

## 과산화수소로 유도된 SH-SY5Y 신경세포 사멸에 대한 오미자 · 칠해목 추출혼합물의 보호효과

박은국 · 한경훈\* · 이승희\* · 김남기\*\* · 배문형\*\* · 서영하\*\* · 용윤중\*\*\* · 정선용 · †최춘환\*\*\*\*  
아주대학교 의과대학 의학유전학 교수, \*서울의료원 의학연구소 연구원, \*\* (주)알피바이오 연구원,  
\*\*\* (주)나인비 연구원, \*\*\*\* (재)경기도경제과학진흥원 바이오센터 책임연구원

### Neuroprotective Effects of *Schisandra chinensis* and *Ribes fasciculatum* Extract on Hydrogen Peroxide-Mediated Oxidative Stress in Neuroblastic SH-SY5Y Cell Line

Eun-kuk Park, Kyung-Hoon Han\*, Seung-Hee Lee\*, Nam-Ki Kim\*\*, Mun-Hyoung Bae\*\*,  
Young-Ha Seo\*\*, Yoon-joong Yong\*\*\*, Seon-Yong Jeong and †Chun-Whan Choi\*\*\*\*

Professor, Dept. of Medical Genetics, Ajou University School of Medicine, Suwon 16499, Korea

\*Researcher, Research Institute, Seoul Medical Center, Seoul 02053, Korea

\*\*Researcher, Rpbio Research Institute, Rpbio Co. Ltd, Suwon 16229, Korea

\*\*\*Researcher, NineB Research Institute, NineB Co. Ltd, Suwon 16499, Korea

\*\*\*\*Senior Researcher, Biocenter, Gyeonggido Business and Science Accelerator, Suwon 16229, Korea

#### Abstract

In neuronal cell deaths, oxidative stress is normally implicated with a most of these deaths occurring in neurodegenerative disorders such as the Alzheimer's and Parkinson's diseases. In this study, the neuroprotective effects of *Schisandra chinensis* (SC) and *Ribes fasciculatum* (RF) extracts on hydrogen peroxide (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>)-induced oxidative stress in neuroblastic cell line were investigated. For an hour, hydrogen peroxide of 100 μM concentration, was induced on neuroblastic cells, causing apoptic cell death. For the neuroprotection, a sample of neuroblastic cells had been pre-treated with SC and RF extracts for 24 hours before application of the hydrogen peroxide. No neurotoxic effects were observed in the cells that had been treated by SC and RF. This prove that the treatment of SC and RF extract prevented apoptotic cell death of neuroblastic cell line exposed to oxidative injury. In addition, applying both SC and RF extracts at a 7:3 ratio increased the neuronal cell survival rate, compared to individual treatments of SC and RF extract. This study suggests that SC and RF extracts may be potential therapeutic agents for the prevention of neuronal cell death.

Key words: *Schisandra chinensis*, *Ribes fasciculatum*, neuronal cell death, neuroprotection, oxidative stress

#### 서 론

우리나라는 현재 초고령 사회로 진입하였으며, 이에 따라 노인성 질환과 같은 퇴행성 질환의 유병률이 점차 증가하고 있다. 이로 인하여, 노화와 관련된 퇴행성 질병이 심각한 사회문제로 대두되고 있으며, 이 중 퇴행성 질환으로 알려진 알

츠하이머병과 파킨슨병의 경우 신경세포의 사멸에 의해 유발되며, 치료가 어려운 것으로 알려져 있다(Baral 등 2015). 병의 발병 원인으로는 산화적 스트레스와 에너지의 대사 이상이 주된 원인으로 기인하지만, 정확한 병의 기전에 대해서는 밝혀져 있지 않다(Han 등 2017).

산화적 스트레스에 중요 인자인 활성산소종(Reactive Axy-

† Corresponding author: Chun Whan Choi, Senior Researcher, Biocenter, Gyeonggido Business and Science Accelerator, Suwon 16229, Korea. Tel: +82-31-888-6131, Fax: +82-31-888-6139, E-mail: cwchoi78@gmail.com

