

인체 피부 섬유아세포에서 자외선 조사에 대한 다양한 곡류 메탄올 추출물의 보호 효과

전지영 · 양진우 · 성지혜 · 성예지 · 정현상 · [†]이준수
충북대학교 식품생명·축산과학부

Protective Effect of Various Grain Methanolic Extracts against UVB-induced Photo-aging in Human Skin Fibroblasts

Jiyoung Jeon, Jinwoo Yang, Jeehye Sung, Yeji Seong, Heon Sang Jeong and [†]Junsoo Lee
Division of Food and Animal Sciences, Chungbuk National University, Chungbuk 28644, Korea

Abstract

In the present study, we investigated the protective effect of various grain methanolic extracts against UVB-induced photo-aging in human skin fibroblasts. Various grain methanolic extracts were evaluated for their antioxidant compounds and activities. 2,2-Ddiphenyl-1-picrylhydrazyl radical (DPPH) and ABTS 2,2-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonic acid) radical cation scavenging activities have been used to measure the relative antioxidant activities of extracts from grains. The content of total polyphenolics in the extracts were evaluated using spectrophotometric methods. Human skin fibroblast (Hs68) cells were pretreated with various grain methanolic extracts (25 µg/mL). Skin toxicity was simulated by exposing the cells to UVB (30 mJ/cm²) irradiation. In response to the UVB-irradiation, an increased amount of matrix metalloproteinases (MMPs) release was observed, whereas pretreatment of various grain methanolic extracts significantly inhibited the production of MMP-1 in Hs68 cells. We also found that pretreatment of the extracts significantly decreased UVB-induced reactive oxygen species and significantly increased total collagen content in Hs68 cells. These results provide that grains could be regarded as a potential ingredient in natural cosmetics, used for UVB protection.

Key words: grains, photoaging, UVB, antioxidant, fibroblast

서 론

피부는 미생물의 침입, 독성 물질 및 자외선과 같은 외부 환경적인 손상으로부터 신체를 보호하는 주요 방어막이다(Sun 등 2015). 피부 노화는 외인성 및 내인성 요인에 기인하여 나타날 수 있는데, 이는 주로 주름, 처짐, 이완을 일으킨다(Takema 등 1994; Jenkins G 2002). 햇빛으로부터의 자외선, 특히 파장이 280~320 nm인 ultraviolet B(UVB)는 세포 외 기질(extracellular matrix, ECM)의 주요 구성 요소인 콜라겐을 파괴시킴으로써 콜라겐성 피부 조직에 뚜렷한 변화를 일으킨다(Ganceviciene

등 2012). 광노화에서 자외선 노출은 활성 산소종(reactive oxygen species, ROS)의 생성을 촉진시키는 것으로 나타났다(Pillai 등 2005). 이러한 비정상적인 활성 산소종의 증가는 체내 항산화 방어체계가 손상되어 산화적 스트레스를 일으키며, 표피의 각질 형성세포에서 염증성 사이토카인 분비를 촉진시켜 진피 섬유아세포에서 matrix metalloproteinases(MMPs)을 유도하여 피부노화를 촉진한다고 알려져 있다(Fisher 등 1998; Oh 등 2004). 극히 낮은 양의 UVB 조사일지라도 사람의 피부에서 MMP를 활성화시킬 수 있으며, 이는 피부의 주요 구성 성분인 콜라겐과 엘라스틴의 합성을 억제하여 주름을 형성

[†] Corresponding author: Junsoo Lee, Division of Food and Animal Science, Chungbuk National University, Chungbuk 28644, Korea. Tel: +82-43-261-2566, Fax: +82-43-271-4412, E-mail: junsoo@chungbuk.ac.kr

한다고 보고되어 있다(Chatterjee 등 1990; Kahari & Saarialho-Kere 1997).

