

RAW 264.7 cell에서의 미모사 에탄올 추출물의 항산화 및 항염증 효능 연구

전민영, 김배환*

계명대학교 자연과학대학 공중보건학과

Antioxidant and Anti-Inflammatory Effects of *Mimosa Pudica* Ethanol Extract in RAW 264.7 Cell

Min Yeong Jeon, Bae-Hwan Kim*

Department of Public Health, College of Natural Sciences, Keimyung University, Daegu 704-701, Korea

ABSTRACT. The purpose of this study is to identify the possibility of *Mimosa pudica* ethanol extracts (MEE) as a cosmeceutical material with antioxidant and anti-inflammatory effects.

At first, the antioxidant effect of the MEE was carried out through Total polyphenol, 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) electro-donating activity, 2,2'-azino-bis diammonium salt (ABTS⁺) radical scavenging activity. The total polyphenol content of the MEE was 3.514 mg/g. DPPH electro-donating activity of MEE were increased in a dose-dependent manner ($P < 0.05$), and was about 88.1% at 1 mg/mL concentration. Also, ABTS⁺ radical scavenging activity of MEE were remarkably increased in a dose-dependent manner ($P < 0.05$), and was about 99.7% at 1 mg/mL concentration. The MEE showed relatively high antioxidant effects in most experiments.

To evaluate the anti-inflammatory effects in RAW 264.7 cells, the maximum permissible concentration was verified first by cell viability assessment using MTT assay. And then, nitric oxide (NO) production inhibition and amounts of inflammatory related proteins and gene expressions were identified after LPS treatment. NO inhibition of MEE was decreased concentration dependently, and was about 84.3% at 1 mg/mL concentration. And TNF- α and IL-6 proteins by western blotting were also decreased significantly by treatment of MEE. As a result of measuring the expression levels of TNF- α and IL-6, the expression inhibition rates were 67.87% and 71.91%, respectively.

Based on the results of these experiments, we suggest that MEE could be useful as a cosmeceutical material with anti-inflammatory effects.

KEY WORDS: *Mimosa pudica*, antioxidant, anti-inflammatory, TNF- α , IL-6

Introduction

최근 급변하는 생활환경과 식생활로 인해 신체 내에는 각종 문제가 발생할 수 있다. Superoxide radical, hydrogen peroxide, peroxy radical, hydroxyl

radical 등과 같은 활성산소종(reactive oxygen species, ROS)은 생체 내 정상 세포의 생화학 반응이나 화학물질 및 환경오염에 노출되어 생성된다(Lee et al., 2017). 이렇게 생성된 ROS가 항산화 물질에 의해 원활히 제거되지 않아 발생하는 산화적 스트레스는 퇴행성 신경계 질환과 당뇨, 노화 등의 다양한 질병을 유발할 수 있다. 또한 산화적 스트레스는 혈관 내피조직의 기능 이상을 유발하는데, 혈관 내피 조직에 축적된 지질은 활성산소에 의해 과산화되며 대식세포의 유입과 염증성 사이토카인의 분비로 인해 염증을 유발하게 된다(Kim and Cho, 2016). 면역기능과 염증 반응을 조절하며 항상성 유지에 중요한 역할을 하는 대식세포는 세포 독성물질을 분비하여 체내에 들어온 이물질이나 암세

Received: 9 December 2020

Revised: 22 December 2020

Accepted: 24 December 2020

* Corresponding author: Bae-Hwan Kim
Department of Public Health, College of Natural Sciences,
Keimyung University, Daegu 704-701, Korea
Tel: 053-580-5933; Fax: 053-715-2028
E-mail: kim9399@kmu.ac.kr

포 및 이중 세포를 파괴하는 생체 내의 면역세포이며, lipopolysaccharide(LPS)에 의해 활성화되면 nitric oxide(NO), ROS, cytokine 등을 생산하여 방출한다(Woo et al., 2018). 또한 대식세포는 tumor necrosis factor- α (TNF- α), interleukine(IL), leukotrienes 등 많은 염증성 인자들을 생산한다(Guha and Mackman, 2001; Kubes and Mccafferty, 2000). 특히, TNF- α 는 초기 염증반응을 매개하는 단백질로 체내 염증반응 및 면역반응 등의 인체 방어기전에 관여하며, IL-6는 다양한 스트레스 인자에 대한 염증성 반응과 관련된 주요 염증 인자로서, 항상성이 깨졌을 때 증가한다. 이러한 cytokine의 과잉생산은 류마티스성 관절염, 천식, 호흡기 질환, 폐혈증 등의 질환을 유발하는 중요한 인자가 된다(Lin et al., 2007). 그러므로, 염증 인자를 억제하는 것은 염증성 질환을 치료하는 데 큰 도움이 된다.

*Mimosa pudica*는 신경초, 잠풀이라고도 하며, 브라질이 원산지인 관상식물로 국내에서는 한해살이풀로, 원산지인 브라질에서는 여러해살이풀로 여긴다. 한방에서 뿌리를 제외한 식물체 전체를 함수초라는 약재로 쓰는데, 장염, 위염, 신경쇠약으로 인한 불면증, 신경과민으로 인한 안구충혈과 동통에 효과가 있다. 특히 잎과 줄기에는 알칼로이드가 포함되어있고 잎은 점액질을 포함하고 뿌리는 탄닌을 포함한다고 보고되었다(Ghani, 1998). 그 외에도 *Mimosa pudica*는 항고혈당, 설사, 항 경련, 세포 독성 및 간 보호 특성에 사용된다(Umamaheswari et al., 2007; Balakrishnan et al., 2006; Bum et al., 2004; Chowdhury et al., 2008; Rajendran et al., 2006). 또한 인도에서는 주로 불임제로 사용되는 민간 약용제 중 하나이다(Ganguly et al., 2007).

