Journal of the Korean Applied Science and Technology
Vol. 37, No. 6. December, 2020. 1597~1604
ISSN 1225-9098 (Print)
ISSN 2288-1069 (Online)
http://dx.doi.org/10.12925/jkocs.2020.37.6.1597

베타시트 구조가 도입된 폴리아미노산 유도체의 피부활성에 관한 연구

신성규[1,*] · 한사라[1,*] · 정나슬[1] · 지윤숙[2] · 정재현[1,†]

[1]숭실대학교 화학공학과, 대학원생
[2]국민대학교 생명나노화학과, 학부생
[1,†]숭실대학교 화학공학과, 교수
(2020년 12월 2일 접수: 2020년 12월 18일 수정: 2020년 12월 21일 채택)

Physiological activities of poly(amino acid)'s derivatives with β-sheet structure on the skin

Sung Gyu Shin[1,*] · Sa Ra Han[1,*] · Naseul Jung[1] · Yoonsook Ji[2] · Jae Hyun Jeong[1,†]

[1]*Department of Chemical Engineering, Soongsil University, 369, Sangdo-ro, Dongjak-gu, Seoul 06978, Republic of Korea*
[2]*Department of Bio & Nano Chemistry, Kookmin University, 77, Jeongneung-ro, Seongbuk-gu, Seoul 02707, Republic of Korea*
(Received December 2, 2020; Revised December 18, 2020; Accepted December 21, 2020)

요 약 : 본 연구에서는 발린분자가 접목된 고차구조 폴리아미노산 자기조립체를 활용하여 피부성장인자의 피부활성에 관한 연구를 진행하였다. 친수성 폴리아미노산 유도체에 베타-시트를 형성할 수 있는 발린분자를 접목하여, 접목도(degree of substitution)와 중합도(degree of polymerization)가 조절된 양친성 폴리아미노산을 합성하였다. 고차구조 폴리아미노산과 함께 자기조립 되었을 때 상피세포성장인자는 프로콜라겐 생합성이 20% 향상되었고 티로시나아제 활성 저해능은 6.5배 증가함을 확인하였다. 고차구조 폴리아미노산 자기조립체를 활용하면 다양한 단백질 성장인자의 구조 안정성을 확보하여 효과적인 피부개선이 가능한 기능성 화장품 물질뿐만 아니라 나아가 의약품으로도 사용 가능하리라 기대된다.

주제어 : 베타시트구조, 폴리아미노산, 자기조립체, 단백질 전달체, 표피성장인자

Abstract : In this study, a synthesized poly(amino acid) self-assembly grafted with valine molecules was investigated on the skin activity of skin growth factors. The amphiphilic grafted poly(amino acid) derivatives were successfully synthesized by varying of degree of substitution(DS) and polymerization (DP) with valine molecules forming a β-sheet structure. Then, the pro-collagen biosynthesis of EGF(epidermal growth factor) was improved by 20%, and the inhibitory ability of tyrosinase activity

†Corresponding author
(E-mail: nfejjh@ssu.ac.kr)
* The first two authors contributed equally to this work.

was increased by 6.5 times by self-assembling of EGF with the poly(amino acid)s having β-sheet structures. This strategy of preparing protein self-assembly with poly(amino acid) derivatives will help improve the stability of protein growth factors and use it in medicals as well as cosmeceuticals through skin improvement.

Keywords : β-sheet structure, Poly(amino acid), Self-aggregates, Protein delivery, Epidermal growth factor

1. 서 론

미용과 치료가 동시에 가능한 코스메슈티컬(cosmeceuticals) 화장품에 대한 연구가 활발히 진행되고 있다[1-2]. 이러한 코스메슈티컬 화장품에는 의학적으로 검증된 다양한 기능성 성분들이 활용되는데, 최근에는 상피세포성장인자(EGF, epidermal growth factor) 및 섬유아세포성장인자(FGF, fibroblast growth factor) 등 피부성장인자가 주목받고 있다[3]. 예를 들어, 상피세포성장인자는 미국 생물학자 스탠리 코핸(stanley cohen) 박사가 발견하여 1986년 노벨 생리의학상을 수상해 세계의 이목을 끈 피부성장인자로 콜라겐을 합성하는 섬유아세포의 증식을 촉진시키는 역할을 한다. 또한 세포외기질(ECM, extracellular matrix)의 생성을 조절하며 혈관 생성 및 세포주기를 정상화하여 피부세포의 주요 구성 물질 생성을 촉진하는 역할을 한다고 알려져 있다[4-10]. 그러나 피부성장인자는 일종의 단백질(protein) 분자이기 때문에 화장품 제형 제조, 유통 및 사용 시에 단백질 4차 구조가 쉽게 변성(denaturation) 되는 문제와 피부장벽을 통한 전달효율이 현저히 낮은 한계를 가지고 있다. 때문에 성장인자 단백질 분자의 구조 안정성을 높이고 전달효율을 향상시킬 수 있는 단백질 전달(protein delivery) 기술에 대한 연구가 진행되고 있다[11].

