금은화 · 감초 · 표고버섯 복합추출물의 세포 생리활성 연구

최민경¹ · 최미옥² · 서승희^{3,*}

¹동신대학교 사회개발대학원 뷰티미용학과, 대학원생

²광주여자대학교 미용과학과, 교수

³동신대학교 뷰티미용학과, 교수

Studies on the Cellular Physiological Activity of *Lonicera japonica*· *Glycyrrhiza uralensis*·*Lentinula edodes* Complex Extracts

Min Gyeong Choi¹, Mi-Ok Choi², and Seung-Hee Seo^{3,*}

¹Graduate Student, Dept. of Cosmetology, DongShin University

²Professor, Dept. of Beauty Science, Kwangju Women's University

³Professor, Dept. of Cosmetology, DongShin University

With ultraviolet rays, pollution and external stimuli acting as oxidation stress on the skin in line with recent changes in the global environment, modern people are increasingly relying on the frequency and dependence of cosmetics with certain effects. In particular, the characteristics of the skin of the elderly are that inflammation tends to occur due to the deterioration of the barrier function of the skin. To minimize this, research and development of cosmetics using natural materials that do not stimulate the skin and have effective effects are continuously increasing. The purpose of this study was to analyze the physiological activity of the *Lonicera japonica*·*Glycyrrhiza uralensis*·*Lentinula edodes* (LGL) complex extracts to confirm its potential as a cosmetic material. Our method are cytotoxicity test of LGL complex extracts in the HaCaT and RAW264.7 cells. RAW 264.7 The effects of cell protection from inflammation were measure in cells to identify anti-inflammatory effects. Also, to identify antioxidant effects, DPPH radical scavenging activity test and analysis of the total phenol and total flavonoid contents., tyrosinase inhibitory activity, elastase inhibitory activity, measured cell survival rate by UV-B irradiation in HaCaT. The results of this study are as follows. In the cytotoxicity test, the LGL complex extracts showed stable cell viability. RAW 264.7 cells treated with the LGL complex extracts showed a superior concentration-dependent inhibitory effects on Nitric oxide (NO) synthesis than cells treated with Lipopolysaccharide (LPS). In the DPPH radical scavenging activity test, the LGL complex extracts showed a high scavenging activity at 200 µg/mL of 50% EtOH. In the anti-inflammatory test. Moreover, the results of the analysis on the antioxidant activity of the LGL complex extracts confirmed the phenolic and flavonoid contents. In addition, when UV-B was run on HaCaT cells and absorbance was measured, the cell protection effect was shown to increase dependent on concentrations in the LGL complex extracts DW and 50% EtOH extracts. The tyrosinase inhibitory activity was found to increase concentration-dependent activity in 50% EtOH and 100% EtOH extracts of LGL complex extracts, indicating that active inhibition was more effective than positive control arbutin. Elastase inhibitory activity is shown to increase concentration-dependent at LGL complex extracts DW, 50% EtOH. Based on these results, the LGL complex extracts were found to have excellent cellular physiological activity. Accordingly, basic data on the development of functional cosmetics are provided and systematic and continuous research on the safety of natural products is required.

Keywords: Anti-inflammatory effects, Anti Oxidant effects, Elastase inhibition, *Lonicera japonica*·*Glycyrrhiza uralensis*·*Lentinula edodes* (LGL) Complex extracts, Tyrosinase inhibition

I. 서 론

*Corresponding author: Seung-Hee Seo

Tel : +82-61-330-3297

E-mail : ssh@dsu.ac.kr

접수일(2020년 10월 21일)/수정일(2020년 12월 10일)/채택일(2021년 3월 12일)

최근 지구의 환경변화로 인한 자외선, 공해, 외부 자극 등의 문제들이 피부에 산화성 스트레스를 유발하여 각종 피부 질환을 겪는 환자의 수가 급증하고 있다. 이러한 현상과 함께 현대

인들의 외모관리에 대한 인식이 높아지면서 건강한 피부를 위해 적극적인 피부관리 행동을 하는 사람들이 증가하고 있는 추세이다. 그 중에서도 화장품을 이용한 피부관리 방법은 가장 일반적이고 대중화된 방법이다. 최근에는 이러한 화장품(Cosmetics)의 개념이 단순히 피부를 보호하는 차원에서 벗어나, 특정 효능이 부여된 기능을 갖고 피부의 문제를 개선 및 예방하는 차원의 개념으로 인식이 바뀌어 가고 있으며, 이에 따른 기능성 화장품에 대한 연구가 활발히 진행되고 있다(Jung, 2018). 이를 반영하듯 현대인들의 기능성 화장품 사용 빈도와 의존도가 증가하고 있으나, 그 부작용 사례 또한 무시할 수 없는 실정이다. 특히, 환경 및 대기오염, 스트레스 및 우울감 증가, 잘못된 생활 습관 등 다양한 내·외적 요인으로 인해 피부의 문제를 호소하는 사람들이 증가하고 있는 가운데, 이를 최소화하기 위해 피부에 자극이 없고 유효한 효능을 가진 꽃, 나무, 뿌리, 버섯 등 천연소재를 활용한 연구 및 화장품 개발이 지속적으로 증가하고 있는 추세이다(Kim et al., 2019; Jeon et al., 2010). 기존에는 천연소재와 관련하여 단일 천연물질의 효능에 대한 연구들이 다수 진행되었으며, 선행연구 결과들을 바탕으로 최근에는 상호 상생 작용하는 복합추출물에 대한 연구들이 진행되고 있다. 아직까지는 복합추출물에 대한 명확한 정의가 내려진 바 없으나, 복합물을 합성하게 되면 천연물의 유효성분들의 최대 효과를 기대해 볼 수 있으며, 다양한 성분으로 구성되어 있으므로 성분의 조성이 효능에 크게 영향을 미친다고 알려져 있다(Jiang, 2005; Xue & Roy, 2003). 이에, 본 연구는 선행연구를 바탕으로 약리적인 효능이 있고 독성이 없는 여러 천연소재 중 피부 개선 및 노화 예방에 효과적이라 알려진 천연물을 스크리닝 하였으며, 그 중 화장품 성분으로도 많이 활용되고 있는 금은화, 감초, 표고버섯을 선정하여 복합추출물로서의 효능을 살펴보고자 하였다.

