

## 고려엉겅퀴 추출물의 사람 섬유아세포에 있어서 자외선으로 유도된 MMP-1 발현 저해와 피부 탄력 개선 효과

심관섭<sup>†</sup> · 김진화 · 이동환 · 이범천\* · 이근수 · 표형배

한불화장품(주) 기술연구소, \*Department of Biochemistry and Molecular Biology, Dalhousie University  
(2007년 7월 21일 접수, 2007년 8월 2일 채택)

### The Inhibition of UVA-induced Matrix Metalloproteinase-1 in Human Dermal Fibroblasts and the Improvement of Skin Elasticity by *Cirsium setidens* Extract

Gwan Sub Sim<sup>†</sup>, Jin Hwa Kim, Dong Hwan Lee, Bum Chun Lee\*, Geun Soo Lee, and Hyeong Bae Pyo

R&D Center, Hanbul Cosmetics Co. Ltd., 72-7, Yongsung-ri, Samsung-myun, Umsung-kun, Chungbuk 369-834, Korea

\*Dalhousie University, Canada

(Received July 21, 2007; Accepted August 2, 2007)

**요약** 본 연구에서는 고려엉겅퀴 추출물의 항산화 효과, 사람섬유아세포에 자외선에 의해 유도된 MMP-1 발현에 대한 영향 및 피부탄력 개선효과에 대하여 연구하였다. 고려엉겅퀴 추출물의 DPPH radical과 superoxide anion radical 소거효과는 처리 농도가 증가함에 따라 농도 의존적으로 소거효과를 나타냈으며, 각각 1 mg/mL에서 87.47 %와 61.71 %로 DPPH radical과 superoxide anion radical을 소거하여 우수한 항산화 효과를 나타내었다. 고려엉겅퀴 추출물의 지질과산화 억제효과는 100 µg/mL 농도에서 95.54 %의 지질과산화 저해효과를 나타내었다. 또한, 자외선 조사에 의해 사람 섬유아세포에서 증가되는 MMP-1의 단백질 발현은 고려엉겅퀴 추출물을 100 µg/mL 농도로 처리하였을 때 54.69 % 감소하였다. 피부의 탄력 개선 효과를 알아보기 위해 고려엉겅퀴 추출물을 500 µg/mL 함유한 O/W 에멀전을 이용한 임상실험에서 피부의 탄력 개선 효과를 확인하였다. 본 연구를 통하여 고려엉겅퀴 추출물은 항산화 효과와 자외선으로부터 생성되는 MMP-1의 발현을 저해하고 피부의 탄력을 개선함으로써 항노화 소재로서의 응용가능성을 확인하였다.

**Abstract:** In this study, we measured the anti-oxidative activity of *Cirsium setidens* and investigated its effect on UVA-induced MMP-1 expression in human dermal fibroblasts. And then we examined possible improvement in skin elasticity by topical treatment with fomular including *Cirsium setidens* extract. The ethanol extract of *C. setidens* showed free anion radical scavenging effect (87.47 % at 1 mg/mL) and superoxide anion radical scavenging effect (61.71 % at 1 mg/mL) in the xanthine/xanthine oxidase system, respectively. At the concentration of 100 µg/mL, *C. setidens* extract showed 95.54 % inhibition on lipid peroxidation of linoleic acid. UVA-induced MMP-1 expression in human dermal fibroblasts was reduced to 54.69 % by treatment with 100 µg/mL of *C. setidens* extract. A human clinical study, in which oil-in-water emulsion with *C. setidens* extract was topically applied, showed significant increase in skin elasticity. These results suggest that the *C. setidens* extract can be effective anti-aging ingredient for cosmetics applications.

**Keywords:** *Cirsium setidens*, antioxidation, MMPs, human dermal fibroblast, skin elasticity

## 1. 서 론

피부노화를 일으키는 원인은 다양하며 이에 대한 이론도 다양하게 제시되고 있으나 그 요인에 따라 크게 두 가지로 구분할 수 있는데, 첫째는 나이가 들에 따라 나타

나는 노화 즉, 피부의 구조적 변화와 생리적인 기능이 감소하는 자연노화(내인성노화, intrinsic aging)이며 둘째는 자외선, 주변 환경 등 누적된 외부자극에 의한 광노화(photoaging)로 구분된다[1-4]. 노화의 현상을 세포생물학적 관점에서 접근한 최근의 연구결과들을 보면, 자외선, 흡연 등에 의해 발생한 유해산소(oxygen free radical)와 콜라젠 분해효소(collagenase)가 중요한 역할을 하는 것을

<sup>†</sup> 주 저자 (e-mail: gssim@hanbul.co.kr)

