

## 활성산소 방어에 효과적인 천연 항산화 물질을 담지할 수 있는 키토산 마이크로스피어의 제조와 특성

남충현 · 정경원<sup>†</sup> · 나재운<sup>†</sup>

순천대학교 공과대학 고분자공학과

(2018년 3월 12일 접수, 2018년 4월 3일 수정, 2018년 4월 9일 채택)

### Preparation and Characterization of Chitosan Microsphere for Encapsulation of Natural Antioxidant with Effective Protection against ROS

Choong-Hyun Nam, Gyeong-Won Jeong<sup>†</sup>, and Jae-Woon Nah<sup>†</sup>

Department of Polymer Science and Engineering, Suncheon National University, 255 Jungang-ro, Suncheon, Jeonnam 57922, Korea

(Received March 12, 2018; Revised April 3, 2018; Accepted April 9, 2018)

**초록:** 최근 생활 방사선 및 의료 방사선의 심한 노출로 인해 활성산소가 심각하게 유발되고 있으며, 이러한 활성산소를 억제하기 위해 천연 항산화제를 이용한 건강 기능성 식품이 많이 출시되고 있다. 하지만, 천연 항산화제의 자체 사용 시 낮은 생체이용률로 인해 항산화 활성이 반감되는 문제점을 갖고 있다. 본 연구에서는 이러한 천연 항산화제의 생체이용률을 증가시킬 수 있는 키토산 기반의 마이크로스피어 담지체를 개발하고 물리화학적 특성을 분석하여 천연 항산화제 담지체로 응용가능성을 평가하고자 하였다. 기존의 넓은 분자량 분포를 갖는 키토산의 재현성 문제를 해결하기 위해 한외여과막을 이용하여 좁은 분자량 분포와 정확한 분자량 스펙을 갖는 키토산을 제조하였으며, 이를 spray dry 기법을 이용하여 키토산 마이크로스피어를 제조하였다. 분획된 키토산과 마이크로스피어의 물리화학적 특성은 GPC, <sup>1</sup>H NMR, FTIR 및 SEM을 이용하여 분석하였고, 이러한 키토산 마이크로스피어의 생체 내에 적용 가능성을 평가하기 위해 세포독성 여부를 MTT assay를 이용하여 확인하였다. 이러한 결과를 통해 키토산 마이크로스피어는 생체 내에 적용이 가능하며, 추후 천연 항산화제를 담지하여 항산화제로 사용했을 시 생체이용률의 증가로 인해 항산화 활성을 극대화할 수 있을 것으로 사료된다.

**Abstract:** Recently, active oxygen has been seriously induced due to severe exposure to life radiation and medical radiation, and many health functional foods using natural antioxidants have been released to suppress such active oxygen. However, the antioxidant activity of natural antioxidants is reduced due to low bioavailability. In this study, we have developed a chitosan-based microsphere carrier capable of increasing bioavailability of natural antioxidants, and analyzed the physicochemical characteristics of the microsphere carriers to evaluate their applicability as a natural antioxidant carrier. In order to solve the problem of reproducibility of chitosan having a broad molecular weight distribution, chitosan having a narrow molecular weight distribution and accurate molecular weight specification was prepared by using an ultrafiltration membrane. Chitosan microspheres using fractionated chitosan were prepared by spray dry method. The physicochemical properties of the fractionated chitosan and microspheres were analyzed by GPC, <sup>1</sup>H NMR, FTIR and SEM. In addition, to evaluate the applicability of chitosan microspheres *in vivo*, their cytotoxicity was evaluated by MTT assay. These results suggest that chitosan microspheres can be applied *in vivo*, and natural antioxidant-encapsulated chitosan microsphere can be used to maximize antioxidant activity by increasing bioavailability.

**Keywords:** chitosan, ultrafiltration, microsphere, spray dry, natural antioxidant carrier.

## 서 론

최근 활성산소는 생활방사선 및 의료방사선에 의해 심각하

게 발생되고 있으며, 이는 다양한 질병과 피부노화를 촉진시키는 요소 중에 하나로써 현재 이러한 활성산소를 방어하기 위해 항산화 물질이 함유된 기능성 식품이 많이 생산되고 있다. 활성산소란 산소원자를 포함해 짝지어지지 않은 전자로 반응성이 매우 큰 원자이다.<sup>1,2</sup> 이는 공기 중에 존재하는 산소 분자인 안정한 삼중항 산소( $3O_2$ )가 방사선, 초음파, 화학반응, 신진대사 과정으로 인해 슈퍼옥사이드 라디칼( $O_2^{\cdot-}$ ), 하이

<sup>†</sup>To whom correspondence should be addressed.  
gwj@sunchon.ac.kr, ORCID<sup>®</sup> 0000-0002-7020-6050  
jwnah@sunchon.ac.kr, ORCID<sup>®</sup> 0000-0002-6621-7857  
©2018 The Polymer Society of Korea. All rights reserved.

