

색조화장품에 적용될 수 있는 17종의 천연한약재가 피부 염증억제에 미치는 임상적 연구

홍석훈* · 노석선¹

원광대학교 한의과대학 안이비인후피부과교실, 1:대전대학교 한의과대학 안이비인후피부과교실

Effects of Herbal Extracts on the Inflammatory Reactions Which Use the Makeup Preparations

Seok Hoon Hong*, Seok Sun Roh¹

Department of Dermatology, College of Oriental Medicine, Wonkwang University,

1: Department of Dermatology, College of Oriental Medicine, Daejeon University

This study was carried out to investigate the effects of herbal extracts on the skin inflammatory reactions which use the makeup preparations. In experiment 1, among the herbal ingredients of herbal extracts, ethanol extracts and 1,3-BG(Butylene Glycol) extracts of Galla Rhois showed potent radical scavenging activity, more than 91% at all concentrations, tested by DPPH (1,1-diphenyl-2-picryl-hyrazyl) method. In experiment 2, ethanol extracts of Chrysanthemi Flos, Gardeniae Flos, Galla Rhois showed potent inhibitory activity of the lipopolysaccharide-induced nitric oxide(NO) production, more than 87% at 10 μ g/ml, by the macrophage RAW 246.7 cells. And 1,3-BG extracts of Taraxaci Herba, Corni Fructus, Galla Rhois showed potent inhibitory activity of nitric oxide production, more than 89% at 10 μ g/ml. In experiment 3, ethanol extracts of Chrysanthemi Flos, Gardeniae Flos, Galla Rhois showed potent inhibitory effects of cyclooxygenase-II activity, more than 78% at 10 μ g/ml, by using ELISA kit. And 1,3-BG extracts of Galla Rhois, Carthami Flos, Chrysanthemi Flos, Taraxaci Herba, Corni Fructus showed potent inhibitory effects of cyclooxygenase-II(COX-II) activity, more than 80% at 10 μ g/ml. Therefore, I expect that herbal extracts, especially Galla Rhois may be used as a drug for treatment on skin inflammation and a material of the makeup preparations.

Key words : inflammation, nitric oxide, cyclooxygenase-II, makeup preparations

서 론

화장품이란 피부의 청결, 아름다움, 보호 및 매력을 유지하거나, 외양을 좋게 하기 위해 붓거나, 뿌리거나, 바르는 물질을 총칭하는 말로서 이는 피부나 신체의 구조에 변화 혹은 기능 장애를 초래하지 않아야 한다¹⁾. 기존에는 천연식물을 주로 식용 또는 치료개념으로 적용을 하다가 최근에는 화장품산업에서도 노화방지, 자극완화, 주름개선, 미백 등의 용도로 연구가 진행되어 사용되고 있다. 특히 국내의 한방화장품에 있어서 천연식물들의 사용이 기존 문헌에 의한 화장품 원료로서의 적용보다는, 좀더 과학적이고 객관적으로 효능과 효과가 확인된 원료로서 적용이 요구

되고 있다²⁾. 현재까지 화장품소재로서 사용되는 식물 추출물로는 녹차 추출물^{3,4)}, 솔잎추출물⁵⁾, 상황버섯 추출물, 상백피 추출물, 감초 추출물, 함초 추출물, 산사자 추출물⁶⁾과 해양식물인 미역⁷⁾, 다시마 등이 있다.

특히 피부에 있어서 자주 나타나는 변화는 염증으로, 염증(inflammation)은 "균의 감염, 열, 외상, 항원항체반응 등 생체조직의 기질변화를 초래하는 침습에 대한 생체의 방어 기전"라고 정의하고 있다. 염증이라는 용어가 "불같은 상태"라는 어원에서 유래된 것과 같이 염증이 발생한 부위는 발적, 발열, 동통, 종창, 기능장애와 같은 염증의 5대 징후가 발생된다⁸⁾. 이런 피부에 접촉피부염을 일으킬 수 있는 화장품을 종목별로 살펴보면 색조 눈 화장품과 색조 화장품이 높았고 기초 화장품이 비교적 낮았다⁹⁾.

이에 저자는 색조화장품에 적용할 수 있는 천연한방추출물을 개발하기 위해 도인, 구절초, 황백, 용담, 홍화, 관동화, 하고

* 교신저자 : 홍석훈, 전남 순천시 조례동 544번지 원광대학교 순천한방병원

· E-mail : gate111@wonkwang.ac.kr, · Tel : 061-720-7520

· 접수 : 2005/07/01 · 수정 : 2005/07/25 · 채택 : 2005/08/31

초, 치자, 감국, 유채, 포공영(민들레), 족규화(접시꽃), 청상자(맨드라미), 오배자, 산수유, 연교(개나리), 자초 등 17종의 천연한방 물질을 선정해 30% 1,3-BG(Butylene Glycol)와 ethanol을 이용하여 추출물을 제조한 후 이들 추출물이 피부 염증억제에 미치는 영향을 평가하였기에 이에 보고하는 바이다.

재료 및 방법

1. 실험 재료

1) 처방 내용 및 검액의 제조

실험에 사용된 17종의 천연한방약재는 다음과 같다(Table 1). 실험에 사용된 모든 약재는 대전대학교 부속한방병원에서 입수하였으며, 17종의 한약 추출물은 각 약재 1근 분량을 한약재분쇄기를 이용해 100-200메쉬 크기로 분쇄시킨 후, 5배 용량의 ethanol 혹은 10배 용량의 30% 1,3-BG(Butylene Glycol)를 가하여 5일간 냉침하여 추출하였다. Ethanol을 이용해 추출한 약재는 Whatman filter paper No. 4를 사용해 고형분을 제거한 후, rotary evaporator를 이용해 감압 농축시키고, 70% ethanol을 이용해 필요한 농도로 희석해 실험에 사용하였다(Table 1).

Table 1. Prescription Per Pack..