이에 본 연구에서는 마우스 대식세포인 RAW 246.7 cell을 이용하여 미모사 에탄올 추출물의 항산화 및 항염증 효과를 확인하여 기능성을 갖는 화장품의 천연 소재로서의 응용 가능성을 살펴보고자 하였다.

Materials and Methods

1. 시약 및 기기

실험에 사용된 시약 중 Folin and Ciocalteu's phenol reagent, tannic acid, quercetin, ascorbic acid, 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH), 2,2'-azino-bis diammonium salt (ABTS) 등은 SigmaAldrich사 (St. Louis, MO, USA)의 제품을 사용하였다. 그 외에 세

포를 배양하기 위한 Dulbecco's modified Eagles Medium (DMEM), fetal bovine serum (FBS), penicillin/streptomycin 등은 Lonza Company (Walkersville, USA)에서 구매하여 사용하였다.

실험에 사용된 실험기기는 전자저울 (XT220A, Precisa, Swiss), CO₂ incubator (MCO18AC, panasonic, osaka, Japan), clean bench (DBB-922, Daeil, Korea), spectrophotometer (Epoch, Bio Tek, USA), 광학현미경 (TS100, Nikon, Tokyo, Japan)이고 그 외에 실험기기는 실험실에서 사용하는 일반기기를 이용하였다.

2. 미모사 추출물 시료 제조

본 실험에서 사용한 시료는 하명식품 (경북, 영천)에서 판매하는 천연염료 분말을 구입하여 사용하였다. 시료는 에탄올 추출을 하기 위하여 구매한 미모사 분말 중량의 약 10배의 70% ethanol을 가하여 24시간 동안 실온에서 침전물과 상등액을 분리하는 과정을 3회 반복하였다. 3회 반복 추출한 미모사 추출물은 여과 농축하고 72시간 동안 동결건조를 실시하였다. 실험에 따라 용매에 농도별로 희석하여 미모사 에탄올 추출물 (*Mimosa pudica* ethanol extract, MEE)을 시료로 사용하였다.

3. MEE의 항산화 효과

1) Total polyphenol contents 측정

실험물질의 총 폴리페놀 함량은 Folin and Denis 법 (Folin et al., 1912)에 의거하여 측정하였다. 실험물질은 증류수에 200 μ g/mL의 농도로 희석제조하여 Folin and Ciocalteu's phenol reagent 0.5 mL와 증류수 7.5 mL를 첨가하여 혼합한 후 3분간 방치하였다. 혼합 용액에 Na₂CO₃ 용액을 1 mL을 첨가하고 차광하여 실온에서 1시간 반응시켰다. 반응이 끝난 후 spectrophotometer를 이용하여 760 nm 파장에서 흡광도를 측정하였다. 표준 검량 곡선은 tannic acid를 사용하여 작성한 후 총 폴리페놀 함량을 정량화하였다.

2) DPPH 전자공여능 측정

실험물질의 전자공여능 (electron-donating ability, EDA)은 Blois법 (Blois et al., 1958)에 의거하여 측정하였다. 실험물질은 증류수로 1,000 μ g/mL에서 반수 희석하여 5개의 농도로 제조하였으며 실험물질 0.1 mL에 0.2 mM DPPH 용액을 0.05 mL 넣고 실온에서

차광하여 30분간 반응시켰다. Spectrophotometer를 이용하여 517 nm 파장에서 흡광도를 측정하였다.

3) ABTS+ free radical 소거능 측정

실험물질의 ABTS+ free radical 소거능은 Re 등 방법 (Re et al., 1999)에 의거하여 ABTS⁺ radical cation decolorization assay로 측정하였다. 7 mM 2,2-Azinobis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) diammoniumsulfate와 2.4 mM potassium persulfate를 1:1로 혼합하여 실온에서 차광하여 12시간 방치하여 ABTS⁺ free radical을 생성시켰다. ABTS⁺ free radical이 생성된 용액을 ethanol로 희석하여 spectrophotometer를 이용하여 734 nm 파장에서 흡광도 값이 0.7 (±0.02)이 되도록 하여 실험을 진행하였다. 실험물질은 증류수로 1,000 µg/mL에서 반수 희석하여 5개의 농도로 제조하였으며, 시료 용액 0.1 mL와 ABTS⁺ 용액 0.1 mL를 혼합하여 7분 동안 실온에서 차광하여 반응시켰다. spectrophotometer를 이용하여 734 nm 파장에서 흡광도를 측정하였다.

4. RAW 264.7 cell을 이용한 항염증 효과

1) 세포주 배양

마우스 대식세포인 RAW 264.7 cell은 한국세포주은행 (KCLB, Seoul, Korea)에서 분양받아 실험에 사용하였다. RAW 264.7 cell은 DMEM에 10% FBS와 1% penicillin-streptomycin을 첨가하여 사용하였으며 37°C, 5% CO₂ incubator에서 배양하였다.

