



## RESEARCH ARTICLE

## Open Access

# Antioxidant, Anti-inflammatory, and Anti-wrinkle Effects of *Sargassum horneri* Extract *in vitro*

Dong-Sub Kim<sup>1†</sup>, Geon Kim<sup>1†</sup>, Nak-Yun Sung<sup>1</sup>, In-Jun Han<sup>1</sup>, Minjee Kim<sup>1</sup>, Chun Sung Kim<sup>2</sup>, Yunu Jung<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Division of Natural Product Research, Korea Prime Pharmacy Co., LTD, Suwon-si, Gyeonggi-do, Korea

<sup>2</sup>Department of Oral Biochemistry, College of Dentistry, Chosun University, Gwangju, Korea

\*Corresponding author: Yunu Jung, Division of Natural Product Research, Korea Prime Pharmacy Co., LTD, 147, Gwanggyo-ro, Yeongtong-gu, Suwon-si, Gyeonggi-do 16229, Korea

Tel.: +82 31 8025 6920

Fax: +82 31 888 6699

Email: jwy87@naver.com

<sup>†</sup>These authors contributed equally to this work.

Received August 17, 2023

Revised November 27, 2023

Accepted December 04, 2023

Published December 30, 2023



## Abstract

**Purpose:** This study mainly aimed to confirm the antioxidant activity, anti-inflammatory, and collagen production enhancement effects of the *Sargassum horneri* (SH) extract. **Methods:** The measurement of the total flavonoid and total polyphenol content, 2,2'-azino-bis-3-ethylbenzthiazoline-6-sulphonic acid (ABTS), and 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) radical scavenging activities confirmed the antioxidant efficacy of the SH extract. The expression level of interleukin 6 (IL-6) and its upstream mechanism pathway, mitogen-activated protein kinases (MAPK), were evaluated for anti-inflammatory efficacy in human dermal fibroblast (HDF) cells. The collagenase and elastase levels were measured in terms of the ability to inhibit collagen degradation. On the contrary, collagen type 1 (COL1) and matrix metalloproteinase 1 (MMP1) were conducted to confirm the collagen production ability. **Results:** The DPPH and ABTS radical scavenging abilities of the SH extract were 86.87%±12% and 76.49%±2.94%, respectively, at the highest concentration of 1000 µg/mL, confirming 51.62±1.945 and 79.65±4.732 mg/g of total polyphenol and total flavonoid, respectively, which are known to have antioxidant effects. The anti-inflammatory effect of SH in HDF cells was reduced by up to 56.8% compared to the control group due to a significant decrease in MAPK. The SH extract significantly reduced collagenase and elastase, thereby inhibiting collagen degradation. On the contrary, increasing COL1 and decreasing MMP1 in HDF cells confirmed collagen production. **Conclusion:** Therefore, SH extract is a potential functional cosmetic through its antioxidant, anti-inflammatory, and collagen degradation inhibitory activities.

**Keywords:** *Sargassum horneri*, Antioxidant, Anti-inflammation, Anti-wrinkle, Antiaging

## Introduction

오래전부터 사람들의 외모에 대한 관심은 과거부터 현재까지 지속되고 있으며, 최근 급격한 의료가 기술 발전으로 인해 외모를 관리하는 사람이 증가하고 있다. 외모 관리는 다양한 영역에서 영향을 받지만 그 중 피부관리 분야가 가장 중요한 것으로 인식된다. 최근 다양한 매체를 통해 피부에 효능을 나타내는 아이템들이 주목받고 있다. 이를 계기로, 피부에 효능을 나타내는 천연물 소재에 대한 연구가 늘어나고 있으며, 이를 활용한 제품들이 개발되고 있다. 최근 피부 노화에 영향을 주는 고령화, 미세먼지, 자외선 등의 외부 환경적 요인이

증가함에 따라, 해당 원인으로 인한 피해를 줄이기 위해 관련 기능성 제품들의 니즈가 급증하고 있다. 이러한 현상은 피부 노화의 치료보다 사전 예방에 대한 관심이 높음을 확인할 수 있으며, 이에 따라 젊은 세대부터 안티에이징에 효과 있는 기능성 제품에 대한 요구가 증가하고 있다.

피부 노화는 내재적 노화와 외재적 노화로 구분된다. 내재적 노화는 시간이 흐르면서 나타나는 생물학적 노화이며, 이는 피부 상의 수분, 표피 두께 및 지방량 등이 감소하면서 주름이 형성된다(Lim *et al.*, 2002; Eklouh-Molinier *et al.*, 2015). 외재적 노화는 주로 자외선에 의한 광노화를 의미하나 최근 연구에 의하면 미세먼지, 담배 등

피부 노화를 촉진시키는 다양한 요인이 포함되어 내재 요인과 연계하여 피부의 노화를 촉진하는 것을 의미한다(Jenkins *et al.*, 2002; Landau, 2007).

피부 노화의 대표적 내부 요인으로 호르몬 변화로 인한 콜라겐 합성 부족(Youn *et al.*, 2012), 외부적 요인으로 인한 피부 세포에서의 산화적 스트레스(Poljšak & Dahmane, 2012) 및 염증 증가(Pillai *et al.*, 2005) 등이 있다. 첫번째 내재적 요인의 대표적 기전으로 에스트로겐 감소와 같은 호르몬 변화가 발생하고, 이는 피부의 주름, 건조, 탄력성 감소에 기여한다(Thornton, 2013). 내·외재적 요인과 연계해서 활성 산소(reactive oxygen species, ROS)는 노화 현상에 주요한 원인으로 밝혀져 있다(Na *et al.*, 2018). 자외선 및 미세먼지 등의 다양한 외부 요인인과 외부 자극으로 인해 생성된 활성산소는 receptor tyrosine kinase (RTK) 및 receptor protein tyrosine phosphatase (RPTP) 억제 능력을 저해하게 된다. RTK의 인산화는 mitogen-activated protein kinase (MAPK)와 nuclear factor Kappa B (NF- $\kappa$ B)의 활성화를 유도하고 이는 콜라겐의 생성을 저해하고, MMP 유전자 전사를 증가시켜, 피부 조직 내 콜라겐양을 감소시킨다(Kammeyer & Luiten, 2015). 따라서, 피부의 항노화 효능에 대한 평가는 콜라겐 분해(주름), 산화 스트레스, 염증 유발 등에 대한 복합적인 요소를 고려해야 한다.

팽생이모자반은 모자반목 모자반과에 속하는 갈조류로 한국 및 중국 등의 연안 해역에서 발견된다. 팽생이모자반은 아미노산, 무기질, 후코이단 등의 성분들을 함유하고 있으며, 특히 팽생이모자반의 주요 지표 물질인 후코이단은 항산화, 항염증, 피부 세포 재생 등에 효능이 있음이 밝혀져 있다(Song *et al.*, 2014; Lee *et al.*, 2022). 최근 연구 결과에 따르면 팽생이모자반은 항염증(Sanjeewa *et al.*, 2019; Dias *et al.*, 2021; Kim *et al.*, 2015), 면역기능 개선(Han *et al.*, 2020), 항산화(Ko *et al.*, 2021), 비만 개선(Murakami *et al.*, 2021) 등에 대한 유용한 효과가 있음이 밝혀짐으로써 다양한 질환에서 효과를 보이는 기능성 원료로서의 가능성이 높음을 확인할 수 있다. 현재 팽생이모자반은 개인 건강 증진을 위한 재료로 인식되고 있으며, 이는 식용으로 가능한 원료로서 화장품 원료 등록 절차가 생략 가능한 천연소재이다. 이전에 밝혀진 팽생이모자반 및 팽생이모자반의 구성 성분들에 대한 효능 논문들을 바탕으로 피부에서의 항산화, 주름개선, 피부 재생 등에 대한 효능을 기대할 수 있으며, 이는 신규 기능성 화장품 원료로서 개발 가능할 것으로 예상된다. 따라서 본 연구에서는 팽생이모자반 추출물을 이용하여 항산화, 항염증 및 피부 재생에 대한 복합적인 효과를 입증하여, 기능성 화장품 소재를 개발하고자 하였다.

