

## 루테인과 후코이단 병용 처리에 의한 AAPH 유도 세포 손상 억제

이 경 호 · \*윤 원 호\*

코오롱생명과학(주), 서울대학 식품가공과

### Protective Effect of Co-treatment of Lutein and Fucoidan Against AAPH-Induced Damage in THP-1 Cells

Keyong Ho Lee and \*Won Ho Yoon\*

Kolon Life Science Inc., Yongin 449-797, Korea

\*Dept. of Food Science & Biotechnology, Seoul University, Seoul 131-702, Korea

#### Abstract

This study was designed to investigate the protective effect of the combination of fucoidan and lutein against AAPH-induced oxidative stress in THP-1 cells. The combination of fucoidan and lutein existed significant antioxidant effect on AAPH-damaged THP-1 cells by using lipid peroxidation and cellular antioxidant capacity assay. Fucoidan(1  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) and lutein(10  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) did not affect at all the viability of THP-1 cells, but protected the AAPH-damage of THP-1 cells at the same concentration. The viability of THP-1 cells was 0% with 1 mM AAPH alone, the protective effect of fucoidan(1  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) and lutein(10  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) was 37% and 36%, respectively. The combination of fucoidan(1  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) and lutein(10  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) exhibited significant inhibitory effect of lipid peroxidation using TBARS assay and cellular antioxidant capacity using DCFH-DA assay. In lipid peroxidation, the TBARS value of 1 mM AAPH alone was  $0.8 \pm 0.03$  nM MDA, its of the combination of fucoidan(1  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) and lutein(10  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) was  $0.2 \pm 0.05$  nM MDA. In cellular antioxidant capacity, the combination of fucoidan(1  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) and lutein(10  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) exhibited significant cellular antioxidant capacity of 76%, whereas quercetin(10  $\mu\text{M}$ ) as positive control exhibited the cellular antioxidant capacity of 32%. These results indicate that the cotreatment of fucoidan and lutein protects against AAPH-induced THP-1 cell damage by inhibiting lipid peroxidation, increasing cellular antioxidant capacity.

Key words: lutein, fucoidan, antioxidant, THP-1 cell line.

#### 서 론

AAPH(2,2'-Azobis(2-amidinopropane)) dihydrochloride는 수용성 질소 화합물로서 과산화 지질과 항산화 물질에 관련된 연구에서 자유 라디칼의 생성원으로 널리 사용되고 있다. AAPH가 분해되면 질소 분자와 두 개의 탄소 라디칼이 생성되고, 탄소 라디칼은 산소 분자와 결합해 과산화 라디칼을 만들고, 이렇게 만들어진 과산화 라디칼은 세포 내에서 물리화학적 변형 및 세포 손상을 일으킨다. 따라서, AAPH 유도에 의한 세포 손상 모델은 항산화 억제 물질의 활성을 평가하는 활성

측정 시스템으로 유용하다고 할 수 있겠다. 이 *in vitro* 모델에서 사용하는 세포로는 인체 단핵구 세포인 THP-1로 AAPH 유도에 의한 산화적 스트레스에 민감하여 항산화 활성 측정에 적합한 세포로 알려져 있다(Yokozawa 등 2000).

산화적 스트레스는 체내에서 생성되는 활성 산소종의 균형에 의해 작용을 받는 것으로 이러한 활성 산소종은  $\text{O}_2^-$ (superoxide anion),  $\text{HO}\cdot$  (hydroxyl radical),  $^1\text{O}_2$ (singlet oxygen),  $\text{H}_2\text{O}_2$  (hydrogen peroxide),  $\text{HOCl}$ (hypochlorous acid)를 들 수 있다. 하지만 생체에는 계속해서 생기는 이러한 활성 산소종을 제거하는 항산화 효소계(예를 들어 superoxide dismutase, catalase,

