

애엽 추출물 섭취가 ICR 마우스의 피부조직에 미치는 항산화 효과

박시향¹ · 조득문² · 최경림¹ · 최영준^{1*} · 최진호³

¹경상대학교 해양과학대학 해양생명과학부/해양산업연구소

²동부산대학 식품영양과

³부경대학교 식품생명공학부

Antioxidative Effects of Mugwort (*Artemisia vulgaris* L.) Extracts Diet on ICR Mouse Skin

Si-Hyang Park¹, Duck-Moon Cho², Gyeonglim Choi¹, Yeung Joon Choi^{1*}, and Jin-Ho Choi³

¹Division of Marine Life Science/Institute of Marine Industry, Gyeongsang National University,
Tongyeong 650-160, Korea

²Dept. of Food and Nutrition, Dongbusan College, Busan 612-715, Korea

³Division of Food Science and Biotechnology, Pukyong National University, Busan 608-737, Korea

Abstract

The feeding effects of mugwort (*Artemisia vulgaris* L.) extracts (ME) on the anti-oxidative actions of ICR mouse skin was investigated. To study the antioxidative effects of ME on ICR mouse skin, female ICR mice were grouped into basic diet group (control), ascorbic acid diet group (AA-2.5, AA-5.0, AA-10.0 and AA-20.0 mg/kg BW/day) as a positive control and experimental diet group (mugwort extract; ME-25, ME-50, ME-100, and ME-200 mg/kg BW/day) and fed for 10 weeks. Protein contents in ME-50, ME-100, and ME-200 feeding group were increased (3.1%~11.1%) and hydroxyl radical contents were significantly decreased (10.4%~17.4%) compared to control group. Oxidative stress signals and oxidized protein contents were significantly reduced to the range of 15.3 to 17.1% in ME-100 and ME-200 groups. Also, superoxide dismutase (SOD) activity was significantly increased to the range of 15.0% to 23.3% in ME-100 and ME-200 groups. Catalase activities were significantly increased (14.0%~36.9%) in all groups in a dose-dependent pattern. Antioxidative ability of ME showed similarity to that of ascorbic acid.

Key words: mugwort (*Artemisia vulgaris* L.) extract, ascorbic acid, antioxidative effect, skin

서 론

최근 의학의 발달과 생활환경의 개선에 따라 현대인들의 삶의 질에 대한 인식이 변하고 있으며, 외모에 대한 관심이 높아지면서 피부의 노화현상을 억제시키거나 지연시킬 수 있는 방법을 알기 위한 많은 노력들이 이루어지고 있다(1-3). 피부조직에서 일어나는 노화현상은 매우 복잡하여 한 가지 기전으로 설명하기는 어렵다. 이 중 가장 많은 지지를 받고 있는 노화 학설인 프리 라디칼이론에 의하면, 생체 내에서의 대사반응이나 자외선, 매연, 환경 호르몬 등에 의해 생체 내에 프리라디칼이 생성되고, 이것이 조직을 파괴하여 노화 과정을 촉진시킨다고 한다(4). 피부의 노화현상을 일으키는 활성 산소에는 슈퍼옥사이드 라디칼($O_2^{\cdot-}$)과 히드록시 라디칼($\cdot OH$)과 같은 라디칼과 과산화수소(H_2O_2)와 같은 비라디칼이 있다. 이러한 활성산소로부터 피부를 보호하기

위해 체내에는 여러 항산화작용을 하는 물질은 물론 슈퍼옥사이드 디스무타아제(superoxide dismutase: SOD), 글루타치온 퍼옥시다아제(glutathione peroxidase: GPx), 카탈라아제(catalase: CAT)와 같은 항산화효소가 존재한다(5). 하지만 지속적인 자외선 조사와 같은 노화의 외인성 인자에 대한 노출은 피부의 방어시스템인 항산화제의 함량을 감소시키거나 항산화효소의 활성을 저해하여, 결과적으로 피부는 산화적 스트레스가 일어나 세포 성분들이 손상되고 피부노화 현상이 촉진된다(6). 현재 피부노화를 억제하기 위한 기능성 화장품들이 개발되고 있으며, 각종 음식물의 섭취 형태가 피부에 미치는 영향에 관하여 많은 관심을 가지고 있다(7,8). Bogden 등은 미량 영양소의 제공이 피부의 과민반응을 지연하였다고 보고하였고(9), Karla와 Mohsen은 vitamin E의 섭취가 항산화작용에 기여한다고 보고하였으나(10), 아직 피부의 항산화 작용에 관한 연구는 미비한 편이다.

*Corresponding author. E-mail: yjchoi@gnu.ac.kr
Phone: 82-55-640-3115, Fax: 82-55-640-3111

애엽(艾葉)은 국화(菊花)과에 속하는 다년생 초목인 황해쭉(*Artemisia argyi. Lev et Vant*)과 야애(野艾)의 잎 부분만을 일컫는 약재 명으로 여성들의 냉대하, 설사, 하혈, 지혈, 진통제 및 복통 등에 주로 이용되어 왔다(11,12).

