

인간 섬유아세포 및 인간 각질형성세포에 대한 코브라 오일의 주름개선 및 노화 방지 효과

하창우¹, 김성혁¹, 장소희¹, 최정훈^{1,4}, 김경인², 윤보섭², 최영훈², 이진우³, 김수남³, 손은화^{1,4*}
¹강원대학교 바이오헬스융합학과, ²(주)톡시온, ³한국과학기술연구원 천연물연구소, ⁴유한책임회사 트루비연구소

Anti-wrinkle and Anti-aging Effects of Cobra Oil on Human Skin Fibroblasts and Keratinocytes

Chang-Woo Ha¹, Sung-Hyeok Kim¹, So-Hee Jang¹, Jung-Hun Choi^{1,4}, Kyung-In Kim²,
Bo-Sub Yoon², Young-Hoon Choi², Jin-Woo Lee³, Su-Nam Kim³, Eun-Hwa Sohn^{1,4*}

¹Department of Bio-Health Convergence, Kangwon National University

²TOXION Co., Ltd.

³Natural Products Research Institute, Korea Institute of Science and Technology

⁴TRUEBELAB LLC

요약 코브라 오일은 코브라 뱀(*Naja naja atra*)의 지방에서 추출한 오일로 전통적으로 인도와 동남아시아 지역에서 피부 및 관절 질환, 두통, 류마티즘 등의 치료에 사용되어 왔다. 본 연구에서는 인간섬유아세포(HDF)와 인간각질형성세포(HaCaT)를 이용하여 주로 민간요법으로 알려진 코브라 오일이 주름개선과 피부 항노화에 효과를 나타내는지 확인하고자 하였다(과학적 근거자료를 제시하고자 하였다). 실험에 사용된 코브라 오일 성분을 gas chromatography-flame ionization detector(GC-FID)로 분석하고, 자외선 B(UVB) 노출에 대해 HDF세포에서 MMP-1와 COL1A1의 mRNA의 발현조절로 주름개선 효과를 확인하고, 노화 마커 SA- β -gal 활성 억제효과와 HaCaT의 굽힘에 대한 상처닫힘 효과를 측정함으로써 코브라 오일이 항노화 효과를 측정하였다. 코브라 오일은 HDF 세포수를 증가시키고 MMP-1 발현을 감소시켰다($p < 0.01$). 코브라 오일은 UVB 광노화 조건에서도 감소된 HDF 세포수를 다시 증가시키고, 활성이 증가된 MMP-1의 발현과 SA- β -gal을 UVB를 조사하지 않은 대조군 수준으로 감소시켰다. 코브라 오일은 HaCaT의 굽힘 자극에 대하여 상처닫힘 효과를 증가시켰다. 실험에 사용한 코브라 오일은 1%에서부터 농도의존적으로 MMP-1 억제와 상처닫힘에 우수한 효과를 나타내었는데, 코브라 오일 10%에서 최대 반응 농도를 나타내었다. 이와 같은 결과는 코브라 오일이 주름 개선 및 항노화 효과 뿐만 아니라 피부재생과 관련한 광범위한 피부 건강 소재로 개발될 수 있을 가능성을 제시한다.

Abstract Cobra oil, extracted from the fat of cobra snakes (*Naja naja atra*), has traditionally been used in India and Southeast Asia to treat skin and joint diseases, headaches, and rheumatism. This study uses human dermal fibroblasts (HDF) and human keratinocytes (HaCaT) to determine whether the folk remedy cobra oil improves wrinkling and anti-aging of the skin. The composition of cobra oil used in the experiment was analyzed by gas chromatography-flame ionization detector (GC-FID), and the wrinkle improvement efficacy was confirmed by regulating the expressions of MMP-1 and COL1A1 mRNA in HDF cells exposed to ultraviolet B (UVB). The anti-aging effect of the cobra oil was measured by inhibiting the SA- β -gal activity and measuring the wound-healing effect on HaCaT migrations. HDF cells treated with cobra oil showed an increased count and decreased MMP-1 expression ($p < 0.01$). Exposure to cobra oil also increased the HDF cell count decreased under UVB photoaging conditions and decreased the increased expression of MMP-1 and SA- β -gal to levels of the non-UVB irradiated control group. Increased wound-healing effects were observed for HaCaT migrations in cobra oil-treated cells. Excellent dose-dependent efficacies from 1% onwards were obtained for MMP-1 inhibition and wound healing, with a maximum response at 10% concentration of cobra oil. These results indicate that cobra oil has the potential to be developed as a broad-spectrum skin health ingredient for improving wrinkling, anti-aging, and skin regeneration.

Keywords : Cobra Oil, Skin Aging, Ultraviolet B, Wound Closure, Wrinkless

본 연구는 중소벤처기업부 기술개발사업(S3209635) 지원을 받아 연구되었음.

*Corresponding Author : Eun-Hwa Sohn(Kangwon National Univ.)

email: ehson@kangwon.ac.kr

Received April 26, 2023

Revised May 30, 2023

Accepted June 2, 2023

Published June 30, 2023

1. 서론

피부노화(skin aging)란 노화에 따른 피부의 변화로 간단히 정의된다[1]. 노화가 진행되면서 피부 각질층은 장벽 기능이 약해지게 되어 수분 보유 능력이 감소하고 알러젠 및 유해물질에 쉽게 노출되어 피부 민감도가 증가한다. 이어 진피층의 노화는 collagen 및 fibronectin 과 같은 extracellular matrix(ECM)의 기능이 저하되어 피부는 얇고, 평평해지며, 주름이 발생하고, 탄력이 감소하며 피부위축과 건조증이 나타난다. 또한, 피부노화 과정은 모발, 땀샘, 피지샘 등 피부 부속기도 그 기능이 감소 하여 외부 자극에 의한 상처치유(wound healing)가 지연되기도 한다.

피부 노화를 일으키는 원인으로 크게 내인성 노화(intrinsic aging)와 외인성 노화(extrinsic aging)로 나누어 설명된다. 내인성 노화의 경우 자외선(ultraviolet; UV) 등 외부 자극에 노출되지 않는 피부에서 주로 관찰되는데 이는 collagen, elastin, fibronectin, proteoglycans 등으로 구성된 진피층내 ECM의 소실이 가장 큰 원인으로 인식되고 있다.

ECM은 세포와 세포사이 및 세포와 ECM간의 상호작용 및 신호전달에 관여함으로써 피부 세포의 이동과 분화 및 성장에 관여하며, 진피층에서 표피를 지지하고 피부의 전체적인 기계적 구조를 유지하는데 중요한 역할을 나타낸다. 특히, ECM에서 가장 높게 분포되어 있는 콜라겐 생성조절과 총량의 변화는 진피노화(dermal aging)의 주된 마커로 알려져 있다[2]. 또한, 피부내 콜라겐 양의 감소는 콜라겐이 부여하는 탄력성 뿐만 아니라 진피 섬유아세포와 ECM 사이의 물리적 상호작용을 감소시킴으로써 계속적으로 진피내 섬유아세포의 기능을 약화시키고 이는 콜라겐 합성기능 저하로 연결됨으로써 ECM의 콜라겐 양의 감소를 더욱 악화시킨다고 설명하였다[3]. 콜라겐은 피부에서 가장 풍부한 단백질로, 피부의 상처회복, 세포이동, 기관형성 및 여러 염증작용에도 관여한다고 알려져 있다[4].

외인성 노화의 주요 원인인 UV는 피부에 광손상(photodamage) 및 광노화(photoaging)를 일으킨다. UV는 파장의 길이에 따라 크게 UVA, UVB, UVC로 나누는데, 이 중 임상적으로 피부의 각질층과 진피층에 도달되어 피부 주름과 색소 침착, 피부 건조 및 탄력 소실과 같은 노화 과정을 촉진시키는 것은 UVB이다[5]. UVB는 콜라게네이즈(collagenase)의 일종인 matrix metalloproteinase(MMP)의 과발현을 유도하여 ECM

단백질을 분해함으로써 노화를 촉진시키고, 주름형성, 거친 피부, 피부건조, 상처치유 지연 등 피부 광노화의 주요 원인이 된다. UVB 자극에 의한 세포내 reactive oxygen species(ROS) 활성 증가가 진피세포의 콜라겐 합성관련 transforming growth factor-beta(TGF- β) 관련 신호전달경로를 억제하고, 콜라겐 분해효소 matrix metalloproteinases(MMPs)의 활성을 증가시킴으로써 결과적으로 피부내 콜라겐의 총량이 감소되면서 주름과 노화가 발생한다고 보고되고 있다[6].