알 수 있다. 유해산소는 세포막에 있는 기질을 공격하여 이를 산화시키게 되고 산화된 지질에 의해 세포막은 손상되어 정상적인 피부세포의 역할이 제한된다. 콜라겐 분해효소의 증가로 인한 콜라겐 섬유의 변성 및 파괴는 외적 노화에 의한 주름 발생에 매우 중요한 원인이다. 피부에 직접적으로 영향을 주는 자외선은 피부의 표피와 진피층에 깊숙하게 투과하며, 산화제로 작용하여 활성산소종을 생성한다. 이와 같이 자외선으로부터 생성된 활성산소종은 실질적으로 피부의 효소적, 비효소적 항산화 방어 체계의 불균형을 초래하여 피부는 산화상태 쪽으로 유리하게 기울어지고 세포 성분들에 대한 손상을 야기시켜 결과적으로 주름을 생성시키는 원인물질로 알려져 있다 [5,6]. 생체 내에서 콜라겐과 같은 세포외기질(extracellular matrix, ECM)의 합성과 분해는 적절하게 조절되나 노화가 진행되면서 그 합성이 감소하며 자외선 조사에 의해 다양한 기질 단백질 분해 효소(matrix metalloproteinase, MMPs)의 발현이 촉진된다[7]. 이러한 콜라겐을 분해하는 효소는 그 종류가 다양하며 가장 많이 알려져 있는 것이 콜라겐 type I을 분해하는 collagenase (MMP-1)이다. 자외선 조사 후 MMPs가 발현되면 세포는 항상성을 유지하기 위해 저해제도 생성되는데 이를 tissue inhibitors of metalloproteinase (TIMPs)라고 한다 [5,7]. 그러나 MMPs와 TIMPs사이의 생물학적 평형상태는 UV조사나 호르몬 불균형, 염증반응과 정상적인 노화 과정에 의해 파괴된다. 그러므로 노화방지 연구에 있어 MMPs의 조절기작에 관한 연구가 많아지고 있으며, 기존에 알려진 retinoic acid, retinol 유도체, 녹차 추출물과 그 주성분인 (-)-epigallocatechin-3-gallate (EGCG)뿐만 아니라 최근에는 콩재비꽃, 때죽나무, 아욱재비꽃, 권백, 계혈등, 설련 등의 다양한 천연물들이 광노화에 매우 효과적인 방어 소재로 알려지고 있다[8-13].

고려엉겅퀴(*Cirsium setidens* Nakai)는 국화과에 속하는 다년생 초본으로 주로 강원지역에 분포하는 우리나라 특산식물의 하나로 부종, 출혈, 각혈 및 고혈압의 치료에 이용되고 있다[14,15]. *Cirsium* 종(species)에서 분리한 화합물인 flavonoids[16-18], aplotaxane[19], furan 유도체 [20] 등에 대하여 보고되었으나, 고려엉겅퀴에 대한 식물 화학물질(phytochemical)과 약리효과에 대한 보고는 거의 없었다. 최근에 Lee 등의 보고에서는 고려엉겅퀴로부터 cycloartane-type triterpene hydroperoxide, acyclic di-terpene, sesquiterpene lactone, fatty acid, acylglycosyl sterol, monogalactosyldiacyl glycerol, sterol glycoside 등의 물질과 이에 대한 암세포의 저해효과를 확인하였다[21].

본 연구에서는 고려엉겅퀴 추출물의 항산화 효과, 사람 섬유아세포에서 MMP-1 발현 저해 효과 및 이를 이용한 화장품의 피부탄력 개선효과를 평가하여 항노화 화장품

소재로 이용하고자 하였다.

## 2. 실험 재료 및 방법

### 2.1. 시료의 추출

본 실험에서 사용한 고려엉겅퀴(*Cirsium setidens* Nakai)는 국내 약초시장에서 구입하였다. 그늘진 곳에서 건조한 고려엉겅퀴 100 g을 분쇄하여 70 % 에탄올 1 L로 3 h 동안 환류하면서 2회 반복 추출하였다. 이를 감압 농축, 동결 건조하여 그 분말을 실험에 사용하였다.

### 2.2. DPPH에 의한 자유라디칼 소거 효과

항산화 활성은 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH, Aldrich, USA)를 이용하여 시료의 라디칼 소거효과(radical scavenging effect)를 측정하는 Blois법[22]을 활용하였다. 0.1 mM DPPH (in methanol) 용액에 동일량의 고려엉겅퀴 추출물을 가하여 vortex mixer로 잘 혼합한 후 실온에서 10 min 동안 반응시킨다. 이후 spectrophotometer를 이용하여 565 nm에서 흡광도를 측정하였다.

