생 약 학 회 지
Kor. J. Pharmacogn.
48(3) : 195 ~ 201 (2017)

홍삼가수분해추출물(GS-E3D)의 항산화 및 양모 효과

표미경[1*] · 홍세철[1] · 정종태[1] · 조윤호[1] · 이기무[2]
[1](재)금산국제인삼약초연구소, [2](주)세화피앤씨

Anti-Oxidant and Hair-Growth-Promoting Effect of Pectin Lyase-Modified Red Ginseng Extract (GS-E3D)

Mi Kyung Pyo[1*], Se Chul Hong[1], Jong Tae Jung[1], Yun Ho Jo[1] and Ki Moo Lee[2]
[1]International Ginseng & Herb Research Institute, Geumsan 312-804, Korea
[2]SEWHA P&C Co., Ltd. 36 Euam-gil, Chung-buk 27860, Korea

Abstract – To develop new therapy for prevention and treatment of hair loss is very important according to increase of the number of hair loss people. The aim of this study was to investigate the hair growth promoting effects of pectin lyase-modified red ginseng extract (GS-E3D). We examined antioxidant and anti-inflammatory effects, human hair dermal papilla cells (HHDPC) proliferation, and testoterone-induced 5α-reductase inhibitory effects. GS-E3D show not only 1,1-diphenyl-2-picryhydrazyl (DPPH) radical scavenging activity and xanthine oxidase inhibitory effects as an anti-oxidant property, but also lipoxygenase and hyaluronidase inhibitory effects as an anti-inflammatory property. Human hair dermal papilla cells proliferation by GS-E3D was higher than those of minoxidil or finasteride, using the positive controls. Moreover, GS-E3D exhibited 5α-reductase inhibitory activities after stimulating by testoterone. The present results indicate that GS-E3D has a potential to be as an hair growth promoting agent for cosmetic materials.

Keywords – GS-E3D, *Panax ginseng,* 5α-Reductase, HHDPC proliferation

모발은 자외선이나 충격으로부터 두피를 보호할 뿐만 아니라 인체를 장식하는 기능도 있어 경제력이 향상되고 외모에 대한 관심이 증가하는 현대인들에게 매우 중요한 요소가 되고 있다. 탈모증이 과거에는 유전에 의한 것으로 생각하였으나 탈모의 원인은 유전, 노화, 스트레스, 두피의 혈액순환불량, 안드로겐 분비과잉, 지루성 피부염, 영양결핍, 갑상선 기능 저하 등 다양한 것으로 알려져 있다.[1)] 현재 모발성장을 촉진하는 약물로는 minoxidil, finasteride 등이 있으나, 심혈관계 장애, 피부자극, 체중증가, 부종, 남성성기능 장애, 기형아 출산 등의 부작용이 보고되어 보다 안전한 천연유래의 물질개발을 필요로 하는 실정이다.[2)]

고려인삼(*Panax ginseng* C. A. Meyer)은 우리나라를 비롯한 동아시아에서 수천 년간 사용되어져 왔던 전통 약물[3)]로 면역력 증진,[4)] 항피로 작용,[5)] 항산화,[6)] 간기능 회복,[7)] 혈당강화,[8)] 콜레스테롤 개선,[9)] 및 기억력 개선[10)] 등 다양한 효능이 밝혀지면서 식의약품 뿐만 아니라 향장품 소재로서도 많이 이용되고 있다. 고려인삼의 대표적인 약리활성 물질로는 ginsenoside가 알려져 있으며, ginsenoside Rg1, Re, Rb1, Rb2, Rc 및 Rd 등 주요 ginsenoside를 포함하여 현재까지 약 40여종이 알려져 있다.[11)] Ginsenoside는 dammarane 골격의 terpenoid를 함유한 배당체로서 당의 결합위치에 따라 protopanaxatriol(PPT) 계열과 protopanaxadiol(PPD) 계열 ginsenoside로 구분할 수 있는데, ginsenoside Rd는 PPD 계열 사포닌인 ginsenoside Rb1, Rb2, Rc 등으로부터 미생물이나 효소에 의한 생물전환에 의해 다량 생산되는 것으로 알려져 있다.[12,13)] Ginsenoside Rd는 항산화 작용,[14)] 항염증,[14,15)] 신경보호 작용[16)] 등이 알려져 있고, 특히 hair follicle 세포의 증식과 분화를 조절하여 모발을 성장하게 하는 역할을 하는 것으로 보고되었다.[17)] 본 연구에서는 홍삼 추출물을 효소 가수분해하여 ginsenoside Rd의 함량을 증가시킨 표준화된 고려인삼 소재 GS-E3D의 항산화 및 모발 성장과 관련된 인자들의 분석을 통하여 모발관련 화장품 개발 소재로의 활용 가능성을 검토하고자 하였다.

*교신저자(E-mail) : pmk67@ginherb.re.kr
(Tel) : +82-41-750-1642

재료 및 방법

GS-E3D 제조 – 실험에 사용된 홍삼은 우신산업(충남 금산)에서 4년근을 구입하여 사용하였고, GS-E3D는 이전에 보고된 방법[18]에 의해 만들어졌다. 요약하면, 5 brix 홍삼추출물에 중량대비 10%의 pectin lyase를 넣고 50°C에서 5일간 반응시킨 후 95°C에서 효소를 불활성화한 다음 진공 건조하여 분말화하여 시료로 사용하였다. GS-E3D는 ginsenoside Rg1 4.49 mg/g, Re 9.5 mg/g, Rf 3.5 mg/g, Rb1 12.7 mg/g, Rc 10.5 mg/g, Rb2 13.2 mg/g, Rb3 1.9 mg/g, Rd 20.8 mg/g, 20(S)-Rg3 1.0 mg/g, 20(R)-Rg3 1.0 mg/g, Rk1 0.6 mg/g, Rg5 1.1 mg/g이 함유되어 있는 것을 사용하였다.