\* Corresponding author: Won Ho Yoon, Dept. of Food Science and Biotechnology, Seoul University, 49-3 Myunmok-dong, Jungnang-gu, Seoul 131-702, Korea. Tel: +82-2-490-7458, Fax: +82-2-490-7811, E-mail: whyoon@seoul.ac.kr

glutathione peroxidase, glutathione reductase)와 여러 항산화 화합물(vitamin C, vitamin E, uric acid, bilirubin) 등이 존재함으로써 활성 산소종의 생성과 제거 사이에 균형을 갖추어 세포 기능을 유지하고 있다. 하지만 활성 산소종이 너무 많이 생성되거나 항산화시스템의 기능이 저하되는 상황에서 세포는 활성 산소종에 의해 유해 작용을 받아 심장질환, 암 및 노화와 같은 여러 가지 질병을 유발할 수 있다(Aust 등 1985; Bodaness & Chan 1977; Fridovich 1978; Trush 등 1982; Valko 등 2007).

루테인은 carotenoid 계의 황색 색소로 자연계에 널리 분포되고 있으며, 이러한 carotenoid 계의 색소는 일반적으로 활성 산소를 소거하는 등의 항산화 효능이 있는 것으로 알려져 있어, 노화 억제에 영향을 미치는 물질로 알려져 있다(Chopra 등 1993; Jacques 1999; Jarvinen 1995; Khachik 등 1995; Rapp 등 2000; Snodderly 1995; Sommerburg 등 1998).

Fucoidan은 에스테로화 황산을 주성분으로 한 분자량 20만의 거대한 다당류로, 다시마와 미역 등 갈조류에 주로 존재한다(Chevolot 등 1999; Chevolot 등 2001; Chizhov 등 1999). Fucoidan의 생리활성으로는 항스트레스 효과, 콜레스테롤 저하 작용이나 항종양 작용을 가지는 것은 이미 학계에 보고되어 있다(Brunner 등 1998; Del Bigio 등 1999; Piao 등 2004). 일반적으로 식품에 사용되는 천연 소재에는 많은 플라보이드계 화합물이 함유되어 있어 항산화 효능을 지니고 있으며, 이들의 소재의 기능성에 대한 많은 연구가 보고되어 왔다(Shin & Lee 2005; Park 등 2009).

본 연구에서는 주로 식품에서 많이 이용되지 않았던 fucoidan과 lutein의 병용에 의하여 AAPH 유도 세포 손상에 의한 손상 방어 효과를 측정하여, 이를 이용한 복합 항산화 기능성 소재로의 이용 가치를 향상시키고자 하였다.

## 재료 및 방법

### 1. 재료

루테인은 금잔화로부터 정제한 식품 첨가물용 루테인을 Yixin Pharmaceutical(Zhejiang, China)에서 구입하였고, 후코이단(85% sulfated polysaccharide)은 헤원 바이오테크(완도, Korea)로부터 구입하여 사용하였다. AAPH(2,2'-Azobis(2-amidinopropane)) dihydrochloride, MTT(3-[4,5 dimethyl thiazol-2-yl]-2,5-di-phenyl-tetrazolium bromide, TBARS(thiobarbituric acid reactive substances) 및 quercetin은 Sigma(St. Louis, MO, USA)로부터, DCFH-DA(2',7'-dichloro fluorescein diacetate)은 Molecular Probes로부터 구입하였다.

### 2. 세포 배양

인체 단핵구 세포의 대표적 실험 모델인 THP-1 세포주(ATCC TIB-202)는 RPMI 1640(Gibco BRL, Gaithersburg, MD, USA) 배지에 10%의 우태아 혈청(fetal bovine serum: FBS, Gibco BRL), 100  $\mu\text{g/ml}$  스트렙토마이신, 100 U/ml 페니실린을 첨가한 배지로 배양하였다. 배양은 37°C, 5% CO<sub>2</sub> 배양기에서 유지하였다.

