

복분자부리추출물의 지루피부염 치료에의 활용가능성에 관한 연구

중앙대학교 의과대학 피부과학교실, 단국대학교병원 성형외과¹, 대봉엘에스(주)²,
중앙대학교 약학대학³, 유씨엘(주)⁴, 가톨릭대학교 의과대학 피부과학교실⁵

임윤영 · 장우선 · 김형미 · 김민영 · 오상아¹ · 박진오² · 김연태² · 박종호²
천영진³ · 이지원⁴ · 문권기⁴ · 김범준 · 김명남 · 박영민⁵ · 강 훈⁵

= Abstract =

A Study of Potential Application of *Rubus coreanus* Miquel Extract for Seborrheic Dermatitis Treatment

Yun Young Lim, Woo Sun Jang, Hyeong Mi Kim, Min Young Kim, Sang Ah Oh¹, Jin Oh Park²,
Youn Tae Kim², Jong Ho Park², Young Jin Chun³, Ji Won Li⁴, Kwon Ki Moon⁴,
Beom Joon Kim, Myeung Nam Kim, Young Min Park⁵ and Hoon Kang⁵

Department of Dermatology, Chung-Ang University College of Medicine, Seoul,
Department of Plastic and Reconstructive Surgery, Dankook University Hospital, Chungchung¹,
Daebong Life Science, Incheon², College of Pharmacy, Chung-Ang University, Seoul, Korea³,
UCL Incheon⁴, Department of Dermatology Catholic University College of Medicine⁵

Background: Seborrheic dermatitis is chronic relapsing inflammatory skin disorder. Bokbunja (*Rubus coreanus* Miquel) is a wild berry to Rosaceae genus and also known to have an anti-inflammation effect.

Objective: We were to determine the effect of *Rubus coreanus* Miquel extract for seborrheic dermatitis *in vivo* and *in vitro*.

Methods: Seven patients with mild seborrheic dermatitis were enrolled in this study. PCR and culture were performed to identify subtypes of six *Malassezia* species (*M. restricta*, *M. globosa*, *M. furfur*, *M. slooffiae*, *M. sympodialis*, *M. obtusa*). Topical application of *Rubus coreanus* Miquel Extract was applied twice daily for 2 weeks. Clinical improvement and safety assessment were performed initially and 2 weeks later. Minimum inhibitory concentration (MIC) was evaluated on *Malassezia globosa* comparing with ketoconazole and itraconazole. Sebum production was also checked prior the experiment and 2 weeks later.

Results: Five of seven patients showed improvement. No significant adverse effects were found during the clinical trial. Mild dryness was reported in 2 patients but they resolved spontaneously without any treatment. *Rubus coreanus* Miquel Extract didn't show antimicrobial effect to *Malassezia globosa*. However, *Rubus coreanus* Miquel Extract showed anti-inflammatory effect.

Conclusion: In this study, we were verified that *Rubus coreanus* Miquel Extract can be applied for

접수일: 2011년 1월 5일, 수정일: 2011년 1월 10일, 최종승인일: 2011년 1월 11일

†별책 요청 저자: 김범준, 156-755 서울시 동작구 흑석동 224-1, 중앙대학교병원 피부과

전화: (02) 6299-1525, Fax: (02) 823-1049, e-mail: beomjoon@unitel.co.kr

*본 연구는 보건복지부 보건과학기술진흥사업 (A080065)의 지원에 의하여 이루어진 것임.

seborrheic dermatitis treatment. And this action mechanism is not related with antimicrobial effect.

[Kor J Med Mycol 2011; 16(1): 1-8]

Key Words: *Malassezia*, Seborrheic dermatitis, *Rubus coreanus* Miquel

서 론

지루피부염은 피지선의 활동이 증가된 부위, 즉 두피, 안면, 흉골 부위, 액와부, 배꼽, 서혜부 등에 호발하는 매우 흔한 만성 염증성 피부질환으로 임상양상이 다양하고 정도에 차이가 많다¹. 지루피부염은 전 인구의 1~3%를 차지하며 가벼운 건성 비강진까지 포함시킬 경우에는 훨씬 빈도가 증가할 정도로 흔한 질환이다². 지루피부염의 원인 또는 발병기전에 대하여 피지의 과다분비, 환경적 인자, 음식물, 정서적 긴장, 가족적 소인, 세포성 면역기능의 저하 등 다양한 인자들이 관여하는 것으로 알려져 있으며, 근래의 연구들에 의하면 친지성 진균의 일종인 *Malassezia* 효모균이 지루피부염 환자들에서 상대적으로 높은 비율로 분포하며 이 진균이 모낭 내에서 과다한 증식을 일으켜 이 질환의 중요한 유발요인으로 작용한다고 한다^{1,3}.

