

## *Helianthus annuus* (Sunflower) Seed Oil 의 항염 및 피부 개선 효과 연구

소 지 민\* · 남 개 원\*\*†

\*㈜유로핀즈씨알에이

\*\*서원대학교 바이오코스메틱학과, 교수

(2023년 10월 29일 접수, 2023년 12월 8일 수정, 2023년 12월 14일 채택)

### Study on Effect of Skin Soothing by *Helianthus annuus* (Sunflower) Seed Oil

Jimin So<sup>1</sup> and Gaewon Nam<sup>2,†</sup>

<sup>1</sup>Eurofins CRA Co., Ltd., 2018, Cheongnam-ro, Seowon-gu, Cheongju-si,  
Chungcheongbuk-do 28790, Korea

<sup>2</sup>Department of Bio-cosmetic Science, Seowon University

(Received October 29, 2023; Revised December 8, 2023; Accepted December 14, 2023)

**요약:** 본 연구에서는 *Helianthus annuus* (Sunflower) seed oil의 *in vitro* 시험 및 인체적용시험을 통해 항염 효과와 피부 보습, 피지 분비, 피부 장벽기능 개선 및 피부 진정 등 피부 개선 효과를 확인하였다. *In vitro* 시험 결과, lipopolysaccharide로 염증 반응을 유도한 각질형성세포(cultured human epidermal keratinocytes)에 *H. annuus* (Sunflower) seed oil을 처리하였을 때 염증성 사이토카인인 IL-6, IL-8, TNF- $\alpha$ 가 통계적으로 유의하게 감소하여 항염 효과가 있음을 확인하였다. 또한 *H. annuus* (Sunflower) seed oil을 함유한 시험제품을 제조하여 민감성 피부 대상으로 4 주간 인체적용시험한 결과, 피부 보습, 피지 분비, 피부 장벽이 개선되었으며, 피부 붉은기와 트러블이 개선되는 등 피부 개선 효과를 확인하였다. 본 연구 결과를 통해 민감성 피부를 타겟으로 한 화장품 원료로서 *H. annuus* (Sunflower) seed oil의 가능성을 확인하였다.

**Abstract:** In this study, *in vitro* and clinical studies were conducted to assess the anti-inflammatory effects and skin improvement effects, including moisturizing, sebum secretion-regulating, skin barrier function enhancing, and soothing of *Helianthus annuus* (Sunflower) seed oil. In *in vitro* study using cultured human epidermal keratinocytes induced with inflammation by lipopolysaccharide, significant decreases in inflammatory cytokines interleukin-6, interleukin-8, and tumor necrosis factor alpha was revealed, indicating the anti-inflammatory effects of *H. annuus* (Sunflower) seed oil. Additionally, the results of clinical study on subjects with sensitive skin demonstrated improved skin hydration, regulation of sebum secretion, enhanced skin barrier function, as well as amelioration of skin redness and acne, indicating positive effects on overall skin conditions after application of *H. annuus* (Sunflower) seed oil containing test product for 4 weeks. Results of this study demonstrated the potential of *H. annuus* (Sunflower) seed oil as an ingredient for cosmetic, targeting consumers with sensitive skin.

**Keywords:** *Helianthus annuus* (Sunflower) seed oil, endocannabinoid, clinical study, sensitive skin, anti-inflammatory

† 교신저자 (e-mail: skarod@gmail.com)  
call: 043-299-8494

## 1. 서 론

민감성 피부는 화장품이나 온도, 자외선 등 환경 요인에 과민하게 반응하는 상태로 정의된다. 민감성 피부에서 나타나는 증상은 매우 다양하며, 크게 아토피 피부염, 여드름 등 객관적 자극과 가려움, 따가움 등 주관적 자극으로 구분할 수 있다. 특히 피부 장벽 기능의 변화로 발생하는 아토피 피부염과 여드름 등은 홍반, 구진과 같이 눈에 보이는 증상을 동반한다. 이러한 증상들은 민감성 유발 요인에 노출된 후 수 분에서 수 시간 내에 나타나 일시적, 또는 오랜 시간 지속될 수 있으며 여러 차례 접촉에 따른 누적 효과로도 발생할 수 있다[1].

민감성 피부의 원인으로는 피부 장벽의 손상, 면역 조절 기능 저하, 비정상적으로 증식한 미생물, 피부 신경 이상 등의 가설이 있다. 그 중 피부 장벽 손상은 자극 유발 물질이 피부에 쉽게 침투하게 하고 박테리아의 비정상적인 증식을 유발하여 염증 반응을 촉진하는 등 여러 병인들과 직, 간접적으로 연관되어 있다[2].

피부 장벽은 각질형성세포가 분화를 거쳐 각질화(cornification) 되면서 형성되는데, 이 때 각질형성세포는 세포 대사에 필요한 신호를 전달하기 위해 여러 사이토카인을 분비한다. 특히 interleukin-6 (IL-6), interleukin-8 (IL-8)과 tumor necrosis factor alpha (TNF- $\alpha$ ) 등은 손상된 피부 장벽의 복구 및 회복이나 피부 염증 반응에 관여한다[3].

IL-6, IL-8, TNF- $\alpha$ 는 피부의 물리적, 기능적 재생에 관여하며, 상처 치유나 피부 장벽의 회복에 중요한 역할을 하는 염증성 사이토카인이다[4-6]. IL-6와 IL-8는 건선, 아토피 피부염 증상과 상관관계가 있어 중증도 진단에 쓰이기도 하며[7,8], TNF- $\alpha$  또한 건선의 병리 기전에 관여하는 주요 사이토카인으로 알려져 있다[9]. IL-6, IL-8, TNF- $\alpha$  모두 건선, 아토피 피부염 등 피부 질환이 있는 환자에서 발현이 증가하는 양상을 보이기 때문에, 피부 질환의 진단 척도이자 치료의 표적이기도 하다[5,6].

