

홍화자 추출물과 키토산 병용처리에 의한 경조직 재생촉진 효과

정세영¹ · 박준봉² · 박건구³ · 권영혁² · 김성진^{2*}

¹경희대학교 약학대학, ²경희대학교 치과대학, ³(주)파마코 제네칩스

Therapeutic Effects of Safflower Seed Extract and Chitosan on Hard Tissue Regeneration

Se Young CHOUNG¹, Joon Bong PARK², Kun Koo PARK³,
Young Hyuk KWON² and Sung-Jin KIM^{2*}

¹College of Pharmacy, KyungHee University, Seoul, 130-701, Korea

²School of Dentistry, KyungHee University, Seoul, 130-701, Korea

³Pharmaco Genechips Inc. Chuncheon, Kangwondo, 198-53, Korea

(Received November 21, 2001; accepted December 17, 2001)

Abstract – This study was performed to investigate therapeutic effects of *Carthami Semen*, *Paeoniae Radix* extracts and chitosan on the growth and differentiation of human periodontal ligament cell. We found that co-treatment of methanol extracts of *Carthami Semen* and chitosan significantly increased the growth of human periodontal ligament cell. However, the single treatment groups of the extracts showed only 20~30% of the growth increase. Alkaline phosphatase activity, one of differentiation markers, was increased approximately 1.5-fold by co-treatment of methanol extract of *Carthami Semen* and chitosan and calcified nodule formation was also increased at the similar levels as the alkaline phosphatase. But the single treatment groups showed only 20~30% increases. These results suggest that *Carthami Semen* and chitosan co-treatment can be used efficiently for periodontium regeneration.

Keywords □ *Carthami Semen*, *Paeoniae Radix*, Chitosan, Periodontal Ligament cell, Growth Alkaline phosphatase, Calcified nodule

인체에 존재하는 경조직은 크게 뼈와 치아로 분류된다. 이와 같은 경조직에 문제가 생겨 발생하는 대표적인 질환으로는 골다공증과 치주질환이 있다. 골다공증(osteoporosis)은 골조송증으로 알려져 있는 질환으로서 총골량이 감소하고 뼈에 구멍이 생겨서 약한 충격에 의해서도 뼈가 쉽게 부서지거나 휘어져버리는 증상을 보인다. 골다공증은 노인층에서 흔히 발견되며 대퇴골 골절, 척추골절 등의 골절원인이 되고 있다. 미국의 경우 1985년도의 골다공증에 의한 골절이 130만건이 발생하였고, 이에 70억 달러의 의료비가 지출되었다. 이 질환은 폐경기, 노화, 갑상선이나 부갑상선의 기능항진, 만성신부전 및 부신피질 호르몬의 투여에 의하여 발생된다. 가장 흔한 것은 여성의 폐경기 이후 에스트로젠(estrogen)의 감소에 의한 것이다.

골조직은 2/3가 무기물이고, 1/3이 유기물질로 구성되어 있고, 전자는 주로 인산칼슘(calcium phosphate)이고, 후자는 주로 콜라겐(collagen)이 주성분이다. 골조직에는 조골세포(osteoblast), 파골세포(osteoclast), 골세포(osteocytes) 등이 골형성 및 재흡수(resorption)에 관여하고 있다. 이중 골을 재생하는데 결정적인 역할을 하는 것이 조골세포이다. 조골세포는 생성되는 골의 표면에 위치하며, 골 형성에 필요한 콜라겐 섬유(collagen fiber) 등을 합성 분비한다. 또한 조골세포의 세포막에는 중성 및 알칼리성 포스파타제(phosphatase)가 많이 분포하고 있으며, 이들에 의하여 PO_4^{-2}/Ca^{+2} 가 침착되어 뼈의 석회화(calcification)가 이루어진다. 즉 뼈의 재생이 빨리 진행되어 골다공증이 유발되지 않으며 이러한 사실을 조골세포의 수가 많으면 뼈의 재생이 빨리 진행되어 골다공증이 유발되지 않으며 조골세포의 수를 증가시킴으로써 골다공증을 치료할 수 있음을 의미한다.

