

치콘 추출물의 항산화 활성

강 현 우

영산대학교 한국식품조리학과

Antioxidative Activity of Extracts from *Cichorium endivia* L.

Hyun Woo Kang

Dept. of Korean Food & Culinary Arts, Youngsan University, Busan 612-080, Korea

Abstract

Antioxidant activity and neuroprotective effects of extracts from *Cichorium endivia* L. (CEL) on hydrogen peroxide-induced oxidative damage in neuronal cells were investigated. The total polyphenol and flavonoid contents of the water and ethanolic extracts from CEL were 36.2 ± 0.99 , 37.2 ± 3.76 mg gallic acid equivalent/g extract, and 46.9 ± 5.22 , 53.86 ± 5.09 mg catechin equivalent/g extract, respectively. In addition, antioxidant activities of the extracts were also determined by ferric reducing antioxidant power (FRAP), 2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) (ABTS) radical scavenging activity and reducing power. In an MTT assay on the neuronal cells, the extracts showed a protective effect by increasing cell viability on hydrogen peroxide-induced oxidative damage in neuronal cells. Antioxidative enzyme (superoxide dismutase: SOD, catalase: CAT) levels in cultured neuronal cells were increased in the presence of extracts from CEL. It was found that CEL extracts inhibited hydrogen peroxide-induced Bcl-2 and Bax expression in neuronal cells. These results indicate that the CEL extracts possess an antioxidant activity.

Key words: antioxidant activity, neuroprotective effect, *Cichorium endivia* L., neuronal cells

서 론

식품의 주요기능은 영양을 공급하며 먹는 즐거움을 통하여 삶의 만족을 주는 것으로 알려져 있지만 현대 사회에서는 식품의 3차 기능인 특정식품이나 성분에 관한 유용성에 관심이 집중되어지고 있는 추세이다. 그 원인으로는 경제성장에 맞추어 국민의 소득 증가를 꾀할 수 있으며 이에 따라 건강에 대한 관심이 높아지고 이에 대응하는 항산화, 항암, 항염증과 같은 질환의 예방 및 보호 효과를 나타내는 천연자원과 식품에 대한 관심이 높아지고 있으며 이와 관련한 연구가 활발히 진행되어지는 추세이다(1,2). 천연자원 및 식품으로 생리활성이 우수한 소재로는 여러 가지가 알려져 있지만 특히 치콘의 생리활성에 관한 연구가 활발히 진행 중이다(3).

치콘은 Belgium endive나 witloof chicory의 뿌리를 캐서 짙은 퇴운 짙 채소이지만 여린 잎 상태에서 수확하므로 엽채류로 구분되어진다. 또한, 일반 재배 하우스가 아닌 냉장상이나 창고 등에서 재배가 가능하므로 농약의 이용 없이 재배가 가능하다(4). 효능으로는 류마티스와 관절염, 통풍 예방 효과 등이 알려져 있으나 그 생리활성에 대한 체계적인 연구는 미비한 실정이다(5).

생체 중 산소가 필요 이상으로 많은 경우 대사과정 중 일

부 산소가 활성이 큰 자유라디칼로써 형성되는데, 반응성이 큰 자유라디칼은 체내에서 세포 손상을 야기하고 결국에는 세포사를 유도한다(6). 이와 같은 세포사는 염증, 종양, 암 등의 질병 및 노화로 진행이 된다(7,8). 따라서 라디칼은 생체 불균형을 유발하고, 질병을 초래하기 때문에 이러한 라디칼을 조절하기 위해 항산화제의 개발이 증가되고 있는 추세이다. 강력한 항산화제로 알려져 있는 합성 항산화제는 여러 가지 부작용(8,9)에 의하여 사용이 감소하는 추세이며 최근 질병에 대한 예방 및 치료가 동시에 가능한 부작용이 적고 안전한 천연 항산화제 개발에 중점적으로 연구가 진행되고 있다(10).

따라서 본 연구에서는 치콘 추출물의 항산화 활성 및 정상 신경세포를 이용한 치콘 추출물의 신경세포 보호 효능을 살펴 치콘을 이용한 식·의약 기능성 소재 개발을 위한 기초자료로 사용하고자 한다.