2) MTT assay를 이용한 세포독성 확인

MEE에 대한 RAW 264.7 cell의 세포 증식 및 생존에 관한 영향을 확인하기 위해 MTT assay를 실시하였다. RAW 264.7 cell을 1×10⁵ cells/well로 96-well plate에 분주하여 37°C, 5% CO₂ incubator에서 24시간 배양하였다. 상층액을 제거한 후 MEE를 DMEM으로 100 µg/mL에서 반수 희석하여 5개의 농도로 제조하여 0.2 mL씩 처리하고 37°C, 5% CO₂ incubator에서 24시간 배양하였다. 이후 PBS로 RAW 264.7 cell을 1회 세척하고 0.5 mg/mL 농도의 MTT 용액을 0.2 mL씩 넣은 후 37°C, 5% CO₂ incubator에서 3시간 적용하였다. 상층액을 제거한 후 DMSO를 0.2 mL씩 넣어 상온에서 10분간 세포를 용해시킨 후 spectrophotometer를 이용하여 570 nm 파장에서 흡광도를 측정하여 세포생존율을 계산하였다.

$$\text{Cell viability}(\%) = (\text{Absorbance}_{\text{sample}} / \text{Absorbance}_{\text{Normal}}) \times 100$$

3) NO 생성 저해능 평가

96-well plate에 RAW 264.7 cell을 1×10⁵ cells/well로 분주하여 37°C, 5% CO₂ incubator에서 24시간 배양하였다. 24시간 후 LPS (0.1 µg/mL)를 넣은 배지에 MEE를 DMEM으로 100 µg/mL에서 반수 희석하여 5개의 농도로 제조하여 처리하고 같은 조건에서 24시간 배양하였다. 이후 상층액 0.1 mL를 채취하여 동일한 양의 Griess 시약을 넣고 spectrophotometer를 사용하여 540 nm 파장에서 흡광도를 측정하였다. 표준 검량 곡선은 NaNO₂ 표준액을 사용하여 작성한 후 세포 배양액 내 NO 농도를 계산하였다.

$$\text{NO저해율}(\%) = \left(1 - \frac{\text{시료 첨가군의 흡광도} - \text{무첨가군의 흡광도}}{\text{LPS처리군의 흡광도} - \text{무첨가군의 흡광도}}\right) \times 100$$

4) LPS 처리에 따른 세포 생존율 측정

96-well plate에 RAW 264.7 cell을 1×10⁵ cells/well로 분주하여 37°C, 5% CO₂ incubator에서 24시간 배양하였다. 24시간 후 LPS (0.1 µg/mL)를 넣은 배지에 MEE를 DMEM으로 100 µg/mL에서 반수 희석하여 5개의 농도로 제조하여 처리하고 같은 조건에서 24시간 배양하였다. 이후 상층액을 제거한 후 PBS로 RAW 264.7 cell을 1회 세척하고 0.5 mg/mL의 MTT 용액을 0.1 mL씩 넣은 후 37°C, 5% CO₂ incubator에서 3시간 동안 반응하였다. MTT 용액을 제거한 다음 DMSO를 0.1 mL씩 넣어 상온에서 20분간 반응시켰다. 그 후 spectrophotometer를 사용하여 570 nm 파장에서 흡광도를 측정하였다.

5) Western blotting을 통한 TNF-α와 IL-6 단백질 발현 측정

염증성 효소인 TNF-α와 IL-6의 생성에 미치는 MEE의 효과를 검증하기 위해 0.5 µg/mL 농도의 LPS로 염증 유도된 RAW 264.7 cell에 MEE를 50, 100 µg/mL의 농도로 처리하여 37°C, 5% CO₂ incubator에서 24시간 배양 후 세포에서 단백질을 분리하여 Western blot 분석을 수행하였다. RAW 264.7 cell은 6-well plate에 1×10⁵ cells/well로 분주하였으며 PBS로 2번 세척하고 PIPA buffer 0.2 mL씩 분주하고 scraper를 사용하여 세포를 떨어뜨린 후 tube로 옮겨 원심분리를 10분간 하였다. Lowry 등의 방법 (Lowry et. al 1951)에 의거하여 단백질 농도를 정량분석 하였다. 단백질 정량 후 시료는 lipopolysaccharide와 lysis buffer

를 첨가하여 15분간 가열한 후 사용하였다.

추출된 단백질은 SDS-polyacrylamide gel을 사용하여 전기영동 하였다. 그 후 membrane에 transfer 하였다. transfer된 membrane을 5% non-fat milk로 1시간 동안 blocking하고, TBST를 사용하여 세척한 다음 Primary antibody를 16시간 교반 반응 시켰다. TNF- α 와 IL-6에 반응하는 항원을 검출하기 위해 immunoblotting을 진행한 후 TBST로 세척하고 secondary antibody를 가하여 1시간 교반 반응한 후 TBST로 3회 세척하였다. Band의 시각화는 ECL을 이용하였고 X-ray film에 가시화 하였다.

5. 통계처리

본 실험의 결과는 반복 수행결과와 평균값과 표준편차로 나타냈으며, SPSS 21.0 for windows (SPSS Inc., USA) 통계프로그램을 이용하여 분석하였다. 일원배치분산 분석 (one-way ANOVA)을 실시하였으며, 분석결과 검증을 위하여 Duncan's multiple range test를 이용하였다. 통계학적인 유의성 검증은 $p < 0.05$ 의 수준으로 하였으며, western blotting 실험은 $p < 0.05$, $p < 0.01$, $p < 0.001$ 의 수준으로 하였다.

