

精養丹의 항염증, 상처 치유효능에 대한 연구

조가영* 노호식 김은주 문은정 김지성 박혜운 김덕희 김한곤
(주)아모레퍼시픽 기술연구원 피부과학연구소*

Wound Healing-Enhancing and Anti-inflammatory effects of five Korean Traditional Herbal Medicines, *JeongYang-dan*

Ga-Young Cho*, Ho-Sik Rho, Eun-Joo Kim, Eun-Jeong Moon, Ji-Seong Kim, Hye-Yoon Park,
Duck-Hee Kim, Han-Gon Kim
Skin Research Institute, AMOREPACIFIC CORPORATION/R&D CENTER*

Objectives : The aim of the present study is to evaluate the wound healing-enhancing and anti-inflammatory effects of *Pinus densiflora*, *Cornus officinalis*, *Zingiber officinale*, *Ganoderma japonicum* and *Scutellaria baicalensis* on human keratinocyte, HaCaT cells.

Methods : We adopted in vitro wound healing assay to measure the proliferation-and migration-enhancing effects in HaCaT cells. The expressions of cytokine genes were measured in HaCaT cells using real-time PCR analysis.

Results : The extracts of *Pinus densiflora*, *Cornus officinalis*, *Zingiber officinale*, *Ganoderma japonicum* and *Scutellaria baicalensis* enhanced the proliferation and migration of HaCaT cells. The expression of keratinocyte growth factor receptor(FGFR2-IIIb) gene was also induced. The extracts inhibited iNOS, IL-1 β and TNF- α gene expression.

Conclusions : The extract of *Pinus densiflora*, *Cornus officinalis*, *Zingiber officinale*, *Ganoderma japonicum* and *Scutellaria baicalensis* has wound healing-enhancing effects and anti-inflammatory effects.

key words : *Pinus densiflora*, *Cornus officinalis*, *Zingiber officinale*, *Ganoderma japonicum*, *Scutellaria baicalensis*, HaCaT keratinocytes, wound healing, anti-inflammation

I. 서 론

피부는 외부로부터 신체를 보호하는 방어막으로서 역할을 한다. 피부에 상처가 생기면 손상된 조직의 구조와 기능적 항상성을 회복하기 위해 여러 세포 내·외의 신호전달 경로가 활성화된다. 면역 시스템의 세포 활성화 경로, 혈액 응고 경로, 염증 반응 경로가 그 대표적인 경로인데, 호

중구, 모노사이트, 림프구, 수지상 세포를 포함하는 면역 세포군과, 내피 세포, 각질형성세포, 섬유아세포 등의 세포에서 유전자 발현 상의 변화와 형태적인 변화가 일어나면서 세포의 분열과 분화, 이동이 진행된다¹⁾.

상처치유 과정은 크게 염증기와 재상피화기, 증식기 및 성숙기의 4단계로 구분된다. 염증기 동안에는 상처 자리에 면역 세포들이 출현하는

* 교신저자 : 조가영. 경기도 용인시 기흥구 보라동 314-1 아모레퍼시픽기술연구원. E-mail : naturally@amorepacific.com
Tel : 031-280-5806

데, 이 세포들은 혈관으로부터 상처 부위로 이동한 것이다. 이어 과립조직 형성을 유도하는 성장 인자와 신호전달 물질들이 분비된다. 중대한 감염이 없는 상태에서는 염증기가 일반적으로 짧게 진행된다²⁾.

증식기는 재상피화기와 비슷한 시기에 진행되는데, 상처 부위에서 과립 조직들이 형성되는 특성을 나타낸다³⁾. 과립조직은 섬유아세포(fibroblasts), 염증성 세포(inflammatory cells)와 함께 미성숙 콜라겐(immaturity collagen), 피브로넥틴(fibronectin) 및 히알루론산(hyaluronic acid) 등의 세포외기질 구성요소들의 조합으로 이루어져 있으며, 이 과립조직들이 상처부분을 빠르게 채우고 조직적인 구조를 갖추는 것이 상처치료에 중요하다. 벗겨진 상처 표면이 각질형성세포(keratinocytes) 층에 의해 덮이면서 새로운 표피가 생성되고 상피층이 재건되게 된다. 세포들은 상처 가장자리 또는 남겨진 피부의 진피잔여물에서 상처를 통하여 떠올라 딱지 아래와 살아있는 결합 조직 위를 통하여 이주를 시작한다.

상처의 재상피화가 완료되면 결합조직의 증가와 재편성을 통해 상처 면적이 감소되는 일련의 과정들이 진행되게 된다. 그 후, 성숙기 동안에는 회복기 조직의 영진 세포들과 모세혈관들이 조금씩 사라지게 되는데 이런 조직들이 과형성되거나 정상적으로 분해되지 않을 경우 흉터가 생기게 된다. 이것이 일반적인 상처치료 과정이다. 상처 치료과정에서는 상처를 빠르게 치료하는 것뿐만 아니라 부작용이나 흉터 없이 치료하는 것이 중요하기 때문에 염증의 억제와 성장인자들의 발현 조절을 통해 조직세포들이 균형 있게 채워져 나가는 것이 더욱 중요하며, 이러한 효능을 가지는 물질을 찾고자 하는 노력이 계속

진행되고 있다.