### 2.3. Superoxide Radical 소거 효과

Xanthine/xanthine oxidase 반응에서 형성된 superoxide anion radical 소거효과는 nitroblue tetrazolium (NBT) 방법에 의해 측정하였다[23]. 0.05 M Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> buffer (pH 10.2)에 3 mM xanthine, 3 mM EDTA, 0.72 mM NBT와 고려엉겅퀴 추출물을 가한 후 25 °C에서 10 min 동안 반응하였다. 이 반응액에 0.25 U/mL xanthine oxidase를 가하고 25 °C에서 25 min 동안 반응 후 superoxide anion radical 소거효과를 565 nm에서 흡광도를 측정하였다.

### 2.4. 지질과산화 억제효과

Linoleic acid (2.85 mg/mL)와 Tween 20 (2.85 mg/mL)을 40 mM phosphate buffer (pH 7.4)에 혼합하여 반응기질로 사용하였다. 과산화 유도는 기질용액과 시료를 혼합하여 80 °C에서 120 rpm으로 5 h 반응 후 37 °C에서 24 h 반응시켰다. 과산화가 유도된 시료에 산화정지를 위해 3.6 % BHA와 300 μL TBA-TCA용액(thiobarbituric acid, 15 % trichloroacetic acid, 0.25 N HCl)을 혼합하여 boiling water bath에서 15 min 동안 반응 후 냉각하고 0.3 mL chloroform을 첨가한 후 2,000 rpm에서 15 min 동안 원심분리하여 그 상등액을 532 nm에서 흡광도를 측정하였다[24].

### 2.5. 세포 배양

신생아의 포피조직에서 분리한 human dermal fibroblasts (HDF)는 modern tissue technology (MTT, Korea)

로부터 구입하였다. 구입한 HDF를 DMEM/F12 (3:1) 배지에 10 % fetal bovine serum (FBS), 1 % penicillin-streptomycin 을 첨가하여 37 °C, 5 % CO<sub>2</sub> 조건하에 배양하고 trypsinization으로 계대 배양한 뒤 6 ~ 10 세대 세포를 실험에 이용하였다.

## 2.6. 세포 생존률 측정

3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide (MTT) 정량은 Mosmann[25]의 방법을 변형하여 실시하였다. HDF를  $2 \times 10^4$  cells/well 농도로 96-well plate의 well에 고려영경귀 추출물을 투여하여 CO<sub>2</sub> 배양기에서 24 h 배양하였다. MTT 용액(5 µg/mL)을 첨가하고 4 h 후 원심분리하여 상등액을 제거하고 100 µL acid-isopropanol (0.04 N HCl in isopropanol)를 첨가한 후 570 nm에서 microplate reader (Model ELX 800, BIO-TEK Instruments Inc, USA)로 흡광도를 측정하였다.

## 2.7. UVA 조사 및 시료의 처리

HDF를  $1.5 \times 10^5$  cells/mL의 농도로 35 mm dish에 배양, 약 80 %의 confluency에 도달할 때까지 배양한다. UV조사 전에 배양배지를 제거한 후 PBS로 세척하여 배지 내 serum을 제거 후 6.3 J/cm<sup>2</sup> UVA (UVA F15T8 BLB, Sankyo Denki, Japan)를 조사하였다. UVA 조사 후 배양배지는 FBS를 첨가하지 않은 DMEM/F12 (3 : 1) 배지에 고려영경귀 추출물을 투여하여 24 h 배양하였다.

## 2.8. MMP-1 발현저해 측정(ELISA법)

HDF에 UVA를 조사 후 시료를 처리하여 24 h 배양한 배지를 96-well plate에 분주하여 4 °C에서 overnight하여 coating하였다. PBS-T (phosphate buffered saline + 0.05 % Tween 20)로 3회 세척하고 3 % bovine serum albumin (BSA)/PBS로 37 °C, 1 h 동안 blocking한 후 monoclonal anti-MMP-1 (mouse)을 1:3000으로 blocking solution (3 % BSA)에 희석하여 150 µL씩 분주하고 37 °C, 90 min 동안 반응시켰다. Anti-mouse IgG alkaline phosphatase conjugate를 1:3000으로 blocking solution에 희석하여 150 µL씩 분주하고 37 °C, 90 min 동안 반응시킨 후 PBS-T로 세척한 다음 diethanolamine buffer에 1 mg/mL pNPP (p-nitrophenyl phosphate)를 포함한 기질 용액 150 µL를 넣어 실온에서 30 min 동안 반응시켰다. 3 N NaOH 50 µL를 첨가하여 반응을 완전히 중지시킨 후 microplate reader을 사용하여 405 nm에서 흡광도를 측정하였다.

