

## 피부 섬유아세포에서 자외선 B 조사에 대한 시체(柿蒂)의 피부보호효과

정택영 대학원생<sup>1</sup>, 허희진 대학원생<sup>1</sup>, 임진영 대학원생<sup>1</sup>, 이준수 교수<sup>1</sup>, 박정환 선임연구원<sup>1,2\*</sup>

1. 충북대학교 식품생명공학과

2. 한국한의학연구원 미래의학부

### Protective Effects of the Calyx of *Diospyros kaki* against UVB-induced Oxidative Stress in Human Skin Fibroblast

Taekyoung Jeong<sup>1</sup>, Huijin Heo<sup>1</sup>, Jinyeong Lim<sup>1</sup>, Junsoo Lee<sup>1</sup>, Jeong Hwan Park<sup>1,2\*</sup>

1. Department of Food Science and Biotechnology, Chungbuk National Univ.

2. Future Medicine Division, Korea Institute of Oriental Medicine

#### Abstract

Ultraviolet exposure causes photoaging such as pigmentation, dryness, and wrinkles of the skin. This study investigated the protective effects of the calyx of *Diospyros kaki* using Human foreskin fibroblast (Hs68) cells against UVB-induced photoaging. The calyx of *Diospyros kaki* extract was not toxic to Hs68 cells until 20  $\mu\text{g}/\text{mL}$  concentration and noticeably increased cell viability compared to the UVB (30  $\text{mJ}/\text{cm}^2$ ) treated group. The calyx of *Diospyros kaki* extract had very strong activity in inhibiting reactive oxygen species production. In addition, the extract significantly reduced the production of MMP-1 and MMP-3. In particular, at 10 and 20  $\mu\text{g}/\text{mL}$  concentration, the extract showed a very strong inhibitory effect than the 100  $\mu\text{M}$  of ascorbic acid, which is a positive control. The collagen levels tended to increase markedly by the extract. The calyx of *Diospyros kaki* can be used as a herbal material that exhibits protective effects against photoaging.

**Keywords:** *Diospyros kaki*, UVB, fibroblast, collagen, photoaging

**Correspondence:** 박정환(Jeong Hwan Park)

1672 Yuseong-daero, Yuseong-gu, Daejeon, 34054, Rep. of Korea

Tel: +82-42-868-9358, E-mail: siegfried@kiom.re.kr

Received 2021-04-02, revised 2021-04-13, accepted 2021-04-14, available online 2021-04-16

doi:10.22674/KHMI-9-1-5



## 서론

최근 인구 고령화, 야외활동 증가 및 오존층 변화로 인한 자외선 노출 증가에 따라 피부 관련 질환이 증가하고 있다. 이에 삶의 질 향상과 피부 미용에 대한 관심이 높아지면서 피부 노화와 주름에 대한 일반인의 관심도 크게 증가하고 있다. 피부는 몸에서 가장 큰 기관이며 외부 자극이나 여러 병원체의 영향을 많이 받는 일차 방어막이다. 햇빛은 살균과 소독 작용을 할 뿐만 아니라 우리 몸의 체온을 유지시키고 피부를 통해 비타민 D를 합성할 수 있도록 작용한다. 그러나 햇빛은 피부 노화의 요인 중 외재적 요인으로 작용하여 인체의 피부를 손상시킴으로써 노화의 주 원인이 된다<sup>1)</sup>.

햇빛에 존재하는 자외선의 파장의 범위는 10~400nm로 파장의 길이에 따라 A, B, C 등으로 나누어지는데, 인체에 주로 영향을 주는 것은 자외선 A(UVA)와 자외선 B(UVB)이다. 290~320nm 파장의 자외선 B는 피부 표피에만 침투하여 홍반을 일으킨다<sup>2)</sup>. UVB의 피부 노출은 superoxide anion radical ( $O_2^{\cdot-}$ ), hydroxyl radical ( $OH\cdot$ )과 같은 활성산소의 생성을 유도한다. 이로 인해 세포의 단백질, 지방, 핵산 등이 산화되어 피부노화의 대표적인 징후인 주름이 생성된다<sup>3)</sup>. 이는 활성산소가 c-Jun N-terminal kinase (JNK)을 활성화시키고 transcription factor AP-1 complex인 c-FOS와 c-JUN의 활성을 유도하여 MMP1의 발현을 증가시키기 때문에 제 1형 콜라겐의 분해가 일어나 결국 진피층이 퇴화되어 주름이 생성되는 것으로 알려졌다<sup>4,5)</sup>.

