

## 황금 에탄올 및 열수 추출물의 피부 개선 연구

조성미<sup>†</sup> · 원유림 · 박진오 · 이혜자<sup>††</sup>

대봉엘에스(주) 제주천연물소재응용연구소  
(2023년 4월 28일 접수, 2023년 6월 27일 수정, 2023년 6월 28일 채택)

### A Study on the Skin Improvement of Ethanol and Hot Water Extracts from *Scutellaria baicalensis*

Seong Mi Cho<sup>†</sup>, Yu Rim Won, Jin Oh Park, and Hye Ja Lee<sup>††</sup>

Natural Products Laboratory, Daebong LS Co., Ltd., 40, Cheomdan-ro 8-gil,  
Jeju-si, Jeju-do 63243, Korea

(Received April 28, 2023; Revised June 27, 2023; Accepted June 28, 2023)

**요약:** 본 연구에서는 황금 70% 에탄올 및 열수 추출물의 항산화, 항염, 미백, 보습, 세포 재생 및 자외선 및 블루라이트에 대한 세포 보호 효능을 확인하였다. 항산화 실험 결과, 70% 에탄올 및 열수 추출물 모두 DPPH 라디칼 소거 활성을 나타내었으며, 항염 실험 결과, 70% 에탄올 및 열수 추출물 모두 NO, 전염증성 cytokine (IL-6) 및 PGE<sub>2</sub>의 생성을 억제하는 것을 확인하였다. 미백 실험 결과, 70% 에탄올 추출물과 열수 추출물 모두 멜라닌 생성을 저해하였으며, 보습 실험 결과, 70% 에탄올 및 열수 추출물 모두 보습 인자인 HA의 생성량이 증가시키는 것을 확인하였다. UVB 및 블루라이트에 대한 세포 보호 효과를 분석한 결과, 70% 에탄올 추출물과 열수 추출물 모두 UVB에 대한 세포 보호 효능을 나타내었으며, 70% 에탄올 추출물은 블루라이트에 대한 세포 보호 효능 또한 나타내었다. 또한, 세포 이동 및 증식 효능을 분석한 결과, 70% 에탄올 추출물에서 세포 성장이 촉진되는 것을 확인하였다. 이러한 결과를 바탕으로 황금 70% 에탄올 추출물, 열수 추출물은 항산화, 항염, 미백, 피부재생, 자외선 및 블루라이트에 대한 세포 보호 효과가 있는 화장품 관련 천연소재로써의 활용가능성이 있는 것으로 사료된다.

**Abstract:** In this study, we investigated the antioxidant activity, anti-inflammatory activity, whitening, moisturizing, wound-healing, cell proliferation and cell protective effects of 70% EtOH and hot water extract from *Scutellaria baicalensis*. For the anti-oxidative test, the 70% EtOH and hot water extract showed DPPH radical scavenging activities. In the anti-inflammatory tests, 70% EtOH and hot water extract inhibited the production of NO, pro-inflammatory cytokine (IL-6) and prostaglandin (PGE<sub>2</sub>). In addition, it was confirmed that the 70% EtOH and hot water extract inhibited the melanin production, and increased production of hyaluronic acid (HA), a moisturizing factor. As a result of cell migration and proliferation assay, 70% EtOH extract promoted the cell growth in HaCaT cell. Additionally, 70% EtOH and hot water extract showed cell protective effects against UVB, and 70% EtOH extract also showed cell protective effects against blue light. Based on these results, it is concluded that the 70% EtOH and hot water extract from *Scutellaria baicalensis* could be potentially applicable as anti-oxidative, anti-inflammation, whitening, moisturizing, wound-healing, cell proliferation and cell protective effects in cosmetic natural materials.

**Keywords:** *Scutellaria baicalensis*, anti-inflammatory, moisturizing, wound healing, UVB

†주 저자 (e-mail: sm.cho@daebongls.co.kr)  
call: 064-751-8773

†† 교신저자 (e-mail: hj4170@daebongls.co.kr)  
call: 064-751-8773

## 1. 서 론

피부는 신체의 가장 바깥쪽에 위치하며 다양한 외부 인자로부터 신체를 보호하는 역할을 한다[1]. 피부에 영향을 미치는 대표적인 외부 인자로는 자외선이 있으며, 자외선에 피부가 지속적으로 노출되면 활성산소종(ROS)의 생성이 촉진되어 핵산, 단백질, 지방 등과 같은 세포 구성성분에 산화적 손상을 일으켜 세포사멸을 유도하게 된다[2]. 또한, 최근 피부에 영향을 미치는 외부 인자로 블루라이트에 관심이 쏠리고 있다. 블루라이트는 가시광선 영역 중에서도 가장 파장이 짧고 강한 에너지를 지녔으며, 태양 뿐만 아니라 스마트폰, 컴퓨터, LED 조명에서도 방출된다[3]. 블루라이트는 자외선보다 더 깊은 피부 층에 침투하며, 활성산소를 유발하고 피부 노화를 촉진시키며, 멜라닌 세포를 자극해 기미, 색소 침착을 일으키는 것으로 보고되어 있다[4]. 또한, 이러한 외부 요인들로 인해 체내에 과량의 활성산소가 생성 및 축적되게 되면 생체분자들과 빠르게 반응하여 단백질 변성, DNA 손상 등을 일으켜 노화, 암, 염증의 진행을 촉진시키는 것으로 알려져 있다[5].

염증반응은 생체 내 항원침입이나 조직손상과 같은 응급상황이 발생하였을 때 면역세포에 의해 수행되는 일련의 생체보호반응이지만, 염증 반응이 과도하거나 지속될 경우 주변조직의 손상과 더불어 생체기능에 이상을 가져와 질병의 악화 또는 새로운 질병을 야기한다[6]. 박테리아와 같은 세균이 체내로 침투하면 세균 세포막 성분인 lipopolysaccharid (LPS) 등에 의해 대식세포가 자극을 받아 활성화되어 nitric oxide (NO), prostaglandin E<sub>2</sub> (PGE<sub>2</sub>) interleukin-6 (IL-6)과 같은 염증매개 물질들을 분비한다[7]. 이 중 NO는 혈관 확장, 세포 내 항상성 유지, 항암 작용 등에 관여하는 신호전달자이지만, 과량으로 존재할 경우 만성염증, 암의 진행 및 악화 등을 유발하게 된다[8,9].

