

리장 설차 (*Nekemias grossedentata*)의 화장품적 적용 효능 분석

문 영^{*} · 이 설 훈^{**†}

^{*}동덕여자대학교 보건향장대학원, 대학원생

^{**}동덕여자대학교 화학-화장품 학부, 교수

(2021년 10월 7일 접수, 2021년 10월 26일 수정, 2021년 11월 6일 채택)

Analysis on the Efficacy of Cosmetic Application of Lijiang Snow Tea (*Nekemias grossedentata*)

Ying Wen¹ and Seol-Hoon Lee^{2,†}

¹Department of Health and Cosmetics, Dongduk Women's University, Seoul 02748, Korea

²Division of Applied Chemistry and Cosmetic Science, Dongduk Women's University, Seoul 02748, Korea

(Received October 7, 2021; Revised October 26, 2021; Accepted November 6, 2021)

요약: 중국 운남성 리장지방에 자생하는 리장설차의 화장품적 적용 가능성을 분석 하였다. 우선 리장 설차의 DNA 분석을 통해서 *Nekemias grossedentata* (*N. grossedentata*) 라는 종을 확인한 후, 대표적인 차인 녹차와 각 효능분석에 대표적인 대조군을 사용하여 실험하였다. 먼저 리장 설차는 70% (v/v) 에탄올 수용액으로 추출하였다. 리장설차 추출물내의 폴리 페놀함량 (gallic acid equivalent, 23.9 ± 3.2 mg/mL)은 녹차(16.4 ± 2.3 mg/mL)보다 많은 양을 포함 하고 있었다. 한편 추출물내의 고형분을 기준으로 항산화 활성(라디칼소거, IC₅₀ 104 μ g/mL), Tyrosinase 효소 억제 활성(미백, IC₅₀ 40.7 μ g/mL), 대장균 성장 억제 활성(방부: IC₅₀ 2.85 mg/mL)을 분석한 결과 녹차(항산화, 라디칼 소거, IC₅₀ 234 μ g/mL) 보다 우수한 것 확인 하였다. 또한 항산화 (비타민C, IC₅₀ 108 μ g/mL), 미백 (비타민C: IC₅₀ 80 μ g/mL), 방부(메틸 파라벤: IC₅₀ 4.35 mg/mL)등의 기존에 사용되던 활성 물질과도 유사한 효능을 보여 주었. 그러나 콜라게네이즈 억제 활성(주름) 은 녹차가 더 우수한 것으로 나타났다. 이를 통해 리장 설차의 화장품적 적용 가능성이 높은 것을 확인할 수 있었다.

Abstract: In this study, we analyzed the cosmetic applicability of extract from snow tea, native to Lijiang, Yunnan-province, China. After confirming the species as *N. grossedentata* through DNA analysis of Lijiang snow tea, experiments were conducted using representative tea, green tea, and a representative control group for each efficacy analysis. Both teas were extracted using 70% (v/v) ethanol aqueous solution. The polyphenol content in the Lijiang snow tea extract (gallic acid equivalent, 23.9 ± 3.2 mg/mL) was higher than that in green tea extract (16.4 ± 2.3 mg/mL). In contrast, the antioxidant (Radical scavenging, IC₅₀ 104 μ g/mL), tyrosinase enzyme inhibitory (whitening agent, IC₅₀ 40.7 μ g/mL), and *Escherichia coli* growth inhibitory (preservative) activities (IC₅₀ 2.85 mg/mL) were analyzed based on the solid content in the extract, and it was confirmed that the activities of Lijiang snow tea extract were superior to those of green tea extract (radical scavenging, IC₅₀ 234 μ g/mL). It also showed similar efficacy to previously used active substances such as antioxidants (vitamin C, IC₅₀ 108 μ g/mL), whitening agents (vitamin C, IC₅₀ 80 μ g/mL), and preservatives (methylparaben, IC₅₀ 4.35 mg/mL). However, green tea was found to be better in collagenase inhibition activity (anti-wrinkle). Through this study,

† 주 저자 (e-mail: slashv@dongduk.ac.kr)
call: 02-940-4792

the cosmetic application potential of Lijiang snow tea is high.