감(*Diospyros kaki* Thunb.)은 한국·중국·일본이 원산지인 다양한 용도로 이용되는 과일이다. 시체(柿蒂: Kaki Calyx)는 감나무의 열매에 붙어있는 꽃받침으로 가을에 성숙한 감의 꼭지를 채취하여 섌건(晒乾)한 것이다. 시체의 성미(性味)는 평(平)하고 고삼(苦澁)하며 강역하기(降逆下氣) 효능으로 위(胃)의 기(氣)가 역행하여 생기는 애역(呃逆)에 많이 사용하는데 대개 청열진강(淸熱鎮降)의 약을 배합한다<sup>6)</sup>. 시체는 *in vitro*와 *in vivo* 실험을 통해 항산화 효과, 항염증 효과, 항혈액응고 효과, 피부 미백 효과 등이 알려져 있다<sup>7)</sup>. 피부 미백에 대한 연구로서 감꼭지의 에틸아세테이트 분획물의 경우 5μg/mL의 농도에서 색소 침착을 일으키는 멜라닌 생성을 43.2% 억제하는 활성을 보였고, 멜라닌 생성에 관련된 단백질 발현과의 연관성을 확인하기 위한 tyrosinase, tyrosinase-related protein-1 (TRP-1), TRP-2의 발현 양상을 측정된 결과, 각각 44%, 34%, 18% 저해하여 우수한 미백효과를 나타내었다고 하였다<sup>8)</sup>. 또한, 시체의 피부 미백효과를 확인하는 tyrosinase 저해효과 실험에서는 에틸아세테이트 분획물이 강한 억제 활성을 나타내었다고 보고되었다<sup>9)</sup>.

자외선으로 인해 발생하는 피부 노화를 효과적으로 방어하는 천연 소재 발굴에 대한 연구가 다양하게 시도되고 있지만 시체의 피부 보호 효과에 대해서는 아직 보고된 것이 거의 없다. 본 연구는 한약재로 사용되는 시체를 대상으로 자외선 B에 대한 피부 보호 효과에 관한 연구로서 피부섬유아세포에 UVB로 산화 스트레스를 가했을 때 세포 생존율, 세포독성 및 피부 보호 효과에 미치는 영향을 보고자 하였다.



## 본론

### 1. 재료 및 방법

#### 1) 추출물 제조

본 실험에 사용된 시체는 음니허브(Daegu, Korea)에서 구입한 것을 「대한민국약전외한약(생약)규격집」에 맞추어 관능검사 후, 약전규격에 적합한 것만을 정선하여 사용하였다. 추출물 제조를 위해 500 mL 플라스크에 분쇄한 시체 5g을 넣은 후 150mL의 메탄올을 넣고 실온에서 24 시간 교반추출기(VS-8480, Vision Scientific, Daejeon, Korea)를 이용하여 추출하였다. 추출물은 Whatman No. 5 (Whatman International Ltd., Maidstone, UK)로 여과한 후 37°C에서 감압농축하였다. 최종 추출 수율은 9.5%로 나타났고 추출 잔사를 dimethyl sulfoxide (DMSO)를 이용하여 100mg/mL로 재용해한 뒤 0.22µm 멸균 필터로 여과하고 -20°C에 보관하며 실험에 사용하였다.

#### 2) 세포배양

인간 진피 섬유아세포주인 Human foreskin fibroblast (Hs68) 세포는 American Type Culture Collection (ATCC, Manassas, VA, USA)에서 구입하여 사용하였다. Fetal bovine serum (FBS, 10%)과 penicillin (100unit/mL), streptomycin (100µg/mL)이 함유된 Dulbecco's modified Eagle's medium (DMEM)을 사용하여 37°C, 5% CO<sub>2</sub> humid air로 조절된 배양기(Thermo Scientific, Tewksbury, MA, USA)에서 배양하였다.

#### 3) 세포 독성 측정

Hs68 세포를 96-well plate에 1.0×10<sup>4</sup> cells/well의 농도로 분주하였다. 24 시간 배양 후 FBS가 없는 배지에 시료를 희석하여 24 시간 추가 배양하였다. 3-(4,5-Dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide (MTT, 1mg/mL) 용액 20µL를 각 well에 첨가하고 2 시간 동안 배양하였다. 상층액을 제거하고 생존 세포에서 생성된 청색 formazan 결정을 DMSO로 가용화시켜 microplate reader (Epoch, BioTek Inc., Winooski, VT, USA)를 사용하여 550nm에서의 흡광도를 측정하였다. 시료처리 시에는 DMSO의 최종 농도가 0.1%(v/v) 미만이 되도록 시료를 배지로 희석하여 사용하였다.

