

Anti-wrinkle and Moisturizing Activity of *Echinacea angustifolia* Extract as a Cosmetic ingredient

In-Jeong Choi
meeth R&D Institute, Seoul, Korea

Corresponding author: In-Jeong Choi,
meeth R&D Institute, 7 Bongseunsa-ro, 84
gil, Gangnam-gu, Seoul 06163, Korea
Tel.: +82 2 6339 9758
Fax: +82 2 555 9758
Email: injeong7810@gmail.com

Received November 14, 2022

Revised December 04, 2022

Accepted December 12, 2022

Published December 30, 2022



Abstract

Purpose: *Echinacea angustifolia* (*E. angustifolia*) extract's usefulness as a cosmetic ingredient was examined. This study confirmed its skin improvement effects through a moisturizing and elasticity test and clinical trials. **Methods:** Cell ability of *E. angustifolia* on HaCaT and CCD986sk cells was measured by MTT assay respectively. And hyaluronic acid in HaCaT cells and pro-collagen acid productions in CCD986sk cells were measured. **Results:** As a result of the cytotoxicity test on CCD986sk and HaCaT cells, it was confirmed that there was no cytotoxicity at a concentration of 200 µg/mL or less. At a concentration of 200 µg/mL, both hyaluronic acid and collagen productions showed statistically significant differences. Meanwhile, the skin improvement test performed in the clinical trials revealed high scores compared to a control group and a significant difference was observed especially in moisturizing and wrinkle-care effects ($p < 0.001$, $p < 0.01$). **Conclusion:** With the potential of *E. angustifolia* extract, this study confirmed its promise as a cosmeceutical cosmetics ingredient.

Keywords: *Echinacea angustifolia*, Elasticity, Moisturizing, Cosmetics, Cosmeceuticals

Introduction

피부는 표피, 진피, 피하지방 3개의 층과 혈관 및 각종 신경, 림프관, 피지선 등의 피부 부속기관으로 이루어진다. 표피는 주로 keratinocyte, melanocyte, Langerhans cell, merkel cell 등으로 구성되어 있으며, 진피는 collagen fiber, elastin fiber 및 proteoglycan 및 glycoprotein과 같은 dermal matrix로 구성된다(Rittié & Fisher, 2015; Kao *et al.*, 2016; Kim *et al.*, 2016; Shim & Park, 2017). 건조피부는 주로 표피 상층부에서 일어나는 변화에 의해 주로 발생하는 것으로, 표피 상층부의 각질층에서 일어나는 변화가 중요한 원인이 되는 것으로 밝혀진 바 있다(Hruza & Pentland, 1993; Kim *et al.*, 2013). 건강한 사람의 각질층에는 약 10–30% 가량의 수분이 함유되어 있으며, 각질층의 수분이 부족한 상태가 되면 피부장벽에 이상이 생겨 경피수분손실량(trans epidermal water loss, TEWL)이 증가하고, 수분 부족의 건조 피부 상태가 된다(Sandilands *et al.*, 2009). 피부장벽 기능 이상으로 나타나는 수분 손실은 피부의 탄력을 감소시키고 표피층을 두껍게 만들며, 주름 형성을 촉진시킨다. 또한 가려움증,

피부건조증(xerosis)과 같은 질환 유발 및 건선, 아토피 피부염과 같은 질환이 악화하는 결과를 초래하기 때문에 피부의 수분, 보습 유지는 피부 미용의 측면과 더불어 병리학적으로도 중요하다고 할 수 있다(Del Rosso & Levin, 2011).

피부의 수분조절에 영향을 미치는 주요 분자에는 히알루론산(hyaluronic acid, HA)이 있다(Papakonstantinou *et al.*, 2012). HA는 glycosaminoglycan (GAG)의 일종으로 피부 3대 요소 가운데 하나로 collagen과 elastin과 같이 세포 외 기질을 구성하는 분자에 속하며, 표피 기저층의 세포 내부에도 존재한다(Sakai *et al.*, 2000; Kim *et al.*, 2007; Necas *et al.*, 2008). HA는 피부 내 진피의 주요성분으로 수분 보유 능력이 뛰어나 수분유지, 세포 간 간격을 유지시킬 뿐 아니라 세포의 성장, 분열, 이동 등에 관여하는 것으로 알려져 있다(Lamberg & Stoolmiller, 1974; Tammi *et al.*, 1988). 피부에서 히알루론산의 함량은 hyaluronic acid synthase (HAS)에 의한 합성과 hyaluronidase (HYAL)에 의한 분해에 의해 조절되며(Lee *et al.*, 2013), 종류에는 hyaluronic acid synthase-1 (HAS-1), hyaluronic acid synthase-2 (HAS-2), hyaluronic acid synthase-3 (HAS-3)가 있다. 사람의 피

부의 경우 HAS-1은 19번, HAS-2는 8번, HAS-3는 16번 염색체 위치하여 서로 다른 효소 활성을 가지며, 서로 다른 길이의 히알루론산 합성을 가능하게 한다(Iitano & Kimata, 2002; Stern & Maibach, 2008; Siiskonen *et al.*, 2015). 피부 세포 배양상태에서 HA의 합성은 epidermal growth factor (EGF), fibroblast growth factor (FGF), platelet-derived growth factor-BB (PDGF-BB), transforming growth factor β (TGF- β)와 같은 다양한 성장인자와 N-methyl-L-serine, trans-retinoic acid 등에 의해 증가된다는 보고가 있으나 대사에 대한 자세한 메커니즘은 정확히 밝혀진 바 없다(Kim *et al.*, 2005). 그러나 최근 피부의 보습력 및 항노화 기능을 향상시키고자 HAS 유전자 발현 증가를 통해 HA의 합성을 조절하는 연구가 다양하게 이루어지고 있다(Song *et al.*, 2013; Kang *et al.*, 2015).

