Journal of the Korean Applied Science and Technology
Vol. 39, No. 5. October, 2022. 644~651
ISSN 1225-9098 (Print)
ISSN 2288-1069 (Online)
http://dx.doi.org/10.12925/jkocs.2022.39.5.644

UVB로 산화적 손상을 유도한 피부섬유아세포에 Saponaria 추출물의 보호효과

김보애†

목원대학교 화장품공학과, 교수
(2022년 9월 29일 접수: 2022년 10월 24일 수정: 2022년 10월 24일 채택)

Protective Effect of Saponaria Extract Against UVB-Damage in Skin Fibroblasts

Bo-Ae Kim†

Department of Cosmetic Engineering, College of Technology Sciences, Mokwon University, Doanbuk-ro88, Seo-gu, Daejeon 35349, Korea
(Received September 29, 2022; Revised October 24, 2022; Accepted October 24, 2022)

요 약 : 피부는 인체를 구성하는 가장 큰 장기로 생체 내부를 보호한다. 자외선은 피부에 광노화와 산화적 손상을 비롯한 다양한 염증반응을 일으킨다. 본 연구의 목적은 섬유아세포에서 UVB를 조사하여 Saponaria 추출물의 보호 효과를 조사하는 것이다. 본 연구에서는 UVB에 의한 세포독성과 산화적 세포사멸, NO 및 PGE_2 생성에 대한 보호활성을 나타내는 Saponaria의 유효성을 평가하였다. HS68 세포를 UVB(120mJ/cm^2)에 조사하고 100, 200, 400 μg/mL의 다양한 농도로 Saponaria 추출물로 24시간 동안 처리하였으며, 자외선 B에 의해 생성된 세포 내 활성 산소 종(ROS)은 DCF-DA 염색 후 분광 형광계를 사용하여 검출하였다. 또한 지질 과산화는 배양 배지로 분비되는 8-이소프로스탄의 수준을 측정하여 분석하였다. 그 결과 Saponaria 추출물이 UVB에 의한 세포독성을 효과적으로 억제하였다. 산화적 세포 손상은 UVB로 유도된 HS68 섬유아세포에서 PGE_2를 매개하였고, 이는 사포나리아 추출물 처리에 의하여 유의하게 억제되었다. 또한, 이들 추출물의 보호 효과는 농도 의존적으로 세포내 ROS 생성 및 지질 과산화 억제에 의해 매개되는 것으로 평가되었다. 이러한 결과는 Saponaria 추출물이 자외선 B에 의한 산화적 스트레스로 매개한 피부 손상을 억제하여 세포 보호효과를 나타내므로 항노화 기능성 소재로 활용될 수 있을 것으로 사료된다.

주제어 : 사포나리아, 자외선 조사, 섬유아세포, 산화적 스트레스, 항염증 활성

†Corresponding author
(E-mail: kba@mokwon.ac.kr)

Abstract : The skin is the largest organ of the human body and protects the inside of the body. Ultraviolet rays cause various inflammatory reactions in the skin, including photoaging and oxidative damage. The purpose of this study is to investigate the protective effect of Saponaria extract by irradiating UVB on fibroblasts. In this study, the effectiveness of Saponaria showing protective activity against UVB-induced cytotoxicity, oxidative cell death, and NO and PGE_2 production was evaluated. HS68 cells were irradiated with UVB(120 mJ/cm^2) and treated with Saponaria extract at various concentrations of 100, 200, and 400 μg/mL for 24 hours. Intracellular reactive oxygen species (ROS) generated by ultraviolet B were detected using a spectrofluorometer after DCF-DA staining. Lipid peroxidation was also analyzed by measuring the level of 8-isoprostane secreted into the culture medium. As a result, treatment with Saponaria extract effectively inhibited UVB-induced cytotoxicity. Oxidative cell damage was mediated by PGE_2 in UVB-induced HS68 fibroblasts, which was significantly inhibited by Saponaria extract treatment. In addition, it was evaluated that the protective effect of these extracts was mediated by the inhibition of intracellular ROS production and lipid peroxidation in a concentration-dependent manner. These results suggest that Saponaria extract can be used as an anti-aging functional material because it inhibits skin damage mediated by oxidative stress caused by UVB and exhibits a cellular protective effect.