gen Species: ROS)은 과산화수소(hydrogen peroxide:  $H_2O_2$ ), 초과산화음이온(superoxide anion:  $O_2^-$ ), 하이드록실 라디칼(hydroxyl radical:  $OH^-$ ) 등이 속해 있으며, 이들은 구조적으로 매우 불안정하여 여러 세포들의 단백질 변성과 산화적 손상을 유발시키는 것으로 알려져 있다. 이들 ROS는 인간의 몸에서 발생하는 질환의 대부분과 관련되어 있으며, 다량의 활성산소는 동맥경화, 당뇨병, 암, 퇴행성 치매와 같은 각종 질병의 원인으로 알려져 있다(Papa & Skulachev 1997; Comporti M 2012). 신경세포 경우, 신호전달을 위한 구조적 특성상 지방질 성분이 많아 산화적 스트레스에 매우 취약한 것으로 알려져 있으며, ROS의 과잉생산은 뇌신경세포의 기능장애 및 세포 사멸을 유발하는 것으로 밝혀졌다(Lenaz G 1998). 이처럼 과도한 산화적 스트레스로 인하여 퇴행성 뇌신경질환이 유발되며, 그 결과 인지 및 기억능력 장애가 발생하는 것으로 알려져 있다(Heo 등 2004; Bidchol 등 2011). 이러한 산화 스트레스는 BHA(butylated hydroxyanisole), BHT(butylated hydroxytoluene) 등의 합성 산화 방지제들을 섭취함으로써 방지할 수 있으나, 다양한 부작용이 보고되고 있으며, 이에 부작용이 없는 천연 산화 방지제에 대한 연구가 활발히 이루어지고 있다(Piao 등 2005). 오미자는 생약재로써 오미자과(Schisandrae frucus)는 목련과(Magnoliaceae)의 낙엽덩굴식물인 오미자(*Schisandra chinensis* Baill)의 열매를 건조한 것으로, 오래 전부터 민간에서 과실을 이용하여 차, 술, 화채 등을 만들어 복용해 왔다. 오미자의 대표적인 생리활성 물질은 리그난(lignan)으로 그 구조적인 특성에 따라서 다른 활성을 가지고 있는 것으로 알려져 있고(Kim 등 2009), 신장 내 독성 억제, 항산화, 혈당저하, 항균 등의 효과가 보고되었으며(Lee 등 2012; Zeng 등 2012; Wang 등 2014), gomisin A와 gomisin N은 신경 보호 효과, 항신경염증 효과, 기억력 개선에 기여하는 것으로 알려져 있다(Giridharan 등 2011; Xu 등 2012). 흰쥐 모델에서의 경우, 지질산화를 억제하고 신경 생성을 증가시킨다고 보고되어졌다(Kim 등 2004). 칠해목은 강원도 이남 산지에서 자라고, 일본과 중국에서도 분포되어 있으며, 본초도감에서는 칠해목은 맛은 달고 쓰며, 성질은 평하다고 하였다. 중풍, 출혈, 통증, 신경통, 움, 옷독 등을 해독시키는 효능을 가지고 있으며, Jung 등(2014)이 발표한 논문에서는 알러지 반응을 약화시키는 것으로 발표하였다.

이에 본 연구에서는 과산화수소로 유발된 산화스트레스 상태의 SH-SY5Y 신경세포에서 천연 항산화 효과로 알려진 오미자 추출물과 칠해목 추출물과의 복합물 처리에 따른 신경 보호 효과를 알아보고자 하였다.

## 재료 및 방법

### 1. 시료제조

본 연구에 사용한 오미자(국산) 약제는 협동조합약초대학에서 구입하였으며, 칠해목(국산) 약제는 괴산약초유기농산물협동조합에서 구입해 물로 세척하여, 건조시킨 후 사용하였다. 에탄올 추출물은 시료 중량대비 30, 70, 100% 에탄올 10배의 양을 가하여 실온에서 24시간 shaking하여 추출 후, 상등액과 침전물을 분리하였으며, 동일한 방법으로 3회 반복 추출하였다. 각 추출물을 원심분리 및 여과, 농축하여 동결건조 후 냉동실에 보관하면서 본 실험의 시료로 사용하였다(Kim 등 2004; Baral 등 2015).

### 2. 세포배양 및 산화스트레스 유도

본 연구에서 사용한 SH-SY5Y 신경세포는 American Type Culture Collection(ATCC, USA)에서 구입하여 사용하였다. 10% FBS(ThermoFisher Scientific, USA)와 50  $\mu$ g/mL 항생제(ThermoFisher Scientific, USA)를 DMEM 배지에 첨가하여 37°C, 5%  $CO_2$  incubator(ThermoFisher Scientific, USA)에서 배양하였다. SH-SY5Y 신경세포에서 과산화수소( $H_2O_2$ )를 이용하여, 산화적 스트레스를 유도하기 위해 96-well plate에  $1 \times 10^4$  cells/0.1 mL/well로 분주한 후 24시간 동안 배양하였다. 24시간 배양 후 각각의 신경세포가 분주된 각각의 well에 과산화수소 10~100  $\mu$ M의 농도의 배양액으로 1시간씩 처리한 후, MTT assay를 이용하여 신경세포의 생존율을 확인하였으며, 정상 세포와 비교 시 50%의 세포사멸이 유도된 과산화수소 처리 농도를 본 연구에서 사용하였다(Jeong 등 2010; Lee 등 2016).

### 3. 추출물의 신경세포 독성 평가

세포 생존율은 MTT assay를 이용하여 측정하였다. SH-SY5Y 신경세포를 96-well plate에  $1 \times 10^4$  cells/0.1 mL/well로 분주한 후 24시간 동안 배양하였다. 배양된 SH-SY5Y 신경세포에 오미자 추출물과 칠해목 추출물의 세포 독성을 알아보기 위해 각각 농도에 따라 24시간에 따라 각각 처리하였으며, MTT(0.25 mg/mL)를 첨가하여 4시간 동안 추가 배양한 후, 37°C에서 반응시켰다. 이 후, 배양액을 제거하고, 100  $\mu$ L의 DMSO로 formazan을 용해시키며, 발색정도는 microplate reader (TECAN, Austria)를 사용하여 550 nm에서 측정하였다. 측정된 formazan 생성 정도는 정상 세포에서의 측정값과 비교하여 백분율(%)로 표시하였다(Han 등 2015).

