

자외선이 조사된 사람피부 섬유아세포에서 흰털오가피 잎추출물의 항산화작용

신애향 · 유수연* · 노빛나** · 김자인*** · 김옥경*** · 박원봉***#

(주)수신오가피, 수신오가피 R&D 연구소, *노팅햄대학교 약학대학,
서울여자대학교 자연과학대학, *대진대학교 생활과학대학 식품영양학과
(Received April 6, 2007; Revised June 4, 2007)

Antioxidative Activity of Extracts of *Acanthopanax divaricatus* var. *albeofructus* Leaves in Human Dermal Fibroblast Irradiated by UVA

Ai Hyang Shin, Su-Yun Lyu*, Binna Noh**, Ja In Kim***, Ok Kyoung Kim*** and Won Bong Park***#

Susin R&D institute, Susin Ogapy, Cheon-An 300-881, Korea

*School of Pharmacy, University of Nottingham, University Park, Nottingham, NG7 2RD, UK

**Department of Chemistry, Seoul Women's University, Seoul 139-774, Korea

***Department of Food Science and Nutrition, Daejin University, Pochon 487-711, Korea

Abstract — We investigated antioxidative activity of the water and ethanol extracts of leaves of *Acanthopanax divaricatus* var. *albeofructus* in human dermal fibroblast (HDFs) irradiated by UVA. The irradiation of UVA did not affect the cell viability of HDFs. The antioxidative activity of the extract was investigated by xylenol orange, TBARS (thiobarbituric acid reactive substances) and antioxidant enzyme assay. Both extracts showed H₂O₂ scavenging activity and inhibited lipid peroxidation in HDF cells irradiated by UVA. The extracts also recovered enzyme activity in the same cells.

Keywords □ human dermal fibroblast (HDF), UVA-irradiation, *Acanthopanax divaricatus* var. *albeofructus*, antioxidative activity

피부는 선천적인 노화과정과 함께 자외선(ultraviolet) 노출에 의한 광노화에 의하여 심각한 손상을 입게 된다. 자외선은 UVA(320~400 nm), UVB(290~320 nm), UVC(200~290 nm)로 구별되는데, UVA는 진피층을 투과하여 광손상과 피부 노화를 촉진하는 것으로 알려져 있다.¹⁾ 피부 내로 흡수된 빛은 핵산, 아미노산 그리고 멜라닌 등 다양한 색소체들에게 빛에너지를 전달하게 된다. 그 결과, 색소체들은 광분해 반응을 일으켜 자유기들(free radicals)을 생성하며, 생체 내에 존재하는 유리 산소분자와 상호작용을 하여 superoxide anion radical을 만들며, 이들은 여러 반응 경로를 거쳐 singlet oxygen(¹O₂), hydroxyl radical(OH), 또는 과산화수소(H₂O₂)와 같은 유해 활성산소종을 만드는 연쇄반응을 거친다.^{2,3)}

피부세포 및 조직손상을 주도하는 것은 이와 같은 유해 활성산소종이며, 이들은 항산화 효소와 비효소적 항산화제들로 구성

된 항산화 방어망을 파괴한다. 그 결과, 지질 과산화, 단백질 산화, 세포성분을 파괴시키는 단백질 분해효소들의 활성화, 콜라겐(collagen)과 엘라스틴(elastin)의 사슬 절단 및 비정상적인 교차결합, hyaluronic acid 사슬의 절단, 멜라닌 생성반응 촉진, DNA 산화 등의 손상을 야기한다. 결국에는 피부탄력 감소, 주름 및 기미, 주근깨 생성 등으로 특징 지워지는 피부 노화가 가속화된다.^{4,6)}

그러나 피부에는 superoxide dismutase(SOD), glutathione peroxidase, catalase와 같은 항산화 효소가 존재하여 유해 활성산소종으로부터 보호작용을 가지게 된다. 그렇지만 지속적으로 자외선에 노출되면, 피부의 항산화효소가 파괴되고, 그 결과 산화적 스트레스가 일어나 세포성분들을 손상시키고 광노화(photoaging)가 촉진된다.⁷⁾

오가피는 인삼과 같은 과인 오가피(五加科)에 속해있으며 우리나라의 전역과 중국의 동북부 지방, 러시아의 시베리아, 일본의 북해도 등에 분포하는데 국내에는 참오가피, 지리오가피, 섬오가피, 흰털오가피, 가시오가피 등 10여종의 오가피나무가 자생 또는 재배되고 있다.⁸⁾ 오가피나무는 잎사귀의 모양이 인삼과 매

