

## 하고초 추출물의 항노화 효과에 관한 연구

홍은숙<sup>†</sup> · 안기웅 · 조병기

더 페이스샵 기술연구소

(2008년 3월 3일 접수, 2008년 6월 12일 채택)

### The Study on the Potential Anti-aging Properties of *Prunella vulgaris* Extract *In Vitro* and *In Vivo*

Eun Suk Hong<sup>†</sup>, Gi Woong Ahn, and Byoung Kee Jo

THE FACESHOP R&D Center, 565-2, Sipjeong-dong, Bupyeong-gu, Incheon 403-130, Korea

(Received March 3, 2008; Accepted June 12, 2008)

**요약:** 본 연구에서는 하고초(*Prunella vulgaris*) 추출물의 항노화 효과에 대하여 알아보고자 하였다. 시험 결과, 하고초 추출물의 콜라겐 생성 촉진 효과는 250 µg/mL 농도에서 75.7 %, MMP-1 생성 억제 효과는 200 µg/mL 농도에서 90.2 %로 나타났고, 엘라스테이스 활성 억제 효과는 2.0 % 농도에서 43.7 %로 나타났다. 또한, 하고초 추출물의 항산화 효과 측정을 위한 자유 라디칼 소거 효과 시험 결과 2.0 % 농도에서 76.9 %의 소거 효과를 나타내었으며, 과산화수소에 의한 세포사멸 억제 효과는 2.0 % 농도에서 49.9 %로 나타났다. 하고초 추출물의 피부에 대한 영향을 알아보기 위하여 22명 (연령분포 : 34세 ~ 48세)의 지원자를 대상으로 실시한 이중 맹검 임상 연구 결과, 하고초 추출물 4.0 % 함유 제형을 12주간 도포하였을 때, 대조군과 비교하여 전문가의 육안평가, 모사판을 제작하여 주름의 정도를 분석한 결과 주름 개선에 현저한 효과가 있음을 확인하였다( $p < 0.05$ ). 이러한 결과를 통해 하고초 추출물은 피부의 탄력과 주름을 효과적으로 개선함으로써, 천연 항노화 소재로 유용하게 이용될 수 있을 것으로 기대된다.

**Abstract:** In this study, the potential anti-aging properties of *Prunella vulgaris* extract were investigated. According to our results, *Prunella vulgaris* extract increased collagen synthesis (74.7 % at 250 µg/mL) and decreased on MMP-1 synthesis (90.2 % at 200 µg/mL) and elastase activity (43.7 % at 2.0 %). Furthermore, it also showed free radical scavenging activity (76.9 % at 2.0 %) and reduced H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-induced cytotoxicity (49.9 % at 2.0 %). A double-blind clinical study to investigate the effect of *Prunella vulgaris* extract on the skin's surface was conducted with 22 healthy volunteers, aged 34 to 48 years. The volunteers applied a cream formula with 4.0 % of *Prunella vulgaris* extract, or placebo cream, on each crow's feet twice a day for 12 weeks. Skin wrinkles were evaluated with the naked eye and instrumental image analysis of silicone replicas, followed by statistical analysis. Twelve weeks after application of cream formula with 4.0 % of *Prunella vulgaris* extract, we found significant improvement of facial wrinkle. Moreover, silicone replica analysis confirmed notable improvement in average of R2 and R3 at 12 weeks ( $p < 0.05$ ). These results demonstrate that *Prunella vulgaris* provides a remarkable and significant tensor and anti-wrinkle effect on the skin, which could be of great use in anti-aging skin care products.

**Keywords:** *Prunella vulgaris*, anti-aging, collagen, MMP-1, antioxidative activity

<sup>†</sup> 주 저자 (e-mail: honges@thefaceshop.com)

