

4종의 한약 추출물이 염증치료 및 예방에 미치는 영향에 대한 연구

이정숙 · 노석선

대전대학교 한의과대학 안이비인후피부과학교실

Effects of Herbal Extracts on the Inflammatory Reactions

Jeong-suk Lee · Seok-sun Roh

This study was carried out to investigate the effects herbal extracts on the skin inflammatory reactions. Among the herbal ingredients of herbal extracts, ethanol extract of Glycyrrhizae Radix showed potent radical scavenging activity, more than 86% at a concentration of 0.01%, tested by DPPH(1,1-diphenyl-2-picryl-hyrazyl) method. And ethanol extract of Aurantii Immaturus Fructus inhibited the lipopolysaccharide-induced release of nitric oxide(NO), 99% at 50 μ g/ml, by the macrophage RAW 246.7 cells. In addition, the ethanol extracts of Sophorae Radix, Glycyrrhizae Radix showed antibacterial activities on Propionibacterium acnes that causes acne, Sophorae Radix, Glycyrrhizae Radix and Aurantii Immaturus Fructus on Corynebacterium xerosis that cause osmidrosis axillae, Glycyrrhizae Radix and Aurantii Immaturus Fructus on Staphylococcus aureus that was reported to cause impetigo and atopic disease. Taken together, I expect that herbal extracts may be used as a drug for treatment on skin inflammation.

Key words : inflammation, radical scavenging activity, nitric oxide

서론

염증이란 손상에 대한 살아 있는 조직의 반응으로, 생체 조직이 어떠한 원인에 의하여 손상을 받았을 때 이 손상을 국소화시키고 손상된 부위를 정상 상태로 되돌리려는 생체의 고도로 발달된 방어기전으로, 염증반응은 면역계를 동원하는 생체의 방어

와 상처의 치유에 핵심적인 역할을 하고 있을 뿐 아니라 많은 질병의 병리발생에 관련되어 있는 대단히 중요한 과정이다¹⁾.

이러한 염증의 과정으로 국소증상과 전신증상이 나타나게 되는데, 국소증상은 첫째, 혈류 및 혈관 크기의 변동, 둘째, 혈관투과성의 변화, 셋째 백혈구 침윤에 기인하며, 전신증상은 조직손상 후에 일어나는 변화로서 손상에 의하여 생체내 국소부위에 유리되는 공통적인 물질에 의한다고 생각된다²⁾.

염증의 韓方의 定義에 對하여는 明確하게 정립되어 있지는 않으나, 炎症의 局所症狀과 比較할 때 瘡瘍의 範疇에 해당된다고 볼 수 있다.

교신저자: 노석선, 대전대학교 한의과대학
안이비인후피부과학교실
(Tel: 042-229-6815 E-mail: rssdr@hanmail.net)

瘡瘍의 原因으로 陳²⁾은 “外因은 六淫으로 經絡에 서 나타나 臟腑로 전해지고, 內因은 七情鬱結과 臟腑가 손상되어 肢體로 나타나고, 不內外因은 飲食飢飽, 呼吸傷氣, 虎狼毒蟲, 金瘡 등에 나타나 三因이 형성된다” 하였다.

본 실험에서 사용한 처방은 清熱解毒, 涼血止血의 功能이 있어 癰腫疗瘡, 濕疹 등을 治療하는 馬齒莧³⁾, 清熱燥濕, 祛風殺蟲의 功能이 있어, 濕疹, 濕瘡, 皮膚搔痒 등을 치료하는 苦蔴³⁾, 破氣, 散痞하는 功能이 있어 胸腹脹滿, 胸痞, 水腫, 食積 등을 治療하는 枳實³⁾, 그리고 調和諸藥 解毒의 功能이 있어 瘡瘍腫毒 등을 治療하는 甘草³⁾로 구성된 처방으로, 瘡瘍의 治療方으로 사용될 수 있을 것으로 생각 되었다.

이에 저자는 이러한 4종의 한약 추출물이 피부질환 미생물과 염증의 발생과 치료에 미치는 영향을 평가하기 위한 예비실험으로 본 처방의 원료 한약재 추출물들이 피부질환관련 미생물에 대한 항균력과 항산화, 그리고 nitric oxide 생성 억제를 일차로 평가하였기에 이에 보고하는 바이다.