#본 논문에 관한 문의는 저자에게로
(전화) 02-970-5655 (팩스) 02-978-7931
(E-mail) wbpark@swu.ac.kr

우 흡사할 뿐 아니라 그 효능 면에서도 인삼 못지않기 때문에 나무인삼, 또는 나무산삼이라고 부르기도 한다. 천식 관절염 등의 만성질환에 사용되어 온 오가피는 소염효과가 탁월하며, 항산화, 콜레스테롤 저하, 면역 활성화, 항균 등의 효과도 보고되고 있다. 또한 오가피는 자기방어능 회복으로 생기 있는 피부로 만들어 준다고 민간에 널리 알려져 있으나 과학적인 연구가 거의 이루어지지 않고 있다.⁹⁻¹²⁾

저자 등은 포도당에 의한 Vero 세포(원숭이 신장세포주)의 산화적 손상에 대한 잎, 줄기, 뿌리, 열매 등 오가피 부위별 물추출물의 항산화활성을 보고한 바 있다.⁹⁾ 그 결과, 오가피 잎 추출물이 가장 우수한 항산화활성이 있는 것을 알 수 있었다. 이어서 본 연구에서는 흰털 오가피 잎 추출물의 피부세포에서 자외선 조사에 의한 산화적 스트레스 억제여부를 확인하여, 오가피 추출물의 노화방지용 화장품원료로서의 가능성을 알아보려 하였다.

실험 방법

실험재료 및 시료

충남 천안시 소재 (주)수신오가피에서 재배한 흰털오가피 (*Acanthopanax divaricatus* var. *albeofructus*) 잎의 열수추출물 분말을 제공받아 시료로 사용하였다. Ethanol 추출물은 환류냉각기가 부착된 추출기에 건조한 오가피 잎과 95% ethanol을 가하고 70°C 수욕상에서 3시간 동안 가열하여 여과한 여액을 감압 농축하였다. 오가피 열수 추출물 분말은 멸균증류수에 용해시켜 용액을 pore size가 다른 membrane filter에 의해 순차적으로 여과하여(0.8, 0.45, 0.2 µm) 사용하였다.

세포배양 및 자외선 조사(UVA irradiation)

Modern Tissue Technology(MTT, Korea)로부터 분양받은 Human dermal fibroblast(HDF-N)는 10% FBS(fetal bovine serum, GibcoBRL, Grand Island, USA), 1% penicillin streptomycin(GibcoBRL, Grand Island, USA)이 첨가된 DMEM(Dulbecco's modified Eagle's medium, GibcoBRL, Grand Island, USA) 배지에서 37°C(5% CO₂/60% 상대습도)의 항온, 항습 배양기로 배양하였다. HDF-N을 100 mm culture dish에 1×10⁶ cells/ml로 분주한 다음 24시간 동안 배양하였다.

자외선 조사 직전에 PBS(phosphate buffered saline, Sigma, St Louis, MI, USA)로 1회 세척하고, PBS를 세포가 살짝 잠길 정도로 넣어 준 상태에서 plate 뚜껑을 열고 자외선을 조사하였다. 조사 즉시 다시 PBS로 1회 세척한 후, 5% FBS를 첨가한 DMEM과 농도별 오가피 잎 추출물을 넣고 37°C, 5% CO₂ 배양기에서 배양하였다. 자외선 조사 이후, 세포를 수거하여 파쇄완충용액(20 mM HEPES, pH 7.0/1 mM EDTA, 2 mM phenylmethylsulfonyl fluoride) 300 µl를 넣고, 초음파기로 파쇄 후,

4°C, 12,000×g에서 15분 동안 원심 분리하여 상등액을 수거하여 BCA 방법에 의하여 단백질을 정량 후, 항산화활성 실험에 사용하였다.