## 1. 서 론

피부노화는 크게 내적인 노화와 외적인 노화로 구별된다[1]. 내적인 노화는 나이가 들어감에 따라 자연스럽게 일어나는 노화로 전반적인 피부의 탄력이 감소되고 잔잔한 주름이 생기는 것이 특징인 반면, 외적인 노화는 외부의 자극으로 인한 노화로 가장 큰 원인이 자외선이다. 피부가 자외선에 노출됨으로써 일어나는 외적인 노화는 광노화라고 불리며 광노화의 특징은 굵고 깊은 주름이 생기며 색소침착 등을 동반하게 되며 그 변화가 매우 급격히 일어나는 것이 특징이다[2]. 광노화의 주된 이유 중 하나는 자외선으로 인해 활성산소 등이 생성되게 되고 이는 matrix metalloproteinases (MMPs) 생성을 촉진시킨다. 이로 인해 콜라겐이나 엘라스틴과 같은 진피층의 피부를 지지하는 물질들의 분해 또는 변성이 가속화되어 피부노화가 일어나게 된다[3]. 뿐만 아니라 피부 깊숙이 침투한 자외선은 피부에 존재하는 섬유아세포와 같은 세포의 DNA를 파괴시키거나 돌연변이를 일으켜 전반적인 피부의 상태를 악화시킨다[4]. 결국 전반적인 피부 구조의 변화로 표피층은 얇아지고 세포분열이 감소하며, 표피와 진피층의 연결 부분의 굴곡이 평평해진다. 또 진피층의 구조물질인 콜라겐과 엘라스틴의 양이 줄어들게 된다[5,6]. 이 외에도 단백질, 다당류, 수분 등의 손실로 피부 구조의 변화가 일어나게 된다[7].

본 시험에서는 이러한 견지 하에서 자유 라디칼 소거 효과를 가지며, MMP-1 생성을 억제하는 동시에 콜라겐 생합성을 촉진해주고, 엘라스틴을 분해하는 효소인 엘라스테이즈의 활성을 억제해 주는 물질을 찾아 이 물질의 *in vitro*에서의 효과를 검증하고자 하였으며 더 나아가서는 이 물질을 이용하여 항노화 화장품 개발에 적용하고자 하였다.

하고초(*Prunella vulgaris*)는 꿀풀이라고도 불리는 꿀풀과의 여러해살이 풀이다. 한국과 만주 등지에 자생하며, 다년생 초본으로 높이 20 ~ 30 cm로 산야 및 길가 풀밭에서 자란다. 꿀풀의 꽃이나 전초를 건조한 것을 한약으로 사용한다. 성분은 triterpenoid, oleanolic acid, ursolic acid, rutin, rosolic acid, hyperoside, caffeic acid 등이 함유되어 있는 것으로 보고되었으며[8,9], 이 중 ursolic acid는 항염, 항알러지 효과가 우수한 것으로 보고되었고[10], rosolic acid는 자외선으로부터 피부를 보호하는 효과를 갖고 있다[11]. 또한 하고초는 항산화 및 항균 효과도 우수한 것으로 보고되었다[12,13].

본 연구에서는 하고초 추출물의 콜라겐 생성 촉진 효

과, MMP-1 생성 억제 효과, 엘라스테이즈 활성 억제 효과 및 항산화 효과 등을 *in vitro*에서 확인하고, 이 중 맹검 임상 연구를 통하여 하고초 추출물을 함유하는 제형의 피부 표면에 대한 영향을 알아보고자 하였다.

## 2. 재료 및 방법

### 2.1. 실험재료 및 기기

본 실험에 사용된 하고초(*Prunella vulgaris*)는 국내 약초시장에서 국내산으로 구입하여 사용하였다. 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH), Tris buffer, elastase, butylated hydroxytoluene (BHT), *N*-succinyl-Ala-Ala-Ala-*p*-nitroanilide, 3-[4,5-dimethylthiazol-2-yl]-2,5-diphenyltetrazolium bromide (MTT), Dulbecco's modified Eagle's medium (DMEM), fetal bovine serum (FBS) 시약들은 Sigma (USA)사 제품으로 사용하였다. Procollagen type I C-peptide (PIP) EIA kit는 Takara Bio (Japan), MMP-1 assay kit는 Amersham (USA)사 제품을 사용하였다. 또한 Mouse immortalized fibroblast (NIH3T3 cell), Human normal fibroblast (CCD-986sk cell) 세포주들은 한국 세포주 은행에서 구입하였으며, enzyme linked immuno solvent assay (ELISA) reader는 SpectraMAX Plus 384 (Molecular devices Inc., USA)를, 비시오메터는 Skin-visiometer SV600 (Courage & Khazaka, Germany)를 사용하였다.

