

황기의 자외선에 의한 세포 손상을 막는 보호 효과

이진영* · 박혜윤 · 염명훈 · 김덕희 · 김한곤
아모레퍼시픽 기술연구원 피부과학연구소 한방과학연구팀

The Protective Effects of Astragali Radix Against UV Induced Cellular Damage in Human Keratinocytes

Jin Young Lee*, Hye Yoon Park, Myeong Hun Yeom, Duck Hee Kim and Han Kon Kim

Hanbang application research, Skin Research Institute, R&D center, Amorepacific corporation, Yongin 446-729, Korea

Abstract – The root of *Astragalus membranaceus* Bunge (Leguminosae) has been used in the Korean oriental medicine for strengthening the vital energy. UV irradiation has been suggested as a major cause of photo aging in skin. In order to investigate protective effects against UV induced cellular damage, Astragali Radix was extracted with 70% ethanol and dissolved in DMSO. The protective effect was detected by MTT assay, LDH assay, and Comet assay in immortalized human keratinocyte cell line, HaCaT cell system after UV irradiation. Astragali Radix 70% EtOH extract reduced UV induced cellular damage in cell survival, membrane integrity and DNA damage.

Key words – *Astragalus membranaceus* Bunge, human keratinocyte, UV-induced cell damage

황기(黃芪) *Astragali Radix*는 콩과에 속하는 다년생 초본 식물인 황기(단너삼, *Astragalus membranaceus* Bunge)의 채취된 뿌리로 잔뿌리와 껍질을 제거하고 햇볕에 건조한 것이다. 한약재로 보기승양(補氣升陽), 고표지한(固表止汗), 탁독배농(托毒排膿), 생기(生肌), 이수퇴종(利水退腫) 등의 효능이 있어서 비허설사(脾虛泄瀉), 기허혈세(氣虛血稅), 도한(盜汗) 등의 병증을 치료하는데 쓰인다. 임상적 응용으로는 황기 약성이 감온(甘溫)하고 보익승양(補益升陽)하는 작용이 있어서 익기(益氣)하므로 기허쇠약(氣虛衰弱)하는 변증에 쓰여 우수한 보기(補氣) 작용을 하는 것으로 알려져 있다. 황기의 약리 활성에 관하여서는 황기의 80% MeOH 추출물에서 저밀도지질 단백질(LDL) 산화를 억제하고¹⁾, 대식세포인 RAW 264.7 세포에서 COX-2 활성을 억제하고²⁾, 사람의 적혈구 막을 이용한 실험관내 실험과 흰쥐에 사염화탄소를 투여하는생체내 실험에서 지질과산화 억제 작용³⁾이 보고 된 바 있다.

피부는 외부에 노출되어 있으면서 외부 자극으로부터 신체를 보호하는 역할을 한다. 외부 자극 중 자외선은 광노화를 유발시키는 가장 큰 원인으로 알려져 있다. 광노화된 피

부는 깊은 주름과 색소 침착, 두꺼운 피부 두께 등으로 특징지어지며, 표피의 기능 약화, 멜라닌 색소의 과도한 생성, 교원질 섬유의 변성과 분해 촉진 등에 의해서 나타나게 된다⁴⁾. 자외선에 의한 세포 손상에서 시작되는 현상으로 DNA 손상의 경우 피부암까지 유발하는 것으로 알려져 있다⁵⁾. 자외선에 의한 손상은 자외선에 의해서 생겨나는 과도한 활성 산소종 때문에 일어나는 것으로 세포 내 단백질, 지질 등을 산화시켜서 정상적인 생리 활동을 저해하고 세포 사멸에 이르게 한다⁶⁾. 따라서 이를 억제하고자 항산화력에 대한 연구가 많이 진행되었다⁷⁻¹²⁾. 그러나 황기 추출물의 피부 효능에 대한 보고는 피부 수분량을 증가시키고¹³⁾ 섬유아세포를 증식시키고 제1형 콜라겐 합성을 증가¹⁴⁾로 피부가 받는 가장 큰 외적 자극인 자외선 손상에 의한 연구는 부족하다.

따라서 본 연구에서는 황기 70% EtOH 추출물이 자외선에 의한 손상 받는 피부 세포를 보호할 수 있는지를 확인하고자 자외선에 의한 세포 사멸과 세포막 손상, DNA 손상에 대한 영향을 평가하였다.

