한국영양학회지(*Korean J Nutr*) 2009; 42(6): 516~522
DOI 10.4163/kjn.2009.42.6.516

비타민과 불포화지방산, 그리고 피크노제놀을 함유한 복합제제의 주름 완화 및 자외선에 의한 색소침착 개선 효과

장민열[1] · 박상기[1] · 곽택종[1] · 박형국[1] · 이천구[1] · 이헌식[1,2] · 이선영[2] · 김성진[3§]

LG 생활건강 기술연구원,[1] 충남대학교 생활과학대학 식품영양학과,[2] 전남대학교 의과대학 피부과학교실[3]

Effects of the Mixture of Vitamin C, Vitamin E, Pycnogenol and Evening Primrose Oil on the UV-Induced Pigmentation and Wrinkle Reductions in Human Skin

Chang, Min-Youl[1] · Park, Sang-Ki[1] · Kwak, Taek-Jong[1] · Park, Hyoung-Kook[1]
Lee, Cheon-Koo[1] · Lee, Heon-Sik[1,2] · Ly, Sun Yung[2] · Kim, Seong-Jin[3§]

[1]LG Household & Healthcare Research Park, Daejeon 305-343, Korea
[2]Department of Food and Nutrition, Chungnam National University, Daejeon 305-764, Korea
[3]Department of Dermatology, Chonnam National University Medical School, Gwangju 501-746, Korea

ABSTRACT

In this study, the effects of a mixture consisting of vitamin E, vitamin C, pycnogenol and evening primrose oil (mixture LGNC-5) on ultraviolet light (UV) induced pigmentation and wrinkle reductions of normal healthy volunteers were studied. In a double-blind placebo-controlled study, each of 54 subjects took daily either 4 capsules of the mixture LGNC-5 (Group ABC; 282.5 mg/capsule) or placebo (Group Ganada). We irradiated 2.5 MED UV on the upper arms and measured the whitening effect by colorimeter-based L value. The level of wrinkle reduction was determined by image analysis using skin replica around the crow' feet, and the level of serum vitamin E was determined at baseline and 12 weeks. After 12-week oral administration, the treated group showed a significant reduction in skin pigmentation and wrinkles compared with the placebo group ($p = 0.011$ and $p = 0.000005$, respectively). Also, the level of serum vitamin E was significantly increased in the treated group after 12-week oral adminstration of the mixture compared with that in the placebo group ($p = 0.0001$). In conclusion, 12-week oral administration of LGNC-5 as a dietary supplement could be effective to reduce both UV induced pigmentation and skin wrinkle without side effects. (*Korean J Nutr* 2009; 42(6): 516~522)

KEY WORDS: pycnogenol, ultraviolet light induced pigmentation, wrinkle reduction.

서 론

피부의 중요한 기능은 외부로부터 신체의 기관을 보호하거나 수분 손실을 방지하는 보호기능이다. 이러한 피부의 기본적 보호기능은 외부의 환경변화에 민감하게 반응하거나 변화될 수 있는데, 외부의 다양한 유해환경요인 중 비교적 영향력이 높은 것은 자외선이라 볼 수 있다. 피부는 항상 자외선에 노출되어 있으며, 자외선에 의해 홍반, 부종, 화상반응, 색소 침착, 거칠어짐, 탄력 손실 및 주름 발생 같은 일련의 피부 손상 혹은 노화과정이 촉진되는 것은 잘 알려진 사실이다.[1)]

그동안 많은 연구에도 불구하고 자외선이 피부 손상을 유발시키는 기전은 아직 완전히 규명되지 않았지만, 자외선에 의해 피부조직에서 유도되는 활성산소종 (ROS; reactive oxygen species)와 활성질소종 (RNS; reactive nitrogen species)이 중요한 역할을 할 것으로 보고되고 있다.[2,3)] 따라서 피부에서 비정상적으로 증가되는 활성산소를 신속하게 제거하는 것은 피부가 자외선에 의한 손상으로부터 피해를 최소화 할 수 있는 효율적인 방법으로 추측되고 있으며, 실제 피부에는 활성산소종을 제거하는 능력을 갖는 다양한 효소들도 존재한다.

근래에는 국내외에서 소위, 웰빙의 욕구가 증가되어 건전한 식생활과 건강한 피부유지를 위해 피부 개선을 위한 식

접수일 : 2009년 6월 8일 / 수정일 : 2009년 7월 18일
채택일 : 2009년 8월 7일
§To whom correspondence should be addressed.
E-mail: seongkim@chonnam.ac.kr

© 2009 The Korean Nutrition Society

단 혹은 식품에 관심이 쏠리고 있다. 천연물 항산화 물질 등을 경피 혹은 경구 투여할 경우 자외선에 의한 피부손상이 억제된다는 연구결과들은 과거부터 많이 알려져 있고,[2,4-7] 특히 폴리페놀, 비타민 C와 E 등의 섭취를 통해 자외선에 의한 피부 노화와 색소침착을 억제하려는 시도들이 있었다.[2,8,9]