Keywords: anti-oxidant, anti-wrinkle, cosmetic applications, Lijiang snow-tea (*Nekemias grossdentata*), whitening

1. 서 론

전통적으로 설차 (snow tea)로 불리는 것은 *Thamnia vermicularis* (*T. vermicularis*)로 분류되는 지의류이다[1]. 이들은 3,000 m 이상의 고산지대에서 자생하며 가늘고 흰색의 대롱 모양을 나타내는 것을 그 특징으로 한다(Figure 1A)[2]. 이런 극한 환경 지역에서 사는 식물들은 자외선, 저온 등의 외부 환경에 영향을 받게 되고, 자신을 보호하기 위해 다양한 2 차 대사 산물들을 만들어내게 된다[3]. 설차 추출물의 경우도 다양한 인체의 생리활성에 영향을 줄 수 있어 의학적[4], 기능성 식품[5]으로 서의 활용 가능성이 제안되고 있다. 화장품의 경우도 항산화 기능[6], 노화방지 기능이[7] 잘 알려져 있어 백설차잎 추출물의 이름으로 화장품의 원료로 사용되고 있다. 본 연구에서는 중국 운남성 리장 지방의 고산 지역에 자생하는 것으로, 현지인들이 리장 설차로 부르는 것을 식물을 대상으로 화장품적 응용 가능성을 확인하려 하였다. 리장 설차(*Nekemias grossdentata*, *N. grossdentata*)의 경우도 건조된 차 잎이 흰색(Figure 1A)을 나타내고 응용 되고 있기 때문에 설차로 불리게 된다. 그러나 전통적인 설차인 *T. vermicularis*와는 외형적으로 차이를 보이고 있는데 비해서, 기원 종에 대한 정확한 동정은 되어있지 않은 상태였다. 우선 기원 식물의 종을 명확히 하는 것이 위해서 DNA분석을 실시하였다. 그 결과 *N. grossdentata*와 100% 동일 한 것으로 확인하였고 지의류인 *T. vermicularis*과는 다른 것임을 알 수 있었다. 한편 녹차(*Camellia sinensis* L.)의 경우도 항산화 효능을[8] 비롯하여 다양한 화장품적 기능으로 화장품 산업에 적용되고 있다[9]. 본 연구에서는 리장 설차의 화장품적인 기능을 확인하기 위해서 녹차를 상대적 비교 대상으로 실시하였다.

화장품의 기본 기능인 보습기능[10,11] 이외에도 다양한 부가기능이 도입되고 있고 식물에서 기원하는 2 차 대사물 등이 이에 응용되고 있다[12]. 본 연구에서는 대표적으로 장기적인 피부의 노화 과정을 억제하기 위해서 다양한 항산화 기능을 우선 진행하였다. 인체 내의 호흡과정 혹은 UV등에 손상 과정 등에 발생하는 라디칼 및 활성산소 등은 인체의 생체물질에 손상을 가하여 장기적인 노화를 가속화하는 것으로 잘 알려져 있다. 이런 항산화 기능은

diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH)로 대표되는 라디칼 소거능을 분석하여 확인하였다.

피부의 색상은 멜라닌 형성세포의 멜라닌 합성과정에 의해서 크게 좌우된다[13]. 피부전체의 색상을 밝게 하는 노력 뿐만 아니라 기미, 주근깨 등의 불 균일한 피부 톤을 조절하려는 것도 주요한 화장품의 타겟이다[14]. 이런 기능을 위한 멜라닌의 합성 조절 기능은 멜라닌의 합성을 개시하는 tyrosinase의 활성에 미치는 영향을 분석하여 확인하였다.

노화에 따라서 발생하는 주름의 형성과 탄력의 감소는 진피층을 차지하는 콜라겐 섬유 단백질의 생성감소와 분해 가속 등의 기작으로 발생한다[15]. 피부의 주름 개선에 관여하는 기능을 확인하기 위해서 콜라겐 분해 효소의 활성을 검증하여 분석하였다.

또한, 화장품의 안전성을 확보 하기 위해서는 제형내에서 미생물의 성장을 억제하는 기능이 중요하다[16]. 제품내에서 검출되는 호기성 균들에 대한 규정 뿐만 아니라 병원성 미생물의 한도에 대한 규정으로 관리되고 있다. 그러나 이런 기능의 중요한 요소인 보존제도 안전성 등의 문제에 대한 우려로 화장품내의 배합한도를 지정하여 관리되고 있다. 본 연구에서는 병원성 미생물로 분류되는 대장균을 대상으로 성장 억제력을 확인하였다.

이런 연구결과를 종합하여 리장 설차의 화장품적 기능 성분으로 서의 기본적인 응용가능성을 1차로 확인하는 것을 목적으로 하였다.

