

## 젖산균 발효 구기자(*Lycium chinense*) 추출물의 항염증 및 항노화 효능 연구

한 동근<sup>1,†</sup> · 이 주 성<sup>1</sup> · 갈 격<sup>1</sup> · 박 남 완<sup>2</sup> · 김 현 정<sup>3</sup> · 안 봉 전<sup>\*\*\*\*,††</sup>

<sup>\*</sup>대구한의대학교 일반대학원 화장품약리학과, 석사 대학원생

<sup>\*\*</sup>(주)네이처보타닉스

<sup>\*\*\*</sup>(주)허니스트

<sup>\*\*\*\*</sup>대구한의대학교 화장품약리학과, 교수

(2022년 5월 25일 접수, 2022년 6월 16일 수정, 2022년 6월 16일 채택)

### Anti-inflammation and Anti-aging Effect of Lactic Acid Bacteria Fermented *Lycium chinense* Extracts

Dong-Geun Han<sup>1,†</sup>, Ju-Seong Lee<sup>1</sup>, Gyeok Gal<sup>1</sup>, Nam-Wan Park<sup>2</sup>, Hyun-Jeong Kim<sup>3</sup>, and Bong-Jeon An<sup>1,††</sup>

<sup>1</sup>Department of Cosmeceutical Science, Daegu Hanny University, 285-10, Eobongji-gil, Gyeongsan-si, Gyeongsangbuk-do 38578, Korea

<sup>2</sup>R&D Center, Nature Botanics.Co., Ltd.

<sup>3</sup>R&D Center, HONEST.Co., Ltd.

(Received May 25, 2022; Revised June 16, 2022; Accepted June 16, 2022)

**요 약:** 본 연구에서는 발효 과정을 거친 구기자(*Lycium chinense*) 추출물을 이용하여 항염증 및 항노화 관련 기능성 화장품 소재로서의 활용가치를 검증하고자 nitric oxide (NO) 및 항노화 관련 인자들의 억제 효능을 분석하였다. 물과 70% 에탄올을 용매로 구기자를 추출, 발효, 농축, 동결건조하여 시료를 제조한 다음, MTT assay, NO inhibition activity assay, western blot assay, UPLC 분석을 진행하였다. MTT assay를 통해 세포 독성을 측정한 다음, 500 µg/mL의 농도를 세포실험에 적용하여 진행하였다. NO 억제 효능의 분석 결과, 발효 구기자 열수 추출물(FLW), 발효 구기자 70% 에탄올 추출물(FLE) 각각 47.96%, 56.71%의 우수한 NO 억제 효능을 나타내었다. Western blot을 통해 주름 관련 단백질인 MMP-1, TRPV-1의 발현양상을 측정한 결과, FLW, FLE 모두 MMP-1, TRPV-1에 대한 발현 억제 효능을 나타내었다. 따라서 발효 구기자 추출물은 항염증 및 항노화 관련 기능성 화장품 소재로서의 높은 활용 가치가 있을 것으로 판단된다.

**Abstract:** In this study, fermented *Lycium chinense* (*L. chinense*) extract was used to analyze the efficacy of nitric oxide (NO) and anti-aging inhibition to verify its usefulness as a functional cosmetic material. *L. chinense* was extracted with hydrothermal and 70% ethanol as a solvent, fermented, concentrated, and freeze-dried to prepare a sample, followed by MTT assay, NO inhibition assay, western blot assay, and UPLC analysis. As a result of the analysis of NO inhibitory efficacy, fermented *L. chinense* water extract (FLW) and fermented *L. chinense* 70% ethanol extract (FLE) showed excellent NO inhibitory efficacy of 47.96% and 56.71%, respectively. As a result of measuring the expression patterns of the wrinkle-related proteins MMP-1, and TRPV-1 through Western blot, both FLW and FLE confirmed the inhibitory efficacy

† 주 저자 (e-mail: ehdrms562@naver.com)  
call: 053-819-1435

†† 교신저자 (e-mail: anbj@dhu.ac.kr)  
call: 053-819-1435

of MMP-1 and TRPV-1. Based on the results of the experiment, the fermented *L. chinense* extract is expected to have a high application value as a functional cosmetic material related anti-inflammatory, and anti-aging.

**Keywords:** *Lycium chinense*, anti-inflammation, anti-aging, MMP-1, TRPV-1

## 1. 서 론

평균 수명의 지속적인 증가는 고령 인구 비율의 상승 및 고령화 현상을 가속화하였으며, 이로 인한 피부의 노화 현상은 심혈관계 질환, 암 등에 못지않게 중요한 부분으로 인식되고 있다[1].

피부 노화란 유전학, 세포 내 대사, 호르몬 등의 내인적 요인과 광 노출, 방사선, 화학물질, 독소 등의 외인적 요인으로부터 나타나는 복잡한 생물학적 변화이다[2]. 이러한 노화 현상은 피부 탄력의 감소, 굽고 깊은 주름의 형성, 색소 침착, 피부암 발생률 증가 등의 문제를 야기한다[3].

열 피부 노화란 31 ~ 40 °C 또는 그 이상의 열 자극으로 인한 피부 온도의 상승으로 콜라겐 합성 감소 및 분해, 세포 손상, 단백질 분해 효소 증가 등의 개념을 포함하는 피부 노화 현상이다. 인간은 자외선과 적외선에 장시간 노출되어 있으며, 이러한 장시간 노출은 피부 온도의 상승을 유발하게 되고, 생물학적 변화에 큰 영향을 미치게 된다. 외인성 요인 중 열 자극에 의한 노화는 피부 진피에 존재하는 collagen I 형과 III형의 손상을 초래하고, 피부의 강도 및 탄력 저하를 유발하게 된다[4].

