

## 감국(*Chrysanthemum indicum* Linne) 에탄올 추출물의 통풍억제 효과

박소영<sup>1</sup> · 조영제<sup>2</sup>

<sup>1</sup>영남대학교 의과대학 생리학교실  
<sup>2</sup>경북대학교 식품공학부/식품생물산업연구소

### Anti-Gout Effect of Ethanol Extracts from *Chrysanthemum indicum* Linne

So-Young Park<sup>1</sup> and Young-Je Cho<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Department of Physiology/Aging-Associated Vascular Disease Research Center,  
College of Medicine, Yeungnam University

<sup>2</sup>School of Food Science and Biotechnology/Food & Bio-Industry Research Institute,  
Kyungpook National University

**ABSTRACT** In an acute toxicity test for *Chrysanthemum indicum* Linne, 0.5~10 g/kg of *Chrysanthemum indicum* Linne extracts were administered. *Chrysanthemum indicum* Linne did not produce acute toxicity even at high doses of 10 g/kg, making it a highly safe material. In the chronic toxicity test, oral administration of *Chrysanthemum indicum* Linne up to 2 g/kg was carried out for 13 weeks, showing liver non-toxicity. The gout inhibitory effect of *Chrysanthemum indicum* Linne extracts was measured by inflammatory cytokine expression and foot thickness after 24 h of monosodium urate crystal (MSU) oral administration when inflammatory cytokine production reached a maximum. The group administered 2~4 g/kg of *Chrysanthemum indicum* Linne extract showed an inhibitory effect on gout inflammation and edema, whereas the 10 g/kg administered group showed an increase in inflammation. Therefore, the moderate concentration of *Chrysanthemum indicum* Linne extract for gout inhibitory effect was under 4 g/kg. *Chrysanthemum indicum* Linne extract showed an anti-inflammatory effect on MSU as a relatively safe material at high capacity. These results indicate that *Chrysanthemum indicum* Linne extract is thought to be an excellent substance for gout prevention.

**Key words:** anti-gout, ethanol extracts, *Chrysanthemum indicum*, ultra fine grinding

## 서 론

지속적인 산업의 발달은 다양한 환경호르몬과 같은 유해 인자를 생산해내며, 풍부한 식생활과 편리한 생활양식을 제공함으로써 운동 부족으로 인한 성인병의 발생에 크게 기여하고 있다. 또한, 현대 삶에서의 과도한 스트레스는 질환이 발생하기 쉬운 인체 내 환경을 조성하게 된다. 따라서 이를 극복할 수 있는 생활습관, 식생활 개선과 더불어 건강식품 등의 건전한 음식문화에 대한 관심이 지속해서 증가하고 있다.

감국(*Chrysanthemum indicum* L.)은 국화과에 속하는 국내에 자생하는 다년생 초본식물로 해열, 소염, 혈압 저하, 두통 해소 효과 및 결핵균과 각종 바이러스에 대한 항균작용 등의 약효(1-3), 항산화(4,5), 항염증 및 면역조절 활성(6-

8) 등이 있는 것으로 보고되어 있다. 또한, 감국은 미용적인 측면에서도 여드름과 해독, 보습 효과가 있다고 알려져 있다(9). 감국에 존재하는 주성분으로는 luteolin, apigenin 및 acacetin, cumambrin A, cumambrin B, arteglinin A 및 angeloyljadin 등 다양한 성분이 알려져 있으며(10-13), 그 중 luteolin은 항염(14) 및 항암 활성(4)이 알려져 있다.

통풍은 핵산계 물질인 purine 대사의 이상으로 혈청 내의 높아진 요산 농도에 의해 침상 모양의 요산염 결정이 관절의 연골, 관절 주위조직, 피하조직 및 신장 등에 침착되어 급성 염증을 일으키며, 통증과 발열 및 부종을 일으키는 재발성 급성관절 질환이다(15). 염증성 관절염인 통풍은 염증반응이 동반되게 되고, 염증반응으로 인해 iNOS에 의해 만들어지는 NO와 COX-2에 의해서 만들어지는 PGE<sub>2</sub> 등과 염증반응의 전사인자인 nuclear factor- $\kappa$ B(NF- $\kappa$ B)와 tumor necrosis factor(TNF)- $\alpha$  등의 사이토카인이 만들어지게 된다(16). 최근 서구화된 식문화에 의해 육류 소비량이 늘어나고, 비만 등 다양한 원인으로 인해 통풍환자가 증가하고 있는 경향이다(17). 통풍개선훈은 주로 xanthine oxidase의 저해능이 우수한 천연물을 대상으로 많은 연구가 진행되어

Received 25 February 2016; Accepted 24 May 2016

Corresponding author: Young-Je Cho, School of Food Science and Biotechnology/Food and Bio-Industry Research Institute, Kyungpook National University, Daegu 41566, Korea  
E-mail: yjcho@knu.ac.kr, Phone: +82-53-950-7755

왔다(18-20). 현재 통풍의 치료법으로 purine의 섭취를 조절하여 요산 생성을 감소시키는 식이요법, allopurinol과 같은 요산 형성을 억제하는 약물을 투여(21,22), probenecid 및 sulfipyrazone과 같은 약물을 투여하여 요산의 배설을 증가시키는 방법(23) 등이 있다. 하지만 이러한 치료 약물들은 소화기계의 자극, 구토, 설사, 발열 및 간 손상 등의 부작용이 동반되기 때문에(24) 부작용이 없이 안전한 식품소재의 천연물을 이용한 치료법의 개발이 다양하게 진행되고 있다(25,26). 통풍의 치료는 의학 분야에서 긴 전통을 가지고 있으나, 최근 식이요법의 새로운 방향이 제시되고 기존에 쓰던 약물에 저항을 보이는 환자에게 사용될 수 있는 새로운 요산 강하제가 개발되어 기능성 식품 분야에 적용되는 등 변화를 보인다. 이러한 발전과 더불어 약용작물을 이용한 천연물을 이용하여 요산 저하 효과를 유발할 수 있다면 edible 백신의 개념을 가지는 제품의 개발이 가능하리라 판단된다.