2. 실험 재료 및 방법

2.1. 실험재료

리장 설차는 중국 운남성 리장지방에서 잎과 줄기를 채집하여 판매하는 것을 구입하여 (雅韵茶行, 아윤차행, Lijiang, Yunnan, China) 사용하였다. 녹차는 한국 보성에서 재배한(채엽 시기: 6월 하순 ~ 7월 중순, 해발 350 m 이상 고지) 녹차를 구입하였다 (대한디업, Korea) collagenase inhibitor screening kit (Biovision, USA), ascorbic acid 및 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH), mushroom tyrosinase 및 tyrosine는 (Sigma, USA), folin reagent (Junsei, Japan)은 각각의 회사에서 구입 하였다.

2.2. 리장설차의 동정

중 판별을 위한 유전자 분석은 miDNA 유전체 연구소 (Korea)에서 수행하였다. 시료 약 0.1 g을 DNA 추출용 시료로 사용하였으며 CTAB buffer를 이용하여 DNA를 추출하였다.

2.3. 리장설차 및 녹차의 에탄올 추출물 제작

리장 설차 및 녹차의 분말에 10 배 (w/v)의 70% (v/v) 에탄올을 첨가한 뒤 상온에서 24 h 추출하였다. 이후 이를 원심분리한 (5,000 × g, 10 min) 한 뒤 상층액을 여과지로 걸렀다. 이를 건조하여 고형분의 함량을 확인하여 실험에서는 고형분의 농도를 표준으로 진행하였다.

2.4. 폴리페놀 함량분석

추출물 혹은 gallic acid 희석액 20 μL에 7.5% Na₂CO₃

80 μL 및 100 μL의 folin reagent 를 혼합 하였다. 이후 microplate reader에서 725 nm의 흡광도를 측정하고 표준곡선을 작성하였다. 이를 이용하여 gallic acid equivalent (mg/mL)를 환산하였다[17].

2.5. 항산화 활성

DPPH를 4 mM 에탄올 용액을 제조하였다. 측정하고자 하는 샘플은 에탄올에 희석하였다. DPPH희석액 100 μL와 샘플 100 μL를 희석하여 반응시킨 뒤 517 nm에서 흡광도를 측정하였다. 샘플 미처리군의 흡광도를 기준으로 감소한 흡광도의 양을 이용하여 저해 활성을 계산하였다.

