

염화제일철 매염제로 손상된 배양 NIH3T3 섬유아세포에 대한 석잠플 추출물의 항산화 효과

손영우¹, 유선미^{2*}

¹원광대학교 의과대학 산본병원 교수, ²원광보건대학교 미용피부화장품과 강사

Antioxidative Effect of *Stachys japonica* Miq Extract on Cultured NIH3T3 Fibroblasts Damaged by Ferrous chloride, Mordant

Young-Woo Sohn¹, Sun-Mi Yoo^{2*}

¹Professor, Division of Medicine School, Sanbon Hospital, Wonkwang University

²Lecturer, Dept. of Beauty & Cosmetics, Wonkwang Health Science University

요약 본 연구 목적은 염화제일철(FeCl₂)의 세포독성과 석잠플(SJ) 추출물의 항산화 효과 및 FeCl₂의 독성을 산화적 손상 측면에서 조사하였다. 이를 위해, 세포 생존율을 비롯한 과산소음이온(SAR)-소거능과 슈퍼옥사이드(SOD)-유사 활성능을 분석하였다. 본 연구에서 FeCl₂는 처리 농도에 비례하여 유의한 세포 생존율의 감소를 보였으며, 중간 독성으로 나타났다. 또한, caffeic acid는 FeCl₂로 감소된 세포 생존율에 대해 유의한 증가를 보였다. FeCl₂의 독성에 대한 SJ 추출물의 처리는 세포 생존율의 유의한 증가와 함께 SAR-소거 능과 SOD-유사 활성 능과 같은 항산화 효과를 보였다. 결론적으로, SJ 추출물과 같은 천연소재는 항산화제와 같은 대체물질 개발에 있어 기초자료로서의 활용적 가치가 클 것으로 생각된다.

주제어 : 염화제일철(FeCl₂), 매염제, 세포생존율, 항산화효과, 천연소재

Abstract The aim of this study was to examine the dermatotoxicity of ferrous chloride (FeCl₂) and the antioxidative effect of *Stachys japonica* Miq (SJ) extract on FeCl₂-induced cytotoxicity. For this study, superoxide anion-radical (SAR)-scavenging and superoxide dismutase (SOD)-like abilities with cell viability were done. FeCl₂ showed a significant decrease of cell viability in dose-dependent manner, and it was mid-toxic. The caffeic acid showed a significant increase of cell viability against FeCl₂-induced cytotoxicity. In the protective effect of SJ extract on FeCl₂-induced cytotoxicity, it showed SAR-scavenging and SOD-like abilities with a significant increase of cell viability. From these results, the cytotoxicity of FeCl₂ is correlated with oxidative stress, and SJ extract effectively protected the cytotoxicity of FeCl₂ by antioxidative effect. Conclusively, the natural resources like SJ extract may be a useful fundamental materials for the development of an alternative antioxidant.

Key Words : Ferrous chloride, Mordant, Cell viability, Antioxidative effect, Natural resources

*This paper was supported by Wonkwang University in 2021

*Corresponding Author : Sunmi Yoo(hbdoobae@naver.com)

Received June 3, 2021

Accepted August 20, 2021

Revised July 3, 2021

Published August 28, 2021

1. 서론

중금속 매염제(mordant)는 직물이나 의류 염색을 통해 피부에 직접 접촉하여 인체의 건강을 매우 위협하게 된다[1]. 이들의 잦은 인체 노출은 피부나 여러 장기에 축적되어 중독을 유발하기 때문에 이들 독성기전 규명은 물론 치료적 방법이 중요한 관심의 대상이 되었다[2].