본 연구에서는 기본 사료에 애엽 추출물의 용량을 달리하여 조제한 사료를 ICR 마우스에 먹였을 때, 애엽 추출물에 대한 마우스 피부조직의 항산화작용 및 산화적 스트레스에 미치는 영향을 조사하였다.

재료 및 방법

시료의 조제

본 실험에 사용한 애엽은 (주)화림제약에서 구입하여 사용하였으며, 잘 건조된 애엽 2 kg을 세절하여 시약용 1급 메탄올 80%에 3회 냉침하여 추출하고, 40°C 이하에서 회전진공증발기(R-3000, EYELA, Tokyo, Japan)로 감압 농축한 후 동결건조하여 사용하였다. 추출물의 중량은 215.5 g이었으며 건조물의 수율은 10.8%이었다.

실험동물의 사육 및 식이 조성

본 실험에서는 체중 20 ± 2 g의 암컷 ICR mouse(한국바이오제노믹스)를 구입한 후 실험하기 전까지 항온항습($22 \pm 2^\circ\text{C}$, $65 \pm 2\%$ RH)하에서 12시간 사이클(06:00~18:00)로 명암이 자동 조절되는 동물 사육실에서 2주간 사육하였다.

실험동물을 위한 식이는 기본 식이군, 애엽 실험군과 비교군인 아스코르브산 실험군으로 나누었다. 본 실험에 사용한 기초 식이군과 실험군의 조성은 Table 1과 같이 배합하였다. 실험군은 기본 식이에서 애엽 첨가량만큼 탄수화물에서 제외하였다. 비교군인 아스코르브산 식이군은 그 용량을 애엽 추출물의 10분에 1에 해당하는 양을 기본 사료 조성에 첨가하여 애엽 추출물과 마찬가지로 첨가량만큼 탄수화물에서 제한 후 조제하였다. 실험은 10주 동안 수행하였으며 모든 식이와 음용수는 자유 섭취 방법으로 급이하였고 매일 저녁 6시에 섭취량을 측정하여 새로운 조제사료로 대체하였다.

피부균질액의 조제

조제한 사료를 10주간 급이한 후 ICR mouse는 ethyl ether로 마취하여 희생시켰다. 제모기로 털을 제거하고 등부위의 피부조직을 절취하였다. Kim과 Lee의 방법(13)에 따라 피하지방을 제거한 다음 4°C의 1.15% KCl, 5 mM EDTA, 10 mM phosphate 완충액(pH 7.4)으로 피부조직 균질액을 만들었다. 즉 피부조직을 잘게 자른 후 피부조직의 10배에 해당하는 완충 용액을 가하여 hand homogenizer로 마쇄하였으며, 마쇄액을 원심 분리($3000 \times g$, 15분)하여 상층액을 피부조직 균질액으로 하였다.

단백질 함량의 측정

피부조직 균질액의 총단백질 함량은 Lowry 등의 방법(14)으로 측정하였으며, bovine serum albumin을 사용하여 작성한 검량 곡선으로 정량하였다.

활성산소종 생성량의 측정

히드록시 라디칼(hydroxyl radical: $\cdot\text{OH}$) 함량의 측정은 Halliwell과 Gutteridge의 방법(15)을 다소 수정하여 사용하였다. 0.1 M 인산완충액(pH 7.4), 10 mM Na_3N , 7 mM deoxyribose, 5 mM ferrous ammonium sulfate, 0.54 M NaCl을 각각 60 μL 첨가하고 증류수 430 μL 와 피부조직 균질액 200 μL 를 첨가한 후 잘 혼합하고 37°C의 항온수조에서 15분 동안 항온하였다. 반응 혼합물에 8.1% SDS 용액 75 μL , 20% acetic acid 500 μL , 증류수 25 μL 를 각각 첨가하고, 1.2% thiobarbituric acid(TBA) 용액 400 μL 를 첨가하여 잘 혼합하였다. 30분 동안 가열한 후 실온까지 냉각시키고 원심분리($800 \times g$, 5분)하여 상층액의 흡광도는 분광광도계(UV-1700, Shimadzu, Japan)로 532 nm에서 측정하였다. 히드록실라디칼의 생성량(nM/mg-protein/min)은 malondialdehyde로 작성한 표준곡선에 따라 검체군과 대조군의 흡광도 차이를 이용하여 계산하였다.

