

# 天精氣保丹의 자외선에 의한 세포 손상 억제 효과

이강태 · 박시준 · 이정로 · 이광식 · 김대성<sup>1</sup> · 문연자<sup>2</sup> · 이건국 · 우원홍<sup>1,3,\*</sup>

코리아나화장품 송파기술연구소, 1: 원광대학교 한의학전문대학원 한약자원개발학과, 2: 한의과대학 해부학교실,  
3: 한국전통의학연구소

## Protective Effect of Cheonjeongkibo-Dan UV-Induced Cellular Damage in Human Dermal Fibroblast

Ghang Tai Lee, Si Jun Park, Jung No Lee, Kwang Sik Lee, Dae Sung Kim<sup>1</sup>, YeunJa-Mun<sup>2</sup>,  
Kun Kuk Lee, Won Hong Woo<sup>1,3,\*</sup>

Coreana Cosmetics Ltd, SongPa R&D Center, 1: Department of Herbal Resources, Professional Graduate School of Oriental Medicine,  
2: Department of Anatomy, College of Oriental Medicine,  
3: Research Center of Traditional Korean Medicine, Wonkwang University

In this study, we prepared CheonJeongKiBo-Dan(7 oriental medicinal plants, 7OMP: Astragalus Membranaceus root, Panax Ginseng root, Glycyrrhiza Glabra (licorice) root, Schizandra Chinensis fruit, Polygonatum Odoratum, Rehmannia Glutinosa root, Paeonia Albiflora root) by extracting them in one reactor and studied its efficacies on skin. UV irradiation has been suggested as a major cause of photoaging in skin. In order to investigate protective effects against UV-B induced cellular damage, 7OMP was extracted with 70% ethanol and dissolved in DMSO. The protective effect was detected by MTT assay, reactive oxygen species (ROS) generation, phosphorylation of ATR and p53 in human dermal fibroblast cell system after UV-B irradiation. 7OMP reduced UV-B-induced cellular damage in HDFs cells, and inhibited ROS generation. UV-B-induced toxicity accompanying ROS production and the resultant DNA damage are responsible for activation of ATR, p53 and Bad. In this study, 7OMP hampered phosphorylations of ATR and p53 in human dermal fibroblasts. Therefore, 7OMP may be protective against UV-induced skin photoaging.

Key words : CheonJeongKiBo-Dan, photoaging, ROS, ATR, p53

### 서 론

피부는 외부에 노출되어 있으면서 외부 자극으로부터 신체를 보호하는 역할을 한다. 여러 외부 자극 중 자외선은 광노화를 유발시키는 가장 큰 원인으로 알려져 있고, 자외선에 의한 광노화는 깊은 주름과 색소 침착, 두꺼운 피부, 멜라닌 색소의 과도한 생성, 교원질 섬유소의 변형과 분해 등을 일으킨다. 또한 자외선은 피부 깊숙이 침투하여 ROS를 생성함으로써 세포의 DNA를 파괴시키거나 돌연변이를 일으켜 피부 상태를 악화시킨다<sup>1)</sup>. 결국 자외선에 의한 손상은 자외선으로 인해 생겨나는 과도한 ROS 때문에 일어나는 것으로 전반적인 피부 구조의 변화와 세포분열 감소, 표피와 진피층의 연결 부분이 평평해지며, 진피층의 콜라

겐과 엘라스틴 양의 감소, 세포 내 단백질, 지질 등을 산화시켜서 정상적인 생리 활동을 저해하고 세포 사멸에 이르게 한다<sup>2)</sup>.

최근 한방 화장품 시장 확대와 함께 한방 소재의 다양한 피부 생리 활성에 대한 연구가 이루어지고 있다. 이러한 관점에서 본 저자들은 자외선에 의한 피부 손상을 억제할 수 있는 한방 소재를 개발하기 위하여 7가지 한방 소재로 天精氣保丹을 구성하였다. 구성 약재 중 黃芪(Astragalus membranaceus root)는 콩과에 속하는 다년생 초본 식물로써 益衛固表, 利水消腫, 托毒生肌의 효능이 있어 血病, 浮腫, 癰疽不潰 등의 질환에 사용되고 있으며<sup>3)</sup>, 人蔘은 五加科(Araliaceae)에 속한 다년생 초본인 人蔘(Panax ginseng CA Meyer)의 뿌리를 건조한 것으로 味가 甘微苦하고 性은 微溫, 無毒하며, 肺脾心 腎經으로 歸經한다<sup>4)</sup>. 地黃(Rehmannia Glutinosa root)은 기타 동속식물인 現삼과의 뿌리를 말하며, 黃精(Polygonati rhizoma)은 백합과에 속한 다년생 초본인 등그레의 근경을 건조한 것이다. 芍藥(Paeonia albiflora

