

오미자 유산균 발효물의 주름개선 효과

이정희·김종임*·최화정·이정현**†

광주여자대학교 미용과학과, *중원대학교 간호학과, **영산대학교 미용예술학과
(2014년 8월 19일 접수, 2014년 8월 26일 수정, 2014년 11월 4일 채택)

Anti-Wrinkle Effect of *Schizandra chinensis* Baillon Fermented with *Lactobacillus plantarum*

Jung Hee Lee, Jong Im Kim*, Hwa Jung Choi, and Jung Hyun Lee**†

Department of Beauty Science, Kwangju Women's University, Gwangju 506-713, South Korea

*Department of Nursing, Jungwon University, Chungbuk 367-805, South Korea

**Department of Beauty Art, Youngsan University, Busan 612-743, South Korea

(Received August 19, 2014; Revised August 26, 2014; Accepted November 4, 2014)

요약: 새로운 주름개선제 성분을 찾기 위해서 본 연구에서는 사람 피부 섬유아세포의 세포독성, 콜라겐 생합성, matrix metalloproteinase-I (MMP-1) 및 elastase 저해활성에 대한 *Lactobacillus plantarum*으로 발효된 오미자 발효액의 주름개선 효과를 평가하였다. 먼저, 오미자 추출물은 *L. rhamnosus*으로 37 °C에서 1일 동안 발효하였다. 발효물의 세포독성은 cytopathic effect reduction 방법에 의해 평가하였다. 콜라겐 생합성에 대한 발효물의 영향은 procollagen type-IC peptide EIA kit에 의해 평가하였으며, matrix metalloproteinase-I (MMP-1)에 대한 발효물의 영향은 Matrix Metalloproteinase-1 Biotrack activity Assay Kit에 의해 평가하였다. Elastase inhibition assay는 기질로써 *N*-Suc-(Ala)₃-nitroanilide을 사용하여 기질 반응에 의해 평가하였다. 결과로써 오미자 발효물은 사람 피부 섬유아 세포에 대해 100 µg/mL의 농도에서 세포독성을 나타내지 않았다. 또한 오미자 발효물은 콜라겐 생합성을 촉진시켰으며, MMP-1의 저해 효과를 나타내었다($p < 0.05$). Elastase inhibition assay에서 오미자 발효물의 IC₅₀은 36.4 µg/mL이었다. 그러므로 본 연구에서 오미자 발효물은 주름개선 효과를 보유하고 있으며, 이것은 피부의 주름개선을 위해 사용가능하리라 사료된다.

Abstract: To identify new active anti-wrinkle ingredients, this study investigated the anti-wrinkle effects of *Schizandra chinensis* Baillon fermented with *Lactobacillus plantarum* (SCF) by assessment of cytotoxicity of human dermal fibroblast, collagen biosynthesis, matrix metalloproteinase-I (MMP-1) inhibition and elastase inhibition. *S. chinensis* was fermented with *L. rhamnosus* for 1 day at 37 °C. The cytotoxicity of SCF was evaluated by a cytopathic effect reduction method. Effects on collagen biosynthesis and matrix metalloproteinase-I (MMP-1) of SCF were evaluated by previous reported method using procollagen type-IC peptide EIA kit and Matrix Metalloproteinase-1 Biotrack activity Assay Kit, respectively. Elastase inhibition assay was conducted by reaction of enzyme and substrate using *N*-Suc-(Ala)₃-nitroanilide as the substrate. As the results, SCF didn't show cytotoxicity against human dermal fibroblast at concentration of 100 µg/mL. Also, SCF was increased collagen synthesis and showed inhibitory effect of MMP-1 ($p < 0.05$). In the elastase inhibition assay, the IC₅₀ of SCF was 36.4 µg/mL. Therefore, our results indicated that SCF possesses anti-wrinkle effects and can be used practically for anti-wrinkle care of skin.