과산화수소(hydrogen peroxide: H_2O_2)의 생성량은 Thurman 등의 방법(16)을 변형하여 측정하였다. 즉 피부조직에서 생성된 과산화수소에 의해 생성되는 적색의 ferri-

Table 1. Experimental diets for oral administration of basic, mugwort extract (ME) and ascorbic acid (AA) (unit: %)

Composition	Control	ME				AA			
		25	50	100	200	2.5	5.0	10	20
ME or AA (mg/kg BW/day)	-	0.0025	0.0050	0.010	0.020	0.00025	0.0005	0.0010	0.0020
Carbohydrate (starch + sugar)	58.3 (45 + 13.3)	58.3	58.3	58.3	58.3	58.3	58.3	58.3	58.3
Protein (casein)	18.0	18.0	18.0	18.0	18.0	18.0	18.0	18.0	18.0
Lipid (lard : corn oil = 2:1)	15.0	15.0	15.0	15.0	15.0	15.0	15.0	15.0	15.0
Cellulose	3.0	3.0	3.0	3.0	3.0	3.0	3.0	3.0	3.0
Vitamin mix*	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0
Mineral mix*	3.5	3.5	3.5	3.5	3.5	3.5	3.5	3.5	3.5
D,L-Methionine	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3
Choline chloride	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2
Cholesterol	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
Sodium cholate	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2

*AIN-76 mixture.

thiocyanate 복합체를 기초로 400 mM 인산완충액(pH 7.4) 400 μ L, 200 mM nicotinamide 200 μ L, 100 mM MgCl₂ 200 μ L, 50 mM NaN₃ 200 μ L와 피부조직 균질액 64.1 μ L, 증류수 735.9 μ L를 첨가하고 혼합한 후 60 mM NADPH 200 μ L를 첨가하였다. 37°C의 항온수조에서 30분 동안 항온한 후 1.2 M trichloroacetic acid(TCA) 용액 1.0 mL를 첨가하여 반응을 중지시키고 원심분리(3000 \times g, 10분)하여 상층액을 취하였다. 상층액 1 mL에 ferrous ammonium 200 μ L와 2.5 M potassium thiocyanate 100 μ L를 첨가하고 혼합한 후 실온에서 10분 동안 반응시켰다. 반응액의 흡광도를 480 nm에서 측정하여 과산화수소로 작성한 표준곡선을 이용하여 과산화수소(nM/mg-protein/min)의 함량을 측정하였다.

산화적 스트레스 분석

피부조직 중의 과산화지질(lipid peroxide, LPO)의 함량은 Choi와 Yu의 방법(17)에 따라 TBA법으로 말론디알데히드(malondialdehyde: MDA) 함량을 측정하였다. 즉 피부조직 균질액 20 μ L에 증류수 180 μ L를 혼합한 것을 각 시험관에 취하였다. 8.1% SDS 용액 200 μ L를 가하여 약 5초 동안 혼합하고 20% 초산 1.5 mL를 넣어 다시 5초 동안 혼합하였다. 이어서 1.2% TBA 시약 1.0 mL를 첨가하고 마개를 한 후 37°C에서 30분 동안 항온하였다. 반응 혼합물을 원심분리(800 \times g, 10분)하여 얻은 상층액을 532 nm에서 흡광도를 측정하였으며 malondialdehyde(MDA)로 작성한 표준 검량 곡선에 따라 MDA 함량(nM/mg-protein)을 측정하였다.

피부조직의 산화단백질의 함량은 Levine 등의 방법(18)에 따라 카르보닐기의 생성량을 측정하였다. 시료(0.1 mL)에 30% TCA 0.5 mL를 넣고 잘 혼합한 다음 원심분리(800 \times g, 10분)하여 상층액을 제거하고 남은 잔사에 10 mM dinitrophenyl hydrazine(DNPH) 0.5 mL를 첨가하여 잘 혼합한 다음 1시간 동안 실온에서 방치한 후 원심분리(800 \times g, 10분)하였다. 잔사에 ethanol/ethyl acetate(1:1, v/v) 3.0 mL를 첨가하여 잘 혼합한 다음 실온에서 10분 동안 방치하고 원심분리(800 \times g, 10분)하여 얻은 잔사에 6 M guanidine/20 mM potassium phosphate(pH 2.3) 용액 1.0 mL를 첨가하였다. 37°C의 항온수조에서 30분 항온하고 원심분리(800 \times g, 10분)하여 얻은 상층액의 carbonyl 생성량은 360 nm에서 분자흡광계수(E=22,000)를 이용하여 계산하였다.

활성산소종 제거효소의 활성 측정

수퍼옥시드 디스무타아제의 측정은 Oyanagui의 방법(19)에 따라 측정하였다. 즉 피부조직 균질액을 20.8 mM phosphate 완충액(pH 8.2)으로 30배 희석하고 희석된 균질액 100 μ L에 증류수 0.5 mL, 0.2 mL의 A 시약(52.125 mg hydroxylamine+102.1 mg hypoxanthine/250 mL 증류수)과 0.2 mL의 B 시약(20 μ L xanthine oxidase+0.9939 mg EDTA/26.7 mL의 20.8 mM phosphate 완충액, pH 8.2)을 가하고 37°C의 항온수조에서 40분 항온한 후 2.0 mL의 C

시약(300 mg sulfanic acid+N-1-naphthylethylene diamine acid/500 mL의 16.7% acetic acid)을 가하고 실온에서 20분 동안 방치한 후 550 nm에서 흡광도를 측정하였다. SOD 활성은 human erythrocyte에서 분리한 수퍼옥시드 디스무타아제로 작성한 표준곡선에 따라 계산하여 unit/mg-protein으로 표시하였다.