재료 및 방법

실험 재료 – 본 실험에 사용한 황기 (*Astragali Radix*)는 강원도 정선에서 재배한 4-5 년근을 경동시장에서 구입하여

*교신저자 (E-mail): jinylee@amorepacific.com
(Tel): 031-280-5808

사용하였다. 확증 표본(08-019)은 자사 표본실에 보관하였다.

시약 및 기기 - DMSO (Dimethyl Sulfoxide, D2650), MTT (3-(4,5-Dimethyl-2-thiazolyl)-2,5-diphenyl-2H-tetrazolium bromide, M5655), In vitro toxicology assay kit Lactate Dehydrogenase based (TOX-7)은 Sigma (St. Louis, MO, USA) 제품을 사용하였으며, Comet assay 실험에 사용된 Comet Assay kit는 Trevigen (Gaithersburg, MD, USA) 제품을 사용하였으며, 세포 배양에 사용된 DMEM (Dulbecco's modified eagle's medium), fetal bovine serum, penicillin-streptomycin 등의 시약은 Lonza (Walkeisville, MD, USA) 제품을 사용하였다. 기타 시약 및 추출용 용매는 분석용 특급이나 일급 시약들을 사용하였다.

기기는 ELISA reader (Molecular Devices, SpectraMax190), 광학 현미경 (Olympus, CKX41), 형광 현미경 (Zeiss, Axiovert200), 자외선 조사등 (Sankyo Denki, G15T8E ultraviolet 9K UVB), The Kodacel filter (Eastman Kodak) 등을 사용하였다.

추출 - 음건하여 세절한 황기(*Astragalus membranaceus*)의 뿌리 1kg을 70% ethanol 5 liters로 3시간 추출한 뒤 여과하고 남은 액을 감압 농축하여서 70% ethanol 추출물 120 g을 얻었다. 이 시료를 이용하여 실험을 진행하였다.

HaCaT 세포에서의 세포 손상 유발 및 시료 처리 - 사람 각질 형성 세포주인 HaCaT 세포¹⁵⁾는 독일암센터의 Dr. Fusenig의 허락을 받아 국립암센터 김수열 박사에게 분양받아 사용하였다. 10% DMEM으로 37°C, 5% CO₂ 조건하에서 1주일에 2번 계대 배양하였다. HaCaT 세포를 10% DMEM으로 현탁하여 2×10⁵/well로 12 well 배양판, 4×10⁵/well로 6 well 배양판의 well 바닥에 부착시켰다. 부착 시킨 다음 황기 추출물을 DMSO에 녹여서 세포 배양액 중 시료의 최종 농도가 10, 50, 100 µg/ml이 되도록 하였다. 24시간 전 처리를 한 후에 PBS로 1회 세척한 후에 각 well에 PBS 1ml을 넣고 자외선 조사등 아래 Kodacel filter를 설치하여 UVC가 제거된 UVB light만 세포에 조사되도록 하여 조사 시간에 따라서 UVB doses를 조절하였다. 자외선 조사후에 바로 시료가 포함된 DMEM으로 세포배양 배지를 바꾸어주고 다시 20시간 더 배양한 후 각각의 세포 손상 지표들을 측정하였다.

MTT assay를 이용한 세포 손상 정도 측정 - MTT (3-(4,5-Dimethyl-2-thiazolyl)-2,5-diphenyl-2H-tetrazolium bromide)를 DMEM 배지에 0.5 mg/ml로 사용 직전에 만든다. 자외선 손상 유발하고 약물 처리를 20시간 한 세포 배양판에 세포 배양 배지를 제거하고 PBS로 1회 세척한다. MTT를 포함하고 있는 DMEM 배지로 교체하여 3시간 동안 다시 배양해준다. 그 후에 광학 현미경으로 세포를 관찰하고 이미지를 얻는다. MTT를 포함한 DMEM 배지를 제거하고 PBS로 1회 세척한 후에 DMSO로 보라색으로 침전

된 formazan을 녹여낸다. 이를 96 well 시험판으로 옮겨서 560 nm에서 흡광도를 측정하였다. 생존율 계산은 시료와 자외선 처리를 하지 않은 비조사군 대조군을 100% 기준으로 잡고 시료 처리하지 않은 자외선 조사군을 음성대조군으로 잡아 시료 처리한 자외선 조사군의 % 저해율을 구하였다.

