

## 야관문 에탄올 추출물의 자외선 조사에 의한 피부 광노화 억제 효과

김혜정<sup>1</sup> · 김길수<sup>2</sup> · 김대익<sup>3\*</sup>

<sup>1</sup>경운대학교 임상병리학과

<sup>2</sup>경북대학교 수의과대학

<sup>3</sup>(재)대구테크노파크 한방산업지원센터

### Inhibitory Effects of *Lespedeza cuneata* Ethanol Extract on Ultraviolet-Induced Photo Aging

Hye-Jeong Kim<sup>1</sup>, Kil-Soo Kim<sup>2</sup>, and Dae-Ik Kim<sup>3\*</sup>

<sup>1</sup>Dept. of Biomedical Laboratory Science, Kyungwoon University, Gyeongbuk 730-739, Korea

<sup>2</sup>College of Veterinary Medicine, Kyungpook National University, Daegu 702-701, Korea

<sup>3</sup>Oriental Medicine Industry Support Center, Daegu Technopark, Daegu 706-828, Korea

#### Abstract

To investigate the inhibitory effects of *Lespedeza cuneata* extract (LC) on photo aging, skin aging was induced by UVB irradiation of hairless mice for 5 weeks. The skin erythema indices for the positive control (PC) and *Lespedeza cuneata* extract (LC-1%, 3%, and 5%) groups were lower than that of the control group. However, both lipid and water capacities of the PC and LC-3% groups were significantly higher than those of the control group. Skin wrinkles in the PC and LC-3% groups formed in a pattern of shallow furrows and thin crests. Skin TBARS contents and XO activity in the LC group were lower than those of the control group. The activities of GSH, SOD, and CAT in the LC-3% group were significant higher than those of the control group. Therefore, *Lespedeza cuneata* extract could be an effective natural herbal material for the inhibition of skin aging in hairless mice skin.

**Key words:** *Lespedeza cuneata*, skin aging, antioxidant activity, hairless mouse

#### 서 론

피부는 외부환경에 직접적으로 노출되는 기관으로 일광 등의 자외선을 항상 접하게 된다. 이러한 피부에 자외선이 과도하게 가해지면 생체반응으로 염증 및 조직손상, 면역억제, DNA 및 결합조직의 손실 등을 초래하며 collagen의 분해 촉진, 주름의 형성, 노화의 촉진 등 피부변화를 가져온다(1). Ultraviolet-B(UVB)와 같은 자외선은 생체 내 자유라디칼(free radicals)의 생산과 항산화 방어체계(antioxidant defense system)의 균형을 깨뜨려 피부조직 내 활성산소의 과다 생성으로 세포내 구조와 세포막에 손상을 일으키며 산화스트레스를 유발하게 된다(2,3). 결과적으로 피부에 발생한 산화스트레스는 피부 광노화현상(photoaging)을 촉진하게 되는 것이다(4). 광노화의 원인이 되는 활성산소(reactive oxygen species, ROS)는 생체의 산소대사 과정 중 탐식세포 또는 산소 분자의 환원으로 인해 발생하며 그 종류로는 superoxide radical( $O_2^{\cdot-}$ ), singlet oxygen( $^1O_2$ ), hydroxy radical(OH $\cdot$ ), hydrogen peroxide( $H_2O_2$ ) 등이 있다(5). 이러한

활성산소는 mitochondria, endoplasmic reticulum 등의 세포내 구조와 세포막에 손상을 일으키게 되며 피부노화를 촉진하게 된다. 세포내 조직의 손상을 방어하려는 인체 내 항산화계로는 vitamin E, reduced glutathione(GSH)과 같은 비효소계 항산화계와 superoxide dismutase(SOD), catalase(CAT), glutathione peroxidase(GPX)와 같은 항산화 효소계가 존재한다(6,7). 이러한 피부노화 방지를 위해 항산화 활성이 높은 기능성 소재 탐색이 연구되어 왔으며(2,6) 특히 광노화 억제에 효과를 보이는 천연 식물자원을 이용한 항산화제 개발 연구가 시도되고 있다.

야관문(夜關門, *Lespedeza cuneata* G. Don)은 콩과(Leguminosae) 싸리속(*Lespedeza*)에 속하는 여러해살이 식물로 비수리, 삼엽초(三葉草) 등 여러 가지 이름으로도 불리며 민간에서 기침, 천식, 양기부족 등의 치료에 쓰여 왔다. 야관문의 생리활성 물질로는 pinitol, flavoid, phenol 성분이 있으며 자유라디칼(free radicals) 소거능과 항산화 활성이 있는 것으로 보고되고 있다(8-11).