#### 4) UVB 조사

Hs68 세포를 96-well plate에 1.0×10<sup>4</sup> cells/well의 농도로 분주하여 24 시간 동안 배양한 후 각 well에 FBS가 없는 배지로 시료를 희석한 후 처리하여 24 시간 동안 배양하였다. 그 후 배지를 제거하고 phosphate buffered saline (PBS)으로 1회 세척한 다음 UVB lamp (GL20SE, Sankyo Denki, Japan)를 이용하여 UVB (30mJ/cm<sup>2</sup>)를 조사하였고, UV light meter (UV-340A, Lutron, Taipei, Taiwan)를 사용하여 자외선 강도를 모니터링하였다. 모든 UVB 조사는 96-well plate에 부착된 세포에 PBS를 얇게 도포한 후 수행하였다. 조사 후 FBS가 없는 배지에서 시료를 희석하여 24 시간 동안 세포에 처리하였다. 생존세포를 MTT 염색법으로 측정하였다. 대조군은 UVB 조사 없이 동일한 조건으로 진행되었다.

### 5) ROS 생성 측정

Hs68 세포를 black 96-well plate 에  $1.0 \times 10^4$  cells/well 의 농도로 분주하여 24 시간 동안 배양한 후 각 well 에 FBS 가 없는 배지로 시료를 희석한 후 처리하여 24 시간 동안 배양하였다. 그 후 배지를 제거하고 PBS 로 세척한 후 세포를 UVB( $30 \text{ mJ/cm}^2$ )로 조사하였다. UVB 조사후 세포에 시료를 30 분 간 처리한 후  $25 \mu\text{M}$  의 dichlorodihydro-fluorescein diacetate (DCFH-DA)로 염색하였다. 세포 내 ROS 생성에 해당하는 형광 강도는 485nm 의 여기 파장 및 530nm 의 방출 파장에서 fluorescent spectrophotometer (LS-55, Perkin-Elmer, Norwalk, CT, USA)로 측정하였다.

### 6) MMP-1, MMP-3 및 수용성 콜라겐 생성량 측정

MMP-1 과 MMP-3 의 측정은 human MMP-1, MMP-3 ELISA kit (Merck & Co., Inc., Whitehouse Station, NJ, USA)을 이용하여 배지 중의 MMP-1 과 MMP-3 의 생성량을 측정하였다. UVB 조사 후 수용성 콜라겐 생성량은 Sircol™ soluble collagen assay kit (Bicolor, Carrickfergus, Northern Ireland)을 사용하여 측정하였다.

### 7) 통계처리

통계분석은 GraphPad Prism 7 (GraphPad Software, San Diego, CA, USA) 소프트웨어를 이용하여 실시하였다. 데이터 간의 유의차는 one-way ANOVA 의 Tukey-Kramer method 를 통해  $P < 0.05$  수준에서 검증하였다.

## 2. 결과 및 고찰

### 1) 피부 섬유아세포에서 UVB 조사에 대한 세포 독성 및 보호효과

시체 추출물이 Hs68 세포의 증식에 미치는 영향을 알아보기 위해 MTT assay 를 이용한 세포 생존율을 측정하였다. 시체 추출물의 농도를 각각 5, 10,  $20 \mu\text{g/mL}$  로 처리한 후 세포 생존율을 측정한 결과 농도별로 처리한 구간 내 세포 생존율로 보아  $20 \mu\text{g/mL}$  농도까지는 거의 세포독성이 없음을 나타내었다(Fig. 1A). 시체 추출물이  $20 \mu\text{g/mL}$  농도까지 세포 생존율에 영향을 미치지 않는 것이 확인됨에 따라 세포에 UVB 로 산화 스트레스를 유도했을 때 시체 추출물의 농도별 보호 효과를 알아보았다. 세포에 시체 추출물을 농도별( $5 \sim 20 \mu\text{g/mL}$ )로 전처리한 후, UVB 를 Hs68 세포에 조사한 결과 시체 추출물이 처리되지 않은 세포에서는 대조군인 정상세포에 비해 세포 생존율이 69.43%로 감소하였으나, 시체 추출물이 전 처리된 세포에서는 세포 생존율이 모든 농도에서 크게 증가했다(Fig. 1B). 이는 시체 추출물은 UVB 로 유도된 산화 스트레스에 대해 뚜렷한 세포 보호 효과가 있는 것으로 판단되었다.