민감성 피부를 위한 화장품에는 피부 장벽에 직접 작용하여 피부 염증을 감소시켜 증상을 완화하거나, 민감성 피부를 유발시키는 분자를 표적으로 하는 등의 원료가 사용된다. 민감성 피부용 화장품에 가장 많이 사용되는 원료로는 나이아신아마이드, 판테놀, 알란토인 등이 있으며, 병풀(*Centella asiatica*), *Laminaria ochroleuca*, *Chlorella vulgaris* 등 추출물도 널리 이용되고 있다[10-12].

카나비노이드(cannabinoid)는 카나비노이드 수용체에 결

합하는 화합물을 일컫는 말로[18], 카나비노이드 수용체, 내인성 지질 매개체(endogenous lipid mediator), 생합성 경로(biosynthetic pathway) 및 대사효소를 포괄하여 endocannabinoid system (ECS)이라고 한다[13]. ECS는 건강과 질병에 있어 다양한 조절 기능을 하는데, 피부 ECS는 각질형성세포, 섬유아세포, 멜라닌세포, 피지선 등 피부 세포에도 존재하며[14-17], 피부 세포의 증식, 분화와 사이토카인, 호르몬 분비 등의 생물학적 대사 뿐만 아니라 피부 세포의 면역 기능이나 내성에도 관여하는 것으로 알려져 있다. 각질형성세포의 카나비노이드 수용체는 활성화되어 세포 증식, 분화 및 염증 매개체의 방출 억제, 세포 사멸 촉진 등 다양한 세포 대사에 관여하며[13], 특히 카나비노이드 수용체 type 1은 활성화되어 IL-6, IL-8, TNF- $\alpha$  등 염증성 사이토카인의 분비를 억제하여 여드름, 건선, 접촉성 피부염, 가려움, 지루성 피부염 등 피부 질환에 대한 타겟으로도 연구되고 있다[18,19].

*Helianthus annuus* (Sunflower)는 전세계적으로 재배되는 국화과의 일종이며, 씨앗은 그 자체로 식품으로 이용되거나 기름을 생산하는데 쓰여 식용유 시장의 약 8%를 점유하여 팜유, 대두, 유채 다음으로 널리 사용되고 있다. *H. annuus* (Sunflower) seed oil은 페놀화합물, 플라보노이드 등이 풍부하여 항산화, 항염 기능이 있다고 알려져 있다[20]. 또한 *H. annuus* (Sunflower) seed oil이 카나비노이드 수용체 type 1을 활성화하는 것을 확인한 바, 카나비노이드 수용체 type1이 활성화되면 사이토카인 분비를 조절하여 염증 반응에 관여하므로[18], *H. annuus* (Sunflower) seed oil이 ECS에 작용하여 염증성 사이토카인의 방출을 억제함으로써 피부 염증 반응을 조절할 수 있다는 가설을 세우고 민감성 피부에 사용할 수 있는 화장품 원료로서의 가능성을 확인하고자 본 연구를 진행하였다.

본 연구에서는 *H. annuus* (Sunflower) seed oil의 항염 효과와 피부 개선 및 피부 진정 효과를 평가하기 위한 *in vitro* 시험과 인체적용시험을 수행하였다. 먼저, *H. annuus* (Sunflower) seed oil에 의한 카나비노이드 수용체의 활성화를 평가하였고, 이어 각질형성세포를 이용한 *in vitro* 시험을 통해 *H. annuus* (Sunflower) seed oil이 염증성 사이토카인인 IL-6, IL-8, TNF- $\alpha$  생성 저해 평가를 통해 *H. annuus* (Sunflower) seed oil의 항염 효과를 확인하였다. 또한, 피부 개선 및 피부 진정 효과를 평가하기 위하여 *H. annuus* (Sunflower) seed oil 함유 시험제품을 제조하고 민감성 피부를 대상으로 인체적용시험을 통해 피부 수분량, 피지 분비량, 경피수분손실량, 피부 붉은기 및 여드름 개선 등 피부 개선 효과를 평가하였다.

## 2. 재료 및 방법

### 2.1. 시험 개요

본 시험은 *H. annuus* (Sunflower) seed oil의 항염 효과와 피부 개선 및 피부 진정 효과를 평가하기 위한 *in vitro* 시험 및 인체적용시험이다.

*In vitro* 시험은 각질형성세포에 *H. annuus* (Sunflower) seed oil를 처리하고 cAMP assay를 통해 카나비노이드 수용체의 활성화를 평가하였으며, lipopolysaccharide (LPS)로 염증 반응이 유도된 각질형성세포에서 염증성 사이토카인인 IL-6, IL-8, TNF- $\alpha$ 를 정량 분석하여 *H. annuus* (Sunflower) seed oil 처리에 따른 항염 효과를 평가하였다.

또한 *H. annuus* (Sunflower) seed oil의 피부 개선 효과를 평가하기 위하여 *H. annuus* (Sunflower) seed oil을 함유한 화장품에 대한 인체적용시험을 진행하였다. 선정 및 선정 제외의 기준에 따라 민감성 피부를 가진 19 ~ 40 세의 피험자를 선정하였으며, 선정된 피험자는 연구자로부터 시험에 대한 설명을 듣고 자발적으로 시험 참가에 동의, 서면 동의를 작성한 후 시험에 참여하였다. 제품 사용 전 모든 피험자는 시험제품과 사용 설명서를 받아 1 일 2 회, 4 주간 사용하였으며, 제품 사용 후 2 주, 4 주차에 시험기관을 방문하여 평가에 참여하였다.

본 인체적용시험은 (주)유로핀즈씨알에이 생명윤리위원회의 승인 후 진행하였으며(승인번호 : 2020021201-202202-HR-001-01), 피험자의 자발적 동의하에 헬싱키 선언(Helsinki Declaration)에 근거한 윤리규정 및 생명 윤리를 준수하여 진행되었다.

