

## Anti-aging and Anti-inflammatory Activities of the Extracts of *Calamagrostis arundinacea*

Hea Seok Jeong<sup>1</sup>, Dong Ho Lee<sup>1</sup>, Min-Sung Lee<sup>1</sup>, Tae Im Heo<sup>2</sup>, Dong Kap Kim<sup>3</sup>, Seung Hwan Oh<sup>3</sup>, Du Hyeon Kim<sup>1</sup>, Yeong-Su Kim<sup>1\*</sup> and Dae Wook Kim<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Division of Wild Plant Industrialization Research, Baekdudaegan National Arboretum, Bonghwa-gun 26209, Korea

<sup>2</sup>Division of Forest Bioresource Conservation, Baekdudaegan National Arboretum, Bonghwa-gun 26209, Korea

<sup>3</sup>Division of Forest Biodiversity, Korea National Arboretum, Pocheon 11186, Korea

Received September 28, 2020 / Revised November 17, 2020 / Accepted December 7, 2020

The anti-aging and anti-inflammatory activities of hot-water (Ca-HW) and 70% ethanol (Ca-E70) whole-plant *Calamagrostis arundinacea* extracts, as well as their bioactive potentials, were investigated using cell-free and cell-mediated experimental systems. Use of the 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) radical decolorization assay to evaluate the antioxidant activity of the Ca-HW and Ca-E70 extracts revealed DPPH radical scavenging activities of 27% and 48%, respectively. Neither extract caused significant cytotoxicity, and both showed cell proliferation and promotion effects using RAW 264.7, B16F10, and CCD986sk cells. B16F10 melanoma cells showed higher melanin synthesis when treated with 100 mg/ml Ca-HW or Ca-E70 than with arbutin, indicating a stronger inhibitory effect of arbutin on melanin synthesis. Ca-HW and Ca-E70 increased pro-collagen biosynthesis in the human fibroblast CCD986-SK cell line by 24.69% and 12.55%, respectively. Analysis of the anti-inflammatory effects of different concentrations of Ca-HW and Ca-E70 in RAW264.7 cells revealed that Ca-E70 appeared to inhibit the lipopolysaccharide-induced production of nitric oxide and IL-6, a proinflammatory cytokine; therefore, Ca-E70 showed an anti-inflammatory effect. These results suggested that *C. arundinacea* extracts could have skin anti-aging and anti-inflammatory properties.

**Key words** : Anti-inflammatory, *Calamagrostis arundinacea*, DPPH, melanin, pro-collagen

### 서 론

벼과의 다년초 식물인 실새풀(*Calamagrostis arundinacea*)은 우리나라 산지에 흔히 분포하고 있으며, 주로 밝은 숲 속이나 숲 가장자리에서 자생하고 있다. 백두대간 생물권인 경북 봉화군에 위치한 문수산과 옥석산 부근에서도 비교적 습한 환경보다는 건조한 환경에서 자생한다[11, 17]. 또한 군포 사격장같이 중금속이 오염된 환경에서도 생육이 가능하고, 뿌리 속에 아연을 축적하는 것으로 알려져 있다. 최근까지도 실새풀의 기능성에 대해 생리 활성 규명과 효능을 구명한 연구가 아직 미비하고 연구 자료도 부족한 실정이다.

노화과정에서 피부는 주름 생성, 탄력의 저하, 수분 손실의 증가, 피지 생성 감소, 각질 세포 응집력 강화, 기미, 주근깨

등의 특징을 보인다. 이러한 피부 노화는 크게 두 가지로 볼 수 있으며, 자연적인 내인성 노화와 외부환경으로부터 오는 광노화 요인이 있다. 외적인 요인으로는 자외선에 노출되는 피부에 따른 광노화 이외에도 흡연 등에 의하여 활성산소 및 염증과 관련된 질환을 유발하여 피부 노화뿐만 아니라 노화를 촉진시킬 수 있다[14, 25]. 특히 자외선에 노출되기 쉬운 피부는 장시간 노출이 이루어지게 되면 검정과 갈색 계열의 멜라닌 색소를 분비하여 자외선을 일정 부분 차단하는 등의 피부를 보호하는 주요 기능을 하게 된다[8].

자외선으로 유도된 Reactive oxygen species (ROS)는 피부의 광 산화적 손상을 일으켜 세포막을 이루고 있는 인지질을 산화시켜 세포를 사멸 시킬 뿐만 아니라 Matrix metalloproteinases (MMPs)의 발현을 촉진시켜 collagen 및 elastin 섬유 등을 분해시킨다. 이러한 내적 요인의 자연 노화 또한 외적 요인의 스트레스로 인해 활성산소 생성과 염증의 발생으로 노화가 더욱 유도될 수 있기 때문에 활성산소의 감소 또는 차단만으로도 상당 부분의 노화를 늦출 수 있다고 알려져 있다. 게다가 활성산소는 염증성 손상의 주요 기전으로 여겨지는 염증성 cytokine을 활성화시키는 만성 염증의 주요 기전으로 알려져 있으며[5], 염증의 매개 인자 중 하나인 산화질소(NO; Nitric Oxide)를 자극하기 때문에 항산화제는 염증에서 중요하게 작용된다[3]. 이러한 이유로 피부 광노화에 관련된

#### \*Corresponding authors

Tel : +82-54-679-2740, Fax : +82-54-679-0636

E-mail : yskim@kiam.or.kr (Yeong-Su Kim)

Tel : +82-54-679-2738, Fax : +82-54-679-0636

E-mail : dwking@kiam.or.kr (Dae Wook Kim)

This is an Open-Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

연구에 있어 활성산소 생성 억제 효능, pro-collagen 합성을 촉진시키고, MMPs 발현을 억제하는 것에 관한 연구가 보고되고 있다.

