

섬모시폴(*Boehmeria nivea* var. *nipponivea*) 추출물의 항산화, 항균 및 항염증 효과에 대한 연구

정기수·이선희·양수경·문성필·송관필·김지영†

농업회사법인제주생물자원(주)
(2020년 8월 18일 접수, 2020년 10월 16일 수정, 2020년 12월 03일 채택)

Antioxidant, Antimicrobial and Anti-inflammatory Effect of *Boehmeria nivea* var. *nipponivea* Extracts

Gi Soo Jung, Sun Hee Lee, Soo-Kyung Yang, Sung Pil Moon, Gwanpil Song, and Ji Young Kim†

Jeju Biological Resource Co., Ltd, 56-46 Seondolmokdonggil, Jeju-si, Jeju-do, 63242, Republic of Korea
(Received August 18, 2020; Revised October 16, 2020; Accepted December 3, 2020)

요약: 본 연구는 섬모시폴 70% 에탄올 추출물과 분획물에 대한 천연 화장품 소재의 가능성에 대해 조사하였다. 섬모시폴을 70% 에탄올 추출물과 헥산, 디클로로메탄, 에틸아세테이트, 부탄올 등의 순차적으로 용매별 분획을 제작하였다. DPPH과 ABTS 시험결과, 에틸아세테이트 분획물은 우수한 라디칼 소거 활성을 보였다. 항균활성은 *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Cutibacterium acnes*와 항생제내성균주에 대해서 paper disc 방법, 최소저해농도 및 생육억제율을 조사하였다. 그 결과, *S. aureus*, *S. epidermidis*, *C. acnes* 균주에 디클로로메탄과 에틸아세테이트 분획물에서 추출물과 다른 분획물에 비해 우수한 항균력을 확인하였다. 또한, 에틸아세테이트 분획물은 lipopolysaccharide (LPS) 처리한 RAW 264.7 Cell에서 NO 생성 억제 활성을 확인하였다. 이로써 섬모시폴 추출물과 분획물은 세포독성이 없으며, 항산화, 항균 및 항염 효과를 보였다. 이 결과는 섬모시폴 추출물과 분획물이 항산화 활성을 가지는 효과적인 화장품 소재로 적용 가능하다는 것을 시사한다.

Abstract: The purpose of this study was to investigate the possible use of the *Boehmeria nivea* var. *nipponivea* extract and fractions for the development of natural cosmetic ingredients. The leaves of *B. nivea* var. *nipponivea*, extracted by 70% ethanol, were sequentially fractionated with *n*-hexane, dichloromethane, ethylacetate, and *n*-butanol. As a result of DPPH and ABTS test, ethyl acetate fractionation was shown to be excellent in radical scavenging activity. For the antimicrobial activities against *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Cutibacterium acnes* and antibiotic resistant strains, MIC and birth control rate were observed by paper disc method. In the antibacterial activity by the disc diffusion assay against *S. aureus*, *S. epidermidis* and *C. acnes*, the dichloromethane and ethylacetate fraction showed stronger antibacterial activity than the other fractions and extract. Moreover, the ethylacetate fraction showed strong nitric oxide (NO) production inhibitory effect in lipopolysaccharide (LPS)-stimulated RAW 264.7 cell. In conclusion, we found that *B. nivea* var. *nipponivea* extract was not cytotoxic and showed antioxidant, antimicrobial and anti-inflammatory effects. These results suggest that the *Boehmeria nivea* var. *nipponivea* extract and fractions could be applied as an effective cosmetic material with antioxidant activity.

Keywords: *Boehmeria nivea* var. *nipponivea*, antioxidant, antibacterial, anti-inflammatory, nitric oxide

† 주 저자 (e-mail: jymhsh@naver.com)
call: 064)748-0727

1. 서 론

최근 현대인의 과도한 스트레스 및 환경오염으로 인하여 피부 질환들이 많이 발생되어지고 있으며, 이에 따른 천연소재에 대한 관심이 높아지고 있다. 이로 인하여 기능성 화장품에 대한 시장이 활성화 되면서 부작용을 최소화할 수 있는 기능성 물질에 대한 연구가 활발히 진행되고 있다[1-2]. 천연소재의 대표적인 기능성 물질은 항산화 효과가 우수한 식물에 함유되어있는 폴리페놀(polyphenol)로 생체내의 활성산소의 반응성을 감소시켜 피부질환을 예방하고 지연시키는 효과가 있어 화장품 분야에서 천연 항산화 물질에 대해 많은 연구가 진행되고 있다[3-4].

피부는 인체의 가장 바깥부분에서 화학적, 물리적, 생물학적 피부 장벽기능을 통한 인체 보호 작용 등의 역할을 수행하고 있으나 지속적인 스트레스 및 외부로부터의 자극에 반복하여 노출될 경우 1차적으로 가장 손상 받기 쉬운 부분이기도 하다. 외부 자극의 주요 인자는 자외선, 매연, 불철 황사, 중금속, 병원성 미생물, 극한 날씨 등을 들 수 있으며, 이들은 피부의 산화적 스트레스를 유도하여 활성산소종(reactive oxygen species, ROS)을 생성함으로써 항산화 시스템을 파괴하여 피부세포 손상 및 세포 사멸에 다르게 된다[5-7]. 피부에 염증을 일으키는 피부질환미생물은 *Cutibacterium acnes*와 *Staphylococcus epidermidis*가 대표적으로 피부나 생활환경에 존재하며, 피부의 세포나 장벽 기능에 손상을 야기하여 아토피피부염이나 여드름을 유발한다. 특히 감염에 의한 염증성 여드름의 경우 항생제를 처리하며 증상이 개선이 되지만 항생제 내성에 대한 부작용 문제점이 있다[8-10].