Keywords : Saponaria, ultraviolet radiation, fibroblast, oxidative stress, anti-inflammation activity

1. 서 론

피부는 표피, 진피 및 피하지방으로 구조를 갖고 있으며 외부의 유해한 환경으로부터 최외각 장벽 역할을 하며 인체 항상성을 유지해 몸을 보호한다[1]. 즉 물리적, 화학적, 생물학적 피부 장벽 기능으로 체내 보호 외에도 체온유지, 온도감지, 에너지 저장, 땀이나 피지의 분비 및 지용성 성분의 흡수, 비타민 D 합성 작용 등 많은 역할을 담당하고 있다[2]. 반면 외부의 자극이 반복되면 1차적으로 가장 먼저 손상되기 쉬운 부분이다. 외부 자극을 일으키는 주요 인자로서는 자외선 A, B, C, 카드뮴, 납, 수은, 니켈 등과 같은 중금속을 포함하는 황사와 미세먼지, 자동차 및 산업 매연, 세균, 기온의 차이 등이 있다. 이들은 지속적으로 피부의 산화적 스트레스를 유도하기 때문에 활성산소종(reactive oxygen species, ROS)을 증가시키고 항상성 시스템을 약하게 만들어 피부조직과 세포의 손상 및 유전정보 교란을 유도하여 생체 손상으로 이어지게 한다[3].

환경오염으로 인하여 대기층은 불안정해지고 지표면에 도달하는 자외선의 양은 점점 증가하고 있으나 현대인의 여가생활을 위한 야외활동은 증가하고 있다. 또한 현대인들에게서 나타날 수 있는 다양한 형태의 스트레스와 서구화된 식습관 또한 피부 건강을 저하시키는 요소들로 작용하고 있다[4]. 그 중에서도 피부노화와 손상의 직접적인 원인이 되는 자외선에 대한 관심이 급증하고 있다. 자외선은 피부 내의 활성산소종을 증가시켜 세포내 항산화 기능을 약화시키는 것으로 알려져 있다. 지속적인 자외선 노출로 인하여 발생하는 노화를 광노화(photoaging)라 하며, 잔주름, 굵은 주름, 피부 색소 침착, 건조증상, 피부염증 및 심하면 피부암 발병으로 이어지게 된다[5].

자외선 280~320nm의 파장을 갖는 UVB는 세포외기질(ECM)의 주성분인 콜라겐을 파괴하여 피부 조직에 상당한 변화를 일으킨다[6]. 광노화에서, 자외선 노출은 ROS 생성을 촉진하면서 신체의 항산화 방어를 손상시키고 산화 스트레스를 유발하며 염증성 사이토카인 분비를 촉진한다. 또한 표피의 각질형성세포를 활성화하고 진피에서 매트릭스 메탈로프로테이나제(matrix metallo-proteinases, MMP)를 유도하여 섬유아세포를 포함한 피부 전반적인 노화를 촉진한다[7]. 매우 낮은 수준의 UVB 노출에서도 피부세포에 ROS가 증가하여 단백질 변형, DNA 교란, 및 과산화지질 형성. MMP의 발현을 촉진해 콜라겐과 엘라스틴 섬유의 분해를 매개하여 각종 노화 징후들을 나타나게 한다[8]. 따라서 자외선으로부터의 피부 손상을 감소시키기 위해서는 항산화 방어

메커니즘을 이해해야 하고, 이를 이용하여 인체 안전성이 높은 천연유래 성분으로부터 유용한 항산화 물질을 탐구하는 것이 중요하다[9].