Ginsenoside 함량 분석 – Ginsenoside 분석을 위하여 GS-E3D 시료 10 mg을 1 mL 메탄올에 녹여 0.45 μm 멤브레인 필터로 여과하여 시험용액으로 사용하였다. 정량 분석 시 다음의 두가지 용매계로서 농도기울기법을 사용하였다. 이동상은 water(A)와 CH_3CN(B)의 비율을 18%(0분)에서 25%(30분), 32%(40분), 40%(79분), 80%(90분), 100%(95분)으로 순차적으로 변화시켜주고 다시 18%(120분)로 조절하였다. 분석기기는 Waters사의 1525 series HPLC(USA)를 사용하였고, 컬럼은 Kinetex C18 100A(Phenomenex, USA), 5 μm 250 mm×4.6 mm을 사용하였다. 컬럼 온도는 40°C, 유속은 분당 1.0 mL, 시료 주입량은 20 μL, 검출조건은 PDA Detector(Water, 2998)에서 203 nm 조건하에 분석을 진행하였다.

DPPH radical 소거능 – DPPH(1,1-diphenyl-2-picryhydrazyl)는 radical 상태에서 보라색을 띠고, 환원이 되면 노란색의 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazine(DPPH-H)으로 변환된다.[19] GS-E3D의 농도별 시료의 전자공여능은 DPPH의 환원력을 이용하여 측정하였다. 즉 각 시료 100 μL에 95% 에탄올에 용해시킨 135 μM DPPH 용액 100 μL를 첨가하여 37°C에서 30분간 암실에서 반응시킨 후 96 well microplate reader를 사용하여 515 nm에서 흡광도를 측정하였고, 양성대조군으로 ascorbic acid를 사용하였다.

Hydroxyl radical 제거능 – Hydroxyl radical 소거능은 Parthasarathi 등[20]의 방법을 수정하여 측정하였다. Hydroxyl radical은 $FeSO_4$ 350 μL와 H_2O_2 350 μL, GS-E3D의 농도별 시료 100 μL을 첨가하여 37°C에서 10분간 반응시킨 후, 20 mM sodium salicylate 200 μL를 넣고 37°C에서 20분간 반응시킨 후 562 nm에서 흡광도를 측정하였고, 양성대조군으로 ascorbic acid를 사용하였다.

Fe^{2+} Chelating 활성능 – Fe^{2+} Chelating 활성능을 측정하기 위하여 GS-E3D의 농도별 시료 100 μL와 $FeCl_2$ 100 μL에 증류수 600 μL를 넣고 혼합하였다. 이 혼합물을 상온에서 30분 동안 반응시킨 후 5 mM ferrozine 200 μL을 혼합물에 첨가하였고, 이 혼합물을 다시 상온에서 30분간 반응시킨 뒤 혼합시료를 562 nm에서 흡광도를 측정하였고, deferoxamine을 양성대조군으로 사용하였다.

Xanthine oxidase 저해 활성 – Xanthine oxidase 저해 활성은 Stripe와 Corte의 방법[21]에 따라 측정하였다. GS-E3D의 농도별 시료 용액 100 μL와 100 mM potassium phosphate buffer(pH 7.8) 600 μL에 2 mM xanthine 200 μL를 첨가하고 xanthine oxidase(0.2 unit/mL) 100 μL를 가하여 37°C에서 5분간 반응시킨 후 1 N HCl 1 mL를 가하여 반응을 종료시킨 다음 반응액 중에 생성된 uric acid의 양을 292 nm에서 흡광도를 측정하였고, 양성 대조군은 glycyrrhizinic acid를 사용하였다. Xanthine oxidase 소거능(%)은 [1–(시료첨가군의 흡광도/대조군의 흡광도)]×100으로 나타내었다.

Hyaluronidase 저해 활성 – Hyaluronidase(HAase) 저해 활성은 Kim 등[22]의 방법에 따라 측정하였다. 즉, 0.1 M acetate buffer(pH 3.5)에 녹인 HAase(7900 U/mL) 0.05 mL에 GS-E3D의 농도별 시료 용액 0.1 mL에 혼합하여 37°C에서 20분간 반응시키고 0.1 M acetate buffer(pH 3.5)에 녹인 hyaluronidase(12 mg/mL)를 첨가하여 다시 37°C에서 40분간 반응시킨 후 0.4 N potassium tetraborate 0.1 mL에 0.4 N NaOH 0.1 mL을 수욕상에서 3분간 가열한 후 냉각시켰다. 냉각시킨 반응물에 p-dimethylaminobenzaldehyde(DMAB) 3 mL 넣고 37°C에서 20분간 반응하여 585 nm에서 흡광도를 측정하였고, 양성 대조군은 glycyrrhizinic acid를 사용하였다.

Lipoxygenase 저해 활성 – Lipoxygenase 활성 측정은 기존의 방법[23]을 수정하여 실험 하였다. 즉 반응군은 0.1 M tris buffer(pH 8.5) 2 mL와 시료용액 0.02 mL를 첨가하고 lipoxygenase(500 U/mL) 0.03 mL를 첨가하여 18°C에서 5분간 배양한 다음 110 μM linolenic acid 0.05 mL를 첨가하여 20분간 반응시켜 254 nm에서 측정하였다.

모유두세포(HHDPC) 증식률 – 모유두세포(Human hair dermal papilla cells, HHDPC)는 ScienCell로부터 분양받아 사용하였다. 모유두세포주(HHDPC)를 96 well plate에 1×10^4 cells/well이 되도록 100 μL씩 분주하고 37°C에서 24시간 동안 MSCM(Mesenchymal Stem Cell Medium) 배지에 배양시켰다. 전 배양에 사용된 배지를 제거하고 배지 100 μL에 GS-E3D의 농도별 시료 를 첨가한 후 37°C에서 72시간 동안 배양시켰다. 그 후 각 well에 EZ-Cytox reagent 10 μL씩 첨가하여 동일한 배양 조건에서 1시간 배양시켰다. 이 plate를 10초간 혼합하고 ELISA reader(MD, USA)로 450 nm에서 흡광도를 측정하였다.

