

## 파고지 (*Psoralea corylifolia* Linne) 추출물의 항산화 작용에 의한 신경세포 보호효과

윤미영 · 이보배 · 김주영 · 김용성<sup>1</sup> · 박은주<sup>2</sup> · 이승철 · 박해룡\*  
경남대학교 식품생명학과, <sup>1</sup>경남대학교 화학과, <sup>2</sup>경남대학교 식품영양학과

## Antioxidant Activity and Neuroprotective Effect of *Psoralea corylifolia* Linne Extracts

Mi-Young Yoon, Bo-Bae Lee, Ju-Young Kim, Yongseong Kim<sup>1</sup>,  
Eunju Park<sup>2</sup>, Seung-Cheol Lee, and Hae-Ryong Park\*

Department of Food Science and Biotechnology, Kyungnam University, Masan 631-701, Korea

<sup>1</sup>Department of chemistry, Kyungnam University, Masan 631-701, Korea

<sup>2</sup>Department of Food and Nutrition, Kyungnam University, Masan 631-701, Korea

**Abstract** – The present study describes the preliminary evaluation of the antioxidant activities and the neuroprotective effect of methanolic extracts from *Psoralea corylifolia* Linne (PCE). The antioxidant activities and neuroprotective effect of the PCE were evaluated by total phenolic contents (TPC), DPPH radical scavenging activity (RSA), reducing power (RP), MTT reduction assay, and LDH release assay. TPC, DPPH RSA, and RP of the extract at concentration of 100 µg was 125.93 µM, 63.81%, 0.138, respectively, and those were concentration dependent. The treatment of PC12 and N18-RE-105 cells with various PCE concentrations under H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> resulted in the induction of protective effect in a dose-dependent manner, as determined by the results of an MTT reduction assay and LDH release assay. Therefore, these results suggest that PCE could be a new potential candidate as an antioxidant against neuronal diseases.

**Key words** – *Psoralea corylifolia* Linne, antioxidant activity, neuroprotective, PC12 cells, N18-RE-105 cells

최근 들어 생활수준이 향상되고 인간의 수명이 증가함에 따라 노화 및 노화에 관련된 각종 퇴행성 신경질환과 심혈관계 질환 등의 질병에 관심이 커지고 있으며, 그 원인이 활성산소에 기인된 것이라는 산소 유해설이 점차 인정받고 있다.<sup>1,4)</sup> 활성산소(reactive oxygen species, ROS)는 미토콘드리아내의 전자전달계 및 백혈구 세포의 활성화 등 정상적인 세포기능을 유지하는데 중요한 역할을 담당하는 세포 내 신호전달 물질로 작용한다.<sup>5)</sup> 이러한 활성산소는 체내 효소계, 환원대사, 물리적 또는 환경적 요인 등에 의해 끊임없이 생성되고 있는 일중항산소(<sup>1</sup>O<sub>2</sub>)나 superoxide, hydroxyl radical과 같은 짝짓지 않은 상태의 free radical과 과산화수소수(H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) 등으로서 이들은 분자 구조적으로 매우 불안정하기 때문에 고분자의 세포성분들을 공격하기 쉽게 되어 산화적 스트레스의 환경이 조성된다.<sup>6,7)</sup> 즉, 이들 활성산소는 단백질, DNA 등에 작용하여 세포 생체막의 구성성분인 불

포화지방산을 공격하여 과산화반응을 일으켜 체내 과산화 지질을 생성하고, DNA의 산화적 손상으로 심장질환, 동맥경화 등의 질병을 일으키게 되며 또한 여러 신경계 질병들의 직·간접적인 원인이 되어 궁극적으로 노화 및 신경계 질환들의 기전과 연결되어지기도 한다.<sup>8-13)</sup>

특히, 뇌는 반응성 산소 유리기에 의한 손상이 신체의 다른 어느 기관보다 크게 나타나는데 그 이유는 순환하는 O<sub>2</sub>의 20%가 뇌에 집중되어 있고, 세포막에는 불포화 지방산 측쇄(polyunsaturated fatty acid side chain)가 풍부하며, 반응성 산소 유리기 반응의 촉매인 철이 풍부하기 때문에 신경세포의 사멸 유도도 인한 퇴행성 신경질환과 관련이 큰 것으로 최근 여러 연구를 통해 보고되어지고 있다.<sup>14)</sup> 예를 들어, AD(Alzheimer's disease) 환자의 뇌 부위에 DNA 손상, 단백질 산화, 지질 과산화, advanced glycosylation end products(AGE) 등의 증가나 유리기 생성을 증가시키는 금속(철분, 구리, 아연, 알루미늄)의 수준이 증가되어 있어 산화적 손상이 증가될 가능성을 보여주는 것이 그것의 한 예