### 4. 추출혼합물의 신경세포 보호 효과 평가

오미자 추출물과 칠해목 추출물의 최적의 보호효과를 보이는 혼합 비율을 결정하기 위해 96-well plate에 SH-SY5Y 신경세포를  $1 \times 10^4$  cells/0.1 mL/well로 분주하였으며, 에탄올 추출 농도와 추출물 농도에 따라서 각각 처리하였으며, 24시간 배양한 후, 100  $\mu$ M 과산화수소 처리하였다. 오미자 · 칠해목

추출혼합물의 신경세포 보호활성은 MTT assay를 이용하여 측정된 후 백분율(%)로 표시하였다(Park 등 2016).

### 5. 세포사멸사 단백질 분석

오미자·칠해목 추출혼합물이 SH-SY5Y 신경세포의 세포 사멸에 미치는 영향 분석은 flow cytometry(FACS Calbur, BD Biosciences, USA)를 이용하여 확인하였다. SH-SY5Y 신경세포에 오미자 추출물과 칠해목 추출물을 처리한 후, 과산화수소를 처리한 다음, 24시간 후에 trypsin-EDTA(0.05%/mL)로 처리하며, DMEM 배지로 교환한 다음, 포집하여 원심분리하고 PBS로 두 번 세척하였다. 세척된 SH-SY5Y 신경세포에 PBS 300 µL를 넣고, FITC Annexin V와 Propidium iodide buffer (BD Biosciences, USA)를 5 µL를 첨가하여 20분간 반응시킨 후 1×10<sup>4</sup> 세포를 flow cytometry를 이용하여, 세포 사멸을 분석하였다. 얻어진 세포 사멸의 정보의 분석은 FACS Diva software(BD Biosciences, USA)를 이용하여 분석하였다(Woo 등 2014).

### 6. 통계처리

모든 실험은 3회 이상 반복 실시하여 SPSS 20.K를 이용하여 one way analysis of variance(ANOVA: Tukey's HSD(honest significant difference))를 시행하였으며, 유의적인 차이를  $p < 0.05$  수준에서 검증하였다.

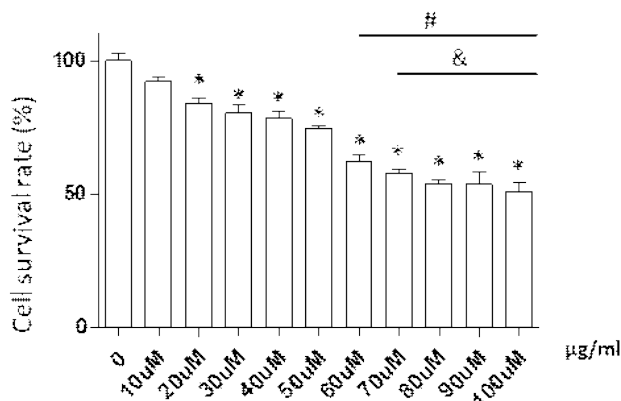
## 결과 및 고찰

### 1. 과산화수소(H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) 처리에 따른 세포사

연구에 사용될 과산화수소의 처리 농도를 결정하기 위해 과산화수소를 10~100 µM의 농도를 배양액에 첨가하여 SH-SY5Y 신경세포에 24시간 처리하였다. 이후, 세포의 생존율은 MTT-assay로 측정하였으며, 세포 생존율은 정상 세포군과 비교하여 백분율(%)로 표시하였다. 그 결과, Fig. 1에서 보는 바와 같이 과산화수소를 SH-SY5Y 신경세포에 100 µM의 농도로 처리하였을 때, 정상군과 비교 시 세포 생존율에서 50%의 유의적인 감소를 확인할 수 있었다. 과산화수소 처리에 따른 세포사멸은 세포의 종과 종류에 따라서 농도 차이가 나타나는 것으로 알려져 있으며(Oh 등 2006; Choi 등 2014; Kim 등 2015), 이에 본 연구에서는 SH-SY5Y 신경세포에 처리되는 과산화수소의 농도는 100 µM을 사용하였다.

### 2. 오미자 추출물과 칠해목 추출물의 신경세포 보호

SH-SY5Y 신경세포에서 가장 효과적인 보호효과를 보이는 오미자 추출물(*Schisandra chinensis*: SC)과 칠해목 추출물(*Ribes fasciculatum*: RF)의 에탄올 비율과 추출물의 농도를 확



**Fig. 1. Cell survival rate of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> concentrations in SH-SY5Y cells.** Cells were treated with various concentrations (10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, and 100 µM) of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> and cell viability were measured by MTT assay. The data shown are means±SE. \*:  $p < 0.05$  vs. 0, #:  $p < 0.05$  vs. 40 µM, &:  $p < 0.05$  vs. 50 µM.

