

## 매염제인 ZnSO<sub>4</sub>의 피부독성에 대한 멥석딸기 추출물의 항산화 및 미백효과

손영우<sup>1</sup>, 유선미<sup>2\*</sup>

<sup>1</sup>원광대학교 의과대학 산본병원 교수, <sup>2</sup>원광보건대학교 미용피부화장품과 강사

### Antioxidative and Whitening Effects of Rubus parvifolius L. Extract on Dermal Cytotoxicity of ZnSO<sub>4</sub>, Mordant

Young-Woo Sohn<sup>1</sup>, Sun-Mi Yoo<sup>2\*</sup>

<sup>1</sup>Professor, Division of Medicine School, Sanbon Hospital, Wonkwang University

<sup>2</sup>Lecturer, Division of Beauty&Cosmetics, Wonkwang Health Science University

**요약** 본 연구는 매염제인 황산아연(ZnSO<sub>4</sub>)의 피부독성을 배양 피부세포주인 SK-MEL-3 세포를 재료로 산화적 손상 측면에서의 조사와 함께 ZnSO<sub>4</sub>의 독성에 대한 멥석딸기(RP)의 영향을 항산화와 미백효과 측면에서 알아보았다. 본 실험을 위하여, 세포생존율, DPPH-라디칼 소거능 및 melanin합성 저해능을 분석하였다. 본 연구에서 ZnSO<sub>4</sub>는 농도 의존적으로 세포생존율을 유의하게 감소시켰으며, XTT50값이 173.3 uM로 중간 독성으로 나타났다. 또한, 항산화제의 일종인 ascorbic acid는 ZnSO<sub>4</sub>에 의하여 손상된 세포생존율을 유의하게 증가시켰다. 한편, ZnSO<sub>4</sub>의 독성에 대한 RP 추출물의 영향에서, RP 추출물 처리는 유의한 세포생존율의 증가와 함께 DPPH-라디칼 소거능과 melanin합성 저해능을 통하여 항산화와 미백효과를 나타냈다. 결론적으로, RP 추출물과 같은 천연성분은 향후 항산화제와 미백제로서의 대체물질 개발에 있어 활용적 가치가 클 것으로 생각된다.

**주제어** : 황산아연(ZnSO<sub>4</sub>), 멥석딸기, 세포생존율, 항산화효과, 미백효과

**Abstract** This study was done to evaluate the dermatotoxicity of zinc sulfate (ZnSO<sub>4</sub>) and the protective effect of Rubus parvifolius L. (RP) extract on cytotoxicity of ZnSO<sub>4</sub>, mordant in cultured SK-MEL-3 cells. For this study, it was done an antioxidative effect as DPPH-radical scavenging ability as well as the diminutive ability of total melanin with cell viability. ZnSO<sub>4</sub> significantly decreased cell viability in dose-dependently, and it was mid-toxic. The ascorbic acid significantly increased cell viability damaged by ZnSO<sub>4</sub>-induced cytotoxicity. In the protective effect of RP extract on ZnSO<sub>4</sub>-induced cytotoxicity, RP extract significantly increased cell viability compared with ZnSO<sub>4</sub>-treated group, and also it showed both the DPPH-radical scavenging ability and the decrease of total amount of melanin. From these findings, the cytotoxicity of ZnSO<sub>4</sub> is correlated with oxidative stress, and also RP extract effectively protected ZnSO<sub>4</sub>-induced cytotoxicity via antioxidative effect such as DPPH-radical scavenging ability with the whitening effect by the decrement of total amount of melanin. Conclusively, the natural ingredients like RP extract may be a useful agent for the improvement of antioxidative and whitening effects

**Key words** : Zinc sulfate, Rubus parvifolius L., Cell viability, Antioxidative effect, Whitening effect

\*This paper was supported by Wonkwang University in 2020

\*Corresponding Author : Sun-Mi Yoo(hbdoobae@naver.com)

Received March 17, 2021

Accepted May 20, 2021

Revised April 15, 2021

Published May 28, 2021

## 1. 서론

아연을 비롯한 납, 크롬과 같은 중금속의 화합물 중 황산아연( $ZnSO_4$ )은 발광성 페인트를 비롯한 항균 농약, 동물사료 첨가제 등의 원료뿐만 아니라, 특히 매염제(mordant)로 사용되기 때문에 인체의 건강과도 밀접하게 연관되어 있다[1]. 중금속 매염제로 염색된 의복이나 직물 공예품들은 직접 피부와 접촉되기 때문에 피부염(dermatitis)은 물론, 색소침착 (pigmentation) )이나 홍반(erythema)과 같은 피부병변의 직접적인 요인으로 작용하고 있어 인체의 건강 보건을 크게 위협하고 있다[2]. 최근, 카드뮴이나 니켈, 수은과 같은 몇몇 중금속 화합물들은 이의 붕괴과정에서 자유라디칼을 생성함으로써 이들 독성이 산화적 손상과 연관이 있다고 제시된 바 있다[3]. 따라서, 이들에 의한 질환적 치료의 접근을 항산화 측면에서 연구하려는 시도가 이루어지고 있다.

