

數種의 한약이 피부질환과 관련된 균주 6종에 미치는 항균력 및 木香이 염증기전에 미치는 영향

박수연 · 김종한 · 최정화

동신대학교 한의과대학 안이비인후과학교실

Anti-microbial Activity of Various Herbal Extracts on Six Types of Bacteria Related to Skin Diseases and Effects of *Saussurea* *lappa* Extract on Inflammatory Mechanism

Soo-yeon Park · Jong-han Kim · Jung-hwa Choi

This study was carried out to investigate the anti-microbial of various herbal extracts on six types of bacteria related to skin diseases and effects of *Saussurea lappa* extract on dermatitis and acne.

The results are followed ;

1. In the experiment on *P. acnes* using paper disk methods, *Eugenia caryophyllata* extract made 19mm clear zone, *Saussurea lappa* extract and *Morus alba* extract made 13mm and MIC of *Morus alba* extract and *Eugenia caryophyllata* extract was below 0.01%.
2. In the experiment on *S. aureus*, extract of *Eugenia caryophyllata*, *Poncirus trifoliata* and *Rubus coreanus* made 9-10mm clear zone.
3. In the experiment on *C. xerosis*, *Sesamum indicum* extract made 16mm clear zone and MIC of that was 0.3%.
4. In the experiment on *C. albicans*, extract of *Cinnamomum cassia*, *Eugenia caryophyllata* and *Asparagus cochinchinensis* made 9-10mm clear zone.
5. In the experiment on *P. ovale*, *Cinnamomum cassia* extract made 25mm clear one, MIC of that was 0.05%.
6. In the experiment on *T. mentagrophytes*, *Cinnamomum cassia* extract made 26mm clear zone, extract of *Eugenia caryophyllata*, *Rhizoma kaempferiae*, *Piper longum*, *Saussurea lappa* and *Zingiber officinale* made 18-22mm clear zone, MIC of all extracts was below 0.02%.
7. *Saussurea lappa* extract inhibited 85% and 28% of NO production at 50µg/ml and 5µg/ml.
8. *Saussurea lappa* extract inhibited activity of COX II over 50% at 10µg/ml.

9. *Saussurea lappa* extract had not radical scavenging activity and *Saussurea lappa* extract didn't inhibit manifestation of IL-1 β , IL-6 and TNF- α , and activity of 5 α - reductase I.

서론

여드름, 무좀, 비듬, 액취, 칸디다증과 손상된 부위에 국소적으로 발생하는 표피 농가진 등의 여러 가지 피부 질환은 그 발생과정에서 미생물이 핵심적인 역할을 한다는 것은 이미 잘 알려진 사실이다. *Trichophyton mentagrophytes* (이하 *T. mentagrophytes*)의 경우 무좀의 원인균으로 알려져 있으며¹⁾, *Pityrosporum ovale* (이하 *P. ovale*)는 비듬²⁾, *Propionibacterium acnes* (이하 *P. acnes*)는 여드름³⁾, *Corynebacterium xerosis* (이하 *C. xerosis*)는 액취⁴⁾, *Staphylococcus aureus* (이하 *S. aureus*)는 농가진과 아토피⁵⁾, *Candida albicans* (이하 *C. albicans*)는 칸디다증⁶⁾의 원인균으로 보고되어 있다. 따라서 이들 질환의 치료 및 예방을 위해서 원인균에 대한 항균작용을 갖는 약재가 일반적으로 사용되고 있다.

최근 항균력을 지닌 한약에 관한 연구는 활발하게 이루어지고 있는데, 홍⁷⁾은 淸上防風湯加味로, 노⁸⁾는 고삼추출물로 *P. acnes*에 대한 항균효과를, 조⁹⁾는 淸上防風湯 및 구성약물로 *S. aureus*에 대한 항균효과를, 김¹⁰⁾은 大蒜으로 *C. albicans*에 대한 항균효과를 연구하였으나, *C. xerosis*, *P. ovale*, 및 *T. mentagrophytes*등에 항균력을 지닌 한약에 관한 연구는 없는 실정이다.

이에 본 연구자는 피부질환 치료의 부작용 및 한계점을 극복하고자 임상에서 활용되고 있는 한약재 94종을 임의로 선정해 피부질환과 관련된 원인균으로 알려진 *P. acnes*, *S. aureus*, *C. xerosis*, *P. ovale*, *C. albicans* 및 *T. mentagrophytes*에 대한 항균력을 일차적으로 평가하고, *T. mentagrophytes*, *P. acnes* 및

C. xerosis 균에 대해 우수한 항균력을 보인 목향은 治邪氣·辟毒疫의 효능⁹⁾이 있어서 항균기능 이외에 항산화력, nitric oxide 생성, 염증관련 cytokine 생성 및 유전자 발현, cyclooxygenase II 활성화에 미치는 영향, 여드름 및 피지분비 조절과 관련된 5 α -reductase type I 효소의 활성화에 미치는 영향 및 세포독성 정도를 평가하여 유의한 결과를 얻었기에 이에 보고하는 바이다.

실험재료 및 방법

A. 재료

1. 한약재

본 실험에 사용한 한약재는 94종으로, 대전대학교 부속한방병원에서 구입한 것을 정선하여 사용하였다(Table 1).

2. 미생물 균주

피부질환 관련 미생물에 대한 항균력 평가를 위해 사용한 균주로는 *Propionibacterium acnes* (ATCC 6919), *Staphylococcus aureus* (ATCC 6538), *Corynebacterium xerosis* (ATCC 7711), *Pityrosporum ovale* (ATCC 14521), *Trichophyton mentagrophytes* (KCTC 6077), *Candida albicans* (ATCC 10231) 등을 사용하였으며, 모든 균주는 ATCC와 KCTC에서 구입한 표준균주를 사용하였다(Table 2).

Table 1. Ethanol Extracts of Crude Drugs for Anti-microbial Activity

No.	韓藥材名	Scientific Name
1	저실자	<i>Broussonetia kazinoki</i> Siebold
2	후 박	<i>Magnolia obovata</i> Thunberg
3	산수유	<i>Cornus officinalis</i> Siebold
4	홍화자	<i>Carthamus tinctorius</i> L.
5	백강잠	<i>Bombyx mori</i> L.
6	정 향	<i>Eugenia caryophyllata</i> Thunberg
7	우 슬	<i>Achyranthes fauriei</i> Lev.
8	길 경	<i>Platycodon grandiflorum</i> A.De Candolle
9	포공영	<i>Taraxacum platycarpum</i> H. Dahlsted
10	음양곽	<i>Epimedium koreanum</i> Nakai
11	용안육	<i>Dinocarpus longan</i> Lour
12	황 정	<i>Polygonatum sibiricum</i> Redoute
13	오배자	<i>Rhus javanica</i> L.
14	오미자	<i>Schizandra chinensis</i> Baillon
15	초 오	<i>Aconitum ciliale</i> Decaisn
16	사상자	<i>Torilis japonica</i> D.C
17	조각자	<i>Gleditsia japonica</i> Miquel var. <i>koraiensis</i> Naka
18	여 로	<i>Veratrum nigrum</i> L. var. <i>ussuriense</i> Loes. fil
19	오가피	<i>Acanthopanax sessiliflorum</i> Seema
20	두 층	<i>Eucommia ulmoides</i> Oliver
21	계 지	<i>Cinnamomum cassia</i> Blume
22	견지황	<i>Rehmannia glutinosa</i> Liboschitz
23	목 향	<i>Saussurea lappa</i> Clarke
24	감 초	<i>Glycyrrhiza glabra</i> L.
25	적작약	<i>Paeonia lactiflora</i> Pallas
26	앵두육	<i>Prunus tomentosa</i> Thunb
27	소회향	<i>Anethum graveolens</i> L.
28	삼내자	<i>Kaempferia galanga</i> L.
29	연 교	<i>Forsythia koreana</i> Naka
30	과루근	<i>Trichosanthes kirilowii</i> Maximowic
31	잔 대	<i>Adenophora triphylla</i> A. DC
32	목 과	<i>Chaenomeles sinensis</i> Koehne
33	현 삼	<i>Scrophularia buergeriana</i> Miquel
34	영 지	<i>Ganoderma lucidum</i> Karst
35	익모초	<i>Leonurus sibiricus</i> L.
36	승 마	<i>Cnicifuga heracleifolia</i> Komarov
37	택 사	<i>Alisma orientale</i> Juzepczu
38	과 체	<i>Cucumis melo</i> L.
39	의이인	<i>Coix lacryma-jobi</i> L. var. <i>ma-yuen</i> Stap
40	사 삼	<i>Adenophora triphylla</i> Hara
41	갈 근	<i>Pueraria lobata</i> Ohwi
42	산 약	<i>Dioscorea batatas</i> Decaisne
43	지 실	<i>Poncirus trifoliata</i> Rafinesqu
44	천 궁	<i>Adenophora triphylla</i> Hara
45	신 이	<i>Magnolia filiflora</i> Desr.
46	백 지	<i>Angelica dahurica</i> Bentham
47	화 피	<i>Betula platyphylla</i> Suk
48	금은화	<i>Lonicera japonica</i> Thunberg
49	감송향	<i>Nardostachys chinensis</i> Batal
50	한련초	<i>Eclipta prostrata</i> L.

Table 1. Ethanol Extracts of Crude Drugs for Anti-microbial Activity-(continued)

No.	韓藥材名	Scientific Name
51	산 초	<i>Zanthoxylum piperitum</i> D.C.
52	하수오	<i>Polygonum multiflorum</i> Thunberg
53	만형자	<i>Vitex rotundifolia</i> L.
54	방 풍	<i>Saposhnikovia divaricata</i> Schiski
55	차전자	<i>Plantago asiatica</i> L.
56	유백피	<i>Ulmus macrocarpa</i> Hance
57	백 출	<i>Atractylodes japonica</i> Koidzumi
58	당 귀	<i>Angelica gigas</i> Nakai
59	인진호	<i>Artemisia capillaris</i> Thunber
60	낙석등	<i>Trachelospermum asiaticum</i> Nakai
61	용이초	<i>Agrimonia pilosa</i> Ledebou
62	지 실	<i>Poncirus trifoliata</i> Rafinesqu
63	거심백문동	<i>Liriope platyphylla</i> Wang et Tang
64	죽 여	<i>Phyllostachys bambusoides</i> Siebold et Zuccarin
65	진 피	<i>Citrus unshiu</i> Markovich
66	매 실	<i>Prunus mume</i> Siebold
67	만 삼	<i>Codonopsis lanceolata</i> Benth.
68	산 마	<i>Dioscorea batatas</i> Decaisne
69	백두옹	<i>Pulsatilla koreana</i> Nakai
70	산조인	<i>Zizyphus jujuba</i> Mille
71	영릉향	<i>Lysimachia foenum-graecum</i> Hance
72	천문동	<i>Asparagus cochinchinensis</i> Merrill
73	행 인	<i>Prunus armeniaca</i> L.
74	황 금	<i>Scutellaria baicalensis</i> Georgi
75	상 업	<i>Morus alba</i> L.
76	천 초	<i>Rubia akane</i> Nakai
77	건 강	<i>Zingiber officinale</i> Roscoe
78	고 본	<i>Angelica tenuissima</i> Nakai
79	필 발	<i>Piper longum</i> L.
80	대회향	<i>Illicium verum</i> Hooker
81	상 지	<i>Morus alba</i> L.
82	계 피	<i>Cinnamomum cassia</i> Blume
83	상기생	<i>Loranthus parasiticus</i> Merr.
84	비파엽	<i>Eriobotrya japonica</i> Lindley
85	괴 각	<i>Sophora japonica</i> L.
86	측백엽	<i>Biota orientalis</i> Endlicher
87	상백피	<i>Morus alba</i> L.
88	백자인	<i>Thuja orientalis</i> L.
89	박 하	<i>Mentha arvensis</i> L.
90	흑지마	<i>Sesamum indicum</i> L.
91	숙지황	<i>Rehmannia glutinosa</i> Liboschitz
92	산 사	<i>Crataegus pinnatifida</i> Bunge
93	가 자	<i>Terminalia chebula</i> Retzius
94	복분자	<i>Rubus coreanus</i> Miquel

