

동백 꽃 아임계 수 추출물의 항염 및 항산화 활성

김정은^{*} · 고예린^{**} · 부석환^{**} · 강성희^{**} · 이남호^{***,†}

^{*}제주대학교 화학·코스메틱스학과, 연구원

^{**}동안(주)

^{***}제주대학교 화학·코스메틱스학과, 교수

(2022년 3월 30일 접수, 2022년 5월 22일 수정, 2022년 5월 24일 채택)

Anti-inflammatory and Anti-oxidative Activities for the Subcritical Water Extract of *Camellia japonica* Flowers

Jung Eun Kim¹, Ye Rin Ko², Suk Hwan Boo², Sung Hee Kang², and Nam Ho Lee^{1,†}

¹Department of Chemistry and Cosmetics, Jeju National University, 102 Jejudaehak-ro, Jeju-si, Jeju 63243, Korea

²Dongahn Co., Ltd.

(Received March 30, 2022; Revised May 22, 2022; Accepted May 24, 2022)

요약: 본 연구에서는 동백 꽃 아임계 수 추출물(SWE, 135 ~ 180 °C, 70 bar 조건)의 항염 및 항산화 효능을 70% 에탄올 및 열수 추출물과 비교 분석하였다. 이들 추출물 중 180 °C, 70 bar의 조건으로 추출한 아임계 수 추출물의 수율(57.9%)이 가장 높게 나타났으며, 이는 열수 추출물(28.1%)에 비해서 2배 이상 추출 수율이 증가하였다. Lipopolysaccharide (LPS)로 자극된 RAW 264.7 대식세포를 이용한 nitric oxide (NO) 생성 억제 활성 실험 결과, 아임계 수 추출물이 세포 독성 없이 NO의 생성을 저해시키는 효과가 70% 에탄올 및 열수 추출물보다 우수함을 확인하였다. 또한 DPPH 및 ABTS⁺ 라디칼 소거 활성 실험 결과, 아임계 수 추출물의 라디칼 소거 활성이 70% 에탄올 및 열수 추출물과 유사하게 나타났다. 동백 꽃의 주성분인 gallic acid의 함량을 HPLC를 이용하여 분석한 결과, 아임계 수 추출물(165 °C, 70 bar)에서 함량이 1.62 mg/g으로 가장 높게 분석되었다. 이상의 연구결과를 바탕으로 동백 꽃 아임계 수 추출물은 항염 및 항산화 효과를 갖는 천연 화장품 소재로써 활용이 가능할 것이라 사료된다.

Abstract: In this study, the anti-inflammatory and anti-oxidant efficacy of camellia subcritical water extracts (SWE, 135 ~ 180 °C, 70 bar) was compared with 70% ethanol and hot water extracts. Among these extracts, the yield (57.9%) of the subcritical water extract, which was extracted under the condition of 180 °C and 70 bar was the highest, which increased the extraction yield by more than two times compared to the hot water extract (28.1%). The results of the nitric oxide (NO) production inhibition activity experiment using RAW 264.7 macrophages stimulated with lipopolysaccharide (LPS) showed that subcritical water extracts had superior effects in inhibiting the production of NO without cytotoxicity than 70% ethanol and hot water extracts. In addition, DPPH and ABTS⁺ radical scavenging activity experiments showed that the radical scavenging activity of subcritical water extract was similar to that of 70% ethanol and hot water extract. Moreover, the content of gallic acid was determined by HPLC and the quantity was about 1.62 mg/g for the SWE (165 °C, 70 bar), which was the highest among all of the extracts. Based on these results, it is concluded the SWE of *C. japonica* flowers could be potentially applicable as anti-inflammatory and anti-oxidative ingredients in cosmetic formulations.

Keywords: *Camellia japonica*, subcritical water extract, anti-inflammation, anti-oxidation

† 주 저자 (e-mail: namho@jejunu.ac.kr)
call: 064-754-3548

1. 서 론

피부에서 염증은 매우 다양한 의미를 가진다. 아토피성 피부질환, 여드름성 피부질환, 광 민감성 피부질환 및 민감성 피부질환의 생리학적 기본 기전은 염증 반응의 과정을 거치며, 다양한 염증 현상에 의해 진피층을 파괴하는 효소들인 hyaluronidase, elastase, collagenase 등의 발현이 증가하여 피부의 노화 및 주름형성에 직접적으로 영향을 준다[1]. 대식세포(macrophage)는 염증 반응에 관여하는 주요 세포로 알려져 있으며, 자극에 노출되거나 면역세포들이 분비하는 사이토카인(cytokine) 등에 의해 활성화되며, 감염초기에 nitric oxide (NO)와 사이토카인을 생산하여 생체방어에 중요한 역할을 한다[2]. 항염증제는 피부 진정과 여드름, 아토피에 관련하여 피부 자극 완화를 목적으로 하는 화장품류에 많이 사용되고 있다[3]. 항염증제로 이용되고 있는 물질로 비스테로이드 계통의 benzydamine, indomethacin 등이 있으며 스테로이드 계통의 dexamethasone, hydrocortisone 등이 사용되고 있다[4,5]. 그러나 이러한 물질들은 화장품 원료로 사용할 수 없거나 사용량이 제한되어 있는 경우가 대부분이며, 특히 스테로이드 계통의 경우 피부위축, 볼면, 불안 등의 부작용을 동반하고 있다. 따라서 피부에 안전성이 우수하고 부작용이 없는 천연 식물에서의 항염 효능을 갖는 물질에 대한 연구가 요구되고 있다[6].

