

낙타유가 함유된 리포솜 제조 및 피부 노화 개선 효과 연구

최성규·박근동·김다애·이대우·김윤정[†]

(주)더마랩 기술 연구소

(2014년 1월 23일 접수, 2014년 2월 1일 수정, 2014년 2월 28일 채택)

Preparation of Camel Milk Liposome and Its Anti-Aging Effects

Sung Kyu Choi, Kun Dong Park, Da Ae Kim, Dae Woo Lee, and Yun Jeong Kim[†]

Dermalab Co., Ltd. R&D Center, 231, Munmakgongdan-gil, Munmak-eup, Gangwon-do 220-805, Korea

(Received January 23, 2014; Revised February 1, 2014; Accepted February 28, 2014)

요약: 본 연구에서는 낙타유를 유효성분으로 하여 리포솜을 제조하였고, 이를 이용하여 항노화 효능을 갖는 화장품 원료를 개발하고자 다양한 실험을 실시하였다. 제조된 낙타유 리포솜은 피부 섬유아세포에서 collagen과 hyaluronan synthase-3 (HAS-3)의 발현을 증가시키고 matrix metalloproteinase (MMP)-1의 발현을 감소시킬 뿐 아니라 elastase의 활성을 억제하여 주름 개선 기능을 갖는 것을 확인하였다. 또한 자외선으로부터 손상된 세포를 재생시키는 효과를 확인하였다. 이에 따라 낙타유를 함유한 리포솜은 항노화 소재로 활용할 수 있을 것으로 사료된다.

Abstract: In this study, in order to know the application for cosmetic ingredient, the liposome contained camel milk was prepared and tested in human skin fibroblast. Collagen and hyaluronan synthase-3 (HAS-3) gene expression were increased by camel milk liposome in a concentration-dependent manner, whereas elastase activity and matrix metalloproteinase (MMP)-1 gene expression were inhibited. We also found that camel milk liposome regenerated UVB-damaged fibroblast. As the results, we suggest that the liposome contained camel milk is applicable for a potential cosmetic ingredient to improve anti-aging effect.

Keywords: Camel milk liposome, Collagen, Hyaluronan synthase-3, Matrix metalloproteinase-1, Cell renewal

1. 서 론

노화는 시간이 흐름에 따라 생물의 신체기능이 퇴화하는 현상으로 세포의 노화는 세포가 분열할 수 있는 능력을 잃어버리는 것으로 나타난다. 피부 역시 나이가 들어감에 따라 노화가 나타나고 피부 주름은 노화된 피부의 가장 흔한 증상이라고 할 수 있다. 노화에 대한 관심이 높아지면서 피부 노화에 대한 관심도 증가하고 있고 노화를 막을 수는 없지만 억제하고 늦추기 위해 다양한 시도들이 행하여지고 있다. 피부의 노

화 요인으로는 여러 가지가 있으나 크게 내인성 피부 노화와 외인성 피부 노화로 나눌 수 있다. 내인성 피부 노화는 시간이 지남에 따라 발생하는 자연적인 노화현상이며 외인성 피부 노화는 자외선, 오염, 담배 연기 등과 같은 외부 요인에 의해 발생하는 현상으로 자외선으로 인한 광노화가 대표적이다[1,2]. 특히 자외선에 의해서 피부의 주름 생성, 탄력 저하, 색소 침착과 더불어 피부 장벽 손상으로 인한 피부 수분량 감소가 나타나게 되고 건강한 피부를 유지하기 위해서 피부의 수분량과 탄력성을 유지하는 것이 중요하다[3].

피부가 자외선에 노출되면 피부 상피 세포의 증식

[†] 주 저자 (e-mail: yjkim@dermalab.co.kr)

과 색소 침착, 활성 산소 형성에 의한 DNA 손상 등이 초래되고 이러한 자극이 반복되면서 염증 반응이 증가되어 collagen의 분해도 증가한다고 보고되었다[4]. 이러한 변화는 피부 두께를 증가시키며 진피층의 구조를 손상시켜 궁극적으로 주름을 유발시키게 된다[5]. 이와 더불어 진피층에서 그물망구조를 갖고 있는 엘라스틴 단백질의 감소도 탄력 저하와 밀접한 관련이 있는 것으로 알려져 있다[6]. 또한 피부의 탄력성이나 부드러움, 촉촉함 등의 느낌은 피부 각질층에 존재하는 수분에 의해 유지되므로 건강한 피부를 위해서 보습은 매우 중요한 역할을 하고 특히 hyaluronic acid (HA)는 동물 등의 피부에 많이 존재하는 생체 합성 천연 물질로 피부에서 보습 작용의 역할을 한다. HA는 인간의 피부에도 존재하며 보습 작용 뿐 아니라 다양한 생리적 작용을 조절하고 피부는 증발된 수분으로 인한 수분부족현상으로 피부 탄력 저하, 잔주름이 형성되어 급격한 노화가 진행되므로 HA를 합성하는 hyaluronan synthase (HAS)의 발현 역시 중요하다[7].

