

영경귀(*Cirsium japonicum* var. *ussuriense*) 잎 및 꽃 추출물이 정상인 적혈구와 혈장의 산화적 손상에 대한 보호효과

강현주¹ · 목지예² · 조정근³ · 전인화² · 김현수² · 박지민² · 정승일⁴ · 심재석¹ · 장선일^{2*}
¹임실생약조합, ²전주대학교 대체의학대학, ³전주대학교 방사선학과, ⁴전주생물소재연구소

Protective Effects of Leaf and Flower Extracts from *Cirsium japonicum* var. *ussuriense* on Oxidative Damage in Normal Human Erythrocytes and Plasma

Hyun Ju Kang¹, Ji Ye Mok², Jung-Keun Cho³, In Hwa Jeon², Hyeon Soo Kim²,
Ji Min Park², Seung-Il Jeong⁴, Jae-Suk Shim¹ and Seon Il Jang^{2*}

¹Imsil Herbal Medicine Association, Imsil 566-895, Korea

²College of Alternative Medicine, Jeonju University, Jeonju 560-759, Korea

³Department of Radiological Science, Jeonju University, Jeonju 560-759, Korea

⁴Jeonju Biomaterials Institute, Jeonju 561-360, Korea

Abstract – *Cirsium japonicum* var. *ussuriense* is often used in treatment of human disease such as hemorrhage, blood congestion and inflammation. This study was accomplished to evaluate the antioxidant properties of the leaf (CLE) and flower (CFE) extracts of *C. japonicum* var. *ussuriense* to protect normal human red blood cells (RBC) and plasma samples against oxidative damage *in vitro*. CLE and CFE were prepared by extracting with hot water. In red blood cells and plasma, oxidative hemolysis and lipid peroxidation induced by the aqueous peroxy radical generator [2,2'-azobis (2-amidinopropane) dihydrochloride, AAPH] were significantly suppressed by CLE or CFE in a dose-dependent manner at the same time. CLE and CFE also prevented the depletion of cytosolic antioxidant glutathione (GSH) in RBC. These results suggest that the leaves and flowers of *C. japonicum* var. *ussuriense* may have the antioxidant properties.

Key words – *Cirsium japonicum* var. *ussuriense*, Oxidative damage, Antioxidant

산화적 스트레스는 생체에서 산화촉진제(prooxidant)와 항산화제(antioxidant)의 불균형을 유발하여 암을 비롯한 혈행과 관련된 심혈관계 및 퇴행성 질환을 일으키는 것으로 알려졌다.¹⁻³⁾ 그 동안 산화적 스트레스와 관련된 각종 인체질환에 대한 병리학적 연구가 활발히 진행되어 왔다.^{3,4)} 특히 인간의 수명이 연장되면서 노화로 인한 혈행과 관련된 만성질환이 급증하고 있는데, 이러한 원인은 생체에서 발생하는 하드록실라디칼($\cdot\text{OH}$) 슈퍼옥사이드 라디칼($\cdot\text{O}_2^-$), 과산화수소(H_2O_2) 등과 같은 반응산소류(reactive oxygen species, ROS)에 의한다고 알려졌다.¹⁻⁴⁾ ROS는 베타지중해빈혈(β -thalassemia), 겸상 적혈구 빈혈증(sickle cell anemia), glucose-6-phosphate dehydrogenase 결핍 및 이상 혈색소증(hemoglobinopathy)을 가진 환자에서 적혈구에 치명적인 손상을

야기한다.⁵⁻⁸⁾ 적혈구는 세포막에 불포화 지방산이 다량 포함되어 있고, 세포질에 높은 농도의 산소와 헤모글로불린이 함유되어 있어 매우 민감하게 산화적 손상을 받게 된다.^{8,9)} 산화적 스트레스의 결과물중 하나인 지질 과산화(lipid peroxidation)는 세포손상과 사멸에 대한 일반적인 기전으로 알려졌는데, 지질 과산화의 최종산물인 malondialdehyde (MDA)가 적혈구에 일시에 노출될 경우 세포 구성물과 반응성이 높아 적혈구에 치명적 손상을 주게 된다.¹⁰⁾

이와 같이 산화적 스트레스와 관련된 각종 인체질환을 치료 또는 개선하기 위해서는 생체에 존재하는 SOD, catalase 및 glutathione peroxidase 등과 같은 항산화 효소의 활성유지는 물론 비타민 C와 E, 셀레니늄을 비롯한 폴리페놀과 플라보노이드와 같은 외부 천연물질을 적당하게 섭취하는 것이 매우 중요하다.¹¹⁻¹³⁾