\* 교신저자 : 우원홍, 익산시 신용동 344-2, 원광대학교 한의학전문대학원

· E-mail : whwoo@wku.ac.kr, · Tel : 063-850-6845

· 접수 : 2010/11/06 · 수정 : 2010/11/15 · 채택 : 2010/12/09

root)은 미나리 아재비과에 속한 다년생 초본식물로 赤芍藥과 白芍藥으로 구분하여 사용한다. 白芍藥은 자양, 보혈 및 진경작용인 진경, 진통 향균, 항진균작용이 보고되어 있다<sup>5)</sup>. 甘草 (Glycyrrhiza glabra root)는 豆科에 속한 다년생 초본인 우랄감초와 脹果甘草 및 光科甘草의 根 및 根莖으로서, 甘平無毒하고, 調和諸藥의 효능을 가지고 있는 대표적인 다용약물이다<sup>6)</sup>. 五味子 (Schizandra chinensis fruit)는 목련과의 낙엽 덩굴의 열매로써 혈압강하 및 알콜 해독작용뿐만 아니라 암예방, 노화억제, 면역조절작용 등이 보고되었다<sup>7,8)</sup>.

본 연구에서는 항산화, 항염, 면역조절, 세포증식 효과가 보고되어진 이상의 7가지 약재로 天精氣保丹을 구성하고 사람의 진피 섬유모세포(human dermal fibroblasts)에서 항산화 및 세포증식 효과를 조사하였으며, 피부 광노화의 주원인인 UV-유도 세포손상에 대한 天精氣保丹의 세포손상 억제 효과와 그 기전을 조사하였다.

## 재료 및 방법

### 1. 재료

#### 1) 시약

Dulbecco's modified eagle medium(DMEM), 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl(DPPH)은 Sigma(St. Louis, MO)사에서 구입하였다. Fetal bovine serum(FBS), penicillin-streptomycin, trypsin-EDTA는 Lonza(Walkersville, MD) 사에서 구입하였다. 3-(4,5-dimethylthiazol-yl)-diphenyl tetrazolium bromide(MTT)는 DUCHEFA Biochemie(Haarlem, The Netherlands)사에서 구입하였다. p-ATR, p-p53 antibody는 Cell Signaling Technology (Danvers, MA, USA)사에서 구입하였다.

#### 2) 세포주 배양

Human dermal fibroblasts(HDFs) 세포는 10% FBS와 100 U/ml penicillin, 100 µg/ml streptomycin, 0.25 µg/ml amphotericin B를 첨가한 DMEM을 사용하여 37°C, 5% CO<sub>2</sub>에서 배양하였다.

### 2. 방법

#### 1) 시료조제

天精氣保丹(7 Oriental medicinal plants, 7OMP)의 배합 비율은 Table 1와 같이 혼합 70% 에탄올을 10배 넣고 100°C에서 6시간 가열하였다. 거즈로 여과하고 filter paper(No. 2, Advactec, Japan)로 2회 여과한 후 동결건조 하였다. 각각의 단일 추출물도 같은 시료를 조제하였다.

#### 2) DPPH free radical 소거능

활성산소 소거능은 Blotiss 방법<sup>9)</sup>에 의한 DPPH 라디칼 소거법으로 측정하였다. 즉, 天精氣保丹을 메탄올에 녹여 준비하고, 메탄올에 녹인 0.1 mM DPPH 용액을 첨가하여 실온에서 30분간 반응시킨 후 517 nm에서 흡광도를 측정하였다. Vitamin C는 양성 대조군으로 사용하였다.

