

정향(*Syzygium aromaticum*) 에탄올 추출물의 항염 효과

장영아¹ · 이정민² · 최윤식^{1,3} · 김보애^{2†}

¹경성대학교 스마트헬스케어융합연구센터

²목원대학교 생의약화장품학부 화장품전공

³경성대학교 약학대학 약학과

(2019년 12월 19일 접수: 2020년 6월 10일 수정: 2020년 6월 12일 채택)

Anti-inflammatory effect of ethanol extract of *Syzygium aromaticum*

Young-Ah Jang¹ · Jeong-Min Lee² · Yun-Sik Choi^{1,3} · Bo-Ae Kim^{2†}

¹Convergence Research Center for Smart Healthcare, Kyungsoong University

²Mokwon University, College of Science & Technology, Division of Biomedical & Cosmetics

³College of Pharmacy, Kyungsoong University

(Received December 19, 2019; Revised June 10, 2020; Accepted June 12, 2020)

요약 : 본 연구의 목적은 정향 에탄올 추출물의 화장품 소재로서의 가능성을 확인하기 위한 것이다. 이를 위해 정향 에탄올 추출물을 사용하여 세포독성과 항염증에 대한 생물학적 활성 평가를 수행하였다. 시료는 70% 에탄올로 추출하여 사용하였다. 시료의 항염증 효과를 평가하기 위해 대식세포 RAW 264.7 세포 내에서 MTT assay를 통해 세포 독성을 평가하였으며, nitric oxide 생성 저해 활성 및 염증 발현 단백질의 발현량을 확인하였다. 정향 에탄올 추출물의 세포 독성 평가 결과 25 µg/ml 이하의 농도에서 90% 이상의 높은 세포 생존율을 보였다. LPS로 유도된 RAW 264.7 세포에서 시료의 nitric oxide 저해 활성이 농도 의존적으로 저해됨을 보아 정향추출물의 우수한 항염증 효능을 확인하였고, 시료 농도 의존적으로 염증성 cytokine인 PGE₂, TNF-α, IL-1β의 발현을 낮추었다. Western blot 실험결과 최고 농도 25 µg/ml에서 iNOS와 COX-2 단백질의 발현이 유의적으로 억제되었다. 실험 결과로부터 정향 에탄올 추출물의 우수한 항염증 효능을 확인하였으며 이는 천연 화장품 소재로 활용될 수 있음을 보여준다.

주제어 : 정향, 항염증, 화장품 소재, 천연화장품

Abstract : The purpose of this study is for checking anti-inflammatory effects of *Syzygium aromaticum* ethanol extract. For this, we investigated biological active evaluation about anti-inflammatory effects by *Syzygium aromaticum* ethanol extract. *Syzygium aromaticum* was extracted with 70% ethanol. This extract was tested for the cell viability on RAW 264.7 cell line by MTT assay, nitric oxide inhibitory activity and expression of inflammatory mediators. The

†Corresponding author
(E-mail: yaviol@nate.com)

extract showed low cytotoxicity as more than 90% cell viability in under 25 $\mu\text{g/ml}$ concentration. On LPS-induced RAW 264.7 cell line, nitric oxide inhibition activity result showed that the extract reduced NO productions in a concentration-dependent manner. Expression of inflammatory cytokines as PGE_2 , $\text{TNF-}\alpha$ and $\text{IL-1}\beta$ decreased in a concentration-dependent manner and iNOS and COX-2 proteins expression were decreased significantly in western blot analysis. We confirmed that the *Syzygium aromaticum* ethanol extract has excellent anti-inflammatory effect. This results suggested that extract of *Syzygium aromaticum* may have value as the cosmetic materials.

Keywords : Clove, *Syzygium aromaticum*, Anti-inflammatory, Cosmetic material, Natural cosmetic

