

흑구기자 열매의 생리활성 평가 연구

추 결¹, 이지안^{2*}

¹서경대학교 일반대학원 미용예술학과 학생, ²서경대학교 일반대학원 미용예술학과 교수

Antioxidant and Anti-inflammatory Properties of Two Extracts from *Lycium ruthenicum* Murray Fruit

Zou Jie¹, Ji-An Lee^{2*}

¹Student, Dept. of Beauty Art, Graduate School, Seokyeong University

²Professor, Dept. of Beauty Art, Graduate School, Seokyeong University

요약 본 연구의 목적은 흑구기자의 생리학적 활성을 평가하여 화장품 산업에 활용 가능한 원료로서의 가능성을 조사하고자 흑구기자 열매에 70% 메탄올(LRM)과 열수(LRW)를 이용하여 추출물을 획득하였다. DPPH와 ABTS 라디칼 소거능 결과 LRW 추출물 보다 LRM 추출물에서 라디칼 소거 활성이 증가하였다. FRAP 분석 결과 LRM 추출물에서 LRW 추출물보다 FRAP 값이 1.3배 증가하였다. 총 폴리페놀 함량은 각각 LRM 추출물에서 31.883 ± 1.395 mg/g, LRW 추출물에서 27.748 ± 2.741 mg/g으로 확인되었다. LRM 추출물은 LPS 자극 후 RAW264.7 세포에서 NO 생성을 억제하였다. 또한 LRM 추출물은 LPS에 의한 COX-2, PGE2, IL-6 및 TNF- α 의 발현을 저해하였다. 이러한 결과들로 흑구기자 열매는 화장품에 활용되는 천연 항산화 및 항염 물질로서 가능성이 높을 것으로 기대된다.

주제어 : 흑구기자, 항산화, 항염, 천연물질, 화장품 원료

Abstract The aim of the study was to evaluate the physiological activity of *Lycium ruthenicum* to investigate their potential as a raw material that can be used in the cosmetic industry. *L. ruthenicum* fruit extracts were obtained using 70% methanol(LRM) and hot-water(LRW). The DPPH and ABTS radical scavenging abilities were higher in the LRM extract than in the LRW extract. The FRAP value of LRM was about 1.3-fold greater than that of LRW. The polyphenol contents of LRM and LRW were 31.883 ± 1.395 mg/g and 27.748 ± 2.741 mg/g respectively. LRM inhibited the generation of NO in LPS-stimulated RAW264.7 cells. LRM also attenuated the expression of COX-2, PGE2, IL-6, and TNF- α induced by LPS. These results suggests that *L. ruthenicum* fruits could be use as a source of natural antioxidants and anti-inflammatory agent in cosmetic products.

Key Words : *Lycium ruthenicum* Murray, Anti-oxidant, Anti-inflammatory, Natural source, Cosmetic ingredient

1. 서론

피부는 화학적, 생물학적, 물리적 자극, 상처 등 다양한 외부 요인들로부터 인체를 보호하는 기능의 가장 중요하고 거대한 표면장벽이다. 이러한 외부자극들 또는

그로 인한 대사산물들은 체내에서 활성산소 (reactive oxygen species, ROS)로 작용하여 염증(inflammation), 심혈관계 질환(cardiovascular disease), 암(cancer), 조로 (premature agina) 등의 질병을 유발시킨다[1]. 피부학

*Corresponding Author : Ji-An Lee(jessicajslee@naver.com)

에서 활성산소를 제거하기 위한 주요 항산화제로는 ascorbic acid (vitamin C), tocopherols (vitamin E), carotenoids, Zn(II)-glycine, Polyphenols 등이 있으며, 이들 가운데 폴리페놀은 과일, 야채, 곡물 등에 풍부한 식이 항산화제로 알려져 있다[2]. 특히 폴리페놀이 풍부한 berry fruits는 현대인들에게 'superfood'로 인식되어 그 수요가 점점 높아지고 있는 실정이다.

Lycium 속(genus) 식물들(goji berries 혹은 wolfberries)은 전 세계적으로 약 80 여종이 알려져 있으며[3], 그 중 한국에서 재배되고 있는 일만구기자(*L. chinense* Miller), 중국에서 자생하는 영하구기자(*L. barbarum*)와 흑구기자(*L. ruthenicum* Murray) 3종이 약용, 식용, 음용 등으로 사용되어왔다[4]. 흑구기자는 black goji berry라고도 불리며, 중국 서부 티벳 고원의 소금사막(salinized desert)에 서식하는 관목으로 내염성(salt-tolerant)과 내건성(drought-resistant)의 독특한 특성을 가진 것으로 알려져 있다[5,6].

최근 전통의학에서 질병 치료에 사용되어 온 흑구기자 열매의 성분 분석 연구 결과 다당류, 페놀 화합물, 안토시아닌, 지방산, 미네랄 등이 밝혀졌으며, 이 중 안토시아닌과 다당류가 주요 생리 활성 화합물인 것으로 확인되었다[7,8]. 또한 흑구기자 열매의 약리학 효능으로는 피로 방지, 면역력 증강, 방사선 손상에 따른 세포 보호 및 항산화 활성 등이 알려져 있다[9-12].