다양한 식물의 추출물이 항노화와 관련하여 산화 방지와 염증 억제 등의 생물학적 효과를 가지고 있다고 알려져 있으나[20, 21], 아직까지 실재물을 이용한 특성 및 효과에 대한 연구는 많이 이루어져 있지 않다. 따라서, 본 연구에서는 우리나라 자생식물인 실재물 추출물을 통하여 다양한 이화학적 특성 및 활성을 평가하고자 하였다.

## 재료 및 방법

### 실험 재료

인간의 섬유아세포주 CCD986-sk와 마우스의 대식세포주인 RAW264.7과 흑색종 세포주 B16F10을 사용하여 연구를 진행하였다. 배양용 배지 Dulbecco's Modified Eagle's Medium (DMEM)/F-12 1:1 Modified Medium (DMEM/F-12)는 Lonza (Walkersville, MD, USA)에서 구매되었고, Lipopolysaccharide (LPS)와 생리 활성 분석을 위해 사용한 Folin-Ciocalteu, 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) 및 기타 시약들은 Sigma-Aldrich (St Louis, MO, USA)에서 구매되었다.

### 시료 제조

본 연구에 사용된 실재물(*Calamagrostis arundinacea*)은 2017년 7월 경북 봉화군에서 채취하여 음건하여 사용하였으며, 국립백두대간수목원 허태임 연구원이 동정하였다. 그 증거 표본(hti19034)은 국립백두대간수목원 표본실에 보관하였다. 파쇄된 실재물 20 g에 70% ethanol 500 ml을 첨가하여 실온에서 진탕하면서 48시간 동안 추출하거나(Ca-E70), 열수(Ca-HW)로 추출하였다. 추출이 완료되면 여과액을 rotary evaporate (EYELA, Tokyo, Japan)로 농축 후 동결건조하여 분말 형태로 회수한 다음 용매에 녹여서 사용하였다. 모든 시료는 실험 전까지 -80℃에서 보관하였다.

### DPPH radical 소거능

항산화 활성 중 DPPH assay는 진한 보라색을 띠는 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH)이 항산화제에 의해 Diphenylpicrylhydrazine으로 환원되어 옅은 노란색으로 변하는 것을 측정하는 방법으로 하였다. 각 실재물 추출물을 처리하여 DPPH solution을 가한 후 암실과 37℃의 조건에서 30분 동안 반응이 완료되면 Spectrophotometer (Multiskan GO, Thermo Fisher Scientific, Vartaa, Finland)로 517 nm에서 흡광도를 측정하였다.

DPPH scavenging activity (%) =  $(1 - \text{시료첨가구 OD} / \text{무첨가구 OD}) \times 100$

### 세포 배양 및 세포 생존능 측정

본 연구에서 사용된 세포주들은 10% fetal bovine serum (FBS), 100 U/ml penicillin and 100 µg/ml streptomycin이 포함된 DMEM/F-12 배지로 37℃에서 5% CO<sub>2</sub> 하에서 배양되었다. 시료 처리를 위해 실재물 추출물의 분말은 Dimethyl sulfoxide (DMSO)로 용해하였고, 대조구는 DMSO를 0.1%를 초과하지 않은 범위에서 사용하였다. 섬유아세포주 CCD986-sk와 대식세포주 RAW264.7의 생육 억제는 MTT (Methylthiazolyldiphenyl tetrazolium bromide) assay로 측정하였다. 세포를 96 well plate에서 well 당  $1 \times 10^5$  cells로 24시간 배양 후 Ca-HW 또는 Ca-E70을 각각 농도별로 24시간 동안 처리한 후 각 well에 MTT (1 mg/ml) 용액 50 µl씩 가하여 2시간 동안 처리하였다. 처리가 완료되면 well 바닥에 형성된 formazan이 흡여지지 않게 상등액을 제거하고 DMSO를 100µl씩 첨가하여 녹인 후 570 nm에서 흡광도를 측정하였다.

### Nitric Oxide (NO) 측정

NO는 Namkoong 등의 방법을 변경하여 측정하였다[18]. 마우스 대식세포 RAW264.7을 12 well plate에 well 당  $5 \times 10^5$ 이 되도록 분주하였다. 24시간 동안 배양 후 Ca-E70 또는 Ca-HW 시료를 각각 농도 0, 12.5, 25, 50 µg/ml로 가하여 2시간 동안 처리하였다. 2시간 후 LPS를 1 µg/ml 농도로 가하여 18시간 동안 처리된 배양액을 Griess reagent와 1:1 비율로 혼합하여 570 nm에서 흡광도를 측정하였다.

