# 부처손 잎 추출물의 항산화, 항염 및 피부재생 효능

김유진<sup>1</sup>, 이지안<sup>2\*</sup> <sup>1</sup>서경대학교 일반대학원 미용예술학과 학생, <sup>2</sup>서경대학교 일반대학원 미용예술학과 교수

# Anti-oxidant, Anti-inflammatory, and Wound Healing Activities of Selaginella tamariscina Leaf Extract

Yu-Jin Kim<sup>1</sup>, Ji-An Lee<sup>2\*</sup>

<sup>1</sup>Student, Dept. of Beauty Art, Graduate School, Seokyeong University <sup>2</sup>Professor, Dept. of Beauty Art, Graduate School, Seokyeong University

요 약 부처손 잎은 전통한방에서 탈항, 혈뇨, 부정출혈, 월경불순, 자궁출혈 및 만성간염을 치료 목적으로 사용되어왔다. 본 연구에서는 부처손을 이용하여 얻은 열수추출물(STW)과 80%에탄올추출물(STE)의 항산화, 항염 및 세포 재생활성을 평가하였다. 그 결과 열수추출물과 에탄올추출물의 폴리페놀 화합물 함량은 각각 38.108±0.766 mg/g, 17.927±1.064 mg/g이었다. DPPH와 ABTS radical 소거능 IC<sub>50</sub>은 열수추출물이 에탄올추출물에 비해 2배 이상 낮았다. MTT 결과, RAW264.7 세포 생존율은 두 추출물 모두 1 mg/mL에서 6% 감소한 반면, HaCaT 세포의 생존율은 50 μg/mL에서 18%로 증가하였다. 열수추출물과 에탄올추출물은 LPS로 자극한 RAW264.7 세포의 NO, TNF-α 그리고 COX-2, PGE<sub>2</sub> 등의 염증 매개물질의 생성을 억제하였다. 또한 TNF-a에 의한 각질형성 세포의 손상을 저해시켰다. 이상의 결과로 부처손 열수추출물과 에탄올추출물은 피부건강과 미용 식품을 위한 기능성 원료로 가능성이 높다고 사료된다.

주제어: 부처손, 항산화, 항염, 피부 재생, 화장품 원료

**Abstract** The leaves of *Selaginella tamariscina* were used for the treatment of many diseases in traditional medicine. In the study, antioxidant, anti-inflammatory, and wound healing activities of the hot-water extract(STW) and 80%ethanol extract(STE) obtained from *S. tamariscina* were evaluated. As a result, the polyphenol content of STW and STE were  $38.108\pm0.766$  mg/g and  $17.927\pm1.064$  mg/g, respectively. The DPPH and ABTS radical scavenging activities with the IC50 values of the STW were over 2 times lower than that of the STE. In the MTT assay, RAW264.7 cell viability of two extracts was decreased by about 6% at 1 mg/mL, whereas for HaCaT cell viability increased by 18% at 50  $\mu$ g/mL. In addition, STW and STE suppressed the production of nitric oxide(NO), Tumor-necrosis(TNF)- $\alpha$ . COX-2 and PGE2 in lipopolysaccharide(LPS) induced RAW264.7 cells. Furthermore, the STE showed wound healing effect through the promotion of skin cell migration in TNF- $\alpha$  stimulated human keratinocytes. These results indicated that the STW and STE have the potential to be used as a new cosmetic active ingredients in skin care.

Key Words: Selaginella tamariscina, Anti-oxidant, Anti-inflammation, Wound healing, Cosmetic material

### 1. 서론

현대 뷰티산업에 관련된 수요자들의 가장 큰 특징은 과거와 달리 광고 이미지, 브랜드 외에 해당 제품의 안 정성과 객관적인 성분의 효능을 중요시하며[1], 이를 반 영하기 위해 천연물질을 이용한 화장품 원료 개발이 활발히 진행되고 있다. 특히 천연물 가운데 오랫동안 치료를 목적으로 사용된 약초(herbal medicine)를 이용하는 것은 안전하고 효능이 기대되는 소재이다. 최근에

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

Received March 16, 2021 Accepted April 20, 2021 는 바이오기술 발달로 이러한 약초의 식물성 화학물질 이 밝혀짐에 따라 이들은 독성, 항산화 및 생리활성 평 가 통해 건강, 식품, 뷰티 등 다양한 분야에 활용하기 위한 유력한 후보물질로 주목받고 있다.