이에 본 연구는 흑구기자 열매 추출물의 항산화 활성, NO 저해 활성에 미치는 영향력을 조사하여 화장품 산업에서 적용 가능한 기능성 물질로서의 가능성을 확인하기 위하여 수행하였다.

2. 연구방법

2.1 흑구기자 열매 추출물의 제조

본 실험에서는 흑구기자의 열매 건조중량 100 g에 70% 메탄올 또는 증류수를 각각 3L씩 첨가하고 60°C, 15시간 조건으로 3회 반복 후 추출하였다. 각 추출물을 여과(Whatman filter paper No.2), 농축(EYESA, N-1100 series, Tokyo, Japan)하여 동결건조(Labconco Co., Kansas city, MO, USA) 후 초저온냉동고에서 보관하며, 본 실험의 시료로 사용하였다. 최종 분말형태 시료는 메탄올추출물 11.347 g, 열수추출물 19.703 g 을 얻었다.

2.2 세포주 및 세포 배양

본 실험에는 사람의 각질형성세포(human keratinocytes, HaCaT), 사람의 피부섬유아세포(normal dermal fibroblasts, NHDF), 그리고 쥐의 대식세포주 (murine macrophage cell lines, RAW264.7)는 한국세포주은행(KCLB, Seoul, Korea) 으로부터 분양받아 10% FBS와 1% P/S을 포함한 DMEM 배지를 사용하여 37°C, 5% CO₂ 배양기에서 배양하였다.

2.3 항산화 활성 측정

2.3.1 DPPH/ABTS 라디칼 소거능

DPPH 전자공여능 (electron donating ability, EDA)은 Blios의 방법을 변형하여 측정하였다[13]. 각 시료(100 μ l)는 농도별(0.02, 0.05, 0.1, 0.2, 0.5, 1 mg/mL)로 희석하여 DPPH용액 (메탄올에 용해된 0.2 mM DPPH) 100 μ l와 섞은 후, 빛을 차단하여 30분간 반응시켰다. 혼합물의 흡광도(Optical density, OD)는 microplate reader (Molecular Devices, Sunnyvale, CA USA)를 이용하여 517 nm에서 측정하였다. 양성 대조물질로 ascorbic acid (AsA)를 이용하였다.

ABTS 라디칼 소거능은 Roberta등에 의해 기술된 방법에 따라 측정되었다[14]. ABTS^{•+} 용액은 7.4 mM ABTS(Sigma, St. Louis, MO, USA) 수용액과 2.6 mM potassium persulfate 수용액을 섞어 암소 조건에서 12~16시간 반응시킨다. 734 nm 에서 흡광도가 0.7(\pm 0.02)이 되도록 메탄올로 희석시킨 ABTS^{•+} 용액 180 μ l와 농도별(0.02, 0.05, 0.1, 0.2, 0.5, 1 mg/mL)로 희석된 각 시료 20 μ l를 혼합하여 30분간 반응시켰다. 혼합물의 흡광도는 734 nm에서 측정하였다.

2.3.2 FRAP에 의한 환원력 측정

FRAP (Ferric reducing antioxidant power)에 의한 항산화 활성은 Benzie등에 의해 기술된 방법을 일부 변형하여 평가하였다[15]. 표준시약 Ferrous sulfate를 농도별(0.1, 0.2, 0.4, 0.6, 0.8, 1.0 nM)로 만들어 사용하였다. FRAP 용액(300 mM acetate buffer pH3.6 40 mL + 10 mM TPTZ(40 mM HCl) 4 mL + 20 mM FeCl₃ 4 mL + 증류수 4.8 mL)을 만들고 200 μ l씩 분주하였다. 분주된 FRAP 용액에 농도 별로 제조한 시료 100 μ l를 첨가한 후, 37°C에서 30분

간 반응시킨 뒤 593 nm에서 흡광을 측정하였다.

2.3.3 총 폴리페놀 함량 측정

총 폴리페놀 함량은 Folin-Ciocalteu 방법을 일부 변형하여 분석하였다[16]. 각 추출물을 농도별로 제조한 시료와 Folin-Denis reagent를 동일한 양으로 섞어 실온에서 5분간 방치한 후, 10% Na₂CO₃를 첨가하여 암소 조건에서 반응시켰다. 1시간 후 상등액을 취하여 96 well plate에 옮겨 550 nm 파장에서 흡광도를 측정하였다. 표준물질 gallic acid(Sigma, St. Louis, MO, USA)를 사용하여 mg gallic acid equivalent(GAE)/g로 나타내었다.

2.4 세포 독성 실험

흑구기자 열매 추출물 농도에 따른 세포 독성을 알아보기 위하여 MTT assay를 수행하였다. 세포 (3x10⁴ cells/well/96 well)에 LPS (100 ng/mL) 또는 각 추출물을 농도별로 제조한 시료를 처리하였다. 24시간 후, MTT 용액을 최종농도 0.5 mg/mL이 되도록 첨가하고 4시간 동안 추가 배양하였다. 배지를 제거하고 100 µl의 DMSO를 첨가한 후, 570 nm에서 흡광도를 측정하였다.