### 염증성 cytokine 측정

마우스 대식세포 RAW264.7을 12 well plate에 well 당  $5 \times 10^5$ 이 되도록 분주하였다. 24시간 동안 배양 후 Ca-E70 시료를 각각 농도 0, 12.5, 25, 50 µg/ml로 가하여 2시간 동안 처리하였다. 2시간 후 LPS를 1 µg/ml 농도로 가하여 18시간 동안 처리된 배양액과 ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay) kit를 이용하여 IL-6와 TNF-α를 측정하였다.

### Tyrosinase 저해 활성 측정

흑색종 세포 B16F10을 12 well plate에 24시간 동안 배양한 후 실재물 추출물을 6시간 동안 처리한다. 6시간 후 멜라닌 자극 호르몬인 α-MSH (α-melanocyte stimulating hormone)를 100 µM/well로 실재물 추출물과 같이 48시간 동안 처리한다. 처리가 완료되면 세포 용해물을 회수하여 L-DOPA와 혼합하여 37℃에서 30분간 반응하여 490 nm에서 흡광도를 측정하였다.

### MMP-1 생성 측정과 Pro-collagen 생합성 측정

MMP-1 생성 측정과 Pro-collagen 생합성 측정은 인간의 섬유아세포 CCD986-sk를 12 well plate에 well 당  $5 \times 10^5$ 이 되도록 분주하여 배양한 후 실재물 추출물(100 µg/ml)을 4시간

및 24시간 동안 처리하여 진행하였다. Pro-collagen 생합성 측정은 Pro-collagen Type I C-peptide ELISA kit를 이용하였으며, MMP-1의 생성 측정은 TNF- $\alpha$ 를 50 ng/ml로 18시간 처리하여 유도한 다음 MMP-1 human ELISA kit로 실새풀 추출물의 MMP-1 생성 억제력을 측정하였다

**통계 처리**

모든 결과는 3회 반복 측정 후 평균±표준편차로 나타내었고, 처리 간 유의성은 Student's *t*-test로 검증하여 *p*-value 값이 0.05 미만일 때 통계적으로 유의하다고 판정하였다(Microsoft Excel 2016, Microsoft, Redmond, WA, USA).

**결과 및 고찰**

**실새풀 추출물이 항산화 활성에 미치는 영향**

활성산소종과 산화 방지의 불균형에 의해 유도된 산화적 손상은 발암 및 염증을 포함한 질병과 관련이 있다. 이러한 불균형은 단백질 및 지질, DNA와 같은 중요한 생체 분자의 손상을 유도하여 체세포 등의 변이를 일으킨다[1, 24].

DPPH radical scavenging의 소거능 분석을 이용하여 항산화 활성을 평가하였다. DPPH assay는 일반적이고 기초적인 분석으로 사용되고 있다. Fig. 1과 같이 Ca-HW와 Ca-E70은 DPPH radical 소거에 영향을 미치는 것으로 나타났다. 양성대조구는 ascorbic acid를 100  $\mu$ M로 처리하여 비교하였다. 실새풀 추출물의 항산화 활성은 ascorbic acid에는 미치지 못하였

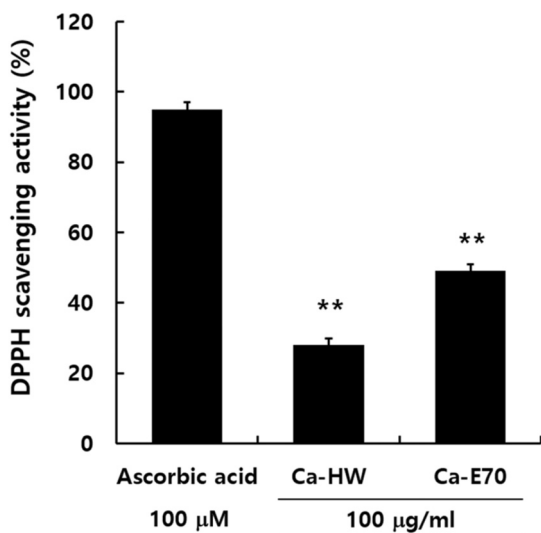


Fig. 1. Effect of *C. arundinacea* on DPPH free radical scavenging activity. DPPH free radical scavenging activity for test sample was determined with 1 mM DPPH ethanolic solution. Concentration of *C. arundinacea* hot-water (Ca-HW) and EtOH-70% (Ca-E70) extracts was 100  $\mu$ g/ml. All values are expressed as means  $\pm$  SD of triplicate determinations.

으나, Ca-HW과 Ca-E70을 100  $\mu$ g/ml로 처리하였더니 각각 27%와 48%의 DPPH radical 소거능을 나타내어 열수 추출물에 비하여 에탄올 추출물이 높은 항산화 활성을 가지는 것으로 나타났으며 이러한 결과는 실새풀이 체내의 활성산소를 억제 또는 제거하여 항노화의 가능성이 있다고 사료된다.

