

HaCaT 세포주에서 캐모마일 (*Matricaria chamomilla*) 추출물의 항병원성 및 항염 효과에 관한 연구

임은경¹, 김근태¹, 김보민¹, 김은지¹, 김상용², 한남규³, 하재순³, 김영민^{1*}

Study of Anti-microbial Activities and Anti-inflammatory Effects of Chamomile (*Matricaria chamomilla*) Extracts in HaCaT cells

Eun Gyeong Lim¹, Guen Tae Kim¹, Bo Min Kim¹, Eun Ji Kim¹, Sang-Yong Kim², Nam Kyu Han³, Jae Sun Ha³, and Young Min Kim^{1*}

Received: 2 January 2017 / Revised: 31 January 2017 / Accepted: 2 February 2017

© 2017 The Korean Society for Biotechnology and Bioengineering

Abstract: Chamomile (*Matricaria chamomilla*), a member of the Asteraceae family, is a well-known for medicinal plant and can be found in India and Europe. Chamomile is an effective sedative and various medical effects. But, the effects of acne treatment by chamomile were not investigated. Therefore, we assessed the anti-oxidant effects, anti-microbial activity and anti-inflammatory effects by chamomile extracts in HaCaT keratinocyte cells. Anti-oxidant effects of chamomile extracts were investigated by DPPH assay. Also, results of MTT assay was demonstrated that chamomile extracts did not have a cytotoxic effect in HaCaT cells. To assess the antimicrobial activity, we determined formation of inhibition zone of *Propionibacterium acnes* by extracts from chamomile. Tumor necrosis factor- α (TNF- α) induces production of inflammatory cytokines such as interleukin-1 β (IL-1 β), IL-6 and IL-8 and expression of COX-2. Chamomile extracts could inhibit

TNF- α -induced mRNA expression levels of IL-1 β , IL-6, IL-8 and COX-2 gene. These results demonstrated the possibility of chamomile for prevention and treatment of skin inflammatory diseases such as acne.

Keywords: Chamomile, Anti-microbial activity, Anti-inflammatory effects, *P.acnes*, HaCaT cells

1. INTRODUCTION

여드름은 피지선 주변에서 발생하는 만성 염증 질환으로 면포, 구진, 농포, 낭종, 결절 등의 다양한 병변을 동반하며, 잘못된 관리 시 흉터 등의 후유증을 남긴다 [1]. 여드름의 발생에는 복합적인 요인이 작용하는 것으로 알려져 있으며, 일반적으로 피지선에서의 과도한 피지분비, 호르몬 불균형, 유전, 비정상적인 모낭 내 각화 현상 및 *Propionibacterium acnes*의 증식에 의한 염증반응 등에 의하여 발생한다 [2]. 여드름은 주로 사춘기 청소년층에서 관찰되지만 최근 육식 위주의 식습관 변화와 환경호르몬 등에 의하여 25세 이상의 청년층에서 나타나는 성인여드름이 증가하는 추세다 [3]. 일반적인 여드름 치료법은 국소요법과 전신요법으로 나뉘며 국소요법으로는 erythromycin, clindamycin을 포함한 국소 항생제와 벤조일과산화물 (Benzoyl peroxide), tretinoin, adapalene 등의 국소 레티노이드제와 레이저치료, 압출 등의 방법이 있으며, 전신요법으로는 호르몬제 (경구 피임제, spironolactone) 등이 있다 [1,3]. 하지만 이러한 방법들은 피부부작용이 심하고 항생

¹한남대학교 생명나노과학대학 생명시스템과학과

¹Department of Biological Sciences and Biotechnology, College of Life Science and Nano Technology, Hannam University, Daejeon 34054, Korea

Tel: +82-42-629-8760, Fax : +82-42-629-8873

e-mail: kym@hnu.kr

²신안산대학교 식품생명과학과

²Department of Food Science & Bio Technology, Shinansan University, Ansan, Korea

³닥터하스킨 주식회사

³Dr. HASKIN Co., Ltd., Korea

제 및 스테로이드제에 대한 내성 및 부작용 등의 문제점이 발생하기 때문에 최근에는 피부에 자극이 적고 안전한 천연추출물 유래 여드름 치료물질 개발에 대한 관심이 높아지는 추세이다 [3]. 실제로 최근 소비자들의 소비추세가 자연 지향적이고 환경 친화적으로 변해감에 따라 화장품에 들어가는 유효성분도 화학물질보다는 식물 유래의 천연물을 선호하고 있으며, 천연물의 유용성을 기반으로 하여 여러 가지 형태로 화장품에 배합되어 사용되고 있다 [4,5].

