

## 노니(*Morinda citrifolia*) 메타놀 추출물의 Phospholipase A<sub>2</sub> 억제와 항염증 활성

최병철 · 심상수<sup>#</sup>

중앙대학교 약학대학

(Received August 12, 2005; Revised September 28, 2005)

### Anti-inflammatory Activity and Phospholipase A<sub>2</sub> Inhibition of Noni (*Morinda citrifolia*) Methanol Extracts

Byung Chul Choi and Sang Soo Sim<sup>#</sup>

College of Pharmacy, Chung-Ang University, 221 Huksuk-dong, Dongjak-gu, Seoul 156-756, Korea

**Abstract** — To investigate anti-inflammatory activity of Noni extracts, we measured the phospholipase A<sub>2</sub> activity using both *in vitro* and *in vivo* system. Water soluble fraction of Noni extracts did not affect melittin-induced arachidonic acid release, whereas lipid soluble fraction inhibited it in a dose dependent manner in Raw 264.7 cells. The purified phospholipase A<sub>2</sub> activity was dose-dependently inhibited by lipid soluble fraction of Noni extracts but not by its water soluble fraction. Lipid peroxidation, myeloperoxidase and phospholipase A<sub>2</sub> activity in incised skin of mice were significantly increased as compared with those in non-incised skin, and these increase was attenuated by the treatment with Noni powder. Our data suggest that Noni extracts has anti-inflammatory activity, and this is, in part, caused by inhibitory activity of phospholipase A<sub>2</sub>.

**Keywords** □ noni, inflammation, phospholipase A<sub>2</sub>

염증 반응에는 수많은 염증매개물질이 관여하고 있는데 이 중에서 phospholipase A<sub>2</sub>(PLA<sub>2</sub>)에 의한 arachidonic acid와 대사산물인 eicosanoid가 중요한 작용을 하고 있다. PLA<sub>2</sub>는 인지질(phospholipid)을 가수분해하여 lysophospholipid와 arachidonic acid를 생성하며 lysophospholipid는 lyso-PAF acetyltransferase에 의해 platelet activating factor(PAF)로 전환되며, 이는 염증매개물질로 작용한다.<sup>1)</sup> 한편 arachidonic acid는 cyclooxygenase와 lipoxygenase에 의해 강력한 생물학적 활성을 갖는 eicosanoids를 형성한다.

유전자 code에 따른 PLA<sub>2</sub> 이성체(isozyme)는 10가지(I-X)로 알려져 있지만, 이들을 특징에 따라 분류하면 분비성-xT습 의존성 PLA<sub>2</sub>(sPLA<sub>2</sub>), cytosolic/Ca<sup>2+</sup>-dependent(cPLA<sub>2</sub>), cytosolic/Ca<sup>2+</sup>-independent(iPLA<sub>2</sub>)와 같이 크게 3가지로 분류할 수 있다.<sup>2)</sup> Phagocytosis에서 이들 PLA<sub>2</sub> isozyme의 기능은 다르게 작

용하는 것으로 알려져 있다. iPLA<sub>2</sub> 선택적 억제제인 bromoenol lacton(BEL)은 actin의 polymerization을 억제하여 phagocytosis를 억제하는 것으로 알려져 있다.<sup>3-5)</sup> cPLA<sub>2</sub>는 NADPH oxidase를 활성화시켜 reactive oxygen species(ROS) 생성을 일으키며 respiratory burst를 일으키는 것으로 알려져 있다.<sup>6)</sup> 또한 sPLA<sub>2</sub> 억제제(manoalide, p-bromophenacyl bromide)도 식균작용을 억제하는 것으로 알려져 있다.<sup>7)</sup>