현재 골다공증 치료를 위해 임상에서 사용되고 있는 에스트로젠, 이프리플라본(ipriflavone, 7-isopropoxyisoflavone), 비스포스포네이트(bisphosphonate) 및 비타민 K_2 등은 골의 분해를 억제하며, 칼슘제와 비타민D는 혈중 칼슘농도를 증가시킴으로써 골다공증 치료 효과를 나타낸다. 가장 최근에 천연물에서 분리하여 개발된 이프리플라본은 콩의 주성분인

이프리플라본은 콩의 주성분인

*To whom correspondence should be addressed.

isoflavone의 합성유도체로서 골아세포의 증식과 분화를 촉진하며, 콜라겐합성과 석회화 결절의 생성을 증가시킨다.

이들 약물은 여러 가지 부작용을 나타내는데, 먼저 에스트로겐 제제는 발진, 자궁 부정기 출혈, 허복부통, 황달, 오심, 구토, 전신 권태감 및 체중증가 등이 나타난다. 비스포스포네이트(상품명pamidronate)는 가장 흔히 발생하는 부작용으로 발열이 있으며, 파젯씨병 화자에게서 권태감, 투여부위의 혈전성 정맥염 및 저인산혈증 등을 유발시킨다. 또한 투여 초기에는 골통증이 나타나며, 경구 투여시는 용량의존적 오심과 복통 등이 발생한다. 그 외에도 일시적인 백혈구 감소증이 일어난다. 칼시토닌(elcatonin 및 salcatonin 포함)은 일반적으로 쇼크 등을 일으킬 수 있으므로 투여 전에 충분히 문진해야 하며 사전에 피내 반응을 실시 하는 것이 바람직하다. 또한 과민반응이 나타날 수 있으며 안면홍조, 열감, 흉부 압박감, 오심, 구토, 식욕부진, 설사, 구갈, 현기증, 저나트륨혈증, 소양감, 천식발작, 빈뇨 및 부종 등도 발현한다. 비타민 K₂의 부작용으로는 복부 불편감이 있다. 이르러 플라본은 부작용으로 복부 불편감이 가장 빈번히 발생하며, 식욕부진, 오심, 구토, 설사, 발진 및 소양 등이 발생한다.

따라서 이와 같은 기존 약물의 단점을 보완하기 위하여 상대적으로 부작용의 발현이 적다고 생각되는 천연물유래 약물의 개발이 절실히 요구되고 있다.

치주질환은 세균에 의한 염증발생으로 치은조직과 치조골의 소실이 초래되어 결과적으로 치아가 발거되는 질환이며 진행도에 따라 단계적인 치료법이 이용된다(한경운 등, 1994).

시술원리는 원인제거, 질환에 이환된 연·경조직 수술제거 및 조직 재생을 도모하는 방법이 적용된다(Egelberg *et al.*, 1987; Genco *et al.*, 1990). 치주조직의 이상적 치유에 치아와 치조골을 연결하는 치주인대 재형성이 필요하며 외과적인 시술이 요구된다(Arvey, J.K. 1988). 이러한 치유과정에서 가장 중요한 사항은 치주인대세포의 치면에서의 우선 부착과 함께 연이어 조골세포의 증식이다(Ten Cate, A.R. 1989). 치주인대세포는 조골세포와 유사한 생화학적 특성을 가지며, 조골세포와 치근을 덮는 골조직인 시멘트질(cementum)로 분화가 되는 다기능성 세포이다. 즉 치주인대세포는 분화되어 경조직을 형성하게 된다. 따라서 세포가 치주인대를 재형성하는데 영향을 미칠 수 있는 미세환경의 개선을 위한 외과적 시술도 중요하지만 치주인대세포 및 조골세포의 증식능 및 활성을 증가시킬 수 있는 방법의 개발은 무엇보다도 중요하다. 최근 이러한 관점에서 새로운 약물의 개발이 활발히 시도되고 있다.

먼저, 수종의 폴리펩타이드 성장인자(polypeptide growth factor)가 *in vitro* 상에서 그효과가 입증되고 있으나 아직 안정성에 문제가 해결되지 않아 임상적용에는 문제점이 있다. 또한 그 추출과정이 복잡하고 장시간이 소요되며 고가이어서 임상적용이 불가능한 상태이다.

