한방안이비인후피부과학회지 제28권 제1호(2015년 2월)
J Korean Med Ophthalmol Otolaryngol Dermatol 2015;28(1):32-40
pISSN 1738-6640 eISSN 2234-4020
http://www.ood.or.kr
http://dx.doi.org/10.6114/jkood.2015.28.1.032

Original Article / 원저

# 일당귀 에탄올 추출물의 Hyaluronic Acid 합성 효과에 대한 실험적 연구

강민서[1] · 하헌용[2] · 김희택[1]
[1] 세명대학교 한의과대학 안이비인후피부과학 교실
[2] 세명대학교 자연약재과학과

# An Experimental Study on the Effect of *Angelica acutiloba* Ethanol Extract on Hyaluronic Acid Synthesis

*Min-Seo Kang*[1] · *Hun-Yong Ha*[2] · *Hee-Taek Kim*[1]
[1] Dept. of Oriental Ophthalmology, Otolaryngology & Dermatology, College of Korean medicine, Semyung University
[2] Dept. of Natural Medicine Resources, Semyung University

## Abstract

**Objectives** : Hyaluronic acid(HA) is a mucopolysaccharide, occuring naturally in living organisms. It is one of the most hydrophilic molecules, so it has been known as being related to skin hydration and anti-aging. The purpose of this study is to examine the effects of *Angelica acutiloba* ethanol extract on hyaluronic acid synthesis.

**Methods** : To determine cytotoxicity and hyaluronic acid synthase 2 gene expression, hyaluronic acid production in HaCaT cells, MTT assay and RT-PCR ELISA was used.

**Results** : There was no cytotoxicity in 50㎍/㎖ concentration *Angelica acutiloba* extract in MTT assay. Hyaluronic acid synthase 2(HAS2) gene expression was increased by all treated concentration *Angelica acutiloba* extract. Hyaluronic acid production was higher in 50㎍/㎖ & 100㎍/㎖ concentration *Angelica acutiloba* extract than control group.

**Conclusions** : Hyaluronic acid production was increased by *Angelica Acutiloba* extracts. Therefore, We suggest that *Angelica acutiloba* can make a contribution to the moisturing effect on human skin.**Conclusions** : Hyaluronic acid production was increased by *Angelica Acutiloba* extracts. Therefore, We suggest that *Angelica acutiloba* can make a contribution to the moisturing effect on human skin.

**Key words** : *Angelica acutiloba*; Hyaluronic acid; Hyaluronic acid synthesis; Moisturizing

*© 2015 the Society of Korean Medicine Ophthalmology & Otolaryngology & Dermatology*
This is an Open Access journal distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (http://creativecommons.org/license/by-nc/3.0/) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

## Ⅰ. 서 론

피부는 표피, 진피, 피하조직으로 구성된 크고 복잡한 조직으로서 외부로부터의 자극이나 세균의 침입을 막으며 체온을 조절하고 수분을 유지하는 등의 다양한 기능이 있다[1]. 이 중 표피층은 피부장벽을 포함하며 인체의 조직 가운데 가장 역동적인 기관으로, 끊임없이 표피세포의 분열과 증식, 분화, 탈각과정을 반복하여 표피의 항상성을 유지하며[2] 특히 최외각층인 표피의 각질층은 피부의 수분증발을 방지하는 중요한 기능을 한다[3]. 건강한 피부를 유지하기 위해서 각질층은 10% 이상의 수분을 함유해야 하며 이를 위해 여러 종류의 지질 성분과 당, 아미노산 등이 관여하는 것으로 알려져 있다[4,5].

Glycosaminoglycan(GAG)의 일종인 Hyaluronic acid(HA)는 콜라겐, 엘라스틴과 함께 피부 3대 요소 가운데 하나[6]로 친수성이 강해 물과 결합하여 겔을 형성하는 성질이 있어 피부 수분 유지에 중요한 역할을 하는 천연 보습제로 알려져 있다[7]. HA는 연령의 증가에 따라 피부에서 감소되며 자외선의 장기 노출과 같은 환경적 요인에 의해서도 부정적 영향을 받는 것으로 알려져 있다. 이러한 HA의 감소는 피부 수분 함량의 감소와 함께 탄력의 감소, 거친 피부 및 주름 등의 원인으로 알려져 있다[8]. 따라서 HA의 합성을 유도하거나 분해를 억제하는 물질은 피부 보습과 노화 방지에 효과적이며, 특히 히알루론산 합성효소(Hyaluronic acid synthase, HAS) 중 HAS2와 HAS3는 히알루론산 합성에 결정적인 역할을 하는 것으로 알려져 있으며, 최근 HAS의 유전자 발현 증가를 통해 HA의 생산을 촉진시키고자 하는 연구가 활발하게 이루어지고 있다[1,8].