화장품 산업에서는 이러한 문제점을 개선하기 위해 항산화, 항염증, 주름 및 피부 노화 방지에 관련된 연구를 활발하게 진행하고 있으며, 이를 비롯한 현대인들의 피부 미용에 대한 관심도는 지속적으로 증가하고 있는 추세이다[5].

구기자나무(*Lycium chinense*)는 가지과의 구기자속에 속하는 목본식물로 우리나라를 비롯해 일본, 중국, 대만, 유럽 등지에 자생하거나, 재배되고 있는 생약재이다[6]. 국내에서 구기자나무의 어린순은 천정초, 뿌리껍질은 지골피, 잎은 구기엽, 열매는 구기자로 불리고 있다. 구기자는 한방에서 세안, 소염, 해열, 강장, 당뇨병 등에 사용되고 있으며, 아미노산, betaine, physalin, zeaxanthin, rutin 등의 성분을 함유하고 있다[7]. 구기자는 cholesterol 저하, 체력 유지, 혈청 인지질 함량 증가, 혈관 확장, 노화 방지 등의 우수한 약리 작용을 하는 것으로 알려져 있다[8].

따라서 본 연구에서는 젖산균 발효 과정을 거친 구기자 추출물의 NO 억제 및 항노화 효능의 분석을 통해 항염증

및 항노화 관련 문제 해결에 기여할 수 있는 기능성 화장품 소재로서의 활용 가치를 검증하고자 하였다.

## 2. 재료 및 방법

### 2.1. 시료 및 기기

#### 2.1.1. 시료 추출

본 연구에 사용된 구기자는 충청남도 청양군(Korea)에서 재배 가공된 건조 구기자를 구입하여 사용하였으며, 발효에는 동결건조된 젖산균(*Lactobacillus* sp.)을 사용하였다. 발효 구기자 열수 추출물(FLW)의 제조는 분쇄한 구기자 100 g을 플라스크에 담아 시료 중량의 약 20 배에 해당하는 증류수를 가한 후, 99 °C의 수욕 상에서 3 h 동안 증탕

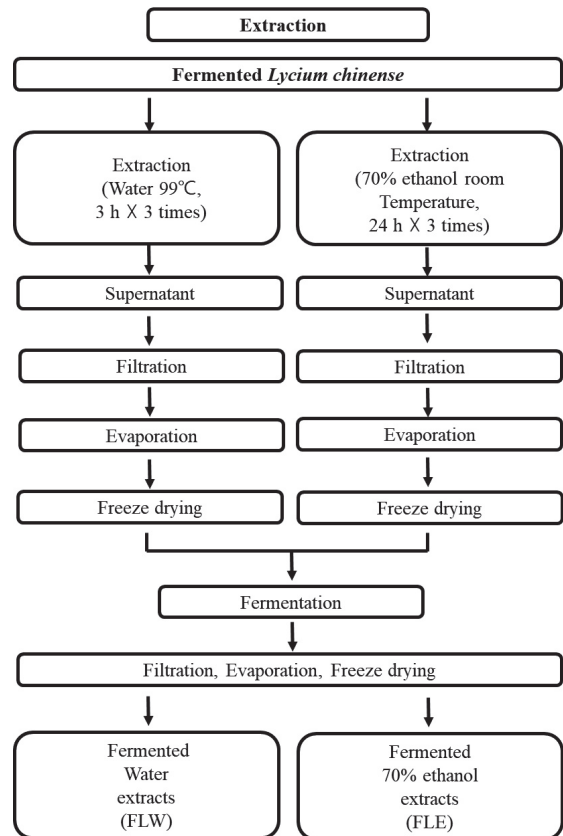


Figure 1. The procedure for extraction from fermented *L. chinense*.

하는 과정을 3 회 반복하였다. 발효 구기자 70% 에탄올 추출물(FLE)은 분쇄한 구기자 100 g을 플라스크에 담아 시료 중량의 약 20 배에 해당하는 70% 에탄올을 침지 시킨 후, 상온에서 24 h 동안 추출하는 과정을 3 회 반복하였다. 각각의 추출물을 여과지(No. 20 filter paper, Hyundai Micro Co., Ltd., Korea)를 사용하여 여과한 후, 농축, 동결건조를 통해 분말화된 시료를 획득하였다. 분말화된 각각의 시료를 80 °C의 수욕 상에서 15 min 동안 멸균한 후, 동결건조된 유산균을 넣어 40 °C에서 8 h 동안 발효하였다. 발효된 추출물을 여과, 농축, 동결건조하여 분말 상태의 시료를 제조하였다. FLW의 수율은 39.03%, FLE의 수율은 9.44%가 나왔으며, 제조된 시료는 -80 °C에서 냉동 보관하여 본 실험에 사용하였다(Figure 1).

### 2.1.2. 효능평가에 사용된 시약

MMP-1 antibody, donkey anti-mouse IgG-HRP는 Santa Cruz Biotech., Inc. (CA, USA), TRPV-1 antibody는 Thermo Fisher Scientific™ (Waltham, Massachusetts, USA)에서 구입하여 사용하였다. 세포 실험에 사용된 dermal fibroblast cell (Hs68 cell)과 keratinocyte cell (HaCaT cell)은 National Development Institute of Korean Medicine (Korea)에서 분양받아 사용하였으며, macrophage cell (RAW 264.7 cell)은 한국 세포주 은행 (Korea)에서 구입하였다. Fetal bovine serum (FBS), Dulbecco's modified eagle medium (DMEM), trypan blue stain, trypsin-EDTA, 3-[4,5-dimethylthiazol-2-yl]-2,5-diphenyltetrazolium bromide (MTT), griess reagent, lipopolysaccharide (LPS), betaine 등은 Sigma Aldrich Co., Ltd. (USA)에서 구매하여 사용하였다.