금은화(Lonicerae Flos)는 인동과(Caprifoliaceae)에 속하는 인동덩굴의 꽃으로 항염증, 항산화, 면역증강 및 혈전 형성 억제 작용 등이 보고되었으며(Elliott, 1982), 감초는 다년생 초본으로 피부 탄력 및 주름 생성을 억제하고 세포 손상에 대한 보호 효과가 있으며(Lee, 2005), 피부에 적용하였을 때 광 노화를 유발하는 효소의 발현을 저하시켜 항노화 효과 및 주름 생성 억제와 피부 탄력 등의 효과가 보고된 바 있다(Lee, 2015). 표고버섯은 자실체와 균사체에서 항암작용, 면역증강작용, 성인병 예방 등의 효과가 있다고 밝혀짐에 따라 식품에서의 활용뿐만 아니라 의약품의 소재로서의 활용성 또한 주목받고 있다(Park et al., 1998). 복합추출물에 관한 선행연구를 살펴보면 애기달맞이꽃, 상항버섯, 감초의 약리활성 및 세포 활성의 효과가 우수하게 나타남으로써 화장품 소재로써 활용 가치가 높으며(Kim et al., 2014), Kwon (2018)의 선행초 단일추출물 및 복합추출물의 항노화, 항산화 효과에 관한 연구에서는 단일추출물과 비교하였을 때 효능이 유사하거나 다소 감소하는 경향도 나

타나 복합추출물을 사용함에 있어 배합비율의 정량적 연구에 대한 후속연구의 필요성을 제기하였다. 또한, 금은화, 계지, 오미자, 목단피, 우방자, 향유 등 총 6가지의 천연물로 한약복합추출물을 제조하여 효능을 살펴본 Kim (2019)의 연구 결과, 항염증 및 항산화 효과에서 우수한 효과를 보임으로써 화장품 및 건강기능식품 분야에서의 활용 가능성을 확인하였다. 더불어 Kim & Yoon (2013)의 복합추출물을 이용한 바다 제비집과 병풀 복합발효추출물의 피부 진정 효과 연구와 Cho et al. (2016)의 고욤잎, 감잎 및 뽕잎 복합추출물의 항 아토피 효과 등의 복합추출물에 관한 다양한 연구가 진행되고 있지만, 복합추출물의 화장품 소재로써 이용 가능성에 관한 연구는 아직 미비한 실정이다.

따라서, 본 연구는 항노화, 항염증 및 항산화 등에서 효과가 검증된 금은화·감초·표고버섯(Lonicera japonica·Glycyrrhiza uralensis FISCH·Lentinula edodes (LGL)) 복합추출물의 용매 조성 별 추출물의 효과를 확인한 후 인체적용 실험을 통해 우수한 피부개선 효과를 선행연구로써 확인하였으며(Choi et al., 2020), 이를 바탕으로 LGL 복합추출물의 화장품 소재로서의 이용 가능성에 대한 기초적 데이터로 활용하고자 본 연구를 수행하였다.

II. 재료 및 방법

1. 세포 배양

본 실험에서 사용된 HaCaT(Human Keratinocyte cell line)세포는 C대학교 약학대학(Gwangju, Korea)으로부터 분양받았다. RAW 264.7 세포는 한국세포주은행(Seoul, Korea)에서 분양받아 실험에 사용하였으며 FBS 10%와 Penicillin/streptomycin 1%가 함유된 Roswell Park Memorial Institute 1640 배지를 사용하였다. HaCaT는 FBS 10%와 penicillin/streptomycin 1% 함유된 Dulbecco's modified Eagle's medium 배지를 이용하여 37°C의 온도와 CO₂ 5%로 세포를 배양하여 사용하였다.

2. 금은화·감초·표고버섯(LGL) 복합추출물 제조

본 연구에 사용되는 금은화와 감초는 본초원(주)현진제약, 서울시 동대문구 제기동)에서 구입하였고, 표고버섯은 정남진장흥농협(전남 장흥군 장흥읍 행원리)에서 구입하여 사용하였다. 금은화, 감초, 표고버섯 각각 10g씩 총 30g을 혼합하여 Distilling Water(DW), 50% Ethanol(EtOH), 100% Ethanol(EtOH) 총 3가지 용매 각각 2L씩 80°C에서 3시간 2회 가열추출 하였다. 이후 Filter paper로 여과를 거쳐 감압 농축하여 분말 상태의 추출물을 얻었다.

3. 금은화·감초·표고버섯(LGL) 복합추출물의 세포 및 생리활성 효과 측정

1) 세포독성 측정

세포독성은 LGL 복합추출물을 RAW 264.7과 HaCaT를 통해 확인하였다. 12시간 배양한 후 LGL DW, 50% EtOH, 100% EtOH을 50, 100, 200 µg/mL 농도로 제조하여 48시간 배양한 후 MTT 용액을 5 mg/mL의 농도로 첨가한 후 1시간 동안 배양하였다. 상등액을 제거하고 남은 formazan 생성물을 DMSO로 용해 시켜 540 nm의 파장에서 흡광도를 측정하였다. HaCaT와 RAW 264.7에서 세포독성이 나타나지 않은 Butein을 양성대조군으로 사용하였다(Seo et al., 2015).

2) RAW 264.7에서 염증으로부터 세포보호 효과 측정

LGL 복합추출물 DW, 50% EtOH, 100% EtOH을 각각 50, 100, 200 µg/mL 농도로 희석한 후 RAW 264.7에 3시간 배양한 후 Lipopolysaccharide (LPS)를 1 µg/mL의 농도로 제조하여 투입하였다. 24시간 배양 후 세포에서 배양액으로부터 분비된 Nitric oxide(NO)를 Griess 시약으로 반응시켜 570 nm의 파장에서 흡광도를 측정하였다. RAW 264.7에서 Nitrite 생성 억제 효과가 뛰어나다고 알려진 Butein을 양성대조군으로 사용하였다(Sung & Lee, 2015).

3) DPPH radical 소거 활성 측정

2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl(DPPH) radical 소거 활성 측정 방법은 DPPH radical 용액을 MeOH과 혼합하여 0.3 mM의 농도로 제조하였으며 LGL 복합추출물 용액을 3가지 농도로 제조하여 DPPH 용액과 1:9로 혼합 후 암실에서 30분간 반응시켰다. 이후, 517 nm의 파장에서 흡광도를 측정하여 DPPH radical 소거율을 계산하였다.

4) UV-B 조사 세포보호 효과 측정

HaCaT 세포에서 파장별 UV-B 조사에 의한 세포 생존율을 측정하기 위해 HaCaT를 12시간 배양하여 추출물을 농도별로 3시간 전 처리한 후 20 mJ/cm² 파장의 UV-B를 조사하였다. 이후 24시간 동안 세포를 배양하여 MTT assay 처리 후 540 nm의 파장에서 흡광도를 측정하였다.