당귀(當歸)는 산형과(傘形科, Umbelliferae)에 속한 다년생 초본인 당귀의 뿌리를 건조시킨 것으로 한의학에서 사용되는 대표적인 보혈제이다. 동의보감 처방 중 500회 이상, 방약합편 처방 중 150회 이상 언급되어 감초 및 생강과 함께 최다 빈용 약물에 속하며[9] 보혈활혈(補血活血), 조경지통(調經止痛), 윤조활장(潤燥滑腸)하는 효능이 있어 부인과 질환 및 제반 혈병(血病)에 응용하고[10] 사물탕가미방[11], 당귀음자[12], 생혈윤부음[13], 온청음[14] 등에서 군약으로 사용되어 피부외과 질환에도 다양하게 운용되는 약재이다. 당귀는 참당귀(*Angelica gigas* Nakai), 일당귀(*Angelica acutiloaba* Kitag.), 중국당귀[*Angelica sinensis* (Oliv.) Diels]로 나뉘며 국내에서는 참당귀와 일당귀가 약재로서 사용되고 있다. 최근에는 한약 또는 생약 추출물을 포함한 화장품 시장이 확대되며 당귀를 활용한 외용제의 개발에도 관심이 높아지고 있으며 다수의 연구를 통해 참당귀는 미백효과[15-17] 및 자외선 차단효과[18], 항주름 효과[15,16]가 보고되어 있으나 일당귀는 그 수요가 증가되고 있음에도 불구하고 관련 연구가 전무한 실정이다. 본 연구에서는 일당귀의 보습 효과를 정량적으로 평가하여 유의한 결과를 얻었기에 보고하고자 한다.

Corresponding Author : Hee-Taek Kim,
Semyung University Oriental Medicine Hospital, 66, Semyeong-ro, Jecheon-si, Chungcheongbuk-do, Korea(Tel:043-649-1817, E-mail:kht8725c@naver.com)
• Recieved 2015/1/15 • Revised 2015/2/2 • Accepted 2015/2/9

## Ⅱ. 실험방법

### 1. 실험 재료

#### 1) 세포 배양 및 실험조건

실험에 사용한 HaCaT 세포주는 미국 ATCC로부터 분양받아 사용하였으며, HaCaT 세포는 Dulbecco's Modified Eagle Medium (DMEM, Gibco)에 10 % Fetal bovine serum (FBS, Gibco)과 1 % penicillin-streptomycin (PS, Gibco)이 함유된 배지에서 37 ℃, 5 % $CO_2$ 조건에서 배양하였다.

#### 2) 시약

일당귀(*Angelica acutiloba*)는 퓨어마인드제약 (경

북, 영천소재)에서 구입하였으며 시료는 세명대학교 자연약재과학과 천연물실험실에 보관하여 사용하였다. 약재는 100g을 측정하여 70 % (v/v) 에탄올 용매에 담가 냉침한 뒤 여과하여 Bottle에 포집하였고 이 과정을 3회 반복하였다. 감압농축기로 농축한 이후에 동결건조 하여 실험에 사용하였다.

## 2. 실험 방법

### 1) 세포 배양 및 독성 실험

세포를 2 x 105/㎖ 농도로 96 well plate에 seeding 하였다. 24시간 후에 serum-free DMEM으로 교체해준 후에 일당귀 추출물을 처리해주었다. 24시간동안 배양해준 후에 media를 걷어내고 20 ㎕의 3-(4,5-dimethyl-2-thiazolyl)-2,5-diphenyl-2H-tetrazolium bromide (MTT, 5 ㎎/㎖)을 넣어주고 $CO_2$ 배양기에서 2시간 배양하였다. 100 ㎕의 DMSO (Dimethyl sulfoxide)로 결정을 용해시킨 후에 570 ㎚에서 흡광도를 측정하였다. 생존율은 control과 비교하여 %로 표시하였다. 세포에 처리한 샘플에 포함된 DMSO는 최종농도 0.1 %에 맞추었다.