한약명	학명	1집분량(g)
도화(桃花)	<i>Persicae Flos</i>	25g
구절초(九節草)	<i>Chrysanthemi Herba</i>	25g
황백(黃柏)	<i>Phellodendri Cortex</i>	25g
용담(龍膽)	<i>Gentianae Radix</i>	25g
홍화(紅花)	<i>Carthami Flos</i>	25g
관동화(款冬花)	<i>Farariae Flos</i>	25g
하고초(夏枯草)	<i>Prunellae Herba</i>	25g
치자화(梔子花)	<i>Gardeniae Flos</i>	25g
감국(菊花)	<i>Chrysanthemi Flos</i>	25g
유채(薺)	<i>Brassicae Herba</i>	25g
포공영(蒲公英)	<i>Taraxaci Herba</i>	25g
족규화(蜀葵花)	<i>Althaea Flos</i>	25g
청상자(靑葙子)	<i>Celosiae Semen</i>	25g
오배자(五倍子)	<i>Galla Rhois</i>	25g
산수유(山茱萸)	<i>Corni Fructus</i>	25g
연교(連翹)	<i>Forsythiae Fructus</i>	25g
자초(紫草)	<i>Lithospermi Radix</i>	25g

2) 미생물 균주

피부질환 관련 미생물에 대한 항균력 평가를 위해 사용한 표준균주로는 *Propionibacterium acnes* (ATCC 6919), *Staphylococcus aureus* (ATCC 6538), *Corynebacterium xerosis* (ATCC 7711), *Candida albicans* (ATCC 10231) 등을 사용하였다.

3) 시약 및 기기

처방된 천연한방약재 추출물의 항균력 평가를 위한 실험에는 brain heart infusion (BHI), Sabourm dextrose agar (이상 Difco, U.S.A) 등을 사용하였다. 항염 평가를 위한 in vitro 실험 시약으로는 Dulbecco's modified Eagle medium (DMEM), fetal bovine serum (FCS), antibiotic-antimycotic (penicillin G sodium, streptomycin sulfate, amphotericin B), trycin-EDTA(이상 Gibco BRL, U.S.A), sodium bicarbonate, DPPH (1,1-diphenyl-2-picryl-

hyrazyl), butylated hydroxy-toluene (BHT), lipopolysaccharide (LPS), GRIESS reagent (이상 Sigma, U.S.A) 등을 사용하였다.

본 실험에 이용한 실험 초차로는 24, 96 well tissue culture plate, 100mm tissue culture dish (이상 Falcon, U.S.A), eppendorf tube (Sarstedt, Germany) 등을 사용하였다.

본 연구에 사용된 기기로는 rotary evaporator system (BÜCHI, Switzerland), CO₂ Incubator (Forma, U.S.A), inverted microscope, microscope (Nikon, Japan), clean bench (수공양행, 한국), autoclave (Hirayama, Japan), spectrophotometer (Beckman, U.S.A), ELISA reader (BioTek, U.S.A) 등을 사용하였다.

2. 실험 방법

1) 항산화력평가

천연한방약재 추출물이 활성산소를 제거하는 radical scavenger로서의 작용을 하는지의 여부를 조사하기 위해 DPPH (1,1-diphenyl-2-picryl-hyrazyl)법을 이용해 평가하였다. 무수에 탄올로 0.01%와 0.001% 희석한 천연한방약재 추출물 1ml와 1,3-BG (Butylene Glycol)로 100배와 1000배 희석한 각각의 천연한방약재 추출물 1ml에 0.1mM DPPH용액 1ml를 가하고, 37°C에서 30분간 반응시킨 후, 반응물의 흡광도를 spectrophotometer를 이용해 516nm에서 측정하였다. 양성대조군으로는 butylated hydroxytoluene (BHT)을, 음성대조군으로는 무수에탄올을 사용하였다^{10,11)}.

2) Nitric oxide(NO) 생성 억제력 평가

천연한방약재 추출물이 lipopolysaccharide에 의해 유도되는 NO의 생성을 억제시키는 역할을 하는지의 여부를 평가하기 위해 염증실험에 널리 활용되고 있는 macrophage 세포주인 RAW 264.7 세포주 (ATCC number: CRL-2278)를 이용한 GRIESS 법으로 NO 형성억제력 실험을 실시하였다. 10% FCS가 첨가된 DMEM으로 전 배양한 RAW 264.7 cell을 24 well plate에 1x10⁵ cells/ml의 농도로 seeding하여 5% CO₂ incubator에서 24시간 배양하였다. 배지를 제거하고 인산염완충용액으로 2회 세척한 후, phenol red를 첨가되지 않은 DMEM에 희석한 천연한방약재 추출액(ethanol과 1,3-BG로 추출한 각각의 추출물)을 10 µg/ml의 농도로 각각 가해 1시간 동안 처리하였다. Lipopolysaccharide를 1µg/ml의 농도로 가하여 48시간 배양한 후, 상층액을 100µl씩 취해 96 well plate에 옮기고, GRIESS reagent를 100µl씩 가해 상온에서 5분간 반응시키고, ELISA reader로 540nm에서의 흡광도를 측정하였다^{12,13)}.

3) Cyclooxygenase II 활성 억제력 평가

C57BL6 mouse의 복강에 차가운 phosphate buffered saline (PBS) 5ml를 가하고 약 2분간 마사지 한 후 주사기를 이용해 대식세포가 들어있는 복강액을 회수하였다. 복강액을 2회 세척한 후 RPMI 1640 배지로 10⁶ cell/ml의 농도로 현탁시킨 후 aspirin을 최종농도가 500uM이 되도록 첨가하여 세포내에 잔존하고 있는 COX를 억제시켰다. 96 well plate에 RAW 264.7 세포주를 10⁵ cell/well의 농도로 seeding한 후 37°C, 5% CO₂ incubator에서 4시간 배양하여 부착시킨 후 배양액을 제거하고, PBS로 세척한

후 3% FBS가 첨가된 RPMI 1640 배지를 well당 200 μ l씩 첨가하고, arachidonic acid를 가해 18시간 배양하였다. 대식세포를 활성화시키는 lipopolysaccharide(LPS)와 천연한방약재 추출물(ethanol과 1,3-BG로 추출한 각각의 추출물)을 10 μ g/ml의 농도로 각각 첨가하고 37 $^{\circ}$ C, 5% CO₂ incubator에서 18시간 배양한 후, 세포용해액과 상층액을 취해 ELISA Kit를 이용해 prostaglandin E2를 정량하였다¹⁴⁾.

결 과

1. 항산화력 평가

1) Ethanol 추출물

DPPH법을 이용해 ethanol로 추출한 천연한방약재 추출물의 radical scavenging activity를 측정된 결과, 오배자추출물이 0.01%와 0.001%의 농도에서 94.8%와 91.6% 억제시켜 우수한 항산화력을 가진 것으로 평가되었다(Table 2).

Table 2. Radical Scavenging Activities of Oriental Herbal Extracts With Ethanol.

