



Anti-wrinkle effects of extracts and solvent fractions from *Nymphoides peltata* on CCD-986sk

You Ah Kim¹ · Dong Hee Kim² · Jae Myo Yu² · Chae Bin Park¹ ·
Tae soon Park² · Byoung Jun Park¹

CCD-986sk 세포내에서의 노랑어리연꽃 추출물 및 분획물의 주름개선 효과

김유아¹ · 김동희² · 유재묘² · 박채빈¹ · 박태순² · 박병준¹

Received: 17 August 2017 / Accepted: 11 October 2017 / Published Online: 31 December 2017
© The Korean Society for Applied Biological Chemistry 2017

Abstract The purpose of this study was to investigate the anti-aging effect in the fibroblasts by using the extracts and fractions of *Nymphoides peltata* for the development of new functional cosmetic materials. The anti-aging effects of the extracts and fractions of *N. peltata* were measured using CCD-986sk cells. Ethyl aceate (EA) fraction inhibited UVB-induced reactive oxygen species expression by more than 50%, and *n*-butyl alcohol (BuOH) fraction increased expression of pro-collagen mRNA by more than 50% at 25 µg/mL. In addition, EA and BuOH fractions inhibited MMP-1 protein and mRNA expression in a concentration-dependent manner, BuOH fraction inhibited MMP-1 mRNA expression by more than 40% at 10 µg/mL. Especially, the high efficacy of EA and BuOH of the *N. peltata* was confirmed. Therefore, the EA and BuOH of *N. peltata* are expected to be useful as anti-aging materials in cosmetics field.

Keywords Anti-aging · CCD-986sk · MMP-1 · *Nymphoides peltata* · Pro-collagen

서 론

피부 노화는 내인성 노화와 외인성 노화로 구분되며 외인성 노화 중 자외선에 의한 노화를 광노화(photoaging)라고 한다 (Jenkins 2002). 광노화의 원인인 자외선은 피부세포 내에 유해한 활성 산소종 (reactive oxygen species, ROS)을 생성시키며 이러한 활성 산소종은 피부 결합조직을 구성하는 콜라겐, 엘라스틴 등과 같은 세포 외 기질 단백질의 합성을 줄이고, 구조 변형 및 탄력 감소에 밀접한 관련이 있는 것으로 알려져 있다 (Fisher 등, 2002; Kim 등, 2010). 또한 자외선은 activating protein-1 (AP-1)을 활성화 시키며, 활성화된 AP-1은 matrix metalloproteinase (MMPs)의 발현을 유도하여 광노화를 촉진시킨다(Oh 등, 2006; Soter 1990). 인체 진피 섬유아세포에 자외선을 조사하면 MMP-1 및 MMP-3 발현이 증가하는 것이 보고되어 있으며(Kim 등, 2013), 이 중 MMP-1은 collagenase 1으로 알려져 있으며, 콜라겐 type I과 III를 기질로 하고 있다 (Wang 등, 1999). 따라서 피부 주름 예방을 위해서는 섬유아세포내에서의 세포외기질 분해효소인 MMP의 작용을 억제시키고 collagen 합성을 증가시키는 것이 필요하다.

노랑어리연꽃(*Nymphoides peltata* (J.G.Gmelin) Kuntze)은 유라시아에 자생하는 조름나물과(Menyanthaceae)의 다년생 수생 식물로 잎은 마주 나며 꽃은 밝은 황색으로 7-9월에 핀다. 전초를 행채(蒼菜)라고 하며, 청열, 이뇨, 소종, 해독의 효능이 있다

Byoung Jun Park (✉)
E-mail: jinhyun.br@gmail.com

¹Skin Science Research Institute, Kolmar Korea Co., Ltd., Chungcheongbuk-do 28116, Republic of Korea

²Applied Product Development Team, National Development Institute of Korean Medicine, Gyeongsangbuk-do 38540, Republic of Korea

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.

(Bae 2000). Nymphoides 속은 전세계적으로 생물학적 특징에 따라 분류되어 약 50여종이 보고되어 있으며(Tipperly 등, 2009), 우리나라는 노랑어리연꽃, 어리연꽃(*N. indica* (L.) Kuntze) 및 좁어리연꽃(*N. coreana* (Lev.) Hara) 3종이 자생한다(Lee 등, 2011). 어리연꽃은 예부터 민간요법으로 이질, 음, 뱀독, 황달, 해열, 항경련 등의 치료 약물로서 널리 이용되어 왔으며, 최근 iridoid, flavonoid, terpenoid 등의 성분 연구 및 이에 대한 항균, 항원충, 항당화 등의 효과가 보고된 바 있다(Amin 2016). 하지만 어리연꽃의 다양한 생리활성 연구에 비교하여 동속 식물인 노랑어리연꽃에 대한 효능 및 활용 연구는 미미한 실정이다.

따라서 본 연구에서는 노랑어리연꽃 추출물 및 극성에 따른 용매 분획물의 주름개선 활성을 평가하여 천연 항노화 소재로서의 가치를 검토하고, 향후 노랑어리연꽃의 다양한 화장품 소재로서의 활용에 기초자료를 제시하고자 한다.