이에 항산화 효과가 있는 야관문 추출물을 이용하여 활성

\*Corresponding author. E-mail: crs3814@daum.net  
Phone: 82-53-770-2323, Fax: 82-53-770-2312

산소로 인해 발생하는 노화의 관계와 방어체계인 항산화 효소의 변화를 관찰해보고 자외선 조사로 인한 피부조직 내 광노화의 억제 효과를 알아보하고자 한다.

### 재료 및 방법

#### 실험재료 및 추출물의 조제

야관문은 대구 약령시에서 구입하여 본 실험에 사용하였으며, 시료는 분쇄기(J-NCM, Jisico, Seoul, Korea)로 분쇄한 후 표준체 No. 60를 통과한 것을 -20°C 이하의 암소에 보관하면서 추출용 시료로 사용하였다. 반응표면분석법(response surface methodology, RSM)을 활용하여 예측되어진 추출조건, 즉 시료 20 g에 대한 용매비율 20 mL/g으로 하여 추출온도 80°C, 추출시간 6.6시간, 에탄올 농도 53% 추출조건에서 얻어진 시료를 동결건조하여 본 실험을 수행하였다.

#### 시약 및 기기

Hydrogen peroxide는 Junsei Co.(Tokyo, Japan)의 제품을 이용하였으며, 나머지 분석용 시약은 모두 Sigma Co.(St. Louis, MO, USA) 제품을 사용하였다. 또한 실험에 이용한 용매는 특급으로 사용하였다. 자외선 조사장치의 광원은 302 nm의 UVB를 0.6 mW/cm<sup>2</sup>의 강도로 방출하는 UVB sunlamp(UVM-225D, Delta OHM, Padova, Italy)를 사용하였다. 자외선 측정 장치는 UV-radiometer(HD9021, Delta OHM)를 사용하였고, 조직표본관찰은 inverted microscope(Axiovert 200, Carl Zeiss, Jena, Germany)와 fluorescence microscope(Axio imager, Carl Zeiss)를 사용하였다.

#### 실험동물 및 실험군 분류

실험동물은 6~7주령(22~28 g)의 수컷 hairless mouse(OrientBio, Tokyo, Japan)를 분양받아 1주일간 사육실에서 적응시킨 후 사용하였으며, 실험 전 기간 동안 사료와 물은 자유로이 공급하였다. 사육실은 온도 22±1°C, 상대습도 50±5%, 조명주기 12시간씩 명암을 유지하였다. 실험군은 Table 1과 같이 6군으로 나누었으며 각 군당 5마리씩 총 30마리를 실험에 사용하였다.

#### 피부노화 유발 및 시료도포

피부노화를 유발시키기 위해 마우스를 자외선 조사용 cage에 가둔 후 등 부위에 균일하게 302 nm의 UVB 60

mJ/cm<sup>2</sup>의 광량을 1 MED로 하여 1주일 간격으로 1 MED씩 증가하여 격일 간격으로 1주일에 3회, 5주 동안 조사하였다. 5주간의 광노화 유발 후 에탄올, 프로필렌글리콜, 증류수를 각각 30:50:20의 비율로 혼합한 용액을 기본 로션으로 하여 이 용액에 ascorbic acid 3%, *Lespedeza cuneata* 1, 3, 5%로 희석하여 제조한 후 5주간 1일 1회 200 µL 도포하였다.

#### 피부 홍반도, 유분 및 수분함량 측정

홍반도는 Mexameter(MX18, CK electronic GmbH, Koin, Germany), 유분함량은 Sebumeter(SM825, CK electronic GmbH), 그리고 수분함량은 Corneometer(CM825, CK electronic GmbH)를 사용하여 비침습적 방법으로 도포 5주째 되는 날 측정하였다.

#### 피부조직의 형태학적 관찰

실험 시작 후 5주째 되는 날 실험군을 대상으로 에테르로 가볍게 마취를 하고, 주름 정도를 객관적으로 평가하기 위하여 실험동물 배부에 실리콘 폴리머(SILFLO impression material, Flexico, Tokyo, Japan)를 이용하여 피부주형(replica)을 떠서 skin visometer(SV600, CK electronic GmbH)로 주름의 형태를 관찰하였다.