초미세 분쇄기술은 해당 물질의 표면적을 극대화함으로써 분해가 어려운 물질들의 용해도를 높이는 장점이 있다. 또한 상대적으로 유용성 물질인 phenolic 화합물의 추출을 용이하게 하고 그 수율 또한 높여준다(27). 이러한 초미세 분쇄기술은 기존 한약재의 용해도를 증진해 체내 흡수율을 증가시키므로 기능성 식품소재나 식의약 소재 등 고부가가치 소재로 전환을 기대할 수 있다.

따라서 본 연구에서는 천연물 생리활성 탐색 및 기능성 연구의 일환으로써 통풍억제 효과가 있다고 보고(27)된 초미세 분쇄 감국 추출물을 이용하여 *in vivo*에서 통풍억제 효과를 검토하여 건강 기능성 식품 산업에 적용하고자 하였다.

## 재료 및 방법

### 감국 에탄올 추출물 분말의 제조

본 실험에서 사용된 감국은 시중 한약방에서 구입하여 45°C dry oven에서 건조한 후, 건조된 감국을 10 L 용량의 초미세 분쇄 장치(MKFS10-1, Koen 21 Co., Ansan, Korea)를 이용하여 시간당 20 kg의 grinding 속도로 ultrafine grinding(125 µm ISO mesh size, ASTM 140 mesh: 통과 사이즈)으로 분쇄하여 시료로 사용하였다. 감국 에탄올 추출물은 분말시료 1 kg에 20배의 70% 에탄올을 가하고 homogenizer로 20,000 rpm에서 1분간 균질화시킨 후 24시간 동안 교반 추출하였으며, 추출액들은 Whatman No. 1 filter paper(GE Healthcare Company, Buckinghamshire, UK)로 여과하고 rotary vacuum evaporator(N-11, Eyela NE, Tokyo, Japan)에서 농축한 후 동결 건조하여 분말로 사용하였다.

### 실험동물

실험동물은 7주된 C57BL/6J 생쥐 수컷을 사용하였으며 샘타코(Seoul, Korea)에서 구입하여 영남대학교 의과대학

동물사의 청정실에서 사육하였다. 사육조건은 오전 7시부터 오후 7시까지 12시간을 전등으로 밝게 유지하고 이후 12시간은 소등하였다. 식이와 물은 자유롭게 섭취하도록 하였으며, 식이와 물 섭취량을 측정하였다. 실험동물은 영남대학교 의과대학 동물사의 관리지침에 따라서 사육되었으며, 실험은 영남대학교 의과대학 동물윤리위원회의 승인 아래 시행하였다(승인번호: YUMC-AEC2010-007).

### 감국 추출물의 급성독성실험

감국 추출건조물을 농도별로 제조(0, 0.5, 1, 2.5, 5, 10 g/kg)하여 그룹당 10마리씩 oral gavage를 한번 한 후 쥐의 행동양상을 관찰하고 생존율을 측정하였다. 일주일 후에 마취제(tiletamine and zolazepam 25 mg/kg, xylazine 10 mg/kg)를 복강으로 주입하여 마취한 후 쥐를 희생하여 혈액을 채취하고 혈장을 분리하여 분석 전까지 -80°C에 보관하였다. 간과 신장은 절취하여 무게를 측정한 후 간 독성 측정을 위하여 glutamate oxaloacetate transaminase(GOT), glutamate pyruvate transaminase(GPT)를 측정하였다.

### 감국 추출물의 만성독성실험

감국 추출건조물을 생쥐가 섭취하는 물에 농도별(0, 0.25, 0.5, 1, 2 g/kg)로 희석하여 그룹당 10마리씩 13주간 자유롭게 섭취시켰다. 기간 중 식이 섭취량과 물 섭취량, 몸무게 변화, 행동양상을 관찰하였다. 13주 후에 급성독성실험과 마찬가지로 쥐를 희생하여 혈액을 모은 후에 간과 신장의 무게를 측정하고 간과 혈장을 분석 전까지 -80°C에 저장하였다. 간 독성 측정을 위하여 GOT와 GPT를 측정하였다.

### 통풍유발

통풍실험을 위하여 생쥐 개체수를 그룹당 10마리씩 정하여 실험하였다. 통풍유발은 4 g의 uric acid를 0.5 M NaOH 800 mL에 열을 가하면서 녹인 후(pH 8.0, 60°C) 4°C에 밤새 두어 결정(monosodium urate crystal)을 생성시킨 후 상층액은 버리고 monosodium urate crystal(MSU)을 회수하여 건조했다. 결정 0.04 g을 500 µL saline 용액에 녹여서 쥐의 뒷발에 4 mg/50 µL를 주입하여 통풍을 유발했으며, 쥐에 마취제(tiletamine and zolazepam 25 mg/kg, xylazine 10 mg/kg)를 복강으로 주입하여 마취한 후 발의 부종을 확인하고 발의 두께를 디지털 캘리퍼스(Mitutoyo Corporation, Kawasaki, Japan)로 측정하였다. 혈액을 원심분리 하여 혈장을 모으고 간을 적출하여 -80°C에 저장하였다. 통풍유발을 위한 적정시간을 확인하기 위하여 MSU를 주입한 후 48시간 동안 경과시간별로 염증성 사이토카인의 발현을 측정하였다.

### 감국 추출물의 통풍억제 효과 측정

감국의 통풍억제 효과를 측정하기 위하여 생쥐에 생리식염수를 주입한 대조군과 MSU를 주입한 실험군으로 나누고

MSU 주입군은 다시 감국 추출건조물을 0, 0.25, 0.5, 1, 2, 4, 10 g/kg B.W. 주입한 군으로 나누었다. 감국 추출건조물은 상기의 농도별로 7일간 경구 투여하였다. 경구 투여 6일째에 MSU 4 mg/50  $\mu$ L를 양쪽 뒷발에 주입하고 7일째 오전에 감국 추출건조물을 경구 투여한 후 오후에 쥐에 마취제를 투여하여 희생하였다. 혈액을 원심분리 하여 혈장을 분리하고 혈장과 간을  $-80^{\circ}\text{C}$ 에 저장하였다. 발의 부종 정도는 디지털 캘리퍼스로 두께를 측정하였다.

### 혈중 생화학적 물질 측정

간 독성을 측정하기 위하여 혈장에서 GOT와 GPT를 측정하였다. 측정 kit은 아산제약(Seoul, Korea)의 transaminase kit을 이용하여 측정하였다. 혈장 TNF- $\alpha$ 는 enzyme-linked immunosorbent assay(ELISA) 방법을 이용하여 측정하였다(Invitrogen, Camarillo, CA, USA).