MTT assay

세포의 산화적 손상정도는 HDF-N 세포에 8J의 자외선을 조사한 후, MTT assay를 이용하여 세포의 생존율을 측정하여 확인하였다. 또한 시료의 산화적 손상 억제활성은 자외선을 조사한 세포에 농도별 오가피 잎 추출물을 첨가한 세포를 2일간 배양 후, MTT assay에 의하여 세포의 생존율을 측정하여 확인하였다. 즉, 96-well plate에 세포를 1×10⁴ cells/well 씩 접종하여 24시간 배양한 후, 세포에 8J의 자외선을 조사한 후, 오가피 추출물을 처리하여 48시간 동안 배양하였다. 이 후, MTT 용액 50 µl(5 mg/ml)씩 첨가하고 4시간 후 원심분리하여 상등액을 제거하고 DMSO 100 µl씩 첨가 후 595 nm에서 ELISA(enzyme-linked immunosorbant assay) reader(Molecular Devices Co.)로 흡광도를 측정하였다.

세포 내 과산화수소(H₂O₂) 생성정도

과산화수소는 산성 조건에서 Fe²⁺ 이온을 Fe³⁺ 이온으로 산화시키는데, 이것은 Fe³⁺에 sensitive인 xylenol orange를 처리하여 560 nm에서 흡광도를 측정하여 세포 내의 과산화수소의 생성정도를 알 수 있다. 세포추출물(단백질농도 2 mg/ml) 50 µl에 FOX 용액(0.1 mM xylenol orange, 0.25 mM ammonium ferrous sulfate, 100 mM sorbitol, 25 mM H₂SO₄) 950 µl를 첨가한 후, 상온에서 30분 동안 반응시키고, 560 nm에서 흡광도를 측정하였다. 이 때, 기준곡선은 과산화수소를 1~5 µM 범위에서 동일한 방법으로 측정하여 사용하였다.¹³⁾

지질과산화 정도

지질과산화 정도를 TBARS(thiobarbituric acid reactive substances)의 형성으로 평가하였다.¹⁴⁾ 즉, 세포 추출물(단백질농도 5 mg/ml) 20 µl에 TBA-trichloroacetic acid-HCl 용액(0.375% TBA/15% TCA in 0.25 M HCl) 1 ml를 첨가하여 95°C 수욕상에서 30분간 가열하여 발색시킨 후 냉각시켰다. 냉각 후 10분간 원심분리(2,000 rpm)한 다음 상등액을 취하여 생성된 MDA의 양을 532 nm에서 흡광도를 측정하였다.

Superoxide Dismutase 활성

Superoxide dismutase의 활성은 pyrogallol의 자기산화(auto-oxidation)를 저해하는 정도로 확인하였다.¹⁵⁾ 1 mM EDTA를 함유한 50 mM Tris-HCl 완충액(pH 8.2) 970 µl에 0.2 mM pyrogallol 용액 10 µl와 세포 추출액(단백질농도 5 mg/ml) 20 µl를 가하여 25°C에서 10분간 반응시킨 후, 1 M HCl 용액을 가하

여 반응을 종료시키고 440 nm에서 흡광도를 측정하여 활성도를 산정하였다. SOD 1 unit는 pyrogallol의 자기산화 속도를 50% 억제하는 효소단백질(SOD)의 양으로 나타내었다.

Catalase 활성

Catalase 활성은 Aebi¹⁶⁾의 방법에 준하여 H₂O₂의 분해에 따라 감소하는 흡광도를 측정하는 방법을 이용하였다. 50 mM 인산완충용액(pH 7.0)에 15 mM H₂O₂를 가하여 만든 기질용액 980 μl에 세포 추출액(단백질농도 5 mg/ml) 20 μl를 가한 후 240 nm에서 흡광도 감소를 측정하였다. 효소의 활성단위(1 unit)는 1분간 1 mg 효소단백질(catalase)에 의해 소실되는 H₂O₂의 양을 1 μmol/min로 나타내었다.

통계처리

모든 실험자료는 Microsoft Excel 프로그램을 이용하여 평균값과 표준오차를 계산하여, 평균±표준오차로 나타내었으며, 유의성 검정은 Student's t-test로 검정하여 p<0.05 인 것을 유의하다고 간주하였다.

