

자외선 B에 노출된 쥐 표피의 지질과산화에 대한 지골피 물 추출물의 보호효과

안병용* · 곽준수¹ · 류승희² · 문갑순² · 최동성³ · 박성혜⁴ · 한종현⁴

익산대학 생명과학과, ¹마산대학교 전통약재개발과, ²인제대학교 식품과학부, ³우석대학교 생명공학부, ⁴원광대학교 한의학 전문대학원

(2002년 8월 1일 접수, 2002년 10월 21일 수리)

본 연구는 지골피 물추출물을 이용하여 기능성 화장품을 개발하고자 생리기능(항돌연변이성, 라디칼 소거능 및 UV B 스트레스에 대한 항산화능)을 조사하였다. 지골피 물 추출물을 이용하여 *tert-butyl hydroperoxide (t-BOOH)*의 돌연변이원성에 대한 항돌연변이원성을, L-ascorbic acid-CuSO₄ 및 광화학적 시스템에서 수퍼옥사이드와 하이드록시 라디칼 소거능을 조사하였고, 비타민 E 결핍 쥐의 표피를 취하여 자외선 B조사로 산화적 스트레스를 유발시킨 뒤 지골피 물 추출물의 지방 및 단백질 산화 억제 효과를 조사하였다. SOS Chromotest에서 지골피 물 추출물은 t-BOOH의 변이원성에 대하여 강한 억제효과를 나타내었으며 억제 효과는 용량 의존적이었다. 광화학적 시스템에서 수퍼옥사이드의 라디칼 소거능은 비교적 강한 상쇄 효과를 나타내었지만 L-ascorbic acid-CuSO₄에서 하이드록시 라디칼 소거능은 낮았다. 자외선 B를 조사한 쥐 표피의 지질 과산화는 현저하게 억제되었으나 단백질 산화의 억제 효과는 나타나지 않았다. 이러한 결과는 UV B 방사시 지질과산화에 대해 항산화 활성을 나타낸 지골피 추출물을 기능성 화장품의 조원료로서의 사용가능성을 시사해준다.

Key words: 지골피, 항돌연변이원성, 수퍼옥사이드 라디칼, 지질 과산화

서 론

피부 노화과정은 내인성 인자인 연령에 따른 노화와 외인성 인자인 태양광선에 의한 광노화과정으로 나눌 수 있다.¹⁾ 태양광선이 피부에 미치는 유해한 효과는 잘 알려져 있는데 급성 sunburn, 광노화, 다양한 피부질환 및 피부암 등이 그것이다.²⁾ 특히 자외선은 다양한 광생물학적 반응을 매개하며 피부노화의 매우 강력한 주범으로 알려져 있다. 자외선은 스펙트럼에 따라 UV A (UVA I, 340~400 nm, UVA II, 320~340 nm), UV B (290~320 nm) 및 UV C (190~290 nm) 등으로 구분되는데 이중 UV B는 변이원이며, 피부 세포사멸 및 피부암을 유발시킬 수 있는 독성이 강한 자외선종이다.^{3,4)} UV B의 피부에 대한 투과량은 오존량의 변화에 따라 달라지는데 UV B 증가에 따른 피부암 발생은 오존량 1% 감소시 피부암 발병률이 2% 증가할 것이라고 예측되고 있다.^{3,4)} 현재 환경오염에 따른 오존층의 파괴로 피부암 발병빈도수가 빠르게 증가하고 있는 실정으므로 UV B의 손상에 대한 피부 보호제의 개발은 매우 중요하리라 생각된다. 광노화에 따른 피부변화의 기전 중 가장 유력하게 받아들여지는 것은 자외선에 의한 활성산소종의 생성이며 이러한 유리 라디칼들은 피부 DNA의 손상을 유발하며 단백질 및 지질 산화를 촉진시키는데⁵⁾ 특히 피부노화에 있어 지질산화에 의한 세포막의 손상이 중요한 인자라고 알려져 있다.⁶⁾ 따라서 이러한 활성산소종을 소거할 수 있는 물질들은 태양광선에 의