실험물질	농도	항산화력
Control		
BHT	0.01%	92.8%
	0.001%	38.3%
도 인	0.01%	3.1%
	0.001%	1.3%
구절초	0.01%	33.2%
	0.001%	11.8%
황 백	0.01%	50.3%
	0.001%	8.5%
옹 담	0.01%	21.3%
	0.001%	2.8%
홍 화	0.01%	20.1%
	0.001%	4.3%
관동화	0.01%	84.0%
	0.001%	16.0%
하교초	0.01%	96.5%
	0.001%	30.0%
치 자	0.01%	50.4%
	0.001%	7.3%
감 국	0.01%	64.1%
	0.001%	11.0%
유 체	0.01%	37.6%
	0.001%	4.6%
포공영	0.01%	19.8%
	0.001%	2.7%
측규화	0.01%	40.5%
	0.001%	5.3%
BHT	0.01%	91.3%
	0.001%	37.5%
청상자	0.01%	0.6%
	0.001%	-5.8%
오배자	0.01%	94.8%
	0.001%	91.6%
산수유	0.01%	61.8%
	0.001%	5.7%
연 교	0.01%	64.6%
	0.001%	6.9%
자 초	0.01%	8.2%
	0.001%	-5.2%

2) 1,3-BG(Butylene Glycol) 추출물

DPPH법을 이용해 1,3-BG로 추출한 천연한방약재 추출물의 radical scavenging activity를 측정된 결과, 오배자추출물이 100배 희석액과 1000배 희석액에서 92.4%와 92.7%의 radical scavenging activity를 보여 항산화력이 가장 우수하였으며, 산수유추출물도 100배희석액과 1000배 희석액에서 92.3%와 80.4%의 radical scavenging activity를 보여 우수한 항산화력을 지닌 것으로 평가되었다(Table 3).

Table 3. Radical Scavenging Activities of Oriental Herbal Extracts with 1,3-BG.

실험물질	농도	항산화력
Control		
BHT	0.01%	87.2%
	0.001%	28.9%
도 인	100배 희석	6.7%
	1,000 희석	-
구절초	100배 희석	90.7%
	1,000 희석	15.9%
황 백	100배 희석	90.7%
	1,000 희석	28.5%
옹 담	100배 희석	80.1%
	1,000 희석	17.5%
홍 화	100배 희석	84.3%
	1,000 희석	18.3%
관동화	100배 희석	89.2%
	1,000 희석	35.8%
감 국	100배 희석	93.0%
	1,000 희석	11.4%
유 체	100배 희석	28.4%
	1,000 희석	-
포공영	100배 희석	88.8%
	1,000 희석	19.4%
청상자	100배 희석	10.7%
	1,000 희석	-
오배자	100배 희석	92.4%
	1,000 희석	92.7%
산수유	100배 희석	92.3%
	1,000 희석	80.4%
치 자	100배 희석	63.2%
	1,000 희석	12.9%
연 교	100배 희석	90.2%
	1,000 희석	39.5%

2. Nitric oxide(NO) 생성 억제력 평가

1) Ethanol 추출물

RAW 264.7 세포를 이용해 GRIESS법으로 ethanol 추출물의 NO 생성 억제력을 평가한 결과, 감국추출물이 10 μ g/ml의 농도에서 95.2%의 우수한 NO 생성 억제력을 보였으며, 치자추출물, 오배자추출물 및 유체추출물이 10 μ g/ml의 농도에서 각각 92%, 87%, 86.1%의 양호한 NO 생성 억제력을 보였다(Table 4).

2) 1,3-BG 추출물

RAW 264.7 세포를 이용해 GRIESS법으로 1,3-BG 추출물의 NO 생성 억제력을 평가한 결과, 포공영추출물과 산수유추출물, 그리고 오배자추출물이 10 μ g/ml의 농도에서 각각 95.8%, 92.8%, 89.8%의 우수한 NO 생성 억제력을 보였다(Table 5).

Table 4. Inhibitory Effects of NO synthesis by Oriental Herbal Extracts with Ethanol.)

실험 물질	실험 농도	흡광도	NO발생 억제력
Control ¹⁾		0.151	-
Lipopolysaccharide ²⁾		0.400	-
도 인 ³⁾	10 $\mu\text{g}/\text{ml}$	0.217	73.3 %
구절초	10 $\mu\text{g}/\text{ml}$	0.253	59.0
황 백	10 $\mu\text{g}/\text{ml}$	0.342	23.1
웅 담	10 $\mu\text{g}/\text{ml}$	0.231	67.7
홍 화	10 $\mu\text{g}/\text{ml}$	0.256	57.6
관동화	10 $\mu\text{g}/\text{ml}$	0.247	61.2
하고초	10 $\mu\text{g}/\text{ml}$	0.207	77.3
치 자	10 $\mu\text{g}/\text{ml}$	0.171	92.0
감 국	10 $\mu\text{g}/\text{ml}$	0.163	95.2
유 채	10 $\mu\text{g}/\text{ml}$	0.185	86.1
포공영	10 $\mu\text{g}/\text{ml}$	0.266	53.6
측규화	10 $\mu\text{g}/\text{ml}$	0.203	78.9
청상자	10 $\mu\text{g}/\text{ml}$	0.196	81.7
오배자	10 $\mu\text{g}/\text{ml}$	0.183	87.0
산수유	10 $\mu\text{g}/\text{ml}$	0.209	76.5
연 교	10 $\mu\text{g}/\text{ml}$	0.261	55.6
자 초	10 $\mu\text{g}/\text{ml}$	0.251	59.8

1) 무처리군, 2) Lipopolysaccharide(LPS) 처리군, 3) 실험물질: LPS와 천연한방약재 추출물을 처리한 실험군

Table 5. Inhibitory Effects of NO synthesis by Oriental Herbal Extracts With 1,3-BG.

