

사람 섬유아세포에서 전호(*Anthriscus sylvestris* Hoffmann)추출물이 콜라겐 생합성에 미치는 영향

이우정, 김용기¹, 김수남*

한국과학기술연구원 천연의약센터, ¹숙명여자대학교 약학대학

Effects of *Anthriscus sylvestris* Hoffmann Extract on the Biosynthesis of Collagen in Human Dermal Fibroblasts

Woojung Lee, Yong Kee Kim¹ and Su-Nam Kim*

Natural Medicine Center, KIST Gangneung Institute, Gangneung 210-340, Korea

¹College of Pharmacy, Sookmyung Women's University, Seoul 140-741, Korea

Abstract - In this study, we investigated the boosting effects on collagen biosynthesis of *Anthriscus sylvestris* ethanol extract (ASE) in human dermal fibroblasts. To obtain more effective fraction and subfraction for collagen biosynthesis, standard solvent partition and open column chromatography were performed. The EtOH extract, solvent fractions, and 8 EtOAc subfractions were tested for their collagen synthesis capacity by [³H]Proline-incorporation and ELISA assay. ASE increased 25% of total collagen synthesis and 27% of procollagen biosynthesis. The total collagen biosynthesis was increased by EtOAc fraction and E6 subfraction to 28% and 50% respectively. Type I procollagens were also upregulated by EtOAc fraction and E6 subfraction to 30% and 47%, each. Taken together, our data suggest that potential anti-aging effect of ASE on skin is via increasing collagen biosynthesis and effective subtraction is E6 subfraction of EtOAc fraction.

Key words - *Anthriscus sylvestris* Hoffmann, Collagen, Fibroblast, Skin, Aging

서 언

피부노화 과정은 일반적으로 내인성 노화(intrinsic aging)와 광노화(photoaging)에 의해 일어난다(Gilchrest, 1989; Ma *et al.*, 2001; Jenkins, 2002). 내인성노화는 느리지만 비가역적인 조직의 퇴행성변화에 의해 일어나고, 광노화는 주로 자외선 조사에 의해서 일어난다(Ma *et al.*, 2001; Jenkins, 2002). 임상적으로 보면, 자연적으로 노화된 피부는 두께가 얇아지며, 부드럽고, 창백하며, 미세한 주름이 생겨있는 반면, 광노화된 피부는 거칠고, 깊은 주름이 있으며, 기미, 주근깨 등의 색소침착이 주 특징이다(Gilchrest, 1989; Lavker and Kligman, 1988; Jee, 2009; Kim *et al.*, 2010).

피부의 주요 구조 단백질로 진피층의 70-80%를 차지하고 있는 콜라겐은 내인성 노화 및 광노화 피부에서 줄어

들거나 구조가 변하는 등 여러 가지 임상적으로 변화된 양상을 보여준다(Millis *et al.*, 1992; Chung *et al.*, 2001). 이러한 콜라겐 결핍은 합성 자체가 감소되어서 일어날 수도 있고, 결합조직 분해효소인 matrix metalloproteinase (MMP)의 발현 증가에 의해 콜라겐 분해가 촉진되어서도 일어날 수 있다. 자외선 조사는 사람 피부에서 MMP의 합성을 증가시키며, 광노화에서는 특히 MMP에 의한 콜라겐 분해가 주로 결합조직 손상에 관여하여 깊은 주름을 생성시킨다(Fisher *et al.*, 2000). 그러므로, 노화된 사람 피부에서 새로운 콜라겐의 생합성을 촉진시키거나, MMP를 감소시켜 콜라겐 결핍을 회복시키는 것이 주름과 탄력저하 같은 피부노화의 임상적 징후를 치료하고 예방할 수 있는 가능한 전략으로 제시되어지고 있다. MMP 중에서는 조직 간 콜라게나제(interstitial collagenase)라 불리는 MMP-1이 사람 피부노화과정에서 진피 콜라겐의 분해에 주 역할을 한다고 알려져 있다(Vincenti *et al.*, 1996; Scharffetter

*교신저자(E-mail) : snkim@kist.re.kr

-Kochanek *et al.*, 2000). 따라서 최근에는 이러한 진피 콜라겐 결핍을 회복시켜줄 수 있는 콜라겐 생합성 촉진효능이 있거나, MMP 생합성 저해 효능이 있는 생리활성 물질들을 천연물로부터 찾으려는 시도가 이루어지고 있다.