최근 부작용이 적은 식물 추출물에서 피부 노화를 억제하는 기능성 소재를 탐색하는 연구가 활발하게 진행되고 있으며, 이들은 대부분 식물의 2차 대사산물로서 폴리페놀 및 플라보노이드 등과 같은 생리활성 물질을 다량 함유하고 있어, 복합적인 생물학적 효과를 가진다고 보고되어 왔다(Masteikova 등 2008). 전 세계적으로 주요 작물인 곡류에는 탄수화물, 단백질, 미네랄과 미타민 등의 다양한 영양소를 비롯하여 phenolic compound, flavonoid, lignan, phytic acid 등의 기능성 성분을 다량 함유하고 있다(Lee 등 2006). 통곡물의 섭취는 대사증후군, 비만, 그리고 심혈관 질환 및 제 2형 당뇨병과 같은 만성 질환의 예방과 관련이 있다고 보고되어 있다(Wang 등 2014). 특히, 곡물에 존재하는 생리활성 성분 중에서 phenolic compound는 강력한 항산화 활성을 지닌다고 알려져 있다(Hung PV 2016). 이러한 연구에 근거하여 국내에서 주로 소비되는 곡물의 광노화 억제 효능에 대해 기대할 수 있으며, 곡물들의 기능성 입증으로 천연 기능성 소재로의 활용을 증가시킬 수 있다. 따라서 본 연구에서는 국내에서 주로 소비되는 곡류인 백미, 흑미, 수수, 현미, 보리, 울무 및 귀리의 메탄올 추출물을 제조하여 항산화 활성 및 UVB를 조사한 인간의 피부 섬유아세포의 광노화에 미치는 영향을 조사하였다.

재료 및 방법

1. 실험재료

Dulbecco's modified Eagle's medium(DMEM), fetal bovine serum(FBS) 및 PSN antibiotic solution(penicillin-streptomycin-neomycin)은 Gibco(Gaithersburg, MD, USA)에서 구입하였다. 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide(MTT), dimethyl sulfoxide(DMSO), gallic acid, Folin-Ciocalteu's reagent, 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl(DPPH), diammonium salt of 2,2-azino-bis-(3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonic acid)(ABTS), 6-hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchroman-2-carboxylic acid (Trolox®), ethylenediaminetetraacetic acid(EDTA) 및 2',7'-dichlorofluorescein diacetate(DCFH-DA)는 Sigma-Aldrich(St. Louis, MO, USA)에서 구입하였다. 모든 시약 및 용매는 analytical 등급을 사용하였다.

2. 곡류 추출물 제조

7종의 곡류(백미, 현미, 보리, 울무, 귀리, 수수, 흑미)를 청주 대형할인마트에서 구입하였으며, 모든 곡류는 2015년에 수확되었다. 균질화 한 시료를 대략 10 g 취하여 메탄올 200 mL를 넣고 shaker(Eyela Model MMS-300, Tokyo Rikakikai Co., Ltd., Japan)를 이용하여 24 h 동안 실온에서 추출하였으며,

Whatman No. 2 filter paper를 이용하여 필터한 후 추출물을 진공 상태에서 농축하였다. 농축액을 DMSO로 재용해한 후 이어서 0.22 µm 멸균 필터로 여과하고, 분석 전까지 -20°C에서 보관하였다.

3. 세포배양 및 세포 독성 실험

본 실험에 사용된 인체 피부 섬유아세포주인 Hs68 세포는 ATCC(American Type Culture Collection, Manassas, VA, USA)에서 구입하였다. 10% FBS와 penicillin(100 unit/mL), streptomycin (50 µg/mL)이 함유된 DMEM 배지를 사용하여 37°C, 5% CO₂, 95% humid air로 조절된 배양기(Thermo Scientific, Tewksbury, MA, USA)에서 배양하였다.

Hs68 세포를 96-well plate에 1.0×10⁴ cells/well의 농도로 분주하였다. 24 h 배양 후 배지를 다양한 곡류 메탄올 추출물 (25 µg/mL)이 함유되고, FBS가 함유되지 않은 배지로 교체하였다. 24 h 시료 처리 후 MTT(1 mg/mL)용액 20 µL를 각 well에 첨가하고, 4 h 동안 배양하였다. 마지막으로 상층액을 제거하고, 생존 세포에서 생성된 청색 formazan결정을 DMSO로 가용화 시켜 Microplate reader (BioTek, Inc., Winooski, VT, USA)를 사용하여 550 nm에서의 흡광도를 측정하였다. 시료 처리 시에는 DMSO의 최종 농도가 0.1% (v/v) 미만인 되도록 각종 곡류 메탄올 추출물을 배지로 희석하여 사용하였다.

4. UVB 조사

Hs68세포를 96-well plate에 1.0×10⁴ cells/well의 농도로 분주하여 24 h 동안 배양한 후, 각 well에 FBS가 없는 배지로 곡류 추출물을 희석한 후 처리하여 24 h 동안 배양하였다. 그 후 UVB lamp(Sankyo Denki Lamps, GL20SE, Marine, Japan)를 이용하여 UVB(30 mJ/cm²)를 조사하였고, UV LIGHT METER (LT Lutron, UV-340A, Taiwan)를 사용하여 자외선 강도를 모니터링 하였다. 모든 UVB 조사는 96-well plate에 부착된 세포에 PBS를 얇게 도포한 후 수행하였다. 조사 후 FBS가 없는 배지에서 다양한 곡류의 메탄올 추출물을 희석하여 24 h 동안 세포에 처리하였다. 대조군은 UVB 조사 없이 동일한 조건으로 진행되었다.