영경귀(*Cirsium japonicum* var. *ussuriense*)는 국화과

*교신저자(E-mail): sonjjang@jj.ac.kr
(Tel): +82-63-220-3124

(Compositae)에 속하는 다년생 초본으로 한방에서는 지상부 또는 지하부(뿌리)를 대개라하여 약용으로 활용해왔다. 즉, 잎, 줄기, 꽃과 씨 등 지상부는 개화시기에서 씨가 여무는 5-6월에 채취하고 뿌리는 가을에 채취하여 건조시킨 후 열수 또는 알코올 추출에 의한 약성분을 토혈, 혈뇨, 대하, 간염 및 고혈압 등 치료에 활용해왔다.^{14,15)} 엉겅퀴 잎과 꽃은 생리활성이 우수한 apigenin, luteolin, myricetin, kaempferol, pectolinarin, 5,7-dihydroxy-6,4'-dimethoxyflavone, hispidulin-7-neohesperioside 등 플라보노이드 계열의 화합물이 풍부하여 항염증, 항암, 항돌연변이, 항진균, 신경보호 및 면역 증진 활성을 가지고 있다.¹⁶⁻¹⁹⁾ 그러나 적혈구와 혈장에서 산화적 손상에 대한 엉겅퀴 추출물의 항산화 효과에 대한 보고는 없는 실정이다.

따라서 본 연구는 정상인의 적혈구와 혈장을 수용성 peroxy radical generator인 2,2'-azobis (2-amidinopropane) dihydrochloride (AAPH)로 산화적 스트레스를 유발하여 엉겅퀴(*C. japonicum* var *ussuriense*) 잎 추출물(leaf extract, CLE)와 꽃 추출물(flower extract, CFE)의 산화적 손상에 대한 보호효과를 조사한 결과를 얻어 보고하는 바이다.

재료 및 방법

시약 - 2,2'-Azobis (2-amidinopropane) dihydrochloride (AAPH), heparin, trichloroacetic acid (TCA), 2-thiobarbituric acid (TBA), 5,5'-dithio-bis 2-nitrobenzoic acid (DTNB), drabkin's reagent, meta-phosphoric acid, ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA), sodium chloride (NaCl), sodium phosphate dibasic (Na_2HPO_4)와 기타 시약은 Sigma-Aldrich사 (MO, USA)로부터 구입하였다.

엉겅퀴 추출 - 실험에 사용한 엉겅퀴(*C. japonicum* var *ussuriense*)는 전라북도 임실군 오수면 소재 임실생약농조 합법인에서 재배한 것으로 잎과 꽃은 2011년 5월 30일에 채취하였으며, 우석대학교 한의과대학 방제학교실의 김홍준 교수에게 의뢰하여 동정하였고, 표본(2011-011)은 전주대학교 대체의학대학 건강관리 연구실에 보관하고 있다. 건조한 각각의 시료는 200 g를 분말로 제조하여 증류수(3 L)로 3시간 동안 추출기로 열수 추출하였다. 추출물은 0.45 μm 필터를 사용하여 여과한 후 동결건조기(Eyela FDU-2100, Tokyo Rikakikai Co., Tokyo, Japan)에서 건조하여 얻은 48.9 g, 꽃은 36.8 g을 얻은 후 -20°C 에서 보관하면서 실험에 사용하였다.

적혈구 부유액의 제조 - 헤파린이 처리된 혈액은 전주대학교 IRB의 규정에 준하여 건강한 남성 지원자를 대상으로 정맥으로부터 채혈하였다. 적혈구(red blood cells, RBC)는 10분간 1,500 \times g로 원심시켜 분리한 후 인산완충액(phosphate buffered saline, pH 7.2)으로 3회 원심 세척하고 인산완충액

에 hematocrit가 5% 유지되도록 다시 부유하였다. RBC 부유액은 여러 가지 농도(0-200 $\mu\text{g}/\text{mL}$)의 CLE와 CFE을 가하여 37°C 에서 30분간 전처리한 후 RBC의 자유유리기 사슬 산화를 유도하기 위해서 50 mM AAPH를 주입하고 0-6시간 동안 같은 온도에 방치하였다. 대조군은 인산완충액으로 적정된 적혈구 부유액만 같은 온도 및 시간 조건으로 방치하고 실험하였다.

적혈구 용혈측정 - 대조군과 각 실험군의 반응액은 2분간 3,000 \times g로 원심하여 상층액을 얻은 후 Hseu 등²⁰⁾의 방법에 따라 ELISA reader(Molecular Devices, USA)로 540 nm 파장에서 흡광도를 측정하였다. 적혈구 용혈에 대한 참고 값(100% 용혈)은 AAPH(50 mM)의 흡광도를 기준으로 하여 정하였다.

