

## 자초 뿌리의 함유성분 및 아토피피부염 관련 연구현황

주지훈<sup>#</sup> · 조현환<sup>#</sup> · 이용섭<sup>1\*</sup>  
경희대학교 한약학과, <sup>1</sup>경희대학교 약학과

### Progress on Phytochemical and Atopic Dermatitis-related Study of the Root of *Lithospermum erythrorhizon*

Ji Hoon Ju<sup>#</sup>, Hyun Hwan Cho<sup>#</sup> and Yong Sup Lee<sup>1\*</sup>

Department of Oriental Pharmaceutical Science & Kyung Hee East-West Pharmaceutical Research Institute,  
College of Pharmacy, Kyung Hee University, Seoul 130-701, Korea

<sup>1</sup>Department of Pharmaceutical Science & Department of Life and Nanopharmaceutical Science,  
College of Pharmacy, Kyung Hee University, Seoul 130-701, Korea.

**Abstract** – Traditionally, the root of *Lithospermum erythrorhizon* Sieb. et Zucc(L.E) has been used as efficacious therapy for inflammation, burns, frostbite and skin ailments (e.g eczema and psoriasis). It contains isohexenylnaphthoquinone derivatives (shikonin and its esters) and furylhydroquinones (shikonofurans) in lipophilic fractions and caffeic acid oligomers (rosmarinic acid, lithospermic acid B) in polar fractions. Recently, new preparative isolation and analysis procedures of shikonin along with its oligomers from the extract of *L. erythrorhizon* by the combination of high-speed counter-current chromatography with high-performance liquid chromatography-diode array detection have also been introduced. Although there have been many reports on the wound healing, antiinflammatory, and anticancer effects, the research on the effects of anti-atopic dermatitis of the root of *L. erythrorhizon* were relatively scarce. However, in recent years, new information gathered from research efforts, on the anti-atopic dermatitis properties of the extract or constituents of *L. erythrorhizon* has been accumulated. In this paper, the findings and advance on the *in vitro* and *in vivo* activities of *L. erythrorhizon* and its constituents especially focused on antiinflammatory and anti-atopic dermatitis effects are summarized. The phytochemical constituents of *L. erythrorhizon* or its tissue cultures are also presented. Although there are few to verify or refute its activity in human, one result of clinical study of the extract of *L. erythrorhizon* on the atopic dermatitis patients was introduced to assess the possibility of its clinical use. The reported mechanisms of action and *in vivo* pharmacological studies in different animal models for the various types of extracts or constituents of *L. erythrorhizon* are supportive of its therapeutic potential or dietary supplement, however, more evidence from clinically relevant models, as well as systemic studies on the active constituents or the various types of standardized extracts at the cellular and molecular level, are required.

**Key words** – *Lithospermum erythrorhizon*, shikonin, antiinflammatory, atopic dermatitis, lithospermic acid

자초(紫草, *Lithospermum erythrorhizon* Sieb. et Zucc)는 지치과 Boraginaceae에 속하는 다년생 초본으로 지초(芝草), 자근(紫根), 지치, 자경, 자초자, 자근추지 등의 여러 가지 이름으로 불리어지고 있다.<sup>1)</sup> 자초는 우리나라 전역에 야생하고 있는데, 5~6월에 흰빛의 꽃을 피기 시작하여, 7~8월까지 계속 피고난 뒤에 둥글고 하얀 씨앗을 맺는다. 자초의 생김새는 높이 30~70 cm로 잎과 줄기 전체에 흰빛의 거친 털이

뾰뾰하게 나있고, 줄기자체는 연한 녹색을 띠며, 진한 녹색의 잎은 잎자루가 없는 피침꼴로 둘러난다.<sup>2)</sup>

자초의 이름은 뿌리가 보랏빛을 나타내는데서 유래된 것으로 보이며,<sup>3)</sup> 전통염색에서 자주색을 필요로 하는 천연염료나 식품의 색소로 사용되며, 우리나라에서는 홍주를 만드는데도 사용되었다.<sup>4)</sup> 자초의 건조된 뿌리는 중국에서는 주로 Zicao로(지치과인 신강자초, *Arnebia euchroma*를 주로 사용), 일본에서는 Shikon으로 불리며, 염료로서 뿐만 아니라 민간요법에서 다양한 질환의 치료를 목적으로 사용되어 왔다. 일본에서 자초의 뿌리는 상처를 치료하는데 효과적인

<sup>#</sup>제 1저자

\*교신저자 (E-mail): kyslee@khu.ac.kr  
(Tel): +82-2-961-0370

전통약초로 인식되어 당귀, 자초, 밀랍 등과 함께 혼합하여 자운고(紫雲膏, Shiunko)라는 상품명에 피부연고제로 제조되어 동상, 화상, 치질, 습진 등의 치료에 사용하여 왔다.<sup>5)</sup> 자초의 뿌리에는 naphthoquinone 구조의 shikonin(1) 및 이의 유도체가 주요 색소성분으로 존재하며(Fig. 1), 이들 성분은 상처치유 효과뿐만 아니라<sup>6)</sup> 항염증, 항-HIV,<sup>7)</sup> 항산화,<sup>8,9)</sup> 항혈전,<sup>10)</sup> 항암작용,<sup>11)</sup> 항균작용 등 다양한 효능을 나타내는 것으로 보고되었으며, 특히 항암작용은 최근에 와서 더욱 많은 관심을 받고 있다.<sup>12-15)</sup>

*Alkanna tinctoria* Tausch는 유럽 지중해의 북쪽 연안을 중심으로 서식하는 식물이며, 이 식물 또한 뿌리에서 붉은색 염료가 채취되기 때문에 영문으로 Dyer's Alkanet으로도 불려진다. 이 식물뿌리의 유기용매 추출물은 유럽에서는 Helixderm<sup>®</sup>이란 상품명에 연고제로 제조되어 족부성궤양과 화상의 치료에 사용되고 있다. 흥미롭게도 유럽에서는 *A. tinctoria*의 뿌리 추출물이, 동양에서는 자초의 뿌리 추출물이 천연염료와 상처치유를 목적으로 수 세기 동안 독립적으로 사용되어 왔다. 이는 자초와 *A. tinctoria* 모두 지치과의 식물이며, *A. tinctoria*의 주요 색소성분인 alkannin(2)의 구조가 자초의 주요 색소성분인 shikonin(1)과 거울상 이성질체(enantiomer) 관계인 점을 비추어 볼 때 두 식물이 같은 목적으로 사용되어 온 것은 당연한 것으로 보인다.

한방에서도 자초의 뿌리는 약용으로 사용되며, 신농본초경에서 그 藥性은 寒하고, 味는 甘하며, 歸經은 心, 肝經으로 처음 소개되었다. 자초는 涼血活血, 解毒透疹 작용이 있어서 血熱毒盛, 斑疹紫黑, 癩疹不遂, 瘡瘍, 濕疹 등을 치료하는데 사용되고 있는데,<sup>16)</sup> 사용의 예를 보면, 향약집성방에서는 자초를 고약에 섞어 어린아이의 살이 헌데와 얼굴에 난 뽕루지를 치료하고, 돌림병을 치료하거나 홍역으로 발진이 잘 돋지 않는데 사용하였다고 한다.<sup>17)</sup> 또한 소아약 증직결에서는 구등자초산이라 하여 자초와 조구등을 같은 양으로 가루내어 복용함으로써 소아의 두진을 치료했음을 알 수 있다.<sup>18)</sup>

이렇듯 옛날부터 한방에서는 자초를 피부와 관련된 질환의 치료에 많이 사용되어 왔으며, 최근에 들어서는 자초의 항염증, 피부질환에 대한 효능에 관심이 높아지면서, 면역계통에서 급성염증과 다양한 알러지 염증반응 및 아토피피

부염을 일으키는데 관여하는 매개체인 histamine, IgE, TNF- $\alpha$ , cytokines, chemokine receptor, NF- $\kappa$ B, iNOS 등의 조절 및 억제에 관련한 자초의 추출물과 지표성분인 shikonin의 효능에 대한 연구가 활발하게 이루어지고 있다. 특히 국내에서는 항아토피 식이 소재로서 건강기능식품의 형태로 현재 많이 사용되고 있으나, 전량 수입되어지고 있는 보라지유(Borage oil, *Borago officinalis* L.)<sup>19)</sup>나 달맞이꽃유(evening primrose oil, *Oenothera biennis* L.)를 대신하여 국내자원화가 가능한 자초에 대하여 그 가능성을 객관적으로 비교 탐색하는 논문이 발표된바 있으며,<sup>20)</sup> 지치의 산업적 활용을 위한 지치의 자생지 생태적 특성 및 환경특성에 대한 조사 또한 보고되었다.<sup>21)</sup>

이러한 자초와 *A. tinctoria*의 효능에 주목하여 그 동안 shikonin과 alkannin 및 이들의 유도체들의 화학 및 약리학적 측면에 대한 리뷰들이 일부 발표되었다.<sup>6,22-24)</sup> 본 리뷰에서는 지금까지 발표된 연구들을 토대로 자초의 구성성분을 간략하게 정리하고, 자초의 광범위한 효능 중에서 항염증 및 아토피피부염에 초점을 맞추어 간략히 살펴보고자 한다. 기존의 리뷰들은 대부분 자초의 구성성분인 shikonin 및 유도체들의 효능에 국한되어 기술하고 있지만, 본 문헌에서는 자초의 구성성분 뿐만 아니라 자초 추출물의 *in vitro* 및 *in vivo* 효능을 함께 다루고자 하며, 자초 추출물을 이용한 임상사례를 함께 살펴봄으로써 자초가 herbal drug 또는 천연물신약으로 개발되는데 조금이나마 기여할 수 있기를 기대한다.

## 자초의 구성 성분

자초 뿌리의 대표적인 성분인 shikonin(1)은 Miamima와 Kuroda에 의하여 shikonin 2-acetate 형태로 처음 분리되었으며,<sup>25)</sup> 처음에는 화합물 3의 구조로 잘못 제안되었었다(Fig. 1).<sup>26)</sup> Brockman은 shikonin의 구조에 대하여 다시 연구하여 1936년에 화합물 1의 올바른 구조로 규명하였으며, 나아가 shikonin과 alkannin(2)은 서로가 거울상 이성질체임을 처음으로 밝혔다.<sup>22,27)</sup> 이 연구결과는 자초와 *A. tinctoria*에 대한 연구가 그 동안 동양과 서양으로 나뉘어 오랫동안 평행선을 그리며 연구되어 온 역사를 하나로 묶는 계기가 된 것으

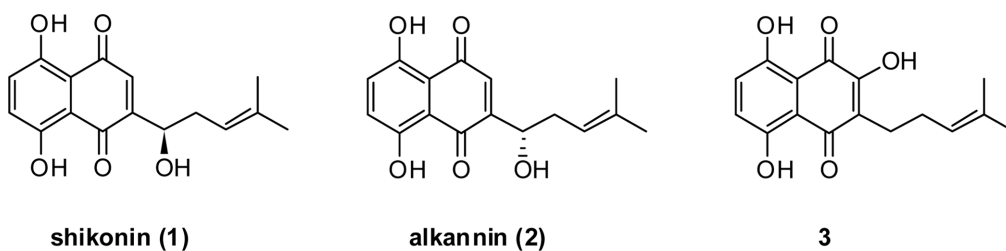


Fig. 1. The structures of shikonin (1), alkannin (2) and wrongly assigned structure (3) for 1.

