

포공영 추출물의 항산화 효과 및 피부 각질세포 보호효과

김형우¹, 김병주¹, 임세현², 김현영³, 이숙영⁴, 조수인^{1*}, 김영균³

1: 부산대학교 한의학전문대학원 2: 고려대학교 간호대학 3: 동의대학교 한의과대학 4: 조선대학교 치과대학

Anti-oxidative Effects of Taraxaci Herba and Protective Effects on Human HaCaT Keratinocyte

Hyung Woo Kim¹, Byung Joo Kim¹, Se Hyun Lim², Hyun Yung Kim³,
Sook Young Lee⁴, Su In Cho^{1*}, Young Kyun Kim³

1: School of Korean Medicine, Pusan National University 2: College of Nursing, Korea University
3: College of Oriental Medicine, Dong-Eui University 4: School of Dentistry, Chosun University

ABSTRACT

Objectives : This study was carried out to investigate anti-oxidative effects of Taraxaci Herba (TH) and protective effects on Human HaCaT keratinocyte.

Methods : Anti-oxidative effects were measured by estimating the amount of total phenolics and flavonoids. In addition, DPPH free radical scavenging activities were estimated. Protective effects of TH on HaCaT keratinocytes against oxidative stress induced by hydrogen peroxide were also measured.

Results : In our results, treatment with TH did not show cytotoxicity on HaCaT keratinocyte beneath the concentration of 200 $\mu\text{g/ml}$. 42.64 \pm 1.90 $\mu\text{g/ml}$ of total phenolics and 28.09 \pm 1.84 $\mu\text{g/ml}$ of flavonoids was detected from TH ethanol extract. In addition, DPPH free radical scavenging activities of TH were elevated in dose-dependent manner. In addition, The value of half maximal inhibitory concentration (IC₅₀) was 165.5 $\mu\text{g/ml}$. Finally, TH showed protective effect against cell death of HaCaT cell induced by hydrogen peroxide significantly.

Conclusions : In conclusion, these results suggest that TH may have anti-oxidant action in human skin and also suggest the possibility as cosmetic material.

Key words : Taraxaci Herba; anti-oxidative effect; HaCaT keratinocyte

서 론

蒲公英(Taraxaci Herba, TH)은 국화과에 속한 다년생 초본인 민들레 *Taraxacum platycarpum* H. Dahlstedt 및 동속 근연식물의 전초로 清熱解毒, 消腫散結, 利尿通淋의 효능을 가지고 있어서 疔瘡腫毒, 乳癰, 瘰癧 등 피부의 염증 질환에 다용되어 왔다¹⁾.

포공영은 한국뿐만 아니라 유럽에서도 약초 및 식품으로 이용되고²⁾, 뿌리는 커피 대용으로 이용되기도 하며, 북미에서는 전통적인 민간약초로 알려져 있다. 蒲公英의

대표적인 성분으로는 taraxastenol, taraxarol, taraxerol 등이 보고되어 있다^{1,2)}.

최근 蒲公英의 피부과적인 사용을 위한 연구가 활발하게 진행되고 있으며, 대표적으로 천 등의 항산화 및 화장품 약리학적 활성 연구^{2,3)}, 백 등의 항산화 연구⁴⁾, 김 등의 항염증 작용 연구⁵⁾ 등을 들 수 있다.

산화적 스트레스(Oxidative stress)와 활성산소(Reactive oxygen species)는 인체에서 발생하는 거의 모든 병의 발생과 진행에 관여한다. 특히 피부 세포의 노화, 유전적 변형에는 가장 중요한 병리적 요소로 알려져 있다⁶⁾. 활성

* 교신저자 : 조수인, 경남 양산시 물금읍 범어리 부산대학교 한의학전문대학원 약물의학부
· Tel : 051-510-8457 · E-mail : sicho@pusan.ac.kr
· 접수 : 2009년 8월 25일 · 수정 : 2009년 9월 10일 · 채택 : 2009년 9월 23일

산소는 피부의 면역기능을 억제시키고, 염증을 유발하여 탄력 감소, 주름 및 기미, 주근깨 등의 각종 피부질환을 유발하고 결국 피부노화를 가속화시키는 원인이 된다⁷⁾. 따라서 피부 노화를 방지하기 위해 생체 내뿐만 아니라 피부에서 활성산소로부터 피부세포를 보호해 줄 수 있는 물질에 대한 연구가 활발히 진행되고 있다.

