

오레가노 추출물의 모발성장 촉진효과

박장순*

동원대학교 뷰티디자인계열

Effect of *Origanum vulgare* Extracts on Hair Regeneration

Jang-Soon Park*

Department of Beauty Design, Tongwon University, Kwangju, Kyonggi 464-711, South Korea

Abstract – This study was carried out to investigate the effect of *Origanum vulgare* extracts on cell proliferation of human hair dermal papilla cell (HHDPC) using sulforhodamine B (SRB) assay, antioxidant activity by 1,1-diphenyl-2-picryl hydrazyl (DPPH) method, expression of insulin-like growth factor-1 (IGF-1) by analyzing reverse transcriptase polymerase chain reaction (RT-PCR) and hair growth in a shaving animal model of C57BL/6 mice topically applying with an amount of 0.1 mL once a day for 3 weeks. The mice were divided into 4 groups including normal group (saline, N), negative control group (dimethyl sulfoxide, NC), positive control group (5 mg/mL minoxidil, PC), and experimental group (*Origanum vulgare* extracts, OV). Treatment of OV didn't show cytotoxicity in HHDPC up to 10 µg/mL and exhibited antioxidant activity with IC₅₀ of 31.0 µg/mL. IGF-1 expression in the skin was significantly ($p < 0.05$) increased in the PC and OV compared to the N or NC. PC and OV also showed a prominently promoted hair regrowth compared to the N or NC in hair growth observation. The hair regrowth of OV was significantly higher than that of PC ($p < 0.05$). Therefore, these results indicate that *O. vulgare* extracts effectively stimulated hair growth in an animal model.

Key words – C57BL/6 Mouse, *Origanum vulgare*, HHDPC, IGF-1 expression, Hair Growth

아름다운 스타일링을 위해서는 건강한 모발 및 두피를 관리해야 하는 필요성이 대두되고 있으며, 모발은 사회생활에서는 사람의 이미지에 결정적인 역할을 함으로써 모발이 변하면 자신감, 대인관계 등에 큰 영향을 미친다고 알려져 있다.¹⁾

현재 한국 성인 남성의 23%인 350만 명이 탈모 증세를 보이고 있으며, 여성과 청소년까지 합하면 탈모증으로 고통 받고 있는 환자의 숫자는 거의 천만 명에 이를 것으로 추산되고 있어 이에 따른 사회 경제적 문제가 심각하게 대두되고 있다.²⁾ 탈모의 원인은 아직까지 잘 알려져 있지 않으나 이에 대한 가능성 있는 원인으로 유전적, 호르몬적, 그리고 면역학적 등에 대한 보고가 있다.³⁾

현재 탈모에 관련된 제품 또한 우리에게 친숙한 천연소재들로 많이 개발되고 있으며, 두피관리나 탈모개선에 대한 사람들의 인식이 확산되고 있으며 탈모에 대한 여러 가지 치료법이 적용, 개발되고 있다. 전의 연구에 의하면 고려 홍삼이 탈모증 개선 효과가 있다고 보고하였다.⁴⁾ 또한 전의

연구에서 산삼자, 흑호마, 측백엽, 오배자, 감초, 인삼, 천궁을 혼합한 복한 한약 추출물이 C57BL/6 마우스 모델에서 모발 성장 촉진효과가 있다고 보고하였다.¹⁾

오레가노(*Origanum vulgare* spp. *hirtum*)는 상떡잎식물과(Lamiaceae)에 속하는 아로마 식물로써 아시아, 유럽, 북아프리카 등에서 자란다.⁵⁾ 전통 의약으로써 오레가노는 호흡기 질환, 통증, 류마티스 관절염 등에 널리 상용되어졌다.⁵⁾ 전의 연구에서 오레가노 에센셜 오일은 식품 보존료써 사용되어졌다고 보고하였다.⁶⁾ 오레가노 오일들은 항산화 항균 활성 등이 있다고 보고하였다.⁷⁾ 그러나 아직까지 오레가노 에탄올 추출물의 모발성장 촉진효과에 대한 보고는 없다.