Western blot을 통한 단백질의 발현 측정 – HHDPC 세포를 60 mm tissue culture dish에 1×10^4 cells/well에 되도록 분주하고 24시간 동안 배양하였다. 배지를 제거한 후 GS-E3D의 농도별 시료를 처리한 배지로 교환하고 24시간 배

양한 후 PBS로 세척하였다. Lysis buffer 100 μL를 첨가하여 세포를 용해시키고 원심분리하여(4°C, 12,000 rpm, 20 min) 세포막 성분들을 제거하였다. 원심 분리하여 얻은 단백질은 bradford assay로 정량하였으며, 60 μL의 단백질을 10%의 SDS-PAGE를 이용하여 전기 영동한 후, 항체의 비특이적 결합을 억제시키기 위해 PVDF membrane에 옮긴 다음 30-40 V에서 2시간 이상 이동하였다. PVDF membrane은 5% skim milk로 overnight 시켜 background는 제거시킨 후, 1차 antibody(1:1000)를 1시간 동안 반응 시켜 붙인 후 다시 2차 antibody(1:1000)를 붙이고 ECL kit(Amersham Pharmacia, England)를 이용하여 Chemi doc(Bid-rad, America)으로 단백질 발현량을 측정하였다.

통계분석 – 실험결과는 3반복 실험을 통하여 평균±표준편차(mean±S.D.)로 표시하였으며, 통계처리는 SPSS 21 (SPSS Inc., Chicago, USA) 통계프로그램을 이용하여 Independent-sample *t*-test 또는 ANOVA 분석과 Tukey B[a] 다중검정에 의해 $p<0.05$ 수준에서 평균간의 유의성을 판정하였다.

결과 및 고찰

DPPH radical 소거능 – 생체내에서 생성된 활성산소는 세포구성 성분들을 연쇄적으로 파괴하여 여러 장기의 기능적 손상을 입혀 다양한 질병을 유발시키며, 두피세포에서도 산화성 스트레스로 인한 염증을 일으켜 탈모를 유발시키는 것으로 알려져 있다.[24] 탈모증 치료 및 예방에 있어서도 항산화제는 중요한 요소로서 천연물에서 항산화를 타켓으로 하는 탈모 방지 또는 양모제를 찾아내고자 하는 노력이 계속되고 있다. DPPH radical 소거능은 천연물에서 항산화 물질을 찾아내는데 가장 많이 이용되는 방법으로,[20] GS-E3D의 DPPH radical 소거능은 100 μg/mL농도에서 약 38.1%, 200 μg/mL 농도에서 약 40.2%, 400 μg/mL 농도에서 약 45.4%, 그리고 800 μg/mL 농도에서 약 62.2%로 농도 의존적으로 소거능이 높게 나타났다(Fig. 1A). 대조군으로 사용한 ascorbic acid의 DPPH radical 소거능은 400 μg/mL에서 97.1%로 나타나, GS-E3D는 ascorbic acid 대비 약 46.7% 정도의 소거능을 나타내는 것으로 확인되었으며, 이러한 효과는 GS-E3D에 함유된 폴리페놀 성분 등에 의한 것으로 사료되었다.

Hydroxyl radical 제거능 – Hydroxyl radical은 활성산소 라디칼 중에서 화학적으로 반응성이 가장 강하며, 지질산화를 개시하고 DNA 손상을 주거나 돌연변이를 유발하는 등 생체분자들에 심각한 손상을 초래하기 때문에 hydroxyl radical의 소거능은 항산화제의 중요한 조건이라 여겨지고 있다.[25] GS-E3D는 100 μg/mL 농도에서 약 5.5%, 200 μg/mL 농도에서 약 6.7%, 400 μg/mL 농도에서 약 9.7%, 그리