### Real-time PCR

유전자 발현은 real-time PCR로 분석하였다. RNA 추출은 1 mL TRI-reagent(Sigma-Aldrich Co., St. Louis, MO, USA)에 시상하부 조직을 넣고 초음파를 이용하여 균질화시켰다. 여기에 200  $\mu$ L의 chloroform을 넣고 15초간 격렬하게 흔든 후 실온에서 5분간 반응시킨 다음  $4^{\circ}\text{C}$ , 13,200 rpm에서 15분간 원심분리 하였다. 분리된 상층액에 같은 부피의 isopropanol을 넣고 10분간 상온에서 반응시킨 다음 다시  $4^{\circ}\text{C}$ , 13,200 rpm으로 10분간 원심분리 하여 RNA를 침전시켰다. 침전시킨 RNA를 차가운 75% 에탄올 1 mL로 세척하고  $4^{\circ}\text{C}$ , 13,200 rpm에서 5분간 원심분리한 후 침전물을 실온에서 건조했다. 마지막으로 남은 RNA를 RNase가 제거된 물 30  $\mu$ L에 녹여  $-70^{\circ}\text{C}$ 에서 보관하였다. RNA 농도는 Nano-drop(Thermo, Wilmington, DE, USA)을 이용하여 260 및 280 nm 파장에서 측정하였다. RNA 증폭은 분리한 RNA 1  $\mu$ g을 High-Capacity cDNA Reverse Transcription kit(Applied Biosystems, Foster City, CA, USA)으로 cDNA로 제작한 후 real-time PCR을 시행하였다. Real-time PCR은  $95^{\circ}\text{C}$ 에서 10분의 전 반응을 거친 다음, 변성( $95^{\circ}\text{C}$ , 15초), 어닐링( $55^{\circ}\text{C}$ , 20초) 및 연장( $72^{\circ}\text{C}$ , 35초)의 과정을 45회 반복하여 Real-time PCR 7500 System과 Power SYBR Green PCR Master Mix(Applied Biosystems)를 이용하여 측정하였다. 내부 표준품으로는  $\beta$ -actin을 사용하였으며, primer 서열은 TNF- $\alpha$ 의 경우 5'-CTATCTCCAGGTTCTTCAA-3'(sense)과 5'-GCAGAGAGGAGGTTGACTTTC-3'(anti-sense)이었고 size는 71 bp였으며, interleukin(IL)-1 $\beta$ 는 5'-GCCCATCCTCTGTGACTC-3'(sense)과 5'-AGTGCAGCTGTCTAATGGGA-3'(anti-sense)이었고 size는 71 bp였다. iNOS는 5'-CTCCTGCCTCATGCCATT-3'(sense)과 5'-TGTTCTCTATTTTTGCCTCTTTA-3'(anti-sense)이었고 size는 71 bp였으며,  $\beta$ -actin은 5'-TGGACAGTGAG

GCAAGGATAG-3'(sense)과 5'-TACTGC CCTGGCTCCTAGCA-3'(anti-sense)이었고 size는 121 bp였다.

### 통계처리

실험 결과는 평균 $\pm$ 표준오차로 표기하였다. 각 군 간의 차이는 t-test를 사용하여 평가하였으며 95% 유의수준을 인정하였다.

## 결과 및 고찰

### 감국 에탄올 추출물의 급성독성

생쥐를 각 그룹당 10마리씩 6개 그룹으로 나누고 각각 감국 추출물 0, 0.5, 1, 2.5, 5, 10 g/kg씩 경구로 1회 투여한 후 일주일간 관찰하였다. 일주일 경과 후 각 그룹 모두 한 마리의 생쥐도 죽지 않았으며 생쥐에서 특별한 행동양상도 관찰되지 않았다. 감국 추출물 투여 후 일주일간 생쥐의 식이 섭취량과 몸무게를 측정한 결과 Fig. 1A~D에서와 같이 식이섭취량과 몸무게는 각 그룹 간에 유의적인 차이가 없었으며, 신장과 간 무게도 그룹 간 차이는 발생하지 않았다. 감국 추출물에 의한 간 독성을 살펴보기 위하여 감국 에탄올 추출물 투여 후 생쥐의 혈장 GOT와 GPT를 측정한 결과 Fig. 1E와 1F에서와 같이 혈장 GOT와 GPT도 그룹 간 유의적인 차이가 나타나지 않아 감국 추출물은 급성독성이 거의 없는 것으로 판단되었다.

### 감국 에탄올 추출물의 만성독성

감국 에탄올 추출물의 만성독성을 측정하기 위하여 생쥐를 10마리씩 5개 그룹으로 나누고 후 각 그룹에 감국 추출물을 0, 0.25, 0.5, 1, 2 g/kg 농도가 되게 제조한 물을 13주간 섭취시키며 1주일 간격으로 몸무게를 측정한 결과, Fig. 2A에서와 같이 그룹 간에 큰 차이가 없었으며, 13주 경과 후 감국 추출물 투여농도별 체중 변화도 그룹 간에도 큰 차이는 나타나지 않았다. 일주일간의 하루 평균 식이 섭취량도 매주 13주간 측정한 결과, Fig. 2B에서와 같이 4주째 전 그룹에서 약간 감소하는 경향을 나타내었으나 5주째에는 복귀되었으며 13주간 경과 시까지 큰 차이는 나타나지 않았다. 13주간의 하루 평균 식이 섭취량도 감국 추출물의 투여농도와는 무관한 것으로 나타났다.