염화제일철($FeCl_2$)은 타 중금속 매염제에 비하여 탁월한 색상표출은 물론 크롬이나 동매염제에 비하여 독성이 강하지 않으면서도 변색이 쉽게 되지 않은 장점이 있어 많이 선호되고 있다[3]. 그러나 피부염 유발원으로 알려진 $FeCl_2$ 가 장기간 인체에 노출 시 피부 독성은 물론, 유전이나 돌연변이성과 같은 병태 현상을 초래하기 때문에 접촉 시 주의가 필요하다[4]. $FeCl_2$ 의 세포독성에 관한 연구로는 주로 신경세포[5]나 균주세포[4]에 대한 것으로서 피부세포에 관한 연구는 찾아보기 어렵다. 따라서, $FeCl_2$ 에 대한 피부 독성 규명은 물론, 효과적인 치료 방법과 약제에 대한 개발이 절실히 요구되고 있다[2]. 근래, 납과 같은 일부 중금속 화합물들은 붕괴 시 자유라디칼을 방출한다고 알려지면서 이들의 독성 치료를 항산화 측면에서 접근하려는 시도가 이루어지고 있다[6].

최근, 각종 식물에서 항산화나 항암 등에 유효한 생리활성 성분이 알려지면서 이를 이용한 질환 치료에 관한 연구가 이루어지고 있다[7]. 식물 중 꿀풀과(Labiales)인 석잠풀(*Stachys japonica* Miq., SJ)은 우리나라 전역에 서식하고 있으며, 봄에서 이른 늦가을에 채취해 햇볕에 말려 사용한다. SJ에는 카페인(caffeic acid)외 사포닌(saponin), 팔러스트린(palustrine) 등 플라보노이드 성분을 함유하고 있어, 기관지염이나 대상포진과 같은 질환에 주로 사용되어왔다[8]. 특히, caffeic acid나 flavonoid와 같은 페놀 성분들은 항산화나 항염 등에 뛰어난 효능이 있다고 잘 알려져 있다[9]. 그러나, SJ 추출물의 항산화에 관한 연구는 지금까지 소수이며 그것도 많은 부분이 생체에서 되어 있고 세포 수준에서의 연구는 더욱 드물다[10].

따라서, 본 연구에서는 중금속 매염제인 $FeCl_2$ 에 대한 피부 독성 조사를 위하여 피부 구성 세포의 하나인 NIH3T3 섬유아세포주를 재료로 $FeCl_2$ 의 독성을 산화적 손상 측면에서 분석하였으며, 또한, $FeCl_2$ 의 독성에 대한 석잠풀(SJ) 추출물의 영향을 항산화 측면에서 조사함으로써 산화적 손상과 관련된 $FeCl_2$ 와 같은 중금속 매염제류의 독성 경감이나 치료적 대체물질을 천연

물 소재로부터 알아보고자 하였다.

2. 재료 및 방법

2.1 시약

본 실험에서는 $FeCl_2$, tris-HCl, trypsin, pyrogallol, potassium phosphate, xanthine (pH 7.5), phosphate buffered saline (PBS), dimethylsulfoxide (DMSO), XTT 및 caffeic acid 는 Sigma사(St Louis, MO, USA)에서 구입하였다.

2.2 SJ 추출

전북 야산에서 채취한 SJ 전초는 햇볕에 말려 시료로 사용하였다. 추출은 시료 73.6 g과 260 mL 증류수를 유리 원형 플라스크에 넣고 4시간 가열하였다. 3회의 반복 과정 후 총액을 30분간 3,000 rpm으로 원심분리기로 침전한 다음 감압 농축하여 4.3% 수율, 3.2 g의 시료를 얻었다.

2.3 세포생존율(cellviability) 측정

분리된 NIH3T3 섬유아세포(ATCC, CRL 1658)를 96-well에 1×10^5 cells/well의 밀도로 넣고 36°C, 5% CO_2 로 조절된 항온기에서 72시간 배양한 후 세포 생존율을 측정하였다. 세포 생존율 측정 시 각 well 당 10 uL의 XTT (50 μ g/mL)를 첨가한 후 항온기에서 4시간 동안 처리하였으며, 이를 DMSO로 처리한 후 ELISA reader (Spectra max 250, Molecular Devices, Sunnyvale, USA), 450 nm에서 흡광도를 측정하였다.