염증의 감소는 염증성 세포의 밀도 감소, 호중구 활성의 감소 측정, 비만 세포 탈과립화의 빈도 또는 히스타민 수준의 측정 또는 반응성 산소종의 수준 측정을 통해 확인할 수 있다. 최근 각질형성세포에서도 염증 매개 인자가 생성되고 이들에 의해 세포의 분열과 이동이 매개된다고 보고되었다. 따라서 PCR을 이용하여 특정 유전자, 예컨대 인터페론-α, -β 및 -γ, 종양 피사 인자-α, 인터류킨 1β, -2, -4, -5, -6, -8, -12, -18, -23, -27, CD4, CD28, CD80, CD86, MHCII, 및 iNOS와 같은 유전자의 전사 수준을 체크함으로써 간접적으로 염증의 정도를 측정할 수 있다. 각질형성세포에서의 전염증성 사이토카인(proinflammatory cytokines) 수준의 측정은 염증 감소의 척도일 수 있다.

이에 본 실험에서는 송절, 산수유, 건강, 영지 또는 황금의 생약 추출물, 혹은 산수유, 건강, 영지 및 황금 각각을 포제법으로 가공한 후 추출한 주증 산수유 추출물, 청초 건강 추출물, 주증 영지 추출물, 주자 황금 추출물이 염증관련 인자들을 억제시키고 피부각질형성세포의 분열과 이동을 촉진시킴으로써 염증기에서 증식기로의 진행을 빠르게 도와주어 상처치료 효능을 가짐을 확인하였다.

II. 재료 및 방법

1. 재료

인간의 각질형성 세포 HaCaT는 독일 Deutsches Krebsforschungszentrum의 Fusenig 박사로부터 기증 받아 사용하였다.

1) 약재

본 실험에서 사용된 송절, 산수유, 건강, 영지 및

황금 등의 약재는 서울특별시 동대문구 제기동 경동약령시장을 통하여 구입하였으며, 외부 형태를 비교 조사하여 확인한 후 사용 하였다.

2) 시료의 조제

실험에 사용된 한약재 추출물은 다음과 같은 방법에 의해 제조되었다.

(1) 한약재 생품(生品)

건조한 송절, 산수유, 건강, 영지 및 황금 각각 1kg에 80% 에탄올 수용액 5ℓ를 넣고, 3회 환류 추출한 다음, 15℃에서 1일간 침적시켰다. 그 후, 여과포 여과와 원심분리를 통해 잔사와 여액을 분리하고, 분리된 여액을 감압 농축하여 각각의 한약재에 대한 생약 추출물을 얻었다.

(2) 산수유 주증(酒蒸) 추출물

건조한 산수유 1kg을 일정량의 황주에 축축해 지도록 담가 두고 이것을 찜기에 담아 30분~2시간 동안 찐 다음 그늘에 말렸다. 이것에 80% 에탄올 수용액 5ℓ를 넣고, 3회 환류 추출한 다음, 15℃에서 1일간 침적시켰다. 그 후, 여과포 여과와 원심분리를 통해 잔사와 여액을 분리하고, 분리된 여액을 감압 농축하여 산수유 주증 추출물을 얻었다.

(3) 건강 청초(清炒) 추출물

깨끗한 건강 1kg을 초제 용기에 넣어 100~160℃에서 10분~1시간 동안 볶았다. 이것에 80% 에탄올 수용액 5ℓ를 넣고, 3회 환류 추출한 다음, 15℃에서 1일간 침적시켰다. 그 후, 여과포 여과와 원심분리를 통해 잔사와 여액을 분리하고, 분리된 여액을 감압 농축하여 건강 청초(清炒) 추출물을 얻었다.

(4) 영지 주증(酒蒸) 추출물

건조한 영지 1kg을 일정량의 황주에 축축해 지도록 담가 두고 이것을 찜기에 담아 30분~2시간 동안 찐 다음 그늘에 말렸다. 이것에 80% 에탄

올 수용액 5ℓ를 넣고, 3회 환류 추출한 다음, 15℃에서 1일간 침적시켰다. 그 후, 여과포 여과와 원심분리를 통해 잔사와 여액을 분리하고, 분리된 여액을 감압 농축하여 영지 주증 추출물을 얻었다.

(5) 황금 주자(酒炙) 추출물

깨끗한 황금 1kg에 일정량의 황주(10~30%)를 골고루 뿌려 술이 모두 흡수될 정도로 축축해지도록 담가 두고 이것을 초제 용기에 넣어 100~160℃에서 10분~1시간 동안 볶은 후 그늘에 말렸다. 이것에 80% 에탄올 수용액 5ℓ를 넣고, 3회 환류 추출한 다음, 15℃에서 1일간 침적시켰다. 그 후, 여과포 여과와 원심분리를 통해 잔사와 여액을 분리하고, 분리된 여액을 감압 농축하여 황금 주자 추출물을 얻었다.