생체 내에서 정상적인 대사과정을 통해 사용되는 산소 중 일부는 유해한 활성산소종(reactive oxygen species, ROS)으로 변하게 된다. 활성산소는 안정한 형태인 삼중항산소($^3\text{O}_2$)가 환원되어 생성되며 superoxide anion radical ($\cdot\text{O}_2^-$), hydrogen peroxide (H_2O_2), hydroxyl radical ($\cdot\text{OH}$), singlet oxygen ($^1\text{O}_2$) 등이 있다. 이와 같은 유해 활성산소는 대부분 화학적으로 불안정한 자유 라디칼이다. 과도한 활성산소 생성은 신체에 악영향을 끼쳐 각종 질병과 노화를 유발하는 주범이 되고 있다[7,8].

천연물의 추출 방법으로는 일반적으로 유기용매(에탄올 등) 또는 열수 추출이 이용되고 있다. 그러나 에탄올 사용 시 농도가 증가할수록 유효성분의 함량은 증가하나 추출물 제조 수율은 감소하는 경향을 보이며, 높은 제조 경비 및 잔류로 인한 안전성 이슈 등이 존재한다. 또한 열수추출에 사용되는 물은 안전한 추출 용매로 에탄올 대비 수율이 높으나, 고온 장시간 추출로 인한 생산성의 저하, 유효성분의 함량 감소 등은 해결해야 할 과제이다. 따라서 천연물의 유효 성분 추출에는 보다 효과적이며 경제적이고 안전한 추출 방법 연구의 필요성이 대두되어진다[9-11].

아임계 수(subcritical water, SW)는 물의 끓는점($100\text{ }^\circ\text{C}$)과 임계 온도($374\text{ }^\circ\text{C}$) 사이에 압력이 가해진 상태($< 22.1\text{ MPa}$)에서 액체 상태를 유지하는 물로 가압 열수(pressurized hot water) 또는 과열된 물(superheated water)이라고 한다. 아임계 수 추출(subcritical water extraction, SWE)은 기존의 환류 냉각 추출 등과 비교하여 추출 시간이 짧고 적은 양의 용매가 소모되며 온도와 압력 조절을 통해 용매의 극성을 폭넓게 조절함으로써 생리활성 물질에 대한 선택적 추출을 가능하게 한다[12,13]. 산, 알칼리 등 촉매 없이 물 열압력으로 처리하므로 아임계 수 추출은 친환경 공법이며, 추출시간도 5 ~ 30 min 정도로 짧은 것이 장점이다. 또한 아임계 수 추출은 순수한 물을 용매로 사용하여 안전하며 수율 향상 등의 효과적이고 경제적인 추출 방법이다.

동백(*Camellia japonica*)은 쌍떡잎식물로 물레나무목 차나무과의 상록교목으로 나무와 꽃은 관상용으로 많이 사용하며, 겨울에 꽃이 핀다하여 동백이란 이름이 붙었다고 한다. 주로 동백 종자에서는 기름을 짜서 여러 다양한 용도로 이용되고 있으며, 동백나무 꽃을 말린 것을 ‘산다화’라고 하며 지혈하는 용도의 한약재로 쓰인다. 동백 꽃 추출물의 효능 및 성분 연구로는 대부분 유기용매(에탄올 등) 및 열수 추출물에 대한 항산화, 항균 효능이 보고되어 있으며[14-17], 플라보노이드 등을 포함하여 페놀성 화합물이 다량 함유되어 있다고 알려져 있다[18,19]. 또한 동백 꽃에서 분리한 트리티페노이드 배당체인 camellioside B가 멜라닌 생성 억제 활성(미백) 및 섬유아세포 증식에 도움을 준다는 효능 연구가 보고되어 있다[20]. 따라서 본 연구에서는 경제적이고 친환경 추출방법인 아임계 수 추출법을 활용한 동백 아임계 수 추출물의 항염, 항산화 효능 및 gallic acid의 함량을 기존의 추출방법(에탄올 및 열수)과 비교 연구하여 효율적인 아임계 수 추출 조건을 확립하고 동백 아임계 수 추출물의 천연 화장품 원료로서 이용 가능성을 확인하고자 하였다.