재료 및 방법

재료 및 추출

본 실험에 사용한 치콘은 재래시장(Busan, Korea)에서 구입하여 건조하여 분쇄 후 사용하였다. 2,2'-azino-bis(3-

ethylbenzthiazoline-6-sulfonic acid)(ABTS), potassium persulfate, 2,4,6-tripyridyl-S-triazine(TPTZ)은 Sigma Chemical Co.(St. Louis, MO, USA)에서 구입하여 사용하였다. 항산화활성 측정에 사용된 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl(DPPH)과 catalase assay kit, superoxide dismutase assay kit는 Sigma에서 구입하였으며, 세포 배양계에서 항산화 작용을 측정하기 위해 사용한 정상 신경세포는 한국세포주은행(Seoul, Korea)에서 구입하여 사용하였다. 또한, Dulbecco's modified Eagle's medium(DMEM), fetal bovine serum(FBS), penicillin-streptomycin은 Invitrogen사(Carlsbad, CA, USA)에서 구입하여 사용하였다. 그 외의 모든 시약은 분석용 특급시약을 사용하였다. 실험에 사용된 시료 추출을 위한 용매는 물과 에탄올을 사용하였다. 물 추출은 치곤 건조 분말 시료 10 g을 3차 증류수 500 mL의 95°C에서 150분 동안 추출하였다. 추출물은 여과지(No. 11, Whatman, Maidstone, England)로 잔여물을 제거한 후 rotary vacuum evaporator(EYELA, Tokyo, Japan)로 농축하고 동결건조 하였다. 에탄올 추출은 치곤 건조 분말 시료 20 g에 에탄올 200 mL를 첨가하여 상온에서 120 rpm의 진탕기로 24시간씩 3회 추출한 후 동일한 방법으로 여과와 농축을 하고 동결건조 하였다.

총 폴리페놀 함량 측정

총 폴리페놀 함량은 Folin-Denis법(11)을 응용하여 추출물 1.0 mL에 1.0 N Folin-Ciocalteu 시약 및 20% Na₂CO₃ 용액을 각 1.0 mL씩 각각 처리한 후 25~26°C에서 30분 방치한 후 분광광도계(SECOMAM, Ales, France)를 이용하여 705 nm에서 흡광도를 측정하였다. Gallic acid(Sigma Chemical Co.)를 0~200 µg/mL의 농도로 제조하여 시료와 동일한 방법으로 분석하여 얻은 표준 검량선으로부터 시료 추출물의 총 페놀 함량을 산출하였고 gallic acid equivalents (mg GAE/g extract)로 나타내었다.

ABTS 라디칼을 이용한 항산화 활성

ABTS 라디칼을 이용한 항산화능의 측정은 potassium persulfate와의 반응에 의해 생성된 ABTS 유리 라디칼이 추출물 내의 항산화 물질에 의해 제거되어 라디칼 특유의 색인 청록색이 탈색되는 것을 이용한 방법으로 Park과 Kim(12)의 방법을 응용하여 7.0 mM ABTS 용액에 potassium persulfate를 2.4 mM이 되도록 용해시킨 다음 암실에서 12~16시간 동안 반응시켰다. 이를 410 nm에서 흡광도가 1.5가 되도록 증류수로 맞춘 후 3.0 mL를 취하여 추출물 1.0 mL를 가하여 실온에서 10분간 반응시켜 414 nm에서 흡광도를 측정하였다.

FRAP을 이용한 총 항산화력 측정

FRAP 측정은 Benzie와 Strain(13)의 방법을 응용하여 진행하였다. 즉, 300 mM acetate buffer(pH 3.6), 40 mM HCl에 용해한 10 mM TPTZ 및 20 mM FeCl₃·6H₂O를 각각 10:1:

(v/v/v)의 비율로 혼합하여 FRAP 시약을 제조하였다. 그리고 함유량이 1~5 mg 되도록 희석한 시료액 0.15 mL와 3.0 mL의 FRAP 시약을 혼합하고 37°C에서 5분간 반응시킨 후 593 nm에서 흡광도를 측정하였다. 결과는 FeSO₄·7H₂O를 표준물질로 하여 mM FeSO₄ eq./mg extract로 표시하였다.

세포 배양

신경 세포의 배양은 DMEM 배지에 10% 불활성시킨 FBS를 첨가하고 항생제를 mL당 10 µg 넣은 것을 사용하였다. 10~12번의 계대배양을 통해 세포가 안정된 상태에서 실험을 진행하였다. 배양기의 온도는 37°C였으며 5%의 농도로 CO₂를 사용하였다.

세포 생존율 측정

세포의 생존율은 3-(4,5-dimethylthiazole-2-yl)-2,5-diphenyl-tetrazolium bromide(MTT) 환원 방법을 이용하여 측정하였다. 세포를 24-well plates에 5×10⁴ cells/mL 농도로 1.0 mL씩 분주한 뒤 24시간 동안 배양하고 각 시료를 최종 농도(0, 0.125, 0.25, 0.5, 1.0 그리고 2.0 mg/mL)가 되도록 세포에 처리하여 24시간 동안 배양하였다. 이후 MTT 용액(5.0 mg/mL)을 가하고 37°C에서 4시간을 배양하여 MTT를 환원시켜 생성된 formazan이 배지에서 분리되지 않도록 배지를 제거하였다. DMSO를 200 µL 분주하여 20분 동안 혼합한 후 540 nm에서 흡광도를 측정하였다.