#### 피부조직의 조직학적 관찰

5주간의 실험물질 도포 후, 조직병리학적 검사를 위한 피부조직은 각 실험군에서 2마리씩을 선발하여 배부 조직을 채취, 생리식염수로 세척하고 neutral buffered formaldehyde(NBF)에 24시간 고정하였다. 고정된 조직은 피부 전층을 포함하는 절편을 취하여 탈수시킨 후 paraffin 블록에 포매, 조직 절편기(RM2125, Leica, Wetzlar, Germany)로 4 µm의 두께로 절단한 다음 polylysine으로 coating된 slide에 붙였다. 조직절편은 xylene을 이용하여 paraffin을 제거하고 alcohol과 증류수로 10분간 함수시켜 증류수로 세척한 후, 피부조직의 변화양상을 관찰하기 위하여 Hematoxylin-Eosin(H&E) 염색을 실시하였다.

#### GSH 및 TBARS 함량 평가

환원형 GSH 함량은 Ellman(12)의 방법에 따라 측정하였다. 조직 마쇄균질액 일정량에 4% sulfosalicylic acid 0.5 mL를 넣고 원심분리한 후, 상층액 일정량을 0.1 mM 5,5'-dithio-bis(2-nitrobenzoic acid)가 함유된 0.1 M sodium phosphate buffer(pH 8.0)에 넣고 반응시켜 생성된 *p*-nitrophenol을 측정하였다. 환원형 GSH 함량은 단백질 mg당 µmole로 나타내었다. 지질과산화(TBARS) 함량은 Ohkawa 등(13)의 방법에 따라 측정하였다. 효소 시료 속의 과산화지질을 산성조건 하에서 2-thiobarbituric acid 용액과 가열 반응시켜 생긴 TBARS 함량을 532 nm에서 측정하였다. TBARS 함량은 단백질 mg당 nmole로 표시하였다.

#### XO, SOD 및 CAT 활성 측정

피부 조직 중 xanthine oxidase(XO)의 활성도는 xanthine

Table 1. Experimental design of male animals

Groups	Experimental groups
NO	Normal control
CO	UV+base lotion <sup>1)</sup> treated group
PC	UV+ascorbic acid 3% treated group
LCL	UV+ <i>Lespedeza cuneata</i> 1%
LCM	UV+ <i>Lespedeza cuneata</i> 3%
LCH	UV+ <i>Lespedeza cuneata</i> 5%

<sup>1)</sup>Base lotion: ethanol (30%)+propylene glycol (50%)+distilled water (20%).

을 기질로 사용하여 30°C에서 20분간 반응시켜 생성된 요산을 292 nm에서 흡광도를 측정하는 Stripe과 Della(14)의 방법에 준하여 측정하였다. 활성도 단위는 효소액 중에 함유된 단백질 1 mg이 1분 동안 반응하여 기질인 xanthine으로부터 생성된 uric acid의 양을 nmole로 표시하였다. SOD의 활성도는 hematoxylin 자동산화의 억제정도를 관찰하는 Martin 등(15)의 방법에 따라 0.1 mM EDTA가 함유된 50 mM 인산 완충액(pH 7.5)에 10 µM hematoxylin 및 효소액을 가해 25°C에서 반응시켜 생성된 hematein을 560 nm에서 측정하여 효소의 활성도를 산정하였다. 활성도 단위는 효소액을 넣지 않은 반응액 중의 hematoxylin 자동산화를 50% 억제하는 정도를 1 unit로 하여 단백질 1 mg이 1분 동안 반응한 unit로 표시하였다. CAT의 활성도는 hydrogen peroxide를 기질로 하여 환원되는 정도를 240 nm에서 흡광도를 읽고 분자흡광계수( $E=0.04 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ )를 이용하여 활성을 산출하는 Aebi(16)의 방법에 준하여 측정하였다. 활성도 단위는 신장조직 중에 함유된 단백질 1 mg이 1분 동안 반응하여 감소되는 hydrogen peroxide의 양을 nmole로 표시하였다.

#### 통계처리

모든 실험결과는 평균과 표준편차로 나타내었으며, 각 그룹 및 평균간 통계적 유의성은 SPSS 10.0(SPSS Inc, Chicago, IL, USA)를 이용하여 one-way ANOVA 분석 후  $p < 0.05$  수준에서 Duncan's multiple test에 의해 검정하였다.

## 결과 및 고찰

#### 피부 홍반도 및 유수분 함량 변화

UVB 조사에 의해 나타나는 피부의 홍반도, 유분, 수분함 유량 결과는 Table 2와 같다. 대조군 CO군의 홍반도는 정상 NO군에 비해 31% 유의하게 높게 나타내었다. 이는 피부 광노화를 유발한 Lim 등(2)의 연구에서도 UVB를 조사한 CO군에서 홍반도가 높게 나타났으며, 이는 UVB 조사로 인한 피부의 초기반응으로 염증이 발생하고 염증반응은 혈관 확장으로 인한 피부홍반이라고 할 수 있다(17). Ascorbic acid 3%를 처리한 PC군은 CO군에 비해 약 7% 낮게 나타났