2. 재료 및 방법

2.1. 실험 재료

본 실험에 사용한 동백 꽃은 2021년 5월에 제주생물자원(주)(Korea)에서 구입하여 사용하였다. 구입한 동백 꽃은 열풍건조 및 분쇄하여 냉장보관하면서 사용하였다.

2.2. 동백 아임계 수, 70% 에탄올 및 열수 추출물 제조

건조 및 분쇄된 동백 꽃 1 g과 모래 10 g을 40 mL 아임

계 추출 셀에 충전한 후, 아임계 추출장치(SpeedExtractor E-916, BUCHI, Switzerland)에 장착하였다. 아임계 추출조건은 135 °C, 150 °C, 165 °C 및 180 °C, 70 bar의 4 가지 조건으로 15 min 동안 추출하였으며, 추출 용매로는 증류수를 이용하였다. 얻어진 아임계 추출액은 감압 농축하고 동결건조시켜 분말형태의 아임계 수 추출물을 얻었다. 70% 에탄올 및 열수 추출물은 건조, 분쇄된 동백 꽃 5 g을 70% 에탄올 및 증류수 200 mL에 넣고 실온 또는 100 °C에서 4 h 동안 교반하여 추출하였으며, 추출된 용액을 여과하여 걸러진 여액을 감압 농축하고 동결건조시켜 분말형태의 추출물을 얻었다.

2.3. 항염 활성

2.3.1. 세포배양

Murine macrophage cell line인 RAW 264.7 cell은 American Type Cell Culture (ATCC, USA)로부터 분양 받아 100 U/mL penicillin, 100 µg/mL streptomycin (GIBCO Inc., USA) 및 10% fetal bovine serum (FBS, GIBCO Inc., USA)이 함유된 Dulbecco's modified Eagle's medium (DMEM, GIBCO Inc., USA) 배지를 사용하여 37 °C, 5% CO₂ 항온기에서 배양하였으며, 2 ~ 3일에 한 번씩 계대 배양하였다.

2.3.2. Nitric Oxide (NO) 생성 억제 활성

48 well plate에 1 × 10⁵ cells/well로 세포를 분주하고 37 °C, 5% CO₂ 조건하에서 18 h 배양 후, 배지를 제거하였다. 100 ng/mL의 LPS (Sigma, USA)를 포함하는 배지로 교환 후, 시료를 농도별로 각각 첨가하여 24 h 배양하였다. 이후 세포배양 상등액 100 µL와 Griess 시약(1% sulfanilamide, 0.1% naphthylethylenediamine in 2.5% phosphoric acid) 100 µL를 혼합하여 96 well plate에서 10 min 동안 반응시킨 후 540 nm에서 흡광도를 측정하였다. 생성된 NO의 양은 Griess 시약을 이용하여 세포배양액 중에 존재하는 NO₂의 형태로 측정하였고, sodium nitrite (NaNO₂)를 standard로 사용하여 정량하였다.

2.3.3. 세포독성 평가(MTT Assay)

MTT assay는 RAW 264.7 세포를 48 well plate에 1 × 10⁵ cells/well로 분주하고 37 °C, 5% CO₂ 조건하에서 18 h 전배양 후, LPS와 시료를 농도별로 동시에 처리하여 24 h 배양하였다. 이후 500 µg/mL의 농도로 MIT (3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide, Biosesang, Korea)를 첨가하여 37 °C에서 3 ~ 4 h 동안 반응시킨 후, MIT 용액을

제거하였다. 여기에 DMSO를 가하여 살아있는 세포와 반응하여 생긴 formazan 침전물을 용해시키고 570 nm에서 흡광도를 측정하여 세포 생존률(%)을 계산하였다.

2.4. 항산화 활성

2.4.1. DPPH 라디칼 소거 활성

2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH, Sigma, USA) 라디칼 소거 활성 실험은 Blois 방법[21]을 응용하였고 96 well plate에 농도별로 희석한 시료 용액 20 µL와 0.2 mM DPPH 용액 180 µL를 혼합하여 상온에서 10 min 간 반응시킨 후, 515 nm에서 흡광도를 측정하였다. 각 시료의 소거 활성(scavenging activity) 백분율이 50%일 때의 농도(SC₅₀)를 계산하였으며 양성 대조군으로는 butylated hydroxytoluene (BHT, Sigma, USA)를 사용하였다.

2.4.2. ABTS⁺ 라디칼 소거 활성

2,2'-Azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) (ABTS, Sigma, USA) 양이온 라디칼 소거 활성은 Re 등의 방법[22]을 응용하였고, 7.4 mM ABTS와 2.6 mM potassium persulfate (Sigma, USA)를 혼합하여 실온 및 암소에서 16 h 동안 반응시켜 ABTS⁺ 라디칼을 형성시켰다. 이 용액을 에탄올로 희석하여 700 nm에서 흡광도가 0.78 ± 0.02가 되도록 하여 실험에 사용하였다. 96 well plate에 농도별로 희석한 시료 용액 20 µL와 ABTS⁺ 용액 180 µL를 혼합하여 상온에서 15 min 간 반응시킨 후, 700 nm에서 흡광도를 측정하였다. 각 시료의 소거 활성(scavenging activity) 백분율이 50%일 때의 농도(SC₅₀)를 계산하였으며 양성 대조군으로는 BHT를 사용하였다.