2.6. Tyrosinase 억제 활성

0.1M sodium phosphate buffer (pH 6.5)를 반응 버퍼로 사

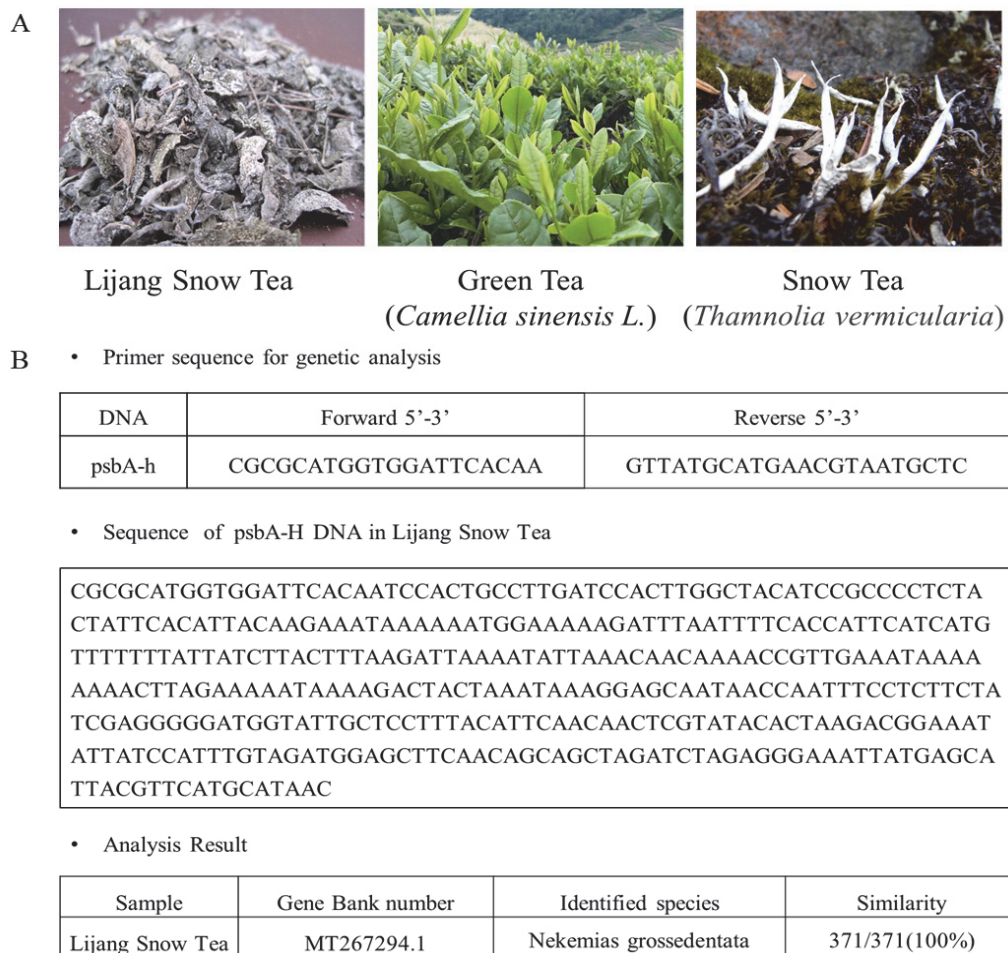


Figure 1. Genetic analysis of Lijang snow tea. (A) Comparison of appearance of various teas. (B) Primer sequences of primers used in the analysis, Sequence of psbA and analysis result of Lijang snow tea.

용하였다. Tyrosinase 효소를 2 KU/mL 로 희석하였다. Tyrosine 을 1.5 mM로 희석하였다. 각각의 추출물과 ascorbic acid 를 해당 농도로 희석하였다. Tyrosine 20 μ L와 희석 효소 20 μ L 에 측정샘플 60 μ L를 혼합하여 반응하였다. 37 °C에서 30 min 반응한 이후 microplate reader에서 450 nm 의 흡광도를 측정 하였다. 샘플 미처리군의 흡광도를 기준으로 감소한 흡광도의 양을 이용하여 저해 활성을 계산하였다.

2.7. Collagenase 저해 활성

Self-quenched BODIPY가 결합된 젤라틴을 기질로 사용 하였다. 콜라게네이즈 1 (EC 3.4.24.3)를 효소로 사용하였다. 콜라게네이즈 키트내(Biovision, USA)의 assay 버퍼로 추출액을 측정 농도별로 희석하였다. 50 μ L의 추출액 희석 샘플에 25 μ L의 기질 희석액, 25 μ L의 콜라게네이즈 희석 액을 배합하여 반응시켰다. Microplate reader를 이용하여 (Ex/Em: 490 nm / 520 nm)의 조건에서 분석 하였다. 샘플 미처리군의 형광을 기준으로 감소한 형광의 양을 이용하여 저해 활성을 계산하였다.

2.8. 대장균 성장억제 활성

E. coli (DH5a)를 LB 배지에서 36도 조건으로 진탕 배양 하였다. 이를 LB 배지에 1/100 로 희석하였다. 각각의 샘플 을 LB 배지에 분석 농도로 희석하였다. 샘플 희석액 100 μ L 에 대장균 희석액 100 μ L를 첨가하여 37 °C에서 overnight (16 h) 배양하였다. Microplate에서 600 nm의 흡광도를 측정하였다. 샘플 미처리군의 흡광도를 기준으로 감소한 흡 광도의 양을 이용하여 저해 활성을 계산하였다.

2.9. 통계처리

모든 샘플은 3 회 반복 측정 후 평균과 표준 편차를 표 시하였다. 두 군간의 유의적 차이에 대해서만 분석하였고 student's *t*-test (Excel, USA)를 이용하여 대한 통계적 검증 후 ***p* < 0.05를 표시 하였다.

3. 결과 및 논의

3.1. 리장 설차의 동정

Figure 1B에 표시된 primer를 이용하여 psbA-H 유전자를 증폭한 뒤 그 서열을 확인하였다. 이 과정은 miDNA유전체 연구소에 의뢰하여 진행되었다. 분석된 서열을 바탕으로 유 전자는행(NCBI) blast 검색으로 분석한 결과 리장 설차 염록 체 psb A-H DNA 염기서열은 유전자는행의 MT267294.1번

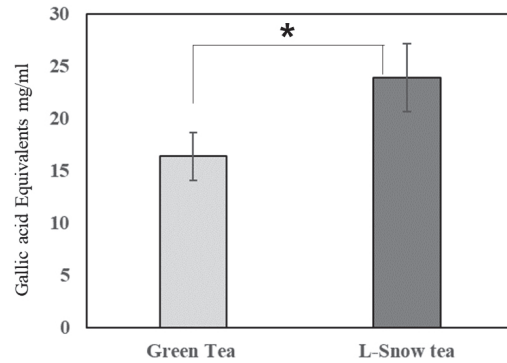


Figure 2. Total phenolic contents of green tea and Lijang snow tea extract. 70% Ethanol extract of green tea and Lijang snow tea (L-snow tea). Polyphenol content was expressed as gallic acid equivalents. Data were means and SD of triplicate measurement. Different letters (*) represent significant differences (*p* < 0.05) between samples.