부처손(Selaginella tamariscina)은 부처손과 (Selaginellaceae)의 양치식물로 전초(全草)를 권백 (卷柏)이라 하여 월경통(dysmenorrhea), 만성간염(chronic hepatitis), 혈뇨(hematuria), 탈항(脫肛), 자궁출혈 (metrorrhagia) 등 약용으로 이용해 왔다. 최근에는 메탄올 추출물이 scopolamine으로 치매를 유발한 흰 쥐에서 산화 스트레스 방어 작용을 통하여 치매개선 효 과를[2], 당뇨모델 쥐에서 산화 억제 및 항고지혈 효능 을 나타내는 것이 확인되었다[3]. 그람 음성균 Escheri chia coli와 그람 양성균 Staphylococcus aureus 등 의 병원성 세균에 대한 항균 활성과[4-5], 위암 세포 H T-29의 세포 증식 억제 효능이 보고되고 있다[6]. 또한 부처손은 Selaginella 속(genus)에 속한 종(species) 가운데 내건성(desiccation tolerance, 耐乾性)이 가 장 뛰어나게 진화된 것으로 알려져 있다. 즉, 극심한 가 뭄에 살아남기 위한 건조에 대한 저항성과 수분을 사용 하게 될 수 있는 즉시 복원되도록 진화되었다[7,8].

이제까지 부처손의 성분 biflavonoid 분석과 특히 amentoflavone을 유효성분으로 생약(crude drugs, 生藥)제로서의 효능을 보고한 선행연구가 주를 이루었다. 따라서 본 연구에서는 정제수와 80%에탄을 두 가지 용매를 이용한 열수추출물과 에탄을 추출물을 대상으로 각 추출물의 항산화, 항염 및 세포 재생 효능을 조사하여 식물 생리활성물질 기반의 화장품 원료로서의 응용가능성을 평가하고자 하였다.

# 2. 연구방법

### 2.1 재료 및 추출

부처손은 지리산에서 채집하여 건조된 지상부 (aerial part)를 재료로 정제수와 에탄올을 용매로 사용하여 추출하였다. 열수추출(STW)은 건조시료(118 g)에 정제수를 10배(w/v) 가하여 60℃에서 15시간동안 교반 추출 후 상등액을 여과(Whatman filter paper No.2)하였다. 에탄올추출물(STM)은 동일한 조건으로 80%에탄올을 첨가하여 15시간 교반 추출 후 상등액을 여과하였다. 각각의 추출액은 감압농축 (EYESA, N-1100

series, Tokyo, Japan)한 후 동결건조(Labconco Co., Kansas city, MO, USA)하였다. 두 가지 추출법에 따라 최종적으로 얻어진 분말 시료의 중량은 열수수출물 7.932 g, 에탄올추출물 10.406 g으로 확인되었다.

### 2.2 총 폴리페놀 화합물 함량 측정

총 폴리페놀 화합물은 Folin-Denis법[9]으로 시료 0.2 mL에 Folin-ciocalteu's phenol reagent (sigma) 0.2 mL를 첨가하여 5분간 실온에서 반응 후, 10% Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 0.2 mL을 가하여 혼합하고 실온암소에서 1시간 동안 반응시켰다. 상등액을 취하여 96 well plate에 옮겨 550 nm 파장에서 흡광도를 측정하였다. Gallic acid(Sigma, St. Louis, MO, USA)를 표준물질로 이용한 검량선과 비교하여 부처손 추출물의 폴리페놀 화합물 함량을 산출하였다.

# 2.3 항산화 활성 측정

## 2.3.1 DPPH radical 소거활성 측정

2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl(DPPH)를 이용한 free radical 소거활성은 Blois방법[10]으로 시료 0.1 mL에 0.2 mM DPPH용액 0.1 mL을 첨가하고 37℃에서 30분간 반응시킨 후 517 nm에서 흡광도를 측정하였다.

#### 2.3.2 ABTS radical 소거활성 측정

2,2-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfon ic acid)(ABTS)를 이용한 항산화 측정은 ABTS+cation decolorization assay방법[11]으로 측정하였다. 7.4 mM ABTS(Sigma, St. Louis, MO, USA)와 2.6 mM potassium persulfate를 혼합하여 암소의 실온에서 24시간 동안 방치하여 ABTS+radical을 생성시켰다. 생성된 ABTS radical solution을 methanol로 희석하여 시료 0.02 mL에 0.18 mL씩 첨가하고 30분 동안 반응시켜 734 nm에서 흡광도를 측정하였다.

#### 2.4 세포 배양

쥐 대식세포주(RAW264.7, murine macrophage), 인간 유래 각질형성 세포주(HaCaT, human keratin ocyte)를 DMEM 10% FBS, antibiotic-antimycotic (Life Technologies, CA, USA) 배지에서 37℃, 5% CO2의 조건으로 배양하였다.