2.5. Gallic Acid의 함량 분석

동백 꽃의 주성분인 gallic acid (Sigma, USA)의 함량을 확인하기 위해 HPLC (Alliance, Waters Co., USA), Kromasil 100-5-C18 (4.6 × 250 mm, AkzoNobel, Netherlands) 컬럼을 사용하여 정량 분석하였다. 각 추출물과 표준품은 메탄올에 녹여 PTFE syringe filter로 여과하여 준비하였다. 이동상은 0.1% 아세트산을 포함하는 증류수(용매 A)와 아세트나이트릴(용매 B)을 사용하였으며 유속은 0.8 mL/min, 주입량은 10 µL로 하였고 검출기는 UV detector (270.7 nm)를 사용하였다. 용출조건은 gradient mode로 12 min 동안 용매 B를 2 ~ 7.2%의 비율로 변화시키면서 용출시켰다. 농도별로 제조한 gallic acid의 peak 면적을 구하여 회귀 방정식을 이용한 검량선을 작성하여 정량하였으며, 검량선의 r² 값은 0.999 이상이었다.

2.6. 통계 분석

모든 실험은 3 회 반복으로 이루어졌으며, 실험결과는 평균과 표준편차로 나타내었다. 또한 excel software (version 2022, Microsoft Corp., USA)의 student's *t*-test로 통계학적 유의성을 검증하였다.

3. 결과 및 고찰

3.1. 동백 꽃 아임계 수 추출 수율

동백 꽃 아임계 수 추출물(SWE)의 항염 및 항산화 효능을 확인하기 위해, 기존의 보편적인 추출방법(열수 및 70% 에탄올)의 추출물과 수율, 효능 및 gallic acid의 함량을 비교하였

Table 1. Extraction Condition and Yield of *C. japonica* Flowers Extract by Various Extraction Methods

Extraction Method	Time	Sample (g)	Extract (g)	Yield (%)	
70% Ethanol	4 hr	5	1.062	21.2	
Hot Water	4 hr	5	1.404	28.1	
Subcritical Water	135 °C, 70bar	15 min	1	0.180	18.0
	150 °C, 70bar	15 min	1	0.309	30.9
	165 °C, 70bar	15 min	1	0.432	43.2
	180 °C, 70bar	15 min	1	0.579	57.9

다. 동백 꽃 아임계 수 추출물은 온도를 변수로 하여 4 가지 조건(135 °C, 150 °C, 165 °C 및 180 °C, 70 bar)으로 15 min 동안 추출하였으며, 감압 농축 및 동결건조하여 분말 형태의 추출물을 얻어 각 추출물의 수율을 비교하였다. 그 결과 150 °C 이상에서 추출한 아임계 수 추출물의 수율이 70% 에탄올 및 열수 추출물보다 높게 나타났으며, 특히 180 °C, 70 bar의 추출조건에서의 수율이 57.9%로 열수 추출물(28.1%) 보다 2 배 이상 높게 나타나는 것을 확인하였다(Table 1).

3.2. 동백 꽃 아임계 수 추출물의 항염 활성

동백 꽃 아임계 수 추출물의 항염 효능을 확인하기 위해, LPS로 자극된 RAW 264.7 대식세포를 이용하여 NO 생성 억제 활성 및 세포독성을 측정하였다. 그람 음성균의 세포외막에 존재하는 내독소로 잘 알려진 LPS는 대식세포 또는 단핵구를 자극하여 tumor necrosis factor (TNF)- α , interleukin (IL)-1 β , IL-6와 같은 염증 매개성 사이토카인들의 분비를 촉진하며 NO의 대량 생성에 관여하게 되어 숙주에 치명적인 결과를 초래한다고 알려져 있다. 따라서 시료에 대한 항염증 효과를 확인하기 위해 대식세포에 LPS 자극을 가하여 NO 및 전염증성 사이토카인 생성 억제 효과를 확인하는 방법이 널리 이용되고 있다[23,24]. 동백 아임계 수 추출물의 NO 생성 억제 효능을 확인한 결과, 165 °C 및 180 °C, 70 bar 조건에서 추출한 아임계 수 추출