캐모마일 (*Matricaria chamomilla*)은 인도와 유럽이 원산지인 국화과 다년생 식물로 황색의 꽃이 피는 다이어즈 캐모마일과 백색의 꽃이 피는 로만 캐모마일로 나뉜다 [6]. 캐모마일은 피부 살균효과가 있어서 유럽에서는 미용을 위한 목욕제로 쓰이며, 감기예방, 불면증 해소 등의 효과가 알려져 있기 때문에 주로 차로 음용 되어왔다 [6]. 캐모마일의 꽃에는 terpenes, flavonoids, coumarin, calicacid 등의 성분이 함유되어 있으며, 꽃을 증류 추출하여 얻은 에센셜 오일은 푸른빛을 띠고 α -bisabolol, chamazulene, bisabolol oxide 등의 성분이 포함되어 있어 염증을 가라앉히는데 효과적이다 [6-8]. 또한 캐모마일은 진정작용, 항당뇨효과, 항관절염 효과 등의 다양한 약물 효능이 있는 것으로 보고되었다 [9-11]. 하지만 아직까지 여드름과 같은 특정 피부 염증 질환에 대한 캐모마일의 과학적 효능에 대한 연구는 미미한 실정이다. 따라서 본 연구에서는 캐모마일 추출물의 항산화 효과와 여드름 유발균인 *Pacnes* 균에 대한 항균 효과, 피부각질형성세포에서의 항염증 효과를 확인함으로써 여드름 개선 화장품으로서 캐모마일의 가능성을 확인하고자 하였다.

2. MATERIALS AND METHOD

2.1. 실험재료 및 기기

실험에 사용된 1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl radical (DPPH)와 3-(4,5-dimethyl-2-thiazolyl)-2,5-diphenyl-2H-tetrazolium bromide (MTT)는 Sigma-Aldrich Co. (St. Louis, MO, USA)에서 구입하였으며 에탄올, 클로로폼, 이소프로판올 등의 시약은 시판 특급 시약을 사용하였다. 시료의 흡광도는 ELISA microplate reader (Model 680, Bio-Rad Laboratories, Inc., Tokyo, Japan)를 사용하여 측정하였다.

2.2. 캐모마일 추출물 제조

본 실험에서 사용된 캐모마일은 경상남도 진주시에 위치한 허브중농원에서 구입하였으며, 캐모마일 꽃 1 Kg에 증류수 8 L를 가하여 2 h 동안 증류추출하였다. 이러한 방법을 통하여 얻어진 추출물의 상층부분에 생성된 캐모마일 오일과 하단부분의 캐모마일 플로럴워터는 분리하여 빛을 차단한 상

태에서 상온보관하였다. 실험에 사용된 캐모마일 워터는 1 g/mL의 농도로 보관하였고, 캐모마일 오일은 30 mg/mL의 농도로 캐모마일 플로럴워터에 희석하여 보관한 후 실험에 사용하였다.

2.3. 균주와 세포주 배양

HaCaT 세포는 Dr. Fusenig (German Cancer Research Center, DKFZ, Heidelberg, Germany)로부터 분양 받았으며, Fibroblast 세포는 American Type Culture Collection (ATCC, Rockville, MD, USA)에서 분양 받아 사용하였다. 세포는 10% FBS와 1% antibiotics가 포함된 DMEM media (Hyclone, Laboratris Inc., Logan, UT, USA)를 사용하여 5% CO₂, 37°C 조건 하에서 배양하였다. 매 48 h마다 Trypsin-EDTA (Hyclone, Laboratories Inc., Logan, UT, USA)를 이용하여 세포를 부유 상태로 만든 다음 세포를 1×10⁶ cells/mL로 분주하고 계대 배양하였다. 여드름 유발 균주인 *Propionibacterium acnes* (*P. acnes* KCTC 3314)는 한국생명공학연구원 생물자원센터에서 분양 받아 사용하였으며, Reinforced Clostridial Agar (MB-R1096, MBcell, Korea)를 사용하여 매 72 h마다 37°C, anaerobic 조건 하에서 배양하였다(Table 1).

2.4. DPPH assay

캐모마일 워터 및 오일의 항산화 효능은 DPPH 법을 통하여 확인하였다. 시료로 사용된 캐모마일 워터는 1 mg/mL, 캐모마일 오일은 15, 30, 60 µg/mL의 농도가 되도록 94.9% 에탄올에 희석하여 사용하였다. 94.9% 에탄올에 용해시킨 0.2 mM DPPH 용액 1 mL과 시료 1 mL을 혼합하고 빛을 차단하여 30 min 동안 반응시킨 후 microplate reader를 이용하여 517 nm의 파장에서 흡광도를 측정하였다. blank로는 시료대신 증류수를 첨가하였고, Vitamin C를 농도별로 제조하여 사전실험을 진행한 후에 적정 농도를 양성대조군으로 사용하였다. 자유라디칼 소거 능력은 아래 식을 이용하여 계산하였다.

DPPH free radical scavenging rate (%)

$$= \left(\frac{A_{blank} - A_{exp}}{A_{blank}} \right) \times 100$$

2.5. 세포 생존율 측정

세포 생존율은 MTT assay 법을 통하여 측정하였다. 12 well plate에 HaCaT 세포와 fibroblast 세포를 각각 1×10⁵ cells/mL로 분주하고 24 h 동안 안정화시킨 후 최종농도가 캐모마일 워터는 1 mg/mL, 오일은 30 µg/mL의 농도가 되도록 처리하여 24, 48 h 동안 5% CO₂, 37°C 조건 하에서 배양하였다. 염증 반응 유도균에서는 TNF- α 를 1 h 전처리하였다. 배양이 끝난 후 5 mg/mL 3-(4,5-dimethyl-2-thiazolyl)-2,5-diphenyl-2H-tetra-