Keywords: Collagen biosynthesis, Matrix metalloproteinase-I, *Schizandra chinensis* Baillon fermented with *Lactobacillus plantarum*, Elastase, Anti-wrinkle

1. 서 론

피부노화는 지속적인 자외선(ultraviolet radiation, UV) 노출에 의해 일어나는 광노화와 시간의 흐름에 따라 자연스럽게 발생하는 내인성 노화로 구분되며, 특히 자외선 노출에 의한 광노화가 피부노화의 주된 원인이 되고 있다[1]. 특히 자외선은 엘라스틴 섬유조직의 축적을 저해하며, 콜라겐 붕괴 등을 통해 피부 탄력저하와 주름을 유발한다[2]. 또한 피부에서 콜라겐 분해 효소(collagenase)의 증가는 콜라겐 섬유의 변성 및 파괴를 유발하는 중요한 원인 중의 하나로 생체 내에서 콜라겐의 합성을 억제시키며, 엘라스틴 분해 효소(elastase)도 엘라스틴 분해를 촉진시켜 피부의 탄력을 감소시키고 주름의 생성을 촉진시킨다[3]. 따라서 피부 주름의 개선에 있어 콜라게네이즈 및 엘라스테이즈의 작용을 억제하고 콜라겐의 합성을 촉진 및 엘라스틴 붕괴 저해시키는 소재의 발굴이 중요하다고 할 수 있다.

오미자(*Schizandra chinensis* Baillon)는 우리나라를 비롯하여 중국, 일본, 대만 등지에 분포하고, 자양, 강장, 지사, 진해제의 효능이 있는 것으로 알려져 있을 뿐만 아니라 중추신경의 기능 강화, 혈액순환 개선, 혈당 강하 작용, 간 기능의 복구에 대해서도 보고되어 있다[4-7]. 오미자 성분에 관한 연구로는 주로 약리 기능을 나타내는 주요 성분으로 알려진 lignan 화합물의 결정, 일반성분, 유기산, anthocyanin 색소의 안정성, 오미자의 부위별 유리당, 지질 및 비휘발성 유기산 조성에 대한 연구 등이 보고되었다[8-11].

한편 유산균들은 프로바이오틱으로써 인류건강과 산업에 이용되어져 왔다[12]. 이러한 프로바이오틱 박테리아는 유당 불내증을 돕거나, 장내 감염을 완화시키거나, 결장암, 알러지에 유용하고, 면역 시스템을 조절하는 것으로 알려져 있다[13]. 또한 유산균 발효물은 인체에 유익한 생리활성물질을 함유하고 있다고 보고하였다[14,15]. 그러나, 오미자 유산균 발효물의 주름개선효과에 대한 보고는 아직 없는 실정이다.

주름개선에 대한 다양한 연구로는 이진영, 안봉선(2010)의 연구에서 도화의 주름개선 효과에 대해 보고하였으며, 강성례 등(2009)은 삼백초 열수추출물의 피부주름 억제효과를 보고하였다[16,17]. 또한 권민철 등(2007)의 연구에 의하면 불가사리 콜라겐 유래 저분

자 펩타이드의 피부주름 억제활성을 보고하였으며, 김선희 등(2009)이 흑마늘 화장품의 주름개선 및 미백에 대한 피부미용 효과에 대해 발표하였다[18,19]. 그러나 기존의 보고된 연구논문들은 대부분 추출물에 대한 것으로 발효물에 대한 연구의 거의 없는 실정이다.

따라서 본 연구에서는 오미자를 유산균인 *Lactobacillus plantarum*을 이용하여 발효한 후 세포독성, 콜라겐 생합성, 엘라스틴 저해효과 및 주름개선효과에 대해 살펴보고자 한다.

2. 재료 및 방법

2.1. 오미자 추출물 제조

실험에 사용된 오미자는 금산의 한약재상에서 2010년 6월에 구입하여 사용하였으며, 오미자 100 g을 1 L의 물과 혼합하여 1 h 씩 2회 환류 냉각 추출하여 제조하였다. 이후, 제조된 추출물을 여과지를 이용하여 얻어진 여액을 감압농축기를 이용하여 용매를 제거한 후, 동결건조하여 8.2 g을 수득하였으며, 이 분말을 -20 °C 냉동고에 보관하면서 실험에 사용하였다. 동결건조분말은 필요시마다 dimethyl sulfoxide (DMSO; Sigma, St. Louis, MO, USA)에 용해시킨 후 사용하였다.

2.2. 오미자 발효물 제조

Rogosa, and Sharpe (MRS) 배지를 121 °C에서 20 min간 멸균하고 *Lactobacillus plantarum*을 3×10^6 colony forming units per milliliter (CFU/mL) 되게 접종하여 37 °C에서 24 h 배양하여 종균을 제조하였다. 서울우유 100 mL에 오미자 추출물 1.5 g과 설탕 3 g, 종균 1 mL을 넣고 잘 섞이게 한 후 37 °C에서 48 h 배양하여 발효액을 얻었다. 발효액을 여과하여 유산균을 제거한 후 대사산물이 함유된 여과액을 동결건조하여 분말 12.4 g을 얻었다.