## 2.5 MTT assay를 이용한 세포 독성 측정

RAW264.7 또는 HaCaT 세포를 96 well plate에  $4x10^4$  개의 세포로 분주하여 24시간 배양하였다. 새로 운 배지로 교체 후 100 ng/mL의 LPS와 각각 부처손 추출물을 농도별로 처리 하였다. 24시간 동안 배양하고 배지를 제거한 뒤 3-[4,5-dimethylthiazol-2-yl]-2,5 -diphenyltertrazolium bromide(MTT, 0.5 mg/mL, Sigma Aldrich, St. Louise, MO, USA)를 첨가하여 4 시간 동안 추가 배양하였다. 배지를 제거하고 각 well 에 dimethyl sulfoxide(DMSO)를 넣고 MTT formaz an을 용해시킨 다음, 570 nm에서 흡광도를 측정하였다.

## 2.6 항염 활성

## 2.6.1 Nitric oxide(NO) 측정

RAW264.7 세포를 24 well plate 에 1x10<sup>5</sup> 개의 세포로 분주하여 24시간 배양한 후 각 추출물의 농도 별 시료와 100 ng/mL의 lipopolysaccharide(LPS)를 처리하여 24시간 추가배양하였다. 세포 배양액 0.1 ml 에 griess reagent를 혼합하여 암소에서 10분간 반응 시킨 뒤 550 nm에서 흡광도를 측정하였다[12].

### 2.6.2 Cyclooxygenase-2(COX-2) 발현 측정

세포질 내 COX-2의 발현 수준을 조사하기 위하여 RAW264.7 세포에 LPS와 각 농도별 추출물을 처리하 고 18시간 동안 배양하였다. 배지를 제거하고 세포에 RIPA buffer(Thermo scientific, Rockford, IL, USA)를 첨가하여 30분간 4℃에서 lysis 시킨 후 12,000 rpm에서 20분간 원심 분리하고, 추출한 단백 질을 대상으로 Bradford assay를 수행하였다. 총 20 때의 단백질을 10% SDS-PAGE에 전기영동 후 PVDF membrane으로 전이 시켰다. 5% BSA로 membrane 을 전처리 후 COX-2 단백질에 대한 1차 항체 anti-COX-2(Cell Signaling Technolgy, #12282)와 2차 항체 anti-rabbit IgG, HRP-linked(Cell Signaling Technolgy, #7074)를 사용하였으며 Chemiluminescent ECL kit를 사용하여 검출하였다.

### 2.6.3 PGE2 ELISA assay

RAW264.7 세포를 24 well plate 에 1x10<sup>5</sup> 개의

세포로 분주하여 배양하였다. 24시간 후, LPS (100 ng/mL)와 각 추출물을 농도별로 제조한 시료를 처리 하여 18시간 배양하였다. 24시간 경과 후, 세포 배양액 을 13,000 rpm에서 15분 원심분리한 후 상등액을 대 상으로 PGE<sub>2</sub> (Prostaglandin E<sub>2</sub>)의 분비량을 측정하기 위해 Parameter<sup>TM</sup> Prostaglandin E2 Assay kit(R&D system, MN, USA)를 이용하였다.

# 2.7 Wound healing assay

HaCaT 세포를 12 well plate에  $2x10^5$  개의 세포 로 분주하여 24시간 배양하였다. FBS를 포함하지 않은 배지로 교체 후 PBS로 교체하여 200 씨 yellow tip으 로 스크래치를 내고, 10 ng/mL의 TNF- $\alpha$ 와 각 추출물 을 농도별로 처리한 후 18시간 동안 추가 배양하였다. 세포 이동을 현미경으로 관찰하여 사진을 찍고 Imgage J 프로그램을 이용하여 면적을 계산하였다[13].

# 2.8 통계분석

각 실험은 3회 이상 반복실험을 통하여 그 결과를 얻어 각각의 시료농도에 대해 mean ± S.D으로 나타내 었다. 각 시료 농도군에 대한 유의차 검정은 대조군과 비교하여 Student's t test 한 후 p(0.05 값을 통계적 으로 유의성 있는 결과로 간주하였다.

