

한방 원료 추출물의 주름개선 효과를 통한 화장품 원료로서의 가치 평가

강금석 · 김인덕 · 권륜희 · 허예영 · 오상훈 · 김민아 · 정혜진¹ · 강환열¹ · 하배진*

신라대학교 의생명과학대학 제약공학과, ¹아마란스 화장품

Received June 20, 2007 / Accepted July 23, 2007

The Evaluation of Anti-wrinkle Effects in Oriental Herb Extract. Kum Suk Kang, In Deok Kim, Ryun Hee Kwon, Ye Young Heo, Sang Hoon Oh, Min Ah Kim, Hye Jin Jung¹, Hwan Yul Kang¹ and Bae Jin Ha*. *Department of Pharmaceutical Engineering, College of Medical Life Science, Silla University, 1-1 San, Gwaebup-dong, Sasang-gu, Busan, 617-736, Korea, ¹Amaranth Cosmetics, 1534-2, Songjeong-dong, Gangseo-gu, Busan, Korea* – The human skin is constantly exposed to environmental irritants such as ultraviolet, smoke and chemicals. Free radicals and reactive oxygen species caused by them play critical roles in cellular damage. They not only injure the skin structure but also participate in the immensely complex inflammatory reaction. Anti-wrinkle effects of the Oriental herb extracts (OHE) were evaluated by the determination of anti-oxidation, collagenase inhibition and collagen synthesis in normal human fibroblast. OHE showed antioxidative activity as high as vitamin C, trolox and DL-penicillamine. Also OHE showed promotive effect on collagen synthesis and inhibitory effect on collagenase activity. These results demonstrated that OHE could be useful as an anti-wrinkle cosmetic ingredient.

Key words – Oriental Herb, anti-wrinkle, anti-oxidation, collagen synthesis

서 론

인체의 노화과정 중 피부의 변화는 필수적이며 피부의 질을 높이는 방법의 일환이 미용이다. 미용을 통해 인체의 건강과 아름다움을 표현하는 외적 아름다움은 사회 의학적 자신감을 나타내는 방법이기도 하다[5,16,26]. 21세기 고령화 사회로의 진입에 따른 시대적 요구와 아울러 젊고 탄력적인 피부를 원하는 여성들의 수적인 증가로 화장품 업계에서 유효성과 안전성이 뛰어난 새로운 기능성 화장품, 특히 피부의 주름개선을 포함한 노화 방지용 화장품에 대한 연구 개발이 활발히 진행되고 있다[17,25]. 기능성 화장품은 지질과산화물을 억제하거나 생성된 free radical을 제거할 수 있어야 하며 collagen과 elastin의 사슬 절단과 교차결합의 변형을 억제할 수 있어야 한다.

최근에 이러한 효능이 있는 새로운 기능성 화장품의 개발에 대한 요구는 기존의 의약품 개발에 이용되어 오던 생명공학 등을 이용한 기술의 발전과 함께 천연물질인 식물성 오일, 종자류 약재, 여러 가지 한방 약재에서 collagen과 elastin을 분해하는 collagenase 및 elastase의 활성억제, 항산화 효과가 있는 물질 등에 관한 많은 보고가 있었다[2,14,19,21,22].

탄력 섬유인 collagen은 elastin과 함께 망상으로 존재하며 털을 세워주는 기모근과 함께 진피를 지지하고 있으며 지금

까지 collagen은 19가지 아형이 알려져 있고, 1500개의 아미노산으로 구성된 α -chain을 가지는 동중 또는 이중 삼중나선 구조를 형성한다[11]. 특히 진피 중에는 collagen type I, III, IV, V가 가장 많고, type V는 type I과 III의 anchor collagen으로 알려져 있으며, type I과 III은 hybrid 형태로 존재한다[23]. 이러한 collagen은 많은 섬유아세포(fibroblast)에 의해 생성되며 ECM (extracellular matrix)의 70~80%를 차지하고, 2~4%의 elastin, glycosaminoglycans, 당단백 등과 함께 ECM을 구성한다.