물은 일주일 2번 바꾸어 주었으며 하루 평균 물 섭취량을 측정하여 일주일간의 평균치로 표시하였다. 물 섭취량은 Fig. 2C에서와 같이 감국 추출물 섭취군에서 다소 높아지는 경향을 나타내었으나 큰 차이를 나타내지는 않았으며, 13주간의 하루 평균 물 섭취량에서도 감국을 섭취한 모든 군에서 물 섭취량이 다소 높아지는 경향을 나타내는 것을 확인할 수 있었다. 감국 추출물을 장기적으로 섭취한 그룹에서 물의 섭취가 증가하는 양상을 나타내었는데, 이러한 결과는 혈압 강하효과 및 혈액순환의 증가작용과 연관된 것으로 추측되거나 확실한 기전을 규명하기 위해서는 더 많은 연구가 필요하다

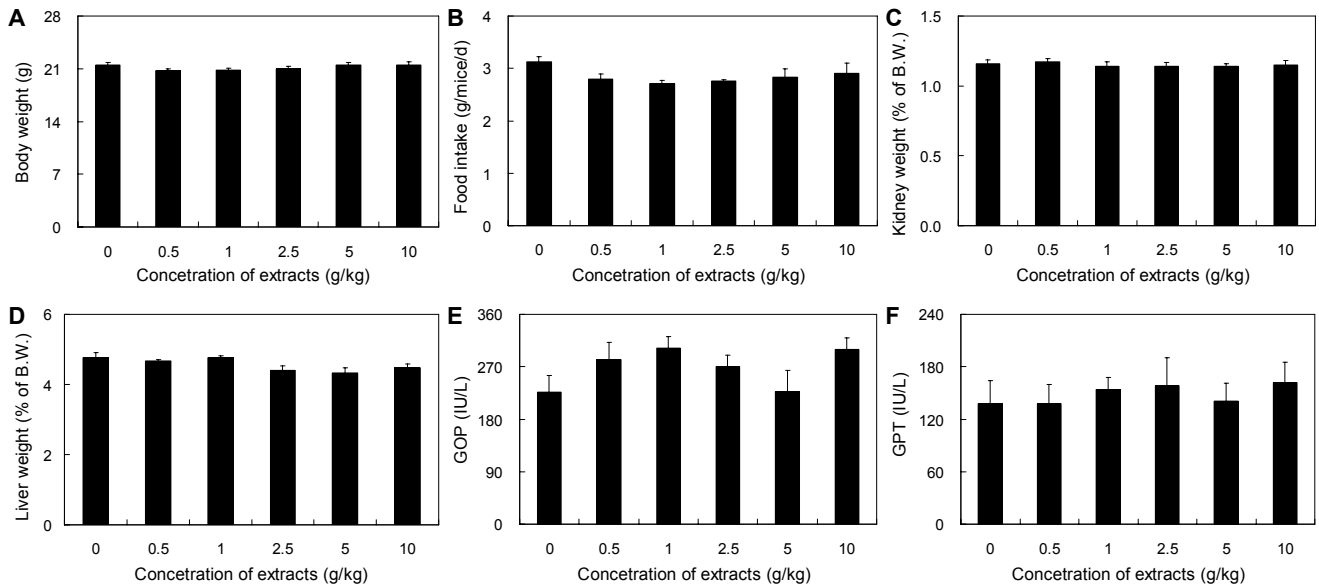


Fig. 1. Effect on body weight, food intake, and acute toxicity with extracts from *Chrysanthemum indicum* L. Values are the mean±SE.

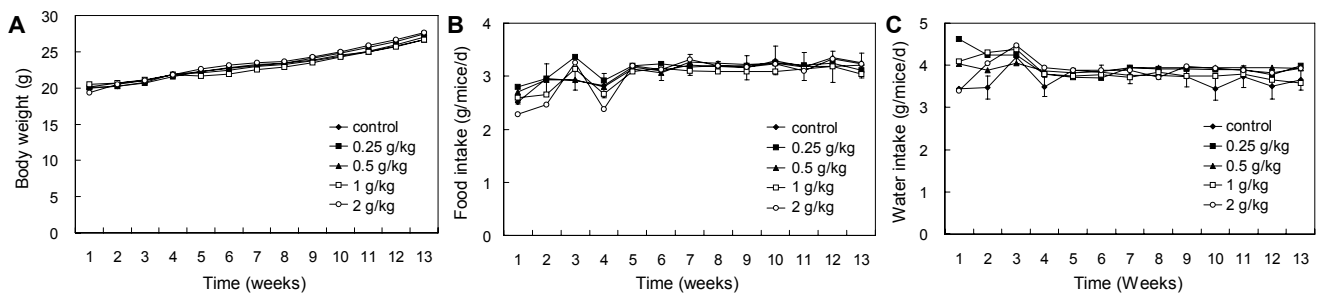


Fig. 2. Change on body weight, food intake, and water intake by ingestion for 13 weeks of extracts from *Chrysanthemum indicum* L. Values are the mean±SE.

다고 판단되었다. 감국 추출물 섭취 13주 후 측정된 신장, 간, 비장, 심장 등의 장기들의 무게도 Table 1에서와 같이 유의적인 차이가 없었다. 감국 추출물에 의한 만성 간 독성을 살펴보기 위하여 감국 추출물을 13주간 장기적으로 경구 투여 후 혈장 GOT와 GPT를 측정된 결과 Table 1에서와 같이 대조군과 비교하여 GOT와 GPT 농도가 감국 추출물의 투여 때문에 증가하는 양상은 나타나지 않았으며, 각 그룹 간에 유의적인 차이는 확인되지 않았다. 따라서 감국 추출물은 2 g/kg 정도의 투여량에 대해서 만성독성이 없는 것으로

확인되었다.

**통풍의 유발**

통풍의 유발모델은 복강으로 MSU를 투여하는 방법과 동물의 발에 투여하는 방법이 있다. 통풍은 관절에서 발생하기 쉬우며, 염증에 의한 발의 부종을 직접 관찰하기 쉬운 장점이 있어 본 연구에서는 발 모델을 선택하여 실험을 진행하였다. 마우스에서 통풍의 유발을 위하여 MSU 4 mg/50 μL를 오른쪽 뒷발에 주입하고 왼쪽 뒷발에는 생리식염수를 주입

Table 1. Chronic toxicity of extracts from *Chrysanthemum indicum*

Item	Concentration of extracts (g/kg)				
	0	0.25	0.5	1	2
Kidney weight (%/B.W.)	1.067±0.027	1.098±0.027	1.104±0.053	1.085±0.024	1.067±0.040
Liver weight (%/B.W.)	3.844±0.053	3.865±0.082	3.849±0.135	3.870±0.037	3.695±0.075
Spleen weight (%/B.W.)	0.248±0.018	0.241±0.019	0.227±0.016	0.216±0.006	0.221±0.012
Heart weight (%/B.W.)	0.429±0.015	0.431±0.008	0.465±0.010	0.436±0.009	0.418±0.012
GOT (IU/L)	73.6±5.25	74.2±4.15	69.5±5.1	75.0±4.55	69.9±3.55
GPT (IU/L)	58.8±12.6	52.7±3.4	52.3±13.0	53.2±3.7	49.2±8.3

Values are the mean±SE.