### 2) RT-PCR

세포를 2 x 105/㎖ 농도로 6 well plate에 seeding 하였다. 24시간 후에 serum-free DMEM으로 교체해준 후에 일당귀 추출물을 처리해주었다. 최종 DMSO는 농도는 0.1 %로 맞추어 주었다. 24시간동안 배양해준 후에 easyBlue (intron)로 RNA를 추출하였다. RNA농도와 순도 (OD260 / OD280)를 측정한 후에 2 ㎍ RNA로 power cDNA synthesis kit (intron)을 이용하여 cDNA 합성을 하였다. PCR은 premix PCR kit (Solgent)을 이용하였다. PCR product는 1.5 % agarose gel에 전기영동 하여 밴드를 확인하였다. All-trans-retinoic acid (ATRA, sigma) 1 ㎛을 양성대조군으로 사용하였다. Primer는 기존 논문에 보고된 sequence로 제작하였다(Table 1)[20].

PCR조건은 다음과 같다. 94 ℃ 15 min, 32~35 cycles: 94 ℃ 30s, 50 ℃ 30s, 72 ℃ 60s, 72 ℃ 10 min 최종 합성하였다.

### 3) ELISA

세포를 2 x 105/㎖ 농도로 6 well plate에 seeding 하였다. 24시간 후에 serum-free DMEM으로 2번 washing 해준 후에 serum-free DMEM 교체하고 샘플을 처리해주었다. DMSO는 0.1%로 맞추어 주었다. 15분 후에 350 ㎕의 media를 걷어내었고 다시 15분 후에 동량 걷어내었고, 다시 15분 후에 1차례 더 동량 걷어내었다. 15,000 x g에서 5분간 원심분리하고 상층액을 걷어내어 ELISA를 수행할 때 까지 -20℃에서 보관하였다. ELISA는 HA-ELISA kit (echelon)를 이용하였으며 제조사에서 제공한 방법에 의해 진행하였다. ATRA 1 ㎛을 양성대조군으로 사용하였다.

### 4) 통계

통계는 Student's t-test를 이용하였으며 유의성 기준을 p-value가 0.05 미만일 경우로 설정하였다.

Table 1. Primers Sequence

| Gene | Direction | Sequence (5' → 3') | Size (bp) |
|---|---|---|---|
| HAS2 | Forward | GCT ACC AGT TTA TCC AAA CG (20 mer) | 393 |
| | Reverse | GTG ACT CAT CTG TCT CAC CG (20 mer) | |
| GAPDH | Forward | ATT GTT GCC ATC AAT GAC CC (20 mer) | 546 |
| | Reverse | AGT AGA GGC AGG GAT GAT GT (20 mer) | |

## Ⅲ. 결 과

### 1. MTT assay

70% 에탄올 일당귀 추출물의 세포독성을 확인하기 위하여 MTT assay를 시행하였다. 추출물을 50, 100, 200 ㎍/㎖로 처리한 범위에서 그 생존율을 확인하였다. 각 농도별 생존율은 대조군에 비하여 50 ㎍/㎖에서 80.60 %, 100 ㎍/㎖에서 29.03%, 200 ㎍/㎖에서 29.39 %로 50 ㎍/㎖의 범위에서 독성을 보이지 않았다(Fig. 1).

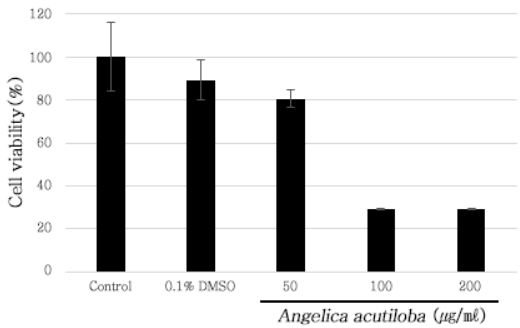


Fig. 1. MTT assay
Values are represented as percentage relative to control.

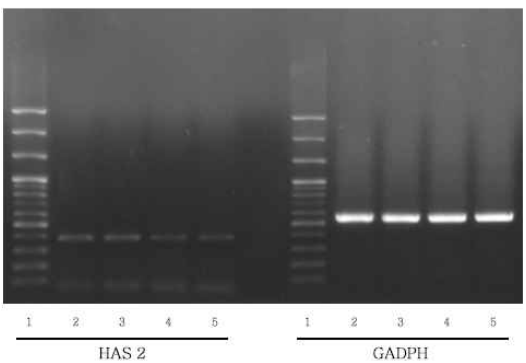


Fig. 2. RT-PCR results
1 : 0.1% DMSO - 10㎕
2 : 1㎛ ATRA - 10㎕
3 : 50 ㎍/㎖ *Angelica acutiloba* Ethanol Extract - 10㎕
4 : 100 ㎍/㎖ *Angelica acutiloba* Ethanol Extract - 10㎕
5 : 200 ㎍/㎖ *Angelica acutiloba* Ethanol Extract - 10㎕