2.5 항염 효과 측정

2.5.1 NO 생성 및 COX-2 단백질 발현 측정

면역세포의 한 종류인 쥐의 대식세포 RAW264.7 세포를 LPS로 자극한 후 흑구기자 열매 추출물에 의한 NO(nitric oxide)의 생성변화를 알아보기 위하여 griess reagent 방법을 일부 변형하여 수행하였다. 세포 (1x10⁵ cells/well/24 well)에 LPS (100 ng/mL)와 각 추출물을 농도별로 제조한 시료를 처리하여 24시간 배양하였다. Murakami등의 방법으로 세포 배양 상등액과 griess reagent를 동일한 양으로 혼합하여 암소 조건에서 10분간 반응시킨 뒤 550 nm에서 흡광도를 측정하였다[17].

COX-2 단백질의 발현변화를 조사하기 위해 western blot 분석을 Park등의 방법을 변형하여 수행하였다. 세포에 RIPA buffer(Thermo scientific, Rockford, IL, USA)를 첨가하여 30분간 얼음에서 방치한 후 13,000 rpm, 4℃ 조건에서 15분간 원심 분리하여 단백질을 추출하였다. 추출한 단백질은 Bradford

assay를 통해 정량한 후, 총 50 µg의 시료를 SDS-PAGE에 전기영동하였다. 전기영동이 끝난 gel을 PVDF membrane으로 transfer하고 5% BSA로 blocking하였다. 1차 항체 Rabbit 항-COX-2(Cell Signaling Technology, MA, USA)와 Mouse 항-β-actin(Santa Cruz Biotechnology, CA, USA)을 2차 항체 항-rabbit IgG, HRP-linked antibody와 항-mouse IgG, HRP-linked antibody를 사용한 후, Chemiluminescence detection kit (EZ-Western Lumi Pico, DoGen, Seoul, Korea)로 단백질을 검출하였다[18].

2.5.2 PGE2와 IL-6 분비량 측정

RAW264.7(1x10⁵ cells/well/24 well) 세포에 LPS (100 ng/mL)와 각 추출물을 농도별로 제조한 시료를 처리하여 24시간 배양하였다. 세포 배양액으로 분비된 PGE₂ (R&D Systems, MN, USA) 또는 IL-6의 생성량을 ELISA kit(BD Biosciences, CA, USA)로 측정하였다.

2.6 통계분석

본 연구에 표기된 모든 결과는 평균±표준편차로 나타내었고, 평균값 사이에 대한 유의성은 student's *t*-test를 이용하여 *p*-value값을 계산하여 통계적 유의성 검증을 실시하였다. *p*<0.05인 경우 *로 표기하였고 *p*<0.001인 경우 **로 표기하여 유의성을 나타내었다.

3. 연구 결과 및 고찰

3.1 항산화 활성

3.1.1 DPPH 전자공여능 측정

보라색의 DPPH 화합물은 페놀성 화합물과 같은 전자공여체로부터 제공받은 전자와 비가역적으로 결합하여 환원되고 그 결과 DPPH가 노란색으로 변화되는데 이를 항산화 척도로 이용한다[19]. 흑구기자 열매 추출물의 천연 항산화제로서 가능성을 확인하기 위하여 DPPH 전자공여능을 측정한 결과 Fig. 1과 같다. 메탄올(LRM)과 열수(LRW) 추출물 농도 0.2 mg/mL에서 LRM의 전자 공여능이 67.4%, LRW이 47.9%로 나타났으며, 대조군으로 사용된 AsA의 IC₅₀값이 7.898µg/mL 일 때 LRM과 LRW의 IC₅₀값은 각각 151.283µg/mL, 221.308 µg/mL로 LRM의 전자공여능이 LRW보다 높

음을 확인하였다. 양민이 등[20]의 흑구기자 열수(40℃)추출물 1 mg/mL 농도 조건에서 DPPH 전자공여능은 77.5%이었으며, 본 연구에서 사용된 열수(60℃)추출물의 전자공여능이 88.8%로 더 높게 측정되었다. 이러한 결과는 Liu 등이 보고한 흑구기자 차(tea)의 물 온도가 높고 시간이 길수록 생리활성 성분과 항산화 활성이 증가한다는 내용과 유사한 결과임을 확인하였다[21].

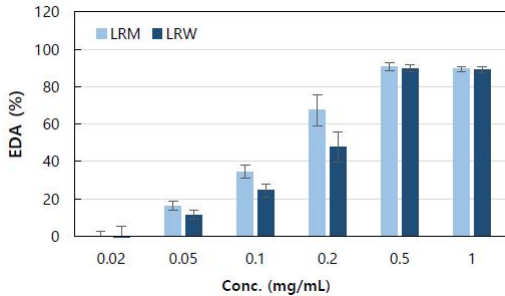


Fig. 1. DPPH electron donating activity of *L. ruthenicum* fruits. The data are represented as the mean±S.D. of three independent experiments.

Table 1. DPPH and ABTS radical scavenging activity of *L. ruthenicum* fruits.

IC ₅₀ (µg/mL)	DPPH	ABTS
LRM	151.283±14.41	680.617±25.58
LRW	221.308±7.48	866.953±40.47
AsA	7.898±0.67	34.563±0.94

AsA, ascorbic acid.