본 연구에서는 예비실험을 통하여, 인간 모유유 세포에 대하여 다양한 종류의 한약재 추출물을 추출하여 세포 증식률을 살펴본 결과, 오레가노 에탄올 추출물이 다른 한약재 추출물에 비하여 평균 1.5배 이상의 세포 증식률을 나타내는 것을 확인하였다. 따라서 이러한 오레가노 에탄올 추출물을 이용하여 *in vivo* 실험으로써 C57BL/6 마우스에 3주 동안 도포하여 모발성장 촉진 효과를 관찰하였다. 동시에 양성대조군으로 미녹시딜을 사용하여 그 효능을 비교하

*교신저자(E-mail): anima2929@daum.net
(Tel): +82-31-760-0509

였다. 또한 오레가노 에탄올 추출물의 insulin-like growth factor-1 (IGF-1)의 발현량에 대한 영향을 reverse transcriptase polymerase chain reaction (RT-PCR) 분석을 통해 관찰하였다.

재료 및 방법

시약 및 기기 - Antibiotic-antimycotic solution, fetal bovine serum (FBS), trypsin-EDTA는 Gibco BRL (Grand Island, NY)에서 구입하여 사용하였다. Tissue culture plates는 Falcon (BD Biosciences, Franklin Lakes, NJ)에서 구입하여 사용하였다. Mesenchymal stem cell (MSC) medium은 ScienCell사(Science cell, Carlsbad, USA) 제품을 사용하였다. Sulforhodamine B (SRB)와 dimethyl sulfoxide (DMEM), minoxidil, 1,1-diphenyl-2-picryl hydrazyl (DPPH), butylated hydroxyanisole (BHA)는 Sigma-Aldrich (St. Louis, MO)에서 구입하여 사용하였다. Trizol은 Invitrogen사(USA)의 제품을 사용하였고, cDNA synthesis 및 PCR kit와 GAPDH, IGF-1의 primer는 BioNEER사(Korea)의 제품을 사용하였다. 실험기기는 homogenizer (IKA, T25 basic, Malaysia), PCR machine (Bio-RAD, Mycycler™ thermal cycler, USA), mini centrifuge (Hitachi, MIKRO 200R, Germany), microscope (Carl Zeiss, Axiovert 200, Germany)를 사용하였다.

털의 제모시 실험동물은 염산케타민(Yuhan, Seoul, Korea)과 rompun (BayerKorea, Seoul, Korea) 혼합액을 복강주사하여 마취시켰으며 제모 과정 동안의 마취 상태 유지를 위하여 isoflurane (hanapharm, Seoul, Korea)을 이용하여 흡입 마취하였다. Depilation시약은 rosin-wax 혼합물을 사용하였고, 흡입마취기는 anesthesia machine V70100 (Surgivet, USA)을 사용하였다.

실험동물 - 생후 6주 된 수컷 C57BL/6 마우스를 (주)중앙실험동물로 부터 구입하여 1주간 동물 사육실 환경에 적응시킨 후 실험에 사용하였다. 동물 사육실은 온도 23±3°C 상대습도 50±10%, 12시간씩 밤낮을 유지하였다. 실험동물은 clean rack에서 사육하였고 실험동물용 사료를 자유로이 급여하고 cage는 매 3일마다 교체하였다. 총 20 마리를 실험하였으며, 총 4개 군으로 나누어서 사육하였다.

오레가노 추출물 제조 - 상수허브랜드(Sangsoo Herb Land, Chungbuk, Korea)로부터 구입한 오레가노 100 g을 600 mL의 에탄올과 혼합하여 실온에서 2일간 정치시킨 후 여과자(Whatman No. 2)로 여과하여 회전 농축기로 40°C에서 농축하였다. 그 추출물 13.4 g은 디엠에스오(DMSO)에 녹여서 오레가노 추출물의 저장액(100 mg/mL)로 만든 후 -20°C에 보관하면서 사용하였다.

세포주 및 세포배양 - 인간 모유두 세포[Human hair dermal papilla cell, (HHDPC)]는 (주)영사이언스로부터 구

입하여 사용하였으며, 5% FBS, 1% 항생제(antibiotics)를 함유하는 MSC 배지, 37°C, 5% CO₂의 배양기에서 배양하였으며, 3일 간격으로 계대배양 하였다.