\*교신저자(E-mail): parkhy@kyungnam.ac.kr  
(FAX): 055-249-2995

이다. 현재, 이러한 퇴행성 신경 질환을 치료하기 위해서 항산화물 처리, 세포 이식, 외과적 수술 등 다양한 치료법이 제시되고 있지만 대부분이 위험요소와 부작용을 나타내고 있으며 손상 기전의 복잡성 등으로 신경세포의 손상을 보호하는 치료제는 개발되지 못하고 있는 실정이다. 따라서 각종 천연자원 등에서 보다 안전하고 신경세포 보호효과가 뛰어난 치료제의 개발이 요구된다.

본 연구팀에서는 국내·외에서 자생하고 있는 435가지의 약용식물 추출물을 대상으로 항산화 작용에 의한 신경세포 보호효과를 갖는 천연추출물의 탐색을 시도하였다. 그 결과 파고지(*Psoralea corylifolia* Linne) 추출물로부터 신경세포 보호효과를 확인 할 수 있었다. 본 연구에서 사용된 파고지는 콩과 Leguminosae의 씨로써 형태는 콩팥모양이며 성분으로는 psoralen, psoralidin, corylifolin, angelicin, bavachin, bavachinin가 함유되어 있으며, 약리 작용으로는 면역기능 항진작용, 심혈관 확장 작용, 항균 작용, 항 돌연변이 작용, 멜라닌 대사 촉진 작용 등이 알려져 있지만<sup>15)</sup> 파고지에 관한 생리활성물질의 연구는 아직 초보적인 단계에 불과하다.

따라서 본 연구에서는 천연자원으로부터 신경세포 보호효과를 갖는 물질을 탐색하기 위한 목적으로 파고지의 추출물을 이용하여 항산화 작용에 의한 신경세포 보호효과를 밝히고자 하였다.

## 재료 및 방법

**실험재료** - 본 실험에서 사용한 파고지는 2006년 11월 경남 마산시 (주)금강제약으로부터 제공받아 추출하여 실험에 사용하였다. 항산화력 측정에 사용된 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl(DPPH)은 Sigma Chemical Co.(St. Louis, MO, USA)에서 구입하였고, Folin-Ciocalteu 시약은 Wako Pure Chemical Industries, Ltd.(Osaka, Japan)에서 구입하여 사용하였다. 신경세포 보호효과 실험에 사용된 시약으로 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>(Hydrogen peroxide solution)와 MTT(3-[4,5-dimethylthiazol-2-yl]-2,5-diphenyl tetrazolium bromide)는 Sigma Chemical Co.(St. Louis, MO, USA)제품을 구입하였으며, LDH(Lactate dehydrogenase) release assay kit는 Wako Pure Chemical Industries, Ltd.(Osaka, Japan)로부터 구입하였다. 세포주 배양을 위해 필요한 Dulbecco's modified Eagle's medium(DMEM), fetal bovine serum(FBS), horse serum(HS) 및 penicillin-streptomycin 등은 Gibco-BRL(Grand Island, NT, USA)에서 구입하였다. 그 외 연구에 사용된 용매 및 시약은 모두 일급 이상의 등급을 사용하였다.

**추출방법 및 분획물 제조** - 파고지 5g에 메탄올 용매를 100 mL 가하여 2일 동안 상온에서 정치시켜 추출한 후, 여과지(5C. 110 mm, Advantec, Tokyo Roshi Kaish, Ltd.,

Tokyo, Japan)로 여과하였다. 이 추출여액을 회전감압농축기(EYELA N-1000, Tokyo Rikakikai Co., Tokyo, Japan)에서 농축하여 메탄올 추출물을 얻었다. 메탄올 추출물은 5 mg/mL로 DMSO(dimethyl sulfoxide)에 녹여 적당한 농도로 희석하여 실험에 사용하였으며 이 추출물을 PCE라고 명명하였다.