3.1.2 ABTS 라디칼 소거능 측정

ABTS 라디칼 측정법은 DPPH와 함께 radical 제거능을 흡광도 변화로 측정하는 항산화 실험방법이다. 그러나 DPPH와 달리 시료 자체가 함유하는 색소에 의한 흡광도 측정에 방해가 없는 장점이 있다[22]. 흑구기자 열매 추출물의 ABTS 라디칼 활성 측정 결과 Fig. 2와 같다. LRM과 LRW 두 추출물 농도 의존적으로 라디칼 소거능이 증가하였으며, AsA의 IC₅₀값이 34.563 µg/mL일 때 LRM의 IC₅₀ 농도가 680.617 µg/mL로 LRW(866.953 µg/mL)보다 낮았다. 이는 흑구기자 열매를 0.1% 염화수소수(HCl)로 추출한 후 추출물의 ABTS IC₅₀값이 762.3 µg/mL라고 보고한 Li 등의 결과와 비교했을 때[23], 메탄올추출물의 IC₅₀ 농도가 더

낮아 ABTS radical 활성이 우수함을 알 수 있었다.

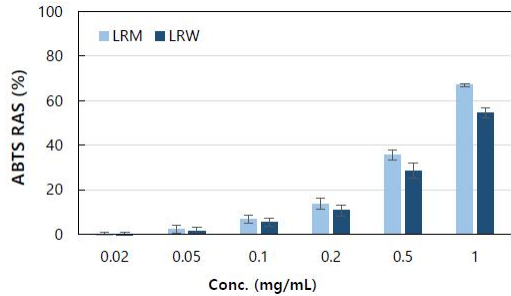


Fig. 2. ABTS radical scavenging activity of *L. ruthenicum* fruits. The data are represented as the mean±S.D. of three independent experiments.

3.1.3 FRAP 활성 평가

Ferric reducing ability of Plasma (FRAP)은 colored ferrous tripyridyl triazine 복합체에 의해 ferric tripyridyltriazine(Fe³⁺-TPTZ) 복합체가 낮은 pH에서 환원제에 의해 ferrous tripyridyltriazine (Fe²⁺-TPTZ)으로 전화되는 원리로 항산화능을 측정하는 방법이다[24]. 표준물질로 ferrous sulphate (FeSO₄)를 사용하여 두 추출물의 FRAP 활성을 측정할 결과 Fig. 3과 같다. 그 결과 추출물의 모든 농도 범위에서 LRM 추출물의 FRAP 값이 LRW 보다 더 높았다. 따라서 DPPH 전자공여능, ABTS 라디칼 소거능, FRAP 활성 결과를 통해 흑구기자 열매의 메탄올과 열수추출물은 산화방지제로 적용 가능성이 있음을 확인하였다.

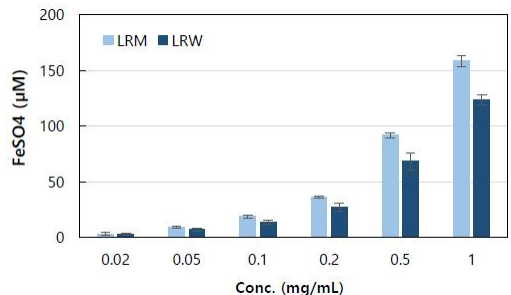


Fig. 3. FRAP activity of *L. ruthenicum* fruits. The data are represented as the mean±S.D. of three independent experiments.

3.1.4 총 폴리페놀 함량

메탄올추출물과 열수추출물의 총 폴리페놀 함량을 분석한 결과 Fig. 4와 같다. 총 폴리페놀 함량은 LRM이 31.883 ± 1.395 mgGAE/g, LRW이 27.748 ± 2.741 mgGAE/g으로 LRM에서 1.14배 높은 함량을 보였다. Islam 등은 acetone:water:acetic acid (70:29.5:0.5) 용매로 추출한 일반 구기자과 흑구기자 열매 추출물에서 폴리페놀 함량이 각각 2.17~4.48 mgGAE/g, 7.26~9.01 mgGAE/g로 보고하여[25], 본 연구에서 사용된 메탄올과 열수 용매 선택이 항산화 활성에 기인하는 유효성분 추출에 보다 효율적인 추출 방법을 알 수 있었다. 따라서 흑구기자 열매 메탄올 또는 열수추출물은 천연 항산화제로서의 가능성이 높을 것으로 사료된다.

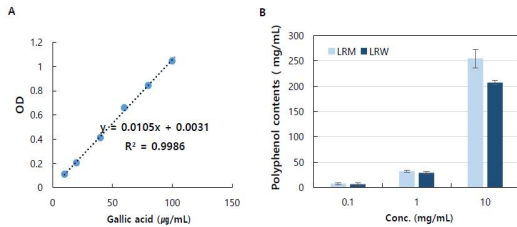


Fig. 4. Calibration curve of standard gallic acid for determination of total polyphenol content in *L. ruthenicum* fruits. (A) Standard curve was plotted using gallic acid as a standard. (B) Total polyphenols of *L. ruthenicum* extracts at 0.1, 1, and 10 mg/mL were measured. Results are the mean±S.D. from three independent experiments.

