



## Anti-wrinkle Activities Verification of *Buplerum falcatum* Extracts on CCD-986sk

Dong-Hee Kim · Tae-Soon Park · Jun-Ho Son\*

### CCD-986sk세포내 시호 추출물의 항주름 활성 검증

김동희 · 박태순 · 손준호\*

Received: 15 January 2015 / Accepted: 26 March 2015 / Published Online: 30 June 2015  
© The Korean Society for Applied Biological Chemistry 2015

**Abstract** The electron donating ability, elastase inhibitory, pro-collagen synthesis and Matrix metalloprotease-1 (MMP-1) activities were measured in order to verify the anti-wrinkle properties of extracts from *Buplerum falcatum* as a functional ingredient for cosmetic products. Electron donating ability and elastase inhibition activities were 80 and 52% at a dose of 1,000 µg/mL of *B. falcatum* 70% ethanol extract. Pro-collagen synthesis was increased with the increase concentration of *B. falcatum* extract on CCD-986sk in addition to decrease the amount of protein of MMP-1. The results suggested that *B. falcatum* extract can be used to reduced electron donating ability, elastase, pro-collagen synthesis and MMP-1 activity and is a potential candidate for cosmedical materials.

**Keywords** *Buplerum falcatum* · elastase · Matrix metalloprotease-1 · pro-collagen

### 서론

최근 약용식물의 재배는 높은 소득과 수출에 크게 기여할 작물

D.-H. Kim · T.-S. Park · J.-H. Son  
Korea Promotion Institute for Traditional Medicine Industry, Gyeongbuk  
712-260, Republic of Korea

\*Corresponding author (J.-H. Son: bio115@kotmin.kr)

This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0/>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

로 평가되고 있다. 주요약용식물의 하나인 시호(*Buplerum falcatum*)는 미나리과(Umbelliferae)에 속하는 다년생 초본으로서 세계적으로 120여종, 국내에서 5종 이상이 자생 재배되고 있으며 뿌리를 생약재로 이용하는 약용식물 중의 하나이다(Jeong 등, 1998). 시호의 약리 부위는 뿌리이며 소염, 해열, 면역보강, 진통, 궤양 치료 등 다양한 효과가 밝혀져 왔으며(Kimata 등, 1982; Yamada 등, 1991a; Matsumoto 등, 1993; Guo 등, 2000), 대표적인 항염증 약물로 분류되고 있다. 시호의 뿌리에는 지방산으로 stearic acid, oleic acid, linolenic acid, palmitic acid 등이 함유되어 있고(Yamada 등, 1991b; Jeong 등, 1998), 시호의 주 약리 성분인 olenane계 saponin인 saikosaponin a와 d에 의한 것으로 항염증, 상처치유 등 많은 연구에 의해 입증되고 있으며(Kimata 등, 1982; Kim 등, 2011; Kim 등, 2012), saikosaponin c의 경우에도 당을 제거한 sapogenin이 동일한 약리작용을 보이는 것으로 밝혀져 있다(Yamamoto 등, 1975). 피부 노화(skin aging)는 피부 진피층에 존재하는 세포외기질(extracellular matrix)의 구조적인 변화로 발생되는데(Makrantonaki와 Zouboulis, 2007; Imokawa 등, 2008; Kim 등, 2008b; Tsuji-Naito 등, 2010) 구성요소 중 탄력섬유(elastic fiber)의 변성과 교원질(collagen) 양의 감소가 피부의 주름을 야기한다(Kim 등, 2010). 또한, 피부의 노화를 이끄는 주요 요인 중에는 collagen의 감소와 관련하여 자외선이나 스트레스에 의한 활성산소의 생성을 들 수 있다. 피부에서의 활성산소의 생성은 세포막을 공격함으로써 세포에 손상을 입혀 그 기능을 상실하게 한다(Kim 등, 2006; Yeom 등, 2010). 피부세포의 기능상실은 피부의 거친 상태를 형성하거나 유지시키고, 윤기를 없애는 결과를 초래함으로써 피부의 주름을 유발하게 된다(Kim 등, 2006). 결국, 생체 내 활성산소의 생성은 matrix metalloprotease(MMPs) 유전자와 collagen 분해효소의 연쇄적인 활성화를 유도함으로써 collagen의 구조적인 파괴를 유발하고, 피부의 탄력을 감소시키는 피부주름의 형성을 이끌게 된다(Park 등, 2010). 따라서 피부노화는 collagen 분해효소와 활성산소의 생성억제,

collagen의 합성을 촉진시킴으로써 피부노화의 완화 효과를 나타낼 수 있다.