sPLA<sub>2</sub>가 존재하는 대식세포, 비만세포 및 혈소판에서 유리되는 arachidonic acid는 대부분 sPLA<sub>2</sub>에 의해 생성되지만 처음 반응을 시작하는 역할은 cPLA<sub>2</sub>에 의해 일어나기 때문에 PLA<sub>2</sub> isozyme 사이에도 상호 연결 작용이 있음을 알 수 있다.<sup>8,9)</sup> 한편 대식세포의 식균작용에 있어서 PLA<sub>2</sub> 활성화에 의해 생성된 arachidonic acid는 ROS 생성을 증가시킨다.<sup>6)</sup> 또한 혈관 평활근 세포에서 ROS는 PLA<sub>2</sub>를 활성화시킨다는 보고가 있다.<sup>10,11)</sup> 이처럼 PLA<sub>2</sub>와 ROS는 상호 양성 되먹이기 기전으로 조절되고 있는 것을 알 수 있다. 이러한 기전을 통해 항산화 작용을 갖는 물질은 세포내에서 다양한 작용기전을 통해 항염증 작용을 나타내게 된다.

노니는 강력한 항산화 작용이 있는 것으로 이미 잘 알려져 있

<sup>#</sup>본 논문에 관한 문의는 저자에게로  
(전화) 02-820-5615 (팩스) 02-816-7338  
(E-mail) simss@cau.ac.kr

으며, 노니 추출액은 숙주의 면역계에 작용하여 염증 매개 물질인 여러 가지 cytokine의 분비를 억제한다는 보고가 있다.<sup>12)</sup> 한편 노니의 Lewis lung tumor의 억제에는 T세포의 면역반응 자극에 의해 일어난다는 보고도 있는 것으로 보아 노니 추출액은 면역계를 항진시키는 것으로 사료된다. 그러나 노니 추출물이 사람의 혈소판에서 prostaglandin E<sub>2</sub> 생성에 미치는 영향을 관찰한 결과 COX-2 선택적 억제제인 Celebrex와 비슷한 억제효과를 나타냈다.<sup>13)</sup> 이러한 결과로 미루어 볼 때 노니 추출물은 eicosanoid 생성 경로를 억제하는 것으로 추정되지만, arachidonic acid를 유리시키는 PLA<sub>2</sub>에 미치는 영향에 대한 보고는 없는 상태이다. 이 실험에서는 노니 추출물이 PLA<sub>2</sub>에 미치는 영향과 생체내 항염증 효과를 관찰하였다.

## 실험 방법

### 재료

화외이산 노니 열매 분말은 (주)태영이엔티에서 구입하였다. PLA<sub>2</sub>(Sigma Code No.: P7778), thiobarbituric acid, hexadecyltrimethyl ammonium bromide(HTAB), 3,3',5,5'-tetramethylbenzidine(TMB), N,N-dimethylformamide(DMF)들은 Sigma사로부터 구입하였으며, [<sup>3</sup>H]arachidonic acid는 NEN으로부터, 10-pyren phosphatidylcholine는 Molecular Probe Co.에서 구입하였다. Raw 264.7 세포는 서울대학교 세포주 은행으로부터 구입하였다.

### 노니 추출액

노니 분말(20 g)을 80% methanol 용액에서 하루 밤 진탕하고, 상층액을 분리한 후 다시 80% methanol 300 ml를 가하여 3시간 진탕한 후 상층액을 분리하였다. 분리한 상층액을 rotary vacuum evaporator에서 감압 농축한 후 freeze-dryer로 동결 건조하여 분말을 얻었다. 동결 건조한 분말을 증류수에 녹여 수용성 분획을 얻었으며, 증류수에 녹지 않은 침전물은 다시 건조시킨 후 dimethylsulfoxide(DMSO)에 녹여 지용성 분획으로 간주하여 실험하였다.

### 세포 배양

Raw 264.7 세포는 10% fetal bovine serum(FBS)과 penicillin/streptomycin(100 IU/50 µg/ml)을 함유한 Dulbecco's modified Eagle's medium(DMEM) 용액으로 37°C로 유지되는 5% CO<sub>2</sub> 배양기에서 배양하였다.