### 2.2. *H. annuus* (Sunflower) Seed Oil의 카나비노이드 수용체 활성화 촉진 효과

실험에 사용한 각질형성세포는 ATCC에서 구입하였으며(PCS-200-011, ATCC, USA), 10% fetal bovine serum (F2442, Merck, Germany)과 100 units/mL penicillin/streptomycin (15140122, Gibco, USA)을 포함한 Dulbecco's Modified Eagle's Medium (11965092, Gibco, USA)을 사용해 37 °C, 5% CO<sub>2</sub> 조건에서 배양하였다. *H. annuus* (Sunflower) seed oil은 Sigma-Aldrich에서 구입하였다(S5007, Sigma-Aldrich, USA).

각질형성세포를 5 × 10<sup>6</sup> cells/ml 농도로 75 cm<sup>2</sup> flask (156499, Thermo Scientific, USA)에 분주한 다음, *H. annuus* (Sunflower) seed oil을 사전에 세포독성시험을 실시하였고, 0 ~ 100  $\mu$ g/mL 농도로 처리하여 24 h 배양하고 세포를

detachment reagent를 이용하여 flask에서 분리, 세포 수를 조사하였다. 원심분리 후 200,000 cells/ml 농도로 펠렛을 재부유하여 96 well plate에 100  $\mu$ L/well씩 분주하여 준비하였다. 각질형성세포의 카나비노이드 수용체 활성은 HitHunter cAMP assay (90-0075LM10, Eurofins DiscoverX Corporation, USA)를 이용하였다.

### 2.3. *H. annuus* (Sunflower) Seed Oil의 염증성 사이토카인 생성 조절 효과

각질형성세포는 96 well plate (CLS3635, Corning, USA)에 5 × 10<sup>4</sup> cells/mL로 배양하였으며 dimethyl sulfoxide (DMSO)에 용해한 *H. annuus* (Sunflower) seed oil은 세포 독성이 없는 5  $\mu$ g/mL 농도로 1 h 전처리하였다. 이후 1 mM LPS (L2880, Sigma-Aldrich, USA)를 24 h 처리하여 염증 반응을 유도하였다. *H. annuus* (Sunflower) seed oil의 염증성 사이토카인 조절에 따른 항염 효과를 평가하기 위하여 엔도카나비노이드로 알려진 N-arachidonoyl-ethanolamine (AEA; anandamide, A0580, Sigma-Aldrich, USA) 1  $\mu$ M을 양성대조군으로 사용하였으며, 염증성 사이토카인 IL-6, IL-8, TNF- $\alpha$ 를 enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA)로 정량 분석하였다. 모든 *in vitro* 시험은 3 회 반복 수행하여 평균값을 사용하였다.

#### 2.3.1. Interleukin-6 (IL-6)

IL-6는 Human IL-6 Quantikine ELISA Kit (D6050B, R&D System, USA)를 이용하여 정량 분석하였다. 96 well plate에 reagent diluent를 100  $\mu$ L처리한 다음 standard, control과 샘플을 100  $\mu$ L씩 분주하여 2 h 동안 실온의 shaker에서 incubation하였다. Wash buffer로 4 회 세척하고 모든 buffer를 제거한 다음 Human IL-6 conjugate를 200  $\mu$ L 분주하고 2 h 동안 실온의 shaker에서 incubation하였다. Wash buffer로 4 회 세척하고 모든 buffer를 제거한 다음 substrate solution 200  $\mu$ L을 분주하여 30 min 실온의 암조건에서 반응시켰다. Stop solution 50  $\mu$ L을 처리하고 ELISA plate reader (Synergy HTX, Biotek, USA)를 이용하여 450 nm에서 흡광도를 측정하였다.

#### 2.3.2. Interleukin-8 (IL-8)

Human IL-8/CXCL8 Quantikine ELISA Kit (D8000C, R&D System, USA)를 이용하여 IL-8을 정량 분석하였다. 96 well plate에 reagent diluent를 100  $\mu$ L 처리하고 standard, control, 샘플을 각 50  $\mu$ L씩 분주하여 실온에서 2 h incubation 하였

다. Wash buffer를 이용하여 4 회 세척하고 모든 buffer를 제거한 다음 human IL-8 conjugate를 100  $\mu\text{L}$ 씩 분주하고 실온에서 1 h incubation한다. 세척 후 substrate solution 200  $\mu\text{L}$ 을 처리하여 30 min 암조건, 실온에서 incubation하여 반응시키고 stop solution 50  $\mu\text{L}$ 을 처리한 다음 plate reader를 이용하여 450 nm에서 흡광도를 측정하였다.

### 2.3.3. Tumor Necrosis Factor Alpha (TNF- $\alpha$ )

Human TNF-alpha Quantikine ELISA Kit (DTA00D, R&D System, USA)를 이용하여 TNF- $\alpha$ 를 정량 분석하였다. 96 well plate에 reagent diluent를 50  $\mu\text{L}$ 씩 분주하고 standard, control, 샘플을 각 50  $\mu\text{L}$ 씩 더하여 2 h 동안 실온의 shaker에서 incubation 하였다. Wash buffer로 4 회 세척하고 buffer를 모두 제거한 다음 Human TNF-alpha conjugate를 200  $\mu\text{L}$ 씩 분주하여 실온의 shaker에서 2 h 동안 incubation 한다. Washing 후 substrate solution 200  $\mu\text{L}$ 을 넣어 30 min 암조건, 실온에서 incubation 하여 반응시키고 stop solution 50  $\mu\text{L}$ 을 처리한 다음 plate reader 를 이용하여 450 nm에서 흡광도를 측정하였다.

### 2.4. 시험제품 제조

인체적용시험에 쓰일 시험제품은 *H. annuus* (Sunflower) seed oil을 함유하도록 Table 1과 같은 조성으로 제조하였다.

