대한안이비인후피부과학회지 제17권 제2호(2004년 8월)
The Journal of Korean Oriental Medical Ophthalmology & Otolaryngology & Dermatology 2004;17(2):39-47

용담사간탕가미방이 염증치료 및 예방에 미치는 영향에 대한 연구

최은규 · 노석선

대전대학교 한의과대학 안이비인후피부과학교실

Effects of YongdamSaganTangGamibang(YSTG) on the Inflammatory Reactions.

Eun-kyu Choi · Seok-sun Roh

This study was carried out to investigate the effects YSTG on the skin inflammatory reactions. Among the herbal ingredients of YSTG, ethanol extracts of Cinnamoni Ramulus, Polygoni Avicularis Herba and Scutellariae Radix showed potent radical scavenging activity, more than 90% at a concnentration of 0.01%, tested by DPPH(1,1-diphenyl-2-picryl-hyrazyl) method. And ethanol extract of Saussureae Radix inhibited the lipopolysaccharide-induced release of nitric oxide(NO), 86% at 50㎍/㎖, by the macrophage RAW 246.7 cells. In addition, the ethanol extracts of Cinnamoni Ramulus and Polygoni Avicularis Herba showed antibacterial activities on Staphylococcus aureus that was reported to cause impetigo and atopic disease, Cinnamoni Ramulus, Saussureae Radix and Plantaginis Semen on Propionibacterium acnes that causes acne, and Cinnamoni Ramulus on Candida albicans that causes cadidiasis, Saussureae Radix on Corynebacterium xerosis that cause osmidrosis axillae. Taken together, I expect that YSTG may be used as an effective drug for treatment on skin inflammation.

Key words : inflammation, radical scavenging activity, nitric oxide

서론

피부와 점막은 외부로부터 유입되거나 또는 내부에서 생겨난 유해한 인자들로부터 개체를 보호하는 임무를 수행하고 있고, 개체를 방어 유지하는 임무의 대부분이 면역반응과 직접 또는 간접적으로 관련되어 있다. 염증반응의 유발 및 조절, 창상의 치유과정, 알레르기 반응에도 면역반응이 관련이 깊으며 따라서 피부와 점막은 다양한 형태의 면역반응이 흔히 노출되는 대표적 장기이다[1].

피부질환의 주증상은 소양, 동통, 무감각증이며[1], 발적, 발열, 종창, 동통을 특징으로 하는 炎症을 한의학에서는 대개 火와 熱의 개념으로 보고 있다[2].

龍膽瀉肝湯은 金·元代 李[3]의 《東垣十書·蘭室秘藏》에 처음 記載된 이후 많은 醫家들[4-7]에 의해 肝膽實火로 인한 脇痛, 口苦, 目赤, 耳聾症과 肝膽濕熱로 인한 小便淋濁, 陰腫, 陰挺, 陰痒瘡 등을 治療하는데 使用되었다.

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

龍膽瀉肝湯加味方은 이러한 龍膽瀉肝湯에 淸熱解毒의 效能이 있는 金銀花, 牛蒡子, 連翹, 魚腥草, 利水滲濕의 效能이 있는 萹蓄, 燈心, 行氣止痛하는 木香, 靑皮, 發散風寒의 效能이 있는 桂枝, 羌活, 防風, 祛風除濕의 效能이 있는 防己, 散瘀血, 消癰腫의 效能이 있는 牛膝을 加한 處方[8]으로, 火와 熱毒으로 인한 皮膚炎症 반응에 광범위하게 활용될 수 있을 것이라 생각된다.

최근 龍膽瀉肝湯에 대한 연구로 서[9]는 항알레르기에 관한 효과를, 송[10]은 항염증, 해열, 진통, 이뇨 및 항균효과를, 김 등[11]은 항바이러스 활성 및 면역반응에 대한 효과를 각각 실험 보고하고 있으나, 龍膽瀉肝湯加味方이 피부 질환 미생물과 염증의 발생과 치료에 미치는 영향에 관한 연구는 아직 접하지 못하였다.