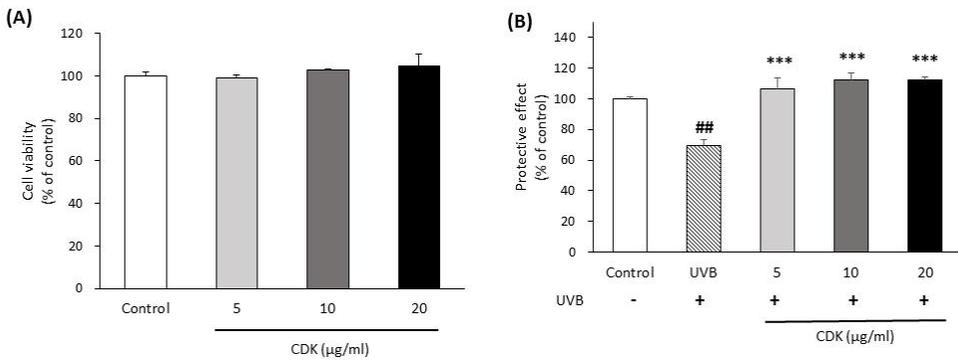


Fig. 1. Cytotoxicity (A) and protective effect (B) of the methanol extract from the calyx of *Diospyros kaki* (CDK) in untreated and UVB irradiated Hs68 cells. Each value is expressed as the mean  $\pm$  standard error (n=3). ## $P$ <0.01 versus control and \*\*\* $P$ <0.001 versus UVB by ANOVA and the Tukey-Kramer method.

2) 피부 섬유아세포에서 UVB 조사에 대한 ROS 생성에 미치는 효과

생체 내 생성되는 ROS는 산소의 산화물로서 과잉 생성되면 단백질과 DNA 손상, 세포의 사멸과 이상 증식, 그리고 조직이나 기관들을 손상시켜 노화와 각종 질병들을 유발하는 주요 원인이 된다<sup>10)</sup>. 태양 아래에서 피부는 UVB의 노출 증가에 의해 ROS가 생성되며, 주름이나 피부 톤과 탄력의 손실과 같은 피부의 광노화가 촉진되며 나아가 질병을 일으키기도 한다<sup>11)</sup>. 세포내에서 UVB 조사에 의해 발생하는 ROS 생성에 대한 시체 추출물의 억제활성을 알아보기 위해 Hs68 세포에 UVB 조사한 뒤 DCFH-DA probe를 이용하여 ROS의 양에 따른 형광발생 정도를 측정하였다. 실험결과 UVB를 처리하여 산화 스트레스를 유발한 세포에서는 정상세포에 비해 ROS의 생성이 빠르게 증가하였으나, 시체 추출물을 5, 10, 20µg/mL의 농도로 전처리한 결과, 시체 추출물 농도에 따라 ROS 생성이 뚜렷하게 억제되는 효과를 보여주었다(Fig. 2A). 이는 UVB로 손상된 인체 피부 섬유아세포에서 핑거루트 에탄올 추출물 및 물 분획물을 1~20µg/mL 농도로 24시간 동안 처리하였을 때 ROS 생성 억제 효과를 보였다는 보고와 유사하였다<sup>12)</sup>. UVB 조사된 Hs68 세포에 미역 에탄올추출물을 100µg/mL의 농도로 처리하였을 때 ROS 생성을 억제하였다는 보고와도 유사하였다<sup>13)</sup>. 또한 HaCaT 세포에 UVB를 조사 후 2종의 유색미 에탄올 추출물을 25µg/mL 농도로 처리하였을 때 뚜렷한 ROS 생성을 효과적으로 저해한다는 보고와도 유사한 경향이였다<sup>14)</sup>. 이러한 ROS 생성 억제 결과는 Hs68 세포에서 UVB 조사에 의해 유도된 자유라디칼이 감쪽지 추출물에 의해 제거되어 피부세포를 보호하는 것으로 보인다는 의견과 일치하는 것으로 판단되었다<sup>12)</sup>. 60분이 경과한 시점의 ROS 생성량을 비교한 결과, 모든 농도의 시체 추출물의 ROS의 생성량은 정상세포보다 더 낮은 수치를 보여 시체 추출물은 산화 스트레스에 의한 ROS 생성 억제에 강한 활성이 있는 것으로 나타났다. 또한 시체 추출물 20µg/mL 농도에서의 ROS 생성 억제 활성은 100µM 농도의 양성대조군인 ascorbic acid와 유사한 ROS 생성량을 나타내어 시체 추출물이 ROS 생성 억제에 강한 활성이 있음을 보여주었다(Fig. 2B).