또한 본 연구에 사용된 유효물질 중의 하나인 피크노제놀과 같은 천연물질의 도입이 이루어지고 있는데 피크노제놀은 프랑스산 해송 껍질 추출물로 catechin, epicatechin, taxifolin 등의 monomeric phenolic compound와 procyanidins 등의 flavonoids, 그리고 p-hydroxy benzoic, protocatechuic, gallic, vanillic, p-coumaric, caffeic, ferulic acids 등의 phenolic acid 등이 함유되어 있으며,[10] 항산화 효과가 뛰어난 물질로 보고되고 있다.[11,12] 피크노제놀은 특히 단독 투여되는 비타민 C나 E보다 강력한 항산화 효능을 보이는데, 생체 내에서 비타민 C와 E의 활성을 증강시키는 작용을 하고 생체 내 항산화 관련기전 (예, 효소활성시스템 등)을 촉진시켜 자외선에 의한 피부 색소침착도 호전시켜 준다는 주장도 있다.[13] 즉 색소침착반 (예, Melasma 병변)의 면적을 줄여주고, 피부색조도 옅게 만들어 준다고 보고하고 있다. 또한, 피크노제놀은 창상치유를 촉진시켜 주고,[14] MMP-1 (matrix metalloproteinase-1), MMP-2, 그리고 MMP-9의 활성을 억제하는 효과도 있어,[15] 주름개선에도 도움을 줄 수 있으리라 추측할 수 있다.

이러한 경향을 참고하여 실제로 피부 주름과 미백에 효능이 있을 것으로 생각되는 여러 성분들 중에서 비타민 C, E와 불포화지방산 (달맞이꽃종자유), 그리고 폴리페놀 (피크노제놀)의 복합처방제제 (LGNC-5)를 자체 실험 결과를 통해 개발하여, 이것이 *in vitro* 및 동물실험에서 자외선에 의한 주름생성 억제 효과와 색소침착 억제 효과를 갖고 있음을 확인하였다.[16,17] 즉, LGNC-5는 마우스를 이용한 동물실험 모델에서 자외선에 의해 그 활성이 높아지는 p-JNK, c-FOS, AP-1, MMP-3, MMP-13등을 현저하게 억제시켰고, 자외선에 의해 크게 감소하는 TGF-β2의 발현을 증가시켜 콜라겐 생합성 능력을 높일 수 있을 것으로 기대되었다.[16] 또한, 기니픽을 이용한 동물실험 모델에서는 자외선에 의해 발생하는 색소침착을 의미있게 억제하는 효과도 확인하였는데, 조직학적으로 LGNC-5를 투여한 군에서는 멜라닌 색소 침착량이 감소하였을 뿐 만 아니라, colorimeter를 이용한 피부색 평가에서도 그 개선효과를 인지할 수 있었다.[17] *In vitro*실험에서는 TRP-1과 TRP-2의 발현과 생성을 낮추었으며, tyrosinase 활성도 크게 억제하는 효과가 있었다 (unpublished data).

이상과 같이 *in vitro* 및 동물실험에서 통계학적으로 유의한 주름 생성 억제 및 색소 침착 개선 효과를 나타내는 것으로 확인된 LGNC-5를 인체에 투여하여 그 효능을 확인하고자 본 연구를 수행하였다. 총 12주의 투여기간을 통해서 주름개선 효능 평가와, 인공적으로 자외선에 의해 유도된 색소침착을 완화하는 여부에 관한 억제 효능을 평가하였다.

재료 및 방법

자원자 배정 및 시험기간

임상 시험은 전남대학교 임상연구위원회의 승인을 받은 시험 방법에 의거하여 실시하였다. 피시험자 모집은 자원자의 개별 병력청취, 간단한 신체 검사 (피부검사) 등의 조사를 통하여 주름 및 미백시험 피시험자 선정기준에 적합하고 평가부위에 이상이 없는 대상자를 선정한 후 임상시험에 대한 피시험자 교육 등을 실시하고 자발적으로 임상시험 참여 동의서를 작성한 자원자에 한하여 실시하였다.

피시험자들은 단순 무작위 배정법에 의거하여 위약대조군과 시험군에 동일한 확률로 배정될 수 있도록 동전을 던져 앞면이 나오면 대조군, 뒷면이 나오면 시험군으로 정하였다. 특히 본 임상시험은 이중맹검법에 의거하여 평가자는 처음부터 위약대조군과 시험군을 구별할 수 없도록 시험제제 캡슐의 색깔, 모양을 동일하게 제조하여 단순히 ABC 군, 가나다 군으로 나눠 배포하였다. 임상시험은 이중 맹검에 의한 시험이기 때문에 연구자와 피시험자 모두 자신이 속한 군에서 위약배정여부는 알 수 없었고 제공된 시험제제 캡슐은 ABC 군 (시험종료 후 복합제제 (LGNC-5)군으로 판명), 가나다 군 (위약 대조군)으로 구별되어 배포되었다.