세포증식 측정 - 세포는 96-well 플레이트(96-well plates)에 2×10⁴의 세포수로 배양되어졌다. 다음날, 그 배양액은 제거되고, 96-well 플레이트는 희석된 화합물을 포함하는 배지를 첨가하여 1일 동안 배양하였다. 2일 후 그 배지는 제거되고 plate를 1×PBS (phosphate buffer saline)로 1회 세척하고 -20°C에 보관한 70% 냉 acetone용액 100 µL를 각 well에 가하여 -20°C에서 30분간 정치하여 plate 내의 세포를 고정하고 다시 acetone 용액을 제거한 후, 건조기에서 30분간 방치하였다. 1% 아세트산 용액에 녹인 0.4% SRB 100 µL를 각 well에 가하여 실온에서 30분간 반응시킨 다음, SRB를 제거하고 1% 아세트산 용액으로 5회 세척한 후 24시간 건조, 고정시켰다. 건조시킨 plate에 10 mM Tris-base 용액 100 µL을 가하여 세포에 결합한 SRB를 용해시켜 562 nm에서 VERSAmax microplate reader (Molecular Devices, Palo Alto, CA, USA)를 사용하여 plate의 각 well의 흡광도를 측정하였다. 동시에 620 nm 파장에서 흡광도를 측정하여 배경색에 대한 대조군으로 사용하였다. 결과는 대조군의 %로써 계산되어졌고 DMSO는 음성 대조군(negative control)으로 사용되어졌다.

항산화 효과 측정 - 항산화 효과는 전의 보고된 방법인 DPPH에 의해 평가하였다.⁸⁾ 즉, 오레가노 에탄올 추출물 10 µL에 190 µL DPPH (2.0×10⁻⁴ M, ethanol)를 가하고 10초간 혼합한 후, 실온에서 30분간 반응하고 517 nm 파장에서 흡광도를 측정하였다. 음성대조군은 시료대신 에탄올을 동량 첨가하여 실험하였고, 양성대조군으로는 합성항산화제인 butylated hydroxyanisole (BHA)을 이용하여 동일한 방법으로 실시하였으며, DPPH radical을 50% 소거시키는 시료의 농도를 IC₅₀으로 하였다.

Reverse Transcriptase Polymerase Chain Reaction (RT-PCR) - 마우스 피부조직에서 IGF-1의 발현량을 측정하기 위해서 totla RNA는 trizol (Invitrogen, Grand Island, NY, USA)을 사용하면서 마우스의 피부조직으로부터 분리하였다. 즉, -70°C에 보관 했던 피부조직을 액화질소에 담아 조직 50 mg당 1 mL의 trizol을 첨가하여 조직을 마쇄하고 실온에서 5분간 정치시킨 후 chloroform 200 µL를 첨가하여 실온에서 3분간 방치하였다. 원심분리기 15,000 rpm, 4°C에서 10분간 원심분리 후 그 상층액을 isopropyl alcohol 500 µL 첨가한 다음 15,000 rpm, 4°C, 15분간 원심분리 후 상층액은 제거하고 70% 에탄올 1 mL을 첨가하여 RNA pellet을 세척하고 15,000 rpm, 4°C, 2분간 원심분리하여 나온 상층액은 제거하고 남은 RNA pellet을 실온에서 건조 후 diethylpyrocarbonate (DEPC)로 희석하여 260 nm에서 OD 값을 측정하여 RNA를 정량하였다. 정제된 RNA는

diethylpyrocarbonate로 처리된 물에 용해시킨 후 agarose-formaldehyde electrophoresis에 의해 그것의 순도를 확인하였다. cDNA는 RNA가 없는 DNA 1 µg은 oligodT 18 mer (bioneer, Daejeon, South Korea), RNase OUT (Invitrogen, Grand Island, NY, USA), omniscrypt RT kit (Qiagen, Hilden, Germany), primer와 함께 37에서 60분간 반응시켰다. 반응당 cDNA의 1 µL는 TopTaq Master Mix (Qiagen) 첨가에 의해 20 µL의 부피로 조정되어졌다. 그 반응은 GeneAmp® PCR System 9700 (Applied Biosystems)에서 수행하였다. 그 증폭된 산물들은 1.2% agarose gel에 전개되어졌고, Red safe (intron biotechnology, korea)에 의해 염색된 후 ultraviolet light아래에서 영상화하였다.