본 연구에서는 고차구조 폴리아미노산 자기조립체를 활용하여 피부성장인자의 안정성 및 전달효율을 향상시키는 연구를 진행하였다. 고차구조 폴리아미노산은 피부성장인자 단백질의 구성성분과 동일한 아미노산 기재일 뿐만 아니라, 수용액상에서 단백질 구조와 유사하게 막대 모양의 알파-헬릭스(rod-like α-helix) 또는 베타-시트(crystalline β-sheet) 형태를 갖고 자기조립체(self-assembly)를 형성한다[Fig. 1]. 구체적으로는 친수성 폴리아미노산 유도체에 베타-시트를 형성할 수 있는 발린 분자를 접목(grafted)하여, 접목도(DS, degree of substitution)와 중합도(DP, degree of polymerization)가 다른 네 종류의 양친성 폴리아미노산 분자를 합성하였다(Table 1). 수용액상에서 고차구조 폴리아미노산 분자가 베타-시트를 효과적으로 형성하기 위한 조건을 확인하였고 이를 활용하여 상피세포성장인자 전달체로의 연구를 진행하였다. 고차구조 폴리아미노산과 함께 자기조립(self-assembled) 된 상피세포성장인자의 프로콜라겐(pro-collagen) 생합성 및 티로시나아제 활성저해(tyrosinase inhibition assay) 분석을 진행하여, 성장인자의 안정성, 미백 기능성, 주름개선 효과를 확인하였다.

2. 실 험

2.1. 양친성 폴리아미노산 합성

본 연구에서 전구체로 사용한 poly(succinimide)(PSI)는 아스파르트산(L-aspartic acid, Sigma)을 산 촉매(phosphoric acid, Sigma) 하에서 180 ℃로 중합하여 얻었다. 합성한 PSI에 적정량의 에탄올아민(ethanolamine, Sigma)을 첨가하고, 에틸렌디아민 (ethylenediamine, Sigma)을 과량으로 첨가하여 연속적으로 반응시키는 과정을 통해, 아민기가 도입된 poly(2-hydroxyethyl aspartamide)(PHEA-NH_2)를 합성하였다. PHEA-NH_2을 개시제(macroinitiator)로 하여, 적정량의 발린 NCA(valine N-carboxyanhydride)을 각각 첨가한 후 질소 환경에서 40 ℃로 15시간 동안 중합시켜, PHEA-g-oligo(L-valine)을 합성하였다(Fig.1(a))[12]. 이때, 발린 NCA는 발린 분자(L-valine, Sigma)에 트리포스겐(triphosgene, Sigma)을 첨가하여 Fuchs-Farthing 합성법으로 얻었다[13]. 합성한 PHEA-g-oligo(L-valine)는

Trifluoroacetic acid(TFA, Sigma)에 녹인 후, 증류수(DI water)에 도입하여 자기조립을 유도하였다. 이후, 투석(dialysis, MWCO; 3500 g/mol)하여 잔존 용매를 제거하고 동결건조를 통해 최종적으로 발린 분자와 류신 분자가 접목된 양친성 고분자를 파우더형태로 얻었다.

2.2. 고차구조 폴리아미노산 유도체와 상피세포 성장인자 자기조립체 형성

고차구조 폴리아미노산 유도체(PHEA-g-Oligo(L-valine))은 Table 1에서 보는 것 같이, 발린 분자 접목도(DS)가 4.5, 6.2, 10.9 mol%, 중합도(PD)가 6, 10, 6 개를 갖도록 합성하였고 각각 PHEA-g-OVal1, PHEA-g-OVal2, PHEA-g-OVal3으로 명명하였다. 베타-시트가 가장 잘 형성된 폴리아미노산 유도체(PHEA-g-OVal2)를 사용하여 상피세포성장인자와 함께 자기조립체를 형성시켰다. 수용액상의 폴리아미노산 유도체(4.0 μg/ml)에 각 지정된 농도로 용해되어 있는 상피세포성장인자를 첨가하여 3000 rpm으로 5.0분간 볼텍스(vortex)로 교반하여 자기조립체를 형성시켰고 이 자기조립체를 PHEA-g-OVal@EGF라고 명명하였다.