5) 총 페놀 함량 측정

총 페놀 함량 측정은 농도에 따른 LGL 복합추출물 25 µL에 10% Folin-Ciocalteu's phenol reagent를 500 µL 처리하여 실온에서 5분 동안 반응시킨 후 sodium carbonate (Na₂CO₃) 용액 500 µL를 첨가하여 30°C에서 90분간 정치시켰다. 이후 725 nm의 파장에서 흡광도를 측정하였으며 표준물질은 caffeic acid를 사용하여 표준 곡선에 의한 기울기와 절편값을 구한 후 흡광도

값을 대입하여 총 페놀 함량을 산출하였다.

6) 총 플라보노이드 함량 측정

본 연구의 LGL 복합추출물의 총 플라보노이드 함량을 알아보기 위해 1 mL의 diethylene glycol을 투입하고 농도별로 녹인 LGL 복합추출물 100 µL를 투입하여 잘 혼합한 후 1 N NaOH 100 µL를 처리하여 반응을 지켜보았다. 이후 96 well plate에 200 µL씩 분주하여 420 nm의 파장에서 흡광도를 측정하였으며 표준물질은 Quercetin을 사용하여 표준 곡선에 의한 기울기와 절편값을 구한 후 LGL 복합추출물의 흡광도 값을 대입하여 계산하였다.

7) Tyrosinase 저해 활성 측정

LGL 복합추출물의 Tyrosinase 활성 측정은 Jung & Kim (2009)의 실험 방법을 변형하여 실시하였다. 0.1 M Sodium phosphate buffer (pH 6.5) 110 µL에 농도에 따른 LGL 복합추출물을 10 µL씩 분주한 다음 mushroom tyrosinase 10 µL를 넣는다. 그 후 7.5 mM tyrosine을 20 µL씩 넣고 37°C에서 20분간 반응을 시키고 -20°C에서 5분간 방치 하여 반응을 중단시켰다. 475 nm에서 흡광도를 측정하였으며 양성대조군은 arbutin을 사용하였다.

8) Elastase 저해 활성 측정

LGL 복합추출물의 Elastase 활성 측정은 Jung & Kim (2009)의 실험 방법을 변형하여 실시하였다. 100 mM Tris-HCl buffer (pH8.0) 160 µL에 농도별 시료를 10 µL씩 넣고 2.9 mM N-Succinyl-Ala(3)-P-nitroanilide를 20 µL씩 분주 뒤 0.2 unit으로 조제한 Elastase(효소액)를 10 µL씩 넣어 최종 양을 200 µL로 맞춰 25°C에서 20분간 방치 후 -20°C에서 5분간 반응을 중단시켜 410 nm에서 흡광도를 측정하였다. 양성대조군은 ursoilic acid를 사용하였다.

4. 통계처리

본 연구의 통계처리는 GraphPad Prism, version 3.03 (GraphPad Software Inc., San Diego, CA)을 사용하였으며 각 실험군의 결과는 평균치와 표준오차로 나타내었고 각 실험군 간의 결과는 ANOVA test를 사용하여 분석하였으며 유의적인 차이가 나타나는 항목에 대해서 검정하였다. 실험군 간의 차이는 95% 수준(p<0.05)에서 유의한 것으로 하였다.

III. 결과 및 고찰

1. 세포독성

LGL 복합추출물의 용매 조성별 세포독성을 알아보고자

Fig. 1. Effects of LGL DW, 50% EtOH, 100% EtOH extracts on cell viability by MTT assay in the RAW 264.7 cells. Data are presented as the mean values $\pm$ S.D. of 3 experiments.

Fig. 2. Effects of LGL DW, 50% EtOH, 100% EtOH extracts on cell viability by MTT assay in the HaCaT cells. Data are presented as the mean values $\pm$ S.D. of 3 experiments.

RAW 264.7세포와 HaCaT 각질형성세포에 LGL 복합추출물 D.W, LGL 복합추출물 50% EtOH, LGL 복합추출물 100% EtOH를 각각 50, 100, 200 µg/mL 농도로 처리하였다. 그 결과 RAW 264.7에서 농도별 복합추출물과 아무것도 처리하지 않은 대조군과 비교하였을 때 91.93~96.86%로 세포 생존율에 영향을 미치지 않았다(Fig. 1). HaCaT 세포에서도 89.58~103.86%로

Fig. 3. Effects of LGL DW, 50% EtOH, 100% EtOH extracts on nitrite production in the RAW264.7 cells. After injecting LPS (1 µg/mL) into the RAW 264.7 cell, the amount of NO secreted from the culture fluid in the cell was measured. Data are presented as the mean values $\pm$ S.D. of 3 experiments. Butein was used as a positive control. *** p <0.001 VS LPS treated Groups.

세포 생존율에 영향을 미치지 않은 것으로 나타났다(Fig. 2). 따라서, LGL D.W, LGL 50% EtOH 추출물, LGL 100% EtOH 추출물에서 50, 100, 200 µg/mL 농도까지 세포독성이 없는 것을 확인하였다.

2. RAW 264.7에서의 염증으로부터 세포보호 효과

LGL 복합추출물 D.W, 50% EtOH, 100% EtOH 50, 100, 200 µg/mL에 LPS를 투입하여 nitric oxide (NO)의 양을 살펴보았으며, RAW 264.7 세포에서 nitrite 생성 억제 효과가 있다고 알려진 Butein을 양성대조군으로 사용하였다. LGL 복합추출물 D.W 추출물 50, 100, 200 µg/mL은 각각 14.4 ± 0.6 µM, 13.8 ± 0.1 µM, 14.81 ± 0.5 µM로 유의미한 결과는 없었으며 50% EtOH 추출물 50, 100, 200 µg/mL은 각각 16.4 ± 0.6 µM, 15.4 ± 0.01 µM, 9.4 ± 0.1 µM로 나타났으며 100% EtOH 추출물은 각각

Table 1. DPPH radical scavenging effect of LGL complex extracts

DPPH radical scavenging (%)		Exp. 1	Exp. 2	Exp. 3	Mean $\pm$ SD
LGL D.W	50 µg/mL	27.106	22.357	29.820	26.428 $\pm$ 3.78
	100 µg/mL	31.868	33.676	28.015	31.187 $\pm$ 2.89
	200 µg/mL	53.938	53.601	51.377	52.972 $\pm$ 1.39
LGL 50% EtOH	50 µg/mL	25.092	23.386	22.032	23.503 $\pm$ 1.53
	100 µg/mL	40.934	39.570	37.702	39.402 $\pm$ 1.62
	200 µg/mL	74.451	73.620	72.840	73.637 $\pm$ 0.81
LGL 100% EtOH	50 µg/mL	20.330	20.954	20.038	20.441 $\pm$ 0.47
	100 µg/mL	32.418	31.431	32.384	32.077 $\pm$ 0.56
	200 µg/mL	52.564	49.860	48.813	50.412 $\pm$ 1.94

Fig. 4. DPPH radical scavenging effect of LGL DW, 50% EtOH, 100% EtOH extracts. Data are presented as the mean values $\pm$ S.D. of 3 experiments.