이처럼 피부 노화에 대한 중요성과 관심이 높아지면서 피부 노화 억제를 위해 다양한 분야에서 연구가 진행되고 있고 본 연구에서도 피부 노화개선을 위해 이용 가능한 소재를 확인하는 과정에서 지역적, 원물적 특색을 갖는 낙타유에 대한 피부 생리학적 자료를 통해 연구 가치가 있다고 판단하였다.

낙타유는 오래전부터 현재까지 사용되고 있는 유용하고 고귀한 우유이며 두바이의 낙타유 산업을 시작으로 대중들에게 낙타유의 효능과 고부가가치 산업으로 알려져 있고 요거트, 치즈, 버터, 초콜릿 등으로 가공되어 판매되고 있다. 낙타유는 일반우유에 비해 3~5배 높은 비타민 C를 함유하고 있으며 카제인 함량이 낮아 우유와는 다르게 소화할 경우 나타나는 알레르기 반응이 없다[8,9]. 또한 낙타유는 모유와 성분이 유사한 것으로 확인되었고 낙타유의 락토페린 성분은 항암 작용, 여드름 억제, 항산화 효과 등을 갖는 것으로 알려져 있다[10,11]. 이러한 연구를 토대로 하여 낙타유의 효능을 피부에 전달하기 위해 흡수율이 높은 낙타유 리포솜을 제조하고자 하였다. 리포솜은 주로 세포막 성분인 인지질로 구성되어 세포 내로 유입되기가 쉬운 장점을 가지고 있고 리포솜에 포집된 물질이 서서히 방출되어 효과를 장시간 지속할 수 있는 특징이 있다[12]. 이러한 연구를 토대로 하여 피부

내로의 흡수율을 높이고 피부내에서 효능이 지속되도록 하기 위해 낙타유 리포솜을 제조하였다.

따라서 본 연구는 낙타유의 다양한 효능에 대한 연구에 이어 낙타유를 함유한 리포솜을 제조하여 collagen 및 HAS-3의 발현과 matrix metalloproteinase-1 (MMP-1) 발현 저해 및 elastase의 활성 저해를 확인하고 주름 개선 및 보습에 유효한 항노화 화장품의 원료로서 가능성이 있는지를 확인하였다.

2. 재료 및 방법

2.1. 낙타유 함유 리포솜의 제조

실험에 사용된 낙타유 파우더는 Onderzoek Kamelenmelk Smits V.O.F. (Netherlands)에서 공급받아 사용하였다. 리포솜을 만드는데 사용한 주요 성분으로 hydrogenated lecithin (Neuropid, Korea)과 cholesterol (Dishman, Netherlands)을 사용하였다. 리포솜을 화장품과 같은 피부에 적용하는 제형으로 만들기 위해서는 효율적인 피부 투과 흡수, 입자크기, 입자표면 전하, 제타전위의 크기, pH 등의 리포솜 특성을 최적화하는 것이 필요하다. 따라서 인지질에 콜레스테롤을 첨가하여 리포솜을 만들면 지질막이 견고해지면서 막 내부에 포집된 성분이 쉽게 방출되지 않는 등 리포솜 막이 물리적으로 안정해지는 효과를 얻을 수 있다[12]. 이런 원리를 이용하여 계면활성제인 hydrogenated lecithin과 용매로는 물, 글리세린, 중쇄트리글리세라이드, 콜레스테롤을 사용하여 80 °C에서 교반하여 용해시킨 후 microfluidizer (M-110EH, Microfluidics, USA)로 1,000 bar에 연속 3회 통과시킨 후 냉각, 탈포시켜 낙타유 성분을 함유한 리포솜을 제조하였다.