복분자 (*Rubus coreanus* Miquel)는 장미과에 속하고 우리나라 중부 이남의 산기슭 양지에 자라는 식물로 여러 가지 다양한 생리학적 활성을 가지고 있음이 밝혀지고 있다⁴⁻⁶. 복분자의 생리 활성 물질의 종류로는 sanguin H-4, gallic acid, ellagic acid, quercetin, epicatechin, procyanidin B-4 등이 보고되었다⁵. 이러한 복분자는 현재 식용으로는 청량음료와 다류, 주류, 화장품 원료 등으로 활용되고 있으며, 주요 효능은 면역증강효과, 항산화효과, 항염증효과가 있다고 알려져 있다⁵⁻⁷. 최근에는 복분자추출물이 혐기성 세균들에 대한 항균력도 보고되어 많은 관심을 불러일으키고 있다⁷. 이러한 복분자의 다양한 생리학적 효과를 고려해 보았을 때 지루피부염에도 효과가 있을 것으로 생각되나 아직 지루피부염에 복분자추출물을 사용하여 연구한 보고는 없었다.

본 연구는 복분자의 뿌리추출물이 지루피부염 병변에서 개선효과가 있는지 알아보고, 이러한 효과가 *Malassezia* 효모균에 대한 증식억제효과를 통해 이루어지는지 아님 항염증효과를 통해 이루어지는지에 대하여 확인하였다.

대상 및 방법

1. 지루피부염 환자와 도포방법

20세 이상 50세 이하이면서 다른 내과적 이상이 없고 두피에 병변이 있는 지루피부염 환자 7명 (평균 34세, 남자 4명, 여자 3명)을 대상으로 열수추출한 복분자뿌리추출물을 하루에 두 번씩 총 2주간 도포하였다. 지루피부염의 호전에 대한 평가는 피부과 전문의 1명이 관찰한 개선 정도와 환자의 주관적 만족도를 각각 5단계로 나누어 (-1점: 악화됨, 0점: 변화 없음, 1점: 약간 호전됨, 2점: 호전됨, 3점: 많이 호전됨) 평가하였고, 모발 화학분석 (Folliscope, LeedM, Seoul, Korea)을 시행하여 병변의 상태를 촬영하였고, 조직검사에 동의한 2명에 대해서는 치료 전후로 편치생검을 시행하여 Hematoxylin & Eosin 염색을 통해 염증세포의 침윤 등을 비롯한 조직분석을 시행하였다. 그리고 치료 도중 부작용이나 이상반응이 있었는지를 기록하였다.

2. 피지분비량 측정 및 이상반응관찰

지루피부염이 관찰되는 두피병변부에서 Sebumeter (MPA5, Courage-Khazaha, Köln, Germany)를 치료 전과 치료시작 후 2주되는 시점에 측정하였다.

3. 환자 두피에서 말라세지아 효모균의 검출과 동정방법

환자의 두피에서 면봉으로 Swab 채취법을 이

용하여 *Malassezia* 효모균을 채취한 후 Leeming과 Notman (LNA) 배지를 이용하여 배양하였다. 배지는 증류수에 0.05% w/v glycerol monoesterate (Wako Pure Chemical Industries, Ltd., Japan), 1% w/v peptone (Duchefa Biochemie B.V., Netherlands), 0.5% w/v glucose (Sigma-Aldrich, Japan), 0.01% w/v yeast extract (Duchefa Biochemie B.V., Netherlands), 0.4% ox bile (Merck, Germany), 1.5% w/v agar (BD Bioscience, U.S.A.), 0.05% v/v Tween 60 (Sigma-Aldrich, Japan), 0.1% v/v glycerol (MP Biomedicals, U.S.A)을 넣고 잘 녹인 후, 121°C에서 20분간 멸균 소독하였으며, 멸균 후, chloramphenicol (Sigma-Aldrich, Japan) 50 mg/L을 첨가하였다. 잘 혼합한 후, petri dish에 분주하고 사용 시까지 냉장 보관하였다.