Saponaria는 꿀풀과에 속하며 학명은 *Saponaria officinalis*로 비누풀속으로 유럽원산의 여러해살이풀이다. 한방에서는 만성피부병, 매독, 선병(腺病), 세척료에 활용된다고 알려져 있으며, 7~8월경에 채집해서 약용으로 사용한다. 주요성분으로는 alkaloid계 성분 leonurine, stachydrine, flavonoid계 성분으로 triterpene, 수지, 점액성 물질, 스테롤, 비타민 C, 그 밖에 휘발성 정유 등을 포함하며, 양친매성 성질을 지니는 천연계면활성 성분으로 사포닌을 함유하고 있다. 사포닌을 다량 함유하고 있기 때문에 유화력, 기포력 등을 연구하여 천연계면활성제로서의 연구[10]가 진행되었다.

상기와 같이 Saponaria는 풍부한 항산화 물질을 포함하고 있고 만성피부병 치유 효과가 있는 것으로 보아 산화적 손상을 억제하는데 긍정적인 영향을 나타낼 것으로 판단되었다. 또한 Saponaria 추출물의 자외선 B에 의한 섬유아세포의 산화적 손상에 미치는 영향에 대해서 연구된 바가 없어 이에 대하여 구체화하였으며 자외선 B에 의한 산화적 스트레스를 저하하는 항노화 물질 소재로서의 가능성을 평가하기 위하여 아래와 같은 일련의 실험을 수행하였다.

2. 실 험

2.1. Saponaria 추출물 제조

Saponaria는 경남 김해에서 생산된 제품을 구입하여 사용하였다. 건조된 Saponaria를 분쇄하고 100 μm mesh로 통과시킨 후 70%(v/v) 에탄올에 침지하여 45℃에서 40KHz의 초음파로 1시간 초음파 추출하였다. 얻어진 추출물은 Whatman No 1 filter paper로 여과한 후 rotary vacuum evaporator로 농축하여 세포실험에 사용하였다.

2.2. 인간 섬유아세포 배양

인간 섬유아세포주인 HS68(human skin fibroblast)은 대구한의대학교 화장품연구실로부터 분양받아 사용하였으며 세포배양을 위하여 Dulbecco's modified Eagel's medium(DMEM), fetal bovine serum(FBS) 및 penicillin/streptomycin은 Gibco사(Grand Island, NY, USA) 제품을 구입하여 사용하였다. DMEM에 10%의 FBS와 100 U/㎖ penicillin 및 100 ㎍/㎖ streptomycin을 혼합하여 배지로 활용하였으며 37℃, 5% CO_2조건의 인큐베이터에서 계대배양하며 실험하였다.

2.3. 자외선으로 세포 손상 유도

자외선 B 조사를 통해 피부세포의 독성 및 산화적 손상에 대한 Saponaria 추출물의 보호 효과를 평가하기 위해 자외선 B를 다음과 같은 실험조건으로 조사하였다[10]. HS68 세포를 85%의 밀도가 되게 배양한 후 배지를 제거하여 인산완충용액(phosphate buffered saline, PBS)으로 2~3회 세척하였으며 자외선 조사장치 (UV-X000; LAB24, Seoul, Korea)를 사용해 120 mJ/cm^2의 자외선 B를 세포에 조사하였다. 자외선을 조사한 후에 Saponaria 추출물을 다양한 농도(100, 200, 400 μg/mL)로 처리하여 24시간 동안 배양하며 관찰하였다.

2.4. 세포 독성 평가

시험 종료 후 배지를 제거하고 MTT solution(MTT [3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyl tetrazolium bromide])을 넣고 24시간 동안 37℃, 5% CO_2 인큐베이터에서 배양했다. 배양한 후에 MTT solution을 제거해 형성된 formazan crystal을 DMSO로 용해한 후 microplate reader(Bio-Rad Laboratories, CA, USA)로 570 nm에서 흡광도를 측정하였다.

2.5. NO(Nitric oxide) 측정

NO의 생성량은 세포 배양액의 nitrite 농도를 Griess reagent system을 이용해 측정하였다[11]. 자외선 B를 조사한 HS68세포에 Saponaria 추출물을 농도별로 처리하고 24시간 배양 후 배양액의 100 μL와 동일한 Griess reagent를 처리하고 10분간 반응시켜 microplate reader로 540 nm에서 흡광도를 측정하였다. Sodium nitrite의 농도별 standard curve를 이용해 NO 농도를 확인하였다.