**Table I.** Naphthoquinone pigments identified in Chinese Zicao preparation<sup>30)</sup>

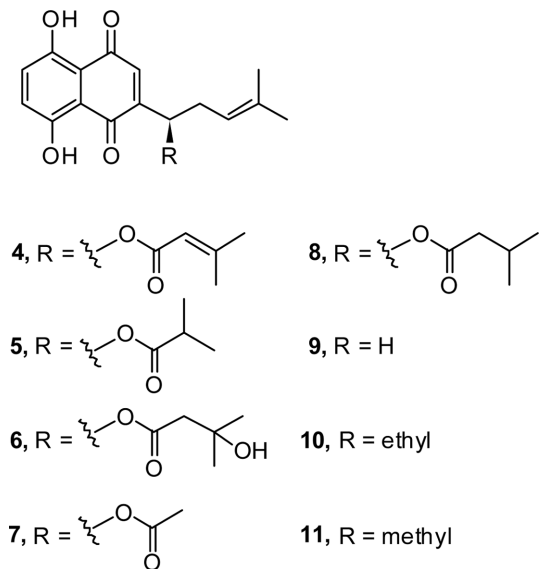
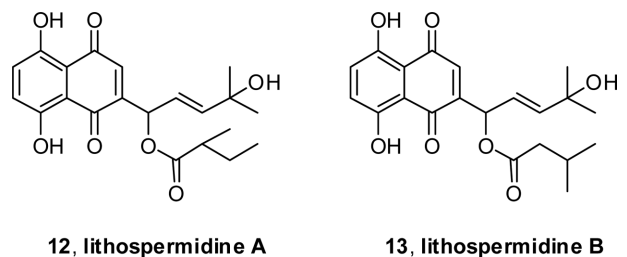
식물	채취장소	함량(%)					총 함량(%)
		A	B	C	D	E	
<i>Lithospermum erythrorhizon</i> Sieb. et Zucc	Hunan	0.18	-	0.06	0.12	0.03	0.39
	Shanxi 1	0.24	0.13	-	0.01	0.06	0.44
	Shanxi 2	0.19	0.27	-	0.03	0.07	0.56
	Guizhou	0.36	0.32	-	0.05	0.12	0.85
	Nei mongolia	0.62	0.85	-	0.05	0.16	1.68
	Guangxi 1	0.34	0.25	-	0.04	0.08	0.71
	Guangxi 2	0.52	0.90	-	0.19	0.19	1.80

Compounds: A,  $\beta,\beta$ -dimethylacrylalkannin; B, acetylshikonin; C,  $\beta$ -acetoxysovalerylalkannin; D, shikonin; E,  $\beta$ -hydroxyisovalerylalkannin.

로 보인다. 이 후 Arakawa와 Nakazaki는 1961년 shikonin과 alkannin을 분해하여 얻어지는 산물인 malic acid의 광학활성을 측정 한 결과를 토대로 측쇄의 입체구조가 R인 경우는 shikonin이고, S인 경우는 alkannin으로 최종적으로 확인하였다.<sup>28)</sup> 자초의 뿌리에서 분리된 shikonin의 광학활성 값은 대체적으로 alkannin의 값보다 적게 측정되는데 이는 자초의 추출물에서는 shikalkin이라는 shikonin과 alkannin의 라세미체가 섞여서 존재하기 때문으로 생각되며, circular dichroism이나 chiral-HPLC 분석에 의하면 특이하게도 shikonin과 alkannin의 비율은 식물의 종에 따라 다르게 분포되어 있는 것으로 보고되었다.<sup>29-31)</sup> 이와 같이 자초 뿌리의 성분에는 shikonin과 alkannin이 함께 분리되어 보고되고 있으며, 채취된 지역에 따라 자초 뿌리 성분의 함량비율 또한 다양하게 분포하지만 본 논문에서 편의상 자초 뿌리의 함유성분에 관한 보고를 shikonin 유도체들에 국한하여 소개하고자 한다(Table I).

Morimoto 등은 자초 뿌리의 벤젠 추출물로부터  $\beta,\beta$ -dimethylacrylshikonin(4), isobutylshikonin(5) 및  $\beta$ -hydroxyisovalerylshikonin(6)을 분리 구조규명 하였으며, 화합물 5를 알칼리 가수분해하여 shikonin을 얻었다.<sup>32)</sup> Kyogoku 등은 자초 추출물의 지용성 분획으로부터 항균작용을 나타내는 물질을 분리하는 과정에서 shikonin(1), acetylshikonin(7), isovalerylshikonin(8) 및 deoxyshikonin(9)을 분리 구조규명 하였다.<sup>33)</sup> Cui 등은 자초 뿌리의 항암효능을 조사하기 위한 연구를 통하여 기존에 알려진 shikonin 유도체 이외에도 ethylshikonin(10)을 추가로 분리하였다.<sup>34)</sup> Han 등은 자초의 뿌리의 석유에테르 및 클로로포름 추출물로부터 항산화 효능을 나타내는 화합물을 분리하는 과정에서 methylshikonin(11)을 처음으로 분리하였으며, 클로로포름 추출물에서는  $\beta$ -sitosterol과 caffeic acid의 에스테르 유도체들을 혼합물 형태로 분리하였다(Fig. 2).<sup>35)</sup>

Hisamichi 등은 기존에 분리된 deoxyshikonin(9) 등 8종의 naphthoquinone 색소 이외에도 shikonin의 isohexenyl 측쇄

**Fig. 2.** The structures of shikonin derivatives 4-11.**Fig. 3.** The structures of lithospermidin A (12) and B (13).

말단에 hydroxy기가 도입된 lithospermidin A(12)와 B(13)를 자초의 뿌리에 소량 존재하는 성분으로 처음으로 분리하였다고 보고하였다(Fig. 3).<sup>36)</sup>

Yoshizaki 등은 shikonin과 같은 isohexenyl-naphthoquinone 구조가 아닌 furylhydroquinone 유도체인 shikonofuran A, B, C, D 및 E(14-18)를 처음으로 분리하였다고 보고하였다(Fig. 4).<sup>37)</sup>

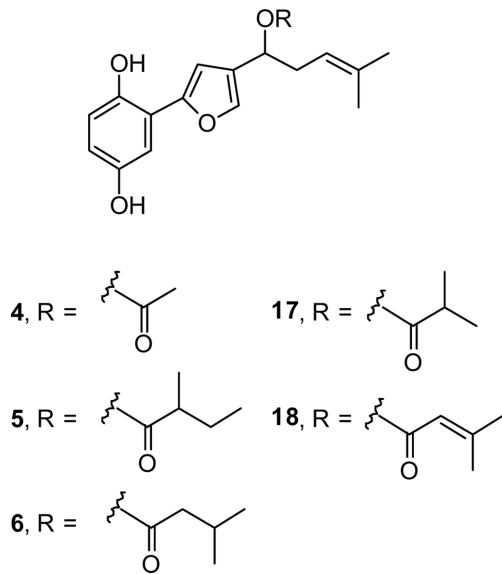


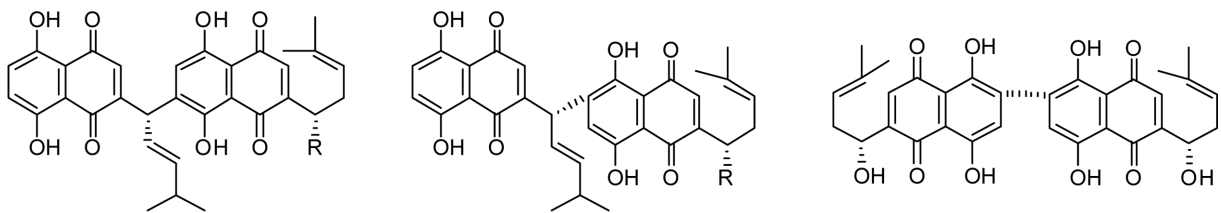
Fig. 4. The structures of shikonofuran derivatives 14-18.

Shikonin 및 에스테르 유도체들은 지치과 식물의 뿌리로부터, 유기합성에 의하여, 또는 세포조직 배양에 의하여 얻어질 수 있다. 이들 대부분은 헥산, 에테르, 톨루엔과 같은 비극성 용매로 추출한 후, 컬럼 크로마토그래피를 통하여 얻어지며, 에스테르 형태가 아닌 shikonin으로 얻고자 할 때에는 혼합물을 가수분해한 후 정제과정을 거친다. 최근 Papageorgiou 등은 size exclusion chromatography를 통하여 *A. tinctoria* 뿌리의 추출물을 분석한 결과 올리고머 형태의 shikonin 유도체들이 존재하는 것을 발견하였다.<sup>38)</sup>

모노머 형태의 shikonin 및 alkannin 유도체들은 광범위한 효능을 나타내기 때문에 지금까지 의약적인 용도로 사용되어 온 많은 제품에 활성성분으로 포함되어 있다. 하지만 shikonin 및 alkannin 유도체들을 의약적인 용도로 사용하기 위해서는 이들에 포함된 불순물이나 분해산물 또는 부산물들을 확인하고 정량하는 방법의 개발이 매우 중요하다. 이에 자초와 같은 지치과 식물로부터 이들을 분리하고 분석하는 방법의 개발이 활발하게 연구되고 있다.

상업적으로 유통되는 shikonin/alkannin 및 이들의 유도체는 모노머 형태뿐만 아니라 올리고머 형태의 유도체들과 다른 이차대사산물들이 섞여 있기 때문에 각각의 유도체들의 효능을 연구하기 위해서는 정제과정을 필요로 한다. 하지만 컬럼 크로마토그래피에 의한 shikonin/alkannin 유도체들의 정제는 비교적 까다로우며 여러 단계를 거쳐야 하기 때문에 그 동안은 많은 경우가 정제되지 않은 샘플을 대상으로 주로 연구가 수행되어 왔다. Papageorgiou 등은 high-speed counter-current chromatography를 이용하여 올리고머 형태의 shikonin 유도체들을 처음으로 분리하여 구조규명 하였다(Fig. 5).<sup>39)</sup> 지금까지는 모노머 형태의 shikonin/alkannin 유도체들의 분리 시 high-performance liquid chromatography-diode array detection(HPLC-DAD)에 의하여 분석되었으나, DAD는 샘플에 존재하는 올리고머 형태의 shikonin/alkannin 유도체들을 검출할 수 없어 이들은 HPLC-DAD-MS를 이용하여 올리고머 형태의 유도체들을 분석하였다(Fig. 6). 이와 같이 *A. tinctoria* 뿌리에서 다양한 올리고머 형태의 shikonin/alkannin 유도체들이 분리되었기 때문에 자초의 뿌

#### Dimeric alkannin/shikonin derivatives



#### Trimeric alkannin/shikonin derivatives

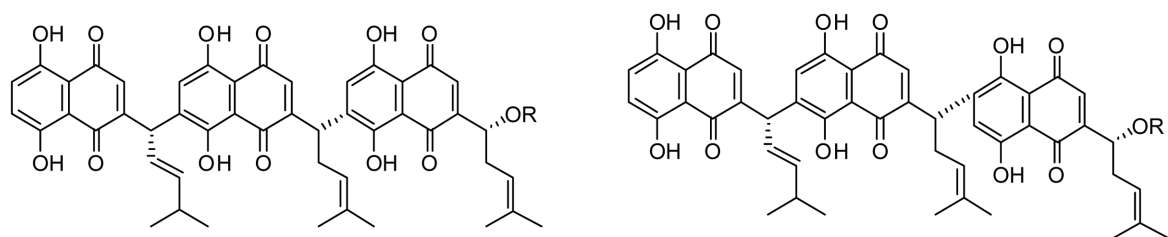


Fig. 5. The selected structures of shikonin/alkannin oligomers.