5. ROS 생성 측정

Hs68 세포에 다양한 곡류 추출물(25 µg/mL)을 24 h 동안 전처리하고, PBS로 세척한 후 세포를 UVB(30 mJ/cm²)로 조사하였다. UVB 조사 후 세포에 다양한 곡류 메탄올 추출물을 30분간 처리한 후 25 µM의 DCFH-DA로 염색하였다. 세포 내 ROS 생성에 해당하는 형광 강도는 485 nm의 여기 파장 및 530 nm의 방출 파장에서 2시간 동안 fluorescent spectrophotometer (Perkin-Elmer, Norwalk, CT, USA)로 측정하였다.

6. MMP-1 및 수용성 콜라겐 생성량 측정

UVB 조사에 의해 합성이 증가되는 MMP-1의 측정은 human MMP-1 ELISA kit(Merck & Co. Inc., Whitehouse Station, NJ, USA)를 이용하여 enzyme-linked immunosorbent assay 방법으로 배지 중의 pro-MMP-1 생성량을 측정하였다.

UVB 조사 후 수용성 콜라겐 생성량은 Sircol™ soluble collagen assay kit를 사용하여 측정하였다. 세포를 배양한 배지를 수집하여 Sirco dye reagent와 혼합, 반응하여 원심분리 후 차가운 acid-salt washing reagent를 침전물에 첨가하여 혼합하였다. 혼합물을 원심분리한 후 침전물을 alkali reagent를 사용하여 용해시키고, 555 nm에서 흡광도를 측정하였다.

7. 항산화 성분 측정

Folin-Ciocalteu method(Dewanto 등 2002)를 이용하여 총 폴리페놀 함량을 측정하였다. 각 추출액 100 μ L를 2% NaCO_3 용액 2 mL와 50% Folin-Ciocalteu 시약 100 μ L를 혼합하였다. 반응 혼합물의 흡광도 값을 750 nm에서 측정하였고, 표준물질로 0.1% gallic acid를 사용하였다.

8. 자유라디칼 소거활성을 통한 총 항산화력 측정

DPPH 라디칼 소거 활성은 Kim 등(2002)의 방법에 의하여 측정하였다. 곡류 추출물 50 μ L를 0.2 mM DPPH 라디칼 용액 1 mL에 첨가하고, 실온에서 30분 반응 후 반응 혼합물의 흡광도를 520 nm에서 측정하였다. ABTS 라디칼 소거활성은 Re 등(1999)의 방법에 의하여 측정하였다. ABTS 7.4 mM과 potassium persulfate 2.6 mM을 하룻 동안 암소에 방치하여 ABTS 양이온을 형성시킨 후, 이용액을 735 nm에서의 흡광도(몰 흡광계수 $\epsilon = 3.6 \times 10^4 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$)가 1.4~1.5가 되도록 증류수로 희석하였다. 희석된 ABTS 용액 1 mL에 추출액 50 μ L를 가하여 60분 후 흡광도의 변화를 측정하였다. 표준물질로 Trolox®를 이용하여 표준곡선을 작성한 후 시료의 항산화력(TEAC, Trolox equivalent antioxidant capacity)을 계산하였다.

9. 통계처리

모든 실험은 3회 이상 반복 실시하였으며, 결과는 평균 \pm 표준오차(standard error, SE)로 표시하였다. 통계 비교는 SAS version 8.1(SAS Institute, Cary, NC, USA)을 사용하여 일반 분산분석(ANOVA)을 실시한 후, Duncan's multiple comparison test를 이용하여 검증하였으며, $P < 0.05$ 수준에서 유의성의 여부를 산출하였다.

결과 및 고찰

1. 곡류 추출물의 세포독성 및 UVB 조사 후 세포 보호 효과

자외선 조사는 MMP 발현을 유도하고, 피부 세포 외 기질에서 총 콜라겐 생성을 감소시키므로 광노화된 피부에서 탄력성이 감소되고, 피부치짐 현상이 관찰된다(Lee 등 2012). 따라서 MMP의 생성을 감소시키고, procollagen 생성을 증가시킬 수 있는 다양한 식물유래의 천연 소재들은 광노화를 감소시키는 새로운 전략으로 여겨지고 있다(Sun 등 2015). 먼저, 다양한 곡류 메탄올 추출물이 Hs68 세포에 대한 세포 독성을 가지는지 여부를 조사하였다. 다양한 곡류 메탄올 추출물은 25 μ g/mL 농도에서 48 h 동안 세포에 대한 독성을 보이지 않았다(Fig. 1A).