Table 2. Changes in erythema index, lipid capacity and moisture capacity of hairless mice (male) skin in 5 weeks

Groups	Erythema (AU) <sup>1)</sup>	Lipid capacity (%)	Moisture capacity (%)
NO	80.93 ± 5.48 <sup>a</sup>	3.50 ± 0.50 <sup>b</sup>	51.17 ± 9.43 <sup>b</sup>
CO	105.60 ± 14.08 <sup>b</sup>	1.57 ± 0.38 <sup>a</sup>	34.56 ± 7.69 <sup>a</sup>
PC	98.53 ± 10.18 <sup>ab</sup>	2.93 ± 0.93 <sup>ab</sup>	45.84 ± 6.20 <sup>ab</sup>
LCL	96.67 ± 2.48 <sup>ab</sup>	1.33 ± 1.53 <sup>a</sup>	39.77 ± 7.61 <sup>a</sup>
LCM	95.80 ± 13.79 <sup>ab</sup>	2.67 ± 0.58 <sup>ab</sup>	44.57 ± 7.33 <sup>ab</sup>
LCH	100.40 ± 9.11 <sup>ab</sup>	3.00 ± 1.00 <sup>ab</sup>	33.71 ± 5.98 <sup>a</sup>

The values are mean ± SD of 5 mouse.

<sup>1)</sup>AU: Arbitrary unit.

<sup>ab</sup>Values within a column with different superscripts letters are significantly different each other groups at  $p < 0.05$ .

으며 야관문 추출물 도포군은 CO군에 비해 약 10% 낮게 나타났다. 특히 LCM군의 피부 홍반도는 95.80 AU로서 CO군에 비해 9.3% 감소하여 야관문 추출물 도포군에서 가장 큰 감소를 나타내었으나 유의하지는 않았다. 야관문 추출물이 자외선 조사로부터 발생한 피부 홍반에 대해 항염 작용이 다소 있는 것으로 확인되었다.

야관문 추출물 도포가 피부 유수분 함량에 미치는 영향을 살펴보면 정상 NO군에 비해 CO군에서는 유수분 함량이 유분 약 50%, 수분 약 30% 감소함을 보였다. Lim 등(2)과 Kwon 등(18)의 연구에서도 UVB를 조사한 CO군이 유수분 함량이 낮은 것으로 나타났으며 이는 과량의 UVB 조사는 superoxide anion( $\text{O}_2^- \cdot$ )과 singlet oxygen( $^1\text{O}_2$ )과 같은 활성 산소를 생성하여 진피결합조직의 손상과 피부장벽의 붕괴로 유수분 함량 감소를 초래하는 것이다(19). Ascorbic acid 3%를 처리한 PC군은 CO군에 비하여 유분 87%, 수분 약 33% 유의하게 높았다. 야관문 추출물 3% 처리한 LCM군도 CO군에 비하여 유분 70%, 수분 약 29% 유의하게 ( $p < 0.05$ ) 높게 나타나 야관문 추출물 도포가 피부 유수분 함량을 증가시키는 것으로 나타났다. 유수분 함량의 증가를 나타낸 야관문 추출물은 피부손상으로 부터 보호 효과가 있음을 확인할 수 있으며 비타민 C와 비슷한 피부보호 효과가 있는 것으로 사료된다.

#### 피부조직의 형태학적 변화

반복적인 자외선 노출은 교원섬유를 분해하는 피부의 기질 금속 단백질분해효소(matrix metalloproteinases, MMPs)를 증가시키며 피부에 탄성과 힘을 주는 교원섬유를 파괴시키고 피부주름을 형성하게 된다(20). UVB 조사에 대한 피부의 표면에 생성된 주름의 양상을 알아본 결과 정상 NO군에 비해 CO군에서는 주름의 깊이가 깊고 굵게 형성되었다. 그러나 PC군, 야관문 추출물 도포군에서는 현저하게 주름의 선이 가늘고 깊이도 얇게 형성되어 있었으며, 특히 야관문 추출물 3% 도포군에서 가장 큰 효과를 나타내었다(Fig. 1). 위의 결과로 야관문 추출물이 피부주름 개선 및 예방에 효과가 있음을 알 수 있다.