### 2.1.3. 실험에 사용된 기기

본 연구에 사용된 기기는 ELISA reader (SpectraMax 190, Molecular devices, USA), freeze dryer (FD8512, Korea), microscope (Olympus Co., Ltd., Japan), rotary vacuum evaporator (N-12, Rikakikai Co., Ltd., Japan), Autoclave (JSAT-65 jsr, Hanbaek Scientific Co., Korea), digital reciprocating shaker (Daihan scientific Co., Ltd., Korea), western imaging system (CAS-400SM, Davinch-K Co., Ltd., Korea), CO<sub>2</sub> incubator (VS-9160GC, Hanbaek Scientific Co., Korea), UPLC H-Class (Waters, USA), UV detector (BAP ACQUITY UPLC TUV detector) (Waters, USA), Hypersil GOLD™ Amino column (4.6 × 150 mm, 3 μm) (Thermo Fisher Scientific, USA)를 사용하였다.

## 2.2. 실험 방법

### 2.2.1. 세포배양

본 연구에 사용된 macrophage cell (RAW 264.7), keratinocyte cell (HaCaT)과 dermal fibroblast cell (Hs68)의 배양은 10% FBS, 1% penicillin-streptomycin (100 U/mL)를 첨가한 DMEM을 사용하였으며, phosphate buffer saline (PBS)로 세척한 후, trypsin-EDTA를 사용하여 37 °C, 5% CO<sub>2</sub> 조건의 incubator에서 계대배양하였다.

### 2.2.2. MTT Assay를 통한 세포 생존율 측정

세포 생존율 측정은 Carmichael 등의 방법[9]에 따라 실험을 진행하였다. 96 well plate에 RAW 264.7 cell은 5 × 10<sup>3</sup> cells/well, HaCaT cell, Hs68 cell은 1 × 10<sup>4</sup> cells/well이 되도록 200 μL 씩 분주하고, 37 °C, 5% CO<sub>2</sub> incubator에서 24 h 동안 배양하였다. 배양 후, 시료를 25, 50, 100, 250, 500 μg/mL의 농도별로 희석하여 20 μL 씩 첨가한 다음, 24 h 동안 배양하였다. 24 h 배양 후, 각 well에 MTT (2.5 mg/mL) 시약을 20 μL 씩 첨가하여 2 h 동안 반응시켰다. 반응 후, 배양액을 제거하고 각 well당 dimethyl sulfoxide (DMSO, DUKSAN, Korea) 100 μL를 첨가하여 실온에서 15 min 동안 반응시킨 다음, 540 nm에서 흡광도를 측정하였다.

### 2.2.3. Nitric Oxide (NO) 저해 효능 측정

NO 저해능 측정은 Grayand 등의 방법[10]을 이용하여 실험을 진행하였다. RAW 264.7 cell을 96 well plate에 5 × 10<sup>4</sup> cells/well이 되도록 각 well에 200 μL 씩 분주한 후 24 h 동안 배양하였다. 배양 후 농도별로 희석한 시료 20 μL 와 LPS (2 μg/mL) 20 μL를 각 well에 분주한 후 24 h 동안 배양하였다. 배양 후 각 well의 상등액 100 μL와 Griess reagent 100 μL를 상온에서 15 min 동안 반응시킨 다음 540 nm에서 흡광도를 측정하였다.

### 2.2.4. Western Blot를 통한 단백질 발현양상 측정

HaCaT cell과 Hs68 cell을 6 well cell culture plate에 1 × 10<sup>6</sup> cells/well이 되도록 분주하여 24 h 동안 배양한 후, DMEM을 무혈청 DMEM으로 교체한 다음, 44 °C로 설정된 incubator에 40 min 동안 열자극을 가하였다. 열자극을 가한 후, 농도별로 희석한 시료 200 μL를 처리하여 24 h 동안 배양하였다. 배양 후, 상등액을 제거한 다음, PBS로 2 회 세척한 후, lysis buffer를 60 μL 씩 첨가하여 cell을 용해 시키고, scraper로 수확하여 원심 분리(4 °C, 12,000 rpm, 15

min)를 진행하였다. 원심 분리 후, 획득한 단백질을 Bovine serum albumin (BSA)를 표준물질로 하여 Bicinchoninic acid (BCA) assay로 정량하였으며, 단백질을 35  $\mu\text{g}$ 을 10% SDS polyacrylamide gel을 이용하여 전기영동하였다. 전기영동이 완료된 후, transfer를 실시하여 단백질을 membrane으로 옮겨준 다음, 5% skim milk로 2 h 동안 blocking하여 background를 제거하였다. 그다음 1 차 항체인 MMP-1 (1 : 1000), TRPV-1 (1 : 1000)를 4  $^{\circ}\text{C}$ 에 overnight하여 반응시킨 후, 1  $\times$  TBST 용액으로 10 min, 3회 이상 세척한 다음, 2 차 항체인 donkey anti-mouse IgG-HRP (1 : 1000)를 1 h 동안 반응시켰다. 반응 시킨 후, 1  $\times$  TBST 용액으로 10 min, 3 회 세척을 반복한 다음, ECL solution (EMD Millipore Co., Ltd., USA)과 western imaging system을 이용하여 단백질 발현양상을 측정하였다.