환자로부터 채취한 임상분리균주를 배지에 접종한 후, 32°C에서 2주간 배양하였다. 균주의 동정은 *Malassezia* Multiplex detection kit (씨젠, 한국)를 이용하여 multiplexing PCR로 시행하였다. PCR 조성은 total 20 µl으로 5× primer, 2× master mix, *Malassezia*에서 얻은 nucleic acid이다. 반응 조건은 pre-denaturation 단계 94°C에서 15분, denaturation 단계 94°C에서 30초, annealing 단계 68°C에서 1분, 72°C에서 40초간 extension을 40회 반복하였고 마지막 extension은 72°C에서 10분간 시행하였다. 증폭된 PCR product는 TAE buffer 상에서 1% agarose gel에 전기영동한 후, ethidium bromide로 염색하여 UV transilluminator로 확인하였다. 증폭된 PCR product 길이는 internal control (899 bp), *M. obtuse* (725 bp), *M. furfur* (632 bp), *M. sympodialis* (500 bp), *M. slooffiae* (360 bp), *M. restricta* (300 bp), *M. globosa* (195 bp)이다.

4. MIC 측정방법 및 항균력 측정방법

1) 실험의 준비

분자뿌리추출물의 비듬균에 대한 상대적인 항균력을 비교 측정하기 위하여 비듬치료제인 itraconazol과 ketoconazol은 SIGMA 社 (St. Louis, U.S.A.)에서 구입하였다.

SW-029 배양기 (삼우과학, Korea)를 이용하여 disc diffusion법에 이용된 배지를 33.0±0.3°C에서 약 48 hour 동안 배양하였다. 또한 통성혐기성 성질의 종균을 배양하기 위하여 실험에 사용된 멸균 petri dish (87×15 mm)와 test tube (10 ml)는 바깥 경계부분을 para film (Whatman 社)으로 실링하여 배양하였다.

2) 최소저해농도 (MIC: minimum inhibitory concentration)

최소저해농도는 UV spectrophotometer로 측정하였다. 즉 분자뿌리추출물과 itraconazol, ketoconazole 용액을 농도 별로 각각 조절한 broth에 균주를 100 µl씩 접종시킨 후 각 균주배양 조건에 따라 incubator에 활성화 시킨 시험균의 배양액을 배양하여 UV spectrophotometer 630 nm에서 증식이 관찰되지 않은 농도로 결정하였다.

3) Disc diffusion^{1,4,5)}법을 이용한 항균력 시험

멸균된 petri dish (87×15 mm)를 이용하여 각 균주의 배양용으로 제조된 평판배지에 각각의 균주를 100 µl씩 도말하고, 정 중앙에 멸균된 paper disc (8 mm, Whatman 社)를 균등한 위치에 올려놓은 다음, 복분자뿌리추출물, 0.1 mg/ml-itraconazol과 0.1 mg/ml-ketoconazole 용액을 각각 40 µl/ml를 분주하여 사용하였으며, 이를 incubator에서 48 hour 배양하여 paper disc 주위의 저해환 (mm)의 크기로 항균력을 측정하였다. 실험의 공정성을 위하여 3회 실시하였다.

5. 항염증 효능의 평가

Dulbecco's modified eagle's medium (DMEM)은 웰진에서 구입하였고, fetal bovine serum (FBS), 페니실린, 스트렙토마이신은 GibcoBRL (Eggenstein, Germany)에서 구입하였다. *E. coil* lipopolysaccharide (LPS), 3-(4,5-Dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyl tetrazolium bromide (MTT), Griess 시약, 아질산나트륨, DMSO는 Sigma Chemical Co. (St. Louis, MO, USA)에서 구입하였다.