시험제제의 제조 및 복용 방법

시험제제는 360 mg 크기의 연질 캡슐 제형으로 제조하였으며, ABC 군 (시험군)에는 Table 1에서 나타낸 바와 같이 피크노제놀, 비타민 C, E 및 달맞이꽃종자유의 복합제제 (LGNC-5)가 유효 성분으로써 캡슐 당 282.5 mg을 함유하

Table 1. Compositions of the mixture (LGNC-5) and placebo

Ingredients		Group ABC (LGNC-5) (%)	Group ganada (Placebo) (%)
Active	Pycnogenol®	2.084	0.0
	Vitamin C	41.667	0.0
	Vitamin E	6.945	0.0
	Evening primrose	27.778	0.0
Additive	Soybean oil	16.026	100.0
	Bee wax	4.500	0.0
	Lecithin	1.000	0.0
(Sum.)		100.0	100.0

도록 하여 1일 복합제제 섭취량이 총 1,130 mg이 되도록 한 반면, 가나다 군 (대조군)에는 대두유만을 주입하였다 (Table 1).

시험제제는 1일 2회, 1회 2캡슐씩 12주간 섭취하도록 하였으며 자가섭취일지를 작성하도록 지도하였다. 자가섭취일지는 임상 시험 실시 4주, 8주, 12주마다 내원하여 연구자에게 제시하도록 하였으며, 더불어 이전에 지급한 시험제제를 수거하여 총 섭취율을 계산함으로써 순응도를 평가하였다.

인공 색소침착유발의 완화 정도 평가

인공 색소침착유발의 완화 효과 (피부미백효과)는 반사분광학적 측정원리를 응용한 색차계 측정시스템 (spectrophotometer CM2500d, Minolta, Japan)으로 평가하였다.

정상 한국인의 피부에서 관찰되는 최소홍반량이 자외선 조사량을 기준으로 보통 60~80 mJ/cm^{2}에 해당하므로 피시험자들에게 40, 60, 80 mJ/cm^{2}의 자외선을 햇볕에 가리워진 상완 내측부 3곳에 조사하여 모든 피시험자에서 최소홍반량을 결정하였다. 평균 최소홍반량 기준으로 약 2.5배에 해당하는 자외선 (140 mJ/cm^2, UVB, Fluorescence lamps by Waldermann, Germany)을 햇볕의 영향이 없는 겨드랑이에 밀착하는 상완부 내측의 다른 부위에 조사하여 약 48시간이 경과한 후 피부색소가 유발되는지 확인하였다. 피부색소는 자외선 조사 전 초기값과 조사 후의 색소침착 값을 비침습적 색조평가기기 (spectrophotometer CM2500d, Minolta, Japan)를 통해 측정하였으며, 만일 색소유발이 충분치 않은 경우 한차례 더 자외선 조사를 받도록 하였다. 색조평가기기에 의한 분석 결과는 명암 (brightness)을 나타내는 L값, 붉은색 (redness)을 나타내는 a값 및 노란색 (yellowness)을 나타내는 b값으로 나타나며, 이때 피부의 밝고 어두움을 측정하기 위해서 색차계의 명암관련 표지자인 L값을 평가 기준으로 삼았다.

이후 지급 받은 시험제제 (ABC 군, 가나다 군)를 섭취하며 흑화된 피부색소가 완화되는 정도를 제제 섭취 기간에 따라 섭취 4주, 8주, 12주 후에 평가하였다.

피부주름의 완화정도 평가

인공색소침착유발의 과정과 병행하여 안면부 눈가 (crow's feet)의 주름변화를 측정하기 위해 모든 피시험자에서 주름 모사판 (replica)을 획득하였다. 미세주름 모사판은 무해한 실리콘 반응액 (Provil-novo, Heraeus Kulzer Inc., Germany)을 반고체 상태로 만들어 평가부위에 도포하고, 약 30~45초 후 피부주름에 상응하는 주형을 본 뜨는 과정으로, 이러한 모사판은 시험제제 (ABC 군, 가나다 군) 섭취 전과 섭취 중의 정해진 시기 (섭취 8주, 12주 후)에 반복하여 획득하였다. 피부주름 모사판은 일정한 각도에서 주어진 광량에 의해 생성되는 음영의 비율로 계산되는 영상분석 소프트웨어 (ImagePro, Media Cybernetics, USA)를 통해 주름의 변화 정도를 정량적으로 평가할 수 있다. 계산된 음영면적의 상대적 비율은 초기 값 (arbitary unit)과 시험제제 섭취 8주, 12주째의 값을 대상으로 다음의 공식으로 효력백분율을 구하여 평가하였다.

% efficacy = [(shadow area of replica before treatment-shadow area of replica after 8, 12 weeks treatment) / (shadow area of replica before treatment)] × 100

혈중 유효성분의 농도

복합제제에 포함된 유효 성분들 중 하나인 α-tocopherol을 지표물질로 삼아 시험제제 섭취 전후의 혈중 농도를 측정하였다. 자원자들은 모두 시험제제 섭취 전과 섭취 12주 후에 전남대학교 병원 피부과에 내원하여 약 5 cc의 채혈에 응하였고, 혈액은 즉시 8,000 rpm, 10분 원심분리한 후 약 2.5 cc의 혈청만을 따로 취하여 영하 70도의 냉동고에 보관하였다가 농도 측정에 사용하였다. 측정은 일본 BML Inc (Tokyo, Japan)에 의뢰하여 수행하였다. 측정된 혈중 α-tocopherol 농도는 mg/mL단위로 표시하였다.