### 2.2.5. Ultra Performance Liquid Chromatography (UPLC)

Betaine은 UPLC H-Class와 UV detector로 구성된 UPLC 시스템으로 분석하였으며, Hypersil GOLD<sup>TM</sup> Amino column을 이용하여 분리를 수행하였다. 이동상 용매로 (A) 0.1% phosphoric acid in deionized water, (B) acetonitrile을 사용하였다. Betaine 분석은 (A) 0 ~ 5 min, 95%, (A) 5 ~ 35 min, 95 ~ 0%, (B) 35 ~ 45 min, 100%, (A) 45 ~ 55 min, 95%의 조건으로 용리하였다. 유속은 0.1  $\mu\text{L}/\text{min}$ , 검출은 230 nm에서 분석을 수행하였다. FLW, FLE의 betaine 분석은 동일한 분석 조건에서 표준물질인 betaine의 머무름 시간과 비교하여 식별하였다.

### 2.2.6. 통계처리

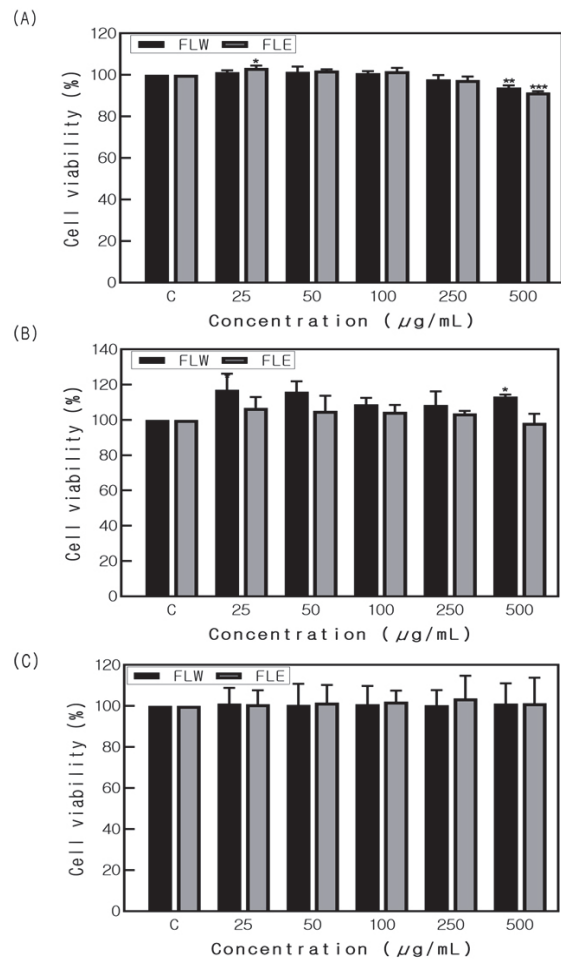
모든 실험 결과의 통계분석은 IBM SPSS statistics (version 20.0, IBM Corp., USA)를 사용하여 평균값과 표준편차로 나타내었고, 유의성에 대한 검증은 분산분석 (analysis of variance, ANOVA)을 이용하여 확인하였다. 유의성 확인 후 duncan's multiple range test를 이용한 다중비교를 실시하여 유의수준  $p < 0.05$  에서 분석하였다.

## 3. 결과 및 고찰

### 3.1. MTT Assay를 통한 세포 생존율 측정 결과

MTT assay에 사용되는 MTT 시약은 담황색의 기질로서 살아있는 세포 내 미토콘드리아의 환원효소에 의해 환원

되어 formazan을 형성하게 되고, 죽은 세포에서는 formazan이 형성되지 않는다. 이러한 원리를 이용하여 세포 생존율을 측정하였다[11]. FLW, FLE를 25, 50, 100, 250, 500  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 의 농도별로 RAW 264.7 cell, HaCaT cell, Hs68 cell에 처리하였을 때, Figure 2에 나타낸 바와 같이 최고 농도인 500  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 에서 모두 90% 이상의 세포 생존율을 나타내었다. 따라서 500  $\mu\text{g}/\text{mL}$  이하의 농도를 세포 실험에 적용하여 진행하였다.

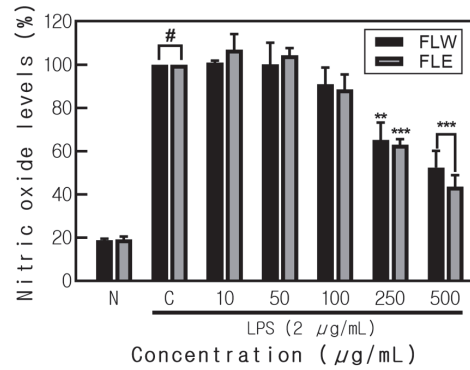


**Figure 2.** Cytotoxicity of fermented *L. chinense* extracts on RAW 264.7 cell, HaCaT cell, and Hs68 cell. FLW: Fermented *L. chinense* extracted with water; FLE: Fermented *L. chinense* extracted with 70% ethanol. (A) RAW 264.7 cell, (B) HaCaT cell, (C) Hs68 cell. Result are means  $\pm$  SD of triplicate data (significantly different by Tukey test and significant as compared to control. \* $p < 0.05$ ).