다음으로 UVB 30 mJ/cm^2 를 조사 후 다양한 곡류의 메탄올 추출물 25 μ g/mL의 세포 생존율에 미치는 영향을 살펴본 결과, UVB 30 mJ/cm^2 를 조사하였을 때 유의적으로 세포 생존율이 낮아졌다(Fig. 1B). 그러나 곡류 추출물이 전 처리된 모

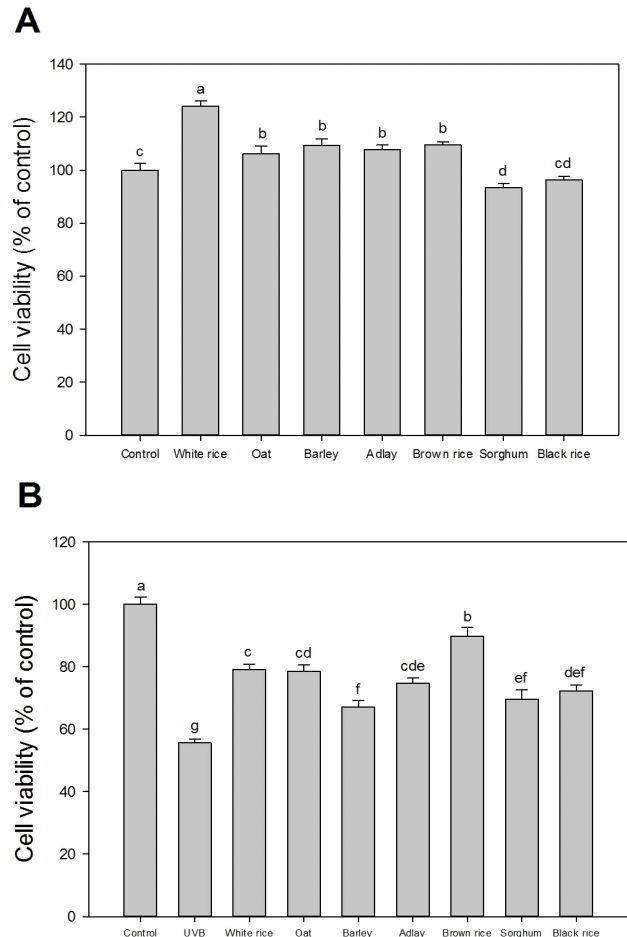


Fig. 1. Cell viability of methanolic extracts from various cereal grains on Hs68 (A) and protective effects of various grain methanolic extracts against UVB-induced Hs68 cell (B). Values are expressed as the mean \pm SE (n=3). Different letters indicate a significant difference at the $p < 0.05$ level.

든 군에서는 유의적으로 세포 생존율이 증가하였으며, 7종의 곡류 추출물이 UVB로 유도된 광노화에 대해 세포 보호효과가 있는 것으로 판단되었다. 특히 백미, 귀리 및 현미 추출물을 처리한 군은 80% 이상의 세포 생존율을 보여, 다른 곡물들에 비해 UVB에 의한 광노화 보호효과가 우수할 것으로 생각된다.

