

제주 자생 감국 꽃 추출물 유래 flavonoid 화합물의 항산화 및 항염 활성

¹현주미* · ¹조연정 · ²김윤범 · ²박성민 · ³윤경섭 · ^{1,3}이남호†

¹(사)제주산학융합원 연구개발팀, ²(주)뉴메디온 제주천연물자원화연구소, ³제주대학교 화학·코스메틱스학과
(2019년 11월 28일 접수: 2019년 12월 27일 수정: 2019년 12월 28일 채택)

Anti-inflammatory and Anti-oxidative Activities of Flavonoids Extracted from *Dendranthema indicum* Flowers in Jeju Island

¹Ju Mi Hyun · ¹Yeon Jeong Jo · ²Yun Beom Kim · ²Sung-Min Park
³Kyung-Sup Yoon · ^{1,3}Nam Ho Lee†

¹R&D Team, Jeju Industry-University Convergence Center, Korea

²NewMedion Co., Ltd, Korea

³Department of Chemistry and Cosmetics, Jeju National University, Korea

(Received November 28, 2019; Revised December 27, 2019; Accepted December 28, 2019)

요약 : 본 연구에서는 감국 꽃 추출물의 항산화 및 항염활성을 검색하고 유효성분을 분리하여 화학구조를 규명하였다. 감국 꽃 에탄올 추출물의 DPPH 및 ABTS⁺ 라디칼 소거 활성을 측정한 결과 우수한 라디칼 소거 활성이 있음을 확인하였다. 또한 LPS로 유도된 RAW264.7 대식세포에서 세포독성 없이 우수한 nitric oxide (NO) 저해 활성을 나타내었다. 감국 꽃 에탄올 추출물의 유효성분을 찾고자 medium pressure liquid chromatography (MPLC)를 실시하여 2개의 화합물을 분리하였으며 ¹H 및 ¹³C NMR 데이터 분석 및 문헌 비교를 통하여 화학구조를 동정하였다; Cynaroside (1), Apigetrin (2). 분리된 화합물을 HPLC를 통하여 정량분석을 수행하였으며 감국 꽃 추출물의 주요 성분으로 확인되었다. 화합물 1, 2의 항염활성을 확인한 결과 모두 농도의존적으로 우수한 NO 저해활성을 나타내었다. 이러한 연구 결과를 바탕으로 감국 꽃 추출물은 천연 항산화 및 항염 소재로써 활용 가능할 것으로 사료된다.

주제어 : 감국, 플라보노이드, 천연물, 항산화, 항염

Abstract : Anti-inflammatory and anti-oxidative activities were examined on the extract of *Dendranthema indicum* (*D. indicum*) flowers. The flowers were extracted two times for 24 h each with 70% ethanol. Upon the biological activities screening, the ethanol extract exhibited potent free radical scavenging activities and inhibited the production of nitric oxide on LPS-induced RAW264.7 macrophages effectively without causing cell toxicity. Further purification by medium pressure liquid

†Corresponding author
(E-mail: namho@jejunu.ac.kr)

chromatography (MPLC) and identification of the isolates led to identification of cynaroside (1) and apigetrin (2). The chemical structures of the isolated compounds were elucidated based on spectroscopic data including nuclear magnetic resonance (NMR) spectra, as well as comparison of the data to the literature values. Also, the quantitative analysis of the compounds was performed by high-performance liquid chromatography (HPLC). The isolates 1 and 2 were determined to inhibit the nitric oxide (NO) production dose-dependently. Based on these results, it was suggested that *D. indicum* extract could be useful as anti-inflammatory agents in cosmetics applications.

Keywords : *Dendranthema indicum*, *Flavonoid*, *Natural product*, *Antioxidant*, *Anti-inflammation*

1. 서론

염증은 우리 인체에 가장 흔히 발생하는 질환으로써, 염증반응은 생체나 조직에 물질적 작용 또는 화학물질, 세균 감염 등에 대한 생체 조직의 방어 반응 중 하나이며, 그 손상 부위를 수복하거나 재생하려는 기전이다[1,2]. 염증 반응에 관여하는 주요 세포는 macrophage로 알려져 있으며, 여러 자극이나 면역 세포들이 분비하는 사이토카인에 의해 활성화되어 염증 매개 물질들인 nitric oxide (NO), prostaglandin E₂ (PGE₂), proinflammatory cytokine을 생성함으로써 통증, 부종, 열 등의 염증 반응을 유발시키고 염증부위로 면역세포의 이동을 촉진시킨다[3,4]. 면역력에 결함이 생겨 면역 반응이 충분하게 일어나지 않으면 감염을 유도할 수 있는 반면 면역을 위한 염증 반응이 과도하게 일어나면 만성 질환을 일으키게 된다. 대식세포(macrophage)는 면역과 염증반응에서 주요 역할을 하고 면역 반응시에는 감염 초기에 생체 방어를 위해서 여러 사이토카인과 산화질소 등을 생산한다.