1. 서론

현대인의 피부건강에 대한 관심은 꾸준히 높아지고 있으며, 화장품산업이 보건산업에서 차지하는 비중은 매년 늘어나고 있다[1]. 주된 소비층 역시 성인여성에서 남녀노소를 불문해 다양화되고 있으며 사용용도에 있어서도 안면이나 손·발톱 등 특정부위에 국한되지 않고 모발, 두피, 손과 발을 포함한 신체의 전반에 걸쳐 다양한 제품이 등장하고 있다[2]. 기능적인 면에서도 기존의 주름개선, 미백, 자외선차단용 화장품에서 탈모, 여드름 완화 및 아토피성 가려움 완화용 화장품 등으로 그 범위가 확대되었으며, 이는 미와 건강에 대한 인식 성장이 증가함에 따라 화장품을 단순히 피부 관리 제품이라는 개념에서 더 나아가 보다 구체적인 기능성이나 피부에 대한 하나의 대안으로 인식되어가고 있음을 시사한다[3]. 화장품에 대한 인식 변화에 맞추어 천연 소재를 활용한 천연화장품, 자연주의 화장품 또는 필요한 성분만을 최소한으로 사용하는 제품이 증가하고 있다. 이 중 천연소재는 유용한 생리활성 성분을 기반으로 화장품 원료로서 널리 사용되고 있으며, 이러한 효능을 이용한 천연물 소재개발이 다양하게 이루어지고 있다[4]. 천연물 소재 개발에 대해서는 피부 노화 방지, 색소 침착 개선, 항균 활성, 항산화 및 항염증 효능 등에 대한 연구가 활발히 이루어지고 있다[5,6].

피부에서의 염증은 상처나 감염 등으로 인해 손상된 조직에서 일어나는데 이는 피부를 포함한 모든 조직에 이화학적, 세균학적 변화를 수반한다[7]. 염증 반응은 신체 내외부의 염증을 제거하기 위하여 나타나는 반응으로서 생체를 회복하고 보호하는 중요한 반응이지만, 지속적으로 일어나게 되면 만성 염증반응이 발생하여 오히려 질병을

일으킨다[8]. 내적으로 일어나는 염증 반응은 각종 염증 매개인자 및 면역세포와 관련되어 있어, 염증성 효소를 활성화 시키고 염증 매개물질을 분비하며 염증 세포를 이동시켜 조직을 파괴하는 등 일련의 복합적 생리 반응을 일으키고, 외적으로는 홍반, 부종, 발열이나 통증을 수반한다[9].

대식세포(macrophage)는 염증 반응에서 방어적 역할을 수행하는 혈액 단핵 세포로부터 분화된 조직세포로서 염증 반응에 관여하는 주요 세포이며, lipopolysaccharide (LPS)는 그람 음성 세균의 외막에 존재하는 glycolipid로 염증 관련 실험에서 염증유도제 즉, 염증 매개물질로 사용된다[10]. LPS는 다양한 염증성 cytokine, NO(Nitric oxide), prostaglandin E_2 (PGE_2)를 생성하는데[11], NO는 반응성이 매우 크고 세 가지 nitric oxide synthase (NOS)인 neuronla NOS, en-dothelia NOS, inducible NOS (iNOS) 중 iNOS에 의한 생성이 절대적으로 많다[12]. PGE_2 는 cyclooxygenase (COX)에 의해 생합성 되는데 혈소판을 생성하거나 점막 보호 등 정상적인 생체기능에 관여하는 COX-1과 발열 및 통증 등 염증반응 부위에서 발현되는 COX-2 중 COX-2에 의해 생성된다[13]. 또한 LPS는 염증성 cytokine인 tumor necrosis factor- α ($\text{TNF-}\alpha$), interleukin-6 (IL-6), interleukin-6 β (IL-6 β)의 분비를 증가시키는데, $\text{TNF-}\alpha$ 는 염증 반응 촉진에 중요한 역할을 하고 자가 면역 체계에 문제를 야기한다. IL-6 β 또한 과잉 생산되어 염증 반응을 촉진하면 자가 면역 이상이나 통증, 과열에 관여하기 때문에 염증 반응의 조절에 중요한 역할을 한다[14]. 따라서 염증을 유발하는 cytokine인 $\text{TNF-}\alpha$, IL-6 β 와 효소 iNOS, COX-2, 이들 효소가 유발하는 NO, PGE_2 의 발현을 억제하는 물질은 유용한 항염증제로 활용될

수 있다[15].

