

카페인 메톡시 폴리에틸렌글리콜 에스테르의 합성 및 응용

이현기 · 정노희[†]

충북대학교 공과대학 공업화학과
(2011년 4월 24일 접수 ; 2011년 9월 17일 채택)

Synthesis and Application of Caffeic Acid Methoxy Polyethylene Glycol Ester

Hyun-gi Lee · Noh-Hee Jeong[†]

*Department of Engineering Chemistry, College of Engineering
Chungbuk National University Chemistry
Cheong-ju 361-763, Korea*

(Received April 24, 2011 ; Accepted September 17, 2011)

Abstract : Caffeic acid is a kind of phytochemicals occurred in coffee, which is worked as a carcinogenesis restrainer and antioxidants on the human body. In this study, as one type of caffeic acid derivatives, methoxypolyethylene glycol caffeate(MPC) was synthesized by the esterification between caffeic acid and methoxypolyethylene glycol with N,N'-dicyclohexyl carbodiimide, 4-dimethylamino pyridine. The synthesized product was confirmed by using FT-IR and ¹H-NMR, thin-layer chromatography. And these compound was investigated as antioxidant, Tyrosinase hindrance and skin moisturizers. In the free radical scavenging study, antioxidant effect of MPC was averagely high than the red ginseng extract that be used as a natural antioxidants. The result of Tyrosinase anti-activity test was better than embryo bud of rice extract at low concentration. At the iNOS anti-activity tested by using Raw 264.7 cell, and confirmed anti-inflammatory function. For the MPC handled with sodium lauryl sulfate, was tested for the skin moisture content and skin moisture loss.

Keywords : *Caffeic acid, Polyethylene glycol, Antioxidant activity, tyrosinase activity, iNOS activity.*

1. 서론

살아있는 생물체는 에너지 소비로 인하여 활성산소가 발생하며, 이로 인해 세포막, 지질, 단백질, DNA 등에 손상을 입게 되어 궁극적으로

피부노화, 피부질환 및 피부암의 발생이 일으키게 된다[1]. 이러한 활성산소를 제거하는 가장 간편하면서도 효과적인 방법은 과산화 연쇄반응을 차단하기 위하여 항산화제를 첨가하는 방법이다. 항산화제는 식품, 화장품, 의약품 산업분야 등에서 널리 이용되고 있고 특히 천연물로 만들어진 안전한 항산화제가 이용되고 있다

[†] 교신저자 (E-mail : nhjeong@cbnu.ac.kr)

[2~5].

지난 십 수 년 간 널리 사용되어오던 합성 항산화제들의 항산화력은 매우 뛰어나지만, 안정성에 관한 우려로 미국, 일본, 유럽 등 선진 각국에서는 그 사용량이 법적으로 규제되어 천연 항산화제로 대체하는 추세에 있다[6~7]. 이들 비타민류 이외에 천연 항산화제로는 생약류, 해조류, 유칼리나무잎, 등 그 종류가 매우 다양하며, 혼연성분 중의 페놀, 대두 등에 함유된 플라보노이드 성분들이 항산화효과가 있다고 알려져 있으며, 일본에서는 감초 추출물, 로즈마리 등이 천연 항산화제로 개발되어 시판되고 있다[8~10].

실험에 사용된 카페산은 파이토케미칼의 한 종류이며 강력한 항산화제이다. 이것은 커피에서 많이 발견되는 주요 파이토케미칼 성분들 중 하나로 알려져 있으며 발암억제제로서 작용을 하고 생체 안과 밖에 영향을 주는 항산화제로 알려져 있다. 그리고 다른 항산화제보다 효과가 우수한 것으로 알려져 있으며, 또한 산화스트레스 및 아플라톡신의 생성을 감소시킬 뿐만 아니라, 항염증작용 및 정균작용을 하여 생선중독이나 버섯중독시 효과가 있는 것으로 알려져 있다[11~14]. 본 연구에서는 카페산에 메톡시폴리에틸렌글리콜을 N,N'-dicyclohexylcarbodiimide와 4-dimethylaminopyridine 촉매 하에서 에스테르반응시켜 카페산 메톡시폴리에틸렌글리콜에스테르(MPC)를 합성하고 이렇게 제조된 MPC를 이용 항산화력, 티로시나제 저해능력 그리고 보습성을 평가하여 카페산에 폴리에틸렌글리콜이 부가되었을 때 항산화기능과 보습효과 및 물질 안정성을 시험 검토하고자 한다.[15~20]