## Material & Methods

### 1. 시약 및 재료

팽생이모자반 추출물을 얻기 위하여 건조 팽생이모자반 원물에 정제수 첨가하여 온도 90°C에서 4 h 동안 추출하였다. 추출이 끝난 추출물은 백필터(bag filter)를 활용하여 여과하였다. 이후 원심박막농축기(CEP-20S; Okawara, Japan)를 이용하여 고형분 함량 20% brix가 되도록 농축하였고 분무건조(HKC-100-DJ; Gea Niro, Denmark)한 것을 팽생이모자반 추출물로 사용하였다.

단백질 분석을 위하여 본 실험에 사용된 p-p38, p38, p-ERK, 및 ERK 항체는 Cell Signaling Technology (CST, USA)에서 구입하였고, p-JNK, JNK 항체는 Santa Cruz Biotechnology Inc. (USA)에서 구입하여 사용하였다.

### 2. 실험 방법

#### 1) 총 폴리페놀 함량

총 폴리페놀 함량은 Folin-Ciocalteu's phenol 시약을 이용한 발색법으로 측정하였다. 팽생이모자반 추출물을 1 mg/mL로 제조하고 그 중 200  $\mu$ L를 취한 뒤 100  $\mu$ L 50% Folin-Ciocalteu's phenol 시약을 첨가하였다. 이들을 실온에서 30 min 반응시킨 후 Microplate Reader (Epoch; Bio-Rad, USA)을 이용하여 750 nm 파장에서 흡광도를 측정하였다. 측정된 값은 gallic acid 표준곡선을 이용하여 1 g의 추출물 중에 함유된 gallic acid의 양으로 제시하였다.

#### 2) 총 플라보노이드 함량

총 플라보노이드 함량은 팽생이모자반 추출물(1 mg/mL) 100  $\mu$ L에 1 mL diethylene glycol을 첨가하고, 다시 1 N sodium hydroxide (NaOH; Sigma-Aldrich, USA) 100  $\mu$ L 처리하여 37°C water bath에 1 h 반응시킨 후 Microplate Reader를 이용하여 420 nm에서 흡광도를 측정하였다. 표준곡선은 naringin 농도를 0-300  $\mu$ g/mL이 되도록 하여 작성하고 이로부터 총 플라보노이드 함량을 구하였다.

#### 3) DPPH 라디칼 소거 활성

팽생이모자반 추출물의 항산화 효과를 평가하기 위하여 DPPH의 자유 라디칼 소거능을 확인하였다. 메탄올에 용해한 200  $\mu$ M DPPH 200  $\mu$ L에 희석한 시료를 50  $\mu$ L 첨가하여 37°C에서 30 min 동안 반응시킨 후, Microplate Reader를 이용하여 517 nm에서 흡광도를 측정하였다. Ascorbic acid를 양성대조군으로 사용하였으며 팽생이모자반 추출물 처리군과 무처리군의 흡광도 감소율로 나타내었다.

#### 4) ABTS 라디칼 소거 활성

ABTS와 potassium persulfate를 혼합하면 ABTS 라디칼이 생성되는데, 팽생이모자반 추출물의 항산화 물질과 반응하여 양이온이 소거됨으로써 특유의 청록색이 탈색되며 이의 흡광도를 측정하여 항산화 능력을 측정할 수 있다. 시험 용액은 증류수에 7 mM ABTS와 2.45 mM potassium persulfate를 첨가하여 상온에서 16 h 배양하여 ABTS 양 이온을 생성시킨 후 720 nm에서 흡광도의 값이 0.7 이

하가 되도록 희석하여 제조하였다. 그 다음 ABTS 용액 100  $\mu$ L에 시료 용액 100  $\mu$ L을 가한 후 30 min 후에, Microplate Reader를 이용하여 720 nm에서 흡광도를 측정하였다. 음성대조군(2.45 mM potassium persulfate buffer)의 흡광도와 비교하여 흡광도를 감소시키는 정도를 %로 나타내었다.

5) Human dermal fibroblast cell 배양 및 약물 처리

Human dermal fibroblast (HDF)는 한국세포주은행(Korean Cell Line Bank, KCLB, Korea)에서 분양 받아 10% fetal bovine serum (FBS; Gibco-BRL, USA)과 1% Penicillin-Streptomycin solution (P/S)을 첨가한 Dulbecco's Modified Eagle's Medium (DMEM; Gibco-BRL, USA) 배지에 37°C, 5% CO<sub>2</sub> 조건에서 배양하였다. 세포 배양배지는 세포가 80% 이상 자란 시점에서 2-3일마다 교환하였다.

6) MTT assay

팽생이모자반 추출물의 세포독성을 확인하기 위해 HDF 세포를 96 well plate에 1×10<sup>4</sup> cells/well로 분주한 후 37°C, 5% CO<sub>2</sub> incubator에서 24 h 동안 배양하면서 세포를 완전히 부착시키고, 팽생이모자반 추출물 농도에 따라 PBS에 용해하여 24 h 동안 처리하였다. Well당 20  $\mu$ L의 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide (MTT; Sigma-Aldrich) 용액(1 mg/mL)을 첨가하여 4 h 동안 반응시켰다. MTT 시약의 첨가로 생긴 formazan을 녹이기 위해 dimethyl sulfoxide (DMSO; Sigma-Aldrich)를 100  $\mu$ L씩 첨가하고, 1 h 후 Microplate Reader를 이용하여 517 nm에서 흡광도를 측정하였으며, control (medium only)의 흡광도 값을 기준으로 세포독성을 비교하였다.

7) IL-6분비 억제능 평가

48 well plate에 HDF 세포를 5×10<sup>4</sup> cells/well로 분주한 후 팽생이모자반 추출물을 각각 맞는 농도로 처리하였고 24 h 후, LPS 1  $\mu$ g/mL를 24 h 처리하여 배양하여 상등액을 분리하였다. 분리된 배양 상등액의 IL-6 함량은 ELISA kit (Thermo Fisher Scientific, USA)을 사용하여 측정하였으며, 이때 사이토카인의 농도는 kit에 포함되어 있는 표준용액으로부터 산출된 표준곡선으로부터 계산되었다.

8) Reverse transcription-polymerase chain reaction (RT-PCR)에 의한 mRNA 발현 분석

HDF 세포에 대한 팽생이모자반 추출물의 mRNA 발현을 측정하기 위해, HDF 세포를 6 well plate에 5×10<sup>4</sup> cells/well로 분주한 후 팽생이모자반 추출물을 각각 맞는 농도로 처리하였고 24 h 후, LPS 1  $\mu$ g/mL를 24 h 처리하였다. 이후 상등액을 제거하고 trypsin (Gibco-BRL, USA) 용액을 이용하여 세포를 분리하였다. 분리된 세포를 PBS로 세척하고 RNeasy mini kit (QIAGEN, USA)를 사용하여 total RNA를 추출하였고, total RNA에서 cDNA를 합성하는데 Maxime<sup>TM</sup> RT Pre-Mix (Intron, Korea)을 사용하였다. 합성된 cDNA에 primer를 넣고 real-time polymerase chain reaction (Real-time PCR) 방법으로 증폭시켜 mRNA를 합성하여 7500 fast system (Applied Bio-systems, USA)을 이용해 측정하였다. 측정하고자 하는 mRNA는 GAPDH로 수치를 정량화 하였고 7500 software (ver.2.3; Applied Bio-systems)을 사용하여 계산하였다. mRNA primer는 Cosmogenetech (Korea)에서 아래 표와 같이 만들어 사용하였다(Table 1).

9) Western blot 분석

HDF 세포에 대한 팽생이모자반 추출물의 IL-6 단백질 발현을 측정하기 위해 HDF 세포를 6 well plate에 5×10<sup>4</sup> cells/well로 분주한 후 팽생이모자반 추출물을 각각 맞는 농도로 처리하였고 24 h 후, LPS 1  $\mu$ g/mL를 24 h 처리하였다. MAPK 기전 분석을 위한 단백질 분리는 6 well plate에 5×10<sup>4</sup> cells/well로 분주한 후 팽생이모자반 추출물을 각각 맞는 농도로 처리하였고 24 h 후, LPS 1  $\mu$ g/mL를 30 min 처리하였다. 이후 단백질 분석을 위해 상등액을 제거하고 trypsin (Gibco-BRL) 용액을 이용하여 세포를 분리하였다. 분리된 세포를 PBS로 세척한 다음, nuclear and cytoplasmic extraction reagents kit (Thermo Fisher Scientific)를 사용하여 세포질 내의 단백질을 분리하였고 BCA protein detection kit (Thermo Fisher Scientific)를 사용하여 정량하여 10% Tris-glycine mini gel (Thermo Fisher Scientific)에 well당 20  $\mu$ g의 단백질을 loading하여 SDS-PAGE로 분리하였다. 이를 polyvinylidene difluoride (PVDF) membrane (Invitrogen)로 transfer한 후, membrane을 10 mL의 blocking solution에 2 h 동안 방치한 후 이를 제거하고 1차 항체를 1:1,000으로 5% skim milk에 희석하여 4°C에서 overnight 반응시켰다.