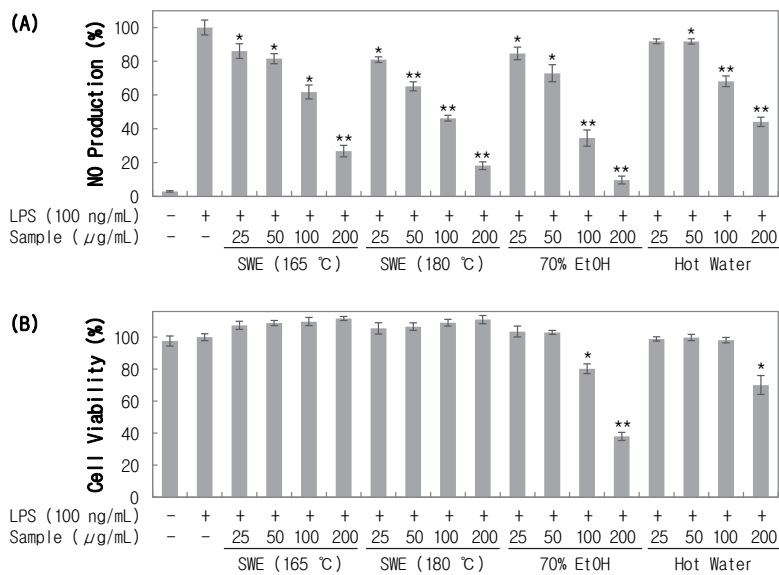


Figure 1. Effects of subcritical water extract (SWE), 70% EtOH and hot water extract from *C. japonica* flowers on NO production (A) and cell viability (B) in LPS-stimulated RAW 264.7 cells. The cells were stimulated with 100 ng/mL of LPS only, or with LPS plus various extract from *C. japonica* flowers for 24 h. The data represent the mean \pm SD of triplicate experiments. (**p* < 0.05, ***p* < 0.01)

물의 효능이 70% 에탄올이나 열수 추출물보다 높게 나타났다. 특히, 아임계 수 추출물은 고농도(200 µg/mL)에서도 세포 독성이 나타나지 않았으며, NO 생성을 농도 의존적으로 저해시키는 효과가 우수함을 확인하였다(Figure 1).

3.3. 동백 꽃 아임계 수 추출물의 항산화 활성

인체에 유해한 활성산소(ROS) 중에서 가장 강력한 유해 인자는 hydroxyl radical (·OH)로 알려져 있다. 따라서, 체내에서 진행되는 유해한 과산화작용을 제어하기 위해서는 라디칼 인자를 제어하는 것이 효과적이다. DPPH는 비교적 안정한 hydrazyl 라디칼 화합물로서, 항산화 기질과 반응하여 중성인 hydrazin으로 변환되며 DPPH 용액의 변색이 수반된다. 식물 추출물의 라디칼 소거 활성 측정법으로서 DPPH 용액의 흡광도 변화를 추적하는 방법이 매우 효과적으로 이용되고 있다. 또한 ABTS⁺를 이용한 항산화능의 측정은 potassium persulfate와의 반응에 의해 생성된 ABTS⁺ 유리 라디칼이 항산화 물질에 의해 제거되어 라디칼 특유의 색인 청록색이 탈색되는 것을 이용한 방법이다. DPPH assay와 마찬가지로 인위적인 라디칼을 제거하는 작용 기작

이 공통적이며, DPPH 라디칼 제거능과 유의적인 상관성을 보이는 것으로 알려져 있다[25]. 동백 아임계 수 추출물에 대한 DPPH 및 ABTS⁺ 라디칼 소거 활성 실험 결과 70% 에탄올 및 열수 추출물과 유사한 라디칼 소거 활성이 나타남을 확인하였다. 또한 각 온도 조건별 아임계 수 추출물 간의 활성 차이는 크게 나타나지 않았다(Figure 2, Table 2).

Table 2. SC₅₀ Values of *C. japonica* Flowers Extract by Various Extraction Methods

Extraction Method	SC ₅₀ (µg/mL)	
	DPPH Radical	ABTS ⁺ Radical
70% Ethanol	191.8	84.3
Hot Water	187.5	102.3
Subcritical Water	135 °C, 70bar	276.5
	150 °C, 70bar	232.7
	165 °C, 70bar	267.0
	180 °C, 70bar	243.8
Positive Control (BHT)	<50	<50