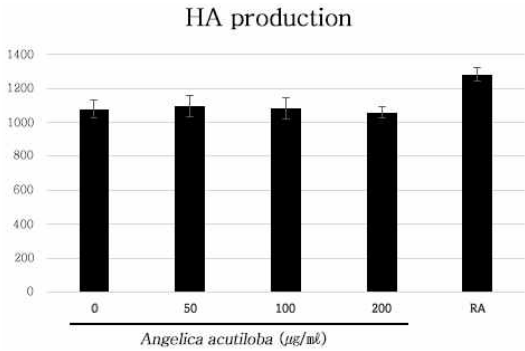


Fig. 3. Hyaluronic Acid production (㎍/㎖) – 15min
0 : Control group
50 : 50 ㎍/㎖ *Angelica acutiloba* Ethanol Extract treated group
100 : 100 ㎍/㎖ *Angelica acutiloba* Ethanol Extract treated group
200 : 200 ㎍/㎖ *Angelica acutiloba* Ethanol Extract treated group
RA : Retinoid Acid treated group
Results are presented as mean±S.D.

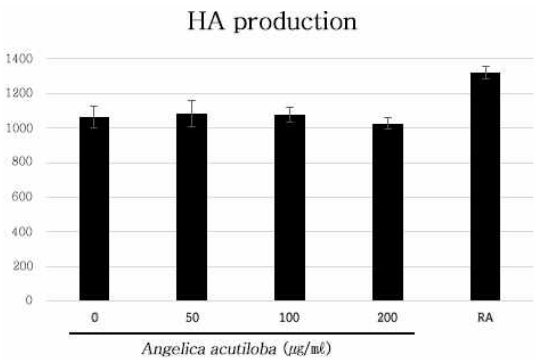


Fig. 4. Hyaluronic Acid production (㎍/㎖) – 30min
0 : Control group
50 : 50 ㎍/㎖ *Angelica acutiloba* Ethanol Extract treated group
100 : 100 ㎍/㎖ *Angelica acutiloba* Ethanol Extract treated group
200 : 200 ㎍/㎖ *Angelica acutiloba* Ethanol Extract treated group
RA : Retinoid Acid treated group
Results are presented as mean±S.D.

### 2. 일당귀의 HAS2 유전자 발현 증가

70% 에탄올 일당귀 추출물의 HAS2유전자의 발현 여부를 확인하기 위하여 RT-PCR을 시행하였다. 모든 농도의 70% 에탄올 일당귀 추출물 처리군에서 HAS 2 유전자가 발현되었음을 확인하였으며, 이는 처리농도 범위에서 HA 합성을 증가시킬 수 있음을 보여준다(Fig.2).

### 3. HA-ELISA assay

70 % 에탄올 일당귀 추출물을 50, 100, 200 ㎍/㎖ 처리 했을 때 HA의 생성량을 확인하기 위해 ELISA kit를 사용하였다. 50 ㎍/㎖ 처리한 샘플군에서는 HA의 생성량이 15분, 30분, 45분에서 각각 1096.20, 1083.80, 1080.03이었고(Fig. 3), 100 ㎍/㎖ 처리한 샘플군에서는 1083.13, 1076.81, 1067.88이었으며 (Fig. 4) 200 ㎍/㎖ 처리 샘플군에서는 1056.68, 1027.71, 1018.022로 15분, 30분, 45분을 처리한 순대로 HA의 생성량이 높았다(Fig. 5). 일당귀 추출물 처리군의 경우 5 0㎍/㎖, 100 ㎍/㎖, 200 ㎍/㎖의 순으로 HA의 생성량이 높았으며, 200 ㎍/㎖ 처리한 샘플의 경우 DMSO 0.1 % 처리한 vehicle 군에 비하여 오히려 HA생성량이 낮았는데 이는 100, 200 ㎍/㎖의 농도에서 보이는 일당귀 추출물의 세포독성에 기인한 것으로 생각된다.