C57BL/6 마우스를 통한 모발 성장 촉진효과 실험 - 오레가노 추출물을 이용하여 모발 성장 효과를 실험하였다. 발모 촉진 효능을 평가하기 위해, 마우스의 등쪽 피부 색이 pink color를 보이는 휴지기 체모의 6주령을 사용하여 animal clipper (Panasonic ER1431p, Japan)를 이용하여 마우스 등관의 털을 깎아내고, 제모크림 비트(veet, Reckitt Benckiser, France)로 나머지 털 제거하였다. 상처 부위가 치유될 때까지 3일 안정화 후 3주 동안 붓을 사용하여 100 µL (5 mg/mL)의 시료를 도포하였으며, 양성 대조군으로는 minoxidile을 동량 사용하였다. 양성 대조군과 실험군의 시료 도포양은 임상에서의 minoxidile사용량을 기준으로 마우스에서 예비 실험을 통해 농도를 설정하였다.

실험 시작부터 종료까지 3주 동안 털이 자란 상태를 육안적으로 관찰하기 위해 실험기간 동안 주 1회 에테르로 가볍게 마취한 후 디지털 카메라로 사진 촬영하였다. 평가방법은 Hyung *et al.* (2007)에 의해 보고된 방법에 의해 평가하였으며, 방법은 각 군의 모발성장 효과는 scoring system에 의해 각 각의 동물을 육안적으로 판정하여 평균치를 산정하였으며 판정기준은 발모정도에 따라 0-19% (-), 20-39% (±), 40-59% (+), 60-79% (++), 80-100% (+++)로 평가하였다.¹⁾

통계적 분석 - 모든 값들은 독립적으로 세 번 실험한 값들의 평균 ± 편차로 나타내었다. 통계값은 유의 수준 $p < 0.05$ 에서 ANOVA분석을 사용하였다.

결과 및 고찰

오레가노 추출물의 세포증식 효과 - 오레가노 추출물의 인간 모유두 세포에 대한 세포증식 효과를 SRB assay로 염색하여 측정하였다. 그 결과, 양성 대조군인 10 µM minoxidil의 처리시에는 세포독성을 나타내지 않았다(Fig. 1). 또한 오레가노 추출물을 0.001 µg/mL, 0.01 µg/mL, 0.1 µg/mL, 1 µg/mL, 10 µg/mL 농도로 처리한 후 24시간 배양한 결과 0.001 µg/mL, 0.01 µg/mL, 0.1 µg/mL, 1 µg/mL의 농도로

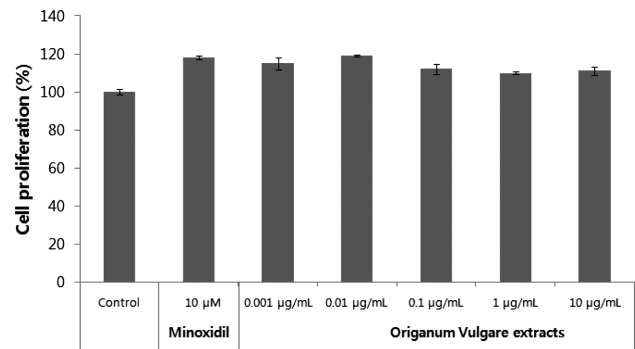


Fig. 1. Effects of the *Origanum vulgare* extracts on cell proliferation in HHDPC cells. The cells were seeded onto a 96-well culture plate at a concentration of 2×10^4 cells per well. Next day, medium was removed and *O. vulgare* extracts treated with concentration of 0.001, 0.01, 0.1, 1, 10 µg/mL. After SRB staining, the absorbance was read at 562 nm with a reference absorbance at 620 nm. Results are presented as the mean % obtained from three independent experiments ($n=3$).

