

천마꽃 추출물의 항산화, 항염, 보습 활성에 대한 연구

이 흥 구[†] · 김 길 남^{††} · 박 동 준 · 이 소 영 · 진 무 현

LG 생활건강 기술연구원
(2021년 8월 6일 접수, 2021년 8월 30일 수정, 2021년 9월 3일 채택)

Studies on Antioxidant, Anti-inflammation and Moisturizing Activities of *Gastrodia elata* Flower Extract

Hong Gu Lee[†], Gil Nam Kim^{††}, Dong Jun Park, So Young Lee, and Mu Hyun Jin

Cosmetic Research & Development Center, LG Household & Health Care Ltd, 70, Magokjungang 10-ro, Gangseo-gu,
Seoul 07795, Korea

(Received August 6, 2021; Revised August 30, 2021; Accepted September 3, 2021)

요약: 천마(*Gastrodia elata*, *G. elata*)는 자연상태에서 수분율이 매우 떨어지고 인공재배에서도 자마의 퇴화로 꽃을 피는 개체가 드물어 연구가 거의 이루어지지 못하고 있다. 따라서 본 연구는 천마꽃을 인공개화시켜, DPPH radical 소거 활성 평가를 통한 항산화 효능, nitric oxide (NO) 생성 억제 효과를 통한 항염증 효과, hyaluronic acid 생성 촉진 효능을 통한 보습 효과를 평가하여 화장품 소재로서의 가능성을 확인하고자 하였다. 봄에 수확한 천마가 출현율과 개화율이 높게 나타났고 gastrodin은 0.36% 함유함을 확인하였다. 천마꽃 추출물의 DPPH radical 소거 활성에서 IC₅₀ 값은 0.045%로 나타났으며, 천마꽃 추출물이 천마뿌리 추출물에 비해 radical 소거능이 더 높음을 확인하였다. 천마꽃 추출물에 대한 NO 생성 억제 활성은 1%에서 83.2%로 유의적인 억제 효과를 나타내었다. Hyaluronic acid 생성 촉진 효능은 천마뿌리 추출물에서는 확인되지 않았으나, 꽃 추출물에서는 농도의존적으로 생성율이 증가하였으며, 0.02% 처리시 46.9%로 가장 높게 나타났다. 이상의 연구 결과를 바탕으로 천마꽃 추출물이 항산화, 항염, 피부 보습 화장품 소재로써 활용 가능성이 높을 것으로 판단된다.

Abstract: *Gastrodia elata* has a very low pollination rate in natural state, and even in artificial cultivation, there are very few individuals that bloom due to the degeneration, so little studies have been conducted. This study confirmed that the potential as a cosmetic ingredient by evaluating the antioxidant activity through the evaluation of DPPH radical scavenging activity, anti-inflammatory activity through the inhibitory effect on nitric oxide production, and the moisturizing activity through the effect on promoting hyaluronic acid production by artificially flowering *G. elata* flower. It was also confirmed that the appearance rate and flowering rate of *G. elata* harvested in spring were high, and the content of gastrodin was 0.36%. The IC₅₀ value of *G. elata* flower extract was 0.045% and it was confirmed that *G. elata* flower extract had higher radical scavenging activity than *G. elata* root extract. The NO production inhibitory activity against the flower extract showed a significant inhibitory effect from 1% to 83.2%. Hyaluronic acid production promotion efficacy was not confirmed in the *G. elata* root extract, but the production rate increased with concentration dependence in the flower extract, and it was the highest at 46.9% when 0.02% treatment was performed. Based on the above research results, it is judged that *G. elata* flower extract has high potential for use as an antioxidant, anti-inflammatory, and skin moisturizing cosmetic ingredient.

Keywords: *gastrodia elata* flower, antioxidant, anti-inflammatory, hyaluronic acid, gastrodin

1. 서론

피부는 외부환경의 다양한 자극으로부터 신체를 보호해주며 인체의 항상성 유지에도 매우 중요한 신체 기관이다[1].

자외선에 노출된 피부는 피부 색소침착, 염증 유발뿐만 아니라 피부노화가 가속화되는데 피부에 염증 자극이 발생하면 면역세포인 대식세포(macrophage)가 활성화되어 nitric oxide (NO), prostaglandin E2 (PGE2), tumor necrosis factor- α (TNF- α) 및 interleukin (IL)같은 염증반응의 유발인자들이 분비된다[2-5].

Nitric oxide synthase (NOS) 중 자극에 유도된 inducible nitric oxide synthase (iNOS)는 오랜 기간 동안 다량의 NO를 생성하게 되고, 생성된 NO는 guanylyl cyclase의 활성화와 동시에 주위 조직에 세포독성을 나타내는 것이 특징이다. NO는 매우 작으면서도 반응성이 있고 전기적으로 중성이기 때문에 합성된 곳에서 곧바로 확산되어 사방으로 퍼져 혈관 투과성, 부종 등의 염증 반응을 촉진시킬 뿐만 아니라 염증매개체의 생합성을 촉진하여 염증을 심화시키는 것으로 알려져 있다[6,7]. 일반적인 NO의 형성은 박테리아를 죽이거나 종양을 제거시키는 중요한 역할을 하지만 병리적인 원인에 의한 과도한 NO의 형성은 정상세포의 손상을 초래하여 염증을 유발시키며 조직의 손상, 유전자 변이 및 신경 손상 등을 유발한다[8]. 또한 활성산소종(reactive oxygen species, ROS) 또는 그람 음성 세균의 세포막 성분인 lipopolysaccharide (LPS)의 내독소 같은 물질들의 지속적인 자극에 의해 피부노화 또는 홍반, 부종을 동반한 피부염이 발생된다[9].