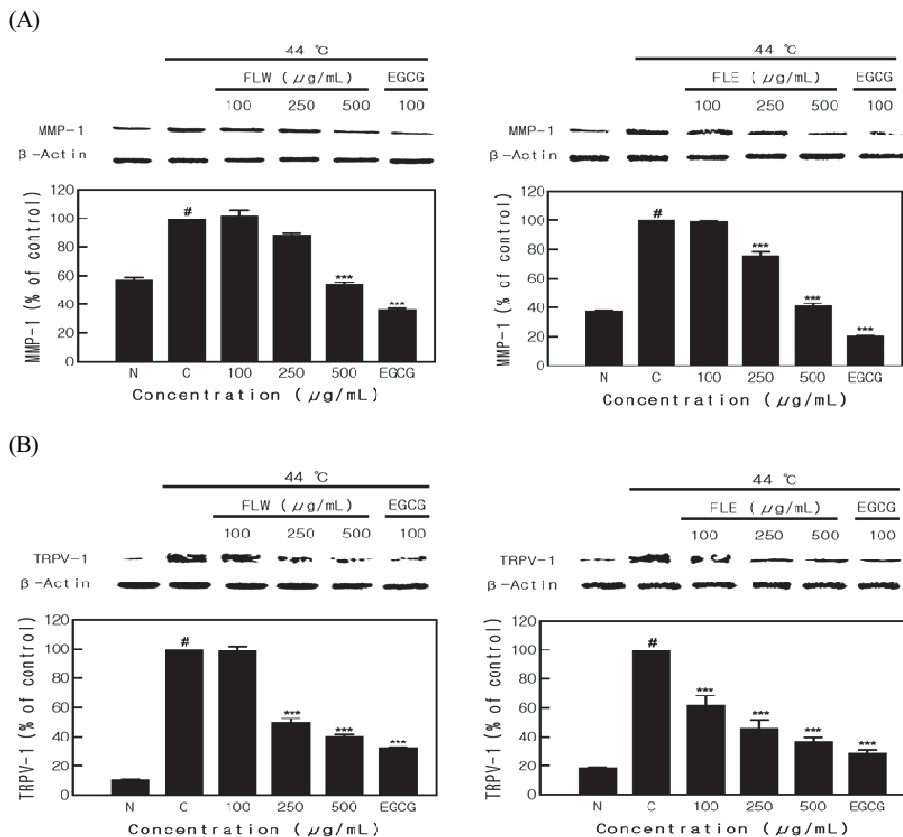
3.2. Nitric Oxide (NO) 저해 효능 측정 결과

NO는 nitric oxide synthase (NOS)에 의해 합성되며 free radical로써 세포간 및 세포 내 신호전달, 항상성, 감염 물질로부터의 방어 등의 중요한 역할을 수행하지만 과도한 NO의 생성은 염증성 질환을 유발하게 된다[12].

NO 저해 효능을 분석하기 위해 LPS로 유도된 RAW 264.7 cell에 FLW, FLE를 24 h 동안 처리하여 NO 생성량을 측정한 결과, LPS 단독 처리군에 대비하여 LPS 무처리군에서는 20% 미만의 NO가 생성되었으며, FLW, FLE는 최고 농도인 500 µg/mL에서 각각 47.96%, 56.71%의 NO 저해 효능을 나타내었다(Figure 3). Ly 등은 100% 주정을 가하여 추출한 건조 구기자 추출물을 이용하여 NO 생성 억제 효과를 측정하고, 1,000 µg/mL의 농도에서 60.3%의 저해율을 나타내었다고 보고하였다[13]. Lee 등은 70% 메탄올과 증류수를 용매로 하여 추출한 흑구기자 열매 추



**Figure 3.** Inhibition rate of NO by fermented *L. chinense* extracts in RAW 264.7 cell. FLW: Fermented *L. chinense* extracted with water; FLE: Fermented *L. chinense* extracted with 70% ethanol. N: LPS non-treated; C: LPS treated. Result are means ± SD of triplicate data (significantly different by Tukey test and significant as compared to control. #*p* < 0.05 vs non-treated N, \*\**p* < 0.01, \*\*\**p* < 0.001).



**Figure 4.** Inhibitory effects of fermented *L. chinense* extracts on the MMP-1, TRPV-1 protein expression in HaCaT cell. FLW: Fermented *L. chinense* extracted with water; FLE: Fermented *L. chinense* extracted with 70% ethanol; EGCG: epigallocatechin gallate. N: 44 °C temperature non-treated; C: 44 °C temperature treated. (A) MMP-1 protein expression rate, (B) TRPV-1 protein expression rate. Result are means ± SD of triplicate data (significantly different by Tukey test and significant as compared to control. #*p* < 0.05 vs non-treated N, \*\*\**p* < 0.001).

출물을 활용하여 NO 생성에 미치는 영향을 측정된 결과, 흑구기자 열매 추출물의 처리 농도에 따라 NO의 농도가 급격히 감소함을 확인하였다[14]. 따라서 본 연구와 두 연구를 미루어 보아 발효 구기자 추출물은 항염증 관련 소재로서 활용 가치가 높을 것으로 사료된다.

### 3.3. Western Blot를 통한 단백질 발현양상 측정 결과 (HaCaT cell, Hs68 cell)

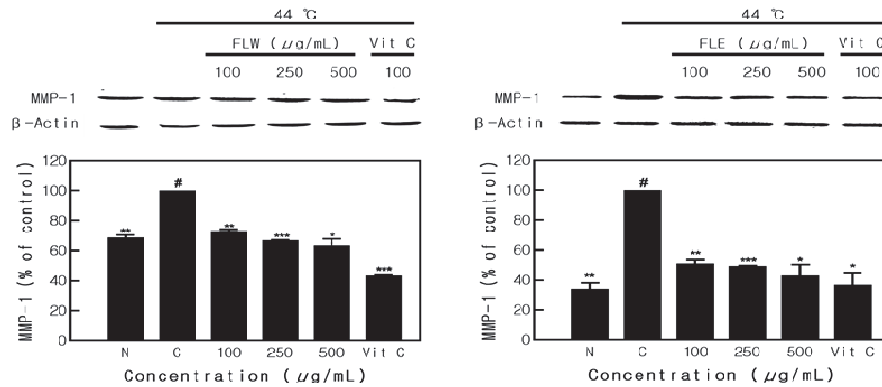
Matrix metalloproteinase (MMP)는 세포 외 기질 금속단백 분해효소로 20 여 종이 있으며, MMP-1은 콜라겐 분해효소 중 하나로 콜라겐 I, II, III, VII, X형), 젤라틴을 분해하는 역할을 수행한다[15]. Transient receptor potential vanilloid 1