#### 3) 세포 생존율 측정

세포생존율 측정은 Mosmann의 방법<sup>10)</sup>에 의하여 실시하였다. 24-well 배양 용기에 HDFs 세포를 4×10<sup>4</sup> 개씩 분주하고 24시간 배양 후 추출물을 여러 농도로 처리한 다음 37°C, 5% CO<sub>2</sub> 하에서 1일간 배양하였다. 배양 후 최종 농도 0.5 mg/ml로 MTT 용액을 넣어 3시간 배양한 다음 상층액을 제거하고, 형성된 formazan을 DMSO(1 ml)로 녹여서 ELISA reader를 이용하여 540 nm에서 흡광도를 측정하였다.

#### 4) 활성산소 측정

세포내 활성산소 생성을 측정하기 위하여 24-well plate에 4×10<sup>4</sup> cells/well 농도로 접종하고 24시간 안정화 시킨 후 serum 이 없는 DMEM으로 배지를 교체해 주고 24시간 더 배양하였다. 약제를 처리 후 24시간 배양된 세포는 CM-H2-DCFDA 10 µM이 첨가된 PBS에서 30분간 반응시키고 PBS로 3회 씻어준 다음 DMEM을 넣고 30분간 배양한다. 세포 사진은 형광현미경을 사용하여 찍었다.

#### 5) Western blot 분석

HDFs 세포를 10 cm 배양용기에 3×10<sup>5</sup> 개씩 세포를 부착시키고 약제를 처리하고 24 시간 배양하였다. 배양된 세포를 모두 수거하여 lysis buffer(1× RIPA buffer 1 ml, 1 mM PMSF, 1 µg/ml aprotinin, 1 µg/ml leupeptin, 2 mM DTT, 50 mM NaF, 1 mM 10 mM Na<sub>3</sub>VO<sub>4</sub>)로 30분간 용해시킨 후, 13,000 rpm에서 30분간 원심분리 하여 상층액을 취하였다. 단백질은 Bradford 시약을 이용하여 정량하였고, 계산된 단백질과 2× sample buffer(1 ml glycerol, 0.5 ml β-mercaptoethanol, 3 ml 10% SDS, 1.25 ml 1 M Tris-HCl, 2 µg bromophenol blue)를 동량으로 혼합한 후 총 단백질 40 µg 또는 동량의 배지를 10% SDS polyacrylamide gel에서 전기영동 하였다. PVDF membrane로 전이시키고 5% non-fat skim milk로 blocking 시킨 후, p-ATR, p-p53을 1:1000으로 희석하여 각각 4°C에서 18 시간 반응시키고 TBST로 3회 세척한 후, 2차 antibody를 1:3000으로 희석하여 실온에서 1시간 동안 반응시켰다. TBST로 세척한 후 ECL 용액으로 발색 후 ChemiDoc을 이용하여 band의 사진을 촬영하였다.

#### 6) 통계처리

실험 결과는 student's t-test를 이용하여 p-value를 구하였으며, p<0.05인 경우 \*, p<0.005인 경우 \*\*로 유의성이 있다고 표시하였다.

Table 1. Prescription of Cheonjeongkibo-dan (7OMP)

Oriental Cru de Drug	Scientific name	Dose (g)
人蔘	PANAX GINSENG ROOT EXTRACT:PGRE	20
甘草	GLYCYRRHIZA GLABRA (LICORICE) ROOT EXTRACT:GGRE	20
五味子	SCHIZANDRA CHINENSIS FRUIT EXTRACT:SCFE	20
黃精	POLYGONATUM ODORATUM EXTRACT:POE	10
白芍藥	PAEONIA ALBIFLORA ROOT EXTRACT:PAE	10
黃芪	ASTRAGALUS MEMBRANACEUS ROOT EXTRACT:AMRE	15
地黃	REHMANNIA GLUTINOSA ROOT EXTRACT:AGRE	5
Total amount		100 g

## 결 과

### 1. DPPH free radical 소거 효과

항산화 효과를 측정하는 실험 중 DPPH는 실제 항산화 효과와 연관성이 있으며 ascorbic acid, polyhydroxy 방향족 화합물 등의 항산화제에 의해 환원되어 같은 자색이 노란색으로 탁색되는 정도를 측정하는 것으로 항산화 물질의 수소공여능을 측정하는 것이다. 天精氣保丹과 각각의 단일 약재의 DPPH radical 소거능을 평가하였다. 실험 결과 天精氣保丹은 우수한 라디칼 소거능을 보였다. 또한 天精氣保丹의 7가지 약재 중 人蔘 1% 처리 시 81.4%로 가장 좋은 효과를 나타내었으며, 黃芪>甘草>黃精>地黃>芍藥>五味子 순으로 조사되었다(Fig. 1).