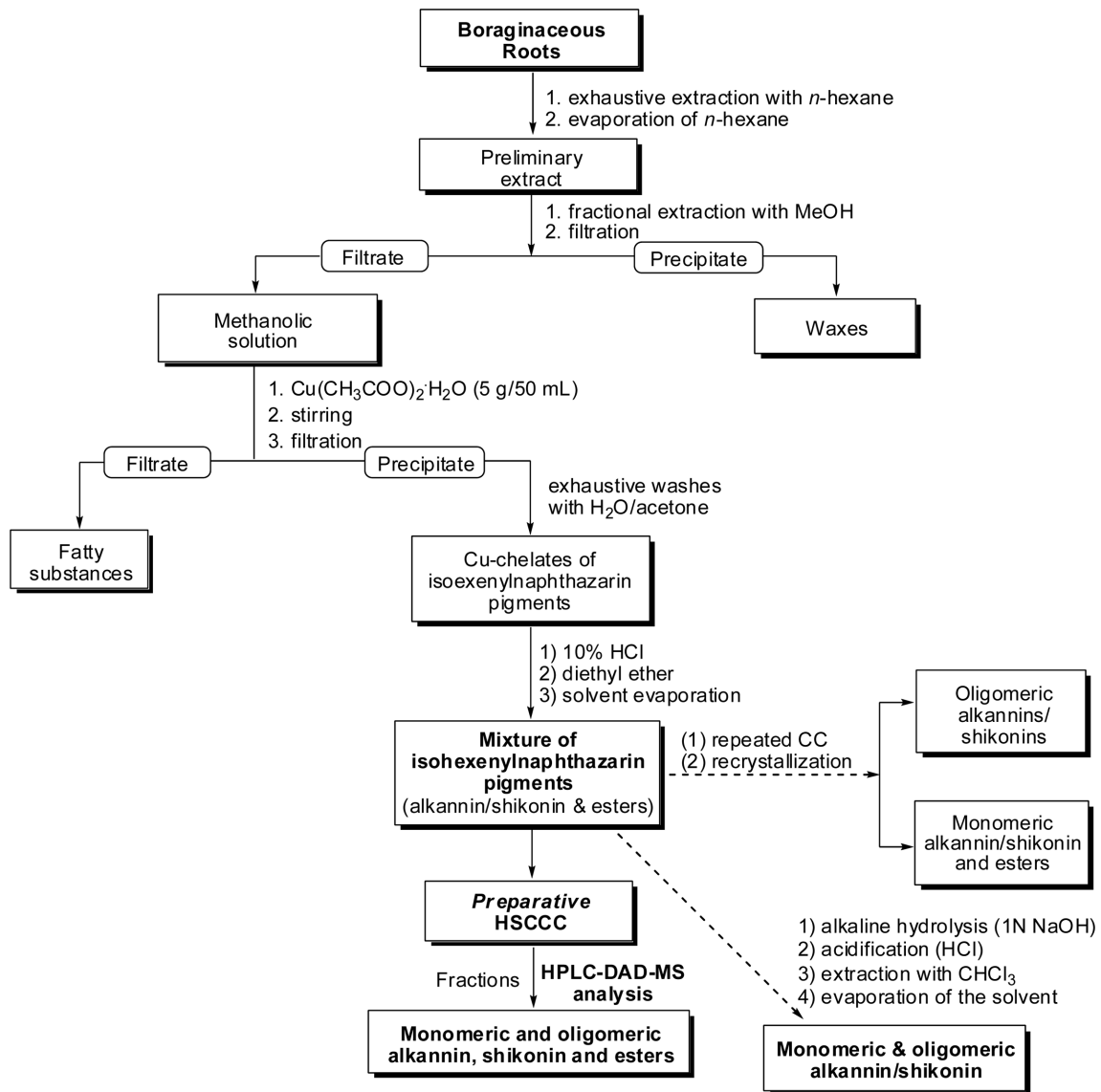


Fig. 6. The isolation and analysis procedure of shikonin/alkannin oligomers from Boraginaceous roots.<sup>39)</sup>

리 또한 이들 성분을 포함할 것으로 예상되며, 향후 이들 유도체들의 효능연구 또한 관심을 받을 것으로 생각된다.

Shikonin과 다양한 유도체들은 뿌리에서 직접 추출하거나 cell culture를 통해서 분리할 수 있는데, cell culture의 경우에는 배지에 첨가되는 배양성분에 따라서 함유성분들이 다양하게 분포되는 것으로 알려졌다. Hukui 등은 M9 medium에서 배양한 색깔을 띠지 않는 자초의 세포조직(unpigmented culture cells)을 MeOH로 추출한 후, 에틸 아세테이트 분획에서 rosmarinic acid(19)를 분리하였으며, 부탄올 분획에서는 caffeic acid와 rosmarinic acid의 복합체인 lithospermic acid(20)를 처음으로 분리하였다.<sup>40)</sup> 반면에 이 두 성분은 shikonin을 생산하는 색깔을 나타내는 배양 세포(pigmented culture cells)에서는 발견되지 않은 것으로 보아 자초 세포의 조직배양은 자초 뿌리의 또다른 활성성분의 자원으로 유

용한 것으로 보인다(Fig. 7).

Yamamoto 등은 M9 medium에서 배양한 세포조직에서 caffeic acid 이중체인 lithospermic acid B(21)를 shikonin과 거의 유사한 함량으로 얻었으며, 또 다른 형태의 caffeic acid 이중체인 (+)-rabdosiin(22)을 분리하여 보고하였다. 반면에 Linsmaier-Skoog liquid medium에서는 shikonin의 생산은 억제되었지만 두 화합물이 여전히 생산되는 것으로 보아 조직배양 시 medium에 따라 특정성분의 생산을 조절할 수 있을 것으로 보인다.<sup>41,42)</sup>

현재까지 유기합성 화학자들이 shikonin과 alkannin을 합성하기 위하여 많은 노력을 기울여 와서 어느 정도 성과는 있었다. 하지만 합성에 의하여 이들을 대량 공급할 수 있을지에 대해서는 아직은 의문시 되고 있어 지금으로서는 shikonin과 alkannin의 주 공급원을 자연계에서 찾을 수밖에

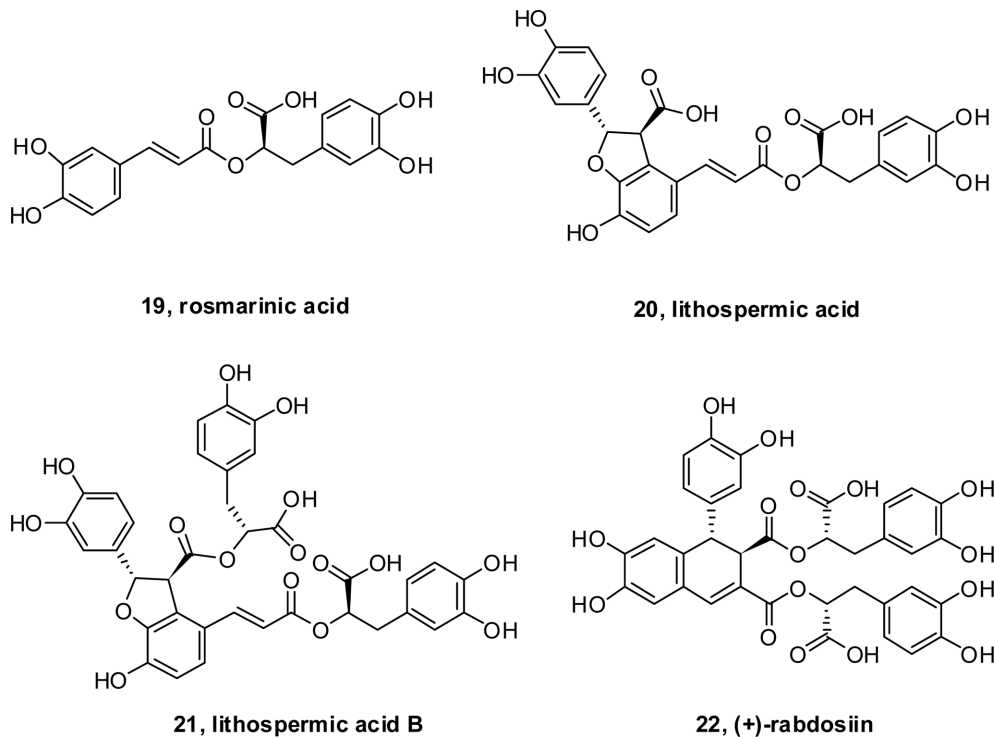


Fig. 7. The structures of compounds 19-22 isolated from the cell cultures of *Lithospermum erythrorhizon*.

없다. 이에 자초 뿌리 세포의 조직배양을 통한 shikonin과 alkannin의 생물공학적 대량생산을 위한 노력들이 일본에서 주로 이루어졌다. 그 결과 Mitsui Petrochemical Company에서는 1983년 세계에서 처음으로 자초 뿌리의 이차 대사산물의 대량생산을 위한 조직배양을 상업적으로 적용하는 방법을 개발하기에 이르렀으며,<sup>43)</sup> 자초 뿌리 세포의 조직배양 효율 향상을 위해 많은 연구가 현재에도 활발히 진행되고 있다.<sup>44)</sup>

### 아토피피부염의 발병기전

아토피피부염(atopic dermatitis)은 알레르기 질환의 일종으로 특히 유아기와 아동기에 주로 발생하며 심한 소양감을 동반하는 만성 염증성 피부질환이다. 구미, 유럽에서의 유병률은 20~35%로 매우 높으며 치료와 예방 방법이 개선되고 있음에도 불구하고 계속 증가하고 있다.<sup>45)</sup> 한국에서도 초등학생까지 아동의 아토피피부염 진단비율이 1995년 13.7%에서 2005년 29%로 두 배 이상의 큰 폭으로 증가하였고 중증 환자의 비율도 증가하는 추세에 있는 것으로 보고되고 있다.<sup>46)</sup>

아토피피부염의 원인이나 발생기전은 아직 확실히 알려져 있지 않으나 유전적, 환경적 요인, 여러 가지 면역학적 이상 등이 복잡하게 연관되어 작용한다고 알려져 있다.<sup>47)</sup> 일반적으로 알레르기 반응은 생체가 동일한 항원에 반복적으

로 접촉하게 되었을 때 항원에 대해 처음에는 발생하지 않았던 과민반응이 나타나는 것으로 이에 제 I형에서 제 IV형까지 4가지 유형이 존재한다.<sup>48)</sup> 이 중 아토피피부염은 대부분 anaphylaxis type 또는 즉시과민반응이라고 불리는 제 I형 과민반응에 속하며 IgE와 밀접한 관련이 있다는 의견이 우세하다. 아토피피부염 환자의 혈중에는 IgE와 호산구의 증가가 나타나는데, 이는 Th2 세포의 활성화와 이에 따른 IL(interleukin)-4, IL-5, IL-13 등 cytokine의 분비증가와 관련이 있으며, 급성기에서 만성기로 진행될수록 Th1 세포와 여기에서 분비하는 IFN- $\gamma$ 가 주도적인 역할을 담당하는 것으로 알려져 있다. 또한 아토피피부염의 피부 병변에서는 비만세포가 관찰되고 IgE와 결합한 비만세포가 항원과 결합하게 되면 탈과립 과정을 거치며 histamine 등의 매개물질이나 여러 종류의 cytokine들을 방출하여 염증반응을 촉진시킨다.<sup>49)</sup> 그뿐 아니라 아토피피부염은 천식이나 알레르기 비염 등의 다른 알레르기 질환으로 발전할 가능성이 매우 높은 것으로 나타나고 있으므로 아토피피부염의 초기 치료는 다른 알레르기 질환의 예방에도 중요하다고 할 수 있을 것이다.<sup>50)</sup>

현재 아토피피부염 치료에는 보습제의 사용과 함께 국소 스테로이드(corticosteroids) 제제가 가장 널리 사용되고 있는데, 단기간 사용하면 매우 효과적이지만 장기간 사용하게 되면 교원섬유의 위축으로 피부가 얇아지며 투여를 중단하면 증상이 악화된다는 부작용이 보고되었다.<sup>49)</sup> 또 다른

약물로는 면역억제제인 tacrolimus(상품명 Prograf<sup>®</sup>)와 pimecrolimus(상품명 Elidel<sup>®</sup>)가 사용되고 있으나 역시 장기간 사용하면 면역억제 효과에 의한 피부암의 발생 가능성이 있다고 알려져 있다.<sup>50)</sup>

자초는 한방 및 민간에서 오래 전부터 항염증, 피부질환 치료제로서 많이 사용되어 왔으며, 최근 추출물의 항균, 항염증, 항알레르기 작용이 연구를 통해 밝혀지면서 아토피 치료제 및 항암제로 관심을 받고 있다. 이에 자초 추출물 및 함유성분들의 항염 및 항알레르기 연구를 중심으로 약리 효과를 살펴보고자 한다.

### 자초 및 함유성분의 아토피피부염 개선효과

**항균작용에 관한 연구** - 아토피피부염 환자의 경우 피부가 건조하고 손상받기 쉬우며 세균이나 항원이 쉽게 침입한다. 세균들은 각질층 내의 ceramide를 감소시켜 각질층의 수분함유량을 저하시키며 이로 인해 피부의 건조를 심화시킨다. 가장 흔한 균주로는 포도상구균(*Staphylococcus aureus*)으로 아토피피부염 환자 피부의 90% 이상에서 검출된다고 보고된 바 있다.<sup>51)</sup> 그러므로 항균제는 아토피피부염 증상의 악화 및 2차 감염을 방지하는 역할로서 중요한 의미가 있다고 할 수 있다.