적혈구와 혈장의 지질 과산화 측정 - 헤파린이 처리된 채혈기를 사용하여 건강한 남성 지원자를 대상으로 정맥으로부터 채혈한 후 1,500 \times g 10분간 원심분리하여 혈장(plasma)을 얻었고, 적혈구와 혈장의 지질 과산화의 지표물질로 알려진 TBARS(주로 MDA)는 Hseu 등²⁰⁾의 방법에 따라 측정하였다. 간단히 요약하면, 1 mL 반응액은 250 μL TBA (0.67%)와 100 μL H_3PO_4 (0.44 M)로 1시간 동안 95°C 에 방치한 다음 150 μL TCA (20%)를 주입하였다. 원심 분리(12,000 \times g, 10분) 후 상층액의 과산화물의 양은 MDA의 몰 흡수계수(OD_{535})를 이용하여 결정하였다.

적혈구의 glutathione 측정 - 제시된 시간에서 2 mL의 반응액을 원심 침전시킨 후 적혈구를 용해하기 위해서 0.6 mL 증류수를 가했다. 세포용해물의 glutathione (GSH)는 Hseu 등²⁰⁾의 방법에 따라 DTNB로 적정하여 412 nm에서 측정하였다.

통계처리 - 모든 실험값은 평균 \pm 표준오차(mean \pm SD)로 표시했으며, 통계분석은 ANOVA와 Student's t-test로 처리했으며, 유의성 한계는 $p < 0.05$ 수준으로 정하였다.

결 과

적혈구의 용혈 유도 - 먼저 정상인의 적혈구를 분리하여 인산완충액에 5% 농도로 적혈구 부유액을 제조하여 37°C 에서 6시간동안 방치한 후 적혈구 용혈을 조사한 결과 자연적인 용혈은 거의 없었다(4.1 ± 0.2). 또한 정상인 적혈구 부유액을 대상으로 본 실험에 사용한 잎과 꽃의 열수추출물 (25-200 $\mu\text{g}/\text{mL}$)에서도 적혈구 용혈은 정상 대조군과 유사하였다. 다음은 적혈구의 용혈을 유도하기 위해서 AAPH (50 mM)을 사용하여 0-6시간 동안 1시간 간격으로 용혈을 조사한 결과 Fig. 1과 같이 1시간대부터 정상대조군에 비하여 AAPH를 처리한 군에서 적혈구가 유의하게 용혈되었고($p < 0.001$), 4시간에는 $55.6 \pm 3.2\%$ 가 용혈되었으며, 6시간 후에는 완전히 용혈(100%)되었다. 따라서 다음 실험에

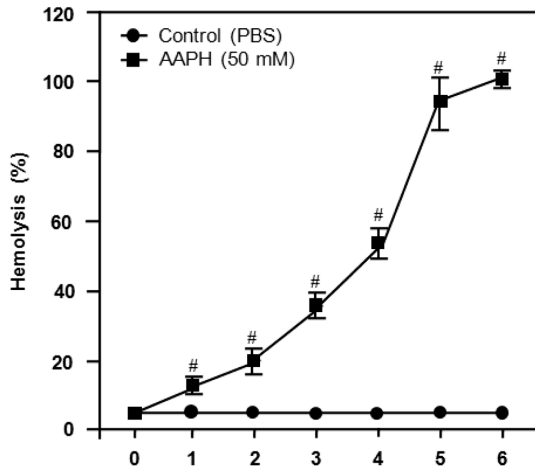


Fig. 1. Kinetic of AAPH-induced hemolysis in human red blood cells (RBC). RBC suspension at 5% hematocrit was incubated with PBS. Then it was incubated with and without 50 mM AAPH for 6 h at 37°C. Values are means ± SD of three independent experiments. [#]*p*<0.001 versus the non-treated control group.

서는 적혈구의 용혈율이 55.6 ± 3.2%범위인 4시간을 기준으로 정하여 엉겅퀴 잎과 꽃 추출물의 용혈 및 항산화 효과에 대한 실험을 하였다.