2. 실험방법

1) 육안적 형태를 통한 한약재 추출물의 상처 치료 활성

HaCaT는 10% (v/v) FBS, 페니실린 100U/ml 및 스트렙토마이신 100 μ g/ml의 항생제를 포함하는 DMEM 배지를 사용하여 실험실에서 37℃, 5% CO₂공급조건을 갖춘 동물세포배양기에서 배양하였다. 공(Well) 당 1.5×10^6 농도로 준비된 HaCaT 세포를 24 시간 배양하여 세포 단일층을 형성시킨 후, p200 피펫 텁으로 “긁힘-손상”을 유도하였다. “긁힘 손상”된 것을 다시 한약재 또는 포제 가공한 한약재 추출물을 포함한 배양 배지에서 24시간 혹은 48시간 동안 배양 했다. 대조군은 생약 한약재 추출물을 녹인 DMSO를 동일량 처리하였다.

또한, 포제법으로 가공한 한약재 추출물의 상처 치유 효과 변화를 확인하기 위하여 한약재의 생약 추출물과 포제 가공한 한약재의 추출물을

처리, 비교하였다. 산수유, 건강, 영지, 황금의 생약 추출물과 주증 산수유, 청초 건강, 주증 영지, 주자 황금의 추출물을 10ppm 농도로 48시간 처리한 후 굵힘 상처가 회복된 정도를 확인하였다. 대조군은 생약 한약재 추출물을 녹인 DMSO를 동일량 처리하였다.

또한, 한약재 복합 처방에 의한 변화를 확인하기 위해 송절 생품 추출물과 각 한약재의 포제 추출물을 1:1:1:1:1로 혼합한 혼합물을 준비하였다. 복합처방 1ppm 및 10ppm, 각 포제 한약재 추출물을 10ppm 농도로 24시간 처리한 후 굵힘 상처가 회복된 정도를 확인하였다.

2) RT-PCR 분석을 통한 한약재의 생약 추출물과 포제 추출물의 항염증 효능 및 각질 성장인자 수용체 유도 효과 확인

HaCaT는 10% (v/v) FBS, 페니실린 100U/ml 및 스트렙토마이신 100 μ g/ml의 항생제를 포함하는 DMEM 배지를 사용하여 실험실에서 37°C, 5% CO₂ 공급조건을 갖춘 동물세포배양기에서 배양하였다. 공(Well) 당 1.5 \times 10⁶ 농도로 준비된 HaCaT 세포에 FBS가 포함되지 않은 배지로 3시간 동안 적응시켰다. 이후 각 한약재 추출물을 10ppm 농도로 2시간 동안 전처리하고 1 μ g/ml의 농도로 LPS를 첨가하여 8시간 동안 추가 배양하였다. Total RNA는 TRIzolTM(GIBCO BRL, MD, USA)을 사용하여 추출하였고 -80°C에서 보관하였다.

<Table 1> Primer sequence required for PCR

Gene Name	Primer sequence	Size (bp)	Denaturation Temp. (°C)	Annealing Temp. (°C)	Extension Temp. (°C)
GAPDH	5' -ATC CCA TCA CCA TCT TCC AG-3'	579	94	58	72
	5' -CCT GCT TCA CCA CCT TCT TG -3'				
iNOS	5' -ATG TCC GAA GCA AAC ATC AC -3'	401	94	58	72
	5' -TAA TGT CCA GGA AGT AGG TG -3'				
IL1-β	5' -TGC AGA GTTCCC CAA CTG GTA CAT C -3'	387	94	58	72

총 RNA 1 μ g을 50mM 트리스-HCl(Tris-HCl, pH 8.3), 75mM KCl, 3mM MgCl₂, 0.1MDTT, 10mM dNTP, 40유닛/ μ l RNase 저해제가 함유된 역전사 반응 완충액 25 μ l에 넣고, 0.5 μ g/ μ l 올리고(dT)₁₆의 프라이머와 200유닛 SuperScript II (GibcoBRL)의 역전사 중합효소를 첨가하여 42°C에서 1시간 반응시켰다. 이후 역전사 반응 용액 2.5 μ l를 AmpliTaq DNA 중합효소(0.04U, Perkin Elmer, Shelton, CT), 50mM 트리스(pH 8.3), 0.25mg/ml 우혈청 알부민, 3mM MgCl₂, 0.25mM dNTPs, SYBR 그린 I의 1/50,000 희석액 (Molecular Probes, Eugene, OR)이 함유된 PCR 반응 완충액 50l에 섞고, 10 μ M의 프라이머를 첨가하여 94°C에서 30초, 53°C에서 30초, 72°C에서 1분인 사이클을 30사이클을 수행하였다.