LDH assay를 이용한 세포막 손상 정도 측정 - 자외선 손상 유발하고 시료를 20시간 처리한 후 세포 배양액을 수거하여서 250 g로 4분간 원심 분리하여 세포 파편을 떨어뜨린 후 세포 파편이 포함되지 않도록 상층액 100 µl 를 96 well 시험판에 옮긴다. 제조사에서 제시한 방법에 따라서 상층액 100 µl의 효소 반응을 수행한다. LDH assay mixture 용액을 LDH assay 용액과 cofactor 용액, dye 용액을 동량으로 혼합하여 사용 직전에 만든다. LDH assay mixture 용액을 상층액 100 µl와 혼합한 후에 빛을 차단하여서 실온에서 20분간 반응하게 한다. 반응 후에는 1N HCl 25 µl 를 넣어서 반응을 종결한다. 반응이 종결된 액을 새 96 well 시험판에 옮겨서 690 nm와 490 nm에서 흡광도를 측정한다. 흡광도 보정을 위해서 490 nm에서 측정된 흡광도에서 690 nm에서 측정된 흡광도를 빼준다. 세포막 보호율 계산은 시료와 자외선 처리를 하지 않은 비조사군 대조군을 100% 기준으로 잡고 시료 처리하지 않은 자외선 조사군을 음성대조군으로 잡아 시료 처리한 자외선 조사군의 % 보호율을 구하였다.

Comet assay를 이용한 DNA 손상 정도 측정 - 자외선 손상 유발하고 시료 처리를 하여 20시간 배양한 후 부드럽게 긁어서 세포를 모아서 찬 PBS로 1회 세척한 후에 1×10⁵ 세포/ml로 찬 PBS에 다시 부유시킨다. 제조사에서 제시한 방법에 따라서 녹인 LMagarose 200 µl에 세포가 포함된 찬 PBS 용액 20 µl 를 섞어서 즉시 75 µl 를 코멧 슬라이드로 옮긴다. 그 슬라이드를 4°C 암소에 30분간 보관하여 agarose가 굳게 한다. 그 후 그 슬라이드를 이미 차게 해둔 lysis solution에 담그고 얼음 위에 30분간 둔 다음 새로 만든 alkaline solution (NaOH 0.6 g/50 ml DIW)에 넣고 실온에 30분간 둔다. 슬라이드를 1×TBE로 2번 세척한 다음 전기영동을 한다. 70% ethanol 용액에 5분간 담근 후에 어두운 곳에서 공기 건조시킨다. 마른 agarose에 SYBR Green I 희석액 (SYBR : TE buffer = 1: 10) 50 µl를 떨어뜨려서 DNA를 염색시킨다. 형광현미경으로 494 nm/512 nm filter에서 관찰하고 사진을 찍는다. Collins 등¹⁶⁾이 사용한 방법을 변형하여 코멧 상태를 시각 점수화를 진행한다.

결 과

자외선에 의한 세포 사멸 억제 효과 - 본 실험에서는 UVB를 이용하여서 피부 세포를 손상하는 모델을 이용하여 황기 70% EtOH 추출물 처리 농도에 따른 세포 생존 정도를 MTT 시약을 처리해 측정하였다. MTT 시약은 세포 안

의 미토콘드리아 활성을 통해 보라색 침전으로 변하게 되는데 이는 살아있는 세포를 확인하기 적절하다. 측정 결과, 자외선을 조사하지 않은 실험군을 기준으로 자외선만 조사한 군은 세포 사멸율이 41.6% 이나 황기 70% EtOH 추출물을 50, 100, 200 µg/ml 로 각각 처리한 군의 세포 사멸율은 35.3%, 29.1%, 25.6%로 농도 의존적으로 감소함을 알 수 있었다.(Fig. 1)

자외선에 의한 세포막 손상 억제 효과 - 세포막은 세포의 외부와 내부를 구분하는 경계뿐만 아니라 많은 생화학적 작용이 일어나는 중요한 장소이다. 따라서 세포막이 손상되면 세포가 죽지 않았다고 해도 정상적인 세포 활성을 가지기 어렵다. 본 실험에는 LDH assay를 이용해서 세포막 손상 정도를 확인하였다. 자외선 자극 및 황기 70%