각종 식물에는 항산화를 비롯한 항염, 항균 등에 유효한 생리활성 성분이 다량 함유되어 있다고 알려지면서, 이들을 이용한 병변 치료에 많은 관심이 집중되고 있다[4]. 알려진 이들 성분으로는 이소프레노이드(isoprenoid)를 비롯한 페놀화합물(Phenolic compound)이나 단백질, 배당체와 같은 다양한 물질들이 있다. 식물 중 명석딸기(*Rubus parvifolius* L., RP)는 장미과(Rosaceae)에 속하는 낙엽활엽관목으로 생약명으로는 호전표라고 부르며 우리나라 전국의 산과 들에 자생하고 있다. 꽃은 5~6월에 붉거나 자색으로 피는데 열매는 7~8월에 둥글고 붉은색으로 맺으며, 여름에 전초를 채취한 후 햇볕에 말려 사용한다[5]. RP에는 과당을 비롯한 구연산, 아스코르빈산(ascorbic acid), 탄닌(tannin) 및 플라보노이드(flavonoid) 및 배당체들이 다량 함유되어 있으며[6], 특히, ascorbic acid는 vitamin E와 같이 강력한 항산화제의 일종으로, 이는 콜라겐 합성 시 필수적인 성분으로 작용한다고 알려져 있다. 또한, 페놀화합물의 일종인 tannin이나 flavonoid 성분들은 타 물질과의 친화력이 매우 높아 항산화능이 뛰어난 물질로 알려져 있다[7]. RP에 대한 연구로는, flavonoid 성분에 대한 연구나, RP종(Species)에 대한 연구가 대부분이고[5], 이외에도 항균에 대한 소수의 연구도 있으나[8], 항산화 및 미백에 대한 연구는 찾아보기 어렵다.

본 연구는 매염제의 일종인  $ZnSO_4$ 의 피부독성을 배

양 피부흑색종세포주(SK-MEL-3)를 재료로 산화적 손상 측면에서 조사하였으며, 이와 동시에,  $ZnSO_4$ 의 독성에 대한 명석딸기(RP) 추출물의 영향을 항산화 및 미백측면에서 조사함으로써 산화적 손상과 관련된 금속 매염제와 같은 중금속 화합물의 독성경감 및 멜라닌화를 방어 내지는 치료할 수 있는 물질을 천연소재로부터 알아보고자 하였다.

## 2. 재료 및 방법

### 2.1 시약

본 실험에 사용한 시약으로  $ZnSO_4$ , ascorbic acid (ASC), 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH), dimethylsulfoxide (DMSO) 및 2,3-bis-[2-methoxy-4-nitro-5-sulphophenyl]-2H-tetrazolium-5-carboxanilide, disodium salt (XTT)는 Sigma사(St Louis, MO, USA)에서 구입하였다.

### 2.2 명석딸기(RP) 채취 및 추출

전북 야산에서 7~8월에 채취한 전초를 깨끗이 씻어 햇볕에서 말린 다음 시료로 보관 사용하였다. 추출을 위해 시료 75.2 g과 증류수 약 280 mL를 함께 추출용 등근 유리용기에 넣어 3시간 동안 가열하였다. 위 과정을 3회 반복하여 얻은 액을 원심분리기로 30분간 3,000 rpm으로 침전한 다음 감압농축 후 수율이 4.3% 인 3.2 g의 시료를 얻었다.

### 2.3 세포 배양 및 세포생존율(cellviability) 분석

SK-MEL-3 세포주(ATCC, HTB 69)의 배양은  $1 \times 10^5$  cells/well의 밀도로 96-well에 분주한 세포는 36°C, 5%  $CO_2$ 로 조절된 항온기에서 72시간 동안 배양 후 약제를 농도별로 처리한 다음 세포생존율을 측정하였다. 세포생존율 분석은 각 well당 10 uL의 XTT (50 ug/mL)를 첨가한 후 항온기에서 4시간 동안 정치하였으며, 정치완료 후 DMSO로 처리하여 ELISA reader (Spectra max 250, Molecular Devices, Sunnyvale, USA), 450 nm에서 흡광도를 측정하였다.