상대적인 mRNA 레벨은 아이사이트러 (iCycler) 소프트웨어를 이용하여 SYBR 그린 I 형광 변화를 측정함으로써 분석하였다. 각각의 프라이머는 상처치료 효능 및 염증억제 기능을 가진 물질을 분석하여 발행된 SCI급 논문들을 토대로 제작하였으며 각각의 염기서열은 하기 Table 1과 같다. 내부 표준물질로 GAPDH (glyceraldehyde3-phosphate dehydrogenase)를 사용하여 유전자의 정량적 발현 수준을 보정하였다.

	5' -GTG CTG CCT AAT GTC CCC TTG AAT C -3'			
TNF-a	5' -CCT GTA GCC CAC GTC GTA GC -3'	374	94	58
	5' -TTG ACC TCA GCG CTG AGT TG -3'			
FGFR2 -IIIb	5' -ACT CGG GGA TAA ATA GTT CCA A-3'	357	94	60
	5' -CCT TAC ATA TAT ATT CCC CAG CAT-3'			

LPS로 유도된 시험관 내 세포주 모델(*in vitro* cell line model)에서, 상처치료 과정 중 염증기에서 중요한 작용을 하는 염증관련 인자로서 많은 실험 논문들에서도 염증억제의 효능을 확인하는데 자주 사용되고 있는 iNOS, IL-1 β 및 TNF-a의 mRNA 양을 측정하였다.

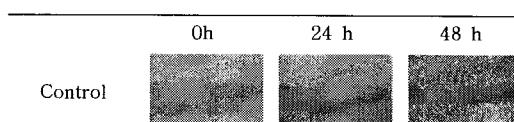
iNOS, IL-1 β 및 TNF-a는 지질다당류(lipopolysaccharide, LPS)로 유도된 염증반응에서 다양하게 발현되는 유전자이며, 본 실험에서는 염증 매개인자(proinflammatory mediator) NO와 관련된 인자인 iNOS와 또 다른 염증관련 인자인 IL-1 β 와 TNF-a 유전자의 발현에 미치는 한약재 추출물의 효과를 알아보기 위하여 RT-PCR 분석을 실시하였고, 각 PCR 산물은 GAPDH에 대하여 정량화하였다. 일원배치 분산분석(one-way ANOVA)에 이은 Tukey HSD 사후 검증(post hoc test)에 의한 유의수준은 **P<0.01, *P<0.05 대비 LPS + 군으로 나타내었다.

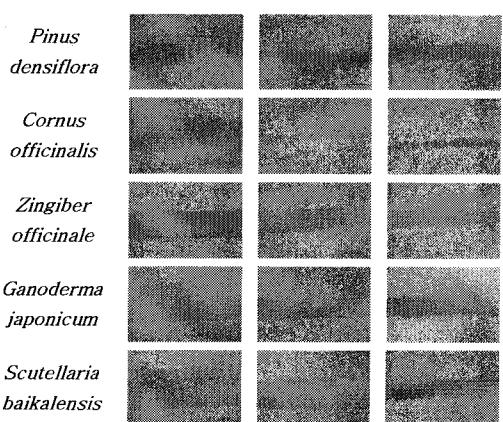
한편, 각질형성세포 성장인자 수용체(FGFR2-IIIb) 유전자의 발현은 세포 증식 효과와 상관 관계를 가진다고 보고되었다¹³⁾. 상기와 같은 방법으로 각질형성세포 성장인자 수용체 (FGFR2-IIIb) 유전자의 발현량을 측정하여 한약재 추출물이 각질형성세포 성장인자 수용체 (FGFR2-IIIb) 유전자의 발현 유도에 미치는 효과를 확인하였다.