2.2. 세포배양

사람의 정상 섬유아세포(CCD-986Sk, human skin fibroblast)는 american type culture collection (ATCC, USA)에서 구입하였으며, 이 섬유아세포를 37 °C, 5%의 CO₂ 하에서 10%의 fetal bovine serum (FBS, Lonza, Switzerland), 50 units/mL의 streptomycin (Sigma, USA)과 100 IU/mL의 penicillin (Sigma, USA)을 첨가한 ISCOVES MODIFIED DULBECCOS-M (IMDM, Invitrogen, USA)에서 배양하였다.

Table 1. Primer Pair

Gene		Primer sequence
Collagen	Forward	5' - TCC CCA GCC ACA AAG AGT CTA - 3'
	Reverse	5' - TTT CCA CAC GTC TCG GTC A - 3'
MMP-1	Forward	5' - CGA CTC TAG AAA CAC AAG AGC AAG A - 3'
	Reverse	5' - AAG GTT AGC TTA CTG TCA CAC GCT T - 3'
HAS-3	Forward	5' - GGA AAG CTT GGC ATG TAC CGC AAC AG - 3'
	Reverse	5' - AGA GGA GGG AGT AGA GGG AC - 3'

2.3. MTT assay

세포 독성 평가는 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide (MTT, Sigma, USA) assay로 측정하였다. 세포를 96-well plate의 각 well에 1×10^5 cells/well의 농도로 분주한 후 37 °C, 5% CO₂ 하에서 24 h 동안 배양하여 낙타유 리포솜을 농도별로 처리하고 다시 24 h 동안 배양한 후 phosphate buffered saline (PBS)으로 세척해주었다. MTT를 3 mg/mL 농도가 되도록 PBS에 녹이고 이를 다시 새 배지를 이용하여 1 / 10로 희석한 후 각 well에 100 μ L 첨가하여 4 h 동안 배양하였다. 각 well에 dimethyl sulfoxide (DMSO)를 150 μ L 넣고 20 min 동안 교반 용해시킨 후 570 nm에서 흡광도를 측정하였다.

2.4. 항노화 관련 유전자 조사

CCD-986Sk를 37 °C, 5%의 CO₂ 하에서 10%의 FBS, 50 units/mL의 streptomycin과 100 IU/mL의 penicillin을 첨가한 IMDM에서 24 h 동안 배양한 뒤 낙타유 리포솜을 농도별로 처리하고 양성 대조군으로 아데노신을 처리하여 18 h 동안 배양하였다. 항노화 관련 유전자의 mRNA 분석을 위해 세포 내의 total RNA를 섬유아세포 배양으로부터 trizol reagent (Invitrogen, USA)를 사용하여 추출하였다. RNA 수득율은 260 nm에서 흡광도로 측정하여 정량한 후 reverse transcription-polymerase chain reaction (RT-PCR)을 실시하였다.

cDNA합성은 PrimeScript 1st strand cDNA Synthesis Kit (TaKaRa, Japan)를 이용하였고 PCR은 cDNA로부터 Taq polymerase Kit (TaKaRa, Japan)와 특정 primer로 증폭하였다. PCR에 의하여 생성된 산물은 1% agarose gel에서 전기영동하여 image analyzer (KOREALABTECH, Korea)로 확인하였다. 모든 primer

는 Bioneer (Daejeon, Korea)에서 주문 제작하였고 각 primer의 서열은 Table 1과 같다.

2.5. Elastase 활성 측정

Elastase 활성 측정을 위해 Elastin-Congo red agar diffusion 방법[13]을 응용하여 elastin inhibition assay를 수행하였다. 200 mM tris HCl buffer (pH 8.8)에 0.1% Elastin-Congo red (Sigma, USA)와 2.5% agar (Duchefa, Germany)를 녹이고 autoclave하여 굳힌 뒤 시료를 주입할 수 있는 hole을 준비하였다. 농도별로 준비한 시료와 elastase (1,500 units/mL, Sigma, USA)를 각각 50 μ L 준비하여 microtube에서 섞은 후 상온에서 10 min 간 반응시켰다. 반응 후 혼합한 상등액 50 μ L를 준비한 hole에 주입하고 37 °C에서 24 h 동안 배양 후 halo diameters를 측정하였다. 대조군으로는 시료를 처리하지 않고 elastase만 주입하였고 양성 대조군으로는 아데노신(50 ppm)을 사용하였다.

