韓藥作誌(Korean J. Medicinal Crop Sci.) 13(6) : 245 – 249 (2005)

신이 에탄올 추출물의 PAR2-유발 부종에 대한 항염증 활성

임종필* · 박영서*
*우석대학교 약학대학

Anti-inflammatory Activity of the Ethanol Extract from Magnoliae Flos on PAR2-mediated Edema

Jong Pil Lim* and Yeong Seo Park*
**College of Pharmacy, Woosuk University, Jeonju 570-160, Korea.*

ABSTRACT : The flower of *Magnolia denudata* Desrousseaux(Magnoliaceae) has long been used for treatment of nasal disorder in Korea. The physiological activity of the Magnoliae Flos ethanol extract (MFX) was investigated. MFX showed antimicrobial activity. At doses of 100 and 200 ㎎/㎏, MFX showed significant inhibition on both change in paw volume and vascular permeability. MFX (100 ㎎/㎏) significantly inhibited PAR2 agonist-induced myeloperoxidase (MPO) activity in paw tissue. These results indicate that MFX has anti-inflammatory activity in PAR2-mediated paw edema.

Key words : Magnoliae Flos, Anti-inflammatory, Trypsin, *tc*-NH_2, Paw edema.

서 언

신이 (辛夷)는 목련과 (Magnoliaceae)에 속하는 백목련 (*Magnolia denudata* Desrousseaux) 및 그 밖의 동속 근연식물의 꽃봉오리이다. 약으로 이용하는 것은 끝 쪽이 약간 뾰족한 난형~방추형모양으로 길이 1~4 ㎝, 중간 지름이 7~20 ㎝이다. 바깥 면은 황백색~녹갈색의 부드럽고 윤이 있는 5 ㎜ 가량의 털이 밀생하고 안쪽 기부에는 흑갈색의 거칠은 비늘 모양의 인편이 복와상 (覆瓦狀)으로 겹쳐져 있다. 주요 성분인 정유는 3~4% 함유되어 있으며 α-pinene, cineole, citral, methylchavicol, eugenol, capric acid, oleic acid 등으로 비염, 축농증, 치통에 효과가 있다 (임, 2003; 김, 1998). 동의보감 (허, 1983), 방약합편 (황, 1984) 등에는 辛, 溫, 無毒하여 산풍한(散風寒) 및 통비규(通鼻竅)에 쓰인다고 하였다. 그동안의 신이에 관한 연구로는 신이로부터 도파민-β 산화효소의 수용성 저해성분을 분리 (Han *et al*, 1990)한 바 있고, 개구리의 신경근육의 차단 작용 (Kimura 등, 1992) 및 항맥관형성효과 (Kobayashi 등, 1996)를 보고한 바 있다. 그리고 최근에는 신이화의 유효성분 추출과 제형에 관한 연구 (조, 2000), 멜라닌 생성 억제물질의 분리(Xu *et al*, 2004) 등이 보고되어 있다.

최근의 연구결과를 보면, proteinase 활성수용체인 PAR1, PAR3 및 PAR4는 thrombin에 의하여 활성화될 수 있으며 (Kahn *et al*, 1998; Coughlin, 1999), PAR2와 PAR4는 trypsin에 의하여도 활성화 될 수 있고, 또한 mast cell tryptase도 PAR2를 활성화시킨다 (Corvera *et al*, 1997; Kong *et al*, 1997). 이러한 trypsin, mast cell tryptase 또는 합성 peptide (SLGRL-NH_2 등)는 PAR2를 활성화시켜서 광범위한 염증을 일으킨다 (Molino *et al*, 1997). 염증 과정에서 중요한 역할을 하는 PAR2는 혈관투과성의 증가, neutrophil의 침윤 및 proinflammatory cytokinase의 분비를 촉진하기 때문이라고 하였다 (Emilsson *et al*, 1997; Hou *et al*, 1998). 그러므로 PAR2 활성의 억제는 PAR2에 의한 염증치료에 중요한 의미를 지닌다고 할 수 있다. 신이는 전통적으로 비염에 사용되어 왔으므로 염증과 관련 있는 균에 대한 항균작용을 확인하는 것도 의미있는 일이라고 사료된다.

이에 신이 에탄올 추출물을 사용하여 염증관련 균에 대한 항균활성 및 PAR-2 부종에 대한 항염증활성을 확인하고자 한다.