**세포주 및 배양** - 본 실험에서 사용한 세포주는 rat pheochromocytoma PC12, 신경세포계 hybridoma N18-RE-105 cell로써 한국세포주은행(KCLB)과 한국생명공학연구원에서 분양받아 사용하였다. 사용된 배지로는 PC12 세포주는 DMEM medium에 10% FBS, 5% HS 및 100 unit/mL의 penicillin, 100 µg/mL의 streptomycin을 첨가하여 사용하였으며, N18-RE-105 세포주는 DMEM medium에 10% FBS와 5% HS, 1×HAT supplement를 첨가하여 습도 95%의 37°C, 5% CO<sub>2</sub> incubator (Sanyo, Japan)에서 배양하였다.

**총 페놀 함량** - 총 페놀 함량은 Gutfinger의 방법<sup>16)</sup>을 변형하여 측정하였다. 즉, 파고지 추출물 1 mL를 취하여 2%(w/v) Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 용액 1 mL를 가하고 3분간 방치한 후, 50% Folin-Ciocalteu 시약 0.2 mL를 첨가하여 반응시켜 30분간 상온에서 방치하였다. 이 혼합물을 10분간 13,400×g에서 원심분리한 후, 상징액 1 mL를 취하여 750 nm에서 흡광도를 측정하였다. 총 페놀 함량은 gallic acid를 이용하여 작성한 표준곡선으로 µM 단위로 나타내었다.

**라디칼 소거능 측정** - DPPH 라디칼 소거능은 Jeong 등의 방법<sup>17)</sup>에 준하여 시료 0.1 mL에 4.1×10<sup>-5</sup> M의 DPPH 용액 0.9 mL를 가한 후 상온에서 30분간 반응시켜 517 nm에서 흡광도를 측정하였다. 각 시료의 라디칼 소거능은 아래의 식에 의해 전자 공여능으로 계산하여 백분율로 나타내었다.

$$\text{전자 공여능 (\%)} = \left(1 - \frac{\text{시료 첨가구의 흡광도}}{\text{무처리구의 흡광도}}\right) \times 100$$

**환원력의 측정** - 환원력은 Oyaizu의 방법<sup>18)</sup>에 따라 측정하였으며, 항산화 물질에 대한 철 이온의 환원력을 측정하는 것이다. 즉, 1 mL의 인산염 완충 용액(0.2 M, pH 6.6)에 1 mL의 파고지 추출물과 1%(w/v) potassium ferricyanide 용액 1 mL를 가하고 이 혼합물을 50°C, 20분간 반응을 시킨 후, 10%(w/v) trichloroacetic acid 용액 1 mL를 넣었다. 반응이 끝난 혼합물을 13,400×g에서 원심분리하여 얻은 상징액 1 mL과 증류수 1 mL을 넣고 0.1% 염화철 용액 0.1 mL을 가하여 700 nm에서 흡광도를 측정하였다.

**MTT 분석을 통한 세포 생존율 측정** - 파고지 추출물의 신경세포 보호효과를 측정하기 위하여 MTT reduction assay를 실시하였다. 각 세포주를 96-well plate에 1×10<sup>5</sup> cells/mL의 농도로 100 µL씩 분주하여 24시간 동안 37°C, 5% CO<sub>2</sub> incubator에서 배양한 후, DMSO에 녹인 파고지 추출물을 각각 1, 5, 10 µg/mL의 농도로 처리하였다. 그리고 30분 등

안 배양한 후, 0.5 mM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>를 처리하여 2시간 배양하고 각 well에 PBS 완충액에 녹인 MTT(5 mg/mL) 용액을 10 µL씩 첨가하여 2시간 동안 다시 배양하였다. 반응 후 well 바닥에 형성된 formazan이 흡수되지 않게 상등액을 제거하고 DMSO 100 µL 첨가하여 ELISA reader(Model 680, BioRad, USA)로 540 nm에서 흡광도를 측정하였다. 대조구 세포수를 100%로 하여 상대적인 세포성장 억제율을 구하였다.