쇄기과(Urticaceae)의 모시풀속(*Boehmeria*)에 속하는 식물은 한반도에 10 여종이 자생하는 것으로 알려져 있으며, 섬유용, 약용 및 어린잎은 식용으로 하고 있다[11-13]. 섬모시풀(*Boehmeria nivea* var. *niponorivea*)은 쇜기과에 속하는 다년생 초본으로 기본종은 모시풀이며, 우리나라 전라남도, 제주도 등에 나며, 일본, 중국, 타이완 등에 분포한다. 기본종인 모시풀은 줄기에 거친 털이 뽀뽀하게 나며 턱잎이 잎자루에 붙지 않고 잎 뒷면이 흰색 또는 회색을 띠지만, 섬모시풀은 줄기에 부드러운 털이 있고 턱잎이 잎자루에 다소 붙고 잎 뒷면이 녹색을 띠므로 구분된다. 어린잎은 식용하며, 껍질은 섬유원료로 쓴다. 모시풀은 항산화, 항염등의 효과에 대한 연구가 많이 이루어져있으나, 섬모시풀에 대한 연구는 아직 미미한 현황이다[14-16]. 본

연구에서는 제주도 자생식물인 섬모시풀 추출물 및 분획물의 항산화, 항균 및 항염증 효과에 대하여 연구하여 화장품 산업의 새로운 신소재로 활용 가능성을 확인하고자 한다.

2. 실험방법

2.1. 섬모시풀 추출물의 제조

본 연구에 사용한 섬모시풀(*Boehmeria nivea* var. *niponorivea*)는 한라산 해발 200 m 지점의 수림내에서 2018 년 10 월 경에 채집하여 대한식물도감을 이용하여 동정하였다[17]. 채집된 식물의 일부는 식물표본으로 제작하여 보관하였다. 섬모시풀 잎을 건조 한 후 잘게 분쇄하여 얻은 시료 1.5 kg을 70% 에탄올 30 L에 침적하고 실온에서 24 h 추출시킨 시료를 감압농축 후에 동결건조하여 70% 에탄올 추출물을 제작하였다. 에탄올 추출물을 증류수 1 L에 현탁시키고, 분별 깔때기를 이용해 분획을 실시하였는데 각 용매마다 1 L씩 3 번 반복 실시하여 *n*-hexane (Hexane), dichloromethane (CH₂Cl₂), ethyl acetate (EtOAc), *n*-butanol (BuOH) 및 water로 총 5 개의 용매 분획물을 얻었다. 추출물과 분획물 제조에 사용된 용매는 Merck(USA) 제품을 사용하였다. 섬모시풀 70% 에탄올 추출물과 용매분획물은 70% 에탄올로 용해시켜 0.2 μm membrane filter (Advantec MFS Inc., USA)로 제균하여 4 °C에 보관하면서 항산화, 항균 및 항염 활성에 이용하였다.

2.2. 항산화활성

2.2.1. 총 폴리페놀 및 플라보노이드 함량 측정

섬모시풀의 70% 에탄올 추출물과 용매분획물의 총 폴리페놀 함량은 Folin-Denis법[18]을 이용하였다. 각 농도별 70% 에탄올 추출물과 용매분획물을 1 N Folin-ciocalteu's phenol reagent (Sigma, USA)혼합하여 3 min 동안 반응시킨 후, 10% Na₂CO₃용액 혼합하여 실온에서 1 h 동안 방치하였다. 반응 후 700 nm에서 microplate reader (Epoch, BioTek, USA)로 흡광도를 측정하였고, 표준물질은 gallic acid (Sigma, USA)를 이용하였다. 표준곡선을 작성한 후 시료의 총 폴리페놀 함량은 g 중의 mg gallic acid로 나타내었다. 총 플라보노이드 함량은 Davis 등의 방법[19]을 이용하였다. 각 농도별 섬모시풀의 70% 에탄올 추출물과 용매분획물에 ethylene glycol (Sigma, USA)과 0.1 N NaOH을 혼합하여 실온에서 1 h 반응시킨 후, 420 nm에서 microplate reader로

흡광도를 측정하였다. 표준물질은 quercetin (Sigma, USA) 을 이용하여 농도에 따른 표준곡선을 작성 한 후 시료의 총 플라보노이드 함량을 구하였다.

2.2.2. DPPH 라디칼 소거활성

섬모시폴의 70% 에탄올 추출물과 용매분획물의 전자공여능은 DPPH (1,1-diphenyl-2-picryl hydrazyl) (Sigma, USA) 를 이용하여 시료의 radical 소거능을 측정하였다[20]. 추출물과 분획물을 농도별로 용해시킨 시료액을 0.2 mM DPPH 을 혼합하여 15 min 동안 암실에서 반응 시킨 후 517 nm 에서 microplate reader로 흡광도를 측정하였다. DPPH radical을 소거능은 시료 첨가군과 비첨가군을 비교하여 free radical 소거능을 백분율로 나타내었고, 양성대조군으로는 ascorbic acid (Sigma, USA)를 사용하였다.

2.2.3. ABTS 라디칼 소거활성

ABTS (2,2-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid)) (Sigma, USA) radical 소거활성은 Re 등의 방법[21]을 사용하였다. ABTS 용액은 7.0 mM 2,2-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) (Sigma, USA)과 2.45 mM potassium persulfate (Sigma, USA)을 혼합하여 24 h 동안 ABTS radical 형성을 시킨 후 증류수로 희석하여 흡광도 값이 0.70이 되도록 희석한다. 추출물과 분획물을 농도별로 용해시킨 시료액을 ABTS solution을 혼합하여 37 °C, 30 min 동안 반응 시킨 후 700 nm에서 microplate reader로 흡광도를 측정하였다. ABTS radical 소거능은 시료 첨가군과 비첨가군을 비교하여 free radical 소거능을 백분율로 나타내었고, 양성대조군으로는 ascorbic acid를 사용하였다.

2.3. 항균활성 측정

본 실험에서 사용한 호기성 그람양성세균인 *Staphylococcus aureus* (KCTC 1927)는 한국생물자원센터(Korean collection for Type Culture, Korea)에서 분양받아 사용하였다. 그리고 피부상재균(*S. epidermidis* CCARM 3709, 3710, 3711)과 여드름 원인균(*Cutibacterium acnes* CCARM 0081, 9009)은 항생제내성균주은행(Culture Collection of Antimicrobial Resistant Microbes, Korea)에서 분양받아 사용하였다. *S. aureus*과 *S. epidermidis*은 tryptic soy agar (TSA; Difco, USA)에 균주의 단일 집락을 배양 후, 액체배지(trypsin soy broth; TSB)에 37 °C에서 24 h 배양하여 사용하였다. 여드름 원인균은 GAM broth (Nissu, Japan) 배지에 접종하여,

혐기성 jar에 gas pak (Oxoid, USA)을 넣어 37 °C에서 48 h 배양하여 사용하였다.