재료 및 방법

재료 및 추출

본 실험에 사용된 노랑어리연꽃은 국내산으로 광주광역시에 소재한 농업회사법인 (주)로터스그린에서 2015년 11월 구매하여 사용하였으며, 국립생물자원관 생물자원연구부 식물자원과의 확증표본(NIBRVP000012545)으로 생물 종 판별 시스템에 의해 확인되었다. 노랑어리연꽃의 전초는 음건한 후 건조 시료 200 g을 실온에서 methyl alcohol (MeOH)에 3일 동안 침지시키고 이 과정을 3회 반복하여 농축 후 동결 건조하여 추출물 21.5g을 얻었다. 노랑어리연꽃 추출물(16.4 g)은 증류수로 용해하고 유기 용매의 극성에 따라 *n*-hexane (Hex), methylene chloride (MC), ethyl acetate (EA) 및 *n*-butyl alcohol (BuOH)을 순차적으로 가하여 각 분획물(0.8, 0.7, 1.1, 2.4 g)을 얻었다.

시약 및 기기

세포 독성 실험 및 배양을 위한 3-[4,5-dimethylthiazol-2-yl]-2,5-diphenyl-tetrazolium bromide (MTT)는 Sigma-Aldrich (St Louis, MO, USA), Dulbecco's modified Eagle's medium (DMEM), fetal bovine serum (FBS) 및 Penicillin Streptomycin (100X)는 Hyclone (Logan, UT, USA) 제품을 사용하였다. 유효성 평가를 위한 MMP-1, Pro-COL1A1, β -actin 항체는 Santa Cruz Biotechnology (Santa Cruz, CA, USA)에서 구입하여 사용하였으며, ROS-Glo™ H₂O₂ Go Script™ Reverse Transcriptionase, GoTaq® Flexi DNA Polymerase는 Promega (Madison, WI, USA) 제품을 MMP-1, Pro-collagen kit는 각각 Abcam (Cambridge, MA, USA), TaKaRa (Shiga, Japan)에서 구입하여 사용하였다. 본 실험에 사용된 microplate reader 장비는 Spectrostar Nano (BGM LabTech, Ortenberg, Germany)를 사용하였으며, Chemi-Doc은 LAS4000 (Fuji Film, Tokyo, Japan) 제품을 사용하였다.

세포배양 및 세포 생존율 측정

ATCC에서 구매한 CCD-986sk (Human fibroblast) 세포를 10% FBS, 1% penicillin streptomycin을 첨가한 DMEM으로 배양기에서 37°C, 5% CO₂ 조건으로 배양하였다. 본 실험에서 CCD-986sk 세포에 대한 노랑어리연꽃 추출물 및 분획물의 유효농도를 결정

하기 위해 세포생존율 측정은 MTT assay로 진행하였다. 배양된 CCD-986sk 세포를 48 well plate에 각각 5×10³ cells/well로 접종하고 24시간 배양하였다. 동일 배지로 교체한 후 노랑어리연꽃 추출물 및 분획물을 농도별 (5, 10, 25, 50, 75, 100 µg/mL)로 희석하여 처리한 후 48 시간 CO₂ incubator에서 배양하였다. 5 mg/mL MTT 용액을 배양된 세포에 20 µL씩 처리한 후 4시간 반응시켰다. 그 후 demethyl sulfoxide 100 µL 넣은 후, 10분간 교반 한 후 microplate reader 로 540 nm에서 흡광도를 측정하였다.

ROS (Reactive Oxygen Species) 생성량 측정

CCD-986sk 세포를 배양한 후 96 well white plate에 2×10⁵ cells/well로 접종하고 24시간 배양하였다. 24시간 후 PBS로 교체한 후 UVB (20 mJ/cm²)를 조사 한 뒤, 노랑어리연꽃 추출물 및 분획물을 5, 10, 25 µg/mL 희석하여 처리한 후 24시간 배양하였다. 그 후 제조사의 매뉴얼에 따라 ROS Glo H₂O₂ assay 를 수행하였다.

Pro-collagen 합성 및 MMP-1 발현 측정

CCD-986sk 세포를 배양한 후 6 well plate에 1×10⁵ cells/well로 접종하고 24시간 배양하였다. 24시간 후 배지를 제거하고 PBS 1 mL을 첨가하여 UVB (20 mJ/cm²)를 조사한 뒤, PBS를 제거하고 10% FBS와 1% penicillin streptomycin이 들어 있지 않은 DMEM 배지로 교체한 후 노랑어리연꽃 추출물 및 분획물을 5, 10, 25 µg/mL 희석하여 처리하여 48시간 배양하였다. 상등액을 취하여 pro-collagen과 MMP-1을 각 kit사의 protocol에 따라 실험을 진행한 뒤, microplate reader로 450 nm에서 흡광도를 측정하였다.