### 2.2. 하고초 추출물의 제조

분쇄한 하고초 1 kg에 70 % ethanol 10 L를 넣어 상온에서 3일 동안 추출한 다음 여과하였다. 이 여액을 60 °C 이하에서 감압 농축하여 얻은 추출물 30 g에 butylene glycol 75 g, propylene glycol 75 g과 정제수 102 g과 약 1 g의 KOH을 넣고 70 °C에서 용해, 여과 후 이 여액에 ethanol 9 g, 레시틴 9 g이 용해된 혼합물을 넣고 혼합하였다. Citric acid로 pH 5.4로 보정 후 고압균질기에서 1,000 bar 조건에서, 3회 균질화 하였다.

### 2.3. 하고초 추출물의 DPPH Free Radical 소거 효과 시험

하고초 추출물의 free radical 소거능을 측정하기 위해 Blois의 방법을 약간 변형하여 사용하였다[14]. DPPH를 400 mM 농도로 에탄올에 녹여 준비하고, 시료와 DPPH 용액을 1 : 1 비율로 섞어 상온에서 30 min 동안 반응시킨 후 520 nm에서 ELISA reader를 이용하여 흡광도를 측정하였다.

2.4. 하고초 추출물의 엘라스테이즈 활성 억제 효과 시험

96-well plate에 농도별로 준비한 시료 100  $\mu$ L, Tris buffer 60  $\mu$ L를 넣고 여기에 8.8 mM 농도의 기질 (*N*-succinyl-Ala-Ala-Ala-*p*-nitroanilide) 20  $\mu$ L, 10  $\mu$ g/mL 농도의 효소(elastase)를 20  $\mu$ L 넣고 25  $^{\circ}$ C에서 15 min 동안 반응시킨 후 410 nm에서 ELISA reader를 이용하여 흡광도를 측정하였다. 이 때 대조군은 시료 대신 Tris buffer를 넣은 것으로 하였으며, 효소를 넣지 않은 공시험의 흡광도를 뺀 값을 elastase 활성 억제 효과 평가에 이용하였다.

2.5. 세포배양

10 % FBS, 100 U/mL penicillin 및 100  $\mu$ g/mL streptomycin이 함유된 DMEM 배지를 사용하여 37  $^{\circ}$ C, 5 % CO<sub>2</sub> incubator에서 배양하였다. 실험 과정의 모든 세포는 80 ~ 90 %의 confluency에서 실험하였다.

2.6. 하고초 추출물의 세포 생존에 미치는 영향에 대한 시험

MTT를 이용한 세포 독성 시험은 Mosmann법을 변형하여 사용하였다[15]. NIH3T3 cell을 96-well plate에  $1 \times 10^4$  cells / well 되도록 접종하고 24 h 배양하였다. 여기에 하고초 추출물을 농도별로 각각의 well에 첨가하여 24 h 배양 후 배지를 버리고 새로운 배지와 함께 MTT 용액(5 mg/mL)을 10  $\mu$ L 씩 첨가하였다. 4 h 후 배지를 버리고 dimethyl sulfoxide (DMSO)를 넣어 formazan을 용해시키고 570 nm에서 ELISA reader를 이용하여 흡광도를 측정하였다.

2.7. 하고초 추출물의 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>에 의해 유발된 세포사멸 억제 효과 시험

H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>에 의해 야기되는 세포 독성 억제 효과를 확인하기 위한 시험법으로 NIH3T3 cell을 96-well plate에  $1 \times 10^4$  cells/well 되게 접종하고 24 h 배양하였다. 여기에 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 3 mM과 하고초 추출물을 농도별로 첨가하여 24 h 배양한 후 MTT 용액(5 mg/mL)을 10  $\mu$ L씩 첨가하였다. 4 h 후 배지를 버리고 DMSO를 넣어 formazan을 용해시키고 570 nm에서 ELISA reader를 이용하여 흡광도를 측정하였다.