Park 등은 자초의 뿌리를 식품보존제로 사용할 목적으로 다양한 농도의 에탄올 수용액으로 추출한 자초뿌리 추출액을 제조하고 이들의 항균력을 측정하였다. 그 결과 0.1% 에탄올 용액 추출액은 48시간까지 *S. aureus*의 증식을 억제하였으며, 0.15% 에탄올 용액 추출액은 *Candida*나 *Saccharomyces* 속의 효모류의 증식을 96시간까지 억제하였다. 특히 곰팡이 중 *Aspergillus versicolor*에 대해서는 0.03% 농도에서도 96시간까지 증식이 억제되는 강한 항균작용을 나타내었다고 보고하였다.<sup>52)</sup>

반면에, 자초의 물 추출물을 이용한 항균 효과 시험에서는 의미 있는 항균효과가 발견되지 않았다. 100 g 자초를 1 리터의 증류수에서 3시간 환류추출하여 얻은 자초의 물 추출물 20 mg을 첨가한 후 18~20시간 배양한 결과 *Shigella sonnei* 균주에 대해서는 약한 증식 억제력을 나타내었지만 다른 균주에 대해서는 유의성 있는 항균효과를 발견할 수 없었다고 보고되었다.<sup>53)</sup> 따라서 물 추출물보다 에탄올 추출물에서 보다 나은 항균효과를 보인다고 추정할 수 있으나 보다 다양한 용매를 이용한 체계적인 연구가 필요할 것으로 보인다.

한편, Karyagina 등은 상업적으로 유통되고 있는 shikonin과 자초와 같은 지치과 식물인 *Arnebia euchroma*의 세포조직을 Murashige-Skoog medium에서 배양한 후 이로부터 얻은 에탄올 수용액 추출물(0.003% shikonin 함유)의 항균효과를 측정하였다. Shikonin과 에탄올 수용액 추출물은 모두

현재 화장품 제조 시 항균작용을 목적으로 사용되고 있는 20% chlorhexidine bigluconate 용액, citric acid triethyl ester 및 sanguiritrine 보다 *S. aureus*에 대해서 월등한 항균작용을 보였다. 그 중 자초의 에탄올 수용액 추출물의 *S. aureus*에 대한 항균력(MIC = 0.78 µg/ml)은 shikonin(MIC = 3.12 µg/ml)보다 우수하였다. 이들은 피부 알레르기 환자로부터 얻은 *Candida albicans*에 대한 항균력에 대해서도 조사를 하였는데, shikonin과 에탄올 수용액 추출물은 모두 chlorhexidin bigluconate 용액(MIC = 200 µg/ml) 등보다 월등한 항균력을 보였다(shikonin, MIC = 12.5 µg/ml; 에탄올 수용액 추출물, MIC = 3.12 µg/ml). 이와 같은 연구결과를 토대로 저자들은 shikonin과 자초의 에탄올 수용액 추출물을 항균작용을 가지는 비누나 화장품으로 사용할 수 있을 것으로 기대하였다.<sup>54)</sup>

**항염증 및 아토피피부염 개선 작용에 관한 연구** - 아토피피부염 환자의 80% 이상에서는 혈청 IgE 치가 증가되어 있으며, 이 수치는 대체적으로 아토피피부염의 임상적 중증도와 비례하는 것으로 보고되고 있다. 그러므로 IgE를 생성하는 B 세포 작용의 억제 효과는 아토피 치료에 중요한 의미를 지닌다고 볼 수 있다.

자초의 물 추출물은 생쥐의 B 세포에 anti-CD40과 rIL-4로 유도된 cytokine의 유전자의 발현과 IgE의 생성을 억제하는 효과를 가지고 있다고 보고된 바 있다. 100 µg/ml 농도의 자초 물 추출물은 대조군(45.5% 생산)에 비하여 IgE의 생산(27.4%)을 억제하는 효과를 나타내었다. 이외에도 cytokine IL-1β, IL-4, IL-5, IL-6 및 TNF-α의 유전자 발현을 유의적으로 억제하는 효과를 나타내었으나 IFN-γ의 생산은 유의적으로 증가시키는 효과를 나타냈다.<sup>55)</sup> IFN-γ의 증가는 Th2의 작용을 억제하는 것으로 알려져 있으므로 자초는 급성기의 아토피피부염에 효과적일 수 있다.

아토피피부염의 발병과정에서 비만세포는 IgE와 결합하여 각종 화학전달물질들을 방출하는데 이러한 화학전달물질은 각종 알레르기 염증반응을 유발하는 원인이 된다. Kim 등은 자초가 항알레르기 효과를 나타내는 작용기전을 조사하기 위하여 흰쥐의 비만세포와 인체 비만세포(Human mast cell, HMC-1)를 이용한 연구결과를 보고하였다. 흰쥐의 비만세포에 자초의 물 추출물을 전처리 한 후 compound 48/80으로 탈과립을 유도한 결과, 0.1 mg/ml 이상에서 농도의존적으로 탈과립을 억제하는 효과를 나타냈으며, 5 mg/ml의 농도에서는 90%의 억제효과를 보였다. 자초의 물 추출물은 histamine 분비에 대해서도 0.1 mg/ml 이상에서 농도의존적으로 억제하였으며, 1 mg/ml의 농도에서는 92%의 억제효과를 보였다. HMC-1에 대해서는 phorbol 12-myristate 13-acetate(PMA)와 A23187로 염증을 유발시킨 후 IL-6, IL-8, TNF-α의 분비를 유의적으로 억제하는 효과가 보고되었다. 자초 추출물의 농도가 0.1, 1, 및 5 mg/ml일 때에는 IL-

6의 생산을 농도 의존적으로 억제하였으며(5 mg/ml일 때 68.2% 억제), TNF- $\alpha$ 의 생산 또한 농도 의존적으로 억제하였다(5 mg/ml일 때 77.3% 억제).<sup>56)</sup> 이와 같은 연구결과를 토대로 저자들은 자초추출물이 histamine의 분비와 I $\kappa$ B- $\alpha$ 의 분해 억제에 의한 NF- $\kappa$ B의 활성화 억제 기전을 통하여 비만세포의 염증성 알레르기반응을 차단하는 것으로 보였다.<sup>57)</sup>

자초추출물과 아토피피부염에 가장 많이 사용되고 있는 치료제인 hydrocortisone의 효과에 대한 비교 연구 또한 보고되었다. Kwon 등은 자초의 물 추출물과 hydrocortisone을 macrophage 264.7 cell에 각각 전처리 한 후 lipopolysaccharide(LPS, 10 ng/ml)로 자극하여 pro-inflammatory cytokine인 TNF- $\alpha$ , IL-6, IL-10, IL-1 $\beta$ 의 발현 정도를 측정하였다. 자초 물 추출물은 50~1,000  $\mu$ g/ml의 농도에서 TNF- $\alpha$ 의 분비를 유의성 있게 억제하였으나 농도에 비례하지는 않았다. 자초 물 추출물은 대체로 0.01-0.1  $\mu$ M 농도 범위의 hydrocortisone과 유사한 정도의 TNF- $\alpha$  억제효과를 나타냈다. 게다가 IL-6, IL-10의 발현에 대해서도 hydrocortisone과 유사하게 유의성 있는 억제효과를 나타냈다. 그러나 IL-1 $\beta$ 의 발현에 대해서는 hydrocortisone과는 반대로 오히려 유의하게 증가하는 효과를 나타냈다.<sup>58)</sup> 이는 자초가 hydrocortisone과는 염증과정에 대해 다른 기전을 가지고 있을 것이라고 추정할 수 있으나 좀 더 구체적인 연구가 필요할 것으로 보인다. Han 등은 LPS를 처리한 생쥐 대식세포(macrophage cell)에서 자초추출물은 염증성 cytokine을 유도하는 전사인자인 AP-1과 NF- $\kappa$ B의 활성화를 억제함으로써 염증성 질환의 예방에 효과적일 것으로 보였다.<sup>59)</sup>

자외선은 아토피피부염과 직접적인 연관성은 높지는 않으나 피부에 손상을 주는 가장 큰 환경적 요인 중 하나이다. 특히 파장이 짧은 UVB는 장시간 노출시 피부에 홍반이나 염증을 초래하며, 심한 경우에는 피부암을 유발하기도 한다. Ishida 등은 자초의 에테르 추출물(전체 shikonin 유도체 중 shikonin 4.4%, acetylshikonin 34.4%, isobutylshikonin 20.7% 함유)로 전처리한 normal human epidermal keratinocyte(NHEK)에 UVB를 조사한 결과, 자초의 에테르 추출물은 2.5-7.5  $\mu$ g/ml 농도에서 NHEK의 생존율을 대조군에 비해 15-30% 증가시켰으며, UVB에 의해 손상된 NHEK에서도 pro-inflammatory cytokine인 IL-1 $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-8 및 TNF- $\alpha$ 의 생산을 유의적으로 억제하였다. 또한 자초 추출물은 p53 protein과 serine 15 phosphorylated p53의 생산을 억제하며, caspase-3의 활성을 억제함으로써 UVB에 의한 세포의 apoptosis를 방지한다고 보고되었다.<sup>60)</sup>

Microglial cell은 중추신경계의 면역 및 염증반응에서 중요한 역할을 하지만 병적인 상태에서 만성적인 microglial cell의 활성화는 오히려 중추신경계에 치명적인 손상을 입힐 수 있는 것으로 알려져 있다. 자초의 주요성분인 shikonin과 그 유도체들은 이러한 microglial cell의 활성화를 억제하여

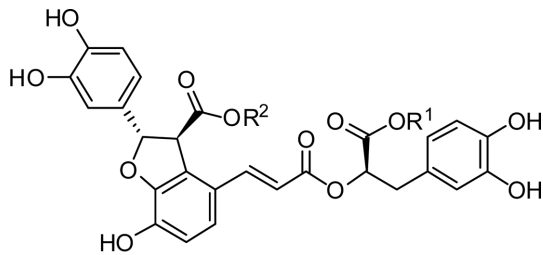
신경손상으로부터 중추신경을 보호하는 데 도움을 줄 수 있을 것이라고 보고되었다. Nam 등은 4  $\mu$ M 농도의 isobutylshikonin(5)과 isovalerylshikonin(8)을 microglial cell에 30분 동안 전처리 한 후, LPS(100 ng/ml)에 의해 유도된 iNOS, IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$  및 COX-2 mRNA의 발현과 PGE<sub>2</sub>의 생산이 유의하게 억제된다는 것을 보고하였다. Shikonin 유도체들은 Akt의 phosphorylation과 NF- $\kappa$ B의 활성화 또한 유의성 있게 억제하였다. 따라서 저자들은 shikonin 유도체가 microglial cell에 대한 항염작용을 수행하는 주된 메커니즘은 I $\kappa$ B- $\alpha$  degradation에 의해 NF- $\kappa$ B를 활성화시키는 Akt signaling pathway를 억제하는 과정일 것이라고 예상하였다.<sup>61)</sup>

항염증 및 항알레르기 작용과 관련된 shikonin에 대한 또 다른 연구는 shikonin이 관여하는 또 다른 메커니즘을 보여주고 있다. Chemokine receptor는 G-protein coupled receptor로 특정 chemokine과 결합하여 백혈구를 염증부위로 이동시키는 역할을 수행한다. Chen 등은 shikonin이 chemokine과 CC chemokine receptor-1(CCR1)과의 결합을 선택적으로 억제한다는 것을 보고하였다. Shikonin은 RANTES(CCL5)와 CCR1이 transfect된 human embryonic kidney cell(HEK/293 cell)의 결합(IC<sub>50</sub> = 2.63  $\mu$ M) 및 MIP-1 $\alpha$ (CCL3)와 CCR1 cell의 결합(IC<sub>50</sub> = 2.57  $\mu$ M)을 농도 의존적으로 억제하였다. 반면에 MCP-1과 CCR2 cell의 결합, eotaxin과 CCR3 cell의 결합, I-TAC와 CXCR3의 결합 및 SDF-1a와 CXCR4 cell의 결합은 유의성 있게 억제하지 않는 것으로 밝혀져 shikonin은 CCR1의 특정 binding site에서 경쟁적으로 결합할 가능성이 높기 때문에 CCR1에 의해 매개되는 염증반응의 치료에 효과적으로 사용될 수 있을 것으로 예상할 수 있다.<sup>62)</sup>

