

피부질환 치료를 위한 새로운 한약 처방에 대한 연구

이진욱¹ · 김용성¹ · 이동성^{1,2*}

¹조선대학교 대학원 식품의약학과

²조선대학교 약학대학 약학과

A Study of New Herbal Medicine Prescription for the Treatment of Dermatological Diseases

Jinwook Lee¹, Yong Seong Kim¹, and Dong-Sung Lee^{1,2*}

¹Department of Food and Drug, Graduate School of Chosun University

²College of Pharmacy, Chosun University

ABSTRACT Dermal care is rising interest world widely. Research on dermatology focuses on anti-aging, skin moisturizing, atopy, skin regeneration and skin whitening. Graduation theses and published scientific journals from during the past 5 years regarding dermatological diseases were reviewed; We found 1,137 graduation theses and 137 scientific journals related to anti-aging. For skin-moisturizing, we found 1,060 graduation theses and 241 scientific journals. For atopic dermatitis, 156 graduation theses were most relevant among 3,453 graduation theses and 51 scientific journals were relevant among 1,006 journals. For skin-regeneration 413 graduation theses were found. In this case, most of what we needed were about keratinocyte regeneration (44 graduation theses and 23 scientific journals). Among all the herbal medicines that are related to dermatology, we chose 8 different herbs which are mostly stated (Glycyrrhizae Radix, Angelicae Gigantis Radix, Houltuyniae Herba, Cnidii Rhizoma, Scutellariae Radix, Forsythiae Fructus, Sophorae Radix, Gardeniae Fructus). In studies of herbal medicine, Glycyrrhizae Radix, Cnidii Rhizoma, Scutellariae Radix, Forsythiae Fructus are included in Chungsangbangpong-tang. Chungsangbangpong-tang has an effect on skin-regeneration, skin-lightening and skin-moisturizing. Glycyrrhizae Radix and Cnidii Rhizoma are also included in Palmulgunja-tang. Allergy contact dermatitis is treated with Palmulgunja-tang. Angelicae Gigantis Radix is one of the most popular herbal medicine used in Asian countries. Studies on the effect of Angelicae Gigantis Radix have applied for anti-hyperglycemic, neuroprotective, anti-inflammatory, and antioxidant effects. Sophorae Radix is included in Samjasambaek-tang which is used to treat allergic dermatitis. In this study, For these 8 different herbal medicines, we used three different extract solvents as water, 50% EtOH, and 100% EtOH extract. We proceeded DPPH, total phenolic content, nitric oxide (NO) inhibition in RAW264.7 cells, and UVB irradiation assay in human keratino HaCaT cells. As a result, in the case of DPPH radical scavenging activity, of total polyphenols content, of inhibiting NO production in RAW264.7 cells, inhibiting cytotoxicity by UVB irradiation in HaCaT human keratinocytes, 50% EtOH extract was the best. These results suggest that it is most appropriate to use 50% EtOH solvent in the manufacture of new materials to improve skin diseases through extraction of 8 types of herbal medicines in the future. Based on the results of this study, it is considered that further studies, such as mechanisms in skin cells and setting of indicator components, will be needed.

서론

아토피 피부염은 천식, 알레르기성 비염과 같이 대표적인 알레르기 질환이다. 알레르기성 습진, 소아 습진, 굴절부 습진, 범발신경 피부염 등으로도 불리며, 심한 소양감, 피부건조증, 홍종, 홍반, 진물, 태선화, 각질 등의 증상을 보이며 만성적으로 재발하는 습진성 질환이다(홍, 1987; Hanifin, 2004). 아토피 피부염은 아토피의 첫 증상으로

나타나며 음식물 알레르기와 동반될 수 있고, 그 뒤에 알레르기성 비염, 천식의 순서로 증상이 나타날 수 있다(Clark와 Kristal, 1996). 영아기 때 발생한 아토피 피부염 환자의 50%는 생후 2~3세 이전에 소실되며, 전체적으로 10~14세 때까지 75%의 환자가 호전을 보이고, 약 25%에서 성인기까지 지속되는 경과를 보인다. 아토피 피부염의 유병률을 보면 외국의 경우에는 소아의 10~15%(Schultz Larsen 등, 1996), 국내의 경우엔 피부과 외래 환자의 8.6%를 차지하고 있는 것으로 추정되며(박 등, 1997), 현재까지 계속 증가 추세에 있다. 그 이유는 공해물질의 노출 증가, 모체의 노령화, 가족 수의 감소 및 감염

*Corresponding author

E-mail: dslee2771@chosun.ac.kr, Phone: 062-230-6386

노출, 애완동물의 증가 그리고 더욱 다양해진 식이 등이 거론되고 있다(Barnetson과 Rogers, 2002). 현재의 아토피 피부염의 치료는 염증과 소양감의 조절, 2차 병변의 발생 방지를 목적으로 스테로이드 외용제, 보습제, 식이 조절, 항히스타민제, 항생제가 흔히 사용된다(Graham-Brown, 1996). 하지만 스테로이드 외용제, 항히스타민제, 항생제 등의 치료제는 인체에 심각한 부작용을 초래할 수 있어 지속적으로 사용하기 어렵고 치료 또한 한계가 있다. 그중 스테로이드성 아토피 치료제는 치료 효과에 비해 부작용이 크기 때문에 수십 년 전부터 이러한 지적이 현재까지도 계속되어 온 결과로 갈수록 시장규모가 축소되고 있다(Guin, 1981). 이처럼 의학수준이 많이 발전했음에도 불구하고, 과학이 발달하면서 자연이 파괴되고 환경이 변화되자 새로운 질병이 발생하는 것에 대해 아직까지 다스릴 수 있는 영역이 한정되어 있다. 아토피 피부염은 단순하게 한 가지 원인에 의해 발생하는 질환이 아니며, 질병의 완치라는 관점보다는 질병의 조절이라는 관점에서 접근하여 치료를 의논하는 것이 바람직하다(Rudikoff, 2002). 이에 한의학적 관점으로 접근해 보면 한의학에서는 아토피 피부염을 태열(胎熱), 태선(胎癬), 유선(乳癬), 내선(奶癬), 사만풍(四彎風), 태렴창(胎斂瘡) 등으로 구분하고 있으며(공과 지, 1999), 다양한 원인 및 증상, 치료법이 고문서에 다수 기록되어 있고 이러한 처방과 치료법으로 현재까지 많은 치료효과를 보여왔음을 보여주고 있다. 이에 본 연구는 방약합편 처방을 근거로 아토피 증상의 효과가 있는 처방의 빈용약재 3가지(감초, 천궁, 당귀)를 선정하고, 국내 논문 및 pubmed 논문 중 피부질환 치료에 효과를 나타낸 약재를 검색하여 중복(감초, 천궁, 당귀)을 제외한 4가지(황금, 연교, 고삼, 어성초)를 추가로 선정하였다. 항염효과가 뛰어난 치자를 더하여 최종적으로 8가지 생약의 새로운 복합 처방을 조성하여 아토피 치료에 효과적인 한방제제를 제시하고자 한다.