**LPS로 유도된 RAW264.7의 NO 생성 저해에 미치는 실새풀 추출물의 효과**

항염증 효능 실험을 위해 대식세포에 미치는 독성을 세포 생존율로 평가하였더니 Fig. 2와 같이 실새풀 추출물 중에서 Ca-HW는 대식세포 RAW264.7에 대한 독성을 나타냈다. Ca-E70은 세포 생존율에 영향을 미치지 않았다. 염증 유발 인자인 iNOS (inducible nitric oxide)와 COX-2 (cyclooxygenase-2)는 NO와 PGE2 (prostaglandin E2)의 과도한 생성에 관여하며 염증 과정 중에 cytokine에 의해 과 생성된 NO는 염증 반응을 심화시킨다[4, 12, 22, 26]. 따라서 이러한 염증성 인자의 발현에 미치는 실새풀 추출물의 효과를 Fig. 2와 같이 NO 생성으로 조사하였다. 실새풀 추출물 Ca-HW와 Ca-E70을 12.5, 25 및 50  $\mu$ g/ml 농도로 처리하였더니, LPS 단독처리 시에는 NO가 증가하였으나 Ca-E70 처리구에서만 농도에 의존적으로 유의하게 NO 생성이 감소하여 실새풀의 염증 억제에 대한 가능성을 나타내었다.

**염증성 cytokine에 미치는 실새풀 추출물의 영향**

LPS는 RAW264.7과 같은 macrophage로부터 TNF- $\alpha$  (tumor necrosis factor- $\alpha$ ), IL-1 $\beta$  (interleukin-1 $\beta$ ), IL-6 (interleukin-6) 등의 염증 매개 물질들을 증가시키고, iNOS와 COX-2의 발현을 유도하여 NO 및 PGE2와 같은 염증성 인자가 생성됨으로

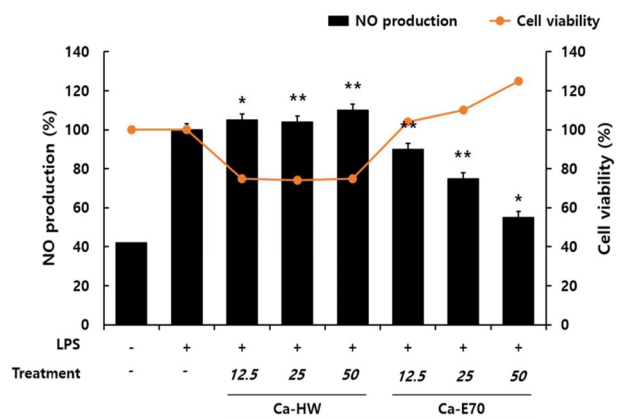


Fig. 2. Inhibitory effect of *C. arundinacea* on the generation of nitric oxide in LPS-stimulated RAW264.7 cells. RAW 264.7 cells were pretreated with *C. arundinacea* extracts at the indicated concentrations for 2 hr, and then co-treated with LPS (1  $\mu$ g/ml) for 18 hr. All values are expressed as means  $\pm$  SD of triplicate determinations. \**p*<0.05 compared to the cells without *C. arundinacea*.

써 염증반응이 매개된다[16]. 대식세포 생존율을 감소시키고 NO 생성 저해에 영향을 미치지 않은 Ca-HW를 제외하고 전염증성 cytokine의 생성에 미치는 영향을 Ca-E70으로 조사하였다. 활성화된 대식세포에서는 사이토카인을 분비함으로써 염증성 반응을 유도하여 이 중 TNF- $\alpha$ , IL-6는 면역 반응, 급성기 반응, 조절 작용을 조절하는 다면발현성 효과를 보인다[13]. Fig. 3A에서와 같이 LPS를 단독으로 처리하였을 때 증가된 IL-6가 Ca-E70과 함께 처리하였더니 농도에 비례하여 유의하게 감소하는 결과를 보였다. Fig. 3B의 TNF- $\alpha$ 에 미치는 실재물 추출물의 영향을 확인하기 위해 LPS를 전처리 하여 TNF- $\alpha$ 를 유도하였다. LPS를 단독으로 처리하였을 때 증가된 TNF- $\alpha$ 가

Ca-E70과 같이 처리하였을 때도 감소되지 않았으며, 오히려 농도 의존적으로 증가하는 것으로 보아 Ca-E70의 처리는 대식세포의 활성화를 유도하는 것으로 사료된다. 이러한 결과는 염증 과정 중의 NO의 형성에 관여하는 Ca-E70의 효과는 전염증성 cytokine인 IL-6를 억제하여 관여하는 것으로 사료된다.

**Tyrosinase 저해 활성에 미치는 실재물 추출물의 영향**

피부 미백과 관련하여 tyrosinase 효소의 저해 활성을 조사하였다. Tyrosinase는 melanin 생합성 과정의 중요한 효소로 tyrosine을 산화시켜 L-DOPA를 거쳐 melanin을 생성시키는 데 중요한 작용을 한다고 알려져 있다[2]. 자외선과 같은 외부