한 피부손상을 감소시킬 것으로 기대되어지며,⁷⁾ 피부의 손상을 방지하기 위한 피부보호제로서 항산화제 등이 많이 연구되고 있다.^{8,9)} 일부에서는 피부의 산화적 스트레스 및 광산화에 대한 보호작용을 규명하고자 항산화 물질을 분리하여 이러한 연구에 접목시키려는 시도가 많이 진행되고 있으며 이를 이용한 기능성 화장품 개발 또한 활발하다.¹⁰⁾ 지골피는 구기자 나무의 근피로서 독특한 향이 나며 당노와 해열, 혈압강화작용¹¹⁾이 있고, 수중 갱신시 다량으로 생산되나 대부분 활용되지 못하고 있는 실정이다. 이에 저자 등은 지골피를 이용하여 기능성 화장품을 개발하기 위한 연구의 일환으로 지골피 물 추출물의 활성산소종에 대한 소거능 및 돌연변이원성을 조사하고, 피부노화 촉진을 위해 비타민 E를 결핍시킨 식이로 키운 ICR mouse의 피부 조직에 자외선 조사를 통해 산화적 스트레스를 유발시킨 뒤 지골피 추출물의 단백질과 지질과산화 억제정도를 조사하여 화장품 개발의 기초 자료로 사용하고자 본 연구를 수행하였다.

재료 및 방법

재료 및 시약. 본 연구에 사용한 지골피는 청양군내 생약재 배 농가에서 재배한 시료를 청양군내 생약협회에서 구입하여 80 mesh로 분쇄한 후 4°C에 보관하면서 추출용 시료로 사용하였다. 시료 10 g에 10배(w/v)량의 증류수를 가하여 100°C에서 2시간 동안 환류추출한 다음, 감압 여과(Whatman No. 2) 및 농축 후 동결건조하였다. 변이원으로 사용된 *tert-butyl hydroperoxide(t-BOOH)*는 Sigma사 제품을 사용하였다. 실험 동물은 3주령의 ICR mouse(11~14 g)를 효창사이언스(대구)에서 구입하여 실험시작 전 7일간 시판 고형사료를 먹이면서 환경

*연락처

Phone: 82-63-840-6684; Fax: 82-63-840-6882

E-mail: by-an@daum.net

Table 1. Composition of vitamin E-deficient diets (%)

| Ingredient | % of diet |
|--|-----------|
| Casein ¹ | 20.0 |
| Corn starch ² | 15.0 |
| Sucrose ³ | 50.0 |
| Cellulose ⁴ | 5.0 |
| Corn oil ⁵ | 5.0 |
| DL-methionine ¹ | 0.3 |
| Choline bitartrate ⁴ | 0.2 |
| AIN-mineral mix. ⁵ | 3.5 |
| AIN-vitamin mix.(tocopherol free) ⁶ | 1.0 |
| Total | 100.0 |

¹ICN Biochemical, USA.

²Daesang Co., Korea.

³Cheiljedang Co., Korea.

⁴Sigma, USA.

⁵AIN-93 Mineral Mixture (g/kg mix.).

⁶Vitamin E free Mixture (g/kg mix.): Nicotinic acid 3.0,

D-Calcium pantothenate 1.6, pyridoxine HCl 0.7, thiamine HCl 0.6, riboflavin 0.6, folic acid 0.2, D-biotin 0.02, vitamin A palmitate (250,000 U/gm) 1.6, vitamin D3 (400,000 U/gm) 0.25, powdered sucrose 988.855, vitamin B12 (0.1% triturated in mannitol) 2.5, vitamin K (phyloquinone) 0.075.

에 적용시킨 후 비타민 E가 결핍된 식이(Table 1)를 14주간 공급하며 사육하였다. 14주 후 실험동물들 dry ice로 마취시킨 후 전기면도기로 털을 깎고 표피와 진피를 포함하는 조직을 분리 추출하여 0.9% 생리식염수로 씻은 후 물기를 제거하여 -70°C 냉동고에 보관하며 피부조직의 지질과산화 및 단백질 산화 실험용 시료로 사용하였다.