세포사 측정

세포를 PBS로 씻어주고 원심분리기에서 15분, 2회 반복하고 그 세포에 0.5% Tween-20가 첨가된 에탄올로 고정을 시킨다. 그리고 RNase A 10 µg/mL와 프로피디움 요오드화물 0.05 mg/mL를 1 mL의 PBS에 넣어서 세포에 넣고 30분간 37°C에서 방치 후 분석기로 측정을 하였다(FACS-caliber, Becton Dickinson, Franklin Lakes, NJ, USA).

효소활성 분석

CAT의 측정은 다음의 방법으로 수행하였다. 세포를 PBS로 씻어주고 RIPA buffer를 사용하여 단백질을 분리하여 원심분리기에서 4°C 이하에서 15분간 2회 반복하고 상층액을 사용한다. 단백질 정량을 한 후 1×assay buffer 75 µL에 colorimetric assay substrate 용액 25 µL를 넣고 잘 혼합 후 stop 용액에서 반응정지를 시키고 900 µL에서 10 µL만 취해서 color reagent 1 mL를 혼합하여 15분간 방치 후 520 nm에서 측정하였다. 또한, SOD는 동일한 방법의 세포에 WST-1(2-(4-iodophenyl)-3-(4-nitrophenyl)-5-(2,4-disulfo-phenyl)-2H-tetrazolium, monosodium salt)과 효소액을 처리하여 20분간 37°C에서 반응시킨 후 450 nm에서 측정하여 값을 %로 환산하였다.

Western blot법을 이용한 단백질 발현량 분석

신경 세포를 24 well plate에 2×10⁶ cells/well로 분주하여 24시간 배양한 후 single-detergent lysis buffer(50 mM

Tris-HCl, pH 8.0, 150 mM NaCl, 0.02% sodium azide, 1% Nondet P-40, 1 µg/mL aprotinin, 1 mM phenylmethyl-sulfonyl fluoride)를 첨가한 후 sonication으로 잘 혼합시킨 후에 반응시킨다. 단백질 정량은 BCA protein assay reagent kit(Pierce, Rockford, IL, USA)를 사용하여 결정하였다. 각 시료의 단백질 양을 동일하게 하고 12% SDS PAGE로 전개시키고 protran nitrocellulose transfer membrane (Schleicher & Schuell, Hanover, Germany)을 사용하여 transfer했다. Membrane을 5% Tween-20 Tris-buffer에 skim milk로 block 하고 일차항체로 24시간 결합시킨 후 이차항체로 반응시킨다. ECL 용액(Amersham Pharmacia Biotech, Piscataway Township, NJ, USA)을 처리하여 membrane에 골고루 용액을 뿌린 후 1분간 반응시킨 후 측정하였다.

통계분석

모든 결과는 3회 반복 측정 후 평균±표준편차로 나타내었으며, 유의성 검증은 Graph Pad Prism(Graph Pad Software Inc., San Diego, CA, USA)을 이용하여 Student t-test one way를 이용하였으며 Duncan's new multiple range test로 사후검증 하였다.

결과 및 고찰

총 폴리페놀 및 총 플라보노이드 함량

자연계에 널리 분포되어 있는 페놀성 물질은 생리활성 중 항산화, 항염, 항균 활성 등이 보고되어지고 있으며 또한 페놀성 물질과 항산화 활성 간의 상관관계에 대한 많은 연구들이 진행되어지는 추세이다. 따라서 치콘의 총 폴리페놀과 총 플라보노이드 함량을 분석함으로써 항산화 활성에 대한 기초 자료로 이용하고자 하였다. 치콘의 열수 및 에탄올 추출물의 수율은 35.7과 27.4%를 확인하였으며, 치콘의 에탄올 및 열수 추출물의 총 폴리페놀 함량 및 총 플라보노이드 함량을 분석한 결과는 Table 1과 같다. 총 폴리페놀 함량은 에탄올 추출물이 37.3±5.2 mg GAE eq./g extract로 열수 추출물 36.3±1.0 mg GAE eq./g extract를 나타내었으며, 총 플라보노이드 함량은 유사하게도 에탄올 추출물이 53.9±5.1 mg CE eq./g extract 그리고 열수 추출물이 47.0±3.8 mg CE eq./g extract를 확인하였다.

Table 1. Total polyphenol and total flavonoid contents of extracts from CEL

Solvent	Total polyphenol (mg GAE/g extract) ¹⁾	Total flavonoid (mg CE/g extract) ¹⁾	Yields (% w/w)
Water extract	36.3±1.0	47.0±3.8	35.7
Ethanol extract	37.3±5.2	53.9±5.1	27.4

GAE, gallic acid equivalents; CE, catechin equivalents.