폴리페놀 화합물은 효소와 같은 거대분자들과 결합하는 성질이 있어 항균 및 항산화 활성 등을 나타내며^{8,9)}, 식물계에 존재하는 flavonoid는 지방질의 산화 방지, 활성산소의 소거 및 산화적 스트레스에 대하여 세포를 보호하는 역할을 함으로써 노화방지, 암 및 심장질환 등을 예방하거나 지연하는 효과를 나타냄이 밝혀져 있다^{10,11)}. 또한 각종 식물성 물질에서 폴리페놀 및 플라보노이드의 함량과 항산화 효과의 상관관계가 있음이 알려져 있다¹²⁻¹⁴⁾.

본 연구에서는 蒲公英 추출물(TH)의 항산화 효과 및 피부 각질세포 보호효과를 확인하기 위하여, 항산화 작용에 중요한 부분을 차지하고 있는 총 페놀 및 플라보노이드 함량을 조사하였고, DPPH 자유 산소라디칼 제거능을 측정하였으며, 인간 유래 피부각질세포인 HaCaT 세포에서 과산화수소에 의하여 발생하는 산화적 스트레스를 효율적으로 제거할 수 있는지 관찰하였다.

실 험

1. 재료

1) 약재

본 실험에서 사용한 蒲公英은 시중(전남생약조합, 화순)을 통해서 신선한 상태로 구입하여 사용하였다.

2) 시약 및 기기

실험에 사용된 α - α -Diphenyl- β -picrylhydrazyl (DPPH) · MTT 등의 시약은 Sigma 제품(Sigma Chemical Co, USA)을 사용하였다. 측정 기기로는 Microplate Reader (Bio-rad, USA), UV-Vis spectrophotometer (Pharmacia Biotech ultrospec-2000) 등을 사용하였다.

3) 세포주

인간 유래 정상 피부 각질세포(Keratinocyte)인 HaCaT 세포주는 조선대학교 단백질소재연구센터에서 제공받아 실험에 사용하였다.

2. 방법

1) 시료의 추출

구입된 蒲公英 50 g에 에탄올 500 ml를 가하여 5시간 동안 heating mentle로 80℃를 유지하며 에탄올 추출을 시행하였다. 추출액은 filter paper (NO. 1, Advantec)로 여과한 다음, 감압농축기(EYELA, Japan)를 이용하여 45℃에서

감압농축하였다. 감압 농축된 용액을 동결건조기(삼원, 한국)로 동결 건조시켜 3.6g의 최종 산물을 얻었다.

2) 세포 배양

본 실험에 사용된 세포주는 인간 유래 skin keratinocyte 인 HaCaT 세포주로 DMEM(Dulbecco's modified Eagle Medium)에 10%(v/v) fetal bovine serum (FBS, Gibco) 과 항생제(Antibiotic antimycotic)를 첨가한 후 37℃, 5% CO₂의 배양기에서 배양하였다. 세포는 T-75 플라스크의 80% 정도 자랐을 때 세포의 탈착을 위하여 PBS로 가볍게 세척한 다음, Trypsin-EDTA (Gibco/ BRL)을 처리한 후, 37℃에서 5분간 방치하였다가 세포를 채집하였다. 계대 배양은 2~3일에 1회씩 시행하였다.