감국(*Dendranthema indicum*)은 국화과(Compositae)에 속하는 다년생 초본으로 꽃잎이 황색이고 6~10월경 개화되며 크기가 1.5 cm 내외인 꽃봉우리가 줄기의 끝부분에 밀집되어 있다[5]. 감국의 일반적 효능은 해열, 소염, 혈압 저하 작용, 두통해소 등이며 결핵균 및 바이러스에 대한 억제효과 등의 약효도 알려져 있다[6-8]. 이에 많은 사람들이 감국을 술을 빚어 마시거나 건강차로 이용할 뿐만 아니라 식품 첨가제로도 다양하게 애용되고 있다[9-10]. 약재로써의 감국은 9~10월 경에 꽃이 만발할 때 채취하며 음지에서 건조시키거나 훈증시켜 건조한 것을 사용하며, 특유의 향기가 있고 맛은 조금 달며 쓰다. 감국의

성분은 apigenin, luteolin, acacetin, lactone, essential oil, sesquiterpene 그리고 알킬배당체 등으로 다양한 기능성 성분에 대한 연구가 이루어지고 있다[11,12].

감국에 관한 연구는 식품학적인 측면에서 감국 첨가에 의한 감국 설기의 호화 및 노화도 그리고 품질 특성과 기호도에 관한 연구[13], 전통주 제조의 고품질화를 위한 국화꽃잎의 최적 추출조건에 관한 연구[14], 지방 축적 억제효과[15], 위염[16], 통풍억제 효과[17] 등이 보고되어 있다. 또한 감국의 항산화 활성에 관한 연구[18-20]가 수행된 바가 있으나 화장품 소재와 관련된 연구는 아직 부족한 실정이다. 최근 건강한 아름다움을 추구하고자 하는 욕구는 사회 전반에 걸쳐 매우 팽대되고 있고 이러한 사회적 여건의 조성은 특히 화장품 산업의 발전에 급속하게 확대되고 있다. 또한 소비자의 의식수준이 높아지면서 적은 양으로도 높은 기능을 가지는 생리활성 천연물의 발굴에 많은 관심이 집중되고 있으며 피부친화적이고 안전한 식물추출물을 대상으로 화장품 소재의 기능성을 확인하는 연구가 활발하게 진행되고 있다.[21] 따라서 본 연구에서는 제주에서 자생하는 감국을 추출하고, 추출물 및 유효성분에 대한 항산화 및 염증억제 활성을 조사한 후 화장품소재로써 적용 가능성을 검토하였다.

2. 실험

2.1. 시약 및 기기

시료의 추출, 용매 분획 및 활성 성분 분리에 사용된 용매들은 Merck, OCI 및 대정화금의 제품을 사용하였다. MPLC (SP, Biotage Co.)에는 역상 silica gel (KP-C18-HS, 40+M, Biotage

Co.) 컬럼을 사용하였다. 구조분석을 위한 NMR은 JNM-ECX 400 (FT-NMR system, JEOL, Japan)을 이용하였으며 NMR 측정 용매는 CIL사의 NMR 전용 용매를 사용하였다. 대식세포의 염증유도에 사용된 lipopolysaccharide (LPS, E. coli serotype 0111:B4)는 Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, USA)로부터 구입하여 사용하였다.

2.2. 추출물 제조

실험에 사용된 감국은 제주시 한경면 두모리에서 2018년 10월에 채집하였다. 채집한 시료는 건조 후 분쇄하여 사용하였으며 시료 10.0 g을 70% 에탄올을 200 mL에 넣고 실온에서 24 h 동안 침출시켰다. 침출시킨 시료를 감압 흡입여과기를 이용하여 여액만 취하였으며, 이와 같은 방법으로 분리한 잔사에 대하여 동일한 조건으로 1회 더 반복 실시하였다. 여과하여 얻어진 여액은 40 °C 수욕상에서 감압 농축하여 사용하였다.

2.3. DPPH 라디칼 소거 활성

2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) 라디칼 소거 활성 실험은 Blois 등의 방법[21]을 응용하였고 96-well plate에 각 시료 용액 20 μ L와 0.2 mM DPPH 라디칼 용액 180 μ L를 혼합하여 상온에서 20분 간 반응시킨 후 515 nm에서 흡광도를 측정하였다. 각 시료의 라디칼 소거율이 50%일 때의 농도(SC₅₀)를 계산하였다.

2.4. ABTS⁺ 라디칼 소거 활성

2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) (ABTS) 양이온 라디칼 소거 활성 실험은 Re 등의 방법[22]을 응용하였고 7.0 mM ABTS와 2.45 mM potassium persulfate를 혼합하여 상온, 암소에서 16 h동안 반응시켜 ABTS⁺ 라디칼을 형성시켰다. 이 용액은 700 nm에서 흡광도가 0.78 \pm 0.02가 되도록 에탄올로 희석하여 실험에 사용하였다. 96-well plate에 각 시료 용액 20 μ L와 ABTS⁺ 라디칼 용액 180 μ L를 혼합하여 상온, 암소에서 20분 간 반응시킨 후 700 nm에서 흡광도를 측정하였다. 각 시료의 라디칼 소거율이 50%일 때의 농도(SC₅₀)를 계산하였다.

2.5. 세포 배양

염증 활성 실험에 사용된 murine macrophage RAW264.7은 1% penicillin-streptomycin과

10% fetal bovine serum (FBS)이 함유된 DMEM (Gibco, USA) 배지를 사용하여 37°C, 5% CO₂ 항온기에서 배양하였으며, 2-3일 간격으로 계대배양을 시행하였다.