드록실 라디칼( $\text{HO}\cdot$ ) 및 과산화수소( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) 등 반응성이 큰 활성산소로 전환되며, 이는 각 기관, 세포 내 DNA 및 번역성에 치명적인 손상을 유발하여 인간의 수명단축에 큰 영향을 끼친다.<sup>3,5</sup> 이러한 심각한 문제를 초래하는 활성산소를 예방하기 위해 다양한 합성 항산화제와 천연 항산화제를 사용하고 있지만, butylated hydroxyanisole(BHA), butylated hydroxytoluene(BHT)과 같은 합성 항산화제들의 경우에 과량 사용 시 독성 및 암을 유발할 수 있는 문제점을 갖고 있기 때문에 생체 내에 안전한 천연물질을 이용한 항산화제의 개발이 지속적으로 연구되고 있다.<sup>6-8</sup> 천연물질인 과채류 및 식용버섯에 다량으로 존재하는 플라보노이드와 산성 페놀화합물들이 항산화성, 항알리지성, 항암성 등 다양한 생리활성 기능을 가지고 있는 것으로 알려져 있지만, 이를 자체 항산화제로 사용했을 시 낮은 생체 이용률로 인해 비효율적인 항산화 활성을 초래한다는 문제점을 갖고 있다.<sup>9,10</sup> 본 연구에서는 이러한 천연 항산화 물질의 생체 이용률을 증가시킬 수 있는 키토산 기반의 마이크로스피어 담지체를 개발하여 그 물리 화학적 특성을 분석하고자 하였다.

키토산은 갑각류인 게나 새우의 껍질에 많이 존재하는 키틴을 탈아세틸화시켜 생성되는 생분해성 천연 다당류로서  $\beta$ -(1,4)-glycosidic 결합으로 연결된 *D*-glucosamine과 *N*-acetyl *D*-glucosamine 두 단위체로 구성되어 있다.<sup>11,12</sup> 키토산은 항암, 콜레스테롤 감소, 항균성, 면역 활성 등 우수한 생리활성을 갖는 것으로 알려져 있으며, 응용 분야로는 화장품, 수처리, 의약품, 식품, 바이오산업 등이 최근 의료용 분야에 많은 연구가 진행되고 있다.<sup>13,14</sup> 또한 키토산은 생체적합하고, 낮은 독성, 우수한 세포부착 능력 및 장 내에 점막과 상호작용이 우수한 특성을 갖고 있으며, 수 많은 아민 그룹을 함유하고 있어 유전자 및 약물 전달시스템 분야에 많이 응용되고 있다.<sup>15,16</sup> 이러한 특성을 갖는 키토산을 이용하여 천연 항산화 물질을 담지할 수 있는 마이크로스피어 담지체를 개발하여 항산화제로 응용하였을 시 생체 내에 높은 안전성뿐만 아니라 장 내에 점막과 우수한 상호작용으로 인해 높은 생체이용률을 기대할 수 있어 항산화 효과를 극대화할 수 있을 것을 사료된다.

따라서 본 연구에서는 생활방사선 및 의료방사선으로부터 유발되는 활성산소를 효과적으로 제거하기 위해 천연 항산화 물질을 담지할 수 있는 키토산 마이크로스피어(CM)를 제조하고, 그 물리 화학적 특성을 규명하고자 하였다. 본 연구 결과를 통해 제조된 CM은 천연 항산화 물질을 담지할 수 있는 담지체로 사용이 가능함을 제시한다.

## 실 험

**Materials.** 본 연구에서 사용된 키토산 올리고당(COS, Mw: 20 kDa)은 (주)키토라이프(KITTOLIFE Co., Korea)에서 구매

한 후 넓은 분자량 분포의 재현성 문제를 해결하고자 한외여과막(molecular weight cut off; MWCO 30, 10, 3, 1 kDa)을 이용하여 좁은 분자량 분포를 갖는 COS를 제조한 후 크기배제크로마토그래피(gel permeation chromatography equipped with multi-angle laser light scattering detector, GPC-MALLS, 18angle detector, Wyatt, USA)를 이용하여 분자량을 재분석하여 연구에 사용하였다. 세포독성 실험에 사용된 HEK293 세포는 American type culture collection(ATCC, KOREA)에서 분양받은 후 10%의 fetal bovine serum(FBS)을 함유한 Dulbecco's modified Eagle's medium(DMEM)을 이용하여 배양하였고, ethylenediaminetetraacetic acid(EDTA), dimethyl sulfoxide(DMSO), 3-[4,5-dimethylthiazol-2-yl]-2,5-diphenyltetrazolium bromide(MTT) 및 DMEM은 Sigma-Aldrich사(USA)에서 구입하여 사용하였다. 기타 실험에 사용된 용매 및 시약 등은 일급 시약을 구입하여 정제하지 않고 사용하였다.

**한외여과막을 이용한 키토산 분획.** 좁은 분자량 분포를 갖는 COS를 제조하기 위하여 한외여과법(ultrafiltration method)을 통하여 분리하였다. 원 물질 COS 10 g을 정제수(deionization water; DW) 30 mL에 용해시킨 후 한외여과장치(Amicon 8400, Millipore, USA)에 넣고, DW 270 mL을 추가하여 최종 부피가 300 mL이 되도록 하였다. 이때, 분자량 분리능(molecular weight cut off; MWCO)이 30, 10, 3, 1 kDa인 한외여과막(ultrafiltration membrane)을 사용하여 단계적으로 분리하였다. 먼저 30 kDa 한외여과막을 이용하여 고분자량 COS와 키토산 분해 효소를 제거하고, 30 kDa 한외여과막을 통과한 COS 용액을 10, 3, 1 kDa의 한외여과막을 이용하여 순차적으로 분리하였다. 위의 모든 단계에서 한외여과는 질소를 토출(토출 압력; 3.5 kgf/cm<sup>2</sup>)시켜 초기 양의 1/6이 되도록 농축시킨 후 다시 DW를 넣어 300 mL이 되도록 하여 다시 동일한 과정으로 농축시켰으며, 이 과정을 3회 반복한 후 한외여과장치 내의 최종 고순도 COS 용액을 얻었다. 이 용액은 동결건조를 통하여 분자량 별로 COS 분말을 얻었다.