III. 결 과

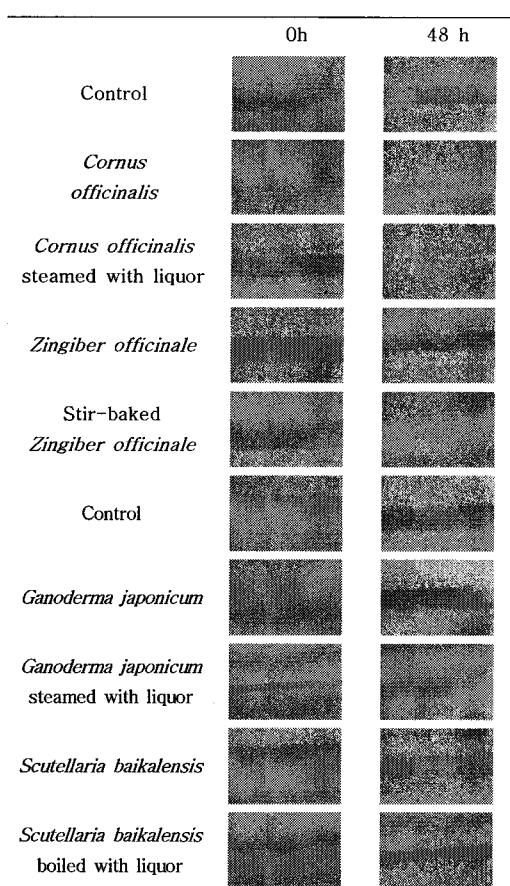
1. 육안적 형태를 통한 한약재 추출물의 상처 치료 활성

시험관 내 상처 치유 측정법(*in vitro* wound healing assay)을 이용하여 “긁힘-손상” 세포층에 송질, 산수유, 건강, 영지 및 황금 생약 추출물을 10ppm 농도로 24시간, 48시간 처리한 후 긁힘 상처가 회복되는 정도를 확인하였다. 대조군의 경우에는 시간의 경과에 따른 긁힌 면적이 거의 감소되지 않았으나, 한약재 생약 추출물을 처리한 세포의 “긁힘 손상”은 24시간, 48시간 후 회복되어 긁힌 면적이 감소되었다. (Figure 1) 각 한약재의 생약 추출물과 포제 가공한 한약재의 추출물을 처리, 비교한 결과, 포제 가공한 한약재의 추출물을 처리한 세포의 긁힌 면적이 훨씬 더 많이 감소하여, 한약재의 포제 추출물을 처리할 경우가 한약재의 생약 추출물을 처리한 경우보다 “긁힘 손상”的 회복 속도가 훨씬 우수함을 확인하였다. (Figure 2) 또한, 복합 처방한 한약재 추출물을 사용한 경우 1종의 추출물을 사용한 경우보다 “긁힌 손상”的 회복 속도가 훨씬 우수하여 복합처방에 따른 상승효과가 있으며, 추출물을 소량 사용하여도 우수한 효과를 얻을 수 있음을 확인하였다. (Figure 3)

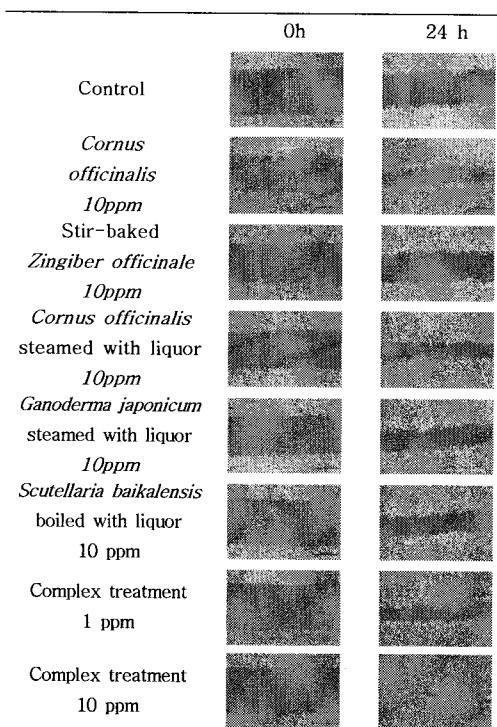




[Figure 1] The wound healing-enhancing effects of *Pinus densiflora*, *Cornus officinalis*, *Zingiber officinale*, *Ganoderma japonicum* and *Scutellaria baicalensis* extracts



[Figure 2] The wound healing-enhancing effects of processed herbal medicine extracts



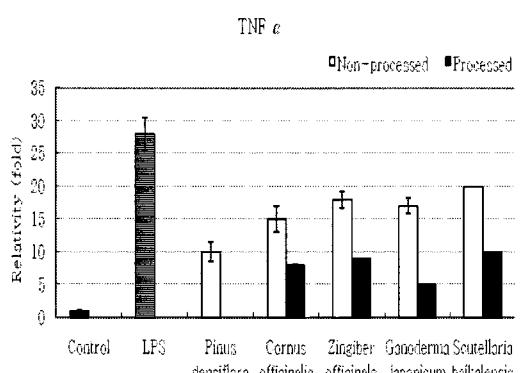
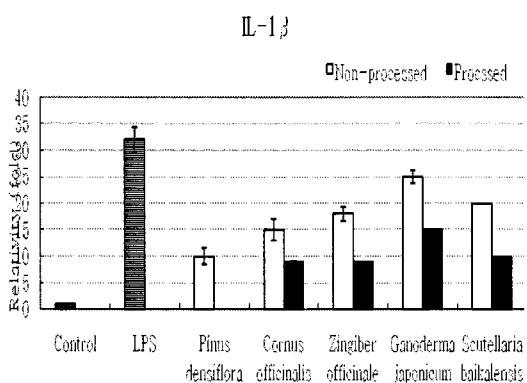
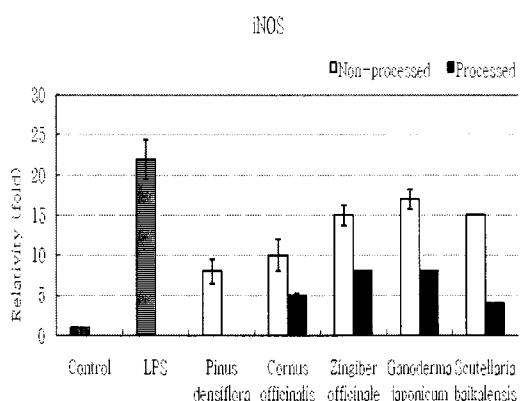
[Figure 3] The wound healing-enhancing effects of processed herbal medicine extract complex