이에 본 연구는, 피부 섬유아세포를 이용하여 시호 추출물이 피부에 미치는 항노화 효과에 관한 연구를 수행하였으며, 피부노화의 직접적인 원인인 matrix metalloproteinase-1 (MMP-1)의 유전자 발현과 피부의 주요 구성인자인 콜라겐의 생합성 촉진 효과에 대해 검증하였다.

## 재료 및 방법

**식물재료.** 본 실험에 사용한 시호(*Bupleurum falcatum*)는 2009년 2월 초순에 건조된 시호의 뿌리를 (주)HB (Human herb, Korea)에서 구입하여 깨끗이 세척한 뒤 실험재료로 사용하였다.

**시약.** 항산화능 측정 실험과 주름억제 효과 측정에 사용된 시약인 1-1-diphenyl-2-picryl-hydrazyl (DPPH), porcine pancreas elastase, *N*-succinyl-(L-Ala)<sub>3</sub>-*p*-nitroanilide, collagenase 및 4-phenylazobenzoyloxycarbonyl-Pro-Leu-Gly-Pro-D-Arg 등은 Sigma Chemical Co. (USA)에서 구입하여 사용하였으며, 콜라겐 생합성 측정에 사용된 시약은 procollagen type I C-peptide EIA kit (Takara-Bio Inc., Japan)을 구입하여 사용하였다.

**시료 추출.** 건조된 시료 100 g을 분쇄하여 1 L의 70% 에탄올에 침지하여 24시간 실온에서 방치한 후 상등액을 취한 다음 잔사에 이 방법을 반복하여 상등액을 취하였다. 앞서 얻은 상등액과 합하여 얻은 여액을 다시 여지로 통과시켜 그 여액을 진공 증류기로 감압 농축한 다음 냉동건조하여 무게를 평량하였으며 수율은 13.8%이었다. 본 실험에 사용된 시호 추출물은 Dimethyl sulfoxide (DMSO) 용매에 녹여진 100 mg/mL의 stock을 이용하여 사용하였으며, 증류수로 희석하여 사용하였다. 대조군은 시호 추출물 대신 희석용매인 증류수를 이용하여 본 실험에서 사용하였다.

**DPPH 전자공여능 활성 측정.** 전자공여능(electron donating ability)은 기존에 보고된 방법(Blois, 1958)을 변형하여 96 well plate에 맞게 수정하여 측정하였다. 각 시료용액 2 mL에 0.2 mM의 DPPH 1 mL 넣고 교반한 후 30분간 방치한 다음 517 nm에서 흡광도를 측정하였다. 전자공여능은 시료용액의 첨가군과 무첨가군의 흡광도 감소율로 나타내었다.

**Elastase 저해활성 측정.** 시호 추출물의 주름 효소 활성 저해능을 평가하기 위해 elastase 활성을 측정하였다. 기질로서 *N*-succinyl-(L-Ala)<sub>3</sub>-*p*-nitroanilide를 사용하여 37°C에서 20분간 기질로부터 생성되는 *p*-nitroanilide의 생성량을 445 nm에서 측정하였다. 즉, 각 시험용액을 일정 농도가 되도록 조절하여 0.5 mL씩 시험관에 취하고, 50 mM tris-HCl buffer (pH 8.6)에 녹인 porcine pancreas elastase (2.5 U/mL)용액 0.5 mL을 가한 후 기질로 50 mM tris-HCl buffer (pH 8.6)에 녹인 *N*-succinyl-(L-Ala)<sub>3</sub>-*p*-nitroanilide (0.5 mg/mL)을 첨가하여 20분간 반응시켜 측정하였다. Elastase 저해활성은 시료용액의 첨가군과 무첨가군의 흡광도 감소율로 나타내었다.

**세포독성 측정 및 세포주 배양.** 세포 독성에 측정에 사용된 섬유아세포 CCD-986sk 세포는 ATCC에서 구입하여 사용하였다. 세포 독성 측정 및 배양을 위해 dulbecco's modified eagle medium (DMEM), fetal bovine serum (FBS), penicillin/streptomycin, 0.4% trypan blue stain은 Gibco BRL Co. (USA)에서 구입하였으며, haemocytometer (Germany), 3-[4,5-dimethylthiazol]-2-

yl]-2,5-diphenyl-tetrazoliumbromide (MTT)는 Sigma Chemical Co. (USA)에서 구입하여 사용하였다. MMP-1 primary antibody와 secondary antibody는 Santacruz (USA)에서 구입하였다. 본 실험에 이용한 각 세포의 배양은 10% FBS과 1% penicillin/streptomycin (100 U/mL)을 첨가한 DMEM 배지를 사용하였으며, 37°C, 5% CO<sub>2</sub> incubator에 적응시켜 계대 배양하였다.