12.8 $\pm$ 0.02 μ M, 6.9 $\pm$ 0.3 μ M, 1.1 $\pm$ 0.03 μ M로 농도가 증가할수록 NO의 양이 감소하는 것으로 나타났다(Fig. 3).

3. DPPH radical 소거 활성

LGL 복합추출물의 항산화 효과를 알아보기 위해 DPPH radical 소거 활성을 살펴보았다. LGL D.W 50, 100, 200 μ g/mL의 농도로 처리하였을 때 26.4 $\pm$ 3.7%, 31.1 $\pm$ 2.8%, 52.9 $\pm$ 1.3%로 나타났으며 LGL 50% EtOH 50, 100, 200 μ g/mL는 각각 23.5 $\pm$ 1.5%, 39.4 $\pm$ 1.6%, 73.6 $\pm$ 0.8%이며 LGL 100% EtOH 50, 100, 200 μ g/mL는 각각 20.4 $\pm$ 0.4%, 32.0 $\pm$ 0.5%, 50.4 $\pm$ 1.9%로 LGL D.W, 50% EtOH, 100% EtOH 추출물에서 농도 의존적으로 DPPH radical 소거 활성이 높아지는 것으로 나타났다(Table 1, Fig. 4).

4. UV-B 조사 세포보호 효과

HaCaT에서 UV-B 선량별 조사 시 나타나는 HaCaT 세포보호 효과에 미치는 영향을 확인해보고자 실험을 진행하였다. HaCaT 세포에 UVB를 각각 5, 10, 20, 50 mJ/cm²로 조사하여 진행된 실험 결과에서 UVB 조사량이 증가할수록 세포의 생존율이 감소하는 것을 확인할 수 있었다. 이와 같은 결과를 바탕으로 UVB 20 mJ/cm²의 파장을 복합추출물에 대한 세포보호 효과 측정용 파장으로 설정하였다(Fig. 5). 그 후 같은 방식으로 세포를 배양하고 흡광도를 측정한 결과, LGL D.W 50, 100, 200 μ g/mL 처리하였을 때 각각 31 $\pm$ 5.9%, 36 $\pm$ 5.7%, 42 $\pm$ 9.1%로 나타나 농도 의존적으로 세포보호 효과가 증가하는 것으로 나타났으며, 50% EtOH 추출물에서도 40 $\pm$ 9.8%, 44 $\pm$ 10.1%, 50 $\pm$ 5.2%로 세포보호 효과가 증가하는 것을 확인하였다. 반면, 100% EtOH 추출물은 43 $\pm$ 10.8%, 40 $\pm$ 9.8%, 39 $\pm$ 8.8%로 세포보호 효과는 보였으나 농도 의존적으로 세포보호 효과가 증가하지 않고 거의 일정한 효과를 보였다(Fig. 6).

Fig. 5. In HaCaT, 20 mJ/cm² of wavelengths, which represent about 40% of cell survival compared to control by UV-B irradiation, were set as wavelengths for measuring cell protection effects on composite extracts. Data are presented as the mean values $\pm$ S.D. of 3 experiments. ***p<0.001 VS Control Groups.

Fig. 6. In order to measure the cell survival rate by UV-B irradiation by wavelength, HaCaT was cultured for 12 hours and the extract was treated three hours before each concentration, and UV-B of 20 mJ/cm² wavelength was investigated. The absorption was measured at 540 nm wavelength after processing MTT assay by culturing cells for the next 24 hours. Data are presented as the mean values $\pm$ S.D. of 3 experiments. ***p<0.001 VS UVB-induced Groups.

Fig. 7. Calibration curve of caffeic acid. R²: 0.994

5. 총 phenolic 함량

농도에 따른 LGL D.W, 50% EtOH, 100% EtOH 추출물의 총 페놀 함량은 caffeic acid를 표준물질로 사용하였으며 표준 곡선의 흡광도 값과 비교하여 페놀 함량을 산출하였다(Fig. 7).

Table 2. Total phenol content LGL complex extracts

Total phenol content (equivalent of caffeic acid $\mu\text{g/mL}$)		Exp. 1	Exp. 2	Exp. 3	Mean $\pm$ SD
LGL D.W	0.5 mg/mL	27	28.86667	28.66667	28.18 $\pm$ 1.025
	1 mg/mL	47.4	47.06667	47.33333	47.27 $\pm$ 0.176
	2 mg/mL	93.86667	91.46667	89.8	91.71 $\pm$ 2.044
LGL 50% EtOH	0.5 mg/mL	26.4	32.66667	24.06667	27.71 $\pm$ 4.447
	1 mg/mL	54.93333	52.33333	55	54.09 $\pm$ 1.521
	2 mg/mL	106.4667	102.9333	105.9333	105.11 $\pm$ 1.905
LGL 100% EtOH	0.5 mg/mL	33.26667	32.2	30	31.82 $\pm$ 1.666
	1 mg/mL	63.33333	60.73333	61.33333	61.80 $\pm$ 1.361
	2 mg/mL	142.2	140.2667	142.5333	141.67 $\pm$ 1.223

Fig. 8. Total phenolic content of LGL DW, 50% EtOH, 100% EtOH extracts. The data results calculated the phenol content compared to the absorbance value of the standard curve. Data are presented as the mean values $\pm$ S.D. of 3 experiments.

caffeic acid 대비 총 페놀 함량은 LGL D.W 0.5 mg/mL, 1 mg/mL, 2 mg/mL에서 각각 28.18 $\pm$ 1.03 $\mu\text{g/mL}$, 47.27 $\pm$ 0.18 $\mu\text{g/mL}$, 91.71 $\pm$ 2.04 $\mu\text{g/mL}$ 로 나타나 농도 의존적으로 유의미하게 나타났다으며, LGL 50% EtOH은 0.5 mg/mL, 1 mg/mL, 2 mg/mL에서 각각 27.71 $\pm$ 4.45 $\mu\text{g/mL}$, 54.09 $\pm$ 1.52 $\mu\text{g/mL}$, 105.11 $\pm$ 1.91 $\mu\text{g/mL}$ 로 농도에 따라 페놀 함량이 유의적으로 증가하였다. LGL 100% EtOH의 0.5 mg/mL, 1 mg/mL, 2 mg/mL에서는 농도별로 31.82 $\pm$ 1.67 $\mu\text{g/mL}$, 61.80 $\pm$ 1.36 $\mu\text{g/mL}$, 141.67 $\pm$ 1.223 $\mu\text{g/mL}$ 로 나타난 것으로 보아 총 페놀 함량이 농도에 따라 유의적으로 증가하였음을 알 수 있다(Table 2, Fig. 8).