현재까지 국내외에서 치주치료제로서 개발된 천연물 유래 약물로는 옥수수(*Zea Mays L.*) 추출물이 유일하며 상품명 인사돌로 시판되고 있다(Thiers *et al.*, 1958). 기전은 밝혀져 있지 않고 단지 임상적인 자료에 의거하여 적용되고 있다(Ackermann *et al.*, 1968; Bellot *et al.*, 1979; Chaput, A. 1964; Colombel *et al.*, 1974; Son, S. 1982; Tecucianu J. 1975; 민원기 등, 1988; 최상목 등, 1989) 일본에서는 금은화(金銀花)와 연교(連翹)의 추출물을 국소약물송달법으로 치주질환 치료에 사용되 바 있으며 *in vitro* 상에서 치은섬유아세포에 대한 효과를 보고한 바 있다(Motomura T. *et al.*, 1994; Motomura T. *et al.*, 1995). 또한 꿀무꽃 뿌리(Scutelariase Radix)는 소염작용 및 해열작용이 있는 것으로 보고되었고(Yasukawa *et al.*, 1989) quercitrin의 항염증 작용이 보고되기도 하여(Taguchi *et al.*, 1993) 천연물의 약리작용 규명이 계속되고 있다.

최근 꿀무꽃 뿌리(Scutelariae Radix)와 센텔라 아시아티카(*Centella asiatica*) 등이 상피조직과 치주인대세포의 활성을 증가시킨다는 보고가 있었고(류인철 등, 1993), 홍삼 사포닌의 배양치주인대세포 성장과 분화에 관한 연구에서(Motomura Y *et al.*, 1994) 세포증식과 석회화 결정형성을 증가시키며 알카리성 포스파타제(alkaline phosphatase)의 활성도도 증가시킨다는 보고가 있었으며, 대조(*Zizyphus Fructus*)는 치은섬유아세포와 치주인대세포에 대한 유의할만한 화학구성효과가 있는 것이 밝혀져 있다(양창호 등, 1995). 또한 magnolol과 hinokiol이 염증매개물질인 사이토카인(cytokine) 생성억제효과가 있는 것으로 밝혀지기도 했다(장범석 등, 1993).

그러나 현재 치주질환에 탁월한 효과를 나타내는 약물로서 개발된 것은 없으며 더욱이 최근에 이르러 국내외적으로 인체에 위해함이 없이 질환을 예방 및 치료 할 수 있는 약물 개발에 관심이 증가되고 있는 실정이다. 치주질환 치료를 목적으로 지금까지 연구되어온 것들은 염증치유 및 염증반응 억제, 치주인대세포증식, 또는 치은세포증식 효과를 나타내는 물질등에 한정되어 있으며(Chung *et al.*, 1995; Fourel *et al.*, 1967; Kerebel *et al.*, 1975; Kerebel *et al.*, 1977; 류인철 등 1993) 조골세포의 증식능 및 활성을 증가 시킴으로써 치주질환을 치료하고자 하는 시도는 없었다.

본 연구에서는 천연물 추출물 중에서 치주인대세포 증식 및 분화효과를 나타내는 물질을 검색하여 골다공증 및 치주질환과 같은 경조직 관련 질환에 부작용 없이 적용할 수 있는 약물을 개발하고자 하였다.

실험방법

시료추출

홍화자 또는 작약 100 g을 80% 메탄올(메탄올: 물= 4: 1)500 ml에 넣고 환류 냉각기를 장치한 후 95-100°C

수욕조에서 12시간 동안 온탕 하였다. 이 추출약을 약 50°C 정도로 냉각시키고 여러겹의 거울 여과하여 상등액을 취하였다. 이와 같은 추출 및 여과 조작을 3번 반복하여 상등액을 합하고 회전증발장치(rotary evaporator)를 이용하여 감압 하에서 메탄올을 완전히 증발시켜 농축하였다. 이를 소량의 증류수에 용해하였다.

최종적으로 얻은 홍화자 추출물 용약을 -80°C에서 얼린 후 동결 건조하여 분말로 얻었다.