이에 저자는 龍膽瀉肝湯加味方이 피부 질환 미생물과 염증의 발생과 치료에 미치는 영향을 평가하기 위한 예비실험으로 용담사간탕가미방의 원료 한약재 추출물들이 피부질환관련 미생물에 대한 항균력과 항산화, 그리고 nitric oxide 생성억제을 일차로 평가하였기에 이에 보고하는 바이다.

실험재료 및 방법

1. 실험 재료

1) 처방 내용 및 검액의 제조

실험에 사용된 龍膽瀉肝湯加味方의 처방내용은 다음과 같다(Table 1). 실험에 사용된 모든 약재는 대전대학교 부속한방병원에서 구입하였으며, 龍膽瀉肝湯加味方 원료 한약재 추출액은 각 약재 1근 분량을 한약재분쇄기를 이용해 100-200메쉬 크기로 분쇄시킨 후 ethanol을 약 2,500㎖(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 희석해 실험에 사용하였다.

Table 1. Prescription of YoungdamSaganTangGamibang(YSTG) Per Pack.

한약명	학 명	1첩분량(g)
용담초	Gentianae scabrae Radix	20g
금은화	Lonicerae Flos	20g
우방자	Arctii Semen	20g
어성초	Hoittiyniae Herba	20g
목 통	Akebiae Caulis	14g
방 기	Sinomeni Caulis et Rhizoma	14g
차전자	Plantaginis Semen	14g
적복령	Hoelen	14g
생지황	Rhmanniae Radix Crudus	14g
당 귀	Angelicae Gigantis Radix	14g
치 자	Gardeniae Fructus	14g
황 금	Scutellariae Radix	14g
택 사	Alismatis Rhizoma	14g
연 교	Forsythiae Fructus	14g
편 축	Polygoni Avicularis Herba	14g
등 심	Junci Medulla	10g
목 향	Saussureae Radix	10g
청 피	Aurantii Immatri Pericarpium	10g
우 슬	Achyranthis Radix	10g
계 지	Cinnamoni Ramulus	10g
강 활	Angelicae Koreanae Radix	10g
방 풍	Ledebouriella Radix	10g

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

龍膽瀉肝湯加味方에 처방된 한약재추출물의 항균력 평가를 위한 실험에는 brain heart infusion (BHI), Sabouraud dextrose agar, 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-hyrazyl), butylated hydroxy- toluene (BHT), lipopolyssacharide (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), eppendrof 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) 항산화력평가

항산화력은 DPPH(1,1-diphenyl-2-picryl-hyrazyl)법을 이용해 평가하였다. 무수에탄올로 0.01%와 0,001%로 희석한 龍膽瀉肝湯加味方 원료 한약재 추출액 1㎖에 0.1mM DPPH용액 1㎖을 가하고, 37℃에서 30분간 반응시킨 후, 반응물의 흡광도를 spectrophotometer로 516nm에서 측정하였다. 양성대조군으로는 butylated hydroxytoluene (BHT)을, 음성대조군으로는 무수에탄올을 사용하였다[12,13].

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 龍膽瀉肝湯加味方 원료 한약재 추출액을 50 ㎍/㎖과 5㎍/㎖의 농도로 가해 1시간 동안 처리하였다. Lipopolysaccharide를 1㎍/㎖의 농도로 가하여 48시간 배양한 후, 상층액을 100㎕씩 취해 96 well plate에 옮기고, GRIESS reagent를 100㎕씩 가해 상온에서 5분간 반응시키고, ELISA reader로 540nm에서의 흡광도를 측정하였다[14,15].