실험결과 및 고찰

자외선 및 오가피 추출물의 사람 피부세포의 생존에 미치는 영향

진핵세포에서 자외선에 의한 색소체의 광분해를 통해 생성된 자유기들은 superoxide anion(O₂⁻), hydroxyl radical(OH), H₂O₂와 같은 활성산소로 변하게 된다. 이 활성산소들은 반응성이 매

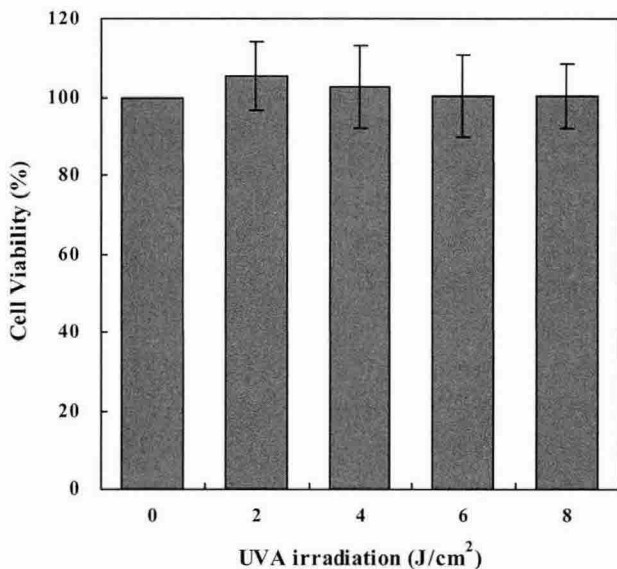


Fig. 1 - Viability of human dermal fibroblast (HDF)-N cells irradiated by UVA (0~8 J/cm²). The HDF-N cells were irradiated by UVA and the viability was determined by MTT assay.

Table I - Cell viability of HDF-N cells and UV (8 J/cm²)-irradiated HDF-N cells incubated with extracts of leaves of *Acanthopanax divaricatus* var. *albeofructus*

Conc. (g/ml)	HDF-N cells ¹		UV-irradiated HDF-N cells ²	
	Water	Ethanol	Water	Ethanol
0	100	100	100	100
10 ⁻¹⁰	99.8±0.2	100.1±0.2	100.1±0.2	101.1±0.16
10 ⁻⁹	96.2±1.6	97.9±0.5	97.8±1.5	100.3±1.9
10 ⁻⁸	95.5±1.4	96.7±0.4	96.6±1.9	99.7±2.4
10 ⁻⁷	96.8±0.6	97.4±0.4	98.2±0.7	98.7±1.5
10 ⁻⁶	95.3±0.7	96.3±0.4	95.7±1.7	97.9±1.9

¹HDF-N cells were incubated with water or ethanol extracts of leaves of *Acanthopanax divaricatus* var. *albeofructus* for 48 hr and the viability was determined by MTT assay.

²UV (8 J/cm²)-irradiated HDF-N cells were incubated with water or ethanol extracts of leaves of *Acanthopanax divaricatus* var. *albeofructus* for 48 hr and the viability was determined by MTT assay. For all data, value were the mean S.E.M. of ±3 separated experiments.

우 커 핵산, 지질, 단백질 등의 생체 내 화합물을 산화 손상시키며, 단백질 분해효소들의 활성화, 콜라겐과 엘라스틴의 사슬 절단 및 비정상적인 교차결합들을 유도해 피부 노화를 가속시키는 것으로 알려져 있다.¹⁷⁻²¹⁾

본 실험에서는 먼저, 사람 피부 섬유아세포(human dermal fibroblast)에 2~8 J/cm²의 자외선(UVA)을 조사하여 48시간 동안 배양 후, MTT assay에 의하여 세포의 생존정도를 확인하였다. 그 결과, 조사된 자외선은 세포의 생존에 크게 영향을 미치지 않는 것으로 나타났다(Fig. 1). 또한 오가피 잎 추출물을 피부세포 및 8 J/cm²의 UVA가 조사된 피부세포에 처리 후 세포의 생존정도를 MTT assay에 의하여 확인한 결과, 오가피 잎 추출물은 두 가지 세포의 생존에 큰 영향을 끼치지 않는 것으로 나타났다(Table I).

세포 내 과산화수소(H₂O₂) 생성억제작용

오가피 잎 추출물이 자외선 조사에 의해 일어난 피부세포의 산화로 생성된 활성산소종의 하나인 과산화수소(H₂O₂)의 생성을 억제하는 정도를 알아보기 위해 세포에 8 J/cm²의 자외선을 조사한 후, 오가피 잎 추출물을 처리하여 48시간 동안 배양하였다.

이후 세포를 수거해 파쇄하여 얻은 세포액에 FOX 용액을 첨가한 후, 상온에서 30분 동안 반응시켜 560 nm에서 흡광도를 측정하였다.