¹⁾Values represent means±SD (n=3).

Table 2. ABTS radical scavenging and FRAP activity of water and ethanol extracts from CEL

Solvent	TEAC (mM Trolox eq./mg extract) ¹⁾	FRAP (mM FeSO ₄ eq./mg extract) ¹⁾
Water extract	0.44±0.09**	0.43±0.08**
Ethanol extract	0.70±0.13*	0.92±0.09*

TEAC, Trolox equivalent antioxidant capacity; FRAP, Ferric reducing antioxidant power.

¹⁾Values represent means±SD (n=3). *p<0.05 and **p<0.01 versus BHT.

ABTS 라디칼을 이용한 항산화 활성

Table 2는 치콘의 열수 및 에탄올 추출에 따른 ABTS 라디칼 소거능을 측정된 결과로써, 실험군 모두 0.125, 0.25, 0.5, 1.0 mg/mL에서 농도 의존적인 ABTS 라디칼 소거능을 확인하였으며, 열수 추출물의 경우 각각 0.31, 0.37, 0.42 그리고 0.44 mM Trolox eq./mg extract를 나타내었고 에탄올 추출물의 소거능은 각각 0.57, 0.61, 0.67 그리고 0.70 mM Trolox eq./mg extract의 활성을 나타내었다. 본 연구에서 양성대조군으로 BHT를 사용하였을 때와 비교하여 낮은 활성을 보였으나 Jeon 등(14)의 고추잎 열수 추출물의 ABTS 소거능이 0.227 mM Trolox eq./mg extract와 비교하였을 때 치콘 추출물이 고추잎 추출물보다 우수한 ABTS 라디칼 소거활성을 나타낸 것을 확인하였다. 또한, 치콘의 항산화 활성을 분석하기 위하여 Lee 등(15)은 염색이 노란색인 Kibora, Metaphora, Vintor, Halifax 4종과 붉은색의 Redoria의 DPPH 라디칼 소거활성을 분석한 결과 1.0 mg/mL의 농도에서 각각 70.0, 67.4, 66.6, 60.8 그리고 94.2%의 활성을 확인하였다고 보고하였고 대조물질인 vitamin C(79.1%)와 BHT(81.4%)보다 우수한 활성을 기록하였다. 이러한 라디칼 소거활성의 결과는 치콘이 함유하고 있는 성분 중 플라보노이드계 색소인 안토시아닌에 의한 것으로 추측되어진다.

FRAP를 이용한 총 항산화력

FRAP법은 전자공여 능력을 통해 산화 활성을 검증하는 방법 중 하나로써 산화제로 작용하는 Fe³⁺와 항산화제와의 반응을 통해 생성된 Fe²⁺를 흡광도를 통해 정량할 수 있는 방법이다(10). 본 연구에서는 항산화 활성을 측정하기 위해 치콘의 열수 및 에탄올 추출물에 대하여 각각 0.43±0.9와 0.92±0.1 mM FeSO₄ eq./mg extract의 활성을 확인하였으며 마찬가지로 양성대조군인 BHT와 비교하였을 때 치콘 에탄올 추출물이 유사한 활성을 나타낸 것으로 확인되었다 (Table 2). 소재는 다르지만 실험의 방법이 같고 유사한 생리활성을 나타내는 기존의 연구 중 Kim 등(10)의 보고에 따르면 돼지감자잎 에탄올 추출물의 경우 0.71±0.10 mM FeSO₄ eq./mg extract를 나타내었으며 본 연구에서 사용한 치콘 추출물이 돼지감자잎보다 항산화 효능이 우수함을 확인하였다.

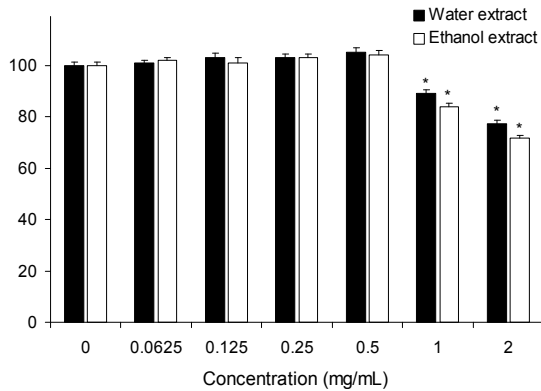


Fig. 1. Effect of water and ethanol extracts on cytotoxicity in neuronal cells. Water and ethanol extracts were treated with various concentrations in neuronal cells for 24 hr. Values are expressed as the mean \pm SD of determinations made in triplicate experiments. * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$.