2.6. 세포 재생 효과 확인

세포 재생 효과를 확인하기 위해 MTT assay를 수행하였다. CCD-986Sk 세포를 96-well plate의 각 well에 1×10^5 cells/well의 농도로 분주한 후 37 °C, 5% CO₂ 하에서 24 h 동안 배양하였다. 배양 후 자외선 조사기 (UVB G15T8E, Sankyo Denki, Japan)로 400 mJ/cm²의 UVB를 2 h 동안 조사하여 세포 손상을 유도한 뒤 낙타유 리포솜을 농도 별로 처리하고 다시 24 h 동안 배양한 후 PBS로 세척해주었다. MTT를 3 mg/mL 농도가 되도록 PBS에 녹이고 이를 다시 새 배지를 이용하여 1 / 10로 희석한 후 각 well에 100 μ L 첨가하여 4 h 동안 배양하였다. 각 well에 DMSO를 150 μ L 넣고 20 min 동안 교반 용해시킨 후 570 nm에서 흡광도를

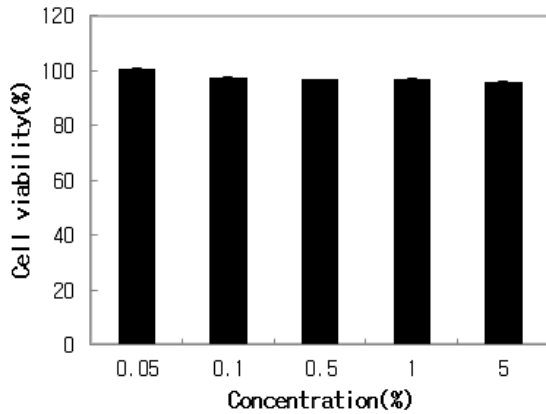


Figure 1. Effect of camel milk liposome on cell viability. Cells were treated with various concentration of camel milk liposome and cell viability measured by MTT assay. The results were expressed as the mean \pm S.D. from the three independent experiments.

측정하였다. 자외선으로 인한 세포 손상 후 낙타유 리포솜을 통해 세포의 형태학적인 회복을 확인하기 위해 inverted microscope (OLYMPUS, Japan)로 세포를 관찰하였다.

2.7. 통계적 검증

모든 실험은 3회 이상 반복으로 이루어졌으며 실험 결과는 평균 \pm 표준편차로 표기하였다. 통계적 분석은 student's *t*-test를 이용하여 $p < 0.05$ 인 경우 *, $p < 0.01$ 인 경우 **로 통계적으로 유의한 것으로 표시하였다.

3. 결과 및 고찰

3.1. 세포 생존율 확인

낙타유 리포솜의 세포독성을 확인하기 위해 MTT assay를 수행하였다. 낙타유 리포솜의 사용 농도가 1% 이하일 때 세포 독성이 전혀 없는 것을 확인하였고 5%를 사용하였을 시에도 90% 이상의 높은 세포 생존율을 보여 5% 이하의 농도 범위 내에서 피부 세포에 독성이 없는 것으로 확인하였다(Figure 1).

3.2. 항노화 관련 유전자 발현 확인

Collagen은 진피층의 90%를 차지하는 주요 단백질로서 피부 연결 조직을 유지하여 피부에 강도와 장력을 주고 피부 세포내 수분이 손실되면 각질층의 구조가 변화된다. Collagen 발현 증가와 HA의 발현 증가는 피부의 보습과 탄력의 증가를 의미하므로 낙타유 리포솜이 각 유전자의 발현에 어떠한 영향을 미치는지 확인하고자 정상 섬유아세포에 낙타유 리포솜을 농도별로 처리한 후 RT-PCR을 수행하여 collagen과 HAS-3의 발현량을 확인하였다. 또한 collagen 분해효소의 작용이 증가하면 collagen의 가교된 형태가 감소함으로써 매끄러움, 보습, 팽팽함이 감소되므로 collagen 분해 효소인 MMP-1의 발현을 확인하고자 정상 섬유아세포에 낙타유 리포솜을 처리한 후 400 mJ/cm²의 UVB에서 2 h 동안 노출 시킨 뒤 RT-PCR을 수행하여 MMP-1의 발현량을 확인하였다. 그 결과 낙타유 리포솜의 처리 농도가 증가할수록 collagen과 HAS-3의 발현량이 증가하여 낙타유 리포솜이 collagen과 HAS-3의 발현을 증가시키는 것을 확인하였고 낙타유 리포솜의 처리 농도가 증가할수록 MMP-1의 발현이 감소하는 것을 확인하였다(Figure 2). 이러한 결과를 통해 낙타유 리포솜은 피부에 강도와 장력의 힘을 주고 피부 수분을 보유하는 능력을 증가시키는 collagen과 HAS-3의 발현을 증가시켜 피부의 탄력과 보습력을 증가시키는 효과가 있음을 확인하였다. 또한 낙타유 리포솜은 collagen을 분해하는 효소인 MMP-1의 발현을 억제함으로써 피부 노화로 인한 피부 주름 형성을 억제할 수 있음을 확인하였다. 양성 대조군으로 사용한 아데노신은 기능성화장품 기준 및 시험방법[14]에 주름개선의 효능·효과, 0.04%의 농도로 액, 로션 및 크림의 제형으로 고시되어 있어 그 활용빈도가 매우 높은 원료이다. 따라서 낙타유리포솜은 주름 개선 고시 원료인 아데노신과 비슷한 정도로 collagen 및 HAS-3 발현, MMP-1의 발현 억제능을 나타내는 것을 확인하여 주름 개선 원료로서의 가능성을 확인하였다.