Fig. 9. Calibration curve of Quercetin. R^2 : 0.996

Fig. 10. Total flavonoid content of LGL DW, 50% EtOH, 100% EtOH extracts. The data results calculated the flavonoid content compared to the absorbance value of the standard curve. Data are presented as the mean values $\pm$ S.D. of 3 experiments.

Table 3. Total flavonoid content LGL complex extracts

Total flavonoid (equivalent of Quercetin $\mu\text{g/mL}$)	Exp. 1	Exp. 2	Exp. 3	Mean $\pm$ SD
LGL D.W	73.06	65.03	72.73	70.27 $\pm$ 4.543
LGL 50% EtOH	83.67	86.68	88.11	86.14 $\pm$ 2.296
LGL 100% EtOH	78.1	76.15	99.15	84.47 $\pm$ 12.75

Table 4. Total tyrosinase content LGL complex extracts

Total tyrosinase content (equivalent of arbutin $\mu\text{g/mL}$)		Exp. 1	Exp. 2	Exp. 3	Mean $\pm$ SD
LGL D.W	0.5 mg/mL	25.225	29.657	21.816	25.56 $\pm$ 3.931
	1 mg/mL	11.588	19.088	13.974	14.88 $\pm$ 3.831
	2 mg/mL	22.157	18.066	18.407	19.54 $\pm$ 2.270
LGL 50% EtOH	0.5 mg/mL	37.839	40.567	48.408	42.27 $\pm$ 5.487
	1 mg/mL	55.11	66.702	68.407	63.41 $\pm$ 7.235
	2 mg/mL	75.566	83.407	84.089	81.02 $\pm$ 4.736
LGL 100% EtOH	0.5 mg/mL	38.405	41.473	40.451	40.11 $\pm$ 1.562
	1 mg/mL	51.135	61.704	60.681	57.84 $\pm$ 5.829
	2 mg/mL	71.591	76.364	64.772	70.91 $\pm$ 5.826

6. 총 flavonoid 함량

본 실험에서는 LGL 복합추출물의 플라보노이드 함량을 알아보기 위하여 항산화의 효능이 있는 Quercetin을 사용하여 작성한 표준 곡선에 의해 기울기와 절편값을 구한 후 시료의 흡광도 값을 대입하여 계산하였다(Fig. 9). 표준물질 Quercetin 대비하여 LGL D.W, 50% EtOH, 100% EtOH 추출물의 플라보노이드 함량은 각각 $70.27\pm 4.543 \mu\text{g/mL}$, $86.14\pm 2.296 \mu\text{g/mL}$, $84.47\pm 12.75 \mu\text{g/mL}$ 로 확인되었다(Table 3, Fig. 10).

7. Tyrosinase 활성

LGL 복합추출물의 Tyrosinase 활성을 알아보기 위하여 양성 대조군으로는 arbutin를 사용하여 비교하였다. LGL D.W 0.5 mg/mL, 1 mg/mL, 2 mg/mL 농도에서 각각 $25.57\pm 3.93\%$, $14.88\pm 3.83\%$, $19.54\pm 2.27\%$ 로 유의미한 결과는 없었으며 LGL 50% EtOH 0.5 mg/mL, 1 mg/mL, 2 mg/mL은 각각 $42.27\pm 5.49\%$, $63.41\pm 7.23\%$, $81.02\pm 4.74\%$ 로 농도에 따라 Tyrosinase

Fig. 11. Tyrosinase inhibition of LGL DW, 50% EtOH, 100% EtOH extract and Arbutin. Data are presented as the mean values $\pm$ S.D. of 3 experiments.

저해 활성도가 유의미하였고 LGL 100% EtOH 0.5 mg/mL, 1 mg/mL, 2 mg/mL은 각각 $40.11\pm 1.56\%$, $57.84\pm 5.83\%$, $70.91\pm 5.83\%$ 로 농도 의존적으로 증가하는 것으로 나타나 양성대조군 arbutin에 비하여 Tyrosinase 활성 억제 효과가 효과적인 것으로 확인되었다(Table 4, Fig. 11).

Table 5. Total elastase content LGL complex extracts

Total elastase content (equivalent of ursolic acid $\mu\text{g/mL}$)		Exp. 1	Exp. 2	Exp. 3	Mean $\pm$ SD
LGL D.W	0.5 mg/mL	7.0055	12.5686	12.9121	10.83 $\pm$ 3.315
	1 mg/mL	15.0412	14.0797	15.1786	14.77 $\pm$ 0.598
	2 mg/mL	23.0769	23.0082	18.3378	21.47 $\pm$ 2.716
LGL 50% EtOH	0.5 mg/mL	6.8681	3.2280	7.8984	5.99 $\pm$ 2.453
	1 mg/mL	14.3544	14.7665	17.1017	15.41 $\pm$ 1.481
	2 mg/mL	21.0165	20.3297	21.3599	20.90 $\pm$ 0.524
LGL 100% EtOH	0.5 mg/mL	7.9670	9.8901	8.7912	8.88 $\pm$ 0.965
	1 mg/mL	13.8049	15.2473	16.8956	15.32 $\pm$ 1.546
	2 mg/mL	13.5989	10.7829	8.5852	10.99 $\pm$ 2.513

Fig. 12. Elastase inhibition of LGL DW, 50% EtOH, 100% EtOH extract and Ursolic acid. Data are presented as the mean values $\pm$ S.D. of 3 experiments.