진피층은 90%가 collagen으로 구성되어 있어 collagen의 감소는 피부노화와 매우 밀접한 관계를 가지고 있다. Matrix metalloproteinases (MMPs)는 세포외 기질과 기저막 분해에 관여하는 여러 효소의 계통으로 구조와 기능적 특성에 따라 interstitial collagenase, stromelysin, gelatinase 및 membrane-type MMPs 등 네 개의 subfamily로 나누어진다[8,20]. MMPs는 활성중심부에 아연을 가지는 금속단백 분해효소로 생체 내에서 잠재성 전효소(zymogen) 형태로 분비된다. 효소활성을 가지기 위해서 구조적 변형이 일어나 아미노 말단 부위가 절단되어 활성화되며, 활성화된 MMPs는 2-macroglobulin이나 metalloproteinase의 tissue inhibitor와 같은 저해제에 의해 활성이 조절되고 피부의 keratinocyte, fibroblast를 포함한 대다수의 많은 세포들이 MMPs를 분비한다[9,20].

피부 노화의 특성으로는 탄력성의 감소, 주름살, 기미 또는 주근깨 등을 들 수 있고, 그 원인 중의 하나는 지질과산화에 의한 탄력섬유인 collagen과 elastin의 사슬 절단과 비정

*Corresponding author

Tel : +82-51-999-5466, Fax : +82-51-999-5684

E-mail : bjha@silla.ac.kr

상적인 교차결합 및 hyaluronic acid의 사슬 절단이다. 지질 과산화는 oxidative stress에 의해서 초래되며, 그 과정 중에서 ROS인 free radical (superoxide, hydroxyl radical, nitric oxide)이 생성된다. 이러한 free radical 생성과정은 피부에 유해한 대사적 활성화의 전 단계일 뿐만 아니라, 피부 세포 및 조직 손상을 일으킨다고 보고 되었다[15,22].

본 연구에서는 7가지 한방원료(음양곽, 복분자, 오미자, 구기자, 건지황, 사상자, 토사자)의 항산화 효과, collagen 합성 촉진 효과, collagenase 활성 저해 효과를 비교 측정함으로써 주름개선의 기능성 화장품 원료로서의 사용 가능성을 검토하였다.

재료 및 방법

실험재료

음양곽, 복분자, 오미자, 구기자, 건지황, 사상자, 토사자 열수 추출물은 부산 강서구 송정동에 소재한 아마란스 화장품에서 제공받아서 사용하였다.

추출조건은 원료에 40배의 증류수를 넣고 100°C에서 가열하여 200 g이 되게 한 뒤 40배의 증류수를 넣고 100°C에서 가열하여 200 g이 되게 하는 과정을 두 번 더 반복하였다. 그런 뒤 여액을 600 g이 되게 하고 여과하여 여액 270 g에 30 g의 propylene glycol을 가한 뒤 이것을 500 rpm에서 12분간 교반하였다. 최종 농도를 25 mg/ml로 한 뒤 이것을 희석하여 실험에 사용하였다.

Free radical 소거효과 측정

프리라디칼 소거활성 실험은 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl radical (DPPH, Sigma)을 사용하는 방법으로[10] 메탄올에 용해시킨 0.2 mM DPPH 용액 0.5 ml에 시료 각각의 농도를 메탄올에 녹여 혼합하고, 실온에서 10분간 반응시킨 후 UVIKON-XS (Bio-Tek instruments)로 517 nm에서 흡광도를 측정하였다.

리놀산 자동산화 억제효과 측정

자동산화가 잘되는 물질인 리놀산을 이용하여 자동산화를 억제하는 정도를 실험한 것으로 10 mM 리놀산 용액과 시료를 첨가한 후 4°C에서 24시간 방치하였다. 상기의 혼합액에 75% 에탄올을 첨가하여 교반한 후 30% 티오시안산암모늄 용액과 20 mM 염화 제1철을 첨가하여 3분간 방치한 후 발색시켜 UVIKON-XS로 500 nm에서 흡광도를 측정하였다[3].

