

A Study on the Anti-wrinkle Properties of Cosmetics Containing Essential Oil from *Chrysanthemum boreale* MAKINO

In Ho Choi^{1,2}, Dae Il Hwang¹, Do Yoon Kim^{1,3}, Ha Bin Kim¹ and Hwan Myung Lee^{1*}

¹Division of Cosmetic and Biotechnology, College of Life and Health Science, Hoseo University, 20, Hoseo-ro 79beon-gil, Baebang-eup, Asan-city, Chungcheongnam-do 31499, Korea

²Department of Agronomy and Medicinal Plant Resources, Gyeongnam National University of Science and Technology, 33, Dongjin-ro, Jinju-city, Gyeongangnam-do 52725, Korea

³College of Chemistry and Chemical Engineering, Hunan Institute of Science and Technology, Yueyang 414006, Hunan, China

Received October 29, 2018 / Revised December 14, 2018 / Accepted December 15, 2018

We recently reported the characteristics of *Chrysanthemum boreale* MAKINO essential oil (CBMEO) at different harvesting stages and its *in vitro* antioxidant, whitening, skin regeneration, and antiwrinkle properties. In the present study, we investigated the effectiveness of cosmetic creams containing 0.1% of CBMEO in terms of wrinkle reduction and safety. The participants were 22 women aged 42 to 60 y with natural wrinkles. All the participants applied the CBMEO-containing cream to the eye area for 8 weeks. Visual observations of the skin by a dermatologist were used to assess the safety of the product, and improvements in skin wrinkles (roughness) were analyzed using a skin visiometer. Neither the CBMEO-containing cream nor the placebo caused abnormal reactions, such as erythema or allergies, during the test period. The CBMEO-containing cream-exposed test regions showed a greater reduction in the roughness index as compared with those of the placebo-exposed control regions. The R1, R2, and R3 indices showed a statistically significant decrease in the test regions as compared with the placebo control regions after using the cream for 2 weeks ($p < 0.05$). Therefore, this study demonstrated that CBMEO-containing cosmetics are safe for human use and that they have skin wrinkle improvement properties. In the future, CBMEO may be a promising product for use in the development of functional anti-wrinkle cosmetics.

Key words : Anti-wrinkle, *Chrysanthemum boreale* Makino, elasticity, safety, skin visiometer

서 론

피부노화에 의한 주름의 형성은 인간 개체의 전체적인 노화와 평행하게 진행되는 형태적, 생화학적, 생리학적 변화과정이다. 주름형성의 원인은 유전적인 요인에 의해 결정되어 인위적인 조절이 어려운 내인성 노화(Intrinsic aging)와 자외선, 오염, 흡연 및 기타 생활 습관과 연관되는 외부 요인들에 의해 발생하는 외인성 노화(Extrinsic aging)로 구분된다[2, 4, 11].

외인성 및 내인성 노화에 의한 피부노화 현상은 일광탄력섬유증(solar elastosis)이나 색소이상증(dyschromatosis) 및 거칠기 증가, 피부 주름 형성 등의 임상적인 현상이 나타난다. 피부노화를 지연시키기 위해 의학적 시술이나 수술에 의한 단기적인 치료방법이 있으나, 이것은 피부에 물리적 자극을

주기 때문에 회복까지의 긴 시간과 색소변화, 상처, 감염 등의 후유증의 위험성을 내포하고 있다. 따라서 화장품 영역에서는 피부자극과 부작용을 최소화하기 위해 천연물질을 기반으로 한 항노화 기전의 연구와 활성성분 개발이 진행되어 왔다[13]. 화장품에 의한 주름개선 효능은 보습인자에 의한 일시적 효과 외에도 다양한 유효성분들에 의한 진피층 내 콜라겐 및 엘라스틴 유도 효과 등을 주요 기전으로 한다. 대표적인 주름개선 화장품의 원료들인 레티놀, 비타민C, EGF 등의 성장인자 성분들은 인간 진피 섬유아세포로부터 콜라겐 및 엘라스틴 생성을 증가시킴으로써 주름개선 효능을 보이는 것으로 잘 알려져 있다[12].