2. 실험

2.1. 실험재료 및 실험장치

합성에 있어서 주요물질인 카페산(Aldrich chemical Co., USA)은 특급시약을 사용하였고 메톡시폴리에틸렌글리콜 (Fluka, BuchsSG, Switzerland)은 1급 시약을 사용하였다. 촉매 N,N'-dicyclohexyl carbodiimide (DCC, Tokyo Chemical Industry, Japan)와 4-dimethylamino pyridine (DMAP, Tokyo Chemical Industry, Japan)는 1급 시약을 사용하였고, 용매는 디클

로로메탄(Junsei Chemical, Japan)을 사용하였다. 합성장치는 Figure 1에 도시한 것과 같이 등근바닥 3구 플라스크와 교반기를 사용하여 질소 기류 하에서 합성하였다.

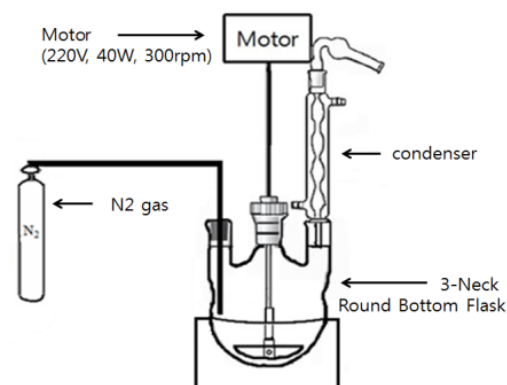


Fig. 1. Reaction apparatus.

2.2. 카페산 메톡시 폴리에틸렌글리콜 에스테르의 합성

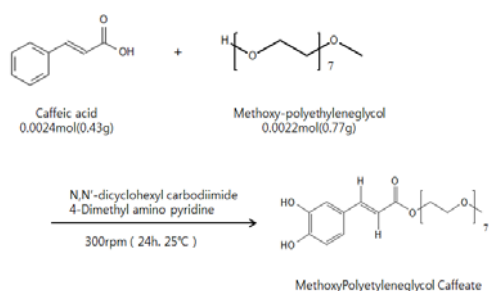
카페산과 메톡시폴리에틸렌글리콜을 등근바닥 3구 플라스크 내에서 에스테르화반응시켰다. 반응방법은 반응장치 내에 용매인 디클로로메탄(DCM), methoxy polyethyleneglycol 0.43g (0.0022몰) 그리고, caffeic acid 0.43g (0.0024몰)을 같이 넣고 촉매인 DCC 0.45g (0.0024몰)과 DMAP 0.0075g (0.0001몰)를 투입했다. 이것을 빛이 차단된 상온상태에서 24시간 동안 교반하여 반응시켰다. 반응혼합물은 Scheme 1과 Figure 3의 흐름도와 같은 순서 및 방법으로 MPC를 합성 및 정제하였다. 반응 혼합물중의 용매를 감압 증발하여 제거한 후, 건조 잔유물은 촉매 제거를 위하여 소량의 DCM에 여과 세척 후, 여과 수집하여 디에틸에테르 200g과 물 100g으로 2회 반복하여 세척하고, 분액 깔대기로 물 층만 분리한 후 건조하였다.

2.3. 분석방법

2.3.1. 얇은 막 크로마토그래피

합성한 카페산 에스테르에 대하여 얇은 막 크로마토그래피(E. Merck Co., silicagel 60 F 254)를 이용하여 분리실험을 시행하였고, 원료 물질들과 비교하였다. 얇은 막 크로마토그래피

의 두께는 0.25 mm이었고, 점적은 모세관을 사용하였다. MPC 10 %w/t 수용액 5 μ l를 채취하여 박판층 하단 25 mm되는 지점에 점적한 후, 건조하여 전개조에 넣고, 약 7.5 cm까지 실온에서 전개한다. 박층판을 꺼내 열풍으로 건조한 뒤, 254 nm UV 램프로 spot을 확인하고 R_f 값을 계산하였다. 이때 전개 용매로 에탄올과 물 (v/v, 3 : 2)을 사용하였다.