### 2.4 $ZnSO_4$ 의 처리 및 Ascorbic acid(AA)의 영향

배양 SK-MEL-3 세포에  $ZnSO_4$ 가 140~180 uM의 농도로 각각 포함된 배양액에서 48시간 동안 처리한

후 세포생존율에 의한 XTT<sub>50</sub>값을 측정하였다. 또한, AA가 ZnSO<sub>4</sub>에 미치는 영향 조사를 위해 배양 세포에 XTT<sub>50</sub> 농도의 ZnSO<sub>4</sub>를 처리하기 전에 AA, 25 uM과 35 uM 각각을 2시간 동안 처리하여 세포생존율을 조사하였다.

2.5 ZnSO<sub>4</sub>에 대한 RP 추출물의 영향

ZnSO<sub>4</sub>에 대한 RP 추출물의 영향조사는, 배양 세포에 XTT<sub>50</sub> 농도의 ZnSO<sub>4</sub>를 처리하기 전에, 120 ug/mL와 150 ug/mL의 RP 추출물을 각각 2시간 동안 처리한 후 세포생존율을 조사하였다.

2.6 RP 추출물의 성분함량 분석

폴리페놀(polyphenol)분석은 A.O.A.C.[9]에 의한 방법에 준해, 추출시료 0.2 mL, phenol reagent 0.2 mL를 함께 3분간 반응시킨 다음 0.4 mL sodium carbonate로 1시간 처리한 후 ELISA reader, 725 nm에서 흡광도를 측정하였다. Tannic acid를 표준시약으로 하여 검량곡선을 작성하였다. Flavonoid 측정에는[10] 시료용액 0.1 mL, 10% aluminum nitrate, 1 M potassium acetate 혼합물 0.2 mL, 에탄올 4.7 mL를 첨가하여 25℃로 40분 처리 후 ELISA reader로 415 nm에서 흡광도를 측정하였다. Rutin을 표준시약으로 하여 검량곡선을 작성하였다.

2.7 DPPH-라디칼 소거활성 측정

DPPH-라디칼 소거능 측정은 Blois[11]의 방법에 따라, 메탄올시료에 0.3 mM DPPH 메탄올용액 100 uL를 첨가하여 실온에서 30분 동안 처리하였다. 처리 후 ELISA reader로 517 nm에서 흡광도를 측정하였다. 라디칼 소거활성은 대조군에 대한 백분율로 표시하였으며, 또한 라디칼 소거능은 AA를 양성대조군으로 하여, DPPH-라디칼 소거능(%)=1-[(시료첨가군의 흡광도/무첨가군의 흡광도) x 100]으로 나타냈다.

2.8 멜라닌합성량 측정

멜라닌합성량 측정에는[12] PBS로 3회 세척한 배양 세포를 원심분리기로 1,500 rpm에서 침전시켰다. 침전물에 DMSO가 첨가된 1 N NaOH를 200 uL 첨가한 다음 80℃에서 1시간 동안 반응시켰다. 반응 완료 후

ELISA reader로 405 nm에서 흡광도를 측정하였으며, 멜라닌합성량은 대조군에 대한 백분율로 표시하였고, 합성저해능은 ZnSO<sub>4</sub>를 양성대조군으로 하여 비교조사하였다.

2.9 통계 처리

모든 실험값은 SPSS/WIN (18.0)을 이용하여 Mean±SD로 나타냈으며, 각 군의 비교는 one way ANOVA를 시행 후 Tukey HSD으로 사후 분석을 하였다. 유의수준은 P<0.05에서 채택하였다.

3. 결과

3.1 ZnSO<sub>4</sub>의 세포독성 측정

ZnSO<sub>4</sub>의 독성을 알아보기 위하여 배양 SK-MEL-3 세포에 ZnSO<sub>4</sub>, 140~180 uM 각각 농도를 48시간 동안 처리한 결과, 농도 의존적으로 세포생존율의 유의한 감소를 보임으로써 독성을 나타냈다(P<0.001). ZnSO<sub>4</sub>, 140 uM, 160 uM, 180 uM에서 세포생존율은 대조군에 비해 각각 63.6%, 54.5%, 45.5%로 나타났으며, XTT<sub>50</sub> 값은 173.3 uM의 처리에서 나타났다. ZnSO<sub>4</sub>의 세포독성에 대한 사후분석 결과 180 uM, 160 uM, 140 uM, 대조군의 순으로 세포독성이 높은 것으로 나타났으며 Table 1과 같다.