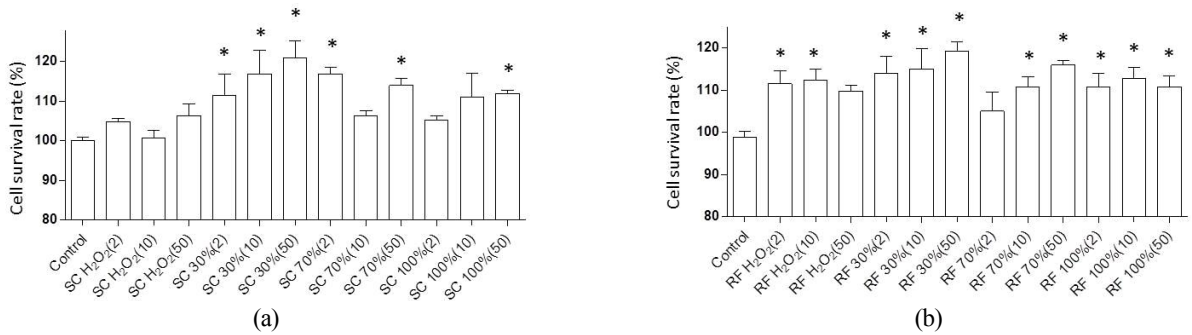
인하고자 하였다. 이에 각각의 추출물은 0% 30%, 70% 그리고 100% 에탄올을 이용하여 추출하였으며, 추출된 각각의 추출물들은 2, 10, 50 µg/mL의 농도로 SH-SY5Y 신경세포로 처리한 결과는 Fig. 2와 같다. 오미자 추출물(Fig. 2a)과 칠해목 추출물(Fig. 2b) 모두 30% 에탄올 추출물 2, 10 그리고 50 µg/mL의 농도에서 과산화수소 처리군과 비교 시 유의적인 신경세포 보호 효과를 확인할 수 있었으며, 그 중 50 µg/mL의 농도에서 가장 높은 신경세포 보호 효과를 확인할 수 있었다. 이는 Kim 등(2015)의 선행 연구에서 알 수 있듯이 추출물이 가진 다양한 성분으로 인해서 신경보호 효과를 갖는 것으로 사료된다.

### 3. 오미자 추출물과 칠해목 추출물의 처리 농도 결정

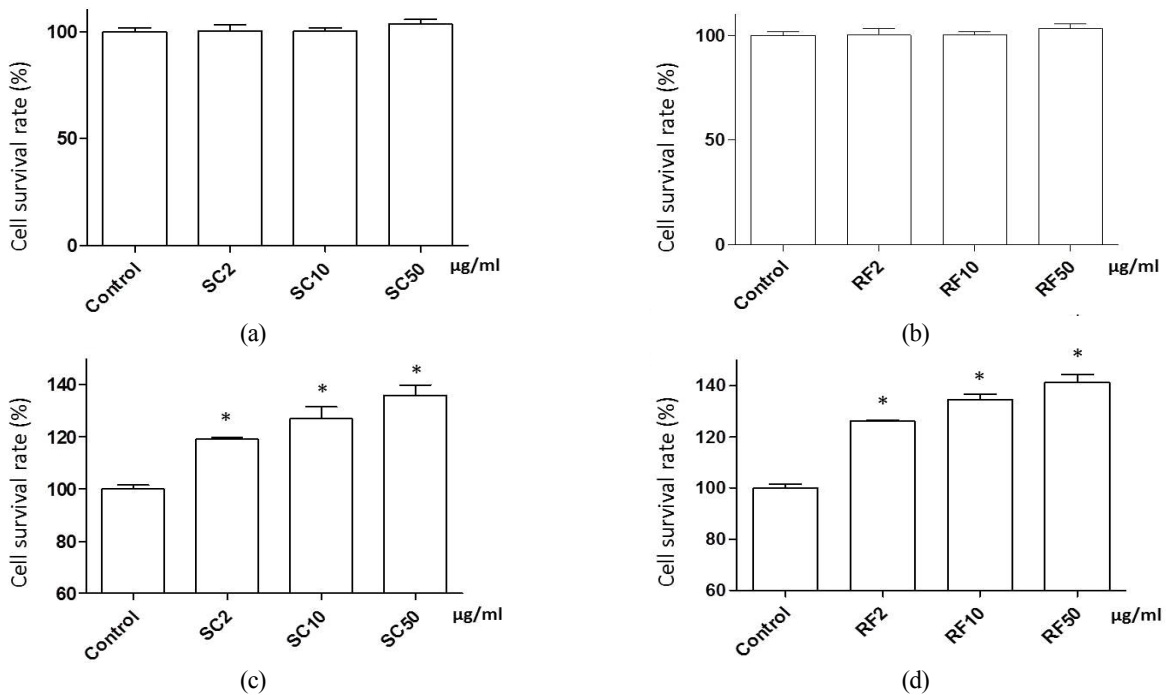
오미자 추출물과 칠해목 추출물의 신경세포 보호효과를 재확인하기 위하여 30% 에탄올 추출물에서 2, 10, 50 µg/mL의 농도로 신경세포에 처리하였다. SH-SY5Y 신경세포에서 정상세포군인 콘트롤과 비교 시, 오미자 추출물과 칠해목 추출물은 각각의 농도에서 세포 독성이 나타나지 않는 것으로 확인할 수 있었다(Fig. 3a, 3b). 과산화수소 처리군과 비교 시, 각각의 추출물들은 농도의 증가에 따라서 세포 생존율이 증가하는 것을 확인할 수 있었다(Fig. 3c, 3d). 또한, 따라서 본 연구에서는 30% 에탄올로 추출된 오미자 추출물과 칠해목 추출물에서 세포 생존율이 가장 높은 50 µg/mL를 추출혼합물의 농도로 결정하였다.