본 연구에서 활용한 정향(*Syzygium aromaticum*)은 인도네시아 동부 말루쿠 제도가 원산지인 도금양과에 속하며, 평균 길이 8-12 m로 자라는 정향나무의 꽃이다. 정향나무는 주로 해안가에서 재배되며 해발고도 200 m 이상에서도 서식하고, 주로 활용되는 꽃봉오리 부분은 개화 전 성숙한 단계에서 수확하여 사용한다. 정향은 플라보노이드, 하이드록시벤조산, 하이드록시신남산 등의 페놀성 화합물을 주로 함유하고 있으며, 유제놀(Eugenol)은 정향의 주된 향기성분이자 생리 활성 물질이다[16]. 유제놀의 생리활성에 대해서는 항산화 효과, 항염증효과, 항암효과 및 항균작용 등의 연구가 보고된 바 있다[17]. 정향에 대한 연구로는 물, 메탄올 및 에테르를 이용해 용매별로 추출했을 때의 정향 추출물의 항산화 효능을 비교한 연구[18], 위와 같은 추출용매에 따른 정향 추출물의 각기 다른 균에서의 항균 활성을 비교, 검토한 연구와[19], 정향 열수 및 에탄올 추출물의 화장품 생리활성 및 세포독성에 대해 보고된 바 있다[20]. 또한 항염증 효능에 관하여서는 정향 유래의 유제놀 및 그 유도체의 항산화 및 항염증 활성에 대한 연구가 보고된 바 있으나[21], 정향 추출물의 염증성 Cytokine 발현이나 염증 관련 단백질 발현에 미치는 영향 등 추출물 자체의 효능에 대한 자세한 연구는 다소 미비한 실정이다. 따라서 본 연구에서는 에탄올을 이용하여 추출한 정향 추출물을 동결 건조하여 시료를 획득하고, 세포 독성 및 항염증 효능에 관한 다양한 실험을 통해 천연물로서 화장품 소재로의 활용 가능성을 평가 및 확인하였다.

2. 실험

2.1. 실험 재료

2.1.1. 실험 재료

본 실험에서 사용한 정향(*Syzygium aromaticum*)은 경북 의성군 봉양면 (주)옴니허브로부터 건조된 시료를 구입하였으며 SA라고 표기 후 실험에 사용하였다.

2.1.2. 실험 세포 및 시약

실험에 사용된 세포주 RAW 264.7 mouse macrophage cell (murine macrophage cell line)

은 한국세포주은행(Korea)에서 구입하여 사용하였다. 세포 배양은 10% fetal bovine serum (FBS : Introgen Therapeutics, USA)과 1% penicillin/streptomycin (Hyclone, GE Healthcare Life Sciences, USA) 100 U/ml을 첨가한 dulbecco's modified eagle medium (DMEM; Gibco™, Thermo Fisher Scientific, USA) 배지를 사용하였으며, 37°C, 5% CO₂ incubator (Forma™, Thermo Fisher Scientific)에서 계대 배양하였다. 실험에 사용된 시약3-[4,5-dimethylthiazol2yl]-2,5-diphenyl-tetrazolium-bromide (MTT)와 0.4% trypan blue stain은 Sigma (St. Louis, MO, USA)에서 구입하였다. 단백질 정량 시약 lysis buffer는 Hyclone (Logan, UT, USA)에서 구입하였으며 mouse anti-iNOS, mouse anti-COX-2와 2차 항체 mouse-anti-goat IgG, rabbit-anti-mouse IgG는 Santa Cruz Biotechnology Inc. (Dallas, TX, USA)에서 구입하였다. mRNA 발현에 측정된 시약인 Go Script™ Reverse Transcriptase, GoTaq® Flexi DNA Polymerase는 Promega (Madison, WI, USA)에서 구입하여 사용하였다.

2.1.3. 추출물의 제조

정향은 건조한 시료를 파쇄한 후 70% 에탄올을 용매로 하여 시료중량의 10배 양을 가하여 실온에서 24 h 침지하고 상층액과 침전물을 분리하여 동일한 방법으로 3회 반복 추출하였다. 개별 시료를 원심 분리 및 여과한 다음 rotary vacuume vaporator (HS-10SP; Hahnshin S&T, Korea)를 사용하여 농축한 후 동결기(FD5525; Ilshin BioBase, Korea)로 건조하였다. 건조한 시료는 냉장실에 보관하여 상용하였다.

2.2 실험 방법

2.2.1. 세포독성 측정

96-well plate에 RAW 264.7 세포를 well당 0.6×10^5 cells가 되도록 하여 180 μ l 분주하였고 37°C, 5% CO₂ incubator에서 24 h 동안 배양하였다. 배양 후 정향 에탄올 추출물의 최종 농도가 12.5, 25, 50, 100, 200 μ g/ml가 되도록 하여 각각 20 μ l씩 첨가한 후 24 h 동안 배양하였다. 대조군은 시료와 동량의 증류수를 첨가하여 동일 조건에서 배양하였다. 배양 후 각 well에 5 mg/ml 농도로 제조한 MTT 용액 20 μ l를 첨가

하여 4 h 동안 배양한 후 배양액을 제거하고 dimethyl sulfoxide와 에탄올을 1 : 1로 섞은 용액을 각 well당 150 μ l 가하여 실온에서 30min 동안 반응시킨 뒤 ELISA reader로 550 nm에서 흡광도를 측정하였다. 세포생존을 측정은 시료용액 첨가군과 무 첨가군의 흡광도 감소율로 나타내었다.