Table 1. The cytotoxicity of zinc sulfate (ZnSO<sub>4</sub>) by XTT assay

Concentrations of ZnSO <sub>4</sub> (uM)	XTT assay (450 nm)	F	P	Tukey HSD
	Mean±SD			
Control <sup>a</sup>	0.33±0.02	133.66	<.001	a)b)c)d
140 <sup>b</sup>	0.21±0.02			
160 <sup>c</sup>	0.18±0.02			
180 <sup>d</sup>	0.15±0.01			

The data indicate the mean±SD for triplicate experiments. Abbreviation: ZnSO<sub>4</sub>, Zinc sulfate.

3.2 ZnSO<sub>4</sub>의 독성에 대한 AA의 영향

ZnSO<sub>4</sub>의 세포독성에 대한 항산화제인 AA의 영향을 알아보기 위하여 ZnSO<sub>4</sub>, XTT<sub>50</sub> 농도를 배양 세포에 처리 전에, AA, 25 uM과 35 uM을 각각 2시간 동안 처리하였다. 그 결과, ZnSO<sub>4</sub>만의 처리에서는 세포생존율이 대조군에 비하여 41.0%(0.16±0.01)로 나타났으며, 25

uM과 35 uM AA 처리에서는 각각 64.1%(0.25±0.02)와 76.9%(0.30±0.02)로 나타났다( $P<0.001$ ). ZnSO<sub>4</sub>의 세포독성에 대한 AA 영향의 사후 분석 결과 대조군, 35 uM AA와 25 uM AA, ZnSO<sub>4</sub> (XTT<sub>50</sub>) 순으로 세포생존율이 높은 것을 알 수 있었으며 Table 2와 같다.

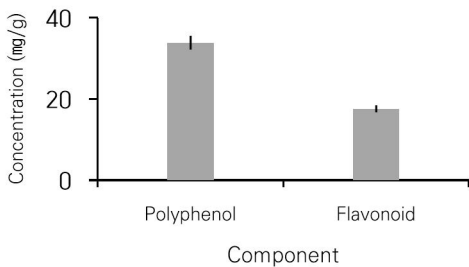
**Table 2. The effect of ascorbic acid (AA) on the cytotoxicity induced by zinc sulfate (ZnSO<sub>4</sub>) in cultured SK-MEL-3 cells**

Concentrations of AA (μM)	XTT assay (450 nm)	F	P	Tukey HSD
	Mean±SD			
Control <sup>a</sup>	0.39±0.02	257.71	<.001	a>d>c>b
ZnSO <sub>4</sub> (XTT <sub>50</sub> ) <sup>b</sup>	0.16±0.02			
25 <sup>c</sup>	0.25±0.02			
35 <sup>d</sup>	0.30±0.02			

The data indicate the mean±SD for triplicate experiments. Abbreviation: AA, Ascorbic acid; ZnSO<sub>4</sub>, Zinc sulfate.

**3.3 RP 추출물의 성분함량 분석**

RP 추출물성분 중 polyphenol의 함량은 33.9 mg/g으로, flavonoid 함량은 17.6 mg/g으로 각각 나타났으며 Fig. 1과 같다.



**Fig. 1. The component of Rubus parvifolius L. (RP) extract. Data are mean±SD. The data indicate the mean±SD for triplicate experiments.**

**3.4 ZnSO<sub>4</sub>의 세포독성에 대한 RP 추출물의 영향**

ZnSO<sub>4</sub>의 세포독성에 대한 RP 추출물의 영향조사에서, ZnSO<sub>4</sub>, XTT<sub>50</sub> 농도를 배양 세포에 처리하기 전, 120 ug/mL와 150 ug/mL의 추출물을 각각 처리한 결과, ZnSO<sub>4</sub>만의 처리에서는 세포생존율이 대조군에 비하여 40.4%(0.21±0.01)로 나타났으며, 120 ug/mL, 150 ug/mL 추출물 처리에서는 각각 57.7%(0.30±0.03)와 76.9%(0.40±0.02)로 나타나

는 ZnSO<sub>4</sub>만의 처리에 비하여 모두 유의한 증가를 보였다( $P<0.001$ ). ZnSO<sub>4</sub>의 세포독성에 RP 추출물이 미치는 영향에 대한 사후분석 결과 대조군, 150 ug/mL RP 추출물, 120 ug/mL RP 추출물, ZnSO<sub>4</sub> 순으로 세포생존율이 높게 나타났으며 Table 3과 같다.

