



Beauty food activities of extracts from *Pinus densiflora* root

Eun-Ho Lee¹ · Ki-Tae Park² · Hye-Jin Park¹ · Jae-Bum Jo¹ · Jae-Eun Lee¹ ·
Su-Bin Lim¹ · Ye-Jin Kim¹ · Dong-Hyun Ahn³ · Young-Je Cho¹

동송근(*Pinus densiflora* root) 추출물의 미용식품활성

이은호¹ · 박기태² · 박혜진¹ · 조재범¹ · 이재은¹ · 임수빈¹ · 김예진¹ ·
안동현³ · 조영제¹

Received: 3 March 2017 / Accepted: 30 March 2017 / Published Online: 30 June 2017
© The Korean Society for Applied Biological Chemistry 2017

Abstract The extracted phenolic compounds from *Pinus densiflora* root were examined biological activities for beauty food. The tyrosinase inhibitory activity which was related to skin-whitening was observed. The tyrosinase inhibitory activity was confirmed to be 92% in ethanol extract at 50 µg/mL phenolic. The elastase and collagenase inhibitory activity as anti-wrinkle effect were showed 61 and 78% in ethanol extract at 200 µg/mL phenolic, respectively. Astringent effect of ethanol extract was showed to be 82% at 50 µg/mL phenolic. Hyaluronidase inhibitory activity of ethanol extract as anti-inflammation effect was confirmed to be 94% of inhibition at 200 µg/mL phenolic. These results demonstrated that isolated phenolic compounds from *P. densiflora* root could be expected to use as a functional cosmetic materials.

Keywords Activity · Beauty food · Extracts · *Pinus densiflora* root

Young-Je Cho (✉)
E-mail: yjcho@knu.ac.kr

¹School of Food science & Biotechnology/Food & Bio-Industry Research Institute, Kyungpook National University, 80 University Street, Bukgu, Daegu 41566, Republic of Korea

²School of Culinary Art and Baking technology, Dongju College University, Busan 49318, Republic of Korea

³Department of Food Science and Technology, Pukyong National University, Busan 48513, Republic of Korea

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.

서론

오늘날 외모는 현대인들에게 있어서 개인이 가지고 있는 이미지를 대표하는 중요한 요소이기 때문에 피부 관리에 대한 일반인의 관심도가 높아지고 있다(Kim과 Yoo 2005; Lee 등, 2009). 최근에는 여성뿐 만 아니라 남성들에게도 피부 관리가 중요시되고 있으며, 관리방법도 기본적인 화장품 사용을 비롯해 기능성화장품, 팩이나 마사지를 통한 관리, 피부과에서의 전문적인 시술 등으로 다양화 되고 있다(Kim과 Park 2009). 피부는 조직학적으로 표피, 진피, 피하지방의 3층으로 구성되어 있는데, 표피는 이 중 가장 외부에 존재함으로써 피부 노화의 측면에서 가장 중요한 역할을 하며 이에 따라 피부 미용 분야에서도 가장 집중적인 연구의 대상이 되고 있다(Rotts 1997). 표피는 연령, 성별, 지엽적 부위, 지속적인 환경자극, 스트레스의 증가 등의 외부자극 누적으로 인해 그 기능이나 구조에도 변화를 일으키게 되며, 이러한 변화를 통해서 피부염증, 노화 등의 반응이 진행되고 피부 보호막으로서의 기능이 저하된다(Elias 1983; Feingold 1997). 여기에서 말하는 각질층은 피부의 수분을 보호하고, 전해질의 소실을 억제하는 장벽의 역할로 인해 표피의 건조를 막고, 표피가 정상적으로 체내의 생화학적 대사를 할 수 있는 환경을 제공한다. 그리고 외부의 물리적, 화학적 손상으로 부터 인체를 보호하고, bacteria, fungi, virus 등이 피부로 침범하는 것을 방지하는 역할을 한다(Lee 등, 1995). 피부 표면은 자외선 노출과 같은 산화적 스트레스로 인해 활성산소가 과잉 생성된다. 특히 활성 산소종 중 O₂⁻, OH는 피부 노화에 있어서 매우 중요한 영향을 미치는데, 이러한 활성 산소는 피부 항산화제 파괴, 피부 단백질의 산화, DNA 산화를 일으키고, 결합 조직 성분인 콜라겐, 히아루론산 등의 사슬 절단 및 비정상적인 교차결합에 의한 염증, 주름, 멜라닌 생성 과정, 등에 참여하여 피부 노화를 가속화시킨다(Joung 2010). 이에 건강에 대한

관심이 높아지면서 피부를 유지, 관리하기 위한 화장품의 연구가 활발히 이루어지고 있으며, 특히 식물계에 널리 분포되어 있는 각종 생약과 식용식물로부터 추출한 페놀화합물은 안전하고 항산화 효과가 뛰어나서 천연 항산화제의 중요성이 부각되어 개발 및 연구가 활발히 진행되고 있다(Halliwell과 Gutteridge 1990; Ramarathnam 등, 1995).