Superoxide radical 소거효과 측정

2',7'-dichlorodihydrofluorescein diacetate (DCFDA) (1 mM)와 esterase (600 unit/ml)를 혼합한 뒤 37°C에서 20분간 반응시켜 2',7'-dichlorodihydrofluorescein (DCFH) solution

을 만든다. 96 well plate에 농도별 각 추출물을 넣고 50 mM 칼륨인산완충용액을 넣은 뒤 20 mM menadion과 칼륨인산완충용액으로 100배 희석한 DCFH solution을 넣고 5분간 섞어준다. Synergy HT로 485/530 nm에서 Fluorescence를 30분간 측정하였다[18].

Hydroxyl radical 소거효과 측정

DCFDA (1 mM)와 esterase (600 unit/ml)를 혼합한 뒤 37°C에서 20분간 반응시켜 DCFH solution을 만든다. 96 well plate에 농도별 각 추출물을 넣고 10 mM FeSO₄와 1.35 mM H₂O₂를 섞은 혼합액을 넣어준다. 100배 희석한 DCFH solution을 넣고 5분간 섞어준 후 Synergy HT로 485/530 nm에서 Fluorescence를 40분간 측정하였다[18].

세포배양

실험에 사용한 사람의 섬유아세포인 CCD-986SK는 한국 세포주 은행에서 분양받았으며 10%의 FBS (fetal bovine serum, Hyclone)와 1%의 penicillin-streptomycin (Hyclone)이 첨가된 DMEM (dulbecco's modified eagle medium, Hyclone)으로 37°C, 5% CO₂ 조건에서 배양하였다.

Collagen 합성 촉진효과 측정

피부의 주름개선 효과를 검증하는 collagen 합성효과를 보기 위하여 사람 섬유아세포를 96 well plate에 1×10⁴ cells/well씩 분주하여 10% FBS/DMEM 배지로 24시간 배양시킨 다음 새로운 serum free 배지로 단계적으로 희석한 시료를 가하고 다시 24시간 동안 CO₂ incubator에서 배양하였다. 배양액을 가지고 Procollagen Type I C-peptide EIA kit (Takara Bio Inc. MK101)를 이용하여 콜라겐 양을 측정하였다. antibody-POD conjugate solution 100 μl를 각 well에 첨가하고, sample이나 standard를 20 μl씩 넣은 뒤 잘 섞어서 37°C에서 3시간 방치하였다. 반응이 끝나면 내용물을 제거한 뒤 PBS 400 μl로 4번 세척하였다. 제거 후 기질용액 100 μl를 첨가하여 실온 (20-30°C)에서 15분간 반응시킨 뒤 stop solution 100 μl첨가하여 부드럽게 섞어주었다. 450 nm에서 흡광도를 측정한 후 표준 농도곡선을 작성하여 콜라겐 양을 산정하였다.

Collagenase 억제 효과 측정

MMP-1 활성 저해 효과를 측정하기 위하여 형광 분석법을 이용하였다. 실험에 사용한 기질은 형광물질이 표지된 DQ collagen, 효소 (collagenase)는 Molecular probe사 (Eugene, OR, USA)에서 시판중인 제품을 사용하였으며, 반응완충액 (0.5 M Tris-HCl, 1.5 M NaCl, 50 mM CaCl₂, 2 mM sodium azide, pH 7.6)은 10배 희석 후 사용하였다. 반응완충액에 0.25 mg/ml로 반응완충액에 용해한 DQ collagen과 시료를

첨가하고 0.5 Unit로 희석한 collagenase를 첨가하였다. 암소, 실온에서 20분 경과 후 Synergy HT (Bio-Tek instruments)를 이용하여 흡수파장 495 nm, 방출파장 515 nm로 형광 값을 측정하였고, 대조군으로서 효소액 대신 반응완충액을 효소와 동량 첨가하여 형광 값을 측정하였다.