Table 1. Culture condition of microorganisms for antimicrobial activity test

Strains	Media	Temp (°C)
<i>Propionibacterium acnes</i> KCTC 3314	Reinforced Clostridial agar	37

zolium bromide (MTT, Sigma-Aldrich Co.) solution을 각 well 당 20 μ L씩 첨가하여 1 h 동안 CO₂ incubator에서 반응시켰다. MTT solution이 포함된 media를 제거하고 PBS washing 후 PBS를 완전히 제거하였다. 각 well 당 DMSO 150 μ L을 첨가하여 생성된 formazan을 모두 녹인 다음 96 well plate에 100 μ L씩 옮긴 후 ELISA microplate reader (Bio-Rad model 680, Bio-Red Laboratories Inc., Tokyo, Japan)로 595 nm에서 흡광도를 측정하였다. 측정은 모두 3번 이상 하였으며, 이에 따른 평균값과 표준오차는 Microsoft Excel program을 사용하여 분석하였다.

2.6. 생육환저해시험 (Clear Zone Test)

여드름 유발균에 대한 캐모마일 워터 및 오일의 항균활성 측정은 clear zone test를 통해 실시되었다. 여드름 유발균인 *P. acnes*를 액체배지에 접종하여 37°C에서 18시간씩 2회 계대 배양하여 활성화시킨 후 실험에 사용하였다. *P. acnes*균을 1 백금이 취하여 평판배지에 도말한 후 시료 25 μ L을 완전히 흡수시킨 직경 6 mm의 멸균 paper disc를 올려놓고 37°C, anaerobic 조건 하에서 24시간 동안 배양하였다. 배양 후 disc 주위에 생성된 생육저해환 (clear zone) 크기 (mm)를 측정하여 각 시료의 항균력을 측정하였다. 음성대조군으로는 아무 것도 처리하지 않은 paper disc와 증류수를 동량 흡수시킨 paper disc를 사용하였으며, 양성대조군으로는 항생제인 Gentamycin(10 μ g/mL)을 동량 흡수시킨 paper disc를 사용하였다.

2.7. Total RNA 추출 및 cDNA 합성

6 well plate에 HaCaT 세포를 각각 1×10^5 cells/mL로 분주하고 24 h 동안 안정화시킨 후 최종농도가 캐모마일 워터는 1 mg/mL, 오일은 30 μ g/mL의 농도가 되도록 처리하여 24, 48 h 동안 5% CO₂, 37°C 조건 하에서 배양하였다. 염증반응 유도군에서는 TNF- α 를 1 h 전처리하였다. 배양 후 media를 모두 제거한 뒤 PBS로 1회 washing 후 RiboEX Total RNA Isolation Solution (GeneAll Biotechnology, Seoul, Republic of Korea)을 가하여 세포를 용해한 후 클로로폼, 이소프로판올, 70% 에탄올을 각각 첨가하는 과정을 통하여 total RNA를 추출하였다. cDNA 합성은 DiaStar™ RT kit (SolGent, Seoul, Korea)를 이용하여 진행하였다. total RNA 1 μ L와 oligo(dT)20 primer 9

μ L를 혼합한 뒤 65°C에서 5 min 동안 반응시킨 후 ice에 넣어 반응을 중단하였다. 상기 과정을 통하여 oligo(dT) primer가 붙은 mRNA에 8 mM DTT 1 μ L, RNase (200 U/ μ L) 1 μ L, 10 mM의 dNTP가 포함된 5X RT reaction buffer 4 μ L, DEPC-DW를 첨가한 후 40°C에서 1 h, 95°C에서 5 min 동안 반응시킴으로써 cDNA를 합성하였다.

2.8. 역전사 중합효소 연쇄반응 (Reverse Transcription Polymerase Chain Reaction, RT-PCR)

PCR은 DNA polymerase와 buffer, dNTP, tracking dye가 포함된 2X Taq PCR Smart mix 1 (SolGent, Seoul, Korea)를 이용하여 실시하였다. PCR 증폭은 95°C에서 10 min 동안 pre-denaturation 하고, denaturation은 95°C에서 30 sec, annealing은 60°C에서 30 sec, extension은 72°C에서 30 sec의 조건으로 35 cycles 반응시켰으며 72°C에서 10 min 동안 안정화시켰다. IL-1 β , IL-6, IL-8, COX-2, actin의 specific primer sequences는 Table 2와 같다.

2.9. 통계처리

통계 프로그램인 SPSS 22.0을 사용하였고 실험설계에 대한 분산분석은 일원배치 분산분석 (One-way ANOVA)과 독립 표본 *t*-test (independent sample *t*-test)를 실시하여 검정하였다. 각 자료는 3번 이상의 반복된 실험을 통하여 얻어진 결과로 검정하였고 $p < 0.05$ 인 경우 통계적으로 유의한 것으로 판정하였다.