콜라겐의 총량은 콜라겐의 합성과 분해과정의 균형으로 이루어진다. 콜라겐의 생산(collagen production)은 여러 단계의 복잡한 과정을 거치는데, 진피세포에서 유전자 조절로 생성된 콜라겐은 폴리펩타이드 체인 형태인 프리콜라겐(preprocollagen)과 프로콜라겐(procollagen)을 만들어 삼중나선구조를 형성하면서 세포밖으로 분비된다. 세포외 matrix 환경에 의해 콜라겐 섬유단백질은 축적되고 maturation을 거쳐서 교차연결(cross link)에 의해 안정화를 이루어 피부에 탄력성을 부여하는 콜라겐 구조체를 이루게된다. 이와 같이 콜라겐은 지지기능을 할 수 있는 완전한 기능적 구조체를 형성하기까지 복잡한 생성과 조립 및 축적 등의 단계를 거치며 각 단계가 세포내·외의 환경에 의해 영향을 받기 때문에, 실험적으로 콜라겐의 총량을 정확하게 측정하는 것은 아직 어려운 문제로 남아있다[7,8]. 이에 반하여, interstitial collagenase라고도 알려진 MMP-1은 주로 진피에서 collagen의 분해를 촉진하여 주름발생 및 피부 탄력 감소시킨다. 그에 따라, MMP-1의 억제 조절은 노화 자극에 대하여 콜라겐의 양을 조절하는 주요 마커로 이용된다[9].

UVB 노출에 대한 진피층의 노화는 콜라겐 합성 등 ECM 기질단백질을 생산하는 섬유아세포의 노화(dermal fibroblast aging) 즉, 세포 노화(cellular senescence) 측면에서 관찰될 수 있다. 세포노화의 표지 인자로 알려진 senescence-associated β -galactosidase(SA- β -gal) activity는 노화 세포에서 리소좀(lysosome)의 β -galactosidase의 발현이 증가하면서 그 활성이 증가하여 β -galactoside를 당당류로 가수분해하는 노화 관련 효소의 활성 정도를 나타내 것이다[10,11]. 따라서 UVB를 이용한 외인성 자극에서 세포노화를 유발하고 세포내 리소좀 효소 SA- β -gal의 활성조절을 측정하는 것은 진피세포의 광노화 자극에 대한 보호 효과를 측정할 수 유용한 방법이다.

천연 오일은 보습, 윤기, 영양공급, 진정 등과 관련하여

여 피부 건강을 유지하는데 흔히 사용되고 있다. 식물과 동물유래의 자연에서 채취한 천연 오일은 우수한 효능을 나타내는 포화지방산, 불포화지방산뿐만 아니라 다양한 미네랄을 함유하고 있어서 그 효과가 인공적으로 만들어지는 합성에스테르류(synthetic ester oil) 합성 오일과 달리 인체 친화적이고 안전하며 효과가 우수하다. 실제로 다양한 동물 및 식물자원에서 추출한 천연유래 오일에서 피부장벽을 수복하거나 피부를 보호하고 수분을 유지하는 다양한 생리활성물질이 보고되고 있으며, 항균, 항염증, 상처치유, 항염증, 항암 효과 등 다양한 효능을 가진 기능성 물질이 보고되고 있다[12,13].

뱀오일(snake oil)은 전통적으로 동서양 의학사에서 피부병에 바르면 좋은 약재로 알려져 있다[14]. 동의보감(東醫寶鑑)에 수록된 임상 사례에 의하면 뱀기름을 사고(蛇膏)라 하여 꺾병치료에 쓰였고, 중의학에서는 관절 통증질환을 치료하기 위해서 사용되었다. 태국에서는 코브라 오일을 상처치료, 근육통, 피부괴사 등의 치료에 이용하고 있다. 몇몇의 학술문헌에서 피부질환에 대한 뱀오일의 전통적인 사용에 대하여 과학적 근거를 제시하고 있는데, Khunsap(2020) 등은 코브라 오일이 SK-MEL-28 세포에서 세포사멸을 유도하고 세포 수축을 유도하여 피부 흑색종을 완화시켰다고 보고하였다[15]. Olaitan(2011) 등은 보아뱀(Boa constrictor) 오일이 섬유아세포의 비정상적인 증식으로 인한 켈로이드 반흔(keloid scar)에서 섬유아세포의 성장을 억제하여 켈로이드 치료에 이용될 수 있음을 제시하였다[16]. 다른 식물성 유래 천연자원과 같이 뱀류도 종류에 따라 지방산의 구성이 다르고 포화지방산과 불포화지방산의 비율이 다르게 나타나지만, 대부분의 뱀오일은 oleic acid, palmitic acid, linoleic acid, eicosapentaenoic acid 등으로 보고되고 있다[13]. 본 연구에서는 전통지식에 기반한 뱀오일 사용에 대한 과학적 근거를 제시하고 인체에 적용하기에 더욱 안전하고 효과적인 조건을 규명하기 위하여 GC-FID 분석기술을 이용하여 코브라 오일의 성분을 분석하고 2020년 9월 개정된 식품의약품안전처 주름개선 기능성 화장품 원료 개발에 적합한 평가방법에 기초하여 MMP-1의 발현 조절을 측정하고 SA- β -gal 발현과 상처 굽힘에 대한 개선효과 등을 측정함으로써 코브라 오일이 주름개선 및 피부 항노화 효과를 가지는 기능성 소재임을 제시하고자 하였다.

2. 재료 및 방법

2.1 코브라 오일의 제조

본 연구에 사용된 코브라 오일은 Naja naja atra의 지방 조직에서 저온추출한 오일로 (주)특시온(Gunpo, Korea)에서 제공받아 사용하였다. 코브라 오일의 산화방지를 위해 0.8%의 magnolol을 첨가하였으며, 코브라 오일은 -20°C에 밀폐하여 보관하였다. 실험에 사용한 모든 코브라 오일은 산기측정지(Minnesota mining and manufacturing company, MN, USA)를 통해 산화되지 않았음을 확인하고 실험을 진행하였다.

2.2 시약 및 재료

본 실험에 사용한 Dulbecco's Modified Eagle's Medium(DMEM)과 phosphate buffer saline(PBS)는 Welgene(Daegu, Korea)에서, fetal bovine serum(FBS)과 penicillin/streptomycin은 각각 GenDEPOT(Katy, TX, USA)과 Gibco(Grand Island, NY, USA)에서 구입하여 사용하였다. 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide(MTT)와 Dimethylsulfoxide(DMSO)는 Sigma-Aldrich(St. Louis, MO, USA)에서 구입하여 사용하였으며, SA- β -gal kit는 BioVision(Milpitas, CA, USA)에서 구입하여 사용하였다. 그 외 언급되지 않은 시약들은 Sigma-Aldrich(St. Louis, MO, USA)에서 구입하여 사용하였다.