### 3. 세포생존율

세포의 생존율 측정은 MTT assay를 이용하였다(Carmichael 등 1987). THP-1 세포는 24-well cell culture plate에 각각  $5 \times 10^5$  cells을 접종하여 시험에 사용하였다. 시료 처리한 세포의 배지에 MTT(5 mg/ml)를 각 well당 100  $\mu\text{l}$ 씩 투여한 후 4시간 동안 정치 배양하여 formazan을 형성시킨 후, PBS 용액으로 1회 세척 후 dimethylsulfoxide를 각 well당 300  $\mu\text{l}$ 씩 넣어 형성된 formazan을 녹여 분광광도계(model 6405, Genway Ltd., England)로 570 nm에서 흡광도를 측정하였다. 이때 세포의 생존 정도는 실험군의 값을 약물 처리를 하지 않은 대조군의 비로 나누어 백분율로 나타내었다.

### 4. 지질 과산화 억제 활성

Lipid peroxidation의 정량 측정은 시료를 일정 시간 동안 처리한 THP-1 세포의 배양 상층액과 세포 용해액 내의 TBARS(thiobarbituric acid reactive substances) 측정으로 하였다(Fraga 등 1988; Oh & Lee 2008). 24-well plate에 배양한 THP-1 세포( $5 \times 10^5$  cells/well)에 1 mM AAPH를 첨가하여 24시간 동안 추가 배양 후, 배양 상층액 200  $\mu\text{l}$ 와 TBARS 용액 400  $\mu\text{l}$ 를 95°C에서 30분간 반응하여 532 nm에서 흡광도를 측정하였다. 측정된 흡광도를 기준으로 표준곡선에 따라 TBARS 값을 mg malondialdehydes/kg 시료로 계산하였다.

### 5. 세포 내의 산화 스트레스 억제 활성

세포 내 반응성 산소종을 측정하기 위하여 fluorescent probe (2',7'-dichloro fluorescein diacetate, DCFH-DA, Molecular Probes, Seoul, Korea)를 이용하였다(Wolfe & Liu 2007). 37°C에서 1 mM AAPH를 6시간 동안 처리한 후 30분간 DCFH-DA(10  $\mu\text{M}$ )를 반응시켰다. DCFH-DA의 존재 하에서 생성된 형광의 변화를 excitation, 485 nm 및 emission, 530 nm에서 30분간 Fluorescence Microplate Reader FL500(Bio-Tek, Singapore)으로 측정하였다.

### 6. 통계 처리

모든 실험은 3반복을 1회로 하여 2회 이상 반복 실험하였다. 통계 처리는 SAS version 9.1(SAS Institute Inc., Cary, NC, USA)을 이용하여 평균과 표준오차를 구하였다.

## 결과 및 고찰

### 1. 세포 독성

후코이단 및 루테인의 단독 처리에 의한 세포 독성 효과를 *in vitro*에서 측정하였다(Table 1). 후코이단은 10  $\mu\text{g/ml}$ 와 100  $\mu\text{g/ml}$ 에서 각각 96% 및 87%의 세포 생존율은 나타내었고, 루테인은 동일 농도에서 각각 99% 및 82%의 세포 생존율을 나타내었다. 즉, 후코이단과 루테인은 100  $\mu\text{g/ml}$ 에서부터 THP-1 세포의 생존율에 영향을 미치기 시작하는 것으로 나타났다.

후코이단과 루테인에 의한 AAPH 유도 세포 독성에 대한 보호 효과를 측정하였다(Table 2). THP-1 세포에 1 mM AAPH를 전처리하고 24시간 후에 후코이단과 루테인을 0.1, 1 및 10  $\mu\text{g/ml}$ 로 처리한 후, 24시간 추가 배양하여 AAPH 유도 세포 독성에 대한 보호 효과를 측정된 결과, 두 시료 모두 농도 의존적으로 생존율이 증가하였다. 즉, 후코이단 1  $\mu\text{g/ml}$ 와 10  $\mu\text{g/ml}$ 의 농도에서 각각 37% 및 40%로 나타났고, 루테인에서는 동일 농도에서 각각 25% 및 36%로 나타났다.