2.8. 하고초 추출물의 콜라겐 생합성 촉진 효과 시험

사람의 정상 섬유아세포(CCD-986sk cell)를 48-well plate에  $1 \times 10^5$  cells/well 되게 접종하고 24 h 배양하였

다. 하고초 추출물을 serum이 없는 DMEM 배지에 농도별로 첨가하여 교체한 후 24 h 동안 더 배양하여 세포 배양액을 취하였다. 세포 배양액 내 콜라겐 양은 procollagen type I C-peptide (PIP) EIA kit (Takara Bio, Japan)을 사용하여 정량하였다. 측정된 콜라겐 양은 Lowry assay으로 구한 총 단백질 양으로 보정하였다.

2.9. 하고초 추출물의 MMP-1 생성 억제 효과 시험

사람의 정상 섬유아세포(CCD-986sk cell)를 48-well plate에  $1 \times 10^5$  cells/well 되게 접종하고 24 h 배양하였다. 하고초 추출물을 serum이 없는 DMEM 배지에 농도별로 첨가하여 교체한 후 24 h 동안 더 배양하여 세포 배양액을 취하였다. 세포 배양액 내 MMP-1 양은 배양액을 취하여 MMP-1 assay kit (Amersham, USA)을 사용하여 정량하였다. 측정된 MMP-1 양은 Lowry assay으로 구한 총 단백질 양으로 보정하였다.

2.10. 하고초 추출물 함유 크림의 피부주름 개선 효과 시험

하고초 추출물 함유 크림의 피부주름 개선 효과에 대한 평가는 (주)엘리드 피부과학연구소에서 실시하였다. 34세에서 48세까지의 피험자 22명을 대상으로 얼굴의 좌우를 나누어 한쪽은 하고초 추출물 4.0 % 함유 크림을, 다른 한쪽은 placebo cream을 하루 두 차례 12주 동안 도포하도록 하였다. 시험부위 측정방법은 전문가의 육안평가에 의한 눈가의 주름정도를 global photo-damage score (0: none, 1: none / mild, 2: mild, 3: mild / moderate, 4: moderate, 5: moderate / severe, 6: severe, 7: very severe)로 평가하였다. 또한, 시료 도포에 따른 피부주름 개선 효과를 비지오메터를 이용하여 분석하였다. 피험자의 지정된 눈가 부위에 모사판을 제작하여 화상분석을 통해 수치화하였으며, 이때 주름측정의 임의적 단위인 R2, R3를 측정하여 피부주름 개선 정도를 평가하였다.

2.11. 자료분석 및 통계처리

모든 실험 결과의 통계적 유의성은 Student's *t*-test로 하였으며 *p* 값이 0.05 미만일 때 통계적으로 유의하다고 판단하였다.

3. 결과 및 고찰

3.1. 하고초 추출물의 DPPH Free Radical 소거 효과

DPPH 시험법은 물질의 free radical scavenging 능력

**Table 1.** DPPH Free Radical Scavenging Activities of Extract from *Prunella vulgaris* and BHT

<i>Prunella vulgaris</i> extract (%)	Scavenging rate (%)	± S.D.	p-value
0.125	9.20	3.65	0.09686
0.250	19.10	3.02	0.00814
0.500	33.70	0.69	0.00025
1.000	53.50	0.67	0.00021
2.000	76.90	2.69	0.00001
BHT (μg/mL)	Scavenging rate (%)	± S.D.	p-value
12.5	43.10	4.17	0.00036
25.0	75.70	1.87	0.00005
50.0	84.40	0.89	0.00041
100.0	85.70	1.67	0.00033
200.0	85.80	1.72	0.00029

The data was expressed as scavenging rate ± standard deviation (%) of triplicate experiments. p-value: Student's *t*-test.  $p < 0.05$  compared with control.