2.3.1. 항균력 측정

항균력 측정은 disc diffusion assay 방법을 사용하였다 [22-23]. 각 균주는 10 mL의 액체배지에 접종하고 37 °C에서 18 h 간격으로 3 회 계대 배양하여 항균활성 시험균주로 사용하였으며, 각각의 시험균 농도를 0.5 McFarland standard으로 10⁶ - 10⁸ CFU/mL 되게 한 후 pour-plate 방법에 균 접종 평판배지를 만들어 사용하였다. 각각의 시료는 50 mg/mL 농도로 조제하여 농도별로 paper disc (Whatman No.5, 8 mm, 회사명, 나라명 작성필요)에 천천히 흡수 시킨 후, 용매를 완전히 증발시킨다. 시험용 평판배지 표면에 disc를 밀착시키고 호기성 세균은 37 °C에서 24 h, 혐기성 세균은 혐기조건에서 37 °C 48 h으로 배양한 후 disc 주변에 생성된 생육저해환(clear zone, mm)의 크기를 측정하여 항균활성을 비교하였다.

2.3.2. 최소저해농도 (Minimum Inhibitory Concentration, MIC) 및 생육저해율 측정

최소저해농도(MIC)는 micro-well dilution assay 방법에 따라 측정하였다[24]. 각각의 균 농도를 0.5 McFarland으로 10⁶ - 10⁸ CFU/mL가 되게 한 후 96 well plate에 분주하고, 각 시료를 농도별로 10 μL씩 처리하여 24 h 배양하였다. 세균 배양액의 증식 정도를 microplate reader로 650 nm에서 측정하였다. 생육저해율은 위와 같은 방법으로 각각의 시료를 1 mg/mL 농도로 처리하여 배양하였다. 호기성 세균은 37 °C에서 24 h, 혐기성 세균은 혐기조건에서 37 °C 48 h으로 배양 후 흡광도 값을 측정하고 다음과 같은 식을 이용하여 생육저해율을 구하였다.

% inhibitory effect =

$$\frac{(control - control\ blank) - (treatment - treatment\ blank)}{(control - control\ blank)} \times 100$$

2.4. 항염증 활성 측정

2.4.1. 세포배양 및 세포독성평가

Mouse macrophage RAW 264.7 cell은 한국세포주은행 (Korea Cell Line Bank, Korea)에 구입하여 사용하였다. 세포의 배양은 10% fetal bovine serum (FBS)와 1%

[penicillin/streptomycin (100 U/mL)을 첨가한 dulbecco's modified eagle medium (DMEM)배지를 사용하였으며, 5% CO₂가 공급되는 37 °C에서 배양하였다. 세포독성평가는 세포내 소기관인 미토콘드리아의 탈수소효소에 의해 생성되는 formazan의 흡광도를 측정하는 원리인 WST-1 assay을 이용하였다. RAW 264.7 세포를 96 well plate 에 3.0 x 10³ cells/well 로 분주하고, 5% CO₂가 공급되는 37 °C 배양기에서 24 h 배양시킨 후, 시료를 농도별로 처리하여 37 °C 배양기에서 72 h 반응시킨다. 배양된 세포에 WST-1 용액을 첨가하여 1 h 배양 후 microplate reader를 이용하여 450 nm에서 흡광도를 측정하였다. 실험은 3 회 반복 수행하여 통계분석을 하였다.

2.4.2. Nitric oxid 생성 억제능 평가

RAW 264.7 (1×10⁵ cells/well)를 DMEM 배지를 이용하여 24 well plate에 접종하고 섬모시플 추출물과 분획물을 농

도별로 lipopolysaccharide (LPS; 1 µg/mL)를 함유한 새로운 배지를 동시에 처리하여 24 h 동안 반응시켰다. 생성된 NO의 양은 Griess 시약을 이용하여 세포배양액 중에 존재하는 NO₂의 형태로 측정하였다. 세포배양 상등액 100 µL와 griess reagent (1% sulfanilamide, 0.1% naphthylethylenediamine in 2.5% phosphoric acid) 100 µL을 혼합하여 96 well plate에서 10 min 동안 반응 시킨 후 540 nm 파장에서의 흡광도를 측정하였다. 표준농도 곡선은 sodium nitrite (NaNO₂)를 표준으로 사용하여 검량선을 작성하여 정량하였다. 모든 실험은 3 회 이상 반복으로 이루어졌으며, 실험결과는 각 항목에 따라 평균치 ± 표준편차를 구하여 신뢰수준 95% ($p < 0.05$)에서 통계적 유의차를 평가하였다. 양성 대조군으로 N-monomethyl-L-arginine (L-NMLA)을 사용하였다.

Table 1. List of Microorganisms and Media Used for Antimicrobial Experiment

Strains	Drug-resistant patterns of skin pathogens (MIC; µg/mL)	TEMP.(°C)	Media
<i>Staphylococcus aureus</i> KCTC 1621	Susceptible	37	TSA
<i>Staphylococcus epidermidis</i> CCARM 3709	Susceptible	37	TSA
<i>Staphylococcus epidermidis</i> CCARM 3710	Erythromycin (≥128), Clindamycin (≥16), Chloramphenicol (≥64)	37	TSA
<i>Staphylococcus epidermidis</i> CCARM 3711	Tetracycline (>32)	37	TSA
<i>Cutibacterium acnes</i> CCARM 0081	Susceptible	37 (anaerobic)	GAM
<i>Cutibacterium acnes</i> CCARM 9009	Clindamycin (64)	37 (anaerobic)	GAM

Table 2. Total Polyphenol and Flavonoid Contents of the *B. nivea* var. *nipponivea* Extract and Fraction