2.6. Prostaglandin E_2 (PGE_2)생성량 측정

자외선 B로 세포손상을 유도한 후 추출물을 농도별로 처리하고 24시간 후에 원심분리(12,000rpm, 3min)하여 획득한 상층액에서 PGE_2

생성량을 측정했다. 배양 상층액에서 PGE_2 양을 효소면역분석법(Enzyme immunoassay kit, Cayman chemical, Ann Arbor, MI, USA)을 사용하여 평가하였다[12].

2.7. 활성산소종(ROS) 측정

세포 내의 ROS 평가는 2',7'-dichlorofluoroescein diacetate(DCFH-DA)가 세포안으로 투과한 후 아세틸기가 유리된 2'7'-dichlorofluoroescin(DCFH)의 형태에서 ROS와 반응하여 녹색 형광을 생성하는 반응을 이용해 실험하였다[13]. 자외선 B를 조사한 피부세포의 ROS를 측정하기 위해 상기의 배양조건에서 24시간 동안 배양된 세포에 10 μM DCFH-DA이 첨가된 DMEM 배지로 30분 처리한 후 HBSS로 3회 세척하고 fluorescence microplate reader (Nikon, Eclipse TS100 Epi-fluorescence, Tokyo, Japan)를 이용하여 excitation 485 nm, emission 530 nm에서 형광 세기를 측정했다.

2.8. 과산화지질(Lipid peroxidation) 측정

세포막을 구성하는 최외각 지질의 과산화반응(lipid peroxidation)은 120 mJ/cm^2 자외선 B로 조사한 후에 추출물을 처리하고 24시간 배양한 배양 상층액으로부터 분비된 8-Isoprostane의 생성량을 효소 면역분석 키트(enzyme immunoassay, Cayman Chemical, Ann Arbor, MI, USA)를 활용하여 비색정량법(colorimetric determination)을 통해 측정했다.

2.9. 통계적 검증

실험 결과는 mean±S.D로 나타내었으며 Student's t-test 방법으로 통계적 유의성 검정을 조사하였고, 유의수준은 $p < 0.05$ 미만인 경우 유의성이 있는 것으로 판단하였다.

3. 결과 및 고찰

3.1. 자외선으로 손상을 유도한 피부세포에 Saponaria 추출물의 보호효과

자외선 B는 피부를 구성하는 각질형성세포 및 섬유아세포에 면역저하, 염증매개 물질 증가, 유전자정보의 손상을 통한 각종 피부 질환과 광노화 유발을 촉진하는 것으로 잘 알려져 있다[14]. 자외선 B로 손상이 유도된 HS68의 산화적 손상 및 독성에 대한 Saponaria 추출물의 보호효과를 평가하기 위하여, 일련의 실험을 수행하기에 앞서 추출물을 섬유아세포에 단독으로 처리해 추출물 자체가 세포생존율에 미치는 영향을 평가하였다. Saponaria 추출물 (100, 200, 400 μg/mL)을 HS86 세포주에 24시간 동안 처리하고 MTT assay로 세포독성을 실험한 결과 모든 농도에서 세포 독성을 나타내지 않았다. 가장 높은 농도인 400 μg/mL에서도 97.87%의 높은 생존율을 나타내었다. 그리고 추출물 처리와 동시에 자외선 B를 조사하여 세포독성을 실험 결과 Saponaria 추출물을 함께 처리한 그룹에서 세포생존율이 증가하는 것을 확인할 수 있었다[Fig. 1]. 이는 Saponaria 추출물이 섬유아세포에서 자외선B 조사로 인한 세포독성 감소의 효과가 있다는 것을 나타내는 것이며, 추출물 자체로도 안전성이 우수한 것으로 판단된다.