3.2 세포 독성 측정

흑구기자 열매 추출물의 화장품 원료로서 세포 독성을 평가하기 위하여 사람의 각질형성 세포(HaCaT)와 사람의 피부 섬유아세포(NHDF)를 대상으로 MTT assay를 수행한 결과 Fig. 5와 같다. LRM과 LRW 처리 농도에 따른 세포 독성은 HaCaT 세포에서는 관찰되지 않았으며, NHDF 세포의 경우 0.5 mg/mL 농도 이상에서 세포 생존율이 5% 미만으로 감소하였다.

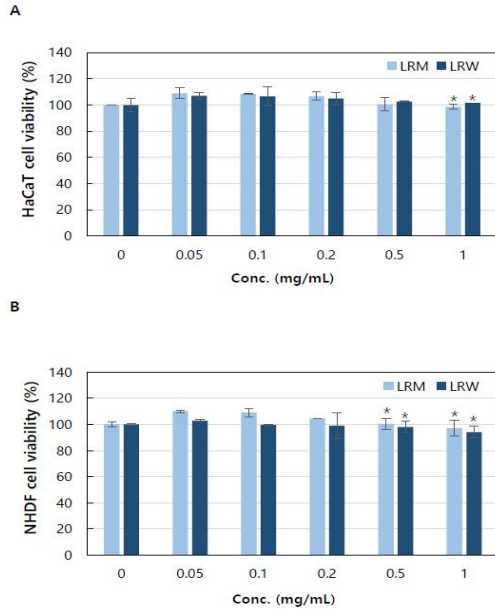


Fig. 5. Effect of *L. ruthenicum* fruits on HaCaT (A) and NHDF (B) cell viability. The data are represented as the mean±S.D. of three independent experiments. The significance was assessed by the Student's t-test (*p<0.05).

3.3 항염증 활성

3.3.1 NO (Nitric oxide) 생성에 미치는 영향

흑구기자 열매 추출물의 항염 활성을 분석하기 위해 먼저 면역세포의 한 종류인 RAW264.7 세포에서 MTT assay를 수행하여 최적의 추출물 처리농도 범위를 확인하고자 하였다. 각 추출물을 농도별(0.05, 0.1, 0.2, 0.5, 1 mg/mL)로 희석하여 세포 독성을 조사한 결과 Fig. 6A와 같다. 염증 유도물질인 LPS (100 ng/mL)와 모든 추출물 농도 범위에서 세포 생존율이 95% 이상으로 확인되었다. 이러한 결과는 사용된 흑구기자 열매 추출물의 농도가 RAW264.7 세포에서 독성이 없으므로, 추후 동일한 무독성 조건에서 항염증 효능을 평가하고자 하였다.

대표적인 염증반응 지표 물질인 NO의 생성에 각 추출물이 미치는 영향을 조사한 결과 Fig. 6B와 같다. 양성대조군 LPS에 의한 NO 농도가 21.65 μM 일 때, LRM과 LRW의 추출물 처리농도에 따른 NO 농도가 급격히 감소하는 것을 확인하였다. 이러한 결과는 Peng 등이 *L. ruthenicum*에서 분리한 polysaccharide

가 NO 합성 효소인 iNOS의 mRNA 발현을 감소시켜 NO 생성을 저해시킨다는 점을 미루어 볼 때[26] 흑구기자 열매 추출물이 과도한 NO 생성으로 인한 피부염증 질환에 염증반응을 조절할 가능성이 있음을 제시한다.

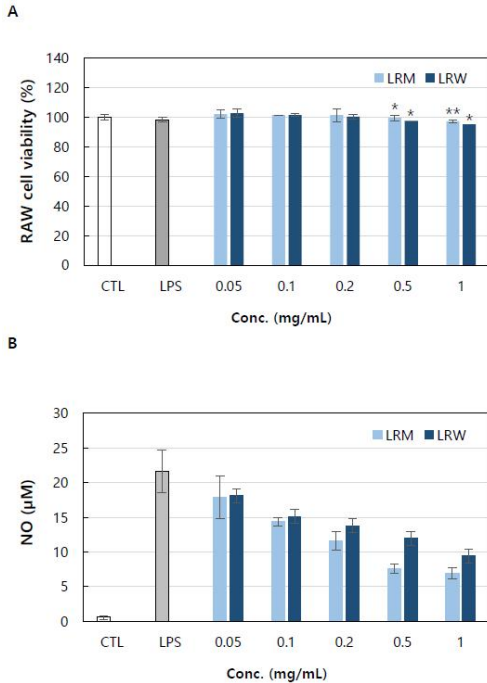


Fig. 6. Effect of *L. ruthenicum* fruits on RAW264.7 cell viability (A) and LPS-induced NO production (B). Cells were pre-treated with the extract 1 h prior to stimulation with LPS (100 ng/mL) for 24 h (A) Cell viability was determined by MTT assay. (B) Cell supernatants were analyzed for NO production. The data are represented as the mean±S.D. of three independent experiments. The significance was assessed by the Student's t-test(*p<0.05, **p<0.01).