2.6. 세포독성 측정(WST-1 assay)

RAW264.7 세포를 24 well plate에 1.5 \times 10⁵ cells/mL로 18시간 전 배양 후 시료를 여러 농도 별로 처리하여 24-48시간 동안 배양하였다. 배양된 세포에 WST-1 (EZ-CyTox, DOGEN, Korea) 시약을 10%(v/v)를 첨가하고 30분 후 440 nm에서 흡광도를 측정하였다.

2.7. 항염증 효과 측정

24 well plate에 RAW264.7 세포를 1.5 \times 10⁵ cells/mL로 18시간 전 배양 후, 염증 유도 인자인 LPS를 0.1 μ g/mL와 시료를 농도별로 처리하여 24시간 동안 배양하였다. 생성된 NO의 양은 griess reagent (Sigma, USA)를 이용하여 세포 배양액 중에 존재하는 NO₂⁻ 형태로 측정하였다. 세포배양 상등액 100 μ L와 griess reagent 100 μ L를 혼합하여 96 well plate에서 10분 동안 반응시킨 후 540 nm에서 흡광도를 측정하였다[7].

2.8. HPLC 함량 분석

감국 꽃 추출물의 주요 성분 함량을 분석하기 위해 HPLC 분석을 실시하였다. 분석에 사용된 HPLC는 e2695 Separations module (Waters, USA)을 사용하였으며, 이동상에 사용된 용매는 Merck의 HPLC grade를 사용하였다. HPLC 분석은 Waters 2998 PDA detector, Waters e2695 Separations module을 사용하였으며, 분석 column은 Kromasil C₁₈ (4.6 \times 250 mm, 5 μ m), 유속은 0.6 mL/min으로 유지하였고, 검출기 파장은 260 nm이며, 0.1% acetic acid와 acetonitrile 용액을 사용하여 기울기 용리시켰고 데이터 분석 S/W는 Waters의 Empower system을 이용하였다. HPLC 기기분석 및 용리 조건은 Table 1에 나타내었다. 검정곡선 작성용 표준용액은 화합물 1 및 2 두가지 성분에 대해 Sigma사의 특급시약을 MeOH과 DMSO에 녹여 농도 별로 희석하여 조제하였다.

2.9. 통계 분석

모든 실험은 3회 반복으로 실시하였고 통계분

Table 1. HPLC Chromatographic conditions of the control factors

Control Factor	Conditions
Injection volume	10 μ L
Column	Kromasil C ₁₈ (4.6 \times 250mm, 5 μ m)
Mobile phase	A: acetonitrile, B: 0.1% acetic acid
Flow rate	0.6 mL/min
Column Temperature	40°C
Wavelength	260 nm
Detector	Waters 2998 PDA (Waters, USA)
Separation Module	Waters e2695 (Waters, USA)

적은 평균과 표준편차(mean \pm SD)로 나타내었으며, Student's *t*-test법을 이용하여 *p*-value가 0.05 미만인 경우 통계적으로 유의성이 있는 것으로 판정하였다.

3. 결과 및 고찰

3.1. 감국 꽃 추출물의 DPPH 및 ABTS⁺ 라디칼 소거 활성

인체에 유해한 활성산소 중 중에는 hydroxyl radical (\cdot OH)과 같은 홀 전자를 갖는 자유 라디칼이 포함되어 있다. 일반적으로 전자는 쌍으로 존재하려는 경향 때문에 홀로 있으면 다른 분자들과 반응하려는 경향이 크다. 따라서 \cdot OH와 같은 라디칼의 활성산소 종이 가진 자유 전자로 인해 구조적으로 불안정한 상태가 되므로 생체 분자의 전자와 빠르게 반응하여 세포를 손상시킨다. 시료의 항산화능은 이러한 홀 전자에 전자를 제공함으로써 라디칼을 소거하는 능력인 환원력을 통하여 측정할 수 있다. 따라서 본 실험에서는 비교적 안정한 라디칼로 존재하는 DPPH 및 ABTS⁺를 이용하여 감국 꽃 추출물의 라디칼 소거 활성을 측정하였다. 두 가지 방법은 인위적인 라디칼을 제거하는 작용 기작이 공통적이며 대부분 유의적인 상관성을 나타낸다.

감국 꽃 추출물에 대한 DPPH 라디칼 소거 활성 실험 결과 500 μ g/mL 농도에서 약 58.2%의 라디칼 소거 활성이 있음을 확인하였다. 또한 ABTS⁺ 라디칼 소거 활성 실험 결과 약 98.7 μ g/mL 농도에서 라디칼을 50% 소거함을 확인하였다(Figure 1).