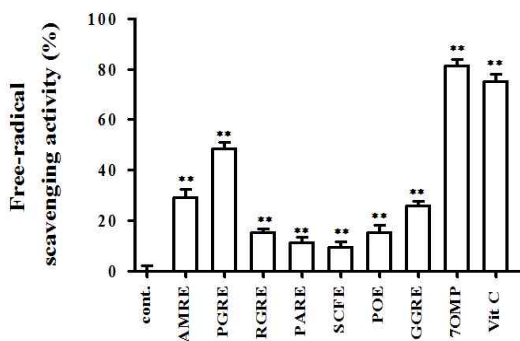


Fig. 1. Free radical scavenging activity of extracts from 7OMP and other plants. Free radical inhibition activity was defined as relative ratio of the free radicals to be inhibited with respect to the control. \*\*p<0.005

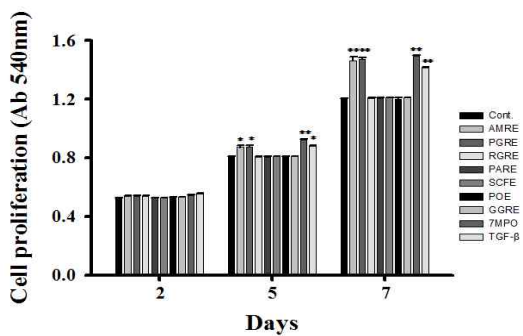


Fig. 2. 7OMP and other plants extracts stimulate the proliferation of human dermal fibroblast cells. Human dermal fibroblast cells were plated at  $3 \times 10^4$ /well in 96-well plates at day 0 and cultured for 7 days in DMEM supplemented with 10% FBS. The results indicate proliferation per well measurement at 2, 5, and 7 days after initial treatments. Represents increase in human dermal fibroblast cells proliferation by 7OMP and other extract. \*p<0.05, \*\*p<0.005. Positive control : TGF-β (10 ng/ml).

### 2. 세포 증식에 미치는 영향

노란색의 MTT가 살아있는 세포의 mitochondria에 의해 흡수되어 불용성인 dark blue formazan으로 변화하는 원리를 이용하여 세포증식을 측정하는 방법인 MTT assay를 이용하여 天精氣保丹 및 각각의 단일 추출물이 세포증식에 미치는 영향을 조사하였다. 실험 결과 黃芪와 人蔘은 HDFs의 증식을 대조군 보다 증가시켰으며, 특히 天精氣保丹은 상승효과를 나타내었다. 또한 天精氣保丹은 TGF-β 보다도 더 높은 세포 증식효과를 보였다

(Fig. 2). 이러한 결과는 天精氣保丹이 HDFs의 세포증식을 향상 시키며 단방 보다는 복방으로 사용하는 것이 상승효과를 나타낼 수 있음을 보여주는 것이다.

### 3. 天精氣保丹의 세포내 ROS 생성 억제

UV-B에 노출된 세포는 ROS를 생성하고 MMP-1의 발현을 증가시켜 주름생성을 일으킬 뿐만 아니라 DNA를 손상시킨다. 자외선에 의한 손상은 자외선에 의해서 생겨나는 과도한 활성 산소종 때문에 일어나는 것으로 세포 내 단백질, 지질 등을 산화시켜서 정상적인 생리 활성을 저해하고 세포 사멸에 이르게 한다<sup>11)</sup>. 본 실험에서는 天精氣保丹과 黃芪, 人蔘이 UV-B 조사로 유도되는 ROS 생성을 억제하는지 알아보고자 DCF 염색을 실시하였다(Fig. 3). 각각의 약재를 24시간 전처리 하고 UV-B 조사 후 24시간 배양하여 ROS 생성에 미치는 영향을 형광현미경을 사용하여 관찰하였다. 실험 결과 UV-B 조사군에서 생성된 ROS가 黃芪, 人蔘, 天精氣保丹 처리군에서 감소됨을 관찰할 수 있었으며, 특히 天精氣保丹 3% 처리군에서 대조군 수준으로 ROS 생성이 감소되었음을 알 수 있었다.