Results

1. MEE의 항산화 효과

1) Total polyphenol

MEE를 증류수로 200 $\mu\text{g/mL}$ 농도로 조제하여 실험을 진행한 결과, 총 폴리페놀 함량은 611.93 ± 2.32 mg/g으로 나타났다. 이는 표준검량곡선을 그리기 위해 사용한 양성대조군인 tannic acid 100 $\mu\text{g/mL}$ 농도의 총 폴리페놀 함량 524.211 ± 0.88 mg/g과 유사한 항산화 효능을 확인할 수 있었다.

2) DPPH 전자공여능

MEE의 항산화능 평가를 위해 DPPH 전자공여능을 실험한 결과, 1000 $\mu\text{g/mL}$ 농도에서 MEE는 $88.1 \pm 1.0\%$ 로 나타났으며, 실험물질의 농도증가에 따라 radical 소거능이 증가하는 양상을 보였다(Fig. 1).

3) ABTS⁺ radical 소거능

MEE의 항산화능 평가를 위해 ABTS⁺ radical 소거능을 실험한 결과, 1000 $\mu\text{g/mL}$ 농도에서 MEE는 $99.7 \pm 0.3\%$ 의 소거능을 보여 양성대조군으로 사용한 ascorbic

acid의 소거능과 비슷한 결과가 나타나 항산화 효과가 뛰어난 것으로 나타났다(Fig. 2).

2. RAW 264.7 cell을 이용한 항염증 효능 평가

1) MTT assay를 이용한 세포독성 확인

RAW 264.7 cell에 MEE를 6.25, 12.5, 25, 50, 100 $\mu\text{g/mL}$ 농도로 처리했을 때의 세포생존율은 모두 80% 이상으로 나타났다. 실험물질을 농도 중 가장 고농도인 100 $\mu\text{g/mL}$ 을 처리했을 때의 세포 생존율은 80.42%로 나타났다(Fig. 3). 본 실험결과를 토대로 NO 저해율 측정 시 실험물질의 농도는 100 $\mu\text{g/mL}$ 이하로 설정하였다.

2) NO 생성 저해능 평가

RAW 264.7 cell에서의 NO 저해율을 실험한 결과 MEE의 농도가 진해질수록 NO 저해율은 증가하였으며 100 $\mu\text{g/mL}$ 에서 90.7%의 NO 저해율이 나타났다(Fig. 4). 실험물질은 용량 의존적으로 NO 생성을 저해하는 것으로 나타났다.

3) LPS 처리에 따른 세포 생존율 측정

RAW 264.7 cell에서 LPS를 처리한 MEE의 세포 생존율 결과 LPS군의 세포 생존율이 73.77%로 나타난 것에 비하여 MEE는 100 $\mu\text{g/mL}$ 농도에서 74.09%의 세포 생존율을 보였다(Fig. 5). 또한, MEE 6.25 $\mu\text{g/mL}$ 농도에서 91.02%의 세포생존율로 나타나 MEE에 대한 세포독성과 LPS의 세포독성으로 인해 MEE의 농도가 증가함에 따라 세포생존율이 줄어든 것으로 보인다.

4) 세포 내 TNF- α 발현 억제

RAW 264.7 cell에 LPS를 처리한 후 TNF- α 의 발현량은 증가하였으나 MEE를 처리 시 농도 의존적으로 감소하였다. 특히 100 $\mu\text{g/mL}$ 에서 LPS만 단독처리한 군에 비해 67.87%의 억제 효과가 나타났다(Fig. 6). 본 실험에서는 실험물질 농도의 증가에 따라 cytokine TNF- α 의 발현 억제가 관찰되었다.

5) 세포 내 IL-6 발현 억제

RAW 264.7 cell에 LPS 처리한 후 IL-6의 발현량은 증가하였으나 MEE를 처리 시 농도 의존적으로 감소하였다. 특히 100 $\mu\text{g/mL}$ 에서 LPS만 단독처리한 군에 비해 63.38%의 억제 효과가 나타났다(Fig. 7). 본 실험에서는 실험물질 농도의 증가에 따라 cytokine IL-6의 발현 억제가 관찰되었다.

