

빈카 마이너 추출물의 항균 및 면역활성 연구

김준섭 · 강조은 · 유일환 · 정경환 · 문기성 · 이향렬†

한국교통대학교 생명공학과
(2015년 3월 5일 접수; 2015년 3월 16일 수정; 2015년 3월 25일 채택)

Antimicrobial and Immunological activities of *Vinca minor* Extracts

Jun-Sub Kim · Jo-Eun Kang · Il-Hwan Yu · Kyung-Hwan Jung
Gi-Seong Moon · Hyang-Yeol Lee†

Department of Biotechnology, Korea National University of Transportation,
61 Daehak-ro, Jeungpyeong-gun, Chungbuk 368-701
(Received March 5, 2015; Revised March 16, 2015; Accepted March 25, 2015)

요약 : EtOH 추출법과 열수 추출법을 사용하여 빈카민 등의 빈카 알칼로이드 화합물을 함유한 빈카 마이너 추출물을 얻었다. 이들 추출물을 사용하여 비듬균, 효모, 그람양성 및 음성세균에 대한 항균활성을 측정 하였다. 비듬균(*Malassezia furfur*)에 대하여 표준물질인 빈카민과 EtOH 추출물은 항균활성을 보이지 않은 반면 열수 추출물은 항균활성을 나타내었다. 또한 열수 추출물은 그람양성 및 음성세균에 속하는 바실러스(*Bacillus* sp.)와 대장균(*Escherichia coli*)에 대해서도 항균활성을 나타내었다. 추출물의 세포독성은 HaCaT 세포(인간 케라티노사이트 세포), HT-29 세포(인간 결직장 선종암 세포), Raw 세포(인간 대식세포)를 대상으로 측정하였으며, 해당 세포들에 대해 특별한 세포독성은 발견 되지 않았다. 또한 형광 기반의 탐색물질인 디클로로플루오신 디아세테이트(DCFDA)를 이용한 활성산소종을 측정하였다. 그 결과 HaCaT 세포와 HT-29 세포군에서 활성산소종의 형성이 약 20% 정도 증가하는 것을 알 수 있었다.

Abstract : *Vinca* alkaloid compounds including vincamine from *Vinca minor* L. have been extracted by ethanol and hot water extraction methods. Antimicrobial properties of those extracts have been investigated against dandruff causing microorganism *Malassezia furfur*, yeast, Gram positive and negative bacteria. Vincamine standard and ethanol extract showed no sign of antimicrobial activity, whereas hot-water extract had the activity against *M. furfur*. Furthermore hot water extract had antimicrobial activity against Gram positive *Bacillus* sp. and Gram negative *Escherichia coli*. Cytotoxic properties of those extracts have also been investigated with HaCaT cell (human keratinocyte), HT-29 cell (human colorectal adenocarcinoma cell) and Raw cell, showing no significant cytotoxic effects. We also measured the ROS using dichlorofluorescein diacetate (DCFDA), a popular fluorescence-based probe for reactive oxygen species detection. The result showed the increasement of reactive oxygen species formation (20%) in HaCaT and HT-29 cell lines.

Keywords : *Vinca minor* extract, Vincamine, Antimicrobial, Immunological effect

†Corresponding author (E-mail : hyl@ut.ac.kr)

1. 서론

*Vinca minor*에서 발견되는 대표적인 인돌알칼로이드인 빈카민(Vincamine)과 빈카민 유도체 등은 노화에 대하여 뇌의 인지능력 또는 기억력을 강화하는 효과가 있는 것으로 알려져 있으며, 현재 빈카민은 혈액순환 개선제 및 뇌혈관 개선제 등으로 이용되고 있다.

이외에도 잎의 여러 가지 알칼로이드 성분에 의한 강장, 수렴작용이 있어 내출혈, 월경출혈감소제로서 사용되며 궤양, 인후염, 고혈압 치료제, 뇌의 혈류를 원활하게 한다는 연구 결과가 있어 혈액순환 개선을 통한 피부환경 개선에 효과가 있을 것으로 기대되고 있다. 이 중 빈카 메이저(*Vinca major*) 및 빈카 마이너(*Vinca minor*)는 국제 화장품 원료집(ICID)에 등재되어 있다.