2.3. 세포주 및 세포배양

세포는 피부섬유아세포(Human dermal fibroblast)를 Cambrex (UK)로부터 구입하여 사용하였다. 구입한 세포를 DMEM/F12 (3 : 1) 배지에 10% Fetal bovine serum (FBS), 1% penicillin- streptomycin을 첨가하여 37 °C, 5% CO₂ 조건하에서 배양하여 실험에 이용하였다.

2.4. 세포독성 측정

오미자 발효액의 피부섬유아세포에 대한 세포독성 측정은 24 h 후에 살아 있는 세포를 sulforhodamine B (SRB) 분석법으로 측정하였다[20]. 피부섬유아세포는 96-well plate에 2×10^4 cells/well로 1일 동안 배양한 후 배지를 제거하고 오미자 발효물을 0.1, 1, 10, 100 $\mu\text{g/mL}$ 의 농도로 처리하여 배양하였다. 1일 후 배지를 제거하고 각 웰에 70% 아세톤을 100 μL 씩 첨가한 후 1 h 동안 -20°C 에 방치하고 아세톤을 제거하였다. 60°C 드라이 오븐(Dry oven)에서 건조시킨 후 1% (v/v) 아세트산에 녹인 0.4% (w/v) SRB 용액 100 μL 를 첨가해 30 min 동안 염색시켰다. 세포와 결합하지 않은 SRB 염색액은 1% (v/v) 아세트산으로 수회 세척한 다음 다시 건조시켰다. 각 웰에 10 mM 트리스 용액(pH 10.5) 100 μL 를 각 웰에 가하여 세포와 결합되어 있는 염색제를 충분히 녹인 후 560 nm에서 흡광도를 측정하였으며, 결과에 대한 통계는 동일한 조건에서 수행한 3번의 실험결과 수치에 대한 평균값과 표준편차로 계산한 값을 제시하였다.

2.5. 콜라겐 생합성

세포를 2×10^6 cells/well 농도로 6-well plate에 접종한 후, 각 well에 오미자 발효물을 1 - 5 $\mu\text{g/mL}$ 의 농도로 첨가하여 CO_2 배양기에서 24 h 배양 후 배양액을 수거하여 실험에 사용하여 세포배양액 내 콜라겐 생합성 정도를 procollagen type-1C peptide (PIP) EIA kit (Takara)을 사용하여 프로펩타이드의 양을 측정하였다[21].

2.6. Matrix Metalloprotease-1 (MMP-1) 저해 활성

세포를 2×10^6 cells/well 농도로 6-well plate에 접종한 후, 각 well에 오미자 발효물을 1 - 5 $\mu\text{g/mL}$ 의 농도로 첨가하여 CO_2 배양기에서 24 h 배양한 다음 TNF- α 를 10 ng/mL의 농도로 첨가하였다. 이렇게 처리된 세포의 배양액을 수거하여 실험에 사용하였다. Gross B. E. 등의 방법에 따라 Matrix Metalloproteinase-1 Biotrack activity Assay Kit (Amersham Bioscience)을 이용하여 plate reader로 흡광도를 측정하고 표준곡선을 통해 계산식을 구하여 세포 배양액 내 MMP-1 활성을 수치화하였다[22].

2.7. 엘라스틴 분해효소(Elastase) 저해 활성

오미자 발효물의 엘라스틴 분해효소 저해 활성은 전에 보고된 방법에 의해 측정하였다[3]. 돼지 췌장 엘라스틴 분해 효소(porcine pancreatic elastase; Sigma-Aldrich; St. Louis, MO, USA)의 활성은 기질로써 *N*-Suc-(Ala)₃-nitroanilide를 사용하면서 410 nm에서 p-nitroanilin의 방출량을 측정하였다. 먼저 5 mM *N*-Suc-(Ala)₃-nitroanilide를 포함하는 200 mM Tris-HCl buffer (pH 8.0)와 10 $\mu\text{g/mL}$ elastase를 혼합하고, 오미자 발효액을 최종농도 각각 10, 20, 50, 100, 500 $\mu\text{g/mL}$ 가 되도록 혼합하여 25°C 에서 10 min 간 반응시킨다. 그 후 410 nm에서 흡광도를 측정하였다. 양성대조군으로써 이미 보고된 epigallocatechin gallate (EGCG)를 사용하였다[23]. Elastase 저해율은 다음식에 의해 산출되었다.

$$\text{저해율(\%)} = [(OD_{\text{CONTROL}} - ODS_{\text{SAMPLE}}) / OD_{\text{CONTROL}}] \times 100$$

50% 저해 농도(50% inhibitory concentration, IC_{50})는 dose-response curves에 의해 산출하였다.