침엽수의 대표적인 소나무(*Pinus densiflora* Sieb. et Zucc.)는 소나무과(Pinaceae)에 속하는 상록교목으로 한국, 일본, 만주 등에 자생하고 있으며, 국내 어느 지역에서나 널리 자라고 있는 사철 푸른나무이다(Oh 등, 1997a; b). 예로부터 소나무의 잎, 솔방울, 꽃가루, 송진, 껍질, 뿌리 등 모든 부위가 구황식물로 이용되었으며(Lim 등, 2002), 솔잎의 성분으로는 α -oinine, β -pinene, camphene 등의 정유성분, ercetin, kaempferol 등의 flavonoid류, 수지 등이 함유되어 있다. 쉽게 채취할 수 있는 솔잎은 민간요법 또는 한방에서 체내조직에서의 산화, 피부질환, 중풍을 예방하고(Boo 등, 1994), 간장질환, 위장질환, 신경계 질환 등에 대한 효과와 동맥경화증, 고혈압, 당뇨병과 같은 노화 관련 질환을 예방하는 효능이 있는 것으로 알려져 있으며(Lee 등, 1996; Kim 등, 1997; Oh 등, 1998), 소나무 뿌리(동송근)에 대한 건강기능식품 생리활성 연구 등이 보고되어 있다(Lee 등, 2016).

따라서 본 연구에서는 소나무 뿌리(동송근)로부터 phenolic compounds를 추출하여 미백, 주름개선, 수렴효과 및 항염증 등의 미용식품활성에 대한 기능성을 검정하고, 기능성 소재로의 활용가능성을 알아보고자 하였다.

재료 및 방법

실험재료

본 연구에서 사용된 동송근은 시중 한약재상에서 판매하는 건조품을 2016년에 구입하여 40 mesh로 분쇄한 후 4 °C에서 냉장 보관하면서 시료로 사용하였다.

동송근 추출물의 제조

미용식품활성 측정을 위한 시료 추출은 전보(Lee 등, 2016)에서 밝힌 바와 같이 water, ethanol 추출물 모두 건조된 동송근 분말 1g을 증류수 100 mL와 70% ethanol 100 mL에 각각 첨가하여 24시간 동안 shaking incubator에서 교반 추출하였다. 각 추출물은 Whatman No. 1 filter paper (Whatman Inc, piscataway, NJ, USA)로 여과한 후 필요에 따라 rotary vacuum evaporator (Eyela NE, Tokyo, Japan)에서 농축하여 시료로 사용하였다.

Total phenolic 정량

Total phenolic 정량은 추출물 1 mL에 95% ethanol 1 mL와 증류수 5 mL를 첨가하고 1 N Folin-ciocalteu reagent 0.5 mL를 잘 섞어 5분간 방치한 후 Na_2CO_3 1 mL를 가하여 흡광도 725 nm에서 1시간 이내에 측정하여 gallic acid를 이용한 표준곡선으로부터 양을 환산하였다(Folin과 Denis 1912).

Tyrosinase 저해효과 측정

Tyrosinase 저해효과 측정은 Vincent와 Hearing의 방법(1987)에

준하여 측정하였다. 반응구는 0.1 M sodium phosphate buffer (pH 6.8) 2.3 mL와 1.5 mM L-tyrosine 기질 0.4 mL, mushroom tyrosinase (Sigma-Aldrich Co., Louis, MO, USA, 250 U/mL) 0.1 mL와 시료 0.2 mL를 넣고 대조구에는 시료 대신 증류수를 0.2 mL를 첨가하여 37 °C에서 20분간 반응시켜 흡광도 475 nm에서 측정하였다. 저해율(%)은 (1-시료의 absorbance/대조구의 absorbance)×100으로 계산하였다.