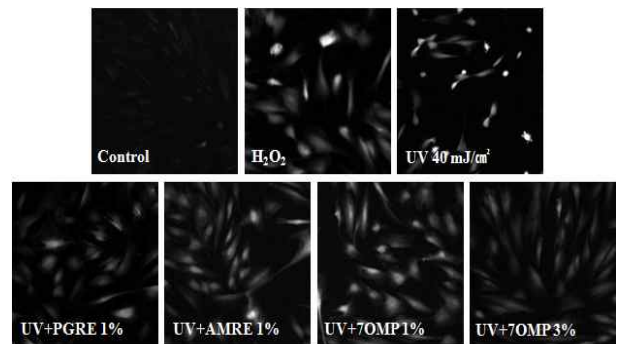


Fig. 3. Intracellular oxidant generations in PGRE, AMRE, and 7OMP-treated human dermal fibroblasts challenged with UV-B irradiation. Confluent cells were untreated or stimulated by 40 mJ/cm<sup>2</sup> UV-B prior to incubation for 24 hr and loaded with CM-H2-DCFDA. Oxidant generation was measured by DCF fluorescence. Representative fluorescent images of no UV-B controls and UV-B-irradiated cells were measured using a fluorescence microscopy.

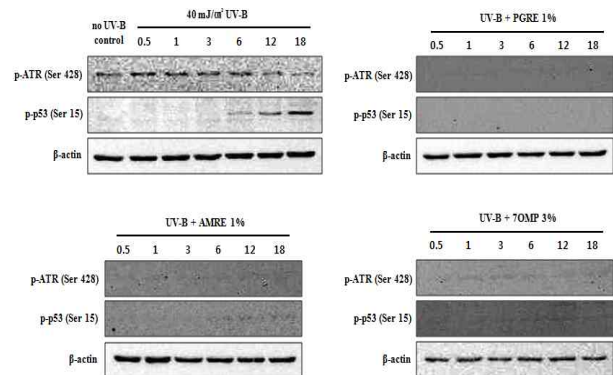


Fig. 4. Western blot data showing phosphorylations of ATR at Ser428 and p53 at Ser15 in UV-B-exposed and PGRE, AMRE or 7OMP-treated human dermal fibroblasts. Confluent fibroblasts were exposed to 40 mJ/cm<sup>2</sup> UV-B incubation in presences of PGRE 1%, AMRE 1% and 7OMP 3%.

#### 4. 天精氣保丹의 DNA 손상 억제 효과

본 실험에서 UV-B를 조사한 HDFs에서 ATR의 인산화가 30분부터 확인되었으며 6시간 이후 감소되었고, p53의 인산화는 6시간부터 18시간까지 확인되었다(Fig. 4). 반면에 黃芪와 人蔘 1%를 처리한 경우에는 이것들의 인산화가 관찰되지 않았으며, 天精氣保丹 3% 처리한 경우에도 ATR과 p53의 인산화가 일어나지 않았다(Fig. 4). 비록 Bad의 활성화는 확인하지 않았지만 Ser15에서 인산화된 p53의 하위 표적이 Bad 임은 잘 알려진 사실임으로 활성화 되었을 것으로 예상된다.

## 고찰

태양 빛은 지구 생명체들의 생명 유지를 위해서 반드시 필요한 존재이나 자외선은 에너지가 너무 강해서 만성적으로 노출되면 피부에 홍반이 발생하고 일광 화상을 입게 되며, 피부 광노화가 일어난다. 최근 화장품 업계에서는 한방 화장품 시장 확대와 함께 한방 소재의 다양한 피부 생리 활성을 연구하고 이를 제품화하기 위해 많은 노력을 기울이고 있다. 이런 관점에서 7가지 한방 소재를 사용한 天精氣保丹이 자외선에 의한 피부 손상을 억제할 수 있는지 확인하여 제품 개발에 응용하고자 하였다.