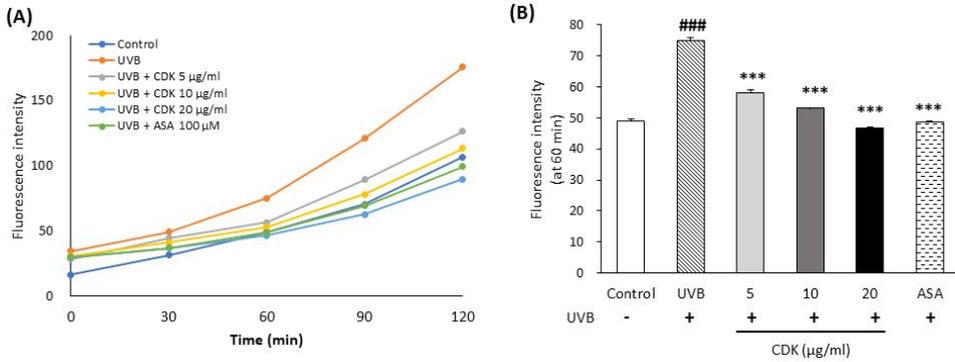


Fig. 2. Effects of the methanol extract from the calyx of *Diospyros kaki* (CDK) on time course of ROS generation (A) and ROS production at 60 min (B) in UVB irradiated Hs68 cells. Ascorbic acid (100 µM) was used as a positive control. Each value is expressed as the mean ± standard error (n=3). ###*P*<0.001 versus control and \*\*\**P*<0.001 versus UVB by ANOVA and the Tukey-Kramer method.

### 3) 피부 섬유아세포에서 UVB 조사에 대한 MMP-1 과 MMP-3 생성에 미치는 효과

MMP는 콜라겐, 엘라스틴, 젤라틴 및 기질 당단백질을 포함하는 세포외 기질(ECM)의 조직 리모델링 및 분해를 담당하며, 일반적으로 정상적인 생리학적 조건에서 최소로 발현되므로 항상성이 유지된다<sup>15)</sup>. 그러나 UVB 조사는 DNA 손상과 세포 사멸을 야기할 뿐만 아니라 MMP의 활성화를 촉진해 피부 노화를 가속화시킨다<sup>16,17)</sup>. 본 연구에서 Hs68 세포에 UVB 조사는 MMP-1과 MMP-3의 생성 및 분비를 증가시켰으나, 시체 추출물을 5, 10, 20µg/mL의 농도로 처리한 결과 MMP-1과 MMP-3의 생성을 크게 감소시켜 유의적인 억제 효과를 나타냈다. 특히 시체 추출물의 10, 20µg/mL 농도에서는 positive control인 ascorbic acid의 100µM 농도에서보다 더 우수한 MMPs 생성 억제 효과를 나타냈다(Fig. 3) 이는 Hs68 세포에 UVB를 조사한 후 오가피순 메탄올 추출물을 50µg/mL의 농도로 처리하였을 때 MMP-1과 MMP-3의 생성 억제 효과를 보였다는 보고와 UVB 조사된 Hs68 세포에 대추 물 추출물을 50µg/mL의 농도로 처리하였을 때 MMP-1과 MMP-3의 생성 억제 효과를 보였다는 보고보다도 더 우수하였다<sup>18,19)</sup>. 또한 Hs68 세포에 UVB 조사로 유도된 광노화에 대해 앰블릭 열매 추출물을 처리하였을 때 MMP-1과 MMP-3의 생성 억제 효과가 크게 나타났다는 보고와도 유사한 경향이였다<sup>20)</sup>.



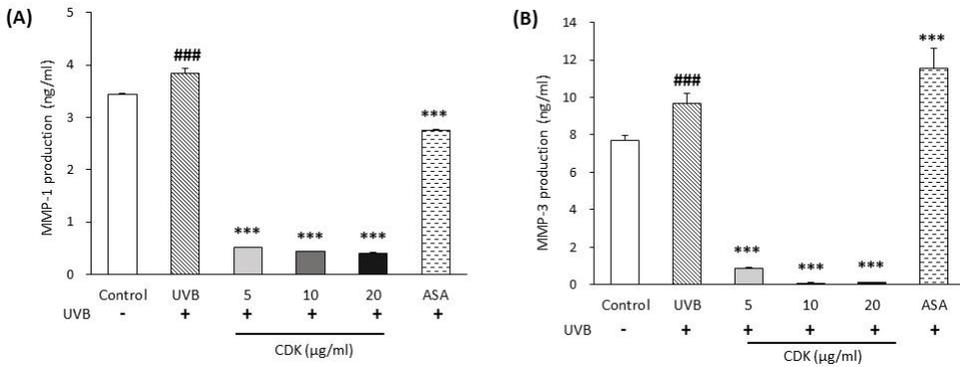


Fig. 3. Effects of the methanol extract from the calyx of *Diospyros kaki* (CDK) on MMP-1 (A) and MMP-3 (B) production in UVB irradiated Hs68 cells. Ascorbic acid (100 µM) was used as a positive control. Each value is expressed as the mean ± standard error (n=3). ###*P*<0.001 versus control and \*\*\**P*<0.001 versus UVB by ANOVA and the Tukey-Kramer method.