전호(*Anthriscus sylvestris* Hoffmann)는 우리나라 전역의 산이나 들에서 자생하는 산형과(Umbelliferae)에 속하는 여러해살이풀로 어린 잎은 식용으로 하며 뿌리는 한방에서 약재로 사용되고 있다. 전호의 주성분으로는 anthricin, lignin, anthriscinol 등이 있고, 그 밖에 stigmasterol, β -sitosterol, campesterol, stigmasteryl-d-glycoside, fatty acid, glyceride, diterpene 등을 함유하고 있다. 한방에서는 두통, 감기, 백일해 등에 사용되고 있다(Kim, 1988). 전호의 성분 중 anthricin(= deoxypodophyllotoxin)에 대해서는 항암(Yong *et al.*, 2009) 및 항염증(Jin *et al.*, 2008) 효능이 알려져 있고, 피부에 대해서는 미백효능이 보고되어 있지만(Choi *et al.*, 2004), 전호추출물의 주름개선 효능에 대해서는 알려진 바가 없다.

따라서 본 연구는 전호 추출물의 피부세포에서의 콜라겐 생합성에 미치는 효능을 연구하고, 가장 높은 효능을 보이는 분획을 선정하여 피부노화의 징후인 주름 및 탄력을 개선할 수 있는 천연물 소재로서의 가능성을 파악하기 위하여 수행하였다.

재료 및 방법

실험재료

본 실험에 사용한 전호(*Anthriscus sylvestris* Hoffmann)의 뿌리는 서울 경동시장의 약재상에서 구입하였으며, 정확히 동정한 후 표준품은 한국과학기술연구원 강릉분원 식물표본실(표본번호 : KIST-201)에 보관되어 있다.

추출 및 분획

전호 500 g을 95% EtOH로 60°C에서 3회 초음파 추출한 후 추출액은 여과지를 이용하여 여과하고, 45°C에서 감압농축하여 95% EtOH 엑기스 88 g을 얻었으며, 이 중 85 g을 500 mL의 증류수에 현탁시키고 계통학적 분획방법에 따라 동량의 *n*-Hexane, EtOAc, *n*-BuOH로 각각 3회씩 추출하여 분획한 후 감압농축하여 *n*-Hexane층 0.8 g, EtOAc층 8.0 g, *n*-BuOH층 17.8 g, 물층 52.1 g을 획득하였다. 이 중 EtOAc분획 7 g을 open column chromatography에 silica

gel을 packing한 후에 *n*-hexane-EtOAc gradient 시스템(10:1 to 100% MeOH)을 사용하여 E1~E8의 8개의 소분획으로 구분하였으며, 각각의 소분획은 감압농축하여 실험에 사용하였다.

Primary human dermal fibroblast cell culture and cytotoxicity test

성인에서 분리된 사람 1차 진피 섬유아세포(human primary dermal fibroblast)는 Lonza Co.(USA)에서 구입하여 사용하였으며, 10차 이하로 계대배양한 세포를 실험에 사용하였다. 전호추출물의 섬유아세포에 대한 독성 및 증식효능을 측정하기 위하여 1% Fetal Bovine Serum(FBS; HyClone Laboratories, Logan, UT)을 함유한 Dulbecco's modified Eagle's medium(DMEM; Invitrogen, Carlsbad, CA)배지를 사용하여 96 well plate에 5×10^3 cells/well의 밀도로 분주하고 24시간 배양하였다. 24시간 후에 전호추출물을 1, 10, 100 μ g/mL의 농도로 처리하고 72시간 후 MTS assay(Promega, Madison, WI, USA)시약을 사용하여 생존 여부를 520 nm에서 흡광도를 측정하여 아무 처리도 하지 않은 대조군에 대한 비율로 나타내었다.