### 3. 연구 결과 및 고찰

#### 3.1 추출물의 수율

부처손 지상부(aerial part) 건조 시료 118 g을 열 수(60°C) 또는 80%에탄올로 추출·감압농축하고 동결건 조한 후 얻어진 최종 분말의 중량을 측정하여 추출 수 율을 계산한 결과 Table 1과 같다. 열수추출물(STW) 의 최종 분말 시료는 7.932 g으로 수율은 6.722%, 80%에탄올추출물은 10.406 g으로 수율이 8.819%로 확인되었다. Zheng(2011)의 연구에서 부처손 물을 이 용한 추출물의 수율은 12.13%로 다소 높았으나, 70% 에탄올 추출물의 수율은 8.17%로 본 연구 결과와 유사 한 추출 수율을 보였다[14]. 따라서 동일 소재에 대한 다양한 용매 선택과 추출 조건에 따라 최종 추출 수율 이 결정됨을 확인하였다.

Table 1. Extraction yields of hot-water and ethanol extracts from *S. tamariscina*.

Sample	Yield (%)			
STW	6.722			
STE	8.819			

Data are expressed as mean±S.D. of triplicate experiments. STW, *S. tamariscina* hot-water extracts; STE, *S. tamariscina* ethanol extracts.

### 3.2 총 폴리페놀 화합물 함량

천연식물에 함유된 2차 대사산물인 폴리페놀 화합물 은 항산화 물질로서 항암, 항균, 당뇨, 비만 등의 효과 를 나타낸다[15]. 부처손 열수추출물과 에탄올추출물의 총 폴리페놀 함량 측정 결과는 Table 2와 같다. 천연식 물에 풍부하게 함유된 대표적인 페놀계 화합물인 gallic acid의 표준함량 곡선으로부터 산출한 열수추출 물의 총 폴리페놀 화합물 함량은 38.108±0.766 mgGAE/g. 에탄올추출물은  $17.927 \pm 1.064$ mgGAE/g으로 열수추출물이 에탄올추출물에 비해 약 2배 많은 폴리페놀을 함유하였다. Kim(2019)과 Lee(2006)의 연구에서 70%에탄올로 70℃에서 3시간 추출하였을 때 총 폴리페놀 함량은 각각 60.29±3.11 mgGAE/g, 99.3 mgGAE/g으로 나타났다[16-17]. 이 들 선행 연구와 유사한 추출용매를 사용하여 확인된 본 연구의 총 폴리페놀 함량 차이는 시료의 재배환경, 함 량 측정 방법에 따른 것이라고 생각된다.

Table 2. Total polyphenol contents of *S. tamariscina*.

Sample	Polyphenol (mgGAE/g)*
STW	38.108±0.766
STE	17.927±1.064

\*mgGAE/g: mg gallic acid equivalent per g. Data are expressed as mean±S.D. of triplicate experiments. STW, *S. tamariscina* hot-water extracts: STE, *S. tamariscina* ethanol extracts.

#### 3.3 DPPH와 ABTS radical 소거활성

안정한 radical 화합물인 DPPH를 이용한 radical 소거능은 대표적인 항산화 활성 측정법으로 페놀성 및 방향성 아민 화합물이 다량 함유된 시료가 노란색의 DPPH를 보라색으로 변색시키는 원리이다. 열수 또는 80%에탄을 용매에 따른 각 부처손 추출물의 항산화 활성을 비교하기 위하여 DPPH 라디컬 소거능을 수행한결과 Fig. 1과 같다.

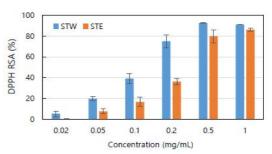


Fig. 1. DPPH radical scavenging activity of *S. tamariscina* extracts. The data are represented as the mean±S.D. of three independent experiments. RSA, radical scavenging activity; STW, *S. tamariscina* hot-water extracts; STE, *S. tamariscina* ethanol extracts.

각 추출물의 농도가 증가함에 따라 radical 소거능이 함께 증가하였다. Table 3과 같이 열수추출물의 최소억제농도( $IC_{50}$ )는 123.007  $\mu$ g/mL로 표준물질 ascorbic acid (8.851  $\mu$ g/mL)보다 약 13배 높았으나, 에탄올추출물 (263.179  $\mu$ g/mL)에 비해서 2.1배 낮은 소거능을 보였다.

Table 3, IC<sub>50</sub> value of different extracts of *S. tamariscina* extracts by DPPH and ABTS methods.

IC₅o (µg/mL)	DPPH assay	ABTS assay	
STW	123.007±11.94	461.019±44.06	
STE	263.179±26.03	1018.414±58.43	
AA	8.851±1.40	34.68±0.91	

Data are expressed as mean±S.D. of triplicate experiments. AA, Ascorbic acid; STW, *S. tamariscina* hot-water extracts; STE, *S. tamariscina* ethanol extracts.