실험 물질	실험 농도	흡광도	NO발생 억제력
Control ¹⁾		0.151	-
Lipopolysaccharide ²⁾		0.400	-
도 인 ³⁾	10 $\mu\text{g}/\text{ml}$	0.206	73.3%
구절초	10 $\mu\text{g}/\text{ml}$	0.419	-7.6%
황 백	10 $\mu\text{g}/\text{ml}$	0.504	-41.9%
웅 담	10 $\mu\text{g}/\text{ml}$	0.271	51.6%
홍 화	10 $\mu\text{g}/\text{ml}$	0.248	60.8%
관동화	10 $\mu\text{g}/\text{ml}$	0.247	61.5%
하고초	10 $\mu\text{g}/\text{ml}$	-	-
치 자	10 $\mu\text{g}/\text{ml}$	-	-
감 국	10 $\mu\text{g}/\text{ml}$	0.191	83.7%
유 채	10 $\mu\text{g}/\text{ml}$	0.653	-100%
포공영	10 $\mu\text{g}/\text{ml}$	0.161	95.8%
측규화	10 $\mu\text{g}/\text{ml}$	-	-
청상자	10 $\mu\text{g}/\text{ml}$	0.269	52.6%
오배자	10 $\mu\text{g}/\text{ml}$	0.176	89.8%
산수유	10 $\mu\text{g}/\text{ml}$	0.169	92.8%
연 교	10 $\mu\text{g}/\text{ml}$	0.653	-100%
자 초	10 $\mu\text{g}/\text{ml}$	0.217	73.5%

1) 무처리군, 2) Lipopolysaccharide(LPS) 처리군, 3) 실험물질: LPS와 천연한방약재 추출물을 처리한 실험군

3. Cyclooxygenase II (COX II) 활성 억제력 평가

1) Ethanol 추출물

Ethanol로 추출한 천연한방약재 추출물이 염증발생에 핵심적인 역할을 하는 COX II의 활성 억제력을 평가한 결과, 감국추출물이 85.6%로 가장 우수하였으며, 치자추출물이 80.5%, 오배자추출물이 78.4%, 하고초추출물, 관동화추출물, 도인추출물, 자초추출물 등이 75% 이상의 우수한 COX II 활성 억제력을 보였다 (Table 6).

2) 1,3-BG 추출물

1,3-BG로 추출한 천연한방약재 추출물이 염증발생에 핵심적인 역할을 하는 COX II의 활성 억제력을 평가한 결과, 오배자추출물이 86%로 가장 우수하였으며, 홍화추출물, 감국추출물, 포공영추출물, 산수유추출물이 80% 이상의 우수한 COX II 활성 억제력을 보였다 (Table 7).

출물이 86%로 가장 우수하였으며, 홍화추출물, 감국추출물, 포공영추출물, 산수유추출물이 80% 이상의 우수한 COX II 활성 억제력을 보였다 (Table 7).

Table 6. Inhibitory Effects of COX II by Oriental Herbal Extracts With Ethanol.

실험 물질	실험 농도	PGE ₂	COX II 억제력
Control ¹⁾		612	-
Lipopolysaccharide ²⁾		3,215	-
도 인 ³⁾	10 $\mu\text{g}/\text{ml}$	744	76.9%
구절초	10 $\mu\text{g}/\text{ml}$	939	70.8%
황 백	10 $\mu\text{g}/\text{ml}$	1,678	47.8%
웅 담	10 $\mu\text{g}/\text{ml}$	957	70.2%
홍 화	10 $\mu\text{g}/\text{ml}$	1,005	68.8%
관동화	10 $\mu\text{g}/\text{ml}$	744	76.9%
하고초	10 $\mu\text{g}/\text{ml}$	732	77.2%
치 자	10 $\mu\text{g}/\text{ml}$	627	80.5%
감 국	10 $\mu\text{g}/\text{ml}$	464	85.6%
유 채	10 $\mu\text{g}/\text{ml}$	805	74.9%
포공영	10 $\mu\text{g}/\text{ml}$	981	69.5%
측규화	10 $\mu\text{g}/\text{ml}$	917	71.5%
청상자	10 $\mu\text{g}/\text{ml}$	1,254	61.1%
오배자	10 $\mu\text{g}/\text{ml}$	695	78.4%
산수유	10 $\mu\text{g}/\text{ml}$	982	69.4%
연 교	10 $\mu\text{g}/\text{ml}$	1,041	67.6%
자 초	10 $\mu\text{g}/\text{ml}$	773	75.9%

1) 무처리군, 2) Lipopolysaccharide(LPS) 처리군, 3) 실험물질: LPS와 천연한방약재 추출물을 처리한 실험군

Table 7. Inhibitory Effects of COX II by Oriental Herbal Extracts With 1,3-BG.

실험 물질	실험 농도	PGE ₂	COX II 억제력
Control ¹⁾		612	-
Lipopolysaccharide ²⁾		3,215	-
도 인 ³⁾	10 $\mu\text{g}/\text{ml}$	812	74.7%
구절초	10 $\mu\text{g}/\text{ml}$	1,358	57.7%
황 백	10 $\mu\text{g}/\text{ml}$	1,530	52.4%
웅 담	10 $\mu\text{g}/\text{ml}$	996	69.0%
홍 화	10 $\mu\text{g}/\text{ml}$	563	82.5%
관동화	10 $\mu\text{g}/\text{ml}$	668	79.2%
하고초	10 $\mu\text{g}/\text{ml}$	-	-
치 자	10 $\mu\text{g}/\text{ml}$	-	-
감 국	10 $\mu\text{g}/\text{ml}$	571	82.3%
유 채	10 $\mu\text{g}/\text{ml}$	3,068	4.6%
포공영	10 $\mu\text{g}/\text{ml}$	592	81.6%
측규화	10 $\mu\text{g}/\text{ml}$	-	-
청상자	10 $\mu\text{g}/\text{ml}$	999	68.9%
오배자	10 $\mu\text{g}/\text{ml}$	449	86.0%
산수유	10 $\mu\text{g}/\text{ml}$	574	82.1%
연 교	10 $\mu\text{g}/\text{ml}$	2,437	24.2%
자 초	10 $\mu\text{g}/\text{ml}$	868	73.0%

1) 무처리군, 2) Lipopolysaccharide(LPS) 처리군, 3) 실험물질: LPS와 천연한방약재 추출물을 처리한 실험군

고 찰

화장품이란 피부의 청결, 아름다움, 보호 및 매력을 유지하거나, 외양을 좋게 하기 위해 붓거나, 뿌리거나, 바르는 물질을 총칭하는 말로서 이는 피부나 신체의 구조에 변화 혹은 기능장애를 초래하지 않아야 한다¹⁾. 그러나 약 5,000종 이상의 화학물질이 화장품의 생산을 위해 사용되고 있고 이들에 의해 일차 자

극성 피부염, 알레르기성 접촉 피부염, 광과민성 피부염, 조감의 균열 등 여러 가지 형태의 부작용이 유발된다¹⁵⁾. 이런 피부에 접촉피부염을 일으킬 수 있는 화장품을 종목별로 살펴보면 색조 눈화장품과 색조 화장품이 높았고 기초 화장품이 비교적 낮았다. 이는 색조 눈화장품에 알레르기성 접촉 피부염을 가장 잘 유발하는 항원이 존재할 것으로 생각된다⁹⁾.