Fraction	Total polyphenol (mgGAE ¹ /g)	Total flavonoid (mgQE ² /g)
70% ethanol	95.01 ± 1.36	111.30 ± 0.12
Hexane	20.10 ± 2.04	46.08 ± 0.64
CH ₂ Cl ₂	34.97 ± 0.88	-
EtOAc	215.66 ± 1.37	128.91 ± 2.41
BuOH	120.52 ± 1.18	63.46 ± 1.46
Water	32.10 ± 1.24	-

¹⁾ Gallic acid equivalent

²⁾ Quercetin equivalent

3. 결과 및 고찰

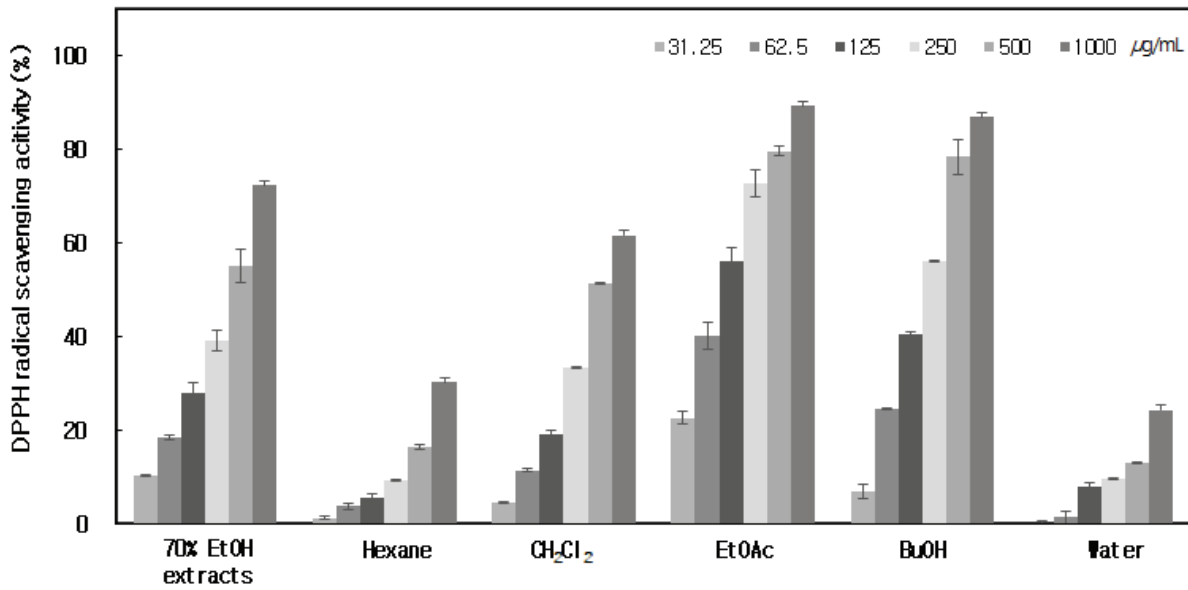
3.1. 섬모시폴 추출물 및 용매분획물의 항산화 활성

3.1.1. 총 폴리페놀 및 플라보노이드 함량측정

폴리페놀(polyphenol)과 플라보노이드는 식물의 이차대사물질로서 항산화 우수하다고 알려져 있으며, 화장품 분야에서는 피부질환을 예방하고 노화 및 미백에 대해 많은 연구되어져 있다[3-4]. 섬모시폴의 화장품 소재로서의 가능성을 보기위해 총 폴리페놀 및 플라보노이드 함량을 측정하였다. 그 결과, 총 폴리페놀 함량은 섬모시폴 70% 에탄올 추출물과 분획물 중에 에틸아세테이트(216.66 mg GAE/g)과 부탄올 분획물(120.52 mg GAE/g)에서 높은 함량을 나타내었다(Table 2). 총 플라보노이드 함량은 에틸아세테이트 분획물(128.91 mg QE/g)과 70% 에탄올 추출물(111.30 mg QE/g)에서 높은 함량을 나타내었다(Table 2). 모시폴속 식물인 모시폴, 왕모시폴, 개모시폴과 비슷한 함량의 총 폴리페놀 함량을 확인할 수 있으며, 총 폴리페놀이 함량이 높을수록 항산화 효능도 우수하다고 알려져 있다[25-26].

3.1.2. DPPH 및 ABTS 라디칼 소거 활성

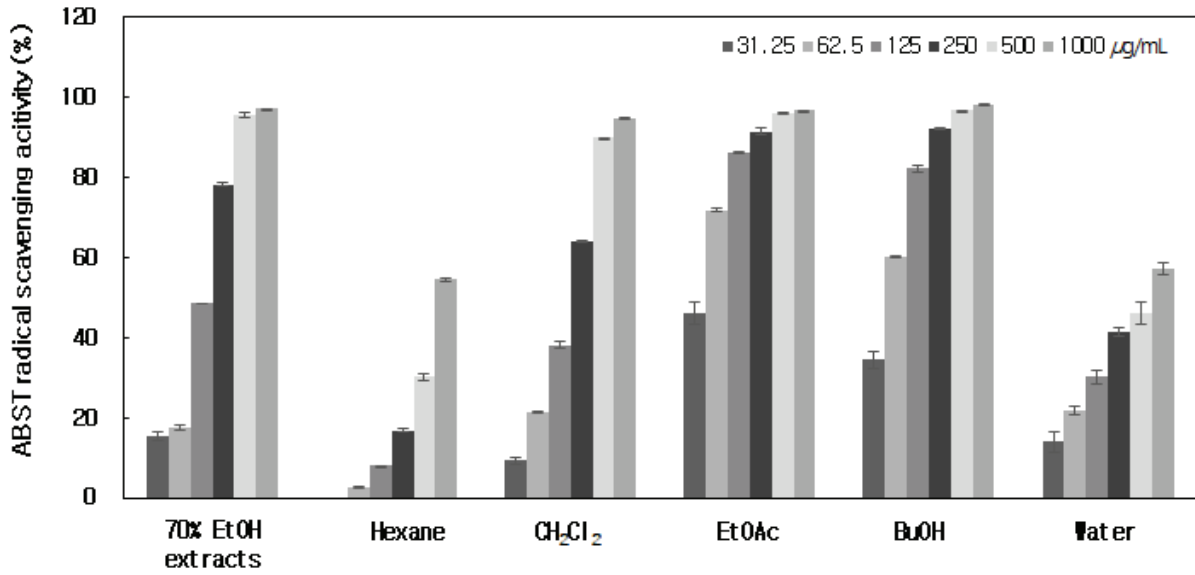
항산화 물질의 활성 산소종이 산소라디칼과 반응하는 것으로 유리기 소거 작용은 활성라디칼(free radical)에 전자를 공여하여 식물 중의 항산화 효과나 인체에서 노화를 억제하는 척도로 사용된다[27]. 섬모시폴 70% 에탄올 추출물 및 분획물의 DPPH 음이온 및 ABTS 양이온 소거능을 Figure 1, 2에 나타내었다. DPPH의 free radical 소거활성은 에틸아세테이트와 부탄올 분획물에서 0.25, 0.5, 1 mg/mL 농도에서 70% 이상으로 소거능이 증가함을 확인할 수 있었다(Figure 1). 특히 에틸아세테이트 분획물은 대조군인 ascorbic acid의 항산화제와 비교하여도 전혀 뒤떨어지지 않는 활성을 갖고 있으며, IC₅₀값은 각각 135.1 µg/mL로 나타났다. ABTS free radical 소거활성은 에틸아세테이트와 부탄올 분획물은 우수한 라디칼 소거활성을 나타내었고, IC₅₀값은 각각 38.2 µg/mL과 60.9 µg/mL로 나타났다(Figure 2). 섬모시폴은 모시폴속의 여러 종의 식물에서 항산화 효능 나타내는 것으로 사료된다.



