처리하여 지용성 성분을 제거한 후 n-butanol 추출법으로 조 사포닌을 추출한 다음, 40°C 감압농축 후 메탄올 5 ml로 정용하고 0.45 μm membrane filter로 여과하여 각 ginsenoside 함량을 HPLC

(Waters 2996)로 분석하였다. HPLC 조건은 column은 Mightysil RP-18 (GP 250-4.6, 5 µm)이며 유속은 1 ml/min, column 온도는 25°C, 시료 주입량은 10 µl로 UV 203 nm에서 분석하였다. 또한 이동상은 용매A(10% acetonitrile)과 용매B(90% acetonitrile)의 농도구배 조건(gradient condition)을 이용하였다. 사용한 농도구배 조건은 0~10분까지 15% 용매A, 10~70분까지 82.5% 용매A, 70~90분까지 82.5% 용매A, 90~95분까지 15% 용매A, 95~120분까지 15% 용매A를 사용하였다.

인간 피부 세포주 HaCat에서의 hyaluronic acid 발현 증가 – HaCaT keratinocytes를 24 well plate에 한 공 당 2×10^5 농도로 seeding하였다. serum free 배지에서 24시간 starvation시킨 후 실험에 사용하기 직전 serum free 배지로 세척하여 세포가 자라는 동안 생성하는 hyaluronic acid를 완전히 제거하였다. DMSO에 녹인 ginsenoside Re와 인삼 열매 추출물를 처리하고 24시간 배양하였다. 배양이 끝난 배지를 원심분리하여 상등액만 취해 hyaluronic acid 발현량을 측정하였다. Hyaluronic acid의 분석은 Hyaluronan Enzyme-linked Immunosorbent assay kit를 이용하여 측정하였다. 그 결과는 음성 대조군을 100으로 하여 비교하였다.

결 과

자외선에 의한 활성산소종(reactive oxygen species, ROS) 생성 억제 효능 측정 – 자외선(UV) 조사에 의하여 세포에서 발생하는 활성산소(ROS; Reactive oxygen species)를 제거하는 능력을 비교하는 실험을 통하여 항산화 효과를 조사하였다. 양성 대조군으로서 일반적으로 항산화 효과를 비교하는데 사용하는 Trolox™을 사용하였다. 인삼 열매 추출물은 UV에 의해 생성된 활성 산소를 유의적으로 소거하는 효과를 나타내었다. 이는 항산화 물질의 활성지표로 사용되는 Trolox™와 유사한 정도의 우수한 활성이며, 유의적인 소거 활성이 없는 인삼 근 추출물과 차이를 보인다. 인삼 열매 추출물은 자외선에 의해서 생겨나는 활성 산소를 유의적으로 소거하여 피부 노화의 원인을 억제할 수 있음을 확인하였다.(Fig. 1)

자외선에 의한 타입 I 콜라게나제(MMP-1)의 생합성 억제 효능 측정 – 자외선에 의해서 타입 1 콜라게나아제(MMP-1)가 과발현되어 피부 구조 단백질들이 분해가 되면 피부 주름이 생성되어 지는 것으로 알려져 있다. 인삼 열매 추출물은 자외선에 의해 과발현을 유도한 콜라게나아제(MMP-1) 양을 효과적으로 억제하였다. 이를 통해서 인삼열매 추출물은 피부 구조 단백질의 분해를 억제할 수 있어서 주름 생성을 지연할 수 있을 것으로 보여진다.(Fig. 2)

인삼열매 추출물의 ginsenoside 성분 및 함량 분석 – 인삼 열매 추출물의 효능 차이에 따라서 성분 차이를 확인하고자 하였다. 성분 분석 결과 제조한 인삼 열매 추출물은 조 사포닌 함량에 있어서 제조한 인삼 근 추출물의 약 2배 함량을 가지고 있고, ginsenoside를 PD(Protopanaxadiol)계-“ginsenoside Rb1, Rb2, Rc 및 Rd” 및 PT(Protopanaxatriol)계-“ginsenoside Re, Rg1 및 Rg2”의 비율로 구분하였을 때 각각 “0.73과 3.23으로 그 조성에 있어서 인삼 열매와 인삼 근은 뚜렷한 차이 및 특징을 나타내었다.(Table I)

특히 ginsenoside의 종류별 함량을 비교했을 때 PT (Protopanaxatriol)계-ginsenoside Re의 함량이 인삼 근 추출물 대비 약 10배 이상 높음을 확인할 수 있었다.(Fig. 3) 따라서 고 함량의 ginsenoside Re가 인삼 열매 추출물의 피부 노화 효능을 줄 것으로 여겨진다.