Elastase, collagenase 저해효과 측정

Elastase 저해효과 측정은 Kraunsoe 등의 방법(1996)에 준하여 측정하였다. 반응구는 0.2 M Tris-HCl buffer (pH 8.0) 1 mL에 0.8 mM N-succinyl-(Ala)₃- ρ -nitroanilide 기질 0.1 mL, 1.0 U/mL porcine pancreatic elastase (Sigma-Aldrich Co.) 효소 0.1 mL와 시료 0.1 mL를 넣고 대조구에는 시료 대신 증류수 0.1 mL를 첨가하여 37 °C에서 20분간 반응시켜 ρ -nitroaniline 생성량을 흡광도 410 nm에서 측정하였다. Collagenase 저해효과 측정은 Wunsch와 Heidrich의 방법(1963)에 준하여 측정하였다. 반응구는 0.1 M Tris-HCl buffer (pH 7.5)에 4 mM CaCl_2 를 첨가하여, 4-phenylazobenzyl oxycarbonyl-Pro-Leu-Gly-Pro-D-Arg (0.3 mg/mL)를 녹인 기질 0.25 mL 및 시료 0.1 mL의 혼합액에 0.2 mg/mL collagenase (Sigma-Aldrich Co.) 0.15 mL를 첨가하였으며, 대조구에는 시료 대신 증류수 0.1 mL를 첨가하여 실온에서 20분간 방치한 후 6% citric acid 0.5 mL를 넣어 반응을 정지시킨 후, ethyl acetate 2 mL를 첨가하여 320 nm에서 흡광도를 측정하였다. 저해율(%)은 (1-시료의 absorbance/대조구의 absorbance)×100으로 계산하였다.

수렴 효과 측정

Astringent 활성은 Lee 등의 방법(2002)에 준하여 측정하였다. 피부 단백질과 유사한 혈액 단백질(hemoglobin)을 사용하여, 원심분리 용기에 각각의 시료와 헤모글로빈 용액을 1:1로 넣어서 진탕 혼합한 다음 2,000 rpm에서 원심분리 후 576 nm에서 흡광도를 측정하였다. 대조구는 시료 대신 증류수를 넣어 반응시켰다. 저해율(%)은 (1-시료의 absorbance/대조구의 absorbance)×100으로 계산하였다.

Hyaluronidase (HAase) 저해효과 측정

Hyaluronidase (HAase) 저해효과 측정은 Dorfman와 Ott의 방법(1948)에 준하여 측정하였다. 반응구는 시료 0.5 mL에 20 mM sodium phosphate buffer (pH 6.9)에 녹인 HAase (1,000 U/mL) 0.5 mL를 혼합하여 38 °C에서 5분간 반응시키고 0.3 M phosphate buffer (pH 5.3)에 녹인 기질 (4 mg/mL) 0.5 mL를 넣어 다시 38 °C에서 45분간 반응시킨 후 0.04 M acetate buffer (pH 3.75)에 녹인 알부민용액 5 mL를 첨가한 후 5분간 방치하고 600 nm에서 투과율을 측정하였다. 대조구는 시료 대신 증류수 0.5 mL를 넣어 반응시켰다. 저해율(%)은 (1-시료의 투과율/대조구의 투과율)×100으로 계산하였다.

통계처리

모든 실험은 3회 이상 반복 측정하였고 자료의 통계처리는 SPSS 23 for windows (Statistical Package for Social Science, Chicago, IL, USA)를 이용하여 평균 \pm 표준편차 (mean \pm standard

deviation)로 표시하였고 분산분석 Duncan’s multiple range test one-way ANOVA를 실시하여 시료간의 유의차를 $p < 0.05$ 수준으로 비교 분석하였다.

결과 및 고찰

동송근 추출물의 tyrosinase 저해효과

Tyrosinase는 L-tyrosine과 페놀류를 산소에 의한 산화반응을 촉매하는 효소로서, L-tyrosine에 작용해 3,4-dihydroxyp-henylalanine이 되고 이를 거쳐 L-dopaquinone으로 전환되어 melanin 형성에 관여하는 최종단계의 반응을 촉진하는 key enzyme으로 작용한다. Tyrosinase는 최종 melanin 생합성 과정의 중요한 역할을 하는 enzyme이므로 tyrosinase 억제제는 피부의 melanin 색소생성을 조절할 수 있는 물질로 사용할 수 있다(Laskin과 Piccinini 1986). 본 실험에서는 melanin 형성에 관여하는 enzyme인 tyrosinase를 이용하여 저해효과를 측정된 결과 Fig. 1에서와 같이 동송근 water 추출물 50-200 µg/mL phenolics 농도에서 14.8-22.3%의 tyrosinase 저해효과를 나타내었으며, 449.24 µg/mL의 EC₅₀ 값을 나타내었다. Ethanol 추출물에서는 50-200 µg/mL phenolics의 농도에서 91.8-97.7%로 매우 높은 저해효과와 102.35 µg/mL의 EC₅₀ 값을 나타내었다. 대조구로 사용된 kojic acid는 35.2-77.0%의 저해효과를 나타내었으며, Kim 등(2011)이 한약재 추출물을 1.0 mg/mL phenolics 농도로 처리하여 tyrosinase 저해효과를 측정된 결과 34%의 저해효과를 나타낸 것과 비교하였을 때 동송근 추출물이 미백제로 시판 중인 kojic acid보다 더 높은 tyrosinase 저해효과를 나타내는 것을 확인할 수 있었다. 따라서 미백제와 같이 mushroom tyrosinase에 직접적인 저해효과가 있는 미백 화장품으로 활용될 수 있다고 판단되었다.