ABTS 양이온 radical을 이용한 항산화 측정은 특유의 청록색이 탈색되는 것으로 친수 및 친유성 물질의 항산화 측정에 유효한 방법이다. Fig. 2에서 보는 바와같이 열수 또는 에탄올추출물 모두 DPPH 결과와 마찬가지로 각 추출물 농도 의존적으로 radical 소거능이증가하였다. ABTS의 IC50 값은 STE (1018.414 ㎏/mL)〉STW (461.019 ㎏/mL)〉AA(34.682 ㎏/mL) 순서로 나타났다. 따라서 부처손의 열수추출물이 에탄올추출물의 항산화 활성보다 더 우수한 것으로 확인되었다.

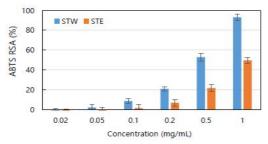
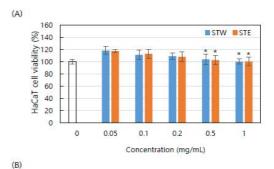


Fig. 2. ABTS radical scavenging activity of S. tamariscina extracts. The data are represented as the mean±S.D. of three independent experiments.

Jeong(2007)은 식용 및 약용 양치식물의 각 지상부 와 지하부 부위별 추출물의 항산화 활성을 보고하였으며 이 때 부처손 잎의 DPPH IC<sub>50</sub>은 724 μg/mL, ABTS IC<sub>50</sub>은 1175 μg/mL으로 본 연구에서 사용한 열수추출물의 radical 소거능이 매우 우수함을 확인하였다[18].

## 3.4 MTT assay를 이용한 세포독성

사람의 각질형성세포와 쥐의 대식세포에 부처손 추출물의 세포독성을 조사하기 위하여 각 추출물을 농도 별로 처리하고 24시간 후 MTT assay로 세포 생존율을 측정한 결과 Fig. 3과 같다. 그 결과 Fig. 3A에서 HaCaT 세포의 세포독성은 없었으며, RAW264.7 세포에 LPS(100 ng/mL) 처리에 의한 세포 생존율은 Fig. 3B에서와 같이 9.4%로 감소하였으며, 각 추출물의 세포독성은 큰 차이를 보이지 않았다. 또한 Shim(2018)은 6가지 다양한 용매를 사용한 부처손 추출물을 RAW264.7 세포에 처리하여 세포독성을 조사한 결과세포독성이 없다고 보고하여[19] 추후 항염증 효능 평가 시 0.05, 0.1, 0.2, 0.5, 1 mg/mL 농도 조건으로 수행하였다.



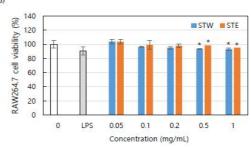


Fig. 3. Cell viability effects of *S. tamariscina* extracts on (A) human keratinocyte (HaCaT) and (B) murine macrophage (RAW264.7) cells. Data are expressed as mean±S.D. of triplicate experiments. Statistical significance represented as follows: \*p<0.05

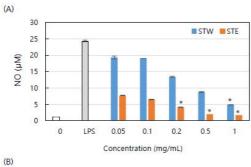
#### 3.5 항염증 활성

### 3.5.1 LPS에 의한 NO 및 TNF- $\alpha$ 생성억제

NO(Nitric oxide)는 활성화된 대식세포에서 iNOS 효소에 의해 생성되어 분비되는 가장 중요한 염증 매개물질 중 하나로 조직손상(tissue injury), 패혈쇼크 (septic shock), 세포자멸사(apoptosis) 등 체내에서 생리학적으로 해로운 반응을 일으킨다[20]. 부처손 에 탄올과 열수추출물이 NO 생성에 미치는 영향을 griess reagent assay로 수행한 결과 Fig. 4A와 같다. LPS에 의해 급격히 증가된 NO 생성은 에탄올과 열수추출물 농도 의존적으로 감소하였다. Woo(2005)는 본 연구에서 사용한 에탄올과 같은 유기용매인 메탄올로 추출한후 분리된 amentoflavone 성분에 의한 NO 생성 감소가 NF- κB 활성 억제에 따른 iNOS 발현 저해에 따른 것이라고 보고하여 부처손 추출물은 염증매개물질인 NO 저해 활성이 우수함을 알 수 있었다 [21].