빈카 로지아(*Vinca rosea*)를 제외한 페리윙클(예, 빈카 메이저, 빈카 마이너 등)에 대한 연구는 항암효과가 적은 이유로 관심의 대상이 되지 않아 상대적으로 기초연구가 적은 상황이다^{1~3}. 특히 빈카 메이저와 빈카 마이너 등의 추출물은 프랑스계 화장품 회사에서 피부용 화장품 재료로 최근 사용된 적이 있으나 아직 그 효능에 대한 연구는 미미한 실정이다^{4~6}. 따라서 이 식물을 이용한 화장품을 개발하기 위해서는 추출물에 함유된 성분들에 대한 효능평가가 필수적으로 요구된다^{7~8}.

본 연구에서는 빈카 마이너로부터 얻은 추출물에 함유된 플라보노이드 성분과 빈카민 같은 알칼로이드 성분에 의한 항균 효과에 대한 연구, 그리고 면역활성 효과를 조사하였다.

2. 실험 방법

2.1. 재료 및 기기

2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl(DPPH), trifluoro acetic acid(TFA), acetonitrile, methanol, vincamine 등은 Sigma-Aldrich사 시약을 사용하였다. 분광광도계는 Mecasys사의 Optizen 2120UV spectrophotometer, HPLC는 영린기기의 YL9100(검출기: PDA detector)를 사용하여 분석하였다. 빈카 마이너는 경기도 과천 그린피아사에서 재배한 식물을 구매하여 실험 재료로 사용하였다.

2.2. 빈카 마이너의 EtOH 추출법

빈카 마이너의 잎을 10g정도 채취하여 물에 세척한 후 건조한다. 이 잎을 잘게 절단한 후 EtOH을 소량씩 가하며 막자사발로 분쇄하였다. 그 후 여과 하여 이물질을 제거한 뒤 회전식 진공농축기를 이용하여 농축한 후 여과 과정을 한 차례 더 반복하였다. 최종적으로 syringe filter를 이용하여 불순물을 깨끗이 제거한 후 다시 한 번 농축하여 빈카 마이너 EtOH 추출물을 얻었다. 수득한 건조 EtOH 추출물은 0.26g이었다.

2.3. 빈카 마이너의 열수 추출법

빈카 마이너의 잎 10g을 채취하여 물에 세척한 후 건조한다. 삼각플라스크 1L에 증류수 200mL을 넣고 90-100°C 정도로 끓였다. 잎을 잘게 자른 뒤 끓는 물에 30min정도 담구고 상온에서 식힌 후 여과하였다. 여과액은 Freeze drier를 이용하여 동결건조 하였고 최종적으로 0.20g의 건조된 열수 추출물을 수득하였다.

2.4. GRAS 균주를 이용한 빈카 마이너 추출물의 생물전환

유산균 *Lactobacillus plantarum* LP2와 *Lactobacillus casei* GW140 두 균주를 이용하여 열수 추출물의 생물전환 실험을 수행하였다. 즉, MRS broth(Difco) 5mL에 LP2 및 GW140 균주 배양액 각각 1%씩 접종하고 앞서 설명한 열수 추출물 10 μ L를 첨가하였다. 이후 37°C에서 정지 배양하면서 경시적으로(0, 24, 48시간) 시료를 취해 생균수(CFU/mL), 산도(acidity) 및 항균활성을 측정하였다. 산도의 측정은 시료를 정제수로 희석(1 : 9)한 후 알칼리 표준용액(NaOH)으로 적정하여 분석하였다. 산도를 구하는 공식은 다음과 같다.

$$\text{Acidity}(\%) = \frac{V \times F \times A \times D \times 100}{S}$$

(V: 0.1 N-NaOH 용액의 적정치 소비량(mL); F: 0.1N-NaOH 용액의 역가; A: 0.1 N-NaOH 용액 1mL에 상당하는 젓산의 양(0.009); D: 희석배수; S: 시료 채취량)⁹.