Total collagen synthesis assay

섬유아세포를 10% FBS를 함유한DMEM 배지를 사용하여 24 well plate에 1×10^5 cells/well의 밀도로 분주하고, 5% CO₂, 37°C 배양기에서 배양하였다. 24시간 후 섬유아세포를 L-[2,3,4,5-³H]-Proline(PerkinElmer, Waltham, MA)과 시료를 함유한 배지로 갈아주고 24시간 동안 더 배양한 후 배지 중에 생합성되어 분비된 콜라겐을 trichloroacetic acid(TCA)로 침전시켜 그 양을 scintillation counter (Pharmacia, Stockholm, Sweden)를 사용해서 측정하였다.

Type I procollagen EIA assay

섬유아세포를 48 well plate에 1×10^4 cells/well의 밀도로 분주하고, 10% FBS를 함유한 DMEM 배지에서 24시간 배양한 후에 시험물질이 포함된 혈청이 없는 배지에서 24시간 더 배양하였다. 배지 중에 유리된 procollagen의 양은 procollagen type I C-peptide EIA kit(MK101, Takara, Japan)을 사용하여 측정하였으며, 섬유아세포의 총 단백질 양으로 보정하였다.

Evaluation of MMP-1 synthesis by EIA assay

섬유아세포를 48 well plate에 1×10^4 cells/well의 밀도로 분주하고, 10% FBS를 함유한 DMEM 배지에서 24시간 배양한 후에 혈청이 없는 배지에서 24시간 더 배양하였다. Phosphate-buffered saline(PBS)로 1회 세척하고, 새로운 PBS를 100 mL 가한 상태에서 자외선조사기(UVA-tec, Grafelfing, Germany)를 사용하여 자외선 A(UVA) 15 J/cm^2 를 조사하였다. PBS를 제거하고, 시험물질이 포함된 혈청이 없는 배지에서 48시간 더 배양하고, 배지 중에 유리된 MMP-1의 양은 시판되는 MMP-1 expression assay kit(RPN2610, Amershampharmacia, UK)을 사용하여 측정하였으며, 섬유아세포의 총 단백질 양으로 보정하였다.

통계분석

실험 결과는 3회 반복하였으며, 가장 대표적인 실험 결과를 평균 \pm 표준편차(mean \pm SD)로 나타내었다. 대조군과 실험군사이의 평균값의 차이는 one-way analysis of variance(ANOVA) 방법으로 분석하였으며, 유의성 수준은 $*P < 0.05$ 로 표시하였다.

결과 및 고찰

섬유아세포에 전호추출물을 1, 10, 100 $\mu\text{g/mL}$ 의 농도로 처리하고 72시간 후 MTS 방법으로 세포성장에 미치는 영향을 관찰하였다. 상기 농도에서 전호추출물은 섬유아세포에 대한 증식효능 및 독성을 보이지 않아서, 100 $\mu\text{g/mL}$ 이하의 농도에서 이후 연구를 수행하였다(Fig. 1.).

전호추출물의 배양한 섬유아세포에서 콜라겐 생합성에 미치는 영향을 측정하기 위하여 섬유아세포에 0.1, 1, 10 $\mu\text{g/mL}$ 의 농도로 전호추출물을 처리하였다. 24시간 후에 생성된 총콜라겐 양은 콜라겐 합성에 삽입된 [^3H]-proline의 양을 전호추출물을 처리하지 않은 대조군에 대한 비교치로 나타내었다. 그 결과 전호추출물의 농도가 10 $\mu\text{g/mL}$ 일 경우 총콜라겐 생합성이 약 25% 증가하여, 양성대조군인 Transforming Growth Factor β (TGF β ; 10 ng/mL) 처리시 20% 증가한 것에 비해 통계학적으로 유의하지는 않았지만 우수함을 알 수 있었다(Fig. 2A.). 그리고, type I procollagen 생합성에 미치는 영향을 조사하기 위하여 전호추출물을 총콜라겐 합성 측정 시와 마찬가지로 섬유아세포에 처리한 후 24시간 후에 ELISA방법으로 조사한 결과,