적혈구의 AAPH 유도 용혈에 대한 엉겅퀴 잎과 꽃 추출물의 효과 - 엉겅퀴 잎과 꽃의 열수추출물에 대한 AAPH 유도 적혈구 용혈 보호 효과를 알아보기 위하여 항산화제로 잘 알려진 비타민 C (L-ascorbic acid)와 비교 조사하였다. Fig. 2와 같이 AAPH를 4시간 처리하였을 때를 100%로 정하여 엉겅퀴 잎과 꽃의 열수추출물 및 비타민 C의 농도별 적혈구 용혈율을 조사한 결과 농도 의존적으로 현저히 억제되었다. 엉겅퀴 꽃 추출물 25 µg/mL과 50 µg/mL 농도에서 각각 약 37.5%(*p*<0.01)와 약 60%(*p*<0.001)로 용혈율이 현저히 억제되어 엉겅퀴 잎과 비타민 C보다 용혈 보호 효과가 우수하였다. 그리고 100 µg/mL 이상의 농도에서는 엉겅퀴 잎과 꽃 추출물 및 비타민 C의 용혈억제효과가 현저하였으며, 이들의 적혈구 용혈에 대한 보호효과는 비슷하였다.

적혈구의 AAPH 유도 지질 과산화(MDA)에 대한 엉겅퀴 잎과 꽃 추출물의 효과 - 엉겅퀴 잎과 꽃의 열수추출물에 대한 AAPH 유도 적혈구의 지질 과산화(MDA) 억제 효과를 알아보기 위하여 항산화제로 잘 알려진 비타민 C와 비교 조사하였다. Fig. 3과 같이 AAPH를 4시간 처리하였을 때 1 L 당 RBC의 MDA가 50 ± 2.4 µM로 높게 형성된 반면, 엉겅퀴 잎과 꽃의 열수추출물 및 비타민 C의 농도별 MDA 생성을 조사한 결과 농도가 증가할수록 현저히 억제되었다. 엉겅퀴 잎과 꽃 추출물은 사용된 모든 농도에서 비타민 C의 MDA 생성 억제 효과와 유사하였다. 특히 고 농

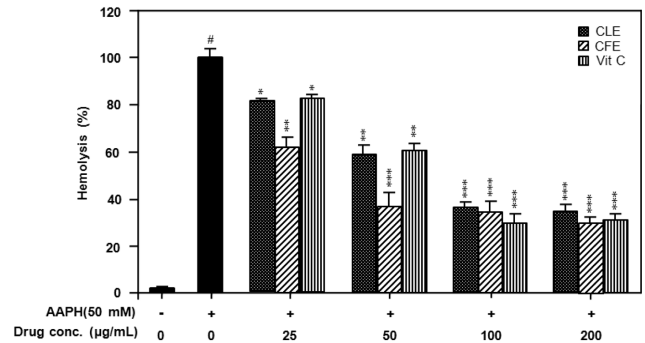


Fig. 2. Effects of an aqueous leaf (CLE) and flower (CFE) extracts from *C. japonicum* var *ussuriense* and Vitamin C (Vit. C) on AAPH-induced hemolysis in RBC. RBC suspension at 5% hematocrit was incubated with PBS (control), or preincubated with the different concentration (25-200 µg/mL) of CLE, CFE or Vit. C for 30 min. Then it was incubated with and without 50 mM AAPH for 4 h at 37°C. Values are means ± SD of three independent experiments. [#]*p*<0.001 versus the non-treated control group. **p*<0.05, ***p*<0.01 and ****p*<0.001 versus AAPH-treated group.

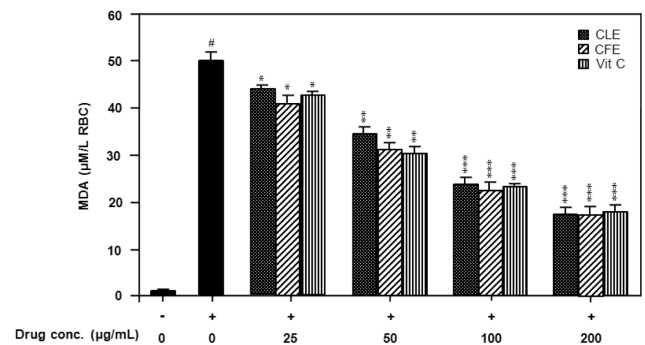


Fig. 3. Effects of CLE and CFE from *C. japonicum* var *ussuriense* and Vit. C on AAPH-induced MDA in RBC. RBC suspension at 5% hematocrit was incubated with PBS (control), or preincubated with the different concentration (25-200 µg/mL) of CLE, CFE or Vit. C for 30 min. Then it was incubated with and without 50 mM AAPH for 4 h at 37°C. Values are means ± SD of three independent experiments. [#]*p*<0.001 versus the non-treated control group. **p*<0.05, ***p*<0.01 and ****p*<0.001 versus AAPH-treated group.

도(100-200 µg/mL)인 엉겅퀴 잎과 꽃 추출물 및 비타민 C의 MDA 생성 억제 효과는 약 47-65%로 매우 우수하였다 (*p*<0.001).