자료조사

아토피 피부염 치료에 효과적인 한방제제의 처방을 조성하기 위해 소양증, 피부발진, 두드러기, 아토피, 태열, 여드름, 면열, 두창, 지루성피부염, 종기 등의 증상에 사용되는 33가지의 한방처방을 방약합편(이, 2012)을 통하여 조사하였고(Table 1), 이중 빈용약재 3가지(감초, 천궁, 당귀)를 선정하였다(Table 2). 국내 논문 및 pubmed 논문에서 피부질환 검색 후 효과를 보인 생약 중 감초, 당귀, 황금, 천궁, 어성초, 연교, 고삼 및 치자 등 8가지 생약을 선정하였으며, 이들을 조합하여 8가지의 생약으로 새로운 처방을 조성하였다(Table 3).

새로운 처방의 구성 약재

감초: 감초(*Glycyrrhizae Radix*)는 학명(scientific name)이 *Glycyrrhizae uralensis* Fisch Et, D.C로 알려

져 있고, 콩과(Leguminosae)에 속하는 다년생 초본으로 *Glycyrrhizae uralensis* Fisch., *Glycyrrhizae inflata* Bat., *Glycyrrhizae glabra* L. 등이 있다. 감초종의 뿌리와 뿌리줄기는 천연감미료와 약재로 세계적으로 오랫동안 사용되어 왔다. 감초는 주로 소염성 궤양, C형 간염 및 폐, 피부질환의 치료를 위해 사용되어왔으며, 항염증, 항균, 항산화, 항바이러스, 항암 활성, 면역조절, 간 보호 및 심장 보호 효과를 가지는 것으로 알려져 있다(Sung, 2006).

천궁: 천궁(*Cnidii Rhizoma*)의 기원은 우리나라와 중국에서는 미나리과의 *Ligusticum chuanxiong* Hort(土川芎)를, 일본에서는 *Cnidium officinale* Makino(日川芎)라 한다. 천궁의 근경은 진경, 진정, 혈관 확장, 혈압 강하, 항균, 항산화, 항진균 효과 및 비타민 E 결핍증 치료 등에 약효를 보이는 중요한 약용작물이다. 약용으로 이용되는 천궁의 근경에는 1~2% 정도의 정유를 함유하고 있으며, cnidilide, ligustilide, neocnidilide, butylphalide, senkeyunolide 등의 성분을 함유(약학대학 한약학 교재 연구회, 1993)하고 있는 것으로 보고되었다.

당귀: 당귀(*Angelica Gigantis Radix*)는 미나리과(Umbeliferae)에 속하는 다년초로서 작약, 숙지황, 아교 등과 함께 대표적인 보혈 약으로 한국, 일본, 중국 등 동아시아 지역에서 처방되는 한약재이다(KFDA, 2002). 당귀는 대한약전에 참당귀 *Angelica agigas* Nakai(산형과 Umbeliferae)의 뿌리로 수재되어 있다(Han 등, 1998). 참당귀의 맛은 약간 쓰고 특이한 향이 있다. 어린잎은 관상용과 식용으로 쓰이고, 한방에서는 혈액을 보충시켜 주는 보혈효과가 있어 뿌리를 빈혈이나 혈행장애에 의한 부인병 치료에 사용하는 것으로 알려져 있다. 주된 약리 성분은 coumarin 유도체인 decursin이라는 물질이며, 이외 decursinol, umbelliferon, β -sitosterol 등이 함유되어 있다(Broncel, 2007). 현재까지 당귀에 관한 연구결과는 면역증진 및 항산화 활성에 관한 효능연구, 당귀 유용성분의 고농도 추출방법 등이 보고되어 있으며, 아직까지 피부미용에 관한 연구보고는 거의 없다. 하지만 당귀에 함유되어 있는 decursin에 의해 혈액순환을 원활히 하는 것은 피부미용에 있어 중요한 요소이다.

황금: 황금(*Scutellariae Radix*)은 속씨은풀 *Scutellaria baicalensis* Georgi(꿀풀과 Labiatae)의 뿌리로서 그대로 또는 주피를 제거한 것으로, 한국, 중국 및 시베리아 동부에서 재배되고 있는 쌍떡잎식물에 속하는 여러해살이풀이다. 예로부터 소염, 해열, 변비, 위장염, 알레르기 및 천식의 치료로 사용되어 왔으며 효능연구로는 항균, 항암, 항염증, 항히스타민 등의 다양한 작용이 보고되어 있다(Li 등, 2000). 황금의 활성을 나타내는 주요성분으로는 baicalin, baicalein, wogonin, wogonin glucuronide 등의 flavonoid류가 있고 이와 같은 유효성분에 대한 연구는 여러 차례 이루어진 바 있는데, 이 중 baicalin은 황금에서 가장 많이 함유되어 있는 성분으로 항염증