8. Elastase 활성

LGL 복합추출물의 Elastase 활성을 알아보기 위하여 양성대조군으로는 Ursolic acid를 사용하였다. LGL D.W 0.5 mg/mL, 1 mg/mL, 2 mg/mL 농도에서 각각 $10.83 \pm 3.32\%$, $14.77 \pm 0.60\%$, $21.47 \pm 2.72\%$ 로 나타나 농도에 따라 Elastase 활성이 유의미하게 확인되었으며 LGL 50% EtOH 0.5 mg/mL, 1 mg/mL, 2 mg/mL은 각각 $5.99 \pm 2.45\%$, $15.41 \pm 1.48\%$, $20.90 \pm 0.52\%$ 로 농도 의존적으로 증가하는 것으로 나타났다. LGL 100% EtOH 0.5 mg/mL, 1 mg/mL, 2 mg/mL은 각각 $8.88 \pm 0.96\%$, $15.32 \pm 1.55\%$, $10.99 \pm 2.51\%$ 로 LGL 100% EtOH에서는 유의미한 결과는 나타나지 않았다(Table 5, Fig. 12).

나이가 들어감에 따라 세포의 분열 속도가 느려지면서 인체를 둘러싼 피부는 각질층의 천연보습인자와 효소, 세포 외 기질(extracellular matrix) 등의 기능이 저하되고, 이에 따라 피부는 점차 거칠어지고 건조해지며, 점점 더 얇아지고 주름 생성이 촉진된다(An, 2014). 뿐만 아니라, 산업이 발달해 감에 따라 환경 및 대기오염이 심각해지고, 스트레스 및 우울, 잘못된 식생활 습관 등의 다양한 내·외적 요인에 따라 여러 피부의 문제들이 발생하고 있다. 이에 항노화, 항산화에 관련된 연구가 활발히 진행되고 있으며, 소비자들의 화장품에 대한 안전성 요구가 증가함으로써 독성이 없는 천연소재를 이용한 기능성 화장품 시장의 관심이 집중되고 있다(Sim, 2012).

이에 본 연구는 선행연구를 통해 항산화, 미백, 항염증 등에서의 효능이 있다고 알려진 천연소재 중 화장품 성분으로도 널리 활용되고 있는 금은화, 감초, 표고버섯을 선정하였으며, 금은화·감초·표고버섯(*Lonicera japonica*·*Glycyrrhiza uralensis* FISCH·*Lentinula edodes* (LGL)) 복합추출물을 제조하여 인체 적용실험을 선행하였다(Choi et al., 2020). 그 결과, LGL 복합추출물의 안면피부 개선 효과가 우수한 것을 확인하였으며, 이를 바탕으로 세포 생리활성 실험을 통해 화장품 소재로서의 활용 가능성을 확인하고자 추출 용매 조성별 DW, 50% EtOH,

100% EtOH의 LGL 복합 추출물을 제조하여 그 효과를 비교하고자 하였다.

먼저, RAW 264.7과 HaCaT 세포에서 세포독성 검증을 확인한 결과, LGL 복합추출물 처리 후 매우 안정적인 세포 생존율을 보였다. 이는 단일추출물로서의 금은화가 과산화수소(hydrogen peroxide, H_2O_2)로 유발되는 활성산소를 제거하여 HaCaT 세포에서 농도에 따라 세포보호 효과가 증가한다는 것을 확인하였으며(Seo, 2014), Kang (2008)는 감초추출물 200 mg/mL 농도 5 μ L, 10 μ L에서 95% 이상의 세포 생존율을 확인하였다. 표고버섯 추출물 관련한 Seo (2018)의 연구에서는 MTT assay를 통해 표고버섯 추출물 10, 25, 50 μ g/mL에서 독성이 없는 것으로 나타남으로써 본 연구의 LGL 복합추출물의 세포독성 검증 결과를 지지한다.

LGL 복합추출물의 염증으로부터 세포보호 효과를 규명하기 위해 염증 물질인 LPS를 대식세포인 RAW 264.7에 LGL 복합추출물을 동시 처리하여 LPS로부터 NO를 농도 의존적으로 억제하는 것을 확인하였다. 이는, 염증세포와 proinflammatory cytokine, 상피세포의 apoptosis 억제 효과가 우수하고, 마우스의 알러지성 피부염에 대한 금은화 추출물의 효능연구에서 금은화 추출물이 IFN- γ cytokine과 IL-4를 억제함으로써 항알러지 효능이 있다는 Kim (2010)의 연구와 관련이 깊을 것으로 사료되며, Yoo (2008)의 연구에서는 금은화가 NO 생성의 염증반응 억제하는 것으로 나타났다. 이와 같은 선행연구 결과는 LGL 추출물이 염증으로부터 세포보호 효과를 보이며 항염증 효과를 나타낸다는 본 연구 결과와 같은 맥락이다. 또한, Min (2011)은 금은화의 총 페놀 함량과 DPPH, hydroxyl radical, superoxide anion의 활성도를 측정함으로써 금은화의 항산화 효능을 규명하였으며, 금은화의 항염증 작용이 apigenin, quercetin, luteolin 등의 flavonoid 성분에 기인한 것을 확인하였다(Moon et al., 1999). 감초는 고분자의 페놀성 화합물이 다량 존재하는데(Ishikawa et al., 1999), Jung (2018)의 연구 결과, 68.11 μ g GAE/mL의 폴리페놀을 함유한다고 나타났으며, 감초추출물의 mouse melanoma B16F10 cell에서 최고농도 400 μ g/mL 까지 처리한 결과 시료 무 첨가군에 비해 tyrosinase 활성을 저해하는 것으로 나타났다. 또한, 감초는 liquiritin 및 liquiritigenin와 같은 플라보노이드를 함유하고 있다고 알려져 있으며, 주요 성분인 flavone의 triterpenoid에 의해 항염증 작용이 있는 것으로 확인된 바 있다(Kim, 2014). 표고버섯은 Kim et al. (2017)의 연구에서 페놀 성분과 항산화 활성 실험에서 우수한 효과를 보였으며 또한, Han et al. (2015)의 연구에서 표고버섯 용매 추출물의 DPPH radical에서 소거 활성과 항산화 및 항균 효과의 실험에서 효능을 확인하였다. 이상의 선행연구 결과들은 LGL 복합추출물의 항산화 및 항염증 효과에 관한 연구 결과를 지지한다.