2.2.2. Nitric oxide (NO) 측정

6-well plate에 RAW 264.7 세포를 1×10^5 cells/ml로 분주하여 24 h 동안 배양하였다. 다음 날 세포 밀도가 80%가 되었을 때 phosphate buffered saline (PBS: Sigma-Aldrich)으로 2번 세척하고 무혈청 배지를 사용하여 24 h 동안 배양한 후 LPS 1 μ g/ml를 Normal군을 제외한 모든 well에 넣어 자극시켰다. 2 h 후에 정향 에탄올 추출물을 12.5, 25, 50 μ g/ml의 농도로 처리하고, 24 h 후에 상층액 100 μ l와 griess reagent 100 μ l를 10 min 동안 반응시킨 후 ELISA reader로 540 nm에서 흡광도를 측정하여 NO 생성량을 확인하였다.

2.2.3 PGE₂, TNF- α , IL-1 β 생성량 측정

6-well plate에 RAW 264.7 세포를 1×10^5 cells/ml로 분주하여 24 h 동안 배양하여 LPS 1 μ g/ml와 정향 에탄올 추출물을 6.25, 12.5, 25 μ g/ml의 농도로 처리하였다. 18 h 동안 재 배양한 후 세포 배양액을 취하여 PGE₂, TNF- α , IL-1 β cytokine 생성량을 ELISA kit (R&D system, Minneapolis, MN, USA)를 이용하여 측정하였다. PGE₂, TNF- α , IL-1 β 의 함량은 표준물질의 반응으로부터 얻어진 표준곡선을 이용하여 환산하였다.

2.2.4. Western Blot을 이용한 단백질 발현 측정

염증매개인자인 Inducible nitric oxide synthase (iNOS)와 cyclooxygenase-2 (COX-2)의 발현을 보기 위하여 RAW 264.7 세포를 6-well plate에 1×10^5 cells/ml로 분주하여 배양하고, 세포 밀도가 80%가 되었을 때 무혈청 배지로 교환하여 24 h 동안 배양하였다. LPS 1 μ g/ml를 Normal 군을 제외한 모든 well에 넣어 자극시키고 2 h 후에 정향 에탄올 추출물을 6.25, 12.5, 25 μ g/ml의 농도로 처리하여 24 h 동안 배양하였다. 상층액을 제거하고 PBS로 2회 세척 후 scrapper를 이용하여 세포를 수확하였다.

수확된 세포에 Lysis buffer를 well 당 100 μ l 씩 첨가하고 1 h 동안 냉장하여 세포를 용해시킨 후 원심 분리하여 얻어진 단백질은 bradford assay로 정량하였고, 10 μ l의 단백질을 10% sodium dodecyl sulfate polyacrylamide gel electrophoresis를 이용해 전기 영동한 후 polyvinylidenedifluoride(PVDF) membrane에 옮겨 60 V에서 2 h 이상 transfer하여 항체의 비특이적 결합을 억제시켰다. 그 후 5% skim milk에 1 h 동안 방치하여 background를 제거하였다. $1 \times$ TBST로 3회 washing하고 1차 antibody (1 : 1000)를 24 h 동안 붙인 후 $1 \times$ TBST로 3회 washing 하였고 2차 antibody (1 : 1000)를 2 h 동안 반응한 뒤 ECL kit (Amersham Pharmacia, England)를 이용해 film에 옮겨 측정하였다. Image Quant LAS-4000 (GE life sciences, Taiwan)을 이용하여 Band density를 확인하였다.

3. 결과 및 고찰

3.1. 정향 에탄올 추출물의 세포 생존율

화장품 소재로 안전하게 활용 가능성을 알아보기 위해 마우스 대식세포 RAW 264.7 세포에서 정향 에탄올 추출물의 세포독성을 확인하였다. 정향 에탄올 추출물의 세포생존율을 확인하고 실험에 사용될 시료의 유효농도를 결정하기 위하여 12.5, 25, 50, 100, 200 μ g/ml의 농도로 처리한 결과 25 μ g/ml 이하의 농도에서 세포 생존율이 90% 이상으로 나타났다. 정향 에탄올 추출물의 세포생존율 결과는 Fig. 1과 같으며 이 결과를 토대로 항염증 실험의 시료농도를 50 μ g/ml 이내의 농도로 처리하였다.