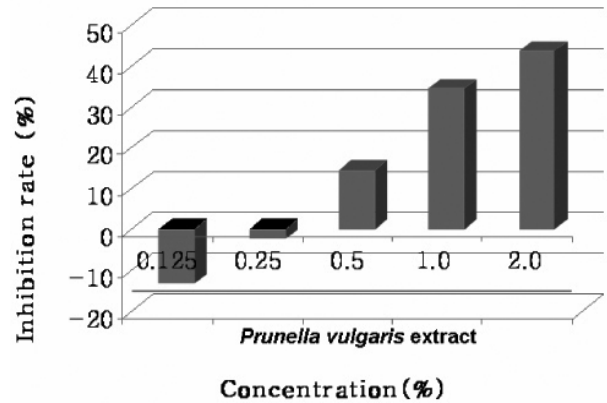
을 측정하는 실험 방법으로서, DPPH는 안정한 free radical을 포함하고 있다. 전자(수소이온)를 공여하는 anti-oxidant는 DPPH radical을 소멸시켜(queenching), DPPH의 특이적인 보라색을 노란색으로 변화시킨다.

하고초 추출물과 비교물질인 BHT의 DPPH radical 소거 활성(SC<sub>50</sub>)을 측정된 결과, BHT는 15 μg/mL, 하고초 추출물은 0.9 %로 나타났다. 또한, 하고초 추출물의 농도가 높아짐에 따라 free radical 소거 효과가 높아졌으며, 하고초 추출물의 농도가 2.0 %일 때 소거율이 약 77.0 %로 나타났다(Table 1).

### 3.2. 하고초 추출물의 엘라스테이즈 활성 억제 효과

기질인 *N*-succinyl-Ala-Ala-Ala-*p*-nitroanilide가 엘라스테이즈에 의해 분해되어 생성되는 물질인 *p*-nitroaniline (PNA) 양을 흡광도를 이용하여 측정함으로써 하고초 추출물의 엘라스테이즈 활성 억제 효과를 평가하였다.

하고초 추출물 0.125 ~ 2.0 %의 농도 범위에서 엘라스테이즈 활성 억제 효과 시험을 수행한 결과, 0.5 %일 때 14.49 %, 1.0 %일 때 34.62 %, 2.0 %일 때 43.68 %의 억제 효과를 나타내었다(Figure 1). 이러한 결과를 통하여 0.5 % 이상의 농도에서 하고초 추출물은 엘라스테이즈 활성을 저해 하는 효과를 가짐을 알 수 있다.

**Figure 1.** Dose-dependent inhibition effect of *Prunella vulgaris* extract on elastase activity.**Table 2.** The Influence of *Prunella vulgaris* Extract on the Cell Viability of Mouse Immortalized Fibroblast (NIH3T3 cell) by MTT Assay

<i>Prunella vulgaris</i> extract (%)	Viability (%)	± S.D.
0.125	98.3	6.4
0.250	99.8	7.3
0.500	95.5	12.1
1.000	95.1	16.1
2.000	99.3	9.7
4.000	85.1	6.0
8.000	64.3	5.2

Results are means (± S.D.) from quintuplicate experiments.

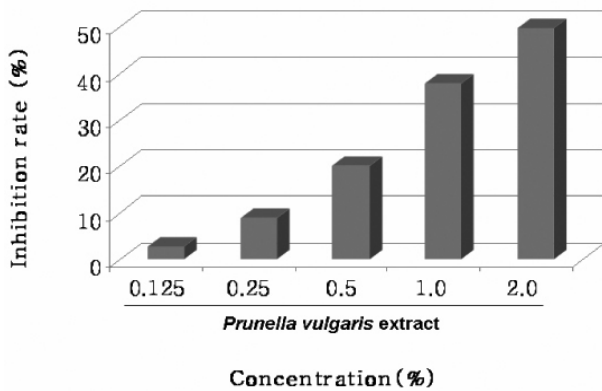
### 3.3. 하고초 추출물의 세포 생존에 미치는 영향

노란색의 MTT가 살아있는 세포의 mitochondria에 의해 흡수되어 insoluble dark blue formazan으로 변화하는 원리를 이용하여 cytotoxicity를 측정하는 방법인 MTT assay를 이용하여 하고초 추출물의 세포 생존에 미치는 영향을 조사하였다.

시험 결과, 하고초 추출물은 2.0 % 농도까지 세포 독성을 전혀 나타내지 않았으며, 4.0 % 농도에서도 약 85 % 이상의 세포 생존율을 나타내어 세포 독성이 낮은 것으로 확인되었다(Table 2).