### 4. 오미자·칠해목 추출혼합물의 세포 보호 효과

오미자 추출물과 칠해목 추출물의 복합 처리에 따른 SH-



**Fig. 2.** The effects of different ethanol extracts on cell survival rate. *Schisandra chinensis* (SC) and *Ribes fasciculatum* (RF) were extracted with four different concentrations (0%, 30%, 70%, and 100%) of ethanol and cells were treated with 2, 10, 50  $\mu\text{g}/\text{mL}$  of SC and RF extracts. The protective effects of extracts were measured by MTT assay. The data shown are means  $\pm$  SE. \* Statistical significant difference, compared to control ( $p < 0.05$ ).



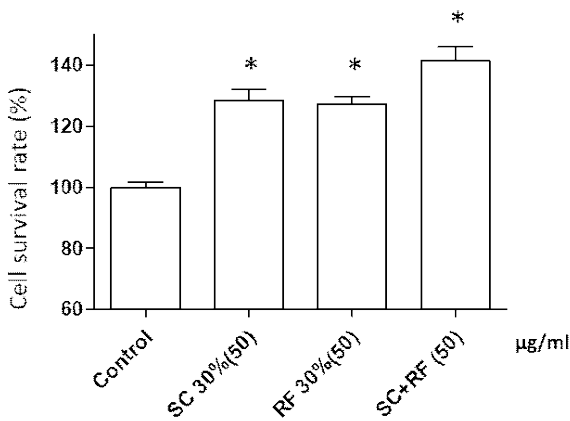
**Fig. 3.** The effects of *Schisandra chinensis* and *Ribes fasciculatum* on cell survival rate and proliferation. SC and RF were extracted with 30% ethanol and cells were treated with ethanol extracts of SC and RF in  $\text{H}_2\text{O}_2$ -induced neuronal cells. *Schisandra chinensis* and *Ribes fasciculatum* extracts did not affect proliferation of neuronal cells. The cells were cultured with SC and RF extracts (2, 10 and 50  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ), and the cell viability were analyzed. \* Statistical significant difference, compared to control ( $p < 0.05$ ).

SY5Y 신경세포 보호효과를 확인한 결과는 Fig. 4와 같다. 오미자와 칠해목 추출물과 오지마·칠해목 추출혼합물을 각각 신경세포에 처리한 후 과산화수소 처리에 따른 신경세포의 사멸을 관찰한 결과, 오미자·칠해목 추출혼합물의 세포 생존율이 오미자 추출물(%)과 칠해목 추출물(%)을 독립적으로 처리하는 것보다 병용으로 처리하였을 때, 세포 생존율에서 15% 높은 것으로 확인되었다. 이는 Byun & Byun(2015) 및

Cha 등(2017)의 연구 결과와 마찬가지로 각각의 추출물들이 가지고 있는 세포 보호효과가 추출혼합물로 사용함으로써 세포 보호효과의 상승효과가 증가하는 것을 확인할 수 있었다.

### 5. 오미자·칠해목 추출혼합물 비율의 결정

SH-SY5Y 신경세포에서 오미자·칠해목 추출혼합물의 세포 보호 효과를 극대화 하기 위하여, 각각의 추출물의 비율을



**Fig. 4.** Comparison of cell survival rate of single or combined *Schisandra chinensis* (SC) and *Ribes fasciculatum* (RF) extracts in SH-SY5Y cells. \* Statistical significant difference, compared to control ( $p < 0.05$ ).

수율로써 6:4, 7:3 그리고 8:2로 혼합하여 실험을 실시하였다 (Fig. 4). 실험에 사용된 각각의 추출혼합물의 농도는 10 그리고 50 µg/mL의 농도를 사용하였으며, 실험에 사용하기 전 신경세포에서 독성을 확인한 결과, 오미자·칠해목 추출혼합물은 세포 독성이 없는 것을 확인할 수 있었다(Fig. 3a). 또한, 오미자·칠해목 추출혼합물의 모든 처리군에서 과산화수소를 처리한 컨트롤군과 비교 시 유의적인 신경세포 보호 효과를 확인할 수 있었으며(Fig. 3b), 오미자와 칠해목의 혼합 비율이 7:3에서 가장 유의적으로 다른 복합처리물 군보다(%) 높은 신경세포 보호활성을 확인할 수 있었다.