**Table 1.** Ingredients of the Test Product

No.	INCI name
1	<i>Helianthus annuus</i> (Sunflower) seed oil 0.01%
2	Dimethicone, Dimethicone/vinyldimethicone crosspolymer vinyldimethiconcrosspolymer
3	Polysorbate 60
4	Cety ethylhexanoate
5	Dimethicone
6	Water
7	Panthenol
8	1,2-hexanediol
9	Butylene glycol
10	Glycerine
11	Xanthan gum
12	Ammonium acryloyldimethyltaurate/VP copolymer
13	PEG-240/HDI copolymer bis-decyltetradeceth-20 ether
14	Hydroxyethylacrylate/sodium acryloyldimethyltaurate copolymer&squalane&polysorbate60

### 2.5. 피험자 모집

연구자와 피부과 전문의의 판정에 따라 피부 붉은기와 여드름 등 피부 병변이 있는 민감성 피부의 피험자 20 명을 모집하여 시험을 진행하였다(평균 연령  $\pm$  표준편차 : 29.1  $\pm$  6.77). 피험자는 성별에 따른 편차를 제거하고자 여성으로 한정하였다. 시험 부위는 피험자의 한쪽 뺨으로 하되 왼쪽 또는 오른쪽을 무작위로 배정하였으며, 다만 여드름 개선 효과는 얼굴 전체를 시험 부위로 하였다.

### 2.6. 피부 개선 및 피부 진정 효과

#### 2.6.1. 피부 보습

Epsilon (E100, Biox Systems Ltd., England)을 이용하여 시험 부위의 수분량을 평가하였다. Epsilon은 전기용량(capacitance) 원리로 피부와 접촉하여 수분량을 측정하는 기기로 수분량을 이미지로 표현한다[21]. 단위는 arbitrary unit (AU)으로, 수치가 클수록 높은 수분량을 의미한다. 각 평가 시점에 D-Squame<sup>®</sup> sampling disc (D100, Clinical and Derm, USA)와 D-Squame<sup>®</sup> Pressure Instrument (D500, Clinical and Derm, USA)를 이용하여 tape stripping (TS)을 10 회 실시하고 TS 실시 전 각질층 표면의 수분량(TS0)과 TS 후 각질층 속 수분량(TS10)을 각각 측정하고 다음 3 회 반복 측정된 평균값을 전후 비교하였다.

#### 2.6.2. 피지 분비량

Sebumeter<sup>®</sup> (Courage + Khazaka electronic GmbH, Germany)로 피부 피지 분비량을 측정하였다. 반투명 테이프가 유분을 흡수하면 투명해지는 원리를 이용하여 반투명 테이프를 피부에 일정 시간 접촉하여 피부 표면의 피지를 흡수한 후 빛 투과도를 이용하여 피지 분비량을 분석한다[22]. 각 평가 시점에 단위 측정하여 전후 비교하였다.

#### 2.6.3. 피부 장벽기능

피부 장벽은 외부 항원이나 미생물이 체내로 유입되지 않도록 방어하는 물리적, 기능적 장벽이다. 경피수분손실량은 단위 면적, 단위 시간에 피부 표면에서 증발하는 수분량으로 아토피 피부염, 건선 등 피부 장벽이 손상되었을 때 증가하는 경향을 보여 피부 장벽 기능의 척도로서 쓰인다[23]. Vapometer<sup>®</sup> (Delfin, Finland)로 경피수분손실량(trans-epidermal water loss; TEWL)을 3 회 반복 측정하고 평균값을 전후 비교하였다.

#### 2.6.4. 피부 붉은기

VISIA-CR<sup>®</sup> (Canfield Scientific, USA)을 이용하여 동일한 조건, 각도로 피험자의 얼굴을 사진 촬영하고 피부 붉은기 면적을 Image J software (NIH, USA)로 분석하여 전후 비교하였다.

#### 2.6.5. 여드름

VISIA-CR (Canfield Scientific, USA)을 이용하여 제품 사용 전, 제품 사용 후 4 주차에 동일한 조건, 각도로 피험자의 얼굴을 사진 촬영하고 변형된 Global Acne Grading System (GAGS)에 따라 피부과 전문의가 육안평가하였다. GAGS는 얼굴과 흉부, 등을 6 개의 구역으로 나누어 여드름 병변의 종류와 심한 정도에 따라 0 ~ 4 점의 점수를 부여하는 평가 방법으로[24], 본 연구에 사용한 변형된 GAGS는 흉부와 등을 제외한 얼굴의 여드름만을 평가하였다. Table 2에 따라 피부과 전문의가 육안평가한 부위별 병변 점수(Local score)를 합산하여 최종 GAGS 점수(Total score)를 구해 전후 비교하였다.

#### 2.7. 통계 분석

통계 분석은 SPSS 28.0 (IBM<sup>®</sup> SPSS<sup>®</sup> Statistics, USA)를 이용하여 95% 신뢰구간에서 유의성 여부를 확인하였다.

*In vitro* 시험 결과는 student's *t*-test로 *H. annuus* (Sunflower) seed oil과 양성 대조군인 AEA 처리에 따른 염증성 사이토카인 생성량을 통계 분석하였다.

인체적용시험 결과, 피험자 20 명 모두 순응도 기준 80%를 만족하여 모든 평가 결과를 분석에 사용하였다. 데이터 수가 30 개 미만이므로 시험 결과의 올바른 분석을 위하여 Shapiro-Wilk test로 정규성을 검정하고, 유의확률 0.05 이상으로 정규성을 만족하면 모수 검정, 0.05 미만으로 정규성을 만족하지 않으면 비모수 검정하였다. 정규성을 만족한 피부 붉은기 이미지 분석 결과는 모수 검정인 paired *t*-test

**Table 2.** Modified Global Acne Grading System (GAGS)

Location	Factor (F)	Severity (S)	Local score
Forehead	2	0	Nil
Right cheek	2	1	Comedones
Left cheek	2	2	Papule
Nose	1	3	Pustule
Chin	1	4	Nodule
Total score			Local score 의 합산

로 전후 비교하였고, 정규성을 만족하지 않은 수분량, 피지 분비량, 경피수분손실량, 여드름 육안평가 결과는 비모수 검정인 Wilcoxon signed-rank test로 전후 비교하였다.