Scheme 1. Synthetic procedure of methoxypoly ethyleneglycol caffeate.

2.4. 기기 분석

2.4.1. 적외선 스펙트럼

합성품에 대한 구조 및 관능기를 확인하기 위해 사용하였다.

2.4.2. ¹H-NMR

합성품에 대한 NMR 측정은 Bruker사의 Avance 500MHz를 이용하였고, 내부 표준물질로는 DMSO(dimethyl sulfoxide)를 사용하였고, 이에 대한 용매로는 CDCl₃를 사용하였다.

2.5. MPC 효능 및 보습력평가

2.5.1. 자유라디칼 소거 효과

자유라디칼 시약인 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH)을 1급 시약 용 에탄올에 용해하여 0.1 mM DPPH 용액을 제조한다. 실험용 튜브에 에탄올 400 μ l를 넣어 준 후, 각 농도의 MPC 100 μ l씩 투입하고 대조군에는 정제수 100 μ l를 넣어 준다. 각각의 튜브에 0.1 mM DPPH 용액을 500 μ l를 고루 투입한 후, 준비된 각각의 시료를 vortexing 하여 4 $^{\circ}$ C 냉장고에서 30분간 보관 후 200 μ l취해서 517 nm에서 분광계로 흡광도를 측정한다.

2.5.2. 티로시나제 활성저해실험

티로시나제 활성저해실험은 pH 6.8인 0.1M sodium phosphate buffer, 20 ml와 NaH₂PO₄ 0.2몰, 그리고 Na₂HPO₄ 0.2몰을 각각 준비한 후, 머쉬룸 티로시나제와 상기 제조된 0.1M sodium phosphate buffer 10ml를 투입하였다. 이렇게 준비된 티로시나제 20 μ l에 100 mM sodium phosphate buffer를 220 μ l 넣고, 여기에 각 농도의 MPC 20 μ l를 투입하였다. 대조군은 0.1M sodium phosphate buffer를 사용하였다. 이렇게 제조된 샘플에 0.0015M L-tyrosine을 40 μ l씩 투입 후, 37 $^{\circ}$ C 물중탕에서 15분간 반응시켰다. 이것을 각 200 μ l를 96well plate을 이용하여 490 nm에서 측정하고 백분율로 환산하였다.

2.5.3 iNOS활성저해 효과

마우스의 대식 세포인 Raw 264.7 세포를 10 % FBS-DMEM 배지에 24 well plate에 1 \times 10⁵ cell/well로 분주하고, Confluency가 80 %가 도달할 때까지 항온기에서 18~24시간 배양 후, 시료를 농도별로 처리한다. 다양한 농도의 시료에 대하여 1 μ g/ml의 lipopolysaccharide (LPS)를 처리한 후, 18~24시간 동안 항온기에서 더 배양한다. 상층액 100 μ l를 회수하여 96 well plate에 넣고 Griess reagent를 100 μ l 첨가하여 상온에서 10분간 가볍게 흔들어주어 570 nm의 흡광도에서 측정한다. NaNO₃으로 검량선을 작성하고 각 시료를 배양액 중의 산화질소 NO의 생성량을 구한다. LPS를 처리한 군의 산화질소의 생성량을 100 %로 하여 각 시료의 % 수득율을 구한다.

2.6. 보습력 평가실험

항온 항습 보습력 평가실험을 이용하여 MPC와 생리식염수 그리고 PEG-400의 수분 보유력, 피부 수분 공급정도 등을 실험한다. *in vitro* 건조량 측정법을 이용하여 항온항습실에서 31 $^{\circ}$ C, 상대 습도 40~60%에서 3시간 동안 수분 보유량 측정으로 실험물질의 보습효과를 평가한다.