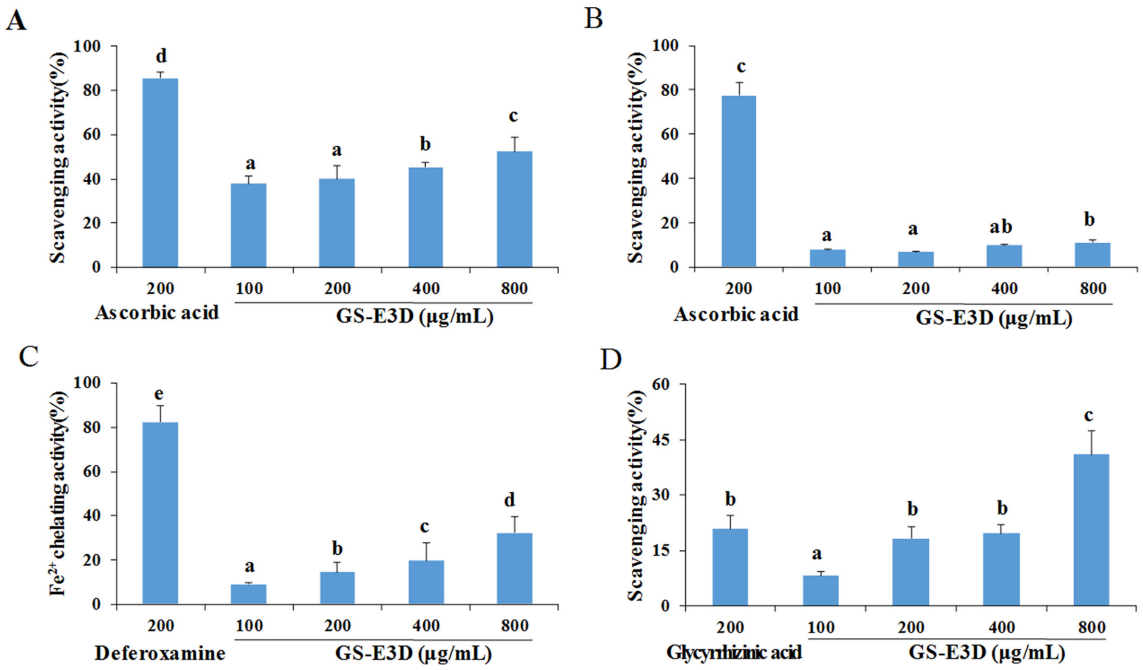

Fig. 1. DPPH free radical (A), hydroxyl radical scavenging activities (B), Fe^{2+} chelating activities (C), and xanthine oxidase inhibitory activities (D) of GS-E3D. The values are %inhibition compared with vehicle treated group. Results are means±S.D. of three repeated experiments. Same letters (a-e) are not significantly different at $p<0.05$ by Tukey's multiple range test after one-way analysis of variance (ANOVA). Ascorbic acid, deferoxamine, and glycyrrhizinic acid used as positive control.

고 800 μg/mL 농도에서 약 11%로 hydroxyl radical 소거능이 나타나 대조군으로 사용한 ascorbic acid 400 μg/mL 농도에서 약 89.9% 정도의 hydroxyl radical 제거 능력보다 낮은 활성을 보였다(Fig. 1B). Parthasarathi 등[20]에 의한 백삼과 홍삼 추출물의 hydroxyl radical 제거능도 20% 미만으로 나타나 이와 비슷한 결과를 보여주었다.

Fe^{2+} Chelating 활성능 – 철(Fe)은 헤모글로빈 등 생체 단백질의 중요한 구성요소로 산소운반과 세포호흡 등 생리 과정에서 필수 요소이다. 그러나, 철 이온 과잉은 철과 생체 내 존재하는 H_2O_2와의 Fenton reaction에 의해 세포노화 및 세포손상을 야기하는 강력한 hydroxyl radical을 생성하여 세포 내 DNA 손상, 세포의 노화 등의 원인이 되기 때문에 Fe^{2+} chelating 능력은 항산화제의 중요한 조건 중 하나로 여겨진다.[26] Fig. 1C에 나타난 바와 같이 GS-E3D는 Fe^{2+} 이온을 100 μg/mL 농도에서 약 9%, 200 μg/mL 농도에서 약 14.5%, 400 μg/mL 농도에서 약 19.8%, 그리고 800 μg/mL 농도에서 약 32.2% chelating 활성능을 가져 농도 의존적으로 활성 능력이 높아졌고, 대조군으로 사용한 deferoxamine은 400 μg/mL 농도에서 85.7%의 Fe^{2+} chelating 활성능을 나타냈다. Fe^{2+} chelating 활성능은 페놀화합물 뿐 아니라 hydroxyl group의 수와 위치에 따라서도 영향을 미치는 것으로 보고[27]되고 있어서, GS-E3D에 함유된 페놀 화합물이나 사포닌 등의 성분들이 식품에서 가장 강력한 pro-oxidant 인 Fe^{2+} 이온을 chelating하는 것으로 확인되었다.

Xanthine oxidase 저해 활성 – Xanthine oxidase는 purine 대사에 관여하는 효소로서 hypoxanthine이나 xanthine을 산화시켜 uric acid를 생성하고, 이 과정에서 superoxide anion을 생성하므로 xanthine oxidase 저해 활성은 항산화에서 중요한 활성이다.[28] GS-E3D의 xanthine oxidase 저해활성은 Fig. 1D에서 나타난 바와 같이 100 μg/mL 농도에서 약 8.2%, 200 μg/mL 농도에서 약 18.2%, 400 μg/mL 농도에서 약 19.6%, 그리고 800 μg/mL 농도에서 약 40.9%로 농도 의존적으로 저해활성이 나타나, 대조군으로 사용한 glycyrrhizinic acid 400 μg/mL 농도에서 39.9%의 저해율과 비교하여 약 49.1%의 높은 저해 활성을 나타냈고, Shin 등[29]에 의한 100 μg/mL 농도의 ascorbic acid에서 11.45%와 비교했을 때 GS-E3D의 xanthine oxidase 활성은 우수한 것으로 나타났다.

Lipoxygenase 저해 활성 – Lipoxygenase는 불포화지방산으로부터 leukotriene을 합성해, 인간에게서 기관지 천식과 여러 염증반응을 매개한다. GS-E3D의 lipoxygenase 저해활성 실험을 linolenic acid를 기질로 하여 soybean lipoxygenase에 의한 과산화 반응을 평가한 결과 100 μg/mL 농도에서 약 5.4%, 200 μg/mL 농도에서 약 8.8%, 400 μg/mL 농도에서 약 20.1%, 그리고 800 μg/mL 농도에서 약 45.4%로 농도 의존적으로 저해활성을 나타냈다. 대조군으로 사용한 glycyrrhizinic acid 400 μg/mL 농도에서 비교하여 약 46.2%