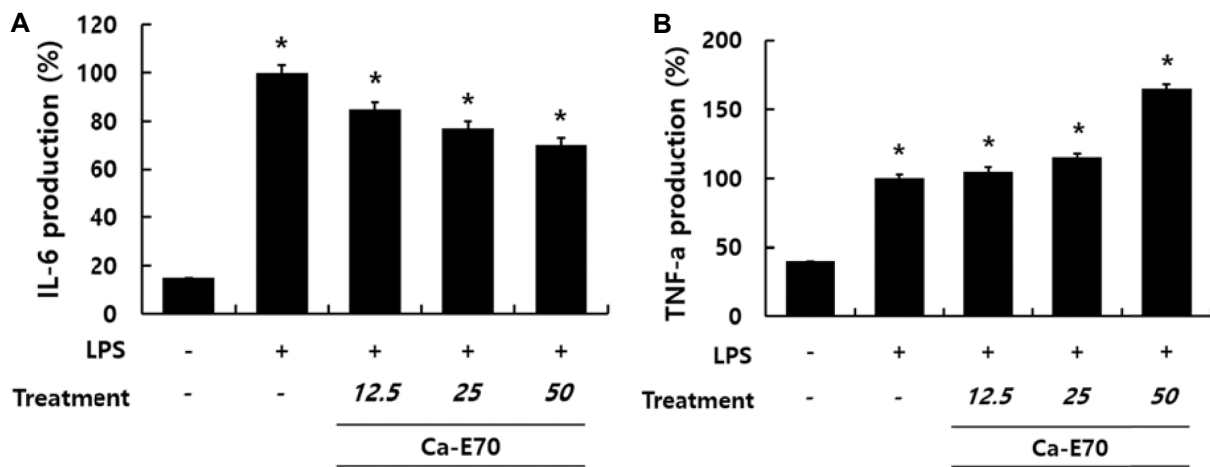


Fig. 3. Inhibitory effect of *C. arundinacea* on the IL-6 (A) and TNF- $\alpha$  (B) production in LPS-stimulated RAW264.7 cells. RAW264.7 cells were pretreated with *C. arundinacea* extracts at the indicated concentrations for 2 hr, and the co-treated with LPS (1  $\mu$ g/ml) for 18 hr. All values are expressed as means  $\pm$  SD of triplicate determinations. \* $p$ <0.05 compared to the cells without *C. arundinacea*.

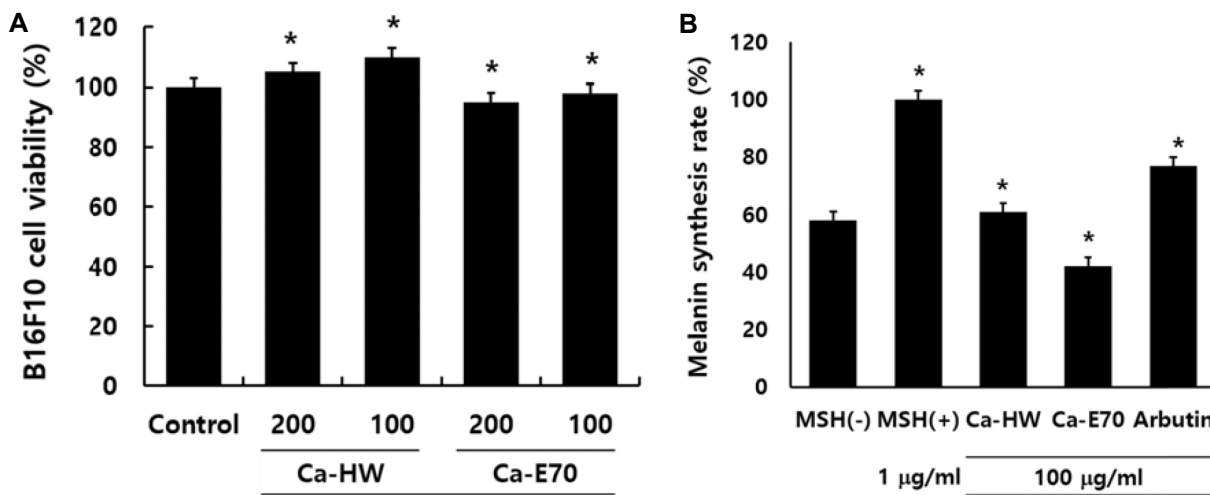


Fig. 4. Inhibitory effects of *C. arundinacea* on the generation of tyrosinase in  $\alpha$ -MSH-stimulated B16F10 cells. B16F10 cells were pretreated with *C. arundinacea* extracts at the indicated concentrations for 6 hr, and then co-treated with  $\alpha$ -MSH (1  $\mu$ g/ml) for 48 hr. All values are expressed as means  $\pm$  SD of triplicate determinations. \* $p$ <0.05 compared to the cells without *C. arundinacea*.

스트레스 등에 반응하면 melanin이 과다 생성되어 밖으로 배출되지 못하고 각질형성세포로 전달되어 피부의 표피층에 축적되어 노화 촉진 및 암을 유발하기도 한다[9, 10]. B16F10 흑색종 세포에 실새풀 추출물을 처리하여 미백 활성을 조사하였다. 배양된 세포에 Ca-HW과 Ca-E70을 100 µg/ml 농도로 처리하여 회수한 다음 tyrosinase 저해 활성을 조사하였다. Arutin은 하이드로퀴논에 glucopyranoside가 결합된 유도체로 멜라닌 생합성에 관여하는 tyrosinase 활성을 억제함으로써 멜라닌 색소 침착이 증가된 피부질환 치료 및 화장품 미백 활성 성분으로 사용되고 있다[23]. 멜라닌 생성 측정 실험에서 양성대조군으로 사용된 arbutin 처리구 비해 실새풀 추출물 (Ca-HW, 39%; Ca-E70, 58%)의 보다 높은 저해 활성을 나타냈다(Fig. 4). 항산화 활성으로 체내 세포의 산화 또는 노화를 억제하는 실새풀이 활성산소 소거와 관련하여 피부 보호 능력과 연관될 수 있다. 이와 관련하여 Ca-HW 및 Ca-E70이 직접적인 멜라닌 생성 억제 또는 색소침착의 억제를 통해 미백효과를 나타낸 것으로 사료된다.