**LDH 측정에 의한 세포독성 확인** - 파고지 추출물의 신경세포 보호효과를 측정하기 위한 방법으로 LDH release assay kit를 이용하여 실시하였다. 각 세포주를 1×10<sup>5</sup> cells/mL로 맞춘 후, 100 µL씩 96 well plate에 분주하여 CO<sub>2</sub> incubator에서 24시간 동안 배양하였다. 그 후, 파고지 추출물을 1, 5, 10 µg/mL의 농도로 세포주에 처리하여 30분 배양하고, 다시 0.5 mM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>를 처리하여 2시간 동안 배양하였다. 배양액을 새로운 96-well plate에 50 µL 분주하고 LDH reagent를 50 µL 첨가하여 반응 시킨 후, 반응이 완료되면 1 N HCl을 100 µL 첨가하여 반응을 중지시킨다. 또한 살아남은 세포의 LDH 측정을 위해 남은 배양액을 제거하고, 0.5% Triton X-100용액을 50 µL 첨가하여 40 rpm으로 10분 동안 shaking시키고 같은 방법으로 LDH reagent 첨가하여 반응 시킨다. 반응이 끝나면 반응 정지액을 넣은 뒤, 각각을 540 nm에서 흡광도를 측정하였다. LDH에 의한 세포 독성의 백분율은 배양액과 살아있는 세포에서 유리된 총 LDH에 대한 배양액으로부터 유리된 LDH의 값으로 계산하여 무처리 대조구와 비교한 값을 나타내었다.

**신경세포의 형태학적 변화 관찰** - 파고지 추출물에 대한 각 세포주의 형태학적인 관찰을 위해 6-well plate에 2×10<sup>5</sup> cells/mL로 24시간 동안 배양하였다. 파고지 추출물을 5, 10 µg/mL의 농도로 처리하여 30분 배양 후, 0.5 mM의 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>를 2시간 노출시켜 phase-contrast microscope(TS 100-F, Nikon, Tokyo, Japan)로 각 well의 세포형태를 관찰하고 100배로 사진 촬영하였다.

**통계처리** - 모든 자료의 처리는 SPSS-PC+ 통계 package를 사용하여 처리하였다. 각 항목에 따라 백분율과 평균치±표준편차(SD)를 구하고 각 추출물의 세포독성 정도를 비교하기 위해 one-way 분산분석(ANOVA)을 시행하여 F값을 구하고 Scheffe's test를 이용하여 대조군과 각 구간의 유의성 차이를 검증하였다. 통계적 유의성은 5% 수준에서 평가하였다.

## 결과 및 고찰

**총 페놀함량** - 페놀 화합물은 식물의 2차 대사산물의 주요 물질로서, 수산기를 가지는 방향족 화합물을 총칭한다. 이들의 단순 페놀, 페닐프로판오이드, 벤조산 유도체, 플라보노이드, 탄닌, 리그난 등의 다양한 종류로 대부분 식물에 존재한다. 페놀 화합물은 수산기를 통한 수소 공여와 페놀

**Table I.** Total phenolic contents (TPC), DPPH radical scavenging activity (RSA), and reducing power (RP) of extract of *Psoralea corylifolia* Linne

	Sample amount (µg)			
	5	10	50	100
TPC (µM GAE <sup>1</sup> )	12.04	20.74	71.85	125.93
DPPH RSA (%)	0.38	9.60	41.30	63.81
RP (Abs)	0.065	0.067	0.098	0.138

All measurements were done in triplicate, and values are average of three replication. IGAE : gallic acid equivalents.

고리 구조의 공명 안정화에 의해 항산화 능력을 나타낸다.<sup>19)</sup> 일반적으로 항산화 활성은 페놀성 화합물이 원인물질로 관련되어 있는 것이 알려져 있어 gallic acid를 표준용액으로 하여 작성한 검정곡선으로부터 파고지 추출물의 총 페놀함량을 조사한 결과를 Table I에 나타내었다.

파고지 추출물의 총 페놀 함량은 5와 10 µg에서는 각각 12.04, 20.74 µM GAE이었고, 50 µg에서는 71.85 µM GAE, 그리고 100 µg에서는 125.93 µM GAE로 많은 양의 페놀 화합물을 가지고 있음을 알 수 있었다.

총 페놀 함량과 항산화 활성이 밀접한 관계가 있음을 나타낸 연구사례가 많이 보고되고 있는데<sup>20-22)</sup> 이러한 사실로 미루어 보아 파고지 추출물에 포함된 페놀 화합물이 항산화 활성에 기여 할 수 있을 것으로 생각된다.