### Arachidonic acid 유리 측정

Raw 264.7 세포를 10% FBS이 함유한 DMEM에서 충분히 배양한 후에 24 well plate 이용하여 10<sup>5</sup> cells/well로 분주하였다.

FBS이 없는 DMEM에 [<sup>3</sup>H]arachidonic acid(0.2 µCi/ml/well)를 가하여 24시간 동안 labeling하였다. Labeling이 끝난 후 serum-free DMEM으로 1 ml씩 2회 세척하여 labeling 되지 않은 [<sup>3</sup>H]arachidonic acid를 제거하였다. 다시 serum-free DMEM을 1 ml 가하고 노니 추출물을 처리한 후(최종 DMSO 농도는 0.1%로 조절) 1시간 배양한 후 상층액을 취하여 원심분리하고 세포가 없는 상층액 500 µl를 취해 액체섬광계수기로 radioactivity를 측정하였다.

### PLA<sub>2</sub> 활성 측정

형광을 발생하는 10-pyren phosphatidylcholine을 기질로 이용하여 PLA<sub>2</sub>의 활성을 측정하는 방법을 이용하였다.<sup>14)</sup> 10-Pyren phosphatidylcholine은 Ex. 345 nm와 Em. 398 nm에서 형광을 나타내는데 정제한 PLA<sub>2</sub>에 의해 가수분해시 형광이 감소하는 원리를 이용하여 노니 추출액이 PLA<sub>2</sub> 활성에 미치는 억제효과를 측정하였다. 조직내 PLA<sub>2</sub> 활성을 조직 균질액을 이용하여 PLA<sub>2</sub> 활성을 측정하였다.

### 피부 절개

체중이 20~25 g 정도 되는 숫컷 Balb-c 생쥐를 이용하여 피부 절개 후 항염증 작용에 미치는 노니 추출액의 효과를 관찰하였다. 가벼운 ether 마취하여 등쪽의 털을 깨끗이 면도한 후 오른쪽 등 부위 피부 조직을 3 cm 절개하였다. 봉합사를 이용하여 3 부위를 봉합한 후 매일 3일간 100 mg/kg 노니 분말을 증류수에 현탁시켜 경구투여 하였다. 3일 후 피부 절개를 한 부위에서 1 mm 두께로 피부 조직을 절취하였고 피부 절개를 하지 않은 왼쪽 등 부위에서 같은 크기의 조직을 절취하였다. 피부 절개를 한 후 증류수만을 경구 투여한 실험군을 대조군으로 간주하였다. 절취한 조직을 이용하여 lipid peroxidation, PLA<sub>2</sub> 활성 및 myeloperoxidase 활성을 측정하였다.

### 조직내 지질과산화 측정

조직내 지질과산화를 측정하기 위하여 thiobarbituric acid reactive substances(TBARS)의 형광을 이용하였다. 조직을 0.5 mM dithiothreitol을 함유한 PBS buffer로 세척한 후 균질화시키고 50% trichloroacetic acid를 가하여 최종 5% 농도로 조절하였다. 동량의 0.325% 2-thiobarbituric acid(in 50% acetic acid)를 첨가하여 95°C에서 30 min 배양하였다. 원심분리 후 200 µl를 96 well plate에 옮기고 Ex: 485 nm, Em: 535 nm에서 형광 측정하였다. 표준물질로서는 malonyldialdehyde(1,1,3,3-tetraethoxypropane, Sigma)를 사용하였다.