실험재료 및 방법

1. 실험 재료

1) 처방 내용 및 검액의 제조

실험에 사용된 처방내용은 다음과 같다(Table 1). 실험에 사용된 모든 약재는 대전대학교 부속한방병원에서 입수하였으며, 4종의 한약 추출물은 각 약재 1근 분량을 한약재분쇄기를 이용해 100-200매쉬 크기로 분쇄시킨 후, ethanol을 약 2,500ml(1:5 weight/volume)을 가하여 5일간 냉침하여 추출하였다. 추출한 약재는 Whatman filter paper No. 4를 사용해 고형분을 제거한 후, rotary evaporator를 이용해 감압 농축시키고, 70% ethanol을 이용해 5% 용액으로 제조한 후 희석

해 실험에 사용하였다.

Table 1. Prescription Per Pack.

| 한약명 | 학 명 | 1첩분량 (g) |
|-----|----------------------------|-------------|
| 마치현 | Portulacea Herba | 25g |
| 고 삼 | Sophorae Radix | 25g |
| 감 초 | Glycyrrhizae Radix | 25g |
| 지 실 | Aurantii Immaturus Fructus | 25g |

2) 미생물 균주

피부질관 관련 미생물에 대한 항균력 평가를 위해 사용한 표준균주로는 *Propionibacterium acnes* (ATCC 6919), *Staphylococcus aureus* (ATCC 6538), *Corynebacterium xerosis* (ATCC 7711), *Candida albicans* (ATCC 10231) 등을 사용하였다.

3) 시약 및 기기

처방된 한약재추출물의 항균력 평가를 위한 실험에는 brain heart infusion (BHI), Sabouraud dextrose agar (이상 Difco, U.S.A) 등을 사용하였다. 항염평가를 위한 in vitro 실험 시약으로는 Dulbecco's modified Eagle medium (DMEM), fetal bovine serum (FCS), antibiotic-antimycotic (penicillin G sodium, streptomycin sulfate, amphotericin B), trypsin-EDTA (이상 Gibco BRL, U.S.A), sodium bicarbonate, DPPH(1,1-diphenyl-2-picryl-hydrayl), butylated hydroxytoluene (BHT), lipopolysaccharide (LPS), GRIESS reagent (이상 Sigma, U.S.A) 등을 사용하였다.

본 실험에 이용한 실험 초자로는 24, 96 well tissue culture plate, 100mm tissue culture dish (이상 Falcon, USA), eppendorf tube (Sarstedt, Germany) 등을 사용하였다.

본 연구에 사용된 기기로는 rotary evaporator system (BÜCHI, Switzerland), CO₂ Incubator (Forma, USA), inverted microscope, microscope (Nikon, Japan), clean bench (수공양행, 한국), autoclave (Hirayama, Japan), spectrophotometer (Beckman, USA), ELISA reader (BioTek, USA) 등을 사용하였다.

2. 실험 방법

1) 항산화력 평가

항산화력은 DPPH(1,1-diphenyl-2-picryl-hyrazyl)법을 이용해 평가하였다. 무수에탄올로 0.01%와 0.001%로 희석한 원료 한약재 추출액 1mℓ에 0.1mM DPPH용액 1mℓ을 가하고, 37°C에서 30분간 반응시킨 후, 반응물의 흡광도를 spectrophotometer로 516nm에서 측정하였다. 양성대조군으로는 butylated hydroxytoluene(BHT)을, 음성대조군으로는 무수에탄올을 사용하였 다^{4,5)}.