3. RESULT AND DISCUSSION

3.1. 캐모마일 추출물의 항산화 효과

캐모마일 워터 및 오일의 항산화 효과를 측정하기 위하여 DPPH assay를 실시하였다. DPPH 법은 시료의 환원력을 측정하는 실험 방법으로 시료가 DPPH의 자유라디칼에 전자를 공여함으로써 발생하는 자유라디칼 소거 능력을 측정한다 [12]. 캐모마일 워터 및 오일의 항산화 효과를 측정된 결과, 캐모마일 워터는 13.3%, 캐모마일 오일은 15 μ g/mL의 농도에서 11.74%, 30 μ g/mL의 농도에서 22.75%, 60 μ g/mL에서

Table 2. Specific primer sequences for the amplification of target gene

Gene	Primer sequence (5'-3')	Amplification size (bp)	Annealing temperature (°C)
IL-1 β	For: GGAGAATGACCTGAGCACCT	185	60.0
	Rev: GGAGGTGGAGAGCTTTCAGT		
IL-6	For: AGTCCTGATCCAGTTCCTGC	150	60.0
	Rev: AAGCTGCGCAGAATGAGATG		
IL-8	For: TGAGCATCTACGGTTTGCTG	227	60.0
	Rev: TGCTTGTCTGGAACAACCTGC		
COX-2	For: TGAGCATCTACGGTTTGCTG	158	60.0
	Rev: TGCTTGTCTGGAACAACCTGC		
Actin	For: GGACTTCGAGCAAGAGATGG	234	60.0
	Rev: AGCACTGTGTTGGCGTACAG		

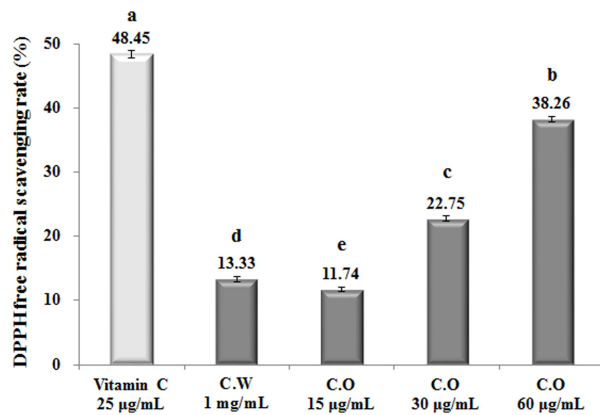


Fig. 1. Free radical scavenging ability of chamomile extracts. Anti-oxidative effects were measured by DPPH assay. The statistical analysis of the data was carried out by use of a one-way ANOVA ($p < 0.05$, each experiment, $n=3$).

38.26%의 자유라디칼 소거능이 관찰되어 항산화 효과가 있음을 확인하였다 (Fig. 1). 이는 양성대조군인 vitamin c의 항산화 효과가 37.23%인 것과 비교했을 때, 캐모마일 오일이

비교적 높은 항산화 효과를 지닌 것으로 볼 수 있다. 선행연구에 의하면 캐모마일 에탄올 추출물의 항산화 효과는 75.4%로 라벤더, 페퍼민트와 같은 기타 허브류보다 높은 것으로 보고된바 있으며, 이러한 결과는 본 실험의 항산화 효과보다 높은 수치이지만 이는 추출 용매 및 방법에 의한 차이인 것으로 생각된다 [13].

3.2. 캐모마일 추출물의 세포독성 검사

피부 표피층을 구성하는 피부각질형성세포 (HaCaT)는 피부의 보호막 역할을 하는 각질을 형성하며 다양한 자극에 반응하여 여러 사이토카인 (cytokine)을 분비함으로써 염증반응 및 면역반응에 관여한다 [14,15]. 피부각질형성세포가 자극을 받으면 tumor necrosis factor- α (TNF- α)를 분비하여 다른 사이토카인의 분비를 촉진함으로써 염증을 유도하는 것으로 알려져 있다 [15]. 따라서 본 연구에서는 피부를 구성하고 있는 피부각질형성세포 (HaCaT) 및 섬유아세포 (fibroblast)에 대한 캐모마일 추출물의 세포독성 여부를 확인하기 위하여 MTT assay를 실시하였다. 또한 TNF- α 로 여드름성 염증반응을 유도한 후 MTT assay를 실시함으로써 여드름성 염증유발 피부에서 캐모마일 추출물의 세포독성 여부를 확인하고자 하였다. 캐모마일 워터 및 오일을 24 h 및 48 h 동안 처리한