본 실험에 사용한 天精氣保丹의 7가지 구성 약재의 약리작용으로 黃芪(*Astragalus membranaceus* root)는 LDL 산화를 억제하고<sup>12)</sup>, RAW 264.7 세포에서 COX-2 활성을 억제하고<sup>13)</sup>, 지질 과산화 억제 작용<sup>14)</sup>, UV에 의한 세포생존율과 DNA 손상 보호 효과<sup>15)</sup>가 보고되었다. 人蔘은 다양한 종류의 ginsenoside가 유효 성분으로 규명되어 있으며<sup>16)</sup>, 면역활성<sup>17)</sup>, 항염<sup>18)</sup>, 생식 호르몬 활성작용<sup>19)</sup>, 항산화<sup>20)</sup>, 항스트레스<sup>21)</sup>, 혈당 강하<sup>22)</sup>, 혈관 확장<sup>23)</sup>, 지질 억제<sup>24)</sup>, 및 발기력 향상<sup>25)</sup> 효과 등이 알려져 있다. 地黃(*Rehmannia glutinosa* root)은 기타 동속식물인 현삼과의 뿌리를 사용하는 것으로 약리 작용으로 항노화, 갑상선기능 항진에 대한 개선작용이 있다. 芍藥(*Paeonia albiflora* root)은 미나리제비과 및 芍藥과 芍藥속에 속한 다년생 초본식물로 赤芍藥과 白芍藥으로 구분하여 사용한다. 白芍藥은 자양, 보혈 및 진경작용인 진경, 진통, 항균, 항진균작용이 보고되었다<sup>9)</sup>. 五味子(*Schizandra chinensis* fruit)는 목련과의 낙엽 덩굴의 열매로써 혈당 강하작용, 간기능 복구, 항균, 항궤양, 항암 효과<sup>26)</sup> 등이 보고되어 있다. 黃精(*Polygonati rhizoma*)은 백합과에 속한 다년생초본인 등그레의 근경을 건조한 것으로 혈당강하 효과가 있다<sup>27)</sup>. 甘草(*Glycyrrhiza glabra* root)의 약리작용으로는 해독작용, 진통 및 항경련 작용, 항우울 작용, 면역 작용, 신장염, 전립선암, 텔라닌 형성 억제 등의 효능이 있는 것으로 알려져 있다<sup>28-32)</sup>.

본 연구에서는 天精氣保丹의 전자 공여능을 알아보기 위하여 DPPH 라디칼 소거능 법을 이용하였다. 각각의 단일 약재와 天精氣保丹의 DPPH 라디칼 소거능을 알아본 결과 天精氣保丹은 우수한 라디칼 소거능을 보였다. 또한 天精氣保丹의 7가지 약재 중 人蔘이 1% 처리 시 81.4%로 가장 좋은 효과를 나타내었으며, 黃芪>甘草>黃精>地黃>芍藥>五味子 순으로 조사되었다. 과도한 자외선에 노출된 피부는 활성 산소종(reactive oxygen

species; ROS)이 과도하게 생성하게 되고 세포는 산화적 손상을 입게 된다.

UV-B에 의해 증가된 ROS는 사람 섬유아세포주의 세포 사멸과 세포막 손상 그리고 DNA 손상을 일으킨다. 본 실험에서 天精氣保丹은 UV-B 조사로 유도된 ROS 생성을 효과적으로 억제하였으며, 人蔘과 黃芪 또한 ROS를 효과적으로 억제하였다. UV-B 조사로 시작되는 산화적 스트레스는 DNA 손상을 일으키고 ATR1을 활성화시킨다. ATR1의 활성화는 p53의 인산화를 유도함으로써 apoptotic Bad를 활성화시킨다. 따라서 UV-B에 노출된 피부는 DNA 손상-ATR1-p53-Bad로 이어지는 신호전달 과정을 통해 세포사멸을 유도하게 된다. 본 실험에서 天精氣保丹은 UV-B로 유도된 ATR 인산화와 p53 인산화를 효과적으로 억제하였다. 또한 人蔘과 黃芪도 ATR과 p53의 인산화를 억제하고 있음을 보여주었다. 자외선은 직접적으로 DNA를 손상시켜 pyrimidine dimers를 만들과 이중나선을 끊어지게 하고, 이차 신호전달과정을 통해서 제 1형 콜라겐의 합성을 저해하고 세포외 기질을 분해하는 MMPs의 생성을 유발하여 주름 생성을 촉진하게 된다. 또한 DNA 손상은 홍반과 면역력 저하, 색소 침착, 피부암의 유발 원인이 되기도 한다. 그러므로 자외선에 의한 세포 손상과 DNA 손상을 억제하면 피부를 보호할 수 있다.