2.3 지방산 분석 및 기체크로마토그래피 조건

지방산 분석을 위한 시료의 메틸에스테르화는 Association of Official Analytical Chemists(AOAC) 963.22 분석법을 사용하였다[17]. 지방 추출 후 메탄올성 수산화나트륨용액으로 알칼리염을 만든 후 트리플루오르메탄올(boron trifluoride methanol)용액을 가하여 가열을 통해 메틸에스테르화(fatty acid methyl ester, FAME)로 유도체화 시킨 후 이소옥탄(iso-octane)에 녹여 SP-2560(100 m \times 0.25 mm, 0.2 μ m)가 장착된 Gas chromatography-flame ionization detector(GC-FID) GC장비를 이용하여 지방산 분석을 진행하였다. GC-FID 분석은 주입부 온도: 220°C, 검출기 온도: 285°C, 유량: 헬륨(He) 0.75 mL/min, 컬럼 온도: 100°C에서 4분간 유지 후 3°C/min의 비율로 240°C까지 온도를 상승시킨 뒤 15분 이상 유지, split ratio 200:1, 주입량 1 μ l로 하였다. GC-FID 분석결과는 각 지방산의 메틸에스테르(methyl ester)이므로 각 지방산 별 전환 계수를 이용하여 해당지방산으로 전환하였다. 트랜스(trans)형의 지방

산의 경우 동일한 분자량을 갖는 시스(cis)형 지방산과 동일한 전환 계수를 이용하여 전환하였다.

2.4 세포배양

Human dermal fibroblast(HDF)는 Gibco(Grand Island, NY, USA)에서, Human keratinocyte(HaCaT) 세포는 CLS Cell Lines Service(Eppelheim, Baden-Wurttemberg, Germany)에서 분양받아 실험에 사용하였다. HDF 및 HaCaT 세포는 DMEM에 10% FBS, 100 U/ml penicillin, 100 µg/ml streptomycin을 첨가한 배지를 사용하여 단층으로 37°C, 5% CO₂ 배양기 (Forma Direct Heat CO₂ Incubator, Thermo Fisher Scientific, Madison, WI, USA)에서 배양하였다.

2.5 UVB 조사

광노화를 유도하기 위해 UVB를 조사하였다[18]. HDF 세포주를 96-well plate에 1 × 10⁴ cells/well, 24-well plate에 5 × 10⁴ cells/well, 6-well plate에 2 × 10⁵ cells/well로 분주하여 배양하였다. 세포가 부착된 후 FBS가 없는 DMEM을 첨가하여 4시간 동안 배양한 후 PBS를 넣고 UVB 램프(Sankyo Denki, G8T5E, Kanagawa, Japan)가 장착된 UVC 500 UltraViolet Crosslinker(Amersham, Bucks, England)를 이용하여 10, 30 mJ/cm²로 UVB를 조사하였다. 세포를 PBS로 세척 후 코브라 오일을 농도별로 처리하고 24시간 동안 추가 배양하였다. 대조군은 UVB 조사 없이 동일한 조건으로 진행되었다.

2.6 세포 생존율 측정(MTT assay)

코브라 오일의 HDF, HaCaT 세포에 독성이 나타나는 농도를 확인하기 위해 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide(MTT) 분석법을 이용하여 확인하였다[19]. 96-well plate에 HDF 세포를 1 × 10⁴ cells/well의 세포 수로 부착한 후, 코브라 오일을 농도별로 처리하여 24시간 동안 배양하였다. 5 mg/ml의 MTT를 첨가하고 3시간에서 4시간 동안 반응한 후 상등액을 제거하였다. 형성된 formazan을 DMSO 200 µl에 녹이고 microplate reader VICTOR X3(PerkinElmer, Waltham, MA, USA)를 이용하여 540 nm에서 흡광도를 측정하였다. 세포 생존율은 대조군과 비교하여 흡광도의 백분율로 표시하였다.

2.7 qRT-PCR

주름 개선 효능을 평가하고자 real-time quantitative reverse transcription polymerase chain reaction (qRT-PCR)로 실시하였다[20]. Trizol™(Ambion, Thermo, USA)를 이용하여 total RNA를 추출하였고 cDNA 합성 키트(ECDNA100, NanoHelix, Daejeon, Korea)를 이용하여 cDNA를 합성하였다. 이후 프리미어 qPCR 키트(PQL-S500, NanoHelix, Daejeon, Korea)를 사용하여 PCR을 증폭하였다. cDNA 합성 조건은 65°C에서 5분간 RNA denaturation 시킨 후 42°C에서 1시간 동안 cDNA를 합성하고 95°C에서 5분간 reverse transcriptase를 불활성화시켰다. PCR 조건은 95°C에서 30초간 pre-denaturation을 한 후 95°C에서 5초, 60°C에서 30초를 40 cycle로 반응하여 원하는 형광값을 검출하였다. 사용된 프라이머 서열은 다음과 같다.

Table 1. The primer sequence for qRT-PCR

Genes		Primer sequence
MMP-1 ¹⁾	F	AGT GGC CCA GTG GTT GAA AA
	R	CCA CAT CAG GCA CTC CAC AT
COL1A1 ²⁾	F	AGT GGT TTG GAT GGT GCC AA
	R	GAC CTT CAG AGC CTC GGG
GAPDH ³⁾	F	GTG GCA AAG TGG AGA TTG CC
	R	GAT GAT GAC CCG TTT GGC TCC

¹⁾MMP-1: matrix metalloproteinase-1, ²⁾COL1A1: collagen type I alpha 1 chain, ³⁾GAPDH: glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase.

2.8 Senescence-associated beta-galactosidase (SA-β-gal) 활성 측정

세포 노화를 측정하기 위해 바이오마커로 알려져 있는 세포 내 β-galactosidase를 염색하는 방법인 SA-β-galactosidase assay를 수행하였다[10]. 24-well plate에 HDF 세포를 0.5 × 10⁵ cells/well로 분주하여 배양하였다. 세포가 부착된 후 30 mJ/cm² 조사량으로 UVB를 노출시키고 세포를 PBS로 세척 후 코브라 오일을 농도별로 처리하고 24시간 동안 배양하였다. 코브라 오일 처리시간 후 모든 실험군은 배양액을 제거하고 PBS로 wash한 후 세포를 고정시키기 위해 fixative solution 500 µl를 첨가하여 상온에서 15분간 방치하였다. 고정화된 세포는 PBS로 wash한 후, staining solution 혼합액(staining solution 470 µl, staining supplement 5 µl, 20 mg/ml X-gal in DMSO 25 µl)을

500 μ l씩 첨가한 뒤 37°C에서 24시간 동안 배양하여 세포를 염색하였다. 염색된 세포를 현미경용 카메라 DigiRetina 16 Camera (Tucsen Photonics Co. Ltd., Fuzhou, China)를 이용하여 촬영한 뒤, 촬영한 이미지는 전체 세포에서 염색된 세포의 비율을 통해 세포 노화 정도를 확인한 후 수치화하였다.

2.9 각질형성세포의 상처닫힘 효과

상처닫힘 효과를 확인하기 위해 Wound Healing Assay를 수행하였다[21]. 96-well plate에 HaCaT 세포를 8×10^5 cells/well의 세포수를 부착한 후, 세포의 수가 80%에서 90% 정도 채워졌을 때 FBS 무첨가(serum free) 배지로 교체하여 12시간 동안 starvation 시켰다. 각 well에 200 μ l의 pipette tip을 이용하여 스크래치한 후, 코브라 오일을 농도별 처리하여 24시간 동안 배양하였다. 현미경용 카메라 DigiRetina 16 Camera (TUCSEN, Fuzhou, China)를 이용하여 12시간, 24시간 배양 후에 PBS로 세포를 세척한 다음 촬영하고, 촬영된 이미지는 image J soft ware 프로그램(National Institutes of Health, Bethesda, MD, USA)을 이용하여 상처닫힘 정도를 수치화하였다.

2.10 통계분석

모든 데이터는 5회 반복한 값을 평균 \pm 표준편차

(means \pm SD)로 나타내었고, 각 그룹 간의 유의성은 Window 용 SPSS 19.0 version(SPSS, Inc., Chicago, IL, USA)를 이용하여 one-way analysis of variance (ANOVA)로 Tukey HSD 다중분석법을 사용하여 사후 검증 하였으며, P 값은 0.05 미만일 때 통계적으로 유의성이 있다고 간주하였다.

3. 결과 및 고찰

3.1 코브라 오일의 지방산 분석

코브라 오일의 지방산 성분 조성비는 Association of Official Analytical Chemists(AOAC) 공인분석법(AOAC 963.22)에 따라 GC-MS를 이용하여 확인하였다.