3.2. NO와 PGE_2 생성량에 미치는 영향

NO 생성은 자외선으로부터 유도되는 염증반응과 깊은 관련이 있으며, 염증성 사이토카인의 자극으로 인해 연쇄적으로 유도된다. 자외선 자극에 의하여 염증반응이 유발되고 이를 전달되는 과정에서는 COX-2가 급격히 발현되고 PGE_2를 방출하게 된다[15]. 이를 바탕으로 본 연구에서는 Saponaria 추출물이 자외선 B에 의한 산화적 손상에 미치는 영향을 평가하기 위해서 염증매개인자의 반응을 관찰하였다. 그 결과 자외선 B로 염증반응을 유도한 HS68 세포에 Saponaria 추출물을 처리했을 때 염증매개물질이 감소되는 것을 확인하였다. 자외선 B를 단독으로 조사한 군에서는 20.00±0.82 μM의 NO 생성량을 나타냈으며 Saponaria 추출물을 함께 처리한 군에서는 농도 의존적으로 NO 생성이 감소되었다. 즉 Saponaria 추출물 100, 200, 400 μg/mL 농도에서 각각 16.49±0.82, 15.29±0.79, 12.97±1.79 μM의 NO 생성량을 나타내었다. 또한 PGE_2는 자외선 B를 단독으로 조사하였을 때 1.82±0.30 ng/mL의 PGE_2 생성량을 나타냈으며 Saponaria 추출물 100, 200, 400 μg/mL로 처리하였을 때는 각각 1.46±0.39, 1.24±0.20, 1.14±0.24 ng/mL의 수준으로 나타났다[Fig 2.]. 기존 연구에 의하면 자외선 A, B로 손상을 유도한 각질형성세포와 섬유아세포에서 NO와 PGE_2 생성량이 급격하게 증가하는 것으로 연구된바 있으며 그 중에서도 익모초 에탄올 추출물을 처리하였을 때

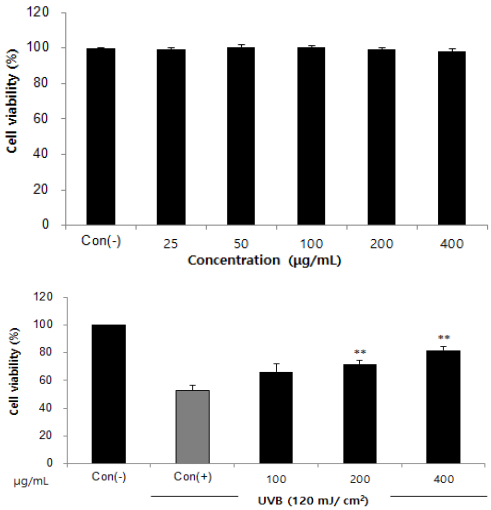

Fig. 1. Protective effect of Sponaria extract on the UVB-induced cytotoxicity. HS68 cells were exposed to UVB (120 mJ/cm^2) and treated with various concentrations(100, 200, 400 μg/mL) of Sponaria extract for additional 24 h. The data is expressed as percentage cell viability and represent the means. Data shown are from a representative experiment repeated three times with similar results. The values are the mean±standard error of mean. $^{**}p < 0.001$ compared the control group.

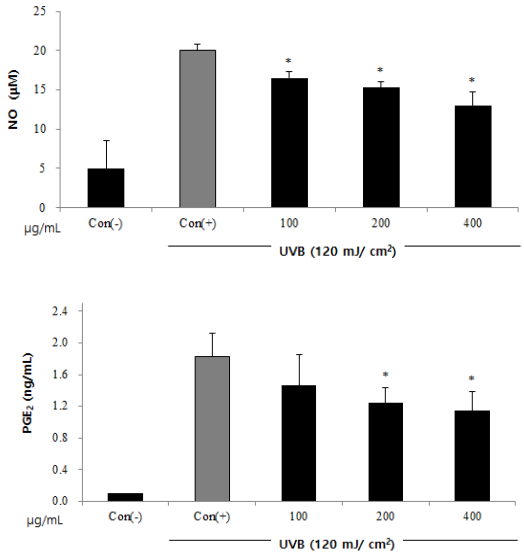

Fig. 2. The Saponaria extract suppressed UVB-induced NO and PGE_2 production. HS68 cells were exposed with UVB alone or with various concentrations of extracts. The data is expressed as percentage cell viability and represent the means. Data shown are from a representative experiment repeated three times with similar results. The values are the mean±standard error of mean. $^{*}p < 0.05$ compared the UVB-alone group.