**라디칼 소거능** - 파고지 추출물의 수소 공여능을 DPPH 라디칼의 소거법을 이용하여 측정하였다. DPPH(2,2-diphenyl-1-picrylhydrohydrazyl)는 안정한 라디칼을 갖는 물질로 항산화 활성이 있는 물질과 반응하면 라디칼이 소거되어 짙은 자색이 탈색되어 흡광도가 감소하는 원리를 이용하여 항산화 물질의 수소공여능을 측정하는데 널리 이용되고 있다.

파고지 추출물의 양에 따른 DPPH 라디칼 소거능을 조사한 결과를 Table I에 나타내었다. 5, 10, 50 및 100 µg의 파고지 추출물을 첨가하여 실험한 결과, 5와 10 µg에서는 각각 0.38, 9.60%의 소거 효과를 보였고, 50 µg에서는 41.30%, 그리고 100 µg에서는 63.81%의 높은 라디칼 소거능을 나타냄을 알 수 있었다. 또한 추출물의 양이 증가함에 따라 라디칼의 소거 효과도 유의성 있게 증가함을 알 수 있는데, 이는 파고지 추출물이 항산화 활성을 가지고 있음을 의미한다. 따라서 파고지 추출물은 기능성 물질로 유용하게 활용할 가능성이 있을 것으로 생각된다.

**환원력** - 환원력 실험은 potassium ferricyanide reduction법을 사용한 추출물의 환원력을 평가하는 것으로서 reductone의 항산화 반응은 hydrogen atom을 제공함으로써 자유 라디칼 연쇄를 변환시키며, reductone은 또한 과산화의 일정한 전구물질과 반응하여 과산화의 형성을 방해한다.<sup>23)</sup>

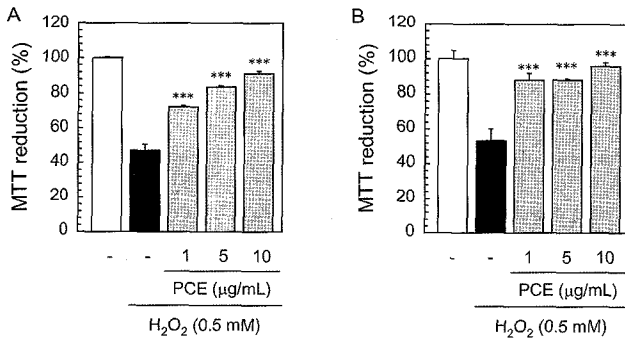
파고지 추출물의 환원력을 700 nm에서 흡광도를 측정한다

결과는 Table I에 나타내었다. 5, 10, 50 및 100  $\mu\text{g}$ 의 파고지 추출물을 첨가하여 금속이온을 환원시키는 환원력을 측정할 때 흡광도 수치는 그 자체가 시료의 환원력을 나타내므로 높은 흡광도 수치는 높은 환원력을 나타낸다. 표에 나타낸 바와 같이 50  $\mu\text{g}$ 에 0.098의 흡광도 수치를 나타내었고, 이것의 두 배의 양에 해당하는 100  $\mu\text{g}$ 에서는 0.138의 흡광도 수치를 나타내었다. 그리고 추출물의 양이 증가함에 따라 흡광도 수치도 유의적으로 증가하는 것도 확인 할 수 있었다.

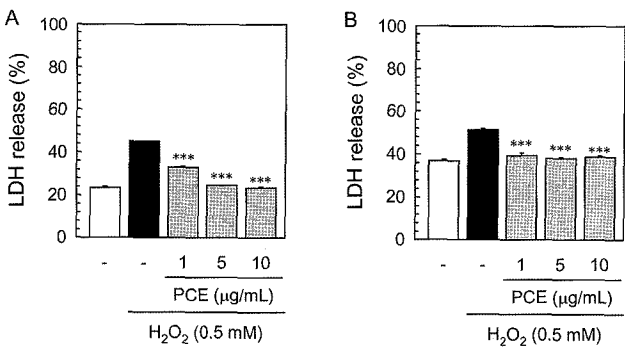
**파고지 추출물의 신경세포 보호효과** - 파고지 추출물의  $\text{H}_2\text{O}_2$ 에 의해 유도된 산화적 스트레스 상태에서 PC12 세포주와 N18-RE-105 세포주에 대한 신경세포 보호효과에 대한 결과는 Fig. 1과 Fig. 2로 나타내었다. 먼저  $\text{H}_2\text{O}_2$ 에 의해