임상 시험 기간 중 부작용의 판정

시험제제 섭취에 따른 부작용 판정은 전문가의 시진 및 문진, 그리고 설문조사를 통해서 실시하였다. 일반적인 부작용의 항목으로는 두통, 어지러움, 복통, 설사, 변비, 소화불량, 식욕부진, 구토, 알레르기 등이고 피부과적으로 피부 발진, 두드러기, 가려움, 홍반, 따끔거림, 부종, 인설 등의 여부를 확인하였다.

통계 분석

인공색소침착유발의 완화 정도, 눈가 피부 주름의 완화 정도, 그리고 혈중 α-tocopherol (vitamin E) 농도의 군간 차이는 Student's t-test를 이용하여 통계적 유의수준 $p < 0.05$에서 검증하였다.

결 과

피시험자의 순응도 평가

총 108명의 피시험자들이 동의서를 제출하고 임상시험에 참가하였으며, 무작위 배정에 의하여 가나다 군과 ABC 군으로 각각 54명씩 배정되었다. 가나다 군은 남자 22명, 여자 32명으로써 평균연령 22.8 ± 3.0세였으며, ABC 군은 남자

Table 2. Comparison of basal skin chromaticity between two groups

	No. of subjects (men/ women)	Age	MED (mj/cm²)	Skin pigmentation data					
				Before UV (2.5 MED)			After UV (2.5 MED)		
				L	a	b	L	a	b
Group ganada (Placebo)	54 (22/32)	22.8 ± 3.0	55.19 ± 15.01	67.19 ± 2.41	6.93 ± 1.17	16.95 ± 2.06	58.67 ± 2.97	13.55 ± 2.72	18.09 ± 1.75
Group ABC (LGNC-5)	54 (25/29)	23.0 ± 3.4	56.30 ± 15.08	66.88 ± 2.13	6.91 ± 1.27	17.16 ± 2.29	57.66 ± 3.44	13.27 ± 2.41	18.27 ± 1.44
p value			0.702	0.476	0.920	0.615	0.105	0.564	0.571

MED: minimal erythemal dose

Table 3. Skin color (L parameter) changes before and during 12 weeks administration of the mixture LGNC-5 and placebo

	Parameter	Before UV	After UV	After 4 weeks	After 8 weeks	After 12 weeks
Group Ganada (Placebo) (n = 54)	L value	67.190 ± 2.409	58.669 ± 2.967	61.070 ± 2.549	60.786 ± 2.717	61.400 ± 2.491
	⊿L value[1)]			02.401 ± 1.983	02.117 ± 2.134	02.731 ± 2.138
Group ABC (LGNC-5) (n = 54)	L value	66.877 ± 2.131	57.659 ± 3.437	59.848 ± 2.409	60.119 ± 3.638	61.476 ± 3.293
	⊿L value			02.188 ± 2.511	02.460 ± 2.244	03.817 ± 2.228*
P value of ⊿L value				0.626	0.418	0.011

1) ⊿L value = average L value at 4 , 8 or 12 weeks−average L value after UV exposure at baseline
*: Significantly different from group Ganada at $p<0.05$ (by Student's t-test)

25명, 여자 29명으로써 평균연령 23.0 ± 3.4세였다. 이 임상 시험은 피시험자 스스로 매일 섭취해야 하는 시험이므로, 얼마만큼 충실하게 임상시험에 임하였는가는 매우 중요한 사항이다. 따라서, 본 시험에 참가한 피시험자의 순응도를 평가하기 위해, 4주, 8주, 12주마다 내원하여 시험제제를 지급받았고, 그 때마다 이전에 지급했던 용기와 제제 잔량을 모두 수거하였고 스스로 기록한 자가섭취일지를 연구자에게 제시하고 확인받도록 하였다. 피시험자들은 대부분 충실하게 지급한 시험제제를 섭취하고 이를 기록하였으며, 연구 종료 시점에서 시험제제 섭취 성실성에 대한 익명의 자가응답조사 결과, 응답에 응한 피시험자 45명 중 31명이 90~100%, 14명이 70~80%의 비율로 섭취하여 순응도는 만족할 만한 수준이었다.

복합제제 섭취 전후 인공색소침착유발(흑화)에 따른 피부색조의 변화

가나다 그룹과 ABC그룹의 전체 피시험자에서 자외선 조사 전후 피부색조의 특성은 Table 2와 같다. 각 군별 피시험자의 특성을 비교할 때 최소 홍반량 (minimal erythemal dose; MED), 자외선 조사 전후의 피부색조도는 모두 동일한 수준으로 평가되어서 피시험자 배정은 적절하게 골고루 배정되어 있음을 알 수 있었다.

군별로 배정된 시험제제를 매일 2회씩 섭취하게한 후 4, 8, 12주 째에 측정한 피부미백효과에 대한 색차계의 기준 파라미터 (L parameter)의 시기적 변동상황 및 두 군간 시기별 L값의 차이 (⊿L)는 Table 3과 같다.