2.7. 피부 수분함량 평가실험

라우릴황산나트륨은 피부의 장벽 기능에 영향을 주고, 염증을 유발하는 자극성이 강한 계면활성제로 이를 이용한 실험은 자극성 피부반

응 연구에 대표적인 방법이다. 피검자의 양측 상완 내측에 0.5 wt% 라우릴황산나트륨 수용액을 종이판에 50 μl 씩 적서 직경 11 mm large finn chamber를 scanpor tape인 epitest 로 (Finland) 부착하여 인위적으로 자극성 피부염을 유발하는 라우릴황산나트륨을 첩포하였다. 24시간 경과 후 라우릴황산나트륨 첩포를 제거하고 30분 경과 후 피부상태를 측정한다. 시험물질과 대조군을 각 실험부위에 5일간 1일 2회 씩 도포하였다. 도포 1일, 3일, 5일 후에 피부수분함량을 피부수분함량 측정기 (CornemeterC+K, Koln, Germany)를 이용하여 측정하였다.

2.8. 피부 수분손실량 평가실험

피부수분손실량 측정기 (Tewameter TM 210C+K, Koln, Germany)를 이용하여 측정하였다. 시험 시작 30분 전부터 항온항습조건인 20~22 $^{\circ}\text{C}$, 상대습도 40~60 %의 실내에서 상박부에 각각의 시료 1.0 mg/ml을 균일하게 도포하고, 시료를 도포하지 않은 좌측 상박부를 대조군으로 도포직전 및 도포 직후의 피부수분 손실량을 측정하였다. 이후 대조 부위와 각 실험물질 도포 부위를 도포 1일, 3일, 5일 후에 피부수분손실량을 각각 측정하였다. 측정된 피부수분손실량은 $\text{g}/\text{h}\cdot\text{m}^2$ 로 표기하였다.

3. 결과 및 고찰

3.1. 얇은 막 크로마토그래피

메톡시폴리에틸렌글리콜과 카페산을 이용하여 MPC를 합성하였다. 반응의 종결여부를 확인하기 위하여 3시간 가격으로 얇은 막 크로마토그래피를 지속적으로 측정하였다. 합성화합물의 Rf값은 0.76이었다. 최초 3개의 포인트에서 2개의 포인트로 최초 3시간 내에 대부분 변화하였으며, 24시간 반응 후, 완전히 2개의 포인트로 분리되었다.

3.2. 적외선 스펙트럼

MPC의 주요 작용기를 확인하기 위하여 적외선 스펙트럼을 분석하였다. Figure 2와 같이 주요 작용기로는 1750 cm^{-1} 부근에서 에스테르기의 C=O 신축 진동피크를 확인하였고, 1050 cm^{-1} 부근에서 에스테르의 C-O 신축진동피크

를, 3500 cm^{-1} 부근에서 페놀의 -OH 신축진동 피크를 확인하였다.

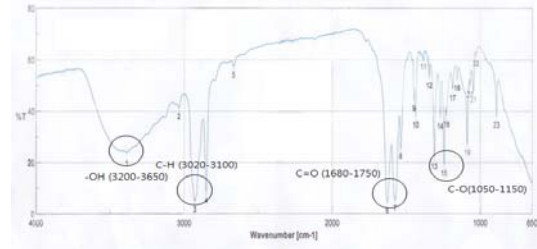


Fig. 2. FT-IR spectrum of methoxypoly ethyleneglycol caffeate.

3.3. 수소핵자기공명 스펙트럼

MPC의 분자구조를 확인하기 위한 수소핵 자기공명스펙트럼 분석결과를 Figure 3에 도시하였다.

벤젠기의 수소원자피크는 각각 6.6 ppm, 6.51 ppm, 6.69 ppm에서 반응 전 후 모두 동일한 위치의 벤젠고리의 수소에 대한 피크를 보여주었고 반응 후 7.64 ppm, 과 6.39 ppm에서 에틸렌의 수소원자 피크를, 그리고 마지막으로 3.24 ppm의 말단 메틸기의 수소원자 피크를 관찰하였다. -OCH₂-CH₂의 수소원자 피크는 3.6~3.7 ppm 였다. 합성 후 -OCH₂-CH₂의 고유 피크가 4.27 ppm에서 chemical shift값을 나타냈으며, 이것은 카페산과 메톡시폴리에틸렌글리콜의 에스테르 결합이 형성되었음을 보여준다.