2.5. 항균활성 실험

빈카 마이너 추출물을 이용하여 비듬균(*Malassezia furfur* KCTC 7743)¹⁰, 효모(*Saccharomyces cerevisiae*), 그람양성(*Bacillus* sp.) 및 그람음성세균(*Escherichia coli* JM109)에

대한 항균실험을 수행하였다. 실험방법은 한천확산법 (agar diffusion method)¹¹으로 각각의 균주를 최적배지에서 키운 배양액 100 μ L를 평판배지에 도말한 후 그 위에 시료 10 μ L를 점적하였다. 최적온도(30 혹은 37 $^{\circ}$ C)에서 48h 배양 후 한 후 시료 주위에 저해환 생성 유무를 관찰하였다. 최적배지로서 *M. furfur*는 mLNA 배지(Glucose 20g/L, Malt extract 50g/L, Polypeptone 1g/L, Bile salt 20g/L, Tween 40 0.1mL/L, Glycerol 0.02mL/L)를 사용하였고 *S. cerevisiae*는 YPD 배지(Yeast extract 10g/L, Peptone 20g/L, Dextrose 20g/L), *Bacillus* sp.는 Nutrient 배지(Beef extract 3g/L, Peptone 5g/L), 그리고 *E. coli*는 LB배지(Yeast extract 5g/L, Tryptone 10g/L, NaCl 10g/L)를 각각 사용하였다.

2.6 세포배양

피부세포로부터 유래된 HaCaT 세포와 대장상피암세포로부터 유래된 HT-29 세포는 10% fetal bovine serum, 2mM L-glutamine, 100 units/mL penicillin, 그리고 100 μ g/mL streptomycin이 함유된 DMEM 배지를 이용하여 37 $^{\circ}$ C humidified 5% CO₂ incubator에서 배양하였다. 인간 대식세포에서 유래된 Raw 264.7 세포는 위의 두 세포와 같은 조건에서 배양배지인 RPMI 1640 만을 다르게 하여 배양하였다.

2.7 세포독성 (생존율) 조사 방법

제시된 3 가지 세포주를 24-well microtiter plate 에 농도 1×10^5 cells/mL로 조절하여 500 μ L/well에 넣은 후, 빈카민을 농도별 또는 시간별로 처리 한 다음 24 시간동안 배양하였다. 배양액을 교환한 후, MTT labeling reagent에 electron coupling reagent를 첨가하여 준비한 MTT labeling mixture를 각 well당 10 μ L씩 (최종농도 0.5mg/mL) 4h 처리 한 후, DMSO 로 녹여 550nm 파장에서 흡광도를 이용하여 세포독성을 조사하였다.

2.8 활성산소 생성능 조사 방법

세포 내 ROS의 양은 형광 probe인 DCFDA (2',7'-Dichlorofluorescein diacetate) 를 사용하여 측정하였다. 빈카민 50 μ M 또는 100 μ M와 추출물을 각각 세포에 24h 처리한 후, 배양액에 DCFDA를 well당 25 μ M로 15min간 처리하고, 세포내 활성산소의 양을 excitation 파장 485

nm, emission 파장 530 nm에서 fluorescence를 측정하여 조사 하였다.

3. 결과 및 고찰

3.1. 항균활성 실험

열수 및 EtOH로 추출한 빈카 마이너 농축액을 이용하여 먼저 비듬균(*M. furfur* KCTC 7743)에 대한 항균활성 실험을 수행하였다. 확인결과 빈카민 표준물질과 에탄올 추출물에서는 항균활성이 나타나지 않은 반면 열수추출물에서는 약한 항균활성이 관찰되었다(Fig. 1). 대조군으로 사용한 EtOH에서는 강한 항균활성이 관찰되었다.

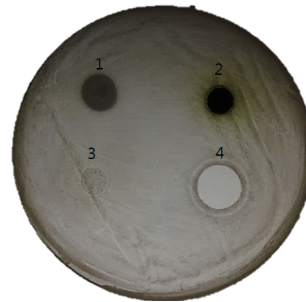


Fig. 1. Antimicrobial effect on *Malassezia furfur* KCTC 7743. 1: Vincamine (1 mole/L); 2: EtOH extract (50 μ g/ μ L); 3: Hot water extract (50 μ g/ μ L); 4: EtOH (99.9%) dropping 10 μ L of each solution.