2. UVB 조사에 따른 MMP-1과 수용성 콜라겐 생성에 대한 곡류 추출물이 효과

UVB 조사는 피부 노화의 주요 원인인 MMPs의 분비를 활성화시킨다(Pillai 등 2005; Brenneisen 등 2002; Fisher 등 2002). 또한 콜라겐은 피부 결합조직의 세포 외 기질의 주성분으로 피부의 강도와 탄력을 담당하지만, UVB에 의한 광노화에 따라 콜라겐의 농도가 감소한다(Fisher 등 2002). 본 연구에서는 인체 피부 섬유아세포에서 UVB 조사가 MMP-1과 수용성 콜라겐 생성에 대한 다양한 곡류 추출물의 효과를 비교하였다. UVB 조사로 인해 Hs68 세포의 배지에서 MMP-1 분비를 증가시켰고, 다양한 곡류 메탄올 추출물은 UVB로 유도된 MMP-1의 생성을 유의적으로 감소시켰으며, 특히 흑미의 MMP-1 생성 억제효과가 가장 크게 나타났다(Fig. 2A). 수용성 콜라겐 생성의 변화를 관찰한 결과, UVB 조사에 의해 수용성 콜라겐의 생성이 유의적으로 크게 감소한 반면, 곡류 추출물을 처리한 모든 군에서 유의적으로 증가시켰다(Fig. 2B). 세포 보호 효과가 높게 나타난 백미와 현미군에서 수용성 콜라겐 함량이 가장 높게 측정됐다. Kim 등(2014)은 녹차나무 씨 추출물의 처리가 자외선 조사로 손상된 인체 피부 섬유아세포에서 MMP-1의 합성을 감소시키고, collagen의 합성을 증가시켜 녹차나무 씨 추출물의 피부 노화 억제 효과를 입증한 바 있다. 본 연구에서도 다양한 곡물 추출물이 UVB에 의해 증가된 MMP-1의 생성을 감소시키고 수용성 콜라겐의 분해를 억제시켜 UVB에 의한 광노화 보호효과를 나타내는 것을 확인하였다.

3. UVB 조사로 유도된 활성산소종 생성에 대한 곡류 추출물의 억제효과

ROS는 free radical 및 1O_2 , $O_2^{\cdot -}$, H_2O_2 , $\cdot OH$ 등 다양한 형태의 활성화된 산소로, 생명체의 항상성 유지기작을 통해 조절된다. 하지만 UVB의 노출에 의해 노화 및 산화적 스트레스가 유도된 피부는 ROS의 양이 많아져 피부암, 광독성 및 광노화와 같은 피부 병리로 이어지는 질환이 유발된다(Scharffetter-Kochanek 등 1993). 본 연구에서는 세포 내에서 UVB의 노출에 의해 발생하는 ROS 생성에 대한 곡류 추출물의 억제활성을 알아보기 위해 Hs68 세포에 UVB로 광노화를 유도한 뒤, DCFH-DA detection assay를 이용하여 ROS의 양에 따른 형광