4) 피부 섬유아세포에서 UVB 조사에 대한 수용성 콜라겐 생성 효과

콜라겐은 대부분 피부의 진피층에 존재하며, 피부 전체 건조 중량의 약 70~90%를 차지하고 있어, 세포 외 기질의 대부분을 차지하면서 피부를 지지하는 역할을 한다. UVB 조사에 의한 콜라겐 분해는 결합조직의 탄력 저하와 주름 생성 등에 직접적인 영향을 미친다<sup>21)</sup>. 시체 추출물의 UVB 조사에 의해 감소한 콜라겐 생성에 미치는 효과를 평가하기 위해 Hs68 세포에 UVB 을 단독으로 조사한 결과 콜라겐의 농도는 대조군에 비해 59.65%까지 감소하였다. 시체 추출물을 5, 10, 20µg/mL 의 농도로 전 처리한 세포에 UVB 를 처리한 결과 콜라겐의 농도는 뚜렷하게 증가하는 경향을 보였다. 특히 모든 농도에서 시체 추출물은 positive control 인 ascorbic acid 100µM 보다 우수한 억제 효과를 보였다 (Fig. 4). 이는 UVB 조사된 Hs68 세포의 콜라겐 생성의 변화를 관찰한 결과, UVB 조사로 콜라겐의 생성이 크게 감소하였으나 백미와 현미 추출물을 25µg/mL 농도로 처리하였을 때 콜라겐의 합성을 증가시켰다는 보고와 유사하였다<sup>22)</sup>. UVB 조사로 콜라겐의 생성이 감소하였으나 밤껍질 에탄올 추출물을 50µg/mL 농도로 처리하였을 때 콜라겐의 생성이 유의적으로 증가하였다는 보고와도 유사하였다<sup>23)</sup>. 또한, Hs68 세포에 UVB 을 조사한 후 콜라겐의 생성이 억제되었으나 한약재인 당귀, 육두구, 백급을 처리하였을 때 콜라겐의 생성을 활성화시키는 것으로 나타났다는 보고와도 유사한 경향이었다<sup>24-26)</sup>.

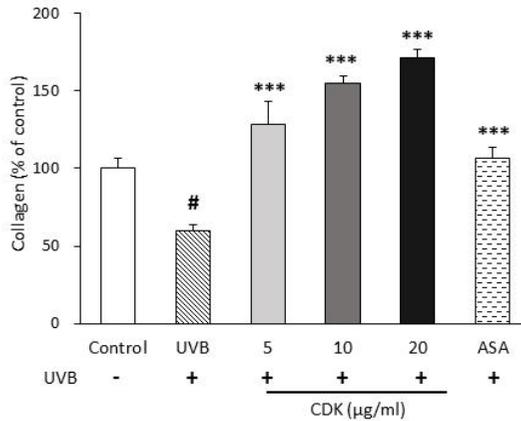


Fig. 4. Effects of the methanol extract from the calyx of *Diospyros kaki* (CDK) on soluble collagen content in UVB irradiated Hs68 cells. Ascorbic acid (100 µM) was used as a positive control. Each value is expressed as the mean  $\pm$  standard error (n=3). # $P$ <0.1 versus control and \*\*\* $P$ <0.001 versus UVB by ANOVA and the Tukey-Kramer method.

시체에는 quercetin, rutin, catechin, gallic acid, tannin, ursolic acid, daucosterol 등 다양한 생리활성 성분이 함유되어 있다<sup>7)</sup>. 플라보노이드인 quercetin 은 UVA 가 조사된 human dermal fibroblasts 에서 MMP-1 의 생성을 감소시키며, 12-*O*-tetradecanoylphorbol 13-acetate 처리된 human dermal fibroblasts 에서는 MMP-1 의 유도를 강하게 억제시킨다는 보고가 있다<sup>27,28)</sup>. rutin 은 human dermal fibroblasts 에서 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 에 의해 생성되는 ROS 와 MMP-1 의 mRNA 발현량을 감소시킨다는 보고가 있다<sup>29)</sup>. 한편, 시체의 에틸아세테이트 분획물은 피부 단백질의 분해에 의해 피부 노화를 유발하는 효소로 알려진 elastase 의 저해 활성 실험에서도 강한 억제 활성을 나타내었다<sup>9)</sup>. 따라서 시체 추출물은 UVB 로 유도된 산화적 스트레스에 대해 ROS 와 MMP-1 과 MMP-3 의 생성을 억제시키고 콜라겐 생성량을 증가시킴으로써 피부를 보호할 수 있을 것으로 기대한다.