멜라닌은 인간의 피부, 모발 및 눈동자 등의 색을 결정하는 색소 성분으로 인체 표피층에 있는 멜라닌세포(melanocyte)에서 생성되어 자외선으로부터 피부세포를 보호하는 역할을 한다[10,11]. 하지만, 과도한 멜라닌의 생성은 피부의 색소 침착을 일으키고 피부암과 같은 질병을 초래하는 것으로 알려져 있다[12]. 기존 미백제들은 작용기전에 따라 ascorbic acid, kojic acid, arbutin과 같은 tyrosinase 저해제, 자외선 흡수제나 산란제 등이 있지만 피부자극성이나 안전성에 문제가 있어 사용량이 제한되고 있는 실정이다[13].

체내 수분을 유지하는 보습 장벽은 천연 보습인자

(natural moisturizing factor, NMF)를 통해 이루어지며, 가장 대표적인 보습 인자로는 hyaluronic acid (HA)가 있다. HA는 피부의 세포외기질에 많이 존재하는 천연 물질로 단위 무게 대비 1,000배 이상의 수분을 함유하여 수분결합력이 뛰어나 보습 작용 및 수분 운반에 탁월한 역할을 하는 것으로 알려져 있다[14]. 각질 형성 세포의 기능 저하로 천연 보습인자의 합성이 저하되면 피부 장벽의 결함이 발생하게 된다. 이는 피부의 수분량 감소, 표피의 위축 및 과각질화, 아토피피부염, 주름 형성과 같은 피부 노화 및 질병을 유발하게 된다[15-19].

또한, 물리적·화학적 자극에 의해 피부가 손상되면 각질 형성세포는 사이토카인 등의 인자들을 분비하여 기저막 성분을 생성하며, 손상 부위로 이동(migration)하는 동시에 세포의 증식(proliferation)을 유도한다[20]. 따라서 피부조직의 재생회복 및 상처 치유에 각질 형성 세포의 증식은 중요한 역할을 한다고 볼 수 있다.

따라서 항산화, 항염, 미백, 피부 보호 및 재생 효과를 갖는 천연 소재의 개발은 노화, 염증, 아토피 등의 여러 피부 질환을 예방 및 개선할 수 있어 화장품 소재로서 활용 가치가 크다고 볼 수 있다.

황금(*Scutellaria baicalensis*, *S. baicalensis*)은 꿀풀과(Lamiaceae)에 속하는 식물로 주로 중국과 우리나라 각지에서 자생 또는 재배되고 있으며, 주로 주피를 제거한 뿌리 그 자체를 한약으로 사용하고 있다[21]. 예로부터 피부소양증, 피부질환, 불면증, 신경통, 고혈압, 구내염, 번비, 위염 급 만성 위장염 치료에 폭넓게 사용되어 왔으며, 항천식작용, 항암작용, 항균작용, 면역조절기능 등이 보고되어 있다[22,23]. 따라서, 본 연구에서는 황금의 추출용매로 70% 에탄올과 열수를 사용하여 황금 추출물을 제조한 뒤, 항산화, 항염, 미백, 보습, 세포 재생 및 자외선 및 블루라이트에 대한 세포 보호 효능을 분석하여 향후 식품 및 화장품 관련 천연 소재 개발을 위한 기초 연구용 자료를 제공하고자 하였다.

## 2. 재료 및 방법

### 2.1. 황금 70% 에탄올 및 열수 추출물 제조

황금은 제주약초영농조합법인(Korea)에서 건조한 국내산 황금을 구입하여 사용하였다. 에탄올 추출물은 황금 100 g을 70% 에탄올 1 L를 이용하여 실온에서 24 h 추출 후 여과지를 이용하여 불순물을 제거 후 감압 농축하여 파우더를 제조 후 실험에 이용하였다. 열수 추출물은 황금

100 g을 정제수 1 L를 이용하여 60 °C에서 2 h 추출 후 여과지를 이용하여 불순물을 제거 후 감압 농축하여 파우더를 제조 후 실험에 이용하였다.

## 2.2. DPPH 라디칼 소거 활성 평가

2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) 라디칼 소거 활성 실험은 Blois 방법[22]을 응용하여 실시하였다. 96 well plate에 농도별로 희석한 시료 100  $\mu$ L와 0.3 mM DPPH reagent 100  $\mu$ L을 혼합하여 실온에서 20 min 반응시킨 후, 517 nm에서 흡광도를 측정하였다. 각 시료의 소거 활성 (scavenging activity)은 백분율이 50%일 때의 농도(SC<sub>50</sub>)를 계산하였으며, 양성 대조군으로는 l-ascorbic acid (Asc.A, Sigma, USA)를 사용하였다.

## 2.3. 세포배양

Murine macrophage cell line인 RAW264.7 cell은 American Type Cell Culture (ATCC, USA)로부터, human keratinocyte cell line인 HaCaT cell은 Cell Lines Service (CLS, Germany)로부터, murine melanoma cell line인 B16F10 cell은 American Type Cell Culture (ATCC, USA)로부터 분양받아 실험에 사용하였다. RAW264.7 cell, HaCaT cell, B16F10 cell 모두 10% (v/v) fetal bovin serum (FBS), 1% (v/v) penicillin이 함유된 dulbecco's modified eagle's medium (DMEM) 배지를 사용하여 37 °C, 5% CO<sub>2</sub> 조건으로 배양하여 실험에 사용하였으며, 계대 배양은 2 ~ 3 일 간격으로 실시하였다.

## 2.4. 세포생존율 측정

RAW264.7 cell을 24 well plate에 1.5 × 10<sup>5</sup> cells/well로 분주하여 24 h 전배양한 뒤, 시료와 LPS 1  $\mu$ g/mL이 포함된 배지로 교환하여 24 h 배양하였다. HaCaT cell은 24 well plate에 1 × 10<sup>5</sup> cells/well로 분주하여 24 h 전배양한 뒤, 시료를 농도별로 처리하여 24 h 배양하였다. B16F10 cell은 24 well plate에 6 × 10<sup>4</sup> cells/well로 분주하여 24 h 전배양한 뒤, 시료를 농도별로 처리하여 72 h 배양하였다. 각 세포를 상기 기술된 시간만큼 배양 후, 배지를 제거하고 새로운 배지로 교환한 뒤 EZ-Cytox reagent (DoGenBio, Korea)를 배지에 10% (v/v)로 첨가하여 1 h 배양하였다. 이후, 96 well에 100  $\mu$ L씩 옮겨 microplate reader (VersaMax, Molecular Devices, USA)를 이용하여 450 nm에서 흡광도를 측정하였다.