치주인대세포의 배양

교정치료 목적으로 내원한 환자의 제 1 소구치를 발거하여 200 unit/ml의 penicillin, 200 unit/ml의 streptomycin, 그리고 1 µl/ml의 amphotericin-B가 첨가된 DMEM으로 구성된 생검 배지로 4회 세척하였다. 치근 시작점에서 중앙으로 1/3되는 지점에서 치주 인대 조직을 수술로 절취하여 직경 35 mm의 배양 접시에 고르게 분포시킨 다음 100 unit/ml의 penicillin, 100 µl/ml의 streptomun 및 0.5 µl/ml의 amphotericin-B가 포함된 DMEM과 10% FBS로 구성된 배양액을 넣고 37°C 및 100% 습도의 5% CO₂ 공기혼합 배양기에서 배양하였다. 치주 인대 세포가 조직절편으로부터 증식되어 밀생할 때 까지 3일 간격으로 배양액을 교환하면서 배양하여 접시를 완전히 덮는 단층이 형성되면 0.05% trypsin/0.02% EDTA를 처리하여 배양접시로부터 세포를 박리하고 1:3의 비율로 계대배양하여 5~7세대의 세포를 본 실험에 사용하였다.

세포증식률 측정

상기의 배양액 0.5 ml(사람이 치주 인대세포 1×10⁴개를 함유) 24well 배양접시(Corning Co., USA)에 넣고 배양기에서 24시간 동안 배양하였다. 세포가 배양접시 바닥에 완전히 부착된 상태를 확인한 후 상층액을 제거하였다. 세포 배양접시를 하나의 대조군과 5개의 실험군으로 나누어 대조군에는 약물을 주입하지 않고 5개의 실험군에는 각각 홍화자 또는 작약 추출물, 키토산, 그리고 홍화자 추출물 및 키토산을 홍화자 및/또는 키토산으로서 1 mg/ml의 최종 농도가 되도록 각각의 배양접시에 주입하였다. 대조군과 실험군은 계대배양액을 사용하여 배양하였다. 배양 2일째와 14일째에 각각의 배양접시에서 배양액을 버리고 인산완충된-생리식염수(PBS, 즉 phosphate buffered saline)로 세척하고 0.05% trypsin/0.02% EDTA(Gibco, USA)로 처리한 후 세포를 배양 접시로부터 완전히 분리 수거하여 trypan blue로 염색하고 도립현미경(Olympus Co. Japan)상에서 혈구세포추정기를 이용하여 세포수를 측정하였다.

알칼리성 포스파타제(Alkaline phosphatase) 활성도 측정

세포를 35 mm 배양접시에 4×10⁴ 개씩 분주하고 50

mg ascorbic acid, 10 mM Na-β-glycerophosphate, 그리고 10⁻⁷ M dexamethason, 10% FBS와, 100 unit/ml penicillin, 100 µg/ml streptomycin, 0.5 µg/ml amphotericin-B가 포함된 DMEM으로 구성된 조건배지에서 배양하였다. 배양 7일과 10일에 인산완충생리식염수로 2회 세척하고 0.05% trypsin으로 처리하여 세포를 배양접시에서 박리한 다음 1,500 rpm으로 처리하여 6분간 원심분리하였다. 원심분리후 상층액을 제거하고 0.5 ml 증류수를 첨가한 다음, sonic dismembrator(Fisher model 60, Fisher scientific)로 초음파 분해하였다. 이를 다시 원심분리하여 상층액을 채취하고 알칼리성인산분해효소 측정용 시약(Al. P. K Kit, 영동 제약)과 반응시킨 다음 UV-VIS spectrophotometer(UV 1201, Shimadzu)를 이용하여 450 nm에서 흡광도를 측정하였다.

석회화 결절 관찰

세포를 각각 35 mm 배양접시에 4×10⁴개씩 분주하여 50 mg ascorbic acid, 10 mM Na-β-glycerophosphate, 그리고 10⁻⁷ M dexamethasone, 10% FBS와 100 unit/ml penicillin, 100 µg/ml streptomycin, 0.5 µg/ml amphotericin-B가 포함된 DMEM으로 구성된 조건배지에서 3일 간격으로 배양액을 갈아주면서 14일간 배양하였다. 대조군의 경우 총세포수가 실험군에 비하여 각각 70%, 50%, 30%로 감소한다.