2. RT-PCR 분석을 통한 한약제의 생약 추출물과 포제 추출물의 항염증 효능 및 각질 성장인자 수용체 유도 효과 확인

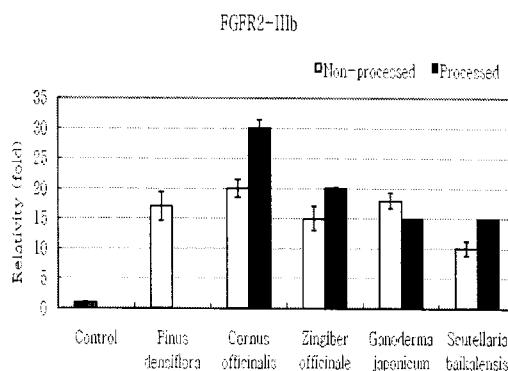
LPS로 유도된 시험관 내 염증 모델(*in vitro* inflammation model)에서, 염증관련 인자인 iNOS, IL-1 β 및 TNF- α 의 mRNA 양을 측정한 결과, LPS를 처리하지 않은 세포에 비해 LPS 처리 세포들은 각각의 유전자가 과다 발현되었으며, 한약제 추출물의 처리는 iNOS와 IL-1 β , TNF- α 유전자 발현을 강하게 억제하였다. 또한 포제 가공한 한약제 추출물은 한약제 생 phẩm 추출물보다 더 뛰어난 효능을 나타냈다(Figure 4).

또한, 한약제 추출물이 각질형성세포 성장인자 수용체 (FGFR2-IIIb) 유전자의 발현 유도에 미치는 효과를 관찰한 결과, 한약제 추출물을 처리하지 않은 대조군과 비교하여 한약제 추출물을 처리한 경우 각질형성세포 성장인자 수용체

(FGFR2-IIIb) 유전자의 발현량이 훨씬 많음이 확인되었다(Figure 5).



[Figure 4] iNOS, IL-1 β and TNF- α mRNA expressions on LPS-induced inflammation model



[Figure 5] Keratinocyte growth factor receptor (FGFR2-IIIb) gene expression of processed and non-processed extracts

IV. 고찰

실험에 이용된 한약재 중 송절은 예로부터 관절염에 효과가 있음이 알려져 있으며, 황금은 항산화, 항균, 항암 효과가 있음이 확인되었다. 영지는 항노화7), 항산화8), 항염, 항암9) 효과가 있으며, 산수유는 미백 효과가 있음이 밝혀졌다.10) 건강은 항염11), UV에 의한 주름방지 효과12), 상처 치유 효과를 가지는 것으로 보고되었다.

이러한 송절, 황금, 영지, 산수유, 건강으로 구성된 精養丹 치방은 五臟六腑 각각에 歸經하는 한약재들로 피부의 외적인 방어력을 높여 염증 억제와 피부세포의 상처치유 효과를 증진할 목적으로 창방되었으며 본초학적인 활용 배경은 다음과 같다.

송절은(Pinus densiflora) 옹이 및 가지 부분으로 경우, 소나무 가지가 성장하는 부분 또는 소나무 가지가 절단된 부분을 포함한다. 소나무 가지가 성장하는 부분은 송진이 모여 있는 곳이며 절단한 가지의 경우 송진이 모여 그 부분이 담황색으로 변해 있다. 송절은 예로부터 祜風濕,

止痺痛藥으로 사용되었으며 술을 빚어 마시면 다리가 연약한 것을 치료할 수 있다고 동의보감에 언급되어 있다. 肝, 脾에 귀경하며 祛風, 舒筋, 燥濕, 止痛, 通絡의 효능을 가지고 있다.

영지(*Ganoderma japonicum*, *G.lucidum*)는 항노화7), 항산화8), 항염, 항암 효능9)을 가진다고 보고되었다. 귀경은 肝, 心, 脾, 肺, 腎에 귀경하나 특히 養心安神, 補氣益血하는 효능을 가지고 있다.

건강은 생강과인 *Zingiber officinale*의 뿌리를 기를 가리키며 脾, 心, 胃, 肺에 귀경하고 溫中蓄寒, 溫經止血, 溫肺化痰하는 효능을 가지고 있으며 항염 효과11), UV에 의한 주름방지 효과12), 상처 치유 효과를 가지는 것으로 보고되었다.

황금(*Scutellaria baicalensis*)은 膽, 大腸, 脾, 小腸, 心, 胃, 肺 등에 귀경하며 安胎, 止血, 灸火解毒 및 清熱燥濕하는 효능을 가지며 피부 세포 활성 효능, 항산화4), 항균5), 항암6) 효과 등을 가진다고 기존 문헌에 보고되었다. 이는 황금에 다양한 활성 성분이 함유되어 있음을 시사한다.