히알루론산과 함께 피부 진피 내 존재하며, 피부 세포 외 기질의 또 다른 주요 구성요소로서는 콜라겐(collagen)이 있다. 콜라겐은 피부 탄력에 가장 큰 영향을 미치며, 피부의 형태 유지 및 강도와 장력을 부여하는 역할을 한다. 피부 세포내 수분이 손실되면 각질층의 구조가 변화하고, collagenase의 작용이 증가하여 콜라겐의 상호결합된 형태가 감소함으로써 피부의 매끄러움, 보습, 팽팽함이 감소된다(Matsumura & Ananthaswamy, 2004). 이는 진피의 콜라겐 함량 및 합성 증가가 피부 보습 및 탄력의 증가와 관련이 있음을 의미한다(Fisher *et al.*, 2002).

콜라겐은 전구물질인 프로콜라겐(procollagen)의 주요 구성 아미노산인 proline과 lysine이 hydroxylation 되면서 합성된다. 이때 필요한 조효소가 Fe²⁺, 산소, Si이며, 산화된 철인 Fe³⁺가 다시 Fe²⁺로 복구되기 위해서는 비타민C를 필요로 한다.

피부를 구성하는 콜라겐은 제1형 콜라겐(type 1 collagen)이 인간 피부의 약 70-80%를 구성하고 있으며(Ghosh, 1994; Brinca, *et al.*, 1987; Ågren *et al.*, 2015), 콜라겐 Type 1은 MMP-1에 의해 분해되고, MMP-1의 작용은 세포의 항상성을 유지하기 위해 분비되는 2-marcroglobulin이나 TIMP-1과 같은 저해제에 의해 활성이 조절된다. 이러한 MMPs 및 TIMPs 등의 효소들은 섬유아세포를 포함한 대다수의 많은 세포들에 의해 분비되며(Fisher & Voorhees, 1999; Enjōi *et al.*, 2000), 원인 인자들로 인하여 섬유아세포의 작용과 세포수가 감소하면, 섬유성분의 합성량이 줄어들어 피부 세포 내 수분이 손실과 각질층의 구조 변화를 가져와 피부 노화로 이어진다.

최근 피부 노화에 관한 관심이 증가되고 있으며, 보습과 탄력은 화장품 산업 전반에 있어서 필수 요건이 되고 있다. 현재 화장품에 사용되는 생리활성 소재의 다수는 천연물에서 유래하였으며, 천연소재는 합성소재에 비해 다양한 이점을 가진다고 보고된 바 있다(Bilal *et al.*, 2020). 이에 본 연구에서는 천연소재인 *Echinacea* 추출물의 피부개선 효과를 확인함으로써 기능성 화장품 소재로서의 가능성을 확인하고자 한다.

*Echinacea*는 미국 북미에서 다양한 유형의 감염 및 상처 치료에 사용되는 전통식물 약재로 사용되었으며(Lienert *et al.*, 1998), 여러 종류 중 *Echinacea angustifolia*, *Echinacea pallida*, *Echinacea*

purpurea 3종이 최근까지 많이 이용되고 있다. 현재까지 *Echinacea*에 대한 화학적 약리학적 분석으로는 chlorogenic acid, alkylamides 및 antiviral, anticancer activity, immunomodulatory effect 등과 관련이 있으며, 그 중 면역증강작용과 항균작용은 alkamides, pycoproteins, caffeic acid derivatives, polysaccharides 등 성분에 의해 나타난다는 연구보고가 있다(Chicca *et al.*, 2007; Pellati *et al.*, 2011; Kumar & Ramaiah, 2011; Dogan *et al.*, 2014).

최근 식품소재 및 의약품에 이르기까지 *Echinacea*의 활용 가치는 점점 높아지고 있으나, 화장품 소재에 대한 연구는 부족한 실정이다. 따라서 본 연구에서는 기능성 화장품 소재로서 *E. angustifolia* 추출물의 활용 방안에 대하여 확인하였다.

Methods

1. 추출물

추출물은 정제수와 1%의 *E. angustifolia* 원물을 80°C에서 열수 추출(hot water, HE) 하였다. 유효성분 추출 후 정량을 통해 일정한 농도로 실험에 사용하였으며, 동결건조 후 세포실험은 dimethyl sulfoxide (DMSO; Sigma-Aldrich, USA)를 용매로 재용해 시킨 뒤 원심분리기(3000×G, 15 min)로 불용성 성분을 제거하고 본 실험에 사용하였다. 실험에 사용된 세포는 CCD986sk과 HaCaT를 사용하였다(Yu *et al.*, 2015; Kim *et al.*, 2017).

2. HaCaT에 대한 세포 독성 측정(MTT assay)

E. angustifolia 추출물의 HaCaT (ATCC; Rockville, USA)에 대한 세포 독성 측정을 위해 NADH 등의 세포 내의 환원성 물질에 의해 MTT가 결정화 되는 것을 이용하였다. 세포 배양 배지로는 DMEM-F12 broth (Dulbecco's Modified Eagle Medium-Nutrient Mixture F12, GE healthcare, USA)를 사용하였다. Fetal bovine serum (FBS; Sigma-Aldrich) 10%를 첨가하여 제조, 항생물질로는 penicillin-streptomycin (100X) (Sigma-Aldrich)을 사용하였다. 추출물은 동결건조를 통해 용매 제거 후 DMSO에 용해시켜 처리 후 전배양된 HaCaT을 96 well plate에 well 당 5.0×10⁴ cell을 주입하여 24시간 배양하였다. 배양이 끝난 후 상층액을 제거한 뒤 에키네시아 추출물을 200 µg/mL를 기준으로 다양한 농도로 처리한 뒤 24 시간 동안 배양하였으며, 2차 배양 후 상층액을 제거하고 MTT 용액(5 mg/mL)를 가해준 뒤 온도 37°C, CO₂ 농도 5%의 환경에서 MTT를 결정화 하였다. 각 well에 생성된 결정이 제거되지 않도록 상층액을 제거한 후 결정을 DMSO로 녹여 Synergy™ HT Multi-detection (Biotek Instruments, USA)를 이용하여 540 nm 파장에서의 흡광도를 측정하였다.