Hyaluronic acid는 동물의 생체 내, 특히 피부의 세포외기질에 많이 존재하는 천연 물질로 단위 무게 대비 1,000배 이상의 수분을 함유할 수 있을 정도로 수분결합력이 뛰어나 조직의 보습 작용 및 수분 운반에 탁월한 역할을 한다[10].

따라서 항염 효과, 항산화 효과, hyaluronic acid 생성 촉진을 통한 보습 효과를 갖는 소재의 개발은 피부 노화, 미백과 같은 미용적인 질환의 개선 효과를 비롯한 여러 가지 조직 손상으로 인한 질환을 예방할 수 있어 화장품 소재로서 활용 가치가 있다.

천마(天麻, *Gastrodia elata* Blume)는 한국, 일본, 중국 등에 자생하는 다년생 난초과(Orchidaceae)식물로 고등식물이지만 잎과 뿌리가 없어서 광합성 능력이 없는 퇴화된 식물로서 독립적 생육이 불가능하다. 따라서 천마는 원기체가 성장할 때는 담자균류인 뿔나무버섯균(*Armillaria* ssp.)과 공생하여 자라는 기생식물이다[11-13].

자연 상태에서 천마 꽃은 끝이 모아진 봉우리 형태이며 무향으로 곤충매개에 의한 수분율이 매우 저조하다. 이러한 천마 특유의 생리·생태적 특성으로 자연 상태에서는 거의 찾아보기 어려운 귀한 약재다. 1995년 농촌진흥청에서 천마재배용 뿔나무버섯균인 ‘천마1호’의 보급과 1998년 국립산림과학원의 ‘홍릉천마균’이 개발 및 보급되면서 천마의 인공재배가 가능하게 되었다[14]. 그러나 천마는 시간이 지날수록 무성증식 자마(子麻, immature rhizome)의 계속적 사용과 토양 내 오염균으로 인해 자마의 퇴화현상이 발생하면서 화아(花芽)가 형성된 성마(成麻, mature tuber)의 생산이 매우 불가능하게 되어 인공재배지에서도 꽃이 피는 천마는 보기 힘들다[15].

천마에는 주요한 효능성분으로 *gastrodin*이 알려져 있고 그 밖의 다양한 약리적 성분이 함유되어 있는데 *vanillyl alcohol*, *p-hydroxybenzyl alcohol*, *ergothioneine*, β -sitosterol, *p-hydroxybenzyl aldehyde*, *gastrol* 등이 알려져 있다. 항노화, 항산화, 항염 등의 피부효능과 치매, 두통, 스트레스 해소, 진통, 고혈압, 당뇨, 중풍, 기관지천식, 이뇨, 간질, 진경, 성기능장애 등에 효과가 있다고 알려져 있다[16-21].

본 연구에서는 자연상태 및 인공재배지에서 보기 힘들어 연구가 거의 이루어지지 않은 천마꽃을 기내에서 인공개화시켜 천마꽃과 천마뿌리 추출물의 *gastrodin* 함량을 비교하고 DPPH radical 소거 활성 평가를 통한 항산화 효능, nitric oxide 생성 억제 효과를 통한 항염 효능, hyaluronic acid 생성 촉진 효능을 통한 보습 효과를 확인하여 화장품 소재로서의 활용 가능성을 확인하고자 하였다.

2. 재료 및 방법

2.1. 천마 재배 및 꽃 인공 개화

본 연구에서 사용된 천마는 무주군(Korea) 일대의 농가에서 재배된 생천마를 직접 구매하여 사용하였다. 구입한



Figure 1. Flowering induced *Gastrodia elata* (*G. elata*) flower.

천마는 괴경의 무게가 모두 100 g 이상이었으며, 선행 연구의 결과를 바탕으로 봄에 수확한 천마와 가을에 수확한 천마의 처리를 달리하여 개화를 유도하였다(Figure 1).

봄에 수확한 천마는 개화를 유도하기 위해 배양토(수분 함량 30 ± 2%)에 층적 처리(stratification treatment)하여 25 ± 1 °C에 개화를 유도하였다. 가을에 수확한 천마는 휴면 타파를 위해 배양토에 층적 처리하여 5 ± 1 °C에 8 주간 처리 후 봄에 수확한 천마의 개화유도 방법과 동일하게 수행하였다.

2.2. 실험재료

본 연구에서 사용된 천마는 천안(Korea)에서 재배된 것을 사용하였다. 건조된 천마 꽃과 뿌리를 분쇄하여 각 10 g을 70% 에탄올 200 mL을 가하여 3 일간 상온에서 추출하였다. 추출물을 여과지를 이용하여 여과 후 감압 농축하여 천마꽃 추출물(CMF) 2.11 g, 천마뿌리 추출물(CMR) 1.48 g을 얻었다. 수율은 21.1%, 1.48%로 나타났다.