처리시 100% 이상의 세포증식을 나타내었으며 오레가노 추출물 10 µg/mL 농도로 처리시에는 약 110%의 세포증식을 나타내었다. 따라서 오레가노 추출물은 인간 모유두 세포의 증식을 억제하지 않는 것을 알 수 있었다. 많은 전의 연구에서 식물 추출물들의 세포증식 및 세포독성에 대한 영향을 보고하였다. 만형자 추출물을 0.001, 0.01, 0.1, 1 µg/mL의 농도로 처리하였을 때 인간 모유두 세포에 처리한 경우 세포증식 효과가 있다고 보고하였다.⁹⁾ 또한 비타민 나무로부터 분리한 Q3G7R은 인간 피부 섬유아세포(human dermal fibroblast)에 대해서 0.1, 1, 10, 100 µg/mL의 농도로 처리시 세포독성을 나타내지 않는다고 보고하였다.¹⁰⁾ 본 연구에서 오레가노 추출물을 0.001 µg/mL, 0.01 µg/mL, 0.1 µg/mL, 1 µg/mL, 10 µg/mL 농도로 처리하였을 때 인간 모유두 세포를 증식하였으며, 이는 전의 연구들과 비슷한 결과를 나타내었다. 따라서 오레가노 에탄올 추출물 독성을 나타내지 않는 한약제 추출물이나 단일 화합물과 마찬가지로 처리농도에 관계없이 세포독성을 나타내지 않는 것으로 보여진다.

오레가노 추출물의 항산화 효과 - 오레가노 에탄올 추출물의 항산화능을 DPPH방법에 의해 측정한 결과 31 µg/mL의 IC_{50} 과 함께 항산화능을 나타내었고, 양성대조군인 BHA는 56 µg/mL의 IC_{50} 을 나타내었다(Table I). 많은 식물체들은 다양한 형태의 플라보노이드 화합물을 함유하고 있는 것으로 알려져 있다.¹¹⁻¹³⁾ 이러한 플라보노이드 화합물은 배당체의 형태로서 전체 flavonoid의 50-80%를 차지하며, 항산화 작용, 순환기계 질환의 예방, 항염증, 항알레르기, 항균, 항바이러스, 지질저하 작용, 면역증강 작용, 모세혈관 강화 작용 등이 보고된 바 있다.^{14,15)} 또한 오레가노 열수 추출물이나 에탄올 추출물은 항산화 효과가 있다고 보고하였다.¹⁶⁾

Table I. Antioxidant activity of *Origanum vulgare* extracts

Compounds	DPPH radical (IC ₅₀ , µg/mL)
OV	31.0 ± 1.4
BHA	56.0 ± 2.6

Antioxidant activity of OV were determined, using 1, 1-diphenyl-2-picryl-hydrazyl (DPPH). Different concentrations of sample prepared by dissolving the OV in methanol (10 µL) were mixed with 190 µL DPPH solution. After 30 min incubation at room temperature, the absorbance was measured at 517 nm against blank. Antioxidant activity was determined using presented equation. Each value represents the mean ± S.D. of three independent experiments. OV, *Origanum vulgare* extracts; BHA, butylated hydroxyanisol.

본 연구의 결과도 위의 선행 연구 결과와 유사하였다.

IGF-1 발현에 대한 영향 - 마우스 피부조직에서 IGF-1의 발현에 대한 오레가노 추출물의 영향을 RT-PCR을 통해 분석한 결과 음성대조군은 정상군에 비해 유의적인 차이를 나타내지 않았다(Fig. 2). 그러나, 양성대조군인 minoxidil처리군의 경우 음성 대조군에 비해서 IGF-1의 발현이 유의적으로 증가함을 알 수 있었다($p < 0.05$, Fig. 2). 또한 실험군인 오레가노 추출물 처리군의 경우 양성대조군에 비해서 유의적으로 IGF-1의 발현이 증가함을 알 수 있었다($p < 0.05$, Fig.