Table 1. 33가지 처방의 약재

1. 가미귀비탕	감초, 당귀, 대조, 목향, 백복신, 백출, 산조인, 산치자, 생강, 시호, 용안육, 원지, 인삼, 황기
2. 가미소요산	감초, 길경, 당귀, 도인, 목단피, 백출, 산치자, 적작약, 청피, 패모, 황금
3. 가미십전탕	감초, 당귀, 대조, 백복령, 백작약, 백출, 생강, 숙지황, 오미자, 오약, 육계, 인삼, 진피, 천궁, 황기
4. 국로고	감초
5. 귀비탕	감초, 당귀, 대조, 목향, 백복신, 백출, 산조인, 생강, 용안육, 원지, 인삼, 황기
6. 대화중음	백아, 사인, 산사육, 지실, 진피, 택사, 후박
7. 방풍통성산	감초, 길경, 당귀, 대황, 마황, 망초, 박하, 방풍, 백출, 석고, 연교, 적작약, 천궁, 치자, 형개, 활석, 황금
8. 보중익기탕	감초, 당귀, 백출, 승마, 시호, 진피, 황기
9. 사물탕	당귀, 백작약, 숙지황, 천궁
10. 사위탕	감초, 당귀, 목단피, 박하, 방풍, 생지황, 적작약, 천궁, 치자, 형개, 황련
11. 삼인고	마자인, 초마자인, 행인
12. 생료사물탕	당귀, 박하, 방풍, 생지황, 적작약, 천궁, 황금
13. 서각소독음	감초, 방풍, 서각, 우방자, 형개
14. 세간명목탕	감국, 감초, 강활, 길경, 당귀미, 만형자, 박하, 방풍, 생지황, 석고, 연교, 자질려, 적작약, 천궁, 조결명, 치자, 형개, 황금, 황련
15. 소풍산	감초, 강활, 광향, 방풍, 백강잠, 백복령, 선대, 인삼, 진피, 천궁, 형개, 후박
16. 승마갈근탕	갈근, 감초, 백작약, 생강, 승마, 총백
17. 승마위풍탕	갈근, 감초, 강활, 고본, 당귀, 대조, 마황, 만형자, 백지, 생강, 승마, 시호, 창출, 초두구, 황백
18. 승마황련탕	갈근, 감초, 박하, 백작약, 백지, 서각, 승마, 천궁, 형개수, 황련
19. 신성대침산	당귀, 몰약, 백지, 원청, 유향, 천궁
20. 양격산	감초, 대황, 망초, 박하, 연교, 죽엽, 치자, 황금
21. 오복화독단	감초, 금박, 길경, 마아초, 사향, 은박, 인삼, 적복령, 청대, 현삼
22. 용석산	용뇌, 주사, 한수석
23. 우황해독단	감초, 금은화, 우황, 자초이
24. 자신보원탕	당귀, 대조, 두충, 목단피, 백복령, 백작약, 백출, 산수유, 생강, 숙지황, 연육, 육계, 인삼, 천궁, 포부자, 황기
25. 정전가미이진탕	감초, 굴홍, 대조, 맥아, 반하, 백복령, 백출, 사인, 산사육, 생강, 신곡, 창출, 천궁, 향부자
26. 조경종옥탕	건강, 관계, 당귀, 목단피, 백복령, 백작약, 생강, 숙에, 숙지황, 오수유, 진피, 천궁, 향부자, 현호색
27. 주귀음	감초, 당귀, 방풍, 백작약, 백출, 진피, 장이자, 창출, 천궁, 천마, 편금, 황금
28. 청기산	강활, 길경, 독활, 박하, 방풍, 선대, 시호, 인삼, 적복령, 전호, 지각, 천궁, 천마, 형개
29. 청상방풍탕	감초, 길경, 박하, 방풍, 백지, 연교, 지각, 천궁, 치자, 편금, 형개, 황련
30. 치자청간탕	감초, 당귀, 목단피, 시호, 우방자, 적복령, 적작약, 천궁, 청피, 치자
31. 탁리소독음	금은화, 황기, 후박, 길경, 당귀, 방풍, 백지, 천산갑, 천화분, 조각자, 진피, 천궁
32. 형개연교탕	감초, 길경, 당귀, 방풍, 백작약, 백지, 시호, 연교, 지각, 천궁, 치자, 형개, 황금
33. 황련해독탕	치자, 황금, 황련, 황백

출처: 이, 2012.

Table 2. 방약합편 처방 조사 결과 빈용 약재 3가지

약재명	빈용수
감초	22
천궁	18
당귀	17

Table 3. 국내 논문 및 pubmed 논문 검색 결과 빈용 약재

생약명	논문수
감초	6 (김, 2016; 이, 2015; 우, 2017; 임, 2017; 승, 2014; 손과 홍, 2007)
당귀	6 (임, 2017; 손과 홍, 2007; 오, 2018; 유, 2011; 구, 2016; 김, 2011)
황금	5 (우, 2017; 손과 홍, 2007; 김, 2013; 기 등, 2013; 김과 박, 2006)
천궁	5 (우, 2017; 임, 2017; 손과 홍, 2007; 김, 2008; 김, 2012)
어성초	5 (승, 2014; 김, 2011; 김과 김, 2016; 전, 2016; 안, 2014)
연교	4 (우, 2017; 손과 홍, 2007; 기 등, 2013; 조, 2005)
고삼	3 (승, 2014; 장, 2009; 김과 김, 2016)
치자	2 (안 등, 1982; 도와 임, 2001)

및 항알레르기 작용, 항암 효과 등 다양한 효과가 알려져 있으며 baicalein은 항산화, 항암, 항바이러스 효과 등이 보고 된 바 있다(Li 등, 1993; Wu 등, 2001; Kim, 1991).

연교: 연교(*Forsythiae Fructus*)는 의성개나리(*Forsythia viridissima* Lindley, *Forsythia suspensa* Vahl) 또는 연교(連翹, *Forsythia suspensa* Vahl, 물푸레나무과 Oleaceae)의 열매이다. 의성개나리의 열매는 달걀모양에 가깝고 약간 넓으며 납작하고 길이 10~17 mm, 지름 5~12 mm이다. 끝은 매우 뾰족하고 새 부리처럼 벌어졌다. 아래쪽은 약간 둥글고 열매 자루는 남아있거나 떨어져 있다. 바깥 면은 갈색 또는 녹색이며 약간 불룩하고 고르지 않은 주름살이 있다. 또한, 의성개나리의 열매는 약간 특유한 향기가 있고 맛은 쓰다. 연교의 열매는 긴 달걀모양이고 약간 납작하며 길이 15~25 mm, 지름 5~13 mm이다. 바깥 면에는 불규칙한 세로주름무늬 및 튀어나온 작은 반점이 많이 있고, 양면에는 각각 1줄의 뚜렷한 세로 홈이 있다. 정단은 밋밋하게 뾰족하고, 아래쪽에는 작은 열매꼭지가 있거나 이미 탈락되어 있다. 맛이 쓰고, 특유한 향기가 있다고 알려져 있으며, 한방과 민간에서

열매를 종창, 이노, 통경, 임질, 치질, 나력, 결핵, 음, 해독 등에 널리 사용되고 있다(Kitagawa 등, 1987). 연구에 함유되어 있는 성분 중 3β-acetoxy-20,25-epoxy-dammarane-24-ol은 항염증 효과, phenylpropanoid glycosides는 항균작용을 나타낸다(이, 2014).