식물은 다양한 활성성분을 함유하고 있어 식물추출물이 통증완화, 해독, 해열, 방부, 수렴, 항염 등의 효능을 가지는 것으로 알려져 있다¹⁶⁾. 이러한 활성성분으로 인하여 식물추출물은 독특한 효능과 효과를 가지고 있다. 기존에는 천연식물을 주로 식용 또는 치료개념으로 적용을 하다가 최근에는 화장품산업에서도 노화방지, 자극완화, 주름개선, 미백 등의 용도로 연구가 진행되어 사용되고 있다. 특히 국내의 한방화장품에 있어서 천연식물들의 사용이 기존 문헌에 의한 화장품 원료로서의 적용보다는, 좀더 과학적이고 객관적으로 효능과 효과가 확인된 원료로서 적용이 요구되고 있다²⁾. 화장품에서 사용되어지는 천연식물 추출물의 단점은 기존 자외선 흡수제에 비해서 떨어지는 안정성과 효과이며, 장점으로는 기존의 자외선 흡수제가 법적으로 사용한다가 정해진 반면, 천연의 자외선 흡수제는 사용량의 제한이 없기 때문에 제형에 영향을 주지 않는 범위에서 사용이 가능하다. 또한 이들 식물추출물은 함유된 식물성분들에 의하여 항산화제로서 기본적인 효과를 가지고 있어 매우 유용하게 사용이 된다. 이러한 장점들은 식물체가 일반적으로 광합성을 하는 과정에서 여러 가지 활성산소가 생성될 때 발생하는 산화적인 스트레스로부터 스스로를 보호하는 방어체계 및 자체적으로 많은 효소와 선택적으로 발달된 이차 대사물을 이용하여 자신을 보호하는 원리 및 구조에 기인한 것이다¹⁷⁾.

현재까지 화장품소재로서 사용되는 식물 추출물로는 녹차 추출물^{3,4)}, 솔잎추출물⁵⁾, 상활버섯 추출물, 상백피 추출물, 감초 추출물, 함초 추출물, 산사자 추출물⁶⁾과 해양식물인 미역⁷⁾, 다시마 등이 있다.

이처럼 한방화장품 원료로 사용되는 천연식물에 대한 관심이 증가함에 따라, 본 연구에서는 색조화장품에 적용할 수 있는 천연한방추출물을 개발하기 위해 도인, 구절초, 황백, 용담, 홍화, 관동화, 하고초, 치자, 감국, 유채, 포공영(민들레), 속규화(접시꽃), 청상자(맨드라미), 오배자, 산수유, 연교(개나리), 자초 등 17종의 천연한방약재를 선정해 30% 1,3-BG와 ethanol을 이용해 추출물을 제조한 후, 이들 추출물이 피부 염증억제에 미치는 영향을 평가하였다.

화장품 보습제인 1,3-Butylene Glycol(BG)에 대해 살펴보면 1,3-BG의 구조는 CH₃CHCH₂CH₂OH이며 아세트 알데히드의 알돌 축합물을 수소첨가해서 얻어지는 물질이다. 적절한 습윤성, 양호한 용해성 및 항균성을 가지며 피부에 대하여 자극이 없고 독성이 대단히 낮기 때문에 화장품 원료로 이용된다. 1,3-BG는 glycerin보다도 상쾌하고 가벼운 사용감과 끈적임도 적기 때문에 각종 크림, 유액, 에어졸 제품, 치약 등에서 보습제, 용제, 향료의 보류제 등으로 널리 사용되고 있다. 또 담배, 셀로판, 비닐론 필름 등의 습윤제로도 사용되고 있다. 1,3-BG의 성상은 무색 투명한 끈

끈한 액체이고 냄새는 거의 없으며 맛은 달고 흡습성이 있다⁶⁾.

본 실험에 사용한 천연한방약재의 효능^{18,19)}을 요약하면 다음과 같다.

桃花는 利水, 活血, 通便의 효능이 있어 水腫, 積滯, 發背瘡, 癰疽 등을 치료하고, 九節草는 破血의 효능이 있어 月經不順, 癰疽, 瘰癧 등을 치료하며, 黃柏은 清熱, 燥濕, 瀉火, 解毒의 효능이 있어 熱痢, 痔瘡, 口舌生瘡, 瘡瘍腫毒 등을 치료하고, 龍膽은 瀉肝膽實火, 除下焦濕熱의 효능이 있어 肝經熱盛, 目赤, 癰腫瘡瘍, 陰囊腫痛, 陰部濕癢 등을 치료하며, 紅花는 活血通經, 祛瘀止痛의 효능이 있어 經閉, 癥瘕, 癰腫, 跌撲損傷 등을 치료하고, 款冬花는 潤肺下氣, 化痰止咳의 효능이 있어 咳逆喘息, 喉痺 등을 치료하며, 夏枯草는 清肝, 散結의 효능이 있어 瘰癧, 癭瘤, 乳癰, 乳癌 등을 치료하고, 梔子花는 清肺, 涼血의 효능이 있어 肺熱咳嗽, 鼻衄 등을 치료하며, 菊花는 散風熱, 清頭目, 利血脈, 消疔腫의 효능이 있어 外用으로 癰疽, 疔瘡, 無名腫毒症 등에 유효하다.

또한 蕤薔(유채)는 散血, 消腫의 효능이 있어 血痢, 丹毒, 熱毒瘡, 乳癰 등을 치료하고, 蒲公英은 清熱解毒, 利尿散結의 효능이 있어 瘰癧, 疔毒瘡腫 등을 치료하며, 蜀葵花는 和血潤燥, 通利二便의 효능이 있어 吐血, 血崩, 二便不通, 小兒風疹 酒皸, 燙傷 등을 치료하고, 靑柏花는 清肝涼血, 明目祛翳의 효능이 있어 吐血, 目赤, 血淋, 月經不調 등을 치료하며, 五倍子是 斂肺, 澀腸, 止血, 解毒의 효능이 있어 肺虛久咳, 久瀉, 便血, 衄血, 外傷出血, 腫毒, 瘡癤 등을 치료하고 외용으로 피부염, 외상출혈, 중이염, 구강염에 사용하며, 山茱萸는 補肝腎, 澀精氣, 固虛脫의 효능이 있어 腰膝酸痛, 耳鳴, 陽痿, 遺精, 小便頻數 등을 치료하고, 連翹는 清熱, 解毒, 散結, 消腫의 효능이 있어 丹毒, 斑疹, 癰瘍腫毒, 瘰癧 등을 치료하며, 紫草는 涼血, 活血, 清熱, 解毒의 효능이 있어 溫熱斑疹, 濕熱黃疸, 紫癩, 燒傷, 濕疹, 丹毒, 癰瘍 등을 치료한다.