**Table 3. The effect of Rubus parvifolius L. (RP) extract on cultured SK-MEL-3 cells damaged by zinc sulfate (ZnSO<sub>4</sub>) measured at a wavelength of 450 nm**

Concentrations of RP extract (ug/mL)	XTT assay (450 nm)	F	P	Tukey HSD
	Mean±SD			
Control <sup>a</sup>	0.52±0.02	43.17	<.001	b<c, a<d
ZnSO <sub>4</sub> (XTT <sub>50</sub> ) <sup>b</sup>	0.21±0.01			
120 <sup>c</sup>	0.30±0.04			
150 <sup>d</sup>	0.40±0.01			

The data indicate the mean±SD for triplicate experiments. Abbreviation: RP, *Rubus parvifolius* L.; ZnSO<sub>4</sub>, Zinc sulfate.

**3.5 DPPH-라디칼 소거활성 측정**

DPPH-라디칼 소거활성 측정을 위하여 120 ug/mL와 150 ug/mL 농도의 RP 추출물 시료를 처리한 결과 120 ug/mL와 150 ug/mL 농도처리에서는 소거활성이 대조군에 비하여 각각 88.6%와 85.7%로 나타났다. 따라서, 120 ug/mL와 150 ug/mL 농도에서 소거능은 각각 11.4%와 14.3%로 이는 모두 대조군보다 유의한 소거능의 증가를 나타냈다. 특히, 150 ug/mL 농도에서는 양성대조군인 AA의 소거능인 74.3%의 거의 20%인 것으로 나타났다 ( $P<0.001$ ). DPPH-라디칼 소거능의 사후분석 결과 AA, 150 ug/mL RP 추출물과 120 ug/mL RP 추출물, 대조군 순으로 소거능이 높은 것으로 나타났으며 Table 4와 같다.

**Table 4. The DPPH-radical scavenging activity of Rubus parvifolius L. (RP) extract determined at a wavelength of 517nm**

Concentrations of RP extract (ug/mL)	DPPH-radical scavenging activity (517 nm)	F	P	Tukey HSD
	Mean±SD			
Control <sup>a</sup>	0.35±0.03	167.70	<.001	a<c,d<b
35 uM AA <sup>b</sup>	0.09±0.01			
120 <sup>c</sup>	0.31±0.04			
150	0.30±0.02			

The data indicate the mean±SD for triplicate experiments. Abbreviation: RP, *Rubus parvifolius* L.; AA, Ascorbic acid; DPPH, 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl.

### 3.6 Melanin합성량 측정

RP 추출물에 대한 melanin합성 측정을 위하여 120 ug/mL와 150 ug/mL의 추출물 시료를 각각 분석한 결과 ZnSO<sub>4</sub>만의 처리에서는 멜라닌합성량이 122.6%로, 120 ug/mL와 150 ug/mL 추출물의 처리에서는 각각 106.5%와 80.6%로 나타났다. 따라서, 합성저해능은 ZnSO<sub>4</sub>만의 처리에 비하여 120 ug/mL와 150 ug/mL 추출물처리에서 각각 16.1 %와 42.0%로 나타나 이는 모두 높은 합성저해능을 나타냈다( $P < 0.001$ ). RP 추출물에 대한 melanin합성 저해능의 사후분석 결과 저해능은, 150 ug/mL RP 추출물, 120 ug/mL RP 추출물, 대조군, ZnSO<sub>4</sub> 순으로 높았으며 Table 5와 같다.

**Table 5. The melanin synthesis of *Rubus parvifolius* L. (RP) extract on cultured SK-MEL-3 cells damaged by Zinc sulfate (ZnSO<sub>4</sub>) measured at a wavelength of 405nm**

Concentrations of RP extract (ug/mL)	Melanin (405 nm)	F	P	Tukey HSD
	Mean±SD			
Control <sup>a</sup>	0.31±0.02	43.17	<.001	b(c,a<d
ZnSO <sub>4</sub> (XTT <sub>50</sub> ) <sup>b</sup>	0.38±0.01			
120 <sup>c</sup>	0.33±0.04			
150 <sup>d</sup>	0.25±0.01			

The data indicate the mean±SD for triplicate experiments  
Abbreviation: RP, *Rubus parvifolius* L.; ZnSO<sub>4</sub>, Zinc sulfate.