평판배지 상에서 열수 추출물의 항균활성이 약하게 확인되어 mLNA broth에서 추가 항균실험을 수행하였다. 즉, mLNA broth 5mL에 비듬균 배양액을 0.1% 접종한 후 앞서 설명한 빈카민, 에탄올 추출물, 열수 추출물 및 EtOH 10 μ L를 첨가한 후 30 $^{\circ}$ C에서 진탕(170rpm) 하면서 2일간 배양하였다. 배양 중 경시적으로(0, 6, 12, 24, 48h) 시료를 취해 mLNA 평판배지 상에서 생균수(CFU/mL)를 측정하였다. 생균수는 펩톤수(0.1%, w/v)를 이용하여 10진 희석법으로 확인하였다. 실험결과 EtOH 추출물의 경우 대조군(비듬균만 접종)과 비교하였을 때 비듬균의 성장 억제 효과가 관찰되지 않은 반면 열수 추출물의 경우 비듬균 성장 억제 효과가 나타났으며 48시

간짜 생균수가 대조군에 비해 1.21(log scale)배 낮게 확인되었다(Fig. 2). 이는 열수 추출물이 사용한 비듬균에 대해 항균활성이 우수함을 의미하는 것이다.

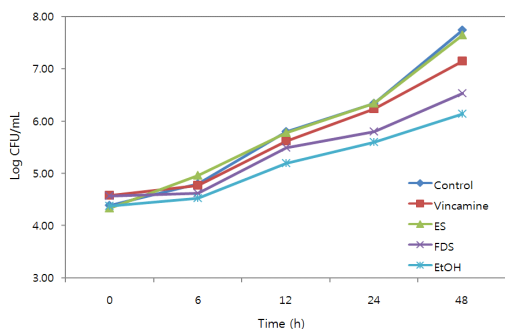


Fig. 2. Antimicrobial effect on *Malassezia furfur* KCTC 7743. Control: only *M. furfur* (final concentration 0.1%) was inoculated; Vincamine: *M. furfur* plus vincamine (1 mole/L) 10 μ l; ES: *M. furfur* plus EtOH extract (50 μ g/ μ l) 10 μ l; : *M. furfur* plus hot water extract (50 μ g/ μ l) 10 μ l; EtOH: *M. furfur* plus EtOH(99.9%) 10 μ l.

빈카민 추출물을 이용하여 효모(*S. cerevisiae*), 그람양성(*Bacillus* sp.) 및 그람음성 세균(*E. coli* JM109)에 대한 항균활성 실험도 추가적으로 수행하였다. 실험결과 효모 균주에 대해서는 대조군으로 사용한 빈카민에서 약한 항균활성이 관찰되었으며(Fig. 3) *Bacillus* sp. 균주에 대해서는 빈카민에서 약한 활성이, 열수 추출물에서는 다소 강한 활성이 관찰되었다(Fig. 4). 대장균에 대해서는 열수 추출물에서만 강한 활성이 관찰되었다(Fig. 5).

이러한 결과들을 종합해 볼 때 빈카 마이너 열수 추출물 속에는 다양한 균종에 대해 항균활성을 보이는 물질이 포함되어 있을 것으로 추정되며 향후 추가적인 연구를 통해 그 항균물질들의 구조를 분석하여 물질동정을 한다면 새로운 항균소재의 개발도 가능할 것으로 판단된다.

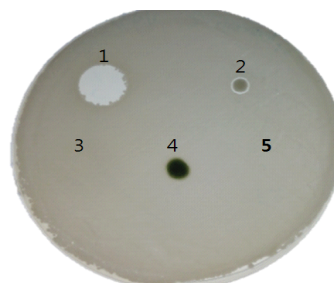


Fig. 3. Antimicrobial effect on yeast (*Saccharomyces cerevisiae*). 1: EtOH (99.9%) 2 μ l; 2: Vincamine (1 mole/L) 2 μ l; 3: Hot water extract (50 μ g/ μ l) 2 μ l; 4: EtOH extract (50 μ g/ μ l) 2 μ l; 5: Red ginseng extract 2 μ l.

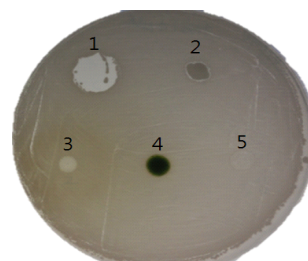


Fig. 4. Antimicrobial effect on *Bacillus* species. 1: EtOH (99.9%) 2 μ l; 2: Vincamine (1 mole/L) 2 μ l; 3: Hot water extract (50 μ g/ μ l) 2 μ l; 4: EtOH extract (50 μ g/ μ l) 2 μ l; 5: Red ginseng extract 2 μ l.