주요성분 분석을 위해 사용한 표준품 gastrodin은 Sigma-aldrich (USA)에서 구입하여 사용하였다(Figure 2).

2.3. HPLC 분석

분석에 사용된 high performance liquid chromatography (HPLC) 기기는 Agilent 1260 infinity system (Agilent, USA)이며, 컬럼은 InfinityLab Poroshell 120 EC-C18 (4.6 × 50

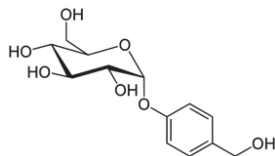


Figure 2. Chemical structure of gastrodin.

Table 1. HPLC Conditions for the Quantitative Analysis of Gastrodin

	Condition		
	Time (min)	% A : ACN	% B : Water
Gradient	0	0	100
	2	0	100
	10	30	70
	12	95	5
	17	95	5
	19	0	100
	21	0	100

mm, 2.7 μm, Agilent, USA)을 사용하였다. 시료주입량은 2 μL, 유속은 0.8 mL/min, 이동상은 Table 1과 같은 조건으로 흘러주었으며 검출파장은 270 nm에서 검출하였다. 데이터의 수집과 처리는 Agilent HPLC Chem station (Agilent, USA)을 사용하였다.

2.4. DPPH에 의한 라디칼 소거 측정

1,1-diphenyl-2-picryl hydrazyl (DPPH, Sigma-aldrich, USA) assay 실험법을 이용해 free radical 생성 억제율을 측정함으로써 시료의 항산화력을 평가하고자 하였다. CMF, CMR은 70% ethanol을 이용하여 희석하였으며, 최종농도가 0.00005 ~ 1%가 되도록 하였다. Ethanol로 녹인 400 μM DPPH solution 450 μL 와 test solution 50 μL를 혼합한 후 암실에서 30 min 동안 incubation 하였다. 반응물은 spectrophotometer를 이용하여 540 nm에서 흡광도를 측정하였다. Free radical 소거 정도를 백분율로 나타내고, 양성 대조군으로 ascorbic acid (Sigma-aldrich, USA)를 사용하여 비교 분석하였다. Excel program 및 Prism 7.0을 사용하여 IC₅₀을 구하였다.

2.5. 세포독성 실험(MTT Assay)

3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyl tetrazolium bromide (MTT) 방법으로 실시하였다. 10% FBS가 첨가된 DMEM (Welgene, Korea) 배지를 이용하여 세포주 Raw 264.7 cell line (American Type Culture Collection, USA, ATCC number : CRL-2788)를 24 well plate에 5 × 10⁴ cells/well의 농도로 seeding하고 5% CO₂ incubator에서 24 h 배양하였다. 10% FBS가 첨가된 DMEM (Addexbio technologies, USA) 배지를 이용하여 세포주 HaCaT cell line (Addexbio technologies, USA, Cat No. #T0020001)을 96 well plate에 2 × 10⁴ cells/well의 농도로 seeding하고 5% CO₂ incubator에서 24 h 배양하였다. FBS를 첨가하지 않은 배지로 교체하여 시료를 첨가하고 24 h 배양한 뒤, MTT (Roth, Germany)용액을 1 μg/mL의 농도로 가하여 37 °C에서 3 h 반응시켰다. 미 반응된 MTT 용액을 제거하고 DMSO 100 μL를 가해 형성된 반응물을 용해시킨 후 540 nm에서 흡광도를 측정해 시료의 세포독성을 확인하였다.

2.6. Nitric Oxide 생성 억제력 평가

세포주 Raw 264.7에서 CMF와 CMR의 nitric oxide 생성 억제력을 평가하고자 하였다. 사용되는 실험물질인 CMF, CMR 샘플을 세포 배지에 희석하여 최종농도가 0.001 ~

1%가 되도록 하였다.

Nitric oxide 생성 측정은 Griess법으로 실험을 실시하였다. 성장배지로(10% FBS가 첨가된 DMEM) 전 배양한 Raw 264.7세포를 24 well tissue culture plate에 5×10^4 cells/well의 농도로 가하여 5% CO₂ incubator에서 하루 동안 배양하였다. 배지를 제거하고 무혈청배지로 12 h starvation 시킨 후, 시험물질인 CMF, CMR를 농도별로 30 min 동안 전처리 후 Lipopolysaccharide (Sigma-aldrich, USA)를 500 ng/mL의 농도로 가하여 18 h 배양하였다. 배양 후 상층액을 취해 96 well plate에 옮기고, Griess reagent (Sigma-aldrich, USA)를 가해 상온에서 15 min 간 반응하고 ELISA reader를 이용하여 540 nm에서의 흡광도를 측정하였다.

2.7. Hyaluronic Acid 생성 촉진능 평가

피부각질세포주(HaCaT)에서 CMF와 CMR의 hyaluronic acid 생성 촉진능을 평가하고자 하였다. 사용되는 실험물질인 CMF, CMR 샘플을 세포 배지에 희석하여 최종농도가 0.001%, 0.01%, 0.02%이 되도록 처리하였다.