세포 생존율

신경 세포를 이용하여 치콘의 열수 및 에탄올 추출물을 처리한 후 세포의 생존율을 확인하기 위하여 MTT assay를 시행하였다. 치콘 추출물을 농도별로 처리한 결과 열수 및 에탄올 추출물 모두에서 1.0 mg/mL 농도 이상에서 특이적으로 세포 생존에 기인하지 않는 것을 확인하였다(Fig. 1). Lee 등(16)의 연구에 따르면 능이버섯 추출물의 신경세포에서 2.0 mg/mL 이상에서는 세포 생존에 영향을 미치지 않는 것으로 보고되어진다. 이는 버섯이 포함하고 있는 생리활성 유효물질의 성분이 차이가 있기 때문에 각각의 버섯이 다양한 세포 및 동물모델에서 효능의 차이가 나는 것으로 판단된다. 이러한 결과로 본 연구에서는 이후 세포 단계에서의 치콘 추출물의 최고 농도를 0.5 mg/mL로 결정하였다.

세포사멸 분석

신경 세포에 총 2.5 mM 과산화수소 처리에 의해 사멸된 세포사 수준이 대조군에서는 40% 이상을 나타내었지만, 치콘 열수추출물을 처리한 경우 농도 의존적으로 그 수준이 감소하는 것을 확인하였고 0.0625, 0.125, 0.25 그리고 0.5 mg/mL의 농도에서 각각 33.5, 26.2, 19.8 그리고 12.3%를 나타내었다(Fig. 2A). 또한 에탄올 추출물에서도 유사한 결과를 확인하였는데 동일한 농도 조건에서 각각 35.8, 28.7, 22.1 그리고 17.1%를 나타내었다(Fig. 2B). 이와 같은 결과는 치콘 추출물이 2.5 mM 과산화수소에 대하여 유도되어지는 세포사를 보호하는 것을 의미한다. 하지만 기존에 1.0 mM 농도로 과산화수소 손상을 유도하였을 때 세포주기에 영향을 미치지 않는 범위에서 대조군에서 40% 미만의 세포사가 진행된 반면 2.5 mM의 과산화수소 손상에 대하여 세포주기에 큰 영향을 끼친 것을 확인하였다. Lee 등(16)의 연구에서는 neuronal 세포에 산화적 손상을 1.0 mM의 H₂O₂와 능이버섯 가수분해물 1.0 mg/mL를 처리하였을 때 약 25%의 세포사가 진행되었다고 보고하였다. 또한, 1.0 mM의 H₂O₂만을 처리하였을 때 세포사는 약 30% 미만이라고 보고

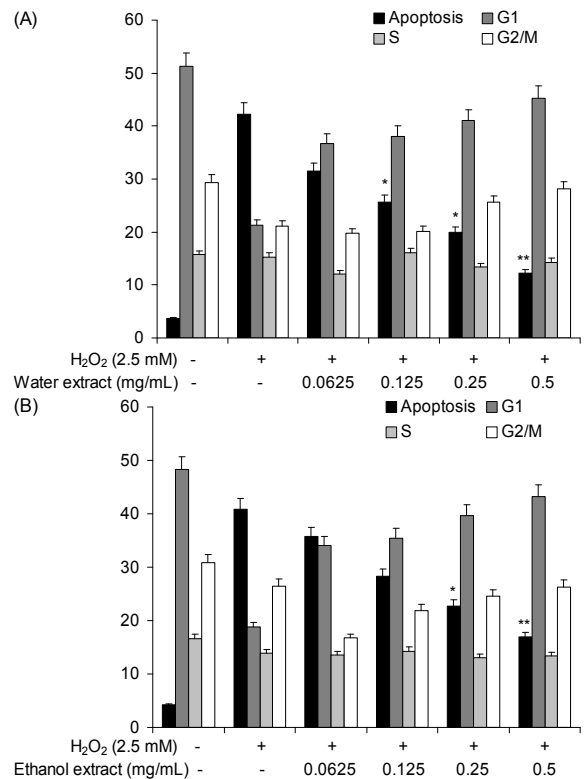


Fig. 2. Cell death and cell cycle of neuronal after treating water and ethanol extracts prior to hydrogen peroxide treatment. (A) water extract and (B) ethanol extract. Means \pm SD of determinations were made in triplicate experiments. * $p < 0.05$ and ** $p < 0.01$ are significantly different as analyzed by paired *t*-test that compared the hydrogen peroxide damage group with the extracts treated group.

하였다. 이는 본 연구의 치콘 추출물의 세포 보호효능이 우수하다는 결과를 확인하였다.