카탈라아제의 활성 측정은 Rigo와 Rotilio의 방법(20)에 따라 시험관에 피부조직 균질액 20 μ L, 0.13 M phosphate 완충액 250 μ L, 증류수 330 μ L를 가하고, 과산화수소 용액 900 μ L를 첨가하여 Vortex에서 5초간 잘 혼합한 다음, 즉시 240 nm에서 흡광도 변화를 측정하여 1분 동안 제거되는 과산화수소의 속도를 계산하여 효소의 활성을 측정하였다.

통계처리

통계처리는 Minitab 통계 패키지 프로그램을 사용하였으며, 유의성 검정은 Student's t-test를 이용하여 신뢰도를 검정하였다. 유의성 검정은 p<0.05와 p<0.01일 때 통계적으로 유의하다고 판단하였다.

결과 및 고찰

단백질의 함량 변화

농도를 달리하여 조제한 사료를 10주간 먹인 후 피부 균질물의 단백질 함량을 측정한 결과(Table 2), 애엽 추출물의 식이군인 ME-200 군에서 단백질 함량은 47.00 \pm 4.03 mg/g skin으로 대조군의 단백질 함량 42.29 \pm 1.33 mg/g skin (100%)에 비해 약 11.1% 정도의 유의적인 증가가 있었다(p<0.05). 그러나 아스코르브산을 섭취한 군인 AA-10.0과 AA-20.0에서는 단백질 함량이 각각 6.7%와 8.7% 정도 증가하였으나 유의성은 없었다. 이 같은 결과는 애엽이 피부의 단백질 영양 공급에 다소간의 영향을 미칠 수 있음을 지적한다.

Table 2. Feeding effects of mugwort (*Artemisia vulgaris* L.) extracts on protein content of ICR mouse skin for 10 weeks

Groups	Protein contents (mg/g skin)	
Control	42.29 \pm 1.33 ¹⁾	-
ME-25	40.54 \pm 4.42	95.9% ²⁾
ME-50	43.62 \pm 2.74	103.1%
ME-100	44.40 \pm 7.91	105.0%
ME-200	47.00 \pm 4.03*	111.1%
AA-2.5	43.08 \pm 3.09	101.9%
AA-5.0	45.10 \pm 3.20	106.4%
AA-10.0	45.13 \pm 1.91	106.7%
AA-20.0	45.98 \pm 2.53	108.7%

ME-25, ME-50, ME-100 and ME-200: Mugwort extracts of 25, 50, 100 and 200 mg/kg BW/day; AA-2.5, AA-5.0, AA-10.0 and AA-20.0: Ascorbic acid of 2.5, 5.0, 10.0 and 20.0 mg/kg BW/day. ¹⁾Mean \pm SD (n=6). ²⁾Percent of control. *p<0.05 compared with control group.

활성 산소종 함량의 변화

과산화수소 생성량은 기본사료를 섭취한 대조군의 경우 1.64 ± 0.08 nM/mg protein(100%)이었으며, 애엽 추출물 섭취군에서는 농도에 따라 약간 감소하였으나(2.7%~7.8%) 모든 군 사이에 유의성은 없었다(Table 3). 아스코르브산을 섭취한 군에서도 약간의 과산화 수소 함량의 감소가 있었으나 AA-20 군에서만 1.49 ± 0.03 nM/mg protein으로 유의적인 감소 효과를 보였다($p < 0.05$). 과산화수소의 생성량은 섭취 용량이 애엽 추출물의 1/10 밖에 되지 않음에도 불구하고 아스코르브산의 감소 효과가 높게 나타나, 아스코르브산이 더 효과적으로 과산화수소를 제거함을 알 수 있었다. 이러한 결과는 아스코르브산 피부 도포가 활성 산소종을 제거하여 광산화로 인한 손상을 억제한다는(21) 보고와도 일치하였으며 식이 섭취 및 도포시에도 아스코르브산의 강한 항산화 작용을 확인할 수 있었다.