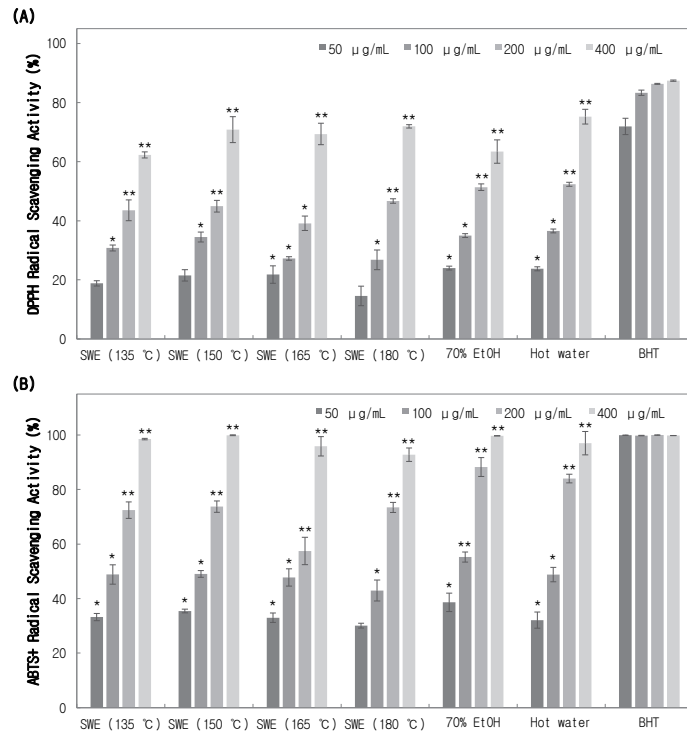


Figure 2. DPPH (A) and ABTS⁺ (B) radical scavenging activities of subcritical water extract (SWE), 70% EtOH and hot water extract from *C. japonica* flowers. The data are expressed as a percentage of control and represent the mean ± SD of triplicate experiments. (*p < 0.05, **p < 0.01)

3.4. 동백 꽃 아임계 수 추출물의 Gallic Acid 함량 분석

동백 꽃에서 분리 보고된 페놀성 화합물[18,19]에 대한 HPLC 분석 결과 동백 꽃의 주성분은 gallic acid로 확인되었다. Gallic acid는 천연 식물에 풍부히 함유되어 있는 폴리페놀 화합물로 식품산업에서 널리 쓰이는 항산화제이며 전신 독성은 매우 낮은 것으로 알려져 있다. 또한 gallic acid의 효능으로는 항산화[26] 외에 항염[27], 항암[28], 간기능 보호[29], 미백 활성[30] 등이 보고되어 있다. 동백 꽃의 아임계 수, 70% 에탄올 및 열수 추출물에서 gallic acid의 함량을 HPLC를 이용하여 분석하였으며, 그 결과 조건별 아임계 수 추출물 모두에서 기존 70% 에탄올 추출물보다 함량이 높게 나타남을 확인하였다. 특히, 150 °C 및 165 °C, 70 bar 조건의 아임계 수 추출물에서 gallic acid의 함량은

Table 3. Content of Gallic Acid from *C. japonica* Flowers Extract by Various Extraction Methods

Extraction Method	Gallic Acid (mg/g)	
70% Ethanol	0.56	
Hot Water	1.22	
Subcritical Water	135 °C, 70bar	0.94
	150 °C, 70bar	1.46
	165 °C, 70bar	1.62
	180 °C, 70bar	0.62

각각 1.46 mg/g, 1.62 mg/g으로 열수 추출물(1.22 mg/g) 보다 더 함유량이 많은 것으로 확인되었다(Table 3, Figure 3).

4. 결 론

아임계 수 추출 기술은 안전성, 경제성, 친환경 등 장점이 많으므로 기능성 강화, 공정 최적화, 수율 향상, 원가 절감 등의 목적으로 활용도가 높은 유망한 분야이다. 그러나 아직까지 동백 꽃을 활용한 아임계 수 추출물에 대한 효능 연구는 알려진 바가 없으므로 본 연구에서는 동백 꽃의 온도 조건별 아임계 수 추출물을 제조하여 기존의 보편적인 추출법인 70% 에탄올 및 열수 추출물과의 항염, 항산화 효능 및 gallic acid의 함량을 비교하였다. 그 결과, 150 °C 이상에서 추출한 아임계 수 추출물의 수율이 기존 추출물보다 높게 나타났으며, 특히 180 °C, 70 bar 조건에서의 수율이 57.9%로 열수 추출물(28.1%) 보다 2 배 이상 높게 나타나는 것을 확인하였다. 동백 꽃 아임계 수 추출물의 항염 활성 실험 결과 165 °C 및 180 °C, 70 bar 조건에서 추출한 아임계 수 추출물은 세포에 대한 독성 없이 NO 생성을 농도 의존적으로 저해시키는 효과가 있음을 확인하였으며, 이는 70% 에탄올이나 열수 추출물보다 더 효능이 우수하였다. 또한 항산화 활성 실험에서는 동백 꽃 아임계 수 추출물이 70% 에탄올 및 열수 추출물과 유사한