2.4 $FeCl_2$ 에 대한 caffeic acid (CA)와 SJ 추출물의 영향

$FeCl_2$ 에 대한 CA 영향은 $FeCl_2$ (XTT₅₀)를 배양 세포에 처리하기 전, H_2O_2 에 대한 항산화능이 50% 전후인 CA, 40 uM과 60 uM을 각각 2시간 처리하여 세포 생존율을 조사하였다. $FeCl_2$ 에 대한 SJ 추출물의 영향은 $FeCl_2$ (XTT₅₀)를 배양 세포에 처리 전, SJ 추출물 독성한계농도 이하의 2개 농도인 70 μ g/mL와 100 μ g/mL 각각을 2시간 처리한 후 세포생존율을 조사하였다.

2.5 SJ 추출물의 성분함량 분석

폴리페놀(polyphenol)함량분석은 A.O.A.C.[11]의 방법에 따라 ELISA reader, 725 nm에서 tannic acid 를 표준시약으로, Flavonoid 함량분석은 Nieva Moreno 등[12]의 방법에 따라 ELISA reader, 415 nm에서 rutin을 표준시약으로 한 검량곡선을 기준으로 흡광도를 측정하였다.

2.6 과산화수소-라디칼 소거 활성 측정

Nitroblue tetrazolium (NBT) 환원 방법에 따라 행하였으며, ELISA reader, 560 nm에서 흡광도를 측정하였다. SAR-소거능 활성은 CA를 양성대조군으로 하여 대조군에 대한 백분율로 표시하였으며, 또한 SAR-소거능(%)=100-[(시료첨가군의 흡광도/무첨가군의 흡광도) x 100]으로 나타냈다.

2.7 SOD-유사 활성(superoxide dismutase-like activity) 측정

Marklund와 Marklund[13] 방법에 따라 행하였으며, ELISA reader, 420 nm에서 흡광도를 측정하였다. SOD-유사 활성은 CA를 양성대조군으로, 대조군에 대한 백분율로 표시하였으며, 또한 SOD-유사 활성능(%)=[(시료첨가군의 흡광도/무첨가군의 흡광도) x 100]-100으로 나타냈다.

2.8 통계 처리

모든 실험값은 SPSS/WIN (18.0)을 이용하였다. 집단 간의 비교는 one way ANOVA를 시행 후 Tukey HSD으로 사후 분석하였고, 유의수준은 P<0.05로 하였다.

3. 결과

3.1 FeCl₂의 세포독성

FeCl₂의 독성을 알아보기 위하여 배양 세포에 FeCl₂, 100~140 uM 농도 각각을 처리한 결과, 농도에 비례하여 유의한 세포생존율의 감소를 보였다 (P<0.001). FeCl₂, 100 uM, 120 uM, 140 uM에서 세포생존율은 각각 대조군에 비해 75.0%, 60.4%, 47.9%로 나타났으며, XTT₅₀ 값은 136.7 uM에서 나타났다. FeCl₂의 세포독성에 대한 사후분석 결과 140 uM, 120 uM, 100 uM, 대조군의 순으로 세포독성이 높았으며

Table 1과 같다.

Table 1. The cytotoxicity of ferrous chloride(FeCl₂) by XTT assay

Concentrations of FeCl ₂ (uM)	XTT assay (450 nm)	F	P	Tukey HSD
	Mean±SD			
Control ^a	0.48±0.04	115.99	<.001	a)b)c)d
100 ^b	0.36±0.03			
120 ^c	0.29±0.02			
140 ^d	0.23±0.02			

The data indicate the mean±SD for triplicate experiments. Abbreviation: FeCl₂, Ferrous chloride.

3.2 FeCl₂의 독성에 대한 CA의 영향

CA, 40 uM과 60 uM 농도 각각을 2시간 전처리한 결과, FeCl₂만의 처리에서는 세포생존율이 대조군에 비하여 39.3%(0.24±0.02)로 나타났는데 비하여, 40 uM과 60 uM CA처리에서는 각각 57.4%(0.35±0.02)와 72.1(0.44±0.02)로 나타났다(P<0.001). FeCl₂의 세포독성에 대한 CA 영향의 사후분석결과 대조군, 60 uM CA와 40 uM CA, FeCl₂ (XTT₅₀) 순으로 세포생존율이 높았으며 Table 2와 같다.