동송근 추출물의 elastase, collagenase 저해효과

Elastin은 진피 내 피부 탄력을 유지하는데 중요한 기질 단백질이며, elastase는 elastin을 분해하는 효소이다. 체내의 elastin을 분해하는 백혈구 과립 enzyme 중의 하나로, 이상 조직에서는

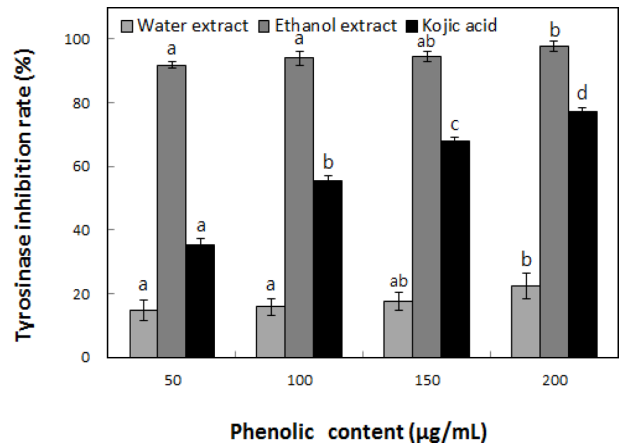


Fig. 1 Inhibitory activity of water and ethanol extracts from *P. densiflora* root on tyrosinase. Means with different superscript letters are significantly different at $p < 0.05$ by Duncan’s multiple range tests

elastase의 활성이 매우 높아져 피부 주름을 유발하고 탄력성 손실을 일으키게 된다(Dewitt 등, 1981). 그러므로 피부개선제로서 ursolic acid, epigallocatechin gallate (EGCG) 등의 elastase 저해제는 피부 주름을 완화하는 작용을 나타낸다. 이러한 피부 주름 생성과 관련된 enzyme인 elastase 저해효과를 측정된 결과 Fig. 2-A에서와 같이 동송근 water 추출물에서는 elastase에 대한 저해효과가 나타나지 않았으며, ethanol 추출물 50-200 µg/mL phenolic 농도에서 28.5-61.6%의 elastase 저해효과와 162.34 µg/mL의 EC₅₀ 값을 나타내었다. Kwak 등(2005)은 약용 식물로 elastase 저해효과를 측정된 결과 대부분의 약용식물 추출물 1.0 mg/mL 농도에서 30% 미만의 미미한 저해효과를 나타내었으며, Kim 등(2004)은 한약재 복합 추출물 1.0 mg/mL 농도에서 64% 이상의 저해 활성을 나타내었다고 보고하여 동송근 ethanol 추출물의 저해효과가 우수한 것을 알 수 있었다. 녹차에 함유된 polyphenol의 일종으로 시중화장품에 주름억제를 위한 agent로 사용되는 것으로 알려진 EGCG와 동송근 ethanol 추출물의 elastase 저해효과를 비교 하였을 때 동송근 추출물이