### 3. 결과 및 고찰

#### 3.1. *H. annuus* (Sunflower) Seed Oil의 카나비노이드 수용체 활성화 촉진 효과

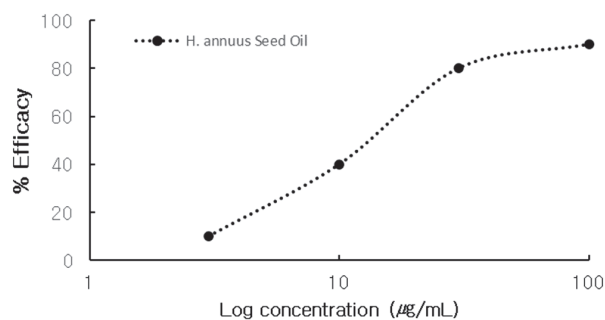
Endocannabinoid system (ECS)는 카나비노이드 수용체, 내인성 지질 매개체, 생합성 경로 및 대사 효소를 포함하는 생물학적 시스템으로, 뉴런 등 신경 발달과 신호 전달 등에 관여한다[25]. ECS를 구성하는 카나비노이드 수용체는 type 1과 type 2로 구분되며, 카나비노이드가 결합하여 활성화되면 신호 전달이 이루어진다[26]. 카나비노이드 수용체는 각질형성세포에서도 발견되며, 카나비노이드 수용체가 활성화되면 염증성 사이토카인의 분비를 억제하고 세포 증식과 분화 및 사멸, 염증 매개체 조절 등에 관여하여 여드름, 건선, 접촉성 피부염, 가려움, 지루성 피부염 등 다양한 피부 질환의 타겟으로 연구되고 있다[18,19].

*H. annuus* (Sunflower) seed oil의 카나비노이드 수용체 활성화를 평가한 결과, 카나비노이드 수용체 type 1에 대한 활성화 효과를 확인하였다(Figure 1).

#### 3.2. *H. annuus* (Sunflower) Seed Oil의 염증성 사이토카인 생성 조절 효과

*H. annuus* (Sunflower) seed oil이 각질형성세포의 카나비노이드 수용체 type 1을 활성화함을 확인하였으므로, *H. annuus* (Sunflower) seed oil의 염증성 사이토카인 생성 조절에 따른 항염 효과를 평가하였다.

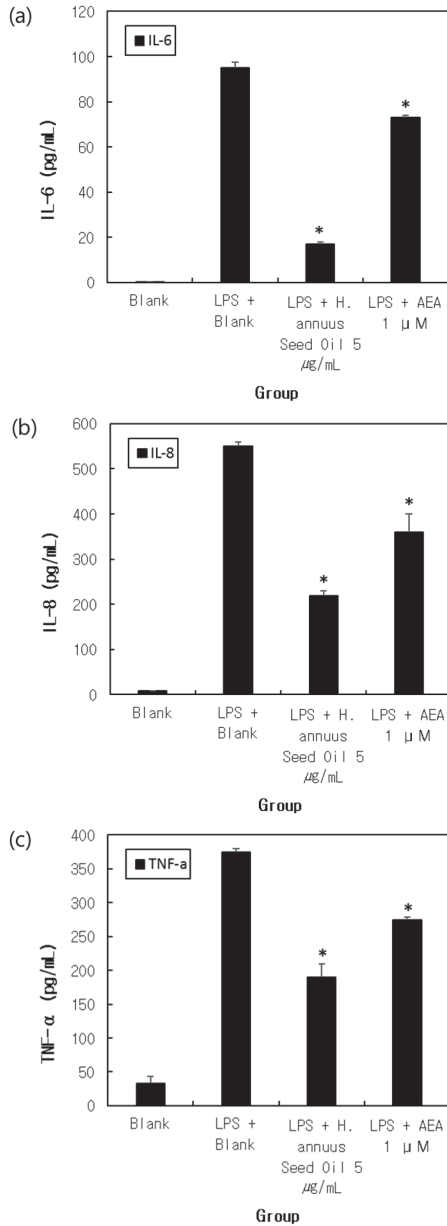
LPS는 그람음성균의 세포막의 주요 성분으로 염증 반응



**Figure 1.** Activation of cannabinoid receptor 1 (CB1R) by *H. annuus* (Sunflower) Seed Oil.

을 유발한다고 알려져 있다[27]. 각질형성세포에 LPS를 처리하였을 때 처리하기 전과 비교하여 염증성 사이토카인인 IL-6, IL-8, TNF- $\alpha$ 가 모두 증가하여 염증 반응이 잘 유도되었음을 확인하였다. 또한 *H. annuus* (Sunflower) seed

oil을 5  $\mu\text{g/mL}$  처리한 다음 LPS만 처리한 대조군과 비교하였을 때 IL-6는  $82.26 \pm 3.19\%$ , IL-8은  $60.17 \pm 3.15\%$ , TNF- $\alpha$ 는  $49.48 \pm 5.44\%$  감소하여 염증성 사이토카인의 생성 조절에 따른 항염 효과가 있음을 확인하였다(Figure 2).