3. HaCaT에 대한 hyaluronic acid 측정

Antibody가 다양한 분자에 대해 특이적으로 결합이 생성되는 것

을 이용하여, horseradish peroxidase가 결합된 antibody를 이용하여 세포 및 상층액의 특정 성분의 농도를 측정하였다. 세포 배양 배지는 HaCaT에 대한 세포 독성 측정과 동일하게 사용하였다. 추출물은 동결건조를 통해 용매 제거 후 DMSO에 용해시켜 처리하였으며, 전배양된 HaCaT을 96 well plate에 well 당 5.0×10^4 cell을 주입하여 24시간 배양하였다. 배양이 끝난 후 상층액을 제거한 뒤 *E. angustifolia* 추출물을 200 µg/mL를 기준으로 다양한 농도로 처리한 후 24 시간 동안 배양하였다. 상층액을 이용하여 Genorise scientific사의 Nori hyaluronic acid ELISA kit로 hyaluronic acid를 측정하였다.

4. CCD986sk에 대한 세포 독성 측정(MTT assay)

CCD986 (Korean Cell Line Bank, Korea)에 대한 세포 독성 측정을 위해 NADH 등의 세포 내의 환원성 물질에 의해 MTT가 결정화 되는 것을 이용하였다. 세포 배양 배지로는 DMEM broth (Dulbecco's Modified Eagle Medium, GE healthcare, USA)를 사용하였다. FBS 10%를 첨가하여 제조 후 항생물질로는 penicillin-streptomycin (100X)을 사용하였다. 추출물은 동결건조를 통해 용매 제거 후 DMSO에 용해시켜 처리하였으며, 전배양된 CCD986sk을 96 well plate에 well 당 5.0×10^4 cell을 주입하여 24 시간 배양하였다. 배양이 끝난 후 상층액을 제거한 뒤 *E. angustifolia* 추출물을 200 µg/mL를 기준으로 다양한 농도로 처리한 후 24 시간 동안 배양하였다. 2차 배양 후 상층액을 제거하고 MTT 용액(5 mg/mL)를 가해진 뒤 CO₂ 농도 5%, 온도 37°C의 환경에서 MTT를 결정화 하였다. 각 well에 생성된 결정이 제거되지 않도록 상층액을 제거한 뒤 결정을 DMSO로 녹여 540 nm 파장에서의 흡광도를 측정하였다.

5. CCD986sk에 대한 콜라겐 측정

CCD986sk에 대한 콜라겐 측정을 위해 antibody가 다양한 분자에 대해 특이적으로 결합이 생성되는 것을 이용하였다. 세포 배양 배지는 CCD986sk에 대한 세포 독성 측정과 동일하게 사용하였다. 추출물은 동결건조를 통해 용매 제거 후 DMSO에 용해시켜 처리한 후 전배양된 CCD986sk을 96 well plate에 well 당 5.0×10^4 cell을 주입하여 24 시간 배양하였다. 배양이 끝난 후 상층액을 제거한 뒤 *E. angustifolia* 추출물을 200 µg/mL를 기준으로 다양한 농도로 처리한 뒤 24 시간 동안 배양하였다. 그 후 상층액을 이용하여 arigo biolaboratories사(Switzerland)의 Human Pro-Collagen Ialpha 1 ELISA Kit로 pro collagen acid를 측정하였다.

6. 임상실험

1) 인체적용시험의 연구 설계

연구 대상자 선정은 사전설문지를 통해 시험에 적합한 40명을 선정하였다.

총 40명의 남여 피시험자를 대상으로 실험군과 대조군으로 각각

20명씩 나누어 실험을 진행하였다. 대조군은 *E. angustifolia*이 함유되지 않은 미스트 제형을, 실험군은 *E. angustifolia*가 함유된 미스트 제형의 화장품을 사용하도록 하였다. 시험 완료 전까지 시험자와 피시험자 모두 유효성을 가진 시험물질을 알지 못하도록 이중 맹검법으로 시험을 진행하였다. 시험물질은 하루에 2회 아침과 저녁에 세안 직 후 4주간 사용하도록 하였다. 기기는 눈가 수분, 유분, 모공, 주름, 색소침착, 포르피린 변화를 측정하였다. 기기 평가는 시험물질 사용 전 0주차, 사용 후 4주차에 측정 및 평가를 실시하였다. 기기 측정 전 피부 상태를 동일하게 하기 위해서 피시험자들을 동일한 클렌징으로 세안을 하게 한 후, 30 min간 안정을 취하게 한 후 항온 항습실(온도: $22 \pm 1^\circ\text{C}$, 습도: $45 \pm 5\%$)에서 기기 측정을 실시하였다.

2) *E. angustifolia*를 함유한 미스트 제형의 화장품 제조

본 연구에 사용된 *E. angustifolia* 추출물이 함유된 화장품은 미스트제형으로 glycerin 5% (wt%), 1,2-hexanediol 2% (wt%)와 실험군을 위한 미스트에는 *E. angustifolia* 추출물이 1% (wt%) 포함되도록 제조하였으며, 대조군은 *E. angustifolia* 추출물 대신 동일 양의 정제수를 추가로 함유시켜 제조하였다.