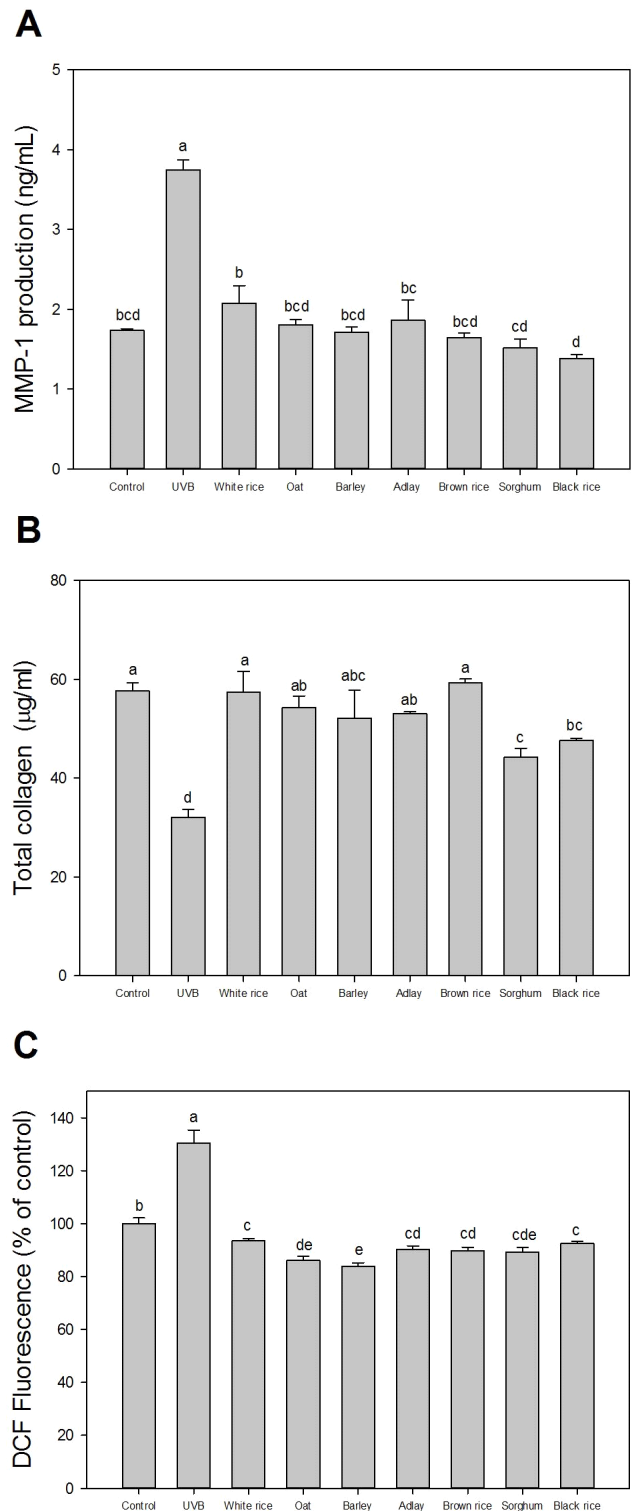


Fig. 2. Soluble collagen contents (A), MMP-1 production (B), and ROS production (C) of methanolic extracts from various cereal grains in UVB-induced Hs68 cells. Values are expressed as the mean±SE (n=3). Different letters indicate a significant difference at the $p < 0.05$ level.

발생 정도를 측정하였다. 실험 결과, UVB에 노출된 세포에서는 대조구에 비해 ROS의 생성이 유의적으로 증가하였으나, 곡류 추출물을 25 µg/mL의 농도로 전 처리한 모든 군에서 UVB로 조사된 ROS의 생성을 유의적으로 감소시켰다(Fig. 2C). 이러한 결과는 곡류 추출물 처리는 곡류추출물이 다량 함유하고 있는 폴리페놀의 항산화 활성에 의하여 UVB 조사로 증가한 ROS를 제거하여 산화적 스트레스를 억제하여 피부세포 보호효과를 나타내는 것으로 판단된다.

4. 곡류 추출물의 항산화 성분 및 항산화 활성 측정

다양한 곡류 메탄올 추출물의 폴리페놀 함량은 Fig. 3A에 나타냈으며, 폴리페놀 함량의 순서는 흑미(6.020±0.08 mg GAE/g) > 수수 (5.138±0.087 mg GAE/g) > 현미 (1.087±0.033 mg GAE/g) > 보리 (1.014±0.009 mg GAE/g) > 백미 (0.755±0.011 mg

GAE/g) > 귀리 (0.321±0.008 mg GAE/g) > 울무 (0.286±0.016 mg GAE/g) 순으로 나타났다. 흑미와 수수의 경우, 다른 곡류에 비해 다량의 폴리페놀 함량을 보였는데, 이는 위 두 유색미에 존재하는 anthocyanin에서 기인되는 것으로 판단된다. 기존의 연구 보고에 의하면 다량의 anthocyanin을 함유하고 있는 흑미가 높은 polyphenol 함량을 나타낸다고 확인된 바 있다(Seo 등 2008; Choi 등 2007).

다양한 곡류 메탄올 추출물의 DPPH 및 ABTS 라디칼 소거능 활성을 측정한 결과는 Fig. 3B와 같다. 실험결과, 폴리페놀 함량이 높게 측정되었던 흑미와 수수에서 DPPH 및 ABTS 라디칼 소거능 활성이 높은 값을 나타냈다. ABTS 소거능에서 TEAC 값이 가장 높은 흑미의 경우 94.37 mg Trolox equivalent per 1 g sample(TEAC)로 표현이 되는데, 이것은 흑미 1g 당 Trolox 94.37 mg과 동일한 항산화력을 지니는 것으로 해석할 수 있다. DPPH 라디칼 소거능과 폴리페놀 함량과는 상당히 높은 양의 상관성($R^2=0.9936$)이 나타났고, ABTS 라디칼 소거능 또한 양의 상관성($R^2=0.9456$)이 존재하는 것으로 보아 곡류 methanol 추출물의 폴리페놀 화합물이 효과적으로 유리라디칼을 제거할 수 있을 것으로 판단된다. DPPH 라디칼 소거능과 ABTS 라디칼 소거능 측정은 인위적으로 라디칼을 제거하는 작용기작으로 유의적인 상관성을 보이는 것으로 알려져 있다. ABTS 라디칼 소거능의 경우, DPPH 라디칼 소거능에 비해 TEAC 값이 높게 측정되는 경향을 보였다. 이는 DPPH가 친수성 항산화제에 제한적으로 반응하는 반면, ABTS는 친수성 항산화제와 소수성 항산화제 모두에서 반응을 하기 때문에 ABTS의 소거능이 높게 측정된다고 보고되어 있다(Kim 등 2014). 그러나 항산화 성분 및 활성과 피부보호 효과의 상관성은 나타나지 않았다.