Table 2. Microorganisms Tested for Anti-microbial Activity of Herbal Extracts

Microorganisms	Disease
Propionibacterium acnes (ATCC 6919)	Acne
Staphylococcus aureus (ATCC 6538)	Impetigo
Corynebacterium xerosis (ATCC 7711)	Osmidrosis
Pityrosporum ovale (ATCC 14521)	Dandruff
Trichophyton mentagrophytes (KCTC 6077)	Athlete's foot
Candida albicans (ATCC 10231)	Candidosis

3. 시약 및 기기

한약재의 항균력 평가를 위한 실험에는 brain heart infusion (BHI), Sabouraud dextrose agar, peptone, yeast extract, ox bile, bacto agar (이상 Difco, U.S.A.), glucose, tween 60, glycerol monostearate, olive oil, tween 80 (이상 Sigma, U.S.A.) 등을 사용하였다. 세포 배양 시약으로는 Dulbecco's modified eagle medium (DMEM), RPMI 1640, antibiotic-antimycotic (penicillin G sodium, streptomycin sulfate, amphotericin B), fetal bovine serum, trypsin-EDTA (이상 Gibco BRL, U.S.A.), sodium bicarbonate (Sigma, U.S.A.) 등을 사용하였으며, RT-PCR 시약으로는 M-MLV reverse transcriptase, recombinant RNasin ribonuclease inhibitor, deoxynucleotide triphosphates (dNTPs), random hexamer, Taq polymerase (Promega, U.S.A.), guanidinium thiocyanate, sodium acetate, sarcosine, mercaptoethanol, ethidium bromide, glacial acetic acid, phenol, chloroform, isopropanol (이상 Sigma, U.S.A.) 등을 사용하였다. 5 α -reductase I 효소억제력 실험에는 [1,2,6,7-3H] testosterone, 5 α -dihydro-[1,2,4,5,6,7-3H]testosterone, hyperfilm MP (이상 Amersham Bioscience, U.K.), testosterone, dihydrotestosterone (이상 TCI, Japan), toluene, acetone (이상 대정화금, 한국), HPLC aluminium sheets silica gel 60 F254 pre-coated, cyclohexan, ethylacetate, ethanol (이상 Merck, Germany), dithiothreitol, sodium citrate, potassium chloride, magnesium sulfate, phenylmethylsulfonyl fluoride, sucrose, nicotinamide adenine dinucleotide

phosphate (이상 Sigma, U.S.A.), bio-rad dye (Bio-Rad, U.S.A.) 등을 사용하였다.

세포독성 실험에는 MTT[3-(4,5-dimethylthiazol)-2-yl-2,5-diphenyl tetrazolium bromide], 항산화실험에는 butylated Hydroxytoluene (BHT), DPPH(1,1-diphenyl-2-picryl-hyrazyl), Nitric oxide 생성억제실험에는 lipopoly-sacharide, GRIESS reagent (Sigma, U.S.A.), cyclooxygenase II 활성억제 실험에는 Prostaglandin E2 ELA Kit (Cayman, USA) 등을 사용하였다.

본 실험에 사용한 초자로는 항균력 실험을 위한 petri dish (녹십자, 한국), 세포배양실험 및 조직배양 실험에는 60mm와 100mm tissue culture dish, 24well과 96 well tissue culture plate (이상 Falcon, USA) 등을 사용하였으며, RT-PCR에는 micro amp reaction tube, micro amp caps (Applied Biosystems, U.S.A.) 등을 사용하였다.

기기로는 GeneAmp PCR system (PERKIN ELMER, U.S.A), spectrophotometer, refrigerated high speed centrifuge, PH meter (Beckman, U.S.A.), ELISA reader (Bio-TeK, U.S.A), polaroid camera (Polaroid, U.K.), microcentrifuge, refrigerated microcentrifuge (이상 한일과학, 한국), image master (Pharmacia Biotek, U.S.A.), electrophoresis system (Hoefer, U.S.A.), transilluminator (Vilber Lourmat, France), inverted microscope (Nikon, Japan), clean bench (수공양행, 한국), CO2 incubator (Forma, U.S.A.), rotary evaporator system (BÜCHI, Swetzerland), incubator (제이오텍, 한국), 한약재분쇄기 (삼성제약기계, 한국), hypercassette (Amersham Bioscience, U.K.), micropipette (Gilson, France)등을 사용하였다.

B. 방법

1. 한약재 추출물 제조

한약재 추출액은 각각의 한약재 600g씩을 한약재 분쇄기를 이용해 100-200메쉬 크기로 분쇄한 후,

ethanol (1:10 weight/volume)을 가하여 5일간 냉침하여 추출하였다. 추출한 약재는 Whatman filter paper No. 4를 사용해 고형분을 제거한 후 rotary evaporator를 이용해 감압 농축시켰다. 항균력 실험을 비롯한 모든 실험에서는 농축시킨 한약재추출액을 70% ethanol을 이용해 5% 용액으로 만든 후, 필요한 농도로 희석해 사용하였다.

2. 항균력

1) Paper disk법에 의한 한약재 추출물의 항균력

-70℃에서 냉동보관중인 균주들을 실험개시 3일 전 액상배지에 접종한 후 *P. acnes*의 경우 anaerobic chamber에서, *S. aureus*, *C. xerosis*, *P. ovale*, *T. mentagropytes*, *C. albicans*의 경우 37℃ incubator에서 전 배양하였다. 이때 사용한 성장배지로는 *P. acnes*, *S. aureus*, *C. xerosis*의 경우 brain heart infusion (BHI), *P. ovale*의 경우 peptone-glucose (peptone, glucose, yeast extract, ox bile, glycerol, tween 60, glycerol monostearate, 전지분유), *T. mentagropytes*와 *C. albicans*의 경우 Sabouraud dextrose 배지를 사용하였다. 전 배양한 균액은 각 균주마다 동일한 액상배지를 이용해 1/100로 희석한 후 0.5ml을 취해 agar가 포함된 고체 성장배지에 각각 도포하였다. 한약재 추출물의 항균력 평가는 한약재 추출물 1% 용액을 40μl씩 8mm paper dish 위에 가하고 clean bench에서 수분을 날려 보낸 후, 준비한 고체 성장배지에 올려놓고 1-3일간 배양하며, paper disk 주변에 생긴 균의 성장억제 영역의 지름을 측정하여¹⁰⁾ 평가하였다.

2) Minimum Inhibition Concentration (MIC) 측정

Paper disk법에서 clear zone이 13mm 이상으로 우수한 항균력을 보인 추출물들의 정확한 항균력 평가를 위해 MIC를 측정하였다. MIC 측정은 성장배지를 이용해 5-0.005% 까지 2-fold dilution한 한약재 추출물에 전 배양한 해당균주를 105-106 colony forming units/ml의 농도로 희석해 첨가한 후 1-3일간

배양하며, 균의 성장을 억제한 희석액의 최저 농도를 측정해 MIC로 결정하였다¹⁰⁾.

3. 목향추출물이 염증반응에 미치는 영향

1) 항산화력

항산화력은 DPPH(1,1-diphenyl-2-picryl-hyrazyl)법을 이용해 평가하였다. 무수에탄올로 0.01%와 0.001%로 희석한 목향추출물 1ml에 0.1mM DPPH용액 1ml을 가하고, 37℃에서 30분간 반응시킨 후, 반응물의 흡광도를 spectrophotometer로 516nm에서 측정하였다. 양성대조군으로는 butylated hydroxytoluene (BHT)을, 음성대조군으로는 무수에탄올을 사용하였다^{11,12)}. 항산화력을 나타내는 free radical scavenging activity는 다음의 식으로 계산하였다.

Radical scavenging activity

$$= 100 - (OD_{exp} - OD_{blank}) / (OD_{cont} - OD_{blank}) \times 100$$

OD_{exp} : DPPH와 에탄올로 희석한 실험물질이 반응한 결과물의 흡광도

OD_{blank} : DPPH를 가지지 않은 에탄올만의 흡광도

OD_{cont} : DPPH와 에탄올이 반응한 결과물의 흡광도

2) Nitric oxide (NO) 생성 억제력

RAW 264.7 세포(ATCC TIB-71)를 이용한 GRIESS 법^{13,14)}으로 NO 생성억제력 실험을 실시하였다. 10% FCS(Fetal Calf Serum)가 첨가된 DMEM으로 전 배양한 RAW 246.7 세포를 24 well plate에 5×10⁴cells/ml의 농도로 seeding하여 5% CO₂ incubator에서 24시간 배양하였다. 세포배양 배지를 제거하고 인산염완충용액(phosphate buffered saline)으로 1회 세척한 후, phenol red를 첨가되지 않은 DMEM으로 가하고 목향추출물을 50ppm과 5ppm의 농도로 가해 1시간 동안 처리하였다. Lipopolysaccharide(LPS)를 1ppm의 농도로 처리하여 48시간 배양한 후, 상층액을 100μl씩 취해 96 well plate에 옮긴 후, GRIESS reagent를 100μl/well씩 가해 상온에서 5분간 반응시

키고, ELISA reader로 540nm에서의 흡광도를 측정하였다^{13,14}). NO의 생성 억제력 정도는 다음의 식으로 계산하였다.

$$\text{Inhibition rate} = 100 - \frac{[(\text{OD}_{\text{exp.}} - \text{OD}_{\text{blank}}) / (\text{OD}_{\text{LPS}} - \text{OD}_{\text{blank}})] \times 100}{\text{OD}_{\text{exp.}}}$$

OD_{exp.} : LPS과 목향추출물을 가한 결과물의 흡광도
 OD_{blank} : LPS와 목향추출물을 가하지 않은 흡광도
 OD_{LPS} : LPS만을 가한 결과물의 흡광도

3) Interleukin-1 β , Interleukin-6 및 Tumor necrosis factor- α 유전자

발현 억제력 (Reverse Transcription - Polymerase Chain Reaction: RT-PCR)

Monolayer를 형성한 RAW 264.7 세포를 trypsin 처리 후 60mm dish에 1 \times 10⁵ cells/ml의 농도로 seeding 하여 90% 정도까지 성장할 때까지 배양하였다. 혈청이 첨가되지 않은 DMEM으로 배양액을 교체하고, 70% 에탄올로 희석한 목향추출물을 dish당 10 μ l씩 가하여 4시간 동안 처리하였다¹⁵). 이때 대조군으로는 70% ethanol을 사용하였다.

① Total RNA 분리

RAW 264.7 세포로부터 total RNA를 분리하는 과정은 guanidinium thiocyanate-phenol chloroform법¹⁶)에 준하여 실시하였다. 즉 시료를 처리한 배지를 제거한 후 RNA Solubilizing Solution (Denaturing Solution*: Phenol: 2M Sodium Acetate = 1 volume: 1 volume: 0.1 volume) 1ml를 가하여 녹인 후 micropipette으로 잘 섞고 eppendorf tube로 옮겼다. Chloroform을 200 μ l 가하여 1분간 세차게 흔든 후 4 $^{\circ}$ C에서 15분간 방치하고 원심분리(14,000rpm, 15분, 4 $^{\circ}$ C)하고, 상층액을 취하여 새 eppendorf tube에 옮겼다. Isopropanol을 700 μ l 가하여 -20 $^{\circ}$ C에서 1시간 방치시킨 후 원심분리(14,000rpm, 15분, 4 $^{\circ}$ C)하여 상층액을 버리고 침전물을 75% ethanol로 1회 세척한 후, DEPC(Diethyl pyrocarbonate)처리된 이온교환수 20 μ l을

가하여 녹였다. 이 중 일부를 취하여 spectrophotometer로 260nm와 280nm에서 흡광도를 측정해 total RNA를 정량하였다.