3) 기기 및 피부측정

본 연구의 피부 측정에는 500만화소의 22개의 Multi-LED 칩을 이용한 AUTO Focusing 방식의 피부측정기(Will cam, Korea)를 사용하였다. 수분 측정은 센서를 피부 표면에 접촉시켜 피부 표면의 수분량(%)을 측정하였으며, 유분 측정에는 유분 종이를 이용하여 색상 차이(%)를 측정하였다. 포르피린은 UVL모드(UV광)를 사용하였으며, 모공의 경우는 VSL모드(일반광)를 사용하였다. 색소침착은 XPL모드(편광)를 사용하였으며, 주름은 VSL모드(일반광)를 사용하였다. 피부측정 부위는 안면의 오른쪽과 왼쪽 눈꼬리 쪽을 기준으로 지름 3 cm 길이(mm)와 면적(mm²)을 측정하였다. 측정부위의 정확도를 위하여 3회씩 반복 측정하였으며, 피부 기기 측정은 시험물질 사용 전과 사용 4주 후의 시점에서 이루어졌다.

7. 통계분석 및 개선율 분석

본 연구의 통계처리는 SPSS 17.0 for Windows 프로그램을 이용하여 분석하였으며, 피시험자들의 다양한 피부 개선도와 유의한 변화 여부를 분석하기 위하여 실험군 및 대조군을 Student's *t*-test를 통해 비교하였다.

Results and Discussion

1. HaCaT에 대한 세포 독성 측정(MTT assay)

Table 1은 *E. angustifolia* 추출물의 HaCaT에 대한 세포 독성 측

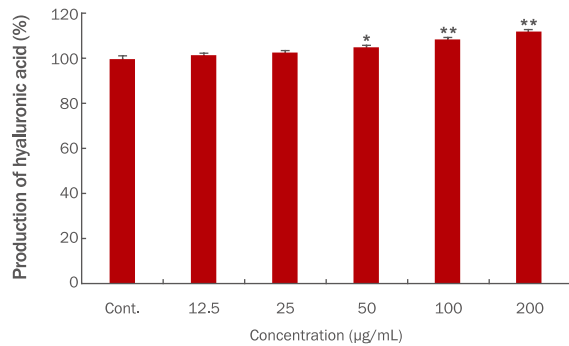


Figure 1. Hyaluronic acid production rate of HaCaT treated with *E. angustifolia* extract.

E. angustifolia extract were treated with varying HaCaT cell concentrations. Hyaluronic acid was calculated with the ELISA method. Values represent the mean±SD of three independent experiments (**p*<0.05; ***p*<0.01).

정 결과이다. 실험 결과 200 µg/mL 농도에서 93.94±1.10%, 100 µg/mL 농도에서 94.60±1.83%, 50 µg/mL 농도에서 96.15±2.39%, 25 µg/mL 농도에서 95.96±2.02%, 12.5 µg/mL 농도에서 98.72±1.47%로 나타났다. KS P ISO 10993-5의 기준에서 80% 이상의 세포생존율을 보일 경우 해당 농도에서의 세포독성은 없으므로 표기할 수 있으며, 본 실험에서 사용된 모든 농도에서 80% 이상의 세포생존율이 나타났으므로 세포독성이 없는 것으로 결론 지을 수 있다.

2. HaCaT에 대한 hyaluronic acid 측정

E. angustifolia 추출물의 hyaluronic acid 측정 결과는 Figure 1과 같으며, 실험 결과 200 µg/mL에서 112.05±1.31%, 100 µg/mL에서 108.85±0.94%, 50 µg/mL에서 105.33±1.02%, 25 µg/mL에서 102.82±0.69%, 12.5 µg/mL에서 101.69±0.93%으로 나타났다. 따라서 50 µg/mL부터 유의한 효과를 확인할 수 있었다.

E. angustifolia 추출물의 항산화능 및 항산화 물질에 대한 선행 연구에 따르면, *E. angustifolia* 추출물에는 폴리페놀과 플라보노이드가 함유되어 있는 것으로 나타났으며, 항산화능 역시 뛰어난 것으로 나타났다(Choi, 2022). 대표적인 플라보노이드인 quercetin과 kaempferol이 HaCaT세포의 hyaluronic acid 생성을 촉진한다고 보고되었으며(Kim *et al.*, 2005), 그 중 quercetin은 같은 속인 *Echinacea purpurea*에 포함되어 있다(Coelho *et al.*, 2020).

3. CCD986sk에 대한 세포 독성 측정(MTT assay)

Table 2는 *E. angustifolia* 추출물의 CCD986sk에 대한 세포 독성 측정결과이다. 실험 결과 200 µg/mL에서 86.09±2.32%, 100 µg/mL에서 92.46±2.90%, 50 µg/mL에서 93.04±0.87%, 25 µg/mL에서 94.49±1.74%, 12.5 µg/mL에서 96.81±0.87%으로 나타났다. HaCaT과 마찬가지로 KS P ISO 10993-5의 기준으로 본 실험에서 사용된 모든 농도에서 80% 이상의 세포생존율이 나타났으므로 세포독성이 없는 것으로 결론 지을 수 있다.

4. CCD986sk에 대한 콜라겐 측정

피부 진피에 대부분을 차지하고 있는 단백질은 콜라겐(collagen)

Table 1. *E. angustifolia* extract cytotoxicity on HaCaT

Concentration (µg/mL)	Mean (%)	S.D. (%)
Control	100.00	1.83
12.5	98.72	1.47
25	95.96	2.02
50	96.15	2.39
100	94.60	1.83
200	93.94	1.10

Data are means±S.D. of three experiments.

Table 2. *E. angustifolia* extract cytotoxicity on CCD986sk

Concentration (µg/mL)	Mean (%)	S.D. (%)
Control	100.00	1.45
12.5	96.81	0.87
25	94.49	1.74
50	93.04	0.87
100	92.46	2.90
200	86.09	2.32

Data are means±S.D. of three experiments.