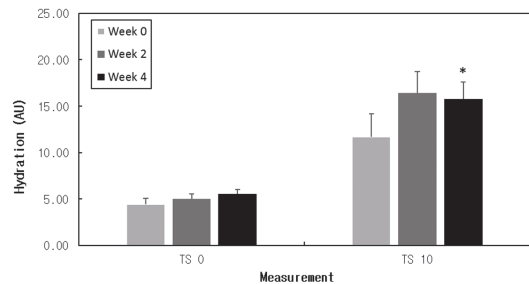
**Figure 2.** Anti-inflammatory activity of *H. annuus* (Sunflower) Seed Oil in cultured human epidermal keratinocytes. Figure 1(A) IL-6, Figure 1(B) IL-8, Figure 1(C) TNF- $\alpha$ . Comparison of LPS + blank vs. LPS + *H. annuus* (Sunflower) Seed Oil 5  $\mu\text{g/mL}$  and LPS + AEA 1  $\mu\text{M}$ , Student's *t*-test, \**p* < 0.05.

### 3.3. *H. annuus* (Sunflower) Seed Oil의 피부 개선 효과

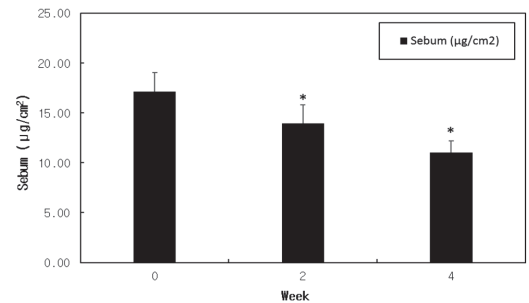
피부 붉은기와 여드름 등 민감성 피부로 판정된 여성 피험자 20 명( $29.1 \pm 6.77$ )에 대한 인체적용시험을 통해 *H. annuus* (Sunflower) seed oil이 함유된 시험제품의 4주 사용에 의한 피부 개선 효과를 평가하였다.

#### 3.3.1. 피부 보습 효과

*H. annuus* (Sunflower) seed oil함유 시험제품 사용 전후, TS 전후의 피부 수분량을 측정하여 보습 효과를 확인하였다. 제품 사용 전과 비교하여 제품 사용 후 2 주, 4 주차에 각질층 표면 수분량(TS0)은  $59.38 \pm 26.24\%$ ,  $67.67 \pm 24.42\%$  증가하였으며, 각질층 속 수분량(TS10)은  $159.37 \pm 61.06\%$ ,  $118.43 \pm 31.81\%$  증가하여 제품 사용 후 4주차에 통계적으로 유의한 보습 효과를 확인하였다(Figure 3).



**Figure 3.** Results of hydration intensity measurement. Mean  $\pm$  SE. Comparison before and after, Wilcoxon signed-rank test, \**p* < 0.05.



**Figure 4.** Results of sebum secretion rate measurement. Mean  $\pm$  SE. Comparison before and after, Wilcoxon signed-rank test, \*\**p* < 0.01, \*\*\**p* < 0.001.

3.3.2. 피지 분비량 개선 효과

시험제품 사용 전후 피지 분비량 측정하여 전후 비교한 결과, 제품 사용 전과 비교하여 제품 사용 후 2 주, 4 주차에 각각  $18.41 \pm 6.25\%$ ,  $29.34 \pm 6.90\%$  감소하였다. 제품 사용 후 모든 시점에 통계적으로 유의한 피지 분비량 개선 효과를 확인하였다(Figure 4).

3.3.3. 피부 장벽기능 개선 효과

시험제품 사용 전후 피부 장벽기능 척도인 경피수분손실량을 측정하여 피부 장벽기능 개선 효과를 평가하였다. 경피수분손실량은 제품 사용 전과 비교하여 제품 사용 후  $5.63 \pm 1.43\%$ ,  $10.76 \pm 1.62\%$  감소하여 통계적으로 유의한 차이를 보였으며, 따라서 피부 장벽기능 개선 효과를 확인하였다(Figure 5).

3.3.4. 피부 붉은기 개선 효과

피부 붉은기는 피부 혈류 변화로 인해 특히 얼굴 피부

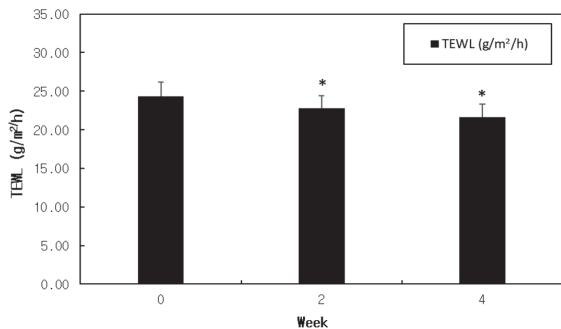


Figure 5. Results of transepidermal water loss measurement. Mean  $\pm$  SE. Comparison before and after, Wilcoxon signed-rank test, \*\*\*  $p < 0.001$ .

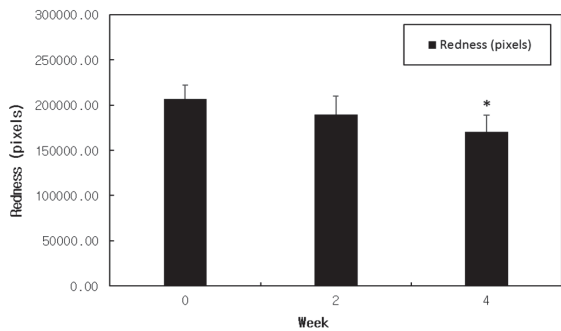


Figure 6. Results of image analysis of redness area. Mean  $\pm$  SE. Comparison before and after, paired  $t$ -test, \*  $p < 0.05$ .

에서 나타나며, 독립적인 증상 뿐 아니라 접촉성 피부염, 주사 등 염증성 피부 질환의 징후로도 나타날 수 있다[28].

각 평가시점에 피험자의 얼굴 사진을 동일한 조건에서 촬영하고 이미지 분석을 통해 붉은기 면적을 분석하였다. 제품 사용 전과 비교하여 제품 사용 후 2 주, 4 주차의 피부 붉은기 면적은 각각  $2.57 \pm 52.458\%$ ,  $16.18 \pm 42.793\%$  감소하여 제품 사용 후 4주차에 통계적으로 유의한 개선 효과를 보였다(Figure 6).