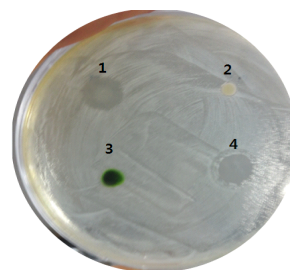


Fig. 5. Antimicrobial effect on *Escherichia coli* JM109. 1: Hot water extract (50 μ g/ μ l) 2 μ l; 2: Vincamine (1 mole/L) 2 μ l; 3: EtOH extract (50 μ g/ μ l) 2 μ l; 4: EtOH (99.9%) 2 μ l.

3.2. 빈카 마이너 추출물의 생물전환 및 항균 효과

유산균 *Lactobacillus plantarum* LP2와 *Lactobacillus casei* GW140 두 균주를 이용하여 열수 추출물의 생물전환 실험을 수행하였다. 즉, MRS broth(Difco) 5mL에 LP2 및 GW140 균주 배양액을 각각 1%씩 접종하고 앞서 설명한 열수 추출물 10 μ l를 첨가하였다. 생균수의 경우 두 균주 모두 열수 추출물 첨가군과 무첨가군 사이에 큰 차이 없이 잘 자라는 것으로 확인되었으며 24h째 가장 높은 생균수(LP2: 약 9.3 Log CFU/mL; GW140: 약 9.5 Log CFU/mL)를 보였다(Fig. 6).

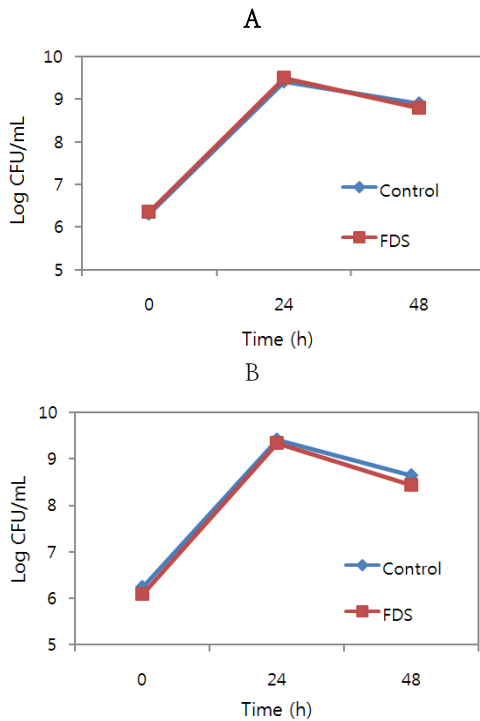


Fig. 6. The change of the number of lactobacillus after bio-transformation of hot water extract. A: *Lactobacillus plantarum* LP2; B: *Lactobacillus casei* GW140 strain (final concentration of 1%) inoculation. Control: extract not added; FDS: hot water extract (50 μ g / μ l) 10 μ l added.

산도의 경우 24h까지 두 균주 모두 열수 추출물 첨가군과 무첨가군 사이에 큰 차이를 보이지 않았으나 48h째 시료에서는 열수 추출물 무첨가군에서 다소 높은 산도를 나타내었다(Fig. 7).