3) 피부질환관련 미생물에 대한 항균력 평가

-70℃에서 냉동보관중인 균주들을 실험개시 3일 전 액상배지에 접종한 후 P. acnes의 경우 anaerobic chamber에서, S. aureus, C. xerosis, C. albicans 의 경우 37℃ incubator에서 전 배양하였다. 이때 사용한 성장배지로는 P. acnes, S. aureus, C. xerosis의 경우 brain heart infusion (BHI), C. albicans의 경우 Sabouraud dextrose 배지를 사용하였다. 전 배양한 균액은 각 균주마다 동일한 액상배지를 이용해 1/100로 희석한 후 0.5㎖을 취해 agar가 포함된 고체 성장배지에 각각 도포 하였다. 한약재추출물의 항균력 평가는 한약재추출물 1% 용액을 40㎕씩 8㎜ paper dish 위에 가하고 clean bench에서 수분을 날려 보낸 후, 준비한 고체 성장배지에 올려놓고 1-3일간 배양하며, paper disk 주변에 생긴 균의 성장억제 영역의 지름을 측정하여 평가하였다[16].

실험 결과

1. 항산화력 평가

DPPH 법으로 龍膽瀉肝湯加味方 원료 한약재 추출물의 radical scavenging activity를 측정한 결과 계지, 편축, 황금추출물이 0.01%와 0.001%에서 94%와 25%, 99%와 31%, 그리고 95%와 22% 억제키는 것으로 평가되어 양성대조군으로 사용한 BHT 수준

이상의 우수한 항산화력을 지닌 것으로 평가되었으며, 등심, 목통, 어성초, 우방자추출물도 0.01%의 농도에서 60%이상의 항산화력을 보이는 것으로 평가되었다 (Table 2).

Table 2. Radical Scavenging Activities of Oriental Herbal Extraxts.

Grup	Concentration	Radical Scavenging Activity	Grup	Concentration	Radical Scavenging Activity
BHT	0.01%	89 %	치자	0.01%	53 %
	0.001%	34 %		0.001%	18 %
용담초	0.01%	18%	황금	0.01%	95 %
	0.001%	3%		0.001%	22 %
금은화	0.01%	25%	택사	0.01%	14 %
	0.001%	3%		0.001%	2 %
우방자	0.01%	65%	연교	0.01%	58 %
	0.001%	13%		0.001%	12 %
어성초	0.01%	69%	편축	0.01%	99 %
	0.001%	14%		0.001%	31 %
목통	0.01%	70%	등심	0.01%	77 %
	0.001%	13%		0.001%	19 %
방기	0.01%	59%	목향	0.01%	19 %
	0.001%	10%		0.001%	3 %
차전자	0.01%	4%	청피	0.01%	19 %
	0.001%	0%		0.001%	2 %
적복령	0.01%	7%	우슬	0.01%	21 %
	0.001%	0%		0.001%	2 %
생지황	0.01%	3%	계지	0.01%	94 %
	0.001%	1%		0.001%	25 %
당귀	0.01%	24%	강활	0.01%	19 %
	0.001%	2%		0.001%	2 %
			방풍	0.01%	8 %
				0.001%	0 %

2. Nitric oxide (NO) 생성 억제력 평가

RAW 264.7 세포를 이용해 GRIESS 법으로 龍膽瀉肝湯加味方의 처방된 모든 한약재를 대상으로 NO형성 억제력을 평가한 결과 목향추출물이 50㎍/㎖과 5㎍/㎖의 농도에서 대조군에 비해 각각 86%와 28% 억제시켜 NO형성 억제효과가 가장 우수하였고, 강활, 계지, 방풍, 우방자 및 차전자추출물이 50 ㎍/㎖의 농도에서 각각 60%, 59%, 46%, 46% 억제시켰다(Table 3).