### 2. 지질 과산화 억제 활성

THP-1 세포에서 AAPH 유도 세포 독성에 대한 지질 과산화 억제 효과를 측정하였다(Fig. 1). 후코이단과 루테인의 병용 처리 농도는 최종 농도로 각각 1  $\mu\text{g/ml}$ 와 10  $\mu\text{g/ml}$ 가 되도록 하였다. 지질 과산화 정도는 1mM AAPH 단독 처리 시의 TBARS 값은  $0.8 \pm 0.03$  nM MDA를 나타내었다. 1 mM AAPH 전처리 후, 후코이단 및 루테인의 각각 단독 처리에 의한 TBARS 값은 각각  $0.6 \pm 0.05$  및  $0.5 \pm 0.02$  nM MDA를 나타내었으며, 후

**Table 1. The viability of THP-1 cell line by treatment of fucoidan and lutein**

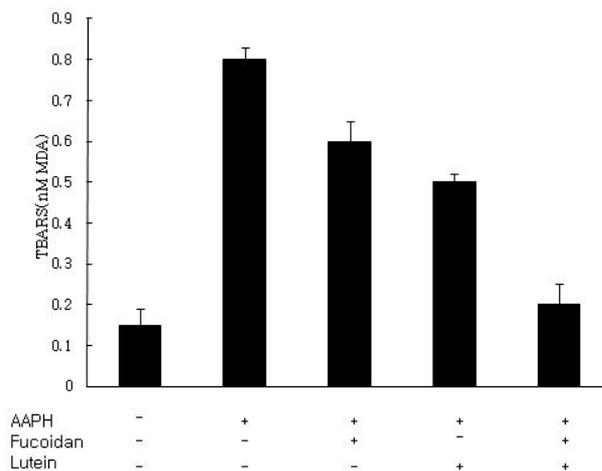
Sample	% viability of the each concentration( $\mu\text{g/ml}$ ) at			
	0.1	1	10	100
Fucoidan	100 $\pm$ 0.2	100 $\pm$ 0.3	96 $\pm$ 0.2	87 $\pm$ 0.5
Lutein	100 $\pm$ 0.1	100 $\pm$ 0.2	99 $\pm$ 0.1	82 $\pm$ 0.4

Each value is expressed as mean $\pm$ S.D.(n=3).

**Table 2. Protective effect of fucoidan and lutein on AAPH-induced THP-1 cell line**

Sample	% viability of the each concentration( $\mu\text{g/ml}$ ) at			
	0.1	1	10	
1 mM AAPH alone		0.0 $\pm$ 0.2		
1 mM AAPH +	Fucoidan	12 $\pm$ 0.5	37 $\pm$ 0.7	40 $\pm$ 1.2
	Lutein	13 $\pm$ 0.3	25 $\pm$ 0.5	36 $\pm$ 0.6

Each value is expressed as mean $\pm$ S.D.(n=3).



**Fig. 1. Inhibitory effects of the combination of fucoidan and lutein on AAPH-induced lipid peroxidation of THP-1 cell line.** The final each concentration of fucoidan and lutein is 1  $\mu\text{g/ml}$  and 10  $\mu\text{g/ml}$ , respectively. Each value is expressed as mean $\pm$ SD(n=3).

코이단과 루테인의 병용 처리에 의한 TBARS 값은  $0.2 \pm 0.05$  nM MDA를 나타내어, 후코이단 및 루테인 각각 단독 처리보다 병용 처리에 의한 지질 과산화 억제 효과가 높게 나타났다.

즉, 두 시료의 병용 처리에 의하여 정상세포 수준의 TBARS 값의 75% 수준까지 회복이 관찰되었다.