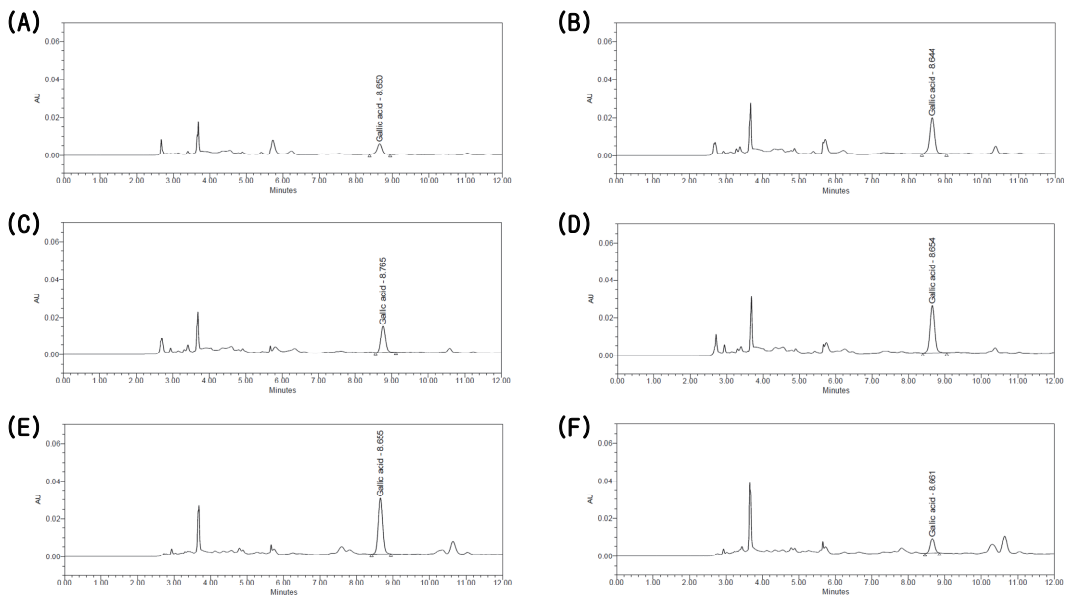


Figure 3. HPLC chromatogram of 70% EtOH (A), hot water (B), subcritical water extract (135 °C (C), 150 °C (D), 165 °C (E), 180 °C (F)) from *C. japonica* flowers.

라디칼 소거 활성을 보임을 확인하였다. 동백 꽃의 주성분인 gallic acid의 함량을 분석한 결과 165 °C, 70 bar 조건의 아임계 수 추출물에서 함량이 1.62 mg/g으로 함유량이 가장 많은 것으로 확인되었다. 이상의 연구 결과를 바탕으로 동백 꽃 아임계 수 추출물은 항염 및 항산화 효과를 갖는 친환경 천연 화장품 소재로써 활용이 가능할 것이라 사료된다.

Acknowledgement

본 연구는 중소벤처기업부와 중소기업기술정보진흥원의 “지역특화산업육성(R&D, S3083335)”사업의 지원을 받아 수행된 연구결과임.

References

1. J. Han, Master's Thesis Dissertation, Chung-Ang Univ., Seoul, Korea (2011).
2. D. H. Kim, S. J. Park, J. Y. Jung, S. C. Kim, and S. H. Byun, Anti-inflammatory effects of the aqueous extract of Hwangnyeonhaedok-tang in LPS-activated macrophage cells, *Kor. J. Herbol.*, **24**(4), 39 (2009).
3. A. S. Chauhan, P. S. Negi, and R. S. Ramteke, Antioxidant and antibacterial activities of aqueous extract of Seabuckthorn (*Hippophae rhamnoides*) seeds, *Fitoterapia*, **78**(7-8), 590 (2007).
4. Y. F. Leung, P. O. S. Tam, W. S. Lee, D. S. C. Lam, H. F. Yam, B. J. Fan, C. C. Y. Tham, J. K. H. Chua, and C. P. Pang, The dual role of dexamethasone on anti-inflammation and outflow resistance demonstrated in cultured human trabecular meshwork cells, *Mol. Vis.*, **9**, 425 (2003).
5. D. Rocksen, B. Lilliehook, R. Larsson, T. Johansson, and A. Bucht, Differential anti-inflammatory and anti oxidative effects of dexamethasone and N-acetylcysteine in endotoxin-induced lung inflammation. *Clin. Exp. Immunol.*, **122**(2), 249 (2000).
6. N. K. Kim, M. H. Kim, C. S. Yoon, and S. W. Choi, Studies on the anti-inflammatory activity of *Paulownia coreana* Uyeki leaf extract. *J. Soc. Cosmet. Sci. Korea*, **32**(4), 241 (2006).
7. D. S. Hah, C. H. Kim, G. S. Kim, E. G. Kim, and J. S. Kim, Antioxidative effects of traditional medicinal plants on lipid peroxidation, *Korean J. Vet. Res.*, **45**(3), 341 (2005).
8. J. E. Seo, E. S. Hwang, and G. H. Kim, Antioxidative and differentiation effects of *Artemisia capillaris* T. extract on hydrogen Peroxide-induced oxidative damage of MC3T3-E1 osteoblast cells, *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.*, **40**(11), 1532 (2011).
9. S. R. Ko, S. C. Kim, and K. J. Choi, Extract yields and saponin contents of red ginseng extracts prepared with various concentrations of ethanol, *Kor. J. Pharmacogn.*, **23**(1), 24 (1992).
10. X. Li, J. S. Han, Y. J. Park, S. J. Kang, J. S. Kim, K. Y. Nam, K. T. Lee, and J. E. Choi, Extracting conditions for promoting ginsenoside contents and taste of red ginseng water extract, *Korean J. Crop Sci.*, **54**(3), 287 (2009).
11. S. H. Lee, J. I. Kang, and S. Y. Lee, Saponin composition and physico-chemical properties of Korean red ginseng extract as affected by extracting condition, *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.*, **37**(2), 256 (2008).
12. Y. J. Ra, Y. W. Lee, J. D. Kim, and K. H. Row, Supercritical fluid extraction of catechin compounds from green tea, *Korean J. Biotechnol. Bioeng.*, **16**(4), 327 (2001).
13. R. M. Smith, Extractions with superheated water, *J. Chromatogr. A*, **975**(1), 31 (2002).
14. M. J. Piao, E. S. Yoo, Y. S. Koh, H. K. Kang, J. Kim, Y. J. Kim, H. H. Kang, and J. W. Hyun, Antioxidant effects of the ethanol extract from flower of *Camellia japonica* via scavenging of reactive oxygen species and induction of antioxidant enzymes, *Int. J. Mol. Sci.*, **12**(4), 2618 (2011).
15. Y. O. Seo and C. D. Kim, Fusion-complex activity of *Camellia* extract, *Journal of Digital Convergence*, **13**(7), 431 (2015).
16. S. Y. Lee, E. J. Hwang, G. H. Kim, Y. B. Choi, C. Y. Lim, and S. M. Kim, Antifungal and antioxidant activities of extracts from leaves and flowers of *Camellia japonica* L., *Korean J. Medicinal Crop Sci.*, **13**(3), 93 (2005).