SOS Chromotest. SOS Chromotest는 Quillardet와 Hofnung의 방법¹²에 준하여 수행하였다. 활성 단위는 흡광도×1,000/반응시간(분)으로 나타냈으며, R(ratio)값은 β-galactosidase/alkaline phosphatase unit로 계산하였고 R(0)값을 1로 정하였다. 유도인자(induction factor, IF)는 SOS 유전자의 유도정도를 나타내며, R(C)/R(0)로 계산하였고 R(C)은 변이원 및 변이원과 시료를 첨가한 시험구의 ratio 값을 나타낸다. R(0)은 변이원을 첨가하지 않는 농도의 ratio 값이며, 음성 대조구의 IF 값은 1로 정하였다. 시료의 돌연변이 억제효과는 [(IFo - IFs) / IFo × 100]으로 산출하였고 여기서 IFo는 양성대조구의 IF, IFs는 시험물질의 IF 값이다.

Superoxide and hydroxyl radical scavenging activity. 수퍼옥사이드 라디칼 소거능은 Ginnopolitis와 Ries의 방법¹³에 준하여 수행하였다. 수퍼옥사이드 라디칼 제거능은 superoxide에 의해 NBT가 광화학적 환원으로 생성된 불용성의 blue formazan의 형성을 저해하는 정도를 흡광도 560 nm에서 측정하였으며 그 식은 아래와 같다.¹⁴

$$\text{저해율} = \frac{\text{대조군의 O.D.} - \text{시료 O.D.}}{\text{대조군의 O.D.}} \times 100$$

하이드록시 라디칼 소거능은 Liu와 Ng의 방법¹⁴에 준하여 수행하였다. 하이드록시 라디칼 제거능은 투과도의 저해도로 계산하였으며 그 식은 아래와 같다.

$$\text{저해율} = \frac{\text{OH}^- \text{ radical의 투과도} - \text{시료첨가군의 투과도}}{\text{OH}^- \text{ radical의 투과도} - \text{대조군의 투과도}} \times 100$$

UV B 조사에 따른 피부조직의 산화. UV B에 대한 산화 민감도를 증가시키기 위해 비타민 E가 결핍된 식이를 14주간 섭취시킨 ICR mouse의 피부조직을 1.15% KCl 용액으로 10배 희석하여 homogenizer로 균질화시킨 뒤 800×g, 10분간 원심분리한 상정액을 petridish에 균일한 두께로 담아 자외선 조사기(National biological corporation, USA)에서 UV B를 조사하였다. 이때 UV B(280~320 nm)는 1.0 mW/cm/sec의 조사량으로 30분, 60분간 조사되었고, petridish는 얼음으로 냉각시키면서 온도의 상승 및 수분의 증발을 막았다. 첨가된 지골피 추출물은 반응균질액 1 ml당 1.25 mg 농도가 되도록 첨가하였으며 대조군에는 증류수를, 비교 항산화제군으로 ascorbic acid와 glutathione을 동일 농도로 첨가하였다.

단백질 산화 측정. 단백질 산화정도를 측정하기 위해 피부 조직에서 2,4-dinitrophenyl hydrazine(DNPH)를 이용한 Oliver 등¹⁵의 방법에 준하여 carbonyl 함량을 측정하였다. 즉, 1 mg 단백질이 함유된 피부 균질액을 2개의 원심분리관에 넣고, 단백질을 침전시킨 뒤 하나의 시험관에는 2N HCl 용액을, 다른 시험관에는 2,4-DNPH 시약을 첨가하여 25°C에서 1시간 반응시켰다. 반응물에 20% trichloroacetic acid 용액을 가해 반응을 정지시키고 ethanol과 ethylacetate 혼합액(1 : 1, v/v)으로 세척한 후 6 M guanidine-HCl 용액으로 용해시켜 370 nm에서 흡광도를 측정하고 분자흡광계수(22 × 10⁶ M⁻¹ cm⁻¹)를 이용해 carbonyl 함량을 계산하였다.

지질과산화의 측정. 피부 조직에서의 지질과산화물 함량은 Ohkawa 등의 방법¹⁶에 따라 측정하였다. 0.2 ml의 시료에 8.1% SDS 용액 0.2 ml, 20% acetic acid 용액(pH 3.5) 1.5 ml, 0.8% thiobarbituric acid(TBA) 용액 1.5 ml를 첨가하여 혼합한 다음 4 ml가 되도록 정용하여 95°C에서 60분간 반응시켰다. n-butanol과 pyridine을 잘 혼합(15 : 1, v/v)한 다음 원심분리(4,000 rpm, 10 min)하여 분리된 유기용매층의 흡광도를 532 nm에서 측정하였다. 이때 측정된 값은 표준물질로 1,1,3,3-tetramethoxypropane(TMP)를 사용하여 malondialdehyde(MDA)의 양으로 환산하였다.