애엽 추출물 섭취군의 히드록시 라디칼(hydroxyl radical)의 함량 변화는 Table 4와 같았다. 대조군의 경우 1.78 ± 0.13 nM/mg protein/min(100%)으로 애엽 추출물 섭취군에서 모두 감소하는 경향을 보여주었고, ME-25, ME-50와 ME-100 섭취군은 대조군에 비해 10.4%에서 14.4% 정도로 감소하였으며, ME-200의 경우는 1.47 ± 0.09 nM/mg protein/min으로

Table 3. Feeding effects of mugwort (*Artemisia vulgaris* L.) extracts on hydrogen peroxide of ICR mouse skin for 10 weeks

Groups	Hydrogen peroxide formation (nmol/mg protein)	
Control	$1.64 \pm 0.08^{1)}$	-
ME-25	1.60 ± 0.09	97.3% ²⁾
ME-50	1.58 ± 0.12	96.2%
ME-100	1.52 ± 0.04	92.7%
ME-200	1.52 ± 0.15	92.4%
AA-2.5	1.64 ± 0.20	99.9%
AA-5.0	1.53 ± 0.14	92.8%
AA-10.0	1.51 ± 0.03	91.6%
AA-20.0	$1.49 \pm 0.03^*$	90.6%

Refer to the comment in Table 2. ¹⁾Mean \pm SD (n=6). ²⁾Percent of control. * $p < 0.05$ compared with control group.

Table 4. Feeding effects of mugwort (*Artemisia vulgaris* L.) extracts on hydroxyl radical of ICR mouse skin for 10 weeks

Groups	Hydroxyl radical formation (nmol/mg protein/min)	
Control	$1.78 \pm 0.13^{1)}$	-
ME-25	$1.60 \pm 0.22^{**}$	89.6% ²⁾
ME-50	$1.57 \pm 0.10^{**}$	88.3%
ME-100	$1.52 \pm 0.18^{**}$	85.6%
ME-200	$1.47 \pm 0.09^{**}$	82.6%
AA-2.5	1.70 ± 0.19	94.8%
AA-5.0	$1.67 \pm 0.10^*$	93.8%
AA-10.0	$1.59 \pm 0.17^*$	89.0%
AA-20.0	$1.58 \pm 0.11^*$	88.8%

Refer to the comment in Table 2. ¹⁾Mean \pm SD (n=6). ²⁾Percent of control. * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ compared with control group.

로 대조군에 비해 17.4%나 감소하였다. 그리고 대조군과 비교했을 때 모든 애엽 추출물 섭취군에서 통계적으로 높은 유의성을 보여주었다($p < 0.01$). 아스코르브산 섭취군에서도 5.2%에서 11.2% 정도의 저해율을 보여 주었으나 애엽 추출물 섭취군의 저해율에 미치지 못했다.

활성 산소종의 함량 변화는 애엽 추출물의 섭취량이 증가함에 따라 감소하는 경향이었고 아스코르브산과 유사한 항산화작용을 관측하였다. 특히 활성 산소 중에서 가장 강력한 산화제로 알려진(4) 히드록시 라디칼 함량의 저하 정도가 가장 커서 애엽 메탄올 추출물의 강력한 항산화 효과를 시사하였다.

산화적 스트레스에 대한 효과

산화단백질의 함량 변화에 미치는 애엽 추출물의 섭취 효과를 측정된 결과(Table 5), 대조군의 카르보닐기 함량은 2.17 ± 0.11 nM/mg protein(100%)이었고, 애엽 섭취군인 ME-100 및 ME-200 섭취군은 각각 1.84 ± 0.23 nM/mg protein과 1.80 ± 0.27 nM/mg protein으로 16.2%와 17.1%의 상당히 유의적인 산화단백질 생성 저해 효과가 있었다($p < 0.01$). 아스코르브산을 섭취한 군인 AA-10과 AA-20의 경우 1.93 ± 0.08 nM/mg protein과 1.86 ± 0.37 nM/mg protein으로 카르보닐기의 생성량이 감소하는 경향을 보여주었으나 애엽 추출물보다 저해 효과가 적었다. 단백질을 이루고 있는 아미노산의 곁사슬들은 산화제나 활성산소종의 공격을 받기가 쉽고, 활성산소종의 공격을 받은 단백질은 그 구조가 변형되어 효소 기능 저하, 수용성 단백질의 응고 및 교차결합, 세포막의 구조변화, 세포 기능의 변질 등을 일으키기도 한다(22). 이와 같이 단백질 변성을 일으키는 물질인 카르보닐기는 주로 지질의 과산화반응이나 당당류 산화반응의 분해 산물로 카르보닐기의 생성량을 측정함으로써 산화단백질 함량을 측정할 수 있는데(23), 본 연구의 결과에 미루어 애엽 추출물은 활성 산소 중에서 히드록실 라디칼을 효과적으로 제거하여 산화적 스트레스의 결과인 산화단백질의 생성을 억제하고, 단백질 변성의 억제는 세포의 기능

Table 5. Feeding effects of mugwort (*Artemisia vulgaris* L.) extracts on oxidized protein (OP) of ICR mouse skin for 10 weeks

Groups	Oxidized protein contents (nmol/mg protein)	
Control	$2.17 \pm 0.11^{1)}$	-
ME-25	2.04 ± 0.29	94.2% ²⁾
ME-50	2.00 ± 0.34	92.3%
ME-100	$1.84 \pm 0.23^{**}$	84.7%
ME-200	$1.80 \pm 0.27^{**}$	82.9%
AA-2.5	1.94 ± 0.25	89.3%
AA-5.0	1.96 ± 0.31	90.2%
AA-10.0	$1.93 \pm 0.08^*$	88.7%
AA-20.0	$1.86 \pm 0.37^{**}$	85.8%

Refer to the comment in Table 2. ¹⁾Mean \pm SD (n=6). ²⁾Percent of control. * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ compared with control group.