통계처리

본 실험에 대한 모든 실험 결과는 평균치와 표준편차로 나타내었고, 통계적 유의성은 SPSS를 이용한 ANOVA로 검정하였다.

결과 및 고찰

피부는 외부환경에의 노출과 내재적 인자에 의한 자연노화에 의해서 항상 활성산소종의 생성이 왕성한 상태에 놓여지게 된다. 이미 잘 알려진 항산화제인 비타민 C, 비타민 E, 카로티노이드, 플라보노이드 등은 화장품의 영원한 소재로 이용되고 있으며 소재 개발에 있어 식의약품 모든 분야에서 안정된 천연 항산화제의 개발은 산업계의 숙원이라 할 수 있다. 우수한 항산화제로 알려진 BHA 또는 BHT는 안정하기는 하지만 합성물질로서 천연 유래 성분에 대한 바람이 남아있다. 천연물 유래의 항산화 물질의 개발과 동시에 비타민 C와 E가 갖는 안정성 문제점을 보완하는 대체 물질의 성과를 기대하고 있다.

항산화효과

피부는 외부 환경에 노출되어 있는 신체 기관으로서 자외선에 의한 영향을 직접 받는다. 자외선은 피부에 활성산소종을 유발시키고 그 결과 피부세포의 손상, 색소 침착을 증가시키게 되며 이는 직접적인 피부 노화로 이어진다.

DPPH는 화합물내 질소 중심의 radical로 radical 전자의 비편재화에 의해 안정한 구조의 radical로 존재한다. DPPH는 517 nm에서 최대 흡수를 나타내며, 환원되면 517 nm에서 흡수가 없어진다. 따라서 DPPH의 환원정도는 환원제의 환원력에 달려 있다. DPPH 실험 결과는 Fig 1에 나타내었으며 복분자> 음양곽> 토사자> 구기자> 오미자> 사삼자> 건지황 순으로 농도의존적인 DPPH 소거활성을 보였다. 표준물질인 Vit. C는 0.025 mg/ml, 0.25 mg/ml, 2.5 mg/ml에서 89%, 97% 98%의 자유라디칼 소거능을 보였다.

리놀산은 콩기름과 해바라기 오일 등 다양한 식물성 오일에서 발견되는 필수지방산으로 유화제로 사용되며, 건조와 거칠음을 방지한다. 또한 리놀산은 티로시나제의 활성력을 줄이고 멜라노솜 내의 멜라닌 고분자의 형성을 막아 멜라닌 생성을 막아주는 것으로 알려져 있지만 자동 산화되기 쉽다는 단점이 있다. 이러한 자동 산화를 억제하는 물질을 항산화 물질이라고 하며 본 실험의 결과(Fig 2)에서 나타난 바와

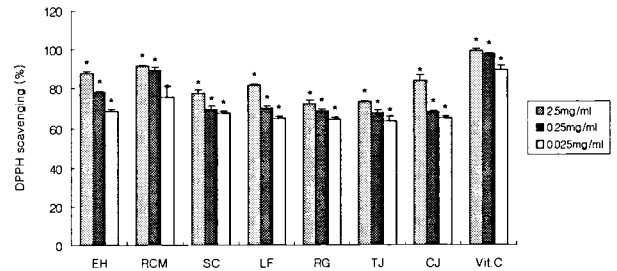


Fig. 1. Scavenging effects of Oriental herb extracts on DPPH free radical Vitamin C was used as the standard material. EH, *Epimedii Herba*; RCM, *Rubus coreanus Miquel*; SC, *Schizandra chinensis*; LF, *Lycii fructus*; RG, *Rehmannia glutinosa*; TJ, *Torilis japonica*; CJ, *Cuscuta japonica*. Significant value compared to control data, *p<0.01.