## 4. 고찰

중금속화합물은 매염제를 비롯한 염모제, 또는 방부제 등 여러 생활 부문에 활용되고 있다[13]. 특히, 매염제로 사용될 경우, 빈번한 피부 노출로 인해 독성문제가 주요한 사회적 과제로 떠오르게 되었다[2]. 따라서, 본 연구에서는 매염제인 ZnSO<sub>4</sub>의 피부독성을 조사하기 위하여, ZnSO<sub>4</sub>, 140~180 uM 농도 각각을 배양세포에 48시간 동안 처리한 결과 처리농도 의존적으로 세포생존율이 유의하게 감소됨으로써 세포독성을 나타냈으며, 이때 XTT<sub>50</sub>값이 173.3 uM로 나타나 이는 Borenfreund와 Puerner[14]의 독성판정기준에 따라 중간독성(mid-cytotoxic)으로 나타났다. 본 연구 결과는 ZnSO<sub>4</sub>가 피부독성을 나타낸 것으로서 이는, ZnSO<sub>4</sub>의 독성이 ZnO처럼 세포막의 미세물질 유출에 의한 세포 내 미세한 환경변화를 통해 세포에 손상을 주었거나[15], 또는 세포 내 중금속독성에 대응하는 metallothioneine과 같은 금속부착인자의 발현방해와

같은 요인들을 배제할 수는 없지만[16], 그 보다는 ZnSO<sub>4</sub>의 산화적 손상에 기인하였을 가능성이 클 것으로 생각된다. 이 같은 근거의 하나로서[17] 이 ZnSO<sub>4</sub>와 유사 중금속염인 황산구리의 산화적 손상에 기인한 독성을 항산화제인 vitamin C가 방어하였다는 보고가 이를 뒷받침해 주고 있다. 따라서, 본 연구에서는 ZnSO<sub>4</sub>의 독성과 산화적 손상간의 관련성을 조사하기 위하여 배양 세포에 XTT<sub>50</sub> 농도의 ZnSO<sub>4</sub>를 처리하기 전에 항산화제인 ascorbic acid (AA), 25 uM과 35 uM을 각각 처리한 결과 ZnSO<sub>4</sub>만의 처리에서 세포생존율인 41.0%에 비하여 각각 64.1%와 76.9%로 유의한 증가를 보였다. 본 결과는 항산화제인 AA가 ZnSO<sub>4</sub>의 독성을 방어하였음을 알 수 있었으며, 이는 곧 ZnSO<sub>4</sub>의 독성에 산화적 손상이 관여하고 있음을 증명하고 있다. 이와 관련된 연구로 ZnSO<sub>4</sub>와 같은 중금속염의 하나인 황산철의 독성을 항산화제인 vitamin E가 방어하였다는 보고와도 일치한다[18]. 한편, ZnSO<sub>4</sub>의 독성에 대한 명석딸기(RP) 추출물의 영향조사에 있어서, 배양세포에 ZnSO<sub>4</sub>를 처리하기 전, RP 추출물 120 ug/mL와 150 ug/mL 농도를 각각 처리한 결과 세포생존율이 ZnSO<sub>4</sub>만의 처리인 40.4%에 비하여 각각 57.7%와 76.9%로서 유의한 세포생존율의 증가를 보였다. 이 같은 현상은 RP 추출물속에 함유되어 있는 AA를 비롯한 flavonoid나 polyphenol계통의 tannin과 같은 페놀성화합물 성분들의 상호 복합적인 항산화 작용인 것으로 생각된다. 따라서, 본 연구에서는 RP 추출물속에 함유 함유되어 있는 각 성분들에 대한 효능은 이미 밝혀져 있기 때문에, 본 연구에서는 이들이 속해 있는 총 polyphenol과 flavonoid의 함량을 조사하였다. 그 결과 총 polyphenol과 flavonoid 함량은 각각 33.9 mg/g과 17.6 mg/g로, 이는 높은 항산화능을 가지고 있는 한련초(*Eclipta prostrata* L.) 추출물의 polyphenol과 flavonoid 함량인 51.4 mg/g, 25.9 mg/g의 약 65% 이상으로 높은 함량을 나타냈다[3]. 한편, 본 연구에서는 RP 추출물의 항산화 효과를 DPPH-라디칼 소거능을 통해, 또한 미백효과는 melanin합성 저해능의 분석을 통해 각각 알아보았다. 먼저, DPPH-라디칼 소거능에 있어서, RP 추출물 120 ug/mL와 150 ug/mL 처리에서 각각 소거능은 11.4%와 14.3%로 나타나 이는 대조군에 비하여 모두 유의한 소거능의 증가를 나타냈다. 본 결과는 camphor나 linalol과 같은 높