산국(*Chrysanthemum boreale* MAKINO, CBM)은 한국과 중국 등 동북아시아 일대에서 자생하는 국화과(compositae) 식물에 속하고, 성장조건, 개화시기 및 식물의 부위 등에 따라서 에센셜오일의 생합성과 구성성분(chemotype)의 변화가 나타나며, 향취 특성과 생리활성 등에 영향을 준다[1, 3, 6, 16].

최근 산국의 생리활성에 대한 연구는 메탄올 추출물의 항염[11], 아토피 개선 활성[17] 및 산국 에센셜오일(*Chrysanthemum boreale* MAKINO Essential Oil; CBMEO)의 항박테리아 활성[5] 등이 보고되었다. 특히, 본 연구진에 의해 산국 에센셜오일

*Corresponding author

Tel : +82-41-540-9551, Fax : +82-41-540-9538

E-mail : kacsital@hoseo.edu

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.

의 채취 시기별 특성[8]과 각질형성세포의 증식 활성화에 의한 *in vitro* 피부재생 및 탄력과 주름개선 효능 등이 보고되었다. [7, 10]. 또한 산국 하이드로졸(hydrosol)은 혈관평활근세포의 증식과 이주 억제를 통해 항동맥경화 활성[9]을 가지며, 피부 생리활성에 관한 연구를 통해 인체 유래 각질형성세포의 증식과 이주 등에 미치는 효능을 확인함으로써 피부조직 재형성 및 상처치유 등 소재로서의 응용 가능성을 확인하였다[7].

본 연구에서는 산국 에센셜오일을 함유한 화장품의 인체 안전성, 주름개선 효능을 임상학적 의의를 규명하여, 비고시 기능성 화장품 소재로서 활용가능성의 확인과 화장품 산업의 활성화에 실질적인 기여를 하고자 하였다.

재료 및 방법

산국화 에센셜 오일의 추출

본 실험에서 사용한 산국은 호서대학교 아산캠퍼스 화장품학과와 실습지에서 재배하여 개화 전 꽃봉오리(20 kg)을 채취하여 사용하였다. 세척 과정을 거친 후, 수증기 증류장치를 사용하여 100℃에서 2~3시간 증류/냉각 과정을 거쳐, 산국 에센셜오일(0.25% v/w, 50 ml)을 확보하고, 4℃에 보관하면서 실험에 사용하였다.

산국 에센셜오일 함유 화장품 시료 제조

주름개선용 기능성화장품의 임상효능 실험을 위하여 화장품 시료는 식품의약품안전처 제시 기준에 따라 Oil in Water (O/W제형) 형태의 Emulsion 크림 제형으로 제조하였다. 제형의 안정성 유지를 위하여 유화제 및 유화안정제를 조합하여 사용하였으며, 유화제는 하이드로제네이티드레스틴, 소르비탄팔미테이트, 소르비탄올리베이트, 글라이콜스테아레이트 에스이, 스테아릭에씨드 등을 사용하였으며, 유화안정제로는 세테아릴알코올을 사용하였다. 그리고 보습제로는 글리세린, 하이드로제네이티드코코넛오일 등을 사용하였으며, 피부건디셔닝제로는 인삼추출물, 꿀추출물, 상백피추출물, 판테놀, 하이드롤라이즈드콜라겐 등을 사용하였다.

시험용 화장품 시료(Test)에는 산국 에센셜오일 0.1%를 첨가하였으며, 대조시료(Placebo)에는 산국 에센셜오일을 첨가하지 않았다.

피험자

본 연구를 위한 피험자의 평균연령은 51세이며, 여성 22명으로 구성하였다. 제외 기준에 해당되지 않는 40대 8명, 50대 13명 그리고 60대 1명으로 피험자를 선정하였다(Table 1).