EtOH 추출물을 처리한 후에 세포 안에서 세포 밖 배양액으로 흘러나온 LDH만을 얻기 위해서 세포를 추가로 더 손상 시키지 않고 세포 배양액을 취하고 원심분리를 해서 흡수 들어있을지도 모를 세포와 그 파편까지 제거한 후에 LDH 효소반응을 수행하였다. 따라서 본 실험에서 측정된 LDH의 활성은 UVB 자극에 의한 세포막 손상 정도를 의미하게 된다. 측정 결과, 자외선을 조사하지 않은 실험군을 기준으로 자외선만 조사한 군은 세포막 손상 비율이 73.4% 이나 황기 70% EtOH 추출물을 25, 50, 100, 200 µg/ml으로 각각 처리한 군은 36.8%, 35.5%, 21.8%,7.6%로 농도 의존적으로 감소함을 알 수 있었다.(Fig. 2)

자외선에 의한 DNA 손상 억제 효과 - 가장 위험한 자외선에 의한 손상은 유전 정보를 담고 있는 DNA의 변성이다. 자외선에 의해서 피부암이 유발되고 피부 노화를 근본적으로 유발하는 원인이기도 하다. 황기 70% EtOH 추출물 처리 농도에 따른 DNA 손상 보호 효과는 시각적으로 바로 확인 가능한 comet assay를 통해서 확인하였다. Comet assay의 분석은 이미지 분석 프로그램을 이용하여 DNA tails의 길이와 강도 등을 분석하기도 하나 DNA tails의 끝됨 정도를 5단계로 나누어서 시각 점수화를 하기도 하며 tailed DNA와 non-tailed DNA의 비율로 분석하기도 한다. 본 실험에서는 5 단계 시각 점수화와 함께 tailed DNA와 non-tailed DNA의 비율로 분석하였다. 자외선을 조사하지 않은 실험군의 tailed DNA 비율이 6.0% 이고 시각 수치화에선 tail 없이 온전한 0 단계가 가장 많으나 자외선만 조사한 군은 69.6% 이고 시각 수치화에선 tail이 뚜렷이 나타나는 3 단

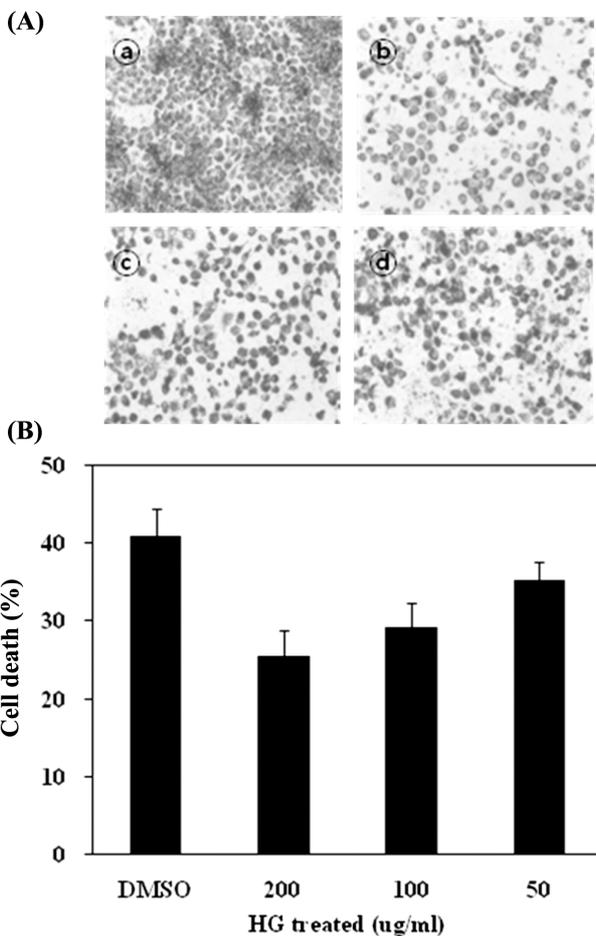


Fig. 1. Cell viability effect of HG (*Astragalus membranaceus*) 70% EtOH extract on UVB-induced cell damage in HaCaT cell system. (A) HaCaT cells were exposed to UVB 60 mJ/cm² (b) and stained with MTT to show survival cells compared to non-irradiated group (a), HaCaT cell with 200 µg/ml of HG for 24 hr before exposure to UVB (c), and with 100 µg/ml of HG (d). Photographs were taken with phase-contrast microscope at 40×magnification. (B) The cell death ratios were detected by MTT assay. (**p<0.01, *p<0.05)