2.8. 통계처리

모든 결과 값은 세 번의 독립적인 실험에 의해 얻어진 값들의 평균 \pm 표준편차로 나타내었다. 대조군과 실험군 사이의 통계학적 유의성 검정은 Tukey test를 사용하면서 ANOVA검정을 적용하였으며, $p < 0.05$ 수준에서 유의성 검정을 실시하였다.

3. 결과 및 고찰

3.1. 세포독성

오미자 발효물을 0.1, 1, 10, 100 $\mu\text{g/mL}$ 농도로 세포에 처리하여 배양했을 때 세포독성을 측정한 결과는 Figure 1과 같다. 오미자 발효물은 대조군과 마찬가지로 전 농도에서 약 100%의 생존율을 나타내어 독성이 없음을 확인하였다. 많은 유산균 발효물들은 설사, 항바이러스, 알러지, 면역조절 등과 같은 다양한 조절기능을 보유하는 것으로 알려져 있으며, 세포독성이 없기 때문에 예로부터 기능성 식품으로 섭취되어 온 것으로 알려져 있다[24]. 따라서 본 연구에서 오미자 추출물에 유산균을 넣어 발효한 발효물도 세포독성을

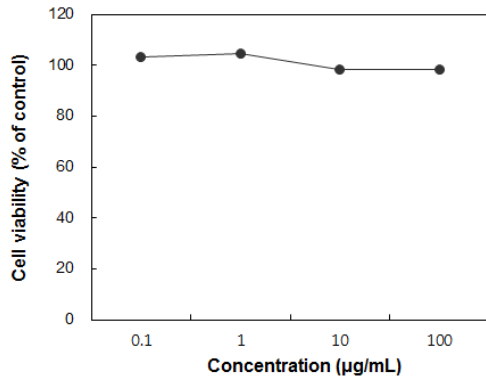


Figure 1. Cell viability of human dermal fibroblast treated with *S.chizandra chinensis* Baillon fermented with *L.actobacillus plantarum*. Hundreds µg/mL of *S. chinensis* Baillon fermented with *L. plantarum* was added at human dermal fibroblast cells. After 1 day, cell viability was evaluated by SRB method. Each value is the result of mean ± S. D. of three independent experiments.

나타내지 않아 비슷한 결과를 나타내었다.

3.2. 콜라겐 생합성

피부섬유아세포에 오미자 발효물을 처리하여 배양한 후 Type 1 프로콜라겐 생합성량을 조사한 결과 Type 1 프로콜라겐 생합성량이 대조군(control)는 78.93 ng/mL이었으며, 양성 대조군인 EGCG의 경우 97.72 ng/mL, 오미자 발효물처리군(SCF)은 103.22 ng/mL 수준으로 나타나 EGCG나 오미자 발효물이 유의적인 수준으로 Type 1 프로콜라겐 생합성능이 있음을 본 실험을 통해 알 수 있었다($p < 0.05$, Figure 2). 프로콜라겐은 아미노 말단과 카르복시 말단에 프로펩티드라는 펩티드 염기서열을 포함하며, 프로펩티드의 기능은 소포체 내에서 프로콜라겐 분자의 folding을 도와줌과 동시에 콜라겐 중합반응이 일어날 때 콜라겐 분자로부터 절단, 분리된다고 알려져 있으며, 이 과정에서 분리된 프로펩타이드의 양을 측정함으로써, 세포 내에서의 콜라겐 생합성정도를 파악할 수 있다고 보고되어졌다[21]. 전의 연구에서 생강나무 추출물은 콜라겐 생합성을 촉진한다고 보고하였다[2]. 또한 호장으로부터 분리한 Polydatin도 콜라겐 생합성에 관여한다고 보고하였다[25]. 그러나 오미자를 포함한 이러한 식물체들을 이용한 발효물의 콜라겐 생합성에 관련된 연구는 보고되지 않았다. 본 실험에서 오미자