Fraction	70% Ethanol extracts	Hexane	CH ₂ Cl ₂	EtOAc	BuOH	Water	Ascorbic acid
DPPH radical IC ₅₀ (µg/mL) ¹⁾	524.3	1701.6	464.0	135.1	257.3	2197.4	6.5

Figure 1. DPPH radical scavenging activity of *B. nivea* var. *nipponnivea* extracts and their fraction.

¹⁾IC₅₀ values were calculated from regression lines using five different concentrations in triplicate experiments.



Fraction	70% Ethanol extracts	Hexane	CH ₂ Cl ₂	EtOAc	BuOH	Water	Ascorbic acid
ABTS radical IC ₅₀ (µg/mL) ¹⁾	188.1	897.9	226.5	38.2	60.9	707.7	1.8

Figure 2. ABTS radical scavenging activity of *B. nivea* var. *nipononivea* extracts and their fraction.

¹⁾IC₅₀ values were calculated from regression lines using five different concentrations in triplicate experiments.

3.2. 섬모시플 추출물 및 용매분획물의 항균 활성

피부질환미생물에 의한 염증은 항생제에 의한 치료가 이루어져서 이에 대한 항생제 내성에 대한 부작용으로 인하여 치료가 어려워지고 있다. 이에 따라서 피부질환미생물 중 항생제 내성균에 대한 항균활성을 측정하였다. 섬모시플 추출물 및 분획물의 항균활성은 disc diffusion assay

방법으로 처리농도에 따른 항균활성을 측정한 결과는 Table 3과 같다. 피부상재균인 *S. aureus*와 *S. epidermidis*는 추출물과 분획물에서 항균활성을 나타내었고 특히 에틸아세테이트 분획물에서 우수한 항균력을 나타내었다. *S. epidermidis*의 항생제내성균에서도 디클로로메탄과 에틸아세테이트 분획물에서 항균활성을 나타내었으며, 특히 *S.*

Table 3. Antimicrobial Activities of the *B. nivea* var. *nipononivea* Fraction Against Microorganisms

Microorganisms	Clear zone (mm)					
	70% ethanol extracts	Hexane	CH ₂ Cl ₂	EtOAc	BuOH	water
<i>S. aureus</i> KCTC 1621	9.0	10.9	10.5	16.2	9.4	-
<i>S. epidermidis</i> CCARM 3709	9.3	8.8	9.0	10.4	-	-
<i>S. epidermidis</i> CCARM 3710	-	-	16.7	13.2	10.2	-
<i>S. epidermidis</i> CCARM 3711	13.33	11.2	9.6	9.0	10.8	-
<i>C. acnes</i> CCARM 0081	19.5	9.5	11.9	22.6	11.9	-
<i>C. acnes</i> CCARM 9009	-	-	-	11.8	-	-

epidermidis CCARM 3710균주는 디클로로메탄에서 16.7 mm 저해환을 보이며 우수한 항균력을 보였다. *C. acnes*는 물층을 제외한 나머지 분획물에서 항균 활성을 나타내었고, 항생제내성균주인 *C. acnes* CCARM 9009는 에틸아세테이크 분획물에서만 항균활성을 나타내었다(Table 3).

섬모시폴 추출물과 분획물의 최소저해농도를 측정한 결과를 에탄올과 에틸아세테이트 분획물에서 *S. aureus*와 *S. epidermidis*는 125 µg/mL 농도에서 세균의 성장이 저해됨을 확인하였다. *C. acnes*는 에틸아세테이트 분획물에서 125

µg/mL 농도에서만 세균의 성장이 저해됨을 확인하였다 (Table 4).

또한 섬모시폴 70% 에탄올 추출물과 분획물의 에탄올 추출물과 순차적 분획물의 농도를 1 mg/mL으로 미생물에 대한 생육저해율을 측정하였다(Figure. 3). 그 결과 디클로로메탄과 에틸아세테이트 분획물이 6 종의 균에 대해서 높은 생육저해율을 나타내었다. 그 중 디클로로메탄 분획물은 *S. epidermidis* CCARM 3709에 대해 60% 이상의 높은 저해율을 나타내었고, 에틸아세테이트 분획물에서는 *C.*