효소 활성 분석

생체 내에서 중요한 역할을 하는 SOD는 superoxide anion radical을 활성산소종인 과산화수소로 치환시켜주는 역할을 한다. 또한, CAT는 이러한 과산화수소를 분자 상태의 산소와 물로 분해하는 반응을 촉매하는 효소로써 세포막이나 DNA, 단백질 등에 손상을 미치는 프리라디칼과 활성산소종을 분해한다. 이렇게 분해된 산소와 물은 생체 대사에 이용되는 것으로 보고되어지고 있다. 본 연구에서는 이러한 SOD와 CAT를 신경 세포에서 치콘 추출물을 처리하여 확인하였다. SOD의 경우 약 70%의 활성을 나타냈던 과산화수소 손상군에 비하여 치콘 추출물 처리군에서 농도 의존적으로 증가하는 것을 확인하였으며 열수와 에탄올 추출물의 유사한 결과를 확인하였다. 최고 농도인 0.5 mg/mL에서는 약 95%의 활성을 나타내었다(Fig. 3A). 그리고 CAT의 경우에서도 과산화수소 손상군에 비하여 치콘 추출물 처리군에서 농도 의존적인 증가를 확인하였다(Fig. 3B). 기존 연구에서는 세포단계에서 항산화 효소 활성을 분석하였을 때 정상군에 비해 손상군의 효소 활성이 증가하는 결과를 확인하였다고 보

고되어지는데 이는 효소계에서 외부로부터 받은 자극이나 독성에 대하여 세포 자체적으로 보호하기 위해 방어기작적인 요소로 항산화 효소가 활성화되어지는 것을 확인하였고 천연물 유래의 물질을 처리하였을 때 활성이 증가한다고 보고하였다(17). 본 연구 결과를 바탕으로 치콘을 이용한 에탄올 추출물과 열수 추출물이 두 종류의 항산화 효소 활성이 우수한 것을 확인하였으며, 결과적으로 치콘 추출물이 세포 내에서 항산화 효소계에 작용하며 그 활성이 산화적 손상에 대하여 증가시키는 것을 확인하였다.

Western blot법을 이용한 단백질 발현량 분석

Fig. 4에서 확인한 Bcl-2와 Bax 단백질은 발현량에 따라 세포사를 조절하는 역할을 하는데 세포사를 억제하는 단백질인 Bcl-2의 경우 치콘 열수와 에탄올 추출물 0.5 mg/mL

농도에서 발현량이 과산화수소 손상군과 비교하였을 때 증가한 것을 확인하였고 반대로 세포사를 유도하는 단백질인 Bax의 경우 치콘 추출물에서 유의적으로 발현량이 감소하였으며 특히 에탄올 추출물의 경우 동일 농도에서 열수 추출물보다 감소한 것을 확인하였다. Bcl-2 대비 Bax의 비율을 확인하였을 때 정상군에 비해 산화적 손상군에서 단백질 발현량이 증가한 것을 확인하였고 산화적 손상군에 치콘 추출물을 같이 처리하였을 때 단백질 발현량이 감소하는 것을 확인하였다. Lee 등(18)의 연구에서는 노루궁뎅이 버섯 가수분해 추출물의 경우 0.125, 0.25, 0.5 그리고 1.0 mg/mL의 농도로 1.0 mM의 H₂O₂를 같이 처리하였을 때 본 연구와 유사하게 세포사를 유도하는 Bax 발현량이 1.0 mM의 H₂O₂보다 감소하였고 반대로 세포사를 보호하는 Bcl-2의 발현량

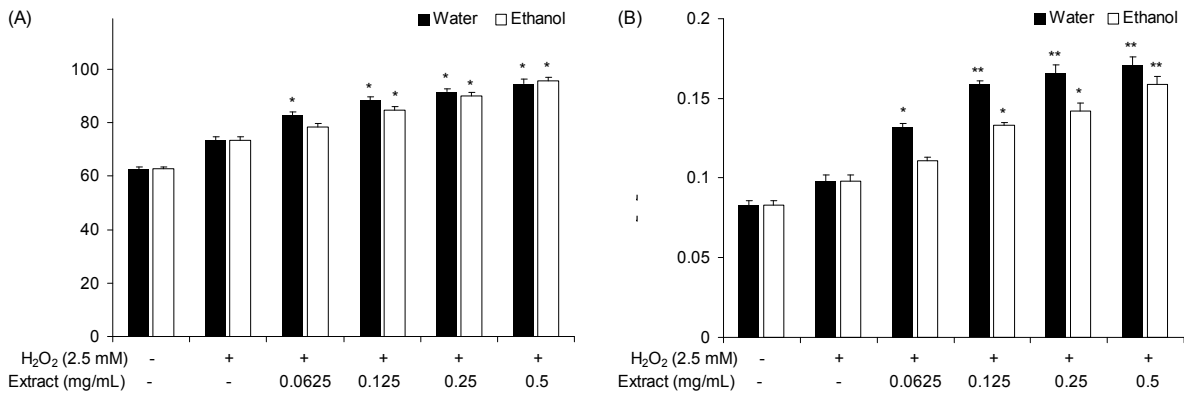


Fig. 3. Effect of water and ethanol extracts on antioxidant enzyme activity in neuronal cells. (A) superoxide dismutase, (B) catalase. Values are given as the mean ± SD. *p<0.05 and **p<0.01 are significantly different as analyzed by paired t-test comparing the hydrogen peroxide damage group with the extracts treated group.