2) Nitric oxide (NO) 형성 억제력 평가

RAW264.7 세포주 (ATCC number: CRL-2278)를 이용한 GRIESS 법으로 NO 형성억제력 실험을 실시하였다. 10% FCS가 첨가된 DMEM으로 전 배양한 RAW 264.7 세포를 24 well plate에 5x10⁴cells/ml의 농도로 seeding하여 5% CO₂ incubator에서 24시간 배양하였다. 배지를 제거하고 인산염완충용액으로 2회 세척한 후, phenol red를 첨가되지 않은 DMEM에 희석한 원료 한약재 추출액을 50μg/ml과 5μg/ml의 농도로 가해 1시간 동안 처리하였다. Lipopolysaccharide를 1μg/ml의 농도로 가하여 48시간 배양한 후, 상층액을 100μl씩 취해 96 well plate에 옮기고, GRIESS reagent를 100μl씩 가해 상온에서 5분간 반응시키고, ELISA reader로 540nm에서의 흡광도를 측정하였다^{6,7)}.

3) 피부질환관련 미생물에 대한 항균력 평가

-70°C에서 냉동보관중인 균주들을 실험개시 3일 전 액상배지에 접종한 후 *P. acnes*의 경우 anaerobic chamber에서, *S. aureus*, *C. xerosis*, *C. albicans*의 경우 37°C incubator에서 전 배양하였다. 이때 사용한 성장배지로는 *P. acnes*, *S. aureus*, *C. xerosis*의 경우 brain heart infusion (BHI), *C. albicans*의 경우

Sabouraud dextrose 배지를 사용하였다. 전 배양한 균액은 각 균주마다 동일한 액상배지를 이용해 1/100로 희석한 후 0.5mℓ를 취해 agar가 포함된 고체 성장배지에 각각 도포 하였다. 한약재추출물의 항균력 평기는 한약재추출물 1% 용액을 40μl씩 8mm paper dish 위에 가하고 clean bench에서 수분을 날려 보낸 후, 준비한 고체 성장배지에 옮겨놓고 1-3일간 배양하며, paper disk 주변에 생긴 균의 성장억제 영역의 지름을 측정하여 평가하였다⁸⁾.

결과

1. 항산화력 평가

DPPH 법으로 4종의 한약 추출물의 radical scavenging activity를 측정한 결과, 감초추출물이 0.01%와 0.001%에서 86%와 16% 억제시켜 우수한 항산화력을 가진 것으로 평가되었으며, 마치현과 고삼추출물도 0.01%에서 53%와 45% 억제시켜 양호한 항산화력을 지닌 것으로 평가되었다 (Table 2).

Table 2. Radical Scavenging Activities of Oriental Herbal Extracts.

| Group | Concentration | Radical Scavenging Activity |
|-------|---------------|-----------------------------|
| B H T | 0.01% | 89 % |
| | 0.001% | 34 % |
| | 0.01% | 53 % |
| | 0.001% | 7 % |
| 마치현 | 0.01% | 45 % |
| | 0.001% | 6 % |
| | 0.01% | 86 % |
| | 0.001% | 16 % |
| 고 삼 | 0.01% | 18 % |
| | 0.001% | 2 % |
| | 0.01% | 86 % |
| | 0.001% | 16 % |
| 감 초 | 0.01% | 18 % |
| | 0.001% | 2 % |
| | 0.01% | 86 % |
| | 0.001% | 16 % |
| 지 실 | 0.01% | 18 % |
| | 0.001% | 2 % |
| | 0.01% | 86 % |
| | 0.001% | 16 % |

2. Nitric oxide (NO) 생성 억제력 평가

RAW 264.7 세포를 이용해 GRIESS 법으로 4종의 한약 추출물을 대상으로 NO형성 억제력을 평가한

결과 지실추출물이 $50\mu\text{g}/\text{ml}$ 과 $5\mu\text{g}/\text{ml}$ 의 농도에서 대조군에 비해 각각 99%와 10% 억제시켜 우수한 NO형성 억제력을 보였다(Table 3).