**분획된 키토산의 분자량 측정.** 분획된 COS의 분자량 및 분자량 분포는 광 산란 검출기가 장착된 젤 투과크로마토그래피(gel permeation chromatography equipped with multi-angle laser light scattering detector, GPC-MALLS, 18angle detector, Wyatt, USA)를 통하여 분석하였다. 분석을 위해 Shodex SB-804 HQ, Shodex SB-802 HQ(OHPak, Wyatt, USA) 두 종류의 컬럼을 사용하여 COS를 시간에 따라 분리하였다. 이때 이동상은 ammonium acetate(0.5 M, pH 5.5)를 사용하였으며, 흐름속도는 0.5 mL/min, 컬럼 온도는 40 °C로 유지하여 분석하였다.

**분획된 키토산 및 마이크로스피어의 구조 분석.** 분획된 COS 및 마이크로스피어의 구조 분석은 핵자기공명장치(<sup>1</sup>H

NMR, 400 MHz, Bruker, Germany)와 적외선 분광광도계 (FTIR 8700, Shimadzu, Japan)를 이용하여 분석하였다. <sup>1</sup>H NMR 분석은 분리된 COS 및 마이크로스피어를 용매 D<sub>2</sub>O에 용해시켜 1~10 ppm 범위에서 chemical shift를 통하여 분석하였다. 또한 <sup>1</sup>H NMR 결과에서 키토산의 2번 위치의 H와 키틴의 아세틸 그룹(-NHCOCH<sub>3</sub>)의 H의 면적 비를 이용하여 탈아세틸화도(degree of deacetylation; DDA)를 계산하였다. FTIR 분석은 분리된 COS와 KBr을 약 1/100(wt/wt)의 비율로 잘 혼합하여 펠렛을 제조한 후 400~4000 cm<sup>-1</sup> 파장 범위에서 분석하여 특성 피크를 분석하였다.

**분획된 키토산을 이용한 키토산 마이크로스피어 제조.** 천연 항산화 물질을 담지할 수 있는 키토산을 제조하기 위해 spray dry(Spray Dryers; Lab Plant, SD-06A, UK) 기법을 이용하였다. 분획된 키토산을 증류수를 이용하여 1% 키토산을 각각 제조한 후 이 용액을 분무 건조기 nozzle에 넣어 토출 압력 20 kPa과 건조온도 200 °C 조건에서 실험을 진행하였다. 회수된 CM 분말은 상온에서 1시간 건조 후 실험에 사용하였다.

**키토산 마이크로스피어의 형태학적 표면 특성 분석.** 분획된 키토산의 분자량에 따라 제조된 마이크로스피어의 형태학적 특성은 주사전자현미경(scanning electron microscope; SEM, HITACHI S-3000N, Japan)을 이용하여 관찰하였다. SEM 분석을 위하여 건조된 샘플을 carbon 테이프 위에 올린 후 백금으로 30초 동안 코팅하였다. 이후 표면의 형태를 가속전압 3 kV에서 다양한 배율로 관찰하여 표면 미세구조 이미지를 얻었다.

**분획된 키토산 및 마이크로스피어의 세포 독성 측정.** 동물세포주 중 HEK293 cell을 이용하여 세포독성 여부를 측정하였다. 동물세포주를 37 °C, 5% CO<sub>2</sub>와 습윤화된 배양기 내에서 DMEM 배양액(FBS 10%와 Penicillin-Streptomycin 1% 항생제를 포함)을 함유한 culture dish에서 부착 배양한 후, Trypsin-EDTA로 떨어뜨리고 cell 수를 확인하였다. 5×10<sup>3</sup> cells/well로 96-well microtiter에 분주하고 24시간 배양한 후 다양한 농도(1~0.0078 mg/mL)로 희석된 샘플을 각 well에 처리하고 48시간 반응하였고, MTT를 처리하여 세포독성 여부를 확인하였다. 세포생존율은 다음과 같이 계산되었다.

$$(OD\ value = (OD\ 560\ nm - OD\ 670\ nm))$$

$$Cell\ viability(\%) = \frac{(OD_{sample} - OD_{blank})}{(OD_{control} - OD_{blank})} \times 100 \quad (1)$$

**결과 및 토론**

**분획된 키토산 제조 및 특성 분석.** 본 연구에서는 천연 항산화 물질을 담지할 수 있는 CM을 제조하여 그 물리 화학적 특성을 분석함으로써 담지체로 활용 가능성을 평가하고자

하였다. 기존의 키토산의 경우 넓은 분자량 분포를 갖고 있어 재현성의 문제점을 갖고 있다. 본 연구에서는 이러한 재현성 문제점을 해결하기 위해 한외여과막을 이용하여 좁은 분자량 분포와 정확한 분자량 스펙을 갖는 키토산을 제조하였으며, 그 물리화학적 특성은 간략하게 Table 1에 정리하였다.