**섬유아세포의 세포 생존율 및 MMP-1 발현 저해에 실새풀 추출물이 미치는 영향**

Fig. 5A와 같이 CCD986-sk 섬유아세포에 실새풀을 추출물 별로 처리하여 세포 생존율에 미치는 영향을 조사하였다. Ca-HW의 200 µg/ml 농도에서 세포 독성을 나타내었으나 Ca-E70에서는 세포 생존율에 영향을 미치지 않는 것으로 나타났다. 피부에서 진피층의 90%를 차지하는 collagen의 감소는 피부 노화와 밀접한 관계를 가지고 있으며 MMPs의 생합성 과정은 collagen을 분해하는 효소로 작용한다[15]. 세포 생존율에 영향을 주지 않은 100 µg/ml 농도로 Ca-HW 및 Ca-E70을 처리하여 MMPs 생합성과 관련하여 교원섬유 분해 효소인 MMP-1의 발현을 조절하는지 조사하였다. Fig. 5B에서와 같이 TNF-α 단독처리 시에는 MMP-1의 발현이 증가되었으나 실새풀 추출물을 100 µg/ml로 같이 처리하였더니 유의하게 MMP-1의 발현이 억제되었다. Ca-HW와 Ca-E70이 각각 41.6과 36.8%의 억제 효능을 나타내었다.

**Collagen 생합성에 미치는 실새풀 추출물의 영향**

Type-I collagen이 대부분이며 다양한 collagen들은 우선적으로 pro-collagen이라는 전구물질의 형태로 합성된다[19]. 따라서 collagen 생성에 미치는 추출물의 영향을 알아보기로 pro-collagen 생합성 정도를 조사하였다. Fig. 5C과 같이 CCD986-sk 섬유아세포에 실새풀 추출물을 처리하여 pro-collagen 생합성에 미치는 영향을 비교하였더니 Ca-HW와 Ca-E70에서 각각 24.69와 12.55%가 증가되는 결과를 보였다. 피부는 크게 표피와 진피로 나뉘며 collagen의 감소는 주름과 같은 피부 노화와 관련된다. Collagen은 피부 진피의 주성분으

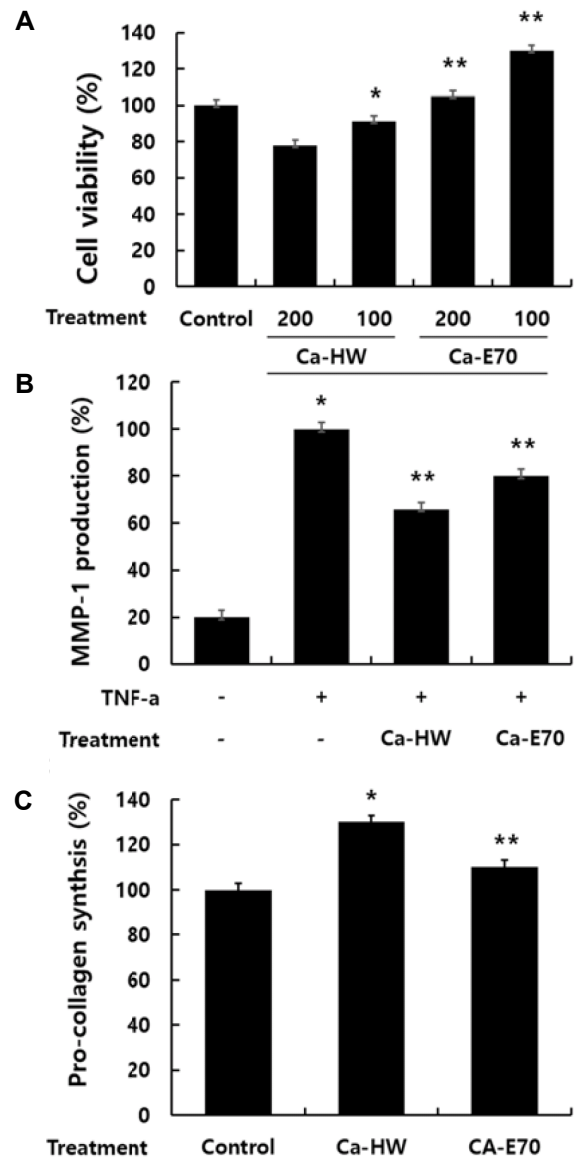


Fig. 5. Effects of *C. arundinacea* on the viability (A), MMP-1 productions (B), and pro-collagen synthesis (C) in CCD986-sk of human fibroblast cells. In (A), CCD986-sk cells were treated with *C. arundinacea* extracts at the indicated concentrations for 24 hr. In (B), CCD986-sk cells were pretreated with *C. arundinacea* extracts at the indicated concentrations for 4 hr, and the co-treated with TNF-α (1 µg/ml) for 18 hr. In (C), CCD986-sk cells were treated with *C. arundinacea* extracts at the indicated concentrations for 24 hr. All values are expressed as means ± SD of triplicate determinations. \**p*<0.05 compared to the cells without *C. arundinacea*.

로 MMP-1에 의해 분해된다[6, 7]. 따라서 이러한 결과는 실새풀 추출물에 의하여 피부의 탄력 증가와 주름의 생성을 억제하는 노화 방지에 대한 가능성이 있다고 사료된다.