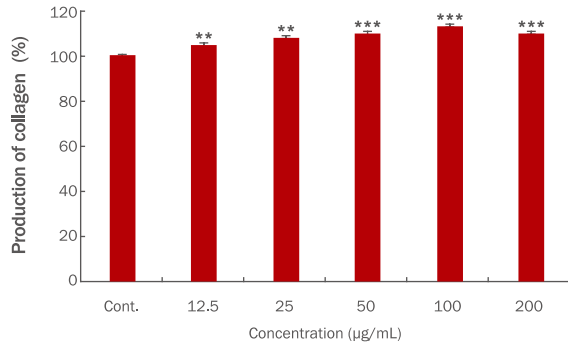


Figure 2. Collagen production rate of CCD-986sk treated with *E. angustifolia* extract.

E. angustifolia extract were treated with varying CCD-986sk cell concentrations. Collagen was calculated with the ELISA method. Values represent the mean±SD of three independent experiments (***p*<0.01, ****p*<0.001).

으로 90% 이상이 procollagen으로부터 생성되는 collagen type 1의 형태로 존재하며(Varani *et al.*, 2001), 발현량 감소는 건조한 피부 및 주름형성 등에 영향을 미친다. *E. angustifolia* 추출물의 collagen 측정 결과는 Figure 2와 같으며, 실험 결과 200 µg/mL에서 110.08±0.73%, 100 µg/mL에서 113.30±0.65%, 50 µg/mL에서 109.86±0.65%, 25 µg/mL에서 108.25±0.82%, 12.5 µg/mL에서 104.76±0.87%으로 나타났다. 따라서 collagen의 경우 12.5 µg/mL의 농도에서 유의성을 확인할 수 있었다.

Echinacea 추출물은 과거부터 플라보노이드 및 폴리페놀에 성분 에 의해 피부의 광노화를 막는다고 알려져 있으며(Facino *et al.*, 1995), 콜라겐 합성을 촉진시켜 상처 치료 속도를 증가시킨다고 알려져 있다(Zoutewelle & van Wijk, 1990).

5. *E. angustifolia* 추출물을 함유한 피부개선 효과

대조군과 실험군의 시험물질 사용 전, 사용 4주 후의 피부개선 효과는 Figure 3과 Table 3과 같다. Table 3에서와 같이 시험물질 사용 전과 비교하여 대조군과 실험군의 오른쪽과 왼쪽 눈 주위 피부 개선율(%)을 분석하였다. 수분의 경우 대조군은 2.85%, 실험군은

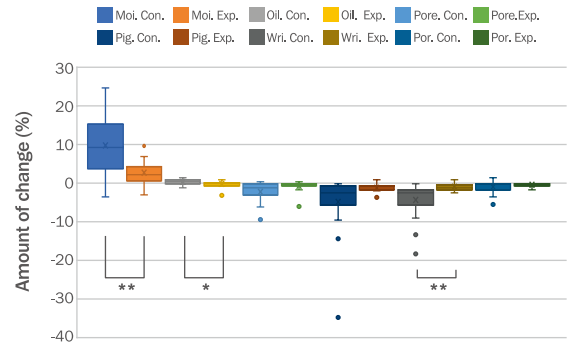


Figure 3. Test subject skin condition change of the experimental and control groups.

Test subject of experimental group were treated with *E. angustifolia* extract cosmetics. The six characteristics of skin were measured (moisture, oil, pore, pigmentation, wrinkle, and porphyrin) (**p*<0.05, ***p*<0.01).

10.00% 증가하였으며 *p*값은 0.001로 나와 통계적 유의성을 나타내었다. 유분의 경우 대조군은 -0.319% 감소하였으나, 실험군의 경우는 0.368% 증가하였으며, *p*값은 0.040로 나타나 통계적 유의성을 나타내었다. 모공의 경우 대조군은 -0.64%, 실험군은 -2.03% 감소하였으며, *p*값은 0.051로 나타나 통계적 유의성을 나타내지 못했다. 색소침착의 경우 대조군은 -0.972%, 실험군은 -4.79%로 감소하였으며, *p*값은 0.060로 나타나 통계적 유의성을 나타내지 못했다. 주름의 경우 대조군은 -0.92%, 실험군은 -4.39% 감소하였으며, *p*값은 0.007로 나타나 통계적 유의성을 나타내었다. 포르피린의 경우 -0.361%, 실험군은 -0.73% 감소하였으며, *p*값은 0.371로 나타나 통계적 유의성을 나타내지 못했다.



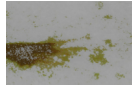
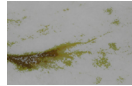
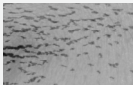
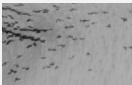
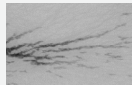
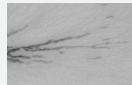




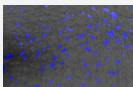
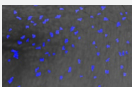
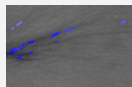
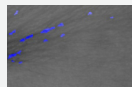
연구결과 실험군이 대조군에 비해 통계적으로 유의한 결과를 나타낸 지표는 수분, 유분, 주름이며, 이는 *E. angustifolia* 추출물이 본 논문의 세포실험에서 나타낸 결과를 뒷받침해주고 있다. 한편 Table 4의 기기측정 결과로 확인해 보면, 모공과 색소침착에서 통계적으로 유의성은 나타내지 못했지만 일정한 경향성을 보이고 있어 이에 대한 추가적인 연구가 필요할 것으로 예상된다.

Table 3. Clinical trial result *E. angustifolia* extract cosmetics

	Change of control group (%)	S.D. (%)	Change of experimental group (%)	S.D	<i>p</i>
Moisture	2.85	1.45	10.00	7.18	0.001**
Oil	-0.319	0.87	0.368	0.597	0.040*
Pore	-0.64	1.74	-2.03	2.58	0.051
Pigmentation	-0.972	0.87	-4.79	8.24	0.060
Wrinkle	-0.92	2.90	-4.39	4.88	0.007**
Porphyrin	-0.361	2.32	-0.73	1.69	0.371

p*<0.05; *p*<0.01.