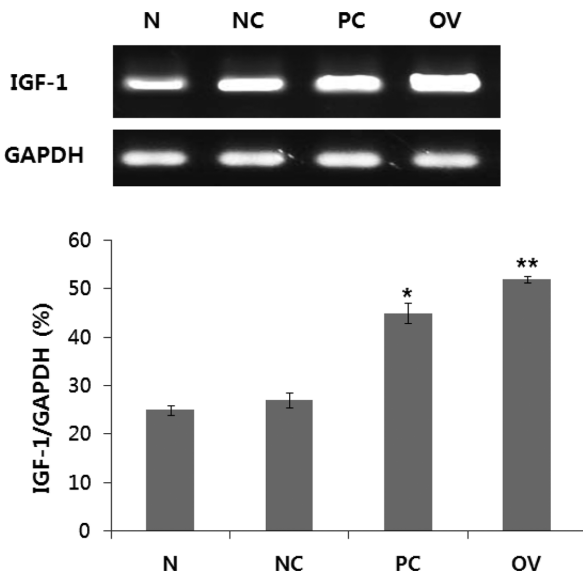


Fig. 2. Effect of *Origanum vulgare* extracts on IGF-1 expression. C57BL/6 mice applied with *O. vulgare* extracts for 3 weeks. The effect of *O. vulgare* extracts on IGF-1 expression evaluated in the skin of C57BL/6 mice by analyzing RT-PCR. Values are mean ± SD of 5 samples. N, normal; NC, negative control; PC, positive control; OV, group treated with *O. vulgare* extracts. *Significantly different from negative control ($p < 0.05$). **Significantly different from positive control treatment ($p < 0.05$).

2). 전의 연구에서 모우두 세포로부터 분비되는 IGF-1은 배양 중인 상피 세포의 증식을 촉진시키고, 모낭 조직의 길이를 증가시킴으로써 모발성장을 조절하는 중요한 성장인자로써 보고하였다.¹⁷⁾ 또한 모낭이 성장기에서 퇴행기로 이행할 때 IGF-1을 첨가하면 퇴행기로의 이행을 억제한다고 보고하였다.¹⁸⁾ 이 연구에서 오레가노 추출물을 마우스의 피부 조직에 처리하였을 때 IGF-1의 발현량이 증가하였다. 따라서 오레가노 추출물은 마우스의 모낭 성장을 유도하여 모발 성장 촉진 효과가 있는 것으로 사료된다.

C57BL/6 마우스의 모발성장 촉진효과 - 오레가노 추출물을 3주 동안 처리 후 C57BL/6 마우스의 모발성장 촉진 효과를 육안적으로 관찰 결과는 Table I과 Fig. 3에 나타내었다. 정상군과 음성대조군에서 모발성장이 3주 후에 약하게 관찰되었고, 양성대조군인 미녹시딜 처리군에서는 60%의 모발성장이 관찰되었다. 그러나 실험군인 오레가노 추출물 처리군에서는 90% 이상의 정상적인 모발성장이 관찰되었다(Table II and Fig. 3). 페퍼민트, 로즈마리 혼합 오일을 C57BL/6마우스에 4주 동안 처리사 모발성장 촉진 효과가 있다고 보고하였다.¹⁾ 상지 추출물과 아이유베다오일을 사람 두피에 12주 동안 처리하였을 때 탈모 개선 효과를 나타낸다고 보고하였다.¹⁹⁾ 또한 한 전의 연구에서 산화적 스트레스는 피부나 모발 노화를 촉진한다고 보고하였다.^{20,21)} 만성적인 스트레스를 유도시킨 마우스에서 항산화제에 의해 모발 성장을 정상화시킨다고 보고하였다.²²⁾ 본 연구에서 오레가노 추출물을 마우스에 3주 동안 처리하였을 때 모발성장 촉진효과를 관찰할 수 있었으며, 이는 오레가노 추출물의 항산화력과 상관관계가 있을 것으로 사료된다.