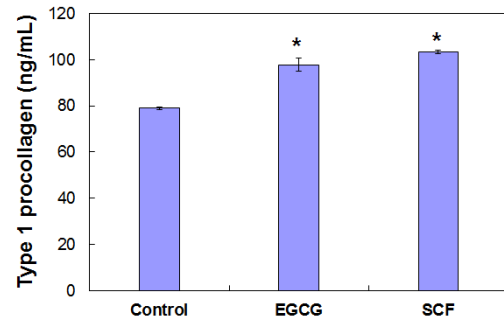


Figure 2. Type 1 procollagen synthesis of human dermal fibroblast treated with *S.chizandra chinensis* Baillon fermented with *L.actobacillus plantarum*. The type 1 procollagen contents in culture media were determined by ELISA method. Each value is the result of mean ± S.D. of three independent experiments. SCF, *S. chinensis* Baillon fermented with *L. plantarum*. *Significantly different from control ($p < 0.05$).

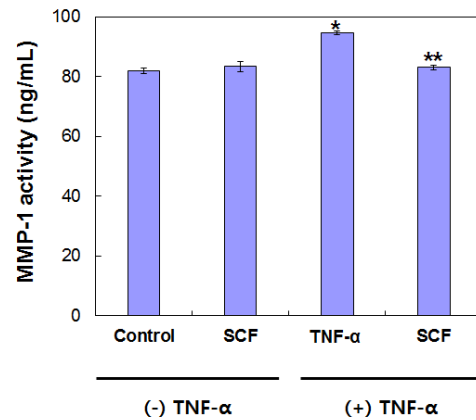


Figure 3. MMP-1 activities in human dermal fibroblast incubated with *S.chizandra chinensis* Baillon fermented with *L.actobacillus plantarum*. TNF-α (10 ng/mL) was treated for MMP-1 activation except control group. The MMP-1 contents in culture media were determined by ELISA method. Each value is the result of mean ± S. D. of three independent experiments. SCF, *S. chinensis* Baillon fermented with *L. plantarum*. *Significantly different from control ($p < 0.05$). **Significantly different from TNF-α treatment ($p < 0.05$).

발효물이 Type 1 프로콜라겐 생합성을 대조군보다 더 증가시켰으며, 이에 대한 연구가 앞으로 더 진행되어야 할 것으로 생각된다.

Table 1. Elastase Inhibition of *S.chizandra chinensis* Baillon Fermented with *L.actobacillus plantarum*

Material	IC ₅₀ (μg/mL)
SCF	36.4 ± 5.9
EGCG	25.3 ± 4.5

Each value is the result of mean ± S.D. of three independent experiments. SCF, *S. chinensis* Baillon fermented with *L. plantarum*. EGCG, epigallocatechin gallate. IC₅₀ (μg/mL), 50% inhibitory concentration.

3.3. MMP-1 저해 활성

각각의 시험물질로 배양한 세포의 배양액을 수거하여 MMP-1 농도를 측정된 결과는 Figure 3과 같다. Tumor necrosis factor alpha (TNF-α)를 처리하지 않은 군(control)과 처리한 군(+TNF-α)은 각각 81.82 ng/mL, 94.57 ng/mL의 MMP-1을 생산하여, TNF-α에 의해 활성화된 MMP-1의 양이 통계학적으로 유의성 있게 증가하였음을 확인하였다($p < 0.05$). 또한 TNF-α를 처리하지 않고 오미자 발효물만을 처리한 군(SCF)에서 MMP-1의 양이 83.3 ng/mL으로 나타나 TNF-α를 처리하지 않은 군(control)과 유의적인 차이를 나타내지 않았다. 오미자 발효물 처리 후 TNF-α를 처리한 군(SCF)의 경우에는 83 ng/mL로 나타나 TNF-α만을 처리한 군과 비교하여 MMP-1의 활성을 유의적으로 저해하는 효과를 보였다($p < 0.05$). 인체 내에서 생성되는 MMP-1은 콜라겐에 특이적으로 작용하는 protease로서 MMP-1의 저해제들은 MMP-1의 활성을 억제하여 콜라겐 분해를 감소시키며, 피부조직의 탄력을 유지하고 주름생성을 예방할 수 있는 것으로 알려져 있다[26]. 또한 전의 연구에서 오미자 추출물로 제조한 로션을 중년여성에게 사용하였을 경우 주름개선 효과가 있다는 임상적인 연구가 보고되고 있고 오미자 발효물에 대한 보고는 아직 없는 실정이다[27]. 본 실험에서 오미자 발효물은 MMP-1의 활성을 감소시키는 결과를 얻었다. 따라서 오미자 발효물의 MMP-1의 활성 억제 메커니즘에 대한 연구는 향후 더 진행되어야 할 것으로 사료된다.