**MTT assay에 의한 세포 독성 측정.** CCD-986sk를 96 well plate에 5×10<sup>4</sup> cells/well이 되게 0.18 mL분주하고, 시료를 농도별로 조절하여 0.02 mL 첨가한 후 37°C, 5% CO<sub>2</sub> incubator에서 48시간 배양하였다. 여기에 5 mg/mL 농도로 제조한 MTT 용액 0.02 mL를 첨가하여 4시간 배양한 후 배양액을 제거하고 각 well당 DMSO 0.15 mL를 가하여 실온에서 30분간 반응시킨 뒤 ELISA reader로 540 nm에서 흡광도를 측정하였다. 세포 독성 측정은 시료용액의 첨가군과 무첨가군의 흡광도 감소율로 나타내었다.

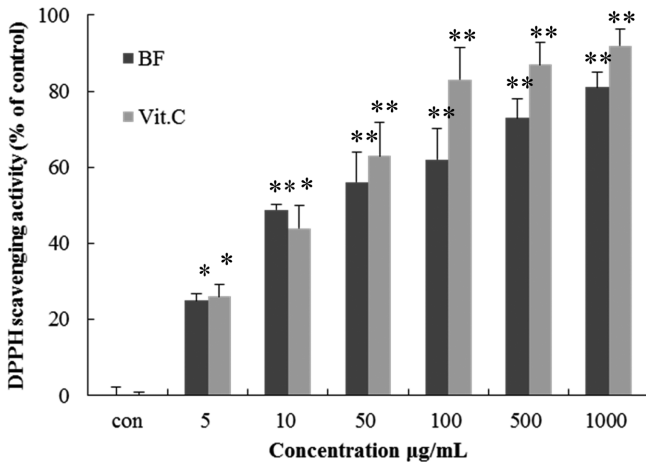
**Pro-collagen 생합성 측정.** CCD-986sk세포에 시호를 농도별로 처리했을 때 pro-collagen type I의 합성량을 측정하기 위해 96-well plate에 각 well당 1×10<sup>4</sup> cells/well 세포가 되도록 심어준 후 24시간을 안정화 하였다. 이후, 배양된 배지를 제거하고 시호 추출물을 농도별로 처리한 후 48시간을 배양하였다. 각 well로부터 상등액을 회수하여 procollagen Type-I C-Peptide EIA kit (Takara-Bio Inc.)의 각 well에 첨가한 후, 제조사의 방법에 따라 procollagen type I의 총 양을 측정 하였다.

**Western blot을 이용한 단백질의 발현 측정.** MMP-1 활성을 보기 위하여 CCD-986sk세포를 100 mm tissue culture dish에 cell seeding 후 24시간 동안 배양하여 cell을 안정화 시켰다. 배지를 제거한 후 Phosphate buffered saline (PBS)로 교체하여 UV-B (20 mJ/cm<sup>2</sup>)를 60초간 조사하였다. 그 후 추출물을 농도별로 처리한 배지로 48시간 배양한 후 다시 배지를 제거하고 PBS로 2번 세척해주었다. Lysis buffer를 이용하여 CCD-986sk 세포를 분해하였다. 원심 분리하여 얻은 상층액은 정량하여 20 μL의 단백질을 10%의 Sodium dodecyl sulfate polyacrylamide gel electrophoresis gel에서 전기 영동하여 분리하였다. 분리된 단백질은 PVDF membrane에 옮긴 다음 실온에서 1시간 blocking buffer (5% skim milk in TBST)에서 incubation 시켰다. MMP-1 각각의 1차 항체를 1:1000으로 희석하여 4°C에서 over night한 다음, 다시 10분 간격으로 TBST로 3회 washing하고 mouse anti-rabbit IgG HRP의 각각의 2차 항체를 1:1,000로 희석하여 실온에서 2시간 동안 배양하였다. 3회 washing한 뒤 LAS 4,000 image analyzer (Fugifilm life science, Japan) 기기를 이용하여 밴드 확인 및 정량 하였다.