본 연구 결과, 곡류 메탄올 추출물의 UVB에 의한 세포 보호효과는 항산화 활성을 지닌 성분에 의한 효능으로 예상되며, 곡류 추출물은 UVB에 의한 광노화로부터 보호하여 주름형성을 억제할 수 있을 것으로 기대된다.

요 약

본 연구는 국내에서 주로 소비되는 곡류를 사용하여 UVB를 조사한 인체 피부 섬유아세포에서 항산화 효능과 MMP-1 및 수용성 콜라겐의 변화를 측정하여 광노화 억제 효능을 평가하였다. 또한 곡류 추출물의 항산화 활성 및 항산화 성분을 측정하고, 항산화력과 항산화 성분과의 상관성을 비교·분석하였다. 7종의 곡류 추출물(백미, 현미, 보리, 울무, 귀리, 수수, 흑미)은 30 mJ/cm² UVB에 노출된 인체 피부 섬유아세포에서 광노화에 대해 세포 보호효과가 있는 것을 확인하였다. 또한 곡류 추출물의 처리는 UVB 조사에 따른 MMP-1의 생성

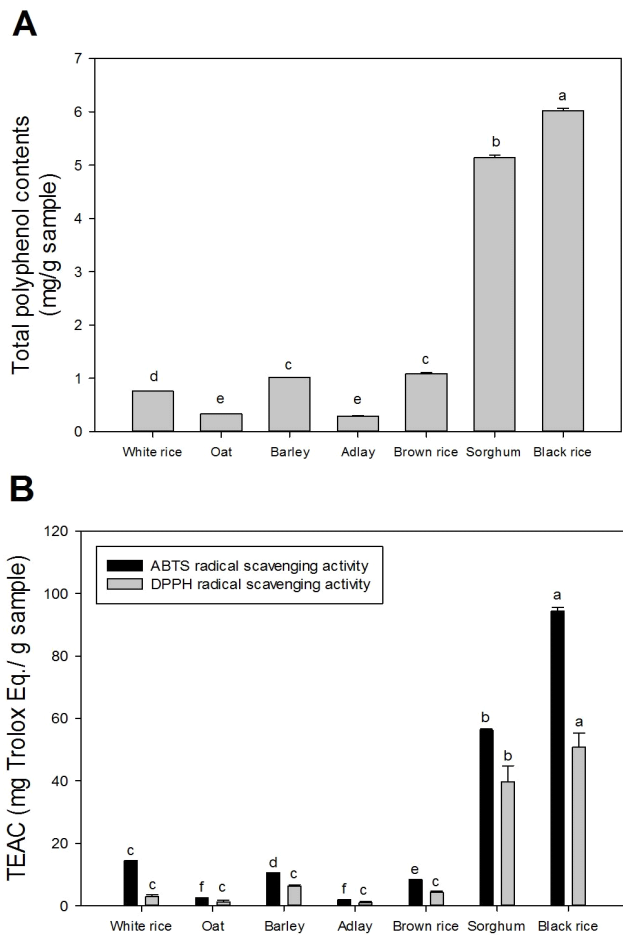


Fig. 3. Total polyphenol contents (A) and antioxidant activities (B) of methanolic extracts from various cereal grains. Values with different letters above bar graphs are significantly different at the 5 level by one-way ANOVA and Duncan's test.

을 감소시키고, 수용성 콜라겐의 분해를 저해하였으며, ROS의 생성도 억제하였다. 7종의 곡류 메탄올 추출물에 대한 총 폴리페놀 함량을 분석한 결과, 흑미와 수수가 다른 곡류에 비해 높은 항산화 성분을 함유하고 있었으며, DPPH 및 ABTS 라디칼 소거능도 높은 활성을 나타냈다. 곡류 추출물의 항산화 성분과 항산화 활성과의 상관분석 결과, 폴리페놀 함량이 높을수록 DPPH 라디칼 소거능($R^2=0.9936$), ABTS 라디칼 소거능($R^2=0.9456$)이 증가하는 것으로 나타났다. 따라서 곡류 추출물은 항산화 성분을 다량 함유하고 높은 항산화 활성을 지녔으며, UVB 조사에 의한 ROS로부터 보호하여 MMP-1의 생성을 감소시키고, 수용성 콜라겐의 분해를 억제시켜 광노화 보호효과를 나타내는 것을 확인하였다. 본 연구 결과, 곡류 추출물의 항산화 및 광노화 보호효능 입증으로 곡류 추출물을 항주름 기능성 소재에 활용할 수 있을 것으로 판단된다.

감사의 글

본 논문은 2015년도 충북대학교 학술연구지원사업의 연구비 지원에 의하여 연구되었으며 이에 감사드립니다.