Hyaluronic acid 생성량은 ELISA (Enzyme-linked immunosorbent assay)법으로 측정하였다. 성장 배지(10% FBS가 첨가된 DMEM 배지)로 전 배양한 HaCaT 세포를 96 well plate에 2×10^4 cells/well의 농도로 가하여 5% CO₂ incubator에서 24 h 동안 배양하였다. 배지를 제거하고 무혈청배지로 시험물질인 CMF, CMR를 농도별(0.001%, 0.01%, 0.02%)로 희석한 후 24 h 동안 처리하였다. 배양 후 상층액을 취해 hyaluronic acid ELISA kit (DHYAL0, R&D systems, USA)에서 제안한 실험 순서에 맞게 실험을 진행하였다.

2.8. 통계 분석

본 연구에서 시행된 실험은 총 3회 이상 반복하였으며, 실험 군에 따른 데이터 사이의 통계적 유의성 검정은 paired samples *t*-tests (SPSS ver. 20, IBM, USA)로 시행하였다. 결과 값들을 mean \pm standard deviation (SD)으로 나타내었다. *p* 값이 0.05 이하일 경우 *, 0.01 이하일 경우 **로 통계적 유의성을 표시하였다.

3. 결과 및 고찰

3.1. 천마꽃 인공개화

천마 꽃을 생산하기 위해 봄에 수확한 천마의 인공개화 유도결과, 꽃대가 발생하기 시작한 출현소요일수는 6.6 일, 출현율은 96%였으며 이중 개화율은 75.1%를 보였다. 또한

Table 2. The Effect of Harvest Time on the Blooming of *Gastrodia elata* (*G. elata*)

Harvest time	Required to emergence (days)	Emergence rate (%)	Valid blooming (%)
Spring	6.6 \pm 0.4**	96.0 \pm 5.5 ^{ns}	75.1 \pm 4.8 ^{ns}
Fall	29.3 \pm 0.4	90.0 \pm 7.1	67.2 \pm 13.4

All the values are means \pm SD; The *t*-tests was used to compare the result of two harvest time; **indicates significant difference at *p* < 0.01 and ns is non-significance.

가을에 수확한 천마는 출현소요일수가 29.3 일로 봄에 수확한 천마에 비해 기간이 오래 걸렸으며, 출현율과 개화율도 각각 90%, 67.2%로 봄에 수확한 천마에 비해 인공개화율이 낮았다(Table 2). 그러나 출현소요일수를 제외한 봄과 가을 수확 천마의 출현율과 개화율은 통계적으로 유의한 수준의 차이를 나타내지는 않았다. 천마의 휴면타파를 위해 5 °C에 4 주 이상 저온 처리하면 출현율이 높아진다[22]는 기존 연구결과처럼 본 연구에서도 봄과 가을에 수확한 천마가 저온에 의해 충분히 휴면타파가 이뤄진 것으로 판단된다.

3.2. 천마의 Gastrodin 함량 비교

천마의 주요성분으로 알려져 있는 gastrodin의 천마 꽃과 뿌리 내 함량을 확인하기 위해 HPLC를 통해 분석하였다(Figure 3). 그 결과, 천마 꽃에는 0.36%, 천마 뿌리에는 0.19%로 천마 꽃의 gastrodin 함량이 천마 뿌리보다 높은 것으로 나타났으며 천마꽃의 gastrodin 함유 여부와 함량은 본 연구에서 처음으로 확인하였다.

3.3. DPPH Radical 소거능 평가

천마꽃과 뿌리 추출물의 항산화 효능을 검증하기 위해 DPPH radical 소거능을 확인하였다. 양성대조군으로는 ascorbic acid를 사용하였으며, 각 추출물과 대조군을 동일하게 1% 농도부터 1/2씩 serial dilution하여 DPPH radical 소거능을 확인하였다. 그 결과, 천마꽃 추출물과 천마뿌리 추출물의 IC₅₀은 각각 0.045%, 0.099%로 나타났으며, 천마꽃 추출물이 천마뿌리 추출물에 비해 radical 소거능이 더 높음을 확인하였다. 양성 대조군인 ascorbic acid보다 우수하지는 않지만, 천마꽃 추출물 또한 효과적인 항산화 소재로 사용될 수 있음을 확인하였다(Figure 4).