분석 결과, 코브라 오일의 불포화지방산으로는 팔미톨레산(palmitoleic acid, C16:1), 올레산(oleic acid, C18:1 n9, cis), 리놀레산(linoleic acid, C18:2 n6, cis), 알파-리놀레산(α -linoleic acid, C18:3 n3), 감마-리놀레산(γ -linoleic acid, C18:3 n6) 등이 확인되었다. 포화지방산으로는 미리스틴산(myristic acid, C14:0), 팔미트산(palmitic acid, C16:0), 스테아르산(stearic acid, C18:0) 및 아라키드산(arachidic acid, C20:0)이 확인되었다[Table 2]. 본 연구결과에서 나타난 코브라 오일의 성분 구성과 그 비율, 특히 올레산(42.8%), 팔미

Table 2. Fatty acid composition of cobra oil

Fatty acid	IUPAC name	Abbreviation	Relative amount (%)
Myristic acid	Tetradecanoic acid	C14:0	0.4
Palmitic acid	Hexadecanoic acid	C16:0	24.2
Stearic acid	Octadecanoic acid	C18:0	7.9
Arachidic acid	Eicosanoic acid	C20:0	0.1
Palmitoleic acid	Hexadecenoic acid	C16:1	2.2
Oleic acid	9-Octadecenoic acid	C18:1-cis(n9)	42.8
Linoleic acid	9,12-Octadecadienoic acid	C18:2-cis(n6)	17.7
α -Linoleic acid	9,12,15-Octadecatrienoic acid	C18:3(n3)	0.4
γ -Linoleic acid	6,9,12-Octadecatrienoic acid	C18:3(n6)	0.1
Gadoleic acid	9-Eicosenoic acid	C20:1(n11)	0.7
Eicosadienoic acid	11,14-Eicosadienoic acid	C20:2(n6)	0.2
Eicosatrienoic acid	11,14,17-Eicosatrienoic acid	C20:3(n3)	0.3
Erucic acid	13-Docosenoic acid	C22:1(n9)	0.1
Docosahexaenoic acid	4,7,10,13,16,19-Docosahexaenoic acid	C22:6(n3)	0.7
Nervonic acid	15-Tetracosenoic acid	C24:1(n9)	0.1
Total amount of saturated fatty acids			32.6
Total amount of unsaturated fatty acids			65.3

트산(24.2%), 리놀레산(17.7%) 등을 포함한 오일의 용량과 효능 사이의 상관관계에 대한 연구는 더 이루어져야 할 것으로 보인다.

3.2 코브라 오일의 세포 독성 평가

코브라 오일이 피부의 항상성 유지에 중요한 진피 섬유아세포에 미치는 영향과 효능을 평가하기 위하여 세포 독성 및 안전성을 확인하고 유효 농도를 설정하고자 인간 진피섬유아세포 HDF를 이용하였다. 코브라 오일의 농도범위를 0.01 ~ 20%(v/v)로 정하여 세포 생존율을 측정된 결과, 코브라 오일 저농도 0.01%(v/v)에서는 대조군과 동일한 수준의 세포 생존율을 보였고, 2%에서부터는 오히려 농도 의존적으로 세포 생존율이 증가하였다. 즉, 실험에 사용한 농도 범위에서는 세포 독성이 전혀 나타나지 않았으며, 코브라 오일 20%(v/v)에서는 진피섬유아세포가 134.07% 증식한 결과가 나타났다[Fig. 1A].

280 nm - 320 nm 파장 자외선인 UVB는 일광화상, 과색소침착, 일광각화증, 일광탄력증 및 피부 노화를 일으키는 가장 대표적인 외부 피부 자극 요인이다. 이에 코브라 오일에 의해 세포독성이 나타나지 않은 세포 생존율 결과에서 UVB 노출에 대한 코브라 오일의 독성효과를 재확인하였다. HDF 세포는 UVB(30 mJ/cm²)를 조사한 경우 세포 생존율이 대조군에 비해 약 77.98%까지 감소하였다.

UVB 조사에 대한 세포 생존수의 감소에 대해 코브라 오일은 20% 처리군을 제외하고 모두 회복 효과가 나타났다. 10% 코브라 오일 처리군에서는 UV 손상에 대해 생존율이 27.97% 증가함으로써 대조군 정상 수준으로 회복되었다. 이는 코브라 오일이 UVB에 의한 세포 광독성에 대해 회복효과가 있음을 의미한다[Fig. 1B].

단일성분이 아니고 다양한 유효성분들이 포함된 천연 소재의 경우, 농도가 증가하더라도 최대 반응(maximal response) 농도에 도달하면 더 큰 효과를 일으키지 못하는 현상이 나타날 수 있다[22]. UV 노출에 대한 세포독성에 대한 코브라 오일의 회복 효과에 있어서 최대 반응 농도가 나타난 것으로 보이며, 10~20% 미만으로 예측된다[Fig. 1B]. 그러나, 본 결과와 다르게 UV를 조사하지 않은 동일한 HDF 세포에서는 코브라 오일 20%에서도 세포수가 유의적으로 증가하였다[Fig. 1A].

Kejlová K(2010) 등과 Hudson과 Towers(1991)는 화장품에 사용하는 에센셜 오일과 많은 천연소재들이 잠재적 광과민제(photosensitizer) 효과를 나타낼 수 있으며, 이는 천연 소재가 특정 빛의 파장에 의해 광과민 반

응을 일으켜 세포 독성이 증가될 수 있다고 보고하였다[23]. 따라서 HDF 세포를 유의적으로 증가시켰던 20%의 코브라 오일이 UV에 노출된 HDF 세포에서 효과를 나타내지 않은 결과는 코브라 오일 20% 이상의 농도에서는 광과민성 반응이 나타날 수 있을 가능성을 보여준다. 향후 코브라 오일에 대한 성분 함량과 광과민성 반응에 대한 연구가 필요할 것으로 보인다.

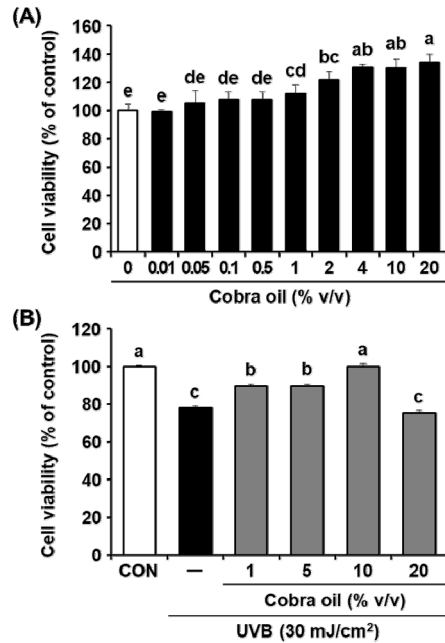


Fig. 1. Cytotoxicity of cobra oil in HDF cells. (A) HDF cells were treated with different concentrations of cobra oil(% volume per volume; v/v) for 24 h. (B) HDFs were treated with cobra oil after UVB exposure(30 mJ/cm²). The cell viability was determined by using the MTT assay. P values were calculated by ANOVA and Tukey HSD test.

3.3 코브라 오일의 UVB 조사에 따른 MMP-1 및 COL1A1 mRNA 발현 효과

MMP-1은 주로 진피에서 collagen의 분해를 촉진하여 주름발생 및 피부 탄력을 감소시킨다. 그에 따라, MMP-1의 억제조절은 노화 자극에 대하여 콜라겐의 양을 조절하는 주요 마커로 이용된다[9].