그 결과, UV 조사에 의해 세포 내에서 H₂O₂의 생성이 2배 가까이 현저히 증가하였으며, 오가피 잎 추출물의 처리에 의해 농도 의존적으로 H₂O₂의 생성이 감소하였다. 즉, 물추출물을 처리한 경우, 1,000 ng/ml의 농도에서 거의 정상으로 회복되었으며, 에탄올 추출물을 처리한 경우에는 더 낮은 농도인 100 ng/ml의 농도에서 유사한 효과를 나타내는 것을 알 수 있었다(Table II).

Table II – Effect of extracts of leaves of *Acanthopanax divaricatus* var. *albeofructus* on the generation² of H₂O₂ in UV (8 J/cm²)-irradiated HDF-N cells¹

UV (8 J/cm ²)	Concentration (ng/ml)	Concentration of hydrogen peroxide ¹	
		Water extract	EtOH extract
-	0	12.2±1.4	
+	0	22.2±2.8**	
+	0.1	20.9±4.4	23.3±1.7**
+	1	21.4±1.9*	18.9±1.7**
+	10	21.3±1.0**	17.5±2.1**
+	100	16.0±2.2	13.6±2.2
+	1,000	13.9±0.1**	12.9±0.4
+	10,000	16.8±2.6	13.7±0.8

¹UV (8 J/cm²)-irradiated HDF-N cells were incubated with water or ethanol extracts of leaves of *Acanthopanax divaricatus* var. *albeofructus* for 48 hr. The cells in lysis buffer were broken by sonication and were centrifuged.

²The generation of H₂O₂ was detected by addition of xylenol orange to the cell extract by measuring the absorbance at λ_{\max} =560 nm.

Significant difference from controls (**p*<0.05, ***p*<0.01).

지질과산화 억제 작용

산화적 스트레스는 세포막을 구성하는 주된 성분인 인지질을 산화 손상시켜 세포에 대한 독성을 가지는 MDA(malondialdehyde)와 HNE(hydroxynonenal) 같은 지질 과산화물을 생성하게 하는데, 이는 산화 손상의 지표가 된다.²²⁾ 본 실험에서는 지질과산화의 정도를 활성 aldehyde인 MDA 생성을 TBARS(thiobarbituric acid reactive substances)의 분석에 의하여 평가하였다. 그 결과, 자외선 조사에 의해 HDF-N 세포에서 과산화지질의 생성이 1.62배 증가하였으며, 오가피 추출물에 의해 증가된 과산화지질의 생성이 감소되는 것을 알 수 있었다. 즉, 에탄올 추출물과 물 추출물 모두 1,000 ng/ml의 농도에서 가장 우수한 과산화지질 억제

Table III – Effect of extracts of leaves of *Acanthopanax divaricatus* var. *albeofructus* on the lipid peroxidation² in UV (8 J/cm²)-irradiated HDF-N cells¹

UV (8 J/cm ²)	Sample (ng/ml)	MDA level (Absorbance at λ_{\max} =540 nm)	
		Water extract	EtOH extract
-	0	5.3±0.8	
+	0	8.6±0.3**	
+	0.1	8.9±0.0**	8.6±0.2**
+	1	8.4±0.5*	8.3±0.6*
+	10	7.8±1.2	7.5±0.7
+	100	6.8±1.1	6.4±0.6
+	1,000	6.2±0.9	5.5±0.5
+	10,000	6.9±0.9	6.2±0.5

¹UV (8 J/cm²)-irradiated HDF-N cells were incubated with water or ethanol extracts of leaves of *Acanthopanax divaricatus* var. *albeofructus* for 48 hr. The cells in lysis buffer were broken by sonication and were centrifuged.

²The lipid peroxidation were determined by TBARS method. MDA levels were measured by the absorbance at 540 nm.

Significant difference from controls (**p*<0.05, ***p*<0.01).

효과가 있었으며, 특히, 에탄올 추출물의 경우는 자외선 조사로 인한 과산화지질의 생성이 거의 정상수준으로 회복되었으며, 물 추출물의 경우 억제작용이 에탄올 추출물보다 다소 낮은 것으로 나타났다(Table III).