RAW 264.7 cell은 페니실린/스트렙토마이신 100 unit/ml과 10% FBS이 함유된 DMEM 배지를 사

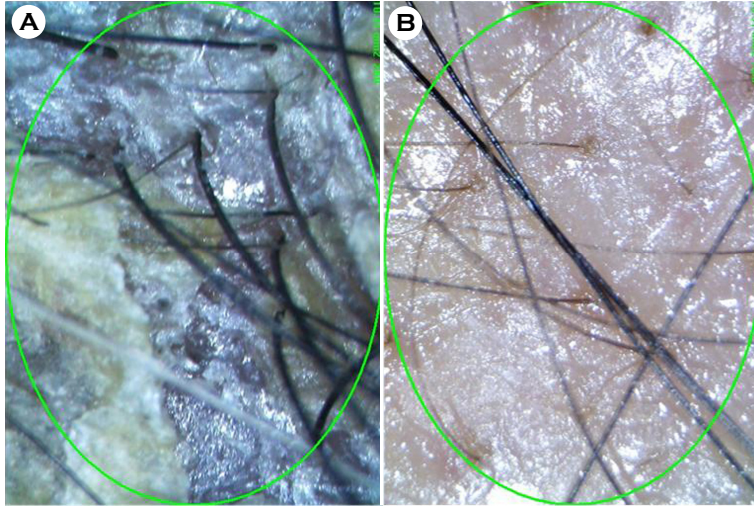


Fig. 1. Magnified view by Folliscope presented improvement of seborrheic dermatitis lesion. Compared with condition before treatment (A), application of *Rubus coreanus* Miquel extract presented marked improvement (B). Wet scales and erythema disappeared (B).

용하여 37°C, 5% CO₂ 배양기에서 배양하였으며, 3일에 한 번씩 계대 배양을 시행하였다. Raw 264.7 cell을 12 well plate에 각각 분주하였다. 그리고 serum free 배지로 교환한 후, LPS 100 ng/ml 과 IFN- γ 10 ng/ml를 처리하고, 복분자뿌리추출물 (840 mg/ml)을 각각 원액을 포함한 1/10 희석액 (84.0 mg/ml)과 1/2 희석액 (420 mg/ml)으로 처리하여 24시간 동안 배양한 후 nitric oxide (NO)의 저해능을 측정하였다. 96 well 플레이트에 세포 배양 상등액과 Griess 시약을 1:1로 혼합하여 넣고 상온에서 5분 동안 반응시킨 후 ELISA 효소 면역반응 측정기 (SoftMax Pro5, Molecular Devices, USA)를 이용하여 540 nm에서 흡광도를 측정하였다.

6. Raw 264.7 cell에서 복분자뿌리추출물에 의한 세포독성 평가

2가지의 복분자뿌리추출물의 세포에 대한 독성 확인은 MTT가 미토콘드리아에 있는 환원제에 의해 환원되어 formazan 결정체를 형성되는 것을 이용하여 분석하였다⁸. 복분자뿌리추출물 (840 mg/ml)을 농도 별로 처리하고 세포 배양 24시간이 지난 후 5 mg/ml 농도의 MTT 시약을 넣고 4시간 동안 배양하였다. 배양 후 상등액을 제거하고 DMSO를 넣어 formazan 결정체를 용해하

였다. ELISA 효소면역반응 측정기 (SoftMax Pro5, Molecular Devices, USA)를 이용하여 570 nm에서 흡광도를 측정하였다. 세포 생존율은 아무 것도 처리하지 않은 대조군, LPS와 IFN- γ 을 처리한 대조군과 비교하여 표시하였다.

7. 통계적 검증

모든 실험은 3회 이상 반복으로 이루어졌으며, Student's *t*-test를 시행하여 $p < 0.05$ 미만의 경우 유의성이 있는 것으로 판단하였다.

결 과

1. 임상적 개선 및 피지분비량의 변화

피부과 전문의가 평가한 개선 정도는 7명 중 1명은 3점, 3명은 2점, 1명은 1점, 2명은 0점 이었고, 환자 각각의 주관적 평가에서는 7명 중 1명이 3점, 4명이 2점, 2명이 0점으로 평가되었다. 시행한 모발화상분석에서 보아도 많이 호전된 것을 관찰할 수 있었다 (Fig. 1). H&E 염색을 이용한 두피조직검사 (Fig. 2)에서도 모낭 주변의 진피조직에 침윤된 림프구가 현저하게 감소함을 확인하고 과각화증이 개선되는 효과가 관찰되었다. 복분자뿌리추출물을 사용하는 기간 중에 중대한 부작용은 발생하지 않았으나 2명의 자원자