3) 세포 생존율 측정

TH가 세포 생존율에 미치는 영향 측정은 MTT assay¹⁵⁾를 통해 확인하였다. 간략히 정리하면, 96 well plate에 3×10^4 cell/ml의 농도로 분주하여 배양기에서 37℃, 5% CO₂를 유지하며 24시간 동안 pre-incubation시킨 후 25~800 μ g/ml의 농도로 약물을 처리하여 24시간 배양하였다. 그 후 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyl-2H-tetrazolium bromide (MTT)를 처리하여 MTT가 생존 세포의 효소 작용에 의해 환원되도록 4시간을 배양하였다. 그 후 배양액을 제거하고 각 well에 생성된 formazan결정에 DMSO를 첨가하여 녹인 후 Microplate Reader (Bio-rad, USA)를 이용하여 540 nm에서 광도를 측정하였다.

4) 총 페놀 함량 측정

총 페놀 함량은 Folin-Denis를 약간 변형하여 측정하였다. 추출물 0.1 g에 methanol 10 ml를 가하여 70℃에서 30분 동안 추출한 후 1 mg/ml로 만들어서 사용하였다. 검액 50 μ 에 증류수 650 μ 를 넣은 후 Folin-Denis reagent¹⁶⁾를 50 μ 가하여 3분 동안 실온에서 반응시킨다. 반응시킨 후 10% Na₂CO₃ 포화용액을 100 μ 을 첨가하고, 부피를 1 ml로 맞추기 위해 증류수 150 μ 을 넣어 잘 혼합시켰다. 항온수조(water bath, 비전, 한국)에서 37℃를 유지하면서 1시간 동안 반응 후 UV-Vis spectrophotometer (Pharmacia Biotech ultrospec-2000)를 사용하여 725 nm에서 흡광도를 측정하였다. Basal level은 시료 용액 대신 methanol 용액을 동일하게 처리한 군으로부터 얻었으며, 표준곡선은 tannic acid (Sigma Co., USA)의 농도를 0~500 μ g/ml가 되도록 하고 이로부터 총 페놀함량을 구하였다.

5) 총 플라보노이드 함량 측정

총 플라보노이드 함량은 Davis 변법¹⁷⁾에 따라 추출물 0.1 g에 methanol을 10 ml를 가하여 70℃에서 30분 동안 추출한 후 1 mg/ml로 만들어 사용하였다. 검액 100 μ 에 1 ml의 diethylene glycol을 첨가하고 다시 1N-NaOH 100 μ 를 넣어 잘 혼합시켜 37℃ water bath에서 1시간 반응시

킨 후 UV-Vis spectrophotometer (Pharmacia Biotech ultrospec-2000)를 사용하여 420 nm에서 흡광도를 측정하였다. 공시험은 시료 용액 대신 methanol 용액을 동일하게 처리하였으며, 표준곡선은 naringin (Sigma Co., USA)의 농도를 0~400 µg/ml이 되도록 하여 작성하고 이로부터 총 플라보노이드 함량을 구하였다.

6) DPPH radical 소거 활성 측정

DPPH radical에 대한 각 시료의 환원력을 측정하기 위해 99% 메탄올에 각 시료를 녹여 농도별로 희석한 희석액 800 µl와 메탄올에 녹인 0.15 mM DPPH 용액 200 µl를 가하여 실온에 30분 방치한 후 517 nm에서 흡광도를 측정하였다. 각 시료 추출물의 유리라디칼 소거 활성은 시료를 첨가하지 않은 대조구의 흡광도를 1/2로 환원시키는데 필요한 시료의 농도인 RC₅₀값으로 나타내었다. 이때 활성비교를 위하여 butylated hydroxyanisole (BHA)과 ascorbic acid를 사용하였으며 시료농도의 1/10이 되도록 첨가하여 같은 방법으로 항산화 효과를 측정하였다.