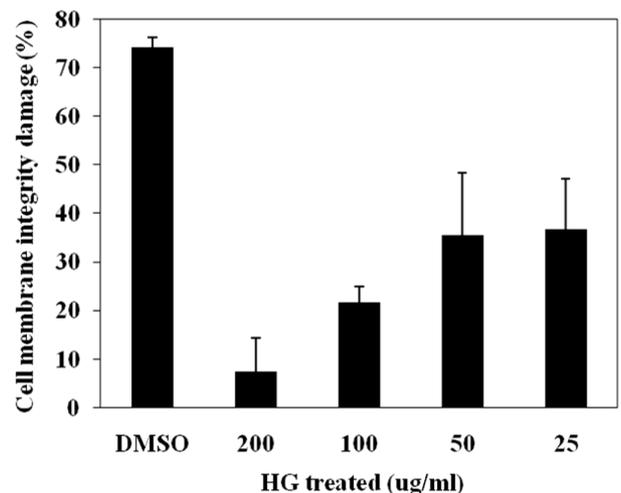


Fig. 2. Cell membrane integrity effect of HG (*Astragalus membranaceus*) 70% EtOH extract on UVB -induced cell damage in HaCaT cell system. HaCaT cells were exposed to UVB 30mJ/cm² and were detected by LDH assay to show intact cell membrane integrity compared to non-irradiated group (**p<0.01, *p<0.05)

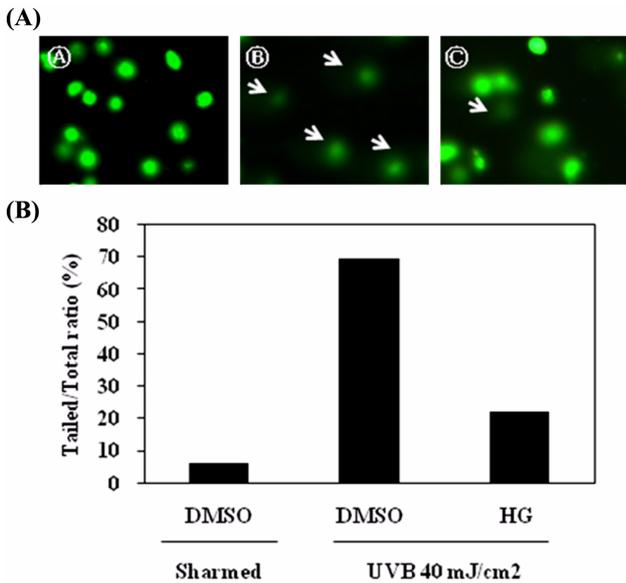


Fig. 3. DNA protection effect of HG (*Astragalus membranaceus*) 70% EtOH extract on UVB-induced cell damage in HaCaT cell system. (A) HaCaT cells were exposed to UVB 40mJ/cm² (B) and were detected by Comet assay to show DNA damaged degrees compared to non-irradiated group (A). HaCaT cells with 100 µg/ml of HG for 24 hr before exposure to UVB (C). Arrows indicate DNA tails. Photographs were taken with fluorescent microscope at 40×magnification. (B) The DNA tails ratios per total nucleus detected were calculated with visual scoring.

계가 가장 많았다. 황기 70% EtOH 추출물 100 µg/ml 처리한 군은 22.1% 으로 비조사군보다는 손상된 DNA가 많으나 단독 조사군 보다는 손상이 많이 감소되어 있었다.(Fig. 3)

고 찰

태양 빛은 식물체의 광합성을 가능하게 하여 지구 생명체들의 생명 유지를 위해서 반드시 필요하다. 그러나 자외선은 에너지가 강해서 생명에 손상을 주게 된다. UVB에 노출이 되면 피부에 홍반이 발생하고 일광 화상을 일으키게 된다. UVA와 더불어서 피부 광노화를 일으키는 주범이기도 하다. 최근 장업계에서는 한방 화장품 시장 확대와 함께 한약재의 다양한 피부 생리 활성을 연구하고 이를 소재화하고자 한다. 이런 관점에서 자외선에 의한 피부 손상을 억제할 수 있는지를 확인하여 제품 개발에 활용하고자 하였다.