Table 4. Minimum Inhibitory Concentrations (MIC) of the Various Solvents from Ethanol Extracts of *Boehmeria nivea* var. *nippononivea* Against Microorganisms

microorganisms	Minimum inhibitory concentrations (MIC, µg/mL)					
	70% ethanol extracts	Hexane	CH ₂ Cl ₂	EtOAc	BuOH	water
<i>S. aureus</i> KCTC 1621	250 ≤	1000 ≤	1000 ≤	125 ≤	500 ≤	-
<i>S. epidermidis</i> CCARM 3709	500 ≤	500 ≤	1000 ≤	500 ≤	1000 ≤	-
<i>S. epidermidis</i> CCARM 3710	2000 ≤	2000 ≤	125 ≤	250 ≤	1000 ≤	-
<i>S. epidermidis</i> CCARM 3711	500 ≤	1000 ≤	2000 ≤	1000 ≤	1000 ≤	-
<i>C. acnes</i> CCARM 0081	250 ≤	1000 ≤	1000 ≤	125 ≤	1000 ≤	-
<i>C. acnes</i> CCARM 9009	2000 ≤	2000 ≤	2000 ≤	1000 ≤	2000 ≤	-

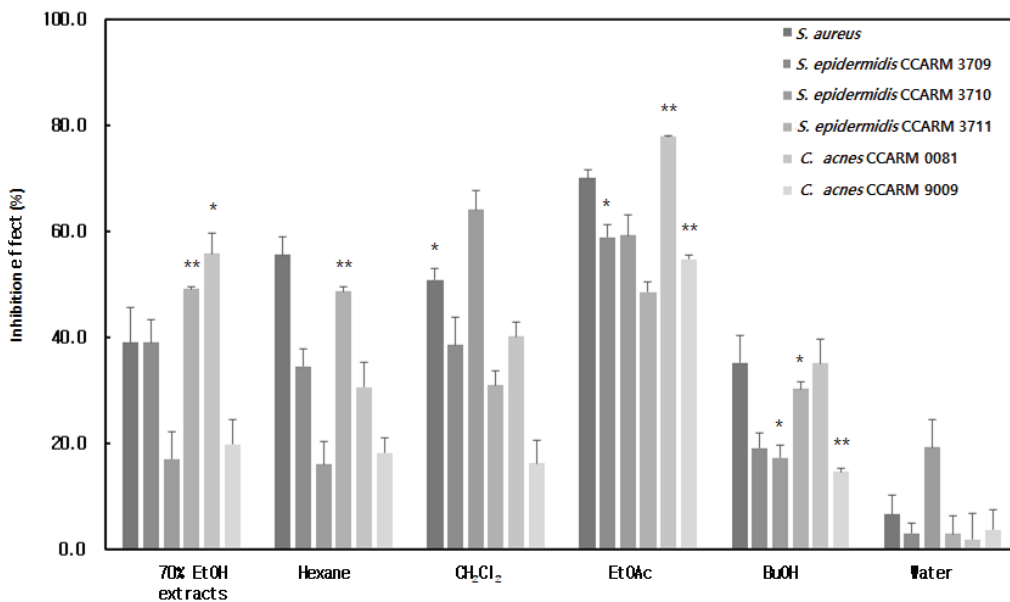


Figure 3. Growth inhibitory rate of *B. nivea* var. *nippononivea* ethanol extracts its each solvent fraction against microorganisms. The data given are means ± SD of triplicate measurements (**p* < 0.05, ***p* < 0.01).

*acnes*에 대해 80% 이상의 높은 생육저해율을 나타내었다. 즉, 섬모시폴 70% 에탄올 추출물과 분획물은 피부질환 미생물에 대한 높은 항균 활성을 가지고 있음을 알 수 있었다.

3.3. 섬모시폴 추출물 및 용매분획물의 항염증 활성

인체의 염증반응은 인체의 생체조직을 방어하기 위한 기전으로 염증 매개인자를 발현하여 외부감염에 대한 적절한 반응을 하는 것으로 알려져 있으며, 염증 반응으로 인해 생성된 활성 산소종(reactive oxygen species, ROS)이나 nitric oxid (NO)는 체세포에도 손상을 입힐 수 있는 것으로

보고되어있다[28-29]. 섬모시폴 추출물 및 분획물의 항염증 효과를 확인하기 위하여 NO는 생성을 LPS으로 유도하여 NO생성 저해 활성을 측정하였다. RAW 264.7 cell에 대한 섬모시폴 70% 에탄올 추출물 및 분획물의 세포독성은 WST-1 assay를 이용하여 측정하였다. 섬모시폴 70% 에탄올 추출물 및 분획물을 각각 0 - 200 $\mu\text{g/mL}$ 농도별로 처리하였을 때 100 $\mu\text{g/mL}$ 에서 에틸아세테이트와 물층에서 90% 이상의 세포 생존율을 나타내었고, 70% 에탄올 추출물과 그 외의 분획물은 80% 이상의 세포 생존율을 나타냄으로 세포 독성은 미미한 것으로 확인하였다(Figure 4). 100