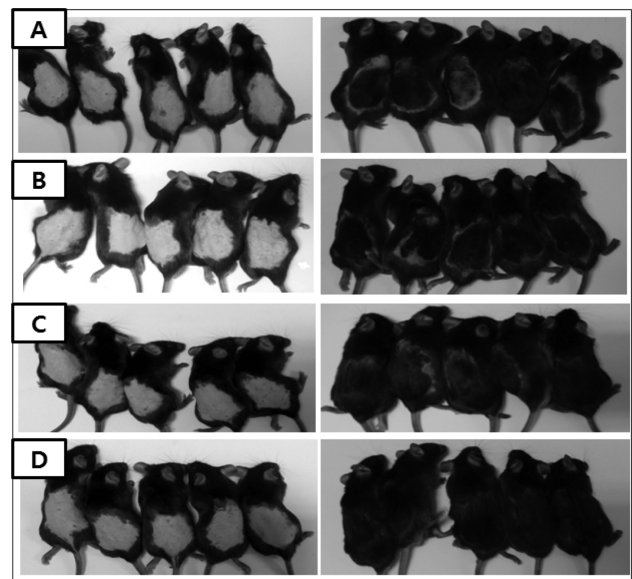


Fig. 3. Effects of *Origanum vulgare* extracts on morphological change in C57BL/6 mice. A, Normal; B, negative control; C, positive control; D, *O. vulgare* extracts.

Table II. Average score of hair growth in C57BL/6 mice applied with test compounds for 3 weeks

Days	Group			OV
	Normal	Control		
		Negative control	Positive control	
1	-	-	-	-
8	+	+	++	+++

Normal: Saline application group

Negative control (NC): DMSO application group without *Origanum vulgare* extracts

Positive control (PC): Minoxidil application group

Experimental (E): Application group of *Origanum vulgare* extracts

OV, *Origanum vulgare* extracts

결 론

본 연구에서는 오레가노 추출물을 인간 모유두 세포에 처리하여 세포증식 효과가 있는지 검증하고, 항산화 효능을 평가하였으며, 또한 C57BL/6 마우스에 처리하여 모발성장 촉진효과가 있는지 연구하였으며, 마우스 피부에서의 IFG-1의 발현 증가 유무를 분석하였다. 오레가노 추출물을 인간 모유두 세포에 0.001 µg/mL, 0.01 µg/mL, 0.1 µg/mL, 1 µg/mL, 10 µg/mL 농도로 처리한 후 24시간 배양한 결과 세포 독성을 나타내지 않으면서 세포 성장을 하였고, 31 µg/mL의 IC₅₀을 가지면서 항산화효과를 나타내었다. 오레가노 추출물 100 µL (5 mg/mL)을 C57BL/6 마우스에 3주 동안 도포한 후 모발성장 촉진효과를 관찰한 결과 minoxidil에 비해 더 높은 모발성장 촉진효과를 나타내었다. 또한 모낭상 피세포 및 모발 성장에 관여하는 IFG-1의 발현량에 대한 오레가노 추출물의 영향을 살펴 본 결과 오레가노 추출물은 양성 대조군에 비해 유의적으로 IFG-1의 발현량을 증가시켰다(p<0.05). 따라서 본 연구결과를 통해 오레가노 추출물은 모발성장 촉진제로써의 이용 가능성이 있을 것으로 사료된다.