3.3.5. 여드름 개선 효과

여드름은 피지선에 서식하는 *Cutibacterium acnes*에 의한 면역 반응에 의해 발생한다고 알려져 있지만, 최근에는 박테리아와 무관하게 염증성 매개체와 이들의 표적 수용체 또한 원인으로 밝혀져 여드름이 주로 염증성 질환이라는 것이 밝혀지고 있다[29].

각 평가시점에 촬영한 얼굴 사진을 바탕으로 변형된 GAGS에 따라 피부과 전문의가 육안 평가한 결과, 제품 사용 전  $11.52 \pm 3.20$ 과 비교하여 제품 사용 후 4 주차에  $9.38 \pm 2.58$ 로 GAGS 점수가 통계적으로 유의하게 감소하여 여드름 개선 효과를 확인하였다(Figure 7).

본 연구 결과를 종합하였을 때, *H. annuus* (Sunflower) seed oil은 카나비노이드 수용체를 활성화하며 각질형성세포에서 염증성 사이토카인을 조절하는 항염 효과가 있다. 또한 민감성 피부 대상 인체적용시험 결과 피부 개선 효과가 있어 민감성 피부에 사용할 수 있는 화장품 원료로서의 가능성을 확인하였다.

다만, 염증성 사이토카인 생성 조절은 피부 염증 반응에 관여하므로 염증을 감소시켜 민감성 피부의 증상이 완화되었음을 의미할 뿐, 피부의 민감성 자체가 개선되었다고

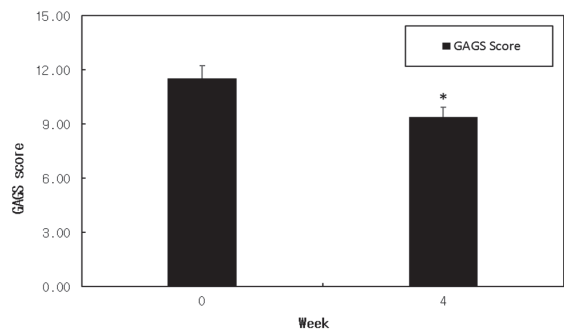


Figure 7. Results of dermatologist's evaluation of acne. Mean  $\pm$  SE. Comparison before and after, Wilcoxon signed-rank test, \*\*\*  $p < 0.001$ .

해석하기에는 근거가 부족하며, 인체적용시험의 경우 시험 제품에 *H. annuus* (Sunflower) seed oil 외에도 제형에 사용한 판테놀, 글리세린 등 피부 장벽 기능과 피부 진정에 도움이 되는 성분이 함유되어 있어 시험 결과의 신뢰도를 위하여 *H. annuus* (Sunflower) seed oil를 함유하지 않은 시험 제품과 대조군비교 시험의 필요성을 확인하여 추후 연구에서는 이에 대한 보완이 필요할 것으로 사료된다.

#### 4. 결 론

본 연구에서는 *in vitro* 시험 및 인체적용시험을 통해 *H. annuus* (Sunflower) seed oil의 항염 효과와 피부 개선 효과를 평가함으로써 민감성 피부를 타겟으로 한 화장품 소재로서의 가능성을 확인하고자 하였다. LPS로 염증 반응이 유도된 각질형성세포를 이용하여 염증성 사이토카인인 IL-6, IL-8, TNF- $\alpha$  생성 조절을 평가한 결과, *H. annuus* (Sunflower) seed oil를 처리하였을 때 대조군과 비교하여 세 가지 사이토카인 모두 감소하여 항염 효과가 있음을 확인하였다. 또한 민감성 피부 대상 인체적용시험 결과, *H. annuus* (Sunflower) seed oil을 함유한 시험제품을 사용하였을 때 사용 전과 비교하여 피부 수분량, 피지 분비량, 경피 수분손실량이 개선되어 피부 보습, 피지 분비량 및 피부 장벽기능이 개선되었으며, 피부 붉은기 및 여드름 개선 등 효과도 확인되었다. 본 연구 결과를 바탕으로 민감성 피부에 사용할 수 있는 화장품 원료로서 *H. annuus* (Sunflower) seed oil의 잠재력을 확인하였다.