또한 대표적인 전염증성 싸이토카인  $TNF-\alpha$ 의 분비에 각 추출물의 영향을 조사한 결과 Fig. 4B와 같다. 그결과 에탄올추출물의  $TNF-\alpha$  분비가 현저히 감소하였

다. 따라서 부처손 에탄올추출물과 열수추출물은 NO 생성과 TNF-α 분비를 억제하여 염증에 의한 피부 질환 개선에 활용도가 높을 것으로 생각된다.



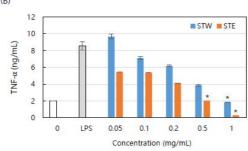


Fig. 4. The effects of S. tamariscina extracts on the (A) NO production and (B) TNF-α expression in LPS-induced RAW264.7 cells. Data are expressed as mean±S.D. of triplicate experiments. Statistical significance represented as follows: \*p(0.05)

### 3.5.2 COX-2와 PGE2 분비 억제

COX (Cyclooxygenase) 단백질은 PGE2를 생성하는 효소로 일정하게 발현되는 COX-1과 염증에 의해빠르게 유도되는 COX-2 두 가지가 존재한다. 특히 COX-2 억제제는 ROS와 NO를 감소시킨다고 알려져있어 최근에는 COX-2 선택적 억제제인 비스테로이드성 항염제(NSAIDs, Nonsteroidal anti-inflammatory drugs)개발 연구가 꾸준히 진행되고 있다[22]. 부처손 에탄올과 열수추출물에 의한 COX-2 단백질 발현과 PGE2 분비 정도를 western blot과 ELISA 분석법으로수행한 결과 Fig. 5와 같다. 그 결과 에탄올추출물과 열수추출물의 처리 농도에 비례하여 COX-2 발현과 PGE2의 분비가 급격하게 감소하는 것으로 나타났다. 이는 Won(2018)의 LPS (1 以內工)에 의한 COX-2 발현이부처손 추출물 농도에 비례하여 감소하고, 추출물 농도

300  $\mu$ g/mL 조건에서  $PGE_2$  분비가 세포만 배양한 대조군 수준으로 나타난 연구 결과와 본 연구가 유사함을 확인하였다[23].

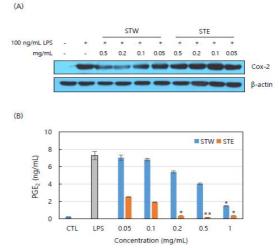
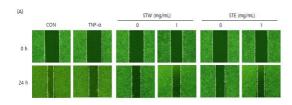


Fig. 5. The effects of S. tamariscina extracts on (A) COX-2 expression and (B) PGE<sub>2</sub> secretion in LPS-induced RAW264.7 cells. Data are expressed as mean±S.D. of triplicate experiments. Statistical significance represented as follows: \*p(0.05, \*\*p(0.01))

#### 3.6 피부재생 효과

피부의 면역 반응에 중요한 역할을 수행하는 각질형 성세포를 대상으로 염증과 같은 피부 손상 조건에서 치유되는 정도를 조사하여 아토피와 같은 피부염증을 개선하고자 하는 시도들이 주목을 받고 있다[24]. 따라서 HaCaT 세포에 TNF-α를 처리하고 부처손 추출물을 농도별로 처리 한 후 wound healing assay를 수행한결과 Fig. 6과 같다. HaCaT 세포만 배양한 대조군에서 wound area는 40%, 10 ng/mL의 TNF-α로 염증 환경을 유도한 처리군 에서는 60%로 나타났다. 그러나부처손 에탄올추출물 1 mg/mL 처리 시 wound area가 40%로 TNF-α 처리에 따른 세포 이동 억제가 회복됨을 확인하였다. 이러한 결과로 미루어 볼 때 염증에의한 피부 상처에 부처손 추출물은 피부 세포 이동을 촉진시킴으로써 피부 재생에 효과가 있을 것으로 기대된다[25].



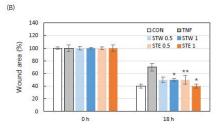


Fig. 6. The effects of S. tamariscina on scratched wound healing in TNF-α-stimulated HaCaT cells. (A) The microscopy image of the wound-healing assay at 18 h (magnification 10X). (B) The statistical analysis of the data was carried out by using t-test. Data are expressed as mean±S.D. of triplicate experiments. Statistical significance represented as follows: \*p(0.05, \*\*p(0.01)