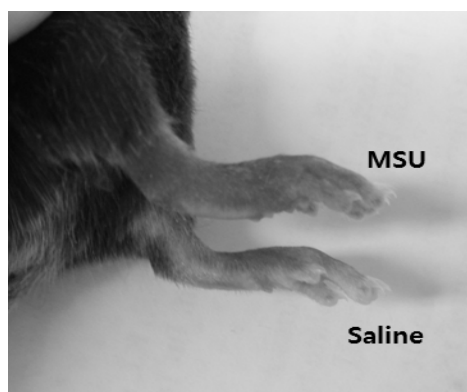


Fig. 3. Dropsy of mouse foot by MSU treatment.

한 후 발의 부종을 24시간 동안 시간별로 관찰하고 발에서의 염증성 사이토카인의 발현을 측정된 결과 Fig. 3에서와 같이 발의 부종은 MSU를 주입한 24시간 후부터 육안으로 식별이 가능할 정도로 부종의 차이가 발견되었으며 48시간에 가장 심하고 72시간 이후에도 정상 발에 비하여 부종이 유지되었다. 통풍유발을 위하여 MSU를 주입 후 시간별로 생쥐를 희생하여 발의 RNA를 추출한 후 real-time PCR로 염증성 사이토카인의 발현을 측정된 결과 Fig. 4에서와 같이 24시간 경과 후부터 TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$  등의 염증성 사이토카인이 유의적으로 발현이 증가하였으며, iNOS의 발현은 24시간 경과 시 최고조에 달하는 것을 알 수 있었다. 또한, MSU에 의해 간에서 RNA를 추출한 후 real-time PCR로 염증성 사이토카인의 발현을 측정된 결과 Fig. 5에서와 같

이 12시간 경과 시 TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$  등이 유의적으로 증가하는 경향을 나타내었다. 따라서 통풍유발 실험에서의 염증 사이토카인은 MSU 주입 후 24시간 경과 시 가장 높은 것으로 확인되었다.

**감국 에탄올 추출물의 투여가 통풍에 의한 발 부종에 미치는 영향**

감국 추출물의 투여농도가 통풍에 의한 발 부종에 미치는 영향을 측정하기 위하여 발바닥의 돌기를 기준으로 일정 부분을 디지털 캘리퍼스로 발 두께를 측정된 결과 Fig. 6에서와 같이 MSU 대신 생리식염수를 주입한 대조군(control)에 비하여 MSU 주입군에서 통계적으로 유의하게 발 부종이 증가하였다. 1 g/kg 미만의 저농도의 투여군에서는 Fig. 6A에서와 같이 투여농도 증가에 따른 발 부종 억제 효과는 거의 없었음을 알 수 있었다. 그러나 투여량이 2~10 g/kg의 고농도군에서는 Fig. 6B에서와 같이 감국 추출물을 투여하지 않은 그룹에 비해 감국 추출물의 투여 때문에 발의 부종이 유의적으로 감소하는 경향을 나타내었으나 투여농도 간 유의적인 차이는 나타나지 않았다.

**감국 에탄올 추출물의 투여가 통풍에 의한 염증성 사이토카인의 발현에 미치는 영향**

감국 추출물의 투여농도가 통풍에 의한 생쥐 발에서의 염증성 사이토카인에 미치는 영향을 살펴본 결과 감국 0, 2, 4, 10 g/kg 투여 그룹에서 MSU에 의한 TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , iNOS 등의 염증성 사이토카인은 Fig. 7A에서와 같이 iNOS

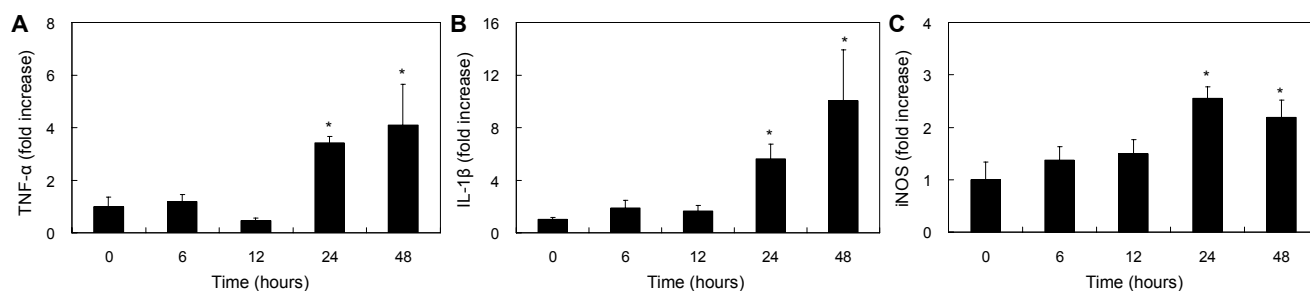


Fig. 4. Expression of inflammatory cytokine in mouse foot by MSU treatment. Values are the mean $\pm$ SE. \* $P$ <0.05 vs. 0.