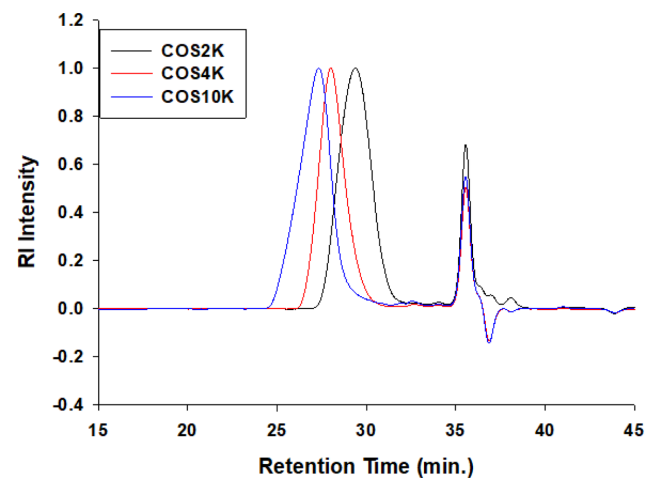
각각 분획된 키토산의 정확한 분자량을 확인하기 위해 GPC-MALLS를 이용하여 분석하였고, 그 결과는 Figure 1과 Table 1에 나타내었다. COS 1~3K, COS 3~10K, COS 10~30K 각각의 분자량은 2, 4, 10K의 분자량을 확인하였으며, 머무름 시간(retention time, RT)에 따른 굴절률(refractive index, RI)을 통해 분획된 모든 키토산이 좁은 분자량 분포를 갖음을 확인할 수 있었다. 또한 분획된 키토산의 다분산지수(PDI) 값은 1.012~1.077로 1에 가까운 값을 확인함으로써 분획된 모든 키토산이 동일한 분자량을 함유하고 있음을 확인할 수 있었다. 이러한 결과는 한외여과막을 이용하여 키토산이 성공적으로 분획되었음을 보여주며, 좁은 분자량 분포를 갖고 있기 때문에 분자량에 따른 특성을 정확하게 규명할 수 있을 뿐만 아니라 재현성 문제를 해결할 수 있을 것으로 사료된다.

분획된 키토산의 구조는 FTIR과 <sup>1</sup>H NMR을 이용하여 분석하였다. Figure 2는 분획된 키토산의 FTIR spectra 결과이다. 키토산의 특성피크인 amide I, II의 특성 피크를 1600 cm<sup>-1</sup>,

**Table 1. Characterization of Separated COSs by Ultrafiltration Method**

Range of separation	Sample	M <sub>n</sub> <sup>a</sup> (Da)	PDI <sup>a</sup>	DDA <sup>b</sup> (%)
COS 1~3K	COS 2K	1827	1.077	96.87
COS 3~10K	COS 4K	4010	1.012	92.53
COS 10~30K	COS 10K	9523	1.077	92.17

<sup>a</sup>Measurement by GPC (0.5 M ammonium acetate, pH 5.5, 40 °C).  
<sup>b</sup>Measurement by <sup>1</sup>H NMR results figure captions.



**Figure 1.** GPC chromatograms of separated COSs.

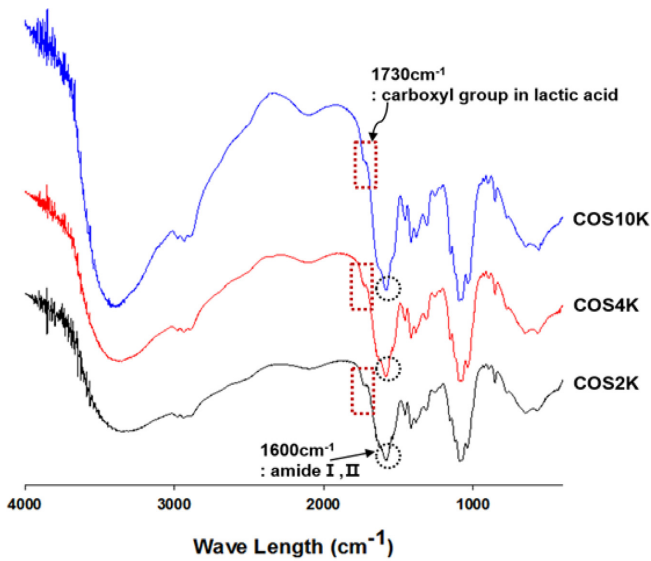


Figure 2. FTIR spectra of separated COSs.

그리고 키토산의 salt로 도입되어 있는 lactic acid의 carbonyl (C=O) 그룹의 특성 피크를 1730 cm⁻¹에서 모두 확인하였다. Figure 3은 분획된 키토산의 ¹H NMR spectra 결과이다. 키토산 구조에서 1번 위치의 수소는 4.8 ppm, 2번 위치의 수소는

3.1 ppm, 그리고 3번~6번 위치의 수소는 3.5~4.0 ppm에서 모두 확인하였고, 키토산 구조 내의 키토신의 아세틸 그룹에 의한 특성 피크를 2.1 ppm에서 확인하였으며, 키토산에 도입되어 있는 lactic acid의 특성피크를 1.2~1.5 ppm과 4.2 ppm에서 모두 확인하였다. 이러한 결과는 분획되어 있는 세 종류의 키토산인 COS2K, 4K, 10K에서 모두 동일하게 나타났다. 또한 ¹H NMR 결과에서 키토산의 2번 수소와 아세틸 그룹의 수소의 면적 비를 이용하여 키토산의 탈아세틸화도(DDA)를 계산하였다. 이 결과 분획된 키토산의 DDA는 92~96%를 보였다(Table 1). 따라서 이러한 구조분석 결과를 통해 분획과정에서 키토산이 구조적으로 변화가 없음을 확인하였고, 높은 탈아세틸화도를 갖는 고순도 키토산임을 확인할 수 있었다.