Table 2. The effect of caffeic acid (CA) on the cytotoxicity induced by ferrous chloride (FeCl₂) in cultured NIH3T3 fibroblasts

Concentrations of CA (uM)	XTT assay (450 nm)	F	P	Tukey HSD
	Mean±SD			
Control ^a	0.61±0.03	312.20	<.001	a)d)c)b
FeCl ₂ (XTT ₅₀) ^b	0.24±0.02			
40 ^c	0.35±0.02			
60 ^d	0.44±0.02			

The data indicate the mean±SD for triplicate experiments. Abbreviation: CA, Caffeic acid; FeCl₂, Ferrous chloride.

3.3 SJ 추출물의 성분함량 분석

SJ 추출물성분 중 polyphenol의 함량은 58.6 mg/g으로, flavonoid 함량은 29.3 mg/g으로 각각 나타났다 Fig. 1과 같다.

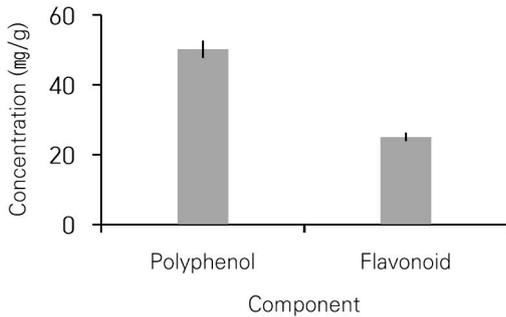


Fig. 1. The component of *Stachys japonica* Miq (SJ) extract. Data are mean±SD. The data indicate the mean±SD for triplicate experiments.

3.4 FeCl₂의 세포독성에 대한 SJ 추출물의 영향

70 µg/mL와 100 µg/mL의 추출물 각각을 처리한 결과, FeCl₂만의 처리에서는 세포생존율이 대조군에 비하여 40.6%(0.26±0.04)로 나타났는데 비해, 추출물 처리에서는 각각 53.1%(0.34±0.02)와 64.1%(0.41±0.03)로 나타나 FeCl₂만의 처리에 비하여 모두 유의한 증가를 나타냈다(P<0.001). FeCl₂의 세포독성에 SJ 추출물이 미치는 영향에 대한 사후분석 결과 대조군, 100 µg/mL SJ 추출물, 70 µg/mL SJ 추출물, FeCl₂ 순으로 세포생존율이 높았으며 Table 3과 같다.

Table 3. The protective effect of *Stachys japonica* Miq (SJ) extract in cultured NIH3T3 fibroblasts damaged by ferrous chloride (FeCl₂) measured at a wavelength of 450 nm

Concentrations of SJ extract (ug/mL)	XTT assay (450 nm)	F	P	Tukey HSD
	Mean±SD			
Control ^a	0.64±0.02	263.30	<.001	a)d) c)b
FeCl ₂ (XTT ₅₀) ^b	0.26±0.04			
70 ^c	0.34±0.02			
100 ^d	0.41±0.03			

The data indicate the mean±SD for triplicate experiments. Abbreviation: SJ, *Stachys japonica* Miq; FeCl₂, Ferrous chloride.

3.5 과산소음이온-라디칼(SAR) 소거 활성 측정

70 µg/mL와 100 µg/mL 농도의 SJ 추출물 시료를 분석한 결과, 소거 활성은 대조군에 비하여 각각 88.6%와 77.3%로 나타나, SAR-소거능은 각각 11.4%와 22.7%로 이는 모두 대조군보다 유의한 소거능의 증가를 보였다. 특히, 100 µg/mL 농도에서는 양성대조군

인 CA의 소거능인 77.3%의 거의 30%인 것으로 나타났다(P<0.001). SAR-소거능의 사후분석 결과 CA, 100 µg/mL SJ 추출물, 70 µg/mL SJ 추출물, 대조군 순으로 소거능이 높았으며 Table 4와 같다.