## 2.9. 피부 탄력 개선 효과

연구대상은 평소 피부 질환 및 알러지가 없는 10명의

피검자(여자 7명, 남자 3명)를 대상으로 실시하였으며, 연령 분포는 29세 ~ 39세, 평균연령은 37세였다. 고려영경귀 추출물 500 µg/mL이 적용된 시험군과 함유되지 않은 시험군(placebo)을 얼굴의 눈가(crow's feet) 부위의 좌우측을 구분하여 이중 맹검법으로 매일 2회 도포하였다. 시험 초기(baseline), 2 weeks, 4 weeks, 6 weeks에 항온항습실(온도 20 ~ 22 °C, 상대습도 40 ~ 60 %)에서 피검자는 세안 후 1 h 동안 피부를 안정화한 다음 피부 탄력을 측정하였다. 피부의 탄력도는 Cutometer SEM 474 (Courage+Khazaka, Germany)로 눈가 부위를 측정하였으며, 측정 시 음압은 500 mbar, 흡입 시간은 2 s, 반복 측정 횟수는 5회 측정하였다. 탄력개선효과 결과 분석은 Cutometer의 측정 매개변수 중 피부점탄성( $U_v/U_e$ )과 탄력회복력( $U_r/U_f$ )를 이용하여 측정, 분석하였다.

## 2.10. 자료분석 및 통계처리

실험결과는 평균 ± 표준편차로 표기하였고 통계적 유의성은 Student's *t*-test로 하였으며 *p* 값이 0.05 미만일 때 통계적으로 유의하다고 판단하였다.

## 3. 결과 및 고찰

### 3.1. DPPH radical 소거 효과

DPPH는 free radical의 안정된 모델로 반응 중 DPPH의 감소는 free radical의 소거반응이 진행됨을 알 수 있고 지질과산화의 초기 반응의 억제정도를 예측할 수 있다. 유해산소라 불리는 활성산소는 세포 생체막의 구성성분인 불포화 지방산을 공격하여 지질과산화 반응을 일으켜 체내 과산화 지질을 축적함으로써 인해 생체 기능이 저하되고 동시에 노화 및 성인병 질환을 유발하는 것으로 알려져 있으며 다양한 종류의 식물성분 및 추출물에 의한 항산화 작용이 보고되어 있다[26,27]. 고려영경귀 추출물의 항산화 효과는 DPPH를 이용하여 항산화 작용을 측정하였다. 고려영경귀 추출물을 10, 100, 1000 µg/mL의 농도로 처리한 경우 각 DPPH radical 소거능은 39.41 %, 75.21 %, 87.47 % 로 우수한 free radical 소거효과를 나타내었다. 양성 대조군으로는 항산화 효과가 알려진 3-*t*-butyl-4-hydroxyanisole (BHA)을 이용하여 고려영경귀 추출물의 항산화 효과를 비교하였다. 그 결과 BHA는 100 µg/mL에서 79.27 %의 DPPH radical을 소거하였으며, 고려영경귀 추출물은 투여 농도 의존적으로 DPPH radical 소거작용을 나타냈다(Table 1).

### 3.2. Superoxide radical 소거 효과

Xanthine/xanthine oxidase의 효소에 의한 superoxide anion radical 저해작용은 superoxide anion radical 소거작

**Table 1.** Antioxidative Activities of *Cirsium setidens* Extract

Samples	Concentration ( $\mu\text{g/mL}$ )	DPPH radical scavenging effect (%)	Superoxide anion radical scavenging effect (%)
<i>C. setidens</i>	1000	87.47 $\pm$ 2.32	61.71 $\pm$ 3.56
	100	75.21 $\pm$ 3.17	45.28 $\pm$ 2.11
	10	39.41 $\pm$ 1.98	13.65 $\pm$ 1.01
BHA <sup>a)</sup>	100	79.27 $\pm$ 1.69	51.38 $\pm$ 2.43

a) BHA (3-*t*-butyl-4-hydroxyanisole)