Table 4. Clinical trial results of *E. angustifolia* extract cosmetics

Concentration (µg/mL)	Control		Experiment	
	Before	After	Before	After
Pigmentation				
Anti-wrinkle				
Anti-wrinkle 3D				
Porphyrin				

The change of pigmentation, anti-wrinkle, anti-wrinkle 3D, porphyrin between control group and experiment group.

Conclusion

본 연구에서는 *E. angustifolia* 추출물이 피부개선 효과를 확인하기 위하여, 화장품 원료로서 효능 및 피부개선 효과를 확인하였다.

CCD986sk과 HaCaT세포를 이용한 실험에서는 세포독성이 없는 것으로 나타났으며, 200 µg/mL에서 hyaluronic acid, 콜라겐 모두 통계적으로 유의미한 차이가 나타났다. 한편 화장품 적용 시 효능 여부를 확인하기 위해 실시한 시험결과에서도 *E. angustifolia* 적용한 화장품이 연구대상자들 피부에 영향을 주는 것으로 확인되었다. 본 연구 결과 수분, 유분, 주름에서 유의미한 개선효과가 나타났으며, 여드름균에 의해 생성되는 포르피린에 대한 결과는 유의미한 결과가 나타나지 않는 것으로 나타나 포르피린에 대한 항균효과에 관련해서는 관련이 없는 것으로 사료된다. 한편 모공과 색소침착의 경우는 유의미한 결과가 나타나지는 않았지만 일정한 경향을 확인할 수 있었다.

이러한 결과를 종합해 볼 때, *E. angustifolia* 추출물은 기능성 화장품 원료로서 보습 및 피부 탄력을 개선할 수 있는 기능성화장품 소재로서의 활용 가능성이 높음을 시사한다.

Author's contribution

IJC designed and performed experiments, analyzed data, and wrote the manuscript. All figures are created by the author.

Author details

In-Jeong Choi (Head of Research Institute), meeth R&D Institute, 7 Bongeunsa-ro, 84-gil, Gangnam-gu, Seoul 06163, Korea.

References

- Ågren MS, Schnabel R, Christensen L, Mirastschijski U. Tumor necrosis factor-α-accelerated degradation of type I collagen in human skin is associated with elevated matrix metalloproteinase (MMP)-1 and MMP-3 *ex vivo*. *European Journal of Cell Biology*, 94: 12-21, 2015.
- Brincat M, Kabalan S, Studd JWW, Moniz CF, de Trafford J, Montgomery J. A study of the decrease of skin collagen content, skin thickness, and bone mass in the postmenopausal woman. *Obstetrics and Gynecology*, 70: 840, 1987.
- Bilal M, Mehmood S, Iqbal HMN. The beast of beauty: environmental and health concerns of toxic components in cosmetics. *Cosmetics*, 7: 13, 2020.
- Chicca A, Adinolfi B, Martinotti E, Fogli S, Breschi MC, Pellati F, Benvenuti S, Nieri P. Cytotoxic effects of *Echinacea* root hexanic extracts on human cancer cell lines. *Journal of Ethnopharmacology*, 110: 148-153, 2007.
- Choi IJ. The antioxidant and anti-inflammatory activities of *Echinacea angustifolia* hot water extract. *Asian Journal of Beauty and Cosmetology*, 20: 373-381, 2022.
- Coelho J, Barros L, Dias MI, Finimundy TC, Amaral JS, Alves MJ, Calhelha RC, Santos PF, Ferreira ICFR. *Echinacea purpurea* (L.) Moench: chemical characterization and bioactivity of its extracts and fractions. *Pharmaceuticals*, 13: 125, 2020.
- Dogan Z, Ergul B, Sarikaya M, Filik L, Gonultas MA,