### 조직내 myeloperoxidase 활성 측정

생쥐로부터 절취한 피부조직을 5~10배의 균질액(80 mM

sodium phosphate buffer, pH 5.4+0.5% HTAB)을 가하고 가위로 조직을 가능한 한 작은 조각으로 자른 후 polytron을 이용하여 균질화시켰다. 12000 g에서 20분간 원심분리 한 후 상층액 30  $\mu$ l를 96 well plate에 옮겼다. 반응액(100  $\mu$ l of 80 mM sodium phosphate buffer(pH 5.4), 85  $\mu$ l of 0.22 M sodium phosphate buffer(pH 5.4), 15  $\mu$ l of 0.017% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) 200  $\mu$ l를 가한 후 DMF에 녹인 18.4 mM TMB 20  $\mu$ l를 가하여 반응을 시작시켰다. 37°C에서 3분간 배양한 후 얼음위에 방치하고 30  $\mu$ l 1.46 M sodium acetate buffer(pH 3.0)를 가하여 반응을 정지시켰다. FL 600 spectrofluorometer를 이용하여 620 nm에서 흡광도를 측정하였다.

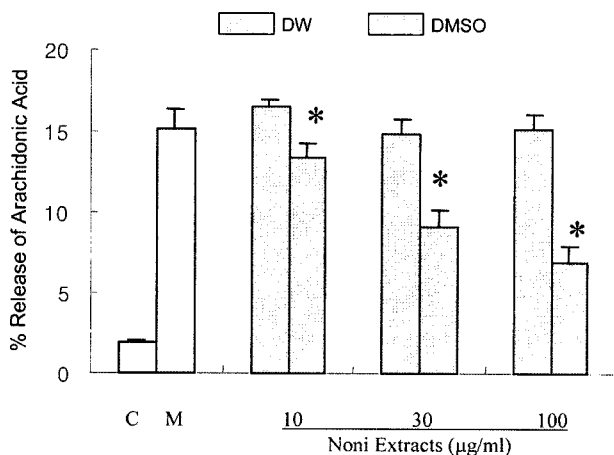
**자료분석 및 통계적 검증**

실험 결과는 평균±표준편차로 표기하였으며, 실험 성적은 non-paired Student's t test로 검정하였고 P 값이 5% 미만일 때 통계적으로 유의하다고 간주하였다.

**실험결과 및 고찰**

**Arachidonic acid 유리에 미치는 노니 추출물의 효과**

염증매개 물질인 arachidonic acid 유리에 노니 추출물이 어떠한 영향을 미치는 지를 관찰하였다. [<sup>3</sup>H]arachidonic acid로 표식된 Raw 264.7 세포에서 자발적으로 유리되는 arachidonic acid는 1.9%이지만 내인성 PLA<sub>2</sub>를 활성화 시키는 것으로 알려진 melittin 0.5  $\mu$ M을 처치시 arachidonic acid 유리를 15.2%로 증가시켰다(Fig. 1).<sup>15)</sup> 0.5  $\mu$ M melittin에 의한 arachidonic acid의



**Fig. 1** – Effects of Noni extracts on melittin-induced arachidonic acid release in Raw 264.7 cells. The [<sup>3</sup>H]-labeled cells were incubated with Noni extracts for 10 min in 5% CO<sub>2</sub> incubator at 37°C and arachidonic acid release was induced by 0.5  $\mu$ M melittin. Results are means±SD from 4 separate experiments. (C: control; M: melittin 0.5  $\mu$ M). \* significantly different from melittin alone (P<0.05).

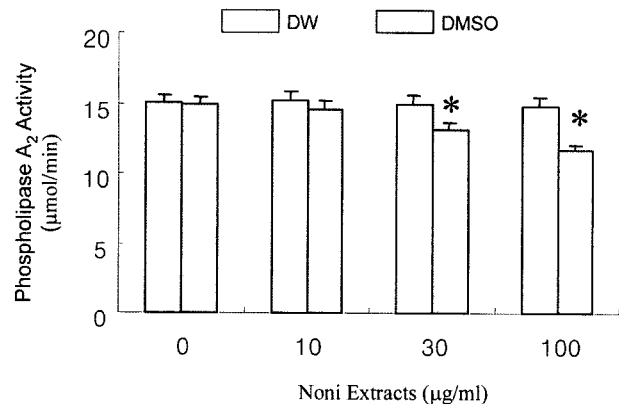
유리에 있어서 노니의 수용성 분획은 별 다른 영향을 주지 않았다. 그러나 지용성 분획은 농도 의존적으로 arachidonic acid 유리를 억제하였다. 노니 추출물에서 항염작용을 일으키는 물질은 지용성 성분이 관여하고 있음을 시사하여 준다. 지금까지 노니 추출물이 COX-2 억제제로서 작용한다는 보고가 있었지만,<sup>13)</sup> arachidonic acid를 유리하는 PLA<sub>2</sub> 억제제로 작용한다는 것은 이 실험에서 처음으로 관찰한 결과이다.