### 3.4. 하고초 추출물의 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>에 의해 유발된 세포사멸 억제 효과

자외선 등의 외부 유해인자의 영향으로 피부 내에서 생성된 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>는 MMPs의 발현을 촉진하여 콜라겐 분해를 가속화시키고 결과적으로 주름이 생성되게 된다[16]. 본 시험에서는 인위적으로 피부세포에 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>를 첨가해



**Figure 2.** The cytotoxicity inhibition effect of *Prunella vulgaris* extract on H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> induced cell. The cells were incubated with 3.0 mM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> and *Prunella vulgaris* extract for 24 h.

주고 여기에 하고초 추출물을 첨가하여 하고초 추출물이 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>에 의해 야기되는 세포사멸을 얼마나 억제하는가에 대하여 확인하고자 하였다.

H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>에 의해 야기되는 세포 사멸을 MTT assay를 통하여 확인한 결과 하고초 추출물을 0.5 % 적용하였을 때 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>에 의한 세포 사멸을 20.3 %, 1.0 %일 때 38.0 %, 2.0 %일 때 49.9 % 억제하는 것으로 나타났다(Figure 2). 이러한 결과를 통하여 하고초 추출물은 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>로부터 피부 세포를 보호하는 능력을 갖고 있음을 알 수 있다.

### 3.5. 하고초 추출물의 콜라겐 생합성 촉진 효과

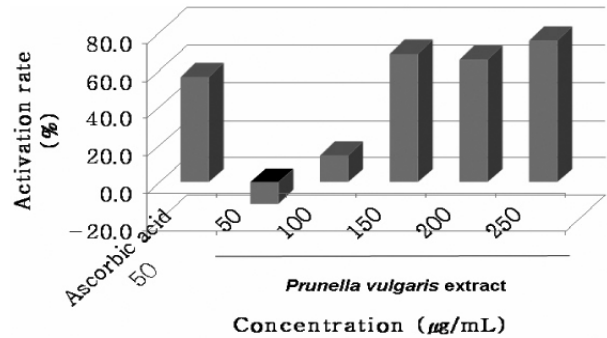
진피의 대부분을 차지하는 성분인 콜라겐은 나이가 들에 따라 그 양이 감소하여 피부의 주름 생성에 주요한 원인이 되므로 하고초 추출물의 콜라겐 생합성에 미치는 영향을 알아보려 사람의 정상 섬유아세포(CCD-986sk cell)에 하고초 추출물을 첨가하여 배양한 후 콜라겐 량을 측정하였다.

하고초 추출물 농도가 150 µg/mL일 때 69.3 %, 250 µg/mL일 때 75.7 %의 콜라겐 생합성 촉진효과를 나타내었고, 비교물질인 ascorbic acid는 50 µg/mL일 때 56.4 %의 생합성 촉진 효과가 있는 것으로 나타났다(Figure 3).

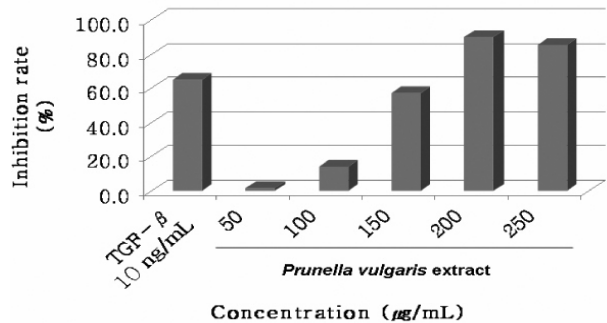
### 3.6. 하고초 추출물의 MMP-1 생성 억제 효과

피부 노화에 주요한 역할을 하는 MMP-1은 콜라겐을 분해시키는 역할을 한다. 이러한 MMP-1 생성에 하고초 추출물이 어떠한 영향을 미치는지 알아보려 하였다.

시험결과, 비교물질 transforming growth factor-β (TGF-β)는 10 ng/mL 농도로 처리 시 65.4 %의 저해



**Figure 3.** The collagen synthesis activation effect of *Prunella vulgaris* extract on human normal fibroblast (CCD-986sk cell) by procollagen type I C-peptide (PIP) EIA assay. Collagen synthesis effect was significantly stimulated by increasing concentration of *Prunella vulgaris* extract between 50 to 250 µg/mL.