3.2. 정향 에탄올 추출물의 Nitric oxide (NO) 저해능

LPS로 활성화된 세포가 유발하는 염증매개조절 인자의 저해능을 알아보기 위해 RAW 264.7 세포를 이용하여 NO 저해능을 측정하였다. LPS 처리한 대조군은 무 처리군에 비해 높은 NO 발현을 나타내었으며 정향 에탄올 추출물을 12.5, 25, 50 μ g/ml 농도로 처리하였을 때 농도 의존적으로 NO 발현량이 저해됨을 확인하였고 결과는 Fig. 2와 같다.

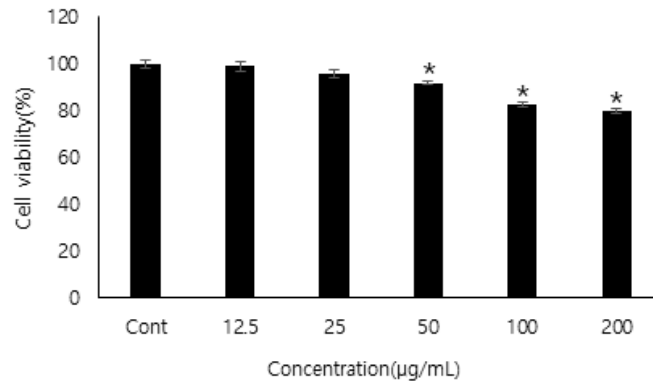


Fig. 1. Cell viability of *Syzygium aromaticum* ethanol extract on treated RAW 264.7 cells. RAW 264.7 cells were treated with various concentrations (12.5–200 µg/ml) of *Syzygium aromaticum* extracts. Cell viability was measured using MTT assay. The results are presented as mean \pm standard deviation of triplicate data. The results were expressed as the average of triplicate. * $p < 0.05$.

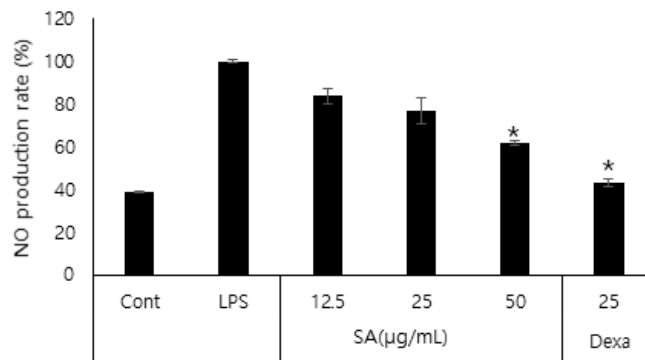


Fig. 2. Inhibitory effects of *Syzygium aromaticum* ethanol extract on NO production. RAW 264.7 cells were treated with 1 µg/ml LPS, except Nor group. *Syzygium aromaticum* extracts were then added to sample groups with the indicated concentrations. Cont: LPS not induced group, LPS: LPS induced group, SA: *Syzygium aromaticum* ethanol extract induced group, Dexa: Dexamethasone. The results are presented as mean \pm standard deviation of triplicate. The results were expressed as the average of triplicate. * $p < 0.05$ compared with control.

3.3. 정향 에탄올 추출물의 PGE₂, TNF- α , IL-1 β 생성량

염증반응을 자극하는 염증성 Cytokine의 발현을 확인하기 위해 LPS로 활성화된 RAW 264.7 세포에서 PGE₂, TNF- α , IL-1 β 의 생성량을 측

정하였다. 그 결과 정향 에탄올 추출물을 6.25, 12.5, 25 µg/ml 농도로 처리하였을 때 농도 의존적으로 PGE₂, TNF- α , IL-1 β 생성량이 저해됨을 확인하였으며 그 결과는 Fig. 3과 같다.