유도되는 세포주의 손상에 대한 신경세포 보호효과를 확인하기 위해 MTT reduction assay 방법을 이용하여 아무것도 처리하지 않은 정상군과  $\text{H}_2\text{O}_2$ 를 처리한 대조군 그리고  $\text{H}_2\text{O}_2$ 와 파고지 추출물을 농도별로 처리한 실험군을 비교하였다. Fig. 1의 결과와 같이, 대조군의 세포 생존율은 PC12 세포주 47.2%, N18-RE-105 세포주 53.1%로 나타났으나, 이 때 파고지 추출물을 1, 5, 10  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 의 농도로 각 세포주에 처리했을 때 PC12 세포주의 생존율은 71.8, 83.6, 90.8%로 (Fig. 1A), N18-RE-105 세포주는 88.0, 88.2, 95.4%로써(Fig. 1B) 농도 의존적으로 세포가 회복되는 수준을 확인 할 수 있었다.

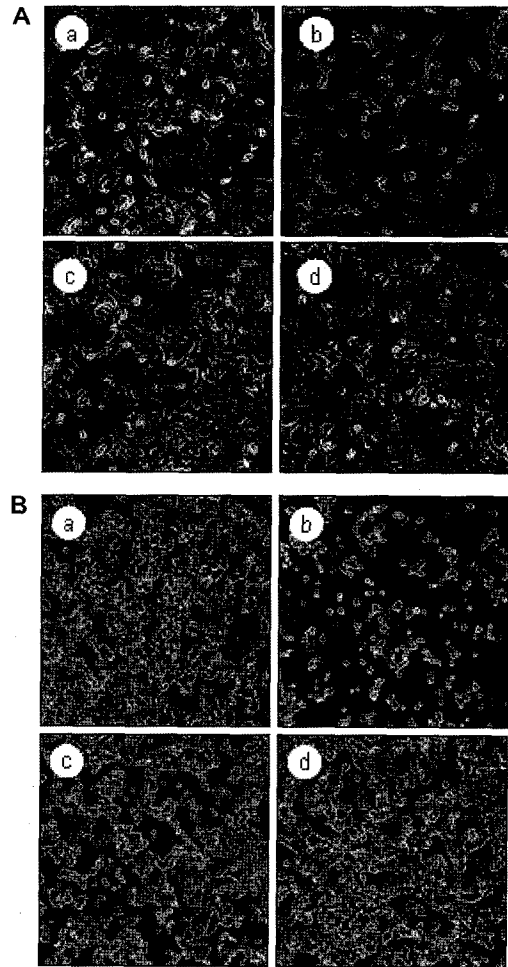
그리고 동일한 조건하에서 세포의 손상 정도를 확인하기



**Fig. 1.** The effects of PCE on  $\text{H}_2\text{O}_2$ -induced PC12 and N18-RE-105 cell death. Cells were pretreated with PCE at the indicated concentrations for 30 min prior to incubation with 0.5 mM  $\text{H}_2\text{O}_2$  for 2 hrs. **A:** PC12 cells, **B:** N18-RE-105 cells. After MTT assay, the MTT reduction rate (mean $\pm$ S.D. of triplicate determination) were calculated by setting each of control survivals in the absence of  $\text{H}_2\text{O}_2$  and PCE. \*\*\*significant vs. control  $\text{H}_2\text{O}_2$ -treated cells ( $p < 0.001$ ).



**Fig. 2.** Inhibition by PCE of  $\text{H}_2\text{O}_2$ -induced LDH leakage in **A:** PC12 cells, **B:** N18-RE-105 cells. Cells were pretreated with PCE at the indicated concentrations for 30 min prior to incubation with 0.5 mM  $\text{H}_2\text{O}_2$  for 2 hrs, and then used for the measurement of LDH leakage. Data were normalized to the activity of LDH release from vehicle-treated cells (100%) and expressed as percentage of the control (obtained separate plating). \*\*\*significant vs. control  $\text{H}_2\text{O}_2$ -treated cells ( $p < 0.001$ ).