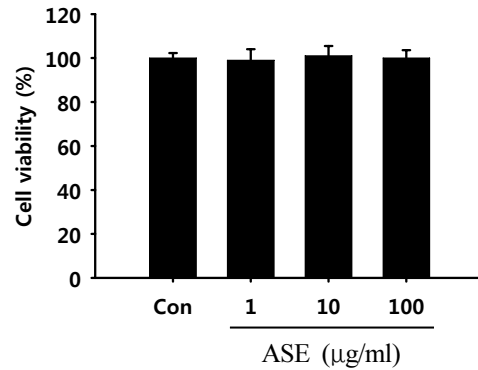


Fig. 1. The effect of *Anthriscus sylvestris* EtOH (ASE) extract of human dermal fibroblasts proliferation. The cells were treated with various concentrations of ASE (1, 10, or 100 $\mu\text{g/mL}$). The proliferation of fibroblasts was measured using MTS method. Each bar represents mean \pm SD of 3 experiments. $*P < 0.05$ vs. control.

10 $\mu\text{g/mL}$ 의 농도로 전호추출물을 처리시 procollagen 생합성이 약 27% 증가하였고, 이는 양성대조군으로 사용한 TGF β 처리시 25% 증가한 것만큼 우수함을 확인할 수 있었다(Fig. 2B). 전호추출물이 자외선 조사에 의한 MMP-1 발현 증가를 억제할 수 있는지를 조사하기 위하여 15 J/cm^2 세기의 자외선A를 조사한 후 0.1, 1, 10 $\mu\text{g/mL}$ 농도의 전호추출물로 48시간 동안 처리한 후 ELISA법으로 그 발현 양을 측정하였다. 그 결과, 양성 대조군으로 사용한 all-trans Retinoic acid(RA; 1 mM) 처리시에는 MMP-1의 발현양을 약 25% 감소시킴에 비해, 전호추출물을 처리한 군에서는 자외선만 조사한 군과 동일한 결과를 나타내어 MMP-1 발현에는 영향을 미치지 않음을 알 수 있었다(Fig. 2C).

콜라겐 생합성에 우수한 효능을 나타내는 분획을 얻기 위하여 계통학적 분획방법에 따라 얻은 *n*-Hexane, EtOAc, *n*-BuOH, 물층(DW)에 대하여 총콜라겐 및 type I procollagen 생합성 양을 측정하였다. 그 결과 10 $\mu\text{g/mL}$ 의 농도로 처리하였을 때, 모든 분획에서 섬유아세포에 대한 독성을 나타내지 않았으며(data not shown), EtOAc층이 총콜라겐 양은 28%(Fig. 3A.), type I procollagen 양은 30%(Fig. 3B.) 증가시켜 양성대조군으로 사용한 TGF β 에 의한 총콜라겐 생합성량(21%)보다는 통계학적으로 유의성있게 우수하거나 또는 procollagen 생합성량(26%)에서는 동등한 효능을 보여, 유효한 분획임을 확인할 수 있었다. 이후 좀더 유효한 소분획을 얻기 위하여 활성이 우수했던