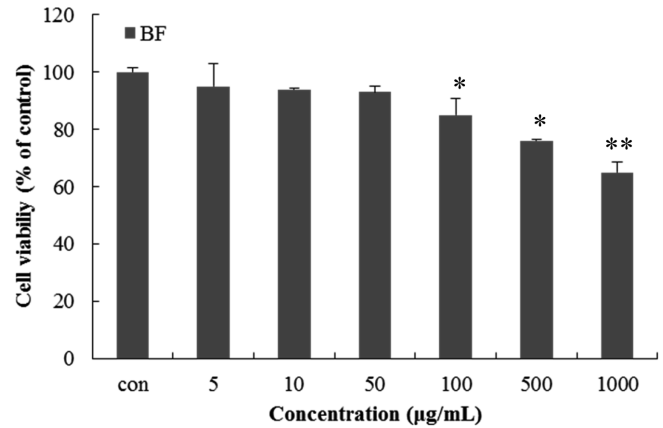
**통계처리.** 결과 통계처리는 SPSS 12.0을 사용하였으며, 유의차 검증은 분산분석(ANOVA: analysis of variance) 프로그램을 이용하여 t-test를 이용하여 통계적 유의수준  $p < 0.05$ , 0.01에서 검증하였다.

## 결 과

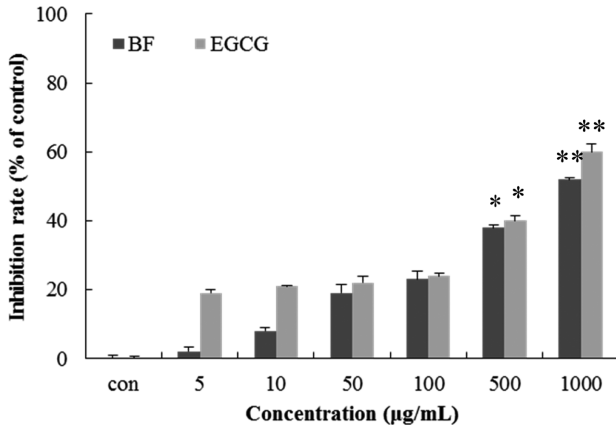
**DPPH법을 이용한 free radical 소거 활성.** 활성 산소는 피부 항산화제 파괴, 지질 과산화반응의 개시, 단백질의 산화, DNA 산화, 결합조직 성분인 콜라겐, 히아루론산 등의 사슬 절단 및 비정상적인 교차결합에 의한 주름생성, 멜라닌 생성과정에 참여하는 등 피부노화를 가속시킨다(Park, 1997; Park 등 2003). 생



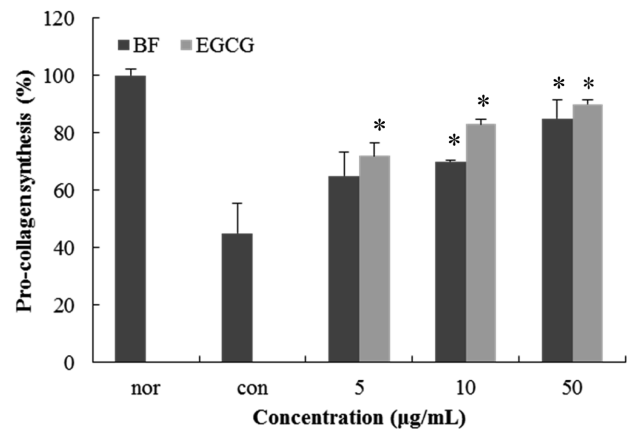
**Fig. 1** Antioxidative effect of *Buplerum falcatum*. The values shown represent mean ± SEM of three different assays. \* $p < 0.05$ , \*\* $p < 0.01$  compared with absence of BF. BF: *Buplerum falcatum* Vit. C: Vitamin C



**Fig. 3** Effect of *Buplerum falcatum* on proliferation of CCD-986sk. CCD-986sk cells were incubated for 24 h in DMEM medium containing 10% FBS, were treated with various concentrations of BF for 48 h and cell viability was measured by MTT reagent. The values shown represent mean ± SEM of three different assays. \* $p < 0.05$ , \*\* $p < 0.01$  compared with absence of BF. BF: *Buplerum falcatum*



**Fig. 2** Effect of *Buplerum falcatum* on inhibition of elastase. The values shown represent mean ± SEM of three different assays. \* $p < 0.05$ , \*\* $p < 0.01$  compared with absence of BF. BF: *Buplerum falcatum* EGCG: Epigallocatechin gallate