#### References

1. I. Duarte, J. E. P. S. Silveira, M. F. S. Hafner, R. Toyota, and D. M. M. Pedroso, Sensitive skin: review of an ascending concept, *An. Bras. Dermatol.*, **92**(4), 521 (2017).
2. V. Buhe, K. Vie, C. Guere, A. Natalizio, C. Lheritier, C. Le Gall-Ianotto, F. Huet, M. Talagas, N. Lebonvallet, P. Marcotelles, J. L. Carre, and L. Misery, Pathophysiological study of sensitive skin, *Acta Derm. Venereol.*, **96**(3), 314 (2016).
3. K. H. Hanel, C. Cornelissen, B. Luscher, and J. M. Baron, Cytokines and the skin barrier, *Int. J. Mol. Sci.*, **14**(4), 6720 (2013).
4. y.p. Han, T. L. Tuan, H. Wu, M. Hughes, and W. L. Garner, TNF-alpha stimulates activation of pro-MMP2 in human skin through NF-(kappa)B mediated induction of MT1-MMP, *J. Cell Sci.*, **114**(Pt 1), 131 (2001).
5. K. T. Lewandowski, R. Thiede, N. Guido, W. L. Daniel, R. Kang, M. I. Guerrero-Zayas, M. A. Seeger, X. Q. Wang, D. A. Giljohann, and A. S. Paller, Topically delivered tumor necrosis factor- $\alpha$ -targeted gene regulation for psoriasis, *J. Invest. Dermatol.*, **137**(9), 2027 (2017).
6. B. Z. Johnson, A. W. Stevenson, C. M. Prèle, M. W. Fear, and F. M. Wood, The role of IL-6 in skin fibrosis and cutaneous wound healing, *Biomedicines*, **8**(5), 101 (2020).
7. T. Amarbayasgalan, H. Takahashi, I. Dekio, and E. Morita, Interleukin-8 content in the stratum corneum as an indicator of the severity of inflammation in the lesions of atopic dermatitis, *Int. Arch. Allergy Immunol.*, **160**(1), 63 (2013).
8. G. Caldarola, C. De Simone, A. Carbone, A. Tulli, P. Amerio, and C. Feliciani, TNFalpha and its receptors in psoriatic skin, before and after treatment with etanercept, *Int. J. Immunopathol. Pharmacol.*, **22**(4), 961 (2009).
9. M. S. Ferreira, J. M. Sousa Lobo, and I. F. Almeida, Sensitive skin: active ingredients on the spotlight, *Int. J. Cosmet. Sci.*, **44**(1), 56 (2022).
10. A. Ratz-Lyko, J. Arct, and K. Pytkowska, Moisturizing and antiinflammatory properties of cosmetic formulations containing *Centella asiatica* extract, *Indian J. Pharm. Sci.*, **78**(1), 27 (2016).
11. M. S. Ferreira, D. I. S. P. Resende, J. M. S. Lobo, E. Sousa, and I. F. Almeida, Marine ingredients for sensitive skin: market overview, *Mar. Drugs*, **19**(8), 464 (2021).
12. N. K. Sheikh and A. Dua, Cannabinoids. [Updated 2023 Feb 27]. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing (2023-).
13. T. Bíró, B. I. Tóth, G. Haskó, R. Paus, and P. Pacher, The endocannabinoid system of the skin in health and disease: novel perspectives and therapeutic opportunities, *Trends Pharmacol. Sci.*, **30**(8), 411 (2009).
14. M. Maccarrone, M. Di Rienzo, N. Battista, V. Gasperi, P. Guerrieri, A. Rossi, and A. Finazzi-Agrò, The



- endocannabinoid system in human keratinocytes, *J. Biol. Chem.*, **278**, 33896 (2003).
15. A. Bort, P. A. Alvarado-Vazquez, C. Moracho-Vilrriales, K. G. Virga, G. Gumina, A. Romero-Sandoval, and S. Asbill, Effects of JWH015 in cytokine secretion in primary human keratinocytes and fibroblasts and its suitability for topical/transdermal delivery, *Mol. Pain*, **13**, 1 (2017).
  16. M. Pucci, N. Pasquariello, N. Battista, M. Di Tommaso, C. Rapino, F. Fezza, M. Zuccolo, R. Jourdain, A. Finazzi Agrò, and L. Breton, Endocannabinoids stimulate human melanogenesis via type-1 cannabinoid receptor, *J. Biol. Chem.*, **287**, 15466 (2012).
  17. N. Dobrosi, B. I. Tóth, G. Nagy, A. Dózsa, T. Géczy, L. Nagy, C. C. Zouboulis, R. Paus, L. Kovács, and T. Bíró, Endocannabinoids enhance lipid synthesis and apoptosis of human sebocytes via cannabinoid receptor-2-mediated signaling, *FASEB J.*, **22**, 3685 (2008).
  18. E. H. Yoo and J. H. Lee, Cannabinoids and their receptors in skin diseases, *Int. J. Mol. Sci.*, **24**(22), 16523 (2023).
  19. T. Bíró, B. I. Tóth, G. Haskó, R. Paus, and P. Pacher, The endocannabinoid system of the skin in health and disease: novel perspectives and therapeutic opportunities, *Trends Pharmacol. Sci.*, **30**, 411 (2009).
  20. S. Guo, Y. Ge, and K. Na Jom, A review of phytochemistry, metabolite changes, and medicinal uses of the common sunflower seed and sprouts (*Helianthus annuus* L.), *Chem. Cent. J.*, **11**(1), 95 (2017).
  21. J. G. M. Logger, C. U. Münchhoff, J. I. Olydam, M. Peppelman, and P. E. J. Van Erp, Anatomical site variation of water content in human skin measured by the Epsilon: A pilot study, *Skin Res. Technol.*, **25**(3), 333 (2019).
  22. J. M. Crowther, Method for quantification of oils and sebum levels on skin using the Sebumeter<sup>®</sup>, *Int. J. Cosmet. Sci.*, **38**(2), 210 (2016).
  23. B. E. Kim and D. Y. Leung, Significance of skin barrier dysfunction in atopic dermatitis, *Allergy Asthma Immunol. Res.*, **10**(3), 207 (2018).
  24. A. Doshi, A. Zaheer, and M. J. Stiller, A comparison of current acne grading systems and proposal of a novel system, *Int. J. Dermatol.*, **36**(6), 416 (1997).
  25. H. C. Lu and K. Mackie, An introduction to the endogenous cannabinoid system, *Biol. Psychiatry*, **79**(7), 516 (2016).
  26. S. Zou and U. Kumar, Cannabinoid receptors and the endocannabinoid system: signaling and function in the central nervous system, *Int. J. Mol. Sci.*, **19**(3), 833 (2018).
  27. G. Yücel, Z. Zhao, I. El-Batrawy, H. Lan, S. Lang, X. Li, F. Buljubasic, W. H. Zimmermann, L. Cyganek, J. Utikal, U. Ravens, T. Wieland, M. Borggrefe, X. B. Zhou, and I. Akin, Lipopolysaccharides induced inflammatory responses and electrophysiological dysfunctions in human-induced pluripotent stem cell derived cardiomyocytes, *Sci. Rep.*, **7**(1), 2935 (2017).
  28. G. İközöglü, Red face revisited: Flushing, **32**(6), *Clin. Dermatol.*, 800 (2014).
  29. E. A. Tangheiti, The role of inflammation in the pathology of acne, *J. Clin. Aesthet. Dermatol.*, **6**(9), 27 (2013).