혈장의 AAPH 유도 지질 과산화(MDA)에 대한 엉겅퀴 잎과 꽃 추출물의 효과 - 정상인의 혈장에서 AAPH 유도 MDA 생성에 대한 엉겅퀴 잎과 꽃의 열수추출물의 억제 효과를 알아보기 위하여 비타민 C와 비교 조사하였다. Fig. 4와 같이 AAPH를 4시간 처리하였을 때 1 L 당 혈장의 MDA가 50 ± 2.1 µM로 높게 형성된 반면, 엉겅퀴 잎과 꽃의 열수추출물 및 비타민 C의 농도별 MDA 생성을 조사한

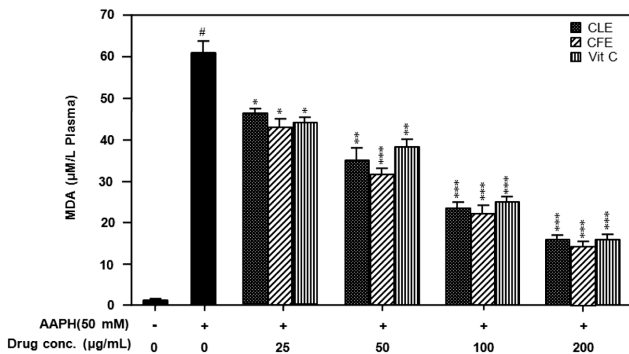


Fig. 4. Effects of CLE and CFE from *C. japonicum* var *ussuriense* and Vit. C on AAPH-induced MDA in plasma. Plasma (1:50 v/v in PBS) was incubated with PBS (control), or preincubated with the different concentration (25-200 µg/mL) of CLE, CFE or Vit C for 30 min. Then it was incubated with and without 50 mM AAPH for 4 h at 37°C. Values are means ± SD of three independent experiments. [#]*p*<0.001 versus the non-treated control group. **p*<0.05, ***p*<0.01 and ****p*<0.001 versus AAPH-treated group.

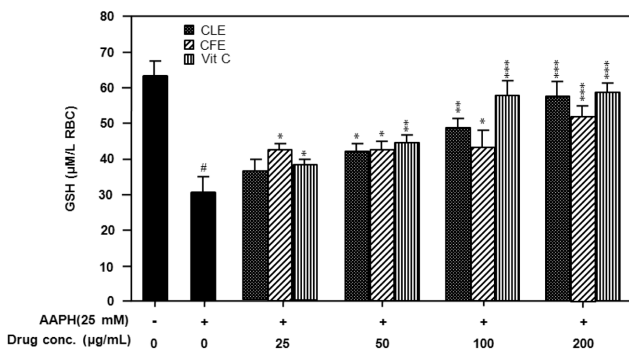


Fig. 5. Effects of CLE and CFE from *C. japonicum* var *ussuriense* and Vit. C on AAPH-induced glutathione (GSH) in RBC. Plasma (1:50 v/v in PBS) was incubated with PBS (control), or preincubated with the different concentration (25-200 µg/mL) of CLE, CFE or Vit C for 30 min. Then it was incubated with and without 50 mM AAPH for 4 h at 37°C. Values are means ± SD of three independent experiments. [#]*p*<0.001 versus the non-treated control group. **p*<0.05, ***p*<0.01 and ****p*<0.001 versus AAPH-treated group.

결과 농도가 증가할수록 현저히 억제되었다. 영경귀 잎과 꽃 추출물은 사용된 모든 농도에서 비타민 C의 MDA 생성 억제 효과와 유사하였다. 특히 50 µg/mL 농도의 영경귀 꽃 추출물의 경우 AAPH만 처리한 군에 비해 약 37%로 MDA 생성이 현저히 억제되었다(*p*<0.001). 그리고 고 농도(100-200 µg/mL)인 영경귀 잎과 꽃 추출물 및 비타민 C의 MDA 생성 억제 효과는 61-75%로 매우 우수하였다(*p*<0.001).

적혈구에서 AAPH 유도 GSH 생성에 대한 영경귀 잎과 꽃 추출물의 효과 - 정상인의 적혈구에서 AAPH 유도 GSH 억제에 대한 영경귀 잎과 꽃의 열수추출물의 생성 효과를

알아보기 위하여 비타민 C와 비교 조사하였다. Fig. 5와 같이 AAPH를 4시간 처리하였을 때 1 L 당 적혈구의 GSH는 30.1 ± 4.9 µM로 나타나 정상 대조군(63.3 ± 4.4 µM)에 비해서 약 52%가 감소된 반면, 영경귀 잎과 꽃의 열수추출물 및 비타민 C의 농도별로 GSH 생성을 조사한 결과 농도가 증가할수록 현저히 증가되었다. 영경귀 잎과 꽃 추출물은 사용된 모든 농도에서 비타민 C의 GSH 생성 억제 효과와 유사하였다. 특히 200 µg/mL 농도에서 영경귀 잎과 꽃 추출물 및 비타민 C의 GSH 생성 증가는 정상 대조군과 유사하여 그 효과가 매우 우수하였다(*p*<0.001).