3.4. 천마추출물이 NO 생성에 미치는 영향

천마꽃 추출물(CMF)과 천마뿌리 추출물(CMR)의 항염

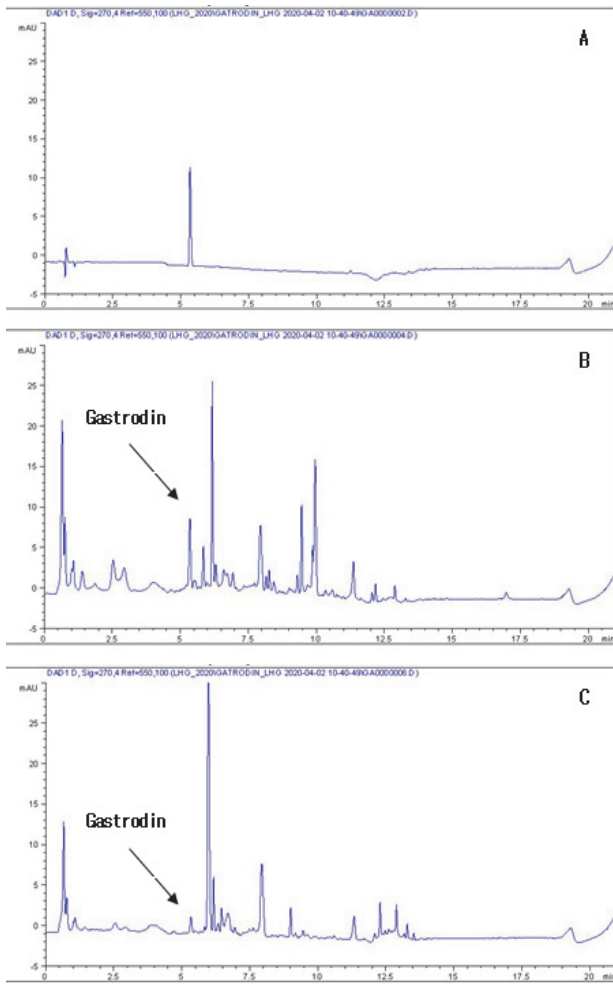
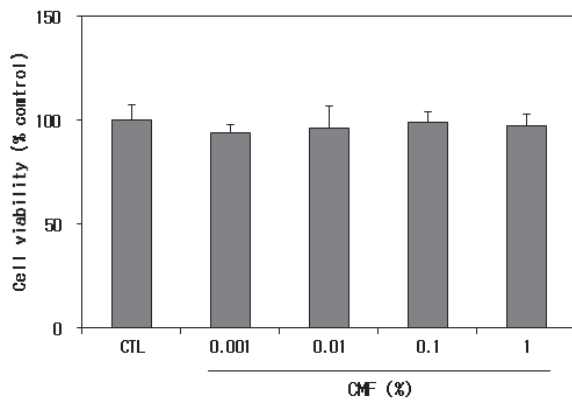


Figure 3. HPLC profiles of gastrodin STD (A), *G. elata* flower (B) and root (C) extracts.



활성 평가에 앞서 이들이 Raw 264.7 세포의 생존율에 미치는 영향을 평가했다(Figure 5). 천마꽃과 뿌리추출물을 각각 농도별(0.001%, 0.01%, 0.1%, 1%)로 처리하여 Raw 264.7 세포 생존율에 미치는 영향을 평가한 결과, 천마뿌리 추출물 1%의 농도를 제외하고 모든 처리에서 LPS 단독 처리구보다 높거나 유사한 세포 생존율을 확인하였다. 천마꽃 및 천마뿌리 추출물에 대한 Raw 264.7 세포의 NO 생성 억제 활성을 평가한 결과, 천마꽃 추출물은 세포 생존율을 저해하지 않는 0.1%, 1% 농도에서 각각 19.5%, 83.2% 천마뿌리 추출물은 0.1% 농도에서 41.3%의 NO 생성 억제

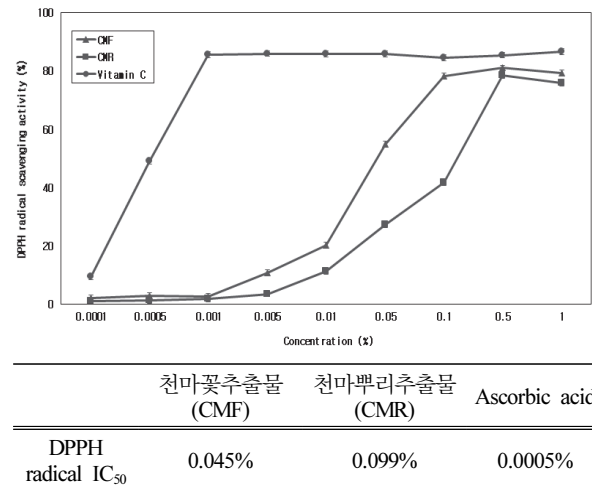


Figure 4. DPPH radical scavenging activity and IC₅₀ value of *G. elata* flower and root extracts. The data expressed as means ± SD of three determinations.

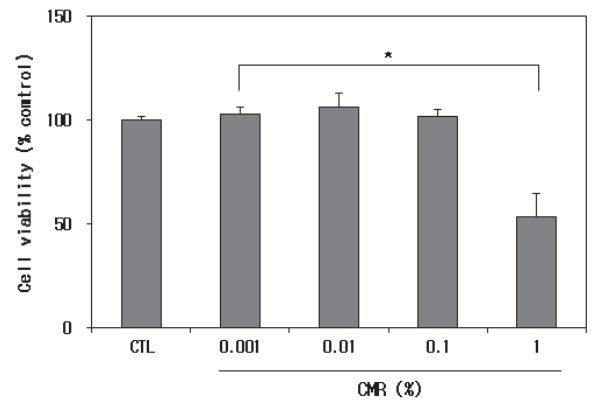


Figure 5. The cell viability of *G. elata* flower and root extracts. Cell viability was measured by MTT assay. Data are shown as a percentage of control from three independent experiments in triplicate. * $p < 0.05$, compared with the untreated control.