UV-B 조사 시 LGL 복합추출물의 세포보호 효과는 Seo (2014)의 연구에서 HaCaT 세포에 UV-B 조사 시 증가하던

DNA 분절 현상과 핵응축 현상이 금은화 추출물을 처리하였을 때 농도 의존적으로 감소시킴을 확인하였다. 또한, Lee (2015)의 연구에서 감초의 유효성분인 liquiritigenin, isoliquiritigenin이 UVB 조사로 인한 손상에서 세포보호 효과가 있으며 elastase의 저해 활성이 세포 내의 활성산소종을 소거하고 주름 생성 및 피부 탄력을 억제시켜 세포 손상에 대한 보호 작용을 한다고 보고한 바 있다. 이와 같은 결과는 LGL D.W, LGL 50% EtOH 추출물, LGL 100% EtOH 추출물에서 UV-B 조사 시 세포보호 효과와 elastase 활성을 저해하는 것으로 나타난 본 연구 결과와 관련이 깊을 것으로 사료된다. Lee (2001)은 감초로부터 Tyrosinase 억제 활성을 하는 물질을 분리하여 미백 효과를 규명하였으며, Hankook shinyak Corp (2010)에서는 표고버섯 균사체에서 추출한 다당체가 피부의 미백 및 보습 화장품 성분으로 유효하게 사용할 수 있음을 밝혔다. Jung (2018)은 항산화 활성 효과가 우수하다고 알려진 상백피 추출물보다 표고버섯 균사체 배양물에서 Tyrosinase를 저해하는 효과가 더 우수하다고 밝혔다. 본 연구 역시, LGL 50% EtOH 추출물과 LGL 100% EtOH 에서 Tyrosinase 저해 효과를 확인하였으며, 이와 같은 연구 결과들을 바탕으로 LGL 복합추출물의 미백 기능성 화장품 소재로써 활용 가능성을 유추해 볼 수 있다.

따라서, 본 연구를 통해 LGL 복합추출물은 독성이 없으며, 항산화 및 항염증 효과, 미백효과 등이 있다는 것을 확인하였으며, 이는 천연소재를 활용한 기능성 화장품 개발에 소재 활용의 가능성을 시사한다. 하지만, LGL 복합추출물이 단일 추출물 보다 더 효과적일 것이라는 것은 단일 추출물과의 비교 연구가 진행되지 않아 유추하기 어렵다. 추후, 후속 연구로써 복합추출물에 대한 다각적인 세부 연구를 통해 객관적인 데이터가 필요할 것으로 사료되며, 이러한 연구들을 바탕으로 복합추출물의 화장품 소재로서의 효율성 및 실용화 가능성을 판단해 볼 수 있을 것으로 사료된다.

IV. 결 론

본 연구는 LGL 복합추출물의 세포독성, UVB에서의 세포보호 효과, 항산화, 항염증 등의 생리활성 탐색하여 화장품 소재로의 활용 가능성을 살펴보고자 하였다. 본 연구의 결과는 다음과 같이 도출되었다.

첫째, LGL 복합추출물의 RAW 264.7와 HaCaT에서 세포독성 측정 결과 LGL D.W, LGL 50% EtOH, LGL 100% EtOH의 50, 100, 200 µg/mL 농도에서 매우 안정적인 세포 생존율을 보였다.

둘째, LGL 복합추출물의 염증으로부터 세포보호 효과 측정 결과 LGL 50% EtOH, LGL 100% EtOH 추출물 50, 100, 200 µg/mL 농도에서 LPS 단독 처리하였을 때 양성대조군인 Butein과 비교하였을 때 농도 의존적으로 NO(Nitric oxide)가 억제됨

을 확인하였다.

셋째, LGL 복합추출물의 DPPH radical 소거 활성 측정 결과 LGL D.W, LGL 50% EtOH, LGL 100% EtOH 50, 100, 200 µg/mL에서 농도 의존적으로 DPPH radical 소거 활성이 높아지는 것으로 나타났다.

넷째, HaCaT에서 UV-B 조사에 의한 세포독성에 대하여 LGL D.W, LGL 50% EtOH, LGL 100% EtOH에서 세포보호 효과가 증가하는 것을 확인하였다.

다섯째, LGL 복합추출물을 농도별로 항산화 효능을 갖는 표준물질과 비교한 결과 총 페놀 함량과 플라보노이드 함량이 유의미하게 나타났다. 이와 같은 결과는 LGL 복합추출물이 화장품 개발에 있어 항산화 물질로써 천연소재 활용 가능성을 시사한다.

여섯째, LGL 복합추출물의 Tyrosinase, elastase 활성 측정 결과 Tyrosinase 활성에서는 LGL 50% EtOH, LGL 100% EtOH 추출물에서 표준물질인 Arbutin 보다 높은 활성저해 효과를 나타냈으며, elastase 활성에서는 LGL D.W, LGL 50% EtOH 추출물에서 농도 의존적으로 elastase 활성 효과가 우수한 것으로 나타났다.

이상의 결과를 종합해보면, LGL 복합추출물은 세포독성, UVB에서의 세포보호 효과, 항염증, 항산화 효과뿐만 아니라 Tyrosinase 활성 및 elastase 활성 저해 효과 또한 우수한 것을 확인함으로써 화장품 소재로서의 활용 가능성을 확인하였다. 따라서, LGL 복합추출물은 천연 유래 기능성 화장품 소재로서 적합할 것으로 사료되며, 이와 같은 연구 결과를 바탕으로 기능성 화장품 개발에 대한 기초자료로써 활용되기를 기대한다. 향후, LGL 복합추출물의 성분분석 및 단일추출물과의 비교 연구 등 세부적인 후속 연구를 통해 뷰티산업 및 화장품 시장의 활성화에 도움이 되기를 바란다.

References

- An, E. J. (2014). Study on the anti-aging and skin aging, and officials to recognize women by age group behavior. Master's thesis, Konkuk University, Seoul.
- Cho, B. O., Yin, H. H., Shin, J. Y., Fang, C. Z., Chang, C. D., & Jang, S. I. (2016). Anti-Atopic Effects of Mixed Extracts from Date Plum, Persimmon, and Mulberry Leaves. *Journal of the Korean Society of Food Science and Nutrition*, 45(4), 501-509.
- Choi, M. G., Kang, E. J., & Seo, S. H. (2020). Facial skin enhancement effect of Lonicera japonica-Glycyrrhiza uralensis FISCH-Lentinula edodes complex extract. *Journal of the Korean Society of Cosmetology*, 26(5), 1179-1190.
- Elliott, M. Jr. (1982). Effects of flavonoids and transitional metal cations on antigen-induced histamine release from human basophils. *Biochem. Pharmacol*, 31(7), 1449.
- Hankook shinyak Corp. (2010). Moisturizing and/or whitening cosmetic composition comprising polysaccharide extracted from