#### 피부조직의 조직학적 변화

반복되는 자외선 노출은 표피의 과립층과 각질층을 증가시켜 표피층의 비후가 발생한다(21). Chiba 등(19)은 UVB에 의한 표피의 조직학적 변화로 일광화상 세포존재, 과각화증, 이상각화증과 진피에서 혈관 내피세포의 종창, 혈관주위 부종, 유두부종, 염증세포 침윤 등의 현상을 보고하고 있다. 피부조직의 형태 및 염증관련세포의 관찰을 위해 H&E 염색을 실시한 결과는 Fig. 2와 같다. 정상군(N)은 표피층이 얇고 염증세포나 다른 이상반응을 나타낼 만한 세포의 형태학적 변화가 없었으나 UV 대조군(C)은 표피층의 현저한 비후와 표피층을 따라 염증세포의 출현이 관찰되었다. 비타민을 처리한 실험군(PC)에서는 표피의 비후 및 염증세포의 출현이

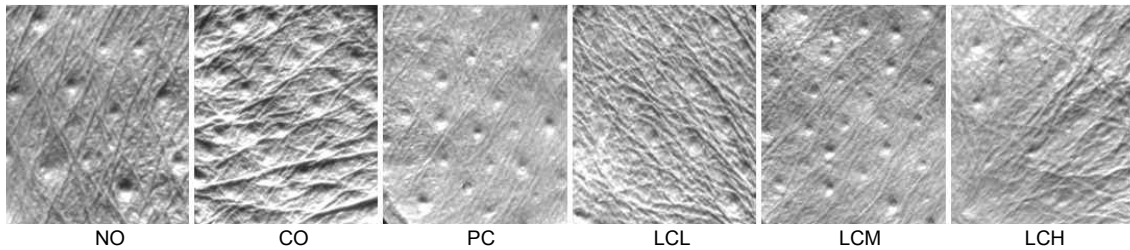


Fig. 1. Comparison of replica image of hairless mouse (male) after 5 weeks. NO, saline treated group; CO, UV+base lotion treated group; PC, UV+ascorbic acid 3% treated group; LCL, UV+*Lespedeza cuneata* 1%; LCM, UV+*Lespedeza cuneata* 3%; LCH, UV+*Lespedeza cuneata* 5%.

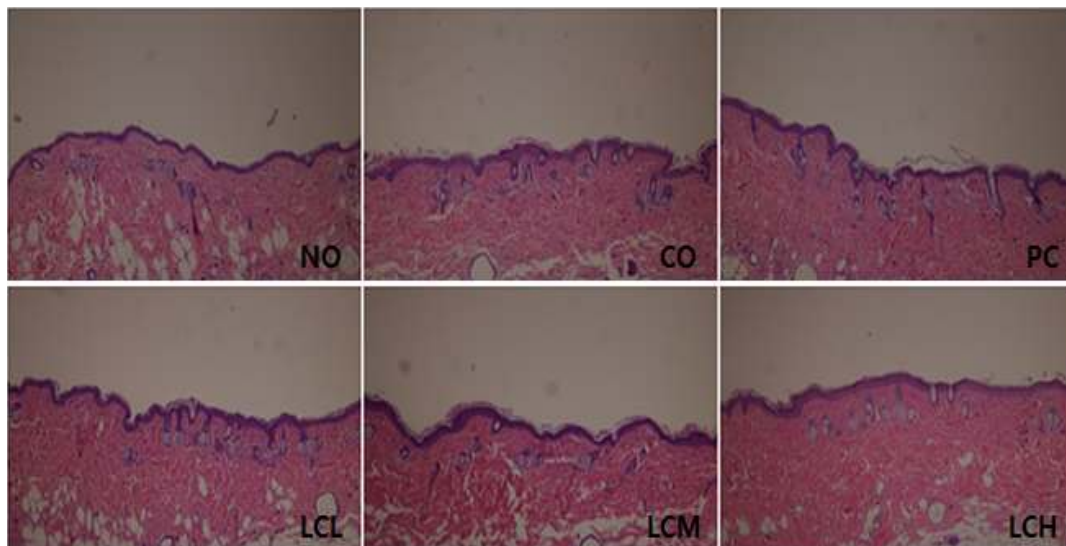


Fig. 2. Histological observation on male hairless mouse skin after 5-week experiment to evaluate the inhibitory effect of LC on skin aging. H&E stain,  $\times 100$ . NO, saline treated group; CO, UV+base lotion treated group; PC, UV+ascorbic acid 3% treated group; LCL, UV+*Lespedeza cuneata* 1%; LCM, UV+*Lespedeza cuneata* 3%; LCH, UV+*Lespedeza cuneata* 5%.

감소되었으며 야관문 추출물을 도포한 실험군(LC)에서도 양성대조군(PC)에서와 같은 양상으로 표피비후의 감소와 염증성 세포의 출현이 억제되는 현상을 나타내었다.