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

Grup	Concentration	Radical Scavenging Activity	Grup	Concentration	Radical Scavenging Activity
용담초	50 ㎍/㎖	11 %	황금	50 ㎍/㎖	45 %
	5 ㎍/㎖	2 %		5 ㎍/㎖	14 %
금은화	50 ㎍/㎖	27 %	택사	50 ㎍/㎖	9 %
	5 ㎍/㎖	2 %		5 ㎍/㎖	-1 %
우방자	50 ㎍/㎖	46 %	연교	50 ㎍/㎖	26 %
	5 ㎍/㎖	1 %		5 ㎍/㎖	2 %
어성초	50 ㎍/㎖	20 %	편축	50 ㎍/㎖	21 %
	5 ㎍/㎖	12 %		5 ㎍/㎖	16 %
목통	50 ㎍/㎖	11 %	등심	50 ㎍/㎖	28 %
	5 ㎍/㎖	0 %		5 ㎍/㎖	6 %
방기	50 ㎍/㎖	32 %	목향	50 ㎍/㎖	86 %
	5 ㎍/㎖	7 %		5 ㎍/㎖	28 %
차전자	50 ㎍/㎖	46 %	청피	50 ㎍/㎖	36 %
	5 ㎍/㎖	2 %		5 ㎍/㎖	6 %
적복령	50 ㎍/㎖	29 %	우슬	50 ㎍/㎖	17 %
	5 ㎍/㎖	3 %		5 ㎍/㎖	3 %
생지황	50 ㎍/㎖	14 %	계지	50 ㎍/㎖	59 %
	5 ㎍/㎖	5 %		5 ㎍/㎖	3 %
당귀	50 ㎍/㎖	33 %	강활	50 ㎍/㎖	60 %
	5 ㎍/㎖	10 %		5 ㎍/㎖	-13 %
치자	50 ㎍/㎖	-25 %	방풍	50 ㎍/㎖	46 %
	5 ㎍/㎖	- 31%		5 ㎍/㎖	12 %

3. 피부질환관련 미생물에 대한 항균력 평가

龍膽瀉肝湯加味方 원료한약재 추출물이 피부질환 관련 미생물에 미치는 영향을 평가하기 위해 여드름의 원인균으로 알려진 P. acnes, 액취증의 원인균인 C. xerosis, 농가진의 원인균으로 알려진 S. aureus, 칸디다증의 유발균으로 알려진 C. albicans에 대한 항균력을 paper disk법으로 평가한 결과, S. aureus에 대한 항균력을 보인 한약재추출물은 계지와 편축 2종이었고, P. acnes에 대한 항균력을 보인 한약재추출물은 계지, 목향 및 차전자 3종, C. xerosis에 대한 항균력을 보인 한약재추출물은 목향 1종, 그리고 C. albicans에 대한 항균력은 보인 것은 계지 1종이었다(Table 4).

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

	S. aureus	P. acnes	C. xerosis	C. albicans
용담초	-	-	-	-
금은화	-	-	-	-
우방자	-	-	-	-
어성초	-	-	-	-
목 통	-	-	-	-
방 기	-	-	-	-
차전자	-	14㎜	-	-
적복령	-	-	-	-
생지황	-	-	-	-
당 귀	-	-	-	-
치 자	-	-	-	-
황 금	-	-	-	-
택 사	-	-	-	-
연 교	-	-	-	-
편 축	9㎜	-	-	-
등 심	-	-	-	-
목 향	-	10㎜	10㎜	-
청 피	-	-	-	-
우 슬	-	-	-	-
계 지	12㎜	10㎜	-	28㎜
강 활	-	-	-	-
방 풍	-	-	-	-

고찰

피부와 점막은 외부로부터 유입되거나 또는 내부에서 생겨난 유해한 인자들로부터 개체를 보호하는 임무를 수행하고 있고, 개체를 방어 유지하는 임무의 대부분이 면역반응과 직접 또는 간접적으로 관련되어 있다. 염증반응의 유발 및 조절, 창상의 치유과정, 알레르기 반응에도 면역반응이 관련이 깊으며 따라서 피부와 점막은 다양한 형태의 면역반응이 흔히 노출되는 대표적 장기이다[1].

염증(inflammation)은 "균의 감염, 열, 외상, 항원항체반응 등 생체조직의 기질변화를 초래하는 침습에 대한 생체의 방어 기전"라고 정의하고 있다. 염증이라는 용어가 "불 같은 상태" 라는 어원에서 유래된 것과 같이 염증이 발생한 부위는 발적, 발열, 동통, 종창, 기능장애와 같은 염증의 5대 징후가 발생된다. 이러한 염증을 병리조직학적으로 볼 때에는 혈관 투과성 항진과 과립구 및 대식세포와 같은 세포의 침윤이 커다란 특징이라고 할 수 있다[17].