결과 및 고찰

돌연변이원성 억제효과. *Escherichia coli* PQ37를 이용한 t-BOOH의 돌연변이원성에 대한 지골피 물 추출물의 돌연변이 억제효과는 Table 2와 같다. 지골피 물 추출물의 농도를 assay 당 50, 100, 150, 200 μg으로 증가시켰을 때 각각 35.00%, 45.00%, 53.00% 및 58.8%의 억제효과를 나타내었으며 용량 의존적(dose-dependent)으로 억제효과를 나타내었다. 150 μg 이상의 농도에서 억제효과의 증가는 두드러지지 않았으며 50%의 저해농도를 나타낸 IC₅₀의 농도는 약 150 μg로서 매우 강한 항돌연변이원성을 나타내었다. 변이원성 억제 효과와 동반하여 alkaline phosphatase 활성이 약간 증가되었는데 이러한 결과는 지골피 물 추출물에 의해 t-BOOH에 의한 세포독성을 감소시

Table 2. Inhibitory effects of water extract of *Lycii Cordex Radicis* on the mutagenicity of *tert*-butyl hydroperoxide in *E. coli* PQ37

| Concentration ($\mu\text{g}/\text{assay}$) | β -gal (unit) | A.P (unit) | Ratio | I.F | Inhibition rate (%) |
|--|---------------------|------------|-------|-----------------|---------------------|
| Negative control | 1.76 | 32.96 | 0.05 | 1.00 | |
| Positive control | 5.08 | 18.60 | 0.43 | 5.11 \pm 0.58 | |
| 50 | 4.44 | 22.46 | 0.19 | 3.69 | 35.0 \pm 0.5 |
| 100 | 3.88 | 23.13 | 0.16 | 3.16 | 45.0 \pm 2.5 |
| 150 | 3.48 | 24.40 | 0.14 | 2.66 | 53.0 \pm 1.5 |
| 200 | 3.07 | 23.93 | 0.13 | 2.40 | 58.8 \pm 1.0 |

The cells were treated with sample and t-BOOT (3.33 mM) for 2 hr as described in materials. The values of inhibition rate are mean \pm S.D of 3 dependent experiments. β -gal (unit); β -galactosidase activity (units), A.P (unit); alkaline phosphatase activity (units), Ratio; β -gal.(units)/A.P (units), I.F; induction factor.

Table 3. Superoxide radical quencing ability of *Lycii Cordex Radicis*

| Sample ($\mu\text{g}/\text{assay}$) | Conc. ($\mu\text{g}/\text{assay}$) | O.D. (560 nm) | Inhibition (%) |
|---------------------------------------|--------------------------------------|-------------------|----------------|
| Control | | 0.223 \pm 0.007 | |
| Hydroquinone | 25 | 0.005 \pm 0.000 | 97.75 |
| | 50 | 0.001 \pm 0.000 | 99.55 |
| | 100 | 0.001 \pm 0.000 | 99.55 |
| Ascorbic acid | 25 | 0.051 \pm 0.001 | 77.13 |
| | 50 | 0.050 \pm 0.002 | 77.57 |
| | 100 | 0.001 \pm 0.000 | 99.55 |
| Glutathion | 25 | 0.251 \pm 0.002 | -12.55 |
| | 50 | 0.254 \pm 0.004 | -13.90 |
| | 100 | 0.263 \pm 0.002 | -15.93 |
| Jigolpi | 25 | 0.118 \pm 0.020 | 47.08 |
| | 50 | 0.102 \pm 0.030 | 55.15 |
| | 100 | 0.068 \pm 0.020 | 69.50 |

The reaction mixture was composed of 1.3 mM riboflavin, 13 mM methionine, 0.63 M NBT, 0.05 M sodium carbonate (pH 10.2), and test sample or antioxidants. The light intensity was 5500 lux. The values of optical density (O.D) are mean \pm S.D of 3 experiments

킨 결과로 해석되므로 위양성의 결과일 가능성이 배제되었고 또한 세포독성이 없음을 확인할 수 있었다. t-BOOH은 peroxy ($\text{RO}_2\cdot$) 및 alkoxy radical($\text{RO}\cdot$)을 발생시킴으로써 동물실험계에서 피부암을 일으키는 대표적인 산화물질로 알려져 있다.¹⁷⁾ 따라서 t-BOOH에 대한 강한 항돌연변이 효과는 peroxy 및 alkoxy radical의 상쇄능이 우수하다는 것을 시사하는 결과로 유추해석이 가능하며 활성산소종에 의한 DNA의 손상이나 피부암 유발 및 세포 사멸을 감소시킬 수 있을 것으로 기대된다.