**Fig. 3.** Analysis of phase-contrast microscopic morphological changes by PCE in **A:** PC12 cells, **B:** N18-RE-105 cells. The cells were exposed to various concentrations of PCE and morphological changes were monitored for 2 hours (a: control, b: 0.5 mM  $\text{H}_2\text{O}_2$ , c: 0.5 mM  $\text{H}_2\text{O}_2$ +PCE 5 mg/mL, d: 0.5 mM  $\text{H}_2\text{O}_2$ +PCE 10  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ). Photographs were taken with a phase-contrast microscope at 100 $\times$ magnification. This data was repeated at least two independent experiments.

위하여 배양액 중에 들어 있는 LDH의 방출 양을 측정된 결과는 Fig. 2와 같다. 정상군에 비해 대조군 PC12 세포주는 44.8%, N18-RE-105 세포주는 51.3% 정도의 LDH 방출을 확인할 수 있는데 반해 0.5 mM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>와 파고지 추출물 1, 5, 10 µg/mL를 처리한 결과 PC12 세포주는 32.9, 24.7, 23.7%, N18-RE-105 세포주는 39.2, 38.2, 38.4%로 세포사가 감소함을 보였다. 이 결과는 파고지 추출물이 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>에 의해 유발된 신경세포 손상을 강력하게 억제한다는 것을 나타낸다.

**신경세포의 세포형태학적 영향** - H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>로 유도된 스트레스 상태의 각 세포주에서 파고지 추출물이 세포의 형태학적 변화에 미치는 영향을 알아보기 위해 광학현미경 하에서 관찰하였다(Fig. 3). Fig. 3의 결과와 같이, 각 세포주의 정상군에서는 건강하게 뾰은 신경돌기의 모습을 관찰할 수 있었지만 대조군은 산화적 스트레스로 인하여 신경돌기가 거의 소멸된 양상을 보임으로써 신경세포의 형태학적으로 큰 변화가 유도된 것을 확인할 수 있었다. 그러나 파고지 추출물을 5, 10 µg/mL를 처리했을 때 농도 의존적으로 신경세포 손상정도가 대부분 회복되어 있음을 확인할 수 있었다. 따라서 이러한 신경세포의 형태학적인 변화를 통하여 파고지 추출물은 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>에 의한 신경세포 손상을 억제하거나 혹은 신경세포를 보호하는 효과가 있다는 것을 알 수 있었다.

## 결 론

본 연구에서는 파고지(*Psoralea corylifolia* Linne) 추출물의 항산화 작용에 의한 신경세포 보호효과를 확인하기 위하여 총 페놀 함량, 라디칼 소거능, 환원력 측정, MTT-dye reduction assay와 LDH release assay를 이용하였다. 총 페놀 함량, 라디칼 소거능, 환원력을 측정된 결과, 파고지 추출물 100 µg에서 각각 125.93 µM, 63.81%, 0.138의 수치를 얻을 수 있었다. 또한 MTT reduction assay 결과, 산화적 스트레스 상태에서 PC12 세포주와 N18-RE-105 세포주에서 47.2%, 53.1%의 생존율을 보이는 반면 파고지 추출물 10 µg/mL 농도로 처리하였을 때 각각 90.8%, 95.4%의 높은 세포 생존율을 확인할 수 있었다. 이는 LDH release assay에서도 일치하는 결과를 확인하였다. 그리고 광학 현미경으로 형태학적 변화를 관찰한 결과에서도 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>를 처리한 대조군에서는 신경돌기가 거의 소멸된 양상을 확인할 수 있지만 파고지 추출물을 처리한 각 세포주에서는 신경돌기의 출현 유도를 통한 신경세포 생존을 확인할 수 있었다.

## 사 사

이 논문은 2006년도 정부(과학기술부)의 재원으로 한국과학재단의 지원을 받아 수행된 연구임(No. R01-2006-000-11361-0).