Table 3. Inhibitory Effects of NO synthesis by Oriental Herbal Extracts.

| Group | Concentration | Radical Scavenging Activity |
|-------|---------------------------|-----------------------------|
| 마치현 | $50\mu\text{g}/\text{ml}$ | 68 % |
| | $5\mu\text{g}/\text{ml}$ | 14 % |
| 고 삼 | $50\mu\text{g}/\text{ml}$ | 48 % |
| | $5\mu\text{g}/\text{ml}$ | 7 % |
| 감 초 | $50\mu\text{g}/\text{ml}$ | 56 % |
| | $5\mu\text{g}/\text{ml}$ | 22 % |
| 지 실 | $50\mu\text{g}/\text{ml}$ | 99 % |
| | $5\mu\text{g}/\text{ml}$ | 10 % |

3. 피부질환관련 미생물에 대한 항균력 평가

4종의 한약 추출물이 피부질환관련 미생물에 미치는 영향을 평가하기 위해 여드름의 원인균으로 알려진 *P. acnes*, 액취증의 원인균인 *C. xerosis*, 놓아진의 원인균으로 알려진 *S. aureus*, 칸디다증의 유발균으로 알려진 *C. albicans*에 대한 항균력을 paper disk법으로 평가한 결과, 고삼추출물은 *P. acnes*, *C. xerosis*에 대한 항균력을 지닌 것으로 평가되었고, 감초추출물은 *S. aureus*, *P. acnes*, *C. xerosis*에 대한 항균력, 그리고 지실추출물은 *S. aureus*와 *C. xerosis*에 대한 항균력을 지닌 것으로 조사되었다(Table 4).

Table 4. Anti-Bacterial Activities of Oriental Herbal Extracts.

| | <i>S. aureus</i> | <i>P. acnes</i> | <i>C. xerosis</i> | <i>C. albicans</i> |
|-----|------------------|-----------------|-------------------|--------------------|
| 마치현 | - | - | - | - |
| 고 삼 | - | 18mm | 10mm | - |
| 감 초 | 9mm | 19mm | 10mm | - |
| 지 실 | 9mm | - | 9mm | - |

고찰

염증을 일으키는 원인은 무수의 많으나 첫째, 세균, 진균, 바이러스와 같은 생물성 원인, 둘째, 외상,

열, 방사능 같은 물리적 원인, 셋째, 내인성 또는 외인성 화학물질에 의한 화학적 원인, 넷째, 항원항체 반응에 관련되는 면역학적 원인으로 크게 대별된다. 이러한 수많은 원인에 의하여 일어나는 염증반응은 그 원인과 반응조직의 차이에 상관없이 거의 유사한 변화를 보인다. 이러한 현상은 조직 손상후에 일어나는 변화로서 손상에 의하여 생체내 국소부위에 유리되는 공통적인 물질요인의 존재를 추정케 한다¹⁾.

이러한 염증의 과정으로 국소증상과 전신증상이 나타나게 되는데, 국소증상은 첫째, 혈류 및 혈관 크기의 변동, 둘째, 혈관투과성의 변화, 셋째 백혈구 침윤에 기인하며, 전신증상은 조직손상 후에 일어나는 변화로서 손상에 의하여 생체내 국소부위에 유리되는 공통적인 물질에 의한다고 생각된다¹⁾.

화학적 매개체란 그 자신이 염증의 원인이 되는 것이 아니고, 염증의 여러 가지 현상들 사이에 개재하여 염증반응을 증개하는 물질이다. 이러한 화학적 매개체는 혈장, 세포 및 손상받은 조직으로부터 유래된다¹⁾.

활성산소는 이온의 상태가 불안하여 다른 물질과 결합해 안정화되려는 성질, 즉 강한 반응성을 지니는 특성을 가진 산소를 말한다. 이러한 활성산소는 인체 내의 정상세포의 대사과정 중의 여러 산화반응의 부산물로 만들어지며, 식세포에 의해 만들어져 감염반응을 조절하는 긍정적인 역할을 하는 반면, 이온화방사선, 자외선, 환경공해, 심한운동을 할 경우에 만들어져, 생체조직을 공격해 각종 염증질환과 암, 간장장애, 동맥경화, 위염 등 많은 질병을 일으키는 원인의 하나로 알려져 있으며, 궁극적으로는 노화의 한 원인인 것으로 알려져 있다. 활성산소는 초산화유리기 (superoxide anion radical; O₂·), 과산화수소 (hydrogen peroxide; H₂O₂), 수산화유리기 (hydroxyl radical; ·OH), 1중항 산소 (singlet oxygen; 1O₂) 등의 4종류로 분류된다. 이러한 활성산소의 피해로부터 생체조직을 보호하기 위해서는 이미 존재하는 유리기가 다른 분자와 반응하기 전에 인체에 무해한 형태로 바꾸고, 다른 분자들로부터 자유 유