## 2.5. 전염증성 지표 생성 저해 활성 평가

### 2.5.1. Nitric Oxide (NO) 생성 저해 활성 평가

Nitric oxide 생성량 측정은 Griess 시험법[23]를 이용하여 배양액 중에 존재하는 NO<sub>2</sub>의 형태로 측정하였다. RAW264.7 cell을 24 well plate에 1.5 × 10<sup>5</sup> cells/well로 분주하여 24 h 전배양한 뒤, 시료와 LPS 1  $\mu$ g/mL이 포함된 배지로 교환하여 24 h 배양하였다. 배양 후 상등액을 취해 96 well plate에 옮기고, Griess reagent (Sigma, USA)와 1 : 1로 혼합하여 실온에서 15 min 반응시킨 후 540 nm에서 흡광도를 측정하였다. 양성대조군은 2-amino-4-methylpyridin (2AM, Sigma, USA)을 사용하였다[26].

### 2.5.2. PGE<sub>2</sub> 및 전염증성 cytokine 생성 저해 활성 평가

PGE<sub>2</sub> 및 cytokine 발현량 측정은 sandwich enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA)를 이용하여 정량하였다. RAW264.7 cell을 24 well plate에 1.5 × 10<sup>5</sup> cells/well로 분주하여 24 h 전배양한 뒤, 시료와 LPS 1  $\mu$ g/mL이 포함된 배지로 교환하여 24 h 배양하였다. 배양 후 상등액을 취해 각각의 ELISA kit manual에 따라 PGE<sub>2</sub> 및 IL-6 발현량을 측정하였다. ELISA kit는 PGE<sub>2</sub>, IL-6 ELISA Kit (R&D systems, USA)를 이용하였다. 양성대조군으로 dexamethasone (Dex, Sigma, USA)을 사용하였다[27].

## 2.6. Hyaluronic Acid (HA) 생성량 평가

HaCaT cell을 24 well plate에 1 × 10<sup>5</sup> cells/well로 분주하여 24 h 전배양한 뒤 serum-free 배지에 시료를 농도별로 첨가하여 24 h 배양하였다. 배양 후 상등액을 취해 hyaluronan quantikine ELISA Kit (R&D systems, USA)를 이용하여 해당 manual에 따라 실험을 진행하였다. 양성대조군으로 N-acetyl- D-glucosamine (NAG, Sigma, USA)을 사용하였다[28].

## 2.7. 멜라닌 생성 저해 활성 평가

B16F10 cell을 6 well plate에 6 × 10<sup>4</sup> cells/well로 분주하여 24 h 전배양한 뒤 시료와  $\alpha$ -MSH 200 nM이 포함된 배지로 교환하여 72 h 배양하였다. 이후 배지를 제거하고 trypsin-EDTA를 처리하여 세포를 회수하여 10,000 rpm에서 10 min 동안 원심분리하였다. 상등액을 제거한 후 1 N NaOH를 가하여 55 °C에서 1 h 반응시켜 세포 내 멜라닌을 녹여낸 뒤 490 nm에서 흡광도를 측정하였다. 양성대조군으로는 arbutin (Sigma, USA)을 사용하였다[29].

## 2.8. 창상치유 효과

### 2.8.1. 세포 이동 평가(Scrath Wound-healing Assay)

HaCaT cell을 24 well plate에  $1.5 \times 10^5$  cells/well로 분주하여 24 h 전배양한 뒤 세포 창상 유도 후 1% FBS (v/v) 배지에 시료를 농도별로 처리하여 24 h 배양하였다. 이후, 현미경을 이용하여 세포의 이동 정도를 관찰하였다.

### 2.8.2. 세포 증식 효능 평가(Cell Proliferation Assay)

HaCaT cell을 24 well plate에  $5 \times 10^4$  cells/well로 분주하여 24 h 전배양한 뒤 serum-free 배지에 시료를 농도별로 처리하여 24 h 배양하였다. 이후, 배지를 제거하고 새로운 배지로 교환한 뒤, EZ-Cytox reagent를 이용하여 세포 생존율을 측정하여 세포 재생 효과를 평가하였다.

## 2.9. 세포 보호 효과

### 2.9.1. 자외선에 대한 세포 보호 효과 평가

HaCaT cell을 24 well plate에  $1 \times 10^5$  cells/well로 분주하여 24 h 전배양한 뒤 serum-free 배지에 시료를 농도별로 처리하여 24 h 배양하였다. 배양이 끝난 후 PBS로 2 회 세척한 뒤 각 well에 PBS를 넣고 UV Crosslinker (BLX-312, Vilber Lourma, France)를 이용하여  $300 \text{ mJ/cm}^2$ 의 UVB를 조사하였다. 이후, serum-free 배지로 교환하여 6 h 배양 후 EZ-Cytox reagent를 이용하여 세포 생존율을 측정하였다. 양성대조군으로 quercetin (Sigma, USA)을 사용하였다[30].

### 2.9.2. 블루라이트에 대한 세포 보호 효과 평가

HaCaT cell을 24 well plate에  $1 \times 10^5$  cells/well로 분주하여 24 h 전배양한 뒤 serum-free 배지에 시료를 농도별로

처리한 후, 460 ~ 465 nm 파장의 블루라이트를 방출하는 LED (56 LED Blue White Ring Light, SRATE, China)를 사용하여 10 mW로 2 h 동안 블루라이트를 조사하였다. 이를 48 h 배양한 뒤, EZ-Cytox reagent를 이용하여 세포 생존율을 측정하였다.

## 2.10. 통계처리

모든 실험은 3 회 반복하여 실시하였으며, 실험결과는 평균과 표준편차로 나타내었다. 또한 student's *t*-test로 통계학적 유의성을 검증하였다.