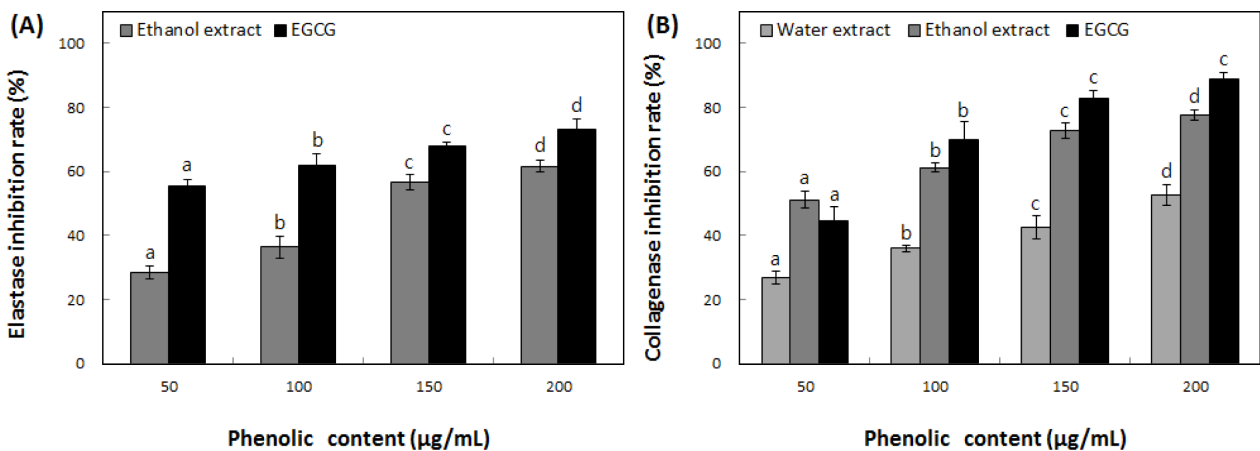


Fig. 2 Inhibitory activity of water and ethanol extracts from *P. densiflora* root on elastase (A), collagenase (B). Water extract has not shown activity on elastase. Means with different superscript letters are significantly different at $p < 0.05$ by Duncan’s multiple range tests

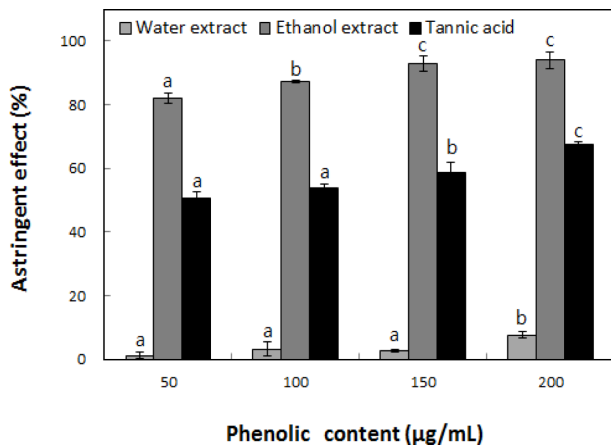


Fig. 3 Astringent effect of water and ethanol extracts from *P. densiflora* root. Means with different superscript letters are significantly different at $p < 0.05$ by Duncan's multiple range tests

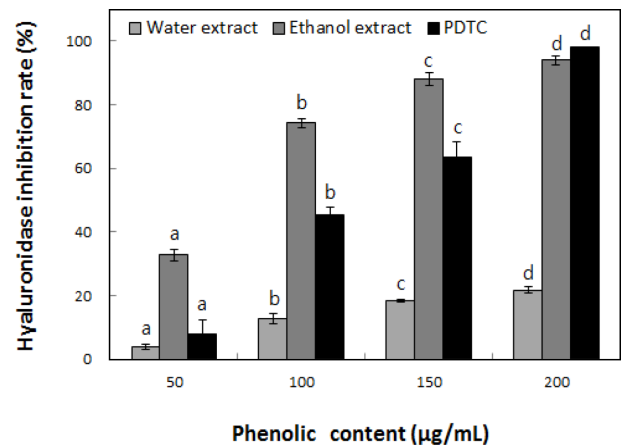


Fig. 4 Inhibitory activity of water and ethanol extracts from *P. densiflora* root on hyaluronidase. Means with different superscript letters are significantly different at $p < 0.05$ by Duncan's multiple range tests