항산화효소 활성에 미치는 영향

산화적 대사과정 중에 생체 내에서는 항상 free radical이 생성되고 있으며, 이들 대부분은 항산화 효소 및 항산화 물질을 포함한 생체 내 항산화 방어계에 의하여 소거된다. Tolmasoff *et al.*²⁰⁾은 SOD의 활성이 대사에 비하여 높은 포유동물일수록 최장수명이 길다는 사실을 밝힘으로써 free radical에 의한 산화적 스트레스와 노화의 관련설을 강력히 제시한 바 있다.²¹⁻²³⁾ 이와 같이 세포의 정상적인 대사과정 중 활성산소종이 생성되고 있으나 생체 내에는 이들에 대한 방어기구로서 free radical 생성을 미리 방지하는 예방적 항산화제(preventive antioxidant)인 superoxide dismutase(SOD), catalase, peroxidase 등의 항산화 효소가 존재하여 스스로를 보호하고 있다. 그 중 SOD는 superoxide anion을 H₂O₂로 전환시키고, catalase는 H₂O₂를 물로 전환시켜 산소기를 제거시킨다.²⁰⁾

본 실험에서는 오가피의 잎 추출물이 자외선이 조사된 세포 내의 SOD 및 catalase의 활성에 미치는 영향을 확인하였다. 그 결과, 자외선 조사에 의하여 세포 내 SOD의 활성이 감소하였으며, 오가피 잎 추출물에 의하여 효소활성이 농도 의존적으로 유의성 있게 증가하는 것을 알 수 있었다. 물 추출물을 처리한 경우 1,000 ng/ml의 농도에서 SOD의 활성이 1.41배 증가하였으며, 에탄올 추출물을 처리한 경우에도 동일한 농도에서 효소의 활성이 1.49배 증가하는 것으로 나타났다(Table IV).

Table IV – Effect of extracts of leaves of *Acanthopanax divaricatus* var. *albeofructus* on the SOD activity² (U/mg) in UV (8 J/cm²)-irradiated HDF-N cells¹

UV (8 J/cm ²)	Sample (ng/ml)	SOD activity*	
		Water extract	EtOH extract
-	0	15.6±0.4	
+	0	9.4±0.2**	
+	0.1	9.5±0.0**	9.5±0.2**
+	1	9.7±0.1**	9.7±0.1**
+	10	10.5±0.1**	11.0±0.4**
+	100	12.2±0.1**	13.0±0.3**
+	1,000	13.3±0.5**	14.0±0.4**
+	10,000	13.1±0.5**	13.8±0.3**

¹UV (8 J/cm²)-irradiated HDF-N cells were incubated with water or ethanol extracts of leaves of *Acanthopanax divaricatus* var. *albeofructus* for 48 hr. The cells in lysis buffer were broken by sonication and were centrifuged.

²The activities of SOD (U/mg) were determined by measuring the absorbance at 420 nm of the solution of cell extract and H₂O₂.

Significant difference from controls (**p*<0.05, ***p*<0.01).

Table V – Effect of extracts of leaves of *Acanthopanax divaricatus* var. *albeofructus* on the catalase activity² (U/mg) in UV (8 J/cm²)-irradiated HDF-N cells¹

UV (8 J/cm ²)	Sample (μg/ml)	Catalase activity	
		Water extract	EtOH extract
-	0	34.2±1.0	
+	0	22.5±0.9**	
+	0.1	22.4±0.1**	22.7±1.2**
+	1	23.0±0.4**	24.0±1.7*
+	10	23.9±0.2**	26.0±2.2*
+	100	25.6±0.4**	27.2±1.4**
+	1,000	27.2±0.4**	29.3±1.3*
+	10,000	27.4±0.3**	29.4±1.6*

¹UV (8 J/cm²)-irradiated HDF-N cells were incubated with water or ethanol extracts of leaves of *Acanthopanax divaricatus* var. *albeofructus* for 48 hr. The cells in lysis buffer were broken by sonication and were centrifuged.

²The activities of catalase (U/mg) were determined by measuring the absorbance at 240 nm of the solution of cell extract and H₂O₂.

Significant difference from controls (*p < 0.05, **p < 0.01).