3.3. Elastase 활성에 미치는 영향 확인

엘라스틴은 피부가 노화되면 함량이 줄어들어 피부의 처짐, 주름, 피부 손상 등의 현상을 일어나게 한다. 따라서 엘라스틴을 분해하는 효소인 elastase의 활성은 피부의 탄력과 주름 형성에 중요한 요인이 된다[15].

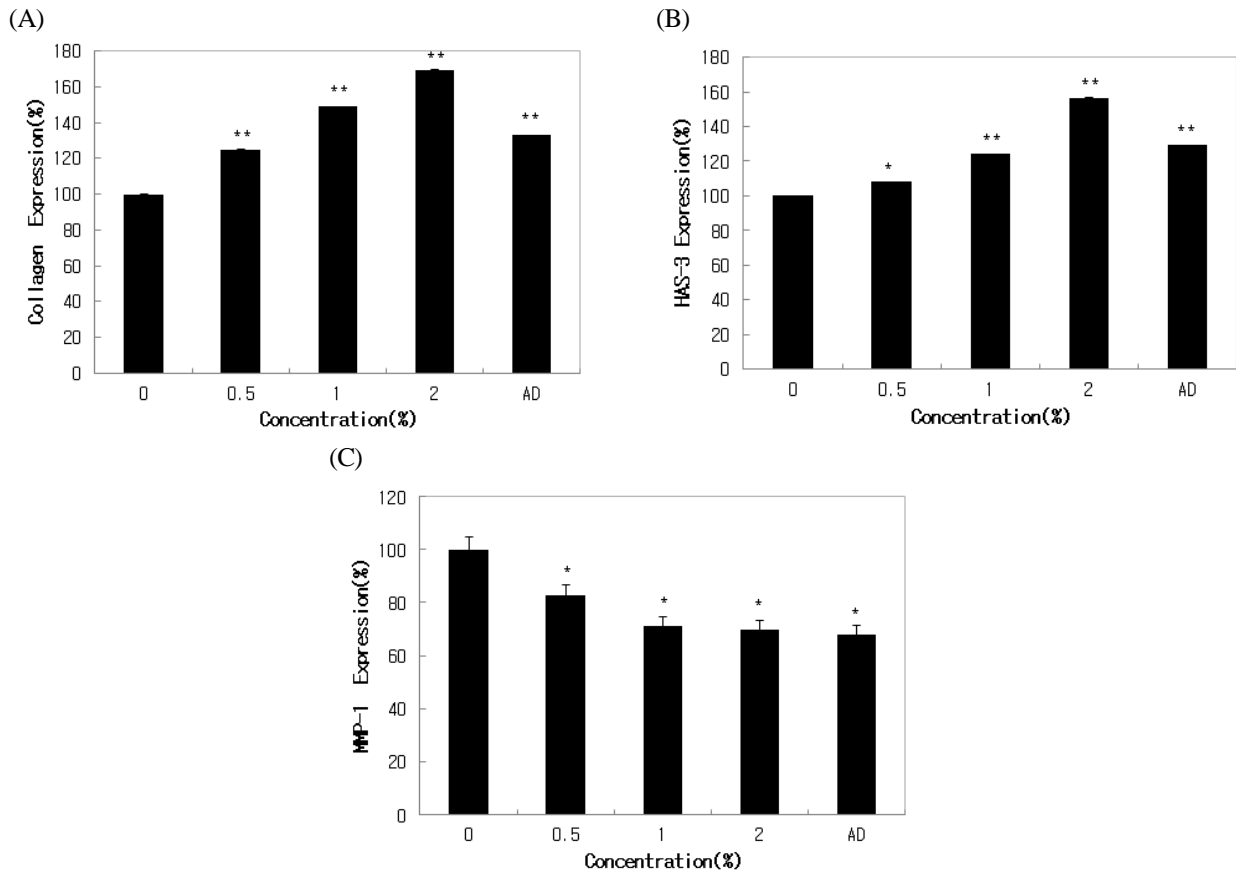


Figure 2. Effect of camel milk liposome on gene expression of collagen and HAS-3 in human skin fibroblast (A, B) and MMP-1 in UVB-irradiated human skin fibroblast (C). AD; Adenosine 50 ppm. The results were expressed as the mean \pm S.D. from the three independent experiments. * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$.

이러한 이유로 Elastin Congo red법을 통해 낙타유 리포솜으로 인한 elastase 활성을 측정하였다. 그 결과 낙타유 리포솜의 처리 농도가 증가할수록 elastase 활성이 감소하는 것을 확인하였고 2%의 농도에서는 무처리 대조군에 비해 elastase 활성이 약 59% 감소하는 현상을 확인하였다. 이는 양성 대조군으로 사용한 아데노신과 유사한 elastase 활성 억제 효과임을 확인하였다. 이 결과를 통해 낙타유 리포솜은 양성대조군인 아데노신보다 낮은 농도에서 더 우수한 elastase 활성 억제 효능이 있다는 것을 알 수 있었다(Figure 3).