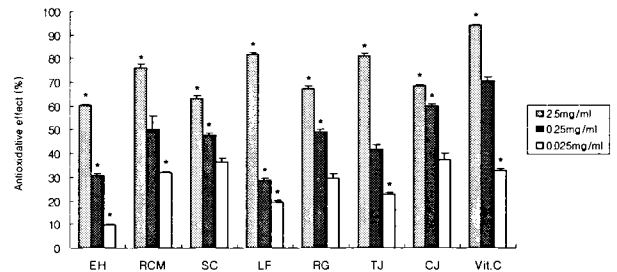


Fig. 2. inhibitory effects of Oriental herb extracts on linoleic acid autoxidation Vitamin C was used as the standard material. EH, *Epimedii Herba*; RCM, *Rubus coreanus Miquel*; SC, *Schizandra chinensis*; LF, *Lycii fructus*; RG, *Rehmannia glutinosa*; TJ, *Torilis japonica*; CJ, *Cuscuta japonica*. Significant value compared to control data, *p<0.01.

같이 구기자, 사삼자, 복분자에서 80% 정도의 자동산화 억제 효능을 보였으며 그 뒤를 이어 토사자, 건지황, 오미자, 음양곽 순으로 자동산화 억제능을 보였다.

활성산소는 생물학적 반응에서 세포내 효소 또는 대부분의 전자 운반과정에서 만들어지며 안정되지 못하여 강한 활성을 가진다. 활성산소는 분자나 이온과 다르게 1개 이상의 짝 없는 전자를 갖는 화학물질로서 여러 가지 물질대사를 영위하는데 이용되지만 자외선, 생화학적 반응 등으로 1O_2 , O_2^- , OH, hydrogen peroxide 등 free radical의 생산이 과잉되면 생체에 대하여 독성을 나타내어 여러 가지 질환의 발생 기전에 관여한다고 한다[1,6,7,12,13]. Superoxide radical 소거 실험에서는 trolox를 표준물질로 사용하였으며 실험 결과는 Fig 3에서 나타난 바와 같이 복분자> 음양곽> 오미자> 토사자> 구기자> 사삼자> 건지황 순으로 각각 78%, 65%, 58%, 52%, 51%, 40%, 33%의 활성을 보였다. 또한 농도 의존적인 효능을 보였으나 표준물질 보다는 다소 소거능이 떨어지는 것으로 나타났다. Hydroxyl radical 소거 실험(Fig 4)의 경우

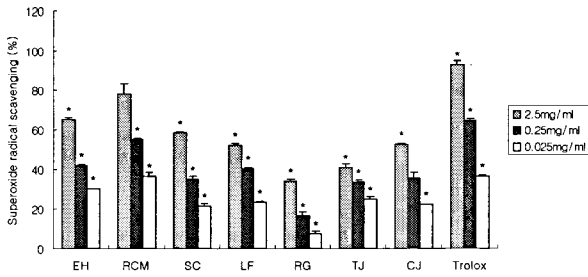


Fig. 3. Scavenging effects of Oriental herb extracts on superoxide radical Trolox was used as the standard material. EH, *Epimedii Herba*; RCM, *Rubus coreanus* Miquel; SC, *Schizandra chinensis*; LF, *Lycii fructus*; RG, *Rehmannia glutinosa*; TJ, *Torilis japonica*; CJ, *Cuscuta japonica*. Significant value compared to control data, * $p < 0.01$.

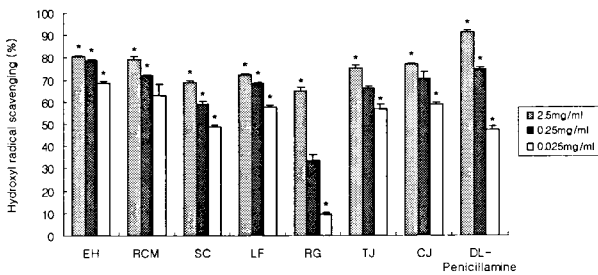


Fig. 4. Scavenging effects of Oriental herb extracts on hydroxyl radical DL-penicillamine was used as the standard material. EH, *Epimedii Herba*; RCM, *Rubus coreanus* Miquel; SC, *Schizandra chinensis*; LF, *Lycii fructus*; RG, *Rehmannia glutinosa*; TJ, *Torilis japonica*; CJ, *Cuscuta japonica*. Significant value compared to control data, * $p < 0.01$.