**Table 1. Sequences of synthesized oligonucleotides targeting IL-6 and MMP1 promoter**

Gene	Primer	Sequence
IL-6	Forward	TAACAGTTCCTGCATGGGCGGC
	Revers	AGGACAGGCACAACACGCACC
MMP1	Forward	TCTGACGTTGATCCCAGAGCAG
	Revers	CAGGGTGACACCGACTGCAC

IL-6, interleukin 6; MMP1, matrix metalloproteinase 1.

## Antianging Effect of *Sargassum horneri* Extract

다. 이후 TBST으로 10분씩 4회 세척하고, 2차 항체를 5% skim milk에 1:3,000으로 희석하여 2 h 동안 반응시키고, TBST로 10 min간 4회 세척하였으며, West Femto maximum sensitivity substrate와 LAS-4000 (GE healthcare life sciences, USA)을 이용하여 밴드를 분석하였다.

### 10) Immunofluorescent분석

HDF 세포에 대한 팽생이모자반 추출물의 콜라겐 단백질 발현을 측정하기 위해, HDF세포를 4 well plate에  $5 \times 10^3$  cell/well로 배양하였으며 팽생이모자반 추출물을 24 h 처리한 후, 상등액을 제거한 뒤 10% 포르말린으로 10 min 고정하였다. 이후 5% FBS가 포함된 PBS로 세척한 뒤, 5% BSA Blocking하였다. Collagen 1 (COL1; Santa Cruz, USA) 항체를 1:200 비율로 희석하여 처리하여 4°C에서 overnight 반응시켰다. 이후 TBST으로 5 min씩 3번 세척하고, 2차 항체를 1:1000으로 희석하여 1 h 동안 반응시키고, TBST로 5 min간 3회 세척하였다. DAPI 염색은 고정 용액이 포함된 VECTASHIELD® Antifade Mounting Medium with DAPI (Vector Laboratories)를 사용하였다. 형광이미지는 EVOS M7000 (Thermo Fisher Scientific)를 이용하여 분석하였다.

### 11) Collagenase 억제 활성 측정

팽생이모자반 추출물의 주름개선 효과를 평가하기 위해 Collagenase 활성 억제능을 확인하였다. 팽생이모자반 추출물을 희석하여 1, 25, 50, 100, 250, 500 및 1000 µg/mL 농도로 만든 후, 0.1 M tris-HCl buffer (pH 7.5, Sigma-Aldrich)에 4 mM calcium chloride (Sigma-Aldrich)를 첨가하고 4-phenylazobenzoyloxycarbonyl-Pro-Leu-Gly-Pro-DArg (0.3 mg/mL) (Sigma-Aldrich)를 녹인 액 0.5 mL에 검액 0.2 mL를 넣었

다. 이후 200 U/mL Collagenase type I (Sigma-Aldrich) 0.3 mL를 첨가하여 실온에서 20 min간 반응시켰다. 반응 정지액으로 5% citric acid 0.5 mL을 넣고 ethyl acetate 1 mL를 첨가하여 Microplate Reader를 이용하여 320 nm에서 흡광도를 측정하였다. 이때, 대조군과 비교하여 collagenase 저해율을 백분율(%)로 구하였다.

### 12) Elastase 억제 활성 측정

팽생이모자반 추출물의 주름개선 효과를 평가하기 위해 elastase 활성 억제능을 확인하였다. 양성대조군은 adenosine을 사용하였으며 0.1 M Tris-HCl buffer (pH 8.0)에 25, 50, 100, 250, 500 및 1000 µg/mL 농도로 희석한 팽생이모자반 추출물 220 µL에 2 mg/mL N-succinyl-Ala-Ala-Ala-p-nitroanilide 20 µL를 첨가하여 25°C 조건에서 20 min 반응시킨 다음, 얼음 위에서 반응을 종결시킨 후 Microplate Reader를 이용하여 405 nm에서 흡광도를 측정하였다.

## 3. 통계처리

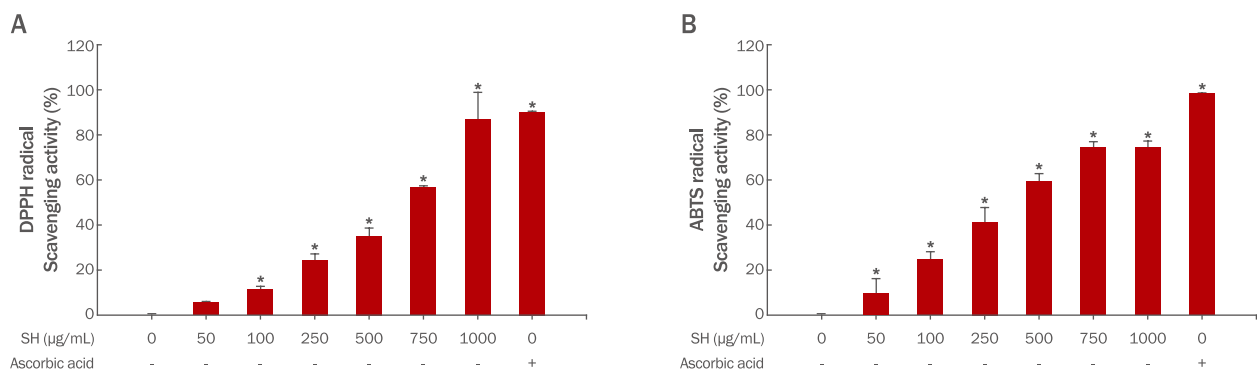
본 연구에 대한 실험결과는 통계분석 SAS 8.2를 이용하여 Bonferroni post tests의 다중범위검정과 Student's *t* test로  $p < 0.05$  수준에서 유의성을 검증하였다. 모든 실험군은 3회 이상 반복하여 동일한실험결과로 사용하였으며 정량적 결과는 대조군에 대한 백분율로 평균±표준편차로 나타냈다.

## Results and Discussion

### 1. 팽생이모자반의 항산화 효과 확인

#### 1) ABTS, DPPH radical 소거활성 평가

자유 라디칼은 세포 손상을 유발하는 요인으로, 산화적 스트레스



**Figure 1.** DPPH and ABTS radical scavenging activity of *Sargassum horneri* (SH) extracts.

(A) Radical scavenging activities of 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) and (B) 2,2'-azino-bis-3-ethylbenzthiazoline-6-sulphonic acid (ABTS) assays were measured to evaluate the anti-oxidant effects of SH at varying concentration of 0, 50, 100, 250, 500, and 1000 µg/mL. Results are expressed as the mean±standard deviation (SD) (n=3). Student's *t*-test with a significant level of  $* < 0.05$  compared to Blank (0 µg/mL) group was used for statistical analysis.



를 유발하여 세포의 산화/환원의 불균형을 유도한다. 이는 암(Dreher *et al.*, 1996), 심혈관 질환(Mimić-Oka *et al.*, 1999), 피부 노화 (Poljšak & Dahmane, 2012) 등의 다양한 질환에서 중요한 원인이 된다. 따라서 자유 라디칼 활성 여부는 피부 노화에 중요한 역할을 하며, 자유 라디칼의 소거능 활성은 항산화 효능을 위한 평가 도구로서 활용되고 있다. 본 연구 결과는 팽생이모자반 추출물의 항산화 효능을 확인하기 위해 0 µg/mL부터 1000 µg/mL까지 처리하여 항산화 활성을 확인하였다(Figure 1A, B). 양성대조군으로는 ascorbic acid를 처리하였다. DPPH 라디칼 소거능 시험에서 팽생이모자반 추출물 처리는 100 µg/mL부터 유의적인 항산화 효능을 확인할 수 있었으며, 최고 농도인 1000 µg/mL의 경우  $86.87 \pm 12\%$  라디칼 소거능이 있음을 확인하였다. 이는 양성대조군인 ascorbic acid의 시험결과인  $90.22 \pm 0.09\%$  라디칼 소거능과 유사함을 확인하였다(Figure 1A). ABTS 라디칼 소거능 시험에서 팽생이모자반 추출물 처리는 50 µg/mL부터  $10.43 \pm 5.95\%$  자유칼 소거능 효과가 있는 것을 확인하였으며, 최고 농도인 1000 µg/mL에서는  $76.49 \pm 2.94\%$  라디칼 소거능 효과가 있음을 확인하였다(Figure 1B). 본 연구에서는 팽생이모자반 추출물의 자유 라디칼 소거능이 양성대조군과 유사한 결과로 보아 항산화 효과가 매우 높을 것으로 판단된다.