피부조직 내 유해산소 대사효소 활성 변화

UVB 조사에 의해 피부조직 내 과다 생성된 활성산소는 체내 존재하는 항산화 효소계의 활성을 억제시킴으로써 세포막의 손상과 DNA, 단백질, 지질 등의 생체 구성성분을 산화시켜 노화를 촉진한다(22). 자외선을 조사한 배부조직의 GSH와 TBARS 함량은 Table 3과 같다. UVB를 조사한 CO군에서 조직의 손상을 방어하는 항산화효소인 GSH의 함량은 감소를 나타내었으며 야관문 도포군에서 CO군의 0.20  $\mu\text{mol}/\text{mg}$  protein에 비해 15~45%의 유의한 증가를 나타내었다( $p < 0.05$ ). 지질과산화 지표로 사용되는 TBARS 함량은 야관문 도포군에서 CO군 45.28  $\mu\text{mol}/\text{mg}$  protein에 비해 21~25%의 유의한 감소를 보였다( $p < 0.05$ ). 자외선에 의해 생성된 활성산소종은 조직 중 지질의 산화를 야기하고 지질과산화물의 축적은 생체 내에 조직의 변성을 야기하여 다양한 질병을 유발함과 동시에 노화를 촉진시킨다. 야관문 추출물을 도포한 군에서 생체 내 항산화효소인 GSH 함량의 증

Table 3. Glutathione and thiobarbituric acid reactive substance levels in hairless mouse (male) of skin

Groups	( $\mu\text{mole}/\text{mg}$ protein)	
	GSH content	TBARS content
NO	0.36 $\pm$ 0.11 <sup>b</sup>	25.04 $\pm$ 7.35 <sup>a</sup>
CO	0.20 $\pm$ 0.11 <sup>a</sup>	45.28 $\pm$ 16.94 <sup>b</sup>
PC	0.29 $\pm$ 0.06 <sup>ab</sup>	34.57 $\pm$ 8.71 <sup>ab</sup>
LCL	0.23 $\pm$ 0.06 <sup>ab</sup>	33.93 $\pm$ 9.69 <sup>ab</sup>
LCM	0.28 $\pm$ 0.03 <sup>ab</sup>	34.15 $\pm$ 2.46 <sup>ab</sup>
LCH	0.26 $\pm$ 0.02 <sup>ab</sup>	35.55 $\pm$ 2.89 <sup>ab</sup>

The values are mean  $\pm$  SD of 5 mouse.

<sup>a,b</sup>Values within a column with different superscripts letters are significantly different each other groups at  $p < 0.05$ .

가와 TBARS 지질과산화 함량의 감소를 보여, 야관문 추출물이 자외선으로 인한 피부의 산화적 손상을 방어하고 노화를 억제하는 것으로 사료된다.

XO는 생체조직에 존재하면서 세포상해와 관련한  $\text{O}_2^- \cdot$ 을 생성시켜 세포손상을 야기하는 것으로 알려져 있다(23,24). 자외선으로부터 생성된 superoxide anion radical( $\text{O}_2^- \cdot$ )과 같은 유해산소는 superoxide dismutase(SOD)에 의해 hydrogen peroxide( $\text{H}_2\text{O}_2$ )로 전환되며 이것은 다시 catalase

**Table 4. Xanthine oxidase, superoxide dismutase and catalase activities in hairless mouse (male) skin**  
(nmole H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> reduced/mg protein/min)

Groups	XO activity	SOD activity	CAT activity
NO	1.38±0.27 <sup>a</sup>	18.07±4.16 <sup>b</sup>	18.45±0.34 <sup>b</sup>
CO	3.59±0.67 <sup>c</sup>	4.65±4.89 <sup>a</sup>	8.68±3.04 <sup>a</sup>
PC	2.54±0.67 <sup>b</sup>	7.35±2.80 <sup>a</sup>	11.49±5.31 <sup>ab</sup>
LCL	3.14±0.71 <sup>bc</sup>	5.65±4.69 <sup>a</sup>	13.76±2.72 <sup>ab</sup>
LCM	2.64±0.10 <sup>bc</sup>	10.43±4.40 <sup>ab</sup>	15.12±3.97 <sup>ab</sup>
LCH	2.46±0.49 <sup>b</sup>	9.55±7.03 <sup>ab</sup>	13.56±4.44 <sup>ab</sup>

The values are mean±SD of 5 mouse.

<sup>a-c</sup>Values within a column with different superscripts letters are significantly different each other groups at p<0.05.