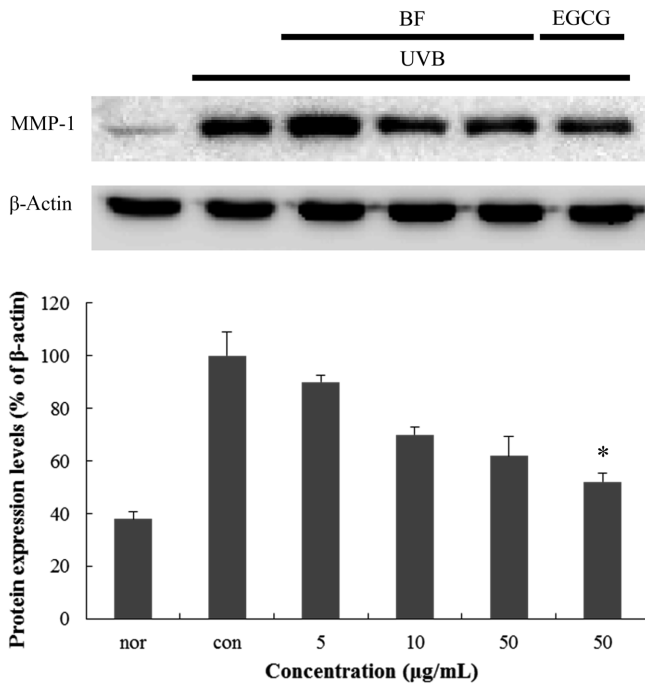


**Fig. 4** Effect of *Buplerum falcatum* on pro-collagen type I synthesis. CCD-986sk cells were incubated for 24 h in DMEM medium containing 10% FBS, were treated with various concentrations of BF for 48 h. The supernatant was collected from each well and type I procollagen was determined by EIA kit. The values shown represent mean ± SEM of three different assays. \* $p < 0.05$  compared with absence of BF. BF: *Buplerum falcatum* EGCG: Epigallocatechin gallate, nor: normal (not UVB), con: control (UVB, not treated *Buplerum falcatum*)

체막에 있어 활성 산소 또는 지질 라디칼에 의해 개시된 지질 과산화 반응은 자동산화 과정을 경유한 연쇄반응이다. Vitamin C (vit. C) 등의 항산화제는 연쇄반응에서 지질 과산화라디칼에 수소 주개로 작용하여 연쇄 반응을 종결시킨다. 이때 수소 주개로 작용하는 항산화제의 능력은 안정한 free radical 인 DPPH와의 반응을 통하여 알아 볼 수 있다. 시호 추출물에 대한 free radical 소거 활성 측정 결과 1,000 µg/mL의 농도에서 80% 저해 활성을 가지는 것을 확인하였으며, free radical을 50%로 저해 할 수 있는 농도(IC<sub>50</sub>)가 29.3 µg/mL의 농도임을 확인하였다. 또한 vit. C는 1,000 µg/mL의 농도에서 91% 저해 활성능과 IC<sub>50</sub> 이 28.6 µg/mL농도 일 경우와 비교 시 유사한 소거 활성을 가진 것으로 확인되었다(Fig. 1).

**Elastase 활성 저해효과.** 피부노화 현상은 피부세포 내 생체결합수의 손실, 피부 각질층의 구조변화, 표피세포의 분화감소, 진피내 섬유아세포에 의한 단백질 및 세포간 물질의 생체 합성기능 저하등에 의해 나타난다(Wiedow 등, 1990). 많은 연구에서 나이와 주름이 피부 탄력과 상호연관성이 있음을 보고하였으며,

elastin은 주름의 형성과 밀접하게 연관되어 있으며 피부 탄력의 감소는 주름을 형성하게 된다(Imokawa 등, 1995). 피부의 진피 조직 속에는 collagen과 피부의 탄력성에 관련된 elastin이 그물망 구조를 형성하고 있는데, 이러한 그물망 구조가 깨어지면서 즉, elastin이 elastase에 의해 분해되어 피부가 처지고 주름이 생기므로 내인성 피부노화가 발생한다(Lee 등, 2003a). 그러므로 피부 노화의 주원인 중의 하나인 elastin 분해 효소인 elastase의 활성을 저하시킴으로써 피부노화를 억제할 수 있다. 이처럼 elastin을 가수분해하는 elastase는 피부 주름과 연관성이 있는 효소로서 시호 추출물이 elastase 활성에 미치는 영향을 관찰하였다. 시호 추출물에서 농도 의존적으로 효소활성을 억제하였으며, 최고 농도 1,000 µg/mL에서 52%로 효소 활성을 억제하였으며,



**Fig. 5** Effect of *Buplerum falcatum* on MMP-1 gene expression. CCD-986sk cells were incubated for 24 h in DMEM medium containing 10% FBS, were treated with various concentrations of BF for 48 h and then total protein was isolated. MMP-1 protein level was determined by western blot. The values shown represent mean  $\pm$  SEM of three different assays. \* $p < 0.05$ , \*\* $p < 0.01$  compared with absence of BF. nor: normal (not UVB, not treated *Buplerum falcatum*), con: control (UVB, not treated *Buplerum falcatum*)