**분획된 키토산을 이용한 키토산 마이크로스피어의 제조 및 특성 분석.** 천연 항산화 물질의 생체 이용률을 증가시키기 위해서 본 연구에서는 분획된 키토산을 spray dry기법을 이용하여 마이크로스피어를 제조하였고, spray dry를 통해 제조된 마이크로스피어의 물리 화학적 특성을 규명하여 천연 생리활성 물질 담지체로 활용 가능성을 제시하고자 하였다.

분획된 키토산을 spray dry기법을 이용하여 CM을 제조하였으며(Figure 4), 그 형태학적 특성은 SEM을 이용하여 관찰하였다. 그 결과 CM2, 4, 10K 모두 구형에 가까운 마이크로

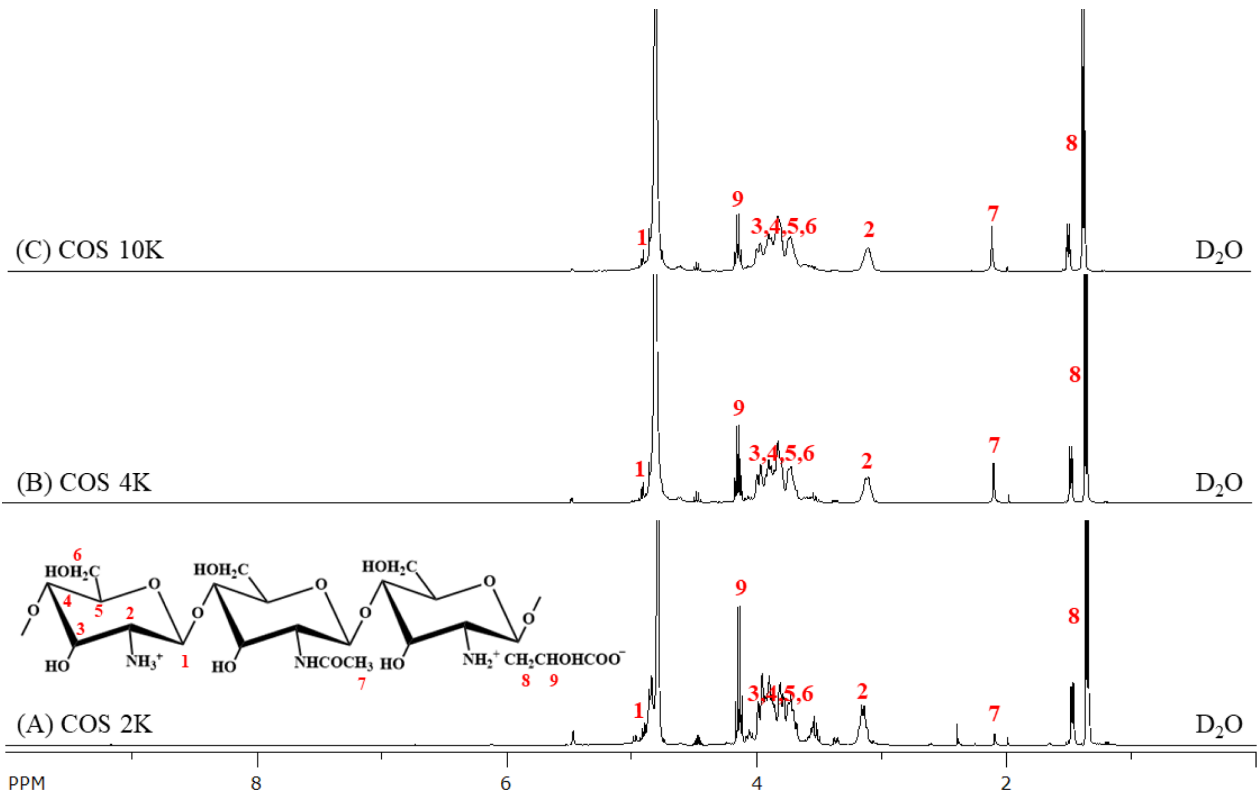


Figure 3. ¹H NMR spectra of separated COSs with D₂O as a locking solvent.