(CAT) 및 glutathione peroxidase(GP<sub>x</sub>)에 의해서 물과 산소로 전환되어 지질과산화물을 억제하는 것이다(25). 자외선을 조사한 배부조직의 XO, SOD 및 CAT 활성은 Table 4와 같다. 유해산소 생성계 효소로 알려져 있는 XO의 활성은 야관문 추출물 도포군에서 CO군 3.59±0.67 unit에 비해 13~31% 감소 효과를 나타내었다. SOD 활성은 야관문 도포군에서 CO군 4.65±4.89 unit에 비해 22~124%의 활성 증가를 보였으며 야관문 추출물 3%군에서 유의한 증가를 나타내었다(p<0.05). CAT 활성도 야관문 추출물군에서 CO군 8.68±3.04 unit인데 비해 56~74%의 활성 증가를 보였으며 야관문 추출물 3%군에서 유의한 증가를 나타내었다(p<0.05). 야관문의 용량을 달리하여 면역세포의 활성을 본 Eun의 연구(26)에서는 에탄올 추출한 야관문의 용량이 증가할수록 ICR 마우스의 흉선세포와 비장세포 생존율이 증가하는 것으로 나타났다. 야관문의 항산화 활성을 *in vitro*에서 농도별로 분석한 Kim의 연구(27)에서도 농도가 증가할수록 전자공여능과 SOD 함량이 증가하는 것으로 나타났다. 그러나 자외선을 조사한 수컷 hairless 마우스의 항산화 활성도 검사에서는 농도-의존적으로 효과를 나타내기보다는 약 3%의 중간 농도에서 더욱 뛰어난 효과를 나타내었다. 추후 야관문 농도에 따른 *in vivo*의 항산화 활성 연구가 더욱 필요할 것으로 생각된다.

이상의 결과로 야관문 추출물은 항산화 활성을 증가시켜 자외선으로 인한 피부 조직 내 활성산소의 생성을 낮추고 지질과산화물의 축적을 감소시켜 피부조직의 변화를 억제하는 것으로 나타났다. 피부노화 예방 및 기능성 화장품 원료로서 사용 가능성을 제시하는 바이며 사용 농도는 3% 정도가 효능적인 면에서 유익할 것으로 사료된다.

## 요 약

야관문 추출물의 UVB에 의한 피부노화 억제활성을 살펴보고자 야관문 추출물을 대상으로 피부 홍반도, 유수분 함량, 형태학·조직학적 검사, GSH, TBARS의 함량 그리고 XO, SOD, CAT 활성을 측정하였다. 피부 홍반도는 야관문 추출물 3% 도포군이 대조군에 비해 9.3% 홍반 감소 효과를 나타내었으며 유수분 함량은 야관문 추출물 3% 도포군이

대조군에 비해 각각 70%와 29% 유의한 증가를 보였다. 형태학적으로 야관문 추출물 도포한 군에서 피부의 주름이 현저하게 감소하였으며, 조직학적 검사에서도 표피 및 진피의 화농과 염증의 치료에 효과가 있음을 확인하였다. 야관문 추출물 3% 도포군에서 대조군에 비해 GSH는 유의하게 증가하였고 TBARS와 XO의 활성은 유의하게 감소하였으며, 항산화 효소인 SOD, CAT 활성은 유의한 증가를 나타내었다. 이에 UVB 조사로 노화가 유발된 hairless mouse에서 야관문 추출물의 도포는 노화된 피부에 염증반응을 약화시키며 유수분 함량을 증가시켜 피부장벽의 손상을 방지하며, 항산화효소의 활성을 증가시켜 노화억제 효과가 있는 것으로 나타났다. 야관문 추출물은 피부노화 예방 및 기능성 화장품 원료로서 사용 가능성을 제시하는 바이며 사용 농도는 3%가 효능적인 면에서 유익할 것으로 사료된다.

## 감사의 글

본 연구는 지식경제부의 지역산업기술개발사업(과제번호: A000200004)의 지원에 의한 연구결과와 일부로 이에 감사드립니다.