**PLA<sub>2</sub> 활성에 미치는 노니 추출물의 효과**

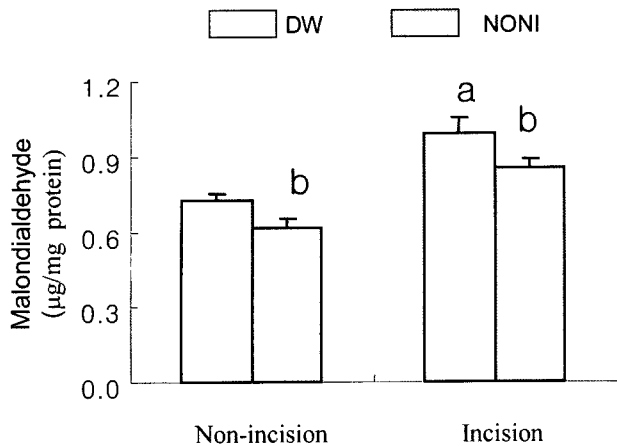
노니 추출물이 arachidonic acid 유리를 억제하는 것이 PLA<sub>2</sub>에 직접 작용하는 지를 확인하기 위하여 Sigma사로부터 구입한 PLA<sub>2</sub>에 노니 추출물을 가하여 PLA<sub>2</sub> 활성 변화를 관찰하였다. Fig. 2에서 보는 바와 같이 arachidonic acid 유리에서와 마찬가지로 노니의 수용성 분획은 별 다른 영향을 주지 않았지만 지용성 분획은 농도 의존적으로 PLA<sub>2</sub> 활성을 억제하였다. 이러한 결과는 노니의 지용성 분획 중에 PLA<sub>2</sub>를 직접 억제하는 물질이 존재하고 있음을 시사하여 준다. PLA<sub>2</sub>는 크게 3가지 형태의 이성체가 존재하는데,<sup>2)</sup> Sigma사로부터 구입한 PLA<sub>2</sub>에 대한 정보가 부족한 상태이기 때문에 어떠한 PLA<sub>2</sub> 이성체를 억제하는 것을 제시하기에는 이 실험 결과만으로는 어려운 상태이다. 그러나 최근 melittin이 Raw 264.7 세포에서 cytosolic PLA<sub>2</sub>의 발현을 증가시키는 보고로 미루어 볼 때 cytosolic PLA<sub>2</sub>에 대한 억제 가능성을 제시할 수 있다.<sup>16)</sup>

**생체내 항염증 효과**

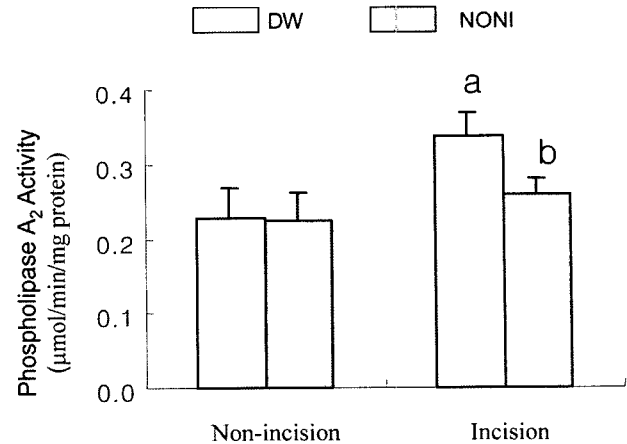
노니의 생체내 항염증 효과를 관찰하기 위하여 증류수를 먹인 생쥐 대조군과 노니를 100 mg/kg로 먹인 시험군으로 나누었다. 대조군과 시험군 모두 오른쪽 등 부위에 상처를 준 부위와 상처