2) 총 폴리페놀 및 총 플라보노이드 측정

총 폴리페놀 및 총 플라보노이드는 체내의 활성 산소 제거에 중요한 역할을 하는 것으로 밝혀져 있으며, 또한 활성 산소에 의한 세포 손상 보호 효과로 인해 다양한 질병 유발에 대한 위험도가 감소되는 것으로 밝혀져 있다(Perron & Brumaghim, 2009). 팽생이모자반 추출물의 총 폴리페놀 및 총 플라보노이드 함량을 계산하여 Table 2에 나타내었다. 팽생이모자반 추출물은 총 페놀  $51.62 \pm 1.945$  mg/g, 총 플라보노이드는  $79.65 \pm 4.732$  mg/g가 함유되어 있음을 확인하였다. 본 연구 결과에서 팽생이모자반 추출물의 총 폴리페놀 및 총 플라보노이드 함유 결과와 더불어 DPPH, ABTS 소거능 활성 결과를 통해 항산화 효능이 있을 것으로 판단된다.

2. 팽생이모자반 추출물의 항염증 및 주름개선 효과 확인

1) 세포 독성 평가

팽생이모자반 추출물에 의한 세포 독성을 평가하기 위해, Human Dermal Fibroblasts (HDF) 세포에 0-1000 µg/mL 농도까지 처리하여 24 h 배양한 후, MTT assay 시험법을 통해 결과를 확인하였다. 그 결과, 팽생이모자반 추출물은 250 µg/mL부터 유의적으로 독성이

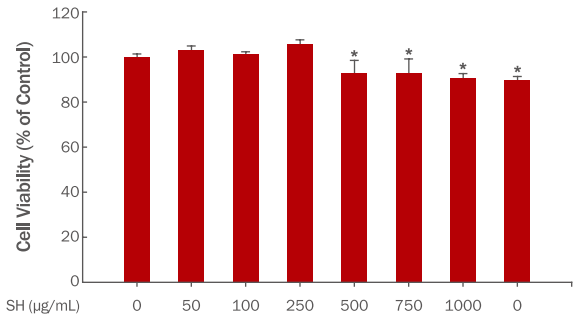


Figure 2. Effect of *Sargassum horneri* (SH) extracts on the cell viability in human dermal fibroblasts (HDF).

SH were administered at the concentration of 50, 75, 100, 250, 500, 750, and 1000 µg/mL. After 24 h, cell proliferation was determined by MTT assay. Results are expressed as the mean±SD (n=3). Student's *t*-test with a significant level of \**P*<0.05 compared to Blank (0 µg/mL) group was used for statistical analysis.

있음을 확인하였으며, 최고 무독성 농도가 100 µg/mL임을 확인하였다(Figure 2). 이후, HDF 세포에 대한 팽생이모자반 추출물 효능 시험은 최고 농도 100 µg/mL로 선정하여 진행하였다.

2) 항염증 효능 평가

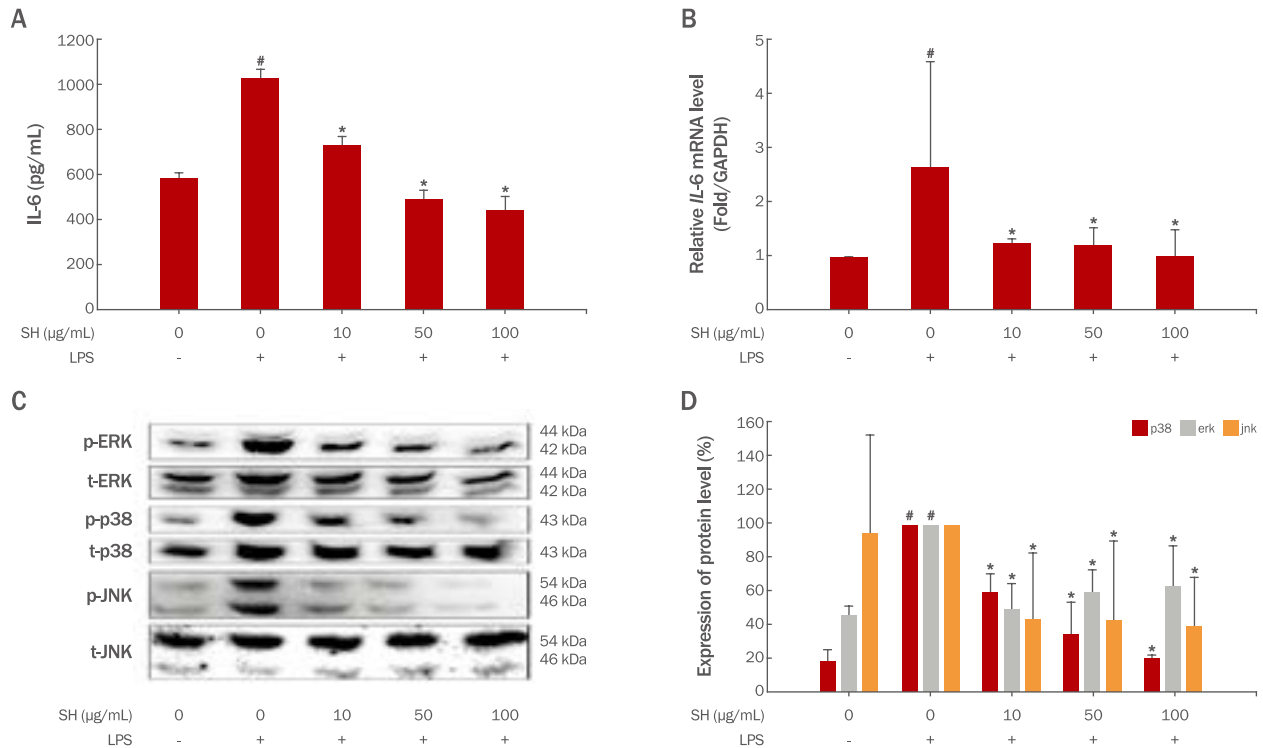
피부에서 염증의 유발은 콜라겐 및 엘라스틴과 같은 피부 구조 성분의 제거 (Granstein *et al.*, 1989), 산화스트레스 증가(Kim *et al.*, 2012), 피부 노화의 촉진(Fuller, 2019) 등의 피부 질환 유발의 원인으로 밝혀져 있다. 따라서 피부노화 억제에 있어서 항염증 효능은 기능성 천연물 원료 개발에 있어서 중요한 지표 중 하나로 알려져 있으며, IL-6와 같은 대표적인 염증성 cytokine의 변화를 통해 확인이 가능하다. Mitogen-activated protein kinases (MAPK)s는 ERK1/2, JNK, p38 등의 단백질을 포함하는 신호전달 경로로, 염증, 산화스트레스, 세포 손상 등 과 같은 자극에 반응하여 활성화된다 (Corre *et al.*, 2017). MAPKs의 주요 기능 중 하나로 대식 세포에서 염증을 조절하는 것으로 알려져 있으며, ERK1/2, JNK, p38의 활성화는 염증성 cytokine 인 IL-6 및 TNF-α의 생성 촉진을 유도할 수 있다(Kim *et al.*, 2023). 따라서 항염증 조절 연구에 있어서 MAPKs 활성은 중요 기전으로 인식되고 있다. 본 연구는 HDF 세포에서 팽생이모자반 추출물 처리가 항염증 효능 확인과 더불어 MAPKs 기전 역

Table 2. Total polyphenol and flavonoid contents of *Sargassum horneri* extracts

Group	Amount (mg/g)	
	Total polyphenol	Total flavonoid
Extracts of SH	51.62±1.945	79.65±4.732

SH, *Sargassum horneri*.