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, 위염등 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 (siglet 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 유리기의 형성을 억제시키는 항산화제의 사용이 일반적이다. 항산화제는 크게 항산화력을 갖는 효소군과 항산화작용을 하는 비효소군, 그리고 손상된 DNA등을 수복시키는 효소군으로 나눌 수 있다. 항산화성 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 비효소군

은 세포 내외의 산소유리기를 일차적으로 방어하는 역할을 담당하는 항산화제의 역할을 하고 있다. 손상된 DNA를 수복하는 역할을 하는 효소군으로는 methionine superoxide reductase 등이 있다[17].

龍膽瀉肝湯은 金·元代 李4)의 《東垣十書·蘭室秘藏》에 처음 記載되었으며, 이후 많은 醫家들에 의한 처방 내용과 적응증을 살펴보면, 明代 龔 등[5,6]은 肝膽濕熱로 인한 癰癤便毒, 下疳懸雍, 腫痛燉作, 小便澁滯, 婦人陰癢痒痛, 男子陽挺腫脹, 出膿水 등을 치료한다 하였으며, 張[18]은 《景岳全書》에서 小便赤澁, 脇脹, 口苦寒熱 등의 肝經有餘證을 치료한다고 하였으며. 王[19]은 《醫方集解》에서 龔의 處方에 柴胡를 加하여 肝膽經實火濕熱, 脇痛耳聾, 痰溢口苦, 筋痿陰汗, 陰腫陰痛, 白濁溲血 등의 症을 치료한다고 기록하였다.

龍膽瀉肝湯加味方은 이러한 龍膽瀉肝湯에 淸熱解毒의 效能이 있는 金銀花, 牛蒡子, 連翹, 魚腥草, 利水滲濕의 效能이 있는 萹蓄, 燈心, 行氣止痛하는 木香, 靑皮, 發散風寒의 效能이 있는 桂枝, 羌活, 防風, 祛風除濕의 效能이 있는 防己, 散瘀血, 消癰腫의 效能이 있는 牛膝을 加한 처방[8]으로, 火와 熱毒으로 인한 皮膚炎症 반응에 광범위하게 활용될 수 있을 것이라 생각된다.

최근 용담사간탕에 대한 연구로 서[9]는 항알레르기에 관한 효과를, 송[10]은 항염증, 해열, 진통, 이뇨 및 항균효과를, 김 등[11]은 항바이러스 활성 및 면역반응에 대한 효과를 각각 실험 보고하고 있으나, 龍膽瀉肝湯加味方이 피부 질환 미생물과 염증의 발생과 치료에 미치는 영향에 관한 연구는 아직 접하지 못하였다.

이에 저자는 龍膽瀉肝湯加味方이 피부 질환 미생물과 염증의 발생과 치료에 미치는 영향을 평가하기 위한 예비실험으로 龍膽瀉肝湯加味方의 원료 한약재 추출물들이 피부질환관련 미생물에 대한 항균력과 항산화, 그리고 nitric oxide 생성억제을 일차로 평가하였기에 이에 보고하는 바이다.

본 연구에서는 龍膽瀉肝湯加味方이 염증반응과정에서 중요한 역할을 하고 있는 활성산소를 제거하는 radical scavenger로서의 작용을 하는 지의 여부를 조사하기 위해 DPPH법으로 龍膽瀉肝湯加味方에 사용되는 원료한약재 추출물 22종을 대상으로 실시한 항산화실험 결과, 계지, 편축 및 황금추출물이 0.01%와 0.001%에서 94%와 25%, 99%와 31%, 그리고 95%와 22% 억제키는 것으로 평가되어, 양성대조군으로 사용한 BHT 수준 이상의 우수한 항산화력을 지닌 것으로 평가되었으며, 등심, 목통, 어성초, 우방자추출물도 0.01%의 농도에서 60% 이상의 항산화력을 보이는 것으로 평가되었다.

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 (O2-)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 중요하다[20-23].