PGE_2 생성이 저해되는 것으로 보고된 바 있다[14]. 본 연구의 실험 결과와 같이 천연추출물은 다양한 항산화 물질을 포함하고 있는바 자외선에 의한 염증반응을 감소시켜줄 수 있는 유용한 소재로서의 활용될 수 있다.

3.3. 자외선으로 산화적 손상을 유도한 피부 세포내 ROS 평가

자외선이 세포에 조사되면 H_2O_2(hydrogen peroxide)와 같은 활성산소가 급격히 생성되고, 생성된 H_2O_2는 Fenton reaction에 의하여 반응성이 큰 hydroxyl radical을 형성한다[16]. 이와 관련하여 Saponaria 추출물이 자외선 조사로 일어나는 섬유아세포 내의 활성산소 발생을 감소시키는 효능을 평가하기 위해, 일련의 실험을 수행하였다. 그 결과 자외선 B를 단독으로 조사한 군에서는 ROS가 195.74±7.32의 수치로 음성 대조군에 비해 약 2배 증가하였으며, Saponaria 추출물을 100, 200, 400 μg/mL의 농도로 처리하였을 때 각각 163.12±14.66, 154.48±5.69, 142.03±15.59 수치로 유의하게 ROS가 감소되었다[Fig. 3]. 이는 Saponaria 추출물의 자외선 B에 의한 산화적 손상을 억제하는 유용한 소재로서의 가능성으로 평가된다.

3.4. 세포막 과산화지질 억제 효과

세포의 막을 구성하는 지질성분은 ROS에 의하여 과산화반응이 유도되며 8-isoprostane, malondialdehyde, 4-hydroxynonenal와 같은 물질들을 증가시킨다. 따라서 본 연구에서는 자외선 B로부터 유도된 섬유아세포의 지질과산화 억제 효능을 8-Isoprostane의 변화로 평가하였다. Saponaria 추출물을 이용한 지질 과산화 억제 활성의 결과는 Fig. 4에 나타낸 것 처럼 Saponaria 추출물의 농도 의존적으로 과산화지질 생성 감소 효과가 나타났고, 400 μg/mL의 농도에서는 자외선을 단독으로 처리한 양성대조군 대비 약 31.29%의 8-isoprostane 생성을 감소시켰다. 이는 세포내 활성산소 소거가 농도 의존성 있게 나타난 것과 관계가 있는 것으로 평가된다. 즉 자외선에 의하여 산화적 손상이 유도되면 피부세포에서 iNOS가 발현되어 NO가 생성되고, 과도하게 생성된 NO는 체내 세포막의 과산화지질 증가와 함께 인체를 구성하는 조직의 손상, 세포 변형, 유전자 변이, 신경 손상 등을 유발해, 혈관 투과성이 증가되어 염증 반응을 촉진시킨다. 본 결과를 통해 Saponaria 추출물이 NO 생성과 더불어 세포막 과산화지질 생성을 억제하는 것으로 볼 때 Saponaria 추출물은 외부로부터 발생하는 다양한 산화적 손상을 감소시켜 줄 수 있는 항산