리기의 형성을 억제시키는 항산화제의 사용이 일반적이다. 항산화제는 크게 항산화력을 갖는 효소군과 항산화 작용을 하는 비효소군, 그리고 손상된 DNA 등을 수복시키는 효소군으로 나눌 수 있다. 항산화 성 효소군으로는 초산화유리기를 과산화수소로 전환시켜주는 역할을 하는 superoxide dismutase (SOD), 과산화수소수를 물과 산소로 변화시키는 catalase, 그리고 환원형 glutathione을 사용해 과산화수소나 지질 과산화물이 자유유리기를 형성하기 전에 무해한 물질로 전환시키는 작용을 하는 glutathione peroxide 등이 대표적인 것이며, 항산화작용을 갖는 비효소군으로는 vitamine E (tocopherol), vitamine C (ascorbic acid), β-caroten 등과 같은 비타민류와 요산(uric acid), bilirubin 및 알부민 등이 있는데, 이들은 유리기를 낚아채 자기 자신이 안전성 있는 유리기로 전환되어 다른 화합물이 유리기로 되는 것을 예방하는 역할을 한다. 이들 항산화작용을 갖는 비효소군은 세포 내외의 산소유리기를 일차적으로 방어하는 역할을 담당하는 항산화제의 역할을 하고 있다. 손상된 DNA를 수복하는 역할을 하는 효소군으로는 methionine superoxide reductase 등이 있다⁹⁾.

염증의 韓方的 定義에 對하여는 明確하게 정립되어 있지는 않으나, 炎症의 局所症狀과 比較할 때 瘡瘍의 範疇에 해당된다고 볼 수 있다.

瘡瘍의 原因에 對하여 《黃帝內經·靈樞》¹⁰⁾에서는 “運氣學의로 歲木不及으로 炎署流火할 때 歲水不及으로 司天에 热氣가 不臨할 때 發生되며 또는 寒邪가 經絡 내에 侵犯하면 血泣이 되고 血泣이不通되면 衛氣가 循環하지 않으므로 痘이 발생하고 寒氣가 热로 변하여 热이 많으면 肉이 腐蝕되어 膿이 형성된다”고 하였고, 華陀¹¹⁾는 “榮衛壅塞으로 발병하거나 五臟六腑의 蓄毒이 원인이 된다”고 하였으며, 王 等^{12,13)}은 “虛邪가 犯하거나 榮衛가 경락에停留되거나 喜怒가 不穀하거나 飲食不節, 五臟六腑不和, 九竅不通 등으로 발생된다”고 하였다. 또한 陳²⁾은 “外因은 六淫으로 經絡에서 나타나 臟腑로 전해지고, 内因은 七情鬱結과 臟腑가 손상되어 肢體

로 나타나고, 不內外因은 飲食飢飽, 呼吸傷氣, 虎狼毒蟲, 金瘡 등에 나타나 三因이 형성된다” 하였으며, 嚴¹⁴⁾은 五臟六腑의 不和와 陰陽相滯를 원인으로 보았고, 危¹⁵⁾는 冷熱不調, 喜怒不常, 飲食不節, 張은 心火上炎, 陳은 七情, 六淫, 六慾, 膏粱厚味, 勞傷, 五臟六腑九竅不通 등에 의해 발생된다고 하였다.