* Denaturing solution : 4M guanidinium thiocyanate,
 25mM sodium citrate, pH7.0,
 0.5% sarcosin,
 0.1M 2-mercaptoethanol

② RT-PCR

분리한 total RNA 4 μ g를 eppendorf tube에 넣고 random hexamer (10pmol/20 μ l)를 첨가하여 65 $^{\circ}$ C에서 5분간 반응시킨 후 얼음물에 넣어 RNA의 이차구조를 풀어주었다. 여기에 반응액 (1 \times buffer, 100 μ M dNTPs, 200unit RTase)을 가하여 37 $^{\circ}$ C에서 1시간 반응시킨 후, 65 $^{\circ}$ C에서 10분간 처리하여 reverse transcription 반응을 종료시켰다.

Polymerase chain reaction은 PCR tube에 상기한 RT반응액과 PCR반응액 (PCR buffer, 200 μ M dNTPs, primer 20pmol, Taq polymerase 2.5 units)을 가하여 PCR machine에서 94 $^{\circ}$ C 30초, 60 $^{\circ}$ C 1분, 72 $^{\circ}$ C 1분의 조건으로 실시하였다. 이때 PCR반응에 사용된 primer들의 염기서열은 Table 3에 정리하였으며, 각각 30회씩 증폭하였다.

RT-PCR 결과는 1.5% agarose gel에서 전기영동하고 ethidium bromide로 염색한 후, UV illuminator 위에 올려놓고 polaroid camera를 이용해 사진 촬영하였으며, 그 결과는 densitometer를 이용해 판정하였다.

Table 3. Nucleotide Sequence of the Primers and Expected Size of PCR products.

Primer	Sequence	Size
IL-1 β	Sense 5'-TCT TTG AAG TTG ACG GAC CC-3'	486
	Anti-sense 5'-AGG CCA CAG GTA TTT TGT CG-3'	
IL-6	Sense 5'-CCG GAG AGG AGA CTT CAC AG-3'	500
	Anti-sense 5'-TGG TCT TGG TCC TTA GCC AC-3'	
TNF- α	Sense 5'-AGT TCT ATG GCC CAG ACC CT-3'	484
	Anti-sense 5'-CGG ACT CCG CAA AGT CTA AG-3'	

4) Cyclooxygenase II 활성 억제력

C57BL6 mouse의 복강에 차가운 phosphate

buffered saline (PBS) 5ml을 가하고 약 2분간 마사지 한 후 주사기를 이용해 대식세포가 들어있는 복강액을 회수하였다. 복강액을 원심분리법으로 2회 세척한 후 RPMI 1640 배지로 106 cell/ml의 농도로 현탁시킨 후 aspirin을 최종농도가 500 μ M이 되도록 첨가하여 세포내에 잔존하고 있는 Cyclooxygenase(COX)를 억제시켰다. 회석액을 96 well plate에 105 cell/well의 농도로 seeding한 후 37 $^{\circ}$ C, 5% CO₂ incubator에서 3시간 배양하여 부착시킨 후 배양액을 제거하고, PBS로 2회 세척한 후 3% FCS가 첨가된 RPMI 1640 배지를 well당 200 μ l씩 첨가하였다. 대식세포를 활성화시키는 LPS와 목향추출물을 well당 1ppm와 10 μ g/ml의 농도로 첨가하고 37 $^{\circ}$ C, 5% CO₂ incubator에서 8시간 배양한 후, 상층액을 취해 Prostaglandin E2 EIA Kit (Cayman, USA)를 이용해 Prostaglandin E2를 정량하였다¹⁷⁾.

5) 5 α -reductase I 활성 억제력

5 α -reductase I의 source로는 Sprague-Dawley rat (SD rat) 암컷 간을 crude enzyme으로 이용하였다. 9 주령된 SD rat 암컷을 ethyl ether로 마취시킨 후 경추 도살하여 간을 적출하고, 이를 4 $^{\circ}$ C homogenizing buffer (50mM sodium phosphate dibasic, 250mM sucrose)를 넣은 glass homogenizer에 넣고 잘게 분쇄시킨 후, ultrasonicator를 이용해 완전히 분쇄시켜 원심분리(1,500g, 4 $^{\circ}$ C, 5분)하였다. 상층액을 취하여 단백질 정량 후 homogenizing buffer로 단백질의 농도가 5 μ g/ μ l이 되도록 희석하였다.

5 α -Reductase type I 활성평가는 eppendorf tube에 crude enzyme 40 μ l, 목향추출물 10 μ l 및 reaction buffer (50mM sodium phosphate dibasic, 25mM potassium chloride, 500 μ M nicotinamide adenine dinucleotide phosphate, 50nM [3H]testosterone) 50 μ l를 가해 혼합한 후, 37 $^{\circ}$ C에서 15분간 반응시켰다. 70% cyclohexane, 30% ethyl acetate 용액을 tube당 250 μ l씩 가하여 효소반응을 종료시키고 원심분리 (14,000rpm, 상온)시켜 물과 유기용매 층을 분리시킨

후 steroid가 포함되어 있는 유기용매층을 취해 새로운 eppendorf tube로 옮긴 후, hood 내에서 건조시켰다. 건조시킨 steroid는 chloroform 20 μ l을 가하여 녹인 후, TLC plate에 spotting하고 전개용매 (80% toluene, 20% acetone)하에서 전개시켰다¹⁸⁾. 전개된 TLC plate는 상온에서 말린 후 cassette에서 hyperfilm으로 상온에서 3일간 감광시켜 autoradiogram을 얻었다. 효소반응의 결과는 film상에 감광된 면적을 densitometer (imagemaster)로 측정해 계산하였다. 효소 활성 억제율은 천연물을 넣지 않고 반응시켰을 때의 효소반응을 100% 효소활성으로 하여 계산하였다¹⁸⁾.

6) 세포독성

V-79 세포 (ATCC CCL-93)를 이용해 MTT법¹⁹⁾으로 세포독성을 평가하였다. 10% FCS가 첨가된 DMEM으로 전 배양한 V-79 cell을 96 well plate에 5 \times 10⁵cells/ml의 농도로 seeding하고 5% CO₂ incubator에서 24시간 배양하였다. 배지를 제거하고 FCS를 첨가하지 않은 배지에 0.1%-0.001%로 희석한 목향추출물을 첨가하고 24시간 배양시킨 후, 배지를 제거하고 MTT용액을 1 μ g/ml의 농도로 가하여 37 $^{\circ}$ C에서 3시간 반응시켰다. 미반응된 MTT를 제거하고 ethanol 100 μ l를 가해 형성된 반응물을 용해시키고, ELISA reader로 560nm와 640nm에서의 흡광도를 측정해 세포독성을 확인하였다¹⁹⁾.

실험결과

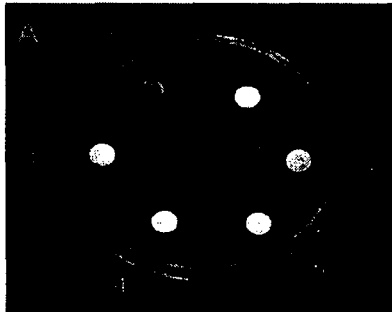
A. 한약재 추출물의 항균력

A-1. Paper Disk법에 의한 한약재 추출물의 항균력

1. Propionibacterium acnes에 대한 항균력

P. acnes 균을 대상으로 천연물 94종의 항균력을

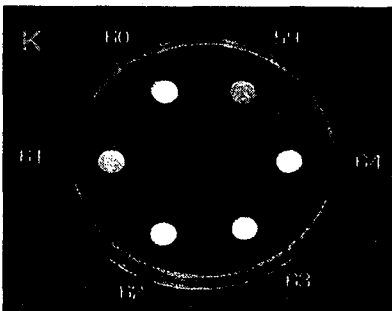
paper disk법으로 평가한 결과 감초추출물의 clear zone이 19mm로 항균력이 가장 우수하였으며, 목향과 상백피추출물이 13mm로 우수한 항균력을 보였고, 정향, 오가피, 죽여, 건강 및 측백엽추출물은 9-10mm로 약간의 항균력을 지닌 것으로 조사되었다.



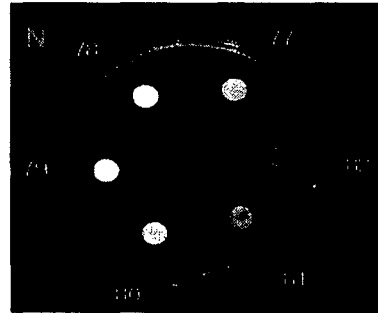
(1.저실자 2.후박 3.산수유 4.홍화자 5.백강잠 6.정향)



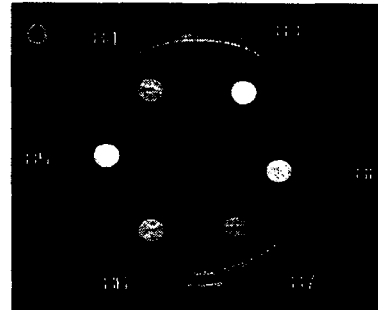
(19.오가피 20.두충 21.계지 22.건지황 23.목향 24.감초)



(59.인진호 60.낙석등 61.용이초 62.지실 63.거삼맥문동 64.죽여)



(77.건강 78.고본 79.필발 80.대외향 81.상지 82.계피)

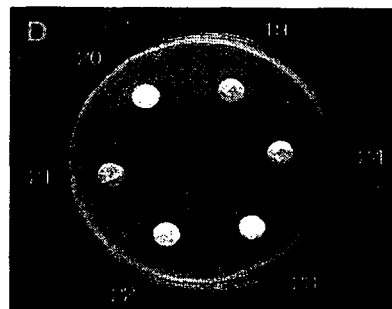


(83.상기생 84.비파엽 85.피각 86.측백엽 87.상백피 88.백자얀)

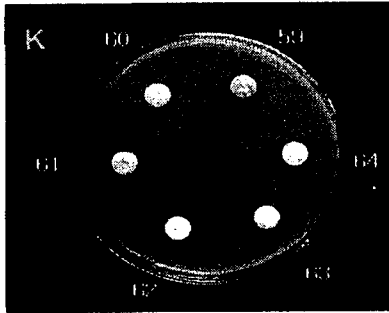
Fig. 1. Anti-microbial activities of herbal extracts on *P. acnes*.

2. Staphylococcus aureus에 대한 항균력

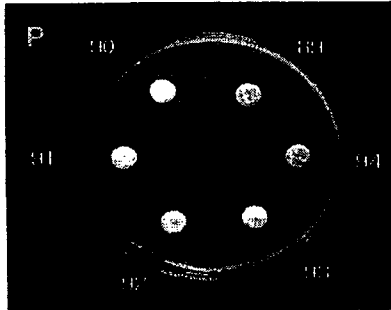
S. aureus 균을 대상으로 천연물 94종의 항균력을 paper disk법으로 평가한 결과 감초, 지실 및 복분자추출물이 각각 9-10mm의 clear zone을 형성해 *S. aureus* 균에 대해 약간의 항균력을 지닌 것으로 조사되었다.