2.3. 세포독성(cell viability) 평가

합성한 고차구조 폴리아미노산 유도체의 세포독성 평가(cell viability)는 MTT 분석을 통해 확인하였다[14]. 먼저, PHEA-g-OVal을 2.0 ppm과 20 ppm 농도로, 10% FBS와 1% P/S가 포함된 medium 200(M200, Gibco) 배양액에 첨가하여 Human umbilical vein endothelial cells (HUVEC, Gibco) 세포를 배양하였다. 이후 5 mg/ml 농도의 MTT (3-(4,5-Dimethylthiazol-2-yl)-2,5- diphenyltetrazoliumbromide, Sigma) 용액을 배양액 대비 10% (v/v)를 첨가한 후, 37 ℃, 5% CO_2 환경에서 4 시간 동안 배양했다. 증류수와 dimethylformamide (DMF, Sigam, USA)를 1:1로 혼합한 용액에 sodium dodecyl sulfate(SDS, Sigma, USA)를 20% (w/w) 농도로 제조한 lysis buffer를 첨가하여, 생성된 formazan을 2 시간 동안 추출하였다. ELISA를 사용하여 570 nm에서 각 시료의 optical density를 측정하였다. 위 MTT 시험은 빛을 차단한 암실에서 이루어졌으며, 동시에 광학 현미경(optical microscopy, Nikon Eclipse TS100, Japan)으로 세포를 관찰하였다.

2.4. *In vitro* Tyrosinase 활성 저해능 평가

PHEA-g-OVal 자기조립체와 EGF를 봉입한 PHEA-g-OVal@EGF의 tyrosinase 저해 활성 측정을 위해서 2 mM L-tyrosine 50 μl과 0.1 M sodium phosphate buffer (pH 6.8) 50 μl를 다양한 농도의 시료와 혼합하여 37 ℃에서 30 min간 incubation하였다. 100 U/ml의 mushroom tyrosinase 50 μl를 첨가하고 37 ℃에서 10 min간 incubation하였다. Microplate reader로 475 nm에서 흡광도를 측정하여 tyrosinase 저해 활성을 평가하였고 양성 대조군으로 arbutin을 사용하여 비교하였으며 다음의 공식에 의해 나타내었다[15].

$$Tyrosinase\text{저해율}(\%) = \left[1-\left(\frac{C-D}{A-B}\right)\right]\times 100$$

여기서, A는 tyrosinase를 처리하여 반응한 시료 무처리군의 흡광도, B는 tyrosinase를 처리하지 않은 시료 무처리군의 흡광도, C는 tyrosinase를 처리하여 반응한 시료 처리군의 흡광도, D는 tyrosinase를 처리하지 않은 시료 처리군의 흡광도를 나타낸다.

2.5. 프로콜라겐 생합성 분석을 위한 진피층 모사

피부 진피층(dermis layer)을 모사하기 위해 생체 유래 물질인 콜라겐과 진피섬유아세포(human dermal fibroblast, HDFn, Gibco, USA)를 사용하였다. 먼저, 콜라겐 용액(collagen type I, 6.1 mg/ml, Advance Biomatrix Inc., USA)에 일정량의 완충용액(reconstituting buffer solution)을 첨가하여 콜라겐 젤 용액(pre-gel solution)으로 제조하였다. 콜라겐 겔 용액 1.0 ml 당 세포 1.0 × 10^5 cells 농도로 HDFn을 도입하고 transwell에 0.5 ml씩 담지한 뒤 37 ℃에서 2 시간 동안 incubation 하여 완전히 젤화시켰다. 이후 Low serum growth supplement(LSGS, Gibco)와 1.0% (v/v) penicillin-streptomycin(P/S, Biowest, France)을 첨가한 Dulbecco modified eagle medium(DMEM, Biowest, France) 배양액으로 37 ℃, 5% CO_2 환경에서 배양하여 인공피부 진피 모델로 활용하였다.