## Antiaging Effect of *Sargassum horneri* Extract



**Figure 3. Effect of *Sargassum horneri* (SH) extracts on anti-inflammation in human dermal fibroblasts (HDF).**

SH were administered at the concentration of 10, 50, and 100 µg/mL. (A) Cytokine (interleukin 6 [IL-6]) productions in culture supernatant were investigated by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) kits. (B) mRNA levels of *IL-6* in HDF cell treated with SH. (C, D) MAPKs protein expressions were analyzed by Western blot analysis. Results are expressed as the mean±SD (n=3). statistical analysis was performed using Student's *t*-test with a significant level of  $^{\#} < 0.05$  compared to Blank (LPS Non-treated) group and  $^* < 0.05$  compared to control (LPS treated) group.

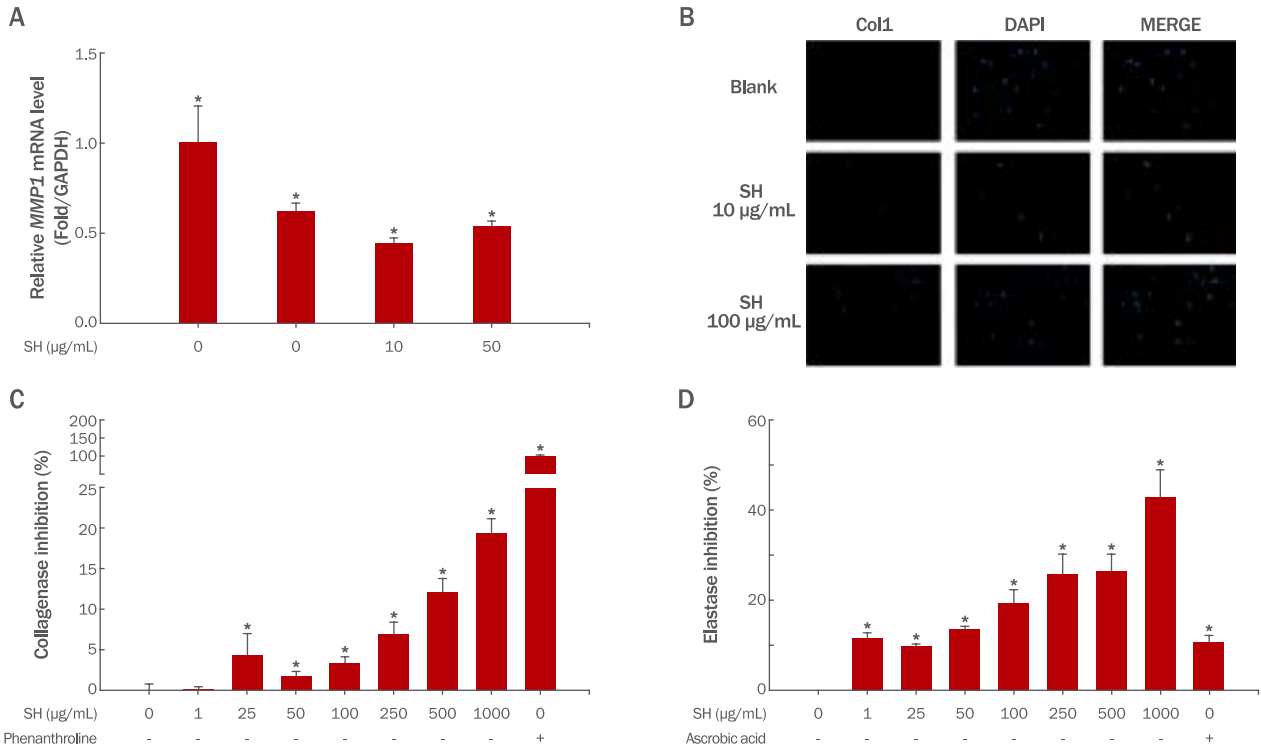
제와의 연관성을 확인하기 위하여, Elisa 시험법 및 mRNA 발현양 시험법을 통해 IL-6의 발현양과, 단백질 발현양 시험법을 통해 인산화된 p38, JNK, ERK를 측정하였다. 염증유발을 통한 피부 노화 모델을 유발하기 위해 HDF 세포에 염증을 유발하는 대표적인 물질인 LPS를 처리하였으며, 그 결과 HDF 세포에 LPS 처리는 유의적으로 IL-6 발현양이 증가하였음을 확인하였다(Figure 3A, B). 팽생이모자반 추출물의 항염증 효능을 확인하기 위하여, 염증이 유발된 모델인 LPS 처리 군에 팽생이모자반 추출물을 처리하여 결과를 확인하였다. 그 결과, 팽생이모자반 추출물 처리군에서 IL-6의 생산량은 LPS 단독 처리 군 대비 각각 28.76%, 52.09%, 56.8% 감소함을 확인하였다(Figure 3A). 또한 팽생이모자반 추출물 처리는 *IL-6* mRNA level 발현양을 LPS 단독 처리 군 대비 각각 52.35%, 53.85%, 62.6% 감소함을 확인하였다(Figure 3B). HDF 세포에서 염증성 cytokine의 대표적 인자인 *IL-6*의 발현과 밀접한 관계가 있는 기전인 MAPK는 LPS 처리를 통해 활성화 되는 것으로 알려져 있다(Cen *et al.*, 2021). 따라서, 본 연구 결과는 팽생이모자반 추출물이 LPS 처리에 의해 활성화된 MAPK 기전에 영향을 주는지 확인하기 위해 MAPK의 단백질 발

현 변화를 통해 효능을 확인하였다. HDF 세포에 LPS 처리는 p38, JNK, ERK의 인산화가 정상군과 비교하여 유의적으로 증가됨을 확인하였다(Figure 3C, 3D). 팽생이모자반 추출물 처리는 LPS 단독 처리 군과 비교하여, p38, JNK, ERK의 인산화가 유의적으로 감소함을 확인하였다(Figure 3C, D). 본 연구 결과는 팽생이모자반 추출물의 항염증에 대한 기전 및 효과를 확인함으로써, 항염증을 통한 피부 노화 개선에 유의미한 효과가 있을 것으로 판단된다.

### 3) 주름개선 효능 평가

피부의 탄력과 장력을 조절하는 진피층은 타입 I 콜라겐(type I collagen)과 타입 III 콜라겐 type III collagen)이 8:2 비율로 존재하며, 피부의 노화는 진피섬유아세포의 이상 작용으로 세포의 활성이 저해되어 나타나는데 일반적으로 collagen 및 elastin의 생성 저하 또는 collagenase, elastase 및 MMP 등의 활성 등의 현상이 나타난다(Joo *et al.*, 2022).

MMPs는 세포내의 특정 단백질을 분해 및 재구성 외에 혈관 생성, 세포의 전이 등에 중요한 역할을 하는 것으로 밝혀져 있다



**Figure 4. Effect of *Sargassum horneri* (SH) extracts on wrinkle improvement.**

SH were administered at the concentration of 10, 50, and 100 µg/mL. (A) Western blot analysis was used to analyze MMP1 protein expressions. (B) Immunofluorescence staining was used for collagen Type I expression analysis. (C) Collagenase inhibitory activity. (D) Elastase inhibitory activity. Results are expressed as the mean±SD (n=3). Student's *t*-test with a significant level of  $* < 0.05$  compared to Blank (0 µg/mL) group was used for statistical analysis.

(Malemud, 2006).

MMPs 중 MMP1, MMP2, MMP8, MMP9 및 MMP13 효소의 발현은 콜라겐 단백질 분해를 촉진하여, 콜라겐 섬유의 감소를 촉진할 수 있다(Pittayapruek *et al.*, 2016). 이는 피부의 탄력과 강도를 감소시켜 피부의 주름 증가, 탄력 감소, 피부의 노화 등의 증상이 유발된다. 따라서 피부의 건강 및 노화를 방지하기 위해 MMP 단백질의 발현 조절이 매우 중요한 것으로 알려져 있다. 본 연구 결과는 팽생이모자반 추출물이 주름개선에 미치는 영향을 밝히기 위하여, *MMP1* mRNA 발현 및 collagen type 1 (COL1) 단백질 발현을 측정하였다. 세포독성이 없는 용량에서 *MMP-1* mRNA level은 팽생이모자반 추출물 처리에 의해 유의적으로 감소하였다(Figure 4A). 또한 COL1 단백질의 발현은 팽생이모자반 추출물 처리에 의해 증가함을 확인하였다(Figure 4B).