## 결론

자외선의 반복적 노출은 피부의 색소 침착이나 피부 건조와 주름 등의 광노화를 유발시킨다. 본 연구에서는 시체 추출물이 광노화에 대한 억제 효과가 있는지를 Hs68 세포를 이용하여 평가하였다. 시체 추출물 5, 10, 20µg/mL 농도에서 세포독성은 나타나지 않았으며, UVB 조사군에 비해 세포생존율을 크게 증가시켰다. 시체 추출물은 산화 스트레스에 의한 ROS 생성 억제에 매우 강한 활성이 있는 것으로 나타났다. 또한, 시체 추출물은 MMP-1 과 MMP-3 의 생성을 크게 감소시켜 유의적인 억제 효과를 나타냈다. 특히 10, 20µg/mL 농도에서 시체 추출물은 positive control 인 ascorbic acid 100µM 농도 보다 우수한 억제 효과를 보였다. 수용성 콜라겐의 농도는 시체 추출물에 의해 뚜렷하게 증가하는 경향을 보였다. 시체 추출물은 UVB 로 유도된 산화적 스트레스에 의한 피부 손상으로부터 보호 효과를 가지는 천연 소재로 활용될 수 있을 것이다.

## 참고문헌

1. Farage MA, Miller KW, Elsner P, Maibach HI. Intrinsic and extrinsic factors in skin ageing: a review. *International Journal of Cosmetic Science*. 2008;30(2):87-95.
2. Gilchrist BA. A review of skin ageing and its medical therapy. *British Journal of Dermatology*. 1996;135(6):867-75.
3. Scharffetter-Kochanek K, Wlaschek M, Brenneisen P, Schauen M, Blaudschun R, Wenk J. UV-induced reactive oxygen species in photocarcinogenesis and photoaging. *Biological Chemistry*. 1997;378(11):1247-57.
4. Fisher GJ, Wang ZQ, Datta SC, Varani J, Kang S, Voorhees JJ. Pathophysiology of premature skin aging induced by ultraviolet light. *The New England journal of medicine*. 1997;337(20):1419-28.
5. Kim JY, Bae S, Jung J, An S, An IS, Kim YS, An IS. Effects of *Coptis chinensis* Extracts on Matrix Metalloproteinase-1 Suppression through JNK/AP-1 Axis in Human Dermal Fibroblasts. *Asian Journal of Beauty and Cosmetology*. 2018; 16(3):427-35.
6. 전국한의과대학 공동교재편찬위원회. 본초학. 영림사. 2007:405-6.
7. 박정환. 시체(柿蒂)의 약리학적 효능 및 임상연구에 대한 고찰. *한약정보연구회지*. 2018;6(2):267-77.
8. 황주영, 박태순, 손준호. 감꼭지 추출물과 분획물의 미백효과. *생명과학회지*. 2013;23(3):383-8.
9. 차배천, 이은희. 감꼭지의 Tyrosinase 와 Elastase 저해 활성 성분. *생약학회지*. 2013;44(2):182-7.
10. Halliwell B, Whiteman M. Measuring reactive species and oxidative damage in vivo and in cell culture: how should you do it and what do the results mean? *British Journal of Pharmacology*. 2004;142:231-55.
11. Wlaschek M, Tantcheva-Poor I, Naderi L, Ma W, Schneider LA, Razi-Wolf Z, Schüller J, Scharffetter-Kochanek K. Solar UV irradiation and dermal photoaging. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*. 2001;63:41-51.
12. 연다솜, 이하나, 송진희, 양진우, 김영화, 정현상, 이준수. UVB 로 손상된 인체 피부 섬유아세포에서 핑거루트 에탄올 추출물 및 물 분획물의 피부 보호 효과. *한국식품영양과학회지*. 2019;48(1):24-31.
13. 이찬, 장정희, 김보애, 박찬익. UVB 로 손상이 유도된 피부세포에 해양소재 추출물의 항노화 효능. *대한화장품학회지*. 2012;38(3):255-62.
14. 최은영, 이재봉, 김도훈, 권용삼, 천정윤, 이진태. UVB 에 조사된 HaCaT Keratinocytes 에서의 유색미에 의한 Matrix Metalloproteinases 발현억제 메커니즘. *한국식품영양과학회지*. 2017;46(5):562-71.
15. Verma RP, Hansch C. Matrix metalloproteinases (MMPs): chemical-biological functions and (Q) SARs. *Bioorganic & medicinal chemistry*. 2007;15(6):2223-8.
16. Brennan M, Bhatti H, Nerusu KC, Bhagavathula N, Kang S, Fisher GJ, Varani J, Voorhees JJ. Matrix metalloproteinase-1 is the major collagenolytic enzyme responsible for collagen damage in UV-irradiated human skin. *Photochemistry and Photobiology*. 2003;78(1):43-8.