- Lentinus edodes mycelium culture product. doi: <http://doi.org/10.8080/1020100140596>
- Han, S. R., Kim, M. J., & Oh, T. J. (2015). Antioxidant Activities and Antimicrobial Effects of Solvent Extracts from Lentinus edodes. *Journal of the Korean Society of Food Science and Nutrition*, 44(8), 1144-1149.
- Ishikawa, S., Kato, M., Tokuda, T., Momoi, H., Sekijima, Y., Higuchi, M., & Yanagisawa, N. (1999). Licorice-induced hypokalemic myopathy and hypokalemic renal tubular damage in anorexia nervosa. *International Journal of Eating Disorders*, 26(1), 111-114.
- Jeon, S. B., Jeon, J. A., & Jeong, B. G. (2010). Anti-oxidative Activities and Tyrosinase Inhibition Ability of Rice Bran Ethanol Extract. *Journal of the Korean Society of Cosmetology*, 16(2), 602-606.
- Jiang, W. Y. (2005). Therapeutic wisdom in traditional Chinese medicine a perspective from modern science. *Trends Pharmacol. Sci.*, 26(11), 558-563.
- Jung, J. H., & Kim, K. J. (2009). Experimental studies about the inhibitory effect on tyrosinase and elastase activities by various herb medicines. *The Journal of Korean Medicine Ophthalmology and Otolaryngology and Dermatology*, 22(2), 1432-1443.
- Jung, J. Y. (2018). Studies on the whitening effect and active components of fermented licorice extract. Master's thesis, Yeungnam University, Gyeongsan.
- Kang, T. G. (2008). Antimicrobial effect and Cytotoxicity of Glycyrrhizae Radi. Master's thesis, Sangji University, Gangwon-do.
- Kim, D. K. (2009). Effects of Flos Lonicerae Aqueous Extracts on Allergic Dermatitis in Mice. Doctoral dissertation, Kyungpook National University, Daegu.
- Kim, H. A. (2019). Anti-inflammatory and Anti-itching Effects of Herbal Medicine Complex Extracts (NI-01). Master's thesis, Keimyung University, Daegu.
- Kim, H. N., & Yoon, Y. M. (2013). Skin Soothing Effects of the Compositions Containing Extracts of Fermented Bird's Nest and Centella asiatica. *Korean Journal of Aesthetics and Cosmetology*, 11(4), 721-728.
- Kim, H. S., Jo, G. W., Kim, H. W., Uh, J. H., Park, J. S., Jo, J. W., & Oh, S. G. (2017). An Analysis of Physiological Activity and Wrinkle Suppression Effectiveness of Shiitake Mushroom by Ovarian Species. *Journal of Mushrooms*, 21(35), 174.
- Kim, N. S., Kim, K. C., & Oh, W. Y. (2019). Study of Effects of Discorea japonica Thunb Ethanol Extract on Anti-inflammation and Anti-wrinkle. *Journal of the Korean Society of Cosmetology*, 25(4), 947-954.
- Kim, S. E., Kim, Y. H., & Lee, J. T. (2014). Antioxidant Activity and Whitening Efficacy of Ethanolic Extract of Herb Complex (Oenothera lacinata, Phellinus linteus and Glycyrrhiza uralensis Fischer). *Journal of Investigative Cosmetology*, 10(1), 27-33. doi:10.15810/jic.2014.10.1.004
- Kim, S. J. (2014). Chemicophysical Properties and Enhanced Skin Delivery of Lquiritigenin and Liquiritin-loaded Ceramide Liposomes in Cellulose-porous Hydrogel Complex System. Master's thesis, Seoul National University, Seoul.
- Kwon, H. J. (2018). Antioxidant and Anti-aging Activities of Agrimonia Pilosa-Ledeb Extract Alone and In Combination. *Asia-Pacific Journal of Multimedia Services Convergent with Art, Humanities, and Sociology*, 8(7), 513-521.
- Lee, H. M. (2015). Inhibitory Mechanism against UVB-induced Photoaging of Active Components in Glycyrrhiza uralensis. Master's thesis, Seoul National University, Seoul.
- Lee, J. S. (2001). Isolation of Inhibitory Components on Tyrosinase Activity from the Roots of Glycyrrhiza glabra. Master's thesis, Yeungnam University, Daegu.
- Lee, Y. H. (2005). Chemical Stability and Whitening Activity of Mixture of Arbutin, Oil-soluble Licorice Extract and Vitamin C Analogues. Master's thesis, Chung-Ang University, Seoul.
- Min, K. S. (2011). The Effect of Ethanol Extracts of Herba Prunellae, Flos Lonicerae and Radix Scutellaria on 6-OHDA Induced Oxidative Damage at SH-SY5Y Cell Line. Master's thesis, Wonkwang University, Iksan.
- Moon, T. C., Park, J. O., Jung, K. W., Son, G. H., Kim, H. P., Jang, H. W., & Jung, G. C. (1999). Anti-inflammatory Activity of the Flavonoid Components of Lonicera japonica. *J. Pharm. Soc. Korea*, 43(1), 117-123.
- Park, M. H., Oh, K. Y., & Lee, B. W. (1998). Anti-cancer activity of Lentinus edodes and Pleurotus ostreatus. *Korean J. Food Sci. Technol*, 30(3), 702-708.
- Seo, M. S., Jang, Y. A., & Lee, J. T. (2018). The Study of Cosmeceutical Activities from Lentinula edodes extracts and Application a Natural Cosmetic Material. *Journal of Oil & Applied Science*, 35(4), 1003-1012.
- Seo, S. H. (2014). The Protective effect of Lonicera japonica Flos extracts on UVB or H₂O₂-induced human keratinocyte, HaCaT damage. Doctoral dissertation, Kwangju Women's University, Kwangju.
- Seo, W. Y., Youn, G. S., Choi, S. Y., & Park, J. (2015). Butein, a tetrahydroxychalcone, suppresses pro-inflammatory responses in HaCaT keratinocytes. *BMB Rep.*, 48(9), 495-500.
- Sim, S. B. (2012). Study on characterizations of endemic natural substances and efficacy evaluation of formulation using as cosmetic ingredients, Doctoral dissertation, Hanyang University, Seoul.
- Sung, J., & Lee, J. (2015). Anti-Inflammatory Activity of Butein and Luteolin Through Suppression of NFκB Activation and Induction of Heme Oxygenase-1. *J Med Food*, 18(5), 557-640.
- Xue, T. H., & Roy, R. (2003). Studying traditional Chinese medicine. *Journal of Science*, 300(5620), pp. 740-741.