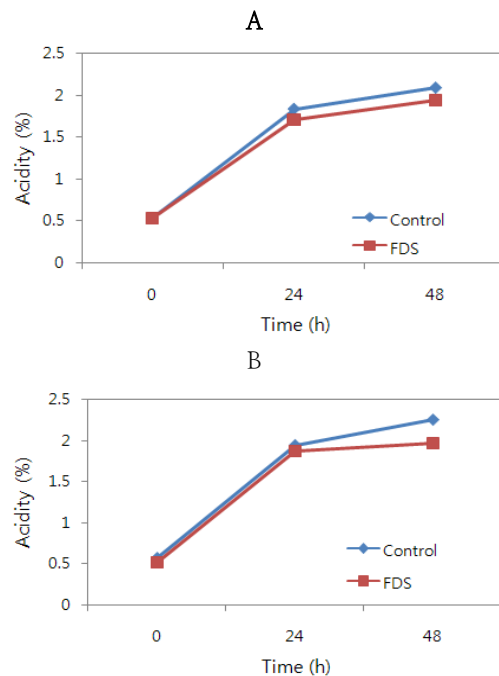


Fig. 7. pH effect of hot water extract after bio-transformation. A: *Lactobacillus plantarum* LP2; B: *Lactobacillus casei* GW140 strain (final concentration of 1%) inoculation. Control: extract not added; FDS: hot water extract (50 μ g/ μ l) 10 μ l added.

생균수와 산도를 종합적으로 분석했을 때 열수 추출물 첨가가 유산균의 생육에는 영향이 없는 것으로 판단되며 이는 생물전환이 활발하게 일어날 수 있음을 의미한다. 그럼에도 불구하고 두 균주를 이용한 열수 추출물의 생물전환물은 사용한 농도에서 비듬균에 대한 항균활성이 관찰되지는 않았다. 이는 생물전환에 사용한 열수 추출물의 농도가 낮음에 기인하는 것으로 추론된다.

3.3. 추출물의 세포독성 조사

추출물 및 빈카민의 세포독성을 확인하기 위해

서, HaCaT, HT-29 세포, 그리고 Raw 세포를 사용하였다. 0 - 100 μ M의 빈카민 및 추출물들을 24h 동안 처리한 후, MTT assay 를 통해 Vincamine 의 세포독성을 조사하였다. Fig. 8에 서처럼, 에탄올 추출, 열 추출 또는 Sigma 사로부터 구입한 빈카민 모두 유의성 있는 독성 효과가 나타나지 않았다.

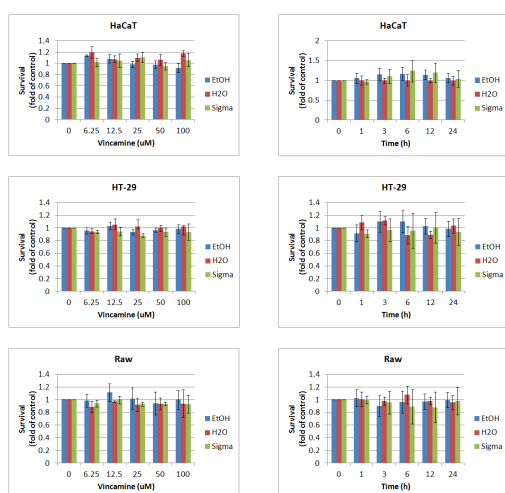


Fig. 8. Cell toxicity of HaCaT, HT-29 cell and Raw cell after inoculation of Vinca minor extracts and vincamine.
*EtOH : EtOH extract, H₂O : Hot water extract, Sigma : vincamine standard.

3.4. 세포내 활성산소 생성에서 추출물 및 빈카민의 효과

빈카민 유도체인 vincapocetine [14-ethoxycarbonyl-(3 α ,16 α -ethyl)-14, 15- eburnamine] 이 활성산소로부터 세포를 보호할 수 있다는 보고가 있었기에¹², 빈카민 및 추출물 처리에 따른 세포내 활성산소의 양의 변화를 조사해 보았다. 본 연구에 사용된 3 가지 세포주는 이미 활성산소가 생성된다고 잘 알려져 있다. HaCaT 와 HT-29 세포들은 Nox1, 4를 통해 활성산소를 생성하고¹³⁻¹⁴, 이는 각각 피부면역과 장내 면역에 기여하는 것으로 보고되고 있으며, Raw 세포는 침입한 미생물을 죽이기 위한 직접적인 수단으로 Nox1, 2 를 통해 활성산소를 생성시킨다¹⁵. 빈카민을 24h 동안 처리한 후, 세포내 활성산소 생성을 2',7'-dichlorofluorescein

diacetate (DCFDA) 를 이용하여 세포내 발생된 활성산소 양을 조사하였다.