LTB<sub>4</sub>는 염증과 관련된 중요한 매개물질로 각종 류머티즘성 관절염, 건선, 천식 및 아토피피부염 등의 염증질환에서 중요한 역할을 한다. Shikonin(1)은 leukocytes에 의한 leukotriene B<sub>4</sub>(LTB<sub>4</sub>)와 5-HETE의 생합성 또한 억제하는 것으로 알려졌다(LTB<sub>4</sub>, IC<sub>50</sub> = 0.62  $\mu$ M; 5-HETE, IC<sub>50</sub> = 0.26  $\mu$ M).<sup>63)</sup>

자초관련 항염증 및 아토피피부염에 관한 연구는 많은 경우가 추출물 또는 shikonin과 같은 비극성 물질에 많은 초점이 맞춰져 왔다. 최근에는 자초뿌리에 함유되어 있는 극성이 높은 물질인 lithosperic acid(18)와 관련한 연구사례들이 일부 발표되었다. Serine palmitoyltransferase(SPT)는 sphingolipid 생합성의 첫단계에서 중요한 역할을 하는 효소이며,<sup>64)</sup> 아토피피부염과 노화된 피부에서 감소되는 피부 투과장벽인 표피의 구성성분을 생산하는 중요한 역할을 한다.<sup>65)</sup> 따라서 normal human keratinocyte cells(HaCaT cells)에서 SPT의 작용을 증가시키는 물질은 피부보호 효능을 가질 것으로 기대된다. Thuong 등은 자초 뿌리의 메탄올 추





**20, lithospermic acid**,  $R^1=R^2=H$   
**23, 9'-methyl lithospermate**,  $R^1=H, R^2=CH_3$   
**24, 9'-methyl lithospermate**,  $R^1=CH_3, R^2=H$

**Fig. 8.** The structures of lithospermic acid derivatives isolated from *L. erythrorhizon*.

출몰이 HaCaT 세포에서 SPT의 작용을 강화시키는 것을 발견하고, activity-guided fractionation 및 컬럼 크로마토그래피를 통한 정제에 의하여 lithospermic acid(**20**), 9'-methyl lithospermate(**23**) 및 9'-methyl lithospermate(**24**)를 분리하였다(Fig 8). 세 화합물 모두 100 µg/mL 농도에서 HaCaT 세포의 SPT 단백질의 발현을 각각 55%, 23%, 및 81% 증가

시켜서 표피의 투과장벽 기능을 향상시킬 수 있을 것으로 보였다.<sup>66)</sup> 자초 추출물 및 함유성분들의 항염증 작용 및 아토피피부염 개선작용에 대한 연구결과들을 아래 Table II에 정리하였다.

### 아토피피부염에 관한 동물실험 사례

태양광선(UVB)에 손상으로 일어난 일련의 피부 염증질환에 대한 실험에서는 C57BL의 웅성 마우스에 UVB(800 mJ/cm<sup>2</sup>)를 조사한 후, 마우스 피부조직의 삼투수분손실량(transdermal water loss, TEWL), superoxide dismutase(SOD) 및 catalase(CAT)의 발현 변화 및 피부재생에 관한 연구가 보고되었다.<sup>67)</sup> 본 연구에서는 각각의 측정 대상별로 자초 뿌리의 물 추출물을 0.5% 함유한 에멀전을 도포한 후 총 160 시간 동안 가장 큰 효과를 나타낸 시간대와 그때의 수치들을 살펴본 결과, 삼투수분손실량 면에서는 24 시간대에서 대조군에 비해 약 32%의 감소효과를 보였다. 홍반지수(erythema index)에서도 24 시간대에서 대조군에 비해 약 23%의 진정효과가 있었다. SOD의 활성은 120 시간대에서

**Table II.** Selected *in vitro* experiments of the extracts or constituents of *L. erythrorhizon* on the antiinflammatory or anti-atopic dermatitis effects

번호	실험대상 세포/ 염증 유발인자	실험 분획 또는 성분	항염 및 항알레르기 관련 인자들의 변화	참고 문헌
1	Mouse B cell/ anti-CD40, rIL-4	물 추출물	- 100 µg/ml 농도에서 CD23, CD69, IgE의 발현 억제 - IL-1β, IL-4, IL-5, IL-6, TNF-α 유전자 발현 억제 - TGF-β, INF-γ 유전자 발현 증가 - IL-10 유전자 발현에 유의한 변화 없음	[55]
2	Rat mast cell/ compound 48/80  Human mast cell (HMC-1)/ PMA plus A23187	물 추출물	- 농도 의존적으로 탈과립 억제(5 mg/ml, 90% 억제) - 농도 의존적으로 histamine 유리 억제(1 및 5 mg/ml, 90% 이상 억제) - 농도 의존적으로 IL-6 생산 억제(5 mg/ml, 68.2% 억제) - 농도 의존적으로 TNF-α 생산 억제(5 mg/ml, 77.3% 억제) - IL-8 생산 억제(5 mg/ml, 29.5% 억제)	[56]
3	Macrophage 264.7 cell/LPS	물 추출물	- TNF-α 및 IL-10 생산 억제 - IL-1β의 발현에 유의한 증가	[58]
4	Human epidermal keratinocyte/UVB	에테르 추출물	- AP-1과 NF-κB의 활성화 억제	[59]
5	Microglial cell/LPS	화합물 <b>5, 8</b>	- 2.5-7.5 µg/ml에서 UVB 조사 후 cell의 생존률 향상(대조군에 비해 15-30%증가) - IL-1α, IL-1β, IL-6, IL-8 및 TNF-α 생산 억제 - 5-7.5 µg/ml에서 UVB에 의한 apoptosis를 억제	[60]
6	Human embryonic kidney cell (HEK/293 cell)	화합물 <b>1</b>	- 4 µM의 농도에서 iNOS, IL-1β, TNF-α 및 COX-2의 mRNA 발현 억제 - TNF-α 및 PGE <sub>2</sub> 의 생산, Akt의 phosphorylation 및 NF-κB의 활성화 억제	[61]
7	Human keratinocyte cell (HaCaT cells)	화합물 <b>20, 23, 24</b>	- chemokine과 CC chemokine receptor-1(CCR1)과의 결합을 선택적으로 억제 - 100 µg/mL에서 23~81% serine palmitoyltransferase protein 발현 억제	[62] [63]

대조군에 비해 약 21%의 감소효과가 관찰되었지만, CAT의 측정은 48 시간대에서 대조군에 비해 약 167%의 증가효과가 있는 것으로 관찰되었다. 광학현미경과 주사현미경으로 관찰한 결과, 자초추출물을 투입한 160 시간 이후에는 거의 대조군의 피부수준으로 회복되는 것으로 보고되었다. 이 실험에서 UVB 조사 후 일어나는 염증반응에 관한 부가적인 실험을 작용기전 측면에서 수행된다면, UVB에 의한 혈청 내 히스타민 유리 및 비만세포의 탈과립과 혹은 광과민물질의 유입으로 일광에 노출될 때마다 생기는 여러 가지 형태의 광과민성 피부질환에 관한 연구<sup>68)</sup>에도 참고가 될 수 있을 것으로 보여진다.

Ceramides는 sphingolipid 계열에 속하는 지질성분으로서 수분 유지 및 장벽의 기능과 상피세포의 분화를 조절하는 중요한자이며, 아토피와 같은 피부질환에서는 급격한 감소가 관찰되는 것으로 알려져 있다.<sup>69)</sup> NC/Nga mice는 아토피 피부염 같은 피부병변을 보이므로 아토피피부염의 치료와 병태생리적인 기전을 연구하기 위한 적합한 동물모델로 알려졌다.<sup>70)</sup> Kim 등은 NC/Nga mice를 대상으로 자초 추출물(70%에탄올 추출, LE군)을 10주간 무게의 5%를 식이공급하여 표피의 ceramide 함량, SPT의 mRNA 및 SPT protein의 발현, ceramidase의 발현을 조사하였다.<sup>71)</sup> 정상조군(CB군, BALB/c mice)에 비해 아토피대조군(CA군, NC/Nga mice)은 57.14%, 실험군(LE군)은 171.4%로 LE군에서 정상대조군에 비해 표피 ceramide 함량이 유의적으로 높은 것으로 나타났다. SPT의 mRNA 발현에서는 CB군, CA군, LE군 각각 100±1.37, 107±0.96%, 92.6±1.68%(SPT/GAPDH(%control))을 보임으로써 군간의 유의적 차이는 없었다. 반면에 ceramidase의 발현에서는 CB, CA, LE군 각각 100±0.03, 888.9±0.32, 66.7±0.06(ceramidase/β-actin, %control)으로 정상 대조군과 아토피 대조군에 비해 실험군의 수치가 낮은 것으로 보아 자초추출물은 ceramidase의 발현 억제에 의한 ceramide의 함량에 영향을 미치는 것으로 보인다. 이들은 최근 문헌에서 아토피대조군에 비해 자초추출물군에서 혈장 내 IgE의 농도, TEWL, scratching 회수와 기간 등이 감소하는 것을 관찰함으로써 자초추출물이 아토피 피부염 개선에 효과적인 것으로 보고하였다.<sup>72)</sup>

또한 국내에서는 아토피 식이 소재로서 현재 많이 사용하고 있으나, 전량 수입되어지고 있는 보라지유, 달맞이꽃유를 대신하고, 국내자원화가 가능한 자초에 대한 연구가 이루어지고 있는 면에 주목하여, 자초와 유사한 생약을 비교 실험한 사례들이 보고되었다.<sup>21,71)</sup> 5주간 BALB/c mice와 NC/Nga mice를 대상으로 자초추출물(자초무게의 2배에 해당하는 70%에탄올로 추출)과 보라지유를 혼합하거나 또는 개별적으로 식이공급하여 실시한 실험에서 소양증(total scratching number 및 scratch intensity score로 판단)과 IgE에 대한 변화를 조사하였다. 소양증 행동분석 면에서는 보

라지유군의 총 소양빈도(total scratching number)가 제일 낮았으며, 자초군이 그 다음으로 낮은 수치를 기록한 것으로 나타났다. 반면에 소양강도지수(scratch intensity score)에서는 보라지유군과 자초군이 각각 42±1.0, 54±1.0로 유의적으로 낮은 것으로 나타나 자초군이 소양증에 대한 효과가 있는 것으로 보이며, IgE 경우, 자초군이 정상대조군에 비해 40% 감소된 것으로 보고되었다.<sup>20)</sup>

Kim 등은 Guinea pig에 hydrogenated coconut oil(HCO)을 유발인자로 8주 동안 처리하여 표피세포 과다증식(epidermal hyperproliferation)을 유도한 후, 보라지유, 자초물 추출물, 자초 유기 추출물(클로로포름과 메탄올로 추출)을 2주 동안 식이공급한 후 상피두께의 변화, hydroxyfatty acid 및 TEWL의 변화에 대한 연구를 보고하였다. 사용 대상 모든 군에서 hydroxyfatty acid와 TEWL에 대한 유의적 차이는 관찰되지 않았지만, 표피두께 측정에서는 대조군(HCO 10주 공급)은 45.4 μm로 측정된 반면, 자초 추출물군은 9.2 μm로 측정되어 실험 대상에서 가장 우수한 결과를 보여주었다.<sup>73)</sup> 아울러 자초 물 추출물군과 자초 유기 추출물군에서는 HCO는 처리하지 않고 10주 동안 보라지유만 공급한 정상대조군과 유사한 수준의 증식지수(proliferation score) 및 ceramide 함량을 보였다. 이러한 결과로 자초추출물은 아토피피부염에서 ceramide의 함량을 증가시킴으로써 표피세포 과다증식을 개선하는데 효과적인 것으로 보인다.<sup>74)</sup>

