

P8-47

맥엽 추출물의 항산화 효과 및 아질산염 소거능

홍이진¹, 이민숙, 조재민, 주상섭¹, 노숙령², 김경탁³, 이성희.

(주)아미노젠 중앙연구소, ¹서울대학교 약학대학 제약학과, ²중앙대학교 식품영양학과, ³한국식품개발연구원

맥엽의 항산화 효과 및 아질산염 소거능을 측정하고자 맥엽의 성숙시기 중 총 클로로필과 영양의 함량이 가장 높은 시기인 약 20 cm 정도로 성장한 맥엽을 주 원료로 하여 입자 크기별로 수층과 메탄올층을 추출하였으며 항산화 기능성 물질의 첨가로 antioxidant mixture를 제조하여 이들의 항산화 효과를 세포 실험을 통하여 검증하였다. 피부 진피 세포인 Detroit551(normal skin fibroblasts, human)에 PQ(paraquat)와 H₂O₂를 0.1M, 0.5M, 1M, 2.5M, 5M로 처리하여 산화적 스트레스를 유발한 후 각 처리군에 맥엽과 항산화 조성물을 처리하고 세포 생존율을 측정한 결과는 다음과 같다. Detroit551에 맥엽의 입자별 각 추출물과 맥엽에 여러 항산화 조성물을 첨가한 시료군을 처리하여 cell survival (%)을 측정된 결과 1 mM H₂O₂ 이내에서는 생존율이 증가하는 것을 관찰할 수 있었으나 H₂O₂의 처리 농도가 1 mM 이상인 범위에서는 효과적이지 않은 반면 PQ의 경우 맥엽과 항산화 조성물의 수층과 메탄올층 및 실크 펩타이드의 처리 농도에 비례하여 높은 cell survival(%)을 나타내었다. 발암성 물질로 알려진 nitrosamine의 전구물질로 작용하는 아질산염에 대한 맥엽 추출물과 항산화 기능성 물질 첨가군의 소거능을 측정된 결과 맥엽 추출물에서는 20~52%의 범위로 낮은 아질산염 소거능을 보였으나 모든 메탄올 추출물군에서는 75% 이상의 높은 소거능을 나타내었다. 항산화 조성물을 첨가한 맥엽군 중 메탄올 추출물의 경우 95% 이상의 가장 높은 아질산염 소거능을 나타내었으며 맥엽의 입자 크기에 따른 유의적인 차이는 나타나지 않았다. 따라서 맥엽과 항산화 조성물은 산화적 스트레스에 대한 세포 보호 효과뿐 아니라 체내에서의 nitrosamine 생성을 억제할 수 있을 것으로 사료된다.

P8-48

Quercetin이 인체 대장암세포에서 Apoptosis에 미치는 영향

방명희¹, 윤정환¹, 김우경. 단국대학교 식품영양학과, ¹한림대학교 식품영양학과

Quercetin (3,3',4',5,7-pentahydroxyflavon)은 대표적인 flavonoid 화합물로 식물체에 다량 함유되어 있어 1일 50-500 mg 정도를 섭취하게 되며 항암 작용이 있는 것으로 알려져 다양하게 연구되고 있다. 본 연구에서는 대장암 세포 HT-29 cell에서 quercetin이 세포사멸에 미치는 영향을 알아보고자 하였다. 대장암 세포 HT-29를 24 well plate에 2.5 X 10⁴/ml로 plating하여 일반 배양액인 DMEM/F12 (10% FBS)로 2일 배양하였다. Serum free medium (SFM)으로 24시간 배양하고 SFM에 quercetin을 0, 25, 50, 100 µM 농도로 첨가하여 48, 96시간 배양한 후에 MTT assay를 실시하였다. Apoptosis를 알아보기 위해 100 mm dish에 5 X 10⁵/ml로 plating하여 일반 배양액인 DMEM/F12 (10% FBS)로 2일 배양하였다. Serum free medium으로 24시간 배양하고 SFM에 quercetin을 0, 25, 50, 100 µM 농도로 처리하여 72시간 후 extraction buffer로 세포를 파괴하고 10% SDS, RNase, proteinase K와 반응 시킨 후 원심분리하였다. 3 M sodium acetate와 100% ethanol로 처리하여 DNA를 얻어 정량한 후 DNA laddering을 실시하였다. 또한 apoptosis를 억제하는 것으로 알려진 bcl-2와 apoptosis를 촉진하는 것으로 알려진 bax 발현을 알아보기 위해 western blotting을 실시하였다. MTT assay 결과 quercetin 첨가 48시간 후에는 0 µM을 대조군으로 하여 25, 50, 100 µM에서 각각 103.4, 76.9, 48.1 %의 생존율을 보였으며, 96시간 후에는 92.0, 43.3, 18.9%의 생존율을 보여 농도별, 시간별에 따라 대장암 세포의 증식 억제 효과를 볼 수 있었다. DNA laddering을 실시한 결과 quercetin 첨가 농도가 높을수록 DNA의 절단 현상을 뚜렷하게 볼 수 있었다. Apoptosis의 기전을 알아보기 위해 bcl-2, bax의 발현을 알아본 결과, bcl-2는 quercetin의 첨가 농도가 증가할수록 발현이 유의적으로 감소하였으며 bax의 경우는 농도에 따른 변화가 없었다. 그리고 bcl-2/ bax ratio는 quercetin의 첨가 농도가 증가 할수록 그 비율이 현저하게 감소하는 것을 관찰 할 수 있었다 이로써 quercetin은 HT-29 대장암 세포에서 bcl-2 발현을 억제시킴으로써 apoptosis를 유발하는 것을 알 수 있었다.