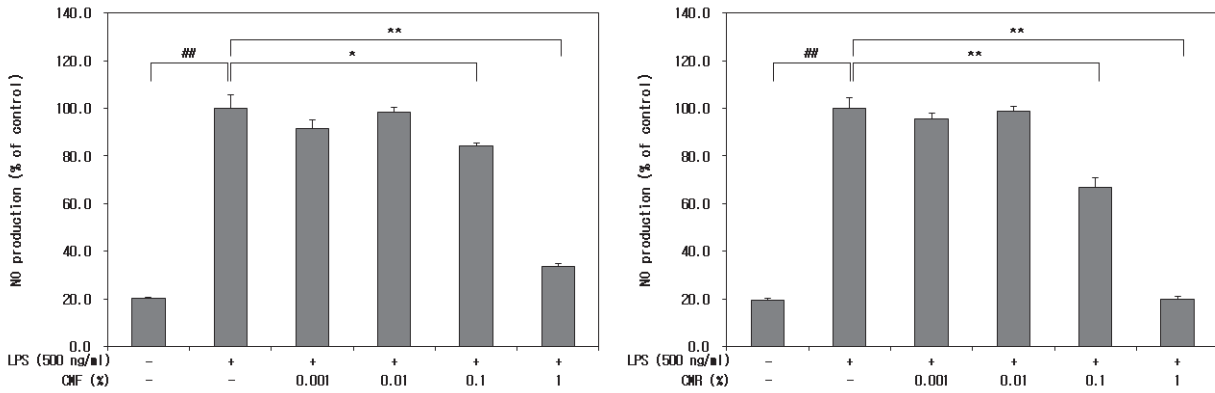


Figure 6. Effects of *G. elata* flower (A) and root (B) extracts on the production of NO in LPS induced Raw 264.7 cells. LPS induced Raw 264.7 cells were treated with various concentration of samples (10 ~ 10,000 μg/mL). Data are shown as a percentage of control from three independent experiments in triplicate. #*p* < 0.01 compared untreated control with LPS treated control. **p* < 0.05, ***p* < 0.01 compared with LPS treated control.

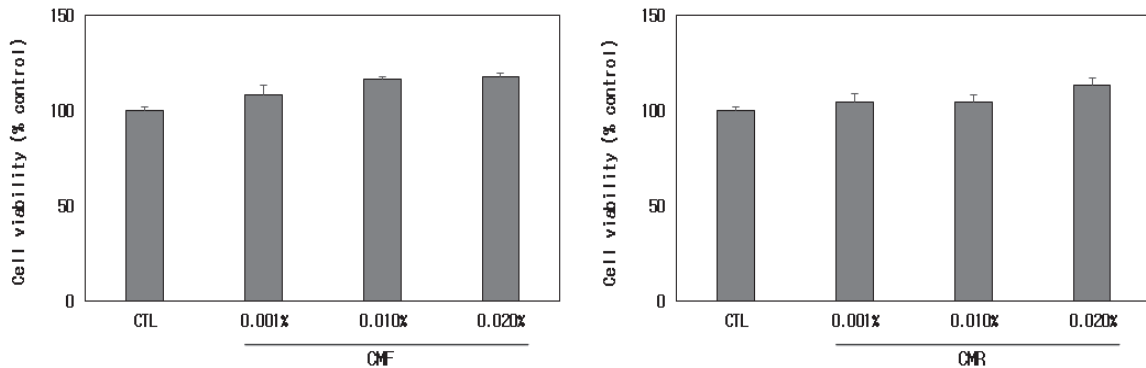


Figure 7. Effects of *G. elata* flower (A) and root (B) extracts on the cell viability in HaCaT cells. HaCaT cells were treated with various concentration of samples (0.001%, 0.01%, 0.02%). Data are shown as a percentage of control from three independent experiments in duplicate.

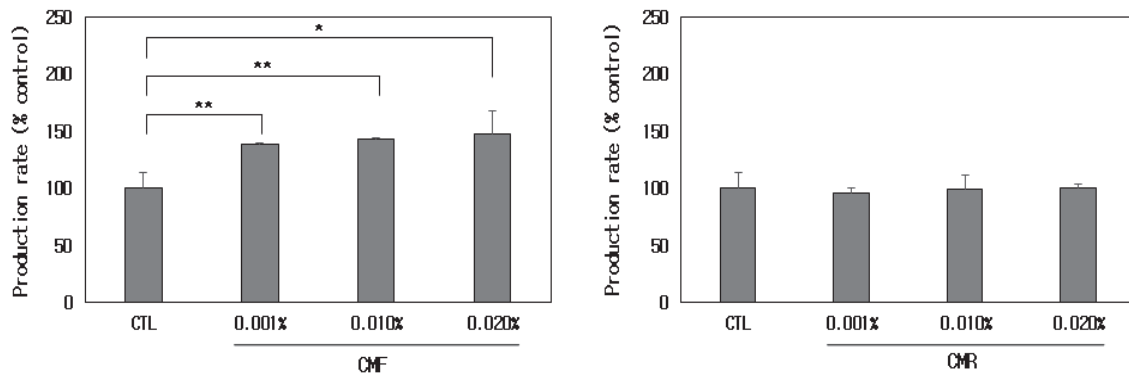


Figure 8. Effects of *G. elata* flower (A) and root (B) extracts on the production of hyaluronic acid in HaCaT cells. HaCaT cells were treated with various concentration of samples (0.001%, 0.01%, 0.02%). Data are shown as a percentage of control from three independent experiments in triplicate. **p* < 0.05, ***p* < 0.01 compared with untreated control.