7) 산화적 스트레스 요인에 의한 세포 손상 보호 효과 측정

산화적 스트레스 요인에 의한 세포 손상 보호효과는 MTT법¹⁵⁾을 변형하여 측정하였다. 먼저 HaCaT 세포주를 96-well plate에 well당 5×10⁴개씩 분주한 후, 37°C, 5% CO₂가 공여되는 환경에 4시간 동안 방치하여 부착을 시행하였다. 세포의 부착이 끝난 후, TH를 처리하고 37°C, 5% CO₂가 공여되는 환경에 24시간 동안 방치하였다. 24시간의 배양이 끝난 후, 산화적 스트레스를 유발하여 세포 생존율을 감소시키는 것으로 알려져 있는 500 mM의 과산화수소 (hydrogen peroxide, H₂O₂)를 처리하고 37°C, 5% CO₂가 공여되는 환경에 4시간 동안 방치하였다. 4시간동안의 배양이 끝난 후, 배양액을 제거하고 각 well에 생성된 formazan결정을 DMSO를 첨가하여 녹인 후 Microplate Reader (Bio-rad, USA)를 이용하여 540 nm에서 광도를 측정하였다.

3. 통계처리

본 연구의 통계처리는 SPSS 10.0 for Windows program을 사용하여 실시하였으며, Student-Newman-Keuls multiple range test를 이용하여 평균값의 유의성을 5% 미만일 때 유의성이 있는 것으로 판단하였다.

결 과

1. 세포 생존율에 미치는 영향

TH가 직접적으로 세포의 생존율에 미치는 영향을 알

아보기 위하여, 인간 유래 정상 피부 각질세포인 HaCaT 세포에 농도별로 TH를 투여하고 24시간 후, 세포 생존율을 측정된 결과 400 µg/ml 이상에서 세포 독성이 나타났다. 400, 800 µg/ml에서 세포 생존율은 각각 53.1±1.0, 12.3±0.6%였다(Fig. 1).

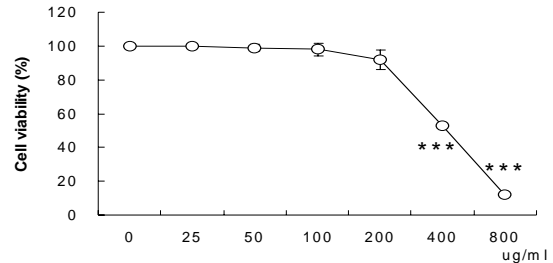


Fig. 1. Effects of TH on cell viability of human keratinocytes in vitro

HaCaT Cells were attached 96-well plate, and added TH as indicated concentrations respectively. After 24 hr incubation, cell viabilities were measured using MTT methods. Result are presented as mean±SD. *** p < 0.01 vs. non-treated Control (n=6).

2. 총 페놀류 및 플라보노이드류 함량

재료 및 방법에서 논술한 바와 같이 TH가 함유하고 있는 페놀류 화합물의 총량을 측정된 결과 96.8±1.8 µg/ml로 나타났으며, 총 플라보노이드 함량은 96.8±1.8 µg/ml로 나타났었다(Table 1).

Table 1. Amount of Total Phenolics and Flavonoids of TH

	Total phenolics (µg/ml)	Total flavonoids (µg/ml)
Taraxaci Herba	42.64±1.90 ^{a)}	28.09±1.84

a) Result are presented as mean±SD (n=3).

3. DPPH 라디칼 소거 활성

TH의 농도별 DPPH 자유 라디칼 소거 활성을 측정하였다. 그 결과 농도에 비례하여 DPPH 자유 라디칼 소거

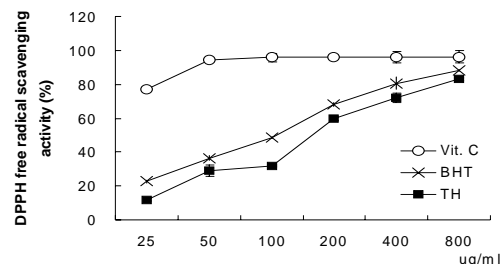


Fig. 2. DPPH free radical scavenging activity of TH at various concentration

Extracts were incubated with DPPH solution at 37°C for 30 min. Activities were determined by measurement of absorbance at 517 nm. Vit. C : ascorbic acid group, BHT : Butylated Hydroxy Toluene group. TH: Taraxaci Herba.