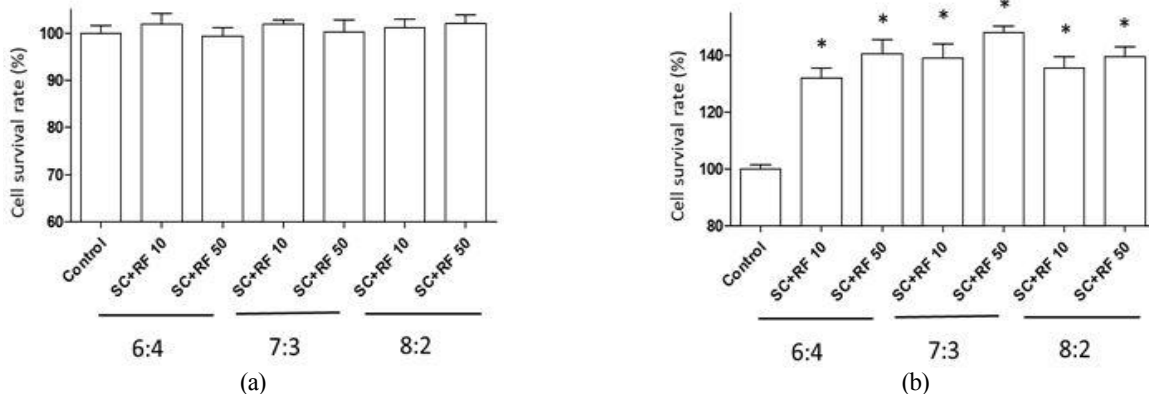
**6. 오미자·칠해목 추출혼합물의 세포사 억제**

Annexin V와 PI는 정상세포의 세포질에 존재하는 PS(Pho-

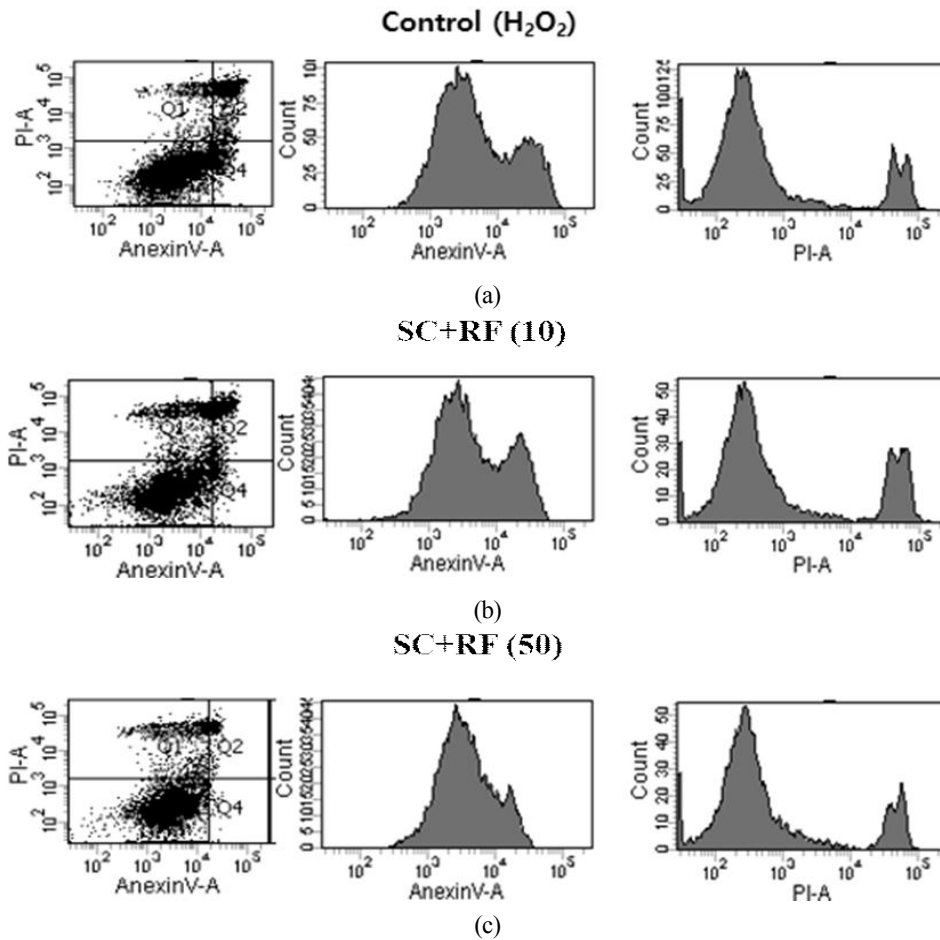
sphatidyl Serine)가 세포사로 인하여, 세포 표면에 노출되게 되면 Annexin V와 결합하게 되며, 이와 반대로 세포막의 손상의 경우 PI 화합물이 세포 안에 유입되어 핵을 염색시킨다. 즉, 본 실험에서는 뇌세포 보호활성 효능 극대화된 30% 에탄올로 추출된 오미자·칠해목 추출혼합물(7:3)을 이용하여 세포사멸 및 세포괴사 억제 실험을 세포자동해석분리장치(FACS)를 이용하여 Annexin V(세포사멸)와 PI(세포괴사) 실험을 진행하였다. Kim 등(2012)은 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>의 처리에 따라서 세포 사멸이 나타나고, 농도에 따른 세포사의 종류가 다르게 나타난다고 발표하였으며, 이에 본 논문에서도 오미자·칠해목 추출혼합물을 10 그리고 50 µg/mL 처리에 따른 세포 사멸의 변화를 확인하고자 하였다. Fig. 6a에서 확인할 수 있듯이, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 100 µM을 SH-SY5Y 신경세포에 처리하였을 때, 선행연구에서 발표한 결과와 같이 Annexin V와 PI의 증가가 나타나는 뇌세포의 사멸 및 괴사가 나타나는 것을 확인할 수 있었다. 하지만 오미자·칠해목 추출혼합물의 경우, 50 µg/mL 농도에서 PI(세포괴사)에서는 변화가 없었지만, Annexin V(세포사멸)의 수치 감소가 나타나 SH-SY5Y 신경세포의 세포사를 억제하는 것을 확인할 수 있었다(Fig. 6c). 따라서 본 연구 결과를 통해서 오미자·칠해목 추출혼합물이 산화적 스트레스에서 신경세포를 보호효과를 확인할 수 있었다.