재료 및 방법

1. 실험재료

본 실험에 사용한 신이는 전주시 보화당한약건재상에서 구입한 것 중 정품만을 선별하여 세절한 후 10배량의 70% 에탄올에 3일 동안 실온에서 침출하고 여과한 뒤 감압 농축한

†Corresponding author: (Phone) +82-63-290-1571 (E-mail) limjp@woosuk.ac.kr
Received August 11, 2005 / Accepted December 30, 2005

Table 1. List of strains used for anti-microbial activity

	Strains		Condition
Bacteria	G(+)	*Staphylococcos aureus* IFO 12732	Nutrient agar 37℃
	G(−)	*Pseudomonas fluorescens* IAM 12001	Nutrient agar 37℃
Fungus	*Aspergillus niger* ATCC 9642		Potato dextrose agar 27℃

다음 동결건조 (ethanol extract of Magnoliae Flos : MFX)하여 시료로 사용하였다 (수득율: 13.5%). 합성 펩타이드인 *trans* -cinnamoyl -LIGRLO -NH_2 (*tc*-NH_2) (M.W. = 812.59)는 Santa Cruz Biotech. Inc. (CA. USA)에서 구입하여 사용하였다. 기타 주요 시약은 Sigma Co.의 제품을 사용하였다. 동물은 Sprague-Dawley 숫컷 흰쥐를 대한바이오링크에서 구입하여 체중 180 ± 20 g인 것을 실험실 환경에서 충분한 사료와 물을 공급하면서 적응시킨 후에 실험에 사용하였다.

2. 사용균주 및 배지

항균실험에는 그람양성균 (*Staphylococcos aureus)*, 그람음성균(*Pseudomonas fluorescens)*, 곰팡이(*Aspergillus niger)* 각 1종씩을 사용하였으며 균주에 따른 배지 및 배양조건은 Table 1에 나타냈다. 배지는 균주의 특성에 맞게 조제하여 121℃에서 15분간 가압 멸균하여 사용하였다. 모든 시험은 3회씩 반복 수행하였다.

3. 항균활성 측정

추출물의 농도를 50 ㎎/㎖와 100 ㎎/㎖로 희석한 후 0.45 ㎛ membrane filter로 여과에 의하여 제균한 다음 시료로 사용하였다. 항균활성 측정은 paper disc법 (Bauer, 1966)을 이용하였다. 세균은 37℃에서 24시간, 곰팡이는 27℃에서 48시간 전배양한 시험균액을 무균적으로 첨가하여 잘 혼합한 중층용 배지를 5 ㎖씩 기층용 배지 위에 분주하여 2중의 평판배지를 만들었다. 각 추출물을 멸균된 paper disc에 50 ㎕씩 흡수시킨 후, 배지에 올려놓고 난 다음, 세균은 37℃, 곰팡이는 27℃로 24-48시간 배양하여 disc 주변의 inhibition zone (㎜)의 크기를 측정하였다.

4. Trypsin 및 *tc*-NH_2에 의한 부종 측정

쥐가 물을 자유롭게 마시도록 하며 18시간 절식시키고, MFX (100 및 200 ㎎/㎏) 및 생리식염수를 경구투여한 1시간 후 ketamine HCl (30 ㎎/㎏)과 xylazine (6 ㎎/㎏)을 근육주사하여 마취시킨뒤, trypsin (500pmol) 또는 *tc*-NH_2 (500 ㎍)을 생리식염수에 녹여 100 ㎕씩 쥐의 뒷다리 발바닥에 주사하였다. 부종의 크기는 쥐의 발바닥 주사직전과 1시간 후에 plethysmometer (Ugo Basile, Italy)를 이용하여 측정하였으며 전후 차이로 계산하였다. 부종 억제율은 다음과 같은 식으로 계산하였다. 이때 A는 주사한 1시간 후의 수치이며 B는 주사 직전의 수치이다.

Inhibition (%) = (A−B)/A×100

5. Trypsin 및 *tc*-NH_2에 의한 혈관투과성 측정

Trypsin 및 *tc*-NH_2주사에 의한 혈관투과성은 Katayama 등 (1978)의 방법에 따라 측정하였다. MFX 및 생리식염수를 경구투여하고 1시간뒤, 2.5 ㎎/㎏ Evans blue를 생리식염수에 녹여 정맥주사한 직후에 trypsin이나 *tc*-NH_2을 100 ㎕씩 쥐 발바닥에 주사하고, 1시간 후 쥐를 죽인뒤 발바닥을 제거하여 무게를 측정하고 잘게 썰어 마개 있는 시험관에 넣어 1N KOH 용액 1 ㎖를 붓고 37℃에서 하루 밤을 침출시킨 후 0.6N H_3PO_4와 acetone (5 : 13) 혼액을 9 ㎖ 가하고 수초 동안 시험관을 세게 흔들어 3,000 rpm에서 15분 동안 원심분리하여 상층액을 spectrophotometer로 620 ㎚에서 흡광도를 측정하여 Evans blue 표준곡선에 의하여 농도를 구하여 ㎍/g으로 표시하였다. 혈관투과성 억제율은 다음과 같은 식으로 계산하였다. 이때 A는 MFX를 투여하지 않은 군 (saline)의 수치이며 B는 MFX를 투여한 군의 수치이다.