염증(inflammation)은 "균의 감염, 열, 외상, 항원항체반응 등 생체조직의 기질변화를 초래하는 침습에 대한 생체의 방어 기전"라고 정의하고 있다. 염증이라는 용어가 "불같은 상태"라는 어원에서 유래된 것과 같이 염증이 발생한 부위는 발적, 발열, 동통, 종창, 기능장애와 같은 염증의 5대 징후가 발생된다⁹⁾.

이러한 수명은 원인에 의하여 일어나는 염증반응은 그 원인과 반응조직의 차이에 상관없이 거의 유사한 변화를 보인다. 이러한 현상은 조직 손상후에 일어나는 변화로서 손상에 의하여 생체내 국소부위에 유리되는 공통적인 물질요인의 존재를 추정케 한다²⁰⁾.

활성산소는 이온의 상태가 불안하여 다른 물질과 결합해 안정화되려는 성질, 즉 강한 반응성을 지니는 특성을 가진 산소를 말한다. 이러한 활성산소는 인체 내의 정상세포의 대사과정 중의 여러 산화반응의 부산물로 만들어지며, 식세포에 의해 만들어져 감염반응을 조절하는 긍정적인 역할을 하는 반면, 자외선, 환경공해, 심한운동 등에 의해서도 생성되어 생체조직을 공격해 각종 염증질환과 암, 간장장애, 동맥경화, 위염 등의 많은 질병을 일으키는 원인의 하나로 알려져 있으며, 궁극적으로는 노화의 한 원인인 것으로 알려져 있다. 활성산소는 초산화유리기(superoxide anion radical; O₂⁻), 과산화수소(hydrogen peroxide; H₂O₂), 수산

화유리기(hydroxyl radical; .OH), 1중항 산소(siglet oxygen; $1O_2$) 등의 4종류로 분류된다. 이러한 활성산소의 피해로부터 생체조직을 보호하기 위해서는 이미 존재하는 유해한 유리기가 다른 분자와 반응하기 전에 인체에 무해한 형태로 바꾸고, 다른 분자들로부터 자유 유리기의 형성을 억제시키는 항산화제의 사용이 일반적이다. 항산화제는 크게 항산화력을 갖는 효소군과 항산화작용을 하는 비효소군, 그리고 손상된 DNA 등을 수복시키는 효소군으로 나눌 수 있다. 항산화성 효소군으로는 초산화유리기를 과산화수소로 전환시켜주는 역할을 하는 superoxide dismutase (SOD), 과산화수소수를 물과 산소로 변화시키는 catalase, 그리고 환원형 glutathione을 사용해 과산화수소나 지질 과산화물이 자유유리기를 형성하기 전에 무해한 물질로 전환시키는 작용을 하는 glutathione peroxide 등이 대표적인 것이다. 항산화작용을 갖는 비효소군으로는 vitamine C와 E, β -caroten 등과 같은 비타민류와 요산(uric acid), bilirubin 및 알부민 등이 있는데, 이들 유리기를 낚아채 자기 자신이 안전성 있는 유리기로 전환되어 다른 화합물이 유리기로 되는 것을 예방하는 역할을 하므로 이들 항산화작용을 갖는 비효소군은 세포 내외의 산소유리기를 일차적으로 방어하는 역할을 담당하는 항산화제의 역할을 한다. 손상된 DNA를 수복시키는 역할을 하는 효소군으로는 methionine superoxide reductase 등이 있다²¹⁾.

본 연구에서는 17종의 천연한방약재 추출물이 염증반응과정에서 중요한 역할을 하고 있는 활성산소를 제거하는 radical scavenger로서의 작용을 하는지의 여부를 조사하기 위해 DPPH 법을 이용해 ethanol과 1,3-BG로 각각 추출한 천연한방약재 추출물 17종을 대상으로 실시한 항산화실험 결과, ethanol 추출물의 경우 오배자추출물이 0.01%와 0.001%의 농도에서 94.8%와 91.6% 억제시켜 우수한 항산화력을 보였고, 1,3-BG추출물의 경우에도 오배자추출물이 100배희석액과 1000배 희석액에서 92.4%와 92.7%의 radical scavenging activity를 보여 항산화력이 가장 우수하였으며, 산수유추출물도 100배희석액과 1000배 희석액에서 92.3%와 80.4%의 radical scavenging activity를 보여 우수한 항산화력을 지닌 것으로 평가되었다(Table 2, Table 3).

Nitric oxide(NO)는 nitric oxide synthase(NOS)효소에 의해 만들어지는데, 체내의 염증과정에서는 특히 과량의 NO가 만들어져 각종 급, 만성 염증 질환에 중요한 역할을 하는 것으로 알려져 있다. NOS는 I형과 II형, III형의 3종류가 있으며, 이 중 생체에서 항상성과 관련해 중요한 역할을 담당하는 I형이나 III형과 달리 II형은 inducible NOS(iNOS)로 cytokine이나 세균 등에서 분비되는 LPS나 calcium ionophore에 의해 일부 세포에서 생성되며, 생성된 iNOS는 과량의 NO를 생성해 각종 염증질환에 작용하는 것으로 알려져 있다. 생산된 과량의 NO는 그 자체로도 유전자 및 단백질에 독성을 나타내지만 활성산소의 하나인 superoxide anion (O_2^-)과 반응해 맹독성을 가진 peroxynitrite (ONOO-)를 생성하므로 더욱 강력한 독성물질로 변화되어 암 형성과 진행에 중요한 역할을 하는 것으로 보고되어 있다. 따라서 각종 염증의 발생억제와 치료를 위해서는 NO의 발생을 억제시켜 주는 것이 중요하다^{22,25)}.