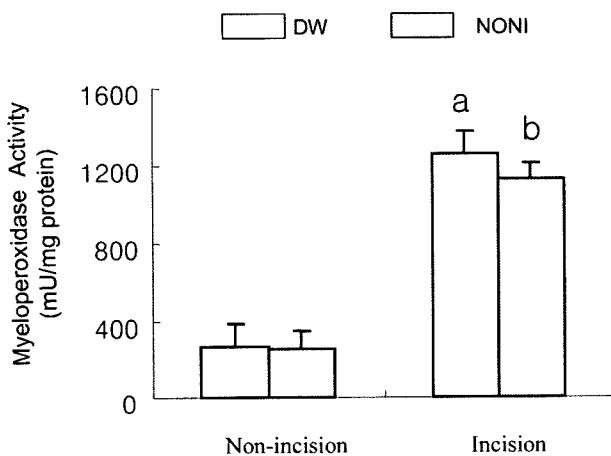
**Fig. 2** – Effects of Noni extracts on purified phospholipase A<sub>2</sub> activity. Purified phospholipase A<sub>2</sub> was incubated with Noni extracts for 10 min and then phospholipase A<sub>2</sub> activity was measured using 10-pyren phosphatidylcholine. Results are means±SD from 3 separate experiments. \* significantly different from control (P<0.05).



**Fig. 3** – Effect of Noni on lipid peroxidation at the edges of the incision wounds in mice. Results are means±SD from 6 mice per group. a: significantly different from non-incision control ( $P<0.05$ ). b: significantly different from DW-fed control ( $P<0.05$ ).



**Fig. 5** – Effect of Noni on phospholipase A<sub>2</sub> activity at the edges of the incision wounds in mice. Results are means±SD from 6 mice per group. a: significantly different from non-incision control ( $P<0.05$ ). b: significantly different from DW-fed control ( $P<0.05$ ).



**Fig. 4** – Effect of Noni on myeloperoxidase activity at the edges of the incision wounds in mice. Results are means±SD from 6 mice per group. a: significantly different from non-incision control ( $P<0.05$ ). b: significantly different from DW-fed control ( $P<0.05$ ).

를 주지 않은 왼쪽 등 부위에서 피부 조직을 절취하여 지질과산화, PLA<sub>2</sub> 활성 및 myeloperoxidase 활성을 측정하였다. 대조군과 시험군 모두에서 상처를 준 피부 조직에서 지질과산화, PLA<sub>2</sub> 활성 및 myeloperoxidase 활성이 모두 유의하게 증가하였다 (Figs. 3~5). 노니 분말을 투여한 시험군에서 상처를 주지 않은 피부조직의 지질과산화물 생성은 대조군에 비해 유의하게 감소하였다. 피부를 절개한 조직에서 노니를 투여한 시험군의 지질과산화, PLA<sub>2</sub> 활성 및 myeloperoxidase 활성은 대조군에 비하여 모두 유의하게 감소하였다. 급성염증시 초기에는 호중구가 주로 관여하며 이후 대식세포가 관여하는데 myeloperoxidase는 주로 호중구와 연관성이 있으며 PLA<sub>2</sub>와 lipid peroxidation은 대식