Table 6. Feeding effects of mugwort (*Artemisia vulgaris* L.) extracts on lipid peroxide (LPO) of ICR mouse skin for 10 weeks

Groups	Lipid peroxide(LPO) contents (nmol/mg protein)	
Control	11.23±0.89 ¹⁾	-
ME-25	11.45±2.44	101.9% ²⁾
ME-50	10.83±0.98	96.5%
ME-100	10.98±1.07	97.5%
ME-200	10.58±1.04	94.3%
AA-2.5	11.12±0.62	98.9%
AA-5.0	10.48±2.19	93.3%
AA-10.0	10.00±1.37*	89.0%
AA-20.0	10.00±1.09*	88.8%

Refer to the comment in Table 2. ¹⁾Mean±SD (n=6). ²⁾Percent of control. *p<0.05 compared with control group.

유지와 고유의 콜라겐 보호에 기여할 것으로 보인다. 피부조직의 과산화지질 함량은 모든 군에서 섭취량이 증가함에 따라 감소하는 경향을 보여 주었다(Table 6). 대조군에 비하여 애엽 추출물 섭취군의 과산화 지질 함량은 약 3.5%~5.7% 감소하였으나, 아스코르브산 섭취군인 AA-10과 AA-20의 과산화 지질 함량은 각각 10.00±1.37 nM/mg protein과 10.00±1.09 nM/mg protein으로 약 10% 정도의 유의적인 저해효과가 있었다(p<0.05). 애엽 추출물은 아스코르브산에 비해 억제 효과는 낮았다. 아스코르브산은 수용성이지만 페녹실 라디칼로부터 알파 토코페롤을 재생시킬 수 있어, 본 연구의 결과는 수용성의 아스코르브산도 과산화 지질의 생성억제에 크게 기여한다는 보고(21)와 일치하였다. 그리고 Vaule 등은 토코페롤의 섭취시 피부조직의 토코페롤 함량이 증가한다고 보고하여(24) 경구 섭취에 의한 피부 노화 방지 효과를 입증하였다.

항산화효소의 활성 변화

프리 라디칼에 의해 생성되는 수퍼옥시드 라디칼이나 과산화수소 및 히드록시 라디칼 등의 활성산소를 제거하기 위한 방어체계가 체내의 혈액이나 모든 장기에 존재하고 있다. 이들 방어체계로서 수퍼옥시드 디스무타아제(SOD), 글루타치온 퍼옥시다아제(GPx), 글루타치온 환원효소, glutathione S-transferase, 카탈라아제(CAT) 등이 알려져 있다(4). 인간의 피부조직에서는 SOD 중 Cu/Zn-SOD의 활성이 가장 높다. 애엽 추출물과 아스코르브산을 경구 섭취한 마우스 피부조직에서의 Cu/Zn-SOD의 활성 변화를 측정된 결과(Table 7), 애엽 추출물 섭취군 중 ME-100과 ME-200 섭취군의 SOD 활성은 각각 49.73±4.44 unit/mg protein과 53.28±2.44 unit/mg protein으로 대조군의 활성(43.24±8.29 unit/mg protein)에 비하여 15.0%~23.3%까지 현저한 증가하였으며, 아스코르브산을 섭취한 AA-10과 AA-20 군에서는 각각 7.7%와 10.8%의 활성 증가가 있었다. 아스코르브산에 비해 10배에 해당하는 양의 애엽 추출물을 급이하였지만, 애엽 추출물이 아스코르브산에 비해 피부조직의 SOD 활성이 더 높다는 사실은 애엽 추출물의 섭취가 피부 노화방지에

Table 7. Feeding effects of mugwort (*Artemisia vulgaris* L.) extracts on superoxide dismutase of ICR mouse skin for 10 weeks

Groups	Superoxide dismutase activity (unit/mg protein)	
Control	43.24±8.29 ¹⁾	-
ME-25	43.20±9.43	99.9% ²⁾
ME-50	44.22±5.28	102.3%
ME-100	49.73±4.44*	115.0%
ME-200	53.28±2.44**	123.3%
AA-2.5	44.82±7.46	103.7%
AA-5.0	44.51±8.41	103.0%
AA-10.0	46.55±6.79	107.7%
AA-20.0	47.89±5.37*	110.8%

Refer to the comment in Table 2. ¹⁾Mean±SD (n=6). ²⁾Percent of control. *p<0.05, **p<0.01 compared with control group.