2.5 mg/ml의 농도에서 표준물질인 DL-penicillamine이 91%로 시료물질보다 높은 활성을 보였으나 0.25 mg/ml과 0.025 mg/ml에서는 시료물질들이 표준물질보다 더 높은 활성을 나타내어 항산화 물질로서의 가능성을 확인할 수 있었다.

주름개선효과

세포외기질의 주요 구성 성분인 collagen은 피부의 섬유아 세포에서 생성되는 주요 기질 단백질로 피부, 건(tendon), 뼈 및 치아의 유기 물질의 대부분을 형성하며, 피부의 기계적 견고성, 결합조직의 저항력과 조직의 결합력, 세포 접착의 지탱, 세포 분할과 분화의 유도 등의 기능을 가지고 있다. 이러한 collagen은 피부의 주름 형성과 밀접한 연관이 있어서 collagen이 부족할 경우 주름이 유발되며, 이는 collagen의 합성을 촉진시킬 수 있는 소재는 탄력 있는 피부를 만들어주는 화장품 원료로서 사용 가능하다고 생각하여 음양곽 외 6가지 물질로 collagen 합성 실험을 하였다. 실험결과 Fig 5에서 나타난 바와 같이 토사자와 오미자에서 40% 정도의 collagen 합성이 촉진되었고 그 외 음양곽, 복분자, 구기자, 건지황, 사상자의

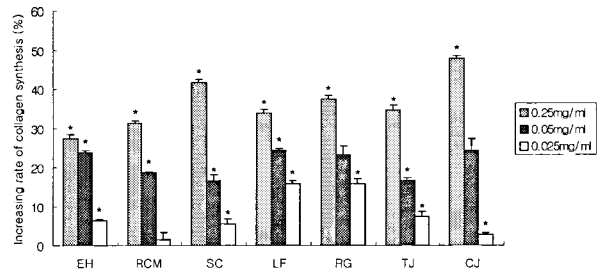


Fig. 5. Increasing effects of Oriental herb extracts on collagen synthesis EH, *Epimedii Herba*; RCM, *Rubus coreanus* Miquel; SC, *Schizandra chinensis*; LF, *Lycii fructus*; RG, *Rehmannia glutinosa*; TJ, *Torilis japonica*; CJ, *Cuscuta japonica*. Significant value compared to control data, * $p < 0.01$.

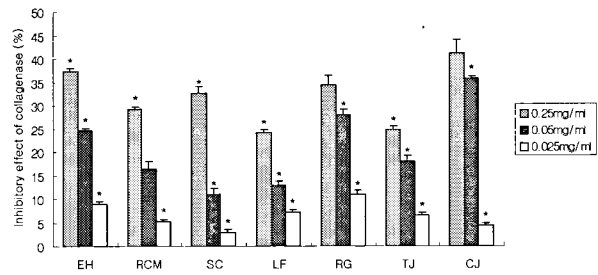


Fig. 6. Inhibitory effects of Oriental herb extracts on collagenase activity EH, *Epimedii Herba*; RCM, *Rubus coreanus* Miquel; SC, *Schizandra chinensis*; LF, *Lycii fructus*; RG, *Rehmannia glutinosa*; TJ, *Torilis japonica*; CJ, *Cuscuta japonica*. Significant value compared to control data, * $p < 0.01$.