3.3.2 COX-2와 PGE2 생성에 미치는 영향

PGE₂(prostaglandin E₂)는 혈관 확장을 통한 염증 반응의 특징인 홍반(redness), 부종(swelling), 통증(pain), 발열(heat)을 일으키며 COX(cyclooxygenase)-2 효소에 의해 생성된다. 흑구기자 열매 추출물의 COX-2와 PGE₂ 생성 억제 활성을 측정한 결과 Fig. 7과 같다. 그 결과 LPS 처리 후 증가 된 COX-2와 PGE₂ 생성은 추출물 처리농도에 의존적으로 감소하였으며, LRM에 의한 저해가 더 효과적으로 나타났다.

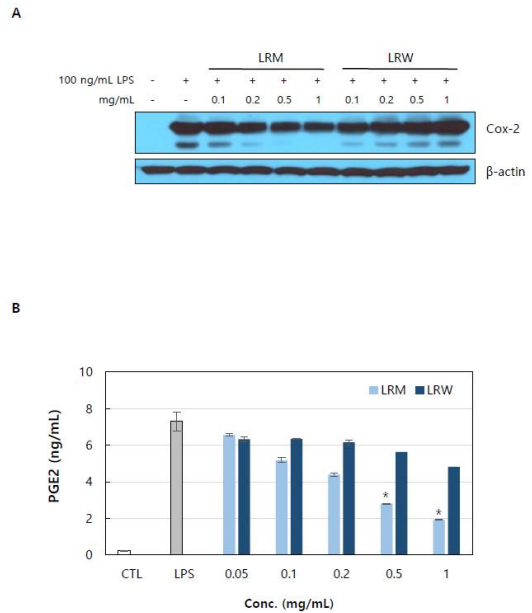


Fig. 7. Effect of *L. ruthenicum* fruits on LPS-induced COX-2 and PGE2 expression in RAW264.7 cells. (A) Whole cell lysates were prepared and resolve the levels of COX-2 by western blot assay. The β-actin was used as internal control. (B) The levels of PGE2 were detected using ELISA kit according to the instructions of ELISA kit. The data are represented as the mean±S.D. of three independent experiments. The significance was assessed by the Student's t-test(*p<0.05).

3.3.3 염증성 사이토카인의 생성에 미치는 영향

면역세포가 분비하는 cytokine은 면역세포의 활성화 과 증식, 분화를 조절하여 염증반응을 매개하는 인자이며, 특히 *in vitro* 및 *in vivo* 모두에서 염증반응을 조절하는 대표적인 염증성 사이토카인(pro-inflammatory cytokine)으로는 tumor-necrosis factor(TNF)-α, interleukin(IL)-6, IL-1β 등이 있다. 흑구기자 열매 추출물이 염증성 cytokine인 TNF-α, IL-6의 발현에 미치는 영향을 ELISA kit를 이용하여 조사한 결과 Fig. 8과 같다. 그 결과 LRM 추출물이 IL-6 생성량 감소에 뛰어난 효과가 있음을 확인하였다.

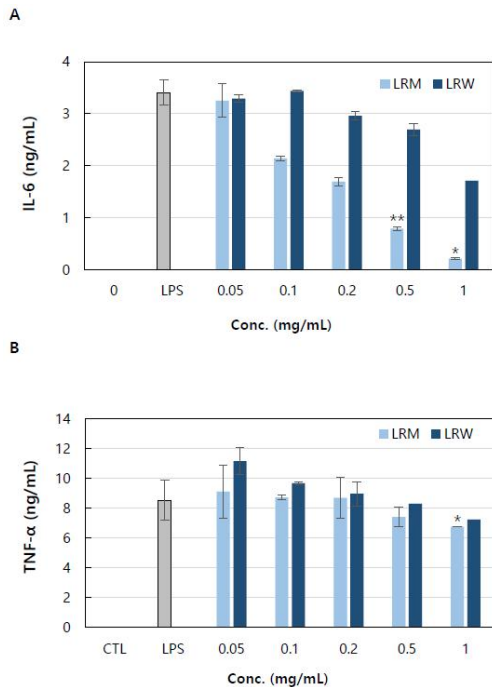


Fig. 8. Effect of *L. ruthenicum* fruits on LPS-induced IL-6 (A) and TNF- α (B) secretion in RAW264.7 cells. The supernatants were analyzed for IL-6 and TNF- α production. The data are represented as the mean \pm S.D. of three independent experiments. The significance was assessed by the Student's t-test (*p<0.05, **p<0.01).