은 항산화 성분을 가지고 있는 어성초(*Houttuynia cordata*, HC) 추출물의 18.2%(90 ug/ mL)와 비교해 볼 때 이의 80%에 근접한 높은 소거능을 나타냈음을 알 수 있었다. 이 같은 현상은 RP 추출물속에 함유된 항산화 성분들의 상호작용 결과라고 생각된다[19]. 한편, 미백효과분석지표의 하나인 melanin합성량 조사에 있어서, RP 추출물은 120 ug/mL와 150 ug/mL 추출물처리에서 각각 106.5%와 80.6%의 melanin합성량을 보였는데 이는 ZnSO<sub>4</sub>만의 처리인 122.6%와 비교해 볼 때 각각 16.1%와 42.0%의 유의한 melanin합성 저해능을 보였다. 본 결과는 HC 추출물의 melanin합성량인 44.7%(130 ug/mL)와 비교해 볼 때 다소 낮으나 거의 유사한 저해능을 보였다[13]. RP 추출물이 이같이 높은 미백효과를 보인 이유의 하나로는 melamin합성이 산화적 손상과 밀접한 관련이 있다는 연구 보고에 근거하여[20] 볼 때, 이 역시 RP 추출물속에 함유되어 있는 각 항산화 성분들의 단독 또는 복합적 작용영향에 기인한 것으로 생각된다.

## 5. 결론

본 연구는 매염제인 황산아연(ZnSO<sub>4</sub>)의 피부독성을 배양 피부세포주인 SK-MEL-3 세포를 재료로 산화적 손상 측면에서 조사하였으며, 또한 ZnSO<sub>4</sub>의 독성에 대한 명석딸기(*Rubus parvifolius* L., RP)의 보호 효과를 항산화와 미백효과 측면에서 알아보았다. 본 실험을 위하여, 세포생존율을 비롯한 DPPH-라디칼 소거능 및 melanin합성 저해능을 분석하였다. 항산화제의 일종인 Ascorbic acid는 ZnSO<sub>4</sub>에 의하여 손상된 세포생존율을 유의하게 증가시켰으며, ZnSO<sub>4</sub>는 중간 독성으로 나타났다. 한편, ZnSO<sub>4</sub>의 독성에 대한 명석딸기(RP) 추출물의 보호 효과에 있어서, RP 추출물 처리에서는 ZnSO<sub>4</sub>만을 처리한 것에 비하여 유의한 세포생존율의 증가와 함께 DPPH-라디칼 소거능과 melanin합성 저해능을 통하여 항산화와 미백효과를 나타냈다. 이상의 결론으로부터 ZnSO<sub>4</sub>의 독성이 산화적 손상과 관련이 있으며, RP 추출물은 항산화 효과에 의하여 ZnSO<sub>4</sub>의 독성을 효과적으로 방어하였으며, 이와 동시에 melanin합성 저해능을 통하여 미백효과를 보여 주었다. 결론적으로, RP 추출물과 같은 천연성분은 차후 ZnSO<sub>4</sub>와 같이 산화적 손상과 관련된 중금속 매염제의 독성을 항산화 효과를 통해 개선함과 동시에, ZnSO<sub>4</sub>의

산화적 손상으로 인한 멜라닌화를 방어함으로써 항산화와 미백제로서의 대체물질 개발에 있어 활용적 가치가 클 것으로 생각된다.

## REFERENCES

- [1] E. K. Hwang, Y. H. Lee & H. D. Kim. (2008). Dyeing, fastness, and deodorizing properties of cotton, silk, and wool fabrics dyed with gardenia coffee sludge, *Cassia tora* L., and pomegranate extract. *Fibers and Polymers*, 9(3), 334-340.
- [2] Miao J, Jia Z, Lu HB, Habibi D & Zhang LC.(2014). Heterogeneous photocatalytic degradation of mordant black 11 with ZnO nanoparticles under UV-vis light. *Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers*, 45(4), 1636-1641.
- [3] S. H. Lee, I. J. Jung & H. S. Jang. (2018). The antioxidative effect of *Eclipta prostrata* L. extract on cultured NIH3T3 fibroblasts injured by manganese-induced cytotoxicity. *Biomedical Science Letters*, 24(4), 1-8.
- [4] J. Y. Jung, H. S. Jang & Y. M. Seo. (2017). Protective effect of *Ajuga multiflora* BUNGE extract on lead toxicity of environmental pollutant. *Journal of People Plant Environment*, 20(4), 341-350.
- [5] J. S. Shin, O. K. Sim, J. C. Lee, H. J. Cho, E. Y. Kim & K. S. Lee. (2005). Plant regeneration via Multifl Shoots Formation from Sucher Explants of *Rubus fruticosus* L. *Korean Journal of Plant Resources*, 18(3), 456-451.
- [6] Do JC, Son KH & Kang SS.(1988). Studies on the constituents of the roots of *Rubus parvifolius*(L). *Biopharmacology*, 19(3), 170-173.
- [7] N. Lavid, A. Schwartz, O. Yarden & E. Tel-Or. (2001). The involvement of polyphenols and peroxidase activities in heavy-metal accumulation by epidermal glands of the waterlily (Nymphaeaceae). *Planta*, 212, 323-331.
- [8] K. W. Kim, C. K. Baek, Y. U. Chang, E. J. Kim, Y. S. Kwon, H. J. Kim & H. R. Shon. (2005). Screening of antibacterial agent against streptococcus mutans from natural and medicinal plants. *Bioscience*, 15(5), 715-725.
- [9] A.O.A.C.(2005). Official method of analysis. (12th). *A.O.A.C., Washington D.C.* 127-130.
- [10] M. I. Nieva Moreno, M. I. Isla, A. R. Sampietro & M. A. Vattuone. (2000). Comparison of the three