瘡瘍의 治療法에 對하여 陳¹⁶⁾을 대표로 하는 正宗派는 消, 托, 補의 三法으로 瘡瘍을 治療할 것을 주장하였는데 瘡瘍의 初期에는 消法 즉 汗, 下, 溫, 清, 行, 氣 和, 謂 등의 方法을 為主로 하고, 瘡瘍의 後期와 潰瘍의 早期에는 托法, 즉 扶正托毒, 透膜托毒, 排膜托毒 등의 方法을 為主로 하고, 潰瘍後期에는 補法, 즉 補氣血, 調脾胃, 益肝腎 등의 方法을 為主로 한다고 하였다. 최근의 韓醫書인 《外科·皮膚科의 辨證論治》¹⁷⁾에서도 瘡瘍의 治療法으로 일반적으로 初期, 成膿, 潰瘍의 三段階로 分類하였는데 治療方法도 이에 따라 消, 托, 補의 세 가지의 基本法則으로 分類하였다. 그 중 消法은 消散하는 作用이 있는 藥物을 使用하여 痘變의 損傷을 早期에 消散하는 것을 말하는 것이고, 托法이란 透托의 作用이 있는 藥物을 使用하여 邪氣를 外部로 排出시키는 毒熱과 腐敗한 肉을 조속히 化膿시켜 消退시키는 것을 促進하거나 또는 毒邪를 局限시키거나 化膿되어 있지 않은 것을 消退시키도록 하고 이미 膿이 생겨 있는 것에는 쉽게 破潰할 수 있는 方法을 取하는 것을 말한다. 補法은 補益하는 作用이 있는 藥物을 使用하여 損을 益하고 虛를 補하며 正氣를 도와 여분의 邪를 제거하는 方法으로 瘡瘍의 後期에 局所의 破潰된 후 瘡口가 장기간에 걸쳐 癒合되지 않고 전신에 陰虛, 陽虛, 氣虛, 血虛, 血燥, 陰虛 등의 症으로서 火가 盛하기 때문에 야기되는 皮膚病症에 使用한다고 하였다.

본 실험에서 사용한 처방은 清熱解毒, 凉血止血의 效能이 있어 瘰腫疗瘡, 濕疹 등을 治療하는 馬齒莧³⁾, 清熱燥濕, 祛風殺蟲의 效能이 있어, 濕疹, 濕瘡, 皮膚搔痒 등을 치료하는 苦蓼³⁾, 破氣, 散瘡하는 效能이 있어 胸腹脹滿, 胸痞, 水腫, 食積 등을 治療하

는 枳實³⁾, 그리고 調和諸藥, 解毒의 效能이 있어 瘡瘍腫毒 등을 治療하는 甘草³⁾로 구성된 처방으로, 瘡瘍의 治療方으로 사용될 수 있을 것으로 생각되었다.

본 연구에서는 4종의 한약 추출물이 염증반응과 정에서 중요한 역할을 하고 있는 활성산소를 제거하는 radical scavenger로서의 작용을 하는 지의 여부를 조사하기 위해 DPPH법으로 원료한약재 추출물을 4종을 대상으로 실시한 항산화실험 결과, 감초추출물이 0.01%와 0.001%에서 86%와 16% 억제시켜 우수한 양성대조군으로 사용한 BHT와 유사한 항산화력을 가진 것으로 조사되어, 감초는 향후 염증억제를 위한 처방에 유용하게 사용 수 있을 약재인 것으로 사료되었다.

Nitric oxide (NO)는 nitric oxide synthase(NOS)효소에 의해 만들어지며, 체내 염증과정에서는 과량의 NO가 만들어져 관절염을 비롯한 각종 급성 혹은 만성 염증 질환에서 중요한 역할을 하는 것으로 알려져 있다. NOS는 I형과 II형, III형의 3종류가 있으며, 이중 생체에서 항상성과 관련해 중요한 역할을 담당하는 I형이나 III형과 달리 II형은 inducible NOS(iNOS)로 cytokine이나 세균 등에서 분비되는 LPS나 calcium ionophore에 의해 일부 세포에서 생성되며, 생성된 iNOS는 과량의 NO를 생성해 각종 염증질환에 작용하는 것으로 알려져 있다. 생산된 과량의 NO는 그 자체로도 유전자 및 단백질에 독성을 나타내지만 활성산소의 하나인 superoxide anion (O_2^-)과 반응해 맹독성을 가진 peroxynitrite ($ONOO^-$)를 생성하므로 더욱 강력한 독성물질로 변화되어 암 형성과 진행에 중요한 역할을 하는 것으로 보고되어 있다. 따라서 관절염을 비롯한 각종 염증의 발생억제와 치료를 위해서는 iNOS의 활성을 억제시키는 것이 중요하다¹⁸⁻²¹⁾.