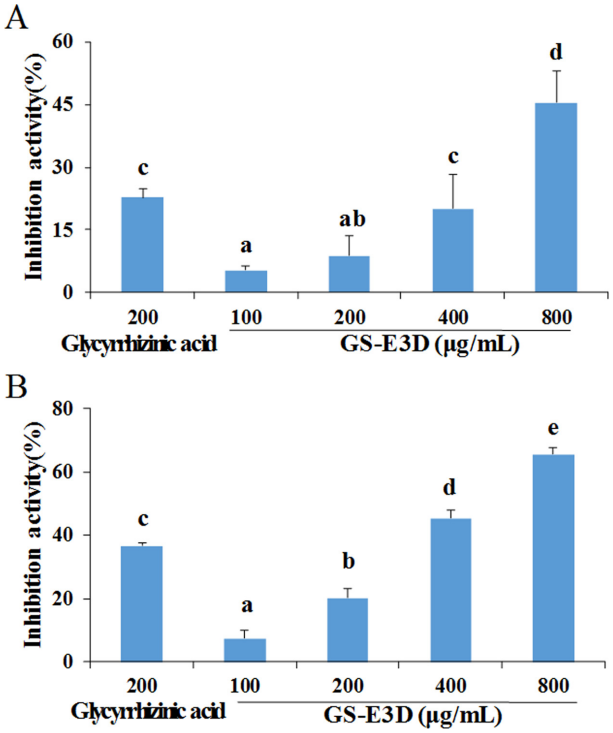

Fig. 2. Lipoxygenase (A), and hyaluronidase inhibitory activities (B) of GS-E3D. The values are %inhibition compared with vehicle treated group. Results are means±S.D. of three repeated experiments. Same letters (a-e) are not significantly different at $p<0.05$ by Tukey's multiple range test after one-way analysis of variance (ANOVA). Glycyrrhizinic acid used as positive control.

정도의 높은 저해 활성을 나타냈다(Fig. 2A). Park 등은 홍삼이 *Helicobacter pylori*에 감염된 gastric epithelial cell에서 5-lipoxygenase 효소 활성 증가를 억제하고, arachidonic acid로부터 5-hydroxyeicosatetraenoic acid 방출을 억제한다고 보고[35]하여 GS-E3D의 lipoxygenase 저해활성을 입증하였고, 이러한 결과는 GS-E3D가 cyclooxygenase 억제를 통해 PGE2 생성을 억제하는 경로[34]와 lipoxygenase에 의한 불포화지방산으로부터 leukotriene 생성을 모두 억제하여 항염증 효과를 나타내는 것으로 확인되었다.

Hyaluronidase 저해 활성 – Hyaluronidase는 피부 보습 및 탄력 유지에 기여하는 점액성 다당류 hyaluronic acid을 가수분해하는 효소로 염증을 유발하는 것으로 알려져 있다.[30] 노화가 진행되면 hyaluronidase가 증가되어 진피에서 고분자 hyaluronic acid의 양이 점차 감소하고 저분자 hyaluronic acid가 증가하여 염증 등의 반응을 증가시키므로 hyaluronidase의 저해는 피부 염증억제 뿐만 아니라 탈모치료에 대한 기전으로서도 중요하다.[31] GS-E3D의 피부염증 억제를 통한 탈모 억제 효과를 평가하기 위하여 hyaluronidase 저해활성을 평가한 결과 100 μg/mL 농도에서 7.5%, 200 μg/mL 농

도에서 20.3%, 400 μg/mL 농도에서 45.4%, 그리고 800 μg/mL 농도에서 65.5%로 농도 의존적으로 높은 저해활성을 나타내어 약물 대조군으로 사용한 glycyrrhizinic acid 400 μg/mL 농도에서 62.5%와 비교하여 약 72.6%로 나타나 GS-E3D가 단일물질이 아닌 추출물임을 감안할 때 hyaluronidase 저해 활성이 매우 우수한 것으로 확인되었다(Fig. 2B). Park 등[32]과 Choo 등[33]은 각각 단일화합물인 ginsenoside Rh2와 compound K가 hyaluronidase 활성을 억제하지 않으며, 이들 화합물은 NO와 PGE2 생성 억제를 통해서 염증을 억제하는 것으로 보고하고 있다. 그러나, 본 연구자들에 의한 이전 연구[34]에서 GS-E3D는 NO와 PGE2 생성 억제와 NF-κB p65 억제 및 MAPKs 신호전달 경로를 거치는 항염증 작용을 나타내는 것을 확인하였고, 본 연구를 통하여 일부 단일물질의 ginsenoside에서 확인되지 않았던 hyaluronidase 저해 활성도 나타냄을 확인하였다.

모유두세포(HHDPC) 증식률 – 모유두세포(human Hair Dermal Papilla Cells, HHDPC)는 세포분열이 왕성하여 모발 성장의 근원이 되는 세포이다. 홍삼 추출물과 ginsenoside Rb1 및 Rg3가 양모효과가 있다는 보고[36,37]는 있었으나, 홍삼추출물을 효소 가수분해하여 고분자 당류를 저분자화 시키고, ginsenoside Rd를 강화한 GS-E3D에 대한 양모효과는 보고되지 않았다. GS-E3D의 모유두세포 증식능을 측정하기 위하여 약물대조군으로서 미국 FDA에 공식적으로 인정받은 finasteride와 minoxidil[37]을 사용하였다. 모유두세포에 시료를 처리한 다음 72시간 후 모유두세포 증식능을 측정한 결과 finasteride와 minoxidil에서는 2.5 μg/mL에서 각각 123.2%와 116.0%, 5 μg/mL에서 122.3%와 111.6%, 10 μg/mL에서 119.7%와 112.1%로 나타나 저농도에서 모유두세포 증식률이 더 높게 나타난 반면, GS-E3D는 2.5 μg/mL에서 109.3%, 5 μg/mL에서 128.1%, 10 μg/mL에서 132.1%로 나타나 농도가 증가할수록 모유두세포 증식율이 약물대조군보다 높게 나타나는 경향을 보였다(Fig. 3). 이러한 결과는 GS-E3D가 약물대조군에 비하여 모유두세포 증식능이 뛰어난 천연소재로서 탈모예방 또는 양모소재로서의 개발 가능성을 시사하였다.