능이 증가함이 관찰되었다. 200 $\mu\text{g/ml}$ 이상의 농도에서는 양성 대조군으로 사용한 Vit. C의 항산화 효과에는 미치지 못하였고, 산화 방지제로 사용되는 butylated hydroxy toluene (BHT)와 유사한 수준의 활성을 보였다. The half maximal (50%) inhibitory concentration (IC_{50})은 165.5 $\mu\text{g/ml}$ 이었다(Fig. 2).

4. 과산화수소에 의해 발생하는 산화적 스트레스에 대한 보호 효과

산화적 스트레스를 유발하여 세포 생존율을 감소시키는 것으로 알려져 있는 과산화수소(hydrogen peroxide, H_2O_2)가 유발시키는 세포 손상으로부터 TH가 HaCaT 세포를 보호할 수 있는지 살펴 본 결과 과산화수소 처리군의 세포 생존율은 80.2 \pm 6.5%를 보였고, TH 전처리 군에서는 94.5 \pm 8.5%의 세포생존율을 보여 유의한 차이를 나타냈다(Fig. 3).

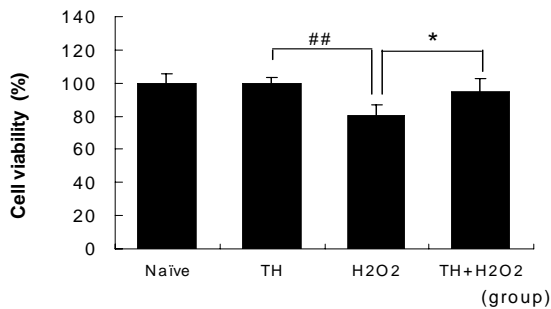


Fig. 3. Protective effects of TH against oxidative stress induced by hydrogen peroxide in HACAT keratinocyte

Cells were attached in plate, then TH was pre-treated for 24hr. After treatment, H_2O_2 was treated for 4hr. OD values were measured at 510 nm wavelength. Naive : non-treated control group, TH: Taraxaci Herba treated group H_2O_2 : hydrogen peroxide treated group, TH+ H_2O_2 : TH pre-treated and hydrogen peroxide treated group. The present data were expressed mean \pm SD. ## $p < 0.01$ vs. naive group, * $p < 0.05$ vs. Control group ($n=6$).

고찰

蒲公英(Taraxaci Herba, TH)은 한의학에서 피부과 및 염증질환에 이용하는 한약재로 蒲公英이라는 사람이 癰腫 치료에 효과를 얻었다하여 蒲公英이라 이름붙여졌다¹⁸⁾. 이러한 한의학적 활용을 현대적으로 응용하고자 하는 시도가 다양하게 이루어지고 있는데, 대표적으로 천 등은 TH가 가지는 화장품 소재로서의 가능성을 제시한바 있다^{2,3)}. 저자들은 SOD 유사활성, Xanthine oxidase 저해능, 전자공여능 등의 항산화 활성이 있음을 보고 하였으며, 멜라닌 색소 합성에 관여하는 tyrosinase 저해활성이 있음을 아울러 보고 하였다³⁾.

따라서 본 연구에서는 항산화, 항암 등의 다양한 생리활성 작용을 가진 페놀 및 플라보노이드류의 함량을 측

정하고 인간 유래 정상 피부 각질세포를 직접적으로 보호 할 수 있는지를 확인하고자 하였다.

본 연구에서 사용된 정상 피부 각질 세포인 HaCaT 세포는 피부 미백, 피부 재생 등과 관련된 많은 실험에서 비교적 널리 사용되고 있는 세포주이다¹⁹⁾. 연구 결과에서 TH는 생체 내에서는 도달하기 힘든 농도라 생각되는 400 $\mu\text{g/ml}$ 이상의 농도에서 세포 독성을 나타냈다(Fig. 1). 본 연구에서 400 $\mu\text{g/ml}$ 농도를 24시간 동안 유지한 것을 감안할 때, 생체 내에서는 이러한 상태의 유지가 거의 불가능할 것으로 생각된다. 이러한 결과를 바탕으로 본 저자들은 HaCaT 세포주 보호효과를 관찰할 농도를 200 $\mu\text{g/ml}$ 로 정하였다.