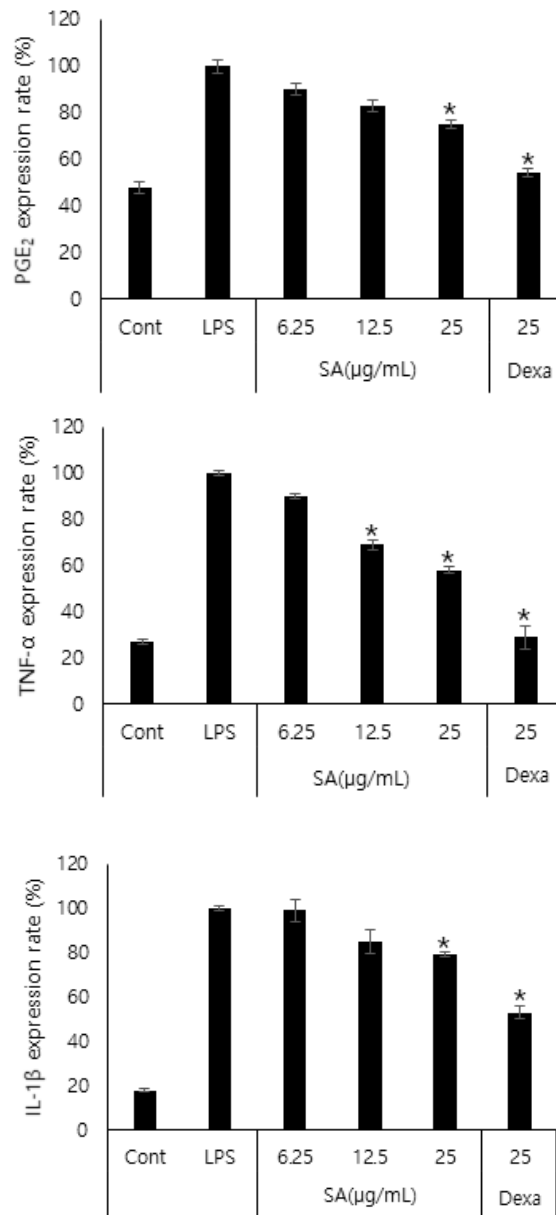


Fig. 3. Inhibitory effects of *Syzygium aromaticum* ethanol extract on production of pro-inflammatory cytokines. The expression levels of PGE₂, TNF- α and IL-6 β in protein was measured after treatment of LPS 1 μ g/ml and the indicated concentration of *Syzygium aromaticum* ethanol extract. Cont: LPS not induced group, LPS: LPS induced group, SA: *Syzygium aromaticum* ethanol extract induced group, Dexa: Dexamethasone. The results are presented as mean \pm standard deviation of triplicate. The results were expressed as the average of triplicate. * p <0.05 compared with control.

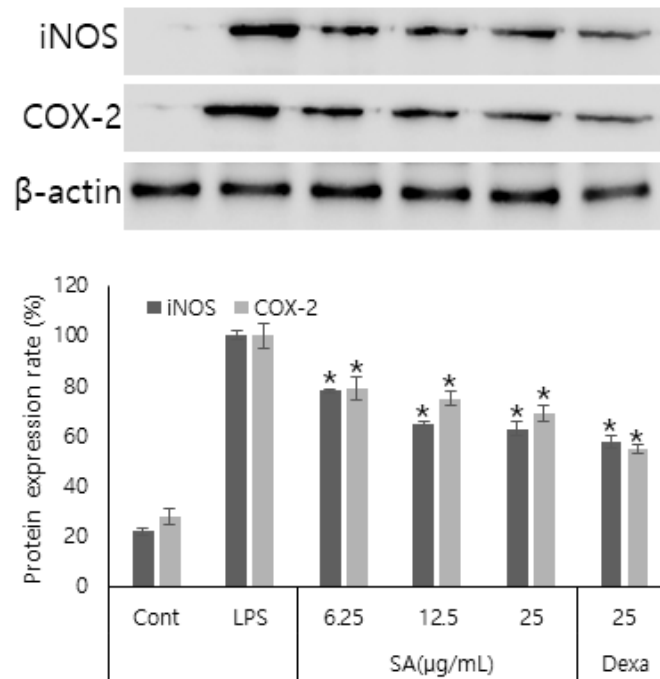


Fig. 4. Effects of *Syzygium aromaticum* ethanol extract on LPS-induced iNOS, COX-2 protein expression. The expression levels of iNOS, COX-2 in the protein was measured after treatment of LPS 1 $\mu\text{g}/\text{ml}$ and the indicated concentration of *Syzygium aromaticum* ethanol extract. Cont: LPS not induced group, LPS: LPS induced group. SA: *Syzygium aromaticum* ethanol extract induced group, Dexa: Dexamethasone. The results are presented as mean \pm standard deviation of triplicate. The results were expressed as the average of triplicate. * $p < 0.05$ compared with control.