17. S. M. Kim, E. J. Hwang, B. S. Pyo, and S. Y. Lee, Antioxidant and antimicrobial activities of the extracts from native *Camellia japonica* in Korea, *Korean J. Plant Res.*, **17**(3), 314 (2004).
18. H. H. Lee, J. Y. Cho, J. H. Moon, and K. H. Park, Isolation and identification of antioxidative phenolic acids and flavonoid glycosides from *Camellia japonica* flowers, *Hort. Environ. Biotechnol.*, **52**(3), 270 (2011).
19. J. Y. Cho, H. J. Ryu, S. H. Ji, J. H. Moon, K. H. Jung, and K. H. Park, Phenolic compounds from the flower buds of *Camellia japonica*, *Food Sci. Biotechnol.*, **18**(3), 766 (2009).
20. S. Nakamura, T. Moriura, S. Park, K. Fujimoto, T. Matsumoto, T. Ohta, H. Matsuda, and M. Yoshikawa, Melanogenesis inhibitory and fibroblast proliferation accelerating effects of noroleanane- and oleanane-type triterpene oligoglycosides from the flower buds of *Camellia japonica*, *J. Nat. Prod.*, **75**(8), 1425 (2012).
21. M. S. Blois, Antioxidant determination by the use of a stable free radical, *Nature*, **181**, 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.*, **26**(9-10), 1231 (1999).
23. M. L. McDaniel, G. Kwon, J. R. Hill, C. A. Marshall, and J. A. Corbett, Cytokines and nitric oxide in islet inflammation and diabetes, *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, **211**(1), 24 (1996).
24. A. L. Jeon, J. E. Kim, and N. H. Lee, Whitening and anti-inflammatory constituents from the extract of *Citrullus lanatus* vines, *J. Soc. Cosmet. Sci. Korea*, **43**(1), 53 (2017).
25. S. H. Park, J. E. Kim, and N. H. Lee, Isolation and evaluation of anti-oxidative constituents from the extract of *Ficus erecta* var. *sieboldii* King leaves, *J. Soc. Cosmet. Sci. Korea*, **42**(4), 321 (2016).
26. G. C. Yen, P. D. Duh, and H. L. Tasi, Antioxidant and pro-oxidant properties of ascorbic acid and gallic acid, *Food Chemistry*, **79**(3), 307 (2002).
27. C. S. Seo, S. J. Jeong, S. R. Yoo, N. R. Lee, and H. K. Shin, Quantitative analysis and *in vitro* anti-inflammatory effects of gallic acid, ellagic acid, and quercetin from *Radix Sanguisorbae*, *Pharmacogn. Mag.*, **12**(46), 104 (2016).
28. A. P. Subramanian, A. A. John, M. V. Vellayappan, A. Balaji, S. K. Jaganathan, E. Supriyanto, and M. Yusof, Gallic acid: Prospects and the molecular mechanisms of its anticancer activity, *RSC Adv.*, **45**(5), 35608 (2015).
29. M. K. Rasool, E. P. Sabina, S. R. Ramya, P. Preeti, S. Patel, N. Mandal, P. P. Mishra, and J. Samuel, Hepatoprotective and antioxidant effects of gallic acid in paracetamol-induced liver damage in mice, *J. Pharm. Pharmacol.*, **62**(5), 638 (2010).
30. Y. J. Kim, Antimelanogenic and antioxidant properties of gallic acid, *Biol. Pharm. Bull.*, **30**(6), 1052 (2007).