아토피피부염의 피부 병변 시 IgE와 결합한 비만세포는 항원과 결합하게 되면 탈과립 과정을 거쳐 histamine 등의 매개물질이나 여러 종류의 cytokine들을 방출하여 염증반응을 촉진시킨다. 따라서 비만세포에서 IgE, histamine, cytokine 등의 농도를 조절하는 것이 아토피피부염을 개선하는데 중요한 것으로 보인다. Compound 48/80을 유발성분으로 하여 Sprague-Dawley계 흰쥐를 대상으로 자초 물 추출물의 효능을 측정한 실험에서는 정상군, 대조군, 자초군의 histamine 농도가 각각 6.10±0.20, 348.59±30.77, 284.96±30.28 (nM)으로 조사되었다. 비만세포의 탈과립 정도면에서는 정상군, 대조군, 자초군이 각각 6.10±0.20, 87.56±11.00, 33.14±10.2로 측정되어 자초가 histamine의 농도 감소와 비만세포의 탈과립 억제에 효과가 있는 것으로 보고되었다.<sup>75,76)</sup>

TNF-α는 급성과 만성 염증질환 모두에서 발병과정에 중요한 역할을 하며, 특히 아토피피부염의 염증 등 각종 증상을 유발하여 최근 항염증제 개발연구에 주요 target이 되고 있다. Staniforth 등은 gene gun-transfected mouse skin 동물 모델에서 shikonin 및 유도체가 항염증 효과를 나타내는지 조사하였다. 실험 결과, 자초뿌리의 헥산 추출물뿐만 아니라 분리성분인 shikonin(1), dimethylacrylshikonin(4), isobutylshikonin(5), acetylshikonin(7) 및 isovalerylshikonin(8) 모두가 농도 의존적으로 human TNF-α promotor의 활성을

**Table III.** Selected *in vivo* experiments of the extracts or constituents of *L. erythrorhizon* on the antiinflammatory or anti-atopic dermatitis effects

번호	실험대상 모델/ 염증 유발인자	실험 분획 또는 성분	항염 및 항알레르기 관련 인자들의 변화	참고 문헌
1	C57BL male mouse	물 추출물	- 24 시간대에서 경표피수분손실량 32% 감소, 홍반지수 약 23% 진정효과 - 120 시간대에서 SOD 활성 약 21% 감소 - 48 시간대에서 CAT 활성 약 167% 증가 - 160 시간 이후에 거의 대조군의 피부수준으로 회복	[67]
2	NC/Nga mouse/ UVB	70%에탄올 추출물	- 아토피대조군(57.14%)에 비해 자초군의 표피 ceramide 함량이 유의적으로 증가(171.4%) - SPT효소의 mRNA발현에는 유의적 변화 없음 - ceramidase의 발현 억제 - 혈장 내 IgE의 농도 및 TEWL 감소 - scratching 회수와 기간 감소 - scratch intensity score 유의한 감소 - IgE의 농도 40% 감소	[71] [72] [71]
3	Guinea pig/ hydrogenated coconut oil	클로로포름과 메탄올 추출물	- 표피두께가 대조군(45.4 $\mu$ m)에 비해 감소(9.2 $\mu$ m) - 정상군과 유사한 proliferation score 및 ceramide 함량 보임	[73,74]
4	Sprague-Dawley Rat/ compound 48/80	물 추출물	- 유의적으로 histamine의 농도 감소 - 비만세포의 탈과립 억제	[75,76]
5	Gene gun-transfected mouse skin/ croton oil	hexan 추출물 및 화합물 1, 4, 5, 7, 8	- 추출물 및 단일성분 모두 농도 의존적으로 human TNF- $\alpha$ promotor의 활성 억제 - shikonin(1)과 isobutyshikonin(5)이 가장 강력한 TNF- $\alpha$ promotor의 활성 억제력 나타냄 - croton 오일 도포한 경우에도 GM-CSF와 TNF- $\alpha$ promoter의 활성 억제	[78,79]
6	Chronic Ox-induced murine atopic dermatitis model	70% 에탄올 추출물	- 피부장벽의 붕괴, 혈장 내 IgE의 감소 - 뚜렷한 임상해부병리학적 개선	[80]

억제하는 것으로 나타났다. 그 중 shikonin(1)과 isobutyshikonin(5)이 가장 강력한 TNF- $\alpha$  promotor의 활성 억제력을 보였으며, transgenic human TNF- $\alpha$  mRNA의 발현과 단백질의 생산을 억제하였으므로 항염증제로 임상에서의 사용 가능성을 제시하였다.<sup>77)</sup> 이 연구진에서는 gene gun-transfected mouse skin 동물모델에서 염증 유발인자인 croton 오일로 염증을 유도한 후 shikonin 및 유도체가 항염증 효과를 나타내는지에 대해서도 조사하였다. Croton 오일을 모델동물의 표피에 도포한 경우 transgenic GM-CSF(granulocyte macrophage-colony stimulating factor)와 TNF- $\alpha$  promotor의 활성이 각각 6배와 3.4배 증가하였다. 이때 shikonin은 GM-CSF promoter 활성을 효과적으로 억제하였다고 보고하였다.<sup>78,79)</sup>

Lee 등은 oxazolone-유도 생쥐 만성아토피피부염 모델(chronic Ox-induced murine atopic dermatitis(AD))을 이용하여 자초추출물이 아토피피부염에서 염증의 진행을 억제하는지를 조사하였다. 본 모델에 자초의 70% 에탄올 추출물(0.23% lithosperic acid 함유)을 투여한 결과 피부장벽의

붕괴, 혈장 내 IgE의 감소 및 뚜렷한 임상해부병리학적 개선이 관찰되었다. 이러한 알레르기성 피부염 개선효과는 I $\kappa$ B의 분해와 COX-2 및 iNOS의 억제에 인한 것으로 보여지며, oxazolone-유도 생쥐 만성아토피피부염 모델(chronic Ox-induced murine atopic dermatitis(AD))을 알레르기성 피부염 치료제 발굴에 유용한 모델로 제안하였다.<sup>80)</sup> 동물모델에서의 자초 추출물 및 함유성분들의 항염증 작용 및 아토피피부염 개선작용에 대한 연구결과들을 위 Table III에 정리하였다.

### 자초 및 함유성분의 독성 및 Pharmacokinetics

자초의 뿌리가 의약적인 용도로 사용되기 위해서는 자초 추출물 및 함유성분들의 *in vitro* 및 *in vivo* 효능만이 고려 대상이 아니며 독성 또한 매우 중요한 요소로 고려되어야 한다. Shikonin(1)의 거울상 이성질체인 alkannin(2)은 경구 투여시 생쥐에서는 LD<sub>50</sub>이 3 g/kg이며, 랫트에서는 1 g/kg로 독성이 매우 낮은 것으로 나타났다.<sup>81)</sup> Shikonin의 경우에도

**Table IV.** Acute toxicity of intraperitoneally administered shikonin derivatives<sup>82)</sup>

Test substances	LD <sub>50</sub> (mg/kg)
shikonin (1)	20±5
acetylshikonin (4)	41±10, 22.75
β,β-dimethylacrylshikonin (4)	48±5

**Table V.** Acute toxicity of *L. erythrorhizon* extracts<sup>85)</sup>

Test substances	LD <sub>50</sub> (mg/kg)	
	복강내 투여	경구 투여
자초 에테르 추출물	40(31.6~48.2)	>5,000
자초 물 추출물	>5,000	>10,000
자초 에테르 추출물 잔사의 물 추출물	>5,000	>10,000

**Table VI.** Pharmacokinetic data for shikonin in mice<sup>6)</sup>

투여 경로	Peak level in plasma(min)	생체이용률(%)
경구	5.78	34.3
근육주사	7.62	64.7

alkannin과 유사한 LD<sub>50</sub>을 보이는 것으로 알려졌으며, 복강 투여 시는 20 mg/kg의 LD<sub>50</sub>을 나타내었다(Table IV).<sup>82)</sup>

자초 추출물의 독성에 대한 연구로 생쥐에 복강 및 경구 투여를 통한 급성독성(acute toxicity)시험 결과가 보고되었다. 자초 에테르 추출물은 복강투여 시 40 mg/kg의 LD<sub>50</sub>이 보고되었으나, 자초의 물 추출물이나 자초의 에테르 추출물 잔사의 물 추출물은 5 g/kg 이상에서도 급성독성으로 인정되는 증상이나 사망은 나타나지 않았다(Table V). 경구 투여의 경우 에테르 추출물은 5 g/kg 이상에서도 급성독성 증상이 나타나지 않았으나, 1 g/kg 이상에서 수 시간 후에 설사증상이 나타났다. 물 추출물의 경구 투여시에는 10 g/kg에서도 급성독성 증상은 보고되지 않았다.<sup>83)</sup> 최근 보고에 의하면 신강자초(*Arnebia euchroma*(Royle)Johnst)의 석유에테르(petroleum ether), 에틸 아세테이트, 에탄올 및 물 추출물을 제조한 후 생쥐에 급성독성을 조사한 결과 내용량(tolerated dose)이 각각 2.0, 12.5, 19.5, 및 23.4 g/kg로 석유에테르 추출물의 독성이 가장 크고, 물 추출물의 독성이 가장 낮은 것으로 나타났다.<sup>84)</sup>

자초의 pharmacokinetic 연구는 mouse에서 [<sup>3</sup>H]-shikonin을 이용하여 조사되었다(Table VI).<sup>6,84)</sup> Shikonin은 경구투여 및 근육주사 시 모두 [<sup>3</sup>H]-shikonin이 혈장 내에서 약 1분 내에 검출될 정도로 빠른 흡수를 보이며, 정맥주사로 투여한 [<sup>3</sup>H]-shikonin 유도체는 96 시간이 지나면 소변으로 40.5%(미변화체 3.6%), 대변으로 40.3%(미변화체 7.7%) 배출되는 것으로 보고되었다.<sup>6)</sup>

## 자초 추출물의 임상실험 사례

아토피성 환자에 대한 자초 추출물의 효능을 조사하기 위한 임상실험은 경희대학교 한의학과 학생과 경희 의료원 외래환자 149명을 대상으로 이루어졌다.<sup>73)</sup> 건강한 일반 대상자 83명(남자 34명, 여자 49명)을 42명의 normal gromwell group(NG 자초그룹)과 41명의 normal placebo group(NP)으로 나누었으며, 아토피환자 66명(남자 28명, 여자 38명) 중 38명의 atopic dermatitis(AD) gromwell group(AG)과 28명의 AD placebo group(AC)으로 나누어 자초 추출물(70% 에탄올로 추출)을 분말형태로 10주 동안 복용하도록 하면서 body composition, blood analysis, skin hydration 및 skin ceramide 함량에 대한 결과를 수집하였다.

임상실험 결과 skin hydration 면에서는 자초를 식이투여 받은 NG group과 AG group이 0주에서 10주 동안 각각 14.8%, 17.3%가 증가된 것으로 나타났다. Epidermal ceramide의 농도 수치에서도 NG group과 AG group은 각각 100%, 45%의 큰 증가를 보인 것으로 나타났다. 이를 통해 자초추출물이 skin hydration과 epidermal ceramide의 향상에 어느 정도 효과가 있는 것으로 보여진다. 또한 자초 투여 후 IgE 수치의 변화를 조사한 실험에서는 건강한 일반 대상자 집단에서의 NG group은 5.3%가 증가했고, NP group은 0.7% 감소했으며, 아토피 환자 집단에서의 NG group은 12.3% 감소했고, NP group은 22.3% 증가한 것으로 나타났다. 그러나 본 임상실험에서는 skin hydration과 epidermal ceramide 및 IgE의 수치 변화만 조사되었으며, 사용된 자초 추출물의 성분에 대한 규격화나 추출물의 아토피피부염 개선에 대한 자료는 명확하게 보여주지는 못한 것으로 보여 다양한 후속 실험들이 필요한 것으로 생각된다.

## 요약 및 고찰

아토피피부염은 발병기전이 불분명하고 allergen이 매우 다양하여 치료가 쉽지 않고 완치율이 낮으며 재발율도 높다고 보고되고 있다. 또한 현재 사용되고 있는 아토피피부염 치료제의 부작용으로 인하여 많은 환자들이 과학적으로 입증되지 못한 대체요법을 사용하고 있고 또 그에 따른 부작용도 발생하고 있다. 따라서 부작용이 적고 신뢰성 높은 천연 약물의 필요성이 대두되고 있다.

자초는 오래전부터 한방과 민간에서 피부질환의 치료에 사용되어 피부염에 대한 효능은 어느 정도 인정되어 왔다. 본 리뷰에서는 아토피피부염에 대한 부작용 없는 치료 약물로서 자초의 가능성을 살펴보기 위하여 아토피피부염과 관련된 자초 및 주요성분 shikonin 유도체의 약리효과 연구에 대하여 그 성과를 살펴보았다.