황기는 민간에서 한약뿐만 아니라 음식 재료로 널리 쓰이는 친숙한 약재이다. 기존의 황기 추출물 연구^{1,2,9,13,14})에서 항 산화 활성은 시험관내에서 활성산소종을 제거하는 물질 자체 특성에 맞춰져 있으며 일부의 연구에서 동물 실험을 통해서 지질과산화가 억제됨³)을 보고하고 있다. 또한 이 연구들의 결과를 종합할 때 그 추출 용매와 방식에 따라서 다

르기는 하지만 자체 항산화력이 강력하지는 않다. 본 연구에서는 황기 추출물을 직접 피부 배양 세포에 처리하여서 그 생물학적 반응을 보았다는 점에서 기존 연구와 다르다.

본 연구 결과 황기 추출물은 각질 형성 세포주 HaCaT에 자외선을 조사하여 유발되는 세포 사멸과 세포막 손상, DNA 손상을 줄이는 것으로 확인되었다. 피부는 과도한 자외선에 노출되면 활성 산소종(Reactive oxygen species)가 과도하게 생겨나 세포가 산화적 손상을 입게 된다. 자외선은 직접적으로 DNA를 손상시켜 pyrimidine dimers를 만들고 이중나사가 끊어지게 한다. 이는 이차 신호전달과정을 통해서 제 1형 콜라겐의 합성을 저해하고 세포외기질을 분해하는 콜라게나아제를 유발하여 주름 생성을 촉진하게 된다. 또한 DNA 손상은 홍반과 면역 저하, 색소 침착을 유발하며 피부암의 원인이 되기도 한다. 따라서 자외선에 의한 세포 손상 및 DNA 손상을 줄여주면 피부를 보호할 수 있다. 본 실험에서 황기 추출물은 세포 사멸 억제 효과를 보여주며 세포막 손상과 DNA 손상을 억제하여 자외선에 의한 피부 손상의 근본적인 원인을 억제할 수 있음을 보여주었다. 본 결과는 염증 유발 인자인 COX-2 효소 활성을 억제²)하고 면역 상태를 조절하는 IL-2, IL-4, IFN-γ 생성에 영향을 주며^{17,18}) 외과적 상처에 대한 치료 효과¹⁹) 보고 등을 참고로 할 때 자외선 손상에서 유발되는 홍반을 억제하고 저하된 면역을 강화하고 손상을 빨리 회복하여 피부를 효과적으로 보호할 수 있을 것으로 기대된다.

본 실험에서 사용된 황기 추출물은 70% EtOH 추출물로 황기의 주요 성분인 triterpenoids, isoflavonoids, polysaccharides을 대부분 포함하고 있으므로 손상 억제 활성을 가진 주성분을 찾기 위한 분획 실험을 진행하고 있다.

황기는 허함을 보충해 줄 수 있는데 감미(甘味)는 보익(補益)의 작용이 있어서 승발작용(升發作用)의 부진으로 인한 음화(陰火)의 발생을 막으며 비와 폐로 귀경(歸經)하며 인체의 화(火)를 주관하는 장기에서 그 효과를 나타낸다고 한다. 황기와 같은 보기약(補氣藥)은 자음강화법(滋陰降火法)에서 음상부족(陰常不足)을 채우기 위해서 사용된다²⁰). 본 연구 결과를 한의학적으로 재 해석해 보면 자외선에 의해서 피부가 손상되는 것을 육음(六淫)중 화사(火邪)에 의한 병리적인 상황으로 볼 수 있다. 자외선에 의한 활성 산소종을 직접적으로 제거하는 항 산화 활성을 실화(實火)를 내리는 것이라면 황기 추출물은 자외선에 의한 세포 손상을 막아 음화(陰火) 상태를 보충하게 되는 것이다. 한약재중 실화(實火)를 내리는 청열재(淸熱材)인 황련(黃蓮) 추출물의 항 산화 활성이 우수하다²¹)는 것은 널리 알려져 있다.

본 연구 결과들을 보아, 황기 추출물은 광 노화를 방지하거나 자외선 손상을 방어하는데 효과적으로 작용할 수 있으며 피부에서 화사(火邪)을 방어하는 한방 소재로 활용될 수 있을 것으로 생각된다.