MMP-1은 콜라겐을 분해하는 효소로서, MMP-1의 과다 발현은 콜라겐과 ECM 분해를 촉진하고, 진피층의 위축과 피부 주름, 탄력 상실 및 수분 소실 등 진피세포 노화반응 촉진에 크게 작용한다. 그에 따라, MMP-1의

억제조절은 노화 자극에 대하여 콜라겐의 양을 조절하는 주요 마커로 이용된다. 본 연구에서는 코브라 오일의 주름개선 효과를 확인하기 위해 식품의약품안전처에 고시되어 있는 “피부의 주름개선에 도움을 주는 기능성화장품 유효성평가 가이드라인”의 방법으로 UVB(10 mJ/cm²)의 조사와 UVB를 조사하지 않은 HDF 세포에서 MMP-1의 mRNA 발현을 측정하였다. 측정 결과, 코브라 오일을 사용한 모든 농도에서 MMP-1 mRNA 발현을 농도 의존적으로 크게 억제시켰다. 코브라 오일 1, 5, 10, 20%(v/v)에서 대조군 대비 약 0.22배, 0.47배, 0.61배, 0.67배 MMP-1 발현을 유의적으로 크게 억제시켰으며, 이는 양성대조군인 TGF-β(10 ng/ml) 효과와 근접한 억제율이다[Fig. 2A].

이 실험은 식약처가 제안하는 UVB노출량에 대한 주름형성자극에 대해서 MMP-1의 발현을 감소시켜서 주름에 기능성을 가지고 있음을 나타낸다. 2020년 9월에 개정된 식약처가 주름개선 기능성 평가에 의하면 MMP-1의 발현을 UVB(10 mJ/cm²) 노출조건에서의 MMP-1 하향조절 효과를 언급하고 있다. 이에 동일조건에서 코브라 오일을 처리한 MMP-1의 발현을 측정하였다. 실험결과 UVB 노출에 대하여 콜라겐을 분해하는 MMP-1 발현이 25%로 크게 증가하였다. 그러나 동일한 UVB 노출조건에서 1, 5, 10, 20%로 코브라 오일을 처리한 군은 UVB 노출에 의한 MMP-1의 발현을 각각 38%, 44%, 51%, 63%로 모두 유의적으로 억제되었다 [Fig. 2B]. 이는 양성대조군으로 사용한 TGF-β(10 ng/ml) 처리군과 근접한 억제결과를 나타내었다. 코브라 오일은 UV 노출과 상관없이, 즉 내인성 노화 및 외인성 노화 요인에 영향을 미치는 것으로 사료되며, 두 조건에서 모두 MMP-1의 발현을 크게 억제하여 주름개선과 피부 노화에 효능을 나타내는 것으로 판단된다.

본 연구와 유사하게 Si(2019) 등은 *Deinagkistrodon acutus* 뱀에서 추출한 오일을 국소적으로 도포하였을 때 UVB로 자극시킨 생쥐의 피부에서 MMP-1 함량이 감소되고, 콜라겐의 주요 단백질 hydroxyproline이 증가하였다고 보고하였다. 연구팀은 뱀유와 뱀유를 구성하는 주요 지방산 혼합물 9-octadecenoic acid(44.65%), hexadecanoic acid(27.88%), octadecanoic acid(14.7%)이 UVB 노출에 대한 표피 비후와 콜라겐 감소 억제효과를 나타냄으로써, 뱀유를 구성하는 주요 지방산이 주름 개선에 영향을 미친다고 보고하였으며, 지방산 외에 뱀유의 아연(Zn), 구리(Cu), 철(Fe), 셀레늄(Se) 등의 미량원소가 UVB 노출에 대한 항염증효과를

더욱 높인다고 설명하였다[14]. Kim(2005) 등도 오메가-3로 알려진 불포화지방산 eicosapentaenoic acid가 UVB 노출로 증가된 MMP-1을 감소시킨다고 보고한 바 있다[24]. 이와 같은 연구결과에 근거하면 *Deinagkistrodon acutus* 뱀유와 유사한 지방산 구성비를 가진 코브라 오일의 MMP-1 억제와 COL1A1 mRNA 발현 증가 효과는 코브라 오일의 주요 지방산들 9-octadecenoic acid(42.8%), hexadecanoic acid(24.2%), 9,12-octadecadienoic acid(17.7%)이 주름 개선 효과에 일부 영향을 미쳤다고 예측할 수 있다.

본 연구에서 코브라 오일은 쉽게 산패되지 않도록 하기 위해 항산화제로 magnolol 0.8%를 함유하였다. Ji(2020) 등은 magnolol 5, 10, 20 μM이 Jak/STAT pathway를 통해 UVB 자극으로 증가된 MMP-9과 TNF-α 생성을 감소시켰다고 보고하였다. 그러나 같은 조건에서 magnolol은 MMP-1과 MMP-3 증가에는 영향을 미치지 않았다[25]. 이러한 결과는 본 연구에서 나타난 뱀유의 주름 개선 효과가 일부 산화방지제로 첨가된 magnolol의 영향에 의한 것일 수는 있으나, magnolol은 UVB 노출 조건에서 MMP-1에 대한 조절 효과를 나타내지 않았다. 이는 뱀유가 단독으로 magnolol 처리와 상관 없이 MMP-1 감소에 대한 주름 개선 효과를 나타낼 수 있음을 말해준다.

COL1A1은 콜라겐 섬유의 전구체 프리콜라겐(precollagen)을 합성하는 유전자이다. 동일한 UVB 노출조건에서 MMP-1과 COL1A1 발현을 비교하기 위하여 UVB 조사에 따른 코브라 오일의 COL1A1 mRNA 발현량을 측정하였다. 실험결과 UVB(10 mJ/cm²) 노출에 대하여 COL1A1 발현량에 감소 효과를 나타내지 않았다. 이는 식약처가 제안하는 UVB 조사선량이 MMP-1의 발현을 증가시키는 데는 유의적이지만, COL1A1 발현 감소를 유도하는 데는 효과적이지 않다는 것을 보여주었다. 코브라 오일에 대한 효과에서도 UVB 노출에 대한 COL1A1 발현에 코브라 오일은 영향을 미치지 않았다. 그러나, 코브라 오일 20%에서는 예상과 달리 COL1A1 발현을 오히려 유의적으로 감소시켰다[Fig. 2C]. 이러한 결과는 Fig. 1B에서 나타난 코브라 오일 20% 이상의 농도에서 나타날 수 있는 광과민성 반응으로 유추할 수 있다.

마유(horse oil), 밍크 오일(mink oil), 오소리 오일(badger oil) 등 뱀유와 같은 동물성 오일은 주름 개선을 주장하는 제품이 많이 출시되고 있지만, 실제 주름 개선 효능에 대한 실험적 연구는 많이 이루어지지 않고 있다. Piao(2019) 등은 마유가 UVB 노출에 의한 각질형성세

포의 활성산소종 발생을 제거하고 MMP-1의 발현을 억제함으로써 피부 노화 개선에 효과가 있다고 있다고 발표하였다. 연구팀은 마유를 구성하는 지방산 조성에 대하여 32.5% 또는 37.7%로 가장 많이 차지하는 oleic acid가 항산화 효과를 가장 크게 나타낸다고 보고하였다 [26]. 뱀유를 포함한 동물성 오일에 대한 연구는 오일을 구성하는 지방산과 다양한 미량 원소에 대한 효능 연구가 더 과학적으로 이루어져야 할 것으로 보인다.

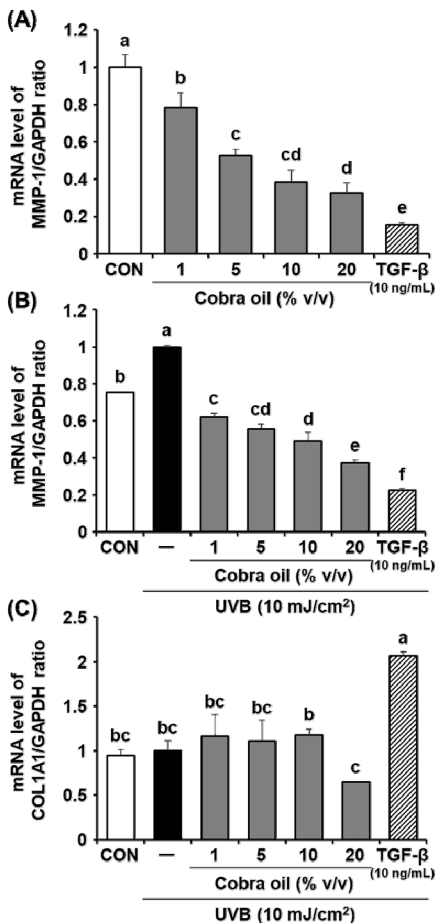


Fig. 2. mRNA expression levels of MMP-1 and COL1A1 genes in HDF cells. Cells were treated with cobra oil(% volume per volume; v/v) for 24 h and mRNA expression levels of MMP-1 (A) was determined using qRT-PCR. After UVB insult, cells were treated with or without cobra oil, and mRNA expression levels of MMP-1 (B) and COL1A1 (C) were determined. P values were calculated by ANOVA and Tukey HSD test.