시험물질 및 대조물질의 적용방법

시험물질 및 대조물질의 적용은 이중맹검법(Double Blind Test) [15, 18]을 바탕으로 하였으며, 시험자와 피험자 모두가 시료의 내용을 알 수 없도록 동일 용기에 분주하여 배포하고,

Table 1. Basic information for the Participant

No.	Gender	Age	No.	Gender	Age
1	Female	42	12	Female	52
2	Female	44	13	Female	54
3	Female	44	14	Female	54
4	Female	45	15	Female	58
5	Female	46	16	Female	58
6	Female	46	17	Female	59
7	Female	47	18	Female	56
8	Female	48	19	Female	60
9	Female	51	20	Female	56
10	Female	51	21	Female	54
11	Female	51	22	Female	55

The subjects were 22 women between 42 to 60 years of age with natural wrinkle.

시료의 적당량을 매일 2회 눈가부위에 8주간 자가 도포하도록 하였다.

Visiometer SV600-Roughness 측정방법

정확한 측정을 위하여 피험자는 시험 12시간 전부터 기초 제품을 사용하지 않도록 주지하고, 측정 전 세안제를 이용하여 세안 후 가볍게 물기를 제거한 후 30분간 항온항습 조건(온도는 22±2℃, 습도는 50±10% RH)하에서 안정을 취한 후 양측 눈가 주름 부위에서 피부 주름 replica를 제작하여 Visiometer SV600을 이용한 주름 분석을 매주 1회 실시하였다. Replica의 roughness 분석은 측정 오차를 줄이기 위해 모든 replica 제작이 완료된 실험 8주차에 실시하였다. 측정된 주름은 R1, R2, R3, R4, R5 값으로 구분 하였다(Table 2).

R1-Skin roughness 값은 최대 거친 깊이 지수를 나타내는 것으로 측정 부위 중 가장 높은 곳의 지수와 가장 낮은 곳의 지수의 편차로 지수 값이 감소할수록 최대 거친 깊이는 감소한다. R2-Maximum roughness 값은 최대 거칠기 지수로써 측정 부위를 5구역으로 나눠 구역별 가장 높은 곳과 낮은 곳의 편차 중 최대값이다. 따라서 값이 감소할수록 최대 거칠기는 감소한다. R3-Average roughness 값은 평균 거칠기 지수로써 측정 부위를 5구역으로 나눠 구역별 가장 높은 곳과 낮은 곳의 편차의 평균값이다. 따라서 감소할수록 평균 거칠기는 감소한다. 이는 피부 거칠기 평가에서 주요 평가 지표이다. R4-

Table 2. Parameters used in assessment of Skin Visiometer SV 600

Parameters	Description
R1	Skin Roughness
R2	Maximum Roughness
R3	Average Roughness
R4	Smoothness Depth
R5	Arithmetic Average Roughness

Smoothness Depth 값은 피부 굴곡 깊이 지수로써 측정 부위 피부 굴곡의 평균 깊이이며 감소할수록 피부 굴곡 정도는 감소한다. R5-Arithmetic Average Roughness 값은 산술 평균 거칠기 지수로써 평균 피부 굴곡과 평균 편차와의 차이를 나타낸 것이며, 감소할수록 거칠기는 감소한다[14].

통계처리

Visiometer SV600를 이용하여 측정된 값의 R1, R2, R3, R4,

R5값의 유의한 변화여부를 확인하기 위하여 대조부위와 시험 부위 각각의 육안평가 값 및 기기평가 값의 변화 정도 차이는 R (version 3.1.0, 2014 The R Foundation for Statistical Computing) 프로그램의 Mann-Whitney 비모수검정을 이용하여 분석 검정하였다.

통계적 유의성을 확보하기 위해 P-value가 0.05보다 작은 경우 유의한 차이로 인정하였다.

Table 3. The result of Visiometer SV600 - Roughness for test and placebo (8 weeks)

		Visiometer SV600 - Roughness average value			
		0 week	2 weeks	4 weeks	8 weeks
R1	Test	0.19±0.04	0.16±0.03	0.16±0.03	0.17±0.02
	Placebo	0.19±0.05	0.18±0.04	0.18±0.04	0.20±0.04
R2	Test	0.15±0.032	0.12±0.02	0.12±0.02	0.12±0.02
	Placebo	0.14±0.050	0.13±0.02	0.14±0.03	0.16±0.04
R3	Test	0.09±0.01	0.07±0.01	0.07±0.01	0.07±0.01
	Placebo	0.08±0.050	0.08±0.01	0.08±0.01	0.09±0.02
R4	Test	0.06±0.02	0.05±0.02	0.05±0.02	0.06±0.02
	Placebo	0.06±0.02	0.07±0.03	0.06±0.02	0.06±0.02
R5	Test	0.03±0.01	0.02±0.01	0.02±0.01	0.03±0.01
	Placebo	0.03±0.01	0.03±0.01	0.03±0.01	0.03±0.01