N. grossedentata (개머루속)와 100 % 동일한 것으로 나타 났다. Figure 1B이는 대표적으로 설차라 불리는 지의류(이 끼)인 *T. vermicularis*와는 다른 것으로 확인되었다.

3.2. 폴리페놀 함량분석

리장 설차와 녹차를 동일한 조건에 70% (v/v) 에탄올 수 용액으로 추출한 뒤 추출물내의 폴리페놀 함량을 분석하 였다. 녹차의 경우 16.4 ± 2.3 mg/mL 및 리장 설차의 경우 23.9 ± 3.2 mg/mL의 gallic acid equivalent (GAE)로 나타났 다. 폴리 페놀 구조로 대표되는 성분은 다양한 생리 활성 기작을 나타내기 때문에 화장품적 적용 효능에도 기대가 되며, 녹차에 대비하여서도 동일한 원물에서 많은 함량의 폴리페놀이 추출되는 것을 알 수 있었다.

3.3. 항산화 활성

인체의 호흡과정이나 자외선 등에서 생성되는 활성 산 소종은 인체의 다양한 분자들을 공격하게 되고 이는 장기 적인 신체의 노화의 대표적인 원인이 된다[18]. 이를 억제 하는 기능을 확인하기 위해서 DPPH 소거능을 통해 항산 화 활성을 측정하였다. 녹차와 리장 설차 70% 에탄올 수 용액 추출물의 고형분을 기준으로 상대적인 활성을 비교 하였고 또한 대표적인 항산화 물질인 비타민C를 대조군으 로 설정하였다. 라디칼의 절반을 소거하는 농도를 IC₅₀ 값 으로 설정하고 비교하였다. 비타민C 의 경우 108 μ g/mL, 리 장 설차 추출물 104 μ g/mL 그리고 녹차 추출물의 경우 234

Table 1. Comparison of DPPH Free Radical Scavenging Activity

Conc. μg/mL	Ascorbic acid		Green Tea		L-Snow tea	
	Inhibition (%)	IC ₅₀ (μg/mL)	Inhibition (%)	IC ₅₀ (μg/mL)	Inhibition (%)	IC ₅₀ (μg/mL)
80	33.3 ± 1.67		23.1 ± 1.91		38.9 ± 1.24	
160	70.7 ± 6.57	108	41.5 ± 3.36	234	70.6 ± 0.03	104
320	100.0 ± 0		76.9 ± 13.0		100.0 ± 0	

Data were means and SD of triplicate measurement in each concentration

μg/mL로 확인 되었다(Table 1). 이를 통해 리장 설차의 추출물의 경우 비타민 C수준의 항산화 효능을 보이고 녹차 추출물보다 우수한 효능을 나타내는 것을 알 수 있었다.

3.4. Tyrosinase 억제 활성

인체의 피부색을 결정하는 멜라닌은 피부의 표피층에 존재하는 멜라노사이트에 의해서 합성되어 각질형성 세포로 전달된다. 이 합성과정을 melanogenesis라고 하며 tyrosine 아미노산에 tyrosinase 효소가 작용하는 것으로 시작된다[18]. 다양한 미백소재가 이 효소의 작용을 조절한다[19]. 그 중 비타민C의 경우는 tyrosinase에 의해 산화된 tyrosine을 환원시키는 형태로 작용하고[20], 그 다양한 유도체 들은 미백 기능성 소재로 사용된다[21]. 본 연구에서는 실험 조건에서 tyrosinase의 활성을 50% 억제하는 IC₅₀의 농도를 확인하여 세가지 물질의 미백기능을 검증하였다. 실험 결과, 비타민C의 IC₅₀은 80 μg/mL으로 나타났고 리장 설차 추출물은 40.7 μg/mL으로 나타났다(Figure 3). 그러나 녹차 추출물은 200 ~ 1,250 μg/mL의 농도에서는 저해 활성이 나타나지 않았다. 이를 통해 리장 설차 추출물은 비타민 C (ascorbic acid) 보다 우수한 tyrosinase억제 활성을 보유한 것으로 예상된다.