3.4. 엘라스틴 분해효소(Elastase) 저해 활성

오미자 발효물의 엘라스틴 분해효소 저해 활성에 대한 결과는 Table 1과 같다. 오미자 발효물을 첨가한 경우 엘라스틴 분해 효소의 50% 저해농도(IC₅₀)은 36.4 μg/mL으로 나타났고, 양성 대조군인 EGCG의

50% 저해농도는 25.3 μg/mL으로 나타났다. 많은 식물체들의 엘라스틴 분해효소 저해 활성에 대한 연구는 보고되었다[3,28]. 또한 그러나 오미자 발효물의 엘라스틴 분해효소 저해 활성은 보고되어 있지 않다. 따라서 오미자 발효물 중에 활성을 나타내는 단일 화합물을 찾는 연구를 더 진행해야 할 것이다.

4. 결 론

오미자를 유산균으로 발효하여 본 연구에서 세포독성이 없으면서 콜라겐 생합성능과 주름개선 효과를 나타내는 것을 확인하였다. 오미자 발효물은 100 μg/mL의 농도에서 피부섬유아세포에 대해 세포독성을 나타내지 않았다. 또한 Type 1 프로콜라겐 생합성량은 오미자 발효물에서 높게 나타났으며, MMP-1 저해 활성 및 엘라스틴 분해 효소 저해 활성도 높게 나타났다. 따라서 오미자 발효물은 세포독성이 없으면서 피부주름개선 효과를 나타내는 물질이 함유된 것으로 생각되며, 더 많은 연구가 앞으로 진행되어야 할 것으로 생각된다.

Reference

1. L. Rittie and G. J. Fisher, UV-light-induce signal cascades and skin aging, *Ageing Res. Rev.*, **1**, 705 (2002).
2. K. J. Park, S. H. Park, and J. K. Kim, Anti-wrinkle activity of *Lindera obtusiloba* extract, *J. Soc. Cosmet. Scientists Korea*, **35**(4), 317 (2009).
3. J. Y. Moon, E. Y. Yim, G. P. Song, N. H. Lee, and C. G. Hyun, Screening of elastase and tyrosinase inhibitory activity from Jeju Island plants, *EurAsia J. BioSci.*, **4**, 41 (2010).