매우 효과적으로 작용하고 있음을 지적한다. 피부조직의 항산화 작용 효소중 카탈라아제 활성이 가장 크게 증가하였다(Table 8). 애엽 추출물 섭취군 모두에서 섭취량이 증가할수록 높은 활성의 증가를 보였고, 대조군 143.26±25.59 nM/mg protein/min(100%)에 비해, ME-25, -50, -100 및 -200의 카탈라아제 활성은 각각 163.34±25.71, 182.81±19.65, 187.81±36.98 및 196.11±11.40 nM/mg protein/min로 모두 14.0~36.9%의 유의적인 활성 증가를 보였다(p<0.01, p<0.001). 아스코르브산 섭취군에서도 5.3~21.2%의 높은 활성 증가가 있었으나 애엽 추출물의 활성 증가에는 미치지 못하였다. 이 같이 애엽 추출물이 비교군인 아스코르브산 섭취군보다 카탈라아제의 활성이 뛰어나다는 사실은 특기할 만하다.

Flavonoid가 광조사에 의한 피부손상을 보호한다는 보고(25)에 미루어 애엽 추출물의 높은 항산화능은 애엽 추출물 중에 있는 페놀성 화합물에 기인한 것으로 보인다. 애엽의 성분에 관한 연구에 의하면 쑥 추출물 중 flavonoid의 함량은 황해쑥의 경우 3.6 mg% 정도 함유되어 있고(26), 약쑥에는 flavonoid 성분인 eupatilin과 jaceosidin(27), o-coumaric acid(28) 등이 함유되어 있다고 보고하여 이와 같은 성분들이 항산화 효과에 기여하는 것으로 추정된다.

Table 8. Feeding effects of mugwort(*Artemisia vulgaris* L.) extracts on catalase of ICR mouse skin for 10 weeks

Groups	Catalase activity (nmol/mg protein/min)	
Control	143.26±25.59 ¹⁾	-
ME-25	163.34±25.71**	114.0% ²⁾
ME-50	182.81±19.65**	127.6%
ME-100	187.81±36.98**	131.1%
ME-200	196.11±11.40**	136.9%
AA-2.5	150.88±34.66	105.3%
AA-5.0	163.24±29.37*	113.9%
AA-10.0	167.90±30.34**	117.2%
AA-20.0	173.62±27.98**	121.2%

Refer to the comment in Table 2. ¹⁾Mean±SD (n=6). ²⁾Percent of control. *p<0.05, **p<0.01 compared with control group.

요 약

애엽 추출물에 대한 ICR 마우스의 피부 조직에 대한 항산화작용 및 산화적 스트레스에 미치는 영향을 조사하였다. 애엽 추출물(mugwort extract: ME)을 섭취한 식이군의 경우, 추출물의 농도에 따라 피부조직의 단백질 함량이 대조군에 비해 3.1%~11.1% 증가하였다. 활성산소 중 히드록시 라디칼 함량은 애엽 추출물 식이군에서 10.4%~17.4%의 유의적인 감소 효과가 인정되었으며, 그리고 산화적 스트레스로써 산화단백질의 함량도 애엽 추출물 식이군(ME-100, ME-200)이 대조군에 비해 각각 15.2%와 17.1%의 유의적인 감소를 보였다($p < 0.05$). 과산화지질함량은 애엽 추출물의 농도 증가에 따라 감소되는 경향을 보여주었으나, 통계적인 유의성은 없었다. 수퍼옥시드 디스무타아제 활성은 ME-100 군과 ME-200 군에서 각각 15.0%와 23.3%의 유의적인 증가가 있었고, 또한 애엽 추출물의 농도가 증가할수록 카탈라아제 활성도 증가하는 것으로 나타났다. 애엽 추출물의 섭취가 피부의 활성산소를 제거하고 산화적 스트레스를 억제하며, 항산화효소의 활성을 증가시켜 피부의 노화현상을 억제시키는 효과가 있음을 확인할 수 있었다. 강력한 항산화제인 아스코르브산과 비교하여도 손색이 없는 높은 활성을 보였다. 이와 같은 결과는 피부 건강기능 식품과 음료 소재로서 애엽의 이용 가능성을 제시한다.

감사의 글

본 연구는 산업자원부와 한국산업기술재단의 지역혁신인력양성사업으로 수행된 연구 결과입니다.