Pro-collagen 및 MMP-1 단백질 발현 측정

CCD-986sk 세포를 1×10⁵ cells/well로 6 well plate에 분주하여 24시간 배양한 후에 UVB (20 mJ/cm²)를 조사한 뒤 노랑어리연꽃 추출물 및 분획물을 농도별로 처리하여 48시간 배양하였다. 세포를 RIPA buffer (Pierce, Appleton, WI, USA)로 용해하고 원심분리한 후 얻은 상층액을 BCA protein assay (Pierce, Appleton, WI, USA)로 protein을 20 µg의 농도로 정량하였다. 준비된 protein sample은 10% SDS-PAGE를 이용해 전기영동하고 PVDF membrane으로 transfer 시킨 뒤, 5% skim milk가 함유된 tris 완충용액으로 1시간 blocking 한 후, pro-collagen, MMP-1, β -actin 각각의 1차 및 2차 항체와 반응시켰다. 반응 후 Immobilon Western Chemiluminescent HRP substrate (Millipore, Billerica, MA, USA)를 이용하여 5분간 반응시킨 후 Chemi-Doc을 이용하여 현상하였다.

Pro-collagen 및 MMP-1 mRNA 발현 측정

노랑어리연꽃 추출물 및 분획물의 pro-collagen 및 MMP-1 mRNA 발현에 미치는 영향을 보기 위하여 CCD-986sk 세포를 6 well에 5×10⁵ cells/well에 되도록 분주하고 24시간 동안 배양하였다. 배지를 제거한 후 UVB (20 mJ/cm²)를 조사한 뒤, 시료를 농도별로 처리한 배지로 교환하고 48시간 동안 배양하였다. 48시간 후 cold PBS로 세척한 뒤, trizol reagent (Biosesang, Seongnam, Korea)을 이용하여 분리하였다. Total RNA 1 µg과 PCR primer oligonucleotide를 RT-PCR mixer와 혼합하고 RT-

PCR을 시행하였다. Pro-collagen (forward, CTCCAACGAGATCGAGATC and reverse, GTTACAGGAA GCAGACAGG)과 MMP-1 (forward, AAAGGG AATAAGTACTGGGC and reverse, AATTCCAGGAAAG TCATGTG)을 이용하여 RT-PCR을 실시하였으며, 조건은 94 °C에서 30초(denaturation), 50 °C에서 5초(annealing), 72 °C에서 90초(extension)의 반응을 30-35회 반복하는 것을 기본으로 target cDNA 종류에 따라 최적의 조건으로 조절하였다. 증폭된 cDNA는 1.25% agarose gel을 사용한 전기영동으로 분리하고 Gel-doc 으로 확인하였다.

통계처리

본 실험의 통계처리는 SPSS 12.0을 사용하였다. 각 실험군의 결과는 평균치와 표준편차로 나타내었으며, 각 실험군의 간의 결과는 2-표본 t 검정을 사용하여 분석하고 유의적인 차이가 있는 항목에 대해서만 검정하였다. 실험군 간의 차이는 95% 수준(**p* < 0.01, ***p* < 0.001)에서 유의성 있는 것으로 하였다.

결과 및 고찰

CCD-986sk내에서의 세포생존율 평가

노랑어리연꽃 추출물 및 분획물 cell viability와 실험에 사용될 농도 범위 결정을 위해 MTT assay를 수행하였다. CCD-986sk 세포에 노랑어리연꽃 추출물 및 분획물을 5, 10, 25, 50, 75, 100 µg/mL 농도로 처리한 결과, 25 µg/mL 이하의 농도에서 세포생존율이 90% 이상으로 나타내어 CCD-986sk 세포의 생존율에 큰 영향을 나타내지 않음을 확인 할 수 있었다(Fig. 1).

활성산소종(ROS) 억제 효과

피부에 UVB의 노출은 활성산소종(ROS) 생성을 야기시키며

(Fisher 등, 1997; Yoon 등, 2003; Han 등, 2013), 이때 생성되는 ROS는 피부세포 내에서의 여러 신호 전달 체계를 통해 피부 주름과 관련된 전사인자들을 활성화 시킨다(Lee 등, 2012). 이는 광노화를 방어하고 자외선으로부터 보호제를 개발하는데 있어서 ROS의 역할이 중요함을 시사하여 준다. 따라서 노랑어리연꽃 추출물 및 분획물의 ROS 억제효과를 알아보기 위하여 CCD-986sk 세포에서의 UVB 조사에 따른 ROS 생성을 측정할 결과, UVB로 유도된 그룹에서는 정상군에 비해 ROS 생성물이 증가하였으며, 노랑어리연꽃 추출물 및 분획물을 농도별로 처리한 결과 농도 의존적으로 ROS 생성을 감소시키는 것을 확인하였다. 그 중 노랑어리연꽃 EA 분획물이 25 µg/mL의 농도에서 50% 이상의 ROS 발현을 억제시켰으며 Park 등 (2014)의 말채나무 잎 추출물이 50 µg/mL 농도에서 ROS 생성을 억제시키는 활성을 나타낸 것에 비해 노랑어리연꽃 EA 분획물이 더 우수한 효능을 나타냄을 확인 할 수 있었다(Fig. 2).