석회화 결절의 형성을 관찰하기 위한 방법으로 칼슘과의 킬레이트반응을 이용하는 Alizarin red S 용액에 30분간 염색하고 다시 세척후 Light green SF yellow stain으로 수 초간 대조염색 하였다. 도립현미경하에서 관찰후 1.5×1.5 cm²의 격자내의 염색된 결절수를 측정하여 비교하였다.

통계분석

세포증식률, ALPase 활성도, 그리고 석회화 결절에 있어서 실험군간의 유의성을 평가하기 위해 일원분산분석법(one-way analysis of variance)과 F-검정을 실시하였다.

결과 및 고찰

치주인대 세포 증식작용

약물을 투여하지 않은 대조군과 홍화자 추출물 처치군, 작약추출물 처치군, 키토산 처치군, 홍화자 추출물과 키토산을 병용한 군에 있어서의 시일경과에 따른 사람 치주인대 세포 증식 정도를 비교해 보았다(Fig. 1).

그 결과 홍화자 추출물과 키토산은 배양후 7일 결과 후 부터 대조군 보다 세포증식률이 약간 증가 되었음을 알 수 있었으며 홍화자추출물과 키토산을 병용 처치한 경우에는 배양 3일 후부터 대조 되었음을 알 수 있었으며 홍화자추출

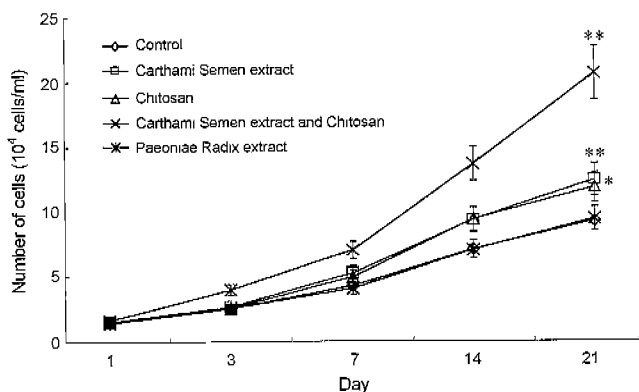


Fig. 1. Effects of herbal extracts and chitosan on the proliferation of periodontal ligament cells. Periodontal ligament cells were treated with Carthami semen extract, Chitosan, Carthami semen extract + Chitosan or Paeoniae Radix extract at the final concentration of 1 mg/ml each for the indicated time and cell lysates were subjected to cell proliferation assay. *P<0.05 as compared to control; **P<0.01 as compared to control

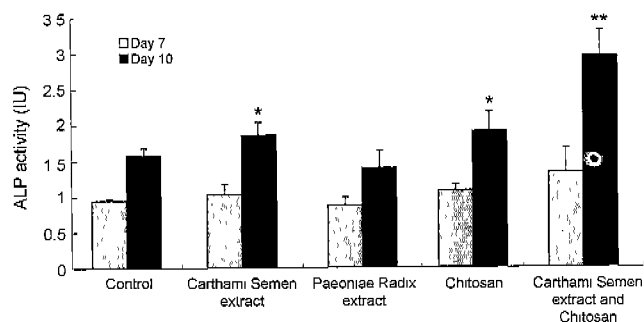


Fig. 2. Effects of herbal extracts and chitosan on alkaline phosphatase activity in periodontal ligament cells. Periodontal ligament cells were treated with Carthami semen extract, Chitosan, Carthami semen extract + Chitosan or Paeoniae Radix extract at the final concentration of 1 mg/ml each for the indicated time and cell lysates were subjected to alkaline phosphatase assay. *P<0.05 as compared to control; **P<0.01 as compared to control

물과 키토산을 병용 처치한 경우에는 배양 3일 후부터 대조군에 비해 2배 정도의 유의적인 세포증식을 나타냈으며 21일까지 지속적으로 증가되었다(p<0.05).

이에 반해 약추출물은 대조군과 유의적인 차이를 보여주지 못했다(Fig. 1).