(19.오가피 20.두충 21.계지 22.건지황 23.목향 24.감초)

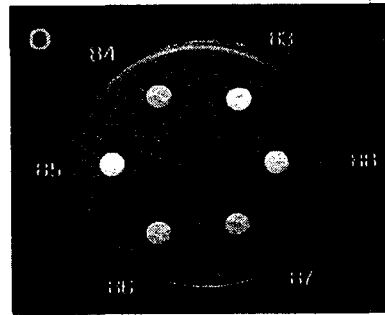


(59.인진호 60.낙석등 61.용이초 62.지실 63.거삼맥문동 64.죽여)

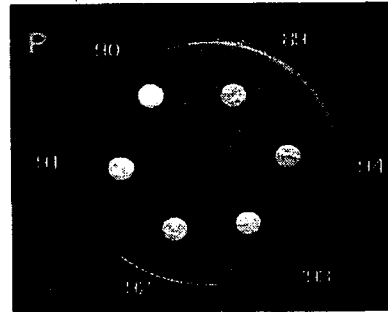


(65.박하 90.흑지마 91.속지황 92.산사 93.가자 94.복분자)

Fig. 2. Anti-microbial activities of herbal extracts on *S. aureus*.



(83.상기생 84.비파엽 85.피과 86.측백엽 87.상백피 88.백자인)

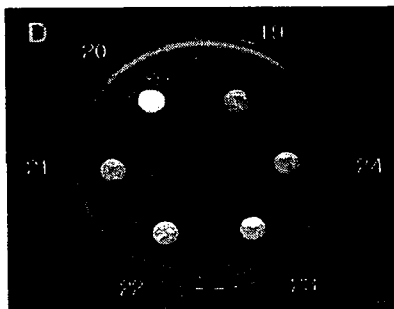


(89.박하 90.흑지마 91.속지황 92.산사 93.가자 94.복분자)

Fig. 3. Anti-microbial activities of herbaextracts on *C. xerosis*.

3. *Corynebacterium xerosis*에 대한 항균력

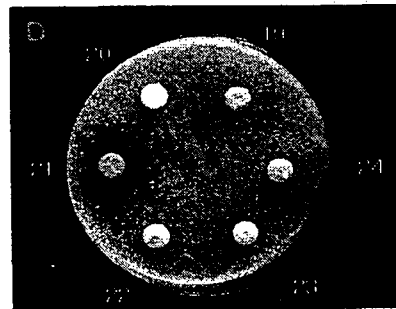
C. xerosis 균을 대상으로 천연물 94종의 항균력을 paper disk법으로 평가한 결과 흑지마추출물의 clear zone이 16mm로 항균력이 가장 우수하였으며, 복분자, 오가피, 목향, 감초 및 상백피추출물이 9-11mm로 약간의 항균력을 지닌 것으로 조사되었다.



(19.오가피 20.두충 21.계지 22.건지황 23.목향 24.감초)

4. *Pityrosporum ovale*에 대한 항균력

P. ovale 균을 대상으로 천연물 94종의 항균력을 paper disk법으로 평가한 결과 계지추출물의 clear zone이 25mm로 우수한 항균력을 보인 반면, 다른 추출물은 항균력이 없는 것으로 조사되었다.

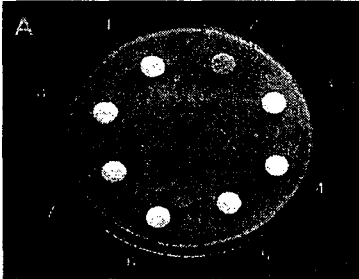


(19.오가피 20.두충 21.계지 22.건지황 23.목향 24.감초)

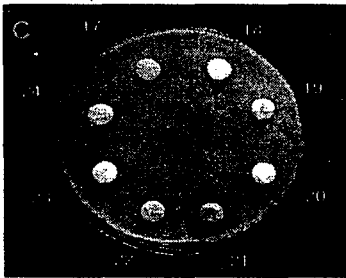
Fig. 4. Anti-microbial activities of herbal extracts on *P. ovale*.

5. *Candida albicans*에 대한 항균력

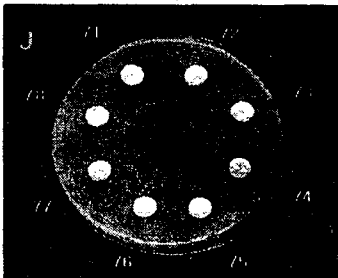
C. albicans 균을 대상으로 천연물 94종의 항균력을 paper disk법으로 평가한 결과 계지, 정향 및 황금추출물이 9-10mm의 clear zone을 형성해 약간의 항균력을 지닌 것으로 조사되었다.



(1.저실자 2.후박 3.산수유 4.홍화자 5.백강잠 6.정향 7.우슬 8.길경)



(17.조각자 18.여로 19.오가피 20.두충 21.계지 22.건지황 23.목향 24.감초)

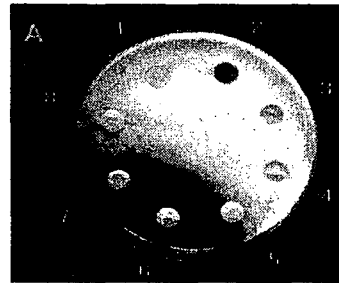


(71.영릉향 72.천문동 73.행인 74.황금 75.상엽 76.천초 77.건강 78.고본)

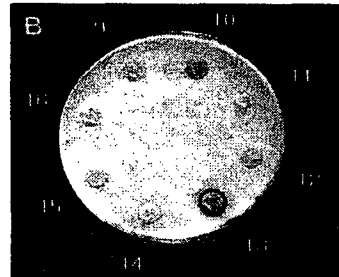
Fig. 5. Anti-microbial activities of herbal extracts on *C. albicans*.

6. *Trichophyton mentagrophytes*에 대한 항균력

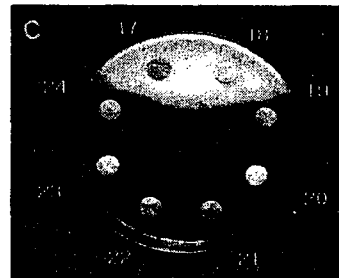
T. mentagrophytes 균을 대상으로 천연물 94종의 항균력을 paper disk법으로 평가한 결과 계지추출물이 26mm의 clear zone을 형성해 가장 우수한 항균력을 보였고, 정향, 삼내자, 필발, 목향 및 건강추출물이 18-22mm의 clear zone을 형성해 우수한 항균력을 보였고, 오배자, 신이, 백지, 백출, 당귀, 영릉향, 황금추출물은 9-12mm의 약한 항균력을 보였다.



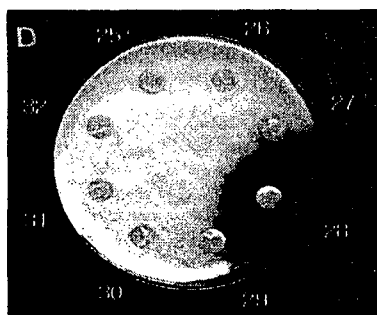
(1.저실자 2.후박 3.산수유 4.홍화자 5.백강잠 6.정향 7.우슬 8.길경)



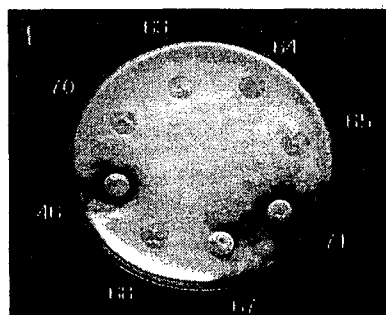
(9.포공영 10.읍양곽 11.용안육 12.황정 13.오배자 14.오미자 15.초오 16.사상자)



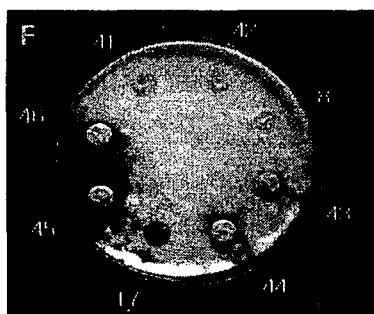
(17.조각자 18.여로 19.오가피 20.두충 21.계지 22.건지황 23.목향 24.감초)



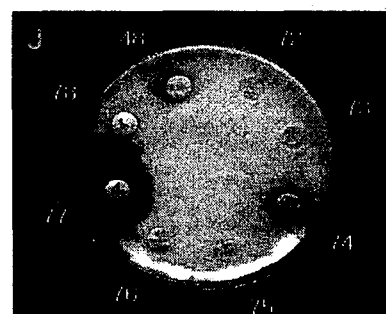
(25.적작약 26.앵두육 27.소회향 28.삼내자
29.연교 30.과루근 31.잔대 32.목파)



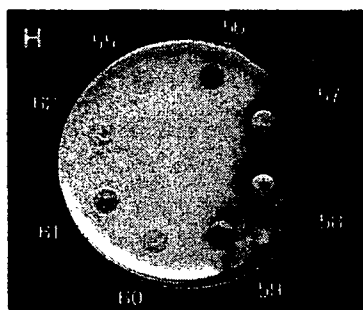
(46.백지 63.거슴땀문둥 64.죽여 65.진피 67.만삼
68.산마 70.산조인 71.영롱향)



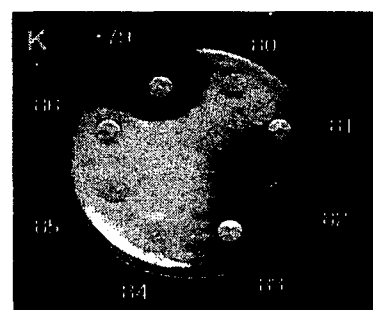
(8.길경 17.조각자 41.갈근 42.산약 43.지실
44.천궁 45.신이 46.백지)



(48.금은화 72.천문둥 73.행인 74.황금 75.상엽
76.천초 77.건강 78.고본)



(55.차전자 56.유백피 57.백출 58.당귀
59.인진호 60.낙석등 61.용아초 62.지실)



(79.필발 80.대회향 81.상지 82.계피 83.상기생
84.비파엽 85.괴각 86.측백엽)

Fig. 6. Anti-microbial activities of herbal extracts on *T. mentagrophytes*.

을 지닌 것으로 평가되어 항산화 효과는 거의 없는 것으로 조사되었다.

A-2. Minimum Inhibition Concentration (MIC) 측정

상기한 papaer disk법에 의해 clear zone이 13mm 이상으로 우수한 항균력을 지니는 것으로 확인된 목향, 감초, 상백피 (*P. acnes*), 흑지마 (*C. xerosis*), 계지 (*P. ovale*), 정향, 계지, 목향, 삼내자, 건강, 필발 (*T. mentagrophytes*) 등의 한약재추출물을 대상으로 MIC를 측정하기 위해 broth dilution법 혹은 agar dilution법을 실시한 결과는 Table 4와 같다.

Table 4. Determination of Minimum Inhibition Concentration of Herbal Extracts on Microorganisms Tested.

Microorganisms	Herbal Extracts	MIC (%)	Test Methods
<i>P. acnes</i>	목향(<i>Saussurea lappa</i>)	0.04%	Broth
	감초(<i>Glycyrrhiza glabra</i>)	<0.01%	
	상백피(<i>Morus alba</i>)	<0.01%	
<i>C. xerosis</i>	흑지마(<i>Sesamum indicum</i>)	0.31%	Method
<i>P. ovale</i>	계지(<i>Cinnamomum cassia</i>)	0.05%	Agar Dilution Method
<i>T. mentagrophytes</i>	정향(<i>Eugenia caryophyllata</i>)	0.02%	
	계지(<i>Cinnamomum cassia</i>)	0.02%	
	목향(<i>Saussurea lappa</i>)	0.01%	
	삼내자(<i>Rhizoma kaempferiae</i>)	0.01%	
	건강(<i>Zingiber officinale</i>)	0.02%	
	필발(<i>Piper longum</i>)	0.01%	

Table 5. Radical Scavenging Activity of Saussurea lappa Extract.