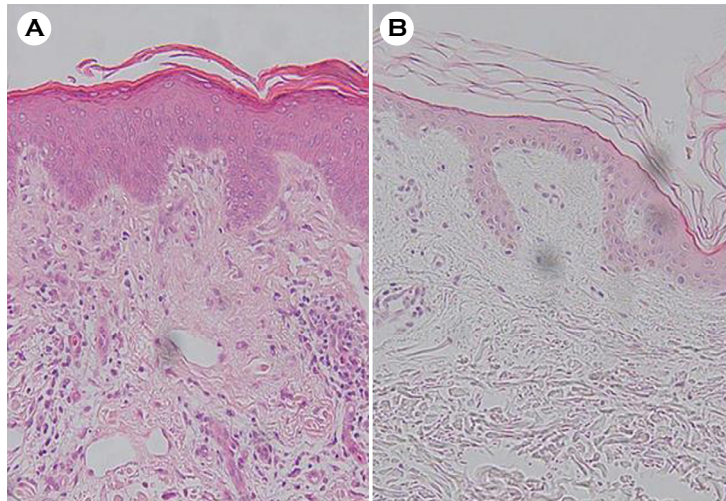


Fig. 2. (A) Hematoxylin & Eosin stain of scalp skin biopsy sample showed marked lymphocytic infiltration in prior treatment ($\times 200$). (B) After 2 weeks application of *Rubus coreanus* Miquel extract, there were little inflammatory cell infiltration in the dermis and normalization of parakeratosis in the epidermis ($\times 200$).

Table 1. Minimum inhibitory concentrations of itraconazole, ketoconazole and *Rubus coreanus* Miquel extract on bacteria

Strains	Concentrations				Drug
	10 $\mu\text{g/ml}$	1.0 $\mu\text{g/ml}$	0.1 $\mu\text{g/ml}$	0.01 $\mu\text{g/ml}$	
	+	+	-	-	Itraconazole
<i>Malassezia globosa</i> CBS 7966	+	+	-	-	ketoconazole
	-	-	-	-	RCE

RCE: *Rubus coreanus* Miquel extract

에서 약간의 피부건조증을 호소하였다. 그러나 이들은 특별한 치료 없이 자연적으로 호전되었다. Sebumeter를 이용한 피지분비량의 변화는 치료 전에 평균 $76.2 \mu\text{g/cm}^2$ 에서 $61.7 \mu\text{g/cm}^2$ 로 현저하게 감소함을 확인하였다 ($p < 0.05$). 이러한 피지분비량의 감소는 정도의 차이는 있었으나 모든 자원자에서 관찰되었다.

2. 환자에서 채취한 *Malassezia* 균주의 동정결과

7명의 환자에서 *Malassezia* 효모균을 동정해 본 결과 4명은 *M. restricta*, 3명은 *M. globosa*로 확인되었다.

3. 항균력 측정결과

1) 최소저해농도

복분자뿌리추출물을 농도 별로 첨가한 broth에 배양한 결과, *Malassezia globosa*는 최소저해농도

를 나타내지 않았으며, itraconazole과 ketoconazole을 농도 별로 첨가한 broth에 배양한 결과 각각 1.0 $\mu\text{g/ml}$ 이상에서 최소저해농도를 나타내었다 (Table 1).

2) Disc diffusion법을 이용한 항균력 시험

복분자뿌리추출물의 경우 *Malassezia globosa*에 항균력이 없는 것으로 나타내었으며, 비듬치료제로 사용하고 있는 itraconazole과 ketoconazole은 각각 $5.6 \pm 0.2 \text{ mm}$, $14.3 \pm 0.3 \text{ mm}$ 크기의 저해환을 만들어 우수한 항균력을 나타내었다 (Table 2, Fig. 3).