을 나타내는 것을 확인하여, 천마꽃추출물이 0.1%의 동일농도에서는 억제 활성이 낮으나, 고농도에서도 세포독성 없이 더 높은 NO 생성 억제 효과를 나타내었다(Figure 6). 천마꽃추출물은 높은 NO 생성 억제 활성을 나타내어 효과적인 항염 소재로 사용할 수 있음을 확인하였다.

3.5. 천마추출물이 Hyaluronic Acid 생성에 미치는 영향

피부의 각질형성세포는 최종적으로 각질막을 형성하는데, 이는 피부의 보습에 중요한 역할을 한다. 천마꽃과 뿌리추출물을 각각 농도별(0.001%, 0.01%, 0.02%)로 처리하여 피부각질세포(HaCaT) 세포 생존율에 미치는 영향을 평가한 결과, 모든 처리에서 무처리군 대비 높거나 유사한 세포 생존율을 보였으므로 해당 농도에서 세포 독성은 없었다(Figure 7). 천마꽃과 뿌리추출물을 독성을 보이지 않은 위 농도로 처리하여 피부각질세포에서의 hyaluronic acid 생성량을 측정된 결과, 천마뿌리 추출물에서는 모든 농도에서 대조군과 유사한 수준의 hyaluronic acid 생성량을 보였으나 천마꽃 추출물은 대조군 대비 0.001% 처리 시 37.7%, 0.01% 처리 시 42.9%, 0.02% 처리 시 46.9% 증가하여 모든 시험 농도에서 유의차 있는 hyaluronic acid 생성을 나타내었으며, 피부 보습 효과를 줄 수 있는 효능 소재로 사용할 수 있을 것으로 생각된다(Figure 8).

4. 결 론

본 연구에서는 자연 및 인공재배지에서는 얻기 어려운 천마꽃을 인공개화시켜 희소가치가 있는 화장품 효능 소재의 개발 가능성을 확인하고자 하였다. 봄과 가을에 수확한 천마를 인공개화 시킨 결과 출연소요일수가 6.6 일, 29.3 일로 봄에 수확한 천마가 가을에 수확한 천마에 비해 약 4배 정도 소요시간이 적었고 출연율과 개화율도 높음을 확인하였다. 천마의 대표성분인 gastrodin을 HPLC를 통해 함량을 분석하였으며, 천마뿌리와 비교하였을 때 꽃에서 더 높은 함량을 나타내었으며, 천마꽃의 gastrodin 함유 여부와 함량은 본 연구에서 처음으로 보고하는 결과이다. Gastrodin은 천마의 주요성분으로 항산화효능, 항염증, 진정, 항경련, 정신 집중력과 혈압강화, 기억력 강화 등 생리 활성이 보고되어있다[24-26]. 천마꽃과 뿌리 추출물의 항산화, NO 생성 억제, hyaluronic acid 생성 촉진능을 평가하여 부위별 효능의 차이를 비교하고 gastrodin과의 상관관계를 확인하였다. DPPH radical 소거 활성 평가를 하였을 때 천

마꽃 추출물의 IC₅₀이 0.045%로 나타났으며, 천마뿌리추출물보다 2배 이상 낮음을 확인하였다. NO 생성 억제 활성을 평가한 결과 세포 생존율을 저해하지 않는 농도인 0.1, 1%에서 유의적인 억제 활성을 나타내었으며, 1% 농도에서 83.2%의 억제 활성을 나타내는 것을 확인하였다. Gastrodin의 항산화, 항염 효능이 알려져 있고 gastrodin 함량이 높은 천마꽃추출물이 항산화, 항염 활성이 더 높게 나타난 것으로 유추해 볼 때 항산화, 항염 효능 차이가 gastrodin 함량에 기인하는 것으로 판단된다. Hyaluronic acid 생성 촉진 효능 평가 결과, 천마뿌리 추출물에서는 변화가 없었으나, 꽃 추출물 처리시에는 최대 46.9%까지 hyaluronic acid 생성량이 증가하는 것을 확인하였고 gastrodin은 hyaluronic acid 생성 촉진 효능을 나타내었으나 농도 의존적으로 증가하지 않아 그 차이가 gastrodin 함량에 기인하는 것으로 보기 어렵다고 판단된다.

이러한 결과를 통해 천마꽃 추출물이 항산화, 항염, 피부 보습 효능의 화장품 소재로써 활용 가능성이 높을 것으로 사료된다.

References

1. Y. M. Yoon, S. H. Bae, S. K. An, Y. B. Choe, K. J. Ahn, and I. S. An, Effects of ultraviolet radiation on the skin and skin cell signaling pathways, *Kor. J. Aesthet Cosmetol.*, **11**(3), 417 (2013).
2. S. Saha, I. N. shalova, S. K. Biswas, and K. Subhra, Metabolic regulation of macrophage phenotype and function, *Immunol. Rev.*, **280**(1), 102 (2017).
3. F. Aktan, iNOS-mediated nitric oxide production and its regulation, *Life Sci.*, **75**(6), 639 (2004).
4. J. H. Park and S. R. Lee, Anti-inflammatory activities of scolopendra subspinipes mutilans in raw 264.7 cells, *J. Nutr. Health.*, **51**(4), 323 (2018).
5. D. J. Stuehr, H. J. Cho, N. S. Kwon, M. F. Weise, and C. F. Nathan, Purification and characterization of the cytokine-induced macrophage nitric oxide synthase: an fad-and fmn-containing flavoprotein, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, **88**(17), 7773 (1991).
6. P. C. Kuo and R. A. Schroeder, The emerging multifaceted roles of nitric oxide, *Ann. Surg.*, **221**(3), 220 (1995).