2.6. 프로콜라겐(pro-collagen) 생합성량 분석

진피섬유아세포의 콜라겐 생합성을 촉진시키는

대표적인 성분으로 EGF를 선정하여 pro-collagen 생합성 촉진에 대한 연구를 진행하였다. Pro-collagen 생합성 실험은 진피층을 7일간 배양 후, 10 ppm의 EGF를 봉입한 PHEA-g-OVal@EGF을 첨가하여 12, 24, 48 시간 동안 pro-collagen 생합성량을 분석했다. 이때, 혈청용액(Serum)이 없는 순수배양액을 사용하였다. pro-collagen 생합성 분석은 pro-collagen type 1 C-peptide (PIP) EIA kit (Takara Bio Inc.)을 활용하여 in vitro enzyme immunoassay 방법으로 수행하였다. 진피층의 배양액을 monoclonal 항체 용액과 혼합하여 anti-PIP monoclonal 항체 plate에 넣고 37 ℃에서 3 시간 동안 반응을 진행시켰다. PBS로 세척 후, 기질용액(TMBZ solution, 3,3',5,5'-tetramethylbenzidine)을 첨가하여 상온에서 15 min 동안 발색화 하였다. 이후, 1 N H_2SO_4 용액을 첨가하여 안정화시키고 ELISA(Thermo Scientific, USA)를 사용하여 450 nm에서 각 시료의 optical density를 측정하였다[16].

2.7. 통계적 분석

모든 실험은 3회 이상 실시한 후, 표준편차 및 오류막대(error bar)를 포함한 실험결과로 나타내었으며, Turkey's multiple comparison test (T-test)을 활용하여 신뢰수준 $p < 0.05$일 때 통계적 유의차가 있다고 평가하였다.

3. 결과 및 고찰

3.1. 고차구조 폴리아미노산 유도체와 상피세포 성장인자 자기조립체 형성

고차구조 폴리아미노산 유도체를 상피세포성장인자의 전달체로 적용하기 위해서 접목도 및 중합도를 조절한 PHEA-g-oligo(L-valine) 분자를 합성하였다[Table 1]. PHEA-g-oligo(L-valine) 분자는 수용액상에서 발린 분자의 접목도(DS)가 증가하면 구형에서 라멜라 형태로 자기조립체의 구조변이(structural transition)가 되었다. 반면에 발린 분자의 중합도(DP)가 증가하면 수용액상에서 베타-시트 형성비(% of β-sheet)가 증가하였다. Table 1에서와 같이, PHEA-g-OVal2와 PHEA-g-OVal3을 비교해 보면 전체 도입된 발린 분자 개수는 비슷하지만 중합도가 큰 PHEA-g-OVal2가 베타-시트 형성이 더 잘 되었음을 CD(circular dichroism) 분석을 통해 확인할 수 있었다. 실제로 상피세포성장인자(EGF)는 2차 구조(secondary structure) 즉 α-helix가 2.9%, β-sheet가 30.6%, β-turn이 2.4% 포함하여 4차 구조의 단백질 형태를 유지하고 있다. 때문에 EGF의 4차 구조를 안정화하여 효과적인 전달체로 적용하기 위해, 합성한 고차구조 폴리아미산 유도체 중 베타-시트가 가장 잘 형성된 PHEA-g-OVal2를 선정하였다. 수용액상에서 PHEA-g-OVal2(4.0 μg/ml)에 각 지정된 농도로 용해되어 있는 상피세포성장인자를 첨가하여 3000 rpm으로 5.0분간 볼텍스(vortex)로 교반하여 자기조립체를 형성시켰고 이 자기조립체를 PHEA-g-OVal@EGF라고 명명하였다(Fig. 1(b)). PHEA-g-OVal@EGF 수용액상에서 수백 마이크로미터 크기의 안정한 자기조립체를 형성하였다.

3.2. 세포독성(cell viability) 평가

살아있는 세포를 FBS와 P/S가 첨가된 M200 배양액에 PHEA-g-OVal을 2.0 및 20 ppm 농도로 첨가하여 37 ℃, 5.0% CO_2 환경에서 6, 24, 48시간 배양하고 MTT 분석을 진행하였다

Table 1. Molecular Characterization of PHEA -g-OVal

Sample	DS[a]	DP[b]	Number[c]	Diameter[d]	CAC[e]	$f_{(w)}$[f]
PHEA	-	-	-	Highly soluble	-	100
PHEA-g-OVal1	4.5	6	54	53	2.5×10^{-1}	80
PHEA-g-OVal2	6.2	10	120	60	1.5×10^{-1}	64
PHEA-g-OVal3	10.9	6	126	89	1.0×10^{-1}	62

[a]Degree of substitution (succinimide units amine groups, mol %) determined based on ^{1}H-NMR.
[b]Degree of polymerization (number of valines and leucines) determined based on ^{1}H-NMR.
[c]Number of amino acid molecules per a polymer chain.
[d]Effective diameter (nm) obtained by DLS.
[e]Critical aggregation concentration(mg/mL) determined by pyrene assay.
[f]Hydrophilic mass ratio to total mass, $f_{(w)} = \frac{a_w}{a_w+b_w} \times 100$, where a_w is the mass of hydrophilic part, and b_w is the mass of hydrophobic part.