The average roughness value R1, R2, R3 of the test (with CBMEO) decreased by 2 weeks, 4 weeks and 8 weeks, respectively, compared to placebo (without CBMEO). And the average roughness value R4, R5 of the test (with CBMEO) decreased by 2 weeks, 4 weeks, respectively, compared to placebo (without CBMEO), but not decreased by 8 weeks compared to Placebo.

Table 4. Statistical values for variation of Visiometer SV600 - Roughness - Comparative evaluation with placebo

		2 weeks	4 weeks	8 weeks
ΔR1	Test	-0.037*±0.037	-0.034*±0.037	-0.030**±0.047
	Placebo	-0.007±0.051	-0.007±0.057	0.007±0.043
	P-value	0.029	0.038	0.002
ΔR2	Test	-0.035**±0.029	-0.027**±0.036	-0.035***±0.038
	Placebo	-0.008±0.055	-0.001±0.054	0.019±0.052
	P-value	0.002	0.006	<0.001
ΔR3	Test	-0.015**±0.014	-0.012***±0.012	-0.015***±0.017
	Placebo	-0.001±0.018	0.002±0.016	0.009±0.015
	P-value	0.007	<0.001	<0.001
ΔR4	Test	-0.008±0.021	-0.010±0.020	-0.003±0.023
	Placebo	0.006±0.035	-0.001±0.028	-0.002±0.026
	P-value	0.322	0.368	0.803
ΔR5	Test	-0.005±0.007	-0.003±0.018	-0.001±0.011
	Placebo	0.000±0.015	-0.001±0.014	0.002±0.016
	P-value	0.190	0.484	0.407

The average roughness value ΔR1, ΔR2, ΔR3 of the test (with CBMEO) decreased by 2 weeks, 4 weeks and 8 weeks, respectively, compared to placebo (without CBMEO), therefore was improved wrinkle (*: $p < 0.05$, **: $p < 0.01$, ***: $p < 0.001$). The average roughness value ΔR4, ΔR5 of the test (with CBMEO) decreased by 2 weeks, 4 weeks and 8 weeks, respectively, compared to placebo (without CBMEO). Although the value of the test area is reduced, it has not been statistically significant (*: $p < 0.05$).

*: $p < 0.05$, **: $p < 0.01$, ***: $p < 0.001$

Table 5. Abnormal symptoms of skin during test period

	Erythema	Edema	Squama	Pruritus	Prick pain	Ardor	Stiff	Tingling	The others
A mild case	○	○	○	○	○	○	○	○	○
A serious case	○	○	○	○	○	○	○	○	○

결과 및 고찰

산국 에센셜오일 함유 화장품 시료의 피부 주름개선 효과

산국 에센셜오일 함유 화장품 및 대조시료를 사용한 피험자 22명의 피부 주름개선 효과를 종합적으로 분석하였으며, R1-Skin Roughness, R2-Maximum Roughness, R3-Average Roughness 지수변화는 사용 2주 후부터 시험시료가 대조시료에 비해 통계적으로 유의한 차이를 나타내는 것을 확인하였다 ($P<0.05$). 또한 R4-Smoothness Depth, R5-Arithmetic Average Roughness 지수 분석을 통해서 피부의 평균 거칠기 변화를 확인할 수 있었으며, 대조시료에 비해 시험시료의 변화 값이 감소하는 양상을 보였으나 통계적으로 유의한 수준은 아니었다 ($p<0.05$) (Table 3, Table 4).

산국 에센셜오일 함유 화장품 시료의 인체 안전성 평가

산국 에센셜오일이 함유되지 않은 대조시료와 산국 에센셜오일 함유 화장품 시료 도포부위에 대하여 시험기간 동안 피험자 22명에게서 피부 이상증이 발생되지 않았다. 본 연구에 사용된 산국 에센셜오일 적용 화장품 시료는 인체 무자극 및 안전한 것으로 확인되었다(Table 5).