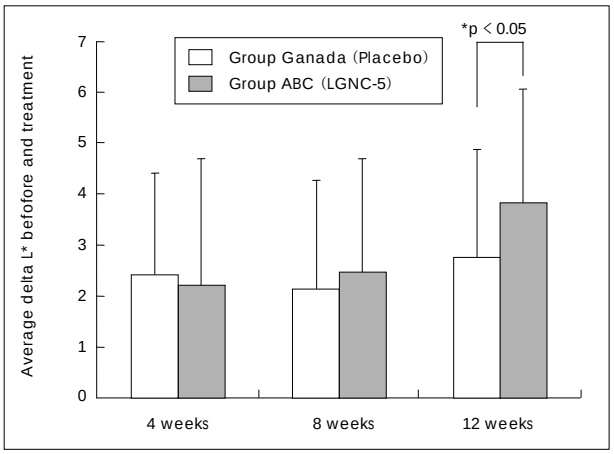

Fig. 1. ⊿L values before and during 12 week administration of LGNC-5 (*⊿L = average L value at 4 or 8 or 12 weeks−average L value after UV at baseline).

시험제제 섭취에 따른 피부색조의 미백효과를 평가하기 위하여 초기 인공 흑화를 기준으로 시기별 L값의 차이인 ⊿L값의 두 군간 차이를 Student t-test (양측검정)로 검정하였을 때, 4주째 ($p = 0.626$)와 8주째 ($p = 0.418$)에는 두 군간에 차이가 없었으나, 12주째에 시험군 (ABC 군)에서 대조군 (가나다 군)에 비하여 유의한 ⊿L값의 증가를 보여 ($p = 0.011$), 피부색조의 개선을 유도하고 있음을 알 수 있었다 (Table 3, Fig. 1).

복합제제 섭취와 피부주름의 변화-모사판 분석

피부주름의 변화를 평가하기 위해 각 군별 54명으로부터 획득한 모사판을 분석하였다. 시험제제 섭취 전과 비교하

Table 4. Time-course change of wrinkle determined from images of skin replica (% efficacy, average ± SD)

	After 8 weeks	After 12 weeks
Group ganada (Placebo) (n = 54)	1.279 ± 18.397	−0.276 ± 19.391
Group ABC (LGNC-5) (n = 54)	8.652 ± 14.192*	15.144 ± 13.191**
p value	0.0217	0.000005

*, **: Significantly different from group Ganada (by Student's t-test), *: $p<0.05$, **: $p<0.001$

Table 5. α-Tocopherol concentrations in blood (average ± SD, mg/dL)

	Before	After 12 weeks
Group ganada (Placebo) (n = 54)	1.094 ± 0.254	1.065 ± 0.298
Group ABC (LGNC-5) (n = 54)	1.098 ± 0.248	1.296 ± 0.295**
p value	0.927	0.0001

**: Significantly different from group Ganada at $p<0.001$ (by Student's t-test)

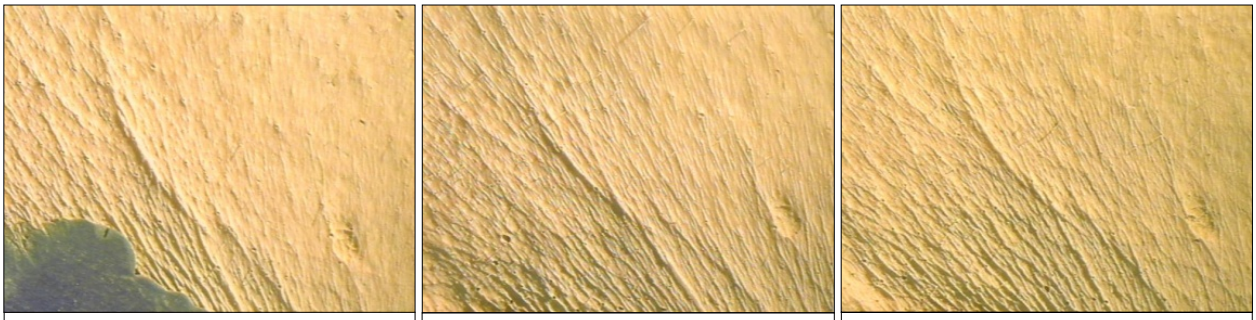

Fig. 2. The wrinkle reduction by the mixture of vitamin C, vitamin E, pycnogenol and evening primrose oil (LGNC-5).

여 섭취 8주, 12주 후의 유효백분율을 평가한 결과는 아래 Table 4와 같은데, 시험군 (ABC 군)에서 대조군 (가나다 군)에 비해 평균 유효백분율이 통계적으로 유의하게 높음을 알 수 있었고, 12주 경과 후에는 그 차이가 더욱 현저하였다 (Table 4, Fig. 2). 따라서, 시험군 (ABC 군)에서 피부 주름 완화 효과가 크게 나타남을 알 수 있었다.

혈청 내 유효성분 (α-tocopherol)의 농도 변화

복합제제가 체내에 흡수되었는지를 확인하기 위하여 유효성분 중의 하나인 vitamin E (α-tocopherol)의 농도를 섭취 전 및 섭취 12주 후 전체 피시험자들로부터 채혈하여 분리된 혈청에서 측정한 결과는 아래 Table 5와 같고, 시험군 (ABC 군)에서 섭취 전에 비하여 섭취 12주 후에 증가하여 대조군에 비하여 유의하게 높은 수치를 보였다 ($p = 0.0001$).