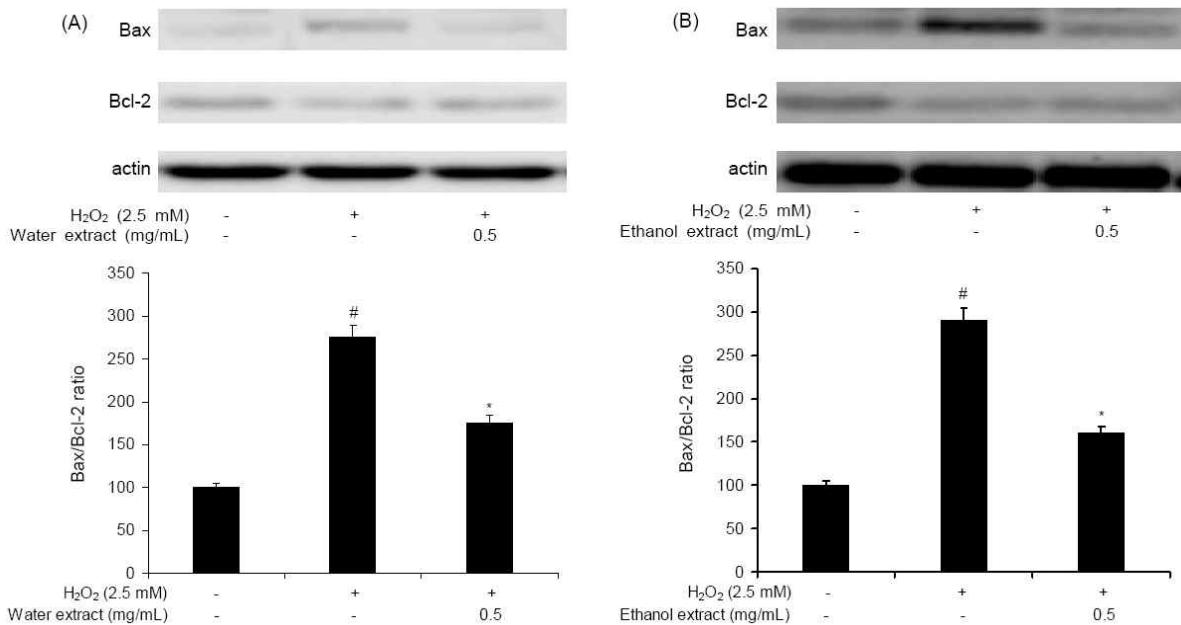


Fig. 4. Change in apoptosis related proteins in neuronal cells after hydrogen peroxide (2.5 mM) treatment. (A) water extract and (B) ethanol extract. Equal amounts of whole cell lysates (30 µg) were subjected to electrophoresis and analyzed for Bax and Bcl-2 by western blot. #p<0.05: compared with control group, *p<0.05: compared with H₂O₂-damage group.

이 1.0 mM의 과산화수소보다 증가한 것을 확인하였다. 이러한 결과는 본 연구에서 사용한 치콘 열수(Fig. 4A) 및 에탄올(Fig. 4B) 추출물이 세포사와 관련된 단백질 발현을 조절하는 것을 의미한다.

요 약

본 연구는 치콘 추출물의 항산화 효능을 확인하고자 물과 에탄올로 추출하였다. 치콘에 포함된 총 폴리페놀 함량을 측정된 결과, 에탄올 추출물(37.3±5.2 mg/GAE/g extract)과 열수 추출물(36.3±1.0 mg/GAE/g extract)이 유사한 총 폴리페놀 함량을 포함하고 있었으며, 총 플라보노이드 함량은 물 추출물이 47.0±3.8 mg CE/g extract 그리고 에탄올 추출물이 53.9±5.1 mg CE/g extract를 나타내었다. ABTS를 이용한 라디칼 소거활성, FRAP를 이용한 환원력을 통한 항산화 활성을 측정된 결과에서도 치콘 추출물이 항산화 효과를 나타내었다. 한편, 세포 독성을 살펴보기 위하여 신경 세포를 이용하여 MTT assay를 수행한 결과, 세포의 생존율은 1.0 mg/mL의 농도 이상에서는 생존에 영향을 미치지 않았고 신경세포 보호효능 실험에서는 2.5 mM의 H₂O₂로 유발시킨 산화적 손상에 대해 농도 의존적인 신경세포 보호 효과가 있었으며, 항산화 효소 활성을 SOD와 CAT로 분석한 결과 SOD는 0.5 mg/mL 농도에서 95% 이상의 활성과 CAT는 손상그룹에 비해 2배 이상의 활성을 각각 확인하였다. 또한 치콘 추출물이 세포사와 관련이 있는 단백질인 Bax와 Bcl-2의 발현을 조절하는 것을 확인하였다. 이와 같은 결과는 치콘 추출물이 산화적 손상의 억제를 통해 세포를 보호하는 효과가 있는 것으로 사료된다.