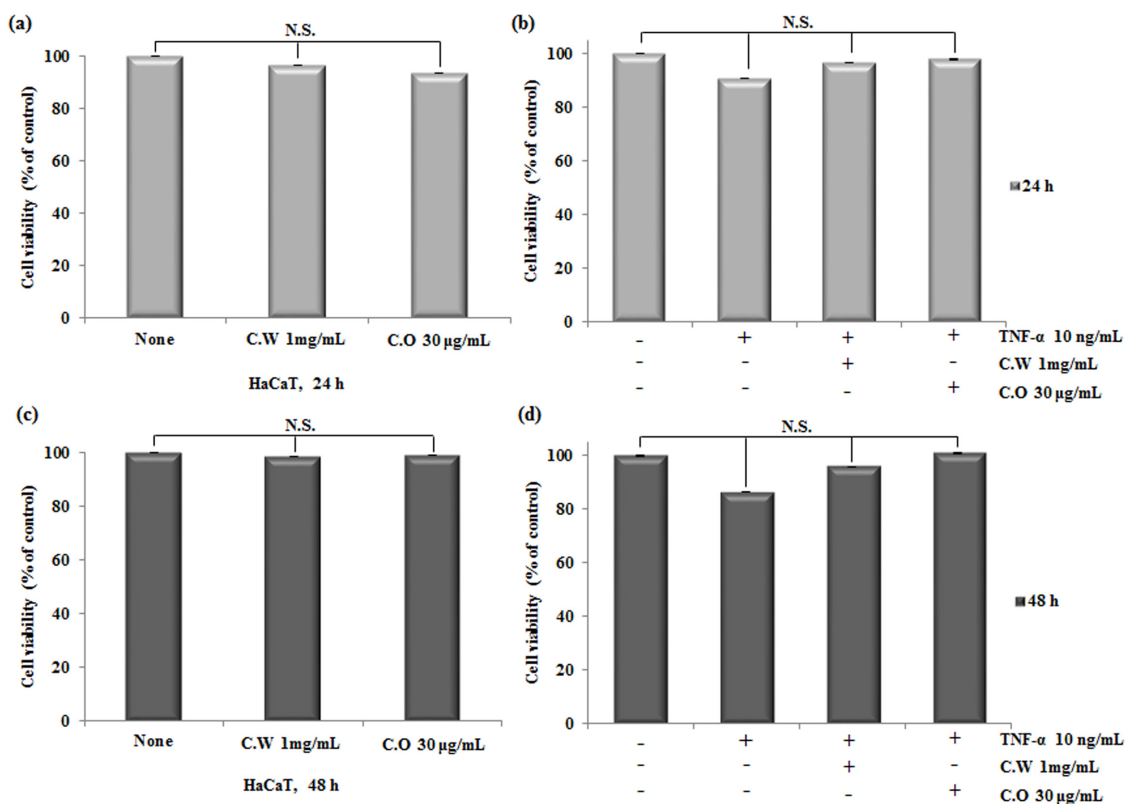


Fig. 2. Cytotoxic Effects of Chamomile extract in HaCaT cells. Cell viability was measured by MTT assay. (a and c) Cells were treated with chamomile water (C.W) and oil (C.O) for 24 h and 48 h. (b and d) Cells were pre-treated with 10 ng/mL TNF- α for 1 h followed by treatment with chamomile water and oil for 24 h and 48 h. The statistical analysis of the data was carried out by use of a t-test. N.S. is not significant (each experiment, $n=3$).

Table 3. Antimicrobial activities of chamomile extracts

Strains	Diameter of Clear Zone (mm)				
	None	D.W	Gentamycin	Chamomile Water	Chamomile Oil
<i>P. acnes</i> KCTC3314	ND ^{a)}	ND	28.0±1.0 ^{b)}	ND	10±0.0 ^{b)}

a) ND, not detected, b) Inhibition Zone, The results are expressed as mean±SD of triplicates

후에 세포생존율을 측정된 결과, Fig. 2에 나타난 바와 같이 염증을 유발한 24 h 처리군의 경우, TNF- α 처리 시 세포생존율이 90.9%, 캐모마일 워터 처리 군에서 96.8%, 캐모마일 오일 처리군에서 98%로 나타났으나 통계적으로 유의하지 않았다 (Not Significant). 또한, 염증을 유발한 48 h 처리 군에서도 TNF- α 처리 시 세포생존율이 86.6%로 감소하는 것으로 나타났으나 통계적으로 유의한 결과는 아니었으며, 캐모마일 워터 처리군에서 96%, 캐모마일 오일 처리군에서 100.9%로 세포생존율이 다시 증가하는 것을 확인하였다. 따라서 본 실험을 통하여 캐모마일 추출물이 피부각질형성세포 및 섬유아세포에 독성이 없는 것을 확인하였다.

3.3. 캐모마일 추출물의 항균효과

과각질화 및 과다한 피지 분비와 같은 다양한 요인에 의하여 모공이 막히면 혐기성 세균으로 알려진 *P.acnes*의 모공 내 증식이 활발하게 진행된다. *P.acnes*는 지질분해효소인 lipase를 분비함으로써 피지의 주성분인 triglyceride를 분해하여 free fatty acid를 생성하는 것으로 알려져 있으며, 생성된 free fatty acid는 모낭 벽의 상피세포를 자극하여 과각질화 및 피지분비를 더욱 더 악화시켜 염증을 유발한다 [16]. 따라서 본 연구에서는 여드름 유발균인 *P.acnes* 군에 캐모마일 워터 및 오일을 처리하여 캐모마일의 항균력을 측정하고자 하였다. 그 결과 Table 3과 같이, 음성대조군인 아무것도 처리하지 않은 군과 증류수를 처리한 군에서는 *P.acnes*군에 대한 항균효과가 나타나지 않았으며, 양성대조군인 Gentamycin 처리군에서는 28.0±1.0 mm의 생육저해환이 형성되었다. 또한 캐모마일 워터 처리군에서는 생육저해환이 형성되지 않았으나 캐모마일 오일 처리군에서 10±0.0 mm의 생육저해환이 형성되었다. 선행연구에 의하면 *P.acnes* 군에 캐모마일 에센셜 오일을 처리하였을 때 약 8 mm 정도의 생육저해환이 형성되었다고 보고되었으며, 이는 본 실험의 결과와 비슷하였다 [17]. 이와 같은 캐모마일 오일의 항균력은 캐모마일 추출물에 함유되어 있는 지용성 화합물인 α -bisabolol 및 cyclic ethers 등에 의한 것으로 사료되며 [18], 이에 대한 추가적인 연구는 향후 연구과제로 여겨진다.