## 인용문헌

- Goldberg, I. (1994) Functional foods, 3-550. Chapman & Hall Press, New York, NY, USA.
- Kang, I. H., Cha, J. H., Lee, S. W., Kim, H. J., Kwon, S. H., Ham, I. H., Hwang, B. S. and Whang, W. K. (2005) Isolation of anti-oxidant from domestic *Crataegus pinnatifida* bunge leaves. *Kor. J. Pharmacogn.* **36**: 121-128.
- Chi, H. Y., Kim, K. H., Kong, W. S., Kim, S. L., Kim, J. A., Chung, I. M. and Kim, J. T. (2005) Antioxidant activity and total phenolic compound of *P. eryngii* spp. extracts. *Korean J. Crop Sci.* **50**: 216-219.
- Lee, S. O., Lee, H. J., Yu, M. H., Im, H. G. and Lee, I. S. (2005) Total polyphenol contents and antioxidant activities of methanol extracts from vegetables produced in Ullung island. *Korean J. Food Sci. Technol.* **37**: 233-240.
- Shin, E. M., Kim, D. H., Kwon, Y. B. and Kim, Y. S. (2006) Anti-inflammatory and immunomodulatory effects of the botanical product AMP-365<sup>TM</sup>. *Kor. J. Pharmacogn.* **37**: 212-216.
- Papa, S. and Skulachev, V. P. (1997) Reactive oxygen species, mitochondria, apoptosis and aging. *Mol. Cell Biochem.* **174**: 305-319.
- Cha, B. C., Lee, E. H. and Noh, M. A. (2005) Antioxidant activity of *Smilacis Chinae Radix*. *Kor. J. Pharmacogn.* **36**: 195-200.
- Leibovitz, B. E. and Siegel, B. V. (1980) Aspects of free radical reactions in biological systems: Aging. *J. Gerontol.* **35**: 45-53.
- Kim, H. J., Bae, J. T., Lee, J. W., Hwang Bo, M. H., Im, H. G. and Lee, I. S. (2005) Antioxidant activity and inhibitive effects on human leukemia cells of edible mushrooms extracts. *Korean J. Food Preserv.* **12**: 80-85.
- 김삼인 (1996) 농수산물에서 항산화활성 물질의 탐색. 단국대학교 석사학위논문.
- Bu, H. J., Lee, H. J., Yoo, E. S., Jung, D. S., Riu, K. Z. and Lee, S. (2004) Antioxidant effects and inhibitory effect on NO synthesis by extracts of *Canavalia lineata*. *Kor. J. Pharmacogn.* **35**: 338-345.
- Halliwell, B. (1990) How to characterize a biological antioxidant. *Free Radic. Res. Commun.* **9**: 1-32.
- Knight, J. A. (1995) The process and theories of aging. *Ann. Clin. Lab. Sci.* **25**: 1-12.
- Bae, M. K., Choi, S., Ko, M. J., Ha, H. J. and Kim, H. J. (2005) Effect of OQ21 and melatonin on lipopolysaccharide-induced oxidative stress in rat brain. *Yakhak Hoeji* **49**: 347-354.
- 임종필, 김대근, 김만배, 김훈, 박진한, 홍승헌 (2005) 본초생약학, **366**: 신일상사, 서울.
- Gutfinger, T. (1981) Polyphenols in olive oil. *J. Am. oil Chem. Soc.* **58**: 966-968.
- Jeong, S. M., Kim, S. Y., Park, H. R. and Lee, S. C. (2004)

- Effect of far-infrared radiation on the activity of extracts from *Citrus unshiu* peels. *J. Korean Sc. Food Sci. Nutr.* **33**: 1580-1583.
18. Oyaizu, M. (1986) Studies on product of browning reaction prepared from glucose amine. *Jap. J. Nutr.* **44**: 307-315.
19. Crespy, V. and William son, G. (2004) A review of the health effects of green tea catechins in *in vivo* animal models. *J. Nutr.* **134**: 3431S-3440S.
20. Cha, J. Y., Kim, H. J., Chung, C. H. and Cho, Y. S. (1999) Antioxidative activities and contents of polyphenolic compound of cudrania tricuspidat. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* **28**: 1310-1315.
21. Caldwell, C. R. (2001) Oxygen radical absorbance capacity of the phenolic compounds in plant extracts fractionated by high-performance liquid chromatography. *Analytical Biochemistry* **293**: 232-238.
22. Arnous, A., Makris, D. P. and Kefalas, P. (2001) Effect of principal polyphenolic components in relation to antioxidant characteristic of aged red wines. *J. Agric. Food Chem.* **49**: 5736-5742.
23. Wettasinghe, M. and Shahdi, F. (1999) Antioxidant and free radical-scavenging properties of ethanolic extracts of defatted borage (*Borago officinals* L.) seeds. *Food Chemistry* **67**: 399-414.

(2007년 1월 19일 접수)