3.4 코브라 오일의 UVB 조사에 따른 SA-β-gal 활성 효과

SA-β-gal은 세포가 정상적인 분열을 멈추고 세포 노화 과정을 겪을 때 활성화되는 효소로 노화된 세포에서 높은 농도로 발견되기 때문에 노화와 관련된 세포 집적 (accumulation) 상태에서 발견된다. 이 효소는 UVB 노출에 의한 광노화 반응에서도 활성이 증가되어 피부 세포의 노화 정도를 평가하는 바이오 마커로 활용되고 있다[27]. 본 연구에서는 코브라 오일이 진피 섬유아세포에서 항노화 효과가 있는지 확인하기 위해 UVB로 노출시킨 HDF 세포에서 SA-β-gal 활성을 측정하였다. 측정 결과, UVB(30 mJ/cm²)를 조사한 실험군에서 SA-β-gal 물질의 활성이 대조군에 비해 3.59배 높아져서 노화세포의 특징을 나타내었다. 그러나, UVB를 조사하고 코브라 오일을 처리한 군은 모두 오일을 처리하지 않고 UVB만을 노출시킨 실험군에 비해 농도의존적으로 현저하게 억제되었으며, 이는 UVB를 처리하지 않은 대조군 수준까지 나타냈다[Fig. 3A-B]. 이와 같은 결과는 코브라 오일이 1% 저농도에서도 유의성 있는 항노화 효과를 나타내며(*p*<0.01), 코브라 오일 10%에서부터는 정상수준으로 회복시키는 우수한 효과가 있음을 나타낸다.

3.5 코브라 오일의 굽힘에 대한 각질형성세포의 상처달힘 효과

자연 노화에 의한 내적 요인과 광노화 같은 외적 요인에 의해 노화가 진행됨에 따라 피부 기능은 약화 된다. 노화된 피부는 정상적인 상처치유에 효과를 나타내지 못하고 외부 자극에 쉽게 노출되면서 병원성 미생물 및 알러젠 유입으로 다양한 피부질환이 유발된다. 또한, 정상 세포에서도 피부 굽힘에 대한 상처치유 효과가 떨어지면 염증 반응이 증가하여 피부장벽 기능이 약화되고, 이로 인해 민감성 피부, 건조한 피부, 주름, 탄력 상실 등의 피부 노화가 진행될 수 있다. 이에 본 연구에서는 코브라 오일이 피부 상처달힘에 효과를 나타내는지 알아보기 위하여 각질형성세포 HaCaT을 이용하여 물리적 굽힘으로 상처를 일으키고 각질형성세포의 이동과 증식률로 상처달힘 정도를 측정하였다. 실험 결과, 코브라 오일 1, 5, 10% 처리군에서 각각 대조군 대비 1.26배, 1.23배, 1.17배로 상처달힘이 유의적으로 증가하였다. 이 결과는 다른 실험결과와 달리 코브라 오일 1% 저농도에서 가장 크게 나타났다. 그리고 코브라 오일 20%에서는 오히려 0.18배로 상처달힘이 감소한 결과를 나타내었다[Fig.

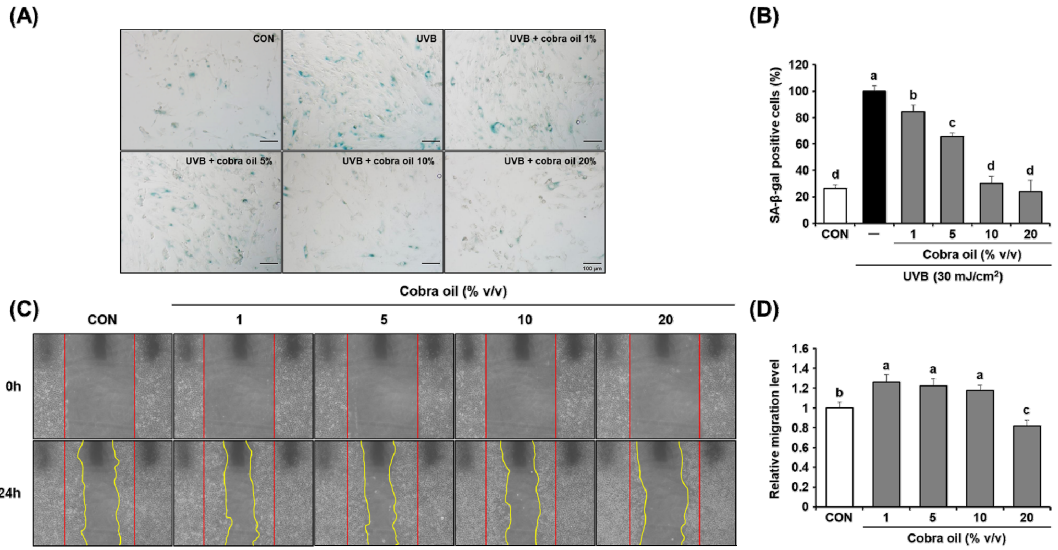


Fig. 3. Effects of cobra oil on SA-β-gal activity and wound migration in HDF and HaCaT cells. (A) Representative images of SA-β-gal staining. (B) Percentage of SA-β-gal-positive cells. (C) Representative images of cell migration. (D) The relative migration level, which was defined as the differences between the initial wound width (at 0 hours) and the wound width after 24 hours. P values were calculated by ANOVA and Tukey HSD test.

3C-D]. 코브라 오일 20%에서 HaCaT 세포의 상처닫힘이 감소한 실험결과는 동일 농도에서 UV노출에 대한 세포 생존율의 회복 효과와 COL1A1의 증가 효과가 나타나지 않은 실험결과와 유사하다.

이는 천연 자원 추출물이 단일 성분으로만 이루어져 있지 않기 때문에, 천연물질의 농도가 증가하더라도 여러 함유 성분이 함께 증가하기 때문에 효과 상승이 반드시 비례적으로 나타나지 않을 수도 있다. 또한, 단일 성분이라 하더라도 약리효과에 대한 최대 반응 농도가 존재할 수 있다[22]. 또 하나의 가능성은 천연유래물질 및 오일은 UVB 노출에 대해 광과민성을 나타내어 UVB 노출시에는 오히려 그 효과가 감소할 수 있다. 코브라 오일 1, 5, 10%에서 농도 의존적으로 효과적이었던 UVB 노출에 대한 세포 생존율 회복효과와 COL1A1 발현효과는 오일 20% 처리에서 오히려 감소효과가 나타났는데 이는 광과민성에 대한 효과를 배제할 수 없다.

따라서 UVB노출에 의한 실험과 UVB를 노출하지 않은 상처닫힘효과 실험에서 모두 코브라 오일 20%가 10% 효과와 다르게 나타난 결과는 코브라 오일의 최대 반응농도가 20% 미만에서 나타날 수 있다는 가능성과 20% 이상에서 광과민성이 나타날 수 있다는 가능성을 모두 제시한다.

본 실험에서 주요하게 나타난 MMP-1 발현 억제와 노화마커 SA-β-gal의 감소효과 및 상처닫힘효과는 코브라 오일 1%에서 농도 의존적으로 10%까지 유의성 높게 나타났다. 그러나 코브라 오일 20%에서는 10%에서 나타나는 효과보다 높아지지 않거나 오히려 감소하는 효과가 나타났다. 이는 코브라 오일의 농도가 증가함에 따라 함께 증가되는 구성성분 비율에 따라 나타나는 결과로 설명될 수 있다. 또는, 증가된 구성성분 비율이 UVB 노출에 민감해지면서 광과민성 효과를 나타낼 수 있다고 설명된다. Si(2019) 등은 *Deinakistrodon acutus* 뱀오일에서 항산화 및 항염증 효과가 나타난다고 보고하였는데, 이는 뱀오일을 구성하는 지방산에 의한 항산화 효과와 동물성 유래 오일이 가지는 미네랄에 의한 항염증 효과라고 서술하였다[14].