문 헌

- Fuchs J, Stefan W, Maurizio P, Norber G, Thomas H, Lester P, Roland K. 2003. HPLC analysis of vitamin E isoforms in human epidermis: Correlation with minimal erythema dose and free radical scavenging activity. *Free Radical Biol Med* 34: 330-336.
- Simon C, Ilona K, Trampusch KM. 1992. Effects of all-*trans* retinoic acid on UVB-irradiated and non-irradiated hairless mouse skin. *J Invest Dermatol* 98: 248-260.
- Francesco B, Maria L, Lucia M, Claudio P, Antonio T, Domenico T, Francesco C, Antonella S. 1996. Flavonoids as potential protective agents against photo-oxidative skin damage. *Int J Pharm* 145: 87-94.
- Harman D. 1984. Free radical theory of aging: the free radical diseases. *AGE* 7: 111-131.
- Black H. 1987. Potential involvement of free radical reactions in ultraviolet light-mediated cutaneous damage. *Photochem Photobiol* 46: 213-221.
- Sies H. 1986. Biochemistry of oxidative stress. *Angewandte Chemistry* 25: 1058-1071.
- Cho YH. 2005. Skin, nutrition and functional foods. *Food Science and Industry* 38: 8-15.
- Kim NI. 2005. Role of vitamins and minerals on skin care and beauty. *Food Science and Industry* 38: 16-25.
- Bogden JD, Bendich A, Kemp FW, Bruening KS, Skurnic JH, Denny T, Baker H, Louria DB. 1994. Daily micronutrient supplements enhance delayed hypersensitivity skin test responses in older people. *Am J Clin Nutr* 60: 437-447.
- Karla W, Mohsen M. 1994. Evaluation of the photoprotective effect of oral vitamin E supplementation. *Arch Dermatol* 130: 1257-1261.
- 전국한의학대학본초학교수공편저. 1995. 본초학. 영림사, 서울. p 405-406.
- Kim BN, Lee KS, Song BK. 2000. A study on the hemostatic effects of *Artemisiae asiaticae herba* aqua-acupuncture and gelatin aqua-acupuncture. *J Oriental Gynecology* 13: 46-59.
- Kim YP, Lee SC. 1987. *Superoxide dismutase activities in the human skin. The biological role of reactive oxygen species in skin.* University of Tokyo Press, Tokyo. p 225-320.
- Lowry OH, Roseborough NJ, Farr LA, Randall RJ. 1951. Protein measurement with the Folin-phenol reagent. *J Biol Chem* 193: 265-275.
- Halliwell B, Gutteridge JMC. 1981. Formation of a thiobarbituric acid-reactive substance from deoxyribose in the presence of iron salts. *FEBS Lett* 128: 347-350.
- Thurman RG, Ley HG, Scolz R. 1987. Hepatic microsomal ethanol oxidation. *Eur J Biochem* 25: 420-430.
- Choi JH, Yu BP. 1990. Unsuitability of TBA test as a lipid peroxidation marker due to prostaglandin synthesis in the aging kidney. *AGE* 13: 61-64.
- Levine RL, Garland CN, Oliver AA, Climent AG, Lenz BA. 1990. Determination of carbonyl content in oxidatively modified proteins. In *Methods in Enzymology*. Academic press, New York. Vol 186, p 464-478.
- Oyanagui Y. 1984. Reevaluation of assay methods and establishment of kit for superoxide dismutase activity. *Anal Biochem* 42: 290-296.
- Rigo A, Rotilio G. 1977. Simultaneous determination of superoxide dismutase and catalase in biological materials by polarography. *Anal Biochem* 81: 157-166.
- Darr D, Combs S, Dunston ST, Manning S, Pinnell S. 1992. Topical vitamin C protects porcine skin from ultraviolet radiation-induced damage. *Br J Dermatol* 127: 247-253.
- Yamamoto Y. 2001. Role of active oxygen species and antioxidants in photoaging. *J Dermatol Sci* 27: 1-4.
- Qiong G, Lester P. 2000. Ascorbate-dependent recycling of the vitamin E homologue trolox by dihydrolipoate and glutathione in murine skin homogenates. *Free Radic Biol Med* 29: 368-374.
- Vaule H, Leonard SW, Traber MG. 2004. Vitamin E delivery to human skin: studies using deuterated α -tocopherol measured by APCI LC-MS. *Free Radical Biol Med* 36: 456-463.
- Francesco B, Maria L, Lucia M, Claudio P, Antonio T, Domenico T, Francesco C, Antonella S. 1996. Flavonoids as potential protective agents against photo-oxidative skin damage. *Int J Pharm* 145: 87-94.
- Choi BB, Lee HJ, Bang SK. 2004. Studies on the amino acid, sugar analysis and antioxidative effect of extracts from *Artemisia* sp. *Korean J Food Nutr* 17: 86-91.
- Ryu SN, Kang SS, Kim JS, Ku BI. 2004. Quantitative analysis of eupatilin and jaceosidin in *Artemisia herba*. *Korean J Crop Sci* 49: 452-456.
- Park SK, Park JC. 1994. Antimicrobial activity of extracts and coumaric acid isolated from *Artemisia princeps* var. *orientalis*. *Korean J Biotechnol Bioeng* 9: 506-511.

(2007년 10월 4일 접수; 2007년 11월 19일 채택)