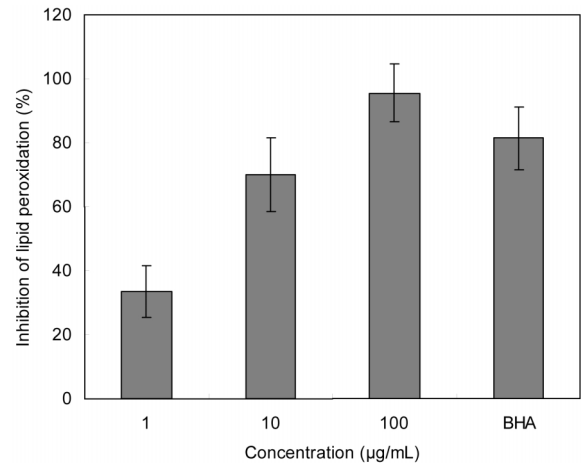
용과 xanthine oxidase 효소 저해에 의해 나타난다. Xanthine oxidase에 의해 형성되는 superoxide anion radical의 생성저해의 결과는 Table 1에 나타내었다. 양성 대조군으로 BHA를 이용하여 고려엉겅퀴 추출물의 superoxide anion radical 소거효과를 비교하였다. 그 결과 고려엉겅퀴 추출물은 투여 농도 의존적으로 superoxide anion radical 소거작용을 나타내 10, 100, 1,000  $\mu\text{g/mL}$ 의 농도로 처리한 경우 각 superoxide anion radical 소거능은 13.65%, 45.28%, 61.71%로 우수한 superoxide anion radical 소거효과를 나타내었다. 양성대조군인 BHA는 100  $\mu\text{g/mL}$ 에서 51.38%의 superoxide anion radical을 소거하였다.

### 3.3. 지질과산화 억제효과

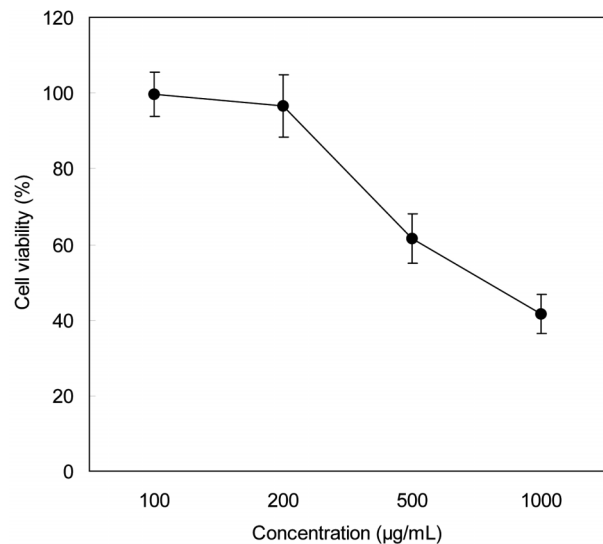
생체막이나 지단백질로서 존재하는 지질은 체내에서 발생하는 free radical의 공격을 받아 여러 종류의 과산화물을 형성하는데, 이 과산화물들과 분해산물들은 반응성이 높아 주변의 생체분자들의 구조와 기능을 변화시켜 여러 가지 만성질환을 초래하게 되는 것으로 알려지고 있다[28]. 이러한 지질의 과산화 억제를 측정하기 위하여 linoleic acid를 이용한 2-thiobarbituric acid (TBA)법을 이용하여 고려엉겅퀴 추출물의 지질과산화 억제효과를 확인하였다(Figure 1). 고려엉겅퀴 추출물을 1, 10, 100  $\mu\text{g/mL}$ 의 농도로 처리한 경우 각 지질과산화 억제효과는 33.46%, 69.91%, 95.54%로 우수한 지질과산화 억제효과를 나타내었다. 양성대조군인 BHA는 100  $\mu\text{g/mL}$ 에서 81.41%의 지질과산화 억제효과를 나타내었다.

### 3.4. 세포독성

고려엉겅퀴 추출물의 세포독성에 미치는 농도를 조사하여 세포실험에 사용될 농도 범위 결정을 위해서 MTT assay를 시행하였다. HDF세포에 대한 고려엉겅퀴 추출물의 세포 독성을 측정할 결과, 고려엉겅퀴 추출물은 200  $\mu\text{g/mL}$  이하의 농도로 처리시 세포생존율이 90% 이상으로 나타났으며, 그 이상의 농도에서는 생존율이 저하되었다(Figure 2). IC<sub>50</sub>값은 791  $\mu\text{g/mL}$ 로 나타났다.



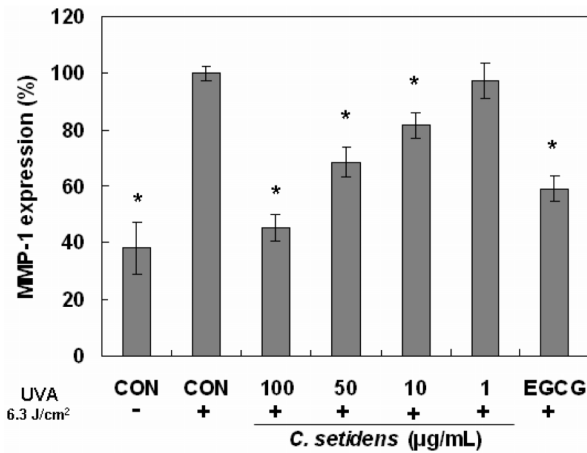
**Figure 1.** Inhibition of lipid peroxidation of *Cirsium setidens* extract. Indicated amounts dried extract were presented in 5 mL of linoleic acid emulsion (0.04 M, pH 7.4). The control was the linoleic acid emulsion without extract. BHA (100  $\mu\text{g/mL}$ ) was used as a positive control. The results are expressed of triplicate samples with S.D.