- Hucumenoglu S, Can M. The protective effect of *Echinacea* spp. (*Echinacea angustifolia* and *Echinacea purpurea*) in a rat colitis model induced by acetic acid. *Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences*, 27: 1827-1835, 2014.
- Del Rosso JQ, Levin J. The clinical relevance of maintaining the functional integrity of the stratum corneum in both healthy and disease-affected skin. *The Journal of Clinical Aesthetic Dermatology*, 4: 22-42, 2011.
- Enjoji M, Kotoh K, Iwamoto H, Nakamuta M, Nawata H. Selfregulation of Type I collagen degradation by collagen-induced production of matrix metalloproteinase-1 on cholangiocarcinoma and hepatocellular carcinoma cells. *In vitro Cellular & Developmental Biology-Animal*, 36: 71-73, 2000.
- Fisher GJ, Voorhees JJ. Molecular mechanism of photoaging in human skin *in vivo* and their prevention by all-trans retinoic acid. *Photochemistry and Photobiology*, 69: 154-157, 1999.
- Fisher GJ, Kang S, Varani J, Bata-Csorgo Z, Wan Y, Datta S, Bpprjees JJ. Mechanisms of photoaging and chronological skin aging. *Archives of Dermatology*, 138: 1462-1470, 2002.
- Facino RM, Carini M, Aldini G, Saibene L, Pietta P, Mauri P. Echinacoside and caffeoyl conjugates protect collagen from free radical-induced degradation: a potential use of *Echinacea* extracts in the prevention of skin photodamage. *Planta Medica*, 61: 510-514, 1995.
- Ghosh P. The role of hyaluronic acid (hyaluronan) in health and disease: interactions with cells, cartilage and components of synovial fluid. *Clinical and Experimental Rheumatology*, 12: 75-82, 1994.
- Hruza LL, Pentland AP. Mechanisms of UV-induced inflammation. *Journal of Investigative Dermatology*, 100: 35-41, 1993.
- Itano N, Kimata K. Mammalian hyaluronan synthases. *IUBMB Life*, 54: 195-199, 2002.
- Kao AP, Connelly JT, Barber AH. 3D nanomechanical evaluations of dermal structures in skin. *Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials*, 57: 14-23, 2016.
- Kim H, Shin JU, Lee KH. Atopic dermatitis and skin barrier dysfunction. *Allergy Asthma & Respiratory Disease*, 1: 20-28, 2013.
- Kim YA, Kim DH, Yu JM, Park CB, Park TS, Park BJ. Anti-wrinkle effects of extracts and solvent fractions from *Nymphoides peltata* on CCD-986sk. *Journal of Applied Biological Chemistry*, 60: 357-362, 2017.
- Kim SH, Nam GW, Kang BY, Lee HK, Moon SJ, Chang IS. The effect of kaempferol, quercetin on hyaluronan-synthesis stimulation in human keratinocyte (HaCaT). *Journal of the Society of Cosmetic Scientists of Korea*, 31: 97-102, 2005.
- Kim RH, Song JH, Shon MS, Chun KS, Choi SU, Kim GN. Evaluation of water extract prepared from *Chrysanthemum indicum* Linne as nutri-cosmetic and cosmetic material in vitro model. *Asian Journal of Beauty and Cosmetology*, 14: 78-88, 2016.
- Kang MS, Ha HY, Kim HT. An experimental study on the effect of *Angelica acutiloba* ethanol extract on hyaluronic acid synthesis. *The Journal of Korean Medicine Ophthalmology and Otolaryngol and Dermatology*, 28: 32-40, 2015.
- Kim NM, Koo BS, Lee SK, Hwang EI, So SH, Do JH. Effect of Korean red ginseng on collagen biosynthesis and MMP- I activity in human dermal fibroblast. *Journal of Ginseng Research*, 31: 86-92, 2007.
- Kumar KM, Ramaiah S. Pharmacological importance of *Echinacea purpurea*. *International Journal of Pharma and Bio Sciences*, 2: 304-314, 2011.
- Lamberg SI, Stoolmiller AC. Glycosaminoglycans. A biochemical and clinical review. *The Journal of Investigative Dermatology*, 63: 433-449, 1974.
- Lienert D, Anklam E, Panne U. Gas chromatography-mass spectral analysis of roots of *Echinacea* species and classification by multivariate data analysis. *Phytochemical Analysis*, 9: 88-98, 1998.
- Lee PJ, Kim HT, Yoon KS, Park HC, Ha HY. The effect of *Astragalus membranaceus* methanol extract on hyaluronic acid production in HaCaT cells. *The Journal of Korean Medical Ophthalmology and Otolaryngology and Dermatology*, 26: 75-81, 2013.
- Lamberg SI, Stoolmiller AC. Glycosaminoglycans. A biochemical and clinical review. *The Journal of Investigative Dermatology*, 63: 433-449, 1974.
- Matsumura Y, Ananthaswamy HN. Toxic effects of ultraviolet radiation on the skin. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 195: 298-308, 2004.
- Necas J, Bartosikova L, Brauner P, Kolar J. Hyaluronic acid

Anti-wrinkle and Moisturizing activity of *Echinacea angustifolia*

- (hyaluronan): a review. *Veterinari Medicina*, 53: 397–411, 2008.
- Papakonstantinou E, Roth M, Karakiulakis G. Hyaluronic acid: a key molecule in skin aging. *Dermato-Endocrinology*, 4: 253–258, 2012.
- Pellati F, Epifano F, Contaldo N, Orlandini G, Cavicchi L, Genovese S, Bertelli D, Benvenuti S, Cutini M, Bertaccini A, et al. Chromatographic methods for metabolite profiling of virus-and phytoplasma-infected plants of *Echinacea purpurea*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59: 10425-10434, 2011.
- Rittié L, Fisher GJ. Natural and sun-induced aging of human skin. *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine*, 5: a015370, 2015.
- Shim JH, Park SU. Anti-aging effects of *Diospyros kaki* Thunb. extracts in UVA-irradiated epidermal keratinocytes. *Asian Journal of Beauty and Cosmetology*, 15: 170-178. 2017.
- Sandilands A, Sutherland C, Irvine AD, McLean WHI. Filaggrin in the frontline: role in skin barrier function and disease. *Journal of Cell Science*, 122: 1285-1294. 2009.
- Siiskonen H, Oikari S, Pasonen-Seppänen S, Rilla K. Hyaluronan synthase 1: a mysterious enzyme with unexpected functions. *Frontiers in Immunology*, 6: 1-11, 2015.
- Sakai S, Yasuda R, Sayo T, Ishikawa O, Inoue S. Hyaluronan exists in the normal stratum corneum. *The Journal of Investigative Dermatology*, 114: 1184–1187, 2000.
- Stern R, Maibach HI. Hyaluronan in skin: aspects of aging and its pharmacologic modulation. *Clinics in Dermatology*, 26: 106-122, 2008.
- Song HJ, Mu HJ, Lee SH. Effect of ferulic acid isolated from *Cnidium Officinale* on the synthesis of hyaluronic acid. *Journal of the Society of Cosmetic Scientists*, 39: 281-288, 2013.
- Tammi R, Ripellino JA, Margolis RU, Tammi M. Localization of epidermal hyaluronic acid using the hyaluronate binding region of cartilage proteoglycan as a specific probe. *The Journal of Investigative Dermatology*, 90: 412-414, 1988.
- Varani J, Spearman D, Perone P, Fligiel SE, Datta SC, Wang ZQ, Shao Y, Kang S, Fisher GJ, Voorhees JJ. Inhibition of type I procollagen synthesis by damaged collagen in photoaged skin and by collagenase-degraded collagen *in vitro*. *The American Journal of Pathology*, 158: 931-942, 2001.
- Yu HY, Yang JJ, Lincha VR, Park IS, Lee DU, Shin HM. The effects of the fruits of *Foeniculum vulgare* on skin barrier function and hyaluronic acid production in HaCaT keratinocytes. *Journal of Life Science*, 25: 880-888, 2015.
- Zoutewelle G, van Wijk R. Effects of *Echinacea purpurea* extracts on fibroblast populated collagen lattice contraction. *Phytotherapy Research*, 4: 77-81, 1990.