경우 30% 안팎의 collagen 합성 촉진능을 보였다.

collagen은 결합조직의 탄력을 나타내며 진피를 구성하는 단백질의 70%를 차지한다. 이러한 collagen을 분해하는 효소는 그 종류가 다양하며 가장 많이 알려져 있는 것이 콜라겐 type I을 분해하는 MMP-1 (Matrix metalloproteinase I, collagenase)으로 이러한 MMP-1의 효소활성을 저해하는 활성을 가진 물질은 collagen을 보호하여 피부조직의 기계적 특성을 유지시켜 피부의 탄력을 증가시키는 것으로 알려져 있다[4]. 따라서 MMP-1 저해 효과가 있는 소재는 주름을 개선하고 탄력 있는 피부를 위한 화장품 개발에 유용하게 사용될 수 있다는 생각으로 7가지 물질로 MMP-1의 효소활성에 대한 저해 효과를 확인하였다. Fig 6에서 나타난 것처럼 토사자가 가장 저해율이 높게 나타났으며 그 뒤로 음양곽> 건지황> 오미자> 복분자> 구기자> 사상자 순으로 collagenase를 저해하였다.

요 약

본 연구에서는 7가지 한방원료(음양곽, 복분자, 오미자, 구

기자, 건지황, 사상자, 토사자)의 항산화 효과, collagen 합성 촉진 효과, collagenase 활성 저해 효과를 비교 평가함으로써 주름개선 기능성 화장품 원료로서의 사용 가능성을 검토하였다.

항산화 실험인 DPPH 소거 효과, 리놀산 자동산화 억제 효과, superoxide radical 소거 효과, hydroxyl radical 소거 효과에서는 음양곽, 복분자, 오미자, 구기자가 대체적으로 뛰어난 활성을 보여 항노화 화장품 소재로서의 가능성을 보여주었으며, 주름개선 실험인 collagen 합성 촉진 효과, collagenase 저해 효과에서는 건지황, 사상자, 토사자가 다른 네 가지 물질에 비해 뛰어난 효과를 나타내어 주름개선 화장품 소재로서의 가능성을 보여주었다.

이러한 결과는 7가지 한방원료가 항산화 및 주름개선 효능을 나타내므로 기능성 화장품 소재로 활용될 수 있음을 보여 주었다.