Samples	Radical Scavenging Activity	
Positive control (Butylated Hydroxytoluene)*	0.01%	73.1%
Saussurea lappa Extract	0.01%	19.0%
	0.001%	2.8%

* 식품, 플라스틱 및 고무제품 등에서 사용되는 산화방지제

2) Nitric oxide (NO) 생성 억제력

RAW 246.7 세포를 이용한 GRIESS법으로 NO 생성 억제력 평가를 triplicate로 실시한 결과 목향추출물은 음성대조군에 비해 LPS의 자극을 받아 생성되는 NO를 50µg/ml에서 86%, 5µg/ml에서 28% 억제시키는 것으로 평가되어 우수한 NO 생성 억제효과를 보였다.

B. 목향이 염증반응에 미치는 영향

피부 질환과 관련된 미생물에 대한 항균력 실험에서 *T. mentagrophytes*, *P. acnes* 및 *C. xerosis* 균에 대해 우수한 항균력을 보인 목향추출물을 대상으로 항균력 이외에 피부염증, 여드름에 미치는 영향을 평가한 결과는 다음과 같다.

1. 염증반응 억제에 미치는 영향

1) 항산화력

목향추출물이 항산화력을 지니고 있는지의 여부를 DPPH법으로 평가한 결과 목향추출물은 0.01%의 농도에서는 19.0%, 0.001%에서는 2.8%의 항산화력

Table 6. Inhibitory Effects of Saussurea lappa Extract on Nitric Oxide Production in RAW 264.7 cells.

Sample	Control	LPS*	Saussurea lappa Extract	
			50µg/ml	5µg/ml
1	0.064	0.279	0.092	0.245
2	0.060	0.286	0.086	0.201
3	0.065	0.266	0.104	0.205
Average	0.063	0.277	0.094	0.217
Average-Control	-	0.214	0.031	0.154
Inhibition Rate	-	-	85.5%	28.0%

* LPS : Lipopolysaccharides

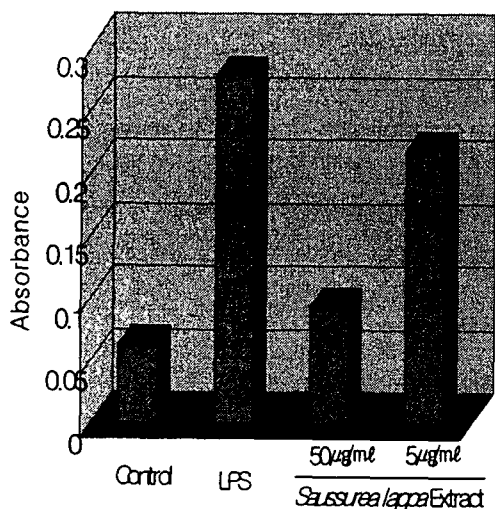


Figure 7. Inhibitory Effects of Saussurea lappa Extract on Nitric Oxide Production in RAW 264.7 cells. (LPS : Lipopolysaccharides)

3) Interleukin-1 β , Interleukin-6 및 Tumor necrosis factor- α 유전자

발현 억제력 (RT-PCR)

목향추출물이 염증의 발증과정과 밀접한 관련이 있는 cytokine인 Interleukin-1 β (IL-1 β), Interleukin-6 (IL-6) 및 Tumor necrosis factor- α (TNF- α) 유전자 발현에 미치는 영향을 RT-PCR로 평가한 결과 목향추출물은 이들 유전자의 발현에 영향을 미치지 못하는 것으로 조사되었다.

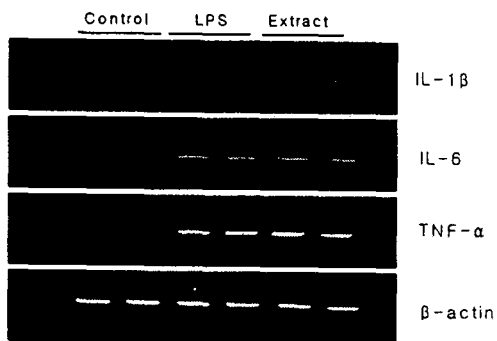


Figure 8. Effects of Saussurea lappa Extract on the mRNA level of cytokines in cultured RAW 264.7 cells by RT-PCR. (LPS : Lipopolysaccharides)

4) Cyclooxygenase II (COX II) 활성 억제력

목향추출물이 COX II의 활성 억제에 미치는 영향을 평가한 결과 10 μ g/ml의 농도에서 53% 억제시켜, COX II 활성 억제 효과가 우수한 것으로 확인되었다.

Table 7. Inhibitory Effects of COX II by Saussurea lappa Extract.

Samples	PGE2 (ng/ml)	Inhibition of PGE2 release
Control	86	-
Lipopolysaccharides	125	-
Saussurea lappa Extract	107	53 %

*PGE2 : Prostaglandin E2

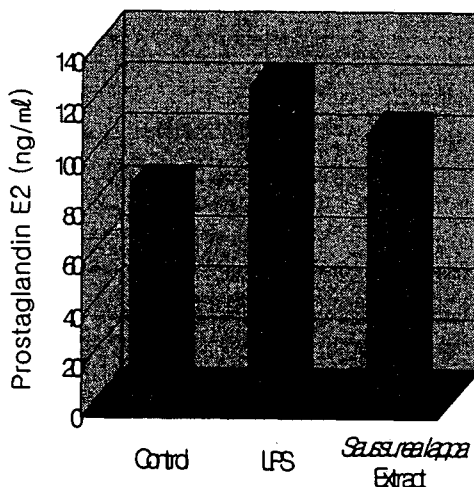


Figure 9. Inhibitory Effects of COX II by Saussurea lappa Extract. (LPS : Lipopolysaccharides)

2. 5 α -reductase I 활성 억제력

여드름군에 대한 항균력을 지닌 목향추출물이 여드름군과 함께 testosterone을 더욱 강력한 형태의 남성호르몬인 dihydrotestosterone으로 전환시키는 작용을 하는 효소인 5 α -reductase I의 활성에 미치는 영향을 평가한 결과, 목향추출물은 실험을 실시한 0.01%와 0.001% 모두에서 이 효소의 활성을 억제시키지 못했다.

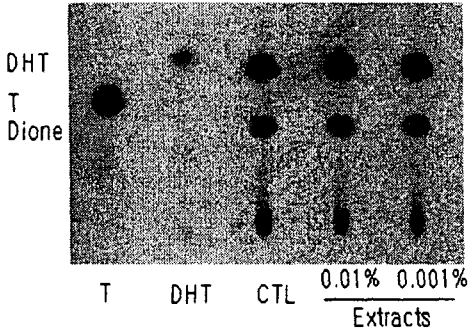


Figure 10. Effects of Saussurea lappa Extract on the type I 5α-Reductase Activity. (T: testosterone, CTL: control, DHT: dihydrotestosterone, Dior: androstenedione)

3. 세포독성

세포독성 실험에 널리 이용되는 V79 cell line을 이용해 MITT법으로 측정한 목향의 세포독성(MIT50: 세포를 50% 치사시키는 농도)은 약 60µg/ml이었다.

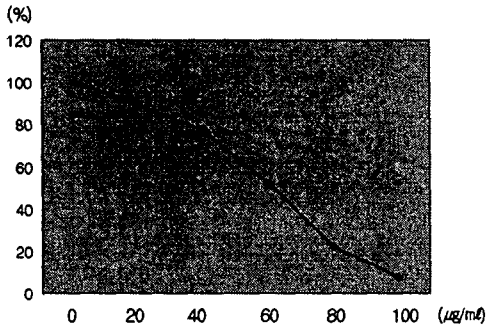


Figure 11. Cytotoxicity of Saussurea lappa Extract on V79 cells.

고찰

피부는 병원성 미생물에 저항하는 강력한 방어체제를 갖는다. 피부는 견고하고 건조한 각질층, 표피의 분화에 따른 기계적인 제거, 피부 표면의 약산성, 지방질의 단단한 시멘트질로 연결된 과립층과

유극층, 항균작용이 있는 피지선 분비물, 땀에 포함된 여러 항균물질, 피부 정상균총에 의한 병원균 억제, 항체 및 세포 면역 기전 등 다양한 방법으로 병원균의 침입을 방지한다²⁰. 그러나 당뇨병과 같은 만성 질환을 앓고 있거나, 항생제를 장기간 투여한 경우, 땀을 많이 흘렸거나 상처가 있는 등 여러 영향으로 많은 피부질환은 미생물에 의해 유발되는 것으로 알려져 있다²⁰. 한의학적으로 피부는 전신의 체표를 주관하므로 인체의 가장 중요한 보호기관이며 外邪의 침입을 방어하는 장막이다²¹. 피부의 조직이 치밀하면 外邪를 차단할 수 있고 반대로 皮膚가 이완하면 病邪가 虛한 틈을 타서 침입한다²¹. 《素問·刺法論》²²에서 “邪之所湊, 其氣必虛”, “正氣內存, 邪不可干”이라 말한 것처럼 人體 抵抗力이 떨어지는 상태에서 피부감염을 일으킬 수 있다.

여드름은 주로 사춘기와 젊은 연령층의 얼굴과 가슴 등에서 발생하는 모피지선의 만성 염증성 질환으로, 제2차 성징으로 성호르몬 분비의 항진으로 시작되며, 면포, 구진, 농포, 낭종 등을 형성하고, 심하면 반흔을 남기기도 한다. 여드름의 발생원인은 피지분비 증가, 비정상적으로 증가한 모낭벽의 각화, 세균의 증식 및 염증유발 등으로 정리할 수 있다. 사춘기를 지나면서 남성호르몬의 기능이 항진되어 생성된 과량의 피지는 모낭벽의 과각화로 인해 모낭 내에 정체되고, 정체된 피지는 모낭을 막아 공기의 순환을 차단하게 되어 모낭내부는 모낭 내에 상주하는 *P. acnes* 균주가 잘 자랄 수 있는 환경이 된다. 여드름 원인 균으로 알려진 *P. acnes*는 통성 혐기성 그람양성균으로, 피지가 없이는 거의 발육할 수 없는 호지성(lipophilic) 균이다. 따라서 *P. acnes*의 증식은 lipid rich 부위에 한정되어 있으며, 이는 *P. acnes*의 균수와 피지분비량과의 상관관계가 이를 잘 설명해 주고 있다²³. 즉 피지가 많은 부위는 여드름의 호발부위인 동시에 이 부위는 *P. acnes*의 균수가 많은 부위이기도 하다. *P. acnes*는 세균성 lipase와 같은 지방분해효소와 화학주성인자를 분비하여 피지를 triglyceride와 free fatty acid로 가수분해하고, 이