고 찰

적혈구에서 산화적 스트레스는 적혈구 자체의 항산화 체계를 교란하여 혈색소증을 비롯한 각종 빈혈을 야기한다.²¹⁾ 전 연구에서 저자 등²²⁾은 영경귀 부위별 열수추출물의 항산화(DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl), ABTS (2,2'-azino-bis(3-ethylbenzthiazoline-6-sulfonic acid), NO (nitric oxide)-유사 라디칼 소거 활성) 및 항염증[NO 및 PGE₂ (prostaglandin E₂)] 효과를 규명하였는데, 그 중 잎과 꽃의 항산화 및 항염증 효과가 가장 우수하였다. 따라서 본 연구는 영경귀 잎과 꽃을 대상으로 열수추출물을 얻고, AAPH가 유도하는 적혈구 용혈과 지질 과산화에 대한 영경귀 잎과 꽃의 열수추출물에 대한 억제 효과뿐만 아니라 생체의 항산화 물질인 GSH의 생성 유도 효과를 처음으로 밝혔다.

본 연구는 수용성 자유유리기 유도생성물질로 잘 알려진 AAPH²³⁾를 사용하여 적혈구의 용혈을 유도하였고, 또한 적혈구와 혈장의 지질 과산화물질인 MDA를 유도하였다. 더불어 적혈구의 GSH 고갈 실험에도 AAPH를 사용하였다. 그 결과 적혈구 용혈, 적혈구와 혈장의 지질 그리고 GSH 고갈에 대한 AAPH의 효과는 전 연구자들의 결과와 비슷하였다.^{20,24,25)} 따라서 본 연구에서는 영경귀 잎과 꽃의 열수추출물에 대한 AAPH 유도 적혈구 용혈 보호 효과를 알아보기 위하여 항산화제로 잘 알려진 비타민 C (L-ascorbic acid)와 비교 조사하였다. 그 결과 영경귀 잎과 꽃의 열수추출물 및 비타민 C에 의해 농도 의존적으로 적혈구 용혈이 억제되었으며, 영경귀 꽃 추출물 25 µg/mL과 50 µg/mL 농도에서는 영경귀 잎과 비타민 C보다 용혈 보호 효과가 우수하였다(Fig. 2). 또한 영경귀 잎과 꽃의 열수추출물이 AAPH 유도 적혈구와 혈장의 MDA 생성에 미치는 영향을 조사한 결과 영경귀 잎과 꽃 추출물은 사용된 모든 농도에서 비타민 C의 MDA 생성 억제 효과와 유사하였다. 적혈구는 세포막에 다량의 불포화 지방산이 함유되어 있고, 세포질에 높은 농도의 산소와 헤모글로빈이 함유되어 있어 매우 민감하게 산화적 손상을 받게 된다.^{26,27)} 특히 지질 과산화(lipid peroxidation)는 세포손상과 세포사멸을 유도하는 것

으로 알려졌는데, 지질 과산화의 최종산물인 MDA가 적혈구에 일시에 노출될 경우 세포 구성물과 반응성이 높아 적혈구에 치명적 손상을 주게 된다. 또한 적혈구의 지질 과산화적 스트레스는 적혈구 막을 변형시켜 적혈구의 모양이나 미세순환환경을 변화시켜 적혈구의 기능을 저하시키기 때문에 혈색소증과 각종 빈혈을 야기한다. 따라서 본 연구의 결과 엉겅퀴 잎과 꽃 열수추출물은 AAPH가 유도하는 적혈구 MDA의 생성에 대한 억제 효과가 있음을 알 수 있었다.