IC<sub>50</sub> 농도가 915.4 μg/mL임을 확인 할 수 있었다. 주름 관련 효소를 억제에 뛰어난 효능을 가지는 Epigallocatechin gallate (EGCG)와 비교시 같은 농도에서 elastase 효소 억제능은 60%였으며 IC<sub>50</sub> 750 μg/mL임을 나타내어 시호 추출물이 같은 농도에서 EGCG와 비슷한 활성을 가지는 것을 확인 할 수 있었다 (Fig. 2). 이와 같은 결과로 보아 시호 추출물은 피부탄력 저하 활성 효능을 지니기에 기능성 소재로서의 가능성을 시사하여 준다.

**Fibroblast cell (CCD-986sk)의 생존율 확인.** 시호 추출물의 CCD-986sk에 미치는 영향 및 세포독성과 더불어 시험에 사용될 농도 범위 결정을 위해서 MTT assay를 시행하였다. 시호 추출물을 농도별(5, 10, 50, 100, 500, 1,000 μg/mL)로 처리한 결과 5, 10, 50 μg/mL 처리 시 섬유아세포 생존율에 큰 영향을 나타내지 않았지만, 100, 500, 1,000 μg/mL의 농도 별 처리 시에는 세포의 생존율이 85, 76, 65%로 감소되는 것을 확인 할 수 있었다(Fig. 3). 따라서 본 연구에서 CCD-986sk 세포 내 시호 추출물의 pro-collagen 합성 촉진 효과 측정 및 MMP-1 발현 측정을 확인하기 위해서 세포 생존율이 100% 가까운 농도인 5, 10, 50 μg/mL을 사용하였다.

**Pro-collagen 합성 촉진 효과 측정.** 세포외기질의 주요 구성 성분인 collagen은 피부의 섬유아세포에서 생성되는 주요 기질 단백질로 피부의 기계적 견고성, 결합 조직의 저항력과 조직의 결합력, 세포 접착의 지탱, 세포 분화와 분화의 유도 등의 기능을 가지고 있다. 콜라겐(type I, II, III, IV, and V)들은 프로 콜라겐이라는 전구물질의 형태로 합성된다. Pro-collagen은 아미노

말단과 카복시 말단에 프로펩티드라는 펩티드 염기서열을 포함하며, 콜라겐 중합 반응이 일어날 때 콜라겐 분자로부터 절단, 분리되는 기능을 가진 것으로 알려져 있다. 따라서 프로펩타이드의 양을 측정함으로써, 세포내에서의 콜라겐 생합성 정도를 파악할 수 있다(Parfitt 등, 1987; Kim 등, 2008b). 콜라겐은 피부의 주름 형성과 밀접한 연관이 있으며 콜라겐이 부족할 경우 주름이 유발될 수 있다. 따라서 콜라겐의 합성을 촉진시킬 수 있는 소재는 탄력 있는 피부를 만들어주는 화장품 원료로서 사용 가능하다고 생각 하여 시호 추출물로 collagen 합성 실험을 하였다. 섬유아세포에 UVB를 조사한 결과 정상군에 비해 pro-collagen 생합성율이 50% 이상 저해 되었으며, 시호 추출물을 처리하여 pro-collagen의 생합성의 활성효능을 확인하였다. 그 결과, 시호 추출물은 각각 5, 10, 50 μg/mL의 농도에서 65, 70, 80%로 pro-collagen 생합성을 나타내었으며 대조물질인 EGCG와 비슷한 효능을 나타내었다. 이와 같이 시호 추출물은 피부 세포중 하나인 CCD-986sk에서의 pro-collagen 생합성 유도 농도 의존적으로 유의성 있게 촉진 시키는 것을 확인 할 수 있었다(Fig. 4).