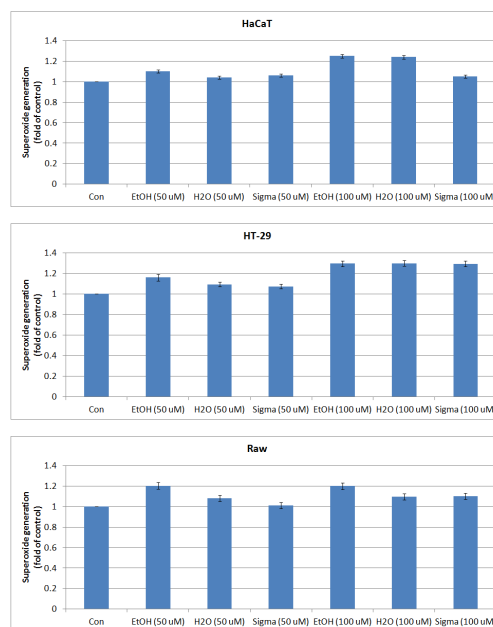


Fig. 9. The effect of reactive oxygen species (ROS) generation on cells after vincamine treatment.

*EtOH : EtOH extract, H₂O : Hot water extract, Sigma : vincamine standard.

Fig. 9에서처럼 많은 양의 변화는 보이지 않지만, HaCaT 와 HT-29 세포주에서 100 μ M의 빈카민 처리는 대조군과 비교해서 약 1.2 배의 세포내 활성산소 증가를 나타내었다. Raw 세포에서도 약간의 증가가 나타났지만 위의 두 종류의 세포와는 다르게 에탄올 추출물에서 좀 더 높은 활성산소 생성 결과가 조사되었다. 빈카민의 이러한 결과들은 상당히 흥미롭게 보여진다. 대부분의 면역활성 물질들은 많은 양의 활성산소 생성을 초래해 오히려 자기 자신과 주변세포에 많은ダメージ를 주지만, 빈카민의 경우는 별다른 독성을 나타내지 않고, 면역력을 증강시킬 수 있는 활성산소 생성을 적절하게 높이는 것으로 보인다. 따라서 빈카민과 마찬가지로 빈카민의 함량이 높은 EtOH 추출물에서 면역활성의 증가를 보이는 이유는 빈카민계 알칼로이드의 농도와 관계가 있는 것으로 추정된다.

4. 결론

빈카 마이너의 열수 추출물과 EtOH 추출물을 이용하여 항균활성과 세포독성 및 면역활성을 조사하였다. 그 결과 표준물질인 빈카민과 EtOH 추출물은 항균활성을 보이지 않았으나 열수 추출물은 비듬균(*Malassezia furfur*)에 대해 항균활성을 보였다. 또한 열수 추출물은 그람양성 및 음성세균에 속하는 바실러스(*Bacillus* sp.)와 대장균(*Escherichia coli*)에 대해서도 항균활성을 나타내었다. 추출물들의 세포독성은 실험에 사용된 세포군에서는 특이적인 세포독성은 발견 되지 않았다. DCFDA를 이용한 활성산소종을 측정된 결과 HaCaT와 HT-29 세포군에서 활성산소종의 형성이 약 20%정도 증가하는 것을 알 수 있었다. Raw 세포에서도 약간의 증가가 나타났지만 위의 두 종류의 세포와는 다르게 에탄올 추출물에서 좀 더 높은 활성산소 생성 결과가 조사되었다. 이러한 결과는 에탄올 추출물의 경우 대식세포가 반응하는 물질이 에탄올에 추출되었을 가능성을 제시할 수 있다.

대부분의 활성산소 생성을 자극하는 물질들은 높은 세포독성과 면역 활성화를 지속적으로 자극하여 활성산소를 생성하는 세포뿐 만 아니라 주변세포의 손상을 야기한다. 하지만 Vincamine 의 경우는 별다른 독성을 나타내지 않고, 적절한 수준의 활성산소 생성이 관찰되었다. 적은 양의 활성산소 생성은 다양한 세포들과 조직에서 면역기능을 위해서만 아니라 세포의 성장과 분열 및 항상성을 유지하는데 반드시 필요하다 (REF 4). 결국, Vincamine 의 적은 독성과 적절한 수준의 항균능 및 활성산소 생성능은 세포 및 인체조직의 면역 항상성을 유지하는데 많은 도움을 줄 것으로 보여진다. 특히 빈카민 의 경우는 별다른 세포독성을 나타내지 않고, 적절한 활성산소 생성을 유도해 면역활성을 높일 수 있어 천연물 소재로서 상업적 활용성이 높을 것으로 판단된다.