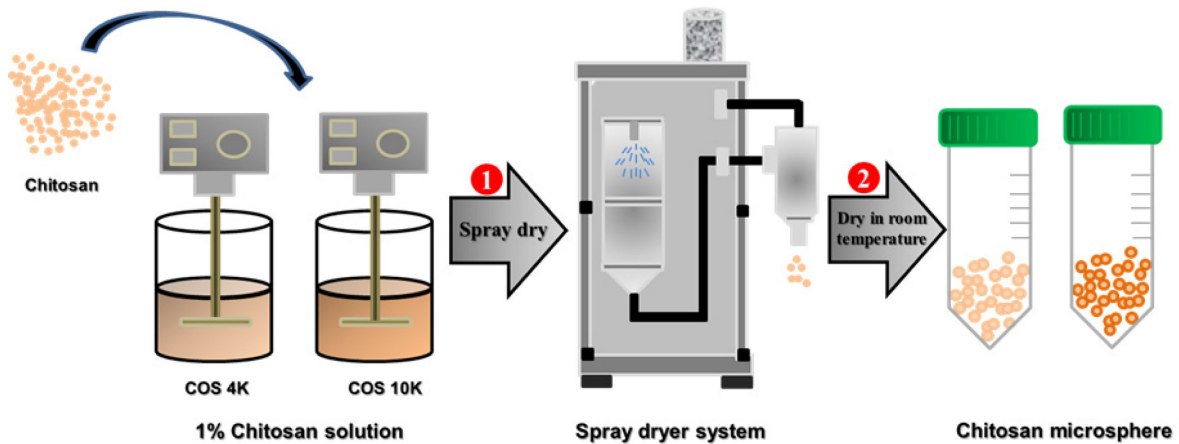


Figure 4. Preparation process of chitosan microspheres (CM) by spray dry method.

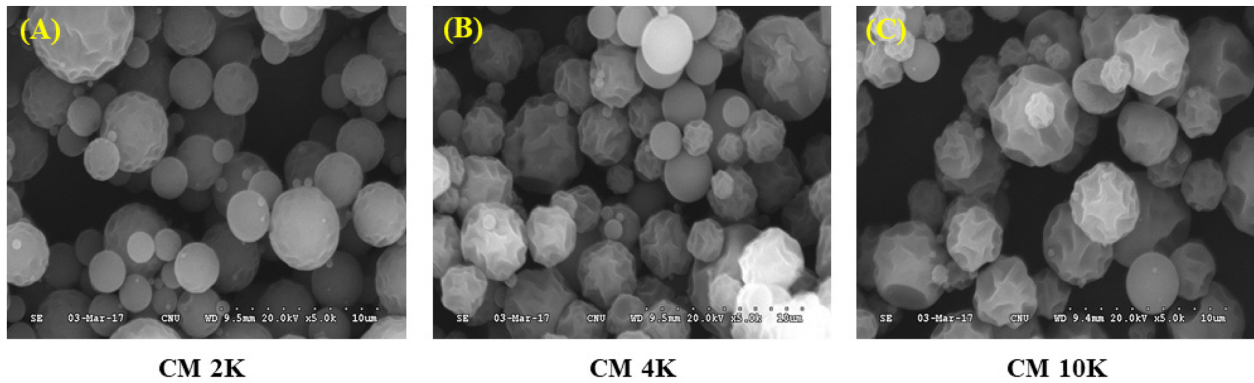


Figure 5. SEM morphology of chitosan microspheres (CM).

입자를 보여줬으며, 그 입자 크기는 각각 2, 4, 6  $\mu\text{m}$ 임을 확인하였다(Figure 5). 또한 분획된 키토산의 분자량이 클수록 더 큰 입자 사이즈를 나타내는데, 이것은 분자량이 증가할수록 키토산 사슬이 증가하게 되고 이는 용액 점도를 증가시켜 spray dry 분사 시 더 큰 입자를 형성하기 때문인 것으로 사료된다.<sup>17</sup> 분획된 키토산의 분자량에 따라 입자 크기를 조절하여 마이크로스피어를 제조할 수 있고, 이는 천연 항산화 물질을 담지하여 생활 활성 산소를 방어할 수 있는 기능성 소재로 응용이 가능할 것으로 사료된다.

분획된 키토산을 이용하여 제조된 CM이 구조적으로 변화가 없는지 확인하기 위해 <sup>1</sup>H NMR을 이용하여 분석하였다(Figure 6). 그 결과 분획된 키토산 COS10K의 구조에서 1번 위치의 수소는 4.8 ppm, 2번 위치의 수소는 3.1 ppm, 그리고 3번~6번 위치의 수소는 3.5~ 4.0 ppm에서 모두 확인하였고, 키토산 구조 내의 키틴의 아세틸 그룹에 의한 특성 피크를 2.1 ppm에서 확인하였으며, 키토산에 도입되어 있는 lactic acid의 특성피크를 1.2~1.5 ppm과 4.2 ppm에서 모두 확인하였다. 분자량 별로 제조된 CM의 경우 분획된 키토산 COS10K

의 수소 특성 피크와 비교해 봤을 때 모두 같은 위치에서 수소 특성 피크를 확인함으로써 spray dry에 의해 제조된 CM이 구조적으로 변화가 없음을 확인하였다.

**분획된 키토산 및 마이크로스피어의 세포 독성 평가.** 천연 고분자 키토산은 독성이 없어 생체 재료로서 사용이 가능하다는 많은 연구논문이 보고가 되어있다. 그러나 키토산이 천연고분자라 할지라도 고분자량 키토산의 경우 구조 내에 많은 아민그룹으로 인해 일정 부분 세포 독성이 나타난다. 따라서 키토산을 생체에 적용하기 위해서는 세포 독성을 나타내지 않은 분자량 및 농도의 확립이 필요하다. 이러한 이유로 본 연구에서는 사용된 분획된 키토산 및 이를 이용하여 제조한 CM의 분자량 및 농도에 따른 세포 독성 여부를 평가하기 위해 MTT assay를 수행하였다. 그 결과 분획된 키토산 및 마이크로스피어의 세포 생존율은 모두 80% 이상임을 확인할 수 있었고(Figure 7), 이러한 세포독성 결과는 무시할 수 있는 수준으로 생체에 적용이 가능하며, 추후 천연 항산화 물질을 CM에 담지하였을 시 생체 이용률을 증가시켜 항산화 효과를 극대화할 수 있을 것으로 사료된다.