Inhibition (%) = (A−B)/A×100

6. Myeloperoxidase 정량

생리식염수나 MFX를 경구 투여한 1시간 후 trypsin 및 *tc*-NH_2를 쥐 발바닥에 주사하여, 6시간 후 쥐 발바닥 무게를 측정하고 myeloperoxidase (MPO) 활성도는 Bradley 등 (1982)의 방법에 따라 수행하였다. 발바닥 조직을 잘게 썰어서 0.5% hexadecyltrimethyl-ammonium bromide (HTAB)을 포함하는 KH_2PO_4/K_2HPO_4 buffer (pH 6.0)중에 0℃에서 45초 동안 전동 homogenizer로 균질화한 후 4℃에서 3,000 rpm으로 20분간 원심분리 하였다. Myeloperoxidase 활성도를 측정하기 위하여 96-well microtiter plate에 상층액 50 ㎕와, 50 ㎕의 phospate buffer 함유 0.5% HTAB (pH 6.0), 50 ㎕의 o-dianisidine (0.68 ㎎/㎖ in distilled water)을 첨가하고 반응을 촉진하기 위하여 새로 조제한 0.003% hydrogen peroxide를 가하였다. 그리고 450 ㎚에서 흡광도차를 이용하여 계산하였다. Myeloperoxidase 활성도 억제율은 다음 식으로 계산하였다. 이때 A는 MFX를 투여하지 않은 군 (saline)의 수치이며 B는 MFX를 투여한 군의 수치이다.

Inhibition(%) = (A−B)/A×100

7. 통계처리

실험성적의 통계처리는 student's t-test로 하였으며 유의수준은 0.01이하로 하였다.

Table 2. Antimicrobial activity of the Magnoliae Flos ethanol extract

Strains	Inhibition zone(mm²)†	
	2.5 mg/disc‡	5.0 mg/disc§
Gram positive; *Staphylococcos aureus* IFO 12732	8	11
Gram negative; *Pseudomonas fluorescens* IAM 12001	8	10
Fungus; *Aspergillus niger* ATCC 9642	10	13

†Diameter of disc, ‡2.5 mg of MFX (Magnoliae Flos ethanol extract)/disc, §5.0 mg of MFX/disc.

Table 3. Effects of MFX on trypsin and *tc*-NH_2-induced paw edema in rats†

Agonist‡	Treatment	Dose (mg/kg *p.o.*)	Change of paw edema (mℓ)§	%inhibition
Trypsin (500 pmol)	Saline	–	0.48±0.04	–
	MFX	10	0.45±0.23	8.3
		50	0.44±0.13	8.3
		100	0.18±0.14*	62.5*
		200	0.17±0.06*	64.6*
tc-NH_2 (500 μg)	Saline	–	0.40±0.11	–
	MFX	10	0.38±0.03	0.5
		50	0.32±0.04	2.0*
		100	0.20±0.01*	50.0*
		200	0.21±0.06*	47.5*

†Oral administration of saline or MFX(Magnoliae Flos ethanol extract) was performed 1 h prior to subplantar injection of trypsin or *tc*-NH_2. ‡Trypsin or *tc*-NH_2 was dissolved in saline and injected in a volume of 100 mℓ. §The size of edema was assessed by measuring the volume of the hindpaw immediately before and 1 h after the agonist injection. Data show the mean ± SE from six rats. *$p < 0.01$ compared to the saline group.

결 과

1. 항균 활성

항균활성은 70% 에탄올 추출물에서 그람 양성균인 *Staphylococcus aureus*와 그람 음성균인 *Pseudomonas fluorescens* 및 곰팡이균 종류인 *Aspergillus niger*에서 모두 항균활성을 보였는데 5.0 mg/disc의 경우 *Staphylococcus aureus*균에 대하여 11 mm, *Pseudomonas fluorescens*에서는 10 mm, *Aspergillus niger*에서는 13 mm 의 inhibition zone을 나타냈다 (Table 2).