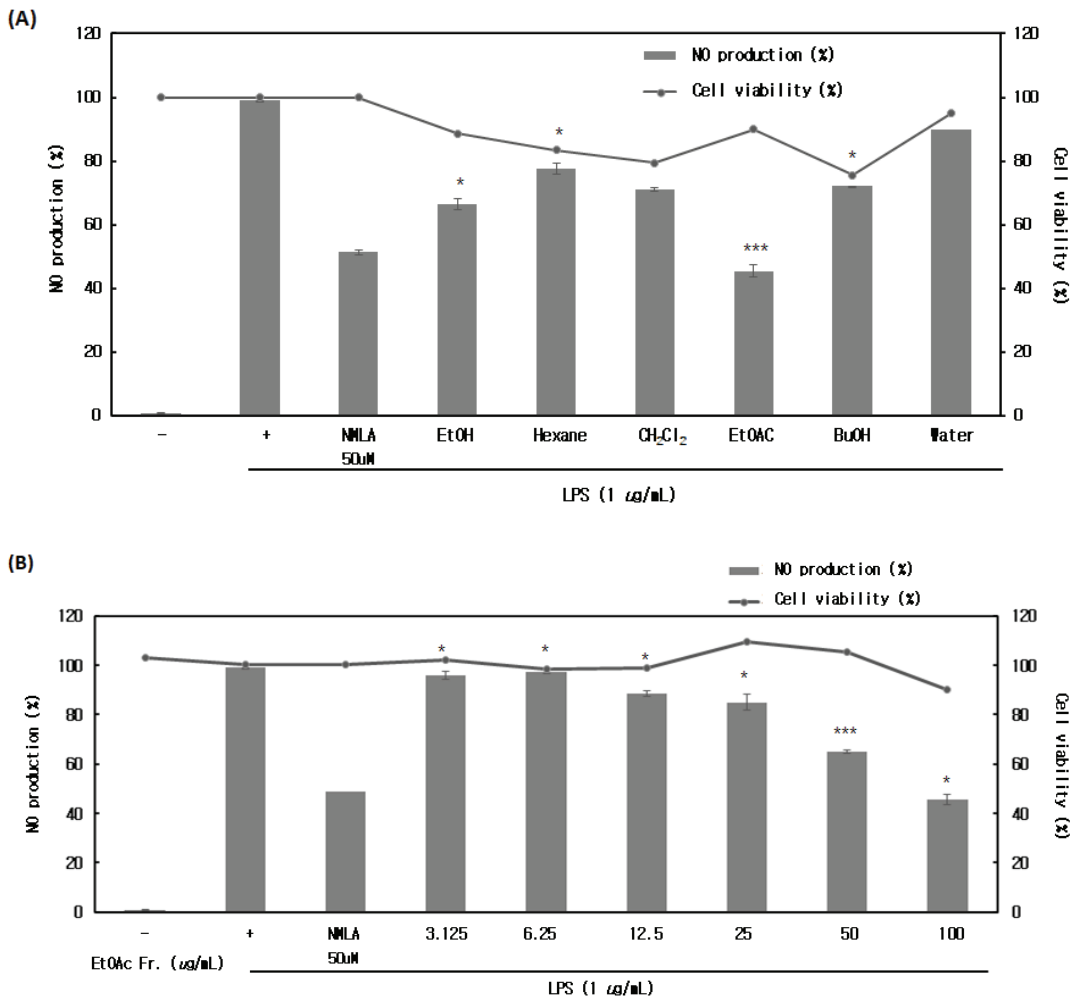


Figure 4. Effects of 70% EtOH extract, solvent fractions (A) and EtOAc fraction (B) from *B. nivea* var. *nipononivea* on NO production in LPS-induced RAW 264.7 cells. The cells were stimulated with 1 $\mu\text{g/mL}$ of LPS only, or with LPS plus *B. nivea* var. *nipononivea* extract and solvent fractions for 24 h. NO production was determined by the Griess reagent method. Cell viability was determined after 24 h culture of cells stimulated with LPS (1 $\mu\text{g/mL}$) in the presence of *B. nivea* var. *nipononivea*. The data represent the mean \pm SD of triplicate experiments (* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$).

$\mu\text{g/mL}$ 이하의 농도에서는 90% 이상의 세포 생존율을 나타냄으로써 RAW 264.7 cell에서 세포에 대하여 독성이 미미한 것으로 측정되었다.

NO 생성 저해 활성은 세포독성이 미미했던 섬모시폴 70% 에탄올 추출물 및 분획물의 100 $\mu\text{g/mL}$ 농도에서 측정된 결과, 에틸아세테이트 분획물에서 $45.4 \pm 0.69\%$ 의 NO 생성량을 나타내었고, 이외의 70% 에탄올 추출물과 분획물에서는 65% 이상의 NO생성량을 나타내었다(Figure 4A). NO 생성 저해 활성을 나타낸 에틸아세테이트 분획물을 농도별로 측정된 결과, 농도 의존적으로 NO 생성량이 감소함을 알 수 있었다(Figure 4B). 이러한 결과 섬모시폴 에틸아세테이트 분획물은 항염 효능을 나타냄을 확인하였다.

4. 결 론

본 연구는 썩기풀과의 섬모시폴을 이용하여 피부질환을 개선하는 기능성 화장품의 천연소재의 가능성을 확인하고자 항산화, 항균 및 항염증에 대해 조사하였다. 섬모시폴 70% 에탄올 추출물 및 분획물은 항산화 효능이 우수한 성분인 총 폴리페놀과 플라보노이드 함량을 측정된 결과 에틸아세테이트 분획물에서 높은 함량을 나타내었고, 항산화 효능인 DPPH 와 ABTS free radical 소거활성을 측정된 결과도 에틸아세테이트분획물에서 IC_{50} 값은 각각 13.9 $\mu\text{g/mL}$ 와 4.3 $\mu\text{g/mL}$ 로 대조구인 ascorbic acid의 항산화제와 비교하여도 전혀 뒤떨어지지 않는 활성을 갖고 있음을 확인하였다. 이는 총 폴리페놀과 플라보노이드 함량이 높을수록 항산화 효능을 높아짐을 확인하였다. 항균활성은 대표적인 피부질환 미생물인 *S. epidermidis*와 *C. acnes*에서 섬모시폴의 에틸아세테이트 분획물에서 우수한 항균력을 확인하였고, 항생제내성균주인 *C. acnes* CCARM 9009는 에틸아세테이트 분획물에서 항균활성을 나타내었다. 섬모시폴 70% 에탄올 추출물 및 분획물은 100 $\mu\text{g/mL}$ 이하의 농도에서는 90% 이상의 세포 생존율을 나타냄으로써 RAW 264.7 cell에서 세포에 대하여 독성이 미미한 것으로 확인되었다. 항염활성은 에틸아세테이트 분획물에서 우수한 효과가 확인되었고, 농도 의존적으로 RAW 264.7 cell에서 NO 생성을 억제하는 것으로 확인되었다. 이러한 결과를 보면, 폴리페놀과 플라보노이드 함량 높은 에틸아세테이트 분획물에서 항산화, 항균 및 항염이 우수한 활성을 나타내며 에틸아세테이트 분획물에는 활성물질이 포함하고 있는 것으로 알려져 있으며 추가적인 활성 물질에 관한 연구가 필요할 것

으로 사료된다. 결론적으로 섬모시폴은 향후 피부질환에 관련된 기능성 화장품 소재로서 사용될 가능성을 시사하는 것이다.

Acknowledgement

본 연구는 산업통상자원부와 한국산업기술진흥원이 지원하는 광역협력권산업 육성사업(과제번호: P0007279)으로 수행된 연구결과입니다.