### 3. 세포 내의 산화 스트레스 억제 활성

THP-1 세포를 배양한 후, 후코이단 및 루테인을 각각 1  $\mu\text{g/ml}$  및 10  $\mu\text{g/ml}$  농도로 처리하여 항산화능을 측정하였다(Table 3). 양성 대조군으로 10  $\mu\text{M}$ 의 quercetin을 처리하여 비교하였을 때 두 시료 모두 유의적으로 높은 항산화능을 나타내었다. 후코이단의 세포 항산화능은 40%이었고, 루테인은 56%를 나타내었다. 10  $\mu\text{M}$ 의 quercetin과 같은 정도의 항산화능을 나타내는 농도로 환산하였을 때, 후코이단의 경우는 0.8  $\mu\text{g/ml}$ 이었고, 루테인은 5.7  $\mu\text{g/ml}$  정도로 양성 대조 시료인 quercetin에 비하여 높은 세포 항산화능을 나타내었다. 두 시료의 병용 처리에 의한 세포 항산화능은 76%로 나타났다. 이의 결과로 볼 때, 두 시료의 병용 처리에 의한 지질 과산화 효능은 주로 루테인에 의하여 나타나는 것으로 사료된다. 즉, AAPH 유도에 의한 세포 독성 보호 효과에 있어서, 후코이단 1  $\mu\text{g/ml}$  및 루테인 10  $\mu\text{g/ml}$ 에서 각각 37%와 36%로 서로 비슷하였고, 지질 과산화 억제 효능은 동일 농도에서 각각 0.6 nM 및 0.5 nM MDA를 나타내어 루테인이 높게 나타났고, 세포 항산화능 역시 동일 농도에서는 각각 40%와 56%로 루테인이 높게 나타났다. 따라서 두 시료의 처리에 있어서 전체적인 항산화능은 단독 투여 시 보다 높게 나타났으며, 주요한 항산화능을

**Table 3. Cellular antioxidant capacity(CAA) in THP cells**

	Cellular antioxidant capacity(%) <sup>1)</sup>	$\mu\text{g}$ samples equivalent to CAA of 10 $\mu\text{M}$ quercetin <sup>2)</sup>
Quercetin	32±1.5	-
Fucoidan(1 $\mu\text{g}/\text{ml}$ )	40±2.3	0.8
Lutein(10 $\mu\text{g}/\text{ml}$ )	56±3.3	5.7
Fucoidan(1 $\mu\text{g}/\text{ml}$ )+ Lutein(10 $\mu\text{g}/\text{ml}$ )	76±3.9	-

<sup>1)</sup> The combination of fucoidan and lutein or quercetin 10  $\mu\text{M}$  were applied to THP-1 cells for 1 hr. Cellular antioxidant activity unit(%) =  $100 - (\int SA / \int CA) \times 100$ .

<sup>2)</sup>  $\mu\text{g}$  of extracts equivalent to CAA of 10  $\mu\text{M}$  quercetin = sample dose  $\mu\text{g} \times (\text{CAA of quercetin} / \text{CAA of the sample of each dose})$ . Each value is expressed as mean±S.D.(n=3).

선도하는 물질은 비록 후코이단 대비 10배 정도 높게 처리되었으나 루테인으로 사료된다.

루테인의 항산화 효능은 이미 잘 알려져 이를 이용한 기능성 식품에 관한 임상결과들이 잘 알려져 있고(Rosenthal 등 2006), 후코이단의 항산화 효능은 최근에 약리학적 효능이 알려지기 시작했으며, 그 효능은 주로 황산기를 함유하는 아미노산이나 황산기에 의한 것으로 사료되고 있다(Zhang 등 2003). 그러나 이 두 가지를 이용한 효과는 알려지지 않아, 본 실험의 결과를 이를 이용한 복합 기능성 소재로의 이용에 기초적인 결과라고 사료된다. 따라서 본 실험의 결과는 이를 이용한 복합 기능성 소재로의 이용에 기초적인 결과라고 사료되며, 향후 라디칼 소거의 의한 과산화물의 감소가 DNA 및 RNA 변화에 어떠한 영향을 미치는가에 대한 추가적인 연구가 필요하리라 사료된다.