CCD-986sk 세포내 pro-collagen 합성 및 MMP-1 발현 측정 결과

피부 노화의 중요한 임상증상인 주름, 피부탄력감소의 원인으로 는 진피 내 세포 외 기질 단백질의 감소를 들 수 있다. 자외선의 자극을 받은 섬유아세포내에서는 collagenase, elastase, gelatinase등의 MMPs에 의하여 분해되어 콜라겐 섬유 길이와 분포에 손상을 초래하게 되며 피부 세포의 주름과 관련된 콜라겐들은 섬유아세포내에서 프로콜라겐이라는 전구물질의 형태로 합성된다(Chung 2003; Kim 등, 2015). 자외선에 의해 이러한 프로콜라겐의 양이 감소함에 따라 콜라겐 양이 감소하게 된다. 따라서 프로펩타이드와 MMP-1의 양을 측정함으로써 세포내에서의 콜라겐 합성 정도를 파악할 수 있다. 따라서 프로콜라겐의 합성을 촉진 및 MMP-1의 발현을 억제시킬 수 있는 소재는 탄력 있는 피부를 만들어 주는 화장품 원료로서 사용 가능

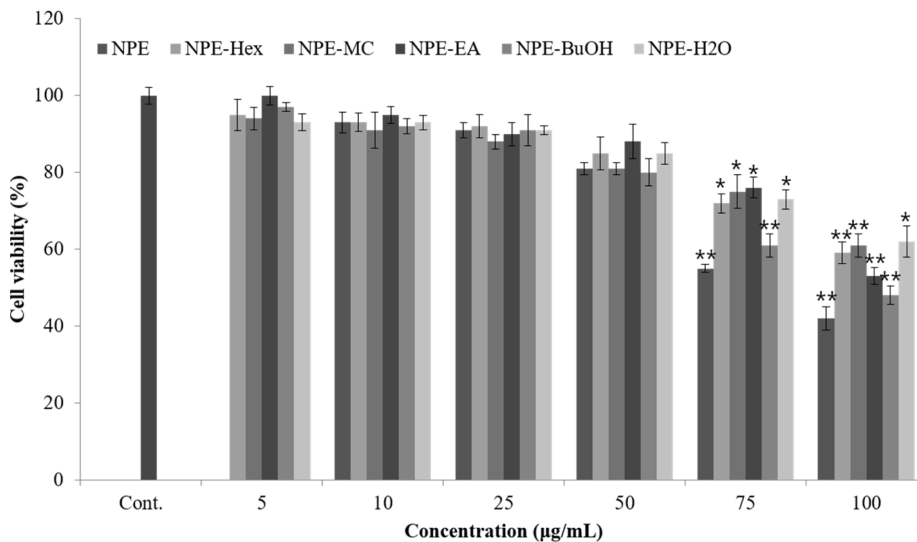


Fig. 1 Effect of *Nymphioides peltata* extracts and fractions on the viability of CCD-986sk. ■ NPE: *Nymphioides peltata* (N. peltata) methanol extracts; ■ NPE-Hex: n-hexane fraction of N. peltata extracts; ■ NPE-MC: Methylene chloride fraction of N. peltata extracts; ■ NPE-EA: Ethyl acetate fraction of N. peltata extracts; ■ NPE-BuOH: n-butyl alcohol fraction of N. peltata extracts; ■ NPE-H2O: water fraction N. peltata extracts. Cont.: Control group N. peltata extracts were not treated. Results were expressed as % of control and data were means ± SD. Significant differences were compared with control at **p* < 0.01, ***p* < 0.001 compared with no treatment