국문초록

Echinacea angustifolia 추출물의 화장품 원료로서의 항주름 및 보습효과

최인정

meeth 기업부설연구소, 서울, 한국

목적: 본 연구에서는 *Echinacea angustifolia* (*E. angustifolia*) 추출물이 화장품 원료로서의 기능성을 확인하기 위해 보습 및 탄력 세포실험과 임상상을 통한 피부개선효과를 확인하였다. **방법:** HaCaT와 CCD986sk세포에 대해 MTT assay를 통한 세포독성 분석, HaCaT에 대한 hyaluronic acid 측정 및 CCD986sk에 대한 pro collagen acid를 측정하였다. **결과:** CCD986sk과 HaCaT를 이용한 세포 독성 실험결과, 200 µg/mL이하 농도에서는 세포독성이 없는 것으로 확인이 되었다. 그리고 200 µg/mL에서 hyaluronic acid, 콜라겐 모두 통계적으로 유의미한 차이가 나타났다. 한편 임상상을 통한 피부개선 실험에서는 수분, 유분, 모공, 색소침착, 주름, 포르피린 영역에서 대조군에 비해 높은 수치를 나타냈었으며, 특히 보습 및 주름에서는 유의미한 차이(각각 $p < 0.001$, $p < 0.01$)가 나타나 *E. angustifolia* 추출물이 함유한 화장품이 효능이 있음을 확인할 수 있었다. **결론:** 본 연구를 통하여 *E. angustifolia* 추출물은 보습 및 피부 탄력을 개선할 수 있는 기능성 화장품 원료로서의 기능성을 확인할 수 있었다.

핵심어: 에키네시아, 탄력, 보습, 화장품, 기능성화장품

참고문헌

- 김령현, 송지혜, 손명수, 전계식, 최선옥, 김교남. 감국 물 추출물의 미용기능식품 및 화장품 소재로서의 가능성 탐색. *아시안뷰티화장품학술지*, 14: 78-88, 2016.
- 강민서, 하현용, 김희택. 일당귀 에탄올 추출물의 Hyaluronic Acid 합성 효과에 대한 실험적 연구. *한방안이비인후피부과학회지*, 28: 32-40, 2015.
- 김나미, 구분석, 이성계, 황의일, 소승호, 도재호. 홍삼성분이 섬유아세포의 콜라겐 생합성과 MMP-1 활성에 미치는 영향. *Journal of Ginseng Research*, 31: 86-92, 2007.
- 김유아, 김동희, 유재묘, 박채빈, 박태순, 박병준. CCD-986sk 세포내에서의 노랑어리연꽃 추출물 및 분획물의 주름개선 효과. *Journal of Applied Biological Chemistry*, 60: 357-362, 2017.
- 김현정, 신정우, 이광훈. 아토피피부염과 피부 장벽 이상. *Allergy Asthma & Respiratory Disease*, 1: 20-28, 2013.
- 김승훈, 남개원, 강병영, 이해광, 문성준, 장이섭. 인체 피부 세포주 (HaCaT)에서 Kaempferol, Quercetin의 Hyaluronan 합성 촉진 효과에 대한 연구. *대한화장품학회지*, 31: 97-102, 2005.
- 심중현, 박선영. 자외선 조사에 의해 노화된 인간각질형성세포에서 감잎 추출물의 항노화 효능. *아시안뷰티화장품학술지*, 15: 170-178, 2017.
- 송혜진, 진무현, 이상화. 천궁으로부터 분리된 ferulic acid의 히알루론산 생성에 미치는 효과. *대한화장품학회지*, 39: 281-288, 2013.
- 이평재, 김희택, 윤경섭, 박현철, 하현용. 황기 메탄올 추출물이 HaCaT 세포에서 Hyaluronic acid 생성에 미치는 영향. *한방안이비인후피부과학회지*, 26: 75-81, 2013.
- 유학인, 양인준, 빅투루베리오린차, 박인식, 이동용, 신홍묵. HaCaT 세포에서 회향 열매의 피부장벽기능과 hyaluronic acid 생성에 미치는 영. *생명과학회지*, 25: 880-888, 2015.
- 최인정. *Echinacea angustifolia* 열수 추출물의 항산화, 항염 효과. *아시안뷰티화장품학술지*, 20: 373-381, 2022.

中文摘要

狭叶松果菊热水提取物的抗皱以及保湿作用

崔仁贞

meeth企业附属研究所, 首尔, 韩国

目的: 为了确认狭叶松果菊提取物作为化妆品原料的功能性, 通过保湿和弹力细胞实验和临床试验确认了皮肤改善效果。**方法:** 对HaCaT和CCD986sk 细胞, 通过MTT法测定细胞毒性, 在HaCaT细胞中测定透明质酸, 在CCD986sk细胞中 测定原胶原酸。**结果:** 对CCD986sk和HaCaT的细胞毒性试验的结果, 确认在200 μ g/mL以下的浓度不存在细胞毒性。在200 μ g/mL时, 透明质酸和胶原蛋白均显示出统计学上的显著差异。另一方面, 在通过临床试验进行的皮肤改善实验中, 与对照组相比, 水分、油脂、毛孔、色素沉着、皱纹和卟啉的含量更高, 特别是在保湿和皱纹方面观察到显著差异 ($p < 0.001$, $p < 0.01$)。证实含有狭叶松果菊提取物的化妆品是有效的。**结论:** 通过这项研究, 证实了狭叶松果菊提取物作为功能性化妆品原料的可能性, 可以改善保湿和皮肤弹性。

关键词: 狭叶松果菊, 弹力, 保湿, 化妆品, 功能性化妆品