17. Dong KK, Damaghi N, Picart SD, Markova NG, Obayashi K, Okano Y, Masaki H, Grether-Bek S, Krutmann J, Smiles KA, Yarosh DB. UV-induced DNA damage initiates release of MMP-1 in human skin. *Experimental Dermatology*. 2008;17(12):1037-44.
18. 이하나, 홍성화, 허희진, 최현정, 정현상, 이준수. 피부 섬유아세포에서 광노화에 대한 오가피순 메탄올 추출물의 피부 보호 효과. *한국식품영양과학회지*. 2019;48(3):385-9.
19. 홍성화, 이하나, 정택영, 김영화, 정현상, 이준수. UVB 로 손상된 인간 피부 섬유아세포에서 대추 물 추출물의 피부 보호 효과. *한국식품영양과학회지*. 2019;48(10):1172-7.
20. Adil MD, Kaiser P, Satti NK, Zargar AM, Vishwakarma RA, Tasduq SA. Effect of *Emblica officinalis* (fruit) against UVB-induced photo-aging in human skin fibroblast. *Journal of Ethnopharmacology*. 2010;132(1):109-14.
21. 이수연, 이진영. 섬유아세포(CCD-986sk)에서 청미래덩굴의 pro-collagen type-1 활성 및 MMP-1 의 유전자 발현 저해능. *생명과학회지*. 2013;23(10):1239-45.
22. 전지영, 양진우, 성지혜, 성예지, 정현상, 이준수. 인체 피부 섬유아세포에서 자외선 조사에 대한 다양한 곡류 메탄올 추출물의 보호 효과. *한국식품영양과학회지*. 2017;30(2):211-7.
23. 이하나, 이종민, 홍성문, 김나영, 손석준, 정영재, 이현순, 이준수. UVB 로 손상이 유도된 인간 피부 섬유아세포(Hs68)에서 일부 식품소재 에탄올 추출물의 피부 보호 효과. *한국식품영양과학회지*. 2018;47(6):664-8.
24. 이정현, 이세나, 김명규, 김명희, 김형준, 조학준, 임강현. 당귀(當歸)의 사람 피부아세포의 콜라겐 나제 활성과 프로콜라겐합성과 티로시나제 활성에 미치는 영향. *대한본초학회지*. 2011;26(1):29-33.
25. Lee KE, Mun S, Pyun HB, Kim MS, Hwang JK. Effects of macelignan isolated from *Myristica fragrans* (Nutmeg) on expression of matrix metalloproteinase-1 and type I procollagen in UVB-irradiated human skin fibroblasts. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*. 2012;35(10):1669-75.
26. Lee JH, Kim MG, Lee S, Leem, K. H. Effects of Bletillae rhizoma on the elastase, collagenase, and tyrosinase activities and the procollagen synthesis in Hs68 human fibroblasts. *The Korea Journal of Herbology*. 2013;28(1):9-14.
27. Sim GS, Lee BC, Cho HS, Lee JW, Kim JH, Lee DH, Kim JH, Pyo, HB, Moon DC, Oh KW, Yun YP, Hong JT. Structure activity relationship of antioxidative property of flavonoids and inhibitory effect on matrix metalloproteinase activity in UVA-irradiated human dermal fibroblast. *Archives of pharmacal research*. 2007;30(3):290-98.
28. Lim H, Kim HP. Inhibition of mammalian collagenase, matrix metalloproteinase-1, by naturally-occurring flavonoids. *Planta medica*. 2007;73(12):1267-74.
29. Choi SJ, Lee SN, Kim K, Joo da H, Shin S, Lee J, Lee HK, Kim J, Kwon SB, Kim MJ, Ahn KJ, An IS, An S, Cha HJ. Biological effects of rutin on skin aging. *International journal of molecular medicine*. 2016;38(1):357-63.