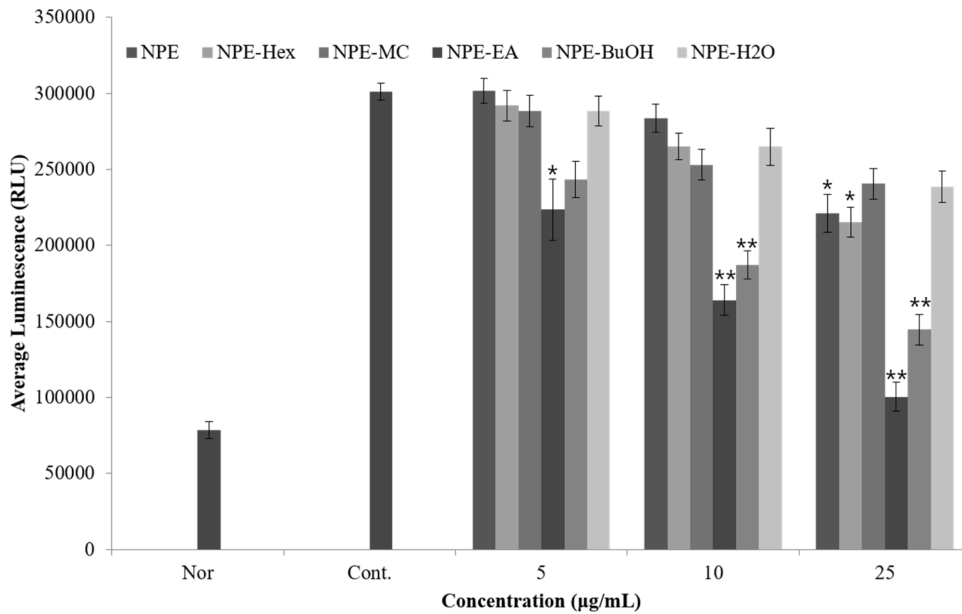


Fig. 2 *Nymphoides peltata* extracts suppresses UVB-induced reactive oxygen species (ROS) generation in CCD-986sk. ■ NPE: *Nymphoides peltata* (*N. peltata*) methanol extracts; ▨ NPE-Hex: *n*-hexane fraction of *N. peltata* extracts; ▩ NPE-MC: Methylene chloride fraction of *N. peltata* extracts; ■ NPE-EA: Ethyl acetate fraction of *N. peltata* extracts; ▨ NPE-BuOH: *n*-butyl alcohol fraction of *N. peltata* extracts; ▩ NPE-H₂O: water fraction *N. peltata* extracts. Cont.: Control group *N. peltata* extracts were not treated. Results were expressed as % of control and data were means ± SD. Significant differences were compared with control at **p* < 0.01, ***p* < 0.001 compared with no treatment

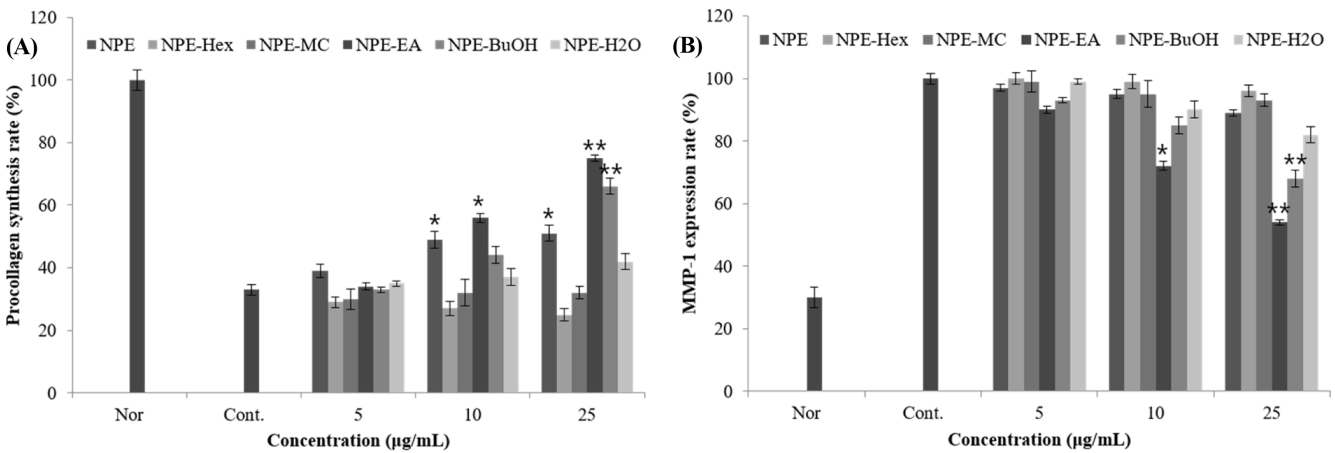


Fig. 3 Effect of *Nymphoides peltata* extracts and fractions on UVB-induced increase in (A) pro-collagen type 1 synthesis and reduction in MMP-1 expression (B) in CCD-986sk. ■ NPE: *Nymphoides peltata* (*N. peltata*) methanol extracts; ▨ NPE-Hex: *n*-hexane fraction of *N. peltata* extracts; ▩ NPE-MC: Methylene chloride fraction of *N. peltata* extracts; ■ NPE-EA: Ethyl acetate fraction of *N. peltata* extracts; ▨ NPE-BuOH: *n*-butyl alcohol fraction of *N. peltata* extracts; ▩ NPE-H₂O: water fraction *N. peltata* extracts. Cont.: Control group *N. peltata* extracts were not treated. Results were expressed as % of control and data were means ± SD. Significant differences were compared with control at **p* < 0.01, ***p* < 0.001 compared with no treatment

성이 높다고 생각되며 이에 노랑어리연꽃 추출물 및 분획물을 이용하여 pro-collagen 합성 및 MMP-1 발현 실험을 수행하였다. 그 결과, 노랑어리연꽃 MeOH 추출물의 경우 5, 10, 25 µg/mL의 농도에서 6, 16, 28%의 pro-collagen 합성을 나타내었으며, EA 및 BuOH 분획물은 5 µg/mL 농도에서는 낮은 합성율을 나타내었지만 10, 25 µg/mL 농도에서는 높은 활성을 나타내었다. 특히 EA 분획물의 경우 최고 농도인 25 µg/mL의 농도에서는 대조군에 비해 40% 이상의 높은 생성율을 나타내어,

Hwang 등 (2015)의 보고에서 자주달개비 메탄올 추출물은 25 µg/mL의 농도에서 28% pro-collagen을 합성능을 나타낸 것과 비교하였을 때 노랑어리연꽃 추출물 및 분획물의 pro-collagen의 활성이 우수함을 확인 할 수 있었다(Fig. 3). 또한 노랑어리연꽃 추출물 및 분획물의 MMP-1 활성 저해를 측정된 결과, UVB로 발현된 MMP-1을 모든 추출물에서 농도 의존적으로 저해를 시켰지만, EA 분획물이 5, 10, 25 µg/mL에서 10, 28, 46%의 저해율을 나타내었으며, BuOH 분획물의 경우 EA 분획물과