**MMP-1 유전자 발현의 억제.** 피부세포의 결합조직을 구성하는 성분 중 collagen은 약 90%정도를 차지하는 중요한 구성 단백질이다. Collagen은 trypsin 등의 단백질 분해효소에는 영향을 받지 않지만, collagenase의 영향에 의해 분해된다(Kim 등, 2008b; Lee 등, 2003b). Collagen을 분해하는 주요 효소중에는 전사인자인 active protein-1에 의해 유도되는 MMP-1에 의해 일어나는 것이 일반적이다(Kim 등, 2006; Kim 등, 2008a). MMP-1은 type collagen을 분해함으로써 collagen의 합성을 억제하는 분해인자로 알려져 있다(Kim 등, 2004; Saganuma 등, 2010). 그러므로, MMP-1활성의 억제는 곧 collagen 분해를 감소시켜 피부 탄력의 유지 및 주름 형성을 억제 할 수 있으리라 판단되어 protein level에서의 MMP-1 유전자의 발현 변화를 측정하였다. 그 결과, 섬유아세포에 처리된 시호 추출물의 농도가 증가 할수록 비처리군에 비해 MMP-1의 유전자 발현이 농도 의존적으로 억제되는 것을 확인할 수 있었다(Fig. 5). 시호 추출물은 collagen의 직접적인 분해효소인 MMP-1의 발현을 protein level에서 억제함으로써, 피부 주름의 형성을 억제하는 것으로 판단되고, 이는 주박을 이용한 피부주름개선 화장품의 개발의 가능성을 제시한다.

## 초 록

시호 추출물로부터 자외선에 의한 주름개선 효과를 확인하여 화장품 소재로서의 가능성을 검증하였다. 주름 활성 검증을 위하여 전자공여능, elastase, pro-collagen 생합성, Matrix metalloprotease-1 (MMP-1)의 활성을 측정하였다. 시호 추출물의 세포 독성을 측정하기 위하여 MTT assay를 하여 세포 독성이 100%에 가까운 농도인 5, 10, 50 μg/mL의 농도에서 pro-collagen 생합성과 MMP-1의 활성 검증하였다. 시호 추출물의 전자 공여능과 elastase 활성을 측정한 결과 1,000 μg/mL의 농도에서 각각 80, 52%의 저해 활성을 가졌다. 또한 pro-collagen 생합성 역시 UVB를 조사한 후 시호 추출물 농도 별로 처리 한결과 농도 의존적으로 증가하는 것을 확인하였다. 주름생성에 관련되어 있는 MMP-1의 발현을 알아본 결과 시호 추출물에 의해 total protein 양이 또한 감소되는 것을 확인 할 수 있었다. 따라서 시

호는 주름활성을 개선시킬 수 있는 기능성 소재로 활용 될 수 있을것으로 사료된다.