복합제제 섭취에 따른 부작용 평가

피부과 전문의에 의한 피부 부작용 판정

시험제제의 섭취에 따른 부작용의 평가는 4주, 8주, 12주차에 병원을 방문할 때 문진 및 설문 조사를 통하여 평가하였다. 임상 시험이 종료될 때까지 피시험자 108명 중에 일반적이거나 특별한 부작용의 증상을 호소한 피시험자는 없었다.

설문에 의한 피시험자의 부작용 자가 판정

시험제제 섭취 12주까지의 연구 기간 중 스스로 부작용이 있는 것 같다고 응답한 피시험자는 ABC 군이나 가나다 군 모두에서 없었다.

고 찰

자외선에 의해 피부조직에서 유도되는 활성산소종 (ROS; reactive oxygen species)과 활성질소종 (RNS; reactive nitrogen species)은 피부손상에 중요한 역할을 할 것으로 보고되고 있다.[2,3] 피부조직에서 자외선에 의해 발생된 활성산소종은 유전자수준에서 AP-1 (activator protein 1) 전사인자의 발현을 촉진하고 이에 따른 염증관련 분비기전 (cytokines)을 순차적으로 활성화시키며, 이에 따라 MMP (matrix metalloproteinase)의 활성과 생성이 증가되어 진피의 교원질 및 탄력섬유가 손상되고 변성되어 주름과 탄력저하 등의 피부 변화가 만성적으로 유도될 수 있다.[18] 또한, 피부에서 멜라닌 색소형성기전과 관련된 tyrosinase, TRP-1 (tyrosinase-related protein 1) 등도 활성산소종에 의해 그 발현과 합성이 촉진되며,[19] 피부의 색소침착 (예, 흑화)과 관련된 유전자들 (POMC, MC1R)의 발현도 증가될 수 있음이 보고되어 왔다.[20] 이렇듯 자외선은 피부의 생리대사과정에서 유해한 영향을 주므로 주름을 쉽게 형성시키거나 피부색소침착을 촉진시키는 주요 요인으로 간주되고 있다. 그러므로 피부에서 비정상적으로 증가되는 활성산소를 신속하게 제거하는 것은 자외선에 의한 손상으로부터 피부의 피해를

최소화 할 수 있는 방법으로 추측되고 있으며, 실제 피부에는 활성산소종을 제거하는 능력을 갖는 다양한 효소들이 존재한다. 따라서 활성산소 제거 능력이 우수한 성분이 피부에도 우수한 효과가 있을 것이라 생각하였고, *in vitro* 및 동물 모델 실험 결과를 통해 비타민 C, E와 달맞이꽃종자유, 그리고 피크노제놀 (pycnogenol)의 복합 처방 (LGNC-5)을 만들게 되었으며, 이에 상기와 같은 임상평가를 실시하였다.

생리대사활성물질인 비타민을 인체에서 유래한 세포 시험조건에 적용하여 그 효과를 확인한 *in vitro* 실험 결과는 상대적으로 많이 보고되었지만, 본 임상연구처럼 식품으로서 장기간 섭취시켜 그 중재 효과를 확인한 사례는 실제 많지 않다. 자외선 조사에 따른 생체의 유해 반응에 대한 몇몇 연구에서 비타민 C와 E의 복합체를 섭취하면 소위 화상세포 (sunburn cell) 형성이 억제된다는 보고[21]와, 비타민 E 단독 사용으로도 방어 효과가 있었다는 보고,[22] 그리고 비타민류와 selenium, copper같은 무기물의 조합도 화상세포의 형성을 억제하는 효과가 있다는 보고가 있다.[23]

이러한 선행연구를 통해 추측할 수 있는 사실은 생리적 효과가 이미 잘 알려져 있는 성분들을 식품의 형태로 인체에 투여하거나 섭취시켜서 피부에서 그 나름의 효과를 기대할 만하다는 점이다. Cerarini 등은 lycopene, β-caro-tene, α-tocopherol, 그리고 selenium을 배합한 제형을 투여하여 인체의 피부에서 자외선에 의한 피부손상을 억제할 수 있음을 보여주었다.[24] 즉 , 자외선에 의해 발생하는 최소홍반량 (MED; minimal erythemal dose)과 화상세포의 형성이 감소하였을 뿐 아니라 표피에서 p53발현도 억제되었으며, lipoperoxides 생성도 낮아짐을 확인하였다.