이에 본 연구에서는 천연한방약재 추출물이 lipopolysaccharide (LPS)에 의해 유도되는 NO의 생성을 억제시키는 역할을 하는지의 여부를 평가하기 위해 염증실험에 널리 활용되고 있는 macrophage 세포주인 RAW264.7 cell을 이용한 실험을 실시하였다. RAW 264.7 cell을 이용해 GRIESS법으로 ethanol 추출물과 1,3-BG 추출물의 NO 생성 억제력을 각각 평가한 결과, ethanol 추출물의 경우 감국추출물이 10 μ g/ml의 농도에서 95.2%의 우수한 NO 생성 억제력을 보였고, 치자추출물, 오배자추출물 및 유채추출물이 10 μ g/ml의 농도에서 각각 92%, 87%, 86.1%의 양호한 NO 생성 억제력을 보였다. 1,3-BG 추출물의 경우 포공영추출물과 산수유추출물, 그리고 오배자추출물이 10 μ g/ml의 농도에서 각각 95.8%, 92.8%, 89.8%의 우수한 NO 생성 억제력을 보였다 (Table 4, Table 5).

Prostaglandin(PG)은 arachidonic acid에서 유래하여 염증과 면역반응을 비롯해 smooth muscle tone, vascular permeability, cellular proliferation 등에 작용하는 intercellular, intracellular messenger이다. PG은 세균의 감염에서 유래한 lipopolysaccharide (LPS)나 외부 자극에 의해 세포막 지질 성분이 phospholipase A2에 의해 생성되는 arachidonic acid로부터 만들어진다. 즉 arachidonic acid는 cyclooxygenase(COX) 효소의 작용을 받아 여러 종류의 PG를 합성하는데, PGE2와 PGI2는 혈관 투과성 향진에 작용을 하고, tromboxane은 백혈구 유주에 관여하는 등 PG는 염증과 가장 관련이 깊은 것으로 알려져 있다. 이는 오래 전부터 발열, 발적, 동통 등을 치료하는데 널리 사용되어온 aspirin이 이러한 PG를 합성하는데 핵심적인 작용을 하는 COX의 작용을 억제시키기 때문인 것에서 확인할 수 있듯이, 염증억제를 위해 COX의 활성을 억제시키고자 하는 시도가 활발히 이루어지고 있다. COX는 I형과 II형의 2가지 isoform이 존재한다. I형인 COX I은 위장관 보호, 신장의 혈류조절, 혈소판 응집 등 우리 몸의 정상적인 기능 유지에 중요한 작용을 하는, 대부분의 정상적인 조직에서 발생하는 house keeping enzyme인 반면, 외부 자극에 의해 발현이 유도되는 II형인 COX II는 염증과 암 등의 각종 퇴행성 질환에 중요한 역할을 한다. 따라서 염증을 억제시키기 위해서는 COX II의 활성을 억제시키는 물질의 적용이 필요하며, 현재 세계 유수의 의약품업체에서는 염증억제제의 개발을 위해 COX II 활성 억제제를 찾아내기 위한 노력을 계속하고 있다^{14,21,23,26)}.

이에 본 연구에서는 ethanol과 1,3-BG로 각각 추출한 천연한방약재 추출물이 염증발생에 핵심적인 역할을 하는 COX II 효소의 활성을 억제시키는지의 여부를 ELISA kit를 이용해 평가한 결과, Ethanol 추출물의 경우 감국추출물이 85.6%로 가장 우수하였고, 치자추출물이 80.5%, 오배자추출물이 78.4%, 하교추출물, 관동화추출물, 도인추출물, 자초추출물 등이 75% 이상의 우수한 COX II 활성 억제력을 보였다. 1,3-BG 추출물의 경우 오배자추출물이 86%로 가장 우수하였으며, 홍화추출물, 감국추출물, 포공영추출물, 산수유추출물이 80% 이상의 우수한 COX II 활성 억제력을 보였다(Table 6, Table 7).

이상의 연구결과를 종합하면 실험을 실시한 17종의 천연한방약재중 오배자가 ethanol 추출물과 1,3-BG 추출물 모두에서 우

수한 항산화력, NO생성 억제력 및 COX II 활성 억제력을 나타내어 매우 우수한 항염 효과를 보였으며, 산수유추출물 역시 우수한 효과를 지닌 것으로 평가되어, 색조화장품은 물론 피부염증 억제 및 치료에 활용될 수 있을 것으로 사료된다.

결 론

색조화장품에 적용할 수 있는 천연한약재 추출물의 개발을 위한 피부염증반응에 미치는 영향을 평가하기 위하여 항산화력, nitric oxide(NO) 생성억제력 및 Cyclooxygenase II(COX II) 활성억제력을 평가하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

DPPH법을 이용해 ethanol과 1,3-BG로 각각 추출한 천연한약재 추출물 17종의 radical scavenging activity를 측정된 결과, ethanol 추출물의 경우 오배자추출물이 0.01%와 0.001%의 농도에서 94.8%와 91.6% 억제시켜 우수한 항산화력을 보였고, 1,3-BG추출물의 경우에도 오배자추출물이 100배희석액과 1000배희석액에서 92.4%와 92.7%의 radical scavenging activity를 보여 항산화력이 가장 우수하였으며, 산수유추출물도 100배희석액과 1000배 희석액에서 92.3%와 80.4%의 radical scavenging activity를 보여 우수한 항산화력을 지닌 것으로 평가되었다. RAW 264.7 cell을 이용해 GRIESS법으로 ethanol 추출물과 1,3-BG 추출물의 NO 생성 억제력을 각각 평가한 결과, ethanol 추출물의 경우 감국추출물이 10 μ g/ml의 농도에서 95.2%의 우수한 NO 생성 억제력을 보였고, 치자추출물, 오배자추출물 및 유채추출물이 10 μ g/ml의 농도에서 각각 92%, 87%, 86.1%의 양호한 NO 생성 억제력을 보였으며, 1,3-BG 추출물의 경우 포공영추출물과 산수유추출물, 그리고 오배자추출물이 10 μ g/ml의 농도에서 각각 95.8%, 92.8%, 89.8%의 우수한 NO 생성 억제력을 보였다. Ethanol과 1,3-BG로 각각 추출한 17종의 천연한약재 추출물이 염증발생에 핵심적인 역할을 하는 COX II 효소의 활성을 억제시키는지의 여부를 ELISA kit를 이용해 평가한 결과, Ethanol 추출물의 경우 감국추출물이 85.6%로 가장 우수하였고, 치자추출물이 80.5%, 오배자추출물이 78.4%, 하교추출물, 관동화추출물, 도인추출물, 자초추출물 등이 75% 이상의 우수한 COX II 활성 억제력을 보였다. 1,3-BG 추출물의 경우 오배자추출물이 86%로 가장 우수하였으며, 홍화추출물, 감국추출물, 포공영추출물, 산수유추출물이 80% 이상의 우수한 COX II 활성억제력을 보였다.