세포와 밀접한 연관성이 있다.<sup>17)</sup> 흰쥐에서 피부를 절개한 조직 내 myeloperoxidase 활성은 4시간, 12시간, 1일, 3일에 걸쳐 측정된 결과 3일까지 계속 증가하는 양상을 보였다.<sup>18,19)</sup> Myeloperoxidase는 호중구에서 분비되는 효소로 초기 염증 과정에서 호중구의 침윤이 계속 증가하고 있음을 암시하여 준다. 이 실험 결과에서 사용한 염증 지표로 사용한 3가지 인자는 상처를 준 조직에서 모두 상처를 주지 않은 조직에 비해 증가하는 것으로 보아 염증 치료의 지표로서 문제는 없을 것으로 사료된다. 이상의 결과를 종합하여 볼 때 *in vitro* assay와 동물 모델을 이용한 항염증 작용에서 노니의 지용성 성분 중에는 PLA<sub>2</sub>를 직접 억제하여 arachidonic acid 유리를 억제하며, 이러한 기전은 생체내에서 항염증 작용을 나타내는 기전으로 사료된다.

## 결론

노니 추출물이 PLA<sub>2</sub>에 미치는 영향과 생체내 항염증 효과를 관찰하였다. Melittin에 의한 arachidonic acid의 유리에 있어서 노니의 수용성 분획은 별 다른 영향을 주지 않았으나 지용성 분획은 농도 의존적으로 arachidonic acid 유리를 억제하였다. 노니 추출물이 arachidonic acid 유리를 억제하는 것이 PLA<sub>2</sub>를 직접 억제하여 일으키는 지를 확인하기 위하여 정제된 PLA<sub>2</sub>에 노니 추출물을 가하여 PLA<sub>2</sub> 활성 변화를 관찰하였다. arachidonic acid 유리에서와 마찬가지로 노니의 수용성 분획은 별 다른 영향을 주지 않았지만 지용성 분획은 농도 의존적으로 PLA<sub>2</sub> 활성을 억제하였다. 노니의 생체내 항염증 효과를 관찰하기 위하여 증류수를 먹인 생쥐 대조군과 노니를 100 mg/kg로 먹인 시험군으로 나누고 피부 조직을 절취하여 지질과산화, PLA<sub>2</sub> 활성 및 myeloperoxidase 활성을 측정하였다. 대조군과 시험군 모두에서 상처를

준 피부 조직에서 지질과산화, PLA<sub>2</sub> 활성 및 myeloperoxidase 활성이 모두 유의하게 증가하였다. 피부를 절개한 조직에서 노니를 투여한 시험군의 지질과산화, PLA<sub>2</sub> 활성 및 myeloperoxidase 활성은 대조군에 비하여 모두 유의하게 감소하였다. 이상의 결과를 종합하여 볼 때 *in vitro* assay와 동물 모델을 이용한 항염증 작용에서 노니의 지용성 성분 중에는 PLA<sub>2</sub>를 직접 억제하여 arachidonic acid 유리를 억제하며, 이러한 기전은 생체내에서 항염증 작용을 나타내는 기전으로 사료된다.