4. 결론

본 연구에서는 흑구기자 열매가 천연 화장품 소재로써 활용 가능성이 있는지 검토하기 위해 그 생리활성을 확인하고자 DPPH 전자공여능, ABTS 라디칼 소거 활성, FRAP 활성, 총 폴리페놀 함량, NO 생산량, COX-2와 PGE₂발현, 염증성 사이토카인 분비를 측정하였다. DPPH 전자공여능과 ABTS 라디칼 소거능 결과 메탄올추출물(LRM)과 열수추출물(LRW) 처리농도에 따른 라디칼 소거 활성은 추출물 농도 의존적으로 증가하였으며, 특히 LRM의 항산화 활성이 LRW 보다 더 우수하였다. 또한 철의 환원력을 이용한 FRAP 결과에서도 LRM 추출물의 항산화 활성이 LRW 보다 높게 나타났다. 흑구기자 열매 메탄올추출물의 폴리페놀은 31.883 \pm 1.395 mgGAE/g, 열수추출물은 27.748 \pm 2.741 mgGAE/g의 함량을 나타내 동일 소재를 대상으

로 유효성분 효능의 최대화를 위해 다양한 추출 방법을 활용한 평가 연구가 필요함을 알 수 있었다. 각 추출물의 세포 독성을 평가하기 위하여 사람의 각질형성세포 (HaCaT), 섬유아세포(NHDF), 쥐의 대식세포주 (RAW264.7)를 대상으로 MTT assay를 수행한 결과, 세포 독성은 거의 나타나지 않았다. 그람음성균의 염증 유도 물질인 LPS로 쥐 면역세포의 일종인 대식세포에서 염증을 유도한 후 NO, IL-6, COX-2, PGE₂ 등의 염증반응에 관여하는 여러 분자생물학적 중간체들에 대한 흑구기자 열매 각 추출물의 영향을 조사한 결과, LPS에 의한 염증반응이 LRM 추출물에 의해 효과적으로 저해되는 것을 확인하였다. 이상의 결과로 흑구기자 열매를 유기용매인 메탄올로 추출하였을 때, 세포 안전성과 항산화, 항염 효과가 비교적 높은 것으로 판단됨에 따라 염증 억제를 통한 피부 미용을 위한 기능성 소재로서의 활용 가능성이 클 것으로 판단된다.

REFERENCES

- [1] R. G. Allen & M. Tresini. (2000). Oxidative stress and gene regulation. *Free Radical Biology and Medicine* 28(3), 463-499. DOI : 10.1016/s0891-5849(99)00242-7
- [2] H. Xu et al. (2018). Reactive oxygen species in skin repair, regeneration, aging, and inflammation. *Reactive oxygen species (ROS) in living cells. Chapter 5*, 69-85. DOI : 10.5772/intechopen.72747
- [3] R. A. Levin & J. S. Miller. (2005). Relationships within tribe Lycieae (Solanaceae): Paraphyly of Lycium and multiple origins of gender dimorphism. *American Journal of Botany*, 92(12), 2044-2053. DOI : 10.3732/ajb.92.12.2044
- [4] Zhao, X. Zhao, B. Dong, P. Li, W. Wei, J. Dang, Z. Liu & H. Yue. (2018). Fatty acid and phytosterol composition, and biological activities of *Lycium ruthenicum* Murr. seed oil. *Journal of Food Science*, 83(10), 2448-2456. DOI : 10.1111/1750-3841.14328
- [5] L. Han, Y. Ye & Y. Suo. (2014). The resource and economic value of *Lycium ruthenicum* Murray. *Chinese Wild Plant Resources*, 33(6), 55-57. DOI : 10.3969/j.issn.1006-9690.2014.06.014
- [6] J. Zheng, C. Ding, L. Wang, G. Li, J. Shi & H. Li. (2011). Anthocyanins composition and antioxidant activity of wild *Lycium ruthenicum*