**Figure 2.** Relative cell viability of *Cirsium setidens* extract on human dermal fibroblasts by MTT assay. The cells were treated with various concentration of *Cirsium setidens* for 24 h. The results were expressed as the average of triplicate samples with S.D.

### 3.5. ELISA를 이용한 MMP-1 발현 저해 효과

피부의 광노화에 있어 중요한 역할을 담당하고 있는 MMP-1의 발현은 UVA에 의해 세포에서 JNK/p38 활성도가 증가하고 전사인자인 activator protein-1 (AP-1)의 활성도가 증가되는 신호전달경로를 통해 MMP-1 발현을

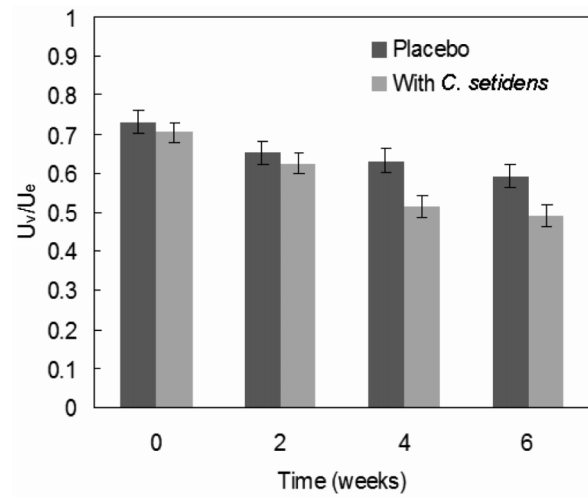


**Figure 3.** The effect of *Cirsium setidens* extract on the production of MMP-1 by the irradiated human dermal fibroblast. The cells were treated with various concentration of the extract for 24 h. The results were expressed as the average of triplicate samples with S.D. \* $p < 0.05$  compared with control (UVA irradiated). EGCG (10  $\mu$ M).

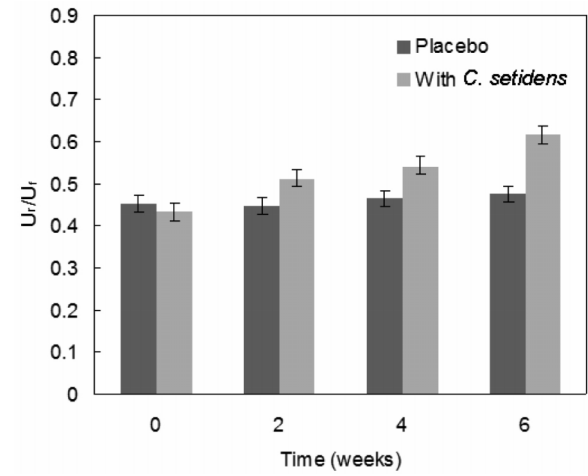
증가시켜 피부에서 교원질의 결핍을 초래한다고 알려져 있다[29]. 이러한 UVA에 의해 발현이 증가되는 MMP-1이 고려엉겅퀴 추출물에 의한 영향을 알아보기로 섬유아세포에 6.3 J/cm<sup>2</sup> UVA를 조사하고 고려엉겅퀴 추출물을 첨가하여 24 h 배양한 후 MMP-1 발현저해 효과를 enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA)을 통해 알아보았다. 그 결과 고려엉겅퀴 추출물은 농도 의존적으로 MMP-1 발현저해 효과를 나타내었다. 고려엉겅퀴 추출물을 1, 10, 50, 100  $\mu$ g/mL의 농도로 처리한 경우 MMP-1 발현저해 효과는 각각 2.67, 18.41, 31.48, 54.69 %로 나타났으며, UV에 의한 AP-1과 NF- $\kappa$ B의 활성화 증가를 억제하여 MMPs 발현 저해 효과가 보고된[30] (-)-epigallocatechin-3-gallate (EGCG)의 경우는 10  $\mu$ M에서 40.85 % 발현저해 효과를 나타내었다(Figure 3).