이에 본 연구에서는 龍膽瀉肝湯加味方이 LPS에 의해 유도되는 NO의 생성을 억제시키는 역할을 하는 지의 여부를 평가하기 위해 염증실험에 널리 활용되고 있는 macrophage cell line인 RAW264.7 cell을 이용한 실험을 실시하였다. RAW 264.7 cell에 龍膽瀉肝湯加味方 원료 한약재 추출물을 처리할 경우 LPS에 의해 생성되는 NO의 양을 억제시킬 수 있는

지의 여부를 평가한 결과, 목향추출물이 50㎍/㎖과 5㎍/㎖의 농도에서 대조군에 비해 각각 86%와 28% 억제시켜 NO형성 억제효과가 가장 우수하였고, 강활, 계지, 방풍, 우방자 및 차전자추출물이 50㎍/㎖의 농도에서 각각 60%, 59%, 46%, 46% 억제시키는 것으로 확인되어, 이들 한약재들은 향후 염증 치료 및 억제를 위한 처방에 NO 형성억제 물질로 활용될 수 있을 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. acnes는 여드름[24], C. xerosis는 액취증[25], S. aureus는 농가진과 아토피, C.albicans는 칸디다증[26]의 유발균으로 보고되어 있다. 따라서 이들 질환의 치료 및 예방을 위해서 상기한 원인균에 대한 항균작용을 갖는 약재의 사용이 일반적이다. 이에 본 연구에서는 龍膽瀉肝湯加味方에 처방된 원료 한약재 추출물들이 상기한 피부관련 미생물들이 미치는 영향을 평가하기 위해 paper disk법 등으로 항균력을 평가하였으며, 그 결과 계지와 편축은 S. aureus, 계지, 목향 및 차전자는 P. acnes에, 목향은 C. xerosis에, 그리고 계지는 C. albicans에 대한 항균력을 지닌 것으로 확인되어, 龍膽瀉肝湯加味方은 상기한 피부질환의 치료에서 항균력을 목적으로는 사용할 수 없는 것으로 사료되었다.

이상의 연구결과에서 龍膽瀉肝湯加味方의 원료 한약재들은 우수한 NO생성억제력과 항산화력을 지닌 것임을 확인하여, 龍膽瀉肝湯加味方은 피부염증 억제 및 치료에 활용될 수 있는 처방인 것으로 사료되었다.

결론

龍膽瀉肝湯加味方에 처방된 원료 한약재들이 피부염증 반응에 미치는 영향을 평가하기 위한 항산화력과 nitric oxide 생성억제력 평가와 피부질환 미생물에 대한 항균력을 평가하기 위한 paper disc법을 이용한 실험을 실시하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. RAW 264.7 세포를 이용한 GRIESS 법으로 龍膽瀉肝湯加味方의 처방된 모든 한약재를 대상으로 NO형성 억제력을 평가한 결과 목향추출물이 50㎍/㎖과 5㎍/㎖의 농도에서 대조군에 비해 각각 86%와 28% 억제시켜 NO형성 억제효과가 가장 우수하였고, 강활, 계지, 방풍, 우방자 및 차전자추출물이 50㎍/㎖의 농도에서 각각 60%, 59%, 46%, 46% 억제시켰다.

2. DPPH 법으로 龍膽瀉肝湯加味方 원료 한약재 추출물의 radical scavenging activity를 측정한 결과 계지, 편축 및 황금추출물이 0.01%와 0.001%에서 94%와 25%, 99%와 31%, 그리고 95%와 22% 억제하는 것으로 평가되어 양성대조군으로 사용한 BHT 수준 이상의 우수한 항산화력을 지닌 것으로 평가되었으며, 등심, 목통, 어성초, 우방자추출물도 0.01%의 농도에서 60%이상의 항산화력을 보이는 것으로 평가되었다.

3. 龍膽瀉肝湯加味方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 albicans에 대한 항균력을 paper disk법으로 평가한 결과, 계지와 편축은 S. aureus, 계지, 목향 및 차전자는 P. acnes에, 목향은 C. xerosis에, 그리고 계지는 C. albicans에 대한 항균력을 지닌 것으로 확인되어, 龍膽瀉肝湯加味方은 상기한 피부질환의 치료에서 항균력을 목적으로는 사용할 수 없는 것으로 사료되었다.