3.4. UVB 조사 후 낙타유 리포솜을 처리한 세포의 재생 능력 확인

노화를 발생시키는 주요한 요인 중 하나로 자외선을 들 수 있다. 자외선은 그 파장의 길이에 따라 UVA,

B, C로 나눌 수 있는데, 이 중 UVB는 피부에 강한 자극을 일으켜 피부 손상과 노화를 발생시킨다. 따라서 CCD-986Sk 세포를 배양한 뒤 400 mJ/cm²의 UVB를 2 h 동안 조사하여 세포 손상을 유도하고 농도별로 낙타유 리포솜을 처리하여 18 h 동안 배양하였다. 손상된 세포의 재생 능력을 확인하기 위해 MTT assay를 수행하였고 세포의 형태학적인 회복을 확인하기 위해 inverted microscope을 이용하여 세포를 관찰하였다. 그 결과 UVB 조사로 인해 손상된 세포에 낙타유 리포솜을 처리하였을 때 무처리 대조군에 비해 세포의 증식과 이동력이 빠르게 증가하여 세포가 재생되는 것을 확인하였다(Figure 4). 이 결과를 통해 낙타유 리포솜은 UVB로 인해 손상된 세포를 재생시키는 효능이 있다는 것을 알 수 있었다.

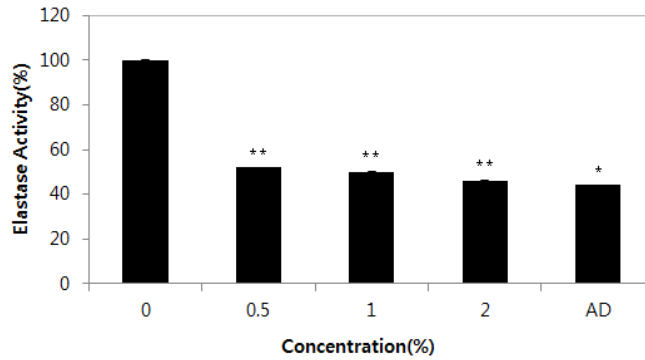


Figure 3. Effect of camel milk liposome on elastase activity. All experiments were done in triplicate. AD; Adenosine 50 ppm. The results were expressed as the mean ± S.D. from the three independent experiments. **p* < 0.05, ***p* < 0.01.