이에 본 연구에서는 쳐 4종의 한약 추출물이 LPS에 의해 유도되는 NO의 생성을 억제시키는 역할을 하는지의 여부를 평가하기 위해 염증실험에 널리 활용되고 있는 macrophage cell line인 RAW264.7 cell을 이용한 실험을 실시하였다. RAW 264.7 cell에 원료

한약재 추출물을 처리할 경우 LPS에 의해 생성되는 NO의 양을 억제시킬 수 있는지의 여부를 평가한 결과, 지실추출물이 $50\mu\text{g}/\text{mL}$ 과 $5\mu\text{g}/\text{mL}$ 의 농도에서 대조군에 비해 각각 99%와 10% 억제시켜 우수한 NO 형성 억제력을 보여, 지실은 염증 치료 및 억제를 위한 처방에 유용하게 활용될 수 있는 약재인 것으로 생각되었다.

여드름, 무좀, 비듬, 액취, 칸디다증, 손상된 부위에 국소적으로 발생하는 표피 농가진 등의 여러가지 피부 질환은 그 발생과정에서 미생물이 핵심적인 역할을 한다는 것은 이미 잘 알려진 사실이다. *P. acnes*는 여드름²²⁾, *C. xerosis*는 액취증²³⁾, *S. aureus*는 농가진과 아토피, *C. albicans*는 칸디다증²⁴⁾의 유발균으로 보고되어 있다. 따라서 이를 질환의 치료 및 예방을 위해서 상기한 원인균에 대한 항균작용을 갖는 약재의 사용이 일반적이다. 이에 본 연구에서는 처방된 원료 한약재 추출물들이 상기한 피부관련 미생물들이 미치는 영향을 평가하기 위해 paper disk법 등으로 항균력을 평가하였으며, 그 결과 고삼추출물은 *P. acnes*, *C. xerosis*에, 감초추출물은 *S. aureus*, *P. acnes*, *C. xerosis*에 대한, 그리고 지실추출물은 *S. aureus*와 *C. xerosis*에 대한 항균력을 지닌 약재인 것으로 조사되었다.

이상의 연구결과에서 본 실험에서 사용된 4종의 한약 추출물들이 우수한 NO생성억제력과 항산화력을 지닌 것임을 확인하여, 피부염증억제 및 치료에 활용될 수 있는 처방인 것으로 사료되었다.

결론

본 실험에서 사용된 4종의 한약 추출물이 피부염증 반응에 미치는 영향을 평가하기 위한 항산화력, nitric oxide 생성억제력 평가와 피부질환 미생물에 대한 항균력을 평가하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. RAW 264.7 세포를 이용한 GRIESS 법으로 쳐

방된 모든 한약재를 대상으로 NO형성 억제력을 평가한 결과, 지실추출물이 $50\mu\text{g}/\text{ml}$ 과 $5\mu\text{g}/\text{ml}$ 의 농도에서 대조군에 비해 각각 99%와 10% 억제시켜 우수한 NO형성 억제력을 보였다.

2. DPPH 법으로 원료 한약재 추출물의 radical scavenging activity를 측정한 결과, 감초추출물이 0.01%와 0.001%에서 86%와 16% 억제시켰다.

3. 4종의 한약 추출물이 피부질환관련 원인균에 미치는 영향을 평가하기 위해 여드름의 원인균으로 알려진 *Propionibacterium acnes*, 액취증의 원인균인 *Corynebacterium xerosis*, 농가진의 원인균으로 알려진 *Staphylococcus aureus*, 그리고 칸디다증의 유발균으로 알려진 *Candida albicans*에 대한 항균력을 paper disk법으로 평가한 결과, 고삼추출물은 *P. acnes*, *C. xerosis*에, 감초추출물은 *S. aureus*, *P. acnes*, *C. xerosis*에 대한, 그리고 지실추출물은 *S. aureus*와 *C. xerosis*에 대한 항균력을 지닌 것으로 확인되었다.