4. 복분자뿌리추출물의 Raw 264.7 cell에 대한 세포독성

Raw 264.7 cell에 복분자뿌리추출물과 LPS와 IFN- γ 을 동시에 처리하여 24시간 동안 배양하고, MTT assay를 이용하여 세포독성을 확인한 결과,

Table 2. Antimicrobial activities of *Rubus coreanus* Miquel extract, 0.1 mg/ml Itraconazole and 0.1 mg/ml ketoconazole

Sample/Strain	RCE (mm)	Itraconazole (mm)	Ketoconazole (mm)
<i>Malassezia globosa</i> CBS 7966	ND	5.6±0.2	14.3±0.3

RCE: *Rubus coreanus* root extract, ND: No diffuse

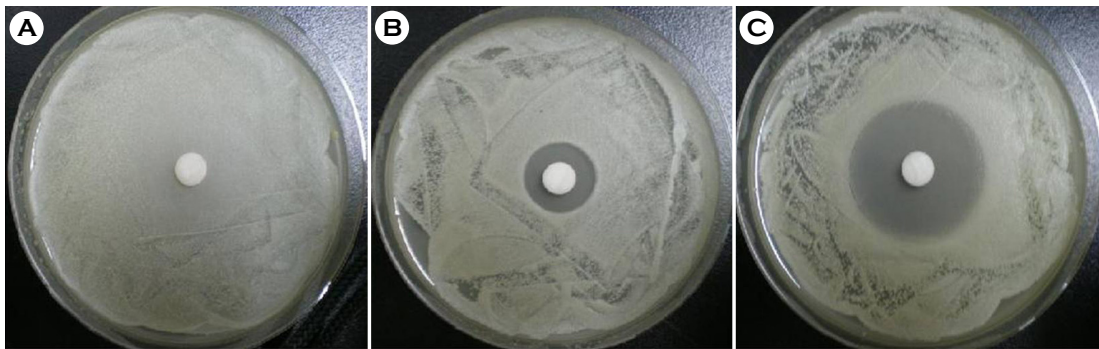


Figure 3. The inhibition of *Malassezia globosa* for (A) *Rubus coreanus* Miquel extract, (B) Itraconazole and (C) Ketoconazole.

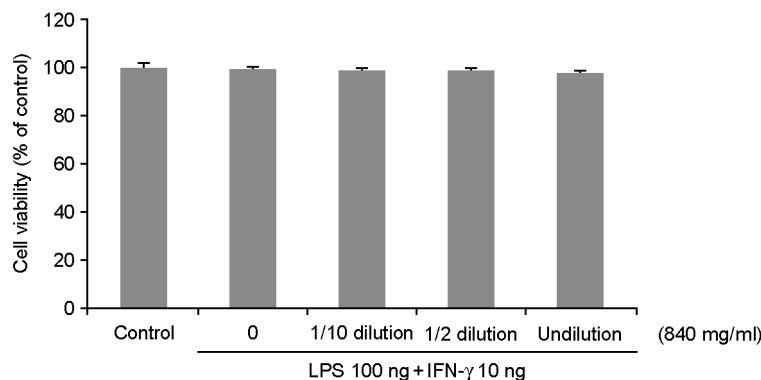


Fig. 4. The cell viability by extract of *Rubus coreanus* Miquel extract (840 mg/ml) on LPS and INF- γ -induced macrophage Raw 264.7 cells.

세포독성이 없는 것으로 확인되었다 (Fig. 4).

5. 복분자뿌리추출물의 nitric oxide (NO) 생성 저해효과

Raw 264.7 cell에서의 생성된 NO의 측정은 LPS에 의해 활성화된 Raw 264.7 cell에서 분비되어 배양배지 중에 존재하는 nitrite를 Griess 시약을 사용하여 측정하였다. 복분자뿌리추출물은 농도의존적으로 NO 생성을 저해하였으며 840 mg/ml 원액에서는 NO 생성을 90% 정도 저해하였다 (Fig. 5).

고 찰

복분자는 장미과에 속하는 낙엽 활엽성 관목으로 원산지는 중국이며, 일본, 미국, 유럽에 널리 퍼져있고 우리나라의 제주도를 비롯한 남부지방, 중부지방의 해발 50~1,000 m 지역의 산기슭 양지에서 자생한다. 복분자는 5~6월에 열매가 성숙되며, 핵과는 둥글고 붉은색으로 익지만 나중에는 흑색으로 완숙된다⁴. 한방 및 민간에서는 이미 식용 및 약용 등으로 널리 사용되고 있다⁶.