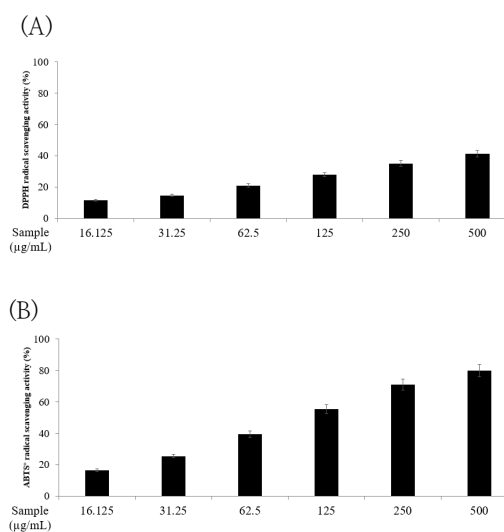


Fig. 1. DPPH (A) and ABTS⁺ (B) radical scavenging activities of extract from *D. indicum* flowers.

3.2. 감국 꽃 추출물로부터 화합물의 분리 및 구조 동정

에탄올 추출물 1.0 g을 극성에 따라 세분화하기 위하여 MPLC를 수행하였다. H₂O-ACN (10-100%)의 용매를 gradient 조건으로 각 25 mL씩 용출하여 총 45개의 분획물을 얻었다(Fr. MP1-45). MPLC 분획물 중 Fr. MP3 (38.8 mg)은 Sephadex LH-20 컬럼(CHCl₃:MeOH=2:1)을 수행하여 화합물 1 (6.4 mg)을 분리하였고, Fr. MP9로부터 화합물 2 (5.9 mg)을 얻었다. 화합물 1, 2의 NMR 데이터는 아래와 같다.

Cynaroside (1) ¹H NMR (400 MHz, CD₃OD)

δ_{H} : 7.41 (1H, dd, $J = 8.2, 2.2$ Hz, H-6'), 7.39 (1H, d, $J = 2.2$ Hz, H-2'), 6.90 (1H, d, $J = 8.2$ Hz, H-5'), 6.78 (1H, d, $J = 1.8$ Hz, H-8), 6.59 (1H, s, H-3), 6.49 (1H, d, $J = 1.8$, H-6), 5.06 (1H, d, $J = 7.3$ Hz, H-1'), 3.95-3.49 (6H, H-2''-6''), ^{13}C NMR (100 MHz, CD_3OD) δ_{C} : 184.1 (C-4), 166.9 (C-2), 164.9 (C-7), 163.0 (C-5), 159.0 (C-9), 151.3 (C-4'), 147.2 (C-3'), 123.6 (C-1'), 120.6 (C-6'), 116.9 (C-5'), 114.4 (C-2), 107.2 (C-10), 104.2 (C-3), 101.7 (C-6), 101.2 (C-1''), 96.1 (C-8), 78.5 (C-5''), 77.9 (C-3''), 74.8 (C-2''), 71.3 (C-4''), 62.5 (C-6'')

Apigetrin (2) ^1H NMR (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ_{H} : 7.95 (2H, d, $J = 8.7$ Hz, H-2', 6'), 6.93 (2H, d, $J = 8.7$ Hz, H-3', 5'), 6.87 (1H, s, H-3), 6.83 (1H, d, $J = 2.2$ Hz, H-8), 6.44 (1H, d, $J = 2.2$ Hz, H-6), 5.06 (1H, d, $J = 7.3$ Hz, H-1'), 3.87-3.28 (6H, m, H-2''-6''); ^{13}C NMR (100 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ_{C} : 182.0 (C-4), 164.2 (C-2), 162.9 (C-7), 161.1 (C-5), 161.0 (C-4'), 156.9 (C-9), 128.6 (C-2', 6'), 120.8 (C-1'), 116.0 (C-3', 5'), 105.3 (C-10), 103.0 (C-3), 99.8 (C-1''), 99.5 (C-6), 94.8 (C-8), 77.1 (C-3''), 76.4 (C-5''), 73.1 (C-2''), 69.8 (C-4''), 60.5 (C-6'')

^1H 및 ^{13}C NMR 피크는 문헌과 비교하여 구조 동정하였다. 화합물 1과 2는 21개의 carbon 피크가 관찰되는 것으로 보아, flavonoid에 6탄당이 결합되어 있는 골격으로 예상하였으며 문헌 [23,24]을 통해 cynaroside (luteolin 7-O- β -D-glucopyranoside) (1) 및 apigetrin (2)으로 확인

되었다.

3.3. 감국 꽃 추출물의 HPLC 성분 분석

감국 꽃 추출물 및 분리된 화합물에 대한 HPLC 분석을 수행하였다. 분리된 화합물의 머무름시간(RT, retention time)은 14.7분 (1) 및 17.5분 (2)으로 나타났으며 표준검정곡선을 통하여 각 성분의 함량을 분석한 결과 감국 꽃 에탄올 추출물에는 cynaroside (1) 92.7 mg/g (9.3%), apigetrin (2) 39.6 mg/g (4.0%) 이 함유되어 있는 것으로 확인되었다(Fig. 3,4).

3.4 감국 꽃 추출물 및 분리된 화합물의 세포 독성평가

WST-1 분석은 세포 내의 미토콘드리아 탈수소효소에 의해 의해 tetrazolium salt가 formazan으로 환원되며 세포생존율을 측정하는 시험 방법이다[25]. RAW264.7 murine macrophage에 대한 세포 독성을 측정한 결과 감국 꽃 추출물은 Figure 5A와 같이 200 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 의 농도에서도 세포독성이 나타나지 않았다. 분리된 화합물 1과 2 또한 마찬가지로 200 μM 농도 범위 내에서는 세포독성이 없음을 확인하였다(Figure 5B).