### 요약 및 결론

본 연구에서는 fucoidan과 lutein의 병용에 의하여 AAPH 유도 THP-1 세포의 손상에 의한 손상 방어 효과를 지질 과산화 억제 및 세포 항산화능 측정법을 이용하여 효과를 측정하였다. 후코이단과 루테인의 병용 처리에 의한 AAPH 유도 세포 독성에 대한 보호 효과를 측정한 결과, 후코이단 1  $\mu\text{g}/\text{ml}$ 와 10  $\mu\text{g}/\text{ml}$ 의 농도에서 각각 37% 및 40%로 나타났고, 루테인에서는 동일 농도에서 각각 25% 및 36%로 나타났다. THP-1 세포에서 AAPH 유도에 의한 지질 과산화 정도는 1 mM AAPH 단독 처리 시의 TBARS 값은  $0.8 \pm 0.03$  nM MDA이었고, AAPH 전처리 후, 후코이단 및 루테인의 각각 단독 처리에 의한 TBARS 값은 각각  $0.6 \pm 0.05$  및  $0.5 \pm 0.02$  nM MDA을 나타내었으며, 후

코이단과 루테인의 병용 처리에 의한 TBARS 값은  $0.2 \pm 0.05$  nM MDA을 나타내었다. 후코이단 및 루테인을 각각 1  $\mu\text{g}/\text{ml}$  및 10  $\mu\text{g}/\text{ml}$  농도로 처리하여 항산화능을 측정한 결과, 양성 대조군으로 10  $\mu\text{M}$ 의 quercetin을 처리하여 비교하였을 때 두 시료 모두 유의적으로 높은 항산화능을 나타내었다. 후코이단의 세포 항산화능은 40%이었고, 루테인은 56%을 나타내었다. 10  $\mu\text{M}$ 의 quercetin과 같은 정도의 항산화능을 나타내는 농도로 환산하였을 때, 후코이단의 경우는 0.8  $\mu\text{g}/\text{ml}$ 이었고, 루테인은 5.7  $\mu\text{g}/\text{ml}$  정도로 양성 대조 시료인 quercetin에 비하여 높은 세포 항산화능을 나타내었다. 두 시료의 병용 처리에 의한 세포 항산화능은 76%로 나타났다. 따라서 본 실험의 결과는 이를 이용한 복합 기능성 소재로의 이용에 기초적인 결과라고 사료된다.

### 감사의 글

본 연구는 2009년도 서일대학 학술연구비 지원에 의해 이루어진 것이며 이에 감사드립니다.

### 참고문헌

- Aust SD, Morehouse LA, Thomas CE. 1985. Role of metals in oxygen radical reactions. *J Free Radic Biol Med* 1:3-25
- Bodaness RS, Chan PC. 1977. Singlet oxygen as a mediator in the hematoporphyrin-catalyzed photooxidation of NADPH to  $\text{NADP}^+$  in deuterium oxide. *J Biol Chem* 252:8554-8560
- Brunner G, Reibold K, Meissauer A, Schirmacher V, Erkell LJ. 1998. Sulfated glycosaminoglycans enhance tumor cell invasion *in vitro* by stimulating plasminogen activating. *Exp Cell Res* 239:301-310
- Carmichael J, DeGraff WG, Gazdar AF, Minna JD, Mitchell JB. 1987. Evaluation of a tetrazolium-based semiautomated colorimetric assay: Assessment of chemosensitivity testing. *Cancer Res* 47:936-942
- Chevolot L, Foucault A, Chaubet F, Kervarec N, Sinquin C, Fisher AM, Boisson-Vidal C. 1999. Further data on the structure of brown seaweed fucans: Relationships with anticoagulant activity. *Carbohydr Res* 319:154-165
- Chevolot L, Mulloy B, Ratskol J, Foucault A, Collic-Jouault S. 2001. A disaccharide repeat unit is the major structure in fucoidans from two species of brown algae. *Carbohydr Res* 330:529-535
- Chizhov OA, Dell A, Morris HR, Haslam SM, McDowell RA, Shashkov AS, Nifant'ev NE, Khatuntseva EA, Usov AI. 1999.