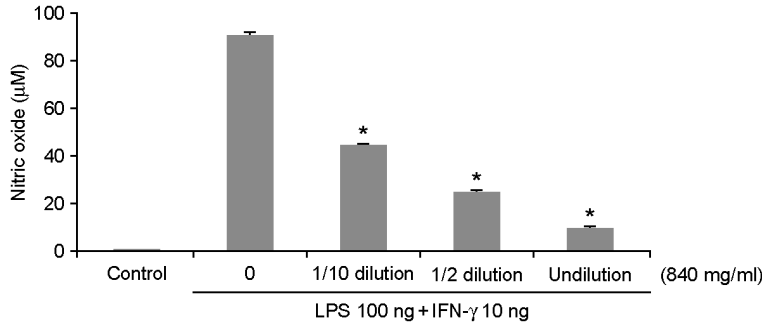


Fig. 5. The inhibitory effect of NO production by each extract of *Rubus coreanus* Miquel extract on LPS and INF- γ -induced Raw 264.7 cells.

이러한 복분자의 효능에 대해서는 Lee TY 등¹⁰이 연구한 바에 따르면 동물 실험에서 macrophage로부터 nitric oxide의 생성 및 phagocytic activity를 억제하였고, TNF- α 의 생성을 증가시켜 비특이적 면역반응을 조절한다고 보고하였다. 또 Won KS 등¹¹은 특이적 면역반응에 미치는 영향으로서, 복분자추출물을 생쥐에 경구 투여하였을 때, thymocytes에 직접 작용하여 세포 생존율을 감소시켰으며, splenocytes에 직접 작용하여 세포 생존율을 증가시켰다. 이 추출물은 thymocytes의 CD4 및 CD8 cell의 population을 증가시켰으며, B220+ 및 Th1 cell의 population을 감소시키고, splenic T cell 중 CD4 cell의 population을 감소시켰다. 따라서 복분자추출물이 면역반응을 조절하여 면역억제 작용이 있음이 동물 실험으로 확인되었다.

복분자추출물은 또한 항산화효과도 있다고 알려져 있다. Kim KH 등¹²이 연구한 바에 의하면 복분자에서 추출한 5종의 탄닌화합물이 강력한 항산화제이며 지질과산화 억제제로 작용함을 알 수 있었다고 보고하였다. 또한 복분자에 추출한 페놀성분의 화합물 역시 항산화효과를 보인다는 연구도 있었다¹³.

지루피부염은 만성 염증성 피부질환이며 진균인 *Malassezia* 효모균이 발생 및 경과에 연관되어 있다고 알려져 있어 치료를 위해서 국소 스테로이드 제제 및 calcineurin 억제제 그리고 항진균제 등이 쓰이고 있다¹⁴. 최근 복분자를 포함한 홍삼, 삼백초, 상백피 등 여러 가지 식물 추출물을 이용하여 여러 염증성 피부질환에 치료효과

가 있는지에 대한 연구들이 진행되고 있다^{15,16}. Kim DH 등⁷이 보고한 연구에 의하면 복분자추출물이 여드름 병변에 효과를 보였으며 여드름 병변에 효과를 보이는 이유는 항염작용과 항산화작용, 항균작용에 의한 것으로 생각된다고 밝혔다. 이러한 연구 결과에 바탕하여 본 연구에서는 지루피부염에 복분자추출물이 효과가 있는지를 연구하였고, 임상 실험결과 전문의 평가와 환자주관적 만족도에서 7명 중 5명이 임상적으로 호전양상을 보였으며, 모발화상분석과 조직검사에서 호전양상을 보이는 것을 관찰할 수 있었다. 임상결과를 바탕으로 복분자추출물이 지루피부염에 효과를 보인 원인을 밝히기 위한 연구도 시행하였는데, 먼저 지루피부염의 원인인자 중 하나인 *Malassezia* 효모균에 항균력이 있는지를 확인하였다. 실험결과 복분자추출물은 *Malassezia* 효모균에 항균력을 보이지 않았으며, 따라서 복분자추출물이 지루피부염에 효과를 보인 것은 *Malassezia* 효모균에 대한 항균작용이 아니라는 것을 확인할 수 있었다. 추가적으로 복분자추출물이 항염증작용이 있는지를 확인하기 위해 Raw 264.7 cell에서 NO 생성을 억제하는지를 확인한 결과 복분자추출물의 농도가 증가함에 따라 NO 생성을 더 많이 억제하는 것을 확인할 수 있었다. 따라서 복분자추출물이 지루피부염에 임상적으로 효과를 보인 이유는 항균효과보다는 항염증효과에 의한 것이라는 것을 확인할 수 있었다.