free fatty acid는 모회벽 comedonic에 작용해 모낭벽을 파괴하여 모낭 내용물이 진피내로 유출되면서 염증반응이 일어나게 된다³⁾. 따라서 여드름을 억제시키고 치료하기 위해서는 피지생성과 염증반응을 억제시키는 노력과 함께 *P. acnes*의 증식을 억제시키는 것이 필요하다. 이에 본 연구에서는 임상에서 활용되고 있는 한약재 94종을 대상으로 *P. acnes*에 대한 항균력을 평가하였으며, 그 결과 상백피추출물과 감초추출물 등이 MIC가 0.01% 이하로 우수한 항균력을 지님을 확인하였다. 여드름은 한의학에서 《素問·生氣通天論》²²⁾에서 痤癩라는 이름으로 기재된 이래, 巢²⁴⁾는 그 병명, 원인, 증상을 구체적으로 언급하였고, 이후 제가들이 瘡瘡, 面癩, 面生瘡, 粉刺, 面腫, 面熱, 肺風粉刺 등의 다양한 명칭으로 표현하였다⁵⁾. 발생원인은 風濕熱의 外因과 肺熱, 胃熱, 血熱, 瘀血, 痰飲의 內因과 과식 등의 不內外因으로 대별해 왔으며⁵⁾, 최근 문헌에서는 肺胃積熱, 血熱血燥, 脾虛濕痰, 腸胃濕熱, 血鬱血瘀, 風熱毒, 痰瘀互結, 衝任不調 등이 원인이 된다고 하였다^{25,26)}. 치법은 清肺胃熱, 清熱解毒, 清熱涼血滋陰, 健脾化濕, 活血祛瘀, 祛風熱毒, 軟堅散結, 調理衝任 등을 위주로 하였다^{25,26)}. 최근 연구로 임²⁷⁾은 加減枇杷清肺飲이 소염작용, 부종억제효과 및 장평활근의 이상수축에 대한 억제효과를 가져 面癩에 유용성이 있다고 하였고, 김²⁸⁾은 連翹敗毒散加味方이 실험적으로 유발된 염증의 부종반응 및 면역세포 활성화에 대해 억제효과가 있어서 여드름 치료에 면역성 반응억제를 나타낸다고 하였다. 노⁹⁾는 고삼추출물이 여드름 원인균인 *P. acnes*에 대하여 양호한 성장억제 효과를 보여 여드름 억제에 유용하다고 하였고, 홍⁵⁾은 清上防風湯加味가 面癩 1기 및 염증초기의 항염작용에 효과가 있다고 하였다. 상백피는 性味가 甘寒無毒하고 肺經에 작용하여 瀉肺平喘·利水消腫의 효능이 있으며^{29,30)}, 최근 연구보고에 따르면 상백피추출물은 혈압강하, 혈당강하, 항균, 항암작용이 있다고 한다^{31,32)}. 감초는 性味가 甘平無毒하고 脾胃肺經에 작용하여 補脾益氣·清熱解毒·潤肺止咳·調

和諸藥의 효능이 있다^{29,30)}. 감초에 관한 최근 연구로는 임³³⁾이 감초수추출물이 멜라닌 생성을 억제시킨다고 보고한 바 있다. 앞으로 상백피는 肺熱로 인한 여드름, 감초는 肺胃積熱로 인한 여드름 치료와 예방에 유용하게 활용될 수 있을 것으로 생각된다.

황색 포도상구균인 *S. aureus*는 그람양성균으로 크기는 0.5-1.2 μ m이며, 포도송이 모양의 불규칙한 배열을 하고, 호기성 및 통상혐기성 조건에서 잘 성장한다¹⁰⁾. 이 균주는 건강인의 비강에서도 40-50% 검출되는 등 사람의 피부와 구강 인후 점막에 상재하는 균의 하나이지만, 부상과 찰과상으로 인해 손상된 부위에 침입해 국소적으로 표피에서의 농가진(impetigo), 모낭에서의 종기(boils)등을 유발시킨다¹⁰⁾. *S. aureus*는 특히 화상부위에 침입해 전신적으로 퍼져나가 맹장염, 담낭염, 봉와직염, 골수염 등의 원인이 되기도 한다. 또한 안과질환에서도 결막염을 유발시키는 주요한 원인균주로 작용하며, 식중독과 패혈증을 유발시키고, 독소쇼크후후군(toxic shock syndrome)의 원인균으로 밝혀지기도 하는 등 인체의 여러 염증질환에 작용하는 중요한 미생물중의 하나인 것으로 알려져 있다¹⁰⁾. 본 연구에서는 상기한 한약재 94종을 대상으로 *S. aureus*에 대한 항균력을 조사하였으나, 감초와 복분자, 그리고 지실추출물만이 paper disk법에서 9-10mm의 clear zone을 형성해, *S. aureus*는 이들 한약재에 의해 영향을 받지 않을 것으로 추정되었다.

액와부위는 액와모발과 아포크린선 등이 풍부하고 피부가 중첩되는 부위로 습한 곳이어서 각종 미생물이 잘 자랄 수 있는 부위로 이 부위에 발생하는 피부질환도 적지 않다. 이중 액취증(osmidrosis)은 아포크린선 분비물, 각질 붕괴물 및 피지 땀성분 등이 액와에 상주하는 미생물에 의해 발생하는 악취로 정의될 수 있으며, Gram 양성균주인 *Corynebacterium* 속에 속하는 *C. xerosis*와 *C. diphtheriae* 등이 주로 원인균으로 작용하는 것으로 알려지고 있다^{4,34,35)}. 이에 본 연구에서는 한약재 94종이 액취증의 유발에 관련된 *C. xerosis*에 대해 항균력이 있는지의 여부를

평가하였으며, 그 결과 흑지마추출물이 16mm의 clear zone을 형성하고 MIC가 0.3%로 항균효과가 우수함을 확인하였다. 액취증은 한의학에서 狐臭, 腋氣, 腋臭, 體氣 등으로 표현하였고³⁶⁾, 원인은 선천적인 유전과 濕熱內蘊, 血氣不和, 肝氣鬱結 등의 후천적인 원인으로 양분된다³⁶⁾. 치법은 내치법과 외치법이 있으나 대개 내치법보다는 외치법에 근간을 두고 있는데 明礬, 密陀僧, 麝香, 輕粉, 丁香, 白芷, 青木香 등 芳香滲濁·清熱解毒의 외용약물들이 주로 사용되었다³⁶⁾. 흑지마는 性味가 甘平無毒하고 肝腎經에 작용하여 滋養肝腎·潤燥滑腸의 효능이 있으며^{29,30)}, 《千金方》³⁷⁾에서는 膿潰한 다음 상처가 아물지 않는 경우 흑지마를 검게 볶아 찼어서 붙인다고 하였는데, 예로부터 흑지마는 피부외과 질환에 외용약으로 다용되었다. 앞으로 액취증에 흑지마를 외용약으로 사용하면 유효할 것으로 생각되고 더 많은 임상연구가 필요할 것으로 생각된다.

곰팡이라고도 불리는 진균류는 수만종이 존재하지만 사람에게 질병을 일으키는 것은 100여종에 불과하며, 이 중 피부 사상균과 효모류에 속하는 것들이 동물과 사람에 전파되어 가려움, 피부습진, 비듬, 무좀 등 여러 질병을 야기시키는 것으로 알려져 있다²⁾. 비듬은 임상적으로 염증소견이 없이 두피에 과도하게 쌀겨모양의 인설이 일어나는 현상으로 말할 수 있다²⁾. 비듬이 많은 사람은 적은 사람보다 각질세포와 인설이 더 많고 과표피탈락이 진행되지만, 표피탈락은 정상적인 생리현상이므로 병이 아니라고 주장되기도 하지만³⁸⁾, 두피에는 한선과 피지선이 널리 분포되어 미생물이 번식하기 좋은 환경으로 많은 종류의 미생물들이 존재하고, 비듬의 임상정도 와 P. ovale의 포자수와는 상관관계가 있으며, 항진균요법 등으로 원인균을 제거하면 비듬이 치료되고, 실험실적으로 배양한 균을 접종하면 병이 유발되며, 비듬이 있는 사람의 혈청에서 비듬의 정도와 P. ovale의 항체 역가와 상관관계가 있음이 밝혀지면서, 비듬의 한 원인으로 P. ovale가 원인균으로 작용하고 있다고 인식되고 있다³⁹⁾. P. ovale는 원형 혹은

계란형의 호지성 효모로, 피부의 피지선에서 분비되는 triglyceride와 free fatty acid, 그리고 각질층에서 각화된 세포에서 유래되는 cholesterol과 cholesterol ester를 지질공급원으로 이용하고 있는 것으로 생각되고 있다⁴⁰⁾. 본 연구에서는 실험에 사용한 한약재들이 P. ovale에 대한 항균력이 있는지의 여부를 평가하였으며, 그 결과 계지추출물만이 paper disk법에서 25mm의 clear zone을 형성하고, MIC가 0.05%인 우수한 항균력을 지닌 것으로 평가되어, 계지는 비듬 억제를 위한 약재로 사용될 수 있음을 확인하였다. 비듬은 가장 흔하고 경한 지루피부염의 형태로 알려져 있는데 지루피부염은 피지선의 활동이 증가된 부위 즉 두피, 안면, 흉골부위, 액와부, 배꼽, 서혜부 등에 호발하는 매우 흔한 만성 염증성 피부질환으로 건성 혹은 기름기가 있는 험거운 인설이 특징이며, 임상양상이 다양하고 정도에 차이가 많다²⁰⁾. 지루성 피부염의 한의학적 명칭으로는 白屑風, 面遊風, 紐扣風 등이 해당되는데 비듬은 白屑風과 가장 유사하고⁴⁰⁾, 치료는 대체로 風熱血燥型和 腸胃濕熱型으로 구분하여 風熱血燥型은 清熱·養血潤燥하고 腸胃濕熱型에는 清熱利濕·疏風시키는 치법을 사용한다⁴²⁾. 지루성 피부염에 관한 한의학적인 임상연구는 황⁴³⁾이 봉약침으로 두피의 지루피부염을 치료하였다는 보고와 김⁴⁴⁾이 調胃承氣湯과 升麻黃連湯을 투여하여 지루성 피부염을 치료하였다는 보고 등 두 가지만 있어서 지루성 피부염에 관한 한의학적 연구가 부족한 실정이다. 계지는 性味가 辛甘溫無毒하고 心肺膀胱經에 작용하여 發汗解肌·溫通經脈·通陽化氣의 효능이 있다^{29,30)}. 계지의 祛風작용이 白屑風에 효과가 있을 것으로 생각되고, 앞으로 계지를 비듬뿐 아니라 기타 지루성 피부염에 활용하면 유용할 것으로 생각된다.

C. albicans는 효모의 특성을 가진 진균으로 정상인의 구강과 장에서 50%이상 검출되지만, 건강한 피부에서는 적은 수만이 존재하는 균이다^{10,20)}. 그러나 수분이 많고 손상된 피부에서는 빠른 속도로 집락을 형성하면서 칸디다증(candidosis)을 유발시킨다.

칸디다증의 병변(간찰진, intertrigo)은 일반적으로 사타구니와 피부가 접힌 부위에 소낭과 농포를 일어나며, 농포는 파열되어 홍반으로 발전하는 것이다^{10,20}. 또한 여성의 경우에는 칸디다 질염의 주요 원인으로 작용하기도 한다^{10,20}. 본 연구에서는 *C. albicans*에 대한 한약재 94종의 항균력을 평가하였으며, 그 결과 정향, 계지, 황금추출물만이 paper disk 법에서 9-10mm의 clear zone을 형성해 *C. albicans*는 이들 한약재에 의해 영향을 받지 않을 것으로 추정되었다.