2. 부종억제율

PAR2 작동약물인 trypsin이나 *tc*-NH_2로 유발된 쥐의 뒷발바닥 부종은 PAR2 작동약물을 주사한 경우 생리식염수 단독 처리시 보다 유의성있게 증대하였다 (Table 3). Trypsin으로 유발된 부종에서 MFX 100 mg/kg 에서 62.5%, 200 mg/kg 에서 64.6%의 유의성있는 억제율을 보였다. 또한 *tc*-NH_2로 유발된 부종에서는 MFX 100 mg/kg에서 50.0%, 200 mg/kg에서 47.5%의 억제율을 나타냈으나 MFX 50 mg/kg 이하에서는 억제효과가 거의 없었다. Trypsin이나 *tc*-NH_2로 유발된 부종에서 MFX 100 mg/kg과 200 mg/kg에서 거의 비슷한 억제율을 나타냈으나 10 및 50 mg/kg 에서는 유의성이 보이지 않았다.

Table 4. Effects of MFX on trypsin and *tc*-NH_2-induced vascular permeability in the paw of rats†

Agonist‡	Treatment	Dose (mg/kg *p.o.*)	Amount of EB§ (μg/g paw)	%inhibition
Trypsin (500 pmol)	Saline	–	91.30±6.71	–
	MFX	10	79.27±4.20	13.2
		50	76.17±2.34*	16.6
		100	42.56±1.28*	53.4*
		200	38.89±8.11*	57.4*
tc-NH_2 (500 μg)	Saline	–	70.27±4.52	–
	MFX	10	67.17±2.10	4.4
		50	66.42±2.88	5.5
		100	40.82±6.01*	41.9*
		200	39.22±1.31*	44.2*

†Oral administration of saline or MFX(Magnoliae Flos ethanol extract) was performed 1 h prior to subplantar injection of trypsin or *tc*-NH_2. ‡Trypsin or *tc*-NH_2 was dissolved in saline and injected in a volume of 100 μℓ. §Rats received an intravenous(i.v.) injection of 25 mg/kg Evans blue in saline, immediately before the agonist injection. Data show the mean ± SE from six rats. *$p < 0.01$ compared to the saline group.

3. 혈관투과성 억제율

500 pmol trypsin 및 500 μg *tc*-NH_2주사 1시간 후 Evans blue의 투과성이 뚜렷하게 높아졌다. 그러나 MFX (100 and 200 mg/kg)는 발바닥 조직의 Evans blue 투과성을 유의성있게 억제하였다 (Table 4). MFX 100 mg/kg 에서 혈관투과율은 trypsin의 경우 53.4%, *tc*-NH_2의 경우 41.9%의 억제율을 보였으며, MFX 200 mg/kg 에서는 trypsin의 경우 57.4%, *tc*-NH_2의 경우 44.2%의 억제율을 보여 100 mg/kg 과 200 mg/kg 에서의 혈관투과 억제율은 큰 차이를 나타내지 않았다.

4. Myeloperoxidase 활성도

MFX (100 mg/kg)는 유의성있는 MPO활성 억제효과를 나타냈는데 trypsin의 경우는 63.3%, *tc*-NH_2의 경우는 55.6%의 억제효과를 보였으며, 또한 MFX 200 mg/kg 에서는 trypsin의 경우 64.2%, *tc*-NH_2의 경우 43.1%의 억제율을 보여 100 mg/kg 과 200 mg/kg 에서의 MPO활성억제율도, 부종이나 혈관투과성의 경우와 마찬가지로 큰 차이를 나타내지 않아 MFX 100 mg/kg 이상에서는 활성도에 큰 영향이 없음을 알 수 있었다 (Table 5).

Table 5. Effects of MFX on trypsin and *tc*-NH_2-induced MPO activity in the paw of rats[†]

Agonist[‡]	Treatment	Dose (㎎/㎏ *p.o.*)	MPO activity (unit/g paw)[§]	%inhibition
Trypsin (500 pmol)	Saline	–	5.61±0.25	–
	MFX	100	2.06±0.21*	63.3*
		200	2.01±0.39*	64.2*
tc-NH_2 (500)	Saline	–	4.41±0.18	–
	MFX	100	1.96±0.11*	55.6*
		200	2.07±0.22*	53.1*

[†]Oral administration of saline or MFX (Magnoliae Flos ethanol extract) was performed 1 h prior to subplantar injection of trypsin or *tc*-NH_2. [‡]Trypsin or *tc*-NH_2 was dissolved in saline and injected in a volume of 100 ㎕. [§]Six hours after agonist injection paw was weighed and assessed for the MPO (myeloperoxidase) activity. Data show the mean ± SE from six rats. *$p < 0.01$ compared to the saline group.