Superoxide and hydroxyl radical scavenging activity. 자외선 B에 피부를 강하게 노출시키면 산소에 에너지가 전달되어 다양한 활성산소종이 생성되며, 이들 활성산소종들은 광독성, 광노화, DNA손상 및 피부암 및 피부염을 발생시킨다. 따라서 수퍼옥사이드 및 하이드록시 라디칼에 대한 지골피 추출물의 소거능을 조사하였고 그 결과는 Table 3, 4와 같다. 수퍼옥사이드 라디칼에 대한 ascorbic acid, glutathion, 지골피 추출물의 소거능은 100 μg 농도에서 99.55, -15.93 및 69.50%를 나타내었으며 (Table 3), 하이드록시 라디칼에 대한 caffeic acid, glutathion, 지골피 추출물의 소거능은 100 μg 농도에서 18.23, 21.35 및 19.87%를 나타내었다 (Table 4). 수퍼옥사이드 라디칼에 대하여 ascorbic acid는 강한 상쇄능을 나타낸 반면

Table 4. Hydroxyl radical scavenging activity of water extract of *Lycii Cordex Radicis*

| Sample ($\mu\text{g}/\text{assay}$) | Conc. ($\mu\text{g}/\text{assay}$) | T (550 nm) | Inhibition (%) |
|---------------------------------------|--------------------------------------|-----------------|----------------|
| Control | CuSO ₄ | 59.4 \pm 0.40 | |
| | OH ⁻ Buffer | 78.6 \pm 0.45 | |
| Caffeic acid | 100 | 75.1 \pm 0.05 | 18.23 |
| | 500 | 60.1 \pm 0.02 | 96.35 |
| Glutathion | 25 | 78.8 \pm 0.20 | -1.04 |
| | 50 | 75.6 \pm 0.62 | 15.62 |
| | 100 | 74.5 \pm 0.70 | 21.35 |
| Jigolpi | 25 | 76.4 \pm 0.80 | 8.60 |
| | 50 | 75.4 \pm 0.49 | 13.97 |
| | 100 | 74.3 \pm 0.93 | 19.87 |

The hydroxyl radicals were generated in 3 ml of 1.5 mM sodium phosphate buffer (pH 7.4), containing 100 mM L-ascorbic acid, 100 mM CuSO₄, 12 mM cytochrome c and 25, 50, 100 μg samples, respectively. The values of transmittance(T) are mean \pm S.D of 3 experiments.

glutathion은 효과가 없었고 지골피 추출물은 비교적 강한 소거 효과를 나타내었다. 하이드록시 라디칼에 대한 ascorbic acid의 소거능을 비교 할 수 없어 caffeic acid를 사용하였으며 caffeic acid는 고농도인 500 μg 에서 강한 소거능을 나타내었다. Glutathion과 지골피 물 추출물은 효과가 약하였으며 고농도 (500 μg)에서도 소거능은 증가되지 않았다(자료 미제시). 이러한 경향은 이들의 하이드록시 라디칼 제거능 보다는 수퍼옥사이드 라디칼 제거에 대한 선택성이 강함을 시사하는 것으로 보인다. 수퍼옥사이드 라디칼 제거능은 수퍼옥사이드에 의해 NBT가 광화학적 환원으로 생성된 불용성의 blue formazan의 형성을 저해하는 정도를 나타내므로 광화학적 환원에 의해 발생하는 산화를 차단할 것으로 기대된다. 또한 세포내 산화반응에서 수퍼옥사이드 라디칼은 일반적으로 맨 처음 발생되어 세포를 손상시키는 유리 라디칼이나 다양한 산화물이 생성되므로 지골피의 물 추출물은 피부세포내 산화 방지 효과를 나타낼 것으로 해석된다.