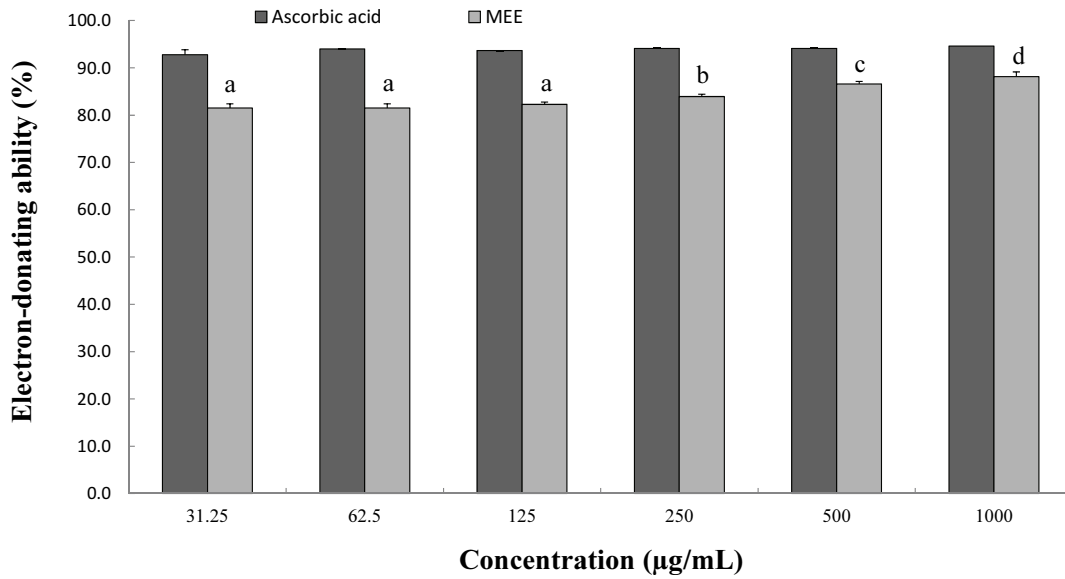


Fig 1. Electron-donating ability of MEE. Values represent the mean±SD of 3 independent measurements. Values with different letters are significantly was confirmed by concentration (p<0.05). MEE: *Mimosa pudica* ethanol extract

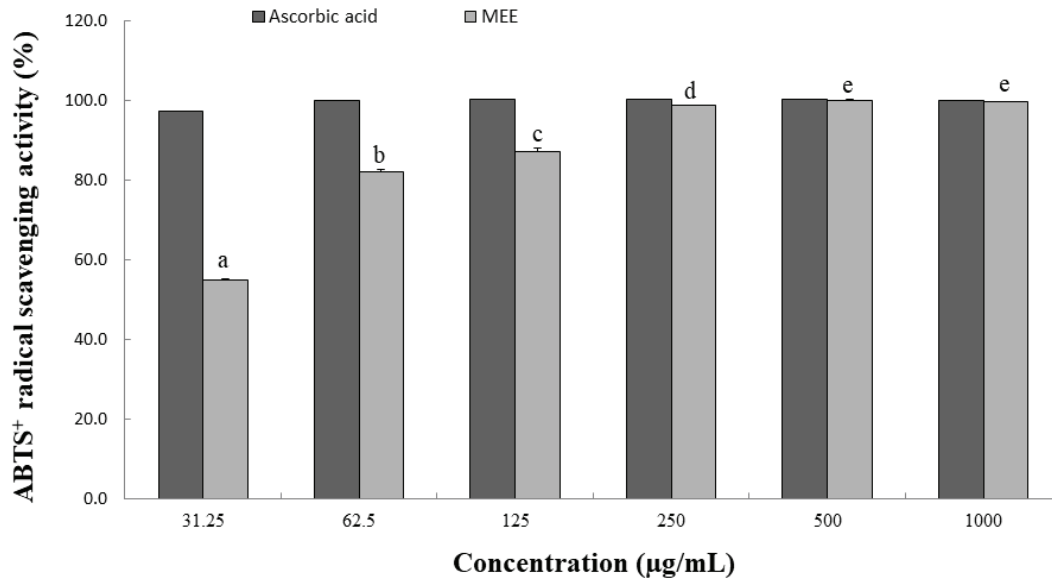


Fig 2. ABTS⁺ radical scavenging activity of MEE. Values represent the mean±SD of 3 independent measurements. Values with different letters are significantly was confirmed by concentration (p<0.05). MEE: *Mimosa pudica* ethanol extract

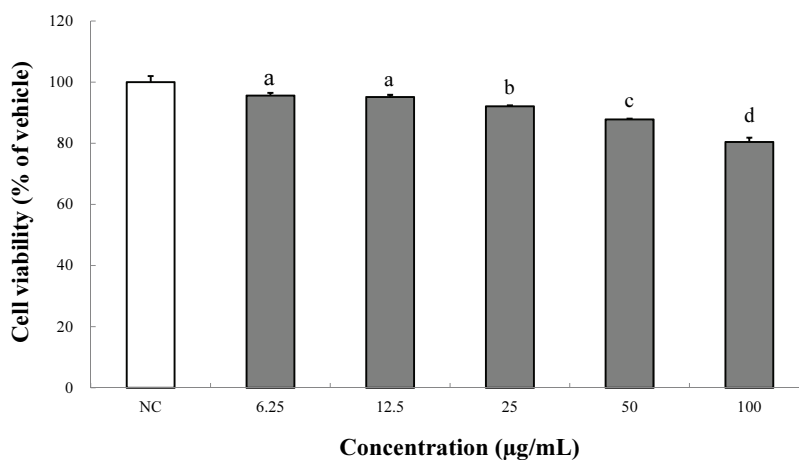


Fig 3. Cell viability of MEE in RAW 264.7 cells. The values represent mean \pm SD of 3 independent experiments. Cells viability expressed as a percentage of NC. Values with different letters are significantly was confirmed by concentration ($p < 0.05$). NC : vehicle-treatment control