#### 4. 결론

본 연구는 건조된 부처손에 두 가지 용매 열수(60℃) 또는 80%에탄올을 이용하여 추출한 결과 열수추출물 (STW)의 수율은 6.722%, 에탄올추출물은 8.819%로 확인되었다. 이를 대상으로 각각 추출물의 생리활성을 비교 평가하여 식물자원 유래 화장품 원료로서의 가능 성을 평가하고자 하였다. 항산화 효능 평가를 위해 DPPH, ABTS, 총 폴리페놀 함량 측정을 수행하였다. 그 결과 DPPH와 ABTS 라디컬 소거 활성은 열수추출 물과 에탄올추출물 농도 의존적으로 증가하였으며, 특 히 열수추출물에서 라디컬 소거능이 우수한 효능을 보 였다. 또한 총 폴리페놀 함량 측정 결과에서 열수추출 물이 38.108±0.766 mgGAE/g로 에탄올추출물 17.927±1.064 mgGAE/g 보다 2.1 배 높게 확인되었 다. LPS로 활성화된 쥐 대식세포 RAW264.7 세포에 부처손 추출물을 처리한 결과 LPS에 의해 유도된 염증 매개 물질 NO, 전 염증성 싸이토카인  $TNF-\alpha$ , 염증 유 도 효소 COX-2, 염증성 PGE2의 생성이 각각 에탄올 과 열수추출물에 의해 감소하였다. 게다가 wound healing assay를 통한 각질형성 세포의 이동성을 측정한 결과 두 가지 부처손 추출 모두  $TNF-\alpha$  처리에 따른 염증 손상 조건에서 HaCaT 세포의 상처 치유에 의한 피부 재생 능력을 증진시켜 피부 염증 질환 개선에 부처손 추출물이 유효할 수 있음을 제시한다.

## **REFERENCES**

- S. Y. Park & J. D. Kim. (2020). A study on recognition, current use and satisfaction with natural cosmetic products. *The Korean Society* of Cosmetics and Cosmetology, 10(2), 157-172.
- [2] S. J. Chu, J. S. Heo & K. h. Sohn. (2016). Selaginella tamariscina extract improves scopolamine-induced learning and memory deficits in rats. Korean Journal of Pharmacognosy, 47(4), 319-326.
- [3] X. K. Zheng et al. (2013). Antihyperlipidaemic and antioxidant effect of the total flavonoids in *Selaginella tamariscina* (Beauv.) Spring in diabetic mice. *Journal of Pharmacy And Pharmacology*, *65*, 757-766.

  DOI: 10.1111/jphp.12035
- [4] J. h. Hwang, H. Choi, E. R. Woo & D. G. Lee. (2013). Antibacterial effect of amentoflavone and its synergistic effect with antibiotics. *Journal of Microbiology and Biotechnology*, 23(7), 953-958. DOI: 10.4014/jmb.1302.02045
- [5] S. M. Choi, K. Y. Lee, E. J. Jang, S. M. Cha & J. D. Cha. (2019). Antimicrobial activity of Selaginella tamariscina extract against oral bacteria. Dental, Oral and Craniofacial Research, 5, 1-7.

DOI: 10.15761/DOCR.1000299

- [6] I. S. Lee, A. Nishikawa, F. Furukawa, K. Kasahara & S. U. Kim. (1999). Effects of *Selaginella tamariscina* on in vitro tumor cell growth, p53 expression, G1 arrest and *in vivo* gastric cell proliferation. *Cancer Letters*, 144(1), 93-99. DOI: 10.1016/s0304-3835(99)00202-5
- [7] M. S. Liu, C. T. Chien & T. P. Lin. (2008). Constitutive components and induced gene expression are involved in the desiccation tolerance of *Selaginella tamariscina*. *Plant Cell Physiology*, 49(4), 653-663. DOI: 10.1093/pcp/pcn040
- [8] W. Gu, A. Zhang, H. Sun, Y. Gu, J. Chao, R. Tian & J. A. Duan. (2019). Identifying resurrection