고삼: 고삼(Sophorae Radix)은 콩과에 속하는 다년생 초본식물로 높이는 1 m에 달하고 녹색이지만 어릴 때는 검은 빛이 돈다. 6~8월에 연한 황색의 꽃이 피는데, 원줄기의 끝과 가지 끝의 총상화서(總狀花序)에 많은 꽃이 달린다. 잎은 어긋나며, 잎자루가 길고 기수우상복엽(奇數羽狀複葉)이다. 뿌리는 한약재로 쓰이며, 약효성분으로는 matrine이 함유되어 있고 동물실험에서 해열작용과 이노효과가 보고된 바 있다(안 등, 1982). 건위작용이 있어서 장염, 위장염, 세균성 이질에 감초, 목향과 같이 달여서 복용하면 치유된다. 또 피부의 화농증과 습진에도 유효하며, 부인의 외음부에 가려움증이 심할 때도 달여서 환부를 세척하여 치료한다. 피부 백선균(白癬菌)에는 고백반(枯白礬) 등을 배합하여 연고를 만들어 환부에 붙여서 치료한다(도와 임, 2001).

치자: 치자(Gardeniae Fructus)의 판 이름은 산치자(山梔子)·목단(木丹)·월도(越桃)이다. 꼭두서니과 식물인 치자나무의 익은 열매를 말린 것이다. 치자나무는 우리나라의 중부 이남에서 심으며 북부에서는 온실에 심는다. 가을에 익은 열매를 따서 햇볕에 말린다. 맛은 쓰고 성질은 차다. 폐경(肺經), 간경(肝經), 위경(胃經), 심경(心經), 삼초경(三焦經)에 작용한다. 열을 내리고 가슴이 답답한 것을 낮게 하며 습열사(濕熱邪)를 없애고 소변이 잘 나오게 한다. 또한 부기를 가라앉히고, 출혈을 멈추게 하여 해독 작용을 한다. 약리 실험에서 누런 색소 배당체인 크로신(crocin)과 그 분해산물인 크로세틴(crocetin)이 이담(利膽) 작용을 나타내고 치자의 탕약과 주정추출액은 항균, 혈압강화 작용을 나타낸다는 것이 밝혀졌다(안 등, 1982). 가슴이 답답하여 잠을 못 잘 때, 임증(淋證), 황달, 소갈(消渴), 간열(肝熱)로 눈이 벌게지면서 붓고 아픈 데(결막염), 토혈, 코피, 적리(赤痢), 헌데, 부정 자궁출혈, 타박상 등에 쓰인다. 적응증에 따라 법제하여 하루 6~12 g을 탕제, 산제, 환제 등의 형태로 만들어 복용한다. 외용약으로는 가루를 내서 기초(약)제에 개어 바른다. 생것은 주로 해열약으로, 까맣게 튀은 것은 지혈약으로 쓰며 생강즙에 축여 튀은 것은 가슴이 답답한 데와 토하는 데 주로 쓴다. 비위(脾胃)가 허한(虛寒)한 데는 쓰지 않는다(도와 임, 2001).

어성초: 어성초(Houttuyniae Herba)는 약모밀, 즈채, 중약초 등으로도 불리며, 주로 응달진 숲 속에서 서식한다. 땅속줄기가 옆으로 가늘고 길게 뻗어있고 줄기는 곧게 서고 높이가 20~50 cm이며, 몇 개의 세로줄이 있고, 특이한 냄새가 난다. 잎은 어긋나고 길이가 3~8 cm이고 끝은 뾰족하며 턱잎은 잎자루 밑 부분에 붙어있고, 가장자리가 밋밋하다. 꽃은 5~6월에 피고 줄기 끝에서 나온

짧은 꽃줄기 끝에 수상꽃차례를 이루며 많은 수가 달린다. 총포는 4개로 갈라지고 꽃차례 밑에 십자 모양으로 달려 꽃잎처럼 보이며, 갈라진 조각은 길이 1.5~2 cm 정도의 타원 모양 또는 긴 타원 모양이며 색은 희다. 꽃차례의 길이는 1~3 cm 정도이고, 꽃은 꽃잎과 꽃받침이 없고 3개의 수술과 1개의 암술이 있으며, 암술대는 3개이고, 씨방은 상위(上位)이고 3실이다(안 등, 1982). 어성초의 대표적인 효능을 꼽자면 해독작용(항균)과 소염작용(살균) 등이 있다. 섭취한 독성물질과 몸속에 생긴 독이나 세균 독을 없애준다고 한다. 또한 소염작용에 좋아서 먹어도 되고 발라도 된다고 한다. 어성초 속의 포함된 quercitrin 성분은 모세혈관을 확장시켜 피부를 맑게 해주며 피부 트러블 완화에도 도움이 된다고 한다. 이 때문에 아토피가 있는 사람들에게 좋은 식자재이다. 어성초를 넣고 끓인 물에 목욕을 하면 혈액순환에 도움이 된다. 그 밖에 해열 및 배농 작용에도 뛰어나 폐농양으로 인한 기침, 피고름을 토할 때, 급만성 기관지염, 장염, 폐렴, 요로감염증, 중기에 쓰며, 열이 많고 소변을 보지 못할 때 사용한다. 단, 어성초는 성질이 차 많이 먹게 되면 소화력이 약해질 수 있고 오히려 체력이 떨어질 수 있다고 알려져 있어 몸에 열이 많은 사람이 아니면 피하는 것이 좋다(도와 임, 2001).

재료 및 방법

생약 구입 및 시료 제조

본 실험에 사용된 생약은 모두 옴니허브(대구)에서 구입하였다. 총 8종의 생약으로 감초(Glycyrrhizae Radix(甘草)), 당귀(Angelicae Gigantis Radix(當歸)), 어성초(Houttuyniae Herba(魚腥草)), 천궁(Cnidii Rhizoma(川芎)), 황금(Scutellariae Radix(黃芩)), 연교(Forsythiae Fructus(連翹)), 고삼(Sophorae Radix(苦參)), 치자(Gardeniae Fructus(梔子))를 각각 1:1:1:1:1:1:1:1의 비율로 혼합하였다. 혼합한 8종의 생약을 용매 D.W., 50% EtOH, 100% EtOH로 각각 추출하여 3종의 추출물을 얻었다.