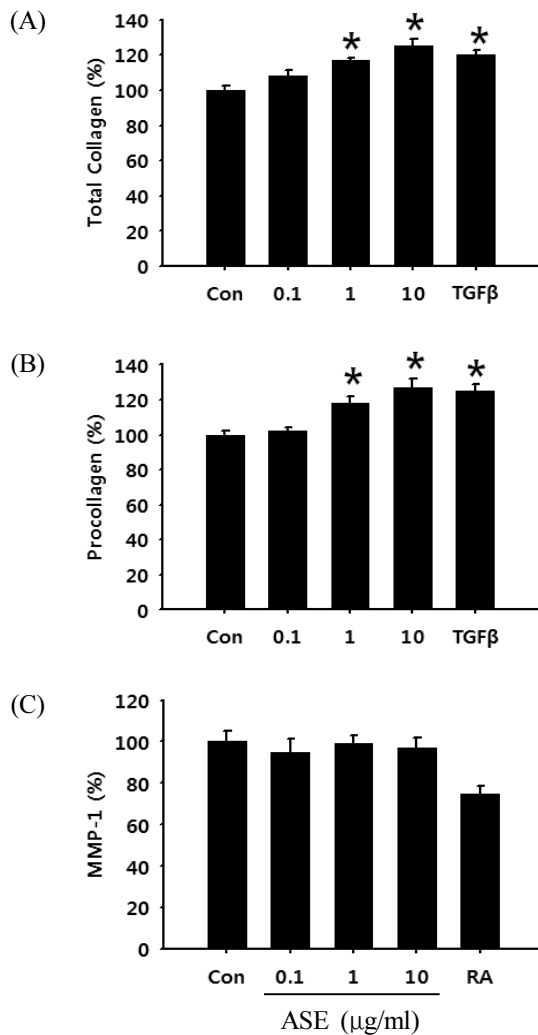


Fig. 2. The ASE extract increases collagen biosynthesis in human dermal fibroblasts. The cells were treated with Transforming Growth Factor β (TGF β ; 10 ng/mL), all-trans Retinoic acid (RA; 1 μM), or various concentrations of ASE (0.1, 1, or 10 $\mu\text{g/mL}$). (A) The amount of total collagen was measured by the incorporation of [^3H]proline into collagen biosynthesis. (B) Procollagen biosynthesis was determined by ELISA using type I C-peptide EIA kit. (C) MMP-1 expression was checked by ELISA using MMP-1 EIA kit after UVA irradiation. Each bar represents mean \pm SD of 3 experiments. *P < 0.05 vs. control.

EtOAc분획을 open column chromatography에 silica gel을 packing한 후에 *n*-hexane-EtOAc gradient 시스템(10 : 1 to 100% MeOH)을 사용하여 E1~E8의 8개의 소분획으로 나누어 다시 총콜라겐 양과 type I procollagen의 양을

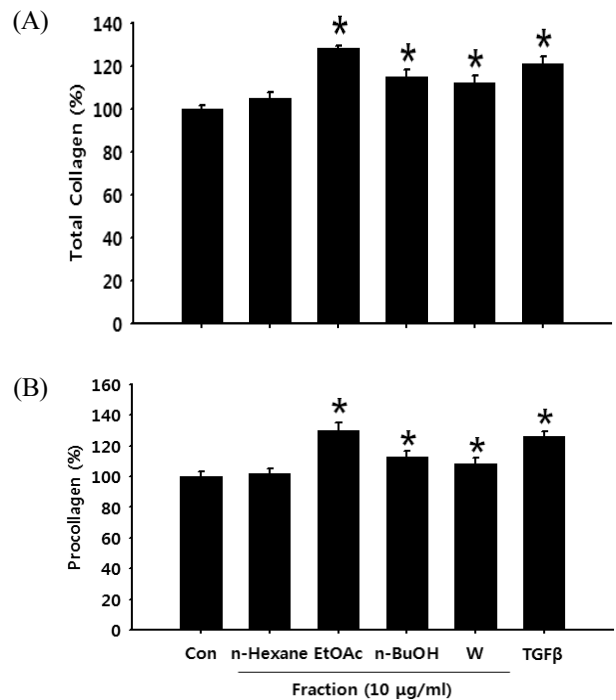


Fig. 3. The effects of standard fractions on collagen biosynthesis in human dermal fibroblasts. The cells were treated with TGF β (10 ng/mL), or 10 $\mu\text{g/mL}$ of *n*-Hexane, EtOAc, *n*-BuOH, or Water fractions of ASE. (A) The amount of total collagen was measured by the incorporation of [^3H]proline into collagen biosynthesis. (B) Procollagen biosynthesis was determined by ELISA using type I C-peptide EIA kit. Each bar represents mean \pm SD of 3 experiments. *P < 0.05 vs. control.