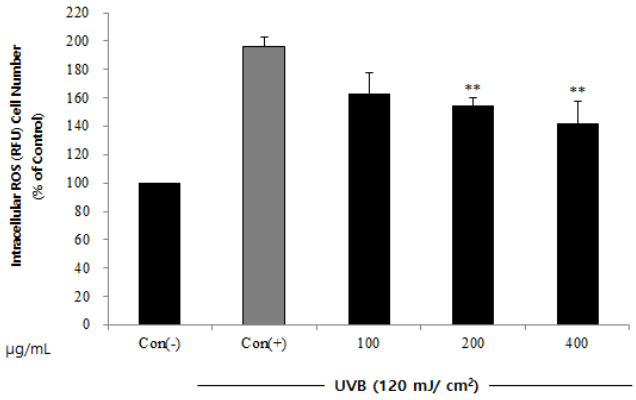

Fig. 3. Cellular antioxidant activity of Saponaria extract in UVB-induced oxidative stress in HS68 cells. Intracellular reactive oxygen species (ROS) levels generated by UV radiation were detected using a spectrofluorometer after DCF-DA staining. The data is expressed as percentage cell viability and represent the means. Data shown is from a representative experiment repeated three times with similar results. The values are the mean±standard error of mean. $^{**}p < 0.001$ compared the UVB-alone control group.

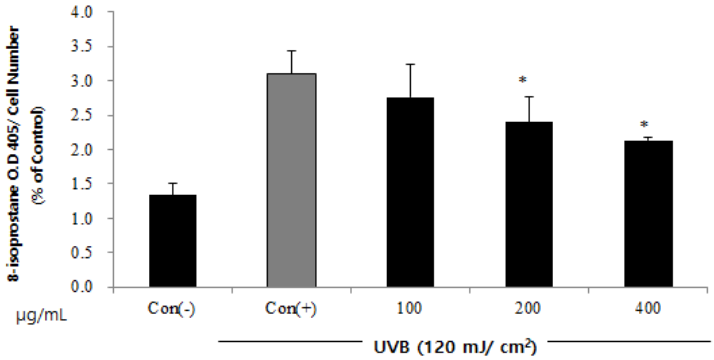

Fig. 4. Modulation of UVB-induced lipid peroxidation by Saponaria extract. HS68 cells were irradiated with UVB and then treated with Saponaria extract for 12 h. The lipid peroxidation was assayed by measuring the levels of 8-isoprostane secreted into the culture medium. The data are expressed as percentage cell viability and represent the means. Data shown is from a representative experiment repeated three times with similar results. The values are the mean±standard error of mean. *p < 0.05 compared the UVB-alone group.

화 물질로 활용될 수 있을 것으로 평가된다.

4. 결 론

본 연구는 Saponaria 에탄올 추출물의 피부세포 독성에 미칠 수 있는 영향과 자외선 B 조사에 의하여 발생하는 염증반응 및 과산화지질 생성으로부터 세포보호 효과에 대해 연구해 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 섬유아세포에 Saponaria 추출물을 처리하여 MTT assay를 통해 세포의 생존율을 평가한 결과 추출물 400 μg/mL의 농도에서는 97.87%의 높은 생존율을 나타내어 세포독성이 관찰되지 않았다.

2. 자외선 B로 손상을 유도한 섬유아세포에서 Saponaria 추출물의 세포보호 효과를 평가한 결과 Saponaria 추출물 400 μg/mL 농도로 처리한 경우 세포의 생존율이 81.84%로 자외선으로부터의 세포보호 효과가 높은 것으로 확인되었다.

3. Saponaria 추출물의 항염 효과를 평가한 결과 자외선 B를 단독으로 조사한 양성대조군과 비하여 염증매개물질인 NO와 PGE_2 생성량이 유의미하게 감소되는 것으로 평가되었으며 농도가 증가할수록 효능이 증가하였다.

4. Saponaria 추출물을 활용한 세포막 지질과산화 억제 활성 효능을 평가한 결과 Saponaria 추출물의 농도가 증가할수록 농도 의존적으로 ROS와 과산화지질 생성이 감소하는 것으로 평가되었다.

이상의 결과는 Saponaria 추출물이 자외선에 의한 산화적 손상으로부터 피부 섬유아세포를 보호하는 역할과 동시에 자외선으로부터 유도된 염증매개인자를 유의미하게 감소시키는 효과를 나타내므로 피부보호를 위한 다양한 제품에 활용가능성이 높은 것으로 사료된다.