Table 4. The superoxide anion-radical (SAR)-scavenging activity of *Stachys japonica* Miq (SJ) extract determined at a wavelength of 560 nm

Concentrations of SJ extract (ug/mL)	SAR-scavenging activity (560 nm)	F	P	Tukey HSD
	Mean±SD			
Control ^a	0.44±0.03	119.25	<.001	a,c,d)b
60 uM CA ^b	0.10±0.02			
70 ^c	0.39±0.06			
100	0.34±0.02			

The data indicate the mean±SD for triplicate experiments. Abbreviation: SJ, *Stachys japonica* Miq; CA, Caffeic acid; SAR, Superoxide anion-radical.

3.6 SOD-유사 활성 측정

70 µg/mL와 100 µg/mL 추출물 처리에서는 SOD-유사 활성이 각각 116.9%와 128.8%로 나타났다. 따라서, SOD-유사 활성능은 70 µg/mL와 100 µg/mL에서 16.9%와 28.8%로 이는 대조군에 비하여 유의한 유사 활성능을 나타냈다(P<0.001). 특히, 추출물 100 µg/mL에서는 양성대조군인 CA 유사 활성능인 66.1%(P<0.001)의 40% 이상인 것으로 나타났다. SJ 추출물에 대한 SOD-유사 활성능의 사후분석 결과 유사 활성능은, CA, 100 µg/mL SJ 추출물, 70 µg/mL SJ 추출물, 대조군 순으로 높았으며 Table 5와 같다.

Table 5. The superoxide dismutase (SOD)-like activity of *Stachys japonica* Miq (SJ) extract measured at a wavelength of 420nm

Concentrations of SJ extract (ug/mL)	SOD-like activity (420 nm)	F	P	Tukey HSD
	Mean±SD			
Control ^a	0.59±0.02	149.04	<.001	a)d)c) b
60 uM CA ^b	0.98±0.05			
70 ^c	0.69±0.04			
100 ^d	0.76±0.03			

The data indicate the mean±SD for triplicate experiments. Abbreviation: SJ, *Stachys japonica* Miq; CA, Caffeic acid; SOD, Superoxide dismutase.