측정하였다. 10 $\mu\text{g/mL}$ 의 농도로 섬유아세포에 처리시 소분획은 독성을 보이지 않았으며(data not shown), 소분획 중 E6소분획이 총콜라겐에 대하여는 50%(Fig. 4A.), type I procollagen은 47%(Fig. 4B.) 생합성을 증가시켜서, 가장 유효한 소분획임을 확인할 수 있었으며, 이는 양성대조군으로 사용한 TGF β 에 비해서도 통계학적으로도 매우 유의성 있게 콜라겐 생합성을 증가시키는 효능을 가지고 있는 소분획임을 확인할 수 있었다.

기존에 주름개선 기능성화장품 소재로 인증되어 사용되고 있는 레티놀, alpha-hydroxy acid(AHA), 아데노신은 효능은 있지만 빛과 열에 불안정하고, 피부에 대한 자극이 있는 것으로 알려져 있다. 그러므로 최근에는 보다 안전한 소재를 찾고자 상대적으로 안전하다고 인식되고 있는 천연물을 이용한 화장품 소재 개발에 대한 관심이 증대되면서, 여러 가지 천연소재를 활용하여 주름 개선 화장품 소재를

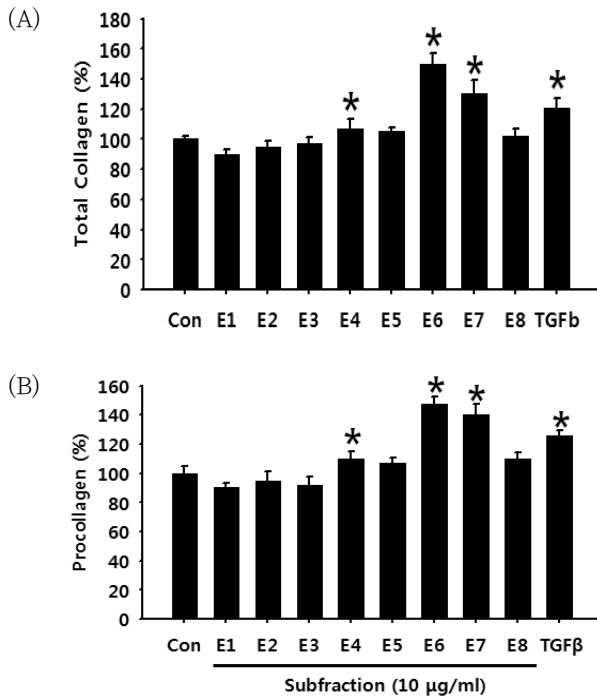


Fig. 4. The effects of E1~E8 subfractions of EtOAc fraction on collagen biosynthesis in human dermal fibroblasts. The cells were treated with TGFβ (10 ng/mL), or 10 μg/mL of E1~E8 subfractions of EtOAc fractions of ASE. (A) The amount of total collagen was measured by the incorporation of [³H]proline into collagen biosynthesis. (B) Procollagen biosynthesis was determined by ELISA using type I C-peptide EIA kit. Each bar represents mean ± SD of 3 experiments. *P < 0.05 vs. control.

개발하는 연구가 활발히 진행되고 있다. 대표적으로 항산화 및 엘라스타제 저해효능을 보이는 연근(*Nelumbo nucifera*), 항산화 효능을 보이는 현초(*Geranium nepalense*)와 스피루리나(*Spirulina*), 엘라스타제 저해효능을 보이는 쇠뜨기(*Equisetum arvense*), MMP-1 저해효능을 보이는 고려엉겅퀴(*Cirsium setidens*), 콜라겐 생합성을 증가시키는 현삼(*Scrophularia koraienses*) 등이 보고되어 있어, 주름을 개선시킬 수 있는 소재의 선택의 폭을 넓혀주고 있다(Kim *et al.*, 2010; Hwang *et al.*, 2006).