단백질 산화 및 지질과산화 억제 효과. 비타민 E가 결핍된 식이를 14주간 공급하여 사육한 쥐의 피부조직에 UV B를 30분, 60분간 조사하였을 때 단백질 산화 및 지질과산화에 미치는 지골피 물 추출물의 영향을 Fig. 1, 2에 나타내었다. 피부 균질액에 ascorbic acid, glutathion 및 지골피 물 추출물을 petridish당 2.5 mg을 첨가하고 60분간 UV B를 조사하였을 때

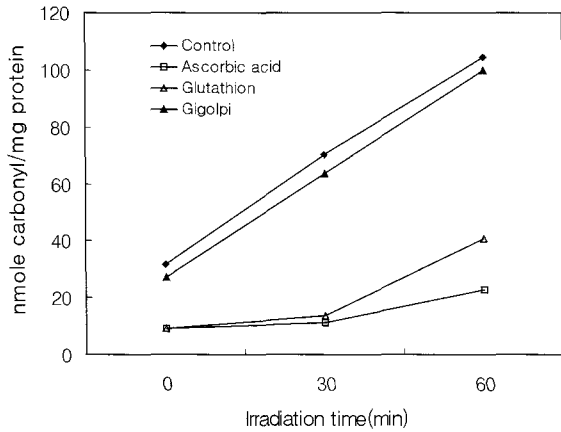


Fig. 1. Protein carbonyl values in UV B irradiated skin homogenates of mice fed vitamin E deficient diet.

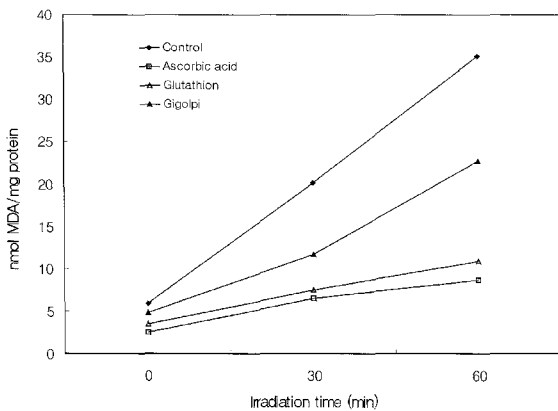


Fig. 2. Contents of malondialdehyde in UVB irradiated skin homogenates of mice fed vitamin E deficient diet.

단백질 산화를 나타내는 carbonyl 함량은 mg protein 당 각각 104.55, 22.73, 40.91 및 100 nmole으로 나타났다(Fig. 1). Protein carbonyl 화합물은 생체내에서 생성되는 활성산소나 지질의 과산화물이 지니고 있는 유리 라디칼이 생체내의 단백질과 반응하여 형성되며, 지질 과산화물인 hydroperoxide나 malondialdehyde의 생성보다 앞서 일어나게 된다.¹⁸⁾ 차 등¹⁾의 실험에서 마우스의 피부조직 균질액에 자외선을 조사하였을 때 피부 단백질의 산화는 UV B 조사 시간에 따라 유의적으로 증가하였으며 비타민 E 결핍 쥐를 사용한 본 실험에서도 단백질 산화는 시간에 따라 직선적으로 증가하였고 carbonyl 화합물의 생성량은 정상쥐에 비해 훨씬 더 많았다. 지질 과산화를 나타내는 malondialdehyde의 함량은 대조군에서 35.01 nmole/mg protein, ascorbic acid군 8.60 nmole/mg protein, glutathione군 10.84 nmole/mg protein이었으며 지골피 물 추출물군에서는 22.71 nmole/mg protein으로 나타났다(Fig. 2). 단백질 산화와 유사하게 지질의 산화도 UV B 조사 시간에 따라 직선적으로 증가하였으며 지골피 물 추출물은 자외선 조사시 유도되는 단백질 산화에 대해서는 뚜렷한 억제 효과를 나타내지 않았으나 지질 과산화 정도는 대조구에 비하여 상당히 억제되었음을 알 수 있었다. 특히 이 실험계에서 사용한 비타민 E 결핍 쥐는