## 문 헌

1. Ichihashi M, Ueda M, Budiyanto A, Bito T, Oka M, Fukunaga M, Tsuru K, Horikawa T. 2003. UV-induced skin damage. *Toxicology* 189: 21-39.
2. Lim AK, Jung YJ, Kim KS, Kim YH, Kwak JH, Hong JH, Kim HY, Kim DI. 2010. Skin UVB photo aging effect from extract of fermented *Reynoutria elliptica*. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 39: 369-375.
3. Darr D, Fridovich I. 1994. Free radical in cutaneous biology. *J Invest Dermatol* 102: 671-675.
4. Sies H. 1986. Biochemistry of oxidative stress. *Angewandte Chem* 25: 1058-1071.
5. Niwa Y, Kasama T, Kawai S, Komura J, Sakane T, Kanoh T, Miyachi Y. 1988. The effect of aging on cutaneous lipid peroxide levels and superoxide dismutase activity in guinea pigs and patients with burns. *Life Sci* 42: 351-356.
6. Cho SH. 2009. Inhibitory effect of PME88 melonSOD on the ultraviolet-induced photo-aging. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 38: 401-408.
7. Cao G, Alessio HM, Cutler RG. 1993. Oxygen-radical absorbance capacity assay for antioxidants. *Free Radical Biol Med* 14: 303-311.
8. Lee HJ, Lim GN, Park MA, Park SN. 2011. Antibacterial and antioxidative activity of *Lespedeza cuneata* G. Don extracts. *Korean J Microbiol Biotechnol* 39: 63-69.
9. Shigemori H, Sakai N, Miyoshi E, Shizuri Y, Yamamura S. 1990. Bioactive substances from *Lespedeza cuneata* L.G. Don and their biological activities. *Tetrahedron* 46: 383-394.
10. Numata A, Hokimoto K, Yamaguchi H. 1980. C-Glycoylflavones in *Lespedeza cuneata*. *Chem Pharm Bull* 28: 964-965.
11. Kim SJ, Kim DW. 2007. Antioxidative activity of hot water and ethanol extracts of *Lespedeza cuneata* seeds. *Korean J Food Preserv* 14: 332-335.

12. Ellman GL. 1959. Tissue sulfhydryl group. *Arch Biochem Biophys* 82: 70-77.
13. Ohkawa H, Ohishi N, Yake K. 1979. Acid reaction. *Anal Biochem* 95: 351-358.
14. Stripe F, Della CE. 1969. The regulation of rat liver xanthine oxidase. Conversion in vitro of the enzyme activity from dehydrogenase (type D) oxidase (type O). *J Biol Chem* 244: 3855-3863.
15. Martin JP Jr, Dailey M, Sugarman E. 1987. Negative and positive assays of superoxide dismutase based on hematoxylin autoxidation. *Arch Biochem Biophys* 255: 329-336.
16. Aebi H. 1974. Catalase. In *Methods of Enzymatic Analysis*. Bergmeyer HU, ed. Academic press, New York, NY, USA. Vol 2, p 673.
17. Soter NA. 1990. Acute effects of ultraviolet radiation on the skin. *Semin Dermatol* 9: 11-15.
18. Kwon MH, Min KJ, Kim YC. 2009. Inhibitory effects of *Peonia japonica* water extract on skin aging ( I )—focussed on alleviative effects of inflammation and skin barrier damage—. *J Environ Toxicol* 24: 159-167.
19. Chiba K, Kawakami K, Sone T, Onoue M. 2003. Characteristics of skin wrinkling and dermal changes induced by repeated application of squalene monohydroperoxide to hairless mouse skin. *Skin Pharmacol Appl Skin Physiol* 16: 242-251.
20. Fisher GJ, Kang S, Varani J, Bata-Csorgo Z, Wan Y, Datta S, Voorhees JJ. 2002. Mechanisms of photoaging and chronological skin aging. *Arch Dermatol* 138: 1462-1470.
21. Kligman LH, Crosby MJ, Higley H. 1993. The UVB-irradiated hairless mouse as a model for the evaluation of injectable collagen implant. *J Dermatol Treat* 4: 27-31.
22. Kaneto H, Fujii J, Suzuki K, Kasai H, Kawamori R, Kamada T, Taniguchi N. 1994. DNA cleavage induced by glycation of Cu, Zn-superoxide dismutase. *Biochemical J* 304: 219-225.
23. Im MJ, Manson PN, Bulkley GB, Hoopes JE. 1985. Effects of superoxide dismutase and allopurinol on the survival of acute island skin flaps. *Ann Surg* 201: 357-359.
24. Manson PN, Anthenelli RM, Im MJ, Bulkley GB, Hoopes JE. 1983. The role of oxygen-free radicals in ischemic tissue injury in island skin flaps. *Ann Surgery* 198: 87-90.
25. Deisseroth A, Dounce AL. 1970. Catalase: Physical and chemical properties, mechanism of catalysis, and physiological role. *Physiol Rev* 50: 319-375.
26. Eun JS. 2011. Effect of *Lespedeza cuneata* G. Don on the activity of murine immune cells. *Korean J Oriental Physiology & Pathology* 25: 837-842.
27. Kim BY. 2010. Studies on antioxidant activity of extracts from *Lespedeza cuneata* and development of fermented products prepared from *Lespedeza cuneata*. *MS Thesis*. Daegu Haany University, Gyeongbuk, Korea. p 41.

(2012년 9월 14일 접수; 2012년 10월 22일 채택)