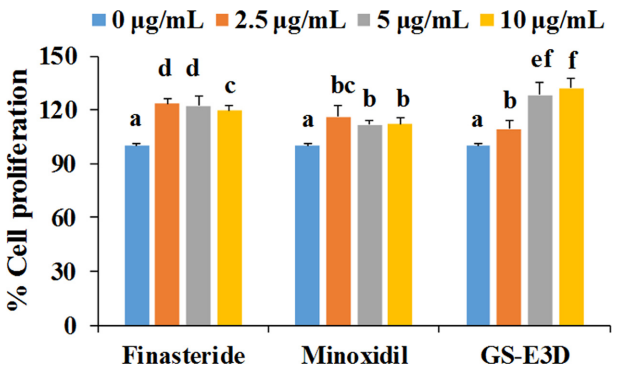

Fig. 3. The effect of GS-E3D on the proliferation of human hair dermal papilla cells (HHDPC). The values are %inhibition compared with vehicle treated group. Results are means±S.D. of three repeated experiments. Same letters (a-f) are not significantly different at $p<0.05$ by Tukey's multiple range test after one-way analysis of variance (ANOVA). Finasteride and Minoxidil used as positive control.

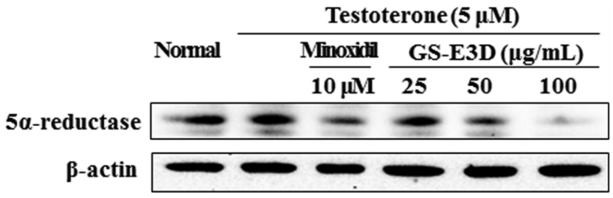

Fig. 4. 5α-Reductase inhibitory activities of GS-E3D after stimulating by testoterone. Minoxidil used as positive control.

5α-Reductase 억제 활성 – 5α-Reductase는 testoterone을 dihydrotestosterone(DHT)으로 환원시키는 효소이며, 5α-reductase에 의해 과잉으로 생산된 DHT는 모낭 성장기를 짧아지게 하여 탈모증을 유발하게 하는 것으로 알려져 있다.[38] GS-E3D의 5α-reductase 억제 활성을 알아보기 위하여 HHDPC에 5 μM testoterone을 처리하여 5α-reductase의 발현을 유도한 다음 GS-E3D 25 μg/mL, 50 μg/mL, 100 μg/mL을 처리하여 5α-reductase 단백질의 발현을 측정하였다. 측정결과 GS-E3D는 농도의존적으로 testoterone에 의한 5α-reductase의 발현을 억제함을 확인하였다(Fig. 4). 양모제로서 가장 많이 이용되고 있는 양성대조군 minoxidil도 5α-reductase의 발현을 억제하였으며, GS-E3D 50 μg/mL과 같은 정도의 억제효과를 보였다. Murata 등도 홍삼추출물과 ginsenoside Ro가 testosterone을 처리한 생쥐의 피부에서 양모효과가 있음을 보고[38]하여, 효소가수분해한 홍삼추출물인 GS-E3D의 5α-reductase 효소억제 활성을 뒷받침 하였다. Kim 등은 고려인삼은 hair follicle 주변의 말초혈관의 혈액순환을 촉진하여 모발을 성장시키는 효과를 가진 minoxidil과 비슷한 메카니즘을 가지는 것으로 보고[39]하고 있는데, 고려인삼의 혈행개선 효과는 잘 알려진 효능이다. 뿐만 아니라, 탈모치료에서 항산화제는 두피에서 활성산소 발생을 억제하고, 과잉 발생된 활성산소를 제거하거나 활성을 낮추어 산화적 스트레스에 의한 두피세포의 염증을 억제하여 탈모를 예방하는 것으로 알려져 있다.[40] 본 연구에서 GS-E3D는 항산화, 항염증, 5α-reductase의 발현 억제 효과를 통하여 모발성장을 촉진하는 것으로 확인되어 천연 양모 소재로서의 개발가능성을 제시하였다.

결 론

현대사회에서 심미적인 요소로 모발의 중요성이 부각되

면서 탈모 예방 또는 치료제에 대한 관심이 점점 커지고 있다. 따라서, 부작용이 없으면서도 모발의 성장을 촉진하는 소재를 천연물로부터 찾는 연구가 계속되고 있다. 본 연구에서는 ginsenoside Rd가 모낭세포의 증식과 분화를 조절하여 모발을 성장하게 한다는 보고가 있어 홍삼추출물에 펙틴아제로 생물전환하여 ginsenoside Rd를 강화한 표준화 소재 GS-E3D를 제조하고, 모발의 성장과 관련된 인자들을 측정하였다. GS-E3D는 각종 활성산소종 소거능을 가지며 피부보습을 방해하고 염증을 유발시키는 hyaluronidase와 lypoxygenase에 대한 저해활성을 가지며, 모발성장의 근원이 되는 모모세포의 증식을 촉진하며, 탈모증을 유발하는 5α-reductase 발현을 억제함을 확인하였다. 이러한 결과들에 비추어 볼 때, GS-E3D는 두피에서 발생한 활성산소를 제거하거나 활성을 낮추어 산화적 스트레스에 의한 두피세포의 염증 억제를 통하여 모발성장을 촉진하고 탈모와 관련된 DHT 작용을 억제하여 탈모방지 효과를 기대할 수 있는 천연 탈모 방지 및 양모 소재로서의 개발가능성을 제시하였다.

사 사

본 연구는 산업통상자원부와 한국산업기술진흥원이 지원하는 경제협력권산업 육성사업(No. R0005806)의 지원을 받아 수행된 연구결과이며 이에 감사드립니다.