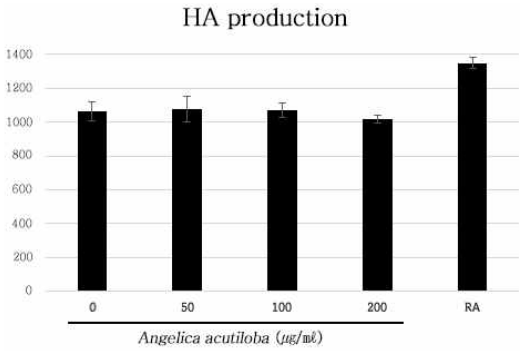


Fig. 5. Hyaluronic Acid production (㎍/㎖) - 45min

0 : Control group

50 : 50 ㎍/㎖ *Angelica acutiloba* Ethanol Extract treated group

100 : 100 ㎍/㎖ *Angelica acutiloba* Ethanol Extract treated group

200 : 200 ㎍/㎖ *Angelica acutiloba* Ethanol Extract treated group

RA : Retinoid Acid treated group

Results are presented as mean±S.D.

## Ⅳ. 고 찰

피부에서는 세월의 흐름에 따른 내인성 기전과 열, 자외선 등 외부 노출에 따른 외인성 기전에 의해 노화현상이 초래되어 표피와 진피 두께가 얇아지고 멜라닌세포, 랑게르한스세포, 진피 내 기질 단백질이 감소되며 이로 인해 상처 치유 능력의 감소, 피부의 양성 및 악성 종양의 증가, 피부면역기능 감소, 비타민 D 합성 감소, 항산화 방어기능 감소와 같은 다양한 기능저하가 유발된다[19]. 피부노화의 대표적인 임상적 특징은 주름 증가와 탄력 감소로, 이는 진피 내 세포외 기질의 주요 성분인 교원단백(collagen)과 탄력섬유(elastin)로 구성된 불용성 세섬유 및 수용성 중합체의 구조적 변화와 기질 간 결합의 매개체인 점액다당체(mucopolysaccharide, glycosaminoglycan)의 변성이 주요 원인이라고 알려져 있다[1,19,20].

HA는 피부의 대부분을 차지하는 Glycosaminoglycan(GAG)로 β-D-glucuronic acid와 β-D-N-acetylglucosamine이 상호 베타 결합으로 이루어진 분자량 20만~40만의 직쇄상의 긴 고분자 물질로 조직의 세포외기질에 널리 분포하며 수분과 결합하여 겔을 형성함으로써 무게의 1000배 이상의 함습능력을 보이는데 이를 통해 조직의 수분 유지, 세포사이의 간격 유지, 세포의 분열과 분화 및 이동, 세포성장인자 및 영양성분의 저장과 확산, 면역조절 등에 관여하는 것으로 보고되어 있다[1,6,7,19]. 포유류의 체내에 존재하는 HA는 50 % 이상이 피부에 분포하며 주로 섬유모세포와 각질형성세포에서 2~4.5일의 주기로 형성되는데[1,19] 피부에서 HA의 감소는 주름 발생이나 탄력 감소, 수분함유량 감소와 같은 피부 노화와 관련이 있는 것으로 알려져 있다. 피부과에서는 HA를 피부결이나 주름 개선의 목적으로 진피내에 직접 주사하는 필러로 사용하며 화장품 회사에서는 HA를 포함한 보습제를 다수 출시하고 있다[3,6,20]. 그러나 화장품에 사용되는 고분자량의 HA는 실제 도포 시 피부를 투과할 수 없기 때문에[19] HA의 합성을 증가시키거나 분해를 억제하는 물질을 통해 피부 보습력을 강화시키고자 하는 연구들이 진행되어 왔으며 대표적으로 송 등[1]의 천궁으로부터 분리된 ferulic acid, 이 등[8]의

황기 메탄올 추출물, 심 등[21]의 Black rice, 김 등[22]의 kaempferol, quercetin 등이 있다.