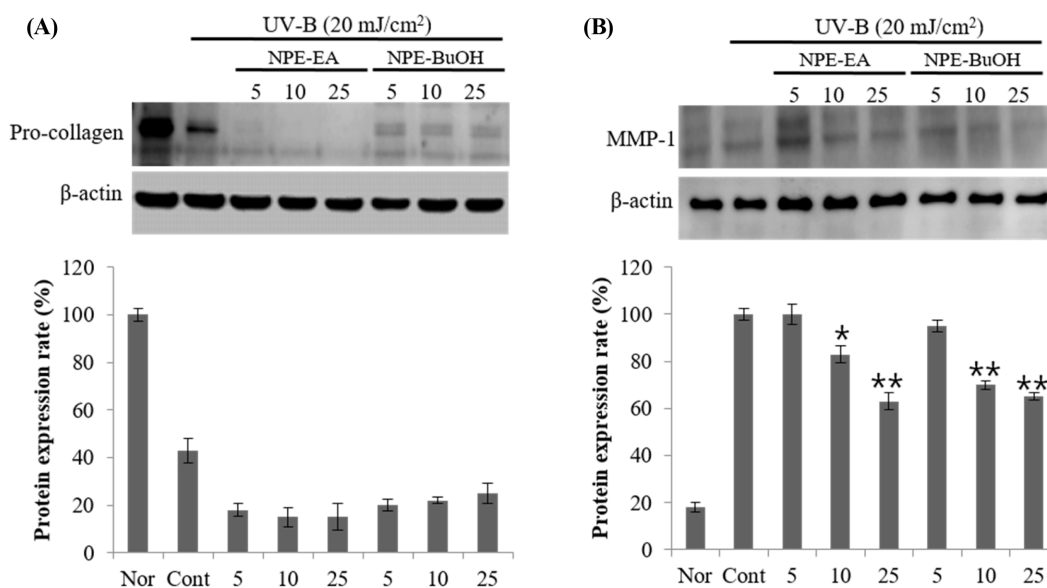


Fig. 4. Effect of *Nymphoides peltata* extracts and fractions on UVB-induced production of type-1 procollagen protein (A) and inhibition of MMP-1 protein (B) in CCD-986sk. UVB (20 mJ/cm²)-exposed cells were cultured for 48 h in the presence of *Nymphoides peltata* fractions. Nor: Normal group didn't treat UVB and treatment. Cont.: Control group was stimulated with UVB and *N. peltata* extracts were not treated. Results were expressed as % of control and data were means ± SD. Significant differences were compared with control at **p* < 0.01, ***p* < 0.001 compared with no treatment

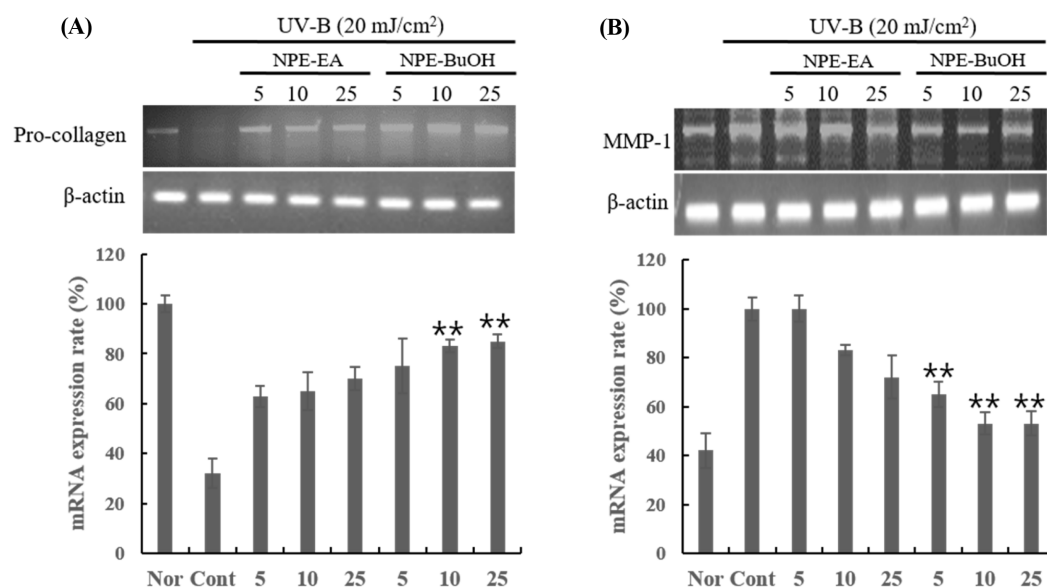


Fig. 5 Effect of *Nymphoides peltata* extracts and fractions on UVB-induced production of type-1 procollagen mRNA (A) and inhibition of MMP-1 mRNA (B) in CCD-986sk. UVB (20 mJ/cm²)-exposed cells were cultured for 48 h in the presence of *Nymphoides peltata* fractions. Nor: Normal group didn't treat UVB and treatment. Cont.: Control group was stimulated with UVB and *N. peltata* extracts were not treated. Results were expressed as % of control and data were means ± SD. Significant differences were compared with control at ***p* < 0.001 compared with no treatment