4. 결론

본 연구에서는 인간 진피 섬유아세포와 인간 각질형성 세포를 사용하여 코브라(*Naja naja atra*) 오일이 피부 주름 개선과 항노화에 효과를 나타내는지 확인함으로써 코브라 오일을 주름개선 기능성 화장품 소재로 개발

가능성을 제시하고자 하였다.

코브라 오일은 인간진피세포의 세포 성장을 증가시키고, 콜라겐을 분해하는 MMP-1의 발현을 크게 감소시켰다. UVB 노출에 대한 광노화 및 광손상(10 또는 30 mJ/cm²) 조건에서도 활성화된 노화 관련 마커를 다시 회복시켰다. UVB에 손상된 인간진피세포의 성장을 다시 회복시키고, 활성화되어 콜라겐 분해를 촉진하는 MMP-1 발현을 감소시키며, UVB로 활성이 증가된 노화 마커 SA-β-gal를 감소시켰다. 코브라 오일은 인간각질 형성세포의 인위적인 긁힘 상처에 대하여 세포성장과 세포이동의 증가로 상처담힘 효과를 증가시켰다.

종합적으로, 본 연구결과에서는 코브라 오일이 UVB 노출과 상관없이 MMP-1 억제에 의한 주름 개선에 우수한 효과를 나타내며, 인간진피세포의 노화과정을 지연시키고, 각질형성세포의 상처담힘을 촉진함으로써 피부의 내인성 노화와 외인성 노화에 모두 효과적으로 사용할 수 있는 항노화 소재임을 제시하였다. 향후 코브라 오일에 대한 성분 연구와 효능과의 관련성과 뱀오일 특유의 이취 문제를 해결된다면 코브라 오일은 주름 개선과 항노화 효과뿐만 아니라 피부재생과 관련하여 광범위한 피부 건강 소재로 유용하게 개발될 수 있을 것이다.

References

- [1] Q. Y. A. Wong, F. T. Chew, "Defining skin aging and its risk factors: a systematic review and meta-analysis", *Scientific Reports*, Vol.11, No.1, pp.22075, Nov. 2021. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41598-021-01573-z>
- [2] P. Panwar, G. S. Butler, A. Jamroz, P. Azizi, C. M. Overall, "Aging-associated modifications of collagen affect its degradation by matrix metalloproteinases", *Matrix Biology : Journal of The International Society for Matrix Biolog*, Vol.65, No.1, pp.30-44, Jan. 2018. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.matbio.2017.06.004>
- [3] M. A. Cole, T. Quan, J. J. Voorhees, G. J. Fisher, "Extracellular matrix regulation of fibroblast function: redefining our perspective on skin aging", *Journal of Cell Communication and Signaling*, Vol.12, No.1, pp.35-43, Mar. 2018. DOI: <https://doi.org/10.1007/s12079-018-0459-1>
- [4] Y. Her, B. N. Shin, Y. L. Lee, J. H. Park, D. W. Kim et al., "Oenanthe Javanica Extract Protects Mouse Skin from UVB Radiation via Attenuating Collagen Disruption and Inflammation", *International Journal of Molecular Sciences*, Vol.20, No.6, pp.1435, Mar. 2019. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijms20061435>
- [5] M. Cavinato, B. Waltenberger, G. Baraldo, C. V. C. Grade, H. Stuppner et al., "Plant extracts and natural compounds used against UVB-induced photoaging", *Biogerontology*, Vol.18, No.4, pp.499-516, Aug. 2017. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10522-017-9715-7>
- [6] Z. Qin, R. M. Balimunkwe T. Quan, "Age-related reduction of dermal fibroblast size upregulates multiple matrix metalloproteinases as observed in aged human skin in vivo", *British Journal of Dermatology*, Vol.177, No.5, pp.1337-1348, Nov. 2017. DOI: <https://doi.org/10.1111/bjd.15379>
- [7] A. Sorushanova, L. M. Delgado, Z. Wu, N. Shologu, A. Kshirsagar et al., "The Collagen Suprafamily: From Biosynthesis to Advanced Biomaterial Development", *Advanced Materials (Deerfield Beach, Fla.)*, Vol.31, No.1, pp.e1801651, Jan. 2019. DOI: <https://doi.org/10.1002/adma.201801651>
- [8] J. K. Mouw, G. Ou, V. M. Weaver, "Extracellular matrix assembly: a multiscale deconstruction", *Nature reviews. Molecular Cell Biology*, Vol.15, No.12, pp.771-785, Dec. 2014. DOI: <https://doi.org/10.1038/nrm3902>
- [9] S. Freitas-Rodriguez, A. R. Folgueras, C. Lopez-Otin, "The role of matrix metalloproteinases in aging: Tissue remodeling and beyond", *Biochimica et Biophysica Acta, Molecular cell research*. Vol.1864, No.11 Pt A, pp.2015-2025, Nov. 2017. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bbamcr.2017.05.007>
- [10] B. Y. Lee, J. A. Han, J. S. Im, A. Morrone, K. Johung et al., "Senescence-associated beta-galactosidase is lysosomal beta-galactosidase", *Aging Cell*, Vol.5, No.2, pp.187-195, Apr. 2006. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1474-9726.2006.00199.x>
- [11] B. M. Hall, V. Balan, A. S. Gleiberman, E. Strom, P. Krasnov et al., "Aging of mice is associated with p16 (Ink4a)-and β-galactosidase-positive macrophage accumulation that can be induced in young mice by senescent cells", *Aging*, Vol.8, No.7, pp.1294-1315, Jul. 2016. DOI: <https://doi.org/10.18632/aging.100991>
- [12] A. R. Vaughn, A. K. Clark, R. K. Sivamani, V. Y. Shi, "Natural Oils for Skin-Barrier Repair: Ancient Compounds Now Backed by Modern Science", *American Journal of Clinical Dermatology*, Vol.19, No.1, pp.103-117, Feb. 2018. DOI: <https://doi.org/10.1007/s40257-017-0301-1>
- [13] O. Ayanlowo, O. C. -Adeife, M. Ilomuanya, C. Ebie, A. Adegbulu et al., "African oils in dermatology", *Dermatologic Therapy*, Vol.35, No.3, pp.e14968, Mar. 2022. DOI: <https://doi.org/10.1111/dth.14968>
- [14] Y. Si, W. Liu, D. J. McClements, X. Chen, Z. Hu et al., "Ameliorative effects of snake (Deinagkistrodon acutus) oil and its main fatty acids against UVB-induced skin photodamage in mice", *Journal of Photochemistry and Photobiology*, Vol.197, No.8, pp.111538, Aug. 2019.

- DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jphotobiol.2019.111538>
- [15] S. Khunsap, S. Buranapraditkun, L. Chanhome, S. Boonchang, "Antimelanoma properties of cobra oil", *Agriculture and Natural Resources*, Vol.54, No.6, pp.575-578, Dec. 2020.
DOI: <https://doi.org/10.34044/j.anres.2020.54.6.01>
- [16] P. B. Olaitan, I. P. Chen, J. E. Norris, R. Feinn, O. M. Oluwatosin et al., "Inhibitory activities of omega-3 Fatty acids and traditional african remedies on keloid fibroblasts", *Wounds : a Compendium of Clinical Research and Practice*, Vol.23, No.4, pp.97-106, Apr. 2011.
- [17] A. Z. Ghaleshahi, H. Ezzatpanah, G. Rajabzadeh, M. Ghavami, "Comparison and analysis characteristics of flax, perilla and basil seed oils cultivated in Iran", *Journal of Food Science and Technology*, Vol.57, No.4, pp.1258-1268, Apr. 2020.
DOI: <https://doi.org/10.1007/s13197-019-04158-x>
- [18] S. Kim, D. H. You, T. Han, E. M. Choi, "Modulation of viability and apoptosis of UVB-exposed human keratinocyte HaCaT cells by aqueous methanol extract of laver *Porphyra yezoensis*", *Journal of Photochemistry and Photobiology. B, Biology*, Vol.141, pp.301-307, Dec. 2014.
DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jphotobiol.2014.10.012>
- [19] A. J. Salgado, O. P. Coutinho, R. L. Reis, "Novel starch-based scaffolds for bone tissue engineering: cytotoxicity, cell culture, and protein expression", *Tissue Engineering*, Vol.10, No.3-4, pp.465-474, July. 2004.
DOI: <https://doi.org/10.1089/107632704323061825>
- [20] S. H. Jang, C. W. Ha, S. H. Kim, S. S. Hong, M R Park et al., "Ameliorating Effect of Astragalus sinicus Ethanol Extract on Dermal Aging", *Korean Journal of Medicinal Crop Science*, Vol.30 No.5, pp.357-365, Oct. 2022.
DOI: <https://doi.org/10.7783/KJMCS.2022.30.5.357>
- [21] A. Grada, M. O. Vinas, F. P. Castrillo, Z. Obagi, V. Falanga, "Research Techniques Made Simple: Analysis of Collective Cell Migration Using the Wound Healing Assay", *The Journal of Investigative Dermatology*, Vol.317, No.2, pp.e11-e16, Feb. 2017.
DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jid.2016.11.020>
- [22] R. H. Mathijssen, A. Sparreboom, J. Verweij, "Determining the optimal dose in the development of anticancer agents", *Nature Reviews Clinical Oncology*, Vol.11, No.5, pp.272-281, May. 2014.
DOI: <https://doi.org/10.1038/nrclinonc.2014.40>
- [23] J. B. Hudson G. H. Towers, "Therapeutic potential of plant photosensitizers", *Pharmacology and Therapeutics*, Vol.49, No.3, pp.181-222, Nov. 1991.
DOI: [https://doi.org/10.1016/0163-7258\(91\)90055-q](https://doi.org/10.1016/0163-7258(91)90055-q)
- [24] H. H. Kim, C. M. Shin, CH. Park, K. H. Kim et al., "Eicosapentaenoic acid inhibits UV-induced MMP-1 expression in human dermal fibroblasts", *Journal of Lipid Research*, Vol.46, No.8, pp.1712-1720, Aug. 2005.
DOI: <https://doi.org/10.1194/jlr.M500105-JLR200>
- [25] Ji. J, "The Effect of Magnolol on UVB-induced Inflammation Damage Control via the Nrf2-SOCS3-Jak2-STAT3 Pathway in Human Dermal Fibroblasts", *Journal of Life Science*, Vol.30, No.10, pp.867-876, Oct. 2020.
DOI: <https://doi.org/10.5352/JLS.2020.30.10.867>
- [26] M. J. Piao, K. A. Kang, A. X. Zhen, H. K. Kang, Y. S. Koh et al., "Horse Oil Mitigates Oxidative Damage to Human HaCaT Keratinocytes Caused by Ultraviolet B Irradiation", *International Journal of Molecular Sciences*, Vol.20, No.6, pp.1490, Mar. 2019.
DOI: <https://doi.org/10.3390/ijms20061490>
- [27] S. H. Kim, C. W. Ha, H. Lim, S. Jang, S. Namkoong et al., "Aqueous extract of Phragmites communis rhizomes attenuates phototoxicity in skin cells", *Molecular & Cellular Toxicology*, Vol.17, No.1, pp.29-40, Nov. 2021.
DOI: <https://doi.org/10.1007/s13273-020-00106-5>

하 창 우(Chang-Woo Ha)

[정회원]



- 2021년 2월 : 강원대학교 생약자
원개발학과 (이학석사)
- 2021년 3월 ~ 2022년 2월 : 유한
책임회사 트루비연구소 팀장
- 2022년 3월 ~ 현재 : 강원대학교
일반대학원 박사과정 (바이오헬스
융합학과)

<관심분야>

면역학, 천연물 효능평가

김 성 혁(Sung-Hyeok Kim)

[정회원]



- 2021년 2월 : 강원대학교 생약자
원개발학과 (이학석사)
- 2021년 3월 ~ 현재 : 강원대학교
일반대학원 박사과정 (바이오헬스
융합학과)

<관심분야>

면역학, 천연물 효능평가

장 소 희(So-Hee Jang)

[준회원]



- 2021년 3월 ~ 현재 : 강원대학교 일반대학원 석박통합과정 (바이오헬스융합학과)

<관심분야>

면역학, 천연물 효능평가

윤 보 섭(Bo-sub Yoon)

[정회원]



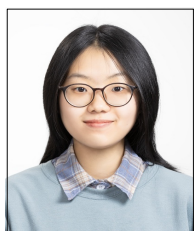
- 2020년 7월 : Brigham Young University-Hawaii 생물학과 (학사)
- 2021년 1월 ~ 5월 : 한양대학교 에리카 산학협력단 연구원
- 2021년 6월 ~ 현재 : (주)특시온 팀장
- 2023년 3월 ~ 현재 : 강원대학교 일반대학원 석박통합과정 (바이오헬스융합학과)

<관심분야>

화장품 및 의약품 소재개발

최 정 훈(Jung-Hun Choi)

[준회원]



- 2023년 3월 ~ 현재 : 강원대학교 일반대학원 석박통합과정 (바이오헬스융합학과)

<관심분야>

면역학, 천연물 효능평가

최 영 훈(Young-hoon Choi)

[정회원]



- 2005년 5월 : McNeese State University 화학공학 (석사)
- 2013년 ~ 2015년 : (주)황후연 대표이사
- 2015년 ~ 2017년 : (주)제롬바이오 메디슨 연구소장
- 2018년 ~ 2020년 : (주)비티에스 연구소장
- 2020년 10월 ~ 현재 : (주)특시온 대표이사
- 2021년 9월 ~ 현재 : 강원대학교 일반대학원 박사과정 (바이오헬스융합학과)

<관심분야>

난치질환 치료제 제품개발

김 경 인(Kyung-In Kim)

[정회원]



- 2002년 8월 : 성균관대학교 약학대학원 생물약학 (약학석사)
- 2018년 2월 : 성균관대학교 약학대학원 생물약학 (약학박사)
- 2019년 4월 ~ 2021년 7월 : 잭슨랩 박사후연구원

<관심분야>

뇌신경과학, 중독, 동물행동

이 진 우(Jin-Woo Lee)

[정회원]



- 2018년 2월 : 강원대학교 대학원 생약자원개발학과 (생약자원개발 학석사)
- 2018년 2월 ~ 2020년 6월 : 한국 과학기술연구원 인턴연구원

- 2020년 9월 ~ 현재 : 강릉원주대학교-한국과학기술연구원 학연협동과정학과 박사과정 (해양응용생명공학)

<관심분야>

아토피, 천연물 효능평가

김 수 남(Su-Nam Kim)

[정회원]



- 1994년 2월 : 성균관대학교 약학 대학원 생명약학 (약학석사)
- 1999년 2월 : 성균관대학교 약학 대학원 생명약학 (약학박사)
- 1999년 3월 ~ 2000년 11월 : 식품의약품안전청 박사후연구원
- 2000년 12월 ~ 2005년 9월 : 아 모레퍼시픽기술연구원 선임연구원

- 2005년 10월 ~ 현재 : 한국과학기술연구원 천연물연구소 책임연구원

<관심분야>

피부과학, 천연물약리

손 은 화(Eun-Hwa Sohn)

[중신회원]



- 1998년 2월 : 성균관대학교 약학 대학원 생명약학 (약학석사)
- 2004년 2월 : 성균관대학교 약학 대학원 생명약학 (약학박사)
- 2004년 10월 ~ 현재 : 강원대학교 바이오헬스융합학과 교수
- 2020년 10월 ~ 현재 : 유한책임회사 트루비연구소 대표

<관심분야>

염증, 천연물 효능평가