3.5. Collagenase 저해 활성

피부의 진피의 대부분은 콜라겐 단백질로 구성되어 있다. 이를 통해 외부의 물리적인 힘에 저항하는 기능을 가지고 피부의 형태를 유지하게 된다. 그러나 노화 혹은 자외선에 노출될 시 콜라겐 대사과정에 문제가 생기게 된다 [22]. 이를 통해 피부의 탄력이 감소하고 주름이 형성된다. 콜라겐 대사 과정 중 콜라겐을 분해하는 collagenase의 활성이 증가하게 된 경우 주름을 촉진하는 방향으로 진행된다. 따라서 collagenase의 활성을 저해 하는 기능은 주름개선 화장품의 소재로 사용 될 수 있다[23]. 본 실험에서는 녹차 추출물과 리장 설차 추출물의 collagenase 효소 저해

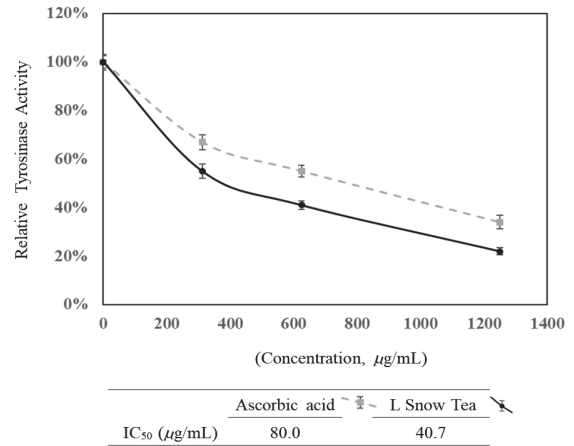


Figure 3. Comparison of tyrosinase activity according to the concentration of the extract. Ascorbic acid: dash line, Lijang snow tea (L-Snow tea): bold line. Data were means and SD of triplicate measurement.

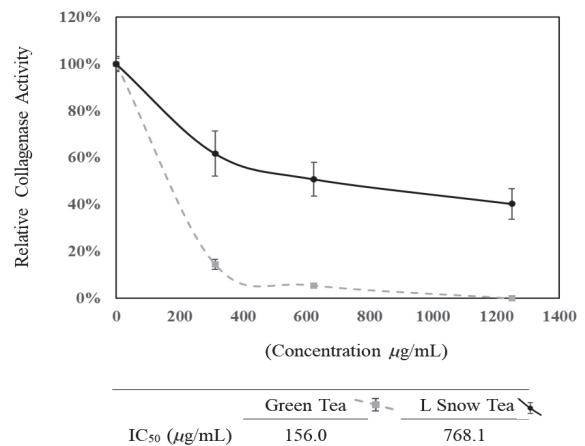


Figure 4. Collagenase inhibition activity of Lijang snow tea extract. Green tea: dash line, Lijang snow tea(L-Snow tea): bold line. Data were means and SD of triplicate measurement.

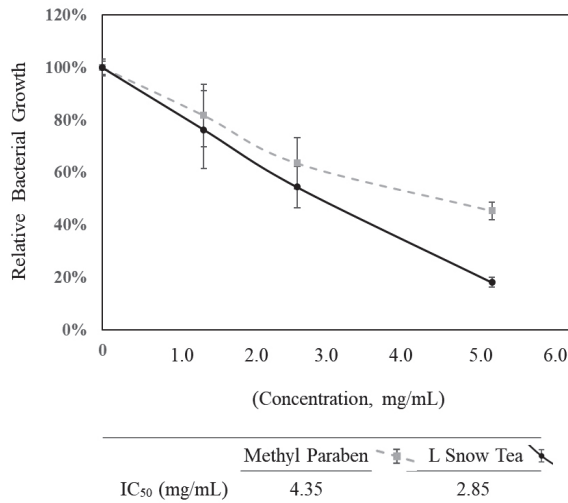


Figure 5. Antibacterial activity of Lijang snow tea extract. Methyl paraben: dash line, Lijang snow tea(L-Snow tea): bold line Data were means and SD of triplicate measurement.

활성을 검증하였고 실험조건에서 50%의 활성을 저해하는 IC₅₀을 계산하였다. 녹차의 경우 IC₅₀은 156.0 $\mu\text{g/mL}$ 그리고 리장 설차의 경우는 768.1 $\mu\text{g/mL}$ 의 결과를 확인하였다 (Figure 4). 이를 통해 리장 설차의 주름개선 활성은 녹차 추출물[24] 보다는 낮은 것을 알 수 있었다.