## 3. 결과 및 고찰

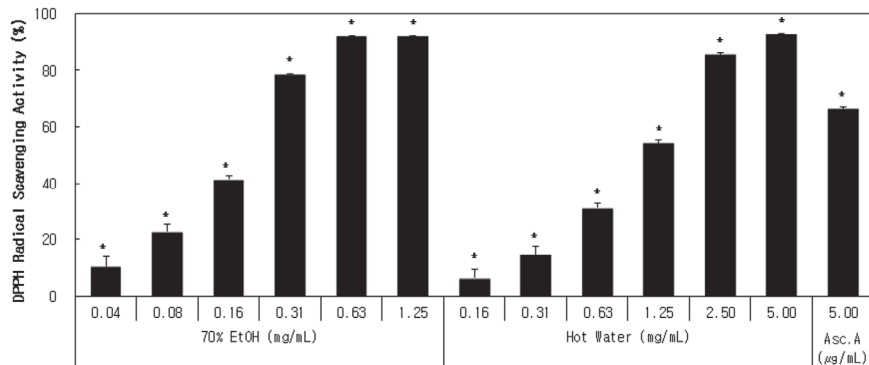
### 3.1. 황금 추출물의 DPPH Radical 소거 활성

황금 추출물의 항산화 효능을 확인하기 위하여 DPPH radical 소거능을 평가하였다. 실험 결과, 70% 에탄올 추출물과 열수 추출물 모두 농도의존적인 DPPH 라디칼 소거 활성이 나타났으며, 각각의  $SC_{50}$ 값은 0.19 mg/mL, 1.15 mg/mL로 나타났다(Figure 1).

### 3.2. 황금 추출물의 염증성인자 생성 저해 활성

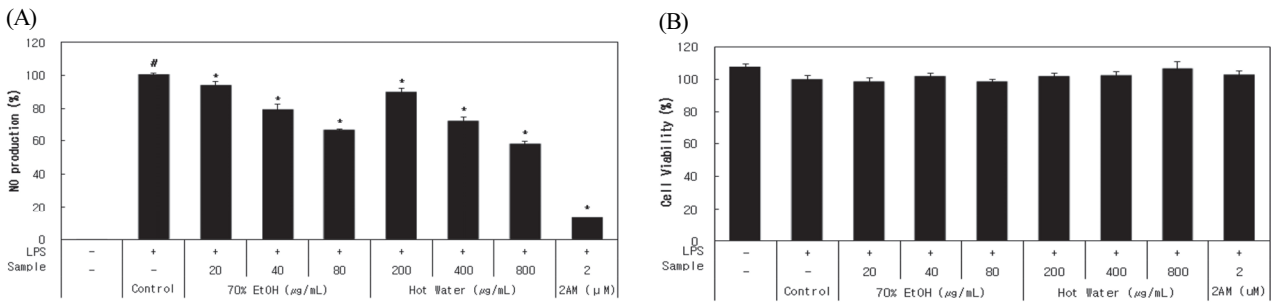
#### 3.2.1. 황금 추출물의 NO 생성 저해 활성

황금 추출물의 항염 효능을 확인하기 위하여, LPS로 자극된 RAW264.7 cell을 이용하여 NO 생성 저해 활성을 측정하였다. 실험 결과, 70% 에탄올 추출물 20, 40, 80  $\mu\text{g/mL}$  농도에서 6.03, 21.03, 33.93%의 NO 생성량을, 열수 추출물 200, 400, 800  $\mu\text{g/mL}$  농도에서 10.48, 27.88, 41.78%의 NO 생성량을 저해하는 것을 확인하였다(Figure 2).



**Figure 1.** DPPH radical scavenging activities of 70% EtOH and hot water extract from *Scutellaria baicalensis*. The data represent the means  $\pm$  SD of triplicate experiments. \*  $p < 0.05$  compared with control group.





**Figure 2.** Effects of 70% EtOH and hot water extract from *S. baicalensis* on NO production (A) and cell viability (B) in LPS-stimulated RAW264.7 cells. The data represent the means ± SD of triplicate experiments. <sup>#</sup>*p* < 0.05 compared with vehicle group; <sup>\*</sup>*p* < 0.05 compared with control group.

### 3.2.2. 황금 추출물의 PGE<sub>2</sub> 및 전염증성 Cytokine (IL-6) 생성 저해 활성

황금 추출물의 추가적인 항염 활성 기전을 확인하기 위하여, ELISA kit를 이용하여 PGE<sub>2</sub> 및 전염증성 cytokine (IL-6) 생성 저해 활성을 평가하였다. PGE<sub>2</sub> 생성량 측정 실험 결과, 70% 에탄올 추출물 2.5, 5.0, 10.0 µg/mL 농도에서 37.46, 54.18, 67.12%의 PGE<sub>2</sub> 생성을, 열수 추출물 25, 50, 100 µg/mL 농도에서 32.15, 50.23, 62.57%의 PGE<sub>2</sub> 생성을 저해하는 것을 확인하였다(Figure 3A).

IL-6 생성량 측정 실험 결과, 70% 에탄올 추출물 60, 80 µg/mL 농도에서 4.75, 14.35%의 IL-6 생성을, 열수 추출물 400, 600, 800 µg/mL 농도에서 22.42, 31.81, 39.27%의 IL-6 생성을 저해하는 것을 확인하였다(Figure 3B).

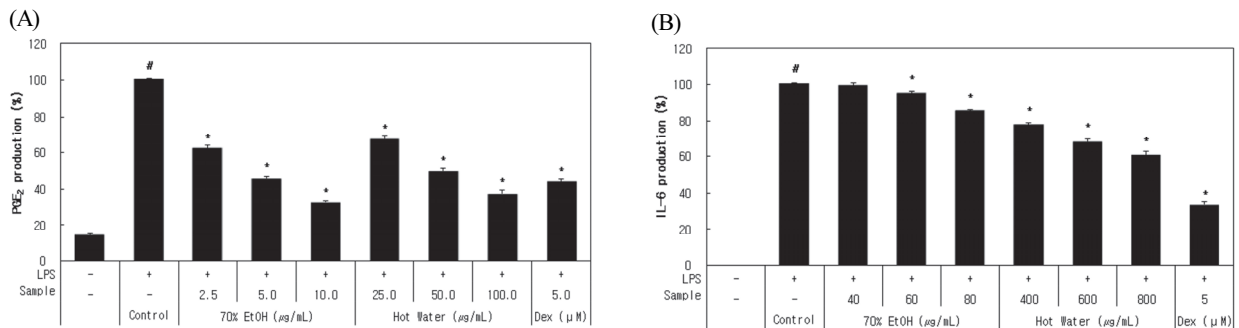
특히, 70% 에탄올 추출물은 저농도(2.5 ~ 10 µg/mL)에서 PGE<sub>2</sub> 생성을 농도 의존적으로 저해하는 효능이 우수함을 확인하였다(Figure 3A).