산수유(*Cornus officinalis*)는 滋精, 敗汗, 补益肝腎, 滋精固脫, 收澁補助의 효능을 가지고 있으며 미백 효과를 가지는 것으로 보고되었다10).

한편, 약용식물의 포제(制)는 한방이론에 근거하여 약재를 가공처리 함으로써 약재 본래의 성질을 변화시키는 제약기술(製藥技術)이다. 독성을 감소시키거나, 약재의 약성 보존, 약성 증진, 약재의 복용 편리성 증진을 위해 삶거나, 찌거나, 불에 볶거나, 불에 굽거나 달구는 과정을 수행한다. 포제의 방법의 예를 들면, 약재를 볶는 초(炒)법, 약재를 일정량의 액체 보조재료와 함께 볶음으로써 보조재료가 약물조직 내에 스며들게 하는 자(炙)법, 약재 각 품목의 포제 규정에 따라 액체 보조재료를 넣고 섞어서 적당한

용기 안에서 가열하여 찌거나, 규정된 정도가 될 때까지 쪄서 말리는 중(蒸)법 등이 있다. 불의 세기, 사용하는 보료에 따라 더 세분화되는데, 그 몇 가지를 예로 들면 다음과 같다. 청초(清炒)법은 문화(文火 : 불꽃이 약한 불) 또는 무화(武火 : 불꽃이 강한 불)로 규정된 정도가 될 때 까지 약재를 볶는 방법이다. 주자(酒炙)법은 약 15%의 주정을 사용하여 약재를 볶는 방법이고, 주중(酒蒸)법은 약 15%의 주정을 사용하여 약재를 찌는 방법이다. 동일한 약용식물이라 하여도 생재와 숙재는 성질이 같지 않거나 작용에서 차이가 나는 경우가 있다. 또한 생재와 숙재를 적절히 조합한 복합처방은 각 약재의 약효를 서로 상승시키거나 독성을 상쇄하여 치료 효과를 극대화시킨다.

따라서 송절, 황금, 영지, 산수유, 건강의 추출물이 피부세포의 상처치유 효능과 항염작용이 있는지 확인하고, 포제법이나 복합처방 등이 미치는 영향을 관찰하여 보다 효과적인 물질 처리 방법을 탐구하였다.

송절, 산수유, 건강, 영지 또는 황금의 생약 추출물, 혹은 산수유, 건강, 영지 및 황금 각각을 포제법으로 가공한 후 추출한 주증 산수유 추출물, 청초 건강 추출물, 주증 영지 추출물, 주자 황금 추출물을 “긁힘-손상”된 피부세포에 처리하여 상처 치유 능력을 확인하고, 각질형성세포 성장인자 수용체 (FGFR2-IIIb) 유전자의 발현 유도 효과를 확인하였다. 또한 LPS로 염증을 유도시킨 세포에서 염증관련인자의 발현 정도를 측정하여 한약재 추출물의 항염증 효과를 확인하였다.

실험결과, 각 한약재 추출물은 처리하지 않은 대조군에 비해 상처치유 효과가 시간의존적으로 유의하게 증가하였으며, 포제를 진행하였을 때와

혼합물을 처리하였을 때 생약 추출물보다 효능이 증가함을 관찰하였다. 염증관련인자 또한 상처치유효과와 비슷한 경향을 나타내며 유의적으로 감소하였다.

종합해볼 때, 본 실험에서 유효성분으로 사용하는 한약재 추출물은 염증관련 인자들을 억제하고 재상피화를 촉진시킴으로써 상처치유 과정 중 염증기에서 증식기로의 진행을 빠르게 도와주고 증식기 동안에는 세포 증식을 자극하고 상처치료에 도움을 주는 인자들을 분비하는데 도움을 주어 결합조직 세포들의 성숙을 도와주는 것으로 관찰된다.

따라서 이들 추출물이 화장료 조성물 또는 약학 조성물에 함유됨으로써, 우수한 항염 또는 상처치유 효과를 제공하는 성분으로 사용될 수 있다는 가능성을 확인하였다.

V. 결 론

송절, 산수유, 건강, 영지 또는 황금의 생약 추출물, 혹은 산수유, 건강, 영지 및 황금 각각을 포제법으로 가공한 후 추출한 주증 산수유 추출물, 청초 건강 추출물, 주증 영지 추출물, 주자 황금 추출물을 “긁힘-손상”된 피부세포에 처리하여 상처 치유 능력을 확인하고, 각질형성세포 성장인자 수용체 (FGFR2-IIIb) 유전자의 발현 유도 효과를 확인하였다. 또한 LPS로 염증을 유도시킨 세포에서 염증관련인자의 발현 정도를 측정하여 한약재 추출물의 항염증 효과를 확인하였다.

1. 송절, 산수유, 건강, 영지, 황금 생약 추출물을 24시간, 48시간 처리한 후 “긁힘 손상”이 회복되어 긁힘 면적이 감소되었다

2. 산수유, 건강, 영지, 황금의 생약 추출물과

포제 가공한 추출물을 처리, 비교한 결과, 포제 가공한 추출물을 처리한 경우 세포의 긁힘 면적이 훨씬 더 많이 감소하였다.