인용문헌

- Hyung, S. H., Gang, S. R. and Kim, Y. C. (2007) Effect of complex oriental medicine extract on hair growth promotion in an alopecia model of C57BL/6 mice. *J. Kor. Soc. Cosm.* **13**: 1366-1375.
- Paik, J. K., Yoon, J. B., Sim, W. Y., Kim, B. S. and Kim, N. I. (2001) The prevalence and types of androgenetic alopecia in Korean men and women. *Br. J. Dermatol.* **145**: 95-99.
- Zong, Z. P., Matsui, S., Li, A. L., Katsuda, S. and Yamaguchi, N. (2003) Autoimmune hair loss induced by alloantigen in C57BL/6 mice. *Cell Struct. Funct.* **28**: 97-104.
- Kim, J. H., Yi, S. M., Choi, J. E. and Son, S. W. (2009) Study of the efficacy of Korean red ginseng in the treatment of androgenic alopecia. *J. Ginseng Res.* **33**: 223-228.
- Gruenwald, J., Brendler, T. and Jaenicke, C. (2000) PDR for Herbal Medicines. Medical Economic Co. Inc., Montvale, NJ, UK.
- Chouliara, E., Karatapanis, A., Savvaidis, I. N. and Kontominas, M. G. (2007) Combined effect of oregano essential oil and modified atmosphere packaging on shelf-life extension of fresh chicken breast meat, stored at 4°C. *Food Microbiol.* **24**: 607-617.
- Faleiro, L., Miguel, G., Gomes, S., Costa, L., Venancio, F., Teixeira, A., Figueiredo, A. C., Barroso, J. G. and Pedro, L. G. (2005) Antibacterial and antioxidant activities of essential oils isolated from *Thymbracapitata* L. (Cav.) and *Origanum vulgare* L. *J. Agric. Food. Chem.* **53**: 8162-8168.
- Blois, M. S. (1958) Antioxidant determination by the use of a stable free radical. *Nature* **181**: 1199-1200.
- Shin, H. S., Lee, K. J. and Yil, T. H. (2009) Effect of *Vitex rotundifolia* on hair regeneration: in vitro and in vivo study. *J. Beauty & Tricol.* **5**: 1-5.
- Lee, H. Y. (2012). Antioxidant and Anti-wrinkle effect of quercetin 3-glucoside-7-rhamnoside isolated from *Hippophae rhamnoides* fruits. *Kor. J. Aesthet. Cosmetol.* **10**: 1-6
- Jeong, I. Y. (2005) Antioxidant activity and radioprotection of two flavonoids from propolis. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* **34**: 162-166.
- Lee, M. H., Huh, D., Jo, D. J., Lee, G. D. and Yoon, S. R. (2007) Flavonoids components and functional properties of citrus peel hydrolysate. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* **36**: 1358-1364.
- Woo, K. L., Kim, J. I., Kim, M. C. and Chang, D. K. (1999) Determination of flavonoid and limonoid compounds in citron (*Citrus junos* Sieb. et Tanaka) Seeds by HPLC and HPLC/MS. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* **35**: 353-358.
- Cha, J. Y., Kim, S. Y., Jeong, S. J. and Cho, Y. S. (1999) Effects of hesperetin and naringenin on lipid concentration in orotic acid treated mice. *Korean J. Life Sci.* **9**: 389-394.
- Kawaguchi, K., Mizuno, T., Aida, K. and Uchino K. (1997) Hesperidin as an inhibitor of lipases from porcine pancreas and pseudomonas. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* **61**: 102-104.
- Teixeira, B., Marques, A., Ramos, C., Serrano, C., Matos, O., Neng, N. R., Nogueira, J. M. and Saraiva, J. A. (2013) Nunes ML. Chemical composition and bioactivity of different oregano (*Origanum vulgare*) extracts and essential oil. *J. Sci. Food Agric.* 2013 Feb 4. doi: 10.1002/jsfa.6089.
- Itami, S., Kurata, S. and Takayasu, S. (1995) Androgen induction of follicular epithelial cell growth is mediated via insulin-like growth factor-1 from dermal papilla cells. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **212**: 977-989.
- Philpott, M. P. and Green, M. R. (1991) Human hair growth

- in vitro. J. cell.* **97**: 463-471.
19. Jeong, S. I. and Noh, Y. H. (2008). Impact of *Ramulus Mori* extract and ayurveda oil on hair loss treatment. *J. Kor. Soc. Cosm.* **14**: 1436-1442.
20. Arck, P. C. (2006). Towards a “free radical theory of gray-ing”: melanocyte apoptosis in the aging human hair follicle is an indicator of oxidative stress induced tissue damage. *FASEB J.* **20**: 1567-1569.
21. Suzuki, Y., Yoshimaru, T., Inoue, T., Niide, O. and Ra, C. (2005). Role of oxidants in mast cell activation. *Chem. Immunol. Allergy.* **87**: 32-42.
22. Liu, N., Wang, L. H., Guo, L. L., Wang, G. Q., Zhou, X. P., Jiang, Y., Shang, J., Murao, K., Chen, J. W., Fu, W. Q. and Zhang, G. X. (2013). Chronic restraint stress inhibits hair growth via substance P mediated by reactive oxygen species in mice. *PLoS One.* **8**: e61574.
- (2013. 7. 1 접수; 2012. 8. 14 심사; 2013. 8. 30 게재확정)