감사의 글

이 논문은 2012년도 영산대학교 교내 연구비 지원에 의하여 연구되었음.

문 헌

- Park SY, Kim JW. 1992. Screening and isolation of the anti-tumor agents from medicinal plants (1). *Kor J Pharmacog* 23: 264-267.
- Lee JH, Lee SR. 1994. Some physiological activity of phenolic substance in plant foods. *Korean J Food Sci Technol* 26: 317-323.
- Oh SI, Lee MS. 2010. Functional activities of ethanol extracts from *Flammulina velutipes*. *Korean J Food Nutr* 23: 15-22.
- Bae JH, Kim WB. 2005. Effects of blanching culture days on the growth and quality of chicon. *J Bio-Environment Control* 14: 114-118.
- Kwon MC, Han JG, Qadir SA, Ahn JH, Lee DH, Lee HY. 2008. Enhancement of immune-potential of *Cichorium endivia* L. by ultrasonification extraction process. *Korean J Medicinal Crop Sci* 16: 9-15.
- Halliwell B, Gutteridge JM, Cross CE. 1992. Free radicals, antioxidants and human disease: where are we now? *J Lab Clin Med* 119: 598-620.
- Aruoma OI. 1994. Nutrition and health aspects of free radicals and antioxidants. *Food Chem Toxicol* 62: 671-683.
- Lee SJ, Kim EK, Hwang JW, Oh HJ, Chenong SH, Moon SH, Jeon BT, Lee SM, Park PJ. 2010. Purification and characterization of an antioxidative peptide from enzymatic hydrolysates of duck processing by-products. *Food Chem* 123: 216-220.
- Ito N, Fukushima S, Tsuda H. 1985. Carcinogenicity and modification of the carcinogenic response by BHA, BHT, and other antioxidants. *Crit Res Toxicol* 15: 109-150.
- Kim YS, Lee SJ, Hwang JW, Kim EH, Park PJ, Jeon BT. 2011. Antioxidant activity and protective effects of extracts from *Helianthus tuberosus* L. leaves on *t*-BHP induced oxidative stress in chang cells. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 40: 1525-1531.
- Gutfinger T. 1981. Polyphenols in olive oils. *J Am Oil Chem Soc* 58: 966-968.
- Park MK, Kim CH. 2009. Extraction of polyphenols from apple peel using cellulase and pectinase and estimation of antioxidant activity. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 38: 535-540.
- Benzie IFF, Strain JJ. 1999. Ferric reducing/antioxidant power assay: direct measure of total antioxidant activity of biological fluids and modified version for simultaneous measurement of total antioxidant power and ascorbic acid concentration. *Methods Enzymol* 299: 15-27.
- Jeon GU, Han JY, Choi YM, Lee SM, Kim HT, Lee JS. 2008. Antioxidant and antiproliferative activity of pepper (*Capsicum annuum* L.) leaves. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 37: 1079-1083.
- Lee KJ, Park MH, Seo HT, Park YH, Kwon CJ, Lim SH, Kim KH, Jeon SJ, Won JH. 2009. Screening of biological activities of ethanol extracts from several varieties of endives. *Korean J Food Preserv* 16: 1008-1012.
- Lee SJ, Kim EK, Oh HJ, Kwon HJ, Hwang JW, Moon SH, Jeon BT, Park PJ, Lim BO. 2011. Free radical scavenging activity and protective effect against H₂O₂-induced stress in neuronal cells of enzymatic extracts from *Sarcodon aspratus*. *Korean J Medicinal Crop Sci* 19: 77-82.
- Kwon SC. 2011. Effect of chitoooligosaccharides on anti-oxidative enzyme activity in liver of rat fed high fat diet. *J Chitin Chitosan* 16: 277-281.
- Lee SJ, Kim EK, Hwang JW, Kim CG, Choi DK, Lim BO, Moon SH, Jeon BT, Park PJ. 2010. Neuroprotective effect of *Hericium erinaceum* against oxidative stress on PC12 cells. *J Korean Soc Appl Biol Chem* 53: 283-289.

(2012년 6월 18일 접수; 2012년 8월 14일 채택)