본 연구에서는 전호추출물의 콜라겐 생합성을 촉진시키는 효능을 확인하였으며, 콜라겐 생합성에 유효한 분획은 EtOAc분획의 6번째 소분획임을 확인하였다. 이전 논문들에서 전호추출물의 항암, 항염증 및 미백의 주성분으로 확인되었던 anthracin을 분리하여 콜라겐 생합성 및 MMP-1 발현에 대한 효능을 측정하였으나, anthracin은 주름개선에

대한 효능을 나타내지는 않았다(data not shown). 그러므로 전호추출물의 콜라겐 생합성에 대한 효과는 다른 효능 성분이 존재하거나, 다양한 활성 성분들의 상호 작용에 의한 것으로 판단된다. 따라서, 향후 전호추출물의 EtOAc분획의 6번째 소분획을 중심으로 콜라겐 생합성을 증가시키는 유효한 화합물을 분리하여 활성성분을 밝히는 연구를 추진할 계획이다. 그리고, 콜라겐 생합성에 영향을 미치는 활성 성분들을 더욱 상세하게 규명하여 각 성분들 간의 구조와 활성관계를 연구함으로써 전호추출물의 주름 개선 활성 성분에 대한 명확한 규명과 함께 피부의 콜라겐 대사를 촉진시켜 주름을 개선시키는 *in vivo* 작용기전 연구가 병행된다면, 전호 뿌리는 새로운 주름개선 소재로 개발될 가치가 높은 것으로 사료된다.

적 요

본 연구에서는 전호추출물의 주름개선에 대한 효능을 측정하기 위하여 인간의 섬유아세포에 전호추출물을 처리하여 총콜라겐과 type I procollagen, MMP-1의 생합성에 미치는 영향을 조사하였다. 전호추출물을 인간 섬유아세포에 처리 시 콜라겐의 생합성은 증가시켰지만, MMP-1의 발현에 대해서는 영향을 미치지 못하였다. 이는 전호추출물이 자외선에 의해 영향을 받는 광노화보다는, 노화에 의해 콜라겐 생합성이 감소되는 내인성노화에 훨씬 유효함을 시사한다. 전호추출물을 처리시 95% EtOH 추출물의 경우 25%까지 총콜라겐의 생합성을 증가시켰고, EtOAc층은 28%, EtOAc의 E6 소분획의 경우 50% 증가시켰으므로, 콜라겐 생합성에 영향을 미치는 유효성분은 EtOAc층에 대부분 함유되어 있을 것으로 사료되고, 이는 확인되지 않은 미지의 효능 성분이 존재하거나, 다양한 활성 성분들의 상호 작용에 의한 것으로 판단된다. 결론적으로 전호추출물은 콜라겐 생합성을 촉진함으로써 내인성노화에 의한 주름생성 및 탄력저하를 개선할 수 있는 천연 유용자원으로 이용할 수 있을 것으로 사료된다.

사 사

본 연구는 지식경제부 지방기술혁신사업(RTI05-01-02) 지원으로 수행되었습니다.