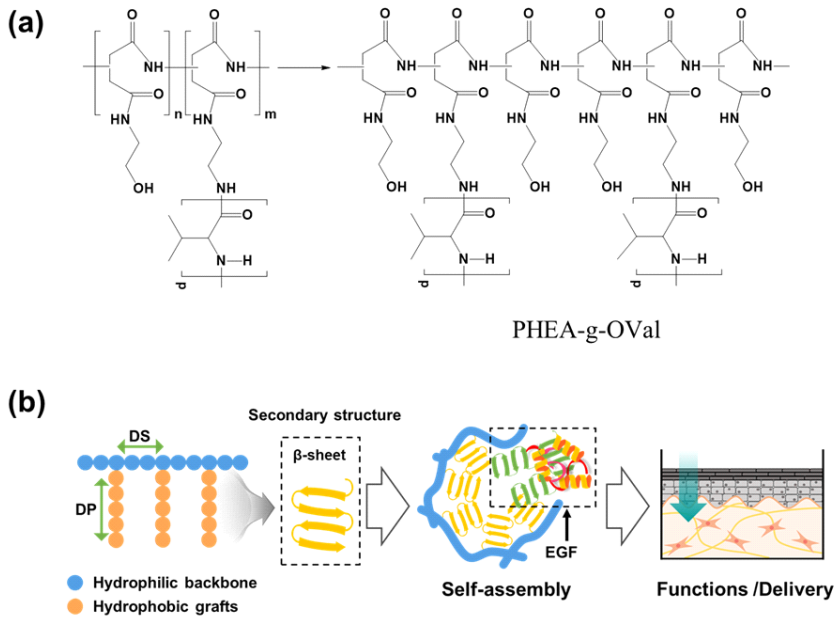

Fig. 1. (a) Molecular structure of poly(2-hydroxyethyl aspartamide) grafted with poly L-valine (PHEA-g-Oval). (b) The schematic image is self-assembly of PHEA-g-OVal with epidermal growth factor.

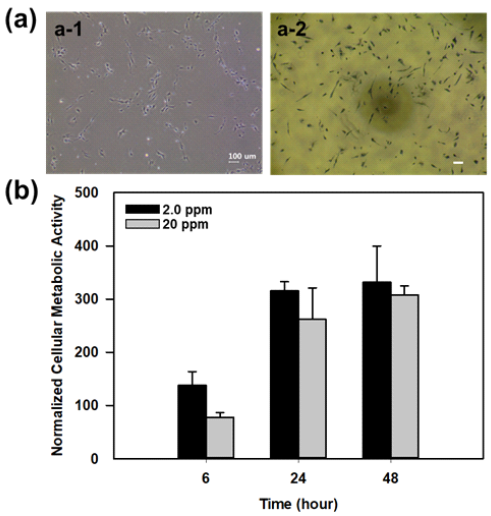

Fig. 2. (a-1) The bright image is captured of cells cultured. (a-2) Phase-contrast image of cells positively stained by MTT reagents. (b) Normalized cellular metabolic activity as normalized to viability characterized in pure medium; PHEA-g-OVal.

(Fig. 2a). Fig. 2b는 PHEA-g-OVal의 농도에 따른 상대적인 세포 대사활동 정도에 대한 결과를 보여준다. 순수배양액의 대사활동 정도를 기준으로 합성된 고분자의 농도에 따라 각각의 값을 표준화하였다. 그 결과 자기조립체 농도가 증가함에도 세포 대사활동의 정도는 순수배양액 대비 큰 변화가 없으며 시간이 지남에 따라 점차적으로 증가하였다. PHEA-g-OVal을 2.0 ppm 도입하였을 때 6, 24, 48 시간 경과 후에 각각 1.4, 3.2, 3.3배 증가하였고, 20 ppm 도입하였을 때에는 6 시간 경과 후에 대사활동이 다소 감소하였으나 24, 48 시간 경과 후에는 2.7, 3.2배 증가한 것을 확인하였다. 이를 통해, 실험에 사용한 농도 범위에서는 고차구조 폴리아미노산 분자가 세포에 무해한 생체친화적인 분자임을 확인할 수 있었다.