또한, 자외선에 의하여 세포 내 catalase 활성이 감소하였으며, 오가피 잎 추출물에 의하여 효소활성이 증가하였다(Table V). 1,000 ng/ml 이상의 물 추출물을 처리한 경우, 자외선만 조사할 때보다 효소의 활성이 1.22배 증가하였으며, 에탄올 추출물을 처리한 경우, 동일한 농도에서 효소의 활성이 1.3배 증가하였다(Table V). 이와 같은 결과는 오가피 잎 추출물이 자외선이 조사된 피부세포에서 감소된 항산화효소의 활성을 증가시켜 산화적 손상을 억제시킬 수 있을 것으로 해석된다.

결 론

자외선 조사에 의한 산화적 스트레스로 일어나는 노화 및 각종 질환의 치료물질을 개발하기 위하여 흰털오가피 잎의 용매별 추출물의 항산화활성을 측정한 결과는 다음과 같다.

1. 자외선 조사에 의한 피부(HDF-N)세포의 산화적 손상을 유발하기 위해, 8 J/cm²의 자외선을 HDF-N 세포에 조사하였으며, 세포의 생존에는 크게 영향을 끼치지 않았다.

2. 자외선 조사에 의해 피부세포 내에서 H₂O₂의 생성이 2배 가까이 현저히 증가하였으며, 오가피 잎 추출물의 처리에 의해 농도 의존적으로 H₂O₂의 생성이 감소하였다. 즉, 물추출물을 처리한 경우, 1,000 ng/ml의 농도에서 거의 정상으로 회복되었으며, 에탄올 추출물을 처리한 경우에는 더 낮은 농도에서 유사한 효과를 나타냈다.

3. 자외선 조사에 의해 피부세포에서 과산화지질의 생성이 1.62 배 증가하였으며, 오가피 추출물에 의해 증가된 과산화지질의 생성이 감소되었다. 즉, 에탄올 추출물의 경우 자외선 조사로 인한 과산화지질의 생성이 거의 정상수준으로 회복되었으며, 물추출

물의 경우 억제작용이 이보다 다소 낮았다.

4. 자외선 조사에 의하여 세포 내 SOD의 활성이 감소하였으며, 오가피 잎 추출물에 의하여 효소활성이 농도 의존적으로 유의성 있게 증가하였다. 물 추출물을 처리한 경우 1,000 ng/ml의 농도에서 SOD의 활성이 1.41배 증가하였으며, 에탄올 추출물을 처리한 경우에도 1.49배 증가하였다. 또한, 자외선에 의하여 세포 내 catalase 활성이 감소하였으며, 오가피 잎 추출물에 의하여 활성이 증가하였다. 1,000 ng/ml 이상의 물 추출물을 처리한 경우, 자외선만 조사할 때보다 활성이 1.22배 증가하였으며, 에탄올 추출물을 처리한 경우에도 활성이 1.3배 증가하였다.

이상으로 항산화활성 검색을 통하여 흰털오가피 추출물이 우수한 항산화활성을 보였으며, 특히, 에탄올 추출물을 처리한 경우가 물추출물을 처리한 경우보다 더 우수한 항산화 활성을 발휘하는 것을 알 수 있었다. 그리고 오가피 잎 추출물이 자외선이 조사된 피부세포에서 산화적 손상을 억제시킬 수 있으며 노화방지용 화장품원료로서의 가능성을 확인할 수 있었다.

감사의 말씀

이 논문은 2007년도 서울여자대학교 바롬학술연구비 지원에 의하여 수행되었으며, 이에 감사드립니다.

문 헌

- 1) Fisher, G. J., Wang, Z. Q., Datta, S. C., Varani, J., Kang, S. and Voorhees, J. J. : Pathophysiology of premature skin aging induced by ultraviolet light. *N. Engl. J. Med.* **337**, 1419 (1997).
- 2) Uitto, J., Fazio, M. J. and Olsen, D. R. : Molecular mechanism of cutaneous aging. *J. Am. Acad. Dermatol.* **21**, 614 (1989).
- 3) Yaar, M. and Gilchrist, B. : A cellular and molecular mechanism of cutaneous aging. *J. Dermatol. Surg. Oncol.* **16**, 915 (1990).
- 4) Schwartz, E., Cruickshank, F. A., Christensen, C. C., Perlishk, J. S. and Lewohl, M. : Collagen alteration in chronically sun-damaged human skin. *Photochem. Photobiol.* **58**, 841 (1993).
- 5) Chen, V. L., Fleischmajer, R., Schwartz, E., Palaia, M. and Timple, R. : Immunohistochemistry of elastin material in sun-damaged skin. *J. Invest. Dermatol.* **87**, 334 (1986).
- 6) Oikarinen, A., Karvonen, J., Uitto, J. and Hannuksela, M. : Connective tissue alterations in skin exposed to natural and the therapeutic UV radiation. *Photodermatology* **2**, 15 (1985).
- 7) Smith, J. G., Davidson, E. A., Sams, W. M. and Clark, R. D. : Alterations in human dermal connective tissue with age and chronic sun damage. *J. Invest. Dermatol.* **39**, 347 (1962).
- 8) Lee, S. H., Kim, B. K., Cho, S. H. and Shin, K. H. : Phytochemical constituents from the fruits *Acanthopanax sessiliflorus*. *Arch. Pharm. Res.* **25**, 280 (2002).
- 9) Lyu, S. Y., Kim, J. Y., Noh, B. N. and Park, W. B. : Antioxidative