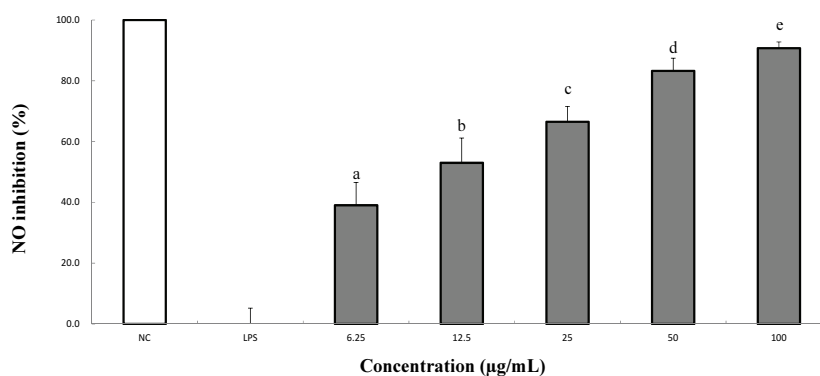


Fig 4. Inhibition of nitric oxide secretion by MEE in RAW 264.7 cells. The values represent mean \pm SD of 3 independent experiments. Cells viability expressed as a percentage of NC. Values with different letters are significantly was confirmed by concentration ($p < 0.05$). NC : vehicle-treatment control. LPS : LPS-treatment control

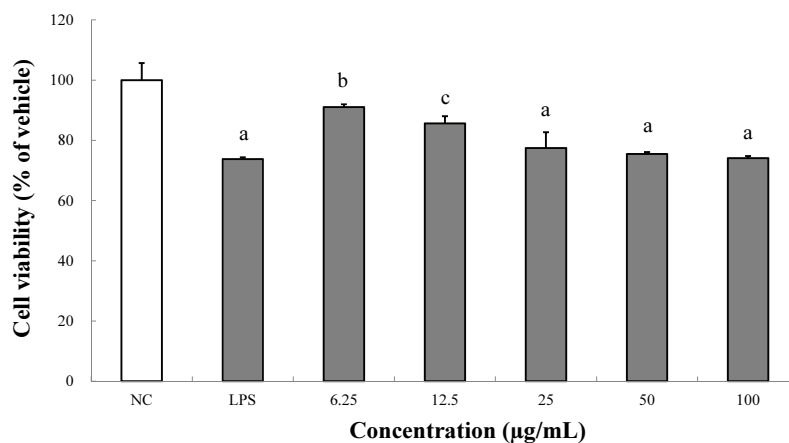


Fig 5. Cell viability of LPS and MEE in RAW 264.7 cell. The values represent mean \pm SD of 3 independent experiments. Cells viability expressed as a percentage of NC. Values with different letters are significantly was confirmed by concentration ($p < 0.05$). NC : vehicle-treatment control

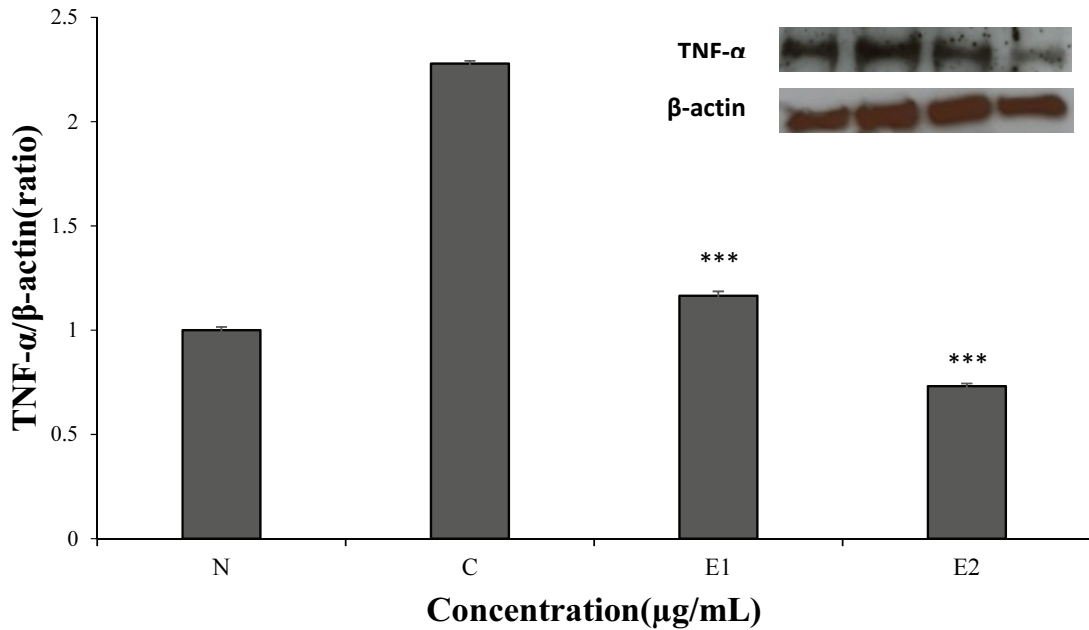


Fig 6. Effect of MEE treatment on the TNF- α levels of inflammation in RAW 264.7 cells. Values are relative to the LPS-treatment control and is expressed mean \pm SD of 3 independent measurements. Asterisk indicates a significant difference from the vehicle treatment control (** $p < 0.001$). N : vehicle-treatment control, C: LPS-treatment control, E1: LPS + MEE 50 μ g/mL, E2: LPS + MEE 100 μ g/mL