3.5. 감국 꽃 추출물 및 분리된 화합물의 nitric oxide (NO) 저해 활성

NO는 free radical인 활성질소종(Reactive Nitrogen Species: RNS)의 일종으로 NO synthase (NOS)에 의해 L-arginine이 citrulline으로 산화될 때 발생하는 반응성이 매우 높은 것으로 알려져 있다. 정상적인 농도로 존재하는 NO는 면역계의 전달 물질로써 신경전달물질을 운반하거나 종양을 억제하는 작용 등 매우 다양

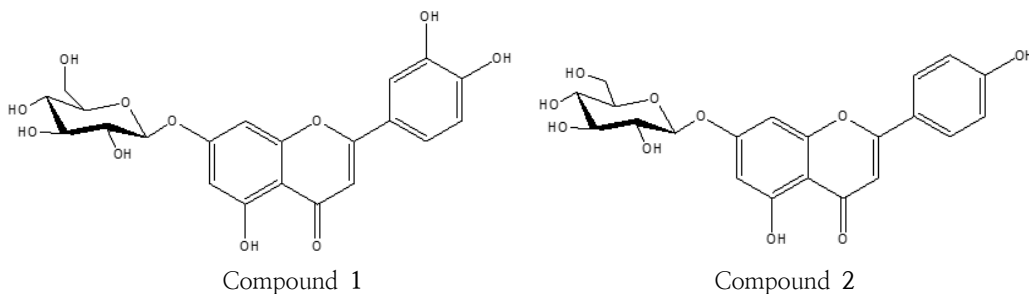


Fig. 2. Isolated compounds 1 and 2 from *D. indicum* flowers.

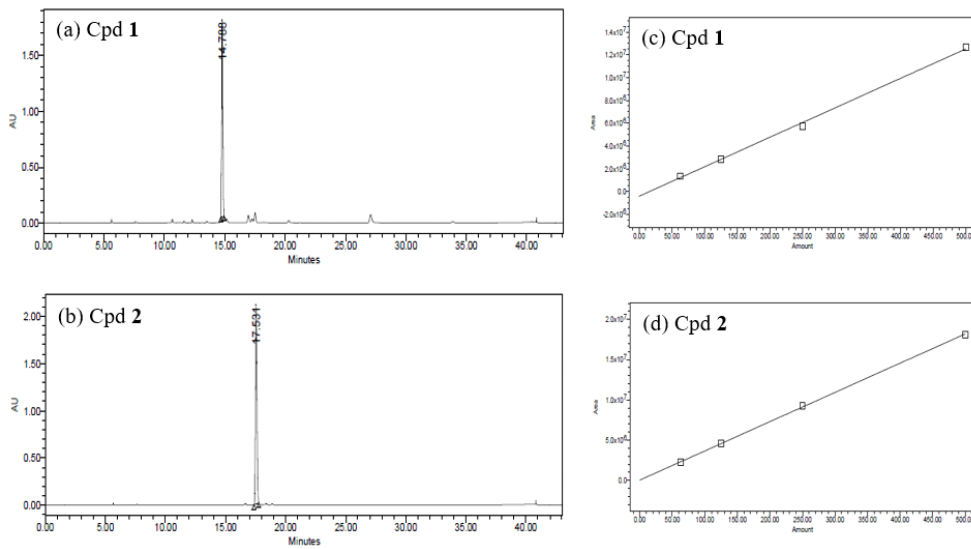


Fig. 3. HPLC chromatogram at 260 nm (a, b) and calibration curve (c, d) of isolated compound 1 and 2.

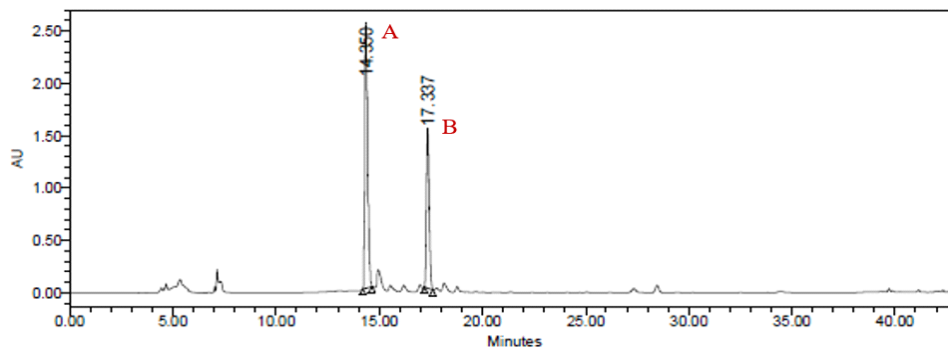


Fig. 4. HPLC chromatogram of extract from *D. indicum* flowers at 260 nm (A; cynaroside, B; apigenin).