본 실험결과, 天精氣保丹은 인체 피부 섬유아세포(HDFs)의 증식을 유도하였고, UV-B로 인한 ROS 생성을 억제하였으며, DNA 손상과 관련된 ATR과 p53의 활성을 억제하였으므로 피부 손상의 근본적인 원인을 억제할 수 있을 것으로 기대된다.

## 결론

본 연구 결과 天精氣保丹은 DPPH radical을 효과적으로 제거하였으며, 양성 대조군으로 사용한 비타민 C 보다 radical 소거능이 높은 것으로 나타났다. 또한 天精氣保丹을 구성하는 각각의 약재별 DPPH radical 소거능 보다 더 높았다. 天精氣保丹은 인체 피부 섬유아세포(HDFs)의 증식을 유도하고 UV-B로 증가된 ROS 생성을 효과적으로 억제하였을 뿐만 아니라 DNA 손상으로 인해 활성화되는 ATR의 인산화와 하위 표적인 p53 (Ser15)의 인산화 또한 억제하고 있음을 확인하였다. 이러한 결과들은 단일 약재의 효과보다 복합처방으로 추출한 天精氣保丹에서 더 좋은 효능을 보였다. 따라서 天精氣保丹은 UV로 인한 세포손상을 막고 광노화를 개선 시켜줄 수 있을 것으로 기대된다.

## 참고문헌

1. Kang, S., Cho, S., Chung, J.H., Hammerberg, C., Fisher, G.J., Voorhees, J.J. Inflammation and extracellular matrix degradation mediated by activated transcription factors nuclear factor-kB and activator protein-1 in inflammatory acne lesions in vivo. *Am J. Pathol.*, 166: 1691-1699, 2005.
2. Matsumura, Y. and Ananthaswamy, H.N. Toxic effects of ultraviolet radiation on the skin. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*