3.4. 캐모마일 추출물의 염증관련 유전자 발현 저해 효과

P.acnes 군에 의해 피부각질형성세포가 자극을 받으면 TNF- α , interleukin-1 β (IL-1 β), interleukin-6 (IL-6) 및 interleukin-8 (IL-8)과 같은 다양한 염증성 사이토카인이 세포 외부로 분비되어 여드름성 염증반응이 유도된다 [15,19,20]. 염증반응을 조절하는 주요 유전자인 cyclooxygenase-2 (COX-2)는 성장인자 (growth factor), 사이토카인 등에 의하여 발현이 유도되

며, 염증반응 매개물질인 PGE2와 NO의 생성에 관여함으로써 마름버짐, 홍반성 낭창과 같은 염증성 피부질환을 일으키는 것으로 알려져 있다 [21]. TNF- α 는 많은 염증반응에 관련된 중요 인자로 알려져 있으며, 정상적인 상태의 세포에서는 생성되지 않으나 세포가 염증 유발인자에 의하여 자극을 받으면 분비되는 것으로 알려져 있다 [22]. 또한 IL-1 β 는 염증 초기반응에 관여하고 있어 염증을 발생 및 진행과정에 중요한 역할을 하며, IL-8은 백혈구의 탈과립 반응을 유도함으로써 히스타민과 같은 염증유발인자가 분비되도록 한다. 분비된 염증유발인자는 염증 부위에 부종 및 통증과 같은 염증반응을 촉진시킨다 [15,22]. 선행연구에 의하면 피부각질형성세포에 TNF- α 로 염증을 유도한 뒤 봉독을 처리하였을 때, 증가했던 IL-1 β 와 IL-8의 분비 및 발현량이 감소한다고 보고되었다 [15]. 또한 모링가 뿌리 또는 잎 추출물을 처리하였을 때 TNF- α 에 의하여 유도된 IL-6의 mRNA 발현이 농도의존적으로 감소한다고 보고되었다[21]. 따라서 본 연구에서는 피부각질형성세포에 TNF- α 를 처리하여 여드름성 염증반응을 유도한 뒤, 캐모마일 추출물을 처리하여 캐모마일의 항염증 효과를 확인하고자 하였다. 그 결과, Fig. 3과 같이 TNF- α 의 처리에 따라 IL-1 β , IL-6, IL-8 및 COX-2 유전자의 발현이 아무것도 처리하지 않은 군과 비교하였을 때, 각각 1.8, 1.2, 2.0, 1.4 배수 증가하였으며, 캐모마일 워터 처리군에서 각각 1.3, 0.3, 1.1, 1.0 배수, 캐모마일 오일 처리군에서 각각 1.1, 0.1, 1.6, 0.4 배수로 TNF- α 단독 처리군보다 발현량이 유의하게 감소하였다. 선행연구에 의하면 캐모마일의 항염증효과는 페놀성 화합물에 의한 것으로 알려져 있으며, apigenin, quercetin, patuletin, luteolin 중에서도 luteolin에 의한 항염증 효과가 뛰어난 것으로 보고되었다 [9]. 결과적으로 본 실험을 통하여 캐모마일 추출물의 항염증 효과를 확인하였으며, 이와 같은 효과는 IL-1 β , IL-6, IL-8 및 COX-2과 같은 염증관련 유전자의 발현을 억제함으로써 나타난 것임을 확인하였다. 또한 이러한 캐모마일 추출물의 항염증 효과는 추출물에 함유되어있는 luteolin과 같은 페놀성 화합물 성분에 의한 것으로 예상된다.

4. CONCLUSION

최근 화장품시장이 확대됨에 따라 여드름의 예방 및 증상개선을 위하여 항균 및 항염 효능이 있고 피부에 자극이 덜한 천연물 유래 화장품 개발에 대한 연구가 많이 이루어지고 있다 [20]. 따라서 본 연구에서는 캐모마일 추출물의 항산화 효과와 세포독성, 항균 및 항염 효과를 확인하여 천연물 유래