활성산소는 인체 내에서 지질 또는 단백질 등과 결합하여 노화를 일으키기 쉬운데 폐놀성 화합물의 경우 자유라디칼을 환원시키거나 상쇄시키는 능력이 강해 인체 내에서 자유라디칼에 의한 노화를 억제하는 척도로 이용할 수 있다. 또한 여러 활성 산소에 의해 직접적으로 생체에 악영향을 줄 수 있을뿐만 아니라 지질 등의 산화를 유발하여 간접적으로 단백질과 DNA의 손상을 일으키며 노화와 암 등을 발생시키기도 한다²⁰⁻²³⁾.

폴리페놀계(polyphenolics) 물질들은 식물체에 특수한 색을 띠게하고 산화 환원 반응을 포함한 각종 반응에서 기질로 작용하며, 한 분자 내에 2개 이상의 phenolic hydroxyl (OH)기를 가진 방향족 화합물을 가리킨다. 이들은 항산화, 항암 등의 다양한 생리활성을 가진다^{8,9)}. 플라보노이드(flavonoid)는 음식물에 널리 분포하는 황색 계통의 색소로 페닐(phenyl)기 2개가 C_3 사슬에 결합한 탄소골격구조로 되어 있으며, 항균, 항암, 항바이러스, 항알레르기 및 항염증 활성이 있고, 생체 내에서 항산화 작용이 있는 것으로 알려져 있다^{10,11)}. 최근 부 등¹³⁾은 동양 각국에 자생 또는 재배하는 여주를 대상으로 한 실험에서 ABTS 양이온 소거 활성과 폴리페놀 및 플라보노이드 함량은 유의한 상관 관계가 있음을 보고하였고, 최 등¹⁴⁾은 紫菀에서 분리한 플라보노이드가 superoxide를 효율적으로 제거함으로써 항산화 효과가 있음을 보고 하였다.

본 연구의 결과에서 TH는 42.64 \pm 1.90 $\mu\text{g/ml}$ 의 총 페놀류를 함유하고 있고, 28.09 \pm 1.84 $\mu\text{g/ml}$ 의 플라보노이드류를 함유하고 있는 것으로 나타났다(Table 1). 이전 연구에서 측정된 天南星의 경우, 페놀류와 플라보노이드류가 각각 48.5 \pm 2.5 $\mu\text{g/ml}$ 와 7.4 \pm 1.8 $\mu\text{g/ml}$ 로 관찰되었다(data not shown). 天南星의 결과와 비교하였을 때, 총 페놀류는 비슷한 수준을 보였지만, 플라보노이드류는 4배 정도에 달하는 수치라고 할 수 있다. 이러한 결과는 제한적이지만, TH가 항산화 효과를 통하여 생체 내에서 산화적 스트레스에 의하여 발생하는 각종 질병을 예방해 줄 수 있을 가능성을 제시한다.

따라서 TH가 가지는 항산화 효과를 측정하기 위하여 DPPH free radical 제거능을 관찰한 결과 농도에 비례하여 DPPH 자유 라디칼 소거능 증가가 관찰되었으며, 산화