- 195: 298-308, 2004.
3. 全韓國醫科大學 本草學教授 共編著. 本草學. 서울, 영림사, p 535, 1995.
  4. 安徳均. 韓國本草圖鑑. 서울, 도서출판 교학사, pp 644-645, 1998.
  5. Park, Y.J., Ho, Y., Shu, H.S., Shin, J.W., Lee, S.K. Distribution of Medicinal Constituents and content Korean J. Bread. 25: 146-150, 2003
  6. 辛民敎. 臨床本草學. 서울, 永林社, pp 172-173, 1997.
  7. Ohtaki, Y., Hida, T., Hiramatsu, K., Kanitani, M., Ohshima, T., Nomura, M., Wakita, H., Aburada, M., Miyamoto, K.I. Deoxycholic acid as an endogenous risk factor for hepatocarcinogenesis and effects of gomisins A, a lignan component of Schizandra fruits. Anticancer Res. 16: 751-755, 1996.
  8. Nishiyama, N., Chu, P.J., Saito, H. A herbal prescription, S113m, consisting and Schizandra, improves learning performance in senescence accelerated mouse. Biol pharm Bull. 19: 388-393, 1996.
  9. Blois, M.S. Antioxidant determination by the use a stable free radical. Nature 26: 1199-1200, 1958.
  10. Mosmann, T. Rapid colorimetric assay for the cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxic assay. J Immun Methods. 65: 55, 1983.
  11. Dean, R.T., Fu, S., Stocker, R., Davies, M.J. Biochemistry and pathology of radical-mediated protein oxidation. Biochem J. 324: 1-18, 1997.
  12. 김은정, 양기숙. 黃芪의 저밀도지질단백질 산화에 미치는 영향. 약학회지 45: 529-535, 2001.
  13. 김은정, 오오진, 이상국, 양기숙. 黃芪의 COX-2 활성 억제 효과. 생약학회지 32: 311-315, 2001.
  14. 김은정, 양기숙. 黃芪의 지질과산화 억제작용. 약학회지 49: 11-19, 2005.
  15. 이진영, 박혜윤, 염명훈, 김덕희, 김한근. 黃芪의 자외선에 의한 세포 손상을 막는 보호 효과. 생약학회지 39: 300-304, 2008.
  16. Hasegawa, H. Proof of the mysterious efficacy of ginseng: basic and clinical trials: metabolic activation of ginsenoside: deglycosylation by intestinal bacteria and esterification with fatty acid. J Pharmacol Sci. 95: 153-157, 2004.
  17. See, D.M., Broumand, N., Sahl, L., Tilles, J.G. In vitro effects of echinacea and ginseng on natural killer and antibody-dependent cell cytotoxicity in healthy subjects and chronic fatigue syndrome or acquired immunodeficiency syndrome patients. Immunopharmacology. 35: 229-235, 1997.
  18. Park, E.K., Choo, M.K., Kim, E.J., Han, M.J., Kim, D.H. Antiallergic activity of ginsenoside Rh2. Biol pharm Bull. 26: 1581-1584, 2003.
  19. Lee, Y., Jin, Y., Lim, W., Ji, S., Choi, S., Jang, S., Lee, S. A ginsenoside-Rh1, a component of ginseng saponin, activates estrogen receptor in human breast carcinoma MCF-7 cells. J Steroid Biochem Mol Biol. 84: 463-468, 2003.
  20. Liu, Z.Q., Luo, X.Y., Liu, G.Z., Chen, Y.P., Wang, Z.C., Sun, Y.X. In vitro study of the relationship between the structure of ginsenoside and its antioxidative or prooxidative activity in free radical induced hemolysis of human erythrocytes. J Agric Food Chem. 51: 2555-2558, 2003.
  21. Kim, D.H., Moon, Y.S., Jung, J.S., Min, S.K., Son, B.K., Suh, H.W., Song, D.K. Effects of ginseng saponin administered intraperitoneally on the hypothalamo-pituitary-adrenal axis in mice. Neurosci Lett. 343: 62-66, 2003.
  22. Dey, L., Xie, J.T., Wang, A., Wu, J., Maleckar, S.A., Yuan, C.S. Anti-hyperglycemic effects of ginseng: comparison between root and berry. Phytomedicine. 10: 600-605, 2003.
  23. Kim, N.D., Kim, E.M., Kang, K.W., Cho, M.K., Choi, S.Y., Kim, S.G. Ginsenoside Rg3 inhibits phenylephrine-induced vascular contraction through induction of nitric oxide synthase. Br J Pharmacol. 140: 661-670, 2003.
  24. Kim, S.H., Park, K.S. Effects of panax ginseng extract on lipid metabolism in humans. Pharmacol Res. 48: 511-513, 2003.
  25. Hong, B., Ji, Y.H., Hong, J.H., Nam, K.Y., Ahn, T.Y. A double-blind crossover study evaluating the efficacy of korean red ginseng in patients with erectile dysfunction: a preliminary report. J Urol. 168: 2070-2073, 2002.
  26. Kwon, J., Lee, S.J., SO, J.N., Oh, C.H. Effects of Schizandra chinensis fructus on the immunoregulatory action and apoptosis of L1210 cells. Korean J Food Sci Technol. pp 384-388, 2001.
  27. Akhtar, M.S., Ali, M.R. Study of hypoglycaemic activity of Cuminum nigrum seeds in normal and alloxan diabetic rabbits. Planta Med. 51: 81-85, 1985.
  28. Zhao, Z., Wang, W., Guo, H., Zhou, D. antidepressant-like effect of liquiritin from Glycyrrhiza uralensis in chronic variable stress induced depression model rats. Behav Brain Res. 194: 108-113, 2008.
  29. Fukai, T., Satoh, K., Nomura, T., Sakagami, H. Preliminary evaluation of antinephritis and radical scavenging activities of glabridin from Glycyrrhiza glabra. Fitoterapia. 74: 624-629, 2003.
  30. Matsumoto, T., Tanaka, M., Yamada, H., Cyong, J.C. Effect of licorice roots on carrageenan-induced decrease in immune complexes clearance in mice. J Ethnopharmacol. 53: 1-4, 1996.
  31. Fu, Y., Hsieh, T.C., Guo, J., Kunicki, J., Lee, M.Y.W.T.,

Darzymkiewicz, Z., Wu, J. licochalcone-A, a novel flavonoid isolated from licorice root (*Glycyrrhiza glabra*), causes G2 and late-G1 arrests in androgen -independent PC-3 prostate cancer cells. *Biochem Biophys Res Commun.*

322: 263-270, 2004.

32. 문연자, 김 진, 임난영, 이승연, 박섭, 황충연, 우원홍. 감초 물추출물의 멜라닌 형성 억제효과. *동의생리병리학회지* 16: 1230-1235, 2002.