Hyaluronic acid 발현 증가 – 인간의 피부에서 hyaluronic acid의 양은 노화에 따라 감소되는 것으로 보고되었는데,[20-22]

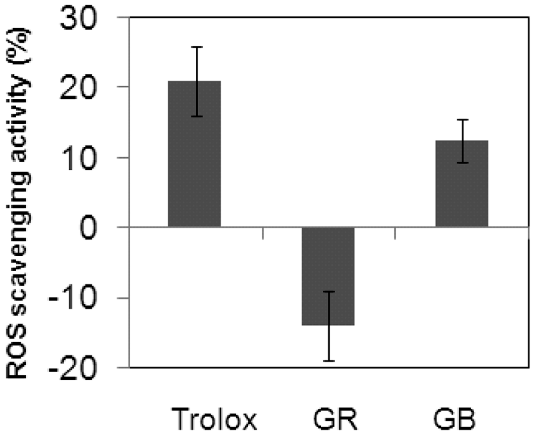

Fig. 1. The anti-oxidant effects of GB compared RG in HaCaT cells treated for 24 hr with Trolox(10 µm), GR(10 ppm), GB(10 ppm) before UV irradiation(30 mJ/cm^2). ROS amounts were detected at 3 hrs after UV irradiation.

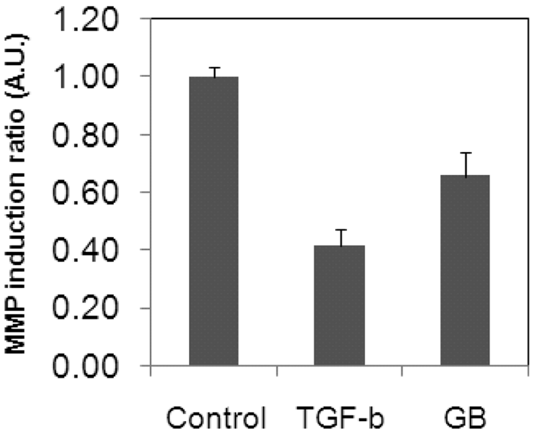

Fig. 2. The inhibition of MMP-1 induced by UV irradiation Normal human fibroblast cells treated for 48 hr with TGF-b(10 mg/ml), GB(10 ppm) after UV irradiation(30 mJ/cm^2).

Table I. The total saponin content compared with GB and RG

	GB	GR
Total Saponin content (dry mass %)	33.42%	16.70%
PD/PT ratio	0.73	3.23

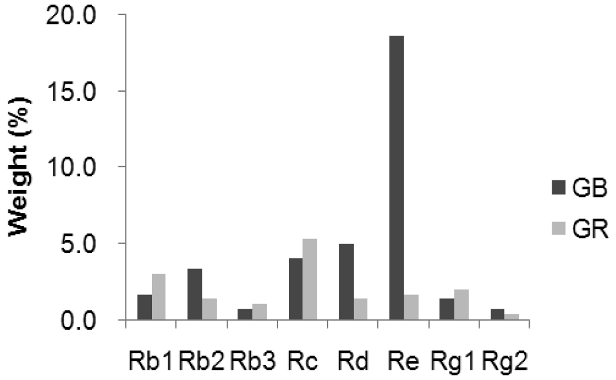

Fig. 3. The comparison of ginsenoside composistions and contents in GB and GR.

hyaluronic acid 양의 감소는 노화에 따른 피부 탄력 저하 및 수분 함유량 감소의 직접적인 원인 중 하나라고 여겨지고 있다. 인삼 열매 추출물과 인삼 열매 추출물의 주 성분인 ginsenoside Re의 hyaluronic acid 생성 효과를 측정하였다. 그 결과 인삼 열매 추출물과 ginsenoside Re 를 처리하였을 때 모두 hyaluronic acid 양은 유의적으로 증가함을 알 수 있으며 인삼열매의 효과는 주성분인 ginsenoside Re의 효과일 것으로 보여진다.(Fig. 4)

고 찰

인삼은 동양 의학에서 사용되는 대표적인 보기재(補氣材)이며 전세계적으로 활용되고 있는 생약이다. 약으로 쓰이는 주 부위는 인삼의 뿌리로 홍삼, 흑삼 등도 뿌리의 가공법에 따라 성분을 변화시켜 효능을 증진시켜 이용하고 있다.