방지제로 사용되는 butylated hydroxy Toluene (BHT)와 유사한 수준의 활성을 보였다(Fig. 2). The half maximal inhibitory concentration (IC₅₀)은 165.5 µg/ml로 계산되어, 세포독성을 보이지 않는 유효 범위 내의 값으로 항산화 효과를 발휘하는 것으로 나타났다(Fig. 2). 이러한 결과를 바탕으로 실제 정상 세포 내에서 항산화 효과를 발휘함으로써 정상 세포를 산화적 스트레스로부터 보호할 수 있는지를 살펴보았다. 과산화수소(hydrogen peroxide, H₂O₂)는 산소를 이용한 세포 내 호흡과정에서 정상적으로 생성되는 물질이며, 다양한 세포 실험에서 산화적 스트레스를 생성하는 자극원으로 사용된다²⁴⁾. 본 연구의 결과에서 과산화수소의 처리는 HaCaT 세포의 생존율을 유의한 수준으로 감소시켰다. 이러한 생존율 감소에 대하여 TH의 보호효과를 관찰한 결과 유의한 수준으로 생존율 감소를 억제하는 것으로 나타났다(Fig. 3). 이러한 결과는 상기한 항산화 효과가 정상 피부 각질 세포에서도 관찰되는 것으로 해석되며, 추후 후속연구를 통하여 항산화 효소계에 속하는 어떤 효소 또는 어떤 기전에 관여하는지 등을 포함한 명확한 기전을 연구해야 할 것으로 생각된다.

결 론

蒲公英 추출물이 가지는 항산화 효과 및 인간 유래 정상 피부 각질세포 보호효과를 확인하기 위하여蒲公英 추출물의 페놀류 및 플라보노이드류 함량, DPPH 자유라디칼 제거능을 조사하고, HaCaT 세포에 처리하여 생존율 및 산화적 스트레스로부터의 보호효과를 관찰한 결과 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. HaCaT 세포에 대하여 400 µg/ml 이상에서 유의할 만한 세포독성이 나타났다.
2. 총 페놀류 함량을 측정된 결과 42.64±1.90 µg/ml로 나타났다.
3. 총 플라보노이드 함량을 측정된 결과 28.09±1.84 µg/ml로 나타났다.
4. DPPH 라디칼 소거 활성을 측정된 결과 농도에 비례하여 DPPH 자유 라디칼 소거능 증가가 관찰되었으며, IC₅₀은 165.5 µg/ml로 나타났다.
5. HaCaT 세포주에 대하여 과산화수소에 의해 발생하는 산화적 스트레스에 대한 보호 효과를 측정된 결과 유의한 수준으로 과산화수소에 의한 세포 사멸을 방지하였다.

이상에서와 같이 蒲公英 추출물의 항산화 효과와 인간 유래 각질세포에 대한 보호작용을 확인하였다. 이러한 자료는 추후 蒲公英의 피부과 영역 사용 확대의 근거로 사용될 수 있으며, 이에 관한 지속적 연구가 뒤따라야 할 것으로 생각된다.