**Keywords** 기질금속단백질분해효소-1 · 시호 · 주름 · 프로콜라겐

## References

- Blois MS (1958) Antioxidant determination by the use of a stable free radical. *Nature* **181**, 1199–20.
- Guo Y, Mastumoto T, Kikuchi Y, Ikejima T, Wang B, and Yamada H (2000) Effect of apectic polysaccharide from a medicinal herb, the roots of *Bupleurum falcatum* L. on interleukin 6 production of murine B cells and B cell lines. *Immunopharmacology* **49**, 307–16.
- Imokawa G (2008) Recent advances in characterizing biological mechanisms underlying UV-induced wrinkles: a pivotal role of fibroblast-derived elastase. *Arch Dermatol Res* **300**, 7–20.
- Imokawa G, Takema Y, Yorimoto Y, Tsukahara K, Kawai M, and Imayama S (1995) Degree of ultraviolet-induced tortuosity of elastic fibers in rat skin is age dependent. *J Invest Dermatol* **105**, 254–8.
- Jeong HJ, Kim KU, Lee SC, Kim GW, and Chung GY (1998) Comparison on morphology and saikosaponin contents of *Bupleurum falcatum* produced in Korea and China. *Korean J Plant Res* **11**, 283–9.
- Kim EJ, Kim MK, Jin XJ, Oh JH, Kim JE, and Chung JH (2010) Skin aging and photoaging alter fatty acids composition, including 11,14,17-eicosatrienoic acid, in the epidermis of human skin. *J Korean Med Sci* **25**, 980–3.
- Kim HH, Cho S, Lee S, Kim KH, Cho KH, Eun HC et al. (2006) Photoprotective and anti-skin-aging effects of eicosapentaenoic acid in human skin *in vivo*. *J Lipid Res* **47**, 921–30.
- Kim LD, Kwon RH, Heo YY, Jung HJ, Kang YY, and Bae JH (2008a) Supercritical extraction of oriental herb: anti-aging and anti-wrinkle effects. *Korean J Biotechnol Bioeng* **23**, 259–534.
- Kim MJ, Kim JY, Jung TK, Choi SW, and Yoon KS (2006) Skin anti-aging effect of *Forsythia viridissima* L. extract. *Korean J Biotechnol Bioeng* **21**, 444–50.
- Kim SH, Yong HJ, Shin C, and Ko SG (2008b) Research of traditional herbal medicines for anti-aging, inhibition effect of wrinkle and whitening effect in the skin. *Korean J Ori Physiol Pathol* **22**, 691–8.
- Kim SM, Ku SK, Cho SY, and Park SJ (2012) Effect of *Bupleuri radix* on the rat hypothyroidism induced by PTU(6-n-propyl-2-thourail). *Korean J Ori Physiol Pathol* **22**, 714–23.
- Kim SY, Kim SJ, Lee JY, Kim WG, Park WS, Sim YC et al. (2004) Protective effects of dietary soy isoflavones against UV-induced skin-aging in hairless mouse model. *J Am Coll Nutr* **23**, 157–62.
- Kim YS, Cho IH, Jeong MJ, Jeong SJ, Nah SY, Cho YS et al. (2011) Therapeutic effect of total ginseng saponin on skin wound healing. *J Ginseng Res* **35**, 360–7.
- Kimata M, Kasai R, and Tanaka O (1982) Saponins of juk-siho and roots of *Bupleurum longenadiatum* Turcz. *Chem Pharm Bull* **30**, 4373–7.
- Lee SY, An JH, and Cho HY (2003a) Isolation and characterization of MMP-1 inhibitor peptide from *Crataegus pinnatifida* bunge in fibroblast cell line HS68 cells. *J Kor Soc Argic Chem Biogechno* **46**, 60–5.
- Lee YS, Jin DQ, Beak SM, Lee ES, and Kim JA (2003b) Inhibition of ultraviolet-A-modulated signaling pathways by asiatic acid and ursolic acid in HaCaT human keratinocytes. *Eur J Pharmacol* **476**, 173–8.
- Makrantonaki E and Zouboulis CC (2007) Molecular mechanisms of skin aging: state of the art. *Ann N Y Acad Sci* **1119**, 40–50.
- Matsumoto T, Cyong JC, Kiyohara H, Matsui H, Abe A, Hirano M et al. (1993) The pectic polysaccharide from *Bupleurum falcatum* L. enhances immune complexes binding to peritoneal macrophages through fc receptor expression. *Inter J Immunopharmacol* **15**, 683–93.
- Parfitt AM, Simon LS, Villanueva AR, and Krane SM (1987) Procollagen type 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**, 427–36.
- Park HJ, Ock SM, Kim HJ, Park HJ, Lee YB, Choi JM et al. (2010) Vitamin C attenuates ERK signaling to inhibit regulation of collagen production by LL-37 in human dermal fibroblasts. *Exp Dermatol* **19**, 258–64.
- Park SN (1997) Skin aging and antioxidant. *J Soc Cosmet Scientists kor* **23**, 75.
- Park SN (2003) Antioxidative properties of baicalein, components from *scutellaria baicalensis georgi* and its application to cosmetics (I). *J Korean Ind Eng Chem* **14**, 657.
- Suganuma K, Nakajima H, Ohtsuki M, and Imokawa G (2010) Astaxanthin attenuates the UVA-induced up-regulation of matrix-metalloproteinase-1 and skin fibroblast elastase in human dermal fibroblasts. *J Dermatol Sci* **58**, 136–42.
- Tsuji-Naito K, Ishikura S, Akagawa M, and Saeki H (2010) Alpha-Lipoic acid induces collagen biosynthesis involving prolyl hydroxylase expression via activation of TGF-beta-Smad signaling in human dermal fibroblasts. *Connect Tissue Res* **51**, 378–87.
- Wiedow OJ, Schroder M, and Christophers E (1990) Elafin: an elastase specific inhibitor of human skin. *J Biol Chem* **265**, 14791–801.
- Yamada H, Hirano M, and Jiyohara H (1991a) Partial structure of an anti-ulcer pectic polysaccharides from roots of *Bupleurum falcatum*. *Carbohydr Res* **219**, 173–92.
- Yamada H, Sun XB, Matsumoto T, Ra KS, Hirano N, and Kiyohara H (1991b) Purification of anti-ulcer polysaccharides from the roots of *Bupleurum falcatum*. *Plant medicine* **57**, 555–9.
- Yamamoto M, Kumagai A, and Yamamura Y (1975) Structure and action of saikosaponins isolated from *Bupleurum falcatum* L. I. Antiinflammatory actions of saikosaponin. *Arzrin Forsch. Drug Res* **25**, 1021–3.
- Yeom MH, Lee JY, Kim JS, Park CW, Kim DH, and Kim HK (2010) The anti-aging effects of Korean Ginseng Berry in the skin. *Korean J Pharmacogn* **41**, 26–30.