UV B에 의한 산화적 스트레스에 민감하여 비타민 결핍이 없는 정상 쥐의 경우와 비교해서 지질 및 단백질의 산화가 가속화되었음을 알 수 있었고 항산화제의 첨가는 지질의 산화를 막는데 반드시 필요한 것으로 나타났다. 자외선 조사와 관련하여 Miyachi 등¹⁹⁾은 UV B 조사가 피부 SOD 활성을 저하시켰음을 보고하였고 Sugiura 등²⁰⁾은 자외선에 만성적으로 노출되었을 때 피부 조직의 SOD 활성이 오히려 증가함으로써 활성산소에 대한 피부조직의 방어기전이 존재한다고 보고하였다. SOD 이외에도 catalase, glutathione peroxidase와 같은 효소계와 ascorbic acid, glutathione, α -tocopherol 및 ubiquinones과 같은 항산화제의 효과도 보고되어 있다.²¹⁻²³⁾ 지골피 물추출물의 경우 ascorbic acid나 glutathione과 비교했을 때 지질 과산화를 억제하는 정도는 낮았으나 완전히 정제된 물질이 아닌 조추출물의 활성이므로 이를 정제하여 활성물질을 동정한다면 우수한 항산화효과를 나타낼 수 있을 것으로 기대되어진다. 따라서, 지골피 물 추출물은 자외선 조사시 활성산소종의 상쇄효과에 기인된 지질의 과산화를 지연시켜 피부의 광산화를 감소시키는 것으로 나타나 기능성 화장품의 조원료로서 사용 가능할 것으로 여겨진다.

Acknowledgments. 본 논문은 2002년도 익산대학교 교내 연구비의 지원에 의한 것으로 깊은 감사를 드립니다.

참고문헌

1. Cha, S. H., Jung, Y. D., Lee, S. C., Ahn, B. W., Kim, Y. P., and Lee, M. W. (1991) Oxidation of skin tissue proteins by ultraviolet-B irradiation. *Kor. J. Gerontol.* **1**, 82-86.
2. Werninghaus, K., Keydani, M., Bhawan, J., Margolis, R., Blumberg, J. B., and Gilchrist, B. A. (1994) Evaluation of the photoprotective effect of oral vitamin E supplementation. *Arch. Dermatol.* **130**, 1257-1261.
3. Bologna, J. L., Berwick, M. and Fine, J. A. (1990) Complete follow-up and evaluation of a skin cancer screening in Connecticut. *J. Am. Acad. Dermatol.* **23**, 1098-1106.
4. Robinson, J. K. (1990) Behavior modification obtained by sun protection education coupled with removal of a skin cancer. *Arch. Dermatol.* **126**, 477-482.
5. Sutherland, B. M., Blackette, A. D. and Feng, N. I. (1985) Photoreactivation and other ultraviolet/visible light effects on DNA in human skin. *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, **453**, 73-79.
6. Kellogg, E. W. and Froidovich, I. (1975) Superoxide, hydrogen peroxide, and singlet oxygen in lipid peroxidation by a xanthine oxidase system. *J. Biol. Chem.* **250**, 8812-8817.
7. Danno, K., Horio, T., Takigawa, M. and Imamura, S. (1984) Role of oxygen intermediates in UV-induced epidermal cell injury. *J. Invest. Dermatol.* **83**, 166-172.
8. Offord, E. A., Gautier, J. C., Avanti, O., Scaletta, C., Runge, F., Kramer, K. and Applegate, L. A. (2002) Photoprotection potential of lycopene, β -carotene, vitamin E, vitamin C and carnosic acid in UVA-irradiated human skin fibroblasts. *Free Radical Biology Medicine* **32**, 1293-1303.
9. Machlin, L. J. and Bendich, A. (1987) Free radical tissue damage; Protective role of antioxidant nutrients. *J. FASEB J.*