3.6. 대장균 성장억제 활성

화장품은 제조과정 및 화장품 사용시에 외부의 미생물에 노출될 수 있다. 따라서 제형자체내에서 미생물의 번식을 억제할 조성이 필수적이다. 이를 위해 다양한 보존제가 사용되고 있고 이들의 미생물의 성장을 억제하는 기능이 있다. 본연구에서는 대표적인 합성 보존제인 메틸파라벤[25]과 비교하여 녹차추출물과 리장 설차 추출물의 대장균 성장 억제 활성을 비교 하였다. 실험 조건에서 50%의 미생물의 성장을 억제시키는 농도를 IC₅₀으로 표현하였다 (Figure 5). 메틸파라벤의 IC₅₀은 4.35 mg/mL, 리장 설차 추출물은 2.85 mg/mL를 나타 내었다. 이를 통해 리장 설차 추출물은 메틸파라벤보다 우수한 미생물 성장 억제력을 가진 것을 알 수 있었다.

4. 결 론

본 연구에서는 리장 설차라고 불리는 식물의 화장품적 적용가능성을 확인하려 하였다. 우선, 리장 설차의 DNA분

석을 통하여 *N. grossedentata* 라는 개머루속의 식물 기원종을 확인함으로써 이끼류인 기존의 설차와는 다른 것을 알 수 있었다. 한편, 가장 널리 응용 되고, 다양한 화장품에 적용되는 녹차를 대상으로 기본적인 화장품 적용가능 활성을 비교하려 하였다. 물론 식물의 채집 방법 및 이를 추출하는 방법에 의해서 추출되는 효능물질들은 달라질 수 있다. 또한 이들을 어떻게 배합하는가에 따라서 최종적인 화장품의 기능이 변화할 수 있다. 그러나 기본적인 추출방법에서 얻어지는 추출물을 대상으로 1차적으로 평가하여 향후 화장품 적용의 기본적인 가능성을 확인하는 것은 중요한 의미가 있다. 다양한 기능에 대해서 기초적인 *in vitro* 스크리닝을 한 결과 항산화, 미백, 주름개선에 적용될 수 있는 *in vitro* 효능을 보이고, 이는 다양한 화장품에 적용되고 있는 비타민C 혹은 녹차 추출물에 비해서도 우수한 효능을 나타내는 것을 확인하였다. 또한 대표적인 병원성 미생물인 대장균에 대해서도 성장 억제력이 메틸파라벤보다 우수한 것으로 나타나서 대체 방부제의 기능을 할 수 있을 것으로 생각된다. 향후 추출물내의 지표물질을 확인하는 것과 같은 추출물의 표준화 작업, 해당 기능을 대표하는 다양한 실험에 대한 교차 검증, 최종 적용된 화장품의 기능을 확인하는 것과 같은 단계로 후속연구가 이어지는 것이 필요하다. 본 연구에서는 이런 적용 가능성 대한 1차적인 분석 결과를 종합함으로써 향후 연구의 확장 방향을 제시한데 의미가 있다고 할 수 있다.

Acknowledgement

This thesis was supported by the Dongduk Women's University Grant.

References

1. H. Luo, M. Ren, K. M. Lim, Y. J. Koh, L. S. Wang, and J. S. Hur, Antioxidative activity of lichen *Thamnia vermicularis* *in vitro*, *Mycobiology*, **34**(3), 124 (2006).
2. J. M. Lord, A. Knight, J. M. Bannister, L. R. Ludwig, W. M. Malcolm, and D. A. Orlovich, Rediscovery of pycnidia in *Thamnia vermicularis*: implications for chemotype occurrence and distribution, *Lichenologist*, **45**(3), 397 (2013).
3. Y. Zhao, M. Wang, and B. Xu, A comprehensive review