7. H. J. Bu and S. J. Lee, Antioxidation and anti-inflammation activity of *isodon inflexus* (Thunb.) Kudo extract and its isolated substance, *J. Soc. Cosmet. Sci. Korea*, **42**(3), 257 (2016).
8. A. Weisz, L. Cicatiello, and H. Esumi, Regulation of the mouse inducible type nitric oxide synthase gene promoter by interferon-gamma, bacterial lipopolysaccharide and NG-monomethyl-L-arginine, *Biochem. J.*, **316**(1), 209 (1996).
9. D. H. Choi, M. R. Kim, M. Y. Kim, H. H. Kim, S. Y. Park, and H. S. Hwang, Studies on antioxidant, anti-inflammatory and whitening effects of oriental herbal extracts (Mix) including *Eucommiae cortex*, *J. Soc. Cosmet. Sci. Korea*, **45**(1), 37 (2019).
10. R. Stern, and H. I. Maibach, Hyaluronan in skin: aspects of aging and its pharmacologic modulation, *Clin. Dermatol.*, **26**(2), 106 (2008).
11. S. H. Kim, I. H. Kim, B. H. Kang, S. H. Lee, and J. M. Lee, Optimization of ethanol condition for effective component from *Gastrodia elata* Blume, *Korea J. Food Preserv.*, **13**(4), 506 (2006).
12. J. P. Park, S. I. Lee, and J. K. Jeong, A study on functional components, antioxidant activity of *Gastrodiae rhizoma* and *Gastrodia elata* floral axis, *The Kor. J. Herbology*, **30**(1), 19 (2015).
13. H. T. Kim, J. A. Kim, and E. J. Park, Genetic diversity and metabolite analysis of *Gastrodia elata* by inter-simple sequence repeats (ISSR) markers, *Korean J. Medicinal Crop Sci.*, **20**(6), 440 (2012).
14. H. T. Kim, S. T. Kim, W. Y. Lee, and E. J. Park, Induction and growth of vegetative stems through *in vitro* culture of *Gastrodia elata*, *Korean J. Medicinal Crop Sci.*, **21**(2), 142 (2013).
15. J. M. Sung, B. S. Jung, K. J. Yang, H. K. Lee, and T. C. Harrington, Production of *Gastrodia elata* Tuber using *Armillaria* spp., *Korean J. Mycol.*, **23**(1), 61 (1995).
16. J. P. Park, S. In. Lee, and J. K. Jeong, A study on functional components, antioxidant activity of *Gastrodiae rhizoma* and *Gastrodiae elata* floral axis, *Kor. J. Herbology*, **30**(1), 19 (2015).
17. S. J. Yun, Master's Thesis Dissertation, Deagu Hanny Univ., Deagu, Korea (2013).
18. I. Y. Yu, Master's Thesis Dissertation, Chonbuk National Univ., Chonbuk, Korea (2013).
19. Y. W. Chang, Master's Thesis Dissertation, Chungang Univ., Seoul, Korea (2002).
20. J. G. Lee, S. O. Moon, S. Y. Kim, E. J. Yang, J. S. Min, J. H. An, E. A. Choi, K. H. Liu, E. J. Park, H. D. Lee, and K. S. Song, Rapid HPLC determination of gastrodin in *Gastrodiae rhizoma*, *J. Korean Soc. Appl. Biol. Chem.*, **58**(3), 409 (2015).
21. E. Song, H. Chung, E. Shim, J. K. Jeong, B. K. Han, H. J. Choi, and J. Hwang, *Gastrodia elata* Blume extract modulates antioxidant activity and ultraviolet A-irradiated skin aging in human dermal fibroblast cells, *J. Med. Food*, **19**(11), 1057 (2016).
22. C. S. Kim, D. W. Kim, H. J. Kim, Y. J. Song, and W. H. Lee, Production of immature rhizomes by breaking dormancy under low temperature of *Gastrodia elata* Blume, *Planta Medica*, **82**(1), 530 (2016).
23. J. P. Park and S. A. Kang, Antioxidant effect and blood pressure control ability of *Lactobacillus* fermented *Gastrodia elata* Bl. in hypertension model rats (SHR), *Korean J. Food Nutr.*, **33**(5), 493 (2020).
24. J. N. Dai, Y. Zong, L. M. Zhong, Y. M. Li, W. Zhang, L. G. Bian, and D. Lu., Gastrodin inhibits expression of inducible NO synthase, cyclooxygenase-2 and proinflammatory cytokines in cultured LPS-stimulated microglia via MAPK pathways, *Public Library of Science One*, **6**(7), 21891 (2011).
25. H. Kumar, I. S. Kim, S. V. More, B. W. Kim, Y. Y. Bahk, and D. K. Choi, Gastrodin protects apoptotic dopaminergic neurons in a toxin-induced parkinson's disease model, *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, **2013**, 13 (2013).