**Figure 4.** The MMP-1 synthesis inhibition effect of *Prunella vulgaris* extract on human normal fibroblast (CCD-986sk cell) by MMP-1 assay kit (Amersham, USA). The cells were incubated with *Prunella vulgaris* extract and TGF-β for 24 h, respectively. *Prunella vulgaris* extract significantly inhibited MMP-1 contents at treated concentrations between 50 to 250 µg/mL.

효과를 보였으며, 하고초 추출물은 150 µg/mL 농도에서 57.6 %, 200 µg/mL 농도에서 90.2 %의 생성 억제율을 나타내어 MMP-1 생성 억제 효과를 나타내었다(Figure 4).

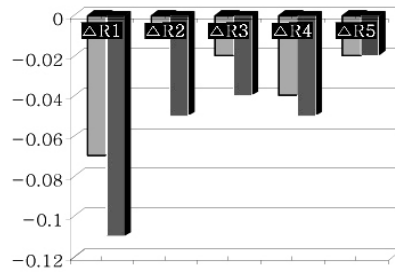
### 3.7. 하고초 추출물 함유 크림의 피부 주름개선 효과

4.0 % 농도로 하고초 추출물이 함유된 제형을 12주 동안 시험부위에 도포하여 주름개선 효과를 확인하였다. 시료 도포 4주, 8주 후의 photodamage score 변화에 따른 주름개선 효과가 시험제품과 대조군의 통계적으로 유의한 수준의 차이는 없었다. 그러나 12주 경과 후 대조군이  $-0.14 \pm 0.35$ 인 것에 반해 시험제품은  $-0.32 \pm 0.48$  ( $p < 0.05$ )로 통계학적으로 유의하게 호전되어 주름개선 효

과를 나타냄을 확인하였다(Table 3). 또한 시험부위의 모사판을 제작하여 시료 도포 전과 12주 후의 모사판 화상분석 변화에 대한 통계분석 결과 R2, R3에서 통계적으로 유의한 수준 ( $p < 0.05$ )의 차이( $\Delta R2 p = 0.013$ ,  $\Delta R3 p = 0.040$ )가 발생함을 확인하였기 때문에 하고초 추출물을 함유한 시험제품은 주름개선에 유의한 효과가 있다는 것을 알 수 있었다(Figure 5). 특히 R3 값은 피부 표면의 평균 거칠음을 의미하므로 주름의 깊이에 관련된 값이다. 따라서 R3 값이 통계적으로 유의하게 측정되었다는 것은 주름개선 효과가 있다는 것을 의미한다.

#### 4. 결론

본 연구에서는 하고초 추출물의 항노화 효과에 대하여 알아보려고 하였다. 시험 결과, 하고초 추출물은 매우 우수한 콜라겐 생성 촉진 효과, MMP-1 생성 억제 효과, 엘라스테이즈 활성 억제 효과를 나타내었으며, 또한 하고초 추출물의 항산화 효과 측정을 위한 자유 라디칼 소거 효과 시험과 과산화수소에 의해 유발된 세포사멸 억제 효과 시험에서도 우수한 효과를 나타내었다. 하고초 추출물의 피부에 대한 영향을 알아보기 위하여 22명의 지원자를 대상으로 실시한 이중 맹검 임상 연구 결과, 하고초 추출물 4.0 % 함유 제형을 12주 동안 도포하였을 때, 대조군과 비교하여 전문가의 육안평가, 모사판을 제작하여 주름의 정도를 분석한 결과 주름 개선에 현저한 효과가 있음을 확인하였다( $p < 0.05$ ). 이러한 결과를 통해 하고초 추출물은 피부의 탄력과 주름을 효과적으로 개선함으로써, 천연 항노화 소재로 유용하게 이용될 수 있을 것으로 기대된다.