## 감사의 글

본 연구는 국립수목원의 독성 산림 식물의 수집, 분류 및 평가 연구(KNA1-3-01, 19-4) 지원으로 수행되었음에 감사드립니다.

## The Conflict of Interest Statement

The authors declare that they have no conflicts of interest with the contents of this article.

## References

- Battino, M., Bullon, P., Wilson, M. and Newman, H. 1999. Oxidative injury and inflammatory periodontal diseases: The challenge of anti-oxidants to free radicals and reactive oxygen species. *Crit. Rev. Oral Biol. Med.* **10**, 458-476.
- Chan, Y., Chan, Y. Y., Kim, K. H. and Cheah, S. H. 2011. Inhibitory effects of *Sargassum polycystum* on tyrosinase activity and melanin formation in B16F10 murine melanoma cells. *J. Ethnopharmacol.* **137**, 1183-1188.
- Cho, B. O., Ryu, H. W., So, Y., Lee, C. W., Jin, C. H., Yook, H. S., Jeong, Y. W., Park, J. C. and Jeong, I. Y. 2014. Anti-inflammatory effect of mangostenone F in lipopolysaccharide-stimulated RAW264.7 macrophages by suppressing NF-kappaB and MAPK activation. *Biomol. Ther.* **22**, 288-294.
- DuBois, R. N., Tsujii, M., Bishop, P., Awad, J. A., Makita, K. and Lanahan, A. 1994. Cloning and characterization of a growth factor-inducible cyclooxygenase gene from rat intestinal epithelial cells. *Am. J. Physiol.* **266**, 822-827.
- Du, C., Bhatia, M., Tang, S. C., Zhang, M. and Steiner, T. 2015. Mediators of inflammation: inflammation in cancer, chronic diseases, and wound healing. *Mediators Inflamm.* **2015**, 570653-570654.
- Fisher, G. J., Kang, S., Varani, J., Bata-Csorgo, Z., Wan, Y., Datta, S. and Voorhees, J. J. 2002. Mechanisms of photoaging and chronological skin aging. *Arch. Dermatol.* **138**, 1462-1470.
- Fisher, G. J., Quan, T., Purohit, T., Shao, Y., Cho, M. K., He, T., Varani, J., Kang, S. and Voorhees, J. J. 2009. Collagen fragmentation promotes oxidative stress and elevates matrix metalloproteinase-1 in fibroblasts in aged human skin. *Am. J. Pathol.* **174**, 101-114.
- Herrling, T., Jung, K. and Fuchs, J. 2008. The role of melanin as protector against free radicals in skin and its role as free radical indicator in hair. *Spectrochim. Acta. A. Mol. Biomol. Spectrosc.* **69**, 1429-1435.
- Hoogduijn, M. J., Cemeli, E., Ross, K., Anderson, D., Thody, A. J. and Wood, J. M. 2004. Melanin protects melanocytes and keratinocytes against H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-induced DNA strand breaks through its ability to bind Ca<sup>2+</sup>. *Exp. Cell Res.* **10**, 60-67.
- Joshi, P. G., Nair, N., Begum, G., Joshi, N. B., Sinkar, V. P. and Vora, S. 2007. Melanocyte - keratinocyte interaction induces calcium signalling and melanin transfer to keratinocytes. *Pigment Cell Res.* **20**, 380-384.
- Kim, H. J. and Yun, C. W. 2009. Vascular plants of Mt. Munsu and Mt. Okseok. *Kor. J. Environ. Biol.* **27**, 164-175.
- Laskin, D. L. and Pendino, K. J. 1995. Macrophages and inflammatory mediators in tissue injury. *Annu. Rev. Pharmacol.* **35**, 655-677.
- Lee, E. S., Kim, H. J., Yu, J. M., Cho, Y. H., Kim, D. I., Shin, Y. Y., Cho, Y. J., Kwon, O. J. and An, B. J. 2014. Anti-inflammatory effect of *Polygonum multiflorum* extraction in activated RAW 264.7 cells with lipopolysaccharide. *Kor. J. Food Preserv.* **21**, 740-746.
- Lim, Y. J., Lee, E. H., Kang, T. H., Ha, K. S., Oh, M. S., Kim, S. M., Yoon, T. J., Kang, C., Park, J. H. and Kim, S. Y. 2009. Inhibitory effects of arbutin on melanin biosynthesis of  $\alpha$ -melanocyte stimulating hormone-induced hyperpigmentation in cultured brownish Guinea pig skin tissues. *Arch. Pharm. Res.* **32**, 367-373.
- Mauviel, A., Halcin, C., Vasiloudes, P., Parks, W. C., Kurkinen, M. and Uitto, J. 1994. Uncoordinate regulation of collagenase, stromelysin, and tissue inhibitor of metalloproteinases genes by prostaglandin E<sub>2</sub>: Selective enhancement of collagenase gene expression in human dermal fibroblasts in culture. *J. Cell Biochem.* **54**, 465-472.
- McDaniel, M. L., Kwon, G., Hill, J. R., Marshall, C. A. and Corbett, J. A. 1996. Cytokines and nitric oxide in islet inflammation and diabetes. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* **211**, 24-32.
- Nam, B. M., Jeong, S., Kim, J. Y., Oh, B. U. and Chung, G. Y. 2016. A flora of vascular plants of Mt. Janggunbong (Bonghwa-gun). *Kor. J. Plant Res.* **29**, 467-478.
- Namkoong, S., Jang, S. A., Sohn, E. H., Bak, J. P., Sohn, E., Koo, H. J., Yoon, W. J., Kwon, J. E., Jeong, Y. J., Meng, X., Han, H. S. and Kang, S. C. 2015. Comparative study of *Litsea japonica* leaf and fruit extract on the anti-inflammatory effects. *Kor. J. Plant Res.* **28**, 145-152.
- Parfitt, A. M., Simon, L. S., Villanueva, A. R. and Krane, S. M. 1987. Procollagen type I carboxy-terminal extension peptide in serum as a marker of collagen biosynthesis in bone. Correlation with iliac bone formation Rates and comparison with total alkaline phosphatase. *J. Bone Miner. Res.* **2**, 427-436.
- Park, G. H., Park, J. H., Eo, H. J., Song, H. M., Lee, M. H., Lee, J. R. and Jeong, J. B. 2014. Anti-inflammatory effect of the extracts from *Abeliophyllum distichum* Nakai in LPS-stimulated RAW264.7 cells. *Kor. J. Plant Res.* **27**, 209-214.
- Park, S. B., Park, G. H., Kim, H. N., Son, H. J., Song, H. M., Kim, H. S., Jeong, H. J. and Jeong, J. B. 2018. Anti-inflammatory effect of the extracts from the branch of *Taxillus yadoriki* being parasitic in *Neolitsea sericea* in LPS-stimulated RAW264.7 cells. *Biomed. Pharmacother.* **104**, 1-7.
- Raison, L. C., Capuron, L. and Miller, A. H. 2006. Cytokines sing the blues: inflammation and the pathogenesis of depression. *Trends Immunol.* **27**, 24-31.
- Sugimoto, K., Nishimura, T., Nomura, K., Sugimoto, K. and Kuriki, T. 2004. Inhibitory effects of  $\alpha$ -Arbutin on melanin