Reference

1. S. S. Kim, C. G. Hyun, J. Y. Kim, J. Lee, and D. Park, Antibacterial effects of medicinal plants from Jeju island against acne-inducing bacteria, *J. Appl. Biol. Chem.*, **50**(2), 101 (2007).
2. C. H. Shin, Studies on the antioxidative character in the ethyl acetate extractions of *Rumex crispus*, *Korean J. Biotechnology. Bioeng.*, **16**(6), 592 (2001).
3. S. B. Nimse, and D. Pal, Free radicals, natural antioxidants, and their reaction mechanisms, *RSC Adv.*, **5**, 27986 (2015).
4. J. E. Kim, S. M. Jo, and N. H. Lee, Anti-oxidative and anti-bacterial constituents from the extracts of *Rhododendron weyrichii* leaves, *J. Soc. Cosmet. Sci. Korea*, **45**(4), 341 (2019).
5. B. C. Dickinson and C. J. Chang, Chemistry and biology of reactive oxygen species in signaling or stress responses, *Nat. Chem. Biol.*, **7**(8), 504 (2011).
6. V. Afonso, R. Champy, D. Mitrovic, P. Collin, and A. Lomri, Reactive oxygen species and superoxide dismutases: role in joint diseases, *Joint Bone Spine*, **74**(4), 324 (2007).
7. B. Poljšak and R. Dahmane, Free radicals and extrinsic skin aging, *Dermatol. Res. Pract.*, **2012**, 4 (2012).
8. J. Freak, An overview of acne vulgaris. *Nurs. Times.*, **102**(30), 30 (2006).
9. S. M. Han, K. G. Lee, J. H. Yeo, W. T. Kim, and K. K. Park, Antimicrobial property of honeybee (*Apis mellifera* L.) venom against *Propionibacterium acnes* and aerobic skin flora. *Kor. J. Pharmacogn.*, **40**, 173

- (2009).
10. S. Heller, L. Kellenberger, and O. Shapiro, Anti propionibacterial activity of BAL 19403, a novel macrolide antibiotic, *Antimicrob. Agents. Chemother.*, **51**(6), 1956 (2007).
 11. Y. N. Lee, New flora of Korea, Kyohaksa, (2006).
 12. K. H. Bae, The Medicinal Plants of Korea, Kyohaksa, (2000).
 13. F. H. Lui, Z. Li, Q. Liu, H. He, X. Liang, and Z. Lai, Introduction to the wild resources of the genus *Boehmeria* Jacq, *Genet. Resour. Crop. Evol.*, **50**, 793 (2003).
 14. S. Sancheti, M. Bafna, H. R. Kim, Y. H. You, and S. Y. Seo, Evaluation of antidiabetic, antihyperlipidemic and antioxidant effects of *Boehmeria nivea* root extract streptozotocin-induced diabetic rats, *Rev. Braz. Farmacogn.*, **21**(1), 146 (2011).
 15. Y. R. Lee, J. W. Nho, I. G. Hwang, W. J. Kim, Y. J. Lee, and H. S. Jeong, Chemical composition and antioxidant activity of ramie leaf (*Boehmeria nivea* L.), *J. Food. Sci. Biotechnol.*, **18**(5), 1096 (2009).
 16. S. G. Lee, J. H. Lee, M. S. Chung, and H. Kang, Antioxidants and antineuroinflammatory effect of ethanol extracts from *Boehmeria nivea* (L.) Gaudich, *J. Naturopathy.*, **5**(1&2), 33 (2016).
 17. T. B. Lee, Illustrated flora of Korea. Hyangmoon Publishing Co., Seoul, Korea. (1979).
 18. T. Gutfinger, Polyphenols in olive oils, *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **58**, 966 (1981).
 19. F. B. Davis, E. Middleton, P. J. Davis, and S. D. Blas, Inhibition by quercetin of thyroid hormone stimulation *in vitro* of human red blood cell Ca²⁺-ATPase activity, *Cell Calcium*, **4**(2), 71 (1983).
 20. K. Nara, T. Miyoshi, T. Honma, and H. Koga, Antioxidative activity of bound-form phenolics in potato peel, *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **70**(6), 1489 (2006).
 21. R. Re, N. Pellegrini, A. Proteggente, A. Pannala, M. Yang, and C. Rice-Evans, Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay, *Free Radic. Biol. Med.*, **26**(9-10), 1231 (1999).
 22. A. J. Hayes, and B. Markovic, Toxicity of Australian essential oil *Backhousia citriodora* (Lemon myrtle). Part 11. Antimicrobial activity and *in vitro* cytotoxicity, *Food. Chem. Toxicol.*, **40**(4), 535 (2002).
 23. R. A. Mothana, and U. Lindequist, Antimicrobial activity of some medicinal plants of the island Soqotra, *J. Ethnopharmacol.*, **96**(1-2), 177 (2005).
 24. F. A. Al-Bayati, Isolation and identification of antimicrobial compound from *Mentha longifolia* L. leaves grown wild in Iraq, *Ann. Clin. Microbiol., Antimicrob.* **8**(1), 20 (2009).
 25. C. Kim, M. J. In, and D. C. Kim, *In vitro* antioxidant activity of ethanol extract from *Boehmeria nivea* L. leaves, *Food Eng. Prog.*, **19**(1), 76 (2015).
 26. J. M. Choi, J. Y. Choi, H. M. Kim, K. Choi, J. Ku, K. W. Park, S. Lee, and E. J. Cho, Antioxidative activity and protective effect from gastric cancer of Korean folk plants, *Cancer Prevention Research*, **16**(4), 387 (2011).
 27. T. Ak, and I. Gülçin, Antioxidant and radical scavenging properties of curcumin. *Chem. Biol. Interact.*, **174**(1), 27 (2008).
 28. H. T. Chung, H. O. Pae, B. M. Choi, T. R. Billiar, and Y. M. Kim, Nitric oxide as a bioregulator of apoptosis, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **282**(5), 1075 (2001).
 29. R. Kohen, Skin antioxidants: their role in aging and in oxidative stress-new approaches for their evaluation, *Biomed. Pharmacother.*, **53**(4), 181 (1999).