*T. mentagrophytes*는 피부에서 발견되는 피부 사상균의 하나이다. 피부 사상균은 피부의 keratin층이나 손톱, 머리카락 등에 침입해 백선 감염의 원인이 된다. 이러한 감염은 사람의 손과 발에서 흔히 발생하는 질환으로 *T. mentagrophytes*는 특히 족부백선의 주요 원인으로 작용하는 것으로 알려져 있다¹⁰. 본 연구에서는 *T. mentagrophytes*에 대한 한약재 94종의 항균력을 평가한 결과 정향, 오배자, 계지, 목향, 삼내자, 신이, 백지, 백출, 당귀, 영릉향, 황금, 건강, 필발 및 계피추출물에서 paper disk법에서 항균력을 지닌 것으로 평가되어, 이 균은 여러 한약재에 의해 성장이 억제되는 특성이 있는 것으로 조사되었다. Agar dilution 법으로 MIC를 측정한 결과 정향, 목향, 계지, 삼내자, 건강 및 필발추출물의 MIC가 0.02% 이하인 것으로 평가되어 *T. mentagrophytes*에 대해 우수한 항균력을 지닌 것으로 확인되었다. 족부백선은 발바닥과 발가락 사이에 백선균의 감염으로 발생하는 질환으로 임상증상에 따라 지간형, 수포형, 인설형 세 가지로 크게 구분되며 유병기간이 길고 완치가 어려워 재발이 잘되는 감염증의 하나로²⁰ 한의학에서는 《醫宗金鑑》⁴⁵에 기록된 臭田螺, 田螺疱와 유사하다⁴². 《外科正宗》⁴⁶에서 臭田螺의 원인을 足陽明胃經의 濕火, 田螺疱의 원인을 脾經의 風濕이라 하였고, 최근 중국문헌에서는 清熱滲濕, 解熱毒의 내치법과 함께 각종 외치법이 사용되고 있다^{47,48,49}. 한의학적으로 족부백선에 대한 연구로는 최⁵⁰의 족부백선균의 한방치료제 개발을 위

한 연구 외에 다른 보고는 없는 실정이고, *T. mentagrophytes*에 대한 항균력을 가진 한약에 관한 연구는 전혀 없다. 정향은 性味가 辛溫無毒하고 脾胃腎經에 작용하여 溫中降逆·溫腎助陽의 효능이 있으며^{29,30}, 외용으로 癰疽·癬疾 등을 치료한다⁵¹. 목향은 性味가 辛苦溫無毒하고 肺肝脾經에 작용하여 行氣止痛·健脾消食·止痢의 효능 외에도 療毒腫·消惡氣의 효능이 있다^{29,30,51}. 계지는 辛甘溫無毒하고 心肺膀胱經에 작용하여 發汗解肌·溫通經脈·通陽化氣의 효능이 있다^{29,30,51}. 삼내자는 性味가 辛溫無毒하고 胃經에 작용하여 溫中消食止痛의 효능이 있고 東醫寶鑑의 西氏玉容散에 배합되어 얼굴의 一切酒刺, 風刺 등을 치료한다는 예를 볼 수 있다³⁰. 건강은 性味가 辛熱無毒하고 脾胃肺經에 작용하여 溫中回陽·溫肺化痰·溫經止血的 효능이 있고 외용으로 급성 결막염과 초기 癰疽도 치료한다^{29,30,51}. 필발은 性味가 辛熱無毒하고 脾胃經에 작용하여 溫中散寒·下氣止痛의 효능이 있고 외용으로 타박상과 충치 등을 치료한다^{29,30,51}. 앞으로 족부백선의 치료에 정향, 목향, 계지, 삼내자, 건강 및 필발 등의 약물을 외용약으로 사용하면 유효할 것으로 생각된다.

상기한 바와 같이 항균력 실험에서 피부질환 관련 미생물 6종중 3종에 대해 우수한 항균력을 지니고 있는 목향은 行氣止痛·健脾消食·止痢의 효능 외에도 療毒腫·消惡氣의 효능이 있고^{29,30,51} 아직까지 많은 기초 연구가 수행되지 않아서, 항균력 이외에 피부염증과 여드름 및 피지분지와 관련된 반응에 미치는 영향을 평가하여 피부질환의 치료와 예방에서의 목향의 유용성 여부를 평가하였다. 목향에 관한 최근 연구로는 이⁵²가 목향수침이 흰쥐의 체중을 증가시키고 소화관 호르몬 분비에 영향을 미치며 위와 췌장내에서의 소화작용에 관여한다고 하였고, 유⁵³는 목향에 혈압강하 및 항혈전작용이 있다고 보고하였다. 그러나 목향의 피부염증 및 여드름과 관련된 연구보고는 지금까지 없는 실정이다.

염증은 “균감염, 열, 외상, 항원항체반응 등 생체 조직의 기질변화를 초래하는 침습에 대한 생체의

방어 기전"이라고 정의하고 있다. 염증이 발생한 부위는 염증이라는 용어가 "불 같은 상태"라는 어원에서 유래된 것과 같이 발적, 발열, 동통, 종창, 기능 장애와 같은 염증의 5대 징후가 발생된다. 이러한 염증을 병리조직학적으로 볼 때에는 혈관 투과성 항진과 과립구 및 대식세포와 같은 세포의 침윤이 커다란 특징이라고 할 수 있다⁵⁴). Nitric oxide (NO)는 nitric oxide synthase(NOS)효소에 의해 만들어지며, 생산된 과량의 NO는 피부염증을 비롯한 각종 급성 혹은 만성 염증 질환에서 중요한 역할을 하는 것으로 알려져 있다. NOS는 I형과 II형, III형의 3종류가 있으며, 이중 생체에서 항상성과 관련된 I형이나 III형과 달리 II형은 inducible NOS(iNOS)로 cytokine이나 세균 등에서 분비되는 LPS 등에 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 (O₂⁻)과 반응해 맹독성을 가진 peroxynitrite (ONOO⁻)를 생성하므로 더욱 강력한 독성물질로 변화되어 암 형성과 진행에 중요한 역할을 하는 것으로 보고되어 있다. 따라서 관절염을 비롯한 각종 염증의 발생억제와 치료를 위해서는 iNOS의 활성을 억제시키는 것이 중요하다^{55,56}). 이에 본 연구에서는 목향추출물이 염증의 예방과 치료에 효과가 있는지의 여부를 평가하기 위해 mouse에서 유래된 대식세포인 RAW 264.7 세포를 이용해 LPS의 자극받아 형성되는 NO 생성을 목향추출물이 억제시키는 능력이 있는지의 여부를 평가하였으며, 그 결과 목향추출물은 LPS에 의해 RAW 264.7 세포에서 생성되는 nitric oxide를 50µg/ml에서 85%, 5µg/ml에서 28% 억제시키는 것으로 확인되어 우수한 NO 생성 억제력을 보여 염증치료 및 억제에 유용한 약재임을 확인하였다.

염증 반응에서의 유해자극은 직접 국소에 작용해 손상을 주기도 하지만, 대부분 내인성 화학전달물질을 통해 간접적으로 국소의 혈관이나 세포에 전달

된다. 염증반응을 일으키는 주요 화학 전달 매개물질로는 크게 즉시형 혈관투과성 항진에 관여하는 amine류(histamine, serotonin등)와 kinin류(bradykinin 등), 지연형 반응에 주로 작용하는 cytokine류와 prostaglandin과 leukotriene류 등의 4군으로 분류된다⁵⁶). 지연형 반응에 주로 작용하는 cytokine은 30kD이하의 분자량을 가진 당단백으로 소량(10-10-10-15M)으로도 수용체와 결합해 강력하게 염증반응과 면역반응을 조절하는 기능을 가졌다⁵⁷). IL-1, IL-6 및 TNF-α는 대식세포에서 생산되는 대표적인 염증성 cytokine으로 알려져 있다. 이중 특히 TNF-α는 염증이 발생된 부위에는 높은 농도로 존재하며, TNF-α를 억제하면 IL-1과 IL-6의 발생 역시 억제되어, 염증과정에서의 핵심적인 cytokine인 것으로 보고되고 있다. 또한 최근에는 TNF-α를 차단하는 약물들이 염증의 치료제로 연구되고 있기도 하다^{58,59}). 이에 본 연구에서는 NO 생성 억제력 실험에서 우수한 효과를 보인 목향추출물이 RAW 264.7 세포에서 LPS에 의해 생성되는 염증관련 cytokine인 IL-1β와 IL-6 및 TNF-α 유전자의 발현에 영향을 미치는지의 여부를 RT-PCR 법으로 평가하였으나, 영향을 미치지 못하는 것으로 확인되었다.

Prostaglandin(PG)은 생체내의 arachidonic acid가 cyclooxygenase(COX) 효소에 의해 분해되어 생성되는 것으로 여러 PG중 염증과 관련이 깊은 것은 혈관투과성 항진 작용을 하는 PGE₂와 PGI₂, 백혈구 유주에 관여하는 thromboxane 등이다. 이중 염증의 초기단계에 작용하는 PGE₂는 가장 핵심적이라고 할 수 있다. COX는 1형과 2형의 두 가지가 존재하며 생체 항상성과 관련된 COX I과 달리 COX II는 염증이 급격히 그 양이 증가되어 PG를 다량 생성하는 염증발생의 핵심적인 효소라고 할 수 있다. 따라서 최근에는 COX II만을 특이하게 억제시키는 물질을 개발해 항염제로 사용하고자 하는 노력이 활발히 진행되고 있다⁶⁰). 이에 본 연구에서는 목향추출물이 COX II 효소의 활성을 억제시키는지의 여부를 평가하였으며, 그 결과 10µg/ml의 농도에서 COX II를

50% 이상 억제시키는 것으로 확인되어 목향추출물은 NO 생성 억제 이외에도 COX II의 활성을 억제시키는 효과가 있고, 따라서 염증반응의 치료와 예방에 유용하게 사용될 수 있는 약제인 것으로 생각된다.

활성산소는 이온의 상태가 불안하여 다른 물질과 결합해 안정화되려는 성질, 즉 강한 반응성을 지니는 특성을 가진 산소를 말한다. 이러한 활성산소는 인체내 정상세포의 대사과정 중 여러 산화반응의 부산물로 만들어지며, 식세포(phagocyte)에 의해 만들어져 감염반응을 조절하는 긍정적인 역할을 하는 반면, 이온화방사선, 자외선, 환경공해, 심한 운동을 할 경우에 만들어져 생체조직을 공격해 류마티스성 관절염을 비롯한 각종 염증질환과 암, 간장장애, 동맥경화, 위염등 많은 질병을 일으키는 원인의 하나로 알려져 있으며, 궁극적으로는 노화의 한 원인인 것으로 보고되고 있다⁵⁴⁾. 이에 본 연구에서는 목향추출물의 항산화력을 평가하기 위해 radical scavenger로서의 작용을 하는 지의 여부를 평가하는 DPPH법을 이용해 실험하였으나, 목향추출물은 항산화력을 거의 지니지 않은 것으로 조사되어, 항산화물질로는 사용할 수 없음을 확인하였다.

목향추출물이 여드름을 유발시키는 P. acnes에 대해 우수한 항균력을 가지고 있어서 P. acnes 균과 함께 여드름 발생에 핵심적인 작용을 하는 5 α -reductase I의 활성을 억제시킬 수 있는지 실험하였다. 실험결과는 목향추출물이 5 α -reductase I의 활성을 억제시키는 효과는 없는 것으로 나타나 목향추출물이 여드름과 관련해서는 항균기능만을 기대할 수 있고 여드름 치료 및 발생억제를 위한 약제로 사용하기는 어려울 것으로 생각된다.

목향추출물의 독성을 평가하기 위해 세포독성 실험에 널리 사용되고 있는 MTT법을 이용해 실험을 실시한 결과 목향추출물의 MTT50은 약 50 μ g/ml로 한약재 추출물 중에는 세포독성이 강한 수준인 것으로 평가되었다.

이상의 실험결과를 종합하면 목향추출물은 여드

름, 무좀 및 액취 원인균에 대한 항균력 뿐만 아니라, nitric oxide 생성억제와 cyclooxygenase II 활성 억제능을 가진 것으로 확인되어, 피부염증의 치료 및 예방을 위한 약재로도 유용하게 사용할 수 있을 것으로 생각된다.