4. M. T. Hsieh, M. L. Tsai, W. H. Peng, and C. R. Wu, Effects of *Schizandrae fructus* on cycloheximide-induced amnesia in rats, *Phytother. Res.*, **13**, 256 (1999).
5. D. S. Molokovskii, V. V. Davydov, and V. V. Tiulenev, The action of adaptogenic plant preparations in experimental alloxan diabetes, *Probi. Endokrinol.*, **35**, 82 (1987).
6. N. Nishiyama, P. J. Chu, and H. Saito, A herbal prescription, S-113m, consisting of biota, ginseng and *Schizandra* improves learning performance in senescence accelerated mouse, *Biol. Pharm. Bull.*, **19**, 388 (1996).
7. M. Zhu, K. F. Lin, R. Y. Yeung, and R. C. Li, Evaluation of the protective effects of *Schizandra chinensis* on phase I drug metabolism using a CCl₄ intoxication model, *J. Ethnopharmacol.*, **67**, 61 (1999).
8. K. I. Kim, J. H. Nam, and T. W. Kwon, On the proximate composition, organic acid and anthocyanins of Omija, *Schizandra chinensis* Baillon, *Korean J. Food Sci. Technol.*, **5**, 178 (1973).
9. J. S. Lee and S. W. Lee, The studies of composition of free sugar, fatty acid and nonvolatilitic organic acid in part of Omija (*Schizandra chinensis* Baillon), *Korean J. Dietary Culture*, **4**, 177 (1989).
10. H. J. Shon, J. Y. Bock, S. O. Bail, and Y. H. Kim, Determination of lignan compounds in fruits of *Schizandra chinensis* Baillon by capillary-GC (FID), *J. Korean Agric. Chem. Soc.*, **32**, 350 (1989).
11. H. C. Yang, J. M. Lee, and K. B. Song, Anthocyanins in cultured Omija (*Schizandra chinensis* Baillon) and its stability, *Korean Soc. Agric. Chem. Biotechnol.*, **25**, 35 (1982).
12. M. E. Stiles, Biopreservation by lactic acid bacteria, *Antonie van Leeuwenhoek*, **70**, 331 (1996).
13. M. E. Sanders and J. Huis in't Veld, Bringing a probiotic-containing functional food to the market: microbiological, product, regulatory and labeling issues, *Antonie van Leeuwenhoek*, **76**, 293 (1999).
14. R. I. Dave and N. P. Shah, Viability of yoghurt and probiotic bacteria in yoghurts made from commercial starter cultures, *Intern. Dairy J.*, **7**, 31 (1997).
15. S. E. Gilliland and M. L. Speck, Instability of *L. acidophilus* in yoghurt, *J. Dairy Sci.*, **60**, 1394 (1977).
16. S. R. Gang, K. J. Min, and Y. C. Kim, The inhibitory effects of *Saururus chinensis* water extract on skin wrinkle in hairless mice, *J. Kor. Soc. Cosm.*, **15**, 1389 (2009).
17. J. Y. Lee and B. J. An, Whitening and Anti-wrinkle effects of *Prunus persica* Flos, *J. Appl. Biol. Chem.*, **53**, 154 (2010).
18. S. H. Kim, S. C. Jun, and Y. H. Hong, Anti-wrinkle and whitening effects of cosmetics using black garlic extract on skin care, *J. Kor. Soc. Cosm.*, **15**, 1041 (2009).
19. M. C. Kwon, C. H. Kim, H. S. Kim, A. Q. Syed, B. Y. Hwang, and H. Y. Lee, Anti-wrinkle activity of low molecular weight peptides derived from the collagen isolated from *Asterias amurensis*, *Korean J. Food Sci. Technol.*, **39**, 625 (2007).
20. Z. X. Lin, J. R. S. Hoult, and A. Raman, Sulforhodamine B assay for measuring proliferation of a pigmented melanocyte cell line and its application to the evaluation of crude drugs used in the treatment of vitiligo, *J. Ethnopharmacol.*, **66**, 141 (1999).
21. A. M. Parfitt, L. S. Simon, A. R. Villanueva, and S. M. Krane, Procollagen type I carboxy-terminal extension peptide in serum as a marker of collagen biosynthesis in bone. Correlation with iliac bone formation rates and comparison with total alkaline phosphatase, *J. Bone Miner. Res.*, **2**, 427 (1987).
22. B. Gross and C. Lapiere, Collagenolytic activity in amphibian tissue a tissue culture assay, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **54**, 1197 (1962).
23. Y. Kim, H. Uyama, and S. Kobayashi, Inhibition effects of (+)-catechinaldehyde polycondensates on proteinases causing proteolytic degradation of extracellular matrix, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **320**, 256 (2004).
24. H. J. Choi, J. H. Song, Y. J. Ahn, S. H. Baek, and

- D. H. Kwon, Antiviral activities of cell-free supernatants of yogurts metabolites against some RNA viruses, *Eur. Food Res. Technol.*, **228**, 945 (2009).
25. M. H. Jin, E. T. Jeong, M. S. Kim, H. J. Song, T. J. Kwak, S. G. Park, and S. M. Lee, The effects of polydatin isolated from *polygonum cuspidatum* on melanogenesis and wrinkle formation, *J. Soc. Cosmet. Scientists Korea*, **37**(4), 327 (2011).
26. H. Nagase and J. F. J. Woessner, Matrix metalloproteinases, *J. Biol. Chem.*, **274**, 21491 (1999).
27. J. H. Lee, J. S. Moon, and T. B. Choe, The effects of cosmetics containing *Schizandra chinensis* extracts on the middle aged women's skin, *Kor. Soc. Cosm.*, **19**, 634 (2013).
28. T. S. Thring, P. Hili, and D. P. Naughton, Anti-collagenase, anti-elastase and anti-oxidant activities of extracts from 21 plants, *BMC Complement. Altern. Med.*, **9**, 27 (2009).