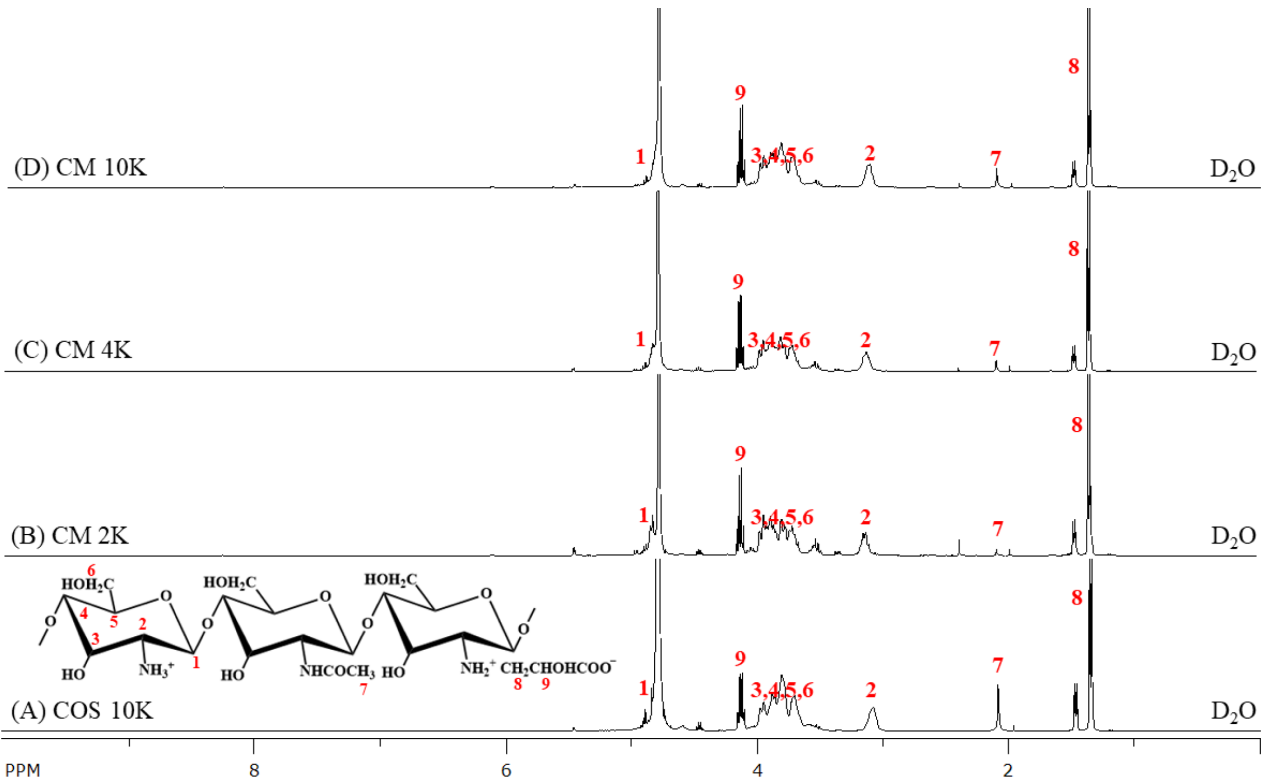


Figure 6. <sup>1</sup>H NMR spectra of chitosan microspheres (CM) with D<sub>2</sub>O as a locking solvent.

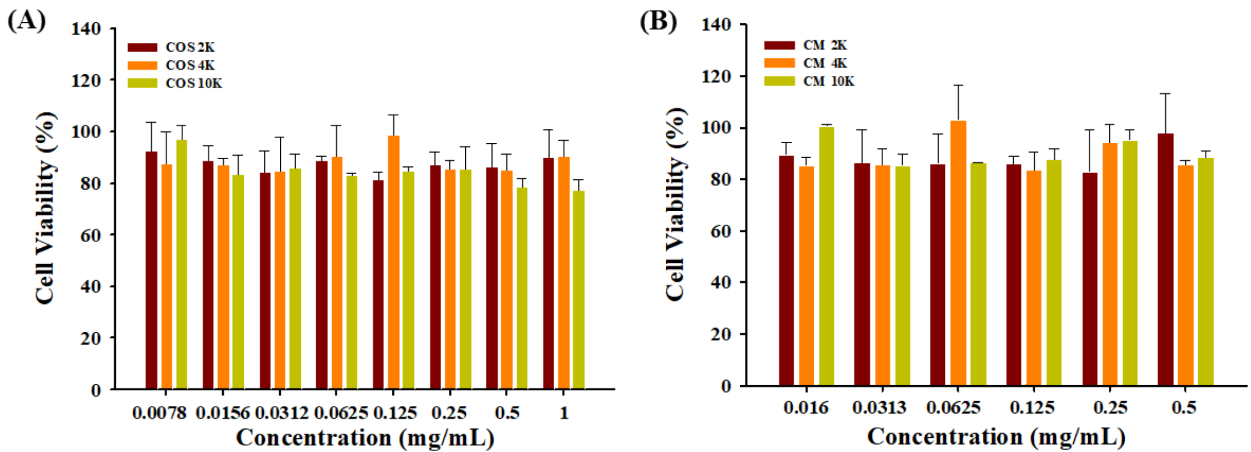


Figure 7. Cytotoxicity of COSs and CMs using MTT assay after incubated for 48 h at HEK 293 cell line.