당귀(當歸)는 사람의 체내에 기혈(氣血) 순환이 혼란하여 여러 가지 병적 증상이 나타날 때 이 약을 복용하면 기혈이 각각 제자리로 당연히(當) 돌아가게(歸) 한다는 뜻으로[23], 산형과(傘形科, Umbelliferae)에 속한 다년생 초본이며 늦가을부터 다음 해 봄 새싹이 돋기 전 뿌리를 캐내 줄기와 잎을 제거하여 수세하고 통풍이 잘 되는 그늘에서 수일동한 건조한 뿌리를 말한다[24]. 당귀는 귀경(歸經)이 심(心), 간(肝), 비경(脾經)으로 心主血脈, 肝藏血, 脾統血하여 혈병(血病)에 두루 사용되며 신농본초경(神農本草經)에 처음 수재된 이래 보혈활혈(補血活血), 조경지통(調經止痛), 윤조활장(潤燥滑腸)의 효능으로 대표적인 보혈약물 가운데 하나로 임상에서 빈번하게 활용되고 있다[25,26]. 당귀는 참당귀, 일당귀, 중국당귀의 3종이 있으며 이들은 각각 화학 성분의 조성과 효능에서 차이가 있는 것으로 알려져 있다[24,27,28]. 경험적 기미론(氣味論)에 따르면 중국당귀와 일당귀는 감(甘)미가 있으나 참당귀는 감미가 없이 고(苦)하여 감(甘)한 중국당귀와 일당귀가 참당귀에 비해 보혈(補血)하는 효능이 우수한 것으로 알려져 있으나[27,28] 최근 연구 결과 조혈(造血)효능은 오히려 참당귀가 일당귀와 중국당귀에 비하여 우수하다는 보고가 있어[29] 아직 당귀의 기원별 효능의 구분에 대한 명확한 결론은 내려지지 않았음에도 임상에서는 경험적 기미론에 따라 효능을 구분하여 목적에 맞게 사용하고자 하는 움직임이 늘어나고 있다. 그러나 최근 국내 참당귀의 생산량 감소로 인해 그 대체품이 필요해짐에 따라[30] 약용 수입 금지 품목인 중국당귀 대신 일당귀가 주목받고 있는 등 일당귀의 수요가 증가하고 있어 일당귀에 관한 연구의 필요성이 더욱 높아지고 있다.

일당귀 추출물의 세포독성을 확인하기 위해 추출물의 농도를 50, 100, 200 ㎍/㎖로 처리한 MTT assay에서 각 농도별 생존율은 대조군에 비하여 50 ㎍/㎖에서 80.6 0%, 100 ㎍/㎖에서 29.03 %, 200 ㎍/㎖에서 29.3 9%로 50 ㎍/㎖의 범위까지는 독성을 보이지 않았다.

HA의 합성은 히알루론산 합성효소(Hyaluronic acid synthase, HAS)에 의해 진행되며 HAS의 유전자는 HAS1, HAS2, HAS3의 세가지 형태가 보고되었는데 그 중 HAS2와 HAS3가 각각 섬유모세포와 각질형성세포에서 HA의 합성에 결정적인 역할을 하는 것으로 밝혀져 있고[1,18], HA의 12시간의 짧은 반감기와 HAS의 2~4시간의 매우 짧은 반감기 때문에 HAS 유전자의 발현은 HA 상태의 조절에 매우 중요한 역할을 하는 것으로 알려져 있다[31]. 일당귀 추출물의 HAS2 유전자의 발현 여부를 확인하기 위하여 시행한 RT-PCR에서는 모든 농도의 70 % 에탄올 일당귀 추출물 처리군에서 HAS 2 유전자가 발현되었음을 확인하였으며, 이는 처리농도 범위에서 HA 합성을 증가시킬 수 있음을 보여준다.

일당귀 추출물의 HA의 생성량을 확인하기 위해 시행한 ELISA에서는 50 ㎍/㎖ 처리한 샘플군에서 HA의 생성량이 15분, 30분, 45분에서 각각 1096.20, 1083.80, 1080.03, 100 ㎍/㎖ 처리한 샘플군에서는 1083.13, 1076.81, 1067.88, 200 ㎍/㎖ 처리 샘플군에서는 1056.68, 1027.71, 1018.022로 15분, 30분, 45분을 처리한 순대로 HA의 생성량이 높았다. 일당귀 추출물 처리군의 경우 50 ㎍/㎖, 100 ㎍/㎖, 200 ㎍/㎖의 순으로 HA의 생성량이 높았으며, 200 ㎍/㎖ 처리한 샘플의 경우 DMSO 0.1 % 처리한 vehicle 군에 비하여 오히려 HA생성량이 낮았는데 이는 100, 200 ㎍/㎖의 농도에서 보이는 일당귀 추출물의 세포독성에 기인한 것으로 생각된다.

이상으로 본 연구에서 일당귀 추출물의 Hyaluronic acid 합성에 대해 시험한 결과 특정 농도에서 비교적 유의한 효과를 보임을 알 수 있었다. 다만 본 연구는 보습효과의 검정이 3종의 당귀 중 일당귀에 한해 이루어 졌으며, 추출물을 50, 100, 200㎍/㎖의 농도에서 처리하여 그 효과를 시험하였으나 100㎍/㎖ 이상 농도에서 보인 세포독성으로 보습효과를 기대하기에 가

장 적정한 농도를 찾기 어렵다는 한계가 있다고 할 수 있다. 추후 일당귀를 포함한 참당귀 및 중국당귀를 이용한 당귀 3종의 보습 효과 비교 및 100 ㎍/㎖이하에서 최고 효율을 보이는 농도를 찾는 등의 추가적인 연구를 통해 한계를 개선할 수 있을 것이라 사료된다.