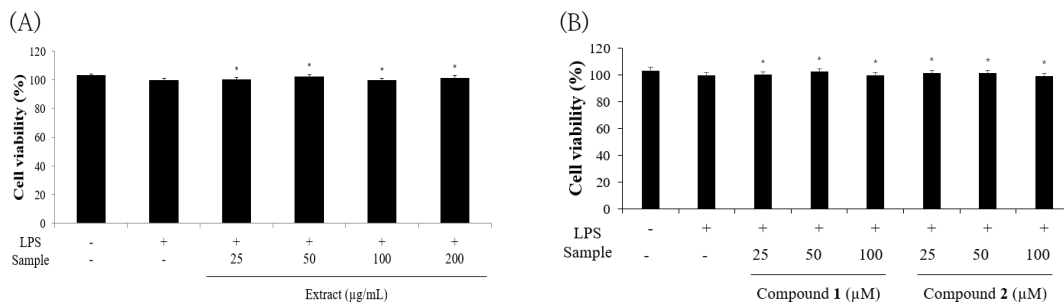


Fig. 5. Cell viability of extract from *D. indicum* flowers (A) and isolated compound 1 and 2 (B) in LPS (0.1 $\mu\text{g/mL}$)-induced RAW264.7 cells. The data represent the mean \pm SD of triplicate experiments. * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ compared with control.

한 기능을 가지는 물질로 알려져 있다. 그러나 과도하게 발현된 NO는 독성 radical로 작용하여 인체에 유해한 영향을 주는 세포 손상뿐만 아니라 염증 반응을 비롯한 퇴행성 질환에 중요한 요인으로 작용하는 것으로 보고되어 있다[2].

감국 꽃 추출물 및 분리된 화합물의 NO 생성 억제에 미치는 영향을 확인하기 위하여 RAW264.7 세포를 이용하여 NO 저해 활성을 측정하였다. 대식세포를 이용한 NO의 생성 정도는 사이토카인이나 내독소의 영향을 받아 생성되며 생성된 NO를 시료에 의해 억제되는 정도를 통해 염증 억제 작용을 확인할 수 있다.

감국 꽃 추출물을 25, 50, 100, 200 $\mu\text{g/mL}$ 농도로 각각 처리한 실험군의 세포 배양액을 이용하여 NO 생성량을 측정한 결과 농도에 따라 유의적으로 NO 생성이 저해됨을 확인하였다. 200 $\mu\text{g/mL}$ 농도 처리군에서는 약 75% 이상 NO의 생성을 저해하였으며 inhibition concentration (IC_{50}) 값은 123.0 $\mu\text{g/mL}$ 로 계산되었다(Figure 6A). 분리된 화합물 1과 2 또한 농도의존적으로 NO 생성을 감소시켰으며 100 μM 농도에서 두 화합물 모두 약 60%의 NO 저해활성을 보였다(Figure 6B). 화합물 1과 2의 IC_{50} 값은 각각 61.4 μM 과 53.1 μM 로 나타났다. 이러한 결과를 바탕으로 감국 꽃 추출물 및 분리된 화합물 1 및 2는 염증 관련 항장품 소재로써 적용이 가능할 것으로 사료된다.

4. 결론

본 연구에서는 제주 자생 감국 꽃 추출물의 생리활성을 확인하고 활성 성분을 탐색하기 위해 단일물질 분리 과정을 진행하여 유효성분의 구조를 동정하였다. 또한 분리된 화합물의 활성을 확인하여 천연 항염 소재로써의 활용가능성을 검토하였다.

제주 자생 감국 꽃 에탄올 추출물의 항산화 및 항염활성을 측정한 결과 농도의존적으로 우수한 활성을 나타내었다. 에탄올 추출물을 대상으로 유효성분을 찾고자 MPLC를 수행하여 단일물질을 분리하였다. 분리된 단일물질은 ^1H 및 ^{13}C NMR 분석을 통해 화학구조를 확인한 결과 cynaroside (1), apigenin (2)으로 확인되었다. 감국 꽃 추출물을 HPLC를 통해 분석한 결과 cynaroside (1) 92.6 mg/g (9.3%), apigenin (2) 395.6 mg/g (4.0%)으로 감국 꽃 추출물을 구성하는 주요 성분임을 확인하였다. 감국 꽃 유래 분리된 화합물에 대한 항염활성을 진행한 결과 두 화합물 모두 우수한 염증억제 활성을 나타냈다. 화합물 1, 2는 플라보노이드 계열의 화합물이다. 화합물 1, 2와 같은 플라보노이드 계열의 화합물은 대부분 A, B 환의 히드록시기 개수와 결합 위치에 따라 활성을 나타내는 것으로 알려져 있다[26]. 화합물 1은 화합물 2와 비교하였을 때 B 환의 히드록시기가 한 개 더 결합되어있는 구조적 차이를 보이는데 항염활성 실험에서 두 화합물이 유사하게 우수한 효과를 나타내는 것으로 보아 이러한 구조