### 결론

본 연구에서는 활성산소 방어를 효과적인 천연 항산화 물질의 생체이용률을 증가시키기 위해 키토산 마이크로스피어 (CM)를 제조하고, 그 특성을 분석하여 담지체로 활용 가능성을 평가하였다. 기존 키토산의 재현성 문제를 해결하기 위해 한외여과막을 이용하여 키토산을 분획하였고, GPC-MALLS를 이용하여 분자량을 재분석한 결과 COS2, 4, 10K의 분자

량 및 좁은 분자량 분포를 갖는 것을 확인할 수 있었다. 또한 분획된 키토산을 spray dry기법을 이용하여 마이크로스피어를 제조하였고, 그 형태학적 특성을 분석한 결과 CM2, 4, 10K 모두 구형의 가까운 마이크로 입자를 보여줬으며, 그 입자 크기는 각각 2, 4, 6 μm임을 확인하였다. 또한 <sup>1</sup>H NMR을 이용하여 분획된 키토산 및 마이크로스피어의 구조를 분석한 결과 일반적인 키토산의 수소 특성 피크가 모두 나타남으로써 구조적으로 변화가 없음을 확인하였으며, 제조된 CM

의 세포독성 유무를 MTT assay를 통해 확인한 결과 80% 이상의 세포생존율을 확인하였다. 이러한 결과를 통해 제조된 CM은 생체에 적용이 가능하며, 추후 천연 항산화 물질을 CM에 담지하였을 시 생체 이용률을 증가시켜 항산화 효과를 극대화할 수 있을 것으로 사료된다.

**감사의 글:** 이 논문은 2016년도 정부(미래창조과학부)의 재원으로 한국연구재단의 지원을 받아 수행된 연구임(NRF-2016H1D5A1910499).

### 참 고 문 헌

1. W. Li, L. Wang, W. Huang, M. Skibba, Q. Fang, L. Xie, T. Wei, Z. Feng, and G. Liang, *Vascul. Pharmacol.*, **72**, 153 (2015).
2. M. S. Shoshan and E. Y. Tshuva, *Chemistry*, **22**, 9077 (2016).
3. U. Salar, K. M. Khan, A. Jabeen, A. Faheem, M. I. Fakhri, S. M. Saad, S. Perveen, M. Taha, and A. Hameed, *Bioorg. Chem.*, **69**, 37 (2016).
4. Y. Yu, X. Sun, J. Gu, C. Yu, Y. Wen, Y. Gao, Q. Xia, and X. Kong, *Int. J. Biol. Sci.*, **12**, 1225 (2016).
5. G. K. Azad, V. Singh, P. Mandal, P. Singh, U. Golla, S. Baranwal, S. Chauhan, and R. S. Tomar, *FEBS Open Bio.*, **4**, 77 (2014).
6. E. Jaszewska, M. Soin, A. Filipek, and M. Naruszewicz, *J. Photochem. Photobiol. B*, **126**, 42 (2013).
7. C. H. Yu, Suriguga, Y. Li, Y. R. Li, K. Y. Tang, L. Jiang, and Z. C. Yi, *Biomed. Environ. Sci.*, **27**, 212 (2014).
8. S. Sikdar, A. Mukherjee, S. Ghosh, and A. R. Khuda-Bukhsh, *Environ. Toxicol. Pharmacol.*, **37**, 300 (2014).
9. I. Seiquer, A. Rueda, M. Olalla, and C. Cabrera-Vique, *Food Chem.*, **188**, 496 (2015).
10. S. Fernandez-Arroyo, M. Herranz-Lopez, R. Beltran-Debon, I. Borrás-Linares, E. Barrajon-Catalan, J. Joven, A. Fernandez-Gutierrez, A. Segura-Carretero, and V. Micol, *Mol. Nutr. Food Res.*, **56**, 1590 (2012).
11. J. K. Park, J. W. Nah, and C. Choi, *Polym. Korea*, **39**, 480 (2015).
12. Y. Park and J. W. Nah, *Polym. Korea*, **35**, 419 (2011).
13. R. Jayakumar and S. Meenakshi, *Int. J. Biol. Macromol.*, **104**, 1371 (2017).
14. N. M. Alves and J. F. Mano, *Int. J. Biol. Macromol.*, **43**, 401 (2008).
15. T. H. Kim, G. W. Jeong, and J. W. Nah, *J. Ind. Eng. Chem.*, **54**, 298 (2017).
16. G. W. Jeong and J. W. Nah, *Carbohydr. Polym.*, **178**, 322 (2017).
17. H. Takeuchi, T. Yasuji, H. Yamamoto, and Y. Kawashima, *Pharm. Res.*, **17**, 94 (2000).