같은 농도구간에서 각각 7, 15, 32%로 발현을 저해 하는 것을 확인하였다. 이는 Lee와 Lee (2013)에 보고된 청미래덩굴 에탄올 추출물의 50 µg/mL에서의 25.1%의 저해 활성보다도 뛰어난 활성임을 확인 할 수 있었다(Fig. 4). 이러한 결과로 보아 노랑어리연꽃 분획물은 섬유아세포내에서의 UV-B로 인한 pro-collagen 감소를 증가 시켜주며, 증가된 MMP-1 발현양을 저해 시켜 줌으로써 주름 생성을 예방할 수 있는 소재임을 확인하였다.

CCD-986sk 세포내 pro-collagen, MMP-1의 protein 및 mRNA 발현 측정 결과

ELISA를 통해 pro-collagen의 합성능과 MMP-1의 발현 저해를 정량적으로 확인 하였으며, CCD-986sk 세포에서 단백질과 RNA 을 추출하여 protein 및 mRNA level 에서의 노랑어리연꽃 EA 와 BuOH 분획물의 효과를 확인하기 위하여 western blot과 RT-PCR을 이용하여 활성을 측정하였다. UVB를 조사한 그룹에서는

pro-collagen 발현이 UVB를 조사하지 않은 그룹에 비해 40% 이상 발현이 저해 되었으며, MMP-1의 발현은 UVB 조사한 그룹이 조사 하지 않은 그룹에 비해 4배 이상 발현률이 증가하였다. 여기에 노랑어리연꽃 EA와 BuOH 분획물을 농도별로 처리한 결과 pro-collagen protein 발현 증가에서는 낮은 활성이 확인 되었지만, MMP-1 저해 활성의 경우 두 분획물 모두 농도 의존적으로 저해시키는 것이 확인 되었다. EA 분획물은 25 µg/mL의 농도에서 38%의 저해율을 나타내었으며, BuOH 분획물의 경우 같은 농도인 25 µg/mL에서 35%의 저해율이 나타남을 확인 하였다(Fig. 4). mRNA 발현에서는 EA와 BuOH 분획물의 경우 농도 의존적으로 pro-collagen 발현이 증가 하였으며, EA 분획물의 경우 최고 농도인 25 µg/mL에서 33%의 활성을 나타내었고, BuOH 분획물의 경우 25 µg/mL의 농도에서 53%의 우수한 pro-collagen 활성을 나타내었다. MMP-1의 저해 활성 또한 BuOH 분획물에서 우수한 저해 활성을 나타내었으며, 10 µg/mL 농도에서 40% 이상 MMP-1 발현을 감소시키는 것을 확인하였다(Fig. 5). Lee 등 (2013)은 생물전환 지질 추출물의 100 µg/mL에서 50% MMP-1 저해 활성이 나타나는 것으로 보고하였는데, 노랑어리연꽃은 10 µg/mL의 농도에서 40% 이상의 MMP-1 저해 활성을 확인하여 저농도에서도 높은 활성을 확인 할 수 있었다. 따라서 노랑어리연꽃 EA 및 BuOH 분획물은 CCD-986sk 세포내에서 ROS와 같은 노화 인자의 생성 억제와 동시에 피부의 주요 구성성분인 콜라겐의 합성 및 분해 억제 효능을 통해 항노화 소재로서의 활용가치가 있는 것으로 판단되며, 앞으로 임상 수준에서 안전성 및 효능 연구를 진행 할 예정이다.

초 록

본 연구는 새로운 기능성 화장품 소재 개발을 위해 노랑어리연꽃 추출물 및 분획물을 이용하여 섬유아세포내에서의 항노화 효과를 확인 하고자 하였다. 노랑어리연꽃 추출물 및 분획물의 CCD-986sk 세포를 이용하여 항노화 효과를 측정 한 결과, EA 분획물이 UVB에 의해 증가된 ROS 발현을 50% 이상 억제 하였으며, BuOH 분획물의 경우 pro-collagen mRNA 발현을 25 µg/mL에서 50% 이상 발현을 증가시켰다. EA 분획물과 BuOH 분획물 모두 MMP-1 protein과 mRNA 발현을 농도 의존적으로 저해시켰으며, BuOH 분획물의 경우 10 µg/mL에서 40% 이상의 MMP-1 mRNA 발현 억제율을 확인하였다. 이는 노화 인자인 활성산소종의 생성 억제와 주름과 밀접한 관련이 있는 콜라겐의 합성 및 분해억제를 통해 항산화 및 주름 개선 효과가 있는 것으로 판단되었으며 특히 EA 와 BuOH 분획물의 높은 효능이 확인되었다. 따라서 노랑어리연꽃 EA 및 BuOH 분획물은 화장품 분야에서 항노화 소재로서의 활용가치가 있을 것으로 사료된다.