Elastase 및 collagenase 억제능은 주름 개선의 지표로 사용되며 다양한 외부자극 요인에 의해 elastase 및 collagenase의 활성이 높아지는 것으로 알려져 있다(Kim *et al.*, 2020). 피부 주름억제에 elastase 및 collagenase 억제능에 따라 주름을 개선할 수 있음을 확인할 수 있다. 팽생이모자반 추출물의 elastase 및 collagenase 억제능에 대해 확인하기 위해 PBS만 처리한 음성대조군과 비교하

여 팽생이모자반 추출물은 1 µg/mL부터 1000 µg/mL까지 처리하였다. Elastase에서 양성 대조군으로는 ascorbic acid를 사용하였으며, collagenase에서는 phenanthroline을 사용하였다. 그 결과, collagenase 억제 시험에서 팽생이모자반 추출물 처리는 25 µg/mL부터 유의적인 억제 효과가 있음을 확인하였으며, 최고 농도인 1000 µg/mL 19.39±1.75%의 억제 효과가 있음을 확인하였다(Figure 4C). Elastase 억제 시험에서 팽생이모자반 추출물 처리는 1 µg/mL 유의적인 억제 효과가 있음을 확인하였으며, 최고 농도인 1000 µg/mL에서 42.68±6.22%의 억제 효과가 있음을 확인하였다(Figure 4D). 따라서 본 연구 결과를 통해 팽생이모자반 추출물이 elastase 및 collagenase 억제를 통한 주름개선에 효과가 있다고 판단된다.

## Conclusion

최근 해양에 서식하는 해양생물 중 하나인 해조류는 다양한 종류의 다당류 및 무기질 등을 함유하고 있어, 기능을 나타내는 생리활성을 가지는 천연 자원으로써 가능성이 높음이 밝혀지고 있다. 그 중 모자반과에 속하는 갈조류인 팽생이모자반은 중국에서 번식하여 북

서풍 및 조류를 통해 우리나라 동해안 및 일본 전 연안에 나타나고 있다. 중국으로부터 유입된 팽생이모자반은 해안가 및 양식시설에 부착되어 악취 유발 및 양식 해양생물의 생산량 감소 및 품질 저하 등으로 인해 막대한 금전적 피해를 유발하여 현재 유해 해양생물로 지정되어 있다. 따라서, 우리나라에서는 팽생이모자반을 활용하여 건축 (Lee *et al.*, 2019), 농업(Madhavaraj *et al.*, 2020), 의약품 분야에서 재활용하여 고부가가치 원료로써 개발하고 있다. 팽생이모자반은 선행연구를 통해 항염, 항암, 면역 증진, 항산화 등에 대한 효과가 있는 것으로 알려져 있으나, 기존 연구는 대식 세포, 면역 세포, 암세포 등에 국한되어 실험이 진행되어 있는 한계점이 있다. 따라서 본 연구는 팽생이모자반 추출물을 활용하여, 아직 연구가 되어 있지 않은 피부세포에서의 항염증, 콜라겐 합성 효과와 콜라겐 분해 억제 효과를 통해 신규한 기능성 화장품 원료를 개발하고자 하였다.

본 연구에서는 팽생이모자반 추출물을 이용한 항산화, 피부 항염증 및 콜라겐 합성 저해 억제 효과를 확인하고자 하였다. 팽생이모자반 추출물의 항산화 효과를 확인하기 위하여 이전 연구에서 항산화 효과가 있는 것으로 밝혀져 있는 성분인 총 폴리 페놀 및 총 플라보노이드의 함량 측정하였으며, 또한 항산화 효능의 직접적 효과를 확인하기 위하여 ABTS 및 DPPH 자유 라디칼 소거능 효과를 확인하였다. 그 결과 팽생이모자반 추출물내 총 폴리 페놀 및 총 플라보노이드는 각각  $51.62 \pm 1.945$  mg/g,  $79.65 \pm 4.732$  mg/g이 함유되어 있으며, ABTS 및 DPPH 자유 라디칼 소거능은 최대 1000 µg/mL 농도에서 각각  $86.87 \pm 12\%$ ,  $76.49 \pm 2.94\%$  증가되는 것을 확인하였다. 팽생이모자반 추출물에 대한 항산화 효과에 대한 이전 연구에 의하면(Ko *et al.*, 2021), 추출용매에 따라 항산화 효능의 정도가 유의적으로 차이가 남을 확인할 수 있었으며 그 중 팽생이모자반 열수추출물이 가장 낮은 효과가 있음을 확인 하였다. 하지만 이전 연구결과는 우리의 연구 결과와 비교하여 팽생이모자반 추출물 1 mg/mL 기준 같은 열수 추출물임에도 불구하고 DPPH 및 ABTS 시험에서 우리의 샘플보다 효과가 낮음을 확인하였다. 이는 원물의 비소저감 방법, 가공 방식 및 채취 시기 따른 차이가 있을 것으로 예상된다. 향후 원물 가공 및 채취 시기에 따른 항산화 효과 비교가 필요 할 것으로 판단된다. 피부 항염증 효능을 확인하고자 진피섬유아세포(HDF)에서 LPS를 통한 염증 유발 모델에 팽생이모자반 추출물을 처리하였으며, 염증성 cytokine 인 IL-6의 발현과 IL-6의 발현을 조절하는 상위 기전인 MPAK를 확인하였다. 그 결과, 팽생이모자반 추출물 투여는 LPS가 투여된 대조군 대비 IL-6의 발현량을 최대 56.8%까지 유의적으로 감소시켰다. 또한 MAPK 기전의 대표적 인자인 p38, JNK, ERK의 인산화가 대조군 대비 단백질 발현이 유의적으로 감소하였다. 피부 주름개선 효능을 확인하고자 주름을 유발하는 콜라겐 합성 저해요소인 collagenase 및 elastase의 억제율과 콜라겐의 발현량을 측정하였다. 그 결과, collagenase 및 elastase의 억제율이 최대 1000 µg/mL 농도에서 각각  $19.39 \pm 1.75\%$  및  $42.68 \pm 6.22\%$ 의 감소를 확인하였다. 또한 HDF에서 팽생이모자반 추출물 처리는 콜라겐 생성

에 관여하는 인자인 collagen type-1 (Col1) 생성이 증가하였으며, 반대로 콜라겐 분해에 관여하는 인자인 MMP1은 유의적으로 감소하였다. 따라서 본 연구에서 사용된 팽생이모자반 추출물은 항산화, 항염증 및 주름개선의 효능을 포함하는 기능성 화장품 소재로의 가능성을 확인하였다.

향후, 팽생이모자반 추출물의 피부내 항산화, 항염증 및 주름개선에 대한 활성에 대한 규명을 위해 추가적인 성분 분석 연구가 필요 할 것으로 사료되며, 기능성 화장품 원료로써 개발을 위하여 원료의 안전성 및 기능성을 인체적용시험의 추가적인 연구를 통해 밝혀야 될 것으로 판단된다.

### Acknowledgements

이 논문은 2021년도 해양수산부 재원으로 해양수산과학기술진흥원의 지원을 받아 수행된 연구임(20210656, 빅데이터 기반 바이오헬스케어 유효성 소재 실증 지원).