본 연구에서는 인삼 근과 성분의 종류와 함량이 다른 인삼 열매의 피부노화 억제 효능을 확인하고자 하였다. 따라서 인삼 열매 추출물의 피부 노화를 유발할 수 있는 원인 인자들에 대한 효능을 평가하여 광노화를 유발하는 자외선 조사에 따른 활성 산소종의 증가와 타입 1 콜라게나아제의 과발현을 억제하는 효과를 확인할 수 있었다. 이는 피부 노화의 가장 큰 외적 요소인 자외선에 의한 손상을 방어할 수 있음을 알 수 있게 한다. 또한 인삼 열매 추출물은 피부 노화를 억제하는 효과를 위해서 많이 활용되던 인삼 근 추출물과 달리 뚜렷한 활성 산소종 억제 효과를 보이고 있고 두 추출물의 성분 분석 결과, 함유하고 있는 ginsenoside의 종류와 함량 차이가 뚜렷하여 서로 각기 다른 ginsenoside와

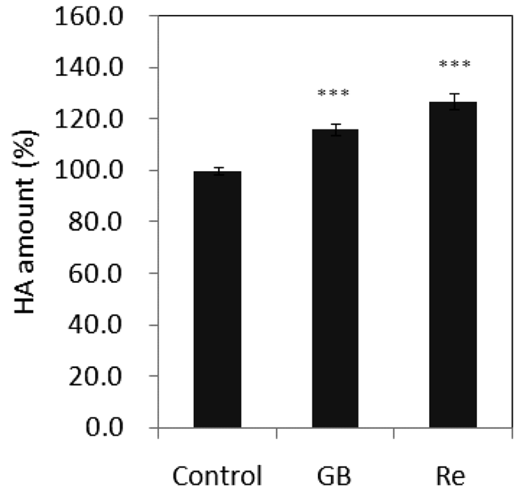

Fig. 4. Effects of GB and ginsenoside Re on the amount of HA released by HaCaT cells. HaCat cells were treated for 24 hr with GB (10 ppm), ginsenoside Re (1 μM).

세포 효능 기전에 의해서 작용할 것으로 사료된다.

또한 인삼 열매 추출물이 hyaluronic acid의 생성을 촉진하는 효능이 확인되었다. 피부 내 수분 보유, 세포간 간격 유지, 세포 분열과 분화 이동에도 많이 관여하는 hyaluronic acid의 생성은 피부에 중요하다. 외부적 자극이 없이도 자연적인 노화에 의하여서 hyaluronic acid 생성이 감소하게 되면 쉽게 건조해지는 노화 피부를 유발하게 되는데 hyaluronic acid 생성 촉진능을 확인함으로써 광노화 뿐만 아니라 자연노화도 억제할 수 있을 것으로 기대된다. 또한 인삼 열매 추출물의 주성분인 ginsenoside Re가 hyaluronic acid 증가 효과를 보이므로 이러한 노화 억제에 주성분인 ginsenoside Re가 기여할 것으로 기대된다. 따라서 향후 ginsenoside Re와 인삼 열매 추출물의 광노화와 자연노화의 기전에 대하여 연구를 수행할 예정이다.

본 연구의 결과들을 종합하여 볼 때 인삼 열매 추출물은 자외선에 의한 광노화와 세포 활성이 떨어지는 자연 노화 모두에 적용 가능한 소재가 될 수 있을 것으로 여겨지며 이러한 효과는 뚜렷이 구별되는 성분 차이를 기반으로 인삼 근 추출물과는 다른 기전에서 영향을 줄 수 있을 것이다. 따라서 인삼 열매 추출물은 피부노화를 지연하고 개선시킬 수 있는 신규 한방 소재로 활용 될 수 있을 것으로 사료된다.

인용문헌

1. Jeon, H. K., Kim, S. G. and Jung, N. P. (1991) Effects of ginseng saponin fraction and cyclophosphamide on the tumoricidal activity of mouse macrophage and the antitumor effect. *Korean J. Ginseng Sci.* **15**: 99-105.
2. Kim, M. J. and Jung, N. P. (1987) The effect of ginseng saponin on the mouse immune system. *Korean J. Ginseng Sci.* **11**:

130-135.