**요약 및 결론**

국내에서 오래 전부터 오미자와 칠해목은 약용식물로 이용해져 왔다. 오미자의 경우 생리활성 물질인 lignan을 통하여 여러가지 효능들이 연구를 통하여 알려졌으나, 칠해목의 경우 항염증과 관련된 연구가 진행되었을 뿐, 산화 스트레스와 관련된 연구는 미비한 실정이었다. 이에 본 연구에서는 오



**Fig. 5.** Effects of different ratio of combined *Schisandra chinensis* (SC) and *Ribes fasciculatum* (RF) extracts in neuronal cells. Cells were treated with different ratio of 50 µg/mL combined SC and RF extracts (6:4, 7:3 and 8:2). \* Statistical significant difference, compared to control ( $p < 0.05$ ).



**Fig. 6. Inhibitory effects of combined *Schisandra chinensis* (SC) and *Ribes fasciculatum* (RF) extracts on apoptotic neuronal cell death.** Cells were treated with 30% ethanol extract of 10 and 50  $\mu\text{g/mL}$  combined SC and RF (7:3), followed by 100  $\mu\text{M}$  of  $\text{H}_2\text{O}_2$  for 1 h. Annexin V and PI positive cells were identified by an immunophenotypic analysis using a fluorescence-activated cell sorting analysis.

미자·칠해목의 추출혼합물을 이용하여, 과산화수소로 산화 스트레스가 유도된 SH-SY5Y 신경세포에서의 보호 효과를 알아보고자 하였다. 과산화수소의 처리 농도의 경우, 신경세포 독성 실험을 통하여 100  $\mu\text{M}$ 의 농도를 본 연구에 사용하였다. 또한, 오미자와 칠해목 추출물은 SH-SY5Y 신경세포에서 세포 독성이 없음을 실험을 통해 확인하였으며, 과산화수소를 이용한 신경세포 보호효과를 확인한 결과, 30% 에탄올 추출물 50  $\mu\text{g/mL}$ 의 농도에서 각각의 추출물에서 가장 높은 보호 효과를 확인할 수 있었다. 이에 오미자·칠해목 추출혼합물의 최적 효능 비율을 알아보기 위해서 각각의 추출물을 다양한 수율로써 6:4, 7:3, 8:2의 비율로 신경세포 보호 활성을 확인한 결과, 오미자와 칠해목 7:3의 비율과 50  $\mu\text{g/mL}$ 의 농도에서 가장 높은 신경세포 보호효과가 나왔으며, 이에 본 연구에서 오미자·칠해목 추출혼합물의 최적의 비율과 처리 농도로 사용하였다. Annexin V와 PI를 이용한 SH-SY5Y 신경

세포의 세포사멸을 확인해 본 결과에서도 오미자·칠해목 추출혼합물은 SH-SY5Y 신경세포의 세포사멸을 억제시키는 것을 확인할 수 있었다. 이에 본 연구에서는 오미자·칠해목 추출혼합물이 과산화수소로 유도된 산화적 스트레스에서 SH-SY5Y 신경세포에서 보호 효과가 있다는 것을 확인할 수 있었지만, 그에 대한 메커니즘에 대한 연구는 미비한 실정이다. 이에 차후 연구에서는 오미자·칠해목 추출혼합물의 산화 스트레스에 대한 정확한 기전을 파악하기 위하여 *In vitro*와 *In-vivo*에서의 후속적 연구가 필요하다고 사료된다.

## 감사의 글

이 논문은 농림축산식품부의 재원으로 농림식품기술기획평가원의 고부가가치식품기술개발사업의 지원을 받아 연구되었음(317042-03-2-CG000).