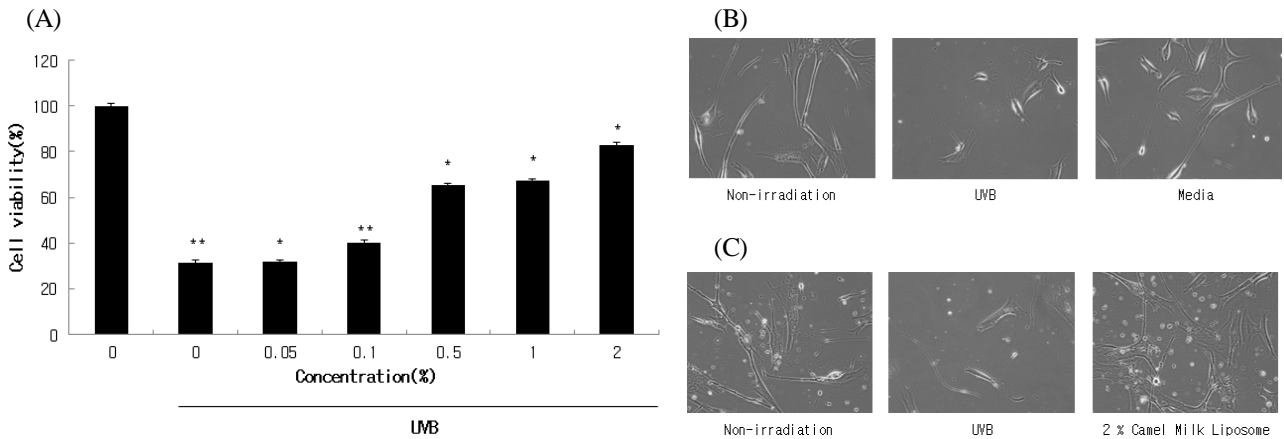


Figure 4. Effect of camel milk liposome on cell regeneration in UVB-irradiated human skin fibroblast. (A) Cell viability, (B) Media, (C) 2% camel milk liposome. The results were expressed as the mean ± S.D. from the three independent experiments. **p* < 0.05 vs. control group.

4. 결 론

본 연구에서는 항노화와 관련하여 낙타유 리포솜의 효능을 확인하는데 중점을 두었다. 낙타유는 건조한 사막지역에서도 견딜 수 있는 생명력을 갖는 귀한 동물로 인체 면역력을 강화시켜 질병으로 인한 감염 및 전염의 억제, 피부재생 등의 효능을 갖는 것으로 알려져 있다[16]. 또한 낙타유의 성분 중 락토펜은 항암 및 항산화 효과를 갖는 것으로 알려져 있다[17]. 이러한 연구 내용을 토대로 하여 낙타유의 효능을 피부에 전달하기 위해 흡수율이 높은 낙타유 리포솜을 제조하였다. 제조된 낙타유 리포솜의 물리적 특성을 확인하기 위해 입자 크기, 분산력 및 안정성을 확인한 결과 안정한 나노 입자를 형성하였고 우수한 분산력과

저온 및 고온에서 안정성을 확인하였다(data not shown). 사람의 정상 섬유아세포에서 낙타유 리포솜의 효능을 확인하기 위해 주름 개선 및 보습, 피부재생에 중점을 두어 항노화 효능에 관한 연구를 진행하였다. 그 결과 낙타유 리포솜은 항노화 효능과 밀접한 관련이 있는 collagen의 발현을 증가시킴으로서 피부에 탄성과 힘을 주고 주름 개선 효과를 갖는 것으로 기대하고 있다. 또한 HAS-3의 발현을 증가시켜 피부 친화력 및 보습력을 강화시켜 피부에 수분을 공급하는 능력을 증가시킴으로서 외부 자극으로 인한 수분 손실을 억제시킬 것으로 기대하고 있다. 외인성 피부노화의 대표적인 노화로 광노화를 들 수 있는데 낙타유 리포솜은 자외선으로부터 증가되는 MMP-1의 발현을 감소시킴으로서 주름 생성을 억제하는 효과를

확인하였고 피부 탄력 및 주름 관련 주요지표물질인 엘라스틴을 분해하는 elastase의 활성을 억제함으로써 주름 개선 및 탄력에 관여하는 것을 확인할 수 있었다. 또한 낙타유 리포솜은 자외선으로 인해 손상된 세포의 증식 및 이동을 증가시켜 세포 재생력을 증가시키는 효능을 갖는 것을 확인하였다. 따라서 본 연구의 결과를 종합하여 볼 때, 낙타유 리포솜은 주름 개선 및 보습, 탄력, 세포 재생 등 항노화 효과를 갖는 기능성 화장품의 소재로서 활용이 가능할 것으로 사료되며, 이외의 다양한 유효성 평가를 진행하여 화장품에 적용 가능한 우수한 소재로서의 이용이 가능할 것으로 기대된다.