한편, GSH는 모든 생체에서 존재하는 결합성 폴리펩티드로 생체 내의 산화환원기능에 관여하는데, 카텡신, 파파인, 숙신산탈수소효소와 같은 SH효소의 SH기를 보호하는 데 중요한 역할을 한다. 또한 메틸글리옥살에서 젓산을 만드는 락토일글루타티온분해효소에 대해서는 필수적인 보조기질로 작용한다. 그러므로 세포에서 GSH 항산화 기능에 매우 중요한 역할을 하는데, AAPH는 적혈구내 GSH를 고갈시켜 적혈구의 기능에 치명적 손상을 준다^{21,28}. 본 연구에서 엉겅퀴 잎과 꽃 열수추출물은 AAPH가 유도하는 적혈구 GSH 고갈을 효과적으로 억제하였으며, 그 항산화 효과는 비타민 C와 비슷하였다(Fig. 5). 그러므로 엉겅퀴 잎과 꽃의 열수추출물은 인간 적혈구의 산화적 스트레스에 대한 보호 효과가 우수한 소재임을 확인할 수 있었다.

이상의 결과를 종합해볼 때 엉겅퀴 잎과 꽃의 열수 추출물은 AAPH가 유도하는 적혈구 용혈 억제 및 항산화작용을 나타내, 활성산소와 관련된 질환의 개선 또는 치료에 이용될 수 있다고 사료된다.

결 론

엉겅퀴는 출혈, 혈전 및 염증을 개선 또는 치료하는데 전통적으로 활용되어 왔다. 본 연구는 엉겅퀴 잎과 꽃의 열수추출물을 대상으로 수용성 자유유리기 유도생성물질로 잘 알려진 AAPH를 정상인의 적혈구와 혈장에 처리하여 용혈, 지질 과산화 및 GSH 생성에 미치는 효과를 조사하였다. 그 결과 엉겅퀴 잎과 꽃의 열수추출물은 AAPH가 유도하는 적혈구 용혈과 적혈구 및 혈장의 지질 과산화물질의 최종 산물인 MDA의 생성을 억제하였고, 적혈구 GSH 고갈을 복구시키는 것을 밝혔다.

사 사

이 논문은 2011년도 지역산업기술개발사업(#A000200136) 사업으로 한국산업기술진흥원의 지원을 받아 연구되었다.

인용문헌

1. Galli, F., Canestrari, F. and Bellomo, G. (1999) Pathophys-

- iology of oxidative stress and its implication in uremia and dialysis. *Contri. Nephrol.* **127**: 1-31.
2. Parthasarathy, S., Khan-Merchant, N., Penumetcha, M. and Santanam, N. (2001) Oxidative stress in cardiovascular disease. *J. Nucl. Cardiol.* **8**: 379-389.
3. Cooke, M. S., Evans, M. D., Dizdaroglu, M. and Lunec, J. (2003) Oxidative DNA damage: mechanisms, mutation, and disease. *FASEB J.* **17**: 1195-1214.
4. Ames, B. N., Shigenaga, M. K. and Hagen, T. M. (1999) Oxidants, antioxidants, and the degenerative diseases of aging. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **90**: 7915-7922.
5. Edgington, S. M. (1994) As we live and breathe: free radicals and aging. Correlative evidence from a number of fields suggests they may be key. *Bio/Technology* **12**: 37-40.
6. Vives Corrons, J. L., Miguel-Garcia, A., Pujades, M. A., Miguel-Sosa, A., Cambiazzo, S., Linares, M., Dibarrart, M. T. and Calvo, M. A. (1995) Increased susceptibility of microcytic red blood cells to in vitro oxidative stress. *Eur. J. Haematol.* **55**: 327-331.
7. Rice-Evans, C., Omorphos, S. C. and Baysal, E. (1986) Sick cell membranes and oxidative damage. *Biochem. J.* **237**: 265-269.
8. Sadrzadeh, S. M., Graf, E., Panter, S. S., Hallaway, P. E. and Eaton, J. W. (1984) Hemoglobin. A biologic fenton reagent. *J. Biol. Chem.* **259**: 14354-14356.
9. Clemens, M. R., Ruess, M., Bursa, Z. and Waller, H. D. (1987) The relationship between lipid composition of red blood cells and their susceptibility to lipid peroxidation. *Free Radical. Res. Commun.* **3**: 265-267.
10. Chiu, D., Kuypers, F. and Lubin, B. (1989) Lipid peroxidation in human red cells. *Semin. Hematol.* **26**: 257-276.
11. Gey, K. F. (1998) Vitamins E plus C and interacting conutrients required for optimal health. A critical and constructive review of epidemiology and supplementation data regarding cardiovascular disease and cancer. *Biofactors* **7**: 113-174.
12. Panickar, K. S. and Anderson, R. A. (2011) Effect of polyphenols on oxidative stress and mitochondrial dysfunction in neuronal death and brain edema in cerebral ischemia. *Int. J. Mol. Sci.* **12**: 8181-8207.
13. Manach, C., Scalbert, A., Morand, C., Remesy, C. and Jimenez, L. (2004) Polyphenols: Food sources and bioavailability. *Am. J. Clin. Nutr.* **79**: 727-747.
14. Lee, S. J. (1996) Korean folk medicine. *Seoul National University Press, Seoul* p. 145-146.
15. Ishida, H., Umino, T. and Tosugee T. (1987) Studies on anti-hemorrhagic substance in herbs classified hemostatics in Chinese medicine. VII. On the anti-hemorrhagic principle in *Cirsium japonicum* DC. *Chem. Pharm. Bull.* **35**: 861-864.
16. Liu, S., Luo, X., Li, D., Zhang, J., Qui, D., Liu, W., She, L. and Yang, Z. (2006) Tumor inhibition and improved immunity in mice treated with flavone from *Cirsium japonicum* DC. *Int. Immunopharmacol.* **6**: 1389-1393.