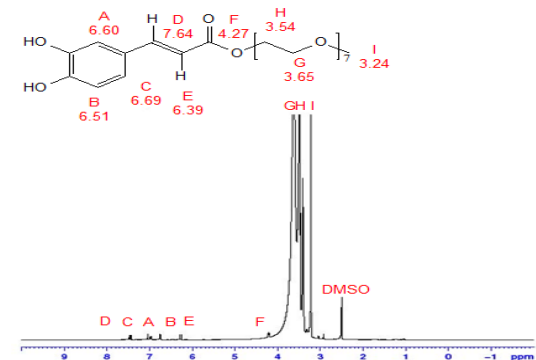


Fig. 3. ¹H-NMR chemical shift of methoxypolyethyleneglycol caffeate.

3.4. 자유라디칼 소거 효과

각 농도의 MPC를 100 μl 씩 투입 하고 대조군

에는 항산화에 유효한 홍삼 추출물을 같은 농도별로 사용하였다. 각각의 튜브에 0.1 mM DPPH 용액을 500 μ l씩을 투입한 후 30 min동안 4 $^{\circ}$ C 냉장고에 보관 후, 샘플로 200 μ l 취하여 517 nm에서 분광계로 흡광도를 측정하여 항산화능을 백분율로 표기하였다. 측정결과는 Figure 4에 나타냈으며, 0.5 wt%에서 78 %의 소거능력을 나타냈으며, 0.5 wt%까지는 농도 증가에 따라 소거능이 증가하였고, 그 이상의 농도에서는 다소 감소하는 경향을 나타냈다.

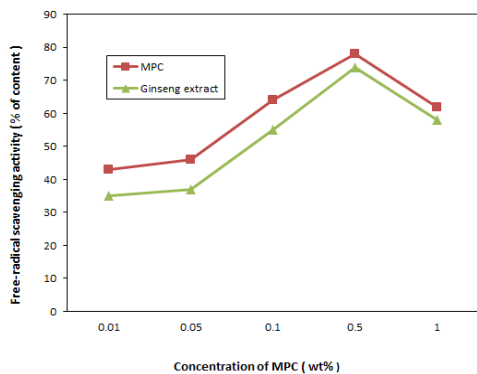


Fig. 4. Antioxidant activity of methoxypoly ethyleneglycol caffeate.

3.5. 티로시나제 활성저해실험

Tyrosinase 20 μ l에 100mM sodium phosphate buffer 220 μ l를 넣고, 여기에 각 농도의 MPC 20 μ l를 투입하였다. 미백에 유효한 쌀눈 추출물을 같은 농도별로 사용하였다. 이렇게 제조된 각각의 샘플에 1.5 mM L-tyrosine 을 40 μ l 투입 후, 37 $^{\circ}$ C 항온수조에서 15분간 반응시켰다.

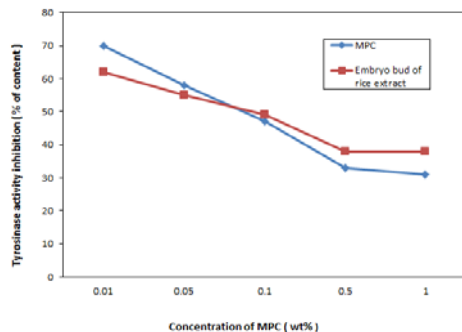


Fig. 5. caffeate on tyrosinase activity in B16f10 melanoma cells.

이것을 각 200 μ l를 96well plate로 옮겨서 490nm ELISA로 측정하고 백분율로 환산하였다. 이렇게 처리된 데이터를 % 분율화하여 Figure 5에 도식화하였다. 농도에 따라 티로시나제의 활성이 저하됨을 보여주고 있고 저농도에서 티로시나제 감소에 좀 더 효과가 있음을 알 수 있다.