### 3.3. 황금 추출물의 멜라닌 합성 저해 효과

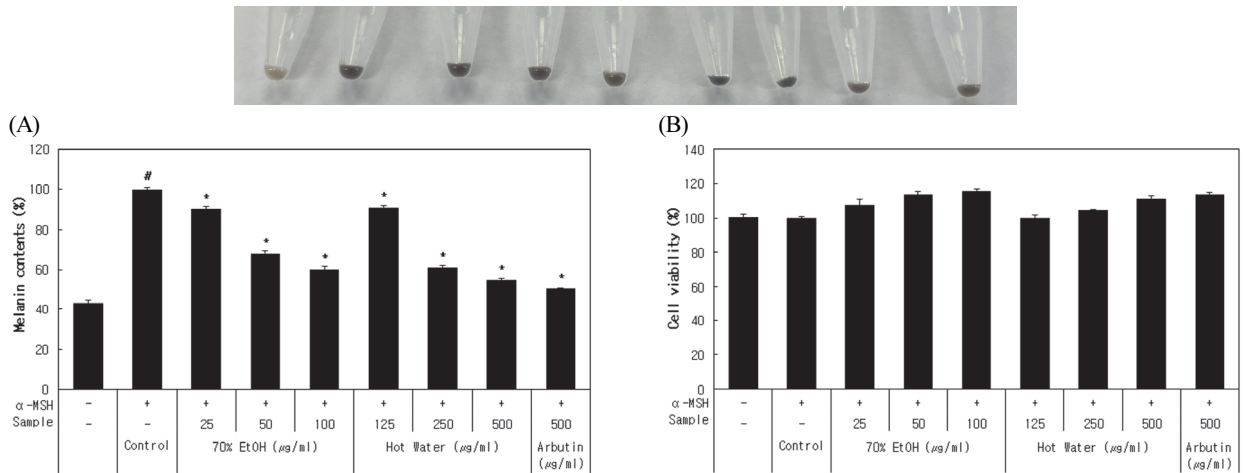
황금 추출물의 미백 효과를 확인하기 위하여, B16F10 cell을 이용하여 멜라닌 생성 저해 활성을 평가하였다. 실험 결과, 70% 에탄올 추출물 25, 50, 100 µg/mL 농도에서 20.45, 31.81, 38.51%의 멜라닌 생성량을, 열수 추출물 125, 250, 500 µg/mL 농도에서 19.57, 37.32, 56.84%의 멜라닌 생성량을 저해하는 것을 확인하였다(Figure 4).

### 3.4. 황금 추출물의 HA 합성 증진 효과

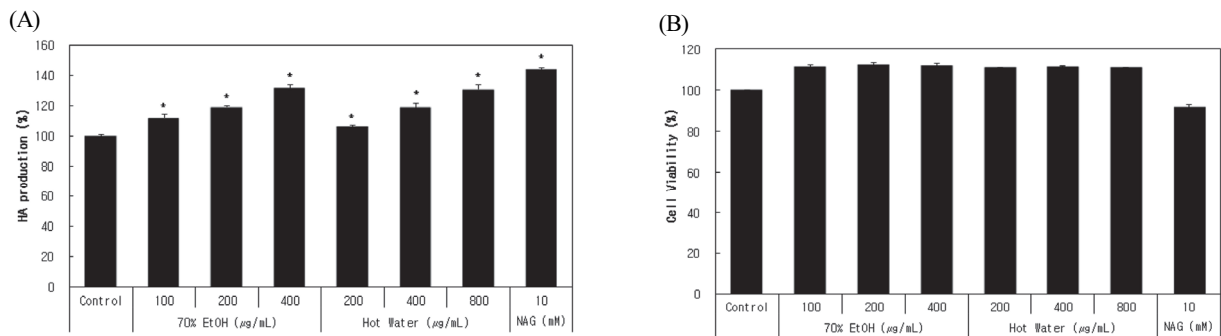
황금 추출물의 보습 효과를 확인하기 위하여, HaCaT cell을 이용하여 HA 생성량을 평가하였다. 실험 결과, 70% 에탄올 추출물 100, 200, 400 µg/mL 농도에서 12.06, 19.24, 31.68%의 HA 생성량을, 열수 추출물 200, 400, 800 µg/mL 농도에서 6.37, 19.02, 30.98%의 HA 생성량을 증가시키는 것을 확인하였다(Figure 5).



**Figure 3.** Effects of 70% EtOH and hot water extract from *S. baicalensis* on PGE<sub>2</sub> production (A) and IL-6 production (B) in LPS-stimulated RAW264.7 cells. The data represent the means ± SD of triplicate experiments. <sup>#</sup>*p* < 0.05 compared with vehicle group; <sup>\*</sup>*p* < 0.05 compared with control group.



**Figure 4.** Effects of 70% EtOH and hot water extract from *S. baicalensis* on Melanin contents (A) and cell viability (B) in  $\alpha$ -MSH-induced B16F10 cells. The data represent the means  $\pm$  SD of triplicate experiments. <sup>#</sup> $p < 0.05$  compared with vehicle group; <sup>\*</sup> $p < 0.05$  compared with control group.



**Figure 5.** Effects of 70% EtOH and hot water extract from *S. baicalensis* on HA production (A) and cell viability (B) in HaCaT cells. The data represent the means  $\pm$  SD of triplicate experiments. <sup>\*</sup> $p < 0.05$  compared with control group.