본 임상시험을 수행하기 전 *in vitro*와 동물 실험에서 선행한 실험 결과, 비타민 C, E와 달맞이꽃 종자유, 그리고 피크노제놀의 복합제제 (LGNC-5)가 자외선에 의해 유도되는 색소침착 (흑화)과정을 억제할 뿐 아니라, 주름 형성도 억제하는 효과를 확인한 바 있다.[16,17] 따라서 이 시험은 인체 피부를 대상으로 주름 및 미백에 대한 LGNC-5의 효과를 평가하기 위해 이중 맹검법으로 진행하게 되었다. 평가방법으로는 자외선 B에 의해 피부에서 유도된 인공 흑화의 색소 침착도와 안면부 주름으로부터 얻어진 주형 (replica)을 대상으로 12주 투여 기간 전후의 변화를 관찰하였으며 대조군보다 시험군에서 의미있는 주름 개선 효과와 색소 침착 완화 효과를 보였다. 이와 같은 LGNC-5의 주름 개선 효과는 이미 본 연구실에서 수행한 동물 실험과 *in vitro* 실험에서 확인한 바와 같이 p-JNK, c-FOS, AP-1, MMP-3, MMP-13 등의 활성 억제와 TGF-β2의 발현 증가에 기인하고 있을 것으로 추정되며, 색소 침착 완화 혹은 미백 효과는 TRP-1과 TRP-2의 발현 및 생성 억제와, tyrosinase 활성 억제를 통해 이루어진 것으로 생각된다.

경구로 투여되는 식품의 유효 성분이 실제로 피부까지 전달될 수 있으려면 투여 전에 비해 혈중 농도가 높게 유지되어야 하므로 혈청 내에 존재하는 유효 성분의 양을 분석하였다. 임상 시험에 사용된 LGNC-5의 주요 성분 중 α-tocopherol을 지표로 삼아 섭취 전후 혈청에서의 농도를 정량적으로 분석한 결과, 12주간 LGNC-5를 지속적으로 섭취한 시험군에서 투여 후 유미의하게 증가하여 있었으므로 식품의 형태로 섭취시켰을 때에도 유효 성분은 혈류를 통해 피부에 지속적으로 작용할 수 있음을 시사하였다.

최근 피부의 건강과 미용에 대한 관심이 높아지고 있어서 피부에 유용한 효과를 배가시키기 위해, 국소적으로 도포하는 기능성 화장품과 함께 시험제제인 LGNC-5을 병행하여 섭취한다면 더 우수한 효과를 얻을 수 있을 것으로 기대된다.

요 약

총 108명의 피시험 자원자들을 대상으로 각각 54명씩 두 군으로 무작위 배정한 후 12주 동안 시험제제를 섭취시키고 피부 색조도와 주름 정도, 혈청 내 α-tocopherol의 변화를 이중맹검법으로 평가한 결과 다음과 같은 결론을 얻었다.

1) 12주 동안의 시험제제 섭취 성실성 (순응도)에 대한 익명의 자가응답조사 결과, 응답에 응한 피시험 자원자 45명 중 31명이 90~100%, 14명이 70~80%의 비율로 시험제제를 섭취하였다고 응답하여, 순응도는 만족할 만한 수준이었다.

2) 대조군 (가나다 군)은 남자 22명, 여자 32명으로서 평균 연령 22.8 ± 3.0세였으며, 시험군 (ABC 군)은 남자 25명, 여자 29명으로서 평균 연령 23.0 ± 3.4세로 군간 차이가 없었다. 그 외 시험시작전 군별 최소홍반량, 자외선 조사 전후의 피부 색조도는 모두 동일한 수준으로 평가되었다.

3) 상완부 내측 피부에 자외선으로 유도한 인공 색소 침착 후 미백 효과를 측정한 색차계 L값의 변화도 (⊿L값)는 12주째에 시험군 (⊿L = 3.817 ± 2.228)에서 대조군 (⊿L = 2.731 ± 2.138)보다 유의하게 높았다 ($p = 0.011$).

4) 안면부 안와 주위 주름을 대상으로 모사판을 획득하고 영상 분석한 음영 비율을 주름 완화 유효 백분율로 비교한 결과, 8주, 12주에 시험군에서 대조군보다 유의한 증가를 나타내었다 ($p = 0.0217$, $p = 5.317E-06$).

5) 혈청 내 유효성분 vitamin E (α-tocopherol) 농도의

정량적 변동을 시험제제 섭취 전과 섭취 12 후에 측정한 결과, 시험군에서 대조군보다 유의하게 증가하였다 ($p = 0.0001$).

6) 시험제제를 12주간 섭취한 후 측정한 결과들을 종합하여 볼 때 ABC 군이 가나다 군에 비해 피부의 미백 및 주름 완화 효과가 유의하게 높은 것을 알 수 있었는데, ABC 군이 LGNC-5를 유효 성분으로 함유한 시험제제를 섭취한 군이었다.