References

- Chatterjee R, Benzinger MJ, Ritter JL, Bissett DL. 1990. Chronic ultraviolet B radiation-induced biochemical changes in the skin of hairless mice. *Photochem Photobiol* 51:91-97
- Choi Y, Jeong HS, Lee J. 2007. Antioxidant activity of methanolic extracts from some grains consumed in Korea. *Food Chem* 103:1-9
- Dewanto V, Wu X, Liu RH. 2002. Processed sweet corn has higher antioxidant activity. *J Agric Food Chem* 50:1-6
- 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, Talwar HS, Lin J, Lin P, McPhillips F, Wang Z, Li X, Wan Y, Kang S, Voorhees JJ. 1998. Retinoic acid inhibits induction of c-Jun protein by ultraviolet radiation that occurs subsequent to activation of mitogen-activated protein kinase pathways in human skin *in vivo*. *J Clin Invest* 101:1432-1440
- Ganceviciene R, Liakou AI, Theodoridis A, Makrantonaki E, Zouboulis CC. 2012. Skin anti-aging strategies. *Dermatol* 4:308-319
- Hung PV. 2016. Phenolic compounds of cereals and their antioxidant capacity. *Crit Rev Food Sci Nutr* 52:1-7
- Jenkins G. 2002. Molecular mechanisms of skin ageing. *Mech Ageing Dev* 123:801-810
- Kahari VM, Saarialho-Kere U. 1997. Matrix metalloproteinases in skin. *Exp Dermatol* 6:199-213
- Kim DO, Lee KW, Lee HJ, Lee CY. 2002. Vitamin C equivalent antioxidant capacity (VCEAC) of phenolic phytochemicals. *J Agric Food Chem* 50:3713-3717
- Kim OK, Nam DE, Lee MJ, Kang N, Lim JY, Lee J. 2014. Protective effects of green tea seed extract against UVB-irradiated human skin fibroblasts. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 43:1-8
- Lee KE, Mun S, Pyun HB, Kim MS, Hwang JK. 2012. Effects of macelignan isolated from *Myristica fragrans* (Nutmeg) on expression of matrix metalloproteinase-1 and type I procollagen in UVB-irradiated human skin fibroblasts. *Biol Pharm Bull* 35:1669-1675
- Lee SM, Lee HB, Lee J. 2006. Comparison of extraction methods for the determination of vitamin E in some grains. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 35:1423-1426
- Masteikova R, Muselik J, Bernatoniene J, Majiene D, Savickas A, Malinauskas F, Bernatoniene R, Peciura R, Chalupova Z, Dvorackova K. 2008. Antioxidant activity of tinctures prepared from hawthorn fruits and motherwort herb. *Ceska Slov Farm* 57:35-38
- Oh JH, Chung AS, Steinbrenner H, Sies H, Brenneisen P. 2004. Thioredoxin secreted upon ultraviolet A irradiation modulates activities of matrix metalloproteinase-2 and tissue inhibitor of metalloproteinase-2 in human dermal fibroblasts. *Arch Biochem Biophys* 423:218-226
- Pillai S, Oresajo C, Hayward J. 2005. Ultraviolet radiation and skin aging: roles of reactive oxygen species, inflammation and protease activation, and strategies for prevention of inflammation-induced matrix degradation. *Int J Cosmet Sci* 27:17-34
- Scharffetter-Kochanek K, Wlaschek M, Briviba K, Sies H. 1993. Singlet oxygen induces collagenase expression in human skin fibroblasts. *FEBS letters* 331:1-3
- Seo SJ, Choi Y, Lee SM, Kong S, Lee J. 2008. Antioxidant activities and antioxidant compounds of some specialty rices. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 37:129-135
- Sun ZW, Park SY, Hwang ES, Zhang MY, Jin FX, Zhang BC, Yi TH. 2015. Salvianolic acid b protects normal human dermal fibroblasts against ultraviolet B irradiation-induced photoaging through mitogen-activated protein kinase and activator protein-1 pathways. *Photochem Photobiol* 91:1-8
- Takema Y, Yorimoto Y, Kawai M, Imokawa G. 1994. Age-related

changes in the elastic properties and thickness of human facial skin. *Br J Dermatol* 131:641-648

Wang CY, Wu SJ, Shyu YT. 2014. Antioxidant properties of certain cereals as affected by food-grade bacteria fermentation.

J Biosci Bioeng 117:449-456

Received 20 January, 2017
Revised 15 February, 2017
Accepted 01 March, 2017