## References

- Baral S, Pariyar R, Yoon CS, Yun JM, Jang SO, Kim SY, Oh H, Kim YC, Seo J. 2015. Effects of *Schisandra fructus* 70% ethanol extract on proliferation and differentiation of human embryonic neural stem cells. *Korean J Pharmacogn* 46:52-58
- Bidchol AM, Wilfred A, Abhijna P, Harish R. 2011. Free radical scavenging activity of aqueous and ethanolic extract of *Brassica oleracea* L. var. *italica*. *FoodBioprocess Technol* 4: 1137-1143
- Byun MW, Byun EH. 2015. Immunological synergistic effects of combined treatment with herbal preparation (HemoHIM) and red ginseng extracts. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 44: 182-190
- Cha JY, Yoo HR, Kim YS, Seol IC, Jo HK. 2017. Inhibition of gene associated with dyslipidemia and antioxidative effect of *Artemisia iwayomogi*, *Curcumae Radix* and Raphani Semen (ACR) on HepG2 cell model. *J Korean Med* 38:43-58
- Choi JR, Choi JM, Lee S, Cho KM, Cho EJ, Kim HY. 2014. The protective effects of protocatechuic acid from *Momordica charantia* against oxidative stress in neuronal cells. *Korean J Pharmacogn* 45:11-16
- Comporti M. 2012. Free radicals, oxidative stress, and antioxidants. *J Siena Acad Sci* 2:13-26
- Giridharan VV, Thandavarayan RA, Sato S, Ko KM, Konishi T. 2011. Prevention of scopolamine-induced memory deficits by schisandrin B, an antioxidant lignan from *Schisandra chinensis* in mice. *Free Radic Res* 45:950-958
- Han KH, Kim DH, Song KY, Lee SW, Han SH. 2015. The effects of methanol extract from cheonggukjang in T98G cells and early stage of focal ischemia rodent models. *Korean J Food Nutr* 28:965-972
- Han KH, Lee SH, Park KS, Song KY, Kim JH, Park EK, Han SH. 2017. Protective effect of PineXol® against amyloid- $\beta$ -induced cell death. *Korean J Food Nutr* 30:1279-1285
- Heo HJ, Kim DO, Choi SJ, Shin DH, Lee CY. 2004. Potent inhibitory effect of flavonoids in *Scutellaria baicalensis* on amyloid  $\beta$  protein-induced neurotoxicity. *J Agric Food Chem* 52:4128-4132
- Jeong CH, Kwak JH, Kim JH, Choi GN, Jeong HR, Heo HJ. 2010. Neuronal cell protective effects of methanol extract from Cheonggukjang using *in vitro* system. *Korean J Food Sci Technol* 42:768-772
- Jung JW, Kim SJ, Ahn EM, Oh SR, Lee HJ, Jeong JA, Lee JY. 2014. *Ribes fasciculatum* var. *Chinense* attenuated allergic inflammation *in vivo* and *in vitro*. *Biomol Ther* 22:547-552
- Kim Hk, Na GM, Ye SH, Han HS. 2004. Extraction characteristics and antioxidative activity of *Schizandra chinensis* extracts. *J Korean Soc Food Cult* 19:484-490
- Kim HS, Moon HK, Lee YJ, Lee CY, Hwang KH, Kim OH, Yoo IS, Jung K. 2015. Comparison of the content of shizandrin, gomisin A and gomisin N in schisandra fruit by water extraction condition. *J Food Hyg Saf* 30:59-64
- Kim JH, Jeong CH, Choi GN, Kwak JH, Choi SG, Heo HJ. 2009. Antioxidant and neuronal cell protective effects of methanol extract from *Schizandra chinensis* using an *in vitro* system. *Korean J Food Sci Technol* 41:712-716
- Kim K, Hahn B, Choe W. 2012. H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> induced two type of cell death in human hepatoma cell, Huh7. *Cancer Prev Res* 17:15-18
- Kim SY, Kim MJ, Ahn KJ, An IS, An SK. 2015. Antioxidant effects of kinetin on HaCaT human keratinocytes damaged by hydrogen peroxide (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>). *Korean J Aesthet Cosmetol* 13:59-64
- Lee KS, Lee EK, Seo YH, Choe SY. 2016 Effects of the mixture of fenugreek seeds and *Lespedeza cuneata* extracts on testosterone synthesis in TM3 cells oxidative stressed with H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. *J Appl Biol Chem* 59:305-311
- Lee MS, Chao J, Yen JC, Lin LW, Tsai FS, Hsieh MT, Peng WH, Cheng HY. 2012. Schizandrin protects primary rat cortical cell cultures from glutamate-induced apoptosis by inhibiting activation of the MAPK family and the mitochondria dependent pathway. *Molecules* 18:354-372
- Lenaz G, 1998. Role of mitochondria in oxidative stress and aging. *Biochim Biophys Acta* 1366:53-67
- Oh DH, Koh SH, Chung B, Park KH, Kim HY, Song CW, Kim YC, Kim JH, Kim MH, Kim SH. 2006. Cytoprotective effect of 15-deoxy-delta (12,14) prostaglandin J2 (15d-PGJ2) against H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> induced death of neuronally-differentiated PC12 cells. *J Korean Neurol Assoc* 24:58-65
- Papa S, Skulachev VP. 1997. Reactive oxygen species, mitochondria, apoptosis and aging. pp.305-319. Springer
- Park SH, Park SK, Ha JS, Lee DS, Kang JY, Kim JM, Lee UK, Heo HJ. 2016. Effect of gomchwi (*Ligularia fischeri*) extract against high glucose- and H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-induced oxidative stress in PC12 cells. *Korean J Food Sci Technol* 48:508-514
- Piao XL, Kim HY, Yokozawa T, Lee YA, Piao XS, Cho EJ.

2005. Protective effects of broccoli (*Brassica oleracea*) and its active components against radical-induced oxidative damage. *J Nutr Sci Vitaminol* 51:142-147
- Wang CP, Li GC, Shi YW, Zhang XC, Li JL, Wang ZW, Ding F, Liang XM. 2014. Neuroprotective effect of schizandrin A on oxygen and glucose deprivation/reperfusion-induced cell injury in primary culture of rat cortical neurons. *J Physiol Biochem* 70:735-747
- Woo C, You JY, Jang CY, Kim HR, Shin YJ, Moon AJ, Shin SH. 2014. Protective effects of sosokmyoung-tang against Parkinson's model in human neuroblastoma SH-SY5Y cells. *J Int Korean Med* 35:298-308
- Xu X, Zhou X, Zhou XW, Zhang Z, Liao MJ, Gao Q, Luo HM. 2012. Schizandrin prevents dexamethasone-induced cognitive deficits. *Neurosci Bull* 28:532-540
- Zeng KW, Zhang T, Fu H, Liu GX, Wang XM. 2012. Schisandrin B exerts anti-neuroinflammatory activity by inhibiting the toll-like receptor 4-dependent MyD88/IKK/NF- $\kappa$ B signaling pathway in lipopolysaccharide-induced microglia. *Eur J Pharmacol* 692:29-37

---

Received 26 October, 2018  
Revised 20 November, 2018  
Accepted 04 December, 2018