## Ⅴ. 결 론

일당귀의 HA 합성 효과를 알아보기 위해 HaCaT cell을 이용하여 세포독성, HAS2 유전자 발현, HA 합성량을 측정한 결과 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 일당귀 추출물은 50 ㎍/㎖의 농도에서 독성을 보이지 않았으나, 100, 200 ㎍/㎖의 농도에서는 비교적 낮은 생존율을 보였다.
2. HaCaT cell에서 일당귀 추출물은 HAS2 유전자의 발현량을 증가시켰다.
3. 일당귀 추출물을 50, 100 ㎍/㎖로 처리했을 때 DMSO 0.1% 처리한 vehicle 군과 비교하여 HA 생성량이 높았고 200 ㎍/㎖ 처리시에는 vehicle 군에 비하여 그 생성량이 낮았다.

## 감사의 글

이 논문은 2014학년도 세명대학교 교내학술연구비 지원에 의해 수행된 연구임

## References

1. Song HJ, Mu HJ, Lee SH. Effect of Ferulic Acid Isolated from *Cnidium Officinaale* on the Synthesis of Hyaluronic Acid. J Soc Cosmet Scientists Korea. 2013;39(4):281-8.
2. Park CS. Epidermal Homeostasis and Dry Skin Management. J Soc Cosmet Scientists Korea. 2008;34(1):1-8.
3. Kwon SB, Lee GT, Choi SJ, Lee NK, Park HW, Lee KS, et al. The Effect of Glycerin, Hyaluronic Acid and Silicone Oil on the Hydration, Moisturization and Transepidermal Water Loss in Human Skin. Kor J Aesthet Cosmetol. 2013;11(4):761-8.
4. Park BD, Kim YH, Lee SH. Dry Skin and Its Care. The Journal of Skin Barrier Research. 2001;3(1):47-54.
5. Lee JG, Lee JS, Park HJ, Cho WJ, Kim MR, Ha ID, et al. The Moisturizing Effects of the Cosmetic Products Containing Herbs Extract on Infant Skin. J Korean Med Ophthalmol Otolaryngol Dermatol. 2008;21(3):124-31.
6. Kim KT, Kim YH, Kim JG, Han CS, Park SH, Lee BY, et al. Preparation of Oligo Hyaluronic Acid by Hydrolysis and Its Application as a Cosmetic Ingredient. J Soc Cosmet Scientists Korea. 2007;33(3):189-96.
7. Necas J, Bartosikova L, Braunder P, Kolar J. Hyaluronic acid (Hyaluronan): a review. Veterinarni Medicina. 2008;53(3):397-411.
8. Lee PJ, Kim HT, Yoon KS, Park HC, Ha HY. The effecct of *Astragalus membranaceus* methanol extract on hyaluronic acid procudtion in HaCaT cells. J Korean Med Ophthalmol Otolaryngol Dermatol. 2013;26(1):75-81.
9. Kim SA, Oh HK, Kim JY, Hong JW, Cho SI. A Review of Pharmacological Effects of *Angelica gigas*, *Angelica sinensis*, *Angelica acutiloba* and their Bioactive Compounds. J Korean Oriental Med. 2011;32(4):1-24.
10. The National College of Oriental Medicine

Herbology Classroom. Herbology. Seoul: Youngrimsa. 2008:629-31.