- on secondary metabolites and health-promoting effects of edible lichen, *J. Funct. Foods*, **80**, 104283 (2021).
4. J. Guo, Z. Li, A. Wang, X. Liu, J. Wang, X. Guo, Y. Jing, and H. Hua, Three new phenolic compounds from the lichen *Thamnolia vermicularis* and their antiproliferative effects in prostate cancer cells, *Planta Med*, **77**(18), 2042 (2011).
 5. R. Y. Choi, J. R. Ham, J. Yeo, J. S. Hur, S. K. Park, M. J. Kim, and M. K. Lee, Anti-obesity property of lichen *Thamnolia vermicularis* extract in 3T3-L1 cells and diet-induced obese mice, *Prev. Nutr. Food Sci*, **22**(4), 285 (2017).
 6. V. Pant and P. B. Rao, Antioxidant and GC-MS analysis of *Thamnolia subuliformis* (Ehrh.) W.L. Culb. from western Himalaya, *The Pharma Innovation Journal*, **7**(12), 82 (2018).
 7. Y. U. Haiyuan, X. Shen, D. Liu, M. Hong, and Y. Lu, The protective effects of β -sitosterol and vermicularin from *Thamnolia vermicularis* (Sw.) Ach. against skin aging *in vitro*, *An. Acad. Bras. Cienc.*, **91**(4), 11 (2019).
 8. S. P. J. Namal Senanayake, Green tea extract: chemistry, antioxidant properties and food applications – a review, *J. Funct. Foods*, **5**(4), 1529 (2013).
 9. M. D. Gianeti, D. G. Mercurio, and P. M. B. G. Maia Campos, The use of green tea extract in cosmetic formulations: not only an antioxidant active ingredient, *Dermatol. Ther.*, **26**(3), 267 (2013).
 10. S. Verdier-Sévrain and F. Bonté, Skin hydration: a review on its molecular mechanisms, *J. Cosmet. Dermatol.*, **6**(2), 75 (2007).
 11. H. J. Kim, S. Kim, and S. H. Lee, Non-invasive skin barrier lipid packing analysis using FT-IR and study of cosmetic formulation for damaged barrier, *J. Soc. Cosmet. Sci. Korea*, **46**(3), 307 (2020).
 12. O. V. Zillich, U. Schweiggert-Weisz, P. Eisner, and M. Kersch, Polyphenols as active ingredients for cosmetic products, *Int. J. Cosmet. Sci.*, **37**(5), 455 (2015).
 13. K. U. Schallreuter, S. Kothari, B. Chavan, and J. D. Spencer, Regulation of melanogenesis - controversies and new concepts, *Exp. Dermatol.*, **17**(5), 395 (2008).
 14. S. H. Lee, S. H. Jun, J. Yeom, S. G. Park, C. K. Lee, and N. G. Kang, Optical clearing agent reduces scattering of light by the stratum corneum and modulates the physical properties of coenocytes via hydration, *Ski. Res. Technol.*, **24**(3), 371 (2018).
 15. Y. Takema, M. Hattori, and K. Aizawa, The relationship between quantitative changes in collagen and formation of wrinkles on hairless mouse skin after chronic UV irradiation, *J. Dermatol. Sci.*, **12**(1), 56 (1996).
 16. R. Campana, C. Scesa, V. Patrone, E. Vittoria, and W. Baffone, Microbiological study of cosmetic products during their use by consumers: health risk and efficacy of preservative systems, *Lett. Appl. Microbiol.* **43**(3), 301 (2006).
 17. O. Folin and W. Denis, On phosphotungstic-phosphomolybdic compounds as color reagents, *J. Biol. Chem.*, **12**(2), 239 (1912).
 18. S. I. Liochev, Reactive oxygen species and the free radical theory of aging, *Free Radic. Biol. Med.*, **60**, 1 (2013).
 19. T. Pillaiyar, M. Manickam, and V. Namasivayam, Skin whitening agents: medicinal chemistry perspective of tyrosinase inhibitors, *J. Enzyme Inhib. Med. Chem.*, **32**(1), 403 (2017).
 20. U. Panich, V. Tangsupa-a-nan, T. Onkokoong, K. Kongtaphan, K. Kasetsinsombat, P. Akarasereenont, and A. Wongkajornsilp, Inhibition of UVA-mediated melanogenesis by ascorbic acid through modulation of antioxidant defense and nitric oxide system, *Arch. Pharm. Res.*, **34**(5), 811 (2011).
 21. N. Taira, Y. Katsuyama, M. Yoshioka, O. Muraoka, and T. Morikawa, Structural requirements of alkylglyceryl-*l*-ascorbic acid derivatives for melanogenesis inhibitory activity, *Int. J. Mol. Sci.*, **19**(4), 1144 (2018).
 22. A. K. Langton, M. J. Sherratt, C. E. M. Griffiths, and R. E. B. Watson, A new wrinkle on old skin: the role of elastic fibres in skin ageing, *Int. J. Cosmet. Sci.*, **32**(5), 330 (2010).
 23. K. S. Kang, I. D. Kim, R. H. Kwon, Y. Y. Heo, S. H. Oh, M. A. Kim, H. J. Jung, H. Y. Kang, and B. J. Ha, The evaluation of anti-wrinkle effects in oriental herb extract, *J. Life Sci.*, **17**(8), 1147 (2007).
 24. M. Sazuka, H. Imazawa, Y. Shoji, T. Mita, Y. Hara, and M. Isemura, Inhibition of collagenases from mouse lung carcinoma cells by green tea catechins and black tea theaflavins, *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **61**(9), 1504 (1997).
 25. M. G. Soni, S. L. Taylor, N. A. Greenberg, and G. A. Burdock, Evaluation of the health aspects of methyl paraben: a review of the published literature, *Food Chem. Toxicol.*, **40**(10), 1335 (2002).