DPPH 라디칼 소거활성 측정

추출물의 DPPH 라디칼 소거활성은 Blois(Blois, 1958)를 이용하여 DPPH에 대한 수소공여능을 측정하였다. 시료를 희석한 다음 96-well plate에 에탄올로 용해시킨 10 mM DPPH 용액 180 μL와 시료액 20 μL를 혼합하여 37°C incubator 안에서 30분간 반응시켰다. 반응이 완료되면 microplate reader를 이용하여 517 nm에서 흡광도를 측정하였다. 표준물질은 ascorbic acid를 사용하였고, DPPH 라디칼 소거활성을 산출하였다.

$$\text{DPPH 라디칼 소거활성(\%)} = [100 - (\text{첨가군 흡광도} / \text{무첨가군 흡광도})] \times 100$$

총 폴리페놀 함량 측정

총 폴리페놀 함량 측정은 AOAC의 Folin-Denis 방법 (Folin과 Denis, 1912)을 수정하여 Folin-Ciocalteu's phenol reagent가 추출물의 페놀성 화합물에 의해 환원되어, 몰리브덴 청색으로 발색되는 원리를 이용하여 정량하였다(Gutfinger, 1981). 추출물 400 μ L와 Folin-Denis reagent 시약 400 μ L를 혼합하고 실온에서 3분간 방치한 후 10% Na_2CO_3 를 400 μ L에 혼합하여 3분 동안 반응시킨다. 그다음 10% Na_2CO_3 를 400 μ L에 혼합하여 암실에서 30분간 반응시킨 후 96-well plate에 200 μ L 상등액을 분주하고 microplate reader를 이용하여 760 nm에서 흡광도를 측정하였다. 표준물질은 caffeic acid를 사용하였고, 시료와 동일한 방법으로 분석하여 얻은 표준검량선으로부터 추출물의 총 폴리페놀 함량을 caffeic acid equivalent(mg/g)으로 계산하였다.

세포배양

RPMI 1640 Medium, trypsin-ethylenediaminetetraacetic acid(EDTA), fetal bovine serum(FBS), phosphate-buffered saline(PBS)[10 mM phosphate buffer(pH 7.4)], Antibiotics는 Gibco Laboratories(Dublin, Ireland)에서 구입하였다. 24-well tissue culture plates와 6-well tissue culture dishes는 SPL Life Sciences(Pocheon, Korea) 제품을 이용하였다. RAW 264.7 대식세포(5×10^5 cell/well)와 HaCaT 사람각질형성세포는 RPMI 1640 배지에 10% FBS와 1% Antibiotic-Antimycotic을 분주하여 5% CO_2 배양기(Forma scientific, Middlesex, UK)에서 37°C의 온도로 배양하였다.

Nitrite oxide(NO) 생성량 측정

RAW 264.7 대식세포에서 LPS로 유도한 nitrite 생성을 측정하기 위해 nitrite assay를 사용하였다. 24-well plate에 1×10^5 cell/well로 동일하게 분주하고 6시간 경과 후 각 well당 농도별로 시료를 처리하였다. 그 후 3시간이 경과하였을 때, LPS를 1 μ g/mL 처리하였고 24시간 이후 Griess 시약[0.1%(w/v) N-(1-naphthyl)-ethylenediamine and 1%(w/v) sulfanilamide in 5%(v/v) phosphoric acid]을 통해 반응시켜 VersaMax™ Tunable Microplate Reader (Molecular Devices, San Jose, CA, USA)를 사용하여 570 nm에서 측정하였다.

세포 생존률 측정

HaCaT 사람각질형성세포에서 UVB 조사에 따른 세포 독성을 측정하기 위해 MTT assay를 사용하였다. 24-well plate에 1×10^5 cell/well로 동일하게 분주하고 6시간 경과 후 각 well당 농도별로 시료를 처리하였다. 그 후 3시간이 경과하였을 때, UVB를 20 mJ/cm^2 처리하였고 24시간 이후 MTT 시약을 통해 반응시켜 VersaMax™ Tunable Microplate Reader(Molecular Devices)를

사용하여 520 nm에서 측정하였다.

통계 분석

본 실험의 통계처리는 GraphPad Prism, version 5.0 (GraphPad Software Inc., San Diego, CA, USA)을 사용하여 나타내었다. 각 실험군 간의 결과 값은 평균과 표준편차로 나타냈으며, ANOVA test를 사용하여 분석하고 유의적인 차이가 있는 항목에 대해서만 검정하였다.

결 과

8종의 생약 선정 및 추출물 제조

본 연구에 사용된 8종의 생약인 감초(Glycyrrhizae Radix(甘草)), 당귀(Angelicae Gigantis Radix(當歸)), 어성초(Houttuyniae Herba(魚腥草)), 천궁(Cnidii Rhizoma(川芎)), 황금(Scutellariae Radix(黃芩)), 연교(Forsythiae Fructus(連翹)), 고삼(Sophorae Radix(苦參)), 치자(Gardeniae Fructus(樵子))를 1:1:1:1:1:1:1:1 비율로 혼합한 후 각각의 용매로 추출하였다. 용매로는 D.W., 50% EtOH, 100% EtOH을 선정하였다. 각각의 용매별 추출 후 얻어진 수율은 D.W.의 경우 21.97%, 50% EtOH의 경우 29.74%, 100% EtOH의 경우 17.15%를 얻었다(Table 4).

8종 생약 혼합 추출물의 DPPH 라디칼 소거활성 측정 결과

8종 생약 혼합 D.W., 50% EtOH, 100% EtOH 추출물과 개별 약제 추출물들의 DPPH 라디칼 소거능을 비교하였다(Table 5). 총 8종 각각의 생약을 D.W., 50% EtOH, 100% EtOH 용매를 각각 이용하여 총 24종의 추출물을 제조하였다. 이때 ascorbic acid를 양성대조군으로 사용하였다. 8종 생약 혼합 추출물의 경우 D.W. 추출물보다 50% EtOH, 100% EtOH 추출물의 경우가 같은 농도에서 비교 시 더 우수한 DPPH 라디칼 소거능을 보였다(Table 5).