(TRPV1)은 transient receptor potential (TRP)의 28 개 구성원 중 하나인 수용체로, 열에 의해 촉발되어 말초 신경계에서 통증 신호를 전달하는 역할을 수행하는 것으로 알려져 있다[16].

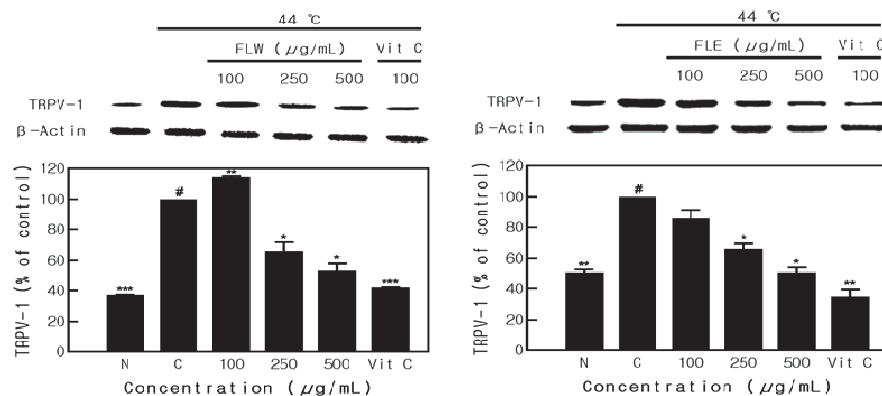
항노화 효능을 분석하기 위해 HaCaT cell, Hs68 cell에 40 min 동안 44 °C의 열자극을 가한 후 주름 관련 단백질인 MMP-1, TRPV-1에 대한 발현양상을 western blot을 통해 측정하였다. HaCaT cell에 대한 결과는 Figure 4에 나타난 바와 같이 최고 농도인 500  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 에서 FLW는 MMP-1, TRPV-1 순으로 각각 45.89%, 59.39%의 억제율을 나타내었다. FLE는 최고 농도인 500  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 에서 MMP-1, TRPV-1 순으로 각각 58.61%, 63.36%의 억제율을 나타내었다.

Hs68 cell에 대한 발효 구기자 추출물의 항노화 효능 분

(A)



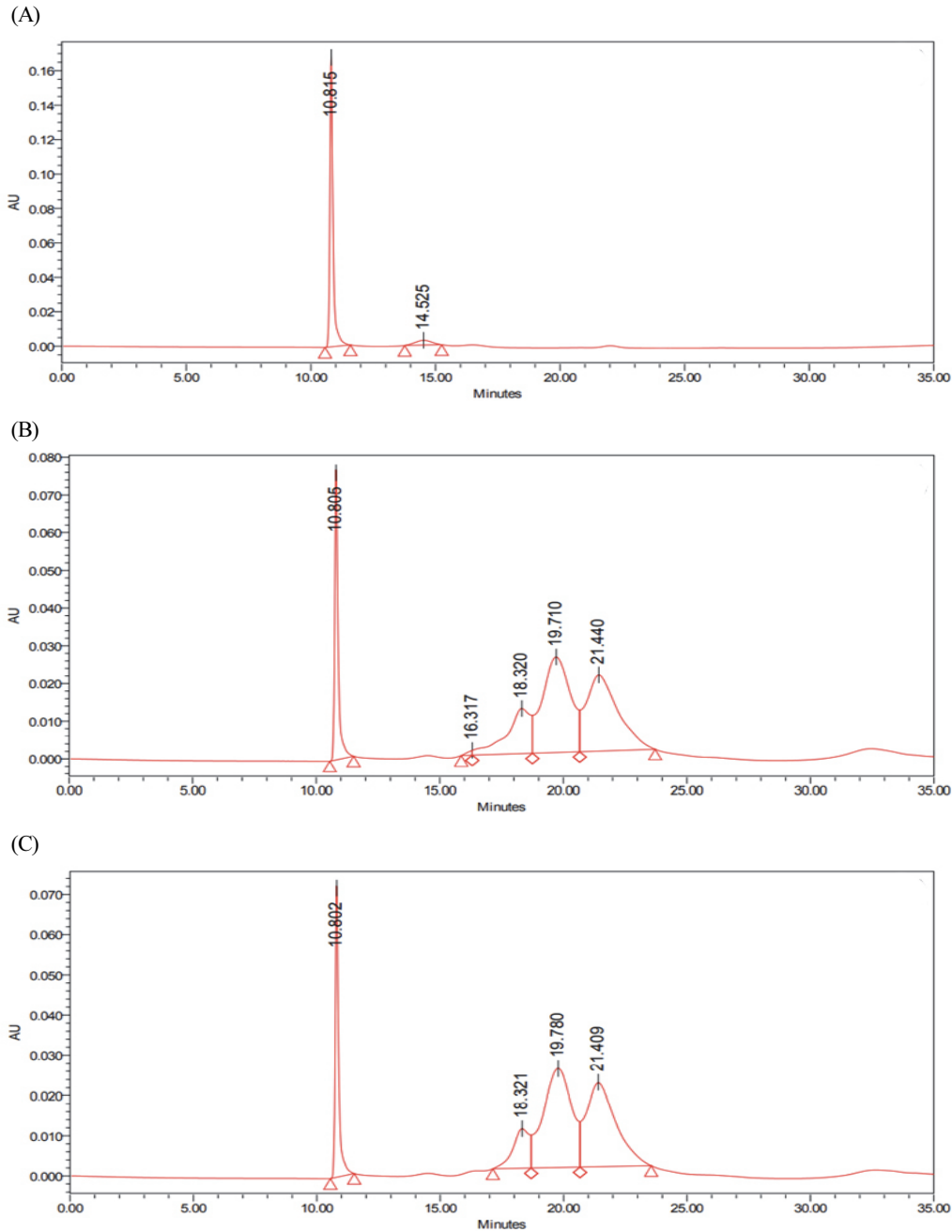
(B)