4. 고찰

염화제일철(FeCl₂)은 폐수처리나 도금과 같은 공정

에 사용될 뿐만 아니라 특히, 의상이나 섬유와 같은 직물 매염제로서의 용도가 중요시되면서 이에 따른 독성 문제가 주된 관심으로 떠오르게 되었다[4]. 본 연구는 FeCl₂의 독성을 피부 측면에서 알아보기 위하여 피부 구성 세포인 NIH3T3 섬유아세포를 배양한 후 FeCl₂가 100~140 uM로 각각 포함된 배양액에서 48시간 배양하였다. 그 결과, FeCl₂는 농도에 따라 세포생존율을 유의하게 감소시켰으며, 또한, XTT₅₀값이 136.7 uM로서, 이는 Borenfreund와 Puerner에 의해 중간 독성으로 나타났다[14]. 이 결과는 Tiffani-Gastiglioi 등[5]에 의한 FeCl₂의 신경독성에 관한 연구 결과와도 일치하였다. 이 같은 FeCl₂의 독성현상은 세포 내 단백질 합성 억제[15] 또는 세포 내 칼슘 채널의 손상[16] 같은 요인을 배제할 수는 없지만, 이 보다 FeCl₂의 산화적 손상에 의한 가능성이 클 것으로 생각한다. 이 같은 근거의 하나로 납과 같은 중금속 화합물의 붕괴 시 자유라디칼을 발생한다고 제시되었으며[17], 또한 FeCl₂와 같은 철 화합물인 FeSO₄의 독성이 vitamin E에 의해 방어되었다는 연구보고가 이를 증명하고 있다[2]. 따라서, 본 연구에서는 FeCl₂의 독성과 산화적 손상 간의 연관성을 밝히기 위해 FeCl₂ (XTT₅₀)를 배양세포에 처리하기 전, 항산화제인 일종인 caffeic acid(CA), 40 uM과 60 uM을 각각 배양세포에 2시간 전처리한 결과 FeCl₂만 처리한 것에 비하여 모두 유의한 세포생존율의 증가를 나타냈다. 위 결과는 FeCl₂의 산화적 손상이 항산화제인 CA에 의해 방어된 것으로 이는 FeCl₂ 독성에 산화적 손상이 관여하고 있음을 제시하고 있으며, 이는 Pyo 등[2]의 연구 결과와도 일치하였다. 한편, FeCl₂의 독성에 대한 SJ 추출물의 영향조사에 있어서, SJ 추출물 70 µg/mL와 100 µg/mL 처리에서 FeCl₂만의 처리 결과보다 모두 세포생존율의 유의한 증가를 나타내 FeCl₂의 독성을 방어하였다. 이는 산사(*Crataegi fructus*, CF) 추출물이 FeSO₄의 독성을 방어하였다는 연구 결과와도 일치하였는데[17]. 이 같은 현상은 SJ 추출물 속에 함유된 항산화 성분들의 상호작용에 기인한 것으로 생각된다. 따라서, 본 연구에서는 SJ 추출물의 항산화 성분함량조사를 시행한 결과 총 polyphenol과 flavonoid는 각각 58.6 mg/g과 29.3 mg/g으로 나타났다. 본 결과는 항산화능이 높은 지금초(*Euphorbia humifusae* L., EH) 추출물의 51.2 mg/g, 26.5 mg/g과 비교해 볼 때 거의 유사한 함량 수준임을 알 수 있었

다[18]. 이는 곧 SJ 추출물이 EH 추출물처럼 높은 항산화능이 있음을 증명하고 있다. 따라서, 본 연구에서는 SJ 추출물의 항산화능을 SAR-소거능과 SOD-유사 활성능을 통해 알아보았다. 먼저, 추출물의 SAR-소거능에 있어서, SJ 추출물 70 µg/mL, 100 µg/mL에서 각각 11.4%와 22.7%로 대조군에 비해 모두 유의한 소거능을 보였다. 이는 자귀나무(*Albizia julibrissin*, AJ) 잎 추출물(100 µg/mL)의 28.8%에 비하면 다소 낮으나 20% 이상의 높은 소거능을 보였다[3]. 한편, SOD-유사 활성능에 있어서는, SJ 추출물 70 µg/mL, 100 µg/mL에서 각각 16.9%와 28.8%로 대조군에 비해 모두 유의한 유사 활성능을 보였다. 본 결과는 EH 추출물(100 µg/mL)의 27.8%에 비해 거의 비슷한 유사 활성능을 보였다[18]. 이같이 SJ 추출물이 SAR-소거능과 SOD-유사 활성능 항산화능을 보인 것은 SJ 추출물 속에 함유된 항산화 성분들의 상호작용 결과라 생각된다.

5. 결론

본 연구 목적은 염화제일철(FeCl₂)의 세포독성과 석잠플(SJ) 추출물의 항산화 효과를 배양 NIH3T3 섬유아세포를 이용하여 분석하였으며, FeCl₂의 독성을 산화적 손상 측면에서 조사하였다. 이를 위해, 세포생존율을 비롯한 과산화음이온 (SAR)-소거능 및 슈퍼옥사이드 디스무타제(SOD)-유사 활성능을 분석하였다. 그 결과 FeCl₂는 처리 농도에 비례하여 세포생존율의 유의한 감소를 보여 중간 독성으로 나타났으며 또한, caffeic acid는 FeCl₂로 감소된 세포생존율에 대하여 유의한 증가를 보였다. FeCl₂의 독성에 대한 SJ 추출물의 처리는 유의한 세포생존율의 증가와 함께 SAR-소거능과 SOD-유사 활성능과 같은 항산화 효과를 보였다. 결론적으로, SJ 추출물과 같은 천연소재는 항산화제와 같은 대체물질 개발에 있어 기초자료로서의 활용적 가치를 클 것으로 생각된다.