- Murr. from Qinghai-Tibet Plateau. *Food Chemistry*, 126(3), 859-865.
DOI : 10.1016/j.foodchem.2010.11.052
- [7] Q. Peng, X. Lv, Q. Xu, Y. Li, L. Huang & Y. Du. (2012). Isolation and structural characterization of the polysaccharide LRGP1 from *Lycium ruthenicum*. *Carbohydrate Polymers*, 90(1), 95-101.
DOI : 10.1016/j.carbpol.2012.04.067
- [8] D. Qian, Y. Zhao, G. Yang & L. Huang. (2017). Systematic review of chemical constituents in the genus *Lycium* (Solanaceae). *Molecules*, 22(6), 911-944.
DOI : 10.3390/molecules22060911
- [9] W. Ni, T. Gao, H. Wang, Y. Du, J. Li, C. Li, L. Wei & H. Bi. (2013). Anti-fatigue activity of polysaccharides from the fruits of four tibetan plateau indigenous medicinal plants. *Journal of Ethnopharmacology*, 150(2), 529-535.
DOI : <https://doi.org/10.1016/j.jep.2013.08.055>
- [10] Y. Gong, J. Wu & S. T. Li. (2015). Immuno-enhancement effects of *Lycium ruthenicum* Murr. polysaccharide on cyclophosphamide-induced immunosuppression in mice. *International Journal of Clinical and Experimental Medicine*, 8(11), 20631-20637.
- [11] Y. Duan, F. Chen, X. Yao, J. Zhu, C. Wang, J. Zhang & X. Li. (2015). Protective effect of *Lycium ruthenicum* Murr. against radiation injury in mice. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 12(7), 8332-8347.
DOI : 10.3390/ijerph120708332
- [12] J.-L. Song, Y. Gao & J. Xu. (2020). Protective effects of methanolic extract from fruits of *Lycium ruthenicum* Murr on 2,2'-azobis (2-amidinopropane) dihydrochloride-induced oxidative stress in LLC-PK1 cells. *Pharmacognosy Magazine*, 10(40), 522-528.
DOI : 10.4103/0973-1296.141790
- [13] M. S. Blois. (1958, April). Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature*, 181, 1199-1200.
- [14] R. Re, N. Pellegrini, A. Proteggente, A. Pannala, M. Yang & C. R. Evans. (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology and Medicine*, 26(9-10), 1231-1237.
DOI : 10.1016/s0891-5849(98)00315-3
- [15] I. F. Benzie & J. J. Strain. (1996). The ferric reducing ability of plasma(FRAP) as measurement of "antioxidant power" The FRAP assay. *Analytical Biochemistry*, 239, 70-6.
DOI : 10.1006/abio.1996.0292.
- [16] AOAC. (1980). Official Methods of Analysis. 13 th ed., *Association of Official Analytical Chemists*. (pp. 376-384). Washington D.C, USA.
DOI : 10.1002/jps.2600700437
- [17] A. Murakami, M. Nakashima, T. Koshiba, T. Maoka, H. Nishino, M. Yano, T. Sumida, O. K. Kim, K. Koshimizu & J. Ohigashi. (2000). Modifying effects of carotenoids on superoxide and nitric oxide generation from stimulated leukocytes. *Cancer Letters*, 149, 115-123.
DOI : 10.1016/s0304-3835(99)00351-1
- [18] J. H. Park & J. A. Lee. (2021). Evaluation of the cosmeceutical activity of *Apocynum lancifolium* Russanov extracts. *Journal of the Korean Society of Cosmetology*, 11(1), 236-243.
- [19] D. Huang, B. Ou & O. Prior. (2005). The chemistry behind antioxidant capacity assays. *Journal of agricultural and food chemistry*, 53, 1841-1856.
DOI : 10.1021/jf030723c
- [20] M-Y. Yang & M-H Kang. (2015). Comparison on physicochemical characteristics and antioxidative effect of *lycium barbarum* L. and *lycium ruthenicum* Murr. Hoseo University.
DOI : 10.9724/kfcs.2017.33.1.72
- [21] B. Liu, Q. Xu & Y. Sun. (2020). Black goji berry(*lycium ruthenicum*)tea has higher phytochemical contents and in vitro antioxidant properties than red goji berry (*lycium barbarum*) tea. *Food quality and safety*, 4, 193-201.
DOI : 10.1093/fqsafe/fyaa022
- [22] A. Cano, M. Acosta & M. B. Arnao. (2013). A method to measure antioxidant activity in organic media: application to lipophilic vitamins. *Communications in Free Radical Research*, 5(6), 365-370.
DOI : 10.1179/13510000101535933
- [23] M. Shen, K. Liu, Y. Liang, G. Liu, J. Sang & C. Li. (2020). Extraction optimization and purification of anthocyanins from *Lycium ruthenicum* Murr. and evaluation of tyrosinase inhibitory activity of the anthocyanins. *Journal of Food Science*, 85(3), 696-706.
DOI : 10.1111/1750-3841.15037
- [24] P. Shah & H. A. Modi. (2015). Comparative study of DPPH, ABTS and FRAP assays for determination of antioxidant activity. *International Journal for Research in Applied Science & Engineering Technology* (IJRASET), 3(VI), 636-641.

- [25] T. Islam, X. Yu, T. S. Badwal & B. Xu. (2017). Comparative studies on phenolic profiles, antioxidant capacities and carotenoid contents of red goji berry (*Lycium barbarum*) and black goji berry (*Lycium ruthenicum*). *Chemistry Central Journal*, 11(1), 59.
DOI : 10.1186/s13065-017-0287-z
- [26] Q. Peng, H. Liu, S. Shi & M. Li. (2014). *Lycium ruthenicum* polysaccharide attenuates inflammation through inhibiting TLR4/NF- κ B signaling pathway. *International Journal of Biological Macromolecules*, 67, 330-335.
DOI : 10.1016/j.ijbiomac.2014.03.023

추 결(Zou Jie)

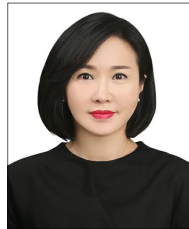
[정회원]



- 2015년 2월 : 부산외국어대학교 대학원 중국지역통상경영석사
- 2018년 8월 ~ 현재 : 서경대학교 대학원 미용예술학박사 재학
- 2021년 3월 ~ 현재 : 서경대학교 미용예술대학 뷰티테라피 & 메이크업학과 강사
- 관심분야 : 피부미용, 타이마사지, 화장품, 미용교육
- E-Mail : zoujie@naver.com

이 지 안(Ji-An Lee)

[정회원]



- 2007년 2월 : 서경대학교 대학원 미용예술학석사
- 2012년 2월 : 원광대학교 대학원 미용학박사
- 2013년 9월 ~ 현재 : 서경대학교 미용예술대학 뷰티테라피 & 메이크업학과 교수
- 관심분야 : 피부미용, 화장품, K-Beauty, 미용교육
- E-Mail : jessicajlee@naver.com