3.3. *In vitro* Tyrosinase 활성 저해능 평가

Tyrosinase는 피부 기저층에 존재하는 melanocyte의 melanosome에서 L-tyrosine과 3,4-dihydroxyphenylalanine(DOPA)을 기질로 하여 피부의 색소 성분인 melanin을 생합성하는 핵심 효소이다. PHEA-g-OVal 자기조립체 내부

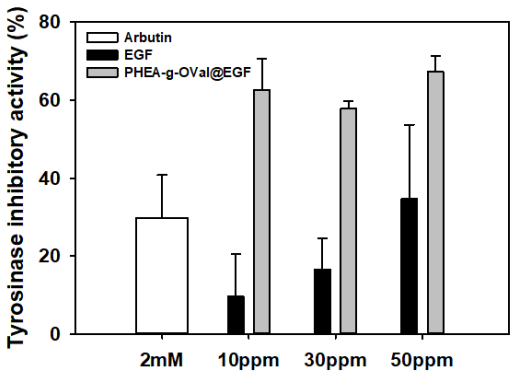

Fig. 3. Tyrosinase inhibitory activities of arbutin as a control, EGF and PHEA-g-OVal@EGF treated at various concentrations.

에 EGF를 담지한 PHEA-g-OVal@EGF의 tyrosinase 저해활성을 확인하여 미백기능성을 평가하고자 하였다. PHEA-g-OVal 자기조립체 내부에 EGF가 10, 30, 50 ppm의 농도로 봉입된 PHEA-g-OVal@EGF의 미백활성을 확인하였을 때, 각각 62.6, 57.8, 67.3% 저해율을 확인하였다 (Fig. 4). 이는 양성대조군인 알부틴의 저해율 29.8%와 비교할 때 각각 2.1, 1.9, 2.3 배의 저해율로 알부틴보다 뛰어난 미백활성을 나타냄을 알 수 있었다. 또한 PHEA-g-OVal 자기조립체가 EGF 전달체로서의 역할을 확인하기 위해 PHEA-g-OVal을 포함하지 않은 EGF 10, 30, 50ppm 농도로 미백활성을 평가하였다. EGF 10, 30, 50 ppm 농도의 저해율은 각각 9.6, 16.5, 34.7%으로 PHEA-g-OVal@EGF 저해율에 비해 다소 떨어짐을 알 수 있었다. PHEA-g-OVal과 PHEA-g-OVal@EGF의 tyrosinase 저해율은 EGF 10, 30, 50 ppm 농도에 따라 각각 6.5, 3.5, 1.9배로 저해율의 차이를 나타냈고 EGF가 10 ppm 포함된 PHEA-g-OVal@EGF와 EGF가 30 ppm 포함된 PHEA-g-OVal@EGF의 저해율은 각각 62.6, 57.8%로 EGF농도가 증가 시 저해율이 오히려 감소함을 알 수 있었다. 이는 자기조립체 내부에 EGF 10 ppm 농도까지는 농도의 존적으로 포집효율이 증가할 수 있으나 30 ppm의 농도에서는 오히려 포집효율이 떨어져 EGF가 안정하게 피부에 전달되지 못하고 구조가 무너지면서 저해율이 떨어지는 것이라 할 수 있다. EGF가 50 ppm 함유된 PHEA-g-OVal@EGF의 저해율은 10 ppm 포함된 PHEA-g-OVal@EGF의 저해율보다 다소 높지만 자기조립체 내부에 포집되지 않은 성장인자가 일부 저해율을 나타내는 것이라 할 수 있다. 또한 일반적으로 화장품의 원료로 사용 시, EGF 최대 함량이 10 ppm으로 지정되어 있기 때문에 10ppm 이상 농도에서 미백활성 결과는 큰 의미가 없다고 하겠다. 때문에 10 ppm의 상피세포성장인자를 함유한 PHEA-g-OVal@EGF에서 자기조립나노입자가 효과적으로 전달체의 역할을 수행함을 알 수 있다.