최근 아토피 피부염 등 피부질환은 증가추세에 있으나, 치료의 부작용 및 한계점이 많아 이를 최소화하기 위해 더 많은 연구가 지속적으로 이루어져야 할 것으로 생각된다.

결론

수종의 한약추출물이 피부질환과 관련된 균주 6종에 미치는 항균력과 목향추출물이 피부염증과 여드름에 미치는 영향에 관해 실험한 결과는 다음과 같다.

1. P. acnes 균을 대상으로 천연물 94종의 항균력을 paper disk법으로 평가한 결과 감초추출물이 19mm, 목향과 상백피추출물은 13mm의 clear zone을 형성하였고, 상백피추출물과 감초추출물은 MIC가 0.01% 이하로 확인되었다.

2. S. aureus 균을 대상으로 한 항균력 실험에서는 감초, 지실 및 복분자추출물이 9-10mm의 clear zone을 형성하였다.

3. C. xerosis 균을 대상으로 한 항균력 실험에서는 흑지마추출물이 16mm의 clear zone을 형성하였고, MIC가 0.3%로 확인되었다.

4. C. albicans 균을 대상으로 한 항균력 실험에서는 계지, 정향 및 황금추출물이 9-10mm의 clear zone을 형성하였다.

5. P. ovale 균을 대상으로 한 항균력 실험에서는 계지추출물이 25mm의 clear zone을 형성하였고, MIC가 0.05%로 확인되었다.

6. T. mentagrophytes 균을 대상으로 한 항균력 실험에서는 계지추출물이 26mm, 정향, 삼내자, 필발, 목향 및 건강추출물이 18-22mm의 clear aone을 형성

하였으며, MIC는 0.02% 이하로 확인되었다.

7. 목향추출물은 NO 생성을 50 μ g/ml에서 85%, 5 μ g/ml에서 28% 억제시키는 것으로 확인되었다.

8. 목향추출물이 COX II 효소의 활성을 10 μ g/ml 의 농도에서 50% 이상 억제시키는 것으로 확인되었 다.

9. 목향추출물은 항산화력은 거의 없었고 IL-1 β , IL-6 및 TNF- α 의 유전자 발현 및 5 α -reductase I의 활성을 억제시키지 못했다.

참고문헌

1. 유윤정 외 4인 : 구강미생물학, 서울, pp.155-166, 군자출판사, 2001.
2. 전현주 외 3인 : 비듬에 대한 통계적 관찰 및 진균학적 성상, 대한피부과학회지, 31:164-174, 1993.
3. 최승만 외 4인 : Propionibacterium acnes에 대한 천연물의 항균효과 검색 대한약학회지, 42:89-94, 1998.
4. 국정표 외 3인 : 액취증 환자에서의 액와부 피부 표면의 미생물학적 연구와 유전적 관찰, 대한피부과학회지, 28:559-564, 1990.
5. 홍석훈, 노석선 : 淸上防風湯加味가 면포에 미치는 영향, 대한안이비인후피부과학회지, 15(1):315-335, 2002.
6. 노현찬, 노석선 : 고삼추출물이 모발성장 촉진 및 면포 억제에 미치는 영향, 대한안이비인후피부과학회지, 15(1):96-126, 2002.
7. 조희창 외 3인 : 淸上防風湯 및 구성약물의 Staphylococcus aureus에 대한 항균효과에 관한 연구, 본초학회지, 18(2):37-47, 2003.
8. 김희석 외 4인 : 대산의 분획별 추출물에서 항균 활성 검색, 동의생리병리학회지, 16(6):1184-1189, 2002.
9. 馬繼與 : 神農本草經輯注, 北京, 人民衛生出版社, p.66, 1995.
10. 이건걸 외 6인 : 진단미생물학(3판), 서울, 고려의학, pp. 322-323, 359-374, 1999.
11. 문숙임 외 3인 : 식용식물의 항산화효과 검색과 산초의 항산화성분, 한국영양식량학회지, 23:466-471, 1994.
12. Blois, M.S. : Antioxidant determination by the use of stable free radical, Nature, 181:1199, 1958.
13. Wadsworth TL, Koop DR. : Effects of Ginkgo biloba extract and quercetin on lipopolysaccharide-induced release of nitric oxide, Chem. Biol. Interact, 137:43-58, 2001.
14. Hinz B. et al : Flurbiprofen enantiomers inhibit inducible nitric oxide synthase expression in RAW 264.7 macrophages, Pharm.Res, 18:151-6, 2001.
15. Ndengele M.M. et al : Brief hypoxia differentially regulates LPS-induced IL-1 β and TNF- α gene transcription in RAW 264.7 cells, Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol, 278: L1289-L1296, 2000.
16. Chomczynski P, Sacchi N. : Single-step method of RNA isolation by acid guanidinium thiocyanate-phenol-chloroform extraction, Anal Biochem, 162:156-159, 1987.
17. 노민수 외 5인 : 리포폴리사카라이드에 의해 유도되는 대식세포의 프로 스타글란딘 생합성을 저해하는 천연물의 탐색, 약학회지, 42:558-566, 1998.
18. Roh, S.S. et al : The hair growth promoting effect of Sophora flavescens extract and its molecular regulation, J.Dermatol.Sci, 30:43-49, 2003 .
19. 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, 89:271-7, 1986.
20. 대한피부과학회 교과서편찬위원회 편저 : 피부과학(개정4판), 서울, 여문각, pp.164, 174-177, 264-267, 315-316, 319-325, 461-464, 471-472, 2001.
21. 김병수, 김정수 : 피부생리의 원전연구, 동의생리병리학회지, 16(6):1110-1116, 2002.
22. 裴秉哲 : 黃帝內經素問, 서울, 성보사, pp.65-73,

- 714-735, 1994.
23. McGinley KJ. et al : Regional variations in density of cutaneous propionibacteria: correlation of *Propionibacterium acnes* populations with sebaceous secretion, *J Clin Microbiol*, 12:672-5, 1980.
 24. 巢元方 : 巢氏諸病源候論, 台中, 소인출판사, pp.10-11, 1982.
 25. 劉巧 : 中西醫結合 皮膚病治療學, 北京, 人民軍醫出版社, pp.379-400, 2001.
 26. 李博鑑 : 皮科證治概要, 北京, 人民衛生出版社, pp.59-62, 1999.
 27. 임희선, 채병윤 : 加減枇杷清肺飲이 면포에 미치는 영향에 관한 실험적 연구, *대한의관과학회지*, 13(1):1-21, 2000.
 28. 김성범, 김경준 : 連翹敗毒散加味方이 염증상태의 면포에 미치는 영향, *대한안이비인후과학회지*, 15(1):50-62, 2002.
 29. 전국한의과대학 본초학교실 공편저 : 본초학, 서울, 영림사, pp.124-125, 178-179, 283-284, 334-335, 340, 342-343, 353, 484, 540-541, 604-605, 630-631, 1992.
 30. 신민교 : 원색 임상본초학, 서울, 영림출판사, pp.172-175, 247-248, 287-288, 293-294, 310-312, 314-315, 464-465, 587, 822, 2002.
 31. 안재규 외 2인 : 상백피가 대식세포의 NO, TNF- α 및 IL-1 α 생산에 미치는 영향, *대한한의학회지*, 19(2):485-501, 1998.
 32. 권대현 : 상백피 약침의 항염증 및 항알레르기 활성, *대한침구학회지*, 15(1):525-35, 1998.
 33. 임숙정 외 6인 : 감초수추출물이 HM3KO 세포의 멜라닌 생성에 미치는 영향, *동의생리병리학회지*, 17(2):368-373, 2003.
 34. Leyden JJ. et al : The microbiology of the human axilla and its relationship to axillary odor, *J.Invest.Dermatol.*, 77:413-6, 1981.
 35. Kligman A.M. et al : Bacteriology. *J.Invest.Dermatol.*, 67:160-8. 1976.
 36. 김성범, 김경준 : 액취의 병인·병기·치료에 대한 문헌적 고찰, *대한의관과학회지*, 13(1):157-184, 2000.
 37. 孫思邈 : 備急千金要方, 서울, 大星文化社, p.696, 1992.
 38. Kligman A.M. et al : The nature of dandruff. *J.Soc.Cosmet.Chem*, 17:111-139, 1976.
 39. Shuster S. : The aetiology of dandruff and the mode of action of therapeutic agents, *Br.J.Dermatol.* 111:235-242, 1984.
 40. Tanaka M, Imamura S. : Immunological studies *Pityrosporum* genus and *Malassezia furfur*, *J.Invest.Dermatol.*, 69:531-534, 1977.
 41. 지선영 외 2인 : 지루성피부염의 동서의학적 고찰, *경산대학교 제한동의학술원 논문집*, 4(1):620-633, 1999.
 42. 馬紹堯 : 實用中醫皮膚病學, 上海, 上海中醫藥大學出版社, p.350,391, 1995.
 43. 황민섭 외 3인 : 봉약침요법으로 치료한 두피 지루성피부염에 대한 임상적 고찰, *대한침구학회지*, 19(6):24-34, 2002.
 44. 김정범 : 지루성피부염 치험1례, *동의생리병리학회지*, 16(1):197-200, 2002.
 45. 吳謙 : 醫宗金鑑(下), 北京, 人民衛生出版社, pp.1900, 1904-1905, 1993.
 46. 陳實功 : 外科正宗, 上海, 上海科學技術出版社, pp.316-318, 1989.
 47. 馬紹堯 : 實用中醫皮膚病學, 上海, 上海中醫藥大學出版社, pp.158-160, 1995.
 48. 王坤山 : 中西醫臨床皮膚病學, 北京, 中國中醫藥出版社, pp.139-141, 1996.
 49. 宋兆友 : 中醫皮膚科臨床手冊, 北京, 人民衛生出版社, pp.68-69, 1996.
 50. 최규동, 권영규 : 족부백선균의 한방치료제 개발을 위한 연구, *대한의관과학회지*, 13(1):267-79, 2000.
 51. 김창문 외 다수 : 완역 중약대사전, 서울, 정담, pp.66-78, 121-125, 213-216, 1385-1391, 2158-2160, 2022-2024, 3816-3819, 4593-4596, 5158-5161, 1999.

52. 이산명 외 2인 : 인삼, 녹용 및 목향수침이 흰쥐의 체중 및 소화관 호르몬 분비에 미치는 영향, 대한침구학회지, 5(1):1-13, 1988.
53. 유효룡 외 2인 : 목향의 혈압강하 및 항혈전작용에 대한 실험적 연구, 해화의학, 9(2):178-195, 2000.
54. 박광균 : 구강생화학 12장 면역과 염증, 서울, 군자출판사, pp.318-325, 1999.
55. Lee, B.G. et al : 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.
56. Kim, E.J. et al : 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.
57. 김세종 : 면역학길라잡이, 서울, 고려의학, pp.65-68, 2000.
58. Aeberli D. et al : Inhibition of the TNF-pathway use of infliximab and etanercept as remission-inducing agents in case of therapy-resistant chronic inflammatory disorders, *Swiss Med.Wkly*, 132:414-422, 2002.
59. Feldman M. et al : Anti-TNF- α therapy is useful in rheumatoid arthritis and Crohn's disease analysis of the mechanism of action predicts utility in other disease, *Transplant Proc.*, 30:4126-4127, 1998.
60. 서영준 : 발암과정에 있어서 Cyclooxygenase II의 역할 및 그 저해를 통한 화학 암예방, 분자세포생물학뉴스, 13:8-17, 2001