상대적으로 다소 낮은 저해효과를 나타내었으나 처리한 phenolic 농도에 따라 농도의존적으로 저해효과가 증가하는 것을 확인할 수 있었으며, 동송근 추출물도 EGCG와 같이 elastase 저해효과가 있다는 것을 확인하였다. 피부의 fibroblast에서 생성되는 collagen은 extracellular matrix의 주요 구성성분으로 견고한 3중 나선구조를 가지고 있는 단백질이다. 뼈와 피부의 진피(dermis)에 높은 함량으로 분포되어 있는 collagen은 피부, 건(tendon), 뼈 및 치아의 유기 물질의 대부분을 형성한다. Collagen의 주된 기능으로는 피부의 구조적 견고함, 세포의 접착, 세포 분할과 분화, 결합조직의 저항력과 조직의 결합력을 유도 하는 역할을 담당하고 있다(Jeroma 등, 1998). 이러한 collagen은 자외선에 의한 광노화에 의해서 감소하게 되며, 또한 단백질 분해효소인 collagenase에 의해 분해되어 피부의 구조적 견고함을 유지하고 있는 다발성 나선구조를 무너뜨려 주름을 발생시킨다(Grant과 Alburn 1959; Demina과 Lysenko 1996). Collagen을 분해하는 enzyme인 collagenase를 이용하여 저해효과를 측정된 결과 Fig. 2B에서와 같이 동송근 water 추출물 50-200 µg/mL phenolics 농도에서 26.8-52.6%의 저해효과를 나타내었으며, EC₅₀ 값의 경우 190.26 µg/mL로 확인되었다. Ethanol 추출물에서는 51.0-77.7%의 저해효과를 나타내었고, 128.78 µg/mL의 EC₅₀ 값을 나타내어 추출물 모두 농도의존적으로 collagenase 저해효과가 증가하는 양상을 보여주었다. Lee 등(2004)은 유백피 추출물로 collagenase 저해효과를 측정된 결과 100 ppm에서 27.6%의 저해효과를 나타내었으며, Barrantes과 Guinea(2003)의 알로에 추출물 경우 37.1%를 나타내었다고 보고한 것과 비교하였을 때 동송근 추출물의 효과가 매우 우수한 것으로 판단되었다. 따라서 동송근 추출물은 피부 탄력을 유지하는데 중요한 단백질인 elastin과 collagen을 분해하여 주름 유발에 영향을 미치는 enzyme인 elastase, collagenase를 억제하여 피부 주름개선 효과에 긍정적인 효과를 미치는 것으로 확인되었다.

동송근 추출물의 수렴 효과

수렴작용(astringent)은 동물의 근육에 구성되어 있는 단백질인 myosin, actin, myoglobin과 혈액에 존재하는 색소 단백질인

hemoglobin과 같은 피부 단백질이 고분자 phenolic compounds와 가교결합을 형성하게 되어 피부가 수축되는 현상을 말한다. 이러한 수렴작용은 피부와 점막의 표면에 난용성의 피막을 형성하거나 피부조직을 조밀하게 하여 세포막으로의 투과성을 감소시키는 역할을 한다(Tsuji 2001). 피부 단백질인 hemoglobin을 이용하여 수렴 효과를 측정된 결과 Fig. 3에서와 같이 water 추출물에서는 1.2-7.6%로 다소 낮은 수렴 효과와 1310.62 µg/mL의 EC₅₀ 값을 나타내었으며, ethanol 추출물에서는 50 µg/mL phenolic 농도의 저농도에서도 81.9%와 106.43 µg/mL의 EC₅₀ 값으로 높은 수렴 효과를 나타내어 positive control로 사용한 tannic acid의 수렴 효과인 50.7-67.3%에 비해 매우 우수한 효과를 나타내었다. 이는 Lee 등(2002)의 함초 추출물이 50% ethanol 및 acetone 추출물에서 30%의 수렴 효과를 나타내었다고 보고한 것과 비교하였을 때 동송근 ethanol 추출물의 수렴 효과가 우수하다는 것을 확인할 수 있었고, 피부 단백질인 hemoglobin을 수축하여 수렴작용에 효과가 있다고 판단되어 모공 축소효과를 활용한 기능성 화장품 원료로서 활용 가능성이 기대되었다.

동송근 추출물의 hyaluronidase (HAase) 저해효과

염증반응은 자외선과 같은 외부자극에 의해서 일어나는 생체조직의 방어반응의 한 종류로서 활성화된 면역세포에 의해 일어나는 일련의 면역반응이다. Epidermis와 dermis에 있어서 주요한 세포의 matrix인 hyaluronic acid (HA)는 glucuronic acid와 glucosamine이 반복해서 연결된 고분자의 점액성 mucopolysaccharide이다. 고분자 HA는 염증 형성의 중요 요소인 macrophage의 phagocytic ability를 저하시키지만, 저분자 HA는 inflammation, fibrosism collagen deposition을 증가시킨다고 알려져 있다. 따라서 HA 분해효소인 HAase의 활성을 억제함으로써 HA의 고분자 형태를 유지시켜 항염증 효과를 기대할 수 있다(Ghosh 1994; Cho과 An 2008). 염증 형성의 중요 요소인 HAase 저해효과를 측정된 결과 Fig. 4에서와 같이 water 추출물에서는 50-200 µg/mL phenolic 농도에서 3.8-21.7%의 저해효과를 나타내었으며, EC₅₀ 값은 460.41 µg/mL로 나타내었다.