인용문헌

1. Rho, S. S., Park, S. J., Hwang, S. L., Lee, M. H., Kim, C. D., Lee, I. H., Chang, S. Y. and Rang, M. J. (2005) The hair growth promoting effect of Asiasari radix extract and its molecular regulation. *J. Dermatol. Sci.* **38**: 89-97.
2. Kim, J. H., Sang, M. Y., Choi, J. E. and Son, S. W. (2009) Study of the efficacy of Korean red ginseng in the treatment of androgenic alopecia. *J. Ginseng Res*. **33**: 223-228.
3. Yun, T. K. (2001) Brief introduction of *Panax ginseng* C.A. Meyer. *J. Korean Med. Sci.* **16**: Suppl: S3-S5.
4. Im, K., Kim, J. and Min, H. (2016) Ginseng, the natural effectual antiviral: Protective effects of Korean red ginseng against viral infection. *J. Ginseng Res.* **40**: 309-314.
5. Lee, N., Lee, S. H., Yoo, H. R. and Yoo, H. S. (2016) Antifatigue effects of enzyme-modified ginseng extract: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *J. Altern. Complement Med.* **22**: 859-864.
6. Lee, S. E., Lee, S. U., Bang, J. K., Yu, Y. J. and Seong, R. S. (2004) Antioxidant activities of leaf, stem and root of *Panax ginseng* C.A. Meyer. *Korean J. Med. Corp. Sci.* **21:** 184-190.
7. Hong, M., Lee, Y. H., Kim, S., Suk, K. T., Bang, C. S., Yoon, J. H., Baik, G. H., Kim, D. J. and Kim, M. J. (2016) Anti-inflammatory and antifatigue effect of Korean red ginseng in patients with nonalcoholic fatty liver disease. *J. Ginseng Res.* **40**: 203-210.
8. Yuan, H. D., Kim, J. T., Kim, S. H. and Chung, S. H. (2012) Ginseng and diabetes: the evidences from in vitro, animal and human studies. *J. Ginseng Res.* **36**: 27-39.
9. Lee, H. Y., Park, K. H., Park, Y. M., Moon, D. I., Oh, H. G., Kwon, D. Y., Yang, H. J., Kim, O., Kim, D. W., Yoo, J. H., Hong, S. C., Lee, K. H., Seol, S. Y., Park, Y. S., Park, J. D. and Pyo, M. K. (2014) Effects of pectin lyase-modified red ginseng extracts in high-fat diet-fed obese mice. *Lab. Anim. Res.* **30**: 151-160.
10. Choi, J. G., Kim, N., Huh, E., Lee, H., Oh, M. H., Park, J. D., Pyo, M. K. and Oh, M. S. (2017) White ginseng protects mouse hippocampal cells against amyloid-beta oligomer toxicity. *Phytother. Res*. **31**: 497-506.
11. Lu, J. M., Yao, Q. and Chen, C. (2009) Ginseng compounds: an update on their molecular mechanisms and medical applications. *Curr. Vasc. Pharmacol.* **7**: 293-302.
12. Seol, S. Y., Kim, B. R., Hong, S. C., Yoo, J. H., Lee, K. H., Lee, H. J., Park, J. D. and Pyo, M. K. (2014) The effective preparation of protopanaxadiol saponin enriched fraction from ginseng using the ultrafiltration. *Nat. Prod. Sci.* **20**: 58-64.
13. Feng, L., Xu, C., Li, Z., Li, J., Dai, Y., Han, H., Yu, S. and Liu, S. (2016) Microbial conversion of ginsenoside Rd from Rb1 by the fungus mutant *Aspergillus niger* strain TH-10a. *Prep. Biochem. Biotechnol.* **46**: 336-341.
14. Zeng, X., Li, J. and Li Z. (2015) Ginsenoside Rd mitigates myocardial ischemia-reperfusion injury via Nrf2/HO-1 signaling pathway. *Int. J. Clin. Exp. Med.* **15**: 14497-14504.
15. Zhang, Y. X., Wang, L., Xiao, E. L., Li, S. J., Chen, J. J., Gao, B., Min, G. N., Wang, Z. P. and Wu, Y. J. (2013) Ginsenoside-Rd exhibits anti-inflammatory activities through elevation of antioxidant enzyme activities and inhibition of JNK and ERK activation in vivo. *Int. Immunopharmacol.* **17**: 1094-1100.
16. Hou, J., Xue, J., Lee, M. and Sung, C. (2017) Ginsenoside Rd as a potential neuroprotective agent prevents trimethyltin injury. *Biomed. Rep.* **6**: 435-440.
17. Li, Z., Li, J. J., Gu, L. J., Zhang, D. L., Wang, Y. B. and Sung C. K. (2013) Ginsenosides Rb? and Rd regulate proliferation of mature keratinocytes through induction of p63 expression in hair follicles. *Phytother. Res.* **27**: 1095-1101.
18. Lee, H. Y., Park, K. H., Park, Y. M., Moon, D. I., Oh, H. G., Kwon, D. Y., Yang, H. J., Kim, O., Kim, D. W., Yoo, J. H., Hong, S. C., Lee, K. H., Seol, S. Y., Park, Y. S., Park, J. D. and Pyo, M. K. (2014) Effects of pectin lyase-modified red ginseng extracts in high-fat diet-fed obese mice. *Lab. Anim. Res.* **30**: 151-160.
19. Diaconeasa, Z., Leopold, L., Rugină, D., Ayvaz, H. and Socaciu, C. (2015) Antiproliferative and antioxidant properties of anthocyanin rich extracts from blueberry and black-currant juice. *Int. J. Mol. Sci.* **16**: 2352-2365.
20. Parthasarathi, S., Hong, S. C., Oh, M. H., Park, Y. S., Yoo,