**Figure 5.** Inhibitory effects of fermented *L. chinense* extracts on the MMP-1, TRPV-1 protein expression in Hs68 cell. FLW: Fermented *L. chinense* extracted with water; FLE: Fermented *L. chinense* extracted with 70% ethanol; Vit C: Ascorbic acid. N: 44 °C temperature non-treated; C: 44 °C temperature treated. (A) MMP-1 protein expression rate, (B) TRPV-1 protein expression rate. Result are means  $\pm$  SD of triplicate data (significantly different by Tukey test and significant as compared to control. #  $p < 0.05$  vs non-treated N, \*  $p < 0.05$ , \*\*  $p < 0.01$ , \*\*\*  $p < 0.001$ ).

석 결과는 Figure 5에 나타난 바와 같이 최고 농도인 500  $\mu\text{g/mL}$ 에서 FLW는 MMP-1, TRPV-1 순으로 각각 41.14%, 43.89%의 억제율이 확인되었다. FLE는 최고 농도인 500  $\mu\text{g/mL}$ 에서 MMP-1, TRPV-1 순으로 각각 53.01%, 51.39%의 억제율을 나타내었다. Shin 등은 HaCaT cell에 구기자

등을 포함한 약재를 혼합하여 추출한 한방 이화주를 처리하여 MMP-2, MMP-9의 단백질 발현양상을 측정된 결과, 농도의존적으로 효소적 활성이 저해되었음을 보고하였다 [17]. 따라서 발효 구기자 추출물의 활용을 통해 주름 관련 인자의 저해 효능을 확인하였으므로, 본 연구에서 활용한



**Figure 6.** Ultra performance liquid chromatography (UPLC) for identification of betaine in fermented *L. chinense* extracts at 230nm. (A) betaine, (B) FLW, (C) FLE.

**Table 1.** Identification of betaine in fermented *L. chinense* extracts

Sample	Peak results			
	RT (min)	Area	Height	Area(%)
FLW	10.805	732639	76985	13.58
FLE	10.802	692868	72263	14.18
Betaine	10.815	1487506	168160	91.98

FLW: Fermented *L. chinense* extracted with water;

FLE: Fermented *L. chinense* extracted with 70% ethanol;

RT: retention time.

발효 구기자 추출물은 항노화 기능에 있어 긍정적인 가치를 지닌 소재로 판단된다.

### 3.4. Identification of Betaine in Fermented *Lycium chinense* Extracts (FLW, FLE)

UPLC 시스템을 이용하여 발효된 구기자 추출물 내 betaine 분석을 실시하였으며, 그 결과를 Table 1, Figure 6에 나타내었다. betaine 분석은 표준물질의 머무름 시간(retention time, RT)과 면적(area) 값을 참고하여 식별하였다. betaine은 10.815 min의 머무름 시간에서 peak가 확인되었으며, 이에 대하여 FLW, FLE는 각각 10.805, 10.802 min의 머무름 시간에서 peak가 관찰되었다. FLW, FLE의 면적 값은 각각 732639, 692868로 측정되었다. betaine은 구기자 내 함유되어 있는 수용성 성분으로, 피부의 자극을 줄여주는 효능을 지니고 있으며, 저자극 계면활성제로 많이 사용되고 있다[18]. 또한 betaine은 염증 반응을 조절하며, 이러한 과정은 노화의 과정과 유의하게 관련되어 있는 것으로 알려져 있다[19].

따라서 betaine이 함유된 발효 구기자 추출물은 항염증 및 항노화 관련 기능성 화장품 첨가물로서 높은 활용 가치가 있음을 시사하는 바이다.

## 4. 결 론

본 연구에서는 발효 과정을 거친 구기자 열수 추출물(FLW)과 구기자 70% 에탄올 추출물(FLE)을 이용하여 NO 저해 효능 및 항노화 효능을 분석하였다. NO 및 항노화 효능을 분석하기 위해 이와 관련된 RAW 264.7 cell, HaCaT cell, Hs68 cell에 대하여 FLW, FLE의 세포 독성을 측정하고, 최고 농도인 500  $\mu\text{g/mL}$ 에서 모두 90% 이상의 세포 생존율을 나타내었고, 이와 같은 실험 결과를 토대로 500  $\mu\text{g/mL}$  이하의 농도를 세포 실험에 적용하여 진

행하였다. NO 저해 효능을 측정한 결과, 최고 농도인 500  $\mu\text{g/mL}$ 에서 FLW, FLE 각각 47.96%, 56.71%의 우수한 NO 저해능을 나타내었다. HaCaT cell, Hs68 cell에 40 min 동안 44 °C의 열자극을 가한 후, MMP-1, TRPV-1 단백질의 발현양상을 western blot을 통해 측정한 결과, 최고 농도인 500  $\mu\text{g/mL}$ 에서 MMP-1, TRPV-1 순으로 FLW는 각각 41.14%, 43.89%, FLE는 각각 53.01%, 51.39%의 억제율을 나타내었다. 따라서 본 연구의 실험 결과를 통해 발효 구기자 추출물은 항염증 및 항노화 관련 기능성 화장품 소재로서 활용 가치가 높을 것으로 사료된다.