Ethanol 추출물에서는 50-200 µg/mL phenolic 농도에서 32.8-94.0%의 저해효과와 106.39 µg/mL의 EC₅₀ 값을 나타내어 100-200 µg/mL의 고농도에서는 매우 높은 HAase 저해효과를 보여주었다. Cho(2012)와 Cho(2014)가 보고한 숙지황 ethanol 추출물과 미세분쇄 감국 ethanol 추출물에서 각각 5.1, 35.1%의 저해효과를 나타내었다고 보고한 것과 비교하였을 때 동송근 ethanol 추출물의 HAase 저해효과가 우수하다는 것을 확인할 수 있었으며, 염증 유발 요소인 HAase 저해로 인한 항염증, 아토피 억제효과를 활용하는 제품에 적용할 수 있을 것이라 판단되었다.

초 록

소나무 뿌리(동송근)로부터 phenolic compounds를 추출 후 미용식품활성을 검정하여 기능성 소재로 활용가능성을 살펴보았다. 동송근에 함유된 펠레성 물질의 tyrosinase 저해효과를 측정 한 결과 50 µg/mL phenolics 농도에서 ethanol 추출물이 92%의 tyrosinase 저해효과를 나타내었다. Elastase와 collagenase 저해효과를 측정한 결과 200 µg/mL phenolics 농도에서 ethanol 추출물이 각각 61, 78%의 높은 저해력을 나타내어 주름개선효과가 높았다. 수렴효과는 50 µg/mL phenolics의 저농도 ethanol 추출물에서 82%의 저해효과를 나타내었다. 염증억제효과를 나타내는 hyaluronidase 저해효과를 측정한 결과 100-200 µg/mL phenolic 농도의 ethanol 추출물에서 74-94%의 매우 높은 염증억제효과를 나타내었다. 이러한 결과로 보아 동송근 추출물이 미용식품활성 또는 기능성 소재로서 활용이 가능할 것으로 판단되었다.

Keywords 동송근 · 미용식품 · 추출물 · 활성

References

Barrantes E, Guinea M (2003) Inhibition of collagenase and metalloproteinases by aloins and aloe gel. *Life Sci* 72: 843–850
 Boo YC, Jean CO, Oh JY (1994) Isolation of 4-hydroxy-5-methyl-3[2H]-furanone from pine needles as an antioxidative principle. *J Korean Soc Agric Chem Biotechnol* 37: 310–314
 Cho YJ (2012) Characterization of biological activities of *Rehmannia glutinosa* extracts. *Journal of Life Science* 22: 943–949
 Cho YJ (2014) Biological activity of extracts from *Chrysanthemum indicicum* Linne by ultrafine grinding. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 43: 110–117
 Cho YJ, AN BJ (2008) Anti-inflammatory effect of extracts from Cheongmoksosang (*Morus alba* L.) in Lipopolysaccharide stimulated Raw cells. *J Kor Soc Appl Biol Chem* 51: 44–48
 Demina NS, Lysenko SV (1996) Collagenolytic enzymes synthesized by microorganisms. *Mikrobiologija* 65: 293–304
 Dewitt DL, Rollins TE, Day JS, Gauger JA, Smith WL (1981) Orientation of the active site and antigenic determinants of prostaglandin endoperoxide of synthase in the endoplasmic reticulum. *J Biol Chem* 256: 10375–10382
 Dorfman A, Ott ML (1948) A turbidimetric method for the assay of hyaluronidase. *Journal of biological chemistry* 172: 367–375
 Elias PM (1983) Epidermal lipids, barrier function, and desquamation. *Journal of Invest Dermatol* 80: 44–49
 Feingold KR (1997) Permeability barrier homeostasis: its biochemical basis