이상의 연구결과에서 4종의 한약 추출물은 NO생성억제력과 항산화력, 그리고 피부 미생물들에 대한 항균력을 지닌 것으로 확인되어, 4종의 한약 추출물은 피부염증억제 및 치료에 활용될 수 있는 처방인 것으로 사료되었다.

참고문헌

1. 대한병리학회. 병리학. 서울:고문사. 1995:71-104.
2. 陳 言. 三因方. 서울:翰成社. 1977:325.
3. 강병수 외. 본초학. 서울:永林社. 1994: 185-186, 217-218, 350-351, 540-541.
4. 문숙임, 류홍수, 이희령, 최재수. 식용식물의 항산화효과 검색과 산초의 항산화성분. 한국영양식량학회지 1994;23:466-471.
5. Blos, M.S. Antioxidant determination by the use of stable free radical. Nature. 1958;181:1199.
6. Wadsworth TL, Koop DR. Effects of Ginkgo biloba extract and quercetin on lipopolysaccharide-induced release of nitric oxide. Chem. Biol. Interact. 2001;137:43-58.
7. Hinz B, Brune K, Rau T, Pahl A. Flurbiprofen enantiomers inhibit inducible nitric oxide synthase expression in RAW 264.7 macrophages. Pharm.Res. 2001;18:151-6.
8. 이건검, 김승곤, 김신무, 김영권, 오홍백, 정경석, 정태화. 진단미생물학(3판). 서울:고려의학. 1999:322-323, 359-374.
9. Denizot F, Lang R. Rapid colorimetric assay for cell growth and survival. Modifications to the tetrazolium dye procedure giving improved sensitivity and reliability. Immunol.Methods. 1986; 89:271-7.
10. 楊維傑. 黃帝內經解釋. 서울:成輔社. 1997: 147, 210, 299, 349, 456.
11. 華陀中藏經. 서울:成輔社. 1976:82.
12. 王勳. 外臺秘要, 北京:人民衛生出版社. 1982: 107, 625~631.
13. 薛己. 薛己醫案, 서울:成輔社. 1976:349~355.
14. 嚴用和. 濟生方. 서울:東洋醫藥大學. 1965:61~68.
15. 危亦林. 得效方. 서울:東洋醫藥大學. 1965: 6130.
16. 陳實功. 外科正宗. 天津科學技術出版社. 1993:47.
17. 柳志允. 外科. 皮膚科의 痘瘍論治. 서울:書苑堂. 1987:35.
18. 김릉규, 신경민, 천상국, 지사영, 서성훈, 박희준, 최종원, 이경태. 넘취 정유의 murine macrophage Raw 264.7 세포에서의 in vitro 항암효과. 약학회지. 3439.
19. 서영준. 발암과정에 있어서 Cyclooxygenase-2의 역할 및 그 저해를 통한 화학 암예방. 분자세포생물학뉴스. 2002;13:8-17, 2003:347.
20. Lee, BG, Kim, S.H, Zee, O.P, Lee, K.R, Lee, H.Y., Han J.W. and Lee, HW. Suppression of inducible nitric oxide synthase expression in RAW 264.7 macrophage by two β -carboline alkaloids extracted from *Melia azedarach*. European J. Pharmacol. 2000; 406:301-309.
21. Kim, E.J., Jin, H.K., Kim, K., Lee, H.Y., Lee, S.Y.,

- Lee, K.R., Zee O.P., Han, J.W. and Lee H.W. Suppression by a sesquiterpene lactone from *Carpesium divaricatum* of inducible nitric oxide synthase by inhibiting nuclear factor- κ B activation. *Biochem Pharmacol.* 2001;61: 903-910.
22. 최승만, 김민주, 최영호, 안호정, 윤여표 *Propionibacterium acnes*에 대한 천연물의 항균효과 검색. *대한약학회지*. 1998;42:89-94.
23. 국정표, 이승철, 전인기, 김영표. 액취증 환자에서의 액외부 피부표면의 미생물학적 연구와 유전적 관찰. *대한피부과학회지*. 1990; 28: 559-564.
24. 유윤정, 최봉규, 육승호, 박영민, 김정. 구강미생물학, 13장 피부와 연조직의 감염. 서울:금자출판사. 2001:155-166.