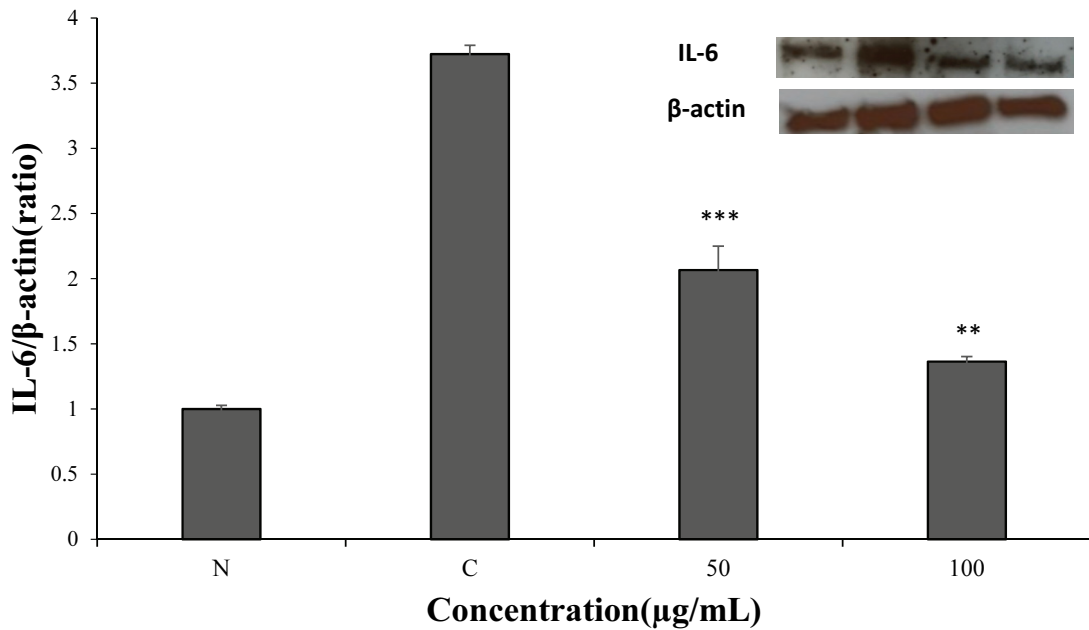


Fig 7. Effect of MEE treatment on the IL-6 levels of inflammation in RAW 264.7 cells. Values are relative to the LPS-treatment control and is expressed mean \pm SD of 3 independent measurements. Asterisk indicates a significant difference from the vehicle treatment control (** $p < 0.001$, ** $p < 0.01$). N : vehicle-treatment control, C: LPS-treatment control, E1: LPS + MEE 50 μ g/mL, E2: LPS + MEE 100 μ g/mL

Discussion

본 연구에서는 미모사 에탄올 추출을 이용하여 항산화 활성 및 항염증 효능을 확인하여 천연소재물로서의 다양한 응용 가능성을 확인하고자 하였다. 현재까지 미모사를 이용한 선행 연구가 존재하기는 하나, 항산화 및 독성 보호 효과에 대한 연구는 미미하다. 특히 항염증 소재로서 미모사의 생리 활성에 대한 기전연구는 전무한 설정이다. 산화적 스트레스 등 각종 원인으로 인해 세포 독성이 일어난다. 특히 L-arginine이 L-citrulline으로 변하는 과정에서 형성되는 NO는 생성되는 농도에 따라 세포 기능 유지에 중요한 역할을 하지만 아민류와 반응으로 인해 nitrosamine을 생성하며, 세포독성을 일으켜 염증 반응이 일어난다고 보고된 바 있다 (Mu et al., 2001; Ryu et al., 2003; Kwak et al., 2008). 이에 따라 본 연구는 미모사 에탄올 추출물의 항산화 및 항염증 연구를 통하여 피부 염으로부터 피부를 보호할 천연 기능성 소재로서의 활용 가능성을 확인하고자 하였다.

MEE의 항산화능 평가를 위해 총 폴리페놀 함량 측정결과 611.93 ± 2.32 mg/g으로 나타났으며 양성대조군과 비슷한 정도의 높은 함량을 보였다. 또한 전자공여능을 평가하는 DPPH assay 결과, 농도 의존적으로 증가하는 양상을 보였으며 1,000 $\mu\text{g/mL}$ 농도에서 88.1% 전자공여능을 보여 유의미한 결과를 나타냈다. 또한 ABTS 라디칼 소거 활성은 물질의 농도가 증가함에 따라 농도 의존적으로 활성이 높아졌으며, 1,000 $\mu\text{g/mL}$ 농도에서 양성대조군인 ascorbic acid와 유사한 95% 이상의 높은 항산화능을 보였다.

항염증 평가를 위해 RAW 264.7 cells에서 확인한 결과 MEE의 농도가 높아질수록 NO 저해율은 농도 의존적으로 증가하는 양상을 나타냈으며 높은 NO 생성 저해율을 나타냈다. 시험물질은 최고 농도인 100 $\mu\text{g/mL}$ 에서 90.7%의 NO 저해율을 보였다. TNF- α 는 랑게르한스 세포가 진피로 이동하는데 관여하며 NO를 활성화시켜 염증을 유발하고, IL-6는 염증성 자극에 반응하여 다량 분비되며 B세포의 분화와 T세포의 증식 조절작용과 신경 분화에 관여한다 (Higuchi et al., 1990; Lee et al., 2000). 염증인자인 TNF- α , IL-6의 발현 정도를 확인한 결과 MEE를 처치한 모든 군에서 TNF- α , IL-6의 발현이 감소하였으며 최대 농도인 100 $\mu\text{g/mL}$ 의 농도에서 양성대조군 보다 각각 67.87%, 63.38%의 억제 효과를 보였다. 이와 같은 연구 결과를 종합해 볼 때 미모사 에탄올 추출물의 항산화 및 항염증의 효과가 있음을 검증하였고 화장품 소

재 및 다양한 천연소재물로서의 응용 가능성이 있음을 시사한다.