References

1. Roosterman D, Schneider SW, Bunnett NW and Steinhoff M, “Neuronal Control of Skin Function : The Skin as a Neuroimmunoendocrine Organ”, *Physiol*

Rev, Vol.86, No.4 pp. 1309-1379, (2006).
2. Sylvie VS and Bonte F, "Skin hydration : A review on its molecular mechanisms", *J. Cosmetic Dermatol.* Vol.6, No.2 pp. 75-82, (2007).
3. Chiba K, Kawakami K, Sone T and Onoue M, "Characteristics of skin wrinkling and dermal changes induced by repeated application of squalene monohydroperoxide to hairless mouse skin", *Skin Pharmacol. Appl. Skin Physiol,* Vol.16, No.4 pp. 242-251, (2003).
4. Matzen RN. *Preventive medicine: definition and application. In : R. S. Lang and D. D. Hensrud, Editors.* pp. 3-9 Clinical preventive medicine, (2004).
5. Fazekas Z, Gao D, Saladi RN, Lu Y, Lebwohl M and Wei H, "Protective effects of lycopene against ultraviolet B-induced photodamage", *Nutrition and Cancer*, Vol.47, No.2 pp. 181-187, (2003).
6. Uitto, J, "The role of elastin and collagen in cutaneous aging: Intrinsic aging versus photoexposure", *J. Drugs Dermatol,* Vol.7, pp. 12-16, (2008).
7. Im, A.-R. Yeon, S.H. Lee, J.S. Um, K.A. Ahn, Y.-J. Chae, "Protective effect of fermented Cyclopia intermedia against UVB-induced damage in HaCaT human keratinocytes", *BMC Complement. Altern. Med,* Vol.16, pp. 261, (2016).
8. Quan, T. Qin, Z. Xia, W. Shao, Y. Voorhees, J.J. Fisher, G.J, "Matrix-Degrading Metalloproteinases in Photoaging", *J. Investig. Dermatol. Symp. Proc.* Vol.14, pp. 20-24, (2009).
9. Lim SW, Ryoo HC and Lee SH, "Understanding of skin aging and its prevention and care", *JSBR.* Vol.4, No.1, pp. 71-80, (2002).
10. Young Ah Jang, Bo Ae Kim. "Protective Effect of Spirulina-Derived C-Phycocyanin against Ultraviolet B-Induced Damage in HaCaT Cells", *Medicina,* Vol.57, pp. 273. https://doi.org/medicina57030273 (2021)
11. Athar, M(2002). "Oxidative stress and experimental carcinogenesis", Indian J. Exp. Biol. Vol.40, 656-667.
12. Ann SM, Yoon HY, Lee BG, Park KC, Chung JH, Moon CH and Lee SH, "Fructose-1,6-diphosphate attenuates prostagladin E_2 production and cycloxygenase-2 expression in UVB-irradiated HaCaT keratinocyte", *British Journal of phamacology,* Vol.137, No.4, pp. 497-503, (2002).
13. Rosenkranz AR, Schmaldienst S, Stuhlmeier KM, Chen W, Knapp W and Zlabinger GJ. "A microplate assay for the detection of oxidative products using 2',7'-dichlorofluorescin-diacetate", *J. Immunol. Methods,* Vol.156, No.1, pp. 39-45, (1992).
14. Bo Ae Kim, "Activities of Extract from Leonurus sibiricus Against UVB-Damage in HS68 Cell", *The Korea Journal of Herbology,* Vol.32, No.5, pp. 13-18, (2017).
15. Gaffney DK. Holden J, Davis M, Zempolich K, Murphy KJ and Dodson M, "Elevated cyclooxygenase-2 expression correlates with diminished survival in carcinoma of the cervix treated with radiotherapy", *Int J. Radiat Oncol. Biol. Phys.* Vol.49, No.5, pp. 1213-1217. (2001).
16. Thomas CM, Mackey M, Diaz AA, "Hydroxyl radical is produced via the Fenton reaction in submitochondrial particles under oxidative stress: implications for diseases associated with iron accumulation", *Redox Rep.* Vol.14, No.3, pp. 102-108, (2009).