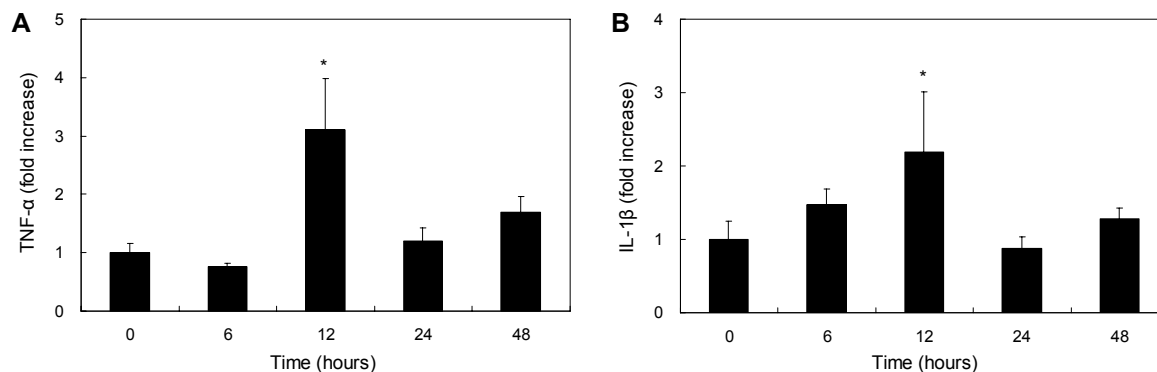
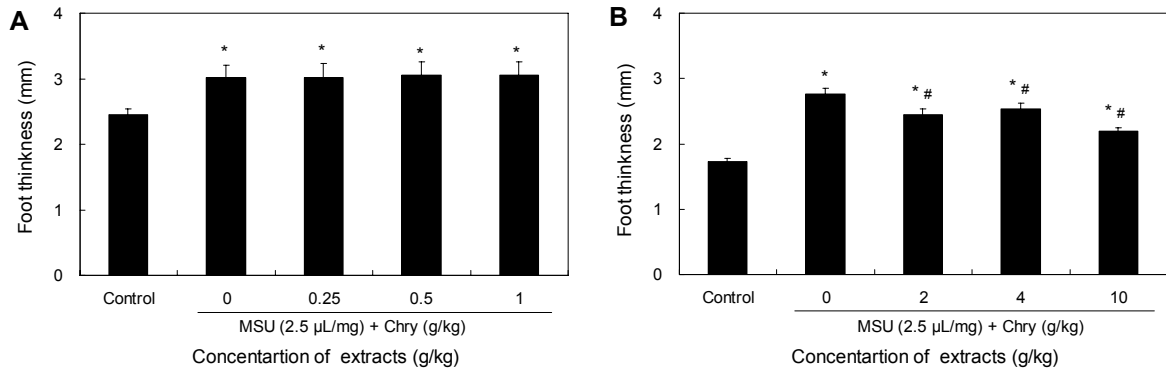
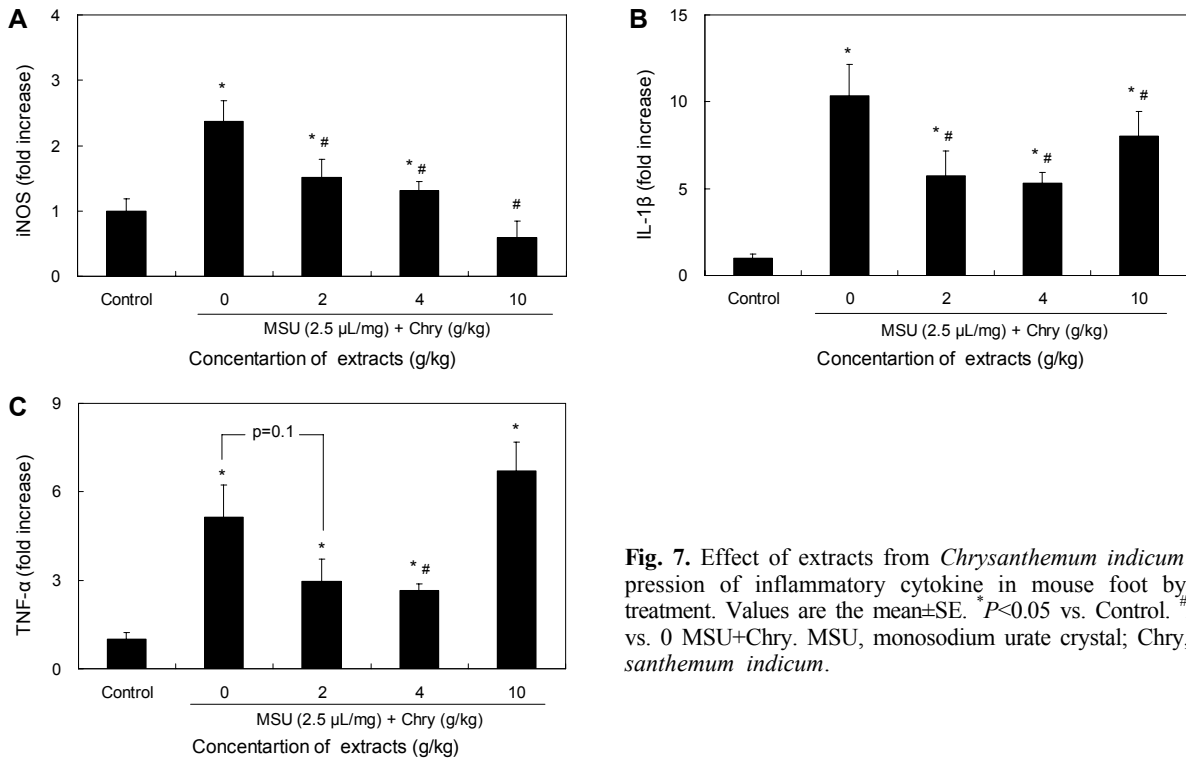


Fig. 5. Expression of inflammatory cytokine in mouse liver by MSU treatment. Values are the mean $\pm$ SE. \* $P$ <0.05 vs. 0.