3. Kang, S. Y. and Kim, N. D. (1992) The antihypertensive effect of red ginseng saponin and the endothelium-derived vascular relaxation. *Korean J. Ginseng Sci.* **16**: 175-182.
4. Joo, C. N. and Kim, J. H. Study on the hypoglycemic action of ginseng saponin on streptozotocin induced diabetic rats (I). *Korean J. Ginseng Sci.* **16**: 190-197.
5. Oliveira, A. C. C., Perez, A. C., Merino, G., Prietp, J. G. and Alvarez A.I. (2001) Protective effects of *Panax Ginseng* on muscle injury and inflammation after eccentric exercise. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C* **130**: 369-377.
6. Kim, J. S., Kim, K. W., Choi, K. J., Kwak, Y. K., Im, K. S., Lee, K. M. and Chung, H. Y. (1996) Screening of antioxidative components from red ginseng saponin. *Korean J. Ginseng Sci.* **20**: 173-178.
7. Kim, K. H., Lee, Y. S., Jung, I. S., Park, S. Y., Chung, H. Y., Lee, I. R. and Yun, Y. S. (1998) Acidic polysaccharide from *Panax ginseng*, ginsan, induces Th1 cell and macrophage cytokines and generates LAK cells in synergy with r Il-2. *Planta Med.* **64**: 110-115.
8. Ng, T. B. and Wang, H. (2001) Panaxagin, a new protein from Chinese ginseng possesses antifungal, anti-viral, translation-inhibiting and ribonuclease activities. *Life Science* **68**: 739-749.
9. Kim, K. H., Na, J. Y., Jo, D. H. and Lee, C. Y. (1987) Extraction and purification of ginseng oligopeptides with antilipolytic activities. *Korean Agric. Chem. Soc.* **30**: 88-94.
10. Lee, J. W., Sohn, H. O. and Do, J. H. (2000) Function of the water soluble browning reaction products isolated from Korean red ginseng 2. Linoleic acid, Ox-brain autoxidant and Fe^{2+} ADP/NAD system. *J. Ginseng Res.* **24**: 35-40.
11. Wee, J. J., Park, J. D., Kim, M. W. and Lee, H. J. (1989) Identification of phenolic antioxidant components isolated from *Panax ginseng. J. Korean Agric. Chem. Sco.* **32**: 50-56.
12. Shin, J. G., Park, J. W., Pyo, J. K., Chung, M. H. (1990) Protective effects of a ginseng component, maltol(2-methyl-3-hydroxyl-4-pyrone) against tissue damages induced by oxygen radicals. *Korean J. Ginseng Sci.* **14**: 187-190.
13. Wang, C. Z., Wu, J. A., Mcentee, E. and Yuan, C. S. (2006) Saponins composition in American ginseng leaf and berry assayed by high-performance liquid chromatography. *J. Agric. Food Chem.* **54**: 2261-2266.
14. Attele, A. S., Zhou, Y. P., Xie, J. T., Wu, J. A., Zhang, L., Dey, L., Pugh, W., Rue, P. A., Polonsky, K. S. and Yuan, C. S. (2002) Antidiabetic effects of *Panax ginseng* berry extract and the identification of an effective component. *Diabetes* **51**: 1851-1858.
15. Emerit, I. (1992) Free radicals and aging of the skin. *EXE.* **62**: 328-341.
16. Brenneisen, P., Sies, H. and Scharffetter-Kochanek, K. (2002) Ultraviolet-B irradiation and matrix metalloproteinases : from induction via signaling to initial events. *Ann N Y Acad Sci.* **973**: 31-43.
17. Puizina-Ivic, N. (2008) Skin aging. *Acta Dermatovenerol Alp Panonica Adriat.* **17(2)**: 47-54.
18. Lee, E. H., Cho, S. Y., Kim, S. J., Shin, E. S., Chang, H. K., Kim, D. H., Yeom, M. H., Woo, K.S., Lee, J.S., Sim, Y.C. and Lee, T.R. (2003) Ginsenoside F1 protects human HaCat keratinocytes from ultraviolet-B-induced apoptosis by maintaining constant levels of Bcl-2. *J. Invest. Dermatol.* **121(3)**: 607-613.
19. Kim, S. J., Kang, B. Y., Cho, S. Y., Sung, D. S., Chang, H. K., Yeom, M. H., Kim, D. H., Sim, Y. C. and Lee, Y. S. (2004) Compound K induces expression of hyaluronan synthase 2 gene in transformed human keratinocytes and increases hyaluronan in hairless mouse skin. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **316**: 348-355.
20. Fleischmajer, R., Perlish, J. S. and Bashey, R. I. (1972) Human dermal glycosaminoglycans and aging. *Biochem. Biophys. Acta* **279**: 265-275.
21. Longas, M. O., Russell, C. S. and He, X. Y. (1987) Evidence for structural changes in dermatan sulfate and hyaluronic acid with aging. *Carbohydr. Res.* **159**: 127-136.
22. Ghersetich, I., Lotti, T., Campanile, G., Grappone, C. and Dini, G. (1994) Hyaluronic acid in cutaneous intrinsic aging. *Int. J. Dermatol.* **33**: 119-122.

(2009년 8월 28일 접수)