radical-scavenging activity of propolis from several regions of Argentina. *Journal of Ethnopharmacology*, 71, 109-114.  
DOI : 10.1016/S0378-8741(99)00189-0

- [11] M. S. Blois. (1958). Antioxidant determination by the use of a stable free radical. *Nature*, 181, 1199-1200.
- [12] J. Hosei, E. Abe, T. Suda & T. Kuroki. (1985). Regulation of melanin synthesis of B16 mouse melanoma cells by 1 a-25-dihydroxyvitamin D3 and retinoic acid. *Cancer Research*, 45, 1474-1482.
- [13] J. Y. Jung, Y. H. Oh, S. H. Park, M. Y. Yoon, A. J. Pyo & S. K. Kim. (2014). Antioxidative and whitening effects of Houltuynia cordata L. extract on lead acetate on hair dye component. *Journal of Investigative Cosmetology*, 10(2), 99-105.
- [14] E. Borenfreund & J. A. Puerner. (1985). A simple quantitative procedure using monolayer culture for cytotoxicity assay (HTD/NR-90). *Journal of Tissue Culture Methods*, 9, 7-9.
- [15] S. T. Yang, J. H. Liu, J. Wang, Y. Yuan, A. Cao, H. Wang & Y. Zhao. (2010). Cytotoxicity of zinc oxide nanoparticles: importance of microenvironment. *Journal of Nanoscience and Nanotechnology*, 10(12), 8638-8645.
- [16] S. Tang, V. Allagadda, H. Chibli, J. L. Nadeau & G. D. Mayer. (2013). Comparison of cytotoxicity and expression of metal regulatory genes in Zebrafish (Danio rerio) liver cells exposed to cadmium sulfate, zinc sulfate and quantum dots. *Metallomics*, 5(10), 1411-1422.
- [17] Y. L. Oh, Y. R. Choi, B. S. Chang & I. J. Jung. (2012). Antioxidative effect of Portulaca oleracea L. extract on allergic contact dermatitis-induced agent, copper in cultured human skin fibroblasts. *Journal of Investigative Cosmetology*, 8(4), 243-249.
- [18] A. J. Pyo, M. Y. Yoon & H. O. Yang. (2013). Cytotoxicity and protective effects of Smilax china L. extract on melanogenesis by FeSO<sub>4</sub>, an autooxidant of melanin information. *Korean Journal of Aesthetics & Cosmetology*. 11, 77-83.
- [19] H. J. Park, J. W. Nam, S. C. Rim & W. B. Kim. (2016). Chemical characterization and utilization of 19 alpha-hydroxyursane-type triterpenoids in Rubus species. *Korean Journal of Plant Resources*. 19(5), 563-572.
- [20] J. R. Kang, J. Y. Lee & W. K. Whang. (2007).

Antioxidant activity and tyrosinase inhibitory activity of Elscholtzia splendense. *Journal of Korean Society Cosmetology*, 13, 163-170.

손 영 우(Young-Woo Sohn)

[정회원]



- 1995년 2월 : 한양대학교(의학석사)
- 2004년 2월 : 한양대학교(의학박사)
- 2000년 3월 ~ 현재 : 원광대학교 의과대학 의학과 교수
- 관심분야 : 간질환, 췌장질환, 담도 질환
- E-mail : giyoung@wku.ac.kr

유 선 미(Sun-Mi Yoo)

[정회원]



- 2004년 2월 : 조선대학교(보건학 석사)
- 2008년 2월 : 원광대학교(보건학 박사)
- 2019년 8월 ~ 현재 : 원광보건대학교 미용피부화장품학과 강사
- 관심분야 : 항산화, 피부노화, 대체요법
- E-Mail : hbdoobae@naver.com