Keywords 노랑어리연꽃 · 섬유아세포 · 프로콜라겐 · 항노화

감사의 글 본 연구는 보건복지부 보건의료연구개발사업의 지원에 의하여 이루어진 것임. (과제고유번호HN15C0103)

References

- Amin A (2016) Phytochemical and Pharmacological investigations on *Nymphoides indica* Leaf extracts. *Phytother Res* 30: 1624–1633
- Bae KH (2000) The medicinal plants of Korea. Kyo-Hak Publishing Co., Ltd., Seoul, Korea
- Chung JH (2003) Generation Mechanism and Cause of Wrinkle. *J Soc Cosmet Sci Kor* 43: 1–15
- Fisher GJ, Kang S, Varani J, Bata-Csorgo Z, Wan Y, Datta S, Voorhees JJ (2002) Mechanisms of photoaging and chronological skin aging. *Arch Dermatol* 138: 1462–1470
- Fisher GJ, Wang ZQ, Datta SC, Varani J, Kang S, Voorhees JJ (1997) Pathophysiology of premature skin aging induced by ultraviolet light. *New Engl J Med* 337: 1419–1428
- Han SB, Kwon SS, Kong BJ, Kim KJ, Park SN (2013) Antioxidative effect and tyrosinase inhibitory activity of the unripened fruit extract of *Rubus coreanus* Miquel. *J Soc Cosmet Sci Kor* 39: 295–302
- Hwang JY, Beak HG, Park BR, Kim YC (2015) Anti-aging Efficacy of *Tradescantia reflexa* Methanol Extract in Human Dermal Fibroblasts. *J invest Cosmetol* 11: 25–32
- Jenkins G (2002) Molecular mechanisms of skin ageing. *Mech Ageing Dev* 123: 801–810
- Kim DS, Jeon BK, Lim NY, Mun YJ, Lee YE, Woo WH (2013) Ethanol Extract of *Dioscorea batatas* Stimulates Procollagen Production and Reduces UVB-induced MMPs Activity in Skin. *Kor J Oriental physiol Pathol* 27: 183–188
- Kim EJ, Kim MK, Jin XJ, Oh JH, Kim JE, Chung JH (2010) Skin aging and photoaging alter fatty acids composition, including 11, 14, 17-eicosatrienoic acid, in the epidermis of human skin. *J Kor Med Sci* 25: 980–983
- Kim SJ, Nam YM, Kim YM, Ko SK (2015) Inhibition of MMP-1 Expression and Collagen Synthesis Activity of Ultrasonication Processed Ginseng Flower Buds Extract. *Kor J Pharmacogn* 46: 154–159
- Lee BY, Nam GH, Lee JY, Park CH, Lim CE, Kim MH, Lee SJ, Roh TK, Lim JA, Han JE, Kim JH (2011) National List of Species of Korea (Vascular Plants). National Institute of Biological Resources. Incheon
- Lee GW, Park SM, Yoo YC, Cho YH (2013) Effect of *Ponciri Fructus* Extracts Fermented with *Ganoderma lucidum* on the Collagen Synthesis and Expression of Matrix Metalloproteinase-1. *J Kor Soc Biotech & Bioeng* 28: 106–114
- Lee KH, Kong HJ, Cho YL, Joo CG, Kwon SS, Hwang JS, Park C (2012) Anti-Microbial and Anti-Wrinkle Effect of Kaempferol and Kaempferol Rhamnosides isolated from *Hibiscus cannabinus* L. *Kor J Med Crop Sci* 20: 454–460
- Lee SY, Lee JY (2013) Inhibitory Efficacy of *Smilax china* L. on Pro-collagen Type-1 Activity and MMP-1 Gene Expression in Fibroblasts (CCD-986sk). *J Life Sci* 10: 1239–1245
- Oh JH, Kim A, Park JM, Kim SH, Chung AS (2006) Ultraviolet B-induced matrix metalloproteinase-1 and -3 secretion are mediated via PTEN/Akt pathway in human dermal fibroblasts. *J Cell Physiol* 209(3): 775–785
- Park HC, Jung TK, Yoon KS (2014) Antioxidative Activity of Extract of *Cornus walteri* Wanger Leaves in Human Dermal Fibroblast Irradiated by UVB. *J Kor Soc Biotech & Bioeng* 29: 432–436
- Soter NA (1990) Acute effects of ultraviolet radiation on the skin. *Semin Dermatol* 9(1): 11–15
- Tippery NP, Les DH, Regalado JC, Acveryanov LV, Long VN, Raven RH (2009) Transfer of *Villarsia cambodiana* to *Nymphoides* (Menyanthaceae). *Systemat Bot* 34: 818–823
- Wang Y, Johnson AR, Ye QZ, Dyer RD (1999) Catalytic activities and substrate specificity of the human membrane type 4 matrix metalloproteinase catalytic domain. *J Biol Chem* 274: 33043–33049
- Yoon I, Wee JH, Moon JH, Ahn TH, Park KH (2003) Isolation and identification of quercetin with antioxidative activity from the fruits of *Rubus coreanus* Miquel. *Kor J Food Sci Technol* 35: 499–502