3.4. 정향 에탄올 추출물이 염증 관련 단백질 발현에 미치는 영향

염증 관련 단백질인 iNOS, COX-2에 대한 정향 에탄올 추출물의 저해능을 확인하기 위해 LPS로 자극 유도된 RAW 264.7 세포에 정향 에탄올 추출물을 각 농도별로 처리한 후 Western blot을 통해 단백질의 발현량을 확인하였다. 그 결과 LPS로 유도된 control군과 대비하여 정향 에탄올 추출물을 처리한 시험군의 iNOS, COX-2 발현량은 추출물의 농도가 증가함에 따라 유의적으로 감소됨을 확인하였으며 그 결과는 Fig. 4와 같다.

4. 결론

일반적으로 정향은 향신료나 약재로 널리 사용되고 있으며, 다양한 생리 활성 효능을 가지고 있다. 따라서 본 연구에서는 정향을 에탄올을 이용하여 추출하였으며, 항염 효능을 검증할 수 있는 다양한 실험을 통해 화장품 원료로서의 가능성을 확인하고자 하였다. 추출물의 안전성을 검증하기 위해 세포독성을 평가하였으며, 항염 효능을 검증하기 위해 NO저해능, 염증성 Cytokine의 발현과 염증 관련 단백질 발현에 미치는 영향을 평가하였다. 대식세포인 RAW 264.7 세포를 이용하여 세포독성을 평가한 결과 12.5, 25, 50 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 농도에서 90% 이상의 높은 세포생존율을

보였고 25 $\mu\text{g/ml}$ 이하의 농도에서는 대조군과 비교하여 유의한 차이가 없음을 확인하였다. 이는 50 $\mu\text{g/ml}$ 이상의 농도에서 모두 80% 이상의 세포생존율을 확인한 기존 논문과 비교하여 정향 에탄올 추출물을 안전한 소재로서 사용 가능성을 확인할 수 있었다. 항염 효능 확인을 위해 정향 에탄올 추출물을 이용하여 NO 생성 저해능, 염증성 cytokine 발현량과 염증 관련 단백질의 저해능을 평가하였으며, RAW 264.7 세포에 12.5, 25, 50 $\mu\text{g/ml}$ 의 농도로 추출물을 처리하였을 때 농도 의존적으로 NO 발현이 효과적으로 저해됨을 확인하였다. 또한 PGE_2 , $\text{TNF-}\alpha$, $\text{IL-1}\beta$ 의 발현량은 6.25, 12.5, 25 $\mu\text{g/ml}$ 농도에서 농도 의존적으로 감소하였으며, Western blot을 통해 단백질 발현을 분석한 결과 같은 농도에서 농도 의존적으로 iNOS, COX-2의 발현이 감소되어 정향 에탄올 추출물이 염증성 cytokine과 염증 관련 단백질 인자를 효과적으로 저해함을 확인하였다.

이러한 결과로 보아 정향 에탄올 추출물은 세포독성이 없는 범위 내 농도에서 항염증 효능이 우수하여 향후 화장품 소재로 응용 가능성이 있음을 시사한다.