감사의 글

이 논문은 한국보건산업진흥원 글로벌코스메틱연구개발사업단(과제번호 A103017) 및 Basic Science Research Program through the National Research Foundation of Korea (NRF) funded by the Ministry of Education, Science and Technology (NRF-2013R1A1A2007330)에 의하여 지원 되었습니다.

Reference

1. H. C. Choi and C. H. Oh, Evaluation of skin furrows in the ageing process using an image analysis system, *Ann. Dermatol.*, **35**, 292 (1997).
2. H. M. Chiang, H. C. Chen, T. J. Lin, I. C. Shih, and K. C. Wen, *Michelia alba* extract attenuates UVB-induced expression of matrix metalloproteinases via MAP kinase pathway in human dermal fibroblasts, *Food and Chemical Toxicology*, **50**, 4260 (2012).
3. J. M. Yoo, Y. J. Kang, H. B. Pyo, E. S. Choung, S. Y. Park, J. H. Choi, G. J. Han, C. H. Lee, and T. J. Kim, Anti-wrinkle effects of korean rice wine cake on human fibroblast, *J. Life Sci.*, **20**(12), 1838 (2010).
4. S. H. Jang, J. M. Chun, E. M. Shin, H. J. Kim, and Y. S. Kim, Inhibitory effects of curcuminoids from curcuma longa on matrix metalloproteinase-1 expression in keratinocytes and fibroblasts, *Dermatol.*, **40**(3) (2010).
5. E. Houben, K. De Paepe, and V. Rogiers, A keratinocyte's course of life, *Skin Pharmacol. Physiol.*, **20**, 122 (2007).
6. W. M. Yang, H. M. Kim, M. S. Chang, W. S. Park, W. N. Kim, S. W. Kim, D. G. Choi, H. C. Lee, Y. K. Kim, and S. K. Park, Effects of ethanol extract of *Nelumbo nucifera* leaves on anti-oxidation and type I procollagen expression in CCD-986sk cells, *Kor. J. Ori. Med. Prescription*, **14**(2), 67 (2006).
7. P. Dahiya and R. Kamal, Hyaluronic acid: A boon in periodontal therapy, *North American J. Med. Sci.*, **5**(5), 309 (2013).
8. R. Rettenmaier and D. ATKINS, Vitamin content of camel milk, *Internat. J. Vit. Nutr. Res.*, **62**, 30 (1992).
9. S. M. Shamsia, Nutritional and therapeutic properties of camel and human milks, *Int. J. Genetics and Molecular Biol.*, **1**(2), 52 (2005).
10. R. Ronald, Camel milk: characteristics and perspectives for use in clinical practice, *Revista chilena de nutricion*, **38**(2), 211 (2011).
11. L. Tang, J. Wu, Q. Ma, T. Cui, F. M. Andreopoulos, J. Gil, J. Valdes, S.C. Davis, and J. Li, Human lactoferrin stimulates skin keratinocyte function and wound re-epithelialization, *British J. Derm.*, **163**, 38 (2010).
12. L. Pinto, G. Rodriguez, and R. AM, Effect of cholesterol and ethanol on dermal delivery from DPPC liposomes, *Int. J. Pharm.*, **298**, 1 (2005).
13. K. H. Jung and H. J. Kim, Development of an agar diffusion method to measure elastase inhibition activity using elastin-congo red, *J. Microbiol. Biotechnol.*, **16**(8), 1320 (2006).
14. S. H. Park, E. J. Kim, S. H. Park, K. H. Son, S. J. Yang, S. M. Kim, S. R. Park, Y. H. Kim, G. H. Gong, and M. H. Woo, K, Guideline for analytical method of preservatives and sunscreen ingredients in cosmetics-analysis of arbutin and adenosine in cosmetics, *KFDC*, **5**, 23 (2007).
15. T. J. Kang, Cause of skin aging, *BRIC BioWave*, **13**, 3 (2011).

16. G. Badr, Camel whey protein enhances diabetic wound healing in a streptozotocin-induced diabetic mouse model: the critical role of β -Defensin-1, -2 and -3, *Lipids in Health and Disease*, **12**(1), 46 (2013).
17. M. Hosam, H. Wissam, R. Schneider, and M. Hassan, Camel milk lactoferrin reduces the proliferation of colorectal cancer cells and exerts antioxidant and DNA damage inhibitory activities, *Food Chemistry*, **141**, 148 (2013).