11. Yeon CH, Rho SS. Effects of SaMul-TangGamibang(SMTG) on the Inflammatory Reactions. J Korean Med Ophthalmol Otolaryngol Dermatol. 2004;17(3):18-25.
12. Song SP, Son DB, Hwang CH, Song SH, Hwang CY. Effects of *Danggwieumja* Administration along with *Samhwangsejegamibang* on NC/Nga Atopic Mice. Korean J Oriental Physiology&Pathology. 2007;21(5): 1210-8.
13. Yu HY, Kim KB, Min SY, Kim JH. Case Study of the Effects of Saenghyeoryunbueum on Atopic Dermatitis. J Korean Oriental Pediatrics. 2008;22(1):35-48.
14. Kim BH, Lee HW, Sohn NW, Park DI. Angiogenetic Effect of Onchung-Eum on Full-thickness Skin Wound in Rats. Kor J Oriental Preventive Medical Society. 2010; 14(1):97-110.
15. Lee JH, Lee S, Kim MG, Kim MH, Kim HJ, Jo HJ, et al. Effects of *Angelica Gigantis* Radix Extracts on the Collagenase Activity and Procollagen Synthesis in HS68 Human Fibroblasts and Tyrosinase Activity. Kor J Herbology. 2011;26(1):29-33.
16. Park SK, Hong SK, Kim HJ, Kim BY, Kim T, Kang JS, et al. Cosmetic effect of *Angelica gigas* Nakai root extracts. Korean Chem Eng Res. 2009;47(5):553-7.
17. Hwang SY, Lee JT, Kim YU, Kim HJ. Skin Whitening Effects of Extracts from *Angelicae Gigantis* Radix and *Lycii* fructus Ethanol Extracts. Herbal Formula Science. 2013; 21(1):91-8.
18. Kim CH. Kwon MC. Han JG. Na CS. Kwak HG. Choi GP. et al. Skin-Whitening and UV-Protective Effects of *Angelica gigas* Nakai Extracts on Ultra High Pressure Extraction Process. Korean J Medicinal Crop Sci. 2008;16(4):255-60.
19. KDA Textbook Editing Board. Dermatology. 6th edition. Seoul:Medbook. 2014:697-703, 960-1,969-4.
20. Kim SJ, Lee SA, Lee JH, Yun SJ, Lee JB, Lee SC, Won YH. Measurement of Hyaluronic Acid Amounts Using ELISA from cultured Human Skin Fibroblasts. Korean J Dermatol. 2006;44(8):950-8.
21. Sim GS, Lee DH, Kim JH, An SK, Choe TB, Kwon TJ, et al. Black rice (Oryza sativa L. var. japonica) hydrolyzed peptides induce expression of hyaluronan synthase 2 gene in HaCaT keratinocytes. J Microbiol Biotechnol. 2007;17(2):271-9.
22. Kim SH, Nam GW, Kang BY, Lee HK, Moon SJ, Chang IS. The Effect of Kaempferol, Quercetin on Hyaluronan-Synthesis Stimulation in Human Keratinocyte (HaCaT). J Soc Cosmet Scientists Korea. 2005;31(1): 97-102.
23. Kang BS, Lee JC, Joo YS, Oh SS, Park YK. Herbal Medicine of the World in Color. Dongamunhwasa. Daejeon:2008:168-73.
24. Lee JJ, Kim AR, Seo YN, Lee MY. Comparison of Physicochemical Compositionof Three Species of Genus *Angelica*. Korean J Food Preserv. 2009:16(1);94-100.
25. Han HS. Anti-inflammatory Effect of Angelicae acutilobae Radix water Extract on LPS-stimulated Mouse Macrophages. Kor J

Herbology. 2013;28(6):129-33.
26. Oh TW, Park KH, Lee MY, Choi GY, Park YK. Neuroprotective effects of Angelicae Acutilobae Radix water extract against ischemia · reperfusion-induced apoptosis in SK-N-SH neuronal cells. Kor J Herbology. 2011;26(4):67-74.
27. Choo MH, Choi HS, Seo YN, Lee MY. Effects of n-Hexane Fraction of *Angelica acutiloba* on Antioxidative System and Lipid peroxidation in Ethanol-Induced Hepatotoxicity of rats. Korean Journal of Food Preservation. 2004; 11(3):364-72.
28. Yoon TS, Cheon MS, Lee DY, Moon BC, Lee HW, Choo BK, et al. Effects of Root Extracts from *Angelica gigas* and *Angelica acutiloba* on Inflammatory Mediators in Mouse Macrophages. J Appl Biol Chem. 2007;50 (4):264-9.
29. Kang SA, Jang KH, Lee JE, Ahn DK, Park SK. Differences of Hematopoietic Effects of *Angelica gigas, A. sinensis* and *A. Acutiloba* Extract on Cyclphosphamide-induced Anemic Rats. Korean J Food Sci Technol. 2003;35 (6):1204-8.
30. Park WS, Lee CH, Soh KS, Lee YJ, Lee CY, Lee TH, et al. Study on Biophoton Emission from roots of *Angelica gigas* N., *Angelica sinensis* D., and *Angelica acutiloba* K.. Kor J Herbology. 2007;22(4):95-100
31. Kim SJ, Kang BY, Cho SY, Sung DS, Chang HK, Yeom MH, et al. Compound K induces expression of hyaluronan synthase 2 gene in transformed human keratinocytes and increases hyaluronan in hairless mouse skin. Biochemical and Biophysical Research Communications. 2004;316:348-55.