치주인대 세포의 알칼리성 포스파타제 활성증가 효과

추출물 처치후 7일과 14일에 있어서의 알칼리성 포스파타제 활성을 측정하였다(Fig. 2). 대조군, 홍화자 추출물 처치군, 키토산 처치군, 약추출물 처치군에 있어서는 유의성있는 알칼리성 포스파타제 활성증가를 볼 수 없었으나 홍화자 추출물과 키토산 병용 처치군에 있어서는 1.5배 정도

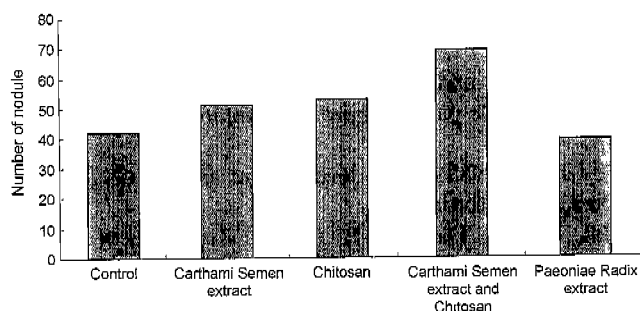


Fig. 3. Effects of herbal extracts and chitosan on the calcified nodule formation. Periodontal ligament cells were treated with Carthami semen extract, Chitosan, Carthami semen extract + Chitosan or Paeoniae Radix extract at the final concentration of 1 mg/ml each for 14 days and cell lysates were subjected to calcified nodule measurements. Results are shown as average of two separate experiments.

의 유의적인 증가를 나타내었다(p<0.01).

이는 치주인대 세포의 조골세포로의 분화촉진작용이 나타나고 있음을 의미한다(Fig. 2)

석회화 결정 형성작용

치주인대 세포의 석회화 결정 형성정도는 치아표면에 칼슘의 침착을 촉진시켜줌으로써 골강도를 증가시키는지 여부를 확인할 수 있는 실험으로 실제 치료용 의약품으로서 사용시의 임상적용 여부를 판단할 수 있는 좋은 증거가 된다.

석회화 결정 생성수를 배양 14일째에 현미경하에서 염색하여 측정된 결과 대조군에 비해 약추출물 처치군은 차이를 보이지 않았으나 홍화자 추출물, 키토산 처치군에서는 약간의 증가를 보였으며 홍화자 추출물과 키토산을 병용 처치한 군에 있어서는 평균치에 있어 대조군의 1.5배 정도의 결정수 증가를 보였다(Fig. 3).

결 론

본 연구에서는 홍화자 메탄올 추출물, 약 메탄올 추출물 키토산을 이용하여 치주인대 세포의 증식 및 분화에 따른 석회화 결정형성 등 치주경조직 재생 약물로서의 사용여부를 검토하고자 하였다.

그 결과 홍화자 추출물, 키토산 단독처리에 의해 치주인대 세포증식 및 분화에 따른 세포내 알칼리인 포스파타제 활성증가, 석회화 결정형성이 대조군에 비해 20~30% 증가에는 못미쳤으며 홍화자 추출물과 키토산을 병용 처치한 경우 50~100%의 유의성 증가가 보여 치과영역에서의 치주조직 재생 목적으로의 응용가능성을 보여 주었다. 약추출물은 대조군과 별다른 차이를 보이지 않았다.