8종 생약 혼합 추출물의 총 폴리페놀 함량 측정 결과

8종 생약 혼합 D.W., 50% EtOH, 100% EtOH 추출물과 개별 약제 추출물들의 총 폴리페놀 함량 측정을 비교하였다(Table 6). 총 8종 각각의 생약을 D.W., 50% EtOH, 100% EtOH 용매를 각각 이용하여 총 24종의 추출물을 제조하였다. 이때 caffeic acid equivalent로 mg/g 단위로 결과값을 표기하였다. 8종 생약 혼합 추출물의 경우 고농도에서 50% EtOH, 100% EtOH, D.W. 추출물 순으

Table 4. 8종 생약 혼합 추출물의 수율 결과

Samples	Yield (%)
8 new herbal mixture in D.W. extracts	21.97
8 new herbal mixture in 50% EtOH extracts	29.74
8 new herbal mixture in 100% EtOH	17.15

Table 5. DPPH radical scavenging activity

Samples	Extract	Radical scavenging activity (%)		
		50 µg/mL	100 µg/mL	200 µg/mL
Glycyrrhizae Radix	D.W	7.298	7.640	13.911
	50%	16.648	20.981	32.269
	100%	22.919	31.699	46.180
Angelicae gigantis Radix	D.W	9.464	9.464	15.051
	50%	9.008	11.859	23.261
	100%	11.745	15.964	18.130
Houttuyniae Herba	D.W	15.393	24.059	38.198
	50%	36.830	56.899	79.133
	100%	19.954	31.129	59.293
Cnidii Rhizoma	D.W	4.789	9.236	11.859
	50%	8.096	21.209	24.287
	100%	14.367	19.612	31.015
Scutellariae Radix	D.W	24.287	44.698	75.371
	50%	39.681	60.889	85.975
	100%	48.119	74.572	87.229
Forsythiae Fructus	D.W	57.583	84.151	84.835
	50%	60.889	84.721	84.721
	100%	46.864	82.098	86.203
Sophorae Radix	D.W	5.701	5.587	7.526
	50%	13.797	16.192	17.104
	100%	13.227	14.481	18.016
Gardeniae Fructus	D.W	9.122	18.928	34.322
	50%	17.446	23.717	37.400
	100%	11.060	16.192	23.033
8 Mixture	D.W	19.498	26.568	53.250
	50%	22.919	33.865	65.564
	100%	25.542	44.356	65.222
Ascorbic acid	-	88.141	88.826	89.168

로 총 폴리페놀 함량이 높게 나타났으나 유의미한 차이는 없었다(Table 6).

8종 생약 혼합 추출물의 RAW 264.7 대식세포에서 NO 생성 억제 결과

8종 생약 혼합 D.W., 50% EtOH, 100% EtOH 추출물들의 RAW 264.7 대식세포에서 NO 생성 억제능을 비교

하였다(Fig. 1). RAW 264.7 대식세포를 24-well plate 에 seeding 후 12시간 배양한다. 이후 8종 생약 혼합 D.W., 50% EtOH, 100% EtOH 추출물을 농도별로 각각 처리한 후 3시간을 기다린다. 3시간 후에 LPS를 처리하고 다시 24시간 배양한다. 이후 상등액을 걸어서 NO 생성량을 측정하였다. 그 결과 8종 생약 혼합 50% EtOH, 100% EtOH 추출물이 D.W. 추출물에 비해서 NO 생성

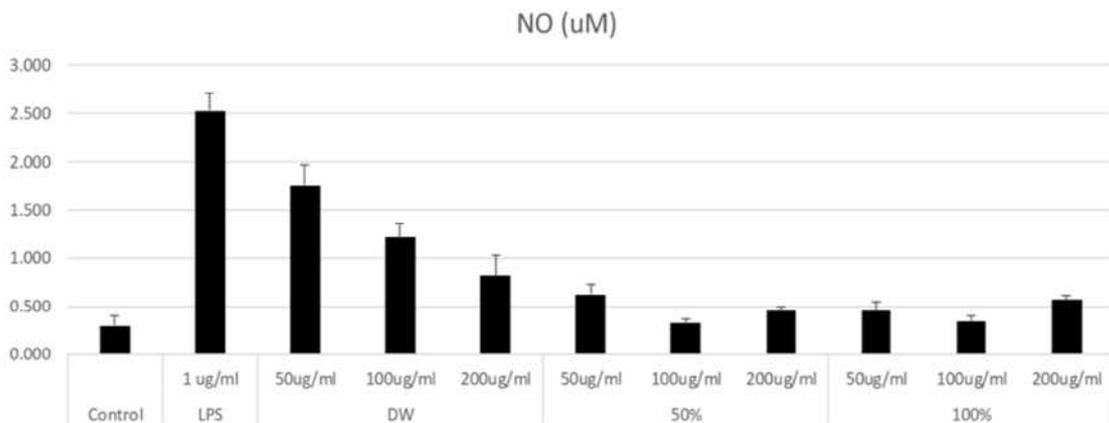


Fig. 1. The effects of 8 new herbal mixture in D.W., 50% EtOH, and 100% EtOH extracts against LPS-induced NO production in RAW 264.7 cells.

Table 6. Total polyphenols content (caffeic acid equivalent) (mg/g)

Samples	Extract	Total phenol content	
		200 µg/mL	400 µg/mL
Glycyrrhizae Radix	D.W	164.8	258.8
	50%	264.1	412.1
	100%	338.8	496.8
Angelicae gigantis Radix	D.W	94.1	173.5
	50%	136.1	254.1
	100%	116.1	188.8
Houttuyniae Herba	D.W	146.8	253.5
	50%	457.5	494.1
	100%	355.5	493.5
Cnidii Rhizoma	D.W	108.8	208.8
	50%	164.8	258.8
	100%	202.1	348.8
Scutellariae Radix	D.W	320.8	457.5
	50%	460.8	448.8
	100%	516.1	560.1
Forsythiae Fructus	D.W	485.5	516.1
	50%	498.8	480.8
	100%	516.8	559.5
Sophorae Radix	D.W	180.1	305.5
	50%	304.1	444.8
	100%	308.1	444.1
Gardeniae Fructus	D.W	182.1	306.1
	50%	269.5	404.8
	100%	164.8	297.5
8 Mixture	D.W	448.1	479.5
	50%	365.5	537.5
	100%	359.5	508.8

억제하는 효과가 우수하게 나타났다(Fig. 1).