지루피부염은 만성 경과를 취하는 질환으로 장기간 사용시 부작용이 예상되는 국소 스테로이드 제제 외의 다른 치료제의 개발이 요구되는

질환이다. 본 연구를 통해 지루피부염에 복분자 추출물이 항염증효과를 통하여 효과를 보이는 것을 확인할 수 있었으며, 따라서 항진균제나 calcineurin 억제제 외에 천연물질인 복분자추출물도 지루피부염의 치료시 선택할 수 있는 하나의 치료 제제로의 가능성을 볼 수 있었다. 하지만 본 연구는 임상적으로는 너무 적은 수의 환자에게만 적용해 보았고 경과 관찰기간도 2주 밖에 되지 않는 한계점이 있다. 따라서 복분자추출물이 지루피부염에 치료효과가 어느 정도 입증되기 위해서는 추가적인 대규모 임상연구가 필요할 것으로 생각된다.

REFERENCES

1. Korean dermatological association textbook editing board. Dermatology. 5th edition. Seoul: Ryo Moon Gak. 2008:185-187
2. Paek SH, Chung SL, Kim DW, Jung HJ, Choi SK. Clinical investigation and distribution of *Pityrosporum* in patients with seborrheic dermatitis of the scalp. Korean J Dermatol 1997;35:22-32
3. Kim SJ, Won YH, Chun IK. Clinical effect of topical ketoconazole in seborrheic dermatitis of scalp. Korean J Dermatol 1992;30:625-632
4. Bae GH. The medicinal plants of Korea. Kyohak Publishing Co., Ktd. Seoul, Korea. p. 231
5. Yang HM, Lim SS, Lee YS, Shin HK, Oh YS, Kim JK. Comparison of the anti-inflammatory effects of the extracts from *Rubus coreanus* and *Rubus occidentalis*. Korean Journal of Food Science and Technology 2007;39:342-347
6. Kwon KH, Cha WS, Kim DC, Shin HJ. A research and application of active ingredients in Bokbunja (*Rubus coreanus* Miquel). Korean J Biotechnol Bioeng 2006;21:405-409
7. Kim DH, Kang SW, Kim BJ. Treatment for Two Cases of Acne vulgaris with *Rubus coreanus* Miquel Extract. Kor J Med Mycol 2010;15:140-145
8. Mosmann T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays. J Immunol Methods 1983;65:55-63
9. Malassez L. Note la champignon del la pilage. Arch physil Norm Pathol 1874;1:203-210
10. Lee TY, Kim DK, So JN, Song JM, Eun JS. Effect of unripend fruits and ripend fruits of *Rubus coreanus* Miquel on murine peritoneal macrophages. Korean J Oriental Physiol Pathol 2003;17:991-995
11. Won Ks, Lee TW, Eun JS, Song JM. Effect of *Rubus coreanus* Miquel on the specific immune response in mice. Korean J Oriental Physiol Pathol 2003;17:656-661
12. Kim KH, Lee YA, Kim JS, Lee DI, Choi YW, Kim HH, et al. Antioxidative activity of tannins from *Rubus coreanum*. Yakhak Hoeji 2000;44:354-357
13. Lee JW, Do JH. Determination of total phenolic compounds from the fruit of *Rubus coreanum* and antioxidative activity. J Korean Soc Food Scr Nutr 2000;29:943-947
14. Elewski BE. Safe and effective treatment of seborrheic dermatitis. Cutis 2009;83:333-338
15. Jeon OD, Seo HS. The effects of Houttuyniae herba extract on the activity of anti-bacteria, anti-inflammation and anti-oxidation. Korean Institute of Herbal Acupuncture 2008;11:119-125
16. Yoo JY, Park SH, Hwang IA, Jo SJ, Huh CH, Youn SW, et al. A clinical study on the effect of a cream containing Ramulus mori extract and Tea tree oil on acne vulgaris and aerobic skin flora. Korean J Dermatol 2003;41:1136-1141