- genes through the differentially expressed genes between *Selaginella tamariscina* (Beauv.) spring and *Selaginella moellendorffii* Hieron under drought stress. *PLOS ONE, 10(13),* 1-20. DOI: 10.1371/journal.pone.0224765
- [9] AOAC. (1980). Official Methods of Analysis. 13 th ed., Association of Official Analytical Chemists. (pp. 376-384). Washington D.C, USA
- [10] M. S. Blois. (1958). Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature*, *181*, 1199-1200.
- [11] 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
- [12] A. Murakami, M. Nakashima, T. Koshiba, T. Maoka, H. Nishino, M. Yano, T. Sumida, O. K. Kim, K. Koshimizu and 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
- [13] C. C. Liang, A. Y. Park & J. L. Guan. (2007). In Vitro scratch assay: a convenient and inexpensive method for analysis of cell migration in vitro. Nature protocols, 2(2), 329-333. DOI: 10.1038/nprot.2007.30
- [14] X. K Zheng, Y. J. Li, L. Zhang, W. S. Feng & X. Zhang. (2011). Antihyperglycemic activity of Selaginella tamariscina (Beauv.)Spring. Journal of Ethnopharmacology, 133, 531-537. DOI: 10.1016/j.jep.2010.10.028
- [15] D. Sinha. (2019). Pharmacological importance of polyphenols: a review. *International Research Journal of Pharmacy*, 10(9), 13-23. DOI: 10.7897/2230-8407.1009255
- [16] G. H. Kim, S. Y. Lee & A. R. Lee. (2019). The effect of Selaginella tamariscina on inhibition of pancreatic lipase and lipid accumulation. The Korean Journal of Food and Nutrition, 32(1), 27-32.
  - DOI: 10.9799/ksfan.2019.32.1.027
- [17] B. C. Lee, G. S. Sim, J. H. Kim, J. H. Kim & H. B. Pyo. (2006). Effect of the processed *Selaginella tamariscina* on antioxidation and inhibition of Matrix Metalloproteinase. *Journal of the Society of Cosmetic Scientists of Korea, 32(2),* 69-74.
- [18] J. A. Jeong, S. H. Kwon & C. H. Lee. (2007).

- Screening for antioxidative activities of extracts from aerial and underground parts of some edible and medicinal ferns. *Korean Journal of Plant Resources*, 20(2), 185-192.
- [19] S. Y. Shim, S. G. Lee & M. Lee. (2018). Biflavonoids isolated from Selaginella tamarisicina and their anti-inflammatory activities via ERK 1/2 signaling. Molecules, 23(4), 926-938.
  - DOI: 10.3390/molecules23040926.
- [20] C. Cao, M. Yu & Y. Chai. (2019). Pathological alteration and therapeutic implications of sepsis-induced immune cell apoptosis. *Cell Death & Disease*, 10(10), 782-796. DOI: 10.1038/s41419-019-2015-1
- [21] E. R. Woo, J. Y. Lee, I. J. Cho & K. W. Kang. (2005). Amentoflavone inhibits the induction of nitric oxide synthase by inhibiting NF-κB activation in macrophages. *Pharmacological Research*, 51(6), 539-546. DOI: 10.1016/j.phrs.2005.02.002
- [22] Q. Wang, Y. He, Y. Shen, Q. Zhang, D. Chen, C. Zuo, J. Qin, H. Wang, J. Wang & Y. Yu. (2014). Vitamin D Inhibits COX-2 Expression and Inflammatory Response by Targeting Thioesterase Superfamily Member. *Journal of Biological Chemistry*, 289(17), 11681-11694. DOI: 10.1074/jbc.M113.517581
- [23] A. N Won, S. A. Kim, J. Y. Ahn, J. H. Han, C. H. Kim, J. H. Lee & D. I. Kim. (2018). HO-1 induction by Selaginella tamarisicina extract inhibits inflammatory response in lipopolysaccharide-stimulated RAW264.7 macrophages. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine, 2018(11), 1-10. DOI: 10.1155/2018/7816923
- [24] V. Prasad & A. K. Dorle. (2006). Evaluation of ghee based formulation for wound healing activity, *Journal of Ethnopharmacology*, 107(1), 38-47.
  - DOI: 10.1016/j.jep.2006.02.006.
- [25] M. J. Jeon et al. (2017). Anti-inflammatory effects and improving atopic dermatitis of ethanol extracts of red sea cucumber. Korean Society for Biotechnology and Biogengineering Journal, 32(4), 335-341.
  - DOI: 10.7841/ksbbj.2017.32.4.335

# 김 유 진(Yu-Jin Kim)

# [학생회원]



• 2019년 9월~현재 : 서경대학교 미 용예술석사

· 2019년 7월~현재 : 살롱드조이 뷰

티샵 원장

· 2021년 3월~현재 : 서경대학교 평

생교육원 시간 강사

· 관심분야 : 피부미용, 천연소재, 미용교육 · E-Mail: charmante0222@gmail.com

# 이 지 안(Ji-An Lee)

### [정회원]



· 2007년 2월 : 서경대학교 대학원 미용예술학석사

· 2012년 2월 : 원광대학교 대학원

미용학박사

· 2013년 9월~현재 : 서경대학교 미 용예술대학 뷰티테라피 & 메이크업

학과 교수

· 관심분야 : 피부미용, 화장품, K-Beauty, 미용교육

· E-Mail: jessicajslee@naver.com