참고문헌

1. 전국본초학교수 공저. 본초학. 서울 : 영림사. 2007 : 243-4.
2. 친순주, 김영훈, 황연경, 이진태, 박경숙, 조우아, 최은영. 포공영(Taraxacum platycarpum)의 항산화 활성 및 화장품소재 응용에 관한 연구. 한국미용학회지. 2007 ; 13(1) : 293-7.
3. 친순주, 조우아, 김영훈, 장민정, 성지연, 강보연, 최은영, 손준호, 백옥진, 이창언, 안봉진. 포공영(蒲公英)의 항산화 및 화장품약리학적 활성 연구. 대한본초학회지. 2006 ; 21(4) : 109-13.
4. 백흥영. 포공영의 자유라디칼 소거 및 간세포 보호 활성. 생약학회지. 2003 ; 34(4) : 324-6.
5. 김준환, 김태현, 류영수, 고재황. 중추신경계에서 포공영의 항염증작용에 관한 연구. 동의신경정신과학회지. 2000 ; 11(2) : 11-21.
6. Sander CS, Chang H, Salzman S, Muller CS, Ekanayake-Mudiyanselage S, Elsner P, Thiele JJ. Photoaging is associated with protein oxidation in human skin *in vivo*. J Invest Dermatol. 2002 : 618-25.
7. Ozeki Y, Davies E, Takeda J. Structure and expression of chalcone synthesis gene in carrot suspension cultured cells regulated by 2,4-D. Plant Cell Physiology. 1993 ; 34(7) : 1029-37.
8. Giovannini C, Scanzocchio B, Vari R, Santangelo C, D'Archivio M, Masella R. Apoptosis in cancer and atherosclerosis: polyphenol activities. Ann Ist Super Sanita. 2007 ; 43(4) : 406-16.
9. Khan N, Afaq F, Saleem M, Ahmad N, Mukhtar H. Targeting multiple signaling pathways by green tea polyphenol (-)-epigallocatechin-3-gallate. Cancer Res. 2006 Mar 1 ; 66(5) : 2500-5.
10. Yamamoto Y, Gaynor RB. Therapeutic potential of inhibition of the NF-κB pathway in the treatment of inflammation and cancer. J Clin Invest. 2001 ; 107(2) : 135-142.
11. Cushnie TPT, Lamb AJ. Antimicrobial activity of flavonoids. International Journal of Antimicrobial Agents 2005 ; 26(5) : 343-56.
12. 정창호, 강수태, 주옥수, 이승철, 신영희, 심기환, 조성환, 최성길, 허호진. 국내 시판 녹차, 보이차, 우롱차 및 홍차의 폴리페놀 함량, 항산화 및 아세틸콜린에스테레이스 저해 효과. 한국식품저장유통학회지. 2009 ; 16(2) : 230-7.
13. 부희옥, 이현화, 이장원, 황성진, 박상언. 여주 품종별 폴리페놀, 플라보노이드 함량과 라디칼 소거활성 및 아질산염 소거능. 한국약용작물학회지. 2009 ; 17(1) : 15-20.

14. 최두연, 최은진, 김청룡, 신지은, 우은란. 자원에서 분리한 플라보노이드의 생리활성. 생약학회지. 2009 ; 40(2) : 123-7.
15. Mari M, Seiji K, Kenji F, Airo T and Toshimasa N. Evaluation of the estrogenic activities of some pesticides and their combinations using MtT/Se cell proliferation assay. International Journal of Hygiene and Environmental Health. 2006 ; 209(5) : 413-21.
16. Swain T, Hillis WE. The phenolic constituents of *Prunus domestica*. I. - The quantitative analysis of phenolic constituents. J Sci Food Agric. 1959 ; 10 : 63-8.
17. Chae SK, Kang GS, Ma SJ, Bang KW, Oh SH. Standard food analysis. Seoul : Jigu-moonwha Sa. 2002 : 381-2.
18. 강병수, 이장천, 주영승, 오수석, 박용기. 원색한약도감. 대구 : 동아문화사. 2008 : 910-1.
19. Park HJ, Kim HJ, Lee JY, Cho BK, Gallo RL, Cho DH. Adreno-corticotropin hormone stimulates interleukin-18 expression in human HaCaT keratinocytes. J Invest Dermatol. 2007 May ; 127(5) : 1210-6.
20. Miller NJ, Rice-Evans C, Davies MJ, Gopinathan V and Milner A. A novel method for measuring antioxidant capacity and its application to monitoring the antioxidant status in premature neonates. Clin Sci. 1993 ; 84 : 407-12.
21. Lee SE, Seong NS, Bang JK, Park CG, Sung JS and Song J. Antioxidative activities of Korean medicinal plants. Korean J Medicinal Crop Sci. 2003 ; 11 : 127-34.
22. Rice-Evans CA, Miller NJ, Paganga G. Structure-antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids. Free Rad Biol Med. 1996 ; 20 : 933-56.
23. An BJ, Lee JT, Lee SA, Kwak JH, Park JM, Lee JY and Son JH. Antioxidant effects and application as natural ingredients of Korean *sanguisorbae officinalis* L. J Korean Soc Appl Biol Chem. 2004 ; 47 : 244-50.
24. Bi J, Jiang B, Liu JH, Lei C, Zhang XL, An LJ. Protective effects of catalpol against H₂O₂-induced oxidative stress in astrocytes primary cultures. Neurosci Lett. 2008 Sep 19 ; 442(3) : 224-7.