synthesis in cultured human melanoma cells and a three-dimensional human skin model. *Biol. Pharm. Bull.* **27**, 510-514.

24. Tipoe, G. L., Leung, T. M., Hung, M. W. and Fung, M. L. 2007. Green Tea polyphenols as an anti-oxidant and anti-inflammatory agent for cardiovascular protection. *Cardio-vasc. Haematol. Disord. Drug Targets* **7**, 135-144.

25. Willemse, B. W. M., Postma, D. S., Timens, W. and Hacken, N. H. T. 2004. The impact of smoking cessation on respiratory symptoms, lung function, airway hyperresponsiveness and inflammation. *Eur. Respir. J.* **23**, 464-476.

26. Wu, G. and Morris, S. M. 1998. Arginine metabolism: nitric oxide and beyond. *Biochem. J.* **336**, 1-17.

---

**초록 : *Calamagrostis arundinacea* (실새풀) 추출물의 항노화 및 항염증 활성**

정희석<sup>1</sup> · 이동호<sup>1</sup> · 이민성<sup>1</sup> · 허태임<sup>2</sup> · 김동갑<sup>3</sup> · 오승환<sup>3</sup> · 김두현<sup>1</sup> · 김영수<sup>1\*</sup> · 김대옥<sup>1\*</sup>

(<sup>1</sup>국립백두대간수목원 야생식물산업화연구실, <sup>2</sup>국립백두대간수목원 산림생물자원보전실, <sup>3</sup>국립수목원 산림생물 다양성연구과)

본 연구에서는 실새풀(*Calamagrostis arundinacea*)의 열수 추출물(Ca-HW)과 70% 에탄올에 추출된 추출물(Ca-E70)을 이용한 항노화 및 항염증 활성을 조사하였고, 또한 이들의 생리 활성 능력을 무세포와 세포 기반 시스템으로 조사하였다. 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) radical decolorization 방법으로 항산화 활성 평가를 실시한 결과, Ca-HW와 Ca-E70은 각각 27%와 48%의 DPPH 라디칼 소거능으로 항산화 활성을 나타냈다. 각 추출물에서는 RAW 264.7, B16F10 및 CCD986-sk 세포에서 독성, 세포증식 및 증진 효과는 없는 것으로 확인되었다. 멜라닌 생성과 관련 있는 B16F10 세포주에서 100 mg/ml 농도의 Ca-HW와 Ca-E70 처리구는 abutin 처리구에 비해 멜라닌 생성 억제 효과가 높은 것을 확인하였다. 인간의 섬유아세포인 CCD986-sk를 통한 pro-collagen 생합성에 미치는 Ca-HW와 Ca-E70의 영향을 조사하였더니 각각 24.69%와 12.55%가 증가하는 것으로 나타났다. LPS를 처리하여 염증반응을 유도 한 RAW264.7 세포에서 실새풀 추출물의 효과를 조사하였다. Ca-E70은 LPS에 의한 산화질소의 생성과 전염증성 사이토카인인 IL-6의 생성을 억제함으로써 염증 반응에 관여하는 것으로 보인다. 이러한 결과는 실새풀 추출물이 피부와 관련하여 항노화 및 항염증 능력이 있는 것을 제시한다.