### 3.6. 피부 탄력도 측정 결과

피부의 탄력개선 효과를 평가하기 위하여 고려엉겅퀴 추출물이 500  $\mu$ g/mL 첨가된 O/W에멀전을 이용하여 피부의 탄력도를 측정하였다. Figure 4(a)에 나타난 것과 같이 피부 점탄성을 나타내는  $U_v/U_e$  측정 시 고려엉겅퀴 추출물을 첨가한 제품을 도포한 결과 도포 시간이 지날수록 측정값이 낮아져 탄력이 개선되는 것을 확인하였다. 또한, 피부의 탄력 회복력( $U_r/U_f$ )은 Figure 4(b)에 나타난 것과 같이 도포 6 weeks 후 탄력회복력이 개선되는 것을 확인할 수 있었다. 따라서, 고려엉겅퀴 추출물은 피부에 도포 시 피부점탄성 및 탄력회복력 개선효과가 우수한



(a)



(b)

**Figure 4.** The effect of *Cirsium setidens* extract on skin elasticity.  $U_v/U_e$  is ratio between delayed distension and immediate distension.  $U_r/U_f$  is ratio between immediate reaction and final distension.

것으로 나타났다.

## 4. 결 론

본 연구에서는 고려엉겅퀴 추출물에 의한 항산화효과, 사람 섬유아세포에서 UVA에 의해 증가하는 MMP-1발현에 미치는 영향 및 임상실험에서의 피부탄력 개선효과를 관찰하였다. 고려엉겅퀴 추출물의 DPPH radical과 superoxide anion radical 소거효과는 처리농도가 증가함에 따라 농도 의존적으로 소거효과를 나타냈으며, 각각 1 mg/mL에서 87.47 %, 61.71 %로 DPPH radical과 superoxide anion radical을 소거하여 우수한 항산화 효과를 나

타내었다. 또한 고려엉겅퀴 추출물의 지질과산화 저해 효과는 100  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 에서 95.54 %로 지질과산화 효과도 우수하게 나타났다. 사람 섬유아세포에서 UVA에 의해 발현이 증가되는 MMP-1의 발현저해 효과는 고려엉겅퀴 추출물 100  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 에서 54.69 %로 발현저해효과를 나타내었다. 또한 고려엉겅퀴 추출물을 500  $\mu\text{g}/\text{mL}$  함유한 O/W 에멀전을 이용한 임상실험에서는 피부 점탄성 및 탄력회복력 개선효과가 우수하게 나타났다. 결론적으로 고려엉겅퀴 추출물은 항산화효과, UVA에 의한 MMP-1의 발현을 효과적으로 저해하고 피부의 탄력을 개선해주는 것으로 보아 우수한 항노화 소재로써 이용될 수 있을 것으로 사료된다.

## 참 고 문 헌

1. A. Oikarinen, The aging of skin: chronoaging versus photoaging, *Photodermatol. Photoimmunol. Photomed*, **7**, 3 (1990).
2. B. A. Gilchrest, Skin aging and photoaging: an overview, *J. Am Acad. Dermatol.*, **21**, 610 (1989).
3. J. Uitto, M. J. Fazio, and D. R. Olsen, Molecular mechanism of cutaneous aging, *J. Am Acad. Dermatol.*, **21**, 614 (1989).
4. A. M. Klingman and R. M. Laver, Cutaneous aging: the differences between intrinsic aging and photoaging, *J. Cutan. Aging Cosmet. Dermatol.*, **1**, 5 (1988).
5. S. K. Karin, B. Peter, W. Jutta, H. Gernot, M. Weijian, K. Lale, M. Christian, and W. Meinhard, Photoaging of the skin from phenotype to mechanisms, *Experimen. Gerontol.*, **35**, 307 (2000).
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  $\alpha$  1(D), tropoelastin, and MMP-1 in human dermal fibroblast, *Kor. J. Invest. Dermatol.*, **8**, 23 (2001).
7. W. Meinhard, T. B. Iliana, N. Lale, M. Wenjian, A. S. Lars, R. W. Ziba, S. Jutta, and S. K. Karin, Solar UV irradiation and dermal photoaging, *J. Photochem. Photobio. B.*, **63**, 41 (2001).
8. H. I. Moon, E. J. Kim, J. K. Lee, H. K. Lee, and J. H. Chung, The effect of sativan from *Viola verecunda* A. GRAY on the expressions of matrix metalloproteinase-1 cause by ultraviolet irradiated cultured primary human skin fibroblasts, *J. Ethnopharmacology*, **104**, 12 (2006).
9. H. I. Moon, D. W. Seo, K. H. Kim, K. H. Cho, H. C. Eun, and J. H. Chung, Erythrodiol-3-acetate, pentacyclic triterpenoid from *Styrax japonica*, expressions of matrix metalloproteinase-1,2 in cultured human skin fibroblasts, *J. Ethnopharmacology*, **97**, 567 (2005).
10. H. I. Moon, J. Lee, J. H. Kwak, O. P. Zee, and J. H. Chung, Isoflavonoid from *Viola hondoensis*, regulates the expression of matrix metalloproteinase-1 in human skin fibroblasts, *Biol. Pharm. Bull.*, **28**, 925 (2005).
11. G. S. Sim, J. H. Kim, S. M. Park, B. C. Lee, Y. P. Yun, Y. H. Zhang, and H. B. Pyo, Effect of the *Selaginella tamariscina* extract on antioxidation and inhibition of matrix metalloproteinase-1 in human skin fibroblasts, *Yakhak hoeji*, **48**, 165 (2004).
12. G. S. Sim, J. H. Kim, D. H. Lee, S. M. Park, H. B. Pyo, Y. H. Zhang, and B. C. Lee, Effects of the *Spatholobi caulis* extract on antioxidation and inhibition of matrix metalloproteinase in human skin fibroblasts, *Korean J. Biotechnol. Bioeng.*, **20**, 45 (2005).
13. G. S. Sim, J. H. Kim, Y. Na, D. H. Lee, B. C. Lee, Y. H. Zhang, and H. B. Pyo, Anti-oxidative and inhibitory effect of *Saussurea involucrate* on MMP-1 in UVA-irradiated human dermal fibroblasts, *J. Soc. Cosmet. Scientists Korea*, **31**, 329 (2005).
14. T. B. Lee, Illustrated Flora of Korea, 769, Hyang Mun Sa, Seoul (1985).
15. J. G. Kim, Illustrated Natural Drugs Encyclopedia (Color Edition), **1**, 37, Nam San Dang, Seoul (1984).
16. C. N. Lim, M. Arisawa, M. Shimizu, and M. Morita, The constituents of *Cirsium japonicum* D. C. var. takaoense Kitamura. Isolation of two new flavonoids, cirsitakaoside (IV) and cirsitakaogenin (VD), *Chem. Pharm. Bull.*, **26**, 2036 (1978).
17. N. Morita, M. Fukuta, and M. Shimizu, Studies on the medicinal resources. XXIII. Flavonoids of *Cirsium* Plants (Compositae) in Japan, *Syoyakugaku Zasshi*, **18**, 9 (1964).
18. N. Morita, M. Shimizu, and M. Arisawa, Two new flavone glycosides from *Cirsium lineare*, *Phytochemistry*, **12**, 421 (1973).
19. L. P. Christensen, Aplotaxene derivatives from *Cirsium helenioides*, *Phytochemistry*, **31**, 2039 (1992).