## 문 헌

- 1) Dentan, C., Lesnik, P., Chapman, M. J. and Ninio, E. : Phagocytic activation induces formation of platelet-activating factor in human monocyte-derived macrophages and in macrophage-derived foam cells. Relevance to the inflammatory reaction in atherogenesis. *Eur. J. Biochem.* **236**, 48 (1996).
- 2) Dennis, E. A. : The growing phospholipase A<sub>2</sub> superfamily of signal transduction enzymes. *Trends Biochem. Sci.* **22**, 1 (1997).
- 3) Lennartz, M. R., Yuen, A. F., Masi, S. M., Russell, D. G., Buttle, K. F. and Smith, J. J. : Phospholipase A<sub>2</sub> inhibition results in sequestration of plasma membrane into electronlucent vesicles during IgG-mediated phagocytosis. *J. Cell Sci.* **110**, 2041 (1997).
- 4) Lennartz, M. R., Lefkowitz, J. B., Bromley, F. A. and Brown, E. J. : Immunoglobulin G-mediated phagocytosis activates a calcium-independent, phosphatidylethanolamine specific phospholipase. *J. Leukoc. Biol.* **54**, 389 (1993).
- 5) Takuma, T. and Ichida, T. : Role of Ca<sup>2+</sup>-independent phospholipase A<sub>2</sub> in exocytosis of amylase from parotid acinar cells. *J. Biochem. (Tokyo)* **121**, 1018 (1997).
- 6) Dana, R., Leto, T. L., Malech, H. L. and Levy, R. : Essential requirement of cytosolic phospholipase A<sub>2</sub> for activation of the phagocyte NADPH oxidase. *J. Biol. Chem.* **273**, 441 (1998).
- 7) Lennartz, M. R. and Brown, E. J. : Arachidonic acid is essential for IgG Fc receptor-mediated phagocytosis by human monocytes. *J. Immunol.* **147**, 621 (1991).
- 8) Balsinde, J., Balboa, M. A. and Dennis, E. A. : Functional coupling between secretory phospholipase A<sub>2</sub> and cyclooxygenase-2 and its regulation by cytosolic group IV phospholipase A<sub>2</sub>. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **95**, 7951 (1998).
- 9) Balsinde, J. and Dennis, E. A. : Distinct roles in signal transduction for each of the phospholipase A<sub>2</sub> enzymes present in P388D1 macrophages. *J. Biol. Chem.* **271**, 6758 (1996).
- 10) Rao, G. N., Runge, M. S. and Alexander, R. W. : Hydrogen peroxide activation of cytosolic phospholipase A<sub>2</sub> in vascular smooth muscle cells. *Biochim. Biophys. Acta* **1265**, 67 (1995).
- 11) Chakraborti, S., Batabyal, S. K. and Chakraborti, T. : Role of hydroxyl radical in the stimulation of arachidonic acid release caused by H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> in pulmonary smooth muscle cells: protective effect of anion channel blocker. *Mol. Cell. Biochem.* **146**, 91 (1995).
- 12) Hirazumi, A. and Furusawa, E. : An immunomodulatory polysaccharide-rich substance from the fruit juice of *Morinda citrifolia* (Noni) with antitumor activity. *Phytother. Res.* **13**, 380 (1999).
- 13) Zhang, L. D., Zhang, Y. L., Xu, S. H., Zhou, G. and Jin, S. B. : Traditional Chinese medicine typing of affective disorders and treatment. *Am. J. Chin. Med.* **22**, 321 (1994).
- 14) Radvanyi, F., Jordan, L., Russo-Marie, F. and Bon, C. : A sensitive and continuous fluorometric assay for phospholipase A<sub>2</sub> using pyren-labeled phospholipids in the presence of serum albumin. *Anal. Biochem.* **177**, 104 (1989).
- 15) Raguene-Nicol, C., Russo-Marie, F., Domage, G., Diab, N., Solito, E., Dray, F., Mace, J. L. and Streichenberger, G. : Anti-inflammatory mechanism of alminoprofen: action on the phospholipid metabolism pathway. *Biochem. Pharmacol.* **57**, 433 (1999).
- 16) Park, H. J., Lee, S. H., Son, D. J., Oh, K. W., Kim, K. H., Song, H. S., Kim, G. J., Oh, G. T., Yoon, D. Y. and Hong, J. T. : Antiarthritic effect of bee venom: inhibition of inflammation mediator generation by suppression of NF- $\kappa$ B through interaction with the p50 subunit. *Arthritis Rheum.* **50**, 3504 (2004).
- 17) Cotran, R. S., Kumar, V. and Collins, T. : Robbins pathologic basis of disease, 6th ed., W. B. Saunders Co., p. 50 (1999).
- 18) Laiho, K. : Myeloperoxidase activity in skin lesions. I. Influence of the loss of blood, depth of excoriations and thickness of the skin. *Int. J. Legal Med.* **111**, 6 (1998).
- 19) Laiho, K. : Myeloperoxidase activity in skin lesions. II. Influence of alcohol and some medicines. *Int. J. Legal Med.* **111**, 10 (1998).