3.6. iNOS활성 저해 효과

각각의 농도로 시료 처리 후, 1 μ g/ml의 LPS (lipopolysaccharide)를 처리한 후 18~24시간 동안 항온기에서 배양한다. 상층액(100 μ l)을 회수하여 96 well plate 에 넣고 Griess reagent 를 100 μ l 첨가하여 상온에서 10분간 가볍게 흔들어주어 570 nm의 흡광도에서 측정한다. 질산나트륨 표준품으로 검량선을 작성하고 각 시료를 배양액 중의 산화질소 NO의 생성량을 구한다. LPS를 처리한 군의 산화질소 NO의 생성량을 100 %로 하여 각 시료의 % 수득율을 구하였다. 이렇게 작성된 Figure 6을 보면 iNOS활성 저해가 함량에 따라 증가하며 이는 함량에 따라 항염 효과가 있음을 보여준다.

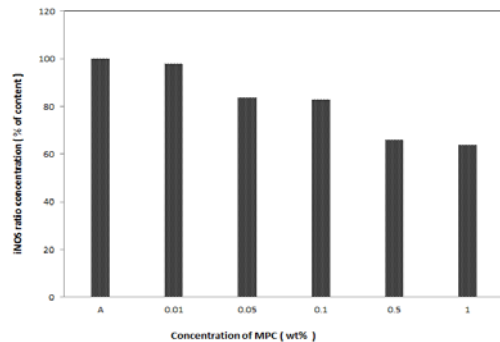


Fig. 6. iNOS activity hindrance test using Raw264.7 cell of mouse.

3.7. 보습력 평가

31 $^{\circ}$ C, 상대 습도 40 ~ 60%상의 항온 실습실에서 PEG400과 생리식염수 그리고 MPC수용액의 보습효과를 측정된 결과 Figure 7에서 보는 바와 같이 3시간 동안 수분 보유량 측정 시 높은 보습효과를 보여주고 있다

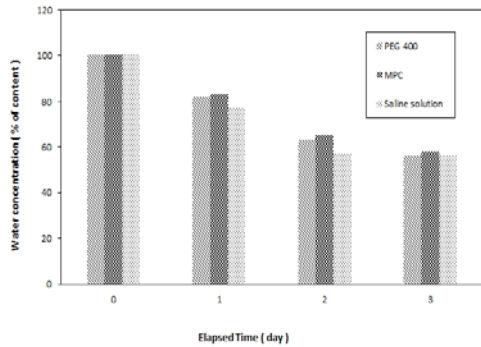


Fig. 7. Effect of water holding capacity with methoxypolyethyleneglycol caffeate.

3.8. 피부 수분함량 평가

피부에 0.5 wt% 라우릴황산나트륨 용액을 24 시간 동안 첩포하여 자극이 유발된 피검부위의 피부수분함량을 수분함량측정기를 이용하여 측정 한 결과 피부수분함량이 급격히 낮아지는 것을 확인할 수 있었다. Figure 8은 피검부위에 각각의 시료를 첨가했다. A는 라우릴황산나트륨 처리 전 피부의 수분함량이고 B는 라우릴황산나트륨을 처리한 후 피부 수분량이다. 시료를 피부에 도포하고 도포직후와 시간경과에 따른 피부수분함량을 조사한 결과로, 자극유발 후 시료를 첨가하지 않은 부위와 첨가한 부위를 5일 경과 후 유의적으로 자극에 의한 피부 수분함량 저하를 개선해주는 것으로 나타났다. 이것은 MPC를 피부에 도포 시 피부손상으로 건조해진 피부에 수분을 지속적으로 공급하여 피부수분의 항상성을 유지시켜주는 역할을 한다.

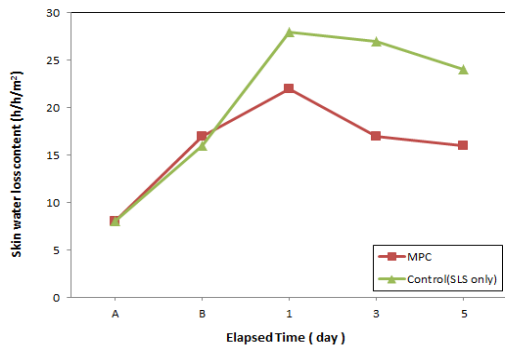


Fig. 8. Comparison of the skin moisture capacity of volunteer’s forearm area to methoxypolyethyleneglycol caffeate.