REFERENCES

- [1] Y. W. Sohn, Y. S. Rim, Y. W. Yu & I. J. Jung. (2012). Effect of persimmon leaves extract on the cytotoxicity induced by cadmium of hair dye component. *Journal of Investigative Cosmetology*, 8(1), 9-15.
- [2] A. J. Pyo, M. Y. Yoon & H. O. Yang. (2013).

- Cytotoxicity and protective effects of *Smilax china* L. extract on melanogenesis by FeSO₄, an autooxidant of melanin information. *Korean Journal of Aesthetics & Cosmetology*, 11, 77-83.
- [3] J. H. Chung, T. S. Rim & Y. M. Seo. (2019). Protective effect of *Albizia juribrissin* leaf extract on the cytotoxicity induced by cupric acetate metallic mordant. *Journal of Environment Health Science*, 45(5), 520-528.
- [4] H. K. Bae et al. (2005). Risk assessment of iron dichloride in OECD high production volume chemical program. *Korean Society Environment & Toxicology*, 20, 375-383.
- [5] E. Tiffany-Gastigioni, J. A. Robert & L. V. Sheeler-Gough. (1989). Reduction of glutamine synthetase specific activity in cultured astroglia by ferrous chloride. *Journal of Neuroscience Research*, 24, 508-516.
- [6] J. Y. Jung et al. (2014). Antioxidative and whitening effects of *Houttuynia cordata* L. extract on lead acetate on hair dye component. *Journal of Investigative Cosmetology*, 10(2), 99-105.
- [7] J. C. Do, K. H. Son & S. S. Kang. (1988). Studies on the constituents of the roots of *Rubus parvifolius* (L). *Biopharmacology*, 19(3), 170-173.
- [8] J. S. Kwak & H. G. Seung. (2018). *East medicinal thesaurus herb encyclopedia*. Kyeongkido. PurnHaengbok Co., 794-796.
- [9] 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.
- [10] J. Y. Hwang, A. K. Yadav, B. C. Jang & Y. C. Kim. (2019). Antioxidant and cytoprotective effects of *Stachys riederi* var. *japonica* ethanol extract on UVA-irradiation human dermal fibroblasts. *International Journal of Molecular Medicine*, 43(3), 1497-1504.
- [11] A.O.A.C. (2005). Official methods of analysis. (12th). *A.O.A.C., Washington D.C.*, 127-130.
- [12] M. A. 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
- [13] S. Marklund & G. Marklund. (1974). Involvement of superoxide anion radical in the oxidation of pyrogallol and a convenient assay for superoxide dismutase. *European journal of biochemistry*, 47, 468-474.
- [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] O. H. Lowry, N. J. Rosebrough, A. L. Farr & R. J. Randall. (1951). Protein measurement with the folin-protein reagent. *Journal of Biological Chemistry*, 193, 265-271.
- [16] D. Busselberg, M. L. Evans, H. Rahmann & D. O. Carpenter. (1991). Lead and zinc block a voltage-activated calcium channel of aplysia neurons. *Journal of Neurophysiology*, 65, 786-795.
- [17] J. Y. Jung, Y. M. Seo & I. J. Jung. (2013). Antioxidative effect of *Crataegi fructus* extract on the cytotoxicity of FeSO₄, hair dye component. *Journal of Investive Cosmetology*, 9(4), 355-360.
- [18] S. H. Lee & Y. M. Seo. (2018). Alleviating effects of *Euphorbiae humifusae* L. extract on the neurotoxicity induced by lead. *Korean Journal of Clinical Laboratory Science*, 50(4), 501-510.

손 영 우(Young-Woo Sohn)



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

유 선 미(Sun-Mi Yoo)



- 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