이상의 실험결과를 종합하면 龍膽瀉肝湯加味方은 우수한 NO 생성억제력, 염증관련 cytokine 유전자 발현억제력 및 항산화력을 비롯해, COX Ⅱ 활성억제력, 모세혈관투과 억제력 및 백혈구 유주 억제력

등을 가져, 염증의 치료 및 예방에 유용한 처방인 것으로 사료된다.

참고문헌

1. 대한피부과학회 교과서편찬위원회 편저. 皮膚科學 개정4판. 서울:麗文閣. 2001:45.
2. 신연상: 유백피의 항염 및 조직재생에 대한 실험적 연구, 대한외관과학회지 제14권 1호, 2001, pp129-153.
3. 이동원 외 동원십종의서. 서울:대성문화사. 1983:219-220.
4. 공정현. 만병회춘. 서울:행림서원. 1975:197.
5. 왕긍당. 외과준승. 대북:신문풍출판공사. 1974:9-13.
6. 오렴 외. 의종금감(증). 서울:대성문화사. 1991: 82-83,127.
7. 이천. 천주의학입문 외집권지삼. 서울:대성문화사. 1986:266.
8. 大田大學校 韓方病院. 韓方病院處方集. 대전:한국출판사. 2001:330.
9. 徐晩瑄. 용담사간탕 및 龍膽瀉肝湯加味方의 항알레르기에 대한 실험적 효과. 원광대학교 대학원. 1989.
10. 宋炳基. 용담사간탕과 금화사간탕의 항염증, 해열, 진통, 이뇨 및 항균효과. 경희대학교 대학원. 1980.
11. 金南權, 金鍾翰, 林圭庠, 黃忠淵. 용담사간탕의 항바이러스 활성 및 면역반응에 대한 실험적 고찰. 대한외관과학회지. 1998:11(1):1-22.
12. 문숙임, 류홍수, 이희령, 최재수. 식용식물의 항산화효과 검색과 산초의 항산화성분. 한국영양식량학회지 1994:23:466-471.
13. Blos, M.S. Antioxidant determination by the use of stable free radical. Nature. 1958:181:1199.
14. 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.
15. 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.
16. 이건겁, 김승곤, 김신무, 김영권, 오홍백, 정경석, 정태화. 진단미생물학(3판). 서울:고려의학. 1999:322-323, 359-374.
17. 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.
18. 장경악. 경악전서 권하. 서울:대성문화사. 1988:620.
19. 汪 昂. 원본의방집해, 서울:대성문화사. 1989: 303-304.
20. 김륭규, 신경민, 천상국, 지사영, 서성훈, 박희준, 최종원, 이경태. 넙취 정유의 murine macrophage Raw 264.7 세포에서의 in vito 항암효과. 약학회지. 3439.
21. 서영준. 발암과정에 있어서 Cyclooxigenase-2의 역할 및 그 저해를 통한 화학 암예방. 분자세포생물학뉴스. 2002:13:8-17, 20013-347.
22. Lee, B.G., Kim, S.H., Zee, O.P., Lee, K.R., Lee, H.Y., Han J.W. and Lee, H.W. 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.
23. 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 divaricantum of inducible nitric oxide synthase by inhibiting nuclear factor-κB activation. Biochem.Pharmarol. 2001:61 903-910.
24. 최승만, 김민주, 최영호, 안호정, 윤여표. Propionibacterium acnes에 대한 천연물의 항균효과 검색. 대한약학회지. 1998:42:89-94.

25. 국정표, 이승철, 전인기, 김영표. 액취증 환자에서의 액와부 피부표면의 미생물학적 연구와 유전적 관찰. 대한피부과학회지. 1990: 28: 559-564.

26. 유윤정, 최봉규, 옥승호, 박영민, 김정. 구강미생물학, 13장 피부와 연조직의 감염. 서울:균자출판사. 2001:155-166.