- 441-446.
10. Costa, H., Gallego, S. M. and Tomaro, M. L. (2002) Effect of UV-B radiation on antioxidant defense system in sunflower cotyledons. *Plant Science* **162**, 939-945.
 11. Park, J. S., Park, J. H. and Lee, B. C. (1998) Effect of extraction procedures on chemical composition and physical properties of Lycii Cortex. *Korean J. Medical Crop Sci.* **6**, 91-95.
 12. Quillardet, P. and Hofnung, M. (1985) The SOS Chromotest, a colorimetric bacterial assay for genotoxins: procedures. *Mutation Res.* **147**, 65-78.
 13. Ginnopolitis, C. N. and Ries, S. K. (1997) Superoxide dismutase. I. Occurrence in higher plants. *Plant Physiol.* **59**, 309-314.
 14. Liu, F. and Ng, T. B. (2000) Antioxidative and free radical scavenging activities of selected medicinal herbs. *Life Sci.* **66**, 723-735.
 15. Oliver, C. N., Ahn, B., Moerman, E. J., Goldstein, S. A. and Stadtman, E. R. (1987) Age-related changes in oxidized proteins. *J. Biol. Chem.* **262**, 5483-5491.
 16. Ohkawa, H., Ohishi, N. and Yagi, K. (1979) Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Anal. Biochem.* **95**, 351-358.
 17. Stadler, R. H., Turesky, R. J., Muller, O., Markovic, J. and Leong-Morgenthaler, P. M. (1994) The inhibitory effect of coffee on radical-mediated oxidation and mutagenicity. *Mutation Res.* **308**, 177-190.
 18. Davies, K. J. A. and Goigberg A. L. (1987) Protein damaged by oxygen radicals are rapidly degraded in extracts of red blood cells. *J. Biol. Chem.* **262**, 8227-8234.
 19. Miyaki, I. S. and Niwa, Y. (1987) Decreased skin superoxide dismutase activity by a single exposure of ultraviolet radiation is reduced by liposomal superoxide dismutase pretreatment. *J. Invest. Dermatol.* **89**, 111-112.
 20. Sugiura, K., Ueda, H., Jiraho, K., and Adachi, T. (1985) Studies on superoxide dismutase in human skin. *Jpn J. Dermatol.* **95**, 1541-1545.
 21. Fuchs, J., Huflejt, M. E., Rothfuss, L. M., Wilson, D. S., Carcamo, G., and Packer, L. (1989) Impairment of enzymic and nonenzymic antioxidants in skin by UVB irradiation. *J. Invest. Dermatol.* **93**, 769-773.
 22. Bissett, D. L., Chatterjee, R., Hannon, D. P. (1990) Photoprotective effect of superoxide scavenging antioxidants against ultraviolet radiation-induced chronic skin damage in the hairless mouse. *Photodermatol. Photoimmunol. Photomed.* **7**, 56-62.
 23. Darr, D., Combs, S., Dunston, S., Manning, T., and Pinnell, S. (1992) Topical vitamin C protects porcine skin from ultraviolet radiation-induced damage. *The British J. of Dermatol.* **127**, 247-253.

Protective Effect of Water Extract of Lycii Cordex Radicis on Lipid Peroxidation of Rat Skin Exposed to Ultraviolet B Radiation

Byung-Yong Ahn*, Jun-Su Gwak¹, Seung-Hee Ryu², Gap-Soon Moon³, Dong-Seong Choi³, Sung-Hye Park and Jong-Hyun Han⁴ (Department of Life Science, Iksan National College, Iksan 570-752, Korea; ¹Department of Korean Traditional Medicines Science, Masan College, Uiryong 636-800, Korea; ²School of Food Science, Inje University, Kimhae 621-749, Korea; ³Division of Bioscience and Biotechnology, Woosuk University, Samrye, 565-701, Korea; ⁴Professional Graduated School of Oriental Medicine, Wonkwang University, Iksan 570-749, Korea)

Abstract: Lycii Cordex Radicis extract (gigolpi) examined through SOS Chromotest showed a strong, dose-dependent antimutagenic effect on the *tert*-butyl hydroperoxide (*t*-BOOH) induced mutagenicity. Gigolpi revealed considerable superoxide anion radical scavenging activity under L-ascorbic acid-CuSO₄ system, but showed lower hydroxyl radical scavenging activity in photochemical test system. Hot-water gigolpi extract delayed protein oxidation, whereas lipid peroxidation of rat skin exposed to UVB radiation was inhibited. The results indicate that gigolpi possessing antioxidant activity against UVB-induced lipid peroxidation could be used as a raw ingredient for manufacturing functional cosmetics

Key words: Lycii Cordex Radicis, antimutagenicity, superoxide radical, lipid peroxidation

*Corresponding author