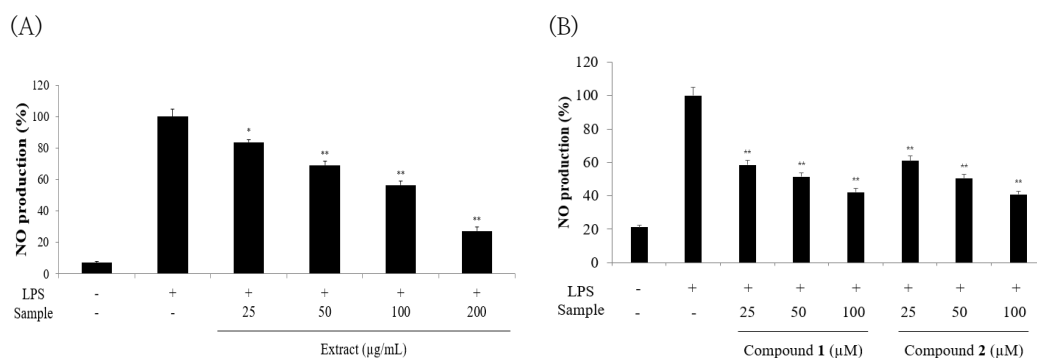


Fig. 6. Effects of extract from *D. indicum* flowers (A) and isolated compound 1 and 2 on NO production LPS (0.1 $\mu\text{g/mL}$)-induced RAW264.7 cells. The data represent the mean \pm SD of triplicate experiments. * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ compared with control.

적 차이는 본 실험 결과에서는 큰 영향을 미치지 않는 것으로 판단된다.

최근 식품 및 화장품 시장의 소비자 의식수준이 높아지면서 체내에 영향을 미치는 생물학적 부분에 보다 특이적으로 작용하여 적은 양으로도 높은 기능을 가지는 생리활성 천연물의 발굴에 많은 관심이 집중되고 있으며 인체 친화적이고 안전한 식물추출물을 대상으로 기능성을 확인하는 연구가 활발하게 진행되고 있다[27-29]. 우리나라의 경우 약 900여종 이상의 이용가능한 약용 식물이 분포하고 있으며, 특히 약용식물로부터 활성물질을 찾는 탐구가 한 분야로 인식되고 있다. 천연물로부터 활성 신물질 탐색연구는 더욱 활발히 진행되고 있으며 천연물을 생약으로 직접 이용하는 것보다 이들이 함유하고 있는 활성물질을 탐색하여 식품 및 화장품 소재 개발에 이용한다면 천연물의 이용가치는 더욱 높아지게 될 것이다. 이상의 연구를 바탕으로 제주 자생 감국 꽃추출물은 천연 항염소재로써 활용이 가능할 것으로 사료된다.

감사의 글

본 연구는 산업통상자원부와 한국산업기술진흥원의 “국가혁신클러스터사업(P0006705_개인 맞춤형화장품 소재 및 제형 개발)”의 지원을 받아 수행된 연구결과임.

References

1. I. R. Tizard, R. M. Schubot, “Veterinary Immunology: An Introduction”, *W. B Saunders Company*, (2008).
2. I. R. Tizard, “Immunology, An introduction inflammation”, *Saunders Collage Publishing*, Vol.2, pp.423-441, (1986).
3. E. S. Lee, H. K. Ju, T. C. Moon, E. Lee, Y. Jahng, S. H. Lee, J. K. Son, S. H. Baek, H. W. Chang, “Inhibition of nitric oxide and tumor necrosis factor- α (TNF- α) production by propenone compound through blockade of nuclear factor (NF)- κ B activation in cultured murine macrophages”, *Biol Pharm Bull*, Vol.27, pp.617-620, (2004).
4. M. Higuchi, N. Higashi, H. Taki, T. Osawa, “Cytolytic mechanisms of activated macrophages. Tumor necrosis factor and L-arginine- dependent mechanisms act synergistically as the major cytolytic mechanisms of activated macrophages”, *J Immunol*, Vol.144, pp.1425-1431, (1990).
5. J. H. Park, “Studies on the Constituents of *Chrysanthemum indicum* L.”, *The J of Nat. Sci.*, Vol.32, pp.11-17, (1981).
6. S. J. Kim, Y. M. Park, S. T. Jung, “Anticariogenic Effects and Inhibition of Glucosyltransferase Activity of *Chrysanthemum indicum* L. Extracts”, *J. Korean Soc. Food Cult.*, Vol.20, pp.341-245 2005,
7. G. H. Bae, Y. H. Kim, B. S. Min, H. J. Jung, H. Huong, J. S. Lee, H. J. Ji, “The quality evaluation of chrysanthemi flos”, *Kor. J. Pharmacogn.*, pp.14~17, (1996).
8. K. S. Jang, “Studies on the Natural pH Adjusters for Kimchi”, *J. Korean Soc. Food Nutr.*, Vol.18, No.3, pp.321-327, (1989).
9. G. S. Park, Y. J. Shin, J. G. Im, “Comparative Degree of Gelatinization and Retrogradation on Gamkugsulgie with Added of Gamkug”, *J. East Asian Soc. Dietary Life*, Vol.10, No.6, pp.514-521, (2000).
10. G. S. Park, Y. J. Shin, “Mechanical Characteristics and Preferences of Gamkugsulgie-dduk by Different Addition of *Chrysanthemum indicum* L.”, *J. East Asian Soc. Dietary Life*, Vol.10, No.6, pp.514-521, (2000).
11. J. Y. Nam, H. S. Lee, S. W. Lee, M. Y. Chung, E. S. Yoo, M. C. Rho, Y. K. Kim, “Effect of Kikkanol F Monoacetate and 5-Hydroxy-6,7,3',4'-tetramethoxyflavone Isolated from *Chrysanthemum indicum* L. on IL-6 Production”, *Kor. J. Pharmacogn.*, Vol.36, No.3, pp.186-190, (2005).
12. K. Y. Jung, S. R. Oh, C. S. Kim, J. H. Kim, H. K. Lee, “A New Alkyl Alcohol