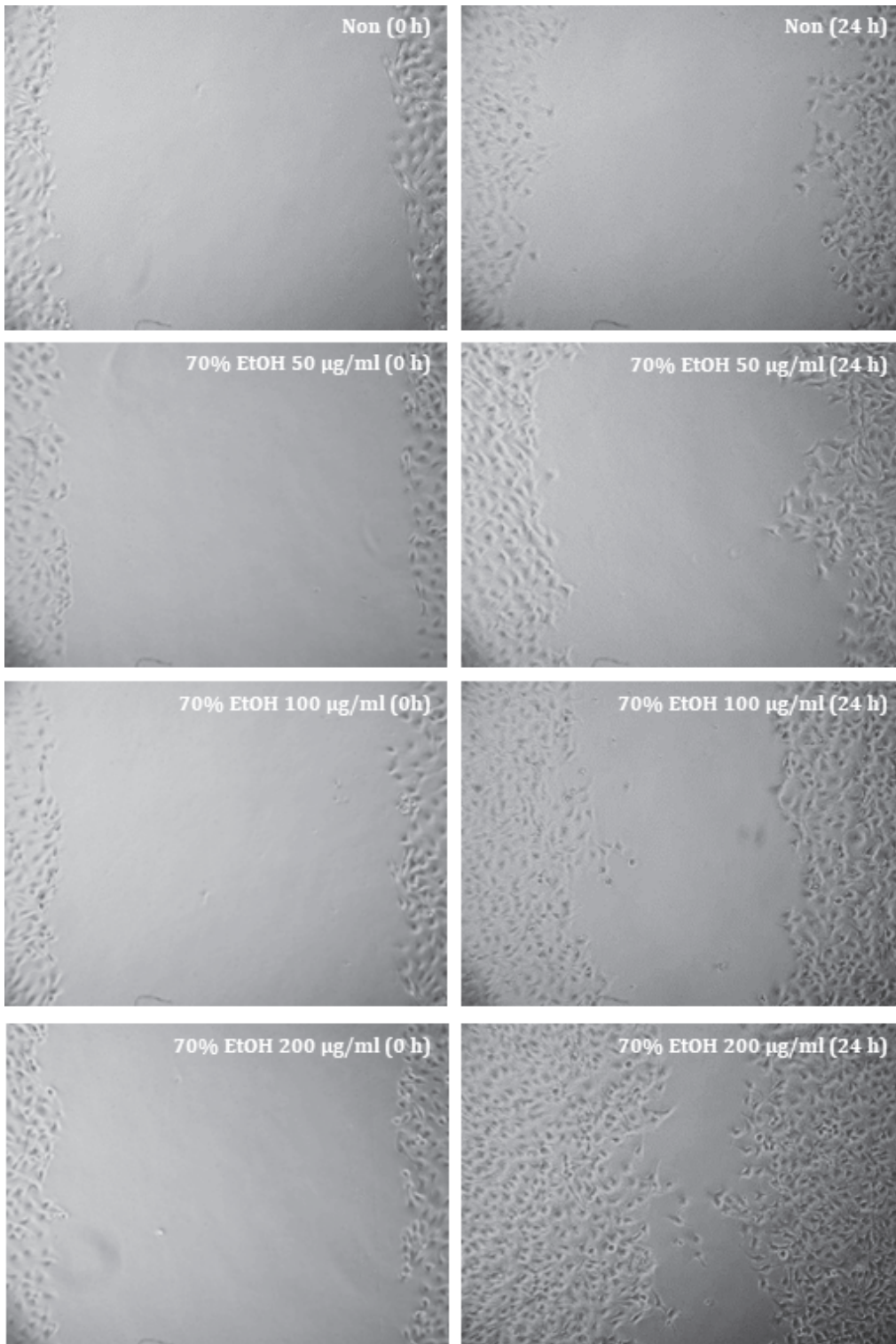
### 3.5. 황금 추출물의 창상치유 효과

황금 추출물의 창상치유 효과를 확인하기 위하여, HaCaT cell을 이용하여 wound-healing assay와 cell proliferation assay를 진행하였다. 창상유도에 의한 세포이동(wound-healing assay) 실험 결과, 농도 의존적으로 cell migration이 증가되는 것을 확인하였으며, 이때 세포 증식(cell proliferation) 실험 결과, 70 % 에탄올 추출물 50, 100, 200  $\mu$ g/mL 농도에서 control 대비 15.71, 20.97, 24.16%의 세포 생존율이 증가한 것을 확인하였다(Figure 6, 7). 따로, 열수 추출물에 의한 창상유도에 의한 세포이동 증가 및 세포 증식은 실험 진행하였으나 효과는 확인하지 못하였다(Data Not Shown).

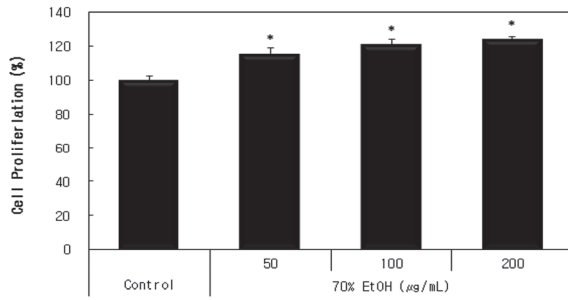
### 3.6. 피부세포 보호 효과

#### 3.6.1. UVB에 대한 피부 세포 보호 효과

UVB에 대한 황금추출물의 세포 보호 효과를 확인하기 위하여, HaCaT cell에 황금 추출물을 처리하고 UVB로 손상을 유도한 뒤 세포 생존율을 측정하였다. HaCaT cell에 UVB를 조사한 결과 비조사군에 비해 유의하게 세포 생존율이 저해된 것을 확인하였으며, 70% 에탄올 추출물 50, 100, 250  $\mu$ g/mL 농도에서 control 대비 10.77, 22.40, 24.58%의 세포 보호 효과가, 열수 추출물 10, 100, 500  $\mu$ g/mL 농도에서 control 대비 8.99, 18.50, 22.15%의 세포 보호 효과가 나타나는 것을 확인하였다(Figure 8A, B).



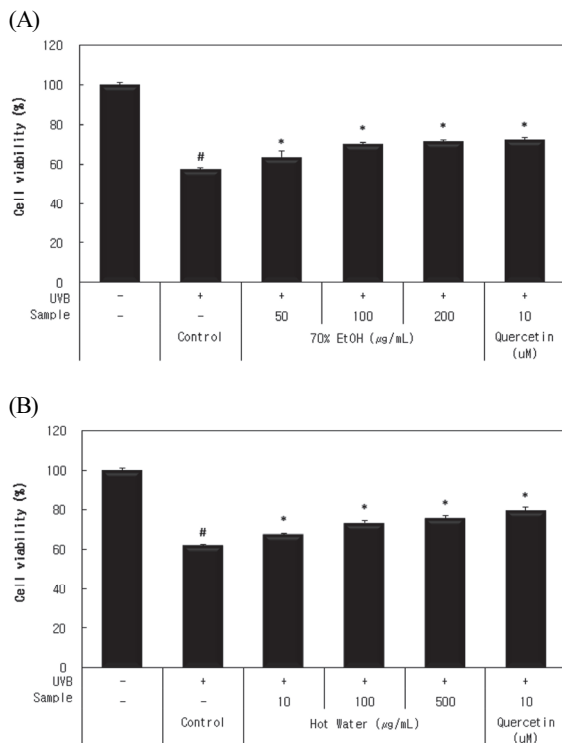
**Figure 6.** Effect of 70% EtOH extract from *S. baicalensis* on accelerated cell wound healing of HaCaT cells in the scratch wound-healing assay. A scratch was produced in a monolayer of HaCaT cells and photographs were taken after 24 h of treatment with 70% EtOH extract from *S. baicalensis*.