인용문헌

- Choi, H., J. Lee, H.J. Shin, B.G. Lee, I. Chang and J.S. Hwang. 2004. Deoxypodophyllotoxin reduces skin pigmentation of brown Guinea pigs. *Planta Med.* 70:378-380.
- Chung, J.H., J. Y. Seo, H.R. Choi, M.K. Lee, C.S. Youn, G. Rhie, K.H. Cho, K.H. Kim, K.C. Park and H.C. Eun. 2001. Modulation of skin collagen metabolism in aged and photo-aged human skin *in vivo*. *J. Invest. Dermatol.* 117:1218-1224.
- Fisher, G.J., S. Datta, Z. Wang, X.Y. Li, T. Quan, J.H. Chung, S. Kang and J.J. Voorhees. 2000. c-Jun-dependent inhibition of cutaneous procollagen transcription following ultraviolet irradiation is reversed by all-trans retinoic acid. *J. Clin. Invest.* 106:663-670.
- Gilchrist, B.A. 1989. Skin aging and photoaging: an overview. *J. American Acad. Dermatol.* 21:610-613.
- Hwang, W.S., S.H. Hong, M.J. Kim, S.J. Oh, S.H. Park, H.J. Kang, J.H. Kim, K.Y. Lee, J.I. Kim, J. Kim, J.B. Park, S.J. Lee, S.L. Bang and J.Y. Lee. 2006. Anti-wrinkle activity of *Scrophularia koraiensis* Naka root. *Korean J. Gerontol.* 16:94-100 (in Korean).
- Jee, S.O. 2009. Antioxidant activities and whitening effect of the mulberry (*Morus alba* L.) root bark extracts. *Korean J. Plant Res.* 22:145-151 (in Korean).
- Jenkins, G. 2002. Molecular mechanisms of skin ageing. *Mech. Ageing Dev.* 123:801-810.
- Jin, M., T.C. Moon, Z. Quan, E. Lee, Y.K. Kim, J.H. Yang, S.J. Suh, T.C. Jeong, S.H. Lee, C.H. Kim and H.W. Chang. 2008. The naturally occurring flavolignan, deoxypodophyllotoxin, inhibits lipopolysaccharide-induced iNOS expression through the NF-kappaB activation in RAW264.7 macrophage cells. *Biol. Pharm. Bull.* 31:1312-1215.
- Kim, H.J., T. Kim, W.Y. Kang, B. Hyun, H.Y. Cheon, B.Y. Kim and D. Kim. 2010. Development of anti-wrinkle agent from *Nelumbo nucifera* root extract. *Korean Chem. Eng. Res.* 48:413-416 (in Korean).
- Kim, I.H. 1988. The medicinal plants, Hakchangsa Publishing Cop., Seoul, Korea, p. 294 (in Korean).
- Kim, M.S., Y.J. Park and Y.W. Sohn. 2010. Antioxidant effect and melanogenesis of *Nelumbo nucifera* Stamen extract on cultured human skin melanoma cells injured by hydrogen peroxide. *Korean J. Plant Res.* 23:145-150 (in Korean).
- Lavker, R.M. and A.M. Kligman. 1988. Chronic heliodermatitis: a morphologic evaluation of chronic actinic dermal damage with emphasis on the role of mast cells. *J. Invest. Dermatol.* 90:325-330.
- Ma, W., M. Wlaschek, I. Tantcheva-Poor, L.A. Schneider, L. Naderi, Z. Razi-Wolf, J. Schuller and K. Scharffetter-Kochanek. 2001. Chronological ageing and photoageing of the fibroblasts and the dermal connective tissue. *Clin. Exp. Dermatol.* 26:592-599.
- Millis, A.J., M. Hoyle, H.M. McCue and H. Martini. 1992. Differential expression of metalloproteinase and tissue inhibitor of metalloproteinase genes in aged human fibroblasts. *Exp. Cell Res.* 201:373-379.
- Scharffetter-Kochanek, K., P. Brenneisen, J. Wenk, G. Herrmann, W. Ma, L. Kuhr, C. Meewes and M. Wlaschek. 2000. Photoaging of the skin from phenotype to mechanisms. *Exp. Gerontol.* 35:307-316.
- Vincenti, M.P., L.A. White, D.J. Schroen, U. Benbow and C.E. Brinckerhoff. 1996. Regulating expression of the gene for matrix metalloproteinase-1 (collagenase): mechanisms that control enzyme activity, transcription, and mRNA stability. *Crit. Rev. Eukaryot. Gene Expr.* 6:391-411.
- Yong, Y., S.Y. Shin, Y.H. Lee and Y. Lim. 2009. Antitumor activity of deoxypodophyllotoxin isolated from *Anthriscus sylvestris*: Induction of G2/M cell cycle arrest and caspase-dependent apoptosis. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 19:4367-4371.

(접수일 2012.2.29; 수정일 2012.4.9; 채택일 2012.4.16)