J. H., Seol, S. Y., Lee, H., Park, J. D. and Pyo, M. K. (2015) Anti-oxidant and hepatoprotective effect of white ginsengs in H_2O_2-treated HepG2 cells. *Nat. Prod. Sci.* **21**: 210-218.
21. Stirp, F. and Corte, E. D. (1969) The regulation of rat liver xanthine oxidase. *J. Biol Chem.* **244**: 3855-3861.
22. Kim, Y. S., Noh, Y. K., Lee, G. I. and Kim, Y. K. (1995) Inhibitory effects of herbal medicines on hyaluronidase activity. *Kor. J. Pharmacogn.* **26**: 265-272.
23. Tappel, A. L., Lundberg, W. O. and Boyer, P. D. (1953) Effect of temperature and antioxidants upon the lipoxidase catalyzed oxidation of sodium linoleate. *Arch. Biochem. Biophys.* **42**: 293-304.
24. Kim, J. S., Moon, G. S., Kim, H. O. and Lee, Y. S. (2007) Antioxidant properties of ginseng (*P. ginseng* C.A. Meyer) extracts by organic solvent fractionation. *J. Food Sci. Nutr.* **12**: 267-272.
25. Ren, F., Reilly, K., Kerry, J. P., Gaffney, M., Hossain, M. and Rai, D. K. (2017) Higher antioxidant activity, total flavonols, and specific quercetin glucosides in two different onion (*Allium cepa* L.) varieties grown under organic production: results from a 6-year field study. *J. Agric. Food Chem.* **65**: 5122-5132.
26. Halliwell, B. and Gutteridge, J. M. C. (1984) Oxygen toxicology, oxygen radicals, transition metals and disease. *Biochem. J.* **219**: 1-4.
27. Pazos, M., Gallardo, J. M., Torres, J. L. and Medina, I. (2005) Activity of grape polyphenols as inhibitors of the oxidation of fish lipids and fish muscle. *Food Chem.* **92**: 547-557.
28. Ardan, T., Kovaceva, J. and Cejková, J. (2004) Comparative histochemical and immunohistochemical study on xanthine oxidoreductase/xanthine oxidase in mammalian corneal epithelium. *Acta Histochem.* **106**: 69-75.
29. Shin, Y. J., Hwang, J..M. and Lee, S. C. (2013) Antioxidant and xanthine oxidase inhibitory activities of hot water extracts of medicinal herbs. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* **42**: 1712-1716.
30. Tundis, R., Loizzo, M. R., Bonesi, M. and Menichini, F. (2015) Potential role of natural compounds against skin aging. *Curr. Med. Chem.* **22**: 1515-1538.
31. Scotti, L., Singla, R. K., Ishiki, H. M., Mendonca, F. J., da Silva, M. S., Barbosa Filho, J. M. and Scotti, M. T. (2016). Recent advancement in natural hyaluronidase inhibitors. *Curr. Top. Med. Chem.* **16**: 2525-2531.
32. Park, E. K., Choo, M. K., Kim, E. J., Han, M. J. and Kim, D. H. (2003) Antiallergic activity of ginsenoside Rh2. *Biol. Pharm. Bull.* **26**: 1581-1584.
33. Choo, M. K., Park, E. K., Han, M. J. and Kim, D. H. (2003). Antiallergic activity of ginseng and its ginsenosides. *Planta Med.* **69**: 518-522.
34. Hong, S. C., Oh, M. H., Lee, H., Park, Y. S., Kim, N. Y., Park, S. H., Park, J. D., Jang, J. D., Kim, S. H., Kim, E. J. and Pyo, M. K. (2015) Pectinase-modified red ginseng (GS-E3D) inhibit NF-κB translocation and nitric oxide production in lipopolysaccharide-stimulated RAW 264.7 cells. *Int. J. Pharm. Pharm. Sci.* **7**: 322-326.
35. Park, S., Yeo, M., Jin, J. H., Lee, K. M., Kim, S. S., Choi, S. Y. and Hahm, K. B. (2007) Inhibitory activities and attenuated expressions of 5-LOX with red ginseng in *Helicobacter pylori*-infected gastric epithelial cells. *Dig Dis Sci.* **52**: 973-982.
36. Park, G. H., Park, K. Y., Cho, H. I., Lee, S. M., Han, J. S., Won, C. H., Chang, S. E., Lee, M. W., Choi, J. H., Moon, K. C., Shin, H., Kang, Y. J. and Lee, D. H. (2015) Red ginseng extract promotes the hair growth in cultured human hair follicles. *J. Med. Food* **18**: 354-362.
37. Shin, D. H., Cha, Y. J., Yang, K. E., Jang, I. S., Son, C. G., Kim, B. H. and Kim, J. M. (2014) Ginsenoside Rg3 up-regulates the expression of vascular endothelial growth factor in human dermal papilla cells and mouse hair follicles. *Phytother. Res*. **28**: 1088-1095.
38. Murata, K., Takeshita, F., Samukawa, K., Tani, T. and Matsuda, H. (2012) Effects of ginseng rhizome and ginsenoside Ro on testosterone 5α-reductase and hair re-growth in testosterone-treated mice. *Phytother. Res.* **26**: 48-53.
39. Kim, S. N., Kim, S., Hong, Y. D., Park, H., Shin, S. H., Kim, A. R., Park, B. C., Shin, S. S., Park, J. S., Park, M., Park, Y. H., Lee, H. K., Lee, J. H. and Park, W. S. (2015) The ginsenosides of *Panax ginseng* promote hair growth via similar mechanism of minoxidil. *J. Dermatol. Sci.* **77**: 132-134.
40. Jadkauskaite, L, Coulombe, P. A., Schäfer, M., Dinkova-Kostova, A. T., Paus, R. and Haslam, I. S. (2017) Oxidative stress management in the hair follicle: Could targeting NRF2 counter age-related hair disorders and beyond? *Bioessays.* **39**: in press.

(2017. 7. 31 접수; 2017. 8. 21 심사; 2017. 9. 1 게재확정)