References

1. R. van der Heijden, D. I. Jacobs, W. Snoeijer, D. Hallard and R. Verpoorte, The Catharanthus Alkaloids: Pharmacology and Biotechnology. *Current Medicinal Chemistry*, 11, 607-628(2004).
2. H-Y. Lee, N. Yerkes, and S.E. O'Connor, Aza-Tryptamine Substrates in Monoterpene Indole Alkaloid Biosynthesis. *Chemistry & Biology*, 16, 1225-1229(2009).
3. J. Murata, J. Roepke, H. Gordon, and V. De Luca, The Leaf Epidermome of *Catharanthus roseus* Reveals It's Biochemical Specialization. *The Plant Cell*, 20, 524-542(2008).
4. Kyung-Hwan Jung and Hyang-Yeol Lee, 'Escherichia coli b-galactosidase-catalyzed synthesis of 2-phenoxyethanol galactoside and its characterization' *Bioprocess Biosyst Eng.* 38, 365-372(2014)
5. Hyang-Yeol Lee and Kyun-Hwan Jung, 'Enzymatic Synthesis of 2-phenoxyethanol Galactoside by Whole Cells of b-Galactosidase-Containing Escherichia coli.' *J. Microbiol. Biotechnol.* 24, 9, 1254-1259(2014)
6. Sang-Eun Lee, Hyang-Yeol Lee, and Kyung-Hwan Jung, 'Production of Chlorphenesin Galactoside by Whole Cells of β -Galactosidase-Containing Escherichia coli.' *Journal of microbiology and biotechnology*, 23(6), 826-832(2013).
7. Soo, Lee and Hyang-Yeol Lee, 'Studies of vindoline metabolism in Catharanthus roseus cell cultures using deuterium-labeled tabersonine,' *J. of the Korean Oil Chemists' Soc.*, 29(1), 71-80(2010).
8. Hyang-Yeol Lee, 'Analytical Characterization of Aza-Indole Alkaloids in the Biosynthesis of Catharanthus roseus,' *J. of the Korean Oil Chemists' Soc.*, 29(2), 248-256(2010).
9. Ming Yang, Jung Soon Kwak, Seri Jang, Yuan Jia and Inshik Park, 'Fermentation Characteristics of Soybean Yogurt by Mixed Culture of *Bacillus* sp.' *Korean Journal of Food and Nutrition*, 26(2), 273-279 (2013).
10. Eun-Ha Park, 'A Study on Efficiency of Essential Oil for Dandruff Symptoms Relief -Focused on Tea Tree Oil-' *Journal of the Korean Society of Fashion and Beauty*,

- 3(3), 31-40 (2005).
11. Ji-Eun Eom, Sung-Kwon Moon, and Gi-Seong Moon, 'Heterologous Production of Pediocin PA-1 in *Lactobacillus reuteri*' *Journal of Microbiology and Biotechnology*, 20(8), 1215-1218 (2010).
 12. Neuroprotection strategies: effect of vinpocetine in vitro oxidative stress models. Pereira C, Agostinho P, Moreira PI, Duarte AI, Santos MS, Oliveira CR. *Acta Med Port*. 2003 Nov-Dec;16(6):401-6. Epub 2003 Dec 1.
 13. Neuregulin induces HaCaT keratinocyte migration via Rac1-mediated NADPH-oxidase activation. Kim JS, Bak EJ, Lee BC, Kim YS, Park JB, Choi IG. *J Cell Physiol*. 2011 Nov;226(11):3014-21. doi: 10.1002/jcp.22649.
 14. Anthrax edema toxin inhibits Nox1-mediated formation of reactive oxygen species by colon epithelial cells. Kim JS, Bokoch GM. *J Innate Immun*. 2009;1(2):145-52. doi: 10.1159/000151481. Epub 2008 Aug 18.
 15. The NOX family of ROS-generating NADPH oxidases: physiology and pathophysiology. Bedard K, Krause KH. *Physiol Rev*. 2007 Jan;87(1):245-313.