References

1. J. K. Su, "An Analysis on the Economic Effects of the Korean Cosmetic Industry", *The Korean Journal of Health Service Management*, Vol.7, No.3, pp. 57-69, (2013).
2. G. Y. Kim, A. K. Kim, S. S. Han, S. H. Lee, "A Study on the comparison of skin effects by natural cosmetics and general cosmetics", *Asian J Beauty Cosmetol.*, Vol.7, No.4, pp. 225-238, (2009).
3. H. J. Kwon, "Consumers' perception and expectations of domestic functional cosmetic standards", *Asia-pacific Journal of Multimedia Services Convergent with Art, Humanities, and Sociology*, Vol.8, No.10, pp. 433-440, (2018).
4. H. S. Hwang, G. D. Park, "A Comparative Study of Anti-oxidant Effect and Cell Proliferation Effect based on Extraction Method of Natural Substances", *J. Kor. Soc.*, Vol.21, No.4, pp. 729-736, (2015).
5. Y. S. Lee, M. J. Ryu, "Antioxidant Effects of *Cinnamomum cassia* Bark Extract and its Effectiveness as a Cosmetics Ingredient", *Asian J Beauty Cosmetol*, Vol.17 (1), pp. 69-80, (2019).
6. H. N. Kwon, "The Effect of the Antioxidant Activities of Fermented Mulberry Extracts as Cosmetic Materials", *Journal of Investigative Cosmetology*, 9(3), pp. 221-227, (2013).
7. M. R. Yi, C. H. Kang, H. J. Bu, "Antioxidant and anti-inflammatory activity of extracts from *kohlrabi* (*Brassica Oleracea* var. *Gonglodes*)", *J. of Korean Oil Chemists' Soc.*, Vol.34, No.2, pp. 189-202, (2017).
8. J. H. Jin, H. O. Kwon, Y. J. Ha, S. H. Heo, J. M. Lee, "Anti-Inflammatory and Anti-Oxidative Effect of *Pinus koraiensis* Cone Shell Extracts", *J. Korean Soc Food Sci Nutr*, Vol.46, No.9, pp. 1053-1060, (2017).
9. D. S. Kim, "A Study on the Efficacy of the *Coumarine* Derivatives with Anti-Inflammatory Activity in the Trifoliolate Orange Extract", *J. of Korean Oil Chemists' Soc.*, Vol.29, No.4, pp. 609-616, (2012).
10. J. H. Jang, H. W. Cho, B. Y. Lee, K. Y. Yu, J. Y. Yoon, "Anti-Inflammatory Effects of *Oenanthe javanica* Ethanol Extract and Its Fraction on LPS-Induced Inflammation Response", *J Korean Soc Food Sci Nutr*, Vol.45, No.11, pp. 1595-1603, (2016).
11. H. J. Choi, S. T. Yee, G. S. Kwon, W. H. Joo, "Anti-inflammatory and Anti-tumor Effects of *Tetragonia tetragonoides* Extract", *Microbiol. Biotechnol. Lett.*, Vol.43, No.4, pp. 391-395, (2015).
12. S. H. Lee, S. J. Suh, K. H. Lee, J. B. Yang, S. U. Choi, S. S. Park, "Anti-Inflammatory Effect of Peel Extracts from Citrus Fruits", *J Food Hyg. Saf.*,

- Vol.28, No.4, pp. 342-348, (2013).
13. Y. S. Jung, C. S. Eun, Y. T. Jung, H. J. Kim, M. H. Yu, "Anti-Inflammatory Effects of *Picrasma Quassioides* (D.DON) BENN Leaves Extracts", *Journal of Life Science*, Vol.23, No.5, pp. 629-636, (2013).
 14. S. B. Han, J. K. Lee, "Anti-Inflammatory Effect of Trichostatin-a on Murine Bone Marrow-Derived Macrophages", *Arch Pharm Res*, Vol.32, No.4, pp. 613-624, (2009).
 15. Y. B. Kwon, B. S. Yoo, D. S. Kim, M. S. Yoon, S. N. Park, S. J. Moon, "Anti Inflammatory Activity of *Viburnum dilatatum* Thunb. Extract as Cosmetic Ingredient", *J. Soc. Cosmet. Scientists Korea*, Vol.36, No.3, pp. 183-191, (2010).
 16. Diego Francisco Cortes-Rojas, Claudia Regina Fernandes de Souza, Wanderley Pereira Oliveira, "Clove(*Syzygium aromaticum*): a precious spice", *Asian Pac J Trop Biomed*, Vol.4, No.2, pp. 90-96, (2014).
 17. H. K. Oh, "Antioxidant and Anti-Inflammatory Activities of Extracts from *Eugenia caryophyllata* Thunb", *J. Korean Soc. Food Cult*, Vol.31, No.5, pp. 481-488, (2016).
 18. S. Dong, S. H. Jung, J. S. Moon, S. K. Rhee, J. Y. Son, "Antioxidant Activities of Clove by Extraction Solvent", *J Korean Soc Food Sci Nutr*, Vol.33, No.4, pp. 609-613, (2004).
 19. O. H. Lee, S. H. Jung, J. Y. Son, "Antimicrobial Activity of Clove Extract by Extraction Solvents", *J Korean Soc Food Sci Nutr*, Vol.33, No.3, pp. 494-499, (2004).
 20. M. N. Park, K. S. Ko, "Study of Cosmetic Biological Activity and Cytotoxicity on Clove Extract", *Journal of the Korean Society of Cosmetology*, Vol.21, No.3, pp. 446-454, (2015).
 21. H. H. Leem, E. O. Kim, M. J. Seo, S. W. Choi, "Antioxidant and Anti-Inflammatory Activities of Eugenol and Its Derivatives from Clove (*Eugenia caryophyllata* Thunb.)", *J Korean Soc Food Sci Nutr*, Vol.40, No.10, pp. 1361-1370, (2011).