8종 생약 혼합 추출물의 HaCaT 사람각질형성세포에서 UVB 조사에 의한 세포독성 억제 결과

8종 생약 혼합 D.W., 50% EtOH, 100% EtOH 추출물

들의 HaCaT 사람각질형성세포에서 UVB 조사에 의한 세포독성 억제 효과를 비교하였다(Fig. 2). HaCaT 사람각질형성세포를 24-well plate에 seeding 후 12시간 배양한다. 이후 8종 생약 혼합 D.W., 50% EtOH, 100% EtOH 추출물을 농도별로 각각 처리한 후 3시간을 기다린다. 3시간 후에 UVB를 20 mJ/cm² 조사하고 다시 24시간 배양한다. 이후 MTT 시약을 처리하여 세포생존률을 측정하였다. 그 결과 8종 생약 혼합 50% EtOH, D.W. 추출물이 세포생존률이 증가하는 효과가 있었으며 100% EtOH 추출물의 경우 유의미한 효과는 없었다(Fig. 2).

결론

본 연구는 피부질환에 사용 가능한 소재를 발굴하기 위하여 기존 고문헌의 처방 및 선행연구들을 종합적으로 고려하여 새로운 8종 생약을 선정하였고 추출물을 제조하여 피부질환의 적용 가능성을 연구해보았다. 본 연구에서는 8종 생약 혼합 D.W., 50% EtOH, 100% EtOH 추출물을 제조하였고, DPPH 라디칼 소거능, 총 폴리페놀 함량, RAW 264.7 세포에서 NO 생성 억제능, 추출물들의 HaCaT 사람각질형성세포에서 UVB 조사에 의한 세포독성 억제 효과를 비교하였다. 그 결과 DPPH 라디칼 소거능, 총 폴리페놀 함량, RAW 264.7 대식세포에서 NO 생성 억제능, HaCaT 사람각질형성세포에서 UVB 조사에 의한 세포독성 억제능 모두에서 50% EtOH 추출물이 가장 우수하게 나타났다. 이는 향후 8종 생약 혼합 추출을 통한 피부질환 개선 신소재 제조 시 50% EtOH 용매를 사용하는 것이 가장 적절함을 시사하는 결과였다. 본 연구결과를 바탕으로 향후 피부세포에서의 기전 연구와 지표성분 설정 등의 추가연구가 필요할 것으로 사료된다.

참고문헌

Barnetson RS, Rogers M. Childhood atopic eczema. Br Med J. 2002. 324:1376-1379.

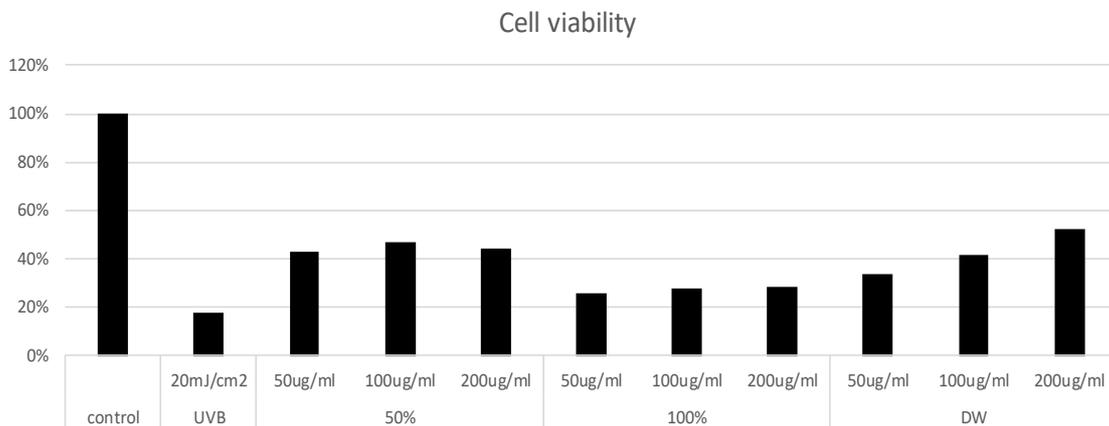


Fig. 2. The effects of 8 new herbal mixture in D.W., 50% EtOH, and 100% EtOH extracts against UV-B-induced cell death in HaCaT cells.