3.9. 피부 수분손실량 평가

피부에 0.5% 라우릴황산나트륨 용액을 24시간 동안 첩포하여 자극이 유발된 피검부위의 피부수분손실량을 피부수분손실량 측정기를 이용하여 측정 한 결과, 자극이 유발된 피검부위는 피부수분손실량이 급격히 증가하는 것으로 확인 된다. Figure 9은 피부수분손실량을 도포 후 5일 동안 관찰한 결과로서 A는 라우릴 황산나트륨 처리 전 피부의 수분함량이고 B는 라우릴황산나트륨을 처리한 후의 피부 수분량이다. 시료를 첨가한 부위가 시료를 첨가하지 않은 부위에 비해 도포 3일 후부터 유의적으로 자극에 대하여 피부 수분손실량의 감소를 확인하였다. 이것은 MPC가 자극으로 인해 손상된 피부에 우수한 수분 보호막을 형성하여 피부장벽기능을 효과적으로 회복할 수 있다.

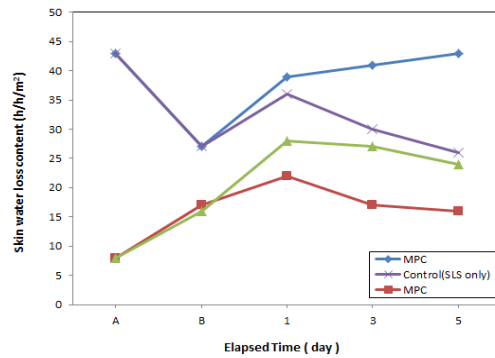


Fig. 9. Comparison of the skin moisture loss capacity of volunteer’s forearm area to methoxypolyethylene glycol caffeate.

4. 결론

본 연구에서 MPC를 합성하고, 합성된 화합물을 FT-IR과 수소핵자기공명스펙트럼을 이용하여 분석 하였다. 그리고 이를 이용하여 항산화, 타이로시나제 저해 그리고 피부 보습력 테스트 한 결과 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 합성물의 생성결과물 성상은 연한 연두색 고체이다. FT-IR과 수소(¹H)핵자기공명스펙트럼 분석결과 최종생성물의 구조를 확

- 인하였고 수율은 32%이다.
2. DPPH를 이용한 자유 라디칼 소거능 시험에서 MPC의 항산화력은 일반적으로 천연 항산화제로 많이 사용하는 홍삼추출물 보다는 평균적으로 높은 항산화성을 보였다.
 3. 티로시나제 활성저해 실험에서의 결과는 쌀눈 추출물보다 저 농도에서 좋은 티로시나제 활성저해 결과를 보였다.
 4. Raw264.7 세포를 이용한 iNOS활성 저해 실험은 항염 기능이 존재함을 볼 수 있었다. 농도가 증가함에 따라 세포내에서 항염인자인 iNOS활성을 억제하는 효과를 보였다.
 5. MPC를 이용한 보습력 평가에서는 두 개의 대조군인 PEG-400과 생리 식염수 보다 높은 보습력을 보였다.
 6. 라우릴황산나트륨으로 처리된 피부수분 함량과 피부 수분손실량 실험에서는 시료를 첨가한 부위가 시료를 첨가하지 않은 부위에 비해 도포 3일 후 부터 유의적으로 자극에 대하여 피부 수분손실량의 감소를 보였다.