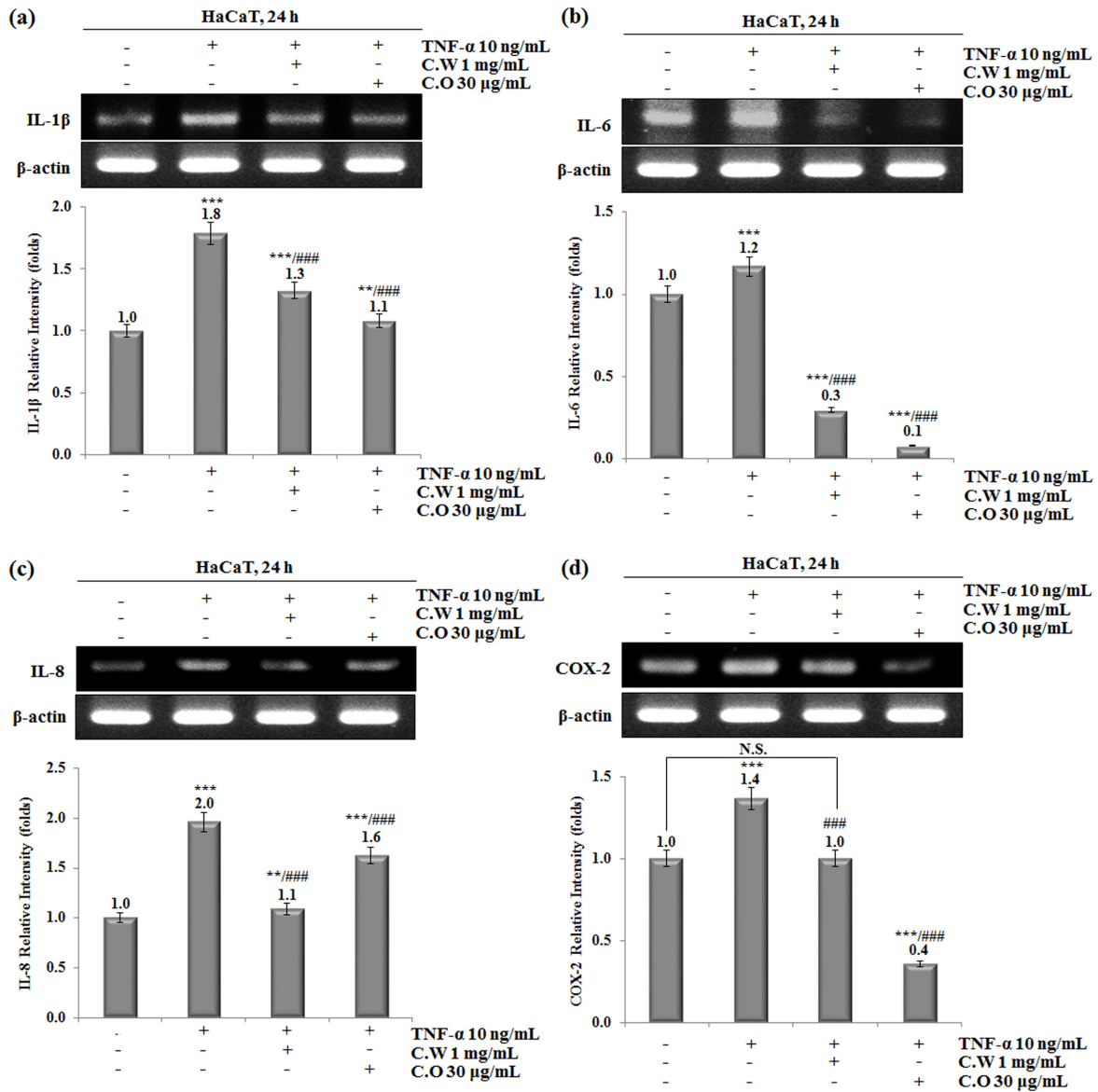


Fig. 3. Effects of chamomile extracts on IL-1β, IL-6, IL-8 and COX-2 mRNA expression levels in HaCaT cells. Cells were pre-treated with 10 ng/mL TNF-α for 1 h followed by treatment with chamomile water (C.W) and oil (C.O) for 24 h. The statistical analysis of the data was carried out by use of a t-test. ***p*<0.01 and ****p*<0.001 compared to control. ####*p*<0.001 was compared to 10 ng/mL TNF-α treated group. N. S.; not significant (each experiment, n=3).

화장료로서 캐모마일의 가능성에 대하여 알아보고자 하였다. 그 결과, 캐모마일 워터 및 오일 추출물에서 각각 13.3%, 22.75%의 항산화 효과가 확인되었으며, 캐모마일 워터보다 캐모마일 오일 처리군에서 더 높은 항산화 효과를 확인하였다. 또한 MTT assay를 통하여 캐모마일 추출물의 세포독성 검사를 실시한 결과, 캐모마일 추출물 처리에 따른 세포독성은 나타나지 않았다. 여드름 유발균으로 알려진 *P.acnes*에 캐모마일을 처리하여 항균효과를 확인한 결과, 캐모마일 워터 처리군에서는 생육저해환이 관찰되지 않았으며 캐모마일 오일 처리군에서 10±0.0 mm의 생육저해환이 형성되었다. 또한

TNF-α로 여드름성 염증반응을 유도한 뒤, 염증관련 유전자들의 발현 변화를 통하여 캐모마일 추출물의 항염 효과를 확인한 결과, IL-1β, IL-6, IL-8 및 COX-2 유전자의 발현이 감소하는 것을 확인하였다. 결론적으로 캐모마일 추출물의 항산화, 항균 및 항염 효과를 확인하였으며, 캐모마일 워터보다는 캐모마일 오일이 더 뛰어난 항여드름 효과를 지닌 것을 확인하였다. 따라서, 캐모마일이 피부세포에 독성이 없고 항균 및 항염 작용을 하는 것으로 보아 여드름 증상 개선을 위한 화장료로서 이용될 가능성이 높다고 사료된다.

Acknowledgements

본 연구는 2015년 산학연협력 기술개발사업 (기업부설연구소 신규설치, 과제번호 C0268928)에 의해 수행되었음.