## References

1. J. H. Chung, Generation mechanism and cause of wrinkle, *J. Soc. Cosmet. Sci. Korea*, **29**(2), 1 (2003).
2. R. Ganceviciene, A. I. Liakou, A. Theodoridis, E. Makrantonaki, and C. C. Zouboulis, Skin anti-aging strategies, *Dermatoendocrinol.*, **4**(3), 308 (2012).
3. J. H. Joo, J. H. Seok, I. K. Hong, N. K. Kim, and E. M. Choi, Inhibitory effects of *Dunaliella salina* extracts on thermally-induced skin aging, *J. Soc. Cosmet. Sci. Korea*, **42**(1), 57 (2016).
4. J. Y. Seo and J. H. Chung, Thermal aging: a new concept of skin aging, *J. Dermatol. Sci.*, **2**(1), 13 (2006).
5. J. E. Kim, Y. S. Choi, H. K. Kim, and Y. A. Jang, Collagen synthesis ability and inhibitory effect of mmps in keratinocytes of *Lysimachia christinae* hance extract, *J. Korean Appl. Sci. Tech.*, **37**(4), 820 (2020).
6. M. J. Kim, K. J. Chung, and M. S. Jang, Effect of kugija (*Lycium chinense miller*) extract on the physicochemical properties of nabak kimchi during fermentation, *Korean J. Food Cookery Sci.*, **22**(6), 832(2006).
7. K. S. Kim, S. H. Shim, G. H. Jeong, C. S. Cheong, K. H. Ko, J. H. Park, H. Huh, B. J. Lee, and B. K. Kim, Anti-diabetic activity of constituents of *Lycii fructus*, *J. Appl. Pharm.*, **6**(4), 378 (1998).
8. Y. J. Park, M. H. Kim, and S. J. Bae, Enhancement of anticarcinogenic effect by combination of *Lycii fructus* with vitamin C, *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.*, **31**(1), 143 (2002).
9. J. Carmichael, W. G. Degraff, A. F. Gazdar, J. Minna,



- and J. B. Michell, Evaluation of a tetrazolium-based semiautomated colorimetric assay: assessment of chemosensitivity testing, *Cancer Res.*, **47**(4), 936 (1987).
10. J. Grayand, J. R. Dugan, and R. L, Inhibition of n-nitrosamine formation in model food system, *J. Food Sci.*, **40**(5), 981 (1975).
  11. I. C. Lee and D. H. Yoo, Study on the physiological activity of *Corchorus olitorius* L., *The Korean Soc. Beauty Art*, **22**(2), 275 (2021).
  12. J. I. Park, K. S. Park, J. S. Kim, J. H. Park, E. J. Yun, K. S. Song, K. S. Seo, H. Kim, W. H. Yoon, S. K. Park, K. Lim, and B. D. Hwang, The effect of talp-35 on interferon- $\gamma$  and lps-induced no production in RAW264.7 cells, *Bulletin of Biotechnology*, **12**(1), 37 (2006).
  13. S. M. Bae, J. E. Kim, E. Y. Bae, K. A. Kim, and S. Y. Ly, Anti-inflammatory effects of fruit and leaf extracts of *Lycium barbarum* in lipopolysaccharide-stimulated RAW264.7 cells and animal model, *J. Nutr. Health*, **52**(2), 129 (2019).
  14. J. Zou, and J. A. Lee Antioxidant and anti-inflammatory properties of two extracts from *Lycium ruthenicum* murray fruit, *J. Convergence Inform. Tech.*, **11**(5), 190 (2021).
  15. J. K. Huh, K. K. Park, M. A. Choi, and H. G. Kim, Expression of matrix metalloproteinase-1 and -2 mRNA in retrodiscal tissue of the temporomandibular joint, *J. Kor. Oral Maxillofac Surg.*, **29**(4), 212 (2003).
  16. Z. Olah, D. Redei, L. Pecze, C. Vizler, K. Josvay, P. Forgo, Z. Winter, G. Dombi, G. Szakonyi, and J. Hohmann, Pellitorine, an extract of *Tetradium daniellii*, is antagonist of the ion channel TRPV1, *Phytomedicine*, **34**, 44 (2017).
  17. J. S. Lee, Y. Y. Kwon, S. W. Cho, H. S. Kwon, and W. C. Shin, Effects of Ehwa Makgeolli containing oriental herbs on skin whitening and wrinkles, *J. Korean Soc. Sci. Nutr.*, **42**(4), 550 (2013).
  18. S. G. Choi, M. S. Kim, S. G. Park, C. K. Lee, and N. G. Kang, Betaine induces epidermal differentiation by enhancement of autophagy through an mTOR-independent pathway, *J. Soc. Cosmet. Sci. Korea*, **44**(1) 95 (2018).
  19. E. K. Go, K. J. Jung, J. Y. Kim, B. P. Yu, and H. Y. Chung, Betaine suppresses proinflammatory signaling during aging: the involvement of nuclear factor-kappaB via nuclear factor-inducing kinase/IkappaB kinase and mitogen-activated protein kinase, *J. Gerontol. A Biol. Sci. Med. Sci.*, **60**(10), 1252 (2005).