3. 송절 생약, 포제된 산수유, 건강, 영지, 황금 추출물을 복합 처리한 경우 단일 처리한 경우보다 상처 치유 효능이 증가하였다.

4. LPS로 염증을 유발한 HaCaT 세포에 한약재 추출물을 처리한 결과 iNOS, IL-1 β 및 TNF- α mRNAs의 발현량이 감소하였으며, 포제 가공한 추출물의 경우 생약 추출물보다 발현량이 더 감소하였다.

5. 송절, 산수유, 건강, 영지, 황금 생약 추출물과 포제 추출물을 처리한 경우, 각질형성세포 성장인자 수용체 (FGFR2-IIIb) 유전자의 발현량이 증가하였다.

결론적으로, 송절, 산수유, 건강, 영지 및 황금의 생약 추출물 혹은 산수유, 건강, 영지, 황금의 포제 추출물인 주증 산수유 추출물, 청초 건강 추출물, 주증 영지 추출물 및 주자 황금 추출물은 항염 효과와 상처 치유 효능을 보였다. 따라서 이들 추출물이 화장료 조성물 또는 약학 조성물에 함유됨으로써, 우수한 항염 또는 상처치유 효과를 제공하는 성분으로 사용될 수 있다는 가능성을 확인하였다.

참고문헌

1. Gurtner GC, Werner S, Barrandon Y, Longaker MT. Wound repair and regeneration, NATURE 2008;453:314-321.
2. Care KRGf. Advances in wound Care. Seoul: Korea Medical Book Publisher, 2002
3. Kubo KKY. Spongy matrix of hyaluronic

- acid and collagen as a cultured dermal substitute: evaluation in an animal test. *J Artif Organs* 2003;6(1):64-70
4. Gabrielska J, Oszmiański J, Zyłka R, Komorowska M. Antioxidant activity of flavones from *Scutellaria baicalensis* in lecithin liposomes. *Z Naturforsch* 1997 Nov-Dec;52(11-12):817-23
 5. Yang D, Michel D, Bevalot F, Chaumont JP, Millet-Clerc J. [Antifungal activity in vitro of *Scutellaria baicalensis* Georgi upon cutaneous and ungual pathogenic fungi] *Ann Pharm Fr.* 1995;53(3):138-41
 6. Konoshima T, Kokumai M, Kozuka M, Iinuma M, Mizuno M, Tanaka T, Tokuda H, Nishino H, Iwashima A. Studies on inhibitors of skin tumor promotion. XI. Inhibitory effects of flavonoids from *Scutellaria baicalensis* on Epstein-Barr virus activation and their anti-tumor-promoting activities. *Chem Pharm Bull (Tokyo)*. 1992 Feb;40(2):531-3
 7. Chen K, Li C. Recent advances in studies on traditional Chinese anti-aging materia medica. *J Tradit Chin Med*. 1993 Sep;13(3): 223-6, contd. Review
 8. Lin JM, Lin CC, Chen MF, Ujiie T, Takada A. Radical scavenger and antihepatotoxic activity of *Ganoderma formosanum*, *Ganoderma lucidum* and *Ganoderma neo-japonicum*. *J Ethnopharmacol*. 1995 Jun 23;47(1):33-41
 9. Akihisa T, Nakamura Y, Tagata M, Tokuda H, Yasukawa K, Uchiyama E, Suzuki T, Kimura Y. Anti-inflammatory and anti-tumor-promoting effects of triterpene acids and sterols from the fungus *Ganoderma lucidum*. *Chem Biodivers*. 2007 Feb;4(2):224-31
 10. Hwang JH, Lee BM., Inhibitory effects of plant extracts on tyrosinase, L-DOPA oxidation, and melanin synthesis., *J Toxicol Environ Health A*. 2007 Mar 1;70(5):393-407.
 11. Evaluation of the topical anti-inflammatory activity of ginger dry extracts from solutions and plasters, *Epub* 2007 Dec 3., *Planta Med*. 2007 Dec;73(15):1525-30.
 12. Kazue Tsukahara, Hidemi Nakagawa, MD, PhD, Shigeru Moriwaki, MSc , Yoshinori Takema, PhD, Tsutomu Fujimura, MSc , and Genji Imokawa, PhD The International Society of Dermatology inhibition of ultraviolet-B-induced wrinkle formation by an elastase-inhibiting herbal extract: implication for the mechanism underlying elastase-associated wrinkles)
 13. Nagy N, Bata-Csörgo Z, Kopasz N, Szeg C, Pivarcsi A, Koreck A, Dobozy A, Kemény L, Széll M. The expression of keratinocyte growth factor receptor (FGFR2-IIIb) correlates with the high proliferative rate of HaCaT keratinocytes *Exp Dermatol*. 2006 Aug;15(8):596-605