참 고 문 헌

- Bulkley, G. B. 1983. The role of oxygen free radicals in human disease processes. *Surgery* **94**, 407-411.
- Cho, J. J., G. K. Lee, B. K. Cho and J. D. Choi. 2000. Isolation and characterization of elastase inhibitor from *Areca catechu*. *J. Soc. Cos. Sci. Kor.* **26**, 23-27.
- Cho, S. H., B. Y. Park, J. H. Kim, Y. K. Kim, J. M. Lee and C. N. Ahn. 2006. Effect of r-oryzanol on lipid oxidation of linoleic acids and ground pork. *J. Anim. Sci & Technol. Kor.* **48(4)**, 587-594.
- Chun, J. H., S. W. Kang, J. Varani, J. Lin, G. J. Fisher and J. J. Voorhees. 2000. Decreased extracellular signal regulated kinase and increased stress activated MAP kinase activities in aged human skin *in vivo*. *J. Inves. Dermatol.* **115**, 117-181.
- Collier, A., R. Wilson, H. Bradley, J. A. Thomson and M. Small. 1990. Free radical activity in type 2 diabetes. *Diabetic Medicine* **7**, 27-31.
- Cross, C. E., B. Halliwell, E. T. Borish, et al. 1987. Oxygen radicals and human disease. *Ann Intern Med* **107**, 526-545.
- Dormandy, T. L. 1983. An approach to free radicals. *lancet.* **2**, 1010-1014.
- Fisher, G. J., S. W. Kang and J. J. Voorhees. 1998. Retinoic acid inhibits induction of c-Jun protein by ultraviolet radiation that occur subsequent to activation of mitogen-activated protein kinase pathways in human skin *in vivo*. *J. Clin. Invest.* **101**, 1431-1437.
- Fisher, G. J. and J. J. Voorhees. 1999. Molecular mechanism of photoaging in human skin *in vivo* and their prevention by all-trans retinoic acid. *Photochem. Photobiol.* **69**, 154-158.
- Fugita, Y., I. Urea, Y. Morimoto, M. Nakajima, C. Hatano and T. Okuda. 1998. Studies on inhibition mechanism of autoxidation by tannins and flavonoids. *Yakugaku Zasshi.* **108**, 129-135.
- Geerts, A., D. Schuppan, S. Lazeroms, R. DeZanger and E. Wisse. 1990. Collagen type 1 and 3 occur together in hybrid in the space of disse the rat liver. *Hepatology.* **11**, 233-238.
- Halliwell, B. 1987. Oxidants and human disease : some new concepts. *FASEB J.* **1(5)**, 358-364.
- Halliwell, B., J. and M. C. Gutteridge. 1989. Free radicals in biology and medicine. *2nd ed. Oxford Clarendon Press.*
- Hwang, J. S. 1997. The effects of retinoids on Crabbp II mRNA induction and collagen synthesis in human dermal fibroblast. *J. Soc. Cos. Sci. Kor.* **23**, 9-14.
- Janssen, Y. M., B. Van Houten, P. J. Borm and B. T. Mossman. 1993. Cell and tissue responses to oxidative damage. *Lab. Invest.* **69**, 260-264.
- Jeung, Y. A, and J. H. Bae. 2005. Evaluation of biological activities on the extractives of pinaceae. *J. Soc. Cosmet. Sci. Kor.* **31**, 121-125.
- Kang, H. H, 1997. Anti-aging in cosmetics. *J. Soc. Cos. Sci. Kor.* **23**, 57-61.
- Kang, H. S., H. Y. Chung, K. H. Son, S. S. Kang and J. S. Choi. 2003. Scavenging effect of korean medicinal plants on the peroxynitrite and total ROS. *Natural Product Sciences.* **9(2)**, 73-79.
- Kim, B. J., B. K. Jo and J. H. Kim. 1999. A promising new anti-wrinkle ingredient : pericarpium castaneae extracts. *J. Soc. Cos. Sci. Kor.* **10**, 56-62.
- Lee, B. C., J. J. Lee, S. M. Park, C. B. Kim, G. S. Sim, J. H. Kim, G. S. Lee, C. I. Lee and H. B. Pyo, 2004. 3,9-Diferuloyl-6-oxopteroic acid (Tensolin-F[®]): a novel anti-wrinkle agent for cosmeceuticals. *J. Soc. Cosmet. Sci. Kor.* **30**, 7-13.
- Lee, C. W., H. B. Pyo, Y. H. Cho and S. M. Park. 1998. Effect of Korean black soybean seed on the cellular proliferation and the production of type III collagen in skin fibroblast. *J. Soc. Cos. Sci. Kor.* **24**, 31-38.
- Park, S. K., M. Y. Chang, Y. D. Kim, B. Y. Jeong, Y. H. Won, J. J. Kim and S. H. Kang. 1999. Changes of facial wrinkle after topical application of an emulsion containing medimin A. *J. Soc. Cos. Sci. Kor.* **25**, 22-29.
- Radi, R., J. S. Beckman, K. M. Bush and B. A. Freeman. 1991. Peroxynitrite-induced membrane lipid peroxidation ; The cytotoxic potential of superoxide and nitric oxide. *Arch. Biochem. Biophys.* **288**, 481-486.
- Rane, M. M. and S. A. Mengi. 2003. Comparative effect of oral administration topical application of alcoholic extract of Terminalia arjuna bark on incision and excision wounds in rats. *Fitoterapia* **74**, 553-560.
- Shao, L. X. 2003. Effects of the extract from bergamot and boxthorn on the delay of skin aging and hair growth in mice, *Zhongguo Zhong Yao Za Zhi.* **28**, 766-772.
- Tolmasoff, J. M., T. Ono and R. G. Culture. 1980. Superoxide dismutase : correlation with life-span and specific methanolic rate in primate species. *Proc. Natl. Sci. USA.* **77**, 2777-2781.