고 찰

신이가 전통적으로 비염 등 코의 염증과 관련되어 사용되어 왔는데, 본 실험에서 몇 가지 균에 대해 항균효과를 나타낸 것으로 보아 신이의 비염 치료 효과는 소염작용과 더불어 항균작용에도 역할을 한 것으로 생각된다.

또한 trpysin이나 *tc*-NH_2로 유발된 쥐의 발바닥부종, 혈관투과성, myeloperoxidase 활성도에서 MFX 100 및 200 ㎎/㎏ 투여시 유의성 있는 감소율을 보였다. 실험에서 MFX 1,000 ㎎/㎏ 이상의 고용량에서는 trypsin이나 *tc*-NH_2로 유발된 부종에서는 100 ㎎/㎏의 경우와 큰 차이가 없었다. Trypsin 이나 *tc*-NH_2와 같은 PAR2 작동약의 주사는 쥐 발바닥에서 혈관투과성이 증가하여 부종으로 나타난다는 보고가 있다 (Kawabata *et al*, 1998; Vergnolle *et al*, 1998). PAR2는 neutrophil과 eosinophil에서뿐 아니라 mast cell에서도 나타난다고 한다 (Howells *et al*, 1977; Nystedt *et al*, 1996). 또한 Kawabata 등 (1998)은 조직침투 (Evans blue extravasation)에서 신속한 (15 min) mast cell 의존도의 증가는 PAR2 활성 peptide인 SLIGRL-NH_2의 투여에 기인한 것이라고 하였다. 반대로 Vergnolle 등 (1999)은 *tc*-NH_2에 의한 염증반응은 주로 mast cell degranulation에 독립적이라고 말하였다. 이러한 반응들은 PAR2가 endothelial cell 뿐 아니라 neutrophil과 eosinophil과 같은 mast cell 이외의 조직 함유물에서 나타나는데 이는 쥐의 발에서 trypsin이나 *tc*-NH_2에 대한 하나의 중요한 표적이 되며 이것이 조직의 투과성과 부종 증가의 원인이 된다고 하였다 (Vergnolle *et al*, 1999). 또한 Vergnolle 등 (1998)은 *tc*-NH_2로 유발된 발바닥 부종은 prostaglandin이나 nitric oxide와는 관계가 없다고 하였다. 이에 본 연구에서는 trypsin이나 *tc*-NH_2로 유발된 염증조직에서 조직손상에 중요한 역할을 할 것으로 생각되는 MPO활성을 조사하였는데, 상기 염증조직에서는 MPO활성이 현저히 증가하였으나 MFX투여로 유의성 있게 억제됨을 알 수 있었다. 따라서 본 연구 결과 신이의 전통적인 비염 등의 치료효과를 약리적으로 확인할 수 있었다. 앞으로 MPO활성을 억제하는 성분의 규명이 필요하다고 생각된다.

적 요

신이는 전통적으로 비염 등의 치료에 사용되어 왔는데, 신이 에탄올 추출물은 그람 양성균인 *Staphylococcus aureus*, 그람 음성균인 *Pseudomonas fluorescens*균 및 곰팡이균인 *Aspergillus niger*에 대하여 모두 항균활성을 보였으며, proteinase로 활성화된 receptor-2에 의한 흰쥐 뒷발바닥 부종 모델에서 신이 에탄올 추출물을 경구투여한 경우 trypsin이나 *tc*-NH_2로 유발된 발바닥 부종, 혈관투과성, myeloperoxidase 활성도에서 유의성 있는 억제율을 보여 항염증 활성이 뚜렷함을 나타냈다.

사 사

이 논문은 2005년도 교육인적자원부 지방연구중심대학 육성사업 헬스케어기술개발사업단의 지원에 의하여 연구되었으며 이에 감사드립니다.

LITERATURE CITED

Bauer AW, Kibby MM, Sherria JC, Turck M (1966) Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. Am J. Clin. Pathol. 45:493-496.

Bradley PP, Priebat DA, Christensen RD, Rothstein G (1982) Measurement of cutaneous inflammation: Estimation of neutrophil content with an enzyme marker. J. Invest. Dermatol. 78(3): 206-209.