- A study of fucoidan from the brown seaweed *Chorda filum*. *Carbohydr Res* 320:108-119
- Chopra M, Willson RL, Thurnham DI. 1993. Free radical scavenging of lutein *in vitro*. *Ann NY Acad Sci* 691:246-249
- Del Bigio MR, Yan HJ, Campbell TM, Peeling J. 1999. Effect of fucoidan treatment on collagenase-induced intracerebral hemorrhage in rats. *Neurol Res* 21:415-419
- Fraga CG, Leibovita RM, Roeder RG. 1988. Lipid peroxidation measured as thiobarbituric-reactive substances in tissue slices: Characterization and comparison with homogenates and microsomes. *Free Radic Biol Med* 4:155-161
- Fridovich I. 1978. The biology of oxygen radicals. *Science* 201: 875-880
- Jacques PF. 1999. The potential preventive effects of vitamins for cataract and age-related macular degeneration. *Int J Vitam Nutr Res* 69:198-205
- Jarvinen R. 1995. Carotenoids, retinoids, tocopherols and tocotrienols in the diet: The finnish mobile clinic health examination survey. *Int J Vitam Nutr Res* 65:24-30
- Khachik F, Beecher GR, Smith Jr JC. 1995. Lutein, lycopene, and their oxidative metabolites in chemoprevention of cancer. *J Cell Biochem* 22:236-246
- Oh SI, Lee MS. 2008. Antioxidative and cytotoxic effects of ethanol extracts from *Elaeagnus multiflora*. *Korean J Food & Nutr* 21:403-409
- Park TS, Lee SY, Kim HJ, Kim KT, Kim YJ, Jeong IH, Do WN, Lee HJ. 2009. Extracts of adlay, barley and rice bran have antioxidant activity and modulate fatty acid metabolism in adipocytes. *Korean J Food & Nutr* 22:456-462
- Piao XL, Park IH, Baek SH, Kim HY, Park MK, Park JH. 2004. Antioxidative activity of furanocoumarins isolated from *Angelicae dahuricae*. *J Ethnopharmacol* 93:243-246
- Rapp LM, Maple SS, Choi JH. 2000. Lutein and zeaxanthin concentrations in rod outer segment membranes from periphery and peripheral human retina. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 41:1200-1209
- Rosenthal JM, Kim J, de Monastario F, Thompson DJ, Bone RA, Landrum JT, de Moura FF, Khachik F, Chen H, Schleicher RL, Ferris FL 3rd, Chew, EY. 2006. Dose-ranging study of lutein supplementation in persons aged 60 years or older. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 47:5227-5233
- Snodderly DM. 1995. Evidence for protection against age-related macular degeneration by carotenoids and antioxidant vitamins. *Am J Clin Nutr* 62:1448S-1461S
- Sommerburg O, Keunen JEE, Bird AC, van Kuijk FJGM. 1998. Fruits and vegetables that are sources for lutein and zeaxanthin: The macular pigment in human eyes. *Br J Ophthalmol* 82: 907-910
- Trush MA, Minnaugh EG, Gram TE. 1982. Activation of pharmacologic agents to radical intermediates. Implications for the role of free radicals in drug action and toxicity. *Biochem Pharmacol* 31:3335-3346
- Valko M, Leibfritz D, Moncol J, Cronin MT, Mazur M, Telser J. 2007. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *Int J Biochem Cell Biol* 39:44-84
- Wolfe KL, Liu RH. 2007. Cellular antioxidant activity(CAA) assay for assessing antioxidants, foods, and dietary supplements. *J Agric Food Chem* 55:8896-8907
- Yokozawa T, Cho EJ, Hara Y, Kitani K. 2000. Antioxidative activity of green tea treated with radical initiator 2,2'-azobis (2-aminopropane) dihydrochloride. *J Agric Food Chem* 48: 5068-5073
- Zhang Q, Li N, Zhou G, Lu X, Xu Z, Li Z. 2003. *In vivo* antioxidant activity of polysaccharide fraction from *Porphyra haitanesis*(Rhodophyta) in aging mice. *Pharmacol Res* 48: 151-155

---

접 수 : 2010년 5월 19일  
 최종수정 : 2010년 6월 8일  
 채 택 : 2010년 7월 8일