20. Y. M. Shen and Q. Z. Mu, New furans from *Cirsium chlorolepis*, *Planta Med.*, **56**, 472 (1990).
21. W. B. Lee, H. C. Kwon, O. R. Cho., K. C. Lee., S. U. Choi., N. I. Baek, and K. R. Lee, Phytochemical constituents of *Cirsium setidens* Nakai and their cytotoxicity against human cancer cell lines, *Arch. Pharm. Res.*, **25**, 628 (2002).
22. M. S. Blois, Antioxidant determinations by the use of a stable free radical, *Nature*, **181**, 1199 (1958).
23. K. Furuno, T. Akasako, and N. Sugihara, The contribution of the pyrogallol moiety to the superoxide radical scavenging activity of flavonoids, *Biol. Pharm. Bull.*, **25**, 19 (2002).
24. A. M. Romero, M. M. Doval, M. A. Sturla, and M. A. Judis, Antioxidant properties of polyphenol-containing extract from soybean fermented with *Saccharomyces cerevisia*, *Eur. J. Lipid Sci. Technol.*, **106**, 424 (2004).
25. T. Mosmann, Rapid colorimetric assay for the cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxic assay, *J. Immun. Methods*, **65**, 55 (1983).
26. T. Hatano, Constituents of natural medicines with scavenging effects on active oxygen species-tannins and related polyphenols, *Natural Medicines*, **49**, 357 (1995).
27. H. Masaki, S. Sakaki, T. Atsumi, and H. Sakurai, Activeoxygen scavenging activity of plant extracts, *Biol. Pharm. Bull.*, **18**, 162 (1995).
28. S. H. Cho, Lipid peroxidation and nutrition, *Korean J. Lipidology*, **3**, 23 (1993).
29. J. H. Chun, S. W. Kang, J. Varani, J. Lin, G. J. Fisher, and J. J. Voorhees, Decreased extracellular signal regulated kinase and increased stress activated MAP kinase activities in aged human skin *in vivo*, *J. Invest. Dermatol.*, **115**, 177 (2000).
30. J. G. Kim, J. G. Hwang, Y. K. Cho, Y. G. Han, Y. J. Jeon, and K. H. Yang, Protective effects of (-)-epigallocatechin-3-gallate on UVA- and UVB-induced skin damage, *Skin Pharmacol. Appl. Skin Physiol.*, **14**, 11 (2001).