- Glycoside from *Chrysanthemi Flos*”, *Kor. J. Pharmacogn.*, Vol.27, pp.15-19, (1996).
13. Y. J. Shin, “Chemical composition of gamkug and quality characteristics of gamkuksulgie-dduk”. *Catholic University of Daegu*, PhD thesis, (1999).
 14. N. Y. Park, “Volatile flavors of wild and cultivated *Chrysanthemum* and optimization of ethanol extraction”. *Kyungbuk National University*, MS thesis, (1995).
 15. B. R. Lee, “Inhibitory effect of enzyme-treated *Chrysanthemum Indicum* L. extract on lipid accumulation in in vitro and in vivo models”, *Wonkwang University*, MS thesis, (2019)
 16. J. A. Lee, S. H. Kim, M. J. Kim, J. H. Ahn, H. J. Park, W. R. Lee, S. S. Roh, “Protective Effects of *Chrysanthemi Indici* Flos Extract and Flaxseed Oil Mixture on HCl/ethanol-induced Acute Gastric Lesion Mice”, *Kor. J. Herbol.* Vol.33, No.6, pp.19-28, (2018)
 17. S. Y. Park, Y. J. Cho, “Anti-Gout Effect of Ethanol Extracts from *Chrysanthemum indicum* Linne”, *J Korean Soc Food Sci Nutr*, Vol.45, No.6, pp.797-804, (2016)
 18. Y. J. Cho, B. O. Kim, H. J. Park, E. H. Lee, J. B. Jo, J. E. Lee, S. B. Lim, Y. J. Kim, K. T. Park, M. Y. Choi, “Inhibition Effect of Phenolic Compounds from Ultra-fine Ground *Chrysanthemum indicum* L. on Xanthine Oxidase”, *J of Life Science*, Vol.27, No.8, pp.902-908, (2017)
 19. M. R. Kong, S. J. Seo, M. R. Han, Y. S. Lee, “Anti-oxidation and Anti-aging Activity of Three Compositae Species at Different Extraction Temperatures”, *J Invest Cosmetol*, Vol.12, No.1, pp.29-37, (2016)
 20. J. Y. Sung, W. A. Joe, Y. H. Kim, S. J. Cheon, M. J. Jang, H. J. Choi, J. S. Lee, E. Y. Choi, H. S. Lee, D. I. Kim, J. O. Kim, “Study on the antioxidant activity of extracts from the *Chrysanthemum indicum* L.” *J Appl Oriental Med*, Vol.7, pp.1-5, (2007).
 21. M. S. Blois, “Antioxidant determination by the use of a stable free radical”, *Nature*, Vol.181, pp.1199, (1958).
 22. R. Re, N. Pellegrini, A. Proteggente, A. Pannala, M. Yang, and C. Rice-Evans, “Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay”, *Free Radic Biol Med*, Vol.26, No.9, pp.1231, (1999).
 23. C. Hirobe, A. S. Qiao, K. Takeya, H. Itokawa, “Cytotoxic flavonoids from *Vitex agnus-castus*”, *Phytochemistry*, Vol. 46, pp.521-524, (1997).
 24. S. Asnaashari, A. Delazar, S. Seyed Alipour, L. Nahar, Angela S. Williams, A. Pasdaran, M. Mojarab, F. Fathi Azad and S. D. Sarker, “Chemical composition, free-radical-scavenging and insecticidal activities of the aerial parts of *Stachys Byzantina*”, *Arch. Biol. Sci.*, Vol.62, No.3, pp.653-662, (2010).
 25. H. Tominaga, M. Ishiyama, F. Ohseto, K. Sasamoto, T. Hamamoto, K. Suzuki, M. Watanabe, “A water-soluble tetrazolium salt useful for colorimetric cell viability assay”, *Anal. Commun.* Vol.36, pp.47-50, (1999)
 26. K. L. Khanduja, A. Bhardwaj, “Stable free radical scavenging and antiperoxidative properties of resveratrol compared in vitro with some other bioflavonoids”, *Indian Journal of Biochemistry & Biophysics*, Vol.40, No.6, pp.416 (2003).
 27. S. K. Jung, K. W. Lee, “Industrial Status of Oriental Medicine Cosmetics”, *Food Science and Industry*, pp.45, (2012)
 28. K. D. Kim, S. J. Kim, “Studies on the antimicrobial effects of herbal extracts and its cosmetic application”, *J Kor Soc Cosmet*, Vol.13, pp.221-227, (2007).
 29. S. Y. Lee, H. S. Seo, “The Effects of Sulfur extract on Anti-inflammation and Anti-propionibacterium acnes”, *J Korean Medicine Ophthalmology & Otolaryngology & Dermatology*, Vol.20, pp.68-76, (2007).