참고문헌

1. 신물질탐색연구회(1996), 신물질탐색, 서울, 자유아카데미
2. J. S. Jang, Y. H. Lee, J. H. Hong, K. T. Lee, "Oxidation stability of fish oil containing commercially available antioxidants.", *J. Food Preserv.*, **13**, 66 (2006).
3. J. Cabral, P. Haake, "Ascorbic acid. 2. Structural Determination and Synthesis of 2-and 3-Acyl Derivatives of 5,6-O-Isopropylidene-L-ascorbic acid.", *J. Org. Chem.*, **53**, 5742 (1988).
4. O. H. Jhee, C. B. Yang, "Antioxidative activity of extract from Bangah herb.", *J. Food Sci. Technol.*, **28**, 1157 (1996).
5. L. Johanna, C. J. Lurn, "Interindividual Differences in Phytochemical Metabolism and Disposition.", *Semin Cancer Biol.*, **17**, 347 (2007).
6. M. J. Jang, H. E. Kim, S. M. Son, M. J. Kim, E. W. SEO, Y. H. Kim, J. S. Kim, "Over-expression of NSAID activated gene-1 by caffeic acid phenethyl ester.", *J. Life Sci.*, **19**, 1787 (2009).
7. A. Widjaja, T. H. Yeh, Y. H. Ju, "Enzymatic synthesis of caffeic acid phenethyl ester.", *J. The Chinese Institute of Chemical Engineers*, **39**, 413 (2008).
8. T. Y. Kim, "Antioxidant and cosmetic.", *Korean dermatological association*, **60**, 99 (2008).
9. H. J. Kim, T. H. Kim, K. C. Kang, H. B. Pyo and N. H. Jeong, "Microencapsulation of rosmarinic acid using polycaprolactone and various surfactants.", *J. Cosm. Scie.*, **32**, 185, (2010).
10. K. C. Kang, C. I. Lee, H. B. Pyo, and N. H. Jeong, "Preparation and characterization of SLNs(W/O/W Type) contained lipoic acid PEG ester by variation lipid." *J. Industrial. chem.*, **15**, 529, (2009).
11. H. S. Song, T. W. Park, U. D. Sohn, Y. K. Shin, B. C. Choi, C. J. Kim and S. S. Sim, "The Effect of Caffeic acid on Wound Healing in Skin-incised Mice.", *J. Physiol Pharmacol.*, **12**, 343 (2008).
12. J. H. Park, J. S. Kim, A. Y. Jang and J. D. Lee, "Phytochemical Study on the vitis thunbergii var. sinuata.", *J. Plant Res.*, **9**, 55 (1996).
13. K. Natarajan, S. Singh, T. R. Burke, Jr. D. grunberger and B. B. Aggarwal, "Caffeic acid phenethyl ester is a potent and specific inhibitor of activation of nuclear transcription factor NF- κ B.", *Proc. Natl. Acad. Sci.* **93**, 9090 (1996).
14. D. K. Choi, J. O. Han, Y. N. Lee, J. Y. Choi, S. Y. Han, S. C. Hong, H. C. Jeon, Y. M. Kim and Y. J. Jung, "Caffeic acid phenethyl ester is a potent inhibitor of HIF prolyl hydroxylase : structural analysis and pharmacological implication.", *J. Nutritional Biochemistry*, **21**, 809 (2010).

15. J. mata, D. Varade, P. Bahadur, "Aggregation behavior of quaternary salt based cationic surfactants.", *Thermochimica Acta*, **428**, 147 (2005).
10. F. Borrelli, I. Posadas, R. Capasso, G. Aviello, V. Ascione, F. Capasso, "Effect of caffeic acid phenethyl ester on gastric acid secretion in vitro.", *J. Pharmacology*, **521**, 136 (2005).
17. Y. J. Lee, P. H. Liao, W. K. Chen, C. C. Yang, "Preferential cytotoxicity of caffeic acid phenethyl ester analogues on ral cancer cells.", *J. Cancer Letters*, **153**, 51 (2000).
18. K. J. Shin, N. H. Jeon, "Characterization of Natural Antiseptic System Utilized Propolis and Herb Essential Oil .", *J. of Korean Oil Chemist's Soc.*, **24**, 99, (2007).
19. I. Y. Yoon, H. J. Park, K. S. Kwack and N. H. Jeong, "Synthesis of Silver Nanoparticles by Microemulsion.", *J. of Korean Oil Chemist's Soc.*, **20**, 118, (2003).
20. N. H. Jeong, Y. J. Moon, H. W. Lee and K. D. Nam, "The Evaluation for Stabilization and Application of Microemulsion Containing Isoflavone." *J. of Korean Oil Chemist's Soc.*, **19**, 167, (2002).