### Author's contribution

Conceptualization: DSK, NYS, and YJ; Methodology: GK, MJK, and YJ; Validation: YJ, DSK, NYS, and CSK; Formal analysis: YJ and NYS; Investigation: GK and MJK; Resources: IJH, CSK, NYS, and DSK; Writing—original draft preparation: DSK, NYS, and YJ; Writing, review, and editing: DSK, NYS, and YJ; Project administration: DSK, NYS, IJH, and YJ; Funding acquisition: DSK and CSK. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

### Author details

Dong-Sub Kim (Principal Research Engineer), Division of Natural Product Research, Korea Prime Pharmacy Co., LTD, 147, Gwanggyo-ro, Yeongtong-gu, Suwon-si, Gyeonggi-do 16229, Korea; Geon Kim (Associate Research Engineer), Division of Natural Product Research, Korea Prime Pharmacy Co., LTD, 147, Gwanggyo-ro, Yeongtong-gu, Suwon-si, Gyeonggi-do 16229, Korea; Nak-Yun Sung (Senior Research Engineer), Division of Natural Product Research, Korea Prime Pharmacy Co., LTD, 147, Gwanggyo-ro, Yeongtong-gu, Suwon-si, Gyeonggi-do 16229, Korea; In-Jun Han (Senior Research Engineer), Division of Natural Product Research, Korea Prime Pharmacy Co., LTD, 147, Gwanggyo-ro, Yeongtong-gu, Suwon-si, Gyeonggi-do 16229, Korea; Minjee Kim (Associate Research Engineer), Division of Natural Product Research, Korea Prime Pharmacy Co., LTD, 147,



Gwanggyo-ro, Yeongtong-gu, Suwon-si, Gyeonggi-do 16229, Korea; Chun Sung Kim (Professor), Department of Oral Biochemistry, College of Dentistry, Chosun University, 146, Chosundaegil, Dong-gu, Gwangju 61452, Korea; Yunu Jung (Research Engineer), Division of Natural Product Research, Korea Prime Pharmacy Co., LTD, 147, Gwanggyo-ro, Yeongtong-gu, Suwon-si, Gyeonggi-do 16229, Korea.

## References

- Cen R, Wang L, He Y, Yue C, Tan Y, Li L, Lei X. Dermal fibroblast migration and proliferation upon wounding or lipopolysaccharide exposure is mediated by stathmin. *Frontiers in Pharmacology*, 12: 781282, 2022.
- Corre I, Paris F, Huot J. The p38 pathway, a major pleiotropic cascade that transduces stress and metastatic signals in endothelial cells. *Oncotarget*, 8: 55684-55714, 2017.
- Dias MKHM, Madusanka DMD, Han EJ, Kim HS, Jeon YJ, Jee Y, Kim KN, Lee K, Fernando IPS, Ahn G. *Sargassum horneri* (Turner) C. Agardh ethanol extract attenuates fine dust-induced inflammatory responses and impaired skin barrier functions in HaCaT keratinocytes. *Journal of Ethnopharmacology*, 273: 114003, 2021.
- Dreher D, and Junod AF. Role of oxygen free radicals in cancer development. *European Journal of Cancer*, 32: 30-38, 1996.
- Eklouh-Molinier C, Happillon T, Bouland N, Fichel C, Diébold MD, Angiboust JF, Manfait M, Brassart-Pasco S, Piot O. Investigating the relationship between changes in collagen fiber orientation during skin aging and collagen/water interactions by polarized-FTIR microimaging. *Analyst*, 140: 6260-6268, 2015.
- Fuller B. Role of PGE-2 and other inflammatory mediators in skin aging and their inhibition by topical natural anti-inflammatories. *Cosmetics*, 6: 6, 2019.
- Granstein RD, Deak MR, Jacques SL, Margolis RJ, Flotte TJ, Whitaker D, Long FH, Amento EP. The systemic administration of gamma interferon inhibits collagen synthesis and acute inflammation in a murine skin wounding model. *Journal of Investigative Dermatology*, 93: 18-27, 1989.
- Han EJ, Kim HS, Sanjeeva KKA, Jung K, Jee Y, Jeon YJ, Fernando IPS, Ahn G. *Sargassum horneri* as a functional food ameliorated IgE/BSA-induced mast cell activation and passive cutaneous anaphylaxis in mice. *Marine Drugs*, 18: 594, 2020.
- Jenkins G. Molecular mechanisms of skin ageing. *Mechanisms of Ageing and Development*, 123: 801-810, 2002.
- Joo YE, Kwon SB, Kwon YJ, Choi YW, Kim MJ, Sun M, Ahn KJ, An IS. Effects of 'NEOGEN V.BIOME LIPOSOME™' on the increased expression of *COL1A1* and *HAS2* mRNA in human dermal fibroblasts. *Asian Journal of Beauty and Cosmetology*, 20: 451-459, 2022.
- Kammeyer A, Luiten RM. Oxidation events and skin aging. *Ageing Research Reviews*, 21: 16-29, 2015.
- Kim DS, Kim M, Sung NY, Han IJ, Kim G, Kim CS, Yoo YC, Jung Y. Immune enhancing activity of *Sargassum horneri* extracts via MAPK pathway in macrophages. *Journal of Marine Bioscience and Biotechnology*, 15: 12-23, 2023.
- Kim DS, Han IJ, Lee BS, Park SY, Nho EY, Eom J, Suh JY, Kim G, Park J, Sung NY. Development of oral disintegration film containing naturally derived compounds using peptide collagen and a study of its functions. *Asian Journal of Beauty and Cosmetology*, 18: 235-247, 2020.
- Kim HJ, Kim SR, Park JK, Kim DI, Jeong JS, Lee YC. PI3Kγ activation is required for LPS-induced reactive oxygen species generation in respiratory epithelial cells. *Inflammation Research*, 61: 1265-1272, 2012.
- Kim ME, Jung YC, Jung I, Lee HW, Youn HY, Lee JS. Anti-inflammatory effects of ethanolic extract from *Sargassum horneri* (Turner) C. agardh on lipopolysaccharide-stimulated macrophage activation via NF-κB pathway regulation. *Immunological Investigations*, 44: 137-146, 2015.
- Ko W, Lee H, Kim N, Jo HG, Woo ER, Lee K, Han YS, Park SR, Ahn G, Cheong SH. The anti-oxidative and anti-neuroinflammatory effects of *Sargassum horneri* by heme oxygenase-1 induction in BV2 and HT22 cells. *Antioxidants*, 10: 859, 2021.
- Landau M. Exogenous factors in skin aging. *Environmental Factors in Skin Diseases*, 35: 1-13, 2007.
- Lee BJ, Lee SM, Hyun JH, Kim YY. Durability performances of concrete produced with recycled bio-polymer based on *Sargassum honeri*. *Journal of the Korean Recycled Construction Resources Institute*, 7: 445-451, 2019.
- Lee HG, Jayawardena TU, Liyanage NM, Song KM, Choi YS,

## Antiaging Effect of *Sargassum horneri* Extract

- Jeon YJ, Kang MC. Antioxidant potential of low molecular weight fucoidans from *Sargassum autumnale* against H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-induced oxidative stress *in vitro* and in zebrafish models based on molecular weight changes. *Food Chemistry*, 384: 132591, 2022.
- Lim SW, Ryoo HC, Lee SH. Understanding of skin aging and its prevention and care. *The Journal of Skin Barrier Research*, 4: 71-80, 2002.
- Madhavaraj L, Lim HD, Kim KM, Kim DH, Han GH. Influence of *Sargassum horneri* mitigating odorous gas emissions from swine manure storage facilities. *Sustainability*, 12: 7587, 2020.
- Malemud CJ. Matrix metalloproteinases (MMPs) in health and disease: an overview. *Frontiers in Bioscience-Landmark*, 11: 1696-1701, 2006.
- Mimić-Oka J, Simić DV, Simić TP. Free radicals in cardiovascular diseases. *Facta Universitatis, Series: Medicine and Biology*, 6: 11-22, 1999.
- Murakami S, Hirazawa C, Ohya T, Yoshikawa R, Mizutani T, Ma N, Moriyama M, Ito T, Matsuzaki C. The edible brown seaweed *Sargassum horneri* (Turner) C. Agardh ameliorates high-fat diet-induced obesity, diabetes, and hepatic steatosis in mice. *Nutrients*, 13: 551, 2021.
- Na EJ, Yang HO, Choi YE, Han HS, Rhie SJ, Ryu JY. Anti-inflammatory and collagen production effect of syringic acid on human keratinocyte (HaCaT) damaged by ultraviolet B. *Asian Journal of Beauty and Cosmetology*, 4: 523-531, 2018.
- Perron NR, Brumaghim JL. A review of the antioxidant mechanisms of polyphenol compounds related to iron binding. *Cell Biochemistry and Biophysics*, 53: 75-100, 2009.
- Pittayapruek P, Meephansan J, Prapapan O, Komine M, Ohtsuki M. Role of matrix metalloproteinases in photoaging and photocarcinogenesis. *International Journal of Molecular Sciences*, 17: 868, 2016.
- Pillai S, Oresajo C, Hayward J. Ultraviolet radiation and skin aging: roles of reactive oxygen species, inflammation and protease activation, and strategies for prevention of inflammation-induced matrix degradation: a review. *International Journal of Cosmetic Science*, 27: 17-34, 2005.
- Pojšak B, Dahmane R. Free radicals and extrinsic skin aging. *Dermatology Research and Practice*, 2012: 135206, 2012.
- Song YS, Li H, Balcos MC, Yun HY, Baek KJ, Kwon NS, Choi HR, Park KC, Kim DS. Fucoidan promotes the reconstruction of skin equivalents. *The Korean Journal of Physiology and Pharmacology*, 18: 327-331, 2014.
- Sanjeewa KKA, Jayawardena TU, Lee HG, Herath K, Jee Y, Jeon YJ. The protective effect of *Sargassum horneri* against particulate matter-induced inflammation in lung tissues of an *in vivo* mouse asthma model. *Food and Function*, 10: 7995-8004, 2019.
- Thornton MJ. Estrogens and aging skin. *Dermato-endocrinology*, 5: 264-270, 2013.
- Youn JS, Shin SY, Wu Y, Hwang JY, Cho JH, Ha YG, Kim JK, Park MJ, Lee S, Kim TH, *et al.* Antioxidant and anti-wrinkling effects of *Aruncus dioicus* var. *kamtschaticus* extract. *Korean Journal of Food Preservation*, 19: 393-399, 2012.