References

- Balakrishnan N, Suresh D, Pandian GS, Edwin E, and Sheeja E. (2006). Antidiarrhoeal potential of *Mimosa pudica* root extracts. *Indian Journal of Natural Products* 22(2): 21-23.
- Blois MS. (1958). Antioxidant Determinations by the Use of a Stable Free Radical. *Nature* 181: 1199-1200.
- Bum EN, Dawack DL, Schmutz M, Rakotonirina A, Rakotonirina SV, Portet C, and Herrling P. (2004). Anticonvulsant activity of *Mimosa pudica* decoction. *Fitoterapia* 75(3-4): 309-314.
- Chowdhury SA, Islam J, Rahaman MM, Rahman MM, Rumzhum NN, Sultana R, and Parvin MN. (2008). Cytotoxicity, antimicrobial and antioxidant studies of the different plant parts of *Mimosa pudica*. *Stamford journal of pharmaceutical sciences* 1(1): 80-84.
- Folin O, Denis W. (1912). On phosphotungstic-phosphomolybdic compounds as color reagents. *J Biol Chem* 12: 239-243.
- Ganguly M, Devi N, Mahanta R, and Borthakur MK. (2007). Effect of *Mimosa pudica* root extract on vaginal estrous and serum hormones for screening of antifertility activity in albino mice. *Contraception* 76(6): 482-485.
- Ghani A. (1998). Medicinal plants of Bangladesh: chemical constituents and uses. *Asiatic society of Bangladesh*
- Guha M and Mackman N. (2001). LPS induction of gene expression in human monocytes. *Cellular Signal* 13: 85-94.
- Higuchi M, Higashi N, Taki H, and Osawa T. (1990). Cytolytic mechanisms of activated macrophages. Tumor necrosis factor and L-arginine-dependent mechanisms act synergistically as the major cytolytic mechanisms of activated macrophages. *The Journal of Immunology* 144(4): 1425-1431.
- Kim DY, Cho SC. (2016). Studies on anti-inflammatory effect of ethanol extract from *Rubus crataegifolius* leaf. *Food Eng Prog* 20: 21-27.
- Kubes P and Mccafferty DM. (2000). Nitric oxide and intestinal inflammation. *American J Medicine* 109: 150-158.
- Kwak HY, Lee SJ, Lee DY, Jung L, Bae NH, Hong SY, Kim, GW, and Baek NI. (2008). Cytotoxic and anti-inflammatory activities of lipids from the Nuruk (*Rhizopus oryzae* KSD-815). *Applied Biological Chemistry* 51(2): 142-147.
- Lee YS, Kim HS, Kim SK, and Kim SD. (2000). IL-6 mRNA expression in mouse peritoneal macrophages and NIH3T3 fibroblasts in response to *Candida albicans*. *Journal of microbiology and biotechnology* 10(1): 8-15.
- Lee CE, Jeong HH, Cho JA, and Ly SY. (2017). In vitro and in vivo anti-oxidative and anti-inflammatory activities of *Acer tegmentosum* Maxim extracts. *J Korean Soc*

- Food Sci Nutr* 46: 1-9.
- Lin WW and Karin AA. (2007). cytokine-mediated link between innate immunity, inflammation, and cancer. *J Clin Invest* 117: 1175-1183.
- Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, and Randall RJ. (1951). Protein measurement with the Folin phenol reagent. *Journal of biological chemistry* 193: 265-275.
- Mu MM, Chakravorty D, Sugiyama T, Koide N, Takahashi K, Mori I, Yoshida T, and Yokochi T. (2001). The inhibitory action of quercetin on lipopolysaccharide induced nitric oxide production in RAW 264.7 macrophage cells. *J Endotoxin Res* 7: 431-438.
- Re R, Pellegrini N, Proteggente A, Pannala A, Yang M, and Rice-Evans C. (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radic Biol Med* 26: 1231-1237.
- Ryu JH, Ahn H, Kim JY and Kim YK. (2003). Inhibitory activity of plant extracts on nitric oxide synthesis in LPS-activated macrophages. *Phytother Res* 17: 485-489.
- Sohil V and Sundaram RM. (2009). Hepatoprotective activity of *Mimosa pudica* leaves against Carbontetrachloride induced toxicity. *Journal of Natural Products* 2: 116-122.
- Umamaheswari S and Prince PSM. (2007). Antihyperglycaemic effect of ĩilogen-excelĩ, an ayurvedic herbal formulation in streptozotocin-induced diabetes mellitus. *Acta Poloniae Pharmaceutica-Drug Research* 64(1): 53-61.
- Woo HS, Lee SM, Heo JD, Lee MS, Kim YS, and Kim DW. (2018). Anti-inflammatory activity of extracts of *Hovenia dulcis* on lipopolysaccharides-stimulated RAW264.7 cells. *Korean J Plant Res* 31: 466-477.