인용문헌

1. 김은정, 양기숙 (2001) 황기의 저밀도지질단백질(LDL)산화에 미치는 영향. 약학회지 **45**: 529-535
2. 김은정, 오오진, 이상국, 양기숙 (2001) 황기의 COX-2 활성 억제 효과. 생약학회지 **32**: 311-315
3. 김은정, 양기숙 (2005) 황기의 지질과산화 억제 작용. 약학회지 **49**: 11-19
4. Makrantonaki, E. and Zouboulis, C. (2007) Molecular mechanisms of skin aging. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* **1119**: 40-50
5. Meunier, J. and Marrot, L. (2008) Skin DNA photodamage and its biological consequences. *J. Am. Acad. Dermatol.* **58**: S139-S148
6. Dean, R., Fu, S., Stocker, R., and Davies, M. (1997) Biochemistry and pathology of radical-mediated protein oxidation. *Biochem. J.* **324**: 1-18
7. 남현석, 강미영 (2000) 한약재 열수추출물의 항산화효과 검증. 한국농화학회지 **43**: 141-147
8. 박선동, 박현준, 주왕석 (2001) 귀비탕 및 그 구성약물군이 항산화효과에 미치는 영향. 대한본초학회지 **16**: 11-27
9. 강경아, 채성욱, 강대길, 김진숙, 현진원 (2005) 산화적 스트레스에 대한 생약 추출물의 항산화활성 검색. 생약학회지 **36**: 159-163
10. 강순아, 오명숙, 김도림, 강지웅, 김원남, 박은화, 장문석, 박성규 (2006) 당귀와 황기의 배합 변화가 DPPH 자유기 소거에 미치는 영향 연구. 대한본초학회지 **21**: 17-24
11. Lee, H., Yoon, M., Kim, J., Kim, Y., Park, H. and Park, E. (2008) Antioxidant activity of *Glycyrrhiza uralensis* Fish Extracts on Hydrogen Peroxide-induced DNA damage in human leucocytes and cell death in PC12 Cells. *Food Sci. Biotechnol.* **17**: 343-348
12. 박찬성, 김동한, 김미림 (2008) 산수유, 황기, 감초 추출물의 생리 활성. 대한본초학회지 **23**: 93-101
13. 정택규, 김미진, 임경란, 윤경섭 (2006) 황기 추출물의 보습 및 항산화 효과. 대한화장품학회지 **32**: 193-200
14. 김미진, 임경란, 정택규, 윤경섭 (2007) 황기 추출물의 항노화 효과. 대한화장품학회지 **33**: 33-40
15. Boukamp, P., Petrussevska, R. T., Breitkreutz, D., Hornung, J., Markham, A. and Fusenig, N. E. (1988) Normal Keratinization in a Spontaneously Immortalized Aneuploid Human Keratinocyte Cell Line *J Cell Biol.* **106** 761-771
16. Collins, A. R., Dobson, V. L., Dusinska, M. Kennedy, G and Stetina, R. (1997) The comet assay: what can it really tell us? *Mutat. Res.* **375** 183-193
17. 신상우, 이영선, 박종현, 권택규, 서성일, 권영규 (2004) 대표적 보기약인 인삼, 당삼, 황기, 백출, 산약, 물추출액의 면역조절효과 비교. 동의생리병리학회지 **18**: 1140-1146
18. 배향, 명유진, 강희, 심범상, 김성훈, 최승훈, 안규석 (2005) 보기약물인 인삼, 황기, 백출, 감초의 물추출액이 생쥐 면역세포의 Cytokine분비에 미치는 영향. 동의생리병리학회지 **19**: 69-74
19. 한동오, 김건호, 최용복, 심인섭, 이혜정, 이용근, 김장현, 장규태, 함대현 (2005) 흰쥐의 외과적 창상에 대한 황기 추출액의 치료 효과. 동의생리병리학회지 **19**: 92-97
20. 임승민, 설인찬 (2001) 동의보감 화문의 처방에 대한 분석. 대전대학교 한의학연구회 논문집 **10**: 201-220
21. 안봉전, 이진태, 이창연, 김준홍, 손준호, 박진훈, 이진영, 박태순, 배호정, 장민정, 조철훈 (2005) 황련의 생리활성검증 및 화장품 소재로서의 이용 가능성. 대한본초학회지 **20**: 83-92

(2008년 11월 9일 접수)