본 연구를 통하여 “산국 에센셜오일 함유 화장품”이 roughness의 대표적인 값을 나타내는 R1, R2 및 R3 roughness 지수에서 대조시료에 비해 통계적으로 유의한 수준($p<0.05$)이고 R4, R5 roughness 지수에서 대조시료에 비해 시험시료가 점차 감소하는 양상을 나타내어 피부 주름개선에 대하여 효과적인 영향을 미친다는 결과를 보였으며, 적용기간 동안 특별한 피부 이상반응을 유발하지 않아 인체 안전성, 주름개선 효능을 임상학적으로 확인하였다. 따라서 산국 에센셜오일 함유 화장품은 주름개선 효과가 있는 것으로 판단되고, 향후 주름개선 기능성화장품의 시장을 선도할 수 있을 것으로 사료된다. 또한 화장품산업에서 주로 향료로 사용되어지고 있는 에센셜오일은 많은 생리활성 효능의 연구를 통하여 기능성 소재로서 자리 매김을 할 수 있을 것으로 사료된다.

감사의 글

본 연구는 산림청(한국임업진흥원) 산림과학기술 연구개발사업(FTIS 2016016B10-1819-AB02)의 지원에 의하여 이루어진 것입니다.

References

- Burt, S. 2004. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods a review. *Int. J. Food Microbiol.* **94**, 223-253.
- Choi, S. K., Park, K. D., Kim, D. A., Lee, D. W. and Kim, Y. J. 2014. Preparation of camel milk liposome and its anti-aging effects. *J. Soc. Cosmet. Scientists Korea* **40**, 155-162.
- Figueiredo, A. C., Barroso, J. G., Pedro, L. G. and Scheffer, J. J. C. 2008. Factors affecting secondary metabolite production in plants: volatile components and essential oils. *Flavour Frag. J.* **23**, 213-226.
- Kang, S. J., Kim, A. J., Lee, M. S. and Lee, Y. H. 2010. Anti-wrinkle effect of oriental medicine cosmetics containing black ginseng. *JKAIS.* **11**, 3325-3329.
- Kim, B. S., Park, S. J., Kim, M. K., Kim, Y. H., Lee, S. B., Lee, K. H., Choi, N. Y., Lee, Y. R., Lee, Y. E. and You, Y. O. 2015. Inhibitory effects of Chrysanthemum boreale essential oil on biofilm formation and virulence factor expression of *Streptococcus mutans*. *Evid.-based Complement Altern. Med.* **2015**, 1-11.
- Kim, D. Y. 2016. Study on characterization and biological activities of essential oil from Korean indigenous plants. Ph. D. dissertation, Hoseo University, Asan, Korea.
- Kim, D. Y., Hwang, D. I., Yoon, M. S., Choi, I. H. and Lee, H. M. 2016. Effect of hydrosol extracted from chrysanthemum boreale Makino flower on proliferation and migration in human skin keratinocyte. *J. Soc. Cosmet. Scientists Korea* **42**, 95-101.
- Kim, D. Y., Won, K. J., Hwang, D. I., Park, S. M., Kim, B. and Lee, H. M. 2018. Chemical composition, antioxidant and anti-melanogenic activities of essential oils from *Chrysanthemum boreale makino* at different harvesting stages. *Chem. Biodivers.* **15**, 1-13.
- Kim, D. Y., Won, K. J., Yoon, M. S., Hwang, D. I., Yoon, S. W., Park, J. H., Kim, B. and Lee, H. M. 2015. *Chrysanthemum boreale* flower floral water inhibits platelet-derived growth factor-stimulated migration and proliferation in vascular smooth muscle cells. *Pharm. Biol.* **53**, 725-734.
- Kim, D. Y., Won, K. J., Yoon, M. S., Hwang, D. I., Yoon, S. W., Park, J. H., Kim, B. and Lee, H. M. 2015. *Chrysanthemum boreale* Makino essential oil induces keratinocyte proliferation and skin regeneration. *Nat. Prod. Res.* **29**, 562-564.
- Kim, J. M., Jeon, S. W., Lee, W. G., Nam, H. J. and Kim, Y. B. 2010. Study of preventing methods for skin aging and wrinkles. *J. Physiol. Pathol. Kor. Med.* **24**, 533-542.
- Kim, W. S., Park, B. S., Park, S. H., Kim, H. K. and Sung, J. H. 2009. Anti-wrinkle effect of adipose-derived stem cell: activation of dermal fibroblast by secretory factors. *J. Dermatol.*