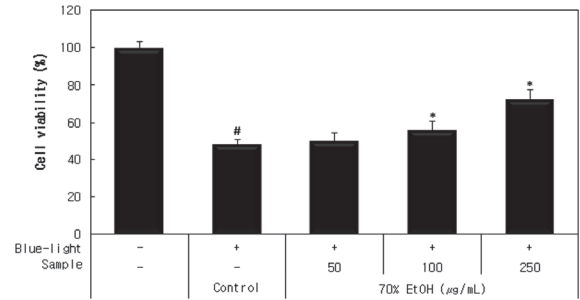
**Figure 7.** Effect of 70% EtOH extract from *S. baicalensis* on cell proliferation of HaCaT cells at 24 h. The data represent the means ± SD of triplicate experiments. \*  $p < 0.05$  compared with control group.

3.6.2. Blue-light에 대한 피부 세포 보호 효과

블루라이트에 대한 황금추출물의 세포 보호 효과를 확인하기 위하여, HaCaT cell에 황금 추출물을 처리하고 블



**Figure 8.** Cell protective effect of 70% EtOH extract (A), Hot water extract (B) from *S. baicalensis* in UVB-damaged HaCaT cells. The data represent the means ± SD of triplicate experiments. #  $p < 0.05$  compared with vehicle group; \*  $p < 0.05$  compared with control group.



**Figure 9.** Cell protective effect of 70% EtOH extract from *S. baicalensis* in Blue light-damaged HaCaT cells. The data represent the means ± SD of triplicate experiments. #  $p < 0.05$  compared with vehicle group; \*  $p < 0.05$  compared with control group.

루라이트로 손상을 유도한 뒤 세포 생존율을 측정하였다. HaCaT cell에 블루라이트를 조사한 결과 비조사군에 비해 유의하게 세포 생존율이 저해된 것을 확인하였으며, 70% 에탄올 추출물 50, 100, 250 µg/mL 처리한 결과, control 대비 각각 3.52, 15.44, 49.37%의 세포 보호 효과가 나타나는 것을 확인하였다(Figure 9). 따로, 열수 추출물에 의한 블루라이트에 대한 세포 보호 효과를 확인하는 실험은 진행하였으나 효과는 확인하지 못하였다(Data Not Shown).

4. 결론

본 연구에서는 황금의 추출용매로 70% 에탄올과 열수를 사용하여 황금 추출물을 제조한 뒤, *in vitro* 효능 연구를 통하여 식품 및 화장품 관련 천연 소재로서의 활용 가능성을 제시하고자 하였다.

DPPH radical 소거 활성실험에서 70% 에탄올, 열수 추출물 각각의 SC<sub>50</sub>값은 0.19 mg/mL, 1.15 mg/mL로 나타났다. RAW264.7 세포를 이용한 항염 활성 실험 결과, 70% 에탄올 추출물과 열수 추출물 모두 NO, 전염증성 cytokine (IL-6) 및 PGE<sub>2</sub>의 생성을 억제하는 것을 확인하였다. B16F10 세포를 이용한 미백 활성 실험 결과, 70% 에탄올 추출물과 열수 추출물 모두 멜라닌 생성을 저해하는 것을 확인하였으며, HaCaT cell을 이용한 HA 생성량을 평가한 결과, HA 생성을 증진시키는 것을 확인하였다. 또한, HaCaT cell을 이용하여 세포 이동 및 증식 효과를 분석한 결과, 70% 에탄올 추출물에서 세포 성장이 촉진되는 것을 확인하였다. HaCaT cell에 UVB를 조사하였을 때, 70% 에탄올 추출물과 열수 추출물 모두 UVB에 대한 세포 보호



효능을 나타내었으며, blue-light를 조사하였을 때, 70% 에탄올 추출물에서 세포 보호 효능을 나타내었다.

이전 연구를 통하여 UVB 조사가 멜라닌생성을 유도하는 것으로 나타났으며, 이러한 신호 전달 체계 중에 가장 많이 연구가 된 것으로  $\alpha$ -MSH에 의해 유도되는 멜라닌 생성저해가 알려져 있다. 본 연구에서는 황금 에탄올추출물 및 열수 추출물에서 모두 UVB에 대한 보호효과 및 멜라닌생성 억제 효과를 나타내었다. 이는 이러한 신호전달 체계를 통하여 억제효과를 나타낼 수 있음을 시사한다.

황금 에탄올추출물 및 열수 추출물은 항산화, UVB에 대한 세포보호효과, 멜라닌생성억제효과, 항염에서는 모두 억제활성을 나타내었으나 피부세포이동 및 blue-light에 대한 세포보호효과에서는 에탄올추출물에서만 효능을 나타내었으며 열수 추출물에서는 효능을 나타내지 못하였다. 이는 효능을 나타내는 신호전달 경로와 성분이 다르다는 것을 시사하며 이에 대한 정확한 신호전달체계를 확인하는 추가실험이 필요한 것으로 생각된다.

이러한 결과를 바탕으로 황금 70% 에탄올 추출물, 열수 추출물은 항산화, 항염, 미백, 피부재생, 자외선 및 블루라이트에 대한 세포 보호 효과가 있는 식품 및 화장품 관련 천연소재로서의 활용가능성이 있는 것으로 사료된다.

추가적으로, 본 연구를 통하여 확인한 *in vitro* 효능에 어떠한 성분이 영향을 미치는지 확인하고자 황금의 주된 약효성분으로 알려져 있는 플라보노이드 계 성분인 baicalin, baicalein, wogonin [31] 등 성분 함유에 대하여 연구를 진행할 예정이다.