자초의 추출물은 비록 일부 상반되는 경우가 있었지만 항

균작용, B세포의 IgE 생성 억제작용, 비만세포의 탈과립과 histamine 방출 억제작용, 염증세포의 pro-inflammatory cytokine의 생성 억제작용, 및 피부의 ceramide 함량 증가 등 다양한 효능이 *in vitro* 및 *in vivo* 실험을 통해 확인되어 아토피 치료제로서의 기본적인 효능이 입증되었다고 본다. 특히 자초 추출물이 IFN- $\gamma$ 를 증가시키는 작용을 가진다는 실험 결과를 볼 때 아토피피부염의 만성기보다는 급성기 치료제로서 보다 유용하다고 볼 수 있다. 자초의 성분 중 어떠한 것이 이러한 효과에 대해 직접적으로 작용하는가에 대한 연구는 아직 부족한 것이 사실이나, 최근 이루어지고 있는 연구의 성과를 통해 자초의 주요 성분인 shikonin과 그 유도체가 중요한 역할을 담당하고 있는 것으로 생각된다. 따라서 *in vitro*와 *in vivo* 상의 연구 결과로 볼 때 자초는 아토피 치료제로서 가능성과 가치를 지니고 있는 것으로 보인다.

그러나 임상 연구에 있어서는 아직 많은 과제를 남기고 있다고 생각된다. 아토피피부염과 관련된 자초의 임상 연구 사례는 단 한 차례에 불과했으며, 의약품보다는 건강기능식품 수준에서 이루어져 수집된 결과가 치료제로 사용되기에는 충분한 수준에 도달하지 못한 것으로 보이며, 효능 이외에도 안전성 및 대사과정, 약물동력학시험, 안정성, 제형 등 보다 엄밀하게 설계된 전임상 및 임상 연구가 필요할 것으로 보인다. 또한 제형의 측면에서도 경구복용과 연고제 등 어떠한 방식이 좀 더 효과적이고 바람직한 방향인가에 대한 연구도 필요할 것이라고 생각된다. 연관된 임상 사례로서 shikonin 성분의 항암효과를 살펴보기 위하여 폐암 말기 환자들을 대상으로 실시했던 임상연구 결과와<sup>11)</sup> 상처치료제로서 현재 사용되고 있는 Helixderm<sup>®</sup>(주성분은 shikonin과 유사효과를 지닌 alkannin)에 대한 임상 시험 사례가 두 가지가 존재한다. 이러한 사례들도 향후 임상연구 설계에 도움을 줄 수 있을 것으로 생각된다. 부연하여 또 하나 아쉬웠던 점은 국내에서 이루어진 자초추출물에 대한 많은 연구가 주로 물을 용매로 한 추출에 편중되어 나타났다는 것이다. 특히, 최근에 신강자초를 석유에테르(petroleum ether), 에틸 아세테이트, 에탄올 및 물로 각각 추출하고 이들의 shikonin 함량을 UV로 측정된 결과, 석유에테르>에틸 아세테이트>에탄올 추출물 순서로 shikonin이 많이 존재하였으며, 물 추출물에서는 shikonin을 발견할 수 없었다고 보고되었다.<sup>83)</sup> 따라서 보다 다양한 용매를 사용한 추출물의 제조에 의한 추출물들의 효능 비교나 추출물에 존재하는 활성물질 또는 지표물질의 함량제시를 통한 추출물의 표준화/규격화 등을 위한 연구도 필요할 것으로 보인다. 마지막으로 아토피 치료제로서 다양한 효과와 장점을 가지고 있는 자초 뿌리의 표준화/규격화, *in vivo* 효능확인, 제형개발 및 임상연구 등이 향후 체계적으로 이루어지기를 기대하며 부족하지만 본 리뷰가 그 과정에 기여할 수 있기를 기대한다.

## 인용문헌

1. Cho, M. H., Paik, Y. S. and Hahn, T. R. (1999) Propionylshikonin from the roots of *Lithospermum erythrorhizon* cultivated in Korea. *J. Agric. Food Chem.* **47**: 4117-4120.
2. 최진규 (2006) 약이 되는 우리풀 꽃 나무(1), p48, 한문화, 서울
3. 육창수 외 41명 (2008) 한약재 관능검사지침(II), p93. 식품의약품안전청.
4. Cho, M. H., Paik, Y. S. and Hahn, T. R. (1999) Physical stability of shikonin derivatives from the roots of *Lithospermum erythrorhizon* cultivated in Korea. *J. Agric. Food Chem.* **47**: 4117-4120.
5. 약품식품학연구회 (1982) 약품식물학각론, p332, 한국학습교재사, 서울.
6. Papageorgioua, V. P., Assimopoulou, A. N., Samanidou, V. F. and Papadoyannis, I. N. (2006) Recent advances in chemistry, biology and biotechnology of alkannins and shikonins. *Curr. Org. Chem.* **10**: 2123-2142.
7. Chen, X., Yang, L., Zhang, N., Turpin, J. A., Buckheit, R. W., Osterling, C., Oppenheim, J. J. and Howard, O. M. Z. (2003) Shikonin, a component of Chinese herbal medicine, inhibits chemokine receptor function and suppresses human immunodeficiency virus type 1. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* **47**: 2810-2816.
8. Niwano, Y., Nishizawa, M. and Kohno, M. (2007) Shikonin, an active principle of the medicinal plant *Lithospermum erythrorhizon*, is a potent scavenger of peroxyradicals in cigarette smoke. *Recent Progress in Medicinal Plants* **18**: 201-214.
9. Weng, X. C., Xiang, G. Q., Jiang, A. L., Liu, Y. P., Wu, L. L., Dong, X. W. and Duan, S. (2000) Antioxidant properties of components extracted from puccoon (*Lithospermum erythrorhizon* Sieb. et Zucc.). *Food Chemistry* **69**: 143-146.
10. Ko, F. N., Lee, Y. S., Chang, Y. S. and Teng, C. M. (1995) Inhibition of platelet activation by shikonin derivatives isolated from *Arnebia euchroma*. *Biochim. Biophys. Acta* **1268**: 329-334.
11. Guo, X. P., Zhang, X. Y. and Zhang, S. D. (1991) Clinical trial on the effects of shikonin mixture on later stage lung cancer. *Zhong xi yi jie he za zhi (Chinese Journal of Modern Developments in Traditional Medicine)* **11**: 598-590, 580 [PubMed ID 1806305 AN 1992217142].
12. Yoon, Y., Kim, Y.-O., Lim, N.-Y., Jeon, W.-K. and Sung, H. J. (1999) Shikonin, an ingredient of *Lithospermum erythrorhizon* induced apoptosis in HL60 human promyelocytic leukemia cell line. *Planta Medica* **65**: 532-535.
13. Kim, S. J., Kwon, B.-M., Kim, S.-H., Baek, N.-I., Yang, J. H., Lee, J. J., Lee, S. I., Kwon, Y.-E., Park, H. W., Lee, J. H., Park, J.-S. and Kim, D. K. (2007) Farnesyl protein transferase inhibitory components of *Lithospermum erythrorhizon*. *Natural Product Sciences* **13**: 328-331.
14. Kim, S.-H., Song, G.-Y., Jin, G.-Z. and Ahn, B.-Z. (1996)

- Antitumor activity of arylacetylshikonin analogs. *Archives of Pharmacol Research* **19**: 416-422.
15. Zhang, Y., Qian, R.-Q. and Li, P.-Pi. (2009) Shikonin, an ingredient of *Lithospermum erythrorhizon*, down-regulates the expression of steroid sulfatase genes in breast cancer cells. *Cancer Letters* **284**: 47-54.
  16. 서부일 외 (2004) 임상 한방본초학, p240-241. 영림사, 서울.
  17. 심민교, 맹웅재 (1989) 향약집성방, p1810. 영림사, 서울.
  18. 전을 (2002) 소아약중독질환원문대역, p241-242. 여강출판사, 서울.
  19. Takwale, A., Tan, E., Agarwal, S., Barclay, G., Ahmed, I., Hotchkiss, K., Thompson, J. R., Chapman, T. and Berth-Jones, J. (2003) Efficacy and tolerability of borage oil in adults and children with atopic eczema: randomised, double blind, placebo controlled, parallel group trial. *British Medical Journal* **327**: 1385-1387.
  20. 김영란 (2007) 아토피 동물모델 NC/Nga mice에서 자초 및 보라지 추출물의 식이공급이 소양증, IgE 및 표피 세라미드 함량에 미치는 효과 비교. 경희대학교 동서의학 대학원, 석사학위논문.
  21. Ahn, Y. H., Jin, Y. H., Choe, C. Y., Lee, K. M. and Lee, S. (2009) Ecological characteristics of *Lithospermum erythrorhizon* population in habitat, *Korean Journal of Pharmacognosy* **40**: 289-297.
  22. Papageorgiou, V. P.; Assimopoulou, A. N.; Couladouros, E. A.; Hepworth, D. and Nicolaou, K. C. (1999) The chemistry and biology of alkannin, shikonin, and related naphthazarin natural products. *Angew. Chem. Int. Ed.* **39**: 270-300.
  23. Chen, X., Yang, L., Oppenheim, J. J. and Howard, O. M. Z. (2002) Cellular pharmacology studies of shikonin derivatives. *Phytother. Res.* **16**: 199-209.
  24. Papageorgiou, V. P., Assimopoulou, A. N. and Ballis, A. C. (2008) Alkannins and Shikonins: A new class of wound healing agents. *Curr. Med. Chem.* **15**: 3248-3267.
  25. Kuroda, C. (1918) The coloring matter in *Lithospermum erythrorhizone*. *Tokyo Kagaku Kaishi* **39**: 1051-1115.
  26. Miamima, R. and Kuroda, C. (1922) The coloring matter of *Lithospermum erythrorhizon*. *Acta Phytochimica* **1**: 43-65.
  27. Brockmann, H. (1935) Constitution of alkannin, shikonin and alkannan. *Justus Liebigs Ann. Chem.* **521**: 1-47.
  28. Arakawa, H. and Nakazaki, M. (1961) Absolute configuration of shikonin and alkannin. *Chem. Ind. (London)* 947.
  29. Fukui, H., Tsukada, M., Mizukami, H. and Tabata, M. (1983) Formation of stereoisomeric mixtures of naphthoquinone derivatives in *Echium lycopsis* callus cultures. *Phytochemistry* **22**: 453-456.
  30. Fu, S. L., Shang, T. M. and Xiao, P. G. (1984) Analysis of naphthoquinone pigments in Chinese medicinal 'zicao'. *Arnebia euchroma*. *Yaoxue Xuebao* **19**: 921-920.
  31. Kim, J.-s., Han, Y.-s. and Kang, M.-h. (2006) Identification of shikonin and its derivatives for *Lithospermum erythrorhizon*. *J. Korean Soc Food Sci. Nutr.* **35**: 177-181.
  32. Morimoto, I. and Hirata, Y. (1965) New naphthoquinone derivative from *Lithospermum erythrorhizon*. *Tetrahedron Lett.* **7**: 4737-4739.
  33. Kyogoku, K., Terayama, H., Tachi, Y., Suzuki, T. and Komatsu, M. (1973) Constituents of shikon. II. Comparison of contents, constituents, and antibacterial effect of fat soluble fraction between nanshikon and kosikon. *Shoyakugaku Zasshi* **27**: 24-30.
  34. Cui, X.-R., Tsukada, M., Suzuki, N., Shimamura, T., Gao, L., Koyanagi, J., Komada, F. and Saito, S. (2008) Comparison of the cytotoxic activities of naturally occurring hydroxyanthraquinones and hydroxynaphthoquinones. *European J. Med. Chem.* **43**: 1206-1215.
  35. Han, J., Weng, X. and Bi, K. (2008) Antioxidants from a Chinese medicinal herb. *Lithospermum erythrorhizon*. *Food Chemistry* **106**: 2-10.
  36. Hisamichi, S. and Yoshizaki, F. (1982) Studies on the shikonin. I. Structures of new minor pigments and isolation of two isomers of shikonin derivatives from *Lithospermum erythrorhizon* Sieb. et Zucc. *Shoyakugaku Zasshi* **36**: 154-159.
  37. Yoshizaki, F., Hisamichi, S., Kondo, Y., Sato, Y. and Nozoe, S. (1982) Studies on shikonin. III. New furylhydroquinone derivatives, shikonofurans A, B, C, D and E, from *Lithospermum erythrorhizon* Sieb. et Zucc. *Chem. Pharm. Bull.* **30**: 4407-4411.
  38. Papageorgiou, V. P., Assimopoulou, A. N. and Kyriacou, G. (2002) Determination of naturally occurring hydroxynaphthoquinone polymers by size-exclusion chromatography. *Chromatographia* **55**: 423-430.
  39. Assimopoulou, A. N., Sturm, S., Stuppner H. and Papageorgiou, V. P. (2009) Preparative isolation and purification of alkannin/shikonin derivatives from natural products by high-speed counter-current chromatography. *Biomed. Chromatogr.* **23**: 182-198.
  40. Fukui, H., Yazaki, K. and Tabata, M. (1984) Two phenolic acids from *Lithospermum erythrorhizon* cell suspension cultures. *Phytochemistry* **23**: 2398-2399.
  41. Yamamoto, H., Inoue, K. and Yazaki, K. (2000) Caffeic acid oligomers in *Lithospermum erythrorhizon* cell suspension cultures. *Phytochemistry* **53**: 651-657.
  42. Yamamoto, H., Zhao, P., Yazaki, K. and Inoue, K. (2002) Regulation of lithospermic Acid B and shikonin production in *Lithospermum erythrorhizon* cell suspension cultures. *Chem. Pharm. Bull.* **50**: 1086-1090.
  43. Curtin, M. E. (1983) Harvesting profitable products from plant tissue culture. *Biotechnology* **1**: 649-657.
  44. Lin, L. and Wu, J. (2002) Enhancement of shikonin production in single- and two-phase suspension cultures of *Lithospermum erythrorhizon* cells using low-energy ultrasound. *Biotechnology and Bioengineering* **78**: 81-88.
  45. Williams, H., Robertson, C., Stewart, A., Ait-Khaled, N., Anabwani, G A., Anderson, R. et al. (1999) Worldwide vari-