이상의 실험결과를 종합하면 실험을 실시한 17종의 천연한약재중 오배자가 ethanol 추출물과 1,3-BG 추출물 모두에서 우수한 항산화력, NO생성 억제력 및 COX II 활성 억제력을 나타내어 매우 우수한 항염 효과를 보였으며, 산수유추출물 역시 우수한 효과를 지닌 것으로 평가되어, 색조화장품은 물론 피부염증 억제 및 치료에 활용될 수 있을 것으로 사료된다.

그러나 상기한 실험결과를 기초로 향후 이들을 색조화장품에 적용할 경우 이들 추출물을 대상으로 한 interleukin 1 β 와 interleukin 6, 그리고 tumor necrosis factor- α 등의 염증관련 cytokine 생성과 inducible NOS 유전자 발현에 미치는 영향 등에 대한 연구, 그리고 이들 추출물들이 염증발생에서 발생하는

일반적인 증상인 모세혈관투과성과 백혈구유주에 미치는 영향 등 좀 더 자세한 실험이 필요하리라 사료된다.

참고문헌

1. Frost, P. Horwitz, S.N. Principles of Cosmetics for the Dermatologist. CV Mosby Co, St Louis. pp 1-2, 1982.
2. 김주덕, 엄정녀. 한방화장품 구매행동에 관한 실증적 연구. 대한화장품학회지 30(1):93-102, 2004.
3. Lotan, R., Lotan, D. Stimulation of melanogenesis in a human melanoma cell line by retinoids. Cancer Res 40, 3345-3350, 1980.
4. Khan, S.K. Agarwal, R., Mukhtar, H. Inhibition of 12-O-tetradecanoyl-phorbol-B-acetate caused tumor promotion in 7,12-dimethylbenz[a]anteacene- initiated SENCAR mouse skin by a polyphenolic fraction isolated from green tea. Cancer Res 52, 6890-6892, 1992.
5. 안명수, 원종숙. 솔잎추출물의 옥배유에 대한 항산화효과. 성신여대 생활문화연구. pp 83-99, 2001.
6. 안봉전, 강보연, 이진태. 한국산 산사자 추출물을 이용한 화장품 소재 개발. 대한본초학회지 17(2):39-50, 2002.
7. 최진호, 김동무. 미역의 알긴산 첨가 기능성 음료가 흰쥐의 비만 및 생리활성에 미치는 영향. 생명과학회지 25, 365-370, 1997.
8. 박광균. 구강생화학 12장 면역과 염증. 서울, 군자출판사. pp 318-325, 1999.
9. 김덕현, 김형일, 박희용, 이성낙. 화장품에 의한 접촉 피부염이 의심되는 환자에서의 첩포시험에 관한 연구. 대한피부과학회지 25(2):161-168, 1987.
10. 문숙임, 류홍수, 이희령, 최재수. 식용식물의 항산화효과 검색과 산초의 항산화성분. 한국영양식품학회지 23, 466-471, 1994.
11. Blois, M.S. Antioxidant determination by the use of stable free radical. Nature. 1958:181:1199.
12. Wadsworth, T.L., Koop, D.R. Effects of Ginkgo biloba extract and quercetin on lipopolysaccharide-induced release of nitric oxide. Chem Biol Interact 137, 43-58, 2001.
13. Hinz, B., Brune, K., Rau, T., Pahl, A. Flurbiprofen enantiomers inhibit inducible nitric oxide synthase expression in RAW 264.7 macrophages. Pharm Res 18, 151-156, 2001.
14. 노민수, 하준용, 이창훈, 이우영, 이수환, 이정준. 리포플라스마 카라이드에 의해 유도되는 대식세포의 프로스타글란딘 생합성을 저해하는 천연물의 탐색. 약학회지 42, 558-566, 1998, Biochem 162, 156-159, 1987.
15. Maibach, H.I., Akerson, J.M., Marzulli, F.N. et al. Test concentrations and vehicles for dermatological testing of cosmetic ingredients. Contact Dermatitis 6, 369, 1980.
16. Ody, P. Herbal insights; A close look at active constituents of medicinal herbs. SOFW journal 121, 8-11, 1995.
17. 김경동. 한방 천연식물의 항산화 및 자외선 흡수에 관한 연구. 한국미용학회지 10(2):145-153, 2004.

18. 조광래. 신편중약대사전. 서울, 일지사. pp 469, 563, 2266, 2492, 2784, 2840, 3336, 3394, 3537, 3833, 3925, 3930, 4030, 4346, 4571, 4937, 5056, 1993.
19. 이재희. 도설한방 약리·약능의 임상응용. 서울, 학림사. pp 260-262, 361-363, 400, 404-405, 494, 564, 581, 1985 .
20. 대한병리학회. 병리학. 서울, 고문사. pp 71-104, 1995.
21. Denizot, F., Lang, R. Rapid colorimetric assay for cell growth and survival. Modifications to the tetrazolium dye procedure giving improved sensitivity and reliability. *Immunol Methods* 89, 271-277, 1986.
22. 김룡규, 신경민, 천상국, 지사영, 서성훈, 박희준, 최종원, 이경태. 넙취 정유의 murine macrophage Raw 264.7 세포에서의 *in vitro* 항암효과. *약학회지* p 3439.
23. 서영준. 발암과정에 있어서 cyclooxygenase-2의 역할 및 그 저해를 통한 화학 암예방. *분자세포생물학뉴스* 13, 8-17, 2002 (20013-347).
24. Lee, B.G., Kim, S.H., Zee, O.P., Lee, K.R., Lee, H.Y., Han, J.W., Lee, H.W. Suppression of inducible nitric oxide synthase expression in RAW 264.7 macrophage by two β -carboline alkaloids extracted from *Melia azedarach*. *European J Pharmacol* 406, 301-309, 2000.
25. Kim, E.J., Jin, H.K., Kim, K., Lee, H.Y., Lee, S.Y., Lee, K.R., Zee, O.P., Han, J.W., Lee, H.W. Suppression by a sesquiterpene lactone from *Carpesium divaricatum* of inducible nitric oxide synthase by inhibiting nuclear factor- κ B activation. *Biochem Pharmacol* 61, 903-910, 2001.
26. 문태철 외. 천연물로부터 사이클로옥시게나아제-2 저해제 검색. *약학회지* 42, 214-219, 1998.