17. Lee, H. K., Kim, J. S., Kim, N. Y., Kim, M. J, Park, S. U. and Yu, C. Y. (2003) Antioxidant, antimutagenicity and anti-cancer activities of extracts from *Cirsium japonicum* var. *ussuriense* Kitamura. *Kor. J. Med. Crop. Sci.* **11**: 53-61.
 18. Kim, S. J. and Kim, G. H. (2003) Identification for flavones in different parts of *Cirsium japonicum*. *J. Food Sci. Nutr.* **8**: 330-335.
 19. Lee, M. K., Moon, H. C., Lee, J. H., Kim, J. D., Yu, C. Y. and Lee, H. Y. (2002) Screening of immune enhancing activities in medicinal herbs, Compositae. *Kor. J. Med. Crop. Sci.* **10**: 51-57.
 20. Hseu, Y. C., Chang, W. C., Hseu, Y. T., Lee, C. Y., Yech, Y. J., Chen, P. C., Chen, J. Y. and Yang, H. L. (2002) Protection of oxidative damage by aqueous extract from *Antrodia camphorata* mycelia in normal human erythrocytes. *Life Sci.* **71**: 469-482.
 21. Ko, F. N., Hsiao, G. and Kuo, Y. H. (1997) Protection of oxidative hemolysis by demethyldiisoeugenol in normal and beta-thalassemic red blood cells. *Free Radical Biol. Med.* **22**: 215-222.
 22. Mok, J. Y., Kang, H. J., Cho, J. K., Jeon, I. H., Kim, H. S., Park, J. M., Jeong, S. I., Shim, J. S. and Jang, S. I. (2011) Antioxidative and anti-inflammatory effects of extracts from different organs of *Cirsium japonicum* var. *ussuriense*. *Kor. J. Herbology.* **26**: 39-47.
 23. Jaffe, E. A., Nachman, R. L., Becker, C. G. and Minick, C. R. (1973) Culture of human endothelial cells derived from umbilical veins. *J. Clin. Invest.* **52**: 2745-2756.
 24. Hseu, Y. C., Chang, W. C., Hseu, Y. T., Lee, C. Y., Yech, Y. J., Chen, P. C., Chen, J. Y. and Yang, H. L. (2002) Protection of oxidative damage by aqueous extract from *Antrodia camphorata* mycelia in normal human erythrocytes. *Life Sci.* **71**: 469-482.
 25. Benedetti, S., Benvenuti, F., Pagliarani, S., Francogli, S., Scoglio, S. and Canestrari, F. (2004) Antioxidant properties of a novel phycocyanin extract from the blue-green alga *Aphanizomenon flos-aquae*. *Life Sci.* **75**: 2353-2362.
 26. Snyder, L. M., Fortier, N. L., Trainor, J., Jacobs, J., Leb, L., Lubin, B., Chiu, D., Shohet, S. and Mohandas, N. (1985) Effect of hydrogen peroxide exposure on normal human erythrocyte deformability, morphology, surface characteristics, and spectrin-hemoglobin crosslinking. *J. Clin. Invest.* **76**: 1971-1977.
 27. Flynn, T. P., Allen, D. W., Johnson, G. J. and White, J. G. (1983) Oxidant damage of the lipids and proteins of the erythrocyte membranes in unstable hemoglobin disease. Evidence for the role of lipid peroxidation. *J. Clin. Invest.* **71**: 1215-1223.
 28. Yamamoto, Y., Niki, E., Eguchi, J., Kamiya, Y. and Shimazaki, H. (1985) Oxidation of biological membranes and its inhibition. Free radical chain oxidation of erythrocyte ghost membranes by oxygen. *Biochim. Biophys. Acta.* **819**: 29-36.
- (2012. 1. 13 접수; 2012. 3. 2 심사; 2012. 3. 6 게재확정)