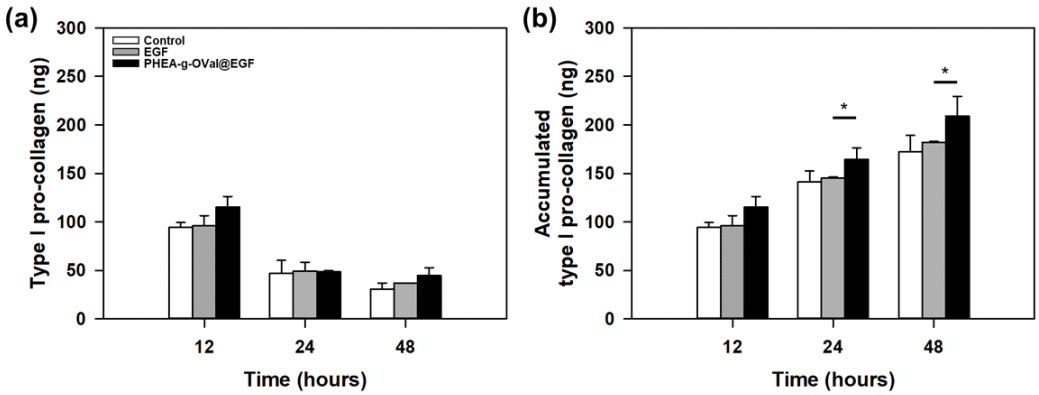

Fig. 4. The pro-collagen measured at each dermis layers was normalized to the pro-collagen characterized in pure medium at 12 hours. The statistical analysis of the data was derived from t-test (*p 〈 0.05).

3.4. 프로콜라겐 생합성량 분석 결과

생체 유래 물질인 콜라겐과 진피섬유아세포를 사용하여 피부 진피층을 모사하였다. 먼저, 콜라겐 용액에 일정량의 완충용액을 첨가하여 콜라겐 젤 용액으로 제조하였다. 콜라겐 겔 용액 1.0 ml 당 세포 1.0 × 10^5 cells 농도로 섬유아세포를 도입하고 2 시간 동안 배양하여 완전히 젤화(collagen gelation)시켰다. 이후 진피세포 배양액으로 37 ℃, 5% CO_2 환경에서 배양하여 인공피부 진피 모델로 활용하였다. 이렇게 재조합된 진피층을 활용하여 본 연구에서 합성한 PHEA-g-OVal의 도입으로 EGF의 프로콜라겐 생합성 촉진 영향을 확인하였다. 진피층은 10 ppm 농도의 EGF와 4 ppm 농도의 PHEA-g-OVal가 첨가된 PHEA-g-OVal@EGF의 배양액으로 12, 24, 48 시간 동안의 프로콜라겐 생합성량을 분석하였다. Fig. 4(a)는 순수배양액과 EGF, EGF가 도입된 PHEA-g-OVal@EGF으로 생합성된 프로콜라겐을 시간에 따라 나타낸 결과이다. 그리고 시간에 따른 프로콜라겐 생합성량을 합산하여 최종적으로 생합성된 프로콜라겐을 Fig. 4(b)에 도시하였다. 순수배양액 그룹은 시간에 따라 94, 141, 172 ng까지 프로콜라겐 합성량이 증가하였다. 10 ppm 농도의 EGF를 처리한 경우 96, 145, 182 ng로 순수배양액 보다 프로콜라겐 합성량은 증가하였으나, 이는 유의미한 차이로 보기가 어렵다. 그러나 4 ppm 농도의 고차구조 폴리아미노산 유도체(PHEA-g-OVal)가 도입된 10 ppm 농도의 EGF 자기조립체(PHEA-g-OVal@EGF)의 경우, 115, 164, 209 ng로 프로콜라겐 합성량이 순수 EGF 보다 월등히 증가하였다. 특히 48시간에서 순수배양액 대비 약 20% 상승하였으며, 동시간에서 5%의 향상을 보여주었던 EGF 그룹을 상회하는 결과를 얻을 수 있었다. 이를 통해 상피세포성장인자를 진피 내부에 침투 및 전달시, 본 연구에서 고안된 PHEA-g-OVal은 효과적인 전달 수단이 됨을 알 수 있다.

4. 결 론

미용과 치료가 동시에 가능한 코스메슈티컬 화장품에 피부성장인자가 효과적으로 활용되기 위해서는 단백질 분자의 구조 안정성을 높이고 전달효율을 향상시킬 수 있는 전달 기술이 필요하다. 본 연구에서는 수용액상에서 고차구조 폴리아미노산 분자가 베타-시트를 효과적으로 형성하기 위한 조건을 확인하였고 이를 활용하여 상피세포성장인자 전달체로서 피부활성에 관한 연구를 진행하였다. 고차구조 폴리아미노산 자기조립체를 활용하여 다양한 단백질 성장인자의 구조 안정성을 확보한다면 피부개선이 가능한 기능성 화장품 물질 뿐만 아니라 나아가 의약품으로도 사용 가능하리라 기대된다.

감사의 글

본 연구는 보건복지부(과제고유번호: HP20C0210), 중소벤처기업부(과제번호: S2666591) 및 한국연구재단(NRF-2020R1F1A1071004, 2017M1A2A2086515)의 지원을 받아 수행된 연구임으로 이에 감사드립니다.