Literature cited

1) Chung JH. Photoaging in Asians. *Photodermatol Photoimmunol Photomed* 2003; 19(3): 109-121
2) Yamakoshi J, Otsuka F, Sano A, Tokutake S, Saito M, Kikuchi A, Kubota Y. Lightening effect on UV-induced pigmentation of guinea pig skin by oral administration of a proanthocyanidin-rich extract from grape seeds. *Pigment Cell Res* 2003; 16: 629-638
3) Horikoshi T, Nakahara M, Kaminaga H, Sasaki M, Uchiwa H, Miyachi Y. Involvement of nitric oxide in UVB-induced pigmentation in guinea pig skin. *Pigment Cell Res* 2000; 12: 358-363
4) La Ruche G, Cesarini JP. Protective effect of oral selenium plus copper associated with vitamin complex on sunburn cell formation in human skin. *Photodermatol Photoimmunol Photomed* 1991; 8: 232-235
5) Quevedo WC Jr, Holstein TJ, Dychman J, McDonald CJ, Isaacson EL. Inhibition of UVR-induced tanning and immunosuppression by topical applications of vitamins C and E to the skin of hairless (hr/hr) mice. *Pigment Cell Res* 2000; 13: 89-98
6) Boelsma E, Hendriks HF, Roza L. Nutritional skin care: health effects of micronutrients and fatty acids. *Am J Clin Nutr* 2001; 73: 853-864
7) Stahl W, Heinrich U, Jungmann H, Sies H, Tronnier H. Caroteinoids and carotenoids plus vitamin E protect against ultraviolet light-induced erythema in humans. *Am J Clin Nutr* 2000; 71: 795-798
8) Ichihashi M, Ueda M, Budiyanto A, Bito T, Oka M, Fukunaga M, Tsuru K, Horikawa T. UV induced skin damage. *Toxicology* 2003; 189: 21-39
9) Vayalil PK, Mittal A, Hara Y, Elmets CA, Katiyar SK. Green tea polyphenols prevent ultraviolet light-induced oxidative damage and matrix metalloproteinase expression in mouse skin. *J Invest Dermatol* 2004; 122: 1480-1487
10) Rohdewald P. Pycnogenol. Flavonoids. In: Evans CA, Packer L, editors. Health and Disease Rice. New York: Dekker Inc; 1998. p.405-419
11) Saliou C, Rimbach G, Moini H, McLaughlin L, Hosseini S, Lee J, Watson RR, Packer L. Solar ultraviolet-induced erythema in human skin and nuclear factor-kappa-B-dependent gene expression in keratinocytes are modulated by a French maritime pine bark extract. *Free Radic Biol Med* 2001; 30(2): 154-160
12) Rohdewald P. A review of the French maritime pine bark extract (Pycnogenol), a herbal medication with a diverse clinical pharmacology. *Int J Clin Pharmacol Ther* 2002; 40: 158-168
13) Ni Z, Mu Y, Gulati O. Treatment of melasma with Pycnogenol®. *Phytother Res* 2002; 16: 567-571
14) Blazso G, Gabor M, Schoenlau F, Rohdewald P. Pycnogenol® accelerates wound healing and reduces scar formation. *Phytother Res* 2004; 18: 579-581
15) Grimm T, Schaefer A, Hoegger P. Antioxidant activity and inhibition of matrix metalloproteinases by metabolites of maritime pine bark extract (Pycnogenol). *Free Radic Biol Med* 2004; 36: 811-822
16) Cho HS, Lee MH, Lee JW, No KO, Park SK, Lee HS, Kang SJ, Cho WG, Park HJ, Oh KW, Hong JT. Anti-wrinkling effects of the mixture of vitamin C, vitamin E, pycnogenol and evening primrose oil, and molecular mechanisms on hairless mouse skin caused by chronic ultraviolet B irradiation. *Photodermatol Photoimmunol Photomed* 2007; 23: 155-162
17) No KO, Cho HS, Park SK, Lee HS, Chang MY, Lee MH, Kang SJ, Cho WG, Park HJ, Hong JT. Effects of LGNC-5 on the ultraviolet-induced wrinkle formation and pigmentation in hairless mice and brown guinea pigs. *Korean J Laboratory Animal Science* 2004; 20: 363-369
18) Svobodova A, Psotova J, Walterrova D. Natural phenolics in the prevension of UV-induced damage. *A review. Biomed Papers* 2003; 147: 137-145
19) Romero-Graillet C, Aberdam E, Clement M, Ortonne JP, Ballotti R. Nitric oxide produced by Ultraviolet-irradiated keratinocytes stimulates melanogenesis. *J Clin Invest* 1997; 99: 635-642
20) Corre S, Primot A, Sviderskaya E, Bennett DC, Vaulont S, Goding CR, Galibert MD. UV-induced expression of key component of the tanning process, the POMC and MC1R genes, is dependent on the p-38 activated upstream stimulation factor-1 (USF-1). *J Biol Chem* 2004; 279(49): 51226-51233
21) Eberlein-Konig B, Placzek M, Przybilla B. Protective effect against sunburn of combined systemic ascorbic acid (vitamin C) and D-α-tocopherol (vitamin E). *J Am Acad Dermatol* 1998; 38: 45-48
22) Werninghaus K, Meydani M, Bhawan J, Margolis R, Blumberg JB, Gilchrest BA. Evaluation of the photoprotective effect of oral vitamin E supplementation. *Arch Dermatol* 1994; 130: 1257-1261
23) La Ruche G, Cesarini JP. Pretoctive effects of oral selenium plus copper associated with vitamin complex on sunburn cell formation in human skin. *Photodermatol Photoimmunol Photomed* 1991; 18: 232-235
24) Cesarini JP, Michel L, Maurette JM, Adhoute H, Bejot M. Immedate effects of UV radiation on the skin: modification by an antioxidant complex containing carotenoids. *Photodermatol Photoimmunol Photomed* 2003; 19: 182-189