## References

1. Y. M. Yoon, S. H. Bae, S. K. An, Y. B. Choe, K. J. Ahn, and I. S. An, Effects of ultraviolet radiation on the skin and skin cell signaling pathways, *Kor. J. Aesthet. Cosmetol.*, **11**(3), 417 (2013).
2. R. Pallela, N. Y. Yoon, and S. K. Kim, Anti-photoaging and photoprotective compounds derived from marine organisms, *Mar. Drugs*, **8**(4), 1189 (2010).
3. S. J. Park, B. M. Kwak, M. G. Lee, and B. H. Bin, A study on factors affecting the effect of blue light blocking in sunscreen, *J. Soc. Cosmet. Sci. Korea*, **46**(4), 383 (2020).
4. Y. Kuse, K. Ogawa, K. Tsuruma, M. Shimazawa, and H. Hara, Damage of photoreceptor-derived cells in culture induced by light emitting diode-derived blue light, *Sci. Rep-UK*, **4**, 5223 (2014).
5. H. S. Lee, 건강기능식품 기능성 평가 가이드, 항산화에 도움편, 5, Korea (2017).
6. A. Rabson, I. M. Roitt, and P. J. Delves, Really essential medical immunology, Blackwell Publishing Ltd., Hoboken, NJ (USA), 1 (2005).
7. E. A. Hyun, Master's Thesis Dissertation, Jeju National Univ., Jeju, Korea (2003).
8. H. M. Yang, S. S. Lim, Y. S. Lee, H. K. Shin, Y. S. Oh, and J. K. Kim, Comparison of the anti-inflammatory effects of the extracts from *Rubus coreanus* and *Rubus occidentalis*, *Korean J. Food Sci. Technol.* **39**(3), 342 (2007).
9. P. K. Lala and C. Chakraborty, Role of nitric oxide in carcinogenesis and tumor progression, *Lancet Oncol.*, **2**(3), 149 (2001).
10. S. Ito and K. Wakamatsu, Quantitative analysis of eumelanin and pheomelanin in humans, mice, and other animals: a comparative review, *Pigment Cell Res.*, **16**(5), 523 (2003).
11. Y. M. Yoon, S. H. Bae, S. K. An, Y. B. Choe, K. J. Ahn, and I. S. An, Effects of ultraviolet radiation on the skin and skin cell signaling pathways, *Kor. J. Aesthet. Cosmetol.*, **11**(3), 417 (2013).
12. M. Brenner and V. J. Hearing, The protective role of melanin against UV damage in human skin, *Photochem. Photobiol.*, **84**(3), 539 (2008).
13. D. S. Kim, Master's Thesis Dissertation, Wonkwang Unive., Jeollabuk do, Korea (2007).
14. R. Stern and H. I. Maibach, Hyaluronan in skin: aspects of aging and its pharmacologic modulation, *Clin. Dermatol.*, **26**(2), 106 (2008).
15. B. Forslin, A domain mosaic model of the skinbarrier, *Acta Dermato-venereologica*, **74**(1), 1 (1994).
16. Z. Nemes and P. M. Steinert, Brick and mortar of the epidermal barrier, *Experimental & Molecular Medicine*, **31**(1), 5 (1999).
17. I. Sainis, D. Fokas, K. Vareli, A. G. Tzakos, Va. Kounnis and E. Briasoulis, Cyanobacterial cyclopeptides

- as lead compounds to novel targeted cancer drugs, *Marine Drugs*, **8**(3), 629 (2010).
18. J. K. Kim, J. H. Lee, I. H. Bae, D. B. Seo, and S. J. Lee, Beneficial effect of a collagen peptide supplement on the epidermal skin barrier, *Korean J. Food Sci. Technol.*, **43**(4), 458 (2011).
  19. S. Sakai, T. Sayo, S. Kodama, and S. N. Inoue, N-methyl-L-serine stimulates hyaluronan production in human skin fibroblasts, *Skin Pharmacol. Appl. Skin Pharmacol Appl Skin Physiol.*, **12**(5), 276 (1999).
  20. M. Förster, M. A. Bolzinger, H. Fessi, and S. Briançon, Topical delivery of cosmetics and drugs. Molecular aspects of percutaneous absorption and delivery, *Eur. J. Dermatol.*, **19**(4), 309 (2009).
  21. S. Y. Joo, Antioxidant activities of medicinal plant extracts, *J Korea Soc Food Sci Nutr.* **42**(4), 512 (2013).
  22. M. R. Choi, J. S. Lee, and H. S. Lim, Changes in physiological activities of *Scutellaria baicalensis* by heating, *Korean J. Life Sci.*, **17**(10), 1381 (2007).
  23. J. N. Um, J. W. Min, K. S. Joo, and H. C. Kang, Enhancement of antioxidant and whitening effect of fermented extracts of *Scutellariae baicalensis*, *J. Soc. Cosmet. Sci. Korea*, **43**(3), 201 (2017).
  24. M. S. Blois, Antioxidant determination by the use of a stable free radical, *Nature*, **181**, 1199 (1958).
  25. S. T. Yee, Y. R. Jeong, M. H. Ha, S. H. Kim, M. W. Byun, and S. K. Jo, Induction of nitric oxide and TNF- $\alpha$  by herbal plant extract in mouse macrophage, *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.*, **29**(2), 342 (2000).
  26. M. J. Kim, K. W. Yang, E. J. Yang, S. S. Kim, K. J. Park, H. J. An, Y. H. Choi, N. H. Lee, and C. G. Hyun, *Citrus unshiu* flower inhibits LPS-induced iNOS and COX-2 via MAPKs in RAW 264.7 macrophages, *Orient J Chem. .Orient. J. Chem.*, **31**(4), 1915 (2015).
  27. C. Y. Wang, H. J. Jang, Y. K. Han, X. D. Su, S. W. Lee, M. C. Rho, H. S. Wang, S. Y. Yang, and Y. H. Kim, Alkaloids from *Tetragastria hemsleyanum* and their anti-inflammatory effects on LPS-induced RAW264.7 cells, *Molecules*, **23**(6), 1445 (2018).
  28. H. G. Kim, H. R. Kim, B. J. Jeong, S. S. Lee, T. R. Kim, J. H. Jeong, M. Y. Lee, S. N. Lee, J. S. Lee, and D. K. Chung, Effects of oral intake of *Kimchi*-derived *Lactobacillus plantarum* K8 lysates on skin moisturizing, *J. Microbiol. Biotechnol.*, **25**(1), 74 (2015).
  29. A. K. Chakraborty, Y. Funasaka, M. Komoto, and M. Ichihashi, Effect of arbutin on melanogenic proteins in human melanocyte, *Cell Melanoma Res.*, **11**(4), 206 (1998).
  30. X. Zhu, N. Li, Y. Wang, L. Ding, H. Chen, Y. Yu, and X. Shi, Protective effects of quercetin on UVB irradiation-induced cytotoxicity through ROS clearance in keratinocyte cells, *Oncol Rep.*, **37**(1), 209 (2017).
  31. N. Y. Kim, Effect of antioxidation and inhibition of melanogenesis from *Scutellaria baicalensis* extract, *Kor. J. Aesthet. Cosmetol.*, **12**(1), 41 (2014).