참고문헌

- Ackermann, R. and Prédine, M. (1968). Hospital testing the unsaponifiable part of Maize oil. *L'Information Dentaire*, **8**, 751-758.
- Arvey J. K. (1988). Oral development and histology. B. C. Decker Inc. Toronto.
- Bellot, J. and Dargent, P. (1979). Treatment of chronic periodontitis. A clinical and histological study of the activity of a standard extract of the unsaponifiable fraction of *Zea Mays L.*, *La Vie Medicale*, **60**, 1335-1363.
- Chaput, A. (1964). Insadol and Parodontolysis. *L'Information Dentaire*, **23**, 2148-2153.
- Chung, C-P., Park, J-B., and Bae K-H. (1995). Pharmacological effects of methanolic gingival fibroblast. *Plants Medica* **61**, 150-153.
- Colombel, J. and Parente, C. (1974). Trial of the unsaponifiable fraction of *Zea Mays L.* of dryness of the mouth induced psychotropic drug. *Progress Odonto-Stomatologiques*, **12**, 31-3.
- Egelberg, J. (1987). Regeneration and repair of peridental defects. *J. periodont Res.* **22**, 233-242.
- Fourel, J., Siau, T. and Barka, A. (1967). Clinical trials of the unsaponifiable part of Maize seek oil in periodontic. *L'Information Dentaire*, **8**, 749-753.
- Genco, R. J., Goldman, H. M. and Cohen, D. W. (1990). Contemporary periodontics. C. V. Mosby, B., Cleargeau-Guerithault, S. and Brion, M. (1975). A scanning electron microscopic study of experimental periodontal disease. Its induction and inhibition. *J. Periodontal.*, **46**, 27-32.
- Kerebel, B. and Dacils, G. (1977). A semi-quantitative periodontal disease and bone repair in the golden hamster. *Jour. Buccale*, **5**, 77-84.
- Motomura, Y., Miyata, T., Araki, H., Shin, K., Sugimoto, H., Hanazawa, S., Kitano, S., Ikeda, K. (1994). A study of the influence of crude drugs on periodontal pockets (Part I). *J. Japan. Soc. Periodontol.* **36**(2), 474-479.
- Motomura, Y., Miyata, T., Araki, H., Shin, K., Sugimoto, H., Kobayashi, Y., Ikeda, K. (1995). A study of the influence of crude drugs of periodontal pockets (Part II)- Inhibitory effect of Lonicerae Flos on MCP-1 and IL-6 gene expression by human gingival fibroblasts treated with IL-1. *J. Japan. Soc. Periodontol.* **37**(1), 134-140.
- Son, S (1982). Influence of standard extract of the unsaponifiable fraction of *Zea Mays L.* on periodontal discaed. *Quentessence Int'l.*, No. 8, 1-7.
- Taguchi, K., Hagiwara, Y., Kajiyama, K., and Suzuki Y(1993). Pharmacological studies of Houuttyniae herba: The anti-inflammatory effect of Quercitrin. *Yakugaku Zaddhi* **113**(4), 327-333.
- Tecucianu, J. (1975). Double blind clinical trial of titrated extract of the unsaponifiable fraction of *Zea Mays L.* on gingival inflammation. *Inf. Den.* **57**, 21-32.
- Ten Cate, A. R. Oral histology (1989). Development, structure, and function. 3rded. The C. V. Mosby Co., St. Louis, Baltimore, Toronto 90-105.
- Thiers, Jouanneteau and Zwingelstein (1958). The Maize germ oil insaponifiable itstherapeutical indications, Press Medicale, July 26, 66, 56, 1293-1294.
- Yasulawa, K., Takido, M., Takeuchi, M., Nakagawa, S. (1989). Effect of chemical constituents from plants on 12-0-tetradecanoyl-phornoyl-13-acetate-induced infoammation in mice. *Chem. Pham. Bull.* **37**, 1071.
- 류인철, 손성희, 정종평, 배기환 (1993). 생약 추출물이 세포 성장 및 Cytokine 생산에 미치는 영향. 대한 치주과학회지 **23**(1), 37-47.
- 민원기, 이만섭 (1988). Ascorbic acid화 *Zea Mays L.*의 불검화 정량추출물이 치주염 치유에 미치는 영향에 관한 실험적 연구, 대한 치주과학회지, **18**(2), 6-23.
- 양창호, 류인철, 최상목, 정종평(1995). 치은점유아세포와 치주인대세포의 형태와 화학주서에 미치는 대조추출물의 효과에 관한 연구. 대한 치주과학회지, **25**(2), 279-289.
- 장범석, 손성희, 정종평, 배기환(1993). Magnolol과 Hinokiol 이 항균, 교원질 분해효소, 세포독성 Cytoline 생산에 미치는 영향. 대치주지, **23**(1), 145-158.
- 최상목, 한수부, 황광세(1989) *Zea Mays L.*dml 불검화 정량 추출물이 외과적 치주 치료후의 치유에 미치는 효과에 관한 임상적 연구, 대한 치주과학회지, **19**(1), 63-70.
- 한경윤, 박준봉, 정진형, 정종형(1994). 한국인의 치주조직 상 태에 관한 역학조사. 대한치주과학회지, **24**(3), 458-471.