References

1. O. Song, C. Antille, G. Kaya, J. H. Saurat, “Retinoids in cosmeceuticals”, *Dermatologic Therapy*, Vol. 19 pp. 289-296, (2006).
2. I. C. Kim, “Study on Cosmeceutical Activities from Fermented Ginseng Berry Extracts”, *Journal of the Korean Applied Science and Technology*, Vol. 37, No. 1 pp. 28-37, (2020).
3. H. H. Hadmed, R. F. Castillo, “Cosmeceuticals: peptides, proteins, and growth factors”, *Journal of Cosmetic Dermatology*, Vol. 15 pp. 514-519, (2016).
4. J. K. Choi, J. H. Jang, W. H. Jang, J. Kim, I. H. Bae, J. Bae, Y. H. Park, B. J. Kim, K. M. Lim, J. W. Park, “The effect of epidermal growth factor (EGF) conjugated with low-molecular-weight protamine (LMWP) on wound healing of the skin”, *Biomaterials*, Vol.33 pp. 8579-8590, (2012).
5. Y. J. Jeon, Y. H. Kim, Y. J. Jeon, W. W. Lee, I. G. Bae, K. W. Yi, S. H. Hong, “Increased synthesis of hyaluronic acid by

enhanced penetration of CTP-EGF recombinant in human keratinocytes", *Journal of Cosmetic Dermatology*, Vol. 18, No.5 pp. 1539-1545, (2019).

6. J. U. Shin, M. K. Kang, H. S. Yoo, "Development of Targeted Anti-Cancer Agents Employing Epidermal Growth Factor", *Polymer Science and Technology*, Vol. 28, No.2 pp. 139-145, (2017).
7. N. R. Johnson, Y. Wang, "Controlled delivery of heparin-binding EGF-like growth factor yields fast and comprehensive wound healing", *Journal of Controlled Release*, Vol. 166 pp. 124-129, (2013).
8. P.P. Ongusaha, J.C. Kwak, A.J. Zwible, S. Macip, S. Higashiyama, N. Taniguchi, L. Fang, S.W. Lee, "HB-EGF is a potent inducer of tumor growth and angiogenesis", *Cancer Research*, Vol. 64 pp. 5283-5290, (2004).
9. S. Dogan, S. Demirer, I. Kepenekci, B. Erkek, A. Kiziltay, N Hasirci, S. Müftüoglu, A. Nazikoglu, N. Renda, U. D. Dincer, A. Elhan, E. Kuterdem, "Epidermal growth factor-containing wound closure enhances wound healing in nondiabetic and diabetic rats", *International Wound Journal*, Vol. 6, No. 2 pp.107-115, (2009).
10. J. Hardwicke, D. Schmaljohann, D. Boyce, D. Thomas, "Epidermal growth factor therapy and wound healing-past, present and future perspectives", *The Surgeon*, Vol. 6, No. 3 pp. 172-177, (2008).
11. G. Secchi, "Role of protein in cosmetics", *Clinics in Dermatology*, Vol.26 pp. 321-325, (2008).
12. I. W. Park, N. s. Jung, S. R. Han, S. J. Oh, H. J. Kim, J. H. Jeong, "β-sheet mediated self-assembly of poly (aspartamide) grafted oligo(L-valine)", *Polymer(Korea)*, Vol. 43, No. 4 pp. 1-5, (2019).
13. W. H. Daly, D. Poche, "The preparation of N-carboxyanhydrides of α-amino acids using bis(trichloromethyl)carbonate", *Tetrahedron Letters*, Vol. 29, No. 46 pp. 5859-5862, (1988).
14. M. S. Um, "The Evaluation on the Effectiveness of Zingiber mioga extract as a Cosmetic Material through Verification of Cosmeceutical Activations", *Journal of the Korean Applied Science and Technology*, Vol. 37, No. 5 pp. 1088-1099, (2020).
15. S. Y. Kim, M. H. Lee, S. N. Park, "Evaluations of antioxidative activity and whitening effect of extracts from different parts of cosmos bipinnatus", *Journal of the Korean Applied Science and Technology*, Vol. 27, No. 4 pp. 559-567, (2010).
16. J. Byun, S. G. Shin, S. R. Han, S. W. Cho, J. W. Lim, J. H. Jeong, "Analysis of procollagen biosynthesis of functional peptides utilizing stiffness controlled artificial skin dermis", *Journal of Society of Cosmetic Scientists of Korea*, Vol. 44, No. 4 pp. 419-425, (2018).