Corvera CU, Dery O, McConalogue K, Bohm SK, Khitin LM, Caughey GH, Payan DG, Bunnett NW (1997) Mast cell tryptase regulates rat colonic myocytes through proteinase-activated receptor 2. J. Clin. Invest. 100(6):1383-1393.

Coughlin SR (1999) How the protease thrombin talks to cells. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 96(20):11023-11027.

Emilsson K, Wahlestedt C, Sun MK, Nystedt S, Owman C, Sundelin J (1997) Vascular effects of proteinase-activated receptor-2 agonist peptide. J. Vasc. Res. 34:267-272.

Han YN, Han BH, Tae DN, Kim MY (1990) Studies on dopamine β-hydroxylase inhibitors from water-soluble fraction on Magnoliae Flos Kor. J. Pharmacogn. 21(3):252-254.

Hou L, Kapas S, Cruchley AT, Macey MG, Harriott P, Cinni C, Stone SR, Howells GL (1998) Immunolocalization of protease-activated receptor-2 in skin: receptor activation stimulates interleukin-8 secretion by keratinocytes in vitro. Immunology 94:356-362.

Howells, GL. Macey, M. Chinni, C. Hou, L. Fox, MT. Harriott, P. Stone, S. (1997) Proteinase-activated receptor-2: expression

by human neutrophils. J. Cell Sci. 110:881-887.

Kahn ML, Zheng YW, Huang W, Bigornia V, Zeng D, Moff S, Farese RV Jr, Tam C, Coughlin SR (1998) A dual thrombin receptor system for platelet activation. Nature 394(6694):690-694.

Katayama S, Shionoya H, Ohtake S (1978) A new method for extraction of extravasated dye in the skin and the influence of fasting stress on passive cutaneous anaphylaxis in guinea pigs and rats. Microbiol. Immunol. 22(2):89-101.

Kawabata A, Kureda R, Imnami T, Kataka K, Taneda M (1998) Increased vascular permeability by a specific agonist of protease-activated receptor-2 in rat hind paw. Br. J. Pharmacol. 125:419-422.

Kimura I, Nagaura T, Kobayashi S, Kimura M (1992) Inhibitory effect of magnoshinin and manosalin, compounds from 'Shin-i'. Jpn. J. Pharmacol. 60:59-62.

Kobayashi S, Kimura I, Kimura M (1996) Inhibitory effect of magnosalin derived from Flos Magnoliae in tube formation of rat vascular endothelial cells during the angiogenic process. Biol. Pharm. Bull. 19:1304-1306.

Kong W, Mcconalogue K, Khitin LM, Hollenberg MD, Payan DG, Bohm SK, Bunnett NW (1997) Luminal trypsin may regulate enterocytes through proteinase-activated receptor-2. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 94:8884-8889.

Molino M, Barnathan ES, Numerof R, Clark J, DreyerM, Cumashi A, Hoxie JA, Schechter N, Woolkalis M, Brass LF (1997) Interactions of mast cell tryptase with thrombin receptors and PAR-2. J. Biol. Chem. 272:4043-4039.

Nystedt, S. Ramakrishnan, B. Sundelin, J (1996) The proteinase-activated receptor-2 is induced by inflammatory mediators in human endothelial cells. J. Biol. Chem. 271:14910-14915.

Vergnolle N, Macnaughton WK, Al-Ani B, Saifeddine M, Wallace JL, Hollenberg MD (1998) Proteinase-activated receptor-2-activating peptides: identification of a receptor that regulates intestinal transport. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 95: 7766-7771.

Vergnolle N, Hollenberg MD, Sharkey KA, Wallace JL (1999) Characterization of the inflammatory response to proteinase-activated receptor-2 (PAR-2) -activating peptides in the rat paw. Br. J. Pharmacol. 127:1083-1090.

Xu GH, Kim JA, Park SH, Son R, Chang S, Chang W, Chung R, Lee SH (2004) Isolation of Melanin Biosynthesis Inhibitory Compounds from the Flowers of *Magnolia denudata*. Kor. J. Pharmacogn. 35(2):152-157.

김창민 외 (1998) 완역중약대사전, 정담, 서울 p. 3428.

임종필 (2003) 본초생약학, 신일상사, 서울, p. 59.

조현모, 서영배 (2000) 신이화의 유효성분 추출과 제형에 관한 연구. 한의학논문 집 9(1):225-243.

허준 (1994) 동의보감. 여강출판사. 서울. p. 2801.

황도연 (1996) 증맥방약합편. 남산당. 서울. p. 219.