■ Placebo cream ■ Prunella vulgaris extract (4.0 %) containing cream

**Figure 5.** The results of instrumental image analysis of silicone replica between placebo cream and *Prunella vulgaris* extract (4.0 %) containing cream after 12 weeks application. Most important value in wrinkle is R3, R1 : skin roughness ; R2 : maximum roughness ; R3 : average roughness ; R4 : smoothness depth ; R5 : arithmetic average roughness

#### 참고 문헌

1. B. A. Gilchres, Skin aging and photoaging: an overview, *J. Am. Acad. Dermatol.*, **21**, 610 (1989).
2. M. Landau, Exogenous factors in skin aging, *Curr. Probl. Dermatol.*, **35**, 1 (2007).
3. L. Rittié and G. J. Fisher, UV-light induced signal cascades and skin aging, *Ageing Res. Rev.*, **1**, 705 (2002).
4. I. M. Hadshiew, M. S. Eller, and B. A. Gilchrest, Skin aging and photoaging: the role of DNA damage and repair, *Am. J. Contact Dermatol.*, **11**, 19 (2000).
5. C. Mestre-Deharo and J. Savaq, Histologic signs of cutaneous aging, *Rev. Fr. Gynecol. Obstet.*, **86**, 425 (1991).

**Table 3.** Results of the Facial Wrinkle Evaluation with Naked Eyes in a Double-blind Clinical Study to Investigate the Effect of *Prunella vulgaris* Extract on the Skin's Surface

	△Placebo cream			△ <i>Prunella vulgaris</i> extract (4.0 % containing) cream		
	Week 4 ~ 0	Week 8 ~ 0	Week 12 ~ 0	Week 4 ~ 0	Week 8 ~ 0	Week 12 ~ 0
Average	0.00	-0.09	-0.14	-0.09	-0.18	-0.32
± S.D.	0.00	0.29	0.35	0.29	0.39	0.48
Week	4		8		12	
p-value	0.162 ( $p > 0.05$ )		0.162 ( $p > 0.05$ )		0.043 ( $p < 0.05$ )	

p-value: Student's t-test.  $p < 0.05$  compared with control.

6. M. Tzaphlidou, The role of collagen and elastin in aged skin: an image processing approach, *Micron.*, **35**, 173 (2004).
7. J. M. Waller and H. I. Maibach, Age and skin structure and function, a quantitative approach (II): protein, glycosaminoglycan, water, and lipid content and structure, *Skin Res. Technol.*, **12**, 145 (2006).
8. Z. J. Wang, Y. Y. Zhao, and B. N. Ma, Triterpenoid compounds of *Prunella* genus and their features of <sup>13</sup>C NMR spectroscopy, *Zhongguo Zhong Yao Za Zhi*, **25**, 583 (2000).
9. X. J. Gu, Y. B. Li, P. Li, S. H. Qian, and J. A. Duan, Studies on chemical constituents of *Prunella vulgaris*, *Zhongguo Zhong Yao Za Zhi*, **32**, 923 (2007).
10. S. Y. Ryu, M. H. Oak, S. K. Yoon, D. I. Cho, G. S. Yoo, T. S. Kim, and K. M. Kim, Anti-allergic and anti-inflammatory triterpenes from the herb of *Prunella vulgaris*, *Planta. Med.*, **66**, 358 (2000).
11. J. Psotova, A. Svobodova, H. Kolarova, and D. Walterova, Photoprotective properties of *Prunella vulgaris* and rosmarinic acid on human keratinocytes, *J. Photochem. Photobiol.*, **84**, 167 (2006).
12. X. Fang, M. M. Yu, W. H. Yuen, S. Y. Zee, and R. C. Chang, Immune modulatory effects of *Prunella vulgaris* L. on monocytes/macrophages, *Int. J. Mol. Med.*, **16**, 1109 (2005).
13. J. Psotová, M. Kolar, J. Sousek, Z. Svaquera, J. Vicar, and J. Ulrichova, Biological activities of *Prunella vulgaris* extract, *Phytother. Res.*, **17**, 1082 (2003).
14. M. S. Blois, Antioxidant determinations by the use of a stable free radical, *Nature*, **181**, 1199 (1958).
15. T. Mosmann, Rapid colorimetric assay for the cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxic assay, *J. Immun. Methods.*, **65**, 55 (1983).
16. P. Brenneisen, H. Sies, and K. Scharffetter-Kochanek, Ultraviolet-B irradiation and matrix metalloproteinases: from induction via signaling to initial events, *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, **973**, 31 (2002).