and regulation. *Cosmet Toilet* 112: 49–59
 Folin O, Denis W (1912) On phosphotungstic-phosphomolybdic compounds as color reagents. *J Biol Chem* 12: 239–243
 Ghosh P (1994) The role of hyaluronic acid (hyaluronan) in health and disease: interactions with cells, cartilage and components of synovial fluid. *Clin Exp Rheumatol* 12: 75–82
 Grant NH, Alburn HE (1959) Studies on the collagenases of *Clostridium histolyticum*. *Arch Biochem Biophys* 82: 245–255
 Halliwell B, Gutteridge JM (1990) Role of free radical and catalytic metal ions in human disease, an overview. *Methods Enzymol* 186: 1–85
 Jeroma SP, Gabrielle L, Raul F (1998) Identification of collagen fibrils in scleroderma skin. *J Invest Dermatol* 90: 48–54
 Joung KH (2010) Physicochemical characteristics of dasik using Scattered-flower ladybell(*Adenophora remotiflora*). Dissertation, Kongju National University
 Kwak YJ, Lee DH, Kim NM, Lee JS (2005) Screening and extraction condition of anti-skin aging elastase inhibitor from medicinal plants. *Kor J Med Crop Sci* 3: 213–216
 Kim IK, Shin SR, Chung JH, Youn KS, Kim KS (1997) Changes on the components of dongchimi added ginseng and pine needle. *Korean J Food Sci Technol* 9: 153–160
 Kim MJ, Kim JY, Choi SW, Hong JT, Yoon KS (2004) Anti-wrinkle effect of safflower(*Cathamus tinctorius*) seed extract. *J Kor Soc Cosmetic Sci* 30: 15–22
 Kim MR, Hwang JH, Yun JK, Han KH, Do EJ, Lee JS, Lee EJ, Kim JB (2011) Antioxidation and anti-aging effect of mixed extract from Korean medicinal herbs. *Kor J Herbology* 26: 111–117
 Kim SR, Yoo TS (2005) The relationships between the extent of women’s skin care by clothing behavior and self-efficacy. *J Kor Soc Cloth Ind* 7: 413–418
 Kim YS, Park JY (2009) The analysis on appearance management of male college students: focused on management of hair, skin, cosmetic surgery, fashion and body shape. *Korean J Human Ecol* 18: 259–273
 Kraunsoe JAE, Claridge TDW, Lowe G (1996) Inhibition of human leukocyte and porcine pancreatic elastase by homologues of bovine pancreatic trypsin inhibitor. *Biochemistry* 35: 9090–9096
 Laskin JD, Piccinini LA (1986) Tyrosinase isozyme heterogeneity in differentiating B-16/C3 melanoma. *J Biol Chem* 261: 16626–16635
 Lee EH, Kim NH, Park MJ, Hong EJ, Park KT, An BJ, Ahn DH, Cho YJ (2016) Functional food activities of extracts from *Pinus densiflora* root. *Korean J Food Preserv* 23: 110–116
 Lee JT, Jeong YS, An BJ (2002) Physiological activity of *Salicornia herbacea* and its application for cosmetic materials. *Kor J Herbology* 17: 51–60
 Lee SH, Chung HS, Lew W (1995) Epidermal lipid homeostasis. *Ann Dermatology* 7: 99–111
 Lee SH, Lee KO, Kim SO (2009) Effects of skin care on users’ mental health and self-esteem. *J Kor Soc Cosm* 15: 155–167
 Lee TW, Kim SN, Jee UK, Hwang SJ (2004) Anti-wrinkle effect of pressure sensitive adhesive hydrogel patches containing *Ulm cortex* extract. *J Kor Pharm Sci* 34: 193–199
 Lee YH, Shin YM, Cha SH, Choi YS, Lee SY (1996) Development of the health foods containing the extract from *Pinus strobus* leave. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 25: 379–383
 Lim YS, Bae MJ, Lee SH (2002) Antimicrobial effects of *Pinus densiflora* Sieb. et Zucc. ethanol extract on *Listeria monocytogenes*. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 31: 333–337
 Oh YA, Choi KH, Kim SD (1997a) Changes in enzymes activities and growth of lactic acid bacteria in pine needle added kimchi during fermentation. *J Food Sci Technol* 9: 75–84
 Oh YA, Choi KH, Kim SD (1998) Changes in enzyme activities and population of lactic acid bacteria during the kimchi fermentation supplemented with water extract of pine needle. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 27: 244–251
 Oh YA, Sae KY, Kim SD (1997b) Quality of pine needle added kimchi. *J Food Sci Technol* 9: 51–56

- Ramarathnam N, Osawa T, Ochi H, Kawakishi S (1995) The contribution of plant food antioxidants to human health. *Trends Food Science* 6: 75–82
- Rotts R (1997) Skin barrier: Principles of percutaneous absorption. Hans Schaefer; Thomas E. Redelmeier. *Archives of dermatology* 133: 924
- Tsuji N, Moriwaki S, Suzuki Y, Takema Y, Imokawa G (2001) The role of elastases secreted by fibroblasts in wrinkle formation: implication through selective inhibition of elastase activity. *Photochem Photobiol* 74: 283–290
- Vincent J, Hearing JR (1987) Mammalian monophenol monooxygenase (tyrosinase): Purification, properties, and reactions catalyzed. *Method Enzymol* 142: 154–165
- Wunsch E, Heidrich HG (1963) Zur quantitativen bestimmung der kollagenase. *Hoppe-Seyler's Physiol chem* 333: 149–151