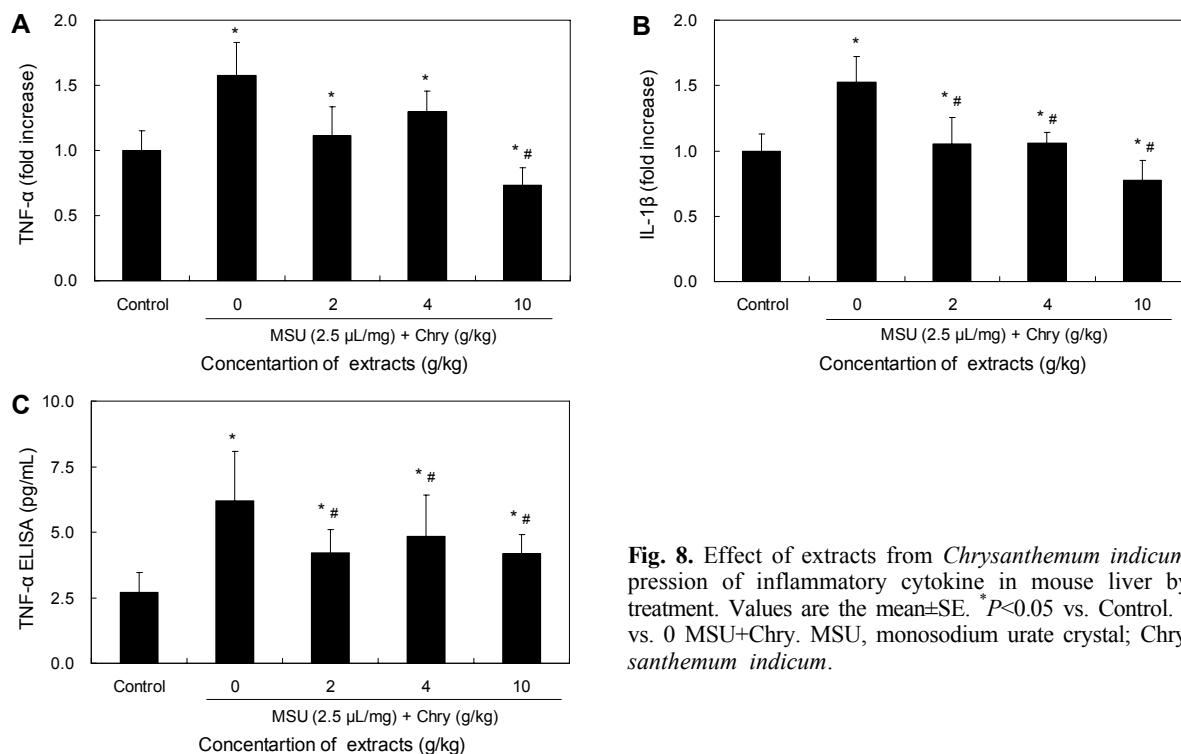
**Fig. 6.** Effect of extracts from *Chrysanthemum indicum* to dropsy in mouse foot by MSU treatment. Values are the mean±SE. \* $P < 0.05$  vs. Control. # $P < 0.05$  vs. 0 MSU+Chry. MSU, monosodium urate crystal; Chry, *Chrysanthemum indicum*.



**Fig. 7.** Effect of extracts from *Chrysanthemum indicum* to expression of inflammatory cytokine in mouse foot by MSU treatment. Values are the mean±SE. \* $P < 0.05$  vs. Control. # $P < 0.05$  vs. 0 MSU+Chry. MSU, monosodium urate crystal; Chry, *Chrysanthemum indicum*.

의 경우 감국 추출물의 투여농도가 높아질수록 모든 군에서 투여하지 않은 군보다 농도 의존적으로 유의하게 감소하는 경향을 나타내었으며, 10 g/kg 투여군에서 제일 많이 감소하였다. IL-1β는 Fig. 7B에서와 같이 2와 4 g/kg 투여그룹에서는 농도에 비례하여 유의적인 감소가 관찰되었으나, 10 g/kg 투여군에서는 오히려 2와 4 g/kg 투여군보다 증가하는 경향을 나타내었다. 이는 감국 추출물의 단기독성 검정 시 간의 GOP와 GPT 수치가 10 g/kg 투여군에서 약간 증가한 것과 관련하여 10 g/kg 투여군에서 약간의 단기간 독성을 나타내어 TNF-α와 IL-1β 등 사이토카인의 수치가 다소 높아진 것으로 추측하였다. TNF-α의 경우도 Fig. 7C에서와 같이 2와 4 g/kg 투여군에서는 감소하였으나 10 g/kg 투여군에서는 감소하지 않았다. 따라서 감국 추출물의 고농

도 투여 시 투여농도가 높아질수록 MSU를 투여하지 않은 그룹에 비해 유의적인 염증억제 효과가 확인되었다. 간에서의 염증성 사이토카인의 발현은 Fig. 8에서와 같이 MSU 투여군과 대조군 사이에서는 통계적으로 유의한 차이를 나타내었다. 혈중 TNF-α의 발현은 Fig. 8A에서와 같이 감국을 2와 4 g/kg 투여한 그룹과 투여하지 않은 그룹 간에 통계적으로 유의한 차이가 없었으나 10 g/kg 투여군에서는 유의적인 감소가 관찰되었다. 혈중 IL-1β의 발현은 Fig. 8B에서와 같이 대조군에 비해 감국 처리군에서 농도 의존적으로 유의적인 발현 억제가 이루어짐을 알 수 있었다. 따라서 간에서의 사이토카인의 발현과 혈장 TNF-α 농도는 MSU 주입군에서는 증가하는 경향을 나타내었고, 감국 추출물의 투여 때문에 통계적인 유의성을 가지며 감소하는 경향을 나타



**Fig. 8.** Effect of extracts from *Chrysanthemum indicum* to expression of inflammatory cytokine in mouse liver by MSU treatment. Values are the mean±SE. \**P*<0.05 vs. Control. #*P*<0.05 vs. 0 MSU+Chry. MSU, monosodium urate crystal; Chry, *Chrysanthemum indicum*.

내었다.

이상의 결과에서 감국 추출물을 2 g/kg 이상 투여한 그룹에서는 통풍의 염증 및 부종 억제 효과가 있었으나, 10 g/kg 투여군에서는 오히려 염증이 증가하는 경향이 있었다. Cho (27)가 감국 추출물의 물 추출물이 43.45%의 xanthin oxidase에 대한 억제 효과를 나타내었다고 보고한 것과 본 연구 결과를 종합해보면, 감국 추출물은 XOase의 작용을 억제하며 통풍으로 인한 염증작용도 억제하므로 통풍예방물질로써 활용이 가능할 것으로 판단하였다.

### 요 약

감국 추출물 0.5~10 g/kg을 투여한 급성독성 실험에서는 고용량인 10 g/kg 경구투여에서도 급성독성을 발생시키지 않은 것으로 나타나 안전성이 높은 물질로 확인되었다. 만성 독성 실험에서도 최대 2 g/kg까지 13주간 경구 투여하였으나 간 독성이 없는 것으로 나타났다. 감국 추출물을 2~4 g/kg 투여한 그룹에서는 통풍의 염증 및 부종 억제 효과가 있었으나, 10 g/kg 투여군에서는 다소 염증이 증가되는 경향을 나타내었다. 그러므로 통풍억제 효과가 있으나 염증성 사이토카인을 더 증가시키지 않는 4 g/kg의 농도 이하로 감국 추출물을 투여하는 것이 적당한 농도라고 판단되었다. 따라서 감국 추출물은 고용량에서도 비교적 안전한 물질로 monosodium urate crystal에 의한 염증작용을 억제하므로 통풍예방물질로서의 가치가 있다고 생각되었다.