- ations in the prevalence of symptoms of atopic eczema in the international study of asthma and allergies in childhood. *J. Allergy Clin. Immunol.* **103**: 125-138.
46. Hong, S. J. (2007) Korean ISAAC Study Group of Korean Association of Allergy and Respiratory Diseases: Report of Korean ISAAC epidemiologic study for asthma and allergic diseases in children. *Pediatr. Allergy Respir. Dis. (Korea)* **17**: Suppl 1: S55-66.
47. Cooper, K. D. (1994) Atopic dermatitis: recent trends in pathogenesis and therapy. *J. Invest. Dermatol.* **102**: 128-37.
48. 김각균(역) (2009) 최신면역학입문, pp205-221. 이퍼블릭, 서울.
49. 안성구, 박병덕, 원진형, 천승현(역) (2007) 아토피 피부염 진단과 치료, pp21-28 & 107-112. 군자출판사, 서울.
50. 김정희 (2004) 아토피 피부염의 최신지견. 소아알레르기 및 호흡기학회지, **14**: 12-23.
51. 이종현, 김영선, 편복양, 최태운, 공도연, 김을순, 양현중 (2006) 소아 아토피피부염 환부에서의 이차 세균 감염 빈도와 항생제 감수성에 대한 연구. 소아알레르기 및 호흡기학회지, **16**: 26-37.
52. 박옥연, 장동석, 조학래 (1992) 자초 추출물의 항균특성. 한국영양식량학회지, **21**: 97-100.
53. 민영기 (1993) 자초의 효능에 관한 실험적 연구. 경희대학교 대학원 한의학과, 석사학위논문.
54. Karyagina, T. B., Arzumanyan, V. G., Timchenko, T. V. and Bairamashvili, D. I. (2001) Antimicrobial activity of shikonin preparations. *Pharmaceutical Chemistry Journal* **35**: 435-436.
55. Park, D. W., Lee, Y. S., Seo, Y. B., Ahn, D.-K., Seo, Y.-B. and Choi, H.-Y. (2003) Effects of *Lithospermi radix* on anti-CD40 and recombinant interleukin- $A_4$ -induced cytokine production in murine B-cells. *The Korean Journal of Herbology* **18**: 73-81.
56. 김수용 (2006) 자초가 비만세포의 알레르기 염증 반응에 미치는 영향. 경희대학교 대학원 한의학과, 석사학위논문.
57. Kim, E. K., Kim, E.-Y., Moon, P.-D., Um, J.-Y., Kim, H.-M., Lee, H.-S., Sohn, Y., Park, S. K., Jung, H.-S. and Sohn, N.-W. (2007) *Lithospermi radix* extract inhibits histamine release and production of inflammatory cytokine in mast cells. *Bioscience Biotechnology and Biochemistry* **71**: 2886-2892.
58. 권미화, 이진용, 김덕곤 (2005) Anti-allergic and anti-inflammatory effects of Jacho (*Lithospermi erythrorhizon*). 대한한의학회지 **26**: 110-123.
59. Han, K. Y., Kwon, T. H., Lee, T. H., Lee, S. J., Kim, S. H. and Kim J. (2008) Suppressive effects of *Lithospermi erythrorhizon* extracts on lipopolysaccharide-induced activation of AP-1 and NF- $\kappa$ B via mitogen-activated protein kinase pathways in mouse macrophage cells. *BMB Rep.* **41**: 328-333.
60. Ishida, T. and Sakaguchi, I. (2007) Protection of human keratinocytes from UVB-induced inflammation using root extract of *Lithospermi erythrorhizon*. *Biol. Pharm. Bull.* **30**: 928-934.
61. Nam, K. N., Son, M. S., Park, J. H. and Lee, E. H. (2008) Shikonins attenuate microglial inflammatory responses by inhibition of ERK, Akt, and NF- $\kappa$ B: neuroprotective implications. *Neuropharmacology* **55**: 819-825.
62. Chen, X., Oppenheim, J. and Howard, O. M. (2001) Shikonin, a component of antiinflammatory Chinese herbal medicine, selectively blocks chemokine binding to CC chemokine receptor-1. *Int. Immunopharmacol.* **1**: 229-236.
63. Wang, W. J., Bai, J. Y., Liu, D. P., Xue, L. M. and Xue, X. Y. (1994) The antiinflammatory activity of shikonin and its inhibitory effect on leukotriene B $_4$  biosynthesis. *Yaoxue Xuebao* **29**: 161-165 [CAN **121**: 148550].
64. Hanada, K., Hara, T. and Nishijima, M. (2000) D-Serine inhibits serine palmitoyltransferase, the enzyme catalyzing the initial step of sphingolipid biosynthesis. *FEBS Letters* **474**: 63-65.
65. Tanno, O., Ota, Y., Kitamura, N., Katsube, T. and Inoue, S., (2000) Nicotinamide increases biosynthesis of ceramides as well as other stratum corneum lipids to improve the epidermal permeability barrier. *Br. J. Dermatol.* **143**: 524-531.
66. Thuong, P. T., Kang, K. W., Kim, J. K., Seo, D. B., Lee, S. J., Kim, S. H. and Oh, W. K. (2009) Lithospermic acid derivatives from *Lithospermi erythrorhizon* increased expression of serine palmitoyltransferase in human HaCaT cells. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **19**: 1815-1817.
67. 송선영 (2008) UVB에 손상된 생쥐의 피부에 미치는 자초 추출물의 효과. 조선대학교 대학원 생물학과, 석사학위논문.
68. 대한 피부과학회 교과서 편찬위원회 (2008) 피부과학(제5판), p136-142, 여문각, 서울.
69. Rawlings, A. V., Davies, A., Carlomusto, M., Pillai, S., Zhang, K., Kosturko, R., Verdejo, P., Feinberg, C., Nguyen, L. and Chandar, P. (1996) Effect of lactic acid isomers on keratinocyte ceramide synthesis, stratum corneum lipid levels and stratum corneum barrier function. *Arch. Dermatol. Res.* **288**: 383-390.
70. Christian, V., Hiroyuki, Y. and Konji, M. (2000) The NC/Nga mouse: a model for atopic dermatitis. *Molecular Medicine Today* **6**: 209-210.
71. 김정민 (2006) 자초추출물의식이공급이 아토피 동물모델인 NC/Nga mice에게 식이공급하여 세라마이드 함량 및 천연 보습인자의 함량에 미치는 영향. 경희대학교 동서의학대학원, 석사학위논문.
72. Kim, J.-M., Kim, Y.-R., Seo, D.-B., Kim, S.-H., Lee, S.-J. and Cho, Y. (2009) Oral supplementation of *Lithospermi erythrorhizon* prevents the development of atopic dermatitis with reducing ceramide degradation in the epidermis of NC/Nga mice. *Phytother. Res.* **23**: 1250-1256.
73. 김주영 (2006) The effects of gromwell (*Lithospermi erythrorhizon* Sieb. et Zucc.) for skin moisturizing and treatment of atopic dermatitis. 경희대학교 동서의학대학원,

- 박사학위논문.
74. Kim, J., Kim, H., Jeong, D. H., Kim, S. H., Park, S. K. and Cho, Y. (2006) Comparative effect of gromwell (*Lithospermum erythrorhizon*) extract and borage oil on reversing epidermal hyperproliferation in guinea pigs. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* **70**: 2086-95.
75. 김선형 (2005) 상업 우방자 자초가 항알러지 염증반응에 미치는 영향. 경희대학교 대학원 한의학과, 석사학위논문.
76. 김시혜 (2004) 자초가 아토피 피부염에 미치는 영향. 경희대학교 대학원 한의학과, 박사학위논문.
77. Staniforth, V., Wang, S. Y., Shyur, L. F. and Yang, N. S. (2004) Shikonins, phytochemicals from *Lithospermum erythrorhizon*, inhibit the transcriptional activation of human tumor necrosis factor alpha promoter in vivo. *J. Biol. Chem.* **279**: 5877-5885.
78. Chiu, S. C. and Yang, N. S. (2007) Inhibition of tumor necrosis factor-alpha through selective blockade of Pre-mRNA splicing by shikonin. *Mol. Pharmacol.* **71**: 1640-1645.
79. Su, P.-F., Staniforth, V., Li, C.-J., Wang, C.-Y., Chiao, M.-T., Wang, S.-Y., Shyur, L.-F. and Yang, N.-S. (2008) Immunomodulatory effects of phytochemicals characterized by in vivo transgenic human GM-CSF promoter activity in skin tissues. *Journal of Biomedical Science* **15**: 813-822.
80. Lee, J. H., Jung, K.-M., Bae, I.-H., Cho, S. Y., Seo, D.-B., Lee, S.-J., Park Y. H. and Lim, K.-M. (2009) Anti-inflammatory and barrier protecting effect of *Lithospermum erythrorhizon* extracts in chronic oxazolone-induced murine atopic dermatitis. *Journal of Dermatological Science* **256**: 64-66.
81. Majlathova, L. (1971) Feeding trial with alkannin on mice. *Die Nahrung* **15**: 505-508 [Chem. Abstr. 1971, **76**: 122 513].
82. Hayashi, M. (1977) Pharmacological studies of shikon and tooki. (2) Pharmacological effects of the pigment components, shikonin and acetylshikonin. *Nippon Yakurigaku Zasshi* **73**: 193-203 [Chem. Abstr. 1977, **88**: 44863e].
83. Hayashi, M. (1977) Pharmaceutical studies on crude plant drugs, shikonin and tooki. *Nippon Yakurigaku Zasshi* **73**: 177-191.
84. Dai, B., Zhou, X.-b., Yin, A.-w., Pan, Y.-s. and Zou, S.-h. (2005) Determination of shikonin content in *Arnebia euchroma* extracts from four kinds of solvent systems and experimental observation on its acute toxicity. *Zhongguo Zhongyiyao Keji* **12**: 168-169, *CAN* **146**: 344647.
85. Wang, W. J., Yi, M. G. and Zhu, X. Y. (1988) A study on absorption, distribution and excretion of [<sup>3</sup>H]shikonin in mice. *Yaoxue Xuebao* **23**: 246-251 [Chem. Abstr. 1988, **109**: 47 792u].
- (2010. 3. 9 접수; 2010. 5. 25 심사; 2010. 6. 7 게재확정)