tol. Sci. **53**, 96-102.

13. Lee, H. H. 1999. The study of ageing phenomena and Anti-wrinkle treatment. *J. Kor. Soc. Cosm.* **5**, 615-631.

14. Lee, H. K., Back, J. H., Koh, J. S., Park, D. H., Lee, J. S. and Jung, E. S. 2006. Correlation between skin roughness and dermal density of skin wrinkle evaluation. *J. Soc. Cosmet. Scientists Korea* **32**, 123-127.

15. Lee, S. H., Hong, S. J., Kim, S. Y., Yang, H. I., Lee, J. D., Choi, D. Y., Lee, D. I. and Lee, Y. H. 2003. Randomized controlled double blind study of bee venom therapy on rheumatoid arthritis. *J. Acupunct. Res.* **20**, 9-17.

16. Sangwan, N., Farooqi, A., Shabif, F. and Sangwan, R. 2001. Regulation of essential oil production in plants. *Plant Growth Regul.* **34**, 3-21.

17. Yang, G., Lee, K., An, D. G., Lee, M. H., Ham, I. H. and Choi, H. Y. 2012. Effect of *Chrysanthemi borealis flos* on atopic dermatitis induced by 1-chloro 2, 4-dinitrobenzene in NC/ Nga mouse. *Immunopharmacol. Immunotoxicol.* **34**, 413-418.

18. Yeo, J. J., Hsing, L. C., Yang, C. S., Jeong, S. I., Seo, E. S. and Jang, I. S. 2007. Effect of mahuang for weight loss in healthy adults : A double-blind, controlled, randomized, clinical Trial. *J. Kor. Med.* **28**, 63-71.

초록 : 산국 에센셜오일을 함유한 화장품의 주름개선 임상효능에 관한 연구

최인호^{1,2} · 황대일¹ · 김도윤^{1,3} · 김하빈¹ · 이환명^{1*}

(¹호서대학교 화장품생명공학부, ²경남과학기술대학교 농학한약자원학부, ³중국 호남이공대학교 화학화공 단과대학)

산국 에센셜오일의 채취시기별 특성과 *in vitro* 항산화, 미백, 피부재생 및 주름개선 활성이 본 연구진에 의해 최근 보고되었다. 본 연구는 산국 에센셜오일(0.1%, v/v)이 함유된 크림제형의 화장품에 대해 주름개선 효능 및 안전성을 확인하였다. 피시험자는 자연주름이 형성되어 있는 42세에서 60세까지의 22명의 여성을 대상으로 8주 동안 산국 에센셜오일 함유 화장품을 눈가주변에 도포하였다. 인체 피부 안전성은 피부과 전문의의 육안관찰 소견을 확보하고, 피부 주름개선 효능은 visiometer를 이용하여 roughness를 측정 하였다. 산국 에센셜오일 함유 화장품 및 대조시료는 시험기간 동안 인체에 홍반, 알러지 등의 이상반응을 유발하지 않았으며, 시험부위(test)는 대조부위(placebo)에 비해 roughness 지수 감소의 폭이 더 우수한 것으로 확인되었다. 또한 R1, R2, R3 지수는 크림 사용 2주 후부터 시험부위가 대조부위에 비해 통계적으로 유의($p < 0.05$)한 감소를 나타내었다. 따라서 “산국 에센셜오일 함유 화장품”은 인체 안전성이 확보되었으며, 피부주름 개선 활성을 나타내는 것으로 확인되어 향후 비고시 주름개선 기능성화장품으로 개발이 가능할 것으로 사료된다.