- Blois MS. Antioxidant determination by the use of a stable free radical. *Nature*. 1958. 181:1199-1200.
- Broncel M. Antiatherosclerotic properties of flavones from the roots of *Scutellaria baicalensis* Georgi. *Wiad Lek*. 2007. 60:294-297.
- Clark RA, Kristal L. Atopic dermatitis. In: Sams Jr. WM, Lynch PJ, editors. *Principles and Practice of Dermatology*. 2nd ed. Churchill Livingstone, New York, NY, USA. 1996. p 403-418.
- Folin O, Denis W. On phosphotungstic-phosphomolybdic compounds as color reagents. *J Biochem*. 1912. 12:239-243.
- Graham-Brown R. Managing adults with atopic dermatitis. *Dermatol Clin*. 1996. 14:531-537.
- Guin JD. Complications of topical hydrocortisone. *J Am Acad Dermatol*. 1981. 4:417-422.
- Gutfinger T. Polyphenols in olive oils. *J Am Oil Chemists Soc*. 1981. 58:966-968.
- Han SB, Kim YH, Lee CW, Park SM, Lee HY, Ahn KS, et al. Characteristic immunostimulation by angelan isolated from *Angelica gigas* Nakai. *Immunopharmacology*. 1998. 40:39-48.
- Hanifin JM. Atopic dermatitis: broadening the perspective. *J Am Acad Dermatol*. 2004. 51:S23-S24.
- KFDA. *The Korean Pharmacopoeia*. 8th ed. Korea Food and Drug Administration, Seoul, Korea. 2002. p 1264-1265.
- Kim TJ. *Korean resources plants*. Seoul National University Pub., Seoul, Korea. 1991. p 262.
- Kitagawa S, Nishibe S, Baba H. Studies on the Chinese crude drug "forsythiae fructus." VIII. On isolation of phenylpropanoid glycosides from fruits of *Forsythia koreana* and their antibacterial activity. *Yakugaku Zasshi*. 1987. 107:274-278.
- Li BQ, Fu T, Gong WH, Dunlop N, Kung HF, Yan Y, et al. The flavonoid baicalin exhibits anti-inflammatory activity by binding to chemokines. *Immunopharmacology*. 2000. 49:295-306.
- Li BQ, Fu T, Yan YD, Baylor NW, Ruscetti FW, Kung HF. Inhibition of HIV infection by baicalin—a flavonoid compound purified from Chinese herbal medicine. *Cell Mol Biol Res*. 1993. 39:119-124.
- Rudikoff D. Atopic dermatitis. In: Lebowitz M, Heymann WR, Berth-Jones J, Coulson I, editors. *Treatment of Skin Disease: Comprehensive Therapeutic Strategies*. 1st ed. Mosby, New York, NY, USA. 2002. p 58-64.
- Schultz Larsen F, Diepgen T, Svensson Å. The occurrence of atopic dermatitis in North Europe: An international questionnaire study. *J Am Acad Dermatol*. 1996. 34:760-764.
- Sung KC. A study on the pharmaceutical characteristics & analysis of Glycyrrhizin extract. *J Korean Oil Chemists Soc*. 2006. 23:215-222.
- Wu JA, Attele AS, Zhang L, Yuan CS. Anti-HIV activity of medicinal herbs: usage and potential development. *Am J Chin Med*. 2001. 29:69-81.
- 공남미, 지선영. 아토피 피부염의 양·한방적 고찰. *대한외과학회지*. 1999. 12(1):241-253.
- 구정은. 인간 진피섬유아세포에서 Angelic acid가 세포 노화, 항산화 및 DNA 복구기전에 미치는 효과. 박사학위논문. 건국대학교, 서울. 2016.
- 기호필, 장선일, 윤용갑. 황련해독탕(黃連解毒湯)의 아토피 피부염 개선 효과(效果). *대한한의학 방제학회지*. 2013. 21(1): 80-90.
- 김건우, 김동희. 아토피피부염 동물 병태 모델에서 아토피탕 개선효과. *대한본초학회지*. 2016. 31(4):79-85.
- 김경진. Ovalbumin으로 유발된 아토피피부염 모델 마우스에 대한 복합한약추출물 경구투여의 효과. 박사학위논문. 경원대학교, 경기. 2011.
- 김경진. UVA로 조사된 사람 섬유아세포에서 국내산 감초 유효 성분인 Licoricidin의 항노화 활성과 그 메커니즘. 석사학위논문. 서울과학기술대학교, 서울. 2016.
- 김나영. 화장품 소재로서의 황금 추출물과 주요 함유 플라보노이드의 특성에 관한 연구. 박사학위논문. 건국대학교, 서울. 2013.
- 김란. 한방허브추출물을 첨가한 기본제형 크림에 의한 피부보습상태 변화 연구. *대한피부미용학회지*. 2012. 10:399-404.
- 김수은. Hairless 마우스에서 천궁추출물의 피부노화 억제 효과. 석사학위논문. 계명대학교, 대구. 2008.
- 김윤희, 박영숙. 황금열수추출물이 DNCB로 유도된 알레르기성 접촉피부염 흰쥐의 항산화능 및 표피회복능에 미치는 영향. *한국식품영양과학회지*. 2006. 35:543-548.
- 도봉섭, 임록재. *한국약용식물사전*. 여강출판사, 서울. 2001. p 45.
- 박영민, 박홍진, 김태윤, 김정원. 피부과 외래환자에서 아토피 피부염의 상대 빈도와 임상적 특징 및 검사 소견에 관한 연구. *대한피부과학회지*. 1997. 35:96-106.
- 손정민, 홍승욱. 방풍통성산이 아토피 피부염을 유발한 동물모델의 피부 손상에 미치는 영향. *한방안이비인후피부과학회지*. 2007. 20(1):99-114.
- 승윤철. 아토피 피부염에 대한 淸肌解毒湯의 면역조절작용에 관한 연구. 박사학위논문. 대전대학교, 대전. 2014. p 23-30.
- 안덕균, 이상인, 신민교 역. *한약임상응용*. 정보사, 서울. 1982. p 76.
- 안용식. DNCB 유도 BALB/c 생쥐에서 여성초 혼합 한방추출물의 항아토피 효과. 석사학위논문. 강원대학교, 강원. 2014.
- 약학대학 한약학 교재연구회. *한약방제학*. 정담, 서울. 1993. p 544.
- 오사랑. 염증성 질환에 미치는 decursin 및 decursinol angelate가 풍부하게 함유된 참당귀 추출물의 효과. 박사학위논문. 계명대학교, 대구. 2018.
- 우창운. 청상방풍탕 열수 추출물의 피부재생, 주름개선, 미백, 보습 효과 및 세포 독성 평가. 석사학위논문. 대구한의대학교, 경북. 2017.
- 유미애. 당귀 추출물 및 데커신의 피부노화억제효능에 대한 연구. 박사학위논문. 아주대학교, 경기. 2011.
- 이중대. 새로보는 방약합편. 청흥, 서울. 2012. p 33.
- 이창복. *원색대한식물도감*. 향문사, 서울. 2014. p 56.
- 이혜미. 국내산 감초 유효성분의 UVB로 유도된 광노화에 대한 저해 메커니즘. 석사학위논문. 서울과학기술대학교, 서울. 2015.
- 임태형. 팔물군자탕이 생쥐에 유발된 알레르기 접촉피부염에 미치는 영향. 박사학위논문. 동신대학교, 전남. 2017.
- 장선영. 삼자삼백탕이 알러지피부염 유발 NC/Nga 생쥐의 피부 병변 면적 관련인자에 미치는 영향. 박사학위논문. 대전대학교, 대전. 2009.
- 전연경. 여성초 및 창이자 에탄올 추출물의 피부 항광노화 활성. 석사학위논문. 강원대학교, 강원. 2016.
- 조세양. 양격산화탕(凉隔散化湯)이 Allergy성(性) 접촉피부염(接觸皮膚炎)에 미치는 영향(影響). *대한한방피부미용학회지*. 2005. 1(1):16-40.
- 홍창의. *홍창의 소아과학*. 대한교과서주식회사, 서울. 1987. p 612-614.