## 국문초록

## 세포 모델에서 팽생이모자반 추출물의 항산화, 항염증 및 주름 개선 효능

김동섭<sup>1†</sup>, 김진<sup>1†</sup>, 성낙윤<sup>1</sup>, 한인준<sup>1</sup>, 김민지<sup>1</sup>, 김춘성<sup>2</sup>, 정윤우<sup>1\*</sup><sup>1</sup>한국프라이머제약(주) 천연물 연구부, 경기도 수원시, 한국<sup>2</sup>조선대학교 치과대학 구강생화학, 광주, 한국

**목적:** 본 연구는 팽생이모자반 추출물을 이용하여 항산화 활성, 진피섬유아세포내 항염증 및 콜라겐 생성 증대 효과를 확인 목적으로 진행되었다. **방법:** 팽생이모자반 추출물의 항산화 효능을 확인하기 위하여, 추출물내 총 플라보노이드 및 총 페놀의 함량, ABIS 및 DPPH 라디칼 소거능 활성을 확인하였다. 진피섬유아세포내 팽생이모자반 추출물의 항염증 효능을 확인하기위하여 LPS 투여를 통한 염증 유도 질환 모델에 추출물 투여를 통해 염증성 cytokine인 *IL-6*의 mRNA 및 발현양을 측정하였으며, 그 상위 기전인 MAPK의 단백질 발현을 확인하였다. 진피섬유아세포내 팽생이모자반 추출물의 콜라겐 분해 억제능의 경우 MMP1 및 pro-collagen type 1의 발현양과 collagenase 및 elastase의 억제능을 확인하였다. **결과:** 팽생이모자반의 DPPH 및 ABIS 라디칼 소거능이 최고 농도인 1000 µg/mL에서 각각 86.87±12%, 76.49±2.94% 자유 라디칼 소거능 효과를 확인하였으며, 항산화 효능이 있는 것으로 밝혀져 있는 총 폴리페놀 및 총 플라보노이드 함량이 각각 51.62±1.945 및 79.65±4.732 mg/g이 함유되어 있음을 확인하였다. 진피섬유아세포내 항염증 효능을 확인하고자 *IL-6*의 발현양을 확인한 결과 대조군 대비 최대 56.8% 감소하는것을 확인하였으며, 그 상위 기전인 MAPK 또한 유의하게 감소하는 것을 확인하였다. 콜라겐 분해능 억제능은 collagenase 및 elastase의 유의적인 감소를 통해 확인하였으며, 진피섬유아내 pro-collagen type 1의 증가 및 MMP1의 감소를 통해 콜라겐의 생성이 증가되었음을 확인하였다. **결론:** 팽생이모자반 추출물의 항산화, 항염증, 콜라겐 분해 억제 효능을 확인하여 기능성 화장품 소재로 가능성을 확인하였다.

**핵심어:** 팽생이모자반, 항노화, 항염증, 주름개선, 항산화

이 논문은 2021년도 해양수산부 재원으로 해양수산과학기술진흥원의 지원을 받아 수행된 연구임(20210656, 빅데이터 기반 바이오헬스케어 유효성 소재 실증 지원).

## 참고문헌

- 김동섭, 한인준, 이병수, 박상윤, 노은영, 엄지, 서지영, 김건, 박지현, 성낙윤. 저분자 콜라겐을 이용한 천연추출물복합물 함유 구강붕해필름의 개발과 향장기능성 연구. *아시아뷰티화장품학술지*, 18: 235-247, 2020.
- 김동섭, 김민지, 성낙윤, 한인준, 김건, 김춘성, 유영춘, 정윤우. 대식세포에서 팽생이모자반 추출물의 MAPKs 기전 통한 면역활성증가 효과. *한국해양바이오학회지*, 15: 12-23, 2023.
- 나은주, 양현옥, 최영은, 한효선, 이승자, 류지영. 자외선 B에 의해 손상된 인간 각질형성세포(HaCaT)에 대한 Syringic Acid의 염증 억제 및 콜라겐 생성 효과. *아시아뷰티화장품학술지*, 4: 523-531, 2018.
- 윤진숙, 신승용, 우용시양, 황주영, 조재호, 하용근, 김진기, 박민정, 이선호, 김태훈, *et al.* 눈개승마 추출물의 항산화 및 주름개선 효과. *한국식품저장유통학회지*, 19: 393-399, 2012.
- 주예은, 권승빈, 권유정, 최영옥, 김미정, 손미령, 안규중, 안인숙. '네오젠 브이 바이옴 리포솜™(NEOGEN V. BIOME LIPOSOMETM)'의 인간진피섬유아세포 내 COL1A1 및 HAS 2유전자 발현 증가 효능. *아시아뷰티화장품학술지*, 20: 451-459, 2022.

## 中文摘要

### 铜藻提取物在细胞模型中的抗氧化、抗炎和抗皱功效

金東燮<sup>1†</sup>, 金乾<sup>1†</sup>, 成樂倫<sup>1</sup>, 韓仁準<sup>1</sup>, 金敏智<sup>1</sup>, 金春成<sup>2</sup>, 鄭允鈺<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Korea Prime Pharm 天然物研究部, 京畿道水原市, 韩国

<sup>2</sup>朝鲜大学牙科大学口腔生化学, 光州, 韩国

**目的:** 本研究主要旨在确认铜藻 (SH) 提取物的抗氧化活性、抗炎作用和增强胶原蛋白生成的作用。**方法:** 测定总黄酮和总多酚含量、2,2'-连氮基-双-3-乙基苯并噻唑啉-6-磺酸 (ABTS) 和1,1-二苯基-2-三硝基苯肼 (DPPH) 自由基清除活性证实了SH提取物的抗氧化功效。评估人真皮成纤维细胞 (HDF) 中白细胞介素 6 (IL-6) 及其上游机制 mitogen-activated protein kinases (MAPK) 的表达水平的抗炎功效。根据抑制胶原蛋白降解的能力来测量胶原酶和弹性蛋白酶水平。相反, 进行1型胶原蛋白(COL1)和基质金属肽酶1(MMP1)以确认胶原蛋白产生能力。**结果:** SH提取物在最高浓度1000  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 时, DPPH和ABTS自由基清除能力分别为 $86.87\% \pm 12\%$ 和 $76.49\% \pm 2.94\%$ , 证实其自由基清除能力; SH提取物的总多酚和总黄酮分别为 $51.62 \pm 1.945$ 和 $79.65 \pm 4.732$  mg/g。为了证实真皮成纤维细胞的抗炎作用, 与对照组相比, IL-6的表达水平被证实降低了高达56.8%, 上游机制MAPK也被证实显著降低。SH提取物显著降低胶原酶和弹性蛋白酶, 从而抑制胶原蛋白降解。相反, HDF细胞中 COL1 的增加和 MMP1 的减少证实了胶原蛋白的产生。**结论:** 因此, SH 提取物具有抗氧化、抗炎和抑制胶原蛋白降解活性, 是一种潜在的功能性化妆品。

**关键词:** 铜藻, 抗氧化, 抗炎, 抗皱, 抗衰老