### 감사의 글

이 논문은 2012년 지식경제부에서 시행한 지역산업전략기 획기술개발사업의 결과이며, 연구개발비 지원에 감사드립니다.

### REFERENCES

- Ren AN, Wang ZG, Lu ZC, Wang LW, Wu YL. 1999. Study on bacteriostasis and antivirotic of flowers *Chrysanthemum indicum*. *Pharm Biotechnol* 6: 241-244.
- Shunying Z, Yang Y, Huaidong Y, Yue Y, Guolin Z. 2005. Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oils of *Chrysanthemum indicum*. *J Ethnopharmacol* 96: 151-158.
- Aridoğan BC, Baydar H, Kaya S, Demirci M, Ozbaşar D, Mumcu E. 2002. Antimicrobial activity and chemical composition of some essential oils. *Arch Pharm Res* 25: 860-864.
- Yoshikawa M, Morikawa T, Toguchida I, Harima S, Matsuda H. 2000. Medicinal flowers. II. Inhibitors of nitric oxide production and absolute stereostructures of five new germacrene-type sesquiterpenes, kikkanol D, D monoacetate, E, F, and F monoacetate from the flowers of *Chrysanthemum indicum* L.. *Chem Pharm Bull* 48: 651-656.
- Kong LD, Cai Y, Huang WW, Cheng CH, Tan RX. 2000. Inhibition of xanthine oxidase by some Chinese medicinal plants used to treat gout. *J Ethnopharmacol* 73: 199-207.
- Cheng W, Li J, You T, Hu C. 2005. Anti-inflammatory and immunomodulatory activities of the extracts from the inflorescence of *Chrysanthemum indicum* Linné. *J Ethnopharmacol* 101: 334-337.
- Yoshikawa M, Morikawa T, Murakami T, Toguchida I,

- Harima S, Matsuda H. 1999. Medicinal flowers. I. Aldose reductase inhibitors and three new eudesmane-type sesquiterpenes, kikkanol A, B, and C, from the flowers of *Chrysanthemum indicum* L.. *Chem Pharm Bull* 47: 340-345.
8. Matsuda H, Morikawa T, Toguchida I, Harima S, Yoshikawa M. 2002. Medicinal flowers. VI. Absolute stereostructures of two new flavanone glycosides and a phenylbutanoid glycoside from the flowers of *Chrysanthemum indicum* L.: their inhibitory activities for rat lens aldose reductase. *Chem Pharm Bull* 50: 972-975.
9. Jung BS, Shin MG. 1989. *Hyangyak comprehensive dictionary*. Younglimsa, Seoul, Korea. p 1038-1039.
10. Ryu SY, Choi SU, Lee CO, Lee SH, Ahn JW, Zee OP. 1994. Antitumor activity of some phenolic components in plants. *Arch Pharm Res* 17: 42-44.
11. Uchio Y, Tomosue K, Nakayama M, Yamamura A, Waki T. 1981. Constituents of the essential oils from three tetraploid species of *Chrysanthemum*. *Phytochem* 20: 2691-2693.
12. Mladenova K, Tsankova E, van Hung D. 1988. New sesquiterpenoids from *Chrysanthemum indicum* var. *tuneful*. *Planta Med* 54: 553-555.
13. Simões CM, Schenkel EP, Bauer L, Langeloh A. 1988. Pharmacological investigations on *Achyrocline satureioides* (LAM.) DC., Compositae. *J Ethnopharmacol* 22: 281-293.
14. Heinrich PC, Behrmann I, Müller-Newen G, Schaper F, Graeve L. 1988. Interleukin-6-type cytokine signalling through the gp130/Jak/STAT pathway. *Biochem J* 334: 297-314.
15. Lee YH. 2002. Diagnosis and management of gout. *J Korean Acad Fam Med* 23: 261-266.
16. Sutaria S, Katbamna R, Underwood M. 2006. Effectiveness of interventions for the treatment of acute and prevention of recurrent gout: a systematic review. *Rheumatology* 45: 1422-1431.
17. Health Insurance Review & Assessment Service. 2011. *2010 National Health Insurance Statistical Yearbook*. Wonju, Korea. p 559-578.
18. Lee YS, Kim KK, Kim NW. 2011. The physiological activities of bark extract of *Albizia julibrissin*. *Korean J Food Preserv* 18: 79-86.
19. Seo SJ, Kim NW. 2010. Physiological activities of leaf and root extracts from *Liriope platyphylla*. *Korean J Food Preserv* 17: 123-130.
20. Jee SO. 2009. Antioxidant activities and whitening effect of the mulberry (*Morus alba* L.) root bark extracts. *Korean J Plant Res* 22: 145-151.
21. Gilman AG, Goodman LS, Rall TW, Murad F. 1985. *Goodman and Gilman's the pharmacological basis of therapeutics*. 7th ed. Macmillan, New York, NY, USA. p 712.
22. Wortmann RL. 2005. Recent advances in the management of gout and hyperuricemia. *Curr Opin Rheumatol* 17: 319-324.
23. Jeong CY. 2002. The effect of phenobarbital on the dose-dependent pharmacokinetics of probenecid in rat. *MS Thesis*. Chonnam National University, Gwangju, Korea.
24. Lee MH, Graham GG, Williams KM, Day RO. 2008. A benefit-risk assessment of benzbromarone in the treatment of gout. Was its withdrawal from the market in the best interest of patients?. *Drug Saf* 31: 643-665.
25. Lee YS. 2007. Physiological activities of hot water extract from *Ailanthus altissima*. *Korean J Food Preserv* 14: 170-176.
26. Kwak CS, Lee KJ, Chang JH, Park JH, Cho JH, Park JH, Kim KM, Lee MS. 2013. *In vitro* antioxidant, anti-allergic and anti-inflammatory effects of ethanol extracts from Korean sweet potato leaves and stalks. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 42: 369-377.
27. Cho YJ. 2014. Biological activity of extracts from *Chrysanthemum indicum* L. by ultrafine grinding. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 43: 110-117.