REFERENCES

- Lee, W. G., B. H. Kim, S. W. Jeon, K. S. Kim, H. J. Nam, and Y. B. Kim (2011) The Latest Trends of Treatment for Acne Vulgaris in PubMed. *J. Korean Orient. Med. Ophthalmol. Otolaryngol. Dermatol.* 24: 41-56.
- Jin, B. W., J. H. Ahn, and C. J. Ma (2011) Antibacterial Activity of Some Medicinal Plants against *Propionibacterium acnes*. *Kor. J. Pharmacogn.* 42: 98-101.
- Yoon, H. J. and D. I. Kim (2015) Review on the Acne Related Articles Published in Korean Medical Journals-Focusing on Experimental Studies Published after 2005. *J. Korean Obstet. Gynecol.* 28: 113-127.
- An, B. J., J. T. Lee, C. E. Lee, J. H. Son, J. Y. Lee, and T. S. Park (2005) A Study on the Development of Cosmeceutical Ingredient, *Rhododendron mucronulatum*, and the Application of Rheology Properties. *J. Korean Soc. Appl. Biol. Chem.* 48: 273-279.
- Eom, J. N. and J. D. Kim (2004) An empirical study on the oriental herbal cosmetics purchase behaviors in women in the Metropolitan area. *J. Soc. Cosmet. Scientists Korea.* 30: 93-102.
- Cho, Y. J., S. J. Yoon, J. H. Kim, and S. S. Chun (2005) Biological Activity of Chamomile (*Matricaria chamomilla* L.) Extracts. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 34: 446-450.
- Lee, S. H., K. J. Min, K. O. Lee, J. S. Sin, Y. C. Kim (2008) Effect of German Chamomile Oil Application to Atopic Dermatitis Mice on the Change of Serum IgE Level. *J. Kor. Soc. Cosm.* 14: 337-345.
- Srivastava, J. K., E. Shankar, and S. Gupta (2011) Chamomile: A herbal medicine of the past with bright future. *Mol. Med. Report.* 3: 895-901.
- Kim, J. H., S. Y. Kim, Y. N. Hong, Y. S. Kim, and Y. M. Han (2014) Effect of Chamomile Flower Extract on Septic Arthritis due to *Candida albicans*. *Yakhak Hoeji.* 58: 343-348.
- Abebe, W. (2002) Herbal medication: potential for adverse interactions with analgesic drugs. *J. Clin. Pharm. Ther.* 27: 391-401.
- Weidner, C., S. J. Wowro, M. Rousseau, A. Freiwald, V. Kodelja, H. Abdel-Aziz, O. Kelber, and S. Sauer (2013) Antidiabetic effects of chamomile flowers extract in obese mice through transcriptional stimulation of nutrient sensors of the peroxisome proliferator-activated receptor (PPAR) family. *PLoS One.* 8: e80335.
- Ha, J. H., Y. J. Jeong, J. S. Seong, K. M. Kim, A. Y. Kim, M. M. Fu, J. Y. Suh, N. H. Lee, J. Park, and S. N. Park (2015) Antioxidant and Antibacterial Activities of *Glycyrrhiza uralensis* Fisher (Jecheon, Korea) Extracts Obtained by various Extract Conditions. *J. Soc. Cosmet. Sci. Korea.* 41: 361-373.
- Choi, I. Y., Y. J. Song, and W. H. Lee (2010) DPPH radical scavenging effect and antimicrobial activities of some herbal extracts. *Kor. J. Hort. Sci. Technol.* 28: 871-87.
- Beissert, S., I. Cavazzana, F. Mascia, P. Meroni, S. Pastore, G. Tesari, and G. Girolomoni (2006) Mechanisms of immune-mediated skin diseases: An overview. *Clin. Exp. Rheumatol.* 24: S1-6.
- Lee, W. R., K. H. Kim, H. J. An, J. Y. Kim, S. M. Han, K. G. Lee, and K. K. Park (2014) The effects of bee venom on tumor necrosis factor (TNF)- α induced inflammatory human HaCaT keratinocytes. *Kor. J. Pharmacogn.* 45: 256-261.
- Sohn, H. Y., Y. S. Kim, E. J. Kum, Y. S. Kwon, and K. H. Son (2006) Screening of anti-acne activity of natural products against *Propionibacterium acnes*. *Kor. J. Microbiol. Biotechnol.* 34: 265-272.
- Zu, Y. G., H. M. Yu, L. Liang, Y. J. Fu, T. Effert, X. Liu, and N. Wu (2010) Activities of ten essential oils towards *Propionibacterium acnes* and PC-3, A-549 and MCF-7 cancer cells. *Molecules.* 15: 3200-3210.
- Singh, O., Z. Khanam, N. Misra, and M. K. Srivastava (2011) Chamomile (*Matricaria chamomilla* L.): An overview. *Pharmacogn Rev.* 5: 82-95.
- Taylor, M., M. Gonzalez, and R. Porter (2011) Pathways to inflammation: acne pathophysiology. *Eur. J. Dermatol.* 21: 323-333.
- Choi, J. Y., S. Y. Song, and H. H. Lee (2015) Antibacterial and anti-inflammatory activity of corni fructus ethanol extract in *Propionibacterium acnes*. *Kor. J. Aesthet. Cosmetol.* 13: 623-630.
- Lee, H. J. and Y. C. Chang (2012) Suppression of TNF- α -induced inflammation by extract from different parts of moringa in HaCaT cells. *J. Life Sci.* 22: 1254-1260.
- Bordon, Y. (2010) Cytokines: Cytokines reach out. *Nat. Rev. Immunol.* 10: 382-383.