- activity of water extract of different parts of *Acanthopanax divaricus* var. *albeofructus*. *Yakhak Hoeji* **50**, 191 (2006).
- 10) Kim, J. Y. and Yang, K. S. : Antioxidative activities of triterpenoids and lignans from *Acanthopanax divaricatus* var. *albeofructus*. *Yakhak Hoeji* **48**, 236 (2004).
 - 11) Kang, H. S., Kim, Y. H., Lee, C. S., Lee, J. J., Choi, I. and Pyun, K. H. : Suppression of interleukin-1 and tumor necrosis factor- α production by acanthoic acid, (-)-pimara-9(11),15-dien-19-oic acid and its antifibrotic effects *in vivo*. *Cellular Immunol.* **170**, 212 (1996).
 - 12) Shin, C. L. : Study on chemical constituents in *Acanthopanax senticosus* Harms. *Chin. Pharm. Bull.* **16**, 53 (1981).
 - 13) Jiang, Z. Y., Hunt, J. V. and Wolff, S. P. : Ferrous ion oxidation in the presence of xylenol orange for detection of lipid hydroperoxide in low density lipoprotein. *Anal. Biochem.* **202**, 384 (1992).
 - 14) Beuge, J. A. and Aust, S. D. : Microsomal lipid peroxidation. *Methods Enzymol.* **52**, 302 (1978).
 - 15) Beauchamp, C. and Fridovich, I. : Superoxide dismutase; improved assays and an assay applicable to acrylamide gels. *Anal. Biochem.* **44**, 276 (1971).
 - 16) Abei, H. : Catalase *in vitro*. *Methods in Enzymology* **105**, 93 (1984).
 - 17) Chung, J. H., Youn, S. H., Kwon, O. S., Cho, K. H., Youn, J. I. and Eun, H. C. : Regulation of Collagen synthesis by ascorbic acid, transforming growth factor- β and interferon- γ in human dermal fibroblasts cultured in three-dimensional collagen gel are photoaging and aging-independent. *J. Derma. Sci.* **15**, 188 (1997).
 - 18) Oikarinen, A., Autio, P., Kiistala, U., Risteli, L. and Risteli, J. : A new method to measure type I and III collagen synthesis in human skin *in vivo*; demonstration of decreased collagen synthesis after topical glucocorticoid treatment. *J. invest. Dermatol.* **98**, 220 (1992).
 - 19) Halliwell, B. and Gutteridge J. M. C. : *Free Radicals in Biology and Medicine* 2nd ed., Clarendon Press, Oxford. p. 1 (1989).
 - 20) Tolmasoff, J. M., Ono, T. and Culter, R. G. : Superoxide dismutase: correlation with life-span and specific metabolic rate in primate species. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **77**, 2777 (1980).
 - 21) Fridovich, I. : Biological effects of the superoxide radical. *Arch. Biochem. Biophys.* **247**, 1 (1986).
 - 22) Bindolo, A., Cavallini, L. and Siliprandi, N. : Inhibitory action of silymarin of lipid peroxide formation in rat mitochondria and microsomes. *Biochem. Pharmacol.* **26**, 2405 (1977).
 - 23) Harman, D. : Free radical theory of aging: Role of free radicals in the origination and evolution of life, aging, and disease processes, p. 3. In Johnson, Jr. J. E. R. Harmon, W. D. and Miquel, J. : *Free Radicals, Aging and Degenerative Disease*, Alan R. Liss, New York (1986).